

(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 1

A 61 K 39/395	(2006.01)	A 61 K 39/395	Z N A T
A 61 K 45/00	(2006.01)	A 61 K 45/00	
A 61 P 35/00	(2006.01)	A 61 P 35/00	
A 61 P 43/00	(2006.01)	A 61 P 43/00	1 2 1
C 12 N 15/09	(2006.01)	C 12 N 15/09	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)
 (86) (22) 出願日 平成25年1月9日 (2013.1.9)
 (65) 公表番号 特表2015-511216 (P2015-511216A)
 (43) 公表日 平成27年4月16日 (2015.4.16)
 (86) 國際出願番号 PCT/CA2013/000011
 (87) 國際公開番号 WO2013/104050
 (87) 國際公開日 平成25年7月18日 (2013.7.18)
 審査請求日 平成27年12月21日 (2015.12.21)
 (31) 優先権主張番号 61/584,629
 (32) 優先日 平成24年1月9日 (2012.1.9)
 (33) 優先権主張国 米国(US)

前置審査

(73) 特許権者 517233999
 アー・デー・ツー・セラピューティクス
 ・エス・アー
 スイス・1066・エパランジュ・ルート
 ・ドゥ・ラ・コルニッシュ・3B
 (74) 代理人 100108453
 弁理士 村山 靖彦
 (74) 代理人 100110364
 弁理士 実広 信哉
 (74) 代理人 100133400
 弁理士 阿部 達彦
 (72) 発明者 ジル・ベルナール・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
 00

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 (KAA 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

10

20

、抗体またはその抗原結合性フラグメント；
g . 配列番号 189 に示す軽鎖可変領域と、配列番号 197 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 190 に示す軽鎖可変領域と、配列番号 194 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 190 に示す軽鎖可変領域と、配列番号 195 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 199 または配列番号 200 に示す軽鎖と、配列番号 202、配列番号 203、配列番号 204 または配列番号 205 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 199 に示す軽鎖と、配列番号 202 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 199 に示す軽鎖と、配列番号 203 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 199 に示す軽鎖と、配列番号 204 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 199 に示す軽鎖と、配列番号 205 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 200 に示す軽鎖と、配列番号 202 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 200 に示す軽鎖と、配列番号 203 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 200 に示す軽鎖と、配列番号 204 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 200 に示す軽鎖と、配列番号 205 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（E R）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、プログステロン受容体（P g R）の発現を測定するが、これにより、E R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（H E R 2）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（F I S H）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afen、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）（ラバチニブ）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（Ismaïl-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vant療法ならびにネオアジュvant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ィー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

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。10

【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 accession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つたのに対し、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徵と一致していたためである (Schumacher et al., 2006)。20

【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が、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230

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/C A2009/001586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¹⁰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、KAA G 1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KAA G 1抗体は、これらのマーカの少なくとも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、pMPG-CR5-3A4-LC-変異体1と同一である。

【図4】CHO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3A4抗体の軽鎖および重鎖の様々な組み合わせを用いたトランスフェクションしたCHOcTA細胞の上澄み（トランスフェクション後13日目）を、ウエスタンプロットで分析した。ウエスタンプロットのバンドを公知の標準液（ヒト精製IgG抗体）の希釈物に対して走査した後、上澄み中に產生された抗体の量を分子量（Mr）マーカ（kDa）で測定した。

【図5】Superdex G75にかけた組み換えKAG1試料のゲルfiltrationを示すグラフである。KAG1をゲルfiltration物に注入し、0.4ml/minで分離させた。最大ピークは画分15～画分19の間である。

【図6】3A4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7a】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7b】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7c】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8a】ELISAにおいてKAG1に結合するヒト化3A4変異体の図である。この図は、3A4ヒト化抗体変異体およびネズミ3A4の結合を比較して示したものである。Lh1軽鎖変異体とアセンブルされたヒト化重鎖（Hh1、Hh2、Hh3およびHh4）の濃度依存的な結合プロファイルである。

【図8b】ELISAにおいてKAG1に結合するヒト化3A4変異体の図である。この図は、3A4ヒト化抗体変異体およびネズミ3A4の結合を比較して示したものである。Lh2軽鎖変異体とアセンブルされたヒト化重鎖（Hh1、Hh2、Hh3およびHh4）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KAG1に結合するヒト化3A4変異体の図である。この図は、非透過SKOV-3卵巣癌細胞上のヒト化抗体およびネズミ3A4抗体結合活性を比較して示したものである。

【図10】乳癌患者から得られた139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3A4抗KAG1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KAG1抗原を発現したことが判明した。確認されたTNBC試料を星印で示す。

【図11】対照IgG（赤色のバー）と比較した、3A4抗KAG1抗体とインキュベートしたMDA-MB-231、MDA-MB-436、MDA-MB-468、BT-20、BT-549、T47D、MCF-7および293-6E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。TNBC細胞系は星印で示す。

【図12】3A4抗KAG1抗体を用いたフローサイトメトリーによるMDA-MB-231細胞の表面でのKAG1抗原の検出を示す。細胞を37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3A4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KAG1／抗体複合体が内在化されたことを示している。

【図13】3A4抗KAG1抗体を用いたフローサイトメトリーによるMDA-MB-436細胞の表面でのKAG1抗原の検出を示す。細胞を37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3A4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KAG1／抗体複合体が内在化されたことを示している。

【図14】3A4抗KAG1抗体を用いたフローサイトメトリーによるBT-20細胞の表面でのKAG1抗原の検出を示す。細胞を37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3A4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 15】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 37 ℃ 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 16】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 - 231 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心のパネルに、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 17】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 - 231 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心のパネルに、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 (*in vitro* もしくは *in vivo* 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。

30

【0015】

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Her 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Her 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(EMT)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EMT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Snail、Slug、Twist、ZEB1、ZEB2、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、KalluriおよびWeinberg, The Journal of Clinical Investigation, 119(6), p1420-1428; 2009; Fassina et al., Modern Pathology, 25; p86-99; 2012; Lee et al., JCB; 172; p973-981; 2006)。EMT表現型はまた、遊走、浸潤の能力の増大、またはアノイキス/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EMT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、ER発現、PgR発現を欠いたその腫瘍に基づき、および/またはHER2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、FISHなど)および/または遺伝子発現研究(例えば、Dent et al., 2007, Bernstein and Lacey, 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つてよい。治療を必要とする個体は、ホルモン療法および/もしくはトランスツズマブ療法(または他の抗Her 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 10 個の連続したヌクレオチド(少なくとも 15 個、少なくとも 20 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。

【 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。

10

【 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。

20

【 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 ou 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

【 0 0 4 2 】

「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（E R）、プロゲステロン受容体（P R）およびH e r 2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E RまたはP R発現について陽性である場合しか、E RまたはP R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E RまたはP R発現が陰性であるとみなす者もいる。H E R 2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H E R 2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。

【 0 0 4 3 】

10

本発明によれば、治療方法は、治療を必要とする個体に、K A A G 1阻害剤を投与することを含む。このようなK A A G 1阻害剤は、例えば、K A A G 1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。

【 0 0 4 4 】

最も効力が高い抗体または抗原結合性フラグメントは、K A A G 1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。

【 0 0 4 5 】

20

従って、本発明は、特に、K A A G 1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。

【 0 0 4 6 】

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。このような高親和性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。

【 0 0 4 7 】

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、K A A G 1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

【 0 0 4 8 】

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。

【 0 0 4 9 】

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、K A A G 1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。

【 0 0 5 0 】

40

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、K A A G 1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。

【 0 0 5 1 】

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、K A A G 1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。

【 0 0 5 2 】

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。

【 0 0 5 3 】

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みうる。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 L ドメイン、V H ドメイン、C L ドメインおよび C H 1 ドメインからなる 1 倍のフラグメント、(i i) F (a b ') 2 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 倍のフラグメント、(i i i) V H ドメインおよび C H 1 ドメインからなる F d フラグメント、(i v) 抗体の單一群 (s i n g l e a r m) の V L ドメインおよび V H ドメインからなる F v フラグメント、(v) V H 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_L 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る、この単一ポリペプチド鎖内で V_L 領域と V_H 領域が対応することによって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Huston 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。10 20

【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、10nM以下の親和性を指す。用語「高い親和性」は、特に5nM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、1nM以下、または0.1nM以下の親和性を有する抗体を含む。30

【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。40

【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でき、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50

実施形態は、IgG1亜型の抗体、または特にヒトIgG1亜型の抗体に関する。本発明の他の具体的実施形態は、IgG2亜型の抗体、または特にヒトIgG2亜型の抗体に関する。

【0067】

抗体は、IgG1亜型の、または特にヒトIgG1亜型のヒト化抗体であってよい。あるいは、抗体は、IgG2亜型の、または特にヒトIgG2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、IgG1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、KAAAG1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IgG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。

10

【0069】

本発明は、KAAAG1またはKAAAG1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。

20

【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、KAAAG1発現腫瘍細胞またはKAAAG1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、KAAAG1またはKAAAG1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。

30

【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、KAAAG1またはKAAAG1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】

本発明の例示的実施形態では、本発明の単離抗体または抗原結合性フラグメントは、正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実施形態では、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実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。

40

【0076】

以下は、作製され、特定の様式でKAAAG1に結合することがわかっている抗体のリストである；3D3、3A4、3C4、3G10、3A2、3F6、3E8、3E10、3A9、3B1、3G5、3B2、3B8、3G8、3F7、3E9、3G12、3C3、3E12、4A2、3F10、3F4、3B11、3D1、3C2、3E6および3H3。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2010/060186A8号パンフレットとして2010年6月3日に公開されたPCT/CN2009/001586号明細書、国際公開第2011/054112A1号パ

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、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】

別の例証的実施形態において、抗体または抗原結合性フラグメントは、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. CDRL1、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プ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】

10

20

30

40

50

本発明の例示的実施形態は、3D3、3A4、3C4、3G10、3A2、3F6、3E8、3E10、3A9、3B1、3G5、3B2、3B8、3G8、3F7、3E9、3G12、3C3、3E12、4A2、3F10、3F4、3B11、3D1、3C2、3E6または3H3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、3D3、3A4、3C4または3G10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、3A4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、3A4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、3A4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、KAG1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、

20

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、

30

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、

40

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

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
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実施形態は、 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 に示す重鎖可变
領域、
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 に示す重鎖可变
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 に示す重鎖可变
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 に示す重鎖可变
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 に示す重鎖可变
領域、
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 に示す重鎖可变
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 に示す重鎖可变
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 に示す重鎖可变
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 に示す重鎖可变
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 に示す重鎖可变
領域、
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 に示す重鎖可变
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 に示す重鎖可变
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 に示す重鎖可变
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 に示す重鎖可变
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 に示す重鎖可变
領域、
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 に示す重鎖可变
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 に示す重鎖可变
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 に示す重鎖可变
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 に示す重鎖可变
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 に示す重鎖可变
領域、

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。

【 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 变異体) 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。

【 0 0 9 3 】

表 1 は、生物学的試験のために選択されたいいくつかの抗 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

10

20

30

【0095】

エピトープマッピング研究から、3D3抗体が、アミノ酸36～60（両端を含む）にわたるKAAAG1エピトープと相互作用することが判明した。3G10および3A4抗体は、アミノ酸61～84（両端を含む）にわたるKAAAG1エピトープと相互作用し、また、3C4抗体は、アミノ酸1～35（両端を含む）にわたるKAAAG1エピトープと相互作用する。3G10および3A4は、同様の領域に結合するが、3G10抗体は、3A4抗体ほど効率的にKAAAG1に結合しない。

40

【0096】

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。

【0097】

KAAAG1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。

【0098】

【表2】

表2

抗体名	可変領域のタイプ	スクレオチド (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 (Lvh1)		189
ヒト化 3A4	軽鎖 (Lvh2)		190
ヒト化 3A4	重鎖 (Hvh1)		194
ヒト化 3A4	重鎖 (Hvh2)		195
ヒト化 3A4	重鎖 (Hvh3)		197
ヒト化 3A4	重鎖 (Hvh4)		198

【0099】

配列番号 103～154 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。

【0100】

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

【0101】

【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	MGYSDY
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

【0102】

【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	VIDPETGNATA
3G12	重鎖	CDR H3	165	MGYSDY
3A4	軽鎖	CDR L1	52	RSSQSLLHSNGNTYLE
3A4	軽鎖	CDR L2	53	TVSNRFS
3A4	軽鎖	CDR L3	54	FQGSHVPLT
3A4	重鎖	CDR H1	49	GYTFTDDYMS
3A4	重鎖	CDR H2	50 または 212	DINPYNGDTNYNQKFKG または DINPYNGDTN
3A4	重鎖	CDR H3	51	DPGAMDY

【0103】

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。

【0104】

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(CDR L1、CDR L2、CDR L3、CDR H1、CDR H2および/またはCDR H3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KAG1変異体を包含する。

【0105】

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変異体の例示的実施形態を配列番号72~102に示す。

【0106】

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

10

20

30

40

50

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実施形態を、表1Aの「好適な置換 (p r e f e r r e d s u b s t i t u t i o n s)」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(M e t)、アラニン(A l a)、バリン(V a l)、ロイシン(L e u)、イソロイシン(I l e)

(2群)中性親水性：システイン(C y s)、セリン(S e r)、スレオニン(T h r)

(3群)酸性：アスパラギン酸(A s p)、グルタミン酸(G l u)

(4群)塩基性：アスパラギン(A s n)、グルタミン(G l n)、ヒスチジン(H i s)、リジン(L y s)、アルギニン(A r g)

(5群)鎖配向に影響する残基：グリシン(G l y)、プロリン(P r o)、および

(6群)芳香族：トリプトファン(T r p)、チロシン(T y r)、フェニルアラニン(P h e)

【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】

【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】

40

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】

50

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、Blast2配列プログラム(Tatiana A. Tatusova, Thomas L. Madden(1999)、「Blast 2 sequences - a new tool for comparing protein and nucleotide sequences」, FEMS Microbiol Lett. 174: 247-250)を用い、既定の設定を使用して、即ち、blastpプログラム、BLOSUM62マトリックス(開始ギャップ11およびギャップ伸張のペナルティ1; gap x ドロップオフ50、期待値10.0、ワードサイズ3)および活性化フィルタを使用して、定量してきた。

【0115】

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。

【0116】

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分に対して少なくとも70%、75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%の配列同一性を有し得るものと含む。

【0117】

20

変異体の例示的実施形態は、本明細書に記載されている配列に対して少なくとも81%の配列同一性を有し、元の配列または元の配列の一部分に対して81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%の配列類似性を有するものである。

【0118】

変異体の他の例示的実施形態は、本明細書に記載されている配列に対して少なくとも82%の配列同一性を有し、元の配列または元の配列の一部分に対して82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%の配列類似性を有するものである。

30

【0119】

変異体の更なる例示的実施形態は、本明細書に記載されている配列に対して少なくとも85%の配列同一性を有し、元の配列または元の配列の一部分に対して85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%の配列類似性を有するものである。

【0120】

40

変異体の他の例示的実施形態は、本明細書に記載されている配列に対して少なくとも90%の配列同一性を有し、元の配列または元の配列の一部分に対して90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%の配列類似性を有するものである。

【0121】

変異体の付加的な例示的実施態様は、本明細書に記載されている配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有し、元の配列または元の配列の一部分に対して95%、96%、97%、98%、99%または100%の配列類似性を有するものである。

【0122】

変異体の更なる付加的な例示的実施態様は、本明細書に記載されている配列に対して少なくとも97%の配列同一性を有し、元の配列または元の配列の一部分に対して97%、98%、99%または100%の配列類似性を有するものである。

【0123】

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実施形態を示した表1Bを提供している。この表1B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。

【0124】

【表6】

表1B		配列同一性パーセント(%)																				
アミノ酸位置(%)	アミノ酸	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	X													
88	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X												
89	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X											
90	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X										
91	X	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	X								
93	X	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	X						
95	X	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	X				
97	X	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	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	

【0125】

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CDR、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。

【0126】

ゆえに、本発明は、KAG1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18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20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22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24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26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48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46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103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126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104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127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105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128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106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145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107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128と少なくとも70%の配列同一性を有する重鎖可変領域、

10

20

30

40

50

j . 配列番号 108 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 130 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、

k . 配列番号 109 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 141 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、

l . 配列番号 110 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 131 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、

m . 配列番号 111 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 134 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、

n . 配列番号 112 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 135 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、

o . 配列番号 113 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 136 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、

p . 配列番号 114 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 133 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、

q . 配列番号 115 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 140 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、

r . 配列番号 116 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 137 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、

s . 配列番号 117 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 144 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、

t . 配列番号 118 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 139 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、

u . 配列番号 119 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 132 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、

v . 配列番号 120 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 142 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、

w . 配列番号 121 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 138 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、

x . 配列番号 122 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 146 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、

y . 配列番号 123 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 147 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、

z . 配列番号 124 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 143 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変領域。

【 0127 】

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 CDR 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 CDR を含んでもよい。

【 0128 】

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実施形態は、配列番号 16、20、24、103、106 または 121 と少なくとも 70 %、75 %、80 % 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 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いてもよい。

【 0129 】

変異体抗体軽鎖可変領域の別の例示的実施形態は、配列番号 16 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 16 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。配列番号 16 変異体は、配列番号 168 に示される。

10

20

30

40

50

【 0 1 3 0 】

変異体抗体軽鎖可変領域の例示的実施形態は、配列番号 2 0 の C D R アミノ酸配列と 100 % 同一の C D R アミノ酸配列を有し、かつ、配列番号 2 0 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。

【 0 1 3 1 】

変異体抗体軽鎖可変領域の例示的実施形態は、配列番号 2 4 の C D R アミノ酸配列と 100 % 同一の C D R アミノ酸配列を有し、かつ、配列番号 2 4 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 1 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 2 4 変異体は、配列番号 1 7 2 に示される。10

【 0 1 3 2 】

変異体抗体軽鎖可変領域の例示的実施形態は、配列番号 1 0 3 の C D R アミノ酸配列と 100 % 同一の C D R アミノ酸配列を有し、かつ、配列番号 1 0 3 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。

【 0 1 3 3 】

変異体抗体軽鎖可変領域の例示的実施形態は、配列番号 1 0 6 の C D R アミノ酸配列と 100 % 同一の C D R アミノ酸配列を有し、かつ、配列番号 1 0 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。20

【 0 1 3 4 】

変異体抗体軽鎖可変領域の例示的実施形態は、配列番号 1 2 1 の C D R アミノ酸配列と 100 % 同一の C D R アミノ酸配列を有し、かつ、配列番号 1 2 1 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 1 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。

【 0 1 3 5 】

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

【 0 1 3 6 】

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実施形態は、配列番号 1 8 、 2 2 、 2 6 、 1 2 6 、 1 3 8 または 1 4 5 と少なくとも 7 0 % 、 7 5 % 、 8 0 % 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 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いてもよい。

【 0 1 3 7 】

変異体抗体重鎖可変領域の例示的実施形態は、配列番号 1 8 の C D R アミノ酸配列と 100 % 同一の C D R アミノ酸配列を有し、かつ、配列番号 1 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。配列番号 1 8 変異体は、配列番号 1 6 9 に示される。40

【 0 1 3 8 】

変異体抗体重鎖可変領域の例示的実施形態は、配列番号 2 2 の C D R アミノ酸配列と 100 % 同一の C D R アミノ酸配列を有し、かつ、配列番号 2 2 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 3 9 】

変異体抗体重鎖可変領域の例示的実施形態は、配列番号 2 6 の C D R アミノ酸配列と 100 % 同一の C D R アミノ酸配列を有し、かつ、配列番号 2 6 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れば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。配列番号26変異体は、配列番号173に示される。

【0140】

変異体抗体重鎖可変領域の例示的実施形態は、配列番号126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126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れば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。

【0141】

変異体抗体重鎖可変領域の例示的実施形態は、配列番号145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145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れば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。10

【0142】

変異体抗体重鎖可変領域の例示的実施形態は、配列番号138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138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れば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。

【0143】

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て、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

【0144】

変異体CDR

また本発明には、本発明に記載されている（元のCDRと比較して）少なくとも1つのCDR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。

【0145】

本発明はさらに、（元のCDRと比較して）少なくとも2つのCDR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

【0146】

本発明はさらに、（元のCDRと比較して）少なくとも3つのCDR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。

【0147】

本発明はさらに、（元のCDRと比較して）少なくとも1つのCDR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。

【0148】

本発明はさらに、（元のCDRと比較して）少なくとも2つのCDR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

【0149】

本発明はさらに、（元のCDRと比較して）少なくとも2つのCDR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。

【0150】

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、CDR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。CDRの共通配列は、50

配列番号 7 2 ~ 8 8 に記載する。

【 0 1 5 1 】

ゆえに、例示的実施形態において、本発明は、以下：

- a . 配列番号 7 2 および配列番号 7 3 からなる群から選択される C D R L 1 配列、
- b . 配列番号 7 4 、配列番号 7 5 および配列番号 7 6 からなる群から選択される C D R L 2 配列、
- c . 配列番号 7 7 、配列番号 7 8 および配列番号 7 9 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。

【 0 1 5 2 】

ゆえに、例示的実施形態において、本発明は、以下：

- a . 配列番号 8 0 を含む C D R H 1 配列、
- b . 配列番号 8 1 、配列番号 8 2 、配列番号 8 3 、配列番号 8 4 および配列番号 8 5 からなる群から選択される C D R H 2 配列、
- c . 配列番号 8 6 、配列番号 8 7 および配列番号 8 8 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。

【 0 1 5 3 】

本発明によれば、抗体は、下記式：

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

(式中、

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

【 0 1 5 4 】

本発明の例示的実施形態において、X_{1_a} はKまたはRであってよい。

【 0 1 5 5 】

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

【 0 1 5 6 】

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

【 0 1 5 7 】

本発明の別の実施形態において、X_{10_a} はYまたはFであってよい。

【 0 1 5 8 】

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

【 0 1 5 9 】

本発明によれば、抗体は、下記式：

K A S Q D X_{1_b} X_{2_b} X_{3_b} X_{4_b} X_{5_b} X_{6_b} (配列番号 7 3)

10

20

30

40

50

(式中、

X_{1_b} は、疎水性アミノ酸であってよく、

X_{2_b} は、GもしくはHであってよく、

X_{3_b} は、T、NもしくはRであってよく、

X_{4_b} は、F、YもしくはAであってよく、

X_{5_b} は、疎水性アミノ酸であってよく、

X_{6_b} 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】

本発明の例示的実施形態において、 X_{1_b} はVまたはIであってよい。 10

【0161】

本発明の別の例示的実施形態において、 X_{5_b} 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_{1_b} はI、 X_{2_b} はH、 X_{3_b} はT、 X_{3_b} はN、 X_{4_b} はY、 X_{4_b} はF、 X_{5_b} はL、または X_{6_b} はNである。

【0163】

CDRL1の他の例示的実施形態を配列番号89および90に示す。

【0164】

本発明によれば、抗体は、下記式：

$F X_{1_c} S T X_{2_c} X_{3_c} S$ (配列番号74)

(式中、

X_{1_c} は、AもしくはGであり、

X_{2_c} は、RもしくはTであり、

X_{3_c} 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】

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

【0166】

本発明の別の例示的実施形態において、 X_{1_c} はAであってよく、 X_{2_c} 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_{1_c} はA、 X_{2_c} はR、または X_{3_c} はEである。

【0168】

本発明によれば、抗体は、下記式：

$X_{1_d} V S X_{2_d} X_{3_d} X_{4_d} S$ (配列番号75)

(式中、

X_{1_d} は、LもしくはKであってよく、

X_{2_d} は、塩基性アミノ酸であってよく、

X_{3_d} は、LもしくはRであってよく、

X_{4_d} 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】

本発明の例示的実施形態において、 X_{2_d} 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_{1_d} はL、 X_{2_d} はK、 X_{3_d} はLまたは X_{4_d} はDである。

【0171】

10

20

30

40

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 7 6)

(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 C D R L 2 配列を含み得る。

【0172】

本発明の例示的実施形態において、 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 7 6 の C D R L 2 を含み、ここで、 X_{1e} は 10
R、または X_{2e} は D である。

【0174】

C D R L 2 の他の具体的実施形態を配列番号 9 1 ~ 9 3 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 7 7)

(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 C D R L 3 配列を含み得る。

【0176】

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

【0177】

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

【0178】

本発明の例示的実施形態において、 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 7 7 の C D R L 3 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 7 8)

(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 C D R L 3 配列を含み得る。

【0181】

本発明の例示的実施形態において、 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 7 8 の C D R L 3 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 7 9)

(式中、

20

30

40

50

X_{1h} は、塩基性アミノ酸であってよく、
 X_{2h} は、中性親水性アミノ酸であってよく、
 X_{3h} は、FもしくはVであってよく、
 X_{4h} 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】

本発明の例示的実施形態において、 X_{1h} はWまたはFであってよい。

【0185】

本発明の別の例示的実施形態において、 X_{2h} 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_{1h} はW、 X_{2h} はT、 X_{3h} はF、または X_{4h} はRである。 10

【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：

$G Y X_{1i} F X_{2i} X_{3i} Y X_{4i} X_{5i} H$ (配列番号80)

(式中、

X_{1i} は、T、IもしくはKであってよく、
 X_{2i} は、中性親水性アミノ酸であってよく、
 X_{3i} は、酸性アミノ酸であってよく、
 X_{4i} は、E、NもしくはDであってよく、
 X_{5i} 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。 20

【0189】

本発明の例示的実施形態において、 X_{2i} はTもしくはSであってよい。

【0190】

本発明の別の例示的実施形態において、 X_{3i} 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実施形態において、 X_{4i} はNもしくはEであってよい。 30

【0192】

本発明のさらに別の例示的実施形態において、 X_{5i} はM、IもしくはVであってよい。
 。 30

【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_{2i} はT、 X_{3i} はD、 X_{4i} はE、または X_{5i} はMである。

【0194】

CDRH1の他の例示的実施形態を配列番号96および97に示す。

【0195】

本発明によれば、抗体は、下記式：

$X_{1j} X_{2j} D P X_{3j} T G X_{4j} T X_{5j}$ (配列番号81)

(式中、

X_{1j} は、VもしくはGであってよく、
 X_{2j} は、疎水性アミノ酸であってよく、
 X_{3j} は、A、GもしくはEであってよく、
 X_{4j} は、R、G、D、A、S、NもしくはVであってよく、
 X_{5j} 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。 40

【0196】

本発明の例示的実施形態において、 X_{2j} はIまたはLであってよい。 50

【0197】

本発明の別の例示的実施形態において、 $X_{5,j}$ 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、 $X_{1,j}$ はVであり、 $X_{2,j}$ はIであり、 $X_{3,j}$ はEであり、 $X_{4,j}$ はDであり、または $X_{5,j}$ はAである。

【0199】

本発明によれば、抗体は、下記式：

$V X_{1,k} D P X_{2,k} T G X_{3,k} T A$ (配列番号82)

(式中、

10

$X_{1,k}$ は、疎水性アミノ酸であってよく、

$X_{2,k}$ は、A、EもしくはGであってよく、

$X_{3,k}$ 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。

【0200】

本発明の例示的実施形態において、 $X_{1,k}$ はIまたはL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、 $X_{1,k}$ はIであり、 $X_{2,k}$ はEであり、 $X_{3,k}$ はDである。

【0202】

20

本発明によれば、抗体は、下記式：

$Y I X_{1,1} X_{2,1} X_{3,1} G X_{4,1} X_{5,1} X_{6,1}$ (配列番号83)

(式中、

$X_{1,1}$ は、SもしくはNであってよく、

$X_{2,1}$ は、芳香族アミノ酸であってよく、

$X_{3,1}$ は、D、EもしくはNであってよく、

$X_{4,1}$ は、DもしくはHであってよく、

$X_{5,1}$ は、Y、SもしくはNであってよく、

$X_{6,1}$ 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。

30

【0203】

本発明の例示的実施形態において、 $X_{3,1}$ はDまたはNであってよい。

【0204】

本発明の別の例示的実施形態において、 $X_{6,1}$ 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、 $X_{2,1}$ はFもしくはY、 $X_{3,1}$ はN、 $X_{4,1}$ はD、または $X_{6,1}$ はNである。

【0206】

本発明によれば、抗体は、下記式：

$X_{1,m} I N P Y N X_{2,m} V T E$ (配列番号84)

40

(式中、

$X_{1,m}$ は、NもしくはYであってよく、

$X_{2,m}$ 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。

【0207】

本発明の例示的実施形態において、 $X_{2,m}$ 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、 $X_{1,m}$ はN、または $X_{2,m}$ はDである。

【0209】

50

本発明によれば、抗体は、下記式：

D I N P X_{1 n} Y G X_{2 n} X_{3 n} T (配列番号 8 5)

(式中、

X_{1 n} は、NもしくはYであってよく、

X_{2 n} は、GもしくはTであってよく、

X_{3 n} 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の他の例示的実施形態を配列番号98および99に示す。

【0211】

本発明によれば、抗体は、下記式：

M X_{1 o} X_{2 o} X_{3 o} D Y (配列番号 8 6)

(式中、

X_{1 o} は、GもしくはSであってよく、

X_{2 o} は、YもしくはHであってよく、

X_{3 o} 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 o} はG、X_{2 o} はY、またはX_{3 o} はSである。

【0213】

本発明によれば、抗体は、下記式：

I X_{1 p} Y A X_{2 p} D Y (配列番号 8 7)

(式中、

X_{1 p} は、GもしくはSであってよく、

X_{2 p} 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_{1 p} はS、またはX_{2 p} はMである。

【0215】

本発明によれば、抗体は、下記式：

A X_{1 q} X_{2 q} G L R X_{3 q} (配列番号 8 8)

(式中、

X_{1 q} は、RもしくはWであってよく、

X_{2 q} は、芳香族アミノ酸であってよく、

X_{3 q} 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】

本発明の例示的実施形態において、X_{2 q} はWまたはFであってよい。

【0217】

本発明の別の例示的実施形態において、X_{3 q} 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_{1 q} はR、X_{2 q} はW、またはX_{3 q} 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

【0220】

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実施形態は、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。

【0221】

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3D3、3D4または3C4抗体および抗原結合性フラグメントがある。ヒト化3D3、3D4または3C4抗体は、モノクローナル3D3、3A4または3C4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

【0222】

モノクローナル3A4抗体のそれ（VL：配列番号48、VH：配列番号46）と同じCDRを有するヒト化3A4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3A4抗体と比較して、可変軽鎖フレームワーク領域内の11以下（1～11）のアミノ酸置換と、可変重鎖フレームワーク領域内の23以下（1～23）のアミノ酸置換を含む。本出願人は、上記のヒト化3A4抗体が、モノクローナル3A4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。

【0223】

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実施形態には、配列番号186に示す軽鎖可変領域を有するものが含まれる。

20

【0224】

配列番号186

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)。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。

【0225】

30

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実施形態には、配列番号187に示す軽鎖可変領域を有するものが含まれる。

【0226】

配列番号187

D X_{e1} V M T Q T P L S L X_{e2} V X_{e3} X_{e4} G X_{e5} X_{e6} 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_{e7} 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_{e8} G V Y Y C F Q G S H V P L T F G
X_{e9} G T X_{e10} L E X_{e11} K
(配列中、

X_{e1}は、疎水性アミノ酸であってよく、

40

X_{e2}は、AもしくはPであってよく、

X_{e3}は、中性親水性アミノ酸であってよく、

X_{e4}は、LもしくはPであってよく、

X_{e5}は、酸性アミノ酸であってよく、

X_{e6}は、QもしくはPであってよく、

X_{e7}は、塩基性アミノ酸であってよく、

X_{e8}は、疎水性アミノ酸であってよく、

X_{e9}は、AもしくはQであってよく、

X_{e10}は、塩基性アミノ酸であってよく、または

X_{e11}は、疎水性アミノ酸であってよく、

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実施形態には、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_{E1} V M T Q T P L S L X_{E2} V X_{E3} X_{E4} G X_{E5} X_{E6} 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_{E7} 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_{E8} G V Y Y C F Q G S H V P L T F G 10
X_{E9} G T X_{E10} L E X_{E11} K

（配列中、

X_{E1}は、VもしくはIであってよく、

X_{E2}は、AもしくはPであってよく、

X_{E3}は、SもしくはTであってよく、

X_{E4}は、LもしくはPであってよく、

X_{E5}は、DもしくはEであってよく、

X_{E6}は、QもしくはPであってよく、

X_{E7}は、KもしくはQであってよく、

X_{E8}は、LもしくはVであってよく、

X_{E9}は、AもしくはQであってよく、

X_{E10}は、RもしくはKであってよく、または

X_{E11}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。

【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実施形態には、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。

【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 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

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実施形態は、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_{f 1} Q L V Q S G X_{f 2} E X_{f 3} X_{b f 4} K P G A S V K X_{f 5} S C K A S G Y T F
T D D Y M S W V X_{f 6} Q X_{f 7} X_{f 8} G X_{f 9} X_{f 10} L E W X_{f 11} G D I N P Y N
G D T N Y N Q K F K G X_{f 12} X_{f 13} X_{b 14} X_{f 15} T X_{f 16} D X_{f 17} S X_{f 18}
S T A Y M X_{f 19} L X_{f 20} S L X_{f 21} S E D X_{f 22} A V Y Y C A R D P G A 10
M D Y W G Q G T X_{f 23} V T V S S

(配列中、

X_{f 1} は、疎水性アミノ酸であってよく、

X_{f 2} は、PもしくはAであってよく、

X_{f 3} は、疎水性アミノ酸であってよく、

X_{f 4} は、VもしくはKであってよく、

X_{f 5} は、疎水性アミノ酸であってよく、

X_{f 6} は、塩基性アミノ酸であってよく、

X_{f 7} は、SもしくはAであってよく、

X_{f 8} は、HもしくはPであってよく、

X_{f 9} は、塩基性アミノ酸であってよく、

X_{f 10} は、SもしくはGであってよく、

X_{f 11} は、疎水性アミノ酸であってよく、

X_{f 12} は、塩基性アミノ酸であってよく、

X_{f 13} は、疎水性アミノ酸であってよく、

X_{f 14} は、IもしくはTであってよく、

X_{f 15} は、疎水性アミノ酸であってよく、

X_{f 16} は、疎水性アミノ酸であってよく、

X_{f 17} は、KもしくはTであってよく、

X_{f 18} は、中性親水性アミノ酸であってよく、

X_{f 19} は、QもしくはEであってよく、

X_{f 20} は、NもしくはSであってよく、

X_{f 21} は、TもしくはRであってよく、

X_{f 22} は、中性親水性アミノ酸であってよく、または

X_{f 23} 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実施形態には、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_{F 1} Q L V Q S G X_{F 2} E X_{F 3} X_{F 4} K P G A S V K X_{F 5} S C K A S G Y T F T
D D Y M S W V X_{F 6} Q X_{F 7} X_{F 8} G X_{F 9} X_{F 10} L E W X_{F 11} G D I N P Y N G
D T N Y N Q K F K G X_{F 12} X_{F 13} X_{F 14} X_{F 15} T X_{F 16} D X_{F 17} S X_{F 18}
S T A Y M X_{F 19} L X_{F 20} S L X_{F 21} S E D X_{F 22} A V Y Y C A R D P G A M
D Y W G Q G T X_{F 23} V T V S S

(配列中、

X_{F 1} は、IもしくはVであってよく、

X_{F 2} は、PもしくはAであってよく、

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

Q 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 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 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。 30

【0240】

配列番号195

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。

【0241】

配列番号196

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。 40

【0242】

配列番号197

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。

【0243】

本発明の実施形態によれば、ヒト化3D3抗体は、下記式：

【化1】

DIVMTQSPX_{A1}SLAVSX_{A2}GX_{A3}X_{A4}X_{A5}TX_{A6}NCKSSQSLLNSNFQKNFLAWYQQKPGQXPKLLIYFAS
TRESSXPDRFXGSGSGTDFTLTISsxQAEDXAXYXCQQHYSTPLTFGXGTLEXK(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な実施形態によれば、ヒト化3D3抗体は、下記式：

【化2】

DIVMTQSPX_{A1}SLAVSX_{A2}GX_{A3}X_{A4}X_{A5}TX_{A6}NCKSSQSLLNSNFQKNFLAWYQQKP
GQX_{A7}PKLLIYFASTRESSX_{A8}PDRFX_{A9}GSGSGTDFTLTISsx_{A10}QAEDX_{A11}AX_{A12}YX_{A13}CQ
QHYSTPLTFGX_{A14}GTKLEX_{A15}K(配列番号175)

(配列中、

X_{A1}は、例えばDもしくはSであってよく、
X_{A2}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_{A3}は、例えばEもしくはQであってよく、
X_{A4}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_{A5}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_{A6}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_{A7}は、例えばPもしくはSであってよく、
X_{A8}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_{A9}は、例えばSもしくはIであってよく、
X_{A10}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_{A11}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_{A12}は、例えばVもしくはDであってよく、
X_{A13}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_{A14}は、例えばQもしくはAであってよく、
X_{A15}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

【0245】

30

本発明のさらにまた具体的な実施形態によれば、ヒト化3D3抗体は、下記式：

【化3】

DIVMTQSPX_{a1}SLAVSX_{a2}GX_{a3}X_{a4}X_{a5}TX_{a6}NCKSSQSLLNSNFQKNFLAWYQQKP
GQX_{a7}PKLLIYFASTRESSX_{a8}PDRFX_{a9}GSGSGTDFTLTISsx_{a10}QAEDX_{a11}AX_{a12}YX_{a13}CQQ
HYSTPLTFGX_{a14}GTKLEX_{a15}K(配列番号176)

40

(配列中、

X_{a1}は、例えばDもしくはSであってよく、
X_{a2}は、例えばLもしくはIであってよく、
X_{a3}は、例えばEもしくはQであってよく、
X_{a4}は、例えばRもしくはKであってよく、
X_{a5}は、例えばAもしくはVであってよく、
X_{a6}は、例えばIもしくはMであってよく、
X_{a7}は、例えばPもしくはSであってよく、

50

X_{a 8} は、例えば V もしくは I であってよく、
 X_{a 9} は、例えば S もしくは I であってよく、
 X_{a 10} は、例えば L もしくは V であってよく、
 X_{a 11} は、例えば V もしくは L であってよく、
 X_{a 12} は、例えば V もしくは D であってよく、
 X_{a 13} は、例えば Y もしくは F であってよく、
 X_{a 14} は、例えば Q もしくは A であってよく、
 X_{a 15} 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】

10

本発明の実施形態によれば、ヒト化 3D3 抗体は、下記式：
 【化4】

**EVQLXQSXAEXXXPGASVXSCKASGYIFTDYEIHWWXQXPXXGLEWXGVIDPE
 TGNTAFNQKFKGXXXTADXSXSTAYMELSSLTSEDXAVYYCMGYSDYWGQQGTXTV
 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。

20

【0247】

本発明のさらにまた具体的な実施形態によれば、ヒト化 3D3 抗体は、下記式：
 【化5】

**EVQLX_{B1}QSX_{B2}AEX_{B3}X_{B4}X_{B5}PGASVX_{B6}X_{B7}SCKASGYIFTDYEIHWWX_{B8}QX_{B9}PX_{B1}
 oX_{B11}GLEWX_{B12}GVIDPETGNTAFNQKFKGX_{B13}X_{B14}TX_{B15}TADX_{B16}SX_{B17}STAYMELSSLTS
 EDX_{B18}AVYYCMGYSDYWGQQGTX_{B19}X_{B20}TVSS(配列番号178)**

(配列中、

X_{B 1} は、例えば V もしくは Q であってよく、
 X_{B 2} は、例えば G もしくは V であってよく、
 X_{B 3} 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_{B 4} は、例えば K もしくは V であってよく、
 X_{B 5} 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_{B 6} は、例えば K もしくは T であってよく、
 X_{B 7} 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_{B 8} 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_{B 9} は、例えば A もしくは T であってよく、
 X_{B 10} は、例えば G もしくは V であってよく、
 X_{B 11} は、例えば Q もしくは H であってよく、
 X_{B 12} 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_{B 13} 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_{B 14} 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_{B 15} 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_{B 16} は、例えば T もしくは I であってよく、
 X_{B 17} 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_{B 18} 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_{B 19} は、例えば L もしくは T であってよく、

30

40

50

X_{b_2} 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な実施形態によれば、ヒト化 3D3 抗体は、下記式：
【化6】

EVQLX_{b1}QSX_{b2}AEX_{b3}X_{b4}X_{b5}PGASVX_{b6}X_{b7}SCKASGYIFTDYEIHVVX_{b8}QX_{b9}PX_{b10}
X_{b11}GLEWX_{b12}GVIDPETGNTAFNQKFKGX_{b13}X_{b14}TX_{b15}TADX_{b16}SX_{b17}STAYMELSSLTSE
DX_{b18}AVYYCMGYSDYWGGQGTX_{b19}X_{b20}TVSS (配列番号179)

10

(配列中、

X_{b_1} は、例えば V もしくは Q であってよく、
 X_{b_2} は、例えば G もしくは V であってよく、
 X_{b_3} は、例えば V もしくは L であってよく、
 X_{b_4} は、例えば K もしくは V であってよく、
 X_{b_5} は、例えば K もしくは R であってよく、
 X_{b_6} は、例えば K もしくは T であってよく、
 X_{b_7} は、例えば V もしくは L であってよく、
 X_{b_8} は、例えば R もしくは K であってよく、
 X_{b_9} は、例えば A もしくは T であってよく、
 $X_{b_{10}}$ は、例えば G もしくは V であってよく、
 $X_{b_{11}}$ は、例えば Q もしくは H であってよく、
 $X_{b_{12}}$ は、例えば M もしくは I であってよく、
 $X_{b_{13}}$ は、例えば R もしくは K であってよく、
 $X_{b_{14}}$ は、例えば V もしくは A であってよく、
 $X_{b_{15}}$ は、例えば I もしくは L であってよく、
 $X_{b_{16}}$ は、例えば T もしくは I であってよく、
 $X_{b_{17}}$ は、例えば T もしくは S であってよく、
 $X_{b_{18}}$ は、例えば T もしくは S であってよく、
 $X_{b_{19}}$ は、例えば L もしくは T であってよく、
 $X_{b_{20}}$ は、例えば V もしくは L であってよい)

20

の重鎖可変領域を含み得る。

【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】

DIVMXQSPSSXXASGXRVITCKASQDIHNFLNWFQQKPGKXPKTLIFRANRL
VDGVPSRFSGSGDXYXLTISLXXEDXXXSCLQYDEIPLTFGXGTLEXX (配列番
号180)

30

(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な実施形態によれば、ヒト化 3C4 抗体は、下記式：

40

【化8】

DIVMX_{c1}QSPSSX_{c2}X_{c3}ASX_{c4}GX_{c5}RVTITCKASQDIHNFLNWFQQKPGKX_{c6}PKT
 LIFRANRLVDGVPSRFSGSNSGX_{c7}DYX_{c8}LTISSLX_{c9}X_{c10}EDX_{c11}X_{c12}X_{c13}YSCLQYDEIP
 LTFGX_{c14}GTKLEX_{c15}X_{c16}(配列番号181)

(配列中、

X_{c1}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_{c2}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、

X_{c3}は、例えばSもしくはYであってよく、

X_{c4}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Lであってよく、

X_{c5}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_{c6}は、例えばAもしくはSであってよく、

X_{c7}は、例えばTもしくはQであってよく、

X_{c8}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_{c9}は、例えばQもしくはEであってよく、

X_{c10}は、例えばPもしくはFであってよく、

X_{c11}は、例えばFもしくはLであってよく、

X_{c12}は、例えばAもしくはGであってよく、

X_{c13}は、例えばTもしくはIであってよく、

X_{c14}は、例えばQもしくはAであってよく、

X_{c15}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_{c16}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_{c1}QSPSSX_{c2}X_{c3}ASX_{c4}GX_{c5}RVTITCKASQDIHNFLNWFQQKPGKX_{c6}PKTLI
 FRANRLVDGVPSRFSGSNSGX_{c7}DYX_{c8}LTISSLX_{c9}X_{c10}EDX_{c11}X_{c12}X_{c13}YSCLQYDEIPLTF
 GX_{c14}GTKLEX_{c15}X_{c16}(配列番号182)

(配列中、

X_{c1}は、例えばTもしくはSであってよく、

X_{c2}は、例えばLもしくはMであってよく、

X_{c3}は、例えばSもしくはYであってよく、

X_{c4}は、例えばVもしくLであってよく、

X_{c5}は、例えばDもしくはEであってよく、

X_{c6}は、例えばAもしくはSであってよく、

X_{c7}は、例えばTもしくはQであってよく、

X_{c8}は、例えばTもしくはSであってよく、

X_{c9}は、例えばQもしくはEであってよく、

X_{c10}は、例えばPもしくはFであってよく、

X_{c11}は、例えばFもしくはLであってよく、

X_{c12}は、例えばAもしくはGであってよく、

X_{c13}は、例えばTもしくはIであってよく、

X_{c14}は、例えばQもしくはAであってよく、

X_{c15}は、例えばIもしくはLであってよく、

30

40

50

X_{c16} は、例えば K もしくは R であってよい)
の重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 3C4 抗体は、下記式：
【化 10】

EVQLQESGPX_{D1}LVKPSQX_{D2}LSLTCTVX_{D3}GFSITSGYGWHWIRQX_{D4}PGX_{D5}X_{D6}L
YDGHNDYNPSLKSXXXIXQDTSKNQFXLXLXSVTXXDTAXYYCASSYDGLFAYWGQG
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 3C4 抗体は、下記式：
【化 11】

EVQLQESGPX_{D1}LVKPSQX_{D2}LSLTCTVX_{D3}GFSITSGYGWHWIRQX_{D4}PGX_{D5}X_{D6}L
EWX_{D7}GYINYDGHNDYNPSLKSRX_{D8}X_{D9}IX_{D10}QDTSKNQFX_{D11}LX_{D12}LX_{D13}SVTX_{D14}X_{D15}D
TAX_{D16}YYCASSYDGLFAYWGQGTLVTVSX_{D17} (配列番号184)

20

(配列中、

X_{D1} は、例えば G もしくは D であってよく、

X_{D2} 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_{D3} 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_{D4} は、例えば H もしく F であってよく、

X_{D5} は、例えば K もしくは N であってよく、

X_{D6} は、例えば G もしくは K であってよく、

30

X_{D7} 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_{D8} 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_{D9} 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_{D10} 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_{D11} 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_{D12} 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_{D13} は、例えば S もしくは N であってよく、

40

X_{D14} は、例えば A もしくは T であってよく、

X_{D15} は、例えば A もしくは E であってよく、

X_{D16} は、例えば V もしくは T であってよく、

X_{D17} 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 3C4 抗体は、下記式：

【化12】

EVQLQESGPX_{d1}LVKPSQX_{d2}LSLTCTVX_{d3}**GFSITSGYGWHWIRQX_{d4}PGX_{d5}X_{d6}LE**
 WX_{d7}GYINYDGHNDYNPSLKSRX_{d8}X_{d9}IX_{d10}QDTSKNQFX_{d11}LX_{d12}LX_{d13}SVTX_{d14}X_{d15}DTAX
 d₁₆YYCASSYDGLFAYWGQQGTLVTVSX_{d17}(配列番号185)

(配列中、

X_{d1}は、例えばGもしくはDであってよく、
 X_{d2}は、例えばTもしくはSであってよく、
 X_{d3}は、例えばSもしくはTであってよく、
 X_{d4}は、例えばHもしくFであってよく、
 X_{d5}は、例えばKもしくはNであってよく、
 X_{d6}は、例えばGもしくはKであってよく、
 X_{d7}は、例えばIもしくはMであってよく、
 X_{d8}は、例えばVもしくはIであってよく、
 X_{d9}は、例えばTもしくはSであってよく、
 X_{d10}は、例えばSもしくはTであってよく、
 X_{d11}は、例えばSもしくはFであってよく、
 X_{d12}は、例えばKもしくはQであってよく、
 X_{d13}は、例えばSもしくはNであってよく、
 X_{d14}は、例えばAもしくはTであってよく、
 X_{d15}は、例えばAもしくはEであってよく、
 X_{d16}は、例えばVもしくはTであってよく、
 X_{d17}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；4～2
 5、4～24、4～23、4～22、4～21、4～20、4～19；4～18；4～1
 7；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；4～1
 7；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

【0269】

本発明のさらにまた具体的な実施形態では、配列番号46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、1～23のアミノ酸置換であってよい。

【0270】

本発明の一実施形態によれば、1～20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。

【0271】

本発明の一実施形態によれば、1～20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。

【0272】

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16または配列番号24と比べて20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18または配列番号26と比べて20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48と比べて25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46と比べて25以下のアミノ酸置換を有する重鎖可変領域を含み得る。

10

【0273】

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25以下、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、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、25以下、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、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。

20

【0274】

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。例示的実施形態では、アミノ酸置換は保存的であってよい。

【0275】

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16、配列番号18、配列番号189、配列番号190、配列番号194、配列番号195、配列番号196、配列番号197、配列番号24および/または配列番号26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。

30

【0276】

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実施形態は、例えば、配列番号186、配列番号187、配列番号188、配列番号189または配列番号190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。

【0277】

40

本明細書において、「配列番号186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、または少なくとも112個の連続したアミノ酸」という用語も含まれる。「配列番号186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186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186の3つのCDRを含む配列、例えば、配列番号186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。

【0278】

本明細書において、「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

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、
10

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。
20

【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。
30

【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。
40

【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。
40

【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実施形態は、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
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

【0304】

「配列番号 179 の少なくとも 90 個の連続したアミノ酸」または「配列番号 169 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。

【0305】

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 169 に示す重鎖可変領域を有していてもよい。

【0306】

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 174 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 177、配列番号 178、配列番号 179 または配列番号 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、

g) 配列番号 175 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 177、配列番号 178、配列番号 179 または配列番号 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、

h) 配列番号 176 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 177、配列番号 178、配列番号 179 または配列番号 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、

i) 配列番号 168 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 177、配列番号 178、配列番号 179 または配列番号 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。

【0307】

本発明のより具体的な実施形態によれば、軽鎖可変領域は、配列番号 168 の少なくとも 90 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 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んでよい。

【0308】

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 168 に示す通
りであってよく、また重鎖可変領域は、配列番号 169 に示す通りであってよい。

【0309】

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実施形態は、配列番号
180、181、182 または 172 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軽鎖可変領域を含み得るものである。

【0310】

本明細書において、「配列番号 180 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 または少なくとも 107 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 180 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 180 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 180 の 3 つの CDR を含む配列、例えば、配列番号 180 のアミノ酸 6 ~ 102、11 ~ 106、1 ~ 106、3 ~ 95、5 ~ 95 等々を含む配列を包含する。

【0311】

本明細書において、「配列番号 181 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 または少なくとも 107 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 181 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 181 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 181 の 3 つの CDR を含む配列、例えば、配列番号 181 のアミノ酸 9 ~ 106、10 ~ 101、1 ~ 98、3 ~ 99、7 ~ 107 等々を含む配列を包含する。

10

20

30

40

50

【 0 3 1 2 】

「配列番号 182 の少なくとも 90 個の連続したアミノ酸」または「配列番号 172 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。

【 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 172 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 183、184、185 または 173 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）。

10

【 0 3 1 5 】

本明細書において、「配列番号 183 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 183 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 183 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 183 の 3 つの CDR を含む配列、例えば、配列番号 183 のアミノ酸 6 ~ 111、1 ~ 106、2 ~ 104、5 ~ 106、10 ~ 107 等々を含む配列を包含する。

20

【 0 3 1 6 】

本明細書において、「配列番号 185 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 185 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 185 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 185 の 3 つの CDR を含む配列、例えば、配列番号 185 のアミノ酸 3 ~ 107、1 ~ 115、1 ~ 110、22 ~ 116、20 ~ 115 等々を含む配列を包含する。

30

【 0 3 1 7 】

「配列番号 184 の少なくとも 90 個の連続したアミノ酸」または「配列番号 173 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。

【 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 173 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 180 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 183、配列番号 184、配列番号 185、または配列番号 173 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、

40

b) 配列番号 181 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 183、配列番号 184、配列番号 185、または配列番号 173 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 182 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 183、配列番号 184、配列番号 185、または配列番号 173 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 172 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 183、配列番号 184、配列番号 185、または配列番号 173 のいずれかの

50

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】

例示的実施形態において、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】

別の例示的実施形態によれば、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')₂ であってもよい。

【0325】

細胞における抗体の產生

20

本明細書において開示されている抗 K A A G 1 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】

本発明の例示的実施形態において抗 K A A G 1 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、H G P R T 発現が欠失した骨髄腫細胞、ならびにヒポキサンチン、アミノブ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実施形態において、抗 K A A G 1 抗体は、組み換え DNA 方法によって生成され得る。 30

【0328】

抗 K A A G 1 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。これらのこととして、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ク 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；バクロ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含まれるが、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】

10

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包含する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)、および蛍光性活性化細胞選別(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。

20

【0332】

30

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】

40

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変更できる。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、グリコシリ化パターンの改変、コ

50

ドン優先度の変更、スプライス変異体の產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、およびアシリ化が挙げられる。例証的実施形態においては、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スクレオチド配列を含み得るポリス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できることも、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产生できる。
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】

「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 NHS 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、¹²⁵I、In¹¹¹、Tc⁹⁹、I¹³¹、PET スキャナー用の陽電子放出アイソトープなどを含む）、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、ホースラディウム⁵⁰

シュペルオキシダーゼ、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あつ/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実施形態において、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】

例証的実施形態において、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、Lu¹⁷⁷)、ビスマス(例えば、Bi²¹³)、銅(例えば、Cu⁶⁷)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、0.001nM~150nM、0.001nM~100nM、0.001nM~50nM、0.001nM~20nMまたは0.001nM~10nM(両端の値を含む)の範囲のIC₅₀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。10 20

【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30

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 F 68、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、チメロサール、ベンジルアルコール、パラベン)、增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)中の配合物が含まれる。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、本発明に含まれている。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。

【0348】

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、例えり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。

【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ED₅₀(母集団の50%において治療上有効な用量)およびLD₅₀(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。

【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】

10

20

30

40

50

使用方法

本開示の目的ための用語「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。10

【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。20

【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。30

【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3 0 ~ 8 4（両端を含む）の間（例えば、アミノ酸3 6 ~ 6 0（両端を含む）の間またはアミノ酸6 1 ~ 8 4（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。40

【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】

10

20

30

40

50

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（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。

【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。

10

【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。

20

【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）、D N A 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。

30

【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。

40

【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

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-）KAG1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单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。癌の診断癌の診断は、癌を有するかもしくは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、KAG1またはKAG1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-）KAG1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、KAG1もしくはKAG1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KAG1発現細胞またはKAG1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実施形態は、KAG1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実施形態は、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KAG1もしくはKAG1変異体に結合するものである。40

【0379】

本発明の別の形態は、KAG1（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KAG1変異体、またはKAG1もしくはKAG1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、KAG1もしくはKAG1変異体を発現する細胞、またはKAG1もしくはKAG1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(血中に循環する)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、物理的変化が起こる。

【0383】

そのような変化は、例えば、電気泳動の後に、ウエスタンプロット、およびゲルまたはプロットの着色、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実施形態としては、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

お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実施形態は、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 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、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 C D R L 3 配列

を含む軽鎖可変領域をコードする核酸を含む。

【0395】

本発明によれば、核酸は、C D R L 1、C D R L 2 または C D R L 3 の少なくとも 2 つの C D R を含み得る軽鎖可変領域をコードし得る。 20

【0396】

また、本発明によれば、核酸は、1 つの C D R L 1 と、1 つの C D R L 2 と、1 つの C D R L 3 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 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、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 C D R H 3 配列

を含む重鎖可変領域をコードする核酸にも関する。

【0398】

本発明によれば、核酸は、C D R H 1、C D R H 2 または C D R H 3 からなる少なくとも 2 つの C D R を含み得る重鎖可変領域をコードし得る。 30

【0399】

本発明によれば、核酸は、1 つの C D R H 1 と、1 つの C D R H 2 と、1 つの C D R H 3 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 C D R 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

10

20

30

40

50

D R に含まれる C D R をコードし得る。

【 0 4 0 3 】

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。

【 0 4 0 4 】

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。

【 0 4 0 5 】

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

【 0 4 0 6 】

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。

【 0 4 0 7 】

本発明の他の形態は、配列番号 1 6 、配列番号 2 0 、配列番号 2 4 、配列番号 1 0 3 、配列番号 1 0 4 、配列番号 1 0 5 、配列番号 1 0 6 、配列番号 1 0 7 、配列番号 1 0 8 、配列番号 1 0 9 、配列番号 1 1 0 、配列番号 1 1 1 、配列番号 1 1 2 、配列番号 1 1 3 、配列番号 1 1 4 、配列番号 1 1 5 、配列番号 1 1 6 、配列番号 1 1 7 、配列番号 1 1 8 、配列番号 1 1 9 、配列番号 1 2 0 、配列番号 1 2 1 、配列番号 1 2 2 、配列番号 1 2 3 、配列番号 1 2 4 および配列番号 1 2 5 からなる群から選択される配列と少なくとも 7 0 % 20 、 7 5 % 、 8 0 % 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。

【 0 4 0 8 】

本発明の他の形態は、配列番号 1 8 、配列番号 2 2 、配列番号 2 6 、配列番号 1 2 6 、配列番号 1 2 7 、配列番号 1 2 8 、配列番号 1 2 9 、配列番号 1 3 0 、配列番号 1 3 1 、配列番号 1 3 2 、配列番号 1 3 3 、配列番号 1 3 4 、配列番号 1 3 5 、配列番号 1 3 6 、配列番号 1 3 7 、配列番号 1 3 8 、配列番号 1 3 9 、配列番号 1 4 0 、配列番号 1 4 1 、配列番号 1 4 2 、配列番号 1 4 3 、配列番号 1 4 4 、配列番号 1 4 5 、配列番号 1 4 6 および配列番号 1 4 7 からなる群から選択される配列と少なくとも 7 0 % 、 7 5 % 、 8 0 % 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。 30

【 0 4 0 9 】

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。

【 0 4 1 0 】

本発明によれば、ベクターは発現ベクターであり得る。

【 0 4 1 1 】

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

【 0 4 1 2 】

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。

【 0 4 1 3 】

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。

【 0 4 1 4 】

10

40

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。 10

【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、F ab を完全 Ig G 1 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】

F ab モノクローナルと K A A G 1 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、F ab 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、F ab 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 Ig G 1 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) F ab 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。 20

【0421】

軽鎖発現ベクター - 293 E - 過性トランスフェクション系において使用されるよう 30 に設計された、p T T V H 8 G (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 c D N A 配列を、プライマー O G S 1 7 7 3 および O G S 1 7 7 4 (それぞれ配列番号 5 5 および 5 6) を使用して P C R 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 5 7 および 5 8 に示す。結果として得られる 3 2 1 塩基対 P C R 産物を、ヒト V E G F A (N M _ 0 0 3 3 7 6) のシグナルペプチド配列のすぐ下流の p T T V H 8 G 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 c D N A 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。p T T V K 1 と呼ばれる最終発現プラスミドの配列を配列番号 5 9 に示す。表 2 に開示する配列に基づいて、その 5' 末端で、V E G F A シグナルペプチドの最後の 2 0 塩基対と同一の配列を組み入れた、抗体 3 D 3 、 3 G 1 0 、 3 C 4 40 および 3 A 4 (それぞれ、配列番号 1 5 、 1 9 、 2 3 および 4 7) の軽鎖可変領域に特異的な P C R 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 6 0 、 6 1 、 6 2 および 2 1 3 に示す。3' 最末端が同一であったため、3 D 3 、 3 G 1 0 および 3 C 4 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 6 3) は、その 3' 末端で、ヒトカッパ定常ドメインの最初の 2 0 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 2 1 4 を用いて、3 A 4 軽鎖可変領域を増幅した。P C R フラグメントおよび消化された p T T V K 1 の両方を T 4 D N 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、pTTVK 1 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 ライブリに含まれるすべての抗 K A A G 1 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產生した発現ベクターを、軽鎖免疫グロブリンの產生について前述した pTTVK 1 と同様の方法で設計した。ヒト Ig GK 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 OGS1 769 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。IgGK 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、IgGK 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 ライブリに含まれるすべての抗 K A A G 1 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。組織培養培地内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 K A A G 1 抗体 (モノクローナル、キメラもしくはヒト化) が組換え Fc - K A A G 1 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 PCT/CA2009/001586 明細書、PCT/CA2010/001795 明細書およびPCT/CA2012/000296 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。

【0426】

3 A 4 抗体軽鎖可変領域のヒト化は、100%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11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、100%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23の突然変異を含んだ。これらの100%ヒト化可変領域配列は、それぞれ Lv h 1 および Hv h 1 と名付けた（配列番号 189 および 194）。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、Lv h 2、Hv h 2、Hv h 3 および Hv h 4 と名付けた（配列番号 190、195、196 および 197）。

【0427】

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 Lv h 1（配列番号 199）および Lv h 2（配列番号 200）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 Hv h 1（配列番号 202）、Hv h 2（配列番号 203）、Hv h 3（配列番号 204）および Hv h 4（配列番号 205）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（Lv h 1 Hv h 1、Lv h 1 Hv h 2、Lv h 1 Hv h 3、Lv h 1 Hv h 4、Lv h 2 Hv h 1、Lv h 2 Hv h 2、Lv h 2 Hv h 3、および Lv h 2 Hv h 4）にアセンブルすることができる。

【0428】

3 A 4 軽鎖ヒト化配列 Lv h 2（配列番号 190）の場合、マウス配列由来のフレームワーク残基 V a 1 - 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、CDR - L 1 および CDR - 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 Hv h 2（配列番号 195）の場合、マウス配列からのフレームワーク残基 I 1 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、CDR - H 1 および CDR - 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 CDR - 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 Hv h 3（配列番号 196）の場合、これらマウス配列由来のフレームワーク残基 I 1 e - H 4 8、A 1 a - H 6 7、L e u - H 6 9 および V a 1 - H 7 1 に加えて、I 1 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、CDR - 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 Hv h 4（配列番号 197）の場合、Hv 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、CDR - 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1a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1bに示す。

【0429】

図2aおよび図2bはそれぞれ、ネズミ軽鎖可変領域を100%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100%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、および置換用に選択され

10

20

30

40

50

たアミノ酸を図示したものである。

【0430】

実施例3

3 A 4 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、3 A 4 抗 K A A G 1 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 K A A G 1 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、B i o R a d 社製の P r o t e O n X P R 3 6 計器を使用して動態分析方法を策定した。ヒト K A A G 1 をセンサーチップ上に固定した。全長抗体または F a b フラグメントを注入し、固定された K A A G 1 と相互作用させた。10

【0431】

3 A 4 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 P C R 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 2 0 6 でコードされた 5' オリゴ、および配列番号 2 0 7；軽鎖でコードされた 3' オリゴ、配列番号 2 0 8 でコードされた 5' オリゴ、および配列番号 2 0 9 でコードされた 3' オリゴ。結果として得られた P C R 産物を H i n d I I I で消化し、H i n d I I I で先に消化しておいた p K - C R 5 (配列番号 2 1 0) にクローンした。20

【0432】

ヒト化重鎖 3 A 4 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 3 A 4 (H h 1 、 H h 2 、 H h 3 および H h 4) のヒト化重鎖領域をコードするフラグメントは、G e n S c r i p t (P i s c a t a w a y , U S A) から注文されたものである。K o z a k 配列および終止コドン配列を含んだ D N A フラグメントを H i n d I I I で消化し、仔ウシの腸ホスファターゼ(N E B)で先に脱リン酸化しておいたプラスミド p K - C R 5 の H i n d I I I 部位にクローンして、再環状化を防いだ。図 3 a に、プラスミド p K - C R 5 - 3 A 4 - H C - 変異体 1 のマップを示す。ヒト化 3 A 4 の全ての重鎖変異体を同様な方法で構築した。20

【0433】

ヒト化軽鎖 3 A 4 変異体 1 および 2 をコードするプラスミドの構築

抗体 3 A 4 (L h 1 および L h 2) ヒト軽鎖領域をコードするフラグメントは、G e n S c r i p t から注文されたものである。K o z a k 配列および終止コドン配列を含んだ D N A フラグメントを B a m H I で消化し、仔ウシの腸ホスファターゼ(N E B)で先に脱リン酸化しておいたプラスミド p M P G - C R 5 (配列番号 2 1 1) の B a m H I 部位にクローンして、再環状化を防いだ。図 3 b に、プラスミド p M P G - C R 5 - 3 A 4 - L C - 変異体 1 のマップを示す。ヒト化 3 A 4 の全ての軽鎖変異体を同様の方法で構築した。30

【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、M i n i - P r e p キット(Q i a g e n I n c , M i s s i s s a u g a , O N) を使用して、プラスミド D N A を大腸菌(E . c o l i) 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、單一コロニーを選択して、アンピシリン 1 0 0 μ g / m L 含有の L B 培地 2 m l を接種した。培養物を激しく(2 5 0 R P M で) 振盪して 3 7 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 m l の培養物からプラスミドを単離した。滅菌水 5 0 μ L を使用して D N A を溶出させた。メーカーの推奨事項に従い、P l a s m i d P l u s M a x i K i t (Q i a g e n I n c , M i s s i s s a u g a , O N) を使用して、大腸菌(E . c o l i) の大培養物からプラスミド D N A を単離した。アンピシリン 1 0 0 μ g / m L を含有する L B 培養物 2 0 0 m L を新鮮な單一の大腸菌(E . c o l i) コロニーと共に播種し4050

、激しく(250 RPMで)振盪して37にて一晩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、バッファー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(pH 8)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(pH 8)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 4.0×10^6 細胞/m²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10μg/mLおよびポリエチレンイミン50μg/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1μg/mLで、PEIが5μg/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50μg/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せて、0.22μM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(CHOcTA)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(Ultacel 1-50k)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(550μl)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(Ultracel-10K)カセットを使用して、2500rpmにて濃縮して最終体積250μlにした。Nanodrop分光光度計を使用して、精製された抗体をOD₂₈₀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当量のLaemmeli 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、既知量のヒト骨髓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Novex 10%トリス-グリシングル(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'Urfe, QC)上に275mAで1時間転移させた。膜を0.15%Tween 20、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】

10

20

20

30

40

40

50

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

G L M センサーチップ、B i o r a d P r o t e O n アミンカップリングキット (E D C 、 s N H S 、 およびエタノールアミン) 、ならびに 1 0 m M ナトリウム酢酸塩バッファーは B i o - R a d L a b o r a t o r i e s (M i s s i s s a u g a , O N) から購入された。 H E P E S バッファー、 E D T A 、 および N a C l は S i g m a - A l d r i c h (O a k v i l l e , O N) から購入された。 1 0 % の T w e e n 2 0 溶液は T e k n o v a (H o l l i s t e r , C A) から購入された。 ヤギ抗ヒト I g G の F c フラグメント特異的抗体は J a c k s o n I m m u n o R e s e a r c h から購入された。 ゲル濾過カラム S u p e r d e x 7 5 1 0 / 3 0 0 G L は G E H e a l t h c a r e から購入された。
10

【 0 4 3 9 】

ゲル濾過

濃度 3 . 1 1 4 m g / m l の K A A G 1 タンパク質 (容量 2 2 0 μ L) を S u p e r d e x 7 5 カラムに注入した。 T w e e n 2 0 を含まない H B S T 泳動用バッファー (下記参照) 中で 0 . 4 m l / m i n にて分離を行った。 収集された画分の容量は 5 0 0 μ L であった。 拡張係数を 5 5 0 0 とし、 M W を 8 9 6 9 として、 各画分における K A A G 1 の濃度を O D _{2 8 0} 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 (p o t e n t i a l a g g r e g a t e) の小ピークは、 1 1 m l 付近で溶出している。 S P R アッセイ用の検体として使用されたタンパク質は、 1 3 m l で溶出したタンパク質 (画分 1 5 ~ 1 9) であった。
20

【 0 4 4 0 】

S P R 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、 B i o R a d P r o t e O n X P R 3 6 計器 (B i o - R a d L a b o r a t o r i e s L t d . (M i s s i s s a u g a , O N)) を使用し、 H B S T 泳動用バッファー (1 0 m M の H E P E S 、 1 5 0 m M の N a C l 、 3 . 4 m M の E D T A 、 および 0 . 0 5 % T w e e n 2 0 (p H 7 . 4)) で 2 5 の温度にて実施された。 標準 B i o R a d s N H S / E D C 溶液の 1 : 5 希釀物を検体 (水平) 方向へ 3 0 μ L / m i n にて 3 0 0 秒間注入することで活性化された G L M センサーチップを使用して、 抗マウス F c 捕捉表面を生成した。 活性化の直後に、 抗ヒト I g G の F c フラグメント特異的抗体の溶液 1 3 μ g / m L を 1 0 m M の N a O A c (p H 4 . 5) に溶かしたものを、 約 8 0 0 0 共鳴単位 (R U) が不動化されるまで、 検体方向へ 2 5 μ L / m i n 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 3 0 μ L / m i n で 3 0 0 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 (b l a n k r e f e r e n c i n g) 用のモック活性化インター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 I g G の F c 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ーを 1 0 0 μ L / m i n で 3 0 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 H B S T で 4 % に希釀するか、 または約 1 . 2 5 μ g / m L の精製 3 A 4 含有 H B S 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ネルに 2 5 μ L / m i n の流速で 2 4 0 秒間注入した。 この結果、 抗ヒト I g G の F c フラグメント特異的表面に約 4 0 0 ~ 7 0 0 R U の飽和 3 A 4 が捕捉された。 第 1 のリガンドチャネルは、 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 種類のバッファー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 . 6 6 、 0 . 8 9 、 0 . 2 9 、 および 0 . 0 9 8 n M) およびバッファー対照を同時に個々の検体チャネル内に 5 0 μ 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、バッファー参照(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100μL/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。バッファーのプランク注入およびインターチェンジスポットを使用して、センサーグラムをアラインし二重参照してから、結果として得られたセンサーグラムを、ProteOn Managerソフトウェアv3.0を使用して分析した。ローカルRmax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⁻¹/k_a M⁻¹s⁻¹)から親和性定数(K_D M)を導き出した。
10

【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、0.47nM)と10個のマウス残基が保持される最良の変異体(H4L2、0.1nM)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、0.1nM)が示した親和性はネズミ(LcHc、0.057nM)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。
20
30

【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晩コーティングし、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Ab₄₅₀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、0.016nM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、Lh2h4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。
40
50

【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KAAg1に対してヒト化3A4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3A4と効率的に結合したSKOV-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、SKOV-3細胞をEDTAでプレートから分離させ、氷上で3.0mg/ml、0.3mg/mlまたは0.1mg/ml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(FITCと結合した抗ヒトIgG)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、透過化処理された表面上のKAAg1が全ての変異体によって検出できた。最も強い信号は3A4抗体の最高濃度で(3mg/ml)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Lh1Hh4およびLh2Hh4を参照)は、細胞表面上のKAAg1と相互作用し、最も高い活性を呈している。実際、Lh1Hh4およびLh2Hh4は、ネズミ3A4抗体(LcHc)と比較して、KAAg1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。

【0444】

実施例7

10

この実施例では、TNBCにおけるKAAg1の発現を検出するための抗KAAg1抗体の使用を説明する。

20

【0445】

TNBC試料中にKAAg1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(1mM EDTA、pH 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H₂O₂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酸化物反応種を除去してから、スライドを無血清プロック溶液(Santa Cruz Biotech)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KAAg1 3A4)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-HRP三次抗体(tertiary antibody)と一緒にインキュベートすることにより、KAAg1反応性抗原を検出した。スライドをDAB-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、KAAg1タンパク質が非常に高いレベルで発現することがわかった。139の腫瘍を含む代表的アレイを図10に示す。特に、TNBC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、3A4抗体によりKAAg1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TNBCにおけるKAAg1を検出することの有用性を示している。

30

【0446】

実施例8

40

この実施例では、TNBC細胞系におけるKAAg1の発現を検出するための抗KAAg1抗体の使用を説明する。

【0447】

KAAg1をコードするcDNA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、KAAg1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 , Manassas , 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 mRNA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 mRNA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MDA - M B - 2 3 1、MDA - M B - 4 3 6、MDA - 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 EDTAを用いて細胞を回収し、血球計で計数した後、 2×10^6 細胞 / m lの細胞密度でF C Mバッファー（1 × PBS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 μ g / m lの最終濃度で1 0 0 μ 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 μ 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 μ 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 μ g / m lのヨウ化プロビ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。まちまちの蛍光量が観察されたが、K A A G 1の最大量は、MDA - 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 7 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 μ g/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/KAAG1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らしいことが判明した。

【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/KAAG1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/KAAG1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KAAG1キメラ抗体を含む新鮮な培地を10ug/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%Trition X-100で5分間透過化処理した。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KAAG1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KAAG1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 (例えは、 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 】

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、活性となり得る。

【 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 (データは示していない) 。

【 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事を確認した後、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 μ l の培地を含む 9 6 ウェルプレートに、 5 % C O ₂ 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。 C e l l T i t e r 9 6 A q u e o u s O n e S o l u t i o n (P romega , Madison , WI) 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。

【 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 】

10

20

30

40

50

本明細書において参照される配列

配列番号 1

【化 1 3】

GAGGGGCATCAATCACACCGAGAAGTCACAGCCCTCAACCACACTGAGGTGTGGGGGGTAGGGAT
 CTGCATTCTCATATCAACCCCACACTATAAGGCACCTAAATGGTGGCGGTGGGGAGACCG
 ACTCACTTGAGTTCTGAAGGCTTCCTGGCCTCCAGCCACGTAATTGCCCGCTCTGGATCTG
 GTCTAGCTTCCGGATTCGGTGGCCAGTCCGCGGGGTGTAGATGTTCTGACGGCCCCAAAGGGTG
 CCTGAACGCCGCCGGTACACCTCCTCAGGAAGACTCGAAGCTGGACACCTTCTCTCATGGATG
 ACGACGCCGCCGGTACACAAGCAGCTTACGACGGG
 CTGAGACAGGTGGCTGGACCTGGCGCTGCTGCCGCTCATCTTCCCCGCTGGCCGCCCTCAGCT
 CGCTGCTCGCGTGGGAGGCACCTCCGCTGTCCCAGCGGCCCTACCCGACCCAGGGCGGGAT
 CGCCTCTGAAACGAGAAACTGACGAATCCACAGGTGAAAGAGAAGTAACGGCGTGC
 TAGGCGTCCACCCAGAGGAGACACTAGGGAGCTTGCAAGGACTCGGAGTAGACGCTCAAGTTTCA
 CCGTGGCGTGCACAGCAATCAGGACCCGCACTGGCGCACCACACCAGGTTCACCTGCTACGGG
 CAGAATCAAGGTGGACAGCTCTGAGCAGGAGCCGGAAACGCGGGGCTTCAAACAGGCACGC
 CTAGTGAGGGCAGGAGAGAGGGACGCACACACACACACACAAATATGGTAAACCCAAT
 TTCTTACATCATATCTGTGCTACCCCTTCAAACAGCCTA

10

【0 4 5 9】

配列番号 2

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

20

【0 4 6 0】

配列番号 3

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 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 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 A A A T A G T A A C T T C A A A A G A A C 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 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 G C T G G A G C T G A A A G 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 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
 30

30

【0 4 6 1】

配列番号 4

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 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

40

【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 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 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 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 A T C T
 G T C T T T C C C C T G G 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 10
 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 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 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 G C C A C G A A G A C C C 20
 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 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 A T C G A G A 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 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 30
 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 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 G C C T C T C C C T G T C T
 C C C G G G A A A

【0463】

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 40
 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

【0464】

配列番号 7

GATGTTTGATGACCCAAACTCCACGCTCCCTGTCTGTCA
 GTCTTGGAGATCAAGCCTCCATCTCTTGTAGATCGAGTCA
 GAGCCTTTACATAGTAATGGAAACACCTATTAGAATGG
 TATTTGCAGAAACCAGGCCAGCCTCCAAAGGTCCCTGATCT
 ACAAAGTTCCAACCGATTTCCTGGGTCCCAGACAGGTT
 CAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACACTCAAGATC
 AGCGGAGTGGAGGGCTGAGGATCTGGGAGTTATTACTGCT
 TTCAAGGTTCACATGTTCTCTCACGTTCGGTGCTGGGAC
 CAAGCTGGAGCTGAAAGCTGTGGCTGCACCATCTGTCTTC
 ATCTTCCC GCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAC TG 10
 CCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGA
 GCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCG
 GGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGG
 ACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAA
 AGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAAGTC
 ACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCA
 ACAGGGGAGAGTGT

【0465】

配列番号8

DVLMTQTPRSLSVSLGDQASISCRSSQSLLHSNGNTYLEW 20
 YLQKPGQPPKVLIFYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
 SGVEAEIDLGVYYCFQGSHVPLTFAGTKLELKAVAAPSVF
 IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS
 GNSQEESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV
 THQGLSSPVTKSFNRGE C

【0466】

配列番号9

GAGATCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGTTGGTGAAGC
 CTGGGGCTTCAGTGAAGATATCCTGTAAGGCTTCTGGATA
 CACCTTCACTGACAACATACATGAACCTGGTGAAGCAGAGC 30
 CATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGAGATATTAAATCCTT
 ACTATGGTACTACTACCTACAAACCAAGAAGTTCAAGGGCAA
 GCCACATTGACTGTAGACAAGTCCTCCCGCACAGCCTAC
 ATGGAGCTCGCGGGCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCT
 ATTACTGTGCAAGAGATGACTGGTTTGATTATTGGGCCA
 AGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCAGCCTCAACGAAGGGC
 CCATCTGTCTTCCCCCTGGCCCCCTCCTCCAAGAGCACCT
 CTGGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCCCTGGTCAAGGACTA
 CTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTGGAACCTCAGGGGCC
 CTGACCAAGCGGTGACACCTTCCGGCTGTCCTACAGT 40
 CCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCC
 CTCCAGCAGCTTGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTG
 AATCACAAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAAGAAAGTTG
 AGCCCCAAATCTTGTGAATTCACTCACACATGCCAACCGTG
 CCCAGCACCTGAACCTCCTGGGGGACCGTCAAGTCTTCCTC
 TTCCCCCAAAACCAAGGACACCCATGATCTCCCGGA
 CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGACGTGAGCCACGA
 AGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTG
 GAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGGCCGGGGAGGAGCAGT
 ACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCT 50

GCACCCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAG
 GTCTCCAACAAAGCCCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCA
 TCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACACAGGTGTA
 CACCCCTGCCCTCATCCCAGGGATGAGCTGACCAAGAACCA
 GTCAGCCTGACCTGCCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCG
 ACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAA
 CAACTACAAAGACCACGCCCTCCCCTGCTGGACTCCGACGGC
 TCCTTCTTCCCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCA
 GGTGGCAGCAGGGAACGTCCTCTCATGCTCCGTGATGCA
 TGAGGCTCTGCACAAACACTACACGCAGAAGAGCCTCTCC 10
 CTGTCTCCGGGAAA

【0467】

配列番号10

EIQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFDNYMNWVKQS
 HGKSLEWIGDINPYYGTTTYNQKFKGKATLTVDKSSRTAY
 MELRGGLTSEDSAVYYCARDDWFDYWGQGTLVTVSAASTKG
 PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYPFEPVTWSWNSGA
 LTSGVHTFPAPVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV
 NHKPSNTKVVDKKVEPKSCEFTHTCPPCPAPEELLGGPSVFL
 FPPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPFVFKFNWYVDGV 20
 EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK
 VSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ
 VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESENQOPENNYKTPPVLDSDG
 SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

【0468】

配列番号11

GACATCGTTATGTCCTCAGTCCTCCATCTTCCATGTATGCAT
 CTCTAGGAGAGAGAGTCACATACACTTGCAAGGGAGTCAG
 GGACATTCAATACTTTAAACTGGTCCAGCAGAAACCA 30
 GGAAAATCTCCAAAGACCCCTGATCTTCGTGCAAAACAGAT
 TGGTAGATGGGCTCCCATCAAGGTTCAAGCAGTGGCAGTGGATC
 TGGGCAAGATTATTCTCTCACCATCAGCAGCCTGGAGTT
 GAAGATTGGAAATTATTCTTGTCAGTATGATGAGA
 TTCCGCTCACGTTGGTGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAG
 AGCTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCGCCATCT
 GATGAGCAGTTGAAACTTGGAAACTGCCTCTGTTGTGCC
 TGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTG
 GAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCAGGTAACCTCCAGGAG
 AGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCC 40
 TCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAA
 ACACAAAGTCTACGCCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTG
 AGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGAGAGTGT

【0469】

配列番号12

DIVMSQSPSSMYASLGERVТИТCKASQDIHNFLNWFFQQKP
 GKSPKTLIFRANRLVDGVPSRFSGSGSGQDYSLTISSLEF
 EDLGIYSCLQYDEIPLTFGAGTKLELRAVAAPSVFIFPPS
 DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE 50
 SVTEQDSKDSTYSLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGL

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

【0470】

配列番号13

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 A T C T C T C 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 10
 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 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 T C C T C C A A G A
 G C A C C T C T 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 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 20
 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 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 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 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 30
 G G T G T A C A C C C T G C C C C A T C C C G G G A T G A G 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 C C T C 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

【0471】

配列番号14

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 40
 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 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 A A A T A G T A A C T T C A A A A G A A C 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 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 10
 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 G C T G A A A

【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 20
 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 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

【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

【0476】

配列番号19

G A T G 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 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 C T G G G G T C C C A G A C A G G T T 40
 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 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 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 G C T G A A A

【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

GAGATCCAGCTGCAGCAGTCAGTCTGGACCTGAGTTGGTGAAGC
 CTGGGGCTTCAGTGAAGATACTACATGAACTGGGTGAAGCAGAGC
 CACCTTCACTGACAACATACATGAACTGGGTGAAGCAGAGC
 CATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGAGATATTAATCCTT
 ACTATGGTACTACTACCTACAAACCAGAAGTTCAAGGGCAA
 GGCCACATTGACTGTAGACAAGTCCTCCCACAGCCTAC
 ATGGAGCTCCGGGCCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCT
 ATTACTGTGCAAGAGATGACTGGTTGATTATTGGGCCA
 AGGGACTCTGGTCACTGTCTTGCA

10

【0479】

配列番号 2 2

EIQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDNYMNWVKQS
 HGKSLEWIGDINPYYGTYYNQKFKGKATLTVDKSSRTAY
 MELRGLTSEDSAVYYCARDDWFDDYWGQGTLVTVSA

【0480】

配列番号 2 3

GACATCGTTATGTCAGTCAGTCTCCATCTTCCATGTATGCAT
 CTCTAGGAGAGAGAGTCACATATCAGTTGCAAGGGCAGTCA
 GGACATTCAATACTTTAAACTGGTTCCAGCAGAAACCA
 GGAAAATCTCCAAGACCCCTGATCTTCGTGCAAACAGAT
 TGGTAGATGGGTCCTCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATC
 TGGGCAAGATTATTCTCTCACCATCAGCAGCCTGGAGTT
 GAAGATTGGAAATTATTCTTGCTACAGTATGATGAGA
 TTCCGCTCACGTTGGTGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAG
 A

20

【0481】

配列番号 2 4

DIVMSQSPSSMYASLGERVТИTCKASQDIHNFLNWFFQQKP
 GKSPKTLIFRANRLVDGVPSRFSGSGSGDYSLTISSEF
 EDLGIYSCLQYDEIPLTFGAGTKLELR

30

【0482】

配列番号 2 5

GAGGTGCAGCTTCAAGGAGTCAGGACCTGACCTGGTGAAC
 CTTCTCAGTCACTTCACTCACCTGCACAGTGGCT
 CTCCATCACCAAGTGGTTATGGCTGGCAGTGGATCCGGCAG
 TTTCCAGGAAACAAACTGGAGTGGATGGCTACATAAAACT
 ACGATGGTCACAATGACTACAACCCATCTCTCAAAAGTCG
 AATCTCTATCACTCAAGACACATCCAAGAACAGTTCTTC
 CTGCAGTTGAATTCTGTGACTACTGAGGACACAGCCACAT
 ATTACTGTGCAAGCAGTTACGACGGCTTATTGCTTACTG
 GGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTTGCA

40

【0483】

配列番号 2 6

EVQLQEESGPDLVKPSQSLSLTCTVTGF SITSGYGHWIRQ
 FPGNKLEWMGYINYDGHNDYNPSLKSRI SITQDTSKNQFF
 LQLNSVTTEDTATYYCASSYDGLFAYWGQGTLVTVSA

【0484】

配列番号 2 7

KSSQSLLNNSNFQKNFLA

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

【0502】

配列番号45-3A4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 10
 A T T A C T G T G C A A G A G A C C C 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

【0503】

配列番号46-3A4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

【0504】

配列番号47-3A4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 20
 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

【0505】

配列番号48-3A4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

【0506】

配列番号49-3A4重鎖CDR1ポリペプチド配列

G Y T F T D D Y M S

【0507】

配列番号50-3A4重鎖CDR2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

【0508】

配列番号51-3A4重鎖CDR3ポリペプチド配列

D P G A M D Y

【0509】

配列番号52-3A4軽鎖CDR1ポリペプチド配列

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

【0510】

配列番号53-3A4軽鎖CDR2ポリペプチド配列

T V S N R F S

【0511】

配列番号54-3A4軽鎖CDR3ポリペプチド配列

50

30

40

50

F Q G S H V P L T

【0512】

配列番号55

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

【0513】

配列番号56

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

【0514】

配列番号57

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 10

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 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 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 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

【0515】

配列番号58

20

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

【0516】

配列番号59

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 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 30

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 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 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 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 40

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 A G G A

A A T T T A 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 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 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 50

CCTTATAAAATGGATGTGCACATTGCCAACACTGAGTGGC
 TTTCATCCTGGAGCGAGACTTTGCAGTCGTGGACTGCAAC
 ACAACATTGCCTTATGTGTAACCTCTGGCTGAAGCTCTT
 ACACCAATGCTGGGGACATGTACCTCCCAGGGGCCAGG
 AAGACTACGGGAGGGCTACACCAACGTCAATCAGAGGGGCC
 TGTGTAGCTACCGATAAGCGGACCCCTCAAGAGGGCATTAG
 CAATAGTGTAAAGGCCCCCTTGTAAACCCCTAAACGGG
 TAGCATATGCTCCCAGGTAGTAGTATATACTATCCAGAC
 TAACCCTAATTCAATAGCATATGTTACCCAACGGGAAGCA
 TATGCTATCGAATTAGGGTTAGTAAAAGGGTCTAAGGAA 10
 CAGCGATATCTCCCACCCATGAGCTGTCACGGTTTTATT
 TACATGGGTCAGGATTCCACGAGGGTAGTGAACCCATT
 AGTCACAAGGGCAGTGGCTGAAGATCAAGGAGCAGGAG
 GAACTCTCCTGAATCTCGCCTGCTTCTCATTCTCCTTC
 GTTAGCTAATAGAATAACTGCTGAGTTGTGAACAGTAAG
 GTGTATGTGAGGTGCTCGAAAAACAAGGTTTCAGGTGACGC
 CCCCAGAATAAAATTGGACGGGGTTCAAGTGGTGGCAT
 TGTGCTATGACACCAATATAACCCCTCACAAACCCCTGGG
 CAATAAAATACTAGTGTAGGAATGAAACATTCTGAATATCT
 TTAACAATAGAAATCCATGGGGTGGGACAAGCCGTAAG 20
 ACTGGATGTCCATCTCACACGAATTATGGCTATGGCAA
 CACATAATCCTAGTGCAATATGATACTGGGTTATTAGA
 TGTGTCAGGCAAGGACCAAGACAGGTGAACCATGTTGT
 TACACTCTATTGTAACAAGGGAAAGAGAGGTGGACGCC
 ACAGCAGGGACTCCACTGGTTGTCTAACACCCCCGAA
 ATTAAACGGGCTCACGCCAATGGGCCATAAACAAA
 GACAAGTGGCCACTCTTTTTGAAATTGTGGAGTGGGG
 GCACGCGTCAGCCCCACACGCCCTGCGGTTGGAC
 TGTAATAAGGGTAGTAATAACTTGGCTGATTGTAACCCC
 GCTAACCACTGCGGTCAAACCACTTGGCCACAAACACT 30
 ATGGCACCCGGGAATACCTGCATAAGTAGGTGGCGGG
 GCCAAGATAAGGGCGCGATTGCTGCGATCTGGAGGACAA
 TTACACACACTTGCCTGAGCGCCAAGGCACAGGGTTGTT
 GGTCCATATTGAGGTGCTGAGAGCAGGGTGGGCT
 AATGTTGCCATGGGTAGCATATACTACCCAAATATCTGGA
 TAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGTAGCATAGGC
 TATCCTAATCTATATCTGGTAGCATATGCTATCCTAATC
 TATATCTGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGG
 TAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGTAGCATATGC
 TATCCTAATCTATATCTGGTAGTATATGCTATCCTAATC 40
 TGTATCCGGTAGCATATGCTATCCTAATAGAGATTAGGG
 TAGTATATGCTATCCTAATTATATCTGGTAGCATATAAC
 TACCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCCTAATCTATA
 TCTGGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGTAGC
 ATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGTAGCATATGCTATC
 CTAATCTATATCTGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATA
 TCTGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGTAGC
 ATATGCTATCCTAATCTATATCTGGTAGTATATGCTATC
 CTAATCTGTATCCGGTAGCATATGCTATCCTCACGATGA
 TAAGCTGTCAAACATGAGAATTAAATTCTTGAAGACGAAAG 50

GGCCTCGT GATA CGCC TATTTT ATAGGTT AATGTC ATGA
TAATAATGGTTCTTAGACGT CAGGTGGCAC TTTT CGGGG
AAATGTGCGCGGAACCCCTATTGTT ATT TCTAAATA
CATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCCTGAT
AAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTAT
TCAACATTTCCGTGTCGCCCTATTCCCTTTTGCGGCA
TTTGCCCTTCTGTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGA
AAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGG
TTACATCGA ACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAG
AGTTTCGCCCGAAGAACGTTTCCAATGATGAGCACTT 10
TTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCC GTGTTGA
CGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTGCGCCGATACACTATTCT
CAGAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAAGTCACAGAAAAGC
ATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGC
TGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTT
CTGACAAACGATCGGAGGACCGAAGGGAGCTAACCGCTTTT
TGCACAAACATGGGGGATCATGTAACTCGCCTTGATCGTTG
GGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGT
GACACCACGATGCCCTGCAGCAATGGCAACAAACGTTGCGCA
AACTATTAACTGGCGA ACTACTTACTCTAGCTTCCGGCA 20
ACAATTAATAGACTGGATGGAGGGGGATAAAAGTTGCAGGA
CCACTTCTGCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTATTG
CTGATAAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGCTCGCGGTAT
CATTGCAGCACTGGGCCAGATGGTAAGGCCCTCCGTATC
GTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATG
AACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGAT
TAAGCATTGTAACTGTCAGACCAAGTTACTCATATATA
CTTAGGATTGATTAAAACCTCATTTTAATTAAAAGGA
TCTAGGTGAAGATCCTTTGATAATCTCATGACCAAAAT 30
CCCTTAACGTGAGTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCC
GTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTC
TGC GCGTAATCTGCTGCTTGCAAAACAAAAACCAACCGCT
ACCAGCGGTGGTTGTTGCCGGATCAAGAGAGCTACCAACT
CTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATAAC
CAAATACTGTCCTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCA
CTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTG
CTAATCCTGTTACCAAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGT
CGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGA
TAAGGGCGAGCGGTGCGGCTGAACGGGGGTTCGTGCACA
CAGCCAGCTGGAGCGAACGACCTACACCGAAC TGAGAT 40
ACCTACAGCGTGAGCATTGAGAAAGCGCCACGCTTCCGA
AGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTC
GGAACAGGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACG
CCTGGTATCTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCTCTG
ACTTGAGCGTCGATTGGATGCTCGTCAGGGGGCGGG
AGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCCTTTTACGGT
TCCCTGGCCTTTGCTGGCCTTTGCTCACATGTTCTTCC
TGC GTTATCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCC
TTTGAGTGAGCTGATACCGCTGCCCGCAGCCGAACGACCG
AGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCC 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 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 G A C A G C T T A T C A T C G C A G A T 10
 C C G G G C A A C G T T G T G C A T T G C A 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 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 20
 G G G T G G A G T A 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 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 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 A G C A G A G C T C G T T T A G T G A A C C G 30
 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 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 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 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 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

【0517】

配列番号 60

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

【0518】

配列番号 61

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

【0519】

配列番号 62

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

30

40

50

【0520】

配列番号63

GGGAAGAGATGAAGACAGATGGTGCAGCCACAGC

【0521】

配列番号64

GTAAGCGCTAGCGCCCTCAACGAAGGGCCCATCTGTCTTTCC
CCCTGGCCCC

【0522】

配列番号65

GTAAGCGAATTACAAGATTTGGGCTCAACTTCTTG

10

【0523】

配列番号66

GCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCC
CCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCAGCCCTGGGCTG
CCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTG
TGGAACTCAGGCGCCCTGACCAAGCAGGGCTGACACAC
CGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAG
CGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACC
TACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGG
TGGACAAAGAAAGTTGAGCCCCAAATCTTGT

20

【0524】

配列番号67

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQT
YICNVNHKPSNTKVVDKKVEPKSC

【0525】

配列番号68

CTTGAGCCGGCGGATGGTCGAGGTGAGGTGTTGGCAGGGCTT
GAGATCCAGCTGTTGGGTGAGTACTCCCTCTCAAAAGCG
GGCATTACTCTGCGCTAACGATTGTCAGTTCCA
AGGAGGATTGATATTCACCTGGCCGATCTGGCCATACA
CTTGAGTGACAATGACATCCACTTTGCCTTCTCTCCACA
GGTGTCCACTCCCAGGTCCAAGTTGCGCCACCATGGAG
ACAGACACACTCCTGCTATGGGTACTGCTGCTCTGGTT
CAGGTTCCACTGGCGGGAGACGGAGCTTACGGGCCATCTG
TCTTCCCCCTGGCCCCCTCCCTCCAAGAGACCTCTGGGG
CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCC
GAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGGGCCCTGACCA
GC GGCGTGCACACCTTCCCCTGGCTGTCCTACAGTCCTCAGG
ACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGC
AGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACA
AGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGGCCAA
ATCTTGTGAATTCACTCACACATGCCACCGTGCCTCCAGCA
CCTGAACTCCTGGGGGACCGTCAAGTCTTCCCTTCCCC
CAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCAGGCCCTGA
GGTCACATGCGTGGTGGTGAGCGTGCAGGCCACGAAGACCC
GAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGC
ATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAG
CACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCTGCACCAAG
GACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCA

30

40

50

A C A A A G C C C T C C C A G 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 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 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 T G A T 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 10
 G G A A A T T T A T T T C A T T G C A A T A G T G T G T G G A A 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 A A C C C T A A A C G G G T A G C A T A T G C T
 T C C C G G G T A G T A G T A T A T A C T A T C C A G A C T A A C C C T A A T T
 C A A T A G C A T A T G T T A C C C A A C G G G A A G C A T A T G C T A T C G A
 A T T A G G G T T A G T A A A A G G G T C C T A A G G A A C A G C G A T G T A G
 G T G G G C G G G C C A A G A T A G G G G C G C G A T T G C T G C G A T C T G G 20
 A G G A C A A A T T A C A C A C A C T T G C G C C T G A G C G C C A A G C A C A
 G G G T T G T T G G T C C T C A T A T T C A C G A G G T C G C T G A G A G C A C
 G G T G G G C T A A T G T T G C C A T G G G T A G C A T A T A C T A C C C A A A
 T A T C T G G A T A G C A T A T G C T A T C C T A A T C T A T A T C T G G G T A
 G C A T A G G C T A T C C T A A T C T A T A T C T G G G T A G C A T A T G C T A
 T C C T A A T C T A T A T C T G G G T A G T A T A T G C T A T C C T A A T T T A
 T A T C T G G G T A G C A T A G G C T A T C C T A A T C T A T A T C T G G G T A
 G C A T A T G C T A T C C T A A T C T A T A T C T G G G T A G T A T A T G C T A
 T C C T A A T C T G T A T C C G G G T A G C A T A T G C T A T C C T A A T A G A 30
 G A T T A G G G T A G T A T A T G C T A T C C T A A T T T A T A T C T G G G T A
 G C A T A T A C T A C C C A A A T A T C T G G A T A G C A T A T G C T A T C C T
 A A T C T A T A T C T G G G T A G C A T A T G C T A T C C T A A T C T A T A T C
 T G G G T A G C A T A T G C T A T C C T A A T C T A T A T C T G G G T A G C A T
 A T G C T A T C C T A A T C T A T A T C T G G G T A G T A T A T G C T A T C C T
 A A T T T A T A T C T G G G T A G C A T A G G C T A T C C T A A T C T A T A T C
 T G G G T A G C A T A T G C T A T C C T A A T C T A T A T C T G G G T A G T A T
 A T G C T A T C C T A A T C T G T A T C C G G G T A G C A T A T G C T A T C C T
 C A C G A T G A T A A G C T G T C A A A C A T G A G A A T T A A T T C T T G A A
 G A C G A A A G G G G C T C G T G A T A C G C C T A T T T T A T A G G T T A A
 T G T C A T G A T A A T A A T G G T T T C T T A G A C G T C A G G T G G C A C T 40
 T T T C G G G G A A A T G T G C G C G G A A C C C C T A T T T G T T T A T T T
 T C T A A A T A C A T T C A A A T A T G T A T C C G C T C A T G A G A C A A T A
 A C C C T G A T A A A T G C T T C A A T A A T A T T G A A A A A G G A A G A G T
 A T G A G T A T T C A A C A T T T C C G T G T C G C C C T T A T T C C C T T T
 T T G C G G C A T T T T G C C T T C C T G T T T T G C T C A C C C A G A A A C
 G C T G G T G A A A G T A A A A G A T G C T G A A G A T C A G T T G G G T G C A
 C G A G T G G G T T A C A T C G A A C T G G A T C T C A A C A G C G G T A A G A
 T C C T T G A G A G T T T C G C C C C G A A G A A C G T T T T C C A A T G A T
 G A G C A C T T T A A A G T T C T G C T A T G T G G C G C G G T A T T A T C C
 C G T G T T G A C G C C G G C A A G A G C A A C T C G G T C G C C G C A T A C 50

ACT ATT CTC AGA ATG ACT TGG TT GAG TAC TCA CC AGT CAC
 AGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAAACACTGCGGCCA
 ACTTACTTCTGACAACGATC GGAGGA CGAAGGGAGCTAACCGCTT
 CGCTTTTGCAACACATGGGGATCATGTAACTCGCCCTT
 GATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGGCCATACCAAACG
 ACGAGCGTGACACCA CGATGCCCTGCAGCAATGGCAACAAAC
 GTTGC GCAA ACTATTAACTGGCGA ACTACTTACTCTAGCT
 TCCC GGCAACAACTTAATAGACTGGATGGAGGGGAGATAAAG
 TTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTG 10
 GTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGTCT
 CGCGGTATCATTGCAGCACTGGGCCAGATGGTAAGGCCCT
 CCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAAC
 TATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCC
 TCACTGATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACT
 CATATATACTTAGATTGATTAAAAACTTCATTTTAATT
 TAAAAGGATCTAGGTGAAGGATCCTTTGATAATCTCATG
 ACCAAAATCCCTTAACGTGAGTTTCGTTCCACTGAGCGT
 CAGACCCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCC
 TTTTTCTGCGCTAATCTGCTGCTTGCACAAACAAAAAA 20
 CCACCGCTACCAGCGGTGGTTGTTGCCGGATCAAGAGC
 TACCAACTCTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGCAGAGC
 GCAGATAACCAAATACTGTCCTCTAGTGTAGCCGTAGTTA
 GGCCACCACCTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCCTACATACC
 TCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAAGTGGCTGCTGCCAGTGG
 CGATAAGTCGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAG
 TTACCGGATAAGGCGCAGCGGTGGCTGAACGGGGGTT
 CGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGA
 ACTGAGATAACCTACAGCGTGAGCATTGAGAAAGCGCCACG
 CTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCG 30
 GCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGG
 GGGAAACGCCCTGGTATCTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGC
 CACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTGATGCTCGTCAG
 GGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACCGGGCTT
 TTTACGGTTCTGGCCTTTGCTGGCTTTGCTCACATG
 TTCTTCTGCTTATCCCCCTGATTCTGTGGATAACCGTA
 TTACCGCCTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCAGCC
 AACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGGAAGCGTAC
 ATTTATATTGGCTCATGTCATGACCGCCATGTTGAC
 ATTGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGG 40
 GTCATTAGTTCATAGCCCATAATATGGAGTTCCCGCGTTACA
 TAACTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACG
 ACCCCCCGCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCAT
 AGTAACGCCAATAGGGACTTCCATTGACGTCAATGGGTG
 GAGTATTACGGTAAACTGCCACTTGGCAGTACATCAAG
 TGTATCATATGCCAAGTCCGGCCCCCTATTGACGTCAATGA
 CGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTATGCCAGTACATGACC
 TTACGGGACTTCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAG
 TCATCGCTATTACCATGGTGATGCGGTTTGGCAGTACAC
 CAATGGCGTGGATAGCGGTTGACTCACGGGGATTTCCA 50

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 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 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 10
 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

【0526】

配列番号 6 9

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

【0527】

配列番号 7 0

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

【0528】

配列番号 7 1

G G G G C C A G G G G 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 8 9 : C D R L 1 の例示的実施形態

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

【0530】

配列番号 9 0 : C D R L 1 の例示的実施形態

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

【0531】

配列番号 9 1 : C D R L 2 の例示的実施形態

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

【0532】

配列番号 9 2 : C D R L 2 の例示的実施形態

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

【0533】

配列番号 9 3 : C D R L 2 の例示的実施形態

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

【0534】

配列番号 9 4 : C D R L 3 の例示的実施形態

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

【0535】

配列番号 9 5 : C D R L 3 の例示的実施形態

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

【0536】

配列番号 9 6 : C D R H 1 1 の例示的実施形態

10

20

30

40

50

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

【0537】

配列番号97：CDRH1の例示的実施形態

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

【0538】

配列番号98：CDRH2の例示的実施形態

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

【0539】

配列番号99：CDRH2の例示的実施形態

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

【0540】

配列番号100：CDRH3の例示的実施形態

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

【0541】

配列番号101：CDRH3の例示的実施形態

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

【0542】

配列番号102：CDRH3の例示的実施形態

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

【0543】

配列番号103 - 3A2 軽鎖可変領域

【化14】

DAVMTQIPLTLSVTIGQPASLSCKSSQSLLHSDGKTYLNWLLQRPGQSPKRLISLVSKLDGV
PD RFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGLYYCWQGTHFPRTFAGGTNLEIK

【0544】

配列番号104 - 3F6 軽鎖可変領域

【化15】

SIVMTQTPLTLSVTIGQPASITCKSSQSLLYSDGKTYLNWLLQRPGQSPKRLISLVSKLDGV
PD GFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCWQGTHFPRTFGGGTKEIK

【0545】

配列番号105 - 3E8 軽鎖可変領域

【化16】

DAVMTQIPLTLSVTIGQPASISCKSSQSLLHSDGKTYLNWLLQRPGQSPKRLIYLVSKLDGV
PD RFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCWQGTHFPRTFGGGTKEIK

【0546】

配列番号106 - 3E10 軽鎖可変領域

【化17】

DIVMTQAAPSVPVTPGESVSISCRSSKSLLHSNGNTYLYWFLQRPGQSPQLLIYRMSNLASGV
PD RFSGSGSGTAFTLKRISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPPYTFGGGTKEIK

【0547】

配列番号107 - 3A9 軽鎖可変領域

【化18】

DIVMTQSPSSLAMSLGQKVMSCKSSQSLLNSNNQLNYLAWYQQKPGQSPKLLVYFASTRKSGV
PD DRFIGSGSGTDFLTITSVQAEDLADYFCQQHFNTPLTFGAGTKLEIK

【0548】

10

20

30

40

50

配列番号 1 0 8 - 3 B 1 軽鎖可変領域

【化 1 9】

DIVMTQSPSSLAIISVGQKVMSCKSSQSLLNSSNQKNYLAWYQQKPGQSPKLLVFFASTRESGVP
DRFIGSGSGTDFTLTISSVQAEDLADYFCQQHYSIPLTFGAGTKLELK

【0 5 4 9】

配列番号 1 0 9 - 3 G 5 軽鎖可変領域

【化 2 0】

DIVMTQSPSSLAMSVGQKVMSCKSSQSLLNSSNQKNYLAWYQQKPGQSPKLLVFFASTRESGVP
DRFIGSGSGTDFTLTISSVQAEDLADYFCQQHYSIPLTFGSGTKLELK

10

【0 5 5 0】

配列番号 1 1 0 - 3 B 2 軽鎖可変領域

【化 2 1】

DIVMTQSPSSLAMSVGQKVMSCKSSQSLLNSSNQKNYLAWYQQKPGQSPKLLVYFASTRESGVP
DRFIGSGSGTDFTLTISSVQAEDLADYFCQQHYSIPLTFGAGTKLELK

【0 5 5 1】

配列番号 1 1 1 - 3 B 8 軽鎖可変領域

【化 2 2】

20

DIVMTQSPSSLAMSVGQKVMSCKSSQSLLNSSNQKNYLAWYQQKPGQSPKLLVYFASTRESGVP
DRFIGSGSGTDFTLTISSVQAEDLADYFCQQHYSIPLTFGAGTKLELK

【0 5 5 2】

配列番号 1 1 2 - 3 G 8 軽鎖可変領域

【化 2 3】

DIVMTQSPSSLAMSVGQKVMSCKSSQSLLNSSNQKNYLAWYQQKPGQSPKLLVYFASTRESGVP
DRFIGSGSGTDFTLTISSVQAEDLADYFCQQHYSIPLTFGAGTKLELK

30

【0 5 5 3】

配列番号 1 1 3 - 3 F 7 軽鎖可変領域

【化 2 4】

DIVMTQSPSSLAMSVGQKVMSCKSSQSLLNSSNQKNYLAWYQQKPGQSPKLLIYFASTRESGVP
DRFIGSGSGTDFTLTISSVQAEDLADYFCQQHYSIPLTFGAGTKLELK

【0 5 5 4】

配列番号 1 1 4 - 3 E 9 軽鎖可変領域

【化 2 5】

DIVMTQSPSSLAMSVGQKVMSCKSSQSLLNSSNQKNYLAWYQQKPGQSPKLLVYFASTRESGVP
DRFIGSGSGTEFTLTISSVQAEDLADYFCQQHYSIPLTFGAGTKLELK

40

【0 5 5 5】

配列番号 1 1 5 - 3 C 3 軽鎖可変領域

【化 2 6】

DIVMTQSPSSLAMSVGQKVMSCKSSQSLLNSSNQKNYLAWYQQKPGQSPKLLVYFGSTRESGVP
DRFIGSGSGTDFTLTISGVQAEDLADYFCQQHYSIPLTFGAGTKLELK

【0 5 5 6】

配列番号 1 1 6 - 3 E 1 2 軽鎖可変領域

【化 2 7】

DIVMTQSPSSLAMSVGQKVTMNC**KSSQSLLNRSNQKNYLAWYQQKPGQSPKLLVYFASTRESGVP**
 DRFIGSGSGTDFTLTISSVQAEDLADYFC**CQQHYSIPLTFGAGTKLELK**

【0 5 5 7】

配列番号 1 1 7 - 4 A 2 軽鎖可変領域

【化 2 8】

DIVMTQSPSSLAMSVGQKV**TMNCSSQSLLNNSNQKNYLAWYQQKPGQSPKLLLYFASTRESGVP**
 DRFIGSGSGTYFTLTISSVQAEDLADYFC**CQQHYSIPLTFGAGTKLDLK**

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】

DIVMTQSPSSLTMSVGQKV**MSCKSSQSLLNTSNQNYLAWYQQKPGQSPKLLVYFASTTESGVP**
 DRFIGSGSGTDFTLTISSVQAEDLADYFC**CQQHYSIPLTFGAGTKLELK**

【0 5 5 9】

配列番号 1 1 9 - 3 F 4 軽鎖可変領域

【化 3 0】

DIVMTQSPSSLTVTAGEKVT**MSCKSSQSLLNTSNQNYLAWYQQKPGQSPKLLVYFASTRASGVP**
 DRFIGSGSGTDFTLTISSVQAEDLADYFC**CQQHYSIPLTFGAGTKLELK**

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】

DIVMTQSPSSLAMSVGQKV**MSCKSSQSLLNNSNQNYLAWYQQKPGQSPKLLVYFASTRESGVP**
 DRFIGSGSGTDFTLTISSVQAEDLADYFC**CQQHYSIPLTFGAGTKLELK**

【0 5 6 1】

配列番号 1 2 1 - 3 G 1 2 軽鎖可変領域

30

【化 3 2】

DIVMTQSPKFMSTS**VGDRVSITCKASQDVGTAVAWYQQKPGQSPELLIYWTSTRHTGVPDFSGS**
 GSGTDFTLTISSVQAEDLADYFC**CQQHYSIPLTFGAGTKLELR**

【0 5 6 2】

配列番号 1 2 2 - 3 D 1 軽鎖可変領域

【化 3 3】

DIKMTQSPSSMYASLG**ERVITCKASQDIHNYLNWFQQKPGKSPETLIYRANRLVDGVPSRFSGS**
 GSGQDYSLT**ISSLEYEDMGIYYCLQYDEFPLTFGAGTKLELK**

40

【0 5 6 3】

配列番号 1 2 3 - 3 C 2 軽鎖可変領域

【化 3 4】

DIQMTQSPSSMYASLG**ERVTLTC**KASQDIHNYLNWFQQKPGKSPKTLIHRANRLVAGVPSRFSGS****
 GSGQDYSLT**ISSLEYEDLG**IYYCLQYDAFPLTFGAGTKLELK****

【0 5 6 4】

配列番号 1 2 4 - 3 E 6 軽鎖可変領域

【化 3 5】

DIQMTQSPSSMYASLGERVTLTCKASQDIHNYLNWFQQKPGKSPKTLIHRANRLVAGVPSRFSGS
GSGQDYSLTISSELEYEDLGIIYCLQYDAFPLTFGAGTKLELK

【0 5 6 5】

配列番号 1 2 5 - 3 H 3 軽鎖可変領域

【化 3 6】

DIVMSQSPSSMYASLGERVTITCKASQDIHRFLNWFQQKPGKSPKTLIFHANRLVDGVPSRFSGS
GSGLDYSLTISSELEYEDMGIFYFCLOQYDAFPLTFGAGTKLELK

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
KG RATL TSDK SSS STAYMDLSSLT SDDSAV YFCAN FGL RQWG QGT LTV ST

【0 5 6 7】

配列番号 1 2 7 - 3 F 6 重鎖可変領域

【化 3 8】

HEVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYIFTEYNIHWVKQKPGQGPEWIGNINPYNDVTEYNEKF
KG KATL TSDK ASSTAYMDLSSLT SEDSAV YY CARW GLRN WG QGT LTV SA

20

【0 5 6 8】

配列番号 1 2 8 - 3 E 8 重鎖可変領域

【化 3 9】

HEVQLQQSVPELVKPGASVKMSCKTSGYTFTEYNMHWVKQKPGQGPEWIGNINPYNNVTEYNEKF
KG KATL TSDK SSS STAYLDLSSLT SEDSAV YY CARW GLRN WG QGT LTV SA

【0 5 6 9】

配列番号 1 2 9 - 3 A 9 重鎖可変領域

30

【化 4 0】

HQVQVQQPGAE VRPGASV TL SCK ASGYIFT DYE VHW VRQRPV HGLEWIGVID PET GDT AY NQKF
KG KATL TADK SSS STAY MEL S LT SEDSAV YY CIGY ADY WQ GT LTV SS

【0 5 7 0】

配列番号 1 3 0 - 3 B 1 重鎖可変領域

【化 4 1】

HQVQLQQPGAE VRPGASV TL SCK ASGYTF DYE IHW VKQTPV HGLEWIGVID PET GGT AY NQKF
KG KATL TTDK SSS STAY MEL RSL T SEDSAV YY CMG Y SDY WQ GT LTV SS

40

【0 5 7 1】

配列番号 1 3 1 - 3 B 2 重鎖可変領域

【化 4 2】

HEVQLQQSGAELVRPGASV TL SCK ASGYTF DYE IHW VKQTPV HGLEWIGVID PET GAT AY NQKF
KG KATL TADK SSS STAY MEL S LT SEDSAV YY CMG Y SDY WQ GT LTV SS

【0 5 7 2】

配列番号 1 3 2 - 3 F 4 重鎖可変領域

【化43】

HEVQLQQSGAELVRPGASVTLSCASGYTFTDYEIHVKQTPVHGLEWIGVIDPETGSTAYNQKF
KGKATLTADKASSTAYMELSSLTSEDSAVYYCMGYSDYWGQGTTLTVSS

【0573】

配列番号 1 3 3 - 3 E 9 重鎖可変領域

【化44】

HEVQLQQSGAELVRPGASATLSCASGYTFTDYEIHVKQTPVHGLEWIGVIDPETGSTAYNQKF
KGKATLTADKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCMGYADYWGQGTTLTVSS

10

【0574】

配列番号 1 3 4 - 3 B 8 重鎖可変領域

【化45】

HEVQLQQSGAELVRPGASVTLSCASGYTFTDYEIHVKQTPVHGLEWIGVIDPETGDTAYNQNF
TGKATLTADKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCMGYADYWGQGTTLTVSS

【0575】

配列番号 1 3 5 - 3 G 8 重鎖可変領域

【化46】

HQVQLKQQSGAELVRPGASVTLSCASGYTFTDYEVHWVKQTPVHGLEWIGVIDPATGDTAYNQKF
KGKATLTADKSSSTAYMEVSSLTSEDSAVYYCMGYSDYWGQGTTLTVSS

20

【0576】

配列番号 1 3 6 - 3 F 7 重鎖可変領域

【化47】

HQAYLQQSGAELVRPGASVTLSCASGYTFTDYEIHVKQTPVHGLEWIGVIDPETGDTAYNQKF
KDKATLTADKASSTAYMELSSLTSEDSAVYYCMGYSDYWGQGTTLTVSS

【0577】

配列番号 1 3 7 - 3 E 1 2 重鎖可変領域

30

【化48】

HQVQLQQSEAEVLVKPGASVKSCKASGYTFTDYEIHVKQTPVHGLEWIGVIDPETGDTAYNQKF
KGKATLTADKSSSTAYMELSLTSEDSAVYYCMGHSDYWGQGTTLTVSS

【0578】

配列番号 1 3 8 - 3 G 1 2 重鎖可変領域

【化49】

HEVQLQQSVAELVRPGASVTSCKASGYIFTDYEIHVKQTPAHGLEWIGVIDPETGNTAFNQKF
KGKATLTADISSTAYMELSSLTSEDSAVYYCMGYSDYWGQGTTLTVSS

40

【0579】

配列番号 1 3 9 - 3 F 1 0 重鎖可変領域

【化50】

HEVQLQQSVAELVRPGAPVTLSCASGYTFTDYEVHWVKQTPVHGLEWIGVIDPETGATAYNQKF
KGKATLTADKSSSAAYMELSLTSEDSAVYYCMGSYSDYWGQGTTLTVSS

【0580】

配列番号 1 4 0 - 3 C 3 重鎖可変領域

【化 5 1】

HEVQLQQSVAEVVRPGASVTLSCASGYTFTDYEIHWWVKQTPVHGLEWIGVIDPETGVTAYNQRF
RDKATLTTDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYFCMGYSODYWGQGTTLVSS

【0 5 8 1】

配列番号 1 4 1 - 3 G 5 重鎖可変領域

【化 5 2】

HQVQLQQPGAEVVRPGASVTLSCASGYTFTDYEIHWWVKQTPVHGLEWIGVLDPGTGRTAYNQKF
KDKATLSADKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCMSYSODYWGPGTTLVSS

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】

HEVQLQQSVAELVRPGASVTLSCASGYTFTDYEEMHWVKQTPVRGLEWIGVIDPATGDTAYNQKF
KGKATLTADKSSAAFMELSSLTSEDSAVYYCMGYSODYWGQGTTLVSS

【0 5 8 3】

配列番号 1 4 3 - 3 E 6 重鎖可変領域

【化 5 4】

HQVQLQQSGAEVVRPGASVTLSCASGYTFSDYEMHWVKQTPVHGLEWIGGIDPETGDTVYNQKF
KGKATLTADKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCISYAMDYWGQGTSVTVSS

20

【0 5 8 4】

配列番号 1 4 4 - 4 A 2 重鎖可変領域

【化 5 5】

HQVKLQQSGTELVRPGASVTLSCASGYKFTDYEEMHWVKQTPVHGLEWIGGIDPETGGTAYNQKF
KGKAILTADKSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCISYAMDYWGQGTSVTVSS

【0 5 8 5】

配列番号 1 4 5 - 3 E 1 0 重鎖可変領域

30

【化 5 6】

HEVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGDTFTDYMMNWVKQSHGKSLEWIGDINPNYGGITYNQKF
KGKATLTVDTSSSTAYMELRGLTSEDSAVYYCQAYYRNSDYWGQGTTLVSS

【0 5 8 6】

配列番号 1 4 6 - 3 D 1 重鎖可変領域

【化 5 7】

HEVQLQESGPDLVKPSQSLSLTCTVTGFSITSGYGWHWIRQFPGDKLEWMGYISFNGDYNPNSL
KSRISITRDTSKNQFFLQLSSVTTEDTATYYCASSYDGLFAYWGQGTLTVSA

40

【0 5 8 7】

配列番号 1 4 7 - 3 C 2 重鎖可変領域

【化 5 8】

HDVQLQESGPDLVKPSQSLSLTCTVTGFSITSGYGWHWIRQFPGNKLEWMGYISFNGDSYNPNSL
KSRISITRDTSKNQFFLQLNSVTSEDTATYYCASSYDGLFAYWGQGPLTVSA

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

【0606】

配列番号 166

M V L Q T Q V F I S 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

【0607】

10

配列番号 167

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

【0608】

20

配列番号 168

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

【0609】

配列番号 169

30

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

【0610】

配列番号 170

M V L Q T Q V F I S 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

40

【0611】

配列番号 171

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_{a1} V M T Q T P L S L X_{a2} V X_{a3} X_{a4} G X_{a5} X_{a6} 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_{a7} 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_{a8} G V Y Y C F Q G S H V P L T F G
 X_{a9} G T X_{a10} L E X_{a11} K

30

(配列中、
 X_{a1}は疎水性アミノ酸であってよく、
 X_{a2}はAもしくはPであってよく、
 X_{a3}は中性親水性アミノ酸であってよく、
 X_{a4}はLもしくはPであってよく、
 X_{a5}は酸性アミノ酸であってよく、
 X_{a6}はQもしくはPであってよく、
 X_{a7}は塩基性アミノ酸であってよく、
 X_{a8}は疎水性アミノ酸であってよく、
 X_{a9}はAもしくはQであってよく、
 X_{a10}は塩基性アミノ酸であってよく、または

40

X_{a11}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_{A1} V M T Q T P L S L X_{A2} V X_{A3} X_{A4} G X_{A5} X_{A6} 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_{A7} 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_{A8} G V Y Y C F Q G S H V P L T F G
 X_{A9} G T X_{A10} L E X_{A11} K

50

(配列中、

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。

【0617】

配列番号189（3A4変異体1軽鎖可変領域：Lvh1）
 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：Lvh2）
 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 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）。

【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_{b1} Q L V Q S G X_{b2} E X_{b3} X_{b4} K P G A S V K X_{b5} S C K A S G Y T F T
 D D Y M S W V X_{b6} Q X_{b7} X_{b8} G X_{b9} X_{b10} L E W X_{b11} G D I N P Y N G
 D T N Y N Q K F K G X_{b12} X_{b13} X_{b14} X_{b15} T X_{b16} D X_{b17} S X_{b18}
 S T A Y M X_{b19} L X_{b20} S L X_{b21} S E D X_{b22} A V Y Y C A R D P G A M
 D Y W G Q G T X_{b23} 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、

10

20

30

40

50

X_{b 1 2} は塩基性アミノ酸であってよく、
 X_{b 1 3} は疎水性アミノ酸であってよく、
 X_{b 1 4} はIもしくはTであってよく、
 X_{b 1 5} は疎水性アミノ酸であってよく、
 X_{b 1 6} は疎水性アミノ酸であってよく、
 X_{b 1 7} はKもしくはTであってよく、
 X_{b 1 8} は中性親水性アミノ酸であってよく、
 X_{b 1 9} はQもしくはEであってよく、
 X_{b 2 0} はNもしくはSであってよく、
 X_{b 2 1} はTもしくはRであってよく、
 X_{b 2 2} は中性親水性アミノ酸であってよく、または
 X_{b 2 3} 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）。

【0621】

配列番号193（3A4変異体重鎖可変領域コンセンサス3）

Q X_{B 1} Q L V Q S G X_{B 2} E X_{B 3} X_{B 4} K P G A S V K X_{B 5} S C K A S G Y T F T
 D D Y M S W V X_{B 6} Q X_{B 7} X_{B 8} G X_{B 9} X_{B 10} L E W X_{B 11} G D I N P Y N G
 D T N Y N Q K F K G X_{B 12} X_{B 13} X_{B 14} X_{B 15} T X_{B 16} D X_{B 17} S X_{B 18}
 S T A Y M X_{B 19} L X_{B 20} S L X_{B 21} S E D X_{B 22} A V Y Y C A R D P G A M 20
 D Y W G Q G T X_{B 23} V T V S S

（配列中、

X_{B 1} はIもしくはVであってよく、
 X_{B 2} はPもしくはAであってよく、
 X_{B 3} はMもしくはVであってよく、
 X_{B 4} はVもしくはKであってよく、
 X_{B 5} はMもしくはVであってよく、
 X_{B 6} はKもしくはRであってよく、
 X_{B 7} はSもしくはAであってよく、
 X_{B 8} はHもしくはPであってよく、
 X_{B 9} はKもしくはQであってよく、
 X_{B 10} はSもしくはGであってよく、
 X_{B 11} はIもしくはMであってよく、
 X_{B 12} はKもしくはRであってよく、
 X_{B 13} はAもしくはVであってよく、
 X_{B 14} はIもしくはTであってよく、
 X_{B 15} はLもしくはIであってよく、
 X_{B 16} はVもしくはAであってよく、
 X_{B 17} はKもしくはTであってよく、
 X_{B 18} はSもしくはTであってよく、
 X_{B 19} はQもしくはEであってよく、
 X_{B 20} はNもしくはSであってよく、
 X_{B 21} はTもしくはRであってよく、
 X_{B 22} はSもしくはTであってよく、または
 X_{B 23} 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）。

【0622】

配列番号194（3A4変異体1重鎖可変領域：Hvh1）

Q 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 T F T D D Y M S W V R Q A 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 10
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

【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(カッパ)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 20
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 L S S P V T K S F N R G E C

【0627】

配列番号199 3A4ヒト化軽(カッパ)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 30
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 L S S P V T K S F N R G E C

【0628】

配列番号200 3A4ヒト化軽(カッパ)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 40
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 L S S P V T K S F N R G E C

【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

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

【0630】

配列番号 202 3A4ヒト化重(Igg1)鎖変異体1; Hh1
 Q 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 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 T S T S 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 10
 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

【0631】

20

配列番号 203 3A4ヒト化重(Igg1)鎖変異体2; Hh2
 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 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 30
 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

【0632】

配列番号 204 3A4ヒト化重(Igg1)鎖変異体3; Hh3
 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 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 40
 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

【0633】

配列番号 205 3A4ヒト化重(Igg1)鎖変異体4; Hh4
 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 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
 S L S P G K
【0634】
 配列番号 206
 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
【0635】
 配列番号 207
 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
【0636】
 配列番号 208
 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 20
 G
【0637】
 配列番号 209
 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 T G T T G A A G
【0638】
 配列番号 210 pK - CR5
 C T A A A T T G T A A G C G T T A A T A T T T G T T A A A A A T T C G C G T T A
 A A T T T T G T T A A A T C A G C T C A 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 30
 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 G G G G T C G A G 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 G A G 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 G A A G G G A A G A A
 A G C G A A A G G G A G C G G G C G C T A G G G G C G T G G C A A G T G T A G C G
 G T C A C G G C T G C G C G T A A C C A C C A C C C G C C G C G C T T A A T G 40
 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 G C T G C G
 C A A C T G T T G G G A A G G G G G A T C G G T G C G G G C 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 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 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 G C G A A T T G G A G 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 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 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 G G A A A C T G A C A A T C T T A 50

GCGCAGAAGTAATGCCCGCTTTGAGAGGGAGTACTCAC
 CCAACAGCTGGATCTCAAGCCTGCCACACCTCACCTCGAC
 CATCCGCCGTCTCAAGACCCTACTTTAATTACATCATC
 AGCAGCACCTCCGCCAGAAACAACCCGACCGCCACCCGC
 TGCCGCCGCCACGGTGCTCAGCCTACCTTGCAGACTGTGA
 CTGGTTAGACGCCTTCTCGAGAGGTTTCCGATCCGGT 10
 GATGCGGACTCGCTCAGGTCCCTCGGTGGCGAGTACCGT
 TC GGAGGCCGACGGGTTTCCGATCCAAGAGTACTGGAAAG
 ACCGCGAACAGAGTTGTCCCTCAACCGCGAGCCAACAGCTG
 GCCCTCGCAGACAGCGATGCCAACAGAGTGAACCGCGGAG
 GCTGGATCGGTCCC GG GTCTTCTATGGAGGTCAAAACAG
 CGTGGATGGCGTCTCCAGGCATCTGACGGTTCACTAAAC
 GAGCTCTGCTTATATAAGGCCCTCCACCGTACACGCCCTACC
 TCGACCCGGGTACCAATCTTATAATACAAACAGACCAAGAT
 TGTCTGTTTGTATAATACAAACAGACCAAGATTGTCTGTT
 TGTTATAATACAAACAGACCAAGATTGTCTGTTTGTATAA
 TACAAACAGACCAAGATTGTCTGTTTGTATAATACAAACAG
 GACCAAGATTGTCTGTTTGTATAATACAAACAGACCAAGAT
 TGTCTGTTGTAAAGGTTGTCGAGTGAAGACGAAAGGGTT
 CATTAAAGGCGCGCCGTCGACCTCGAGGGGGGCCCGGTAC 20
 CCAGCTTTGTTCCCTTTAGTGAGGGTTAATTGCGCGCTT
 GGCGTAATCATGGTCATAGCTGTTCTGTGTGAAATTGT
 TATCCGCTCACAAATTCCACACAAACATACGAGGCCGGAAGCA
 TAAAGTGTAAAGCCTGGGGTGCCTAATGAGTGAAGCTAACT
 CACATTAATTGCGTTGCGCTCACTGCCCGCTTCCAGTCG
 GGAAACCTGTCGTGCCAGCTGCATTAATGAATCGGCCAAC
 GCGCGGGGAGAGGCAGGTTCGCTATTGGCGCTCTTCCGC
 TTCCCTCGCTCACTGACTCGCTGCGCTCGGTCTGGCTG
 CGGCGAGCGGTATCAGCTCACTCAAAGGCGGTAATACGGT
 TATCCACAGAATCAGGGATAACGCAGGAAAGAACATGTG 30
 AGCAAAAGGCCAGCAAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAGGCC
 GCGTTGCTGGCGTTTCCATAGGCTCCGCCCTTGACG
 AGCATCACAAAAATCGACGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAA
 CCCGACAGGACTATAAGATAACCAGGGCTTCCCCCTGGA
 AGCTCCCTCGTGCCTCTCCGTGTTCCGACCCCTGCCGCTTA
 CGGGATACCTGTCGCCCTTCTCCCTTGGAAGGCGTGGC
 GCTTCTCATAGCTCACGCTGTAGGTATCTCAGTTGGTG
 TAGGTCGTTGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACTGAACCCC
 CCGTTCAGCCCACCGCTGCCCTTATCCGGTAACTATCG
 TCTTGAGTCCAACCCGTAAGACACGACTTATGCCACTG 40
 GCAGCAGCCACTGGTAACAGGGATTAGCAGAGCGAGGTATG
 TAGGCGGTGCTACAGAGTTCTTGAAGTGGTGGCCTAACTA
 CGGCTACACTAGAAGGACAGTATTGGTATCTGCGCTCTG
 CTGAAGCCAGTTACCTCGGAAAAAGAGTTGGTAGCTT
 GATCCGGCAAACAAACCAACCGCTGGTAGCGGGTGGTTTT
 TGTTTGCAAGCAGCAGATTACGCGCAGAAAAAGGGATCT
 CAAGAAGATCCTTGTATCTTCTACGGGTTGACGCTC
 AGTGGAACGAAACTCACGTTAAGGGATTGGTCACTGAG
 ATTATCAAAAAGGATCTTCAACCTAGATCCTTTAAATTAA
 AAATGAAGTTTAAATCAATCTAAAGTATATGAGTAAA 50

CTTGGTCTGACAGTTACCAATGCTTAATCAGTGAGGCACC
 TATCTCAGCGATCTGTCTATTTCGTTCATCCATAGTTGCC
 TGACTCCCCGTCGTAGATAACTACGATAACGGGAGGGCT
 TACCATCTGGCCCCAGTGCTGCAATGATAACCGCGAGACCC
 ACGCTCACCGGCTCCAGATTATCAGCAATAAACCAAGCCA
 GCCGGAAGGGCCGAGCGCAGAAGTGGTCCTGCAACTTTAT
 CGGCCTCCATCCAGTCTATTAAATTGTTGCCGGAAAGCTAG
 AGTAAGTAGTTGCCAGTTAATAGTTGCGAACGTTGTT
 GCCATTGCTACAGGCATCGTGGTGTACGCTCGTCTTGT
 GTATGGCTTCATTAGCTCCGGTCTCCAAACGATCAAGGGC 10
 AGTTACATGATCCCCCATGTTGTGCAAAAAAGCGGTTAGC
 TCCTTCGGTCCTCCGATCGTTGTCAAGAAGTAAGTTGCCG
 CAGTGTATCACTCATGGTTATGGCAGCACTGCATAATT
 TCTTACTGTCATGCCATCCGTAAGATGCTTTCTGTGACT
 GGTGAGTACTCAACCAAGTCATTCTGAGAATAGTGTATGC
 GGCGACCGAGTTGCTCTTGCCTGGCGTCAATACGGGATAA
 TACCGCGCCACATAGCAGAACCTTAAAAGTGCTCATCATT
 GGAAAACGTTCTCGGGGCGAAAACCTCTCAAGGATCTTAC
 CGCTGTTGAGATCCAGTTGATGTAACCCACTCGTGCACC
 CAACTGATCTTCAGCATCTTTACTTTCACCAAGCGTTCT 20
 GGGTGAGCAAAAACAGGAAGGCAAAATGCCGCAAAAAAGG
 GAATAAGGGCGACACGGAAATGTTGAATACTCATACTCTT
 CCTTTTCAATATTATTGAAGCATTATCAGGGTTATTGT
 CTCATGAGCGGATACATATTGAATGTATTAGAAAAATA
 AACAAATAGGGGTTCCGCGCACATTCCCAGAAAGTGCC
 AC

【0639】

配列番号 211 pMPG-CR5

GTCGACGATACCGTGCACTTAATTAAAGCGCGCTCGACCAA
 ATGATTTGCCCTCCCATATGTCCTTCCGAGTGAGAGACAC 30
 AAAAATTCACACACTATTGCAATGAAAATAATTCC
 TTTATTAGCCAGAGGTCGAGGTCGGGGATCCGTTAAC
 TTGGACCTGGGAGTGGACACCTGTGGAGAGAAAGGCAAAG
 TGGATGTCATTGTCACTCAAGTGTATGCCAGATCGGGCC
 AGGTGAATATCAAATCCTCCCTCGTTTGGAAACTGACAA
 TCTTAGCGCAGAAGTAATGCCCGCTTTGAGAGGGAGTAC
 TCACCCCCAACAGCTGGATCTCAAGACCGCCTACTTTAATTACA
 TCAATCAGCAGCACCTCCGCCAGAAACACCCCCGACCGCCA
 CCCGCTGCCGCCACGGTGCTCAGCCTACCTTGCAC 40
 TGTGACTGGTTAGACGCCCTTCTCGAGAGGTTTCCGATC
 CGGTCGATGCGGACTCGCTCAGGTCCTCGGTGGCGGAGT
 ACCGTTCGGAGGCCGACGGGTTTCCGATCCAAGAGTACTG
 GAAAGACCGCGAAGAGGTTGTCCTCAACCGCGAGCCCAAC
 AGCTGGCCCTCGCAGACAGCGATGCGGAAGAGAGTGAACCG
 CGGAGGGCTGGATCGGTCGGTGTCTTCTATGGAGGTCAA
 AACAGCGTGGATGGCGTCTCCAGGCGATCTGACGGTTCAC
 TAAACGAGCTCTGCTTATATAGGCCCTCCACCGTACACGC
 CTACCTCGACCCGGTACCAATCTTATAATACAAACAGAC
 CAGATTGTCGTGTTATAATACAAACAGACCAAGATTGT 50

CTGTTTGTATAATACAAACAGACCAGATTGTCTGTTTGT
 TATAATACAAACAGACCGAGATTGTCTGTTTGTATAATAC
 AACAGACCCAGATTGTCTGTTAAGGTTGTCGAGTGAAGACGAAA
 CAGATTGTCTGTTGTTAAGGTTGTCGACTAGCTTGGCACGCCA
 GGGTTAATTAAAGGCAGCGCCGTCGACTAGCTTGGCACGCCA
 GAAATCCGCGCGGTGGTTTGGGGTCTGGGGGTGTTGG
 CAGCCACAGACGCCCGGTGTTCGTGTGCGGCCAGTACATG
 CGGTCCATGCCAGGCATCCAAAAACCATGGGTCTGTCT
 GCTCAGTCCAGTCGTGGACCAGACCCACGCAACGCCAA
 AATAATAACCCCCACGAACCATAAACCATTCCTCATGGGG
 GACCCCGTCCCTAACCCACGGGGCAGTGGCTATGGCAGG 10
 GCCTGCCGCCCGACGTTGGCTGCGAGGCCCTGGGCCCTCA
 CCCGAACTTGGGGGTGGGGGGAAAGGAAGAAACGC
 GGGCGTATTGGCCCCAATGGGGTCTCGTGTGGGTATCGAC
 AGAGTGCCAGCCCTGGGACCGAACCCCGCGTAAATGAACA
 AACGACCCAACACCCGTGCGTTTATTCTGTCTTTTATT
 GCCGTCATAGCGGGTTCCCTCCGGTATTGTCTCCTTCC
 GTGTTTCAGTTAGCCTCCCCATCTCCCTATTCCCTTGC
 CCTCGGACGAGTGCTGGGGCGTCGGTTCCACTATCGGC
 AGTACTTCTACACAGCCATCGGTCCAGACGGCCGCGCTTC 20
 TGCGGGCGATTGTGTACGCCGACAGTCCCAGCTCCGG
 TC GGACGATTGCGTCGCATCGACCCCTGCGCCCAAGCTGCA
 TCATCGAAATTGCCGTCAACCAAGCTCTGATAGAGTTGGT
 CAAGACCAATGCGGAGCATATAACGCCGGAGGCCGCGGA
 TCCCTGCAAGCTCCGGATGCCTCCGCTCGAAGTAGCGCGTC
 TGCTGCTCCATACAAGCCAACCAACGGCCTCCAGAAGAAGA
 TGTTGGCGACCTCGTATTGGGAATCCCGAACATCGCCTC
 GCTCCAGTCAATGACCGCTGTTATGCGGCCATTGTCCTGTC
 AGGACATTGTTGGAGCCGAAATCCCGTGCACGAGGTGCC 30
 GGACTTCGGGGCAGTCCTCGGCCAAAGCATCAGCTCATC
 GAGAGCCTGCGGACGGACGCAC TGACGGTGTCTCCATC
 ACAGTTGCCAGTGATACACATGGGATCAGCAATCGCGC
 ATATGAAATCACGCCATGTAGTGTATTGACCGATTCCCTTG
 CGGTCCGAATGGGCCAACCCGCTCGTCTGGCTAAGATCG
 GCCGCAGCGATCGCATCCATGGCCTCCGCGACCGGCTGCA
 GAACAGCGGGCAGTTGGTTTCAGGCAGGTCTTGCACAGT
 GACACCCCTGTGCACGGGGAGATGCAATAGGTCAAGGCTC
 TCGCTGAATTCCCCAATGTCAAGCACTTCCGGAATCGGG
 GCGCGGCCGATGCAAAGTGCCGATAAACATAACGATCTT
 GTAGAAACCATCGGCGCAGCTATTACCCGCAGGACATAT 40
 CCACGCCCTCCTACATCGAACAGCTGAAAGCACGAGATTCTT
 CGCCCTCCGAGAGCTGCATCAGGTCGGAGACGCTGTCGAA
 CTTTTCGATCAGAAACTTCTCGACAGACGTCGCGGGTGA
 TCAGGGTTTTCATATCTCATTGCCCGGGATCTGCGGGCAC
 GCTGTTGACGCTGTTAAGCGGGTCGCTGCAGGGTCGCTCG
 GTGTTGAGGCCACACGCGTCACCTTAATATGCGAAGTGG
 ACCTGGGACCGCGCCGCCCGACTGCACTGCGTGTTCGA
 ATTGCGCAATGACAAGACGCTGGCGGGTTTGTGTCATC
 ATAGAACTAAAGACATGCAAATATATTCTTCCGGGGACA
 CGGCCAGCAAACGCGAGCAACGGGCCACGGGATGAAGCA 50

GGGCATGGCGGCCGACGCGCTGGCTACGTCCTGCTGGCG
 TT CGCGACGCGAGGCTGGATGGCTTCCCCATTATGATT
 TTCTCGCTTCCGGCGGCATCGGGATGCCCGCGTTGCAGGC
 CATGCTGTCCAGGCAGGTAGATGACGACCATCAGGGACAG
 CTTCAAGGATCGCTCGCAGGCTCTTACCAAGCCTAAC
 TCACTGGACCGCTGATCGTCACGGCGATTATGCCGCC
 GGCGAGCACATGGAACGGGTTGGCATGGATTGTAGGGGCC
 GCCCTATAACCTTGTCTGCCCTCCCCGCGTTGCGTCGGTG
 CATGGAGCCGGGCCACCTCGACCTGAATGGAAGCCGG
 CACCTCGCTAACGGATTCAACCAACTCCAAGAATTGGAGCCA 10
 ATCAATTCTTGC GGAGAACTGTGAATGCGCAAACCAACCC
 TTGGCAGAACATATCCATCGCGTCCGCCATCTCCAGCAGC
 CGCACGCGGCGCAGCAAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAGGC
 CGCGTTGCTGGCTTTTCCATAGGCTCCGCCCTTGAC
 GAGCATCACAAAAATCGACGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAA
 ACCCGACAGGACTATAAAGATAACCAAGCGTTTCCCCCTGG
 AAGCTCCCTCGTGCCTCTCCTGTTCCGACCCCTGCCGCTT
 ACCGGATAACCTGTCCGCCCTTCTCCCTTCGGGAAGCGTGG
 CGCTTCTCATAGCTCACGCTGTAGGTATCTCAGTTGGT
 GTAGGTCGTTCGCTCCAAGCTGGCTGTGTGCACGAACCC 20
 CCCGTTCAAGCCCACCGCTGCCCTTATCCGGTAAC
 GTCTTGAGTCCAACCCGGTAAGACACGACTTATGCCACT
 GGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGGTAT
 GTAGGGGGTGCTACAGAGTTCTGAAGTGGTGGCTTAAC
 ACGGCTACACTAGAAGGACAGTATTGTTGATCTGCGCTCT
 GCTGAAGCCAGTTACCTTGGAAAAAGAGTTGGTAGCTCT
 TGATCCGGCAAACAAACCAACCGCTGGTAGCGGGTGGTTTT
 TTGTTTGCAAGCAGCAGATTACGCGCAGAAAAAAAGGATC
 TCAAGAAGATCCTTGATCTTCTACGGGGCTGACGCT 30
 CAGTGGAACGAAACTCACGTTAACGGATTGGTCA
 GATTATCAAAAAGGATCTTACCTAGATCCTTTAAATTAA
 AAAATGAAGTTTAAATCAATCTAAAGTATATATGAGTAA
 ACTTGGTCTGACAGTTACCAATGCTTAATCAGTGAGGCAC
 CTATCTCAGCGATCTGTCTATTGTTACCCATAGTTGC
 CTGACTCCCCGTGTTAGATAACTACGATAACGGGAGGGC
 TTACCATCTGGCCCCAGTGCTGCAATGATACCGCGAGACC
 CACGCTCACCGGCTCCAGATTATCAGCAATAAACCAAGCC
 AGCCGGAAAGGGCCGAGCGCAGAAGTGGCTCTGCAACTTTA
 TCCGCCTCCATCCAGTCTATTAAATTGTTGCCGGAAAGCTA
 GAGTAAGTAGTTGCCAGTTAACAGTTGCGCAACGTTGT 40
 TGCCATTGCTGCAGGCATCGTGGTGTACGCTCGTGT
 GGTATGGCTTCATTCACTCGCTCCGGTTCCCAACGATCAAGGC
 GAGTTACATGATCCCCCATGTTGTCAGGAAAGCGGGTTAG
 CTCCTTCGGTCCCGATCGTTGTCAGAAGTAAGTTGGCC
 GCAGTGTATCACTCATGGTTATGGCAGCACTGCATAATT
 CTCTTACTGTCATGCCATCCGTAAGATGCTTTCTGTC
 TGGTGAGTACTCAACCAAGTCATTCTGAGAATAGTGTATG
 CGGCGACCGAGTTGCTTTGCCGGCGTCAACACGGGATA
 ATACCGCGCCACATAGCAGAACCTTAAAGTGCTCATCAT 50
 TGGAAAACGTTCTCGGGCGAAAACCTCTCAAGGATCTTA

CCGCTGTTGAGATCCAGTTGATGTAACCCACTCGTGCAC
 CCAACTGATCTTCAGCATCTTTACTTTCACCCAGCGTTTC
 TGGGTGAGCAAAACAGGAAGGCCAAAATGCCGAAAAAAG
 GGAATAAGGGCGACACGGAAATGTTGAATACTCATACTCT
 TCCTTTTCAATATTATTGAAGCATTATCAGGGTTATTG
 TCTCATGAGCGGATACATATTTGAATGTATTAGAAAAAT
 A

AACAAATAGGGTTCCGCGCACATTCCTCGAAAGTGCC 10
 ACCTGACGTCTAAGAAACCATTATTATCATGACATTAACC
 TATAAAAATAGGGGTATCACGAGGCCCTTCGTCTTCAAG
 AATTCTCATGTTGACAGCTTATCTCTAGCAGATCCGGAA
 TTCCCTCCCCAATTTAAATGAGGACCTAACCTGTGGAAA
 TCTACTGATGTGGGAGGGCTGTAACTGTACAAACAGAGGTT
 ATTGGAATAACTAGCATGCTAACCTTATGCAGGGTCAC
 AAAAAGTGCATGACGATGGTGGAGGAAACCTATTCAAGG
 CAGTAATTTCCACTTCTTGCTGTTGGAGACCCCTTG
 GAAATGCAGGGAGTGCTAATGAATTACAGGACAAAGTACC
 CAGATGGTACTATAACCCCTAAAAACCCAACAGCCCCAGTC 20
 CCAGGTAATGAATACTGACCATAAGGCCTATTGGACAAA
 AACAAATGCTTATCCAGTTGAGTGTGCTGGTTCCTGATCCTA
 GTAGAAATGAAAATACTAGGTATTTGGGACTTTCACAGG
 AGGGGAAAATGTTCCCCCAGTACTTCATGTGACCAACACA
 GCTACCACAGTGTGCTAGATGAACAGGGTGTGGGGCCTC
 TTTGTAAGCTGATAGCCTGTTGCTAGCTGCTGATAT
 TTGTTGGCCTGTTACTAACAGCTCTGGAACACAAACAGTGG
 AGAGGCCTTGCAAGATATTAAAGATCCGCGCTGAGAAAAAA
 GATCTGTAAGAAATCCTTACCTAACATTCCCTTTGCTAAG 30
 TGACCTTATAAACAGGAGAACCCAGAGAGTGGATGGCAG
 CCTATGTATGGTATGGAATCCCAGGTAGAAGAGGTTAGGG
 TGTTTGATGGCACAGAAAGACTTCCAGGGGACCCAGATAT
 GATAAGATATATTGACAAACAGGGACAATTGCAAACCAA
 ATGCTTTAACACAGGTGCTTTATTGTACATATAACATTAA
 TAAATGCTGCTTTGTATAAGCCACTTTAACAGCTTGTGTT
 ATTGTTGGGGTGGTGTGTTAGGCCCTTAAACACAGTGA
 GCCTTTACACAAATGCAACTCTTGACTATGGGGTCTGAC
 CTTTGGGAATGTTCAGCAGGGCTGAAGTATCTGAGACTT
 GGGAGAGCATTGTGATTGGGATTCACTGCTTGTGATCCATG
 TCCAGAGTCTCAGTTCTGAATCCTCTTCTTGTAAATA 40
 TCAAGAATACATTCCCCATGCATATATTATATTGATCC
 TTGAAAAAGTATACATACTTATCTCAGAATCCAGCCTTTC
 CTTCCATTCAACAAATTCTAGAAGTTAAAACAGGGTAGAT
 GCTATTACAGAGGTAGAATGCTTCTAAACCCAGAAATGG
 GGGATCTGC

【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

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

【0642】

配列番号214 - OGS2084

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

【0643】

配列番号215 - OGS1879

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

【0644】

配列番号216 - OGS1810

G G G G C C A G G G G 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

【0645】

参照文献

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

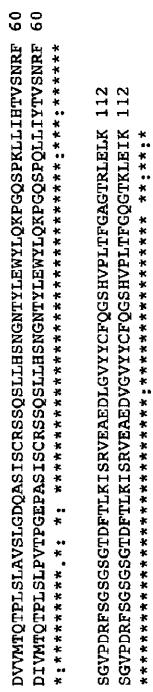
No f ech - Mozes S . et al . , (2009) " Patterns of recurrence in the basal and non - basal subtypes of triple - negative breast cancer s " Cancer Res . Treat . 118 : 131 - 137 .

【図 1 a】

DVNPOTPLSPVNSGDSQASGSLSLSSGSLTLEWVYDQPSQPLIHPVHHR	CDR-1	11/80 (86.3%)
DVNPOTPLSPVNSGDSQASGSLSLSSGSLTLEWVYDQPSQPLIHPVHHR	CDR-1.1	0/80 (0%)
DVNPOTPLSPVNSGDSQASGSLSLSSGSLTLEWVYDQPSQPLIHPVHHR	CDR-1.2	2/80 (17.5%)
DVNPOTPLSPVNSGDSQASGSLSLSSGSLTLEWVYDQPSQPLIHPVHHR	CDR-1.3	

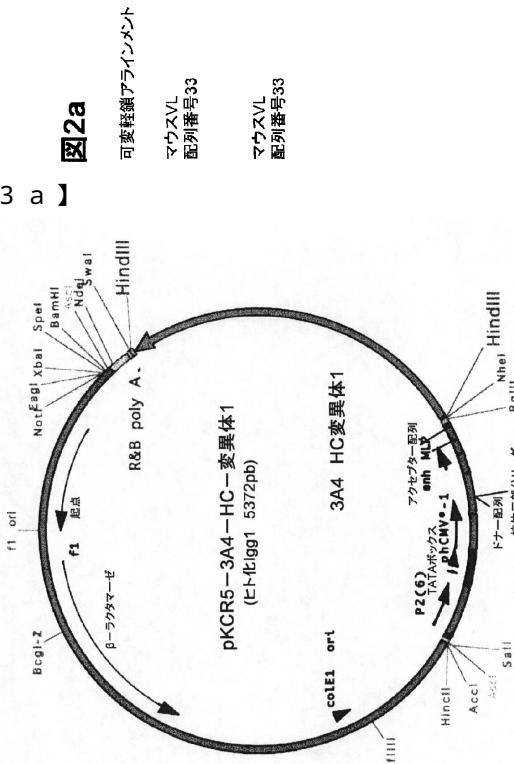
【図1b】

【図2a】

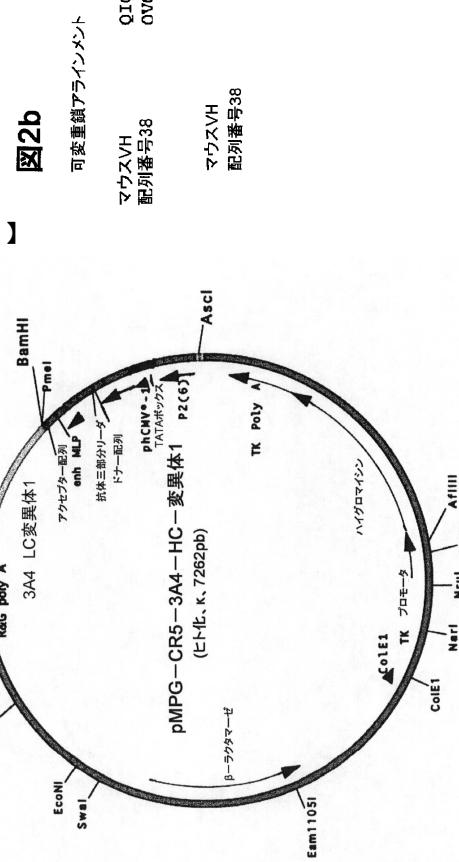


【図2b】

【図3a】



【図3b】



3a

【図4】

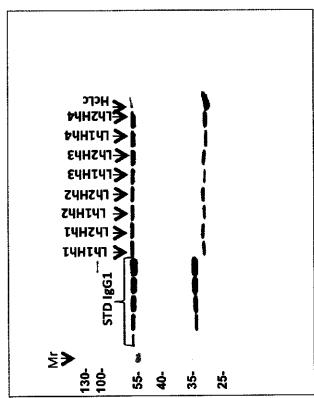


Figure 4

【図6】

抗体	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (nM)	倍率
LhHc	7.72×10^6	1.21×10^{-4}	0.016	-
Lh1Hh1	6.93×10^6	3.28×10^{-3}	0.474	29.6
Lh2Hh1	6.97×10^6	2.37×10^{-3}	0.341	21.3
Lh1Hh2	5.65×10^6	1.19×10^{-3}	0.211	13.2
Lh2Hh2	7.40×10^6	1.81×10^{-3}	0.245	15.3
Lh1Hh3	6.46×10^6	9.60×10^{-4}	0.149	9.3
Lh2Hh3	4.46×10^6	1.02×10^{-3}	0.228	14.3
Lh1Hh4	5.14×10^6	7.64×10^{-4}	0.149	9.3
Lh2Hh4	4.57×10^6	4.70×10^{-4}	0.103	6.4

図6

【図5】

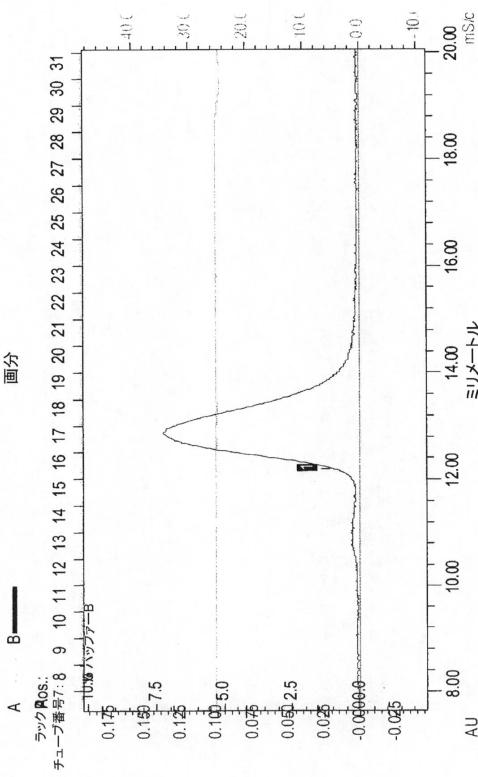


図5

【図7 a】

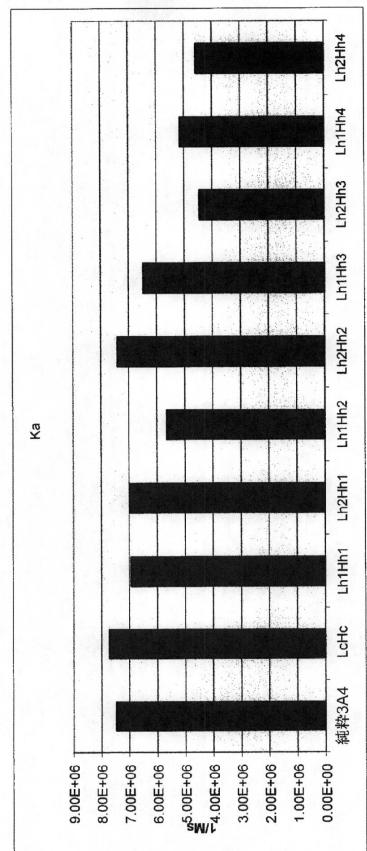
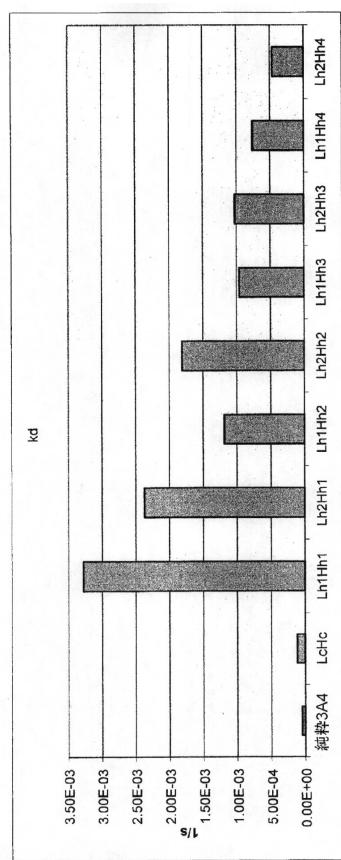
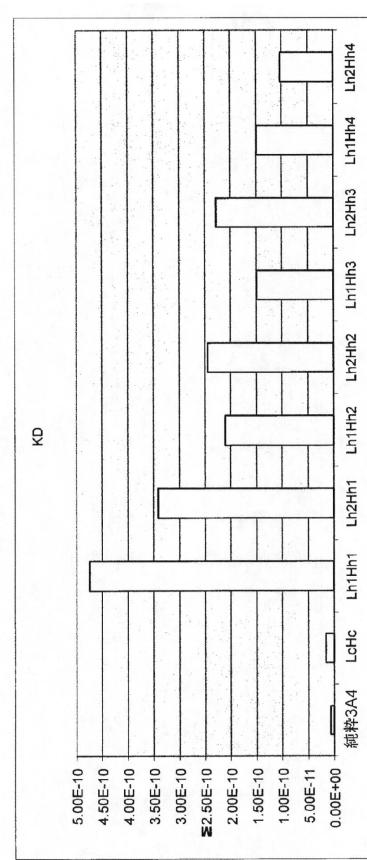


図7a

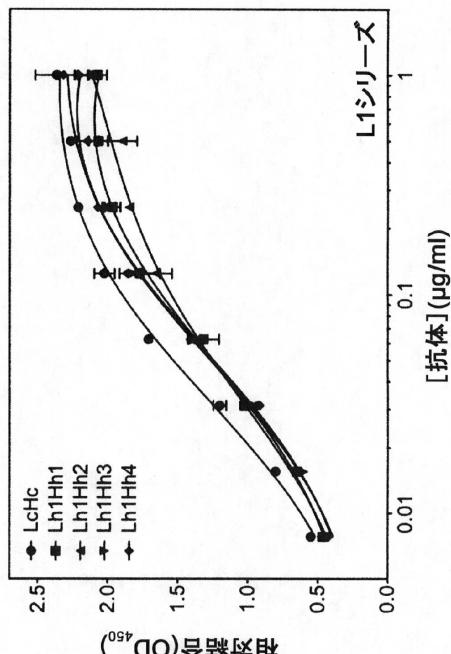
【図7b】



【図7c】



【図8a】



【図8b】

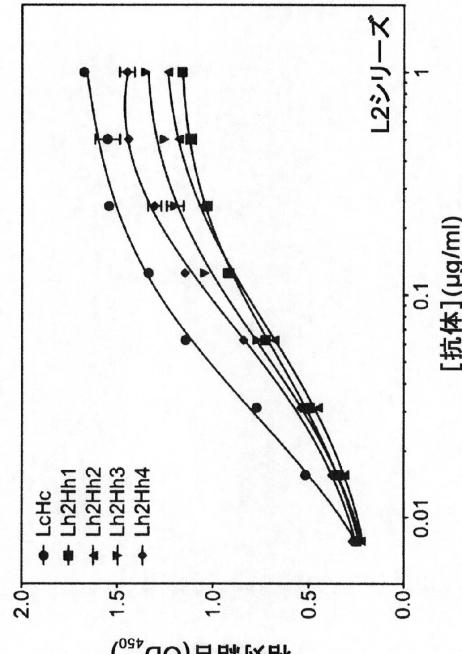


図8a

図8b

【図9】

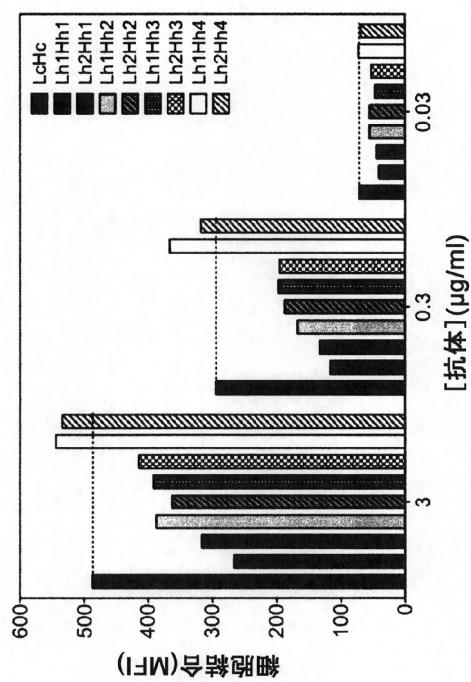


図9

【図10】

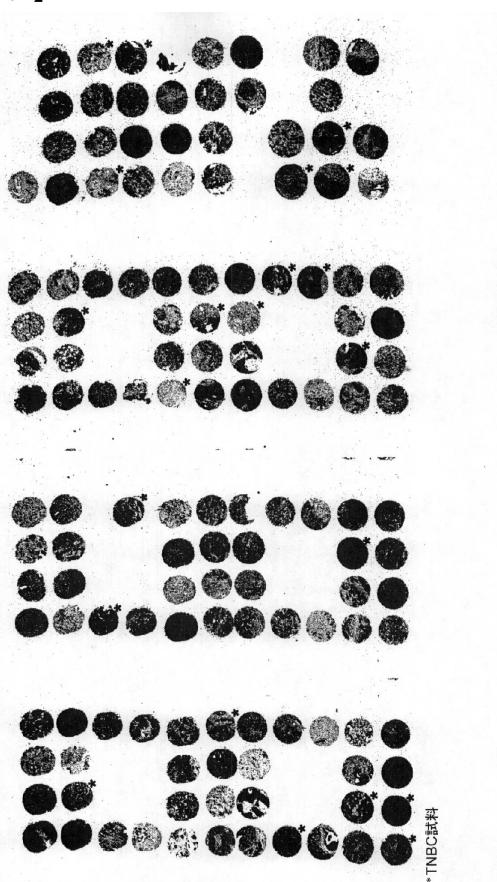


図10

【図11】

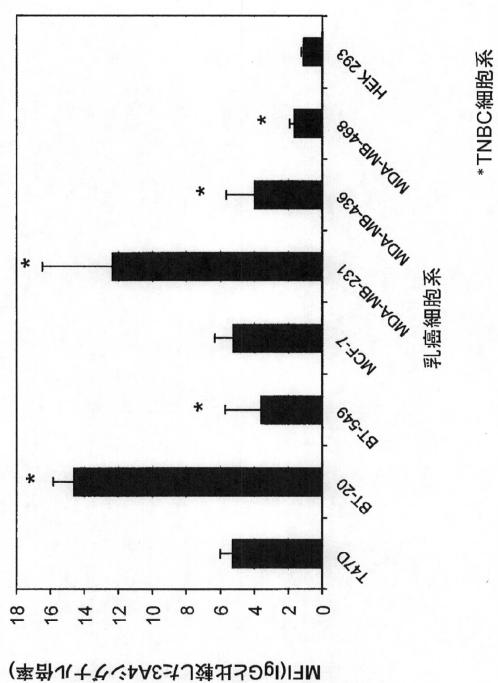


図11

【図12】

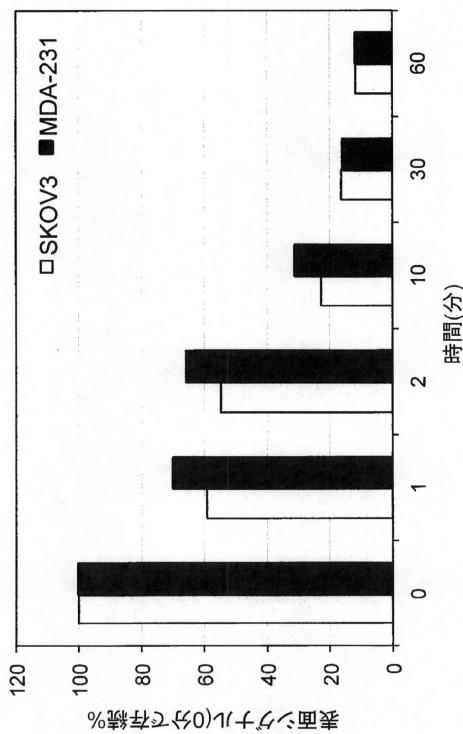


図12

【図13】

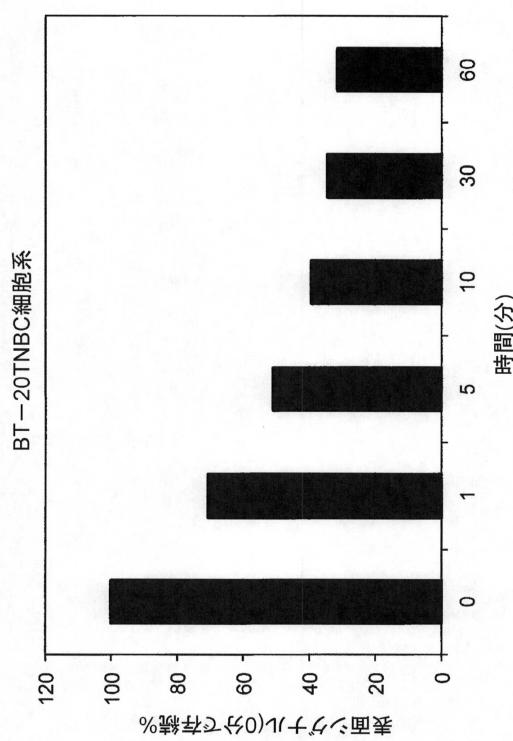


図13

【図14】

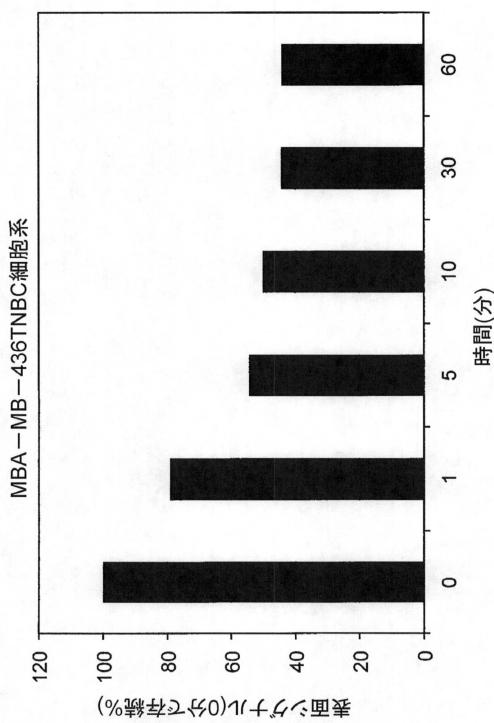


図14

【図15】

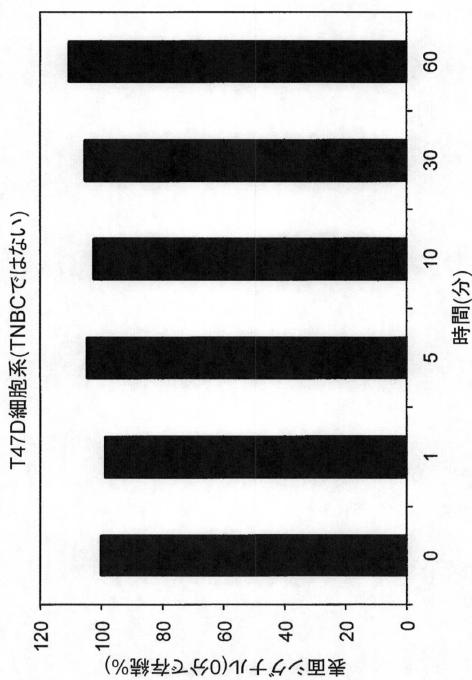


図15

【図16】

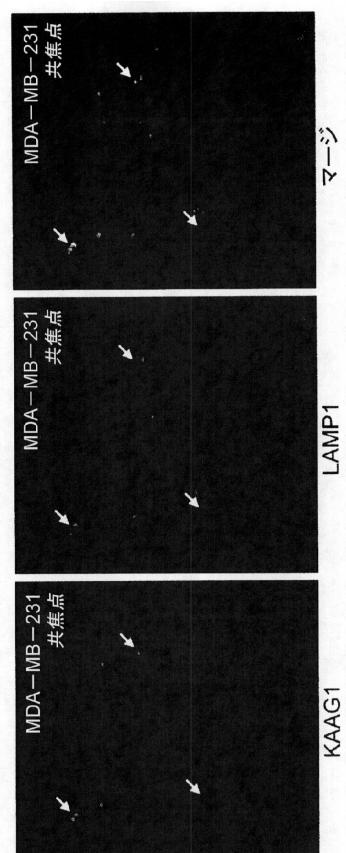


図16

【図17】

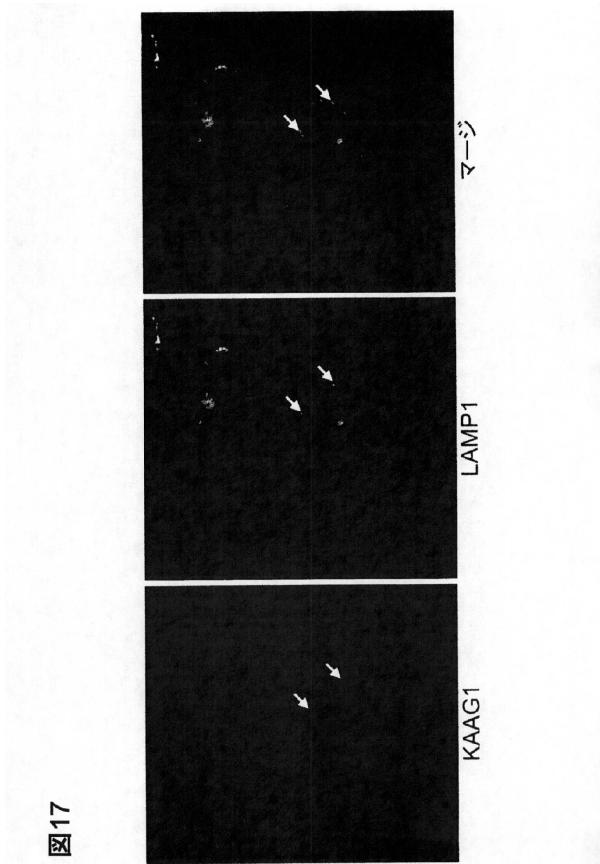


図17

【配列表】

0006282597000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
C 07 K 16/30 (2006.01) C 07 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・H7W・1Z4・ラヴァル・プランス - シャルル・アヴニユ・4273

(72)発明者 マリオ・フィリヨン
カナダ・ケベック・J4J・4M8・ロングイユ・メープル・ストリート・739

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, 2
010年, Vol. 4, p35-41

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 61 K 39/395
JST Plus / JMED Plus / JST7580 (JDreamIII)
Caplus / MEDLINE / EMBASE / BIOSIS (STN)