

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6282597号  
(P6282597)

(45) 発行日 平成30年2月21日 (2018. 2. 21)

(24) 登録日 平成30年2月2日 (2018. 2. 2)

(51) Int. Cl.	F I	
A 6 1 K 39/395 (2006. 01)	A 6 1 K 39/395	Z N A T
A 6 1 K 45/00 (2006. 01)	A 6 1 K 45/00	
A 6 1 P 35/00 (2006. 01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 43/00 (2006. 01)	A 6 1 P 43/00	1 2 1
C 1 2 N 15/09 (2006. 01)	C 1 2 N 15/00	A
請求項の数 4 (全 119 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2014-551488 (P2014-551488)	(73) 特許権者	517233999
(86) (22) 出願日	平成25年1月9日 (2013. 1. 9)		アー・デー・ツェー・セラピューティクス
(65) 公表番号	特表2015-511216 (P2015-511216A)		・エス・アー
(43) 公表日	平成27年4月16日 (2015. 4. 16)		スイス・1 0 6 6・エパランジュ・ルート
(86) 国際出願番号	PCT/CA2013/000011		・ドゥ・ラ・コルニッシュ・3 B
(87) 国際公開番号	W02013/104050	(74) 代理人	100108453
(87) 国際公開日	平成25年7月18日 (2013. 7. 18)		弁理士 村山 靖彦
審査請求日	平成27年12月21日 (2015. 12. 21)	(74) 代理人	100110364
(31) 優先権主張番号	61/584, 629		弁理士 実広 信哉
(32) 優先日	平成24年1月9日 (2012. 1. 9)	(74) 代理人	100133400
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 阿部 達彦
前置審査		(72) 発明者	ジル・ベルナル・トランブレ
			カナダ・ケベック・J 5 R・6 N 8・ラ・
			プレーリー・ドゥニーズールメートル・1
			0 0
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 乳癌を治療する方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

トリプルネガティブ乳癌の治療のための医薬の製造における、腎臓関連抗原 1 ( K A A G 1 ) に特異的に結合することができる抗体またはその抗原結合性フラグメントの使用であって、

前記抗体またはその抗原結合性フラグメントが、以下からなる群：

a . 配列番号 4 9 に示す C D R H 1、配列番号 5 0 または配列番号 2 1 2 に示す C D R H 2、配列番号 5 1 に示す C D R H 3、配列番号 5 2 に示す C D R L 1、配列番号 5 3 に示す C D R L 2、および配列番号 5 4 に示す C D R L 3 を含む、抗体またはその抗原結合性フラグメント；

b . 配列番号 4 8 に示す軽鎖可変領域と、配列番号 4 6 に示す重鎖可変領域とを含む、抗体またはその抗原結合性フラグメント；

c . 配列番号 1 8 9 または配列番号 1 9 0 に示す軽鎖可変領域と、配列番号 1 9 4、配列番号 1 9 5、配列番号 1 9 6 または配列番号 1 9 7 に示す重鎖可変領域とを含む、抗体またはその抗原結合性フラグメント；

d . 配列番号 1 8 9 に示す軽鎖可変領域と、配列番号 1 9 4 に示す重鎖可変領域とを含む、抗体またはその抗原結合性フラグメント；

e . 配列番号 1 8 9 に示す軽鎖可変領域と、配列番号 1 9 5 に示す重鎖可変領域とを含む、抗体またはその抗原結合性フラグメント；

f . 配列番号 1 8 9 に示す軽鎖可変領域と、配列番号 1 9 6 に示す重鎖可変領域とを含む

、抗体またはその抗原結合性フラグメント；

g．配列番号 1 8 9 に示す軽鎖可変領域と、配列番号 1 9 7 に示す重鎖可変領域とを含む

、抗体またはその抗原結合性フラグメント；

h．配列番号 1 9 0 に示す軽鎖可変領域と、配列番号 1 9 4 に示す重鎖可変領域とを含む

、抗体またはその抗原結合性フラグメント；

i．配列番号 1 9 0 に示す軽鎖可変領域と、配列番号 1 9 5 に示す重鎖可変領域とを含む

、抗体またはその抗原結合性フラグメント；

j．配列番号 1 9 9 または配列番号 2 0 0 に示す軽鎖と、配列番号 2 0 2、配列番号 2 0 3、配列番号 2 0 4 または配列番号 2 0 5 に示す重鎖とを含む、抗体またはその抗原結合性フラグメント；

k．配列番号 1 9 9 に示す軽鎖と、配列番号 2 0 2 に示す重鎖とを含む、抗体またはその抗原結合性フラグメント；

l．配列番号 1 9 9 に示す軽鎖と、配列番号 2 0 3 に示す重鎖とを含む、抗体またはその抗原結合性フラグメント；

m．配列番号 1 9 9 に示す軽鎖と、配列番号 2 0 4 に示す重鎖とを含む、抗体またはその抗原結合性フラグメント；

n．配列番号 1 9 9 に示す軽鎖と、配列番号 2 0 5 に示す重鎖とを含む、抗体またはその抗原結合性フラグメント；

o．配列番号 2 0 0 に示す軽鎖と、配列番号 2 0 2 に示す重鎖とを含む、抗体またはその抗原結合性フラグメント；

p．配列番号 2 0 0 に示す軽鎖と、配列番号 2 0 3 に示す重鎖とを含む、抗体またはその抗原結合性フラグメント；

q．配列番号 2 0 0 に示す軽鎖と、配列番号 2 0 4 に示す重鎖とを含む、抗体またはその抗原結合性フラグメント；

r．配列番号 2 0 0 に示す軽鎖と、配列番号 2 0 5 に示す重鎖とを含む、抗体またはその抗原結合性フラグメント

から選択される、使用。

#### 【請求項 2】

前記抗体またはその抗原結合性フラグメントが、治療部分と結合している、請求項 1 に記載の使用。

#### 【請求項 3】

前記治療部分が、細胞傷害性剤を含む、請求項 2 に記載の使用。

#### 【請求項 4】

前記抗体またはその抗原結合性フラグメントが、抗がん剤、化学療法薬または細胞傷害性剤と組み合わせて使用される、請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に記載の使用。

#### 【発明の詳細な説明】

#### 【技術分野】

#### 【0001】

全世界で、毎年百万を超える女性が乳癌と診断されている。乳癌は、多数のタイプからなる非常に異種の疾患であり、これらのタイプは、組織学的分類システムを用いて識別される。大きなサブタイプおよび症例の大部分は、ルミナル A またはルミナル B として組織学的に同定され、これらは、それぞれ、組織学的に低いグレードまたはより高いグレードで、エストロゲン受容体 (ER) を呈示することを大きな特徴とする (Santana-Davila and Perez, 2010)。免疫組織学的方法を用いて、プロゲステロン受容体 (PgR) の発現を測定するが、これにより、ER 陰性状態と組み合わせて、ホルモン応答性の腫瘍の分類が可能になる。さらに、ヒト上皮増殖因子受容体 2 (HER2) の過剰発現または増幅を免疫組織学または蛍光 in situ ハイブリダイゼーション (FISH) のいずれかを用いてモニターすることができる。一般に、乳房腫瘍におけるこれら 3 つのマーカーの発現は、これらのタンパク質を標的とする患者のために利用可能な治療選択が複数存在するため (de Ruijter et al., 2011)、

10

20

30

40

50

より良好な臨床転帰を伴うが、こうした治療選択には、タモキシフェン、Arimidex（商標）（アナストロゾール）、Aromasin（商標）（エキセメスタン）、Femara（商標）（レトロゾール）、Faslodex（商標）（フルベストラント）、Herceptin（商標）（トラスツズマブ）またはTykerb（商標）（ラパチニブ）が含まれる。

#### 【背景技術】

#### 【0002】

乳癌の別の組織学的サブタイプは、基底細胞型乳癌からなり、これは、中でも、高い組織学的グレード、分裂指数の増加および高いKi67発現に関連する（Santana-DavilaおよびPerez, 2010）。基底細胞型乳癌のほとんどは、トリプルネガティブ乳癌（TNBC）患者からなり、これは、診断される全乳癌患者の15～20%を占める（Ismail-KhanおよびBui, 2010）。TNBCは、ER、PgRのタンパク質発現の欠失およびHER2タンパク質過剰発現の非存在により定義される。全てのTNBCが基底細胞型乳癌であるわけではなく、また、全ての基底細胞型乳癌がTNBCであるわけではないことから、基底細胞型乳癌とTNBCとの間の関係は容易に明瞭化されないが、これらのカテゴリーの患者の約75%が両方の特徴を有している。TNBCは、5年の低い生存率と高い再発率という悪い予後を伴う。

#### 【0003】

TNBC患者は、他の乳癌サブタイプに比べ生涯の早期に発症し、閉経前の段階で診断されることが多い（Carey et al., 2006）。トリプルネガティブ乳癌は、治療後に再発の増加傾向を示し、基底細胞型乳癌サブタイプのそれと同様に、他の乳癌サブタイプより攻撃的であると考えられる（Nofech-Mozes et al., 2009）。その結果、TNBC患者の概して5年の生存は、他の乳癌サブタイプと診断されたものより有意に短い。現在のところ、容認されるTNBCの明確な分子マーカーはない。それにもかかわらず、これらの腫瘍は、化学療法に応答する（Kriegel et al., 2009）。患者は、5-フルオロウラシル、ドキソルビシンおよびシクロホスファミドなどの薬剤を投与するアジュバント療法ならびにネオアジュバント療法における細胞傷害性剤に対して、より良好な応答を示している（Rouzier et al., 2005）。ある程度の効果を示した他の薬剤として、シスプラチンなどの白金ベースの化合物、およびタキサンなどの抗チューブリン化合物がある（Santana-DavilaおよびPerez, 2010）。

#### 【0004】

前述のように、TNBCの明確な標的はないが、このことが、ポリ[ADP-リボース]ポリメラーゼ1（PARP1）の阻害などの標的因子の試みを妨げるわけではなかった。PARP1は、破損したDNA鎖と結合して、一本鎖破損を修復するのに必要な酵素のリクルートを媒介することによって、DNA一本鎖破損の修復に参加する酵素である（de Ruijter et al., 2011）。従って、この戦略は、癌細胞がより多くのDNA一本鎖破壊を蓄積し、これにより最終的に遺伝的不安定性、有糸分裂停止および細胞死を引き起こすようにする手段として、PARP1活性を阻害することを目的としていた。有望な臨床結果が患者において達成され、これらの患者は、BRCA1および/またはBRCA2に突然変異を示したが、これらは、適正な細胞分裂に必要な遺伝的維持および相同組換えの重要なメディエータである。実際に、これらの遺伝的安定性経路が欠損していると思われるBRCA1突然変異を有する患者は、BRCA1の野生型のものに比べ、PARP1阻害剤に対して、より高い応答を示した（Fong et al., 2009）。BRCA突然変異のキャリアであるTNBC患者におけるPARP1のターゲティングは、有望な戦略を提示することが明らかである。ER/PgR/HER2状況とBRCA1/2遺伝子の遺伝子プロファイルの状況を組合せることにより、TNBC患者の適正な治療選択を決定するための最良の特性決定が達成されうる。

#### 【0005】

他の戦略でもまた、VEGFをターゲティングするためのモノクローナル抗体もしくはは

10

20

30

40

50

小分子阻害剤または抗血管新生化合物のいずれかとして、EGFR阻害剤の使用が検討された。複数の臨床試験では、これらの化合物の効果を評価したが、そのいずれも、単独で投与した場合、有意な応答を示さなかった。しかし、他の抗がん剤と併用してこれらの阻害剤で治療した患者には穏やかな効果が観察された (Santana-DavilaおよびPerez, 2010)。

#### 【0006】

近年、乳癌の理解が進み、その治療が進歩したにもかかわらず、化学療法の使用は、例外なく重篤な副作用をもたらし、その使用が限定されてしまっている。結果として、抗原組織特異性とモノクローナル抗体の選択性とを組み合わせるといった具体的戦略が要求されれば、非特異性関連の (off-target) 副作用を有意に低減できるはずである。モノクローナル抗体の治療標的として現在研究中的のTNBC特異的抗原はない。従って、これら腫瘍に発現するタンパク質の特異的マーカーをターゲティングすることができないため、TNBC患者にはほとんど選択肢がない。新たな診断マーカーとしての用途および新規の標的療法のために、TNBCに発現される新たなタンパク質を同定することが切実に求められている。

#### 【0007】

腎臓関連抗原1 (KAG1) は元々、細胞障害性Tリンパ細胞に提示される抗原性ペプチドとして、組織適合性白血球抗原-B7腎臓癌細胞系由来のcDNAライブラリからクローンされた (Van den Eynde et al., 1999; Genebankアクセッション番号Q9UBP8、cDNA配列は、配列番号1のヌクレオチド738~992によって表示される)。KAG1を含む座位は、逆ストランド上に両方向に転写された2つの遺伝子をコードすることが発見された。センスストランドは、DCDC2と称されるタンパク質をコードする転写産物をコードすることが明らかにされた。これらの著者らによる発現の研究から、KAG1アンチセンス転写産物が腫瘍特異的であり、正常組織においては発現をほとんど呈さなかったのに対し、DCDC2センス転写産物は偏在的に発現したことが見出された (Van den Eynde et al., 1999)。癌 (特に、卵巣癌、腎臓癌、肺癌、大腸癌、乳癌および黒色腫) におけるKAG1転写産物の発現は、国際公開第2007/147265号パンフレットの下、2007年12月27日に公開された国際出願第PCT/CA2007/001134号明細書において開示されている。また、腎臓癌腫、結腸直腸癌腫、黒色腫、肉腫、白血病、脳腫瘍、甲状腺腫瘍、乳癌、前立腺癌腫、食道癌腫、膀胱腫瘍、肺癌腫および頭頸部腫瘍におけるRNAの発現も、Van den Eyndeらによって観測された。近年では、連鎖不平衡研究から得られた有力な遺伝学的証拠により、VMP/DCDC2/KAG1座位が失読症 (dyslexia) を伴うことが明らかにされた (Schumacher et al., 2006; Cope et al., 2005)。これらの報告のうちの1つは、患者の失読症を引き起こした原因がDCDC2マーカーにあることを指摘していた。皮質ニューロン移動においてこのタンパク質の機能は、異常なニューロン移動および成熟をしばしば示すこれらの患者の病徴と一致していたためである (Schumacher et al., 2006)。

#### 【0008】

本出願人は、KAG1タンパク質に結合する抗体および抗原結合性フラグメントの集団を取得した。これらの抗体または抗原結合性フラグメントは、タンパク質の3つの領域; アミノ酸1~35、アミノ酸36~60、アミノ酸61~84をターゲティングすることが判明した。本出願人は、アミノ酸30~84の領域をターゲティングする抗体が、腫瘍細胞の表面に位置するKAG1を認識することから、治療の目的に最も有利であることをみいだした。本出願人は、これらの抗体および抗原結合性フラグメントのいくつかは、抗体依存性細胞傷害を媒介することができ、および/または腫瘍細胞によって内在化されることから、これらが腫瘍細胞にペイロードを送達する優れた候補になることを明らかにした。本出願人はまた、選択した抗体候補をもとにキメラおよびヒト化抗体を作製し、これらの抗体が、腫瘍細胞の形成および浸潤を阻害しうることを実証した (国際公開第2

10

20

30

40

50

010/060186号パンフレットとして2010年6月3日に公開されたPCT/CA2009/001586号明細書、ならびに国際公開第2011/054112号パンフレットとして2011年5月12日に公開されたPCT/CA2010/001785号明細書を参照)。最後に、本出願人は、これらの抗体を卵巣癌、皮膚癌、腎臓癌、結腸直腸癌、肉腫、白血病、脳腫瘍、甲状腺腫瘍、乳癌、前立腺癌、食道腫瘍、膀胱腫瘍、肺腫瘍および頭頸部腫瘍ならびにこれらの癌の転移形態の治療および診断に用いることができることもみいだした。

#### 【0009】

本出願人は、ERタンパク質発現、PgRタンパク質発現が欠乏し、および/またはHER2タンパク質過剰発現の非存在を示す乳癌細胞(即ち、トリプルネガティブ癌細胞、基底細胞型)を、KAG1に特異的に結合する抗体または抗原結合性フラグメントで効率的にターゲティングすることができるという予想外の発見をするに至った。このように、抗KAG1抗体は、これらのマーカーの少なくとも1つについて陰性の乳癌細胞の検出および治療的処置に用いることができる。

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0010】

【図1a】ネズミおよびヒト化軽鎖の3A4可変ドメインのアミノ酸配列アライメントである。軽鎖は2つのヒト化変異体(Lh1およびLh2)を有する。CDRはボールド体で表示され、CDRL1、CDRL2およびCDRL3で指示されている。ヒトフレームワーク領域における復帰突然変異、即ちネズミアミノ酸は、ヒト化配列において下線で示されている。

【図1b】ネズミおよびヒト化重鎖の3A4可変ドメインのアミノ酸配列アライメントである。重鎖は4つのヒト化変異体(Hh1~Hh4)を有する。CDRはボールド体で表示され、CDRH1、CDRH2およびCDRH3で指示されている。ヒトフレームワーク領域における復帰突然変異、即ちネズミアミノ酸は、ヒト化配列において下線で示されている。

【図2a】ClustalW2プログラム(Larkin M.A., et al., (2007) ClustalW and ClustalX version 2. Bioinformatics 2007 23(21): 2947-2948)を使用してネズミ3A4軽鎖可変領域(配列番号4)を軽鎖可変領域変異体(配列番号33)にアライメントした図である。ここで、「\*」(アスタリスク)は、完全に保存された単一の残基を有する位置を示す。ここで、「:」(コロン)は、Gonnet PAM 250マトリックス内でスコアが0.5を上回る著しく類似した特性を持つグループ間の保存を示す。ここで、「。」(ピリオド)は、Gonnet PAM 250マトリックス内でスコアが0.5以下の類似性の低い特性を持つグループ間の保存を示す。

【図2b】ClustalW2プログラム(Larkin M.A., et al., (2007) ClustalW and ClustalX version 2. Bioinformatics 2007 23(21): 2947-2948)を使用してネズミ3A4重鎖可変領域(配列番号2)を軽鎖可変領域変異体(配列番号38)にアライメントした図である。ここで、「\*」(アスタリスク)は、完全に保存された単一の残基を有する位置を示す。ここで、「:」(コロン)は、Gonnet PAM 250マトリックス内でスコアが0.5を上回る著しく類似した特性を持つグループ間の保存を示す。ここで、「。」(ピリオド)は、Gonnet PAM 250マトリックス内でスコアが0.5以下の類似性の低い特性を持つグループ間の保存を示す。

【図3a】pKCR5-3A4-HC-変異体1のプラスミドマップを表す。同様な方法で、ヒト化3A4変異体の重鎖がpK-CR5のHindIII部位にクローンされた。それゆえに、結果として得られたプラスミドは、重鎖免疫グロブリン可変ドメインの配列を除き、pKCR5-3A4-HC変異体1と同一である。

【図3b】pMPG-CR5-3A4-LC-変異体1のプラスミドマップを表す。同様な方法で、3A4抗体のヒト化変異体1および2の軽鎖がpMPG-CR5のBamHI

10

20

30

40

50

部位にクローンされた。それゆえに、結果として得られたプラスミドは、軽鎖免疫グロブリン可変ドメインの配列を除き、p M P G - C R 5 - 3 A 4 - L C - 変異体 1 と同一である。

【図 4】C H O 細胞における一過性トランスフェクション後の抗体産生の分析を表す。ヒト化 3 A 4 抗体の軽鎖および重鎖の様々な組み合わせを用いトランスフェクションした C H O c T A 細胞の上澄み（トランスフェクション後 1 3 日目）を、ウエスタンブロットで分析した。ウエスタンブロットのバンドを公知の標準液（ヒト精製 I g G 抗体）の希釈物に対して走査した後、上澄み中に産生された抗体の量を分子量（M r）マーカ（k D a）で測定した。

【図 5】S u p e r d e x G 7 5 にかけた組み換え K A A G 1 試料のゲル濾過を示すグラフである。K A A G 1 をゲル濾過物に注入し、0 . 4 m l / m i n で分離させた。最大ピークは画分 1 5 ~ 画分 1 9 の間である。

【図 6】3 A 4 抗体のネズミおよびヒト化変異体の速度および親和性定数を記載した表である。

【図 7 a】ヒト化抗体の会合速度（ $K_a$ ）を図示したヒストグラムである。

【図 7 b】ヒト化抗体の解離速度（ $K_d$ ）を図示したヒストグラムである。

【図 7 c】ヒト化抗体の親和性定数（ $K_D$ ）を図示したヒストグラムである。

【図 8 a】E L I S A において K A A G 1 に結合するヒト化 3 A 4 変異体の図である。この図は、3 A 4 ヒト化抗体変異体およびネズミ 3 A 4 の結合を比較して示したものである。L h 1 軽鎖変異体とアセンブルされたヒト化重鎖（H h 1、H h 2、H h 3 および H h 4）の濃度依存的な結合プロファイルである。

【図 8 b】E L I S A において K A A G 1 に結合するヒト化 3 A 4 変異体の図である。この図は、3 A 4 ヒト化抗体変異体およびネズミ 3 A 4 の結合を比較して示したものである。L h 2 軽鎖変異体とアセンブルされたヒト化重鎖（H h 1、H h 2、H h 3 および H h 4）の濃度依存的な結合プロファイルである。

【図 9】癌細胞の表面上の K A A G 1 に結合するヒト化 3 A 4 変異体の図である。この図は、非透過 S K O V - 3 卵巣癌細胞上のヒト化抗体およびネズミ 3 A 4 抗体結合活性を比較して示したものである。

【図 1 0】乳癌患者から得られた 1 3 9 の生検試料を含む組織マイクロアレイのスキャンを示す。試料を 3 A 4 抗 K A A G 1 抗体でプロットしたところ、乳房腫瘍のほとんどが、非常に高レベルの K A A G 1 抗原を発現したことが判明した。確認された T N B C 試料を星印で示す。

【図 1 1】対照 I g G（赤色のバー）と比較した、3 A 4 抗 K A A G 1 抗体とインキュベートした M D A - M B - 2 3 1、M D A - M B - 4 3 6、M D A - M B - 4 6 8、B T - 2 0、B T - 5 4 9、T 4 7 D、M C F - 7 および 2 9 3 - 6 E 細胞系（ヒストグラムの青色のバー）を用いて実施したフローサイトメトリーの結果を示す。これは、3 回実施した実験からの代表的結果である。T N B C 細胞系は星印で示す。

【図 1 2】3 A 4 抗 K A A G 1 抗体を用いたフローサイトメトリーによる M D A - M B - 2 3 1 細胞の表面での K A A G 1 抗原の検出を示す。細胞を 3 7 でインキュベートすると、時間と共に、蛍光シグナルが減少するが、これは、細胞を 3 A 4 と一緒にインキュベートすると、インキュベーション中に K A A G 1 / 抗体複合体が内在化されたことを示している。

【図 1 3】3 A 4 抗 K A A G 1 抗体を用いたフローサイトメトリーによる M D A - M B - 4 3 6 細胞の表面での K A A G 1 抗原の検出を示す。細胞を 3 7 でインキュベートすると、時間と共に、蛍光シグナルが減少するが、これは、細胞を 3 A 4 と一緒にインキュベートすると、インキュベーション中に K A A G 1 / 抗体複合体が内在化されたことを示している。

【図 1 4】3 A 4 抗 K A A G 1 抗体を用いたフローサイトメトリーによる B T - 2 0 細胞の表面での K A A G 1 抗原の検出を示す。細胞を 3 7 でインキュベートすると、時間と共に、蛍光シグナルが減少するが、これは、細胞を 3 A 4 と一緒にインキュベートすると

10

20

30

40

50

、インキュベーション中にK A A G 1 / 抗体複合体が内在化されたことを示している。

【図 1 5】3 A 4 抗 K A A G 1 抗体を用いたフローサイトメトリーによる T 4 7 D 細胞の表面での K A A G 1 抗原の検出を示す。細胞を 3 7 でインキュベートすると、時間と共に、蛍光シグナルが減少するが、これは、細胞を 3 A 4 と一緒にインキュベートすると、インキュベーション中に K A A G 1 / 抗体複合体が内在化されたことを示している。

【図 1 6】3 A 4 抗 K A A G 1 抗体および抗 L A M P 1 抗体を用いて、生存 M D A - M B - 2 3 1 細胞で実施した免疫蛍光データを示す。抗 K A A G 1 抗体に結合した免疫蛍光シグナルを左のパネルに示し、L A M P 1 に結合した免疫蛍光シグナルを中央のパネルに、また両方の画像をマージしたものを右のパネルに示す。これらのデータは、核周囲領域付近での K A A G 1 および L A M P 1 の共局在化を示している。

10

【図 1 7】3 A 4 抗 K A A G 1 抗体および抗 L A M P 1 抗体を用いて、生存 M D A - M B - 2 3 1 細胞で実施した免疫蛍光データを示す。抗 K A A G 1 抗体に結合した免疫蛍光シグナルを左のパネルに示し、L A M P 1 に結合した免疫蛍光シグナルを中央のパネルに、また両方の画像をマージしたものを右のパネルに示す。これらのデータは、K A A G 1 と、後期エンドソーム / リソソームのマーカーである、L A M P 1 との局在化を示している。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0011】

本発明は、必要とする個体の癌もしくは癌細胞を ( i n v i t r o もしくは i n v i v o で ) 治療または検出する方法を提供する。

20

【0012】

本発明によれば、治療または検出の方法は、K A A G 1 に結合することができる抗体またはその抗原結合性フラグメントを用いて実施してよい。

【0013】

治療を必要とする個体は、例えば、癌を有する、または癌を有することが疑われる個体を含みうる。このような個体は、乳癌に由来する癌または癌細胞を有する者でよい。

【0014】

癌または癌細胞は、さらに具体的には、トリプルネガティブまたは基底細胞型として特徴付けられる乳癌に由来するものであってよい。

【0015】

30

ゆえに、本明細書に記載する治療または検出方法から利益を受け得る個体には、乳癌に罹患している者が含まれ得る。

【0016】

乳癌は、エストロゲン受容体の発現の低減または消失を呈する腫瘍細胞を含み得る。

【0017】

乳癌は、プロゲステロン受容体の発現の低減または消失を呈する腫瘍細胞を含み得る。

【0018】

乳癌は、H e r 2 の発現の低減または消失を呈する腫瘍細胞を含み得る。

【0019】

乳癌は、H e r 2 の過剰発現の低減または消失を呈する腫瘍細胞を含み得る。

40

【0020】

より具体的には、乳癌は、1) エストロゲン受容体およびプロゲステロン受容体の発現の低減もしくは消失、2) エストロゲン受容体の発現の低減もしくは消失と H e r 2 過剰発現の低減もしくは消失、3) プロゲステロン受容体の発現の低減もしくは消失と H e r 2 過剰発現の低減もしくは消失、または4) エストロゲン受容体の発現の低減もしくは消失、プロゲステロン受容体の発現の低減もしくは消失、ならびに H e r 2 過剰発現の低減もしくは消失のいずれかを呈する腫瘍細胞を含みうる。

【0021】

さらに具体的には、乳癌は、1) エストロゲン受容体およびプロゲステロン受容体の発現の消失、2) エストロゲン受容体の発現の消失と H e r 2 発現の消失、3) プロゲステ

50

ロン受容体の発現の消失とH e r 2 発現の消失、または4 ) エストロゲン受容体の発現の消失、プロゲステロン受容体の発現の消失、ならびにH e r 2 発現の消失のいずれかを呈する腫瘍細胞を含みうる。

【0022】

本発明によれば、個体は、トリプルネガティブとして特性決定される乳癌細胞を保有する者であっても、またはトリプルネガティブ乳癌として分類される腫瘍を有する者であってもよい。

【0023】

本発明によれば、個体は、基底細胞型として特性決定される乳癌細胞を保有する者であっても、または基底細胞型乳癌として分類される腫瘍を有する者であってもよい。

10

【0024】

抗K A A G 1 による治療から利益を受けうる他の個体には、上皮間葉転移( E M T ) 表現型を呈する腫瘍細胞を含む癌を有する者が含まれる。

【0025】

一般に用いられるE M T の分子マーカとしては、例えば、E - カドヘリン、サイトケラチンおよび - カテニン( 膜内) の発現の低減、および/またはS n a i l、S l u g、T w i s t、Z E B 1、Z E B 2、N - カドヘリン、ビメンチン、 - 平滑筋アクチン、マトリックスメタロプロテイナーゼなどの発現の増大がある( 例えば、K a l l u r i およびW e i n b e r g, The Journal of Clinical Investigation, 119( 6), p1420 - 1428; 2009; F a s s i n a e t al., Modern Pathology, 25; p86 - 99; 2012; L e e e t al., J C B; 172; p973 - 981; 2006)。E M T 表現型はまた、遊走、浸潤の能力の増大、またはアノキス/アポトーシスに対する抵抗性によっても識別することができる。上皮間葉転移を被った細胞は、したがって、上皮マーカの低減および間葉マーカまたはE M T 表現型の出現によって検出することができる。

20

【0026】

本発明によれば、この方法は、このように、例えば、治療を必要とする個体に、K A A G 1 に特異的に結合することができる抗体または抗原結合性フラグメントを投与することを含みうる。治療を必要とする個体は、E R 発現、P g R 発現を欠いたその腫瘍に基づき、および/またはH E R 2 タンパク質過剰発現の非存在によって優先的に選択される。これらのマーカについての臨床試験は、通常、組織学的方法( 免疫組織化学、F I S H など) および/または遺伝子発現研究( 例えば、D e n t e t al, 2007, B e r n s t e i n a n d L a c e y, 2011を参照) を用いて実施される。従って、必要とする個体は、トリプルネガティブ乳癌または基底細胞型乳癌の診断を受けた個体であってもよい。治療を必要とする個体は、ホルモン療法および/もしくはトランススズマブ療法( または他の抗H e r 2 抗体) に対して不応答性の個体であってもよい。あるいは、治療を必要とする個体は、上皮間葉転移を受けることができる能力を有する、または間葉表現型を獲得した腫瘍細胞を保有する個体であってもよい。

30

【0027】

従って、本発明は、治療を必要とする個体に、K A A G 1 活性または発現の阻害剤を投与することにより、トリプルネガティブ乳癌または基底細胞型乳癌を治療する方法を提供する。

40

【0028】

本発明によれば、K A A G 1 阻害剤は、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメントを含みうる。

【0029】

また、本発明によれば、K A A G 1 阻害剤は、配列番号1 またはそのフラグメントに相補的なヌクレオチド配列を含みうる。さらに具体的には、K A A G 1 阻害剤は、配列番号1 のヌクレオチド738 ~ 992 ( 両端を含む) またはそのフラグメントに相補的なヌクレオチド配列を含みうる。例えば、阻害剤は、配列番号1 または配列番号1 のヌクレオチ

50

ド 7 3 8 ~ 9 9 2 ( 両端を含む ) に相補的な少なくとも 1 0 個の連続したヌクレオチド ( 少なくとも 1 5 個、少なくとも 2 0 個 ) を含みうる。より具体的なタイプの K A A G 1 阻害剤は、配列番号 1 の発現を阻害する s i R N A を含む。

【 0 0 3 0 】

好適な抗体または抗原結合性フラグメントは、腫瘍細胞の表面で K A A G 1 に結合することができるものを含む。このような抗体またはその抗原結合性フラグメントは、K A A G 1 のアミノ酸 3 0 ~ 8 4 ( 両端の値を含む ) の間に含まれるエピトープに優先的に結合し得る。

【 0 0 3 1 】

あるいは、こうした抗体またはその抗原結合性フラグメントは、K A A G 1 のアミノ酸 3 6 ~ 6 0 ( 両端の値を含む ) またはアミノ酸 6 1 ~ 8 4 ( 両端の値を含む ) の間に位置するエピトープに結合しうる。

10

【 0 0 3 2 】

エピトープは、特に、アミノ酸 5 0 ~ 7 0、5 0 ~ 6 5、5 1 ~ 6 5、5 2 ~ 6 5、5 3 ~ 6 5、5 4 ~ 6 5、5 4 ~ 6 4、5 4 ~ 6 3、5 4 ~ 6 2、5 4 ~ 6 1、5 4 ~ 6 0、5 0 ~ 6 2、5 0 ~ 6 1、または 5 0 ~ 6 0 ( 両端の値を含む ) の間に位置するか、または含まれるものでよい。

【 0 0 3 3 】

本発明によれば、抗体または抗原結合性フラグメントは、K A A G 1 のアミノ酸 5 0 ~ 7 0 の間に含まれるエピトープに結合しうる。

20

【 0 0 3 4 】

本発明の別の実施形態において、抗体または抗原結合性フラグメントは、K A A G 1 のアミノ酸 5 0 ~ 6 2 の間に含まれるエピトープに結合しうる。

【 0 0 3 5 】

本発明のさらに別の実施形態において、抗体または抗原結合性フラグメントは、K A A G 1 のアミノ酸 5 4 ~ 6 5 の間に含まれるエピトープに結合しうる。

【 0 0 3 6 】

治療的処置のために好適な抗体として、例えば、抗体依存性細胞傷害を媒介するものがある。

【 0 0 3 7 】

30

治療的処置のためにさらに好適な他の抗体として、治療部分と結合したものがある。

【 0 0 3 8 】

本発明によれば、抗体は、例えば、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体またはその抗原結合性フラグメントであってもよい。

【 発明を実施するための形態 】

【 0 0 3 9 】

治療方法

本明細書に記載するように、本発明は、「トリプルネガティブ乳癌」または「基底細胞型乳癌」として特徴付けられた乳癌を有する個体に、抗体または抗原結合性フラグメントを投与することを含む。

40

【 0 0 4 0 】

「トリプルネガティブ乳癌」または「基底細胞型乳癌」としての乳癌サブタイプの分類は、当分野では公知であり ( 例えば、F o u l k e s e t a l . , N . E n g l . J . M e d . , 2 0 1 0 ; 3 6 3 : 1 9 3 8 - 1 9 4 8 を参照 )、例えば、以下の定義を含む：

【 0 0 4 1 】

「基底細胞型乳癌」には、例えば、エストロゲン受容体の発現の非存在または低レベルの発現、H e r 2 過剰発現およびヒト乳房の基底細胞もしくは筋上皮細胞に通常存在する遺伝子の発現の非常に低いレベルを特徴とする腫瘍の異種群を含む乳癌サブタイプが含まれる。このような発現は、マイクロアレイ分析によって決定され得る。

50

## 【0042】

「トリプルネガティブ乳癌」には、例えば、エストロゲン受容体（ER）、プロゲステロン受容体（PR）およびHer2発現の欠失を特徴とする腫瘍が含まれる。研究者の中には、1%未満の細胞がERまたはPR発現について陽性である場合しか、ERまたはPRの発現が陰性であるものとして腫瘍を認めない者もいれば、10%以下の細胞が発現について陽性であれば、腫瘍をERまたはPR発現が陰性であるとみなす者もいる。HER2陰性について様々な定義が用いられている。最も多くの場合に採用されている2つでは、*in situ*ハイブリダイゼーション後にHER2遺伝子増幅が欠乏している0/1+または2+の免疫組織化学スコアを有する腫瘍を含む。

## 【0043】

10

本発明によれば、治療方法は、治療を必要とする個体に、KAG1阻害剤を投与することを含む。このようなKAG1阻害剤は、例えば、KAG1に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性フラグメントを含む。

## 【0044】

最も効力が高い抗体または抗原結合性フラグメントは、KAG1に対して高い親和性を有するものであると思われる。また、最も効力が高い抗体または抗原結合性フラグメントは、例えば、リソソームまたはエンドソームなどの細胞コンパートメントの内部に内在化されるものであると考えられる。

## 【0045】

従って、本発明は、特に、KAG1に対して高い親和性を有する抗体または抗原結合性フラグメントを包含する。

20

## 【0046】

好適な抗体または抗原結合性フラグメントは、高い親和性で、腫瘍細胞の表面でKAG1に結合することができるものを含む。このような高親和性抗体またはその抗原結合性フラグメントは、KAG1のアミノ酸30～84（両端の値を含む）の間に含まれるエピトープに優先的に結合しうる。

## 【0047】

あるいは、このような高親和性抗体またはその抗原結合性フラグメントは、KAG1のアミノ酸36～60（両端の値を含む）の間またはアミノ酸61～84（両端の値を含む）の間に位置するエピトープに結合しうる。

30

## 【0048】

高親和性抗体または抗原結合性フラグメントは、例えば、アミノ酸50～70、50～65、51～65、52～65、53～65、54～65、54～64、54～63、54～62、54～61、54～60、50～62、50～61、または50～60（両端の値を含む）の間に位置する、または含まれるエピトープに結合するものでよい。

## 【0049】

本発明によれば、高親和性抗体または抗原結合性フラグメントは、KAG1のアミノ酸50～70の間に含まれるエピトープに結合するものでよい。

## 【0050】

本発明の別の実施形態において、高親和性抗体または抗原結合性フラグメントは、KAG1のアミノ酸50～62の間に含まれるエピトープに結合するものでよい。

40

## 【0051】

本発明のさらに別の実施形態において、高親和性抗体または抗原結合性フラグメントは、KAG1のアミノ酸54～65の間に含まれるエピトープに結合するものでよい。

## 【0052】

高親和性抗体を含む好ましい抗体は、細胞または細胞コンパートメント（例えばリソソームまたはエンドソーム）内に内在化されうるものである。抗体が内在化される能力は、当分野では公知の方法、例えば、限定するものではないが、本明細書で実施するものと類似の免疫蛍光試験によって決定することができる。

## 【0053】

50

特に、3 A 4 抗体のそれと同じ C D R を有する抗体が、本発明に包含される。従って、配列番号 1 8 6 ~ 1 8 8 および 1 9 1 ~ 1 9 3 のいずれかに示す軽鎖可変領域および / または重鎖可変領域共通配列、ならびに配列番号 4 6、4 8、1 8 9、1 9 0、または 1 9 4 ~ 1 9 8 に示す特定の配列を有する抗体が、本発明に包含される。中でも、配列番号 1 8 8 および 1 9 6 のいずれかに示す軽鎖可変領域および / または重鎖可変領域共通配列、または配列番号 4 6、4 8、1 8 9、1 9 0、または 1 9 4 ~ 1 9 8 に示す特定の配列を有する抗体が、特に考慮される。

#### 【 0 0 5 4 】

抗体またはその抗原結合性フラグメントは、治療部分と結合させるのが好ましい。

#### 【 0 0 5 5 】

抗体またはその抗原結合性フラグメントは、ヒト定常領域を含んでもよい。好ましくは、抗体またはその抗原結合性フラグメントは、ヒト I g G 1 定常領域を有しうる。あるいは、抗体またはその抗原結合性フラグメントは、I g G 2 定常領域を有してもよい。

#### 【 0 0 5 6 】

本発明の方法はまた、例えば、小分子薬物、K A A G 1 以外の標的に結合する抗体または抗原結合性フラグメント、化学療法または細胞傷害薬などの抗癌剤と併用して、抗体（例えば、治療部分と結合した）または抗原結合性フラグメントなどの K A A G 1 阻害剤を投与することを含む。K A A G 1 阻害剤と一緒に投与することができる抗がん剤の例として、例えば、ドキソルビシン、タキサン、抗血管新生剤、白金塩、P A R P 阻害剤が挙げられる。

#### 【 0 0 5 7 】

本発明に含まれる他の治療方法は、アンチセンスベース ( a n t i s e n s e - b a s e d ) の治療薬 ( s i R N A、アンチセンス、リボザイムなど ) のような他のタイプの K A A G 1 阻害剤を投与することを含む。

#### 【 0 0 5 8 】

K A A G 1 に結合する抗体および抗原結合性フラグメント

用語「抗体または抗原結合性フラグメント」あるいは「複数の抗体または抗原結合性フラグメント」などの類似の用語は、例えば、「可変抗体または抗原結合性フラグメント」、例えば、「ヒト化抗体または抗原結合性フラグメント」を包含する。

#### 【 0 0 5 9 】

用語「抗体」は、無傷抗体、モノクローナル抗体またはポリクローナル抗体を指す。用語「抗体」はまた、二重特異的抗体などの多重特異的抗体を包含する。ヒト抗体は、通常、2つの軽鎖と2つの重鎖から成り、それぞれ可変領域および定常領域を含む。軽鎖可変領域は、本明細書においてフレームワーク領域の側面に位置する C D R L 1、C D R L 2 および C D R L 3 として同定されている3つの C D R を含む。重鎖可変領域は、本明細書においてフレームワーク領域の側面に位置する C D R H 1、C D R H 2 および C D R H 3 として同定される3つの C D R を含む。

#### 【 0 0 6 0 】

本明細書において用語「抗原結合性フラグメント」は、抗原に結合する能力を保持している1つまたは複数のフラグメント（例えば、K A A G 1、K A A G 1 の分泌形態、またはその変異体）を指す。抗体の抗原結合機能は、無傷抗体のフラグメントによって実施され得ることが明らかにされてきた。抗体の「抗原結合性フラグメント」という用語に包含される結合性フラグメントの例としては、( i ) F a b フラグメント、即ち V<sub>L</sub> ドメイン、V<sub>H</sub> ドメイン、C<sub>L</sub> ドメインおよび C<sub>H1</sub> ドメインからなる1価のフラグメント、( i i ) F ( a b ' )<sub>2</sub> フラグメント、即ちヒンジ領域におけるジスルフィド架橋を介して連結される2つの F a b フラグメントを含む2価のフラグメント、( i i i ) V<sub>H</sub> ドメインおよび C<sub>H1</sub> ドメインからなる F d フラグメント、( i v ) 抗体の単一群 ( s i n g l e a r m ) の V<sub>L</sub> ドメインおよび V<sub>H</sub> ドメインからなる F v フラグメント、( v ) V<sub>H</sub> ドメインからなる d A b フラグメント ( W a r d e t a l . , ( 1 9 8 9 ) N a t u r e 3 4 1 : 5 4 4 - 5 4 6 )、ならびに ( v i ) 単離された相補性決定領域 ( C D R )

10

20

30

40

50

、例えば、 $V_H$  CDR3が挙げられる。更にまた、Fvフラグメントの2つのドメイン( $V_L$ および $V_H$ )は、別々の遺伝子によってコードされるが、組み換え方法を用いて、合成リンカーにより、これらを単一ポリペプチド鎖とすることができ、この単一ポリペプチド鎖内で $V_L$ 領域と $V_H$ 領域が対合することによって1価分子が形成される(一本鎖Fv(scFv)として知られる;例えば、Bird et al. (1988) Science 242: 423-426;およびHouston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 5879-5883)を参照のこと)。そのような一本鎖抗体はまた、抗体の「抗原結合性フラグメント」という用語に包含されるように意図されたものである。更にまた、抗原結合性フラグメントは、(i)免疫グロブリンヒンジ領域ポリペプチドに融合された結合ドメインポリペプチド(例えば、重鎖可変領域、軽鎖可変領域、またはリンカーペプチドを介して軽鎖可変領域に融合された重鎖可変領域)と、(ii)ヒンジ領域に融合された免疫グロブリン重鎖CH2定常領域と、(iii)CH2定常領域に融合された免疫グロブリン重鎖CH3定常領域と、を含んでなる結合ドメイン免疫グロブリン融合タンパク質を含む。ヒンジ領域は、1つまたは複数のシステイン残基をセリン残基で置換することによって、二量体化が防止されるように修飾してもよい。そのような結合ドメイン免疫グロブリン融合タンパク質は更に、米国特許出願公開第2003/0118592号明細書および米国特許出願公開第2003/0133939号明細書に開示されている。これらの抗体フラグメントは、当業者に公知の従来技術を使用して取得され、これらのフラグメントは、無傷抗体と同じ方法で、利用のためにスクリーニングされる。

#### 【0061】

典型的な抗原結合部位は、軽鎖免疫グロブリンと重鎖免疫グロブリンとを対にして形成された可変領域から構成される。抗体可変領域の構造は非常に整合性がとれており、極めて類似した構造を呈する。これらの可変領域は典型的に、相補性決定領域(CDR)と呼ばれる3つのハイパー可変領域で離間された比較的相同的なフレームワーク領域(FR)から構成される。抗原結合性フラグメントの全般的な結合活性は多くの場合、CDRの配列によって指令される。FRは、往々にして、最適な抗原結合のために、CDRの3次元での適切な位置決めおよびアライメントにおいてある役割を果たす。

#### 【0062】

本明細書で用いる用語「高い親和性」は、10 nM以下の親和性を指す。用語「高い親和性」は、特に5 nM以下の親和性を有する抗体を含む。さらに具体的には、用語「高い親和性」は、1 nM以下、または0.1 nM以下の親和性を有する抗体を含む。

#### 【0063】

本発明の抗体および/または抗原結合性フラグメントは、例えば、マウス、ネズミもしくは他のいずれかの哺乳動物、または他の供給源(組み換えDNA技術によるものなど)に由来するものであってよい。

#### 【0064】

最初に、KAG1抗体をFabライブラリから単離し、目的とする抗原に対する抗体の特異性を確認した。どのようにしてFabを完全免疫グロブリンに変換するかについての例示的方法を本明細書に記載する。

#### 【0065】

本明細書に記載されている可変領域は、所望される種の定常領域と融合させることが可能であり、そうすることにより、所望される種のエフェクター細胞に抗体を認識させることができる。定常領域は、例えば、IgG1亜型、IgG2亜型、IgG3亜型、またはIgG4亜型に由来し得る。可変領域を用い定常領域をフレーム内でクローニングまたは合成することは、優に当業者の技術範囲内にあり、例えば組み換えDNA技術を介して実施され得る。

#### 【0066】

本発明の特定の実施形態において、KAG1に結合する抗体は、IgG1亜型、IgG2亜型、IgG3亜型、またはIgG4亜型のものであってよい。本発明のより具体的

実施形態は、I g G 1 亜型の抗体、または特にヒト I g G 1 亜型の抗体に関する。本発明の他の具体的実施形態は、I g G 2 亜型の抗体、または特にヒト I g G 2 亜型の抗体に関する。

【0067】

抗体は、I g G 1 亜型の、または特にヒト I g G 1 亜型のヒト化抗体であってよい。あるいは、抗体は、I g G 2 亜型の、または特にヒト I g G 2 亜型のヒト化抗体であってよい。

【0068】

抗体は、例えば、抗体依存性細胞傷害（ADCC）、補体媒介細胞傷害（CMC）の媒介において生物学的に活性であるか、または免疫複合体と結合し得る。典型的ADCCは、ナチュラルキラー（NK）細胞の活性化を含み、NK細胞の表面上のFc受容体による抗体被覆細胞の認識に依存する。Fc受容体は、I g G 1 に存在するような抗体のFcドメインを認識するが、これは、標的細胞、特に、K A A G 1 などの抗原を発現する癌性細胞の表面に結合する。いったんI g GのFc受容体に結合すると、NK細胞は、サイトカインおよび細胞傷害性顆粒を放出し、これらは、標的細胞に進入して、アポトーシスをトリガーすることにより細胞死を促進する。

【0069】

本発明は、K A A G 1 またはK A A G 1 変異体に結合する抗体のコレクションを記載した。特定の実施形態では、抗体は、ポリクローナル抗体、キメラまたはヒト化抗体などのモノクローナル抗体、抗原結合性フラグメントなどの抗体フラグメント、一本鎖抗体、ドメイン抗体、ならびに抗原結合性領域を含むポリペプチドからなる群から選択される。

【0070】

本発明の一形態では、本発明の単離抗体または抗原結合性フラグメントは、K A A G 1 発現腫瘍細胞またはK A A G 1 変異体発現腫瘍細胞の殺傷（排除、破壊、溶解）を誘導することが可能である（例えば、ADCC依存的様式で）。

【0071】

本発明の別の形態では、本発明の単離抗体または抗原結合性フラグメントは、とりわけ、K A A G 1 またはK A A G 1 変異体を発現する腫瘍細胞の広がりを抑制する能力を特徴とし得る。

【0072】

本発明のさらに別の形態では、本発明の単離抗体または抗原結合性フラグメントは、K A A G 1 またはK A A G 1 変異体を発現する腫瘍の形成を低減または阻害する能力を特徴とし得る。

【0073】

本発明の例示的实施形態では、本発明の単離抗体または抗原結合性フラグメントは、定常領域のアミノ酸を含んでよく、これは、例えば、ヒト抗体に由来するものでよい。

【0074】

本発明の別の例示的实施形態では、単離抗体または抗原結合性フラグメントは、ヒト抗体のフレームワークアミノ酸を含み得る。

【0075】

本明細書に記載の例示的实施形態に限定されることなく、本出願人は、本明細書に記載の目的に有用となり得る具体的抗体および抗原結合性フラグメントを作製した。

【0076】

以下は、作製され、特定の様式でK A A G 1 に結合することがわかっている抗体のリストである；3 D 3、3 A 4、3 C 4、3 G 1 0、3 A 2、3 F 6、3 E 8、3 E 1 0、3 A 9、3 B 1、3 G 5、3 B 2、3 B 8、3 G 8、3 F 7、3 E 9、3 G 1 2、3 C 3、3 E 1 2、4 A 2、3 F 1 0、3 F 4、3 B 1 1、3 D 1、3 C 2、3 E 6 および3 H 3。抗体軽鎖または重鎖、可変領域または相補性決定領域（CDR）の配列は、国際公開第2010/060186 A 8号パンフレットとして2010年6月3日に公開されたPCT/CA2009/001586号明細書、国際公開第2011/054112 A 1号パ

10

20

30

40

50

ンフレットとして2011年5月12日に公開されたPCT/CA2010/001795号明細書、または国際公開第2012/129668A1号パンフレットとして2012年10月4日に公開されたPCT/CA2012/000296号明細書から得ることができる。

【0077】

ほとんどの場合、CDRの配列は、個別に記載されているか、または本明細書では太字で示す。

【0078】

その中から、3D3、3A4、3G10および3C4を*in vitro*および/または*in vivo*生物学試験のために選択した。3A4抗体が、最良の特徴を有しているようであった。実験によれば、3A4抗体を治療部分（例えば、細胞傷害剤）と結合させると、その非結合形態より、癌細胞を殺傷する上で有効である。

10

【0079】

例証的实施形態において、抗体または抗原結合性フラグメントは、軽鎖可変領域の任意の独立したCDR、またはCDR1、CDR2および/もしくはCDR3の組み合わせを含んでいてもよい。CDR3はより具体的に選択され得る。組み合わせとしては、例えば、CDRL1およびCDRL3と、CDRL1およびCDRL2と、CDRL2およびCDRL3と、CDRL1、CDRL2およびCDRL3と、を挙げることができる。

【0080】

別の例示的实施形態において、抗体または抗原結合性フラグメントは、重鎖可変領域の任意の独立したCDR、またはCDR1、CDR2および/もしくはCDR3の組み合わせを含んでいてもよい。CDR3はより具体的に選択され得る。組み合わせとしては、例えば、CDRH1およびCDRH3と、CDRH1およびCDRH2と、CDRH2およびCDRH3と、CDRH1、CDRH2およびCDRH3と、を挙げることができる。

20

【0081】

本発明によれば、抗体または抗原結合性フラグメントは、CDRL1、CDRL2またはCDRL3からなる少なくとも2つのCDRを含んでいてもよい。

【0082】

また、本発明によれば、抗体または抗原結合性フラグメントは、1つのCDRL1と、1つのCDRL2と、1つのCDRL3と、を含んでいてもよい。

30

【0083】

更に、本発明によれば、抗体または抗原結合性フラグメントは、  
a. CDR1、CDRL2またはCDRL3からなる少なくとも2つのCDRと、  
b. CDRH1、1つのCDRH2、または1つのCDRH3からなる少なくとも2つのCDRと、  
を含んでいてもよい。

【0084】

抗体または抗原結合性フラグメントは、より好ましくは、1つのCDRL1と、1つのCDRL2と、1つのCDRL3と、を含んでいてもよい。

【0085】

抗体または抗原結合性フラグメントはまた、より好ましくは1つのCDRH1と、1つのCDRH2と、1つのCDRH3と、を含んでいてもよい。

40

【0086】

軽鎖可変領域または重鎖可変領域のどちらか一方のみが利用可能な場合、当該技術分野において公知の方法を使用して、相補可変領域のライブラリをスクリーニングすることによって、抗体または抗原結合性フラグメントを再構成してもよい(Portolano et al., The Journal of Immunology (1993) 150: 880-887, Clarkson et al., Nature (1991) 352: 624-628)。

【0087】

50

本発明の例示的实施形態は、3 D 3、3 A 4、3 C 4、3 G 1 0、3 A 2、3 F 6、3 E 8、3 E 1 0、3 A 9、3 B 1、3 G 5、3 B 2、3 B 8、3 G 8、3 F 7、3 E 9、3 G 1 2、3 C 3、3 E 1 2、4 A 2、3 F 1 0、3 F 4、3 B 1 1、3 D 1、3 C 2、3 E 6または3 H 3の軽鎖および/または重鎖のCDRを有する抗体または抗原結合性フラグメントを包含する。本発明のより具体的実施形態は、3 D 3、3 A 4、3 C 4または3 G 1 0抗体の軽鎖および/もしくは重鎖のCDRを有する抗体または抗原結合性フラグメントを含む。本発明のさらに具体的実施形態は、3 A 4抗体の軽鎖および/もしくは重鎖のCDRを有する抗体または抗原結合性フラグメントを含む。従って、本発明は、3 A 4抗体の1つまたは複数のCDRを含む任意のモノクローナル、キメラ、ヒト、またはヒト化抗体を包含する。

10

## 【0088】

本発明の方法で用いることができる抗体または抗原結合性フラグメントには、3 A 4抗体のCDRを有するものが含まれ、例えば、配列番号49に示すCDRH1、配列番号50または配列番号212に示すCDRH2、配列番号51に示すCDRH3、配列番号52に示すCDRL1、配列番号53に示すCDRL2、および配列番号54に示すCDRL3を含み得る。

## 【0089】

ゆえに、本発明は、K A A G 1に特異的に結合することができ、以下に挙げるものからなる群から選択される配列を含み得る抗体および抗原結合性フラグメントを包含する：

- a. 配列番号16に示す軽鎖可変領域の3つのCDR、および/または配列番号18に示す重鎖可変領域の3つのCDR、
- b. 配列番号20に示す軽鎖可変領域の3つのCDR、および/または配列番号22に示す重鎖可変領域の3つのCDR、
- c. 配列番号24に示す軽鎖可変領域の3つのCDR、および/または配列番号26に示す重鎖可変領域の3つのCDR、
- d. 配列番号48に示す軽鎖可変領域の3つのCDR、および/または配列番号46に示す重鎖可変領域の3つのCDR、
- e. 配列番号103に示す軽鎖可変領域の3つのCDR、および/または配列番号126に示す重鎖可変領域の3つのCDR、
- f. 配列番号104に示す軽鎖可変領域の3つのCDR、および/または配列番号127に示す重鎖可変領域の3つのCDR、
- g. 配列番号105に示す軽鎖可変領域の3つのCDR、および/または配列番号128に示す重鎖可変領域の3つのCDR、
- h. 配列番号106に示す軽鎖可変領域の3つのCDR、および/または配列番号145に示す重鎖可変領域の3つのCDR、
- i. 配列番号107に示す軽鎖可変領域の3つのCDR、および/または配列番号129に示す重鎖可変領域の3つのCDR、
- j. 配列番号108に示す軽鎖可変領域の3つのCDR、および/または配列番号130に示す重鎖可変領域の3つのCDR、
- k. 配列番号109に示す軽鎖可変領域の3つのCDR、および/または配列番号141に示す重鎖可変領域の3つのCDR、
- l. 配列番号110に示す軽鎖可変領域の3つのCDR、および/または配列番号131に示す重鎖可変領域の3つのCDR、
- m. 配列番号111に示す軽鎖可変領域の3つのCDR、および/または配列番号134に示す重鎖可変領域の3つのCDR、
- n. 配列番号112に示す軽鎖可変領域の3つのCDR、および/または配列番号135に示す重鎖可変領域の3つのCDR、
- o. 配列番号113に示す軽鎖可変領域の3つのCDR、および/または配列番号136に示す重鎖可変領域の3つのCDR、
- p. 配列番号114に示す軽鎖可変領域の3つのCDR、および/または配列番号133

20

30

40

50

に示す重鎖可変領域の 3 つの C D R、  
 q . 配列番号 1 1 5 に示す軽鎖可変領域の 3 つの C D R、および / または配列番号 1 4 0  
 に示す重鎖可変領域の 3 つの C D R、  
 r . 配列番号 1 1 6 に示す軽鎖可変領域の 3 つの C D R、および / または配列番号 1 3 7  
 に示す重鎖可変領域の 3 つの C D R、  
 s . 配列番号 1 1 7 に示す軽鎖可変領域の 3 つの C D R、および / または配列番号 1 4 4  
 に示す重鎖可変領域の 3 つの C D R、  
 t . 配列番号 1 1 8 に示す軽鎖可変領域の 3 つの C D R、および / または配列番号 1 3 9  
 に示す重鎖可変領域の 3 つの C D R、  
 u . 配列番号 1 1 9 に示す軽鎖可変領域の 3 つの C D R、および / または配列番号 1 3 2 10  
 に示す重鎖可変領域の 3 つの C D R、  
 v . 配列番号 1 2 0 に示す軽鎖可変領域の 3 つの C D R、および / または配列番号 1 4 2  
 に示す重鎖可変領域の 3 つの C D R、  
 w . 配列番号 1 2 1 に示す軽鎖可変領域の 3 つの C D R、および / または配列番号 1 3 8  
 に示す重鎖可変領域の 3 つの C D R、  
 x . 配列番号 1 2 2 に示す軽鎖可変領域の 3 つの C D R、および / または配列番号 1 4 6  
 に示す重鎖可変領域の 3 つの C D R、  
 y . 配列番号 1 2 3 に示す軽鎖可変領域の 3 つの C D R、および / または配列番号 1 5 3  
 に示す重鎖可変領域の 3 つの C D R、  
 z . 配列番号 1 2 4 に示す軽鎖可変領域の 3 つの C D R、および / または配列番号 1 4 3 20  
 に示す重鎖可変領域の 3 つの C D R、  
 a a . 配列番号 1 8 9 に示す軽鎖可変領域の 3 つの C D R、および / または配列番号 1 9  
 4 に示す重鎖可変領域の 3 つの C D R、  
 b b . 配列番号 1 8 9 に示す軽鎖可変領域の 3 つの C D R、および / または配列番号 1 9  
 5 に示す重鎖可変領域の 3 つの C D R、  
 c c . 配列番号 1 8 9 に示す軽鎖可変領域の 3 つの C D R、および / または配列番号 1 9  
 6 に示す重鎖可変領域の 3 つの C D R、  
 d d . 配列番号 1 8 9 に示す軽鎖可変領域の 3 つの C D R、および / または配列番号 1 9  
 7 に示す重鎖可変領域の 3 つの C D R、  
 e e . 配列番号 1 9 0 に示す軽鎖可変領域の 3 つの C D R、および / または配列番号 1 9 30  
 4 に示す重鎖可変領域の 3 つの C D R、  
 f f . 配列番号 1 9 0 に示す軽鎖可変領域の 3 つの C D R、および / または配列番号 1 9  
 5 に示す重鎖可変領域の 3 つの C D R、  
 g g . 配列番号 1 9 0 に示す軽鎖可変領域の 3 つの C D R、および / または配列番号 1 9  
 6 に示す重鎖可変領域の 3 つの C D R、  
 h h . 配列番号 1 9 0 に示す軽鎖可変領域の 3 つの C D R、および / または配列番号 1 9  
 7 に示す重鎖可変領域の 3 つの C D R。

# 【 0 0 9 0 】

本発明の他の例示的实施形態は、3 D 3、3 A 4、3 C 4、3 G 1 0、3 A 2、3 F 6  
 、3 E 8、3 E 1 0、3 A 9、3 B 1、3 G 5、3 B 2、3 B 8、3 G 8、3 F 7、3 E 40  
 9、3 G 1 2、3 C 3、3 E 1 2、4 A 2、3 F 1 0、3 F 4、3 B 1 1、3 D 1、3 C  
 2、3 E 6 または 3 H 3 の軽鎖および / もしくは重鎖を有する抗体または抗原結合性フラ  
 グメントを包含する。本発明のより具体的実施形態は、3 D 3、3 A 4、3 C 4 または 3  
 G 1 0 抗体の軽鎖および / もしくは重鎖を有する抗体または抗原結合性フラグメントを含  
 む。本発明のさらに具体的実施形態は、3 A 4 抗体 ( ヒト化および非ヒト化 ) の軽鎖およ  
 び / もしくは重鎖を有する抗体または抗原結合性フラグメントを含む。

# 【 0 0 9 1 】

ゆえに、本発明は、K A A G 1 に特異的に結合することができ、以下に挙げるものから  
 なる群から選択される配列を含み得る抗体および抗原結合性フラグメントを包含する：

a . 配列番号 1 6 に示す軽鎖可変領域 ( 配列番号 1 5 によりコードされている )、および 50

- / または配列番号 1 8 に示す重鎖可変領域 (配列番号 1 7 によりコードされている)、
- b . 配列番号 2 0 に示す軽鎖可変領域 (配列番号 1 9 によりコードされている)、および
- / または配列番号 2 2 に示す重鎖可変領域 (配列番号 2 1 によりコードされている)、
- c . 配列番号 2 4 に示す軽鎖可変領域 (配列番号 2 3 によりコードされている)、および
- / または配列番号 2 6 に示す重鎖可変領域 (配列番号 2 5 によりコードされている)、
- d . 配列番号 4 8 に示す軽鎖可変領域、および / または配列番号 4 6 に示す重鎖可変領域、
- e . 配列番号 1 0 3 に示す軽鎖可変領域、および / または配列番号 1 2 6 に示す重鎖可変領域、
- f . 配列番号 1 0 4 に示す軽鎖可変領域、および / または配列番号 1 2 7 に示す重鎖可変領域、 10
- g . 配列番号 1 0 5 に示す軽鎖可変領域、および / または配列番号 1 2 8 に示す重鎖可変領域、
- h . 配列番号 1 0 6 に示す軽鎖可変領域、および / または配列番号 1 4 5 に示す重鎖可変領域、
- i . 配列番号 1 0 7 に示す軽鎖可変領域、および / または配列番号 1 2 9 に示す重鎖可変領域、
- j . 配列番号 1 0 8 に示す軽鎖可変領域、および / または配列番号 1 3 0 に示す重鎖可変領域、
- k . 配列番号 1 0 9 に示す軽鎖可変領域、および / または配列番号 1 4 1 に示す重鎖可変領域、 20
- l . 配列番号 1 1 0 に示す軽鎖可変領域、および / または配列番号 1 3 1 に示す重鎖可変領域、
- m . 配列番号 1 1 1 に示す軽鎖可変領域、および / または配列番号 1 3 4 に示す重鎖可変領域、
- n . 配列番号 1 1 2 に示す軽鎖可変領域、および / または配列番号 1 3 5 に示す重鎖可変領域、
- o . 配列番号 1 1 3 に示す軽鎖可変領域、および / または配列番号 1 4 0 に示す重鎖可変領域、
- p . 配列番号 1 1 4 に示す軽鎖可変領域、および / または配列番号 1 3 3 に示す重鎖可変領域、 30
- q . 配列番号 1 1 5 に示す軽鎖可変領域、および / または配列番号 1 4 0 に示す重鎖可変領域、
- r . 配列番号 1 1 6 に示す軽鎖可変領域、および / または配列番号 1 3 7 に示す重鎖可変領域、
- s . 配列番号 1 1 7 に示す軽鎖可変領域、および / または配列番号 1 4 4 に示す重鎖可変領域、
- t . 配列番号 1 1 8 に示す軽鎖可変領域、および / または配列番号 1 3 9 に示す重鎖可変領域、
- u . 配列番号 1 1 9 に示す軽鎖可変領域、および / または配列番号 1 3 2 に示す重鎖可変領域、 40
- v . 配列番号 1 2 0 に示す軽鎖可変領域、および / または配列番号 1 4 2 に示す重鎖可変領域、
- w . 配列番号 1 2 1 に示す軽鎖可変領域、および / または配列番号 1 3 8 に示す重鎖可変領域、
- x . 配列番号 1 2 2 に示す軽鎖可変領域、および / または配列番号 1 4 6 に示す重鎖可変領域、
- y . 配列番号 1 2 3 に示す軽鎖可変領域、および / または配列番号 1 4 7 に示す重鎖可変領域、
- z . 配列番号 1 2 4 に示す軽鎖可変領域、および / または配列番号 1 4 4 に示す重鎖可変 50

領域、

a a . 配列番号 1 8 9 に示す軽鎖可変領域、および / または配列番号 1 9 4 に示す重鎖可変領域、

b b . 配列番号 1 8 9 に示す軽鎖可変領域、および / または配列番号 1 9 5 に示す重鎖可変領域、

c c . 配列番号 1 9 0 に示す軽鎖可変領域、および / または配列番号 1 9 4 に示す重鎖可変領域、

d d . 配列番号 1 9 0 に示す軽鎖可変領域、および / または配列番号 1 9 5 に示す重鎖可変領域、

e e . 配列番号 1 9 0 に示す軽鎖可変領域、および / または配列番号 1 9 6 に示す重鎖可変領域、

f f . 配列番号 1 9 0 に示す軽鎖可変領域、および / または配列番号 1 9 7 に示す重鎖可変領域。

10

【 0 0 9 2 】

本明細書に記載の重鎖および / または軽鎖のフレームワーク領域は、本明細書に記載の抗体において例示するフレームワーク領域の 1 つまたは複数に由来するものでもよい。抗体または抗原結合性フラグメントは、従って、本明細書に記載する C D R (例えば、配列番号 7 2 ~ 8 8 の特定の C D R もしくは共通 C D R または配列番号 8 9 ~ 1 0 2 の C D R 変異体)ならびに本明細書に記載のものに由来するフレームワーク領域の 1 つまたは複数を含み得る。配列番号 1 0 3 ~ 1 5 4 において、予想される C D R を太字で示すが、フレームワーク領域は太字ではない。

20

【 0 0 9 3 】

表 1 は、生物学的試験のために選択されたいくつかの抗 K A A G 1 抗体の軽鎖および重鎖の完全配列に関する。

【 0 0 9 4 】

【表 1】

表1

抗体名	鎖のタイプ	ヌクレオチド 配列 (配列番号)	アミノ酸配列 (配列番号)
3D3	軽鎖 (L)	3	4
3D3	重鎖 (H)	5	6
3G10	軽鎖	7	8
3G10	重鎖	9	10
3C4	軽鎖	11	12
3C4	重鎖	13	14
ヒト化 3D3	軽鎖		166
ヒト化 3D3	重鎖		167
ヒト化 3C4	軽鎖		170
ヒト化 3C4	重鎖		171
ヒト化 3A4	軽鎖 (Lh1)		199
ヒト化 3A4	軽鎖 (Lh2)		200
ヒト化 3A4	重鎖 (Hh1)		202
ヒト化 3A4	重鎖 (Hh2)		203
ヒト化 3A4	重鎖 (Hh3)		204
ヒト化 3A4	重鎖 (Hh4)		205

## 【 0 0 9 5 】

エピトープマッピング研究から、3 D 3 抗体が、アミノ酸 3 6 ~ 6 0 (両端を含む) にわたる K A A G 1 エピトープと相互作用することが判明した。3 G 1 0 および 3 A 4 抗体は、アミノ酸 6 1 ~ 8 4 (両端を含む) にわたる K A A G 1 エピトープと相互作用し、また、3 C 4 抗体は、アミノ酸 1 ~ 3 5 (両端を含む) にわたる K A A G 1 エピトープと相互作用する。3 G 1 0 および 3 A 4 は、同様の領域に結合するが、3 G 1 0 抗体は、3 A 4 抗体ほど効率的に K A A G 1 に結合しない。

## 【 0 0 9 6 】

本明細書において、上に挙げた特定の組合せの軽鎖可変領域は、他のいずれかの軽鎖可変領域に変更してもよいことは理解すべきである。同様に、上に挙げた特定の組合せの重鎖可変領域も、他のいずれかの重鎖可変領域に変更してよい。

## 【 0 0 9 7 】

K A A G 1 に結合する、選択抗体の軽鎖および重鎖可変領域の配列を表 2 に記載する。

## 【 0 0 9 8 】

【表 2】

表 2

抗体名	可変領域のタイプ	ヌクレオチド (配列番号)	アミノ酸 (配列番号)
3D3	軽鎖 (VL)	15	16
3D3	重鎖 (VH)	17	18
3G10	軽鎖	19	20
3G10	重鎖	21	22
3C4	軽鎖	23	24
3C4	重鎖	25	26
3A2	軽鎖		103
3A2	重鎖		126
3E10	軽鎖		106
3E10	重鎖		145
3G12	軽鎖		121
3G12	重鎖		138
3A4	軽鎖	47	48
3A4	重鎖	45	46
ヒト化 3D3	軽鎖		168
ヒト化 3D3	重鎖		169
ヒト化 3C4	軽鎖		172
ヒト化 3C4	重鎖		173
ヒト化 3A4	軽鎖 (Lvhl)		189
ヒト化 3A4	軽鎖 (Lvhl2)		190
ヒト化 3A4	重鎖 (Hvhl)		194
ヒト化 3A4	重鎖 (Hvhl2)		195
ヒト化 3A4	重鎖 (Hvhl3)		197
ヒト化 3A4	重鎖 (Hvhl4)		198

## 【 0 0 9 9 】

配列番号 1 0 3 ~ 1 5 4 は、K A A G 1 に結合することがわかった他の抗体の軽鎖可変領域および重鎖可変領域に対応する。

## 【 0 1 0 0 】

K A A G 1 に結合する、選択抗体の軽鎖および重鎖可変領域の C D R 配列を表 3 に記載する。

10

20

30

40

50

【 0 1 0 1 】

【 表 3 】

表 3

抗体名	鎖のタイプ	CDR	配列番号	アミノ酸配列
3D3	軽鎖(L)	CDR L1	27	KSSQSLLNSNFQKNFLA
3D3	軽鎖	CDR L2	28	FASTRES
3D3	軽鎖	CDR L3	29	QQHYSTPLT
3D3	重鎖(H)	CDR H1	30	GYIFTDYEIH
3D3	重鎖	CDR H2	31	VIDPETGNTA
3D3	重鎖	CDR H3	32	MGYS DY
3G10	軽鎖	CDR L1	33	RSSQSLLHSNGNTYLE
3G10	軽鎖	CDR L2	34	KVSNRFS
3G10	軽鎖	CDR L3	35	FQGSHVPLT
3G10	重鎖	CDR H1	36	GYTFTDNYMN
3G10	重鎖	CDR H2	37	DINPYYGTTT
3G10	重鎖	CDR H3	38	ARDDWFDY
3C4	軽鎖	CDR L1	39	KASQDIHNFLN
3C4	軽鎖	CDR L2	40	RANRLVD
3C4	軽鎖	CDR L3	41	LQYDEIPLT
3C4	重鎖	CDR H1	42	GFSITSGYGWH
3C4	重鎖	CDR H2	43	YINYDGHND
3C4	重鎖	CDR H3	44	ASSYDGLFAY
3A2	軽鎖	CDR L1	148	KSSQSLLHSDGKTYLN
3A2	軽鎖	CDR L2	149	LVSKLDS
3A2	軽鎖	CDR L3	150	WQGTHFPRT
3A2	重鎖	CDR H1	151	GYTFTD YNMH
3A2	重鎖	CDR H2	152	YINPYNDVTE
3A2	重鎖	CDR H3	153	AWFGL RQ
3E10	軽鎖	CDR L1	154	RSSKSLLHSNGN TYLY
3E10	軽鎖	CDR L2	155	RMSNLAS
3E10	軽鎖	CDR L3	156	MQHLEYPYT
3E10	重鎖	CDR H1	157	GDTFTD YYMN

【 0 1 0 2 】

【表 4】

抗体名	鎖のタイプ	CDR	配列番号	アミノ酸配列
3E10	重鎖	CDR H2	158	DINPNYGGIT
3E10	重鎖	CDR H3	159	QAYYRNS DY
3G12	軽鎖	CDR L1	160	KASQDVGTAVA
3G12	軽鎖	CDR L2	161	WTSTRHT
3G12	軽鎖	CDR L3	162	QQHYSIPLT
3G12	重鎖	CDR H1	163	GYIFTDYEIH
3G12	重鎖	CDR H2	164	VIDPETGNTA
3G12	重鎖	CDR H3	165	MGYS DY
3A4	軽鎖	CDR L1	52	RSSQSLLHSNGNTYLE
3A4	軽鎖	CDR L2	53	TVSNRFS
3A4	軽鎖	CDR L3	54	FQGS HVPLT
3A4	重鎖	CDR H1	49	GYTFTDDYMS
3A4	重鎖	CDR H2	50 または 212	DINPYNGDTN YNQKFKG または DINPYNGDTN
3A4	重鎖	CDR H3	51	DPGAMDY

## 【 0 1 0 3 】

変異体抗体および抗原結合性フラグメント

本発明はまた、本明細書に記載されている抗体または抗原結合性フラグメントの変異体を包含する。包含される変異体抗体または抗原結合性フラグメントは、アミノ酸配列において変異を有するものである。例えば、包含される変異体抗体または抗原結合性フラグメントは、少なくとも1つの変異体CDR(2つ、3つ、4つ、5つもしくは6つの変異体CDR等、または更には12個の変異体CDR)、変異体軽鎖可変領域、変異体重鎖可変領域、変異体軽鎖および/または変異体重鎖を有するものである。本発明に包含される変異体抗体または抗原結合性フラグメントは、例えば、元の抗体または抗原結合性フラグメントと比較して結合親和性が類似しているかまたは改善されているものである。

## 【 0 1 0 4 】

本明細書において用語「変異体」は、本明細書に記載されているいずれの配列にも適用され、例えば、変異体CDR(CDRL1、CDRL2、CDRL3、CDRH1、CDRH2および/またはCDRH3のいずれか)、変異体軽鎖可変領域、変異体重鎖可変領域、変異体軽鎖、変異体重鎖、変異体抗体、変異体抗原結合性フラグメント、ならびにKAA G1変異体を包含する。

## 【 0 1 0 5 】

置換型突然変異誘発に極めて重要な部位としては、ハイパー可変領域(CDR)が挙げられるが、フレームワーク領域内、またはさらには定常領域での修飾改変も考慮される。CDR変異体の例示的实施形態を配列番号72~102に示す。

## 【 0 1 0 6 】

保存的置換は、下掲の群(1群~6群)のいずれか1つからの(CDR、可変鎖、抗体な

どの) アミノ酸を同じ群の別のアミノ酸と交換することによって為され得る。

【0107】

保存的置換の他の例示的实施形態を、表1Aの「好適な置換 (preferred substitutions)」という見出しの下に示す。そのような置換の結果、所望されない特性が得られた場合は、表1Aで「例示的置換」と呼ぶより実質的な変更、またはアミノ酸のクラスに関して更に詳しく後述するような変更を導入して、生成物をスクリーニングすることもできる。

【0108】

変異体が置換変異によって生成され、かつ本発明のポリペプチドの生物学的活性を保持し得ることは、当該技術分野において公知である。これらの変異体は、アミノ酸配列中の少なくとも1つのアミノ酸残基が除去され、その代わりに別の残基が挿入されている。例えば、置換型突然変異に重要な部位の1つとして、異なる種から採取される特定の残基どうしが同一である部位を挙げることができる。「保存的置換」と同定される置換の例を表1Aに示す。そのような置換の結果、望ましくない変更が生じた場合、表1A中で「例示的な置換」と呼ばれる、または、更に本明細書においてアミノ酸クラスを参照して詳述されているような他のタイプの置換を導入し、生成物をスクリーニングする。

【0109】

機能または免疫学的同一性における実質的な修正は、(a) 置換の領域におけるポリペプチド主鎖の (例えば、シート立体配座またはヘリックス立体配座としての) 構造、(b) 標的部位における分子の電荷または疎水性、または (c) 側鎖のバルクを維持する効果に有意な違いのある置換を選択することによって達成される。天然残基は、一般の側鎖特性に基づいて次の群に分類される。

(1群) 疎水性: ノルロイシン、メチオニン (Met)、アラニン (Ala)、バリン (Val)、ロイシン (Leu)、イソロイシン (Ile)

(2群) 中性親水性: システイン (Cys)、セリン (Ser)、スレオニン (Thr)

(3群) 酸性: アスパラギン酸 (Asp)、グルタミン酸 (Glu)

(4群) 塩基性: アスパラギン (Asn)、グルタミン (Gln)、ヒスチジン (His)、リジン (Lys)、アルギニン (Arg)

(5群) 鎖配向に影響する残基: グリシン (Gly)、プロリン (Pro)、および

(6群) 芳香族: トリプトファン (Trp)、チロシン (Tyr)、フェニルアラニン (Phe)

【0110】

非保存的置換は、これらの部類のメンバーの相互交換を伴う。

【0111】

10

20

30

## 【表 5】

表 1A. アミノ酸置換

元の残基	例示的置換	保存的置換
Ala (A)	Val, Leu, Ile	Val
Arg (R)	Lys, Gln, Asn	Lys
Asn (N)	Gln, His, Lys, Arg, Asp	Gln
Asp (D)	Glu, Asn	Glu
Cys (C)	Ser, Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp, Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn, Gln, Lys, Arg,	Arg
Ile (I)	Leu, Val, Met, Ala, Phe, ノルロイシン	Leu
Leu (L)	ノルロイシン, Ile, Val, Met, Ala, Phe	Ile
Lys (K)	Arg, Gln, Asn	Arg
Met (M)	Leu, Phe, Ile	Leu
Phe (F)	Leu, Val, Ile, Ala, Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Ser	Ser
Trp (W)	Tyr, Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe
Val (V)	Ile, Leu, Met, Phe, Ala, ノルロイシン	Leu

## 【0112】

変異体抗体または抗原結合性フラグメントのアミノ酸配列の改変としては、アミノ酸付加、欠失、挿入、置換など、1個または複数個のアミノ酸の骨格または側鎖における1つまたは複数の修飾、または1個または複数個のアミノ酸（側鎖または骨格）への1つの基もしくは別の分子の付加が挙げられる。

## 【0113】

元の抗体または抗原結合性フラグメントのアミノ酸配列と比べて、変異体抗体または抗原結合性フラグメントは、そのアミノ酸配列において実質的な配列類似性および/または配列同一性を有し得る。2つの配列間の類似性の度合いは、同一性（同一のアミノ酸）および保存的置換のパーセンテージに基づく。

## 【0114】

本明細書において可変鎖間の類似性および同一性の度合いは一般的に、B l a s t 2 配列プログラム ( T a t i a n a A . T a t u s o v a , T h o m a s L . M a d d e n ( 1 9 9 9 ) 、 「 B l a s t 2 s e q u e n c e s - a n e w t o o l f o r c o m p a r i n g p r o t e i n a n d n u c l e o t i d e s e q u e n c e s 」 , F E M S M i c r o b i o l L e t t . 1 7 4 : 2 4 7 - 2 5 0 ) を用い、既定の設定を使用して、即ち、b l a s t p プログラム、B L O S U M 6 2 マトリックス ( 開始ギャップ 1 1 およびギャップ伸張のペナルティ 1 ; g a p x ドロップオフ 5 0 、期待値 1 0 . 0 、ワードサイズ 3 ) および活性化フィルタを使用して、定量されてきた。

【 0 1 1 5 】

10

ゆえに、同一性パーセントは、元のペプチドと比較して同一なアミノ酸であり、かつ同じまたは類似する位置を占有し得るアミノ酸を示す。類似性パーセントは、同じ位置または類似の位置にある元のペプチドと比較して同一なアミノ酸であり、かつ保存的なアミノ酸置換で置換されるアミノ酸を示す。

【 0 1 1 6 】

ゆえに、本発明の変異体は、元の配列または元の配列の一部に対して少なくとも 7 0 % 、 7 5 % 、 8 0 % 、 8 1 % 、 8 2 % 、 8 3 % 、 8 4 % 、 8 5 % 、 8 6 % 、 8 7 % 、 8 8 % 、 8 9 % 、 9 0 % 、 9 1 % 、 9 2 % 、 9 3 % 、 9 4 % 、 9 5 % 、 9 6 % 、 9 7 % 、 9 8 % 、 9 9 % または 1 0 0 % の配列同一性を有し得るものを含む。

【 0 1 1 7 】

20

変異体の例示的实施形態は、本明細書に記載されている配列に対して少なくとも 8 1 % の配列同一性を有し、元の配列または元の配列の一部に対して 8 1 % 、 8 2 % 、 8 3 % 、 8 4 % 、 8 5 % 、 8 6 % 、 8 7 % 、 8 8 % 、 8 9 % 、 9 0 % 、 9 1 % 、 9 2 % 、 9 3 % 、 9 4 % 、 9 5 % 、 9 6 % 、 9 7 % 、 9 8 % 、 9 9 % または 1 0 0 % の配列類似性を有するものである。

【 0 1 1 8 】

変異体の他の例示的实施形態は、本明細書に記載されている配列に対して少なくとも 8 2 % の配列同一性を有し、元の配列または元の配列の一部に対して 8 2 % 、 8 3 % 、 8 4 % 、 8 5 % 、 8 6 % 、 8 7 % 、 8 8 % 、 8 9 % 、 9 0 % 、 9 1 % 、 9 2 % 、 9 3 % 、 9 4 % 、 9 5 % 、 9 6 % 、 9 7 % 、 9 8 % 、 9 9 % または 1 0 0 % の配列類似性を有するものである。

30

【 0 1 1 9 】

変異体の更なる例示的实施形態は、本明細書に記載されている配列に対して少なくとも 8 5 % の配列同一性を有し、元の配列または元の配列の一部に対して 8 5 % 、 8 6 % 、 8 7 % 、 8 8 % 、 8 9 % 、 9 0 % 、 9 1 % 、 9 2 % 、 9 3 % 、 9 4 % 、 9 5 % 、 9 6 % 、 9 7 % 、 9 8 % 、 9 9 % または 1 0 0 % の配列類似性を有するものである。

【 0 1 2 0 】

変異体の他の例示的实施形態は、本明細書に記載されている配列に対して少なくとも 9 0 % の配列同一性を有し、元の配列または元の配列の一部に対して 9 0 % 、 9 1 % 、 9 2 % 、 9 3 % 、 9 4 % 、 9 5 % 、 9 6 % 、 9 7 % 、 9 8 % 、 9 9 % または 1 0 0 % の配列類似性を有するものである。

40

【 0 1 2 1 】

変異体の付加的な例示的实施形態は、本明細書に記載されている配列に対して少なくとも 9 5 % の配列同一性を有し、元の配列または元の配列の一部に対して 9 5 % 、 9 6 % 、 9 7 % 、 9 8 % 、 9 9 % または 1 0 0 % の配列類似性を有するものである。

【 0 1 2 2 】

変異体の更なる付加的な例示的实施形態は、本明細書に記載されている配列に対して少なくとも 9 7 % の配列同一性を有し、元の配列または元の配列の一部に対して 9 7 % 、 9 8 % 、 9 9 % または 1 0 0 % の配列類似性を有するものである。

【 0 1 2 3 】

50

簡潔にするために、本出願者は本発明に包含される個々の変異体の例示的实施形態を示した表 1 B を提供している。この表 1 B には、特定の配列同一性 (%) および配列類似性 (%) が含まれている。各「X」は所定の変異体を定義するものと解釈すべきである。

【 0 1 2 4 】

【表 6】

表 1B		配列同一性パーセント (%)																				
パーセント (%)		80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
	80	X																				
	81	X	X																			
	82	X	X	X																		
	83	X	X	X	X																	
	84	X	X	X	X	X																
	85	X	X	X	X	X	X															
	86	X	X	X	X	X	X	X														
	87	X	X	X	X	X	X	X	X													
	88	X	X	X	X	X	X	X	X	X												
	89	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X											
	90	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X										
	91	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X									
	92	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X								
	93	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X							
	94	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X						
	95	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X					
	96	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X				
	97	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X			
	98	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
	99	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	100	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

【 0 1 2 5 】

本発明は、本明細書に記載されている配列に対して少なくとも 70 % の同一性または少なくとも 80 % の同一性を有する C D R、軽鎖可変領域、重鎖可変領域、軽鎖、重鎖、抗体および / または抗原結合性フラグメントを包含する。

【 0 1 2 6 】

ゆえに、本発明は、K A A G 1 に特異的に結合することができ、以下に挙げるものからなる群から選択される配列を含み得る抗体および抗原結合性フラグメントを包含する：

- a . 配列番号 1 6 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域、および配列番号 1 8 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、
- b . 配列番号 2 0 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域、および配列番号 2 2 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、
- c . 配列番号 2 4 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域、および配列番号 2 6 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、
- d . 配列番号 4 8 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域、および配列番号 4 6 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、
- e . 配列番号 1 0 3 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域、および配列番号 1 2 6 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、
- f . 配列番号 1 0 4 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域、および配列番号 1 2 7 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、
- g . 配列番号 1 0 5 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域、および配列番号 1 2 8 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、
- h . 配列番号 1 0 6 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域、および配列番号 1 4 5 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、
- i . 配列番号 1 0 7 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域、および配列番号 1 2 8 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、

j . 配列番号 1 0 8 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域、および配列番号 1 3 0 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、

k . 配列番号 1 0 9 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域、および配列番号 1 4 1 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、

l . 配列番号 1 1 0 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域、および配列番号 1 3 1 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、

m . 配列番号 1 1 1 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域、および配列番号 1 3 4 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、

n . 配列番号 1 1 2 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域、および配列番号 1 3 5 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、

o . 配列番号 1 1 3 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域、および配列番号 1 3 6 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、

p . 配列番号 1 1 4 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域、および配列番号 1 3 3 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、

q . 配列番号 1 1 5 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域、および配列番号 1 4 0 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、

r . 配列番号 1 1 6 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域、および配列番号 1 3 7 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、

s . 配列番号 1 1 7 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域、および配列番号 1 4 4 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、

t . 配列番号 1 1 8 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域、および配列番号 1 3 9 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、

u . 配列番号 1 1 9 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域、および配列番号 1 3 2 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、

v . 配列番号 1 2 0 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域、および配列番号 1 4 2 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、

w . 配列番号 1 2 1 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域、および配列番号 1 3 8 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、

x . 配列番号 1 2 2 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域、および配列番号 1 4 6 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、

y . 配列番号 1 2 3 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域、および配列番号 1 4 7 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、

z . 配列番号 1 2 4 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域、および配列番号 1 4 3 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有する重鎖可変領域。

#### 【 0 1 2 7 】

本発明によれば、変異体抗体または抗原結合性フラグメントは、対応する軽鎖および/または重鎖可変領域のそれと同一の C D R を含んでもよい。別の例では、変異体抗体または抗原結合性フラグメントは、変異体 C D R を含んでもよい。

#### 【 0 1 2 8 】

ゆえに、本発明の変異体抗体または抗原結合性フラグメントの例示的实施形態は、配列番号 1 6、2 0、2 4、1 0 3、1 0 6 または 1 2 1 と少なくとも 7 0 %、7 5 %、8 0 % 同一の配列を含む軽鎖可変領域を含むものである。このような変異体の C D R は、対応する非変異体（野生型配列）抗体または抗原結合性フラグメントのそれと同一であっても、または 1 ~ 3 個のアミノ酸が異なってもよい。

#### 【 0 1 2 9 】

変異体抗体軽鎖可変領域の別の例示的实施形態は、配列番号 1 6 の C D R アミノ酸配列と 1 0 0 % 同一の C D R アミノ酸配列を有し、かつ、配列番号 1 6 のフレームワーク領域と比較して、そのフレームワーク領域に例えば 1 ~ 2 2 のアミノ酸修飾（例えば、保存的または非保存的アミノ酸置換）を有する軽鎖可変領域を包含する。配列番号 1 6 変異体は、配列番号 1 6 8 に示される。

10

20

30

40

50

## 【0130】

変異体抗体軽鎖可変領域の例示的实施形態は、配列番号20のCDRアミノ酸配列と100%同一のCDRアミノ酸配列を有し、かつ、配列番号20のフレームワーク領域と比較して、そのフレームワーク領域に例えば1~22のアミノ酸修飾（例えば、保存的または非保存的アミノ酸置換）を有する軽鎖可変領域を包含する。

## 【0131】

変異体抗体軽鎖可変領域の例示的实施形態は、配列番号24のCDRアミノ酸配列と100%同一のCDRアミノ酸配列を有し、かつ、配列番号24のフレームワーク領域と比較して、そのフレームワーク領域に例えば1~21のアミノ酸修飾（例えば、保存的または非保存的アミノ酸置換）を有する軽鎖可変領域を包含する。配列番号24変異体は、配列番号172に示される。

10

## 【0132】

変異体抗体軽鎖可変領域の例示的实施形態は、配列番号103のCDRアミノ酸配列と100%同一のCDRアミノ酸配列を有し、かつ、配列番号103のフレームワーク領域と比較して、そのフレームワーク領域に例えば1~22のアミノ酸修飾（例えば、保存的または非保存的アミノ酸置換）を有する軽鎖可変領域を包含する。

## 【0133】

変異体抗体軽鎖可変領域の例示的实施形態は、配列番号106のCDRアミノ酸配列と100%同一のCDRアミノ酸配列を有し、かつ、配列番号106のフレームワーク領域と比較して、そのフレームワーク領域に例えば1~22のアミノ酸修飾（例えば、保存的または非保存的アミノ酸置換）を有する軽鎖可変領域を包含する。

20

## 【0134】

変異体抗体軽鎖可変領域の例示的实施形態は、配列番号121のCDRアミノ酸配列と100%同一のCDRアミノ酸配列を有し、かつ、配列番号121のフレームワーク領域と比較して、そのフレームワーク領域に例えば1~21のアミノ酸修飾（例えば、保存的または非保存的アミノ酸置換）を有する軽鎖可変領域を包含する。

## 【0135】

場合によっては、変異体抗体の重鎖可変領域は、（アミノ酸置換と組み合わせた、またはアミノ酸置換を含まない）アミノ酸欠失または付加を含んでいてもよい。多くの場合、1、2、3、4または5個のアミノ酸欠失または付加が許容され得る。

30

## 【0136】

ゆえに、本発明の変異体抗体または抗原結合性フラグメントの例示的实施形態は、配列番号18、22、26、126、138または145と少なくとも70%、75%、80%同一の配列を含む重鎖可変領域を含むものである。このような変異体のCDRは、対応する非変異体（野生型配列）抗体または抗原結合性フラグメントのそれと同一であっても、または1~3個のアミノ酸が異なってもよい。

## 【0137】

変異体抗体重鎖可変領域の例示的实施形態は、配列番号18のCDRアミノ酸配列と100%同一のCDRアミノ酸配列を有し、かつ、配列番号18のフレームワーク領域と比較して、そのフレームワーク領域に例えば1~22のアミノ酸修飾（例えば、保存的または非保存的アミノ酸置換）を有する重鎖可変領域を包含する。配列番号18変異体は、配列番号169に示される。

40

## 【0138】

変異体抗体重鎖可変領域の例示的实施形態は、配列番号22のCDRアミノ酸配列と100%同一のCDRアミノ酸配列を有し、かつ、配列番号22のフレームワーク領域と比較して、そのフレームワーク領域に例えば1~23のアミノ酸修飾（例えば、保存的または非保存的アミノ酸置換）を有する重鎖可変領域を包含する。

## 【0139】

変異体抗体重鎖可変領域の例示的实施形態は、配列番号26のCDRアミノ酸配列と100%同一のCDRアミノ酸配列を有し、かつ、配列番号26のフレームワーク領域と比

50

較して、そのフレームワーク領域に例えば 1 ~ 2 3 のアミノ酸修飾（例えば、保存的または非保存的アミノ酸置換）を有する重鎖可変領域を包含する。配列番号 2 6 変異体は、配列番号 1 7 3 に示される。

【 0 1 4 0 】

変異体抗体重鎖可変領域の例示的实施形態は、配列番号 1 2 6 の C D R アミノ酸配列と 1 0 0 % 同一の C D R アミノ酸配列を有し、かつ、配列番号 1 2 6 のフレームワーク領域と比較して、そのフレームワーク領域に例えば 1 ~ 2 3 のアミノ酸修飾（例えば、保存的または非保存的アミノ酸置換）を有する重鎖可変領域を包含する。

【 0 1 4 1 】

変異体抗体重鎖可変領域の例示的实施形態は、配列番号 1 4 5 の C D R アミノ酸配列と 1 0 0 % 同一の C D R アミノ酸配列を有し、かつ、配列番号 1 4 5 のフレームワーク領域と比較して、そのフレームワーク領域に例えば 1 ~ 2 3 のアミノ酸修飾（例えば、保存的または非保存的アミノ酸置換）を有する重鎖可変領域を包含する。

10

【 0 1 4 2 】

変異体抗体重鎖可変領域の例示的实施形態は、配列番号 1 3 8 の C D R アミノ酸配列と 1 0 0 % 同一の C D R アミノ酸配列を有し、かつ、配列番号 1 3 8 のフレームワーク領域と比較して、そのフレームワーク領域に例えば 1 ~ 2 2 のアミノ酸修飾（例えば、保存的または非保存的アミノ酸置換）を有する重鎖可変領域を包含する。

【 0 1 4 3 】

場合により、変異体抗体重鎖可変領域は、アミノ酸欠失または付加（アミノ酸置換と組み合わせ、または組み合わせずに）を含み得る。往々にして、1、2、3、4 もしくは 5 つのアミノ酸欠失または付加が許容され得る。

20

【 0 1 4 4 】

変異体 C D R

また本発明には、本発明に記載されている（元の C D R と比較して）少なくとも 1 つの C D R に少なくとも 1 つの保存的アミノ酸置換を有する可変鎖を含むポリペプチド、抗体または抗原結合性フラグメントも含まれる。

【 0 1 4 5 】

本発明はさらに、（元の C D R と比較して）少なくとも 2 つの C D R の少なくとも 1 つの保存的アミノ酸置換を有する可変鎖を含むポリペプチド、抗体または抗原結合性フラグメントも含む。

30

【 0 1 4 6 】

本発明はさらに、（元の C D R と比較して）少なくとも 3 つの C D R に少なくとも 1 つの保存的アミノ酸置換を有する可変鎖を含むポリペプチド、抗体または抗原結合性フラグメントも含む。

【 0 1 4 7 】

本発明はさらに、（元の C D R と比較して）少なくとも 1 つの C D R に少なくとも 2 つの保存的アミノ酸置換を有する可変鎖を含むポリペプチド、抗体または抗原結合性フラグメントも含む。

【 0 1 4 8 】

本発明はさらに、（元の C D R と比較して）少なくとも 2 つの C D R に少なくとも 2 つの保存的アミノ酸置換を有する可変鎖を含むポリペプチド、抗体または抗原結合性フラグメントも含む。

40

【 0 1 4 9 】

本発明はさらに、（元の C D R と比較して）少なくとも 2 つの C D R に少なくとも 2 つの保存的アミノ酸置換を有する可変鎖を含むポリペプチド、抗体または抗原結合性フラグメントも含む。

【 0 1 5 0 】

最も優れた特徴を示す軽鎖可変領域または重鎖可変領域のアミノ酸配列の比較によって、C D R 内および可変領域内の共通配列を取得することができた。C D R の共通配列は、

50

配列番号 72 ~ 88 に記載する。

【0151】

ゆえに、例示的实施形態において、本発明は、以下：

- a . 配列番号 72 および配列番号 73 からなる群から選択される C D R L 1 配列、
- b . 配列番号 74、配列番号 75 および配列番号 76 からなる群から選択される C D R L 2 配列、
- c . 配列番号 77、配列番号 78 および配列番号 79 からなる群から選択される C D R L 3 配列

を有する軽鎖可変領域を含む、単離抗体または抗原結合性フラグメントを提供する。

【0152】

ゆえに、例示的实施形態において、本発明は、以下：

- a . 配列番号 80 を含む C D R H 1 配列、
- b . 配列番号 81、配列番号 82、配列番号 83、配列番号 84 および配列番号 85 からなる群から選択される C D R H 2 配列、
- c . 配列番号 86、配列番号 87 および配列番号 88 からなる群から選択される C D R H 3 配列

を有する軽鎖可変領域を含む、単離抗体または抗原結合性フラグメントを提供する。

【0153】

本発明によれば、抗体は、下記式：

$X_{1a} S S X_{2a} S L L X_{3a} X_{4a} X_{5a} X_{6a} X_{7a} X_{8a} X_{9a} X_{10a} L X_{11a}$  (配列番号 72) 20

(式中、

- $X_{1a}$  は、塩基性アミノ酸であってよく、
- $X_{2a}$  は、塩基性アミノ酸であってよく、
- $X_{3a}$  は、H、YもしくはNであってよく、
- $X_{4a}$  は、S、T、NもしくはRであってよく、
- $X_{5a}$  は、非存在、SもしくはNであってよく、
- $X_{6a}$  は、D、FもしくはNであってよく、
- $X_{7a}$  は、GもしくはQであってよく、
- $X_{8a}$  は、K、LもしくはNであってよく、
- $X_{9a}$  は、TもしくはNであってよく、
- $X_{10a}$  は、芳香族アミノ酸であってよく、
- $X_{11a}$  は、A、N、EもしくはYであってよい)

を含むか、またはこれからなる C D R L 1 配列を含み得る。

【0154】

本発明の例示的实施形態において、 $X_{1a}$  はKまたはRであってよい。

【0155】

本発明の別の例示的实施形態において、 $X_{2a}$  はQまたはKであってよい。

【0156】

本発明のさらに別の例示的实施形態において、 $X_{3a}$  はNまたはHであってよい。

【0157】

本発明の別の実施形態において、 $X_{10a}$  はYまたはFであってよい。

【0158】

本発明のより具体的実施形態は、配列番号 72 の C D R L 1 を含み、ここで、 $X_{1a}$  はK、 $X_{2a}$  はQ、 $X_{3a}$  はN、 $X_{3a}$  はH、 $X_{4a}$  はS、 $X_{4a}$  はT、 $X_{5a}$  はS、 $X_{5a}$  は非存在、 $X_{6a}$  はN、 $X_{7a}$  はQ、 $X_{7a}$  はG、 $X_{8a}$  はK、 $X_{9a}$  はN、 $X_{9a}$  はT、 $X_{10a}$  はY、または $X_{11a}$  はAである。

【0159】

本発明によれば、抗体は、下記式：

K A S Q D  $X_{1b}$   $X_{2b}$   $X_{3b}$   $X_{4b}$   $X_{5b}$   $X_{6b}$  (配列番号 73) 50

(式中、

$X_{1b}$  は、疎水性アミノ酸であってよく、

$X_{2b}$  は、GもしくはHであってよく、

$X_{3b}$  は、T、NもしくはRであってよく、

$X_{4b}$  は、F、YもしくはAであってよく、

$X_{5b}$  は、疎水性アミノ酸であってよく、

$X_{6b}$  は、NもしくはAであってよい)

を含むか、またはこれからなるCDRL1配列を含み得る。

【0160】

本発明の例示的实施形態において、 $X_{1b}$  はVまたはIであってよい。

10

【0161】

本発明の別の例示的实施形態において、 $X_{5b}$  はVまたはLであってよい。

【0162】

本発明のより具体的実施形態は、配列番号73のCDRL1を含み、ここで、 $X_{1b}$  はI、 $X_{2b}$  はH、 $X_{3b}$  はT、 $X_{3b}$  はN、 $X_{4b}$  はY、 $X_{4b}$  はF、 $X_{5b}$  はL、または $X_{6b}$  はNである。

【0163】

CDRL1の他の例示的实施形態を配列番号89および90に示す。

【0164】

本発明によれば、抗体は、下記式：

20

$FX_{1c}STX_{2c}X_{3c}S$  (配列番号74)

(式中、

$X_{1c}$  は、AもしくはGであり、

$X_{2c}$  は、RもしくはTであり、

$X_{3c}$  は、E、KもしくはAである)

を含むか、またはこれからなるCDRL2配列を含み得る。

【0165】

本発明の例示的实施形態において、 $X_{1c}$  はAであってよく、 $X_{2c}$  はTであってよい。

。

【0166】

30

本発明の別の例示的实施形態において、 $X_{1c}$  はAであってよく、 $X_{2c}$  はRであってよい。

【0167】

本発明の他の具体的実施形態は、配列番号74のCDRL2を含み、ここで、 $X_{1c}$  はA、 $X_{2c}$  はR、または $X_{3c}$  はEである。

【0168】

本発明によれば、抗体は、下記式：

$X_{1d}VSX_{2d}X_{3d}X_{4d}S$  (配列番号75)

(式中、

$X_{1d}$  は、LもしくはKであってよく、

40

$X_{2d}$  は、塩基性アミノ酸であってよく、

$X_{3d}$  は、LもしくはRであってよく、

$X_{4d}$  は、DもしくはFであってよい)

を含むか、またはこれからなるCDRL2配列を含み得る。

【0169】

本発明の例示的实施形態において、 $X_{2d}$  はKもしくはNであってよい。

【0170】

本発明の他の具体的実施形態は、配列番号75のCDRL2を含み、ここで、 $X_{1d}$  はL、 $X_{2d}$  はK、 $X_{3d}$  はLまたは $X_{4d}$  はDである。

【0171】

50

本発明によれば、抗体は、下記式：

$X_{1e} A N R L V X_{2e}$  (配列番号 76)

(式中、

$X_{1e}$  は、塩基性アミノ酸であってよく、

$X_{2e}$  は、DもしくはAであってよい)

を含むか、またはこれからなるCDRL2配列を含み得る。

【0172】

本発明の例示的实施形態において、 $X_{1e}$  はRまたはHであってよい。

【0173】

本発明の他の具体的実施形態は、配列番号76のCDRL2を含み、ここで、 $X_{1e}$  は 10  
R、または $X_{2e}$  はDである。

【0174】

CDRL2の他の具体的実施形態を配列番号91～93に示す。

【0175】

本発明によれば、抗体は、下記式：

$X_{1f} Q X_{2f} X_{3f} X_{4f} X_{5f} P L T$  (配列番号 77)

(式中、

$X_{1f}$  は、QもしくはLであってよく、

$X_{2f}$  は、塩基性アミノ酸であってよく、

$X_{3f}$  は、D、FもしくはYであってよく、

$X_{4f}$  は、E、A、NもしくはSであってよく、

$X_{5f}$  は、I、FもしくはTであってよい)

を含むか、またはこれからなるCDRL3配列を含み得る。

【0176】

本発明の例示的实施形態において、 $X_{2f}$  はYもしくはHであってよい。

【0177】

本発明の例示的实施形態において、 $X_{3f}$  はYもしくはDであってよい。

【0178】

本発明の例示的实施形態において、 $X_{5f}$  はIもしくはTであってよい。

【0179】

本発明の他の具体的実施形態は、配列番号77のCDRL3を含み、ここで、 $X_{1f}$  は  
Q、 $X_{2f}$  はH、 $X_{3f}$  はD、 $X_{3f}$  はY、 $X_{4f}$  はS、 $X_{4f}$  はE、 $X_{4f}$  はA、 $X_{5f}$  はT、または $X_{5f}$  はIである。

【0180】

本発明によれば、抗体は、下記式：

$Q Q H X_{1g} X_{2g} X_{3g} P L T$  (配列番号 78)

(式中、

$X_{1g}$  は、塩基性アミノ酸であってよく、

$X_{2g}$  は、NもしくはSであってよく、

$X_{3g}$  は、IもしくはSであってよい)

を含むか、またはこれからなるCDRL3配列を含み得る。

【0181】

本発明の例示的实施形態において、 $X_{1g}$  はFまたはYであってよい。

【0182】

本発明の他の具体的実施形態は、配列番号78のCDRL3を含み、ここで、 $X_{2g}$  は  
S、または $X_{3g}$  はTである。

【0183】

本発明によれば、抗体は、下記式：

$X_{1h} Q G X_{2h} H X_{3h} P X_{4h} T$  (配列番号 79)

(式中、

X<sub>1h</sub> は、塩基性アミノ酸であってよく、  
 X<sub>2h</sub> は、中性親水性アミノ酸であってよく、  
 X<sub>3h</sub> は、FもしくはVであってよく、  
 X<sub>4h</sub> は、RもしくはLであってよい)  
 を含むか、またはこれからなるCDRL3配列を含み得る。

【0184】

本発明の例示的实施形態において、X<sub>1h</sub> はWまたはFであってよい。

【0185】

本発明の別の例示的实施形態において、X<sub>2h</sub> はSまたはTであってよい。

【0186】

本発明の他の具体的実施形態は、配列番号79のCDRL3を含み、ここで、X<sub>1h</sub> はW、X<sub>2h</sub> はT、X<sub>3h</sub> はF、またはX<sub>4h</sub> はRである。

【0187】

CDRL3の他の具体的実施形態を配列番号94および95に示す。

【0188】

本発明によれば、抗体は、下記式：

G Y X<sub>1i</sub> F X<sub>2i</sub> X<sub>3i</sub> Y X<sub>4i</sub> X<sub>5i</sub> H (配列番号80)

(式中、

X<sub>1i</sub> は、T、IもしくはKであってよく、  
 X<sub>2i</sub> は、中性親水性アミノ酸であってよく、  
 X<sub>3i</sub> は、酸性アミノ酸であってよく、  
 X<sub>4i</sub> は、E、NもしくはDであってよく、  
 X<sub>5i</sub> は、疎水性アミノ酸であってよい)  
 を含むか、またはこれからなるCDRH1配列を含み得る。

【0189】

本発明の例示的实施形態において、X<sub>2i</sub> はTもしくはSであってよい。

【0190】

本発明の別の例示的实施形態において、X<sub>3i</sub> はDもしくはEであってよい。

【0191】

本発明のまた別の例示的实施形態において、X<sub>4i</sub> はNもしくはEであってよい。

【0192】

本発明のさらに別の例示的实施形態において、X<sub>5i</sub> はM、IもしくはVであってよい。

【0193】

本発明の他の具体的実施形態は、配列番号80のCDRH1を含み、ここで、X<sub>2i</sub> はT、X<sub>3i</sub> はD、X<sub>4i</sub> はE、またはX<sub>5i</sub> はMである。

【0194】

CDRH1の他の例示的实施形態を配列番号96および97に示す。

【0195】

本発明によれば、抗体は、下記式：

X<sub>1j</sub> X<sub>2j</sub> D P X<sub>3j</sub> T G X<sub>4j</sub> T X<sub>5j</sub> (配列番号81)

(式中、

X<sub>1j</sub> は、VもしくはGであってよく、  
 X<sub>2j</sub> は、疎水性アミノ酸であってよく、  
 X<sub>3j</sub> は、A、GもしくはEであってよく、  
 X<sub>4j</sub> は、R、G、D、A、S、NもしくはVであってよく、  
 X<sub>5j</sub> は、疎水性アミノ酸であってよい)  
 を含むか、またはこれからなるCDRH2配列を含み得る。

【0196】

本発明の例示的实施形態において、X<sub>2j</sub> はIまたはLであってよい。

## 【0197】

本発明の別の例示的实施形態において、 $X_{5j}$  はAまたはVであってよい。

## 【0198】

本発明の他の具体的実施形態は、配列番号81のCDRH2を含み、ここで、 $X_{1j}$  はVであり、 $X_{2j}$  はIであり、 $X_{3j}$  はEであり、 $X_{4j}$  はDであり、または $X_{5j}$  はAである。

## 【0199】

本発明によれば、抗体は、下記式：

$VX_{1k}DPX_{2k}TGX_{3k}TA$  (配列番号82)

(式中、

$X_{1k}$  は、疎水性アミノ酸であってよく、  
 $X_{2k}$  は、A、EもしくはGであってよく、  
 $X_{3k}$  は、R、G、A、S、N、VもしくはDであってよい)  
 を含むか、またはこれからなるCDRH2配列を含み得る。

10

## 【0200】

本発明の例示的实施形態において、 $X_{1k}$  はLまたはIであってよい。

## 【0201】

本発明の他の具体的実施形態は、配列番号82のCDRH2を含み、ここで、 $X_{1k}$  はIであり、 $X_{2k}$  はEであり、 $X_{3k}$  はDである。

## 【0202】

本発明によれば、抗体は、下記式：

$YIX_{11}X_{21}X_{31}GX_{41}X_{51}X_{61}$  (配列番号83)

(式中、

$X_{11}$  は、SもしくはNであってよく、  
 $X_{21}$  は、芳香族アミノ酸であってよく、  
 $X_{31}$  は、D、EもしくはNであってよく、  
 $X_{41}$  は、DもしくはHであってよく、  
 $X_{51}$  は、Y、SもしくはNであってよく、  
 $X_{61}$  は、D、EもしくはNであってよい)  
 を含むか、またはこれからなるCDRH2配列を含み得る。

20

30

## 【0203】

本発明の例示的实施形態において、 $X_{31}$  はDまたはNであってよい。

## 【0204】

本発明の別の例示的实施形態において、 $X_{61}$  はDまたはNであってよい。

## 【0205】

本発明の他の具体的実施形態は、配列番号83のCDRH2を含み、ここで、 $X_{21}$  はFもしくはY、 $X_{31}$  はN、 $X_{41}$  はD、または $X_{61}$  はNである。

## 【0206】

本発明によれば、抗体は、下記式：

$X_{1m}INPYNX_{2m}VTE$  (配列番号84)

(式中、

$X_{1m}$  は、NもしくはYであってよく、  
 $X_{2m}$  は、E、DもしくはNであってよい)  
 を含むか、またはこれからなるCDRH2配列を含み得る。

40

## 【0207】

本発明の例示的实施形態において、 $X_{2m}$  はDまたはNであってよい。

## 【0208】

本発明の他の具体的実施形態において、配列番号84のCDRH2を含み、ここで、 $X_{1m}$  はN、または $X_{2m}$  はDである。

## 【0209】

50

本発明によれば、抗体は、下記式：

$DINPX_{1n}YGX_{2n}X_{3n}T$  (配列番号 85)

(式中、

$X_{1n}$  は、NもしくはYであってよく、

$X_{2n}$  は、GもしくはTであってよく、

$X_{3n}$  は、IもしくはTであってよい)

を含むか、またはこれからなるCDRH2配列を含み得る。

【0210】

CDRH2の他の例示的实施形態を配列番号98および99に示す。

【0211】

本発明によれば、抗体は、下記式：

$MX_1X_2X_3DY$  (配列番号 86)

(式中、

$X_1$  は、GもしくはSであってよく、

$X_2$  は、YもしくはHであってよく、

$X_3$  は、AもしくはSであってよい)

を含むか、またはこれからなるCDRH3配列を含み得る。

【0212】

本発明の他の具体的実施形態は、配列番号86のCDRH3を含み、ここで、 $X_1$  はG、 $X_2$  はY、または $X_3$  はSである。

【0213】

本発明によれば、抗体は、下記式：

$IX_{1p}YAX_{2p}DY$  (配列番号 87)

(式中、

$X_{1p}$  は、GもしくはSであってよく、

$X_{2p}$  は、非存在もしくはMであってよい)

を含むか、またはこれからなるCDRH3配列を含み得る。

【0214】

本発明の他の具体的実施形態は、配列番号87のCDRH3を含み、ここで、 $X_{1p}$  はS、または $X_{2p}$  はMである。

【0215】

本発明によれば、抗体は、下記式：

$AX_{1q}X_{2q}GLRX_{3q}$  (配列番号 88)

(式中、

$X_{1q}$  は、RもしくはWであってよく、

$X_{2q}$  は、芳香族アミノ酸であってよく、

$X_{3q}$  は、塩基性アミノ酸であってよい)

を含むか、またはこれからなるCDRH3配列を含み得る。

【0216】

本発明の例示的实施形態において、 $X_{2q}$  はWまたはFであってよい。

【0217】

本発明の別の例示的实施形態において、 $X_{3q}$  はQまたはNであってよい。

【0218】

本発明の他の具体的実施形態は、配列番号88のCDRH3を含み、ここで、 $X_{1q}$  はR、 $X_{2q}$  はW、または $X_{3q}$  はNである。

【0219】

本発明に包含される変異体または抗原結合性フラグメントとしては、挿入、欠失、またはアミノ酸置換(保存的または非保存的)を含み得るものがある。これらの変異体は、そのアミノ酸配列中の少なくとも1種のアミノ酸残基が除去され、その代わりに別の残基が挿入されていてもよい。

10

20

30

40

50

## 【 0 2 2 0 】

## ヒト化抗体

本発明の変異体抗体および抗原結合性フラグメントの例示的实施形態は、K A A G 1 に結合することができ、本明細書においてヒト化されているものとして特徴付けられる抗体および抗原結合性フラグメントの一群である。

## 【 0 2 2 1 】

本発明のヒト化抗体および抗原結合性フラグメントとして、より具体的には、ヒト化 3 D 3、3 D 4 または 3 C 4 抗体および抗原結合性フラグメントがある。ヒト化 3 D 3、3 D 4 または 3 C 4 抗体は、モノクローナル 3 D 3、3 A 4 または 3 C 4 抗体と比較して、フレームワーク領域内に少なくとも 1 個のアミノ酸の違いを有する。

10

## 【 0 2 2 2 】

モノクローナル 3 A 4 抗体のそれ ( V L : 配列番号 4 8、V H : 配列番号 4 6 ) と同じ C D R を有するヒト化 3 A 4 抗体を作製して、試験した。これらのヒト化抗体は、モノクローナル 3 A 4 抗体と比較して、可変軽鎖フレームワーク領域内の 1 1 以下 ( 1 ~ 1 1 ) のアミノ酸置換と、可変重鎖フレームワーク領域内の 2 3 以下 ( 1 ~ 2 3 ) のアミノ酸置換を含む。本出願人は、上記のヒト化 3 A 4 抗体が、モノクローナル 3 A 4 抗体と同じくらい効率的に K A A G 1 に結合することを明らかにした。

## 【 0 2 2 3 】

本発明の変異体抗体または抗原結合性フラグメントの例示的实施形態には、配列番号 1 8 6 に示す軽鎖可変領域を有するものが包含される。

20

## 【 0 2 2 4 】

配列番号 1 8 6

D X V M T Q T P L S L X V X X G X X A S I S C R S S Q S L L H S N G N T Y L E W Y L Q K P G Q S P X L L I H T V S N R F 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 X G V Y Y C F Q G S H V P L T F G X G T X L E X K ( 配列中、X で同定される少なくとも 1 種のアミノ酸は、配列番号 4 8 に示すポリペプチド内の対応するアミノ酸と比べて ( 保存的または非保存的な ) アミノ酸置換である ) 。アミノ酸置換は、例えば、天然ヒト抗体またはヒト抗体コンセンサスの対応する位置に見出されるアミノ酸であってもよい。アミノ酸置換は、例えば、保存的であり得る。

## 【 0 2 2 5 】

変異体抗体または抗原結合性フラグメントの別の例示的实施形態には、配列番号 1 8 7 に示す軽鎖可変領域を有するものが包含される。

30

## 【 0 2 2 6 】

配列番号 1 8 7

D X<sub>e 1</sub> V M T Q T P L S L X<sub>e 2</sub> V X<sub>e 3</sub> X<sub>e 4</sub> G X<sub>e 5</sub> X<sub>e 6</sub> A S I S C R S S Q S L L H S N G N T Y L E W Y L Q K P G Q S P X<sub>e 7</sub> L L I H T V S N R F 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 X<sub>e 8</sub> G V Y Y C F Q G S H V P L T F G X<sub>e 9</sub> G T X<sub>e 10</sub> L E X<sub>e 11</sub> K

( 配列中、

X<sub>e 1</sub> は、疎水性アミノ酸であってよく、  
X<sub>e 2</sub> は、A もしくは P であってよく、  
X<sub>e 3</sub> は、中性親水性アミノ酸であってよく、  
X<sub>e 4</sub> は、L もしくは P であってよく、  
X<sub>e 5</sub> は、酸性アミノ酸であってよく、  
X<sub>e 6</sub> は、Q もしくは P であってよく、  
X<sub>e 7</sub> は、塩基性アミノ酸であってよく、  
X<sub>e 8</sub> は、疎水性アミノ酸であってよく、  
X<sub>e 9</sub> は、A もしくは Q であってよく、  
X<sub>e 10</sub> は、塩基性アミノ酸であってよく、または  
X<sub>e 11</sub> は、疎水性アミノ酸であってよく、

40

50

Xにより同定される少なくとも1種のアミノ酸は、配列番号48に示すポリペプチド内の対応するアミノ酸と比べて（保存的または非保存的な）アミノ酸置換である）。

【0227】

変異体抗体または抗原結合性フラグメントの付加的な例示的实施形態には、配列番号188に示す軽鎖可変領域を有するものが含まれる：

【0228】

配列番号188

D X<sub>E1</sub> V M T Q T P L S L X<sub>E2</sub> V X<sub>E3</sub> X<sub>E4</sub> G X<sub>E5</sub> X<sub>E6</sub> A S I S C R S S Q S  
L L H S N G N T Y L E W Y L Q K P G Q S P X<sub>E7</sub> L L I H T V S N R F 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 X<sub>E8</sub> G V Y Y C F Q G S H V P L T F G  
X<sub>E9</sub> G T X<sub>E10</sub> L E X<sub>E11</sub> K 10

（配列中、

X<sub>E1</sub> は、VもしくはIであってよく、

X<sub>E2</sub> は、AもしくはPであってよく、

X<sub>E3</sub> は、SもしくはTであってよく、

X<sub>E4</sub> は、LもしくはPであってよく、

X<sub>E5</sub> は、DもしくはEであってよく、

X<sub>E6</sub> は、QもしくはPであってよく、

X<sub>E7</sub> は、KもしくはQであってよく、

X<sub>E8</sub> は、LもしくはVであってよく、 20

X<sub>E9</sub> は、AもしくはQであってよく、

X<sub>E10</sub> は、RもしくはKであってよく、または

X<sub>E11</sub> は、LもしくはIであってよく、

Xにより同定される少なくとも1種のアミノ酸は、配列番号48に示すポリペプチド内の対応するアミノ酸と比べて（保存的または非保存的な）アミノ酸置換である）。

【0229】

一実施形態によれば、軽鎖可変ドメイン変異体は、配列番号189または190に示す配列を有していてもよい。

【0230】

配列番号189

D I V M T Q T P L S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L L H S N G N T Y L E W  
Y L Q K P G Q S P Q L L I Y T V S N R F 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 F Q G S H V P L T F G Q G T K L E I K。 30

【0231】

配列番号190

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

【0232】

本発明の変異体抗体または抗原結合性フラグメントの例示的实施形態には、配列番号191に示す重鎖可変領域を有するものが包含される。 40

【0233】

配列番号191

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

（配列中、

Xで同定される少なくとも1種のアミノ酸は、配列番号46に示すポリペプチド内の対応するアミノ酸と比べて（保存的または非保存的な）アミノ酸置換である）。アミノ酸置換は、例えば、天然ヒト抗体またはヒト抗体コンセンサスの対応する位置に見出されるアミ 50

ノ酸であってもよい。アミノ酸置換は、例えば、保存的であり得る。

【0234】

変異体抗体または抗原結合性フラグメントの別の例示的实施形態は、配列番号192に示す重鎖可変領域を有するものを含む。

【0235】

配列番号192

Q X<sub>f1</sub> Q L V Q S G X<sub>f2</sub> E X<sub>f3</sub> X<sub>b f4</sub> K P G A S V K X<sub>f5</sub> S C K A S G Y T F  
T D D Y M S W V X<sub>f6</sub> Q X<sub>f7</sub> X<sub>f8</sub> G X<sub>f9</sub> X<sub>f10</sub> L E W X<sub>f11</sub> G D I N P Y N  
G D T N Y N Q K F K G X<sub>f12</sub> X<sub>f13</sub> X<sub>b14</sub> X<sub>f15</sub> T X<sub>f16</sub> D X<sub>f17</sub> S X<sub>f18</sub>  
S T A Y M X<sub>f19</sub> L X<sub>f20</sub> S L X<sub>f21</sub> S E D X<sub>f22</sub> A V Y Y C A R D P G A  
M D Y W G Q G T X<sub>f23</sub> V T V S S

(配列中、

X<sub>f1</sub> は、疎水性アミノ酸であってよく、

X<sub>f2</sub> は、PもしくはAであってよく、

X<sub>f3</sub> は、疎水性アミノ酸であってよく、

X<sub>f4</sub> は、VもしくはKであってよく、

X<sub>f5</sub> は、疎水性アミノ酸であってよく、

X<sub>f6</sub> は、塩基性アミノ酸であってよく、

X<sub>f7</sub> は、SもしくはAであってよく、

X<sub>f8</sub> は、HもしくはPであってよく、

X<sub>f9</sub> は、塩基性アミノ酸であってよく、

X<sub>f10</sub> は、SもしくはGであってよく、

X<sub>f11</sub> は、疎水性アミノ酸であってよく、

X<sub>f12</sub> は、塩基性アミノ酸であってよく、

X<sub>f13</sub> は、疎水性アミノ酸であってよく、

X<sub>f14</sub> は、IもしくはTであってよく、

X<sub>f15</sub> は、疎水性アミノ酸であってよく、

X<sub>f16</sub> は、疎水性アミノ酸であってよく、

X<sub>f17</sub> は、KもしくはTであってよく、

X<sub>f18</sub> は、中性親水性アミノ酸であってよく、

X<sub>f19</sub> は、QもしくはEであってよく、

X<sub>f20</sub> は、NもしくはSであってよく、

X<sub>f21</sub> は、TもしくはRであってよく、

X<sub>f22</sub> は、中性親水性アミノ酸であってよく、または

X<sub>f23</sub> は、SもしくはLであってよく、

Xにより同定される少なくとも1種のアミノ酸は、配列番号46に示すポリペプチド内の対応するアミノ酸と比べて(保存的または非保存的な)アミノ酸置換である)。

【0236】

変異体抗体または抗原結合性フラグメントの付加的な例示的实施形態には、配列番号193に示す重鎖可変領域を有するものが含まれる：

【0237】

配列番号193

Q X<sub>F1</sub> Q L V Q S G X<sub>F2</sub> E X<sub>F3</sub> X<sub>F4</sub> K P G A S V K X<sub>F5</sub> S C K A S G Y T F T  
D D Y M S W V X<sub>F6</sub> Q X<sub>F7</sub> X<sub>F8</sub> G X<sub>F9</sub> X<sub>F10</sub> L E W X<sub>F11</sub> G D I N P Y N G  
D T N Y N Q K F K G X<sub>F12</sub> X<sub>F13</sub> X<sub>F14</sub> X<sub>F15</sub> T X<sub>F16</sub> D X<sub>F17</sub> S X<sub>F18</sub>  
S T A Y M X<sub>F19</sub> L X<sub>F20</sub> S L X<sub>F21</sub> S E D X<sub>F22</sub> A V Y Y C A R D P G A M  
D Y W G Q G T X<sub>F23</sub> V T V S S

(配列中、

X<sub>F1</sub> は、IもしくはVであってよく、

X<sub>F2</sub> は、PもしくはAであってよく、

10

20

30

40

50

$X_{F3}$  は、MもしくはVであってよく、  
 $X_{F4}$  は、VもしくはKであってよく、  
 $X_{F5}$  は、MもしくはVであってよく、  
 $X_{F6}$  は、KもしくはRであってよく、  
 $X_{F7}$  は、SもしくはAであってよく、  
 $X_{F8}$  は、HもしくはPであってよく、  
 $X_{F9}$  は、KもしくはQであってよく、  
 $X_{F10}$  は、SもしくはGであってよく、  
 $X_{F11}$  は、IもしくはMであってよく、  
 $X_{F12}$  は、KもしくはRであってよく、  
 $X_{F13}$  は、AもしくはVであってよく、  
 $X_{F14}$  は、IもしくはTであってよく、  
 $X_{F15}$  は、LもしくはIであってよく、  
 $X_{F16}$  は、VもしくはAであってよく、  
 $X_{F17}$  は、KもしくはTであってよく、  
 $X_{F18}$  は、SもしくはTであってよく、  
 $X_{F19}$  は、QもしくはEであってよく、  
 $X_{F20}$  は、NもしくはSであってよく、  
 $X_{F21}$  は、TもしくはRであってよく、  
 $X_{F22}$  は、SもしくはTであってよく、または  
 $X_{F23}$  は、SもしくはLであり、  
Xにより同定される少なくとも1種のアミノ酸は、配列番号46に示すポリペプチド内の  
対応するアミノ酸と比べて（保存的または非保存的な）アミノ酸置換である）。

## 【0238】

実施形態によれば、重鎖可変ドメイン変異体は、配列番号194～197のいずれか1つに示す配列を有し得る。

## 【0239】

配列番号194

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITDDYMSWVRQA  
PGQGLEWMGDINPYNGDTNYNQKFKGRTITADTSTSTAY  
MELSSSLRSEDTAVYYCARDPGAMDYWGQGTLVTVSS。

## 【0240】

配列番号195

QIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITDDYMSWVRQA  
PGQGLEWMGDINPYNGDTNYNQKFKGRTITADKSTSTAY  
MELSSSLRSEDTAVYYCARDPGAMDYWGQGTLVTVSS。

## 【0241】

配列番号196

QIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITDDYMSWVRQA  
PGQGLEWIGDINPYNGDTNYNQKFKGRTLTVDKSTSTAY  
MELSSSLRSEDTAVYYCARDPGAMDYWGQGTLVTVSS。

## 【0242】

配列番号197

QIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITDDYMSWVKQA  
PGQGLEWIGDINPYNGDTNYNQKFKGKATLTVDKSTSTAY  
MELSSSLRSEDTAVYYCARDPGAMDYWGQGTLVTVSS。

## 【0243】

本発明の実施形態によれば、ヒト化3D3抗体は、下記式：

10

20

30

40

## 【化 1】

DIVMTQSPXSLAVSXGXXXTXNCKSSQSLLNSNFQKNFLAWYQQKPGQXPKLLIYFAS  
 TRESSXPDRFXGSGSGTDFTLTISXQAEDXAXYXCQQHYSTPLTFGXGTKLEXK(配列  
 番号174)

(ここで、Xにより同定される少なくとも1種のアミノ酸は、配列番号16に示すポリペプチド内の対応するアミノ酸と比べて(保存的または非保存的な)アミノ酸置換である)の軽鎖可変領域を含み得る。アミノ酸置換は、例えば、保存的であってよい。

## 【0244】

10

本発明のさらに具体的実施形態によれば、ヒト化3D3抗体は、下記式：

## 【化 2】

DIVMTQSPX<sub>A1</sub>SLAVSX<sub>A2</sub>GX<sub>A3</sub>X<sub>A4</sub>X<sub>A5</sub>TX<sub>A6</sub>NCKSSQSLLNSNFQKNFLAWYQQKP  
 GQX<sub>A7</sub>PKLLIYFASTRESSX<sub>A8</sub>PDRFX<sub>A9</sub>GSGSGTDFTLTISX<sub>A10</sub>QAEDX<sub>A11</sub>AX<sub>A12</sub>YX<sub>A13</sub>CQ  
 QHYSTPLTFGX<sub>A14</sub>GTKLEX<sub>A15</sub>K(配列番号175)

(配列中、

X<sub>A1</sub>は、例えばDもしくはSであってよく、  
 X<sub>A2</sub>は、例えば疎水性アミノ酸、またはより具体的にはLもしくはIであってよく、  
 X<sub>A3</sub>は、例えばEもしくはQであってよく、  
 X<sub>A4</sub>は、例えば塩基性アミノ酸、またはより具体的にはRもしくはKであってよく、  
 X<sub>A5</sub>は、例えば疎水性アミノ酸、またはより具体的にはAもしくはVであってよく、  
 X<sub>A6</sub>は、例えば疎水性アミノ酸、またはより具体的にはIもしくはMであってよく、  
 X<sub>A7</sub>は、例えばPもしくはSであってよく、  
 X<sub>A8</sub>は、例えば疎水性アミノ酸、またはより具体的にはVもしくはIであってよく、  
 X<sub>A9</sub>は、例えばSもしくはIであってよく、  
 X<sub>A10</sub>は、例えば疎水性アミノ酸、またはより具体的にはLもしくはVであってよく、  
 X<sub>A11</sub>は、例えば疎水性アミノ酸、またはより具体的にはVもしくはLであってよく、  
 X<sub>A12</sub>は、例えばVもしくはDであってよく、  
 X<sub>A13</sub>は、例えば芳香族アミノ酸、またはより具体的にはYもしくはFであってよく、  
 X<sub>A14</sub>は、例えばQもしくはAであってよく、  
 X<sub>A15</sub>は、例えば疎水性アミノ酸、またはより具体的にはIもしくはLであってよい)  
 の軽鎖可変領域を含み得る。

20

30

## 【0245】

本発明のさらにまた具体的実施形態によれば、ヒト化3D3抗体は、下記式：

## 【化 3】

DIVMTQSPX<sub>a1</sub>SLAVSX<sub>a2</sub>GX<sub>a3</sub>X<sub>a4</sub>X<sub>a5</sub>TX<sub>a6</sub>NCKSSQSLLNSNFQKNFLAWYQQKP  
 GQX<sub>a7</sub>PKLLIYFASTRESSX<sub>a8</sub>PDRFX<sub>a9</sub>GSGSGTDFTLTISX<sub>a10</sub>QAEDX<sub>a11</sub>AX<sub>a12</sub>YX<sub>a13</sub>CQQ  
 HYSTPLTFGX<sub>a14</sub>GTKLEX<sub>a15</sub>K(配列番号176)

40

(配列中、

X<sub>a1</sub>は、例えばDもしくはSであってよく、  
 X<sub>a2</sub>は、例えばLもしくはIであってよく、  
 X<sub>a3</sub>は、例えばEもしくはQであってよく、  
 X<sub>a4</sub>は、例えばRもしくはKであってよく、  
 X<sub>a5</sub>は、例えばAもしくはVであってよく、  
 X<sub>a6</sub>は、例えばIもしくはMであってよく、  
 X<sub>a7</sub>は、例えばPもしくはSであってよく、

50

$X_{a8}$  は、例えば V もしくは I であってよく、  
 $X_{a9}$  は、例えば S もしくは I であってよく、  
 $X_{a10}$  は、例えば L もしくは V であってよく、  
 $X_{a11}$  は、例えば V もしくは L であってよく、  
 $X_{a12}$  は、例えば V もしくは D であってよく、  
 $X_{a13}$  は、例えば Y もしくは F であってよく、  
 $X_{a14}$  は、例えば Q もしくは A であってよく、  
 $X_{a15}$  は、例えば I もしくは L であってよい)  
 の軽鎖可変領域を含み得る。

【0246】

本発明の実施形態によれば、ヒト化 3 D 3 抗体は、下記式：

【化 4】

**EVQLXQSXAEXXXPGASVXXSCKASGYIFTDYEIHWVXQXPXXGLEWXGVIDPE**  
**TGNTAFNQKFKGXXTXTADXSXSTAYMELSSLTSEDXAVYYCMGYSDYWGGTXXTV**  
**SS (配列番号177)**

(ここで、X により同定される少なくとも 1 種のアミノ酸は、配列番号 18 に示すポリペ  
 プチド内の対応するアミノ酸と比べて (保存的または非保存的な) アミノ酸置換である)  
 の重鎖可変領域を含み得る。アミノ酸置換は、例えば、保存的であってよい。

【0247】

本発明のさらにまた具体的実施形態によれば、ヒト化 3 D 3 抗体は、下記式：

【化 5】

**EVQLX<sub>B1</sub>QSX<sub>B2</sub>AEX<sub>B3</sub>X<sub>B4</sub>X<sub>B5</sub>PGASVX<sub>B6</sub>X<sub>B7</sub>SCKASGYIFTDYEIHWVX<sub>B8</sub>QX<sub>B9</sub>PX<sub>B1</sub>**  
**0X<sub>B11</sub>GLEWX<sub>B12</sub>GVIDPETGNTAFNQKFKGX<sub>B13</sub>X<sub>B14</sub>TX<sub>B15</sub>TADX<sub>B16</sub>SX<sub>B17</sub>STAYMELSSLTS**  
**EDX<sub>B18</sub>AVYYCMGYSDYWGGTXX<sub>B19</sub>X<sub>B20</sub>TVSS (配列番号178)**

(配列中、

$X_{B1}$  は、例えば V もしくは Q であってよく、  
 $X_{B2}$  は、例えば G もしくは V であってよく、  
 $X_{B3}$  は、例えば疎水性アミノ酸、またはより具体的には V もしくは L であってよく、  
 $X_{B4}$  は、例えば K もしくは V であってよく、  
 $X_{B5}$  は、例えば塩基性アミノ酸、またはより具体的には K もしくは R であってよく、  
 $X_{B6}$  は、例えば K もしくは T であってよく、  
 $X_{B7}$  は、例えば疎水性アミノ酸、またはより具体的には V もしくは L であってよく、  
 $X_{B8}$  は、例えば塩基性アミノ酸、またはより具体的には R もしくは K であってよく、  
 $X_{B9}$  は、例えば A もしくは T であってよく、  
 $X_{B10}$  は、例えば G もしくは V であってよく、  
 $X_{B11}$  は、例えば Q もしくは H であってよく、  
 $X_{B12}$  は、例えば疎水性アミノ酸、またはより具体的には M もしくは I であってよく、  
 $X_{B13}$  は、例えば塩基性アミノ酸、またはより具体的には R もしくは K であってよく、  
 $X_{B14}$  は、例えば疎水性アミノ酸、またはより具体的には V もしくは A であってよく、  
 $X_{B15}$  は、例えば疎水性アミノ酸、またはより具体的には I もしくは L であってよく、  
 $X_{B16}$  は、例えば T もしくは I であってよく、  
 $X_{B17}$  は、例えば中性親水性アミノ酸、またはより具体的には T もしくは S であってよ  
 く、  
 $X_{B18}$  は、例えば中性親水性アミノ酸、またはより具体的には T もしくは S であってよ  
 く、  
 $X_{B19}$  は、例えば L もしくは T であってよく、

X<sub>B20</sub> は、例えば疎水性アミノ酸、またはより具体的にはVもしくはLであってよい)の重鎖可変領域を含み得る。

【0248】

本発明のさらにまた具体的実施形態によれば、ヒト化3D3抗体は、下記式：

【化6】

EVQLX<sub>b1</sub>Q<sub>b2</sub>Q<sub>b3</sub>AE<sub>b4</sub>X<sub>b5</sub>PGASVX<sub>b6</sub>X<sub>b7</sub>SCKASGYIFTDYEIHWVX<sub>b8</sub>QX<sub>b9</sub>PX<sub>b10</sub>  
X<sub>b11</sub>GLEWX<sub>b12</sub>GVIDPETGNTAFNQKFKGX<sub>b13</sub>X<sub>b14</sub>TX<sub>b15</sub>TADX<sub>b16</sub>SX<sub>b17</sub>STAYMELSSLTSE  
DX<sub>b18</sub>AVYYCMGYSDYWGGQGT<sub>b19</sub>X<sub>b20</sub>TVSS (配列番号179)

10

(配列中、

X<sub>b1</sub> は、例えばVもしくはQであってよく、  
X<sub>b2</sub> は、例えばGもしくはVであってよく、  
X<sub>b3</sub> は、例えばVもしくはLであってよく、  
X<sub>b4</sub> は、例えばKもしくはVであってよく、  
X<sub>b5</sub> は、例えばKもしくはRであってよく、  
X<sub>b6</sub> は、例えばKもしくはTであってよく、  
X<sub>b7</sub> は、例えばVもしくはLであってよく、  
X<sub>b8</sub> は、例えばRもしくはKであってよく、  
X<sub>b9</sub> は、例えばAもしくはTであってよく、  
X<sub>b10</sub> は、例えばGもしくはVであってよく、  
X<sub>b11</sub> は、例えばQもしくはHであってよく、  
X<sub>b12</sub> は、例えばMもしくはIであってよく、  
X<sub>b13</sub> は、例えばRもしくはKであってよく、  
X<sub>b14</sub> は、例えばVもしくはAであってよく、  
X<sub>b15</sub> は、例えばIもしくはLであってよく、  
X<sub>b16</sub> は、例えばTもしくはIであってよく、  
X<sub>b17</sub> は、例えばTもしくはSであってよく、  
X<sub>b18</sub> は、例えばTもしくはSであってよく、  
X<sub>b19</sub> は、例えばLもしくはTであってよく、  
X<sub>b20</sub> は、例えばVもしくはLであってよい)  
の重鎖可変領域を含み得る。

20

30

【0249】

本発明の実施形態によれば、ヒト化3C4抗体は、下記式：

【化7】

DIVMXQSPSSXXASXGXRVTITCKASQDIHNFLNWFQQKPGKXPKTLIFRANRL  
VDGVPSRFSGSGSGXDYXLTISLXXEDXXXYSCLQYDEIPLTFGXGTKLEX (配列番号180)

40

(ここで、Xにより同定される少なくとも1種のアミノ酸は、配列番号24に示すポリペプチド内の対応するアミノ酸と比べて(保存的または非保存的な)アミノ酸置換である)の軽鎖可変領域を含み得る。アミノ酸置換は、例えば、保存的であってよい。

【0250】

本発明のさらに具体的実施形態によれば、ヒト化3C4抗体は、下記式：

## 【化 8】

DIVMX<sub>C1</sub>QSPSSX<sub>C2</sub>X<sub>C3</sub>ASX<sub>C4</sub>GX<sub>C5</sub>RVTITCKASQDIHNFLNWFQQKPGKX<sub>C6</sub>PKT  
 LIFRANRLVDGVPSRFRSGSGSGX<sub>C7</sub>DYX<sub>C8</sub>LTISLX<sub>C9</sub>X<sub>C10</sub>EDX<sub>C11</sub>X<sub>C12</sub>X<sub>C13</sub>YSCLQYDEIP  
 LTFGX<sub>C14</sub>GTKLEX<sub>C15</sub>X<sub>C16</sub>(配列番号181)

(配列中、

X<sub>C1</sub>は、例えば中性疎水性アミノ酸、またはより具体的にはTもしくはSであってよく、

X<sub>C2</sub>は、例えば疎水性アミノ酸、またはより具体的にはLもしくはMであってよく、 10

X<sub>C3</sub>は、例えばSもしくはYであってよく、

X<sub>C4</sub>は、例えば疎水性アミノ酸、またはより具体的にはVもしくはLであってよく、

X<sub>C5</sub>は、例えば酸性アミノ酸、またはより具体的にはDもしくはEであってよく、

X<sub>C6</sub>は、例えばAもしくはSであってよく、

X<sub>C7</sub>は、例えばTもしくはQであってよく、

X<sub>C8</sub>は、例えば中性疎水性アミノ酸、またはより具体的にはTもしくはSであってよく、

X<sub>C9</sub>は、例えばQもしくはEであってよく、

X<sub>C10</sub>は、例えばPもしくはFであってよく、

X<sub>C11</sub>は、例えばFもしくはLであってよく、 20

X<sub>C12</sub>は、例えばAもしくはGであってよく、

X<sub>C13</sub>は、例えばTもしくはIであってよく、

X<sub>C14</sub>は、例えばQもしくはAであってよく、

X<sub>C15</sub>は、例えば疎水性アミノ酸、またはより具体的にはIもしくはLであってよく、

X<sub>C16</sub>は、例えば塩基性アミノ酸、またはより具体的にはKもしくはRであってよい)

の軽鎖可変領域を含み得る。

## 【0251】

本発明のさらに具体的実施形態によれば、ヒト化3C4抗体は、下記式：

## 【化 9】

DIVMX<sub>C1</sub>QSPSSX<sub>C2</sub>X<sub>C3</sub>ASX<sub>C4</sub>GX<sub>C5</sub>RVTITCKASQDIHNFLNWFQQKPGKX<sub>C6</sub>PKTLI  
 FRANRLVDGVPSRFRSGSGSGX<sub>C7</sub>DYX<sub>C8</sub>LTISLX<sub>C9</sub>X<sub>C10</sub>EDX<sub>C11</sub>X<sub>C12</sub>X<sub>C13</sub>YSCLQYDEIPLTF  
 GX<sub>C14</sub>GTKLEX<sub>C15</sub>X<sub>C16</sub>(配列番号182)

(配列中、

X<sub>C1</sub>は、例えばTもしくはSであってよく、

X<sub>C2</sub>は、例えばLもしくはMであってよく、

X<sub>C3</sub>は、例えばSもしくはYであってよく、

X<sub>C4</sub>は、例えばVもしくはLであってよく、

X<sub>C5</sub>は、例えばDもしくはEであってよく、 40

X<sub>C6</sub>は、例えばAもしくはSであってよく、

X<sub>C7</sub>は、例えばTもしくはQであってよく、

X<sub>C8</sub>は、例えばTもしくはSであってよく、

X<sub>C9</sub>は、例えばQもしくはEであってよく、

X<sub>C10</sub>は、例えばPもしくはFであってよく、

X<sub>C11</sub>は、例えばFもしくはLであってよく、

X<sub>C12</sub>は、例えばAもしくはGであってよく、

X<sub>C13</sub>は、例えばTもしくはIであってよく、

X<sub>C14</sub>は、例えばQもしくはAであってよく、

X<sub>C15</sub>は、例えばIもしくはLであってよく、 50

X<sub>c16</sub> は、例えば K もしくは R であってよい)  
の軽鎖可変領域を含み得る。

【0252】

本発明の具体的実施形態によれば、ヒト化 3 C 4 抗体は、下記式：

【化10】

EVQLQESGPX<sub>1</sub>LVKPSQX<sub>2</sub>LSLTCTVX<sub>3</sub>GFSITSGYGWHWIRQX<sub>4</sub>PGXX<sub>5</sub>LEWX<sub>6</sub>GYIN  
YDGHNDYNPSLKS<sub>7</sub>RXXIX<sub>8</sub>QDTSKNQFX<sub>9</sub>LX<sub>10</sub>SVTX<sub>11</sub>XD<sub>12</sub>TAXYYCASSYDGLFAYWGQG  
TLVTVSX (配列番号183)

10

(ここで、X により同定される少なくとも 1 種のアミノ酸は、配列番号 26 に示すポリペプチド内の対応するアミノ酸と比べて ( 保存的または非保存的な ) アミノ酸置換である ) の重鎖可変領域を含み得る。アミノ酸置換は、例えば保存的であってよい。

【0253】

本発明のさらに具体的実施形態によれば、ヒト化 3 C 4 抗体は、下記式：

【化11】

EVQLQESGPX<sub>D1</sub>LVKPSQX<sub>D2</sub>LSLTCTVX<sub>D3</sub>GFSITSGYGWHWIRQX<sub>D4</sub>PGX<sub>D5</sub>X<sub>D6</sub>L  
EWX<sub>D7</sub>GYINYDGHNDYNPSLKS<sub>D8</sub>R<sub>D9</sub>IX<sub>D10</sub>QDTSKNQFX<sub>D11</sub>LX<sub>D12</sub>LX<sub>D13</sub>SVTX<sub>D14</sub>X<sub>D15</sub>D  
TAX<sub>D16</sub>YYCASSYDGLFAYWGQGLTVTVSX<sub>D17</sub> (配列番号184)

20

( 配列中、

X<sub>D1</sub> は、例えば G もしくは D であってよく、

X<sub>D2</sub> は、例えば中性疎水性アミノ酸、またはより具体的には T もしくは S であってよく、

X<sub>D3</sub> は、例えば中性疎水性アミノ酸、またはより具体的には S もしくは T であってよく、

X<sub>D4</sub> は、例えば H もしくは F であってよく、

X<sub>D5</sub> は、例えば K もしくは N であってよく、

X<sub>D6</sub> は、例えば G もしくは K であってよく、

30

X<sub>D7</sub> は、例えば疎水性アミノ酸、またはより具体的には I もしくは M であってよく、

X<sub>D8</sub> は、例えば疎水性アミノ酸、またはより具体的には V もしくは I であってよく、

X<sub>D9</sub> は、例えば中性疎水性アミノ酸、またはより具体的には T もしくは S であってよく、

、

X<sub>D10</sub> は、例えば中性疎水性アミノ酸、またはより具体的には S もしくは T であってよく、

X<sub>D11</sub> は、例えば中性疎水性アミノ酸、またはより具体的には S もしくは F であってよく、

X<sub>D12</sub> は、例えば塩基性アミノ酸、またはより具体的には K もしくは Q であってよく、

X<sub>D13</sub> は、例えば S もしくは N であってよく、

40

X<sub>D14</sub> は、例えば A もしくは T であってよく、

X<sub>D15</sub> は、例えば A もしくは E であってよく、

X<sub>D16</sub> は、例えば V もしくは T であってよく、

X<sub>D17</sub> は、例えば A もしくは非存在であってよい)

の重鎖可変領域を含み得る。

【0254】

本発明のさらに具体的実施形態によれば、ヒト化 3 C 4 抗体は、下記式：

## 【化 1 2】

EVQLQESGPX<sub>d1</sub>LVKPSQX<sub>d2</sub>LSLTCTVX<sub>d3</sub>GFSITSGYGWHWIRQX<sub>d4</sub>PGX<sub>d5</sub>X<sub>d6</sub>LE  
 WX<sub>d7</sub>GYINYDGHNDYNPSLKSRX<sub>d8</sub>X<sub>d9</sub>IX<sub>d10</sub>QDTSKNQFX<sub>d11</sub>LX<sub>d12</sub>LX<sub>d13</sub>SVTX<sub>d14</sub>X<sub>d15</sub>DTAX<sub>d16</sub>  
 YYCASSYDGLFAYWGQGTLVTVSX<sub>d17</sub>(配列番号185)

(配列中、

X<sub>d1</sub>は、例えばGもしくはDであってよく、  
 X<sub>d2</sub>は、例えばTもしくはSであってよく、  
 X<sub>d3</sub>は、例えばSもしくはTであってよく、  
 X<sub>d4</sub>は、例えばHもしくはFであってよく、  
 X<sub>d5</sub>は、例えばKもしくはNであってよく、  
 X<sub>d6</sub>は、例えばGもしくはKであってよく、  
 X<sub>d7</sub>は、例えばIもしくはMであってよく、  
 X<sub>d8</sub>は、例えばVもしくはIであってよく、  
 X<sub>d9</sub>は、例えばTもしくはSであってよく、  
 X<sub>d10</sub>は、例えばSもしくはTであってよく、  
 X<sub>d11</sub>は、例えばSもしくはFであってよく、  
 X<sub>d12</sub>は、例えばKもしくはQであってよく、  
 X<sub>d13</sub>は、例えばSもしくはNであってよく、  
 X<sub>d14</sub>は、例えばAもしくはTであってよく、  
 X<sub>d15</sub>は、例えばAもしくはEであってよく、  
 X<sub>d16</sub>は、例えばVもしくはTであってよく、  
 X<sub>d17</sub>は、例えばAもしくは非存在であってよい)

の重鎖可変領域を含み得る。

## 【0255】

従って、本発明は、一形態において、配列番号16に対して少なくとも70%同一である軽鎖可変領域および/または配列番号18に対して少なくとも70%同一である重鎖可変領域を有し得る腎臓関連抗原1(KAAG1)に特異的に結合する能力がある、抗体またはその抗原結合性フラグメントを提供する。前記抗体またはその抗原結合性フラグメントは、配列番号16または配列番号18と比較して少なくとも1つのアミノ酸置換を含み得る。

## 【0256】

本発明は、別の形態において、配列番号24に対して少なくとも70%同一である軽鎖可変領域および/または配列番号26に対して少なくとも70%同一である重鎖可変領域を有し得る、抗体またはその抗原結合性フラグメントを提供する。前記抗体またはその抗原結合性フラグメントはまた、配列番号24または配列番号26と比較して少なくとも1つのアミノ酸置換を含み得る。

## 【0257】

本発明は、別の形態において、配列番号48に対して少なくとも70%同一である軽鎖可変領域および/または配列番号46に対して少なくとも70%同一である重鎖可変領域を有し得る、抗体またはその抗原結合性フラグメントを提供する。抗体またはその抗原結合性フラグメントはまた、配列番号48または配列番号46と比較して少なくとも1つのアミノ酸置換を含み得る。

## 【0258】

本発明の一実施形態によれば、アミノ酸置換は、相補性決定領域(CDR)の外部にあってもよい。このようなアミノ酸配列を有する抗体またはその抗原結合性フラグメントは、例えば、ヒト化抗体または抗原結合性フラグメントを包含する。

## 【0259】

本明細書で用いる「1~25」という用語は、すべての個々の値を含み、例えば、1、

10

20

30

40

50

2、3、及び25まで；1～25；1～24、1～23、1～22、1～21、1～20、1～19；1～18；1～17；1～16；1～15等々；2～25、2～24、2～23、2～22、2～21、2～20；2～19；2～18；2～17等々；3～25、3～24、3～23、3～22、3～21、3～20；3～19；3～18等々；4～25、4～24、4～23、4～22、4～21、4～20、4～19；4～18；4～17；4～16等々；5～25、5～24、5～23、5～22、5～21、5～20；5～19；5～18；5～17等々の範囲である。

#### 【0260】

本明細書で用いる「1～23」という用語は、すべての個々の値を含み、例えば、1、2、3、及び23まで；1～23、1～22、1～21、1～20、1～19；1～18；1～17、1～16；1～15等々；2～23、2～22、2～21、2～20；2～19；2～18；2～17等々；3～23、3～22、3～21、3～20；3～19；3～18等々；4～23、4～22、4～21、4～20；4～19；4～18；4～17；4～16等々；5～25、5～24、5～23、5～22、5～21、5～20；5～19；5～18；5～17等々の範囲である。

10

#### 【0261】

本明細書で用いる「1～20」という用語は、すべての個々の値を含み、例えば、1、2、3、及び20まで；1～20；1～19；1～18；1～17；1～16；1～15等々；2～20；2～19；2～18；2～17等々；3～20；3～19；3～18等々；4～20；4～19；4～18；4～17；4～16等々；5～20；5～19；5～18；5～17等々の範囲である。

20

#### 【0262】

本明細書で用いる「1～15」という用語は、すべての個々の値を含み、例えば、1、2、3、及び15まで；1～15；1～14；1～13；1～12；1～11；1～10等々；2～15；2～14；2～13；2～12等々；3～15；3～14；3～13等々；4～15；4～14；4～13；4～12；4～11等々；5～15；5～14；5～13；5～12等々の範囲である。

#### 【0263】

本明細書で用いる「1～11」という用語は、すべての個々の値を含み、例えば、1、2、3、及び11まで；1～11；1～10；1～9；1～8；1～7等々；2～11；2～10；2～9；2～8等々；3～11；3～10；3～9等々；4～11；4～10；4～9；4～8；4～7等々；5～11；5～10；5～9；5～8等々の範囲である。

30

#### 【0264】

本発明のより具体的実施形態では、配列番号16に由来するヒト化軽鎖可変領域に適合しうるアミノ酸置換の数は、例えば、1～15のアミノ酸置換であってよい。

#### 【0265】

本発明のさらに具体的実施形態では、配列番号18に由来するヒト化重鎖可変領域に適合しうるアミノ酸置換の数は、例えば、1～20のアミノ酸置換であってよい。いくつかの例では、配列番号18のヒト化形態を考慮する場合、少なくとも3つのアミノ酸置換を有するのが有用でありうる。

40

#### 【0266】

本発明のさらにまた具体的実施形態では、配列番号24に由来するヒト化軽鎖可変領域に適合しうるアミノ酸置換の数は、例えば、1～16のアミノ酸置換であってよい。

#### 【0267】

本発明のさらにまた具体的実施形態では、配列番号26のヒト化重鎖可変領域に適合しうるアミノ酸置換の数は、例えば、1～17のアミノ酸置換であってよい。

#### 【0268】

本発明のさらにまた具体的実施形態では、配列番号48に由来するヒト化軽鎖可変領域に適合しうるアミノ酸置換の数は、例えば、1～11のアミノ酸置換であってよい。

50

## 【 0 2 6 9 】

本発明のさらにまた具体的実施形態では、配列番号 4 6 のヒト化重鎖可変領域に適合するアミノ酸置換の数は、例えば、1 ~ 2 3 のアミノ酸置換であってよい。

## 【 0 2 7 0 】

本発明の一実施形態によれば、1 ~ 2 0 のアミノ酸置換は、例えば、軽鎖可変領域において存在し得る。

## 【 0 2 7 1 】

本発明の一実施形態によれば、1 ~ 2 0 のアミノ酸置換は、例えば、重鎖可変領域において存在し得る。

## 【 0 2 7 2 】

ゆえに、ヒト化抗体または抗原結合性フラグメントは、配列番号 1 6 または配列番号 2 4 と比べて 2 0 以下のアミノ酸置換を有する軽鎖可変領域を含み得ると共に、配列番号 1 8 または配列番号 2 6 と比べて 2 0 以下のアミノ酸置換を有する重鎖可変領域を含み得る。ゆえに、ヒト化抗体または抗原結合性フラグメントは、配列番号 4 8 と比べて 2 5 以下のアミノ酸置換を有する軽鎖可変領域を含み得ると共に、配列番号 4 6 と比べて 2 5 以下のアミノ酸置換を有する重鎖可変領域を含み得る。

## 【 0 2 7 3 】

本明細書において、ヒト化抗体または抗原結合性フラグメントが 2 つの軽鎖可変領域と 2 つの重鎖可変領域を有する場合、軽鎖可変領域の各々は、独立に 2 5 以下、2 4、2 3、2 2、2 1、2 0、1 9、1 8、1 7、1 6、1 5、1 4、1 3、1 2、1 1、1 0、9、8、7、6、5、4、3、2、1 つのアミノ酸置換を含み得ると共に、重鎖可変領域の各々は、2 5 以下、2 4、2 3、2 2、2 1、2 0、1 9、1 8、1 7、1 6、1 5、1 4、1 3、1 2、1 1、1 0、9、8、7、6、5、4、3、2、1 つのアミノ酸置換を含み得ることを理解すべきである。

## 【 0 2 7 4 】

本明細書に記載するように、アミノ酸置換は、保存的または非保存的のいずれであってもよい。例示的实施形態では、アミノ酸置換は保存的であってよい。

## 【 0 2 7 5 】

本明細書において、本発明のヒト化抗体または抗原結合性フラグメントはまた、配列番号 1 6、配列番号 1 8、配列番号 1 8 9、配列番号 1 9 0、配列番号 1 9 4、配列番号 1 9 5、配列番号 1 9 6、配列番号 1 9 7、配列番号 2 4 および / または配列番号 2 6 と比べて、欠失を示す軽鎖可変領域および / または重鎖可変領域を有し得る。このような欠失は、例えば、軽鎖可変領域および / または重鎖可変領域のアミノ基またはカルボキシ基に存在してよい。

## 【 0 2 7 6 】

本発明のヒト化抗体または抗原結合性フラグメントの別の例示的实施形態は、例えば、配列番号 1 8 6、配列番号 1 8 7、配列番号 1 8 8、配列番号 1 8 9 または配列番号 1 9 0 のいずれかの少なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸を含み得る軽鎖可変領域を有する抗体または抗原結合性フラグメントを包含する。

## 【 0 2 7 7 】

本明細書において、「配列番号 1 8 6 の少なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸」という用語には、「少なくとも 9 1、9 2、9 3、9 4、9 5、9 6、9 7、9 8、9 9、1 0 0、1 0 1、1 0 2、1 0 3、1 0 4、1 0 5、1 0 6、1 0 7、1 0 8、1 0 9、1 1 0、1 1 1、または少なくとも 1 1 2 個の連続したアミノ酸」という用語も包含される。「配列番号 1 8 6 の少なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸」という用語は、配列番号 1 8 6 に存在する少なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸の考えられるあらゆる配列、特に、配列番号 1 8 6 の 3 つの C D R を含む配列、例えば、配列番号 1 8 6 のアミノ酸 6 ~ 1 0 8、5 ~ 1 0 9、1 3 ~ 1 0 3、1 4 ~ 1 1 1 等々を含む配列を包含する。

## 【 0 2 7 8 】

本明細書において、「配列番号 1 8 7 の少なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸」という

10

20

30

40

50

用語には、「少なくとも91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、または少なくとも112個の連続したアミノ酸」という用語も包含される。「配列番号187の少なくとも90個の連続したアミノ酸」という用語は、配列番号187に存在する少なくとも90個の連続したアミノ酸の考えられるあらゆる配列、特に、配列番号187の3つのCDRを含む配列、例えば、配列番号187のアミノ酸7～109、12～104、22～113、18～112等々を含む配列を包含する。

【0279】

本明細書において、「配列番号188の少なくとも90個の連続したアミノ酸」、「配列番号189の少なくとも90個の連続したアミノ酸」または「配列番号190の少なくとも90個の連続したアミノ酸」といった用語も同様の意味を有する。

10

【0280】

本発明によれば、本発明の抗体または抗原結合性フラグメントは、例えば、配列番号189または190に示す軽鎖可変領域を有していてもよい。

【0281】

本発明のヒト化抗体または抗原結合性フラグメントは、例えば、配列番号191、192、193、194、195、196または197のいずれかの少なくとも90個の連続したアミノ酸を含み得る重鎖可変領域を含む（または、さらに含む）。

【0282】

本明細書において、「配列番号191の少なくとも90個の連続したアミノ酸」という用語には、「少なくとも91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115または少なくとも116個の連続したアミノ酸」という用語も包含される。「配列番号191の少なくとも90個の連続したアミノ酸」という用語は、配列番号191に存在する少なくとも90個の連続したアミノ酸の考えられるあらゆる配列、特に、配列番号191の3つのCDRを含む配列、例えば、配列番号191のアミノ酸1～106、2～112、11～113、7～102等々を含む配列を包含する。

20

【0283】

本明細書において、「配列番号192の少なくとも90個の連続したアミノ酸」という用語には、「少なくとも91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115または少なくとも116個の連続したアミノ酸」という用語も包含される。「配列番号192の少なくとも90個の連続したアミノ酸」という用語は、配列番号192に存在する少なくとも90個の連続したアミノ酸の考えられるあらゆる配列、特に、配列番号192の3つのCDRを含む配列、例えば、配列番号192のアミノ酸6～109、8～113、1～102、2～105等々を含む配列を包含する。

30

【0284】

「配列番号193の少なくとも90個の連続したアミノ酸」、「配列番号194の少なくとも90個の連続したアミノ酸」、「配列番号195の少なくとも90個の連続したアミノ酸」、「配列番号196の少なくとも90個の連続したアミノ酸」、または「配列番号197の少なくとも90個の連続したアミノ酸」といった用語も同様の意味を有する。

40

【0285】

本発明によれば、本発明の抗体または抗原結合性フラグメントは、例えば、配列番号194、195、196または197に示す重鎖可変領域を有していてもよい。

【0286】

本発明によれば、本発明の抗体または抗原結合性フラグメントは、例えば、以下のものを含み得る：

a) 配列番号186の少なくとも90個の連続したアミノ酸を含み得る軽鎖可変領域と、

50

配列番号 191、配列番号 192、配列番号 193、配列番号 194、配列番号 195、配列番号 196 または配列番号 197 のいずれかの少なくとも 90 個の連続したアミノ酸を含み得る重鎖可変領域、

b) 配列番号 187 の少なくとも 90 個の連続したアミノ酸を含み得る軽鎖可変領域と、配列番号 191、配列番号 192、配列番号 193、配列番号 194、配列番号 195、配列番号 196 または配列番号 197 のいずれかの少なくとも 90 個の連続したアミノ酸を含み得る重鎖可変領域、

c) 配列番号 188 の少なくとも 90 個の連続したアミノ酸を含み得る軽鎖可変領域と、配列番号 191、配列番号 192、配列番号 193、配列番号 194、配列番号 195、配列番号 196 または配列番号 197 のいずれかの少なくとも 90 個の連続したアミノ酸を含み得る重鎖可変領域、

d) 配列番号 189 の少なくとも 90 個の連続したアミノ酸を含み得る軽鎖可変領域と、配列番号 191、配列番号 192、配列番号 193、配列番号 194、配列番号 195、配列番号 196 または配列番号 197 のいずれかの少なくとも 90 個の連続したアミノ酸を含み得る重鎖可変領域、

e) 配列番号 190 の少なくとも 90 個の連続したアミノ酸を含み得る軽鎖可変領域と、配列番号 191、配列番号 192、配列番号 193、配列番号 194、配列番号 195、配列番号 196 または配列番号 197 のいずれかの少なくとも 90 個の連続したアミノ酸を含み得る重鎖可変領域。

【0287】

本発明のより具体的実施形態によれば、軽鎖可変領域は、配列番号 189 の少なくとも 90 個の連続したアミノ酸を含んでよく、また重鎖可変領域は、配列番号 194、195、196 または 197 の少なくとも 90 個の連続したアミノ酸を含んでよい。

【0288】

本発明のさらに具体的実施形態によれば、軽鎖可変領域は、配列番号 189 に示す通りであってよく、また重鎖可変領域は、配列番号 194 に示す通りであってよい。

【0289】

本発明のさらに具体的実施形態によれば、軽鎖可変領域は、配列番号 189 に示す通りであってよく、また重鎖可変領域は、配列番号 195 に示す通りであってよい。

【0290】

本発明のさらに具体的実施形態によれば、軽鎖可変領域は、配列番号 189 に示す通りであってよく、また重鎖可変領域は、配列番号 196 に示す通りであってよい。

【0291】

本発明のさらに具体的実施形態によれば、軽鎖可変領域は、配列番号 189 に示す通りであってよく、また重鎖可変領域は、配列番号 197 に示す通りであってよい。

【0292】

本発明のさらに具体的実施形態によれば、軽鎖可変領域は、配列番号 190 に示す通りであってよく、また重鎖可変領域は、配列番号 194 に示す通りであってよい。

【0293】

本発明のさらに具体的実施形態によれば、軽鎖可変領域は、配列番号 190 に示す通りであってよく、また重鎖可変領域は、配列番号 195 に示す通りであってよい。

【0294】

本発明のさらに具体的実施形態によれば、軽鎖可変領域は、配列番号 190 に示す通りであってよく、また重鎖可変領域は、配列番号 196 に示す通りであってよい。

【0295】

本発明のさらに具体的実施形態によれば、軽鎖可変領域は、配列番号 190 に示す通りであってよく、また重鎖可変領域は、配列番号 197 に示す通りであってよい。

【0296】

本発明のヒト化抗体または抗原結合性フラグメントの別の例示的实施形態は、例えば、配列番号 174、配列番号 175、配列番号 176、または配列番号 168 のいずれかの

10

20

30

40

50

少なくとも90個の連続したアミノ酸を含み得る軽鎖可変領域を有する抗体または抗原結合性フラグメントを包含する。

【0297】

本明細書において、「配列番号174の少なくとも90個の連続したアミノ酸」という用語には、「少なくとも91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112または少なくとも113個の連続したアミノ酸」という用語も包含される。「配列番号174の少なくとも90個の連続したアミノ酸」という用語は、配列番号174に存在する少なくとも90個の連続したアミノ酸の考えられるあらゆる配列、ならびに特に、配列番号174の3つのCDRを含む配列、例えば、配列番号174のアミノ酸6～108、5～109、13～103、14～111等々を含む配列を包含する。

10

【0298】

本明細書において、「配列番号175の少なくとも90個の連続したアミノ酸」という用語には、「少なくとも91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112または少なくとも113個の連続したアミノ酸」という用語も包含される。「配列番号175の少なくとも90個の連続したアミノ酸」という用語は、配列番号175に存在する少なくとも90個の連続したアミノ酸の考えられるあらゆる配列、ならびに特に、配列番号175の3つのCDRを含む配列、例えば、配列番号175のアミノ酸7～109、12～104、22～113、18～112等々を含む配列を包含する。

20

【0299】

本明細書において、「配列番号176の少なくとも90個の連続したアミノ酸」または「配列番号168の少なくとも90個の連続したアミノ酸」といった用語も同様の意味を有する。

【0300】

本発明によれば、本発明の抗体または抗原結合性フラグメントは、例えば、配列番号168に示す軽鎖可変領域を有していてもよい。

【0301】

本発明のヒト化抗体または抗原結合性フラグメントは、例えば、配列番号177、178、179または169のいずれかの少なくとも90個の連続したアミノ酸を含み得る重鎖可変領域を含む（または、さらに含む）。

30

【0302】

本明細書において、「配列番号177の少なくとも90個の連続したアミノ酸」という用語には、「少なくとも91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112または少なくとも113個の連続したアミノ酸」という用語も包含される。「配列番号177の少なくとも90個の連続したアミノ酸」という用語は、配列番号177に存在する少なくとも90個の連続したアミノ酸の考えられるあらゆる配列、ならびに特に、配列番号177の3つのCDRを含む配列、例えば、配列番号177のアミノ酸1～106、2～112、11～113、7～102等々を含む配列を包含する。

40

【0303】

本明細書において、「配列番号178の少なくとも90個の連続したアミノ酸」という用語には、「少なくとも91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112または少なくとも113個の連続したアミノ酸」という用語も包含される。「配列番号178の少なくとも90個の連続したアミノ酸」という用語は、配列番号178に存在する少なくとも90個の連続したアミノ酸の考えられるあらゆる配列、ならびに特に、配列番号178の3つのCDRを含む配列、例えば、配列番号178のアミノ酸6～109、8～113、1～102、2～105等々を含む配列を包含する。

50

## 【 0 3 0 4 】

「配列番号 1 7 9 の少なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸」または「配列番号 1 6 9 の少なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸」といった用語も同様の意味を有する。

## 【 0 3 0 5 】

本発明によれば、本発明の抗体または抗原結合性フラグメントは、例えば、配列番号 1 6 9 に示す重鎖可変領域を有していてもよい。

## 【 0 3 0 6 】

本発明によれば、本発明の抗体または抗原結合性フラグメントは、例えば、以下のものを含み得る：

f) 配列番号 1 7 4 の少なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸を含み得る軽鎖可変領域と、  
配列番号 1 7 7、配列番号 1 7 8、配列番号 1 7 9 または配列番号 1 6 9 のいずれかの少  
なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸を含み得る重鎖可変領域、

g) 配列番号 1 7 5 の少なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸を含み得る軽鎖可変領域と、  
配列番号 1 7 7、配列番号 1 7 8、配列番号 1 7 9 または配列番号 1 6 9 のいずれかの少  
なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸を含み得る重鎖可変領域、

h) 配列番号 1 7 6 の少なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸を含み得る軽鎖可変領域と、  
配列番号 1 7 7、配列番号 1 7 8、配列番号 1 7 9 または配列番号 1 6 9 のいずれかの少  
なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸を含み得る重鎖可変領域、

i) 配列番号 1 6 8 の少なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸を含み得る軽鎖可変領域と、  
配列番号 1 7 7、配列番号 1 7 8、配列番号 1 7 9 または配列番号 1 6 9 のいずれかの少  
なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸を含み得る重鎖可変領域。

## 【 0 3 0 7 】

本発明のより具体的実施形態によれば、軽鎖可変領域は、配列番号 1 6 8 の少なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸を含んでよく、重鎖可変領域は、配列番号 1 6 9 のいずれかの少なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸を含んでよい。

## 【 0 3 0 8 】

本発明のさらに具体的な実施形態によれば、軽鎖可変領域は、配列番号 1 6 8 に示す通りであってよく、また重鎖可変領域は、配列番号 1 6 9 に示す通りであってよい。

## 【 0 3 0 9 】

本発明のヒト化抗体または抗原結合性フラグメントの他の例示的实施形態は、配列番号 1 8 0、1 8 1、1 8 2 または 1 7 2 のいずれかの少なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸を含み得る軽鎖可変領域を含み得るものである。

## 【 0 3 1 0 】

本明細書において、「配列番号 1 8 0 の少なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸」という用語には、「少なくとも 9 1、9 2、9 3、9 4、9 5、9 6、9 7、9 8、9 9、1 0 0、1 0 1、1 0 2、1 0 3、1 0 4、1 0 5、1 0 6 または少なくとも 1 0 7 個の連続したアミノ酸」という用語も包含される。「配列番号 1 8 0 の少なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸」という用語は、配列番号 1 8 0 に存在する少なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸の考えられるあらゆる配列、ならびに特に、配列番号 1 8 0 の 3 つの C D R を含む配列、例えば、配列番号 1 8 0 のアミノ酸 6 ~ 1 0 2、1 1 ~ 1 0 6、1 ~ 1 0 6、3 ~ 9 5、5 ~ 9 5 等々を含む配列を包含する。

## 【 0 3 1 1 】

本明細書において、「配列番号 1 8 1 の少なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸」という用語には、「少なくとも 9 1、9 2、9 3、9 4、9 5、9 6、9 7、9 8、9 9、1 0 0、1 0 1、1 0 2、1 0 3、1 0 4、1 0 5、1 0 6 または少なくとも 1 0 7 個の連続したアミノ酸」という用語も包含される。「配列番号 1 8 1 の少なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸」という用語は、配列番号 1 8 1 に存在する少なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸の考えられるあらゆる配列、ならびに特に、配列番号 1 8 1 の 3 つの C D R を含む配列、例えば、配列番号 1 8 1 のアミノ酸 9 ~ 1 0 6、1 0 ~ 1 0 1、1 ~ 9 8、3 ~ 9 9、7 ~ 1 0 7 等々を含む配列を包含する。

## 【 0 3 1 2 】

「配列番号 1 8 2 の少なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸」または「配列番号 1 7 2 の少なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸」といった用語も同様の意味を有する。

## 【 0 3 1 3 】

本発明によれば、本発明の抗体または抗原結合性フラグメントは、例えば、配列番号 1 7 2 に示す軽鎖可変領域を有していてもよい。

## 【 0 3 1 4 】

本発明のヒト化抗体または抗原結合性フラグメントは、例えば、配列番号 1 8 3、1 8 4、1 8 5 または 1 7 3 のいずれかの少なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸を含み得る重鎖可変領域を含む（または、さらに含む）。

## 【 0 3 1 5 】

本明細書において、「配列番号 1 8 3 の少なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸」という用語には、「少なくとも 9 1、9 2、9 3、9 4、9 5、9 6、9 7、9 8、9 9、1 0 0、1 0 1、1 0 2、1 0 3、1 0 4、1 0 5、1 0 6、1 0 7、1 0 8、1 0 9、1 1 0、1 1 1、1 1 2、1 1 3、1 1 4、1 1 5 または少なくとも 1 1 6 個の連続したアミノ酸」という用語も包含される。「配列番号 1 8 3 の少なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸」という用語は、配列番号 1 8 3 に存在する少なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸の考えられるあらゆる配列、ならびに特に、配列番号 1 8 3 の 3 つの C D R を含む配列、例えば、配列番号 1 8 3 のアミノ酸 6 ~ 1 1 1、1 ~ 1 0 6、2 ~ 1 0 4、5 ~ 1 0 6、1 0 ~ 1 0 7 等々を含む配列を包含する。

## 【 0 3 1 6 】

本明細書において、「配列番号 1 8 5 の少なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸」という用語には、「少なくとも 9 1、9 2、9 3、9 4、9 5、9 6、9 7、9 8、9 9、1 0 0、1 0 1、1 0 2、1 0 3、1 0 4、1 0 5、1 0 6、1 0 7、1 0 8、1 0 9、1 1 0、1 1 1、1 1 2、1 1 3、1 1 4、1 1 5 または少なくとも 1 1 6 個の連続したアミノ酸」という用語も包含される。「配列番号 1 8 5 の少なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸」という用語は、配列番号 1 8 5 に存在する少なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸の考えられるあらゆる配列、ならびに特に、配列番号 1 8 5 の 3 つの C D R を含む配列、例えば、配列番号 1 8 5 のアミノ酸 3 ~ 1 0 7、1 ~ 1 1 5、1 ~ 1 1 0、2 2 ~ 1 1 6、2 0 ~ 1 1 5 等々を含む配列を包含する。

## 【 0 3 1 7 】

「配列番号 1 8 4 の少なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸」または「配列番号 1 7 3 の少なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸」といった用語も同様の意味を有する。

## 【 0 3 1 8 】

本発明によれば、本発明の抗体または抗原結合性フラグメントは、例えば、配列番号 1 7 3 に示す重鎖可変領域を有していてもよい。

## 【 0 3 1 9 】

本発明によれば、抗体または抗原結合性フラグメントは、例えば、以下のものを含み得る：

- a) 配列番号 1 8 0 の少なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸を含み得る軽鎖可変領域と、配列番号 1 8 3、配列番号 1 8 4、配列番号 1 8 5、または配列番号 1 7 3 のいずれかの少なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸を含み得る重鎖可変領域、
- b) 配列番号 1 8 1 の少なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸を含み得る軽鎖可変領域と、配列番号 1 8 3、配列番号 1 8 4、配列番号 1 8 5、または配列番号 1 7 3 のいずれかの少なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸を含み得る重鎖可変領域、
- c) 配列番号 1 8 2 の少なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸を含み得る軽鎖可変領域と、配列番号 1 8 3、配列番号 1 8 4、配列番号 1 8 5、または配列番号 1 7 3 のいずれかの少なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸を含み得る重鎖可変領域、
- d) 配列番号 1 7 2 の少なくとも 9 0 個の連続したアミノ酸を含み得る軽鎖可変領域と、配列番号 1 8 3、配列番号 1 8 4、配列番号 1 8 5、または配列番号 1 7 3 のいずれかの

少なくとも90個の連続したアミノ酸を含み得る重鎖可変領域。

【0320】

本発明のより具体的実施形態によれば、軽鎖可変領域は、配列番号172の少なくとも90個の連続したアミノ酸を含んでよく、また重鎖可変領域は、配列番号173の少なくとも90個の連続したアミノ酸を含んでよい。

【0321】

本発明のさらに具体的実施形態によれば、軽鎖可変領域は、配列番号172に示す通りであってよく、また重鎖可変領域は、配列番号173に示す通りであってよい。

【0322】

本発明の抗体または抗原結合性フラグメントは、上に記載した軽鎖可変領域および/または重鎖可変領域を含んでよく、また、定常領域のアミノ酸、例えばヒト抗体の定常領域のアミノ酸をさらに含んでもよい。

10

【0323】

例示的实施形態において、本発明の抗体または抗原結合性フラグメントは、例えば、ヒトIgG1定常領域を含んでよい。

【0324】

別の例示的实施形態によれば、抗体または抗原結合性フラグメントは、例えば、scFv、Fab、Fab'もしくは(Fab')<sub>2</sub>であってもよい。

【0325】

細胞における抗体の産生

20

本明細書において開示されている抗KAA G1抗体は、ハイブリドーマ技術または組み換えDNA法などの、当業者によく知られている様々な方法で製造することができる。

【0326】

本発明の例示的实施形態において抗KAA G1抗体は、従来のハイブリドーマ技術によって生成することが可能であり、このハイブリドーマ技術においては、マウスを抗原で免疫化し、脾臓細胞を単離し、HGPRT発現が欠失した骨髓腫細胞、ならびにヒポキサンチン、アミノプテリンおよびチミン(HAT)含有培地によって選択されるハイブリッド細胞と融合する。

【0327】

本発明の付加的な例示的实施形態において、抗KAA G1抗体は、組み換えDNA方法によって生成され得る。

30

【0328】

抗KAA G1抗体を発現させるために、本明細書に記載されている軽および重免疫グロブリン鎖のいずれか1つまたはその他をコードできるヌクレオチド配列を、発現ベクター(即ち、特定の宿主に挿入されたコーディング配列の転写用および翻訳制御用のエレメントを含むベクター)に挿入してもよい。これらのエレメントは、エンハンサー、構成プロモータ、誘導性プロモータ、5'非翻訳領域および3'非翻訳領域などの調節配列を含んでいてもよい。当業者に周知の方法を使用すれば、この種の発現ベクターを構築し得る。これらの方法としては、in vitro組み換えDNA技術、合成技術、およびin vivo遺伝子組み換えが挙げられる。

40

【0329】

本明細書に記載されている軽および重免疫グロブリン鎖のいずれか1つをコードできるヌクレオチド配列由来のポリペプチドまたはRNAを発現させる目的に利用可能な発現ベクター/宿主細胞系としては、当業者に公知の様々なものがあり得る。これらには、組み換えバクテリオファージ、プラスミドもしくはコスミッドDNA発現ベクターで形質転換された細菌などの微生物;酵母発現ベクターで形質転換された酵母;バクテリオウイルスベクターに感染した昆虫細胞系;ウイルス発現ベクターもしくは細菌発現ベクターで形質転換された植物細胞系、または動物細胞系が包含されるが、これらに限定されない。哺乳類系における組み換えタンパク質の長期産生のために、細胞系における安定な発現を実施できる。例えば、本明細書に記載されている軽および重免疫グロブリン鎖のいずれか1つをコ

50

ードできるヌクレオチド配列は、同じかまたは別のベクター上にウイルス性複製起点および/または内因性発現エレメント、ならびに選択可能遺伝子または可視マーカ遺伝子を含み得る発現ベクターを使用して細胞系中に形質転換され得る。本発明は、使用されるベクターまたは宿主細胞に制限されない。本発明の或る実施形態において、本明細書に記載されている軽および重免疫グロブリン鎖のいずれか1つをコードできるヌクレオチド配列を、それぞれ別の発現ベクター中にリゲートさせて、各鎖を別々に発現させ得る。別の実施形態において、本明細書に記載されている軽および重免疫グロブリン鎖のいずれか1つをコードできる軽鎖および重鎖の両方を、1つの発現ベクター中にリゲートさせて、同時に発現させ得る。

#### 【0330】

別法として、*in vitro*転写系またはカップリングした*in vitro*転写/翻訳系をそれぞれ使用して、本明細書に記載されている軽および重免疫グロブリン鎖のいずれか1つをコードできるヌクレオチド配列を含むベクターから、RNAおよび/またはポリペプチドを発現させてもよい。

#### 【0331】

一般的に、本明細書に記載されている軽および重免疫グロブリン鎖のいずれか1つをコードできるヌクレオチド配列を含有する宿主細胞、ならびに/または本明細書に記載されている軽および重免疫グロブリン鎖のいずれか1つをコードできるヌクレオチド配列を介してコードされるポリペプチドを発現する宿主細胞もしくはその一部は、当業者に公知の様々な手順で同定され得る。これらの手順としては、DNA/DNAもしくはDNA/RNAハイブリダイゼーション、PCR増幅、ならびに核酸もしくはアミノ酸配列の検出、および/または定量を目的とする膜ベース、溶液ベースもしくはチップベースの技術を含むタンパク質バイオアッセイ、または免疫測定技術が挙げられるが、これらに限定されない。特異的ポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体のいずれかを使用してポリペプチドの発現を検出し測定するための免疫学的方法は、当該技術分野において公知である。そのような技術の例としては、酵素結合抗体免疫吸着アッセイ(ELISA)、放射免疫アッセイ(RIA)、および蛍光活性化細胞選別(FACS)が挙げられる。当業者であれば、これらの方法論を本発明に容易に適合させることができるであろう。

#### 【0332】

したがって、本明細書に記載されている軽および重免疫グロブリン鎖のいずれか1つをコードできるヌクレオチド配列を含む宿主細胞は、対応するRNA(mRNA、siRNA、shRNAなど)を転写させるための条件下で、および/または細胞培養物からポリペプチドを発現させるための条件下で培養できる。細胞が産生したポリペプチドは、配列および/または使用されたベクターに応じて分泌されることもあれば、細胞内に保持されることもあり得る。例示的实施形態において、本明細書に記載されている軽および重免疫グロブリン鎖のいずれか1つをコードできるヌクレオチド配列を含有する発現ベクターは、原核細胞膜または真核細胞膜経由でのポリペプチド分泌を指図するシグナル配列を含むように設計できる。

#### 【0333】

遺伝コードに固有の縮重のため、同じであるか実質的に同じあるかまたは機能的に等価なアミノ酸配列をコードする他のDNA配列を産生でき、そのDNA配列を使用して、例えば、本明細書に記載されている軽および重免疫グロブリン鎖のいずれか1つをコードできるヌクレオチド配列を介してコードされるポリペプチドを発現させることができる。本発明のヌクレオチド配列を、当該技術分野において一般的に公知の方法を使用してエンジニアリングすることによって、限定はされないが、遺伝子産物のクローニング、プロセッシングおよび/または発現の修飾を含む様々な目的に対応するようにヌクレオチド配列を改変できる。ヌクレオチド配列をエンジニアリングする場合、遺伝子フラグメントおよび合成オリゴヌクレオチドをランダムにフラグメント化しPCRで再アセンブリすることによる、DNAシャフリングを利用してもよい。例えば、オリゴヌクレオチド媒介性の部位特異的突然変異誘発を使用して、制限部位の新規作製、グリコシル化パターンの改変、コ

10

20

30

40

50

ドン優先度の変更、スプライス変異体の産生などの突然変異を導入できる。

【0334】

加えて、宿主細胞株は、挿入された配列の発現を調節する能力、または発現したポリペプチドを処理する能力に関して、所望の様式で選択できる。そのようなポリペプチドの修飾としては、限定はされないが、アセチル化、カルボキシル化、グリコシル化、リン酸化、脂質化、およびアシル化が挙げられる。例証的实施形態においては、特定のグリコシル化構造またはパターンを含む抗K A A G 1抗体が所望され得る。また、ポリペプチドの「プレプロ」形態を開裂する翻訳後プロセッシングを使用して、タンパク質のターゲティング、フォールディング、および/または活性を規定することもできる。特異的な細胞機構、および翻訳後活性に特有の機構を有する様々な宿主細胞（例えば、CHO、HeLa、MDCK、HEK293およびW138）が市販されており、American Type Culture Collection (ATCC) から入手可能である。また、これらの宿主細胞を選択することによって、発現したポリペプチドの適正な修飾およびプロセッシングが保証され得る。

10

【0335】

天然、修飾、または組み換え核酸配列を異種配列とリゲートさせると、結果として、上記の宿主系のいずれにおいても、異種ポリペプチド部分を含む融合ポリペプチドが翻訳される。このことは、当業者であれば容易に理解するであろう。市販の親和性マトリックスを使用すれば、そのような異種ポリペプチド部分を介して融合ポリペプチドの精製を促し得る。そのような部分としては、限定はされないが、グルタチオンS-トランスフェラーゼ (GST)、マルトース結合タンパク質、チオレドキシン、カルモジュリン結合ペプチド、6-His (His)、FLAG、c-myc、ヘマグルチニン (HA)、およびモノクローナル抗体エピトープなどの抗体エピトープが挙げられる。

20

【0336】

他の更なる態様において本発明は、融合タンパク質をコードするヌクレオチド配列を含み得るポリヌクレオチドに関する。融合タンパク質は、本明細書に記載されているポリペプチド（例えば、完全軽鎖、完全重鎖、可変領域、CDRなど）に融合された融合パートナー（例えば、HA、Fcなど）を含んでいてもよい。

【0337】

また、当該技術分野において周知の化学的または酵素的方法を用いて、全体としてまたは部分的に、核酸およびポリペプチド配列を合成することも、当業者であれば容易に理解するであろう。例えば、ペプチド合成は様々な固相技術を利用して実施でき、ABI 431A Peptide synthesizer (PE Biosystems) などの機械を使用して合成を自動化できる。所望により、アミノ酸配列を合成中に改変し、かつ/または他のタンパク質由来の配列と組み合わせて、変異体タンパク質を産生できる。

30

【0338】

抗体複合体

本発明の抗体または抗原結合性フラグメントは、検出可能部分（即ち、検出もしくは診断目的に対応）または治療部分（治療目的に対応）と結合させ得る。

【0339】

40

「検出可能部分」は、分光学的、光化学的、生化学的、免疫化学的、化学的、および/または他の物理的手段を介して検出できる部分である。検出可能部分は、直接的および/または間接的のいずれかで（例えば、限定はされないが、DOTA結合またはNH<sub>2</sub>S結合などの結合を介し）、当該技術分野において周知の方法を使用して、本発明の抗体およびその抗原結合性フラグメントとカップリングされ得る。使用され得る検出可能部分は多岐にわたっており、その選択肢は、要求される感度、結合容易性、安定性要件、および利用可能な計装に依存する。好適な検出可能部分としては、限定はされないが、蛍光標識、放射性標識（例えば、限定はされないが、<sup>125</sup>I、<sup>111</sup>In、<sup>99</sup>Tc、<sup>131</sup>I、PETスキャナー用の陽電子放出アイソトープを含む）、核磁気共鳴活性標識、発光標識、化学発光標識、発色団標識、酵素標識（例えば、限定はされないが、ホースラディッ

50

シュベルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼなど)、量子ドットおよび/またはナノ粒子が挙げられる。検出可能部分は、検出可能なシグナルを誘発しかつ/または生成でき、それにより検出可能部分からのシグナルが検出可能になる。

#### 【0340】

本発明の別の例示的实施形態において、抗体またはその抗原結合性フラグメントは、治療部分(例えば、薬剤、細胞傷害性部分)とカップリング(修飾)され得る。

#### 【0341】

例証的实施形態において、抗K A A G 1抗体および抗原結合性フラグメントは、阻害剤、化学療法剤または細胞傷害性剤を含んでもよい。例えば、抗体および抗原結合性フラグメントを化学療法剤または細胞傷害性剤にコンジュゲートしてもよい。そのような化学療法剤または細胞傷害性剤としては、限定はされないが、イットリウム90、スカンジウム47、レニウム186、ヨウ素131、ヨウ素125、および当業者に認知されているその他多くのもの、例えば、ルテチウム(例えば、 $\text{Lu}^{177}$ )、ビスマス(例えば、 $\text{Bi}^{213}$ )、銅(例えば、 $\text{Cu}^{67}$ )が挙げられる。他の例においては、化学療法剤または細胞傷害性剤は、限定するものではないが、5-フルオロウラシル、アドリアマイシン、イリノテカン、白金系化合物、例えば、シスプラチンおよび抗チューブリン、または有糸分裂阻害化合物、例えば、タキサン、ドキソルビシンおよびシクロホスファミド、シュードモナスエンドトキシン、リシン、ならびに他の毒素を含み得る。好適な抗体薬物複合体は、0.001 nM ~ 150 nM、0.001 nM ~ 100 nM、0.001 nM ~ 50 nM、0.001 nM ~ 20 nMまたは0.001 nM ~ 10 nM(両端の値を含む)の範囲の $\text{IC}_{50}$ を有するものの中から選択する。従って、コンジュゲーションに用いる細胞傷害性剤は、これらの基準に基づいて選択する。

#### 【0342】

別法として、本発明の方法および当該技術分野において公知の方法を実施するために、本発明の抗体または抗原結合性フラグメント(結合または非結合)を本発明の抗体または抗原結合性フラグメントに特異的に結合でき、かつ所望される検出可能部分、診断部分または治療部分を有し得る第2の分子(例えば、二次抗体など)と組み合わせて使用できる。

#### 【0343】

抗体の医薬組成物およびその使用

抗K A A G 1抗体または抗原結合性フラグメント(結合または非結合)の医薬組成物もまた、本発明に包含される。医薬組成物は抗K A A G 1抗体または抗原結合性フラグメントを含んでもよく、また薬学的に許容可能な担体も含んでいてよい。

#### 【0344】

本発明の他の態様は、本明細書に記載されている抗体または抗原結合性フラグメントと、担体と、を含み得る組成物に関する。

#### 【0345】

本発明はまた、本明細書に記載されている抗体または抗原結合性フラグメントと薬学的に許容可能な担体とを含み得る、医薬組成物に関する。

#### 【0346】

活性成分に加えて、医薬組成物は、水、PBS、生理食塩水、ゼラチン、油、アルコール類、ならびに活性化合物を薬学的に使用してもよい調製物に加工し易くする他の賦形剤および助剤を含んでなる薬学的に許容可能な担体を含み得る。他の例においては、この種の調製物を滅菌してもよい。

#### 【0347】

本明細書において「医薬組成物」は、薬学的に許容可能な希釈剤、保存料、可溶化剤、乳化剤、アジュバントおよび/または担体と合わせた治療有効量の薬剤を意味する。本明細書において「治療有効量」とは、所与の状態および投与レジメンに関して治療効果が得られる量を指す。そのような組成物は、液体であるか、または凍結乾燥もしくは他の方法で乾燥された配合物であり、様々なバッファー内容物(例えば、Tris-HCl、酢酸

塩、リン酸塩)、pHおよびイオン強度の希釈剤、表面への吸着防止のためのアルブミンまたはゼラチンなどの添加剤、界面活性剤(例えば、Tween 20、Tween 80、Pluronic F68、胆汁酸塩)を含む。可溶化剤(例えば、グリセロール、ポリエチレングリセロール)、酸化防止剤(例えば、アスコルビン酸、メタ重亜硫酸ナトリウム)、保存料(例えば、チメロサル、ベンジルアルコール、パラベン)、増量物質または等張性改良剤(例えば、ラクトース、マンニトール)、ポリエチレングリコールなどのポリマーのタンパク質に対する共有結合、金属イオンとの錯体形成、またはポリ乳酸、ポリグリコール酸、ヒドロゲルなどのポリマー化合物の粒子状調製物中へのもしくはその粒子状調製物上への、或いはリポソーム、マイクロエマルジョン、ミセル、単層もしくは多重層ベシクル、赤血球ゴースト、またはスフェロプラスト上への物質の移入。そのような組成物は、物理的状態、溶解度、安定性、in vivo放出の速度、およびin vivoクリアランスの速度に影響する。制御放出組成物または持続放出組成物には、親油性デポー(例えば、脂肪酸、ワックス、油)中の配合物が包含される。また、ポリマー(例えば、ポロキサマーまたはポロキサミン)でコーティングされた粒子状組成物も、本発明に包含されている。本発明の組成物の他の実施形態は、粒子状形態保護コーティング、プロテアーゼ阻害物質、または非経口、肺、鼻、経口、膣、直腸経路を含めた様々な投与経路に対応した透過促進剤を取り入れている。一実施形態において、医薬組成物は、非経口、癌近傍、経粘膜、経皮、筋肉内、静脈内、皮内、皮下、腹腔内、脳室内、頭蓋内および腫瘍内投与される。

10

#### 【0348】

20

更に、本明細書において「薬学的に許容可能な担体」または「医薬担体」は当該技術分野において公知であり、0.01~0.1Mもしくは0.05Mのリン酸バッファー、または0.8%生理食塩水を包含するが、これらに限定されない。加えて、そのような薬学的に許容可能な担体は、水性または非水性溶液、懸濁液、およびエマルジョンであってもよい。非水性溶媒の例は、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、オリーブ油などの植物油、およびオレイン酸エチルなどの注射可能な有機エステルである。水性担体としては、水、アルコール/水溶液、エマルジョンまたは懸濁液(生理食塩水および緩衝媒体を含む)が挙げられる。非経口ビヒクルとしては、塩化ナトリウム溶液、リンガーデキストロース、デキストロースおよび塩化ナトリウム、乳酸加リンガー液または固定油が挙げられる。静脈内ビヒクルとしては、流体および栄養補充液、電解質補充液、例えばリンガーデキストロース系、およびこれらに類するものが挙げられる。保存料および他の添加剤、例えば、抗菌剤、酸化防止剤、照合剤、不活性ガス、およびこれらに類するものもまた、存在し得る。

30

#### 【0349】

どのような化合物についても治療有効量は、細胞培養アッセイ、またはマウス、ラット、ウサギ、イヌもしくはブタなどの動物モデルのどちらかで推定できる。動物モデルはまた、濃度範囲および投与経路を決める場合に使用され得る。それゆえ、そのような情報は、ヒトにおける有用な用量および投与経路を決める場合にも使用され得る。これらの技術は当業者に周知であり、治療有効量とは、病徴または症状を改善する活性成分の量を指す。治療効果および毒性は、細胞培養においてまたは実験動物を用い、標準の薬剤的手順で、例えばED<sub>50</sub>(母集団の50%において治療上有効な用量)およびLD<sub>50</sub>(母集団の50%に対して致死的な用量)統計を計算して比較対照することによって定量できる。上述した治療組成物はいずれも、この種の治療を必要とするあらゆる被検対象(限定はされないが、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ウサギ、サルおよびヒトなどの哺乳動物を含む)に適用できる。

40

#### 【0350】

本発明において使用される医薬組成物は、限定はされないが、経口、静脈内、筋肉内、動脈内、脊髄内、髄腔内、脳室内、経皮、皮下、腹腔内、鼻腔内、経腸、局所、舌下、または直腸手段を含めた任意の数の経路によって投与できる。

#### 【0351】

50

## 使用方法

本開示の目的のための用語「治療」は、治療的処置と予防または防止的処置の両方を指し、ここで、目的は標的化された病的状態または障害を予防もしくは減速（軽減）させることにある。治療を必要としている人としては、既に障害を有する人、障害を有しがちな人、または障害を予防すべき人が挙げられる。

## 【0352】

本発明は、その一態様において、K A A G 1 に特異的に結合することができる抗体または抗原結合性フラグメントを用いて、乳癌を有するか、または乳癌を有することが疑われる個体を治療する方法を提供する。

## 【0353】

本発明によれば、個体は、エストロゲン受容体発現、プロゲステロン受容体発現および/またはH e r 2 発現（もしくは過剰発現）が陰性である乳癌を有する者でよい。

## 【0354】

また本発明によれば、個体は、エストロゲン受容体発現、プロゲステロン受容体発現および/またはH e r 2 の少なくとも1つの発現が低い乳癌を有する者でよい。

## 【0355】

例えば、腫瘍は、エストロゲン受容体発現およびプロゲステロン受容体発現の両方が陰性である（またはその発現が低い）ものでよい。

## 【0356】

本発明によれば、個体は、トリプルネガティブまたは基底細胞型として特徴付けられる乳癌を有する者でよい。

## 【0357】

本発明のまた別の態様は、エストロゲン受容体発現、プロゲステロン受容体発現および/もしくはH e r 2 過剰発現の欠乏またはこれら3つのマーカの少なくとも1つの低い発現を特徴とする乳癌の治療または診断における、本明細書に記載の単離抗体または抗原結合性フラグメントの使用に関する。

## 【0358】

本発明によれば、上記方法は、例えば、治療を必要とする個体に、K A A G 1 に特異的に結合することができる抗体または抗原結合性フラグメントを投与することを含み得る。治療を必要とする個体は、E R 発現、P g R 発現の欠乏に基づき、および/またはH E R 2 タンパク質過剰発現の非存在によって、優先的に選択される。これらのマーカについての臨床試験は、通常、組織病理学的方法（免疫組織化学、F I S H など）を用いて、および/または発現試験（例えば、D e n t e t a l , 2 0 0 7 , B e r n s t e i n a n d L a c e y , 2 0 1 1 を参照）により実施する。従って、治療を必要とする個体は、トリプルネガティブ乳癌または基底細胞型乳癌の診断を受けた個体であってよい。

## 【0359】

このように本発明は、特に、抗K A A G 1 抗体を用いた、トリプルネガティブ乳癌または基底細胞型乳癌を有する個体の治療的処置に関する。

## 【0360】

好適な抗体または抗原結合性フラグメントは、腫瘍細胞の表面で、K A A G 1 に特異的に結合することができるものを含む。このような抗体は、K A A G 1 のアミノ酸30～84（両端を含む）の間（例えば、アミノ酸36～60（両端を含む）の間またはアミノ酸61～84（両端を含む）の間）に含まれるエピトープに優先的に結合し得る。

## 【0361】

好適な抗体は、抗体依存性細胞傷害を媒介するもの、および治療部分とコンジュゲートしたものであってよい。

## 【0362】

本発明によれば、抗体は、例えば、モノクローナル抗体、キメラ抗体もしくはヒト化抗体またはそれらの抗原結合性フラグメントであってよい。

## 【0363】

本発明の方法は、阻害剤、化学療法剤または細胞傷害性剤と併用して、抗体または抗原結合性フラグメントを投与することを含み得る。

【0364】

本発明に包含される他の治療方法は、アンチセンス治療薬（*siRNA*、アンチセンス、リボザイムなど）のような他のタイプのK A A G 1 阻害剤を投与することを含む。

【0365】

従って、本発明の方法は、治療を必要とする個体に、K A A G 1 活性または発現の阻害剤を投与することによって、トリプルネガティブ乳癌または基底細胞型乳癌を治療する方法を提供する。

【0366】

阻害剤は、配列番号1またはそのフラグメントに相補的なヌクレオチド配列を含んでよい。さらに具体的には、阻害剤は、配列番号1のヌクレオチド738～992（両端を含む）またはそのフラグメントに相補的なヌクレオチド配列を含んでよい。例えば、阻害剤は、配列番号1または配列番号1のヌクレオチド738～992（両端を含む）に相補的な少なくとも10（少なくとも15、少なくとも20）個の連続したヌクレオチドを含んでよい。

【0367】

場合により、抗K A A G 1 抗体およびフラグメントは、K A A G 1 を発現する癌細胞と相互作用して、A D C C を媒介することによって免疫反応を誘導してもよい。別の例では、抗K A A G 1 抗体およびフラグメントは、K A A G 1 とそのタンパク質パートナーとの相互作用をブロックし得る。

【0368】

場合により、抗K A A G 1 抗体およびその抗原結合性フラグメントは、同じ病状のために投与される他の治療薬（阻害剤、化学療法剤または細胞傷害性剤）と同時に投与してもよい。従って、抗体は、P A R P 1 阻害剤、E G F R 阻害剤、有糸分裂阻害剤（例えば、タキサン）、白金製剤（例えば、シスプラチン）、DNA損傷剤（例えば、ドキソルビシン）、ならびに当分野では公知の他の抗癌治療薬と一緒に投与してよい。他の例では、抗K A A G 1 抗体およびその抗原結合性フラグメントを他の治療抗体と一緒に投与してもよい。これらの抗体として、限定するものではないが、E G F R、C D - 2 0、およびH e r 2 をターゲティングする抗体が挙げられる。

【0369】

本発明は、エストロゲン受容体陰性（E R -）、プロゲステロン受容体陰性（P g R -）であり、および/またはH e r 2 過剰発現が欠乏した（H e r 2 -）K A A G 1 発現細胞の増殖を阻害する方法に関し、本方法は、有効量の本発明に記載する抗体または抗原結合性フラグメントと細胞を接触させることを含み得る。

【0370】

本発明はまた、癌を治療する、または、哺乳動物において、エストロゲン受容体陰性（E R -）、プロゲステロン受容体陰性（P g R -）であり、および/もしくはH e r 2 過剰発現が欠乏した（H e r 2 -）K A A G 1 発現細胞の増殖を阻害する方法も包含し、本方法は、本発明に記載する抗体または抗原結合性フラグメントを、治療が必要な哺乳動物に投与することを含み得る。

【0371】

更なる態様において本発明は、本発明の抗体または抗原結合性フラグメントを使用した治療方法、診断方法および検出方法を提供すると共に、そのような目的に対応した医薬組成物もしくは薬物の製造における、これらの抗体または抗原結合性フラグメントの使用を提供する。

【0372】

本発明が包含する治療方法は、治療が必要な哺乳動物、特に、エストロゲン受容体陰性（E R -）、プロゲステロン受容体陰性（P g R -）であり、および/もしくはH e r 2 過剰発現が欠乏している（H e r 2 -）ものとして特徴付けられる癌を有するか、または

10

20

30

40

50

このような癌に罹患しやすい患者に、本発明に記載する抗体または抗原結合性フラグメントを投与することを含む。

【0373】

本発明はまた、別の形態において、腫瘍の広がり、腫瘍の浸潤、腫瘍の形成を抑制するか、または腫瘍の溶解を誘導するための方法も提供し、これは、必要とする哺乳動物に、単離抗体または抗原結合性フラグメントを投与することを含む。

【0374】

ゆえに、本発明は、癌の治療、腫瘍の広がり、腫瘍浸潤、腫瘍形成の抑制（そのための医薬組成物の製造）における、またはエストロゲン受容体陰性（ER-）、プロゲステロン受容体陰性（PgR-）であり、および/もしくはHer2過剰発現が欠乏している（Her2-）KAA G1発現腫瘍細胞の腫瘍溶解を誘導するための、本明細書に記載する単離抗体または抗原結合性フラグメントの使用に関する。

10

【0375】

抗体または抗原結合性フラグメントは、より具体的には、例えば、転移能力を有する悪性腫瘍、および/または足場非依存性増殖（anchorage-independent growth）で特徴づけられる腫瘍細胞を含めた悪性腫瘍に適用可能であり得る。本発明の抗体または抗原結合性フラグメントはまた、癌の診断にも使用し得る。癌の診断は、癌を有するかもしれない癌を有する疑いのある哺乳動物に対して本発明の抗体または抗原結合性フラグメントを投与することによってin vivoで実施できる。診断はまた、哺乳動物から採取された試料を抗体または抗原結合性フラグメントに接触させ、KAA G1またはKAA G1変異体を発現する細胞（腫瘍細胞）の有無を判別することによって、ex vivoで実施され得る。

20

【0376】

本発明はまた、哺乳動物において、癌を検出する、または、エストロゲン受容体陰性（ER-）、プロゲステロン受容体陰性（PgR-）であり、および/もしくはHer2過剰発現が欠乏している（Her2-）KAA G1発現細胞を検出する方法も包含し、この方法は、本明細書に記載の抗体または抗原結合性フラグメントを、必要とする哺乳動物に投与することを含み得る。

【0377】

本発明は、その別の態様において、KAA G1もしくはKAA G1変異体を発現する細胞を検出する方法に関し、この方法は、本明細書に記載されている抗体または抗原結合性フラグメントに細胞を接触させる工程と、抗体およびKAA G1発現細胞またはKAA G1変異体発現細胞によって形成される複合体を検出する工程と、を含み得る。検出方法に使用される抗体または抗原結合性フラグメントの例示的实施形態は、KAA G1の細胞外領域と結合され得るものである。

30

【0378】

検出方法で用いられる抗体または抗原結合性フラグメントの他の例示的实施形態は、エストロゲン受容体陰性（ER-）、プロゲステロン受容体陰性（PgR-）であり、および/もしくはHer2過剰発現が欠乏している（Her2-）腫瘍細胞の表面に発現したKAA G1もしくはKAA G1変異体に結合するものである。

40

【0379】

本発明の別の形態は、KAA G1（配列番号2）、配列番号2と少なくとも80%の配列同一性を有するKAA G1変異体、またはKAA G1もしくはKAA G1変異体の分泌形態もしくは循環形態を検出する方法に関し、この方法は、KAA G1もしくはKAA G1変異体を発現する細胞、またはKAA G1もしくはKAA G1変異体を含むか、または含むことが疑われる試料（生検、血清、血漿、尿など）を、本明細書に記載の抗体または抗原結合性フラグメントと接触させるステップと、結合を測定するステップを含んでもよい。試料は、癌（例えば、基底細胞型乳癌またはトリプルネガティブ乳癌などの、エストロゲン受容体陰性（ER-）、プロゲステロン受容体陰性（PgR-）であり、および/もしくはHer2過剰発現が欠乏している（Her2-）ものとして特徴付けられる乳癌

50

）を有するか、あるいは、癌を有することが疑われる哺乳動物（例えば、ヒト）に由来するものでよい。試料は、哺乳動物または細胞培養上澄みから取得した組織試料であってもよい。

【0380】

本発明によれば、試料は、哺乳動物から採取される血清試料、血漿試料、血液試料または腹水であり得る。本明細書に記載されている抗体または抗原結合性フラグメントは、K A A G 1 の分泌形態または循環（血中で循環する）形態を有利に検出できる。

【0381】

この方法は、K A A G 1 または K A A G 1 変異体に結合する抗体または抗原結合性フラグメントによって形成される複合体を定量する工程を含み得る。

10

【0382】

抗体が抗原に結合すると、抗原の予想分子量が増大する。ゆえに、抗体または抗原結合性フラグメントが抗原と特異的に結合すると、物理的变化が起こる。

【0383】

そのような変化は、例えば、電気泳動の後に、ウエスタンブロット、およびゲルまたはブロットの着色、質量分析法、コンピュータと H P L C との接続などを利用することにより検出できる。分子量におけるシフトを計算できる他の装置は当該技術分野において公知であり、例えば、P h o s p h o r i m a g e r（商標）が挙げられる。

【0384】

抗体が、例えば検出可能な標識を含む場合、抗原 - 抗体複合体は、標識によって放出される蛍光、標識の放射線放出、その基質を用いて得られる標識の酵素活性などにより検出できる。

20

【0385】

抗体または抗原結合性フラグメントと抗原との間の結合の検出および / または測定は、当該技術分野において公知の様々な方法によって実施できる。抗体または抗原結合性フラグメントと抗原との間の結合は、検出可能な標識（放射線放出、蛍光、変色など）を介し、放出されたシグナルを検出できる装置を使用すれば、モニタリングできる。そのような装置は、発生時点の結合を示すデータを提供し、抗原に結合した抗体の量に関する指標も提供し得る。（通常、コンピュータに接続した）装置によって、バックグラウンドシグナル（例えば、抗原 - 抗体結合の不在下で得られるシグナル）またはバックグラウンドノイズと、特異的抗体 - 抗原結合によって得られるシグナルと、の差を計算することもできる。ゆえに、そのような装置は、抗原が検出されたかどうかに関する指標および結論をユーザーに提供し得る。

30

【0386】

本発明の更なる態様は、本明細書に記載されている 1 種以上の抗体または抗原結合性フラグメントを含む 1 種以上の容器を具備し得るキットに関する。

【0387】

核酸、ベクターおよび細胞

通常は抗体が細胞内で生成され、軽鎖および重鎖をコードする核酸配列を含むベクターから発現される軽鎖および重鎖の発現を可能にする。

40

【0388】

ゆえに、本明細書に記載されている C D R、軽鎖可変領域、重鎖可変領域、軽鎖、重鎖のいずれかをコードできる核酸は、本発明に包含される。

【0389】

ゆえに、更なる態様において本発明は、K A A G 1 に特異的に結合できる抗体の軽鎖可変領域および / または重鎖可変領域をコードする核酸に関する。

【0390】

本発明に含まれる核酸の例示的实施形態としては、配列番号 3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、45 および 47、そのフラグメント（例えば、少なくとも 10 個、少なくとも 15 個、少なくとも 20 個の連続したヌクレオチド）お

50

よびその補体と少なくとも70%の配列同一性（即ち、少なくとも75%、少なくとも80%の配列同一性）を有する核酸からなる群から選択される核酸を含む。

【0391】

本発明の実施形態によれば、核酸は、中でも、K A A G 1もしくはK A A G 1変異体発現腫瘍細胞の殺傷（排除、破壊、溶解）を誘導することができる抗体の軽鎖可変領域および／または重鎖可変領域をコードするものでよい。

【0392】

本発明の別の実施形態によれば、核酸は、中でも、K A A G 1もしくはK A A G 1変異体発現腫瘍細胞の広がりを抑制することができる抗体の軽鎖可変領域および／または重鎖可変領域をコードするものでよい。

10

【0393】

本発明のさらに別の実施形態によれば、核酸は、特に、K A A G 1もしくはK A A G 1変異体発現腫瘍細胞の形成を低減または阻害することができる抗体の軽鎖可変領域および／または重鎖可変領域をコードするものでよい。

【0394】

本発明の核酸の例示的实施形態は、以下：

- a．配列番号72および配列番号73からなる群から選択されるCDRL1配列、
  - b．配列番号74、配列番号75および配列番号76からなる群から選択されるCDRL2配列、または
  - c．配列番号77、配列番号78および配列番号79からなる群から選択されるCDRL3配列
- を含む軽鎖可変領域をコードする核酸を含む。

20

【0395】

本発明によれば、核酸は、CDRL1、CDRL2またはCDRL3の少なくとも2つのCDRを含み得る軽鎖可変領域をコードし得る。

【0396】

また、本発明によれば、核酸は、1つのCDRL1と、1つのCDRL2と、1つのCDRL3を含み得る軽鎖可変領域をコードし得る。

【0397】

本発明はまた、以下：

- a．配列番号80を含むCDRH1配列、
  - b．配列番号81、配列番号82、配列番号83、配列番号84および配列番号85からなる群から選択されるCDRH2配列、または
  - c．配列番号86、配列番号87および配列番号88からなる群から選択されるCDRH3配列
- を含む重鎖可変領域をコードする核酸にも関する。

30

【0398】

本発明によれば、核酸は、CDRH1、CDRH2またはCDRH3からなる少なくとも2つのCDRを含み得る重鎖可変領域をコードし得る。

【0399】

本発明によれば、核酸は、1つのCDRH1と、1つのCDRH2と、1つのCDRH3と、を含み得る重鎖可変領域をコードし得る。

40

【0400】

少なくとも1つの保存的アミノ酸置換を有する抗体変異体をコードする核酸もまた、本発明に包含される。

【0401】

本発明によれば、核酸は、少なくとも1つの保存的アミノ酸置換を含むCDRをコードし得る。

【0402】

本発明によれば、核酸は、少なくとも1つの保存的アミノ酸置換が少なくとも2つのC

50

D Rに含まれるC D Rをコードし得る。

【0403】

本発明によれば、核酸は、少なくとも1つの保存的アミノ酸置換が3つのC D Rに含まれるC D Rをコードし得る。

【0404】

本発明によれば、核酸は、少なくとも2つの保存的アミノ酸置換が少なくとも1つのC D Rに含まれるC D Rをコードし得る。

【0405】

本発明によれば、核酸は、少なくとも2つの保存的アミノ酸置換が少なくとも2つのC D Rに含まれるC D Rをコードし得る。

10

【0406】

本発明によれば、核酸は、少なくとも2つの保存的アミノ酸置換が3つのC D Rに含まれるC D Rをコードし得る。

【0407】

本発明の他の形態は、配列番号16、配列番号20、配列番号24、配列番号103、配列番号104、配列番号105、配列番号106、配列番号107、配列番号108、配列番号109、配列番号110、配列番号111、配列番号112、配列番号113、配列番号114、配列番号115、配列番号116、配列番号117、配列番号118、配列番号119、配列番号120、配列番号121、配列番号122、配列番号123、配列番号124および配列番号125からなる群から選択される配列と少なくとも70%、75%、80%の配列同一性を有する軽鎖可変領域をコードする核酸に関する。

20

【0408】

本発明の他の形態は、配列番号18、配列番号22、配列番号26、配列番号126、配列番号127、配列番号128、配列番号129、配列番号130、配列番号131、配列番号132、配列番号133、配列番号134、配列番号135、配列番号136、配列番号137、配列番号138、配列番号139、配列番号140、配列番号141、配列番号142、配列番号143、配列番号144、配列番号145、配列番号146および配列番号147からなる群から選択される配列と少なくとも70%、75%、80%の配列同一性を有する重鎖可変領域をコードする核酸に関する。

【0409】

更に別の態様において本発明は、本明細書に記載されている核酸を含むベクターに関する。

30

【0410】

本発明によれば、ベクターは発現ベクターであり得る。

【0411】

特定の宿主に挿入されたコーディング配列の転写用および翻訳制御用のエレメントを含むベクターは、当該技術分野において公知である。これらのエレメントは、エンハンサー、構成プロモータ、誘導性プロモータ、5'非翻訳領域および3'非翻訳領域などの調節配列を含んでいてもよい。この種の発現ベクターを構築する目的に使用できる方法は、当業者に周知である。これらの方法としては、*in vitro*組み換えDNA技術、合成技術、および*in vivo*遺伝子組み換えが挙げられる。

40

【0412】

別の態様において本発明は、本明細書に記載されている核酸を含み得る単離された細胞に関する。

【0413】

単離された細胞は、軽鎖可変領域をコードする核酸および重鎖可変領域をコードする核酸を、別個のベクター上または同じベクター上のいずれかに含んでいてもよい。単離された細胞はまた、軽鎖をコードする核酸および重鎖をコードする核酸を、別個のベクター上または同じベクター上のいずれかに含んでいてもよい。

【0414】

50

本発明によれば、細胞は抗体またはその抗原結合性フラグメントを発現、アセンブル、および/または分泌できる。

【0415】

別の態様において本発明は、本明細書に記載されている抗体を含有し得るかつ/または発現し得る細胞を提供する。

【0416】

本発明によれば、細胞は、軽鎖可変領域をコードする核酸と重鎖可変領域をコードする核酸とを含み得る。

【0417】

細胞は抗体またはその抗原結合性フラグメントを発現させる、アセンブルする、および/または分泌する能力を有し得る。

【0418】

以下の実施例は、本発明の詳細を更に概説するために提示してある。

【実施例】

【0419】

実施例 1

この実施例は、Fabを完全IgG1キメラモノクローナル抗体に変換するために用いる方法を開示する。

【0420】

FabモノクローナルとKAG1タンパク質との間の相互作用の研究が実施される可能性はさておき、*in vitro*および*in vivo*研究の有意義な実施に関して、Fabの用途は、抗原の生物学的機能の検証に限定されてもよい。ゆえに、Fabに含まれる軽鎖可変領域および重鎖可変領域を完全抗体スカフォールドに転移させて、マウス-ヒトキメラIgG1を生成させる必要があった。軽および重免疫グロブリン鎖の両方の発現ベクターを、i) Fab発現ベクターの上流の元の細菌シグナルペプチド配列が哺乳類シグナルペプチドおよびii) マウス抗体中の軽定常領域および重鎖定常領域がヒト定常領域で置換されるように構築した。この転移を実施するための方法には、当業者に周知の標準的分子生物学技術が使用された。

【0421】

軽鎖発現ベクター - 293E-過性トランスフェクション系において使用されるように設計された、pTTVH8G (Durocher et al., 2002) と呼ばれる既存の哺乳類発現プラスミドを、マウス軽鎖可変領域に適合するように修飾した。結果として得られたマウス-ヒトキメラ軽鎖は、マウス可変領域とそれに続くヒトカッパ定常ドメインとを含んでいた。ヒトカッパ定常ドメインをコードするcDNA配列を、プライマーOGS1773およびOGS1774 (それぞれ配列番号55および56) を使用してPCRにより増幅した。ヒトカッパ定常領域のヌクレオチド配列および対応するアミノ酸配列をそれぞれ配列番号57および58に示す。結果として得られる321塩基対PCR産物を、ヒトVEGF A (NM\_003376) のシグナルペプチド配列のすぐ下流のpTTVH8G中にリゲートさせた。このクローニング工程ではまた、マウス軽鎖可変領域をコードするcDNAの正確な位置決定を可能にする独自の制限エンドヌクレアーゼ部位の位置決定も行った。pTTVK1と呼ばれる最終発現プラスミドの配列を配列番号59に示す。表2に開示する配列に基づいて、その5'末端で、VEGF Aシグナルペプチドの最後の20塩基対と同一の配列を組み入れた、抗体3D3、3G10、3C4および3A4 (それぞれ、配列番号15、19、23および47) の軽鎖可変領域に特異的なPCRプライマーを設計した。これらのプライマーの配列を配列番号60、61、62および213に示す。3'最末端が同一であったため、3D3、3G10および3C4の3つすべての軽鎖可変領域を増幅するのに、同じ逆方向プライマーを用いた。このプライマー (配列番号63) は、その3'末端で、ヒトカッパ定常ドメインの最初の20塩基対と同一の配列を組み込んでいた。プライマー配列番号214を用いて、3A4軽鎖可変領域を増幅した。PCRフラグメントおよび消化されたpTTVK1の両方をT4 DN

10

20

30

40

50

Aポリメラーゼの3' - 5'エキソヌクレアーゼ活性で処理した結果、相補的末端が得られ、これらの相補的末端同士をアニーリングによって結合した。アニーリング反応物をコンピテント大腸菌(E. coli)中に形質転換し、マウス軽鎖可変領域が、pTTVK1発現ベクター中に適切に挿入されることを確実にするため、シーケンシングによって発現プラスミドを確認した。当業者であれば、軽鎖発現プラスミドの構築のために用いられる方法が、元のFabライブラリに含まれるすべての抗KAA G1抗体に適用されることを容易に認識されよう。

#### 【0422】

重鎖発現ベクター - 3A4の重鎖免疫グロブリンを産生した発現ベクターを、軽鎖免疫グロブリンの産生について前述したpTTVK1と同様の方法で設計した。ヒトIgG Kシグナルペプチド配列だけでなくIgG1のヒトFcドメインのCH2領域およびCH3領域も含むプラスミドpYD11(Durocher et al., 2002)を、ヒト定常CH1領域をコードするcDNA配列をリゲートさせることによって修飾した。独自の制限エンドヌクレアーゼ部位を含むように設計されたPCRプライマーOGS1769およびOGS1770(配列番号64および65)を使用して、配列番号66および67に示すヌクレオチド配列および対応するアミノ酸配列を含むヒトIgG1 CH1領域を増幅した。IgG Kシグナルペプチド配列のすぐ下流のヒトCH1の309塩基対フラグメントをリゲートした後、修飾されたプラスミド(配列番号68)をpYD15と指定した。選択された重鎖可変領域をこのベクター中にリゲートした場合、結果として得られたプラスミドは、ヒト定常領域を有する完全IgG1重鎖免疫グロブリンをコードする。表2に開示する配列に基づいて、その5'末端で、IgG Kシグナルペプチドの最後の20塩基対と同一の配列を組み入れた、抗体3D3、3G10、3C4および3A4(それぞれ、配列番号17、21、25および45)の重鎖可変領域に特異的なPCRプライマーを設計した。これらのプライマーの配列を配列番号69(3D3および3G10は同じ5'末端配列を有する)、配列番号70または配列番号215(3A4の場合)に示す。3'最末端が同一であったため、3D3、3C4および3G10の3つすべての重鎖可変領域を増幅するのに、同じ逆方向プライマーを用いた。このプライマー(配列番号71)は、その3'末端で、ヒトCH1定常ドメインの最初の20塩基対と同一の配列を組み込んでいた。3A4重鎖可変領域には、配列番号216を用いた。PCRフラグメントおよび消化されたpYD15の両方をT4 DNAポリメラーゼの3' - 5'エキソヌクレアーゼ活性で処理した結果、相補的末端が得られ、これらの相補的末端同士をアニーリングによって結合した。アニーリング反応物をコンピテント大腸菌(E. coli)中に形質転換し、マウス重鎖可変領域が、pYD15発現ベクター中に適切に挿入されることを確実にするため、シーケンシングによって発現プラスミドを確認した。当業者であれば、重鎖発現プラスミドの構築のために用いられる方法が、元のFabライブラリに含まれるすべての抗KAA G1抗体に適用されることを容易に認識されよう。

#### 【0423】

293E細胞におけるヒトIgG1の発現 - 軽鎖および重鎖免疫グロブリンをコードした、上で調製した発現ベクターを、一過性トランスフェクション系を用いて293E細胞において発現した(Durocher et al., 2002)。一過性または安定性発現の他の方法を用いてもよい。組織培養培地中で抗体の最高収率を達成するために軽鎖：重鎖の比を最適化したところ、9：1(L：H)であることが判明した。抗KAA G1抗体(モノクローナル、キメラもしくはヒト化)が組換えFc-KAA G1に結合する能力を、ELISAにより測定し、元のマウスFabと比較した。

#### 【0424】

他のFabを完全IgG(3A4を含む)に変換するため、ならびに抗体の発現のために用いるスキームは、国際出願番号PCT/CA2012/000296明細書により詳細に記載されている。尚、この文献の全内容は、参照として本明細書に組み込む。

#### 【0425】

実施例2

10

20

30

40

50

### 3 A 4 マウスモノクローナル抗体のヒト化

国際特許番号 P C T / C A 2 0 0 9 / 0 0 1 5 8 6 明細書、P C T / C A 2 0 1 0 / 0 0 1 7 9 5 明細書および P C T / C A 2 0 1 2 / 0 0 0 2 9 6 明細書は、ヒト化軽鎖および重鎖可変領域を作製するために用いられる例示的方法を記載している。

#### 【 0 4 2 6 】

3 A 4 抗体軽鎖可変領域のヒト化は、1 0 0 % フレームワークヒト化のためにその提案されたヒト化フレームワークに対し 1 1 の突然変異を含んだ。3 A 4 抗体重鎖可変領域のヒト化は、1 0 0 % フレームワークヒト化のためにその提案されたヒト化フレームワークに対し 2 3 の突然変異を含んだ。これらの 1 0 0 % ヒト化可変領域配列は、それぞれ L v h 1 および H v h 1 と名付けた (配列番号 1 8 9 および 1 9 4 )。追加のヒト化配列も設計したが、これらの配列では、当該位置に突然変異を導入しようとする場合、抗原結合親和性を改変する高い確率を示す入念な構造および比較配列分析に基づいて、3 A 4 マウス配列由来の複数の残基を保持した。可変領域のこれらの配列は、L v h 2、H v h 2、H v h 3 および H v h 4 と名付けた (配列番号 1 9 0、1 9 5、1 9 6 および 1 9 7 )。

#### 【 0 4 2 7 】

2 つのヒト化軽鎖変異体 (定常領域を含む) は、本明細書において L h 1 (配列番号 1 9 9) および L h 2 (配列番号 2 0 0) として同定される。4 つのヒト化重鎖変異体 (定常領域を含む) は、本明細書において H h 1 (配列番号 2 0 2)、H h 2 (配列番号 2 0 3)、H h 3 (配列番号 2 0 4) および H h 4 (配列番号 2 0 5) として同定される。2 つのヒト化軽鎖および 4 つのヒト化重鎖は、8 つのヒト化抗体 (L h 1 H h 1、L h 1 H h 2、L h 1 H h 3、L h 1 H h 4、L h 2 H h 1、L h 2 H h 2、L h 2 H h 3、および L h 2 H h 4) にアセンブルすることができる。

#### 【 0 4 2 8 】

3 A 4 軽鎖ヒト化配列 L v h 2 (配列番号 1 9 0) の場合、マウス配列由来のフレームワーク残基 V a l - L 2 および L y s - L 4 5 を保持した。これらを保持した理由は、残基 L 2 が半埋設されていて、C D R - L 1 および C D R - L 3 の両方に接触し、かつ抗原に接触する傾向を有する一方、残基 L 4 5 が重鎖に接近しているためである。発明者らは、これらのネズミ残基が両方ともヒトフレームワークにおいて発生し得ることに言及している。3 A 4 重鎖ヒト化配列 H v h 2 (配列番号 1 9 5) の場合、マウス配列からのフレームワーク残基 I l e - H 2 および L y s - L 7 3 が保持された。これらが保持された理由は、残基 H 2 が半埋設されていて、C D R - H 1 および C D R - H 3 の両方に接触し、かつ抗原に接触する傾向を有する一方、残基 H 7 3 が C D R - H 2 を支持しているバーニアゾーンに属しているためであり、またこれらのネズミ残基が両方ともヒトフレームワークにおいて発生し得るためでもあった。3 A 4 重鎖ヒト化配列 H v h 3 (配列番号 1 9 6) の場合、これらマウス配列由来のフレームワーク残基 I l e - H 4 8、A l a - H 6 7、L e u - H 6 9 および V a l - H 7 1 に加えて、I l e - H 2 および L y s - L 7 3 復帰突然変異が保持された。これらを保持した理由は、これら全ての付加的なネズミ残基が、埋設された残基であり、C D R - H 2 を支持しているバーニアゾーンに属するためであり、またネズミ残基 H 7 1 がヒトフレームワークにおいて発生し得るためでもある。3 A 4 重鎖ヒト化配列 H v h 4 (配列番号 1 9 7) の場合、H v h 3 ヒト化変異体の復帰突然変異が 6 つとも全て組み入れられたのに加えて、付加的な 2 つのマウスフレームワーク残基 L y s - H 3 8 および L y s - H 6 6 も組み入れられた。これらは、C D R - H 2 に近接している半埋設残基を表しているためである。結果として得られた、ネズミ鎖およびヒト化鎖のアミノ酸配列の一覧を、表 1 に示す。ネズミおよびヒト化軽鎖可変領域のアライメントを図 1 a に示し、ネズミおよびヒト化重鎖可変領域のアライメントを図 1 b に示す。

#### 【 0 4 2 9 】

図 2 a および図 2 b はそれぞれ、ネズミ軽鎖可変領域を 1 0 0 % ヒト化軽鎖可変領域にアライメントしたもの、およびネズミ重鎖可変領域を 1 0 0 % ヒト化重鎖可変領域にアライメントしたものである。この図は、保持されているアミノ酸、および置換用を選択され

たアミノ酸を図示したものである。

#### 【0430】

##### 実施例3

##### 3A4ヒト化変異体抗体のアセンブリおよび発現

これらの調査の目的は、抗クラステリン抗体の動態パラメータを決定することにある。特に、3A4抗KAA G1モノクローナル抗体のヒト化によって、そのモノクローナル抗体がヒトKAA G1に結合している動態パラメータに影響が及ぶかどうか突き止めることを目的としている。この目的を果たすために、BioRad社製のProtein XPR36計器を使用して動態分析方法を策定した。ヒトKAA G1をセンサーチップ上に固定した。全長抗体またはFabフラグメントを注入し、固定されたKAA G1と相互作用させた。

10

#### 【0431】

##### 3A4のキメラ（ネズミ）重鎖および軽鎖をコードするプラスミドの構築

元のネズミ免疫グロブリン鎖からのキメラ抗体重鎖および軽鎖をPCRで増幅した。その際に使用したオリゴヌクレオチドプライマー対は、次のとおりである：重鎖、配列番号206でコードされた5'オリゴ、および配列番号207；軽鎖でコードされた3'オリゴ、配列番号208でコードされた5'オリゴ、および配列番号209でコードされた3'オリゴ。結果として得られたPCR産物をHindIIIで消化し、HindIIIで先に消化しておいたpK-CR5（配列番号210）にクローンした。

20

#### 【0432】

##### ヒト化重鎖3A4変異体1、2、3および4をコードするプラスミドの構築

抗体3A4（Hh1、Hh2、Hh3およびHh4）のヒト化重鎖領域をコードするフラグメントは、GenScript（Piscataway, USA）から注文されたものである。Kozak配列および終止コドン配列を含んだDNAフラグメントをHindIIIで消化し、仔ウシの腸ホスファターゼ（NEB）で先に脱リン酸化しておいたプラスミドpK-CR5のHindIII部位にクローンして、再環状化を防いだ。図3aに、プラスミドpK-CR5-3A4-HC-変異体1のマップを示す。ヒト化3A4の全ての重鎖変異体を同様な方法で構築した。

#### 【0433】

##### ヒト化軽鎖3A4変異体1および2をコードするプラスミドの構築

30

抗体3A4（Lh1およびLh2）ヒト軽鎖領域をコードするフラグメントは、GenScriptから注文されたものである。Kozak配列および終止コドン配列を含んだDNAフラグメントをBamHIで消化し、仔ウシの腸ホスファターゼ（NEB）で先に脱リン酸化しておいたプラスミドpMPG-CR5（配列番号211）のBamHI部位にクローンして、再環状化を防いだ。図3bに、プラスミドpMPG-CR5-3A4-LC-変異体1のマップを示す。ヒト化3A4の全ての軽鎖変異体を同様の方法で構築した。

#### 【0434】

##### 一過性トランスフェクションの研究

メーカーの推奨事項に従い、Mini-Prepキット（Qiagen Inc, Mississauga, ON）を使用して、プラスミドDNAを大腸菌（E. coli）の小培養物から単離した。概括して言えば、リゲーションおよびトランスフォーメーションの後に、単一口ロニーを選択して、アンピシリン100 μg/mL含有のLB培地2 mLを接種した。培養物を激しく（250 RPMで）振盪して37 °Cにて一晩インキュベートした。その後、キットに付属しているプロトコル、バッファーおよびカラムを使用して、1.5 mLの培養物からプラスミドを単離した。滅菌水50 μLを使用してDNAを溶出させた。メーカーの推奨事項に従い、Plasmid Plus Maxi Kit（Qiagen Inc, Mississauga, ON）を使用して、大腸菌（E. coli）の大培養物からプラスミドDNAを単離した。アンピシリン100 μg/mLを含有するLB培養物200 mLを新鮮な単一大腸菌（E. coli）コロニーと共に播種し

40

50

、激しく(250RPMで)振盪して37 にて一晚インキュベートした。細菌(重鎖については130mLの培養物、および軽鎖については180mLの培養物)を6000×gで遠心分離して4 で15分間ペレット化し、キットに付属しているプロトコル、バッファおよびカラムを使用して、プラスミドを単離した。滅菌した50mMのトリス(pH8)中に精製済みプラスミドを再懸濁して、光学密度260nmにて定量した。トランスフェクションに先立ち、精製済みプラスミドをフェノール/クロロホルム抽出、続いてエタノール沈殿により滅菌した。そのプラスミドを滅菌した50mMのトリス(pH8)中に再懸濁して、光学密度260nmにて定量した。

#### 【0435】

トランスフェクションに先立ち、細胞(CHO-cTA)をPBSで洗浄し、デキストラン硫酸を含まない成長培地(CD-CHO, Invitrogen)中に $4.0 \times 10^6$ 細胞/mLの濃度で3時間懸濁培養液の形で再懸濁させた。プラスミドの組み合わせごとに、CDCHO培地5mLに各プラスミド10 $\mu$ g/mLおよびポリエチレンジオキサン50 $\mu$ g/mL(PEI Max; Polysciences)を補給したものを徐々に添加して、細胞45mLをトランスフェクションした。終濃度は各プラスミドが1 $\mu$ g/mLで、PEIが5 $\mu$ g/mLであった。2時間後、細胞を30 でトランスフェクションした。翌日、デキストラン硫酸50 $\mu$ g/mLおよび各補助剤3.75mL(Efficient Feed A and B Invitrogen)を細胞に添加し、30 で13日間インキュベートした。4日目、6日目、8日目および11日目にFeed A 2.5mLとFeed B 2.5mLとを添加した。13日目に、上澄みを遠心分離で澄まして、0.22 $\mu$ Mフィルタで濾過した。

#### 【0436】

CR5プロモータで調節された3A4抗体のヒト化重鎖および軽鎖の種々の変異体をコードするプラスミドを用いて、CHO細胞(CHO-cTA)をトランスフェクションした。軽鎖および重鎖の様々な組み合わせを用い、トランスフェクションを行った。対照としての細胞も、キメラ/ネズミ抗体をコードするプラスミドを用いて、同様にトランスフェクションした。

#### 【0437】

##### 抗体の精製

Amicon Ultra(Ultracell-50k)カセットを使用して、CHO細胞トランスフェクションからの上澄み15mLを遠心分離で1500rpmにて濃縮した。メーカーの推奨事項に従い、Nab spin kit Protein A Plus(Thermo Scientific)を使用して、濃縮された抗体(550 $\mu$ L)を精製した。その後、精製された抗体を、PBSを使用して脱塩し、Amicon Ultra(Ultracell-10K)カセットを使用して、2500rpmにて濃縮して最終体積250 $\mu$ Lにした。Nanodrop分光光度計を使用して、精製された抗体をOD<sub>280</sub>値の読み取りにより定量し、-20 で凍結させた状態に維持した。精製された抗体のアリコートを担当のLaemmli 2X中に再懸濁し、95 で5分間加熱してから、氷冷した。標準曲線は、既知量のヒト骨髄腫血漿由来の精製ヒトIgG1カップ(Athens Research)を使用して作成された。試料をポリアクリルアミドNovex10%トリス-グリシンゲル(Invitrogen Canada Inc., Burlington, ON)上で分離させ、Hybond-Nニトロセルロース膜(Amersham Bioscience Corp., Baie d'Urfee, QC)上に275mAで1時間転移させた。膜を0.15%Tween20、5%スキムミルク含有PBS中で1時間ブロックし、Cy5と結合したヤギ抗ヒトIgG(H+L)(Jackson, Cat# 109-176-099)と共に1時間インキュベートした。Typhoon Trio+スキャナー(GE Healthcare)でスキャンすることによって、シグナルを露出して定量した。図4に示すように、CHO細胞内において3A4ヒト化抗体変異体の全ての組み合わせが発現した。

#### 【0438】

## 実施例 4

## ネズミおよびヒト化 3 A 4 抗体の動力学解析

## 補用品

GLM センサーチップ、BioRad ProteOn アミンカップリングキット (EDC、sNHS、およびエタノールアミン)、ならびに 10 mM ナトリウム酢酸塩バッファは Bio-Rad Laboratories (Mississauga, ON) から購入された。HEPES バッファ、EDTA、および NaCl は Sigma-Aldrich (Oakville, ON) から購入された。10% の Tween 20 溶液は Teknova (Hollister, CA) から購入された。ヤギ抗ヒト IgG の Fc フラグメント特異的抗体は Jackson ImmunoResearch から購入された。ゲル濾過カラム Superdex 75 10/300 GL は GE Healthcare から購入された。

10

## 【0439】

## ゲル濾過

濃度 3.114 mg/ml の K A A G 1 タンパク質 (容量 220  $\mu$ L) を Superdex G75 カラムに注入した。Tween 20 を含まない HBS-T 泳動用バッファ (下記参照) 中で 0.4 ml/min にて分離を行った。収集された画分の容量は 500  $\mu$ L であった。拡張係数を 5500 とし、MW を 8969 として、各画分における K A A G 1 の濃度を OD<sub>280</sub> で定量した。図 5 は、K A A G 1 のゲル濾過のプロファイルを表す。潜在的集合体 (potential aggregate) の小ピークは、11 ml 付近で溶出している。SPR アッセイ用の検体として使用されたタンパク質は、13 ml で溶出したタンパク質 (画分 15 ~ 19) であった。

20

## 【0440】

## SPR バイオセンサーアッセイ

全ての表面プラスモン共鳴アッセイは、BioRad ProteOn XPR36 計器 (Bio-Rad Laboratories Ltd. (Mississauga, ON)) を使用し、HBS-T 泳動用バッファ (10 mM の HEPES、150 mM の NaCl、3.4 mM の EDTA、および 0.05% Tween 20 (pH 7.4)) で 25 の温度にて実施された。標準 BioRad sNHS/EDC 溶液の 1:5 希釈物を検体 (水平) 方向へ 30  $\mu$ L/min にて 300 秒間注入することで活性化された GLM センサーチップを使用して、抗マウス Fc 捕捉表面を生成した。活性化の直後に、抗ヒト IgG の Fc フラグメント特異的抗体の溶液 13  $\mu$ g/mL を 10 mM の NaOAc (pH 4.5) に溶かしたものを、約 8000 共鳴単位 (RU) が不動化されるまで、検体方向へ 25  $\mu$ L/min の流速にて注入した。1 M エタノールアミンを検体方向へ 30  $\mu$ L/min で 300 秒間注入することによって残りの活性基を急冷した。これにより、ブランク参照 (blank referencing) 用のモック活性化インタースポットが確実に作成される。K A A G 1 に結合する 3 A 4 変異体のスクリーニングは、2つの工程で発生した。3 A 4 変異体を細胞上澄みから抗ヒト IgG の Fc フラグメント特異的表面上にリガンド方向 (垂直) へ間接的に捕捉し、続いて検体方向へ K A A G 1 を注入した。最初に、検体方向へバッファを 100  $\mu$ L/min で 30 秒間 1 回注入することによって、ベースラインを安定させた。3 A 4 の捕捉時に毎回、未精製 3 A 4 変異体を含む細胞培養培地を HBS-T で 4% に希釈するか、または約 1.25  $\mu$ g/mL の精製 3 A 4 含有 HBS-T を使用した。野生型 3 A 4 と一緒に 4 ~ 5 個の 3 A 4 変異体を同時に、個々のリガンドチャンネルに 25  $\mu$ L/min の流速で 240 秒間注入した。この結果、抗ヒト IgG の Fc フラグメント特異的表面上に約 400 ~ 700 RU の飽和 3 A 4 が捕捉された。第 1 のリガンドチャンネルは、必要に応じてブランク対照として使用できるよう、ブランクのままにした。この 3 A 4 捕捉工程の直後に、2種類のバッファを検体方向へ注入してベースラインを安定させ、その後、ゲル濾過精製された K A A G 1 を注入した。典型的なスクリーニングで、5 とおりの K A A G 1 濃度 (8、2.66、0.89、0.29、および 0.098 nM) およびバッファ対照を同時に個々の検体チャンネル内に 50  $\mu$ L/m

30

40

50

inにて120秒間注入し、600秒の解離フェーズをおいて、結果として、捕捉された3A4変異体ごとに、バッファ参照(buffer reference)によって一連の結合センサーグラムが得られた。抗ヒトIgGのFcフラグメント特異的3A4複合体を0.85%リン酸の18秒間隔のパルスで100 $\mu$ L/minにて18秒間再生成し、次の注入サイクル用に抗ヒトIgGのFcフラグメント特異的表面を調製した。バッファのブランク注入およびインタースポットを使用して、センサーグラムをアラインシ二重参照してから、結果として得られたセンサーグラムを、Protein Managerソフトウェアv3.0を使用して分析した。ローカル $R_{max}$ を使用し、参照されたセンサーグラムを1:1のラングミュア結合モデルに適合させることによって、動態値および親和性値を定量してから、結果として得られた速度定数( $k_d$  s<sup>-1</sup> /  $k_a$  M<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup>)から親和性定数( $K_D$  M)を導き出した。

#### 【0441】

##### 速度および親和性定数の定量

図6は、KAA G1と精製ネズミ3A4との相互作用、キメラとして一過性に発現したネズミ3A4および一過性に発現したヒト化変異体に関する、会合( $k_a$ 、1/Ms)および解離( $k_d$ 、1/s)速度定数のほか、親和性( $K_D$ 、M)定数の要約である。これらの定数を図7a~cにグラフで表す。純粋な親、キメラおよびヒト化3A4変異体については、会合速度定数が極めて類似している(図7a)。一過性に発現するキメラ3A4は、純粋な親3A4と比べて解離速度定数が類似しており、このことは、KAA G1と抗体との間の相互作用のパラメータが変更されなかったことを示唆している(図7b)。一方、全てのヒト化変異体は、オフ速度(off rate)が僅かに変わった(即ち、解離速度が迅速化した)と考えられ(図7b)、これは親和性定数に反映されている(図7c)。要約すると、ヒト化変異体の結合親和性(log  $K_D$ )と親抗体(LcHc)において生じた復帰突然変異の数との間には線形の相関が存在しており、突然変異の数が増加するにつれて結合親和性が減少する。しかしながら、マウス残基が全く保持されない最悪の変異体(H1L1、0.47 nM)と10個のマウス残基が保持される最良の変異体(H4L2、0.1 nM)とでは、結合親和性にたった4倍の差しかない。最後に、KAA G1に対する全ての変異体の結合親和性がサブナノモルであることが見出され、最良の変異体(H4L2、0.1 nM)が示した親和性はネズミ(LcHc、0.057 nM)の約6倍弱かった。全般的に、これらの結果は、全ての変異体がKAA G1に対して高い親和性を示すことを示唆しており、よって、ヒト化が成功したことがわかった。

#### 【0442】

##### 実施例5

##### E L I S AにおけるKAA G1に対する3A4ヒト化変異体の結合

E L I S A方法はまた、ヒト化3A4変異体の結合活性をネズミ3A4抗体と比較する目的にも使用された。組み換えヒトKAA G1を96ウェルプレート中で一晚コーティングし、洗浄して、室温で1時間インキュベートした結果、ネズミまたはヒト化3A4変異体の量が増加した。別途の洗浄工程に続いて、HRPに結合した抗ヒト抗体をウェルに添加し、結合された3A4抗体をAbs<sub>450</sub>にて熱量測定によって測定した。図8aに示すように、ヒト化変異体(Lh1Hh1、Lh1Hh2、Lh1Hh3およびLh1Hh4)は、0.016 nMの高い親和性を有するネズミ3A4(LcHc)と比較して、KAA G1との結合が極めて類似していることを示した。この結果から、ヒト化重鎖変異体が4つとも全て、ヒト化軽鎖のL1変異体とアセンブルしたときに、元のh3A4重鎖と同等であったことがわかった。図8aは、重鎖変異体を3A4ヒト化軽鎖のLh2変異体とアセンブルしたときの結果を示す。この例では、変異体の結合に差異があった。例えば、Lh2Hh4は、ネズミ3A4と比較して最も近いプロファイルを持つ変異体であった。これはSPRデータと一致しており、重鎖の変異体4がKAA G1に対して最も高い親和性を有することを示した。これらの結合の結果を考え合わせると、このアッセイにおいては全てのヒト化変異体がヒトKAA G1と相互作用することが明らかである。多少は微妙な差異があるが、E L I S Aにおける結合はSPR結果と一致していた。

## 【0443】

## 実施例6

## 癌細胞の表面上での3A4ヒト化変異体の結合

癌細胞の表面上に発現したK A A G 1に対してヒト化3 A 4 変異体が相互作用する能力を、フローサイトメトリーを使用して評価した。このために、先に述べたようにフローサイトメトリーで3 A 4 と効率的に結合したS K O V - 3 卵巣癌細胞を、8 個のヒト化変異体および元のネズミ抗体と共にインキュベートした。手短に言うと、S K O V - 3 細胞をE D T A でプレートから分離させ、氷上で3 . 0 m g / m l、0 . 3 m g / m lまたは0 . 3 m g / m lの抗体と共に1時間インキュベートした。3 回の洗浄工程の後、細胞を二次抗体 ( F I T C と結合した抗ヒト I g G ) と共に氷上で1時間インキュベートした。フローサイトメータで細胞表面の蛍光を測定した。その値を、図18のヒストグラムに示す。図示するように、透過処理された表面上のK A A G 1 が全ての変異体によって検出できた。最も強い信号は3 A 4 抗体の最高濃度で ( 3 m g / m l ) で得られ、抗体の濃度が減少するにつれて減衰した。種々の変異体のなかでもネズミ復帰突然変異が最多のもの ( 図18のL h 1 H h 4 およびL h 2 H h 4 を参照 ) は、細胞表面上のK A A G 1 と相互作用し、最も高い活性を呈している。実際、L h 1 H h 4 およびL h 2 H h 4 は、ネズミ3 A 4 抗体 ( L c H c ) と比較して、K A A G 1 に対する細胞表面の結合の改善は僅かであったと考えられた。

10

## 【0444】

## 実施例7

この実施例では、T N B C におけるK A A G 1 の発現を検出するための抗K A A G 1 抗体の使用を説明する。

20

## 【0445】

T N B C 試料中にK A A G 1 抗原が存在するか否かを決定する手段として、免疫組織化学を実施した。患者生検から作製した139の乳房腫瘍試料を含む組織マイクロアレイを取得した。パラフィン包埋上皮乳房腫瘍試料をスライドグラスに載せて、50℃で15分固定した。キシレンで2回処理することにより脱パラフィンを実施した後、100%、80%、および70%エタノールを用いて5分の脱水を順次実施した。スライドをPBSで5分3回洗浄した後、抗原性賦活化溶液 ( 1 m M E D T A、p H 8 . 0 ) で処理することにより、抗原をアンマスキングした。スライドをH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>と一緒にメタノール中でインキュベートすることにより内在性過氧化物反応種を除去してから、スライドを無血清ブロック溶液 ( S a n t a C r u z B i o t e c h ) と一緒に5分室温でインキュベートすることにより、ブロッキングを実施した。一次抗体 ( 抗K A A G 1 3 A 4 ) を室温で1時間にわたり添加した。ビオチン結合マウス抗 と一緒に、次いで、ストレプトアビジン - H R P 三次抗体 ( t e r t i a r y a n t i b o d y ) と一緒にインキュベートすることにより、K A A G 1 反応性抗原を検出した。スライドをD A B - 過酸化水素基質で5分弱処理した後、ヘマトキシリンで対比染色することにより、陽性染色が判明した。乳房腫瘍試料のほとんどにおいて、K A A G 1 タンパク質が非常に高いレベルで発現されることがわかった。139の腫瘍を含む代表的アレイを図10に示す。特に、T N B C であることが確認された15/20生検試料 ( 図10、星印で示す試料 ) は、3 A 4 抗体によりK A A G 1 発現について強度に染色された。これらを考え合わせると、上記の免疫組織化学的試験は、モノクローナル抗体を用いて、乳癌、特にT N B C におけるK A A G 1 を検出することの有用性を示している。

30

40

## 【0446】

## 実施例8

この実施例では、T N B C 細胞系におけるK A A G 1 の発現を検出するための抗K A A G 1 抗体の使用を説明する。

## 【0447】

K A A G 1 をコードするc D N A の一次構造の生物情報科学的分析、生物化学的試験、ならびに上皮細胞のタンパク質の免疫組織化学検出から、K A A G 1 抗原が、細胞表面に

50

位置することが示された。しかし、K A A G 1 が、実際に T N B C 細胞の表面で発現されることを証明するためにはより直接的なエビデンスが必要であった。この分析を実施するために、乳癌細胞系を販売業者 ( A T C C , M a n a s s a s , V A ) から入手し、フローサイトメトリー実験に用いた。K A A G 1 m R N A 特異的プライマーを用いた R T - P C R 発現分析によって、特定の乳癌細胞系が、K A A G 1 m R N A を発現したことが既にわかっている ( P C T / C A 2 0 0 7 / 0 0 1 3 4 を参照 )。従って、これらの細胞系のいくつかを選択して、その表面に K A A G 1 抗原の存在を決定した。これを確認するために、3 A 4 抗 K A A G 1 抗体を用いて、トリプルネガティブ M D A - M B - 2 3 1、M D A - M B - 4 3 6、M D A - M B - 4 6 8、B T - 2 0 および B T - 5 4 9 細胞系を試験した。さらに、トリプルネガティブではない乳癌細胞、即ち T 4 7 D および M C F - 7 も分析に加えた。最後に、検出不可能なレベルの K A A G 1 抗原発現を呈する対照細胞系、即ち 2 9 3 - 6 E をフローサイトメトリー実験 ( F C M ) の陰性対照として加えた。F C M 分析を目的として、5 m M E D T A を用いて細胞を回収し、血球計で計数した後、 $2 \times 10^6$  細胞 / m l の細胞密度で F C M バッファー (  $1 \times$  P B S 中 0 . 5 % B S A、0 . 0 1 % ヤギ血清 ) 中に再懸濁させた。キメラ 3 A 4 抗 K A A G 1 抗体または対照 I g G を、0 . 5  $\mu$  g / m l の最終濃度で 1 0 0  $\mu$  l の細胞に添加してから、氷上で 1 時間インキュベートした。細胞を低温 F C M バッファーで洗浄することにより、非結合抗体を除去し、F I T C 二次抗体に結合した抗ヒト I g G を含有する 1 0 0  $\mu$  l F C M バッファー ( 1 : 2 0 0 希釈 ) 中で再懸濁させた後、氷上で 4 5 分間インキュベートした。低温 F C M バッファーでもう 1 回洗浄した後、細胞を 3 0 0  $\mu$  l の F C M バッファー中に再懸濁させた後、フローサイトメータで分析した。1 0  $\mu$  g / m l のヨウ化プロピジウムを各試料に添加することにより、死細胞のゲーティングを可能にした。3 つの独立した実験からの結果を図 1 1 に示すが、ここでは、平均蛍光強度 ( M F I ) 誘導倍率は、ネガティブヒト I g G 対照の幾何平均値 ( 任意で 1 に設定した ) に対する、3 A 4 抗体と一緒に細胞をインキュベートしたとき得られたシグナルの幾何平均値を表している。抗体と対照 2 9 3 - 6 E H E K - 2 9 3 細胞とのインキュベーションの結果、一次抗体の非存在下で細胞をインキュベートしたときに得られたシグナルと同様の蛍光シグナルが得られた。さらに、対照 I g G と比較して、3 A 4 を用いて得られたシグナルとの間に有意な差はなかった。さらに、対照 I g G を乳癌細胞系と一緒にインキュベートしたところ、シグナルは、対照 2 9 3 - 6 E 細胞を用いて得られたものと非常に類似していた。対照的に、3 A 4 抗体をすべての乳癌細胞系と一緒にインキュベートしたところ、検出可能な蛍光シグナルが観察された。まちなみの蛍光量が観察されたが、K A A G 1 の最大量は、M D A - M B - 2 3 1 および B T - 2 0 細胞系、2 つの T N B C 細胞系の表面上に検出された ( 図 1 1 を参照、T N B C 細胞系は星印で示す )。実際、5 つの T N B C 細胞系はすべて、これらの条件下で K A A G 1 発現について陽性であった。また、T 4 D および M C F - 7 細胞も K A A G 1 を発現した。これらを考え合わせると、上記のフローサイトメトリー分析から、T N B C 細胞系が、その細胞表面上に高レベルの K A A G 1 を発現することがわかる。

【 0 4 4 8 】

#### 実施例 9

##### 抗体コンジュゲートとしての 3 A 4 抗 K A A G 1 抗体の使用方法

上に実証したように、フローサイトメトリーを用いて、癌細胞の表面上の 3 A 4 により K A A G 1 抗原が検出された。抗体が細胞表面上のその標的と結合した時点で、起こる可能性がある異なる分子イベントが複数存在する。これらには以下のものが含まれる：i ) 別の細胞表面抗原 / 受容体またはリガンドへのアクセシビリティがブロックされること、i i ) 比較的安定な抗体 - 抗原複合体の形成によって、A D C C または C D C を介して細胞の標的化が可能になること、i i i ) アゴニスト抗体によって例証されるように、シグナリングイベントが起こり得ること、i v ) 複合体が内在化され得ること、または v ) 複合体が細胞表面から除去され得ること。この論点に取り組むため、発明者らは、細胞表面の 3 A 4 抗体 - K A A G 1 複合体の挙動を調べた。この実験において、以前の内在化実験 ( P C T / C A 2 0 0 9 / 0 0 1 5 8 6 を参照 ) での使用が成功しているため、卵巣癌細胞

胞系であるSKOV3を陽性対照として用いた。MDA-MB-231TNBC細胞系を平板培養して、洗浄した後、実施例3に記載の0.5 µg/mlのキメラ3A4抗体と一緒にインキュベートした。洗浄後、完全培地を添加し、細胞を37℃で最大60分放置した。表示の時間に(図12参照)細胞を取り出し、急速に冷却して、FITC結合抗ヒトIgGを用いてフローサイトメトリー用に調製し、その結果は、時間0分のシグナルと比較した、細胞表面に存続する平均蛍光強度のパーセンテージとして表した(図12を参照、表面シグナル(0分で%存続))。図12に示すように、蛍光シグナルは、3A4をMDA-MB-231細胞と一緒にインキュベートした場合、急速に減少し(図12、図ではMDA-231によって示す黒色のバー)、30分~45分までにシグナルの最大消失に達するようであった。シグナルの消失は、3A4をSKOV3細胞と一緒にインキュベートした場合に得られたものと同等であった(図12、グレーのバー)。この結果は、3A4/KAG1複合体が、細胞から消失したことを示しており、これにより、複合体の内在化が起こった可能性が高いことが示された。こうした細胞表面蛍光の減少の原因である機序を明らかにするための予備研究によって、複合体が内在化されたいことが判明した。

#### 【0449】

同様の結果が、2つの別のTNBC細胞系、即ちMDA-MB-436(図13)およびBT-20(図14)において観察され、これにより、複数のTNBC細胞系の表面上の3A4/KAG1複合体の内在化を確認した。対照的に、MDA-MB-436およびT47Dの表面への3A4結合のMFILレベルが同様である(図11)にもかかわらず、細胞表面でのシグナルの消失は、3A4をT47D細胞系とインキュベートした際には観察されなかった。この観察結果は、3A4/KAG1複合体の内在化が、トリプルネガティブではない細胞に比べ、TNBC細胞においてより高度に起こり得る(図15)ことを示唆している。

#### 【0450】

これらの調査結果は、この内在化を顕微鏡で観察することができるかどうかを知るために、生細胞に対して免疫蛍光検査を実施することによってさらに確認された。MDA-MB-231細胞をカバーガラス上に播種し、いったん細胞が正しく付着したら、3A4抗KAG1キメラ抗体を含む新鮮な培地を10 µg/mlにて添加し、37℃で4時間インキュベートした。細胞をPBSで洗浄し、次いで4%パラホルムアルデヒド(PBS中で)20分間固定した。細胞を洗浄した後、PBS中の0.1%Triton X-100で5分間透過処理した。PBS中の1.5%粉ミルクを用い、1時間ブロッキングを行った。抗LAMP1(Santa Cruz, sc-18821、1:100希釈)と共に1.5%ミルク含有PBS中で2時間インキュベートして、リソソーム膜タンパク質1(LAMP1, Chang et al., 2002)を検出した。PBS中で洗浄した後、二次抗体を1.5%ミルク中に一緒に添加し、1時間インキュベートした。抗KAG1キメラ抗体の場合、二次抗体は、1:300に希釈したRhodamine Red-X結合ロバ抗ヒトIgG(H+L)であった。抗LAMP1抗体の場合、二次抗体は、1:300に希釈したDyLight 488結合ヤギ抗マウスIgG(H+L)であった。いずれの二次抗体もJackson ImmunoResearch社製であった。カバーガラスをPBSで洗浄し、DAPIを含むProLong Gold退色防止試薬中で取り付けた。図7に示すように、MDA-MB-231癌細胞の存在下にて37℃で4時間インキュベートした後、主に核周囲領域付近の複合体中に3A4抗体を検出することができた(矢印で指した、図16の左パネルの赤い染色を参照)。これは、エンドソーム-リソソームベースの内在化経路に典型的なものであった。この観測は、リソソームマーカー(即ち、LAMP1)を視覚化して、これらの領域内においても発現していることが見出されたときに、更に確認された(矢印で指した、図16の中央パネルの緑色の染色を参照)。重要なことには、2つの画像をマージすると、その結果、黄橙色の構造の外観から、3A4抗体および抗LAMP1抗体が同一構造内に存在していることが判明した(矢印で指した、図16の右パネルの黄色の染色を参照)。癌細胞の表面上のKAG1に結

10

20

30

40

50

合する 3 A 4 と、L A M P 1 ( 即ち、後期エンドソーム / リソソームのマーカ ) との共局在は、抗体 / 抗原複合体が内在化されたことを示し、また、この複合体がペイロードの放出に敏感に反応する経路を追従し、3 A 4 抗体に結合されるであろうことも示している。別の細胞系である B T - 2 0 においても、同一の結果が観測された ( 図 1 7 を参照 ) 。

#### 【 0 4 5 1 】

以上を考え合わせると、これらの研究によって、K A A G 1 に特異的な抗体 ( 例えば、3 A 4 ) が、抗体複合体、特に、抗体 - 薬物複合体 ( A D C ) としての用途を有し得ることが実証された。ゆえに、K A A G 1 の高レベルの T N B C 特異性と、この標的が細胞内で内在化される能力との組み合わせによって、A D C として用途の開発が支持される。

#### 【 0 4 5 2 】

10

#### 実施例 1 0

抗 K A A G 1 抗体が、E R タンパク質発現、P g R タンパク質発現が欠乏した、および / または H E R 2 タンパク質過剰発現の非存在を示す細胞を効率的にターゲティングし、殺傷することができることを証明するために、2 つの抗体薬物複合体 ( A D C ) : 3 A 4 - A D C 1 および 3 A 4 - A D C 2 を作製した。

#### 【 0 4 5 3 】

このために、発明者らは、キメラ 3 A 4 抗体を用いて、内在化後にリソソーム酵素により選択的に切断される高度に安定したペプチドリンカーを介して細胞傷害性剤を結合させる ( 3 A 4 - A D C 1 ) か、または非切断性リンカーを介して別の有糸分裂阻害剤と結合させた ( 3 A 4 - A D C 2 ) 。細胞傷害性剤は、いったん細胞内に内在化されると、活性

20

#### 【 0 4 5 4 】

3 A 4 - A D C が、T N B C 細胞の表面に K A A G 1 を検出する能力を、本明細書に記載する方法を用いたフローサイトメトリーを用いて決定した。手短には、結合されていない 3 A 4、3 A 4 - A D C 1、3 A 4 - A D C 2 および対照 I g G を、K A A G 1 陽性である M D A - 2 3 1 T N B C 細胞の存在下でインキュベートした。結果から、3 A 4 といずれの薬物との結合も、M D A - 2 3 1 などのトリプルネガティブ乳癌細胞との結合に影響しないことがわかった ( データは示してない ) 。

#### 【 0 4 5 5 】

3 A 4 A D C が、T N B C 細胞の表面上に発現した K A A G 1 に結合することができることを確認した後、これらの細胞に対するその細胞傷害性を細胞増殖アッセイで評価した。M D A - 2 3 1 または T O V - 1 1 2 D 細胞を前記実施例で既述したように培養した。ウェル当たり 2 0 0  $\mu$  l の培地を含む 9 6 ウェルプレートに、5 % C O <sub>2</sub> 中で、3 7 にて 3 0 0 0 細胞 / ウェルで細胞を一晩播種した。翌日、0 . 1 2 2 n M ~ 5 0 0 n M の濃度で、抗体を含有する新鮮な培地と、培地を取り替えた。すべての条件を 3 回ウェルで実施した。Cell Titer 9 6 Aqueous One Solution ( P r o m e g a , M a d i s o n , W I ) を用いて、製造者のプロトコルに従い、細胞増殖アッセイを実施することにより、生存細胞の数を決定した。生データの収集後、結果は、P B S で処理したウェルの細胞数 ( 1 0 0 % に設定した ) に対する生存率 ( % ) として表した。結果から、非結合の 3 A 4 は、試験したすべての濃度で、M D A - 2 3 1 細胞の増殖に影響しないことがわかった。対照的に、3 A 4 A D C は、有意な細胞傷害性を示した。

30

40

#### 【 0 4 5 6 】

これらの結果は、トリプルネガティブ乳癌細胞または基底細胞型乳癌を有する患者についての代替療法として、3 A 4 抗体が用いられうることを示している。同様の結果が、ヒト化 3 A 4 抗体を基材とするコンジュゲートにも期待される。

#### 【 0 4 5 7 】

本明細書は、多数の文献を参照にするが、それらの内容は、その全体が本明細書において参照により援用されている。

#### 【 0 4 5 8 】

50

本明細書において参照される配列

配列番号 1

【化 1 3】

GAGGGGCATCAATCACACCGAGAAGTCACAGCCCCTCAACCACTGAGGTGTGGGGGGGTAGGGAT  
CTGCATTTCTTCATATCAACCCCACTATAGGGCACCTAAATGGGTGGGCGGTGGGGGAGACCG  
ACTCACTTGAGTTTCTTGAAGGCTTCTGGCCTCCAGCCACGTAATTGCCCCCGCTCTGGATCTG  
GTCTAGCTTCCGGATTCCGGTGGCCAGTCCGCGGGGTGTAGATGTTCTGACGGCCCCAAAGGGTG  
CCTGAACGCCCGCGGTACCTCCTTCAGGAAGACTTCGAAGCTGGACACCTTCTTCTCATGGATG  
ACGACGCGGCGCCCCGCGTAGAAGGGGTCCCCGTGCGGTACACAAGCACGCTCTTACGACGGG  
CTGAGACAGGTGGCTGGACCTGGCGCTGCTGCCGCTCATCTTCCCCGCTGGCCGCGCCTCAGCT  
CGCTGCTTCGCGTCGGGAGGCACCTCCGCTGTCCAGCGGCCTCACCGCACCCAGGGCGCGGGAT  
CGCCTCCTGAAACGAACGAGAACTGACGAATCCACAGGTGAAAGAGAAGTAACGGCCGTGCGCC  
TAGGCGTCCACCCAGAGGAGACACTAGGAGCTTGCAGGACTCGGAGTAGACGCTCAAGTTTTTCA  
CCGTGGCGTGCACAGCCAATCAGGACCCGCGTGCAGCGCACACACAGGTTACCTGTACGGG  
CAGAATCAAGGTGGACAGCTTCTGAGCAGGAGCCGAAACGCGCGGGGCCTTCAAACAGGCACGC  
CTAGTGAGGGCAGGAGAGAGGAGGACGCACACACACACACAAATATGGTGAAACCCAAT  
TTCTTACATCATATCTGTGCTACCCTTTCCAAACAGCCTA

10

【 0 4 5 9】

配列番号 2

MDDDAAPRVEGVPAVHKHALHDGLRQVAGPGA AAAAHLPR  
WPPPQLAASRREAPPLSQRPHRTQGAGSPPETNEKLTNPQ  
VKEK

20

【 0 4 6 0】

配列番号 3

GACATTGTGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGGCTGTGT  
CAATAGGACAGAAGGTCCTATGAACTGCAAGTCCAGTCA  
GAGCCTTTTAAATAGTAACCTTTCAAAGA AACTTTTTGGCC  
TGGTACCAGCAGAAACCAGGCCAGTCTCCTAAACTTCTGA  
TATACTTTGCATCCACTCGGGAATCTAGTATCCCTGATCG  
CTTCATAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTTACC  
ATCAGCAGTGTGCAGGCTGAAGACCTGGCAGATTACTTCT  
GTCAGCAACATTATAGCACTCCGCTCACGTTCTGGTGCTGG  
GACCAAGCTGGAGCTGAAAGCTGTGGCTGCACCATCTGTC  
TTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGA  
CTGCCCTCTGTTGTGTGCCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAG  
AGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAA  
TCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA  
AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAG  
CAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAA  
GTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCCGTCACAAAGAGCT  
TCAACAGGGGAGAGTGT

30

40

【 0 4 6 1】

配列番号 4

DIVMTQSPSSSLAVSIGQKVTMNC KSSQSL LNSNFQKNFLA  
WYQQKPGQSPKLLIYFASTRESSIPDRFIGSGSGTDFTLT  
ISSVQAEDLADYFCQQHYSTPLTFGAGTKLELKAVAAPS  
VFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ  
SGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE  
VTHQGLSSPVTKSFNRGEC

【 0 4 6 2】

配列番号 5

50

G A G G T T C A G C T G C A G C A G T C T G T A G C T G A G C T G G T G A G G C  
C T G G G G C T T C A G T G A C G C T G T C C T G C A A G G C T T C G G G C T A  
C A T A T T T A C T G A C T A T G A G A T A C A C T G G G T G A A G C A G A C T  
C C T G T G C A T G G C C T G G A A T G G A T T G G G G T T A T T G A T C C T G  
A A A C T G G T A A T A C T G C C T T C A A T C A G A A G T T C A A G G G C A A  
G G C C A C A C T G A C T G C A G A C A T A T C C T C C A G C A C A G C C T A C  
A T G G A A C T C A G C A G T T T G A C A T C T G A G G A C T C T G C C G T C T  
A T T A C T G T A T G G G T T A T T C T G A T T A T T G G G G C C A A G G C A C  
C A C T C T C A C A G T C T C C T C A G C C T C A A C G A A G G G C C C A T C T  
G T C T T T C C C C T G G C C C C C T C C T C C A A G A G C A C C T C T G G G G  
G C A C A G C G G C C C T G G G C T G C C T G G T C A A G G A C T A C T T C C C  
C G A A C C G G T G A C G G T G T C G T G G A A C T C A G G C G C C C T G A C C  
A G C G G C G T G C A C A C C T T C C C G G C T G T C C T A C A G T C C T C A G  
G A C T C T A C T C C C T C A G C A G C G T G G T G A C C G T G C C C T C C A G  
C A G C T T G G G C A C C C A G A C C T A C A T C T G C A A C G T G A A T C A C  
A A G C C C A G C A A C A C C A A G G T G G A C A A G A A A G T T G A G C C C A  
A A T C T T G T G A A T T C A C T C A C A C A T G C C C A C C G T G C C C A G C  
A C C T G A A C T C C T G G G G G G A C C G T C A G T C T T C C T C T T C C C C  
C C A A A A C C C A A G G A C A C C C T C A T G A T C T C C C G G A C C C C T G  
A G G T C A C A T G C G T G G T G G T G G A C G T G A G C C A C G A A G A C C C  
T G A G G T C A A G T T C A A C T G G T A C G T G G A C G G C G T G G A G G T G  
C A T A A T G C C A A G A C A A A G C C G C G G G A G G A G C A G T A C A A C A  
G C A C G T A C C G T G T G G T C A G C G T C C T C A C C G T C C T G C A C C A  
G G A C T G G C T G A A T G G C A A G G A G T A C A A G T G C A A G G T C T C C  
A A C A A A G C C C T C C C A G C C C C C A T C G A G A A A A C C A T C T C C A  
A A G C C A A A G G G C A G C C C C G A G A A C C A C A G G T G T A C A C C C T  
G C C C C C A T C C C G G G A T G A G C T G A C C A A G A A C C A G G T C A G C  
C T G A C C T G C C T G G T C A A A G G C T T C T A T C C C A G C G A C A T C G  
C C G T G G A G T G G G A G A G C A A T G G G C A G C C G G A G A A C A A C T A  
C A A G A C C A C G C C T C C C G T G C T G G A C T C C G A C G G C T C C T T C  
T T C C T C T A C A G C A A G C T C A C C G T G G A C A A G A G C A G G T G G C  
A G C A G G G G A A C G T C T T C T C A T G C T C C G T G A T G C A T G A G G C  
T C T G C A C A A C C A C T A C A C G C A G A A G A G C C T C T C C C T G T C T  
C C C G G G A A A

10

20

30

【 0 4 6 3 】

配列番号 6

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

40

【 0 4 6 4 】

配列番号 7

50

GATGTTTTTGATGACCCAAACTCCACGCTCCCTGTCTGTCA  
GTCTTGGAGATCAAGCCTCCATCTCTTGTAGATCGAGTCA  
GAGCCTTTTACATAGTAATGGAAACACCTATTTAGAAATGG  
TATTTGCGAGAAACCAGGCCAGCCTCCAAAGGTCCCTGATCT  
ACAAAGTTTTCCAACC GATTTTCTGGGGTCCCAGACAGGTT  
CAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTTCACTCAAGATC  
AGCGGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTACTGCT  
TTCAAGGTTTACATGTTCTCTCACGTTCTGGTGCTGGGAC  
CAAGCTGGAGCTGAAAGCTGTGGCTGCACCATCTGTCTTC  
ATCTTCCC GCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGA ACTG  
CCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGA  
GGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCG  
GGTA ACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGG  
ACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAA  
AGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTC  
ACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCA  
ACAGGGGAGAGTGT

【0465】

配列番号 8

DVLMTQTPRSLSVSLGDQASISCRSSQSLLHSNGNTYLEW  
YLQKPGQP PKVLIYKVS NRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKI  
SGVEAEDLG VYYCFQGS HVP LTFGAGTKLELKAVAAPS VF  
IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS  
GNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV  
THQGLSSSPVTKSFNRGEC

【0466】

配列番号 9

GAGATCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGTTGGTGAAGC  
CTGGGGCTTTCAGTGAAGATATCCTGTAAAGGCTTCTGGATA  
CACCTTCACTGACAACTACATGAACCTGGGTGAAGCAGAGC  
CATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGAGATATTAATCCTT  
ACTATGGTACTACTACCTACAACCAGAAAGTTCAAGGGCAA  
GGCCACATTGACTGTAGACAAGTCCCTCCCGCACAGCCTAC  
ATGGAGCTCCGCGGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCT  
ATTACTGTGCAAGAGATGACTGGTTTGATTATTGGGGCCA  
AGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCAGCCTCAACGAAGGGC  
CCATCTGTCTTTCCCCTGGGCCCTCCTCCAAGAGCACCT  
CTGGGGGACACAGCGGCCCTGGGCTGCTTGGTCAAGGACTA  
CTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGA ACTCAGGGCGCC  
CTGACCAGCGGCGTGCAACACCTTCCC GGCTGTCTTACAGT  
CCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGAACCGTGCC  
CTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTG  
AATCACAAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTG  
AGCCCAAATCTTGTGAATTCACTCACACATGCCCAACCGTG  
CCCAGCACCTGAACCTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTC  
TTCCCCCAA AACCCAAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGA  
CCCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGA  
AGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTG  
GAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGT  
ACAAACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGCGTCTCACCGTCT

GCACCAAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAG  
GTCTCCAACAAGCCCTCCCAAGCCCCATCGAGAAAACCA  
TCTCCAAGGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAACAGGTGTA  
CACCCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAG  
GTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCG  
ACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCGAGCCGGAGAA  
CAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGC  
TCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGAACAAGAGCA  
GGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA  
TGAGGCTCTGCACAACCACCTACACGCAGAAGAGCCTCTCC  
CTGTCTCCCCGGGAAA

10

【0467】

配列番号10

EIQ LQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTF TDNYMNWVKQS  
HGK SLEWIGDINPYYGTTT YNQKFKGKATLTVDKSSRTAY  
MELRGLTSEDSAVYYCARD DWF D YWGQGT LVT VSAASTKG  
PSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA  
LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNV  
NHKPSNTKVDKKVEPKSCEFTHTC P P C P A P E L L G G P S V F L  
F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V  
EVHNAKT K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K  
V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R D E L T K N Q  
V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G  
S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S  
L S P G K

20

【0468】

配列番号11

GACATCGTTATGTCTCAGTCTCCATCTTCCATGTATGCAT  
CTCTAGGAGAGAGAGAGTCACTATCACTTGCAAGGCGAGTCA  
GGACATTTCATAACTTTTAAACTGGTTCCAGCAGAAACCA  
GGAAAATCTCCAAGACCCTGATCTTTCGTGCAAAACAGAT  
TGGTAGATGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATC  
TGGGCAAGATTATTCTCTCACCATCAGCAGCCTGGAGTTT  
GAAGATTTGGGAATTTATTCTTGCTCTACAGTATGATGAGA  
TTCCGCTCACGTTTCGGTGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAG  
AGCTGTGGCTGCACCATCTGTCTTTCATCTTCCCGCCATCT  
GATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCC  
TGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGG CCAAAGTACAGTG  
GAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTA ACTCCCAGGAG  
AGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCC  
TCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAA  
ACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCA C C C A T C A G G G C C T G  
AGCTCGCCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT

30

40

【0469】

配列番号12

DIVMSQSPSSMYASLGERTITCKASQDIHNFLNWFQQKP  
GKSPKTLIFRANRLVDGVPSRFS GSGSGQDYSLTISSLEF  
EDLGIYSCLQYDEIPLTFGAGTKLELRVAAPS VFIFPPS  
DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE  
SVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL

50

S S P V T K S F N R G E C

【 0 4 7 0 】

配列番号 1 3

G A G G T G C A G C T T C A G G A G T C A G G A C C T G A C C T G G T G A A A C  
 C T T C T C A G T C A C T T T C A C T C A C C T G C A C T G T C A C T G G C T T  
 C T C C A T C A C C A G T G G T T A T G G C T G G C A C T G G A T C C G G C A G  
 T T T C C A G G A A A C A A A C T G G A G T G G A T G G G C T A C A T A A A C T  
 A C G A T G G T C A C A A T G A C T A C A A C C C A T C T C T C A A A A G T C G  
 A A T C T C T A T C A C T C A A G A C A C A T C C A A G A A C C A G T T C T T C  
 C T G C A G T T G A A T T C T G T G A C T A C T G A G G A C A C A G C C A C A T  
 A T T A C T G T G C A A G C A G T T A C G A C G G C T T A T T T G C T T A C T G  
 G G G C C A A G G G A C T C T G G T C A C T G T C T C T G C A G C C T C A A C G  
 A A G G G C C C A T C T G T C T T T C C C C T G G C C C C C T C C T C C A A G A  
 G C A C C T C T G G G G G C A C A G C G G C C C T G G G C T G C C T G G T C A A  
 G G A C T A C T T C C C C G A A C C G G T G A C G G T G T C G T G G A A C T C A  
 G G C G C C C T G A C C A G C G G C G T G C A C A C C T T C C C G G C T G T C C  
 T A C A G T C C T C A G G A C T C T A C T C C C T C A G C A G C G T G G T G A C  
 C G T G C C C T C C A G C A G C T T G G G C A C C C A G A C C T A C A T C T G C  
 A A C G T G A A T C A C A A G C C C A G C A A C A C C A A G G T G G A C A A G A  
 A A G T T G A G C C C A A A T C T T G T G A A T T C A C T C A C A C A T G C C C  
 A C C G T G C C C A G C A C C T G A A C T C C T G G G G G G A C C G T C A G T C  
 T T C C T C T T C C C C C C A A A A C C C A A G G A C A C C C T C A T G A T C T  
 C C C G G A C C C C T G A G G T C A C A T G C G T G G T G G T G G A C G T G A G  
 C C A C G A A G A C C C T G A G G T C A A G T T C A A C T G G T A C G T G G A C  
 G G C G T G G A G G T G C A T A A T G C C A A G A C A A A G C C G C G G G A G G  
 A G C A G T A C A A C A G C A C G T A C C G T G T G G T C A G C G T C C T C A C  
 C G T C C T G C A C C A G G A C T G G C T G A A T G G C A A G G A G T A C A A G  
 T G C A A G G T C T C C A A C A A A G C C C T C C C A G C C C C C A T C G A G A  
 A A A C C A T C T C C A A A G C C A A A G G G C A G C C C C G A G A A C C A C A  
 G G T G T A C A C C C T G C C C C C A T C C C G G G A T G A G C T G A C C A A G  
 A A C C A G G T C A G C C T G A C C T G C C T G G T C A A A G G C T T C T A T C  
 C C A G C G A C A T C G C C G T G G A G T G G G A G A G C A A T G G G C A G C C  
 G G A G A A C A A C T A C A A G A C C A C G C C T C C C G T G C T G G A C T C C  
 G A C G G C T C C T T C T T C C T C T A C A G C A A G C T C A C C G T G G A C A  
 A G A G C A G G T G G C A G C A G G G G A A C G T C T T C T C A T G C T C C G T  
 G A T G C A T G A G G C T C T G C A C A A C C A C T A C A C G C A G A A G A G C  
 C T C T C C C T G T C T C C C G G G A A A

10

20

30

【 0 4 7 1 】

配列番号 1 4

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

40

50

L S L S P G K

【0472】

配列番号15

G A C A T T G T G A T G A C C C A G T C T C C A T C C T C C C T G G C T G T G T  
C A A T A G G A C A G A A G G T C A C T A T G A A C T G C A A G T C C A G T C A  
G A G C C T T T T A A A T A G T A A C T T T C A A A A G A A C T T T T T G G C C  
T G G T A C C A G C A G A A A C C A G G C C A G T C T C C T A A A C T T C T G A  
T A T A C T T T T G C A T C C A C T C G G G A A T C T A G T A T C C C T G A T C G  
C T T C A T A G G C A G T G G A T C T G G G A C A G A T T T C A C T C T T A C C  
A T C A G C A G T G T G C A G G C T G A A G A C C T G G C A G A T T A C T T C T  
G T C A G C A A C A T T A T A G C A C T C C G C T C A C G T T C G G T G C T G G  
G A C C A A G C T G G A G C T G A A A

10

【0473】

配列番号16

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

【0474】

配列番号17

G A G G T T C A G C T G C A G C A G T C T G T A G C T G A G C T G G T G A G G C  
C T G G G G C T T C A G T G A C G C T G T C C T G C A A G G C T T C G G G C T A  
C A T A T T T A C T G A C T A T G A G A T A C A C T G G G T G A A G C A G A C T  
C C T G T G C A T G G C C T G G A A T G G A T T G G G G T T A T T G A T C C T G  
A A A C T G G T A A T A C T G C C T T C A A T C A G A A G T T C A A G G G C A A  
G G C C A C A C T G A C T G C A G A C A T A T C C T C C A G C A C A G C C T A C  
A T G G A A C T C A G C A G T T T G A C A T C T G A G G A C T C T G C C G T C T  
A T T A C T G T A T G G G T T A T T C T G A T T A T T G G G G C C A A G G C A C  
C A C T C T C A C A G T C T C C T C A

20

【0475】

配列番号18

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

30

【0476】

配列番号19

G A T G T T T T G A T G A C C C A A A C T C C A C G C T C C C T G T C T G T C A  
G T C T T G G A G A T C A A G C C T C C A T C T C T T G T A G A T C G A G T C A  
G A G C C T T T T A C A T A G T A A T G G A A A C A C C T A T T T A G A A T G G  
T A T T T G C A G A A A C C A G G C C A G C C T C C A A A G G T C C T G A T C T  
A C A A A G T T T C C A A C C G A T T T T C T G G G G T C C C A G A C A G G T T  
C A G T G G C A G T G G A T C A G G G A C A G A T T T C A C A C T C A A G A T C  
A G C G G A G T G G A G G C T G A G G A T C T G G G A G T T T A T T A C T G C T  
T T C A A G G T T C A C A T G T T C C T C T C A C G T T C G G T G C T G G G A C  
C A A G C T G G A G C T G A A A

40

【0477】

配列番号20

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

【0478】

50

## 配列番号 2 1

G A G A T C C A G C T G C A G C A G T C T G G A C C T G A G T T G G T G A A G C  
C T G G G G C T T C A G T G A A G A T A T C C T G T A A G G C T T C T G G A T A  
C A C C T T C A C T G A C A A C T A C A T G A A C T G G G T G A A G C A G A G C  
C A T G G A A A G A G C C T T G A G T G G A T T G G A G A T A T T A A T C C T T  
A C T A T G G T A C T A C T A C C T A C A A C C A G A A G T T C A A G G G C A A  
G G C C A C A T T G A C T G T A G A C A A G T C C T C C C G C A C A G C C T A C  
A T G G A G C T C C G C G G C C T G A C A T C T G A G G A C T C T G C A G T C T  
A T T A C T G T G C A A G A G A T G A C T G G T T T G A T T A T T G G G G C C A  
A G G G A C T C T G G T C A C T G T C T C T G C A

10

【 0 4 7 9 】

## 配列番号 2 2

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

【 0 4 8 0 】

## 配列番号 2 3

G A C A T C G T T A T G T C T C A G T C T C C A T C T T C C A T G T A T G C A T  
C T C T A G G A G A G A G A G T C A C T A T C A C T T G C A A G G C G A G T C A  
G G A C A T T C A T A A C T T T T T A A A C T G G T T C C A G C A G A A A C C A  
G G A A A A T C T C C A A A G A C C C T G A T C T T T C G T G C A A A C A G A T  
T G G T A G A T G G G G T C C C A T C A A G G T T C A G T G G C A G T G G A T C  
T G G G C A A G A T T A T T C T C T C A C C A T C A G C A G C C T G G A G T T T  
G A A G A T T T G G G A A T T T A T T C T T G T C T A C A G T A T G A T G A G A  
T T C C G C T C A C G T T C G G T G C T G G G A C C A A G C T G G A G C T G A G  
A

20

【 0 4 8 1 】

## 配列番号 2 4

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

30

【 0 4 8 2 】

## 配列番号 2 5

G A G G T G C A G C T T C A G G A G T C A G G A C C T G A C C T G G T G A A A C  
C T T C T C A G T C A C T T T C A C T C A C C T G C A C T G T C A C T G G C T T  
C T C C A T C A C C A G T G G T T A T G G C T G G C A C T G G A T C C G G C A G  
T T T C C A G G A A A C A A A C T G G A G T G G A T G G G C T A C A T A A A C T  
A C G A T G G T C A C A A T G A C T A C A A C C C A T C T C T C A A A A G T C G  
A A T C T C T A T C A C T C A A G A C A C A T C C A A G A A C C A G T T C T T C  
C T G C A G T T G A A T T C T G T G A C T A C T G A G G A C A C A G C C A C A T  
A T T A C T G T G C A A G C A G T T A C G A C G G C T T A T T T G C T T A C T G  
G G G C C A A G G G A C T C T G G T C A C T G T C T C T G C A

40

【 0 4 8 3 】

## 配列番号 2 6

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

【 0 4 8 4 】

## 配列番号 2 7

K S S Q S L L N S N F Q K N F L A

50

【 0 4 8 5 】	
配列番号 2 8	
F A S T R E S	
【 0 4 8 6 】	
配列番号 2 9	
Q Q H Y S T P L T	
【 0 4 8 7 】	
配列番号 3 0	
G Y I F T D Y E I H	
【 0 4 8 8 】	10
配列番号 3 1	
V I D P E T G N T A	
【 0 4 8 9 】	
配列番号 3 2	
M G Y S D Y	
【 0 4 9 0 】	
配列番号 3 3	
R S S Q S L L H S N G N T Y L E	
【 0 4 9 1 】	
配列番号 3 4	20
K V S N R F S	
【 0 4 9 2 】	
配列番号 3 5	
F Q G S H V P L T	
【 0 4 9 3 】	
配列番号 3 6	
G Y T F T D N Y M N	
【 0 4 9 4 】	
配列番号 3 7	
D I N P Y Y G T T T	30
【 0 4 9 5 】	
配列番号 3 8	
A R D D W F D Y	
【 0 4 9 6 】	
配列番号 3 9	
K A S Q D I H N F L N	
【 0 4 9 7 】	
配列番号 4 0	
R A N R L V D	
【 0 4 9 8 】	40
配列番号 4 1	
L Q Y D E I P L T	
【 0 4 9 9 】	
配列番号 4 2	
G F S I T S G Y G W H	
【 0 5 0 0 】	
配列番号 4 3	
Y I N Y D G H N D	
【 0 5 0 1 】	
配列番号 4 4	50

A S S Y D G L F A Y

【 0 5 0 2 】

配列番号 4 5 - 3 A 4 重鎖可変領域ヌクレオチド配列

C A G A T C C A G T T G G T G C A A T C T G G A C C T G A G A T G G T G A A G C  
C T G G G G C T T C A G T G A A G A T G T C C T G T A A G G C T T C T G G A T A  
C A C A T T C A C T G A C G A C T A C A T G A G C T G G G T G A A A C A G A G C  
C A T G G A A A G A G C C T T G A G T G G A T T G G A G A T A T T A A T C C T T  
A C A A C G G T G A T A C T A A C T A C A A C C A G A A G T T C A A G G G C A A  
G G C C A T A T T G A C T G T A G A C A A A T C C T C C A G C A C A G C C T A C  
A T G C A G C T C A A C A G C C T G A C A T C G G A A G A C T C A G C A G T C T  
A T T A C T G T G C A A G A G A C C C G G G G G C T A T G G A C T A C T G G G G  
T C A A G G A A C C T C A G T C A C C G T C T C C T C A

10

【 0 5 0 3 】

配列番号 4 6 - 3 A 4 重鎖可変領域ポリペプチド配列

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

【 0 5 0 4 】

配列番号 4 7 - 3 A 4 軽鎖可変領域ヌクレオチド配列

G A T G T T G T G A T G A C C C A A A C T C C A C T C T C C C T G G C T G T C A  
G T C T T G G A G A T C A A G C C T C C A T C T C T T G C A G A T C T A G T C A  
G A G C C T T C T A C A T A G T A A T G G A A A C A C C T A T T T A G A A T G G  
T A C C T T C A G A A A C C A G G C C A G T C T C C A A A G C T C C T G A T C C  
A C A C A G T T T C C A A C C G A T T T T C T G G G G T C C C A G A C A G A T T  
C A G T G G C A G T G G A T C A G G G A C A G A T T T C A C A C T C A A G A T C  
A G C A G A G T G G A G G C T G A G G A T C T G G G A G T T T A T T A C T G C T  
T T C A A G G T T C A C A T G T T C C G C T C A C G T T C G G T G C T G G G A C  
C A G G C T G G A G C T G A A A

20

【 0 5 0 5 】

配列番号 4 8 - 3 A 4 軽鎖可変領域ポリペプチド配列

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

30

【 0 5 0 6 】

配列番号 4 9 - 3 A 4 重鎖 C D R 1 ポリペプチド配列

G Y T F T D D Y M S

【 0 5 0 7 】

配列番号 5 0 - 3 A 4 重鎖 C D R 2 ポリペプチド配列

D I N P Y N G D T N Y N Q K F K G

【 0 5 0 8 】

配列番号 5 1 - 3 A 4 重鎖 C D R 3 ポリペプチド配列

D P G A M D Y

【 0 5 0 9 】

配列番号 5 2 - 3 A 4 軽鎖 C D R 1 ポリペプチド配列

R S S Q S L L H S N G N T Y L E

【 0 5 1 0 】

配列番号 5 3 - 3 A 4 軽鎖 C D R 2 ポリペプチド配列

T V S N R F S

【 0 5 1 1 】

配列番号 5 4 - 3 A 4 軽鎖 C D R 3 ポリペプチド配列

40

50

F Q G S H V P L T

【 0 5 1 2 】

配列番号 5 5

G T A A G C A G C G C T G T G G C T G C A C C A T C T G T C T T C

【 0 5 1 3 】

配列番号 5 6

G T A A G C G C T A G C C T A A C A C T C T C C C C T G T T G A A G C

【 0 5 1 4 】

配列番号 5 7

G C T G T G G C T G C A C C A T C T G T C T T C A T C T T C C G C C A T C T G  
A T G A G C A G T T G A A A T C T G G A A C T G C C T C T G T T G T G T G C C T  
G C T G A A T A A C T T C T A T C C C A G A G A G G C C A A A G T A C A G T G G  
A A G G T G G A T A A C G C C C T C C A A T C G G G T A A C T C C C A G G A G A  
G T G T C A C A G A G C A G G A C A G C A A G G A C A G C A C C T A C A G C C T  
C A G C A G C A C C C T G A C G C T G A G C A A A G C A G A C T A C G A G A A A  
C A C A A A G T C T A C G C C T G C G A A G T C A C C C A T C A G G G C C T G A  
G C T C G C C C G T C A C A A A G A G C T T C A A C A G G G G A G A G T G T T A  
G

10

【 0 5 1 5 】

配列番号 5 8

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

20

【 0 5 1 6 】

配列番号 5 9

C T T G A G C C G G C G G A T G G T C G A G G T G A G G T G T G G C A G G C T T  
G A G A T C C A G C T G T T G G G G T G A G T A C T C C C T C T C A A A A G C G  
G G C A T T A C T T C T G C G C T A A G A T T G T C A G T T T C C A A A A A C G  
A G G A G G A T T T G A T A T T C A C C T G G C C C G A T C T G G C C A T A C A  
C T T G A G T G A C A A T G A C A T C C A C T T T G C C T T T C T C T C C A C A  
G G T G T C C A C T C C C A G G T C C A A G T T T A A A C G G A T C T C T A G C  
G A A T T C A T G A A C T T T C T G C T G T C T T G G G T G C A T T G G A G C C  
T T G C C T T G C T G C T C T A C C T C C A C C A T G C C A A G T G G T C C C A  
G G C T T G A G A C G G A G C T T A C A G C G C T G T G G C T G C A C C A T C T  
G T C T T C A T C T T C C C G C C A T C T G A T G A G C A G T T G A A A T C T G  
G A A C T G C C T C T G T T G T G T G C C T G C T G A A T A A C T T C T A T C C  
C A G A G A G G C C A A A G T A C A G T G G A A G G T G G A T A A C G C C C T C  
C A A T C G G G T A A C T C C C A G G A G A G T G T C A C A G A G C A G G A C A  
G C A A G G A C A G C A C C T A C A G C C T C A G C A G C A C C C T G A C G C T  
G A G C A A A G C A G A C T A C G A G A A A C A C A A A G T C T A C G C C T G C  
G A A G T C A C C C A T C A G G G C C T G A G C T C G C C C G T C A C A A A G A  
G C T T C A A C A G G G G A G A G T G T T A G G G T A C C G C G G C C G C T T C  
G A A T G A G A T C C C C C G A C C T C G A C C T C T G G C T A A T A A A G G A  
A A T T T A T T T T C A T T G C A A T A G T G T G T T G G A A T T T T T T G T G  
T C T C T C A C T C G G A A G G A C A T A T G G G A G G G C A A A T C A T T T G  
G T C G A G A T C C C T C G G A G A T C T C T A G C T A G A G C C C C G C C G C  
C G G A C G A A C T A A A C C T G A C T A C G G C A T C T C T G C C C C T T C T  
T C G C G G G G C A G T G C A T G T A A T C C C T T C A G T T G G T T G G T A C  
A A C T T G C C A A C T G G G C C C T G T T C C A C A T G T G A C A C G G G G G  
G G G A C C A A A C A C A A A G G G G T T C T C T G A C T G T A G T T G A C A T

30

40

50

CCTTATAAATGGATGTGCACATTTGCCAACACTGAGTGGC  
TTTCATCCTGGAGCAGACTTTTGCAGTCTGTGGACTGCAAC  
ACAACATTGCTTTTATGTGTAACCTTTGGCTGAAGCTCTT  
ACACCAATGCTGGGGGACATGTACCTCCCAGGGGGCCCAGG  
AAGACTACGGGAGGCTACACCAACGTCAATCAGAGGGGGCC  
TGTGTAGCTACCGATAAGCGGACCCCTCAAGAGGGGCATTAG  
CAATAGTGTTTATAAGGCCCCCTTGTTAACCTTAAACGGG  
TAGCATATGCTTCCCAGGGTAGTAGTATATACTATCCAGAC  
TAACCCCTAATTCAATAGCATATGTTACCCAACGGGGAAGCA  
TATGCTATCGAATTAGGGTTAGTAAAAGGGTCTTAAGGAA  
CAGCGATATCTCCCACCCCATGAGCTGTACGGGTTTTTATT  
TACATGGGGTCAAGGATTCCACGAGGGTAGTGAACCATTTT  
AGTCACAAGGGGCAGTGGCTGAAGATCAAGGAGCGGGGCAGT  
GAACTCTCCTGAATCTTCGCCTGCTTCTTCAATTCTCCTTC  
GTTTAGCTAATAGAAATAACTGCTGAGTTGTGAACAGTAAG  
GTGTATGTGAGGTGCTCGAAACAAGGTTTTCAGGTGACGC  
CCCCAGAATAAAATTTGGACGGGGGGTTTCAAGTGGTGGCAT  
TGTGCTATGACACCAATATAACCCCTCACAAACCCCTTGGG  
CAATAAATACTAGTGTAAGGAATGAAACATTTCTGAATATCT  
TTAACAATAGAAATCCATGGGGGTGGGGACAAGCCGTAAAG  
ACTGGATGTCCATCTCACACGAATTTATGGCTATGGGCA  
CACATAATCCTAGTGCAATATGATACTGGGGTTATTAAGA  
TGTGTCCCAGGCGAGGGACCAAGACAGGTGAACCATGTTGT  
TACACTCTATTTGTAAACAAGGGGAAAGAGAGTGGACGCCG  
ACAGCAGCGGACTCCACTGGTTGTCTCTAACACCCCCCGAA  
AATTAAACGGGGCTCCACGCCCAATGGGGCCCATAAACAAA  
GACAAGTGGCCACTCTTTTTTTTGAATTTGTGGAGTGGGG  
GCACGCGTCAAGCCCCACACGCCCGCCCTGCGGTTTTTGGAC  
TGTAATAATAAGGGTGTAATAACTTTGGCTGATTGTAAACCC  
GCTAACCACTGCGGTCAAACCACTTGCCCCACAAAACCACT  
AATGGCACCCCCGGGGAATACCTGCATAAGTAGGTGGGCGG  
GCCAAGATAGGGGCGCGATTGCTGCGATCTGGAGGACAAA  
TTACACACACTTGCGCCTGAGCGCCAAAGCACAGGGTTGTT  
GGTCCTCATATTTACGAGGTGCTGAGAGCACGGGTGGGCT  
AATGTTGCCATGGGTAGCATATACTACCCAAATATCTGGA  
TAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATAGGC  
TATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCCTAATC  
TATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGG  
TAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGC  
TATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATC  
TGTATCCGGGTAGCATATGCTATCCTAATAGAGATTAGGG  
TAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCATATAC  
TACCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCCTAATCTATA  
TCTGGGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGC  
ATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATC  
CTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATA  
TCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGC  
ATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATC  
CTAATCTGTATCCGGGTAGCATATGCTATCCTCACGATGA  
TAAGCTGTCAAACATGAGAATTAAATTTCTTGAAGACGAAAG

10

20

30

40

50

GGCCTCGTGATACGCCCTATTTTATAGGTTAATGTCATGA  
TAATAATGGTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTTCGGGG  
AAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATA  
CATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCCTGAT  
AAATGCTTCAATAATAATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTAT  
TCAACATTTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTTGCGGCA  
TTTTTGCTTCTCTGTTTTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGA  
AAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGG  
TTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAAGATCCTTGAG  
AGTTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTTCCAATGATGAGCACTT  
TTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTGTTGA  
CGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTGCGCCGCATACACTATTCT  
CAGAAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCAACAGAAAAGC  
ATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAAATTATGCAGTGC  
TGCCATAAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTT  
CTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTT  
TGCAACAACATGGGGGATCATGTAACCTCGCCTTGATCGTTG  
GGAACC GGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGT  
GACACCACGATGCTTGCAGCAATGGCAACAACGTTGCGCA  
AACTATTAACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCCGGCA  
ACAATTAAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCGAGGA  
CCACTTCTGCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTTATTG  
CTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTCGCGGGTAT  
CATTTGCAGCACTGGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCCGTATC  
GTAGTTATCTACACGACGGGGGAGTCAAGGCAACTATGGATG  
AACGAATAAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGAT  
TAAGCATTTGGTAACCTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATA  
CTTTAGATTGATTTAAAACTTCATTTTTTAATTTAAAAAGGA  
TCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATAATCTCATGACCAAAAT  
CCCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAAGACCCC  
GTAGAAAAGATCAAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTTC  
TGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAAACAAAAAACCAACCGCT  
ACCAGCGGTGGTTTTGTTTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACT  
CTTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTTCAGCAGAGCGCAGATAC  
CAAATACTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCA  
CTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTG  
CTAATCCTGTTACCAAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGT  
CGTGTCCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGA  
TAAGGCGCAGCGGTCTGGGGCTGAACGGGGGGTTCTGTGCACA  
CAGCCCAGCTTGGAGCGGAACGACCTACACCGAACTGAGAT  
ACCTACAGCGTGAGCATTTGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGA  
AGGGAGAAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCGAGGGTC  
GGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGGAAACG  
CCTGGTATCTTTATAGTCTCTGTCGGGGTTTCGCCACCTCTG  
ACTTGAGCGTCTGATTTTTTGTTGATGCTCGTCAAGGGGGCGG  
AGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCCTTTTTTACGGT  
TCCTGGCCCTTTTTGCTGGCCCTTTTGCTCACATGTTCTTTCC  
TGCGTTATCCCCCTGATTCTGTGGATAAACCGTATTACCGCC  
TTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGCAAGCCGAACGACCG  
AGCGCAGCGAGTCAAGTGAGCGAGGAAAGCGGAAGAGCGCCC

10

20

30

40

50

A A T A C G C A A A C C G C C T C T C C C C G C G C G T T G G C C G A T T C A T  
T A A T G C A G C T G G C A C G A C A G G T T T C C C G A C T G G A A A G C G G  
G C A G T G A G C G C A A C G C A A T T A A T G T G A G T T A G C T C A C T C A  
T

T A G G C A C C C C A G G C T T T A C A C T T T A T G C T T C C G G C T C G T A  
T G T T G T G T G G A A T T G T G A G C G G A T A A C A A T T T C A C A C A G G  
A A A C A G C T A T G A C C A T G A T T A C G C C A A G C T C T A G C T A G A G  
G T C G A C C A A T T C T C A T G T T T G A C A G C T T A T C A T C G C A G A T  
C C G G G C A A C G T T G T T G C A T T G C T G C A G G C G C A G A A C T G G T  
A G G T A T G G C A G A T C T A T A C A T T G A A T C A A T A T T G G C A A T T  
A G C C A T A T T A G T C A T T G G T T A T A T A G C A T A A A T C A A T A T T  
G G C T A T T G G C C A T T G C A T A C G T T G T A T C T A T A T C A T A A T A  
T G T A C A T T T T A T A T T G G C T C A T G T C C A A T A T G A C C G C C A T G  
T T G A C A T T G A T T A T T G A C T A G T T A T T A A T A G T A A T C A A T T  
A C G G G G T C A T T A G T T C A T A G C C C A T A T A T G G A G T T C C G C G  
T T A C A T A A C T T A C G G T A A A T G G C C C G C C T G G C T G A C C G C C  
C A A C G A C C C C C G C C C A T T G A C G T C A A T A A T G A C G T A T G T T  
C C C A T A G T A A C G C C A A T A G G G A C T T T C C A T T G A C G T C A A T  
G G G T G G A G T A T T T A C G G T A A A C T G C C C A C T T G G C A G T A C A  
T C A A G T G T A T C A T A T G C C A A G T C C G C C C C C T A T T G A C G T C  
A A T G A C G G T A A A T G G C C C G C C T G G C A T T A T G C C C A G T A C A  
T G A C C T T A C G G G A C T T T C C T A C T T G G C A G T A C A T C T A C G T  
A T T A G T C A T C G C T A T T A C C A T G G T G A T G C G G T T T T G G C A G  
T A C A C C A A T G G G C G T G G A T A G C G G T T T G A C T C A C G G G G A T  
T T C C A A G T C T C C A C C C C A T T G A C G T C A A T G G G A G T T T G T T  
T T G G C A C C A A A A T C A A C G G G A C T T T C C A A A A T G T C G T A A T  
A A C C C C G C C C C G T T G A C G C A A A T G G G C G G T A G G C G T G T A C  
G G T G G G A G G T C T A T A T A A G C A G A G C T C G T T T A G T G A A C C G  
T C A G A T C C T C A C T C T C T T C C G C A T C G C T G T C T G C G A G G G C  
C A G C T G T T G G G C T C G C G G T T G A G G A C A A A C T C T T C G C G G T  
C T T T C C A G T A C T C T T G G A T C G G A A A C C C G T C G G C C T C C G A  
A C G G T A C T C C G C C A C C G A G G G A C C T G A G C G A G T C C G C A T C  
G A C C G G A T C G G A A A A C C T C T C G A G A A A G G C G T C T A A C C A G  
T C A C A G T C G C A A G G T A G G C T G A G C A C C G T G G C G G G C G G C A  
G C G G G T G G C G G T C G G G G T T G T T T C T G G C G G A G G T G C T G C T  
G A T G A T G T A A T T A A A G T A G G C G G T

【 0 5 1 7 】

配列番号 6 0

A T G C C A A G T G G T C C C A G G C T G A C A T T G T G A T G A C C C A G T C  
T C C

【 0 5 1 8 】

配列番号 6 1

A T G C C A A G T G G T C C C A G G C T G A T G T T T T G A T G A C C C A A A C  
T C C

【 0 5 1 9 】

配列番号 6 2

A T G C C A A G T G G T C C C A G G C T G A C A T C G T T A T G T C T C A G T C  
T C C

10

20

30

40

50

## 【0520】

配列番号63

GGGAAGATGAAGACAGATGGTGCAGCCACAGC

## 【0521】

配列番号64

GTAAGCGCTAGCGCCTCAACGAAGGGCCCATCTGTCTTTC  
CCCTGGCCCC

## 【0522】

配列番号65

GTAAGCGAATTTCACAAAGATTTGGGCTCAACTTTCTTG

10

## 【0523】

配列番号66

GCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCT  
CCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGACACAGCAGCCCTGGGGCTG  
CCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTG  
TGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACACCTTCC  
CGGCTGTCTACAGTCTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAG  
CGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGGCACCCAGACC  
TACATCTTGCAACGTGAATCACAAAGCCCAGCAACACCAAGG  
TGGACAAGAAAGTTGAGCCCCAAATCTTGT

20

## 【0524】

配列番号67

ASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS  
WNSGALTSQGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQT  
YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC

## 【0525】

配列番号68

CTTGAGCCGGCGGATGGTCTGAGGTGAGGTGTGGCAGGCTT  
GAGATCCAGCTGTTGGGGTGAGTACTCCCTCTCAAAAAGCG  
GGCATTACTTCTGCGCTAAGATTGTCTAGTTTCCAAAAACG  
AGGAGGATTTGATATTACCTGGCCCGATCTGGCCATACA  
CTTGAGTGACAAATGACATCCACTTTTGCCCTTCTCTCCACA  
GGTGTCCACTCCCAGGTCCAAGTTTGGCCGCCACCATGGAG  
ACAGACACACTCCTGCTATGGGTACTGCTGCTCTGGGGTTC  
CAGGTTCCTACTGGCGGAGACGGAGCTTACGGGCCCATCTG  
TCTTTCCCCCTGGCCCCCTCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG  
CACAGCGGGCCCTGGGGCTGCCCTGGTCAAGGACTACTTCCCC  
GAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCA  
GCGGCGGTGCACACCTTCCCCGGCTGTCTCTACAGTCTCTCAGG  
ACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGC  
AGCTTGGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAA  
AGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAA  
ATCTTGTGAATTCACTCACACATGCCACCGTGCCCAAGCA  
CCTGAACCTCCTGGGGGGGACCGTCAAGTCTTCTCTTCCCCC  
CAAAACCCAAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGA  
GGTCAACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCT  
GAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGTC  
ATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAG  
CACGTACCGTGTGGTCAAGCGTCTCAACCGTCTGCAACAG  
GACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGGTGCAAGGTCTCCA

30

40

50

ACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAACCATCTCCAA  
AGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACACAGGTGTACACCCTG  
CCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACAGGTCAGCC  
TGACCTGCTTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGC  
CGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTAC  
AAGACCACGCCCTCCCGTGGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCT  
TCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCA  
GCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCT  
CTGCACAACCACTACACGCAGAAAGAGCCTCTCCCTGTCTC  
CCGGGAATGATCCCCCGACCTCGACCTCTGGCTAATAAA  
GGAAATTTATTTTTCATTGCAATAGTGTGTTGGAATTTTTT  
GTGTCTCTCACTCGGAAGGACATATGGGAGGGCAAAATCAT  
TTGGGTCGAGATCCCTCGGAGATCTCTAGCTAGAGCCCCGC  
CGCCGGGACGAACCTAAACCTGACTACGGCATCTCTGCCCT  
TCTTCGCGGGGCGAGTGCATGTAATCCCTTCAGTTGGTTGG  
TACAACCTTGCCAACTGAACCCCTAAACGGGTAGCATATGCT  
TCCCGGGTAGTAGTATATACTATCCAGACTAACCCCTAATT  
CAATAGCATATGTTACCCAAACGGGAAGCATATGCTATCGA  
ATTAGGGTTAGTAAGAGGGTCTTAAGGAACAGCGATGTAG  
GTGGGCGGGGCCAAGATAGGGGCGCGATTGCTGCGATCTGG  
AGGACAAATTAACACACACTTGCGCCTGAGCGCCAAGCAC  
GGGTTGTTGGTCCCTCATATTACAGAGGTGCTGAGAGCAC  
GGTGGGCTAATGTTGCCATGGGTAGCATATACTACCCAAA  
TATCTGGATAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTA  
GCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTA  
TCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTA  
TATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTA  
GCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTA  
TCCTAATCTGTATCCGGGTAGCATATGCTATCCTAATAGA  
GATTAGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGGTA  
GCATATACTACCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCCT  
AATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATC  
TGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCAT  
ATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCT  
AATTTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATC  
TGGGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTAT  
ATGCTATCCTAATCTGTATCCGGGTAGCATATGCTATCCT  
CACGATGATAAGCTGTCAAACATGAGAAATTAATTTCTTGAA  
GACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCCTATTTTTATAGGTTAA  
TGTCATGATAATAATGGTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACT  
TTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTTTT  
TCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATA  
ACCCCTGATAAATGCTTCAAATAATAATTGAAAAAGGAAGAGT  
ATGAGTATTTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTTCCCTTTT  
TTGCGGCATTTTGCCTTCTGTTTTGTCTACCCAGAAAC  
GCTGGTGAAAGTAAGAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCA  
CGAGTGGGTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGA  
TCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTTCAATGAT  
GAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCC  
CGTGTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTGCGCCGCATAC

10

20

30

40

50

ACTATTCTCAG AATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCA C  
AGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATT A  
TGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCA  
ACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACC GAAGGAGCTAAC  
CGCTTTTTTTG CACAACATGGGGGATCATGTA ACTCGCCTT  
GATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACG  
ACGAGCGTGACACCACGATGCCCTGCAGCAATGGCAACAAC  
GTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACTTACTCTAGCT  
TCCCGGCAACAATTAA TAGACTGGATGGAGGCGGATAAAG  
TTGCAGGACC ACTTCTGCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTG  
GTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCT  
CGCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCT  
CCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAAC  
TATGGATGAACGA AATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCC  
TCACTGATTAAAGCATTTGGTA ACTGT CAGACCAAGTTTACT  
CATATATACTTTAGATTGATTTAAA ACTTCA TTTTAAATT  
TAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATG  
ACCAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTCTGTTCCACTGAGCGT  
CAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCC  
TTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAA  
CCACCGCTACCAAGCGGTGGTTTGT TTTGCCGGATCAAGAGC  
TACCAACTCTTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGCAGAGC  
GCAGATAACCAATACTGTCCTTCTAGTG TAGCCGTAGTTA  
GGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACC  
TCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGG  
CGATAAGTCTGTGCTTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAG  
TTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCTGGGCTGAACGGGGGGTT  
CGTGCAACACAGCC CAGCTTGGAGCGGAACGACCTACACCGA  
ACTGAGATACCTACAGCGTGAGCATTGAGAAAGCGCCACG  
CTTCCCGAAAGGGAGAAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCG  
GCAGGGTCTGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGG  
GGGAAACGCCCTGGTATCTTTATAGTCTGTCGGGGTTTCGC  
CACCTCTGACTTGAGCGTCTGATTTTTTG TGATGCTCGTCA G  
GGGGGCGGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCCTT  
TTTACGGTTTCTGCGCTTTTGTGCTGGCCCTTTTGCTCACATG  
TTCTTTCTCTGCGTTATCCCCCTGATTCTGTGGATAACCGTA  
TTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGCGAGCCG  
AACGACCGAGCGCAGCGAGTCA GTGAGCGAGGAAGCGTAC  
ATTTATATTGGCTCATGTCCAATATGACCGCCATGTTGAC  
ATTGATTATTGACTAGTTATTAA TAGTAATCAATTACGGG  
GTCATTAGTT CATAGCCCCATATATGGAGTTCCGCGGTTACA  
TAACTTACGGTA AATGGCCCCGCCCTGGCTGACCGCCCCAACG  
ACCCCCCGCCCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCAT  
AGTAACGCCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGGTG  
GAGTATTTACGGTA AACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAG  
TGTATCATATGCCAAGTCCGCCCCCTATTGACGTCAATGA  
CGGTAAATGGCCCCGCCCTGGCATTTATGCCCAGTACATGACC  
TTACGGGACTTTCTCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAG  
TCATCGCTATTACCATGGTGATGCGGTTTTTGGCAGTACAC  
CAATGGGCGTG GATAGCGGTTTTGACTCACGGGGATTTCCA

10

20

30

40

50

AGTCTCCACCCCATTTGACGTC AATGGGAGTTTGT TTTGGC  
 ACCAA AATCAACGGGACTTTTCCA A AATGTCGTAAATAACCC  
 CGCCCCGTTGACGCA AATGGGCGGTAGGCGTGTACGGTGG  
 GAGGTCTATATAAGCAGAGCTCGTTTAGTGAACCGTCA GA  
 TCCTCACTCTCTTCCGCATCGCTGTCTGCGAGGGCCAGCT  
 G

TTGGGCTCGCGGTTGAGGACAAACTCTTTCGCGGTCTTTCC  
 AGTACTCTTGGATCGGA AACCCTCGGCCTCCGAACGGTA  
 CTCCGCCACCGAGGGACCTGAGCGAGTCCGCATCGACCGG  
 ATCGGA A A A C C T C T C G A G A A A G G C G T C T A A C C A G T C A C A G  
 TCGCAAGGTAGGCTGAGCACCGGTGGCGGGCGGCAGCGGGT  
 GGCGGTTCGGGGTTGTTTCTGCGGAGGTGCTGCTGATGAT  
 GTAATTAAAGTAGGCGGT

10

【0526】

配列番号69

GGGTTCCAGGTTCCACTGGCGAGGTTCA GCTGCAGCAGTCT  
 TGT

【0527】

20

配列番号70

GGGTTCCAGGTTCCACTGGCGAGGTTGCAGCTTCA G G A G T C  
 A G G

【0528】

配列番号71

GGGGCCAGGGG A A A G A C A G A T G G G C C C T T C G T T G A G G C

【0529】

配列番号89：CDRL1の例示の実施形態

K - S - S - Q - S - L - L - N / H - S / T - S / N / D - N / G - Q / N / K - K /  
 L - N - Y - L - A

30

【0530】

配列番号90：CDRL1の例示の実施形態

K - A - S - Q - D - I - H - N / T - Y / F - L - N

【0531】

配列番号91：CDRL2の例示の実施形態

F - A - S - T - R - E - S

【0532】

配列番号92：CDRL2の例示の実施形態

L - V - S - K - L - D - S

【0533】

40

配列番号93：CDRL2の例示の実施形態

R - A - N - R - L - V - D

【0534】

配列番号94：CDRL3の例示の実施形態

Q - Q - H - Y - S - T - P - L - T

【0535】

配列番号95：CDRL3の例示の実施形態

W / L - Q - Y / G - D / T - A / E / H - F - P - R - T

【0536】

配列番号96：CDRH1 1の例示の実施形態

50

G - Y - T / I - F - T - D / E - Y - E / N - M / I / V - H

【 0 5 3 7 】

配列番号 9 7 : C D R H 1 の例示の実施形態

G - F - T / S - I - T - S - G - Y - G - W - H

【 0 5 3 8 】

配列番号 9 8 : C D R H 2 の例示の実施形態

V / N / G - I / L - D - P - E / A / G - T / Y - G - X - T - A

【 0 5 3 9 】

配列番号 9 9 : C D R H 2 の例示の実施形態

Y - I - N / S - F / Y - N / D - G

10

【 0 5 4 0 】

配列番号 1 0 0 : C D R H 3 の例示の実施形態

M - G - Y - S / A - D - Y

【 0 5 4 1 】

配列番号 1 0 1 : C D R H 3 の例示の実施形態

A - S - S - Y - D - G - F - L - A - Y

【 0 5 4 2 】

配列番号 1 0 2 : C D R H 3 の例示の実施形態

A - R / W - W / F - G - L - R - Q / N

【 0 5 4 3 】

20

配列番号 1 0 3 - 3 A 2 軽鎖可変領域

【 化 1 4 】

**DAVMTQIPLTLSVTIGQPASLSCKSSQSLLHSDGKTYLNWLLQRPQGSPKRLISLVSKLDSGVPD  
RFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGLYYCWQGTFFPRTFAGGTNLEIK**

【 0 5 4 4 】

配列番号 1 0 4 - 3 F 6 軽鎖可変領域

【 化 1 5 】

**SIVMTQTPLTLSVTIGQPASITCKSSQSLLYSYGKTYLNWLLQRPQGSPKRLISLVSKLDSGVPD  
GFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCWQGTFFPRTFGGGTKLEIK**

30

【 0 5 4 5 】

配列番号 1 0 5 - 3 E 8 軽鎖可変領域

【 化 1 6 】

**DAVMTQIPLTLSVTIGQPASISCKSSQSLLHSDGKTYLNWLLQRPQGSPKRLIYLVSKLDSGVPD  
RFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCWQGTFFPRTFGGGTKLEIK**

【 0 5 4 6 】

配列番号 1 0 6 - 3 E 1 0 軽鎖可変領域

【 化 1 7 】

40

**DIVMTQAAPSVPTPGESVSI SCRSSQSLLHNSNGNTYLYWFLQRPQGSPQLLIYRMSNLASGVPD  
RFSGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPYTFGGGTKLEIK**

【 0 5 4 7 】

配列番号 1 0 7 - 3 A 9 軽鎖可変領域

【 化 1 8 】

**DIVMTQSPSSLAMSLGQKVTMSCKSSQSLLNSNNQLNYLAWYQQKPGQSPKLLVYFASTRKSGVP  
DRFIGSGSGTDFTLTITSVQAEDLADYFCQQHFNTPFTFGAGTKLEIK**

【 0 5 4 8 】

50

配列番号 1 0 8 - 3 B 1 軽鎖可変領域

【化 1 9】

DIVMTQSPSSLAISVGQKVTMSCKSSQSLLNSSNQKNYLAWYQQKPGQSPKLLVFFASTRESGVP  
DRFIGSGSGTDFTLTITSSVQAEDLADYFCQQHYSTPLTFGAGTKLELK

【0 5 4 9】

配列番号 1 0 9 - 3 G 5 軽鎖可変領域

【化 2 0】

DIVMTQSPSSLAMSVGQKVTMSCKSSQSLLNSSNQKNYLAWYQQKPGQSPKLLVFFASTRESGVP  
DRFIGSGSGTDFTLTITSSVQAEDLADYFCQQHYSTPLTFGSGTKLELK

10

【0 5 5 0】

配列番号 1 1 0 - 3 B 2 軽鎖可変領域

【化 2 1】

DIVMTQSPSSLAMSVGQKVTMSCKSSQSLLNSSNQKNYLAWYQQKPGQSPKLLVYFASTRESGVP  
DRFIGSGSGTDFTLTITSSVQAEDLADYFCQQHYSTPLTFGAGTKLELK

【0 5 5 1】

配列番号 1 1 1 - 3 B 8 軽鎖可変領域

【化 2 2】

DIVMTQSPSSLAMSVGQKVTMSCKSSQSLLNSSNQKNYLAWYQQKPGQSPKLLVYFASTRESGVP  
DRFIGSGSGTDFTLTITSSVQAEDLADYFCQQHYSTPLTFGAGTKLELK

20

【0 5 5 2】

配列番号 1 1 2 - 3 G 8 軽鎖可変領域

【化 2 3】

DIVMTQSPSSLAMSVGQKVTMSCKSSQSLLNSSNQKNYLAWYQQKPGQSPKLLVYFASTRESGVP  
DRFIGSGSGTDFTLTITSSVQAEDLADYFCQQHYSTPLTFGAGTKLELK

【0 5 5 3】

配列番号 1 1 3 - 3 F 7 軽鎖可変領域

【化 2 4】

DIVMTQSPSSLAMSVGQKVTMSCKSSQSLLNSSNQKNYLAWYQQKPGQSPKLLIYFASTRESGVP  
DRFIGSGSGTDFTLTITSSVQAEDLADYFCQQHYSTPLTFGAGTKLELK

30

【0 5 5 4】

配列番号 1 1 4 - 3 E 9 軽鎖可変領域

【化 2 5】

DIVMTQSPSSLAMSVGQKVTMSCKSSQSLLNSSNQKNYLAWYQQKPGQSPKLLVYFASTRESGVP  
DRFIGSGSGTEFTLTITSSVQAEDLADYFCQQHYSTPLTFGAGTKLELK

40

【0 5 5 5】

配列番号 1 1 5 - 3 C 3 軽鎖可変領域

【化 2 6】

DIVMTQSPSSLAMSVGQKVTMSCKSSQSLLNSSNQKNYLAWYQQKPGQSPKLLVYFGSTRESGVP  
DRFIGSGSGTDFTLTISGVQAEDLADYFCQQHYSTPLTFGAGTKLELK

【0 5 5 6】

配列番号 1 1 6 - 3 E 1 2 軽鎖可変領域

【化 2 7】

DIVMTQSPSSLAMSVGQKVTMNCKSSQSLLNRSNQNKNYLAWYQQKPGQSPKLLVYFASTRESGVP  
DRFIGSGSGTDFTLTISSVQAEDLADYFCQQHYSTPLTFGAGTKLELK

【0 5 5 7】

配列番号 1 1 7 - 4 A 2 軽鎖可変領域

【化 2 8】

DIVMTQSPSSLAMSVGQKVTMNCKSSQSLLNNSNQNKNYLAWYQQKPGQSPKLLLYFASTRESGVP  
DRFIGSGSGTYFTLTISVQAEDLADYFCQQHYSTPLTFGAGTKLDLK

10

【0 5 5 8】

配列番号 1 1 8 - 3 F 1 0 軽鎖可変領域

【化 2 9】

DIVMTQSPSSLTMSVGQKVTMSCKSSQSLLNTSNQKNYLAWYQQKPGQSPKLLVYFASTTESGVP  
DRFIGSGSGTDFTLTISSVQAEDLADYFCQQHYSTPLTFGAGTKLELK

【0 5 5 9】

配列番号 1 1 9 - 3 F 4 軽鎖可変領域

【化 3 0】

DIVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNTSNQKNYLAWYQQKPGQSPKLLVYFASTRASGVP  
DRFIGSGSGTDFTLTISSVQAEDLADYFCQQHYSTPLTFGAGTKLELK

20

【0 5 6 0】

配列番号 1 2 0 - 3 B 1 1 軽鎖可変領域

【化 3 1】

DIVMTQSPSSLAMSVGQKVTMSCKSSQSLLNSSNQNKNYLAWYQQKPGQSPKLLVYFASTRESGVP  
DRFIGSGSGTDFTLTISSVQAEDLADYFCQQHYSTPLTFGAGTKLELK

【0 5 6 1】

配列番号 1 2 1 - 3 G 1 2 軽鎖可変領域

【化 3 2】

DIVMTQSPKFMSTSVGDRVSITCKASQDVGTAVAWYQQKPGQSPPELLIYWTSTRHTGVPDRFSGS  
GSGTDFTLTISSVQAEDLADYFCQQHYSTPLTFGAGTKLELR

30

【0 5 6 2】

配列番号 1 2 2 - 3 D 1 軽鎖可変領域

【化 3 3】

DIKMTQSPSSMYASLGERVTITCKASQDIHTYLNWFQQKPGKSPETLIYRANRLVDGVPSRFGSGS  
GSGQDYSLTISSEYEDMGIYYCLQYDEFPLTFGAGTKLELK

40

【0 5 6 3】

配列番号 1 2 3 - 3 C 2 軽鎖可変領域

【化 3 4】

DIQMTQSPSSMYASLGERVTITCKASQDIHNYLNWFQQKPGKSPKTLIHRANRLVAGVPSRFGSGS  
GSGQDYSLTISSEYEDLGIYYCLQYDAFPLTFGAGTKLELK

【0 5 6 4】

配列番号 1 2 4 - 3 E 6 軽鎖可変領域

【化 3 5】

DIQMTQSPSSMYASLGERVTITCKASQDIHNYLNWFQKPGKSPKTLIHRANRLVAGVPSRFSGS  
GSGQDYSLTISSLEYEDLGIYYCLQYDAFPLTFGAGTKLELK

【0 5 6 5】

配列番号 1 2 5 - 3 H 3 軽鎖可変領域

【化 3 6】

DIVMSQSPSSMYASLGERVTITCKASQDIHRFLNWFQKPGKSPKTLIFHANRLVDGVPSRFSGS  
GSGLDYSLTISSLEYEDMGIYFCLQYDAFPLTFGAGTKLELK

10

【0 5 6 6】

配列番号 1 2 6 - 3 A 2 重鎖可変領域

【化 3 7】

HEIQLQQSGPELVKPGASVKMSCKTSGYTFDYNMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYNDVTEYNEKF  
KGRATLTSDKSSSTAYMDLSSLTSDSAVYFCANFGLRQWGQGTTLTVST

【0 5 6 7】

配列番号 1 2 7 - 3 F 6 重鎖可変領域

【化 3 8】

HEVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYIFTEYNHWWKQKPGQGPWEWIGNINPYNDVTEYNEKF  
KKGATLTSDKASSTAYMDLSSLTSEDSAVYYCARWGLRNWGQGTTLTVSA

20

【0 5 6 8】

配列番号 1 2 8 - 3 E 8 重鎖可変領域

【化 3 9】

HEVQLQQSVPELVKPGASVKMSCKTSGYTFTEYNMHWVKQKPGQGPWEWIGNINPYNNVTEYNEKF  
KKGATLTSDKSSSTAYLDLSSLTSEDSAVYYCARWGLRNWGQGTTLTVSA

【0 5 6 9】

配列番号 1 2 9 - 3 A 9 重鎖可変領域

【化 4 0】

HQVQVQQPGAELVRPGASVTLSCKASGYIFTDYEVHWVRQRPVHGLEWIGVIDPETGDTAYNQKF  
KKGATLTADKSSSTAYMELSSLTAEDSAVYYCIGYADYWGQGTTLTVSS

30

【0 5 7 0】

配列番号 1 3 0 - 3 B 1 重鎖可変領域

【化 4 1】

HQVQLQQPGAELVRPGASVTLSCKASGYIFTDYEIHWVKQTPVHGLEWIGVIDPETGGTAYNQKF  
KKGATLTADKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCMGYSDYWGQGTTLTVSS

40

【0 5 7 1】

配列番号 1 3 1 - 3 B 2 重鎖可変領域

【化 4 2】

HEVQLQQSGAELVRPGASVTLSCKASGYIFTDYEIHWVKQTPVHGLEWIGVIDPETGATAYNQKF  
KKGATLTADKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCMGYSDYWGQGTTLTVSS

【0 5 7 2】

配列番号 1 3 2 - 3 F 4 重鎖可変領域

【化 4 3】

HEVQLQQSGAELVRPGASVTLSCKASGYTFTDYEIHWVKQTPVHGLEWIGVIDPETGSTAYNQKF  
KGKATLTADKASSTAYMELSSLTSEDSAVYYCMGYSDYWGQGTTLTVSS

【0 5 7 3】

配列番号 1 3 3 - 3 E 9 重鎖可変領域

【化 4 4】

HEVQLQQSGAELVRPGASATLSCKASGYTFTDYEIHWVKQTPVHGLEWIGVIDPETGSTAYNQKF  
KGKATLTADKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCMGYADYWGQGTTLTVSS

10

【0 5 7 4】

配列番号 1 3 4 - 3 B 8 重鎖可変領域

【化 4 5】

HEVQLQQSGAELVRPGASVTLSCKASGYTFTDYEIHWVKQTPVHGLEWIGVIDPETGDTAYNQNF  
TGKATLTADKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCMGYADYWGQGTTLTVSS

【0 5 7 5】

配列番号 1 3 5 - 3 G 8 重鎖可変領域

【化 4 6】

HQVQLKQSGAELVRPGASVTLSCKASGYTFTDYEVEHWVKQTPVHGLEWIGVIDPATGDTAYNQKF  
KGKATLTADKSSSTAYMEVSSLTSEDSAVYYCMGYSDYWGQGTTLTVSS

20

【0 5 7 6】

配列番号 1 3 6 - 3 F 7 重鎖可変領域

【化 4 7】

HQAYLQQSGAELVRPGASVTLSCKASGYTFTDYEIHWVKQTPVHGLEWIGVIDPETGDTAYNQKF  
KDKATLTADKASSTAYMELSSLTSEDSAVYYCMGYSDYWGQGTTLTVSS

【0 5 7 7】

配列番号 1 3 7 - 3 E 1 2 重鎖可変領域

【化 4 8】

HQVQLQQSEAELVKPGASVKLSCKASGYTFTDYEIHWVKQTPVHGLEWIGVIDPETGDTAYNQKF  
KGKATLTADKSSSTAYMELSRSLTSEDSAVYYCMGHSDYWGQGTTLTVSS

30

【0 5 7 8】

配列番号 1 3 8 - 3 G 1 2 重鎖可変領域

【化 4 9】

HEVQLQQSVAELVRPGASVTVSCKASGYIFTDYEIHWVKQTPAHGLEWIGVIDPETGNTAFNQKF  
KGKATLTADISSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCMGYSDYWGQGTTLTVSS

40

【0 5 7 9】

配列番号 1 3 9 - 3 F 1 0 重鎖可変領域

【化 5 0】

HEVQLQQSVAELVRPGAPVTLSCKASGYTFTDYEVEHWVKQTPVHGLEWIGVIDPETGATAYNQKF  
KGKATLTADKSSSAAYMELSRSLTSEDSAVYYCMSYSDYWGQGTTLTVSS

【0 5 8 0】

配列番号 1 4 0 - 3 C 3 重鎖可変領域

【化 5 1】

HEVQLQQSVAEVVRPGASVTLSCKASGYTFTDYEIHWVKQTPVHGLEWIGVIDPETGVTAYNQRF  
RDKATLTDDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYFCMGYSYDWGQGTTLTVSS

【0 5 8 1】

配列番号 1 4 1 - 3 G 5 重鎖可変領域

【化 5 2】

HQVQLQQPGAELVRPGASVTLSCKASGYTFTDYEIHWVKQTPVHGLEWIGVLDPGTGRTAYNQKF  
KDKATLSADKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCMSYSDYWGP GTTLTVSS

10

【0 5 8 2】

配列番号 1 4 2 - 3 B 1 1 重鎖可変領域

【化 5 3】

HEVQLQQSVAELVRPGASVTLSCKASGYTFTDYEIHWVKQTPVRGLEWIGVIDPATGDTAYNQKF  
KGKATLTADKSSSAAFMELSSLTSEDSAVYYCMGYSDYWGQGTTLTVSS

【0 5 8 3】

配列番号 1 4 3 - 3 E 6 重鎖可変領域

【化 5 4】

HQVQLQQSGAELVRPGASVTLSCKASGYTFTSDYEMHWVKQTPVHGLEWIGGIDPETGDTVYNQKF  
KGKATLTADKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCISYAMDYWGQGTSTVTVSS

20

【0 5 8 4】

配列番号 1 4 4 - 4 A 2 重鎖可変領域

【化 5 5】

HQVKLQQSGTELVRPGASVTLSCKASGYKFTDYEIHWVKQTPVHGLEWIGGIDPETGGTAYNQKF  
KGKAILTADKSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCISYAMDYWGQGTSTVTVSS

【0 5 8 5】

配列番号 1 4 5 - 3 E 1 0 重鎖可変領域

【化 5 6】

HEVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGDTFTDYIMNWVKQSHGKSLEWIGDINPNYGGITYNQKF  
KGKATLTVDTSSSTAYMELRGLTSEDSAVYYCQAYYRNSDYWGQGTTLTVSS

30

【0 5 8 6】

配列番号 1 4 6 - 3 D 1 重鎖可変領域

【化 5 7】

HEVQLQESGPD LVKPSQSLSLTCTVTGFSITSGYGWHWIRQFP GDKLEWMGYISFNGDYNPNPSL  
KSRISITRDT SKNQFFLQLSSVTTEDTATYYCASSYDGLFAYWGQGTTLTVSA

40

【0 5 8 7】

配列番号 1 4 7 - 3 C 2 重鎖可変領域

【化 5 8】

HQVQLQESGPD LVKPSQSLSLTCTVTGFSITSGYGWHWIRQFP GNKLEWMGYISFNGDSNYPNPSL  
KSRISITRDT SKNQFFLQLNSVTSED TATYYCASSYDGLFAYWGQGPLTVSA

A

【0 5 8 8】

配列番号 1 4 8

K S S Q S L L H S D G K T Y L N

50

【 0 5 8 9 】	
配列番号 1 4 9	
L V S K L D S	
【 0 5 9 0 】	
配列番号 1 5 0	
W Q G T H F P R T	
【 0 5 9 1 】	
配列番号 1 5 1	
G Y T F T D Y N M H	
【 0 5 9 2 】	10
配列番号 1 5 2	
Y I N P Y N D V T E	
【 0 5 9 3 】	
配列番号 1 5 3	
A W F G L R Q	
【 0 5 9 4 】	
配列番号 1 5 4	
R S S K S L L H S N G N T Y L Y	
【 0 5 9 5 】	
配列番号 1 5 5	20
R M S N L A S	
【 0 5 9 6 】	
配列番号 1 5 6	
M Q H L E Y P Y T	
【 0 5 9 7 】	
配列番号 1 5 7	
G D T F T D Y Y M N	
【 0 5 9 8 】	
配列番号 1 5 8	
D I N P N Y G G I T	30
【 0 5 9 9 】	
配列番号 1 5 9	
Q A Y Y R N S D Y	
【 0 6 0 0 】	
配列番号 1 6 0	
K A S Q D V G T A V A	
【 0 6 0 1 】	
配列番号 1 6 1	
W T S T R H T	
【 0 6 0 2 】	40
配列番号 1 6 2	
Q Q H Y S I P L T	
【 0 6 0 3 】	
配列番号 1 6 3	
G Y I F T D Y E I H	
【 0 6 0 4 】	
配列番号 1 6 4	
V I D P E T G N T A	
【 0 6 0 5 】	
配列番号 1 6 5	50

M G Y S D Y

【 0 6 0 6 】

配列番号 1 6 6

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

【 0 6 0 7 】

10

配列番号 1 6 7

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

【 0 6 0 8 】

20

配列番号 1 6 8

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

【 0 6 0 9 】

配列番号 1 6 9

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

【 0 6 1 0 】

30

配列番号 1 7 0

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

【 0 6 1 1 】

40

配列番号 1 7 1

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

50

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

## 【0612】

配列番号172

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

10

## 【0613】

配列番号173

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

## 【0614】

配列番号186(3A4変異体軽鎖可変領域コンセンサス1)

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

20

(配列中、Xで同定される少なくとも1種のアミノ酸は、配列番号48に示すポリペプチド内の対応するアミノ酸と比較して、アミノ酸置換(保存的または非保存的)である。アミノ酸置換は、例えば、保存的であり得る)。

## 【0615】

配列番号187(3A4変異体軽鎖可変領域コンセンサス2)

D X<sub>a1</sub> V M T Q T P L S L X<sub>a2</sub> V X<sub>a3</sub> X<sub>a4</sub> G X<sub>a5</sub> X<sub>a6</sub> A S I S C R S S Q S  
 L L H S N G N T Y L E W Y L Q K P G Q S P X<sub>a7</sub> L L I H T V S N R F 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 X<sub>a8</sub> G V Y Y C F Q G S H V P L T F G  
 X<sub>a9</sub> G T X<sub>a10</sub> L E X<sub>a11</sub> K

(配列中、

30

X<sub>a1</sub>は疎水性アミノ酸であってよく、

X<sub>a2</sub>はAもしくはPであってよく、

X<sub>a3</sub>は中性親水性アミノ酸であってよく、

X<sub>a4</sub>はLもしくはPであってよく、

X<sub>a5</sub>は酸性アミノ酸であってよく、

X<sub>a6</sub>はQもしくはPであってよく、

X<sub>a7</sub>は塩基性アミノ酸であってよく、

X<sub>a8</sub>は疎水性アミノ酸であってよく、

X<sub>a9</sub>はAもしくはQであってよく、

X<sub>a10</sub>は塩基性アミノ酸であってよく、または

40

X<sub>a11</sub>は疎水性アミノ酸であってよく、

Xで同定される少なくとも1種のアミノ酸は配列番号48に示すポリペプチド内の対応するアミノ酸と比べて(保存的または非保存的な)アミノ酸置換である)。

## 【0616】

配列番号188(3A4変異体軽鎖可変領域コンセンサス3)

D X<sub>A1</sub> V M T Q T P L S L X<sub>A2</sub> V X<sub>A3</sub> X<sub>A4</sub> G X<sub>A5</sub> X<sub>A6</sub> A S I S C R S S Q S  
 L L H S N G N T Y L E W Y L Q K P G Q S P X<sub>A7</sub> L L I H T V S N R F 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 X<sub>A8</sub> G V Y Y C F Q G S H V P L T F G  
 X<sub>A9</sub> G T X<sub>A10</sub> L E X<sub>A11</sub> K

(配列中、

50

$X_{A1}$  はVもしくはIであってよく、  
 $X_{A2}$  はAもしくはPであってよく、  
 $X_{A3}$  はSもしくはTであってよく、  
 $X_{A4}$  はLもしくはPであってよく、  
 $X_{A5}$  はDもしくはEであってよく、  
 $X_{A6}$  はQもしくはPであってよく、  
 $X_{A7}$  はKもしくはQであってよく、  
 $X_{A8}$  はLもしくはVであってよく、  
 $X_{A9}$  はAもしくはQであってよく、  
 $X_{A10}$  はRもしくはKであってよく、または  
 $X_{A11}$  はLもしくはIであってよく、  
Xで同定される少なくとも1種のアミノ酸は、配列番号48に示すポリペプチド内の対応するアミノ酸と比べて（保存的または非保存的な）アミノ酸置換である）。

10

## 【0617】

配列番号189（3A4変異体1軽鎖可変領域：Lv h1）

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

## 【0618】

配列番号190（3A4変異体2軽鎖可変領域：Lv h2）

20

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

## 【0619】

配列番号191（3A4変異体重鎖可変領域コンセンサス1）

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

（配列中、Xで同定される少なくとも1種のアミノ酸は、配列番号46に示すポリペプチド内の対応するアミノ酸と比べて（保存的または非保存的な）アミノ酸置換である。アミノ酸置換は、例えば、保存的であり得る）。

30

## 【0620】

配列番号192（3A4変異体重鎖可変領域コンセンサス2）

Q X<sub>b1</sub> Q L V Q S G X<sub>b2</sub> E X<sub>b3</sub> X<sub>b4</sub> K P G A S V K X<sub>b5</sub> S C K A S G Y T F T  
D D Y M S W V X<sub>b6</sub> Q X<sub>b7</sub> X<sub>b8</sub> G X<sub>b9</sub> X<sub>b10</sub> L E W X<sub>b11</sub> G D I N P Y N G  
D T N Y N Q K F K G X<sub>b12</sub> X<sub>b13</sub> X<sub>b14</sub> X<sub>b15</sub> T X<sub>b16</sub> D X<sub>b17</sub> S X<sub>b18</sub> S T A Y M X<sub>b19</sub> L X<sub>b20</sub> S L X<sub>b21</sub> S E D X<sub>b22</sub> A V Y Y C A R D P G A M  
D Y W G Q G T X<sub>b23</sub> V T V S S

（配列中、

$X_{b1}$  は疎水性アミノ酸であってよく、  
 $X_{b2}$  はPもしくはAであってよく、  
 $X_{b3}$  は疎水性アミノ酸であってよく、  
 $X_{b4}$  はVもしくはKであってよく、  
 $X_{b5}$  は疎水性アミノ酸であってよく、  
 $X_{b6}$  は塩基性アミノ酸であってよく、  
 $X_{b7}$  はSもしくはAであってよく、  
 $X_{b8}$  はHもしくはPであってよく、  
 $X_{b9}$  は塩基性アミノ酸であってよく、  
 $X_{b10}$  はSもしくはGであってよく、  
 $X_{b11}$  は疎水性アミノ酸であってよく、

40

50

$X_{b12}$  は塩基性アミノ酸であってよく、  
 $X_{b13}$  は疎水性アミノ酸であってよく、  
 $X_{b14}$  はIもしくはTであってよく、  
 $X_{b15}$  は疎水性アミノ酸であってよく、  
 $X_{b16}$  は疎水性アミノ酸であってよく、  
 $X_{b17}$  はKもしくはTであってよく、  
 $X_{b18}$  は中性親水性アミノ酸であってよく、  
 $X_{b19}$  はQもしくはEであってよく、  
 $X_{b20}$  はNもしくはSであってよく、  
 $X_{b21}$  はTもしくはRであってよく、  
 $X_{b22}$  は中性親水性アミノ酸であってよく、または  
 $X_{b23}$  はSもしくはLであってよく、  
Xで同定される少なくとも1種のアミノ酸は、配列番号46に示すポリペプチド内の対応するアミノ酸と比べて（保存的または非保存的な）アミノ酸置換である）。

10

## 【0621】

配列番号193（3A4変異体重鎖可変領域コンセンサス3）

$QX_{B1}QLVQSGX_{B2}EX_{B3}X_{B4}KPGASVKX_{B5}SCKASGYTF$   
 $DDYMSWVX_{B6}QX_{B7}X_{B8}GX_{B9}X_{B10}LEWX_{B11}GDINPYNG$   
 $DTNYNQKFKGX_{B12}X_{B13}X_{B14}X_{B15}TX_{B16}DX_{B17}SX_{B18}$   
 $STAYMX_{B19}LX_{B20}SLX_{B21}SEDX_{B22}AVYYCARDPGAM$   
 $DYWGQGTX_{B23}VTVSS$

20

（配列中、

$X_{B1}$  はIもしくはVであってよく、  
 $X_{B2}$  はPもしくはAであってよく、  
 $X_{B3}$  はMもしくはVであってよく、  
 $X_{B4}$  はVもしくはKであってよく、  
 $X_{B5}$  はMもしくはVであってよく、  
 $X_{B6}$  はKもしくはRであってよく、  
 $X_{B7}$  はSもしくはAであってよく、  
 $X_{B8}$  はHもしくはPであってよく、  
 $X_{B9}$  はKもしくはQであってよく、  
 $X_{B10}$  はSもしくはGであってよく、  
 $X_{B11}$  はIもしくはMであってよく、  
 $X_{B12}$  はKもしくはRであってよく、  
 $X_{B13}$  はAもしくはVであってよく、  
 $X_{B14}$  はIもしくはTであってよく、  
 $X_{B15}$  はLもしくはIであってよく、  
 $X_{B16}$  はVもしくはAであってよく、  
 $X_{B17}$  はKもしくはTであってよく、  
 $X_{B18}$  はSもしくはTであってよく、  
 $X_{B19}$  はQもしくはEであってよく、  
 $X_{B20}$  はNもしくはSであってよく、  
 $X_{B21}$  はTもしくはRであってよく、  
 $X_{B22}$  はSもしくはTであってよく、または  
 $X_{B23}$  はSもしくはLであってよく、  
Xで同定される少なくとも1種のアミノ酸は、配列番号46に示すポリペプチド内の対応するアミノ酸と比べて（保存的または非保存的な）アミノ酸置換である）。

30

40

## 【0622】

配列番号194（3A4変異体1重鎖可変領域：Hv h1）

$QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCCKASGYTF$   
 $DDYMSWVRQA$

50

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

【0623】

配列番号195 (3A4変異体2重鎖可変領域: Hvh2)

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

【0624】

配列番号196 (3A4変異体3重鎖可変領域: Hvh3)

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

10

【0625】

配列番号197 (3A4変異体4重鎖可変領域: Hvh4)

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

【0626】

配列番号198 3A4ネズミ軽(カップ)鎖

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

20

【0627】

配列番号199 3A4ヒト化軽(カップ)鎖変異体1; Lh1

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

30

【0628】

配列番号200 3A4ヒト化軽(カップ)鎖変異体2; Lh2

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

40

【0629】

配列番号201 3A4ネズミ重(Igg1)鎖

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

50

VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK  
KVSNAKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN  
QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSD  
GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSL  
SLSPGK

【0630】

配列番号202 3A4ヒト化重(Igg1)鎖変異体1;Hh1

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITDDYMSWVRQA  
PGQGLEWMGDINPYNGDTNYNQKFVKGRVTITADTSTSTAY  
MELSSSLRSEDTAVYYCARDPGAMDYWGQGTLVTVSSASTK  
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG  
ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSLVVTVPSSSLGTQTYICN  
VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCTPCPAPELLGGPSVF  
LFPPKPKDITLMISRTPETCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG  
VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK  
KVSNAKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN  
QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSD  
GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSL  
SLSPGK

10

【0631】

配列番号203 3A4ヒト化重(Igg1)鎖変異体2;Hh2

QIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITDDYMSWVRQA  
PGQGLEWMGDINPYNGDTNYNQKFVKGRVTITADKSTSTAY  
MELSSSLRSEDTAVYYCARDPGAMDYWGQGTLVTVSSASTK  
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG  
ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSLVVTVPSSSLGTQTYICN  
VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCTPCPAPELLGGPSVF  
LFPPKPKDITLMISRTPETCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG  
VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK  
KVSNAKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN  
QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSD  
GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSL  
SLSPGK

20

30

【0632】

配列番号204 3A4ヒト化重(Igg1)鎖変異体3;Hh3

QIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITDDYMSWVRQA  
PGQGLEWIGDINPYNGDTNYNQKFVKGRATLTVDKSTSTAY  
MELSSSLRSEDTAVYYCARDPGAMDYWGQGTLVTVSSASTK  
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG  
ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSLVVTVPSSSLGTQTYICN  
VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCTPCPAPELLGGPSVF  
LFPPKPKDITLMISRTPETCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG  
VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK  
KVSNAKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN  
QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSD  
GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSL  
SLSPGK

40

【0633】

配列番号205 3A4ヒト化重(Igg1)鎖変異体4;Hh4

QIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITDDYMSWVKQA

50

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

10

【 0 6 3 4 】

配列番号 2 0 6

A T A C C C A A G C T T G C C A C C A T G G A G A C A G A C A C A C

【 0 6 3 5 】

配列番号 2 0 7

A T A C C C A A G C T T C A T T T C C C G G G A G A C A G G G A G

【 0 6 3 6 】

配列番号 2 0 8

A T A C C C A A G C T T G G G C C A C C A T G A A C T T T C T G C T G T C T T G  
G

20

【 0 6 3 7 】

配列番号 2 0 9

A T A C C C A A G C T T C T A A C A C T C T C C C C T G T T G A A G

【 0 6 3 8 】

配列番号 2 1 0 p K - C R 5

C T A A A T T G T A A G C G T T A A T A T T T T G T T A A A A T T C G C G T T A  
A A T T T T T G T T A A A T C A G C T C A T T T T T T A A C C A A T A G G C C G  
A A A T C G G C A A A A T C C C T T A T A A A T C A A A A G A A T A G A C C G A  
G A T A G G G T T G A G T G T T G T T C C A G T T T G G A A C A A G A G T C C A  
C T A T T A A A G A A C G T G G A C T C C A A C G T C A A A G G G C G A A A A A  
C C G T C T A T C A G G G C G A T G G C C C A C T A C G T G A A C C A T C A C C  
C T A A T C A A G T T T T T T G G G G T C G A G G T G C C G T A A A G C A C T A  
A A T C G G A A C C C T A A A G G G A G C C C C G A T T T A G A G C T T G A C  
G G G G A A A G C C G G C G A A C G T G G C G A G A A A G G A A G G G A A G A A  
A G C G A A A G G A G C G G G C G C T A G G G C G C T G G C A A G T G T A G C G  
G T C A C G C T G C G C G T A A C C A C C A C A C C C G C C G C G C T T A A T G  
C G C C G C T A C A G G G C G C G T C C C A T T C G C C A T T C A G G C T G C G  
C A A C T G T T G G G A A G G G C G A T C G G T G C G G G C C T C T T C G C T A  
T T A C G C C A G C T G G C G A A A G G G G G A T G T G C T G C A A G G C G A T  
T A A G T T G G G T A A C G C C A G G G T T T T C C C A G T C A C G A C G T T G  
T A A A A C G A C G G C C A G T G A G C G C G C G T A A T A C G A C T C A C T A  
T A G G G C G A A T T G G A G C T C C A C C G C G G T G G C G G C C G C T C T A  
G A A C T A G T G G A T C C A C A T C G G C G C G C C A A A T G A T T T G C C C  
T C C C A T A T G T C C T T C C G A G T G A G A G A C A C A A A A A A T T C C A  
A C A C A C T A T T G C A A T G A A A A T A A A T T T C C T T T A T T A G C C A  
G A G G T C G A G A T T T A A A T A A G C T T G C T A G C A G A T C T T T G G A  
C C T G G G A G T G G A C A C C T G T G G A G A G A A A G G C A A A G T G G A T  
G T C A T T G T C A C T C A A G T G T A T G G C C A G A T C G G G C C A G G T G  
A A T A T C A A A T C C T C C T C G T T T T T G G A A A C T G A C A A T C T T A

30

40

50

G C G C A G A A G T A A T G C C C G C T T T T G A G A G G G A G T A C T C A C C  
C C A A C A G C T G G A T C T C A A G C C T G C C A C A C C T C A C C T C G A C  
C A T C C G C C G T C T C A A G A C C G C C T A C T T T A A T T A C A T C A T C  
A G C A G C A C C T C C G C C A G A A A C A A C C C C G A C C G C C A C C C G C  
T G C C G C C C G C C A C G G T G C T C A G C C T A C C T T G C G A C T G T G A  
C T G G T T A G A C G C C T T T C T C G A G A G G T T T T C C G A T C C G G T C  
G A T G C G G A C T C G C T C A G G T C C C T C G G T G G C G G A G T A C C G T  
T C G G A G G C C G A C G G G T T T C C G A T C C A A G A G T A C T G G A A A G  
A C C G C G A A G A G T T T G T C C T C A A C C G C G A G C C C A A C A G C T G  
G C C C T C G C A G A C A G C G A T G C G G A A G A G A G T G A C C G C G G A G  
G C T G G A T C G G T C C C G G T G T C T T C T A T G G A G G T C A A A A C A G  
C G T G G A T G G C G T C T C C A G G C G A T C T G A C G G T T C A C T A A A C  
G A G C T C T G C T T A T A T A G G C C T C C C A C C G T A C A C G C C T A C C  
T C G A C C C G G G T A C C A A T C T T A T A A T A C A A A C A G A C C A G A T  
T G T C T G T T T G T T A T A A T A C A A A C A G A C C A G A T T G T C T G T T  
T G T T A T A A T A C A A A C A G A C C A G A T T G T C T G T T T G T T A T A A  
T A C A A A C A G A C C A G A T T G T C T G T T T G T T A T A A T A C A A A C A  
G A C C A G A T T G T C T G T T T G T T A T A A T A C A A A C A G A C C A G A T  
T G T C T G T T T G T T A A G G T T G T C G A G T G A A G A C G A A A G G G T T  
C A T T A A G G C G C G C C G T C G A C C T C G A G G G G G G G C C C G G T A C  
C C A G C T T T T G T T C C C T T T A G T G A G G G T T A A T T G C G C G C T T  
G G C G T A A T C A T G G T C A T A G C T G T T T C C T G T G T G A A A T T G T  
T A T C C G C T C A C A A T T C C A C A C A A C A T A C G A G C C G G A A G C A  
T A A A G T G T A A A G C C T G G G G T G C C T A A T G A G T G A G C T A A C T  
C A C A T T A A T T G C G T T G C G C T C A C T G C C C G C T T T C C A G T C G  
G G A A A C C T G T C G T G C C A G C T G C A T T A A T G A A T C G G C C A A C  
G C G C G G G G A G A G G C G G T T T G C G T A T T G G G C G C T C T T C C G C  
T T C C T C G C T C A C T G A C T C G C T G C G C T C G G T C G T T C G G C T G  
C G G C G A G C G G T A T C A G C T C A C T C A A A G G C G G T A A T A C G G T  
T A T C C A C A G A A T C A G G G G A T A A C G C A G G A A A G A A C A T G T G  
A G C A A A A G G C C A G C A A A A G G C C A G G A A C C G T A A A A A G G C C  
G C G T T G C T G G C G T T T T T C C A T A G G C T C C G C C C C C C T G A C G  
A G C A T C A C A A A A A T C G A C G C T C A A G T C A G A G G T G G C G A A A  
C C C G A C A G G A C T A T A A A G A T A C C A G G C G T T T C C C C C T G G A  
A G C T C C C T C G T G C G C T C T C C T G T T C C G A C C C T G C C G C T T A  
C C G G A T A C C T G T C C G C C T T T C T C C C T T C G G G A A G C G T G G C  
G C T T T C T C A T A G C T C A C G C T G T A G G T A T C T C A G T T C G G T G  
T A G G T C G T T C G C T C C A A G C T G G G C T G T G T G C A C G A A C C C C  
C C G T T C A G C C C G A C C G C T G C G C C T T A T C C G G T A A C T A T C G  
T C T T G A G T C C A A C C C G G T A A G A C A C G A C T T A T C G C C A C T G  
G C A G C A G C C A C T G G T A A C A G G A T T A G C A G A G C G A G G T A T G  
T A G G C G G T G C T A C A G A G T T C T T G A A G T G G T G G C C T A A C T A  
C G G C T A C A C T A G A A G G A C A G T A T T T G G T A T C T G C G C T C T G  
C T G A A G C C A G T T A C C T T C G G A A A A A G A G T T G G T A G C T C T T  
G A T C C G G C A A A C A A A C C A C C G C T G G T A G C G G T G G T T T T T T  
T G T T T G C A A G C A G C A G A T T A C G C G C A G A A A A A A A G G A T C T  
C A A G A A G A T C C T T T G A T C T T T T C T A C G G G G T C T G A C G C T C  
A G T G G A A C G A A A A C T C A C G T T A A G G G A T T T T G G T C A T G A G  
A T T A T C A A A A A G G A T C T T C A C C T A G A T C C T T T T A A A T T A A  
A A A T G A A G T T T T A A A T C A A T C T A A A G T A T A T A T G A G T A A A

10

20

30

40

50

CTTGGTCTGACAGTTACCAATGCTTAATCAGTGAGGGCACCT  
TATCTCAGCGATCTGTCTATTTCTGTTTCATCCATAGTTTGCC  
TGACTCCCCGTCGTGTAGATAACTACGATACGGGAGGGGCT  
TACCATCTGGCCCCAGTGCTGCAATGATACCGCGAGAGCCC  
ACGCTCACCGGCTCCAGATTTATCAGCAATAAACCCAGCCA  
GCCGGAAGGGCCGAGCGCAGAAAGTGGTCCCTGCAACTTTAT  
CCGCCCTCCATCCAGTCTATTAAATTGTTTGCCGGGAAGCTAG  
AGTAAGTAGTTTCGCCAGTTAATAGTTTTCGCGCAACGTTGTT  
GCCATTGCTACAGGCATCGTGGTGTACGCTCGTCTGTTTG  
GTATGGCTTTCATTCAGCTCCGGTTTCCCAACGATCAAGGCG  
AGTTACATGATCCCCCATGTTGTGCAAAAAAGCGGTTAGC  
TCCTTTCGGTCCCTCCGATCGTTGTGCAAGTAAGTTGGCCG  
CAGTGTTATCACTCATGGTTATGGCAGCACTGCATAATTCT  
TCTTACTGTCTATGCCATCCGTAAGATGCTTTTCTGTGACT  
GGTGAGTACTCAACCAAGTCATTTCTGAGAATAGTGATGCT  
GGCGACCGAGTTGCTCTTGCCCGGCGTCAATACGGGATAA  
TACCGCGCCACATAGCAGAACTTTAAAAGTGCTCATCATTT  
GGAAAAACGTTCTTCGGGGGCGAAAACTCTCAAGGATCTTAC  
CGCTGTTGAGATCCAGTTTCGATGTAACCCACTCGTGACCC  
CAACTGATCTTCAGCATCTTTTACTTTTACCAGCGTTTCT  
GGGTGAGCAAAAAACAGGAAGGCAAAAAATGCCGCAAAAAAGG  
GAATAAGGGCGACACGGAAATGTTGAATACTCATACTCTT  
CCTTTTTTCAATATTATTGAAGCATTTATCAGGGTTATTGT  
CTCATGAGCGGATACATATTTGAATGTATTTAGAAAAATA  
AACAAATAGGGGTTCCGCGCACATTTCCCCGAAAAAGTGCC  
AC

10

20

【0639】

配列番号211 pMPG-CR5

GTCGACGATACCGTGCACTTAATTAAGCGCGCTCGACCAA  
ATGATTTTGCCCTCCCATATGTCCTTCCGAGTGAGAGACAC  
AAAAAATTCCAACACACTATTGCAATGAAAAATAAATTTCC  
TTTATTAGCCAGAGGTCGAGGTCGGGGGATCCGTTTAAAC  
TTGGACCTGGGAGTGGACACCTGTGGAGAGAAAGGCAAAAG  
TGGATGTCAATTGTCACCTCAAGTGATATGGCCAGATCGGGCC  
AGGTGAATATCAAAATCCTCCTCGTTTTTGGAAACTGACAA  
TCTTAGCGCAGAAAGTAATGCCCGCTTTTGGAGAGGGAGTAC  
TCACCCCAACAGCTGGATCTCAAGCCTGCCACACCTCACCC  
TCGACCATCCGCCGTCTCAAGACCGCCTACTTTAATTTACA  
TCATCAGCAGCACCTCCGCCAGAAACAACCCCGACCGCCA  
CCCGCTGCCGCCCGCCACGGGTGCTCAGCCTACCTTTGCGAC  
TGTGACTGGTTAGACGCCCTTCTCGAGAGGTTTTCGATC  
CGGTGATGCGGACTCGCTCAGGTCCCTCGGTGGCGGAGT  
ACCGTTTCGGAGGCGGACGGGTTTCCGATCCAAGAGTACTG  
GAAAGACCGCGAAGAGTTTGTCTCAACCGCGAGCCCAAC  
AGCTGGCCCTCGCAGACAGCGATGCGGAAGAGAGTGACCG  
CGGAGGCTGGATCGGTCCCAGGTGTCTTCTATGGAGGTTCAA  
AACAGCGTGATGGCGTCTCCAGGCGATCTGACGGTTTCA  
TAAACGAGCTCTGCTTATATAGGCCCTCCACCGTACACGC  
CTACCTCGACCCGGGTACCAATCTTATAATAACAACAGAC  
CAGATTGTCTGTTTGTATAATAACAACAGACCATGTTGT

30

40

50

CTGTTTGTATAATAACAAACAGACCAGATTGTCTGTTTGTATAATAAC  
TATAATAACAAACAGACCAGATTGTCTGTTTGTATAATAAC  
AAACAGACCAGATTGTCTGTTTGTATAATAACAAACAGAC  
CAGATTGTCTGTTTGTATAAGGTTGTCTGAGTGAAGACGAA  
GGGTTAATTAAGGCGCGCCGTCGACTAGCTTGGCACGCCA  
GAAATCCGCGCGGTGGTTTTTGGGGGTCTGGGGGTGTTTGG  
CAGCCACAGACGCCCGGTGTTCTGTCTCGCGCCAGTACATG  
CGGTCCATGCCCAAGGCCATCCAAAAACCATGGGTCTGTCT  
GCTCAGTCCAGTCTGTGGACCAAGACCCCAACGCAACGCCCAA  
AATAATAACCCCCACGAACCATAAACCATTTCCCCATGGGG  
GACCCCGTCCCTAACCCACGGGGCCAGTGGCTATGGCAGG  
GCCTGCCGCCCGACGTTGGCTGCGAGCCCTGGGGCCTTCA  
CCCGAACTTGGGGGGGTGGGGGTGGGGGAAAGGAAGAAACGC  
GGGCGTATTGGCCCCAATGGGGGTCTCGGTGGGGGTATCGAC  
AGAGTGCAGCCCTGGGACCGAAACCCCGCGTTTATGAACA  
AACGACCCCAACACCCGTGCGTTTTTATTCTGTCTTTTTTATT  
GCCGTCATAGCGCGGGTTTCTTCCGGTATTGTCTCTCTTCC  
GTGTTTTCAGTTAGCCTCCCCCATCTCCCCCTATTCTTTTGC  
CCTCGGACGAGTGCTGGGGCGTCTGGGTTTCCACTATCGGCG  
AGTACTTCTACACAGCCATCGGTCCAGACGGCCGCGCTTC  
TGCGGGCGATTTGTGTACGCCCGACAGTCCCGGCTCCGGA  
TCGGACGATTGCGTCGCATCGAACCTGCGCCCCAAGCTGCA  
TCATCGAAATTGCCGTCAACCAAGCTCTGATAGAGTTGGT  
CAAGACCAATGCGGAGCATATACGCCCGGAGCCGCGGGCGA  
TCCTGCAAGCTCCGGATGCCCTCCGCTCGAAGTAGCGCGTC  
TGCTGCTCCATACAAGCCAAACACGGCCCTCCAGAAGAAGA  
TGTTGGCGACCTCGTATTGGGAATCCCCGAACATCGCCTC  
GCTCCAGTCAATGACCGCTGTTATGCGGCCATTGTCCGTC  
AGGACATTGTTGGAGCCGAATCCGCGTGCACGAGGTGCC  
GGACTTCGGGGGAGTCCCTCGGCCCAAAGCATCAGCTCATC  
GAGAGCCTGCGCGACGGACGCACTGACGGTGTCGTCCATC  
ACAGTTTGGCCAGTGATACACATGGGGATCAGCAATCGCGC  
ATATGAAATCACGCCATGTAGTGTATTGACCGATTCTCTTG  
CGGTCCGAATGGGCGCGAACCCGCTCGTCTGGCTAAGATCG  
GCCGCGAGCGATCGCATCCATGGCCTCCGCGACCGGCTGCA  
GAACAGCGGGCAGTTCCGGTTTCAAGGCAGGTCTTGCAACGT  
GACACCTGTGCAACGGCGGGAGATGCAATAGGTCAAGGCTC  
TCGCTGAATTCCCCAATGTCAAGCACTTCCGGAATCGGGA  
GCGCGGGCCGATGCAAGGTGCCGATAAACATAACGATCTTT  
GTAGAAACCATCGGCGCAGCTATTTACCCGCGAGGACATAT  
CCACGCCCTCCTACATCGAAGCTGAAAGCACGAGATTCTT  
CGCCCTCCGAGAGCTGCATCAGGTCTGGAGACGCTGTGCA  
CTTTTTCGATCAGAAACTTCTCGACAGACGTGCGGGTGAGT  
TCAGGCTTTTTTCATATCTCATTTGCCCGGGATCTGCGGGCAC  
GCTGTTGACGCTGTTAAGCGGGTCTGCTGAGGGTCTGCTCG  
GTGTTTCGAGGCCACACGCGTCACTTAATATGCGAAGTGG  
ACCTGGGACCGCGCGCCCGGACTGCATCTGCGTGTTCGA  
ATTGCGCAATGACAAGACGCTGGGCGGGGGTTTTGTGTCATC  
ATAGAACTAAAGACATGCAAAATATATTTCTTCCGGGGACA  
CCGCCAGCAAAACGCGAGCAACGGGGCCACGGGGATGAAGCA

10

20

30

40

50

GGGCATGGCGGCCGACGGCGCTGGGCTACGTCTTGCTGGCG  
TTCGCGACGCGAGGCTGGATGGCCTTCCCCATTATGATTTC  
TTCTCGCTTCCGGCGGGCATCGGGATGCCCGCGTTGCAAGGC  
CATGCTGTCCAGGCAGGTAGATGACGACCATCAGGGACAG  
CTTCAAGGATCGCTCGCGGCTCTTACCAGCCTAACTTTCGA  
TCACTGGACCGCTGATCGTCA CGGCGATTATATGCCGCGCTC  
GGCGAGCACATGGAACGGGTGGCATGGATTGTAGGCGGCC  
GCCCTATACCTTGTCTGCCCTCCCCGCGTTGCGTCCGCGGTG  
CATGGAGCCGGGCCACCTCGACCTGAATGGAAGCCGGCGG  
CACCTCGCTAACGGATTCAACCACTCCAAGAATTGGAGCCA  
ATCAATTCTTGCGGAGAACTGTGAATGCGCAAAACCAACCC  
TTGGCAGAACATATCCATCGCGTCCGCCATCTCCAGCAGC  
CGCACGCGGCGCAGCAAAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAGGC  
CGCGTTGCTGGCGTTTTTTCATAGGCTCCGCCCCCCCTGAC  
GAGCATCACAAAAATCGACGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAA  
ACCCGACAGGACTATAAAGATACCAGGCGTTTCCCCCTGG  
AAGCTCCCTCGTGCGCTCTCCTGTTCCGACCCTGCCGCTT  
ACCGGATACCTGTCCGCCCTTCTCCCTTCGGGAAGCGTGG  
CGCTTTCTCATAGCTCACGCTGTAGGTATCTCAGTTTCGGT  
GTAGGTTCGTTTCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACGAACCC  
CCCGTTTCAGCCCCGACCGCTGCGCCTTATCCGGTAACCTATC  
GTCTTGAGTCCAACCCGGTAAGACACGACTTATCGCCACT  
GGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGGTAT  
GTAGGCGGGTGCTACAGAGTTCTTGAAGTGGTGGCCTAACT  
ACGGCTACACTAGAAAGGACAGTATTTGGTATCTGCGCTCT  
GCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGTTGGTAGCTCT  
TGATCCGGCAAACAACCAACCGCTGGTAGCGGTGGTTTTT  
TTGTTTGCAGCAGCAGATTACGCGCAGAAAAAAAGGATC  
TCAAGAAGATCCTTTGATCTTTTCTACGGGGTCTGACGCT  
CAGTGGAACGAAAACTCACGTTAAGGGATTTTGGTTCATGA  
GATTATCAAAAAGGATCTTTCACCTAGATCCTTTTAAATTA  
AAAATGAAGTTTTAAATCAATCTAAAGTATATATGAGTAA  
ACTTGGTCTGACAGTTACCAATGCTTAATCAGTGAGGCAC  
CTATCTCAGCGATCTGTCTATTTTCGTTTCATCCATAGTTGC  
CTGACTCCCCGTGCTGTAGATAACTACGATACGGGAGGGC  
TTACCATCTGGCCCCAGTGCTGCAATGATACCGCGAGACC  
CACGCTCACCGGCTCCAGATTATCAGCAATAAACCAAGCC  
AGCCGGAAGGGCCGAGCGCAGAAAGTGGTCCTGCAACTTTA  
TCCGCGCTCCATCCAGTCTATTAAATTGTTGCCGGGAAGCTA  
GAGTAAGTAGTTCGCCAGTTAATAGTTTGCAGCAACGTTGT  
TGCCATTGCTGCAGGCATCGTGGTGTACGCTCGTCTGTTT  
GGTATGGCTTCAATTCAGCTCCGGTTCCCAACGATCAAGGC  
GAGTTACATGATCCCCCATGTTGTGCAAAAAAGCGGTTAG  
CTCCTTCGGTCTCTCGATCGTTGTGCAAGTAAGTTGGCC  
GCAGTGTTATCACTCATGGTTATGGCAGCACTGCATAATT  
CTCTTACTGTCAATGCCATCCGTAAGATGCTTTTCTGTGAC  
TGGTGAGTACTCAACCAAGTCAATTCTGAGAATAGTGATG  
CGGCGACCGAGTTGCTCTTGCCCGGCGTCAACACGGGATA  
ATACCGCGCCACATAGCAGAACTTTAAAGTGCTCATCAT  
TGGAAAAACGTTCTTTCGGGGCGAAAACTCTCAAGGATCTTA

10

20

30

40

50

CCGCTGTTGAGATCCAGTTTCGATGTAACCCACTCGTGCAAC  
CCAACCTGATCTTCAGCATCTTTTACTTTTCACCAGCGTTTTC  
TGGGTGAGCAAAAACAGGAAGGCAAAAATGCCGCAAAAAAAG  
GGAATAAGGGCGACACGGAAATGTTGAATACTCATACTCT  
TCCTTTTTTCAATATTATTGAAGCATTTATCAGGGTTATTG  
TCTCATGAGCGGATACATATTTGAATGTATTTAGAAAAAAT  
A

AACAAATAGGGGTTCCGCGCACATTTTCCCCGAAAAAGTGCC 10  
ACCTGACGTCTAAGAAACCATTATTATCATGACATTAAACC  
TATAAAAAATAGGCGTATCACGAGGCCCTTTTCGTCTTCAAG  
AATTCTCATGTTTGACAGCTTATCTCTAGCAGATCCGGGAA  
TTCCCCCTCCCCCAATTTTAAATGAGGACCTAACCTGTGGAA  
TCTACTGATGTGGGAGGCTGTAACTGTACAAACAGAGGTT  
ATTGGAATAACTAGCATGCTTAAACCTTCATGCAGGGTCAAC  
AAAAAGTGTCATGACGATGGTGGAGGAAACCTATTCAAGG  
CAGTAATTTCCACTTCTTTGCTGTTGGTGGAGACCCCTTG  
GAAATGCGAGGGAGTGCTAATGAATTAACAGGACAAAGTACC 20  
CAGATGGTACTATAACCCCTAATAAACCCAACAGCCCAAGTC  
CCAGGTAAATGAATACTGACCATAAAGGCCATTATTGGACAAA  
AACAAATGCTTATCCAGTTGAGTGCTGGGGTTCTTGATCCTA  
GTAGAAATGAAAAATACTAGGTATTTTGGGACTTTTCACAGG  
AGGGGAAAAATGTTCCCCCCAGTACTTTCATGTGACCAACACA  
GCTACCACAGTGTTGCTAGATGAACAGGGGTGTGGGGGCCTC  
TTTGTAAGAAGCTGATAGCCTGTATGTTTTAGCTGCTGATAT  
TTGTGGCCTGTTTACTAACAGCTCTGGAACACAAACAGTGG  
AGAGGCCTTGCAAGATATTTTAAAGATCCGCCCTGAGAAAAA  
GATCTGTAAAGAATCCTTACCTAATTTCTTTTTTGCTAAG  
TGACCCTTATAAACAGGAGAAACCCAGAGAGTGGAATGGGCGAG 30  
CCTATGTATGGTATGGAATCCCAGGTAGAAAGAGGTTAGGG  
TGTTTGATGGCACAGAAAGACTTCCAGGGGACCCAGATAT  
GATAAGATATATTGACAAACAGGGGACAAATTGCAAAACCAAA  
ATGCTTTTAAACAGGTGCTTTTATTGTACATATACATTTTAA  
TAAATGCTGCTTTTGTATAAGCCACTTTTAAAGCTTGTGTT  
ATTTTGGGGGTGGTGTTTTAGGCCTTTTTAAACACTGAAA  
GCCTTTACACAAATGCAACTCTTGACTATGGGGGTCTGAC  
CTTTGGGAATGTTCCAGCAGGGGCTGAAGTATCTGAGACTT  
GGGAAGAGCATTTGTGATTGGGATTTCAGTGCTTGATCCATG  
TCCAGAGTCTTTCAGTTTCTGAATCCTCTCTCTTGTAATA 40  
TCAAGAATACATTTCCCCCATGCATATATTATTTTCATCC  
TTGAAAAAGTATACATACTTATCTCAGAATCCAGCCTTTTC  
CTTCCATTCAACAATTCTAGAAAGTTAAAACTGGGGTAGAT  
GCTATTACAGAGGTAGAAATGCTTCCCTAAACCCAGAAATGG  
GGGATCTGCG

【0640】

配列番号212-3A4ヒト化重鎖CDR2ポリペプチド配列

DINPYNGDTN

【0641】

配列番号213-OGS18500

50

ATGCCAAGTGGTCCCAGGCTGATGTTGTGATGACCCAAAC  
TCC

【0642】

配列番号214 - OGS2084

GGGAAGATGAAGACAGATGGTGCAGCCACAGTCCG

【0643】

配列番号215 - OGS1879

GGGTTCCAGGTTCCACTGGCCAGATCCAGTTGGTGCAATC  
TGG

【0644】

配列番号216 - OGS1810

GGGGCCAGGGGAAAGACAGATGGGGCCCTTCGTTGAGGC

【0645】

参考文献

Santana - Davila R. and Perez E. A. (2010) "Treatment options for patients with triple-negative breast cancer" J Hematol Oncol. 27:42.

de Ruijter T. C., Veeck J., et al. (2011) "Characteristics of triple-negative breast cancer." J Cancer Res Clin Oncol. 137:183.

Ismail - Khan R. and Bui M. M. (2010) "A review of Triple-negative breast cancer" Cancer Control 17:173.

Carey L. A., Perou C. M. et al. (2006) "Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study." JAMA 295:2492.

Krieg M., Seynaeve C. et al. (2009) "Sensitivity to first-line chemotherapy for metastatic breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers." J Clin Oncol 27:3764.

Rouzier R., Perou C. M. et al. (2005) "Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy" Clin Cancer Res 11:5678.

Fong P. C., Boss D. S. et al. (2009) "Inhibition of poly(ADP-ribose) polymerase in tumors from BRCA mutation carriers." N Engl J Med 361:123.

Dent R., Trudeau M et al. (2007) "Triple-Negative Breast Cancer: Clinical Feature and Patterns of Recurrence" Clin. Cancer Res. 13:4429.

Bernstein L and J. V. Lacey Jr. (2011) "Receptors, Associations, and Risk Factor Differences by Breast Cancer Subtypes: Positive or Negative?" J Natl Cancer Inst 103(6):451-453 (Advanced publication February 23, 2011).

10

20

30

40

50

Nofech-Mozes S. et al., (2009) "Patterns of recurrence in the basal and non-basal subtypes of triple-negative breast cancers" Cancer Res. Treat. 118:131-137.

【図 1 a】

図 1a

3A-7L

ネズミ  
ヒト-1  
ヒト-2

DVNVTLSLAVSLGQASISCSQSULLASHNGTTLKWLQKQSPKLLHTVSNRFSCVPPDRFSGSGSDTFTLKSRWEAEDGVVYCFQGSBVAIFGAGTLELX 11/80 (86.3%)  
 DVNVTLSLSPVTPCEPASISCSQSULLASHNGTTLKWLQKQSPKLLHTVSNRFSCVPPDRFSGSGSDTFTLKSRWEAEDGVVYCFQGSBVAIFGAGTLELX 0/80 (100%)  
 DVNVTLSLSPVTPCEPASISCSQSULLASHNGTTLKWLQKQSPKLLHTVSNRFSCVPPDRFSGSGSDTFTLKSRWEAEDGVVYCFQGSBVAIFGAGTLELX 2/80 (97.5%)

CDR-L1

CDR-L2

CDR-L3

【図 1 b】

図 1b

3A-7H

マウス  
ヒト-1  
ヒト-2  
ヒト-3  
ヒト-4

QULVGGAEVKEFGASVWYSCASQSTPTDDTNSNYQSRHSLEKIGDIPFNGDTNPKFGKALLTVMSSTSTANWQLSITSEDAVYTCARDPCMDVWGQTLVYSS 21/82 (74.4%)  
 QULVGGAEVKEFGASVWYSCASQSTPTDDTNSNYQSRHSLEKIGDIPFNGDTNPKFGKALLTVMSSTSTANWQLSITSEDAVYTCARDPCMDVWGQTLVYSS 0/82 (100%)  
 QULVGGAEVKEFGASVWYSCASQSTPTDDTNSNYQSRHSLEKIGDIPFNGDTNPKFGKALLTVMSSTSTANWQLSITSEDAVYTCARDPCMDVWGQTLVYSS 2/82 (91.5%)  
 QULVGGAEVKEFGASVWYSCASQSTPTDDTNSNYQSRHSLEKIGDIPFNGDTNPKFGKALLTVMSSTSTANWQLSITSEDAVYTCARDPCMDVWGQTLVYSS 6/82 (92.7%)  
 QULVGGAEVKEFGASVWYSCASQSTPTDDTNSNYQSRHSLEKIGDIPFNGDTNPKFGKALLTVMSSTSTANWQLSITSEDAVYTCARDPCMDVWGQTLVYSS 8/82 (90.2%)

CDR-H1

CDR-H2

CDR-H3

【図2a】

図2a

可変領域アラインメント

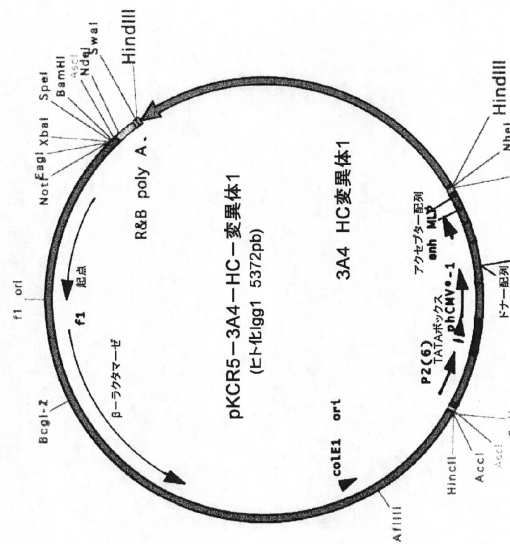
```

DVMTQTPLSLAVSLGDAQSI SCRSSQSLHSHNGNTYLEWYLOKPGQSPKLLIHTVSNRF 60
DIVMTQTPLSLPVTGPEPASISCRSSQSLHSHNGNTYLEWYLOKPGQSPQQLLIYTVSNRF 60
*:*****.*:*:*****
SGVDPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDLVGYVCFCQGSQSHVPLTFGAGTRLELK 112
SGVDPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDLVGYVCFCQGSQSHVPLTFGAGTRLELK 112
*****

```

【図3a】

図3a



【図2b】

図2b

可変領域アラインメント

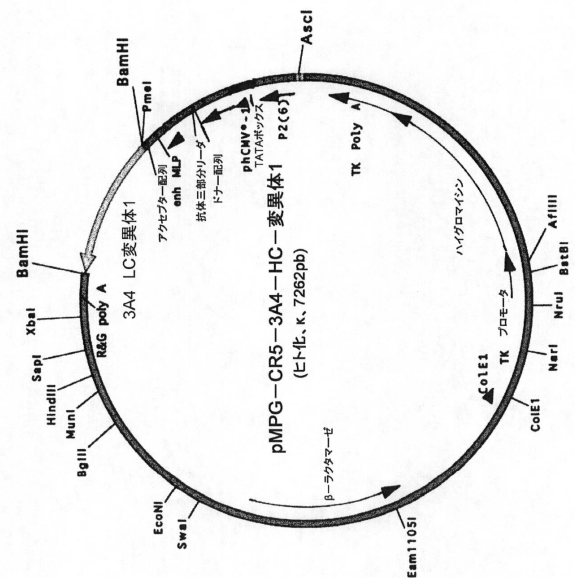
```

QIQLVQSGPEMVKPGASVKNCKASGYFTTDDYMSWVKQSHGKSLWIGDINPYNGDTNY 60
QIQLVQSGAEVKKPGASVKNCKASGYFTTDDYMSWVKQSHGKSLWIGDINPYNGDTNY 60
*:*****.*:*:*****
NQKFKGKALLTVDKSSSTAYWQLNSLTSEDSAVVYVCARDPGAMDYWGQGTIVTSS 116
NQKFKGRVTITADTSTAYWQLNSLTSEDSAVVYVCARDPGAMDYWGQGTIVTSS 116
*****

```

【図3b】

図3b



【 図 4 】

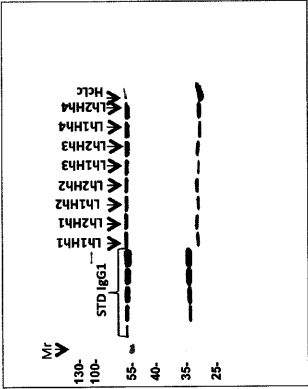


Figure 4

【 図 5 】

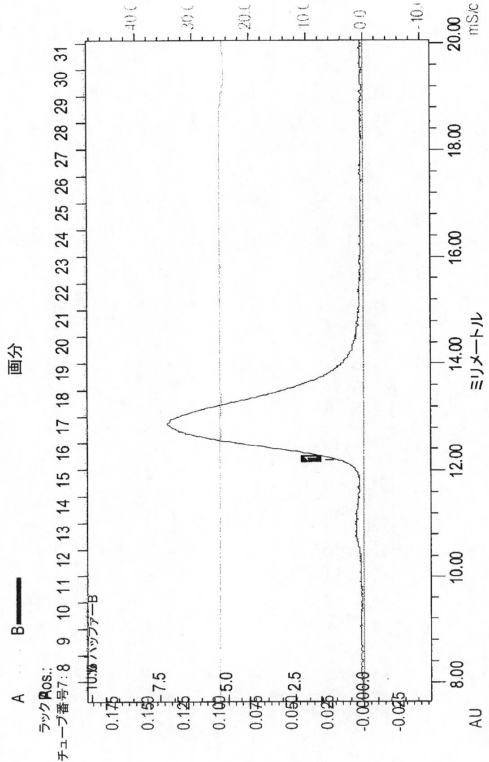


図5

【 図 6 】

抗体	ka (1/Ms)	kd (1/s)	Kd (nM)	倍率差
LcHc	7.72 x 10 <sup>6</sup>	1.21 x 10 <sup>-4</sup>	0.016	-
Lh1Hh1	6.93 x 10 <sup>6</sup>	3.28 x 10 <sup>-3</sup>	0.474	29.6
Lh2Hh1	6.97 x 10 <sup>6</sup>	2.37 x 10 <sup>-3</sup>	0.341	21.3
Lh1Hh2	5.65 x 10 <sup>6</sup>	1.19 x 10 <sup>-3</sup>	0.211	13.2
Lh2Hh2	7.40 x 10 <sup>6</sup>	1.81 x 10 <sup>-3</sup>	0.245	15.3
Lh1Hh3	6.46 x 10 <sup>6</sup>	9.60 x 10 <sup>-4</sup>	0.149	9.3
Lh2Hh3	4.46 x 10 <sup>6</sup>	1.02 x 10 <sup>-3</sup>	0.228	14.3
Lh1Hh4	5.14 x 10 <sup>6</sup>	7.64 x 10 <sup>-4</sup>	0.149	9.3
Lh2Hh4	4.57 x 10 <sup>6</sup>	4.70 x 10 <sup>-4</sup>	0.103	6.4

図6

【 図 7 a ）

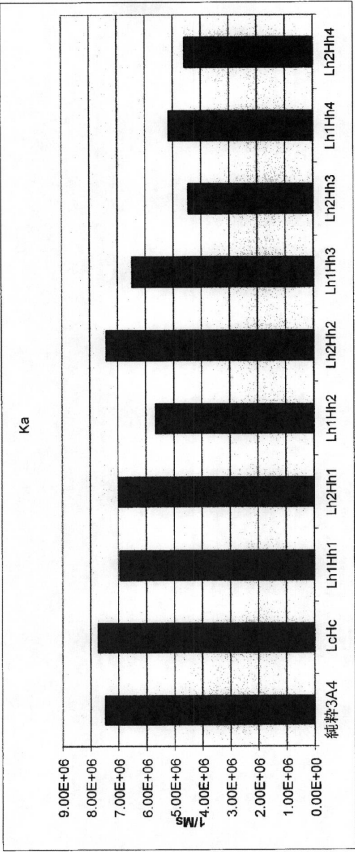


図7a

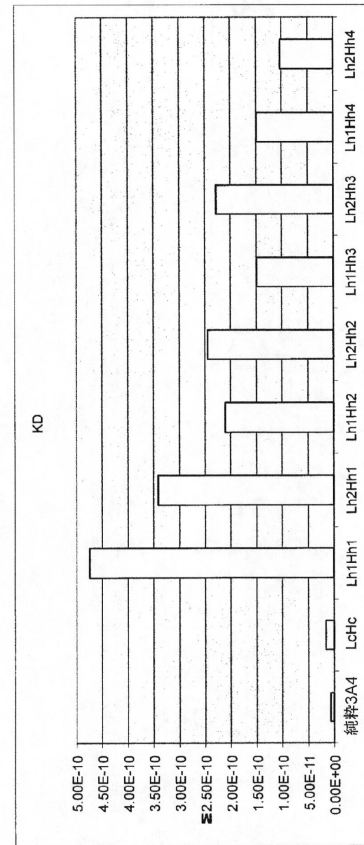
【図7b】

図7b



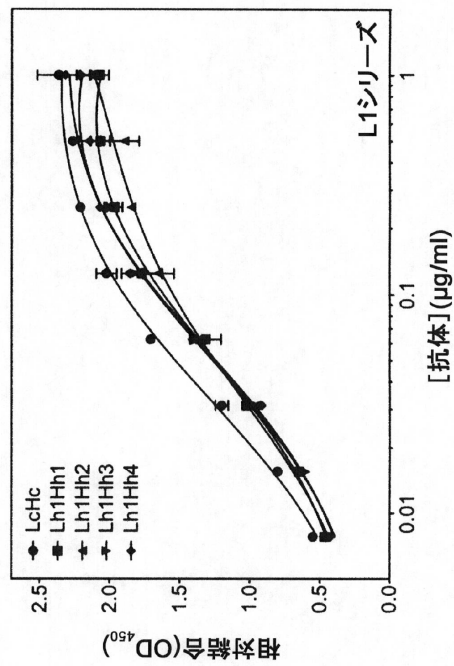
【図7c】

図7c



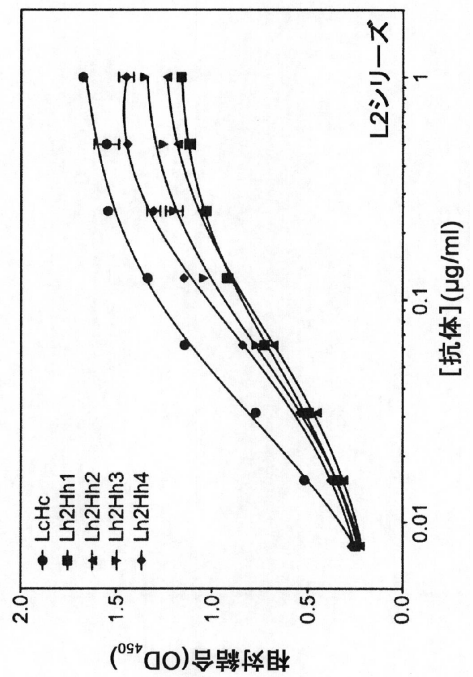
【図8a】

図8a



【図8b】

図8b



【 図 9 】

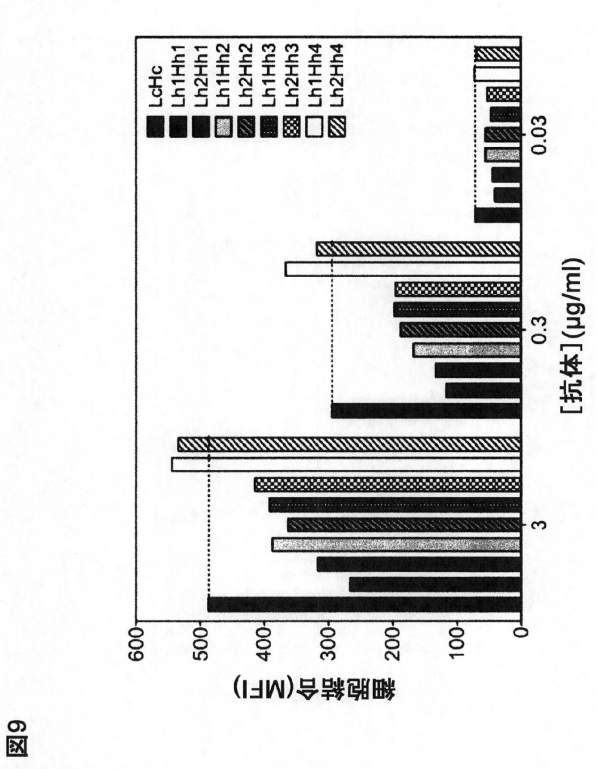


図9

【 図 10 】

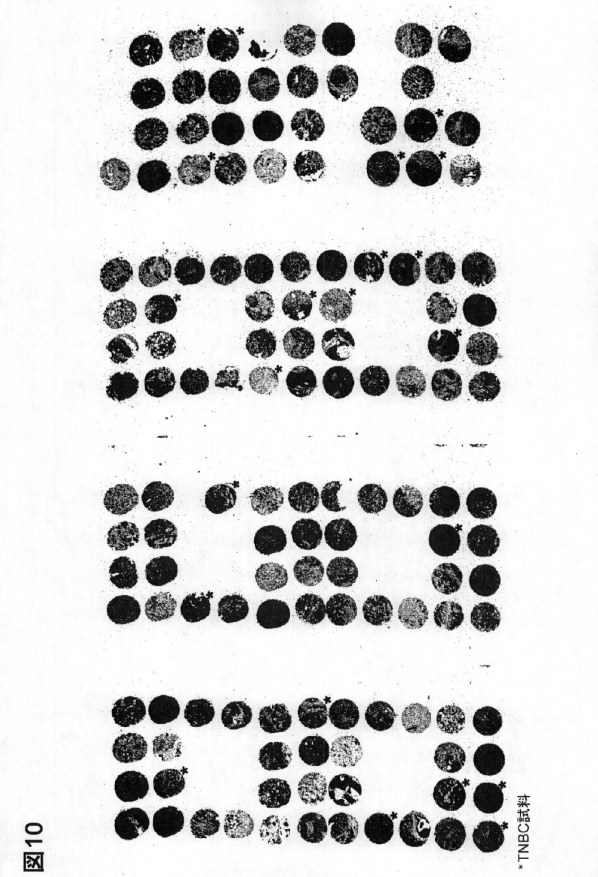


図10

【 図 11 】

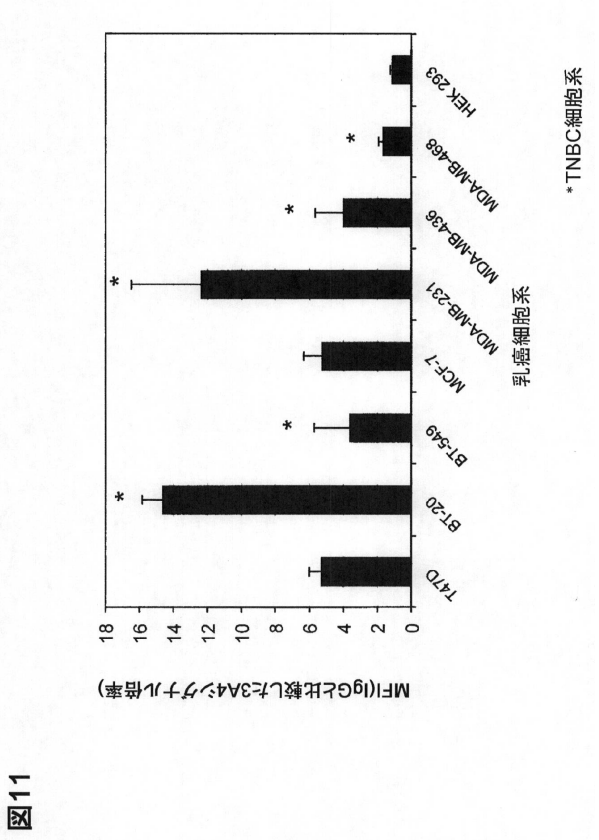


図11

【 図 12 】

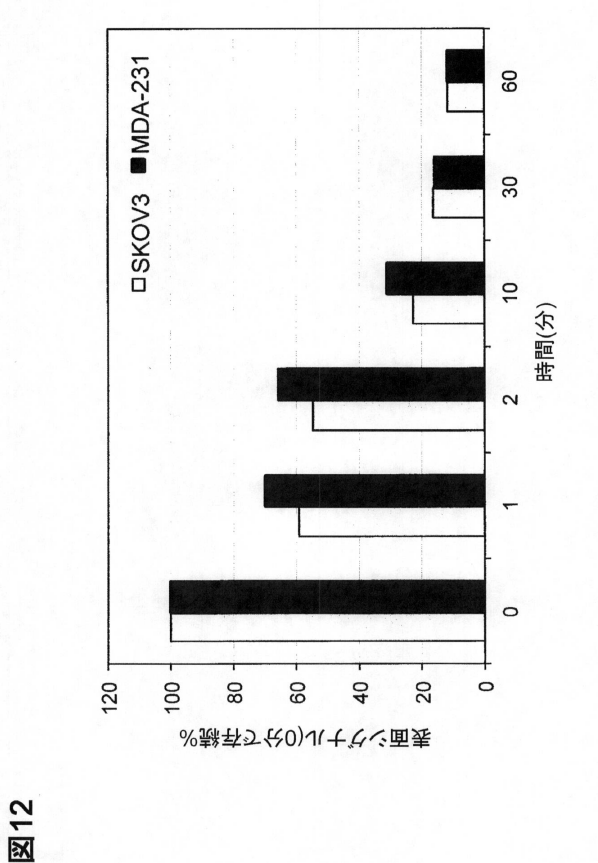
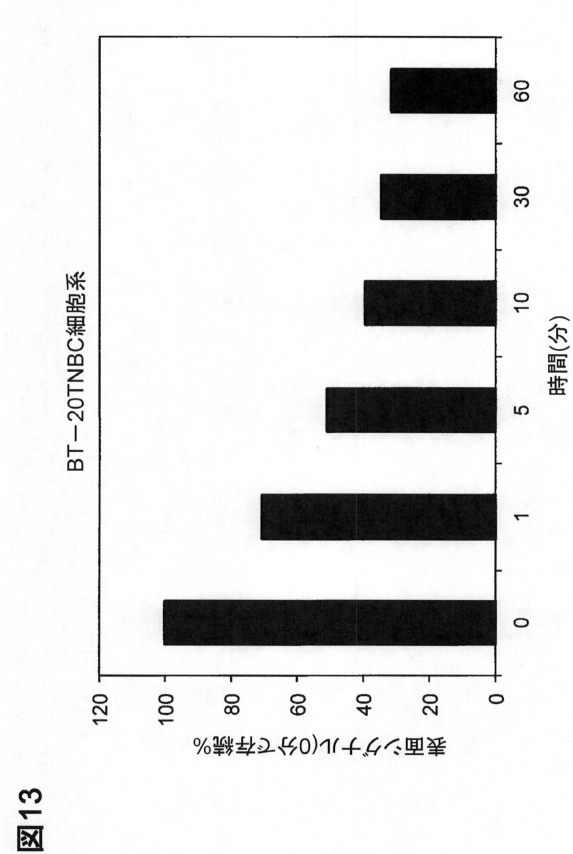
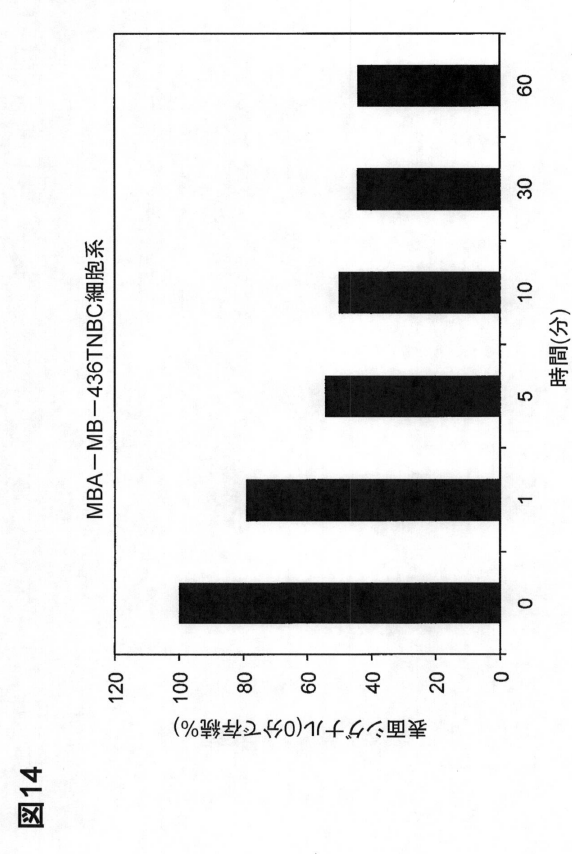


図12

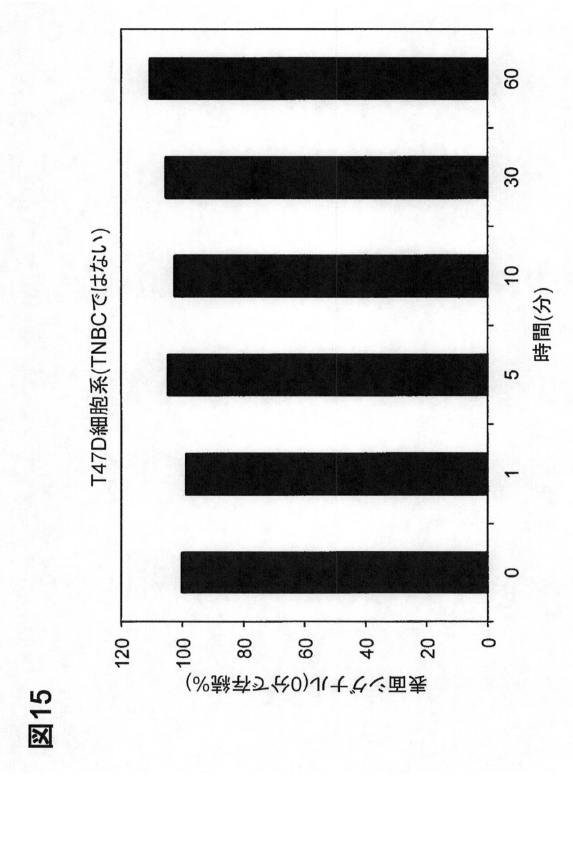
【 図 1 3 】



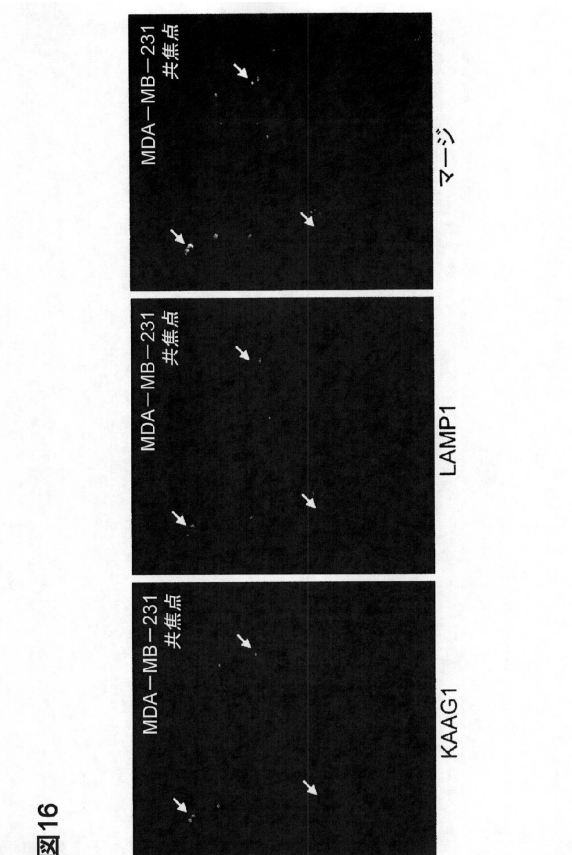
【 図 1 4 】



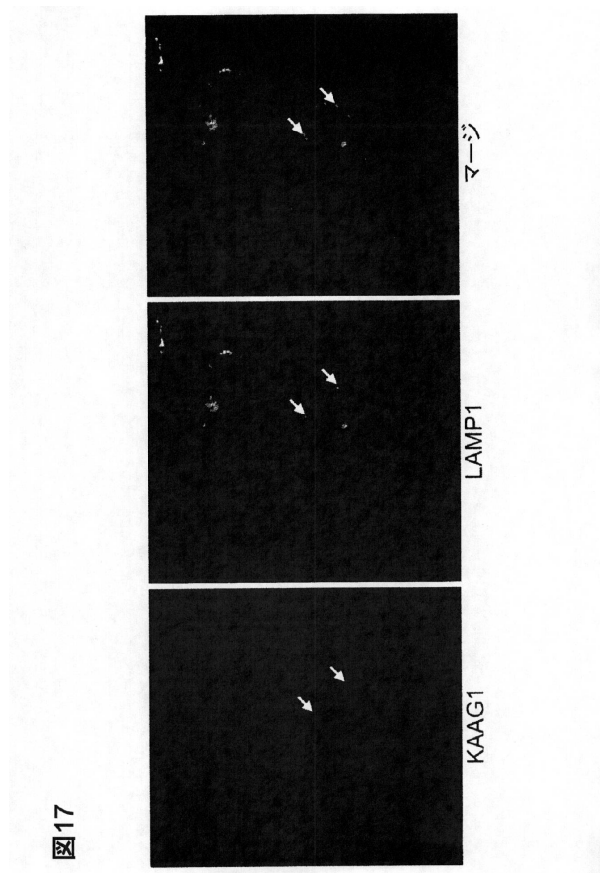
【 図 1 5 】



【 図 1 6 】



【図 17】



【配列表】

0006282597000001.app

## フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I  
C 0 7 K 16/30 (2006.01) C 0 7 K 16/30

(72)発明者 アンナ・エヌ・モライティス  
カナダ・ケベック・H 7 W・1 Z 4・ラヴァル・プランス - シャルル・アヴニユ・4 2 7 3

(72)発明者 マリオ・フィリヨン  
カナダ・ケベック・J 4 J・4 M 8・ロングイユ・メープル・ストリート・7 3 9

審査官 小森 潔

(56)参考文献 国際公開第2011/054112(WO, A1)  
特表2009-540803(JP, A)  
国際公開第2010/060186(WO, A1)  
European Journal of Cancer, 2011年, Vol. 47, No. 11, p1736-1746  
Breast Cancer: Basic and Clinical Research, 2010年, Vol. 4, p35-41

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