(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2020-522278
(P2020-522278A)
(43)公表日　令和2年7月30日(2020.7.30)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12N 15/13	(2006.01)	C12N	15/13	ZNA	4B065
C07K 16/28	(2006.01)	C07K	16/28		4C076
C12N 15/63	(2006.01)	C12N	15/63	Z	4C085
C12N 1/15	(2006.01)	C12N	1/15		4H045
C12N 1/21	(2006.01)	C12N	1/21		

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 140 頁）　最終頁に続く

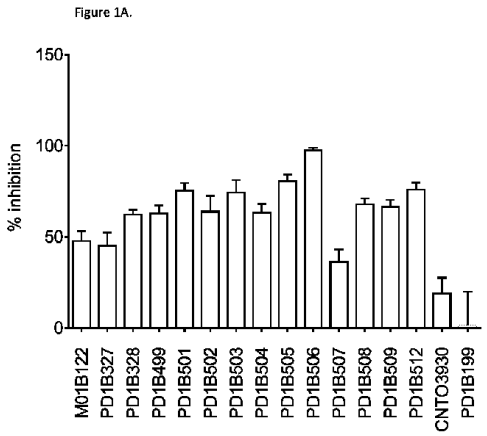
(21)出願番号　特願2020-516792 (P2020-516792)
(86)(22)出願日　平成30年6月4日 (2018.6.4)
(85)翻訳文提出日　令和2年1月9日 (2020.1.9)
(86)国際出願番号　PCT/US2018/035843
(87)国際公開番号　WO2018/226580
(87)国際公開日　平成30年12月13日 (2018.12.13)
(31)優先権主張番号　62/515,188
(32)優先日　平成29年6月5日 (2017.6.5)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国 (US)
(31)優先権主張番号　62/648,114
(32)優先日　平成30年3月26日 (2018.3.26)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国 (US)

(71)出願人　509087759
ヤンセン　バイオテツク，インコーポレーテツド
アメリカ合衆国ペンシルベニア州１９０４４ホーシヤム・リツジビユードライブ８００／８５０
(74)代理人　100092783
弁理士　小林　浩
(74)代理人　100095360
弁理士　片山　英二
(74)代理人　100093676
弁理士　小林　純子
(74)代理人　100120134
弁理士　大森　規雄

最終頁に続く

(54)【発明の名称】ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、及び使用方法

(57)【要約】
ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片、抗体又は断片をコードするポリヌクレオチド、並びに、前述の作製方法及び使用方法は、炎症性疾患又は免疫不全の治療に有用である。



【特許請求の範囲】
【請求項１】
配列番号２、１６５、４、１６６、６及び７の重鎖相補性決定領域１（ＨＣＤＲ１）、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、軽鎖相補性決定領域１（ＬＣＤＲ１）、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３をそれぞれ含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片。
【請求項２】
前記抗体又は前記その抗原結合断片が、以下の性質：
ａ）ＰＤ－Ｌ１の、ＰＤ－１への結合を遮断しないことであって、
遮断の欠如は、前記抗体が、実施例１に記載したＰＤ－Ｌ１を発現する細胞、及びＰＤ－１を発現する細胞のクラスター化を阻害できないことにより測定される、遮断しないことと、
ｂ）約５×１０－^{8}Ｍ以下の平衡解離定数（K_D）でＰＤ－１に結合することであって、前記K_Dは、＋２５℃にて、ＰｒｏｔｅＯｎ　ＸＰＲ３６システムを用いて測定される、結合することと、
ｃ）約３×１０^{4}１／Ｍｓ以上の結合定数（ｋａ）でＰＤ－１に結合することであって、前記ｋａは＋２５℃にて、ＰｒｏｔｅＯｎ　ＸＰＲ３６システムを用いて測定される、結合することと、
ｄ）約３×１０$^{-3}$１／ｓ以下の解離定数（ｋｄ）でＰＤ－１に結合することであって、前記ｋｄは、＋２５℃にて、ＰｒｏｔｅＯｎ　ＸＰＲ３６システムを用いて測定される、結合することと、
ｅ）抗原特異的Ｔ細胞の増殖を阻害することであって、
前記増殖は、実施例１に記載されているＣＭＶ－ＰＢＭＣアッセイにおいて評価される、阻害すること、
のうちの、１つ、２つ、３つ、４つ、又は５つを有する、請求項１に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項３】
ａ）ＩＧＨＶ７－４－１＊１（配列番号１２５）に由来する重鎖可変領域（ＶＨ）フレームワーク、
ｂ）ＩＧＫＶ３Ｄ－２０＊１（配列番号１２６）に由来する軽鎖可変領域（ＶＬ）フレームワーク、又は、
ｃ）ＩＧＨＶ７－４－１＊１（配列番号１２５）に由来する前記ＶＨフレームワーク、及びＩＧＫＶ３Ｄ－２０＊１（配列番号１２６）に由来する前記ＶＬフレームワーク
を含む、請求項１又は２に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項４】
配列番号３、１４５、１４６、若しくは１４７の前記ＨＣＤＲ２、及び／又は、配列番号５、１４８、若しくは１４９の前記ＬＣＤＲ１を含む、請求項１～３のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項５】
ａ）配列番号２、３、４、５、６、及び７、
ｂ）配列番号２、１４５、４、５、６、及び７、
ｃ）配列番号２、１４６、４、５、６、及び７、
ｄ）配列番号２、１４７、４、５、６、及び７、
ｅ）配列番号２、３、４、１４８、６、及び７、
ｆ）配列番号２、３、４、１４９、６、及び７、
ｇ）配列番号２、１４５、４、１４８、６、及び７、
ｈ）配列番号２、１４６、４、１４８、６、及び７、
ｉ）配列番号２、１４７、４、１４８、６、及び７、
ｊ）配列番号２、１４５、４、１４９、６、及び７、
ｋ）配列番号２、１４６、４、１４９、６、及び７、又は
ｌ）配列番号２、１４７、４、１４９、６、及び７

の、前記ＨＣＤＲ１、前記ＨＣＤＲ２、前記ＨＣＤＲ３、前記ＬＣＤＲ１、前記ＬＣＤＲ２、及び前記ＬＣＤＲ３を含む、請求項１～４のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項６】

ａ）配列番号１１８の重鎖可変領域（ＶＨ）、

ｂ）配列番号１１９の軽鎖可変領域（ＶＬ）、又は

ｃ）配列番号１１８及び１１９の前記ＶＨ及び前記ＶＬ

を含む、請求項１～５のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項７】

ａ）配列番号８、９、１０、１４０、１４１、若しくは１４２の前記ＶＨ、

ｂ）配列番号１４、１５、１６、１４３、又は１４４の前記ＶＬ、

ｃ）配列番号８の前記ＶＨ及び配列番号１４の前記ＶＬ、

ｄ）配列番号９の前記ＶＨ及び配列番号１５の前記ＶＬ、

ｅ）配列番号９の前記ＶＨ及び配列番号１６の前記ＶＬ、

ｆ）配列番号１０の前記ＶＨ及び配列番号１６の前記ＶＬ、

ｇ）配列番号１４０の前記ＶＨ及び配列番号１６の前記ＶＬ、

ｈ）配列番号１４１の前記ＶＨ及び配列番号１６の前記ＶＬ、

ｉ）配列番号１４２の前記ＶＨ及び配列番号１６の前記ＶＬ、

ｊ）配列番号１０の前記ＶＨ及び配列番号１４３の前記ＶＬ、

ｋ）配列番号１０の前記ＶＨ及び配列番号１４４の前記ＶＬ、

ｌ）配列番号１４０の前記ＶＨ及び配列番号１４３の前記ＶＬ、

ｍ）配列番号１４１の前記ＶＨ及び配列番号１４３の前記ＶＬ、

ｎ）配列番号１４２の前記ＶＨ及び配列番号１４３の前記ＶＬ、

ｏ）配列番号１４０の前記ＶＨ及び配列番号１４４の前記ＶＬ、

ｐ）配列番号１４１の前記ＶＨ及び配列番号１４４の前記ＶＬ、又は

ｑ）配列番号１４２の前記ＶＨ及び配列番号１４４の前記ＶＬ

を含む、請求項１～６のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項８】

ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片であって、前記抗体又は前記その抗原結合断片が、ＰＤ－１の、請求項７に記載の抗体又はその抗原結合断片との結合を競合する、単離抗体、又はその抗原結合断片。

【請求項９】

ａ）配列番号２、３、４、５、６、及び７の前記ＨＣＤＲ１、前記ＨＣＤＲ２、前記ＨＣＤＲ３、前記ＬＣＤＲ１、前記ＬＣＤＲ２、及び前記ＬＣＤＲ３、

ｂ）配列番号８、９、若しくは１０の前記ＶＨ、及び配列番号１４、１５、若しくは１６の前記ＶＬ、並びに／又は、

ｃ）配列番号２０、２１、若しくは２２の重鎖（ＨＣ）、及び配列番号２６、２７、若しくは２８の軽鎖（ＬＣ）

を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片。

【請求項１０】

ａ）配列番号２、１４５、４、５、６、及び７の前記ＨＣＤＲ１、前記ＨＣＤＲ２、前記ＨＣＤＲ３、前記ＬＣＤＲ１、前記ＬＣＤＲ２、及び前記ＬＣＤＲ３、

ｂ）配列番号１４０の前記ＶＨ及び配列番号１６の前記ＶＬ、並びに／又は、

ｃ）配列番号１５０の前記ＨＣ及び配列番号２８の前記ＬＣ

を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片。

【請求項１１】

ａ）配列番号２、１４６、４、５、６、及び７の前記ＨＣＤＲ１、前記ＨＣＤＲ２、前記ＨＣＤＲ３、前記ＬＣＤＲ１、前記ＬＣＤＲ２、及び前記ＬＣＤＲ３、

ｂ）配列番号１４１の前記ＶＨ及び配列番号１６の前記ＶＬ、並びに／又は、

ｃ）配列番号１５１の前記ＨＣ及び配列番号２８の前記ＬＣ

を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片。
【請求項１２】
ａ）配列番号２、１４７、４、５、６、及び７の前記ＨＣＤＲ１、前記ＨＣＤＲ２、前記ＨＣＤＲ３、前記ＬＣＤＲ１、前記ＬＣＤＲ２、及び前記ＬＣＤＲ３、
ｂ）配列番号１４２の前記ＶＨ及び配列番号１６の前記ＶＬ、並びに／又は、
ｃ）配列番号１５２の前記ＨＣ及び配列番号２８の前記ＬＣ
を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片。
【請求項１３】
ａ）配列番号２、３、４、１４８、６、及び７の前記ＨＣＤＲ１、前記ＨＣＤＲ２、前記ＨＣＤＲ３、前記ＬＣＤＲ１、前記ＬＣＤＲ２、及び前記ＬＣＤＲ３、
ｂ）配列番号１０の前記ＶＨ及び配列番号１４３の前記ＶＬ、並びに／又は、
ｃ）配列番号２２の前記ＨＣ及び配列番号１５３の前記ＬＣ
を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片。
【請求項１４】
ａ）配列番号２、３、４、１４９、６、及び７の前記ＨＣＤＲ１、前記ＨＣＤＲ２、前記ＨＣＤＲ３、前記ＬＣＤＲ１、前記ＬＣＤＲ２、及び前記ＬＣＤＲ３、
ｂ）配列番号１０の前記ＶＨ及び配列番号１４４の前記ＶＬ、並びに／又は、
ｃ）配列番号２２の前記ＨＣ及び配列番号１５４の前記ＬＣ
を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片。
【請求項１５】
ａ）配列番号２、１４５、４、１４８、６、及び７の前記ＨＣＤＲ１、前記ＨＣＤＲ２、前記ＨＣＤＲ３、前記ＬＣＤＲ１、前記ＬＣＤＲ２、及び前記ＬＣＤＲ３、
ｂ）配列番号１４０の前記ＶＨ及び配列番号１４３の前記ＶＬ、並びに／又は、
ｃ）配列番号１５０の前記ＨＣ及び配列番号１５３の前記ＬＣ
を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片。
【請求項１６】
ａ）配列番号２、１４６、４、１４８、６、及び７の前記ＨＣＤＲ１、前記ＨＣＤＲ２、前記ＨＣＤＲ３、前記ＬＣＤＲ１、前記ＬＣＤＲ２、及び前記ＬＣＤＲ３、
ｂ）配列番号１４１の前記ＶＨ及び配列番号１４３の前記ＶＬ、並びに／又は、
ｃ）配列番号１５１の前記ＨＣ及び配列番号１５３の前記ＬＣ
を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片。
【請求項１７】
ａ）配列番号２、１４７、４、１４８、６、及び７の前記ＨＣＤＲ１、前記ＨＣＤＲ２、前記ＨＣＤＲ３、前記ＬＣＤＲ１、前記ＬＣＤＲ２、及び前記ＬＣＤＲ３、
ｂ）配列番号１４２の前記ＶＨ及び配列番号１４３の前記ＶＬ、並びに／又は、
ｃ）配列番号１５２の前記ＨＣ及び配列番号１５３の前記ＬＣ
を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片。
【請求項１８】
ａ）配列番号２、１４５、４、１４９、６、及び７の前記ＨＣＤＲ１、前記ＨＣＤＲ２、前記ＨＣＤＲ３、前記ＬＣＤＲ１、前記ＬＣＤＲ２、及び前記ＬＣＤＲ３、
ｂ）配列番号１４０の前記ＶＨ及び配列番号１４４の前記ＶＬ、並びに／又は、
ｃ）配列番号１５０の前記ＨＣ及び配列番号１５４の前記ＬＣ
を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片。
【請求項１９】
ａ）配列番号２、１４６、４、１４９、６、及び７の前記ＨＣＤＲ１、前記ＨＣＤＲ２、前記ＨＣＤＲ３、前記ＬＣＤＲ１、前記ＬＣＤＲ２、及び前記ＬＣＤＲ３、
ｂ）配列番号１４１の前記ＶＨ及び配列番号１４４の前記ＶＬ、並びに／又は、
ｃ）配列番号１５１の前記ＨＣ及び配列番号１５４の前記ＬＣ
を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片。
【請求項２０】

ａ）配列番号２、１４７、４、１４９、６、及び７の前記ＨＣＤＲ１、前記ＨＣＤＲ２、前記ＨＣＤＲ３、前記ＬＣＤＲ１、前記ＬＣＤＲ２、及び前記ＬＣＤＲ３、
ｂ）配列番号１４２の前記ＶＨ及び配列番号１４４の前記ＶＬ、並びに／又は、
ｃ）配列番号１５２の前記ＨＣ及び配列番号１５４の前記ＬＣ
を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片。
【請求項２１】
前記抗体又はその抗原結合断片が、ＰＤ－１のアゴニストである、若しくはＰＤ－１を発現する細胞の抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ）を媒介する、又はこれらの両方である、請求項１～２０のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項２２】
前記ＰＤ－１を発現する細胞が、活性化メモリーＴ細胞、Ｔ濾胞性ヘルパー細胞（T_{FH}）、若しくはＴ末梢性ヘルパー細胞（T_{PH}）、又はこれらの任意の組み合わせである、請求項２１に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項２３】
前記抗体又は前記その抗原結合断片が、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、及びＩｇＧ３、又はＩｇＧ４アイソタイプである、請求項１～２２のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項２４】
前記抗体又は前記その抗原結合断片が、前記抗体の、Ｆｃ受容体（ＦｃＲ）への結合を媒介する抗体Ｆｃにおいて、少なくとも１つの変異を含む、請求項１～２３のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項２５】
前記少なくとも１つの変異が、
ａ）Ｓ２６７Ｅ変異、
ｂ）Ｓ２６７Ｄ変異、
ｃ）Ｓ２６７Ｅ／Ｉ３３２Ｅ変異、
ｄ）Ｓ２６７Ｅ／Ｌ３２８Ｆ変異、
ｅ）Ｇ２３６Ｄ／Ｓ２６７Ｅ変異、
ｆ）Ｐ２３８Ｄ変異、又は
ｇ）Ｐ２３８Ｄ／Ｅ２３３Ｄ／Ｇ２３７Ｄ／Ｈ２６８Ｄ／Ｐ２７１Ｇ／Ａ３３０Ｒ変異
である、請求項２４に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項２６】
前記抗体が、
ａ）配列番号２０、２１、２２、１５０、１５１、若しくは１５２の重鎖（ＨＣ）、
ｂ）配列番号２６、２７、２８、１５３、又は１５４の軽鎖（ＬＣ）、
ｃ）配列番号２０、２１、２２、１５０、１５１、若しくは１５２の前記ＨＣ、及び配列番号２６、２７、２８、１５３、又は１５４の前記ＬＣ、
ｄ）配列番号２０の前記ＨＣ、及び配列番号２６の前記ＬＣ、
ｅ）配列番号２１の前記ＨＣ、及び配列番号２７の前記ＬＣ、
ｆ）配列番号２１の前記ＨＣ、及び配列番号２８の前記ＬＣ、
ｇ）配列番号２２の前記ＨＣ、及び配列番号２８の前記ＬＣ、
ｈ）配列番号１５０の前記ＨＣ、及び配列番号２８の前記ＬＣ、
ｉ）配列番号１５１の前記ＨＣ、及び配列番号２８の前記ＬＣ、
ｉ）配列番号１５２の前記ＨＣ、及び配列番号２８の前記ＬＣ、
ｋ）配列番号２２の前記ＨＣ、及び配列番号１５３の前記ＬＣ、
ｌ）配列番号２２の前記ＨＣ、及び配列番号１５４の前記ＬＣ、
ｍ）配列番号１５０の前記ＨＣ、及び配列番号１５３の前記ＬＣ、
ｎ）配列番号１５１の前記ＨＣ、及び配列番号１５３の前記ＬＣ、
ｏ）配列番号１５２の前記ＨＣ、及び配列番号１５３の前記ＬＣ、
ｐ）配列番号１５０の前記ＨＣ、及び配列番号１５４の前記ＬＣ、

ｑ）配列番号１５１の前記ＨＣ、及び配列番号１５４の前記ＬＣ、又は
ｒ）配列番号１５２の前記ＨＣ、及び配列番号１５４の前記ＬＣ
を含む、請求項１～８のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項２７】
前記抗体ＶＨ及び前記抗体ＶＬ、又は前記抗体ＨＣ及び前記抗体ＬＣが、
ａ）配列番号１１及び１７、
ｂ）配列番号１２及び１８、
ｃ）配列番号１２及び１９、
ｄ）配列番号１３及び１９、
ｅ）配列番号２３及び２９、
ｆ）配列番号２４及び３０、
ｇ）配列番号２４及び３１、
ｈ）配列番号２５及び３１、
ｉ）配列番号１３２及び１３３、
ｊ）配列番号１３４及び１３５、
ｋ）配列番号１５５及び１９、
ｌ）配列番号１５６及び１９、
ｍ）配列番号１５７及び１９、
ｎ）配列番号１３及び１５８、
ｏ）配列番号１３及び１５９、
ｐ）配列番号１５５及び１５８、
ｑ）配列番号１５６及び１５８、
ｒ）配列番号１５７及び１５８、
ｓ）配列番号１５５及び１５９、
ｔ）配列番号１５６及び１５９、
ｕ）配列番号１５７及び１５９、
ｖ）配列番号１６０及び３１、
ｗ）配列番号１６１及び３１、
ｘ）配列番号１６２及び３１、
ｙ）配列番号２５及び１６３、
ｚ）配列番号２５及び１６４、
ａａ）配列番号１６０及び１６３、
ｂｂ）配列番号１６１及び１６３、
ｃｃ）配列番号１６２及び１６３、
ｄｄ）配列番号１６０及び１６４、
ｅｅ）配列番号１６１及び１６４、又は
ｆｆ）配列番号１６２及び１６４
のポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドによりコードされる、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片。
【請求項２８】
前記抗体又は前記その抗原結合断片が、フコース含量が約１％～約１５％である二分岐グリカン構造を有する、請求項１～２７のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項２９】
ａ）配列番号１１８、８、９、１０、１４０、１４１、若しくは１４２の前記ＶＨをコードする、
ｂ）配列番号１１９、１４、１５、１６、１４３、若しくは１４４の前記ＶＬをコードする、
ｃ）配列番号１１８、８、９、１０、１４０、１４１、若しくは１４２の前記ＶＨ、及び配列番号１１９、１４、１５、１６、１４３、若しくは１４４の前記ＶＬをコードする

、
ｄ）配列番号２０、２１、２２、１５０、１５１、若しくは１５２の前記ＨＣをコードする、
ｅ）配列番号２６、２７、２８、１５３、若しくは１５４の前記ＬＣをコードする、
ｆ）配列番号２０、２１、２２、１５０、１５１、若しくは１５２の前記ＨＣ、及び配列番号２６、２７、２８、１５３、若しくは１５４の前記ＬＣをコードする、又は
ｇ）配列番号１１、１２、１３、１７、１８、１９、２３、２４、２５、２９、３０、３１、１３２、１３３、１３４、１３５、１５５、１５６、１５７、１５８、１５９、１６０、１６１、１６２、１６３、若しくは１６４のポリヌクレオチド配列を含む、
ポリヌクレオチド。

【請求項３０】
請求項２９に記載のポリヌクレオチドを含むベクター。

【請求項３１】
請求項３０に記載のベクターを含む宿主細胞。

【請求項３２】
真核細胞、原核細胞、ＣＨＯ細胞、ＨＥＫ２９３細胞、又はハイブリドーマである、請求項３１に記載の宿主細胞。

【請求項３３】
前記抗体又は前記その抗原結合断片が発現する条件で、請求項３１に記載の宿主細胞を培養することと、前記抗体又は前記その抗原結合断片を単離することとを含む、請求項１～２８のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片の作製方法。

【請求項３４】
請求項１～２８のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片を含む、医薬組成物。

【請求項３５】
請求項１～２８のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片を含むキット。

【請求項３６】
対象における、ＰＤ－１を発現するＴ細胞の活性化を抑制する方法であって、前記ＰＤ－１を発現するＴ細胞の活性化を抑制するのに十分な時間、請求項１～２８のいずれか一項に記載の単離抗体又はその抗原結合断片を、対象に投与することを含む、前記方法。

【請求項３７】
前記ＰＤ－１を発現するＴ細胞が、抗原特異的ＣＤ４$^{+}$　Ｔ細胞、及び／又は抗原特異的ＣＤ８$^{+}$　Ｔ細胞である、請求項３６に記載の方法。

【請求項３８】
免疫応答を下方制御する方法であって、免疫応答の下方制御を必要とする対象に、治療に有効な量の、請求項１～２８のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片を投与して、前記免疫応答を下方制御することを含む、前記方法。

【請求項３９】
免疫不全の治療方法であって、免疫不全の治療を必要とする対象に、治療に有効な量の、請求項１～２８のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片を投与して、前記免疫不全を治療することを含む、前記方法。

【請求項４０】
前記免疫不全が、狼瘡、全身性エリテマトーデス、シェーグレン症候群、関節炎、関節リウマチ、ぜんそく、ＣＯＰＤ、骨盤内炎症性疾患、アルツハイマー病、炎症性腸疾患、クローン病、潰瘍性大腸炎、ペロニー病、セリアック病、胆嚢疾患、毛巣洞、腹膜炎、乾癬、乾癬性関節炎、脈管炎、手術による癒着、脳卒中、Ｉ型糖尿病、ライム病、髄膜脳炎、自己免疫性ぶどう膜炎、多発性硬化症、ギラン・バレー症候群、アトピー性皮膚炎、自己免疫性肝炎、線維化性肺胞炎、グレーブス病、ＩｇＡ腎症、特発性血小板減少性紫斑病、メニエール病、天疱瘡、原発性胆汁性肝硬変、サルコイドーシス、強皮症、ヴェゲナー肉芽腫症、その他の自己免疫疾患、膵炎、外傷（外科）、移植片対宿主病、移植拒絶反応

、筋梗塞並びにアテローム性動脈硬化症などの虚血性疾患を含む心臓疾患、血管内凝固、骨吸収、骨粗鬆症、変形性関節症、歯周炎及び低酸症、胎児－母体耐性の欠如に関連する不妊症、シェーグレン症候群、白斑、重症筋無力症、又は全身性硬化症である、請求項３９に記載の方法。

【請求項４１】

前記抗体又は前記その抗原結合断片が、第２の治療薬と共に投与される、請求項３６～４０のいずれか一項に記載の方法。

【請求項４２】

請求項７に記載の抗体又は抗原結合断片に特異的に結合する、抗イディオタイプ抗体。

【請求項４３】

異種分子と複合体化した、請求項１～２８のいずれか一項に記載の抗体又は抗原結合断片を含む、免疫複合体。

【請求項４４】

配列番号３２、１２４、４０、４１、４２、及び４３の、重鎖相補性決定領域１（ＨＣＤＲ１）、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、軽鎖相補性決定領域１（ＬＣＤＲ１）、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片。

【請求項４５】

前記抗体又は前記その抗原結合断片が、以下の性質：

ａ）ＰＤ－Ｌ１の、ＰＤ－１への結合を遮断することであって、遮断の欠如は、実施例１に記載した、ＰＤ－Ｌ１を発現する細胞及びＰＤ－１を発現する細胞のクラスター化を、前記抗体が阻害できないことにより測定される、遮断することと、

ｂ）約５×１０$^{-8}$Ｍ以下の平衡解離定数（K_D）でＰＤ－１に結合することであって、前記K_Dは、＋２５℃にて、ＰｒｏｔｅＯｎ　ＸＰＲ３６システムを用いて測定される、結合することと、

ｃ）約４×１０^{5}１／Ｍｓ以上の結合定数（ｋａ）でＰＤ－１に結合することであって、前記ｋａは、＋２５℃にて、ＰｒｏｔｅＯｎ　ＸＰＲ３６システムを用いて測定される、結合することと、

ｄ）約１×１０$^{-2}$１／ｓ以下の解離定数（ｋｄ）でＰＤ－１に結合することであって、前記ｋｄは、＋２５℃にて、ＰｒｏｔｅＯｎ　ＸＰＲ３６システムを用いて測定される、結合することと、

ｅ）抗原特異的Ｔ細胞の増殖を阻害することであって、

前記増殖は、実施例１に記載されているＣＭＶ－ＰＢＭＣアッセイにおいて評価される、阻害することと

のうちの、１つ、２つ、３つ、４つ、又は５つを有する、請求項４４に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項４６】

ａ）ＩＧＨＶ１－２＊０２（配列番号１２７）に由来する重鎖可変領域（ＶＨ）フレームワーク、

ｂ）ＩＧＫＶ１Ｄ－１６＊１（配列番号１２８）に由来する軽鎖可変領域（ＶＬ）フレームワーク、

ｃ）ＩＧＨＶ１－２＊０２（配列番号１２７）に由来する前記ＶＨフレームワーク、及びＩＧＫＶ１Ｄ－１６＊１（配列番号１２８）に由来する前記ＶＬフレームワーク

を含む、請求項４４又は４５に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項４７】

配列番号３３、３４、３５、３６、３７、３８、又は３９の前記ＨＣＤＲ２を含む、請求項４４～４６のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項４８】

ａ）配列番号３２、３３、４０、４１、４２、及び４３、

ｂ）配列番号３２、３４、４０、４１、４２、及び４３、

ｃ）配列番号３２、３５、４０、４１、４２、及び４３、
ｄ）配列番号３２、３６、４０、４１、４２、及び４３、
ｅ）配列番号３２、３７、４０、４１、４２、及び４３、
ｆ）配列番号３２、３８、４０、４１、４２、及び４３、又は
ｇ）配列番号３２、３９、４０、４１、４２、及び４３
の、前記ＨＣＤＲ１、前記ＨＣＤＲ２、前記ＨＣＤＲ３、前記ＬＣＤＲ１、前記ＬＣＤＲ２、及び前記ＬＣＤＲ３を含む、請求項４４～４７のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項４９】
ａ）配列番号１２０の重鎖可変領域（ＶＨ）、
ｂ）配列番号１２１の軽鎖可変領域（ＶＬ）、又は
ｃ）配列番号１２０及び１２１の前記ＶＨ及び前記ＶＬ
を含む、請求項４４～４８のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項５０】
ａ）配列番号４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、若しくは５１の前記ＶＨ、
ｂ）配列番号６０、６１、若しくは６２の前記ＶＬ、
ｃ）配列番号４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、若しくは５１の前記ＶＨ、及び配列番号６０、６１、若しくは６２の前記ＶＬ、
ｄ）配列番号４４の前記ＶＨ及び配列番号６０の前記ＶＬ、
ｅ）配列番号４５のＶＨ及び配列番号６１の前記ＶＬ、
ｆ）配列番号４５の前記ＶＨ及び配列番号６２の前記ＶＬ、
ｇ）配列番号４６の前記ＶＨ及び配列番号６１の前記ＶＬ、
ｈ）配列番号４７の前記ＶＨ及び配列番号６１の前記ＶＬ、
ｉ）配列番号４８の前記ＶＨ及び配列番号６１の前記ＶＬ、
ｊ）配列番号４９の前記ＶＨ及び配列番号６１の前記ＶＬ、
ｋ）配列番号５０の前記ＶＨ及び配列番号６１の前記ＶＬ、又は
ｌ）配列番号５１の前記ＶＨ及び配列番号６１の前記ＶＬ
を含む、請求項４４～４９のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項５１】
ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片でであって、前記抗体又は前記その抗原結合断片が、ＰＤ－１との結合を、請求項５０に記載の抗体又はその抗原結合断片と競合する、単離抗体、又はその抗原結合断片。
【請求項５２】
ａ）配列番号：配列番号３２、３３、４０、４１、４２、及び４３の前記ＨＣＤＲ１、前記ＨＣＤＲ２、前記ＨＣＤＲ３、前記ＬＣＤＲ１、前記ＬＣＤＲ２、及び前記ＬＣＤＲ３、
ｂ）配列番号４４若しくは４５の前記ＶＨ、及び配列番号６０、６１、若しくは６２の前記ＶＬ、並びに／又は、
ｃ）配列番号６６若しくは６７の前記ＨＣ、及び配列番号８２、８３、若しくは８４の前記ＬＣ、
を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片。
【請求項５３】
ａ）配列番号３２、３４、４０、４１、４２、及び４３の前記ＨＣＤＲ１、前記ＨＣＤＲ２、前記ＨＣＤＲ３、前記ＬＣＤＲ１、前記ＬＣＤＲ２、及び前記ＬＣＤＲ３、
ｂ）配列番号４６の前記ＶＨ及び配列番号６１の前記ＶＬ、並びに／又は、
ｃ）配列番号６８の前記ＨＣ及び配列番号８３の前記ＬＣ
を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片。
【請求項５４】
ａ）配列番号３２、３５、４０、４１、４２、及び４３の前記ＨＣＤＲ１、前記ＨＣＤＲ２、前記ＨＣＤＲ３、前記ＬＣＤＲ１、前記ＬＣＤＲ２、及び前記ＬＣＤＲ３、

ｂ）配列番号４７の前記ＶＨ及び配列番号６１の前記ＶＬ、並びに／又は、
ｃ）配列番号６９の前記ＨＣ及び配列番号８３の前記ＬＣ
を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片。
【請求項５５】
ａ）配列番号３２、３６、４０、４１、４２、及び４３の前記ＨＣＤＲ１、前記ＨＣＤＲ２、前記ＨＣＤＲ３、前記ＬＣＤＲ１、前記ＬＣＤＲ２、及び前記ＬＣＤＲ３、
ｂ）配列番号４８の前記ＶＨ及び配列番号６１の前記ＶＬ、並びに／又は、
ｃ）配列番号７０の前記ＨＣ及び配列番号８３の前記ＬＣ
を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片。
【請求項５６】
ａ）配列番号３２、３７、４０、４１、４２、及び４３の前記ＨＣＤＲ１、前記ＨＣＤＲ２、前記ＨＣＤＲ３、前記ＬＣＤＲ１、前記ＬＣＤＲ２、及び前記ＬＣＤＲ３、
ｂ）配列番号４９の前記ＶＨ及び配列番号６１の前記ＶＬ、並びに／又は、
ｃ）配列番号７１の前記ＨＣ及び配列番号８３の前記ＬＣ
を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片。
【請求項５７】
ａ）配列番号３２、３８、４０、４１、４２、及び４３の前記ＨＣＤＲ１、前記ＨＣＤＲ２、前記ＨＣＤＲ３、前記ＬＣＤＲ１、前記ＬＣＤＲ２、及び前記ＬＣＤＲ３、
ｂ）配列番号５０の前記ＶＨ及び配列番号６１の前記ＶＬ、並びに／又は、
ｃ）配列番号７２の前記ＨＣ及び配列番号８３の前記ＬＣ
を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片。
【請求項５８】
ａ）配列番号３２、３９、４０、４１、４２、及び４３の前記ＨＣＤＲ１、前記ＨＣＤＲ２、前記ＨＣＤＲ３、前記ＬＣＤＲ１、前記ＬＣＤＲ２、及び前記ＬＣＤＲ３、
ｂ）配列番号５１の前記ＶＨ及び配列番号６１の前記ＶＬ、並びに／又は、
ｃ）配列番号７３の前記ＨＣ及び配列番号８３の前記ＬＣ
を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片。
【請求項５９】
前記抗体又はその抗原結合断片が、ＰＤ－１のアゴニストである、若しくはＰＤ－１を発現する細胞の抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ）を媒介する、又はこれらの両方である、請求項４４～５８のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項６０】
前記ＰＤ－１を発現する細胞が、活性化メモリーＴ細胞、Ｔ濾胞性ヘルパー細胞（T_{FH}）、若しくはＴ末梢性ヘルパー細胞（T_{PH}）、又はこれらの任意の組み合わせである、請求項５９に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項６１】
前記抗体又は前記その抗原結合断片が、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、及びＩｇＧ３、又はＩｇＧ４アイソタイプである、請求項４４～６０のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項６２】
前記抗体又は前記その抗原結合断片が、前記抗体の、Ｆｃ受容体（ＦｃＲ）への結合を媒介する抗体Ｆｃにおいて、少なくとも１つの変異を含む、請求項４４～６１のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項６３】
前記少なくとも１つの変異が、
ａ）Ｓ２６７Ｅ変異、
ｂ）Ｓ２６７Ｄ変異、
ｃ）Ｓ２６７Ｅ／Ｉ３３２Ｅ変異、
ｄ）Ｓ２６７Ｅ／Ｌ３２８Ｆ変異、
ｅ）Ｇ２３６Ｄ／Ｓ２６７Ｅ変異、

ｆ）Ｐ２３８Ｄ変異、又は
ｇ）Ｐ２３８Ｄ／Ｅ２３３Ｄ／Ｇ２３７Ｄ／Ｈ２６８Ｄ／Ｐ２７１Ｇ／Ａ３３０Ｒ変異である、請求項６２に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項６４】
前記抗体が、
ａ）配列番号６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、若しくは７３の重鎖（ＨＣ）、
ｂ）配列番号８２、８３、若しくは８４の軽鎖（ＬＣ）、
ｃ）配列番号６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、若しくは７３の前記ＨＣ、及び配列番号８２、８３、若しくは８４の前記ＬＣ、
ｄ）配列番号６６の前記ＨＣ、及び配列番号８２の前記ＬＣ、
ｉ）配列番号６７の前記ＨＣ、及び配列番号８３の前記ＬＣ、
ｅ）配列番号６７の前記ＨＣ、及び配列番号８４の前記ＬＣ、
ｆ）配列番号６８の前記ＨＣ、及び配列番号８３の前記ＬＣ、
ｇ）配列番号６９の前記ＨＣ、及び配列番号８３の前記ＬＣ、
ｈ）配列番号７０の前記ＨＣ、及び配列番号８３の前記ＬＣ、
ｉ）配列番号７１の前記ＨＣ、及び配列番号８３の前記ＬＣ、
ｊ）配列番号７２の前記ＨＣ、及び配列番号８３の前記ＬＣ、又は
ｋ）配列番号７３の前記ＨＣ、及び配列番号８３の前記ＬＣ
を含む、請求項４４～５０のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項６５】
前記抗体ＶＨ及び前記抗体ＶＬ、又は前記抗体ＨＣ及び前記抗体ＬＣが、
ａ）配列番号５２及び６３、
ｂ）配列番号５３及び６４、
ｃ）配列番号５３及び６５、
ｄ）配列番号５４及び６４、
ｅ）配列番号５５及び６４、
ｆ）配列番号５６及び６４、
ｇ）配列番号５７及び６４、
ｈ）配列番号５８及び６４、
ｉ）配列番号５９及び６４、
ｊ）配列番号７４及び８５、
ｋ）配列番号７５及び８６、
ｌ）配列番号７５及び８７、
ｍ）配列番号７６及び８６、
ｎ）配列番号７７及び８６、
ｏ）配列番号７８及び８６、
ｐ）配列番号７９及び８６、
ｑ）配列番号８０及び８６、
ｒ）配列番号８１及び８６、
ｓ）配列番号１３６及び１３７、又は
ｔ）配列番号１３８及び１３９
のポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドによりコードされる、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はＰＤ－１に特異的に結合するその抗原結合断片。
【請求項６６】
前記抗体又は前記その抗原結合断片が、フコース含量が約１％～約１５％である二分岐グリカン構造を有する、請求項４４～６５のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項６７】
ａ）配列番号１２０、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、若しくは５１の前

記ＶＨをコードする、
ｂ）配列番号１２１、６０、６１、若しくは６２の前記ＶＬをコードする、
ｃ）配列番号１２０、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、若しくは５１の前記ＶＨ、及び配列番号１２１、６０、６１、若しくは６２の前記ＶＬをコードする、
ｄ）配列番号６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、若しくは７３の前記ＨＣをコードする、
ｅ）配列番号８２、８３、若しくは８４の前記ＬＣをコードする、
ｆ）配列番号６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、若しくは７３の前記ＨＣ、及び配列番号８２、８３、若しくは８４の前記ＬＣをコードする、又は
ｇ）配列番号５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６３、６４、６５、７４、７５、７６、７７、７８、７９、８０、８１、８５、８６、８７、１３６、１３７、１３８、若しくは１３９のポリヌクレオチド配列を含む、
ポリヌクレオチド。
【請求項６８】
請求項６７に記載の少なくとも１つのポリヌクレオチドを含むベクター。
【請求項６９】
請求項６８に記載のベクターを含む宿主細胞。
【請求項７０】
真核細胞、原核細胞、ＣＨＯ細胞、ＨＥＫ２９３細胞、又はハイブリドーマである、請求項６９に記載の宿主細胞。
【請求項７１】
前記抗体又は前記その抗原結合断片が発現する条件で、請求項６９に記載の宿主細胞を培養することと、前記抗体又は前記その抗原結合断片を単離することと、を含む、請求項４４に記載の抗体又はその抗原結合断片の作製方法。
【請求項７２】
請求項４４～６６のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片を含む、医薬組成物。
【請求項７３】
請求項４４～６６のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片を含むキット。
【請求項７４】
対象における、ＰＤ－１を発現するＴ細胞の活性化を抑制する方法であって、前記ＰＤ－１を発現するＴ細胞の活性化を抑制するのに十分な時間、請求項４４～６６のいずれか一項に記載の単離抗体又はその抗原結合断片を前記対象に投与することを含む、方法。
【請求項７５】
前記ＰＤ－１を発現するＴ細胞が、抗原特異的ＣＤ４$^{+}$　Ｔ細胞、及び／又は抗原特異的ＣＤ８$^{+}$　Ｔ細胞である、請求項７４に記載の方法。
【請求項７６】
免疫応答を下方制御する方法であって、免疫応答の下方制御を必要とする対象に、治療に有効な量の、請求項４４～６６のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片を投与して、前記免疫応答を下方制御することを含む、方法。
【請求項７７】
免疫不全の治療方法であって、免疫不全の治療を必要とする対象に、治療に有効な量の、請求項４４～６６のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片を投与して、前記免疫不全を治療することを含む、方法。
【請求項７８】
前記免疫不全が、狼瘡、全身性エリテマトーデス、シェーグレン症候群、関節炎、関節リウマチ、ぜんそく、ＣＯＰＤ、骨盤内炎症性疾患、アルツハイマー病、炎症性腸疾患、クローン病、潰瘍性大腸炎、ペロニー病、セリアック病、胆嚢疾患、毛巣洞、腹膜炎、乾癬、乾癬性関節炎、脈管炎、手術による癒着、脳卒中、Ｉ型糖尿病、ライム病、髄膜脳炎、自己免疫性ぶどう膜炎、多発性硬化症、ギラン・バレー症候群、アトピー性皮膚炎、自

己免疫性肝炎、線維化性肺胞炎、グレーブス病、ＩｇＡ腎症、特発性血小板減少性紫斑病、メニエール病、天疱瘡、原発性胆汁性肝硬変、サルコイドーシス、強皮症、ヴェゲナー肉芽腫症、その他の自己免疫疾患、膵炎、外傷（外科）、移植片対宿主病、移植拒絶反応、心臓筋梗塞並びにアテローム性動脈硬化症などの虚血性疾患を含む心臓疾患、血管内凝固、骨吸収、骨粗鬆症、変形性関節症、歯周炎及び低酸症、胎児－母体耐性の欠如に関連する不妊症、シェーグレン症候群、白斑、重症筋無力症、又は全身性硬化症である、請求項７７に記載の方法。

【請求項７９】

前記抗体又は前記その抗原結合断片が、第２の治療薬と共に投与される、請求項７４～７８のいずれか一項に記載の方法。

【請求項８０】

請求項５２～５８のいずれか一項に記載の抗体又は抗原結合断片に特異的に結合する、抗イディオタイプ抗体。

【請求項８１】

造影剤又は細胞毒性剤と複合体化した、請求項４４～６６のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片を含む、免疫複合体。

【請求項８２】

配列番号８８、８９、９０、９１、９２、及び９３の、重鎖相補性決定領域１（ＨＣＤＲ１）、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、軽鎖相補性決定領域１（ＬＣＤＲ１）、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片。

【請求項８３】

前記抗体又は前記その抗原結合断片が、ＰＤ－Ｌ１のＰＤ－１への結合を遮断せず、遮断の欠如は、前記抗体が、実施例１に記載したＰＤ－Ｌ１を発現する細胞、及びＰＤ－１を発現する細胞のクラスター化を阻害できないことにより測定される、請求項８２に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項８４】

ａ）ＩＧＨＶ２－５＊０４（配列番号１２９）に由来する重鎖可変領域（ＶＨ）フレームワーク、

ｂ）ＩＧＫＶ２－２８＊０１（配列番号１３０）に由来する軽鎖可変領域（ＶＬ）フレームワーク、又は

ｃ）ＩＧＨＶ２－５＊０４（配列番号１２９）に由来する前記ＶＨフレームワーク、及びＩＧＫＶ２－２８＊０１（配列番号１３０）に由来する前記ＶＬフレームワーク

を含む、請求項８２又は８３に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項８５】

ａ）配列番号１２２の重鎖可変領域（ＶＨ）、

ｂ）配列番号１２３の軽鎖可変領域（ＶＬ）、又は

ｃ）配列番号１２２及び１２３の前記ＶＨ及び前記ＶＬ

を含む、請求項８２～８４のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項８６】

ａ）配列番号９４若しくは９５の前記ＶＨ、

ｂ）配列番号９８、９９、若しくは１００の前記ＶＬ、

ｃ）配列番号９４若しくは９５の前記ＶＨ、及び配列番号９８、９９、若しくは１００の前記ＶＬ、

ｄ）配列番号９４の前記ＶＨ及び配列番号９８の前記ＶＬ、

ｅ）配列番号９５のＶＨ及び配列番号９９の前記ＶＬ、又は

ｆ）配列番号９５の前記ＶＨ及び配列番号１００の前記ＶＬ

を含む、請求項８２～８５のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項８７】

ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片であって、前記抗体は、ＰＤ－１への結合を、請求項８６に記載の抗体又はその抗原結合断片と競合する、単離抗

体、又はその抗原結合断片。
【請求項８８】
前記抗体が、アンタゴニスト抗体である、若しくはＰＤ－１を発現する細胞の抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ）を媒介する、又はこれらの両方である、請求項８２～８７のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項８９】
前記ＰＤ－１を発現する細胞は、活性化メモリーＴ細胞、Ｔ濾胞性ヘルパー細胞（T_{FH}）、若しくはＴ末梢性ヘルパー細胞（T_{PH}）、又はこれらの任意の組み合わせである、請求項８８に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項９０】
前記抗体又は前記その抗原結合断片は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、及びＩｇＧ３、又はＩｇＧ４アイソタイプである、請求項８２～８９のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項９１】
前記抗体又は前記その抗原結合断片が、前記抗体の、Ｆｃ受容体への結合を媒介する抗体Ｆｃにおいて、少なくとも１つの変異を含む、請求項８２～９０のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項９２】
前記少なくとも１つの変異が、
ａ）Ｓ２６７Ｅ変異、
ｂ）Ｓ２６７Ｄ変異、
ｃ）Ｓ２６７Ｅ／Ｉ３３２Ｅ変異、
ｄ）Ｓ２６７Ｅ／Ｌ３２８Ｆ変異、
ｅ）Ｇ２３６Ｄ／Ｓ２６７Ｅ変異、
ｆ）Ｐ２３８Ｄ変異、又は
ｇ）Ｐ２３８Ｄ／Ｅ２３３Ｄ／Ｇ２３７Ｄ／Ｈ２６８Ｄ／Ｐ２７１Ｇ／Ａ３３０Ｒ変異
である、請求項９１に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項９３】
ａ）配列番号１０４若しくは１０５の重鎖（ＨＣ）、
ｂ）配列番号１０８、１０９、若しくは１１０の軽鎖（ＬＣ）、
ｃ）配列番号１０４若しくは１０５の前記ＨＣ、及び配列番号１０８、１０９、若しくは１１０の前記ＬＣ、
ｄ）配列番号１０４の前記ＨＣ、及び配列番号１０８の前記ＬＣ、
ｅ）配列番号１０５の前記ＨＣ、及び配列番号１０９の前記ＬＣ、又は
ｆ）配列番号１０５の前記ＨＣ、及び配列番号１１０の前記ＬＣ
を含む、請求項８２～９２のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項９４】
前記抗体ＶＨ及び前記抗体ＶＬ、又は前記抗体ＨＣ及び前記抗体ＬＣが、
ａ）配列番号９６及び１０１、
ｂ）配列番号９７及び１０２、
ｃ）配列番号９７及び１０３、
ｄ）配列番号１０６及び１１１、
ｅ）配列番号１０７及び１１２、又は
ｆ）配列番号１０７及び１１３
のポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドによりコードされる、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片。
【請求項９５】
前記抗体又は前記その抗原結合断片が、フコース含量が約１％～約１５％である二分岐グリカン構造を有する、請求項８２～９４のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項９６】
ａ）配列番号１２２、９４、若しくは９５の前記ＶＨをコードする、
ｂ）配列番号１２３、９８、９９、若しくは１００の前記ＶＬをコードする、
ｃ）配列番号１２２、９４、若しくは９５の前記ＶＨ、及び配列番号１２３、９８、９９、若しくは１００の前記ＶＬをコードする、
ｄ）配列番号１０４若しくは１０５の前記ＨＣをコードする、
ｅ）配列番号１０８、１０９、若しくは１１０の前記ＬＣをコードする、
ｆ）配列番号１０４若しくは１０５の前記ＨＣ、及び配列番号１０８、１０９、若しくは１１０の前記ＬＣをコードする、又は
ｇ）配列番号９６、９７、１０１、１０２、１０３、１０６、１０７、１１１、１１２、若しくは１１３のポリヌクレオチド配列を含む、
ポリヌクレオチド。
【請求項９７】
請求項９６に記載の少なくとも１つのポリヌクレオチドを含むベクター。
【請求項９８】
請求項９７に記載のベクターを含む宿主細胞。
【請求項９９】
真核細胞、原核細胞、ＣＨＯ細胞、ＨＥＫ２９３細胞、又はハイブリドーマである、請求項９８に記載の宿主細胞。
【請求項１００】
前記抗体又は前記その抗原結合断片が発現する条件で、請求項９８に記載の宿主細胞を培養することと、前記抗体又は前記その抗原結合断片を単離することとを含む、請求項８２～９５のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片の作製方法。
【請求項１０１】
請求項８２～９５のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片を含む、医薬組成物。
【請求項１０２】
請求項８２～９５のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片を含むキット。
【請求項１０３】
対象における、ＰＤ－１を発現するＴ細胞の活性化を抑制する方法であって、前記ＰＤ－１を発現するＴ細胞の活性化を抑制するのに十分な時間、請求項８２～９５のいずれか一項に記載の単離抗体又はその抗原結合断片を前記対象に投与することを含む、前記方法。
【請求項１０４】
前記ＰＤ－１を発現するＴ細胞が、抗原特異的ＣＤ４$^{+}$　Ｔ細胞、及び／又は抗原特異的ＣＤ８$^{+}$　Ｔ細胞である、請求項１０３に記載の方法。
【請求項１０５】
免疫応答を下方制御する方法であって、免疫応答の下方制御を必要とする対象に、治療に有効な量の、請求項８２～９５のいずれか一項に記載の単離抗体又はその抗原結合断片を投与して、前記免疫応答を下方制御することを含む、前記方法。
【請求項１０６】
免疫不全の治療方法であって、免疫不全の治療を必要とする対象に、治療に有効な量の、請求項８２～９５のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片を投与して、前記免疫不全を治療することを含む、前記方法。
【請求項１０７】
前記免疫不全が、狼瘡、全身性エリテマトーデス、シェーグレン症候群、関節炎、関節リウマチ、ぜんそく、ＣＯＰＤ、骨盤内炎症性疾患、アルツハイマー病、炎症性腸疾患、クローン病、潰瘍性大腸炎、ペロニー病、セリアック病、胆嚢疾患、毛巣洞、腹膜炎、乾癬、乾癬性関節炎、脈管炎、手術による癒着、脳卒中、Ｉ型糖尿病、ライム病、髄膜脳炎、自己免疫性ぶどう膜炎、多発性硬化症、ギラン・バレー症候群、アトピー性皮膚炎、自

己免疫性肝炎、線維化性肺胞炎、グレーブス病、ＩｇＡ腎症、特発性血小板減少性紫斑病、メニエール病、天疱瘡、原発性胆汁性肝硬変、サルコイドーシス、強皮症、ヴェゲナー肉芽腫症、その他の自己免疫疾患、膵炎、外傷（外科）、移植片対宿主病、移植拒絶反応、心筋梗塞並びにアテローム性動脈硬化症などの虚血性疾患を含む心臓疾患、血管内凝固、骨吸収、骨粗鬆症、変形性関節症、歯周炎及び低酸症、胎児－母体耐性の欠如に関連する不妊症、シェーグレン症候群、白斑、重症筋無力症、又は全身性硬化症である、請求項１０６に記載の方法。

【請求項１０８】

前記抗体又は前記その抗原結合断片が、第２の治療薬と共に投与される、請求項１０３～１０７のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１０９】

請求項６４に記載の抗体又は抗原結合断片に特異的に結合する、抗イディオタイプ抗体。

【請求項１１０】

造影剤又は細胞毒性剤と複合体化した、請求項８２～９６のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片を含む、免疫複合体。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

（配列表）

本出願は、ＡＳＣＩＩフォーマットで電子的に提出済みであり、その全体が参照により本明細書に組み込まれている配列表を含む。２０１８年５月３０日に作成された上記ＡＳＣＩＩコピーは、「ＪＢＩ５１３１ＷＯＰＣＴ＿ＳＴ２５．ｔｘｔ」というファイル名で、サイズは２２０キロバイトである。

【０００２】

（発明の分野）

本発明は、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、抗体をコードするポリヌクレオチド又は抗原結合断片、並びに、前述の作製方法及び使用方法に関する。

【背景技術】

【０００３】

ＰＤ－１（プログラム死－１；ＰＤＣＤ１）は、ＣＤ２８／ＣＴＬＡ－４ファミリーに属する阻害性受容体である。ＰＤ－１は、１つの細胞外ドメイン、並びに、免疫受容体チロシン依存性抑制モチーフ（ＩＴＩＭ）及び免疫受容体チロシン依存性スイッチモチーフ（ＩＴＳＭ）の両方を含有する細胞質ドメインを含有する、Ｉ型膜貫通糖タンパク質である。ＰＤ－１は、活性化Ｔ細胞、Ｂ細胞、ＮＫ細胞、及び胸腺細胞、並びに、濾胞性ヘルパーＴ細胞（T_{FH}）及び末梢性ヘルパーＴ細胞（T_{PH}）を含む、残りのメモリーＴ細胞にて発現される。ＰＤ－１は、そのリガンドのＰＤ－Ｌ１又はＰＤ－Ｌ２が関与するときに、複数のメカニズムにより、Ｔ細胞の機能を抑制する（Ｐａｕｋｅｎ　＆　Ｗｈｅｒｒｙ（２０１５）Ｔｒｅｎｄｓ　ｉｎ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　３６（４）：２６５－２７６）。ＰＤ－１の関与は、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）との同時局在化によるＴＣＲシグナル伝達を直接阻害し、後に続く、ＴＣＲの近位シグナル伝達分子の脱リン酸化の誘発を阻害して、Ｒａｓ／ＭＥＫ／ＥＲＫ経路を阻害して、細胞周期の進行及びＴ細胞増殖の阻害をもたらし、ＰＩ３Ｋ／ＡＫＴ経路の抑制を通して、細胞増殖及び生残を阻害して、Ｔ細胞の代謝をリプログラミングし、ＢＡＴＦ転写因子の上方制御をもたらし、制御性Ｔ細胞の成長、維持、及び機能を制御する。ＰＤ－１はまた細胞運動性を増加させ、Ｔ細胞と標的細胞との相互作用の持続時間を制限することが提示されており、これにより、Ｔ細胞の活性化の程度を低下させる（Ｈｏｎｄａ　ｅｔ　ａｌ．，（２０１４）Ｉｍｍｕｎｉｔｙ　４０（２）：２３５－４７）。

【０００４】

ＰＤ－１欠損マウスでの研究では、この経路が中枢性寛容及び末梢性寛容の両方に重要

であることが示されている。Ｃ５７Ｂｌ／６バックグラウンドのＰＤ－１欠損マウスは、自動抗体産生、糸球体腎炎、及び関節炎を含む、自然な自己免疫疾患を進展させる可能性がある（Ｎｉｓｈｉｍｕｒａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｉｍｍｕｎｉｔｙ　１９９９）。これらのデータは、ＰＤ－１が免疫応答を負に制御していることを示している。

【０００５】

ＰＤ－１及びＰＤ－Ｌ１に対するモノクローナル抗体は、進行性黒色腫、進行性非小細胞肺癌、及び従来のホジキンリンパ腫などの癌治療のために認可された治療法である。ＰＤ－Ｌ１は、多くの異なる腫瘍種において上方制御されることが発見されており、腫瘍湿潤ＰＤ－１$^{+}$　Ｔ細胞を阻害することが可能である。アンタゴニストＰＤ－１又はＰＤ－Ｌ１モノクローナル抗体はこの抑制を反転させ、Ｔ細胞が活性化し、腫瘍を攻撃することを可能にする。したがって、免疫チェックポイント遮断薬は、抗腫瘍免疫応答を増強する方法を提供する。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【０００６】

生物学的抗炎症治療薬が利用可能であるが、大部分の患者が依然として、十分に治療に応答しない、様々な免疫不全、例えば関節リウマチを治療するための、炎症を効果的に抑制可能な、改善された抗炎症薬が引き続き必要とされている。

【課題を解決するための手段】

【０００７】

本発明は、配列番号２、１６５、４、１６６、６及び７の重鎖相補性決定領域１（ＨＣＤＲ１）、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、軽鎖相補性決定領域１（ＬＣＤＲ１）、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片を提供する。

【０００８】

本発明はまた、配列番号２、３、４、５、６、及び７のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３、配列番号８、９、若しくは１０のＶＨ、及び配列番号１４、１５、若しくは１６のＶＬ、並びに／又は、配列番号２０、２１、若しくは２２の重鎖（ＨＣ）、及び配列番号２６、２７、若しくは２８の軽鎖（ＬＣ）を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。

【０００９】

本発明はまた、配列番号２、１４５、４、５、６、及び７のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３、配列番号１４０のＶＨ、及び配列番号１６のＶＬ、並びに／又は配列番号１５０のＨＣ、及び配列番号２８のＬＣを含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。

【００１０】

本発明はまた、配列番号２、１４６、４、５、６、及び７のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３、配列番号１４１のＶＨ、及び配列番号１６のＶＬ、並びに／又は配列番号１５１のＨＣ、及び配列番号２８のＬＣを含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。

【００１１】

本発明はまた、配列番号２、１４７、４、５、６、及び７のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３、配列番号１４２のＶＨ、及び配列番号１６のＶＬ、並びに／又は配列番号１５２のＨＣ、及び配列番号２８のＬＣを含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。

【００１２】

本発明はまた、配列番号２、３、４、１４８、６、及び７のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３、配列番号１０のＶＨ、及び配列番号１４３のＶＬ、並びに／又は配列番号２２のＨＣ、及び配列番号１５３のＬＣを含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。

【００１３】
本発明はまた、配列番号２、３、４、１４９、６、及び７のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３、配列番号１０のＶＨ、及び配列番号１４４のＶＬ、並びに／又は配列番号２２のＨＣ、及び配列番号１５４のＬＣを含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。
【００１４】
本発明はまた、配列番号２、１４５、４、１４８、６、及び７のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３、配列番号１４０のＶＨ、及び配列番号１４３のＶＬ、並びに／又は配列番号１５０のＨＣ、及び配列番号１５３のＬＣを含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。
【００１５】
本発明はまた、配列番号２、１４６、４、１４８、６、及び７のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３、配列番号１４１のＶＨ、及び配列番号１４３のＶＬ、並びに／又は配列番号１５１のＨＣ、及び配列番号１５３のＬＣを含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。
【００１６】
本発明はまた、配列番号２、１４７、４、１４８、６、及び７のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３、配列番号１４２のＶＨ、及び配列番号１４３のＶＬ、並びに／又は配列番号１５２のＨＣ、及び配列番号１５３のＬＣを含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。
【００１７】
本発明はまた、配列番号２、１４５、４、１４９、６、及び７のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３、配列番号１４０のＶＨ、及び配列番号１４４のＶＬ、並びに／又は配列番号１５０のＨＣ、及び配列番号１５４のＬＣを含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。
【００１８】
本発明はまた、配列番号２、１４６、４、１４９、６、及び７のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３、配列番号１４１のＶＨ、及び配列番号１４４のＶＬ、並びに／又は配列番号１５１のＨＣ、及び配列番号１５４のＬＣを含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。
【００１９】
本発明はまた配列番号２、１４７、４、１４９、６、及び７のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３、配列番号１４２のＶＨ、及び配列番号１４４のＶＬ、並びに／又は、配列番号１５２のＨＣ、及び配列番号１５４のＬＣを含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。
【００２０】
本発明はまた、配列番号３２、１２４、４０、４１、４２、及び４３の、重鎖相補性決定領域１（ＨＣＤＲ１）、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、軽鎖相補性決定領域１（ＬＣＤＲ１）、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片を提供する。
【００２１】
本発明はまた、配列番号３２、３３、４０、４１、４２、及び４３のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３、配列番号４４若しくは４５のＶＨ、及び配列番号６０、６１、若しくは６２のＶＬ、並びに／又は、配列番号６６若しくは６７のＨＣ、及び配列番号８２、８３、若しくは８４のＬＣを含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片を提供する。
【００２２】
本発明はまた、配列番号３２、３４、４０、４１、４２、及び４３のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３、配列番号４６のＶＨ、及び配列番号６１のＶＬ、並びに／又は、配列番号６８のＨＣ、及び配列番号８３のＬＣ

を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。
【００２３】
本発明はまた、配列番号３２、３５、４０、４１、４２、及び４３のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３、配列番号４７のＶＨ、及び配列番号６１のＶＬ、並びに／又は、配列番号６９のＨＣ、及び配列番号８３のＬＣを含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。
【００２４】
本発明はまた、配列番号３２、３６、４０、４１、４２、及び４３のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３、配列番号４８のＶＨ、及び配列番号６１のＶＬ、並びに／又は、配列番号７０のＨＣ、及び配列番号８３のＬＣを含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。
【００２５】
本発明はまた、配列番号３２、３７、４０、４１、４２、及び４３のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３、配列番号４９のＶＨ、及び配列番号６１のＶＬ、並びに／又は、配列番号７１のＨＣ、及び配列番号８３のＬＣを含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。
【００２６】
本発明はまた、配列番号３２、３８、４０、４１、４２、及び４３のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３、配列番号５０のＶＨ、及び配列番号６１のＶＬ、並びに／又は、配列番号７２のＨＣ、及び配列番号８３のＬＣを含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。
【００２７】
本発明はまた、配列番号３２、３９、４０、４１、４２、及び４３のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３、配列番号５１のＶＨ、及び配列番号６１のＶＬ、並びに／又は、配列番号７３のＨＣ、及び配列番号８３のＬＣを含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。
【００２８】
本発明はまた、配列番号８８、８９、９０、９１、９２、及び９３の、重鎖相補性決定領域１（ＨＣＤＲ１）、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、軽鎖相補性決定領域１（ＬＣＤＲ１）、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片を提供する。
【００２９】
本発明はまた、本発明の抗体と、ＰＤ－１への結合を競合する、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。
【００３０】
本発明はまた、本発明の抗体と同じＰＤ－１エピトープに結合する、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。
【００３１】
本発明はまた、抗体ＶＨ及び抗体ＶＬ、又は抗体ＨＣ及び抗体ＬＣが、本明細書で引用された特定のポリヌクレオチドによりコードされる、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。
【００３２】
本発明はまた、本発明の抗体をコードするポリヌクレオチドも提供する。
【００３３】
本発明はまた、少なくとも１つの本発明のポリヌクレオチドを含むベクターも提供する。
【００３４】
また、本発明は、本発明のベクターを含む宿主細胞を提供する。
【００３５】
本発明はまた、抗体又はその抗原結合断片が発現する条件で、本発明の宿主細胞を培養

することと、抗体又はその抗原結合断片を単離することと、を含む、抗体又はその抗原結合断片の作製方法も提供する。

【００３６】

本発明はまた、本発明の抗体又はその抗原結合断片を含む医薬組成物も提供する。

【００３７】

本発明はまた、本発明の抗体又はその抗原結合断片を含むキットも提供する。

【００３８】

本発明はまた、対象におけるＰＤ－１を発現するＴ細胞の活性化の抑制方法であって、当該ＰＤ－１を発現するＴ細胞の活性化を抑制するのに十分な時間、本発明の単離抗体又はその抗原結合断片を対象に投与することを含む、方法も提供する。

【００３９】

本発明はまた、免疫応答を下方制御するための方法であって、当該免疫応答を下方制御するのに十分な時間、治療に有効な量の本発明の単離抗体又はその抗原結合断片を、免疫応答の下方制御が必要な対象に投与することを含む、方法も提供する。

【００４０】

本発明はまた、免疫不全の治療方法であって、当該免疫不全を治療するのに十分な時間、治療に有効な量の本発明の単離抗体又はその抗原結合断片を、免疫不全の治療を必要とする対象に投与することを含む、方法も提供する。

【００４１】

本発明はまた、本発明の抗体又は抗原結合断片に特異的に結合する抗イディオタイプ抗体も提供する。

【００４２】

本発明はまた、異種分子と複合体化した本発明の抗体又は抗原結合断片を含む免疫複合体も提供する。

【図面の簡単な説明】

【００４３】

【図１Ａ】選択生成抗体が、ＣＭＶリコールアッセイにおいて、５０％以上を超えるレベルでＴ細胞の活性化を阻害したことを示す。ＣＮＴＯ３９３０：アイソタイプコントロール。ＰＤ１Ｂ１９９：アンタゴニストＰＤ－１　ｍＡｂ。

【図１Ｂ】選択生成抗体が、ＣＭＶリコールアッセイにおいて、５０％以上を超えるレベルでＴ細胞の活性化を阻害したことを示す。ＣＮＴＯ３９３０：アイソタイプコントロール。ＰＤ１Ｂ１９９：アンタゴニストＰＤ－１　ｍＡｂ。

【図２Ａ】ＰＤ１Ｂ５０５　ｍＡｂリネージＶＨ領域ＰＤ１Ｈ９３（配列番号８）、ＰＤ１Ｈ３８４（配列番号９）、ＰＤ１Ｈ４０５（配列番号１０）、ＰＤ１Ｈ５８５（配列番号１４０）、ＰＤ１Ｈ５８６（配列番号１４１）、及びＰＤ１Ｈ５８７（配列番号１４２）のアラインメントを示す。ＣＤＲ領域には下線を引いた。ＶＨ鎖の配列番号を、図中の鎖名の後に示す（例えば、ＰＤ１Ｈ９３＿８；＿８は、配列番号８を示す）。

【図２Ｂ】ＰＤ１Ｂ５０５　ｍＡｂリネージＶＬ領域ＰＤ１Ｌ３０（配列番号１４）、ＰＤ１Ｌ４６８（配列番号１５）、ＰＤ１Ｌ４６９（配列番号１６）、ＰＤ１Ｌ６５１（配列番号１４３）、及びＰＤ１Ｌ６５２（配列番号１４４）のアラインメントを示す。ＣＤＲ領域には下線を引いた。ＶＬ鎖の配列番号を、図中の鎖名の後に示す（例えば、ＰＤ１Ｌ３０＿１４；＿１４は、配列番号１４を示す）。

【図３Ａ】ＰＤ１Ｂ５０６　ｍＡｂリネージＶＨ領域ＰＤ１Ｈ９０（配列番号４４）、ＰＤ１Ｈ３８８（配列番号４５）、ＰＤ１Ｈ３９９（配列番号４６）、ＰＤ１Ｈ４００（配列番号４７）、ＰＤ１Ｈ４０１（配列番号４８）、ＰＤ１Ｈ４０２（配列番号４９）、ＰＤ１Ｈ４０３（配列番号５０）、及びＰＤ１Ｈ４０４（配列番号５１）のアラインメントを示す。ＣＤＲ領域には下線を引いた。

【図３Ｂ】ＰＤ１Ｂ５０６　ｍＡｂリネージＶＬ領域ＰＤ１Ｌ２８（配列番号６０）、ＰＤ１Ｌ４７０（配列番号６１）、及びＰＤ１Ｌ４７１（配列番号６２）のアラインメントを示す。ＣＤＲ領域には下線を引いた。

【図４Ａ】ＰＤ１Ｂ５１２　ｍＡｂリネージＶＨ領域ＰＤ１Ｈ８１（配列番号９４）、及びＰＤ１Ｈ３８９（配列番号９５）のアラインメントを示す。ＣＤＲ領域には下線を引いた。
【図４Ｂ】ＰＤ１Ｂ５１２　ｍＡｂリネージＶＬ領域ＰＤ１Ｌ４３（配列番号９８）、ＰＤ１Ｌ４７２（配列番号９９）、及びＰＤ１Ｌ４７３（配列番号１００）のアラインメントを示す。ＣＤＲ領域には下線を引いた。
【図５Ａ】ＰＤ１Ｂ５０５及びＰＤ１Ｂ５０６が、抗原特異的Ｔ細胞の活性化を阻害したことを示す。この図は、ＣＭＶリコールアッセイにおける、Ｔ細胞増殖の平均阻害率及びＳＴＤＥＶを示す。ＩｇＧ１：アイソタイプコントロール。
【図５Ｂ】ＰＤ１Ｂ７４３、ＰＤ１Ｂ７５０、及びＰＤ１Ｂ７５６が、抗原特異的Ｔ細胞の活性化を阻害したことを示す。この図は、ＣＭＶリコールアッセイにおける、Ｔ細胞増殖の平均阻害率及びＳＴＤＥＶを示す。ＩｇＧ１：アイソタイプコントロール。
【図５Ｃ】ＣＭＶ特異的リコールアッセイにおいて、ＰＤ１Ｂ８７８及びＰＤ１Ｂ８４９が抗原特異的Ｔ細胞の活性化を阻害したことを示す。この図は、ＣＭＶリコールアッセイにおける、Ｔ細胞増殖の平均阻害率及びＳＴＤＥＶを示す。ＩｇＧ１：アイソタイプコントロール。
【図６Ａ】ＰＤ１Ｂ７４３及びＰＤ１Ｂ７５６は、ＰＤ－Ｌ１のＰＤ－１への結合を遮断しなかったが、ＰＤ１Ｂ７５０は、ＰＤ－１を発現する細胞及びＰＤ－Ｌ１を発現する細胞のクラスター化の程度を評価するアッセイにおいて、クラスター化の読出しとして、ダブルポジティブイベントの割合（％）を用いて、示された抗体の存在下、又は不存在下において、その相互作用を遮断したことを示す。陽性対照ｍＡｂは、ＰＤ－Ｌ１／ＰＤ－１の相互作用を遮断した。
【図６Ｂ】ＰＤ１Ｂ７４３及びＰＤ１Ｂ７５６は、ＰＤ－Ｌ２のＰＤ－１への結合を遮断しなかったが、ＰＤ１Ｂ７５０は、ＰＤ－１を発現する細胞及びＰＤ－Ｌ２を発現する細胞のクラスター化の程度を評価するアッセイにおいて、クラスター化の読出しとして、ダブルポジティブイベントの割合（％）を用いて、示された抗体の存在下、又は不存在下において、その相互作用を遮断したことを示す。陽性対照ｍＡｂは、ＰＤ－Ｌ２／ＰＤ－１の相互作用を遮断した。
【図７】生成したＰＤ－１抗体の、５つの異なるエピトープビンの概略を示す。ビン５ｍＡｂはＰＤ－Ｌ１／ＰＤ－１の相互作用を遮断したが、ビン１～４の中のｍＡｂは、遮断しなかった。
【図８Ａ】ＰＤ－１の発現は、ＴＴにより刺激されたＴ細胞と比較して、ＣＭＶにより刺激されたＣＤ４$^{+}$　ＣＤ４５ＲＯ$^{+}$、又はＣＤ８$^{+}$　ＣＤ４５ＲＯ$^{+}$メモリーＴ細胞において高かったことを示す（挿入、幾何平均蛍光強度）。ＰＤ－１抗体：実線；アイソタイプコントロール：破線。
【図８Ｂ】ＰＤ１Ｂ８７８及びＰＤ１Ｂ８４９が、ＣＭＶ特異的リコールアッセイにおいてＣＭＶ特異的Ｔ細胞の活性化を阻害したことを示す。この図は、アッセイにおけるＴ細胞増殖の平均阻害率（％）及びＳＴＤＥＶを示す。
【図９Ａ】ＰＤ１Ｂ８４９及びＰＤ１Ｂ８７８が、エフェクター細胞としてのＮＫ細胞の死存在下において、活性化したメモリーＴ細胞のＡＤＣＣを誘発したことを示す。抗体の低フコース（ＬＦ）バージョン（ＰＤ１Ｂ８４９－ＬＦ、及びＰＤ１Ｂ８７８－ＬＦ）は、向上したＡＤＣＣ活性を示した。
【図９Ｂ】ＰＤ１Ｂ８４９及びＰＤ１Ｂ８７８が、エフェクター細胞としてのＰＢＭＣの存在下において、活性化したメモリーＴ細胞のＡＤＣＣを誘発したことを示す。抗体の低フコース（ＬＦ）バージョン（ＰＤ１Ｂ８４９－ＬＦ、及びＰＤ１Ｂ８７８－ＬＦ）は、向上したＡＤＣＣ活性を示した。
【図１０Ａ】ＰＤ１Ｂ８４９及びＰＤ１Ｂ８７８の欠如が、エフェクター細胞としてのＮＫ細胞の存在下において低レベルのＰＤ１を発現する、得られるメモリーＴ細胞におけるＡＤＣＣを媒介したことを示す。抗体の低フコース（ＬＦ）バージョン（ＰＤ１Ｂ８４９－ＬＦ及びＰＤ１Ｂ８７８－ＬＦ）が、いくつかのＡＤＣＣを媒介した。

【図１０Ｂ】ＰＤ１Ｂ８４９及びＰＤ１Ｂ８７８の欠如が、エフェクター細胞としてのＰＢＭＣの存在下において低レベルのＰＤ１を発現する、得られるメモリーＴ細胞におけるＡＤＣＣを媒介したことを示す。抗体の低フコース（ＬＦ）バージョン（ＰＤ１Ｂ８４９－ＬＦ及びＰＤ１Ｂ８７８－ＬＦ）が、いくつかのＡＤＣＣを媒介した。
【図１１】ＰＤ１Ｂ８４９及びＰＤ１Ｂ８７８は、ウサギ補体を用いた活性化Ｔ細胞の測定可能なＣＤＣを媒介しなかったことを示す。ＯＫＴ３：マウス抗ヒトＣＤ３抗体（陽性対照）；ｈｕＩｇＧ１：アイソタイプコントロール、ｍｕＩｇＧ２ａ：アイソタイプコントロール。
【図１２】ＰＤ１Ｂ８７８、ＰＤ１Ｂ１０９０、及びＰＤ１Ｂ１０９４は、細胞におけるＰＤ－Ｌ１のＰＤ１への結合を遮断しなかったことを示す。
【図１３Ａ】ＰＤ１Ｂ５０５－ｍＩｇＧ２ａ、及びＰＤ１Ｂ５０６－ｍＩｇＧ２ａが、移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）のマウスモデルにおいて、病気の進行を予防したことを示す。抗体を、０、４，７、１１、１４、及び１８日目に、１０ｍｇ／ｋｇで腹腔内投与し、臨床スコアを時間の経過と共に記録した。
【図１３Ｂ】ＰＤ１Ｂ５０５－ｍＩｇＧ２ａ、及びＰＤ１Ｂ５０６－ｍＩｇＧ２ａ　ｍＡｂ（ｍＩｇＧ２ａ）が、ＧｖＨＤのマウスモデルにおける体重減少を予防したことを示す。抗体を、０、４、７、１１、１４、及び１８日目に、１０ｍｇ／ｋｇで腹腔内投与した。
【図１４Ａ】ＰＤ１Ｂ８４９－ｍＩｇＧ２ａ、及びＰＤ１Ｂ８７８－ｍＩｇＧ２ａが、移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）のマウスモデルにおいて、疾患の進行を予防したことを示す。抗体を、０、４，７、１１、１４、及び１８日目に、１０ｍｇ／ｋｇで腹腔内投与し、臨床スコアを時間の経過と共に記録した。
【図１４Ｂ】ＰＤ１Ｂ８４９－ｍＩｇＧ２ａ、及びＰＤ１Ｂ８７８－ｍＩｇＧ２ａが、ＧｖＨＤのマウスモデルにおける体重減少を予防したことを示す。抗体を、０、４、７、１１、１４、及び１８日目に、１０ｍｇ／ｋｇで腹腔内投与した。
【図１５】ＰＤ１Ｂ８４９－ｍＩｇＧ２ａ、及びＰＤ１Ｂ８７８－ｍＩｇＧ２ａが、ＧｖＨＤのマウスモデルにおいて、脾臓内の制御性Ｔ細胞（Ｔｒｅｇ）の頻度を増加させたことを示す。
【図１６】選択抗－ＰＤ１抗体が、T_{FH}／T_{PH}の母集団を枯渇させることを示す。ＬＦ：低フコース。
【発明を実施するための形態】
【００４４】
本明細書に引用される特許及び特許出願を含む（ただしそれらに限定されない）全ての刊行物は、参照によりそれらの全体が記載されているのと同様に、本明細書に援用される。
【００４５】
本明細書で使用される用語は、実施形態を記載する目的でのみ使用され、限定を意図するものではないと理解すべきである。特に断らない限り、本明細書において使用される全ての技術用語及び科学用語は、本発明が属する技術分野における当業者によって一般的に理解されているものと同じ意味を有する。
【００４６】
本明細書に記載されているものと同様又は同等の任意の方法及び材料を、本発明の試験を実施するために使用できるが、例示となる材料及び方法を本明細書に記載する。本発明を説明及び特許請求する上で以下の用語が用いられる。
【００４７】
本明細書及び特許請求の範囲において使用するところの単数形「ａ」、「ａｎｄ」、及び「ｔｈｅ」は、文脈よりそうでない旨が明確に示されない限り、複数の対象物を含む。
【００４８】
文脈上明白に他の意味に解すべき場合を除き、明細書及び特許請求の範囲を通して、単語「含む（comprise）」、「含む（comprising）」などは、排他的又は排外的な意味とは

対照的に、包括的な意味で、即ち、「～を含むがこれらに限定されない」という意味で解釈されるべきである。

【００４９】

「特異的に結合する（specifically binds）」、又は「特異的に結合する（specific binding）」、又は「結合する」とは、抗体が、抗原又は抗原内部のエピトープに、他の抗原又はエピトープに対するより高い親和性で結合することを指す。典型的には、抗体は、約１×１０$^{-7}$Ｍ以下、例えば約１×１０$^{-8}$Ｍ以下、約１×１０$^{-9}$Ｍ以下、約１×１０$^{-10}$Ｍ以下、約１×１０$^{-11}$Ｍ以下、又は約１×１０$^{-12}$Ｍ以下の平衡解離定数（K_D）で抗原又は抗原内部のエピトープに結合し、非特異的抗原（例えば、ＢＳＡ、カゼイン）への結合に関しては、典型的には、そのK_Dより少なくとも１００倍小さいK_Dで結合する。K_Dは、標準的な手順を使用して測定することができる。しかし、抗原又は抗原内部のエピトープに特異的に結合する抗体は、他の関連抗原、例えば、ヒト又はサル、例えば、Ｍａｃａｃａ ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓ（カニクイザル、ｃｙｎｏ）、Ｐａｎ ｔｒｏｇｌｏｄｙｔｅｓ（チンパンジー、ｃｈｉｍｐ）、又はＣａｌｌｉｔｈｒｉｘ ｊａｃｃｈｕｓ（コモンマーモセット、ｍａｒｍｏｓｅｔ）などの他の種由来の同じ抗原（ホモログ）に対して交差反応性を有する場合がある。単一特異性抗体は、１つの抗原又は１つのエピトープに特異的に結合するのに対し、二重特異性抗体は、２つの異なる抗原又は２つの異なるエピトープに特異的に結合する。

【００５０】

「アゴニスト（agonist）」、又は「アゴニスト（agonistic）」とは、ＰＤ－１への結合の際に、ＰＤ－１リガンドのＰＤ－Ｌ１により誘発される、少なくとも１つの生物活性を誘発する抗体を意味する。抗体は、少なくとも１つの生物活性が、そのアゴニストの不存在下（例えば、陰性対照）において、少なくとも約２０％、３０％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、又は１００％誘発されるときに、あるいは、その誘発を、アゴニストの不存在下における誘発と比較すると、統計学的に有意であるときに、アゴニストである。ＰＤ－Ｌ１の、ＰＤ－１への結合により誘発される典型的な生物活性は、抗原特異的ＣＤ４$^+$及び／又はＣＤ８$^+$　Ｔ細胞の阻害であり、免疫応答の抑制をもたらす。

【００５１】

ＰＤ－１は、ヒトプログラム細胞死タンパク質１（ＰＤ－１）を意味する。ＰＤ－１は、ＣＤ２７９又はＰＤＣＤ１としてもまた知られている。成熟ヒトＰＤ－１のアミノ酸配列（シグナル配列なし）を、配列番号１３１に示す。細胞外ドメインは配列番号１の残基１～１５０にわたり、膜貫通ドメインは、配列番号１の残基１５１～１７１にわたり、細胞質ドメインは、配列番号１の残基１７２～２６８にわたる。明細書を通じて、「ヒトＰＤ－１の細胞外ドメイン」、又は「ｈｕＰＤ１－ＥＣＤ」とは、配列番号１の残基１～１５０のアミノ酸配列を有するタンパク質を意味する。

【００５２】

「抗体」とは広い意味を持ち、任意のクラス、ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ、及びＩｇＭ、又はサブクラスIgA_1、IgA_2、IgG_1、IgG_2、IgG_3、及びIgG_4に属し、カッパ（κ）及びラムダ（λ）軽鎖のいずれかを含む免疫グロブリン分子を含む。抗体としては、モノクローナル抗体、完全長抗体、抗原結合断片、二重特異性又は多重特異性抗体、二量体、四量体、又は多量体抗体、一本鎖抗体、ドメイン抗体、及び、必要とされる特異性の抗原結合断片を含む、任意の他の免疫グロブリン分子の改変構成が挙げられる。「完全長抗体」は、ジスルフィド結合により相互接続された、２本の重鎖（ＨＣ）及び２本の軽鎖（ＬＣ）、並びにこれらの多量体（例えばＩｇＭ）からなる。各重鎖は、重鎖可変領域（ＶＨ）及び重鎖定常領域（ドメインＣＨ１、ヒンジ、ＣＨ２、及びＣＨ３からなる）から構成される。各軽鎖は、軽鎖可変領域（ＶＬ）及び軽鎖定常領域（ＣＬ）から構成される。ＶＨ及びＶＬは、フレームワーク領域（ＦＲ）に散在している相補性決定領域（ＣＤＲ）と称される超可変性の領域に更に区分され得る。各ＶＨ及びＶＬは、アミノ末端からカルボキシ末端に向かって次の順：ＦＲ１、ＣＤＲ１、ＦＲ２、ＣＤ

Ｒ２、ＦＲ３、ＣＤＲ３、ＦＲ４で並ぶ３つのＣＤＲと４つのＦＲ断片とからなる。

【００５３】

「相補性決定領域（ＣＤＲ）」は、抗原に結合する抗体の領域である。ＶＨには３つのＣＤＲ（ＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３）が存在し、ＶＬには３つのＣＤＲ（ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、ＬＣＤＲ３）が存在する。ＣＤＲは、Ｋａｂａｔ（Ｗｕ ｅｔ ａｌ．（１９７０）Ｊ Ｅｘｐ Ｍｅｄ １３２：２１１－５０）（Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，５ｔｈ Ｅｄ．Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ，Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，Ｍｄ．，１９９１）、Ｃｈｏｔｈｉａ（Ｃｈｏｔｈｉａ ｅｔ ａｌ．（１９８７）Ｊ Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ １９６：９０１－１７），ＩＭＧＴ（Ｌｅｆｒａｎｃ ｅｔ ａｌ．（２００３）Ｄｅｖ Ｃｏｍｐ Ｉｍｍｕｎｏｌ ２７：５５－７７）、及びＡｂＭ（Ｍａｒｔｉｎ ａｎｄ Ｔｈｏｒｎｔｏｎ Ｊ Ｂｍｏｌ Ｂｉｏｌ ２６３：８００－１５，１９９６）などの、様々な記述を用いて定義することができる。様々な記述と、可変領域の付番との対応が記載されている（例えば、Ｌｅｆｒａｎｃ ｅｔ ａｌ．（２００３）Ｄｅｖ Ｃｏｍｐ Ｉｍｍｕｎｏｌ ２７：５５－７７；Ｈｏｎｅｇｇｅｒ ａｎｄ Ｐｌｕｃｋｔｈｕｎ，Ｊ Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ（２００１）３０９：６５７－７０；Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ ＩｍＭｕｎｏＧｅｎｅＴｉｃｓ（ＩＭＧＴ）データベース；ウェブソース、ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ＿ｉｍｇｔ＿ｏｒｇを参照のこと）。ＵＣＬ Ｂｕｓｉｎｅｓｓ ＰＬＣによるａｂＹｓｉｓなどの利用可能なプログラムを使用して、ＣＤＲを描写することができる。本明細書で使用する場合、用語「ＣＤＲ」、「ＨＣＤＲ１」、「ＨＣＤＲ２」、「ＨＣＤＲ３」、「ＬＣＤＲ１」、「ＬＣＤＲ２」、及び「ＬＣＤＲ３」は、明細書で別途明示的に記載のない限り、上述したＫａｂａｔ、Ｃｈｏｔｈｉａ、ＩＭＧＴ、又はＡｂＭの方法のいずれかにより定義されるＣＤＲを含む。

【００５４】

「抗原結合断片」とは、抗原に結合する免疫グロブリン分子の一部を意味する。抗原結合断片は合成ポリペプチド、酵素により入手可能なポリペプチド、又は遺伝子組み換えされたポリペプチドであってよく、ＶＨ、ＶＬ、ＶＨ及びＶＬ、Ｆａｂ、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｄ及びＦｖ断片、１つのＶＨドメイン又は１つのＶＬドメインからなるドメイン抗体（ｄＡｂ）、サメ可変性ＩｇＮＡＲドメイン、ラクダ化ＶＨドメイン、ＦＲ３－ＣＤＲ３－ＦＲ４部分などの、抗体のＣＤＲを模倣したアミノ酸残基からなる最小の認識単位、ＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、及び／又はＨＣＤＲ３、並びにＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及び／又はＬＣＤＲ３が挙げられる。ＶＨ及びＶＬドメインは互いに、合成リンカーを介して結合し、様々なタイプの一本鎖抗体設計を形成することができ、ＶＨ及びＶＬドメインが、個別の一本鎖抗体構築物により発現される場合では、ＶＨ／ＶＬドメインが分子内、又は分子間で対形成し、一価の抗原結合部位、例えば一本鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）又は二重特異性抗体を形成することができ、これらは、例えば国際公開第１９９８／４４００１号、同第１９８８／０１６４９号、同第１９９４／１３８０４号、及び同第１９９２／０１０４７号に記載されている。

【００５５】

「モノクローナル抗体」とは、抗体分子の実質的に均質な母集団（即ち、母集団を含む個別の抗体が、抗体重鎖からＣ末端リジンを除去する、又は、アミノ酸異性化若しくはアミド分解、メチオニン酸化若しくはアスパラギン若しくはグルタミンアミド分解などの翻訳後修飾といった、可能な周知の変更を除いて同一である）から入手される抗体を意味する。モノクローナル抗体は典型的には、１つの抗原性エピトープに結合する。二重特異性モノクローナル抗体は、２つの異なる抗原性エピトープに結合する。モノクローナル抗体は、抗体集団内で不均一なグリコシル化を有し得る。モノクローナル抗体は、単一特異性であってよく、又は、二重特異性などの多重特異性であってよく、一価、二価、又は多価であってよい。

【００５６】

「単離された」とは、組み換え細胞などの分子が産生されるシステムの他の成分から実質的に分離及び／又は精製されている、分子の均質な母集団（例えば、合成ポリヌクレオチド又は抗体などのタンパク質）に加えて、少なくとも１つの精製又は単離工程に供されたタンパク質を指す。「単離抗体」とは、他の細胞材料及び／又は化学物質を実質的に含まない抗体を意味し、より高い純度、例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、又は１００％の純度まで単離された抗体を包含する。

【００５７】

「抗体」は、マウス、ラット、ウサギ、若しくはニワトリなどの免疫付与動物から生成した抗体、又は、本明細書に記載したファージ若しくは哺乳類ディスプレイライブラリから識別した抗体を含む、様々な技術を用いて生成した抗体を含む。

【００５８】

「ヒト化抗体」とは、少なくとも１つのＣＤＲが非ヒト種に由来し、少なくとも１つのフレームワークがヒト免疫グロブリン配列に由来する抗体を意味する。ヒト化抗体は、フレームワークに置換を含むことができるため、フレームワークは、発現したヒト免疫グロブリン又はヒト免疫グロブリン生殖細胞系遺伝子配列の厳密なコピーではない場合がある。

【００５９】

「ヒト抗体」とは、ヒト対象に投与されるときに、最小の免疫応答を有するように最適化された抗体を意味する。ヒト抗体の可変領域は、ヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列に由来する。抗体が定常領域又は定常領域の一部を含む場合、当該定常領域もヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列に由来する。

【００６０】

抗体の可変領域が、ヒト生殖細胞系免疫グロブリン遺伝子を用いる系から得られる場合、ヒト抗体は、ヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列「に由来する」重鎖可変領域又は軽鎖可変領域を含む。このような例示的な系は、ファージ又は哺乳類細胞上にディスプレイされるヒト免疫グロブリン遺伝子ライブラリ、及び、ヒト免疫グロブリン座位を有するマウス、ラット、又はニワトリなどのトランスジェニック非ヒト動物である。「ヒト抗体」は、典型的には、抗体及びヒト免疫グロブリン座位を得るために使用した系の違い、自然に生じる体細胞突然変異の導入、置換の、フレームワーク又はＣＤＲへの意図的な導入により、ヒトで発現した免疫グロブリンと比較したときに、アミノ酸の違いを含有する。「ヒト抗体」は、典型的に、ヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列によりコードされたアミノ酸配列に対して、アミノ酸配列が約８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一である。場合によっては、「ヒト抗体」は、例えば、（Ｋｎａｐｐｉｋ ｅｔ ａｌ．（２０００）Ｊ Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ ２９６：５７－８６）に記載されている、ヒトフレームワーク配列分析により誘導される、コンセンサスフレームワーク配列、又は、例えば、（Ｓｈｉ ｅｔ ａｌ．（２０１０）Ｊ Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ ３９７：３８５－９６）、及び国際公開第２００９／０８５４６２号に記載されている、ファージに表示されるヒト免疫グロブリン遺伝子ライブラリに組み込まれた、合成ＨＣＤＲ３を含有してよい。ＣＤＲが非ヒト種に由来する抗体は、「ヒト抗体」の定義に含まれない。

【００６１】

「組み換え体」とは、組み換え手段によって調製、発現、作製、又は単離された抗体及びその他のタンパク質を指す。

【００６２】

「エピトープ」は、抗体が特異的に結合する抗原の部分を指す。エピトープは通常、アミノ酸又は多糖類側鎖のような部分の化学的に活性な（極性、非極性又は疎水性など）表面基からなり、特定の三次元構造特性及び特定の電荷特性を有し得る。エピトープは、立

体配座上の空間単位を形成する連続的な及び／又は不連続なアミノ酸によって構成され得る。不連続なエピトープでは、抗原の直鎖配列の異なる部分にあるアミノ酸が、タンパク質分子の折り畳みにより三次元空間でごく近接するようになる。

【００６３】

「多重特異性」とは、同じ抗原内の２つ以上の異なる抗原、又は２つ以上の異なるエピトープに特異的に結合する、抗体などのタンパク質を意味する。多重特異性タンパク質は、他の関連抗体、例えば、ヒト又はサル、例えば、Ｍａｃａｃａ ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓ（カニクイザル、ｃｙｎｏ）、Ｐａｎ ｔｒｏｇｌｏｄｙｔｅｓ（チンパンジー、ｃｈｉｍｐ）、又はＣａｌｌｉｔｈｒｉｘ ｊａｃｃｈｕｓ（コモンマーモセット、ｍａｒｍｏｓｅｔ）などの、他の種（ホモログ）からの同じ抗原に対する交差反応性を有し得る、あるいは、２つ以上の異なる抗原間で共有されるエピトープを結合し得る。

【００６４】

「二重特異性」とは、同じ抗原内の２つの異なる抗原、又は２つの異なるエピトープに特異的に結合する、抗体などのタンパク質を意味する。二重特異性タンパク質は、他の関連抗体、例えば、ヒト又はサル、例えば、Ｍａｃａｃａ ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓ（カニクイザル、ｃｙｎｏ）、Ｐａｎ ｔｒｏｇｌｏｄｙｔｅｓ（チンパンジー、ｃｈｉｍｐ）、又はＣａｌｌｉｔｈｒｉｘ ｊａｃｃｈｕｓ（コモンマーモセット、ｍａｒｍｏｓｅｔ）などの、他の種（ホモログ）からの同じ抗原に対する交差反応性を有し得る、あるいは、２つ以上の異なる抗原間で共有されるエピトープを結合し得る。

【００６５】

「～と併用して」は、薬剤又は治療薬を、ヒトなどの対象に混合物の状態で一緒に、単独の薬剤として同時に、又は単独の薬剤として任意の順番で順次に投与できることを意味する。

【００６６】

「治療する」、又は「治療」とは、治療的処置、及び予防的（prophylactic or preventative）手段の両方を意味し、対象は、望ましくない生理学的変化又は疾患を予防する、又は低減させる（少なくする）予定である。有益な又は所望の臨床結果としては、検出可能であろうと又は検出不可能であろうと、症状の緩和、疾患の程度の軽減、安定した（即ち、悪化しない）疾患状態、疾患の進行の遅延又は鈍化、疾患状態の改善又は緩和、及び寛解（部分的であろうと又は全体的であろうと）が挙げられる。「治療」はまた、対象が治療を受けていない場合に予想される生存期間と比較して、生存期間を延長させることを意味し得る。治療を要する者には、既に状態若しくは疾患を有している者、及び、状態若しくは疾患を有しやすい者、又は状態若しくは疾患を予防しようとする者が含まれる。

【００６７】

「治療に有効な量」とは、必要な用量及び期間で所望の治療結果を得るための有効量を指す。治療に有効な量は、個体の病態、年齢、性別、及び体重などの要因、並びに個体において所望の応答を引き出す１つの治療薬又は治療薬の組み合わせの能力によって様々であってよい。効果的な１つの治療薬、又は治療薬の組み合わせの例示的な因子としては、例えば、患者の改善された健康が挙げられる。

【００６８】

「免疫応答」は、Ｔ細胞が媒介する、及び／又はＢ細胞が媒介する免疫応答を含む。例示的な免疫応答としては、Ｔ細胞応答、例えばサイトカイン産生及び細胞傷害性が挙げられる。更に、用語「免疫応答」は、Ｔ細胞の活性化により間接的に影響を受ける免疫応答、例えば抗体産生（体液性応答）、及びサイトカイン応答性細胞（例えばマクロファージ）の活性化を含む。

【００６９】

「下方制御する（downmodulate）」、又は「下方制御する（downmodulating）」とは、治療若しくは化合物の不存在下における対象の応答レベルと比較して、及び／又は、他は同一であるが治療されていない対象における応答レベルと比較して、対象における免疫応答のレベルが検出可能なほど低下することを意味する。

【００７０】
「免疫不全」とは、自己免疫疾患、炎症性疾患、及びアレルギーを含む、免疫系の活性により引き起こされる任意の病気、疾患、又は病徴を意味する。
【００７１】
「対象」は、任意のヒト又は非ヒト動物を含む。「非ヒト動物」としては、あらゆる脊椎動物、例えば哺乳類及び非哺乳類、例えば非ヒト霊長類、ヒツジ、イヌ、ネコ、ウマ、ウシ、ニワトリ、両生類、爬虫類が挙げられる。用語「対象」及び「患者」は、本明細書で同じ意味で用いることができる。
【００７２】
「ベクター」は、生物システム内で複製可能な、又はこうした系間を移動することができるポリヌクレオチドを意味する。ベクターポリヌクレオチドは、典型的には、生物系内でこれらのポリヌクレオチドの複製又は維持を促進するように機能する複製起点、ポリアデニル化シグナル又は選択マーカーなどの要素を含んでいる。このような生物系の例としては、細胞、ウイルス、動物、植物、及びベクターを複製することができる生物学的成分を利用する再構成生物系を挙げることができる。ベクターを構成するポリヌクレオチドは、ＤＮＡ若しくはＲＮＡ分子又はこれらのハイブリッド分子であり得る。
【００７３】
「発現ベクター」は、発現ベクター中に存在するポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチドの翻訳を指示するために、生物システム又は再構成された生物システムにおいて利用可能なベクターを意味する。
【００７４】
「ポリヌクレオチド」とは、糖－ホスフェート主鎖により共有結合した、又は他の等価な共有化学反応により結合した、ヌクレオチド鎖を含む合成分子を意味する。ｃＤＮＡは、例示的な合成ポリヌクレオチドである。
【００７５】
「ポリペプチド」又は「タンパク質」は、ペプチド結合により連結されてポリペプチドを形成する少なくとも２つのアミノ酸残基を含む分子を意味する。５０個未満のアミノ酸からなる小分子ポリペプチドは、「ペプチド」と称され得る。
【００７６】
「約」は、当業者によって決定される特定の値について許容される誤差範囲内であることを意味し、これは、その値が測定又は決定される方法、即ち測定システムの制限事項にある程度依存する。特定のアッセイ、結果、又は実施形態の文脈において実施例又は明細書のその他の箇所に別途明示的に記載のない限り、「約」は、当該技術分野の実施に従う１つの標準偏差又は５％までの範囲のいずれか大きい方の範囲内であることを意味する。
【００７７】
「サンプル」は、対象から単離された類似の流体、細胞、又は組織に加えて、対象の体内に存在する流体、細胞、又は組織の収集物を指す。代表的なサンプルは、血液、血清及び漿膜液、血漿、リンパ液、尿、唾液、嚢胞液、涙液、糞便、喀痰などの体液、分泌組織及び器官の粘膜からの分泌液、腔分泌液、腹水、胸膜腔、心膜腔、腹膜腔、腹腔、及び他の体腔の流体、気管支洗浄液によって回収された流体、滑液、対象又は生物源、例えば、細胞及び器官の培養培地（細胞又は器官の培養上清を含む）、洗浄液などと接触した液体溶液、組織生検、穿刺吸引、外科的に切除された組織、器官の培養物又は細胞の培養物である。
【００７８】
本明細書では、表１に示すような従来の１文字及び３文字のアミノ酸コードを使用する。
【００７９】

【表１】

表１

アミノ酸	３文字コード	１文字コード		アミノ酸	３文字コード	１文字コード
アラニン	Ala	A		ロイシン	Leu	L
アルギニン	Arg	R		リジン	Lys	K
アスパラギン	Asn	N		メチオニン	Met	M
アスパラギン酸	Asp	D		フェニルアラニン	Phe	F
システイン	Cys	C		プロリン	Pro	P
グルタミン酸	Gln	E		セリン	Ser	S
グルタミン	Glu	Q		トレオニン	Thr	T
グリシン	Gly	G		トリプトファン	Trp	W
ヒスチジン	His	H		チロシン	Tyr	Y
イソロイシン	Ile	I		バリン	Val	V

【００８０】

組成物

ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片、本明細書において提供する抗体をコードするポリヌクレオチド、ベクター、宿主細胞、並びに抗体の作製方法及び使用方法を本明細書で提供する。抗体又はその抗原結合断片はアゴニスト抗体であってよい。

【００８１】

ＰＤ－１アンタゴニストを含む免疫チェックポイント阻害剤で治療した癌患者の何人かは、関節炎、大腸炎、又は乾癬の症状などの、自己免疫に関係した副作用が進行した。この観測結果を説明する１つの仮説は、これらの患者においては、自己反応性Ｔ細胞が、ＰＤ－１により能動的に抑制され、ＰＤ－１アンタゴニストの存在下において「解放された」というものである。次いで、この仮説を反転させ、自己免疫疾患を有する患者の中で「既に解放された」Ｔ細胞が、ＰＤ－１のライゲーション／アゴニズムにより抑制可能である可能性が高い、ということを考えることは、合理的である。

【００８２】

ＰＤ－１遺伝子のＰＤＣＤ１内におけるＳＮＰは、関節リウマチ、狼瘡、及び強直性脊椎炎を含む様々な自己免疫疾患と関連することが発見されている（Ｚａｍａｎｉ ｅｔ ａｌ．，Ｃｅｌｌ Ｉｍｍｕｎｏｌ ２０１６ ３１０：２７－４１によりまとめられている）。ＰＤ－１ ＳＮＰに関しては、機能がまだ明らかとなっていないが、これらの関連は、ＰＤ－１活性の低下がＴ細胞抑制の低下をもたらし得、自己免疫疾患に対する感受性を増加させる可能性があるということを示し得る。

【００８３】

自己免疫疾患における自己反応性Ｔ細胞を抑制する治療薬が必要とされている。ＰＤ－１$^{+}$ Ｔ細胞は、関節リウマチ及びシェーグレン症候群を含む自己免疫疾患を患う患者の組織で発見されている（Ｗａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ ２００６ １７７（１２）：８８４４－５０．；Ｋｏｂａｙａｓｈｉ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｒｈｅｕｍａｔｏｌ ２００５ ３２（１１）：２１５６－６３）。ＰＤ－１をアゴニスト化可能な抗体を使用して、Ｔ細胞増殖及びサイトカイン放出を抑制し、組織内の損傷を制限して、免疫ホメオスタシスを回復することが可能である。ＰＤ－１アゴニストｍＡｂは、休止しているナイーブ及びメモリーＴ細胞及びＢ細胞ではなく、活性化したメモリーＴ細胞及びＢ細胞を標的化する。このようにして、治療薬は、病原体に対する免疫性メモリー応答を損なうことなく、自己免疫疾患を有する患者の自己抗原に対する免疫応答を抑制する。高レベルのＰＤ－１、T_{FH}、及びT_{PH}を発現する２種類のＴ細胞型は、Ｂ細胞の応答及び抗体産生を促進する（Ｒａｏ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ２０１７；５４２：１１０－１１４）。これらの細胞の頻度は、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、及びシェーグレン症候群を含む、自己抗体産生によりもたらされる自己免疫疾患において増加する（Ｒａｏ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ２０１７；５４２：１１０－１１４；Ｈｅ ｅｔ

ａｌ．，Ｉｍｍｕｎｉｔｙ ２０１３；３９：７７０－７８１；Ｖｅｒｓｔａｐｐｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ａｒｔｈｒ ＆ Ｒｈｅｕｍ ２０１７；６９（９）：１８５０－１８６１）。本発明の抗体は、活性化Ｔ細胞の抑制をもたらすことに加えて、高いＰＤ－１発現を示す細胞、例えばT_{FH}及びT_{PH}細胞を選択的に枯渇させることができる。

【００８４】

本発明は、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片を提供する。

【００８５】

本発明はまた、抗体ＰＤ１Ｂ５０５、ＰＤ１Ｂ７４２、ＰＤ１Ｂ７４３、ＰＤ１Ｂ８７８、ＰＤ１Ｂ５０６、ＰＤ１Ｂ７５０、ＰＤ１Ｂ７５１、ＰＤ１Ｂ８４５、ＰＤ１Ｂ８４６、ＰＤ１Ｂ８４７、ＰＤ１Ｂ８４８、ＰＤ１Ｂ８４９、ＰＤ１Ｂ８５０、ＰＤ１Ｂ５１２、ＰＤ１Ｂ７５６、ＰＤ１Ｂ７５７、ＰＤ１Ｂ１０８５、ＰＤ１Ｂ１０８６、ＰＤ１Ｂ１０８７、ＰＤ１Ｂ１０８８、ＰＤ１Ｂ１０８９、ＰＤ１Ｂ１０９０、ＰＤ１Ｂ１０９１、ＰＤ１Ｂ１０９２、ＰＤ１Ｂ１０９３、ＰＤ１Ｂ１０９４、又はＰＤ１Ｂ１０９５のいずれか１つの、重鎖相補性決定領域１（ＨＣＤＲ１）、ＨＣＤＲ２、及びＨＣＤＲ３、軽鎖相補性決定領域１（ＬＣＤＲ１）、ＬＣＤＲ２、及び／又はＬＣＤＲ３を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。

【００８６】

本発明はまた、抗体ＰＤ１Ｂ５０５、ＰＤ１Ｂ７４２、ＰＤ１Ｂ７４３、ＰＤ１Ｂ８７８、ＰＤ１Ｂ５０６、ＰＤ１Ｂ７５０、ＰＤ１Ｂ７５１、ＰＤ１Ｂ８４５、ＰＤ１Ｂ８４６、ＰＤ１Ｂ８４７、ＰＤ１Ｂ８４８、ＰＤ１Ｂ８４９、ＰＤ１Ｂ８５０、ＰＤ１Ｂ５１２、ＰＤ１Ｂ７５６、ＰＤ１Ｂ７５７、ＰＤ１Ｂ１０８５、ＰＤ１Ｂ１０８６、ＰＤ１Ｂ１０８７、ＰＤ１Ｂ１０８８、ＰＤ１Ｂ１０８９、ＰＤ１Ｂ１０９０、ＰＤ１Ｂ１０９１、ＰＤ１Ｂ１０９２、ＰＤ１Ｂ１０９３、ＰＤ１Ｂ１０９４、又はＰＤ１Ｂ１０９５のいずれか１つの重鎖可変領域（ＶＨ）フレームワーク、及び／又は軽鎖可変領域（ＶＬ）フレームワークを含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。

【００８７】

本発明はまた、抗体ＰＤ１Ｂ５０５、ＰＤ１Ｂ７４２、ＰＤ１Ｂ７４３、ＰＤ１Ｂ８７８、ＰＤ１Ｂ５０６、ＰＤ１Ｂ７５０、ＰＤ１Ｂ７５１、ＰＤ１Ｂ８４５、ＰＤ１Ｂ８４６、ＰＤ１Ｂ８４７、ＰＤ１Ｂ８４８、ＰＤ１Ｂ８４９、ＰＤ１Ｂ８５０、ＰＤ１Ｂ５１２、ＰＤ１Ｂ７５６、ＰＤ１Ｂ７５７、ＰＤ１Ｂ１０８５、ＰＤ１Ｂ１０８６、ＰＤ１Ｂ１０８７、ＰＤ１Ｂ１０８８、ＰＤ１Ｂ１０８９、ＰＤ１Ｂ１０９０、ＰＤ１Ｂ１０９１、ＰＤ１Ｂ１０９２、ＰＤ１Ｂ１０９３、ＰＤ１Ｂ１０９４、又はＰＤ１Ｂ１０９５のいずれか１つのＶＨ及び／又はＶＬを含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。

【００８８】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－１又はその抗原結合断片に特異的に結合する抗体は、アゴニスト抗体である。

【００８９】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－１又はその抗原結合断片に特異的に結合する抗体は、ＰＤ－１を発現する細胞のＡＤＣＣを媒介する。

【００９０】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－１を発現する細胞は、活性化メモリーＴ細胞、Ｔ濾胞性ヘルパー細胞（T_{FH}）、若しくはＴ末梢性ヘルパー細胞（T_{PH}）、又はこれらの任意の組み合わせである。T_{FH}細胞は、以下のように識別することができる：生、ＣＤ１９－ＣＤ５６－／ＣＤ４＋ＣＤ４５ＲＯ＋／ＨＬＡＤＲ＋／ＣＸＣＲ５＋／ＩＣＯＳ＋ＰＤ１＋；

T_{PH}細胞は、以下のように識別することができる：生、ＣＤ１９－ＣＤ５６－／ＣＤ４＋ＣＤ４５ＲＯ＋／ＨＬＡＤＲ＋／ＣＸＣＲ５－／ＩＣＯＳ＋ＰＤ１＋；T_{FH}／T_{PH}の組み合わせは、以下のように識別することができる：生、ＣＤ１９－ＣＤ５６－／Ｃ

Ｄ４＋ＣＤ４５ＲＯ＋／ＨＬＡＤＲ＋／ＩＣＯＳ＋ＰＤ１＋。メモリーＴ細胞は、ＣＤ４$^{+}$　ＣＤ４５ＲＯ$^{+}$、又はＣＤ８$^{+}$　ＣＤ４５ＲＯ$^{+}$として識別することができる。

【００９１】

ＰＤ１Ｂ５０５リネージ抗体

ｍＡｂ　ＰＤ１Ｂ５０５、ＰＤ１Ｂ７４２、ＰＤ１Ｂ７４３、ＰＤ１Ｂ８７８、ＰＤ１Ｂ１０８５、ＰＤ１Ｂ１０８６、ＰＤ１Ｂ１０８７、ＰＤ１Ｂ１０８８、ＰＤ１Ｂ１０８９、ＰＤ１Ｂ１０９０、ＰＤ１Ｂ１０９１、ＰＤ１Ｂ１０９２、ＰＤ１Ｂ１０９３、ＰＤ１Ｂ１０９４、又はＰＤ１Ｂ１０９５は、ＰＤ１Ｂ５０５　ｍＡｂリネージの例示的な抗体である。これらのｍＡｂは、いくつかの抗体が、ＨＣＤＲ２に１つのアミノ酸の違いを有し、ＬＣＤＲ１に１つ又は２つのアミノ酸の違いを有することを除いて、同一のＣＤＲ領域を有する。ＶＨ領域の同一性は８２～１００％であり、ＶＬ領域の同一性は７８～１００％である。ＰＤ１Ｂ５０５リネージｍＡｂは、リガンドを遮断しない。

【００９２】

リネージは、配列番号２、１６５、４、１６６、６及び７のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３、並びに、配列番号１１８のＶＨ属配列、並びに、配列番号１１９のＶＬ属配列を特徴とする。

【００９３】

配列番号１６５（ＨＣＤＲ２属）

ＷＩＮＩＥＴＧＸＰＴ；

［式中、ＸはＥ、Ｙ、Ｈ、又はＷである。］

【００９４】

配列番号１６６（ＬＣＤＲ１属）

ＴＡＳＳＳＸ$_{1}$Ｘ$_{2}$ＳＳＹＬＨ；

［式中、

Ｘ$_{1}$はＶ又はＦであり、

Ｘ$_{2}$はＳ又はＰである。］

【００９５】

本発明はまた、配列番号２、１６５、４、１６６、６及び７のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。

【００９６】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－１又はその抗原結合断片に特異的に結合する単離抗体は、配列番号３、１４５、１４６、若しくは１４７のＨＣＤＲ２、及び／又は、配列番号５、１４８、若しくは１４９のＬＣＤＲ１を含む。

【００９７】

いくつかの実施形態では、抗体又はその抗原結合断片は、以下の性質：

ＰＤ－Ｌ１の、ＰＤ－１への結合を遮断することであって、遮断の欠如は、実施例１に記載した、ＰＤ－Ｌ１を発現する細胞及びＰＤ－１を発現する細胞のクラスター化を、抗体が阻害できないことにより測定される、遮断することと、

約５×１０$^{-8}$Ｍ以下の平衡解離定数（Ｋ$_{D}$）でＰＤ－１に結合することであって、Ｋ$_{D}$が、＋２５℃にて、ＰｒｏｔｅＯｎ　ＸＰＲ３６システムを用いて測定される、結合することと、

約３×１０^{4}　１／Ｍｓ以上の結合速度定数（ｋａ）でＰＤ－１に結合することであって、ｋａは＋２５℃にて、ＰｒｏｔｅＯｎ　ＸＰＲ３６システムを用いて測定される、結合することと、

約３×１０$^{-3}$　１／ｓ以下の解離定数（ｋｄ）でＰＤ－１に結合することであって、ｋｄは、＋２５℃にて、ＰｒｏｔｅＯｎ　ＸＰＲ３６システムを用いて測定される、結合することと、抗原特異的Ｔ細胞の増殖を阻害することであって、

増殖はＣＭＶ－ＰＢＭＣアッセイで評価される、阻害することと、

のうちの、１つ、２つ、３つ、４つ、又は５つを有する。

【００９８】
いくつかの実施形態では、ＰＤ－１又はその抗原結合断片に特異的に結合する抗体は、ＩＧＨＶ７－４－１＊１（配列番号１２５）に由来するＶＨフレームワークを含む。
【００９９】
いくつかの実施形態では、ＰＤ－１又はその抗原結合断片に特異的に結合する抗体は、ＩＧＫＶ３Ｄ－２０＊１（配列番号１２６）に由来するＶＬフレームワークを含む。
【０１００】
いくつかの実施形態では、ＰＤ－１又はその抗原結合断片に特異的に結合する抗体は、ＩＧＨＶ７－４－１＊１（配列番号１２５）に由来するＶＨフレームワーク、及びＩＧＫＶ３Ｄ－２０＊１に由来するＶＬフレームワーク（配列番号１２６）を含む。
【０１０１】
配列番号１２５　ＩＧＨＶ７－４－１＊１
ＱＶＱＬＶＱＳＧＳＥＬＫＫＰＧＡＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＹＴＦＴＳＹＡＭＮＷＶＲＱＡＰＧＱＧＬＥＷＭＧＷＩＮＴＮＴＧＮＰＴＹＡＱＧＦＴＧＲＦＶＦＳＬＤＴＳＶＳＴＡＹＬＱＩＣＳＬＫＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲ
【０１０２】
配列番号１２６　ＩＧＫＶ３Ｄ－２０＊１
ＥＩＶＬＴＱＳＰＡＴＬＳＬＳＰＧＥＲＡＴＬＳＣＧＡＳＱＳＶＳＳＳＹＬＡＷＹＱＱＫＰＧＬＡＰＲＬＬＩＹＤＡＳＳＲＡＴＧＩＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＲＬＥＰＥＤＦＡＶＹＹＣＱＱＹＧＳＳＰ
【０１０３】
本発明はまた、配列番号１１８の重鎖可変領域（ＶＨ）を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。配列番号１１８は、ＰＤ１Ｂ５０５リネージｍＡｂのＶＨ属配列である。
【０１０４】
本発明はまた、配列番号１１９の軽鎖可変領域（ＶＬ）を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。配列番号１１８は、ＰＤ１Ｂ５０５リネージｍＡｂのＶＬ属配列である。
【０１０５】
本発明はまた、配列番号１１８のＶＨ、及び配列番号１１９のＶＬを含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。ＣＤＲは、配列番号１１８及び配列番号１１９において太字で示される。
【０１０６】
配列番号１１８（ＰＤ１Ｂ５０５リネージＶＨ属）
X_1ＶＱＬ$X_2$$X_3$ＳＧ$X_4$ＥＬＫＫＰＧ$X_5$$X_6$ＶＫ$X_7$ＳＣＫＡＳＧＹＴＦＴＤＹＳＭＨＷＶ$X_8$ＱＡＰＧ$X_9$ＧＬ$X_{10}$ＷＭＧＷＩＮＩＥＴＧ$X_{11}$ＰＴＹＡ$X_{12}$$X_{13}$Ｆ$X_{14}$ＧＲＦ$X_{15}$ＦＳＬ$X_{16}$ＴＳ$X_{17}$ＳＴＡＹＬＱＩ$X_{18}$$X_{19}$ＬＫ$X_{20}$ＥＤＴＡ$X_{21}$ＹＦＣＡＲＤＹＹＧＴＹＦＹＡＭＤＹＷＧＱＧＴ$X_{22}$$X_{23}$ＴＶＳＳ；
［式中、
X_1はＤ若しくはＱであり、
X_2はＱ若しくはＶであり、
X_3はＥ若しくはＱであり、
X_4はＰ若しくはＳであり、
X_5はＥ若しくはＡであり、
X_6はＴ若しくはＳであり、
X_7はＩ若しくはＶであり、
X_8はＫ若しくはＲであり、
X_9はＫ若しくはＱであり、
X_{10}はＫ若しくはＥであり、
X_{11}はＥ、Ｙ、Ｈ、若しくはＷであり、

X_{12}はＤ若しくはＱであり、
X_{13}はＤ若しくはＧであり、
X_{14}はＫ若しくはＴであり、
X_{15}はＡ若しくはＶであり、
X_{16}はＥ若しくはＤであり、
X_{17}はＡ若しくはＶであり、
X_{18}はＮ、Ｃ、若しくはＳであり、
X_{19}はＮ若しくはＳであり、
X_{20}はＮ若しくはＡであり、
X_{21}はＴ若しくはＶであり、
X_{22}はＴ若しくはＬであり、若しくは
X_{23}はＬ若しくはＶである。］

【０１０７】

配列番号１１９（ＰＤ１Ｂ５０５リネージＶＬ属）

X_1ＩＶＬＴＱＳＰＡ$X_2$$X_3$Ｓ$X_4$Ｓ$X_5$ＧＥＲ$X_6$Ｔ$X_7$$X_8$ＣＴＡＳＳＳ$X_9$$X_{10}$ＳＳＹＬＨＷＹＱＱＫＰＧ$X_{11}$$X_{12}$Ｐ$X_{13}$Ｌ$X_{14}$ＩＹＳＴＳＮＬＡＳＧ$X_{15}$Ｐ$X_{16}$ＲＦＳＧＳＧＳＧＴ$X_{17}$$X_{18}$$X_{19}$ＬＴＩＳ$X_{20}$$X_{21}$Ｅ$X_{22}$ＥＤ$X_{23}$Ａ$X_{24}$ＹＹＣＨ＿ＱＹＨＲＳＰＬＴＦＧ$X_{25}$ＧＴＫＬＥ$X_{26}$Ｋ；［式中、

X_1はＱ又はＥであり、
X_2はＩ又はＴであり、
X_3はＭ又はＬであり、
X_4はＡ又はＬであり、
X_5はＬ又はＰであり、
X_6はＶ又はＡであり、
X_7はＭ又はＬであり、
X_8はＴ又はＳであり、
X_9はＶ又はＦであり、
X_{10}はＳ又はＰであり、
X_{11}はＳ又はＬであり、
X_{12}はＳ又はＡであり、
X_{13}はＫ又はＲであり、
X_{14}はＷ又はＬであり、
X_{15}はＶ又はＩであり、
X_{16}はＡ又はＤであり、
X_{17}はＳ又はＤであり、
X_{18}はＹ又はＦであり、
X_{19}はＳ又はＴであり、
X_{20}はＳ又はＲであり、
X_{21}はＭ又はＬであり、
X_{22}はＡ又はＰであり、
X_{23}はＡ又はＦであり、
X_{24}はＴ又はＶであり、
X_{25}はＡ又はＱであり、かつ
X_{26}はＬ又はＩである。］

【０１０８】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、配列番号８、９、１０、１４０、１４１、又は１４２のＶＨを含む。

【０１０９】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、配列番号１４、１５、１６、１４３、又は１４４のＶＬを含む。

【０１１０】
いくつかの実施形態では、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、配列番号８、９、１０、１４０、１４１、若しくは１４２のＶＨ、及び配列番号１４、１５、１６、１４３、若しくは１４４のＶＬを含む。
【０１１１】
本発明はまた、配列番号２、３、４、５、６、及び７のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。
【０１１２】
いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号８、９、又は１０のＶＨ、及び配列番号１４、１５、又は１６のＶＬを含む。
【０１１３】
いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号２０、２１、又は２２の重鎖（ＨＣ）、及び配列番号２６、２７、又は２８の軽鎖（ＬＣ）を含む。
【０１１４】
本発明はまた、配列番号２、１４５、４、５、６、及び７のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号１４０のＶＨ及び配列番号１６のＶＬを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号１５０のＨＣ及び配列番号２８のＬＣを含む。抗体はまた、免疫不全、関節リウマチ、狼瘡、全身性エリテマトーデス、又は移植片対宿主病治療などの治療法で使用するために提供される。
【０１１５】
本発明はまた、配列番号２、１４６、４、５、６、及び７のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号１４１のＶＨ及び配列番号１６のＶＬを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号１５１のＨＣ及び配列番号２８のＬＣを含む。抗体はまた、免疫不全、関節リウマチ、狼瘡、全身性エリテマトーデス、又は移植片対宿主病治療などの治療法で使用するために提供される。
【０１１６】
本発明はまた、配列番号２、１４７、４、５、６、及び７のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号１４２のＶＨ及び配列番号１６のＶＬを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号１５２のＨＣ及び配列番号２８のＬＣを含む。抗体はまた、免疫不全、関節リウマチ、狼瘡、全身性エリテマトーデス、又は移植片対宿主病治療などの治療法で使用するために提供される。
【０１１７】
本発明はまた、それぞれ、配列番号２、３、４、１４８、６、及び７のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号１０のＶＨ及び配列番号１４３のＶＬを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号２２のＨＣ及び配列番号１５３のＬＣを含む。抗体はまた、免疫不全、関節リウマチ、狼瘡、全身性エリテマトーデス、又は移植片対宿主病治療などの治療法で使用するために提供される。
【０１１８】
本発明はまた、配列番号２、３、４、１４９、６、及び７のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。いくつかの実施形態では、抗体は、配

列番号１０のＶＨ及び配列番号１４４のＶＬを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号２２のＨＣ及び配列番号１５４のＬＣを含む。抗体はまた、免疫不全、関節リウマチ、狼瘡、全身性エリテマトーデス、又は移植片対宿主病治療などの治療法で使用するために提供される。

【０１１９】

本発明はまた、配列番号２、１４５、４、１４８、６、及び７のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号１４０のＶＨ及び配列番号１４３のＶＬを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号１５０のＨＣ及び配列番号１５３のＬＣを含む。抗体はまた、免疫不全、関節リウマチ、狼瘡、全身性エリテマトーデス、又は移植片対宿主病治療などの治療法で使用するために提供される。

【０１２０】

本発明はまた、配列番号２、１４６、４、１４８、６、及び７のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号１４１のＶＨ及び配列番号１４３のＶＬを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号１５１のＨＣ及び配列番号１５３のＬＣを含む。抗体はまた、免疫不全、関節リウマチ、狼瘡、全身性エリテマトーデス、又は移植片対宿主病治療などの治療法で使用するために提供される。

【０１２１】

本発明はまた、配列番号２、１４７、４、１４８、６、及び７のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号１４２のＶＨ及び配列番号１４３のＶＬを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号１５２のＨＣ及び配列番号１５３のＬＣを含む。抗体はまた、免疫不全、関節リウマチ、狼瘡、全身性エリテマトーデス、又は移植片対宿主病治療などの治療法で使用するために提供される。

【０１２２】

本発明はまた、配列番号２、１４５、４、１４９、６、及び７のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号１４０のＶＨ及び配列番号１４４のＶＬを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号１５０のＨＣ及び配列番号１５４のＬＣを含む。抗体はまた、免疫不全、関節リウマチ、狼瘡、全身性エリテマトーデス、又は移植片対宿主病治療などの治療法で使用するために提供される。

【０１２３】

本発明はまた、配列番号２、１４６、４、１４９、６、及び７のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号１４１のＶＨ及び配列番号１４４のＶＬを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号１５１のＨＣ及び配列番号１５４のＬＣを含む。抗体はまた、免疫不全、関節リウマチ、狼瘡、全身性エリテマトーデス、又は移植片対宿主病治療などの治療法で使用するために提供される。

【０１２４】

本発明はまた、配列番号２、１４７、４、１４９、６、及び７のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号１４２のＶＨ及び配列番号１４４のＶＬを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号１５２のＨＣ及び配列番号１５４のＬＣを含む。抗体はまた、免疫不全、

関節リウマチ、狼瘡、全身性エリテマトーデス、又は移植片対宿主病治療などの治療法で使用するために提供される。

【０１２５】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－１又はその抗原結合断片に特異的に結合する抗体は、アゴニスト抗体である。

【０１２６】

本発明はまた、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片であって、抗体が、ＰＤ－１の、

配列番号８のＶＨ及び配列番号１４のＶＬ、
配列番号９のＶＨ及び配列番号１５のＶＬ、
配列番号９のＶＨ及び配列番号１６のＶＬ、
配列番号１０のＶＨ及び配列番号１６のＶＬ、
配列番号１４０のＶＨ及び配列番号１６のＶＬ、
配列番号１４１のＶＨ及び配列番号１６のＶＬ、
配列番号１４２のＶＨ及び配列番号１６のＶＬ、
配列番号１０のＶＨ及び配列番号１４３のＶＬ、
配列番号１０のＶＨ及び配列番号１４４のＶＬ、
配列番号１４０のＶＨ及び配列番号１４３のＶＬ、
配列番号１４１のＶＨ及び配列番号１４３のＶＬ、
配列番号１４２のＶＨ及び配列番号１４３のＶＬ、
配列番号１４０のＶＨ及び配列番号１４４のＶＬ、
配列番号１４１のＶＨ及び配列番号１４４のＶＬ、若しくは
配列番号１４２のＶＨ及び配列番号１４４のＶＬ、

を含む抗体又は抗原結合断片との結合に競合する、単離抗体又はその抗原結合断片も提供する。

【０１２７】

本発明は、本明細書においてまた、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片であって、抗体が、

配列番号８のＶＨ及び配列番号１４のＶＬ、
配列番号９のＶＨ及び配列番号１５のＶＬ、
配列番号９のＶＨ及び配列番号１６のＶＬ、
配列番号１０のＶＨ及び配列番号１６のＶＬ、
配列番号１４０のＶＨ及び配列番号１６のＶＬ、
配列番号１４１のＶＨ及び配列番号１６のＶＬ、
配列番号１４２のＶＨ及び配列番号１６のＶＬ、
配列番号１０のＶＨ及び配列番号１４３のＶＬ、
配列番号１０のＶＨ及び配列番号１４４のＶＬ、
配列番号１４０のＶＨ及び配列番号１４３のＶＬ、
配列番号１４１のＶＨ及び配列番号１４３のＶＬ、
配列番号１４２のＶＨ及び配列番号１４３のＶＬ、
配列番号１４０のＶＨ及び配列番号１４４のＶＬ、
配列番号１４１のＶＨ及び配列番号１４４のＶＬ、若しくは
配列番号１４２のＶＨ及び配列番号１４４のＶＬ、

を含む抗体により結合される同一のエピトープに結合する、単離抗体又はその抗原結合断片も提供する。

【０１２８】

いくつかの実施形態では、本明細書において提供するＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片のＶＨ及びＶＬ、又はＨＣ及びＬＣは、

配列番号１１及び１７、
配列番号１２及び１８、

配列番号１２及び１９、
配列番号１３及び１９、
配列番号２３及び２９、
配列番号２４及び３０、
配列番号２４及び３１、
配列番号２５及び３１、
配列番号１３２及び１３３、若しくは
配列番号１３４及び１３５、
配列番号１５５及び１９、
配列番号１５６及び１９、
配列番号１５７及び１９、
配列番号１３及び１５８、
配列番号１３及び１５９、
配列番号１５５及び１５８、
配列番号１５６及び１５８、
配列番号１５７及び１５８、
配列番号１５５及び１５９、
配列番号１５６及び１５９、
配列番号１５７及び１５９、
配列番号１６０及び３１、
配列番号１６１及び３１、
配列番号１６２及び３１、
配列番号２５及び１６３、
配列番号２５及び１６４、
配列番号１６０及び１６３、
配列番号１６１及び１６３、
配列番号１６２及び１６３、
配列番号１６０及び１６４、
配列番号１６１及び１６４、若しくは
配列番号１６２及び１６４、
のポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドによりコードされる。

【０１２９】

ＰＤ１Ｂ５０６リネージ抗体

ｍＡｂ　ＰＤ１Ｂ５０６、ＰＤ１Ｂ７５０、ＰＤ１Ｂ７５１、ＰＤ１Ｂ８４５、ＰＤ１Ｂ８４６、ＰＤ１Ｂ８４７、ＰＤ１Ｂ８４８、ＰＤ１Ｂ８４９、及びＰＤ１Ｂ８５０は、ＰＤ１Ｂ５０６　ｍＡｂリネージの例示的な抗体である。これらのｍＡｂは、同一のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３、並びに多様体ＨＣＤＲ２を有する。ＶＨ領域の同一性は８０～１００％であり、ＶＬ領域の同一性は約９８％である。ＰＤ１Ｂ５０６リネージｍＡｂは、リガンドを遮断する。リネージは、配列番号３２、１２４、４０、４１、４２、及び４３のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３、並びに、配列番号１２０のＶＨ属配列、並びに、配列番号１２１のＶＬ属配列を特徴とする。

【０１３０】

本発明はまた、配列番号３２、１２４、４０、４１、４２、及び４３のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、及びＨＣＤＲ３を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。

【０１３１】

配列番号１２４（ＰＤ１Ｂ５０６リネージＨＣＤＲ２属）
ＥＩＮＰＮＸ$_1$Ｘ$_2$ＧＩＮ；［式中、
Ｘ$_1$はＮ、Ｄ、Ｑ、Ｋ、又はＥであり、

X_2はＧ、Ａ、又はＩである。］

【０１３２】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片は、配列番号３３、３４、３５、３６、３７、３８、又は３９のＨＣＤＲ２を含む。

【０１３３】

いくつかの実施形態では、本明細書において提供する抗体又はその抗原結合断片は、以下の性質：

ＰＤ－Ｌ１の、ＰＤ－１への結合を遮断することであって、遮断は、実施例１に記載した、ＰＤ－Ｌ１を発現する細胞及びＰＤ－１を発現する細胞のクラスター化を、抗体が阻害する能力により測定される、遮断することと、

約5×10^{-8}Ｍ以下の平衡解離定数（K_D）でＰＤ－１に結合することであって、K_Dが、＋２５℃にて、ＰｒｏｔｅＯｎ　ＸＰＲ３６システムを用いて測定される、結合することと、

約4×10^{5}　１／Ｍｓ以上の結合速度定数（ｋａ）でＰＤ－１に結合することであって、ｋａは、＋２５℃にて、ＰｒｏｔｅＯｎ　ＸＰＲ３６システムを用いて測定される、結合することと、

約1×10^{-2}　１／ｓ以下の解離定数（ｋｄ）でＰＤ－１に結合することであって、ｋｄは、＋２５℃にて、ＰｒｏｔｅＯｎ　ＸＰＲ３６システムを用いて測定される、結合することと、抗原特異的Ｔ細胞の増殖を阻害することであって、

増殖は、実施例１に記載されているＣＭＶ－ＰＢＭＣアッセイにおいて評価される、阻害することと、

のうちの、１つ、２つ、３つ、４つ、又は５つを有する。

【０１３４】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、ＩＧＨＶ１－２＊０２（配列番号１２７）に由来するＶＨフレームワークを含む。

【０１３５】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、ＩＧＫＶ１Ｄ－１６＊１（配列番号１２８）に由来するＶＬフレームワークを含む。

【０１３６】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、ＩＧＨＶ１－２＊０２（配列番号１２７）に由来するＶＨフレームワーク、及びＩＧＩＧＫＶ１Ｄ－１６＊１（配列番号１２８）に由来するＶＬフレームワークを含む。

【０１３７】

配列番号１２７　ＩＧＨＶ１－２＊０２

ＱＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＹＴＦＴＧＹＹＭＨＷＶＲＱＡＰＧＱＧＬＥＷＭＧＷＩＮＰＮＳＧＧＴＮＹＡＱＫＦＱＧＲＶＴＭＴＲＤＴＳＩＳＴＡＹＭＥＬＳＲＬＲＳＤＤＴＡＶＹＹＣＡＲ

【０１３８】

配列番号１２８　ＩＧＫＶ１Ｄ－１６＊１

ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＧＩＳＳＷＬＡＷＹＱＱＫＰＥＫＡＰＫＳＬＩＹＡＡＳＳＬＱＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＹＮＳＹＰ

【０１３９】

本発明はまた、配列番号１２０の重鎖可変領域（ＶＨ）を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。配列番号１２０は、ＰＤ１Ｂ５０６リネージｍＡｂのＶＨ属配列である。

【０１４０】

本発明はまた、配列番号１２１の軽鎖可変領域（ＶＬ）を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。配列番号１２１は、ＰＤ１Ｂ５０６リネージｍＡｂのＶＬ属配列である。

【０１４１】
本発明はまた、配列番号１２０のＶＨ、及び配列番号１２１のＶＬを含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。ＣＤＲは、配列番号１２０及び配列番号１２１において太字で示される。
【０１４２】
配列番号１２０（ＰＤ１Ｂ５０６リネージＶＨ属）
ＱＶＱＬＸ$_{1}$ＱＸ$_{2}$ＧＡＥＸ$_{3}$Ｘ$_{4}$ＫＰＧＡＳＶＫＸ$_{5}$ＳＣＫＡＳＧＹＴＦＴＴＹＷＭＨＷＶＸ$_{6}$ＱＸ$_{7}$ＰＧＱＧＬＥＷＸ$_{8}$ＧＥＩＮＰＮＸ$_{9}$Ｘ$_{10}$ＧＩＮＹ　Ｘ$_{11}$Ｘ$_{12}$ＫＦＸ$_{13}$Ｘ$_{14}$Ｘ$_{15}$Ｘ$_{16}$ＴＬＴＶＤＫＳＸ$_{17}$ＳＴＡＹＭＸ$_{18}$ＬＳＸ$_{19}$ＬＸ$_{20}$ＳＸ$_{21}$Ｄ　Ｘ$_{22}$ＡＶＹＹＣＴＩＤＹＹＤＹＧＧＹＷＧＱＧＴＸ$_{23}$Ｘ$_{24}$ＴＶＳＳ；
［式中、
Ｘ$_{1}$はＱ又はＶであり、
Ｘ$_{2}$はＳ又はＰであり、
Ｘ$_{3}$はＬ又はＶであり、
Ｘ$_{4}$はＶ又はＫであり、
Ｘ$_{5}$はＬ又はＶであり、
Ｘ$_{6}$はＫ又はＲであり、
Ｘ$_{7}$はＲ又はＡであり、
Ｘ$_{8}$はＩ又はＭであり、
Ｘ$_{9}$はＮ、Ｄ、Ｑ、Ｋ、又はＥであり、
Ｘ$_{10}$はＧ、Ａ、又はＩであり、
Ｘ$_{11}$はＮ又はＡであり、
Ｘ$_{12}$はＥ又はＱであり、
Ｘ$_{13}$はＫ又はＱであり、
Ｘ$_{14}$はＫ又はＧであり、
Ｘ$_{15}$はＫ又はＲであり、
Ｘ$_{16}$はＡ又はＶであり、
Ｘ$_{17}$はＳ又はＩであり、
Ｘ$_{18}$はＱ又はＥであり、
Ｘ$_{19}$はＳ又はＲであり、
Ｘ$_{20}$はＴ又はＲであり、
Ｘ$_{21}$はＥ又はＤであり、
Ｘ$_{22}$はＳ又はＴであり、
Ｘ$_{23}$はＴ又はＬであり、かつ
Ｘ$_{24}$はＬ又はＶである。］
【０１４３】
配列番号１２１（ＰＤ１Ｂ５０６リネージＶＬ属）
ＤＩＸ$_{1}$ＭＴＱＳＸ$_{2}$Ｘ$_{3}$Ｘ$_{4}$Ｘ$_{5}$ＳＸ$_{6}$ＳＶＸ$_{7}$ＤＲＶＸ$_{8}$Ｘ$_{9}$ＴＣＫＡＳＱＮＶＧＴＮＶＡＷＹＱＱＫＰＸ$_{10}$Ｘ$_{11}$Ｘ$_{12}$ＰＫＸ$_{13}$ＬＩＹＳＡＳＹＲＹＳＧＶＰＸ$_{14}$ＲＦＸ$_{15}$ＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＸ$_{16}$Ｘ$_{17}$Ｘ$_{18}$ＱＸ$_{19}$ＥＤＸ$_{20}$ＡＸ$_{21}$ＹＸ$_{22}$ＣＱＱＹＮＩＹＰＹＴＦＧＸ$_{23}$ＧＴＫＬＥＸ$_{24}$Ｋ；［式中、
Ｘ$_{1}$はＶ又はＱであり、
Ｘ$_{2}$はＱ又はＰであり、
Ｘ$_{3}$はＫ又はＳであり、
Ｘ$_{4}$はＦ又はＳであり、
Ｘ$_{5}$はＭ又はＬであり、
Ｘ$_{6}$はＴ又はＡであり、
Ｘ$_{7}$はＲ又はＧであり、
Ｘ$_{8}$はＳ又はＴであり、
Ｘ$_{9}$はＶ又はＩであり、

X_{10}はＧ又はＥであり、
X_{11}はＱ又はＫであり、
X_{12}はＳ又はＡであり、
X_{13}はＡ又はＳであり、
X_{14}はＤ又はＳであり、
X_{15}はＴ又はＳであり、
X_{16}はＴ又はＳであり、
X_{17}はＮ又はＳであり、
X_{18}はＶ又はＬであり、
X_{19}はＳ又はＰであり、
X_{20}はＬ又はＦであり、
X_{21}はＥ又はＴであり、
X_{22}はＦ又はＹであり、
X_{23}はＳ又はＱであり、かつ
X_{24}はＭ又はＩである。］

【０１４４】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、配列番号４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、又は５１のＶＨを含む。

【０１４５】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、配列番号６０、６１、又は６２のＶＬを含む。

【０１４６】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、配列番号４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、又は５１のＶＨ、及び配列番号６０、６１、又は６２のＶＬを含む。

【０１４７】

本発明はまた、配列番号３２、３３、４０、４１、４２、及び４３のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号４４又は４５のＶＨ、及び配列番号６０、６１、又は６２のＶＬを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号６６又は６７のＨＣ、及び配列番号８２、８３、又は８４のＬＣを含む。抗体はまた、免疫不全、関節リウマチ、狼瘡、全身性エリテマトーデス、又は移植片対宿主病治療などの治療法で使用するために提供される。

【０１４８】

本発明はまた、配列番号３２、３４、４０、４１、４２、及び４３のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号４６のＶＨ及び配列番号６１のＶＬを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号６８のＨＣ及び配列番号８３のＬＣを含む。抗体はまた、免疫不全、関節リウマチ、狼瘡、全身性エリテマトーデス、又は移植片対宿主病治療などの治療法で使用するために提供される。

【０１４９】

本発明はまた、配列番号３２、３５、４０、４１、４２、及び４３のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号４７のＶＨ及び配列番号６１のＶＬを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号６９のＨＣ及び配列番号８３のＬＣを含む。抗体はまた、免疫不全、関節リウマチ、狼瘡、全身性エリテマトーデス、又は移植片対宿主病治療などの治療法で使用するために提供される。

【０１５０】

本発明はまた、配列番号３２、３６、４０、４１、４２、及び４３のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号４８のＶＨ及び配列番号６１のＶＬを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号７０のＨＣ及び配列番号８３のＬＣを含む。抗体はまた、免疫不全、関節リウマチ、狼瘡、全身性エリテマトーデス、又は移植片対宿主病治療などの治療法で使用するために提供される。

【０１５１】

本発明はまた、配列番号３２、３７、４０、４１、４２、及び４３のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号４９のＶＨ及び配列番号６１のＶＬを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号７１のＨＣ及び配列番号８３のＬＣを含む。抗体はまた、免疫不全、関節リウマチ、狼瘡、全身性エリテマトーデス、又は移植片対宿主病治療などの治療法で使用するために提供される。

【０１５２】

本発明はまた、配列番号３２、３８、４０、４１、４２、及び４３のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号５０のＶＨ及び配列番号６１のＶＬを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号７２のＨＣ及び配列番号８３のＬＣを含む。抗体はまた、免疫不全、関節リウマチ、狼瘡、全身性エリテマトーデス、又は移植片対宿主病治療などの治療法で使用するために提供される。

【０１５３】

本発明はまた、配列番号３２、３９、４０、４１、４２、及び４３のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号５１のＶＨ及び配列番号６１のＶＬを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号７３のＨＣ及び配列番号８３のＬＣを含む。抗体はまた、免疫不全、関節リウマチ、狼瘡、全身性エリテマトーデス、又は移植片対宿主病治療などの治療法で使用するために提供される。

【０１５４】

いくつかの実施形態では、抗体はアゴニスト抗体である。

【０１５５】

本発明は、本明細書においてまた、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片であって、抗体が、ＰＤ－１の、

配列番号４４のＶＨ及び配列番号６０のＶＬ、
配列番号４５のＶＨ及び配列番号６１のＶＬ、
配列番号４５のＶＨ及び配列番号６２のＶＬ、
配列番号４６のＶＨ及び配列番号６１のＶＬ、
配列番号４７のＶＨ及び配列番号６１のＶＬ、
配列番号４８のＶＨ及び配列番号６１のＶＬ、
配列番号４９のＶＨ及び配列番号６１のＶＬ、
配列番号５０のＶＨ及び配列番号６１のＶＬ、若しくは
配列番号５１のＶＨ及び配列番号６１のＶＬ、

を含む抗体又は抗原結合断片との結合に競合する、単離抗体又はその抗原結合断片も提供する。

【０１５６】

本発明は、本明細書においてまた、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片であって、抗体が、

配列番号４４のＶＨ及び配列番号６０のＶＬ、
配列番号４５のＶＨ及び配列番号６１のＶＬ、
配列番号４５のＶＨ及び配列番号６２のＶＬ、
配列番号４６のＶＨ及び配列番号６１のＶＬ、
配列番号４７のＶＨ及び配列番号６１のＶＬ、
配列番号４８のＶＨ及び配列番号６１のＶＬ、
配列番号４９のＶＨ及び配列番号６１のＶＬ、
配列番号５０のＶＨ及び配列番号６１のＶＬ、若しくは
配列番号５１のＶＨ及び配列番号６１のＶＬ、
を含む抗体により結合される同一のエピトープに結合する、単離抗体又はその抗原結合断片も提供する。

【０１５７】

いくつかの実施形態では、本明細書において提供するＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片のＶＨ及びＶＬ、又はＨＣ及びＬＣは、
配列番号５２及び６３、
配列番号５３及び６４、
配列番号５３及び６５、
配列番号５４及び６４、
配列番号５５及び６４、
配列番号５６及び６４、
配列番号５７及び６４、
配列番号５８及び６４、
配列番号５９及び６４、
配列番号７４及び８５、
配列番号７５及び８６、
配列番号７５及び８７、
配列番号７６及び８６、
配列番号７７及び８６、
配列番号７８及び８６、
配列番号７９及び８６、
配列番号８０及び８６、
配列番号８１及び８６、
配列番号１３６及び１３７、若しくは
配列番号１３８及び１３９、
のポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドによりコードされる。

【０１５８】

ＰＤ１Ｂ５１２リネージ抗体
ｍＡｂ　ＰＤ１Ｂ５０５、ＰＤ１Ｂ７５６、及びＰＤ１Ｂ７５７は、ＰＤ１Ｂ５１２ｍＡｂリネージの例示的な抗体である。これらのｍＡｂは、約８４％のＶＨ領域同一性、及び９０～９９％のＶＬ領域同一性を有する、同一のＣＤＲ領域を有する。ＰＤ１Ｂ５１２リネージｍＡｂは、リガンドを遮断しない。リネージは、配列番号８８、８９、９０、９１、９２、及び９３のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３、並びに、配列番号１２２のＶＨ属配列、並びに、配列番号１２３のＶＬ属配列を特徴とする。

【０１５９】

本発明はまた、配列番号８８、８９、９０、９１、９２、及び９３のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。

【０１６０】

いくつかの実施形態では、抗体又はその抗原結合断片は、ＰＤ－Ｌ１の、ＰＤ－１への

結合を遮断せず、遮断の欠如は、抗体が、実施例１に記載したＰＤ－Ｌ１を発現する細胞、及びＰＤ－１を発現する細胞のクラスター化を阻害できないことにより測定される。

【０１６１】

いくつかの実施形態では、本明細書において提供するＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、ＩＧＨＶ２－５＊０４（配列番号１２９）に由来するＶＨフレームワークを含む。

【０１６２】

いくつかの実施形態では、本明細書において提供するＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、ＩＧＫＶ２－２８＊０１（配列番号１３０）に由来するＶＬフレームワークを含む。

【０１６３】

いくつかの実施形態では、本明細書において提供するＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、ＩＧＨＶ２－５＊０４（配列番号１２９）に由来するＶＨフレームワーク、及びＩＧＫＶ２－２８＊０１（配列番号１３０）に由来するＶＬフレームワークを含む。

【０１６４】

配列番号１２９　ＩＧＨＶ２－５＊０４

ＱＩＴＬＫＥＳＧＰＴＬＶＫＰＴＱＴＬＴＬＴＣＴＦＳＧＦＳＬＳＴＳＧＶＧＶＧＷＩＲＱＰＰＧＫＡＬＥＷＬＡＬＩＹＷＮＤＤＫＲＹＳＰＳＬＫＳＲＬＴＩＴＫＤＴＳＫＮＱＶＶＬＴＭＴＮＭＤＰＶＤＴＧＴＹＹＣＶ

【０１６５】

配列番号１３０　ＩＧＫＶ２－２８＊０１

ＤＩＶＭＴＱＳＰＬＳＬＰＶＴＰＧＥＰＡＳＩＳＣＲＳＳＱＳＬＬＨＳＮＧＹＮＹＬＤＷＹＬＱＫＰＧＱＳＰＱＬＬＩＹＬＧＳＮＲＡＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＫＩＳＲＶＥＡＥＤＶＧＶＹＹＣＭＱＡＬＱＴＰ

【０１６６】

本発明はまた、配列番号１２２の重鎖可変領域（ＶＨ）を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。配列番号１２２は、ＰＤ１Ｂ５１２リネージｍＡｂのＶＨ属配列である。

【０１６７】

本発明はまた、配列番号１２３の軽鎖可変領域（ＶＬ）を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。配列番号１２３は、ＰＤ１Ｂ５１２リネージｍＡｂのＶＬ属配列である。

【０１６８】

本発明はまた、配列番号１２２のＶＨ、及び配列番号１２３のＶＬを含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。ＣＤＲは、配列番号１２２及び配列番号１２３において太字で示される。

【０１６９】

配列番号１２２（ＰＤ１Ｂ１１２リネージＶＨ属）

$Q X_1 T L K E S G P X_2 L X_3 X_4 P X_5 Q T L X_6 L T C X_7 F S G F S L S T S G M G V S W I R Q P X_8 G K X_9 L E W L A H I Y W D D D K R Y X_{10} P S L K S R L T I X_{11} K D T S X_{12} N Q V X_{13} L X_{14} X_{15} T X_{16} X_{17} D X_{18} X_{19} D T G T Y Y C V R K G Y Y D Y G Y V M D Y W G Q G T X_{20} V T V S S$［式中、

X_1はＶ又はＩであり、

X_2はＧ又はＴであり、

X_3はＬ又はＶであり、

X_4はＱ又はＫであり、

X_5はＳ又はＴであり、

X_6はＳ又はＴであり、

X_7はＳ又はＴであり、

X_8はＳ又はＰであり、
X_9はＧ又はＡであり、
X_{10}はＮ又はＳであり、
X_{11}はＳ又はＴであり、
X_{12}はＳ又はＫであり、
X_{13}はＦ又はＶであり、
X_{14}はＫ又はＴであり、
X_{15}はＩ又はＭであり、
X_{16}はＳ又はＮであり、
X_{17}はＶ又はＭであり、
X_{18}はＴ又はＰであり、
X_{19}はＡ又はＶであり、かつ
X_{20}はＴ又はＬである。］

【０１７０】

配列番号１２３（ＰＤ１Ｂ１１２リネージＶＬ属）

ＤＩＶＭＴＱ$X_1$$X_2$ＬＳ$X_3$ＰＶＴ$X_4$Ｇ$X_5$$X_6$ＡＳＩＳＣＲＳＳＫＳＬＬＨＳＮＧＩＴＹＬＮＷＹＬＱＫＰＧＱＳＰＱＬＬＩＹＱＭＳＮＬＡＳＧＶＰＤＲＦＳX_7ＳＧＳＧＴＤＦＴＬX_8ＩＳＲＶＥＡＥＤＶＧＶＹＹＣＡＱＮＬＥＬＰＬＴＦＧX_9ＧＴＫX_{10}ＥX_{11}Ｋ［式中、

X_1はＡ又はＳであり、
X_2はＡ又はＰであり、
X_3はＮ又はＬであり、
X_4はＬ又はＰであり、
X_5はＴ又はＥであり、
X_6はＳ又はＰであり、
X_7はＳ又はＧであり、
X_8はＲ又はＫであり、
X_9はＳ又はＧであり、
X_{10}はＬ又はＶであり、かつ
X_{11}はＭ又はＩである。］

【０１７１】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、配列番号９４又は９５のＶＨを含む。

【０１７２】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、配列番号９８、９９、又は１００のＶＬを含む。

【０１７３】

本発明はまた、配列番号９４又は９５のＶＨ、及び配列番号配列番号９８、９９、又は１００のＶＬを含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片を提供する。

【０１７４】

本発明はまた、配列番号９４のＶＨ、及び配列番号９８のＶＬを含む、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片も提供する。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号１０４のＨＣ及び配列番号１０８のＬＣを含む。抗体はまた、免疫不全、関節リウマチ、狼瘡、全身性エリテマトーデス、又は移植片対宿主病治療などの治療法で使用するために提供される。

【０１７５】

いくつかの実施形態では、本明細書において提供するＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、配列番号９５のＶＨ及び配列番号９９のＶＬを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号１０５のＨＣ及び配列番号１０９のＬＣを含む。抗

体はまた、免疫不全、関節リウマチ、狼瘡、全身性エリテマトーデス、又は移植片対宿主病治療などの治療法で使用するために提供される。

【０１７６】

いくつかの実施形態では、本明細書において提供するＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、配列番号９５のＶＨ及び配列番号１００のＶＬを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号１０５のＨＣ及び配列番号１１０のＬＣを含む。抗体はまた、免疫不全、関節リウマチ、狼瘡、全身性エリテマトーデス、又は移植片対宿主病治療などの治療法で使用するために提供される。

【０１７７】

いくつかの実施形態では、抗体はアゴニスト抗体である。

【０１７８】

本発明は、本明細書においてまた、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片であって、抗体が、ＰＤ－１の、

配列番号９４のＶＨ及び配列番号９８のＶＬ、

配列番号９５のＶＨ及び配列番号９９のＶＬ、若しくは

配列番号９５のＶＨ及び配列番号１００のＶＬ、

を含む抗体又は抗原結合断片との結合に競合する、単離抗体又はその抗原結合断片も提供する。

【０１７９】

本発明は、本明細書においてまた、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片であって、抗体が、

配列番号９４のＶＨ及び配列番号９８のＶＬ、

配列番号９５のＶＨ及び配列番号９９のＶＬ、若しくは

配列番号９５のＶＨ及び配列番号１００のＶＬ、

を含む抗体により結合される同一のエピトープに結合する、単離抗体又はその抗原結合断片も提供する。

【０１８０】

いくつかの実施形態では、本明細書において提供するＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片のＶＨ及びＶＬ、又はＨＣ及びＬＣは、

配列番号９６及び１０１、

配列番号９７及び１０２、

配列番号９７及び１０３、

配列番号１０６及び１１１、

配列番号１０７及び１１２、若しくは

配列番号１０７及び１１３、

のポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドによりコードされる。

【０１８１】

相同性抗体及び保存的変異を有する抗体

本明細書において提供する、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体の多様体又はその抗原結合断片は、本発明の範囲内である。例えば、多様体は、その多様体抗体が、親抗体と比較したときに改善された機能的性質を保持する、又は有する限り、ＶＨ及び／又はＶＬに、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、又は２９個のアミノ酸置換を含んでよい。いくつかの実施形態では、配列同一性は、本発明のＶＨ及び／又はＶＬアミノ酸配列に対して、約８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％であってよい。いくつかの実施形態では、変化はフレームワーク領域に存在する。いくつかの実施形態では、多様体は保存的置換により生成される。

【０１８２】

例えば、ＰＤ１Ｂ５０５リネージ抗体は、ＶＨ残基位置１、５、６、９、１６、１７、２０、３８、４３、４６、５７、６２、６３、６５、６９、７３、７６、８４、８５、８８、９３、１１６、及び／又は１１７（配列番号８に従った残基付番）にて、並びに、ＶＬ残基位置１、１０、１１、１３、１５、１９、２１、２２、２９、３０、４３、４４、４６、４８、５９、６１、７１、７２、７３、７８、７９、８１、８４、８６、１０１、及び／又は１０７（配列番号１４に従った残基付番）にて、置換を含んでよい。ＰＤ１Ｂ５０６リネージ抗体は、ＶＨ残基位置５、７、１１、１２、２０、３８、４０、４８、５５、５６、６１、６２、６５、６６、６７、６８、７６、８２、８５、８７、８９、９１、１１２、及び／又は１１３（配列番号４４に従った残基付番）にて、並びに、ＶＬ残基位置３、８、９、１０、１１、１３、１６、２０、２１、４１、４２、４３、４６、６０、６３、７６、７７、７８、８０、８３、８５、８７、１００、及び／又は１０６（配列番号６０に従った残基付番）にて、置換を含んでよい。ＰＤ１Ｂ５１２リネージ抗体は、ＶＨ残基位置２、１０、１２、１３、１５、１９、２３、４３、４６、６２、７２、７７、８１、８３、８４、８６、８７、８９、９０、及び／又は１１７、並びに、ＶＬ残基位置７、８、１１、１５、１７、１８、６９、７９、１０５、１０９、及び／又は１１１にて、置換を含んでよい。保存的置換は、指示された任意の位置で行うことができ、得られた多様体抗体を、本明細書で記載されるアッセイで所望の特性について試験する。あるいは、あるリネージｍＡｂにおける置換を、そのリネージ内の他の抗体に存在する特定の位置における対応するアミノ酸により置換することにより、指示された位置で行うことができる。

【０１８３】

本実施形態は、

配列番号８のＶＨ及び配列番号１４のＶＬ、
配列番号９のＶＨ及び配列番号１５のＶＬ、
配列番号９のＶＨ及び配列番号１６のＶＬ、
配列番号１０のＶＨ及び配列番号１６のＶＬ、
配列番号１４０のＶＨ及び配列番号１６のＶＬ、
配列番号１４１のＶＨ及び配列番号１６のＶＬ、
配列番号１４２のＶＨ及び配列番号１６のＶＬ、
配列番号１０のＶＨ及び配列番号１４３のＶＬ、
配列番号１０のＶＨ及び配列番号１４４のＶＬ、
配列番号１４０のＶＨ及び配列番号１４３のＶＬ、
配列番号１４１のＶＨ及び配列番号１４３のＶＬ、
配列番号１４２のＶＨ及び配列番号１４３のＶＬ、
配列番号１４０のＶＨ及び配列番号１４４のＶＬ、
配列番号１４１のＶＨ及び配列番号１４４のＶＬ、
配列番号１４２のＶＨ及び配列番号１４４のＶＬ、
配列番号４４のＶＨ及び配列番号６０のＶＬ、
配列番号４５のＶＨ及び配列番号６１のＶＬ、
配列番号４５のＶＨ及び配列番号６２のＶＬ、
配列番号４６のＶＨ及び配列番号６１のＶＬ、
配列番号４７のＶＨ及び配列番号６１のＶＬ、
配列番号４８のＶＨ及び配列番号６１のＶＬ、
配列番号４９のＶＨ及び配列番号６１のＶＬ、
配列番号５０のＶＨ及び配列番号６１のＶＬ、
配列番号５１のＶＨ及び配列番号６１のＶＬ、
配列番号９４のＶＨ及び配列番号９８のＶＬ、
配列番号９５のＶＨ及び配列番号９９のＶＬ、若しくは
配列番号９５のＶＨ及び配列番号１００のＶＬ、
に少なくとも８０％同一であるＶＨ及びＶＬを含む、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体

、又はその抗原結合断片もまた提供する。

【０１８４】

いくつかの実施形態では、同一性は８５％である。いくつかの実施形態では、同一性は９０％である。いくつかの実施形態では、同一性は９１％である。いくつかの実施形態では、同一性は９１％である。いくつかの実施形態では、同一性は９２％である。いくつかの実施形態では、同一性は９３％である。いくつかの実施形態では、同一性は９４％である。いくつかの実施形態では、同一性は９４％である。いくつかの実施形態では、同一性は９６％である。いくつかの実施形態では、同一性は９７％である。いくつかの実施形態では、同一性は９８％である。いくつかの実施形態では、同一性は９９％である。

【０１８５】

２つの配列間の同一性パーセントは、２つの配列の最適なアライメントのために導入する必要があるギャップの数及び各ギャップの長さを考慮した、配列により共有される同一の位置の数の関数である（即ち、同一性％＝同一の位置の数／位置の総数×１００）。

【０１８６】

２つのアミノ酸配列間の同一性パーセントは、ＡＬＩＧＮプログラム（バージョン２．０）に組み込まれているＥ．Ｍｅｙｅｒｓ及びＷ．Ｍｉｌｌｅｒのアルゴリズム（Ｃｏｍｐｕｔ．Ａｐｐｌ．Ｂｉｏｓｃｉ　４：１１－１７（１９８８））を使用して、ＰＡＭ１２０重み付け残基表、ギャップ長ペナルティ１２、及びギャップペナルティ４を使用して決定することができる。更に、２つのアミノ酸配列間の同一性パーセントは、ＧＣＧソフトウェアパッケージ（ｈｔｔｐ：／／＿ｗｗｗ＿ｇｃｇ＿ｃｏｍで入手可能）のＧＡＰプログラムに組み込まれているＮｅｅｄｌｅｍａｎ及びＷｕｎｓｃｈのアルゴリズム（Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．４８：４４４－４５３（１９７０））を使用して、Ｂｌｏｓｓｕｍ６２マトリクス又はＰＡＭ２５０マトリクス、ギャップ重み付け１６、１４、１２、１０、８、６、又は４、長さ重み付け１、２、３、４、５、又は６を使用して決定することもできる。

【０１８７】

いくつかの実施形態では、多様体抗体は、ＣＤＲ領域のいずれかにおいて１つ又は２つの保存的置換を含み、その抗体は、親抗体の所望の機能的性質を保持している。

【０１８８】

「保存的改変」とは、アミノ酸改変を含有する抗体の結合特性に著しく影響を与えることも変化させることもないアミノ酸改変を指す。保存的改変は、アミノ酸の置換、付加、及び欠失を含む。保存的アミノ酸置換は、あるアミノ酸が、類似の側鎖を有するアミノ酸残基に置き換えられる置換である。類似の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは、明確に定義されており、酸性側鎖（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、塩基性側鎖（例えば、リジン、アルギニン、ヒスチジン）、非極性側鎖（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン）、非荷電極性側鎖（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、システイン、セリン、スレオニン、チロシン、トリプトファン）、芳香族側鎖（例えば、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン、チロシン）、脂肪族側鎖（例えば、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、セリン、スレオニン）、アミド（例えば、アスパラギン、グルタミン）、β分岐側鎖（例えば、スレオニン、バリン、イソロイシン）、及び含硫黄側鎖（システイン、メチオニン）を有するアミノ酸を含む。更に、アラニン・スキャニング変異誘発について以前に述べられているように、ポリペプチド内の任意の内在性残基はまた、アラニンにより置換されていてもよい（ＭａｃＬｅｎｎａｎ　ｅｔ　ａｌ．，（１９８８）Ａｃｔａ　Ｐｈｙｓｉｏｌ　Ｓｃａｎｄ　Ｓｕｐｐｌ　６４３：５５－６７；Ｓａｓａｋｉ　ｅｔ　ａｌ．，（１９８８）Ａｄｖ　Ｂｉｏｐｈｙｓ　３５：１－２４）。本発明の抗体に対するアミノ酸置換は、既知の方法、例えばＰＣＲ突然変異誘発（米国特許第４，６８３，１９５号）により行うことができる。あるいは、変異体のライブラリは、例えば、ランダムコドン（ＮＮＫ）又は非ランダムコドン（例えば１１個のアミノ酸（Ａｌａ、Ｃｙｓ、Ａｓｐ、Ｇｌｕ、Ｇｌｙ、Ｌｙｓ、Ａｓｎ、Ａｒｇ、Ｓｅｒ、Ｔｙｒ、Ｔｒｐ）を

コードするＤＶＫコドン）を用いて生成することもできる。結果として生じる抗体変異体は、それらの特性に関して、本明細書に記載のアッセイを用いて試験することができる。

【０１８９】

遺伝子操作及び改変された抗体

本明細書において提供する、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片を更に改変して、親抗体と比較したときに、同様の、又は変化した性質を有する改変抗体を生成することができる。本発明の抗体では、ＶＨ、ＶＬ、ＶＨ及びＶＬ、定常領域、重鎖フレームワーク、軽鎖フレームワーク、又は６つのＣＤＲのうちのいずれか又は全てが改変されていてもよい。

【０１９０】

ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片を、ＣＤＲグラフト化により改変することができる。本発明の抗体の１つ以上のＣＤＲ配列を、異なるフレームワーク配列にグラフト化してもよい。ＣＤＲグラフト化は、公知の方法及び本明細書に記載の方法を使用して行うことができる。

【０１９１】

使用され得るフレームワーク配列は、生殖系列抗体遺伝子配列を含む公開ＤＮＡデータベース又は刊行されている参照文献から得ることができる。例えば、ヒト重鎖及び軽鎖可変ドメイン遺伝子に関する生殖系列ＤＮＡ及びコードタンパク質配列は、ＩＭＧＴ（登録商標）、ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ ＩｍＭｕｎｏＧｅｎｅＴｉｃｓ ｉｎｆｏｒｍａｔｉｏｎ ｓｙｓｔｅｍ（登録商標）ｈｔｔｐ：／／＿ｗｗｗ－ｉｍｇｔ＿ｏｒｇに見出すことができる。本発明の抗体の既存のフレームワーク配列を置き換えるために用いることができるフレームワーク配列は、ＶＨ若しくはＶＬの全長、又はＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３、及びＦＲ４の長さにわたって親可変ドメインに対して最も高い同一性パーセント（％）を示すものであってよい。更に、好適なフレームワークは、更に、ＶＨ及びＶＬのＣＤＲ１及びＣＤＲ２の長さ、又は同一のＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、ＬＣＤＲ３、ＨＣＤＲ１、及びＨＣＤＲ２の標準構造に基づいて選択され得る。好適なフレームワークは、公知の方法、例えば、米国特許第８，７４８，３５６号に記載のヒトフレームワーク適応又は米国特許第７，７０９，２２６号に記載の超ヒト化を用いて選択され得る。

【０１９２】

親抗体及び遺伝子操作を受けた抗体のフレームワーク配列を、更に、例えば米国特許第６，１８０，３７０号に記載のとおり、復帰突然変異によって更に改変して、生成される抗体の抗原への結合を回復及び／又は改善させることができる。親抗体又は遺伝子操作を受けた抗体のフレームワーク配列を、更に、フレームワーク領域内の（あるいは１つ以上のＣＤＲ領域内の）１つ以上の残基を変異させることによって改変して、Ｔ細胞エピトープを除去し、それにより抗体の潜在的な免疫原性を低減することもできる。このアプローチは「脱免疫」とも呼ばれ、米国特許出願公開第２００７００１４７９６号に更に詳述されている。

【０１９３】

本明細書において提供する抗体又はその抗原結合断片のＣＤＲ残基を変異させて、抗体のＰＤ－１に対する親和性を改善することができる。

【０１９４】

本明細書において提供する抗体又はその抗原結合断片のＣＤＲ残基を変異させて、翻訳後修飾のリスクを最小限にすることができる。脱アミノ化（ＮＳ）、酸触媒加水分解（ＤＰ）、異性化（ＤＳ）、又は酸化（Ｗ）についての推定モチーフのアミノ酸残基を天然のアミノ酸のいずれかで置換して、当該モチーフの突然変異を誘発することができ、得られた抗体を、本明細書に記載の方法を用いて、その機能及び安定性について試験することができる。

【０１９５】

改変により安定性、選択性、交差反応性、親和性、免疫原性、又は他の望ましい生物学的若しくは生物物理学的性質が改善された、本明細書において提供する、ＰＤ－１に特異

的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、本発明の範囲内である。抗体の安定性は、分子内力及び分子間力の中でも特に、（１）固有の安定性に影響を及ぼす個々のドメインのコアパッキング、（２）ＨＣとＬＣとの対合に影響するタンパク質／タンパク質界面相互作用、（３）極性残基及び帯電残基の埋没、（４）極性残基及び帯電残基の水素（Ｈ）結合ネットワーク、並びに（５）表面電荷及び極性残基の分布、を含む、多くの要因によって影響を受ける（Ｗｏｒｎ ｅｔ ａｌ．，（２００１）Ｊ Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ ３０５：９８９－１０１０）。構造を不安定化させる可能性のある残基は、抗体の結晶構造に基づいて、又は場合によっては分子モデリングによって同定することができ、また、抗体の安定性に対する残基の効果は、同定された残基において変異を保有する変異体を作製及び評価することによって試験することができる。示差走査熱量測定法（ＤＳＣ）で測定する場合、抗体の安定性を高める方法の１つは、変性の中点温度（T_m）を高くすることである。一般に、タンパク質のT_mは、その安定性と相関しており、溶液中でのアンフォールディング及び変性のしやすさ、並びにそのタンパク質がアンフォールディングする傾向に応じた分解プロセスとは逆相関する（Ｒｅｍｍｅｌｅ ｅｔ ａｌ．，（２０００）Ｂｉｏｐｈａｒｍ １３：３６－４６）。多数の研究で、ＤＳＣによって熱安定性として測定された配合物（ｆｏｒｍｕｌａｔｉｏｎｓ）の物理的安定性のランク付けと他の方法によって測定された物理的安定性との間に相関が見出されている（Ｇｕｐｔａ ｅｔ ａｌ．，（２００３）ＡＡＰＳ ＰｈａｒｍＳｃｉ ５Ｅ８；Ｚｈａｎｇ ｅｔ ａｌ．，２００４）Ｊ Ｐｈａｒｍ Ｓｃｉ ９３：３０７６－８９；Ｍａａ ｅｔ ａｌ．，（１９９６）Ｉｎｔ Ｊ Ｐｈａｒｍ １４０：１５５－６８；Ｂｅｄｕ－Ａｄｄｏ ｅｔ ａｌ．，（２００４）Ｐｈａｒｍ Ｒｅｓ ２１：１３５３－６１；Ｒｅｍｍｅｌｅ ｅｔ ａｌ．，（１９９７）Ｐｈａｒｍ Ｒｅｓ １５：２００－８）。配合物の研究により、ＦａｂのＴ$_m$は、対応するｍＡｂの長期物理的安定性と密接な関係があることが示唆されている。

【０１９６】

抗体アイソタイプ、アロタイプ、及びＦｃ改変抗体

本明細書において提供する、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、野生型又は改変Ｆｃを有する、任意の既知のアイソタイプ又はアロタイプのものであることができる。

【０１９７】

いくつかの実施形態では、本明細書において提供する、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片はＩｇＧ１アイソタイプである。

【０１９８】

いくつかの実施形態では、本明細書において提供する、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片はＩｇＧ２アイソタイプである。

【０１９９】

いくつかの実施形態では、本明細書において提供する、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片はＩｇＧ３アイソタイプである。

【０２００】

いくつかの実施形態では、本明細書において提供する、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片はＩｇＧ４アイソタイプである。

【０２０１】

Ｃ末端リジン（ＣＴＬ）は、注入された抗体から、血流中の内因性循環カルボキシペプチダーゼによって除去され得る（Ｃａｉ ｅｔ ａｌ．，（２０１１）Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ Ｂｉｏｅｎｇ １０８：４０４－４１２）。製造中、米国特許出願公開第２０１４０２７３０９２号に記載のとおり、細胞外Zn^{2+}、ＥＤＴＡ、又はＥＤＴＡ－Fe^{3+}の濃度を制御することによって、ＣＴＬの除去を最高レベル未満に制御することができる。抗体のＣＴＬ含量は、公知の方法を用いて測定することができる。

【０２０２】

いくつかの実施形態では、本明細書において提供する、ＰＤ－１に特異的に結合する抗

体、又はその抗原結合断片は、約１０％～約９０％のＣ末端リジン含有量を有する。いくつかの実施形態では、Ｃ末端リジン含有量は約２０％～約８０％である。いくつかの実施形態では、Ｃ末端リジン含有量は約４０％～約７０％である。いくつかの実施形態では、Ｃ末端リジン含有量は約５５％～約７０％である。いくつかの実施形態では、Ｃ末端リジン含有量は約６０％である。

【０２０３】

治療用抗体の免疫原性は、注入反応のリスク増大及び治療応答の期間短縮に関連している（Ｂａｅｒｔ ｅｔ ａｌ．，（２００３）Ｎ Ｅｎｇｌ Ｊ Ｍｅｄ ３４８：６０２－０８）。宿主において治療用抗体が免疫応答を誘導する程度は、抗体のアロタイプによって部分的に決定され得る（Ｓｔｉｃｋｌｅｒ ｅｔ ａｌ．，（２０１１）Ｇｅｎｅｓ ａｎｄ Ｉｍｍｕｎｉｔｙ １２：２１３－２１）。抗体のアロタイプは、抗体の定常領域配列における特定の位置のアミノ酸配列の変異に関連する。表２は、選択ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、及びＩｇＧ４アロタイプを示す。

【０２０４】

いくつかの実施形態では、本明細書において提供する、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、Ｇ２ｍ（ｎ）アロタイプである。

【０２０５】

いくつかの実施形態では、本明細書において提供する、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、Ｇ２ｍ（ｎ－）アロタイプである。

【０２０６】

いくつかの実施形態では、本明細書において提供する、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、Ｇ２ｍ（ｎ）／（ｎ－）アロタイプである。

【０２０７】

いくつかの実施形態では、本明細書において提供する、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、ｎＧ４ｍ（ａ）アロタイプである。

【０２０８】

いくつかの実施形態では、本明細書において提供する、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、Ｇ１ｍ（１７，１）アロタイプである。

【０２０９】

【表２】

表２．

アロタイプ	多様な位置におけるアミノ酸残基（残基の付番：EUインデックス）							
	IgG2		IgG4		IgG1			
	189	282	309	422	214	356	358	431
G2m(n)	T	M						
G2m(n－)	P	V						
G2m(n)／(n－)	T	V						
nG4m(a)			L	R				
G1m(17)					K	E	M	A
G1m(17, 1)					K	D	L	A

【０２１０】

Ｆｃ変異を、本明細書において提供する、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片に加え、ＡＤＣＣ、ＡＤＣＰ、及び／又はＡＤＣＰ、及び／又は薬物動態特性などの抗体エフェクター機能を制御することができる。このことは、変異をＦｃに導入して、変異Ｆｃの、活性化ＦｃγＲｓ（ＦｃγＲＩ、ＦｃγＲＩＩａ、ＦｃγＲＩＩＩ）、阻害性ＦｃγＲＩＩｂ、及び／又はＦｃＲｎへの結合を制御することにより達成可能である。

【０２１１】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、抗体Ｆｃに少なくとも１つの変異を含む。

【０２１２】
いくつかの実施形態では、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、Ｆｃに１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、又は１５個の変異を含む。
【０２１３】
いくつかの実施形態では、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、Ｆｃに、抗体のＦｃＲｎへの結合を制御する少なくとも１つの変異を含む。
【０２１４】
変異により抗体の半減期（例えば、ＦｃＲｎへの結合）を制御することが可能なＦｃの位置としては、位置２５０、２５２、２５３、２５４、２５６、２５７、３０７、３７６、３８０、４２８、４３４、及び４３５が挙げられる。単独で、又は組み合わせで行われることができる例示的な変異は、変異Ｔ２５０Ｑ、Ｍ２５２Ｙ、Ｉ２５３Ａ、Ｓ２５４Ｔ、Ｔ２５６Ｅ、Ｐ２５７Ｉ、Ｔ３０７Ａ、Ｄ３７６Ｖ、Ｅ３８０Ａ、Ｍ４２８Ｌ、Ｈ４３３Ｋ、Ｎ４３４Ｓ、Ｎ４３４Ａ、Ｎ４３４Ｈ、Ｎ４３４Ｆ、Ｈ４３５Ａ、及びＨ４３５Ｒである。本明細書において提供する抗体の半減期を増加させるために加えることができる、例示的な単独又は組み合わせの変異は、変異Ｍ４２８Ｌ／Ｎ４３４Ｓ、Ｍ２５２Ｙ／Ｓ２５４Ｔ／Ｔ２５６Ｅ、Ｔ２５０Ｑ／Ｍ４２８Ｌ、Ｎ４３４Ａ、及びＴ３０７Ａ／Ｅ３８０Ａ／Ｎ４３４Ａである。本明細書において提供する抗体の半減期を低下させるために加えることができる、例示的な単独又は組み合わせの変異は、変異Ｈ４３５Ａ、Ｐ２５７Ｉ／Ｎ４３４Ｈ、Ｄ３７６Ｖ／Ｎ４３４Ｈ、Ｍ２５２Ｙ／Ｓ２５４Ｔ／Ｔ２５６Ｅ／Ｈ４３３Ｋ／Ｎ４３４Ｆ、Ｔ３０８Ｐ／Ｎ４３４Ａ、及びＨ４３５Ｒである。
【０２１５】
いくつかの実施形態では、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、変異Ｍ２５２Ｙ／Ｓ２５４Ｔ／Ｔ２５６Ｅを含む。
【０２１６】
いくつかの実施形態では、ＰＤ－１又はその抗原結合断片に特異的に結合する抗体は、抗体Ｆｃに、抗体の、活性化ＦｃγＲ受容体（ＦｃγＲ）への結合を低下させる、かつ／又は、Ｃ１ｑ結合、補体依存性細胞傷害（ＣＤＣ）、抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ）、若しくはファゴサイトーシス（ＡＤＣＰ）などのＦｃエフェクター機能を低下させる、少なくとも１つの変異を含む。
【０２１７】
抗体の、活性化ＦｃγＲへの結合を低下させた後、エフェクター機能を低下させるために変異可能なｆｃ位置としては、位置２１４、２３３、２３４、２３５、２３６、２３７、２３８、２６５、２６７、２６８、２７０、２９５、２９７、３０９、３２７、３２８、３２９、３３０、３３１、及び３６５が挙げられる。単独で、又は組み合わせで加えることができる例示的な変異は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、又はＩｇＧ４における、変異Ｋ２１４Ｔ、Ｅ２３３Ｐ、Ｌ２３４Ｖ、Ｌ２３４Ａ、Ｇ２３６の欠失、Ｖ２３４Ａ、Ｆ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、Ｇ２３７Ａ、Ｐ２３８Ａ、Ｐ２３８Ｓ、Ｄ２６５Ａ、Ｓ２６７Ｅ、Ｈ２６８Ａ、Ｈ２６８Ｑ、Ｑ２６８Ａ、Ｎ２９７Ａ、Ａ３２７Ｑ、Ｐ３２９Ａ、Ｄ２７０Ａ、Ｑ２９５Ａ、Ｖ３０９Ｌ、Ａ３２７Ｓ、Ｌ３２８Ｆ、Ａ３３０Ｓ、及びＰ３３１Ｓである。ＡＤＣＣが低下した抗体をもたらす例示的な変異の組み合わせは、ＩｇＧ１における変異Ｌ２３４Ａ／Ｌ２３５Ａ、ＩｇＧ２におけるＶ２３４Ａ／Ｇ２３７Ａ／Ｐ２３８Ｓ／Ｈ２６８Ａ／Ｖ３０９Ｌ／Ａ３３０Ｓ／Ｐ３３１Ｓ、ＩｇＧ４におけるＦ２３４Ａ／Ｌ２３５Ａ、ＩｇＧ４におけるＳ２２８Ｐ／Ｆ２３４Ａ／Ｌ２３５Ａ、全てのＩｇアイソタイプにおけるＮ２９７Ａ、ＩｇＧ２におけるＶ２３４Ａ／Ｇ２３７Ａ、ＩｇＧ１におけるＫ２１４Ｔ／Ｅ２３３Ｐ／Ｌ２３４Ｖ／Ｌ２３５Ａ／Ｇ２３６欠失／Ａ３２７Ｇ／Ｐ３３１Ａ／Ｄ３６５Ｅ／Ｌ３５８Ｍ、ＩｇＧ２におけるＨ２６８Ｑ／Ｖ３０９Ｌ／Ａ３３０Ｓ／Ｐ３３１Ｓ、ＩｇＧ１におけるＳ２６７Ｅ／Ｌ３２８Ｆ、ＩｇＧ１におけるＬ２３４Ｆ／Ｌ２３５Ｅ／Ｄ２６５Ａ、ＩｇＧ１におけるＬ２３４Ａ／Ｌ２３５Ａ／Ｇ２３７Ａ／Ｐ２３８Ｓ／Ｈ２６８Ａ／Ａ３３０Ｓ／Ｐ３３１Ｓ、ＩｇＧ４におけるＳ２２８Ｐ／Ｆ

２３４Ａ／Ｌ２３５Ａ／Ｇ２３７Ａ／Ｐ２３８Ｓ、及び、ＩｇＧ４におけるＳ２２８Ｐ／Ｆ２３４Ａ／Ｌ２３５Ａ／Ｇ２３６欠失／Ｇ２３７Ａ／Ｐ２３８Ｓである。ＩｇＧ２由来の残基１１７～２６０及びＩｇＧ４由来の残基２６１～４４７を有するＦｃなどのハイブリッドＩｇＧ２／４　Ｆｃドメインを使用してもよい。

【０２１８】

ＣＤＣが低下した抗体をもたらす例示的な変異は、Ｋ３２２Ａ変異である。

【０２１９】

周知のＳ２２８Ｐ変異をＩｇＧ４抗体に加えて、ＩｇＧ４の安定性を高めることができる。

【０２２０】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－１又はその抗原結合断片に特異的に結合する抗体は、少なくとも１つの残基位置２１４、２３３、２３４、２３５、２３６、２３７、２３８、２６５、２６７、２６８、２７０、２９５、２９７、３０９、３２２、３２７、３２８、３２９、３３０、３３１、又は３６５に変異を含む。

【０２２１】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、Ｋ２１４Ｔ、Ｅ２３３Ｐ、Ｌ２３４Ｖ、Ｌ２３４Ａ、Ｇ２３６の欠失、Ｖ２３４Ａ、Ｆ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、Ｇ２３７Ａ、Ｐ２３８Ａ、Ｐ２３８Ｓ、Ｄ２６５Ａ、Ｓ２６７Ｅ、Ｈ２６８Ａ、Ｈ２６８Ｑ、Ｑ２６８Ａ、Ｎ２９７Ａ、Ａ３２７Ｑ、Ｐ３２９Ａ、Ｄ２７０Ａ、Ｑ２９５Ａ、Ｖ３０９Ｌ、Ａ３２７Ｓ、Ｌ３２８Ｆ、Ｋ３２２、Ａ３３０Ｓ、及びＰ３３１Ｓからなる群から選択される、少なくとも１つの変異を含む。

【０２２２】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、少なくとも１つの残基位置２２８、２３４、２３５、２３７、２３８、２６８、３２２、３３０、又は３３１に変異を含む。

【０２２３】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、Ｋ３２２Ａ変異を含む。

【０２２４】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、Ｓ２２８Ｐ変異を含む。

【０２２５】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－１又はその抗原結合断片に特異的に結合する抗体は、抗体Ｆｃに、抗体の、Ｆｃγ受容体（ＦｃγＲ）への結合を高める、かつ／又は、Ｃ１ｑ結合、補体依存性細胞傷害（ＣＤＣ）、抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ）、及び／若しくはファゴサイトーシス（ＡＤＣＰ）などの（Ｆｃ）エフェクター機能を高める、少なくとも１つの変異を含む。

【０２２６】

変異により、抗体の、活性化ＦｃγＲへの結合を増加させる、かつ／又は、抗体エフェクター機能を高めることができるＦｃ位置としては、位置２３６、２３９、２４３、２５６，２９０，２９２、２９８、３００、３０５、３１２、３２６、３３０、３３２、３３３、３３４、３４５、３６０、３３９、３７８、３９６、又は４３０（ＥＵインデックスに従った残基付番）が挙げられる。単独で又は組み合わせて行うことができる例示の変異は、Ｇ２３６Ａ変異、Ｓ２３９Ｄ変異、Ｆ２４３Ｌ変異、Ｔ２５６Ａ変異、Ｋ２９０Ａ変異、Ｒ２９２Ｐ変異、Ｓ２９８Ａ変異、Ｙ３００Ｌ変異、Ｖ３０５Ｌ変異、Ｋ３２６Ａ変異、Ａ３３０Ｋ変異、Ｉ３３２Ｅ変異、Ｅ３３３Ａ変異、Ｋ３３４Ａ変異、Ａ３３９Ｔ変異及びＰ３９６Ｌ変異である。ＡＤＣＣ又はＡＤＣＰが増加した抗体をもたらす、例示的な組み合わせの変異は、ＩｇＧ１における、Ｓ２３９Ｄ／Ｉ３３２Ｅ変異、Ｓ２９８Ａ／Ｅ３３３Ａ／Ｋ３３４Ａ変異、Ｆ２４３Ｌ／Ｒ２９２Ｐ／Ｙ３００Ｌ変異、Ｆ２４３Ｌ／Ｒ２９２Ｐ／Ｙ３００Ｌ／Ｐ３９６Ｌ変異、Ｆ２４３Ｌ／Ｒ２９２Ｐ／Ｙ３００Ｌ／Ｖ３

０５Ｉ／Ｐ３９６Ｌ変異、及びＧ２３６Ａ／Ｓ２３９Ｄ／Ｉ３３２Ｅ変異である。

【０２２７】

変異により、抗体のＣＤＣを高めることができるＦｃ位置としては、位置２６７、２６８、３２４、３２６、３３３、３４５、及び４３０が挙げられる。単独で又は組み合わせて行うことができる例示の変異は、Ｓ２６７Ｅ変異、Ｆ１２６８Ｆ変異、Ｓ３２４Ｔ変異、Ｋ３２６Ａ変異、Ｋ３２６Ｗ変異、Ｅ３３３Ａ変異、Ｅ３４５Ｋ変異、Ｅ３４５Ｑ変異、Ｅ３４５Ｒ変異、Ｅ３４５Ｙ変異、Ｅ４３０Ｓ変異、Ｅ４３０Ｆ変異及びＥ４３０Ｔ変異である。ＣＤＣが増加した抗体を生じる例示の変異の組み合わせは、ＩｇＧ１上のＫ３２６Ａ／Ｅ３３３Ａ変異、Ｋ３２６Ｗ／Ｅ３３３Ａ変異、Ｈ２６８Ｆ／Ｓ３２４Ｔ変異、Ｓ２６７Ｅ／Ｈ２６８Ｆ変異、Ｓ２６７Ｅ／Ｓ３２４Ｔ変異及びＳ２６７Ｅ／Ｈ２６８Ｆ／Ｓ３２４Ｔ変異である。

【０２２８】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、Ｆｃ領域に、抗体の、ＦｃγＲＩＩｂへの結合を高める少なくとも１つの変異を含む。ＦｃγＲＩＩｂへの結合が高まることにより、ＦｃγＲＩＩｂ＋　Ｂ細胞の弱毒化がもたらされ得、かつ／又は、抗体のクラスター化、及びその後の、ＰＤ－１下流シグナル伝達経路の活性化がもたらされ得る。

【０２２９】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、Ｓ２６７Ｅ変異を含む。

【０２３０】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、Ｓ２６７Ｄ変異を含む。

【０２３１】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、Ｓ２６７Ｅ／Ｉ３３２Ｅ変異を含む。

【０２３２】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、Ｓ２６７Ｅ／Ｌ３２８Ｆ変異を含む。

【０２３３】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、Ｇ２３６Ｄ／Ｓ２６７Ｅ変異を含む。

【０２３４】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、Ｐ２３８Ｄ／Ｅ２３３Ｄ／Ｇ２３７Ｄ／Ｈ２６８Ｄ／Ｐ２７１Ｇ／Ａ３３０Ｒ変異を含む。

【０２３５】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、Ｐ２３８Ｄ変異を含む。

【０２３６】

「抗体依存性細胞傷害」、「抗体依存性細胞媒介細胞傷害」、又は「ＡＤＣＣ」は、エフェクター細胞で発現されるＦｃγ受容体（ＦｃγＲ）によって、抗体被覆標的細胞の、ナチュラルキラー細胞（ＮＫ）、単球、マクロファージ、及び好中球などの溶解活性を有するエフェクター細胞との相互作用に依存して、細胞死を誘導する機序である。例えば、ＮＫ細胞はＦｃγＲＩＩＩａを発現し、一方、単球はＦｃγＲＩ、ＦｃγＲＩＩ、及びＦｃγＲＩＩＩａを発現する。本明細書において提供する抗体のＡＤＣＣ活性は、ＰＤ－１を発現する細胞を標的細胞として、そしてＮＫ細胞をエフェクター細胞として使用するインビトロアッセイを用いて評価することができる。細胞溶解は、溶解した細胞からの標識（例えば、放射性基質、蛍光染料、又は天然の細胞内タンパク質）の放出によって検出することができる。例示的なアッセイでは、標的細胞を、標的細胞１に対してエフェクター

細胞４の比で使用する。標的細胞はＢＡＴＤＡで予め標識し、エフェクター細胞及び試験抗体と組み合わせる。サンプルを２時間インキュベートし、上清に放出したＢＡＴＤＡを測定することにより、細胞溶解を測定した。０．６７％　Ｔｒｉｔｏｎ　Ｘ－１００（Ｓｉｇｍａ　Ａｌｄｒｉｃｈ）による最大の細胞傷害に対してデータを正規化し、また任意の抗体の非存在下における標的細胞からのＢＡＴＤＡの自然放出によって最小対照を求める。

【０２３７】

「抗体依存性細胞貪食作用」（「ＡＤＣＰ」）とは、例えばマクロファージ又は樹状細胞などの貪食細胞による取り込みにより、抗体被覆標的細胞を排除する機序を指す。ＡＤＣＰは、単核細胞由来のマクロファージをエフェクター細胞として使用し、Ｄａｕｄｉ細胞（ＡＴＣＣ（登録商標）ＣＣＬ－２１３（商標））又は任意の他のＰＤ－１を発現する細胞を、ＧＦＰ又は他の標識分子を発現するように改変した標的細胞として使用することにより評価されてよい。例示的なアッセイでは、エフェクター：標的細胞比は、例えば４：１とすることができる。エフェクター細胞は、本発明の抗体を添加し又は添加せずに、標的細胞と共に４時間インキュベートしてよい。インキュベーション後、細胞は、アクターゼを用いて剥離できる。マクロファージは、蛍光標識に結合した抗ＣＤ１１ｂ抗体及び抗ＣＤ１４抗体により識別され得るが、貪食作用の割合は、標準的な方法を用いて、ＣＤ１１$^{+}$及びＣＤ１４$^{+}$マクロファージにおけるＧＦＰ蛍光の割合（％）に基づいて決定され得る。

【０２３８】

「補体依存性細胞傷害」即ち「ＣＤＣ」は、標的結合抗体のＦｃエフェクタードメインが補体成分Ｃ１ｑに結合してこれを活性化し、かかる補体成分Ｃ１ｑが次に補体カスケードを活性化して標的細胞の細胞死をもたらす、細胞死を誘導するための機序を指す。補体の活性化はまた、標的細胞表面に対する補体成分の沈着を生じさせ得、白血球への補体受容体（例えば、ＣＲ３）の結合によって、ＤＣＣを容易にする。細胞のＣＤＣは、例えば、Ｄａｕｄｉ細胞を、ＲＰＭＩ－Ｂ（１％のＢＳＡを補給されたＲＰＭＩ）にウェル１つにつき１×１０^{5}個の細胞（５０μＬ／ウェル）にてプレーティングし、５０μＬの試験抗体を、０～１００μｇ／ｍＬの終濃度でウェルに添加し、反応物を１５分間室温でインキュベートし、１１μＬのプールしたヒト血清をウェルに添加し、反応物を４５分間３７℃でインキュベートすることにより測定することができる。溶解した細胞の割合（％）は、標準法を使用して、ＦＡＣＳアッセイにおけるヨウ化プロピジウム染色細胞の％として検出され得る。

【０２３９】

抗体の、ＦｃγＲ又はＦｃＲｎへの結合は、フローサイトメトリーを用いて、各受容体を発現するように改変された細胞にて評価することができる。例示の結合アッセイでは、９６ウェルプレート中１ウェル当たり２×１０^{5}個の細胞を播種し、ＢＳＡ　Ｓｔａｉｎ　Ｂｕｆｆｅｒ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｓａｎ　Ｊｏｓｅ，ＵＳＡ）中で４℃で３０分間ブロックした。細胞を、氷上で４℃で１．５時間、試験抗体と共にインキュベートする。ＢＳＡ染色緩衝液で２回洗浄した後、細胞を、Ｒ－ＰＥ標識抗ヒトＩｇＧ二次抗体（Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｉｍｍｕｎｏｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ）と共に４℃で４５分間、インキュベートする。細胞を、染色緩衝液で２回洗浄し、その後、１：２００希釈したＤＲＡＱ７生／死細胞染色試薬（Ｃｅｌｌ　Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，Ｄａｎｖｅｒｓ，ＵＳＡ）を含有する１５０μＬのＳｔａｉｎ　Ｂｕｆｆｅｒ中に再懸濁する。染色された細胞のＰＥ及びＤＲＡＱ７シグナルを、Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　ＭＡＣＳＱｕａｎｔフローサイトメーター（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃ，Ａｕｂｕｒｎ，ＵＳＡ）によって、それぞれＢ２及びＢ４チャンネルを使用して検出する。生細胞をＤＲＡＱ７除外でゲートし、収集された少なくとも１０，０００生細胞イベントについて、幾何平均蛍光シグナルを決定する。ＦｌｏｗＪｏソフトフェア（Ｔｒｅｅ　Ｓｔａｒ）を、分析のために使用した。データを、平均蛍光シグナルに対する抗体濃度の対数としてプロットする。非線形回帰分析を実施する。

【０２４０】
「高める／向上する（enhance）」又は「高まった／向上した（enhanced）」とは、変異を有しない親抗体と比較したときに、Ｆｃ領域に少なくとも１つの変異を有する本発明の抗体の、高まったエフェクター機能（例えば、ＡＤＣＣ、ＣＤＣ、及び／若しくはＡＤＣＰ）、又はＦｃγ受容体若しくはＦｃＲｎへの向上した結合を意味する。「高まった／向上した」とは、約１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、１００％、若しくはそれ以上の向上、又は統計学的に有意な向上であることができる。
【０２４１】
「低下させる」又は「低下した」とは、変異を有しない親抗体と比較したときに、Ｆｃ領域に少なくとも１つの変異を有する本発明の抗体の、低下したエフェクター機能（例えば、ＡＤＣＣ、ＣＤＣ、及び／若しくはＡＤＣＰ）、又はＦｃγ受容体（ＦｃγＲ）若しくはＦｃＲｎへの結合の低下を意味する。「低下した」とは、約１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、１００％若しくはそれ以上の低下、又は統計学的に有意な低下であることができる。
【０２４２】
「制御する」とは、変異を有しない親抗体と比較したときに、Ｆｃ領域に少なくとも１つの変異を有する本発明の抗体の、向上した若しくは低下したエフェクター機能（例えば、ＡＤＣＣ、ＣＤＣ、及び／若しくはＡＤＣＰ）のいずれか、又は、Ｆｃγ受容体（ＦｃγＲ）若しくはＦｃＲｎへの結合の向上若しくは低下のいずれかを意味する。
【０２４３】
糖改変抗体
ＡＤＣＣを誘導するモノクローナル抗体の能力は、そのオリゴ糖成分を操作することにより増強され得る。ヒトＩｇＧ１又はＩｇＧ３は、Ａｓｎ２９７においてＮ－グリコシル化される。ここで、グリカンの大部分は、公知の二分岐Ｇ０、Ｇ０Ｆ、Ｇ１、Ｇ１Ｆ、Ｇ２、又はＧ２Ｆの形態である。遺伝子操作されていないＣＨＯ細胞により生成される抗体は、典型的には、少なくとも約８５％のグリカンフコース含量を有する。Ｆｃ領域に付加された二分岐の複合体型オリゴ糖からのコアフコースの除去は、抗原結合又はＣＤＣ活性を変更することなく、ＦｃγＲＩＩＩａ結合の改善によって抗体のＡＤＣＣを増強する。このようなｍＡｂは、二分岐の複雑なタイプのＦｃオリゴ糖を有する、比較的高い脱フコシル化抗体の成功した発現をもたらすことが報告された種々の方法、例えば、培養物浸透圧の制御（Ｋｏｎｎｏ ｅｔ ａｌ．，Ｃｙｔｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ６４（：２４９－６５，２０１２）、多様体ＣＨＯ株Ｌｅｃ１３を宿主細胞株として適用すること（Ｓｈｉｅｌｄｓ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ ２７７：２６７３３－２６７４０，２００２）、多様体ＣＨＯ株ＥＢ６６を宿主細胞株として適用すること（Ｏｌｉｖｉｅｒ ｅｔ ａｌ．，ＭＡｂｓ；２（４）：４０５－４１５，２０１０；ＰＭＩＤ：２０５６２５８２）、ラットハイブリドーマ細胞ＹＢ２／０を宿主細胞株として適用すること（Ｓｈｉｎｋａｗａ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ ２７８：３４６６－３４７３，２００３）、低分子干渉ＲＮＡを、１，６－フコシルトランスフェラーゼ（ＦＵＴ８）遺伝子に対して特異的に導入すること（Ｍｏｒｉ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ Ｂｉｏｅｎｇ ８８：９０１－９０８，２００４）、又は、β－１，４－Ｎ－アセチルグルコサミン転移酵素ＩＩＩ、及びゴルジα－マンノシダーゼＩＩ又は潜在的なα－マンノシダーゼＩ阻害剤であるキフネンシン（Ｆｅｒｒａｒａ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ ２８１：５０３２－５０３６，２００６，Ｆｅｒｒａｒａ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ Ｂｉｏｅｎｇ ９３：８５１－８６１，２００６；Ｘｈｏｕ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ Ｂｉｏｅｎｇ ９９：６５２－６５，２００８）を使用して達成することができる。
【０２４４】
本明細書で説明されるいくつかの実施形態では、本発明の抗体は、フコース含量が約１％～約１５％、例えば約１５％、１４％、１３％、１２％、１１％ １０％、９％、８％

、７％、６％、５％、４％、３％、２％、又は１％の二分岐グリカン構造を有する。いくつかの実施形態では、本発明の抗体は、フコース含量が約５０％、４０％、４５％、４０％、３５％、３０％、２５％、又は２０％のグリカン構造を有する。

【０２４５】

「フコース含量」とは、Ａｓｎ２９７における糖鎖内のフコース単糖類の量を意味する。フコースの相対量は、フコース含有構造の全糖構造に対する割合である。これらの糖構造は、複数の方法、例えば、１）国際公開第２００８／０７７５４６２号に記載されるような、Ｎ－グリコシダーゼＦ処理試料（例えば、複合体、ハイブリッド、及びオリゴ－並びに高マンノース構造）のＭＡＬＤＩ－ＴＯＦの使用、２）Ａｓｎ２９７グリカンの酵素放出、その後の誘導体化、並びに蛍光検出を備えたＨＰＬＣ（ＵＰＬＣ）及び／又はＨＰＬＣ－ＭＳ（ＵＰＬＣ－ＭＳ）による検出／定量化、３）第１のＧｌｃＮＡｃ単糖類と第２のＧｌｃＮＡｃ単糖類との間を切断し、フコースを第１のＧｌｃＮＡｃに付加されたままにさせる、Ｅｎｄｏ　Ｓ又は他の酵素によるＡｓｎ２９７グリカンの処理を伴うか又はこの処理なしでの、天然又は還元ｍＡｂのインタクトプロテイン分析、４）酵素消化（例えば、トリプシン又はエンドペプチダーゼＬｙｓ－Ｃ）によるｍＡｂの構成ペプチドへの消化、その後のＨＰＬＣ－ＭＳ（ＵＰＬＣ－ＭＳ）による分離、検出及び定量、５）Ａｓｎ２９７にＰＮＧａｓｅ　Ｆを有する特異的な酵素脱グリコシル化により、ｍＡｂタンパク質からｍＡｂオリゴ糖を分離すること、により特性決定及び定量化可能である。このように放出されるオリゴ糖は、フルオロフォアで標識され、分離され、グリカン構造の細かな特性評価を可能にする様々な補足的技術、即ち、実測された質量の理論上の質量との比較によるマトリクス支援レーザー脱離イオン化（ＭＡＬＤＩ）質量分析、イオン交換ＨＰＬＣ（ＧｌｙｃｏＳｅｐ　Ｃ）によるシアル化の程度の決定、順相ＨＰＬＣ（ＧｌｙｃｏＳｅｐ　Ｎ）による親水性基準に準拠するオリゴ糖型の分離及び定量、並びに高性能キャピラリー電気泳動－レーザー誘起蛍光（ＨＰＣＥ－ＬＩＦ）によるオリゴ糖の分離及び定量によって特定することが可能である。

【０２４６】

本明細書で使用する場合、「低フコース」又は「低フコース含量」とは、約１％～１５％のフコース含量を有する抗体を意味する。

【０２４７】

本明細書で使用するところの「正常なフコース」又は「正常なフコース含量」とは、抗体が約５０％を超える、通常８０％を超える、又は８５％を超えるフコース含量を有することを指す。

【０２４８】

抗イディオタイプ抗体

抗イディオタイプ抗体とは、本明細書にて開示したＰＤ－１に特異的に結合する抗体に特異的に結合する、抗体である。

【０２４９】

本発明はまた、本明細書において提供するＰＤ－１に特異的に結合する抗体に特異的に結合する、抗イディオタイプ抗体も提供する。

【０２５０】

本発明はまた、

配列番号８のＶＨ及び配列番号１４のＶＬ、
配列番号９のＶＨ及び配列番号１５のＶＬ、
配列番号９のＶＨ及び配列番号１６のＶＬ、
配列番号１０のＶＨ及び配列番号１６のＶＬ、
配列番号１４０のＶＨ及び配列番号１６のＶＬ、
配列番号１４１のＶＨ及び配列番号１６のＶＬ、
配列番号１４２のＶＨ及び配列番号１６のＶＬ、
配列番号１０のＶＨ及び配列番号１４３のＶＬ、
配列番号１０のＶＨ及び配列番号１４４のＶＬ、

配列番号１４０のＶＨ及び配列番号１４３のＶＬ、
配列番号１４１のＶＨ及び配列番号１４３のＶＬ、
配列番号１４２のＶＨ及び配列番号１４３のＶＬ、
配列番号１４０のＶＨ及び配列番号１４４のＶＬ、
配列番号１４１のＶＨ及び配列番号１４４のＶＬ、
配列番号１４２のＶＨ及び配列番号１４４のＶＬ、
配列番号４４のＶＨ及び配列番号６０のＶＬ、
配列番号４５のＶＨ及び配列番号６１のＶＬ、
配列番号４５のＶＨ及び配列番号６２のＶＬ、
配列番号４６のＶＨ及び配列番号６１のＶＬ、
配列番号４７のＶＨ及び配列番号６１のＶＬ、
配列番号４８のＶＨ及び配列番号６１のＶＬ、
配列番号４９のＶＨ及び配列番号６１のＶＬ、
配列番号５０のＶＨ及び配列番号６１のＶＬ、
配列番号５１のＶＨ及び配列番号６１のＶＬ、
配列番号９４のＶＨ及び配列番号９８のＶＬ、
配列番号９５のＶＨ及び配列番号９９のＶＬ、若しくは
配列番号９５のＶＨ及び配列番号１００のＶＬ、
を含む抗体に特異的に結合する、抗イディオタイプ抗体も提供する。

【０２５１】

抗イディオタイプ（Ｉｄ）抗体は、抗体の抗原決定基（例えば、パラトープ又はＣＤＲ）を認識する抗体である。Ｉｄ抗体は、抗原をブロッキングするものであっても、しないものであってもよい。抗原を遮断するＩｄを使用して、サンプル中の遊離抗体（例えば、本明細書に記載される本発明の抗ＰＤ－１抗体）を検出することができる。ブロッキングしないＩｄを使用して、サンプル中の全抗体（遊離しているもの、抗原に一部結合しているもの、又は抗原に完全に結合しているもの）を検出することができる。Ｉｄ抗体は、抗Ｉｄが調製されている抗体で動物を免疫することによって調製することができる。

【０２５２】

また、更に別の動物で免疫応答を誘導する免疫原として抗Ｉｄ抗体を使用して、いわゆる抗－抗Ｉｄ抗体を生成することもできる。抗－抗Ｉｄは、抗Ｉｄを誘導した元のｍＡｂとエピトープが同一であり得る。したがって、ｍＡｂのイディオタイプ決定基に対する抗体を使用することによって、同一の特異性の抗体を発現する他のクローンを同定することが可能である。抗Ｉｄ抗体は様々であってよく（これにより抗Ｉｄ抗体多様体が産生される）、及び／又はＰＤ－１に特異的に結合する抗体に関して本明細書の他の箇所に記載されているものなどの任意の好適な技術によって誘導体化してもよい。

【０２５３】

本明細書において提供する、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体の複合体

本発明はまた、異種分子と複合体化した、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体又はその抗原結合断片を含む、免疫複合体も提供する。

【０２５４】

いくつかの実施形態では、異種分子は、検出可能な標識又は細胞毒性剤である。

【０２５５】

本発明はまた、検出可能な標識と複合体化した、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片も提供する。

【０２５６】

本発明はまた、細胞毒性剤と複合体化した、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片も提供する。

【０２５７】

ＰＤ－１に結合する抗体又はその抗原結合断片を使用して、治療薬をＰＤ－１を発現する細胞に向けることができる。ＰＤ－１を過剰発現する活性化Ｔ細胞などの細胞を、ＰＤ

－１抗体の内在化の際に細胞を殺傷する細胞毒性剤と複合体化した、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体を用いて標的化することができる。あるいは、一度内在化すると細胞機能を改変するように意図される治療薬と結合したＰＤ－１抗体を用いて、ＰＤ－１を発現する細胞を標的化することができる。

【０２５８】

いくつかの実施形態では、検出可能な標識は細胞毒性剤でもある。

【０２５９】

検出可能な標識と複合体化した、本明細書において提供する、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片を使用して、様々なサンプルにおけるＰＤ－１の発現を評価することができる。

【０２６０】

検出可能な標識としては、本明細書において提供する、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片と複合体化したときに、分光学的手段、光化学的手段、生化学的手段、免疫化学的、又は化学的手段により、後者を検出可能にする組成物が挙げられる。

【０２６１】

代表的な検出可能な標識としては、放射性同位体、磁気ビーズ、金属ビーズ、コロイド粒子、蛍光染料、電子密度試薬、酵素（例えば、一般的にＥＬＩＳＡにおいて使用される）、ビオチン、ジゴキシゲニン、ハプテン、発光分子、化学発光分子、蛍光色素、フルオロフォア、蛍光消光剤、有色分子、放射性同位体、シンシレート（scintillates）、アビジン、ストレプトアビジン、プロテインＡ、プロテインＧ、抗体又はその断片、ポリヒスチジン、Ni^{2+}、Ｆｌａｇタグ、ｍｙｃタグ、重金属、酵素、アルカリホスファターゼ、ペルオキシダーゼ、ルシフェラーゼ、電子供与体／受容体、アクリジニウムエステル、及び比色基質が挙げられる。

【０２６２】

検出可能な標識は、例えば、検出可能な標識が放射性同位体であるときなど、自発的にシグナルを発し得る。他の場合、検出可能な標識は、外部場によって刺激された結果として、シグナルを発する。

【０２６３】

例示的な放射性同位体は、γ放出、オージェ放出、β放出、アルファ放出、又はポジトロン放出性の放射性同位体であり得る。例示的な放射性同位体としては、^{3}H、^{11}C、^{13}C、^{15}N、^{18}F、^{19}F、^{55}Co、^{57}Co、^{60}Co、^{61}Cu、^{62}Cu、^{64}Cu、^{67}Cu、^{68}Ga、^{72}As、^{75}Br、^{86}Y、^{89}Zr、^{90}Sr、^{94m}Tc、^{99m}Tc、^{115}In、^{123}I、^{124}I、^{125}I、^{131}I、^{211}At、^{212}Bi、^{213}Bi、^{223}Ra、^{226}Ra、^{225}Ac、及び^{227}Acが挙げられる。

【０２６４】

例示的な金属原子は、２０超の原子番号を有する金属、例えば、カルシウム原子、スカンジウム原子、チタン原子、バナジウム原子、クロム原子、マンガン原子、鉄原子、コバルト原子、ニッケル原子、銅原子、亜鉛原子、ガリウム原子、ゲルマニウム原子、ヒ素原子、セレン原子、臭素原子、クリプトン原子、ルビジウム原子、ストロンチウム原子、イットリウム原子、ジルコニウム原子、ニオブ原子、モリブデン原子、テクネチウム原子、ルテニウム原子、ロジウム原子、パラジウム原子、銀原子、カドミウム原子、インジウム原子、スズ原子、アンチモン原子、テルル原子、ヨウ素原子、キセノン原子、セシウム原子、バリウム原子、ランタン原子、ハフニウム原子、タンタル原子、タングステン原子、レニウム原子、オスミウム原子、イリジウム原子、白金原子、金原子、水銀原子、タリウム原子、鉛原子、ビスマス原子、フランシウム原子、ラジウム原子、アクチニウム原子、セリウム原子、プラセオジム原子、ネオジム原子、プロメチウム原子、サマリウム原子、ユウロピウム原子、ガドリニウム原子、テルビウム原子、ジスプロシウム原子、ホルミウム原子、エルビウム原子、ツリウム原子、イッテルビウム原子、ルテチウム原子、トリウ

ム原子、プロトアクチニウム原子、ウラン原子、ネプツニウム原子、プルトニウム原子、アメリシウム原子、キュリウム原子、バーケリウム原子、カリホルニウム原子、アインスタイニウム原子、フェルミウム原子、メンデレビウム原子、ノーベリウム原子、又はローレンシウム原子である。

【０２６５】

いくつかの実施形態では、金属原子は、２０超の原子番号を有するアルカリ土類金属であり得る。

【０２６６】

いくつかの実施形態では、金属原子は、ランタニドであり得る。

【０２６７】

いくつかの実施形態では、金属原子は、アクチニドであり得る。

【０２６８】

いくつかの実施形態では、金属原子は、遷移金属であり得る。

【０２６９】

いくつかの実施形態では、金属原子は、卑金属であり得る。

【０２７０】

いくつかの実施形態では、金属原子は、金原子、ビスマス原子、タンタル原子、及びガドリニウム原子であり得る。

【０２７１】

いくつかの実施形態では、金属原子は、５３（即ち、ヨウ素）～８３（即ち、ビスマス）の原子番号を有する金属であり得る。

【０２７２】

いくつかの実施形態では、金属原子は、磁気共鳴映像法に好適な原子であり得る。

【０２７３】

金属原子は、＋１、＋２、又は＋３の酸化状態の形態の金属イオン、例えば、Ba^{2+}、Bi^{3+}、Cs^{+}、Ca^{2+}、Cr^{2+}、Cr^{3+}、Cr^{6+}、Co^{2+}、Co^{3+}、Cu^{+}、Cu^{2+}、Cu^{3+}、Ga^{3+}、Gd^{3+}、Au^{+}、Au^{3+}、Fe^{2+}、Fe^{3+}、F^{3+}、Pb^{2+}、Mn^{2+}、Mn^{3+}、Mn^{4+}、Mn^{7+}、Hg^{2+}、Ni^{2+}、Ni^{3+}、Ag^{+}、Sr^{2+}、Sn^{2+}、Sn^{4+}、及びZn^{2+}であり得る。金属原子は、金属酸化物、例えば、酸化鉄、酸化マンガン、又は酸化ガドリニウムを含み得る。

【０２７４】

好適な色素としては、例えば、５（６）－カルボキシフルオレセイン、ＩＲＤｙｅ　６８０ＲＤマレイミド、又はＩＲＤｙｅ　８００ＣＷ、ルテニウムポリピリジル色素などの任意の市販の色素が挙げられる。

【０２７５】

好適なフルオロフォアは、フルオレセインイソチオシアネート（ＦＩＴＣ）、フルオレセインチオセミカルバジド、ローダミン、Ｔｅｘａｓ　Ｒｅｄ、ＣｙＤｙｅｓ（例えば、Ｃｙ３、Ｃｙ５、Ｃｙ５．５）、Ａｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒｓ（例えば、Ａｌｅｘａ４８８、Ａｌｅｘａ５５５、Ａｌｅｘａ５９４、Ａｌｅｘａ６４７）、近赤外（ＮＩＲ）（７００～９００ｎｍ）蛍光染料、並びにカルボシアニン及びアミノスチリル染料である。

【０２７６】

検出可能な標識と複合体化した、本明細書において提供する、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片を、造影剤として使用することができる。

【０２７７】

いくつかの実施形態では、本明細書において提供する、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片は、細胞毒性剤と複合体化されている。

【０２７８】

いくつかの実施形態では、細胞毒性剤は、化学療法剤、薬物、増殖阻害剤、毒素（例えば、細菌、真菌、植物、若しくは動物由来の酵素活性を有する毒素、又はその断片）、又

は放射性同位体（即ち、放射性複合体）である。
【０２７９】
いくつかの実施形態では、細胞毒性剤は、ダウノマイシン、ドキソルビシン、メトトレキサート、ビンデシン、ジフテリア毒素などの細菌毒素、リシン、ゲルダナマイシン、マイタンシノイド、又はカリケアマイシンである。細胞毒性剤は、チューブリン結合、ＤＮＡ結合、又はトポイソメラーゼ阻害を含む機構によってその細胞毒性又は細胞増殖抑制作用を引き起こし得る。
【０２８０】
いくつかの実施形態では、細胞毒性剤は、ジフテリアＡ鎖、ジフテリア毒素の非結合活性断片、外毒素Ａ鎖（緑膿菌（Pseudomonas aeruginosa）由来）、リシンＡ鎖、アブリンＡ鎖、モデシンＡ鎖、α－サルシン、アレウリテス・フォルディ（Aleurites fordii）タンパク質、ジアンチンタンパク質、フィトラカ・アメリカナ（Phytolaca americana）タンパク質（ＰＡＰＩ、ＰＡＰＩＩ、及びＰＡＰ－Ｓ）、モモルディカ・カランティア（momordica charantia）阻害剤、クルシン、クロチン、サパオナリア・オフィシナリス（sapaonaria officinalis）阻害剤、ゲロニン、ミトゲリン、レストリクトシン、フェノマイシン、エノマイシン、及びトリコテセンなどの酵素活性を有する毒素である。
【０２８１】
いくつかの実施形態では、細胞毒性剤は、^{212}Ｂｉ、^{131}Ｉ、^{131}Ｉｎ、^{90}Ｙ、及び^{186}Ｒｅなどの放射性核種である。
【０２８２】
いくつかの実施形態では、細胞毒性剤は、ドラスタチン又はドラスタチンのペプチド類似体及び誘導体、アウリスタチン又はモノメチルアウリスタチンフェニルアラニンである。代表的な分子は、米国特許第５，６３５，４８３号及び同第５，７８０，５８８号に開示されている。ドラスタチン及びオーリスタチンは、微小管の動力学、ＧＴＰの加水分解、並びに核及び細胞分裂と干渉することが示されており（Ｗｏｙｋｅ ｅｔ ａｌ（２００１）Ａｎｔｉｍｉｃｒｏｂ Ａｇｅｎｔｓ ａｎｄ Ｃｈｅｍｏｔｈｅｒ．４５（１２）：３５８０－３５８４）、抗癌及び抗カビ活性を有することが示されている。ドラスタチン及びアウリスタチン薬剤部位は、ペプチド薬剤部位のＮ（アミノ）末端若しくはＣ（カルボキシル）末端を介して（国際公開第０２／０８８１７２号）、又は抗体内に改変により加えられた任意のシステインを介して、本発明の抗体に結合することができる。
【０２８３】
本明細書において提供する、ＰＤ－１に特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片は、既知の方法を使用して検出可能な標識と複合体化することができる。
【０２８４】
いくつかの実施形態では、検出可能な標識は、キレート剤と複合体を形成している。
【０２８５】
いくつかの実施形態では、検出可能な標識はリンカーを介して、本明細書において提供する、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片と複合体化される。
【０２８６】
検出可能な標識又は細胞傷害性部分は、既知の方法を使用して、本明細書において提供するＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片に、直接、又は間接的に結合することができる。好適なリンカーは、当該技術分野において既知であり、例えば、補欠分子族、非フェノールリンカー（Ｎ－スクシミジル－ベンゾアートの誘導体；ドデカボラート）、大環状及び非環式の両キレート剤のキレート部分、例えば、１，４，７，１０－テトラアザシクロドデカン－１，４，７，１０，四酢酸（ＤＯＴＡ）の誘導体、ジエチレントリアミン五酢酸（ＤＴＰＡ）の誘導体、Ｓ－２－（４－イソチオシアナトベンジル）－１，４，７－トリアザシクロノナン－１，４，７－三酢酸（ＮＯＴＡ）の誘導体、及び１，４，８，１１－テトラアザシクロドデカン－１，４，８，１１－四酢酸（ＴＥＴＡ）の誘導体、Ｎ－スクシンイミジル－３－（２－ピリジルジチオール）プロピオナート（ＳＰＤＰ）、イミノチオラン（ＩＴ）、イミドエステルの二官能性誘導体（例えば、ジメ

チルアジピミダートＨＣｌ）、活性エステル（例えば、ジスクシンイミジルスベラート）、アルデヒド（例えば、グルタルアルデヒド）、ビスアジド化合物（例えば、ビス（ｐ－アジドベンゾイル）ヘキサンジアミン）、ビス－ジアゾニウム誘導体（例えば、ビス－（ｐ－ジアゾニウムベンゾイル）－エチレンジアミン）、ジイソシアナート（例えば、トルエン２，６－ジイソシアナート）、及びビス－活性フッ素化合物（例えば、１，５－ジフルオロ－２，４－ジニトロベンゼン）、並びに他のキレート部分が挙げられる。好適なペプチドリンカーは周知である。

【０２８７】

いくつかの実施形態では、本明細書において提供する、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、腎クリアランスにより血液から取り除かれる。

【０２８８】

キット

本発明はまた、本明細書にて開示した、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片を含むキットも提供する。

【０２８９】

キットは、治療的使用のために、及び診断キットとして使用することができる。

【０２９０】

キットを使用して、サンプル中でのＰＤ－１の存在を検出することができる。

【０２９１】

いくつかの実施形態では、キットは、本明細書において提供する、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片、及び、その抗体を検出するための試薬を含む。キットは、使用説明書；他の試薬、例えば、標識、治療薬、又はキレート化ないしは別の方法のカップリングに有用な剤、標識若しくは治療薬に対する抗体、又は放射線防護組成物；投与するために当該抗体を調製するための装置又は他の材料；医薬的に許容される担体；及び対象に投与するための装置又は他の材料を含む、１つ以上の他の構成要素を含み得る。

【０２９２】

いくつかの実施形態では、キットは、容器に入った、本明細書において提供する、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片、及び、そのキットを使用するための取扱説明書を含む。

【０２９３】

いくつかの実施形態では、キットにおける抗体は標識されている。

【０２９４】

いくつかの実施形態では、キットは、

配列番号８のＶＨ及び配列番号１４のＶＬ、
配列番号９のＶＨ及び配列番号１５のＶＬ、
配列番号９のＶＨ及び配列番号１６のＶＬ、
配列番号１０のＶＨ及び配列番号１６のＶＬ、
配列番号１４０のＶＨ及び配列番号１６のＶＬ、
配列番号１４１のＶＨ及び配列番号１６のＶＬ、
配列番号１４２のＶＨ及び配列番号１６のＶＬ、
配列番号１０のＶＨ及び配列番号１４３のＶＬ、
配列番号１０のＶＨ及び配列番号１４４のＶＬ、
配列番号１４０のＶＨ及び配列番号１４３のＶＬ、
配列番号１４１のＶＨ及び配列番号１４３のＶＬ、
配列番号１４２のＶＨ及び配列番号１４３のＶＬ、
配列番号１４０のＶＨ及び配列番号１４４のＶＬ、
配列番号１４１のＶＨ及び配列番号１４４のＶＬ、
配列番号１４２のＶＨ及び配列番号１４４のＶＬ、
配列番号４４のＶＨ及び配列番号６０のＶＬ、

配列番号４５のＶＨ及び配列番号６１のＶＬ、
配列番号４５のＶＨ及び配列番号６２のＶＬ、
配列番号４６のＶＨ及び配列番号６１のＶＬ、
配列番号４７のＶＨ及び配列番号６１のＶＬ、
配列番号４８のＶＨ及び配列番号６１のＶＬ、
配列番号４９のＶＨ及び配列番号６１のＶＬ、
配列番号５０のＶＨ及び配列番号６１のＶＬ、
配列番号５１のＶＨ及び配列番号６１のＶＬ、
配列番号９４のＶＨ及び配列番号９８のＶＬ、
配列番号９５のＶＨ及び配列番号９９のＶＬ、若しくは
配列番号９５のＶＨ及び配列番号１００のＶＬ、
を含む、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片を含む。

【０２９５】

ＰＤ－１を検出する方法

本発明はまた、サンプルにおける、ＰＤ－１を検出する方法であって、当該サンプルを入手することと、当該サンプルを、本明細書において提供する、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片と接触させることと、当該サンプルにおいてＰＤ－１に結合した抗体を検出することと、を含む、方法も提供する。

【０２９６】

いくつかの実施形態では、サンプルは、尿、血液、血清、血漿、唾液、腹水、血中循環細胞、滑液、血中循環細胞、組織と会合していない細胞（即ち、遊離細胞）、組織（即ち、微細な針吸引を含む、手術により切除された組織、生検）、組織学的調製物などに由来することができる。

【０２９７】

ＰＤ－１に結合した、本発明の抗体又はその抗原結合断片を、既知の方法を使用して検出することができる。例示的な方法としては、蛍光若しくは化学発光標識、又は放射線標識を使用して抗体を直接標識すること、あるいは本発明の抗体に、ビオチン、酵素、又はエピトープタグなどの容易に検出可能な部分を結合させることが挙げられる。例示的な標識及び部分は、ルテニウム、^{111}Ｉｎ－ＤＯＴＡ、^{111}Ｉｎ－ジエチレントリアミン五酢酸（ＤＴＰＡ）、セイヨウワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ及びベータガラクトシダーゼ、ポリ－ヒスチジン（ＨＩＳタグ）、アクリジン染料、シアニン染料、フルオロン染料、オキサジン染料、フェナントリジン染料、ローダミン染料、及びＡｌｅｘａｆｌｕｏｒ（登録商標）染料である。

【０２９８】

本発明の抗体は、サンプル中のＰＤ－１を検出するための各種のアッセイに使用してもよい。例示的なアッセイは、ウェスタンブロット分析、ラジオイムノアッセイ、表面プラズモン共鳴、免疫沈降、平衡透析、免疫拡散、電気化学発光（ＥＣＬ）イムノアッセイ、免疫組織化学的検査、蛍光活性化細胞選別（ＦＡＣＳ）、又はＥＬＩＳＡアッセイである。

【０２９９】

抗体を生成する方法

本明細書において提供する、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、様々な技術を用いて生成することができる。例えば、Ｋｏｈｌｅｒ及びＭｉｌｓｔｅｉｎのハイブリドーマ法を使用して、モノクローナル抗体を生成することができる。ハイブリドーマ法において、マウス又は他の宿主動物（例えばハムスター、ラット、若しくはニワトリ）を、ＰＤ－１の細胞外領域などのヒト及び／又はカニクイザルＰＤ－１抗原で免疫付与し、続いて、標準的な方法を用いて、骨髄腫細胞で免疫付与した動物の脾臓細胞を融合させて、ハイブリドーマ細胞を形成する。１つの不死化ハイブリドーマ細胞から生じるコロニーを、所望の特性（例えば、結合の特異性、交差反応性又はその欠如、抗原への親和性、及びアゴニスト活性などの機能性）を有する抗体の産生のためにスクリーニン

グしてよい。
【０３００】
ヒト受容体フレームワークの選別を含む例示的なヒト化技術としては、ＣＤＲグラフト化（米国特許第５，２２５，５３９号）、ＳＤＲグラフト化（米国特許第６，８１８，７４９号）、リサーフェシング（Ｐａｄｌａｎ，（１９９１）Ｍｏｌ Ｉｍｍｕｎｏｌ ２８：４８９－４９９）、特異性決定残基のリサーフェシング（米国特許出願公開第２０１０／０２６１６２０号）、ヒトフレームワーク適応（米国特許第８，７４８，３５６号）、又は超ヒト化（米国特許第７，７０９，２２６号）が挙げられる。これらの方法では、ＣＤＲの長さの類似性若しくはカノニカル構造の同一性、又はこれらの組み合わせに基づいて、親フレームワークに対する全体的な相同性に基づき選択され得るヒトフレームワークに、親抗体のＣＤＲ又はＣＤＲ残基のサブセットを移植する。
【０３０１】
ヒト化抗体は、国際公開第１０９０／００７８６１号及び同第１９９２／２２６５３号に記載されているものなどの技術によって、結合親和性を保存するように変化させたフレームワーク支持残基を組み込むことによって（復帰突然変異）、又は任意のＣＤＲに変異を導入して、例えば抗体の親和性を改善することによって、所望の抗原に対するその選択性又は親和性を改善するように更に最適化させてもよい。
【０３０２】
自身のゲノムにヒト免疫グロブリン（Ｉｇ）座位を有する、マウス、ラット、又はニワトリなどのトランスジェニック動物を使用してＰＤ－１に対する抗体を生成することができ、これらは例えば、米国特許第６，１５０，５８４号、国際公開第１９９９／４５９６２号、同第２００２／０６６６３０号、同第２００２／４３４７８号、同第２００２／０４３４７８号、及び同第１９９０／０４０３６号に記載されている。このような動物の内在的な免疫グロブリン遺伝子座を破壊又は欠失させてもよく、相同又は非相同組み換えを用いて、導入染色体（transchromosome）を用いて、又はミニ遺伝子を用いて、少なくとも１つの完全な又は部分的なヒト免疫グロブリン遺伝子座を動物のゲノムに挿入してもよい。Ｒｅｇｅｎｅｒｏｎ（ｈｔｔｐ：／／＿ｗｗｗ＿ｒｅｇｅｎｅｒｏｎ＿ｃｏｍ）、Ｈａｒｂｏｕｒ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ（ｈｔｔｐ：／／＿ｗｗｗ＿ｈａｒｂｏｕｒａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ＿ｃｏｍ）、Ｏｐｅｎ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，Ｉｎｃ．（ＯＭＴ）（ｈｔｔｐ：／／＿ｗｗｗ＿ｏｍｔｉｎｃ＿ｎｅｔ）、ＫｙＭａｂ（ｈｔｔｐ：／／＿ｗｗｗ＿ｋｙｍａｂ＿ｃｏｍ）、Ｔｒｉａｎｎｉ（ｈｔｔｐ：／／＿ｗｗｗ．ｔｒｉａｎｎｉ＿ｃｏｍ）、及びＡｂｌｅｘｉｓ（ｈｔｔｐ：／／＿ｗｗｗ＿ａｂｌｅｘｉｓ＿ｃｏｍ）などの企業は、上記の技術を使用して、選択抗原を標的としたヒト抗体を提供するべく取り組んでいる場合がある。
【０３０３】
抗体はファージディスプレイライブラリから選択することができ、ここでファージは、ヒト免疫グロブリン、あるいは例えばＦａｂ、一本鎖抗体（ｓｃＦｖ）、又は非対化若しくは対化抗体可変領域などのそれらの部分を発現するよう改変されている。本発明の抗体は、例えば、Ｓｈｉ ｅｔ ａｌ．，（２０１０）Ｊ Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ ３９７：３８５－９６及び国際公開第０９／０８５４６２号）に記載されているバクテリオファージｐＩＸコートタンパク質との融合タンパク質として抗体の重鎖及び軽鎖可変領域を発現するファージディスプレイライブラリから単離され得る。ライブラリを、ヒト及び／又はカニクイザルＰＤ－１のファージ結合についてスクリーニングして、得られた陽性クローンの特性評価を更に行い、Ｆａｂをクローンの溶解物から単離し、完全長のＩｇＧとして発現させることができる。
【０３０４】
免疫原性抗原の調製及びモノクローナル抗体の生成は、組み換えタンパク質生成などの任意の好適な技術を用いて実施することができる。免疫原性抗原は、精製タンパク質、あるいは全細胞又は細胞若しくは組織抽出物を含むタンパク質混合物の形態で動物に投与されてもよく、抗原は、当該抗原又はその一部をコードしている核酸から動物の体内で新規

に（de novo）形成されてもよい。
【０３０５】
いくつかの実施形態では、本発明のＰＤ－１に特異的に結合する抗体、又はその抗原結合断片は、二重特異性抗体である。
【０３０６】
いくつかの実施形態では、本発明の抗体又はその抗原結合断片は、多重特異性抗体である。
【０３０７】
本明細書において提供する、ＰＤ－１に特異的に結合する単一特異性抗体は、二重特異性抗体に改変することができ、これもまた、本発明の範囲内に包含される。
【０３０８】
完全長二重特異性抗体は、例えば、２つの単一特異性二価抗体間でのＦａｂアーム交換（又は半分子交換、１つの重鎖－軽鎖対を交換する）を使用して、インビトロでのセルフリー環境において又は共発現を使用するかのいずれかにおいて、異なる特異性を有する２つの抗体半分子の好ましいヘテロ二量体形成のために、各半分子における重鎖ＣＨ３界面に置換を導入することにより生成されてもよい。Ｆａｂアーム交換反応は、ジスルフィド結合異性化反応及びＣＨ３ドメインの解離－会合の結果である。親単一特異性抗体のヒンジ領域における重鎖ジスルフィド結合は減少する。親単一特異性抗体のうちの１つの得られた遊離システインは、第２の親単一特異性抗体分子のシステイン残基と重鎖内ジスルフィド結合を形成し、同時に、親抗体のＣＨ３ドメインは、解離－会合により解放及び再形成する。ＦａｂアームのＣＨ３ドメインは、ホモ二量体形成よりヘテロ二量体形成を好むように改変されてもよい。得られた生成物は、それぞれ異なるエピトープに結合する、２つのＦａｂアーム又は半分子を有する二重特異性抗体である。
【０３０９】
二重特異性抗体は、Ｔｒｉｏｍａｂ／Ｑｕａｄｒｏｍａ（Ｔｒｉｏｎ　Ｐｈａｒｍａ／Ｆｒｅｓｅｎｉｕｓ　Ｂｉｏｔｅｃｈ）、Ｋｎｏｂｓ－ｉｎ－Ｈｏｌｅｓ（Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）、ＣｒｏｓｓＭＡｂｓ（Ｒｏｃｈｅ）及び静電的に誘導されたＣＨ３相互作用（Ｃｈｕｇａｉ，Ａｍｇｅｎ，ＮｏｖｏＮｏｒｄｉｓｋ，Ｏｎｃｏｍｅｄ）、ＬＵＺ－Ｙ（Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）、ストランド交換操作ドメインボディ（ＳＥＥＤｂｏｄｙ）（ＥＭＤ　Ｓｅｒｏｎｏ）、Ｂｉｃｌｏｎｉｃ（Ｍｅｒｕｓ）、並びにＤｕｏＢｏｄｙ（登録商標）製品（Ｇｅｎｍａｂ　Ａ／Ｓ）などの設計を使用して生成することもできる。
【０３１０】
Ｔｒｉｏｍａｂ　ｑｕａｄｒｏｍａ技術を使用して、完全長二重特異性抗体を生成することができる。Ｔｒｉｏｍａｂ技術は、２つの親キメラ抗体、ＩｇＧ２ａを有する１つの親ｍＡｂと、ラットＩｇＧ２ｂ定常領域を有する第２の親ｍＡｂとの間のＦａｂアーム交換を促進し、キメラ二重特異性抗体をもたらす。
【０３１１】
「ｋｎｏｂ－ｉｎ－ｈｏｌｅ」法を使用して、完全長二重特異性抗体を生成することができる。簡潔に、ヒトＩｇＧにおけるＣＨ３ドメインの界面を形成する選択されたアミノ酸は、ヘテロ二量体形成を促進するために、ＣＨ３ドメイン相互作用に影響を及ぼす位置において変異され得る。小さな側鎖を有するアミノ酸（ホール）が、第１の抗原に特異的に結合する抗体の重鎖内に導入され、大きな側鎖を有するアミノ酸（ノブ）が、第２の抗原に特異的に結合する抗体の重鎖内に導入される。２つの抗体の共発現後に、ヘテロ二量体が、「ホール」を有する重鎖と「ノブ」を有する重鎖との優先的な相互作用の結果として形成される。ノブ及びホールを形成する例示的なＣＨ３置換ペアは、Ｔ３６６Ｙ／Ｆ４０５Ａ、Ｔ３６６Ｗ／Ｆ４０５Ｗ、Ｆ４０５Ｗ／Ｙ４０７Ａ、Ｔ３９４Ｗ／Ｙ４０７Ｔ、Ｔ３９４Ｓ／Ｙ４０７Ａ、Ｔ３６６Ｗ／Ｔ３９４Ｓ、Ｆ４０５Ｗ／Ｔ３９４Ｓ、及びＴ３６６Ｗ／Ｔ３６６Ｓ＿Ｌ３６８Ａ＿Ｙ４０７Ｖである（第１の重鎖の第１のＣＨ３ドメインにおける修飾位置／第２の重鎖の第２のＣＨ３ドメインにおける修飾位置として表現）。

【０３１２】
ＣｒｏｓｓＭＡｂ技術を使用して、完全長二重特異性抗体を生成することができる。ＣｒｏｓｓＭＡｂは、「ノブーインーホール」戦略を利用してＦａｂアーム交換を促進することに加えて、半アームのうちの１つに、得られる二重特異性抗体の正しい軽鎖対形成を保証するために交換されたＣＨ１及びＣＬドメインを有する（例えば、米国特許第８，２４２，２４７号を参照されたい）。
【０３１３】
他の交差法を使用して、一方のアーム又は両方のアームのいずれかにおける、重鎖と軽鎖との間若しくは二重特異性抗体の重鎖内の、可変領域若しくは定常領域、又は両方の領域を交換することによって、完全長二重特異性抗体を生成することができる。これらの交換としては、例えば、国際特許公開第２００９／０８０２５４号、同第２００９／０８０２５１号、同第２００９／０１８３８６号、及び同第２００９／０８０２５２号に記載されるＶＨ－ＣＨ１とＶＬ－ＣＬ、ＶＨとＶＬ、ＣＨ３とＣＬ、及びＣＨ３とＣＨ１が挙げられる。
【０３１４】
他の戦略、例えば、あるＣＨ３表面における正に荷電した残基及び第２のＣＨ３表面における負に荷電した残基を置換することによる静電的相互作用を使用する重鎖ヘテロ二量体化の促進が、米国特許出願公開第２０１０／００１５１３３号、米国特許出願公開第２００９／０１８２１２７号、米国特許出願公開第２０１０／０２８６３７号、又は米国特許出願公開第２０１１／０１２３５３２号に記載されるような他の戦略、例えば、あるＣＨ３表面における正に荷電した残基及び第２のＣＨ３表面における負に荷電した残基を置換することによる静電的相互作用を使用する重鎖ヘテロ二量体化の促進を使用して、二重特異性抗体を作製することができる。他の戦略では、ヘテロ二量体化は、米国特許出願公開第２０１２／０１４９８７６号又は米国特許出願公開第２０１３／０１９５８４９号に記載されるように、下記置換：Ｌ３５１Ｙ＿Ｆ４０５Ａ　Ｙ４０７Ｖ／Ｔ３９４Ｗ、Ｔ３６６Ｉ＿Ｋ３９２Ｍ＿Ｔ３９４Ｗ／Ｆ４０５Ａ＿Ｙ４０７Ｖ、Ｔ３６６Ｌ＿Ｋ３９２Ｍ＿Ｔ３９４Ｗ／Ｆ４０５Ａ＿Ｙ４０７Ｖ、Ｌ３５１Ｙ＿Ｙ４０７Ａ／Ｔ３６６Ａ＿Ｋ４０９Ｆ、Ｌ３５１Ｙ＿Ｙ４０７Ａ／Ｔ３６６Ｖ＿Ｋ４０９Ｆ、Ｙ４０７Ａ／Ｔ３６６Ａ＿Ｋ４０９Ｆ、又はＴ３５０Ｖ＿Ｌ３５１Ｙ＿Ｆ４０５Ａ＿Ｙ４０７Ｖ／Ｔ３５０Ｖ＿Ｔ３６６Ｌ＿Ｋ３９２Ｌ＿Ｔ３９４Ｗ（第１の重鎖の第１のＣＨ３ドメインにおける修飾位置／第２の重鎖の第２のＣＨ３ドメインにおける修飾位置として表現）により促進されてもよい。
【０３１５】
ＬＵＺ－Ｙ技術を利用して、二重特異性抗体を生成することができる。本技術において、ロイシンジッパーをＣＨ３ドメインのＣ末端に加えて、精製後に除去された親ｍＡｂから、ヘテロ二量体アセンブリを駆動させる。
【０３１６】
ＳＥＥＤｂｏｄｙ技術を利用して、二重特異性抗体を生成することができる。ＳＥＥＤｂｏｄｙは、それらの定常ドメインにおいて、米国特許出願第２００７／０２８７１７０号に記載されるように、ヘテロ二量体化を促進するためにＩｇＡ残基で置換された選択ＩｇＧ残基を有する。
【０３１７】
二重特異性抗体は、国際公開第２０１１／１３１７４６号に記載の方法に従って、２つの単一特異性ホモ二量体抗体のＣＨ３領域に非対称な変異を導入し、ジスルフィド結合を異性化させる還元条件下で、２つの親単一特異性ホモ二量体抗体から二重特異性ヘテロ二量体抗体を形成することによって、セルフリー環境においてインビトロで生成されてもよい。この方法において、第１の単一特異性二価抗体及び第２の単一特異性二価抗体は、ヘテロ二量体の安定性を促進するＣＨ３ドメインにおいてある特定の置換を有するように改変されるが、これらの抗体は、ヒンジ領域におけるシステインがジスルフィド結合を異性化させるのに十分な還元条件下において共にインキュベートされ、それにより、Ｆａｂア

ーム交換により二重特異性抗体が生成される。使用可能な置換は、ＩｇＧ１抗体のある重鎖におけるＦ４０５Ｌ、及び他の重鎖におけるＫ４０９Ｒである。ＩｇＧ４抗体では、ある重鎖は、位置４０５においてＦ、及び位置４０９においてＲを有する野生型ＩｇＧ４であってよく、他の重鎖は、Ｆ４０５Ｌ及びＲ４０９Ｋ置換を有してよい。インキュベート条件は、最適には、非還元条件に戻され得る。使用され得る例示的な還元剤は、２－メルカプトエチルアミン（２－ＭＥＡ）、ジチオスレイトール（ＤＴＴ）、ジチオエリスリトール（ＤＴＥ）、グルタチオン、トリス（２－カルボキシエチル）ホスフィン（ＴＣＥＰ）、Ｌ－システイン、及びβ－メルカプトエタノールである。例えば、少なくとも２０℃の温度で、少なくとも２５ｍＭの２－ＭＥＡの存在下又は少なくとも０．５ｍＭのジチオスレイトールの存在下で、ｐＨ５～８、例えばｐＨ７．０又はｐＨ７．４で、少なくとも９０分間のインキュベートを用いることができる。

【０３１８】

いくつかの実施形態では、二重特異性抗体としては、組み換えＩｇＧ様二重標的分子（分子の２つの側が各々、少なくとも２つの異なる抗体のＦａｂ断片又はＦａｂ断片の一部を含有する）、ＩｇＧ融合分子（完全長ＩｇＧ抗体が、余分のＦａｂ断片又はＦａｂ断片の一部に融合される）、Ｆｃ融合分子（一本鎖Ｆｖ分子又は安定化された二重特異性抗体が、重鎖定常ドメイン、Ｆｃ領域、又はその一部に融合される）、Ｆａｂ融合分子（異なるＦａｂ断片が１つに融合される）、ＳｃＦｖ及び二重特異性抗体に基づく抗体及び重鎖抗体（例えば、ドメイン抗体、ナノボディ）（異なる一本鎖Ｆｖ分子又は異なる二重特異性抗体又は異なる重鎖抗体（例えば、ドメイン抗体、ナノボディ）を互いに融合するか、又は別のタンパク質若しくは担体分子に融合する）が挙げられる。

【０３１９】

置換は、典型的には、標準方法を使用して抗体の定常ドメインなどの分子に対してＤＮＡレベルで行われる。

【０３２０】

本発明の抗体は、様々な周知の抗体形態に改変されてもよい。

【０３２１】

例えば、二重特異性ＰＤ－１／ＣＤ３抗体は、本明細書で記載されるＰＤ－１抗体のＶＨ／ＶＬドメイン、及び、公開されている抗ＣＤ３抗体の任意のＶＨ／ＶＬ領域を使用して生成可能である。

【０３２２】

本発明の別の実施形態は、ＰＤ－１に結合する第１ドメイン、及びＣＤ３に結合する第２ドメインを含む二重特異性抗体である。

【０３２３】

抗体の特性決定方法

アゴニスト抗体

本明細書において提供するアゴニスト抗体により誘発される、典型的な生物活性は、抗原特異的ＣＤ４$^{+}$又はＣＤ８$^{+}$　Ｔ細胞の阻害（例えば抑制）である。様々な読み取りを使用して、本明細書において提供する抗体のアゴニズム、例えば抗原特異的ＣＤ４$^{+}$又はＣＤ８$^{+}$　Ｔ細胞による、インターフェロン－γ（ＩＦＮ－γ）、ＩＬ－１７、ＩＬ－２、ＩＬ－６、ＩＬ－２２、ＩＬ－２３、又はＧＭ－ＣＳＦの、増殖の減少又は産生の減少を評価することができる。例示的なアッセイにおいて、破傷風トキソイド又はＣＭＶなどの、同種異系樹状細胞又は特異的抗原により刺激される通常のドナーのＴ細胞における、抗体の効果を使用する。この設定において、抗体治療を用いたＴ細胞機能の変化は、Ｔ細胞の活性化の上清サイトカインレベル又はマーカーを測定することにより、検出可能である。例示的なアッセイにおいて、ＣＭＶ抗原に対して反応性であると測定されたＰＢＭＣを、抗原特異的ＣＤ４$^{+}$又はＣＤ８$^{+}$　Ｔ細胞の源として使用する。１．５×１０^{6}ｃｅｌｌｓ／ｍＬ、又は２×１０^{6}ｃｅｌｌｓ／ｍＬのＣＭＶ反応性ＰＢＭＣを培養皿に配置し、０．１～０．２μｇ／ｍＬのＣＭＶペプチドを、培養液に添加する。ＣＭＶペプチドは例えば、ＪＰＴ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓから購入することができる。試験抗体を、

１０μｇ／ｍＬの一回用量で添加し、６日間プレートをインキュベートし、６時間、１μＣｉ／ウェルのメチル－３Ｈ－チミジン（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ）を添加して細胞増殖を評価し、各サンプルの放射能を測定する。あるいは、細胞によるサイトカイン産生を、ＥＬＩＳＡ又は既知の多重アッセイを用いて測定する。

【０３２４】

ＰＤ－Ｌ１及び／又はＰＤ－Ｌ２の、ＰＤ－１への結合を遮断する抗体

本明細書において提供する本発明の抗体（例えば、ＰＤ－１に特異的に結合するアゴニスト抗体）は、リガンドを遮断する、又は遮断しないものであってよい。本明細書において提供するアゴニスト抗体の能力を、リガンド、例えばＰＤ－Ｌ１若しくはＰＤ－Ｌ２、又は両方を遮断する能力について、細胞クラスター化アッセイなどの競合アッセイを用いて評価することができる。

【０３２５】

例示的なアッセイにおいて、ＰＤ－１又はＰＤ－Ｌ１（若しくはＰＤ－Ｌ２）のいずれかを過剰発現する、異なって標識したＨＥＫ細胞を１：１の比で混合し、ＰＤ－１及びＰＤ－Ｌ１を発現する細胞、又はＰＤ－１及びＰＤ－Ｌ２を発現する細胞のクラスター化を阻害する抗体の能力を定量化する。ヒトＰＤ－１を過剰発現する細胞を、Ｖｉｏｌｅｔ Ｃｅｌｌ Ｔｒａｃｅ Ｓｔａｉｎで標識してよく、ＰＤ－Ｌ１又はＰＤ－Ｌ２を過剰発現する細胞を、Ｆａｒ Ｒｅｄ Ｃｅｌｌ Ｔｒａｃｅ Ｓｔａｉｎ（Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）で標識してよい。ＰＤ－１を発現する細胞を試験抗体と混合し、簡単なインキュベーションの後、ＰＤ－Ｌ１を発現する細胞を混合物に添加する。混合物を１時間インキュベートし、ダブルポジティブイベント（例えば、Ｖｉｏｌｅｔ Ｃｅｌｌ Ｔｒａｃｅ Ｓｔａｉｎ及びＦａｒ Ｒｄ Ｃｅｌｌ Ｔｒａｃｅ Ｓｔａｉｎが陽性の細胞クラスター）の割合を、フローサイトメトリーを使用して評価する。ダブルポジティブイベントの割合によりクラスター化の程度を測定し、試験抗体の存在下におけるクラスター化の割合を陽性、及び陰性アイソタイプコントロール抗体と比較する。本明細書において提供する抗体は、有意性の程度として、＜０．０１のｐ値を用いたアイソタイプコントロールと比較した際に、抗体が、統計学的に有意に、ＰＤ－１及びＰＤ－Ｌ１（又はＰＤ－Ｌ２）を発現する細胞の、ダブルポジティブイベントを阻害するときに、ＰＤ－Ｌ１（又はＰＤ－Ｌ２）の、ＰＤ－１への結合を遮断する。本明細書において提供する抗体は、抗体が、統計学的に有意に、例えばｐ＞０．０１で、ＰＤ－１及びＰＤ－Ｌ１（又はＰＤ－Ｌ２）のダブルポジティブイベントを阻害するときに、ＰＤ－Ｌ１（又はＰＤ－Ｌ２）の、ＰＤ－１への結合を遮断しない。

【０３２６】

抗体親和性の測定

ヒト、又はカニクイザルＰＤ－１などの非ヒトに対する、抗体の親和性を、任意の好適な方法を使用して実験により測定することができる。このような方法では、ＰｒｏｔｅＯｎ ＸＰＲ３６、Ｂｉａｃｏｒｅ３０００、若しくはＫｉｎＥｘＡ装置、ＥＬＩＳＡ、又は当業者に公知の競合的結合アッセイを利用することができる。特定の抗体／ＰＤ－１相互作用について測定される親和性は、異なる条件下（例えば、浸透圧、ｐＨ）で測定した場合には異なり得る。したがって、親和性及びその他の結合パラメータ（例えば、K_D、K_{on}、K_{off}）の測定は、典型的には、標準的な条件及び実施例１に記載される緩衝液などの標準化緩衝液を用いて行われる。例えばＢｉａｃｏｒｅ ３０００又はＰｒｏｔｅＯｎを用いた親和性測定での内部誤差（標準偏差（ＳＤ）として測定されるもの）は通常、典型的な検出範囲内で測定した場合、５～３３％の範囲内であり得ることが当業者には分かるであろう。したがって、K_Dとの関係における用語「約」は、アッセイにおける一般的な標準偏差を反映する。例えば、K_Dが1×10^{-9}Ｍの場合の典型的なＳＤは、$\pm0.33\times10^{-9}$Ｍ以下である。

【０３２７】

リファレンス抗体と、ＰＤ－１への結合を競合する抗体

特定のＶＨ及びＶＬ配列を含む、本発明の抗体（例えば、リファレンス抗体）との、Ｐ

Ｄ－１への結合の競合を、Ｏｃｔｅｔ　Ｒｅｄ３８４プラットフォーム（Ｆｏｒｔｅ　Ｂｉｏ）にてインビトロでアッセイすることができる。ヒスチジンタグを付けたＰＤ１をＨＩＳセンサーに装入し、センサーを２０μｇ／ｍＬのリファレンス抗－ＰＤ１抗体に暴露し、続いて等濃度の試験抗－ＰＤ１抗体に暴露する。飽和後の試験抗体のリファレンス抗体との更なる結合は、２つの抗体がＰＤ－１に同時に結合することを示しており、このことは、リファレンス及び試験抗体が、ＰＤ－１への結合に関して競合しないことを示している。あるいは、試験抗体の更なる結合が存在しないことは、２つの抗体が、ＰＤ－１への結合に関して競合することを示す。

【０３２８】

ＰＤ－１との結合に関してリファレンス抗体と競合する抗体は、ファージディスプレイライブラリを用いて、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体を単離し、生成した抗体を、ＰＤ－１への結合に関して、上述のリファレンス抗体と競合する能力をスクリーニングすることにより生成可能である。

【０３２９】

試験抗体はＰＤ－１への結合に関して、試験抗体が飽和濃度のリファレンス抗体にてＰＤ－１に結合するときに、リファレンス抗体と競合する。結合は、時間と共にバイオセンサチップの光学密度が増加する、結合した抗体による、波長シフトを記録することで、バイオ層干渉法（Ｏｃｔｅｔなど）を用いて検出することができる。

【０３３０】

抗体エピトープ

本発明の抗体が結合するＰＤ－１エピトープは、例えば、水素／重水素交換（Ｈ／Ｄ交換）を使用するか、又はＰＤ－１と複合対化した抗体の結晶構造を分析することによって解明され得る。Ｈ／Ｄ交換により、変性度合いが少なくとも５％の差である抗体により保護されたＰＤ－１アミノ酸残基の、約７０％又はそれ以上が２つの抗体間で同一であるとき、あるいは、抗体とＰＤ－１の複合体の結晶構造において、抗体に結合していると判定されたＰＤ－１表面露出アミノ酸残基の、７０％又はそれ以上が、２つの抗体間で同一であるとき、２つのＰＤ－１抗体が「ＰＤ－１の同一のエピトープに結合する」。抗体及びＰＤ－１の複合体の結晶構造において、エピトープ残基は、抗体ＣＤＲ残基のうちのいずれかから４Å以下の距離内に位置するＰＤ－１残基である。

【０３３１】

Ｈ／Ｄ交換アッセイでは、ＰＤ－１タンパク質を、抗体の存在又は非存在下、重水素化水中で既定の時間にわたってインキュベートし、抗体によって保護されていない交換可能な水素原子での重水素組み込みに続いて、タンパク質のプロテアーゼ消化及びＬＣ－ＭＳを使用するペプチド断片の分析を行う。例示的なアッセイでは、５μＬの試験抗体（１０μｇ）又は５μＬのＰＤ－１及び試験抗体（それぞれ１０μｇ及び７．３５μｇ）の複合体を、１２０μＬの酸化重水素標識緩衝液（５０ｍＭリン酸塩、１００ｍＭ塩化ナトリウム、ｐＨ７．４）で０秒、６０秒、３００秒、１８００秒、７２００秒、及び１４４００秒にわたってインキュベートする。６３μＬの５Ｍ塩酸グアニジンを添加することによって重水素交換をクエンチする。最終ｐＨは２．５である。クエンチした試料を、オンカラムペプシン／プロテアーゼＸＩＩＩ型消化及びＬＣ－ＭＳ分析に供する。ペプシン／プロテアーゼＸＩＩＩ型の消化のため、５μｇの試料を入れた１２５μＬの対照緩衝液（５０ｍＭリン酸塩、１００ｍＭ塩化ナトリウム、ｐＨ７．４）に６３μＬの５Ｍ塩酸グアニジンを添加し（最終ｐＨは２．５である）、混合物を３分間インキュベートして当該試料を変性させる。次いで、混合物をカラム上でペプシン／プロテアーゼＸＩＩＩ型消化に供し、得られるペプチドを、Ｑ　Ｅｘａｃｔｉｖｅ（商標）Ｈｙｂｒｉｄ　Ｑｕａｄｒｕｐｏｌｅ－Ｏｒｂｉｔｒａｐ質量分析計（Ｔｈｅｒｍｏ）に連結したＷａｔｅｒｓ　Ａｃｑｕｉｔｙ　ＵＰＬＣからなるＵＰＬＣ－ＭＳシステムを使用して分析した。未加工のＭＳデータを、Ｈ／Ｄ交換ＭＳデータの分析のためのソフトウェア、ＨＤＸ　ＷｏｒｋＢｅｎｃｈを使用して処理する。重水素化ペプチドとその天然形態（t_0）との平均質量差を使用して、重水素レベルを算出する。ペプチド同定は、ＰＤ－１配列に対するＭＳ／ＭＳデー

タをＭａｓｃｏｔで検索することを通じて行う。前駆体及び産生物イオンに対する質量許容差は、それぞれ２０ｐｐｍ及び０．０５Ｄａである。

【０３３２】

Ｘ線結晶学のために、ＰＤ－１及び試験抗体を、標準的手順を使用して発現及び精製する。ＰＤ－１／試験抗体複合体を、４℃で一晩インキュベートし、濃縮して、サイズ排除クロマトグラフィーを使用して非複合体化種から分離する。複合体は、種々の既知の試験溶液、例えば、ＰＥＧ３３５０、クエン酸アンモニウム、及び２－（Ｎ－モルホリノ）エタンスルホン酸（ＭＥＳ）を含有する溶液から蒸気拡散方法によって結晶化する。

【０３３３】

リファレンス抗体としてＰＤ－１上の同じエピトープに結合する抗体は、ファージディスプレイライブラリを使用してＰＤ－１に結合する抗体を単離することと、１００％のＰＤ－１への結合についてリファレンス抗体と競合する抗体を選択することと、Ｈ／Ｄ交換によって又はＸ線結晶学によって抗体エピトープを同定することによって生成され得る。

【０３３４】

代替的に、エピトープ残基を包含するペプチドを使用して、マウス又はウサギを免疫することができ、生成された抗体を、列挙された領域内でのそれらの結合について評価することができる。

【０３３５】

ポリヌクレオチド、ベクター及び宿主細胞

本発明はまた、本発明の抗体のいずれかをコードする単離ポリヌクレオチドも提供する。

【０３３６】

本発明はまた、本発明の抗体重鎖可変領域のいずれか、抗体軽鎖可変領域のいずれか、又は抗体重鎖の及び／若しくは抗体軽鎖のいずれかをコードする単離ポリヌクレオチドも提供する。

【０３３７】

本発明はまた、配列番号８、９、１０、１４０、１４１、又は１４２のＶＨをコードする単離ポリヌクレオチドも提供する。

【０３３８】

本発明はまた、配列番号１４、１５、１６、１４３、又は１４４のＶＬをコードする単離ポリヌクレオチドも提供する。

【０３３９】

本発明は、配列番号８、９、１０、１４０、１４１、又は１４２のＶＨ、及び配列番号１４、１５、１６、１４３、又は１４４のＶＬをコードする単離ポリヌクレオチドもまた提供する。

【０３４０】

本発明は、配列番号２０、２１、２２、１５０、１５１、又は１５２の重鎖（ＨＣ）をコードする単離ポリヌクレオチドもまた提供する。

【０３４１】

本発明は、配列番号２６、２７、２８、１５３、又は１５４の軽鎖（ＬＣ）をコードする単離ポリヌクレオチドもまた提供する。

【０３４２】

本発明は、配列番号２０、２１、２２、１５０、１５１、又は１５２のＨＣ、及び配列番号２６、２７、２８、１５３、又は１５４のＬＣをコードする単離ポリヌクレオチドもまた提供する。

【０３４３】

本発明は、配列番号１１、１２、１３、１７、１８、１９、２３、２４、２５、２９、３０、３１、１３２、１３３、１３４、１３５、１５５、１５６、１５７、１５８、１５９、１６０、１６１、１６２、１６３、又は１６４のポリヌクレオチド配列を含む、単離ポリヌクレオチドもまた提供する。

【０３４４】
本発明は、配列番号４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、又は５１のＶＨをコードする単離ポリヌクレオチドもまた提供する。
【０３４５】
本発明は、配列番号６０、６１、又は６２のＶＬをコードする単離ポリヌクレオチドもまた提供する。
【０３４６】
本発明は、配列番号４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、又は５１のＶＨ、及び配列番号６０、６１、又は６２のＶＬをコードする単離ポリヌクレオチドもまた提供する。
【０３４７】
本発明は、配列番号６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、又は７３の重鎖をコードする単離ポリヌクレオチドもまた提供する。
【０３４８】
本発明は、配列番号８２、８３、又は８４の軽鎖をコードする単離ポリヌクレオチドもまた提供する。
【０３４９】
本発明は、配列番号６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、又は７３のＨＣ、及び配列番号８２、８３、又は８４のＬＣをコードする単離ポリヌクレオチドもまた提供する。
【０３５０】
本発明は、配列番号５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６３、６４、６５、７４、７５、７６、７７、７８、７９、８０、８１、８５、８６、８７、１３６、１３７、１３８、又は１３９のポリヌクレオチド配列を含む、単離ポリヌクレオチドもまた提供する。
【０３５１】
本発明は、配列番号９４又は９５のＶＨをコードする単離ポリヌクレオチドもまた提供する。
【０３５２】
本発明は、配列番号９８、９９、又は１００のＶＬをコードする単離ポリヌクレオチドもまた提供する。
【０３５３】
本発明は、配列番号９４又は９５のＶＨ、及び配列番号９８、９９、又は１００のＶＬをコードする単離ポリヌクレオチドもまた提供する。
【０３５４】
本発明は、配列番号１０４又は１０５のＨＣをコードする単離ポリヌクレオチドもまた提供する。
【０３５５】
本発明は、配列番号１０８、１０９、又は１１０のＬＣをコードする単離ポリヌクレオチドもまた提供する。
【０３５６】
本発明は、配列番号１０４又は１０５のＨＣ、及び配列番号１０８、１０９、又は１１０のＬＣをコードする単離ポリヌクレオチドもまた提供する。
【０３５７】
本発明は、配列番号９６、９７、１０１、１０２、１０３、１０６、１０７、１１１、１１２、又は１１３のポリヌクレオチド配列を含む、単離ポリヌクレオチドもまた提供する。
【０３５８】
本発明の抗体のＶＨ及び／若しくはＶＬ、若しくはその抗原結合断片、又は、本発明の抗体の重鎖及び／若しくは軽鎖をコードするポリヌクレオチド配列は、目的の宿主細胞内

でヌクレオチド配列の発現を可能にする、プロモーター又はエンハンサーなどの１つ以上の制御因子に作用可能に結合可能である。ポリヌクレオチドは、ｃＤＮＡであってもよい。

【０３５９】

また、本発明は、本発明のポリヌクレオチドを含むベクターを提供する。そのようなベクターは、プラスミドベクター、ウイルスベクター、バキュロウイルス発現ベクター、トランスポゾンベースのベクター、又は任意の手段によって所与の生物又は遺伝子的バックグラウンドに本発明のポリヌクレオチドを導入するのに適した任意の他のベクターであってよい。例えば、所望により定常領域に連結されている本発明の抗体の軽鎖及び／又は重鎖可変領域をコードしているポリヌクレオチドを、発現ベクターに挿入する。軽鎖及び／又は重鎖は、同じ又は異なる発現ベクターにクローニングされ得る。ＶＨ、ＶＬ、ＨＣ及び／若しくはＬＣをコードするＤＮＡセグメント、又はその抗原結合断片は、ポリペプチドを確実に発現する発現ベクター内で、調節配列に作用可能に結合可能である。このようなコントロール配列としては、シグナル配列、プロモーター（例えば、天然に付随する又は異種のプロモーター）、エンハンサーエレメント、及び転写終結配列が挙げられ、抗体を発現するように選択された宿主細胞と適合するように選択される。ベクターを適切な宿主に組み込んだら、組み込まれたポリヌクレオチドによってコードされているタンパク質を高レベルで発現させるのに好適な条件下で宿主を維持する。

【０３６０】

いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号１１のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号１７のポリヌクレオチドを含む。

【０３６１】

いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号１２のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号１８のポリヌクレオチドを含む。

【０３６２】

いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号１２のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号１９のポリヌクレオチドを含む。

【０３６３】

いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号１３のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号１９のポリヌクレオチドを含む。

【０３６４】

いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号５２のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号６３のポリヌクレオチドを含む。

【０３６５】

いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号５３のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号６４のポリヌクレオチドを含む。

【０３６６】

いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号５３のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号６５のポリヌクレオチドを含む。

【０３６７】

いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号５４のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号６４のポリヌクレオチドを含む。

【０３６８】

いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号５５のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号６４のポリヌクレオチドを含む。

【０３６９】

いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号５６のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号６４のポリヌクレオチドを含む。

【０３７０】

いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号５７のポリヌクレオチド、及び／又は

配列番号６４のポリヌクレオチドを含む。
【０３７１】
いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号５８のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号６４のポリヌクレオチドを含む。
【０３７２】
いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号５９のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号６４のポリヌクレオチドを含む。
【０３７３】
いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号９６のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号１０１のポリヌクレオチドを含む。
【０３７４】
いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号９７のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号１０２のポリヌクレオチドを含む。
【０３７５】
いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号９７のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号１０３のポリヌクレオチドを含む。
【０３７６】
いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号１３２のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号１３３のポリヌクレオチドを含む。
【０３７７】
いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号１３４のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号１３５のポリヌクレオチドを含む。
【０３７８】
いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号１３６のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号１３７のポリヌクレオチドを含む。
【０３７９】
いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号１３８のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号１３９のポリヌクレオチドを含む。
【０３８０】
いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号１５５のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号１９のポリヌクレオチドを含む。
【０３８１】
いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号１５６のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号１９のポリヌクレオチドを含む。
【０３８２】
いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号１５７のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号１９のポリヌクレオチドを含む。
【０３８３】
いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号１３のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号１５８のポリヌクレオチドを含む。
【０３８４】
いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号１３のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号１５９のポリヌクレオチドを含む。
【０３８５】
いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号１５５のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号１５８のポリヌクレオチドを含む。
【０３８６】
いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号１５６のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号１５８のポリヌクレオチドを含む。
【０３８７】

いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号１５７のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号１５８のポリヌクレオチドを含む。

【０３８８】

いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号１５５のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号１５９のポリヌクレオチドを含む。

【０３８９】

いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号１５６のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号１５９のポリヌクレオチドを含む。

【０３９０】

いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号１５７のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号１５９のポリヌクレオチドを含む。

【０３９１】

いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号１６０のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号３１のポリヌクレオチドを含む。

【０３９２】

いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号１６１のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号３１のポリヌクレオチドを含む。

【０３９３】

いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号１６２のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号３１のポリヌクレオチドを含む。

【０３９４】

いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号２５のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号１６３のポリヌクレオチドを含む。

【０３９５】

いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号２５のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号１６４のポリヌクレオチドを含む。

【０３９６】

いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号１６０のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号１６３のポリヌクレオチドを含む。

【０３９７】

いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号１６１のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号１６３のポリヌクレオチドを含む。

【０３９８】

いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号１６２のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号１６３のポリヌクレオチドを含む。

【０３９９】

いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号１６０のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号１６４のポリヌクレオチドを含む。

【０４００】

いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号１６１のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号１６４のポリヌクレオチドを含む。

【０４０１】

いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号１６２のポリヌクレオチド、及び／又は配列番号１６４のポリヌクレオチドを含む。

【０４０２】

好適な発現ベクターは、典型的には、エピソームとして、又は宿主染色体ＤＮＡの不可欠な部分として、宿主生物において複製可能である。通常、発現ベクターは、所望のＤＮＡ配列で形質転換された細胞の検出を可能にするため、アンピシリン耐性、ヒグロマイシン耐性、テトラサイクリン耐性、カナマイシン耐性、又はネオマイシン耐性などの選択マーカーを含む。グルタミンシンセターゼ系を使用して、細胞内に抗体などの組み換えタン

パク質を発現させることができる。

【０４０３】

好適なプロモーター及びエンハンサーエレメントは、当該技術分野において既知である。真核細胞での発現に関して、代表的なプロモーターとしては、軽鎖及び／又は重鎖免疫グロブリン遺伝子プロモーター及びエンハンサーエレメント；サイトメガロウイルス前初期プロモーター；単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼプロモーター；初期及び後期ＳＶ４０プロモーター；レトロウイルス由来の末端反復配列に存在するプロモーター；マウスメタロチオネイン－Ｉプロモーター、並びに様々な当該技術分野に既知の組織特異的プロモーターが挙げられる。適切なベクター及びプロモーターの選択は、当業者の技量の範囲内である。

【０４０４】

数多くの好適なベクター及びプロモーターが当業者に既知であり、多くが、組み換え構築物を生成するために市販されている。例えば以下のベクターを提供する。細菌系：ｐＢｓ、ｐｈａｇｅｓｃｒｉｐｔ、ＰｓｉＸ１７４、ｐＢｌｕｅｓｃｒｉｐｔ　ＳＫ、ｐＢｓ　ＫＳ、ｐＮＨ８ａ、ｐＮＨ１６ａ、ｐＮＨ１８ａ、ｐＮＨ４６ａ（Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅ，Ｌａ　Ｊｏｌｌａ，Ｃａｌｉｆ．，ＵＳＡ）；ｐＴｒｃ９９Ａ、ｐＫＫ２２３－３、ｐＫＫ２３３－３、ｐＤＲ５４０、及びｐＲＩＴ５（Ｐｈａｒｍａｃｉａ，Ｕｐｐｓａｌａ，Ｓｗｅｄｅｎ）、真核生物：ｐＷＬｎｅｏ、ｐＳＶ２ｃａｔ、ｐＯＧ４４、ＰＸＲ１、ｐＳＧ（Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅ）ｐＳＶＫ３、ｐＢＰＶ、ｐＭＳＧ及びｐＳＶＬ（Ｐｈａｒｍａｃｉａ）、並びにｐＥＥ６．４（Ｌｏｎｚａ）及びｐＥＥ１４．１（Ｌｏｎｚａ）である。

【０４０５】

また、本発明は、本発明の１つ以上のベクターを含む宿主細胞を提供する。「宿主細胞」は、ベクターが導入された細胞を指す。宿主細胞という用語は、特定の対象細胞だけでなく、このような細胞の後代、また特定の対象細胞から生成された安定な細胞株も指すことを意図すると理解される。変異又は環境による影響のいずれかにより、後続世代においてある特定の改変が生じる可能性があるため、そのような後代は親細胞と同一ではない可能性があるが、本明細書で使用される「宿主細胞」という用語の範囲内には依然として含まれる。そのような宿主細胞は、真核細胞、原核細胞、植物細胞、又は古細菌細胞であってよい。

【０４０６】

原核宿主細胞の例は、大腸菌（Escherichia coli）バチルス・スブチリス（Bacillus subtilis）などの桿菌、並びにサルモネラ属（Salmonella）、セラチア属（Serratia）、及び様々なシュードモナス属（Pseudomonas）の種などの他の腸内細菌科のものである。酵母などの他の微生物も発現に有用である。好適な酵母宿主細胞の例は、サッカロミセス（Saccharomyces）（例えば、Ｓ．セレビジアエ（S. cerevisiae））及びピキア（Pichia）である。代表的な真核細胞は、哺乳動物、昆虫、鳥類、又は他の動物由来のものであってもよい。哺乳類真核細胞としては、不死化細胞株（例えばハイブリドーマ）又は骨髄腫細胞株（例えばＳＰ２／０（Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｔｙｐｅ　Ｃｕｌｔｕｒｅ　Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ（ＡＴＣＣ）、Ｍａｎａｓｓａｓ、ＶＡ、ＣＲＬ－１５８１）、ＮＳ０（Ｅｕｒｏｐｅａｎ　Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ　ｏｆ　Ｃｅｌｌ　Ｃｕｌｔｕｒｅｓ（ＥＣＡＣＣ）、Ｓａｌｉｓｂｕｒｙ，Ｗｉｌｔｓｈｉｒｅ，ＵＫ、ＥＣＡＣＣ　Ｎｏ．８５１１０５０３）、ＦＯ（ＡＴＣＣ　ＣＲＬ－１６４６）及びＡｇ６５３（ＡＴＣＣ　ＣＲＬ－１５８０）マウス細胞株）が挙げられる。例示的なヒト骨髄腫細胞株は、Ｕ２６６（ＡＴＴＣ　ＣＲＬ－ＴＩＢ－１９６）である。他の有用な細胞株としては、ＣＨＯ－Ｋ１ＳＶ（Ｌｏｎｚａ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃｓ（Ｗａｌｋｅｒｓｖｉｌｌｅ，ＭＤ））、ＣＨＯ－Ｋ１（ＡＴＣＣ　ＣＲＬ－６１）、又はＤＧ４４などの、チャイニーズハムスターの卵巣（ＣＨＯ）細胞に由来するものが挙げられる。

【０４０７】

本発明は、抗体が発現される条件下で本発明の宿主細胞を培養することと、この宿主細

胞により生成された抗体を回収することと、を含む、本発明の抗体の生成方法も提供する。抗体を作製し、それらを精製する方法は既知である。合成されたら（化学的に又は組み換えによって）、抗体全体、その二量体、個々の軽鎖及び／若しくは重鎖、又はＶＨ及び／若しくはＶＬなどの他の抗体断片を、硫酸アンモニウム沈殿、親和性カラム、カラムクロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）精製、ゲル電気泳動などの標準的な手順（概して、Ｓｃｏｐｅｓ，Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｐｕｒｉｆｉｃａｔｉｏｎ（Ｓｐｒｉｎｇｅｒ－Ｖｅｒｌａｇ，Ｎ．Ｙ．，（１９８２）を参照）に従って精製することができる。対象抗体は、実質的に純粋なものであってよく、例えば、細胞残屑、対象抗体以外の巨大分子などの混入物を含まず、例えば、純度が少なくとも約８０％～８５％、純度が少なくとも約８５％～９０％、純度が少なくとも約９０％～９５％、又は純度が少なくとも約９８％～９９％以上であり得る。

【０４０８】

本発明は、ＰＤ－１に特異的に結合する抗体の作製方法であって、

当該抗体のＶＨをコードしている第１のポリヌクレオチド及び当該抗体のＶＬをコードしている第２のポリヌクレオチドを発現ベクターに組み込むことと、

宿主細胞を当該発現ベクターで形質転換することと、

当該ＶＬ及び当該ＶＨが発現し、抗体を形成する条件下で、培養培地中で当該宿主細胞を培養することと、

当該宿主細胞又は当該培養培地から抗体を回収することと、

を含む、方法もまた提供する。

【０４０９】

本発明の特定のＶＨ又はＶＬ配列をコードしているポリヌクレオチドを、標準的な分子生物学的方法を用いてベクターに組み込むことができる。宿主細胞の形質転換、培養、抗体発現、及び精製は、周知の方法を用いて行われる。

【０４１０】

医薬組成物／投与

本発明はまた、本発明の抗体又はその抗原結合断片、及び医薬的に許容される担体を含む、医薬組成物も提供する。治療用途では、本発明の抗体は、医薬的に許容される担体中に活性成分として有効量の抗体を含有する医薬組成物として調製することができる。「担体」は、本発明の抗体と一緒に投与される希釈剤、補助剤、賦形剤、又はビヒクルを指す。このようなビヒクルは、水、及び石油、動物、植物、又は合成物由来のものを含む油、例えば、落花生油、大豆油、鉱油、ゴマ油などの液体であってよい。例えば、０．４％生理食塩水及び０．３％グリシンを用いてよい。これらの溶液は滅菌され、一般には粒子状物質を含まない。これらは、通常の周知の滅菌技術（例えば、濾過）によって滅菌することができる。組成物は、生理学的条件に近づけるために必要とされる医薬的に許容される補助物質、例えば、ｐＨ調整剤及び緩衝剤、安定化剤、増粘剤、潤滑剤及び着色剤などを含有し得る。このような医薬製剤中の本発明の抗体又はその抗原結合断片の濃度は、約０．５重量％未満から、通常は少なくとも約１重量％まで、最大で１５又は２０重量％まで変動し得、また、選択される具体的な投与方法に従って、必要とされる用量、流体体積、粘度などに主に基づいて選択され得る。好適なビヒクル、及び他のヒトタンパク質、例えばヒト血清アルブミンを含む製剤は、例えば、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ：Ｔｈｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅ　ａｎｄ　Ｐｒａｃｔｉｃｅ　ｏｆ　Ｐｈａｒｍａｃｙ，２１ｓｔ　Ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｔｒｏｙ，Ｄ．Ｂ．ｅｄ．，Ｌｉｐｉｎｃｏｔｔ　Ｗｉｌｌｉａｍｓ　ａｎｄ　Ｗｉｌｋｉｎｓ，Ｐｈｉｌａｄｅｌｐｈｉａ，ＰＡ　２００６，Ｐａｒｔ　５，Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｍａｎｕｆａｃｔｕｒｉｎｇ　ｐｐ６９１－１０９２に記載され、特にｐｐ．９５８－９８９を参照されたい。

【０４１１】

治療用途のための、本発明の抗体又はその抗原結合断片の投与経路は、錠剤、カプセル、溶液、粉末、ゲル、粒子中の配合物を用いる、対象に抗体を送達する任意の好適な経路、例えば非経口的投与（例えば皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内又は皮下、肺、経粘膜（経

口、経鼻、膣内、直腸））であることができ、注射器、移植装置、浸透性ポンプ、カートリッジ、マイクロポンプ；又は当技術分野で周知の、当業者によって認識される他の手段に含まれ得る。部位特異的投与は、例えば、腫瘍内、関節内、気管支内、腹内、関節包内、軟骨内、洞内、腔内、小脳内、脳室内、結腸内、頚管内、胃内、肝内、心筋内、骨内、骨盤内、心膜内、腹腔内、胸膜内、前立腺内、肺内、直腸内、腎臓内、網膜内、脊髄内、滑液嚢内、胸郭内、子宮内、血管内、膀胱内、病巣内、膣内、直腸内、口腔内、舌下、鼻腔内、又は経皮送達によって達成され得る。

【０４１２】

また、本発明の抗体又はその抗原結合断片は、自己免疫疾患の発現のリスクを低減する及び／又は症状の発症を遅延させるために、予防的に投与してもよい。

【０４１３】

本発明の抗体又はその抗原結合断片は、保管のために凍結乾燥し、使用前に好適な担体で再構成し得る。この技術は、従来のタンパク質調製物に関して有効であることが示されており、周知の凍結乾燥及び再構成技術を用いることができる。

【０４１４】

方法及び使用

本発明の抗体又はその抗原結合断片は、インビトロ及びインビボで、診断上、並びに治療及び予防上の有用性を有する。例えば、本発明の抗体又はその抗原結合断片を、インビトロ若しくはエクスビボで培養液中の細胞に、又は対象に投与して、免疫不全、又はＰＤ－１を発現するＴ細胞の活性の減衰、及び／又は免疫応答の下方制御が所望される任意の状態といった、様々な病気を治療、予防、及び／又は診断することができる。

【０４１５】

本発明はまた、対象におけるＰＤ－１を発現するＴ細胞の活性化の抑制方法であって、当該ＰＤ－１を発現するＴ細胞の活性化を抑制するのに十分な時間、本発明の単離抗体又はその抗原結合断片を当該対象に投与することを含む方法も提供する。

【０４１６】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－１を発現するＴ細胞は抗原特異的ＣＤ４$^{+}$　Ｔ細胞である。

【０４１７】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－１を発現するＴ細胞は抗原特異的ＣＤ８$^{+}$　Ｔ細胞である。

【０４１８】

「活性化を抑制する」とは、本明細書において提供する抗体が、ＰＤ－１を発現するＴ細胞の活性化を阻害する、例えば、抗原特異的ＣＤ４$^{+}$及び／又はＣＤ８$^{+}$　Ｔ細胞により、増殖又はＩＦＮ－γ産生を阻害する能力を意味する。抗体が、抗体の不存在下（例えば陰性対照）よりも２０％、３０％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、若しくは１００％高く、抗原特異的ＣＤ４$^{+}$及び／又はＣＤ８$^{+}$　Ｔ細胞により増殖又はＩＦＮ－γ産生を阻害するとき、又は、抗体の不存在下における阻害と比較して、阻害が統計学的に有意であるときに、抗体は、ＰＤ－１を発現するＴ細胞の活性化を抑制する。

【０４１９】

ＰＤ－１を発現するＴ細胞は、不適切な炎症反応の近くに位置している場合がある。本発明の抗体又はその抗原結合断片は、ＰＤ－１下流シグナル伝達を増強することにより、ＰＤ－１を発現するＴ細胞の活性化を抑制することができ、これにより、ＴＣＲシグナル伝達の阻害、並びにＴ細胞の活性化、増殖、及び／又は生残の阻害がもたらされる。本発明の抗体は代替的に、抗体が媒介するエフェクター機能（ＡＤＣＣ、ＡＤＣＰ、及び／又はＣＤＣ）による、ＰＤ－１陽性Ｔ細胞の殺傷を媒介することができる。

【０４２０】

免疫応答を下方制御する方法であって、治療に有効な量の本発明の単離抗体又はその抗原結合断片を、免疫応答の下方制御を必要とする対象に投与して、当該免疫応答を下方制

御することを含む、方法もまた提供する。

【０４２１】

免疫不全の治療方法であって、治療に有効な量の本発明の単離抗体又はその抗原結合断片を、免疫不全の治療を必要とする対象に投与して、当該免疫不全を治療することを含む、方法もまた提供する。

【０４２２】

免疫不全は慢性又は急性、例えば慢性の炎症性疾患又は急性の炎症性疾患であることができる。

【０４２３】

いくつかの実施形態では、免疫不全は、狼瘡（例えば全身性エリテマトーデス）、関節炎、関節リウマチ、ぜんそく、ＣＯＰＤ、骨盤内炎症性疾患、アルツハイマー病、炎症性腸疾患、クローン病、潰瘍性大腸炎、ペロニー病、セリアック病、胆嚢疾患、毛巣洞、腹膜炎、乾癬、乾癬性関節炎、脈管炎、手術による癒着、脳卒中、Ｉ型糖尿病、ライム病、髄膜脳炎、自己免疫性ぶどう膜炎、多発性硬化症、ギラン・バレー症候群、アトピー性皮膚炎、自己免疫性肝炎、線維化性肺胞炎、グレーブス病、ＩｇＡ腎症、特発性血小板減少性紫斑病、メニエール病、天疱瘡、原発性胆汁性肝硬変、サルコイドーシス、強皮症、ヴェゲナー肉芽腫症、その他の自己免疫疾患、膵炎、外傷（外科）、移植片対宿主病、移植拒絶反応、心臓疾患、並びにアテローム性動脈硬化症、血管内凝固、骨吸収、骨粗鬆症、変形性関節症、歯周炎、及び低酸症などの、虚血性疾患を含む心臓疾患、胎児－母体耐性の欠如に関連する不妊症、シェーグレン症候群、白斑、重症筋無力症、又は全身性硬化症である。

【０４２４】

いくつかの実施形態では、免疫不全は関節リウマチである。

【０４２５】

いくつかの実施形態では、免疫不全は移植片対宿主病である。

【０４２６】

いくつかの実施形態では、免疫不全は関節炎である。

【０４２７】

いくつかの実施形態では、免疫不全はぜんそくである。

【０４２８】

いくつかの実施形態では、免疫不全はＣＯＰＤである。

【０４２９】

いくつかの実施形態では、免疫不全は骨盤内炎症性疾患である。

【０４３０】

いくつかの実施形態では、免疫不全はアルツハイマー病である。

【０４３１】

いくつかの実施形態では、免疫不全は炎症性腸疾患である。

【０４３２】

いくつかの実施形態では、免疫不全はクローン病である。

【０４３３】

いくつかの実施形態では、免疫不全は潰瘍性大腸炎である。

【０４３４】

いくつかの実施形態では、免疫不全はペロニー病である。

【０４３５】

いくつかの実施形態では、免疫不全はセリアック病である。

【０４３６】

いくつかの実施形態では、免疫不全は胆嚢疾患である。

【０４３７】

いくつかの実施形態では、免疫不全は毛巣洞である。

【０４３８】

いくつかの実施形態では、免疫不全は腹膜炎である。
【０４３９】
いくつかの実施形態では、免疫不全は乾癬である。
【０４４０】
いくつかの実施形態では、免疫不全は乾癬性関節炎である。
【０４４１】
いくつかの実施形態では、免疫不全は血管炎である。
【０４４２】
いくつかの実施形態では、免疫不全は手術癒着である。
【０４４３】
いくつかの実施形態では、免疫不全は脳卒中である。
【０４４４】
いくつかの実施形態では、免疫不全はＩ型糖尿病である。
【０４４５】
いくつかの実施形態では、免疫不全はライム病である。
【０４４６】
いくつかの実施形態では、免疫不全は髄膜脳炎である。
【０４４７】
いくつかの実施形態では、免疫不全は自己免疫性ぶどう膜炎である。
【０４４８】
いくつかの実施形態では、免疫不全は多発性硬化症である。
【０４４９】
いくつかの実施形態では、免疫不全は狼瘡である。
【０４５０】
いくつかの実施形態では、免疫不全は全身性エリテマトーデスである。
【０４５１】
いくつかの実施形態では、免疫不全はギラン・バレー症候群である。
【０４５２】
いくつかの実施形態では、免疫不全はアトピー性皮膚炎である。
【０４５３】
いくつかの実施形態では、免疫不全は自己免疫性肝炎である。
【０４５４】
いくつかの実施形態では、免疫不全は線維化性肺胞炎である。
【０４５５】
いくつかの実施形態では、免疫不全はグレーブス病である。
【０４５６】
いくつかの実施形態では、免疫不全はＩｇＡ腎症である。
【０４５７】
いくつかの実施形態では、免疫不全は特発性血小板減少性紫斑病である。
【０４５８】
いくつかの実施形態では、免疫不全はメニエール病である。
【０４５９】
いくつかの実施形態では、免疫不全は天疱瘡である。
【０４６０】
いくつかの実施形態では、免疫不全は原発性胆汁性肝硬変である。
【０４６１】
いくつかの実施形態では、免疫不全はサルコイドーシスである。
【０４６２】
いくつかの実施形態では、免疫不全は強皮症である。
【０４６３】

いくつかの実施形態では、免疫不全はヴェゲナー肉芽腫症である。
【０４６４】
いくつかの実施形態では、免疫不全は膵炎である。
【０４６５】
いくつかの実施形態では、免疫不全は移植拒絶反応である。
【０４６６】
いくつかの実施形態では、免疫不全は、心筋梗塞などの虚血性疾患を含む心臓疾患である。
【０４６７】
いくつかの実施形態では、免疫不全はアテローム性動脈硬化症である。
【０４６８】
いくつかの実施形態では、免疫不全は血管内凝固である。
【０４６９】
いくつかの実施形態では、免疫不全は骨吸収である。
【０４７０】
いくつかの実施形態では、免疫不全は骨粗鬆症である。
【０４７１】
いくつかの実施形態では、免疫不全は変形性関節症である。
【０４７２】
いくつかの実施形態では、免疫不全は歯周炎である。
【０４７３】
いくつかの実施形態では、免疫不全は低酸症である。
【０４７４】
いくつかの実施形態では、免疫不全はシェーグレン症候群である。
【０４７５】
いくつかの実施形態では、免疫不全は白斑である。
【０４７６】
いくつかの実施形態では、免疫不全は重症筋無力症である。
【０４７７】
いくつかの実施形態では、免疫不全は全身性硬化症である。
【０４７８】
炎症と関連した疼痛の治療方法であって、治療に有効な量の、本発明の単離抗体又はその抗原結合断片を、疼痛の治療を必要とする対象に投与して、炎症と関連した当該疼痛を治療することを含む、方法もまた提供する。
【０４７９】
本発明はまた、治療法に使用するための、本発明のＰＤ－１に特異的に結合する抗体も提供する。
【０４８０】
本発明はまた、免疫不全の治療に使用するための、本発明のＰＤ－１に特異的に結合する抗体も提供する。
【０４８１】
本発明はまた、関節リウマチの治療に使用するための、本発明のＰＤ－１に特異的に結合する抗体も提供する。
【０４８２】
本発明はまた、全身性エリテマトーデスなどの狼瘡の治療に使用するための、本発明のＰＤ－１に特異的に結合する抗体も提供する。
【０４８３】
本発明はまた、移植片対宿主病の治療に使用するための、本発明のＰＤ－１に特異的に結合する抗体も提供する。
【０４８４】

本発明はまた、免疫不全の治療又は予防のための薬剤の製造における、本発明のＰＤ－１に特異的に結合する抗体の使用も提供する。

【０４８５】

併用療法

本明細書において提供する抗体は、第２の治療薬と組み合わせて投与することができる。

【０４８６】

第２の治療薬は、有用であることが既知である、又は、これらの疾患の治療のために使用され続けている、若しくは現在使用されている、任意の１つの作用物質若しくは作用物質の組み合わせを含む、自己免疫性又は炎症性疾患などの免疫不全に対する、任意の既知の治療法であることができる。このような療法及び治療薬としては、手術又は外科手技（例えば、脾摘出、リンパ節郭清、甲状腺摘除術、プラズマフェレーシス、白血球アフェレーシス（leukophoresis）、細胞、組織又は臓器の移植、消化器外科手術（intestinal procedures）、及び臓器潅流など）、放射線療法、例えば、ステロイド療法及び非ステロイド療法、ホルモン療法、サイトカイン療法、皮膚病薬による治療（例えば、アレルギー、接触性皮膚炎、及び乾癬などの皮膚の状態を治療するために使用される局所薬）、免疫抑制療法、並びに他の抗炎症性モノクローナル抗体療法などの療法が挙げられる。

【０４８７】

第２の治療薬は、コルチコステロイド、抗マラリア薬、免疫抑制剤、細胞毒性剤、又はＢ細胞調節因子であり得る。

【０４８８】

いくつかの実施形態では、第２の治療薬は、プレドニゾン、プレドニゾロン、メチルプレドニゾロン、デフラザコート、ヒドロキシクロロキン、アザチオプリン、メトトレキサート、シクロホスファミド、ミコフェノール酸モフェチル（ＭＭＦ）、ミコフェノール酸ナトリウム、シクロスポリン、レフルノミド、タクロリムス、ＲＩＴＵＸＡＮ（登録商標）（リツキシマブ）、又はＢＥＮＬＹＳＴＡ（登録商標）（ベリムマブ）である。

【０４８９】

いくつかの実施形態では、本発明の抗体は、第２の治療薬と組み合わせて投与される。例示的な第２の治療薬は、コルチコステロイド、非ステロイド性抗炎症薬（ＮＳＡＩＤ）、サリチレート、ヒドロキシクロロキン、スルファアラジン、細胞毒性薬、免疫抑制剤、免疫調節性抗体、メトトレキサート、シクロホスファミド、ミゾリビン、クロラムブシル、シクロポリン、タクロリムス（ＦＫ５０６；ＰｒｏＧｒａｆｒＭ）、ミコフェノール酸モフェチル、及びアザチオプリン（６－メルカプトプリン）、シロリムス（ラパマイシン）、デオキシスペルリン、レフルノミド及びそのマロノニトリルアミド類似体；抗ＣＴＬＡ４抗体及びＩｇ融合体、抗Ｂリンパ球刺激因子抗体（例えば、ＬＹＭＰＨＯＳＴＡＴ－ＢＴＭ）及びＣＴＬＡ４－Ｉｇ融合（ＢＬｙＳ－ｌｇ）、抗ＣＤ８０抗体、抗Ｔ細胞抗体、例えば、抗ＣＤ３（ＯＫＴ３）、抗ＣＤ４、コルチコステロイド、例えば、クロベタゾール、ハロベタゾール、ヒドロコルチゾン、トリアムシノロン、ベタメタゾン、フルオシノール（fluocinole）、フルオシノニド、プレドニゾン、プレドニゾロン、メチルプレドニゾロン、非ステロイド性抗炎症薬（ＮＳＡＩＤ）、例えば、スルファサラジン、メサラミン含有薬剤（５－ＡＳＡ剤として知られる）、セレコキシブ、ジクロフェナク、エトドラク、フェノプロフェン（fenprofen）、フルルビプロフェン、イブプロフェン、ケトプロフェン、メクロフェナマート（meclofamate）、メロキシカム、ナブメトン、ナプロキセン、オキサプロジン、ピロキシカム、ロフェコキシブ、サリチラート、スリンダク、及びトルメチン、ホスホジエステラーゼ－４阻害剤、抗ＴＮＦγ抗体ＲＥＭＩＣＡＤＥ（登録商標）（インフリキシマブ）、ＳＩＭＰＯＮＩ（登録商標）（ゴリムマブ）、及びＨＵＭＩＲＡ（登録商標）（アダリムマブ）、サリドマイド、又はレナリドミドである。

【０４９０】

本発明の抗体は、第２の治療剤と組み合わせて、同時、順次、又は別々に投与することもできる。

【０４９１】
ＲＡの治療効果は、米国リウマチ学会による基準、欧州リウマチ学会による診断基準、又は任意の他の基準によって定義される臨床応答によって測定されるとおりの有効性を用いて評価することができる。例えば、Ｆｅｌｓｏｎ ｅｔ ａｌ．（１９９５）Ａｒｔｈｒｉｔｉｓ Ｒｈｅｕｍ．３８：７２７－３５ ａｎｄ ｖａｎ Ｇｅｓｔｅｌ ｅｔ ａｌ．（１９９６）Ａｒｔｈｒｉｔｉｓ Ｒｈｅｕｍ．３９：３４－４０）を参照のこと。

【０４９２】
本発明は一般論として記述されてきているが、本発明の実施形態は、特許請求の範囲を限定するように解釈されるべきではない以下の実施例で更に開示される。

【０４９３】
実施例１．方法
表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）を用いる親和性測定
親和性測定は、ＰｒｏｔｅＯｎ ＸＰＲ３６システム（ＢｉｏＲａｄ）を用いて実施した。アミンカップリング化学反応についての製造元の使用説明書を使用し、抗ヒトＩｇＧ Ｆｃ（Ｊａｃｋｓｏｎカタログ番号１０９－００５－０９８）を、ＧＬＣチップ（ＢｉｏＲａｄ，カタログ番号１７６－５０１１）の加工アルギン酸ポリマー層にカップリングさせて、バイオセンサー表面を調製した。約５０００ＲＵ（応答単位）のｍＡｂを固定化した。ランニング緩衝液（ＤＰＢＳ＋０．０１％ Ｐ２０＋１００μｇ／ｍＬ ＢＳＡ）中にて２５℃で速度実験を実施した。速度実験を行うために、２００ＲＵのｍＡｂを捕捉した後、１．５６３ｎＭ～４００ｎＭの範囲の濃度（４倍連続希釈）にて、検体（ヒト及びカニクイザルＰＤ－１）を注入した。５０μＬ／分で３分間会合段階をモニタした後、１０又は１５分間、緩衝液を流した（解離段階）。１００μＬ／分で１００ｍＭ H_3PO_4（Ｓｉｇｍａ、カタログ番号７９６１）を１８秒間ずつ２回流してチップ表面を再生した。

【０４９４】
回収したデータをＰｒｏｔｅＯｎ Ｍａｎａｇｅｒソフトウェアを用いて処理した。まず、インタースポットを用いてバックグラウンドについてデータを補正した。次いで、分析物注入用の緩衝液注入を使用して、データのダブルリファレンスサブトラクション（ｄｏｕｂｌｅ ｒｅｆｅｒｅｎｃｅ ｓｕｂｔｒａｃｔｉｏｎ）を行った。ラングミュア型の１：１結合モデルを用い、データの速度論的分析を実施した。各ｍＡｂの結果を、ｋａ（結合速度（Ｏｎ－ｒａｔｅ））、ｋｄ（解離速度（Ｏｆｆ－ｒａｔｅ））、及びK_D（平衡解離定数）の形式で報告した。

【０４９５】
抗原特異的Ｔ細胞の阻害：サイトメガロウイルス（ＣＭＶ）誘発性末梢血単核球（ＰＢＭＣ）活性化アッセイ（「ＣＭＶ－ＰＢＭＣ」）
ＣＭＶ特異的リコール応答を利用するアッセイを用いて、ＣＭＶ反応性ドナーのＰＢＭＣをＣＭＶペプチド混合物（ＪＰＴ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）で処理する際の、細胞増殖の阻害により測定される、生成抗体がＴ細胞の活性化を阻害する能力を評価した。

【０４９６】
ＰＢＭＣ（Ａｓｔａｒｔｅ Ｂｉｏｌｏｇｉｃｓ、Ｈｅｍａｃａｒｅ、Ｐｒｅｃｉｓｉｏｎ ｆｏｒ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ）は、対応する供給元により、ＣＭＶ抗原に反応性であることが測定された。ＰＢＭＣの凍結バイアル瓶を供給元から購入し、液体窒素中で保持した。実験日に、凍結ＰＢＭＣのアリコートを解凍し、細胞を１０ｍＬのアッセイ培地（１％ペニシリン／ストレプトマイシン、１％ピルビン酸ナトリウム、１％非必須アミノ酸（ＮＥＡＡ）溶液、１０％加熱不活性化ウシ胎児血清（全てＴｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃより購入）を含有する、ＲＰＭＩ－１６４０／Ｇｌｕｔａｍａｘ／ＨＥＰＥＳ）に再懸濁した。細胞を室温で１５分間、２００ｇで遠心分離した。遠心分離後、上清を捨て、細胞を１０ｍＬのアッセイ培地に再懸濁し、１０分間２５０ｇで遠心沈殿させた。遠心分離後、細胞を１０ｍＬのアッセイ培地に再懸濁し、７０μｍのストレ

ーナを通過させて計数した。細胞濃度を１．５×１０^{6}ｃｅｌｌｓ／ｍＬ、又は２×１０^{6}ｃｅｌｌｓ／ｍＬに調節し、組織培養液で処理した丸底９６ウェルプレート（Ｃｏｒｎｉｎｇ）を用いて、１００μＬ／ウェルにて細胞をプレーティングした。プレーティング細胞密度はドナー特異的であり、アッセイウィンドウを最大化するように、予備実験で予め決められていた。ＣＭＶペプチド混合物を、メーカーの指示に従い調製した。簡潔に述べると、４０μＬのジメチルスルホキシド（Ｓｉｇｍａ）を、２５μｇのＣＭＶペプチド混合物凍結乾燥粉末を含有するバイアル瓶に加え、穏やかにピペット処理して試薬を溶解させた。ＣＭＶペプチド混合物のＤＭＳＯ現役をＰＢＳに希釈し、５０μｇ／ｍＬの溶液を調製し、室温で１０分間放置した。更に希釈を行い、４倍の終濃度にてアッセイ培地を調製し、５０μＬのＣＭＶペプチド溶液を各刺激済みウェルに添加した。刺激されていない対照ウェルは、未補充の培地を受けた。終濃度を、予備実験における特異的ドナーＰＢＭＣのために最適化した（０．１～０．２μｇ／ｍＬ）。抗ＰＤ－１抗体をアッセイ培地に、１０μｇ／ｍＬの連続希釈物を４倍の終濃度で１回投与して添加し、５０μＬの抗体溶液を各ウェルに添加した。一方で、「抗体なし」の対照ウェルは５０μＬの培地を受けた。プレートを３７℃／５％　CO_2で６日間インキュベートした。インキュベーション後、１００μＬの上清を各ウェルから回収し、１μＣｉ／ウェルのメチル－３Ｈ－チミジン（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ）を含有する１００μＬのアッセイ培地を各ウェルに添加し、３７℃／５％　CO_2にて６時間、プレートをインキュベートした。細胞をＵｎｉｆｉｌｔｅｒ－９６、ＧＦ／Ｃプレート（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ）上に収集し、これを室温で一晩乾燥させた。５０μＬのＭｉｃｒｏｓｃｉｎｔ－２０（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ）を各ウェルに添加した。プレートを密封し、ＴｏｐＣｏｕｎｔ　ＮＸＴ（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ）を用いて計数した。

【０４９７】

抗体の、受容体－リガンド遮断能力を測定するための、細胞クラスター化の阻害

ＰＤ－１（ＰＤ－１－ＨＥＫ細胞）、又はＰＤ－１のリガンドであるＰＤ－Ｌ１（ＰＤ－Ｌ１－ＨＥＫ細胞）、若しくはＰＤ－Ｌ２（ＰＤ－Ｌ２－ＨＥＫ細胞）のいずれかを過剰発現する、ヒト胎児腎臓（ＨＥＫ）細胞の１：１混合物を利用するアッセイを用いて、フローサイトメトリーにより定量化される細胞クラスター化の阻害により測定される、生成抗体が細胞ベースの文脈における、受容体：リガンドの相互作用を評価した。

【０４９８】

ヒトＰＤ１を過剰発現するＨＥＫ細胞（Ｃｒｏｗｎ　Ｂｉｏ）を、Ｖｉｏｌｅｔ　Ｃｅｌｌ　Ｔｒａｃｅ　Ｓｔａｉｎ（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）で標識した。カニクイザルＰＤ－Ｌ１又はＰＤ－Ｌ２を過剰発現するＨＥＫ細胞を、Ｆａｒ　Ｒｅｄ　Ｃｅｌｌ　Ｔｒａｃｅ　Ｓｔａｉｎ（Ｌｉｆｅ　ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）で標識した。簡潔に述べると、染料を２０μＬのＤＭＳＯに可溶化して５ｍＭの原液を作製した後、５μＬを１０ｍＬ　ＰＢＳに希釈して２．５μＭの溶液を作製した。細胞を計数し、５０×１０^{6}個の細胞を１０００ｒｐｍにて５分間、室温で遠心分離した。細胞を一度ＰＢＳで洗浄し、１×１０^{6}個の細胞を非染色対照として取り分けた。遠心分離を繰り返した後で上清を捨て、細胞を上述した適切な染料溶液に再懸濁し、１５分間室温でインキュベートした。次に、４ｍＬの氷冷ウシ胎児血清（ＦＢＳ）を添加し、更に５分間インキュベートした。次に、上述のとおりに細胞を遠心分離し、アッセイ緩衝液（ＰＢＳ、１０％　ＦＢＳ、１ｍＭ　ＥＤＴＡ）で一度洗浄し、再度遠心分離して上清を吸引した後、各セルタイプをアッセイ緩衝液に、３×１０^{6}ｃｅｌｌｓ／ｍＬで再懸濁した。アッセイ緩衝液中で試験抗体を、所望の終濃度（６０μｇ／ｍＬ）の３倍まで希釈した。最終の細胞／抗体サンプルを（３とおりで）調製するために、１００μＬのＰＤ－１－ＨＥＫ細胞を、１００μＬの抗体と混合した。１０分間インキュベーションした後、１００μＬのＰＤ－Ｌ１－ＨＥＫ又はＰＤ－Ｌ２－ＨＥＫ細胞を添加し、最終の混合サンプルを氷上で、最低１時間インキュベートした。最後に、５μＬのヨウ化プロピジウムを添加してサンプルを穏やかに混合し、ポリスチレン製の丸底管に移し、ＬＳＲＩＩ　フローサイトメーター（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）で分析した。生細胞のゲーティングイベントの後、Ｐａｃｉｆ

ｉｃ　Ｂｌｕｅ及びＡＰＣチャンネルに関するダブルポジティブイベントの割合を、Ｆｌｏｗｊｏソフトウェアを用いて測定し、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍ６でグラフ化した。抗ＰＤ－１　ｍＡｂに関するダブルポジティブイベントの割合により測定したクラスター化のレベルを、陽性、及び陰性アイソタイプコントロール抗体と比較した。

【０４９９】

オクテットエピトープビニング

バイオ層干渉法に基づくＯｃｔｅｔ　Ｒｅｄ３８４プラットフォーム（Ｆｏｒｔｅ　Ｂｉｏ）上で、競合結合アッセイによる抗体のエピトープビニングを実施した。本技術では、時間と共にバイオセンサチップの光学密度が増加する、結合した抗体による波長シフトとして、初期抗体のＰＤ－１被覆バイオセンサーへの結合を測定する。簡潔に述べると、ヒスチジンタグを付けたＰＤ－１抗原をＨＩＳセンサーにロードした。次に、センサーを２０μｇ／ｍＬの一次抗ＰＤ－１抗体に暴露し、続いて、等濃度の二次抗ＰＤ－１抗体に暴露した。ＦｏｒｔｅＢｉｏ　Ｄａｔａ　Ａｎａｌｙｓｉｓ　Ｓｏｆｔｗａｒｅを用いてデータを処理した。一次抗体による飽和後の、二次抗体による追加の結合は、必然的に固有の非重複エピトープを有する、２つの抗体の同時結合を示す。あるいは、追加の結合が存在しないことは、２つの抗体が、ＰＤ－１抗原への結合を競合することを示す。

【０５００】

抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ）

ヒトメモリーＴ細胞（標的細胞）の活性化：

ヒトメモリーＴ細胞（ＡｌｌＣｅｌｌｓ　ＬＬＣ）の凍結アリコートを、３７℃の湯浴中で解凍し、４０ｍＬの培地（ＲＰＭＩ＋１０％　ＦＢＳ又は５％ＨｕＳＡＢ＋５０μＭβＭＥ（１：１０００）＋１％　ＧｌｕｔａＭａｘ＋１０ｍＭ　Ｈｅｐｅｓ）に再懸濁した。細胞を室温で１５分間、２５０ｇで遠心分離した。遠心分離後、上清を捨て、細胞を１０ｍＬの培地に再懸濁して、１０分間２５０ｇにて遠心沈殿させた。遠心分離後、細胞を１０ｍＬのアッセイ培地に再懸濁し、計数した。細胞濃度を1.0×10^{6}ｃｅｌｌｓ／ｍＬに調節し、１０ｍＬの細胞懸濁液を、抗ＣＤ３抗体で予め被覆した組織培養皿に移した（ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ、ＰＢＳ中に５μｇ／ｍＬ、３７℃にて１時間）。培地を、２μｇ／ｍＬの抗ＣＤ２８　Ａｂ（ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）、並びにＩＬ－２、ＩＬ－１５、及びＩＬ－７サイトカインのカクテル（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ及びＰｅｐｒｏｔｅｃｈ）で、１００ｎｇ／ｍＬの濃度にて補充した。予備実験では、ＰＤ－１の発現が活性化後５日目にピークを迎えたことが示されたため、この時点をアッセイのために選択した。低量のＰＤ－１を発現するため、改めて単離した残りのメモリーＴ細胞（ＣＤ３／ＣＤ２８刺激により活性化されていない）を、対照として分析に含めた。

【０５０１】

エフェクター細胞（ＮＫ９２．ＣＤ１６及びＰＢＭＣ）の調製：

ＮＫ－９２細胞を、直立して保管した組織培養フラスコ内で増殖させ、４０ｍＬの培地（Ｍｙｅｌｏｃｕｌｔ　Ｈ５１００（ＳｔｅｍＣｅｌｌ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）、１×ピルビン酸ナトリウム／非必須アミノ酸／Ｐｅｎ　Ｓｔｒｅｐ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）、４μＭハイドロコルチゾン（ＳｔｅｍＣｅｌｌ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）、１００ｎｇ／ｍＬ　ｒｈＩＬ－２（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）に、$0.5\sim1.0\times10^{6}$ｃｅｌｌｓ／ｍＬの密度で保持した。凍結ＰＢＭＣ細胞（Ｈｅｍａｃａｒｅ）を実験の前日に解凍し、ＸＶＩＶＯ－１０培地（Ｌｏｎｚａ）、１０％　ＨＩ　ＦＢＳ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）、及び１００ｎｇ／ｍＬ　ＩＬ２（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）に再懸濁した。細胞を室温で１５分間、２５０ｇで遠心分離した。遠心分離後、上清を捨て、細胞を１０ｍＬの培地に再懸濁して、１０分間２５０ｇにて遠心沈殿させた。遠心分離後、細胞を１０ｍＬの培地に再懸濁させて計数した。細胞濃度を1.0×10^{6}ｃｅｌｌｓ／ｍＬに調節し、必要な細胞数をＴＣディッシュにプレーティングした。

【０５０２】

アッセイ日に、ＰＢＭＣ及びＮＫ細胞を収集し、アッセイ培地（ＲＰＭＩ、１０％　ＦＢＳ、１ｍＭピルビン酸ナトリウム、０．１ｍＭ　ＮＥＡＡ）にそれぞれ、1×10^{7}ｃ

ｅｌｌｓ／ｍＬ、及び４×１０^{6}ｃｅｌｌｓ／ｍＬで懸濁した。メモリーＴ細胞を一度洗浄し、１×１０^{6}ｃｅｌｌｓ／ｍＬにて再懸濁して、細胞１ｍＬ当たり、６μＬのＢＡＴＤＡ（Ｐｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ）で、３７℃にて３０分間標識した。ＢＡＴＤＡ標識細胞を、過剰な冷却アッセイ培地で３回洗浄し、密度を０．２×１０^{6}ｃｅｌｌｓ／ｍＬに調節した。２０μｇ／ｍＬにて開始した試験Ａｂの連続希釈をアッセイ培地で調製し、Ｕ底の９６ウェルアッセイプレートに送達した（１００μＬ、２×の終濃度）。ＢＡＴＤＡ標識標的細胞（５０μＬ）を０．２×１０^{6}ｃｅｌｌｓ／ｍＬで添加し、試験ｍＡｂでインキュベートした。ＰＢＭＣ（５０μＬ）を、５０：１のエフェクター：標的細胞比に対して、１×１０^{7}ｃｅｌｌｓ／ｍＬにて添加した一方、ＮＫ細胞（５０μＬ）を、２０：１のエフェクター：標的細胞比に対して４×１０^{6}ｃｅｌｌｓ／ｍＬで添加した。標識標的細胞及び２０μＬの２％　Ｔｒｉｔｏｎ　Ｘ－１００を含有する、最大の細胞溶解対照ウェルを３とおりで設定した。アッセイ培地に標識標的細胞を含有する最小（バックグラウンドＢＡＴＤＡ放出）対照ウェルもまた、３とおりで設定した。全アッセイプレートの最終体積は、２００μＬであった。ウェル内容物をピペットで、穏やかに混合した。プレートを簡単に遠心沈殿させ、５％　CO_2インキュベーター内で２．５時間、３７℃にてインキュベートした。インキュベーション後、細胞を１２００ｒｐｍで５分間遠心した。２００μＬのユーロピウム溶液（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ、Ｃ１３５－１００）を含有する、９６ウェルの白色不透明Ｎｕｎｃプレート（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ、１３６１０１）に、上清（３０μＬ）を移した。プレートを被覆して光から保護し、振とう器で１５分間混合した。サンプルをＥｎｖｉｓｉｏｎ　ＭｕｌｔｉＬａｂｅｌ　Ｒｅａｄｅｒ（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ）で読み取った。細胞溶解率を、以下のとおりに計算した：１００＊（実験での放出－バックグラウンドでの放出）／（最大放出－バックグラウンド放出）。

【０５０３】

補体依存性細胞傷害（ＣＤＣ）

ヒト汎Ｔ細胞（Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｓｐｅｃｉａｌｔｙ、ＬＳＩＩ　４９３０１Ｃ）の凍結アリコートを３７℃湯浴で解凍し、４０ｍＬの、予熱したＲＰＭＩ　１６４０＋Ｇｌｕｔａｍａｘ＋２５ｍＭ　ＨＥＰＥＳ（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、Ｃａｔ＃　７２４００－０４７）＋１０％　ＦＢＳ（Ｇｉｂｃｏ、１６０００－３６）に再懸濁した。細胞を２５０ｇにて５分間、室温で遠心分離した。遠心分離後、上清を捨て、細胞を１０ｍＬ～２０ｍＬの培地に再懸濁して計数した。ＣＤＣアッセイの５～６日前に、ヒトＴ活性化因子ＣＤ３／ＣＤ２８　Ｄｙｎａｂｅａｄｓ（商標）（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、Ｃａｔ＃　１１１３２Ｄ）を用いて、ヒト汎Ｔ細胞（Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｓｐｅｃｉａｌｔｙ、ＬＳＩＩ　４９３０１Ｃ）を活性化した。簡潔に述べると、７５μＬの予洗浄したダイナビーズを、６．０×１０^{6}ｃｅｌｌｓ／フラスコのＴ細胞と混合し、１０～２０ｍＬの培地内のＴ１７５に添加し、３７℃／５％　ＣＯ２のインキュベーター内で６日間インキュベートした。６日後、ＥａｓｙＳｅｐ（商標）マグネット（ＳＴＥＭＣＥＬＬ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、１８０００）を用いて、混合物からビーズを除去した。

【０５０４】

ＣＤＣアッセイ用の調製において、細胞を２５０ｇにて５分間、室温で遠心分離した。遠心分離後、上清を捨て、１０ｍＬの無血清培地に細胞を再懸濁して計数した。細胞濃度を、無血清培地で１．６×１０^{6}ｃｅｌｌｓ／ｍＬに調節し、５０μＬ／ウェルで９６ウェルＵ底プレート（Ｆａｌｃｏｎ、３５３０７７）にプレーティングした。２５μｇ／ｍＬから開始し、無血清培地内で１１点を通って、試験抗体を１：３に連続希釈した（３倍）。５０μＬ／ウェルの試験抗体を、適切な標的細胞ウェルに添加した。５０μＬ／ウェルの無血清培地を、バックグラウンド及び細胞溶解対照ウェルに添加した。プレートを被覆して、１時間室温でインキュベートした。無血清培地に希釈した、５０μＬ／ウェルの１０％（３倍）ウサギ補体（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、３１０３８－１００）を、試験ウェルに添加した。５０μＬ／ウェルの無血清培地を、バックグラウンド対照ウェルに添加し

た。５０μＬ／ウェルの、無血清培地中の２％　Ｔｒｉｔｏｎ－Ｘを細胞溶解対照ウェルに添加した。プレートを３７℃／５％　CO_2にて６０分間インキュベートした。細胞を２５０ｇで５分間遠心沈殿させた。５０μＬ／ウェルの上清を除去し、９６ウェル平底ＵＶ－Ｖｉｓプレート（Ｃｏｒｎｉｎｇ、３６３５）に移した。５０μＬ／ウェルのＬＤＨ検出試薬（Ｒｏｃｈｅ、１１－６４４－７９３－００１を各サンプルに添加し、プレートを回収し、１５分間室温でインキュベートした。４９０及び６５０ｎｍでの吸光度を、ＳｐｅｃｔｒａＭａｘ　Ｐｌｕｓ　Ｍ５（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｅｖｉｃｅｓ）で記録した。Ｍｉｃｒｏｓｏｆｔ　Ｅｘｃｅｌ及びＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍ６を使用して、統計分析を実施した。６５０ｎｍにおける吸光度を４９０ｎｍにおける吸光度から減算し、濁度を正規化した。各サンプルについて、細胞傷害性率（％）を以下の式を用いて測定した：

（実験値－低対照）／（高対照－低対照）×１００

高対照は、Ｔｒｉｔｏｎ－Ｘ細胞溶解対照ウェルの平均であり、低対照は、「培地のみ」のバックグラウンド対照ウェルの平均である。４パラメータロジスティック曲線適合モデル［ｌｏｇ（アゴニスト）ｖｓ応答－可変勾配（４つのパラメータ）をＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍにおいて、計算した細胞傷害性（％）に対するＡｂ濃度のｌｏｇ１０に適用した。サンプルを二重に実行し、アッセイを２回実施した。

【０５０５】

標的の発現を確認するために、活性化ヒト汎Ｔ細胞におけるＰＤ－１レベルを、活性化後５日目又は６日目にフローサイトメトリーで測定した。簡潔に述べると、Ｔ細胞を２５０ｇにて５分間遠心分離し、ＢＳＡ染色緩衝液（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、５５４６５７）に、1×10^6ｃｅｌｌｓ／ｍＬで再懸濁した。１００～２００Ｋの細胞を、飽和濃度のＰＥ－ＰＤ－１　Ａｂ（Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ、３２９９０６）と共に、１００μＬの総体積でインキュベートした。細胞を２倍のｗ／ＢＳＡ染色緩衝液で洗浄し、ＤＲＡＱ７生／死染色（Ｃｅｌｌ　Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、７４０６Ｓ）を含有する等体積の緩衝液に、再懸濁させた。ＭＡＣＳＱｕａｎｔ　Ａｎａｌｙｚｅｒ１０フローサイトメーターで、５Ｋの生細胞イベントに関して、中央蛍光強度を記録した。Ｑｕａｎｔｉｂｒｉｔｅ（商標）ＰＥビーズ（ＢＤ、３４０４９５）を用いて生成した検量線を使用して、受容体のレベルを測定し、細胞１個当たりに結合した抗体として表した。

【０５０６】

実施例２．ＰＤ－１に特異的に結合するアゴニスト抗体の生成、及びその構造特性決定

３匹のＢａｌｂ／ｃ、及び３匹のＣ３Ｈマウスを、Ｆｃ（ｈｕＰＤ－１－Ｆｃ）、及び標準的な手順を用いて生成したハイブリドーマと複合体化した、ヒトＰＤ－１（配列番号１）の細胞外ドメイン（ＥＣＤ）で免疫付与した。組み換えＰＤ－１（ＥＣＤ）への結合に関して、ＥＬＩＳＡによりハイブリドーマをスクリーニングした。陰性対照の平均の５倍を超えるＥＬＩＳＡ信号を与えるサンプルを、「当たり」として定義した。無関係なＦｃ融合タンパク質に対して、及び、マウスＰＤ－１への結合に関して、陽性クローンを交差スクリーニングした。単一細胞からクローニングしたハイブリドーマの上清を、ヒト及びカニクイザルＰＤ－１タンパク質への結合について試験した。陰性対照の平均＋３標準偏差を超える信号を、「当たり」として定義した。

【０５０７】

選択マウス抗体を、キメラｍＡｂとしてヒトＩｇＧ１にクローニングし、実施例１に記載する手順に従ったＣＭＶリコールアッセイ（ＣＭＶ－ＰＢＭＣアッセイ）において、抗原特異的Ｔ細胞を阻害する能力について試験した。図１Ａ及び図１Ｂは、５０％以上を超えるレベルで、試験抗体の大多数がＴ細胞増殖を阻害したことを示す。ＰＤ１Ｂ１９９はアンタゴニスト抗－ＰＤ１　ｍＡｂである。ＣＮＴＯ３９３０：アイソタイプコントロール。

【０５０８】

配列番号１　ＰＤ－１　ＥＣＤ

ＰＧＷＦＬＤＳＰＤＲＰＷＮＰＰＴＦＳＰＡＬＬＶＶＴＥＧＤＮＡＴＦＴＣＳＦＳＮＴ
ＳＥＳＦＶＬＮＷＹＲＭＳＰＳＮＱＴＤＫＬＡＡＦＰＥＤＲＳＱＰＧＱＤＣＲＦＲＶＴＱ
ＬＰＮＧＲＤＦＨＭＳＶＶＲＡＲＲＮＤＳＧＴＹＬＣＧＡＩＳＬＡＰＫＡＱＩＫＥＳＬＲ
ＡＥＬＲＶＴＥＲＲＡＥＶＰＴＡＨＰＳＰＳＰＲＰＡＧＱＦＱＴＬＶ

【０５０９】

配列番号１３１　ＦＬ成熟ＰＤ－１

ＰＧＷＦＬＤＳＰＤＲＰＷＮＰＰＴＦＳＰＡＬＬＶＶＴＥＧＤＮＡＴＦＴＣＳＦＳＮＴ
ＳＥＳＦＶＬＮＷＹＲＭＳＰＳＮＱＴＤＫＬＡＡＦＰＥＤＲＳＱＰＧＱＤＣＲＦＲＶＴＱ
ＬＰＮＧＲＤＦＨＭＳＶＶＲＡＲＲＮＤＳＧＴＹＬＣＧＡＩＳＬＡＰＫＡＱＩＫＥＳＬＲ
ＡＥＬＲＶＴＥＲＲＡＥＶＰＴＡＨＰＳＰＳＰＲＰＡＧＱＦＱＴＬＶＶＧＶＶＧＧＬＬＧ
ＳＬＶＬＬＶＷＶＬＡＶＩＣＳＲＡＡＲＧＴＩＧＡＲＲＴＧＱＰＬＫＥＤＰＳＡＶＰＶＦ
ＳＶＤＹＧＥＬＤＦＱＷＲＥＫＴＰＥＰＰＶＰＣＶＰＥＱＴＥＹＡＴＩＶＦＰＳＧＭＧＴ
ＳＳＰＡＲＲＧＳＡＤＧＰＲＳＡＱＰＬＲＰＥＤＧＨＣＳＷＰＬ

【０５１０】

実施例３．抗ＰＤ－１抗体のヒト化

ＰＤ１Ｂ５０５、ＰＤ１Ｂ５０６、及びＰＤ１Ｂ５１２を含むいくつかの親抗体をヒト化した。ヒト化ＶＨ及びＶＬの最善の組み合わせを発見するために、１つ以上のヒト生殖細胞系重鎖及び軽鎖Ｖ領域の配列を、抗体のそれぞれについて選択した。ヒトＪセグメント配列に対して、親Ｊセグメント配列を比較することにより、各親抗体のＶＬ及びＶＨに対するヒトＪセグメントを選択し、配列同一性を最大化した。各抗体の、全てのＶＨ／ＶＬヒト化対を作製し、抗原結合及びタンパク質発現に関して、粗上清としてマトリクス中で試験した。これらのデータに基づき、親マウス抗体に匹敵する、又はそれより改善されたＰＤ－１結合を示す抗体を精製し、それらの有効性についてＣＭＶ－ＰＢＭＣアッセイで試験した。

【０５１１】

生成抗体を、可能性のある不必要な翻訳後修飾のリスクについて分析した。突然変異誘発により、抗体内のあらゆる場所にあるＣＤＲ及び遊離システインに位置する、高リスクアミド分解モチーフを除去し、得られた抗体を、ＰＤ－１への結合、及び有効性について、ＣＭＶ－ＰＢＭＣアッセイで試験した。

【０５１２】

ヒト化抗体及びそれらの多様体を、ＩｇＧ１としてクローニングした。

【０５１３】

表３は、生成抗体を示す。表４は、抗体のＶＨ、ＶＬ、ＨＣ、及びＬＣアミノ酸配列の配列番号を示す。表５は、抗体のＶＨ、ＶＬ、ＨＣ、及びＬＣをコードするポリヌクレオチド配列の配列番号を示す。表６は、抗体のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３アミノ酸配列の配列番号を示す。表７は、抗体のＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、及びＨＣＤＲ３アミノ酸配列を示す。表８は、抗体のＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３アミノ酸配列を示す。表９は、抗体のＶＨ及びＶＬアミノ酸配列を示す。表１０は、抗体のＶＨをコードするポリヌクレオチド配列を示す。表１１は、抗体のＶＬをコードするポリヌクレオチド配列を示す。表１２はＨＣアミノ酸配列を示す。表１３はＬＣアミノ酸配列を示す。表１４は、抗体のＨＣをコードするポリヌクレオチド配列を示す。表１５は、抗体のＬＣをコードするポリヌクレオチド配列を示す。

【０５１４】

【表３】

表３.

mAb	抗体の由来	VH名	VL名
PD1B505	親	PD1H93	PD1L30
PD1B742	ヒト化PD1B505	PD1H384	PD1L468
PD1B743	ヒト化PD1B505	PD1H384	PD1L469
PD1B878	PD1B743のC84S多様体	PD1H405	PD1L469
PD1B506	親	PD1H90	PD1L28
PD1B750	ヒト化PD1B506	PD1H388	PD1L470
PD1B751	ヒト化PD1B506	PD1H388	PD1L471
PD1B845	PD1B750のG56A多様体	PD1H399	PD1L470
PD1B846	PD1B750のN55D、G56A多様体	PD1H400	PD1L470
PD1B847	PD1B750のN55Q多様体	PD1H401	PD1L470
PD1B848	PD1B750のN55K多様体	PD1H402	PD1L470
PD1B849	PD1B750のN55E多様体	PD1H403	PD1L470
PD1B850	PD1B750のG56I多様体	PD1H404	PD1L470
PD1B512	親	PD1H81	PD1L43
PD1B756	ヒト化PD1B512	PD1H389	PD1L472
PD1B757	ヒト化PD1B512	PD1H389	PD1L473

【０５１５】

【表４】

表４.

mAb	VH名	VL名	アミノ酸配列の配列番号			
			VH	VL	HC	LC
PD1B505	PD1H93	PD1L30	8	14	20	26
PD1B742	PD1H384	PD1L468	9	15	21	27
PD1B743	PD1H384	PD1L469	9	16	21	28
PD1B878	PD1H405	PD1L469	10	16	22	28
PD1B506	PD1H90	PD1L28	44	60	66	82
PD1B750	PD1H388	PD1L470	45	61	67	83
PD1B751	PD1H388	PD1L471	45	62	67	84
PD1B845	PD1H399	PD1L470	46	61	68	83
PD1B846	PD1H400	PD1L470	47	61	69	83
PD1B847	PD1H401	PD1L470	48	61	70	83
PD1B848	PD1H402	PD1L470	49	61	71	83
PD1B849	PD1H403	PD1L470	50	61	72	83
PD1B850	PD1H404	PD1L470	51	61	73	83
PD1B512	PD1H81	PD1L43	94	98	104	108
PD1B756	PD1H389	PD1L472	95	99	105	109
PD1B757	PD1H389	PD1L473	95	100	105	110

【０５１６】

【表５】

表５．

mAb	VH名	VL名	ポリヌクレオチド配列の配列番号			
			VH	VL	HC	LC
PD1B505	PD1H93	PD1L30	11	17	23	29
PD1B742	PD1H384	PD1L468	12	18	24	30
PD1B743	PD1H384	PD1L469	12	19	24	31
PD1B878	PD1H405	PD1L469	13	19	25	31
PD1B506	PD1H90	PD1L28	52	63	74	85
PD1B750	PD1H388	PD1L470	53	64	75	86
PD1B751	PD1H388	PD1L471	53	65	75	87
PD1B845	PD1H399	PD1L470	54	64	76	86
PD1B846	PD1H400	PD1L470	55	64	77	86
PD1B847	PD1H401	PD1L470	56	64	78	86
PD1B848	PD1H402	PD1L470	57	64	79	86
PD1B849	PD1H403	PD1L470	58	64	80	86
PD1B850	PD1H404	PD1L470	59	64	81	86
PD1B512	PD1H81	PD1L43	96	101	106	111
PD1B756	PD1H389	PD1L472	97	102	107	112
PD1B757	PD1H389	PD1L473	97	103	107	113

【０５１７】

【表６】

表６．

抗体	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
PD1B505	2	3	4	5	6	7
PD1B742	2	3	4	5	6	7
PD1B743	2	3	4	5	6	7
PD1B878	2	3	4	5	6	7
PD1B506	32	33	40	41	42	43
PD1B750	32	33	40	41	42	43
PD1B751	32	33	40	41	42	43
PD1B845	32	34	40	41	42	43
PD1B846	32	35	40	41	42	43
PD1B847	32	36	40	41	42	43
PD1B848	32	37	40	41	42	43
PD1B849	32	38	40	41	42	43
PD1B850	32	39	40	41	42	43
PD1B512	88	89	90	91	92	93
PD1B756	88	89	90	91	92	93
PD1B757	88	89	90	91	92	93

【０５１８】

【表７】

表７．

抗体	HCDR1 （配列番号）	HCDR2 （配列番号）	HCDR3 （配列番号）
PD1B505	GYTFTDYSMH （配列番号2）	WINIETGEPT （配列番号3）	DYYGTYFYAMDY （配列番号4）
PD1B742	GYTFTDYSMH （配列番号2）	WINIETGEPT （配列番号3）	DYYGTYFYAMDY （配列番号4）
PD1B743	GYTFTDYSMH （配列番号2）	WINIETGEPT （配列番号3）	DYYGTYFYAMDY （配列番号4）
PD1B878	GYTFTDYSMH （配列番号2）	WINIETGEPT （配列番号3）	DYYGTYFYAMDY （配列番号4）
PD1B506	GYTFTTYWMH （配列番号32）	EINPNNGGIN （配列番号33）	DYYDYGGY （配列番号40）
PD1B750	GYTFTTYWMH （配列番号32）	EINPNNGGIN （配列番号33）	DYYDYGGY （配列番号40）
PD1B751	GYTFTTYWMH （配列番号32）	EINPNNGGIN （配列番号33）	DYYDYGGY （配列番号40）
PD1B845	GYTFTTYWMH （配列番号32）	EINPNNAGIN （配列番号34）	DYYDYGGY （配列番号40）
PD1B846	GYTFTTYWMH （配列番号32）	EINPNDAGIN （配列番号35）	DYYDYGGY （配列番号40）
PD1B847	GYTFTTYWMH （配列番号32）	EINPNQGGIN （配列番号36）	DYYDYGGY （配列番号40）
PD1B848	GYTFTTYWMH （配列番号32）	EINPNKGGIN （配列番号37）	DYYDYGGY （配列番号40）
PD1B849	GYTFTTYWMH （配列番号32）	EINPNEGGIN （配列番号38）	DYYDYGGY （配列番号40）
PD1B850	GYTFTTYWMH （配列番号32）	EINPNNIGIN （配列番号39）	DYYDYGGY （配列番号40）
PD1B512	GFSLSTSGMGVS （配列番号88）	HIYWDDDKR （配列番号89）	KGYYDYGYVMDY （配列番号90）
PD1B756	GFSLSTSGMGVS （配列番号88）	HIYWDDDKR （配列番号89）	KGYYDYGYVMDY （配列番号90）
PD1B757	GFSLSTSGMGVS （配列番号88）	HIYWDDDKR （配列番号89）	KGYYDYGYVMDY （配列番号90）

【０５１９】

【表８】

表８.

抗体	LCDR1（配列番号）	LCDR2（配列番号）	LCDR3（配列番号）
PD1B505	TASSSVSSSYLH （配列番号5）	STSNLAS （配列番号6）	HQYHRSPLT （配列番号7）
PD1B742	TASSSVSSSYLH （配列番号5）	STSNLAS （配列番号6）	HQYHRSPLT （配列番号7）
PD1B743	TASSSVSSSYLH （配列番号5）	STSNLAS （配列番号6）	HQYHRSPLT （配列番号7）
PD1B878	TASSSVSSSYLH （配列番号5）	STSNLAS （配列番号6）	HQYHRSPLT （配列番号7）
PD1B506	KASQNVGTNVA （配列番号41）	SASYRYS （配列番号42）	QQYNIYPYT （配列番号43）
PD1B750	KASQNVGTNVA （配列番号41）	SASYRYS （配列番号42）	QQYNIYPYT （配列番号43）
PD1B751	KASQNVGTNVA （配列番号41）	SASYRYS （配列番号42）	QQYNIYPYT （配列番号43）
PD1B845	KASQNVGTNVA （配列番号41）	SASYRYS （配列番号42）	QQYNIYPYT （配列番号43）
PD1B846	KASQNVGTNVA （配列番号41）	SASYRYS （配列番号42）	QQYNIYPYT （配列番号43）
PD1B847	KASQNVGTNVA （配列番号41）	SASYRYS （配列番号42）	QQYNIYPYT （配列番号43）
PD1B848	KASQNVGTNVA （配列番号41）	SASYRYS （配列番号42）	QQYNIYPYT （配列番号43）
PD1B849	KASQNVGTNVA （配列番号41）	SASYRYS （配列番号42）	QQYNIYPYT （配列番号43）
PD1B850	KASQNVGTNVA （配列番号41）	SASYRYS （配列番号42）	QQYNIYPYT （配列番号43）
PD1B512	RSSKSLLHSNGITYLN （配列番号91）	QMSNLAS （配列番号92）	AQNLELPLT （配列番号93）
PD1B756	RSSKSLLHSNGITYLN （配列番号91）	QMSNLAS （配列番号92）	AQNLELPLT （配列番号93）
PD1B757	RSSKSLLHSNGITYLN （配列番号91）	QMSNLAS （配列番号92）	AQNLELPLT （配列番号93）

【０５２０】

【表９】

表９．

VH又はVL鎖名（配列番号）	アミノ酸配列
PD1H93（配列番号8）	DVQLQESGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSMHWVKQAPGKGLKWMGW INIETGEPTYADDFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLKNEDTATYFCARDYYGTY FYAMDYWGQGTTLTVSS
PD1H384（配列番号9）	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTDYSMHWVRQAPGQGLEWMG WINIETGEPTYAQGFTGRFVFSLDTSVSTAYLQICSLKAEDTAVYFCARDYYG TYFYAMDYWGQGTLVTVSS
PD1H405（配列番号10）	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTDYSMHWVRQAPGQGLEWMG WINIETGEPTYAQGFTGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYFCARDYYG TYFYAMDYWGQGTLVTVSS
PD1H90（配列番号44）	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTTYWMHWVKQRPGQGLEWIGE INPNNGGINYNEKFKKKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCTIDYYDY GGYWGQGTTLTVSS
PD1H388（配列番号45）	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYWMHWVRQAPGQGLEWMG EINPNNGGINYAQKFQGRVTLTVDKSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCTIDYYD YGGYWGQGTLVTVSS
PD1H399（配列番号46）	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYWMHWVRQAPGQGLEWMG EINPNNAGINYAQKFQGRVTLTVDKSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCTIDYYD YGGYWGQGTLVTVSS
PD1H400（配列番号47）	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYWMHWVRQAPGQGLEWMG EINPNDAGINYAQKFQGRVTLTVDKSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCTIDYYD YGGYWGQGTLVTVSS
PD1H401（配列番号48）	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYWMHWVRQAPGQGLEWMG EINPNQGGINYAQKFQGRVTLTVDKSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCTIDYYD YGGYWGQGTLVTVSS
PD1H402（配列番号49）	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYWMHWVRQAPGQGLEWMG EINPNKGGINYAQKFQGRVTLTVDKSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCTIDYYD YGGYWGQGTLVTVSS
PD1H403（配列番号50）	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYWMHWVRQAPGQGLEWMG EINPNEGGINYAQKFQGRVTLTVDKSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCTIDYYD YGGYWGQGTLVTVSS
PD1H404（配列番号51）	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYWMHWVRQAPGQGLEWMG EINPNNIGINYAQKFQGRVTLTVDKSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCTIDYYDY GGYWGQGTLVTVSS
PD1H81（配列番号94）	QVTLKESGPGLLQPSQTLSLTCSFSGFSLSTSGMGVSWIRQPSGKGLEWLA HIYWDDDKRYNPSLKSRLTISKDTSSNQVFLKITSVDTADTGTYYCVRKGYYD YGYVMDYWGQGTTVTVSS
PD1H389（配列番号95）	QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTSGMGVSWIRQPPGKALEWLAH IYWDDDKRYSPSLKSRLTITKDTSKNQVVLTMTNMDPVDTGTYYCVRKGYYD YGYVMDYWGQGTLVTVSS
PD1L30（配列番号14）	QIVLTQSPAIMSASLGERVTMTCTASSSVSSSYLHWYQQKPGSSPKLWIYST SNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCHQYHRSPLTFGAGT KLELK
PD1L468（配列番号15）	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCTASSSVSSSYLHWYQQKPGLAPRLLIYST SNLASGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCHQYHRSPLTFGQGTK LEIK
PD1L469（配列番号16）	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCTASSSVSSSYLHWYQQKPGLAPRLLIYST SNLASGIPDRFSGSGSGTDYTLTISRLEPEDFAVYYCHQYHRSPLTFGQGTK LEIK
PD1L28（配列番号60）	DIVMTQSQKFMSTSVRDRVSVTCKASQNVGTNVAWYQQKPGQSPKALIYSA SYRYSGVPDRFTGSGSGTDFTLTITNVQSEDLAEYFCQQYNIYPYTFGSGTKL EMK
PD1L470（配列番号61）	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVGTNVAWYQQKPEKAPKSLIYSA SYRYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNIYPYTFGQGTKL EIK
PD1L471（配列番号62）	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVGTNVAWYQQKPEKAPKALIYSA SYRYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQYNIYPYTFGQGTKL EIK
PD1L43（配列番号98）	DIVMTQAALSNPVTLGTSASISCRSSKSLLHSNGITYLNWYLQKPGQSPQLLI YQMSNLASGVPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGVYYCAQNLELPLTFG SGTKLEMK
PD1L472（配列番号99）	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLLHSNGITYLNWYLQKPGQSPQLLI YQMSNLASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQNLELPLTFG GGTKVEIK
PD1L473（配列番号100）	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLLHSNGITYLNWYLQKPGQSPQLLI YQMSNLASGVPDRFSSSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQNLELPLTFG GGTKVEIK

【０５２１】

【表１０－１】

表１０．

VH鎖（ポリヌクレオチド配列番号）	ポリヌクレオチド配列
PD1H93（配列番号11）	GATGTACAGCTTCAGGAGTCAGGACCTGAGCTGAAGAAGCCTGGAGAGACA GTCAAGATCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTATACCTTCACAGACTATTCAATGC ACTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGAAAGGGTTTAAAGTGGATGGGCTGGATAA ACATTGAGACTGGTGAGCCAACATATGCAGATGACTTCAAGGGACGGTTTG CCTTCTCTTTGGAAACCTCTGCCAGCACTGCCTATTTGCAGATCAACAACCT CAAAAATGAGGACACGGCTACATATTTCTGTGCTAGAGATTACTACGGTACT TACTTCTATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCT CA
PD1H384（配列番号12）	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAAGCGAACTGAAGAAACCTGGAGCCTCT GTGAAAGTGTCTTGTAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCGACTACAGCATG CACTGGGTGCGGCAGGCCCCTGGACAGGGCCTGGAATGGATGGGCTGGAT CAACATCGAGACCGGCGAGCCCACCTACGCCCAGGGCTTTACCGGACGGT TCGTGTTCAGCCTGGATACATCTGTGTCTACAGCCTATCTGCAGATCTGCTC TCTGAAGGCCGAAGATACAGCCGTGTACTTCTGCGCCCGGGACTACTACGG CACCTACTTCTACGCCATGGACTACTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGT GTCTTCT
PD1H405（配列番号13）	CAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCAGCGAGCTGAAAAAACCTGGCGCCTCC GTGAAGGTGTCCTGCAAGGCTAGCGGCTACACCTTTACCGACTACAGCATG CACTGGGTCCGACAGGCTCCAGGACAAGGCTTGGAATGGATGGGCTGGATC AACATCGAGACAGGCGAGCCCACATACGCCCAGGGCTTTACCGGCAGATTC GTGTTCAGCCTGGACACCTCTGTGTCCACCGCCTACCTGCAGATCAGCTCT CTGAAGGCCGAGGATACCGCCGTGTACTTCTGCGCCAGAGACTACTACGGC ACCTACTTCTACGCCATGGATTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTTACCGTT TCTTCT
PD1H90（配列番号52）	CAGGTCCAACTGCAGCAGCCTGGGGCTGAACTTGTGAAGCCTGGGGCTTCA GTGAAGTTGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCACCACCTACTGGATGC ACTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGACAAGGCCTTGAGTGGATTGGAGAGATTA ATCCTAACAATGGTGGTATTAATTACAATGAGAAGTTCAAGAAGAAGGCCAC ACTGACTGTAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAGCAGCCT GACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTACAATAGACTACTATGATTAC GGGGGCTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA
PD1H388（配列番号53）	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCCGAAGTGAAGAAACCTGGAGCCTCT GTGAAAGTGTCTTGTAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCACCTACTGGATG CACTGGGTGCGGCAGGCCCCTGGACAGGGCCTGGAATGGATGGGCGAGAT CAACCCCAACAACGGCGGCATCAACTACGCCCAGAAATTTCAGGGACGGGT GACCCTGACAGTGGATAAGAGCATCTCTACAGCCTACATGGAACTGTCTCG GCTGCGGAGCGATGACACAGCCGTGTACTACTGCACCATCGACTACTACGA CTACGGCGGCTACTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTCTTCT
PD1H399（配列番号54）	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCCGAAGTGAAGAAACCTGGAGCCTCT GTGAAAGTGTCTTGTAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCACCTACTGGATG CACTGGGTGCGGCAGGCCCCTGGACAGGGCCTGGAATGGATGGGCGAGAT CAACCCCAACAACGCCGGCATCAACTACGCCCAGAAATTTCAGGGACGGGT GACCCTGACAGTGGATAAGAGCATCTCTACAGCCTACATGGAACTGTCTCG GCTGCGGAGCGATGACACAGCCGTGTACTACTGCACCATCGACTACTACGA CTACGGCGGCTACTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTCTTCT
PD1H400（配列番号55）	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCCGAAGTGAAGAAACCTGGAGCCTCT GTGAAAGTGTCTTGTAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCACCTACTGGATG CACTGGGTGCGGCAGGCCCCTGGACAGGGCCTGGAATGGATGGGCGAGAT CAACCCCAACGACGCCGGCATCAACTACGCCCAGAAATTTCAGGGACGGGT GACCCTGACAGTGGATAAGAGCATCTCTACAGCCTACATGGAACTGTCTCG GCTGCGGAGCGATGACACAGCCGTGTACTACTGCACCATCGACTACTACGA CTACGGCGGCTACTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTCTTCT

【０５２２】

【表１０－２】
（表１０の続き）

VH鎖（ポリヌクレオチド配列番号）	ポリヌクレオチド配列
PD1H401（配列番号56）	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCCGAAGTGAAGAAACCTGGAGCCTCT GTGAAAGTGTCTTGTAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCACCTACTGGATG CACTGGGTGCGGCAGGCCCCTGGACAGGGCCTGGAATGGATGGGCGAGAT CAACCCCAACCAGGGCGGCATCAACTACGCCCAGAAATTTCAGGGACGGG TGACCCTGACAGTGGATAAGAGCATCTCTACAGCCTACATGGAACTGTCTC GGCTGCGGAGCGATGACACAGCCGTGTACTACTGCACCATCGACTACTACG ACTACGGCGGCTACTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTCTTCT
PD1H402（配列番号57）	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCCGAAGTGAAGAAACCTGGAGCCTCT GTGAAAGTGTCTTGTAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCACCTACTGGATG CACTGGGTGCGGCAGGCCCCTGGACAGGGCCTGGAATGGATGGGCGAGAT CAACCCCAACAAGGGCGGCATCAACTACGCCCAGAAATTTCAGGGACGGGT GACCCTGACAGTGGATAAGAGCATCTCTACAGCCTACATGGAACTGTCTCG GCTGCGGAGCGATGACACAGCCGTGTACTACTGCACCATCGACTACTACGA CTACGGCGGCTACTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTCTTCT
PD1H403（配列番号58）	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCCGAAGTGAAGAAACCTGGAGCCTCT GTGAAAGTGTCTTGTAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCACCTACTGGATG CACTGGGTGCGGCAGGCCCCTGGACAGGGCCTGGAATGGATGGGCGAGAT CAACCCCAACGAGGGCGGCATCAACTACGCCCAGAAATTTCAGGGACGGG TGACCCTGACAGTGGATAAGAGCATCTCTACAGCCTACATGGAACTGTCTC GGCTGCGGAGCGATGACACAGCCGTGTACTACTGCACCATCGACTACTACG ACTACGGCGGCTACTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTCTTCT
PD1H404（配列番号59）	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCCGAAGTGAAGAAACCTGGAGCCTCT GTGAAAGTGTCTTGTAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCACCTACTGGATG CACTGGGTGCGGCAGGCCCCTGGACAGGGCCTGGAATGGATGGGCGAGAT CAACCCCAACAACATCGGCATCAACTACGCCCAGAAATTTCAGGGACGGGT GACCCTGACAGTGGATAAGAGCATCTCTACAGCCTACATGGAACTGTCTCG GCTGCGGAGCGATGACACAGCCGTGTACTACTGCACCATCGACTACTACGA CTACGGCGGCTACTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTCTTCT
PD1H81（配列番号96）	CAGGTTACTCTGAAAGAGTCTGGCCCTGGGTTATTGCAGCCCTCCCAGACC CTCAGTCTGACTTGTTCTTTCTCTGGGTTTTCACTGAGCACTTCTGGTATGGG TGTGAGCTGGATTCGTCAGCCTTCAGGAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGCACA CATTTACTGGGATGATGACAAGCGCTATAACCCATCCCTGAAGAGCCGGCT CACAATCTCCAAAGATACCTCCAGCAACCAGGTATTCCTCAAGATCACCAG TGTGGACACTGCAGATACTGGCACATACTACTGTGTTCGAAAGGGCTACTAT GATTACGGCTATGTAATGGACTACTGGGGTCAAGGGACCACGGTCACCGTC TCCTCA
PD1H389（配列番号97）	CAGATCACACTGAAAGAATCTGGACCTACACTGGTGAAACCTACACAGACC CTGACACTGACCTGTACCTTCAGCGGCTTCAGCCTGAGCACCAGCGGCATG GGCGTGAGCTGGATTCGGCAGCCTCCTGGAAAGGCCCTGGAATGGCTGGC CCACATCTACTGGGACGACGACAAGCGGTACAGCCCTAGCCTGAAGTCTCG GCTGACAATCACCAAGGATACCTCTAAGAACCAGGTGGTGCTGACAATGAC CAACATGGACCCTGTGGACACAGGCACCTACTACTGCGTGCGGAAGGGCTA CTACGACTACGGCTACGTGATGGACTACTGGGGCCAGGGAACACTGGTGAC AGTGTCTTCT

【０５２３】

【表１１】

表１１．

VL名（ポリヌクレオチド配列番号）	VL cDNA
PD1L30（配列番号17）	CAAATTGTTCTCACCCAGTCTCCAGCAATCATGTCTGCATCTCTAGGGGAAC GGGTCACCATGACCTGCACTGCCAGCTCAAGTGTAAGTTCCAGTTACTTGC ACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGATCCTCCCCCAAACTCTGGATTTATAGCA CATCCAACCTGGCTTCTGGAGTCCCAGCTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTG GGACCTCTTACTCTCTCACAATCAGCAGCATGGAGGCTGAAGATGCTGCCA CTTATTACTGCCACCAGTATCATCGTTCCCCGCTCACGTTCGGTGCTGGGAC CAAGCTGGAGCTGAAA
PD1L468（配列番号18）	GAGATCGTGCTGACACAGTCTCCTGCCACACTGTCTCTGTCTCCTGGAGAA CGGGCCACACTGAGCTGCACCGCCAGCAGCAGCGTGAGCAGCAGCTACCT GCACTGGTACCAGCAGAAACCTGGACTGGCCCCTCGGCTGCTGATCTACAG CACCAGCAACCTGGCCAGCGGCATCCCTGATCGGTTTTCTGGCAGCGGATC TGGCACAGATTTTACACTGACCATCAGCCGGCTGGAACCTGAGGATTTTGC CGTGTACTACTGCCACCAGTACCACCGGAGCCCCCTGACCTTCGGCCAGGG AACAAAGCTGGAAATCAAG
PD1L469（配列番号19）	GAGATCGTGCTGACACAGTCTCCTGCCACACTGTCTCTGTCTCCTGGAGAA CGGGCCACACTGAGCTGCACCGCCAGCAGCAGCGTGAGCAGCAGCTACCT GCACTGGTACCAGCAGAAACCTGGACTGGCCCCTCGGCTGCTGATCTACAG CACCAGCAACCTGGCCAGCGGCATCCCTGATCGGTTTTCTGGCAGCGGATC TGGCACAGATTACACACTGACCATCAGCCGGCTGGAACCTGAGGATTTTGC CGTGTACTACTGCCACCAGTACCACCGGAGCCCCCTGACCTTCGGCCAGGG AACAAAGCTGGAAATCAAG
PD1L28（配列番号63）	GACATTGTGATGACCCAGTCTCAAAAATTCATGTCCACATCAGTAAGAGACA GGGTCAGCGTCACCTGCAAGGCCAGTCAGAATGTGGGCACTAATGTAGCCT GGTATCAACAGAAACCAGGGCAATCTCCTAAAGCACTGATTTACTCGGCAT CCTACCGGTACAGTGGAGTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGGA CAGATTTCACTCTCACCATCACCAATGTGCAGTCTGAAGACTTGGCAGAATA TTTCTGTCAGCAATATAACATCTATCCGTACACGTTCGGATCGGGGACCAAG CTGGAAATGAAA
PD1L470（配列番号64）	GACATCCAGATGACACAGTCTCCTAGCTCTCTGAGCGCCTCTGTGGGAGAT CGGGTGACAATCACCTGCAAGGCCAGCCAGAACGTGGGCACCAACGTGGC CTGGTACCAGCAGAAACCTGAAAAAGCCCCTAAGAGCCTGATCTACAGCGC CAGCTACCGGTACAGCGGCGTGCCTTCTCGGTTTAGCGGCTCTGGAAGCGG AACAGATTTCACACTGACCATCTCTAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCCACA TACTACTGCCAGCAGTACAACATCTACCCCTACACCTTCGGCCAGGGAACA AAGCTGGAAATCAAG
PD1L471（配列番号65）	GACATCCAGATGACACAGTCTCCTAGCTCTCTGAGCGCCTCTGTGGGAGAT CGGGTGACAATCACCTGCAAGGCCAGCCAGAACGTGGGCACCAACGTGGC CTGGTACCAGCAGAAACCTGAAAAAGCCCCTAAGGCCCTGATCTACAGCGC CAGCTACCGGTACAGCGGCGTGCCTTCTCGGTTTAGCGGCTCTGGAAGCGG AACAGATTTCACACTGACCATCTCTAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCCACA TACTTTTGCCAGCAGTACAACATCTACCCCTACACCTTCGGCCAGGGAACA AAGCTGGAAATCAAG
PD1L43（配列番号101）	GATATTGTGATGACTCAGGCTGCACTCTCCAATCCAGTCACTCTTGGAACAT CAGCTTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGTCTCCTACATAGTAATGGCAT CACTTATTTGAATTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCTCCTCAGCTCCTG ATTTATCAGATGTCCAACCTTGCCTCAGGAGTCCCAGACAGGTTCAGTAGCA GTGGGTCAGGAACTGATTTCACACTGAGAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGG ATGTGGGTGTTTATTACTGTGCTCAAAATCTAGAACTTCCGCTCACGTTCGG ATCGGGGACCAAGCTGGAAATGAAA
PD1L472（配列番号102）	GACATCGTGATGACACAGTCTCCTCTGTCTCTGCCTGTGACACCTGGCGAA CCTGCCTCTATCAGCTGCCGGAGCAGCAAGAGCCTGCTGCACAGCAACGG CATCACCTACCTGAACTGGTACCTGCAGAAACCTGGACAGTCTCCTCAGCT GCTGATCTACCAGATGAGCAACCTGGCCAGCGGCGTGCCTGATCGGTTTAG CGGCTCTGGAAGCGGCACAGACTTCACACTGAAGATCTCTCGGGTGGAAGC CGAGGACGTGGGAGTGTACTACTGCGCCCAGAACCTGGAGCTGCCCCTGA CCTTCGGAGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG
PD1L473（配列番号103）	GACATCGTGATGACACAGTCTCCTCTGTCTCTGCCTGTGACACCTGGCGAA CCTGCCTCTATCAGCTGCCGGAGCAGCAAGAGCCTGCTGCACAGCAACGG CATCACCTACCTGAACTGGTACCTGCAGAAACCTGGACAGTCTCCTCAGCT GCTGATCTACCAGATGAGCAACCTGGCCAGCGGCGTGCCTGATCGGTTTAG CAGCTCTGGAAGCGGCACAGACTTCACACTGAAGATCTCTCGGGTGGAAGC CGAGGACGTGGGAGTGTACTACTGCGCCCAGAACCTGGAGCTGCCCCTGA CCTTCGGAGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG

【０５２４】

【表１２－１】

表１２.

mAb	HC
PD1B505 HC（配列番号20）	DVQLQESGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSMHWVKQAPGKGLKWMGW INIETGEPTYADDFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLKNEDTATYFCARDYYGTY FYAMDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
PD1B742、PD1B743 HC（配列番号21）	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTDYSMHWVRQAPGQGLEWMG WINIETGEPTYAQGFTGRFVFSLDTSVSTAYLQICSLKAEDTAVYFCARDYYG TYFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
PD1B878 HC（配列番号22）	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTDYSMHWVRQAPGQGLEWMG WINIETGEPTYAQGFTGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYFCARDYYG TYFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
PD1B506 HC（配列番号66）	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTTYWMHWVKQRPGQGLEWIGEI NPNNGGINYNEKFKKKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCTIDYYDY GGYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
PD1B750、PD1B751 HC（配列番号67）	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYWMHWVRQAPGQGLEWMG EINPNNGGINYAQKFQGRVTLTVDKSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCTIDYYD YGGYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
PD1B845 HC（配列番号68）	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYWMHWVRQAPGQGLEWMG EINPNNAGINYAQKFQGRVTLTVDKSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCTIDYYD YGGYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
PD1B846 HC（配列番号69）	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYWMHWVRQAPGQGLEWMG EINPNDAGINYAQKFQGRVTLTVDKSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCTIDYYD YGGYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

【０５２５】

【表１２－２】
（表１２の続き）

mAb	HC
PD1B847 HC（配列番号70）	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYWMHWVRQAPGQGLEWMG EINPNQGGINYAQKFQGRVTLTVDKSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCTIDYYD YGGYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
PD1B848 HC（配列番号71）	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYWMHWVRQAPGQGLEWMG EINPNKGGINYAQKFQGRVTLTVDKSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCTIDYYD YGGYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
PD1B849 HC（配列番号72）	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYWMHWVRQAPGQGLEWMG EINPNEGGINYAQKFQGRVTLTVDKSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCTIDYYD YGGYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
PD1B850 HC（配列番号73）	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYWMHWVRQAPGQGLEWMG EINPNNIGINYAQKFQGRVTLTVDKSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCTIDYYDY GGYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
PD1B512 HC（配列番号104）	QVTLKESGPGLLQPSQTLSLTCSFSGFSLSTSGMGVSWIRQPSGKGLEWLA HIYWDDDKRYNPSLKSRLTISKDTSSNQVFLKITSVDTADTGTYYCVRKGYYD YGYVMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
PD1B756、PD1B757 HC（配列番号105）	QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTSGMGVSWIRQPPGKALEWLAHI YWDDDKRYSPSLKSRLTITKDTSKNQVVLTMTNMDPVDTGTYYCVRKGYYD YGYVMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

【０５２６】

【表１３】

表１３．

mAb	LC（配列番号）
PD1B505 LC（配列番号26）	QIVLTQSPAIMSASLGERVTMTCTASSSVSSSYLHWYQQKPGSSPKLWIYST SNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCHQYHRSPLTFGAGTK LELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC
PD1B742 LC（配列番号27）	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCTASSSVSSSYLHWYQQKPGLAPRLLIYSTS NLASGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCHQYHRSPLTFGQGTKLE IKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
PD1B743、PD1B878 LC（配列番号28）	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCTASSSVSSSYLHWYQQKPGLAPRLLIYSTS NLASGIPDRFSGSGSGTDYTLTISRLEPEDFAVYYCHQYHRSPLTFGQGTKLE IKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
PD1B506 LC（配列番号82）	DIVMTQSQKFMSTSVRDRVSVTCKASQNVGTNVAWYQQKPGQSPKALIYSA SYRYSGVPDRFTGSGSGTDFTLTITNVQSEDLAEYFCQQYNIYPYTFGSGTKL EMKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC
PD1B750、PD1B845、PD1B846、PD1B847、PD1B848、PD1B849、PD1B850 LC（配列番号83）	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVGTNVAWYQQKPEKAPKSLIYSAS YRYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNIYPYTFGQGTKLE IKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
PD1B751 LC（配列番号84）	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVGTNVAWYQQKPEKAPKALIYSAS YRYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQYNIYPYTFGQGTKLE IKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
PD1B512 LC（配列番号108）	DIVMTQAALSNPVTLGTSASISCRSSKSLLHSNGITYLNWYLQKPGQSPQLLI YQMSNLASGVPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGVYYCAQNLELPLTFGS GTKLEMKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS SPVTKSFNRGEC
PD1B756 LC（配列番号109）	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLLHSNGITYLNWYLQKPGQSPQLLI YQMSNLASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQNLELPLTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
PD1B757 LC（配列番号110）	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLLHSNGITYLNWYLQKPGQSPQLLI YQMSNLASGVPDRFSSSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQNLELPLTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC

【０５２７】

【表１４－１】

表１４.

HC cDNA(配列番号)
PD1B505 HC(配列番号23) GATGTACAGCTTCAGGAGTCAGGACCTGAGCTGAAGAAGCCTGGAGAGACAGTCAAGATCTC CTGCAAGGCTTCTGGTTATACCTTCACAGACTATTCAATGCACTGGGTGAAGCAGGCTCCAGG AAAGGGTTTAAAGTGGATGGGCTGGATAAACATTGAGACTGGTGAGCCAACATATGCAGATGA CTTCAAGGGACGGTTTGCCTTCTCTTTGGAAACCTCTGCCAGCACTGCCTATTTGCAGATCAAC AACCTCAAAAATGAGGACACGGCTACATATTTCTGTGCTAGAGATTACTACGGTACTTACTTCT ATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGC CCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGG CTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGA CCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGC GTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAA GCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACAT GCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAA CCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAG CCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCA AGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTC CTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCC AGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACA CCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAA GGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTA CAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGC ACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA
PD1B742、PD1B743 HC(配列番号24) CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAAGCGAACTGAAGAAACCTGGAGCCTCTGTGAAAGTGTC TTGTAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCGACTACAGCATGCACTGGGTGCGGCAGGCCCCTG GACAGGGCCTGGAATGGATGGGCTGGATCAACATCGAGACCGGCGAGCCCACCTACGCCCAG GGCTTTACCGGACGGTTCGTGTTCAGCCTGGATACATCTGTGTCTACAGCCTATCTGCAGATC TGCTCTCTGAAGGCCGAAGATACAGCCGTGTACTTCTGCGCCCGGGACTACTACGGCACCTAC TTCTACGCCATGGACTACTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTCTTCTGCCTCCACCAAG GGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCT GGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCC TGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCA GCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCAC AAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACAC ATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAA AACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTG AGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGC CAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCG TCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTC CCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTA CACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCA AAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAAC TACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACC GTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCT GCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA

【０５２８】

【表１４－２】
（表１４の続き）

HC cDNA（配列番号）
PD1B878 HC（配列番号25） CAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCAGCGAGCTGAAAAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGGTGTC CTGCAAGGCTAGCGGCTACACCTTTACCGACTACAGCATGCACTGGGTCCGACAGGCTCCAG GACAAGGCTTGGAATGGATGGGCTGGATCAACATCGAGACAGGCGAGCCCACATACGCCCAG GGCTTTACCGGCAGATTCGTGTTCAGCCTGGACACCTCTGTGTCCACCGCCTACCTGCAGATC AGCTCTCTGAAGGCCGAGGATACCGCCGTGTACTTCTGCGCCAGAGACTACTACGGCACCTA CTTCTACGCCATGGATTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTTACCGTTTCTTCTGCCTCCACCAA GGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCC TGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCC CTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGC AGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCA CAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACA CATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCA AAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGT GAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATG CCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACC GTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCT CCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGT ACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTC AAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAA CTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCAC CGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTC TGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA
PD1B506 HC（配列番号74） CAGGTCCAACTGCAGCAGCCTGGGGCTGAACTTGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGTTGTC CTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCACCACCTACTGGATGCACTGGGTGAAGCAGAGGCCTG GACAAGGCCTTGAGTGGATTGGAGAGATTAATCCTAACAATGGTGGTATTAATTACAATGAGA AGTTCAAGAAGAAGGCCACACTGACTGTAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCA GCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTACAATAGACTACTATGATTACGGGG GCTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTC TTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCG TGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCG TGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAAC ACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTG CCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACA CCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCC GCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGG ACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATC GAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCC ATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATC CCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCAC GCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAG CAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACT ACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA

【０５２９】

【表１４－３】
（表１４の続き）

HC cDNA（配列番号）
PD1B750、PD1B751 HC（配列番号75） CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCCGAAGTGAAGAAACCTGGAGCCTCTGTGAAAGTGTC TTGTAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCACCTACTGGATGCACTGGGTGCGGCAGGCCCCTG GACAGGGCCTGGAATGGATGGGCGAGATCAACCCCAACAACGGCGGCATCAACTACGCCCAG AAATTTCAGGGACGGGTGACCCTGACAGTGGATAAGAGCATCTCTACAGCCTACATGGAACTG TCTCGGCTGCGGAGCGATGACACAGCCGTGTACTACTGCACCATCGACTACTACGACTACGG CGGCTACTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTCTTCTGCCTCCACCAAGGGCCCATCGG TCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTG GTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGG CGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGAC CGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCA ACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGT GCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGAC ACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGA CCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGC CGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAG GACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCAT CGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCC CATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTAT CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCA CGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGA GCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA
PD1B845 HC（配列番号76） CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCCGAAGTGAAGAAACCTGGAGCCTCTGTGAAAGTGTC TTGTAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCACCTACTGGATGCACTGGGTGCGGCAGGCCCCTG GACAGGGCCTGGAATGGATGGGCGAGATCAACCCCAACAACGCCGGCATCAACTACGCCCAG AAATTTCAGGGACGGGTGACCCTGACAGTGGATAAGAGCATCTCTACAGCCTACATGGAACTG TCTCGGCTGCGGAGCGATGACACAGCCGTGTACTACTGCACCATCGACTACTACGACTACGG CGGCTACTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTCTTCTGCCTCCACCAAGGGCCCATCGG TCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTG GTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGG CGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGAC CGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCA ACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGT GCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGAC ACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGA CCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGC CGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAG GACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCAT CGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCC CATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTAT CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCA CGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGA GCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA

【０５３０】

【表１４－４】

（表１４の続き）

HC cDNA（配列番号）
PD1B846 HC（配列番号77） CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCCGAAGTGAAGAAACCTGGAGCCTCTGTGAAAGTGTC TTGTAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCACCTACTGGATGCACTGGGTGCGGCAGGCCCCTG GACAGGGCCTGGAATGGATGGGCGAGATCAACCCCAACGACGCCGGCATCAACTACGCCCAG AAATTTCAGGGACGGGTGACCCTGACAGTGGATAAGAGCATCTCTACAGCCTACATGGAACTG TCTCGGCTGCGGAGCGATGACACAGCCGTGTACTACTGCACCATCGACTACTACGACTACGG CGGCTACTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTCTTCTGCCTCCACCAAGGGCCCATCGG TCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTG GTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGG CGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGAC CGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCA ACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGT GCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGAC ACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGA CCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGC CGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAG GACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCAT CGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCC CATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTAT CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCA CGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGA GCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA
PD1B847 HC（配列番号78） CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCCGAAGTGAAGAAACCTGGAGCCTCTGTGAAAGTGTC TTGTAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCACCTACTGGATGCACTGGGTGCGGCAGGCCCCTG GACAGGGCCTGGAATGGATGGGCGAGATCAACCCCAACCAGGGCGGCATCAACTACGCCCA GAAATTTCAGGGACGGGTGACCCTGACAGTGGATAAGAGCATCTCTACAGCCTACATGGAACT GTCTCGGCTGCGGAGCGATGACACAGCCGTGTACTACTGCACCATCGACTACTACGACTACG GCGGCTACTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTCTTCTGCCTCCACCAAGGGCCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCT GGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCG GCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGA CCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACC GTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGG ACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAA GACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAA GCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACC AGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCC ATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCT ATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACC ACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAG AGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCA CTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA

【０５３１】

【表１４－５】

（表１４の続き）

HC cDNA（配列番号）
PD1B848 HC（配列番号79） CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCCGAAGTGAAGAAACCTGGAGCCTCTGTGAAAGTGTC TTGTAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCACCTACTGGATGCACTGGGTGCGGCAGGCCCCTG GACAGGGCCTGGAATGGATGGGCGAGATCAACCCCAACAAGGGCGGCATCAACTACGCCCAG AAATTTCAGGGACGGGTGACCCTGACAGTGGATAAGAGCATCTCTACAGCCTACATGGAACTG TCTCGGCTGCGGAGCGATGACACAGCCGTGTACTACTGCACCATCGACTACTACGACTACGG CGGCTACTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTCTTCTGCCTCCACCAAGGGCCCATCGG TCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTG GTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGG CGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGAC CGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCA ACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGT GCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGAC ACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGA CCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGC CGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAG GACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCAT CGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCC CATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTAT CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCA CGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGA GCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA
PD1B849（配列番号80） CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCCGAAGTGAAGAAACCTGGAGCCTCTGTGAAAGTGTC TTGTAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCACCTACTGGATGCACTGGGTGCGGCAGGCCCCTG GACAGGGCCTGGAATGGATGGGCGAGATCAACCCCAACGAGGGCGGCATCAACTACGCCCA GAAATTTCAGGGACGGGTGACCCTGACAGTGGATAAGAGCATCTCTACAGCCTACATGGAACT GTCTCGGCTGCGGAGCGATGACACAGCCGTGTACTACTGCACCATCGACTACTACGACTACG GCGGCTACTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTCTTCTGCCTCCACCAAGGGCCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCT GGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCG GCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGA CCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACC GTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGG ACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAA GACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAA GCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACC AGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCC ATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCT ATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACC ACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAG AGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCA CTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA

【０５３２】

【表１４－６】

（表１４の続き）

HC cDNA（配列番号）
PD1B850 HC（配列番号81） CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCCGAAGTGAAGAAACCTGGAGCCTCTGTGAAAGTGTC TTGTAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCACCTACTGGATGCACTGGGTGCGGCAGGCCCCTG GACAGGGCCTGGAATGGATGGGCGAGATCAACCCCAACAACATCGGCATCAACTACGCCCAG AAATTTCAGGGACGGGTGACCCTGACAGTGGATAAGAGCATCTCTACAGCCTACATGGAACTG TCTCGGCTGCGGAGCGATGACACAGCCGTGTACTACTGCACCATCGACTACTACGACTACGG CGGCTACTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTCTTCTGCCTCCACCAAGGGCCCATCGG TCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTG GTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGG CGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGAC CGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCA ACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGT GCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGAC ACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGA CCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGC CGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAG GACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCAT CGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCC CATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTAT CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCA CGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGA GCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA
PD1B512 HC（配列番号106） CAGGTTACTCTGAAAGAGTCTGGCCCTGGGTTATTGCAGCCCTCCCAGACCCTCAGTCTGACT TGTTCTTTCTCTGGGTTTTCACTGAGCACTTCTGGTATGGGTGTGAGCTGGATTCGTCAGCCTT CAGGAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGCACACATTTACTGGGATGATGACAAGCGCTATAACCCAT CCCTGAAGAGCCGGCTCACAATCTCCAAAGATACCTCCAGCAACCAGGTATTCCTCAAGATCA CCAGTGTGGACACTGCAGATACTGGCACATACTACTGTGTTCGAAAGGGCTACTATGATTACG GCTATGTAATGGACTACTGGGGTCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAG GGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCT GGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCC TGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCA GCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCAC AAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACAC ATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAA AACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTG AGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGC CAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCG TCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTC CCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTA CACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCA AAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAAC TACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACC GTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCT GCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA

【０５３３】

【表１４－７】

（表１４の続き）

HC cDNA（配列番号）
PD1B756、PD1B757 HC（配列番号107） CAGATCACACTGAAAGAATCTGGACCTACACTGGTGAAACCTACACAGACCCTGACACTGACC TGTACCTTCAGCGGCTTCAGCCTGAGCACCAGCGGCATGGGCGTGAGCTGGATTCGGCAGCC TCCTGGAAAGGCCCTGGAATGGCTGGCCCACATCTACTGGGACGACGACAAGCGGTACAGCC CTAGCCTGAAGTCTCGGCTGACAATCACCAAGGATACCTCTAAGAACCAGGTGGTGCTGACAA TGACCAACATGGACCCTGTGGACACAGGCACCTACTACTGCGTGCGGAAGGGCTACTACGAC TACGGCTACGTGATGGACTACTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTCTTCTGCCTCCACC AAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGC CCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCG CCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCA GCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAT CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCA CACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCC CAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGAC GTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAA TGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCA CCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCC CTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGT GTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGG TCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAAC AACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTC ACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGC TCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA

【０５３４】

【表１５－１】

表１５．

LC cDNA（配列番号）
PD1B505 LC（配列番号29） CAAATTGTTCTCACCCAGTCTCCAGCAATCATGTCTGCATCTCTAGGGGAACGGGTCACCATG ACCTGCACTGCCAGCTCAAGTGTAAGTTCCAGTTACTTGCACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGA TCCTCCCCCAAACTCTGGATTTATAGCACATCCAACCTGGCTTCTGGAGTCCCAGCTCGCTTC AGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTCTTACTCTCTCACAATCAGCAGCATGGAGGCTGAAGATGCT GCCACTTATTACTGCCACCAGTATCATCGTTCCCCGCTCACGTTCGGTGCTGGGACCAAGCTG GAGCTGAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTG AAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTA CAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGA CAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGA AACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGC TTCAACAGGGGAGAGTGT
PD1B742 LC（配列番号30） GAGATCGTGCTGACACAGTCTCCTGCCACACTGTCTCTGTCTCCTGGAGAACGGGCCACACTG AGCTGCACCGCCAGCAGCAGCGTGAGCAGCAGCTACCTGCACTGGTACCAGCAGAAACCTGG ACTGGCCCCTCGGCTGCTGATCTACAGCACCAGCAACCTGGCCAGCGGCATCCCTGATCGGT TTTCTGGCAGCGGATCTGGCACAGATTTTACACTGACCATCAGCCGGCTGGAACCTGAGGATT TTGCCGTGTACTACTGCCACCAGTACCACCGGAGCCCCCTGACCTTCGGCCAGGGAACAAAG CTGGAAATCAAGCGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAG TTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAA GTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCA GGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACG AGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAG AGCTTCAACAGGGGAGAGTGT
PD1B743、PD1B878 LC（配列番号31） GAGATCGTGCTGACACAGTCTCCCGCCACACTGTCACTGTCTCCAGGCGAAAGAGCCACACT GAGCTGTACCGCCAGCAGCTCTGTGTCCAGCAGCTACCTGCACTGGTATCAGCAGAAGCCTG GACTGGCCCCTCGGCTGCTGATCTACAGCACAAGCAATCTGGCCAGCGGCATCCCCGATAGA TTTTCCGGCTCTGGAAGCGGCACCGACTACACCCTGACAATCAGCAGACTGGAACCCGAGGA CTTCGCCGTGTACTACTGCCACCAGTACCACAGAAGCCCTCTGACCTTTGGCCAGGGCACCAA GCTGGAAATCAAGCGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCA GTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAA AGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGC AGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTAC GAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAA GAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT
PD1B506 LC（配列番号85） GACATTGTGATGACCCAGTCTCAAAAATTCATGTCCACATCAGTAAGAGACAGGGTCAGCGTC ACCTGCAAGGCCAGTCAGAATGTGGGCACTAATGTAGCCTGGTATCAACAGAAACCAGGGCA ATCTCCTAAAGCACTGATTTACTCGGCATCCTACCGGTACAGTGGAGTCCCTGATCGCTTCAC AGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCACCAATGTGCAGTCTGAAGACTTGGC AGAATATTTCTGTCAGCAATATAACATCTATCCGTACACGTTCGGATCGGGGACCAAGCTGGA AATGAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAA ATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACA GTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACA GCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAA CACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTT CAACAGGGGAGAGTGT
PD1B750、PD1B845、PD1B846、PD1B847、PD1B848、PD1B849、PD1B850 LC（配列番号86） GACATCCAGATGACACAGTCTCCTAGCTCTCTGAGCGCCTCTGTGGGAGATCGGGTGACAATC ACCTGCAAGGCCAGCCAGAACGTGGGCACCAACGTGGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGAAAA AGCCCCTAAGAGCCTGATCTACAGCGCCAGCTACCGGTACAGCGGCGTGCCTTCTCGGTTTA GCGGCTCTGGAAGCGGAACAGATTTCACACTGACCATCTCTAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTG CCACATACTACTGCCAGCAGTACAACATCTACCCCTACACCTTCGGCCAGGGAACAAAGCTG GAAATCAAGCGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTG AAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTA CAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGA CAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGA AACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGC TTCAACAGGGGAGAGTGT

【０５３５】

【表１５－２】
（表１５の続き）

LC cDNA（配列番号）
PD1B751 LC（配列番号87） GACATCCAGATGACACAGTCTCCTAGCTCTCTGAGCGCCTCTGTGGGAGATCGGGTGACAATC ACCTGCAAGGCCAGCCAGAACGTGGGCACCAACGTGGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGAAAA AGCCCCTAAGGCCCTGATCTACAGCGCCAGCTACCGGTACAGCGGCGTGCCTTCTCGGTTTA GCGGCTCTGGAAGCGGAACAGATTTCACACTGACCATCTCTAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTG CCACATACTTTTGCCAGCAGTACAACATCTACCCCTACACCTTCGGCCAGGGAACAAAGCTGG AAATCAAGCGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGA AATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTAC AGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGAC AGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAA ACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCT TCAACAGGGGAGAGTGT
PD1B512 LC（配列番号111） GATATTGTGATGACTCAGGCTGCACTCTCCAATCCAGTCACTCTTGGAACATCAGCTTCCATCT CCTGCAGGTCTAGTAAGAGTCTCCTACATAGTAATGGCATCACTTATTTGAATTGGTATCTGCA GAAGCCAGGCCAGTCTCCTCAGCTCCTGATTTATCAGATGTCCAACCTTGCCTCAGGAGTCCC AGACAGGTTCAGTAGCAGTGGGTCAGGAACTGATTTCACACTGAGAATCAGCAGAGTGGAGG CTGAGGATGTGGGTGTTTATTACTGTGCTCAAAATCTAGAACTTCCGCTCACGTTCGGATCGG GGACCAAGCTGGAAATGAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTG ATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGA GGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCA CAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGC AGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCG TCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT
PD1B756 LC（配列番号112） GACATCGTGATGACACAGTCTCCTCTGTCTCTGCCTGTGACACCTGGCGAACCTGCCTCTATC AGCTGCCGGAGCAGCAAGAGCCTGCTGCACAGCAACGGCATCACCTACCTGAACTGGTACCT GCAGAAACCTGGACAGTCTCCTCAGCTGCTGATCTACCAGATGAGCAACCTGGCCAGCGGCG TGCCTGATCGGTTTAGCGGCTCTGGAAGCGGCACAGACTTCACACTGAAGATCTCTCGGGTGG AAGCCGAGGACGTGGGAGTGTACTACTGCGCCCAGAACCTGGAGCTGCCCCTGACCTTCGGA GGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAGCGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCC ATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCC AGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAG TGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCA AAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCG CCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT
PD1B757 LC（配列番号113） GACATCGTGATGACACAGTCTCCTCTGTCTCTGCCTGTGACACCTGGCGAACCTGCCTCTATC AGCTGCCGGAGCAGCAAGAGCCTGCTGCACAGCAACGGCATCACCTACCTGAACTGGTACCT GCAGAAACCTGGACAGTCTCCTCAGCTGCTGATCTACCAGATGAGCAACCTGGCCAGCGGCG TGCCTGATCGGTTTAGCAGCTCTGGAAGCGGCACAGACTTCACACTGAAGATCTCTCGGGTGG AAGCCGAGGACGTGGGAGTGTACTACTGCGCCCAGAACCTGGAGCTGCCCCTGACCTTCGGA GGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAGCGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCC ATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCC AGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAG TGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCA AAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCG CCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT

【０５３６】
本明細書において提供する抗体ＶＨ、ＶＬ、ＨＣ、及びＬＣをコードするｃＤＮＡ配列は、様々な細胞での発現、例えばＨＥＫ又はＣＨＯ細胞における発現に最適化されたコドンであることができる。ＰＤ１Ｂ８７８及びＰＤ１Ｂ８４９のＶＨ、ＶＬ、ＨＣ、及びＬＣをコードし、発現するのに使用可能な更なるｃＤＮＡ配列を、以下に示す。
【０５３７】
配列番号１３２　ＰＤ１Ｂ８７８　ＶＨ　ｃＤＮＡ
ＣＡＡＧＴＧＣＡＧＣＴＧＧＴＧＣＡＧＴＣＴＧＧＣＡＧＣＧＡＧＣＴＧＡＡＡＡＡＡ
ＣＣＴＧＧＣＧＣＣＴＣＣＧＴＧＡＡＧＧＴＧＴＣＣＴＧＣＡＡＧＧＣＴＡＧＣＧＧＣＴ
ＡＣＡＣＣＴＴＴＡＣＣＧＡＣＴＡＣＡＧＣＡＴＧＣＡＣＴＧＧＧＴＣＣＧＡＣＡＧＧＣ

TCCAGGACAAGGCTTGGAATGGATGGGCTGGATCAACATC
GAGACAGGCGAGCCCACATACGCCCAGGGCTTTACCGGCA
GATTCGTGTTCAGCCTGGACACCTCTGTGTCCACCGCCTA
CCTGCAGATCAGCTCTCTGAAGGCCGAGGATACCGCCGTG
TACTTCTGCGCCAGAGACTACTACGGCACCTACTTCTACG
CCATGGATTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTTACCGTTTC
TTCT

【0538】

配列番号133　PD1B878　VL　cDNA

GAGATCGTGCTGACACAGTCTCCCGCCACACTGTCACTG
TCTCCAGGCGAAAGAGCCACACTGAGCTGTACCGCCAGCA
GCTCTGTGTCCAGCAGCTACCTGCACTGGTATCAGCAGAA
GCCTGGACTGGCCCCTCGGCTGCTGATCTACAGCACAAGC
AATCTGGCCAGCGGCATCCCCGATAGATTTTCCGGCTCTG
GAAGCGGCACCGACTACACCCTGACAATCAGCAGACTGGA
ACCCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCACCAGTACCAC
AGAAGCCCTCTGACCTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAA
TCAAG

【0539】

配列番号134　PD1B878　HC　cDNA

CAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCAGCGAGCTGAAAAAA
CCTGGCGCCTCCGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCTAGCGGCT
ACACCTTTACCGACTACAGCATGCACTGGGTCCGACAGGC
TCCAGGACAAGGCTTGGAATGGATGGGCTGGATCAACATC
GAGACAGGCGAGCCCACATACGCCCAGGGCTTTACCGGCA
GATTCGTGTTCAGCCTGGACACCTCTGTGTCCACCGCCTA
CCTGCAGATCAGCTCTCTGAAGGCCGAGGATACCGCCGTG
TACTTCTGCGCCAGAGACTACTACGGCACCTACTTCTACG
CCATGGATTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTTACCGTTTC
TTCTGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCCTGGCA
CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGG
GCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGT
GTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACC
TTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCA
GCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCA
GACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACC
AAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAA
CTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGG
GGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGAC
ACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGG
TGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA
CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACA
AAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGG
TCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGG
CAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCA
GCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGC
CCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGA
GGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTC
AAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGA
GCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCC

CGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAG
CTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCT
TCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTA
CACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGGTAAA

【０５４０】

配列番号１３５　ＰＤ１Ｂ８７８　ＬＣ　ｃＤＮＡ

GAGATCGTGCTGACACAGTCTCCCGCCACACTGTCACTG
TCTCCAGGCGAAAGAGCCACACTGAGCTGTACCGCCAGCA
GCTCTGTGTCCAGCAGCTACCTGCACTGGTATCAGCAGAA
GCCTGGACTGGCCCCTCGGCTGCTGATCTACAGCACAAGC
AATCTGGCCAGCGGCATCCCCGATAGATTTTCCGGCTCTG
GAAGCGGCACCGACTACACCCTGACAATCAGCAGACTGGA
ACCCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCACCAGTACCAC
AGAAGCCCTCTGACCTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAA
TCAAGCGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCC
GCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTT
GTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAG
TACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTC
CCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACC
TACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACT
ACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCA
GGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGA
GAGTGT

【０５４１】

配列番号１３６　ＰＤ１Ｂ８４９　ＶＨ　ｃＤＮＡ

CAAGTGCAGCTGGTGCAATCTGGCGCCGAAGTGAAAAAG
CCTGGCGCCTCTGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCCAGCGGCT
ACACCTTTACCACCTACTGGATGCACTGGGTCCGACAGGC
TCCAGGACAAGGCTTGGAGTGGATGGGCGAGATCAACCCC
AATGAAGGCGGCATCAACTACGCCCAGAAATTCCAGGGCA
GAGTGACCCTGACCGTGGACAAGAGCATCAGCACCGCCTA
CATGGAACTGAGCCGGCTGAGATCCGATGACACCGCCGTG
TACTACTGCACCATCGACTACTACGACTACGGCGGCTATT
GGGGCCAGGGCACACTGGTTACAGTGTCCTCT

【０５４２】

配列番号１３７　ＰＤ１Ｂ８４９　ＶＬ　ｃＤＮＡ

GACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCC
TCTGTGGGCGATAGAGTGACCATCACATGCAAGGCCAGCC
AGAACGTGGGCACCAATGTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCC
TGAGAAGGCCCCTAAGAGCCTGATCTACAGCGCCAGCTAC
AGATACAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCTGGAAGCGGCA
GCGGCACCGACTTCACCCTGACAATTAGTAGCCTGCAGCC
TGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAACATC
TACCCCTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCA
AG

【０５４３】

配列番号１３８　ＰＤ１Ｂ８４９　ＨＣ　ｃＤＮＡ

CAAGTGCAGCTGGTGCAATCTGGCGCCGAAGTGAAAAAG
CCTGGCGCCTCTGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCCAGCGGCT
ACACCTTTACCACCTACTGGATGCACTGGGTCCGACAGGC

TCCAGGACAAGGCTTGGAGTGGATGGGCGAGATCAACCCC
AATGAAGGCGGCATCAACTACGCCCAGAAATTCCAGGGCA
GAGTGACCCTGACCGTGGACAAGAGCATCAGCACCGCCTA
CATGGAACTGAGCCGGCTGAGATCCGATGACACCGCCGTG
TACTACTGCACCATCGACTACTACGACTACGGCGGCTATT
GGGGCCAGGGCACACTGGTTACAGTGTCCTCTGCCTCCAC
CAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAG
AGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA
AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTC
AGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTC
CTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGA
CCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTG
CAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAG
AAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCC
CACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGGACCGTCAGT
CTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATC
TCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGA
GCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGA
CGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAG
GAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCA
CCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAA
GTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAG
AAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAC
AGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAA
GAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTAT
CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGC
CGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTC
CGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGAC
AAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCG
TGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAG
CCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA

【０５４４】

配列番号１３９　ＰＤ１Ｂ８４９　ＬＣ　ｃＤＮＡ

GACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCC
TCTGTGGGCGATAGAGTGACCATCACATGCAAGGCCAGCC
AGAACGTGGGCACCAATGTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCC
TGAGAAGGCCCCTAAGAGCCTGATCTACAGCGCCAGCTAC
AGATACAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCTGGAAGCGGCA
GCGGCACCGACTTCACCCTGACAATTAGTAGCCTGCAGCC
TGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAACATC
TACCCCTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCA
AGCGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCC
ATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTG
TGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTAC
AGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCA
GGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTAC
AGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACG
AGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGG
CCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAG
TGT

【０５４５】
図２Ａ及び図２Ｂは、それぞれ、ＰＤ１Ｂ５０５リネージｍＡｂのＶＨ及びＶＬアミノ酸配列のアラインメントを示す。
【０５４６】
図３Ａ及び図３Ｂは、それぞれ、ＰＤ１Ｂ５０６リネージｍＡｂのＶＬ及びＶＬアミノ酸配列のアラインメントを示す。
【０５４７】
図４Ａ及び図４Ｂは、それぞれ、ＰＤ１Ｂ５１２リネージｍＡｂのＶＨ及びＶＬアミノ酸配列のアラインメントを示す。
【０５４８】
実施例４．ヒト化抗ＰＤ－１抗体は、抗原特異的Ｔ細胞を阻害する
選択ヒト化抗体を、ＣＭＶ特異的リコールアッセイ（実施例１に記載したＣＭＶ－ＰＢＭＣアッセイ）において、活性化Ｔ細胞を阻害する能力について特性決定した。親抗体ＰＤ１Ｂ５０５及びＰＤ１Ｂ５０６は、表１６に示すいくつかの個別実験において、３つの異なるドナーにまたがり評価された、活性化Ｔ細胞の頑健な阻害を示し、これらの結果は、１０μｇ／ｍＬのｍＡｂにおける、Ｔ細胞増殖の阻害率（％）として示される。図５Ａは、アイソタイプコントロール（ヒトＩｇＧ１）（－９．５％±２８．８％）と比較したときの、ＰＤ１Ｂ５０５（５７．８％±９．５）、及びＰＤ１Ｂ５０６（７７．０％±７．８）に対する、平均阻害率及びＳＴＤＥＶを示す。ヒト化抗体ＰＤ１Ｂ７４３、ＰＤ１Ｂ７５０、及びＰＤ１Ｂ７５６ヒト化抗体もまた、１０μｇ／ｍＬにて、阻害率として表１７に示すに示すように、Ｔ細胞の活性化を阻害した。図５Ｂは、アイソタイプコントロール（ヒトＩｇＧ１）（３．５％±２５．６％）と比較したときの、ＰＤ１Ｂ７４３（５８．０％±１１．３％）、ＰＤ１Ｂ７５０（６５．９％±１３．２％）、ＰＤ１Ｂ７５６（３６．７％±１５．５％）に対する、平均阻害率及びＳＴＤＥＶを示す。２５％を超えるＳＴＤＥＶを示すアッセイを、分析から除外した。表１８に示すに示すように、改変抗体ＰＤ１Ｂ８７８及びＰＤ１Ｂ８４９も同様に、活性化Ｔ細胞を阻害した。図５Ｃは、アイソタイプコントロール（ヒトＩｇＧ１）（４．１％±２８．７％）と比較したときの、ＰＤ１Ｂ８７８（７８．３％±１８．１％）、及びＰＤ１Ｂ８４９（６９．０％±４．０％）に対する、平均阻害率及びＳＴＤＥＶを示す。
【０５４９】
【表１６】
表１６．

	PD1B505		PD1B506		アイソタイプ	
ドナー	平均	STDEV	平均	STDEV	平均	STDEV
D1	86.5	9.0	95.2	1.4	4.7	13.3
D2	74.8	0.8	100.1	3.3	13.2	12.9
D1	77	23.0	98	9.8	4.2	33.6
D2	87.7	3.7	100.0	5.8	−16.6	30.6
D3	0.7	8.3	49.5	11.4	6.1	5.7
D1	77.1	4.1	87.8	4.0	−33.1	59.1
D1	69.7	5.4	85.2	2.7	3.1	24.5
D3	63.4	4.9	101.4	8.7	−23.5	44.3
D1	84.5	7.2	86.4	6.5	−35.6	60.4
D1	76.6	2.5	103.1	5.2	−17.7	28.1
D1	49.8	12.7	64.2	11.5	−14.9	19.5
D1	−7.0	17.1	3.8	12.1	−20.0	29.3
D2	49.1	16.6	76.6	6.8	−0.9	28.1
D1	20.1	17.0	26.2	20.7	−2.0	14.2

【０５５０】

【表１７】

表１７．

	PD1B743		PD1B750		PD1B756		アイソタイプ	
ドナー	平均	STDEV	平均	STDEV	平均	STDEV	平均	STDEV
D1	90.1	3.1	97.2	10.0	59.3	18.2	−17.7	28.1
D3	21.1	13.8	74.9	16.7	27.4	14.2	−6.6	17.7
D4	30.5	23.6	24.2	15.5	0.3	17.1	2.7	7.7
D5	64.0	5.9	75.0	9.9	69.3	12.8	14.1	35.6
D1	66.7	14.8	58.1	19.8	27.4	15.4	−13.1	45.2
D3	35.1	8.2	55.6	5.8			0.5	20.8
D1	84.2	2.2	72.1	18.8			43.1	17.5
D1	58.4	8.4	64.7	7.3			5.8	31.6
D1	72.1	21.4	71.6	14.8			2.5	25.9

【０５５１】

【表１８】

表１８．

	PD1B878		PD1B849		アイソタイプ	
ドナー	平均	STDEV	平均	STDEV	平均	STDEV
D1			64.3	2.5	5.8	31.6
D1	78.3	18.1	73.7	5.6	2.5	25.9

【０５５２】

実施例５．ＰＤ－１抗体は高親和性で、ヒトＰＤ－１に結合する

親及びヒト化抗体の、ＰＤ－１への親和性を、実施例１に記載したＳＰＲを用いて測定した。

【０５５３】

表１９は、親和性測定の結果を示す。抗体はＰＤ－１に、約５．２×１０$^{-8}$Ｍ～２．１×１０$^{-8}$Ｍの範囲のK_Dで結合した。

【０５５４】

【表１９】

表１９．

mAb	ka(1／Ms)	kd(1／s)	K_D(M)
PD1B505	8.11E+04	2.36E−03	2.91E−08
PD1B742			
PD1B743	9.15E+04	3.00E−03	3.28E−08
PD1B878	5.98E+04	3.51E−03	5.89E−08
PD1B506	1.95E+05	1.02E−02	5.24E−08
PD1B750	3.59E+05	8.32E−03	2.32E−08
PD1B751			
PD1B845*	3.51E+05	8.43E−03	2.40E−08
PD1B846*	3.49E+05	7.53E−03	2.16E−08
PD1B847*	3.03E+05	7.44E−03	2.46E−08
PD1B848*	2.53E+05	9.91E−03	3.92E−08
PD1B849	1.88E+05	8.83E−03	4.71E−08
PD1B850*	3.13E+05	7.19E−03	2.30E−08
PD1B512			
PD1B756	1.18E+05	2.14E−03	1.81E−08
PD1B757			
*結合を粗上清として評価した。			

【０５５５】

実施例６．ＰＤ－１抗体は、ＰＤ－１／リガンド相互作用を差次的に遮断する

実施例１に記載した手順を用いて、ＰＤ－１又はＰＤ－１リガンド（ＰＤ－Ｌ１若しくはＰＤ－Ｌ２）のいずれかを過剰発現する細胞のクラスター化における、抗体の効果を評価することにより、リガンド遮断を評価した。記録したダブルポジティブイベントの低い割合（％）は、試験ｍＡｂが、ＰＤ－１の試験リガンドへの結合を遮断したことを示す。

【０５５６】

図６Ａは、ＰＤ１Ｂ７４３、ＰＤ１Ｂ７５０、又はＰＤ１Ｂ７５６で細胞を処理した後に残った、ＰＤ－１－ＨＥＫ、及びＰＤ－Ｌ１－ＨＥＫ細胞クラスターの割合を示す。ＰＤ１Ｂ７４３及びＰＤ１Ｂ７５６は、ＰＤ－Ｌ１のＰＤ－１への結合を遮断しなかったが、ＰＤ１Ｂ７５０は遮断した。同様に、ＰＤ１Ｂ７４３及びＰＤ１Ｂ７５６は、ＰＤ－Ｌ２のＰＤ－１への結合を遮断しなかったが、ＰＤ１Ｂ７５０は遮断した（図６Ｂ）。既知の抗ＰＤ－１リガンド遮断ｍＡｂを、実験における陽性対照として使用した。

【０５５７】

実施例７．抗体のエピトープビニング

実施例１に記載する手順に従い、キメラ抗体を用いる初期マトリクスアッセイで、５つの異なるエピトープビンを識別した。ビン４及び５は、あらゆる他のビンと交差競合しなかった。ビン１、２、及び３は、部分的に重複した。ビン１はビン２及び３と競合し、ビン２及び３はビン１と競合した。ビン１、２、３、及び４は、ＰＤ－Ｌ１のＰＤ－１への結合を遮断しなかったが、ビン５はＰＤ－Ｌ１／ＰＤ－１相互作用を遮断した。図７は、異なるエピトープビン、及び各ビン内にある抗体を示す。

【０５５８】

一次抗体を添加した、アイソタイプコントロールを用いる対照実験を行い、二次抗体がヒトＰＤ－１に単独で、どのように結合するかを示した。次に競合実験において、二次抗体の会合信号（ｎｍ）を、この工程の開始１８０秒後に拾った。潜在的に競合する抗体それぞれの信号を、アイソタイプコントロール後に添加した同一抗体の３回の実行による信号の平均と、比較した。これらの信号の比を測定した。比率が０．７を下回るとき、二次抗体はヒトＰＤ－１に結合できず、２つの抗体が同一のエピトープを分かち合うと判定した。比率が０．７を上回るとき、二次抗体は一次抗体の存在下にて結合可能であり、それ故、２つの抗体は非競合エピトープに結合したと判定した。

【０５５９】

ヒト化及びＰＴＭ遺伝子組み換えは、エピトープの移動をもたらすとは予想されないため、ＰＤ１Ｂ７４３、ＰＤ１Ｂ７４２、及びＰＤ１Ｂ８７８は、親キメラビン１　ＰＤ１Ｂ５０５と同一のエピトープに結合することが、予想される。同様に、ＰＤ１Ｂ７５０、ＰＤ１Ｂ７５１、及びＰＤ１Ｂ８４９は、親キメラビン５　ＰＤ１Ｂ５０６と同一のエピトープに結合すると予想され、ＰＤ１Ｂ７５６は、親キメラビン２　ＰＤ１Ｂ５１２と同一のエピトープに結合すると予想される。

【０５６０】

ＰＤ１Ｂ５０３はそれぞれ、配列番号１１４及び１１５のＶＨ及びＶＬを含む。

【０５６１】

ＰＤ１Ｂ５１７はそれぞれ、配列番号１１６及び１１７のＶＨ及びＶＬを含む。

【０５６２】

配列番号１１４　ＰＤ１Ｂ５０３　ＶＨ（ＰＤ１Ｈ９６）

ＱＶＱＬＱＱＳＧＡＥＬＶＫＰＧＡＳＶＫＬＳＣＫＡＳＧＹＴＦＴＳＹＤＩＮＷＶＲＱＲＰＥＱＧＬＥＷＩＧＷＩＦＰＧＤＧＳＴＫＹＮＥＫＦＫＧＫＡＴＬＴＴＤＫＳＳＳＴＡＹＭＱＦＳＲＬＴＳＥＤＳＡＶＹＦＣＡＲＧＧＭＲＱＬＧＲＦＶＹＷＧＱＧＴＴＬＴＶＳＳ

【０５６３】

配列番号１１５　ＰＤ１Ｂ５０３　ＶＬ（ＰＤ１Ｌ３２）

ＤＩＶＬＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＬＧＥＲＶＳＬＴＣＲＡＳＱＥＩＳＧＹＬＳＷＬＱＱＫＰＤＧＴＩＫＲＬＩＹＡＡＳＴＬＤＳＧＶＰＫＲＦＳＧＳＲＳＧＳＤＹＳＬＴＩＳＳＬＥ

ＳＥＤＦＡＤＹＹＣＬＱＹＡＳＮＰＹＴＦＧＧＧＴＫＬＥＩＫ

【０５６４】

配列番号１１６　ＰＤ１Ｂ５１７　ＶＨ（ＰＤ１Ｈ７３）

ＥＶＱＬＱＱＳＧＡＥＬＶＫＰＧＡＳＶＫＬＳＣＴＡＳＧＦＮＶＫＤＴＹＦＨＷＶＫＱＲＰＤＱＧＬＥＷＩＧＲＩＶＳＡＮＧＤＴＫＹＡＰＫＬＱＤＫＡＴＩＴＴＤＴＳＳＮＴＡＹＬＱＬＳＲＬＴＳＥＤＴＡＶＹＹＣＶＬＩＹＹＧＦＥＥＧＤＦＷＧＱＧＴＴＬＴＶＳＳ

【０５６５】

配列番号１１７　ＰＤ１Ｂ５１７　ＶＬ（ＰＤ１Ｌ３４）

ＤＩＶＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＬＧＤＴＩＴＩＴＣＨＡＳＱＮＩＮＶＷＬＳＷＹＱＱＫＰＧＮＶＰＫＬＬＩＹＫＡＳＮＬＨＴＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＧＦＴＬＮＩＳＳＬＱＰＥＤＩＡＴＹＹＣＱＱＧＱＳＦＰＬＴＦＧＡＧＴＫＬＥＬＫ

【０５６６】

実施例８．ＰＤ１Ｂ８７８の親和性成熟

ＰＤ１Ｂ８７８の結合親和性を改善するために、ＣＤＲスキャンを、重鎖及び軽鎖の両方で行った。６つのＣＤＲ（ＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３）全ての各位置を多様化するために、非コンビナトリアルライブラリを設計した。簡潔に述べると、制限酵素部位に軽微な修正を加えた以外、国際公開第２００９／０８５４６２号、Ｓｈｉ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ　Ｍｏｌ　Ｂｉｏｌ　３９７：３８５－３９６（２０１０）、及びＴｏｒｎｅｔｔａ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ　Ｉｍｍｕｎｏｌ　Ｍｅｔｈｏｄｓ　３６０：３９－４６（２０１０）に記載のとおり、ＦａｂライブラリをｐＩＸファージ Ｆａｂディスプレイシステムにおいて構築した。国際公開第２００９／０８５４６２号、及びＳｈｉ　ｅｔ　ａｌ，Ｊ　Ｍｏｌ　Ｂｉｏｌ　３９７：３８５－３９６（２０１０）に記載されているような、当該技術分野において公知のパニングスキームに従い、これらのライブラリを、ビオチン化ヒトＰＤ－１／ＰＤＣＤ１（Ａｃｒｏ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ．Ｃａｔ＃　ＰＤ１－Ｈ８２Ｅ４）に対してパニングした。ヘルパーファージ感染によってファージを作製した。ビーズ／抗原／ファージ複合体を形成するためにビーズを添加することによって、結合剤を回収した。最終洗浄の後、指数関数的に成長しているＴＧ－１大腸菌細胞の感染により、ファージをレスキューした。

【０５６７】

フォローアップスクリーニングのために、ＴＧ－１大腸菌細胞を一晩培養してプラスミドＤＮＡを調製し、ｐＩＸ遺伝子をＮｈｅｌ／Ｓｐｅｌ分解によって切断した。ライゲーション後、ＤＮＡをＴＧ－１細胞に形質転換し、ＬＢ／寒天培地上で一晩成長させた。次の日、コロニーを採取し、一晩成長させ、この培養物を、（ｉ）Ｖ領域のコロニー配列決定、及び（ｉｉ）Ｆａｂ産生の誘導に用いた。Ｆａｂ産生のために、一晩の培養物を新しい培地で１００倍希釈し、３７℃にて５～６時間増殖させた。Ｆａｂ産生は、ＩＰＴＧを含有する新鮮な培地を添加することにより誘発し、培養物を３０℃にて一晩増殖させた。翌日、培養物を遠心沈殿させ、可溶性Ｆａｂタンパク質を含有する上清を、Ｆａｂ　ＥＬＩＳＡのために使用した。ＥＬＩＳＡのために、可溶性Ｆａｂタンパク質を、ポリクローナル抗Ｆｄ（ＣＨ１）抗体によってプレートに捕捉した。洗浄及び遮断後、ビオチン化ヒトＰＤ－１／ＰＤＣＤ１を、５ｎＭの濃度で添加した。この濃度は、全プレートに対照として存在した親Ｆａｂを１００％結合と定義した場合の、親に対する倍率変化として定義された、Ｆａｂ多様体のランク付けを可能にした。ビオチン化ヒトＰＤ－１は、プレートリーダーで測定した化学発光読み取りを用いる、ＨＲＰ複合体化ストレプトアビジンによって検出した。この基準によって、親Ｆａｂに比べて１０倍以上でヒトＰＤ－１に結合する３本の重鎖及び２本の軽鎖が選択された。

【０５６８】

表２０は、ＶＨのＨＣＤＲ２の位置５７、及びＶＬのＬＣＤＲ１の位置２９又は３０において置換を有する多様体を示す。表２１は、抗体のＣＤＲの配列番号を示す。表２２は、ＶＨ、ＶＬ、ＨＣ、及びＬＣアミノ酸配列の配列番号を示す。表２３は、抗体のＶＨ、ＶＬ、ＨＣ、及びＬＣをコードするポリヌクレオチドの配列番号を示す。表２４は、ＨＣ

ＤＲ１、ＨＣＤＲ２、及びＨＣＤＲ３アミノ酸配列を示す。表２５は、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３アミノ酸配列を示す。表２６はＶＨアミノ酸配列を示す。表２７はＶＬアミノ酸配列を示す。親和性を測定した多様体は、ＰＤ－１にて親抗体ＰＤ１Ｂ８７８と同一のエピトープに結合すると予想される。

【０５６９】

【表２０】

表２０．

mAb ID	VHペプチドID	親と比較したVH変異	VLペプチドID	親と比較したVL変異
PD1B1085	PD1H585	E57Y	PD1L469	
PD1B1086	PD1H586	E57H	PD1L469	
PD1B1087	PD1H587	E57W	PD1L469	
PD1B1088	PD1H405		PD1L651	V29F
PD1B1089	PD1H405		PD1L652	S30P
PD1B1090	PD1H585	E57Y	PD1L651	V29F
PD1B1091	PD1H586	E57H	PD1L651	V29F
PD1B1092	PD1H587	E57W	PD1L651	V29F
PD1B1093	PD1H585	E57Y	PD1L652	S30P
PD1B1094	PD1H586	E57H	PD1L652	S30P
PD1B1095	PD1H587	E57W	PD1L652	S30P

【０５７０】

【表２１】

表２１．

抗体	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
PD1B1085	2	145	4	5	6	7
PD1B1086	2	146	4	5	6	7
PD1B1087	2	147	4	5	6	7
PD1B1088	2	3	4	148	6	7
PD1B1089	2	3	4	149	6	7
PD1B1090	2	145	4	148	6	7
PD1B1091	2	146	4	148	6	7
PD1B1092	2	147	4	148	6	7
PD1B1093	2	145	4	149	6	7
PD1B1094	2	146	4	149	6	7
PD1B1095	2	147	4	149	6	7

【０５７１】

【表２２】

表２２．

mAb ID	VHペプチドID	VLペプチドID	VHの配列番号	VLの配列番号	HCの配列番号	LCの配列番号
PD1B1085	PD1H585	PD1L469	140	16	150	28
PD1B1086	PD1H586	PD1L469	141	16	151	28
PD1B1087	PD1H587	PD1L469	142	16	152	28
PD1B1088	PD1H405	PD1L651	10	143	22	153
PD1B1089	PD1H405	PD1L652	10	144	22	154
PD1B1090	PD1H585	PD1L651	140	143	150	153
PD1B1091	PD1H586	PD1L651	141	143	151	153
PD1B1092	PD1H587	PD1L651	142	143	152	153
PD1B1093	PD1H585	PD1L652	140	144	150	154
PD1B1094	PD1H586	PD1L652	141	144	151	154
PD1B1095	PD1H587	PD1L652	142	144	152	154

【０５７２】
【表２３】
表２３．

mAb ID	VHペプチド名	VLペプチド名	VH cDNA 配列番号	VL cDNA 配列番号	HC cDNA 配列番号	LC cDNA 配列番号
PD1B1085	PD1H585	PD1L469	155	19	160	31
PD1B1086	PD1H586	PD1L469	156	19	161	31
PD1B1087	PD1H587	PD1L469	157	19	162	31
PD1B1088	PD1H405	PD1L651	13	158	25	163
PD1B1089	PD1H405	PD1L652	13	159	25	164
PD1B1090	PD1H585	PD1L651	155	158	160	163
PD1B1091	PD1H586	PD1L651	156	158	161	163
PD1B1092	PD1H587	PD1L651	157	158	162	163
PD1B1093	PD1H585	PD1L652	155	159	160	164
PD1B1094	PD1H586	PD1L652	156	159	161	164
PD1B1095	PD1H587	PD1L652	157	159	162	164

【０５７３】
【表２４】
表２４．

抗体	HCDR1 （配列番号）	HCDR2 （配列番号）	HCDR3 （配列番号）
PD1B1085	GYTFTDYSMH （配列番号２）	WINIETGYPT （配列番号１４５）	DYYGTYFYAMDY （配列番号４）
PD1B1086	GYTFTDYSMH （配列番号２）	WINIETGHPT （配列番号１４６）	DYYGTYFYAMDY （配列番号４）
PD1B1087	GYTFTDYSMH （配列番号２）	WINIETGWPT （配列番号１４７）	DYYGTYFYAMDY （配列番号４）
PD1B1088	GYTFTDYSMH （配列番号２）	WINIETGEPT （配列番号３）	DYYGTYFYAMDY （配列番号４）
PD1B1089	GYTFTDYSMH （配列番号２）	WINIETGEPT （配列番号３）	DYYGTYFYAMDY （配列番号４）
PD1B1090	GYTFTDYSMH （配列番号２）	WINIETGYPT （配列番号１４５）	DYYGTYFYAMDY （配列番号４）
PD1B1091	GYTFTDYSMH （配列番号２）	WINIETGHPT （配列番号１４６）	DYYGTYFYAMDY （配列番号４）
PD1B1092	GYTFTDYSMH （配列番号２）	WINIETGWPT （配列番号１４７）	DYYGTYFYAMDY （配列番号４）
PD1B1093	GYTFTDYSMH （配列番号２）	WINIETGYPT （配列番号１４５）	DYYGTYFYAMDY （配列番号４）
PD1B1094	GYTFTDYSMH （配列番号２）	WINIETGHPT （配列番号１４６）	DYYGTYFYAMDY （配列番号４）
PD1B1095	GYTFTDYSMH （配列番号２）	WINIETGWPT （配列番号１４７）	DYYGTYFYAMDY （配列番号４）

【０５７４】

【表２５】

表２５．

抗体	LCDR1 （配列番号）	LCDR2 （配列番号）	LCDR3 （配列番号）
PD1B1085	TASSSVSSSYLH （配列番号5）	STSNLAS （配列番号6）	HQYHRSPLT （配列番号7）
PD1B1086	TASSSVSSSYLH （配列番号5）	STSNLAS （配列番号6）	HQYHRSPLT （配列番号7）
PD1B1087	TASSSVSSSYLH （配列番号5）	STSNLAS （配列番号6）	HQYHRSPLT （配列番号7）
PD1B1088	TASSSFSSSYLH （配列番号148）	STSNLAS （配列番号6）	HQYHRSPLT （配列番号7）
PD1B1089	TASSSVPSSYLH （配列番号149）	STSNLAS （配列番号6）	HQYHRSPLT （配列番号7）
PD1B1090	TASSSFSSSYLH （配列番号148）	STSNLAS （配列番号6）	HQYHRSPLT （配列番号7）
PD1B1091	TASSSFSSSYLH （配列番号148）	STSNLAS （配列番号6）	HQYHRSPLT （配列番号7）
PD1B1092	TASSSFSSSYLH （配列番号148）	STSNLAS （配列番号6）	HQYHRSPLT （配列番号7）
PD1B1093	TASSSVPSSYLH （配列番号149）	STSNLAS （配列番号6）	HQYHRSPLT （配列番号7）
PD1B1094	TASSSVPSSYLH （配列番号149）	STSNLAS （配列番号6）	HQYHRSPLT （配列番号7）
PD1B1095	TASSSVPSSYLH （配列番号149）	STSNLAS （配列番号6）	HQYHRSPLT （配列番号7）

【０５７５】

【表２６】

表２６．

VHペプチド名	VHアミノ酸配列	配列番号
PD1H585	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTDYSMHWVRQAPGQG LEWMGWINIETGYPTYAQGFTGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDT AVYFCARDYYGTYFYAMDYWGQGTLVTVSS	140
PD1H586	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTDYSMHWVRQAPGQG LEWMGWINIETGHPTYAQGFTGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDT AVYFCARDYYGTYFYAMDYWGQGTLVTVSS	141
PD1H587	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTDYSMHWVRQAPGQG LEWMGWINIETGWPTYAQGFTGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDT AVYFCARDYYGTYFYAMDYWGQGTLVTVSS	142

【０５７６】

【表２７】

表２７．

VLペプチド名	VLアミノ酸配列	配列番号
PD1L651	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCTASSSFSSSYLHWYQQKPGLAP RLLIYSTSNLASGIPDRFSGSGSGTDYTLTISRLEPEDFAVYYCHQY HRSPLTFGQGTKLEIK	143
PD1L652	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCTASSSVPSSYLHWYQQKPGLAP RLLIYSTSNLASGIPDRFSGSGSGTDYTLTISRLEPEDFAVYYCHQY HRSPLTFGQGTKLEIK	144

【０５７７】

配列番号：１５０　ＰＤ１Ｂ１０８５、ＰＤ１Ｂ１０９０、ＰＤ１Ｂ１０９３　ＨＣ

ＱＶＱＬＶＱＳＧＳＥＬＫＫＰＧＡＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＹＴＦＴＤＹＳＭＨＷＶＲＱ
ＡＰＧＱＧＬＥＷＭＧＷＩＮＩＥＴＧＹＰＴＹＡＱＧＦＴＧＲＦＶＦＳＬＤＴＳＶＳＴＡ
ＹＬＱＩＳＳＬＫＡＥＤＴＡＶＹＦＣＡＲＤＹＹＧＴＹＦＹＡＭＤＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶ
ＳＳＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰＳＳＫＳＴＳＧＧＴＡＡＬＧＣＬＶＫＤＹＦＰＥＰＶＴ
ＶＳＷＮＳＧＡＬＴＳＧＶＨＴＦＰＡＶＬＱＳＳＧＬＹＳＬＳＳＶＶＴＶＰＳＳＳＬＧＴ
ＱＴＹＩＣＮＶＮＨＫＰＳＮＴＫＶＤＫＫＶＥＰＫＳＣＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＬＬ

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR
EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP
PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH
YTQKSLSLSPGK

【０５７８】

配列番号：１５１　ＰＤ１Ｂ１０８６、ＰＤ１Ｂ１０９１、ＰＤ１Ｂ１０９４　ＨＣ

QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTDYSMHWVRQ
APGQGLEWMGWINIETGHPTYAQGFTGRFVFSLDTSVSTA
YLQISSLKAEDTAVYFCARDYYGTYFYAMDYWGQGTLVTV
SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT
VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT
QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR
EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP
PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH
YTQKSLSLSPGK

【０５７９】

配列番号：１５２　ＰＤ１Ｂ１０８７、ＰＤ１Ｂ１０９２、ＰＤ１Ｂ１０９５　ＨＣ

QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTDYSMHWVRQ
APGQGLEWMGWINIETGWPTYAQGFTGRFVFSLDTSVSTA
YLQISSLKAEDTAVYFCARDYYGTYFYAMDYWGQGTLVTV
SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT
VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT
QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR
EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP
PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH
YTQKSLSLSPGK

【０５８０】

配列番号：１５３　ＰＤ１Ｂ１０８８、ＰＤ１Ｂ１０９０、ＰＤ１Ｂ１０９１、ＰＤ１Ｂ１０９２　ＬＣ

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCTASSSFSSSYLHWYQQ
KPGLAPRLLIYSTSNLASGIPDRFSGSGSGTDYTLTISRL
EPEDFAVYYCHQYHRSPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIF
PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN
SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH
QGLSSPVTKSFNRGEC

【０５８１】

配列番号：１５４　ＰＤ１Ｂ１０８９、ＰＤ１Ｂ１０９３、ＰＤ１Ｂ１０９４、ＰＤ１Ｂ１０９５　ＬＣ

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCTASSSVPSSYLHWYQQ
KPGLAPRLLIYSTSNLASGIPDRFSGSGSGTDYTLTISRL
EPEDFAVYYCHQYHRSPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIF
PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN

SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH
QGLSSPVTKSFNRGEC

【０５８２】

配列番号：１５５　ＰＤ１Ｈ５８５　ｃＤＮＡ

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAAGCGAACTGAAGAAA
CCTGGAGCCTCTGTGAAAGTGTCTTGTAAGGCCAGCGGCT
ACACCTTCACCGACTACAGCATGCACTGGGTGCGGCAGGC
CCCTGGACAGGGCCTGGAATGGATGGGCTGGATCAACATC
GAGACCGGCTATCCCACCTACGCCCAGGGCTTTACCGGAC
GGTTCGTGTTCAGCCTGGATACATCTGTGTCTACAGCCTA
TCTGCAGATCAGCTCTCTGAAGGCCGAAGATACAGCCGTG
TACTTCTGCGCCCGGGACTACTACGGCACCTACTTCTACG
CCATGGACTACTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTC
TTCT

【０５８３】

配列番号：１５６　ＰＤ１Ｈ５８６　ｃＤＮＡ

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAAGCGAACTGAAGAAA
CCTGGAGCCTCTGTGAAAGTGTCTTGTAAGGCCAGCGGCT
ACACCTTCACCGACTACAGCATGCACTGGGTGCGGCAGGC
CCCTGGACAGGGCCTGGAATGGATGGGCTGGATCAACATC
GAGACCGGCCATCCCACCTACGCCCAGGGCTTTACCGGAC
GGTTCGTGTTCAGCCTGGATACATCTGTGTCTACAGCCTA
TCTGCAGATCAGCTCTCTGAAGGCCGAAGATACAGCCGTG
TACTTCTGCGCCCGGGACTACTACGGCACCTACTTCTACG
CCATGGACTACTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTC
TTCT

【０５８４】

配列番号：１５７　ＰＤ１Ｈ５８７　ｃＤＮＡ

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAAGCGAACTGAAGAAA
CCTGGAGCCTCTGTGAAAGTGTCTTGTAAGGCCAGCGGCT
ACACCTTCACCGACTACAGCATGCACTGGGTGCGGCAGGC
CCCTGGACAGGGCCTGGAATGGATGGGCTGGATCAACATC
GAGACCGGCTGGCCCACCTACGCCCAGGGCTTTACCGGAC
GGTTCGTGTTCAGCCTGGATACATCTGTGTCTACAGCCTA
TCTGCAGATCAGCTCTCTGAAGGCCGAAGATACAGCCGTG
TACTTCTGCGCCCGGGACTACTACGGCACCTACTTCTACG
CCATGGACTACTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTC
TTCT

【０５８５】

配列番号：１５８　ＰＤ１Ｌ６５１　ｃＤＮＡ

GAGATCGTGCTGACACAGTCTCCTGCCACACTGTCTCTG
TCTCCTGGAGAACGGGCCACACTGAGCTGCACCGCCAGCA
GCAGCTTCAGCAGCAGCTACCTGGCACTGGTACCAGCAGAA
ACCTGGACTGGCCCCTCGGCTGCTGATCTACAGCACCAGC
AACCTGGCCAGCGGCATCCCTGATCGGTTTTCTGGCAGCG
GATCTGGCACAGATTACACACTGACCATCAGCCGGCTGGA
ACCTGAGGATTTTGCCGTGTACTACTGCCACCAGTACCAC
CGGAGCCCCCTGACCTTCGGCCAGGGAACAAAGCTGGAAA
TCAAG

【０５８６】

配列番号：１５９　ＰＤ１Ｌ６５２　ｃＤＮＡ

ＧＡＧＡＴＣＧＴＧＣＴＧＡＣＡＣＡＧＴＣＴＣＣＴＧＣＣＡＣＡＣＴＧＴＣＴＣＴＧ
ＴＣＴＣＣＴＧＧＡＧＡＡＣＧＧＧＣＣＡＣＡＣＴＧＡＧＣＴＧＣＡＣＣＧＣＣＡＧＣＡ
ＧＣＡＧＣＧＴＧＣＣＡＡＧＣＡＧＣＴＡＣＣＴＧＣＡＣＴＧＧＴＡＣＣＡＧＣＡＧＡＡ
ＡＣＣＴＧＧＡＣＴＧＧＣＣＣＣＴＣＧＧＣＴＧＣＴＧＡＴＣＴＡＣＡＧＣＡＣＣＡＧＣ
ＡＡＣＣＴＧＧＣＣＡＧＣＧＧＣＡＴＣＣＣＴＧＡＴＣＧＧＴＴＴＣＴＧＧＣＡＧＣＧ
ＧＡＴＣＴＧＧＣＡＣＡＧＡＴＴＡＣＡＣＡＣＴＧＡＣＣＡＴＣＡＧＣＣＧＧＧＣＴＧＧＡ
ＡＣＣＴＧＡＧＧＡＴＴＴＴＧＣＣＧＴＧＴＡＣＴＡＣＴＧＣＣＡＣＣＡＧＴＡＣＣＡＣ
ＣＧＧＡＧＣＣＣＣＣＴＧＡＣＣＴＴＣＧＧＧＣＣＡＧＧＧＧＡＡＣＡＡＡＡＧＣＴＧＧＡＡＡ
ＴＣＡＡＧ

【０５８７】

配列番号：１６０　ＰＤ１Ｂ１０８５、ＰＤ１Ｂ１０９０、ＰＤ１Ｂ１０９３　ＨＣ
ｃＤＮＡ

ＴＣＴＧＡＴＡＡＧＡＧＴＣＡＧＡＧＧＴＡＡＣＴＣＣＣＧＴＴＧＣＧＧＴＧＣＴＧＴ
ＴＡＡＣＧＧＴＧＧＡＧＧＧＣＡＧＴＧＴＡＧＴＣＴＧＡＧＣＡＧＴＡＣＴＣＧＴＴＧＣ
ＴＧＣＣＧＣＧＣＧＣＧＣＣＡＣＣＡＧＡＣＡＴＡＡＴＡＧＣＴＧＡＣＡＧＡＣＴＡＡＣ
ＡＧＡＣＴＧＴＴＣＣＴＴＴＣＣＡＴＧＧＧＴＣＴＴＴＴＣＴＧＣＡＧＴＣＡＣＣＧＴＣ
ＣＴＴＡＧＡＴＣＣＡＣＴＡＧＴＣＣＡＧＴＧＴＧＧＴＧＡＡＧＣＴＴＧＣＣＧＣＣＡＣ
ＣＡＴＧＧＣＴＴＧＧＧＴＧＴＧＧＡＣＣＴＴＧＣＴＡＴＴＣＣＴＧＡＴＧＧＣＡＧＣＴ
ＧＣＣＣＡＡＡＧＴＡＴＡＣＡＧＧＣＣＣＡＧＧＴＧＣＡＧＣＴＧＧＴＧＣＡＧＴＣＴＧ
ＧＡＡＧＣＧＡＡＣＴＧＡＡＧＡＡＡＣＣＴＧＧＡＧＣＣＴＣＴＧＴＧＡＡＡＧＴＧＴＣ
ＴＴＧＴＡＡＧＧＣＣＡＧＣＧＧＣＴＡＣＡＣＣＴＴＣＡＣＣＧＡＣＴＡＣＡＧＣＡＴＧ
ＣＡＣＴＧＧＧＴＧＣＧＧＣＡＧＧＣＣＣＣＴＧＧＡＣＡＧＧＧＣＣＴＧＧＡＡＴＧＧＡ
ＴＧＧＧＣＴＧＧＡＴＣＡＡＣＡＴＣＧＡＧＡＣＣＧＧＣＴＡＴＣＣＣＡＣＣＴＡＣＧＣ
ＣＣＡＧＧＧＣＴＴＴＡＣＣＧＧＡＣＧＧＴＴＣＧＴＧＴＴＣＡＧＣＣＴＧＧＡＴＡＣＡ
ＴＣＴＧＴＧＴＣＴＡＣＡＧＣＣＴＡＴＣＴＧＣＡＧＡＴＣＡＧＣＴＣＴＣＴＧＡＡＧＧ
ＣＣＧＡＡＧＡＴＡＣＡＧＣＣＧＴＧＴＡＣＴＴＣＴＧＣＧＣＣＣＧＧＧＡＣＴＡＣＴＡ
ＣＧＧＣＡＣＣＴＡＣＴＴＣＴＡＣＧＣＣＡＴＧＧＡＣＴＡＣＴＧＧＧＧＣＣＡＧＧＧＡ
ＡＣＡＣＴＧＧＴＧＡＣＡＧＴＧＴＣＴＴＣＴＧＣＣＴＣＣＡＣＣＡＡＧＧＧＣＣＣＡＴ
ＣＧＧＴＣＴＴＣＣＣＣＣＴＧＧＣＡＣＣＣＴＣＣＴＣＣＡＡＧＡＧＣＡＣＣＴＣＴＧＧ
ＧＧＧＣＡＣＡＧＣＧＧＣＣＣＴＧＧＧＣＴＧＣＣＴＧＧＴＣＡＡＧＧＡＣＴＡＣＴＴＣ
ＣＣＣＧＡＡＣＣＧＧＴＧＡＣＧＧＴＧＴＣＧＴＧＧＡＡＣＴＣＡＧＧＣＧＣＣＣＴＧＡ
ＣＣＡＧＣＧＧＣＧＴＧＣＡＣＡＣＣＴＴＣＣＣＧＧＣＴＧＴＣＣＴＡＣＡＧＴＣＣＴＣ
ＡＧＧＡＣＴＣＴＡＣＴＣＣＣＴＣＡＧＣＡＧＣＧＴＧＧＴＧＡＣＣＧＴＧＣＣＣＴＣＣ
ＡＧＣＡＧＣＴＴＧＧＧＣＡＣＣＣＡＧＡＣＣＴＡＣＡＴＣＴＧＣＡＡＣＧＴＧＡＡＴＣ
ＡＣＡＡＧＣＣＣＡＧＣＡＡＣＡＣＣＡＡＧＧＴＧＧＡＣＡＡＧＡＡＡＧＴＴＧＡＧＣＣ
ＣＡＡＡＴＣＴＴＧＴＧＡＣＡＡＡＡＣＴＣＡＣＡＣＡＴＧＣＣＣＡＣＣＧＴＧＣＣＣＡ
ＧＣＡＣＣＴＧＡＡＣＴＣＣＴＧＧＧＧＧＧＧＡＣＣＧＴＣＡＧＴＣＴＴＣＣＴＣＴＴＣＣ
ＣＣＣＣＡＡＡＡＣＣＣＡＡＧＧＡＣＡＣＣＣＴＣＡＴＧＡＴＣＴＣＣＣＧＧＡＣＣＣＣ
ＴＧＡＧＧＴＣＡＣＡＴＧＣＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＡＣＧＴＧＡＧＣＣＡＣＧＡＡＧＡＣ
ＣＣＴＧＡＧＧＴＣＡＡＧＴＴＣＡＡＣＴＧＧＴＡＣＧＴＧＧＡＣＧＧＣＧＴＧＧＡＧＧ
ＴＧＣＡＴＡＡＴＧＣＣＡＡＧＡＣＡＡＡＧＣＣＧＣＧＧＧＡＧＧＡＧＣＡＧＴＡＣＡＡ
ＣＡＧＣＡＣＧＴＡＣＣＧＴＧＴＧＧＴＣＡＧＣＧＴＣＣＴＣＡＣＣＧＴＣＣＴＧＣＡＣ
ＣＡＧＧＡＣＴＧＧＣＴＧＡＡＴＧＧＣＡＡＧＧＡＧＴＡＣＡＡＧＴＧＣＡＡＧＧＴＣＴ
ＣＣＡＡＣＡＡＡＧＣＣＣＴＣＣＣＡＧＣＣＣＣＣＡＴＣＧＡＧＡＡＡＡＣＣＡＴＣＴＣ
ＣＡＡＡＧＣＣＡＡＡＧＧＧＣＡＧＣＣＣＣＧＡＧＡＡＣＣＡＣＡＧＧＴＧＴＡＣＡＣＣ
ＣＴＧＣＣＣＣＣＡＴＣＣＣＧＧＧＡＧＧＡＧＡＴＧＡＣＣＡＡＧＡＡＣＣＡＧＧＴＣＡ
ＧＣＣＴＧＡＣＣＴＧＣＣＴＧＧＴＣＡＡＡＧＧＣＴＴＣＴＡＴＣＣＣＡＧＣＧＡＣＡＴ
ＣＧＣＣＧＴＧＧＡＧＴＧＧＧＡＧＡＧＣＡＡＴＧＧＧＣＡＧＣＣＧＧＡＧＡＡＣＡＡＣ
ＴＡＣＡＡＧＡＣＣＡＣＧＣＣＴＣＣＣＧＴＧＣＴＧＧＡＣＴＣＣＧＡＣＧＧＣＴＣＣＴ

TCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTG
GCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAG
GCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGT
CTCCGGGTAAATGATAGTTCGAATTCCTAGAAGACATGAT
AAGATACATTGATGAGTTTGGACAAACCACAACTAGAATG
CAGTGAAAAAAATGCTTTATTTGTGAAATTTGTGATGCTA
TTGCTTTATTTGTAACCATTATAAGCTGCAATAAACAAGT
TAACAACAACAATTGCATTCATTTTATGTTTCAGGTTCAG
GGGGAGGTGTGGGA

【０５８８】

配列番号：１６１　ＰＤ１Ｂ１０８６、ＰＤ１Ｂ１０９１、ＰＤ１Ｂ１０９４　ＨＣ
ｃＤＮＡ

TCTGATAAGAGTCAGAGGTAACTCCCGTTGCGGTGCTGT
TAACGGTGGAGGGCAGTGTAGTCTGAGCAGTACTCGTTGC
TGCCGCGCGGCGCCACCAGACATAATAGCTGACAGACTAAC
AGACTGTTCCTTTCCATGGGTCTTTTCTGCAGTCACCGTC
CTTAGATCCACTAGTCCAGTGTGGTGAAGCTTGCCGCCAC
CATGGCTTGGGTGTGGACCTTGCTATTCCTGATGGCAGCT
GCCCAAAGTATACAGGCCCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTG
GAAGCGAACTGAAGAAACCTGGAGCCTCTGTGAAAGTGTC
TTGTAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCGACTACAGCATG
CACTGGGTGCGGCAGGCCCCTGGACAGGGCCTGGAATGGA
TGGGCTGGATCAACATCGAGACCGGCCATCCCACCTACGC
CCAGGGCTTTACCGGACGGTTCGTGTTCAGCCTGGATACA
TCTGTGTCTACAGCCTATCTGCAGATCAGCTCTCTGAAGG
CCGAAGATACAGCCGTGTACTTCTGCGCCCGGGACTACTA
CGGCACCTACTTCTACGCCATGGACTACTGGGGCCAGGGA
ACACTGGTGACAGTGTCTTCTGCCTCCACCAAGGGCCCAT
CGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGG
GGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTC
CCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGA
CCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTC
AGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC
AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATC
ACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCC
CAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCA
GCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCC
CCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCC
TGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC
CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGG
TGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAA
CAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCAC
CAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCT
CCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTC
CAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACC
CTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCA
GCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACAT
CGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAAC
TACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCT
TCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTG

GCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAG
GCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGT
CTCCGGGTAAATGATAGTTCGAATTCCTAGAAGACATGAT
AAGATACATTGATGAGTTTGGACAAACCACAACTAGAATG
CAGTGAAAAAAATGCTTTATTTGTGAAATTTGTGATGCTA
TTGCTTTATTTGTAACCATTATAAGCTGCAATAAACAAGT
TAACAACAACAATTGCATTCATTTTATGTTTCAGGTTCAG
GGGGAGGTGTGGGA

【0589】

配列番号：162　PD1B1087、PD1B1092、PD1B1095　HC cDNA

TCTGATAAGAGTCAGAGGTAACTCCCGTTGCGGTGCTGT
TAACGGTGGAGGGCAGTGTAGTCTGAGCAGTACTCGTTGC
TGCCGCGCGCGCCACCAGACATAATAGCTGACAGACTAAC
AGACTGTTCCTTTCCATGGGTCTTTTCTGCAGTCACCGTC
CTTAGATCCACTAGTCCAGTGTGGTGAAGCTTGCCGCCAC
CATGGCTTGGGTGTGGACCTTGCTATTCCTGATGGCAGCT
GCCCAAAGTATACAGGCCCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTG
GAAGCGAACTGAAGAAACCTGGAGCCTCTGTGAAAGTGTC
TTGTAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCGACTACAGCATG
CACTGGGTGCGGCAGGCCCCTGGACAGGGCCTGGAATGGA
TGGGCTGGATCAACATCGAGACCGGCTGGCCCACCTACGC
CCAGGGCTTTACCGGACGGTTCGTGTTCAGCCTGGATACA
TCTGTGTCTACAGCCTATCTGCAGATCAGCTCTCTGAAGG
CCGAAGATACAGCCGTGTACTTCTGCGCCCGGGGACTACTA
CGGCACCTACTTCTACGCCATGGACTACTGGGGCCAGGGA
ACACTGGTGACAGTGTCTTCTGCCTCCACCAAGGGCCCAT
CGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGG
GGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTC
CCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGA
CCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTC
AGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC
AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATC
ACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCC
CAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCA
GCACCTGAACTCCTGGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCC
CCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCC
TGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC
CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGG
TGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAA
CAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCAC
CAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCT
CCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTC
CAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACC
CTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCA
GCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACAT
CGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAAC
TACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCT
TCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTG
GCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAG

GCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGT
CTCCGGGTAAATGATAGTTCGAATTCCTAGAAGACATGAT
AAGATACATTGATGAGTTTGGACAAACCACAACTAGAATG
CAGTGAAAAAAATGCTTTATTTGTGAAATTTGTGATGCTA
TTGCTTTATTTGTAACCATTATAAGCTGCAATAAACAAGT
TAACAACAACAATTGCATTCATTTTATGTTTCAGGTTCAG
GGGGAGGTGTGGGA

【０５９０】

配列番号：１６３　ＰＤ１Ｂ１０８８、ＰＤ１Ｂ１０９０、ＰＤ１Ｂ１０９１、ＰＤ１Ｂ１０９２　ＬＣ　ｃＤＮＡ

TCTGATAAGAGTCAGAGGTAACTCCCGTTGCGGTGCTGT
TAACGGTGGAGGGCAGTGTAGTCTGAGCAGTACTCGTTGC
TGCCGCGCGGCGCCACCAGACATAATAGCTGACAGACTAAC
AGACTGTTCCTTTCCATGGGTCTTTTCTGCAGTCACCGTC
CTTAGATCCACTAGTCCAGTGTGGTGAAGCTTGCCGCCAC
CATGGCTTGGGTGTGGACCTTGCTATTCCTGATGGCGGCC
GCCCAAAGTATACAGGCCGAGATCGTGCTGACACAGTCTC
CTGCCACACTGTCTCTGTCTCCTGGAGAACGGGCCACACT
GAGCTGCACCGCCAGCAGCAGCTTCAGCAGCAGCTACCTG
CACTGGTACCAGCAGAAACCTGGACTGGCCCCTCGGCTGC
TGATCTACAGCACCAGCAACCTGGCCAGCGGCATCCCTGA
TCGGTTTTCTGGCAGCGGATCTGGCACAGATTACACACTG
ACCATCAGCCGGCTGGAACCTGAGGATTTTGCCGTGTACT
ACTGCCACCAGTACCACCGGAGCCCCCTGACCTTCGGCCA
GGGAACAAAGCTGGAAATCAAGCGTACGGTGGCTGCACCA
TCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAAT
CTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTA
TCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCC
CTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGG
ACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGAC
GCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCC
TGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAA
AGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAGTGATTCGAATTCCT
AGAAGACATGATAAGATACATTGATGAGTTTGGACAAACC
ACAACTAGAATGCAGTGAAAAAAAATGCTTTATTTGTGAAA
TTTGTGATGCTATTGCTTTATTTGTAACCATTATAAGCTG
CAATAAACAAGTTAACAACAACAATTGCATTCATTTTATG
TTTCAGGTTCAGGGGGAGGTGTGGGA

【０５９１】

配列番号：１６４　ＰＤ１Ｂ１０８９、ＰＤ１Ｂ１０９３、ＰＤ１Ｂ１０９４、ＰＤ１Ｂ１０９５　ＬＣ　ｃＤＮＡ

TCTGATAAGAGTCAGAGGTAACTCCCGTTGCGGTGCTGT
TAACGGTGGAGGGCAGTGTAGTCTGAGCAGTACTCGTTGC
TGCCGCGCGGCGCCACCAGACATAATAGCTGACAGACTAAC
AGACTGTTCCTTTCCATGGGTCTTTTCTGCAGTCACCGTC
CTTAGATCCACTAGTCCAGTGTGGTGAAGCTTGCCGCCAC
CATGGCTTGGGTGTGGACCTTGCTATTCCTGATGGCGGCC
GCCCAAAGTATACAGGCCGAGATCGTGCTGACACAGTCTC
CTGCCACACTGTCTCTGTCTCCTGGAGAACGGGCCACACT
GAGCTGCACCGCCAGCAGCAGCGTGCCAAGCAGCTACCTG

CACTGGTACCAGCAGAAACCTGGACTGGCCCCTCGGCTGC
TGATCTACAGCACCAGCAACCTGGCCAGCGGCATCCCTGA
TCGGTTTTCTGGCAGCGGATCTGGCACAGATTACACACTG
ACCATCAGCCGGCTGGAACCTGAGGATTTTGCCGTGTACT
ACTGCCACCAGTACCACCGGAGCCCCCTGACCTTCGGCCA
GGGAACAAAGCTGGAAATCAAGCGTACGGTGGCTGCACCA
TCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAAT
CTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTA
TCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCC
CTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGG
ACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGAC
GCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCC
TGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAA
AGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAGTGATTCGAATTCCT
AGAAGACATGATAAGATACATTGATGAGTTTGGACAAACC
ACAACTAGAATGCAGTGAAAAAAATGCTTTATTTGTGAAA
TTTGTGATGCTATTGCTTTATTTGTAACCATTATAAGCTG
CAATAAACAAGTTAACAACAACAATTGCATTCATTTTATG
TTTCAGGTTCAGGGGGAGGTGTGGGA

【０５９２】

実施例１に記載するＳＰＲを使用して、抗体の、ヒト及びカニクイザルＰＤ－１に対する親和性を測定した。抗体は、ヒトＰＤ－１に1×10^{-8}Ｍ～10×10^{-10}Ｍの範囲のK_Dで結合し（表２８）、カニクイザルＰＤ－１に7×10^{-8}Ｍ～1×10^{-9}Ｍの範囲のK_Dで結合した（表２６）。親和性成熟ＰＤ１Ｂ８７８多様体の、大多数の親和性は、親抗体と比較したときに約１００倍改善された。

【０５９３】

【表２８】

表２８．

mAb	ka(1／Ms)	kd(1／s)	KD(M)
PD1B1085	1.56E+05	1.42E-04	9.11E-10
PD1B1086	1.24E+05	3.94E-04	3.19E-09
PD1B1087	1.66E+05	2.39E-04	1.44E-09
PD1B1088	3.13E+04	3.41E-04	1.09E-08
PD1B1089	5.86E+04	4.74E-04	8.09E-09
PD1B1090	1.06E+05	2.37E-05	2.23E-10
PD1B1091	7.77E+04	6.44E-05	8.30E-10
PD1B1092	1.40E+05	3.00E-05	2.14E-10
PD1B1093	1.25E+05	4.36E-05	3.49E-10
PD1B1094	1.05E+05	9.16E-05	8.71E-10
PD1B1095	1.51E+05	7.12E-05	4.71E-10

【０５９４】

【表２９】

表２９．

mAb	ka(1／Ms)	kd(1／s)	KD(M)
PD1B1085	2.00E+05	1.29E−03	6.45E−09
PD1B1086	1.71E+05	5.44E−03	3.18E−08
PD1B1087	2.12E+05	2.47E−03	1.16E−08
PD1B1088	6.61E+04	4.79E−03	7.24E−08
PD1B1089	9.32E+04	8.39E−03	9.00E−08
PD1B1090	1.30E+05	1.85E−04	1.43E−09
PD1B1091	9.91E+04	9.24E−04	9.32E−09
PD1B1092	1.29E+05	4.11E−04	3.18E−09
PD1B1093	1.69E+05	3.68E−04	2.18E−09
PD1B1094	1.35E+05	1.62E−03	1.20E−08
PD1B1095	1.85E+05	7.81E−04	4.23E−09

【０５９５】

ＣＭＶ特異的リコールアッセイ（実施例１に記載したＣＭＶ－ＰＢＭＣアッセイ）において、ＰＤ１Ｂ１０８６、ＰＤ１Ｂ１０９０、及びＰＤ１Ｂ１０９４の、活性化Ｔ細胞を阻害する能力について特性決定した。表３０は、ある実験における、２つのドナーにまたがる平均阻害率を示す。試験した抗体は全て、７０％以上の程度でＣＭＶ特異的リコールアッセイを阻害した。

【０５９６】

【表３０】

表３０．

	PD1B1086	PD1B1090	PD1B1094	IgG1
平均(%)	72.7	74.8	77.9	6.0

【０５９７】

実施例９．ＰＤ－１アゴニスト抗体は、慢性的活性化メモリーＴ細胞を選択的に標的化する

ＰＤ－１は、メモリーＴ細胞（ＣＤ４５ＲＯ$^{+}$細胞）で主に発現し、ナイーブＴ細胞では発現しないことが判明し、発現は、Ｔ細胞の活性化時に上方制御されることが判明した。ＰＤ－１の発現は、ＣＭＶペプチドで刺激されたメモリーＴ細胞にて増加した（図８Ａ）。

【０５９８】

ＣＭＶ活性化ＰＢＭＣを利用して、抗体ＰＤ１Ｂ８４９及びＰＤ１Ｂ８７８の、活性化されたメモリーＣＤ４$^{+}$又はＣＤ８$^{+}$　Ｔ細胞増殖を阻害する能力について試験した。ＰＤ１Ｂ８４９及びＰＤ１Ｂ８７８の両方が、ＣＭＶ－ＰＢＭＣリコールアッセイにて、ＣＭＶ特異的活性化ＰＢＭＣの増殖を阻害した（図８Ｂ）。

【０５９９】

実施例１０．ＰＤ－１アゴニスト抗体は、活性化され休止していないメモリーＴ細胞を、ＡＤＣＣにより枯渇させた

ＮＫ細胞又はＰＢＭＣをエフェクター細胞として使用し、ＰＤ１Ｂ８４９及びＰＤ１Ｂ８７８の、活性化メモリーＴ細胞又は休止メメモリーＴ細胞のＡＤＣＣを媒介する能力について試験した。活性化メモリーＴ細胞は、休止メモリーＴ細胞と比較したとき、より高いＰＤ－１の発現を有すると識別された。実施例１に記載する手順に従い、実験を行った。ＰＤ１Ｂ８４９及びＰＤ１Ｂ８７８を、２つの個別のＣＨＯ細胞株で発現させた。１つは、通常のＣＨＯ抗体グリコシル化プロファイルを有する抗体を産生し、他方は、炭水化物フコシル含量が低下した抗体（例えば、低フコース（ＬＦ）細胞株）を産生した。低フコース細胞株で発現した抗体は、約１～１５％のフコシル含量を有した。

【０６００】

ＰＤ１Ｂ８４９及びＰＤ１Ｂ８７８は、ＮＫ（図９Ａ、左パネル）細胞、及びＰＢＭＣ（図９Ａ、右パネル）エフェクター細胞の存在下の両方において、活性化メモリーＴ細胞のＡＤＣＣを誘発した。低フコース含量の抗体（ＰＤ１Ｂ８４９－ＬＦ及びＰＤ１Ｂ８７８－ＬＦ）は、メモリーＴ細胞に対してより強力なＡＤＣＣ活性を示した。ＰＤ１Ｂ８４９及びＰＤ１Ｂ８７８は、ＮＫ細胞（図１０Ａ、左パネル）、又はＰＢＭＣ（図１０Ｂ、右パネル）エフェクター細胞のいずれかの存在下において低レベルのＰＤ－１を発現する、休止メモリーＴ細胞においては、検出可能なＡＤＣＣを誘発できなかった。ＰＤ１Ｂ８４９－ＬＦ及びＰＤ１Ｂ８７８－ＬＦは、ＮＫ細胞又はＰＢＭＣのいずれかの存在下において、低レベルのＡＤＣＣを引き起こした。

【０６０１】

実施例１１．ＰＤ－１アゴニスト抗体はＣＤＣを誘発しない

追加したウサギ補体を用いて、ＰＤ１Ｂ８４９及びＰＤ１Ｂ８７８の、活性化汎Ｔ細胞のＣＤＣを媒介する能力について試験した。活性化Ｔ細胞は、休止Ｔ細胞と比較したとき、より高いＰＤ－１の発現を有した。実施例１に記載する手順に従い、実験を行った。試験した濃度にて、ＰＤ１Ｂ８４９及びＰＤ１Ｂ８７８は、活性化Ｔ細胞のＣＤＣを誘発しなかった（図１１）。陽性対照ＯＫＴ３は、補体の不存在下ではなく、存在下において、活性化Ｔ細胞に対するＣＤＣ活性を示した。

【０６０２】

実施例１２．親和性成熟抗体は、ＰＤ－Ｌ１のＰＤ－１への結合を遮断しない

選択抗体が、デキストラマー化（dextramerized）ＰＤ－Ｌ１－Ｆｃの、ＰＤ－１を発現するＪｕｒｋａｔ細胞への結合を遮断する能力について試験した。実験は、後述の手順に従い実施した。ＰＤ１Ｂ８７８、ＰＤ１Ｂ１０９０、及びＰＤ１Ｂ１０９４は、試験濃度にてＰＤ－Ｌ１の結合を遮断しなかった（図１２）。陽性対照の既知のアンタゴニスト抗体は、用量に依存して、ＰＤ－１への結合に関してＰＤ－Ｌ１と競合することが示された。

【０６０３】

方法：ビオチン化ＰＤ－Ｌ１－Ｆｃ（Ａｃｒｏ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）、及びＳＡ＆　ＡＰＣ複合体化デキストラマー（Ｉｍｍｕｄｅｘ）を４倍濃度にて調製し、染色緩衝液中で１００ｎＭ：１０ｎＭの比で混合した。陰性、又は非特異的結合対照として、同様の方法にて、デキストラマーを含むビオチン化ＩｇＧ１－Ｆｃと、培地のみを有するデキストラマーとの混合物を調製した。実験の残りを準備しながら、この混合物をホイルで覆い、氷上で１時間インキュベートした。試験抗体の連続希釈物を、２０ｎＭ、２ｎＭ、及び０．２ｎＭの２倍濃度にて、染色緩衝液中で調製した。アッセイ日に、ＰＤ－１を過剰発現するＪｕｒｋａｔ細胞を収集し、細胞を３００ｇにて５分間、４℃で回転させることにより、染色緩衝液（ＢＤ　Ｐｈａｒｍｉｎｇｅｎ）で一度洗浄した。細胞を計数し、生存能を確認して、染色緩衝液中で2×10^{6}ｃｅｌｌ／ｍＬにて再懸濁した。細胞を２５μＬ／ウェル（５００００ｃｅｌｌｓ／ウェル）にて、Ｕ底９６ウェルアッセイプレートに添加し、続いて、調製した試験抗体を５０μＬ／ウェルで添加した。細胞を抗体と共に１５分間、氷上でインキュベートした。ビオチン化ＰＤ－Ｌ１－Ｆｃ：デキストラマー、ビオチン化ＩｇＧ１－Ｆｃ：デキストラマー、及びデキストラマー：緩衝液の予混合複合体を、２５μＬ／ウェルで添加した。デキストラマーに結合した細胞、抗体、及びＰＤ－Ｌ１の本混合物を１時間、氷上でインキュベートして、ホイルで覆った。

【０６０４】

１５０μＬの染色緩衝液を添加して、細胞を２回洗浄し、３００ｇにて５分間遠心分離し、細胞をペレット処理してプレートをはじき、上清を除去した。最終洗浄後の細胞ペレットを、１：１０００希釈した、Ｓｙｔｏｘ緑色生／死細胞生存能染色（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）を含有する、４０μＬのＩｎｔｅｌｌｉＣｙｔランニング緩衝液（１ｍＭのＥＤＴＡ及び０．１％プルロニック酸を補充した、ＢＤ染色緩衝液）に再懸濁した。アッセイでの抗体の終濃度は１０ｎＭ、１ｎＭ、及び０．１ｎＭであった。ビオチン化ＰＤ－Ｌ１－Ｆｃリガンドタンパク質の終濃度は、２５ｎＭであった。デキストラマーの終濃度

は２．５ｎＭであった。

【０６０５】

プレートはｉＱｕｅ　Ｓｃｒｅｅｎｅｒ（ＩｎｔｅｌｌｉＣｙｔ）で測定した。簡潔に述べると、細胞をＦＣＳ　ｖ．ＳＣＳでゲーティングし、残骸を除去した。シングレットをＳＣＳ－Ａ　ｖｓ　ＳＣＳ－Ｈでゲーティングし、シングレット母集団から、低ＢＬ１チャンネルにて生細胞をゲーティングし、陰性にはＳｙｔｏｘ緑色生存能染色を用いた。ＰＤ－Ｌ１－Ｆｃデキストラマーに結合する陽性生細胞の割合を、ＲＬ１／ＡＰＣチャンネルにおいてＧｅｏｍｅａｎｓにより評価し、Ｆｃ－Ｄｅｘのみが結合した陰性対照と比較した。ＦｏｒｅＣｙｔ（ＩｎｔｅｌｌｉＣｙｔ製のソフトウェアプログラム）での発展測定法を用いて、ＰＤ－Ｌ１陽性母集団を、生母集団の割合として計算した。特異的ＰＤ－Ｌ１結合の割合を、以下のとおりに計算した：（ｍＡｂの陽性割合－ＩｇＧ１－Ｆｃビオチンデキストラマーの陽性割合）／（アイソタイプコントロールの陽性割合－ＩｇＧ１－Ｆｃビオチンデキストラマーの陽性割合）＊１００。最終結果をエクセルで表にし、抗ＰＤ－１　ｍＡｂの存在下での、ＰＤ－Ｌ１リガンド結合割合を示す角柱としてグラフにした。

【０６０６】

実施例１３．ＰＤ－１アゴニスト抗体は、移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）のマウスモデルにおいて効果的である

インビボでの、病原性Ｔ細胞におけるＰＤ－１アゴニストｍＡｂの効果を調査するために、ヒト末梢血単核球細胞（ＰＢＭＣ）を、免疫無防備化ＮＯＤスキッドＩＬ－２Ｒγ^{ｎｕｌｌ}（ＮＳＧ）マウスに、適合的に移植することにより、異種移植片対宿主病（異種ＧＶＨＤ）モデルを開発した。メスＮＳＧマウス（週齢７～９）をＪａｃｋｓｏｎ　Ｌａｂｓから入手した。使用前に一週間、マウスを動物施設にて隔離した。注入前に、凍結細胞を湯浴中、３７℃にて速やかに解凍し、５００ｇで５分間、室温にて遠心分離することにより、滅菌リン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）を用いて３回洗浄した。細胞を冷却ＰＢＳに懸濁させ、５０×１０^{6}／ｍＬの細胞の終濃度を得た。

【０６０７】

動物を体重で無作為化し、様々な治療群に分けた（Ｎ＝１０／群）。無作為化の後、意識があり、自由に動くマウスに、Ｇａｍｍａｃｅｌｌ（登録商標）３０００　ＥｌａｎＩｒｒａｄｉａｔｏｒを用いて、１００Ｒａｄ（１Ｇｙ）の合計体照射を受けさせた（９．７２Ｇｙ／分）。マウスを自宅のカゴに戻した。

【０６０８】

各マウスは、５００μＬの体積で、２５×１０^{6}のヒトＰＢＭＣを腹腔内で受けた。各動物の臨床スコア及び体重を、表３１に従い毎日記録した。２０％を超える体重を失ったマウスを犠牲にし、エンドポイントにおける臨床スコアを、制度上のＩＡＣＵＣガイドラインに従い記録した。２１日目に、全ての動物を安楽死させた。ＦＡＣＳ分析のために脾臓を収集した。皮膚及び結腸組織を、組織学的分析のために収集した。

【０６０９】

【表３１】

表３１．

説明	臨床スコア
通常のアラート及び反応性	0
波状の被毛、活性の低下、眼脂(Ocular Discharge)	1
曲がった姿勢、適度な低体温又は高体温、刺激の間に呼吸困難	2
休息中の呼吸困難、運動失調、振戦、低体温、又は高体温	3
穏やかな刺激による歩行能力の喪失、無意識	4
死亡	5

【０６１０】

マウスに、Ｑ４ｄ／Ｑ３ｄレジメンにて、キメラｍＩｇＧ２ａ抗体としてクローニングした、１０ｍｇ／ｋｇのＰＤ１Ｂ５０５、ＰＤ１Ｂ５０６、ＰＤ１Ｂ８４９、及びＰＤ１

Ｂ８７８　ｍＡｂ、並びに、ＰＤ－１アゴニストｍＡｂ（マウスエフェクターサイレントＦｃにおけるＰＤ１Ｂ７８６）を腹腔内注射した（０、４、７、１１、１４、及び１８日目に投与）。対照として使用したＣＴＬＡ－４－Ｉｇを、Ｑ３ｄ投与レジメンにて、１０ｍｇ／ｋｇで腹腔内投与した（０、３、６、９、１２、１５、及び１８日目）。

【０６１１】

調査の終了時に、冷却したＲＰＭＩ１６４０培地に脾臓を取り除いた。７０μＭのフィルタを通して脾臓を破壊し、１２００ｒｐｍにて５分間、４℃で遠心分離することにより細胞をペレット処理した後、氷上で５分間、ＡＣＫ細胞溶解緩衝液（Ｌｏｎｚａ）の中で赤血球を細胞溶解し、ＦＡＣＳ緩衝液（ＰＢＳ／０．５％　ＢＳＡ／２ｍＭ　ＥＤＴＡ）中で複数回洗浄した。メーカーの指示に従い、ｅｆ５０６生存能染料（ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）を用いて細胞を染色することにより、脾細胞の生存能を評価した。脾細胞を、ヒト及びマウスＦｃブロック（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を用いて１５分間氷上でインキュベートし、次いで、Ｕ型マイクロタイタープレート内で４℃にて３０分間、最適濃度の蛍光色素複合体化ｍＡｂ（１００μＬ　Ｂｒｉｌｌｉａｎｔ染色緩衝液中に、1×10^{6} ｃｅｌｌｓ）で染色し、Ｆｉｘａｔｉｏｎ緩衝液（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を用いて固定した。Ｃｏｕｎｔ　Ｂｒｉｔｅビーズ（Ｔｈｅｒｍｏｆｉｓｈｅｒ）を各サンプルに添加した。ＦＭＯ（蛍光－１）対照を、各蛍光色素の陰性対照として調製した。ＬＳＲⅡ機器（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）にて、サンプルを分析した。以下のｍＡｂを、制御性Ｔ細胞分析のために使用した：抗ｈＣＤ４５ペリジニンクロロフィルαタンパク質（ＰＣＰ、クローン２Ｄ１）、抗Ｆｏｘｐ３アロフィコシアニン（ＡＰＣ、クローンｐＣＨ１０１）、抗ｈＣＤ３アロフィコシアニン－シアニン７（ＡＰＣ－Ｃｙ７、クローンＨＩＴ３ａ）、抗ｈＣＤ４　Ｂｒｉｌｌｉａｎｔ　Ｖｉｏｌｅｔ　６０５（ＢＶ６０５、クローンＯＫＴ４）、及び抗ｈＣＤ２５　Ｂｒｉｌｌｉａｎｔ　Ｖｉｏｌｅｔ　６５０（ＢＶ６５０、クローンＭ－Ａ２５１）。制御性Ｔ細胞を、ｈＣＤ４５＋、ｈＣＤ３＋、ｈＣＤ４＋、Ｆｏｘｐ３＋、ＣＤ２５＋として定義した。

【０６１２】

図１３Ａは、ＰＤ１Ｂ５０５－ｍＩｇＧ２ａ及びＰＤ１Ｂ５０６－ｍＩｇＧ２ａによる治療で、ＧｖＨＤのマウスモデルにおける疾患の進行が予防されたことを示す。図１３Ｂは、ＰＤ１Ｂ５０５－ｍＩｇＧ２ａ及びＰＤ１Ｂ５０６－ｍＩｇＧ２ａによる治療で、ＧｖＨＤのマウスモデルにおける体重減少が予防されたことを示す。図１４Ａは、ＰＤ１Ｂ８４９－ｍＩｇＧ２ａ及びＰＤ１Ｂ８７８－ｍＩｇＧ２ａによる治療で、ＧｖＨＤのマウスモデルにおける疾患の進行が予防されたことを示す。図１４Ｂは、ＰＤ１Ｂ８４９－ｍＩｇＧ２ａ及びＰＤ１Ｂ８７８－ｍＩｇＧ２ａによる治療で、ＧｖＨＤのマウスモデルにおける体重減少が予防されたことを示す。体重減少の阻害、及び臨床スコアは、脾臓内での制御性Ｔ細胞の増加と関連した。図１５は、ＰＤ１Ｂ８４９－ｍＩｇＧ２ａ又はＰＤ１Ｂ８７８－ｍＩｇＧ２ａで治療された動物の、脾臓内でのＴｒｅｇの頻度を示す。

【０６１３】

実施例１４．ＰＤ－１アゴニスト抗体は、Ｔ濾胞性ヘルパー（T_{FH}）及びＴ末梢性ヘルパー（T_{PH}）細胞を枯渇させる

ヒトＰＢＭＣを、液体窒素冷却貯蔵庫から取り出し、ちょうど解凍されるまで３７℃の湯浴中で速やかに解凍した。バイアル瓶の内容物を、滅菌した５０ｍＬの円錐形の管に移し（各ドナーに対して、個別の管を用いた）、完成したＲＰＭＩ培地（１０％　ＦＢＳ、１倍ペニシリン／ストレプトマイシン、１倍ピルビン酸ナトリウム）を各管に、総体積が１５ｍＬとなるように滴加した。細胞を２５０×ｇで１０分間、室温で遠心分離し、次いで上清を捨て、細胞を完成した５～１０ｍＬの培地に再懸濁し、トリパンブルー排除を用いて計数した。細胞を2.5×10^{6} ｃｅｌｌｓ／ｍＬで再懸濁し、９６ウェル滅菌Ｕ底ポリスチレンプレート内で、３とおりで2.5×10^{5} ｃｅｌｌｓ／ウェル（＝１００μＬ／ウェル）でプレーティングした。ＰＤ－１　ｍＡｂ、又はヒトＩｇＧ１アイソタイプコントロールを４倍終濃度に希釈し、５０μＬ／ウェルを適切なウェルに添加した。抗体の添加後、通常のヒト血清を添加して５％の終濃度にした。各ウェルの総体積は２００μ

Ｌであり、細胞を９６時間３７℃、５％　CO_2にてインキュベートした。サンプルに加え、いくつかのウェルの余分な細胞をプレーティングし、５％ヒト血清を受けて、フローサイトメトリー染色対照として使用される処理済みサンプルと共に、インキュベートした。

【０６１４】

インキュベーション後、プレートを３５０×ｇで５分間遠心分離し、上清を吸引した。細胞を２００μＬのＰＢＳに再懸濁し、複製したウェルをプールした後、新しい９６ウェルＵ底プレートに移して、フローサイトメトリーのために染色した。プールした細胞を３５０×ｇで５分間遠心分離し、上清を吸引し、蛍光抗体カクテルを各サンプルのウェルに添加した（使用した抗体については、下表を参照のこと）。対照用に保管した追加の細胞を、ゲートを画定するための分析で使用する臨海マーカー、特にＰＤ－１、ＣＸＣＲ５、ＩＣＯＳ用のＦＭＯカクテルにより染色した。細胞を暗室にて室温で２５分間染色した後、３５０×ｇで５分間遠心分離した。細胞を２００μＬのＰＢＳで２回洗浄した後、１００μＬの４％パラホルムアルデヒドを各ウェルに添加し、細胞を固定した。細胞を暗室で４℃にて１０分間固定し、ＰＢＳ＋１％　ＢＳＡで一度洗浄した後、２００μＬ　ＰＢＳ＋１％　ＢＳＡに再懸濁した。ＢＤ　ＬＳＲＩＩフローサイトメーターでサンプルを得る前に、各サンプルに計数ビーズ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を５μＬ／ウェル（５０００ビーズ）を添加した。ＦｌｏｗＪｏソフトウェアを用いて、フローサイトメトリーデータを分析した。サンプル中の細胞数＝（計数した細胞数＊添加した５０００ビーズ）／（計数したビーズ数）のように、サンプルの計数をビーズ計数に対して正規化した。（ビーズ正規化した細胞計数「サンプル」／ビーズ正規化した細胞計数「アイソタイプ」）＊１００のように、サンプルをｈｕＩｇＧ１アイソタイプコントロールに対して正規化し、百分率（％）として表した。ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍ　ｖ７を用いて、データをグラフ化した。

【０６１５】

分析中、以下の細胞母集団を記載した：

Ｔ濾胞性ヘルパー（Ｔｆｈ）：生、ＣＤ１９－ＣＤ５６－／ＣＤ４＋ＣＤ４５ＲＯ＋／ＨＬＡＤＲ＋／ＣＸＣＲ５＋／ＩＣＯＳ＋ＰＤ１＋；

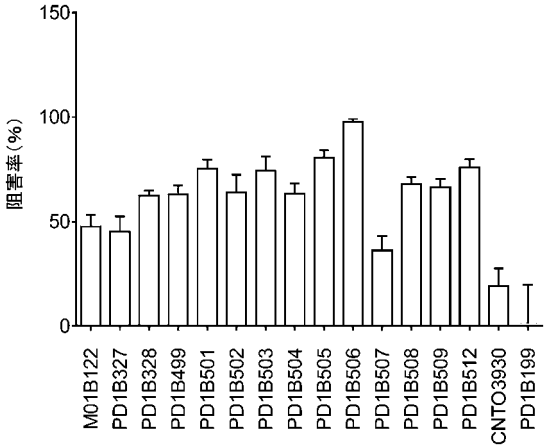
Ｔ末梢性ヘルパー（Ｔｐｈ）：生、ＣＤ１９－ＣＤ５６－／ＣＤ４＋ＣＤ４５ＲＯ＋／ＨＬＡＤＲ＋／ＣＸＣＲ５－／ＩＣＯＳ＋ＰＤ１＋；

Ｔｆｈ／Ｔｐｈ母集団の組み合わせ：生、ＣＤ１９－ＣＤ５６－／ＣＤ４＋ＣＤ４５ＲＯ＋／ＨＬＡＤＲ＋／ＩＣＯＳ＋ＰＤ１＋。

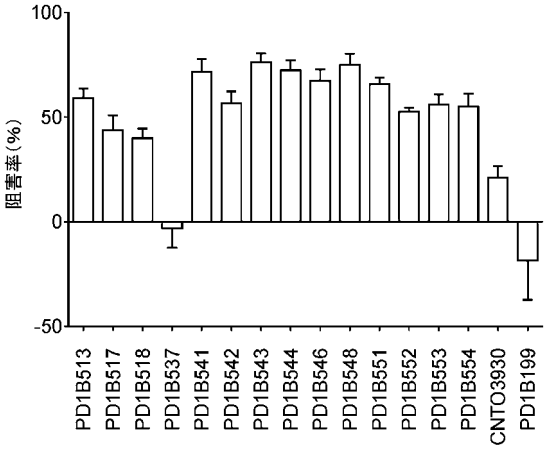
【０６１６】

図１６は、ＰＤ１Ｂ８７８、ＰＤ１Ｂ８７８－ＦＬ（低フコース）、ＰＤ１Ｂ１０９０、及びＰＤ１Ｂ１０９４による、組み合わせT_{HF}／T_{PH}母集団の、抗体が媒介する枯渇の用量反応曲線を示す。ｎ＝８の健康なヒトドナー（ＰＤ１Ｂ１０９０についてはｎ＝７）を用いて、アイソタイプコントロールからの、T_{FH}／T_{PH}細胞の数の平均変化倍数（％）として、データを表した。ＰＤ１Ｂ８７８－ＦＬは、T_{FH}／T_{PH}母集団を枯渇させるのに最も効果的であった。

【図１Ａ】



【図１Ｂ】



【図２Ａ】

```
                1
PD1H93_8        DVQLQESGPELKKPGETVKISCKASGYTFT
PD1H384_9       QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFT
PD1H405_10      QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFT
PD1H585_140     QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFT
PD1H586_141     QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFT
PD1H587_142     QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFT
                :*** :**.****** :**:**********


PD1H93_8        DYSMHWVKQAPGKGLKWMGWINIETGEPTY
PD1H384_9       DYSMHWVRQAPGQGLEWMGWINIETGEPTY
PD1H405_10      DYSMHWVRQAPGQGLEWMGWINIETGEPTY
PD1H585_140     DYSMHWVRQAPGQGLEWMGWINIETGYPTY
PD1H586_141     DYSMHWVRQAPGQGLEWMGWINIETGHPTY
PD1H587_142     DYSMHWVRQAPGQGLEWMGWINIETGWPTY
                *******:****:**:********** ***


PD1H93_8        ADDFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLKNED
PD1H384_9       AQGFTGRFVFSLDTSVSTAYLQICSLKAED
PD1H405_10      AQGFTGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAED
PD1H585_140     AQGFTGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAED
PD1H586_141     AQGFTGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAED
PD1H587_142     AQGFTGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAED
                *:.*.***.***:**.******* .** **

                                                121
PD1H93_8        TATYFCARDYYGTYFYAMDYWGQGTTLTVSS
PD1H384_9       TAVYFCARDYYGTYFYAMDYWGQGTLVTVSS
PD1H405_10      TAVYFCARDYYGTYFYAMDYWGQGTLVTVSS
PD1H585_140     TAVYFCARDYYGTYFYAMDYWGQGTLVTVSS
PD1H586_141     TAVYFCARDYYGTYFYAMDYWGQGTLVTVSS
PD1H587_142     TAVYFCARDYYGTYFYAMDYWGQGTLVTVSS
                **.********************** :****
```

【図２Ｂ】

```
                1
PD1L30_14       QIVLTQSPAIMSASLGERVTMTCTASSSVS
PD1L468_15      EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCTASSSVS
PD1L469_16      EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCTASSSVS
PD1L651_143     EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCTASSSFS
PD1L652_144     EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCTASSSVP
                :******** :* * ***.*::******..


PD1L30_14       SSYLHWYQQKPGSSPKLWIYSTSNLASGVP
PD1L468_15      SSYLHWYQQKPGLAPRLLIYSTSNLASGIP
PD1L469_16      SSYLHWYQQKPGLAPRLLIYSTSNLASGIP
PD1L651_143     SSYLHWYQQKPGLAPRLLIYSTSNLASGIP
PD1L652_144     SSYLHWYQQKPGLAPRLLIYSTSNLASGIP
                ************ :*:* **********:*


PD1L30_14       ARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCH
PD1L468_15      DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCH
PD1L469_16      DRFSGSGSGTDYTLTISRLEPEDFAVYYCH
PD1L651_143     DRFSGSGSGTDYTLTISRLEPEDFAVYYCH
PD1L652_144     DRFSGSGSGTDYTLTISRLEPEDFAVYYCH
                 *********.::**** :*.** *.****

                                  108
PD1L30_14       QYHRSPLTFGAGTKLELK
PD1L468_15      QYHRSPLTFGQGTKLEIK
PD1L469_16      QYHRSPLTFGQGTKLEIK
PD1L651_143     QYHRSPLTFGQGTKLEIK
PD1L652_144     QYHRSPLTFGQGTKLEIK
                ********** *****:*
```

【図３Ａ】

```
                1
PD1H90          QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFT
PD1H388         QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT
PD1H399         QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT
PD1H400         QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT
PD1H401         QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT
PD1H402         QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT
PD1H403         QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT
PD1H404         QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT
                **** *.***: *******:**********


PD1H90          TYWMHWVKQRPGQGLEWIGEINPNNGGINY
PD1H388         TYWMHWVRQAPGQGLEWMGEINPNNGGINY
PD1H399         TYWMHWVRQAPGQGLEWMGEINPNNAGINY
PD1H400         TYWMHWVRQAPGQGLEWMGEINPNDAGINY
PD1H401         TYWMHWVRQAPGQGLEWMGEINPNQGGINY
PD1H402         TYWMHWVRQAPGQGLEWMGEINPNKGGINY
PD1H403         TYWMHWVRQAPGQGLEWMGEINPNEGGINY
PD1H404         TYWMHWVRQAPGQGLEWMGEINPNNIGINY
                *******:* *******:******. ****


PD1H90          NEKFKKKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSED
PD1H388         AQKFQGRVTLTVDKSISTAYMELSRLRSDD
PD1H399         AQKFQGRVTLTVDKSISTAYMELSRLRSDD
PD1H400         AQKFQGRVTLTVDKSISTAYMELSRLRSDD
PD1H401         AQKFQGRVTLTVDKSISTAYMELSRLRSDD
PD1H402         AQKFQGRVTLTVDKSISTAYMELSRLRSDD
PD1H403         AQKFQGRVTLTVDKSISTAYMELSRLRSDD
PD1H404         AQKFQGRVTLTVDKSISTAYMELSRLRSDD
                 :**: :.******* *****:** * *:*


                                              117
PD1H90          SAVYYCTIDYYDYGGYWGQGTTLTVSS
PD1H388         TAVYYCTIDYYDYGGYWGQGTLVTVSS
PD1H399         TAVYYCTIDYYDYGGYWGQGTLVTVSS
PD1H400         TAVYYCTIDYYDYGGYWGQGTLVTVSS
PD1H401         TAVYYCTIDYYDYGGYWGQGTLVTVSS
PD1H402         TAVYYCTIDYYDYGGYWGQGTLVTVSS
PD1H403         TAVYYCTIDYYDYGGYWGQGTLVTVSS
PD1H404         TAVYYCTIDYYDYGGYWGQGTLVTVSS
                :******************** :****
```

【図３Ｂ】

```
                1
PD1L28          DIVMTQSQKFMSTSVRDRVSVTCKASQNVG
PD1L470         DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVG
PD1L471         DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVG
                ** **** . :*:** ***::*********


PD1L28          TNVAWYQQKPGQSPKALIYSASYRYSGVPD
PD1L470         TNVAWYQQKPEKAPKSLIYSASYRYSGVPS
PD1L471         TNVAWYQQKPEKAPKALIYSASYRYSGVPS
                ********** ::**:**************.


PD1L28          RFTGSGSGTDFTLTITNVQSEDLAEYFCQQ
PD1L470         RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ
PD1L471         RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQ
                **:************:.:*.**:* *:***


                                    107
PD1L28          YNIYPYTFGSGTKLEMK
PD1L470         YNIYPYTFGQGTKLEIK
PD1L471         YNIYPYTFGQGTKLEIK
                *********.*****:*
```

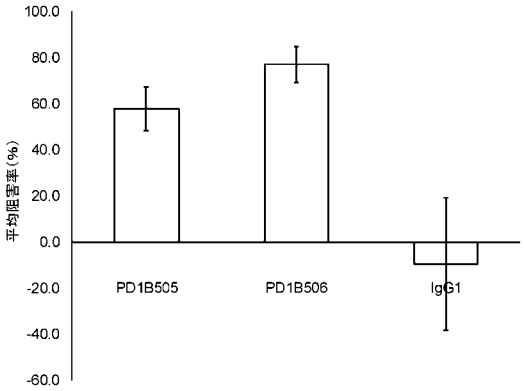
【図４Ａ】

```
                1
PD1H81          QVTLKESGPGLLQPSQTLSLTCSFSGFSLS
PD1H389         QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLS
                *:******* *::*:***:***:*******


PD1H81          TSGMGVSWIRQPSGKGLEWLAHIYWDDDKR
PD1H389         TSGMGVSWIRQPPGKALEWLAHIYWDDDKR
                ************.**.***************


PD1H81          YNPSLKSRLTISKDTSSNQVFLKITSVDTA
PD1H389         YSPSLKSRLTITKDTSKNQVVLTMTNMDPV
                *.*********:****.***.*.:*.:*..


                                          122
PD1H81          DTGTYYCVRKGYYDYGYVMDYWGQGTTVTVSS
PD1H389         DTGTYYCVRKGYYDYGYVMDYWGQGTLVTVSS
                ************************** *****
```

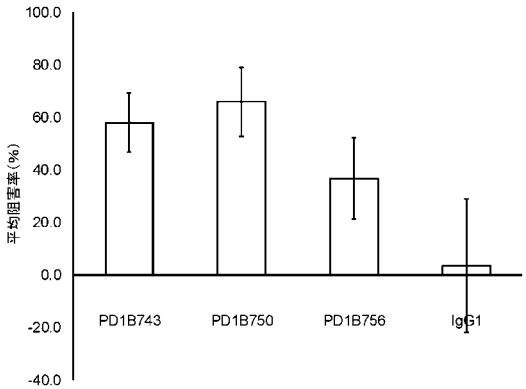
【図４Ｂ】

```
                1
PD1L43          DIVMTQAALSNPVTLGTSASISCRSSKSLL
PD1L472         DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLL
PD1L473         DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLL
                ******:.** *** * .************


PD1L43          HSNGITYLNWYLQKPGQSPQLLIYQMSNLA
PD1L472         HSNGITYLNWYLQKPGQSPQLLIYQMSNLA
PD1L473         HSNGITYLNWYLQKPGQSPQLLIYQMSNLA
                ********************************


PD1L43          SGVPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGV
PD1L472         SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV
PD1L473         SGVPDRFSSSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV
                ********.*********:************


                                    112
PD1L43          YYCAQNLELPLTFGSGTKLEMK
PD1L472         YYCAQNLELPLTFGGGTKVEIK
PD1L473         YYCAQNLELPLTFGGGTKVEIK
                **************.***:*:*
```

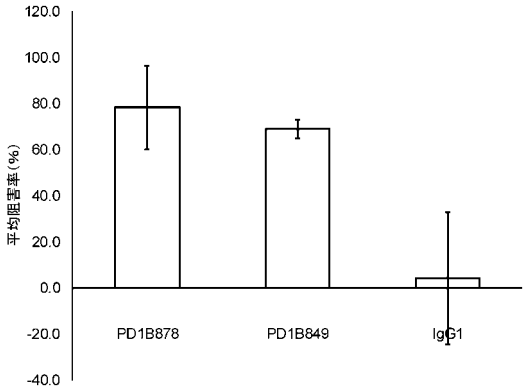
【図５Ａ】



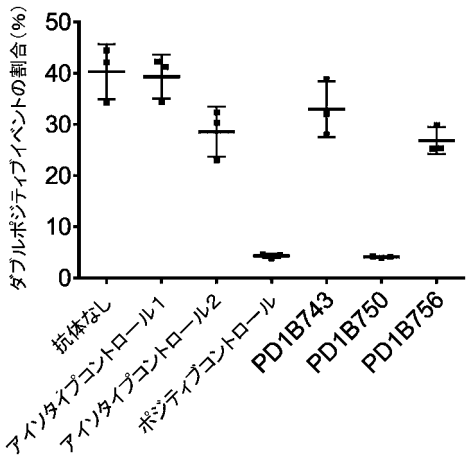
【図５Ｂ】



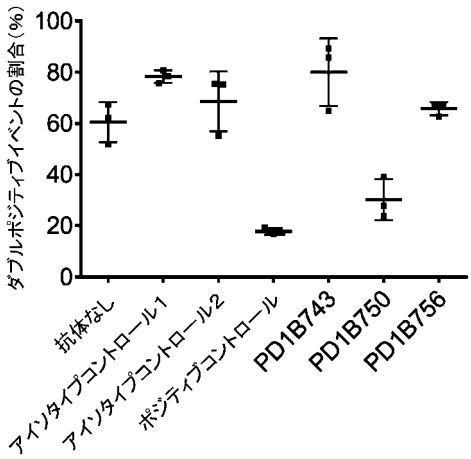
【図５Ｃ】



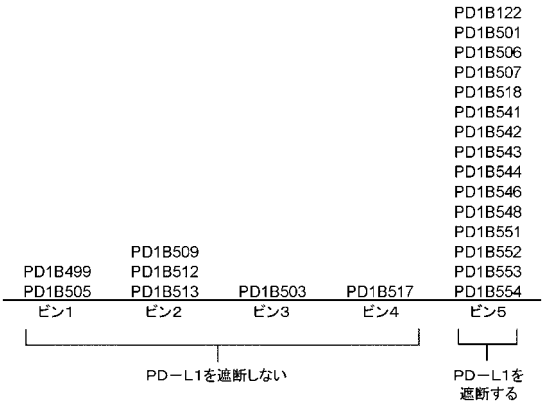
【図６Ａ】



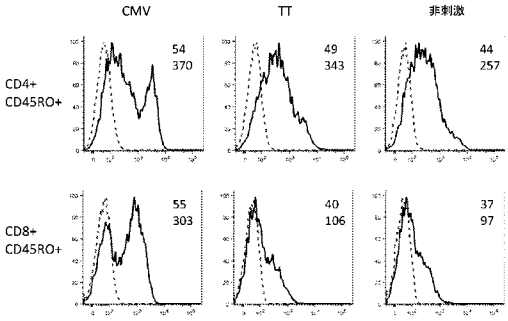
【図６Ｂ】



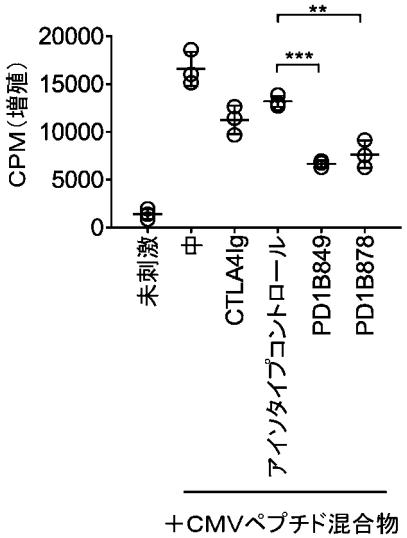
【図７】



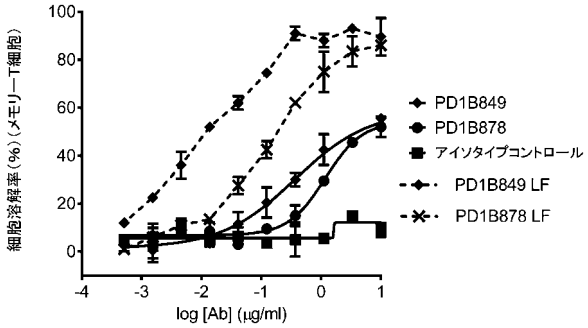
【図８Ａ】



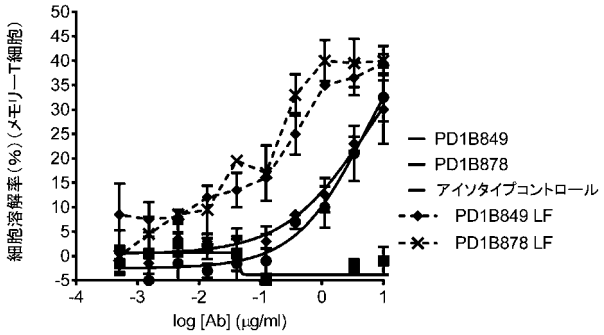
【図８Ｂ】



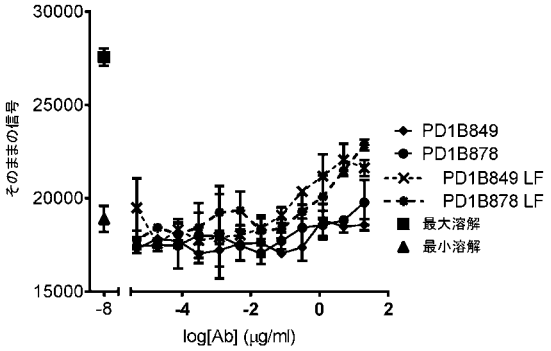
【図９Ａ】



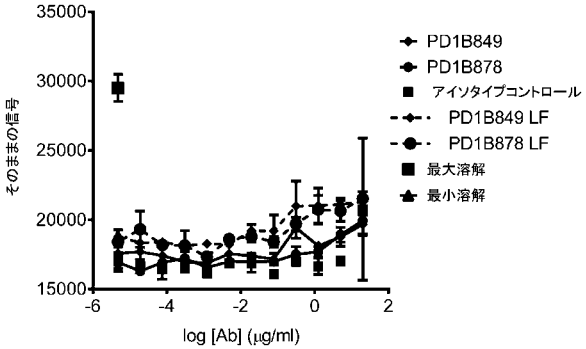
【図９Ｂ】



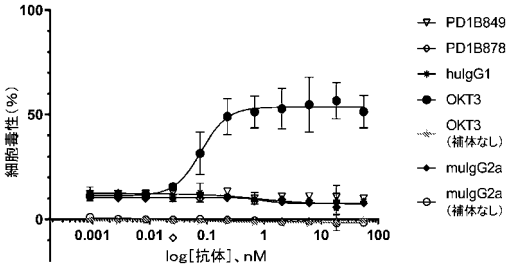
【図１０Ａ】



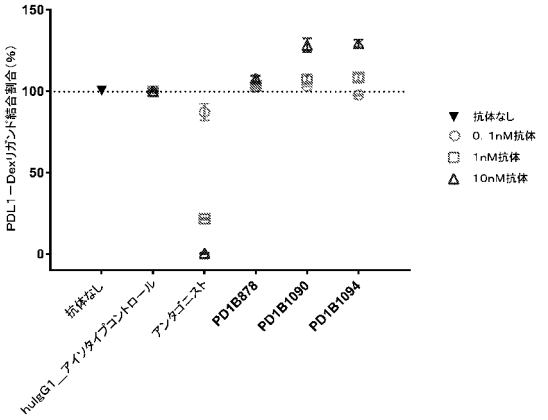
【図１０Ｂ】



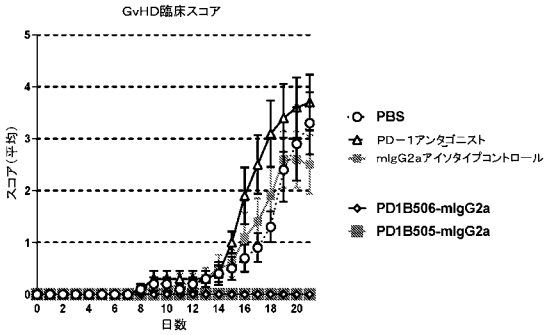
【図１１】



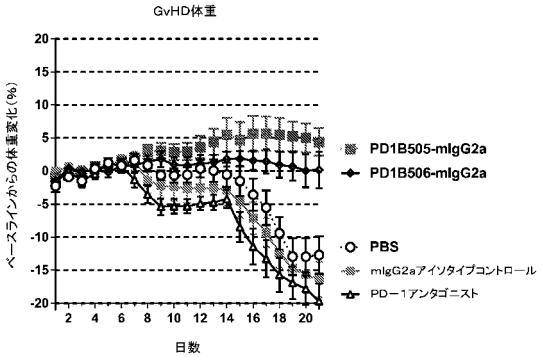
【図１２】



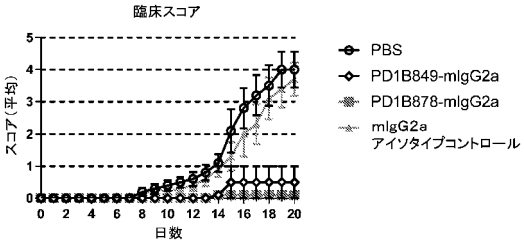
【図１３Ａ】



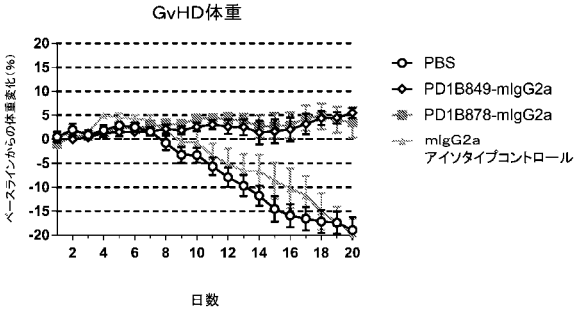
【図１３Ｂ】



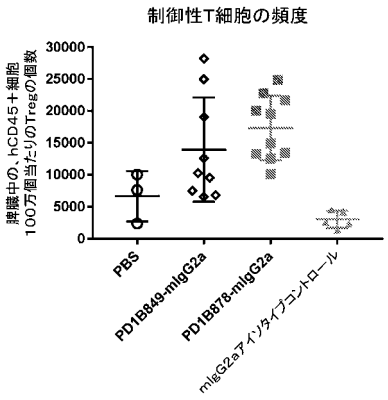
【図１４Ａ】



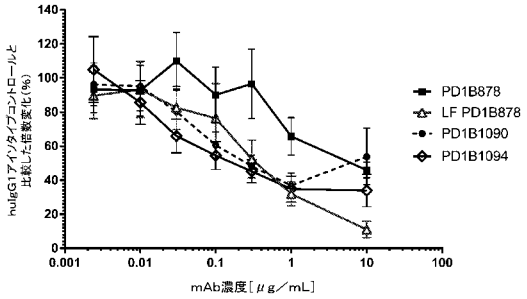
【図１４Ｂ】



【図１５】



【図１６】



【配列表】

2020522278000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 18/35843

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

   a. ☒ forming part of the international application as filed:

      ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.

      ☐ on paper or in the form of an image file.

   b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13*ter*.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

   c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

      ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13*ter*.1(a)).

      ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:
GenCore ver 6.4.1 SEQ ID NOs: 8, 10, 11, 14, 16, 17, 118, 119

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (1)) (January 2015)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 18/35843

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☒ Claims Nos.: 4-8, 21-26, 28, 33-43, 47-51, 59-64, 66, 71-79, 81, 85-93, 95, 100-110
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
——Go to Extra Sheet for continuation------

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☒ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
1-3, 9, 27, 29-32 [see Extra sheet for details]

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 18/35843

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(8) - C07K 16/00, 16/28; A61K 39/395 (2018.01)
CPC - C07K 16/28, 16/2818, 2317/56, 2317/565, 2317/76; A61K 2039/505

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
See Search History Document

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
See Search History Document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2015/058573 A1 (SUZHOU STAINWEI BIOTECH, INC.) 30 April 2014 (30.04.2014). [written in Chinese language with Google Patents Chinese to English translation] Especially pg 5 para 2 [para [25] in original Chinese language version], SEQ ID NOs: 2, 4	1-3, 9, 27
A	WO 2015/148984 A2 (RUIYI, INC.) 1 October 2015 (01.10.2015). Especially abstract, SEQ ID NOs: 46, 53	1-3, 9, 29-32
A	US 2017/0015742 A1 (ABBVIE, INC.) 19 January 2017 (19.01.2017). Especially SEQ ID NO: 1800	9
A	US 2017/0029530 A1 (ABBVIE STEMCENTRX, LLC) 2 February 2017 (02.02.2017). Especially SEQ ID NO: 205	9

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
27 November 2018	14 DEC 2018
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 18/35843

Continuation of Box III: Observations where Unity of Invention is lacking

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Group I+: Claims 1-3, 9-20, 27, 29-32, 44-46, 52-58, 65, 67-70, 80, 82-84, 94, 96-99, drawn to an isolated antibody that specifically bind PD-1 comprising heavy chain complementarity determining regions HCDR1, HCDR2, HCDR3, and light chain complementarity determining regions LCDR1, LCDR2, LCDR3.
The isolated antibody that specifically binds PD-1 will be searched to the extent that the HCDRs comprised the first named species-level HCDRs, HCDR1, HCDR2, HCDR3 = SEQ ID NOs: 2, 3, 4, respectively (claim 9), and the first named species-level LCDRs, LCDR1, LCDR2, LCDR3 = SEQ ID NOs: 5, 6, 7 respectively (claim 9) and the first VH framework derived from SEQ ID NO: 125 and VL framework derived from SEQ ID NO: 126 (both in claim 3), and the associated VH polynucleotide sequence and VL polynucleotide sequence, SEQ ID NOs: 11, 17 respectively (claim 27). It is believed that claims 1-3, 9, 27, 29-32 read on this first named invention and thus these claims will be searched without fee to the extent that they encompass SEQ ID NOs: 2-7, 125, 126, 11, 17 [note: VH SEQ ID NO: 8 and VL SEQ ID NO: 14 will also be searched since they comprise HCDR1-3 SEQ ID NO:2,3,4 and LCDR SEQ ID NOs: 5, 6, 7 respectively]. Additional HCDRs, LCDRs, VH and VL frameworks, and associated VH and VL polynucleotides will be searched upon payment of additional fees. Applicant must specify the claims that encompass any additional elected above-named antibody components. Applicants must further indicate, if applicable, the claims which read on the first named invention if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined. An exemplary election would be: HCDRs and LCDRs SEQ ID NOs: 2, 145, 4, 5, 6, 7 respectively [comprised by VH and VL SEQ ID NOs:140 and 16, respectively], VH and VL frameworks derived from SEQ ID NOs: 125, 126, respectively, and associated VH and VL polynucleotide sequences SEQ ID NOs: 115, 19 respectively (claims 1-3, 10, 27, 29-32).

The inventions listed as Groups I+ do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

Technical Features:

No technical features are shared between the HCDR, LCDR, VH, VL, VH and VL derived frameworks, and associated polynucleotide sequences of Group I+ (and, accordingly, these groups lack unity a priori.

Additionally, even if Groups I+ inventions were considered to share the technical features of:

1. An isolated antibody that specifically bind PD-1 comprising specific sequences comprising heavy chain complementarity determining regions HCDR1, HCDR2, HCDR3, and light chain complementarity determining regions LCDR1, LCDR2, LCDR3.
2. antibody directed against PD-1 with corresponding VH and VLs that are encoded by specific polynucleotides.

These shared technical features are previously disclosed by US 2016/0159905 A1 to Rinat Neuroscience Corporation (hereinafter "Rinat").

As to shared technical feature #1, Rinat teaches (claims 1-2; "1. An isolated antagonist antibody that specifically binds to PD-1 and comprises: a heavy chain variable region (VH) comprising a VH complementarity determining region one (CDR1), VH CDR2, and VH CDR3 of the VH having an amino acid sequence selected group the group consisting of SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4; SEQ ID NO: 5; and SEQ ID NO: 6; and a light chain variable region (VL) comprising a VL CDR1, VL CDR2, and VL CDR3 of the VL having an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NO: 2; SEQ ID NO:7; SEQ ID NO: 8; and SEQ ID NO: 9

2. The isolated antagonist antibody of claim 1, wherein the antibody comprises a VH CDR1 comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 13, 14, or 15, a VH CDR2 comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 16, 17, 24, 25, 27, 28, 35, or 36, a VH CDR3 comprising the amino acid sequence shown in SEQ ID NO: 18, 23, 26, or 37, a VL CDR1 comprising the amino acid sequence shown in SEQ ID NO:10, 22, 30, or 32, a VL CDR2 comprising the amino acid sequence shown in SEQ ID NO: 11, 20, or 33 and a VL CDR3 comprising the amino acid sequence shown in SEQ ID NO: 12, 21, 31, or 34"

As to shared technical feature #2, Rinat teaches (para [0131]; "In some embodiments, a polynucleotide comprises a sequence encoding the heavy chain and/or the light chain variable regions of antibody mAb1 , mAb2, mAb3, mAb4, mAb5, mAb6, mAb7, mAb8, mAb9, mAb10, mAb1 1 , mAb12, mAb13, mAb14, mAb15, or mAb16. The sequence encoding the antibody of interest may be maintained in a vector in a host cell and the host cell can then be expanded and frozen for future use. Vectors (including expression vectors) and host cells are further described herein").

----continued on next sheet----

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 18/35843

---continued from previous sheet---

As the shared technical feature were known in the art at the time of the invention, they cannot be considered shared special technical feature that would otherwise unify the groups. The inventions lack unity with one another.

Therefore, Group I+ inventions lack unity of invention under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature

Box I(iii) continued: will establish the international search report on those parts of the international application which relate to the invention first mentioned in: Claims 1-3, 9-20, 27, 29-32, 44-46, 52-58, 65, 67-70, 80, 82-84, 94, 96-99 , limited to the first named HCDRs and LCDRs (SEQ ID NOs: 2, 3, 4, and 5, 6, 7 respectively) (claim 9), [encompassed by VH and VL SEQ ID NOs: 8 and 14 respectively] derived from the first named VH and VL frameworks, SEQ ID NOs: 125 and 126, respectively (claim 3), and polynucleitdes encoding VH and VL, SEQ ID NOs: 11 and 17, respectively. (claim 27). (Claims 1-3, 9, 27, 29-32).

Note concerning item 4: Claims 4-8, 21-26, 28, 33-43, 47-51, 59-64, 66, 71-79, 81, 85-93, 95, 100-110 are multiple dependent claims and are not drafted according to the second and third sentences of PCT Rule 6.4(a).

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI			テーマコード（参考）
C12N	*1/19*	*(2006.01)*	C12N	1/19		
C12N	*5/10*	*(2006.01)*	C12N	5/10		
C12N	*5/20*	*(2006.01)*	C12N	5/20		
C12N	*5/0783*	*(2010.01)*	C12N	5/0783		
C07K	*16/42*	*(2006.01)*	C07K	16/42		
A61K	*39/395*	*(2006.01)*	A61K	39/395	D	
A61P	*37/02*	*(2006.01)*	A61K	39/395	N	
A61P	*37/04*	*(2006.01)*	A61K	39/395	L	
A61P	*19/02*	*(2006.01)*	A61K	39/395	C	
A61P	*29/00*	*(2006.01)*	A61P	37/02		
A61P	*11/00*	*(2006.01)*	A61P	37/04		
A61P	*11/06*	*(2006.01)*	A61P	19/02		
A61P	*25/28*	*(2006.01)*	A61P	29/00		
A61P	*1/04*	*(2006.01)*	A61P	29/00	101	
A61P	*1/16*	*(2006.01)*	A61P	11/00		
A61P	*17/06*	*(2006.01)*	A61P	11/06		
A61P	*3/10*	*(2006.01)*	A61P	25/28		
A61P	*27/02*	*(2006.01)*	A61P	1/04		
A61P	*9/10*	*(2006.01)*	A61P	1/16		
A61P	*13/12*	*(2006.01)*	A61P	17/06		
A61P	*17/04*	*(2006.01)*	A61P	3/10		
A61P	*37/08*	*(2006.01)*	A61P	27/02		
A61P	*17/00*	*(2006.01)*	A61P	9/10		
A61P	*35/00*	*(2006.01)*	A61P	13/12		
A61P	*1/18*	*(2006.01)*	A61P	17/04		
A61P	*21/00*	*(2006.01)*	A61P	37/08		
A61P	*7/02*	*(2006.01)*	A61P	17/00	101	
A61P	*19/10*	*(2006.01)*	A61P	35/00		
A61P	*19/08*	*(2006.01)*	A61P	1/18		
A61P	*1/00*	*(2006.01)*	A61P	9/10	101	
A61P	*15/00*	*(2006.01)*	A61P	21/00		
A61P	*25/00*	*(2006.01)*	A61P	7/02		
A61P	*21/04*	*(2006.01)*	A61P	19/10		
A61K	*47/68*	*(2017.01)*	A61P	19/08		
A61K	*51/10*	*(2006.01)*	A61P	1/00		
A61K	*49/00*	*(2006.01)*	A61P	15/00		
			A61P	25/00		
			A61P	21/04		
			A61K	47/68		
			A61K	51/10	200	
			A61K	49/00		

(31)優先権主張番号　62/673,185
(32)優先日　平成30年5月18日(2018.5.18)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

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

（特許庁注：以下のものは登録商標）
１．プルロニック

(74)代理人　100153693
弁理士　岩田　耕一
(74)代理人　100104282
弁理士　鈴木　康仁
(72)発明者　チェン，チエン
アメリカ合衆国　カリフォルニア州　９２１２１，サン　ディエゴ，メリーフィールド　ロウ　３２１０
(72)発明者　コール，スザンヌ
アメリカ合衆国　ペンシルベニア州　１９４７７，スプリング　ハウス，マッキーン　ロード　１４００
(72)発明者　ダッフィー，カレン
アメリカ合衆国　ペンシルベニア州　１９４７７，スプリング　ハウス，マッキーン　ロード　１４００
(72)発明者　ガードナー，デブラ
アメリカ合衆国　ペンシルベニア州　１９４７７，スプリング　ハウス，マッキーン　ロード　１４００
(72)発明者　グオ，イエンシア
アメリカ合衆国　ペンシルベニア州　１８９４０，ニュータウン　ヒルクロフト　ウェイ　４１
(72)発明者　ハメル，ダモン
アメリカ合衆国　カリフォルニア州　９２１１１，サン　ディエゴ　マウント　アビー　アベニュー　３５７３
(72)発明者　ヒッチコック，シャノン
アメリカ合衆国　ペンシルベニア州　１９４７７，スプリング　ハウス，マッキーン　ロード　１４００
(72)発明者　ラコンブ，アン
アメリカ合衆国　カリフォルニア州　９２１２１，サン　ディエゴ，メリーフィールド　ロウ　３２１０
(72)発明者　ルオ，ジンチュエン
アメリカ合衆国　ペンシルベニア州　１９４７７，スプリング　ハウス，マッキーン　ロード　１４００
(72)発明者　マラヴィヤ，ラヴィ
アメリカ合衆国　ペンシルベニア州　１９４７７，スプリング　ハウス，マッキーン　ロード　１４００
(72)発明者　オーロフスキー，エフゲニア
アメリカ合衆国　ペンシルベニア州　１９４７７，スプリング　ハウス，マッキーン　ロード　１４００
(72)発明者　ソローシュ，ペジマン
アメリカ合衆国　カリフォルニア州　９２１２１，サン　ディエゴ，メリーフィールド　ロウ　３２１０

(72)発明者 スウィッキー, メリッサ
アメリカ合衆国 ペンシルベニア州 １９４７７, スプリング ハウス, マッキーン ロード １４００
(72)発明者 ウィルキンソン, ディプティ
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 ９２１２１, サン ディエゴ, メリーフィールド ロウ ３２１０

Ｆターム(参考) 4B065 AA91Y AA92Y AA93X AA94X AA94Y AB01 AB05 AC14 BA01 CA25
CA44
4C076 AA09 AA11 AA29 AA31 AA36 AA53 AA95 BB01 BB11 BB13
BB15 BB16 BB21 BB25 BB27 BB29 BB30 CC01 CC03 CC04
CC07 CC09 CC10 CC11 CC14 CC15 CC16 CC17 CC18 CC20
CC21 CC27 EE41 EE59 FF02 FF04 FF09 FF17 FF36 FF53
FF61 FF63 FF70
4C085 AA13 AA14 AA21 BB11 BB36 BB42 CC01 CC02 CC05 DD62
EE01 GG01 GG02 GG03 GG04 GG05 GG06 GG08 GG10 HH01
HH03 HH11 HH13 JJ01 JJ03 JJ11 JJ20 KA03 KA27 KA29
KB05 KB07 KB08 KB09 KB11 KB12 KB15 KB18 KB19 KB20
KB55 KB82 LL01 LL05 LL07 LL09 LL12 LL13 LL18 LL20
4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 BA51 BA72 CA40 DA76 EA20 EA22
FA74