

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-516925
(P2023-516925A)

(43)公表日 令和5年4月21日(2023.4.21)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード(参考)
C 1 2 N 15/13 (2006.01)	C 1 2 N 15/13	4 B 0 6 5
C 0 7 K 16/28 (2006.01)	C 0 7 K 16/28	Z N A 4 C 0 8 4
C 1 2 N 15/63 (2006.01)	C 1 2 N 15/63	Z 4 C 0 8 5
C 1 2 N 1/15 (2006.01)	C 1 2 N 1/15	4 H 0 4 5
C 1 2 N 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/19	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全173頁) 最終頁に続く		

(21)出願番号 特願2022-550778(P2022-550778)
 (86)(22)出願日 令和3年2月24日(2021.2.24)
 (85)翻訳文提出日 令和4年9月29日(2022.9.29)
 (86)国際出願番号 PCT/GB2021/050459
 (87)国際公開番号 WO2021/171002
 (87)国際公開日 令和3年9月2日(2021.9.2)
 (31)優先権主張番号 2002581.3
 (32)優先日 令和2年2月24日(2020.2.24)
 (33)優先権主張国・地域又は機関 英国(GB)
 (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,A T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC, 最終頁に続く

(71)出願人 522058062
 ガンマデルタ セラピューティクス リミテッド
 イギリス国 ダブリュー 1 2 7 エフキュー ロンドン ホワイト シティ プレイス ウッド レーン 1 9 5 ウェストワークス
 (74)代理人 100145403
 弁理士 山尾 憲人
 (74)代理人 100106518
 弁理士 松谷 道子
 (74)代理人 100138911
 弁理士 櫻井 陽子
 (72)発明者 ポリヤコバ, オクサーナ
 英国ダブリュー 1 2 ・ 7 エフキュー、ロンドン、ホワイト・シティ・プレイス、 最終頁に続く

(54)【発明の名称】 新規の抗体

(57)【要約】

T細胞受容体(TCR)のガンマ可変4(V4)鎖に特異的に結合し、TCRのガンマ可変2(V2)鎖には結合しない単離された抗体またはその断片が本明細書に提供される。前記抗体の治療方法及び他の使用方法もまた、前記抗体を生成する方法と共に提供される。

【選択図】図2

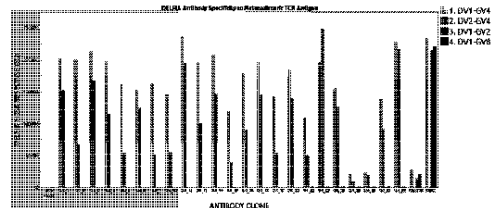


FIGURE 2A

抗体	変異	変異位置	変異種類	変異頻度	変異スコア	変異タイプ	変異位置	変異種類	変異頻度	変異スコア	変異タイプ
1.1	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1
1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2
1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3
1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4
1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
1.6	1.6	1.6	1.6	1.6	1.6	1.6	1.6	1.6	1.6	1.6	1.6
1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7
1.8	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8
1.9	1.9	1.9	1.9	1.9	1.9	1.9	1.9	1.9	1.9	1.9	1.9
1.10	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10
1.11	1.11	1.11	1.11	1.11	1.11	1.11	1.11	1.11	1.11	1.11	1.11
1.12	1.12	1.12	1.12	1.12	1.12	1.12	1.12	1.12	1.12	1.12	1.12
1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13
1.14	1.14	1.14	1.14	1.14	1.14	1.14	1.14	1.14	1.14	1.14	1.14
1.15	1.15	1.15	1.15	1.15	1.15	1.15	1.15	1.15	1.15	1.15	1.15
1.16	1.16	1.16	1.16	1.16	1.16	1.16	1.16	1.16	1.16	1.16	1.16
1.17	1.17	1.17	1.17	1.17	1.17	1.17	1.17	1.17	1.17	1.17	1.17
1.18	1.18	1.18	1.18	1.18	1.18	1.18	1.18	1.18	1.18	1.18	1.18
1.19	1.19	1.19	1.19	1.19	1.19	1.19	1.19	1.19	1.19	1.19	1.19
1.20	1.20	1.20	1.20	1.20	1.20	1.20	1.20	1.20	1.20	1.20	1.20
1.21	1.21	1.21	1.21	1.21	1.21	1.21	1.21	1.21	1.21	1.21	1.21
1.22	1.22	1.22	1.22	1.22	1.22	1.22	1.22	1.22	1.22	1.22	1.22
1.23	1.23	1.23	1.23	1.23	1.23	1.23	1.23	1.23	1.23	1.23	1.23
1.24	1.24	1.24	1.24	1.24	1.24	1.24	1.24	1.24	1.24	1.24	1.24
1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25
1.26	1.26	1.26	1.26	1.26	1.26	1.26	1.26	1.26	1.26	1.26	1.26
1.27	1.27	1.27	1.27	1.27	1.27	1.27	1.27	1.27	1.27	1.27	1.27
1.28	1.28	1.28	1.28	1.28	1.28	1.28	1.28	1.28	1.28	1.28	1.28
1.29	1.29	1.29	1.29	1.29	1.29	1.29	1.29	1.29	1.29	1.29	1.29
1.30	1.30	1.30	1.30	1.30	1.30	1.30	1.30	1.30	1.30	1.30	1.30
1.31	1.31	1.31	1.31	1.31	1.31	1.31	1.31	1.31	1.31	1.31	1.31
1.32	1.32	1.32	1.32	1.32	1.32	1.32	1.32	1.32	1.32	1.32	1.32
1.33	1.33	1.33	1.33	1.33	1.33	1.33	1.33	1.33	1.33	1.33	1.33
1.34	1.34	1.34	1.34	1.34	1.34	1.34	1.34	1.34	1.34	1.34	1.34
1.35	1.35	1.35	1.35	1.35	1.35	1.35	1.35	1.35	1.35	1.35	1.35
1.36	1.36	1.36	1.36	1.36	1.36	1.36	1.36	1.36	1.36	1.36	1.36
1.37	1.37	1.37	1.37	1.37	1.37	1.37	1.37	1.37	1.37	1.37	1.37
1.38	1.38	1.38	1.38	1.38	1.38	1.38	1.38	1.38	1.38	1.38	1.38
1.39	1.39	1.39	1.39	1.39	1.39	1.39	1.39	1.39	1.39	1.39	1.39
1.40	1.40	1.40	1.40	1.40	1.40	1.40	1.40	1.40	1.40	1.40	1.40
1.41	1.41	1.41	1.41	1.41	1.41	1.41	1.41	1.41	1.41	1.41	1.41
1.42	1.42	1.42	1.42	1.42	1.42	1.42	1.42	1.42	1.42	1.42	1.42
1.43	1.43	1.43	1.43	1.43	1.43	1.43	1.43	1.43	1.43	1.43	1.43
1.44	1.44	1.44	1.44	1.44	1.44	1.44	1.44	1.44	1.44	1.44	1.44
1.45	1.45	1.45	1.45	1.45	1.45	1.45	1.45	1.45	1.45	1.45	1.45
1.46	1.46	1.46	1.46	1.46	1.46	1.46	1.46	1.46	1.46	1.46	1.46
1.47	1.47	1.47	1.47	1.47	1.47	1.47	1.47	1.47	1.47	1.47	1.47
1.48	1.48	1.48	1.48	1.48	1.48	1.48	1.48	1.48	1.48	1.48	1.48
1.49	1.49	1.49	1.49	1.49	1.49	1.49	1.49	1.49	1.49	1.49	1.49
1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
1.51	1.51	1.51	1.51	1.51	1.51	1.51	1.51	1.51	1.51	1.51	1.51
1.52	1.52	1.52	1.52	1.52	1.52	1.52	1.52	1.52	1.52	1.52	1.52
1.53	1.53	1.53	1.53	1.53	1.53	1.53	1.53	1.53	1.53	1.53	1.53
1.54	1.54	1.54	1.54	1.54	1.54	1.54	1.54	1.54	1.54	1.54	1.54
1.55	1.55	1.55	1.55	1.55	1.55	1.55	1.55	1.55	1.55	1.55	1.55
1.56	1.56	1.56	1.56	1.56	1.56	1.56	1.56	1.56	1.56	1.56	1.56
1.57	1.57	1.57	1.57	1.57	1.57	1.57	1.57	1.57	1.57	1.57	1.57
1.58	1.58	1.58	1.58	1.58	1.58	1.58	1.58	1.58	1.58	1.58	1.58
1.59	1.59	1.59	1.59	1.59	1.59	1.59	1.59	1.59	1.59	1.59	1.59
1.60	1.60	1.60	1.60	1.60	1.60	1.60	1.60	1.60	1.60	1.60	1.60
1.61	1.61	1.61	1.61	1.61	1.61	1.61	1.61	1.61	1.61	1.61	1.61
1.62	1.62	1.62	1.62	1.62	1.62	1.62	1.62	1.62	1.62	1.62	1.62
1.63	1.63	1.63	1.63	1.63	1.63	1.63	1.63	1.63	1.63	1.63	1.63
1.64	1.64	1.64	1.64	1.64	1.64	1.64	1.64	1.64	1.64	1.64	1.64
1.65	1.65	1.65	1.65	1.65	1.65	1.65	1.65	1.65	1.65	1.65	1.65
1.66	1.66	1.66	1.66	1.66	1.66	1.66	1.66	1.66	1.66	1.66	1.66
1.67	1.67	1.67	1.67	1.67	1.67	1.67	1.67	1.67	1.67	1.67	1.67
1.68	1.68	1.68	1.68	1.68	1.68	1.68	1.68	1.68	1.68	1.68	1.68
1.69	1.69	1.69	1.69	1.69	1.69	1.69	1.69	1.69	1.69	1.69	1.69
1.70	1.70	1.70	1.70	1.70	1.70	1.70	1.70	1.70	1.70	1.70	1.70
1.71	1.71	1.71	1.71	1.71	1.71	1.71	1.71	1.71	1.71	1.71	1.71
1.72	1.72	1.72	1.72	1.72	1.72	1.72	1.72	1.72	1.72	1.72	1.72
1.73	1.73	1.73	1.73	1.73	1.73	1.73	1.73	1.73	1.73	1.73	1.73
1.74	1.74	1.74	1.74	1.74	1.74	1.74	1.74	1.74	1.74	1.74	1.74
1.75	1.75	1.75	1.75	1.75	1.75	1.75	1.75	1.75	1.75	1.75	1.75
1.76	1.76	1.76	1.76	1.76	1.76	1.76	1.76	1.76	1.76	1.76	1.76
1.77	1.77	1.77	1.77	1.77	1.77	1.77	1.77	1.77	1.77	1.77	1.77
1.78	1.78	1.78	1.78	1.78	1.78	1.78	1.78	1.78	1.78	1.78	1.78
1.79	1.79	1.79	1.79	1.79	1.79	1.79	1.79	1.79	1.79	1.79	1.79
1.80	1.80	1.80	1.80	1.80	1.80	1.80	1.80	1.80	1.80	1.80	1.80
1.81	1.81	1.81	1.81	1.81	1.81	1.81	1.81	1.81	1.81	1.81	1.81
1.82	1.82	1.82	1.82	1.82	1.82	1.82	1.82	1.82	1.82	1.82	1.82
1.83	1.83	1.83	1.83	1.							

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

T細胞受容体(TCR)のガンマ可変4(V₄)鎖に特異的に結合し、TCRのガンマ可変2(V₂)鎖には結合しない、単離された抗体またはその断片。

【請求項 2】

前記TCRのV₄鎖がヒトV₄であり、前記TCRのV₂鎖がヒトV₂である、請求項1に記載の単離された抗V₄抗体またはその断片。

【請求項 3】

配列番号1のアミノ酸領域67~82内の1つ以上のアミノ酸残基を含む前記TCRのV₄鎖のエピトープに結合する、請求項1または2に記載の単離された抗V₄抗体またはその断片。 10

【請求項 4】

前記エピトープは、配列番号1のアミノ酸残基71、73、75、76、79のうち少なくとも1つを含む、請求項3に記載の単離された抗V₄抗体またはその断片。

【請求項 5】

前記エピトープは、配列番号1のK76及び/またはM80を含むかまたはそれからなる、請求項1~4のいずれか一項に記載の単離された抗V₄抗体またはその断片。

【請求項 6】

前記エピトープはT細胞の活性化エピトープである、請求項1~5のいずれか一項に記載の単離された抗V₄抗体またはその断片。 20

【請求項 7】

前記活性化エピトープの結合は、(i)前記TCRを下方制御する、(ii)前記T細胞の脱顆粒を活性化する、(iii)T細胞を介した死滅を活性化する、及び/または(iv)V₄鎖を介した細胞シグナル伝達を活性化または増加させる、請求項6に記載の単離された抗V₄抗体またはその断片。

【請求項 8】

配列番号2~47のいずれか1つ、好ましくは配列番号10及び/または配列番号33と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含むCDR3、

配列番号48~70及び配列A1~A23(図1の)のいずれか1つ、好ましくは配列番号56及び/または配列A9と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含むCDR2、及び/または、 30

配列番号71~116のいずれか1つ、好ましくは配列番号79及び/または配列番号102と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含むCDR1のうち1つ以上を含む、単離された抗V₄抗体またはその断片。

【請求項 9】

配列番号10、4、14、15、17、19または23など配列番号2~24のいずれか1つと少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含むCDR3を含むVH領域を含む、請求項8に記載の単離された抗V₄抗体またはその断片。

【請求項 10】

配列番号33、27、37、38、40、42または46など配列番号25~47のいずれか1つと少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含むCDR3を含むVL領域を含む、請求項8または請求項9に記載の単離された抗V₄抗体またはその断片。 40

【請求項 11】

配列番号117~162または261~283のいずれか1つと少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離された抗V₄抗体またはその断片。

【請求項 12】

(a)配列番号79を有するHCDR1、配列番号56を有するHCDR2及び配列番号10を有するHCDR3を含むVHであって、任意選択で前記VHは配列番号125を含む前記VHと、

配列番号102を有するLCDR1、配列A9(図1の)を有するLCDR2及び配列 50

番号 33 を有する LCDR 3 を含む VL であって、任意選択で前記 VL は配列番号 148 または 269 を含む前記 VL、

(b) 配列番号 86 を有する HCDR 1、配列番号 63 を有する HCDR 2 及び配列番号 17 を有する HCDR 3 を含む VH であって、任意選択で前記 VH は配列番号 132 を含む前記 VH と、

配列番号 109 を有する LCDR 1、配列 A 16 (図 1 の) を有する LCDR 2 及び配列番号 40 を有する LCDR 3 を含む VL であって、任意選択で前記 VL は配列番号 155 または 276 を含む前記 VL、

(c) 配列番号 73 を有する HCDR 1、配列番号 50 を有する HCDR 2 及び配列番号 4 を有する HCDR 3 を含む VH であって、任意選択で前記 VH は配列番号 119 を含む前記 VH と、

配列番号 96 を有する LCDR 1、配列 A 3 (図 1 の) を有する LCDR 2 及び配列番号 27 を有する LCDR 3 を含む VL であって、任意選択で前記 VL は配列番号 142 または 263 を含む前記 VL、

(d) 配列番号 83 を有する HCDR 1、配列番号 60 を有する HCDR 2 及び配列番号 14 を有する HCDR 3 を含む VH であって、任意選択で前記 VH は配列番号 129 を含む前記 VH と、

配列番号 106 を有する LCDR 1、配列 A 13 (図 1 の) を有する LCDR 2 及び配列番号 37 を有する LCDR 3 を含む VL であって、任意選択で前記 VL は配列番号 152 または 273 を含む前記 VL、

(e) 配列番号 84 を有する HCDR 1、配列番号 61 を有する HCDR 2 及び配列番号 15 を有する HCDR 3 を含む VH であって、任意選択で前記 VH は配列番号 130 を含む前記 VH と、

配列番号 107 を有する LCDR 1、配列 A 14 (図 1 の) を有する LCDR 2 及び配列番号 38 を有する LCDR 3 を含む VL であって、任意選択で前記 VL は配列番号 153 または 274 を含む前記 VL、

(f) 配列番号 88 を有する HCDR 1、配列番号 65 を有する HCDR 2 及び配列番号 19 を有する HCDR 3 を含む VH であって、任意選択で前記 VH は配列番号 134 を含む前記 VH と、

配列番号 111 を有する LCDR 1、配列 A 18 (図 1 の) を有する LCDR 2 及び配列番号 42 を有する LCDR 3 を含む VL であって、任意選択で前記 VL は配列番号 157 または 278 を含む前記 VL、

(g) 配列番号 92 を有する HCDR 1、配列番号 69 を有する HCDR 2 及び配列番号 23 を有する HCDR 3 を含む VH であって、任意選択で前記 VH は配列番号 138 を含む前記 VH と、

配列番号 115 を有する LCDR 1、配列 A 22 (図 1 の) を有する LCDR 2 及び配列番号 46 を有する LCDR 3 を含む VL であって、任意選択で前記 VL は配列番号 161 または 282 を含む前記 VL、

(h) 配列番号 71 を有する HCDR 1、配列番号 48 を有する HCDR 2 及び配列番号 2 を有する HCDR 3 を含む VH であって、任意選択で前記 VH は配列番号 117 を含む前記 VH と、

配列番号 94 を有する LCDR 1、配列 A 1 (図 1 の) を有する LCDR 2 及び配列番号 25 を有する LCDR 3 を含む VL であって、任意選択で前記 VL は配列番号 140 または 261 を含む前記 VL、

(i) 配列番号 72 を有する HCDR 1、配列番号 49 を有する HCDR 2 及び配列番号 3 を有する HCDR 3 を含む VH であって、任意選択で前記 VH は配列番号 118 を含む前記 VH と、

配列番号 95 を有する LCDR 1、配列 A 2 (図 1 の) を有する LCDR 2 及び配列番号 26 を有する LCDR 3 を含む VL であって、任意選択で前記 VL は配列番号 141 または 262 を含む前記 VL、

10

20

30

40

50

(j) 配列番号 7 4 を有する H C D R 1、配列番号 5 1 を有する H C D R 2 及び配列番号 5 を有する H C D R 3 を含む V H であって、任意選択で前記 V H は配列番号 1 2 0 を含む前記 V H と、

配列番号 9 7 を有する L C D R 1、配列 A 4 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 2 8 を有する L C D R 3 を含む V L であって、任意選択で前記 V L は配列番号 1 4 3 または 2 6 4 を含む前記 V L、

(k) 配列番号 7 5 を有する H C D R 1、配列番号 5 2 を有する H C D R 2 及び配列番号 6 を有する H C D R 3 を含む V H であって、任意選択で前記 V H は配列番号 1 2 1 を含む前記 V H と、

配列番号 9 8 を有する L C D R 1、配列 A 5 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 2 9 を有する L C D R 3 を含む V L であって、任意選択で前記 V L は配列番号 1 4 4 または 2 6 5 を含む前記 V L、

(l) 配列番号 7 6 を有する H C D R 1、配列番号 5 3 を有する H C D R 2 及び配列番号 7 を有する H C D R 3 を含む V H であって、任意選択で前記 V H は配列番号 1 2 2 を含む前記 V H と、

配列番号 9 9 を有する L C D R 1、配列 A 6 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 3 0 を有する L C D R 3 を含む V L であって、任意選択で前記 V L は配列番号 1 4 5 または 2 6 6 を含む前記 V L、

(m) 配列番号 7 7 を有する H C D R 1、配列番号 5 4 を有する H C D R 2 及び配列番号 8 を有する H C D R 3 を含む V H であって、任意選択で前記 V H は配列番号 1 2 3 を含む前記 V H と、

配列番号 1 0 0 を有する L C D R 1、配列 A 7 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 3 1 を有する L C D R 3 を含む V L であって、任意選択で前記 V L は配列番号 1 4 6 または 2 6 7 を含む前記 V L、

(n) 配列番号 7 8 を有する H C D R 1、配列番号 5 5 を有する H C D R 2 及び配列番号 9 を有する H C D R 3 を含む V H であって、任意選択で前記 V H は配列番号 1 2 4 を含む前記 V H と、

配列番号 1 0 1 を有する L C D R 1、配列 A 8 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 3 2 を有する L C D R 3 を含む V L であって、任意選択で前記 V L は配列番号 1 4 7 または 2 6 8 を含む前記 V L、

(o) 配列番号 8 0 を有する H C D R 1、配列番号 5 7 を有する H C D R 2 及び配列番号 1 1 を有する H C D R 3 を含む V H であって、任意選択で前記 V H は配列番号 1 2 6 を含む前記 V H と、

配列番号 1 0 3 を有する L C D R 1、配列 A 1 0 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 3 4 を有する L C D R 3 を含む V L であって、任意選択で前記 V L は配列番号 1 4 9 または 2 7 0 を含む前記 V L、

(p) 配列番号 8 1 を有する H C D R 1、配列番号 5 8 を有する H C D R 2 及び配列番号 1 2 を有する H C D R 3 を含む V H であって、任意選択で前記 V H は配列番号 1 2 7 を含む前記 V H と、

配列番号 1 0 4 を有する L C D R 1、配列 A 1 1 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 3 5 を有する L C D R 3 を含む V L であって、任意選択で前記 V L は配列番号 1 5 0 または 2 7 1 を含む前記 V L、

(q) 配列番号 8 2 を有する H C D R 1、配列番号 5 9 を有する H C D R 2 及び配列番号 1 3 を有する H C D R 3 を含む V H であって、任意選択で前記 V H は配列番号 1 2 8 を含む前記 V H と、

配列番号 1 0 5 を有する L C D R 1、配列 A 1 2 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 3 6 を有する L C D R 3 を含む V L であって、任意選択で前記 V L は配列番号 1 5 1 または 2 7 2 を含む前記 V L、

(r) 配列番号 8 5 を有する H C D R 1、配列番号 6 2 を有する H C D R 2 及び配列番号 1 6 を有する H C D R 3 を含む V H であって、任意選択で前記 V H は配列番号 1 3 1 を

10

20

30

40

50

含む前記 V H と、

配列番号 108 を有する L C D R 1、配列 A 15 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 39 を有する L C D R 3 を含む V L であって、任意選択で前記 V L は配列番号 154 または 275 を含む前記 V L、

(s) 配列番号 87 を有する H C D R 1、配列番号 64 を有する H C D R 2 及び配列番号 18 を有する H C D R 3 を含む V H であって、任意選択で前記 V H は配列番号 133 を含む前記 V H と、

配列番号 110 を有する L C D R 1、配列 A 17 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 41 を有する L C D R 3 を含む V L であって、任意選択で前記 V L は配列番号 156 または 277 を含む前記 V L、

(t) 配列番号 89 を有する H C D R 1、配列番号 66 を有する H C D R 2 及び配列番号 20 を有する H C D R 3 を含む V H であって、任意選択で前記 V H は配列番号 135 を含む前記 V H と、

配列番号 112 を有する L C D R 1、配列 A 19 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 43 を有する L C D R 3 を含む V L であって、任意選択で前記 V L は配列番号 158 または 279 を含む前記 V L、

(u) 配列番号 90 を有する H C D R 1、配列番号 67 を有する H C D R 2 及び配列番号 21 を有する H C D R 3 を含む V H であって、任意選択で前記 V H は配列番号 136 を含む前記 V H と、

配列番号 113 を有する L C D R 1、配列 A 20 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 44 を有する L C D R 3 を含む V L であって、任意選択で前記 V L は配列番号 159 または 280 を含む前記 V L、

(v) 配列番号 91 を有する H C D R 1、配列番号 68 を有する H C D R 2 及び配列番号 22 を有する H C D R 3 を含む V H であって、任意選択で前記 V H は配列番号 137 を含む前記 V H と、

配列番号 114 を有する L C D R 1、配列 A 21 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 45 を有する L C D R 3 を含む V L であって、任意選択で前記 V L は配列番号 160 または 281 を含む前記 V L、

及び / または、

(w) 配列番号 93 を有する H C D R 1、配列番号 70 を有する H C D R 2 及び配列番号 24 を有する H C D R 3 を含む V H であって、任意選択で前記 V H は配列番号 139 を含む前記 V H と、

配列番号 116 を有する L C D R 1、配列 A 23 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 47 を有する L C D R 3 を含む V L であって、任意選択で前記 V L は配列番号 162 または 283 を含む前記 V L、

のうちの 1 つ以上を含む単離された抗 V_H 4 抗体またはその断片。

【請求項 13】

配列番号 163 ~ 185 のいずれか 1 つと少なくとも 80 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離された抗 V_H 4 抗体またはその断片。

【請求項 14】

配列番号 233 ~ 255 のいずれか 1 つと少なくとも 80 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離された抗 V_H 4 抗体。

【請求項 15】

配列番号 284 ~ 306 のいずれか 1 つと少なくとも 80 % の配列同一性を有する重鎖アミノ酸配列及び / または配列番号 307 ~ 329 のいずれか 1 つと少なくとも 80 % の配列同一性を有する軽鎖アミノ酸配列を含む、単離された抗 V_H 4 抗体またはその断片。

【請求項 16】

請求項 8 ~ 15 のいずれか一項に記載の前記抗体もしくはその断片と同じ、もしくは本質的に同じエピトープに結合する、またはそれと競合する、好ましくは請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の単離された抗 V_H 4 抗体またはその断片。

10

20

30

40

50

【請求項 17】

(i) scFv または完全長抗体、及び/または、

(ii) ヒト抗体もしくはその断片である、

請求項 1 ~ 16 のいずれ一項に記載の単離された抗 V₄ 抗体またはその断片。

【請求項 18】

請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載の前記抗 V₄ 抗体またはその断片をコードするポリヌクレオチド配列。

【請求項 19】

配列番号 187 ~ 232 のいずれかと少なくとも 70% の配列同一性を有する配列を含む、抗 V₄ 抗体またはその断片をコードするポリヌクレオチド配列。

10

【請求項 20】

請求項 18 または請求項 19 に記載の前記ポリヌクレオチド配列を含む発現ベクター。

【請求項 21】

請求項 18 もしくは請求項 19 に記載の前記ポリヌクレオチド配列、または請求項 20 に記載の前記発現ベクターを含む細胞。

【請求項 22】

請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載の前記抗体またはその断片を含む組成物。

【請求項 23】

請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載の前記抗体またはその断片を、薬学的に許容される希釈剤または担体と共に含む医薬組成物。

20

【請求項 24】

医薬品として使用するための、請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載の単離された抗 V₄ 抗体またはその断片、または請求項 23 に記載の医薬組成物。

【請求項 25】

がん、感染症または炎症性疾患の治療に使用するための、請求項 24 に記載の単離された抗 V₄ 抗体もしくはその断片、または医薬組成物。

【請求項 26】

抗 V₄ 抗体もしくはその断片を作製する際に使用するための配列番号 256 ~ 258 のいずれか 1 つと少なくとも 80% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離された抗原。

30

【請求項 27】

抗 V₄ 抗体またはその断片を作製する方法であって、

(i) TCR ガンマ可変 4 (V₄) アミノ酸配列を含む一連の抗原を設計することであって、V₄ の CDR3 配列は一連のすべての抗原について同じである、一連の抗原を設計することと、

(ii) 工程 (i) で設計された第 1 の抗原を抗体ライブラリに曝露することと、

(iii) 前記抗原に結合する抗体もしくはその断片を単離することと、

(iv) 前記単離された抗体もしくはその断片を工程 (i) で設計された第 2 の抗原に曝露することと、

(v) 前記第 1 の抗原及び前記第 2 の抗原の両方に結合する前記抗体もしくはその断片を単離することと、
を含む、前記方法。

40

【請求項 28】

前記単離された抗体またはその断片を、ガンマ可変 2 (V₂) またはガンマ可変 8 (V₈) などの異なるガンマ可変鎖を有する TCR を含む第 2 の一連の抗原に曝露することと、その後、前記第 2 の一連の抗原にも結合する前記抗体またはその断片を選択解除することと、を更に含む、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 29】

請求項 27 または請求項 28 に記載の前記方法によって得られた抗体。

【請求項 30】

50

請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載の抗 V 4 抗体もしくはその断片、または請求項 23 に記載の医薬組成物を含み、任意選択で使用のための指示書及び / または追加の治療活性剤を含む、キット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、ガンマデルタ T 細胞の T 細胞受容体に向けられた抗体及びその断片に関する。

【背景技術】

【0002】

がんに対する T 細胞免疫療法への関心の高まりは、CD8+ 及び CD4+ アルファベータ () T 細胞のサブセットががん細胞を認識し、特に PD-1、CTLA-4 及び他の受容体により発揮される抑制経路の臨床的媒介拮抗作用によって抑制が解除された場合、宿主保護機能性を媒介する明らかな能力に焦点を当てている。しかし、T 細胞は、移植片対宿主病を引き起こし得る MHC 拘束性である。

【0003】

ガンマデルタ T 細胞 (T 細胞) は、表面に別個の典型的な T 細胞受容体 (TCR) を発現する T 細胞のサブセットを表す。この TCR は 1 つのガンマ () 鎖と 1 つのデルタ () 鎖で構成されており、鎖のそれぞれは鎖の再構成を受けるが、T 細胞と比較して V 遺伝子の数が限られている。V をコードする主な TRGV 遺伝子セグメントは、TRGV2、TRGV3、TRGV4、TRGV5、TRGV8、TRGV9、ならびに非機能遺伝子 TRGV10、TRGV11、TRGVA 及び TRGVB である。最も頻度の高い TRDV 遺伝子セグメントは V 1、V 2 及び V 3 をコードし、更に V 及び V の両方の名称を持ついくつかの V セグメントをコードする (Adams et al., 296:30-40 (2015) Cell Immunol.)。ヒト T 細胞は TCR 鎖に基づいて大まかに分類できる。これは、特定の型及び型が、1 つ以上の組織型において排他的ではないがより一般的に細胞で見いだされるためである。例えば、ほとんどの血液に存在する T 細胞は、V 2 TCR、一般的には V 9 V 2 を発現するが、これは、鎖と対になる、例えば腸内ではしばしば V 4 と対になる V 1 TCR をより頻繁に使用する皮膚などの組織に存在する T 細胞においてはあまり一般的ではない。

【0004】

しかしながら、現在に至るまで、V 4 TCR と V 2 TCR などの他の TRGV ファミリーメンバーとの間の高い相同性のために、V 4 TCR のみを標的とし得るモダリティは不可能だった。したがって、V 4 TCR に特異的に結合または V 4 TCR を特異的に調節するような特異性抗体を含む、V 4 に特異的な抗体に対する未だ満たされていない必要性がある。

【発明の概要】

【0005】

本発明の第 1 の態様によれば、T 細胞受容体 (TCR) のガンマ可変 4 (V 4) 鎖に特異的に結合し、TCR のガンマ可変 2 (V 2) 鎖には結合しない単離された抗体またはその断片が提供される。これは、同じ種の V 4 鎖及び V 2 に関していることを理解されたい。好ましくは、本明細書に記載のすべての態様及び実施形態によれば、前記種はホモサピエンス (ヒト) であり、したがって本発明は、T 細胞受容体 (TCR) のヒトガンマ可変 4 (V 4) 鎖に特異的に結合し、TCR のヒトガンマ可変 2 (V 2) 鎖には結合しない単離された抗体またはその断片を提供する。例えば、ヒト V 4 鎖は配列番号 1 のアミノ酸 1 ~ 99 による配列を有し得る、及び / またはヒト V 2 鎖は配列番号 335 による配列を有し得る。他の種では、単離された抗体またはその断片は、T 細胞受容体 (TCR) のヒトガンマ可変 4 (V 4) 鎖の種特異的なオルソログに特異的に結合し、TCR の可変 2 (V 2) 鎖ヒトガンマの種特異的なオルソ

10

20

30

40

50

グには結合しない。したがって、本発明は、配列番号1のアミノ酸1～99に対応する配列を有する T細胞受容体(TCR)のヒトガンマ可変4(V₄)鎖もしくはその非ヒトオルソログに特異的に結合し、配列番号335に対応する配列を有する TCRのヒトガンマ可変2(V₂)鎖もしくはその非ヒトオルソログに結合しない単離された抗体またはその断片を提供する。この文脈におけるオルソログは、参照配列に対して最も高い配列類似性を有するガンマ鎖配列、または好ましくは同じ機能(例えば*in vivo*でオルソログな同族リガンドとの相互作用)を有するものを意味し得る。例えば、マウスにおいて、V₇としてHeilig & Tonegave命名法の下で指定されたタンパク質は、機能的にヒトV₄と最も密接に関連している(Barronet al. (2016) Cell, 167:203-218.e17)。

10

【0006】

これは、この分野にとって大きな進歩である。例えば、ヒトにおいて、V₄鎖とV₂鎖は、9つのアミノ酸が違うだけで相同性が高い(91%の配列同一性)。これらの9つの変異のうち3つはCDR1及びCDR2にまたがってマッピングし、一方でこれらの9つの変異のうち4つはフレームワーク領域3(FR3)のサブ領域-配列番号1のアミノ酸67～82-にマッピングする。V₄鎖とV₂鎖の間の配列の類似性が非常に高いため、TCRのヒトV₄鎖とヒトV₂鎖の間を特異的に区別できる抗体またはその断片を開発することは不可能であると以前は考えられていた。驚くべきことに及び当該技術分野における一般的な見解とは異なり、本発明者らは、本明細書でより詳細に記載される方法を使用してこのような抗体を開発することができた。したがって、本発明は、

20

【0007】

本発明の抗体またはその断片は、配列番号1のアミノ酸領域67～82内の1つ以上のアミノ酸残基を含む TCRのヒトV₄鎖のエピトープに結合し得る。

【0008】

本発明の更なる態様によれば、

配列番号2～47のいずれか1つ、好ましくは配列番号10及び/または配列番号33と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含むCDR3、

配列番号48～70及び配列A1～A23(図1の)のいずれか1つ、好ましくは配列番号56及び/またはA9と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含むCDR2

30

及び/または、
配列番号71～116のいずれか1つ、好ましくは配列番号79及び/または配列番号102と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む、CDR1のうちの1つ以上を含む単離された抗V₄抗体またはその断片が提供される。

【0009】

いくつかの態様において、単離された抗V₄抗体またはその断片は、

配列番号2～24のいずれか1つ、好ましくは配列番号10と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR3(HCDR3)、

配列番号48～70のいずれか1つ、好ましくは配列番号56と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR2(HCDR2)、及び/または、

40

配列番号71～93のいずれか1つ、好ましくは配列番号79と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR1(HCDR1)のうちの1つ以上を含み得る。

【0010】

あるいはまたは加えて、単離された抗V₄抗体またはその断片は、

配列番号25～47のいずれか1つ、好ましくは配列番号33と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR3(LCDR3)、

配列A1～A23(図1の)のいずれか1つ、好ましくは配列番号A9と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR2(LCDR2)、及び/または、

配列番号94～116のいずれか1つ、好ましくは配列番号102と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR1(LCDR1)のうちの1つ以上を含み得

50

る。

【 0 0 1 1 】

本発明の更なる態様によれば、配列番号 1 1 7 ~ 1 6 2 のいずれか 1 つと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離された抗 V_H 4 抗体またはその断片が提供される。いくつかの態様において、単離された抗 V_H 4 抗体またはその断片は、配列番号 1 1 7 ~ 1 3 9 のいずれか 1 つ、好ましくは配列番号 1 2 5 と少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する重鎖可変 (V_H) アミノ酸配列を含み得る。あるいはまたは加えて、単離された抗 V_H 4 抗体またはその断片は、配列番号 1 4 0 ~ 1 6 2 のいずれか 1 つ、好ましくは配列番号 1 4 8 と少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する軽鎖可変 (V_L) アミノ酸配列を含み得る。

10

【 0 0 1 2 】

本発明は更に、

(a) 配列番号 7 9 を有する H C D R 1、配列番号 5 6 を有する H C D R 2 及び配列番号 1 0 を有する H C D R 3 を含む V_H であって、任意選択で前記 V_H は配列番号 1 2 5 を含む V_H と、

配列番号 1 0 2 を有する L C D R 1、配列 A 9 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 3 3 を有する L C D R 3 を含む V_L であって、任意選択で前記 V_L は配列番号 1 4 8 を含む V_L、

(b) 配列番号 8 6 を有する H C D R 1、配列番号 6 3 を有する H C D R 2 及び配列番号 1 7 を有する H C D R 3 を含む V_H であって、任意選択で前記 V_H は配列番号 1 3 2 を含む、V_H と、

20

配列番号 1 0 9 を有する L C D R 1、配列 A 1 6 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 4 0 を有する L C D R 3 を含む V_L であって、任意選択で前記 V_L は配列番号 1 5 5 を含む V_L、

(c) 配列番号 7 3 を有する H C D R 1、配列番号 5 0 を有する H C D R 2 及び配列番号 4 を有する H C D R 3 を含む V_H であって、任意選択で前記 V_H は配列番号 1 1 9 を含む V_H と、

配列番号 9 6 を有する L C D R 1、配列 A 3 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 2 7 を有する L C D R 3 を含む V_L であって、任意選択で前記 V_L は配列番号 1 4 2 を含む V_L、

30

(d) 配列番号 8 3 を有する H C D R 1、配列番号 6 0 を有する H C D R 2 及び配列番号 1 4 を有する H C D R 3 を含む V_H であって、任意選択で前記 V_H は配列番号 1 2 9 を含む V_H と、

配列番号 1 0 6 を有する L C D R 1、配列 A 1 3 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 3 7 を有する L C D R 3 を含む V_L であって、任意選択で前記 V_L は配列番号 1 5 2 を含む V_L、

(e) 配列番号 8 4 を有する H C D R 1、配列番号 6 1 を有する H C D R 2 及び配列番号 1 5 を有する H C D R 3 を含む V_H であって、任意選択で前記 V_H は配列番号 1 3 0 を含む V_H と、

配列番号 1 0 7 を有する L C D R 1、配列 A 1 4 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 3 8 を有する L C D R 3 を含む V_L であって、任意選択で前記 V_L は配列番号 1 5 3 を含む V_L、

40

(f) 配列番号 8 8 を有する H C D R 1、配列番号 6 5 を有する H C D R 2 及び配列番号 1 9 を有する H C D R 3 を含む V_H であって、任意選択で前記 V_H は配列番号 1 3 4 を含む V_H と、

配列番号 1 1 1 を有する L C D R 1、配列 A 1 8 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 4 2 を有する L C D R 3 を含む V_L であって、任意選択で前記 V_L は配列番号 1 5 7 を含む V_L、

(g) 配列番号 9 2 を有する H C D R 1、配列番号 6 9 を有する H C D R 2 及び配列番号 2 3 を有する H C D R 3 を含む V_H であって、任意選択で前記 V_H は配列番号 1 3 8 を

50

含むV Hと、

配列番号115を有するLCD R1、配列A22(図1の)を有するLCD R2及び配列番号46を有するLCD R3を含むV Lであって、任意選択で前記V Lは配列番号161を含むV L、

(h)配列番号71を有するHCD R1、配列番号48を有するHCD R2及び配列番号2を有するHCD R3を含むV Hであって、任意選択で前記V Hは配列番号117を含むV Hと、

配列番号94を有するLCD R1、配列A1(図1の)を有するLCD R2及び配列番号25を有するLCD R3を含むV Lであって、任意選択で前記V Lは配列番号140を含むV L、

(i)配列番号72を有するHCD R1、配列番号49を有するHCD R2及び配列番号3を有するHCD R3を含むV Hであって、任意選択で前記V Hは配列番号118を含むV Hと、

配列番号95を有するLCD R1、配列A2(図1の)を有するLCD R2及び配列番号26を有するLCD R3を含むV Lであって、任意選択で前記V Lは配列番号141を含むV L、

(j)配列番号74を有するHCD R1、配列番号51を有するHCD R2及び配列番号5を有するHCD R3を含むV Hであって、任意選択で前記V Hは配列番号120を含むV Hと、

配列番号97を有するLCD R1、配列A4(図1の)を有するLCD R2及び配列番号28を有するLCD R3を含むV Lであって、任意選択で前記V Lは配列番号143を含むV L、

(k)配列番号75を有するHCD R1、配列番号52を有するHCD R2及び配列番号6を有するHCD R3を含むV Hであって、任意選択で前記V Hは配列番号121を含むV Hと、

配列番号98を有するLCD R1、配列A5(図1の)を有するLCD R2及び配列番号29を有するLCD R3を含むV Lであって、任意選択で前記V Lは配列番号144を含むV L、

(l)配列番号76を有するHCD R1、配列番号53を有するHCD R2及び配列番号7を有するHCD R3を含むV Hであって、任意選択で前記V Hは配列番号122を含むV Hと、

配列番号99を有するLCD R1、配列A6(図1の)を有するLCD R2及び配列番号30を有するLCD R3を含むV Lであって、任意選択で前記V Lは配列番号145を含むV L、

(m)配列番号77を有するHCD R1、配列番号54を有するHCD R2及び配列番号8を有するHCD R3を含むV Hであって、任意選択で前記V Hは配列番号123を含むV Hと、

配列番号100を有するLCD R1、配列A7(図1の)を有するLCD R2及び配列番号31を有するLCD R3を含むV Lであって、任意選択で前記V Lは配列番号146を含むV L、

(n)配列番号78を有するHCD R1、配列番号55を有するHCD R2及び配列番号9を有するHCD R3を含むV Hであって、任意選択で前記V Hは配列番号124を含むV Hと、

配列番号101を有するLCD R1、配列A8(図1の)を有するLCD R2及び配列番号32を有するLCD R3を含むV Lであって、任意選択で前記V Lは配列番号147を含むV L、

(o)配列番号80を有するHCD R1、配列番号57を有するHCD R2及び配列番号11を有するHCD R3を含むV Hであって、任意選択で前記V Hは配列番号126を含むV Hと、

配列番号103を有するLCD R1、配列A10(図1の)を有するLCD R2及び配

10

20

30

40

50

列番号 34 を有する LCDR3 を含む VL であって、任意選択で前記 VL は配列番号 149 を含む VL、

(p) 配列番号 81 を有する HCDR1、配列番号 58 を有する HCDR2 及び配列番号 12 を有する HCDR3 を含む VH であって、任意選択で前記 VH は配列番号 127 を含む VH と、

配列番号 104 を有する LCDR1、配列 A11 (図 1 の) を有する LCDR2 及び配列番号 35 を有する LCDR3 を含む VL であって、任意選択で前記 VL は配列番号 150 を含む VL、

(q) 配列番号 82 を有する HCDR1、配列番号 59 を有する HCDR2 及び配列番号 13 を有する HCDR3 を含む VH であって、任意選択で前記 VH は配列番号 128 を含む VH と、

配列番号 105 を有する LCDR1、配列 A12 (図 1 の) を有する LCDR2 及び配列番号 36 を有する LCDR3 を含む VL であって、任意選択で前記 VL は配列番号 151 を含む VL、

(r) 配列番号 85 を有する HCDR1、配列番号 62 を有する HCDR2 及び配列番号 16 を有する HCDR3 を含む VH であって、任意選択で前記 VH は配列番号 131 を含む VH と、

配列番号 108 を有する LCDR1、配列 A15 (図 1 の) を有する LCDR2 及び配列番号 39 を有する LCDR3 を含む VL であって、任意選択で前記 VL は配列番号 154 を含む VL、

(s) 配列番号 87 を有する HCDR1、配列番号 64 を有する HCDR2 及び配列番号 18 を有する HCDR3 を含む VH であって、任意選択で前記 VH は配列番号 133 を含む VH と、

配列番号 110 を有する LCDR1、配列 A17 (図 1 の) を有する LCDR2 及び配列番号 41 を有する LCDR3 を含む VL であって、任意選択で前記 VL は配列番号 156 を含む VL、

(t) 配列番号 89 を有する HCDR1、配列番号 66 を有する HCDR2 及び配列番号 20 を有する HCDR3 を含む VH であって、任意選択で前記 VH は配列番号 135 を含む VH と、

配列番号 112 を有する LCDR1、配列 A19 (図 1 の) を有する LCDR2 及び配列番号 43 を有する LCDR3 を含む VL であって、任意選択で前記 VL は配列番号 158 を含む VL、

(u) 配列番号 90 を有する HCDR1、配列番号 67 を有する HCDR2 及び配列番号 21 を有する HCDR3 を含む VH であって、任意選択で前記 VH は配列番号 136 を含む VH と、

配列番号 113 を有する LCDR1、配列 A20 (図 1 の) を有する LCDR2 及び配列番号 44 を有する LCDR3 を含む VL であって、任意選択で前記 VL は配列番号 159 を含む VL、

(v) 配列番号 91 を有する HCDR1、配列番号 68 を有する HCDR2 及び配列番号 22 を有する HCDR3 を含む VH であって、任意選択で前記 VH は配列番号 137 を含む VH と、

配列番号 114 を有する LCDR1、配列 A21 (図 1 の) を有する LCDR2 及び配列番号 45 を有する LCDR3 を含む VL であって、任意選択で前記 VL は配列番号 160 を含む VL、

及び / または、

(w) 配列番号 93 を有する HCDR1、配列番号 70 を有する HCDR2 及び配列番号 24 を有する HCDR3 を含む VH であって、任意選択で前記 VH は配列番号 139 を含む VH と、

配列番号 116 を有する LCDR1、配列 A23 (図 1 の) を有する LCDR2 及び配列番号 47 を有する LCDR3 を含む VL であって、任意選択で前記 VL は配列番号 16

10

20

30

40

50

2を含むV_L、のうちの1つ以上を含む単離された抗V_H4抗体またはその断片を提供する。

【0013】

本発明の更なる態様によれば、配列番号163～185のいずれか1つと少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離された抗V_H4抗体またはその断片が提供される。

【0014】

本発明の更なる態様によれば、配列番号233～255のいずれか1つと少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離された抗V_H4抗体が提供される。本発明の関連する態様において、配列番号284～306のいずれか1つと少なくとも80%の配列同一性を有する重鎖アミノ酸配列及び/または配列番号307～329のいずれか1つと少なくとも80%の配列同一性を有する軽鎖アミノ酸配列を含むか、またはそれからなる単離された抗V_H4抗体が提供される。

10

【0015】

本発明は更に、T細胞受容体(TCR)のV_H4鎖に特異的に結合しかつT細胞受容体(TCR)のV_H4鎖への結合と競合する抗V_H4抗体またはその断片を、本明細書で定義される本発明の抗体または断片と共に提供する。

【0016】

本発明の更なる態様によれば、本明細書で定義される抗V_H4抗体またはその断片をコードするポリヌクレオチド配列が提供される。例えば、配列番号187～232のいずれかと少なくとも70%の配列同一性を有する配列を含む、抗V_H4抗体またはその断片をコードするポリヌクレオチド配列が提供される。好ましくは、抗V_H4抗体またはその断片をコードするポリヌクレオチド配列は、配列番号187～232のいずれかの配列を含む。

20

【0017】

本発明の更なる態様によれば、本明細書で定義される本発明のポリヌクレオチド配列を含む発現ベクターが提供される。例えば、配列番号187～209のいずれかのV_Hをコードするポリヌクレオチド配列及び/または配列番号210～232のいずれかのV_Lをコードするポリヌクレオチド配列を含む発現ベクターが提供される。

【0018】

本発明の更なる態様によれば、本明細書で定義されるポリヌクレオチド配列または発現ベクターを含む細胞が提供される。細胞培養培地中で本発明の細胞を培養することを含む、本発明の任意の抗体またはその断片を作成するための方法も提供される。この文脈において、前記細胞は、本明細書で更に定義されるように「宿主細胞」と呼ばれ得ることが理解されるであろう。

30

【0019】

本発明の更なる態様によれば、本明細書で定義される本発明の抗体またはその断片を含む組成物が提供される。本明細書で定義される本発明の抗体またはその断片を、薬学的に許容される希釈剤または担体と共に含む医薬組成物も提供される。

【0020】

本発明の更なる態様において、本発明の抗V_H4抗体もしくはその断片、または本発明の医薬組成物を含み、任意選択で使用のための指示書及び/または追加の治療活性剤を含むキットが提供される。

40

【0021】

本発明の更なる態様によれば、薬剤として使用するための本発明の単離された抗V_H4抗体もしくはその断片、または本明細書で定義される本発明の医薬組成物が提供される。同様に、治療上有効な量の本発明の単離された抗V_H4抗体もしくはその断片または本明細書で定義される本発明の医薬組成物を対象に投与することを含む、それを必要とする対象の疾患または障害(例えば、がん、感染性疾患または炎症性疾患)を治療する方法が提供される。

50

【 0 0 2 2 】

上記のように本発明の開発前は、V_H 4鎖、特にヒトV_H 4に特異的に結合することができる抗体またはその断片を開発するのは不可能であるとするのが通説であった。これは、TCRのヒトV_H 4鎖とV_L 2鎖の間に高度な配列類似性(91%)があるためであった。この重要な課題を克服するために、本発明者らは特定の抗原及び方法論を開発した。したがって、本発明の更なる態様によれば、抗V_H 4抗体またはその断片を作製する際に使用するために、配列番号256と少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む単離された抗原が提供される。抗原調製プロセスの別の重要な態様は、タンパク質としての発現に適した抗原を設計することであった。TCRは、鎖間及び鎖内にジスルフィド結合を備えたヘテロ二量体を含む複雑なタンパク質である。ロイシンジッパー(LZ)形式及びFc形式を使用して、ファージディスプレイの選択で使用する可溶性TCR抗原を作製した。したがって、本発明はまた、抗V_H 4抗体もしくはその断片を作製する際に使用するための配列番号257または配列番号258と少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む単離された抗原を提供する。

10

【 0 0 2 3 】

更に、ガンマデルタ(γδ) T細胞は、CDR3ポリクローナル性を備えたポリクローナルである。作製された抗体がCDR3配列に対して選択される状況を回避するために(CDR3配列はTCRクローンごとに異なるため)、抗原設計には異なる形式で一貫したCDR3を維持することが含まれていた。この設計は、生殖細胞系列にコードされ、したがってすべてのクローンで同じであるガンマ4可変ドメイン内の配列を認識する抗体を作製し、T細胞のより広いサブセットを認識する抗体を提供することを目的とした。更に、複数の形式のこのガンマ4特異的領域に結合する抗体を選択し、類似性の高いガンマ2特異的領域にも結合しかつまったく同じ超可変CDR3配列を含む結合体を非選択にするというこのようなアプローチを繰り返し行うことで、抗体は絶妙な選択性で同定された。具体的にかつ驚くべきことに、本明細書に記載されるいくつかの例において、ヒトガンマ4抗原上のCDR3のN末端領域に結合するが、関連性の高いヒトガンマ2抗原のCDR3の等価領域であるN末端には結合しない抗体が同定された。この領域におけるガンマ4とガンマ2の間の高度な相同性と、これら2つのガンマ鎖の間に非常に小さな配列の違いが散在しているという事実とを考慮すると、これは驚くべきことであった。9つの変異のうち3つはガンマ可変鎖CDR1とCDR2にまたがってマッピングしており、9つの変異のうち4つはガンマ可変鎖CDR3のN末端である「超可変領域4」として知られるフレームワーク領域3(FR3)のサブ領域にマッピングしている。

20

30

【 0 0 2 4 】

したがって、本発明の更なる態様によれば、

(i) TCRガンマ可変4(TRGV4)アミノ酸配列を含む一連の抗原を設計することであって、TRGV4のCDR3配列は一連のすべての抗原について同じである、一連の抗原を設計することと、

(ii) 工程(i)で設計された第1の抗原を抗体ライブラリに曝露することと、

(iii) 抗原に結合する抗体もしくはその断片を単離することと、

(iv) 単離された抗体もしくはその断片を工程(i)で設計された第2の抗原に曝露することと、

40

(v) 第1の抗原及び第2の抗原の両方に結合する抗体もしくはその断片を単離することと、を含む抗V_H 4抗体またはその断片を作製する方法が提供される。

【 0 0 2 5 】

前記方法は、

第1の抗原及び/または第2の抗原に結合する単離された抗体またはその断片を、TRGV4ではないTCRガンマ可変アミノ酸配列(例えば、TCRガンマ可変2(TRGV2)またはTCRガンマ可変8(TRGV8)アミノ酸配列)を含む抗原に曝露することと、

第1の抗原及び/または第2の抗原に結合するがTRGV4ではないTCRガンマ可変

50

アミノ酸配列を含む抗原には結合しない、抗体またはその断片を単離することと、を更に含み得る。

【0026】

TRGV4、TRGV2及びTRGV8アミノ酸配列は好ましくは、それぞれ、ヒトTRGV4、TRGV2及びTRGV8に対応する。ヒトTRGV4は、配列番号1のアミノ酸1～99に対応する。ヒトTRGV2及びTRGV8は、それぞれ、配列番号335及び336に対応するアミノ酸配列に対応する。

【0027】

本発明の更なる態様によれば、本明細書で定義される方法によって得られる抗体が提供される。

【図面の簡単な説明】

【0028】

【図1】本発明の例示的な抗V₄抗体の相補性決定領域(CDR)配列。本発明の例示的な抗V₄抗体のCDR配列が示される。対応する配列番号を各配列の右側に示す。

【図2】DELFLIA Elisaアッセイによるヘテロ二量体TCR抗原に対する抗体特異性。(A)QC評価(分析用SEC-HPLC)に合格し、ヒトV₄鎖に対する特異性も示したすべての抗体の結果を示す。これらの抗体(X軸)は、それぞれ4つの異なる組換えヘテロ二量体のヒトTCR(DV1-GV4、DV2-GV4、DV1-GV2、DV1-GV8)に対する結合について試験した。対照には、アイソタイプ対照抗ニワトリリゾチームD1.3抗体(自社製、左端)に加えて、抗V₁抗体REA173(Miltenyi)及びTS8.2(Fisher)-右端が含まれる。(B)(A)に示したデータの定量化、更に各例示のクローンのヒトV₄鎖対ヒトV₂鎖への結合の倍数変化の増加を示す。

【図3】組換え抗原または組換え細胞表面受容体のいずれかとして示されるV₄V₁TCRに結合する抗体の比較。(A)Delflia ELISAを介したDV1-GV4抗原(Y軸)またはJRT3-hu17細胞(X軸)のいずれかに結合する抗体の正規化及び対数変換X/Yプロット。垂直の灰色の点線は、この実験のJRT3-hu17結合について陰性(左)及び陽性(右)とみなされたmAbのカットオフを示す。X軸のgMFIシグナルは、各構築物間のTCR発現の変動を説明するためにCD3に正規化した。(B)陰性/陽性カットオフを更に示すフローデータプロット。抗体G4_26(中央左の図)は陰性群の中で最も高い正規化されたgMFI値を示し、陰性アイソタイプ対照(D1.3、左端の図)と同様のプロットを示す。G4_15(中央の図)は、陽性群の中で最も低い正規化されたgMFI値を有し、D1.3アイソタイプ対照と比較した場合、弱いながらも明確な染色の増強を示す。中間(G4_16、中央右)及び強力(G4_18、右端)なシグナルの例も参照用に提供されている。

【図4】異なるCDR3配列を含有する及び/または異なるデルタ鎖と対になった組換え発現V₄TCRの図に対する抗体結合。(A)Jurkat細胞で発現した組換えTCRに対して作製された抗体結合シグナルのヒストグラム表現。系列分析は以下のように示された。V₄V₁-hu17に対する抗体結合シグナル(黒い棒)、V₄V₁-hu20に対する抗体結合シグナル(横縞の棒)、V₄V₂-hu20-PBに対する抗体結合シグナル(ストライプの棒)、V₄V₅-LESに対する抗体結合シグナル(白い棒)。JRT3細胞内の異なるTCRコンストラクト間のTCR発現の変動を説明するために、CD3に正規化されたすべての結合シグナル。(B)すべてのV₄TCRに対して陽性を示した例示の抗体(G4_3)対一部のV₄TCRに対してのみ陽性を示した別のリード抗体(G4_4)の間の違いを更に説明するための、この実験における2つのリード抗体のフローデータの例。

【図5】JRT3細胞で発現したキメラhu17TCRに対する抗体結合及びエピトープマッピング。(A)示されたキメラhu17構築物の生殖細胞系列にコードされたガンマ可変領域のアラインメントが提示されている。スペースの制限により、成熟V₂/3/4配列の最初の10のアミノ酸(配列番号256のアミノ酸1～10[SSNLEGR T

10

20

30

40

50

K S]) は省略されているが、すべての構築物で同一であることに留意されたい。参照 h u 1 7 配列とは異なるアミノ酸 (野生型 V 4 T C R) が示されている。(B) 示されたキメラ T C R 構築物に対する各抗体の反応性をまとめた表。結果は、 J R T 3 細胞で発現した個々の T C R に対する示された各抗体の相対的な結合特異性を強調している。(C) この実験で観察された異なる結合シグナルを説明するためのエピトープマッピングのフローデータの例。

【図 6】 V 4 T C R (h u 1 7) 発現細胞の抗体結合及び付与された機能の例。(A) J R T 3 - h u 1 7 細胞に結合したすべての例示の抗体を示す J R T 3 - h u 1 7 への抗体の滴定結合。 h u 1 7 の発現が抗体結合に必須であることを示す、陰性対照として使用された非形質導入 J R T 3 細胞 (T C R なし)。(B) 滴定抗体によって付与された T C R 下方制御対陽性対照抗体：抗 C D 3 (U C H T - 1、 B i o l e g e n d) または抗 p a n - T C R (B 1、 B i o l e g e n d) によって付与された下方制御。(C) 滴定抗体によって付与された C D 6 9 上方制御対比較抗体：抗 C D 3 (U C H T - 1、 B i o l e g e n d) または抗 p a n - T C R (B 1、 B i o l e g e n d) によって観察された上方制御。

【図 7】 初代 V 4 陽性細胞の抗体標的化及び調節の例。(A) 本発明のすべての例示的な抗体が用量依存的に初代皮膚由来 V 4 + T 細胞に結合できることを示す、2 人の個別のドナーの皮膚から増えた初代 V 4 + T 細胞への抗 V 4 抗体の滴定結合。アイソタイプ対照を、例示の抗体の V 4 に対する特異性を示す陰性対照として使用した。(B) 本発明の実質的にすべての例示の抗体が初代血液由来 V 4 + T 細胞に結合できることを示す、末梢血単核細胞 (P B M C) 由来 V 4 + T 細胞への抗 V 4 抗体の結合。 R S V アイソタイプ対照を陰性対照として使用した。(C) この細胞集団に 3 つの例示の抗体すべてが結合することを示す、抗 V 4 抗体 G 4 _ 3、 G 4 _ 1 2 及び G 4 _ 1 8 の結腸直腸癌 (C R C) 患者からの腸由来上皮内リンパ球 (I E L) への結合。細胞を、単一の生 +、 I g G 1 + (V 4) + としてゲーティングした。(D) 例示の抗体 G 4 _ 1 8 を使用して V 4 + 細胞を同定できることを示す、抗 V 4 抗体で刺激する前の腸消化物中の V 4 + T 細胞の表現型。単一の生細胞の 1 . 4 % は V 1 + である。これらのうち、 4 4 . 2 % が V 4 と対になっており、これらは組織残留のマーカーを表示した (C D 6 9 + C D 1 0 3 +)。(E) 代表的な F A C S プロットで示す、例示の抗体 G 4 _ 1 2 及び G 4 _ 1 8 それぞれによって付与された T C R 下方制御対アイソタイプ陰性対照によって付与された下方制御。

【図 8】 初代ヒト V 4 T 細胞の数を増加させるための V 4 特異的抗体の使用。(A) I L - 2 または I L - 2 + I L - 1 5 の存在下でアイソタイプ対照と比較した、プレート結合抗 V 4 クローン G 4 _ 1 2 を用いた P B M C の 1 4 日間の培養後の V 4 T 細胞 (クローン G 4 _ 1 8 での染色により決定) の増加を例示するフローデータ。(B) I L - 2 または I L - 2 + I L - 1 5 の存在下でアイソタイプ対照コントロールと比較した、2 人のドナーの P B M C をプレート結合抗 V 4 クローン G 4 _ 1 2 で 7 日間 (上段) 及び 1 4 日間 (下段) 培養した後の V 4 T 細胞の増加 (クローン G 4 _ 1 8 での染色により決定) の要約。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 2 9 】

定義

特に定義されない限り、本明細書で使用されるすべての技術用語及び科学用語は、本発明が属する分野の当業者によって一般的に理解される意味を有する。本明細書で使用する場合、以下の用語は、下記のそれぞれ与えられる意味を有する。

【 0 0 3 0 】

ガンマデルタ () T 細胞は、表面に別個の典型的な T 細胞受容体 (T C R) を発現する T 細胞のサブセットを表す。この T C R は、 1 つのガンマ () 鎖及び 1 つのデルタ () 鎖から構成されている。各鎖には、可変 (V) 領域、定常 (C) 領域、膜貫通領域、及び細胞質尾部が含まれている。 V 領域には、抗原結合部位が含まれている。ヒト

10

20

30

40

50

T細胞には2つの主要なサブタイプがあり、1つは末梢血で優勢であり、もう1つは非造血組織で優勢である。2つのサブタイプは、細胞に存在する及び/またはの種類によって定義され得る。例えば、血液に存在するT細胞の多くはV₂TCR、例えばV₉V₂を発現するが、これは組織に存在するT細胞ではあまり一般的ではなく、例えば皮膚ではV₁を、腸ではV₄をより頻繁に使用する。「V₄T細胞」とは、V₄鎖を有するT細胞、すなわちV₄+細胞を指す。

【0031】

「ガンマ可変4」とは、V₄またはVg₄とも称され得る。ガンマ可変4ポリペプチド、またはこの領域を含有するTCR鎖をコードするヌクレオチド、またはこの領域を含むTCRタンパク質複合体は、「TRGV4」と称され得る。TCRのV₄鎖と相互作用する抗体またはその断片はすべて、事実上、V₄に結合する抗体またはその断片であり、「抗TCRガンマ可変4抗体またはその断片」または「抗V₄抗体またはその断片」と称され得る。ヒトV₄ポリペプチドとは、配列番号1のアミノ酸1~99に対応するアミノ酸配列を有するポリペプチドを意味し得る。この99のアミノ酸配列は、配列番号334にも対応する。したがって、配列番号1のアミノ酸1~99への本明細書での言及は、本発明のすべての態様及び実施形態にしたがって配列番号334への言及と交換可能に使用され得ることを理解されたい。例えば、配列番号1のアミノ酸領域67~82への本明細書での言及は、配列番号334のアミノ酸領域67~82と同等であり、本明細書で交換可能に使用され得る。

10

【0032】

「デルタ可変1」とは、V₁またはVd₁とも称され得る。デルタ可変1ポリペプチド、またはこの領域を含有するTCR鎖をコードするヌクレオチド、またはこの領域を含むTCRタンパク質複合体は、「TRDV1」と称され得る。TCRのV₁鎖と相互作用する抗体またはその断片はすべて、事実上、V₁に結合する抗体またはその断片であり、「抗TCRデルタ可変1抗体またはその断片」または「抗V₁抗体またはその断片」と称され得る。ヒトV₁ポリペプチドとは、配列番号337に対応するアミノ酸配列を有するポリペプチドを意味し得る。

20

【0033】

「ガンマ可変2」とは、V₂またはVg₂とも称され得る。ガンマ可変2ポリペプチド、またはこの領域を含有するTCR鎖をコードするヌクレオチド、またはこの領域を含むTCRタンパク質複合体は、「TRGV2」と称され得る。TCRのV₂鎖と相互作用する抗体またはその断片はすべて、事実上、V₂に結合する抗体またはその断片であり、「抗TCRガンマ可変2抗体またはその断片」または「抗V₂抗体またはその断片」と称され得る。ヒトV₂ポリペプチドとは、配列番号335に対応するアミノ酸配列を有するポリペプチドを意味し得る。

30

【0034】

「ガンマ可変8」とは、V₈またはVg₈とも称され得る。ガンマ可変8ポリペプチド、またはこの領域を含有するTCR鎖をコードするヌクレオチド、またはこの領域を含むTCRタンパク質複合体は、「TRGV8」と称され得る。TCRのV₈鎖と相互作用する抗体またはその断片はすべて、事実上、V₈に結合する抗体またはその断片であり、「抗TCRガンマ可変8抗体またはその断片」または「抗V₈抗体またはその断片」と称され得る。ヒトV₈ポリペプチドとは、配列番号336に対応するアミノ酸配列を有するポリペプチドを意味し得る。

40

【0035】

「抗体」という用語は、少なくとも1つの抗原結合部位(ABS)を含む、少なくとも1つの抗体可変ドメインを含む、任意の抗体タンパク質構築物を含む。抗体には、IgA型、IgG型、IgE型、IgD型、IgM型(及び、そのサブタイプ)の免疫グロブリンが含まれるが、これらに限定されない。2つの同一の重鎖(H)鎖ポリペプチド及び2つの同一の軽(L)鎖ポリペプチドから組み立てられた免疫グロブリンG(IgG)抗体の全体的な構造は十分に確立されており、哺乳動物で高度に保存されている(Padla

50

n (1 9 9 4) M o l . I m m u n o l . 3 1 : 1 6 9 - 2 1 7) 。

【 0 0 3 6 】

従来の抗体または免疫グロブリン (I g) は、4つのポリペプチド鎖、2つの重 (H) 鎖と2つの軽 (L) 鎖を含むタンパク質である。各鎖は、定常領域と可変ドメインに分割される。重 (H) 鎖可変ドメインは本明細書ではVHと略され、軽 (L) 鎖可変ドメインは本明細書ではVLと略される。これらのドメイン、それに関連するドメイン及びそれ由来するドメインは、本明細書では免疫グロブリン鎖可変ドメインと称され得る。VHドメイン及びVLドメイン (VH領域及びVL領域とも称される) は、フレームワーク領域 (FR) と称されるより保存されている領域と共に散在する、相補性決定領域 (CDR) と称される領域に更に分割され得る。フレームワーク領域及び相補性決定領域は、明確に定義されている (K a b a t e t a l . S e q u e n c e s o f P r o t e i n s o f I m m u n o l o g i c a l I n t e r e s t , F i f t h E d i t i o n U . S . D e p a r t m e n t o f H e a l t h a n d H u m a n S e r v i c e s , (1 9 9 1) N I H P u b l i c a t i o n N u m b e r 9 1 - 3 2 4 2) 。 C D R 配列について別の番号付け規則もある。例えば、C h o t h i a e t a l . (1 9 8 9) N a t u r e 3 4 2 : 8 7 7 - 8 8 3 に記載。従来の抗体において、各VH及びVLは、アミノ末端からカルボキシ末端へと以下の順序、FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4で配列される、3つのCDR及び4つのFRからなる。2つの重免疫グロブリン鎖及び2つの軽免疫グロブリン鎖の従来の抗体四量体は、例えばジスルフィド結合によって相互接続された重免疫グロブリン鎖及び軽免疫グロブリン鎖、ならびに同様に接続された重鎖で形成される。重鎖定常領域は、3つのドメインCH1、CH2及びCH3を含む。軽鎖定常領域は、1つのドメインCLからなる。重鎖の可変ドメイン及び軽鎖の可変ドメインは、抗原と相互作用する結合ドメインである。抗体の定常領域は、通常、免疫系の様々な細胞 (例えば、エフェクター細胞) 及び古典的補体系の第1の構成要素 (C 1 q) を含めた、宿主組織または因子への抗体の結合を媒介する。

【 0 0 3 7 】

本明細書で使用する場合、抗体の断片 (「抗体断片」、 「免疫グロブリン断片」、 「抗原結合断片」または「抗原結合ポリペプチド」とも称され得る) は、標的に特異的に結合する抗体の一部 (または前記一部を含有する構築物) 、 T細胞受容体のガンマ可変4 (V 4) 鎖 (例えば、1つ以上の免疫グロブリン鎖が完全長ではないが標的に特異的に結合する分子) と称される。抗体断片という用語に含まれる結合断片の例には、以下が含まれる。

- (i) F a b 断片 (V L ドメイン、 V H ドメイン、 C L ドメイン及び C H 1 ドメインからなる一価の断片) 、
- (i i) F (a b ') 2 断片 (ヒンジ領域におけるジスルフィド架橋により結合される2つのF a b 断片からなる二価の断片) 、
- (i i i) F d 断片 (V H ドメイン及び C H 1 ドメインからなる) 、
- (i v) F v 断片 (抗体の単一群の V L ドメイン及び V H ドメインからなる) 、
- (v) 一本鎖可変断片 s c F v (組換え法を使用して、 V L 領域と V H 領域が対になって1価の分子を形成する1本のタンパク質鎖として作製されるのを可能にする合成リンカーによって結合した V L ドメイン及び V H ドメインからなる) 、
- (v i) V H (V H ドメインからなる免疫グロブリン鎖可変ドメイン) 、
- (v i i) V L (V L ドメインからなる免疫グロブリン鎖可変ドメイン) 、
- (v i i i) ドメイン抗体 (d A b 、 V H ドメインまたは V L ドメインのいずれかからなる) 、
- (i x) ミニボディ (C H 3 ドメインを介して結合されている s c F v 断片の対からなる) 、
- (x) ダイアボディ (小さなペプチドリンカーによって別の抗体からの V L ドメインに接続された1つの抗体からの V H ドメインからなる、 s c F v 断片の非共有結合二量体か

らなる)。

【0038】

「ヒト抗体」とは、ヒト生殖系免疫グロブリン配列に由来する可変領域及び定常領域を有する抗体を指す。前記ヒト抗体を投与されたヒト対象は、前記抗体内に含有される一次アミノ酸に対する種間抗体応答(例えば、HAMMA-ヒト抗マウス抗体-応答と称される)を生成しない。前記ヒト抗体は、例えばCDR、特にCDR3において、ヒト生殖系免疫グロブリン配列によってコードされないアミノ酸残基(例えば、ランダムまたは部位特異的突然変異誘発または体細胞突然変異によって導入される突然変異)を含み得る。しかしながら、前記用語は、マウスなどの別の哺乳動物種の生殖系に由来するCDR配列がヒトフレームワーク配列に移植されている抗体を含むことを意図していない。宿主細胞内に形質転換された組換え発現ベクターを使用して発現した抗体、組換えコンビナトリアルヒト抗体ライブラリから単離された抗体、ヒト免疫グロブリン遺伝子について遺伝子導入した動物(例えば、マウス)から単離された抗体など組換え手段により調製、発現、作成もしくは単離されたヒト抗体、または他のDNA配列へのヒト免疫グロブリン遺伝子配列のスプライシングを含有する任意の他の手段により調製、発現、作成もしくは単離された抗体は、「組換えヒト抗体」とも称され得る。

10

【0039】

非ヒト免疫グロブリン可変ドメインのフレームワーク領域の少なくとも1つのアミノ酸残基をヒト可変ドメインからの対応する残基で置換することは、「ヒト化」と称される。可変ドメインのヒト化は、ヒトの免疫原性を低下させ得る。

20

【0040】

「特異性」とは、特定の抗体もしくはその断片が結合できる異なる種類の抗原または抗原決定基の数を指す。抗体の特異性は、特定の抗原を固有の分子実体として認識し、それを別の抗原と区別する抗体の能力である。抗原またはエピトープに「特異的に結合する」抗体は、当技術分野でよく理解されている用語である。分子が、他の標的との反応よりも特定の標的抗原またはエピトープとより頻繁に、より迅速に、より持続的に及び/またはより高い親和性で反応する場合、前記分子は「特異的結合」を示すと言われる。抗体が、他の物質と結合するよりも高い親和性、結合活性で、より容易に及び/または高い持続性で結合する場合、前記抗体は、標的抗原またはエピトープに「特異的に結合する」。結合が関連性のない結合剤と比較して統計的に有意である場合、抗体(またはその断片)は、標的に特異的に結合するとみなされ得る。

30

【0041】

抗原と抗原結合ポリペプチドとの解離に関する平衡定数(KD)によって表される「親和性」とは、抗原決定基と抗体(またはその断片)上の抗原結合部位との間の結合強度の尺度である。KDの値が小さいほど、抗原決定基と抗原結合ポリペプチドとの間の結合強度は強くなる。あるいは、親和性は、親和定数(KA)、 $1/KD$ として表すこともできる。親和性は、目的の特定の抗原に応じて、既知の方法で決定することができる。例えば、KDは、表面プラズモン共鳴によって決定され得る。

【0042】

10^{-6} 未満の任意のKD値は、結合を示しているとみなされる。抗体またはその断片の抗原または抗原決定基への特異的結合は、例えば、スキャッチャード分析及び/またはラジオイムノアッセイ(RIA)、酵素イムノアッセイ(EIA)及びサンドイッチ競合アッセイなどの競合結合アッセイ、平衡透析、平衡結合、ゲル濾過、ELISA、表面プラズモン共鳴、または分光法(例えば蛍光アッセイを使用)、ならびに当技術分野で既知のこれらの様々な変形を含む、任意の適切な既知の方法で決定することができる。

40

【0043】

「結合活性」は、抗体またはその断片と関連する抗原との間の結合の強さの尺度である。結合活性は、抗原決定基と抗体上のその抗原結合部位との間の親和性、及び抗体上に存在する適切な結合部位の数の両方に関連している。

【0044】

50

「ヒト組織 V₄+細胞」ならびに「造血及び血液 V₄+細胞」ならびに「腫瘍浸潤リンパ球 (TIL) V₄+細胞」は、それぞれヒト組織もしくは造血血液系もしくはヒト腫瘍に含まれる、またはそれらに由来する V₄+細胞として定義される。すべての前記細胞型は、それらの (i) 位置またはそれらが由来する場所、及び (ii) V₄+TCR のそれらの発現によって同定することができる。

【0045】

適切には、本発明の抗体またはその断片 (すなわち、ポリペプチド) は単離される。「単離された」ポリペプチドは、元の環境から除去されたものである。「単離された」という用語を使用して、異なる抗原特異性を有する他の抗体を実質的に含まない抗体 (例えば、V₄ に特異的に結合する単離された抗体またはその断片は、V₄ 以外の他の抗原に特異的に結合する抗体を実質的に含まない) を指すことができる。「単離された」という用語を使用して、医薬組成物の有効成分として処方された場合、単離された抗体が、治療的に投与されるのに十分な純度である、または少なくとも 70% ~ 80% (w/w) の純度である、より好ましくは少なくとも 80% ~ 90% (w/w) の純度である、更により好ましくは 90 ~ 95% の純度である、及び最も好ましくは少なくとも 95%、96%、97%、98%、99% もしくは 100% (w/w) の純度である調整剤を指すこともできる。

【0046】

適切には、本発明で使用されるポリヌクレオチドは単離されている。「単離された」ポリヌクレオチドは、元の環境から除去されたものである。例えば、天然に存在するポリヌクレオチドは、それが天然系で共存する材料のいくつかまたはすべてから分離されている場合に単離されている。ポリヌクレオチドは、例えば、それがその自然環境の一部ではないベクターにクローン化されている場合、またはそれが cDNA 内に含まれている場合、単離されたとみなされる。

【0047】

抗体またはその断片は、天然に存在する対立遺伝子変異体及び突然変異体または他の任意の天然には存在しない変異体も含む「機能的に活性な変異体」であり得る。当技術分野で既知のように、対立遺伝子変異体は、ポリペプチドの生物学的機能を本質的に変化させない 1 つ以上のアミノ酸の置換、欠失または付加を有することを特徴とする (ポリ) ペプチドの代替形態である。非限定的な例として、CDR を含有するフレームワークが改変される時、CDR 自体が改変される時、前記 CDR が代替のフレームワークにグラフトされる時、または N 末端もしくは C 末端の伸長が組み込まれる時、前記機能的に活性な変異体は依然として機能し得る。更に、CDR 含有結合ドメインは、別の抗体と共有されるものなどの異なるパートナー鎖と対にされ得る。いわゆる「共通の」軽鎖または「共通の」重鎖と共有した場合、前記結合ドメインは依然として機能し得る。更に、前記結合ドメインは、多量体化されたときに機能し得る。更に、「抗体またはその断片」はまた、VH もしくは VL もしくは定常ドメインが異なるカノニカル配列 (例えば、IMGT.org に記載されているような) から離れてまたはそれに向かって改変され、かつ依然として機能する機能性変異体を含み得る。

【0048】

2 つの密接に関連するポリペプチド配列を比較する目的で、第 1 のポリペプチド配列と第 2 のポリペプチド配列との間の「% の配列同一性」とは、ポリペプチド配列の標準設定 (BLASTP) を使用する NCBI BLAST v 2.0 を使用して計算され得る。2 つの密接に関連するポリヌクレオチド配列を比較する目的で、第 1 のヌクレオチド配列と第 2 のヌクレオチド配列との間の「% の配列同一性」とは、ヌクレオチド配列の標準設定 (BLASTN) を使用する NCBI BLAST v 2.0 を使用して計算され得る。

【0049】

ポリペプチド配列またはポリヌクレオチド配列は、それらがその全長にわたって 100% の配列同一性を共有する場合、他のポリペプチド配列またはポリヌクレオチド配列と同じまたは「同一」であると言われる。配列内の残基は、左から右に、すなわちポリペプチ

10

20

30

40

50

ドのN末端からC末端に、ポリヌクレオチドの5'末端から3'末端に番号が付けられる。

【0050】

いくつかの実施形態において、配列の任意の特定の%の配列同一性とは、抗体の6つすべてのCDRの配列なしで計算される。例えば、抗V_H4抗体またはその抗原結合断片は、特定の可変重鎖領域配列に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%の同一性を有する可変重鎖領域配列、及び/または特定の可変軽鎖領域配列に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%の同一性を有する可変軽鎖領域配列を含み得、任意のアミノ酸変異は、可変重鎖領域配列及び可変軽鎖領域配列のフレームワーク領域でのみ発生する。そのような実施形態において、特定の配列同一性を有する抗V_H4抗体またはその断片は、対応する抗V_H4抗体またはその断片の完全な重鎖及び軽鎖CDR1、CDR2ならびにCDR3配列を保持する。

10

【0051】

配列間の「差異」とは、第1の配列と比較して、第2の配列の位置における単一のアミノ酸残基の挿入、欠失または置換を指す。2つのポリペプチド配列は、1つ、2つまたはそれ以上のそのようなアミノ酸の差異を含むことができる。第1の配列と他の点では同一である(100%の配列同一性)第2の配列の挿入、欠失または置換により、配列同一性の割合が減少する。例えば、同一の配列が9アミノ酸残基長である場合、第2の配列の1つの置換により、88.9%の配列同一性になる。第1のポリペプチド配列及び第2のポリペプチド配列が9のアミノ酸残基長であり、6の同一の残基を共有する場合、第1のポリペプチド配列及び第2のポリペプチド配列は、66%を超える同一性を共有する(第1のポリペプチド配列及び第2のポリペプチド配列は、66.7%の同一性を共有する)。

20

【0052】

あるいは、第1の参照ポリペプチド配列を第2の比較ポリペプチド配列と比較する目的で、第2の配列を生成するために第1の配列に対して行われた付加、置換及び/または欠失の数は確認され得る。「付加」とは、第1のポリペプチドの配列への1つのアミノ酸残基の付加である(第1のポリペプチドのいずれかの末端での付加を含む)。「置換」とは、第1のポリペプチドの配列における1つのアミノ酸残基を1つの異なるアミノ酸残基で置換することである。前記置換は、保存的でも非保存的でもよい。「欠失」とは、第1のポリペプチドの配列からの1つのアミノ酸残基の欠失である(第1のポリペプチドのいずれかの末端での欠失を含む)。

30

【0053】

3文字及び1文字の表記を使用して、天然に存在するアミノ酸は以下のように表される。グリシン(GまたはGly)、アラニン(AまたはAla)、バリン(VまたはVal)、ロイシン(LまたはLeu)、イソロイシン(IまたはIle)、プロリン(PまたはPro)、フェニルアラニン(FまたはPhe)、チロシン(YまたはTyr)、トリプトファン(WまたはTrp)、リジン(KまたはLys)、アルギニン(RまたはArg)、ヒスチジン(HまたはHis)、アスパラギン酸(DまたはAsp)、グルタミン酸(EまたはGlu)、アスパラギン(NまたはAsn)、グルタミン(QまたはGln)、システイン(CまたはCys)、メチオニン(MまたはMet)、セリン(SまたはSer)及びスレオニン(TまたはThr)。残基がアスパラギン酸またはアスパラギンであり得る場合、記号AsxまたはBを使用し得る。残基がグルタミン酸またはグルタミンである得る場合、記号GlxまたはZを使用し得る。文脈で別段の定めがない限り、アスパラギン酸への言及にはアスパラギン酸塩が含まれ、グルタミン酸にはグルタミン酸塩が含まれる。

40

【0054】

「保存的」アミノ酸置換は、アミノ酸残基が類似の化学構造の別のアミノ酸残基で置き換えられ、ポリペプチドの機能、活性または他の生物学的特性にほとんど影響を及ぼさないと予想されるアミノ酸置換である。そのような保存的置換は、適切には、以下の群内の

50

1つのアミノ酸が同じ群内からの別のアミノ酸残基によって置換される置換である。

【表1】

群	アミノ酸残基
非極性脂肪族	グリシン
	アラニン
	バリン
	メチオニン
	ロイシン
	イソロイシン
芳香族	フェニルアラニン
	チロシン
	トリプトファン
極性無電荷	セリン
	スレオニン
	システイン
	プロリン
	アスパラギン
	グルタミン
負電荷	アスパラギン酸塩
	グルタミン酸塩
正電荷	リジン
	アルギニン
	ヒスチジン

10

20

30

【0055】

適切には、疎水性アミノ酸残基は非極性アミノ酸である。より適切には、疎水性アミノ酸残基は、V、I、L、M、F、WまたはCから選択される。いくつかの実施形態において、疎水性アミノ酸残基は、グリシン、アラニン、バリン、メチオニン、ロイシン、イソロイシン、フェニルアラニン、チロシンまたはトリプトファンから選択される。

【0056】

本明細書で使用する場合、ポリペプチド配列の番号付けならびにCDR及びFRの定義は、Kabatシステムに従って定義されるとおりである（Kabat et al., 1991、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）。第1のポリペプチド配列と第2のポリペプチド配列との間の「対応する」アミノ酸残基は、第2の配列のアミノ酸残基とKabatシステムに従って同じ位置を共有する第1の配列のアミノ酸残基であり、一方で第2の配列は、第1の配列とは同一性が異なる場合がある。フレームワーク及びCDRがKabatの定義に従って同じ長さである場合、適切に対応する残基は同じ番号（及び文字）を共有する。アラインメントは、手動で、または例えば、標準設定を使用するNCBI BLASTv2.0（BLASTPまたはBLASTN）などの配列アラインメントのための既知のコンピュータアルゴリズムを使用することによって達成することができる。

40

【0057】

50

本明細書での「エピトープ」とは、抗体またはその断片によって特異的に結合される標的の一部を指す。エピトープは「抗原決定基」とも称され得る。抗体は、両方が同一または立体的に重複するエピトープを認識する場合、別の抗体と「本質的に同じエピトープ」に結合する。2つの抗体が同一または重複するエピトープに結合するかどうかを判断するために一般的に使用される方法は、競合アッセイである。これは、標識抗原または標識抗体のいずれかを使用して複数の様々な形式で構成され得る（例えば、放射性標識もしくは酵素標識を使用したウェルプレート、または抗原発現細胞でのフローサイトメトリー）。抗体は、両方が同一のエピトープを認識する場合（つまり、抗原と抗体の間のすべての接触点と同じである場合）、別の抗体と「同じエピトープ」に結合する。例えば、抗体/抗原架橋結合MS、HDX、X線結晶解析、クライオ電子顕微鏡、突然変異誘発などの特性評価法を用いて、抗原の特定領域におけるすべての接触点と同じであると特定された場合、抗体は別の抗体と同じエピトープに結合し得る。

10

【0058】

更に、このような特性評価法を活用して、同一の接触点のすべてではないがいくつかを認識することによって、本質的に同じエピトープに結合する抗体を特性評価することも可能である。具体的には、このような抗体は、特定の抗原領域において十分な数の同一の接触点を共有して、ほぼ同等の技術的効果及び/または同等の抗原相互作用の選択性を提供し得る。更に、抗体が本質的に同じエピトープを認識し、ほぼ同等の技術的効果及び/または相互作用の選択性を付与するいくつかの場合において、最N末端の抗原接触点から最C末端の抗原接触点までを含む抗原接触の全体によってエピトープ結合フットプリントを定義することも有用であり得る。

20

【0059】

タンパク質標的に見られるエピトープは、「線状エピトープ」または「配座エピトープ」として定義され得る。線状エピトープは、タンパク質抗原のアミノ酸の連続配列によって形成される。配座エピトープは、タンパク質配列が不連続であるが、タンパク質がその三次元構造に折りたたまれると一緒にアミノ酸で形成されている。

【0060】

本明細書で使用する場合「ベクター」という用語は、核酸分子であって、それが連結した別の核酸を輸送することができる核酸分子を指すよう意図されている。ベクターの一種には「プラスミド」があり、これは、追加のDNAセグメントがライゲーションされ得る円形の二本鎖DNAループを指す。別の種類のベクターはウイルスベクターであり、追加のDNAセグメントがウイルスゲノムにライゲーションされ得る。特定のベクターは、それらが導入される宿主細胞における自己複製が可能である（例えば、細菌起源の複製を有する細菌ベクターならびにエピソーム哺乳動物及び酵母ベクター）。他のベクター（例えば、非エピソーム哺乳動物ベクター）は、宿主細胞への導入の際に宿主細胞のゲノムに組み込まれ得、それにより、宿主ゲノムと共に複製される。更に、特定のベクターは、それらが作動可能に結合された遺伝子の発現を司ることができる。このようなベクターは、本明細書において「組換え発現ベクター」（または単に「発現ベクター」と称される。一般に、組換えDNA技法で利用される発現ベクターは、プラスミドの形態であることが多い。本明細書において「プラスミド」及び「ベクター」は、プラスミドが最も一般的に使用されるベクターの形態であるため、同じ意味で使用され得る。しかしながら、本発明は、同等の機能を果たすウイルスベクター（例えば、複製欠損レトロウイルス、アデノウイルス及びアデノ随伴ウイルス）、ならびにバクテリオファージ及びファージミド系などの他の形態の発現ベクターを含むことが意図されている。本明細書で使用する場合、「組換え宿主細胞」（または単に「宿主細胞」という用語は、組換え発現ベクターが導入されている細胞を指すことが意図されている。このような用語は、特定の対象細胞だけでなく、例えば、子孫が、その後任意に保存、提供、販売、譲渡、または本明細書に記載の抗体またはその断片を製造するために利用される細胞株または細胞バンクを作製するために利用される場合、このような細胞の前記子孫を指すことが意図されている。

30

40

【0061】

50

「対象」、「患者」または「個人」とは、治療される対象、特に哺乳動物対象を指す。哺乳動物対象には、ヒト、非ヒト霊長類、家畜（牛など）、競技用動物、またはイヌ、ネコ、モルモット、ウサギ、ラットもしくはマウスなどの愛玩動物が含まれる。いくつかの実施形態において、対象はヒトである。代替の実施形態において、対象はマウスなどの非ヒト哺乳動物である。

【0062】

「十分な量」という用語は、所望の効果を生成するのに十分な量を意味する。「治療上有効な量」という用語は、疾患または障害の症状を改善するのに有効な量である。予防は治療とみなすことができるため、治療上有効な量は「予防上有効な量」であり得る。

【0063】

疾患もしくは障害の徴候もしくは症状の重症度、このような徴候もしくは症状が対象によって経験される頻度、またはその両方が減少した場合、疾患または障害は「改善」されている。

【0064】

本明細書で使用する場合、「疾患または障害を治療すること」とは、対象が経験した疾患もしくは障害の少なくとも1つの徴候もしくは症状の頻度及び/または重症度を低減することを意味する。

【0065】

本明細書で使用する場合、「がん」とは、細胞の異常な増殖または分裂を指す。一般的に、がん細胞の増殖及び/または寿命は、その周囲の正常な細胞及び組織の増殖及び/または寿命を超えており、協調していない。がんは、良性、前悪性または悪性であり得る。がんは、様々な細胞及び組織で発生する。

【0066】

「炎症」とは、炎症を起こした細胞、細胞型、組織もしくは臓器をもたらす慢性または急性の免疫系の誘発を指す。

【0067】

本明細書で使用する場合、「約」という用語は、指定された値より10%大きいもの及び10%低いものを含み、好適には指定された値より5%大きいもの及び5%低いものを含み、特に指定された値を含む。「間」という用語には、指定された境界の値が含まれる。

【0068】

T細胞の *in vivo* での調節方法

本発明の一態様によれば、本明細書で定義される抗V₄抗体またはその断片を患者に投与することを含む、ガンマ可変4鎖(V₄)T細胞を *in vivo* で調節する方法が提供される。

【0069】

V₄T細胞の *in vivo* での調節は、

- 例えばV₄T細胞の数の選択的な増加またはV₄T細胞の生存の促進による、V₄T細胞の増殖、
- 例えばV₄T細胞の能力を高めること、すなわち標的細胞の死滅を増加させること
- V₄T細胞の脱顆粒を含み得る。

【0070】

このようなV₄T細胞の調節は、例えばV₄T細胞の活性化またはV₄T細胞の抑制を含むことができる。一実施形態において、V₄T細胞は、本明細書で定義される抗V₄抗体またはその断片を投与することによって活性化される。代替の実施形態において、V₄T細胞は、本明細書で定義される抗V₄抗体またはその断片を投与することによって抑制される。代替の実施形態において、V₄T細胞は、本明細書で定義される抗V₄抗体またはその断片を投与した後、抑制されない。

【0071】

10

20

30

40

50

一実施形態において、抗TCRガンマ4可変抗体またはその断片を患者に投与することを含む、V4T細胞を調節する方法が提供される。一実施形態において、V4T細胞を*in vivo*で調節する方法で使用するための抗TCRガンマ4可変抗体またはその断片が提供される。一実施形態において、V4T細胞の*in vivo*調節の薬剤の製造における、抗TCRガンマ4可変抗体またはその断片の使用が提供される。

【0072】

一実施形態において、*in vivo*での調節は、V4T細胞の活性化、特にV4T細胞の*in vivo*での増殖を含む。したがって本発明の一態様によれば、本明細書で定義される抗V4抗体またはその断片を患者に投与することを含む、V4T細胞を*in vivo*で増殖させる方法が提供される。このようなV4T細胞の増殖は、V4T細胞の数の選択的増加及び/またはV4T細胞の生存の促進によって達成され得る。

10

【0073】

本明細書で使用する場合「増殖した」という表現は、抗体またはその断片の投与前よりも多くの細胞数を有する患者を意味する。

【0074】

抗体またはその断片

本発明の第1の態様によれば、T細胞受容体(TCR)のガンマ可変4(V4)鎖に特異的に結合する単離された抗体またはその断片が提供される。特に、抗体またはその断片は、TCRのガンマ可変2(V2)鎖に結合(または、それと交差反応)しない。これは、同じ種からのV4鎖及びV2に関していることが理解されるべきである。好ましくは、前記種はホモサピエンス(ヒト)であり、したがって本発明は、T細胞受容体(TCR)のヒトガンマ可変4(V4)鎖に特異的に結合し、TCRのヒトガンマ可変2(V2)鎖には結合しない単離された抗体またはその断片を提供する。例えば、ヒトV4鎖は、配列番号1のアミノ酸1~99による配列を有し得、及び/またはヒトV2鎖は、配列番号335による配列を有し得る。他の種では、単離された抗体またはその断片は、T細胞受容体(TCR)のヒトガンマ可変4(V4)鎖の種特異的オルソログに特異的に結合し、TCRのヒトガンマ可変2(V2)鎖の種特異的オルソログには結合しない。したがって、本発明は、配列番号1のアミノ酸1~99に対応する配列を有するT細胞受容体(TCR)のヒトガンマ可変4(V4)鎖またはその非ヒトオルソログに特異的に結合し、配列番号335に対応する配列を有するTCRのヒトガンマ可変2(V2)鎖またはその非ヒトオルソログには結合しない、単離された抗体またはその断片を提供する。この文脈におけるオルソログとは、参照配列に対して最も高い配列類似性を有するガンマ鎖配列、または好ましくは同じ機能(例えば*in vivo*でオルソログスな同族リガンドとの相互作用)を有するものを意味し得る。例えば、マウスにおいて、V7としてHeilig & Tonegave命名法の下で指定されたタンパク質は、機能的にヒトV4と最も密接に関連している(Barros et al. (2016) Cell, 167: 203-218. e17)。

20

30

【0075】

この展開は深遠である。例えば、ヒトにおいて、V4鎖とV2鎖は、91%の配列同一性を共有している(9つのアミノ酸が異なるだけである)。したがって、これにより、(ヒト)V4に結合しかつ(ヒト)V2に結合しない抗体を得ることが困難であり、本発明以前は、このような抗体を作成することが可能であるとは当技術分野では予想されていなかった。

40

【0076】

TCRのV4鎖に特異的に結合する本発明の抗体またはその断片に言及する場合、これは一般に、抗体またはその断片のV4鎖への結合が陰性対照抗体及び/または陰性対照抗原と比較して統計的に有意に増加することを意味する(例えば、ELISAアッセイ、任意選択でDELTA ELISAアッセイ、またはSPRでの結合を介して測定されるように)。陰性対照抗体及び/または陰性対照抗原に関して検出されたレベルは

50

、当業者であれば十分に理解するようにアッセイシステムにおける「ノイズ」を表す、使用するアッセイのバックグラウンドレベルとみなされ得る。特定の実施形態において、バックグラウンドレベルに対して所定の閾値を超えるシグナルレベルは、結合の検出を表すとみなされ得る（例えば、バックグラウンドレベルの約1倍、2倍、3倍、4倍、5倍以上）。例えば、DELFLIA ELISAアッセイでは、バックグラウンドレベルの5倍以上のシグナルレベルは、抗体の抗原への結合を示しているとみなされ得る。当業者であれば、使用されているアッセイ系に基づいて適切な閾値を決定することが十分に可能である。逆に、TCRのV2鎖に結合しない（または、それと交差反応しない）本発明の抗体またはその断片に言及する場合、これは一般に、抗体またはその断片のV2鎖への結合が陰性対照抗体及び/または陰性対照抗原と比較して統計的に有意に増加しないことを意味する（例えば、ELISAアッセイ、任意選択でDELFLIA ELISAアッセイ、またはSPRでの結合を介して測定されるように）。これは、例えば図2Aに示され、実施例4で説明されている。本明細書に開示される本発明のすべての態様及び実施形態によれば、この特性はまた、抗体またはその断片及びV4鎖対抗体またはその断片及びV2鎖の間で検出された結合レベル（例えば、ELISAアッセイ、任意選択でDELFLIA ELISAアッセイ、またはSPRでの結合を介して測定されるように）における倍率変化差としても表され得る。例えば、抗体またはその断片は、V2鎖への結合と比較して、V4鎖への結合において少なくとも約50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、100倍、150倍、200倍、300倍、400倍、500倍、600倍、700倍、800倍、900倍、1000倍、2000倍、3000倍、4000倍、5000倍、6000倍、7000倍、8000倍、9000倍、10000倍、15000倍、25000倍、50000倍、75000倍、95000倍以上の増加を示すことができる。これは、例えば図2Bに示され、実施例4で説明されている。ただし、このような増倍は、制御を超えるすべてのV2シグナルがバックグラウンドノイズでないとは仮定して計算されているため、保存的であると考えられる。しかし、前述のように、当業者であれば、代わりに、アッセイノイズとしてこのようなDELFLIA ELISAアッセイにおいてバックグラウンドを超える低シグナルを除外することができる（例えば、バックグラウンドレベルの約1倍、2倍、3倍、4倍、5倍以上）ので、これらの閾値を下回るシグナルを非特異的なバックグラウンド結合とみなすことができる。

10

20

30

40

50

【0077】

一実施形態において、抗体またはその断片は、scFv、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、可変ドメイン（例えば、VHまたはVL）、ダイアボディ、ミニボディまたはモノクローナル抗体である。特定の実施形態において、抗体またはその断片はscFvである。別の特定の実施形態において、抗体はモノクローナル抗体である。

【0078】

本発明の抗体は、任意の種類、例えば、IgG、IgA、IgM、IgE、IgDまたはこれらのアイソタイプであり得、カッパ軽鎖またはラムダ軽鎖を含むことができる。一実施形態において、抗体は、IgG抗体、例えば、アイソタイプ、IgG1、IgG2、IgG3またはIgG4のうち少なくとも1つである。一実施形態において、抗体はIgG1である。更なる実施形態において、抗体は、エフェクター機能を低下させる、半減期を延長する、ADCCを変更する、またはヒンジ安定性を改善するために変異したFcを有するなど所望の特性を与えるように改変されたIgG型などの形式であり得る。このような改変は当技術分野では周知であり、例示的な実施形態が本明細書に記載されている。例えば、本発明の抗体またはその断片は、配列番号332または配列番号333によるアミノ酸配列を含むIgG1定常ドメインを含み得る。

【0079】

一実施形態において、抗体またはその断片はヒトである。したがって、抗体またはその断片は、ヒト免疫グロブリン（Ig）配列に由来し得る。抗体（またはその断片）のCDR、フレームワーク及び/または定常領域は、ヒトIg配列、特にヒトIgG配列に由来し得る。CDR、フレームワーク及び/または定常領域は、ヒトIg配列、特にヒトIg

G配列について実質的に同一であり得る。ヒト抗体を使用する利点は、ヒトでの免疫原性が低いか、まったくないことである。

【0080】

抗体またはその断片はまた、キメラ、例えばマウス-ヒト抗体キメラであり得る。

【0081】

あるいは、抗体またはその断片は、マウスなどの非ヒト種に由来する。このような非ヒト抗体は、ヒトにおいて自然に生成される抗体変異体との類似性を高めるように改変することができ、したがって、抗体またはその断片は、部分的または完全にヒト化され得る。したがって、一実施形態において、抗体またはその断片はヒト化されている。

【0082】

エピトープを標的とする抗体

TCRのV₄鎖のエピトープに結合する抗体（またはその断片）が、本明細書で提供される。V₄鎖上のエピトープの結合は、任意選択で、活性化または阻害などのTCR活性に影響を及ぼし得る。抗体（またはその断片）は、別の抗体もしくは分子の結合または相互作用を阻止することによって遮断効果を有し得る。本発明の抗体は、TCRのV₄鎖に特異的であり、本明細書で定義されるように、TCRのV₂鎖またはTCRのV₈鎖などの他の抗原のエピトープに結合しない。

【0083】

一実施形態において、エピトープは、T細胞の活性化エピトープであり得る。「活性化」エピトープは、例えば、TCR下方制御、細胞の脱顆粒、細胞毒性、増殖、動員、生存の延長または消耗に対する耐性、細胞内シグナル伝達、サイトカインもしくは成長因子分泌、表現型の変化、または遺伝子発現の変化などのTCR関連機能の調節を含み得る。例えば、活性化エピトープの結合は、T細胞集団、好ましくはV₄+T細胞集団の拡大（すなわち、増殖）を刺激し得る。したがって、これらの抗体を使用して、T細胞の活性化を調節し、それによって免疫応答を調節することができる。したがって、一実施形態において、活性化エピトープの結合は、TCRを下方制御する。追加のまたは代替の実施形態において、活性化エピトープの結合は、T細胞の脱顆粒を活性化する。更なる追加のまたは代替の実施形態において、活性化エピトープの結合は、T細胞を活性化して、標的細胞（例えば、がん細胞）を死滅させる。

【0084】

一実施形態では、本発明は、V₄を遮断し、TCR結合を阻止する（例えば、立体障害を介して）単離された抗体またはその断片を提供する。V₄を遮断することにより、抗体は、TCRの活性化及び/またはシグナル伝達を阻止することができる。したがって、エピトープは、T細胞の抑制性エピトープであり得る。「抑制性」エピトープは、例えば、TCR機能を遮断し、それによってTCR活性化を阻害することを含み得る。

【0085】

エピトープは、好ましくは、TCRのV₄鎖の少なくとも1つの細胞外、可溶性、親水性、外部または細胞質部分からなる。

【0086】

特定の実施形態において、エピトープは、TCRのV₄鎖の非生殖系コード化領域、特にV₄鎖のCDR3で見いだされるエピトープを含まない。好ましい実施形態において、エピトープは、フレームワーク領域3の超可変4領域であり得る、TCRのV₄鎖のフレームワーク領域内にある。このような結合により、V₄鎖間で大きく変動するTCRの配列（特にCDR3）に制限されることなく、V₄鎖全般を特異的に認識できることが理解されよう。したがって、任意のV₄鎖を含むTCRは、TCRの特異性に関係なく、本明細書で定義される抗体またはその断片を用いて認識され得ることが理解されよう。

【0087】

受容体は、様々な調節リガンドに、独立して及び空間的に異なるドメインを介して結合することができる。このようなマルチモードのリガンド結合と一致して、Me1an

10

20

30

40

50

d r i e t a l . (2 0 1 8) N a t . I m m u n o l . 1 9 : 1 3 5 2 - 1 3 6 5
 による最近の研究は、内因性BTNL3リガンドへのヒトTCRの結合が、4鎖上のCDR3のN末端に位置する個別のドメインを介していることを示している。著者らは、BTNL3結合がTCRのこの特定の生殖系領域を介して媒介されるため、よりC末端の体細胞性の組換えCDR3ループが他のリガンドに独立して自由に結合できることを強調している。更に、フレームワーク領域3(FR3)のこのサブ領域(「超可変領域4」(HV4)とも称される)は、4つのアミノ酸がヒト2鎖と異なる。しかしながら、特定の抗V4抗体はMelandriらには開示されておらず、このような抗体をどのように得られるかも示唆されていない。実際、一般的な見解は、ヒトV4鎖とヒトV2鎖の間で共有される有意な配列相同性(91%の配列同一性)のために、これは不可能である
 というものだった。

10

【0088】

HV4領域内で結合する抗体は、2よりも4に特異的な結合体を提供するという追加の利点と共に、4鎖のCDR3領域が依然として結合するのを可能にし得る。更に、HV4は生殖系にコードされているため、この領域を標的とするいくつかの抗体は、すべてのV4鎖を認識し、V4を認識する他の抗体は特定のV4鎖に特異的であり得る。

【0089】

本発明は、V4鎖のHV4領域に特異的に結合し得る抗体及びその断片を提供する。したがって、一実施形態において、抗体またはその断片は、V4鎖のHV4領域のエピトープに結合する。HV4領域は、配列番号1のアミノ酸67~82を含む。したがって、一実施形態において、エピトープは、配列番号1のアミノ酸領域67~82内の1つ以上のアミノ酸残基、例えば、CDR1、CDR2及び/またはCDR3配列の一部ではないV4鎖の一部を含む。そうすることで、抗体またはその断片は、V4+TCRとBTNL3/8の間の相互作用を調節することができる。一実施形態において、エピトープは、配列番号1のアミノ酸領域96~106(CDR3)内のアミノ酸残基を含まない。一実施形態において、エピトープは、配列番号1のアミノ酸領域50~57(CDR2)内のアミノ酸残基を含まない。一実施形態において、エピトープは、配列番号1のアミノ酸領域27~32(CDR1)内のアミノ酸残基を含まない。

20

【0090】

特定の実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号1のアミノ酸67~82のうちの一つ以上に結合すると、V4+TCRを活性化することができる。

30

【0091】

良好に特性評価されたT細胞と同様に、T細胞は、体細胞性に再構成された可変(V)、多様性(D)(及びのみ)、結合(J)及び定常(C)遺伝子の異なるセットを利用するが、T細胞には、T細胞よりも少ないV、D及びJセグメントが含まれている。一実施形態において、抗体(またはその断片)によって結合されるエピトープは、V4鎖のJ領域に見られるエピトープを含まない。したがって、抗体または断片は、V4鎖のV領域にのみ結合し得る。したがって、一実施形態において、エピトープは、TCRのV領域のエピトープ(例えば、配列番号1のアミノ酸残基1~99)からなる。

40

【0092】

エピトープへの言及は、Luoma et al. (2013) Immunity 39 : 1032 - 1042、及び配列番号1として示されるRC5Bタンパク質データバンクエントリ: 4MNHに記載されているV4配列に関連して行われる。

S S N L E G R T K S V I R Q T G S S A E I T C D L A E G S T G Y I H W Y L H Q E
 G K A P Q R L L Y Y D S Y T S S V V L E S G I S P G K Y D T Y G S T R K N L R M
 I L R N L I E N D S G V Y Y C A T W D E K Y Y K K L F G S G T T L V V T E D L K
 N V F P P E V A V F E P S E A E I S H T Q K A T L V C L A T G F Y P D H V E L S
 W W V N G K E V H S G V C T D P Q P L K E Q P A L N D S R Y A L S S R L R V S A

50

T F W Q N P R N H F R C Q V Q F Y G L S E N D E W T Q D R A K P V T Q I V S A E
A W G R A D S R G G L E V L F Q (配列番号 1)

【 0 0 9 3 】

配列番号 1 は、V 領域 (可変ドメインとも称される) 及び J 領域を含む可溶性 T C R を表す。V 領域はアミノ酸残基 1 ~ 9 9 を含み、J 領域はアミノ酸残基 1 0 2 ~ 1 1 6 を含み、T C R から定常領域はアミノ酸残基 1 1 7 ~ 2 5 6 を含む。V 領域内で、C D R 1 は、配列番号 1 のアミノ酸残基 2 7 ~ 3 2 として定義され、C D R 2 は、配列番号 1 のアミノ酸残基 5 0 ~ 5 7 として定義され、C D R 3 は、配列番号 1 のアミノ酸残基 9 6 ~ 1 0 6 として定義される。

【 0 0 9 4 】

本発明者らは、配列番号 1 のアミノ酸 K 7 6 (すなわち、位置 7 6 のリジン) 及び M 8 0 (すなわち、位置 8 0 のメチオニン) が、(ヒト) V 4 鎖の H V 4 領域への結合に特に重要であり得ることを確認した (実施例 6) 。したがって、エピトープは、配列番号 1 の K 7 6 及び / または M 8 0 を含み得る、またはそれからなり得る。

【 0 0 9 5 】

本発明者らは更に、配列番号 1 のアミノ酸領域 7 1 ~ 7 9 内のアミノ酸が、(ヒト) V 4 鎖の H V 4 領域への結合に特に重要であり得ることを確認した。したがって、更なる実施形態において、エピトープは、配列番号 1 のアミノ酸領域 7 1 ~ 7 9 内の 1 つ以上のアミノ酸残基を含む。

【 0 0 9 6 】

一実施形態において、エピトープは、記載された領域内に 2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、6 つ、7 つ、8 つ、9 つ、1 0 以上など 1 つ以上のアミノ酸残基を含む。

【 0 0 9 7 】

一実施形態において、エピトープは、配列番号 1 のアミノ酸領域 6 7 ~ 8 2 内の 1 つ以上 (例えば 5 つ以上、例えば 1 0 以上) のアミノ酸残基を含む。更なる実施形態において、エピトープは、配列番号 1 のアミノ酸領域 7 1 ~ 7 9 内に 1 つ以上 (例えば 3 つ以上、例えば 5 つ以上) のアミノ酸残基を含む。

【 0 0 9 8 】

前記抗体 (またはその断片) は、定義された範囲内のすべてのアミノ酸に結合する必要はないことが更に理解されよう。このようなエピトープは、線状エピトープと称され得る。例えば、配列番号 1 のアミノ酸領域 6 7 ~ 8 2 内のアミノ酸残基を含むエピトープに結合する抗体は、前記範囲のアミノ酸残基、例えば、任意選択で範囲内のアミノ酸 (すなわち、アミノ酸 7 1、7 3、7 5、7 6 及び 7 9) を含む、範囲の両端のアミノ酸残基 (すなわち、アミノ酸 6 7 及び 8 2) の 1 つ以上とのみ結合し得る。

【 0 0 9 9 】

例えば、本発明者らは、配列番号 1 のアミノ酸残基 7 1、7 3、7 5、7 6 及び 7 9 が、抗 V 4 抗体またはその断片が結合するエピトープを形成し得ることを見いだした (実施例 8) 。したがって、一実施形態において、エピトープは、配列番号 1 のアミノ酸残基 7 1、7 3、7 5、7 6 及び 7 9 のうちの少なくとも 1 つを含む。更なる実施形態において、エピトープは、配列番号 1 のアミノ酸残基 7 1、7 3、7 5、7 6 及び 7 9 から選択される 1 つ、2 つ、3 つ、4 つまたは 5 つ (特に 4 つまたは 5 つ) のアミノ酸を含む。

【 0 1 0 0 】

更なる実施形態において、エピトープは、配列番号 1 のアミノ酸領域 6 7 ~ 8 2 内の 1 つ以上のアミノ酸残基からなる。更なる実施形態において、エピトープは、配列番号 1 のアミノ酸領域 7 1 ~ 7 9 内の 1 つ以上のアミノ酸残基からなる。

【 0 1 0 1 】

更なる実施形態において、エピトープは、配列番号 1 のアミノ酸残基 7 1 ~ 7 9 を含むか、または適切には配列番号 1 のアミノ酸残基 7 1 ~ 7 9 からなる。更に別の実施形態において、エピトープは、配列番号 1 のアミノ酸残基 7 1、7 3、7 5、7 6 及び 7 9 を含むか、または適切には配列番号 1 のアミノ酸残基 7 1、7 3、7 5、7 6 及び 7 9 からな

10

20

30

40

50

る。

【0102】

どのエピトープが抗体によって結合されるかを確定するための様々な技術が、当技術分野で既知である。例示的な技術には、例えば、日常的なクロスブロッキングアッセイ、アラニン走査変異分析、ペプチドプロット分析、ペプチド切断分析、結晶学的実験、及びNMR分析が含まれる。更に、エピトープ切除、エピトープ抽出、及び抗原の化学修飾などの方法を使用できる。抗体が相互作用するポリペプチド内のアミノ酸を同定するために使用できる別の方法は、質量分析によって検出された水素/重水素交換である（実施例8に記載されているように）。一般的な用語において、水素/重水素交換法は、目的のタンパク質を重水素で標識し、その後、抗体を重水素で標識したタンパク質に結合させることを含む。次に、タンパク質/抗体複合体は水に移動し、抗体複合体によって保護されているアミノ酸内の交換可能なプロトンは、界面の一部ではないアミノ酸内の交換可能なプロトンよりも遅い速度で重水素から水素への逆交換を受ける。その結果、タンパク質/抗体の界面の一部を形成するアミノ酸は、重水素を保持し得、そのため、界面に含まれていないアミノ酸と比較して比較的高い質量を示す。抗体の解離後、標的タンパク質はプロテアーゼ切断及び質量分析に供され、それにより、抗体が相互作用する特定のアミノ酸に対応する重水素標識残基を明らかにする。

10

【0103】

更にまたはあるいは、抗原のキメラ化&突然変異誘発実験を使用して、抗体が相互作用するポリペプチド内のアミノ酸を同定することができる（実施例6に記載されているように）。一般的な用語において、この方法は、一連の1つ以上のキメラ抗原を作成することを含み、第1の参照抗原のアミノ酸配列は、第1の参照抗原のアミノ酸の1つ以上を第2の参照抗原からのそれぞれのアミノ酸で置換するために、第2の参照抗原のアミノ酸配列に基づいて系統的に変更され得る。この文脈における「それぞれのアミノ酸」とは、その配列をアラインメントした際、第1の参照抗原及び第2の参照抗原の配列内の同等の位置にあるアミノ酸を意味する。第1の参照抗原、第2の参照抗原及び/または一連の1つ以上のキメラ抗原のそれぞれへの試験抗体の結合が、次に測定される。次に、各抗原への結合の喪失/獲得は、第1の参照配列及び/または第2の参照配列に対して行われた特定のアミノ酸の変化に起因し得る。抗体が第1の参照抗原及び/または第2の参照抗原に結合できるかどうかは、既にわかっていることであってもよい。例えば、実施例6に記載されるように、第1の参照抗原はヒトV_H 4鎖であり得、第2の参照抗原はヒトV_H 2鎖であり得、一連のキメラ抗原は、V_H 4鎖中のアミノ酸の1つ以上をV_H 2鎖配列内のそれぞれの1つ以上のアミノ酸で置換することによって作製される。

20

30

【0104】

抗体配列

本発明の単離された抗V_H 4抗体またはその断片は、それらのCDR配列を参照して記載され得る。

【0105】

本発明の更なる態様によれば、

配列番号2~47のいずれか1つ、好ましくは配列番号10及び/または配列番号33と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含むCDR3、

40

配列番号48~70及び配列A1~A23（図1の）のいずれか1つ、好ましくは配列番号56及び/またはA9と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含むCDR2、及び/または、

配列番号71~116のいずれか1つ、好ましくは配列番号79及び/または配列番号102と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含むCDR1のうち1つ以上を含む単離された抗V_H 4抗体またはその断片が提供される。

【0106】

本発明の一態様によれば、配列番号2~47のいずれか1つと少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含むCDR3を含む、単離された抗V_H 4抗体またはその断片が提

50

供される。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 48 ~ 70 及び配列 A1 ~ A23 (図 1 の) のいずれか 1 つと少なくとも 80 % の配列同一性を有する配列を含む CDR2 を含む。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 71 ~ 116 のいずれか 1 つと少なくとも 80 % の配列同一性を有する配列を含む CDR1 を含む。

【0107】

いくつかの態様において、単離された抗 V_H 4 抗体またはその断片は、配列番号 2 ~ 24 のいずれか 1 つ、好ましくは配列番号 10 と少なくとも 80 % の配列同一性を有する配列を含む重鎖 CDR3 (HCDR3)、配列番号 48 ~ 70 のいずれか 1 つ、好ましくは配列番号 56 と少なくとも 80 % の配列同一性を有する配列を含む重鎖 CDR2 (HCDR2)、及び/または、配列番号 71 ~ 93 のいずれか 1 つ、好ましくは配列番号 79 と少なくとも 80 % の配列同一性を有する配列を含む重鎖 CDR1 (HCDR1) のうちの 1 つ以上を含み得る。

10

【0108】

あるいはまたは加えて、単離された抗 V_H 4 抗体またはその断片は、配列番号 25 ~ 47 のいずれか 1 つ、好ましくは配列番号 33 と少なくとも 80 % の配列同一性を有する配列を含む軽鎖 CDR3 (LCDR3)、配列 A1 ~ A23 (図 1 の) のいずれか 1 つ、好ましくは配列番号 A9 と少なくとも 80 % の配列同一性を有する配列を含む軽鎖 CDR2 (LCDR2)、及び/または、配列番号 94 ~ 116 のいずれか 1 つ、好ましくは配列番号 102 と少なくとも 80 % の配列同一性を有する配列を含む軽鎖 CDR1 (LCDR1) のうちの 1 つ以上を含み得る。

20

【0109】

一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 2 ~ 47 のいずれか 1 つと少なくとも 85 %、90 %、95 %、97 %、98 % または 99 % の配列同一性を有する配列を含む CDR3 を含む。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 48 ~ 70 及び配列 A1 ~ A23 (図 1 の) のいずれか 1 つと少なくとも 85 %、90 %、95 %、97 %、98 % または 99 % の配列同一性を有する配列を含む CDR2 を含む。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 71 ~ 116 のいずれか 1 つと少なくとも 85 %、90 %、95 %、97 %、98 % または 99 % の配列同一性を有する配列を含む CDR1 を含む。

30

【0110】

一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 2 ~ 47 のいずれか 1 つと少なくとも 85 %、90 %、95 %、97 %、98 % または 99 % の配列同一性を有する配列からなる CDR3 を含む。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 48 ~ 70 及び配列 A1 ~ A23 (図 1 の) のいずれか 1 つと少なくとも 85 %、90 %、95 %、97 %、98 % または 99 % の配列同一性を有する配列からなる CDR2 を含む。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 71 ~ 116 のいずれか 1 つと少なくとも 85 %、90 %、95 %、97 %、98 % または 99 % の配列同一性を有する配列からなる CDR1 を含む。

【0111】

本発明の更なる態様によれば、配列番号 2 ~ 24 のいずれか 1 つと少なくとも 80 % の配列同一性を有する配列を含む CDR3 を含む V_H 領域、及び/または配列番号 25 ~ 47 のいずれか 1 つと少なくとも 80 % の配列同一性を有する配列を含む CDR3 を含む V_L 領域を含む、抗体またはその断片が提供される。本発明の更なる態様によれば、配列番号 2 ~ 24 のいずれか 1 つと少なくとも 80 % の配列同一性を有する配列からなる CDR3 を含む V_H 領域、及び/または配列番号 25 ~ 47 のいずれか 1 つと少なくとも 80 % の配列同一性を有する配列からなる CDR3 を含む V_L 領域を含む、抗体またはその断片が提供される。

40

【0112】

本発明の更なる態様によれば、配列番号 2 ~ 24 のいずれか 1 つと少なくとも 90 % の

50

配列同一性を有する配列を含む C D R 3 を含む V H 領域、及び / または配列番号 2 5 ~ 4 7 のいずれか 1 つと少なくとも 9 0 % の配列同一性を有する配列を含む C D R 3 を含む V L 領域を含む、抗体またはその断片が提供される。本発明の更なる態様によれば、配列番号 2 ~ 2 4 のいずれか 1 つと少なくとも 9 0 % の配列同一性を有する配列からなる C D R 3 を含む V H 領域、及び / または配列番号 2 5 ~ 4 7 のいずれか 1 つと少なくとも 9 0 % の配列同一性を有する配列からなる C D R 3 を含む V L 領域を含む、抗体またはその断片が提供される。

【 0 1 1 3 】

本発明の更なる態様によれば、配列番号 2 ~ 2 4 のいずれか 1 つと少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する配列を含む C D R 3 を含む V H 領域、及び / または配列番号 2 5 ~ 4 7 のいずれか 1 つと少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する配列を含む C D R 3 を含む V L 領域を含む、抗体またはその断片が提供される。本発明の更なる態様によれば、配列番号 2 ~ 2 4 のいずれか 1 つと少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する配列からなる C D R 3 を含む V H 領域、及び / または配列番号 2 5 ~ 4 7 のいずれか 1 つと少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する配列からなる C D R 3 を含む V L 領域を含む、抗体またはその断片が提供される。

10

【 0 1 1 4 】

本発明の更なる態様によれば、配列番号 2 ~ 2 4 のいずれか 1 つと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する配列を含む C D R 3 を含む V H 領域、及び配列番号 2 5 ~ 4 7 のいずれか 1 つと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する配列を含む C D R 3 を含む V L 領域を含む、抗体またはその断片が提供される。本発明の更なる態様によれば、配列番号 2 ~ 2 4 のいずれか 1 つと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する配列からなる C D R 3 を含む V H 領域、及び配列番号 2 5 ~ 4 7 のいずれか 1 つと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する配列からなる C D R 3 を含む V L 領域を含む、抗体またはその断片が提供される。

20

【 0 1 1 5 】

本明細書で「少なくとも 8 0 % 」または「 8 0 % 以上」と言及している実施形態は、 8 5 % 、 9 0 % 、 9 5 % 、 9 7 % 、 9 8 % 、 9 9 % または 1 0 0 % など 8 0 % 以上のすべての値の配列同一性を含むと理解されるであろう。一実施形態において、本発明の抗体または断片は、指定された配列に対して少なくとも 8 5 % 、例えば、少なくとも 9 0 % 、少なくとも 9 5 % 、少なくとも 9 7 % 、少なくとも 9 8 % または少なくとも 9 9 % の配列同一性を含む。

30

【 0 1 1 6 】

配列同一性の割合の代わりに、実施形態はまた、 1 つ以上のアミノ酸変化、例えば、 1 つ以上の付加、置換及び / または欠失で定義され得る。一実施形態において、配列は、最大 5 つのアミノ酸変化、例えば最大 3 つのアミノ酸変化、特に最大 2 つのアミノ酸変化を含み得る。例えば、配列は、最大 5 つのアミノ酸置換、例えば最大 3 つのアミノ酸置換、特に最大 1 つまたは 2 つのアミノ酸置換を含み得る。例えば、本発明の抗体またはその断片の C D R 3 は、配列番号 2 ~ 4 7 のいずれか 1 つと比較して、 2 つ以下、より適切には 1 つ以下の置換（複数可）を有する配列を含み得るか、またはより適切にはそれからなり得る。

40

【 0 1 1 7 】

適切には、配列番号 2 ~ 1 1 6 及び配列 A 1 ~ A 2 3 のそれらの対応する残基とは異なる C D R 1 、 C D R 2 または C D R 3 の任意の残基は、それらの対応する残基に関して保存的置換である。例えば、配列番号 2 ~ 4 7 のそれらの対応する残基とは異なる C D R 3 の任意の残基は、それらの対応する残基に関して保存的置換である。

【 0 1 1 8 】

一実施形態において、抗体またはその断片は、

(i) 配列番号 2 ~ 2 4 のいずれか 1 つと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する配列を含む C D R 3 を含む V H 領域、

(i i) 配列番号 4 8 ~ 7 0 のいずれか 1 つと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する

50

配列を含む C D R 2 を含む V H 領域、

(i i i) 配列番号 7 1 ~ 9 3 のいずれか 1 つと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する配列を含む C D R 1 を含む V H 領域、

(i v) 配列番号 2 5 ~ 4 7 のいずれか 1 つと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する配列を含む C D R 3 を含む V L 領域、

(v) 配列 A 1 ~ A 2 3 (図 1 の) のいずれか 1 つと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する配列を含む C D R 2 を含む V L 領域、及び / または、

(v i) 配列番号 9 4 ~ 1 1 6 のいずれか 1 つと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する配列を含む C D R 1 を含む V L 領域を含む。

【 0 1 1 9 】

10

一実施形態において、抗体またはその断片は、

(i) 配列番号 2 ~ 2 4 のいずれか 1 つと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する配列を含む C D R 3 を含む V H 領域、

(i i) 配列番号 4 8 ~ 7 0 のいずれか 1 つと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する配列を含む C D R 2 を含む V H 領域、及び

(i i i) 配列番号 7 1 ~ 9 3 のいずれか 1 つと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する配列を含む C D R 1 を含む V H 領域を備えた重鎖を含む。

【 0 1 2 0 】

一実施形態において、抗体またはその断片は、

(i) 配列番号 2 5 ~ 4 7 のいずれか 1 つと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する配列を含む C D R 3 を含む V L 領域、

(i i) 配列 A 1 ~ A 2 3 (図 1 の) のいずれか 1 つと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する配列を含む C D R 2 を含む V L 領域、及び、

(i i i) 配列番号 9 4 ~ 1 1 6 のいずれか 1 つと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する配列を含む C D R 1 を含む V L 領域を備えた軽鎖を含む。

20

【 0 1 2 1 】

一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 1 0、4、1 4、1 5、1 7、1 9 または 2 3 など配列番号 2 ~ 2 4 のいずれか 1 つと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する配列を含む C D R 3 を含む V H 領域を含む (または、それからなる)。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 5 6、5 0、6 0、6 1、6 3、6 5 または 6 9 など配列番号 4 8 ~ 7 0 のいずれか 1 つと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する配列を含む C D R 2 を含む V H 領域を含む (または、それからなる)。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 7 9、7 3、8 3、8 4、8 6、8 8 または 9 2 など配列番号 7 1 ~ 9 3 のいずれか 1 つと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する配列を含む C D R 1 を含む V H 領域を含む (または、それからなる)。

30

【 0 1 2 2 】

一実施形態において、V H 領域は、配列番号 1 0 の配列を含む C D R 3、配列番号 5 6 の配列を含む C D R 2、及び配列番号 7 9 の配列を含む C D R 1 を含む。一実施形態において、C D R 3 は配列番号 1 0 の配列からなり、C D R 2 は配列番号 5 6 の配列からなり、及び C D R 1 は配列番号 7 9 の配列からなる。

40

【 0 1 2 3 】

一実施形態において、V H 領域は、配列番号 4 の配列を含む C D R 3、配列番号 5 0 の配列を含む C D R 2、及び配列番号 7 3 の配列を含む C D R 1 を含む。一実施形態において、C D R 3 は配列番号 4 の配列からなり、C D R 2 は配列番号 5 0 の配列からなり、及び C D R 1 は配列番号 7 3 の配列からなる。

【 0 1 2 4 】

一実施形態において、V H 領域は、配列番号 1 4 の配列を含む C D R 3、配列番号 6 0 の配列を含む C D R 2、及び配列番号 8 3 の配列を含む C D R 1 を含む。一実施形態において、C D R 3 は配列番号 1 4 の配列からなり、C D R 2 は配列番号 6 0 の配列からなり、及び C D R 1 は配列番号 8 3 の配列からなる。

50

【0125】

一実施形態において、VH領域は、配列番号15の配列を含むCDR3、配列番号61の配列を含むCDR2、及び配列番号84の配列を含むCDR1を含む。一実施形態において、CDR3は配列番号15の配列からなり、CDR2は配列番号61の配列からなり、及びCDR1は配列番号84の配列からなる。

【0126】

一実施形態において、VH領域は、配列番号17の配列を含むCDR3、配列番号63の配列を含むCDR2、及び配列番号86の配列を含むCDR1を含む。一実施形態において、CDR3は配列番号17の配列からなり、CDR2は配列番号63の配列からなり、及びCDR1は配列番号86の配列からなる。

10

【0127】

一実施形態において、VH領域は、配列番号19の配列を含むCDR3、配列番号65の配列を含むCDR2、及び配列番号88の配列を含むCDR1を含む。一実施形態において、CDR3は配列番号19の配列からなり、CDR2は配列番号65の配列からなり、及びCDR1は配列番号88の配列からなる。

【0128】

一実施形態において、VH領域は、配列番号23の配列を含むCDR3、配列番号69の配列を含むCDR2、及び配列番号92の配列を含むCDR1を含む。一実施形態において、CDR3は配列番号23の配列からなり、CDR2は配列番号69の配列からなり、及びCDR1は配列番号92の配列からなる。

20

【0129】

一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号33、27、37、38、40、42または46など配列番号25～47のいずれか1つと少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含むCDR3を含むVL領域を含む(または、それからなる)。一実施形態では、抗体またはそのフラグメントは、配列A9、A3、A13、A14、A16、A18またはA22など配列A1～A23(図1の)のいずれか1つと少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含むCDR2を含むVL領域を含む(または、それからなる)。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号102、96、106、107、109、111または115など配列番号94～116のいずれか1つと少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含むCDR1を含むVL領域を含む(または、それからなる)。

30

【0130】

一実施形態において、VL領域は、配列番号33の配列を含むCDR3、配列A9の配列を含むCDR2、及び配列番号102の配列を含むCDR1を含む。一実施形態において、CDR3は配列番号33の配列からなり、CDR2は配列A9の配列からなり、及びCDR1は配列番号102の配列からなる。

【0131】

一実施形態において、VL領域は、配列番号27の配列を含むCDR3、配列A3の配列を含むCDR2、及び配列番号96の配列を含むCDR1を含む。一実施形態において、CDR3は配列番号27の配列からなり、CDR2は配列A3の配列からなり、CDR1は配列番号96の配列からなる。

40

【0132】

一実施形態において、VL領域は、配列番号37の配列を含むCDR3、配列A13の配列を含むCDR2、及び配列番号106の配列を含むCDR1を含む。一実施形態において、CDR3は配列番号37の配列からなり、CDR2は配列A13の配列からなり、及びCDR1は配列番号106の配列からなる。

【0133】

一実施形態において、VL領域は、配列番号38の配列を含むCDR3、配列A14の配列を含むCDR2、及び配列番号107の配列を含むCDR1を含む。一実施形態において、CDR3は配列番号38の配列からなり、CDR2は配列A14の配列からなり、

50

及び C D R 1 は配列番号 1 0 7 の配列からなる。

【 0 1 3 4 】

一実施形態において、V L 領域は、配列番号 4 0 の配列を含む C D R 3、配列 A 1 6 の配列を含む C D R 2、及び配列番号 1 0 9 の配列を含む C D R 1 を含む。一実施形態において、C D R 3 は配列番号 4 0 の配列からなり、C D R 2 は配列 A 1 6 の配列からなり、及び C D R 1 は配列番号 1 0 9 の配列からなる。

【 0 1 3 5 】

一実施形態において、V L 領域は、配列番号 4 2 の配列を含む C D R 3、配列 A 1 8 の配列を含む C D R 2、及び配列番号 1 1 1 の配列を含む C D R 1 を含む。一実施形態において、C D R 3 は配列番号 4 2 の配列からなり、C D R 2 は配列 A 1 8 の配列からなり、及び C D R 1 は配列番号 1 1 1 の配列からなる。

10

【 0 1 3 6 】

一実施形態において、V L 領域は、配列番号 4 6 の配列を含む C D R 3、配列 A 2 2 の配列を含む C D R 2、及び配列番号 1 1 5 の配列を含む C D R 1 を含む。一実施形態において、C D R 3 は配列番号 4 6 の配列からなり、C D R 2 は配列 A 2 2 の配列からなり、及び C D R 1 は配列番号 1 1 5 の配列からなる。

【 0 1 3 7 】

一実施形態では、抗体またはその断片は、図 1 に記載されるように 1 つ以上の C D R 配列を含む。更なる実施形態において、抗体またはその断片は、図 1 に記載されるようにクローン 1 1 4 0 __ P 0 1 __ G 0 8 [G 4 __ 1 2] またはクローン 1 1 3 9 __ P 0 1 __ A 0 4 [G 4 __ 0 3] の 1 つ以上（例えば、すべて）の C D R 配列を含む。

20

【 0 1 3 8 】

したがって、本発明は、

(a) 配列番号 7 9 を有する H C D R 1、配列番号 5 6 を有する H C D R 2 及び配列番号 1 0 を有する H C D R 3 を含む V H であって、任意選択で前記 V H は配列番号 1 2 5 を含むまたはそれからなる V H と、

配列番号 1 0 2 を有する L C D R 1、配列 A 9 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 3 3 を有する L C D R 3 を含む V L であって、任意選択で前記 V L は配列番号 1 4 8 を含むまたはそれからなる V L、

(b) 配列番号 8 6 を有する H C D R 1、配列番号 6 3 を有する H C D R 2 及び配列番号 1 7 を有する H C D R 3 を含む V H であって、任意選択で前記 V H は配列番号 1 3 2 を含むまたはそれからなる V H と、

30

配列番号 1 0 9 を有する L C D R 1、配列 A 1 6 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 4 0 を有する L C D R 3 を含む V L であって、任意選択で前記 V L は配列番号 1 5 5 を含むまたはそれからなる V L、

(c) 配列番号 7 3 を有する H C D R 1、配列番号 5 0 を有する H C D R 2 及び配列番号 4 を有する H C D R 3 を含む V H であって、任意選択で前記 V H は配列番号 1 1 9 を含むまたはそれからなる V H と、

配列番号 9 6 を有する L C D R 1、配列 A 3 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 2 7 を有する L C D R 3 を含む V L であって、任意選択で前記 V L は配列番号 1 4 2 を含むまたはそれからなる V L、

40

(d) 配列番号 8 3 を有する H C D R 1、配列番号 6 0 を有する H C D R 2 及び配列番号 1 4 を有する H C D R 3 を含む V H であって、任意選択で前記 V H は配列番号 1 2 9 を含むまたはそれからなる V H と、

配列番号 1 0 6 を有する L C D R 1、配列 A 1 3 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 3 7 を有する L C D R 3 を含む V L であって、任意選択で前記 V L は配列番号 1 5 2 を含むまたはそれからなる V L、

(e) 配列番号 8 4 を有する H C D R 1、配列番号 6 1 を有する H C D R 2 及び配列番号 1 5 を有する H C D R 3 を含む V H であって、任意選択で前記 V H は配列番号 1 3 0 を含むまたはそれからなる V H と、

50

配列番号 107 を有する LCD R 1、配列 A 14 (図 1 の) を有する LCD R 2 及び配列番号 38 を有する LCD R 3 を含む VL であって、任意選択で前記 VL は配列番号 153 を含むまたはそれからなる VL、

(f) 配列番号 88 を有する HCD R 1、配列番号 65 を有する HCD R 2 及び配列番号 19 を有する HCD R 3 を含む VH であって、任意選択で前記 VH は配列番号 134 を含むまたはそれからなる VH と、

配列番号 111 を有する LCD R 1、配列 A 18 (図 1 の) を有する LCD R 2 及び配列番号 42 を有する LCD R 3 を含む VL であって、任意選択で前記 VL は配列番号 157 を含むまたはそれからなる VL、

(g) 配列番号 92 を有する HCD R 1、配列番号 69 を有する HCD R 2 及び配列番号 23 を有する HCD R 3 を含む VH であって、任意選択で前記 VH は配列番号 138 を含むまたはそれからなる VH と、

配列番号 115 を有する LCD R 1、配列 A 22 (図 1 の) を有する LCD R 2 及び配列番号 46 を有する LCD R 3 を含む VL であって、任意選択で前記 VL は配列番号 161 を含むまたはそれからなる VL、

(h) 配列番号 71 を有する HCD R 1、配列番号 48 を有する HCD R 2 及び配列番号 2 を有する HCD R 3 を含む VH であって、任意選択で前記 VH は配列番号 117 を含むまたはそれからなる VH と、

配列番号 94 を有する LCD R 1、配列 A 1 (図 1 の) を有する LCD R 2 及び配列番号 25 を有する LCD R 3 を含む VL であって、任意選択で前記 VL は配列番号 140 を含むまたはそれからなる VL、

(i) 配列番号 72 を有する HCD R 1、配列番号 49 を有する HCD R 2 及び配列番号 3 を有する HCD R 3 を含む VH であって、任意選択で前記 VH は配列番号 118 を含むまたはそれからなる VH と、

配列番号 95 を有する LCD R 1、配列 A 2 (図 1 の) を有する LCD R 2 及び配列番号 26 を有する LCD R 3 を含む VL であって、任意選択で前記 VL は配列番号 141 を含むまたはそれからなる VL、

(j) 配列番号 74 を有する HCD R 1、配列番号 51 を有する HCD R 2 及び配列番号 5 を有する HCD R 3 を含む VH であって、任意選択で前記 VH は配列番号 120 を含むまたはそれからなる VH と、

配列番号 97 を有する LCD R 1、配列 A 4 (図 1 の) を有する LCD R 2 及び配列番号 28 を有する LCD R 3 を含む VL であって、任意選択で前記 VL は配列番号 143 を含むまたはそれからなる VL、

(k) 配列番号 75 を有する HCD R 1、配列番号 52 を有する HCD R 2 及び配列番号 6 を有する HCD R 3 を含む VH であって、任意選択で前記 VH は配列番号 121 を含むまたはそれからなる VH と、

配列番号 98 を有する LCD R 1、配列 A 5 (図 1 の) を有する LCD R 2 及び配列番号 29 を有する LCD R 3 を含む VL であって、任意選択で前記 VL は配列番号 144 を含むまたはそれからなる VL、

(l) 配列番号 76 を有する HCD R 1、配列番号 53 を有する HCD R 2 及び配列番号 7 を有する HCD R 3 を含む VH であって、任意選択で前記 VH は配列番号 122 を含むまたはそれからなる VH と、

配列番号 99 を有する LCD R 1、配列 A 6 (図 1 の) を有する LCD R 2 及び配列番号 30 を有する LCD R 3 を含む VL であって、任意選択で前記 VL は配列番号 145 を含むまたはそれからなる VL、

(m) 配列番号 77 を有する HCD R 1、配列番号 54 を有する HCD R 2 及び配列番号 8 を有する HCD R 3 を含む VH であって、任意選択で前記 VH は配列番号 123 を含むまたはそれからなる VH と、

配列番号 100 を有する LCD R 1、配列 A 7 (図 1 の) を有する LCD R 2 及び配列番号 31 を有する LCD R 3 を含む VL であって、任意選択で前記 VL は配列番号 146

を含むまたはそれからなる V L、

(n) 配列番号 7 8 を有する H C D R 1、配列番号 5 5 を有する H C D R 2 及び配列番号 9 を有する H C D R 3 を含む V H であって、任意選択で前記 V H は配列番号 1 2 4 を含むまたはそれからなる V H と、

配列番号 1 0 1 を有する L C D R 1、配列 A 8 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 3 2 を有する L C D R 3 を含む V L であって、任意選択で前記 V L は配列番号 1 4 7 を含むまたはそれからなる V L、

(o) 配列番号 8 0 を有する H C D R 1、配列番号 5 7 を有する H C D R 2 及び配列番号 1 1 を有する H C D R 3 を含む V H であって、任意選択で前記 V H は配列番号 1 2 6 を含むまたはそれからなる V H と、

配列番号 1 0 3 を有する L C D R 1、配列 A 1 0 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 3 4 を有する L C D R 3 を含む V L であって、任意選択で前記 V L は配列番号 1 4 9 を含むまたはそれからなる V L、

(p) 配列番号 8 1 を有する H C D R 1、配列番号 5 8 を有する H C D R 2 及び配列番号 1 2 を有する H C D R 3 を含む V H であって、任意選択で前記 V H は配列番号 1 2 7 を含むまたはそれからなる V H と、

配列番号 1 0 4 を有する L C D R 1、配列 A 1 1 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 3 5 を有する L C D R 3 を含む V L であって、任意選択で前記 V L は配列番号 1 5 0 を含むまたはそれからなる V L、

(q) 配列番号 8 2 を有する H C D R 1、配列番号 5 9 を有する H C D R 2 及び配列番号 1 3 を有する H C D R 3 を含む V H であって、任意選択で前記 V H は配列番号 1 2 8 を含むまたはそれからなる V H と、

配列番号 1 0 5 を有する L C D R 1、配列 A 1 2 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 3 6 を有する L C D R 3 を含む V L であって、任意選択で前記 V L は配列番号 1 5 1 を含むまたはそれからなる V L、

(r) 配列番号 8 5 を有する H C D R 1、配列番号 6 2 を有する H C D R 2 及び配列番号 1 6 を有する H C D R 3 を含む V H であって、任意選択で前記 V H は配列番号 1 3 1 を含むまたはそれからなる V H と、

配列番号 1 0 8 を有する L C D R 1、配列 A 1 5 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 3 9 を有する L C D R 3 を含む V L であって、任意選択で前記 V L は配列番号 1 5 4 を含むまたはそれからなる V L、

(s) 配列番号 8 7 を有する H C D R 1、配列番号 6 4 を有する H C D R 2 及び配列番号 1 8 を有する H C D R 3 を含む V H であって、任意選択で前記 V H は配列番号 1 3 3 を含むまたはそれからなる V H と、

配列番号 1 1 0 を有する L C D R 1、配列 A 1 7 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 4 1 を有する L C D R 3 を含む V L であって、任意選択で前記 V L は配列番号 1 5 6 を含むまたはそれからなる V L、

(t) 配列番号 8 9 を有する H C D R 1、配列番号 6 6 を有する H C D R 2 及び配列番号 2 0 を有する H C D R 3 を含む V H であって、任意選択で前記 V H は配列番号 1 3 5 を含むまたはそれからなる V H と、

配列番号 1 1 2 を有する L C D R 1、配列 A 1 9 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 4 3 を有する L C D R 3 を含む V L であって、任意選択で前記 V L は配列番号 1 5 8 を含むまたはそれからなる V L、

(u) 配列番号 9 0 を有する H C D R 1、配列番号 6 7 を有する H C D R 2 及び配列番号 2 1 を有する H C D R 3 を含む V H であって、任意選択で前記 V H は配列番号 1 3 6 を含むまたはそれからなる V H と、

配列番号 1 1 3 を有する L C D R 1、配列 A 2 0 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 4 4 を有する L C D R 3 を含む V L であって、任意選択で前記 V L は配列番号 1 5 9 を含むまたはそれからなる V L、

(v) 配列番号 9 1 を有する H C D R 1、配列番号 6 8 を有する H C D R 2 及び配列番

10

20

30

40

50

号 2 2 を有する H C D R 3 を含む V H であって、任意選択で前記 V H は配列番号 1 3 7 を含むまたはそれからなる V H と、

配列番号 1 1 4 を有する L C D R 1、配列 A 2 1 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 4 5 を有する L C D R 3 を含む V L であって、任意選択で前記 V L は配列番号 1 6 0 を含むまたはそれからなる V L、及び / または、

(w) 配列番号 9 3 を有する H C D R 1、配列番号 7 0 を有する H C D R 2 及び配列番号 2 4 を有する H C D R 3 を含む V H であって、任意選択で前記 V H は配列番号 1 3 9 を含むまたはそれからなる V H と、

配列番号 1 1 6 を有する L C D R 1、配列 A 2 3 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 4 7 を有する L C D R 3 を含む V L であって、任意選択で前記 V L は配列番号 1 6 2 を含むまたはそれからなる V L、のうちの 1 つ以上を含む単離された抗 V 4 抗体またはその断片を提供する。

10

【 0 1 3 9 】

適切には、上述の V H 領域及び V L 領域はそれぞれ、4 つのフレームワーク領域 (F R 1 ~ F R 4) を含む。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 1 1 7 ~ 1 6 2 のいずれか 1 つのフレームワーク領域と少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する配列を含むフレームワーク領域 (例えば、F R 1、F R 2、F R 3 及び / または F R 4) を含む。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 1 1 7 ~ 1 6 2 のいずれか 1 つのフレームワーク領域と少なくとも 9 5 %、9 7 % または 9 9 % など少なくとも 9 0 % の配列同一性を有する配列を含むフレームワーク領域 (例えば、F R 1、F R 2、F R 3 及び / または F R 4) を含む。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 1 1 7 ~ 1 6 2 のいずれか 1 つの配列を含むフレームワーク領域 (例えば、F R 1、F R 2、F R 3 及び / または F R 4) を含む。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 1 1 7 ~ 1 6 2 のいずれか 1 つの配列からなるフレームワーク領域 (例えば、F R 1、F R 2、F R 3 及び / または F R 4) を含む。

20

【 0 1 4 0 】

本明細書に記載の抗体は、それらの完全な軽鎖可変配列及び / または重鎖可変配列によって定義され得る。したがって、本発明の更なる態様によれば、配列番号 1 1 7 ~ 1 6 2 のいずれか 1 つと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離された抗 V 4 抗体またはその断片が提供される。本発明の更なる態様によれば、配列番号 1 1 7 ~ 1 6 2 のいずれか 1 つと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列からなる、単離された抗 V 4 抗体またはその断片が提供される。

30

【 0 1 4 1 】

一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 1 1 7 ~ 1 3 9 のいずれか 1 つと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V H 領域を含む。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 1 1 7 ~ 1 3 9 のいずれか 1 つと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列からなる V H 領域を含む。更なる実施形態において、V H 領域は、配列番号 1 2 5、1 1 9、1 2 9、1 3 0、1 3 2、1 3 4 または 1 3 8 のいずれか 1 つと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。更なる実施形態において、V H 領域は、配列番号 1 2 5、1 1 9、1 2 9、1 3 0、1 3 2、1 3 4 または 1 3 8 のいずれか 1 つと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列からなる。

40

【 0 1 4 2 】

一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 1 4 0 ~ 1 6 2 のいずれか 1 つと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V L 領域を含む。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 1 4 0 ~ 1 6 2 のいずれか 1 つと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列からなる V L 領域を含む。更なる実施形態において、V L 領域は、配列番号 1 4 8、1 4 2、1 5 2、1 5 3、1 5 5、1 5 7 または 1 6 1 のいずれか 1 つと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。更

50

なる実施形態において、V L領域は、配列番号148、142、152、153、155、157または161のいずれか1つと少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列からなる。

【0143】

更なる実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号117~139のいずれか1つと少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むV H領域、及び配列番号140~162のいずれか1つと少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むV L領域を含む。更なる実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号117~139のいずれか1つと少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列からなるV H領域、及び配列番号140~162のいずれか1つと少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列からなるV L領域を含む。

10

【0144】

一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号125(1140__P01__G08)[G4__12]のアミノ酸配列を含むV H領域を含む。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号125のアミノ酸配列からなるV H領域を含む。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号148(1140__P01__G08)[G4__12]のアミノ酸配列を含むV L領域を含む。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号148のアミノ酸配列からなるV L領域を含む。

【0145】

一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号125のアミノ酸配列を含むV H領域、及び配列番号148のアミノ酸配列を含むV L領域を含む。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号125のアミノ酸配列からなるV H領域、及び配列番号148のアミノ酸配列からなるV L領域を含む。

20

【0146】

一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号119(1139__P01__A04)[G4__3]のアミノ酸配列を含むV H領域を含む。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号119のアミノ酸配列からなるV H領域を含む。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号142(1139__P01__A04)[G4__3]のアミノ酸配列を含むV L領域を含む。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号142のアミノ酸配列からなるV L領域を含む。

30

【0147】

一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号119のアミノ酸配列を含むV H領域、及び配列番号142のアミノ酸配列を含むV L領域を含む。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号119のアミノ酸配列からなるV H領域、及び配列番号142のアミノ酸配列からなるV L領域を含む。

【0148】

一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号129(1248__P02__D10)[G4__16]のアミノ酸配列を含むV H領域を含む。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号129のアミノ酸配列からなるV H領域を含む。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号152(1248__P02__D10)[G4__16]のアミノ酸配列を含むV L領域を含む。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号152のアミノ酸配列からなるV L領域を含む。

40

【0149】

一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号129のアミノ酸配列を含むV H領域、及び配列番号152のアミノ酸配列を含むV L領域を含む。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号129のアミノ酸配列からなるV H領域、及び配列番号152のアミノ酸配列からなるV L領域を含む。

【0150】

一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号130(1254__P01__H04)[G4__18]のアミノ酸配列を含むV H領域を含む。一実施形態において、抗体

50

またはその断片は、配列番号 130 のアミノ酸配列からなる V H 領域を含む。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 153 (1254 __ P 01 __ H 04) [G 4 __ 18] のアミノ酸配列を含む V L 領域を含む。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 153 のアミノ酸配列からなる V L 領域を含む。

【 0 1 5 1 】

一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 130 のアミノ酸配列を含む V H 領域、及び配列番号 153 のアミノ酸配列を含む V L 領域を含む。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 130 のアミノ酸配列からなる V H 領域、及び配列番号 153 のアミノ酸配列からなる V L 領域を含む。

【 0 1 5 2 】

一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 132 (1254 __ P 02 __ G 02) [G 4 __ 20] のアミノ酸配列を含む V H 領域を含む。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 132 のアミノ酸配列からなる V H 領域を含む。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 155 (1254 __ P 02 __ G 02) [G 4 __ 20] のアミノ酸配列を含む V L 領域を含む。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 155 のアミノ酸配列からなる V L 領域を含む。

【 0 1 5 3 】

一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 132 のアミノ酸配列を含む V H 領域、及び配列番号 155 のアミノ酸配列を含む V L 領域を含む。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 132 のアミノ酸配列からなる V H 領域、及び配列番号 155 のアミノ酸配列からなる V L 領域を含む。

【 0 1 5 4 】

一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 134 (1253 __ P 03 __ H 05) [G 4 __ 23] のアミノ酸配列を含む V H 領域を含む。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 134 のアミノ酸配列からなる V H 領域を含む。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 157 (1253 __ P 03 __ H 05) [G 4 __ 23] のアミノ酸配列を含む V L 領域を含む。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 157 のアミノ酸配列からなる V L 領域を含む。

【 0 1 5 5 】

一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 134 のアミノ酸配列を含む V H 領域、及び配列番号 157 のアミノ酸配列を含む V L 領域を含む。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 134 のアミノ酸配列からなる V H 領域、及び配列番号 157 のアミノ酸配列からなる V L 領域を含む。

【 0 1 5 6 】

一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 138 (1248 __ P 02 __ C 10) [G 4 __ 27] のアミノ酸配列を含む V H 領域を含む。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 138 のアミノ酸配列からなる V H 領域を含む。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 161 (1248 __ P 02 __ C 10) [G 4 __ 27] のアミノ酸配列を含む V L 領域を含む。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 161 のアミノ酸配列からなる V L 領域を含む。

【 0 1 5 7 】

一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 138 のアミノ酸配列を含む V H 領域、及び配列番号 161 のアミノ酸配列を含む V L 領域を含む。一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号 138 のアミノ酸配列からなる V H 領域、及び配列番号 161 のアミノ酸配列からなる V L 領域を含む。

【 0 1 5 8 】

V H 領域及び V L 領域の両方を含む断片の場合、これらは、共有結合（例えば、ジスルフィド結合またはリンカーを介して）または非共有結合のいずれかで結合することができる。本明細書に記載の抗体断片は、s c F v、すなわち、リンカーによって結合された V H 領域及び V L 領域を含む断片を含み得る。一実施形態において、V H 領域及び V L 領域

10

20

30

40

50

は、(例えば、合成)ポリペプチドリンカーによって結合されている。ポリペプチドリンカーは、 $(Gly_4Ser)_n$ リンカーを含み得、 $n = 1 \sim 8$ 、例えば、2、3、4、5または7である。ポリペプチドリンカーは、 $[(Gly_4Ser)_n(Gly_3AlaSer)_m]_p$ リンカーを含み得、 $n = 1 \sim 8$ 、例えば、2、3、4、5または7であり、 $m = 0 \sim 8$ 、例えば、0、1、2または3であり、及び $p = 1 \sim 8$ 、例えば、1、2または3である。更なる実施形態において、リンカーは配列番号186を含む。更なる実施形態において、リンカーは配列番号186からなる。

【0159】

一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号163~185のいずれか1つと少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。更なる実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号163~185のいずれか1つのアミノ酸配列を含む。更に別の実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号171、165、175、176、178、180または184のアミノ酸配列を含む。

10

【0160】

一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号163~185のいずれか1つと少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列からなる。更なる実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号163~185のいずれか1つのアミノ酸配列からなる。更に別の実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号171、165、175、176、178、180または184のアミノ酸配列からなる。

【0161】

本明細書に記載されるように、抗体は任意の形式であり得る。好ましい実施形態において、抗体はIgG1型である。したがって、一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号233~255のいずれか1つと少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。更なる実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号233~255のいずれか1つのアミノ酸配列を含む。更に別の実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号235、241、245、246または254のアミノ酸配列を含む。

20

【0162】

一実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号233~255のいずれか1つと少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列からなる。更なる実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号233~255のいずれか1つのアミノ酸配列からなる。更に別の実施形態において、抗体またはその断片は、配列番号235、241、245、246または254のアミノ酸配列からなる。

30

【0163】

あるいは、配列番号284~306のいずれか1つと少なくとも80%の配列同一性を有する重鎖アミノ酸配列及び/または配列番号307~329のいずれか1つと少なくとも80%の配列同一性を有する軽鎖アミノ酸配列を含むもしくはそれからなる、抗体またはその断片が提供される。したがって、配列番号284~306のいずれか1つによる重鎖アミノ酸配列及び/または配列番号307~329のいずれか1つによる軽鎖アミノ酸配列を含むもしくはそれからなる、抗体またはその断片が提供される。特定の実施形態において、配列番号292による重鎖アミノ酸配列及び/または配列番号315による軽鎖アミノ酸配列(クローンG4__12)を含むもしくはそれからなる、抗体またはその断片が提供される。更なる実施形態において、配列番号286による重鎖アミノ酸配列及び/または配列番号309による軽鎖アミノ酸配列(クローンG4__3)を含むもしくはそれからなる、抗体またはその断片が提供される。更なる実施形態において、配列番号296による重鎖アミノ酸配列及び/または配列番号319による軽鎖アミノ酸配列(クローンG4__16)を含むもしくはそれからなる、抗体またはその断片が提供される。更なる実施形態において、配列番号297による重鎖アミノ酸配列及び/または配列番号320による軽鎖アミノ酸配列(クローンG4__18)を含むもしくはそれからなる、抗体またはその断片が提供される。更なる実施形態において、配列番号299による重鎖アミノ酸配列及び/または配列番号322による軽鎖アミノ酸配列(クローンG4__20)を含むも

40

50

しくはそれからなる、抗体またはその断片が提供される。更なる実施形態において、配列番号 301 による重鎖アミノ酸配列及び/または配列番号 324 による軽鎖アミノ酸配列 (クローン G 4 __ 23) を含むもしくはそれからなる、抗体またはその断片が提供される。更なる実施形態において、配列番号 305 による重鎖アミノ酸配列及び/または配列番号 328 による軽鎖アミノ酸配列 (クローン G 4 __ 27) を含むもしくはそれからなる、抗体またはその断片が提供される。他の実施形態において、抗体またはその断片は、

(a) 配列番号 284 による重鎖アミノ酸配列及び配列番号 307 による軽鎖アミノ酸配列 (クローン G 4 __ 1)、

(b) 配列番号 285 による重鎖アミノ酸配列及び配列番号 308 による軽鎖アミノ酸配列 (クローン G 4 __ 2)、

(c) 配列番号 287 による重鎖アミノ酸配列及び配列番号 310 による軽鎖アミノ酸配列 (クローン G 4 __ 4)、

(d) 配列番号 288 による重鎖アミノ酸配列及び配列番号 311 による軽鎖アミノ酸配列 (クローン G 4 __ 5)、

(e) 配列番号 289 による重鎖アミノ酸配列及び配列番号 312 による軽鎖アミノ酸配列 (クローン G 4 __ 6)、

(f) 配列番号 290 による重鎖アミノ酸配列及び配列番号 313 による軽鎖アミノ酸配列 (クローン G 4 __ 7)、

(g) 配列番号 291 による重鎖アミノ酸配列及び配列番号 314 による軽鎖アミノ酸配列 (クローン G 4 __ 10)、

(h) 配列番号 293 による重鎖アミノ酸配列及び配列番号 316 による軽鎖アミノ酸配列 (クローン G 4 __ 13)、

(i) 配列番号 294 による重鎖アミノ酸配列及び配列番号 317 による軽鎖アミノ酸配列 (クローン G 4 __ 14)、

(j) 配列番号 295 による重鎖アミノ酸配列及び配列番号 318 による軽鎖アミノ酸配列 (クローン G 4 __ 15)、

(k) 配列番号 298 による重鎖アミノ酸配列及び配列番号 321 による軽鎖アミノ酸配列 (クローン G 4 __ 19)、

(l) 配列番号 300 による重鎖アミノ酸配列及び配列番号 323 による軽鎖アミノ酸配列 (クローン G 4 __ 22)、

(m) 配列番号 302 による重鎖アミノ酸配列及び配列番号 325 による軽鎖アミノ酸配列 (クローン G 4 __ 24)、

(n) 配列番号 303 による重鎖アミノ酸配列及び配列番号 326 による軽鎖アミノ酸配列 (クローン G 4 __ 25)、

(o) 配列番号 304 による重鎖アミノ酸配列及び配列番号 327 による軽鎖アミノ酸配列 (クローン G 4 __ 26)、

もしくは、

(p) 配列番号 306 による重鎖アミノ酸配列及び配列番号 329 による軽鎖アミノ酸配列 (クローン G 4 __ 28) を含む、またはそれからなる。

【0164】

競合抗体

一実施形態において、TCRのV4鎖に特異的に結合しかつTCRのV2鎖には結合しない抗体またはその断片は、本明細書で定義されるもしくは例示される抗体もしくはその断片と同じまたは本質的に同じエピトープに結合する、またはそれと競合する。当技術分野で既知の日常的方法を使用することにより、抗体が参照抗V4抗体と同じエピトープに結合するか、または結合について競合するかどうかを容易に決定することができる。例えば、試験抗体が本発明の参照抗V4抗体と同じエピトープに結合するかどうかを決定するために、参照抗体を、飽和条件下でV4タンパク質またはペプチドに結合させることができる。次に、V4鎖に結合する試験抗体の能力を評価する。試験抗体が参照抗V4抗体との飽和結合に続いてV4に結合することができる場合、試験

10

20

30

40

50

抗体は、参照抗 V₄ 抗体とは異なるエピトープに結合すると結論付けることができる。一方で、参照抗 V₄ 抗体との飽和結合後に試験抗体が V₄ 鎖に結合できない場合、試験抗体は、本発明の参照抗 V₄ 抗体が結合するエピトープと同じエピトープに結合し得る。

【0165】

本発明はまた、本明細書で定義される抗体もしくはその断片、もしくは本明細書に記載の例示的な抗体のいずれかの CDR 配列を有する抗体と V₄ への結合について競合する、抗 V₄ 抗体またはその断片を含む。例えば、どのタンパク質、抗体及び他のアンタゴニストが本発明の抗体との V₄ 鎖への結合について競合するか及び/またはエピトープを共有するかを決定するために、本発明の抗体を用いて競合アッセイを実施することができる。これらのアッセイは、当業者には容易に知られている。当業者は、タンパク質、例えば V₄ 上の限られた数の結合部位についてのアンタゴニストまたはリガンド間の競合を評価する。抗体（またはその断片）は競合の前後に固定化または不溶化され、V₄ 鎖に結合した試料は、例えば、デカント（抗体が事前に不溶化された場合）または遠心分離（抗体が競合反応後に沈殿した場合）によって非結合試料から分離される。また、競合結合は、タンパク質への抗体の結合または結合の欠如によって機能が変化するかどうか、例えば抗体分子が、例えば標識の酵素活性を阻害するかまたは増強するかどうかによって決定され得る。当技術分野で既知でありかつ本明細書に記載されているように、ELISA 及び他の機能アッセイを使用することができる。

10

【0166】

2つの抗体は、それぞれが他方の標的抗原への結合を競合的に阻害（遮断）する場合、同じまたは重複するエピトープに結合する。すなわち、1倍、5倍、10倍、20倍または100倍以上過剰な1つの抗体は、競合結合アッセイで測定した場合、他方の結合を少なくとも50%、しかし好ましくは75%、90%または99%までも阻害する。あるいは、一方の抗体の結合を低下または排除する標的抗原の本質的にすべてのアミノ酸変異が、他方の結合も低下または排除する場合、2つの抗体は同じエピトープを有する。

20

【0167】

次に、追加の日常的な実験（例えば、ペプチド変異及び結合分析）を実行して、観察された試験抗体の結合の欠如が、実際に参照抗体と同じエピトープへの結合によるものかどうか、または立体遮断（または、別の現象）が観察された結合の欠如の原因であるかどうかを確認できる。この種の実験は、ELISA、RIA、表面プラズモン共鳴、フローサイトメトリー、または当技術分野で利用可能な他の任意の定量的もしくは定性的抗体結合アッセイを使用して実施することができる。

30

【0168】

抗体配列の改変

抗体及びその断片は、既知の方法を使用して改変することができる。本明細書に記載の抗体分子への配列改変は、当業者であれば容易に取り入れることができる。以下の例は非限定的である。

【0169】

ファージライブラリからの抗体の探索及び配列回復の間に、所望の抗体可変ドメインは、サブクローン化によって完全長 IgG に再編成され得る。プロセスを加速するために、可変ドメインは制限酵素を使用して移されることがよくある。これらの制限部位は付加的/代替的なアミノ酸を導入し、カノニカル配列から離れ得る（このようなカノニカル配列は例えば international Immunogenetics [IMGT] 情報システムで見いだされ得る。参照 <http://www.imgt.org>）。これらは、カッパまたはラムダ軽鎖配列改変として導入され得る。

40

【0170】

カッパ軽鎖の改変

カッパ軽鎖の可変配列は、完全長 IgG に再編成する際に制限部位（例えば Nhe1 - Not1）を用いてクローン化することができる。より具体的には、カッパ軽鎖の N 末端

50

に、クローン化をサポートするために追加の A l a - S e r 配列が導入された。好ましくは、この追加の A S 配列は、その後、カノニカル N 末端配列を作製するような更なる開発の間に除去される。したがって、一実施形態において、本明細書に記載の抗体を含有するカップ軽鎖は、それらの N 末端に A S 配列を含まない。すなわち、配列番号 1 4 0 ~ 1 4 7 及び 1 5 6 ~ 1 5 8 は最初の A S 配列を含まない。この実施形態は、この配列を含有する本明細書に含まれる他の配列にも適用されることが理解されよう。

【 0 1 7 1 】

クローン化をサポートするために、追加のアミノ酸変更が行われ得る。例えば、本明細書に記載の抗体の場合、カップ軽鎖可変ドメイン/定常ドメイン境界で、バリンからアラニンへの変更は、完全長の配列を調製する際のクローン化をサポートするために導入された。これにより、カップ定常ドメインが改変された。具体的には、これにより、定常ドメインは R T A A A P S (N o t I 制限部位から)ではじまることになる。好ましくは、この配列は、R T V A A P S ではじまるカノニカルカップ軽鎖定常領域を作製するために、更なる開発中に改変され得る。このような改変は、抗体の機能性を変更しない。したがって、一実施形態において、本明細書に記載の抗体を含有するカップ軽鎖は、配列 R T V ではじまる定常ドメインを含有する。したがって、一実施形態において、配列番号 2 3 3 ~ 2 4 0、2 4 9 ~ 2 5 1、3 0 7 ~ 3 1 4 及び 3 2 3 ~ 3 2 5 の配列 R T A A A P S は、配列 R T V A A P S で置き換えられる。好ましいカップ軽鎖定常ドメインアロタイプを含む好ましい実施形態において、カップ軽鎖定常ドメインは配列番号 3 3 0 によるアミノ酸配列を有し、本明細書に開示される任意の軽鎖可変ドメインと組み合わせることができる。

10

20

【 0 1 7 2 】

ラムダ軽鎖の改変

上述のカップの例と同様に、ラムダ軽鎖可変ドメインも、完全長 I g G に再編成する際に制限部位 (例えば N h e 1 - N o t 1) を導入することによりクローン化され得る。より具体的には、ラムダ軽鎖の N 末端に、クローン化をサポートするために追加の A l a - S e r 配列が導入され得る。好ましくは、この追加の A S 配列は、その後、カノニカル N 末端配列を作製するような更なる開発の間に除去される。したがって、一実施形態において、本明細書に記載の抗体を含有するラムダ軽鎖は、それらの N 末端に A S 配列を含まない。すなわち、配列番号 1 4 8 ~ 1 5 5 及び 1 5 9 ~ 1 6 2 は最初の A S 配列を含まない。この実施形態は、この配列を含有する本明細書に含まれる他の配列にも適用されることが理解されよう。

30

【 0 1 7 3 】

別の例として、本明細書に記載の抗体の場合、ラムダ軽鎖可変ドメイン/定常ドメイン境界で、リジンからアラニンへの変更は、完全長の配列を調製する際のクローン化をサポートするために導入された。これにより、ラムダ定常ドメインが改変された。具体的には、これにより、定常ドメインは G Q P A A A P S (N o t I 制限部位から)ではじまることになる。好ましくは、この配列は、G Q P K A A P S で開始するカノニカルラムダ軽鎖定常領域を作製するように、更なる開発中に改変され得る。このような改変は、抗体の機能性を変更しない。したがって、一実施形態において、本明細書に記載の抗体を含有するラムダ軽鎖は、配列 G Q P K ではじまる定常ドメインを含有する。したがって、一実施形態において、配列番号 2 4 1 ~ 2 4 8、2 5 2 ~ 2 5 5、3 1 5 ~ 3 2 2 及び 3 2 6 ~ 3 2 9 の配列 G Q P A A A P S は、配列 G Q P K A A P S で置き換えられる。好ましいラムダ軽鎖定常ドメインアロタイプを含む好ましい実施形態において、ラムダ軽鎖定常ドメインは配列番号 3 3 1 によるアミノ酸配列を有し、本明細書に開示される任意の軽鎖可変ドメインと組み合わせることができる。

40

【 0 1 7 4 】

ラムダ軽鎖及びカップ軽鎖の改変

配列番号 1 4 0 ~ 1 6 2 として本明細書で開示されるラムダ及び/またはカップ軽鎖可変ドメインからの N 末端 A S 残基の除去に関する上述の開示を考慮して、本発明の単離さ

50

れた抗 V_H 4 抗体またはその断片は、N 末端 A S 残基を欠いた配列番号 140 ~ 162 に対応する配列番号 261 ~ 283 のいずれか 1 つによる軽鎖可変 (V_L) アミノ酸配列を含み得る。したがって、配列番号 140 ~ 162 の 1 つ以上による V_L アミノ酸配列への本明細書における任意の言及は、それぞれ、配列番号 261 ~ 283 による V_L アミノ酸配列で置き換えることができ、このようなすべての実施形態はここに開示される。例示として、配列番号 148 (クローン G4_12 に由来) による軽鎖可変ドメインに対する本明細書での言及は、配列番号 269 への言及と置き換えることができる。

【0175】

重鎖の改変

通常、ヒト可変重鎖配列は、塩基性グルタミン (Q) または酸性グルタミン酸 (E) のいずれかではじまる。しかし、そのような配列は両方とも、酸性アミノ酸残基であるピログルタミン酸 (pE) に変換されることが知られている。Q から pE への変換により抗体の電荷が変化するが、E から pE への変換は抗体の電荷を変化させない。したがって、経時的な電荷変化の変動を回避するための 1 つのオプションは、最初に開始重鎖配列を Q から E に改変することである。したがって、一実施形態において、重鎖の N 末端に Q 残基を有する本明細書に記載の抗体の重鎖は、N 末端に Q から E への変更を含有し得る。特に、配列番号 118、120、124、126、132、133、135、137、138 及び/または 139 のいずれかの最初の残基は、Q から E へ改変し得る。この実施形態はまた、この配列を含有する本明細書に含まれる他の配列にも適用されることが理解されるであろう (すなわち、これらの配列を、例えば完全長抗体またはその断片に組み込む任意の実施形態)。いくつかの実施形態において、重鎖の N 末端の E 残基を Q 残基に置換することが有利であり得る。したがって、いくつかの実施形態において、任意の 1 つの配列番号 117、119、121 ~ 123、125、127 ~ 131、134 及び/または 136 の N 末端の E 残基は、Q 残基で置換され得る。

【0176】

更に、IgG1 定常ドメインの C 末端は P G K で終わる。しかしながら、更に末端の塩基性リジン (K) は、発現中にしばしば切断される (例えば、CHO 細胞で)。これにより、C 末端のリジン残基が様々に失われることにより抗体の電荷が変化する。したがって、1 つのオプションは、最初にリジンを除去して、P G で終わる均一かつ一貫した重鎖 C 末端配列をもたらすことである。したがって、一実施形態において、本明細書に記載の抗体の重鎖は、その C 末端から除去された末端 K を有する。特に、本発明の抗体は、末端リジン残基が除去されている配列番号 233 ~ 255 または 284 ~ 306 のいずれか 1 つを含み得る。

【0177】

任意のアロタイプの改変

抗体の発見中に、特定のヒトアロタイプを使用し得る。任意選択で、抗体は、開発中に異なるヒトアロタイプに切り替えることができる。非限定的な例として、カッパ鎖には、3 つの Km 対立遺伝子を定義する Km1、Km1, 2 及び Km3 と呼ばれる 3 つのヒトアロタイプがある (アロタイプ番号付けを使用)。Km1 はバリン 153 (IMGT V45.1) 及びロイシン 191 (IMGT L101) と関連し、Km1, 2 はアラニン 153 (IMGT A45.1) 及びロイシン 191 (IMGT L101) と関連し、Km3 はアラニン 153 (IMGT A45.1) 及びバリン 191 (IMGT V101) と関連する。したがって、任意選択で、標準的なクローン化アプローチによって、1 つのアロタイプから別のアロタイプに配列を改変することができる。例えば L191V (IMGT L101V) を変更すると、Km1, 2 アロタイプが Km3 アロタイプに変換される。このようなアロタイプの詳細については、Jefferys and Lefranc (2009) MAbs 1(4): 332-8 を参照し、これは参照により本明細書に組み込まれる。

【0178】

したがって、一実施形態において、本明細書に記載の抗体は、同じ遺伝子の別のヒトア

ロタイプに由来するアミノ酸置換を含有する。更なる実施形態において、抗体は、cドメインを km1, 2 から km3 アロタイプに変換するためのカップ鎖への L191V (IMGTL101V) 置換を含有する。

【0179】

好ましいカップ鎖軽鎖定常ドメインアロタイプを含む好ましい実施形態において、カップ鎖軽鎖定常ドメインは配列番号330によるアミノ酸配列を有し、本明細書に開示される任意の軽鎖可変ドメインと組み合わせることができる。好ましいラムダ軽鎖定常ドメインアロタイプを含む代替の好ましい実施形態において、ラムダ軽鎖定常ドメインは配列番号331によるアミノ酸配列を有し、本明細書に開示される任意の軽鎖可変ドメインと組み合わせることができる。

10

【0180】

抗体結合

本発明の抗体またはその断片は、表面プラズモン共鳴によって測定される $3.0 \times 10^{-7} \text{ M}$ (すなわち、300 nM) 未満または $1.5 \times 10^{-7} \text{ M}$ (すなわち、150 nM) 未満の結合親和性 (KD) で TCR の V4 鎖に結合し得る。更なる実施形態において、KD は、 $1.3 \times 10^{-7} \text{ M}$ (すなわち、130 nM) 以下、例えば $1.0 \times 10^{-7} \text{ M}$ (すなわち、100 nM) 以下である。更に別の実施形態において、KD は、 $6.0 \times 10^{-8} \text{ M}$ (すなわち、60 nM) 未満、例えば $5.0 \times 10^{-8} \text{ M}$ (すなわち、50 nM) 未満、 $4.0 \times 10^{-8} \text{ M}$ (すなわち、40 nM) 未満、 $3.0 \times 10^{-8} \text{ M}$ (すなわち、30 nM) 未満または $2.0 \times 10^{-8} \text{ M}$ (すなわち、20 nM) 未満である。更なる実施形態において、KD は、 $1.0 \times 10^{-8} \text{ M}$ (すなわち、10 nM) 以下、例えば $5.0 \times 10^{-9} \text{ M}$ (すなわち、5 nM) 以下、 $4.0 \times 10^{-9} \text{ M}$ (すなわち、4 nM) 以下、 $3.0 \times 10^{-9} \text{ M}$ (すなわち、3 nM) 以下、 $2.0 \times 10^{-9} \text{ M}$ (すなわち、2 nM) 以下または $1.0 \times 10^{-9} \text{ M}$ (すなわち、1 nM) 以下であり得る。例えば、一態様によれば、表面プラズモン共鳴によって測定される $1.5 \times 10^{-7} \text{ M}$ (すなわち、150 nM) 未満の結合親和性 (KD) で TCR の V4 鎖に結合する (例えば、ヒト) 抗 V4 抗体が提供される。

20

【0181】

本発明の一態様において、表面プラズモン共鳴によって測定される $4.0 \times 10^{-8} \text{ M}$ (すなわち、40 nM) 未満、 $3.0 \times 10^{-8} \text{ M}$ (すなわち、30 nM) 未満または $2.0 \times 10^{-8} \text{ M}$ (すなわち、20 nM) 未満の結合親和性 (KD) で TCR の V4 鎖に結合する抗体またはその断片が提供される。

30

【0182】

一実施形態において、抗体またはその断片の結合親和性は、抗体またはその断片を直接または間接的に (例えば、抗ヒト IgG Fc による捕捉によって) センサーの表面上 (例えば、アミン高容量チップまたは同等物) にコーティングすることによって確立され、抗体またはその断片によって結合された標的 (すなわち、TCR の V4 鎖) は、結合を検出するためにチップ上を流れる。代替の実施形態において、抗原は、その上を試験抗体またはその断片が流される、センサーの表面に直接または間接的にコーティングされ得る。当業者であれば、適切な試験条件を十分に決定することができる。例えば、適切には、MASS-2 装置 (Sierra SPR-32 と呼ばれる) を、PBS + 0.02% Tween 20 泳動緩衝液中で $30 \mu\text{l}/\text{分}$ の速度で 25°C にて使用できる。他の適切な実施形態において、Reichert 4 SPR 装置を、PBS + 0.05% Tween 20 中で流速 $20 \mu\text{l}/\text{分}$ で室温 (例えば 25°C) にて使用できる。

40

【0183】

抗体の機能特性

抗体機能を定義するために使用され得るアッセイが、本明細書に記載されている。例えば、本明細書に記載の抗体またはその断片は、TCR の関与、例えば、抗体結合時の TCR の下方制御及び/または抗体結合時の CD69 表面発現の上方制御を測定することによって評価され得る。抗体またはその断片の適用 (任意選択で細胞の表面に提示さ

50

れる)後に TCRまたはCD69の表面発現を、例えばフローサイトメトリーによって測定することができる。

【0184】

本明細書に記載の抗体またはその断片はまた、T細胞の脱顆粒を測定することによっても評価することができる。例えば、T細胞への抗体またはその断片の適用(任意選択で細胞の表面に提示される)後に細胞脱顆粒のマーカーであるCD107aの発現は、例えばフローサイトメトリーによって測定することができる。本明細書に記載の抗体またはその断片はまた、T細胞媒介性死滅活性を測定することによって評価することができる(抗体がT細胞の死滅活性に影響を与えるかどうか、すなわち直接または間接的に標的細胞を死滅させるためT細胞を誘導する抗体の能力を試験するため)。例えば、標的細胞は、抗体またはその断片の存在下(任意選択で細胞の表面に提示される)でT細胞と共にインキュベートされ得る。インキュベーション後、培養物を細胞生存率色素で染色して、生きている標的細胞と死んでいる標的細胞を区別することができる。次に、死細胞の割合を、例えばフローサイトメトリーによって測定することができる。

10

【0185】

本明細書に記載されるように、アッセイで使用される抗体またはその断片は、表面、例えば、Fc受容体を含む細胞などの細胞の表面に提示され得る。例えば、抗体またはその断片は、TIB-202(商標)細胞(American Type Culture Collection(ATCC)から入手可能)などのTHP-1細胞の表面に提示され得る。あるいは、抗体またはその断片は、アッセイで直接使用され得る。

20

【0186】

このような機能アッセイにおいて、「EC50」または「50%有効濃度」とも称される最大濃度の半分を計算することによって、出力を測定できる。「IC50」という用語は、阻害濃度を指す。EC50及びIC50の両方は、フローサイトメトリー法などの当技術分野で既知の方法を使用して測定することができる。誤解を避けるために、本出願におけるEC50の値は、IgG1型抗体を使用して提供されている。このような値は、抗体形式の分子量に基づいて、以下のように同等の値に簡単に変換できる。

$$(\mu\text{g}/\text{ml}) / (\text{kDa中のMW}) = \mu\text{M}$$

【0187】

本明細書ではミリリットルを「ml」または「mL」と表記し、同義的に使用できる。

30

【0188】

抗体(または断片)結合時のTCRの下方制御のEC50は、0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 未満、例えば0.4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、0.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、0.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、0.15 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ または0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 未満であり得る。特に、前記EC50値は、抗体がIgG1型で測定された場合のものである。例えば、EC50 TCR下方制御値は、フローサイトメトリーを使用して測定できる。

【0189】

抗体(または断片)結合時のT細胞脱顆粒のEC50は、0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 未満、例えば0.04 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、0.03 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、0.02 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、0.015 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、0.01 $\mu\text{g}/\text{ml}$ または0.008 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 未満であり得る。特に、前記EC50値は、抗体がIgG1型で測定された場合のものである。例えば、T細胞脱顆粒EC50値は、フローサイトメトリーを使用してCD107a発現(すなわち、細胞脱顆粒のマーカー)を検出することによって測定できる。一実施形態において、CD107a発現は、抗ヒトCD107aBV421(クローンH4A3)(BD Biosciences)などの抗CD107a抗体を使用して測定される。

40

【0190】

抗体(または断片)結合時のT細胞媒介性死滅のEC50は、0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 未満、例えば0.4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、0.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、0.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、0.15 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ または0.07 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 未満であり得る。特に、前記EC50値は、抗体がIgG1型で測定された場合のものである。例えば、EC50 T細胞媒介

50

性死滅値は、抗体、T細胞及び標的細胞のインキュベーション後にフローサイトメトリーを使用して死細胞の割合を検出することによって（つまり、細胞生存率色素を使用して）測定できる。一実施形態において、標的細胞の死は、細胞生存率色素である Viability Dye eFluor（商標）520（ThermoFisher）を使用して測定される。

【0191】

これらの態様で説明されるアッセイにおいて、抗体またはその断片は、THP-1細胞、例えばTIB-202（商標）（ATCC）などの細胞の表面に提示され得る。THP-1細胞は、Cell Tracker（商標）Orange CMTMR（ThermoFisher）などの色素で任意選択で標識されている。

10

【0192】

免疫複合体

本発明の抗体またはその断片は、細胞毒素または化学療法剤などの治療部位にコンジュゲートされ得る。このようなコンジュゲートは、免疫複合体と称され得る。本明細書で使用する場合、「免疫複合体」という用語は、細胞毒素、放射性薬剤、サイトカイン、インターフェロン、標的部位もしくはレポーター部位、酵素、毒素、ペプチドもしくはタンパク質もしくは治療薬などの別の部位に化学的もしくは生物学的に結合された抗体またはその断片を指す。抗体またはその断片は、その標的に結合することができる限り、分子に沿った任意の位置で、細胞毒素、放射性薬剤、サイトカイン、インターフェロン、標的部位もしくはレポーター部位、酵素、毒素、ペプチドまたは治療薬に結合され得る。免疫複体の例には、抗体-薬物複合体及び抗体-毒素融合タンパク質が含まれる。一実施形態において、薬剤は、V4に対する第2の異なる抗体であり得る。特定の実施形態において、抗体は、腫瘍細胞またはウイルス感染細胞に特異的な薬剤にコンジュゲートされ得る。抗V4抗体にコンジュゲートさせ得る治療部位の種類は、治療すべき状態及び達成されるべき所望の治療効果を考慮したものになる。

20

【0193】

多重特異性抗体

本発明の抗体は、単一特異性であり得るか、またはそれらは追加の標的に結合し得、したがって二重特異性もしくは多重特異性であり得る。多重特異性抗体は、1つの標的ポリペプチドの異なるエピトープに特異的であり得るか、または複数の標的ポリペプチドに特異的であり得る。したがって、一実施形態において、抗体またはその断片は、V4に対する第1の結合特異性及び第2の標的エピトープに対する第2の結合特異性を含む。

30

【0194】

第2の結合特異性は、V4と同じ細胞上、または同じ組織型もしくは異なる組織型の異なる細胞上の抗原を標的とし得る。特定の実施形態において、標的エピトープは、異なるT細胞、B細胞、腫瘍細胞、自己免疫組織細胞またはウイルス感染細胞を含む異なる細胞上にあり得る。あるいは、標的エピトープは同じ細胞上にあり得る。

【0195】

ポリヌクレオチド及び発現ベクター

本発明の一態様において、本発明の抗V4抗体または断片をコードするポリヌクレオチドが提供される。一実施形態において、ポリヌクレオチドは、配列番号187~232と少なくとも70%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも99%の配列同一性を有する配列を含む、またはそれからなる。一実施形態において、発現ベクターは、配列番号187~209のVH領域を含む。別の実施形態において、発現ベクターは、配列番号210~232のVL領域を含む。更なる実施形態において、ポリヌクレオチドは、配列番号187~232を含む、またはそれからなる。更なる態様において、前記ポリヌクレオチドを含むcDNAが提供される。

40

【0196】

一実施形態において、ポリヌクレオチドは、配列番号195、189、199、200

50

、 202、204、208、218、212、222、223、225、227または231と少なくとも70%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも99%の配列同一性を有する配列を含む、またはそれからなる。一実施形態において、発現ベクターは、配列番号195、189、199、200、202、204または208のVH領域を含む。別の実施形態において、発現ベクターは、配列番号218、212、222、223、225、227または231のVL領域を含む。更なる実施形態において、ポリヌクレオチドは、配列番号195、189、199、200、202、204、208、218、212、222、223、225、227または231、特に配列番号195及び/または218、または配列番号189及び/または212を含む、またはそれからなる。更なる態様において、前記ポリヌクレオチドを含むcDNAが提供される。

10

【0197】

本発明の一態様において、コードされた免疫グロブリン鎖可変ドメインのCDR1、CDR2及び/またはCDR3をコードする配列番号187~232の部分のいずれか1つと少なくとも70%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも99%の配列同一性を有する配列を含む、またはそれからなるポリヌクレオチドが提供される。一実施形態において、ポリヌクレオチドは、コードされた免疫グロブリン鎖可変ドメインのCDR1、CDR2及び/またはCDR3をコードする配列番号195、189、199、200、202、204、208、218、212、222、223、225、227または231と少なくとも70%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも99%の配列同一性を有する配列を含む、またはそれからなる。

20

【0198】

本発明の一態様において、コードされた免疫グロブリン鎖可変ドメインのFR1、FR2、FR3及び/またはFR4をコードする配列番号187~232の部分のいずれか1つと少なくとも70%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも99%の配列同一性を有する配列を含む、またはそれからなるポリヌクレオチドが提供される。一実施形態において、ポリヌクレオチドは、コードされた免疫グロブリン鎖可変ドメインのFR1、FR2、FR3及び/またはFR4をコードする配列番号195、189、199、200、202、204、208、218、212、222、223、225、227または231と少なくとも70%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも99%の配列同一性を有する配列を含む、またはそれからなる。

30

【0199】

抗体またはその断片を発現させるために、本明細書に記載の部分長または完全長の軽鎖及び重鎖をコードするポリヌクレオチドを、遺伝子が転写及び翻訳制御配列に作動可能に結合されるように、発現ベクター内に挿入される(それは、当技術分野でよく理解されているように「発現カセット」と称され得る)。したがって、本発明の一態様において、本明細書で定義される本発明のポリヌクレオチド配列を含む発現ベクターが提供される。一実施形態において、発現ベクターは、配列番号195、189、199、200、202、204または208のいずれか1つなど配列番号187~209のいずれか1つのVH配列を含む。別の実施形態において、発現ベクターは、配列番号218、212、222、223、225、227または231のいずれか1つなど配列番号210~232のいずれか1つのVL領域を含む。このような発現ベクターまたはカセットは、本明細書に開示される本発明の抗体を提供する様々なアミノ酸配列の対化に従って、重鎖可変配列及び軽鎖可変配列を適切に対化して、対で使用され得る。いくつかの実施形態において、発現ベクターは、配列番号187~209(可変重領域をコードする)のいずれか1つと少なくとも70%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも99%の配列同一性または100%の同一性を有する配列を含み、及び配列番号210~232(可変軽領域をコードする)のいずれか1つと少なくとも

40

50

70%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも99%の配列同一性または100%の同一性を有する配列を更に含む。ここでも、配列は、本発明の抗体をコードするために本明細書に記載されるように特定の対で提供され得る。

【0200】

本発明はまた、任意選択で1つ以上のアミノ酸置換を含む本明細書に開示される任意の変異抗体配列を含む、本明細書に開示されるすべての抗体配列をコードするポリヌクレオチド配列及び発現ベクター及びプラスミドを提供する。

【0201】

本発明のポリヌクレオチド及び発現ベクターはまた、コードされたアミノ酸配列を参照して記載され得る。したがって、一実施形態において、ポリヌクレオチドは、配列番号1~186、233~260のいずれか1つのアミノ酸配列をコードする配列を含む、またはそれからなる。

【0202】

ポリペプチドのアミノ酸配列に関してサイレントであるが特定の宿主における翻訳のための好ましいコドンを提供するポリペプチドをコードするDNAまたはcDNAに、突然変異を起こすことができる。例えば、*E. coli*及び*S. cerevisiae*、ならびに哺乳動物、特にヒトにおける核酸の翻訳のための好ましいコドンが知られている。

【0203】

ポリペプチドの突然変異は、例えば、ポリペプチドをコードする核酸への置換、付加または欠失によって達成することができる。ポリペプチドをコードする核酸への置換、付加または欠失は、例えば、エラーブローンPCR、混合、オリゴヌクレオチド指定突然変異、アセンブリPCR、PCR突然変異誘発、*in vivo*突然変異誘発、カセット突然変異誘発、再帰アンサンブル突然変異誘発、指数アンサンブル突然変異誘発、部位特異的突然変異誘発、遺伝子再構築、人工遺伝子合成、遺伝子部位飽和突然変異誘発(GSSM)、合成ライゲーション再構築(SLR)、またはこれらの方法の組み合わせを含む多くの方法によって導入され得る。核酸への修飾、付加または欠失はまた、組換え、再帰的配列組換え、ホスホチオエート修飾DNA突然変異誘発、ウラシル含有プレート突然変異誘発、ギャップ二重鎖突然変異誘発、ポイントミスマッチ修復突然変異誘発、修復欠損宿主株突然変異誘発、化学的突然変異誘発、放射性突然変異誘発、欠失突然変異誘発、制限選択突然変異誘発、制限精製突然変異誘発、アンサンブル突然変異誘発、キメラ核酸多量体作製、またはこれらの組み合わせを含む方法によって導入され得る。

【0204】

特に、人工遺伝子合成を使用することができる。本発明のポリペプチドをコードする遺伝子は、例えば、固相DNA合成によって合成的に生成することができる。前駆体プレートDNAを必要とせずに、遺伝子全体を*de novo*に合成することができる。所望のオリゴヌクレオチドを得るために、構成要素は、生成物の配列によって必要とされる順序で、成長するオリゴヌクレオチド鎖に連続的に結合される。鎖構築が完了すると、生成物は固相から溶液に放出され、脱保護され、収集される。高速液体クロマトグラフィー(HPLC)により生成物を単離し、所望のオリゴヌクレオチドを高純度で得ることができる。

【0205】

発現ベクターには、例えば、プラスミド、レトロウイルス、コスミド、酵母人工染色体(YAC)及びエプスタイン・バーウイルス(EBV)由来エピソームが含まれる。ベクター内の転写及び翻訳制御配列がポリヌクレオチドの転写及び翻訳を調節する意図された機能を果たすように、ポリヌクレオチドをベクターにライゲーションする。発現及び/または制御配列は、プロモーター、エンハンサー、転写ターミネーター、コード配列の5'側の開始コドン(すなわち、ATG)、イントロンのスプライシングシグナル及び終止コドンを含み得る。発現ベクター及び発現制御配列は、使用する発現宿主細胞と適合するように選択される。したがって、本発明は更に、合成リンカー(配列番号186をコードす

10

20

30

40

50

る)によって結合されたVH領域及びVL領域を含む、配列番号163~185のいずれか1つによる本発明の一本鎖可変フラグメントをコードするヌクレオチド配列を提供する。本発明のポリヌクレオチドまたは発現ベクターは、VH領域、VL領域、またはその両方(任意選択でリンカーを含む)を含み得ることが理解されるであろう。したがって、VH領域及びVL領域をコードするポリヌクレオチドを別々のベクターに挿入することができ、あるいは両方の領域をコードする配列を同じ発現ベクターに挿入する。ポリヌクレオチド(複数可)は、標準的な方法(例えば、ポリヌクレオチド及びベクターの相補的制限酵素部位のライゲーション、または制限酵素部位が存在しない場合は平滑末端ライゲーション)によって発現ベクターに挿入される。

【0206】

10

便利なベクターは、機能的に完全なヒトCHまたはCL免疫グロブリン配列をコードするものであり、本明細書に記載されるように、任意のVH配列またはVL配列を容易に挿入及び発現できるように操作された適切な制限部位を備える。発現ベクターはまた、宿主細胞からの抗体(またはその断片)の分泌を促進するシグナルペプチドをコードすることができる。ポリヌクレオチドは、シグナルペプチドが抗体のアミノ末端にインフレームで結合されるようにベクターにクローン化され得る。シグナルペプチドは、免疫グロブリンシグナルペプチドまたは異種シグナルペプチド(すなわち、非免疫グロブリンタンパク質からのシグナルペプチド)であり得る。

【0207】

本発明の一態様において、本明細書で定義されるポリヌクレオチドまたは発現ベクターを含む細胞(例えば、宿主細胞)が提供される。細胞は、抗体またはその断片の軽鎖をコードする第1のベクター、及び抗体またはその断片の重鎖をコードする第2のベクターを含み得ることが理解されよう。あるいは、重鎖及び軽鎖の両方は、細胞に導入された同じ発現ベクター上にコードされ得る。

20

【0208】

一実施形態において、ポリヌクレオチドまたは発現ベクターは、抗体またはその断片に融合された膜アンカーまたは膜貫通ドメインをコードし、抗体またはその断片は細胞の細胞外表面に提示される。

【0209】

形質転換は、ポリヌクレオチドを宿主細胞に導入するための任意の既知の方法によることができる。異種ポリヌクレオチドを哺乳動物細胞に導入する方法は当技術分野で周知であり、デキストラン媒介トランスフェクション、リン酸カルシウム沈殿、ポリブレン媒介トランスフェクション、プロトプラスト融合、エレクトロポレーション、形質導入、リポソームへのポリヌクレオチド(複数可)の封入、遺伝子銃注射、DNAの核への直接マイクロインジェクションが含まれる。更に、核酸分子は、ウイルスベクターによって哺乳動物細胞に導入され得る。

30

【0210】

発現のための宿主として利用可能な哺乳動物細胞株は当技術分野で周知であり、American Type Culture Collection(ATCC)から入手可能な多くの不死化細胞株を含む。これらには、とりわけ、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞、NSO、SP2細胞、HeLa細胞、ベビーハムスター腎臓(BHK)細胞、サル腎臓細胞(COS)、ヒト肝細胞癌細胞(例えば、HepG2)、A549細胞、3T3細胞、及び他の多くの細胞株が含まれる。哺乳動物宿主細胞には、ヒト、マウス、ラット、イヌ、サル、ブタ、ヤギ、ウシ、ウマ及びハムスター細胞が含まれる。特に好ましい細胞株は、どの細胞株が高い発現レベルを有するかを決定することによって選択される。使用できる他の細胞株は、Sf9細胞、両生類細胞、細菌細胞、植物細胞及び真菌細胞などの昆虫細胞株である。scFv断片及びFv断片などの抗体の抗原結合断片は、当技術分野で既知の方法を使用して、E.coliで単離及び発現させることができる。

40

【0211】

抗体は、宿主細胞における抗体の発現、またはより好ましくは宿主細胞が増殖する培地

50

への抗体の分泌を可能にするのに十分な期間、宿主細胞を培養することによって作成される。抗体は、標準的なタンパク質精製法を使用して培地から回収され得る。

【0212】

本発明の抗体（または断片）は、例えば、Green and Sambrook, Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2012) 4th Edition Cold Spring Harbour Laboratory Pressに開示されている技術を使用して取得及び操作することができる。

【0213】

モノクローナル抗体は、ハイブリドーマ技術を使用して、特定の抗体産生B細胞を、組織培養で増殖する能力及び抗体鎖合成の欠如のために選択された骨髄腫（B細胞癌）細胞と融合させることによって生成され得る。

10

【0214】

決定された抗原に対するモノクローナル抗体は、例えば、

a) ハイブリドーマを形成するために、決定された抗原で、不死細胞で及び好ましくは骨髄腫細胞で以前に免疫化された動物の末梢血から得られたリンパ球を不死化することと、

b) 形成された不死化細胞（ハイブリドーマ）を培養し、所望の特異性を有する抗体を産生する細胞を回収することと、によって得ることができる。

【0215】

あるいは、ハイブリドーマ細胞を使用する必要はない。本明細書に記載の標的抗原に結合することができる抗体は、例えばファージディスプレイ、酵母ディスプレイ、リボソームディスプレイ、または当技術分野で既知の哺乳動物ディスプレイ技術を使用して、日常業務を介して適切な抗体ライブラリから単離することができる。したがって、モノクローナル抗体は、例えば、

20

a) ベクターに、特にファージ及びより具体的には糸状バクテリオファージ、リンパ球、特に動物の末梢血リンパ球から得られたDNAまたはcDNA配列（適切には決定された抗原で免疫されている）へクローン化することと、

b) 抗体の産生を可能にする条件で、上記のベクターで原核細胞を形質転換することと、

30

c) 抗体を抗原親和性選択にかけることにより、抗体を選択することと、

d) 所望の特異性を有する抗体を回収することと、の工程を含むプロセスによって得ることができる。

【0216】

任意選択で、本明細書に記載の抗体またはその断片をコードしかつT細胞のV_H鎖に結合する単離されたポリヌクレオチドもまた、疾患の徴候または症状を改善するための薬剤として使用されるのに十分な量を作製するために容易に製造され得る。このように薬剤として使用される場合、通常、目的のポリヌクレオチドは最初に、対象または患者において前記抗体もしくはその断片を発現するように設計された発現ベクターまたは発現カセットに作動可能に結合される。このような発現カセット及びポリヌクレオチドの送達方法などは「核酸系」薬剤と呼ばれることがあり、当技術分野では既知である。最近の概説については、Hollevoet and Declercq (2017) J. Transl. Med. 15(1): 131を参照のこと。

40

【0217】

細胞内でプラスミドまたはベクターのコード化核酸配列を発現する条件下で細胞培養培地中で本発明の宿主細胞を培養することを含む、抗V_H抗体またはその断片または変異体の生成のための方法も提供される。本方法は、細胞培養上清から抗V_H抗体またはその断片または変異体を取得することを更に含み得る。次に、得られた抗原結合分子を医薬組成物に配合することができる。更に、本発明のプラスミドまたはベクターで前記細胞をトランスフェクトすることを含む、抗V_H抗体またはその断片または変異体を生

50

成するために前記細胞を培養することができる。

【0218】

医薬組成物

本発明の更なる態様によれば、本明細書で定義される抗体またはその断片を含む組成物が提供される。このような実施形態において、組成物は、任意選択で他の賦形剤と組み合わせ、抗体を含み得る。1つ以上の追加の活性剤（例えば、本明細書に記載の疾患を治療するのに適した活性剤）を含む組成物も含まれる。

【0219】

本発明の更なる態様に従って、本明細書で定義される抗体またはその断片を、薬学的に許容される希釈剤または担体と共に含む医薬組成物も提供される。本発明の抗体は、対象への投与に適した医薬組成物に組み込むことができる。典型的には、医薬組成物は、本発明の抗体及び薬学的に許容される担体を含む。本明細書で使用する場合、「薬学的に許容される担体」には、生理的に適合可能なありとあらゆる溶媒、分散媒、コーティング、抗菌剤及び抗真菌薬剤、等張剤、ならびに吸収遅延剤などが含まれる。薬学的に許容される担体の例には、水、生理食塩水、塩、リン酸緩衝生理食塩水、デキストロース、グリセロール、エタノールなどのうちの1つ以上、ならびにこれらの組み合わせが含まれる。多くの場合、組成物中に等張剤、例えば糖類、ポリアルコール（マンニトール、ソルビトールなど）または塩化ナトリウムを含むのが好ましい。湿潤剤などの薬学的に許容される物質、または湿潤剤もしくは乳化剤などの少量の補助物質、抗体もしくはその断片の貯蔵寿命もしくは有効性を高める防腐剤または緩衝液が含まれ得る。

10

20

【0220】

本発明の組成物は、様々な形態であり得る。これらには、例えば、液体溶液（例えば、注射可能及び注入可能な溶液）、分散液または懸濁液、錠剤、丸薬、粉末、リポソーム及び坐剤などの液体、半固体ならびに固体の剤形が含まれる。好ましい形態は、意図される投与様式及び治療用途に依存する。典型的な好ましい組成物は、注射可能または注入可能な溶液の形態である。

【0221】

好ましい投与様式は、非経口（例えば、静脈内、皮下、腹腔内、筋肉内）である。いくつかの実施形態において、抗体は静脈内注入または注射によって投与される。別の好ましい実施形態において、抗体は筋肉内注射または皮下注射によって投与される。

30

【0222】

治療用組成物は、通常、製造及び保管条件下で無菌かつ安定していなければならない。組成物は、溶液、マイクロエマルション、リポソーム、または高い薬物濃度に好適な他の秩序構造として配合され得る。

【0223】

このような疾患の治療に通常使用される他の確立された治療の補助として、またはそれと組み合わせて、本明細書に記載の疾患の治療のための治療方法において本発明の医薬組成物を使用することは、本発明の範囲内である。

【0224】

本発明の更なる態様において、抗体、組成物または医薬組成物は、少なくとも1つの活性剤と共に、連続的に、同時にまたは別々に投与される。

40

【0225】

治療方法

本発明の更なる態様によれば、薬剤として使用するために、本明細書で定義される単離された抗V₄抗体またはその断片が提供される。

【0226】

一実施形態において、抗体またはその断片は治療に使用するためのものである。特に、抗体またはその断片は、がん、感染症または炎症性疾患の治療に使用するためのものであり得る。更なる実施形態において、抗体またはその断片は、がんの治療に使用するためのものである。

50

【 0 2 2 7 】

本発明の更なる態様によれば、薬剤として使用するための本明細書で定義される医薬組成物が提供される。一実施形態において、医薬組成物は、治療に使用するためのものであり、特にがん、感染症または炎症性疾患の治療に使用するためのものである。更なる実施形態において、医薬組成物は、がんの治療に使用するためのものである。

【 0 2 2 8 】

本発明の更なる態様によれば、本明細書で定義される治療上有効な量の単離された抗 V 4 抗体またはその断片を投与することを含む、それを必要とする対象の免疫応答を調節する方法が提供される。様々な実施形態において、対象の免疫応答の調節は、 T 細胞の結合または標的化、 T 細胞の活性化、 T 細胞の増殖を引き起こすまたは増加させる、 T 細胞の拡大を引き起こすまたは増加させる、 T 細胞の脱顆粒を引き起こすまたは増加させる、 T 細胞を介した死滅活性を引き起こすまたは増加させることを含む。

10

【 0 2 2 9 】

本発明の更なる態様によれば、本明細書で定義される治療上有効な量の単離された抗 V 4 抗体またはその断片を投与することを含む、それを必要とする対象のがん、感染症または炎症性疾患を治療する方法が提供される。あるいは、治療上有効な量の医薬組成物が投与される。

【 0 2 3 0 】

本発明の更なる態様によれば、例えばがん、感染症または炎症性疾患の治療において、薬剤の製造のために本明細書で定義される抗体またはその断片の使用が提供される。

20

【 0 2 3 1 】

抗体またはその断片の使用

本発明の更なる態様によれば、 T 細胞（特に V 4 T 細胞）の抗原認識、活性化、シグナル伝達または機能を研究するために、本明細書に記載の抗 V 4 抗体またはその断片の使用が提供される。本明細書に記載されるように、抗体は、 T 細胞機能を調査するために使用することができるアッセイにおいて活性であることが示されている。このような抗体は、 T 細胞の増殖を誘導するのにも有用であり得、したがって T 細胞（ V 4 T 細胞など）を増殖させる方法で使用することができる。

【 0 2 3 2 】

V 4 鎖に結合する抗体は、 T 細胞を検出するために使用できる。例えば、抗体は、検出可能な標識またはレポーター分子で標識され得るか、または試料中の V 4 T 細胞を選択的に検出及び/または分離するための捕捉リガンドとして使用され得る。標識抗体は、例えば、免疫組織化学や E L I S A といった当技術分野で既知の多くの方法で使用されている。

30

【 0 2 3 3 】

検出可能な標識またはレポーター分子は、³H、¹⁴C、³²P、³⁵S もしくは ¹²⁵I などの放射性同位元素、フルオレセインイソチオシアネートもしくはローダミンなどの蛍光部位または化学発光部位、またはアルカリホスファターゼ、 β -ガラクトシダーゼ、西洋ワサビペルオキシダーゼもしくはルシフェラーゼなどの酵素であり得る。次に、本発明の抗体に適用される蛍光標識は、蛍光標識細胞分取（ F A C S ）法で使用され得る。

40

【 0 2 3 4 】

抗体またはその断片を作製する方法

抗体の作製で使用するための可溶性 T C R が、本明細書に記載されている。本明細書に記載のとおり、本発明の開発前は、 V 4 鎖、特にヒト V 4 鎖に特異的に結合することができる抗体またはその断片を開発するのは不可能であるとするのが通説であった。これは、 T C R のヒト V 4 鎖とヒト V 2 鎖の間に高度な配列類似性（ 9 1 % ）があるためであった。この重要な課題を克服するために、本発明者らは特定の抗原及び方法論を開発した。したがって、本発明の一態様によれば、抗 V 4 抗体またはその断片を作製する際に使用するために、配列番号 2 5 6 と少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するアミノ

50

酸配列を含む単離された抗原が提供される。

【0235】

抗原調製プロセスの別の重要な態様は、タンパク質としての発現に適した抗原を設計することであった。TCRは、鎖間及び鎖内にジスルフィド結合を備えたヘテロ二量体を含む複雑なタンパク質である。ロイシンジッパー(LZ)形式及びFc形式を使用して、ファージディスプレイの選択で使用する可溶性TCR抗原を作製した。したがって、本発明はまた、抗V4抗体もしくはその断片を作製するために使用するための配列番号257または配列番号258と少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む単離された抗原を提供する。

【0236】

更に、ガンマデルタ()T細胞は、CDR3ポリクローナル性を備えたポリクローナルである。作製された抗体がCDR3配列に対して選択される状況を回避するために(CDR3配列はTCRクローンごとに異なるため)、抗原設計には異なる形式で一貫したCDR3を維持することが含まれていた。この設計は、生殖細胞系にコードされ、したがってすべてのクローンで同じであるガンマ4可変ドメイン内の配列を認識する抗体を作製し、T細胞のより広いサブセットを認識する抗体を提供することを目的とした。したがって、本発明の態様によれば、

(i) TCRガンマ可変4(V4)アミノ酸配列を含む一連の抗原を設計することであって、V4のCDR3配列は一連のすべての抗原について同じである、一連の抗原を設計することと、

(ii) 工程(i)で設計された第1の抗原を抗体ライブラリに曝露する(例えば、ファージディスプレイによって)ことと、

(iii) 抗原に結合する抗体もしくはその断片を単離することと、

(iv) 単離された抗体もしくはその断片を工程(i)で設計された第2の抗原に曝露することと、

(v) 第1の抗原及び第2の抗原の両方に結合する抗体もしくはその断片を単離することと、を含む抗V4抗体またはその断片を作製する方法が提供される。

【0237】

TRGV4アミノ酸配列は、好ましくは、配列番号1のアミノ酸1~99に対応するアミノ酸配列を有するヒトTRGV4に対応する。本明細書に記載の一連のアミノ酸はまた、様々な形式の抗原(すなわち、TCRガンマ可変4鎖)を含み得る。したがって、前記抗原は、合成/組換え抗原であり得る。例えば、抗原は、ロイシンジッパーまたはFc融合物として提示され得る。一実施形態において、TCRガンマ可変4(V4)アミノ酸配列は、配列番号256を含む。一実施形態において、TCRV4アミノ酸配列は、配列番号257を含む。一実施形態において、TCRV4アミノ酸配列は、配列番号258を含む。

【0238】

抗原はまた、タンパク質発現を補助するための追加の特徴を含み得る。例えば、本明細書に記載される組換えTCR抗原は、TCRまたはTCR定常領域に融合され得る(Xuet al. (2011) PNAS 108:2414-2419を参照)。

【0239】

一実施形態において、前記方法は、単離された抗体またはその断片を、ガンマ可変2(V2)またはガンマ可変8(V8)などの異なるガンマ可変鎖を有するTCRを含む第2の一連の抗原に曝露することと、その後、第2の一連の抗原にも結合する抗体またはその断片を選択解除することと、を含む。特に、前記方法は、単離された抗体またはその断片を、ガンマ可変2(V2)鎖を有するTCRを含む第2の一連の抗原に曝露することと、第2の一連の抗原にも結合する抗体またはその断片を選択解除することと、を含む。既に述べたように、V4とV2の配列の間に高い割合の同一性(約91%)があり、したがって、これにより、V4に特異的な抗体が確実に選択される。一実施形態において、第2の一連の抗原は、V2鎖を有するTCRを含む。TRGV2ア

10

20

30

40

50

ミノ酸配列及びTRGV8アミノ酸配列は好ましくは、それぞれ配列番号335及び336に対応するアミノ酸配列を有する、ヒトTRGV2及びTRGV8に対応する。TCRガンマ可変4鎖に関して上述したように、本明細書に記載の一連のTRGV2及びTRGV8抗原はまた、異なる形式の抗原を含み得る。したがって、前記抗原は、合成/組換え抗原であり得る。例えば、抗原は、ロイシンジッパーもしくはFc融合物として、またはTCR定数ドメイン(例えばTRAC及びTRBCドメイン)への融合物として提示され得る。したがって、更なる実施形態において、第2の一連の抗原は、配列番号259及び/または配列番号260を含む(V2可変ドメインを含む抗原)。

【0240】

更なる実施形態において、異なるガンマ可変鎖を有するTCRを含む第2の一連の抗原は、第1の一連の抗原と同じCDR3配列を含む。したがって、すべての抗原は同じCDR3配列(V4から)を含む。

【0241】

一実施形態において、第1及び/または第2の一連の抗原は、ロイシンジッパー及び/またはFc融合物として提示される。

【0242】

一実施形態において、一連の抗原は、ヘテロ二量体型及び/またはホモ二量体型である。

【0243】

更なる実施形態において、一連の抗原は、標的(すなわち、TCRガンマ変数4鎖)と共に、対になったTCR可変鎖を含む。特定の実施形態において、対のTCR可変鎖は、可変(V)鎖である(すなわち、抗原はヘテロ二量体型である)。一実施形態において、V4鎖及びV鎖は、少なくとも1つのジスルフィド結合によって共有結合されている。更なる実施形態において、V4鎖及びV鎖は、特定のヘテロ二量体相互作用(例えば、ロイシンジッパー)によって対にされる。代替の実施形態において、V4鎖及びV鎖は一本鎖インフレーム融合を含む。特定の実施形態において、V4鎖はV鎖のN末端である。代替の実施形態において、V4鎖はV鎖のC末端である。更なる実施形態において、一本鎖インフレーム融合は、内部リンカー配列を含む。代替の実施形態において、対のTCR可変鎖は別のV鎖である。更なる実施形態において、V鎖は標的と同じである(すなわち、抗原はホモ二量体型である)。

【0244】

本明細書で提供される実施例2は、使用され得る一連の抗原の例を記載している。(第1の)一連の抗原はV4が存在する抗原(例えば、L1、L4及びFc4/4)を含み、及び第2の一連の抗原はV4が存在しない抗原(例えば、L2、L3)を含むことが理解されよう。

【0245】

更なる実施形態において、一連の抗原は、TCR定常領域にインフレームで融合した標的(すなわち、TCRガンマ可変4鎖)を含む。例えば、前記TCR定常領域は、V4鎖のC末端にインフレームで融合され得る。一実施形態において、TCR定常領域はヒトTCR定常領域であり得る。一実施形態において、TCR定常領域は、TCRまたはTCR定常領域から選択される。別の実施形態において、定常領域は、TCR定常領域である。更に別の実施形態において、一連の抗原は更なる第2のTCR定常領域を含み得、第2のTCR定常領域は、対のTCR可変鎖にインフレームで融合される。更なる実施形態において、第2のTCR定常領域は、TCRまたはTCR定常領域から選択される。更なる実施形態において、定常領域は、TCR定常領域である。

【0246】

本発明のこの態様の方法は、生殖細胞系にコードされ、したがってすべてのクローンで同じである可変ドメイン内の配列を認識する抗体(またはその断片)を単離することを目的とし、したがってV4+T細胞のより広いサブセットを認識する抗体を提供する。

10

20

30

40

50

【0247】

本明細書に記載される一連の抗原は、可溶性もしくは結合/融合形態のいずれかで提示され得るか、または細胞膜に会合され得ることが理解されるであろう。例えば、表示の目的で、一連の抗原は、無機または有機材料（例えば、ビーズ、プレート、カラムまたはファージ）に融合もしくは繫留され得るか、または細胞表面上に発現され得る。

【0248】

本発明の様々な実施形態によれば、TCRガンマ可変4（V₄）アミノ酸配列を含む一連の抗原は、すべての抗原について同じであるV₄のCDR3配列を含む。一実施形態において、CDR3配列は、RSCBタンパク質データバンクエントリのCDR3配列、4MNHに由来する。

10

【0249】

本発明の更なる態様に従って、

(i) V₄可変ドメイン配列を含む少なくとも1つの第1のタンパク質を設計することと、

(ii) V₁、V₂、V₃、V₅、V₈、V₉、V₁₀またはV₁₁可変ドメイン配列を含む少なくとも1つの第2のタンパク質を設計することと、

(iii) 第2のタンパク質と比較して、第1のタンパク質に対してより強い結合シグナルもしくは強度もしくは特性を示す抗体を選択または単離または同定することと、を含む方法が提供される。

【0250】

一実施形態において、第2のタンパク質はV₂可変ドメイン配列を含む。更なる実施形態において、前記方法は、V₂可変ドメイン配列を含むタンパク質及びV₈可変ドメイン配列を含むタンパク質など少なくとも2つの第2のタンパク質を含む。

20

【0251】

本発明の更なる態様に従って、

(i) V₄可変ドメイン配列を含む少なくとも1つの第1のタンパク質を設計することと、

(ii) V₂可変ドメイン配列を含む少なくとも1つの第2のタンパク質を設計することと、

(iii) 抗体ライブラリを第1のタンパク質に曝露して、第1の配列に結合する抗体を選択することと、

(iv) 選択した抗体の結合強度またはシグナルまたは特性を第2のタンパク質と比較することと、

(v) 第2のタンパク質に対する結合シグナルもしくは強度もしくは特性よりも第1のタンパク質に対してより強い結合強度もしくはシグナルもしくは特性を示す抗体を選択、単離または同定することと、を含む方法が提供される。

30

【0252】

一実施形態において、第1のタンパク質及び/または第2のタンパク質は、多量体タンパク質を含む。更なる実施形態において、多量体タンパク質は、デルタ可変鎖に由来するTCR可変鎖などの対のTCR可変鎖を含む。

40

【0253】

一実施形態において、第1のタンパク質及び/または第2のタンパク質は可溶性タンパク質である。別の実施形態において、第1のタンパク質及び/または第2のタンパク質は細胞結合している。代替の実施形態において、第1のタンパク質及び/または第2のタンパク質はプレート結合している。

【0254】

一実施形態において、特性は、より多くのTCR受容体の代謝回転を誘導する抗体の能力である。別の実施形態において、特性は、V₄+細胞上でCD69を上方制御する抗体の能力である（例えば、V₂+細胞と比較して）。

【0255】

50

本発明の更なる態様によれば、本明細書で定義される方法によって得られる抗体が提供される。

【0256】

条項

本発明及びその好ましい態様を定義する条項のセットは以下のとおりである。

【0257】

1. T細胞受容体(TCR)のガンマ可変4(V₄)鎖に特異的に結合し、TCRのガンマ可変2(V₂)鎖には結合しない単離された抗体またはその断片。

【0258】

2. 前記TCRのV₄鎖がヒトV₄であり、前記TCRのV₂鎖がヒトV₂である、条項1に定義される単離された抗V₄抗体またはその断片。 10

【0259】

3. 配列番号1のアミノ酸領域67~82内の1つ以上のアミノ酸残基を含む前記TCRのV₄鎖のエピトープに結合する、条項1または2に定義される単離された抗V₄抗体またはその断片。

【0260】

4. 配列番号1のアミノ酸領域71~79内の1つ以上のアミノ酸残基を含む前記TCRのV₄鎖のエピトープに結合する、条項1~3のいずれか1つに定義される単離された抗V₄抗体またはその断片。

【0261】

5. 前記エピトープは、配列番号1のアミノ酸残基71、73、75、76、79のうち少なくとも1つを含む、条項4に定義される単離された抗V₄抗体またはその断片。 20

【0262】

6. 前記エピトープは、配列番号1のアミノ酸領域67~82内の1つ以上のアミノ酸残基からなる、条項1~5のいずれか1つに定義される単離された抗V₄抗体またはその断片。

【0263】

7. 前記エピトープは、配列番号1のK76及び/またはM80を含むかまたはそれからなる、条項1~6のいずれか1つに定義される単離された抗V₄抗体またはその断片。 30

【0264】

8. 前記エピトープはT細胞の活性化エピトープである、条項1~7のいずれか1つに定義される単離された抗V₄抗体またはその断片。

【0265】

9. 前記活性化エピトープの結合は、(i)前記TCRを下方制御する、(ii)前記T細胞の脱顆粒を活性化する、(iii)T細胞を介した死滅を活性化する、及び/または(iv)V₄鎖を介した細胞シグナル伝達を活性化または増加させる、条項8に定義される単離された抗V₄抗体またはその断片。

【0266】

10. TCRのV₄鎖のV領域のエピトープにのみ結合する、条項1~9のいずれか1つに定義される単離された抗V₄抗体またはその断片。 40

【0267】

11. TCRのV₄鎖のCDR3に見られるエピトープに結合しない、条項1~10のいずれか1つに定義される単離された抗V₄抗体またはその断片。

【0268】

12. 配列番号2~47のいずれか1つ、好ましくは配列番号10及び/または配列番号33と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含むCDR3、配列番号48~70及び配列A1~A23(図1の)のいずれか1つ、好ましくは配列番号56及び/または配列A9と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含むCD 50

R 2、及び/または、

配列番号 71 ~ 116 のいずれか 1 つ、好ましくは配列番号 79 及び/または配列番号 102 と少なくとも 80 % の配列同一性を有する配列を含む CDR 1 のうちの 1 つ以上を含む、単離された抗 V_H 4 抗体またはその断片。

【0269】

13. 配列番号 10、4、14、15、17、19 または 23 など配列番号 2 ~ 24 のいずれか 1 つと少なくとも 80 % の配列同一性を有する配列を含む CDR 3 を含む V_H 領域を含む、条項 12 に定義される単離された抗 V_H 4 抗体またはその断片。

【0270】

14. 配列番号 56、50、60、61、63、65 または 69 など配列番号 48 ~ 70 のいずれか 1 つと少なくとも 80 % の配列同一性を有する配列を含む CDR 2 を含む V_H 領域を含む、条項 12 または条項 13 に定義される単離された抗 V_H 4 抗体またはその断片。 10

【0271】

15. 配列番号 79、73、83、84、86、88 または 92 など配列番号 71 ~ 93 のいずれか 1 つと少なくとも 80 % の配列同一性を有する配列を含む CDR 1 を含む V_H 領域を含む、条項 12 ~ 14 のいずれか 1 つに定義される単離された抗 V_H 4 抗体またはその断片。

【0272】

16. 配列番号 10 の配列を含む CDR 3、配列番号 56 の配列を含む CDR 2、及び配列番号 79 の配列を含む CDR 1 を含む V_H 領域を含む、条項 12 ~ 15 のいずれか 1 つに定義される単離された抗 V_H 4 抗体またはその断片。 20

【0273】

17. 配列番号 4 の配列を含む CDR 3、配列番号 50 の配列を含む CDR 2、及び配列番号 73 の配列を含む CDR 1 を含む V_H 領域を含む、条項 12 ~ 15 のいずれか 1 つに定義される単離された抗 V_H 4 抗体またはその断片。

【0274】

18. 配列番号 14 の配列を含む CDR 3、配列番号 60 の配列を含む CDR 2、及び配列番号 83 の配列を含む CDR 1 を含む V_H 領域を含む、条項 12 ~ 15 のいずれか 1 つに定義される単離された抗 V_H 4 抗体またはその断片。 30

【0275】

19. 配列番号 15 の配列を含む CDR 3、配列番号 61 の配列を含む CDR 2、及び配列番号 84 の配列を含む CDR 1 を含む V_H 領域を含む、条項 12 ~ 15 のいずれか 1 つに定義される単離された抗 V_H 4 抗体またはその断片。

【0276】

20. 配列番号 17 の配列を含む CDR 3、配列番号 63 の配列を含む CDR 2、及び配列番号 86 の配列を含む CDR 1 を含む V_H 領域を含む、条項 12 ~ 15 のいずれか 1 つに定義される単離された抗 V_H 4 抗体またはその断片。

【0277】

21. 配列番号 19 の配列を含む CDR 3、配列番号 65 の配列を含む CDR 2、及び配列番号 88 の配列を含む CDR 1 を含む V_H 領域を含む、条項 12 ~ 15 のいずれか 1 つに定義される単離された抗 V_H 4 抗体またはその断片。 40

【0278】

22. 配列番号 23 の配列を含む CDR 3、配列番号 69 の配列を含む CDR 2、及び配列番号 92 の配列を含む CDR 1 を含む V_H 領域を含む、条項 12 ~ 15 のいずれか 1 つに定義される単離された抗 V_H 4 抗体またはその断片。

【0279】

23. 配列番号 33、27、37、38、40、42 または 46 など配列番号 25 ~ 47 のいずれか 1 つと少なくとも 80 % の配列同一性を有する配列を含む CDR 3 を含む V_L 領域を含む、条項 12 ~ 22 のいずれか 1 つに定義される単離された抗 V_H 4 抗体また 50

はその断片。

【0280】

24. 配列 A 9、A 3、A 1 3、A 1 4、A 1 6、A 1 8 または A 2 2 など配列 A 1 ~ A 2 3 (図 1 の) のいずれか 1 つと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する配列を含む C D R 2 を含む V L 領域を含む、条項 1 2 ~ 2 3 のいずれか 1 つに定義される単離された抗 V 4 抗体またはその断片。

【0281】

25. 配列番号 1 0 2、9 6、1 0 6、1 0 7、1 0 9、1 1 1 または 1 1 5 など配列番号 9 4 ~ 1 1 6 のいずれか 1 つと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する配列を含む C D R 1 を含む V L 領域を含む、条項 1 2 ~ 2 6 のいずれか 1 つに定義される単離された抗 V 4 抗体またはその断片。

10

【0282】

26. 配列番号 3 3 の配列を含む C D R 3、配列 A 9 の配列を含む C D R 2、及び配列番号 1 0 2 の配列を含む C D R 1 を含む V L 領域を含む、条項 1 2 ~ 2 5 のいずれか 1 つに定義される単離された抗 V 4 抗体またはその断片。

【0283】

27. 配列番号 2 7 の配列を含む C D R 3、配列 A 3 の配列を含む C D R 2、及び配列番号 9 6 の配列を含む C D R 1 を含む V L 領域を含む、条項 1 2 ~ 2 5 のいずれか 1 つに定義される単離された抗 V 4 抗体またはその断片。

【0284】

28. 配列番号 3 7 の配列を含む C D R 3、配列 A 1 3 の配列を含む C D R 2、及び配列番号 1 0 6 の配列を含む C D R 1 を含む V L 領域を含む、条項 1 2 ~ 2 5 のいずれか 1 つに定義される単離された抗 V 4 抗体またはその断片。

20

【0285】

29. 配列番号 3 8 の配列を含む C D R 3、配列 A 1 4 の配列を含む C D R 2、及び配列番号 1 0 7 の配列を含む C D R 1 を含む V L 領域を含む、条項 1 2 ~ 2 5 のいずれか 1 つに定義される単離された抗 V 4 抗体またはその断片。

【0286】

30. 配列番号 4 0 の配列を含む C D R 3、配列 A 1 6 の配列を含む C D R 2、及び配列番号 1 0 9 の配列を含む C D R 1 を含む V L 領域を含む、条項 1 2 ~ 2 5 のいずれか 1 つに定義される単離された抗 V 4 抗体またはその断片。

30

【0287】

31. 配列番号 4 2 の配列を含む C D R 3、配列 A 1 8 の配列を含む C D R 2、及び配列番号 1 1 1 の配列を含む C D R 1 を含む V L 領域を含む、条項 1 2 ~ 2 5 のいずれか 1 つに定義される単離された抗 V 4 抗体またはその断片。

【0288】

32. 配列番号 4 6 の配列を含む C D R 3、配列 A 2 3 の配列を含む C D R 2、及び配列番号 1 1 5 の配列を含む C D R 1 を含む V L 領域を含む、条項 1 2 ~ 2 5 のいずれか 1 つに定義される単離された抗 V 4 抗体またはその断片。

【0289】

33. 条項 1 6 で定義された C D R 1、C D R 2 及び C D R 3 配列を含む V H 領域、ならびに条項 2 6 で定義された C D R 1、C D R 2 及び C D R 3 配列を含む V L 領域を含む、単離された抗 V 4 抗体またはその断片。

40

【0290】

34. 条項 1 7 で定義された C D R 1、C D R 2 及び C D R 3 配列を含む V H 領域、ならびに条項 2 7 で定義された C D R 1、C D R 2 及び C D R 3 配列を含む V L 領域を含む、単離された抗 V 4 抗体またはその断片。

【0291】

35. 条項 1 8 で定義された C D R 1、C D R 2 及び C D R 3 配列を含む V H 領域、ならびに条項 2 8 で定義された C D R 1、C D R 2 及び C D R 3 配列を含む V L 領域を含む

50

、単離された抗 V_H 4 抗体またはその断片。

【0292】

36. 条項 19 で定義された CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 配列を含む V_H 領域、ならびに条項 29 で定義された CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 配列を含む V_L 領域を含む、単離された抗 V_H 4 抗体またはその断片。

【0293】

37. 条項 20 で定義された CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 配列を含む V_H 領域、ならびに条項 30 で定義された CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 配列を含む V_L 領域を含む、単離された抗 V_H 4 抗体またはその断片。

【0294】

38. 条項 21 で定義された CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 配列を含む V_H 領域、ならびに条項 31 で定義された CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 配列を含む V_L 領域を含む、単離された抗 V_H 4 抗体またはその断片。

【0295】

39. 条項 22 で定義された CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 配列を含む V_H 領域、ならびに条項 32 で定義された CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 配列を含む V_L 領域を含む、単離された抗 V_H 4 抗体またはその断片。

【0296】

40. 配列番号 117 ~ 162 または 261 ~ 283 のいずれか 1 つと少なくとも 80 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離された抗 V_H 4 抗体またはその断片。

【0297】

41. 配列番号 117 ~ 139 のいずれか 1 つと少なくとも 80 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V_H 領域を含む、条項 40 に定義される単離された抗 V_H 4 抗体またはその断片。

【0298】

42. 前記 V_H 領域は、配列番号 125、119、129、130、132、134 または 138 のいずれか 1 つと少なくとも 80 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、条項 41 に定義される単離された抗 V_H 4 抗体またはその断片。

【0299】

43. 配列番号 140 ~ 162 または 261 ~ 283 のいずれか 1 つと少なくとも 80 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V_L 領域を含む、条項 40 ~ 42 のいずれか 1 つに定義される単離された抗 V_H 4 抗体またはその断片。

【0300】

44. 前記 V_L 領域は、

(a) 配列番号 148、142、152、153、155、157 もしくは 161、または、

(b) 配列番号 269、263、273、274、276、278 もしくは 282 のいずれか 1 つと少なくとも 80 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、条項 43 に定義される単離された抗 V_H 4 抗体またはその断片。

【0301】

45. 配列番号 125 のアミノ酸配列を含む V_H 領域、及び配列番号 148 または 269 のアミノ酸配列を含む V_L 領域を含む、条項 40 ~ 44 のいずれか 1 つに定義される単離された抗 V_H 4 抗体またはその断片。

【0302】

46. 配列番号 119 のアミノ酸配列を含む V_H 領域、及び配列番号 142 または 263 のアミノ酸配列を含む V_L 領域を含む、条項 40 ~ 44 のいずれか 1 つに定義される単離された抗 V_H 4 抗体またはその断片。

【0303】

47. 配列番号 129 のアミノ酸配列を含む V_H 領域、及び配列番号 152 または 273 のアミノ酸配列を含む V_L 領域を含む、条項 40 ~ 44 のいずれか 1 つに定義される単

10

20

30

40

50

離された抗 V_H 4 抗体またはその断片。

【 0 3 0 4 】

4 8 . 配列番号 1 3 0 のアミノ酸配列を含む V_H 領域、及び配列番号 1 5 3 または 2 7 4 のアミノ酸配列を含む V_L 領域を含む、条項 4 0 ~ 4 4 のいずれか 1 つに定義される単離された抗 V_H 4 抗体またはその断片。

【 0 3 0 5 】

4 9 . 配列番号 1 3 2 のアミノ酸配列を含む V_H 領域、及び配列番号 1 5 5 または 2 7 6 のアミノ酸配列を含む V_L 領域を含む、条項 4 0 ~ 4 4 のいずれか 1 つに定義される単離された抗 V_H 4 抗体またはその断片。

【 0 3 0 6 】

5 0 . 配列番号 1 3 4 のアミノ酸配列を含む V_H 領域、及び配列番号 1 5 7 または 2 7 8 のアミノ酸配列を含む V_L 領域を含む、条項 4 0 ~ 4 4 のいずれか 1 つに定義される単離された抗 V_H 4 抗体またはその断片。

【 0 3 0 7 】

5 1 . 配列番号 1 3 8 のアミノ酸配列を含む V_H 領域、及び配列番号 1 6 1 または 2 8 2 のアミノ酸配列を含む V_L 領域を含む、条項 4 0 ~ 4 4 のいずれか 1 つに定義される単離された抗 V_H 4 抗体またはその断片。

【 0 3 0 8 】

5 2 . (a) 配列番号 7 9 を有する H C D R 1、配列番号 5 6 を有する H C D R 2 及び配列番号 1 0 を有する H C D R 3 を含む V_H であって、任意選択で前記 V_H は配列番号 1 2 5 を含む前記 V_H と、

配列番号 1 0 2 を有する L C D R 1、配列 A 9 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 3 3 を有する L C D R 3 を含む V_L であって、任意選択で前記 V_L は配列番号 1 4 8 または 2 6 9 を含む前記 V_L、

(b) 配列番号 8 6 を有する H C D R 1、配列番号 6 3 を有する H C D R 2 及び配列番号 1 7 を有する H C D R 3 を含む V_H であって、任意選択で前記 V_H は配列番号 1 3 2 を含む前記 V_H と、

配列番号 1 0 9 を有する L C D R 1、配列 A 1 6 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 4 0 を有する L C D R 3 を含む V_L であって、任意選択で前記 V_L は配列番号 1 5 5 または 2 7 6 を含む前記 V_L、

(c) 配列番号 7 3 を有する H C D R 1、配列番号 5 0 を有する H C D R 2 及び配列番号 4 を有する H C D R 3 を含む V_H であって、任意選択で前記 V_H は配列番号 1 1 9 を含む前記 V_H と、

配列番号 9 6 を有する L C D R 1、配列 A 3 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 2 7 を有する L C D R 3 を含む V_L であって、任意選択で前記 V_L は配列番号 1 4 2 または 2 6 3 を含む前記 V_L、

(d) 配列番号 8 3 を有する H C D R 1、配列番号 6 0 を有する H C D R 2 及び配列番号 1 4 を有する H C D R 3 を含む V_H であって、任意選択で前記 V_H は配列番号 1 2 9 を含む前記 V_H と、

配列番号 1 0 6 を有する L C D R 1、配列 A 1 3 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 3 7 を有する L C D R 3 を含む V_L であって、任意選択で前記 V_L は配列番号 1 5 2 または 2 7 3 を含む前記 V_L、

(e) 配列番号 8 4 を有する H C D R 1、配列番号 6 1 を有する H C D R 2 及び配列番号 1 5 を有する H C D R 3 を含む V_H であって、任意選択で前記 V_H は配列番号 1 3 0 を含む前記 V_H と、

配列番号 1 0 7 を有する L C D R 1、配列 A 1 4 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 3 8 を有する L C D R 3 を含む V_L であって、任意選択で前記 V_L は配列番号 1 5 3 または 2 7 4 を含む前記 V_L、

(f) 配列番号 8 8 を有する H C D R 1、配列番号 6 5 を有する H C D R 2 及び配列番号 1 9 を有する H C D R 3 を含む V_H であって、任意選択で前記 V_H は配列番号 1 3 4 を

10

20

30

40

50

含む前記 V H と、

配列番号 1 1 1 を有する L C D R 1、配列 A 1 8 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 4 2 を有する L C D R 3 を含む V L であって、任意選択で前記 V L は配列番号 1 5 7 または 2 7 8 を含む前記 V L、

(g) 配列番号 9 2 を有する H C D R 1、配列番号 6 9 を有する H C D R 2 及び配列番号 2 3 を有する H C D R 3 を含む V H であって、任意選択で前記 V H は配列番号 1 3 8 を含む前記 V H と、

配列番号 1 1 5 を有する L C D R 1、配列 A 2 2 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 4 6 を有する L C D R 3 を含む V L であって、任意選択で前記 V L は配列番号 1 6 1 または 2 8 2 を含む前記 V L、

10

(h) 配列番号 7 1 を有する H C D R 1、配列番号 4 8 を有する H C D R 2 及び配列番号 2 を有する H C D R 3 を含む V H であって、任意選択で前記 V H は配列番号 1 1 7 を含む前記 V H と、

配列番号 9 4 を有する L C D R 1、配列 A 1 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 2 5 を有する L C D R 3 を含む V L であって、任意選択で前記 V L は配列番号 1 4 0 または 2 6 1 を含む前記 V L、

(i) 配列番号 7 2 を有する H C D R 1、配列番号 4 9 を有する H C D R 2 及び配列番号 3 を有する H C D R 3 を含む V H であって、任意選択で前記 V H は配列番号 1 1 8 を含む前記 V H と、

配列番号 9 5 を有する L C D R 1、配列 A 2 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 2 6 を有する L C D R 3 を含む V L であって、任意選択で前記 V L は配列番号 1 4 1 または 2 6 2 を含む前記 V L、

20

(j) 配列番号 7 4 を有する H C D R 1、配列番号 5 1 を有する H C D R 2 及び配列番号 5 を有する H C D R 3 を含む V H であって、任意選択で前記 V H は配列番号 1 2 0 を含む前記 V H と、

配列番号 9 7 を有する L C D R 1、配列 A 4 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 2 8 を有する L C D R 3 を含む V L であって、任意選択で前記 V L は配列番号 1 4 3 または 2 6 4 を含む前記 V L、

(k) 配列番号 7 5 を有する H C D R 1、配列番号 5 2 を有する H C D R 2 及び配列番号 6 を有する H C D R 3 を含む V H であって、任意選択で前記 V H は配列番号 1 2 1 を含む前記 V H と、

30

配列番号 9 8 を有する L C D R 1、配列 A 5 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 2 9 を有する L C D R 3 を含む V L であって、任意選択で前記 V L は配列番号 1 4 4 または 2 6 5 を含む前記 V L、

(l) 配列番号 7 6 を有する H C D R 1、配列番号 5 3 を有する H C D R 2 及び配列番号 7 を有する H C D R 3 を含む V H であって、任意選択で前記 V H は配列番号 1 2 2 を含む前記 V H と、

配列番号 9 9 を有する L C D R 1、配列 A 6 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 3 0 を有する L C D R 3 を含む V L であって、任意選択で前記 V L は配列番号 1 4 5 または 2 6 6 を含む前記 V L、

40

(m) 配列番号 7 7 を有する H C D R 1、配列番号 5 4 を有する H C D R 2 及び配列番号 8 を有する H C D R 3 を含む V H であって、任意選択で前記 V H は配列番号 1 2 3 を含む前記 V H と、

配列番号 1 0 0 を有する L C D R 1、配列 A 7 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 3 1 を有する L C D R 3 を含む V L であって、任意選択で前記 V L は配列番号 1 4 6 または 2 6 7 を含む前記 V L、

(n) 配列番号 7 8 を有する H C D R 1、配列番号 5 5 を有する H C D R 2 及び配列番号 9 を有する H C D R 3 を含む V H であって、任意選択で前記 V H は配列番号 1 2 4 を含む前記 V H と、

配列番号 1 0 1 を有する L C D R 1、配列 A 8 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列

50

番号 32 を有する LCDR3 を含む VL であって、任意選択で前記 VL は配列番号 147 または 268 を含む前記 VL、

(o) 配列番号 80 を有する HCDR1、配列番号 57 を有する HCDR2 及び配列番号 11 を有する HCDR3 を含む VH であって、任意選択で前記 VH は配列番号 126 を含む前記 VH と、

配列番号 103 を有する LCDR1、配列 A10 (図 1 の) を有する LCDR2 及び配列番号 34 を有する LCDR3 を含む VL であって、任意選択で前記 VL は配列番号 149 または 270 を含む前記 VL、

(p) 配列番号 81 を有する HCDR1、配列番号 58 を有する HCDR2 及び配列番号 12 を有する HCDR3 を含む VH であって、任意選択で前記 VH は配列番号 127 を含む前記 VH と、

配列番号 104 を有する LCDR1、配列 A11 (図 1 の) を有する LCDR2 及び配列番号 35 を有する LCDR3 を含む VL であって、任意選択で前記 VL は配列番号 150 または 271 を含む前記 VL、

(q) 配列番号 82 を有する HCDR1、配列番号 59 を有する HCDR2 及び配列番号 13 を有する HCDR3 を含む VH であって、任意選択で前記 VH は配列番号 128 を含む前記 VH と、

配列番号 105 を有する LCDR1、配列 A12 (図 1 の) を有する LCDR2 及び配列番号 36 を有する LCDR3 を含む VL であって、任意選択で前記 VL は配列番号 151 または 272 を含む前記 VL、

(r) 配列番号 85 を有する HCDR1、配列番号 62 を有する HCDR2 及び配列番号 16 を有する HCDR3 を含む VH であって、任意選択で前記 VH は配列番号 131 を含む前記 VH と、

配列番号 108 を有する LCDR1、配列 A15 (図 1 の) を有する LCDR2 及び配列番号 39 を有する LCDR3 を含む VL であって、任意選択で前記 VL は配列番号 154 または 275 を含む前記 VL、

(s) 配列番号 87 を有する HCDR1、配列番号 64 を有する HCDR2 及び配列番号 18 を有する HCDR3 を含む VH であって、任意選択で前記 VH は配列番号 133 を含む前記 VH と、

配列番号 110 を有する LCDR1、配列 A17 (図 1 の) を有する LCDR2 及び配列番号 41 を有する LCDR3 を含む VL であって、任意選択で前記 VL は配列番号 156 または 277 を含む前記 VL、

(t) 配列番号 89 を有する HCDR1、配列番号 66 を有する HCDR2 及び配列番号 20 を有する HCDR3 を含む VH であって、任意選択で前記 VH は配列番号 135 を含む前記 VH と、

配列番号 112 を有する LCDR1、配列 A19 (図 1 の) を有する LCDR2 及び配列番号 43 を有する LCDR3 を含む VL であって、任意選択で前記 VL は配列番号 158 または 279 を含む前記 VL、

(u) 配列番号 90 を有する HCDR1、配列番号 67 を有する HCDR2 及び配列番号 21 を有する HCDR3 を含む VH であって、任意選択で前記 VH は配列番号 136 を含む前記 VH と、

配列番号 113 を有する LCDR1、配列 A20 (図 1 の) を有する LCDR2 及び配列番号 44 を有する LCDR3 を含む VL であって、任意選択で前記 VL は配列番号 159 または 280 を含む前記 VL、

(v) 配列番号 91 を有する HCDR1、配列番号 68 を有する HCDR2 及び配列番号 22 を有する HCDR3 を含む VH であって、任意選択で前記 VH は配列番号 137 を含む前記 VH と、

配列番号 114 を有する LCDR1、配列 A21 (図 1 の) を有する LCDR2 及び配列番号 45 を有する LCDR3 を含む VL であって、任意選択で前記 VL は配列番号 160 または 281 を含む前記 VL、

10

20

30

40

50

及び/または、

(w) 配列番号 93 を有する H C D R 1、配列番号 70 を有する H C D R 2 及び配列番号 24 を有する H C D R 3 を含む V H であって、任意選択で前記 V H は配列番号 139 を含む前記 V H と、

配列番号 116 を有する L C D R 1、配列 A 23 (図 1 の) を有する L C D R 2 及び配列番号 47 を有する L C D R 3 を含む V L であって、任意選択で前記 V L は配列番号 162 または 283 を含む前記 V L、のうちの 1 つ以上を含む単離された抗 V 4 抗体またはその断片。

【0309】

53. 前記 V H 領域及び前記 V L 領域は、ポリペプチドリンカーなどのリンカーによって結合されている、条項 40 ~ 52 のいずれか 1 つに定義される単離された抗 V 4 抗体またはその断片。 10

【0310】

54. 前記リンカーは (G l y 4 S e r) n 型を含み、n = 1 ~ 8 である、条項 53 に定義される単離された抗 V 4 抗体またはその断片。

【0311】

55. 前記リンカーは配列番号 186 を含む、条項 53 または 54 に定義される単離された抗 V 4 抗体またはその断片。

【0312】

56. 前記リンカーは配列番号 186 からなる、条項 55 に定義される単離された抗 V 4 抗体またはその断片。 20

【0313】

57. 配列番号 163 ~ 185 のいずれか 1 つと少なくとも 80 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離された抗 V 4 抗体またはその断片。

【0314】

58. 配列番号 163 ~ 185 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む、条項 57 に定義される単離された抗 V 4 抗体またはその断片。

【0315】

59. 配列番号 171、165、175、176、178、180 または 184 を含む、条項 57 または条項 58 に定義される単離された抗 V 4 抗体またはその断片。 30

【0316】

60. 配列番号 233 ~ 255 のいずれか 1 つと少なくとも 80 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離された抗 V 4 抗体。

【0317】

61. 配列番号 233 ~ 255 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む、条項 60 に定義される単離された抗 V 4 抗体。

【0318】

62. 配列番号 235、241、245、246 または 254 を含む、条項 60 または条項 61 に定義される単離された抗 V 4 抗体。

【0319】

63. 配列番号 284 ~ 306 のいずれか 1 つと少なくとも 80 % の配列同一性を有する重鎖アミノ酸配列及び/または配列番号 307 ~ 329 のいずれか 1 つと少なくとも 80 % の配列同一性を有する軽鎖アミノ酸配列を含む、単離された抗 V 4 抗体またはその断片。 40

【0320】

64. 配列番号 284 ~ 306 のいずれか 1 つを含む重鎖アミノ酸配列及び/または配列番号 307 ~ 329 のいずれか 1 つを含む軽鎖アミノ酸配列を含む、条項 63 に定義される単離された抗 V 4 抗体またはその断片。

【0321】

65. 条項 12 ~ 64 のいずれか 1 つで定義される抗体もしくはその断片と同じ、もし 50

くは本質的に同じエピトープに結合する、またはそれと競合する、好ましくは条項 1 ~ 11 のいずれか 1 つに従って定義される、単離された抗 V₄ 抗体またはその断片。

【0322】

66. scFv、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、可変ドメイン（例えば、VHまたはVL）、ダイアボディ、ミニボディまたは完全長抗体である、条項 1 ~ 65 のいずれか 1 つに定義される単離された抗 V₄ 抗体またはその断片。

【0323】

67. scFvまたは完全長抗体である、条項 66 に定義される単離された抗 V₄ 抗体またはその断片。

【0324】

68. IgG1 抗体などの完全長抗体である、条項 67 に定義される単離された抗 V₄ 抗体またはその断片。

【0325】

69. ヒトである、条項 1 ~ 68 のいずれか 1 つに定義される単離された抗 V₄ 抗体またはその断片。

【0326】

70. 前記抗体は V₄ T 細胞を調節する、任意の先行条項に定義される単離された抗 V₄ 抗体またはその断片。

【0327】

71. 前記調節は V₄ T 細胞の活性化を含む、条項 70 に定義される単離された抗 V₄ 抗体またはその断片。

【0328】

72. 前記調節は V₄ T 細胞の抑制を含む、条項 70 に定義される単離された抗 V₄ 抗体またはその断片。

【0329】

73. 前記 V₄ T 細胞の調節は、
例えば V₄ T 細胞の数の選択的な増加または V₄ T 細胞の生存の促進による、V₄ T 細胞の増殖、

例えば V₄ T 細胞の能力を高めること、すなわち標的細胞の殺傷を増加させることにより、V₄ T 細胞を刺激、及び/または、

V₄ T 細胞の脱顆粒を含む、条項 70 に定義される単離された抗 V₄ 抗体またはその断片。

【0330】

74. 条項 1 ~ 73 のいずれか 1 つに定義される抗 V₄ 抗体またはその断片をコードするポリヌクレオチド配列。

【0331】

75. 配列番号 187 ~ 232 のいずれかと少なくとも 70% の配列同一性を有する配列を含む、抗 V₄ 抗体またはその断片をコードするポリヌクレオチド配列。

【0332】

76. 配列番号 187 ~ 232 のいずれかの配列を含む抗 V₄ 抗体またはその断片をコードするポリヌクレオチド配列。

【0333】

77. 条項 74 ~ 76 のいずれか 1 つに定義されるポリヌクレオチド配列を含む発現ベクター。

【0334】

78. 配列番号 187 ~ 209 のいずれかの VH 配列を含む発現ベクター。

【0335】

79. 前記 VH 配列は、配列番号 195、189、199、200、202、204 または 208 を含む、条項 78 に定義される発現ベクター。

【0336】

10

20

30

40

50

80. 配列番号210～232のいずれかのV L配列を含む発現ベクター。

【0337】

81. 前記V L配列は、配列番号218、212、222、223、225、227または231を含む、条項80に定義される発現ベクター。

【0338】

82. 条項78または条項79のV H配列及び条項80または条項81のV L配列を含む発現ベクター。

【0339】

83. 条項74～76のいずれか1つに定義されるポリヌクレオチド配列、または条項77～82のいずれか1つに定義される発現ベクターを含む細胞。

10

【0340】

84. 条項78または条項79で定義される第1の発現ベクター、及び条項80または条項81で定義される第2の発現ベクターを含む細胞。

【0341】

85. 条項82で定義される発現ベクターを含む細胞。

【0342】

86. 前記ポリヌクレオチドまたは前記発現ベクターは、前記抗体またはその断片に融合された膜アンカーまたは膜貫通ドメインをコードし、前記抗体またはその断片は前記細胞の細胞外表面に提示される、条項83～85のいずれか1つに定義される細胞。

【0343】

20

87. 条項1～73のいずれか1つに定義される前記抗体またはその断片を含む組成物。

【0344】

88. 条項1～73のいずれか1つに定義される抗体またはその断片を、薬学的に許容される希釈剤または担体と共に含む医薬組成物。

【0345】

89. 医薬品として使用するための、条項1～73のいずれか1つに定義される単離された抗V₄抗体またはその断片、または条項84に定義される医薬組成物。

【0346】

90. がん、感染症または炎症性疾患の治療に使用するための、条項89に定義される単離された抗V₄抗体もしくはその断片、または医薬組成物。

30

【0347】

91. 条項1～73のいずれか1つに定義される治療上有効な量の単離された抗V₄抗体もしくはその断片または条項88に定義される医薬組成物を投与することを含む、それを必要とする対象のがん、感染症または炎症性疾患を治療する方法。

【0348】

92. 抗V₄抗体もしくはその断片を作製するために使用するための配列番号256～258のいずれか1つと少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、単離された抗原。

【0349】

40

93. 抗V₄抗体またはその断片を作製する方法であって、

(i) TCRガンマ可変4(V₄)アミノ酸配列を含む一連の抗原を設計することであって、V₄のCDR3配列は一連のすべての抗原について同じである、一連の抗原を設計することと、

(ii) 工程(i)で設計された第1の抗原を抗体ライブラリに曝露することと、

(iii) 前記抗原に結合する抗体もしくはその断片を単離することと、

(iv) 前記単離された抗体もしくはその断片を工程(i)で設計された第2の抗原に曝露することと、

(v) 前記第1の抗原及び前記第2の抗原の両方に結合する前記抗体もしくはその断片を単離することと、を含む、前記方法。

50

【0350】

94. 前記単離された抗体またはその断片を、TCRガンマ可変2(V₂)またはTCRガンマ可変8(V₈)などの異なるガンマ可変鎖を有するTCRを含む第2の一連の抗原に曝露することと、その後、前記第2の一連の抗原にも結合する前記抗体またはその断片を選択解除することと、を更に含む、条項93に定義される方法。

【0351】

95. 前記第1の一連の抗原及び/または前記第2の一連の抗原は、ロイシンジッパー及び/またはFc融合物として提示される、条項93または条項94に定義される方法。

【0352】

96. 前記一連の抗原はヘテロ二量体型及び/またはホモ二量体型である、条項93~95のいずれか1つに定義される方法。 10

【0353】

97. 条項93~96のいずれか1つに定義される前記方法によって得られた抗体。

【0354】

98. 条項1~73のいずれか1つに記載の抗V₄抗体もしくはその断片、または条項88に記載の医薬組成物を含み、任意選択で使用のための指示書及び/または追加の治療活性剤を含む、キット。

【0355】

本発明の他の特徴及び利点は、本明細書に提供される詳細な説明から明らかになるであろう。しかしながら、この説明及び特定の例は、本発明の好ましい実施形態を示してはいるが、当業者には様々な変更及び修正が明らかになるので、例示のためにのみ与えられていることが理解されよう。次に、本発明を、以下の非限定的な実施例を用いて説明する。 20

【実施例】

【0356】

実施例1. 材料及び方法

抗原調製

以下の実施例で使用されるTCR及びTCR定常領域を含む可溶性TCRヘテロ二量体の設計は、Xu et al. (2011) PNAS 108: 2414-2419に従って作製された。V_{ドメイン}またはV_{ドメイン}は、膜貫通ドメインを欠くTCRまたはTCR定常領域にインフレームで融合され、ロイシンジッパー配列またはFc配列、及びヒスチジンタグ/リンカーが続いた。 30

【0357】

発現構築物は、哺乳動物EXPIHEK293浮遊細胞に一過性に形質導入された(ヘテロ二量体の単一形質導入または同時形質導入として)。分泌された組換えタンパク質は、親和性クロマトグラフィーによって培養上清から回収及び精製された。モノマー抗原の良好な回収を確実にするために、試料は分取サイズ排除クロマトグラフィー(SEC)を使用して更に精製された。精製された抗原は、SDS-PAGEによって純度について分析され、分析SECによって凝集状態について分析された。

【0358】

選択したscFvは、市販のプラスミドを使用してIgG1フレームワークにサブクローン化された。exp1293F浮遊細胞は、抗体発現のために前記プラスミドで形質導入された。便宜上、特に断りのない限り、これらの実施例で特性評価される抗体は、ファージディスプレイからscFvとして選択されたIgG1型抗体を指す。しかしながら、本発明の抗体は、前述のように任意の抗体型であり得る。 40

【0359】

抗体精製

IgG抗体は、タンパク質Aクロマトグラフィーを使用して上清からバッチ精製した。精製されたIgGの品質は、ELISA、SDS-PAGE及びSEC-HPLCを使用して分析した。

【0360】

抗原結合

ファージディスプレイ選択出力は、scFv発現ベクターpSANG10にサブクローン化された(Martin et al. (2006) BMC Biotechnol. 6: 46)。可溶性scFvを発現させ、直接固定化した標的に解離増強ランタニド蛍光イムノアッセイ(DELFLIA)で結合についてスクリーニングした。ヒットは、3000蛍光ユニットを超えるDELFLIAシグナルとして定義した。

【0361】

抗体上清または更にタンパク質A精製抗体との結合を評価するために、DELFLIA ELISA結合法も採用された。簡単に言えば、Maxisorpプレートは、3µg/mlの抗原BSAまたはL1(DV1-GV4)、L2(DV1-GV2)、L3(DV1-GV8)もしくはL4(DV2-GV4)組換えTCR抗原でコーティングした。次にプレートをPBSで洗浄し、PBS/スキムミルクで遮断した後、試験物質を加え、室温で1時間インキュベートした。その後、プレートをPBS-Tweenで洗浄し、DELFLIA Eu-N1-抗ヒトIgG(Perkin Elmer #1244-330)を室温で1時間加えた後、更に洗浄し、DELFLIA増強溶液(Perkin Elmer #4001-0010)を加え、Pherastarマイクロプレートリーダーで読み取った。

10

【0362】

D1.3hIgG1(England et al. (1999) J. Immunol. 162: 2129-2136に記載)を陰性対照として使用し、REA173(Miltenyi)及びTS8.2(ThermoFisher, No. TCR1730)を比較抗体として使用した。

20

【0363】

組換えJRT3-TCR細胞を用いた抗体実験

抗体結合、TCR下方制御及びCD69上方制御実験で使用される組換えJRT3-TCR細胞は、以前に説明されている(Melandri et al. (2018) Nature Immunology 19(12): 1352-1365及びWillcox et al. (2019) Immunity 51(5): 813-825.e4を参照)。

【0364】

抗体結合実験のために、100,000の非形質導入JRT3対照またはJRT3-TCR細胞のいずれかの一次染色をPBS5%FCS中で30分間4にて、量が示されていない場合は標準1.0µg/ml、または各リード抗体の図6で0.08、0.4、2もしくは10µg/mlなど示されている量のいずれかで実施した。次に、A647抗ヒトIgG(Biolegend)を使用して二次染色を行った。更に、BV421抗CD3(Biolegend)またはPE-Cy7IMMU510抗TCR(Beckman Coulter)染色を指示どおり行った。次に細胞をPBS5%FACSで2回洗浄し、FACS CantoII3Lでフロー分析を実施した。

30

【0365】

TCR下方制御/CD69上方制御の実験では、各ウェルに20µg/mlの二次抗体、具体的には抗ヒトIgG-Fc(ヒトD1.3及びV4抗体の場合)または抗マウスIgG(マウス抗CD3eまたは抗PanTCRgdの場合)のいずれかを添加して、96フラットウェルプレートを最初にプレコーティングし、その後37で2時間インキュベートした。示されている試験抗体は、最初に0.01、0.1、1及び10µg/mlの最終濃度に希釈した。次に、各濃度50µlをプレコーティングしたプレートのウェルに加えて、4で一晩インキュベートした。次に、未結合抗体をPBSで2回洗浄した後、飽和PBS5%FCSを37にて1時間かけて添加した。次に、ウェルあたり100,000の細胞を400gの回転で蒔いた。次に、細胞を37で5時間インキュベートし、5%CO₂を加え、染色のために96ウェル丸底プレートに移した。使用した染色抗体には、1:400に希釈したBV421抗CD3(クローンOKT-3Biolegend)、1:200に希釈したPE-Cy7抗TCR(クローンIMMU510B

40

50

eckman Coulter) 及び 1:200 に希釈した A647 抗 CD69 (クローン FN50 Biologend) が含まれた。すべての染色は、PBS 5% FCS 中で 4 にて 30 分間行われた。

【0366】

初代細胞による抗体実験 (PBMC)

24 ウェルプレートは、まず各ウェルに 20 µg/ml (1 ウェルあたり 250 µl) の抗ヒト IgG-Fc (Biologend) を加えて予めコーティングし、その後 37 で 2 時間インキュベートした。結合していない二次抗体を PBS で 2 回洗浄し、アイソタイプ対照 (ヒト IgG1、Biologend) または抗 V 4 (クローン G4_12) を最初に 0.1、1、10 µg/ml の最終濃度に希釈した。各濃度の 250 µl を予 10
めコーティングしたプレートのウェルに添加し、4 で一晩インキュベートした。結合していない抗体を PBS で 2 回洗浄した後、飽和 PBS 5% FCS を加え、37 で 1 時間保持した。その後、完全培地 (5% 熱不活性化ヒト AB 血清 [PAA Laboratories]、ピルビン酸ナトリウム [1 mM] 及びペニシリン/ストレプトマイシン [Thermon Fisher] を補充した RPMI) に 10⁶ 細胞/ml で再懸濁した 50 万つの PBMC を各ウェルに添加した。それから細胞を、37 にて 5% の CO₂ インキュベーターでインキュベートした。24 時間後に IL-2 または IL-2 + IL-15 (それぞれ最終濃度 100 U/ml 及び 10 ng/ml) を添加し、IL-2 または IL-2 + IL-15 を補充した新鮮な完全培地を 2~3 日おきに添加した。培養の 7 日目及び 14 日目に、染色のために細胞を 96 ウェル丸底プレートに移した。採用した染色抗体は 20
、1 µg/ml に希釈したビオチン抗 TCR V 2/3/4 (クローン 23D12)、1:100 に希釈した PE ストレプトアビジン (Biologend)、1:400 に希釈した BV421 抗 CD3 (クローン OKT-3 Biologend)、1:200 に希釈した PE-C 7 抗 TCR (クローン IMM510 Beckman Coulter)、FITC 抗 V 2 (クローン B6 Biologend) 及び 1 µg/ml に希釈した A647 抗 V 4 (クローン G4_18) を含んだ。すべての染色は、PBS 5% FCS 中で 4 にて 30 分間行われた。

【0367】

MS 系エピトープマッピング

Coval X 「超高速立体配座/線状エピトープマッピング」方法論が採用された。ま 30
ず、両方のタンパク質抗原 L1 (DV1-GV4) 及び抗体 G4_3 (1139_P01_A04) を、高質量 MALDI を使用してタンパク質の完全性及び凝集レベルについて分析した。L1 (DV1-GV4)/G4_3 複合体の結合エピトープを高分解能で測定するために、複合体を重水素化架橋剤とインキュベートし、トリプシン、キモトリプシン、Asp-N、エラスターゼ及びサーモリシンを使用した多酵素タンパク質分解に供した。架橋ペプチドを濃縮した後、試料を高分解能質量分析装置 (nLC-LTQ-Orbitrap MS) で分析し、生成されたデータを XQuest 及び Stavrox ソフトウェアを使用して分析した。

【0368】

T 細胞結合アッセイ

抗体の T 細胞への結合は、固定濃度の精製抗体を 250000 の T 細胞とインキュベーターすることによって試験できる。このインキュベーションは、Fc 受容体を介した抗体の非特異的結合を防ぐために h u Fc 断片または Ig を添加するなどの遮断条件下で実施できる。検出は、ヒト IgG1 に対する二次蛍光色素結合型抗体の添加によって実施できる。陰性対照について、細胞は、a) アイソタイプ抗体のみ (組換えヒト IgG)、b) 蛍光色素結合型抗ヒト IgG 抗体のみ、及び c) a) 及び b) の組み合わせで調製できる。完全に染色されていない細胞の対照ウェルも調製し、分析できる。陽性対照として、精製されたマウスモノクローナル IgG2 抗ヒト CD3 抗体を 2 つの異なる濃度で使用し、蛍光色素結合型ヤギ抗マウス二次抗体で染色することができる。低濃度の陽性対照の FITC チャンネルにおける平均蛍光強度が最高濃度の陰性対照の少なくとも 10 倍であっ 40
50

た場合、アッセイは受け入れることができる。

【0369】

SPR分析

アミン大容量チップを備えたMASS-2機器(両方ともSierra Sensors, Germany製)を使用して、SPR分析を実行できる。15 nMのIgGは、タンパク質Gを介してアミン大容量チップ(TS8.2で100 nM)に捕捉される。以下のパラメータ、180秒の会合、600秒の解離、流量30 μL/分、泳動用緩衝液PBS+0.02% Tween20を使用して、L1(DV1-GV4)抗原は2000 nM~15.625 nMの1:2希釈系列で細胞上を流れ得る。実験はすべて室温にてMASS-2機器で実施した。定常状態のフィッティングは、ソフトウェアSierra Analyzer 3.2を使用したLangmuir 1:1結合に従って決定できる。

10

【0370】

TCR下方制御及び脱顆粒アッセイ

試験抗体を負荷したまたは負荷していないTHP-1(TIB-202(商標)、ATCC)標的細胞は、Cell Tracker(商標)Orange CMTMR(ThermoFisher、C2927)で標識し、CD107a抗体(抗ヒトCD107a BV421(クローンH4A3)BD Biosciences 562623)の存在下でT細胞と2:1の比でインキュベートすることができる。2時間のインキュベーション後、フローサイトメトリーを使用して、T細胞でのTCRの表面発現(TCR下方制御を測定するため)及びCD107aの発現(脱顆粒を測定するため)を評価できる。

20

【0371】

死滅アッセイ

ガンモデルタT細胞媒介性死滅活性及びT細胞の死滅活性に対する試験抗体の効果は、フローサイトメトリーによって入手できる。T細胞とCell Tracker(商標)Orange CMTMR(ThermoFisher、C2927)で標識したTHP-1細胞を20:1の比で4時間in vitro共培養した後(抗体を負荷しなくても)、Viability Dye eFluor(商標)520(ThermoFisher、52065-0867-14)で染色して標的THP-1細胞の生死を区別し得る。試料の取得中に、Cell Tracker(商標)Orange CMTMR陽性で標的細胞をゲーティングし、Viability Dyeの取り込みに基づいて細胞死を試験することができる。CMTMR及びeFluor(商標)520二重陽性細胞は、死標的細胞として認識され得る。T細胞の死滅活性は、死標的細胞の割合として提示される。

30

【0372】

実施例2. 抗原の設計

ガンモデルタ()T細胞は、CDR3ポリクローナル性を備えたポリクローナルである。作製された抗体がCDR3配列に対して選択される状況を回避するために(CDR3配列はTCRクローンごとに異なるため)、抗原設計には異なる形式で一貫したCDR3を維持することが含まれていた。この設計は、生殖細胞系にコードされ、したがってすべてのクローンで同じである可変ドメイン内の配列を認識する抗体を作製し、T細胞のより広いサブセットを認識する抗体を提供することを目的とした。

40

【0373】

抗原調製プロセスの別の重要な態様は、タンパク質としての発現に適した抗原を設計することである。TCRは、鎖間及び鎖内にジスルフィド結合を備えたヘテロ二量体を含む複雑なタンパク質である。ロイシンジッパー(LZ)形式及びFc形式を使用して、ファージディスプレイの選択で使用する可溶性TCR抗原を作製した。LZ型及びFc型はどちらも良好に発現し、TCR(特にヘテロ二量体TCR、例えばV1V4)を正常に表示した。

【0374】

50

T C R の公開データベースエントリからの C D R 3 配列は、タンパク質と同様に発現することがわかった (R S C B タンパク質データバンクエントリ : 4 M N H) 。したがって、これは抗原調製のために選択された。

【 0 3 7 5 】

ガンマ可変 4 鎖を含有する抗原は、ヘテロ二量体として L Z 型で (すなわち、異なるデルタ可変鎖と組み合わせて - 例えば、 D V 1 - G V 4、デルタ可変 1 鎖及びガンマ可変 4 鎖からなるヘテロ二量体 [「 L 1 」 と称される] ならびに D V 2 - G V 4、デルタ可変 2 鎖及びガンマ可変 4 鎖からなるヘテロ二量体 [「 L 4 」 と称される])、ならびにヘテロ二量体またはホモ二量体としての F c 型 (すなわち、別のガンマ可変 4 鎖との組み合わせ - G V 4 - G V 4、2 つのガンマ可変 4 鎖からなるホモ二量体 [「 F c 4 / 4 」 と称される]) で発現された。抗原のすべてのガンマ可変 4 鎖は 4 M N H C D R 3 を含んでいた。同様の形式を使用する別の一連の T C R 抗原は、異なるガンマ可変鎖 (ガンマ可変 2 及びガンマ可変 8 など) を含むように設計され、非特異的またはオフターゲット結合を持つ抗体 (例えば、 D V 1 - G V 2、デルタ可変 1 鎖及びガンマ可変 2 鎖からなるヘテロ二量体 [「 L 2 」 と称される] または D V 1 - G V 8、デルタ可変 1 鎖及びガンマ可変 8 鎖からなるヘテロ二量体 [「 L 3 」 と称される]) を選択解除するために使用された。これらの抗原はまた、4 M N H C D R 3 を含むように設計され、C D R 3 領域に結合する抗体も確実に選択解除された。

10

【 0 3 7 6 】

実施例 3 . ファージディスプレイ

20

ファージディスプレイ選択は、過程 1 及び過程 2 でヘテロ二量体 L Z T C R 型のいずれかを使用してヒト s c F v のライブラリに対して実行され、両方の過程でヘテロ二量体 L Z T C R を選択解除した。または、過程 1 は、ヒト I g G 1 F c を選択解除したホモ二量体 F c 融合 T C R を使用して実行され、続いてヘテロ二量体 L Z T C R を選択解除したヘテロ二量体 L Z T C R で過程 2 が実行された (表 1 を参照) 。

【 表 2 】

表 1 . ファージディスプレイの選択の概要

標的	過程 1 の選択	過程 1 の選択解除	過程 2 の選択	過程 2 の選択解除
G V 4	b t - L 1 (D V 1 - G V 4)	L 2 (D V 1 - G V 2)	b t - L 4 (D V 2 - G V 4)	L 2 (D V 1 - G V 2)
G V 4	b t - F c 4 / 4 (G V 4 - G V 4)	F c	b t - L 4 (D V 2 - G V 4)	L 2 (D V 1 - G V 2)

30

b t = ビオチン

【 0 3 7 7 】

40

選択は、1 0 0 n M のビオチン化タンパク質を使用して溶液相で行った。選択解除は、1 μ M の非ビオチン化タンパク質を使用して行った。

【 0 3 7 8 】

実施例 4 . 抗体の選択

実施例 3 で得られたヒットは、(当技術分野で既知の標準的な方法を使用して) 配列決定された。1 3 0 の固有なクローンが同定され、V H 及び V L C D R 3 の固有な組み合わせを示した。これら 1 3 0 の固有のクローンのうち、1 2 9 は固有の V H C D R 3 を示し、1 1 6 は固有の V L C D R 3 を示した。

【 0 3 7 9 】

固有なクローンを再整列させ、特異性を E L I S A (D E L F I A) で分析した。T R

50

G V 4 に結合するが T R G V 2 または T R G V 8 には結合しない 4 2 の固有な ヒト s c F v バインダーのパネルが、選択されたものから同定された。

【0380】

今後のクローンの選択を補助するために、選択したバインダーの親和性ランキングが含まれていた。多数のバインダーはナノモル範囲の親和性を示し、25 ~ 100 nM のピオチン化抗原 (L 1) と反応した。少数のバインダーは 5 nM の抗原との強い反応を示し、1桁のナノモル親和性の可能性を示した。いくつかのバインダーは 100 nM の抗原との反応を示さず、マイクロモル範囲の親和性を示した。

【0381】

I g G 変換に進むクローンを選択するために、できるだけ多くの生殖細胞系列及びできるだけ多くの異なる C D R 3 を含めることが目的であった。更に、グリコシル化、インテグリン結合部位、C D 1 1 c / C D 1 8 結合部位、対になっていないシステインなどの配列傾向は避けた。更に、様々な親和性が含まれた。I g G に変換するために選択されたクローンを図 1 に示す。E L I S A 結合の結果 (蛍光単位 (F U) の値) を図 2 A に示す。結果は、23 の抗体すべてが、パートナーのデルタ鎖に関係なく、望ましいガンマ 4 鎖特異的プロファイルを示すことを示している。同じデータが図 2 B にも示され、更に、各クローンのヒト V 4 鎖対ヒト V 2 鎖への結合の倍数変化の増加が示されている。ヒト V 4 鎖対ヒト V 2 鎖への結合の倍数変化の増加は、80 倍 (クローン G 4 _ 2 6) ~ 8387 倍に増加 (クローン G 4 _ 1 8) の範囲だった。

【0382】

抗体結合実験は、組換え J u r k a t (J R T 3 - h u 1 7) 細胞を使用して実施された。E L I S A データとフローサイトメトリーデータの結果の比較を図 3 A に示す。D e l f i a E L I S A を介して D V 1 - G V 4 抗原 (Y 軸) と J R T 3 - h u 1 7 細胞 (X 軸) の両方に結合することが確認された抗体クローンを、更なる研究のために選択した。

【0383】

実施例 5 . V 4 抗体結合の研究

異なる C D R 3 配列 (h u 1 7 対 h u 2 0、両方とも V 4 V 1) またはデルタ鎖 (h u 2 0 / h u P B、V 4 V 2; L E S、V 4 V 5) を有する V 4 T C R を染色するための実施例 4 で選択された抗体の能力を研究した。結果を図 4 A に示し、試験したすべての抗体は、D 1 . 3 アイソタイプ対照と比較して、実験で使用した 1 つ以上の V 4 T C R への結合が大幅に増加していることを示す。特に、5 つの例示的な抗体 (G 4 _ 3、G 4 _ 1 2、G 4 _ 1 6、G 4 _ 1 8 及び G 4 _ 2 7) はこの実験で発現したすべての V 4 T C R に結合し、C D R 3 配列またはパートナーのデルタ鎖に関係なく、D 1 . 3 アイソタイプ対照より著しく増強された結合シグナルを示した。事例として、この実験における 2 つの抗体のフローデータの例を図 4 B に示し、G 4 _ 4 結合 (h u 1 7 と L E S の両方で陽性に染色されるが、h u 2 0 [h u 1 7 と比較した異なる C D R 3 配列] 及び h u 2 0 g / h u P B d [V 4 V 2] の両方に対する染色は低減される) と比較した G 4 _ 3 結合 (すべての V 4 T C R に対して陽性の染色) の差異を説明する。

【0384】

実施例 6 . キメラ h u 1 7 T C R を使用したエピトープマッピング

h u 1 7 は、B T N L 3 + 8 反応性ヒト大腸上皮内リンパ球からシングルセル P C R により対になった C D R 3 配列をクローン化した V 4 / V 1 T C R である (M e l a n d r i e t a l . (2 0 1 8) N a t . I m m u n o l . 1 9 : 1 3 5 2 - 1 3 6 5 に記載)。図 5 A に要約されているように、異なるキメラ h u 1 7 T C R 構築物を調製した。これらの構築物は h u 1 7 に由来し、すべて M e l a n d r i e t a l . (2 0 1 8) N a t . I m m u n o l . 1 9 : 1 3 5 2 - 1 3 6 5 及び W i l l c o x e t a l . (2 0 1 9) I m m u n i t y 5 1 : 8 1 3 - 8 2 5 に記載されている (どちらも参照により本明細書に組み込まれる)。

【0385】

次に、抗体結合を、JRT3細胞で発現されたキメラhu17TCRに対するフローサイトメトリーによって研究した。示されたキメラTCR構築物に対する各抗体の反応性をまとめた表を図5Bに示す。結果は、JRT3細胞で発現した個々のTCRに対する示された個々の抗体の相対的な結合特異性を強調している。V₂配列を含有するhu17TCR構築物をHV4領域に使用した場合、染色または染色の低下が観察されなかったため、抗体G4__3、G4__12、G4__16、G4__18及びG4__27はすべてHV4領域内またはその周辺に特異的に結合することが示された。

【0386】

この実験で観察された異なる結合シグナルを説明するためのエピトープマッピングのフローデータの例を図5Cに示す。この例では及びこのエピトープマッピングアプローチの例として、様々な組換えキメラTCRへのG4__12結合が示されている。初め、G4__12は、開始のhu17TCRへの強い結合を示す（左端のパネル）。CDR1+2配列がインフレームでV₂と同等のCDRと交換される（中央の左パネル）場合またはhu17がV₂配列DG>YAにHV4改変された場合（中央右パネル）、hu17に対しても強力な結合が観察される。しかしながら、G4__12による結合における顕著に低下は、代替のV₄からV₂へのアミノ酸置換（DGKM>YANL、中央のパネル）またはKM>NL（右端のパネル）でそれぞれ観察された。したがって、この場合、G4__12によって認識されるエピトープは、HV4領域（配列番号1のアミノ酸67~82 [KYDTYGSTTRKNLRMIL]）に位置し、V₂HV4領域のこの位置で見られる下線が引かれたK及びM残基を同等の残基に変更することによって大きな影響を受ける。

10

20

【0387】

実施例7．染色及び機能アッセイにおける研究された抗体の滴定

JRT3-hu17細胞（0.08~10µg/mLの範囲の濃度、5倍希釈工程）へのフローサイトメトリーによる染色及び分析のための研究された抗体の滴定結果を図6Aに示す。非形質導入JRT3細胞（TCRなし）を陰性対照として使用した。結果は、すべての抗体がV₄TCRを発現するJRT3細胞に結合できたことを示している。

【0388】

次に、抗CD3結合または抗汎TCR抗体によって付与されるターンオーバーに対する滴定抗体によるTCRターンオーバー及びCD69上方制御を研究することにより、機能アッセイを実施した。図6B及び図6Cに5つの抗体の結果を示し、元のコホート内の抗体の幅広い選択の結果を表2にまとめている。

30

40

50

【表 3】

表2. 選択した抗体のTCR下方制御及び活性化

抗体 ($\mu\text{g}/\text{m}$ l)	V γ 4TCR下方制御	付与活性化 (CD69倍数変化 の増加)
G4__3	+	++
G4__4	-	-
G4__7	-	-
G4__10	-	-
G4__12	+++	+++
G4__16	++	++
G4__18	+	+
G4__27	+/-	-

10

【0389】

20

表2に記載されているすべての抗体は、TCRのV4鎖に結合することが示されている。しかし、表に示されているように、これらの抗体のいくつかは、V4TCRの下方制御及び/またはCD69発現の増加を介して測定されるようにV4TCRを活性化することができ(「+」、「++」または「+++」として示され、「+++」は活性化の最高の相対レベルを意味する)、一方で他の抗体はV4TCRを活性化する明らかな能力を示さない(「-」として示される)。

【0390】

実施例8. MSに基づくエピトープマッピング

抗原/抗体複合体のエピトープを高分解能で決定するために、タンパク質複合体を重水素化架橋剤とインキュベートし、多酵素切断を行った。架橋ペプチドを濃縮した後、試料を高分解能質量分析装置(nLC-LTQ-Orbitrap MS)で分析し、作製されたデータをXQuest(version 2.0)及びStavrox(version 3.6)ソフトウェアを使用して分析した。

30

【0391】

タンパク質複合体L1(DV1-GV4)/1139__P01__A04を重水素化d0d12でトリプシン、キモトリプシン、Asp-N、エラスターゼ及びサーモリシタンパク質分解後、nLCオービトラップ型MS/MS分析により、L1(DV1-GV4)と抗体1139__P01__A04(G4__3)の間に11の架橋ペプチドが検出された。エピトープマッピングの結果を表3に示す。

【表 4】

40

表3. 抗原/抗体複合体のエピトープマッピングの結果

クローンID	エピトープマッピング、配列番号1のアミノ酸番号 付け
1139__P01__A04 (G4__3)	71, 73, 75, 76, 79

【0392】

50

このエピトープマッピングデータは上述の実験と関連しており、この抗体が V₄鎖の H₄領域内に結合することを示している。

【0393】

実施例9．初代V₄陽性細胞の抗V₄抗体標的化及び調節。

健康な患者及び病気の患者の試料に由来する細胞を含む、皮膚、血液及び腸に由来する初代V₄⁺細胞を標的とする抗V₄抗体を実証するために、更なる実験が行われた。

【0394】

皮膚由来の初代V₄⁺細胞への結合

最初に、2人の個々のドナーの皮膚から増殖させた初代V₄⁺T細胞への結合について、抗V₄抗体を試験した。皮膚試料は、皮下脂肪を除去し、複数のパンチを作成するために使用される3mmの生検パンチによって調製した。パンチはカーボンマトリックスグリッド上に配置され、G-REX6 (Wilson Wolf)のウェルに置かれた。各ウェルは、AIM-V培地 (Gibco, Life Technologies)、CTS免疫血清置換 (Life Technologies)、IL-2及びIL-15を含有する完全分離培地で満たした。培養の最初の7日間は、アンホテリシンB (Life Technologies)を含有する完全分離培地を使用した。(「+AMP」)。上方の培地を穏やかに吸引し、2X完全分離培地 (AMPなし)と交換することにより、培地を7日ごとに交換して、プレートまたはバイオリアクターの底部にある細胞を乱さないようにした。3週間を超えて培養した後、収集前に、得られた放出細胞は次に新しい組織培養容器及び新鮮な培地 (例えばAIM-V培地またはTexMAX培地 (Milteny i))に加えて組換えIL-2、IL-4、IL-15、IL-21で培養した。その後、Milteny iから提供されるものなどのT細胞枯渇キット及び関連するプロトコルの助けを借りて、培養物内に存在するT細胞も除去した。詳細については、国際特許第WO2020/095059号を参照のこと。

【0395】

単離後、T細胞を最初にFcブロックの存在下で4℃にて20分間生存色素で染色した。次にT細胞を固定濃度の例示の抗V₄抗体 (0.046~100µg/ml)またはアイソタイプ対照 (IgG1抗呼吸器多核体ウイルス (RSV)抗体)と4℃にて30分間インキュベートした。ヒトIgG1 (IS11-12E4.23.20)に対する二次蛍光色素複合化抗体の添加によって検出を行った。次に細胞を固定し、MACS Quant 16フローサイトメーターで取得した。細胞を、単一の生きたIgG1 (V₄)⁺としてゲーティングした。示されているデータは、V₄⁺細胞に結合して検出された二次検出抗体の蛍光強度の中央値 (MFI)である。

【0396】

結果を図7Aに示す。これらのデータは、試験されたすべての抗V₄抗体が用量依存的に初代皮膚由来V₄⁺T細胞に結合できることを確認した。アイソタイプ対照では結合は観察されなかった。

【0397】

末梢血単核細胞 (PBMC)に由来する初代V₄⁺への結合

簡単に説明すると、ヒトPBMC (Lonza、製品コードCC-2702)は、最初にFcブロックの存在下で4℃にて20分間、生存率色素で染色した。次に、細胞を10µg/mlの抗V₄抗体またはアイソタイプ対照 (RSV)で4℃にて30分間インキュベートした後、洗浄し、抗V₁ (REA173)、抗V₂ (REA771)、抗V₃ (REA591)及び抗ヒトIgG1 (IS11-12E4.23.20)で4℃にて20分間細胞外染色した。その後、細胞を固定し、MACS Quant 16フローサイトメーターで取得した。細胞を、単一の生きたV₂⁻IgG1 (V₄)⁺としてゲーティングした。

【0398】

結果を図7Bに示す。示されているデータは、複合化二次抗ヒトIgG1抗体によって結合された個々の抗体を使用して検出されたV₂⁻細胞のV₄⁺細胞の割合で

ある。これらのデータは、初代血液由来の抗V₄⁺T細胞に結合する、実質的にすべての抗V₄抗体の能力を強調している。抗体G4__23、G4__3、G4__12、G4__18またG4__20を使用して、最も強いシグナルを検出した。

【0399】

大腸癌(CRC)患者から得られた腸管由来上皮内リンパ球(IEL)の初代V₄⁺細胞への結合

この実験では、ヒトCRC腫瘍生検は新鮮な状態で出荷され、受領時に処理された。生検は、約2mm²の大きさの断片に切断され、腫瘍浸潤リンパ球(TIL)は、Kupper及びClarke(Clarke et al., 2006, J. Invest. Dermatol. 126, 1059-1070)が最初に記載した方法の応用を使用して得た。具体的には、最大4つの2mm²の生検を9mm×9mm×1.5mmのCell foamマトリックスに配置し、24ウェルプレートのウェルごとに1つのマトリックスを配置した。次に、4%ヒト血漿、β-メルカプトエタノール(50μM)、ペニシリン(100U/ml)、ストレプトマイシン(100μg/ml)、ゲンタマイシン(20μg/ml)、メトロニダゾール(1μg/ml)、アンホテリシンB(2.5μg/ml)、HEPES(10mM)、ピルビン酸Na(1mM)、MEM非必須アミノ酸溶液(1X)及びIL-15(20ng/ml、Miltenyi Biotech)を添加した2mlのイスコフ改変ダルベッコ培地(IMDM)で生検を行った。1mlの培地を3日ごとに吸引し、2×濃縮IL-15を含有する1mlの完全培地と交換した。10日後にTILを回収し、70μMのナイロンセル濾過器に通し、300×gで5分間遠心分離し、表現型を決定するために完全培地に再懸濁させた。TILは、最初にFcブロックの存在下で4℃にて20分間、生/死生存率色素で染色した。次に、細胞を10μg/mlの抗V₄抗体またはアイソタイプ対照(RSV)で4℃にて30分間インキュベートした後、洗浄し、抗V₁(REA173)、抗V₂(REA591)及び抗ヒトIgG1(IS11-12E4.23.20)で4℃にて20分間細胞外染色した。その後、細胞を固定し、MACSQuant 16フローサイトメーターで取得した。細胞を、単一の生きたV₄⁺、IgG1⁺(V₄)⁺としてゲーティングした。

【0400】

結果を図7Cに示す。示されているデータは、複合化二次抗ヒトIgG1抗体を介して検出される初代腸由来V₄⁺細胞への抗V₄抗体G4__3、G4__12及びG4__18の結合を示すFACSプロットである。データは、CRC腫瘍組織から得られたV₄⁺細胞に結合する本発明の抗体の能力を示している。

【0401】

抗V₄抗体によって付与されたヒト腸由来V₄⁺T細胞の検出及びTCR下方制御
抗V₄抗体によって付与されたヒト腸由来V₄⁺T細胞の調節を研究するために、更なる実験が行われた。これらの実験では、CRC患者の結腸からの正常な隣接組織(NAT)生検が新鮮な状態で出荷され、受領時に処理されて単一細胞懸濁液を得た。具体的には、組織を約2mm²の大きさに細かく刻み、関連細胞表面分子の切断を防ぐために0.2X濃度で使用された酵素R以外の製造元が推奨する濃度のMiltenyi腫瘍解離キットの酵素を含む4.7mlのRPMIと共に最大1gの組織をMiltenyiC管に入れた。C管は、加熱ブロックが取り付けられたgentleMACS(商標)OctoTDK__1を選択した。1時間後、消化物を70μMのフィルターを通して濾過し、4%のヒト血漿を含有する完全IMDMを加えて酵素活性をクエンチした。次に、細胞を2回洗浄し、計数のために完全IMDMに再懸濁させた。この時点で、細胞を抗V₄抗体による刺激のために蒔くか、または表現型を決定するために使用した。

【0402】

一連の実験では、抗V₄抗体で刺激する前の腸消化物中のV₄⁺T細胞の表現型を測定した。簡単に説明すると、細胞は、Fcブロックの存在下で4℃にて20分間、生/死生存率色素で染色した。次に、細胞を10μg/mlのG4__18クローンで4℃にて20分間インキュベートした後、洗浄し、抗V₄抗体またはアイソタイプ対照(RSV)で4℃にて30分間インキュベートした後、洗浄し、抗V₁(REA173)、抗V₂(REA591)及び抗ヒトIgG1(IS11-12E4.23.20)で4℃にて20分間細胞外染色した。その後、細胞を固定し、MACSQuant 16フローサイトメーターで取得した。細胞を、単一の生きたV₄⁺、IgG1⁺(V₄)⁺としてゲーティングした。

にて30分間インキュベートした後、洗浄し、抗V₄ 1 (REA173)、抗 (REA591)、抗CD69 (REA824)、抗CD103 (Ber-Act8) 及び抗ヒトIgG1 (IS11-12E4.23.20) で4 にて20分間細胞外染色した。その後、細胞を固定し、MACSQuant16フローサイトメーターで取得した。図7Dに示すように、生きている単一細胞の1.4%はV₄ 1⁺であった。これらのうち、44.2%がV₄ と対になっており、腸からの T細胞について予想されるように、これらはすべて腸組織残留のマーカーを表示した (CD69⁺CD103⁺)。本発明の抗体、この場合は例示の抗体G4__18は、ヒト腸組織から分離したV₄ 1⁺ T細胞を特異的に検出するために使用できることを、これらの結果は確認する。

【0403】

次の一連の実験では、抗V₄ 抗体で細胞を刺激することの影響を測定した。2×10⁶つの細胞を48ウェルプレートにウェルごとに蒔いて、2ng/mlの濃度のIL-15の存在下でG4__12、G4__18またはRSV IgG1アイソタイプ対照抗体で刺激した。酵素消化によって単離された上皮内リンパ球 (IEL) は、mAb刺激の24時間後にフローサイトメトリーによって分析した。24時間の刺激後、細胞を、Fcブロックの存在下で4 にて20分間生存率色素で染色した。次に、細胞を細胞外で TCR (REA591) について染色し、固定し、MACSQuant16フローサイトメーターで取得した。生きている単一細胞を TCR⁺としてゲーティングした。図7Eは、RSVアイソタイプコントロールと比較して、G4__12またG4__18クローンで24時間刺激した後に付与された TCR下方制御を代表的なFACSプロットと共に示す。両方の抗V₄ 抗体、G4__12及びG4__18は、RSVアイソタイプ対照と比較して TCRの下方制御を誘発し、最大の下方制御はG4__12で観察された。

【0404】

実施例10. 本発明の例示的な抗V₄ 抗体の表面プラズモン共鳴 (SPR) によって測定される、ヒトV₄ への結合親和性 (KD) を測定する更なる実験。

更に、scFvバインダーに関して実施例4に記載されたSPR結合実験 (実施例1に記載された方法) に加えて、クローンを完全なIgG1モノクローナル抗体として発現させた場合のヒトV₄ 鎖に対する選択例クローンの結合親和性を測定するために追加の実験が行われた。

【0405】

手短に言えば、標的 (すなわち、TCRのヒトV₄ 鎖) に対する抗体の結合親和性は、Reichert 4SPR機器 (Reichert Technologies) を使用するSPR分析によって確立された。抗原 (L1 (DV1-GV4)) は、カルボキシメチルデキストランチップ (Reichert Technologies) 上に10ug/mlで結合され、その結果、ベースラインからそれぞれ約750uRIU増加した。抗体は、500nM~31.25nMの1:2希釈系で、以下のパラメータ、180秒の会合、300秒の解離、25μL/分の流速、泳動緩衝液PBS+0.05% Tween 20で細胞上を流れた。すべての実験は室温で行われ、試料はチップ上を流れる前に4 に保たれた。定常状態のフィッティングは、ソフトウェアTraceDrawer (Reichert Technologies) を使用したLangmuir 1:1結合に従って決定した。

【0406】

結果を表4に示し、抗体あたり2回の実験の平均を表す (特に明記されている場合を除く)。

10

20

30

40

50

【表 5】

表4. ヒトV γ 4に関する本発明の例示的な抗体の結合親和性

抗体クローン	実験 1 : KD (nM)	実験 2 : KD (nM)	平均KD (nM)
G 4__3	3. 6 9	2. 0 3	2. 8 6
G 4__1 2	1 7. 8	2 0. 2	1 9
G 4__1 8	ND	1 9. 9	1 9. 9
G 4__2 0	4 3	6 2. 1	5 2. 5 5
G 4__2 3	1 0 9	1 7 8	1 4 3. 5
G 4__2 7	2 6 1	ND	2 6 1

*ND—測定されず

【 0 4 0 7 】

予想どおり、結合親和性の範囲が決定され、したがって、必要な結合親和性に応じて、特定の状況に対して特定の抗体を選択することが可能になった。特に、示されているように、結合親和性は約 2 6 0 n M ~ 2 . 8 n M の範囲だった。これは、実施例 4 で説明した s c F v 実験と一致していた。

【 0 4 0 8 】

実施例 1 1 . 初代ヒト V γ 4 T 細胞の数を増加させるための V γ 4 特異的抗体の使用。

J R T 3 - h u 1 7 細胞に対して最高の刺激活性を示した抗体 (クローン G 4 __ 1 2 、 図 5 B 、 図 5 C) を、初代 V γ 4 + T 細胞を刺激する能力について更に試験した。アイソタイプ対照と比較して、G 4 __ 1 2 でプレート結合刺激した後の P B M C 培養物中の V γ 4 T 細胞の割合が増加することを、A 6 4 7 複合抗 V γ 4 クローン G 4 __ 1 8 を含む抗体パネルを用いたフローサイトメトリーによって分析し、図 8 に示す。7 日目と 1 4 日目に、G 4 __ 1 2 抗体の存在下での V g 4 陽性細胞の割合は、アイソタイプ対照が存在する培養物よりも多くなった。

10

20

30

40

50

【表 6 - 1】

配列

配列番号	説明	配列
1	RSCBタンパク質データベースのV _γ 4鎖：4MNH	SSNLEGRTKSVIRQTGSSAEITCD LAEGSTGYIHWYLHQEGKAPQRLL YYDSYTSSVVLESGISP GK YDTYG STRKNLRMILRNLIENDSGVYYCA TWDEKYYKKLFGSGTTLVVTEDLK NVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKAT LVCLATGFYPDHVELSWVNGKEV HSGVCTDPQPLKEQPALNDSRYAL SSRLRVSATFWQNPRNHFRQCQVQF YGLSENDEWTQDRAKPVTVQIVSAE AWGRADSRGGLEVLVLFQ
2-24	CDR3重配列	図1を参照
25-47	CDR3軽配列	図1を参照
48-70	CDR2重配列	図1を参照
A1-A23	CDR2軽配列	図1を参照
71-93	CDR1重配列	図1を参照
94-116	CDR1軽配列	図1を参照
117	TRGV4完全重可変配列G4_1	EVQLLESGGGVVQPGRPLRLSCAA SGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWV SSISSSSSYIYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKGHWYFDLWGRGTLVTVSS
118	TRGV4完全重可変配列G4_2	QMQLVQSGAEVKKPGATVKISCKV SGYPFTDYYIHWVQQAPGKGLEWM GLVDPEDGQSRSAERFQGRVTITA DTSTD TAYMELSSLRSEDTAVYYC ATFPVAGFYGMDVWGQGTLLVTVSS

10

20

30

40

50

【表 6 - 2】

配列番号	説明	配列
119	TRGV 4 完全重可変配列 G 4_3	EVQLVNESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSS ISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGG WLYDYWGQGTLVTVSS
120	TRGV 4 完全重可変配列 G 4_4	QVQLVNESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSA ISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMSSLRVEDTAVYYCAKSS VGWWSFDYWGQGTMTVTVSS
121	TRGV 4 完全重可変配列 G 4_5	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAS GYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGW IGAYNGNTNYAQKLQGRVTMSTDT TSTAYMELRSPRSDDTAVYYCARGG TGGDHVFAFWGQGTTVTVSS
122	TRGV 4 完全重可変配列 G 4_6	EVQLVNESGGGLVQPGGPLRLSCAAS GFTFSSYAMNWVRQAPGKGLEWVSA ISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKAD YGVVYYFDYWGQGTMTVTVSS
123	TRGV 4 完全重可変配列 G 4_7	EVQLVNESGGGWVQSGGSLRPSCAAS GFTFESHYWMSWVRQAPGKGLEWVAN IKQDGSIIYYADSVKGRFTISRDN KNSVYLQMNSLRAEDTAVYYCARIG YSSSSFDYWGRGTLVTVSS
124	TRGV 4 完全重可変配列 G 4_10	QVQLVNESGGGVVQPGRPLRLSCAAS GFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVSA ISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDG AVDFWRNGMDVWGRGTLVTVSS
125	TRGV 4 完全重可変配列 G 4_12	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCAAS GFTVSSNYMSWVRQAPGKGLEWVSV IYSGGSTYYADSVKGRFTISRHNSK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVAN GDFLDYWGRGTLVTVSS

10

20

30

40

50

【表 6 - 3】

配列番号	説明	配列
126	TRGV4完全重可変配列 G4_13	QVQLVESGAEVKKPGGSLRLSCAAS GFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSS ISGTSSYIYYADSVKGRFTISRDN KNSLYLQMSSLRAEDTAVYYCARGG LGMVDPWGQGTLVTVSS
127	TRGV4完全重可変配列 G4_14	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGS GYSFTSYWISWVRQMPGKGLEWMGR IDPSDSYTNYS P S F P G H V T I S A D K S I S T A Y L Q W S S L K A S D T A M Y Y C A A D T A H G M D V W G R G T L V T V S S
128	TRGV4完全重可変配列 G4_15	EVQLVQSEAEVKKPGASVKVSCCKAS GYTFTTRHYMHWRQAPGQGLEWMGL INPSGSSTVYAQKFQGRVTLTRDTS TSTDYME L S S L R S E D T A V Y Y C A R D N S H L D Q V W W F D P W G Q G T L V T V S S
129	TRGV4完全重可変配列 G4_16	EVQLLESGAEVKKPGASVKVSCCKAS GYTFTSYG I S W V R Q A P G Q G L E W M G W I S A Y N G N T N Y A Q K L Q G R V T M T T D T S T S T A Y M E L R S L R S D D T A V Y Y C A R D Y G D F Y G M D V W G Q G T L V T V S S
130	TRGV4完全重可変配列 G4_18	EVQLVESGAEVKKPGASVKVSCCKAS GYTFTGYMHWRQAPGQGLEWMGR INPNSGGTNYA Q K F Q G R V T M T R D A S I S T A Y M E L S R L R S D D T A V Y Y C A R D L D L S S L D Y W G R G T L V T V S S
131	TRGV4完全重可変配列 G4_19	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCCKAS GYTLTSYYMHWRQAPGQGLEWMGI INPSGGSTSYA Q K F Q G R V T M T R D T S T S T V Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R E R G Y S Y G D G M D V W G Q G T T V T V S S
132	TRGV4完全重可変配列 G4_20	QVQLVESGAEVKKPGASVKVSCCKAS GGTFSSYAI SWVRQAPGQGLEWMGG I I P I F G T A N Y A Q K F Q G R V T I T V D K S T R T A Y M E L S S L R S K D T A V Y Y C A R G N S R S D A F D I W G Q G T M V T V S S

10

20

30

40

50

【表 6 - 4】

配列番号	説明	配列
133	TRGV4完全重可変配列 G4_22	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSTYAMSWVRQAPGKGLEWVST VSGSGGTTYADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDS TAVTDWFDPWGRGTLVTVSS
134	TRGV4完全重可変配列 G4_23	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS GFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAV IWDGSKNYADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGE VAALYYFDYWGQGTLVTVSS
135	TRGV4完全重可変配列 G4_24	QVQLQQSGPGLVKPSQTLISLTCAIS GASVSSNSVAWNWIRQSPSRGLEWL GRTYRSRWYNDYALSVKSRIINP DTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCA RDWSSTRSFDYWGGRGTLVTVSS
136	TRGV4完全重可変配列 G4_25	EVQLVESGAEVKKPGSSVKVSCKAS GGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGG IIPIFGTANYAQKFQGRVTITADKS TSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSL RDGYNYIGSLGYWGQGTLVTVSS
137	TRGV4完全重可変配列 G4_26	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAS GGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGG IIPIFGTANYAQKFQGRVTITADES TSTAYMELSSLRSEDVAVYYCASSR GSGWFPLGYWGQGTLVTVSS
138	TRGV4完全重可変配列 G4_27	QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKSS GYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGI IYPGDS DTRYSPSFQGGVTFSADES ISTAYLQWSSLKASDTAMYCARHG AYGDYPTFDIWGQGTLVTVSS
139	TRGV4完全重可変配列 G4_28	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSG ISAGGGSTNYAGSVKGRFTVSRDTS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVKSY VDTAMRYYYYYMDVWGQGTMTVTVSS

10

20

30

40

50

【表 6 - 5】

配列番号	説明	配列
140	TRGV4完全軽可変配列 G4__1	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC QASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLI YDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQSYSTPVTFG PGTKVEIK
141	TRGV4完全軽可変配列 G4__2	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC QASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISGLQPEDFATYYCLEDYNYLWTF GQGTKLEIK
142	TRGV4完全軽可変配列 G4__3	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC QASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLI YDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYFCQQSYSTPQTF GQGTKVDIK
143	TRGV4完全軽可変配列 G4__4	ASDIVMTQSPDSLAVSLGERATINC KSSQSVLSSSNNNNYLAWYQQRPGQ PPKLLFYWASTRESGVPDRFSGSGS GTSFTLTITSLQAEDVAVYYCQQYY STPLTFGGGTKLEIK
144	TRGV4完全軽可変配列 G4__5	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTF GQGTKVEIK
145	TRGV4完全軽可変配列 G4__6	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQSISTYLNWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSPQPEDFATYYCQQSYSTPYTF GQGTKVEIK
146	TRGV4完全軽可変配列 G4__7	ASDIVMTQSPPLSLPVTLPGEPAISCS RSSQSLLHSNRFNYLDWYLQKPGQS PQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSG TDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGLQ TPYTFGQGTKVDIK
147	TRGV4完全軽可変配列 G4__10	ASDIVMTQPPLSLPVTLGHPAISCS KSSQSLEYS DGNTYLNWFQQRPGQS PRRLIYKVSNRDSGAPDRFSGSGSG TDFTLEISRVEAEDVGVYYCMQGT LPPTFGQGTKVDIK

10

20

30

40

50

【表 6 - 6】

配列番号	説明	配列
148	TRGV4完全軽可変配列 G4_12	ASQSVLTQPASVSGSPGQSITISCT GTSSDVGGYNFVSWYQQHPGKAPKL MIYEV TNRPSGVPDRFSGSKSGNTA SLTISGLQAEDEADYYCSSHASPRV FGTGTKVTVL
149	TRGV4完全軽可変配列 G4_13	ASNFMLTQPHSVSESPGKTVTISCT RSSGSIASNYVQWYQQRPGSSPSTV IYEDNQRPSGVPDRFSGSIDSSNS ASLTISGLRTEDEADYYCQSYDSSI YVVFGGGTKLTVL
150	TRGV4完全軽可変配列 G4_14	ASNFMLTQPHSVSESPGKTVTISCT RSRGS IAGNYVHWYQQRPGRAPTTV IYRDKERPSGVPDRISGSIDSSNS ASLTISGLKTEDEADYYCQSYDSST HVVFGGGTKLTVL
151	TRGV4完全軽可変配列 G4_15	ASQSALTQPASVSGSPGQSITISCT GTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKL MIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTA SLTISGLQAEDEADYYCSSYGSV FGTGTKLTVL
152	TRGV4完全軽可変配列 G4_16	ASQSVLTQPPSASGSPGQSVTFSC GTSSDIGAFNSVSWYQQHPGKAPKL LIYEITKRPSGVPDRFSGSKSGNTA SLTISVLQAEDEADYYCTSYAGSNT LIFGGGTKVTVL
153	TRGV4完全軽可変配列 G4_18	ASSYELTQPPSVTESPGQTARITCS GDALAKQYAYWYQQKPGQAPVLVIY RDSERPSEIPERFSGSSSGTTVTLT ISGVQAEDEADYYCQSADSSGTYTV FGGGTKLTVL
154	TRGV4完全軽可変配列 G4_19	ASNFMLTQPHSVSESPGKTVTISCT RSSGSIASNYVQWYQQRPGSPITL IYDDDQRPSGVPHRFSGSIDTSSNP ASLTISGLKTEDEADYYCQSYDSSN HVVFGGGTKLTVL
155	TRGV4完全軽可変配列 G4_20	ASSYELTHPPSVSVSPGQTASITCS GDKLGDKFVSWYHQKPGQSPVLVIY QDSKRPSGIPERFSGSNSGNTATLT ISGTRAMDEADYYCQAWDSSTVVFG GGTKLTVL

10

20

30

40

50

【表 6 - 7】

配列番号	説明	配列
156	TRGV4完全軽可変配列 G4_22	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC QASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSVSGSGTDFTL TISNLQPEDFATYYCQQSYSIPWTF GQGTKVEIK
157	TRGV4完全軽可変配列 G4_23	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQGISNSLAWYQQKPGKAPKLLL YAASRLESGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCQQYYSTPRTF GGGTKLEIK
158	TRGV4完全軽可変配列 G4_24	ASDIVMTQSPDSLAVSLGERATINC KSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQ PPKLLISWASTRESGVPDRFSGSGS GTDFTLTINSLQSEDVAIYYCQQYY STPPTFGQGTKLEIK
159	TRGV4完全軽可変配列 G4_25	ASQSALTQPRSVSGSPGQSVTISCT GTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKL MIYEVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTA SLTISGLQAEDEADYYCSSYGSGSV FGTGTKLTVL
160	TRGV4完全軽可変配列 G4_26	ASQSGLTQPASVSGSPGQSITISCT GTSSDVGSYNLVSWYQQHPGKAPKL MIYEVSKRPSGVSNRFSGSKSGNTA SLTISGLQAEDEADYYCSSFSGS I FGTGTKLTVL
161	TRGV4完全軽可変配列 G4_27	ASSYELTQDPAVSVVALGQTVSITCQ GDSLRFNYANWYQQKPGQAPVLVIY GKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLT ITGAQAEDYCYCNSRDSSGNHLV FGGGTQLTVL
162	TRGV4完全軽可変配列 G4_28	ASSYELTQDPAVSVVALGQTVTITCQ GDSLRFNYASWYRQKPGQTPVLVY GKNNRPSGIPDRFSVSASGNTASLT ITGAQAEDYCYCNSRDSSGVVFG GGTKVTVL

10

20

30

40

50

【表 6 - 8】

配列番号	説明	配列
163	s c F v 配列 G 4 _ 1	EVQLLESGGGVVQPGRPLRLSCAAS GFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSS ISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGH WYFDLWGRGTLVTVSSGGGGSGGGG SGGGASDIQMTQSPSSLSASVGD RV TITCQASQDISNYLNWYQQKPKAP KLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFATYYCQQSYST PVTFGPGTKVEIKRTAAASAH HHHHHKLDYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDK
164	s c F v 配列 G 4 _ 2	QMQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVS GYPFTDYYIHWVQQAPGKGLEWMGL VDPEDGQSRSAERFQGRVTITADTS TDTAYMELSSLRSEDTAVYYCATFP VAGFYGMDVWGQGTLLVTVSSGGGG SGGGSGGGASDIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPK GKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISGLQPEDFATYYCLE DYNYLWTFGQGTKLEIKRTAAASAH HHHHHKLDYKDHDGDYKDHDIDYKDD DDDK
165	s c F v 配列 G 4 _ 3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSS ISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGG WLYDYWGQGTLLVTVSSGGGGSGGGG SGGGASDIQMTQSPSSLSASVGD RV TITCQASQDISNYLNWYQQKPKAP KLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFATYFCQQSYST PQTFGQGTKVDIKRTAAASAH HHHHHKLDYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDK

10

20

30

40

50

【表 6 - 9】

配列番号	説明	配列
166	s c F v 配列 G 4__4	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSA ISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMS SLRVEDTAVYYCAKSS VGWWSFDYWGQGTMVTVSSGGGGSG GGGSGGGASDIQMTQSPDSLAVSLG ERATINCKSSQS VLS SSSNNNNYLAW YQQRPGQPPKLLFYWASTRESGVPD RFSGSGSGTSTFTLTITSLQAEDVAV YYCQQYYSTPLTFGGGKLEIKRTA AASAHHHHHKLDYKDHDGDYKDHD IDYKDDDDK
167	s c F v 配列 G 4__5	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKAS GYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGW IGAYNGNTNYAQKLQGRVTMSTDT TSTAYMELRSPRSDDTAVYYCARGG TGGDHVFAYWGQGT TTVTVSSGGGG GGGGSGGGASDIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ SYSTPYTFGQGTKEIKRTAAASAH HHHHHKLDYKDHDGDYKDHDIDYKD DDDK
168	s c F v 配列 G 4__6	EVQLVESGGGLVQPGGPLRLSCAAS GFTFSSYAMNWRQAPGKGLEWVSA ISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKAD YGVVYYFDYWGQGTMVTVSSGGGG GGGGSGGGASDIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQSI STYLNWYQQKP GKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSPQPEDFATYYCQQ SYSTPYTFGQGTKEIKRTAAASAH HHHHHKLDYKDHDGDYKDHDIDYKD DDDK

10

20

30

40

50

【表 6 - 1 0】

配列番号	説明	配列
169	s c F v 配列 G 4__7	EVQLVESGGGWVQSGGSLRPSCAAS GFTFSHYWMSWVRQAPGKGLEWVAN IKQDGSIIYYADSVKGRFTISRDN KNSVYLQMNSLRAEDTAVYYCARIG YSSSSFDYWGRGTLVTVSSGGGGSG GGGSGGGASDIVMTQSPPLSLPTPG EPASISCRSSQSLLHSNRFNYLDWY LQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDR FSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVY YCMQGLQTPYTFGQGTKVDIKRTAA ASAHHHHHKLDYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDK
170	s c F v 配列 G 4__10	QVQLVESGGGVVQPGRPLRLSCAAS GFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVSA ISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDG AVDFWRNGMDVWGRGTLVTVSSGGG GSGGGGSGGGASDIVMTQPPLSLPV TLGHPASISCKSSQSLEYSDGNTYL NWFQQRPGQSPRRLIYKVSNRDSGA PDRFSGSGSGTDFTLEISRVEAEDV GVYYCMQGTLPPTFGQGTKVDIKR TAAASAHHHHHKLDYKDHDGDYKD HDIDYKDDDDK
171	s c F v 配列 G 4__12	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTVSSNYMSWVRQAPGKGLEWVSV IYSGGSTYYADSVKGRFTISRHNSK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVAN GDFLDYWGRGTLVTVSSGGGGSGGG GSGGGASQSVLTQPASVSGSPGQSI TISCTGTSSDVGGYNFVSWYQQHPG KAPKLMIYEVVTRPSGVPDRFSGSK SGNTASLTISGLQAEDAEDYCYSSH ASPRVFGTGTKVTVLRTAAASAHHH HHKLDYKDHDGDYKDHDIDYKDDD DK

10

20

30

40

50

【表 6 - 1 1】

配列番号	説明	配列
17 2	s c F v 配列 G 4__1 3	QVQLVESGAEVKKPGGSLRLSCAAS GFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSS ISGTSSYIYYADSVKGRFTISRDN KNSLYLQMS SLRAEDTAVYYCARGG LGMVDPWGQGT LVT VSSGGGGSGGG GSGGGASNFMLTQPHSVSESPGKTV TISCTRSSGSIASNYVQWYQQRPGS SPSTVIYEDNQRPSGVPDRFSGSID SSSNSASLTISGLRTEDEADYYCQS YDSSIYVVFGGGTKLTVLRTAAASA HHHHHKL D Y K D H D G D Y K D H D I D Y K DDDDK
17 3	s c F v 配列 G 4__1 4	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGS GYSFTSYWISWVRQMPGKGLEWMGR IDPSDSYTNYS P S F P G H V T I S A D K S I S T A Y L Q W S S L K A S D T A M Y Y C A A D T AHGMDVWGRGTLVT VSSGGGGSGGG GSGGGASNFMLTQPHSVSESPGKTV TISCTRSRGS I A G N Y V H W Y Q Q R P G R APTTVIYRDKERPSGVPDRISGSID SSSNSASLTISGLKTEDEADYYCQS YDSSTHVVFGGGTKLTVLRTAAASA HHHHHKL D Y K D H D G D Y K D H D I D Y K DDDDK
17 4	s c F v 配列 G 4__1 5	EVQLVQSEAEVKKPGASVKVSCKAS GYTFTRHYMHWVRQAPGQGLEWMGL INPSGSSTVYAQKFQGRVTLTRDTS TSTDYME L S S L R S E D T A V Y Y C A R D N SHLDQVWWFDPWGQGT LVT VSSGGGG GSGGGGSGGGASQSALTQPASVSGS PGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWY QQHPGKAPKLM I Y D V S N R P S G V S N R FSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADY YCSSYGS G S V F G T G T K L T V L R T A A A SAHHHHHKL D Y K D H D G D Y K D H D I D YKDDDDK

10

20

30

40

50

【表 6 - 1 2】

配列番号	説明	配列
17 5	s c F v 配列 G 4__1 6	EVQLLESGAEVKKPGASVKV SCKAS GYTFTSYG I SWVRQAPGQGLEWMGW I SAYNGNTNYAQKLQGRVTMTT DTS T STAYMELRSLRSDDTAVYYCARDY GDFYGM DVWGQGTLVTVSSGGGGSG GGGSGGGASQSVLTQPPSASGSPGQ SVTF SCTGTSSD I GAFNSVSWYQQH PGKAPKLLIYE I TKRPSGVPDRFSG SKSGNTASLT I SVLQAEDEADYYCT SYAGSNTL I FGGGTKVTVLR TAAAS AHHHHH HKLDYKDHDG DYKDHD I DY KDDDDK
17 6	s c F v 配列 G 4__1 8	EVQLVESGAEVKKPGASVKV SCKAS GYTFTGYMHWRQAPGQGLEWMGR I NPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDAS I STAYMEL SRLRSDDTAVYYCARDL DLSSLDYWGRGTLVTVSSGGGGSGG GGSGGGASSYELTQPPSVTESPGQT ARITCSGDALAKQYAYWYQQKPGQA PVLVIYRDSERPSE I PERFSGSSSG TTVTLT I SGVQAEDEADYYCQSADS SGTYTVFGGGTKLTVLR TAAASAHH HHH HKLDYKDHDG DYKDHD I DYKDD DDK
17 7	s c F v 配列 G 4__1 9	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKAS GYTLTSYYMHWRQAPGQGLEWMGI I NPSSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTS T STVYMELSSLRSEDTAVYYCARER GYSYGDGMDVWGQGT T VTVSSGGGG SGGGGSGGGASNFMLTQPHSVSESP GKTVT I SCTRSSGSIASNYVQWYQQ RPGSPPI TL I YDDDQRPSGVP HRFS GSIDTSSNPASLT I SGLKTEDEADY YCQSYDSSNHVVFGGGTKLTVLR TA AASAHHHHH HKLDYKDHDG DYKDHD IDYKDDDDK

10

20

30

40

50

【表 6 - 1 3】

配列番号	説明	配列
178	s c F v 配列 G 4__2 0	QVQLVESGAEVKKPGASVKV SCKAS GGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGG IIPIFGTANYAQKFQGRVTITVDKS TRTAYMELSSLR SKDTAVYYCARGN SRSDAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSG GGGSGGGASSYELTHPPSVSVSPGQ TASITCSGDKLGDKFVSWYHQKPGQ SPVLVIYQDSKRPSGIPERFSGSNS GNTATLTI SGTRAMDEADYYCQAWD SSTVVFGGGTKLTVLRTAAASAHHH HHHKL DYKDHDGDYKDHDIDYKDDD DK
179	s c F v 配列 G 4__2 2	QVQLVESGGGLVQP GGSRLRLSCAAS GFTFSTYAMSWVRQAPGKGLEWVST VSGSGGTTYADSVKGRFTISRDN S KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDS TAVTDWFDPWGRGTLVTVSSGGGG S GGGGSGGGASDIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKP GKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSVS GSGTDFTLTISNLQPEDFATYYCQQ SYSIPWTFGQGTKVEIKRTAAASA H HHHHHKL DYKDHDGDYKDHDIDYKD DDDK
180	s c F v 配列 G 4__2 3	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS GFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAV IWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN S KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGE VAALYYFDYWGGGTLVTVSSGGGG S GGGGSGGGASDIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQGINSLSLAWYQQKP GKAPKLLLYAASRL ESGVPSRFSGS GSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQ YYSTPRTFGGGTKLEIKRTAAASA H HHHHHKL DYKDHDGDYKDHDIDYKD DDDK

10

20

30

40

50

【表 6 - 1 4】

配列番号	説明	配列
18 1	s c F v 配列 G 4__2 4	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSSLTCAIS GASVSSNSVAWNWIRQSPSRGLEWL GRTYYRSRWYNDYALSVKSRIIINP DTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCA RDWSSTRSFDYWGRGTLVTVSSGGG GSGGGGSGGGASDIVMTQSPDSLAV SLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNY LAWYQQKPGQPPKLLISWASTRESG VPDRFSGSGSGTDFTLTINSLSQSED VAIYYCQQYYSTPPTFGQGTKLEIK RTAAASAHHHHHKLDYKDHDGDYK DHDIDYKDDDDK
18 2	s c F v 配列 G 4__2 5	EVQLVESGAEVKKPGSSVKVSCKAS GGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGG IIPIFGTANYAQKFQGRVTITADKS TSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSL RDGYNYIGSLGYWGQGTLLVTVSSGG GGSGGGGSGGGASQSALTQPRSVSG SPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSW YQQHPGKAPKLMIEVSNRPSGVS RFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEAD YYCSSYGSVFGTGTKLTVLRATAA ASAHHHHHKLDYKDHDGDYKDHD IDYKDDDDK
18 3	s c F v 配列 G 4__2 6	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAS GGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGG IIPIFGTANYAQKFQGRVTITADES TSTAYMELSSLRSEDTAVYYCASSR GSGWFPLGYWGQGTLLVTVSSGGGGG GGGGSGGGASQSGLTQPASVSGSPG QSITISCTGTSSDVGSYNLVS WYQQHPGKAPKLMIEVSKRPSGVS NRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEAD YYC SSFGSGSIFGTGTKLTVLRATAA SAHHHHHHKLDYKDHDGDYKDHD IDYKDDDDK

10

20

30

40

50

【表 6 - 1 5】

配列番号	説明	配列
184	s c F v 配列 G 4 _ 2 7	QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKSS GYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMI IYPGDS DTRYSPSFQQVTFSADES I STAYLQWSSLKASDTAMYCARHG AYGDY P D T F D I W G Q G T L V T V S S G G G G S G G G G S G G G A S S Y E L T Q D P A V S V A L G Q T V S I T C Q G D S L R N F Y A N W Y Q Q K P G Q A P V L V I Y G K N N R P S G I P D R F S G S S S G N T A S L T I T G A Q A E D E A D Y Y C N S R D S S G N H L V F G G G T Q L T V L R T A A A S A H H H H H H K L D Y K D H D G D Y K D H D I D Y K D D D D K
185	s c F v 配列 G 4 _ 2 8	QVQLVESGGGLVQP G G S L R L S C A A S G F T F D D Y A M H W V R Q A P G K G L E W V S G I S A G G G S T N Y A G S V K G R F T V S R D T S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C V K S Y V D T A M R Y Y Y Y M D V W G Q G T M V T V S S G G G G S G G G S G G G A S S Y E L T Q D P A V S V A L G Q T V T I T C Q G D S L R N Y Y A S W Y R Q K P G Q T P V L V V Y G K N N R P S G I P D R F S V S A S G N T A S L T I T G A Q A E D E G D Y Y C N S R D S S G V V F G G G T K V T V L R T A A A S A H H H H H H K L D Y K D H D G D Y K D H D I D Y K D D D D K
186	リンカー	GGGGSGGGGSGGG
187	ヌクレオチド V H 配列 G 4 _ 1	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGG GAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGCC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCT GGATTACCTTCAGTAGCTATAGCA TGA ACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGG GAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCATCC ATTAGTAGTAGTAGTAGTTACATAT ACTACGCAGACTCAGTGAAGGGCCG ATTCACCATCTCCAGAGACAATTCC AAGAACACGCTGTATCTGCAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGC CGTATATTACTGTGCGAAAGGACAC TGGTACTTCGATCTCTGGGGCCGTG GCACCCTGGTCCACCGTCTCGAGT

10

20

30

40

50

【表 6 - 1 6】

配列番号	説明	配列
188	ヌクレオチド VH配列G4 — 2	CAGATGCAGCTGGTGCAGTCTGGGG CTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCTAC AGTGAAAATCTCCTGCAAGGTTTCT GGATACCCTTTTCAACCGACTACTATA TCCACTGGGTGCAACAGGCCCTGG AAAAGGGCTTGAGTGGATGGGACTT GTTGATCCTGAGGATGGGCAAAGTA GATCCGCGGAGAGGTTCCAGGGCAG AGTCACCATAACCGCGGACACGTCT ACAGACACAGCCTACATGGAGCTGA GCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGC CGTGTATTACTGTGCAACATTCCCA GTGGCTGGATTCTACGGTATGGACG TCTGGGGGCCAGGGAACCCTGGTAC CGTCTCGAGT
189	ヌクレオチド VH配列G4 — 3	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCCGGGG GAGGCTTGGTCCAGCCGGGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCT GGATTACCTTCAGTAGCTATAGCA TGA ACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGG GAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCATCC ATTAGTAGTAGTAGTAGTTACATAT ACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCG GTTCACCATCTCCAGAGACAATTCC AAGAACACGCTGTATCTGCAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGC CGTGTATTACTGTGCGAGAGGAGGG TGGCTATATGACTACTGGGGCCAAG GAACCCTGGTCCCGTCTCGAGT

10

20

30

40

50

【表 6 - 17】

配列番号	説明	配列
190	ヌクレオチド VH配列G4 — 4	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGG GAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCT GGATTACCTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGG GAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACAT ACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCG GTTCACCATCTCCAGAGACAATTCC AAAAACACCCTGTATCTGCAAATGA GCAGCCTGAGAGTCGAAGACACGGC CGTATATTATTGTGCGAAATCGTCG GTGGGCTGGTGGTCTTTTGACTACT GGGGCCAAGGGACAATGGTCAACCGT CTCGAGT
191	ヌクレオチド VH配列G4 — 5	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGG CTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCTCTC GGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCT GGTTACACCTTTACCAGCTACGGTA TCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGG ACAAGGGCTTTGAGTGGATGGGATGG ATCGGCGCTTACAATGGTAACACAA ACTATGCACAGAAGCTCCAGGGCAG AGTCACCATGAGCACAGACACATCC ACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGA GGAGCCCGAGATCTGACGACACGGC CGTGTATTACTGTGCGAGAGGCGGG ACGGGGGGTGACCACGTCTTTGCCT ACTGGGGGGCAAGGGACCACGGTCAC CGTCTCGAGT

10

20

30

40

50

【表 6 - 1 8】

配列番号	説明	配列
192	ヌクレオチド VH配列G4 — 6	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGG GAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGCC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCT GGATTACCTTTAGCAGCTATGCCA TGA ACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGG GAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACAT ACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCG GTTACCATCTCCAGAGACAATTCC AAGA ACACGCTGTATCTGCAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGC CGTATA TACTGTGCGAAAGCCGAC TACGGGGTGGTCTACTACTTTGACT ACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCA CGTCTCGAGT
193	ヌクレオチド VH配列G4 — 7	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGG GAGGCTGGGTCCAGTCTGGGGGGTCT CCTGAGACCCTCCTGTGCAGCCTCT GGATTACCTTTAGTCACTATTGGA TGAGTTGGGTCCGCCAGGCTCCAGG GAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCCAAC ATAAAGCAAGATGGAAGTATCATAT ACTATGCAGACTCTGTGAAGGGCCG ATTCACCATCTCCAGGGACAACGCC AAGA ACTCAGTGTATCTGCAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGC TGTGTATTACTGTGCGAGAATTGGG TATAGCAGCTCGTCTTTTACTACT GGGGCCGTGGCACCCCTGGTCAACCGT CTCGAGT

10

20

30

40

50

【表 6 - 1 9】

配列番号	説明	配列
194	ヌクレオチド VH配列G4 _10	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGG GAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGCC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCT GGATTACCTTCAGTAGCTATGCTA TGC ACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGG GAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACAT ACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCG GTTCACCATCTCCAGAGACAATTCC AAGAACACGCTGTATCTGCAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGC CGTATA TACTGTGCGAAAGATGGG GCCGTGGATTTTTTGGCGAAACGGTA TGGACGTCTGGGGCCGTGGCACCCCT GGTCACCGTCTCGAGT
195	ヌクレオチド VH配列G4 _12	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGAG GAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCT GGGTTCACCGTTCAGTAGCAACTACA TGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGG GAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGTT ATTTATAGCGGTGGTAGCACATACT ACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATT CACCATCTCCCGACACAATTCCAAG AACACGCTGTATCTTCAAATGAACA GCCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGT GTATTACTGTGCGAGAGTAGCGAAC GGTGACTTTCTTGACTACTGGGGCC GTGGCACCCCTGGTTCACCGTCTCGAG T

10

20

30

40

50

【表 6 - 2 0】

配列番号	説明	配列
196	ヌクレオチド VH配列G4 _13	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGG CTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGGGTCT CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCT GGATTACCTTCAGTAGCTATAGCA TGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGG GAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCATCC ATTAGTGGTACTAGTAGTTACATAT ACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCG ATTCACCATCTCCAGAGACAACGCC AAGAACTCACTGTATCTGCAAATGA GCAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGC TGTTTATTACTGTGCGAGAGGAGGG CTCGGGATGGTCGACCCCTGGGGCC AGGGAACCCCTGGTCAACCGTCTCGAG T
197	ヌクレオチド VH配列G4 _14	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGAG CAGAGGTGAAAAGCCCGGGGAGTCT TCTGAGGATCTCCTGTAAAGGGTTCT GGATACAGCTTTACCAGCTACTGGA TCAGCTGGGTGCGCCAGATGCCCGG GAAAGGCCTGGAGTGGATGGGGAGG ATTGATCCTAGTGA CTCTTATACCA ACTACAGCCCGTCCCTTCCCAGGCCA CGTCACCATCTCAGCTGACAAGTCC ATCAGCACTGCCTACCTGCAGTGGA GCAGCCTGAAGGCCTCGGACACCGC CATGTATTACTGTGCGGCGGATACA GCTCACGGTATGGACGTCTGGGGCC GTGGCACCCCTGGTCAACCGTCTCGAG T

10

20

30

40

50

【表 6 - 2 1】

配列番号	説明	配列
198	ヌクレオチド VH配列G4 —15	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGAGG CTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTC AGTGAAGGTTTCCCTGCAAGGCCTCT GGATACACCTTCCACCAGGCATTATA TGC ACTGGGTGCGACAGGCCCCCGG ACAAGGGCTTGAGTGGATGGGACTA ATCAACCCTAGTGGTAGTAGCACAG TCTACGCACAGAAGTTCCAGGGCAG AGTCACCTTGACCAGGGACACGTCC ACGAGCACAGACTACATGGAGCTGA GCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGC CGTCTATTATTGTGCGAGAGATAAT AGTCACCTCGACCAGGTTTGGTGGT TCGACCCCTGGGGCCAGGGCACCCCT GGTCACCGTCTCGAGT
199	ヌクレオチド VH配列G4 —16	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGAG CTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTC AGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCT GGTTACACCTTTACCAGCTATGGTA TCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGG ACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGG ATCAGCGCTTACAATGGTAACACAA ACTATGCACAGAAGCTCCAGGGCAG AGTCACCATGACCACAGACACATCC ACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGA GGAGCCTGAGATCTGACGACACGGC CGTGTATTACTGTGCGAGAGACTAC GGTGACTTCTACGGTATGGACGTCT GGGGCCAAGGAACCCTGGTCACCGT CTCGAGT

10

20

30

40

50

【表 6 - 2 2】

配列番号	説明	配列
200	ヌクレオチド VH配列G4 —18	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGG CTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTC AGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCT GGATACACCTTCACCGGCTACTATA TGCACTGGGTGCGACAGGCCCTGG ACAAGGGCTTGAGTGGATGGGACGG ATCAACCCTAACAGTGGTGGCACAA ACTATGCACAGAAGTTTCAGGGCAG GGTCACCATGACCAGGGACGCGTCC ATCAGCACAGCCTACATGGAGCTGA GCAGGCTGAGATCTGACGACACGGC CGTGTATTACTGTGCGAGAGATCTT GATCTATCCTCCCTTGACTACTGGG GCCGTGGCACCCCTGGTCCCGTCTC GAGT
201	ヌクレオチド VH配列G4 —19	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGG CTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTC AGTGAAGGTTTTCCTGCAAGGCATCT GGATACACCTTCACCAGCTACTATA TGCACTGGGTGCGACAGGCCCTGG ACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAATA ATCAACCCTAGTGGTGGTAGCACAA GCTACGCACAGAAGTTCCAGGGCAG AGTCACCATGACCAGGGACACGTCC ACGAGCACAGTCTACATGGAGCTGA GCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGC CGTGTATTACTGTGCGAGAGAGCGT GGATACAGCTATGGTGACGGTATGG ACGTCTGGGGGCAAGGGACCACGGT CACCGTCTCGAGT

10

20

30

40

50

【表 6 - 2 3】

配列番号	説明	配列
20 2	ヌクレオチド VH配列G4 — 20	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGAG CTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTC GGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCT GGAGGCACCTTCAGCAGCTATGCTA TCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGG ACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAGGG ATCATCCCTATCTTTGGTACAGCAA ACTACGCACAGAAGTTCCAGGGCAG AGTCACGATTACCGTGGACAAATCC ACGCGCACAGCCTACATGGAGCTGA GCAGCCTGAGATCTAAGGACACGGC CGTGTATTACTGTGCGAGGGGGGAAT AGCAGAAGTGATGCTTTTGATATCT GGGGCCAAGGGACAATGGTCAACCGT CTCGAGT
20 3	ヌクレオチド VH配列G4 — 22	CAGGTGCAGTTGGTGGAGTCTGGGG GAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTTC CCTGAGACTCTCCTGTGACGCTCT GGATTACCTTTAGCACCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGG GAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAACT GTTAGTGGTAGTGGTGGTACCACAT ACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCG GTTCACCATCTCCAGAGACAATTCC AAGAACACGCTGTATCTGCAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAAGACACGGC CGTATATTACTGTGCGAAAGATTCA ACGGCGGTGACTGACTGGTTTCGACC CCTGGGGGCCGTGGCACCCCTGGTAC CGTCTCGAGT

10

20

30

40

50

【表 6 - 2 4】

配列番号	説明	配列
204	ヌクレオチド VH配列G4 — 23	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGG GAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCT GGATTACCTTCAGTAGCTATGGCA TGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGG CAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTT ATATGGTATGATGGAAGTAATAAAT ACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCG ATTCACCATCTCCAGAGACAATTCC AAGAACACGCTGTATCTGCAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGC TGTGTATTACTGTGCGAGAGGGGAA GTGGCTGCCTTGTACTACTTTGACT ACTGGGGGCCAGGGAACCCTGGTAC CGTCTCGAGT
205	ヌクレオチド VH配列G4 — 24	CAGGTACAGCTGCAGCAGTCAGGTC CAGGACTGGTGAAGCCCTCGCAGAC CCTCTCACTCACCTGTGCCATCTCC GGGGCCAGTGTCCTCTAGCAACAGTG TTGCTTGGAACTGGATCAGGCAGTC CCCATCGAGAGGCCTTGAGTGGCTG GGGAGGACATACTACAGGTCCAGGT GGTATAATGATTATGCATTATCTGT GAAAAGTCGAATAATCATCAACCCA GACACATCCAAGAACCAGTTCTCCC TGCAGCTGAACTCTGTGACCCCGA GGACACGGCTGTGTATTACTGTGCA AGAGATTGGAGCAGCACCCGATCCT TTGACTACTGGGGCCGTGGCACCCCT GGTCACCGTCTCGAGT

10

20

30

40

50

【表 6 - 2 5】

配列番号	説明	配列
206	ヌクレオチド VH配列G4 — 25	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGG CTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGTCCTC GGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCT GGAGGCACCTTCAGCAGCTATGCTA TCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGG ACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAGGG ATCATCCCTATCTTTGGTACAGCAA ACTACGCACAGAAGTTCCAGGGCAG AGTCACGATTACCGCGGACAAATCC ACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGA GCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGC CGTGTAATTACTGTGCGAGATCTCTT AGAGATGGCTACAATTACATCGGAA GTTTAGGCTACTGGGGCCAGGGCAC CCTGGTCAACCGTCTCGAGT
207	ヌクレオチド VH配列G4 — 26	CAGGTCCAGCTTGTGCAGTCTGGGG CTGAGGTGAAGAAGCCTGGATCCTC GGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCT GGAGGCACCTTCAGCAGCTATGCTA TCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGG ACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAGGG ATCATCCCTATCTTTGGTACAGCAA ACTACGCACAGAAGTTCCAGGGCAG AGTCACGATTACCGCGGACGAATCC ACGAGCACAGCCTTACATGGAGCTGA GCAGCCTGAGATCTGAAGACACGGC TGTGTAATTACTGTGCGAGCTCCCGG GGCAGTGGCTGGTTTCCCTTTGGGTT ACTGGGGCCAAGGAACCCTGGTCA CGTCTCGAGT

10

20

30

40

50

【表 6 - 2 6】

配列番号	説明	配列
208	ヌクレオチド VH配列G4 — 27	CAGGTCCAGCTGGTACAGTCTGGAG CAGAGGTGAAAAAGCCCGGGGAGTC TCTGAAGATCTCCTGTAAGAGTTCT GGATACAGCTTTACCAGCTACTGGA TCGGCTGGGTGCGCCAGATGCCCGG GAAAGGCCTGGAGTGGATGGGGATC ATCTATCCTGGTGACTCTGATACCA GATACAGCCCGTCCTTCCAAGGCCA GGTCACCTTCTCAGCCGACGAGTCC ATCAGTACCGCCTACCTGCAGTGG GCAGCCTGAAGGCCTCGGACACCGC CATGTATTACTGTGCGAGACATGGC GCCTACGGTGACTACCCGGATACTT TTGATATCTGGGGCCAGGGCACCCCT GGTCACCGTCTCGAGT
209	ヌクレオチド VH配列G4 — 28	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGG GAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCT GGATTACCTTTGATGATTATGCCA TGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGG GAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGGT ATTAGTGCTGGTGGTGGTAGCACAA ACTACGCAGGCTCCGTGAAGGGCCG GTTCACCGTCTCCAGGGACACGTCC AAGAACACACTTTATCTGCAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGC CGTGTATTACTGTGTGAAGTCCTAC GTGGATACAGCTATGCGCTACTACT ACTACTACATGGACGTCTGGGGCCA AGGGACAATGGTCACCGTCTCGAGT

10

20

30

40

50

【表 6 - 2 7】

配列番号	説明	配列
210	ヌクレオチド VL配列G4 _1	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCAT CCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGA CAGAGTCACCATCACTTGCCAGGCG AGTCAGGACATTAGCAACTATTTAA ATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAA AGCCCCTAAGCTCCTGATCTACGAT GCATCCAATTTGGAAACAGGGGTCC CATCAAGGTTTCAGTGGAAGTGGATC TGGGACAGATTTTCACTCTCACCATC AGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTG CAACTTACTACTGTCAACAGAGTTA CAGTACCCCCGTCACCTTTCGGCCCT GGGACCAAGGTGGAAATCAAA
211	ヌクレオチド VL配列G4 _2	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCAT CCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGA CAGAGTCACCATCACTTGCCAGGCG AGTCAGGACATTAGCAACTATTTAA ATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAA AGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCT GCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCC CATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATC TGGGACAGATTTTCACTCTCACCATC AGCGGCCTGCAGCCTGAAGATTTTG CAACTTACTACTGTCTAGAAGATTA CAACTACCTGTGGACGTTTCGGCCAA GGGACCAAGCTGGAGATCAAA
212	ヌクレオチド VL配列G4 _3	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCAT CCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGA CAGAGTCACCATCACTTGCCAGGCG AGTCAGGACATTAGCAACTATTTAA ATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAA AGCCCCTAAGCTCCTGATCTACGAT GCATCCAATTTGGAAACAGGGGTCC CATCAAGGTTTCAGTGGAAGTGGGTC TGGGACAGATTTTCACTCTCACCATC AGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTG CAACTTACTTCTGTCAACAGAGTTA CAGTACCCCCAGACGTTTCGGCCAA GGGACCAAAGTGGATATCAAA

10

20

30

40

50

【表 6 - 2 8】

配列 番号	説明	配列
2 1 3	ヌクレオチド VL配列G 4 — 4	GATATTGTGATGACCCAGTCTCCAG ACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGA GAGGGCCACCATCAACTGCAAGTCC AGCCAGAGTGTTTTGTCCAGCTCCA ACAATAACAACACTACTTAGCTTGGTA CCAACAGAGACCAGGACAGCCTCCT AAGCTGCTCTTTTTACTGGGCATCTA CCCGGGAATCGGGGGTCCCTGACCG ATTCAGTGGCAGCGGGTCTGGAAACA TCTTTCACCTCTCACCATCACCCAGCC TGCAGGCTGAAGATGTGGCGGTTTA TTRACTGTCAGCAATATTATTCCACT CCTCTCACTTTCGGCGGAGGGACCA AGCTGGAGATCAAA
2 1 4	ヌクレオチド VL配列G 4 — 5	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCAT CCTCCCTGTCTGTCATCTGTAGGAGA CAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCA AGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAA ATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAA AGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCT GCATCCAGTTTGC AAAGTGGGGTCC CATCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATC TGGGACAGATTTCACTCTCACTATC AGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTG CAACTTACTACTGTCAACAGAGTTA CAGTACCCCTACACTTTTGGCCAG GGGACCAAGGTGGAAATCAAA

10

20

30

40

50

【表 6 - 2 9】

配列番号	説明	配列
21 5	ヌクレオチド VL配列G4 —6	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCAT CCTCCCTGTCTGTCATCTGTAGGAGA CAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCA AGTCAGAGCATTAGCACCTATTTAA ATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAA AGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCT GCATCCAGTTTGCAGAGTGGGGTCC CATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGATC TGGGACAGATTTCACTCTCACCATC AGCAGTCCGCAACCTGAAGATTTTG CAACTTACTACTGTCAACAGAGTTA CAGTACCCCGTACACTTTTGGCCAG GGGACCAAGGTGGAAATCAAA
21 6	ヌクレオチド VL配列G4 —7	GATATTGTGATGACGCAGTCTCCAC TCTCCCTGCCCGTCACCCCTGGAGA GCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCC AGTCAGAGCCTCCTGCATAGTAATA GATTCAACTATTTGGATTGGTACCT GCAGAAGCCAGGGCAGTCTCCACAG CTCCTGATCTATTTGGGTTCTAATC GGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTT CAGTGGCAGTGGATCTGGCACAGAT TTTACACTGAAAATCAGCAGAGTGG AGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTA CTGCATGCAAGGTCTACAAACTCCG TACACTTTTGGCCAGGGGACCAAAG TGGATATCAAA

10

20

30

40

50

【表 6 - 3 0】

配列 番号	説明	配列
2 1 7	ヌクレオチド VL配列G 4 _ 1 0	GATATTGTGATGACGCAGCCTCCAC TCTCCCTGCCCGTCACCCTTGGACA TCCGGCCTCCATCTCCTGCAAGTCT AGTCAAAGCCTCGAATATAGTGATG GAAACACCTACTTGAATTGGTTTCA GCAGAGGCCAGGCCAATCTCCAAGG CGCCTCATTTATAAGGTTTCTAACCC GGGACTCTGGGGCCCCCGACAGATT CAGCGGGAGTGGGTCAGGCACTGAT TTCACACTGGAAATCAGCAGGGTGG AGGCTGAGGATGTTGGAGTTTATTA CTGTATGCAAGGTACACTCTGGCCT CCCACGTTTCGGCCAAGGGACCAAAG TGGATATCAA
2 1 8	ヌクレオチド VL配列G 4 _ 1 2	CAGTCTGTGCTGACTCAGCCTGCCT CCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAGTC GATCACCATCTCCTGCACTGGAACC AGCAGTGACGTTGGTGGTTATAACT TTGTCTCCTGGTACCAACAACACCC AGGCAAAGCCCCAAACTCATGATT TATGAGGTCACTAATCGGCCCTCAG GGGTCCCTGATCGGTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACACGGCCTCCCTG ACCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCAGCTC ACATGCAAGCCCCAGGGTCTTCGGA ACTGGGACCAAGGTCACCGTCCTA

10

20

30

40

50

【表 6 - 3 1】

配列番号	説明	配列
219	ヌクレオチド VL配列G4 _13	AATTTTATGCTGACTCAGCCCCACT CTGTGTCGGAGTCTCCGGGGAAGAC GGTAACCATCTCCTGCACCCGCAGC AGTGGCAGCATTGCCAGCAACTATG TGCAGTGGTACCAGCAGCGCCCGGG CAGTTCCCCCAGCACTGTGATCTAT GAGGATAACCAAAGACCCTCAGGGG TCCCTGATCGGTTCTCTGGCTCCAT CGACAGCTCCTCCAACCTCTGCCTCC CTCACCATCTCTGGACTGAGGACTG AGGACGAGGCTGACTACTACTGTCA GTCTTATGATAGCAGCATTATATGTG GTATTCGGCGGAGGGACCAAGCTGA CCGTCCTA
220	ヌクレオチド VL配列G4 _14	AATTTTATGCTGACTCAGCCCCACT CTGTGTCGGAGTCTCCGGGGAAGAC GGTAACCATATCCTGCACCCGCAGC CGTGGCAGCATTGCCGGCAACTATG TGCACTGGTACCAGCAGCGCCAGG GCGTGCCCCCACCCTGTGATCTAT CGGGATAAGGAAAGACCCTCTGGGG TCCCTGATCGAATCTCTGGCTCCAT CGACAGCTCCTCCAACCTCTGCCTCC CTCACCATCTCTGGACTGAAGACTG AGGACGAGGCTGATTACTATTGTCA GTCTTATGATAGCAGCACCCATGTG GTATTCGGCGGAGGGACCAAGCTGA CCGTCCTA

10

20

30

40

50

【表 6 - 3 2】

配列番号	説明	配列
2 2 1	ヌクレオチド VL配列G 4 — 1 5	CAGTCTGCGCTGACTCAGCCTGCCT CCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAGTC GATCACCATCTCCTGCACTGGAACC AGCAGTGACGTTGGTGGTTATAACT ATGTCTCCTGGTACCAACAACACCC AGGCAAAGCCCCAAACTCATGATT TATGACGTCAGTAATCGGCCCTCAG GGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACACGGCCTCCCTG ACCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCAGCTC GTATGGAAGCGGCAGCGTCTTCGGA ACTGGGACCAAGCTGACCGTCCTA
2 2 2	ヌクレオチド VL配列G 4 — 1 6	CAGTCTGTGCTGACTCAGCCTCCCT CCGCGTCCGGGTCTCCTGGACAGTC AGTCACCTTCTCCTGCACTGGAACC AGCAGTGACATTGGTGCTTTTAACT CTGTCTCTTGGTACCAACAGCACCC AGGCAAAGCCCCAAACTCCTAATT TATGAGATCACTAAGCGGCCCTCAG GGGTCCCTGATCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACACGGCCTCCCTG ACCATCTCTGTGCTCCAGGCTGAAG ATGAGGCTGATTATTACTGCACCTC ATATGCAGGCAGCAACACTTTGATC TTCGGCGGAGGGACCAAGGTCACCG TCCTA

10

20

30

40

50

【表 6 - 3 3】

配列番号	説明	配列
2 2 3	ヌクレオチド VL配列G 4 — 1 8	TCCTATGAGCTGACACAGCCACCCCT CGGTGACAGAGTCCCCAGGACAGAC GGCCAGGATCACCTGCTCTGGAGAT GCATTGGCAAAGCAATATGCTTATT GGTACCAGCAGAAGCCAGGCCAGGC CCCTGTGTTGGTGATATATAGAGAC AGTGAGAGGCCTTCAGAGATCCCTG AGCGATTCTCTGGCTCCAGCTCAGG GACAACAGTCACGTTGACCATCAGT GGAGTCCAGGCAGAAGACGAGGCTG ACTATTACTGTCAATCAGCAGACAG CAGTGGTACTTATACAGTATTTGGC GGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA
2 2 4	ヌクレオチド VL配列G 4 — 1 9	AATTTTATGCTGACTCAGCCCCACT CTGTGTCGGAGTCTCCGGGGGAAGAC GGTCACCATCTCCTGCACCCGCAGC AGTGGCAGCATTGCCAGCAACTATG TACAGTGGTACCAGCAGCGCCCGGG CAGTCCCCCATCACTTTGATATAT GATGATGACCAAAGACCCTCTGGGG TCCCTCATCGGTTCTCTGGCTCCAT CGACACCTCATCCAACCCTGCCTCC CTCACCATCTCTGGACTGAAGACTG AGGACGAGGCTGACTACTACTGTCA GTCTTATGATAGCAGCAATCATGTG GTATTCGGCGGAGGGACCAAGCTGA CCGTCCTA

10

20

30

40

50

【表 6 - 3 4】

配列 番号	説明	配列
2 2 5	ヌクレオチド VL 配列 G 4 — 2 0	TCCTATGAGCTGACTCATCCACCCT CAGTGTCCGTGTCCCCAGGACAGAC AGCCAGCATCACCTGCTCTGGAGAT AAATTGGGGGATAAGTTTGTTCCT GGTATCACCAAAAGCCAGGCCAGTC CCCTGTGCTGGTTCATCTATCAAGAT AGCAAGCGGCCCTCAGGGATCCCTG AGCGCTTCTCAGGCTCCAATTCTGG GAACACAGCCACTCTGACCATCAGC GGGACCCGGGCTATGGATGAGGCTG ACTATTACTGTTCAGGCGTGGGACAG CAGCACTGTGGTATTTCGGCGGAGGG ACCAAGCTGACCGTCCTA
2 2 6	ヌクレオチド VL 配列 G 4 — 2 2	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCAT CCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGA CAGAGTCACCATCACTTGCCAGGCG AGTCAGGACATTAGCAACTATTTAA ATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAA AGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCT GCATCCAGTCTGCAAAGTGGGGTCC CATCAAGGTTTCAGCGTCAGTGGATC TGGGACAGATTTCACTCTCACCATC AGCAACCTGCAGCCTGAAGATTTTG CAACTTATTACTGTCAACAGAGTTA CAGTATCCCGTGGACGTTTCGGCCAA GGGACCAAGGTGGAGATCAA

10

20

30

40

50

【表 6 - 3 5】

配列番号	説明	配列
22 7	ヌクレオチド VL配列G4 —23	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCAT CCTCCCTGTCTGTCATCTGTAGGAGA CAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCG AGTCAGGGCATTAGCAATTCTTTAG CCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAA AGCCCCTAAGCTCCTGCTCTATGCT GCGTCCAGATTGGAAAGTGGGGTCC CATCCAGGTTTAGTGGCAGTGGATC TGGGACGGATTACACCCTCACCATC AGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTG CAACTTATTACTGTCAACAGTATTA TAGTACCCCTCGCACTTTCGGCGGA GGGACCAAGCTGGAGATCAAA
22 8	ヌクレオチド VL配列G4 —24	GATATTGTGATGACCCAGTCTCCAG ACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGA GAGGGCCACCATCAACTGCAAGTCC AGCCAGAGTGTTTTATACAGCTCCA ACAATAAGAACTACTTAGCTTGGTA CCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCT AAGTTGTTGATTTCTGGGCTTCTA CCCGGGAATCTGGGGTCCCTGACCG ATTCAGTGGCAGCGGGTCTGGGACA GATTTCACTCTCACCATCAACAGCC TACAGTCTGAAGATGTGGCAATTTA TACTGTTCAGCAATATTATTCTACC CCTCCGACGTTTCGGCCAGGGGACCA AGCTGGAGATCAAA

10

20

30

40

50

【表 6 - 3 6】

配列 番号	説明	配列
22 9	ヌクレオチド VL配列G4 —25	CAGTCTGCGCTGACTCAGCCTCGCT CAGTGTCCGGGTCTCCTGGACAGTC AGTCACCATCTCCTGCACTGGAACC AGCAGTGATGTTGGTGGTTATAACT ATGTCTCCTGGTACCAACAGCACCC AGGCAAAGCCCCCAAACATCATGATT TATGAGGTCAGTAATCGGCCCTCAG GGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACACGGCCTCCCTG ACCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCAGCTC GTATGGAAGCGGCAGCGTCTTCGGA ACTGGGACCAAGCTGACCGTCCTA
23 0	ヌクレオチド VL配列G4 —26	CAGTCTGGGCTGACTCAGCCTGCCT CCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAGTC GATCACCATCTCCTGCACTGGAACC AGCAGTGATGTTGGGAGTTATAACC TTGTCTCCTGGTACCAACAGCACCC AGGCAAAGCCCCCAAACATCATGATT TATGAGGTCAGTAAGCGGCCCTCAG GGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACACGGCCTCCCTG ACCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCAGCTC GTTTGGAAGCGGCAGCATCTTCGGA ACTGGGACCAAGCTGACCGTCCTA

10

20

30

40

50

【表 6 - 3 7】

配列 番号	説明	配列
23 1	ヌクレオチド VL配列G4 — 27	TCCTATGAGCTGACTCAGGACCCAG CTGTGTCTGTGGCCCTGGGACAGAC AGTCAGTATCACATGCCAAGGAGAC AGCCTCAGAAACTTTTATGCAAAC GGTACCAGCAAAAGCCAGGACAGGC CCCTGTACTTTGTCATCTATGGTAAA AACAAACCGGCCCTCAGGGATCCCAG ACCGATTCTCTGGCTCCAGCTCAGG AAACACAGCTTCCTTGACCATCACT GGGGCTCAGGCGGAAGATGAGGCTG ACTATTACTGTAACCTCCCGGGACAG CAGTGGTAACCATCTGGTATTCGGC GGAGGGACCCAGCTCACCGTCCTA
23 2	ヌクレオチド VL配列G4 — 28	TCCTATGAGCTGACTCAGGACCCCTG CTGTGTCTGTGGCCCTTGGGACAGAC AGTCACGATCACATGCCAAGGAGAC AGCCTCAGAAACTATTATGCAAGCT GGTACCAGGCAGAAAGCCAGGACAGAC CCCTGTACTTTGTCGTCTATGGTAAA AACAAACCGGCCCTCAGGGATCCCAG ACCGATTCTCTGTCTCCGCCTCAGG TAACACAGCTTCCTTGACCATCACT GGGGCTCAGGCGGAAGATGAGGGTG ACTATTACTGTAACCTCCCGGGACAG CAGTGGTGTGGTTTTTCGGCGGAGGG ACCAAGGTCACCGTCCTA

10

20

30

40

50

【表 6 - 3 8】

配列 番号	説明	配列
23 3	G4_1 Ig G1 抗体配列	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC QASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLI YDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQSYSTPVTF GPGTKVEIKRTAAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDY SLSSTLTLSKADYEKHKLYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEGEVQLLESGG GVVQPGRPLRLSCAASGFTFSSYSM NWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYIY YADSVKGRFTISRDNISKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAKGHWFYFDLWGRG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 6 - 3 9】

配列 番号	説明	配列
23 4	G4_2 Ig G1 抗体配列	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC QASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISGLQPEDFATYYCLELYNYLWTF GQGTKLEIKRTAAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTY SLSSTLTLSKADYEKHKLYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGECQMQLVQSGA EVKKPGATVKISCKVSGYPFTDYI HWVQQAPGKGLEWMGLVDPEDGQSR SAERFQGRVTITADTSTDTAYMELS SLRSEDTAVYYCATFPVAGFYGMDV WGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEHA LHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 6 - 4 0】

配列 番号	説明	配列
23 5	G4_3Ig G1抗体配列	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC QASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLI YDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYFCQQSYSTPQTF GQGTKVDIKRTAAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDY SLSSTLTLSKADYEKHKLYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEGEVQLVESGG GLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSM NWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYIY YADSVKGRFTISRDNISKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARGGWLYDYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAAALGCLVKDYFPEPTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSQSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 6 - 4 1】

配列 番号	説明	配列
23 6	G4_4Ig G1抗体配列	ASDIVMTQSPDSLAVSLGERATINC KSSQSVLSSSNNNYLAWYQQRPGQ PPKLLFYWASTRESGVPDRFSGSGS GTSFTLTITSLQAEDVAVYYCQQYY STPLTFGGGTKLEIKRTAAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSTLTLSKADYEKHKLY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECQVQ LVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT FSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISG SGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNT LYLQMSSLRVEDTAVYYCAKSSVGW WSFDYWGQGTMTVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 6 - 4 2】

配列 番号	説明	配列
23 7	G4_5Ig G1抗体配列	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTF GQGTKVEIKRTAAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDY SLSSTLTLSKADYEKHKLYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEGEVQLVQSGA EVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYGI SWVRQAPGQGLEWMGWIGAYNGNTN YAQKLQGRVTMSDSTSTAYMELR SPRSDDTAVYYCARGGTGGDHVFAY WGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEHA LHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 6 - 4 3】

配列 番号	説明	配列
23 8	G4_6Ig G1抗体配列	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQSI STYLNWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSPQPEDFATYYCQQSYSTPYTF GQGTKVEIKRTAAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDY SLSSTLTLSKADYEKHKLYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEGEVQLVESGG GLVQPGGPLRLSCAASGFTFSSYAM NWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTY YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAKADYGVVYFDY WGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 6 - 4 4】

配列 番号	説明	配列
23 9	G4_7Ig G1抗体配列	ASDIVMTQSPLSLPVTPEGEPASISC RSSQSLLHSNRFNYLDWYLQKPGQS PQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSG TDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGLQ TPYTFGQGKVDIKRTAAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYSLSSTLTLISKADYEKHKLYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGECEVQL VESGGGWVQSGGSLRPSCAASGFTF SHYWMSWVRQAPGKGLEWVANIKQD GSIYYADSVKGRFTISRDNAKNSV YLQMNSLRAEDTAVYYCARIGYSSS SFDYWGRGTLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 6 - 4 5】

配列番号	説明	配列
240	G4_10I gG1抗体配列	ASDIVMTQPPLSLPVTLGHPASISC KSSQSLEYSDGNTYLNWFQQRPGQS PRRLIYKVSNRDSGAPDRFSGSGSG TDFTLEISRVEAEDVGVYYCMQGTL WPPTFGQGTKVDIKRTAAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYSLSSTLTLISKADYEKHKLYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGECQVQL VESGGGVVQPGRPLRLSCAASGFTF SSYAMHWVRQAPGKGLEWVSAISGS GGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCAKDGAVDF WRNGMDVWGRGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 6 - 4 6】

配列 番号	説明	配列
24 1	G4_12I gG1抗体配 列	ASQSVLTQPASVSGSPGQSITISCT GTSSDVGGYNFVSWYQQHPGKAPKL MIYEVNTRPSGVPDRFSGSKSGNTA SLTISGLQAEDEADYYCSSHASPRV FGTGTKVTVLGQPAAAPSVTLFPPS SEELQANKATLVCLISDFYPGAVTV AWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNK YAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVT HEGSTVEKTVAPTECSEVQLLESGG GLVQPPGSLRLSCAASGFTVSSNYM SWVRQAPGKGLEWVSVIYSGGSTYY ADSVKGRFTISRHNKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCARVANGDFLDYWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 6 - 4 7】

配列 番号	説明	配列
24 2	G4_13I gG1抗体配 列	ASNFMLTQPHSVSESPGKTVTISCT RSSGSIASNYVQWYQQRPGSSPSTV IYEDNQRPSPGVDRFSGSIDSSNS ASLTISGLRTEDEADYYCQSYDSSI YVVFGGGKLTVLGQPAAAPSVTLF PPSSEELQANKATLVCLISDFYPGA VTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQS NNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSC QVTHEGSTVEKTVAPTECSQVQLVE SGAEVKKPGGSLRLSCAASGFTFSS YSMNWVRQAPGKGLEWVSSIISGTSS YIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYL QMSSLRAEDTAVYYCARGGLGMVDP WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 6 - 4 8】

配列 番号	説明	配列
24 3	G4_14I gG1抗体配 列	ASNFMILTQPHSVSESPGKTVTISCT RSRGSIAGNYVHWYQQRPGRAPTTV IYRDKERPSPGVPDRISGSIDSSNS ASLTISGLKTEDEADYYCQSYDSST HVVFGGGTKLTVLGQPAAAPSVTLF PPSSEELQANKATLVCLISDFYPGA VTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQS NNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSC QVTHEGSTVEKTVAPTECSEVQLVQ SGAEVKKPGESLRISCKGSGYSFTS YWISWVRQMPGKGLEWMGRIDPSDS YTNYSPSFPGHVTISADKSI STAYL QWSSLKASDTAMYCAADTAHGMDV WGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 6 - 4 9】

配列 番号	説明	配列
24 4	G4_15I gG1抗体配 列	ASQSALTQPASVSGSPGQSITISCT GTSSDVGGYNYVSWYQQHPPGKAPKL MIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTA SLTISGLQAEDEADYYCSSYGS SV FGTGTKLTVLGQPAAAPSVTLFPPS SEELQANKATLVCLISDFYPGAVTV AWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNK YAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVT HEGSTVEKTVAPTECSEVQLVQSEA EVKKPGASVKVSCKASGYTFTRHYM HWVRQAPGQGLEWMGLINPSGSSTV YAQKFQGRVTLTRDTSTSTDYME LS SLRSEDTAVYYCARDNSHLDQVWWF DPWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSQGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 6 - 5 0】

配列番号	説明	配列
245	G4_16 IgG1抗体配列	ASQSVLTQPPSASGSPGQSVTFSC T GTSSDIGAFNSVSWYQQHPGKAPKL LIYEITKRPSGVPDRFSGSKSGNTA SLTISVLQAEDEADYYCTSYAGSNT LIFGGGTKVTVLGQPAAPSVTLPF PSSEELQANKATLVCLISDFYPGAV TVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSN NKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQ VTHEGSTVEKTVAPTECSEVQLLES GAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY GISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGN TNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYME LRSLRSDDTAVYYCARDYGDFYGM D VWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSQGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHE ALHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 6 - 5 1】

配列 番号	説明	配列
24 6	G4_18I gG1抗体配 列	ASSYELTQPPSVTESPGQTARITCS GDALAKQYAYWYQQKPGQAPVLYY RDSERPSEIPERFSGSSSGTTVTLT ISGVQAEDEADYYCQSADSSGTYTV FGGGTKLTVLGQPAAAPSVTLFPPS SEELQANKATLVCLISDFYPGAVTV AWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNK YAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVT HEGSTVEKTVAPTECSEVQLVESGA EVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYM HWVRQAPGQGLEWMGRINPNSGGTN YAQKFQGRVTMTRDASISTAYMELS RLRSDDTAVYYCARDLDLSSLDYWG RGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALH NHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 6 - 5 2】

配列番号	説明	配列
247	G4_19 IgG1抗体配列	ASNFMILTQPHSVSESPGKTVTISCT RSSGSIASNYVQWYQQRPGSPITL IYDDDQRPSGVPHRFSGSIDTSSNP ASLTISGLKTEDEADYYCQSYDSSN HVVFGGGTKLTVLGQPAAAPSVTLF PPSSEELQANKATLVCLISDFYPGA VTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQS NNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSC QVTHEGSTVEKTVAPTECSEVQLVQ SGAEVKKPGASVKVSCKASGYTLTS YYMHWRQAPGQGLEWMGIINPSGG STSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYM ELSSLRSEDTAVYYCARERGYSGD GMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSRDELTKNQTSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 6 - 5 3】

配列 番号	説明	配列
24 8	G4_20I gG1抗体配 列	ASSYELTHPPSVSVSPGQTASITCS GDKLGDKFVSWYHQKPGQSPVLVIY QDSKRPSGIPERFSGSNSGNTATLT ISGTRAMDEADYYCQAWDSSTVVF GGTKLTVLGQPAAAPSVTLFPPSSE ELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAW KADSSPVKAGVETTTTPSKQSNNKYA ASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHE GSTVEKTVAPTECSQVQLVESGAEV KKPGASVKVSCKASGGTFSSYAI SWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANYA QKFQGRVTITVDKSTRRTAYMELSSL RSKDTAVYYCARGNSRSDAFDIWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 6 - 5 4】

配列 番号	説明	配列
24 9	G4_22I gG1抗体配 列	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC QASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSVSGSGTDFTL TISNLQPEDFATYYCQQSYSIPWTF GQGTKVEIKRTAAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTY SLSSTLTLSKADYEKHKLYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGECQVQLVESGG GLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAM SWVRQAPGKGLEWVSTVSGSGGTTY YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAK DSTAVTDWFD P WGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 6 - 5 5】

配列番号	説明	配列
250	G4_23 IgG1抗体配列	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQGISNSLAWYQQKPGKAPKLLL YAASRLESGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCQQYYSTPRTF GGGTKLEIKRTAAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDY SLSSTLTLSKADYEKHKLYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEGEVQLVESGG GVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGM HWVRQAPGKGLEWVAWIWDGSKNY YADSVKGRFTISRDNISKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARGEVAALYYFDY WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEHA LHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 6 - 5 6】

配列番号	説明	配列
251	G4_24I gG1抗体配列	ASDIVMTQSPDSLAVSLGERATINC KSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQ PPKLLISWASTRESGVPDRFSGSGS GTDFTLTINSLSQSEDAIYYCQQYY STPPTFGQGKLEIKRTAAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNMFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKLY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECQVQ LQQSGPGLVKPSQTLSTLCAISGAS VSSNSVAWNWIRQSPSRGLEWLGRT YRYSRWYNDYALSVKSRIIINPDT KNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARDW SSTRSFDYWGRGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPV LDSLDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 6 - 5 7】

配列 番号	説明	配列
25 2	G4_25I gG1抗体配 列	ASQSALTQPRSVSGSPGQSVTISCT GTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKL MIYEVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTA SLTISGLQAEDEADYYCSSYGSV FGTGKLTVLGQPAAAPSVTLFPPS SEELQANKATLVCLISDFYPGAVTV AWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNK YAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVT HEGSTVEKTVAPTECSEVQLVESGA EVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAI SWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTAN YAQKFQGRVTITADKSTSTAYMELS SLRSED TAVYYCARSLRDGYNYIGS LGYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP CPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 6 - 5 8】

配列番号	説明	配列
253	G4_26 IgG1抗体配列	ASQSGLTQPASVSGSPGQSITISCT GTSSDVGSYNLVSWYQQHPPGKAPKL MIYEVSKRPSGVSNRFSGSKSGNTA SLTISGLQAEDEADYYCSSFGSGSI FGTGTKLTVLGQPAAAPSVTLFPPS SEELQANKATLVCLISDFYPGAVTV AWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNK YAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVT HEGSTVEKTVAPTECSQVQLVQSGA EVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAI SWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTAN YAQKFQGRVTITADESTSTAYMELS SLRSEDTAVYYCASSRGSGWFPLGY WGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 6 - 5 9】

配列番号	説明	配列
254	G4_27I gG1抗体配列	ASSYELTQDPAVSVALGQTVSITCQ GDSLRFNFYANWYQQKPGQAPVLIY GKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLT ITGAQAEDYCYCNSRDSSGNHLV FGGGTQLTVLGQPAAAPSVTLFPPS SEELQANKATLVCLISDFYPGAVTV AWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNK YAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVT HEGSTVEKTVAPTECSQVQLVQSGA EVKKPGESLKISCKSSGYSFTSYWI GWVRQMPGKGLEWMIIPGDS DTR YSPSFQGGQVTFSADESISTAYLQWS SLKASDTAMYICARHGAYGDYPTDF DIWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 6 - 6 0】

配列番号	説明	配列
255	G4_28I gG1抗体配列	ASSYEELTQDPAVSVALGQTVTITCQ GDSLRLNYYASWYRQKPGQTPVLLVY GKNNRPSGIPDRFSVSASGNTASLT ITGAQAEDEGDYCNSRDS SGVVF GGTKVTVLGQPAAAPSVTLFPSSSE ELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAW KADSSPVKAGVETTTTPSKQSNNKYA ASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHE GSTVEKTVAPTECSQVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGFTTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISAGGGSTNYA GSVKGRFTVSRDTSKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCVKSYVDTAMRYYYYY MDVWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSLVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
256	TRGV4 (4MNH) TRAC抗原 配列	SSNLEGRTKSVIRQTGSSAEITCDL AEGSTGYIHWYHLEGKAPQRLLYY DSYTSSVLESGISPGKYDTYGSTR KNLRMILRNLIENDSGVYYCATWDE KYKKLFGSGTTLVVTEDLKNVFP EVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLAT GFYPDHVELSWVNGKEVHSGVSTD PQPLKEQPALNDSRYALSSRLRVSA TFWQNPRNHFRQCQVQFYGLSENDEW TQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCTTA PSAQLEKELQALEKENAQL

10

20

30

40

50

【表 6 - 6 1】

配列番号	説明	配列
257	V γ 4-(4MNH)GV4TRBCロイシンジッパーヘテロ二量体抗原配列	SSNLEGRTKSVIRQTGSSAEITCDL AEGSTGYIHWYLNHGEKAPQRLLYY DSYTSVVLESGISPGKYDTYGSTR KNLRMILRNLIENDSGVYYCATWDE KYYKKLFGSGTTLVVTEDLKNVFP EVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLAT GFYPDHVELSWWVNGKEVHSGVSTD PQPLKEQPALNDSRYALSSRLRVSA TFWQNPRNHFRCCVQFYGLSENDEW TQDRAKPVTTQIVSAEAWGRADCTTA PSAQLEKELQALEKENAQLEWELQALEKELAQ
258	V γ 4-TRGV4(4MNH)Fcヘテロ二量体抗原配列	SSNLEGRTKSVIRQTGSSAEITCDL AEGSTGYIHWYLNHGEKAPQRLLYY DSYTSVVLESGISPGKYDTYGSTR KNLRMILRNLIENDSGVYYCATWDE KYYKKLFGSGTTLVVTEDAADKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVSHEALHSHHTQKSLSLSPGK
259	V γ 2-(4MNH)GV2TRBCロイシンジッパーヘテロ二量体抗原配列	SSNLEGRTKSVIRQTGSSAEITCDL AEGSNGYIHWYLNHGEKAPQRLLQYY DSYNSKVVLESGVSPGKYTYASTR NNLRLILRNLIENDSGVYYCATWDE KYYKKLFGSGTTLVVTEDLKNVFP EVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLAT GFYPDHVELSWWVNGKEVHSGVSTD PQPLKEQPALNDSRYALSSRLRVSA TFWQNPRNHFRCCVQFYGLSENDEW TQDRAKPVTTQIVSAEAWGRADCTTA PSAQLEKELQALEKENAQLEWELQALEKELAQ

10

20

30

40

50

【表 6 - 6 2】

配列番号	説明	配列
260	V γ 2-TRGV2(4MNH)Fcヘテロ二量体抗原配列	SSNLEGRTKSVIRQTGSSAEITCDL AEGSNGYIHWYLNHGEKAPQRLQYY DSYNSKVVLESVSPGKYTYASTR NNLRLILRNLIENDSGVYYCATWDE KYYKKLFGSGTTLVVTEDAAADKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPKPKD TLMISRTPVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTIKAKGQPREPQVY TLPSPRDELTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVSHEALHSHHTQKSLSLSPGK
261	TRGV4完全軽可変配列G4_1-N末端ASなし	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQA SQDISNYLNWYQQKPKGAPKLLIYD ASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQSYSTPVTFGP GTKVEIK
262	TRGV4完全軽可変配列G4_2-N末端ASなし	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQA SQDISNYLNWYQQKPKGAPKLLIYA ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SGLQPEDFATYYCLELDYNLWTFGQ GTKLEIK
263	TRGV4完全軽可変配列G4_3-N末端ASなし	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQA SQDISNYLNWYQQKPKGAPKLLIYD ASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYFCQQSYSTPQTFGQ GTKVDIK
264	TRGV4完全軽可変配列G4_4-N末端ASなし	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKS SQSVLSSSNNNNYLAWYQQRPGQPP KLLFYWASTRESGVPDRFSGSGSGT SFTLTIITSLQAEDVAVYYCQQYYST PLTFGGGTKLEIK
265	TRGV4完全軽可変配列G4_5-N末端ASなし	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRA SQSISSYLNWYQQKPKGAPKLLIYA ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQ GTKVEIK

10

20

30

40

50

【表 6 - 6 3】

配列番号	説明	配列
266	TRGV4完全軽可変配列 G4_6-N 末端ASなし	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRA S Q S I S T Y L N W Y Q Q K P G K A P K L L I Y A A S S L Q S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S P Q P E D F A T Y Y C Q Q S Y S T P Y T F G Q G T K V E I K
267	TRGV4完全軽可変配列 G4_7-N 末端ASなし	DIVMTQSPLSLPVTTPGEPASISCRS S Q S L L H S N R F N Y L D W Y L Q K P G Q S P Q L L I Y L G S N R A S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I S R V E A E D V G V Y Y C M Q G L Q T P Y T F G Q G T K V D I K
268	TRGV4完全軽可変配列 G4_10-N 末端ASなし	DIVMTQPPLSLPVTTLGHPASISCKS S Q S L E Y S D G N T Y L N W F Q Q R P G Q S P R R L I Y K V S N R D S G A P D R F S G S G S G T D F T L E I S R V E A E D V G V Y Y C M Q G T L W P P T F G Q G T K V D I K
269	TRGV4完全軽可変配列 G4_12-N 末端ASなし	QSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGT S S D V G G Y N F V S W Y Q Q H P G K A P K L M I Y E V T N R P S G V P D R F S G S K S G N T A S L T I S G L Q A E D E A D Y Y C S S H A S P R V F G T G T K V T V L
270	TRGV4完全軽可変配列 G4_13-N 末端ASなし	NFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTRS S G S I A S N Y V Q W Y Q Q R P G S S P S T V I Y E D N Q R P S G V P D R F S G S I D S S S N S A S L T I S G L R T E D E A D Y Y C Q S Y D S S I Y V V F G G G T K L T V L
271	TRGV4完全軽可変配列 G4_14-N 末端ASなし	NFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTRS R G S I A G N Y V H W Y Q Q R P G R A P T T V I Y R D K E R P S G V P D R I S G S I D S S S N S A S L T I S G L K T E D E A D Y Y C Q S Y D S S T H V V F G G G T K L T V L
272	TRGV4完全軽可変配列 G4_15-N 末端ASなし	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGT S S D V G G Y N Y V S W Y Q Q H P G K A P K L M I Y D V S N R P S G V S N R F S G S K S G N T A S L T I S G L Q A E D E A D Y Y C S S Y G S G S V F G T G T K L T V L
273	TRGV4完全軽可変配列 G4_16-N 末端ASなし	QSVLTQPPSASGSPGQSVTFSCGT S S D I G A F N S V S W Y Q Q H P G K A P K L L I Y E I T K R P S G V P D R F S G S K S G N T A S L T I S V L Q A E D E A D Y Y C T S Y A G S N T L I F G G G T K V T V L

10

20

30

40

50

【表 6 - 6 4】

配列番号	説明	配列
274	TRGV4完全軽可変配列 G4_18-N末端ASなし	SYELTQPPSVTESPGQTARITCSGD ALAKQYAYWYQQKPGQAPVLVIYRD SERPSEIPERFSGSSSGTTVTLTIS GVQAEDEADYYCQSADSSGTYTVFG GGTKLTVL
275	TRGV4完全軽可変配列 G4_19-N末端ASなし	NFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTRS SGSIASNYVQWYQQRPGSPPLITLIY DDDQRPSGVPHRFSGSIDTSSNPAS LTISGLKTEDEADYYCQSYDSSNHV VFGGGTKLTVL
276	TRGV4完全軽可変配列 G4_20-N末端ASなし	SYELTHPPSVSVSPGQTASITCSGD KLGDKFVSWYHQKPGQSPVLVIYQD SKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTIS GTRAMDEADYYCQAWDSSTVVFSGG TKLTVL
277	TRGV4完全軽可変配列 G4_22-N末端ASなし	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQA SQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYA ASSLQSGVPSRFSVSGSGTDFTLTI SNLQPEDFATYYCQQSYSIPWTFGQ GTKVEIK
278	TRGV4完全軽可変配列 G4_23-N末端ASなし	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRA SQGISNSLAWYQQKPGKAPKLLIYA ASRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTI SSLQPEDFATYYCQQYYSTPRTFGG GTKLEIK
279	TRGV4完全軽可変配列 G4_24-N末端ASなし	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKS SQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPP KLLISWASTRESGVPDRFSGSGSGT DFTLTINSLQSEDVAIYYCQQYYST PPTFGQGGTKLEIK
280	TRGV4完全軽可変配列 G4_25-N末端ASなし	QSALTQPRSVSGSPGQSVTISCTGT SSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLM YEVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASL TISGLQAEDADYYCSSYGSVFG TGTKLTVL
281	TRGV4完全軽可変配列 G4_26-N末端ASなし	QSGLTQPASVSGSPGQSITISCTGT SSDVGSYNLVSWSYQQHPGKAPKLM YEVSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASL TISGLQAEDADYYCSSFSGSIFG TGTKLTVL

10

20

30

40

50

【表 6 - 6 5】

配列番号	説明	配列
282	TRGV4完全軽可変配列 G4_27-N末端ASなし	SYELTQDPAVSVVALGQTVSITCQGD SLRNFYANWYQQKPGQAPVLLVIYGK NNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTIT GAQAEDDEADYYCNSRDSSGNHLVFG GGTQLTVL
283	TRGV4完全軽可変配列 G4_28-N末端ASなし	SYELTQDPAVSVVALGQTVTITCQGD SLRNYASWYRQKPGQTPVLLVYVGK NNRPSGIPDRFSVSASGNTASLTIT GAQAEDDEGDYYCNSRDSSGVVFGGG TKVTVL
284	G4_1IgG1抗体重鎖配列	EVQLLESGGGVVQPGRPLRLSCAAS GFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSS ISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGH WYFDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 6 - 6 6】

配列番号	説明	配列
285	G4_2 Ig G1抗体重鎖 配列	QMQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVS GYPFTDYYIHVVQQAPGKGLEWMGL VDPEDGQSRSAERFQGRVTITADTS TDTAYMELSSLRSED TAVYYCATFP VAGFYGMDVWGQGTLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
286	G4_3 Ig G1抗体重鎖 配列	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSS ISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGG WLYDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 6 - 6 7】

配列番号	説明	配列
287	G4_4 Ig G1抗体重鎖 配列	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSA ISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMS SLRVEDTAVYYCAKSS VGWWSFDYWGQGTMVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTP EVT CVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LSDGSAFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
288	G4_5 Ig G1抗体重鎖 配列	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAS GYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGW IGAYNGNTNYAQKLQGRVTMSTDT TSTAYMELRSPRSDDTAVYYCARGG TGGDHVFAYWGQGT T VTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK THTCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPK KDTLMISRTP EVT CVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LSDGSAFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 6 - 6 8】

配列番号	説明	配列
289	G 4_6 I g G 1 抗体重鎖 配列	EVQLVESGGGLVQPGGPLRLSCAAS GFTFSSYAMNWVRQAPGKGLEWVSA ISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKAD YGVVYYFDYWGQGMVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPV LDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
290	G 4_7 I g G 1 抗体重鎖 配列	EVQLVESGGGWVQSGGSLRPSCAAS GFTFSHYWMSWVRQAPGKGLEWVAN IKQDGSIIYYADSVKGRFTISRDNA KNSVYLQMNSLRAEDTAVYYCARIG YSSSSFDYWGRGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL DSDGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 6 - 6 9】

配列番号	説明	配列
29 1	G4_10I gG1抗体重鎖配列	QVQLVESGGGVVQPGRPLRLSCAAS GFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVSA ISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDG AVDFWRNGMDVWGRGTLVTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPETCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
29 2	G4_12I gG1抗体重鎖配列	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCAAS GFTVSSNYMSWVRQAPGKGLEWVSV IYSGGSTYYADSVKGRFTISRHN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVAN GDFLDYWGRGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHT TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPETCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTT PVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 6 - 7 0】

配列番号	説明	配列
293	G4_13I gG1抗体重鎖配列	QVQLVESGAEVKKKPGGSLRLSCAAS GFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSS ISGTSSYIYYADSVKGRFTISRDN KNSLYLQMSLRAEDTAVYYCARGG LGMVDPWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
294	G4_14I gG1抗体重鎖配列	EVQLVQSGAEVKKKPGESLRISCKGS GYSFTSYWISWVRQMPGKGLEWMGR IDPSDSYTNYSFSPFGHVTISADKS ISTAYLQWSLKA SDTAMYCAADT AHGMDVWGRGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 6 - 7 1】

配列番号	説明	配列
295	G4_15I gG1抗体重鎖配列	EVQLVQSEAEVKKPGASVKVSCKAS GYTFTRHYMHWRQAPGGGLEWMGL INPSGSSTVYAQKFQGRVTLTRDTS TSTDYMELESSLRSEDVAVYYCARDN SHLDQVWVWFDPWGQGLVTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP PVLDSDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
296	G4_16I gG1抗体重鎖配列	EVQLLESGAEVKKPGASVKVSCKAS GYTFTSYGISWVRQAPGGGLEWMGW ISAYNGNTNYAQLQGRVTMTTDTTS TSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDY GDFYGMVWVWVWVWVWVWVWVWVWV SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 6 - 7 2】

配列番号	説明	配列
297	G4_18I gG1抗体重鎖配列	EVQLVESGAEVKKPGASVKV SCKAS GYTFTGYMHWRQAPGQGLEWMGR INPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDAS ISTAYMELSLRSDDTAVYYCARDL DLSSLDYWGRGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
298	G4_19I gG1抗体重鎖配列	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKAS GYTLTSYYMHWRQAPGQGLEWMI INPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTS TSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARER GYSYGDGMDVWGQGT TTVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVS NKALPAPIEKTI SKAKGQPREP QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG K

10

20

30

40

50

【表 6 - 7 3】

配列番号	説明	配列
299	G4_20I gG1抗体重鎖配列	QVQLVESGAEVKKPGASVKVSCKAS GGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGG IIPIFGTANYAQKFQGRVTITVDKS TRTAYMELSSLRSKDTAVYYCARGN SRSDAFDIWGQGTMVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LSDGSAFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
300	G4_22I gG1抗体重鎖配列	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSTYAMSWVRQAPGKGLEWVST VSGSGGTTYADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDS TAVTDWFDPWGRGTLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK THTCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPK KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LSDGSAFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 6 - 7 4】

配列番号	説明	配列
30 1	G4_23I gG1抗体重鎖配列	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS GFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAV IWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGE VAALYYFDYWGQGTLVTVSSASTKG PSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQ VYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
30 2	G4_24I gG1抗体重鎖配列	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTLCAIS GASVSSNSVAWNWIRQSPSRGLEWL GRTYR SRWYNDYALSVKSRIINP DTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCA RDWSSSTRSFDYWGRGTLVTVSSAST KGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPRE PQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK

10

20

30

40

50

【表 6 - 7 5】

配列番号	説明	配列
303	G4_25I gG1抗体重鎖配列	EVQLVESGAEVKKPGSSVKV SCKAS GGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGG IIPIFGTANYAQKFQGRVTITADKS TSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSL RDGYNYIGSLGYWGQGTLVTVSSAS TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHT FPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHTCPAPPELLGGPSVFLFPP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
304	G4_26I gG1抗体重鎖配列	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKAS GGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGG IIPIFGTANYAQKFQGRVTITADES TSTAYMELSSLRSEDTAVYYCASSR GSGWFPLGYWGQGTLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPA VLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK THTCPAPPELLGGPSVFLFPPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 6 - 7 6】

配列番号	説明	配列
305	G4_27 IgG1抗体重鎖配列	QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKSS GYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGI IYPGDSDTRYSPSFQQGVTFSADES ISTAYLQWSSLKASDTAMYCARHG AYGDYPDTFDIWGQGTLVTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
306	G4_28 IgG1抗体重鎖配列	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSG ISAGGGSTNYAGSVKGRFTVSRDTS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVKSY VDTAMRYYYYMDVWGQGTMTVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK

10

20

30

40

50

【表 6 - 7 7】

配列番号	説明	配列
307	G4_1 Ig G1抗体軽鎖配列	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRTITC QASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLI YDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQSYSTPVTF GPGTKVEIKRTAAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY SLSSTLTLSKADYEKHKLYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
308	G4_2 Ig G1抗体軽鎖配列	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRTITC QASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISGLQPEDFATYYCLELYNYLWTF GQGTKLEIKRTAAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY SLSSTLTLSKADYEKHKLYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
309	G4_3 Ig G1抗体軽鎖配列	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRTITC QASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLI YDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYFCQQSYSTPQTF GQGTKVDIKRTAAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY SLSSTLTLSKADYEKHKLYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
310	G4_4 Ig G1抗体軽鎖配列	ASDIVMTQSPDSLAVSLGERATINC KSSQSVLSSSNNNNYLAWYQQRPGQ PPKLLFYWASTRESGVPDRFSGSGS GTSFTLTITSLQAEDVAVYYCQQYY STPLTFGGGTKLEIKRTAAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKLY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

10

20

30

40

50

【表 6 - 7 8】

配列番号	説明	配列
31 1	G4_5 Ig G1抗体軽鎖 配列	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRTITC RASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTF GQGTKVEIKRTAAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY SLSSTLTLSKADYEKHKLYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
31 2	G4_6 Ig G1抗体軽鎖 配列	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRTITC RASQSI STYLNWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSPQPEDFATYYCQQSYSTPYTF GQGTKVEIKRTAAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY SLSSTLTLSKADYEKHKLYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
31 3	G4_7 Ig G1抗体軽鎖 配列	ASDIVMTQSPPLSLPVTTPGEPASISC RSSQSLLHSNRFNYLDWYLQKPGQS PQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSG TDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGLQ TPYTFGQGTKVDIKRTAAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKLYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
31 4	G4_10 Ig G1抗体軽鎖 配列	ASDIVMTQPPLSLPVTTLGHPASISC KSSQSLEYSDGNTYLNWFQQRPGQS PRRLIYKVSNRDSGAPDRFSGSGSG TDFTLEISRVEAEDVGVYYCMQGTL WPPTFGQGTKVDIKRTAAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKLYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

10

20

30

40

50

【表 6 - 7 9】

配列番号	説明	配列
315	G4_12I gG1抗体軽鎖配列	ASQSVLTQPASVSGSPGQSITISCT GTSSDVGGYNFVSWYQQHPGKAPKL MIYEVNRPSPGVPDRFSGSKSGNTA SLTISGLQAEDEADYYCSSHASPRV FGTGTKVTVLGQPAAAPSVTLFPPS SEELQANKATLVCLISDFYPGA AVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQS NNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVT HEGSTVEKTVAPTECS
316	G4_13I gG1抗体軽鎖配列	ASNFMLTQPHSVSESPGKTVTISCT RSSGSIASNYVQWYQQRPGSSPSTV IYEDNQRPSGVPDRFSGSIDSSNS ASLTISGLRTEDEADYYCQSYDSSI YVVFGGGKLTVLGQPAAAPSVTLF PPSSEELQANKATLVCLISDFYPGA AVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQS NNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSC QVTHEGSTVEKTVAPTECS
317	G4_14I gG1抗体軽鎖配列	ASNFMLTQPHSVSESPGKTVTISCT RSRGS IAGNYVHWYQQRPGRAPTTV IYRDKERPSPGVPDRISGSISSNS ASLTISGLKTEDEADYYCQSYDSS HVVFGGGKLTVLGQPAAAPSVTLF PPSSEELQANKATLVCLISDFYPGA AVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQS NNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSC QVTHEGSTVEKTVAPTECS
318	G4_15I gG1抗体軽鎖配列	ASQSALTQPASVSGSPGQSITISCT GTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKL MIYDVSNRPSPGVSNRFSGSKSGNTA SLTISGLQAEDEADYYCSSYGGSGSV FGTGTKLTVLGQPAAAPSVTLFPPS SEELQANKATLVCLISDFYPGA AVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQS NNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVT HEGSTVEKTVAPTECS

10

20

30

40

50

【表 6 - 8 0】

配列番号	説明	配列
319	G4_16I gG1抗体軽鎖配列	ASQSVLTQPPSASGSPGQSVTFSC T GTSSDIGAFNSVSWYQQHPGKAPKL LIYEITKRPSGVPDRFSGSKSGNTA SLTISVLQAEDEADYYCTSYAGSNT LIFGGGTKVTVLGQPAAAPSVTLFP PSSEELQANKATLVCLISDFYPGAV TVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSN NKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQ VTHEGSTVEKTVAPTECS
320	G4_18I gG1抗体軽鎖配列	ASSYELTQPPSVTESPGQTARITCS GDALAKQYAYWYQQKPGQAPVLVIY RDSERPSEIPERFSGSSSGTTVTLT ISGVQAEDEADYYCQSADSSGTYTV FGGGTKLTVLGQPAAAPSVTLFPPS SEELQANKATLVCLISDFYPGAVTV AWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNK YAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVT HEGSTVEKTVAPTECS
321	G4_19I gG1抗体軽鎖配列	ASNFMLTQPHSVSESPGKTVTISCT RSSGSIASNYVQWYQQRPGSPITL IYDDDQRPSGVPHRFSGSIDTSSNP ASLTISGLKTEDEADYYCQSYDSSN HVVFGGGTKLTVLGQPAAAPSVTLF PPSSEELQANKATLVCLISDFYPGA VTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQS NNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSC QVTHEGSTVEKTVAPTECS
322	G4_20I gG1抗体軽鎖配列	ASSYELTHPPSVSVSPGQTASITCS GDKLGDKFVSWYHQKPGQSPVLVIY QDSKRPSGIPERFSGSNSGNTATLT ISGTRAMDEADYYCQAWDSSTVVF GGTKLTVLGQPAAAPSVTLFPPSSE ELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAW KADSSPVKAGVETTTPSKQSNKYA ASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHE GSTVEKTVAPTECS

10

20

30

40

50

【表 6 - 8 1】

配列番号	説明	配列
323	G4_22I gG1抗体軽鎖配列	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRTITC QASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSVSGSGTDFTL TISNLQPEDFATYYCQQSYSIPWTF GQGTKVEIKRTAAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDY SLSSTLTLSKADYEKHKLYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
324	G4_23I gG1抗体軽鎖配列	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRTITC RASQGISNSLAWYQQKPGKAPKLLL YAASRLESGVPSRFSVSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQYYSTPRTF GGGTKLEIKRTAAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDY SLSSTLTLSKADYEKHKLYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
325	G4_24I gG1抗体軽鎖配列	ASDIVMTQSPDSLAVSLGERATINC KSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQ PPKLLISWASTRESGVPDRFSGSGS GTDFTLTINSLQSEDVAIYYCQQYY STPPTFGQGTKLEIKRTAAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKLY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
326	G4_25I gG1抗体軽鎖配列	ASQSALTQPRSVSGSPGQSVTISCT GTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKL MIYEVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTA SLTISGLQAEDEADYYCSSYSGSV FGTGTKLTVLGQPAAAPSVTLFPPS SEELQANKATLVCLISDFYPGAVTV AWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNK YAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVT HEGSTVEKTVAPTECS

10

20

30

40

50

【表 6 - 8 2】

配列番号	説明	配列
327	G4_26I gG1抗体軽鎖配列	ASQSGLTQPASVSGSPGQSITISCT GTSSDVGSYNLVSWYQQHPGKAPKL MIYEVSKRPSGVSNRFSGSKSGNTA SLTISGLQAEDEADYYCSSFGSGSI FGTGTKLTVLGQPAAAPSVTLFPPS SEELQANKATLVCLISDFYPGAVTV AWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVT HEGSTVEKTVAPTECS
328	G4_27I gG1抗体軽鎖配列	ASSYELTQDPAVSVVALGQTVSITCQ GDSLRFNYANWYQQKPGQAPVLVIY GKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLT ITGAQAEDEADYYCNSRDSSGNHLV FGGGTQLTVLGQPAAAPSVTLFPPS SEELQANKATLVCLISDFYPGAVTV AWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVT HEGSTVEKTVAPTECS
329	G4_28I gG1抗体軽鎖配列	ASSYELTQDPAVSVVALGQTVTITCQ GDSLRYNYASWYRQKPGQTPVLVVY GKNNRPSGIPDRFSVSASGNTASLT ITGAQAEDEGDYYCNSRDSSGVVFG GGTKVTVLGQPAAAPSVTLFPPSSE ELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAW KADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYA ASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHE GSTVEKTVAPTECS
330	ヒトカッパ軽定常配列 (好ましいアロタイプ)	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLS KADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC
331	ヒトラムダ軽定常配列 (IGLC2)	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKAT LVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVK AGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLT PEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTV APTECS

10

20

30

40

50

【表 6 - 8 3】

配列番号	説明	配列
332	ヒトIgG1 定常ドメイン	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLS LSPGK
333	LAGA置換 を伴うヒトI gG1定常ド メイン	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPELAGAPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLS LSPGK
334	ヒトTRGV 4	SSNLEGRTKSVIRQTGSSAEITCDL AEGSTGYIHWYLVHLEGKAPQRLLYY DSYTSSVVLESGISPGKYDTYGSTR KNLRMILRNLIENDSGVYYCATWD
335	ヒトTRGV 2	SSNLEGRTKSVIRQTGSSAEITCDL AEGSNGYIHWYLVHLEGKAPQRLQYY DSYNSKVVLESGVSPGKYTYASTR NNLRLILRNLIENDSGVYYCATWD
336	ヒトTRGV 8	SSNLEGRTKSVTRPTGSSAVITCDL PVENAVYTHWYLVHLEGKAPQRLLYY DSYNSRVVLESGISREKYHTYASTG KSLKFIENLIERDSGVYYCATWD

10

20

30

40

50

【表 6 - 8 4】

配列番号	説明	配列
337	ヒトTRDV1	A Q K V T Q A Q S S V S M P V R K A V T L N C L Y E T S W W S Y Y I F W Y K Q L P S K E M I F L I R Q G S D E Q N A K S G R Y S V N F K K A A K S V A L T I S A L Q L E D S A K Y F C A L G E
338	ヒトTRDV2	A I E L V P E H Q T V P V S I G V P A T L R C S M K G E A I G N Y Y I N W Y R K T Q G N T I T F I Y R E K D I Y G P G F K D N F Q G D I D I A K N L A V L K I L A P S E R D E G S Y Y C A C D T

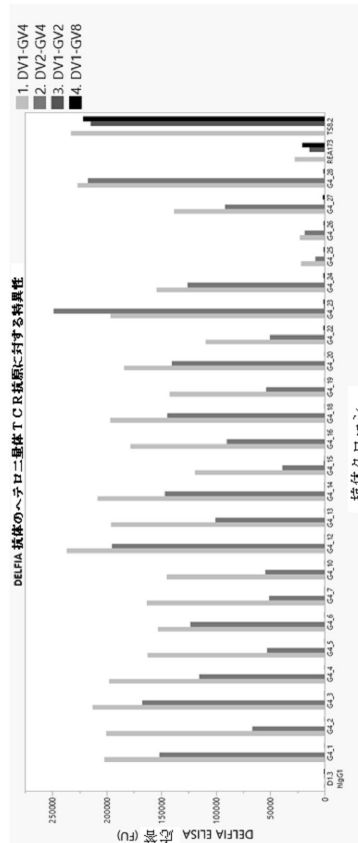
10

【図面】

【図 1】

クローンID	別名	重鎖 CDR1	配列番号	重鎖 CDR2	SEQ ID NO.	重鎖 CDR3	配列番号	軽鎖 CDR1	配列番号	軽鎖 CDR2	配列番号	軽鎖 CDR3	配列番号
1338.P01.F06	64.1	GFSSYS	71	SSSSSVI	48	CHWFDEL	2	QSSNY	84	DAS	A1	QDYSIPT	26
1339.P01.B03	64.2	GYFTDY	72	NPFDCGS	48	FMAFYGMDY	3	QSSNY	85	AAS	A2	LEWNYLVT	26
1339.P01.A04	64.3	GFSSYS	73	SSSSSVI	50	QWVVDY	4	QSSNY	86	DAS	A3	QDYSIPT	27
1347.P01.E02	64.4	GFSSVA	74	SSSGGSI	51	SSVQWASEDY	5	QSSNY	87	WAS	A4	QDYSIPT	28
1347.P02.A01	64.5	GYFTSY	75	GAAGNT	52	GOTGQARAY	6	QSSNY	88	AAS	A5	QDYSIPT	29
1347.P02.A03	64.6	GFSSVA	76	SSSGGSI	53	AYQVAYYDY	7	QSSNY	89	AAS	A6	QDYSIPT	30
1347.P02.A04	64.7	GFSSHW	77	KCDOSI	54	KYSSSEY	8	QELLSNRY	100	LGS	A7	MOGLVPT	31
1253.P02.B04	64.10	GFSSVA	78	SSSGGSI	55	DAAGDFVWGMAY	9	QELLSNRY	101	KVS	A8	MOGLVPT	32
1160.P01.C08	64.12	GFVSSY	79	YSGGSI	56	VANGDFLDY	10	SSVQWNY	102	EVT	A9	SSVQWNY	33
1246.P01.B01	64.13	GFSSYS	80	STSTSVI	57	GSLGAWP	11	SSVQWNY	103	EDN	A10	QDYSIPT	34
1246.P01.C01	64.14	GYFTSY	81	DPFCSST	58	DTAGMDY	12	SSVQWNY	104	REK	A11	QDYSIPT	35
1246.P02.D06	64.15	GYFTSY	82	NPFCSST	59	DNSHLDVWTFP	13	SSVQWNY	105	DVS	A12	SSVQWNY	35
1246.P02.D10	64.16	GYFTSY	83	SNAGNT	60	DYGFYGMAY	14	SSVQWNY	106	EIT	A13	SSVQWNY	37
1254.P01.B04	64.18	GYFTSY	84	NAGNT	61	DLDSLDY	15	ALAGY	107	ROS	A14	QASGSGTVV	38
1254.P01.C06	64.19	GYFTSY	85	NPFCSST	62	ERQSYGDMAY	16	SSVQWNY	108	DDO	A15	QDYSIPT	39
1254.P02.C02	64.20	GYFTSY	86	PPFGA	63	GNRSMDI	17	KLQWF	109	QDS	A16	QDYSIPT	40
1247.P02.B10	64.22	GFSTYA	87	VSSGGIT	64	DSFATWTFP	18	QSSNY	110	AAS	A17	QDYSIPT	41
1253.P03.A05	64.23	GFSSYS	88	WYDSNK	65	GEWALYFDY	19	QSSNY	111	AAS	A18	QDYSIPT	42
1247.P01.B04	64.24	GAVSSVA	89	TYRSRWV	66	DNVYSSNY	20	QVLYSSNY	112	WAS	A19	QDYSIPT	43
1246.P02.E05	64.25	GFSSVA	90	PPFGA	67	SLRDVWVLSLOY	21	SSVQWNY	113	ENS	A20	SSVQWNY	44
1246.P02.C01	64.26	GFSSVA	91	PPFGA	68	SRGAWFLGY	22	SSVQWNY	114	ENS	A21	SSVQWNY	45
1246.P02.C10	64.27	GYFTSY	92	YFQSDT	69	HVAGVDFYFDI	23	SLRNY	115	GRN	A22	NSRQSSVAV	46
1246.P02.F12	64.28	GFTEVVA	93	SAAGGSI	70	SYVDIAIRYVMDY	24	SLRNY	116	GRN	A23	NSRQSSVAV	47

【図 2 A】



20

30

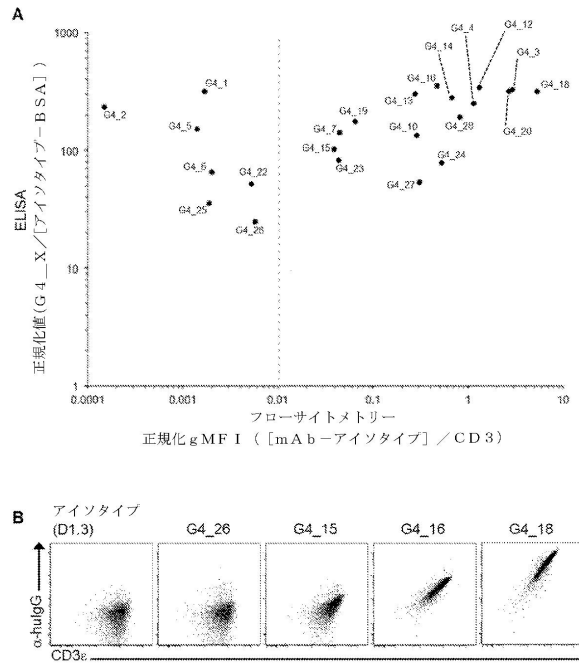
40

50

【 図 2 B 】

別名	クローンID		抗原					DVI-GV4はDVI-GV2よりも特異性が低い(ハットクランプ後の比率改善)	DVI-GV4はDVI-GV2よりも特異性が低い(ハットクランプ後の比率改善)
	85A	U [DVI-GV4]	L2 [DVI-GV2]	U [DVI-GV0]	L4 [DVI-GV1]	U [DVI-GV0]			
G4_1	1138_001_056	78	203446	100	24	151594	502	502167	
G4_2	1139_001_003	56	200571	66	270	66611	5114	911386	
G4_3	1139_001_004	58	211198	216	239	197889	1402	140202	
G4_4	1247_001_001	121	197277	90	190	110297	7607	760715	
G4_5	1247_001_001	86	102551	91	173	30527	5602	560248	
G4_6	1247_001_003	122	151210	112	258	121562	1150	115098	
G4_7	1247_001_004	94	101128	108	138	21127	1370	136977	
G4_8	1120_001_008	57	181242	122	114	101128	1151	115109	
G4_9	1120_001_008	80	124242	122	125	101128	1151	115109	
G4_10	1248_001_001	78	186232	64	278	100245	651	63110	
G4_11	1248_001_001	135	200424	159	228	146754	1544	154458	
G4_12	1248_001_001	63	115133	644	156	38839	151	15262	
G4_13	1248_001_006	69	178442	84	118	89321	8818	881725	
G4_14	1254_001_004	67	196664	66	185	144713	93327	9338650	
G4_15	1254_001_006	55	142432	73	192	54072	18116	181167	
G4_16	1254_001_002	132	184142	147	239	140291	2218	221778	
G4_17	1254_001_002	132	184142	147	239	140291	2218	221778	
G4_18	1254_001_002	132	184142	147	239	140291	2218	221778	
D1.3 (Asp1)	Anti-CD3 (mouse) [D1.3]	66	91	64	120	83	NA	NA	
G4_22	1247_001_010	47	100257	367	380	95342	670	67017	
G4_23	1247_001_005	53	196478	616	1029	248899	328	92781	
G4_24	1247_001_004	53	154317	534	960	128593	1151	11901	
G4_25	1248_001_005	40	21870	486	885	8811	239	29061	
G4_26	1248_001_001	51	22796	460	870	18504	80	8039	
G4_27	1248_001_010	40	118140	579	1688	91330	791	79052	
G4_28	1248_001_012	65	227997	578	984	217778	1324	132402	
D1.3 (Asp2)	Anti-CD3 (mouse) [D1.3]	51	690	405	717	43	NA	NA	

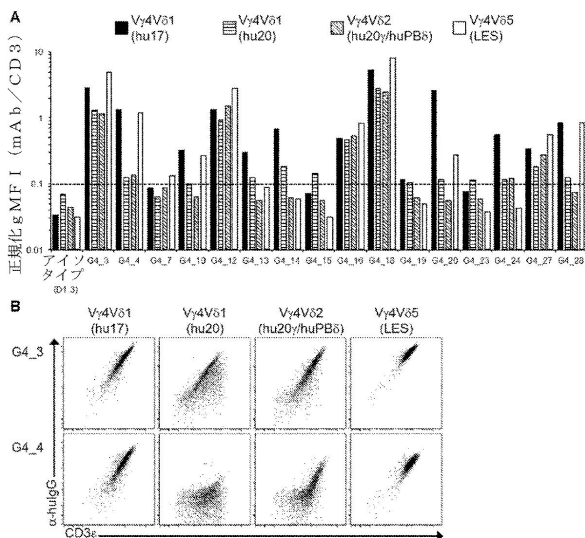
【 図 3 】



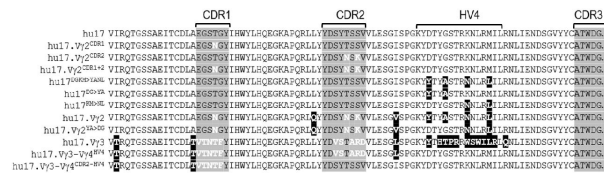
10

20

【 図 4 】



【 図 5 - 1 】

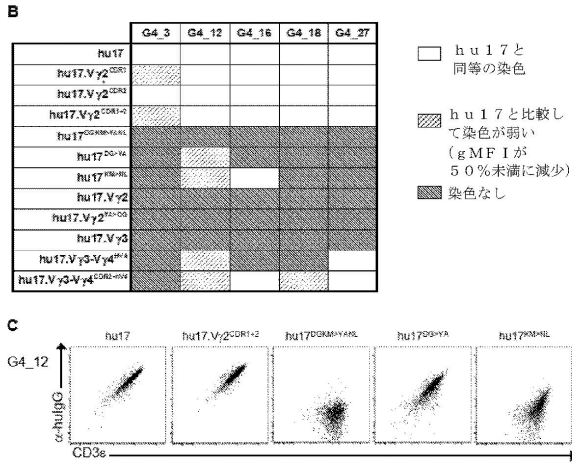


30

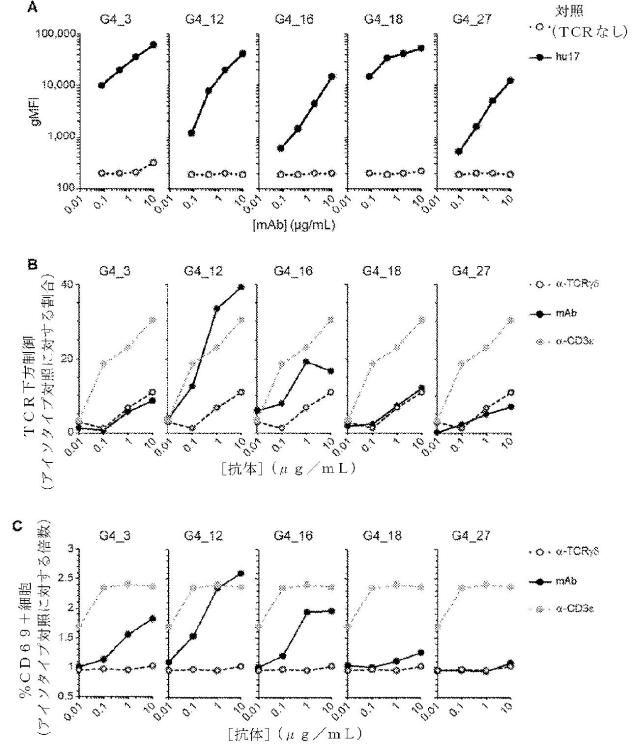
40

50

【 5 - 2 】



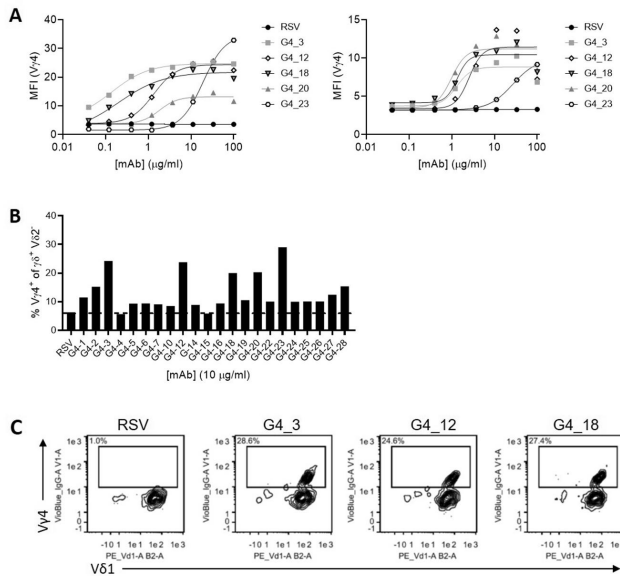
【 6 】



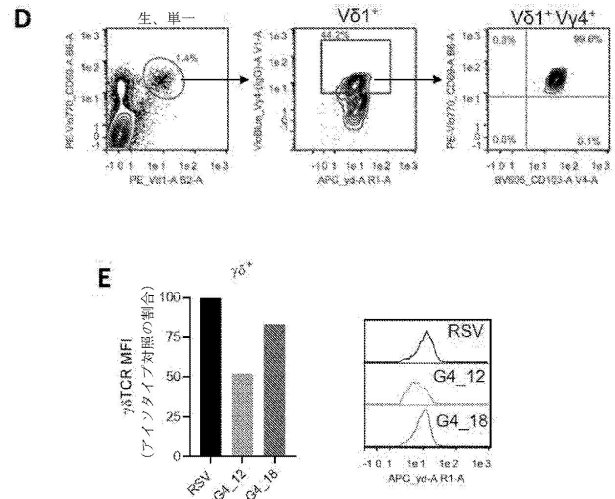
10

20

【 7 - 1 】



【 7 - 2 】

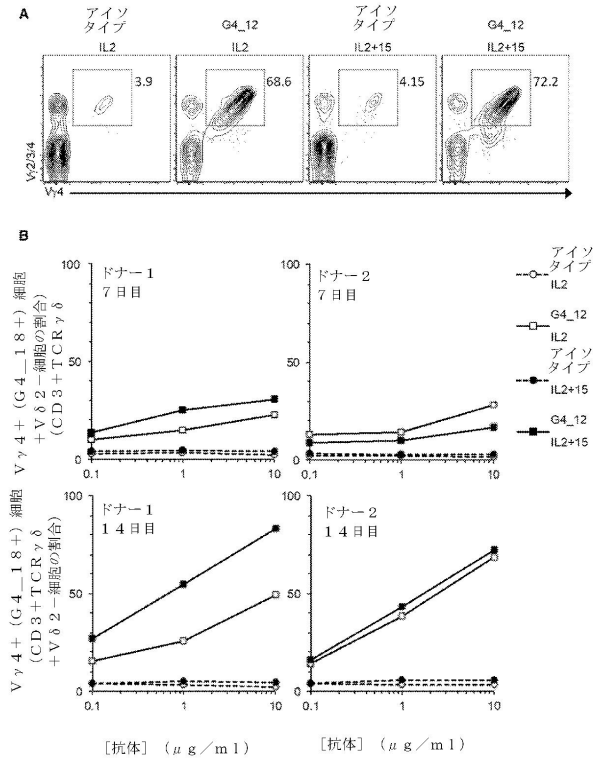


30

40

50

【 図 8 】



10

20

【 配列表 】

2023516925000001.app

30

40

50

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/GB2021/050459

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07K16/28 ADD.		
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) C07K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	LANGERAK A W ET AL: "IMMUNOPHENOTYPIC AND IMMUNOGENOTYPIC CHARACTERISTICS OF TCRGAMMADelta+ T CELL ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA", LEUKEMIA, STOCKTON PRESS, LONDON, vol. 13, no. 2, 1 February 1999 (1999-02-01), pages 206-214, XP001117463, ISSN: 0887-6924, DOI: 10.1038/SJ/LEU/2401276 "Analysis of Vgamma and Vdelta proteins with McAbs"; "Analysis of Vgamma and Vdelta protein expression in 15 TCRgamma deltay+ T-ALL with a panel of monoclonal antibodies" ----- -/--	1-7, 16-18, 20-25,30
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		
<input checked="" type="checkbox"/> 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 27 May 2021		Date of mailing of the international search report 28/07/2021
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Rosin, Oliver

10

20

30

40

2

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/GB2021/050459

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>DE LIBERO G ET AL: "Selection by two powerful antigens may account for the presence of the major population of human peripheral gamma/delta T cells.", JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE, vol. 173, no. 6, 1 June 1991 (1991-06-01), pages 1311-1322, XP055806412, US ISSN: 0022-1007, DOI: 10.1084/jem.173.6.1311 Retrieved from the Internet: URL:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2190840/pdf/je17361311.pdf> the whole document</p> <p>-----</p>	1-7, 16-18, 20-25,30
X	<p>DAVODEAU FRANQOIS ET AL: "Surface Expression of Two Distinct Functional Antigen Receptors on Human y6 T Cells", SCIENCE, vol. 260, 18 June 1993 (1993-06-18), pages 1800-1802, XP055806470, the whole document</p> <p>-----</p>	1-7, 16-18, 20-25,30
T	<p>WO 2021/032960 A1 (GAMMADELTA THERAPEUTICS LTD [GB]) 25 February 2021 (2021-02-25)</p> <p>-----</p>	
T	<p>Biologend: "Purified anti-mouse TCR V[gamma]4 Antibody Antigen", 10 August 2020 (2020-08-10), XP055806079, Retrieved from the Internet: URL:https://www.biologend.com/en-ie/global-elements/pdf-popup/purified-anti-mouse-tcr-vy4-antibody-19846?filename=Purified%20anti-mouse%20TCR%20Vgamma4%20Antibody.pdf&pdfgen=true [retrieved on 2021-05-20]</p> <p>-----</p>	
T	<p>KHAIRALLAH CAMILLE ET AL: "[gamma][delta] T Cells Confer Protection against Murine Cytomegalovirus (MCMV)", PLOS PATHOGENS, vol. 11, no. 3, 6 March 2015 (2015-03-06), page e1004702, XP055791631, DOI: 10.1371/journal.ppat.1004702 Retrieved from the Internet: URL:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4352080/pdf/ppat.1004702.pdf></p> <p>-----</p>	
T	<p>BLINK SARAH E ET AL: "gamma delta T cell subsets play opposing roles in regulating experimental autoimmune encephalomyelitis", CELLULAR IMMUNOLOGY, vol. 290, 10 May 2014 (2014-05-10), pages 39-51, XP055807582,</p> <p>-----</p>	

2

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

page 2 of 2

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/GB2021/050459

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 13ter.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 13ter.1(a)).

on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.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:

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/GB2021/050459

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.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

10

20

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:

see additional sheet

- 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 an 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.:

- 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.:

30

40

1-7(completely); 16-18, 20-25, 30(partially)

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 Application No. PCT/ GB2021/ 050459

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-7(completely); 16-18, 20-25, 30(partially)

Entities and uses comprising an antibody or fragment thereof, which specifically binds to a gamma variable 4 (Vgamma4) chain of a gamma delta T cell receptor (TCR) and not to a gamma variable 2 (Vgamma2) chain of a gamma delta TCR.

2. claims: 8-10(completely); 16-18, 20-25, 30(partially)

Entities and uses comprising an anti-Vgamma4 antibody or fragment thereof, which comprises one or more of a CDR3 comprising a sequence having at least 80% sequence identity with any one of SEQ ID NOs: 2-47, preferably with SEQ ID NO: 10 and/or 33; a CDR2 comprising a sequence having at least 80% sequence identity with any one of SEQ ID NOs: 48-70 and SEQUENCES: A1-A23 (of Figure 1), preferably with SEQ ID NO:56 and/or SEQUENCE A9; and/or a CDR1 comprising a sequence having at least 80% sequence identity with any one of SEQ ID NOs: 71-116, preferably with SEQ ID NO: 79 and/or 102.

3. claims: 11(completely); 16-18, 20-25, 30(partially)

Entities and uses comprising an anti-Vgamma4 antibody or fragment thereof, which comprises an amino acid sequence having at least 80% sequence identity with any one of SEQ ID NOs: 117-162 or 261-283.

4. claims: 12(completely); 16-18, 20-25, 30(partially)

Entities and uses comprising an anti-Vgamma4 antibody or fragment thereof comprising one or more VH and VL as claimed in (a)-(w).

5. claims: 13(completely); 16-18, 20-25, 30(partially)

Entities and uses comprising an anti-Vgamma4 antibody or fragment thereof which comprises an amino acid sequence having at least 80% sequence identity with any one of SEQ ID NOs: 163-185.

6. claims: 14(completely); 16-18, 20-25, 30(partially)

Entities and uses comprising an anti-Vgamma4 antibody which comprises an amino acid sequence having at least 80% sequence identity with any one of SEQ ID NOs: 233-255.

10

20

30

40

50

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

7. claims: 15(completely); 16-18, 20-25, 30(partially)

10

Entities and uses comprising an anti-Vgamma4 antibody comprising a heavy chain amino acid sequence having at least 80% sequence identity with any one of SEQ ID NOs: 284-306 and/or alight chain amino acid sequence having at least 80% sequence identity with any one of SEQ ID NOs: 307-329.

8. claims: 19(completely); 20, 21(partially)

Polynucleotide sequence encoding the anti-Vgamma4 antibody or fragment thereof comprising a sequence having at least 70% sequence identity with any of SEQ ID NOs: 187-232.

20

9. claim: 26

An isolated antigen comprising an amino acid sequence having at least 80% sequence identity with any one of SEQ ID NOs: 256-258 for use in generating an anti-Vgamma4 antibody or fragment thereof.

10. claims: 27-29

Antibodies and methods of generating an anti-Vy4 antibody or fragments thereof.

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/GB2021/050459

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2021032960 A1	25-02-2021	WO 2021032960 A1	25-02-2021
		WO 2021032963 A1	25-02-2021

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/10	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	D
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 31/04 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 2 1
A 6 1 P 31/12 (2006.01)	A 6 1 P 31/04	
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 31/12	
	A 6 1 P 29/00	

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,N
E,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,IT,JO,JP,K
E,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,N
G,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,
TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. T W E E N

ウッド・レイン 1 9 5、ウエストワークス、アダプテイト・バイオセラピューティクス・リミテッ
ド内

(72)発明者 ヌスバウマー、オリバー

英国ダブリュー 1 2 ・ 7 エフキュー、ロンドン、ホワイト・シティ・プレイス、ウッド・レイン 1
9 5、ウエストワークス、ガンマデルタ・セラピューティクス・リミテッド内

(72)発明者 ヘイデイ、エイドリアン

英国ダブリューシー 2 アール・ 2 エルエス、ロンドン、ストランド、キングズ・カレッジ・ロンド
ン

(72)発明者 バントゥラウト、ピエール

英国ダブリューシー 2 アール・ 2 エルエス、ロンドン、ストランド、キングズ・カレッジ・ロンド
ン

F ターム (参考) 4B065 AA01X AA57X AA83X AA86X AA87X AA87Y AA88X AA90X AA90Y AB01
AC14 BA02 CA24 CA25 CA44 CA46
4C084 AA19 NA14 ZB11 ZB26 ZB33 ZB35 ZC75
4C085 AA13 AA14 BB11 EE01 EE03
4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 CA40 DA75 DA76 EA20 EA50 FA74