

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2015-506945

(P2015-506945A)

(43) 公表日 平成27年3月5日 (2015. 3. 5)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 0 7 K 16/28 (2006. 01)	C 0 7 K 16/28 Z N A	4 B 0 2 4
C 1 2 N 15/09 (2006. 01)	C 1 2 N 15/00 A	4 B 0 6 3
C 1 2 N 1/15 (2006. 01)	C 1 2 N 1/15	4 B 0 6 4
C 1 2 N 1/19 (2006. 01)	C 1 2 N 1/19	4 B 0 6 5
C 1 2 N 1/21 (2006. 01)	C 1 2 N 1/21	4 C 0 8 5
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 131 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2014-553482 (P2014-553482)
 (86) (22) 出願日 平成25年1月18日 (2013. 1. 18)
 (85) 翻訳文提出日 平成26年8月27日 (2014. 8. 27)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2013/022280
 (87) 国際公開番号 W02013/109974
 (87) 国際公開日 平成25年7月25日 (2013. 7. 25)
 (31) 優先権主張番号 61/588, 936
 (32) 優先日 平成24年1月20日 (2012. 1. 20)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 500034653
 ジェンザイム・コーポレーション
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ O 2
 1 4 2, ケンブリッジ, ケンダル ストリ
 ート 5 0 0
 (74) 代理人 100127926
 弁理士 結田 純次
 (74) 代理人 100140132
 弁理士 竹林 則幸
 (72) 発明者 ミシェル・ユード
 アメリカ合衆国マサチューセッツ州O 2 4
 2 1, レキシントン, センターストリート
 1 0

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗C X C R 3抗体

(57) 【要約】

本開示は、抗C X C R 3抗体、ならびに本抗体を使用して糖尿病I型 (T 1 D)、特に初発のT 1 DのようなC X C R 3関連障害を診断および／または処置する方法を提供する。ある特定の実施形態において、C X C R 3中和抗体が本明細書において開示される。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

C X C R 3 に結合することができる抗体または抗原結合フラグメントにおいて、該抗体またはフラグメントは、重鎖可変領域（VH）および軽鎖可変領域（VL）を含み：

a) 該重鎖可変領域は、配列番号 2、4、6、および 8 のいずれか 1 つからの 3 つの C D R と少なくとも約 95 % 同一な 3 つの相補性決定領域（C D R）を含み；かつ／もしくは該軽鎖可変領域は、配列番号 3、5、7、および 9 のいずれか 1 つからの 3 つの C D R と少なくとも約 95 % 同一な 3 つの C D R を含み、

b) 該重鎖可変領域は、配列番号 10、12、14、および 16 のいずれか 1 つからの 3 つの C D R と少なくとも約 95 % 同一な 3 つの C D R を含み；かつ／もしくは該軽鎖可変領域は、配列番号 11、13、15、および 17 のいずれか 1 つからの 3 つの C D R と少なくとも約 95 % 同一な 3 つの C D R を含み、

c) 該重鎖可変領域は、配列番号 18、20、22、24、および 26～33 のいずれか 1 つからの 3 つの C D R と少なくとも約 95 % 同一な 3 つの C D R を含み；かつ／もしくは該軽鎖可変領域は、配列番号 19、21、23、25、および 34～37 のいずれか 1 つからの 3 つの C D R と少なくとも約 95 % 同一な 3 つの C D R を含み、

d) 該重鎖可変領域は、配列番号 38、40、42、44、46～48、および 63～66 のいずれか 1 つからの 3 つの C D R と少なくとも約 95 % 同一な 3 つの C D R を含み；かつ／もしくは該軽鎖可変領域は、配列番号 39、41、43、45、49～54、および 67～70 のいずれか 1 つからの 3 つの C D R と少なくとも約 95 % 同一な 3 つの C D R を含み、

または

e) 該重鎖可変領域は、配列番号 55、57、59、および 61 のいずれか 1 つからの 3 つの C D R と少なくとも約 95 % 同一な 3 つの C D R を含み；かつ／もしくは該軽鎖可変領域は、配列番号 56、58、60、および 62 のいずれか 1 つからの 3 つの C D R と少なくとも約 95 % 同一な 3 つの C D R を含む、前記抗体またはフラグメント。

【請求項 2】

キメラであり、C D R グラフト化され、突然変異し、1 つまたはそれ以上の脱アミド部位が除去されるように突然変異し、ヒトであり、ヒト化され、ヒト化され復帰突然変異し、合成であり、または組換えである、請求項 1 に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 3】

F a b、F a b'、F（a b'）₂、F v、単鎖 F v（s c F v）、ダイアボディ（F d）、線状抗体、ナノボディ（V H H）、二重特異性抗体、または多重特異性抗体である、請求項 1 または 2 に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 4】

a) 配列番号 1 の残基 1～58 を含むペプチド；

b) 配列番号 1 の残基 1～16 を含むペプチド；および／または

c) 配列番号 1 の残基 1～37 を含むペプチド

から選択されるペプチドに結合することができる、請求項 1～3 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 5】

a) アミノ酸配列 S D H Q V L N D A E を含むペプチド；

b) アミノ酸配列 S D H Q V L N D を含むペプチド；

c) アミノ酸配列 D H Q V L N D を含むペプチド；

d) アミノ酸配列 V L N D A E を含むペプチド；

e) アミノ酸配列 V L N D を含むペプチド；

f) アミノ酸配列 X D X X V X N D X X を含むペプチド；

g) アミノ酸配列 X D X X V X N D を含むペプチド；

h) アミノ酸配列 D X X V X N D を含むペプチド；

i) アミノ酸配列 V X N D X X を含むペプチド；

および／または

j) アミノ酸配列 V X N D を含むペプチド

(ここで X は、任意のアミノ酸を示す)

から選択されるペプチドに結合することができる、請求項 1～4 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 6】

a) 重鎖可変領域は、配列番号 2、4、6、および 8 のいずれか 1 つと少なくとも約 85 %、90 %、95 %、もしくは 99 % 同一な配列を含み；

b) 重鎖可変領域は、配列番号 10、12、14、および 16 のいずれか 1 つと少なくとも約 85 %、90 %、95 %、もしくは 99 % 同一な配列を含み；

c) 重鎖可変領域は、配列番号 18、20、22、24、および 26～33 のいずれか 1 つと少なくとも約 85 %、90 %、95 %、もしくは 99 % 同一な配列を含み；

d) 重鎖可変領域は、配列番号 38、40、42、44、46～48、および 63～66 のいずれか 1 つと少なくとも約 85 %、90 %、95 %、もしくは 99 % 同一な配列を含み；

または

e) 重鎖可変領域は、配列番号 55、57、59、および 61 のいずれか 1 つと少なくとも約 85 %、90 %、95 %、もしくは 99 % 同一な配列を含む、請求項 1～5 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 7】

a) 軽鎖可変領域は、配列番号 3、5、7、および 9 のいずれか 1 つと少なくとも約 85 %、90 %、95 %、もしくは 99 % 同一な配列を含み、

b) 軽鎖可変領域は、配列番号 11、13、15、および 17 のいずれか 1 つと少なくとも約 85 %、90 %、95 %、もしくは 99 % 同一な配列を含み、

c) 軽鎖可変領域は、配列番号 19、21、23、25、および 34～37 のいずれか 1 つと少なくとも約 85 %、90 %、95 %、もしくは 99 % 同一な配列を含み、

d) 軽鎖可変領域は、配列番号 39、41、43、45、49～54、および 67～70 のいずれか 1 つと少なくとも約 85 %、90 %、95 %、もしくは 99 % 同一な配列を含み、

または

e) 軽鎖可変領域は、配列番号 56、58、60、および 62 のいずれか 1 つと少なくとも約 85 %、90 %、95 %、もしくは 99 % 同一な配列を含む、請求項 1～6 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 8】

a) 重鎖可変領域は、配列番号 2、4、6、および 8 のいずれか 1 つと少なくとも約 85 %、90 %、95 %、もしくは 99 % 同一な配列を含み；かつ軽鎖可変領域は、配列番号 3、5、7、および 9 のいずれか 1 つと少なくとも約 85 %、90 %、95 %、もしくは 99 % 同一な配列を含み、

b) 重鎖可変領域は、配列番号 10、12、14、および 16 のいずれか 1 つと少なくとも約 85 %、90 %、95 %、もしくは 99 % 同一な配列を含み；かつ軽鎖可変領域は、配列番号 11、13、15、および 17 のいずれか 1 つと少なくとも約 85 %、90 %、95 %、もしくは 99 % 同一な配列を含み、

c) 重鎖可変領域は、配列番号 18、20、22、24、および 26～33 のいずれか 1 つと少なくとも約 85 %、90 %、95 %、もしくは 99 % 同一な配列を含み；かつ軽鎖可変領域は、配列番号 19、21、23、25、および 34～37 のいずれか 1 つと少なくとも約 85 %、90 %、95 %、もしくは 99 % 同一な配列を含み、

d) 重鎖可変領域は、配列番号 38、40、42、44、46～48、および 63～66 のいずれか 1 つと少なくとも約 85 %、90 %、95 %、もしくは 99 % 同一な配列を含み；かつ軽鎖可変領域は、配列番号 39、41、43、45、49～54、および 67～70 のいずれか 1 つと少なくとも約 85 %、90 %、95 %、もしくは 99 % 同一な配

10

20

30

40

50

列を含み、
または

e) 重鎖可変領域は、配列番号 55、57、59、および 61 のいずれか 1 つと少なくとも約 85%、90%、95%、もしくは 99% 同一な配列を含み；かつ軽鎖可変領域は、配列番号 56、58、60、および 62 のいずれか 1 つと少なくとも約 85%、90%、95%、もしくは 99% 同一な配列を含む、請求項 1～7 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 9】

a) 重鎖可変領域は、配列番号 2、4、6、および 8 のいずれか 1 つにおける 3 つの CDR と同一な、もしくは該 CDR と比べて 1、2、もしくは 3 つのアミノ酸残基の突然変異を含む配列を含み；

b) 重鎖可変領域は、配列番号 10、12、14、および 16 のいずれか 1 つにおける 3 つの CDR と同一な、もしくは該 CDR と比べて 1、2、もしくは 3 つのアミノ酸残基の突然変異を含む配列を含み；

c) 重鎖可変領域は、配列番号 18、20、22、24、および 26～33 のいずれか 1 つにおける 3 つの CDR と同一な、もしくは該 CDR と比べて 1、2、もしくは 3 つのアミノ酸残基の突然変異を含む配列を含み；

d) 重鎖可変領域は、配列番号 38、40、42、44、46～48、および 63～66 のいずれか 1 つにおける 3 つの CDR と同一な、もしくは該 CDR と比べて 1、2、もしくは 3 つのアミノ酸残基の突然変異を含む配列を含み；

または

e) 重鎖可変領域は、配列番号 55、57、59、および 61 のいずれか 1 つにおける 3 つの CDR と同一な、もしくは該 CDR と比べて 1、2、もしくは 3 つのアミノ酸残基の突然変異を含む配列を含む、請求項 1～8 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 10】

a) 軽鎖可変領域は、配列番号 3、5、7、および 9 のいずれか 1 つにおける 3 つの CDR と同一な、もしくは該 CDR と比べて 1、2、もしくは 3 つのアミノ酸残基の突然変異を含む配列を含み、

b) 軽鎖可変領域は、配列番号 11、13、15、および 17 のいずれか 1 つにおける 3 つの CDR と同一な、もしくは該 CDR と比べて 1、2、もしくは 3 つのアミノ酸残基の突然変異を含む配列を含み、

c) 軽鎖可変領域は、配列番号 19、21、23、25、および 34～37 のいずれか 1 つにおける 3 つの CDR と同一な、もしくは該 CDR と比べて 1、2、もしくは 3 つのアミノ酸残基の突然変異を含む配列を含み、

d) 軽鎖可変領域は、配列番号 39、41、43、45、49～54、および 67～70 のいずれか 1 つにおける 3 つの CDR と同一な、もしくは該 CDR と比べて 1、2、もしくは 3 つのアミノ酸残基の突然変異を含む配列を含み、

または

e) 軽鎖可変領域は、配列番号 56、58、60、および 62 のいずれか 1 つにおける 3 つの CDR と同一な、もしくは該 CDR と比べて 1、2、もしくは 3 つのアミノ酸残基の突然変異を含む配列を含む、請求項 1～9 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 11】

a) 重鎖可変領域は、配列番号 2、4、6、および 8 のいずれか 1 つにおける 3 つの CDR と同一な、もしくは該 CDR と比べて 1、2、もしくは 3 つのアミノ酸残基の突然変異を含む配列を含み；かつ／もしくは軽鎖可変領域は、配列番号 3、5、7、および 9 のいずれか 1 つにおける 3 つの CDR と同一な、もしくは該 CDR と比べて 1、2、もしくは 3 つのアミノ酸残基の突然変異を含む配列を含み、

b) 重鎖可変領域は、配列番号 10、12、14、および 16 のいずれか 1 つにおける

3つのCDRと同一な、もしくは該CDRと比べて1、2、もしくは3つのアミノ酸残基の突然変異を含む配列を含み；かつ／もしくは軽鎖可変領域は、配列番号11、13、15、および17のいずれか1つにおける3つのCDRと同一な、もしくは該CDRと比べて1、2、もしくは3つのアミノ酸残基の突然変異を含む配列を含み、

c) 重鎖可変領域は、配列番号18、20、22、24、および26～33のいずれか1つにおける3つのCDRと同一な、もしくは該CDRと比べて1、2、もしくは3つのアミノ酸残基の突然変異を含む配列を含み；かつ／もしくは軽鎖可変領域は、配列番号19、21、23、25、および34～37のいずれか1つにおける3つのCDRと同一な、もしくは該CDRと比べて1、2、もしくは3つのアミノ酸残基の突然変異を含む配列を含み、

d) 重鎖可変領域は、配列番号38、40、42、44、46～48、および63～66のいずれか1つにおける3つのCDRと同一な、もしくは該CDRと比べて1、2、もしくは3つのアミノ酸残基の突然変異を含む配列を含み；かつ／もしくは軽鎖可変領域は、配列番号39、41、43、45、49～54、および67～70のいずれか1つにおける3つのCDRと同一な、もしくは該CDRと比べて1、2、もしくは3つのアミノ酸残基の突然変異を含む配列を含み、

または

e) 重鎖可変領域は、配列番号55、57、59、および61のいずれか1つにおける3つのCDRと同一な、もしくは該CDRと比べて1、2、もしくは3つのアミノ酸残基の突然変異を含む配列を含み；かつ／もしくは軽鎖可変領域は、配列番号56、58、60、および62のいずれか1つにおける3つのCDRと同一な、もしくは該CDRと比べて1、2、もしくは3つのアミノ酸残基の突然変異を含む配列を含む、請求項1～10のいずれか1項に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項12】

CXCR3に結合することができる抗体または抗原結合フラグメントにおいて、該抗体またはフラグメントは、重鎖可変領域(VH)および軽鎖可変領域(VL)を含み；

a) 該重鎖可変領域は、配列番号2、4、6、および8のいずれか1つと少なくとも約85%、90%、95%、もしくは99%同一な配列を含み；かつ／もしくは該軽鎖可変領域は、配列番号3、5、7、および9のいずれか1つと少なくとも約85%、90%、95%、もしくは99%同一な配列を含み、

b) 該重鎖可変領域は、配列番号10、12、14、および16のいずれか1つと少なくとも約85%、90%、95%、もしくは99%同一な配列を含み；かつ／もしくは該軽鎖可変領域は、配列番号11、13、15、および17のいずれか1つと少なくとも約85%、90%、95%、もしくは99%同一な配列を含み、

c) 該重鎖可変領域は、配列番号18、20、22、24、および26～33のいずれか1つと少なくとも約85%、90%、95%、もしくは99%同一な配列を含み；かつ／もしくは該軽鎖可変領域は、配列番号19、21、23、25、および34～37のいずれか1つと少なくとも約85%、90%、95%、もしくは99%同一な配列を含み、

d) 該重鎖可変領域は、配列番号38、40、42、44、46～48、および63～66のいずれか1つと少なくとも約85%、90%、95%、もしくは99%同一な配列を含み；かつ／もしくは該軽鎖可変領域は、配列番号39、41、43、45、49～54、および67～70のいずれか1つと少なくとも約85%、90%、95%、もしくは99%同一な配列を含み、

または

e) 該重鎖可変領域は、配列番号55、57、59、および61のいずれか1つと少なくとも約85%、90%、95%、もしくは99%同一な配列を含み；かつ／もしくは該軽鎖可変領域は、配列番号56、58、60、および62のいずれか1つと少なくとも約85%、90%、95%、もしくは99%同一な配列を含む、前記抗体またはフラグメント。

【請求項13】

a) 重鎖可変領域は、配列番号 2、4、6、および 8 のいずれか 1 つと同一な、もしくはそれと比べて 1～10 のアミノ酸残基の突然変異を含む配列を含み；かつ／もしくは軽鎖可変領域は、配列番号 3、5、7、および 9 のいずれか 1 つと同一な、もしくはそれと比べて 1～10 のアミノ酸残基の突然変異を含む配列を含み、

b) 重鎖可変領域は、配列番号 10、12、14、および 16 のいずれか 1 つと同一な、もしくはそれと比べて 1～10 のアミノ酸残基の突然変異を含む配列を含み；かつ／もしくは軽鎖可変領域は、配列番号 11、13、15、および 17 のいずれか 1 つと同一な、もしくはそれと比べて 1～10 のアミノ酸残基の突然変異を含む配列を含み、

c) 重鎖可変領域は、配列番号 18、20、22、24、および 26～33 のいずれか 1 つと同一な、もしくはそれと比べて 1～10 のアミノ酸残基の突然変異を含む配列を含み；かつ／もしくは軽鎖可変領域は、配列番号 19、21、23、25、および 34～37 のいずれか 1 つと同一な、もしくはそれと比べて 1～10 のアミノ酸残基の突然変異を含む配列を含み、

d) 重鎖可変領域は、配列番号 38、40、42、44、46～48、および 63～66 のいずれか 1 つと同一な、もしくはそれと比べて 1～10 のアミノ酸残基の突然変異を含む配列を含み；かつ／もしくは軽鎖可変領域は、配列番号 39、41、43、45、49～54、および 67～70 のいずれか 1 つと同一な、もしくはそれと比べて 1～10 のアミノ酸残基の突然変異を含む配列を含み、

または

e) 重鎖可変領域は、配列番号 55、57、59、および 61 のいずれか 1 つと同一な、もしくはそれと比べて 1～10 のアミノ酸残基の突然変異を含む配列を含み；かつ／もしくは軽鎖可変領域は、配列番号 56、58、60、および 62 のいずれか 1 つと同一な、もしくはそれと比べて 1～10 のアミノ酸残基の突然変異を含む配列を含む、請求項 12 に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 14】

a) 重鎖可変領域は、配列番号 2、4、6、および 8 のいずれか 1 つからの 3 つの CDR と少なくとも約 95% 同一な 3 つの CDR を含み；かつ／もしくは軽鎖可変領域は、配列番号 3、5、7、および 9 のいずれか 1 つからの 3 つの CDR と少なくとも約 95% 同一な 3 つの CDR を含み、

b) 重鎖可変領域は、配列番号 10、12、14、および 16 のいずれか 1 つからの 3 つの CDR と少なくとも約 95% 同一な 3 つの CDR を含み；かつ／もしくは軽鎖可変領域は、配列番号 11、13、15、および 17 のいずれか 1 つからの 3 つの CDR と少なくとも約 95% 同一な 3 つの CDR を含み、

c) 重鎖可変領域は、配列番号 18、20、22、24、および 26～33 のいずれか 1 つからの 3 つの CDR と少なくとも約 95% 同一な 3 つの CDR を含み；かつ／もしくは軽鎖可変領域は、配列番号 19、21、23、25、および 34～37 のいずれか 1 つからの 3 つの CDR と少なくとも約 95% 同一な 3 つの CDR を含み、

d) 重鎖可変領域は、配列番号 38、40、42、44、46～48、および 63～66 のいずれか 1 つからの 3 つの CDR と少なくとも約 95% 同一な 3 つの CDR を含み；かつ／もしくは軽鎖可変領域は、配列番号 39、41、43、45、49～54、および 67～70 のいずれか 1 つからの 3 つの CDR と少なくとも約 95% 同一な 3 つの CDR を含み、

または

e) 重鎖可変領域は、配列番号 55、57、59、および 61 のいずれか 1 つからの 3 つの CDR と少なくとも約 95% 同一な 3 つの CDR を含み；かつ／もしくは軽鎖可変領域は、配列番号 56、58、60、および 62 のいずれか 1 つからの 3 つの CDR と少なくとも約 95% 同一な 3 つの CDR を含む、請求項 12 または 13 に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 15】

表 2 中の重鎖および軽鎖可変領域の組み合わせのいずれかを含む、請求項 1～14 のい

10

20

30

40

50

ずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 16】

抗体は、少なくとも約 10^8 M^{-1} の親和定数で CXCR3 に結合することができる、請求項 1～15 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 17】

CXCR3 の A および B アイソフォームの両方に結合することができる、請求項 1～16 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 18】

CXCR3 の A-アイソフォームに優先的に結合することができる、請求項 1～17 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメント。

10

【請求項 19】

CXCR3 活性を中和することができる、請求項 1～18 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 20】

請求項 1～19 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメントのアミノ酸配列をコードする単離された核酸。

【請求項 21】

請求項 20 に記載の単離された核酸を含むベクター。

【請求項 22】

請求項 21 に記載のベクターを含む単離された宿主細胞。

20

【請求項 23】

請求項 1～19 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメントを産生する方法において、該抗体またはフラグメントを産生するのに適した条件下で、培地中で請求項 19 に記載の宿主細胞を培養することを含む、前記方法。

【請求項 24】

請求項 1～19 のいずれか 1 項に記載の抗体もしくはフラグメントまたは請求項 20 に記載の核酸と、該抗体もしくはフラグメントを調査、診断、または治療目的で使用するための説明書とを含むキット。

【請求項 25】

初発の 1 型糖尿病 (T1D) を防止し、処置し、またはその進行を低減する方法において：

30

a) T1D を発症するリスクがある、または初発の T1D を有する対象を特定すること；および

b) 対象に、有効量の請求項 1～19 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメントを投与し、それにより、T1D 発症を予防的に防止し、または初発の T1D を処置しまたはその進行を低減すること

からなる、前記方法。

【請求項 26】

対象は、哺乳動物である、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 27】

対象は、ヒトである、請求項 25 または 26 に記載の方法。

40

【請求項 28】

対象は、約 0.2 nmol/L より高いかまたはそれに等しい基底の血清 C-ペプチドレベルを有し、かつ／または患者は、C-ペプチド刺激の間、約 $0.033 \sim 1.0 \text{ nmol/L} \times \text{分の合計}$ の空腹時血清 C-ペプチドレベルを有する、請求項 25～27 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 29】

患者は、外因性インスリンの非存在下で約 120 mg/dL より高い空腹時血液グルコースレベルを有する、請求項 25～28 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 30】

50

抗体またはそのフラグメントは、ヒト化されている、請求項 25～29 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 31】

抗体またはそのフラグメントは、約 0.03～3.7 mg/kg/用量の用量で投与される、請求項 25～30 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 32】

抗体またはそのフラグメントは、少なくとも 1 日 1 回、週 1 回、2 週に 1 回、月 1 回、2 か月に 1 回、年 4 回、または年 1 回投与される、請求項 25～31 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 33】

抗体またはそのフラグメントは、全ての投与に対する用量の合計が約 0.16～1.8 mg/kg で投与される、請求項 25～32 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 34】

抗体またはそのフラグメントは、静脈内、腹腔内、経鼻、経眼、経口、非経口、皮下、または経皮で投与される、請求項 25～33 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 35】

抗体またはそのフラグメントは、膵臓に直接投与される、請求項 25～34 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 36】

抗体またはそのフラグメントは、膵臓中の膵島細胞の近傍に投与される、請求項 35 に記載の方法。

【請求項 37】

β 細胞刺激因子、インスリン、またはインスリン産生細胞を投与することをさらに含む、請求項 25～36 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 38】

免疫抑制剤を投与することをさらに含む、請求項 25～37 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 39】

初発の 1 型糖尿病 (T1D) を処置しまたはその進行を低減する方法において：

a) 初発の T1D を有し、約 0.2 nmol/L より高いかまたはそれに等しい基底の血清 C-ペプチドレベルを有し、かつ/または C-ペプチド刺激の間、約 0.033～1.0 nmol/L × 分の合計の空腹時血清 C-ペプチドレベルを有するヒト対象を特定すること；および

b) 約 0.03～3.7 mg/kg/用量の請求項 1～19 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメントを投与し、それにより初発の T1D を処置しまたはその進行を低減することを含む、前記方法。

【請求項 40】

請求項 1～19 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメントを含む、対象における初発の 1 型糖尿病 (T1D) を防止し、処置し、またはその進行を低減するための CXC CR3 中和抗体またはそのフラグメント。

【請求項 41】

疾患または障害を処置するための医薬品の製造における、請求項 1～19 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメントから選択される CXC CR3 抗体またはそのフラグメントの使用。

【請求項 42】

疾患または障害は、CXC CR3 に関連する疾患または障害である、請求項 41 に記載の使用。

【請求項 43】

疾患または障害は、初発の 1 型糖尿病 (T1D) である、請求項 41 または 42 に記載

10

20

30

40

50

の使用。

【請求項 4 4】

請求項 1～19 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメントと、少なくとも 1 種の追加の作用剤を含むコンジュゲート。

【請求項 4 5】

前記追加の作用剤は、治療剤、可溶化剤、安定剤、免疫抑制剤、受容体、または抗原結合ペプチドである、請求項 4 4 に記載のコンジュゲート。

【請求項 4 6】

請求項 1～19 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメント、または請求項 20 に記載の核酸、および薬学的に許容される担体を含む医薬組成物。

10

【請求項 4 7】

少なくとも 1 種の追加の治療剤をさらに含む、請求項 4 6 に記載の医薬組成物。

【請求項 4 8】

少なくとも 1 種の追加の治療剤は、C X C R 3 に関連する疾患または障害を処置するための作用剤を含む、請求項 4 7 に記載の医薬組成物。

【請求項 4 9】

少なくとも 1 種の追加の治療剤は、 β 細胞刺激因子、インスリン、またはインスリン産生細胞を含む、請求項 4 7 または 4 8 に記載の医薬組成物。

【請求項 5 0】

試験サンプル中の C X C R 3 の存在または濃度を検出する *in vitro* の方法において、該試験サンプルを、請求項 1～19 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメントおよび検出可能な標識と接触させることからなり、C X C R 3 の存在または濃度は、検出可能な標識によって生成したシグナルと直接的または間接的に相関する、前記方法。

20

【請求項 5 1】

C X C R 3 に関連する状態を診断するのに使用される、請求項 5 0 に記載の方法。

【請求項 5 2】

状態は、T 1 D である、請求項 5 0 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本出願は、合衆国法典第 3 5 卷 1 1 9 条に基づき、その全体が参照により本明細書に組み入れられる、2012 年 1 月 20 日付けで出願された米国仮出願第 6 1 / 5 8 8 , 9 3 6 号の優先権の利益を主張する。

30

【0 0 0 2】

本発明は、抗体および抗体を使用して 1 型糖尿病（I 型糖尿病；T 1 D）のような C X C R 3 シグナル伝達に関連する障害を処置する方法に関する。

【背景技術】

【0 0 0 3】

糖尿病は、様々な特徴的な代謝異常と共にインスリン作用の欠如の結果生じる慢性的な高血糖症を特徴とする。糖尿病は、大きく I 型と II 型に分けることができる。T 1 D は、ランゲルハンス島の膵 β 細胞の損失を特徴とするが、II 型糖尿病は、インスリン分泌とインスリン感受性（インスリン耐性）の両方の減少を特徴とする。米国では、糖尿病の罹患率は人口の約 2～4 パーセントであり、そのうち I 型糖尿病（またインスリン依存性または IDDM としても知られている）が全ケースの約 7～10 パーセントを占めている。

40

【0 0 0 4】

I 型糖尿病は、グルコースホメオスタシスを維持するのに十分なインスリンを産生できないことを特徴とする。この障害は、自己免疫が介在する膵 β 細胞の破壊によって引き起こされると考えられている。I 型糖尿病に関連する自己免疫は、自己反応性 B および T リンパ球の両方の関与を伴う。実際に、I 型糖尿病患者のうち 98 % までが、インスリン、

50

グルタミン酸デカルボキシラーゼ (GAD)、インスリノーマ抗原-2 およびインスリノーマ抗原-2b (IA-2 および IA-2 β)、ならびに異種の膵島細胞の細胞質内抗原 (ICA) などの、それら自身の β 細胞抗原のうち1つまたはそれ以上に対する抗体を有する。必ずしも決定的とは限らないが、一般的に、1つまたはそれ以上の自己抗体のレベルは、 β 細胞の破壊の状態と互に関係がある。非特許文献1；非特許文献2。したがって、自己抗体は、自己免疫性糖尿病発症の指標として役立つ可能性があり、さらに代謝の変化と共に、T1D患者の親類における糖尿病を発症するリスクを予測することができる。

【0005】

T1D診断の時期の近くで得られた、活性化T細胞が浸潤した膵島を示す組織生検によって証明されたように、I型糖尿病の発症は、自己反応性T細胞が介在する可能性がある。非特許文献3；非特許文献4；非特許文献5；非特許文献6。

【0006】

またケモカイン (C-X-Cモチーフ) 受容体3 (CXCR3) は、Gタンパク質共役受容体9 (GPR9)、CD183、IP-10受容体、およびMig受容体としても知られており、これらは、広範な生理学的プロセスおよびT1Dのような関連障害に関与する、自己反応性T細胞で発現されるケモカイン受容体である。CXCR3は、ナイーブT細胞には存在しないが、抗原で活性化されると上方制御されて、その主要なリガンド：CXCL9、CXCL10、およびCXCL11に応答して組織の炎症部位に活性化細胞を動員する。 β 細胞は、T1Dのマウスモデル (非特許文献7；非特許文献8；非特許文献9)；およびインスリン炎を有するT1D患者からの膵島 (非特許文献10；非特許文献11；非特許文献9) において、主としてCXCL10を発現し、CXCL9はそれより低いレベルであることが示されている。加えて、T1Dマウスモデルおよび1型糖尿病患者の膵臓サンプルにおいて、膵臓に浸潤したT細胞は、CXCR3を発現することが示されている (非特許文献7；非特許文献12；非特許文献10；非特許文献11；非特許文献9)。さらに、CXCR3欠損ノックアウトマウスは、発病の有意な遅延およびT1D発病率の減少を実証しているが (非特許文献13)、トランスジェニックマウスの膵島におけるCXCL10の過剰発現は、T細胞の浸潤を促進し、T1D発病を早める (非特許文献14)。抗体処置によるCXCL10の中和は、保護的であることが示されている (非特許文献7)。

【0007】

CXCR3には、ヒトで同定されたA、B、およびAlt、と表示される3種のアイソフォームがあり (非特許文献15；非特許文献16)、CXCR3-Aは、CXCKケモカインCXCL9 (MIG)、CXCL10 (IP-10)、およびCXCL11 (ITAC) に結合し；CXCR3-Bは、これらの標的にも結合するが、CXCL4にも結合し；CXCR3-Altは、CXCL11と相互作用するようである。選択的スプライシングによりCXCR3の数種のタンパク質アイソフォームの生成が起こるが、CXCR3-BおよびCXCR3-Altは、タンパク質レベルにおいてかなり低いレベルで発現されるため、*in vivo*ではCXCR3-Aが優勢の形態である。非特許文献15；非特許文献16。

【0008】

CXCR3の低分子阻害剤を使用してCXCR3経路を破壊する試みは、十分な有効性がないことが証明されている。非特許文献17。したがって、糖尿病発病前に主としてCXCL10を破壊する抗体および他の方法に調査の焦点が当てられている。非特許文献8；非特許文献18。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0009】

【非特許文献1】Irvineら、Diabetes、26：138～47 (1997)

【非特許文献2】Rileyら、N. Engl. J. Med.、323：1167～72

10

20

30

40

50

(1990)

【非特許文献3】Bottazzoら、N. Engl. J. Med.、313:353～60 (1985)

【非特許文献4】Hanninenら、J. Clin. Invest.、90:1901～10 (1992)

【非特許文献5】Itohら、J. Clin. Invest.、92:2313～22 (1993)

【非特許文献6】Imagawaraら、Diabetes、50:1269～73 (2001)

【非特許文献7】Christenら、The Journal of Immunology、2003、171:6838～6845 10

【非特許文献8】Morimotoら、J Immunol 2004;173;7017～7024

【非特許文献9】Sarkarら、Diabetes. 2012年2月;61(2):436～46

【非特許文献10】Unoら、Endocrine J. 57:991～996 (2010)

【非特許文献11】Roepら、Clinical and Experimental Immunology、2003、159:338～343

【非特許文献12】Van Halterenら、Diabetologia 48:75～82 (2005) 20

【非特許文献13】Frigerioら、Nature Medicine 8:1414～1420 (2002)

【非特許文献14】Rhodeら、J. Immunol. 175(6):3516～24 (2005)

【非特許文献15】Lasagniら、J. Exp. Med. 2003 197:1537

【非特許文献16】Ehlertら、J. Immunol. 2004;173;6234～6240

【非特許文献17】Christenら、Clin Exp. Immunol. 165:318～328 (2011) 30

【非特許文献18】Oikawaraら、Rev. Diabet. Stud. 7:209～224 (2010)

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0010】

T1DおよびCXCR3が関連する他の障害の蔓延を考えると、CXCR3シグナル伝達を標的とする、例えば、患者における例えばT1Dなどの障害を処置またはその進行を低減する追加の方法が必要である。

【課題を解決するための手段】

【0011】

CXCR3に結合することができる抗体および抗体の使用方法が、本明細書において開示される。いくつかの実施形態において、本抗体を使用して、CXCR3経路を標的とすることにより、対象におけるT1Dを防止し、処置またはその初期の進行を低減することができる。本抗体および方法は、CXCR3に対する中和抗体は、NODマウスにおいて、疾患の発病前に投与されるとT1Dの発病を防止することができる、またはNODマウスにおいて、T1Dの初発段階で投与されると疾患の経過を元に戻すことができるという驚くべき結果に少なくとも部分的に基づいている。さらに、CXCR3活性の中和は、患者の免疫系の正常な動作への深刻な悪影響を伴わないため、抗体療法の望ましくない副作用が少なくなる。

40

50

【0012】

したがって、一態様において、CXCR3活性を中和することができる抗体および抗原結合フラグメントが、本明細書において開示される。ある特定の実施形態において、CXCR3中和抗体は、配列番号1の残基1～58、1～16、または1～37から選択されるペプチドに結合する能力を特徴としていてもよい。いくつかの実施形態において、本抗体は、C112、C1135、C182、C153、および／またはC14と表示される抗体クローン(C1)の全部または一部を含む。ある特定の実施形態において、開示された抗体のCDR-グラフト化変異体、ヒト化変異体、復帰突然変異した変異体、および完全ヒト変異体などの、抗体C112、C1135、C182、C153、および／またはC14の変異体が提供される。特定の実施形態において、本抗体は、本明細書で開示されたクローンC112、C1135、C182、C153、および／もしくはC14、またはクローン4、12、53、82、および135の変異体のいずれかからの、1つまたはそれ以上の相補性決定領域(CDR)、例えば、1つまたはそれ以上の重鎖CDR1、CDR2、およびCDR3、ならびに／もしくは1つまたはそれ以上の軽鎖CDR1、CDR2、およびCDR3を含む。いくつかの実施形態において、C112、C1135、C182、C153、および／もしくはC14からの抗体、またはそれらのキメラおよびヒト化バージョンは、抗CXCR3クローン5H7、7H5、V44D7、1C6、および／または49801と比較してある特定の有益な特性を示す。例えば、本明細書で開示された抗体は、抗hCXCR3クローン5H7、7H5、V44D7、1C6、および49801と比較して高い結合親和性を示す可能性がある。例えば、本抗体は、例えば表面プラズモン共鳴(例えば、BIACORE(商標)アッセイを使用)によって測定した場合、1C6のような抗CXCR3抗体よりも1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、またはそれより高い倍率(またはその間のあらゆる値)で優れた親和性を示す可能性がある。また本明細書で開示されたヒト化抗体は、マウス抗hCXCR3クローン5H7、7H5、V44D7、1C6、および49801と比較して、予測された免疫原性の低下も示す。加えて、本明細書で開示された重鎖クローン4.7～4.11は、58位および59位(IMG Tによる番号付けを使用して)における脱アミド部位が除去されるように最適化されており、それによって、最初のマウス抗hCXCR3重鎖可変ドメイン(VH)CDR2配列よりも安定性が強化される。

【0013】

別の態様において、本開示は、有効量のCXCR3中和抗体を投与することによる、対象におけるT1D発病前の予防方法、加えて初発のT1Dを処置しまたはその進行を低減する方法を提供する。特定の実施形態において、対象は、ヒトのような哺乳動物である。

【0014】

ある特定の実施形態において、初発のT1Dを有する対象は、臨床診断の6ヶ月以内に、本明細書で開示された方法によって処置される。他の実施形態において、対象は、臨床診断から6ヶ月よりも後に処置され、ここで対象は、少なくとも約0.2nmol/Lの残留した合計の空腹時血清C-ペプチドレベル(fasting integrated serum C-peptide level)を保持する。

【0015】

いくつかの実施形態において、対象は、外因性インスリンの非存在下における、120mg/dLを超える上昇した空腹時血液グルコースレベル、またはC-ペプチド刺激の間、約0.033～1.0nmol/L×分の異常に低い合計の空腹時血清C-ペプチドレベルを特徴としていてもよい。特定の実施形態において、CXCR3中和抗体は、約0.03～3.7mg/kg/用量の用量で投与される。いくつかの実施形態において、対象に、少なくとも1回分の用量の抗体が投与される。ある特定の実施形態において、対象に、複数回用量の抗体(例えば、少なくとも年1回、年4回、2か月に1回、月1回、2週に1回、週1回、または1日1回)が投与される。さらなる実施形態において、上述した方法は、CXCR3中和抗体の投与と同時に、またはそれと連続して(その前または後に)、免疫抑制剤および／またはβ細胞刺激因子(β-cell stimulating

agent) を投与する工程をさらに含んでもよい。

【0016】

様々な実施形態において、異常なCXCR3発現を特徴とする状態を処置するために、本明細書において開示される抗CXCR3抗体が投与される。いくつかの実施形態において、CXCR3活性の下方制御および／または中和によって利益を得る可能性があるあらゆる状態を処置するために、抗CXCR3抗体が投与される。いくつかの実施形態において、T1Dを処置するために、本明細書において開示される抗CXCR3抗体が投与される。

【0017】

本発明の追加の実施形態および利点は、一部は下記の説明に記載されるが、一部はその説明から明白であると予想され、または本発明の実施により学ぶことができる。本発明の実施形態および利点は、特に添付の特許請求の範囲で指摘された要素および組み合わせによって理解され達成される。

【0018】

前述の一般的な説明および以下の詳細な説明はいずれも、単に典型的かつ説明的なものであり、特許請求された発明を限定しないと理解されるものとする。

【0019】

添付の図面は、本明細書に組み込まれてその一部を構成しており、本発明の1つの(数種の)実施形態(複数可)を例示し、説明と共に、本発明の原理を明確にするのに役立つ。

【図面の簡単な説明】

【0020】

【図1】6週齢の雌NODマウス(第1の列)、10週齢の雌NODマウス(第2の列)、および初発の糖尿病雌NODマウス(第3の列)からの膵臓の切片における、インスリン(左のパネル)、CXCL10(中心のパネル)、およびCD3(右のパネル)の発現を示す図である。

【図2】初発の糖尿病を有する雌NODマウスの膵臓からのT細胞におけるCXCR3発現のフローサイトメトリー分析のグラフである。下の2つのグラフにおいて実線で示されたように、CD4+およびCD8+T細胞を同定し、CXCR3発現に関して染色した。同じ2つのグラフにおいて、アイソタイプ対照の染色は、影付きの曲線によって示される。

【図3】経時的な非糖尿病雌NODマウスのパーセンテージを示す図であり、PBS、抗CXCR3、および対照IgGでの動物の処置は、糖尿病発病前、10週齢で開始した。図3Aおよび3Bに2つの独立した研究からの結果を示す。

【図4】抗CXCR3抗体で予防的に処置した26週齢の非糖尿病雌NODマウスからの膵臓の切片を示す図であり、上記処置は、10週齢で開始し、染色は、インスリン(左のパネル)またはCD3/Foxp3(中心および右のパネル)に関してなされた。右のパネルは、中心のパネルで示される切片の倍率を高めた画像である。

【図5】PBS、抗CXCR3抗体、対照IgG、およびマウス抗胸腺細胞グロブリン(マウスサイモグロブリン、mATG)抗体で処置した雌NODマウスの1日の早朝血液グルコース値を示す図であり、上記処置は、マウスが糖尿病とみなされてから3~4日以内に開始された。各ラインは、個々のマウスを表す。矢印は、処置がなされた日を表示する。

【図6】Aは、PBS、抗CXCR3抗体、対照IgG、ならびにCD4+ (左のグラフ) およびCD8+ (右のグラフ) であるmATG抗体で処置した雌NODマウスからのT細胞のパーセンテージを示す棒グラフである。処置の経過中に、5回目の被験物質注入後のマウスから、加えて年齢を適合させたmATG処置マウスから、膵臓を回収した。Bは、PBS、対照抗体、または抗CXCR3抗体で処置したマウスの膵臓からのCD4+T細胞における、CD44発現(縦軸)とCD62L発現(横軸)とのプロットである。G1およびG2は、それぞれ、ゲーティングした高CD44/低CD62Lおよび低CD4

10

20

30

40

50

4 / 低 C D 6 2 L の T 細胞を指す。C は、アイソタイプ対照抗体で染色してリンパ球でゲーティングした細胞における C X C R 3 発現と比較した、G 1 および G 2 での C D 4 + T 細胞における C X C R 3 の発現を示す。

【図 7】対照 I g G (左のパネル)、抗 C X C R 3 抗体 (中心のパネル)、および m A T G (右のパネル) で処置し、インスリン (上の列) または C D 3 / F o x p 3 (下の列) に関して染色した、雌 N O D マウスからの脾臓の切片を示す図である。

【図 8】年齢を適合させた非糖尿病雌 N O D マウス (図 8 A)、P B S で処置した糖尿病 N O D マウス (図 8 B)、抗 C X C R 3 抗体処置後に疾患が寛解している N O D マウス (図 8 C)、および対照 I g G 抗体で処置した糖尿病 N O D マウス (図 8 D) におけるグルコース刺激後の血液グルコースレベルのプロットである。グルコース刺激は、最初の糖尿病の診断および研究への登録の 1 0 0 日後におけるマウスに行われた。各ラインは、個々の動物からのデータを表す。

【図 9】P B S、抗 C X C R 3、対照 I g G、または m A T G 抗体で処置した雌 N O D マウスから単離したプールしたドナー C D 4 + および C D 8 + T 細胞を受け入れた N O D . S c i d レシピエントに関する、経時的な非糖尿病マウスのパーセンテージを示す図である。P B S もしくは対照 I g G での処置から約 8 0 ~ 9 0 日後に糖尿病雌 N O D マウスから、または抗 C X C R 3 もしくは m A T G 抗体での処置から約 8 0 ~ 9 0 日間後に疾患が寛解している雌 N O D マウスから、T 細胞を単離した。図 9 A および 9 B に 2 つの独立した研究からの結果を示す。

【図 1 0】A は、図 9 で説明されているように、P B S、抗 C X C R 3、対照 I g G、または m A T G 抗体で処置した雌 N O D マウスから単離した C D 4 + および C D 8 + ドナー T 細胞のパーセンテージを示すグラフである (左のパネル)。図 1 0 A の右のパネルに、各処置群に関する C D 4 + および C D 8 + T 細胞ドナープールにおけるエフェクターおよびセントラルメモリー細胞 (c e n t r a l m e m o r y c e l l) のパーセンテージを示す。B は、C D 4 および C D 2 5 の発現または C D 4、C D 2 5、および F o x p 3 の発現によって同定された、ドナー T 細胞プールにおける制御性 T 細胞のパーセンテージを示すグラフである。C は、C X C R 3 も発現するドナー T 細胞プールにおける C D 8 + (左のパネル) および C D 4 + (右のパネル) のパーセンテージを示すグラフである。

【図 1 1】未処置のままの、または抗 C X C R 3 抗体もしくは対照 I g G で処置した R I P - O V A レシピエントマウスへの、ドナー O V A 特異的 T C R トランスジェニックマウスからの T 細胞の養子免疫伝達 (a d o p t i v e t r a n s f e r) 後の、経時的な非糖尿病マウスのパーセンテージを示すグラフである。図 1 1 A および 1 1 B に 2 つの研究からの結果を示す。

【図 1 2】A は、R I P - O V A レシピエントマウスへの養子免疫伝達前の、フローサイトメトリーによって分析したドナー T 細胞における C X C R 3 発現 (実線の曲線) を示すグラフである。アイソタイプ対照抗体での染色を影付きの曲線で示す。B は、養子免疫伝達後 2、4、7、9、および 1 5 日目の、抗 C X C R 3 または対照 I g G 抗体で処置したレシピエントマウスの血液、脾臓、および脾リンパ節におけるドナー細胞のパーセンテージを示すグラフである。C は、養子免疫伝達後、抗 C X C R 3 または対照 I g G 抗体で処置したレシピエントマウスの血液、脾臓、および脾リンパ節におけるドナー増殖性細胞のパーセンテージを示すグラフである。D は、養子免疫伝達後、抗 C X C R 3 または対照 I g G 抗体で処置したレシピエントマウスの血液、脾臓、および脾リンパ節における C X C R 3 + ドナー細胞のパーセンテージを示すグラフである。

【図 1 3】処置せずに、インスリン (左上) もしくは C D 3 (右上) に関して染色した、または抗 C X C R 3 抗体で処置し、インスリン (左下) もしくは C D 3 (右下) に関して染色した R I P - O V A レシピエントマウスからの脾臓の切片を示す写真である。脾臓を、ドナー T 細胞の養子免疫伝達から 6 0 日後に回収した。

【図 1 4】A ~ C は、クローン C 1 4、1 2、5 3、8 2、および 1 3 5 が介在する、C X C L 1 1 に対する C X C R 3 介在走化性の阻害のレベルを示すグラフである。データは

、走化性アッセイで移動する細胞の平均相対的な蛍光単位（RFU）として示される。Dは、抗体クローンC14、12、53、および135についてカルシウム動員を50%阻害するのに必要な抗体の濃度を示すグラフである。

【図15】クローンC14、12、53、82、および135が介在する、CXCL9（図15A）、CXCL10（図15B）、およびCXCL11（図15C）に対するCXCR3介在走化性の阻害のレベルを示すグラフである。データは、走化性アッセイで移動する細胞の平均相対的な蛍光単位（RFU）として示される。

【図16】様々な異なるケモカイン受容体を発現する細胞への抗体結合のヒストグラムプロットを示すグラフである。各ヒストグラムプロットについて、結合した抗体の濃度は、横軸に沿って増加する。

【図17A】クローン4.0（「親」と標識）ならびにある特定のヒト化変異体（VH1-3および7-11およびVK1-3と標識）に関する重鎖（VH）および軽鎖（VK）可変ドメインのアラインメントを示す図である。

【図17B】クローン12.0（「親」と標識）ならびにある特定のヒト化変異体（VH1-3およびVK1-3と標識）に関する重鎖（VH）および軽鎖（VK）可変ドメインのアラインメントを示す図である。

【図17C】クローン53.0（「親」と標識）ならびにある特定のヒト化変異体（VH1-6およびVK1-9と標識）に関する重鎖（VH）および軽鎖（VK）可変ドメインのアラインメントを示す図である。

【図17D】クローン82.0（「親」と標識）ならびにある特定のヒト化変異体（VH1-3およびVK1-3と標識）に関する重鎖（VH）および軽鎖（VK）可変ドメインのアラインメントを示す図である。

【図17E】クローン135.0（「親」と標識）ならびにある特定のヒト化変異体（VH1-3およびVK1-3と標識）に関する重鎖（VH）および軽鎖（VK）可変ドメインのアラインメントを示す図である。

【図17F】クローン4.0（「親」と標識）ならびにある特定の4Dヒト化変異体（VH4-6およびVK4-7と標識）に関する重鎖（VH）および軽鎖（VK）可変ドメインのアラインメントを示す図である。

【図17G】クローン53.0（「親」と標識）ならびにある特定の4Dヒト化変異体（VH7-10およびVK10-13と標識）に関する重鎖（VH）および軽鎖（VK）可変ドメインのアラインメントを示す図である。図17A～Gにおける各アラインメントの下の配列は、最も近いヒト生殖細胞系の配列を表す。黒い囲みは、CDRドメインを表示し、影付きの残基は、それに対応する生殖細胞系の残基（図17A～E）またはそれに対応する親の残基（図17F～G）と配列が異なっており、ここではIMGTによる番号付けとCDRの境界が使用される。

【図17H】クローン4.0、12.0、82.0、および135、加えて抗体クローン5H7および7H5に関する重鎖（VH）および軽鎖（VK）可変ドメインのアラインメントを示す図である。黒枠は、CDRドメインを表示し、影付きの残基は、アラインメント中の前の配列と配列が異なっており、IMGTによる番号付けが使用されている。

【図18】抗体クローン4、12、53、82、および135に関する最小限のエピトープ残基の境界を示す図である。結合活性に重要な残基は、Xで表示される。

【図19】キメラクローン4、12、53、82、および135、加えてヒト化変異体Hu1、Hu2、Hu3に関する、ヒトCXCR3でトランスフェクションした300.19細胞における抗体結合を示すヒストグラムプロットである。抗体を5μg/ml（黒のライン）、0.5μg/ml（暗い灰色のライン）、もしくは0.1μg/ml（黒の点線）で投与し、または5μg/mlの二次抗体を単独（塗り潰された灰色のヒストグラム）で投与し、データを、蛍光の最大パーセンテージに対する細胞数（横軸）としてプロットする。

【図20】クローン4、12、53、82、および135、または市販のクローン1C6の10μg/mlのキメラ（Chim）またはヒト化（Hu1、Hu2またはHu3）抗

10

20

30

40

50

体変異体の存在下または非存在下で、CXC L 9（図20A）、CXC L 10（図20B）、およびCXC L 11（図20C）へのヒトCXC R 3でトランスフェクションした細胞の移動（縦軸）の阻害パーセンテージを示すグラフである。

【図21】クローン4、12、53、82、および135および市販のクローン1C6のキメラ（Chim）およびヒト化（Hu1、Hu2またはHu3）抗体変異体の、ヒトCXC R 3-G q i 4 q i 4でトランスフェクションしたCHO細胞におけるカルシウム動員を阻害する能力を示すプロットである。抗体濃度（横軸）は、最大の阻害のパーセント（縦軸）に対してプロットされる。

【図22】NOD-scid IL2ry^{nu}11（NSG）マウスにおける、CD3+/CD4+T細胞（図22A）、CD3+/CD8+T細胞（図22B）、CXC R 3+/CD3+/CD4+T細胞（図22C）、およびCXC R 3+/CD3+/CD8+T細胞（図22D）のパーセンテージに対する抗CXC R 3抗体処置の作用を示すグラフである。Hu Ig G 1は、ヒトIg G 1（ハーセプチン）を表示し、クローン4、12、53、82、および135は、キメラ抗体クローンを指す。

【図23A】重鎖および軽鎖クローン12.0に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図23B】重鎖および軽鎖クローン12.1に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図23C】重鎖および軽鎖クローン12.2に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図23D】重鎖および軽鎖クローン12.3に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図24A】重鎖および軽鎖クローン135.0に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図24B】重鎖および軽鎖クローン135.1に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図24C】重鎖および軽鎖クローン135.2に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図24D】重鎖および軽鎖クローン135.3に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図25A】重鎖および軽鎖クローン4.0に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図25B】重鎖および軽鎖クローン4.1に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図25C】重鎖および軽鎖クローン4.2に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図25D】重鎖および軽鎖クローン4.3に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図25E】重鎖クローン4.4に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図25F】重鎖クローン4.5に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図25G】重鎖クローン4.6に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図25H】重鎖クローン4.7に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図25I】重鎖クローン4.8に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図25J】重鎖クローン4.9に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図25K】重鎖クローン4.10に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図25L】重鎖クローン4.11に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図25M】軽鎖クローン4.4に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図25N】軽鎖クローン4.5に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図25O】軽鎖クローン4.6に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図25P】軽鎖クローン4.7に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図26A】重鎖および軽鎖クローン53.0に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図26B】重鎖および軽鎖クローン53.1に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図26C】重鎖および軽鎖クローン53.2に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図26D】重鎖および軽鎖クローン53.3に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図26E】重鎖クローン53.4に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図26F】重鎖クローン53.5に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図26G】重鎖クローン53.6に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図26H】軽鎖クローン53.4に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図26I】軽鎖クローン53.5に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図26J】軽鎖クローン53.6に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図26K】軽鎖クローン53.7に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図26L】軽鎖クローン53.8に関するアミノ酸配列を表す図である。

10

20

30

40

50

- 【図 2 6 M】軽鎖クローン 5 3. 9 に関するアミノ酸配列を表す図である。
- 【図 2 6 N】重鎖クローン 5 3. 7 に関するアミノ酸配列を表す図である。
- 【図 2 6 O】重鎖クローン 5 3. 8 に関するアミノ酸配列を表す図である。
- 【図 2 6 P】重鎖クローン 5 3. 9 に関するアミノ酸配列を表す図である。
- 【図 2 6 Q】重鎖クローン 5 3. 10 に関するアミノ酸配列を表す図である。
- 【図 2 6 R】軽鎖クローン 5 3. 10 に関するアミノ酸配列を表す図である。
- 【図 2 6 S】軽鎖クローン 5 3. 11 に関するアミノ酸配列を表す図である。
- 【図 2 6 T】軽鎖クローン 5 3. 12 に関するアミノ酸配列を表す図である。
- 【図 2 6 U】軽鎖クローン 5 3. 13 に関するアミノ酸配列を表す図である。
- 【図 2 7 A】重鎖および軽鎖クローン 8 2. 0 に関するアミノ酸配列を表す図である。 10
- 【図 2 7 B】重鎖および軽鎖クローン 8 2. 1 に関するアミノ酸配列を表す図である。
- 【図 2 7 C】重鎖および軽鎖クローン 8 2. 2 に関するアミノ酸配列を表す図である。
- 【図 2 7 D】重鎖および軽鎖クローン 8 2. 3 に関するアミノ酸配列を表す図である。
- 【図 2 8 A】図 2 8 A～P は、重鎖クローン 1 2. 0～1 2. 3 および軽鎖クローン 1 2. 0～1 2. 3、重鎖クローン 1 3 5. 0～1 3 5. 3 および軽鎖クローン 1 3 5. 0～1 3 5. 3、重鎖クローン 4. 0～4. 11 および軽鎖クローン 4. 0～4. 7、重鎖クローン 5 3. 0～5 3. 6 および軽鎖クローン 5 3. 0～5 3. 9、ならびに重鎖クローン 8 2. 0～8 2. 3 および軽鎖クローン 8 2. 0～8 2. 3 に関する核酸配列を示す。
- 【図 2 8 B】図 2 8 A の続き。
- 【図 2 8 C】図 2 8 B の続き。 20
- 【図 2 8 D】図 2 8 C の続き。
- 【図 2 8 E】図 2 8 D の続き。
- 【図 2 8 F】図 2 8 E の続き。
- 【図 2 8 G】図 2 8 F の続き。
- 【図 2 8 H】図 2 8 G の続き。
- 【図 2 8 I】図 2 8 H の続き。
- 【図 2 8 J】図 2 8 I の続き。
- 【図 2 8 K】図 2 8 J の続き。
- 【図 2 8 L】図 2 8 K の続き。
- 【図 2 8 M】図 2 8 L の続き。 30
- 【図 2 8 N】図 2 8 M の続き。
- 【図 2 8 O】図 2 8 N の続き。
- 【図 2 8 P】図 2 8 O の続き。
- 【発明を実施するための形態】

【0021】

以下で本開示に係る特定の代表的な実施形態について詳細に述べるが、そのうちいくつかの実施例が添付の図面で例示される。

【0022】

CXCR3

CXCR3 (MIM: 300574、ヒト遺伝子番号: 2833、ケモカイン (C-X-Cモチーフ) 受容体 3; また、CD182、CD183、CKR-L2、CMKAR3、GPR9、IP10-R、Mig-R、MigR、Gタンパク質共役受容体 9、IP10 受容体、IP10 受容体、Mig 受容体、ケモカイン (C-X-C) 受容体 3、インターフェロン誘導性タンパク質 10 受容体としても知られている) は、大部分がナイーブ T 細胞には存在しないが、抗原で活性化されると上方制御されて、その一次リガンド: CXCL9 (ヒト遺伝子番号: 4283)、CXCL10 (ヒト遺伝子番号: 3627)、および CXCL11 (ヒト遺伝子番号: 6373) に応答して組織の炎症部位にこれらの細胞を動員するケモカイン受容体である。ランゲルハンス島の β 細胞は、CXCL9 および CXCL10 を発現し (Frigerio ら、Nature Medicine 8: 1414～1420 (2002)、脾臓に浸潤した T 細胞は、CXCR3 を発現する (C 40 50

hristenら、The Journal of Immunology、2003、171：6838～6845；Van Halterenら、Diabetologia 48：75～82（2005）；Unoら、Endocrine J. 57：991～996（2010）；Roepら、Clinical and Experimental Immunology、2003、159：338～343；Tanakara、Diabetes 58：2285～2291（2009）；Sarkarら、Diabetes. 2012年2月；61（2）：436～46）。

【0023】

CXCR3は、例えば、ヒト、マウス、ラット、ウシ、チンパンジー、マカク、イヌ、カエル、カモノハシ、ブタ、およびゼブラフィッシュなどの様々な生物で発現される。表 10
1に、様々な生物からのCXCR3に関する米国立バイオテクノロジー情報センター（NCBI）の遺伝子番号およびタンパク質参照配列を列挙する。配列番号1は、全長ヒトCXCR3配列（スプライス変異体A）である。スプライス変異体Bのペプチド配列は、参照配列NP_001136269.1により入手できる。ヒトCXCR3スプライス変異体Aの予測された細胞外ドメインは、Colvinら、Mol. Cell. Bio.、26：5838～49（2006）で説明されており、以下に示すような配列番号1の残基1～58、1～16、111～126、190～223、278～301を包含する。

【0024】

配列番号1 NP_001495 ヒトCXCR3アイソフォームA

1 m v l e v s d h q v l n d a e v a a l l e n f s s s y d y g e n e s 20
d s c c t s p p c p q d f s l n f d r a f l p a l y
61 s l l f l l g l l g n g a v a a v l l s r r t a l s s t d t f l l
h l a v a d t l l v l t l p l w a v d a a v q w v f g
121 s g l c k v a g a l f n i n f y a g a l l l a c i s f d r y l n
i v h a t q l y r r g p p a r v t l t c l a v w g l c l
181 l f a l p d f i f l s a h h d e r l n a t h c q y n f p q v g r
t a l r y l q l v a g f f l p l l v m a y c y a h i l a
241 v l l v s r g q r r l r a m r l v v v v v v a f a l c w t p y h
l v v i v d i l m d l g a l a r n c g r e s r v d v a k
301 s v t s g l g y m h c c l n p l l y a f v g v k f r e r m w m l 30
l l r l g c p n q r g l q r q p s s s r r d s s w s e t
361 s e a s y s g l

【0025】

【表 1】

表1

種	遺伝子番号	タンパク質配列
ヒト(<i>Homo sapiens</i>)	2833	NP_001495.1 (A) NP_001136269.1 (B)
ハツカネズミ(<i>Mus musculus</i>)	12766	NP_034040.1
ドブネズミ(<i>Rattus norvegicus</i>)	84475	NP_445867.1
ウシ(<i>Bos taurus</i>)	497018	NP_001011673.1
アカゲザル(<i>Macaca mulatta</i>)	699438	NP_001138512.1
ゼノパス・トロピカリス(<i>Xenopus tropicalis</i>)	496477	NP_001011067.1
アフリカツメガエル(<i>Xenopus laevis</i>)	443669	AAH73571.1
イヌ(<i>Canis lupus familiaris</i>)	491952	NP_001011887.1
チンパンジー(<i>Pan troglodytes</i>)	465704	XP_521125.2 XP_001137964.1 XP_001137867.1
イノシシ(<i>Sus scrofa</i>)	492278	CAH64842.1
ゼブラフィッシュ(<i>Danio rerio</i>)	791973 654692	NP_001007315.1, XP_001330996.1 NP_001082899.2 XP_001923160.1
タイセイヨウサケ(<i>Salmo salar</i>)	100195464	NP_001133965.1
カモノハシ(<i>Ornithorhynchus anatinus</i>)	100085584	XP_001515888.1

10

20

【0026】

CXCR3およびCXCL10は、ヒトT1D患者で発現される。Unoら、Endocrine J. 57:991~996(2010); Roepら、Clin. and Exp. Immun. 159:338~343(2009); Tanakara、Diabetes 58:2285~2291(2009)。これらの患者において、CXCL10は、膵島中の残存するインスリン産生ベータ細胞で発現される。CXCR3は、膵島周囲の浸潤性T細胞で発現される。糖尿病マウスモデルである非肥満糖尿病(NOD)マウスで、類似の発現パターンが再現されている。Morimotoら、J Immunol 2004; 173:7017~7024; Liら、World J Gastroenterol. 11(30):4750~4752(2005); Sarkarら、Diabetes. 2012年2月; 61(2):436~46)。

30

【0027】

またCXCR3は、ある特定のタイプの炎症組織に存在するT細胞でも発現されるが、CXCL9、CXCL10、およびCXCL11は、炎症性病変の局所的な細胞によって産生されることが多い。したがって、いくつかの実施形態において、T1Dを処置するためにCXCR3を破壊する療法が開示されている。

40

【0028】

抗体

用語「抗体」は、本明細書で使用される場合、源、起源の種、産生方法、および／または特徴に関係なく、抗原-結合部位を含むあらゆるポリペプチドを指し、免疫グロブリンまたはそれらの抗原結合部分もしくはフラグメントを包含する。非限定的な例として、用語「抗体」は、ヒト、オランウータン、マウス、ラット、ヤギ、ヒツジ、およびニワトリの抗体を包含する。この用語は、これらに限定されないが、ポリクローナル、モノクローナル、単一特異的、多特異的、非特異的、ヒト化、完全ヒト、ラクダ化、一本鎖、キメラ

50

、合成、組換え、ハイブリッド、突然変異、復帰突然変異、およびCDRーグラフト化抗体を包含する。またこの用語は、本発明の目的のために、特に他の指定がない限り、Fab、F(ab')₂、Fv、scFv、Fd、dAb、VHH（またナノボディとも称される）のような抗体フラグメント、および二重特異性または多重特異性抗体などの抗原結合機能を保持する他の抗体フラグメントも包含する。用語「抗体」はまた、免疫グロブリンをベースとしない抗原結合分子も指す。例えば、当技術分野で公知の非免疫グロブリン足場は、小モジュール免疫薬（small modular immunopharmaceutical）（例えば、それぞれ2008年7月31日および2008年9月18日に公開された米国特許出願公開第20080181892号および20080227958号を参照）、テトラネクチン、フィブロネクチンドメイン（例えば、アドネクチン（AdNectin）、2007年4月12日に公開された米国特許出願公開第2007/0082365号を参照）、タンパク質A、リボカリン（例えば、米国特許第7,118,915号を参照）、アンキリン反復、およびチオレドキシンを包含する。

【0029】

用語「抗原ー結合ドメイン」は、抗原の一部または全部に特異的に結合するか、またはそれらに相補的な領域を含む抗体分子の一部を指す。抗原が大きい場合、抗体は、抗原の特定の一部にしか結合しない可能性がある。ある特定の実施形態において、CXCR3抗体または抗原結合フラグメントは、少なくとも1つの抗原ー結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、本抗体またはフラグメントが、同一または異なるエピトープで2つまたはそれ以上のCXCR3分子と結合することができるように、または高親和性でCXCR3および少なくとも1つの他の抗原に結合することができるように、本抗体またはフラグメントは多重特異性であり、2つまたはそれ以上の（例えば、2、3、4、5、またはそれより多くの）抗原ー結合ドメインを含む。抗体の抗原結合部位は、抗原に特異的に結合する能力を保持する1つまたはそれ以上の抗体のフラグメントを含んでいてもよい。これらのフラグメントは、親抗体からの、または親抗体の変異体からの重鎖および／または軽鎖可変領域を含んでいてもよい。

【0030】

「エピトープ」または「抗原決定基」は、抗体の抗原ー結合ドメインとの特異的な相互作用に関与する抗原分子の部分である。抗原ー結合ドメインは、1つまたはそれ以上の抗体可変ドメインによって提供される可能性がある。抗原ー結合ドメインは、少なくとも1つの抗体軽鎖可変領域（VL）および少なくとも1つの抗体重鎖可変領域（VH）を含む可能性がある。抗原ー結合ドメインはまた、VH領域のみ、またはVL領域のみを含む場合もある。例えば、ラクダおよびラマ（ラクダ科（Camelidae）、ラクダ科（camelids））からの抗体は、重鎖のみで形成され軽鎖がない独特な種類の抗体を包含する。このような抗体の抗原ー結合部位は、VHHと称される1つの単一ドメインである。これらは、「ラクダ化抗体」または「ナノボディ」と呼ばれる。例えば、参照により組み入れられる米国特許第5,800,988号および6,005,079号、ならびに国際出願公報WO94/04678号およびWO94/25591号を参照されたい。

【0031】

本明細書で開示された抗CXCR3抗体は、当技術分野で公知のあらゆる好適な方法によって生成することができる。例えば、本抗体は、ポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体を含んでいてもよい。ポリクローナル抗体の製造方法は、当業者に公知である（Harlowら、Antibodies: a Laboratory Manual、Cold Spring Harbor Laboratory Press、第2版（1988））。CXCR3のポリペプチド、それらのフラグメント（例えば、1つまたはそれ以上の細胞外ドメイン、もしくはN末端の58アミノ酸、もしくはN末端の37アミノ酸、もしくはN末端の20アミノ酸、もしくはN末端の16アミノ酸など）、融合タンパク質、またはそれらの変異体を含む免疫原が、抗CXCR3抗体の生成に使用することができる。

【0032】

免疫原は、C X C R 3を産生する、または過剰産生する細胞によって産生してもよく、このような細胞は、天然に存在する細胞、天然に存在する突然変異細胞または遺伝子操作された細胞であってもよい。ポリペプチドの性質（例えば、パーセント疎水性、パーセント親水性、安定性、正味の電荷、等電点など）に応じて、免疫原を改変またはコンジュゲートして、その免疫原性を変更してもよい。例えば、C X C R 3またはそれらの部分を担体にコンジュゲートすることができる。コンジュゲートとしては、活性な化学官能基での誘導体化による化学的なコンジュゲート、もしくは融合タンパク質に基づく方法論を介した化学的なコンジュゲート、または他の当業者に公知の方法のいずれかが挙げられる。タンパク質を変更する担体および／または他の免疫原性の例としては、これらに限定されないが、K L H、オボアルブミン、血清アルブミン、ウシサイログロブリン、ダイズトリプシンインヒビター、およびプロミスカスTヘルパーペプチド（promiscuous T helper peptide）などが挙げられる。

10

【0033】

免疫応答を高めるために、様々なアジュバントもC X C R 3免疫原と共に使用することができる。アジュバントの例としては、これらに限定されないが、フロインドアジュバント（完全および不完全）、ミネラルオイル、ゲル、アラム（水酸化アルミニウム）、表面活性物質、例えばリゾレシチン、プルロニックポリオール、ポリアニオン、ペプチド、油乳濁液、キーホールリンペットヘモシニアン（K L H）、ジニトロフェノール、およびヒトアジュバント、例えばB C G（カルメットーゲラン杆菌（*Bacille Calmette-Guérin*））ならびにコリネバクテリウム・パルヴム（*Corynebacterium parvum*）などが挙げられる。採用される可能性があるアジュバントのさらなる例としては、M P L - T D Mアジュバント（モノホスホリル脂質A、合成トレハロースジコリノミコレート）が挙げられる。免疫化プロトコールは当技術分野で周知であり、選ばれた動物宿主において免疫反応を惹起するあらゆる方法により行うことができる。したがって、設計上の選択に従って、様々な投与経路を様々な期間で使用することができる。

20

【0034】

例えば、免疫原は、本明細書で例示されたように、これらに限定されないが、ウサギ、マウス、ラクダ科の動物、ラットなどの様々な宿主動物に投与して、C X C R 3に特異的なポリクローナル抗体を含有する血清の産生を誘導することができる。免疫原の投与は、免疫剤および場合によりアジュバントの1回またはそれ以上の注入を伴っていてもよい。いくつかの実施形態において、哺乳動物への免疫原（アジュバント有り、または無し）の注入は、複数回で皮下もしくは腹膜内に注入されるか、または筋肉内または静脈内に注入される。いくつかの実施形態において、好適なポリクローナル調製物が得られたら、個々の抗体種が得られるように、例えばアフィニティークロマトグラフィー、パニング、吸着などの公知の分離技術によって特定の抗体を単離することができる。いくつかの実施形態において、個々の抗体種は、例えば、1つまたはそれ以上のC D Rのアミノ酸配列を得るために、配列決定などのさらなる研究に用いられる。

30

【0035】

いくつかの実施形態において、C X C R 3抗体は、モノクローナルである。モノクローナル抗体は、本抗体を発現する単一種の真核生物、ファージまたは原核生物クローンから誘導されたあらゆる抗体を包含する。モノクローナル抗体は、例えば、従来のハイブリドーマ技術（参照により本明細書に組み入れられるK o h l l e rおよびM i l s t e i n、*Nature* 256:495~499（1975））ならびに米国特許第4,376,110号）、組換えDNA法（参照により本明細書に組み入れられる米国特許第4,816,567号）、または抗体ライブラリーを使用したファージディスプレイ技術（C l a c k s o nら、*Nature* 352:624~628（1991）；M a r k sら、*J. Mol. Biol.* 222:581~597（1991））により製造することができる。様々な他の抗体産生技術については、*Antibodies: A Laboratory Manual*、H a r l o wら編、C o l d S p r i n g H a r b o r L a b

40

50

oratory、1988を参照されたい。モノクローナル抗体を産生するのに採用される可能性がある方法の他の例としては、これらに限定されないが、ヒトβ細胞ハイブリドーマ技術（Kosborら、Immunology Today 4:72（1983）；およびColeら、Proc Natl Acad Sci USA 80:2026（1983））、ならびにEBV-ハイブリドーマ技術（Coleら、Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy、77～96頁、Alan R. Liss（1985））などが挙げられる。このような抗体は、IgG、IgM、IgE、IgA、およびIgDなどのあらゆる免疫グロブリンクラス、ならびにそれらのあらゆるサブクラスまたは変異体に属するものでもよい。本発明のmAbを産生するハイブリドーマは、in vitroで培養してもよいし、またはin vivoで培養してもよい。

10

【0036】

いくつかの実施形態において、CXCR3のポリペプチド、それらのフラグメント（例えば、1つまたはそれ以上の細胞外ドメイン、またはN末端の58アミノ酸、またはN末端の37アミノ酸、またはN末端の20アミノ酸、またはN末端の16アミノ酸など）、融合タンパク質、またはそれらの変異体を含む免疫原を使用して、宿主動物（例えばウサギ、マウス、ラクダ科の動物、ラットなど）を免疫化してモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマを生成することができる。CXCR3に特異的に結合する抗体を産生する、または産生することができるリンパ球を免疫化された宿主から回収し、ポリエチレングリコールのような好適な融合剤（fusing agent）を使用して骨髓腫細胞と融合させ、ハイブリドーマ細胞を形成することができる（Goding、Monoclonal Antibodies: Principles and Practice、Academic Press、59～103頁（1986））。

20

【0037】

モノクローナル抗体を産生する複数のハイブリドーマを生成することができ、さらに、例えば、CXCR3リガンドのその受容体への結合を防止することにより有益な特性を示すか、または治療上の可能性を示唆するものを選択することができる。選択された抗体をさらに改変して、例えばin vivoで強化された安定性を有することなどの有益な特性を獲得したりまたは強化したりすることができる。例えば、望ましい特異性、親和性、および／または活性を有する抗体を産生するハイブリドーマ細胞が同定された後、希釈法を使用してクローンをサブクローニングして、標準的な培養法で増殖させてもよい（Goding、Monoclonal Antibodies: Principles and Practice、Academic Press、59～103頁（1986））。好適な培養培地としては、例えば、ダルベッコ改変イーグル培地（D-MEM）またはRPMI-1640培地などが挙げられる。加えて、in vivoで、ハイブリドーマ細胞を、動物において腫瘍として増殖させてもよい。サブクローンは、特異性、親和性、および／または活性に関してアッセイすることができ、加えてさらなる特徴付けのために最も有益な特性を示すサブクローンを選択することができる。

30

【0038】

当技術分野にはモノクローナル抗体産生のための様々な代替方法があり、それらのうちのいずれかが、本明細書で開示された抗CXCR3抗体を産生するのに使用することができる。例えば、モノクローナル抗体は、その全体が参照により組み入れられる米国特許第4,816,567号で説明されている方法のような組換えDNA法によって製造してもよい。

40

【0039】

モノクローナル抗体をコードするDNAを、従来の手法を使用して（例えば、マウス抗体の重鎖および軽鎖、またはヒト、ヒト化もしくは他の抗体からの鎖をコードする遺伝子に結合することができるオリゴヌクレオチドプローブを使用することによって）単離して配列決定することができる（Innisら、PCR Protocols、A Guide to Methods and Applications、Academic（1

50

990)、およびSangerら、Proc Natl Acad Sci USA 74:5463(1977))。ハイブリドーマ細胞は、このようなDNAの源として役立つ可能性がある。単離したら、DNAを発現ベクターに入れることができ、これを、他の状況では免疫グロブリンタンパク質を産生しない大腸菌(E. coli)細胞、NSO細胞、COS細胞、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞、または骨髓腫細胞のような宿主細胞にトランスフェクションして、組換え宿主細胞でモノクローナル抗体の合成を達成することができる。また、例えば、相同マウス配列の代わりにヒト重鎖および軽鎖定常ドメインのコード配列を置換することによってDNAを改変することもできるし(米国特許第4,816,567号;およびMorrisonら、Proc Natl Acad Sci USA 81:6851(1984))、または非免疫グロブリンポリペプチドからのコード配列の全部もしくは一部を免疫グロブリンのコード配列に共有結合で合体させることによって改変することができる。いくつかの実施形態において、非免疫グロブリンポリペプチドは、抗体の定常ドメインと置換してもよいし、または抗体の1つのCXCR3結合部位の変換ドメインと置換して、キメラ2価抗体を作製してもよい。

【0040】

いくつかの実施形態において、本明細書において説明される抗体を改変して、CDRグラフト化された、および/または別の方法でヒト化された抗体を生成することができる。CDRグラフティングは、ヒト化の一形態であるが、他の当技術分野で公知のヒト化技術を使用することもできる。CDRグラフティングの手法は当業者に公知であり、IMGT(the international Immunogenetics information system(登録商標)、Montpellier, France)、Kabatt、Chothia、および改変されたChothiaの番号付けスキームなどのCDR番号付けによる指示に基づくものであってもよい。例えば、imgt.org(IMGTの連続番号付けシステムの使用をまとめており、それによれば、このシステムは、フレームワークおよび相補性決定領域の定義、X線回折研究からの構造データ、および高度可変ループの特徴付けを考慮しこれらを組み合わせることにより、全ての種からの全てのIGおよびTRV領域に対して独自の番号付けを提供している);AbhinandanおよびMartin、Mol Immunol、45:3832~9(2008)を参照されたい;さらに、AbhinandanおよびMartin、J. Mol. Biol、369(3):852~62(2007)(キメラ抗体の「ヒト化の程度」を査定する方法を説明している);Retterら、Nucleic Acids Res. 33(Database issue):D671~4(2005)(可変ドメイン遺伝子のVBASE2データベースを説明している);およびJohnsonおよびWu、Int. Immunol. 10(12):1801~5(1998)(CDRH3の長さの分布を説明している)も参照されたい。

【0041】

例えば、IMGT番号付けシステムを使用する場合、保存されたアミノ酸は常に同じ位置を有する。さらにフレームワーク領域の疎水性アミノ酸も保存された位置で番号付けされるため、配列アラインメントを必要とせずとも、異なる配列で同じ位置に位置するフレームワークのアミノ酸(およびコドン)の比較が可能になる。別の例において、Kabattの番号付けシステムは、以下の通りであり、CDR-H1は、およそアミノ酸31(すなわち、第1のシステイン残基からおよそ9残基)から始まり、およそ5~7アミノ酸を包含し、次のチロシン残基で終わる。CDR-H2は、CDR-H1が終わったあとの15番目の残基から始まり、およそ16~19アミノ酸を包含し、次のアルギニンまたはリシン残基で終わる。CDR-H3は、CDR-H2が終わった後のおよそ33番目のアミノ酸残基から始まり;3~25アミノ酸を包含し;配列W-G-X-Gで終わり、ここでXは、任意のアミノ酸である。CDR-L1は、およそ残基24(すなわち、システイン残基の後)から始まり;およそ10~17残基を包含し;次のチロシン残基で終わる。CDR-L2は、CDR-L1が終わったあとのおよそ16番目の残基から始まり、およそ7残基を包含する。CDR-L3は、CDR-L2が終わったあとのおよそ33番目の残基

から始まり；およそ7～11残基を包含し、配列F-G-X-Gで終わり、ここでXは、任意のアミノ酸である。これらのCDRのうち少なくとも1つを含有する抗体は、本開示の方法で使用する事ができる。

【0042】

CDR-グラフト化抗体は、ヒト抗体からの重鎖および軽鎖可変領域配列を含んでいてもよく、ここでVHおよび／またはVLの1つまたはそれ以上のCDR領域は、ドナー抗体からの、例えば、以下で説明されるCXCR3と結合するマウス抗体からのCDR配列で置き換えられている。あらゆるヒト抗体からのフレームワーク配列が、CDRグラフトイングのためのテンプレートとして役立つ可能性がある。しかしながら、このようなフレームワークへの直鎖状のCDR鎖の置き換えにより、抗原への結合親和性がいくらか失われる可能性がある。ヒト抗体の、元の抗体、例えばマウス抗体への相同が高ければ高いほど、ドナーCDRとヒトフレームワークとの組み合わせにより、親和性を低下させる可能性があるCDR中の歪みが導入される可能性はより低くなる。それゆえに、いくつかの実施形態において、本開示のCDR-グラフト化CXCR3抗体は、ドナーのマウスCXCR3中和抗体の可変領域フレームワークと少なくとも65%の配列同一性を有するヒト可変フレームワークを含む。このような抗体を産生する方法は、当技術分野で公知であり（EP239,400；PCT公報WO91/09967号：および米国特許第5,225,539号；5,530,101号；および5,585,089号を参照）、例えば、ベニアリング（veneer ing）またはリサーフェシング（resurfacing）（EP592,106；EP519,596；Padlan（1991）Mol. Immunol. 28（4/5）：489～498；Studnickaら（1994）Prot. Engineer. 7（6）：805～814；およびRoguskaら（1994）Proc. Acad. Sci. USA 91：969～973）、チェーンシャッフリング（chain shuffling）（米国特許第5,565,352号）、および抗イディオタイプ抗体が挙げられる。

【0043】

いくつかの実施形態において、本明細書において説明される抗体は、ヒト化されてもよい。「ヒト化抗体」は、望ましい抗原と結合し、非ヒト種からの1つまたはそれ以上のCDRを有し、かつヒト免疫グロブリン分子からのフレームワーク領域および／または定常ドメインを有する抗体分子である。公知のヒトIg配列は、例えば、www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez-query.fcgi；www.atcc.org/phage/hdb.html；www.sciquest.com/；www.abcam.com/；www.antibodyresource.com/onlinecomp.html；およびKabatra、Sequences of Proteins of Immunological Interest、U. S. Dept. Health（1983）に開示されている。移入したヒト配列を使用して、免疫原性を低減したり、または結合、親和性、結合速度（on-rate）、解離速度（off-rate）、結合活性、特異性、半減期、もしくは当技術分野で公知の他のあらゆる好適な特徴を低減、強化もしくは改変したりできる。抗体は、これらに限定されないが、参照によりその全体を本明細書に組み入れられるJonesら（1986）Nature 321：522；Verhoeyenら（1988）Science 239：1534；Simsら（1993）J. Immunol. 151：2296；ChothiaおよびLesk（1987）J. Mol. Biol. 196：901；Carterら（1992）Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89：4285；Prestaら（1993）J. Immunol. 151：2623；米国特許第5,589,205号；565,332号；6,180,370号；6,632,927号；7,241,877号；7,244,615号；7,244,832号；7,262,050号；および米国特許出願公開第2004/0236078号（2004年4月30日付けで出願）で説明されている技術のような、当技術分野で公知の様々な技術を使用してヒト化されてもよい。

10

20

30

40

50

【0044】

ある特定の実施形態において、ヒト化またはCDRグラフト化抗体におけるフレームワークの残基は、CDRドナー抗体からの対応する残基で置換されていてもよく、例えば、抗原との結合を変更する、例えば改善するために、抗マウスCXCR3中和抗体からのフレームワークの残基で置換されていてもよい。Queenら、Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 86:10029~33 (1989年12月)を参照されたい。これらのフレームワークの置換は、当技術分野で周知の方法によって同定され、例えば、抗原との結合に重要なフレームワークの残基を同定するためのCDRとフレームワークの残基との相互作用のモデリング、および特定の位置における異常なフレームワークの残基を同定するための配列比較によって同定される。例えば、参照によりその全体を本明細書に組み入れられる米国特許第5,585,089号；およびRiechmannら(1988)Nature 332:323を参照されたい。三次元免疫グロブリンモデルが一般的に入手可能であり、当業者によく知られている。選択された候補の免疫グロブリン配列の可能性がある三次元立体配座構造を例示し、表示するコンピュータープログラムが利用可能である。これらの表示を精査することにより、候補の免疫グロブリン配列の機能化において可能性がある残基の役割の分析、すなわち、候補の免疫グロブリンがその抗原に結合する能力に影響を与える残基の分析が可能になる。この方式で、高いCXCR3への親和性のような望ましい抗体の特徴が達成されるように、コンセンサスおよび移入配列からフレームワークの残基を選択して連結させることができる。

10

【0045】

20

これらに限定されないが、Jonesら(1986)Nature 321:522；Verhoeyenら(1988)Science 239:1534；Simsら(1993)J. Immunol. 151:2296；ChothiaおよびLesk(1987)J. Mol. Biol. 196:901；Carterら(1992)Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:4285；Prestaら(1993)J. Immunol. 151:2623；および米国特許第5,565,332号；5,723,323号；5,976,862号；5,824,514号；5,817,483号；5,814,476号；5,763,192号；5,723,323号；5,766,886号；5,714,352号；6,204,023号；6,180,370号；5,693,762号；5,530,101号；5,585,089号；5,225,539号；および4,816,567号で説明されている技術のような当技術分野で公知の様々な技術を使用して、抗体をヒト化またはCDRグラフト化してもよいし、さらに抗原との結合を改善するのに有用なCDRドナーからのフレームワークの残基を同定してもよい。いくつかの実施形態において、4Dヒト化を使用して、本開示の抗体変異体を製造することができる(例えば、重鎖4.4~4.6のいずれか1つおよび軽鎖4.4~4.7のいずれか1つを含むクローン4の4Dヒト化変異体を製造する)。WO2009/032661(その全体が参照により本明細書に組み入れられる)の例えば4Dヒト化で使用方法に関する段落[0037]~[0044]を参照されたい。簡単に言えば、4Dヒト化は：a)ヒト化しようとする可変ドメインの3-Dモデルを構築すること；b)可変ドメインの3-Dモデルの分子動力学シミュレーションを使用して、そのドメイン中のフレキシブルな残基を同定すること；c)3-Dモデルの分子動力学軌道を、49種のヒト生殖細胞系の分子動力学軌道と比較することにより、最も近いヒト生殖細胞系を同定すること；およびd)CDRの一部ではないフレキシブルな残基を、(工程cで同定されたような)それらのヒト生殖細胞系の対応物に突然変異させること、を含んでいてもよい。

30

40

【0046】

いくつかの実施形態において、CDRグラフト化された、および／または別の方法でヒト化された抗体は、クローン4、12、53、82、および135のCDRグラフト化および／またはヒト化変異体を含んでいてもよい。例えば、クローン4、12、53、82、および135のいずれか1つからの対応する重鎖および軽鎖領域(例えば、クローン4

50

の重鎖およびクローン4の軽鎖)をヒト定常ドメインに合体させて、キメラ抗体を形成することができる。キメラ抗体はさらに、1つまたはそれ以上のフレームワークまたはCDRのアミノ酸をそれに対応するヒト残基に変化させることにより、ヒト化することができる。同様に、いくつかの実施形態において、クローン4、12、53、82、および135のいずれか1つからの6つの重鎖および軽鎖CDR領域(例えば、クローン4の重鎖CDR1、CDR2、およびCDR3、ならびにクローン4の軽鎖CDR1、CDR2、およびCDR3)、またはクローン4、12、53、82、および135の変異体のいずれかからの6つの重鎖および軽鎖CDR領域をヒトフレームワークおよび/または定常ドメインにサブクロニングして、ヒト化抗体を形成することができる。ヒト化は、ヒト可変ドメインを使用して、CDRのアミノ酸および/またはあらゆるバーニヤ位置(Vernier position)の残基を排除することを包含し得る。ヒト化抗体はさらに、CDRの4つのアミノ酸内に位置する残基に、および/または例えばIMGTベースのモデリングを使用して、元の抗体配列とヒト配列との間で「まったく異なっている」と同定された位置に、さらなる復帰突然変異による変化を包含し得る。フレームワークまたはCDR領域中にさらなる突然変異を導入することにより、例えば、クローン4のVHのCDR2の58位および59位(IMGTによる番号付け)における脱アミド部位が除去されるように突然変異を導入することにより、抗体の安定性または治療有効性を強化することができる。

【0047】

例えば、本明細書で開示された抗体、キメラ抗体、およびヒト化抗体は、クローン4、12、53、82、および135ならびにそれらのキメラまたはヒト化変異体のいずれかからの、6つのCDRおよび/または重鎖および軽鎖可変ドメインを含んでいてもよい。例えば、CXCR3と結合することができる抗体またはフラグメントは、重鎖4.0~4.11、重鎖12.0~12.3、重鎖53.0~53.10、重鎖82.0~82.3、および重鎖135.0~135.3のいずれか1つからの3つのCDRを含んでいてもよい。同様に、本抗体またはフラグメントは、軽鎖4.0~4.7、軽鎖12.0~12.3、軽鎖53.0~53.13、軽鎖82.0~82.3、および軽鎖135.0~135.3のいずれか1つからの3つのCDRを含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、重鎖および軽鎖CDRは、同じクローンからのものであるが、そのクローンの異なる変異体からのもの(例えば、軽鎖4.2からの3つのCDRと対になっている重鎖4.1からの3つのCDR)であってもよい。重鎖および軽鎖4.0、12.0、82.0、および135.0は、マウス抗体クローンおよびキメラ抗体中の可変ドメインを指す(この場合、この抗体は、マウス可変ドメインとヒトフレームワーク領域とを含む)。残りの重鎖および軽鎖は、表11で示されるようなヒト化された鎖を指す。

【0048】

いくつかの実施形態において、CXCR3と結合することができる抗体またはフラグメントは、重鎖4.0~4.11、重鎖12.0~12.3、重鎖53.0~53.10、重鎖82.0~82.3、および重鎖135.0~135.3のいずれか1つを含んでいてもよい。同様に、本抗体またはフラグメントは、軽鎖4.0~4.7、軽鎖12.0~12.3、軽鎖53.0~53.13、軽鎖82.0~82.3、および軽鎖135.0~135.3のいずれか1つを含んでいてもよい。

【0049】

いくつかの実施形態において、重鎖および軽鎖は、特定のクローンの重鎖からの3つのCDR(例えば、クローン4の重鎖からのCDR)が、そのクローンの軽鎖のいずれかからの3つのCDR(例えば、クローン4の軽鎖からのCDR)と対になるように選択される。いくつかの実施形態において、重鎖および軽鎖は、特定のクローンからの重鎖(例えば、クローン4の重鎖)が、そのクローンの軽鎖のいずれか(例えば、クローン4の軽鎖)と対になるように選択される。

【0050】

いくつかの実施形態において、重鎖可変ドメイン4.0~4.11のいずれか1つから

の3つのCDRは、軽鎖可変ドメイン4. 0～4. 7のいずれか1つからの3つのCDRと対になっていてもよく；重鎖可変ドメイン12. 0～12. 3のいずれか1つからの3つのCDRは、軽鎖可変ドメイン12. 0～12. 3のいずれか1つからの3つのCDRと対になっていてもよく；重鎖可変ドメイン53. 0～53. 10のいずれか1つからの3つのCDRは、軽鎖可変ドメイン53. 0～53. 13のいずれか1つからの3つのCDRと対になっていてもよく；重鎖可変ドメイン82. 0～82. 3のいずれか1つからの3つのCDRは、軽鎖可変ドメイン82. 0～82. 3のいずれか1つからの3つのCDRと対になっていてもよく；または重鎖可変ドメイン135. 0～135. 3のいずれか1つからの3つのCDRは、軽鎖可変ドメイン135. 0～135. 3のいずれか1つからの3つのCDRと対になっていてもよい。

10

【0051】

いくつかの実施形態において、重鎖可変ドメイン4. 0～4. 11のいずれか1つは、軽鎖可変ドメイン4. 0～4. 7のいずれか1つと対になっていてもよく、重鎖可変ドメイン12. 0～12. 3のいずれか1つは、軽鎖可変ドメイン12. 0～12. 3のいずれか1つと対になっていてもよく、重鎖可変ドメイン53. 0～53. 10のいずれか1つは、軽鎖可変ドメイン53. 0～53. 13のいずれか1つと対になっていてもよく、重鎖可変ドメイン82. 0～82. 3のいずれか1つは、軽鎖可変ドメイン82. 0～82. 3のいずれか1つと対になっていてもよく、または重鎖可変ドメイン135. 0～135. 3のいずれか1つは、軽鎖可変ドメイン135. 0～135. 3のいずれか1つと対になっていてもよい。

20

【0052】

図17にある特定の重鎖および軽鎖可変ドメインのアラインメントを示す。いくつかの実施形態において、本明細書で開示されたような抗体は、表2で示されるような対になった重鎖および軽鎖可変ドメインを含んでもよい（Ch＝キメラ、Hu＝ヒト化、VH＝重鎖、VK＝軽鎖）。例えば、表2における第1の項目は、重鎖4. 0および軽鎖4. 0を含むクローン4変異体を表示する。第2の項目は、重鎖4. 1および軽鎖4. 1を含むクローン4変異体を表示する。各抗体は、表示された重鎖および軽鎖配列を含み、さらに表2の第2列に抗体の識別名も割り当てられた。例えば、表中の第1の項目（重鎖4. 0および軽鎖4. 0を含む）にはその抗体の識別名である4Chが割り当てられ、表中の第2の抗体（重鎖4. 1および軽鎖4. 1を含む）には識別名4Hu1が割り当てられた。

30

【0053】

【表 2】

クローン	抗体	重鎖	VH配列番号	軽鎖	VK配列番号
クローン4	4Ch	VH		VK	
クローン4	4Hu1	VH1		VK1	
クローン4	4Hu2	VH2		VK2	
クローン4	4Hu3	VH3		VK3	
クローン4	4Hu4	VH2		VK3	
クローン4	4Hu5	VH3		VK2	
クローン4	4Hu6	VH4		VK4	
クローン4	4Hu7	VH4		VK7	
クローン4	4Hu8	VH5		VK5	
クローン4	4Hu9	VH5		VK6	
クローン4	4Hu10	VH6		VK4	
クローン4	4Hu11	VH2		VK1	
クローン4	4Hu12	VH1		VK2	
クローン4	4Hu13	VH3		VK1	
クローン4	4Hu14	VH1		VK3	
クローン4	4Hu15	VH7		VK2	
クローン4	4Hu16	VH8		VK2	
クローン4	4Hu17	VH9		VK2	
クローン4	4Hu18	VH10		VK2	
クローン4	4Hu19	VH11		VK2	
クローン12	12Ch	VH		VK	
クローン12	12Hu1	VH1		VK1	
クローン12	12Hu2	VH2		VK2	
クローン12	12Hu3	VH3		VK3	
クローン 82	82Ch	VH		VK	
クローン82	82Hu1	VH1		VK1	
クローン82	82Hu2	VH2		VK2	
クローン82	82Hu3	VH3		VK3	
クローン135	135Ch	VH		VK	
クローン135	135Hu1	VH1		VK1	
クローン135	135Hu2	VH2		VK2	
クローン135	135Hu3	VH3		VK3	
クローン53	53Ch	VH		VK	
クローン53	53Hu1	VH1		VK1	
クローン53	53Hu2	VH2		VK2	
クローン53	53Hu3	VH3		VK3	
クローン53	53Hu4	VH1		VK2	
クローン53	53Hu5	VH2		VK1	
クローン53	53Hu6	VH2		VK4	

【 0 0 5 4 】

【表 3】

クローン53	53Hu7	VH2		VK5	
クローン53	53Hu8	VH2		VK6	
クローン53	53Hu9	VH2		VK7	
クローン53	53Hu10	VH2		VK8	
クローン53	53Hu11	VH2		VK9	
クローン53	53Hu12	VH4		VK2	
クローン53	53Hu13	VH5		VK2	
クローン53	53Hu14	VH6		VK2	
クローン53	53Hu15	VH1		VK4	
クローン53	53Hu16	VH1		VK6	
クローン53	53Hu17	VH6		VK4	
クローン53	53Hu18	VH6		VK6	
クローン53	53Hu19	VH7		VK10	
クローン53	53Hu20	VH7		VK11	

表2

【0055】

用語「特異的な相互作用」、または「特異的に結合する」などは、2つの分子が、生理学的な状態で比較的安定な複合体を形成することを意味する。特異的な結合は、高い親和性と、低から中程度の結合能とを特徴とする。非特異的な結合は通常、中程度から高い結合能で低い親和性を有する。典型的には、結合は、親和定数 K_a が、 10^6 M^{-1} よりも高い、または好ましくは 10^8 M^{-1} よりも高い場合に特異的であるとみなされる。いくつかの実施形態において、抗体、変異体、およびそれらのフラグメントは、少なくとも 10^6 、 10^7 、 10^8 、 10^9 M^{-1} 、またはそれより高い結合定数でそれらの抗原（複数可）と結合する。いくつかの実施形態において、本抗体、変異体、およびそれらのフラグメントは、少なくとも表7A～B、8～10、および／または12のいずれか1つで示された結合動態でCXCR3と結合する。必要に応じて、実質的に特異的な結合に影響を及ぼさずに、結合条件を変更することにより非特異的な結合を低減してもよい。このような条件は当技術分野で公知であり、当業者であれば、慣例的な技術を使用して、適切な条件を選択することができる。条件は、通常、抗体濃度、溶液のイオン強度、温度、結合させる時間、血清アルブミンおよびミルクカゼインのようなブロック分子の濃度に関して規定される。

【0056】

いくつかの実施形態において、CXCR3を中和することができる抗CXCR3抗体が、本明細書において開示される。「CXCR3中和抗体」は、CXCR3に結合して、CXCR3リガンドのCXCR3への結合の結果生じる典型的な生理学および遺伝学的な応答のような受容体の活性をブロックする。活性の中和は、完全な中和（100%の中和）であってもよいし、または部分的な、例えば、およそ10、20、30、40、50、60、70、80、90、95%またはそれより多く（またはこれらの間のあらゆるパーセンテージ）の中和であってもよく、抗体濃度、親和性、およびエピトープ、加えて活性の中和を評価するのに使用される特定のアッセイのような当業者に公知の様々な要素に依存すると予想される。CXCR3中和抗体の活性の中和は、例えば、リガンド結合、GTP結合、カルシウム動員、細胞走化性、および／または受容体の内在化の阻害を測定するアッセイにより示すことができる。中和抗体、特にCXCR3中和抗体の活性を決定する多数のアッセイが当業者に公知であり、特定の抗体が中和していることを確認できるように容易に適合が可能である。

【0057】

例えば、いくつかの実施形態において、本発明の方法で使用するための抗体の活性の中

和は、実質的にクローン49801によって産生され、R&D Systems（登録商標）によって販売されている抗体（カタログ番号MAB160）の添付文書に記載されているように、走化性アッセイによって査定することができる。中和量 -50 （ ND_{50} ）は、特定のrh1-TAC濃度での、反応性細胞株において細胞表面CXCR3が介在するrh1-TAC応答の最大障害の2分の1を達成するのに必要な抗体濃度と定義される。rh1-TACにより誘導された、hCXCR3でトランスフェクションされたBaF/3細胞の走化性をブロックする抗体の能力を測定するために、96-ウェルの走化性チャンパー（NeuroProbe、Cabin John、MD）の下的小区にrh1-TACを7ng/mLで添加する。次いでPVP非含有ポリカーボネートフィルター（孔径 5μ ）を使用して走化性チャンパーを組み立てる。チャンパーの上のウェルに、抗体の連続希釈液（例えば、 $0.001\sim10000\mu\text{g/mL}$ ）を 0.25×10^6 細胞/ウェルで添加する。5%CO₂の加湿したインキュベーター中で37℃で3時間インキュベートした後、チャンパーを解体し、下のチャンパーまで移動した細胞を作業用プレートに移し、例えば、リザズリン蛍光を使用して定量する。

10

【0058】

Colvinら、Mol. Cell. Bio.、26:5838~49（2006）は、ある特定の実施形態において、本発明で使用するための中和CXCR3抗体の中和活性を決定するために使用することができる追加のアッセイを説明している。簡単に言えば、機能的にCXCR4を発現するマウスB細胞前白血病細胞株である300-19細胞を使用することができる。トランスフェクション後、この株は、他のケモカイン受容体、例えば、ヒトCXCR3を機能的発現することが可能になる（例えば、参照により組み入れられる米国特許出願公開第2010/0061983号の段落201~209を参照）。ヒトCXCR3を発現する300-19細胞を、10%ウシ胎児血清（FBS）を含有する完全RPMI培地で増殖させてもよい。候補の中和CXCR3抗体の存在下におけるCXCR3リガンドのCXCR3への結合を評価するために、96-ウェルの組織培養プレートに、総体積150 μL の結合緩衝液（0.5%BSA、5mMのMgCl₂、1mMのCaCl₂、50mMのHEPES、pH7.4）中で、400,000個のCXCR3/300-19細胞を入れる。この細胞に合計0.04nMの¹²⁵I-標識CXCL10（New England Nuclear、Boston、MA）またはCXCL11（Amersham Biosciences、Piscataway、NJ）、および 5×10^6 nM~500nMの非標識CXCL10またはCXCL11（Peptidech、Rocky Hill、NJ）を添加して、振盪しながら室温で90分インキュベートしてもよい。0.3%ポリエチレンイミンに予め浸して0.5MのNaClが補充された結合緩衝液200 μl で3回洗浄した96-ウェルのフィルタープレート（Millipore、Billerica、MA）の上に細胞を移す。プレートを乾燥させ、Wallac Microbetaシンチレーションカウンター（Perkin-Elmer Life Sciences、Boston、MA）で、シンチレーション液を添加した後に放射活性を測定する。CXCL9の結合は、CXCL10および11と同じように評価することができる。

20

30

【0059】

ある特定の実施形態において、本明細書で開示された抗体は、CXCR3を発現する細胞へのカルシウム流出を防止または低減することができる。いくつかの実施形態において、カルシウム流出は、CXCR3/300-19細胞のような細胞で検出することができる。およそ 5×10^6 個の細胞を1%BSAを含むRPMI培地2mlに懸濁する。Fura-2（Molecular Probes、Eugene、OR）15マイクログラムを添加し、細胞を37℃で20分インキュベートする。細胞をPBSで2回洗浄し、カルシウム流出緩衝液（145mMのNaCl、4mMのKCl、1mMのNaHPO₄、1.8mMのCaCl₂、25mMのHEPES、0.8mMのMgCl₂、および22mMのグルコース）2mlに再懸濁する。蛍光の測定値は、37℃でDeltaRAM蛍光分光計（Photon Technology International、Law

40

50

renceville、NJ)で測定される。ケモカイン(例えば、CXCL9、10、または11)の添加の前および後に、細胞内カルシウム濃度を、340nmおよび380nmでの連続的な励起にตอบสนองして510nmで放出された励起蛍光強度として記録し、380nmにおける蛍光に対する340nmにおける蛍光の相対比率として示す。

【0060】

ある特定の実施形態において、CXCR3の中和は、受容体の内在化の低減を測定することによって評価することができる。いくつかの実施形態において、受容体の内在化のアッセイは、1%BSAを含むRPMI培地中で、約 2.5×10^5 個の、CXCR3/300-19細胞のような細胞を、様々な濃度のCXCL10、CXCL11、またはCXCL9と共に37℃で30分インキュベートすることによって行ってもよい。次いで細胞を氷冷した蛍光活性化セルソーター用緩衝液で洗浄し、その後、PEコンジュゲートCXCR3抗体を使用して表面におけるCXCR3の発現について分析してもよい。

【0061】

活性の中和を査定するための追加のアッセイは、例えば、参照により組み入れられる米国特許第7,405,275号の実施例2~4に開示されている。

【0062】

上記のアッセイのいずれかで査定されたように、ある特定の実施形態において、CXCR3抗体の中和は、およそ0.01、0.02、0.05、0.1、0.2、0.5、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、40、50、または100μg/mLのND₅₀を有する可能性がある。特定の実施形態において、ND₅₀は、0.5~12μg/mL、より特定の実施形態において、1~6μg/mLであってもよい。

【0063】

本明細書で開示された単離されたCXCR3抗体は、CXCR3の特異的なエピトープと結合するものを包含し得る。例えば、本発明で使用するための抗体は、配列番号1の残基1~58、1~16、または1~37から選択される配列の全部または一部(例えば、少なくとも5、6、8、10、12、14、15、16、18、または20残基のフラグメント)を含むペプチドと結合してもよい。いくつかの実施形態において、本明細書で開示された抗体は、図18で同定されたエピトープのうち1つまたはそれ以上と結合するものを包含する。いくつかの実施形態において、抗CXCR3抗体は、SDHQVLNDAE(配列番号)を含むCXCR3エピトープに結合する抗体を含んでもよい。いくつかの実施形態において、エピトープは、SDHQVLND(配列番号)、DHQVLND(配列番号)、および/またはVLNDAE(配列番号)を含む。ある特定の実施形態において、エピトープは、配列VLND(配列番号)を含む。いくつかの実施形態において、エピトープは、XDXXVXNDXX(配列番号)を含み、ここでXは、任意のアミノ酸を示す。いくつかの実施形態において、エピトープは、XDXXVXND(配列番号)、DXXVXND(配列番号)、および/またはVXNDXX(配列番号)を含み、ここでXは、任意のアミノ酸を示す。ある特定の実施形態において、エピトープは、配列VXND(配列番号)を含み、ここでXは、任意のアミノ酸を示す。

【0064】

抗CXCR3抗体は、異なる種からのCXCR3配列に汎特異的であってもよいし、またはCXCR3の特定の種または特定のアイソタイプからのCXCR3配列に対して選択的であってもよい。特定の実施形態において、CXCR3抗体は、それが投与される対象の種に特異的である。したがって、いくつかの実施形態において、CXCR3抗体は、ヒトCXCR3配列に特異的であってもよい(例えば、上記で列挙した配列番号1の部分配列のいずれかに相同な配列を含むペプチドと結合することができる)。相同配列は、当技術分野における通常の技術を有するものであれば、タンパク質配列アラインメントのような手段(例えば、BLASTp、ClustalWなど)により容易に同定されると予想される。特定の実施形態において、本発明で使用するための抗体は、配列の全長または少なくとも10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、もしくは70残基(またはその間のあらゆる値)の枠にわたり、配列番号1と少なくとも

90、95、もしくは99%（またはその間のあらゆるパーセンテージ）類似しているかまたは同一な配列を含むペプチドに結合する。いくつかの実施形態において、本抗体は、上述したエピトープのうち1つに、少なくとも80、85、90、95、または99%（またはその間のあらゆるパーセンテージ）類似しているかまたは同一なエピトープに結合することができる（図18も参照）。

【0065】

本明細書で開示された特定の抗体としては、例えば、抗体クローン（C1）12、C1135、C182、C153、ならびにC14、加えてそれらのキメラおよびヒト化変異体などが挙げられる。

【0066】

いくつかの実施形態において、本明細書で開示された抗体は、抗体5H7および7H5（例えば、米国特許第7,405,275号で開示されたものであり；これらの抗体のCDRは、表1および2ならびに参照配列リストに開示されており、これらは参照により組み入れられる）；V44D7（国際公開WO2008/094942で説明されているもの）、1C6（米国特許第7,407,655号で説明されており；エピトープマッピングは、実施例8および9で説明されており、これらは参照により組み入れられる）、およびR&D Systemsによりカタログ番号MAB160として販売されている49801などの当技術分野で公知の抗体に勝るある特定の改良された特性を示す。

【0067】

いくつかの実施形態において、本明細書で開示された抗体クローン（クローン4、12、53、82、および135ならびにそれらのキメラおよびヒト化された対応物）は、公知の抗体5H7、7H5、V44D7、1C6、および49801に勝るある特定の驚くべき利点を示す。例えば、本明細書で開示されたクローンは、抗hCXCR3クローン5H7、7H5、V44D7、1C6、および49801と比較して高い結合親和性を示す。また本明細書で開示されたヒト化クローンも、マウス抗hCXCR3クローン5H7、7H5、V44D7、1C6、および49801と比較して減少した免疫原性を有する可能性がある。加えて、本明細書で開示された抗体、例えば重鎖クローン4、7~4、11を含む抗体は、脱アミド部位を除去して安定性を強化するための58位および59位（IMGTによる番号付けを使用して）における改変によって最適化されている。いくつかの実施形態において、本明細書で開示された抗体は、CXCR3中和活性を保持する。

【0068】

ある特定の実施形態において、本明細書で開示された抗体またはフラグメントは、抗体C112、C1135、C182、C153、およびC14のいずれか1つにおける、またはこれらのクローンのキメラまたはヒト化変異体におけるVHおよび／またはVLのCDR配列と約80%~約100%（例えば、約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%）同一な（例えば、C112中の6つのCDR、またはC112、1中の6つのCDRなどと80~100%同一な）VHおよび／またはVLのCDR配列を含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、本抗体またはフラグメントは、抗体C112、C1135、C182、C153、およびC14のいずれか1つにおけるVHおよび／またはVLのCDR配列と比べて、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10のアミノ酸置換（付加、欠失、および保存的置換のような置換を包含する）を含有するVHおよびVLのCDR配列を含んでいてもよい。

【0069】

用語「パーセント（%）配列同一性」または「相同性」は、本明細書で使用される場合、配列をアラインして、必要に応じて、最大パーセントの配列同一性を達成するためにギャップを導入し、保存的な核酸置換を排除した後の、参照配列中のアミノ酸残基またはヌクレオチドと同一な候補配列中のアミノ酸残基またはヌクレオチドのパーセンテージと定義される。比較するのに最適な配列のアラインメントは、手作業の他にも、当技術分野で公知の局所的な相同性アルゴリズムによって、またはこれらのアルゴリズム（例えば、BLAST P）を使用するコンピュータープログラムによって作製することができる。

【0070】

いくつかの実施形態において、本明細書で開示されたような単離されたC X C R 3抗体または抗原結合フラグメントは、重鎖4. 0～4. 11、重鎖12. 0～12. 3、重鎖53. 0～53. 10、重鎖82. 0～82. 3、および重鎖135. 0～135. 3のいずれか1つのアミノ酸配列に対して、少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%（またはその間のあらゆるパーセンテージ）の同一性を含むVHのアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態において、本抗体またはフラグメントは、重鎖4. 0～4. 11、重鎖12. 0～12. 3、重鎖53. 0～53. 10、重鎖82. 0～82. 3、および重鎖135. 0～135. 3のいずれか1つのアミノ酸配列に、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10の突然変異（付加、欠失、および保存的置換のような置換を包含する）を有するVHのアミノ酸配列を含む。「保存的置換」は、本明細書で使用される場合、抗体またはフラグメントの化学的、物理的および／または機能特性を実質的に変更しない、第1のアミノ酸の第2のアミノ酸での置き換えを指す（例えば、本抗体またはフラグメントは、同じ電荷、構造、極性、疎水性／親水性を保持し、および／またはC X C R 3を認識する、C X C R 3に結合する、および／またはC X C R 3活性を中和する能力のような機能を保存する）。

10

【0071】

ある特定の実施形態において、本明細書で開示されたような単離されたC X C R 3抗体または抗原結合フラグメントは、軽鎖4. 0～4. 7、軽鎖12. 0～12. 3、軽鎖53. 0～53. 13、軽鎖82. 0～82. 3、および軽鎖135. 0～135. 3のいずれか1つのアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%（またはその間のあらゆるパーセンテージ）の同一性を含むVLのアミノ酸配列を含む。様々な実施形態において、本抗体またはフラグメントは、軽鎖4. 0～4. 7、軽鎖12. 0～12. 3、軽鎖53. 0～53. 13、軽鎖82. 0～82. 3、および軽鎖135. 0～135. 3のいずれか1つのアミノ酸配列に、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10の突然変異（付加、欠失、および保存的置換のような置換を包含する）を有するVLのアミノ酸配列を含む。

20

【0072】

ある特定の実施形態において、本明細書で開示されたような単離されたC X C R 3抗体または抗原結合フラグメントは、重鎖4. 0～4. 11、重鎖12. 0～12. 3、重鎖53. 0～53. 10、重鎖82. 0～82. 3、および重鎖135. 0～135. 3のいずれか1つのアミノ酸配列に対して少なくとも80%の同一性を含む重鎖可変ドメインを含み、さらに軽鎖4. 0～4. 7、軽鎖12. 0～12. 3、軽鎖53. 0～53. 13、軽鎖82. 0～82. 3、および軽鎖135. 0～135. 3のいずれか1つのアミノ酸配列に対して少なくとも80%の同一性を含む軽鎖可変ドメインを含む。いくつかの実施形態において、重鎖および軽鎖は、特定のクローンからの重鎖（例えば、クローン4の重鎖）が、そのクロンの軽鎖（例えば、クローン4の軽鎖）のいずれかと対になるように選択される。いくつかの実施形態において、重鎖および軽鎖は、表2で示されるように対になっている。さらなる実施形態において、開示されたVHおよび／またはVL配列を含む抗体またはフラグメントは、C X C R 3活性を中和する能力を保持する。

30

40

【0073】

いくつかの実施形態において、本明細書において開示される抗体は、C112、135、82、53、および／または4のヒト化変異体である。他の実施形態において、本抗体は、完全ヒトである。ある特定の実施形態において、本抗体は、クローン12、135、82、53、および4から選択される抗体のヒト化または完全ヒト誘導体である。いくつかの実施形態において、本抗体は、少なくとも 10^8 M^{-1} （例えば、少なくとも 10^8 M^{-1} 、少なくとも 10^9 M^{-1} 、少なくとも 10^{10} M^{-1} もしくは少なくとも 10^{11} M^{-1} 、またはその間のあらゆる値）の親和定数を有する。いくつかの実施形態において、本抗体は、全てのC X C R 3アイソフォームに結合することができる。ある特定の実施形態において、本抗体は、C X C R 3のAおよびBアイソフォームの両方に結合するこ

50

とができる。いくつかの実施形態において、本抗体は、C X C R 3 の B-アイソフォームに結合しない。

【0074】

いくつかの実施形態において、単離された C X C R 3 抗体または抗原結合フラグメントは、クローン 12、135、82、53、および 4 のいずれか 1 つならびにそれらのキメラおよびヒト化変異体からの V H および V L の C D R 配列と約 90%～約 100%（例えば、約 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100%）同一なアミノ酸配列を含む、V H の C D R 1、V H の C D R 2、V H の C D R 3、V L の C D R 1、V L の C D R 2、および／または V L の C D R 3 を含む。いくつかの実施形態において、単離された C X C R 3 抗体または抗原結合フラグメントは、クローン 12、135、82、53、および 4 のいずれか 1 つならびにそれらのキメラおよびヒト化変異体からの V H および V L の C D R 配列と同一なアミノ酸配列、または該 C D R 配列と比べて、1、2、3、4、または 5 のアミノ酸残基の突然変異（付加、欠失、および保存的置換のような置換を包含する）を含むアミノ酸配列を含む、V H の C D R 1、V H の C D R 2、V H の C D R 3、V L の C D R 1、V L の C D R 2、および／または V L の C D R 3 を含む。

【0075】

いくつかの実施形態において、抗 C X C R 3 抗体またはフラグメントは、3 つの C D R（重鎖 C D R 1、C D R 2、および C D R 3）を有する重鎖と、3 つの C D R（軽鎖 C D R 1、C D R 2、および C D R 3）を有する軽鎖とを含む。いくつかの実施形態において、V H の C D R 1 は、クローン 12、135、82、53、および 4 のいずれか 1 つならびにそれらのキメラおよびヒト化変異体の V H の C D R 1 配列と比べて、1、2、または 3 のアミノ酸突然変異を有する。いくつかの実施形態において、V H の C D R 2 は、クローン 12、135、82、53、および 4 のいずれか 1 つならびにそれらのキメラおよびヒト化変異体の V H の C D R 2 配列と比べて、1、2、または 3 のアミノ酸突然変異を有する。いくつかの実施形態において、V H の C D R 3 は、クローン 12、135、82、53、および 4 のいずれか 1 つならびにそれらのキメラおよびヒト化変異体の V H の C D R 3 配列と比べて、1、2、または 3 のアミノ酸突然変異を有する。いくつかの実施形態において、V L の C D R 1 は、クローン 12、135、82、53、および 4 のいずれか 1 つならびにそれらのキメラおよびヒト化変異体の V L の C D R 1 配列と比べて、1、2、または 3 のアミノ酸突然変異を有する。いくつかの実施形態において、V L の C D R 2 は、クローン 12、135、82、53、および 4 のいずれか 1 つならびにそれらのキメラおよびヒト化変異体の V L の C D R 2 配列と比べて、1 または 2 のアミノ酸突然変異を有する。いくつかの実施形態において、V L の C D R 3 は、クローン 12、135、82、53、および 4 のいずれか 1 つならびにそれらのキメラおよびヒト化変異体の V L の C D R 3 配列と比べて、1、2、または 3 のアミノ酸突然変異を有する。ある特定の実施形態において、重鎖および軽鎖 C D R 1、C D R 2、および C D R 3 は、クローン 12、135、82、53、および 4 のいずれか 1 つならびにそれらのキメラおよびヒト化変異体からの C D R であるか、または上記抗体クローンのいずれか 1 つまたはそれらのキメラ／ヒト化変異体から選択されたものに存在する C D R と比べて、1～3 のアミノ酸突然変異を含む。いくつかの実施形態において、突然変異は、図 17 A～H のアラインメントにおいて示された強調表示された位置に存在する。いくつかの実施形態において、突然変異は、クローン 4、0～4、11 のいずれか 1 つからの V H の C D R 2 中の 58 位および 59 位のうち一方またはそれ以上に存在する。

【0076】

いくつかの実施形態において、抗 C X C R 3 抗体またはフラグメントは、重鎖および軽鎖を含む。いくつかの実施形態において、重鎖は、重鎖 4、0～4、11、重鎖 12、0～12、3、重鎖 53、0～53、10、重鎖 82、0～82、3、および重鎖 135、0～135、3 のいずれか 1 つと比べて、少なくとも約 90% 同一であり（例えば、少なくとも約 90、91、92、93、94、95、96、97、98、もしくは 99% 同一

であるか、またはその間のあらゆるパーセンテージで同一であり)、または1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは10のアミノ酸突然変異を有する。いくつかの実施形態において、軽鎖は、軽鎖4.0~4.7、軽鎖12.0~12.3、軽鎖53.0~53.13、軽鎖82.0~82.3、および軽鎖135.0~135.3のいずれか1つと比べて、少なくとも約90%同一であり(例えば、少なくとも約90、91、92、93、94、95、96、97、98、もしくは99%同一であるか、またはその間のあらゆるパーセンテージで同一であり)、または1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは10のアミノ酸突然変異を有する。いくつかの実施形態において、重鎖は、重鎖4.0~4.11、重鎖12.0~12.3、重鎖53.0~53.10、重鎖82.0~82.3、および重鎖135.0~135.3のいずれか1つと比べて、少なくとも約90%同一であり(例えば、少なくとも約90、91、92、93、94、95、96、97、98、もしくは99%同一であるか、またはその間のあらゆるパーセンテージで同一であり)、または1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは10のアミノ酸突然変異を有し、ならびに/または軽鎖は、軽鎖4.0~4.7、軽鎖12.0~12.3、軽鎖53.0~53.13、軽鎖82.0~82.3、および軽鎖135.0~135.3のいずれか1つと比べて、少なくとも約90%同一であり(例えば、少なくとも約90、91、92、93、94、95、96、97、98、もしくは99%同一であるか、またはその間のあらゆるパーセンテージで同一であり)、または1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは10のアミノ酸突然変異を有する。いくつかの実施形態において、突然変異は、図17A~Hのアラインメントにおいて示される位置に存在する。

10

20

【0077】

ある特定の実施形態において、上記で開示されたVHおよび/またはVLのCDR配列を含む単離されたCXCR3抗体または抗原結合フラグメントは、CXCR3中和活性を保持する。

【0078】

様々な実施形態において、CXCR3抗体またはフラグメントの重鎖および軽鎖可変ドメインは、少なくとも1つのフレームワーク領域(例えば、FR1、FR2、FR3、およびFR4のうち少なくとも1つ)を含んでいてもよい。重鎖のフレームワーク領域はVH FRと表示され、軽鎖のフレームワーク領域はここではVL FRと表示される。ある特定の実施形態において、フレームワーク領域は、置換、挿入、またはその他の変更を含有していてもよい。ある特定の実施形態において、これらの変更により、本抗体の結合親和性における改善または最適化が起こる。改変が可能なフレームワーク領域の残基の非限定的な例としては、非共有結合によって直接的にCXCR3と結合する、CDRと相互作用するかまたはCDRのコンフォメーションに作用する、および/またはVL-VHの境界に関与する残基が挙げられる。

30

【0079】

ある特定の実施形態において、CXCR3抗体またはフラグメントの重鎖(VH)は、クローン12、135、82、53、および4のいずれか1つならびにそれらのキメラおよびヒト化変異体内の対応するVHフレームワーク領域に、約80%~約100%(例えば、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%、またはその間のあらゆるパーセンテージ)同一であるアミノ酸配列を有するFR1、FR2、FR3、および/またはFR4を含んでいてもよい。ある特定の実施形態において、CXCR3抗体またはフラグメントは、クローン12、135、82、53、および4のいずれか1つならびにそれらのキメラおよびヒト化変異体内の対応するVH FR領域と同一な、または該領域と比べて1、2、3、4、または5のアミノ酸突然変異(付加、欠失、および保存的置換のような置換を包含する)を有するアミノ酸配列を有する、少なくとも1つのVH FR(FR1、FR2、FR3、および/またはFR4)を含んでいてもよい。

40

【0080】

ある特定の実施形態において、CXCR3抗体またはフラグメントの軽鎖(VL)は、

50

クローン 1 2、1 3 5、8 2、5 3、および 4 のいずれか 1 つならびにそれらのキメラおよびヒト化変異体内の対応する V L フレームワーク領域と約 8 0 % ~ 約 1 0 0 % (例えば、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、もしくは 1 0 0 %、またはその間のあらゆるパーセンテージ) 同一であるアミノ酸配列を有する F R 1、F R 2、F R 3、および / または F R 4 を含んでいてもよい。ある特定の実施形態において、C X C R 3 抗体またはフラグメントは、クローン 1 2、1 3 5、8 2、5 3、および 4 のいずれか 1 つならびにそれらのキメラおよびヒト化変異体内の対応する V L F R 領域と同一な、または該領域と比べて 1、2、3、4、または 5 のアミノ酸突然変異 (付加、欠失、および保存的置換のような置換を包含する) を有するアミノ酸配列を有する、少なくとも 1 つの V L F R (F R 1、F R 2、F R 3、および / または F R 4) を含んでいてもよい。

10

【0081】

ある特定の実施形態において、C X C R 3 抗体またはフラグメントは、クローン 1 2、1 3 5、8 2、5 3、および 4 のいずれか 1 つならびにそれらのキメラおよびヒト化変異体内の対応する V H F R 領域と同一な、または該領域と比べて 1、2、3、4、または 5 のアミノ酸突然変異を含むアミノ酸配列を有する V H F R 領域 (F R 1、F R 2、F R 3、および / または F R 4) を含み、さらに、クローン 1 2、1 3 5、8 2、5 3、および 4 のいずれか 1 つならびにそれらのキメラおよびヒト化変異体内の対応する V L F R 領域と同一な、または該領域と比べて 1、2、3、4、または 5 のアミノ酸突然変異を含むアミノ酸配列を有する V L F R 領域 (F R 1、F R 2、F R 3、および / または F R 4) を含む。ある特定の実施形態において、C X C R 3 抗体またはフラグメントは、クローン 1 2、1 3 5、8 2、5 3、および 4 のいずれか 1 つならびにそれらのキメラおよびヒト化変異体内の対応する V H F R 領域と約 8 0 ~ 1 0 0 % 同一なアミノ酸配列を有する V H F R 領域 (F R 1、F R 2、F R 3、および / または F R 4) を含み、さらに、クローン 1 2、1 3 5、8 2、5 3、および 4 のいずれか 1 つならびにそれらのキメラおよびヒト化変異体内の対応する V L F R と約 8 0 ~ 1 0 0 % 同一なアミノ酸配列を有する V L F R 領域 (F R 1、F R 2、F R 3、および / または F R 4) を含む。

20

【0082】

C D R および F R 領域のそれぞれを独立して選択し、所与の抗体に関する他のあらゆる C D R または F R 領域と組み合わせることができるため、本明細書で開示された C D R および F R 領域は、様々な組み合わせで連結が可能である。ある特定の実施形態において、V H および / または V L の C D R ならびに F R 配列は、C X C R 3 活性を中和する能力を保持する抗体またはフラグメント中で、あらゆる組み合わせで存在していてもよい。

30

【0083】

本明細書で開示されたような抗体およびフラグメントは、本明細書において説明されるアミノ酸配列を実質的に変更しない 1 つまたはそれ以上のアミノ酸配列を含んでいてもよい。実質的に同じアミノ酸配列としては、保存的アミノ酸置換、同様に抗体またはフラグメントの C X C R 3 活性を中和する能力を損なわないアミノ酸欠失および / または挿入を含む配列が挙げられる。

【0084】

本明細書で開示された抗体およびフラグメントはさらに、1 つまたはそれ以上の追加の分子にコンジュゲートされてもよい。例えば、コンジュゲートは、治療剤、可溶化剤、安定剤、免疫抑制剤、受容体、およびそれらのフラグメント、抗原と結合するペプチド、ならびに / または他のリガンド標的部分のうち 1 つまたはそれ以上に、直接的に、またはリンカーを介して合体した抗体を含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、治療剤は、T 1 D および / または C X C R 3 に関連する他の障害を処置するのに有用な作用剤である。いくつかの実施形態において、本抗体またはフラグメントは、β 細胞刺激因子またはインスリンにコンジュゲートされている。

40

【0085】

ヌクレオチド配列

50

上述したアミノ酸配列に加えて、ある特定の実施形態において、それらのアミノ酸配列に相当するヌクレオチド配列が本明細書において開示される。いくつかの実施形態において、ヌクレオチド配列は、C X C R 3 活性を中和することができる抗体またはフラグメントをコードする。ある特定の実施形態において、ヌクレオチド配列を使用して、細胞中での抗 C X C R 3 抗体の発現（例えば、哺乳動物細胞での発現）のための発現ベクターを製造することができる。

【0086】

また、ある特定の実施形態において、本明細書で開示されたアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチドと実質的に同一なポリヌクレオチドも本明細書において開示される。実質的に同一な配列は、多型配列、すなわち集団における代替配列または対立遺伝子であってもよい。また実質的に同一な配列は、サイレント突然変異を含む配列などの、突然変異が誘発された配列を含んでいてもよい。突然変異は、1つまたはそれ以上のヌクレオチド残基の変化、1つまたはそれ以上のヌクレオチド残基の欠失、または1つまたはそれ以上の追加のヌクレオチド残基の挿入を含んでいてもよい。また実質的に同一な配列は、核酸コードの縮重のために、本明細書で開示されたアミノ酸配列中のいずれかある特定のアミノ酸位置における同じアミノ酸をコードする様々なヌクレオチド配列を含んでいてもよい。また、実質的に同一な配列には、C X C R 3 を中和する能力を保持する抗体の1つの鎖または複数の鎖をコードする配列も包含される。

【0087】

また、ある特定の実施形態において、高度にストリンジェントな、またはそれより低いストリンジェンシーのハイブリダイゼーション条件下で、C X C R 3 中和抗体またはフラグメントをコードするポリヌクレオチドにハイブリダイズするポリヌクレオチドも本明細書において開示される。用語「ストリンジェンシー」は、本明細書で使用される場合、2つの核酸間の相同性の程度を評価するために行われるハイブリダイゼーション実験の実験条件（例えば、温度および塩濃度）を指し；ストリンジェンシーが高ければ、2つの核酸間のパーセント相同性はより高くなる。成句「ハイブリダイズすること」、またはそれらの文法上の変化形は、本明細書で使用される場合、低い、中程度もしくは高いストリンジェンシー条件下で、または核酸合成条件下で、第1の核酸分子が第2の核酸分子に結合することを指す。ハイブリダイゼーションには、第1の核酸分子が第2の核酸分子に結合するような例と、第1の核酸分子と第2の核酸分子とが相補的である例とがあり得る。

【0088】

ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件は、これらに限定されないが、6×塩化ナトリウム／クエン酸ナトリウム（SSC）中での、約45セルシウス度でのフィルターに結合したDNAへのハイブリダイゼーション、それに続いて0.2×SSC／0.1% SDS中での、約50～65セルシウス度での1回またはそれ以上の洗浄を包含する。他のストリンジェントな条件は、6×SSC中での、約45セルシウス度での、フィルターに結合したDNAへのハイブリダイゼーション、それに続いて0.1×SSC／0.2% SDSでの、約65セルシウス度での1回またはそれ以上の洗浄を包含する。公知のストリンジェンシーの他のハイブリダイゼーション条件は当業者によく知られており、本明細書に含められる。

【0089】

ある特定の実施形態において、本明細書で開示された核酸は、C X C R 3 活性を中和することができる抗体またはフラグメント中の1つの鎖または複数の鎖のアミノ酸配列をコードしていてもよく、または核酸は、本抗体またはフラグメント中の1つの鎖または複数の鎖のアミノ酸配列をコードする核酸にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするものでもよい。

【0090】

ある特定の実施形態において、C X C R 3 中和抗体またはフラグメントのVHドメインのアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列を含み、さらに、クローン12、135、82、53、および4のいずれか1つならびにそれらのキメラおよびヒト化変異体の重鎖

10

20

30

40

50

をコードするヌクレオチド配列に少なくとも約 80～100%（例えば、約 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100%）（またはその間のあらゆるパーセンテージ）同一なポリヌクレオチド配列が、本明細書において開示される。ある特定の実施形態において、上記ポリヌクレオチド配列は、クローン 12、135、82、53、および 4 のいずれか 1 つならびにそれらのキメラおよびヒト化変異体の重鎖をコードするヌクレオチド配列と比べて、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または 10 の突然変異（付加、欠失、および保存的置換のような置換を包含する）を有するヌクレオチド配列を含んでいてもよい。

【0091】

ある特定の実施形態において、C X C R 3 中和抗体またはフラグメントの V L ドメインのアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列を含み、さらに、クローン 12、135、82、53、および 4 のいずれか 1 つならびにそれらのキメラおよびヒト化変異体の軽鎖をコードするヌクレオチド配列に少なくとも約 80～100%（例えば、約 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100%）（またはその間のあらゆるパーセンテージ）同一なポリヌクレオチド配列が、本明細書において開示される。ある特定の実施形態において、上記ポリヌクレオチド配列は、クローン 12、135、82、53、および 4 のいずれか 1 つならびにそれらのキメラおよびヒト化変異体の軽鎖をコードするヌクレオチド配列と比べて、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または 10 の突然変異（付加、欠失、および保存的置換のような置換を包含する）を有するヌクレオチド配列を含んでいてもよい。

【0092】

特定の実施形態において、V H のアミノ酸配列と少なくとも約 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100%（またはその間のあらゆるパーセンテージ）同一であり、さらに、V L のアミノ酸配列と少なくとも約 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100%（またはその間のあらゆるパーセンテージ）同一であるヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド配列が、本明細書において開示され、ここで上記ヌクレオチド配列は、クローン 12、135、82、53、および 4 のいずれか 1 つならびにそれらのキメラおよびヒト化変異体からの重鎖および軽鎖のアミノ酸配列をコードする。

【0093】

開示されたポリヌクレオチドは、当技術分野で公知のあらゆる方法により得てもよい。例えば、抗体のヌクレオチド配列が公知の場合、本抗体をコードするポリヌクレオチドを化学合成されたオリゴヌクレオチドから構築してもよい。これは、例えば、本抗体をコードする配列の一部を含有するオーバーラップするオリゴヌクレオチドを合成し、これらのオリゴヌクレオチドをアニールおよびライゲートし、次いでライゲートしたオリゴヌクレオチドを P C R で増幅することを含むと予想される。開示されたポリヌクレオチドは、抗体 c D N A ライブラリー、または抗体を発現するあらゆる組織もしくは細胞（例えば、抗体を発現するように選択されたハイブリドーマ細胞）から単離された c D N A ライブラリーのようなその他のあらゆる好適な核酸源から生成することもできる。

【0094】

いくつかの実施形態において、開示されたポリヌクレオチドのいずれかが、発現ベクターに取り入れられてもよい。様々なヒトおよび動物の細胞型で発現させるのに好適なベクターは、当技術分野で公知である。いくつかの実施形態において、ベクターを含む宿主細胞が提供される。好適な宿主細胞としては、例えば、C H O、C O S、S F 9、および／またはその他のヒトもしくは非ヒト細胞株が挙げられる。いくつかの実施形態において、宿主細胞は、培地中で培養されると一時的にまたは安定してベクター上の核酸を発現し、それによって本明細書で開示された抗体またはフラグメントを産生するための方法が提供される。

【0095】

医薬組成物

医薬組成物は、本明細書で開示された抗体、またはそれらのフラグメントのいずれかを含んでいてもよい。また、例えば、遺伝子治療用途で使用するため、および／またはタンパク質またはそれらのフラグメントを産生するための宿主細胞（例えば、CHO、COS、SF9、および／またはその他のヒトもしくは非ヒト細胞株）での一時的または安定な発現のための、本抗体またはそれらのフラグメントをコードする核酸を含む医薬組成物も開示される。

【0096】

本明細書で開示された医薬組成物は、溶媒、充填剤、増量剤、崩壊剤、緩衝液、もしくは安定剤のような、薬学的に許容される担体および／または少なくとも1種の添加剤を含んでいてもよい。標準的な医薬製剤技術は当業者に周知である（例えば、2005 Physicians' Desk Reference（登録商標）、Thomson Healthcare: Montvale, NJ, 2004; Remington: The Science and Practice of Pharmacy、第20版、Gennadoら編、Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, PA, 2000を参照）。好適な製薬用添加剤としては、例えば、マンニトール、スターチ、グルコース、ラクトース、スクロース、ゼラチン、麦芽、米、小麦粉、チョーク、シリカゲル、ステアリン酸ナトリウム、モノステアリン酸グリセロール、タルク、塩化ナトリウム、乾燥スキムミルク、グリセロール、プロピレン、グリコール、水、エタノールなどが挙げられる。ある特定の実施形態において、医薬組成物はまた、pHを緩衝化する試薬および湿潤剤または乳化剤（例えば、リン酸緩衝生理食塩水、注射用の滅菌生理食塩水など）を含有していてもよい。さらなる実施形態において、本組成物は、保存剤またはその他の安定剤を含有していてもよい。

【0097】

いくつかの実施形態において、本明細書で開示された抗体、またはそれらのフラグメント、または本抗体もしくはフラグメントをコードする核酸のいずれかを含有する医薬組成物はさらに、以下のもの：マンニトール、ポリソルベート80、二塩基性リン酸ナトリウム七水和物、および一塩基性リン酸ナトリウム一水和物のうち1種またはそれ以上を含んでいてもよい。別の実施形態において、医薬組成物は、pH6.5の10mMヒスチジン、最大2%のグリシン、最大2%のマンニトール、および最大0.01%のポリソルベート80を含有していてもよい。

【0098】

医薬組成物の配合は、意図した投与経路および他のパラメーターに応じて変更することができる（例えば、Roweら、Handbook of Pharmaceutical Excipients、第4版、Apha Publications、2003を参照）。いくつかの実施形態において、医薬組成物は、凍結乾燥したケーキまたは粉末であってもよい。凍結乾燥組成物は、静脈注入による投与のために、例えばUSPの滅菌注射用水で再溶解させてもよい。他の実施形態において、本組成物は、滅菌された非発熱性溶液であってもよい。

【0099】

本明細書において説明される医薬組成物は、単独で活性な化合物として、本明細書で開示されたような抗体、またはそれらのフラグメント、または本抗体またはフラグメントをコードする核酸を含んでいてもよいし、または医薬組成物は、他の化合物、組成物、または生物学的材料との組み合わせを含んでいてもよい。例えば、医薬組成物はまた、T1DのようなCXCR3に関連する疾患または障害の処置に有用な1種またはそれ以上の低分子または他の作用剤を含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、医薬組成物は、β細胞刺激因子、インスリン、および／またはインスリン産生細胞を含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、医薬組成物はまた、1種またはそれ以上の免疫抑制剤、mTOR阻害剤またはオートファジー阻害剤を含んでいてもよい。免疫抑制剤の例としては、ラパマイシンおよびベルケードが挙げられる。ラパマイシンは、mTOR阻害剤でもあ

る。

【0100】

投与および投与法

いくつかの実施形態において、患者に、1種またはそれ以上の本明細書で開示された抗 C X C R 3 抗体、および／またはそれらのフラグメントを投与することを含む、C X C R 3 に関連する疾患または障害に罹った患者を処置する方法が提供される。いくつかの実施形態において、本抗体またはフラグメントは、C X C R 3 を中和することができる。いくつかの実施形態において、疾患または障害は、炎症性疾患である。いくつかの実施形態において、障害は、T 1 D である。いくつかの実施形態において、本抗体またはフラグメントを含む組成物（例えば、医薬組成物）を投与することにより、C X C R 3 に関連する疾患または障害の症状が防止され、処置され、その重症度が低減され、かつ／または別の方法で改善される。いくつかの実施形態において、本抗体またはフラグメントは、C X C R 3 に関連する疾患または障害の症状を防止し、処置し、その重症度を低減し、かつ／または別の方法で改善するのに十分な用量および頻度で投与される。

10

【0101】

ある特定の実施形態において、疾患または障害を処置するための医薬品の製造で使用するための組成物が提供され、ここで医薬品は、本明細書で開示された抗体、またはそれらのフラグメントのいずれかを含む。例えば、本抗体またはフラグメントは、軽鎖可変ドメイン 4. 0 ~ 4. 7 のいずれか 1 つからの 3 つの C D R と対になっている重鎖可変ドメイン 4. 0 ~ 4. 11 のいずれか 1 つからの 3 つの C D R ; 軽鎖可変ドメイン 12. 0 ~ 12. 3 のいずれか 1 つからの 3 つの C D R と対になっている重鎖可変ドメイン 12. 0 ~ 12. 3 のいずれか 1 つからの 3 つの C D R ; 軽鎖可変ドメイン 53. 0 ~ 53. 13 のいずれか 1 つからの 3 つの C D R と対になっている重鎖可変ドメイン 53. 0 ~ 53. 10 のいずれか 1 つからの 3 つの C D R ; 軽鎖可変ドメイン 82. 0 ~ 82. 3 のいずれか 1 つからの 3 つの C D R と対になっている重鎖可変ドメイン 82. 0 ~ 82. 3 のいずれか 1 つからの 3 つの C D R ; または軽鎖可変ドメイン 135. 0 ~ 135. 3 のいずれか 1 つからの 3 つの C D R と対になっている重鎖可変ドメイン 135. 0 ~ 135. 3 のいずれか 1 つからの 3 つの C D R を含んでいてもよい。

20

【0102】

いくつかの実施形態において、医薬品中の本抗体またはフラグメントは、軽鎖可変ドメイン 4. 0 ~ 4. 7 のいずれか 1 つと対になっている重鎖可変ドメイン 4. 0 ~ 4. 11 のいずれか 1 つ、軽鎖可変ドメイン 12. 0 ~ 12. 3 のいずれか 1 つと対になっている重鎖可変ドメイン 12. 0 ~ 12. 3 のいずれか 1 つ、軽鎖可変ドメイン 53. 0 ~ 53. 13 のいずれか 1 つと対になっている重鎖可変ドメイン 53. 0 ~ 53. 10 のいずれか 1 つ、軽鎖可変ドメイン 82. 0 ~ 82. 3 のいずれか 1 つと対になっている重鎖可変ドメイン 82. 0 ~ 82. 3 のいずれか 1 つ、または軽鎖可変ドメイン 135. 0 ~ 135. 3 のいずれか 1 つと対になっている重鎖可変ドメイン 135. 0 ~ 135. 3 のいずれか 1 つを含んでいてもよい。

30

【0103】

本明細書で開示された方法で使用するための C X C R 3 抗体の用量は、患者の生理学的状態（大きさまたは表面積、体重、年齢、および代謝）ならびに病状のような当業者によく知られている多数のパラメーター、加えて送達メカニズム、配合、およびあらゆる併用療法または継続療法のような薬理学的パラメーターに基づき変更されると予想される。「有効量」の C X C R 3 抗体は、例えば H A 1 b c （ヘモグロビン A 1 c）レベルの維持または低下（約 7 % 未満、例えば、7. 5、7. 4、7. 3、7. 2、7. 1、7. 0、6. 9、6. 8、6. 7、6. 6、または 6. 5 % 未満、またはその間のあらゆるパーセンテージ未満）、内因性インスリン産生および／または血中インスリンレベルの増加、空腹時 C - ペプチドレベルの維持または増加、耐糖能の改良、外因性インスリンの非存在下における空腹時血液グルコースレベルの低減、外因性インスリンの使用の低減、β 細胞の炎症の低減、ならびに／または β 細胞群の増加および／もしくはは増殖の 1 つまたはそれ以上

40

50

などの望ましい *in vivo*での作用をもたらすことができる。例えば血中での CXCR3 + 細胞（例えば、これらに限定されないが、T細胞など）の減少、CXCR3リガンド結合の阻害、GTP結合、カルシウム流入および／もしくは動員、細胞走化性、ならびに／または受容体の内在化などの、CXCR3阻害に関する直接的な細胞アッセイを使用することもできる。

【0104】

ある特定の実施形態において、有効量の CXCR3 抗体は、*in vivo*において、上記のパラメーターのいずれかにおいて、対照と比べて約 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、もしくは 100%（もしくはその間のあらゆるパーセンテージ）の改善、または 1、2、4、5、10、15、20、30、40、50、もしくは 100 倍（もしくはその間のあらゆる倍率）の改善、またはそれを超える改善をもたらす。ある特定の実施形態において、改善は、外因性インスリンの非存在下における空腹時血液グルコースレベルが、100、110、120、130、140、150、160、180、200、220、240、250、300、または 350 mg/dL（またはその間のあらゆる値）未満に低減していることを特徴としていてもよい。ある特定の実施形態において、改善は、基底の血清 C-ペプチドレベルが、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.8、または 1.0 nmol/L（またはその間のあらゆる値）よりも高いことを特徴としていてもよい。いくつかの実施形態において、改善は、（経口グルコース負荷試験後の）C-ペプチド刺激間の合計の空腹時血清 C-ペプチドレベルが、約 0.03、0.033、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.1、0.2、0.4、0.5、0.6、0.8、または 1.0 nmol/L × 分（またはその間のあらゆる値）よりも高いことを特徴としていてもよい。ある特定の実施形態において、有効量の CXCR3 抗体はさらに、脾臓中の CD4+ および／または CD8+ 細胞の濃度を、対照の対象と比べて、少なくとも 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、または 90%（またはその間のあらゆるパーセンテージ）減少させるか、または少なくとも 1、2、3、4、または 5 倍（またはその間のあらゆる値）減少させることを特徴としていてもよい。

【0105】

様々な実施形態において、有効量の抗体は、ヒト対象への投与に関して安全な用量になるようにも選択される。ある特定の実施形態において、抗 CXCR3 抗体の安全な用量は、対象における（CXCR3 活性以外の）T細胞またはT細胞活性の総計の実質的な喪失（例えば、対象の血液中のT細胞濃度または活性によって測定した場合）が起こらない用量と特徴付けることができる。特定の実施形態において、「T細胞またはT細胞活性の総計の実質的な喪失」は、CXCR3 中和抗体で処置した対象における（CXCR3 活性以外の）CD4+ および／または CD8+ 細胞の濃度および／または活性が、プラセボで処置した対照の対象と比べて、および／または処置前の処置対象と比べて、40%、30%、25%、20%、15%、10%、5%（またはその間のあらゆるパーセンテージ）またはそれ未満で低減されることを意味する。いくつかの実施形態において、安全な用量は、調節性T細胞、B細胞、骨髄細胞、樹状細胞、および／または顆粒球から選択される 1 つまたはそれ以上の細胞型の濃度が、対照の対象と比べて 40%、30%、25%、20%、15%、10%、5%（またはその間のあらゆるパーセンテージ）またはそれ未満で減少することとさらに特徴付けることができる。

【0106】

ヒトのような対象に関する典型的な非限定的な用量は、*in vitro*での走化性アッセイにおいて約 1~6 $\mu\text{g/mL}$ の ND_{50} を有する抗体の場合、約 0.03、0.06、0.12、0.24、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、または 3.7 mg/kg/用量（またはその間のあらゆる値）を包含する。ある特定の実施形態において、本抗体は、約 0.03~3.7 mg/kg/用量、0.15~0.7 mg/kg/用量、または 0.25~0.5 mg/kg/用量の範囲で投与されてもよい。

【0107】

10

20

30

40

50

抗CXCR3抗体は、1回の投与で投与されてもよいし、または例えば1日1回、週1回、2週に1回、月1回、2か月に1回、年4回、もしくは年1回のように様々な期間にわたり繰り返しの投与で投与されてもよい。したがって、患者は、非限定的な例において、上記で論じられた用量範囲に基づいて、処置レジメンの経過にわたり、総用量がおよそ0.16～18mg/kgのCXCR3抗体を取り込んでもよい。

【0108】

抗CXCR3抗体は、例えば、静脈内、腹腔内、経鼻的、経眼、経口的、非経口的、皮下、または経皮などの当業者に公知のあらゆる好適な手段によって投与されてもよい。特定の実施形態において、本抗体は、対象の脾臓に直接、または脾臓の近傍に、または脾臓の脾島細胞のような脾臓の特定の領域に投与されてもよい。

【0109】

ある動物で達成された有効な投与量は、ヒトなどの別の動物で使用するために当技術分野で公知の換算係数を使用して換算することができる。例えば、Reagan-Shawら、FASEB J. 22:659～61(2008); Scheinら、Clin. Pharmacol. Ther. 11:3～40(1970); およびFreireichら、Cancer Chemother. Reports 50(4):219～244(1966)を参照されたい。例えば、mg/kgで示される動物への用量に基づくヒト相当用量(HED)は以下の方程式： $HED(mg/kg) = 動物用量(mg/kg) \times (Km_{animal} / Km_{human})$ で示すことができ、式中、Km=重量/表面積(kg/m²)である。

【0110】

上記の方程式に基づく典型的な換算係数を以下の表に示す。上記でヒトに関して述べられた典型的な用量は、これらの係数または当業者に公知の他の手段に基づいて他の種または他のヒト患者ごとに調節することができる。

【0111】

【表4】

表3

元の種: 他の種:	マウス (20 g)	ラット (150 g)	サル (3.5 kg)	イヌ (8 kg)	ヒト (60 kg)
マウス	1	0.5	0.25	0.17	0.08
ラット	2	1	0.5	0.25	0.14
サル	4	2	1	0.6	0.33
イヌ	6	4	1.7	1	0.5
ヒト	12	7	3	2	1

【0112】

対象

本発明によって提供される方法で処置しようとする対象としては、ヒト、または家畜、飼育動物、および野生動物のような動物が挙げられる。いくつかの実施形態において、動物は、鳥類、ウシ属、イヌ類、クジラ目、ウマ科、ネコ科、ヒツジ、魚類/魚、ブタ、霊長類、げっ歯類、または有蹄類である。対象は、成体、幼年期、胎児、または胚などのあらゆる発生段階のものであってもよい。特定の実施形態において、患者は、哺乳動物であり、より特定の実施形態において、ヒトである。

【0113】

様々な実施形態において、異常なCXCR3活性に関連する何らかの状態、もしくはCXCR3シグナル伝達の破壊が治療上有益な可能性がある何らかの状態について予防的に、またはその発病後に対象を処置することができる。いくつかの実施形態において、T1Dについて予防的に、またはT1Dの発病後に対象を処置することができる。いくつかの

実施形態において、本明細書で示された方法を使用して、T 1 Dの発病前に対象を予防的に処置することができ、または本明細書で示された方法を使用して、初発のT 1 Dを有する対象を処置することができる。

【0114】

「初発のT 1 Dを有する対象」は、糖尿病が臨床的に診断されたときの対象の年齢に関係なく（例えば、成体、幼年期、胎児、または胚の対象を含む）、減少しているもののなお検出可能な、膵臓のβ細胞からのインスリン産生能力を有するあらゆる対象である。ある特定の実施形態において、初発のT 1 Dを有する対象は、好ましくはT 1 Dの最も初期の臨床診断から約6ヶ月以内（例えば、約1日以内、1週間以内、2週間以内、3週間以内、4週間以内、5週間以内、1ヶ月以内、2ヶ月以内、3ヶ月以内、4ヶ月以内、5ヶ月以内、6ヶ月以内、またはその間のあらゆる期間以内）に処置を受けると予想される。他の実施形態において、対象は、T 1 Dの最も初期の臨床診断から6ヶ月よりも後に処置を受けてもよく、その場合、対象は、約0.2nmol/L（例えば、少なくとも約0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.8、または1.0nmol/L）以上の、ごくわずかながら測定可能な基底の血清C-ペプチドレベルを保持する。いくつかの実施形態において、処置は、1種またはそれ以上の本明細書で開示された抗体を含む1回またはそれ以上の用量の投与を含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、CXCR3中和抗体である。

【0115】

いくつかの実施形態において、初発のT 1 Dを有する対象は、C-ペプチド刺激の間、少なくとも約0.03、0.033、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.1、0.2、0.4、0.5、0.6、0.8または1.0nmol/L×分、例えば、約0.03～1.0または0.033～1.0nmol/L×分の合計の空腹時血清C-ペプチドレベルを保持する。特定の実施形態において、対象は、C-ペプチド刺激の間、0.033～1.0nmol/L×分の合計の空腹時血清C-ペプチドレベルを有する。ある特定の実施形態において、C-ペプチド刺激は、経口グルコース試験後になされ、10.0～13.9mmol/Lのグルコースを投与してから60～150分、合計血清C-ペプチドレベルを測定することを含んでいてもよい。Keymeulenら、Diabetologia 53:614～623（2010）を参照されたい。より特定の実施形態において、対象の測定可能な経口グルコース負荷試験後の合計血清C-ペプチドレベルの増加は、0.8、0.7、0.6、0.54、0.5、0.4、0.3、0.2、または0.1nmol/L×分未満である。よりさらなる特定の実施形態において、対象の経口グルコース負荷試験後の合計血清C-ペプチドレベルは、0.54nmol/L×分またはそれ未満の増加を示す。C-ペプチドは、インスリン前駆体ペプチド（ヒト参照配列NP_000198）の残基57～87に相当し、残基90～110および25～54は、それぞれインスリンのAおよびB鎖に相当する。

【0116】

いくつかの実施形態において、初発のT 1 Dを有する対象は、約100、110、120、130、140、150、160、180、200、220、240、250、300、350mg/dL（またはその間のあらゆる値）を超える、またはそれより高い値を超える外因性インスリンの非存在下における上昇した空腹時血液グルコースレベルを有する。ある特定の実施形態において、対象は、上述したような上昇した空腹時血液グルコースレベルと、それに加えて上述したような減少した合計の空腹時血清C-ペプチドレベルとの両方を有する場合もある。

【0117】

ある特定の実施形態において、対象は、初発のT 1 Dと診断された直後に本明細書で開示された方法によって処置される。より特定の実施形態において、対象は、初発のT 1 Dの臨床診断から、1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは10日以内、または1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは10週間以内、または1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、もしくは12ヶ月以内（もしくはその間のあらゆる期間

10

20

30

40

50

）に、まず本発明の方法によって処置される。より具体的な実施形態において、対象は、初発の T 1 D の臨床診断の 6 ヶ月以内に、まず本発明の方法によって処置される。他の実施形態において、T 1 D を有する対象は、臨床診断からの時間に関係なくあらゆる時期に本明細書で開示された方法によって処置され、ここで対象は、少なくとも約 0.2 nmol/L の残留した血清 C-ペプチドレベルを保持する。

【0118】

追加の方法

本明細書で示された方法は、ある特定の実施形態において、本明細書で開示された抗 C X C R 3 抗体の投与と同時にまたは連続的に（その前または後に）投与され得る追加の処置を含んでいてもよい。例えば、いくつかの実施形態において、対象に、抗 C X C R 3 抗体に加えて免疫抑制剤を投与するさらなる工程を含む方法が開示される。免疫抑制剤としては、これらに限定されないが、アザチオプリン（イムラン）、 β インターフェロン 1 a、 β インターフェロン 1 b、バシリキシマブ、コルチコステロイド、サイクロスポリン（サンディミュン）、シクロホスファミド、クロラムブシル、ダクリズマブ、デオキシスベルグアリン、エタネルセプト、グラチラマー酢酸塩、インフリキシマブ、レフルノミド、メルカプトプリン（6-MP）、メトトレキセート、ミトキサントロン、ムロモナブ-C D 3、ミコフェノール酸塩（MMFまたはセルセプト）、ナタリズマブ、アナキンラ、カナキヌマブ、リツキシマブ、ベリムマブ、アバタセプト、アルデスロイキン、プレドニゾン、ラパマイシン、シロリムス、タクロリムス、およびウスチキヌマブなどのうち 1 種またはそれ以上が挙げられる。

【0119】

いくつかの実施形態において、本明細書で開示された方法は、抗 C X C R 3 抗体を投与することに加えて、対象に β 細胞刺激因子を投与する工程を含んでいてもよい。 β 細胞刺激因子を投与する工程は、抗 C X C R 3 抗体の投与と並行していてもよいし、またはそれと連続していてもよい（その前または後に）。典型的な β 細胞刺激因子としては、これらに限定されないが、移植した β 細胞（自己、同種異系、または同系）、移植したインスリン産生細胞（同種異系または同系）、DDP 4（ヒトタンパク質参照配列 NP__001926.2）阻害剤、TM4SF20 ペプチド（ヒトタンパク質参照配列 NP__079071）、TMM27 ペプチド（ヒトタンパク質参照配列 NP__065716）、エキセンジン 1 または GLP-1（ヒトタンパク質参照配列 NP__002045）類似体、gp130 および EGF 受容体リガンド、ならびに米国特許出願公開第 20100130476 号の段落 8～11 で開示されたものなどのうち 1 種またはそれ以上が挙げられる。本発明の方法において、 β 細胞刺激因子は、免疫抑制剤と同時に、または（その前もしくは後に）連続的にいずれかで投与されてもよい。ある特定の実施形態において、 β 細胞刺激因子、インスリン産生細胞、および／または免疫抑制剤は、 β 細胞刺激因子、インスリン産生細胞、および／または免疫抑制剤を標的組織または臓器に送達することができる装置を移植することによって投与されてもよい。

【0120】

また、C X C R 3 および／または C X C R 3 を発現する細胞（例えば、C X C R 3 + T 細胞）を検出および／または定量する方法も、本明細書において開示される。いくつかの実施形態において、本方法は、1 つまたはそれ以上の本明細書で開示された抗 C X C R 3 抗体を使用して、C X C R 3 および／または C X C R 3 を発現する細胞を検出および／または定量することを含む。例えば、1 つまたはそれ以上の抗体を患者のサンプル（例えば、血液サンプル）に添加して、検出可能なシグナルにコンジュゲートした二次抗体のような検出可能な標識（例えば、蛍光性の二次検出抗体）を使用して検出することができる。例えば、FACS ソーティングを使用して、一次抗体および蛍光性の二次抗体を結合させた後、サンプル中の C X C R 3 を発現する細胞のレベルを定量することができる。

【0121】

いくつかの実施形態において、C X C R 3 障害または C X C R 3 関連障害（例えば、糖尿病、T 1 D）を診断するための診断方法を使用することができる。例えば、障害は、患

者サンプル中の C X C R 3 の存在または非存在を検出することによって診断することができ、またはサンプル中の C X C R 3 の濃度を、1 つまたはそれ以上の参照標準におけるレベルと比較することによって診断することができ、この場合、標準におけるレベルからの偏差が、障害の存在の指標になる。

【0122】

様々な実施形態において、少なくとも1種の抗 C X C R 3 抗体またはフラグメントを含むキットも提供される。本キットは、様々な調査、診断、および治療目的にとって有用である。例えば、対象にキット内に含有される抗 C X C R 3 抗体またはフラグメントを投与することによって、C X C R 3 + T 細胞を検出するため、または I 型糖尿病を処置するために、本キットを使用することができる。単離および精製目的で、本キットは、ビーズ（例えば、セファロースビーズ）に結合させた抗体またはフラグメントを含有していてもよい。ある特定の実施形態において、本キットはまた、望ましい調査、診断、および／または治療目的のために抗 C X C R 3 抗体またはフラグメントを使用するための説明書も含む。

10

【0123】

本出願において、単数形の使用は、特に他の規定がない限り、複数形を包含する。また本出願において、「または」の使用は、特に他の指定がない限り、「および／または」も意味する。さらに用語「包含」の使用、加えて「～を包含する」および「包含される」のようなその他の形態の使用は、限定的ではない。本明細書において説明されるあらゆる範囲は、両端の値とその両端の値の間の全ての値とを包含すると理解されるものとする。

20

【0124】

本明細書において使用される章の表題は、単に構成上の目的で記載されたものであり、説明されている主題を制限すると解釈されないものとする。これらに限定されないが、特許、特許出願、論文、本、および専門書などの本出願において引用された全ての文書、または文書の一部は、あらゆる目的に関して、参照により明確にそれら全体が開示に組み入れられる。参照により組み入れられた公報および特許または特許出願が本明細書に記載された発明と矛盾しない程度に、本明細書は、矛盾しないあらゆる材料を包含する。

【0125】

例えば、ゲノム遺伝子座、ゲノム配列、機能的な注釈、対立遺伝子変異体、および参考 m R N A（例えば、エキソンの境界などを含む）、およびタンパク質配列（例えば保存されたドメイン構造）を包含する遺伝子番号または受託番号のような本出願において開示された参照遺伝子配列に関連する全ての情報は、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる。

30

【実施例】

【0126】

以下の実施例は、本開示を例示するのに役立つが、本開示を限定することはまったくない。

【0127】

〔実施例1〕

材料および方法

免疫原の生成。C H O 細胞を全長ヒト C X C R 3 をコードする D N A で形質転換して、C X C R 3 を細胞表面上に発現させた（「r - C X C R 3 - C H O 細胞」）。細胞を形質転換するのに使用される C X C R 3 配列を得て、C X C R 3 のオープンリーディングフレームを発現ベクター p c D N A 3 . 1 n e o _ _ D E S T に入れ、次いで 3 0 0 - 1 9 細胞（免疫原）にトランスフェクションした。アミノ酸配列、M V L E V S D H Q V L N D A E V A A L L E N F S S S Y D Y G E N E S D S C（配列番号 X X X）を有する C X C R 3 細胞外ドメイン（E C ドメイン）の N 末端ペプチドフラグメントを C 末端のシステインを介して K L H にコンジュゲートし、これを免疫原として使用した。C X C R 3 を発現する細胞を、3 7 ° C で、5 % C O 2 下で、1 0 % の透析したウシ胎児血清（F B S）（I n v i t r o g e n）が補充された R P M I（I n v i t r o g e n、C a r l s b a d、

40

50

Calif.) 中で維持した。上記の培地を 5 mM の EDTA が補充されたリン酸緩衝 (Ca/Mg 非含有) 塩類溶液 (CMF-PBS) で交換して、その緩衝液中で細胞を回収することにより注入用の細胞を調製した。回収した細胞を $500 \times g$ で約 5 分の遠心分離によってペレット化し、ペレットを CMF-PBS 中に再懸濁して前と同様にして遠心分離することにより 1 回洗浄し、細胞ペレットを CMF-PBS に再懸濁することにより、注入に適切な体積 (例えば 0.2 ml 中に 5×10^6 細胞) に計数して調節した。

【0128】

抗体の調製。ヒト CXCR3 の N 末端の 37 アミノ酸を使用して、抗ヒト CXCR3 に関するマウスモノクローナルハイブリドーマを生成し、さらなる特徴付けのために 5 種の抗体クローン (4、12、53、82、および 135) を選択した。ヒト CXCR3 の 37 アミノ酸の N 末端は、マウス CXCR3 中のアラインされた領域に 65 % 相同であり、CXCL9、CXCL10、および CXCL11 結合にとって重要な残基を含有する。BALB/c マウス、約 6~8 週齢 (Charles River Laboratories、Wilmington、MA) を、CXCR3 を発現する細胞または CXCR3 の細胞外ペプチドで免疫化した。0 日目に、あるグループのマウスの皮下 (SC) にアジュバント (TiterMax Gold、Sigma Aldrich、番号 T2685-1ML) と混合された KLH コンジュゲートペプチドの 1:1 のエマルジョンを投与し、2~3 週のインターバルでペプチドとアジュバントとの 1:1 エマルジョンで SC に 3~5 回ブーストするか、またはアジュバント非含有の PBS 中の細胞で腹腔内 (IP) にブーストし、屠殺する前に連続して 2 日間、全てアジュバント非含有の PBS 中のペプチドおよび/または細胞のいずれかで IP にブーストした。別のグループのマウスに、PBS 中の細胞を用いて、2~3 週のインターバルで 3~5 回 IP 投与し、続いて屠殺する前に連続して 2 日、IP にブーストした。両方のグループのマウスにおいて、各注入には、およそ $100 \mu l$ の体積中におよそ 2×10^6 個の細胞が含有されていた。

【0129】

最後の注入の次の日に、マウスを屠殺し、脾臓を取り出し、それをペトリ皿中の無血清 DMEM (Gibco) およそ 10 ml 中に置いた。Kohler および Milstein (Nature、256:495~7 (1975)) の方法に基づいて、Sp2/O マウス骨髄腫細胞 (ATCC CRL-1581) と免疫化マウスからの脾臓細胞とを 50 % (w/w) PEG を使用して融合させた。この手順の最後に、細胞を ClonaCell 1-Hy ハイブリドーマ回収培地 (StemCell Technologies) 50 ml 中に再懸濁し、 $T75 cm^2$ のフラスコに移し、 $37^\circ C$ で 16~24 時間インキュベートした。このインキュベート後に、細胞を回収し、ClonaCell 1-HY メチルセルロース選択培地 (StemCell Technologies) 100 ml を添加した。次いでこの混合物を 10 個の $100 mm^2$ 組織培養皿に分けて、10~14 日インキュベートした。クローンのハイブリドーマをメチルセルロースから液状培地に移し、CXCR3 に特異的なモノクローナル抗体を同定するアッセイ用の 96 マルチウェルプレート中で増殖させた。

【0130】

特に他の指定がない限り、これらの実施例に記載の Hu4.1 のような抗体変異体に対する参照番号は、同じ番号の重鎖変異体および軽鎖変異体を含有する抗体を指す (例えば、Hu4.1 は、重鎖 4.1 および軽鎖 4.1 を含有すると予想される)。全ての抗体に対する参照番号は、表 2 に示される抗体の番号付けおよび VH/NK 鎖の対と一致する。

【0131】

動物。雌 NOD/LtJ マウスを Jackson Laboratory (Bar Harbor、ME) から購入し、病原体がない状態で維持した。ACCU-CHEK (登録商標) Compact Plus Blood Glucose Meter (Roche、Indianapolis、IN) を使用して、10 週齢から開始して週 2 回の尾静脈穿刺により、マウスを糖尿病に関してスクリーニングした。血中グルコースが連続 3 日間 $250 mg/dL$ を超えると測定された場合、マウスは糖尿病とみなされた。処置開

始後、最低でも100日間マウスを観察した。全ての動物実験は、社内のIACUCにより承認された。

【0132】

抗体注入。予防の研究のために、前糖尿病性NODマウスに、10週齢から開始して6週間、週1回で、抗体100 μ gを腹腔内(i.p.)注入した。回復の研究のために、マウスが糖尿病とみなされてから1週間以内に、動物をランダムに処置群に登録し、血中グルコースを、1日2回、読み取りの間を少なくとも6時間として測定し、研究の継続期間中に250mg/dLを超える血中グルコースを有するマウスにインスリンを腹腔内注入により投与した。連続30日間インスリン非依存性を維持した処置群のマウスが、回復したとみなされた。5回目の処置と6回目の処置との間に各グループから5匹のマウスを回収し、細胞分析のためにリンパ系の臓器、血液、骨髄、および脾臓を回収した。研究の最後に、脾臓を回収し、組織学的および免疫組織化学的な分析用に処理した。抗マウスCXCR3抗体、クローンCXCR3-173(Uppaluriら、2008)、およびハムスターIgG対照抗体を、BioLegend(San Diego、CA)から購入した。

10

【0133】

FACS分析。脾臓、鼠径リンパ節、脾リンパ節、および骨髄の単一細胞懸濁液を作製した。脾臓を小片に細断し、2mg/mlコラゲナーゼD(Roche Diagnostics、Indianapolis、IN)中で37℃で30分インキュベートし、70ミクロンの細胞濾過器(BD Biosciences、San Jose、CA)を通過させて濾過し、密度勾配遠心分離を使用してリンパ球を脾臓組織から分離した。細胞を、調節性T細胞(Treg)に関して、APC標識抗マウスCD25、FITC標識抗マウスCD4、およびPE標識抗マウスFoxp3(eBiosciences、San Diego、CA)で、活性化/メモリーT細胞に関して、PerCP標識抗マウスCD8 α 、PE標識抗マウスCD44、APC標識抗マウスCD62L、およびPeCy7標識抗マウスCXCR3で、ならびにB細胞、骨髄細胞、樹状細胞、NK細胞、およびNK細胞に関して、FITC標識抗マウスCD94、PerCP標識抗マウスCD4、APC標識抗マウスB220、PeCy7標識抗マウスCD11c、パシフィックブルー標識抗マウスCD11b、およびPE標識抗マウスNKp46で染色した。抗マウスCD16/32で氷上で20分ブロックした後に、細胞を4℃で30分インキュベートした。調節性T細胞の染色の場合、表面染色を行い、細胞を洗浄し、固定し、Cytifix/Perm緩衝液(eBiosciences)中で透過処理し、抗マウスFoxp3抗体で氷上で30分染色した。染色後、細胞を2回洗浄し、パラホルムアルデヒド中で固定し、LSRII血球計算器で捕捉し、データをFlow Joソフトウェア(TreeStar、Ashland、OR)を使用して分析した。特に他の指定がない限り、全ての抗体をBD Biosciencesから購入した。

20

30

【0134】

走化性アッセイ。走化性のアッセイを、5 μ mの膜を有するトランスウェル・パーミアブル・サポートを備えた24-ウェルプレート(Costar)で行った。CXCR3でトランスフェクションした300.19細胞を、RPM1640(総体積0.2ml)中の2.5%熱不活化ウシ胎児血清中に1 $\times$ 10⁶個の細胞で、トランスウェルインサート中に置いた。培地単独、または組換えケモカインの300ng/mlのCXCL9(MIG)、100ng/mlのCXCL10(IP-10)もしくは100ng/mlのCXCL11(I-TAC)が補充された培地を下の区画(0.6ml)に入れ、細胞を含有するトランスウェルインサートを下の区画に装填した。プレートを、5%CO₂の加湿したインキュベーター中で、37℃で4~5時間インキュベートした。インキュベーションに続いて、トランスウェルインサートを取り出し、下の区画の全ての培地をプールし、1200RPMで5分の遠心分離によって細胞をペレット化した。培地を吸引し、細胞をカルセインAM(最終濃度10 μ g/ml)で37℃で30分染色した。細胞をペレット化し、洗浄し、培地(0.1ml)を添加し、懸濁液を96ウェルの黒いウェルを有するク

40

50

リアボトムプレートに移した。プレートに1200RPMでパルスを与えて細胞を定着させ、Flexstatinで490/520nmで蛍光を測定した。全ての条件を3連で試験した。得られたデータを、移動した細胞の平均相対的な蛍光単位(RFU)で示した。図14A~Cおよび図15A~Cを参照されたい。

【0135】

CXCR3でブロックした場合の走化性に関して、CXCR3でトランスフェクションした300.19細胞を、走化性アッセイで使用する前に、様々な量のブロッキング抗体または対照IgGで37℃で20~30分前処置した。抗体を洗浄せず、アッセイのインキュベート中に供給した。

【0136】

FLIPRを使用したカルシウム動員アッセイ。hCXCR3を発現するヒト胎児腎臓293(HEK)細胞を、PBSおよび2mMのEDTAで処置することにより、80%の密集度で回収した。細胞を 1×10^6 細胞/mLの密度で無血清HEK-SFM培地に懸濁した。懸濁液15 μ L(15,000個の細胞)を384ウェルプレートの各ウェルに分配した。再溶解したFLIPRカルシウム4色素15 μ Lを添加することによって、室温で30分、細胞に色素を入れた。抗ヒトCXCR3抗体クローンおよびアイソタイプ対照を、HBSS+20mMのHEPES+1%BSAで連続希釈し(3倍)、1クローンあたり10種の試験濃度を作製した。各試験濃度を同じプレート上で二連で(n=2)試験した。各ウェル中の細胞に試験濃度液15 μ Lを添加し、プレートを室温で1時間インキュベートした。細胞内カルシウム動員を惹起するためのEC80を示す固定濃度のCXCL11(R&D Systems)をFLIPRの各ウェルに添加し、蛍光の変化を経時的にモニターした。各ウェルの最大応答をベースラインに対して正規化し、データを、平均した後にGraphPad Prismを使用して4つのパラメーター方程式にフィッティングし、各クロンのIC50を決定した。図14Dおよび図21を参照されたい。

【0137】

親和性に関するBiacore分析。Biacore表面の調製。Biacore T100カインेटイクス/アフィニティーアッセイを使用して、マウス α -ヒトCXCR3ハイブリドーマ抗体クローン4、12、53、82、および135のヒトCXCR3ペプチドに対する結合親和性を計算した。標準的なアミンカップリングプログラムを使用して、Biacore CM5シリーズSセンサーチップ(GE番号BR-1006-68)にウサギ抗マウスFc(RAM-Fc)捕捉抗体(GE番号BR-1008-38)を固定した。チップのカルボキシメチルデキストラン表面を、0.1MのN-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)と0.4MのN-エチル-N'-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(EDC)との1:1混合物を使用して活性化し、そのまま表面に捕捉抗体の反応性アミン基を結合させた。抗体固定に続き、pH8.5の1Mエタノールアミン塩酸塩/NaOHを使用して反応性センサーチップ表面の反応を止めた。固定により、1つのフローセルで8,000RUのRAM-Fc捕捉抗体が得られた。別のブランクフローセルを、データ分析中の参照差分のための表面として使用した。

【0138】

Biacoreアッセイ条件。Biacore T100機器のサンプルチャンバーおよびアッセイの温度をそれぞれ4℃および25℃に設定した。マウス抗hCXCR3抗体を、HBSE+EPおよびランニング緩衝液(10mMのHEPES、150mMのNaCl、0.05%P20界面活性剤、3mMのEDTA、pH7.4)で500nMに希釈し、10 μ L/分で32回の注入を使用して捕捉した。これらの条件により、試験された各マウス抗hCXCR3クロンの約1,200RUの安定な捕捉が達成された。hCXCR3ペプチドを、HBSE+EP+で200、100、50、25、12.5、および0nM濃度に希釈した。各アッセイサイクルで、50 μ L/分の流速で5分ペプチドを注入し、結合を測定し、次いでHBSE+EP+で10分、50 μ L/分の流速で洗浄し、解離を測定した。アッセイサイクル間で捕捉表面(RAM-Fc)を、10mMのグリシン-

10

20

30

40

50

HCl、pH 1.7を50 μ l/分で3分使用して、再生した。Biacore T100 カイネティクス・エバリュエーション・ソフトウェア v2.0 (GE Healthcare) で分析を行った。センサーグラムを、1:1の結合モデルと参照フローセルおよび0 nM濃度の差分(二重参照差分)とにフィッティングした。

【0139】

Biacoreの全受容体アッセイ。C末端に6×HisとHPC4タグとを有する全長ヒトCXCR3受容体タンパク質をバキュロウイルスベクターを有する昆虫Sf9細胞で発現させた。次いで受容体タンパク質をNi-NTAおよびHPC4親和性精製により精製した。最終産物の緩衝液を、10 mMのHEPES、300 mMのNaCl、0.5 % n-ドデシル β -D-マルトピラノシド、および5 %グリセロールに交換した。受容体タンパク質をNi-キレート化によりNTAチップに捕捉し、0.1 MのN-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)および0.4 MのN-エチル-N'-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(EDC)の1:1混合物の1:10の希釈混合物を使用したアミンカップリングによってさらに安定化した。20 nMのhCXC L10およびhCXC L11リガンドを注入することにより、安定化した受容体表面をリガンド結合活性に関して試験した。動態分析のために、ヒトCXCR3リガンド(hCXC L9、hCXC L10、およびhCXC L11)を、HBS-EP+で20、10、5、2.5、1.25、0.6125、0.3125、および0 nMの濃度に希釈した。抗CXCR3抗体を、HBS-EP+で80、40、20、10、5、2.5、1.25、および0 nMの濃度に希釈した。分析物を50 μ l/分の流速で5分注入し、結合を測定し、次いでHBS-EP+で50 μ l/分の流速で10分洗浄し、解離を測定した。アッセイサイクル間で10 mMのグリシン-HCl、pH 1.7を50 μ l/分で1分使用して、受容体表面を再生した。Biacore T100 カイネティクス・エバリュエーション・ソフトウェア v2.0 (GE Healthcare) で分析を行った。センサーグラムを、1:1の結合モデルと参照フローセルおよび0 nM濃度の差分(二重参照差分)とにフィッティングした。

【0140】

グルコース負荷試験。グルコース刺激の前の晩に、非空腹時血液グルコースをモニターし、糖尿病の動物のインスリン処置を中断した。マウスを12時間絶食させ、その後、腹腔に2 mg/g体重のD-グルコース(20 %; Sigma)を注入した。注入前に、ならびに注入の15、30、60、および120分後に血中グルコースを測定した。

【0141】

〔実施例2〕

NODマウスの特徴付け

パラフィン包埋された6~10週齢の前糖尿病性雌NODマウスおよび初発の糖尿病を有する雌NODマウスからの代表的な膵臓の切片をインスリン、CXC L10、およびT細胞マーカーCD3に関して染色した(図1)。浸潤細胞で取り囲まれた膵島内のNODマウス膵臓においてCXC L10発現を検出した(図1の中央の列中の矢印)。それより高齢の前糖尿病性および初発の糖尿病マウスは、膵島のT細胞浸潤の著しい増加(図1、右の列)と、膵島内におけるインスリン産生の減少(図1、左の列)を示した。

【0142】

CXCR3+T細胞がNODマウスの膵臓に存在するかどうかをさらに評価するために、フローサイトメトリー分析を、初発の糖尿病を有する雌NODマウスから回収した膵臓組織で行った(図2)。CD4+/TCR+およびCD8+/TCR+T細胞でCXCR3発現を評価した。アイソタイプ対照抗体での染色を影付きの曲線で表す。数匹のマウスから回収されたプールした膵臓組織の単一細胞懸濁液でフローサイトメトリーを行った。データは、NODマウスの膵臓にCXCR3+細胞毒性およびヘルパーT細胞が存在することを示す。

【0143】

〔実施例3〕

10

20

30

40

50

抗CXC R 3抗体でのNODマウスの予防的処置

ハムスター抗マウスCXC R 3抗体（クローンCXC R 3-173、BioLegend、San Diego、CAから購入）、または対照ハムスターIgGもしくはPBS 100 μ gで、6週間にわたり週1回、前糖尿病性雌NODマウスを10週齢から開始して処置した。血中グルコースを週2回モニターし、3回連続して250 mg/dLを超える血中グルコース測定値を示した後に、動物を糖尿病とみなして安楽死させた。図3は、各処置群における経時的な糖尿病を発症したマウスのパーセンテージを示す。各ラインは、1グループあたり10匹のマウスからの結果を合わせたものを表す。2つの独立した研究からの結果を示す（図3Aおよび3B）。プロットから、前糖尿病性雌NODマウスにおいて、抗CXC R 3抗体での予防的処置により糖尿病の発症が防止されたことが示される。 10

【0144】

予防的な抗CXC R 3抗体投与の作用をさらに評価するために、抗CXC R 3抗体で処置した雌NODマウスからの代表的な膵臓の切片を、インスリン（図4、左のパネル）、CD3、およびFoxp3（図4、中心および右のパネル）に関して染色した。図4の右側のパネルは、中心のパネルで示される切片の倍率を高めた画像である。研究期間の最後に（26週齢）マウスから膵臓組織を回収した。図4から、抗CXC R 3抗体で処置したNODマウスにはインスリン陽性の膵島が存在するが、T細胞の大半は、膵島の周辺に存在し、膵島に浸潤しなかったことが実証される。

【0145】

20

〔実施例4〕

NODマウスにおける初発の糖尿病の回復

3回連続して250 mg/dLを超える血中グルコース測定値を示した雌マウスを糖尿病とみなし、処置群にランダムに登録した。登録の1週間以内に処置を開始した。マウスを、6週間にわたり週1回、PBS、抗マウスCXC R 3抗体（クローンCXC R 3-173の100 μ gを腹腔内投与）または対照IgG（100 μ gを腹腔内投与）で処置するか、または0および4日目にマウス抗胸腺細胞グロブリン（mATG；500 μ gを腹腔内投与）で処置した。登録したら、午前と午後に（その間を少なくとも6時間とした）血中グルコースを測定し、血中グルコースが250 mg/dLを超えるマウスにのみインスリンを腹腔内注入により投与した。個々のマウスの1日の早朝血液グルコース値を示す（図5）。1回の研究で1グループあたり8～10匹のマウスを用いた4回の独立した回復研究からのデータをプールした。データから、抗CXC R 3抗体で処置した後、NODマウスにおいて初発の糖尿病が回復したことが実証される。 30

【0146】

抗CXC R 3抗体で処置したマウスの膵臓におけるT細胞の部分集合の変化を評価するために、処置群1つあたり（PBS、抗マウスCXC R 3、対照IgGまたはmATG処置マウス）4匹のマウスからの膵臓の単一細胞懸濁液をプールし、T細胞に関して染色し、フローサイトメトリーによって分析した。PBS、抗マウスCXC R 3、または対照IgGの5回目の処置投与から2～3日後に、年齢を適合させたmATG処置マウスから膵臓組織を回収した。図6Aに懸濁液中のCD4⁺およびCD8⁺T細胞のパーセンテージを示す。図6Bは、PBS（左）、対照IgG（中央）、および抗マウスCXC R 3抗体（右）で処置したマウスからの膵臓中のCD4⁺T細胞におけるCD44およびCD62Lの発現を示す。ゲート1（G1；CD44^{hi}CD62L^{lo}）における細胞のパーセンテージは、各処置群（PBSでは67.3%、対照IgGでは67.1%、および抗CXC R 3処置では30.4%）ごとに表示される。図6Cは、アイソタイプ対照抗体で染色してリンパ球でゲーティングした細胞と比較した、図6Bで定義したようなゲート1（G1）またはゲート2（G2）におけるCD4⁺T細胞中のCXC R 3発現のプロットである。 40

【0147】

抗CXC R 3処置で回復したNODマウスにインスリン陽性膵島が存在するかどうかを 50

評価するために、膵臓のパラフィン包埋切片を、対照 I g G（左のパネル）、抗マウス C X C R 3 抗体（中央のパネル）またはマウス A T G（右のパネル）で処置した雌 N O D マウスから調製し、インスリン（上の列）に関して染色するか、または C D 3 および F o x p 3（下の列）に関して同時に染色した。図 7 を参照されたい。研究の終了時に（登録後約 100 日）マウスから膵臓組織を回収した。染色した切片から、抗 C X C R 3 処置で回復した N O D マウスにインスリン陽性膵島が存在すること、さらに、T 細胞が膵島の周辺に存在していたが、ほとんど膵島に浸潤しなかったことが実証される。

【0148】

グルコース刺激への応答を評価するために、グルコース負荷試験を行った（図 8）。年齢を適合させた雌非糖尿病 N O D マウス（図 8 A）、P B S で処置した糖尿病 N O D マウス（図 8 B）、抗マウス C X C R 3 処置で回復した糖尿病 N O D マウス（図 8 C）、および I g G で処置した糖尿病 N O D マウス（図 8 D）を一晩絶食させ、グルコースを腹腔内注入することにより刺激した。刺激前（0 時間）に、さらに刺激後に指示された時間で血中グルコースを測定した。処置群 1 つあたり 4～5 匹のマウスからの代表的なデータを示す。データから、抗 C X C R 3 抗体処置により、登録後 100 日で空腹時の耐糖能が改良されたことが図示される。

【0149】

〔実施例 5〕

T 細胞の養子免疫伝達

抗 C X C R 3 抗体（クローン C X C R 3 - 173）で処置した疾患の寛解を示す N O D マウスからの T 細胞の、レシピエント動物において糖尿病を誘導する能力を評価するために、単離した C D 4 + および C D 8 + T 細胞を、レシピエント N O D . s c i d（非肥満糖尿病 - 重症複合免疫不全）マウスに静脈注入により養子免疫伝達した。図 9 は、P B S もしくは対照 I g G で処置した糖尿病マウス、またはマウス A T G もしくは抗マウス C X C R 3 抗体での処置後に疾患が寛解しているマウスから単離した C D 4 + および C D 8 + T 細胞を養子免疫伝達した後の、経時的な非糖尿病マウスのパーセンテージを示す。異なる処置群の雌 N O D マウスから登録から 80～90 日後に回収した脾臓、脾リンパ節、および鼠径リンパ節から、C D 4 + および C D 8 + T 細胞を単離した。C D 4 + および C D 8 + T 細胞をプールし、合計で 800 万個の細胞を N O D . S c i d レシピエントに養子免疫伝達し、糖尿病発症を週 2 回の血中グルコース測定によりモニターした。図 9 中の各ラインは、1 グループあたり 5 匹のマウスからのデータを合わせたものを表す。2 つの代表的な研究を示す（図 9 A および 9 B）。抗 C X C R 3 抗体で処置したマウスから単離した T 細胞は、疾患の伝達の遅延を示す。

【0150】

単離したドナー T 細胞をさらに特徴付けた。図 10 A は、以前の段落で説明したような P B S、抗マウス C X C R 3 抗体、対照 I g G、またはマウス A T G で処置したマウスから単離したドナー T 細胞における C D 4 + および C D 8 + T 細胞（左のパネル）の総計のパーセンテージを示す。図 10 A の右のパネルは、C D 4 4 および C D 6 2 L の発現で定義されるような、各ドナー細胞懸濁液ごとに C D 4 +（上のパネル）および C D 8 +（下のパネル）にあたる T 細胞の部分集合におけるエフェクターおよびセントラルメモリー T 細胞のパーセンテージを示す。単離した C D 4 + および C D 8 + T 細胞のプールを、伝達前に C D 4 4 および C D 6 2 L 発現に関して染色し、フローサイトメーターに捕捉し、分析した。また単離したドナー T 細胞のプールにおける制御性 T 細胞のパーセンテージも評価した。図 10 B は、C D 4 および C D 2 5 発現で、または C D 4、C D 2 5、および細胞内 F o x p 3 発現で定義される、各処置群における制御性 T 細胞のパーセンテージを示す。図 10 C は、C X C R 3 も発現するドナー細胞における C D 8 +（左のパネル）および C D 4 +（右のパネル）T 細胞のパーセンテージを示す。データから、抗 C X C R 3 抗体処置で回復したマウスからのドナー細胞における C X C R 3 + T 細胞のパーセンテージが減少したことが実証される。

【0151】

1型糖尿病のRIP-OVAモデルを使用して、OT-1 CD8+ドナーT細胞を養子免疫伝達した後のCXCR3処置の有効性を評価した。RIP-OVAマウスは、ラットインスリンプロモーター(RIP)によって稼働するオボアルブミンタンパク質(OVA)をコードする導入遺伝子がマウスゲノムに導入され、その結果、膵島β細胞においてオボアルブミンの膜形態の発現が起こるトランスジェニックマウスである。マウスのバックグラウンド株は、C57BL/6であり、RIP-OVAマウスは自発的に糖尿病を発症しない。RIP-OVAマウス、またいわゆるC57BL/6-Tg(Ins2-TFRC/OVA)296Wehi/WehiJをJackson Laboratoryから購入した。Jackson Laboratoryから購入したOT-1 TCR(T細胞受容体)トランスジェニックマウスからのオボアルブミン特異的CD8+T細胞を養子免疫伝達させた後のマウスにおいて、糖尿病が発症した(Kurtsら、J Exp Med 184:923~930)。OT-1マウスは、マウスTCRa-V2およびTCRb-V5遺伝子に関するトランスジェニックインサートを含む(Hogquistら、Cell 76:17~27)。トランスジェニックTCRは、MHCI H2K^bタンパク質と関連してオボアルブミン残基を認識する。OT-1マウスにおいて95%より多くのCD8+T細胞は、トランスジェニックTCRを発現し、オボアルブミンペプチドを認識し、それにより活性化される。

【0152】

図11は、OT-1 CD8+T細胞をRIP-OVAレシピエントマウスに養子免疫伝達し、次いで、未処置のままの、抗マウスCXCR3抗体で処置した、または対照IgGで処置した非糖尿病マウスの、経時的なパーセンテージを示す。養子免疫伝達後、処置(腹腔内に100μg)を1日(研究1および研究2)または7日(研究2)続け、さらに処置を3週間にわたり週2回行った。各ラインは、1グループあたり5匹のマウスからのデータを合わせたものを表す。図11Aおよび11Bに2つの研究からの結果を示す。データから、RIP-OVAモデルにおいて、抗CXCR3抗体処置は、マウスの糖尿病発症を防いだことが実証される。

【0153】

図12は、RIP-OVAレシピエントマウスにOT-1 T細胞を養子免疫伝達した後の様々な処置の有効性を特徴付けるさらなるデータを示す。図12Aは、RIP-OVAレシピエントへの養子免疫伝達前の、フローサイトメトリーによって分析したドナーT細胞におけるCXCR3発現を示す。アイソタイプ対照抗体での染色を影付きの曲線で表す。図12Bは、指示された時間における、OT-1 T細胞を抗マウスCXCR3抗体または対照IgGで処置したRIP-OVAレシピエントマウスに養子免疫伝達した後の、血液、脾臓、および膵リンパ節(pLN)中のドナー細胞のパーセンテージを示す。抗体処置(腹腔内に100μg)をT細胞の移入後1日目に開始し、処置を2週間にわたり週2回行った。各ドットは、1匹の別個のマウスからのデータを表す。図12Cは、養子免疫伝達後の指定された時間における、抗マウスCXCR3抗体または対照IgGで処置したRIP-OVAレシピエントマウスにおける自己抗原(OVA)刺激に応答して増殖する血液、脾臓、および膵リンパ節(pLN)中のドナー細胞の数を表示する。OT-1 T細胞の移入後1日目に抗体処置(腹腔内に100μg)を開始し、処置を2週間にわたり週2回行った。各ドットは、1匹の別個のマウスからのデータを表す。図12Dは、OT-1 T細胞を抗マウスCXCR3抗体または対照IgGで処置したRIP-OVAレシピエントマウスに養子免疫伝達した後の指定された時間における、血液、脾臓、および膵リンパ節(pLN)中のCXCR3を発現するドナー細胞のパーセンテージを示す。OT-1 T細胞の移入後に抗体処置(腹腔内に100μg)を1日続け、処置を2週間にわたり週2回行った。各ドットは、1匹の別個のマウスからのデータを表す。抗CXCR3抗体での処置により、RIP-OVAマウスにおけるCXCR3+T細胞のパーセンテージが減少した。

【0154】

図13は、処置せずに、インスリン(図13A)もしくはCD3(図13B)に関して

染色した、または抗マウスC X C R 3抗体で処置し、インスリン（図13C）もしくはC D 3（図13D）に関して染色したR I P-O V Aレシピエントマウスからの代表的なパラフィン包埋膵臓切片を示す。O T-1 T細胞の移入後1日目に抗C X C R 3処置（腹腔内に100 μ g）を開始し、処置を3週間にわたり週2回行った。研究の終了時に（T細胞移入後約60日）膵臓組織を回収した。切片は、抗マウスC X C R 3抗体で処置したR I P-O V AマウスにおいてT細胞の浸潤がないことを示す。

【0155】

〔実施例6〕

抗ヒトC X C R 3抗体クローンの評価

上記の材料および方法の章（実施例1）で述べた方法を使用して、抗ヒトC X C R 3抗体クローンC 14、12、53、82、および135を、C X C R 3走化性、およびカルシウム動員に対するそれらの作用に関して評価した。走化性アッセイに関して、ヒトC X C R 3でトランスフェクションした300.19細胞を、走化性アッセイに添加する前に、培地単独で、または図14A～Cでの表示通りの様々な濃度の抗体を含む培地で前もってインキュベートした。図14A～Cは、C X C L 11へのC X C R 3介在走化性は、クローンC 14、12、53、82、および135によって阻害されることを示す。図14におけるクローン2は、クローン4と同一である。

【0156】

カルシウム流出アッセイに関して、上記の材料および方法の章（実施例1）で述べた方法に従って、ヒトC X C R 3でトランスフェクションしたH E K細胞を、F L I P Rに添加する前に、様々な抗体の濃度で前もってインキュベートした。図140に、各抗体についてカルシウム動員を50%阻害するのに必要な抗体の濃度を示す。図14Dは、C X C L 11へのC X C R 3介在カルシウム動員は、クローンC 14、12、53、および135によって阻害されることを示す。

【0157】

走化性に対するクローン4、12、53、82、および135の作用をさらに査定するために、h C X C R 3でトランスフェクションした300.19細胞を培地単独で、または50 μ g/ml抗体を含む培地で前もってインキュベートし、その後走化性アッセイに加えて、C X C L 9（図15A）、C X C L 10（図15B）、およびC X C L 11（図15C）の移動を査定した。データから、クローン4、12、53、82、および135は、C X C L 10およびC X C L 11への移動を阻害し、部分的にC X C L 9への移動を阻害することが実証される。

【0158】

クローン4、12、53、82、および135の特異性を評価するために、他のケモカイン受容体への結合に関して抗体をアッセイした。300.19細胞をヒトC X C R 1、C X C R 5、C X C R 2、C X C R 4またはC C R 5でトランスフェクションし、抗ヒトC X C R 3抗体クローンとインキュベートし、続いて二次抗体で染色し、フローサイトメトリーで処理することによって抗体結合を分析した。二次抗体単独の投与を陰性対照として利用した。ヒトC X C R 3でトランスフェクションした300.19細胞を、クローンによる染色のための陽性対照として利用した。図16は、異なるケモカイン受容体を発現する細胞に対する抗体結合のヒストグラムプロットを示し、これから、クローン4、12、53、82、および135は他のケモカイン受容体と結合せず、C X C R 3に特異的であることが実証される。

【0159】

ケモカイン受容体結合アッセイには、標準的なフローサイトメトリーの手法を採用した。簡単に言えば、細胞株をバーセン処置により回収し、各細胞株を7つのサンプルに分けた。各サンプルを氷上で1種の一次抗体（5 μ g/ml）と共にインキュベートし、続いてF I T Cコンジュゲート二次抗体で染色して、結合した一次抗体を検出した。陰性対照として、細胞を（一次抗体とのインキュベートを行わずに）二次抗体単独で染色した。一次抗体は、抗ヒトC X C R 3抗体クローンまたは抗ヒトC X C R 3対照抗体クローン1 C

6であった。染色後、細胞をフローサイトメーターに捕捉し、Flow Joソフトウェアを使用してデータを分析した。図16中の各ラインは、1種の一次抗体と二次抗体とで染色した、または二次抗体単独で染色した細胞の個々のサンプルを表す。

【0160】

上述した方法（実施例1）に従ってBiacoreアッセイを使用して、クローン4、12、53、82、および135の親和性（Ka）および解離速度（Kd）を分析した。以下の表4に結果を要約する。

【0161】

【表5】

クローン番号	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
4	108539.245	0.000348	3.2076E-09
53	79557.574	0.000581	7.3085E-09
12	183854.704	0.001473	8.01056E-09
82	195114.396	0.001828	9.36793E-09
135	88939.340	0.001214	1.36548E-08

表4

【0162】

〔実施例7〕

エピトープマッピング

CXCR3のN末端細胞外ドメインからの、トランケーションされた、ビオチン化したヒトCXCR3ペプチド（16アミノ酸のN末端フラグメント）を使用して、クローン4、12、53、82、および135に関するエピトープを決定した。一連のアラニン置換フラグメントを作製し（以下の表5の、太字で示したアラニン置換を参照）、ビオチン化した。エピトープマッピングをOctet（登録商標）（ForteBio、Menlo Park、CA）およびBiacore（商標）（GE Healthcare）分析で評価した。

【0163】

Octet分析のために、ペプチドを80% DMSOに再懸濁し、PBSで10 μg/mlに希釈した。抗体クローン4、12、53、82、135、および市販のクローン1C6（BD Biosciences）を、PBSで120 nMに希釈した。Octet QKシステム（ForteBio）で300 μl/ウェルを備えた96-ウェルプレートのフォーマットにおいて動態アッセイを行った。各アッセイプレートには、陽性対照としてN末端がビオチン化された全長WT hCXCR3 ECDペプチド（Abgent）、加えて参照差分のためにPBS緩衝液ブランクが含まれていた。Octetのストレプトアビジンバイオセンサー（ForteBio）を、アッセイを行う前に少なくとも5分、PBSに前もって浸漬した。まずベースラインを得るためにバイオセンサーを振盪しないでPBSに5分浸した。全ての残りの工程では、振盪速度は1000 rpmであった。ペプチド溶液にバイオセンサーを5分漬けて、ペプチドを負荷した。PBS中で5分の別のベースライン工程を行った。次いで抗体溶液にバイオセンサーを10分漬けて、結合を測定した。最後に、解離させるためにバイオセンサーを15分かけてPBSに移した。Octetデータアナリシスv7.0を使用してセンサーグラムを分析した。結合活性を、WT全長hCXCR3ペプチドと比較した、各抗体の最大応答レベルのパーセンテージとして示した。

【0164】

エピトープヒートマップに相対的な応答レベルを記録した。野生型hCXCR3 ECDペプチドに対する最大のセンサーグラム応答は、4～8 nmの範囲であった。スクリーニングされた各クローンは、独特なエピトープを有していた。試験された突然変異体のうち、クローン1C6の結合が完全に破壊されたものはなかった。10位のバリン残基およ

10

20

30

40

50

び13位のアスパラギン酸は、スクリーニングされた全ての抗体の結合において役割を果たしていた。抗体12および1C6は、最もN末端側にエピトープを有しており、5位のバリン突然変異は両方の活性に影響を与えた。抗体82は、最もC末端側にエピトープを有しており、結合活性の低下は9位のグルタミンから始まっていた。これらのデータに基づいて、CXCR3配列におけるアミノ酸のエピトープの境界は、各抗体で以下の通りである；C14：アミノ酸7～13；C112：アミノ酸5～13；C153：アミノ酸7～13；C182：アミノ酸9～15；C1135：アミノ酸7～13；およびクローン1C6：アミノ酸5～13。

【0165】

Biacore分析のために、ペプチドを、HBS-EP+ランニング緩衝液（10mMのHEPES、150mMのNaCl、3mMのEDTA、0.005%ポリソルベート20）で10ng/mlに希釈した。Biacore T100（商標）を使用して、フローセルごとに20反応単位（RU）の安定な捕捉が達成されるまで、CM5-SA（GE番号BR-1005-31）チップの上にペプチドを5μl/分の速度で注入した。各チップにおいて、フローセル1は参照差分のためにブランクのままにした。陽性対照として、各チップの1つのフローセルに野生型37AA hCXCR3ペプチドを入れた。マウス抗hCXCR3抗体4、12、53、82、および135を、HBS-EP+で50、25、12.5、6.25、および3.125nMに希釈した。各サイクルで、抗体を50μl/分の流速で3分注入し、結合を測定し、続いて緩衝液を50μl/分で3分注入し、解離を測定した。サイクル間で、10mMのグリシン-HCl、pH2.0を50μl/分で60秒使用してペプチド表面を再生した。センサーグラムを、1:1の結合モデルにフィッティングし、BiaEvaluation v2.0.1で二重参照差分を使用して分析し、ストレプトアビジンバイオセンサーに捕捉した。典型的な応答レベルは、0～500RUの範囲であり、「強い」、「中程度の」、および「弱い」結合応答のカットオフを決定した。相対的な応答レベルを記録して、エピトープマップを作製した。解離速度を分類して、迅速なKd値（0.001s⁻¹より高い）を示したペプチドも記録した。

【0166】

【表6】

表5

配列番号	配列	配列番号	配列
	AVLEVSDHQVLNDAEV		MVLEVSDHAVLNDAEV
	MALEVSDHQVLNDAEV		MVLEVSDHQALNDAEV
	MVAEVSDHQVLNDAEV		MVLEVSDHQVANDAEV
	MVLAVSDHQVLNDAEV		MVLEVSDHQVLADAEV
	MVLEASDHQVLNDAEV		MVLEVSDHQVLNAAEV
	MVLEVADHQVLNDAEV		MVLEVSDHQVLNDAEV (野生型)
	MVLEVSAHQVLNDAEV		MVLEVSDHQVLNDAEV
	MVLEVSDAQVLNDAEV		MVLEVSDHQVLNDAEA

【0167】

全ての抗体が、野生型hCXCR3に結合し、hCXCR3配列の最初の16AA内であった。表6にクローン4、12、53、82、および135に関する結合データを示し、図18に各抗体クローンに関する結合活性に必要な最小限のエピトープの境界を示す対応するマップを示し、重要な残基はXでマークした。全ての抗体エピトープがヒトCXCR3配列の残基6～15内にマッピングされ、この領域は、CXCL10およびCXCL11結合に関与していた。CXCR3ペプチドフラグメント中の所与の位置でのアラニン置換後の結合応答の低下を検出することによって、エピトープ内のアミノ酸を決定した。

クローン 53 および 135 が、最も類似したエピトープを有していた。クローン 4 および 12 が、最も N 末端側にエピトープを有していた（結合強度への影響は、5 位のバリンから始まっていた）。クローン 82 は、最も C 末端側にエピトープを有しており、結合活性の低下は、9 位のグルタミンから始まっていた。82 を除く全てのクローンにとって C X C R 3 中の 7 位のアスパラギン酸が必要である。C X C R 3 中の 10 位のバリンおよび 13 位のアスパラギン酸はいずれも、全てのクローンの結合において役割を果たす。5 つのクローンのマウス、キメラ、およびヒト化バージョンの間でエピトープの差はなかった。

【0168】

【表 7】

表 6

配列	α-hCXCR3 mAb クローン				
	4	12	53	82	135
ビオチン-MVLEVS ⁺ DH ⁺ QV ⁺ LND ⁺ AEV	+++	+++	+++	+++	+++
ビオチン-MALEVS ⁺ DH ⁺ QV ⁺ LND ⁺ AEV	+++	+++	***	+++	+++
ビオチン-MV ⁺ AEVS ⁺ DH ⁺ QV ⁺ LND ⁺ AEV	+++	+++	+++	+++	+++
ビオチン-MVLA ⁺ VS ⁺ DH ⁺ QV ⁺ LND ⁺ AEV	+++	+++	+++	+++	+++
ビオチン-MVLE ⁺ AS ⁺ DH ⁺ QV ⁺ LND ⁺ AEV	+++ [*]	+++ [*]	+++	+++	+++
ビオチン-MVLE ⁺ VS ⁺ DH ⁺ QV ⁺ LND ⁺ AEV	+++	+	+++	+++	+++
ビオチン-MVLE ⁺ VS ⁺ AH ⁺ QV ⁺ LND ⁺ AEV	-	-	+	+++	-
ビオチン-MVLE ⁺ VS ⁺ LA ⁺ QV ⁺ LND ⁺ AEV	+++ [*]	+	+++	+++	+++ [*]
ビオチン-MVLE ⁺ VS ⁺ DA ⁺ QV ⁺ LND ⁺ AEV	+++	+++	+++	+++ [*]	+++
ビオチン-MVLE ⁺ VS ⁺ DH ⁺ QA ⁺ LND ⁺ AEV	-	+++ [*]	+	+++ [*]	+
ビオチン-MVLE ⁺ VS ⁺ DH ⁺ QV ⁺ AN ⁺ DAEV	++	+++	+++	+++	++
ビオチン-MVLE ⁺ VS ⁺ DH ⁺ QV ⁺ LA ⁺ DAEV	+	+++	+++	-	+++ [*]
ビオチン-MVLE ⁺ VS ⁺ DH ⁺ QV ⁺ LN ⁺ DAEV	-	++	-	-	-
ビオチン-MVLE ⁺ VS ⁺ DH ⁺ QV ⁺ LND ⁺ AEV	+++	+++	+++	+++	+++
ビオチン-MVLE ⁺ VS ⁺ DH ⁺ QV ⁺ LND ⁺ AAV	+++ [*]	+++	+++	+++ [*]	+++ [*]
ビオチン-MVLE ⁺ VS ⁺ DH ⁺ QV ⁺ LND ⁺ ASA	+++	+++	+++	+++	+++

【0169】

符号

+++ 強い結合応答（300RU超）

++ 中程度の結合応答（150～300RU）

+ 弱い結合応答（10～150RU）

- 結合なし（10RU未満）

* 比較的強い結合応答（10RU超）にもかかわらず迅速な解離速度（ $K_d > 0.001$ ）。

【0170】

〔実施例 8〕

抗ヒト CXCR3 クローンのヒト化

4 つの変異体（キメラ、ヒト化 1（Hu1）、Hu2、および Hu3）を、5 つの抗 CXCR3 クローン（クローン 4、12、53、82、および 135）のそれぞれについて作製した。20. *in vivo* の動物モデル研究のために、全てのキメラ変異体を「プール発現」によって産生した。懸濁培養に適合させた CHO-DXB11 細胞（Ur1aub および Chasin、Proc. Natl. Acad. Sci.、77:4216～20（1980））を、キメラ CXCR3 抗体クローン 4、12、53、82、および 135 からの重鎖および軽鎖を含有する発現ベクターでエレクトロポレーションした。またこれらの発現ベクターは、安定な CHO 形質転換体を選択するためのジヒドロ葉酸レダクターゼ遺伝子も含有する。100nM メトトレキサートで選択した後、安定してトランスフェクションされた CHO プールを使用して、OptiCHO 培地を含む振盪フラスコ

中で行われた生物学的産生を完了させた。組換えキメラ抗体を、標準的なプロテインAクロマトグラフィーを使用して調整培地から精製した。Hu1クローンをヒトフレームワーク領域にCDRグラフト化し、完全にヒト化し、マウスCDRのアミノ酸とあらゆるバーニヤ位置残基を排除した。Hu2クローンは、マウスCDRの4つのアミノ酸内に位置する残基においてHu1配列からの復帰突然変異による変化を含む「拡張されたCDR」クローンであった。Hu3クローンは、IMGTベースのモデリングを使用してマウスとヒトとで「まったく異なっている」と同定された位置にHu2配列からのさらなる復帰突然変異を包含していた。合計20種の変異体をCHO-NRC細胞で一時的に発現させ、*in vitro*でのアッセイのために精製した。

【0171】

クローン4および53に追加のヒト化を行った。包含された重鎖4.7～4.11はさらに、CDRの外側にヒト化された復帰突然変異を包含し、加えてクローンの安定性を改善する目的で、VHのCDR2における58位および59位（IMGTによる番号付け）における脱アミド部位が除去されるような改変を包含していた。特に、VH4.2における脱アミド部位を多数の代替残基で置き換えた。クローンVH53.4～53.6およびVL53.4～53.9はさらに、特に鎖をVH4.1およびVL4.1により類似させる目的で、CDRの外側にヒト化された復帰突然変異を包含していた。

【0172】

〔実施例9〕

全体の受容体結合の動態

無傷のCXCR3ペプチドと共にOctet（登録商標）およびBiacore（商標）を使用して20種の抗CXCR3変異体の結合動態を評価した。Octet分析を上述したようにして行った。Biacore分析のために、3つのカラム工程で精製したヒト野生型CXCR3ペプチドのC末端をHisおよびHPC4でタグ付けし、ニッケルキレート化およびアミンカップリングを介してNTAチップ上に捕捉した。より優れたデータ品質のために、さらに2価の結合の作用を最小化するために、中程度のRU（およそ1200RU）のチップを使用した。0～80nMの抗体サンプルを受容体の上に注入した。より優れたカーブフィッティングのための局所的なRmaxフィットを利用したセンサーグラムプロットを使用して標準的なBiacore（商標）評価分析を行った。5種のクローン（4、12、53、82、および135）ごとに4つの変異体（キメラ（Ch）およびヒト化（Hu）1～3）の結合曲線を評価した。比較目的で、ヒトCXCR3リガンドCXCL9、CXCL10、およびCXCL11、ならびにマウスCXCL11（mCXCL11）の結合動態も評価した。以下の表7A（KDで分類）および7B（Kdで分類）に結果を示す。表ではKDおよびKdで上位4つの変異体が強調表示される。ヒト化抗hCXCR3mAb変異体が解離速度（Kd）で分類した場合、変異体の多くが、最も効力のあるヒトCXCR3リガンドのhCXCL11よりも少なくとも1桁遅い解離速度を示した。

【0173】

10

20

30

【表 8】

表 7A

サンプル	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
4Hu2	1.59E+05	8.18E-05	5.16E-10
4Ch	2.09E+05	1.15E-04	5.42E-10
4Hu3	1.54E+05	8.62E-05	5.30E-10
4Hu1(低いRU)	2.24E+05	1.40E-04	6.34E-10
mCXCL11	3.69E+06	4.26E-03	1.17E-09
82Hu3	3.40E+05	4.82E-04	1.42E-09
53Ch	4.44E+04	7.07E-05	1.65E-09
CXCL11	2.58E+06	4.41E-03	1.72E-09
53Hu3	6.88E+04	1.13E-04	1.72E-09
82Hu2	8.67E+04	2.62E-04	3.02E-09
12Ch	9.66E+04	4.52E-04	5.00E-09
135Hu3	6.68E+04	3.35E-04	5.01E-09
82Ch	1.61E+05	8.92E-04	5.54E-09
53Hu2	3.05E+04	2.04E-04	6.70E-09
135Ch	5.52E+04	3.82E-04	6.93E-09
CXCL10	1.36E+05	1.27E-03	9.76E-09
12Hu3	6.60E+04	1.02E-03	1.56E-08
12Hu2	6.39E+04	1.02E-03	1.60E-08
CXCL9	低いデータ品質		
135Hu2	結合なし		
12Hu1			
53Hu1			
82Hu1			
135Hu1			

10

20

【0174】

【表 9】

サンプル	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
53Ch	4.44E+04	7.07E-05	1.60E-09
4Hu2	1.59E+05	8.18E-05	5.15E-10
4Hu3	1.54E+05	2.62E-05	5.60E-10
53Hu3	6.88E+04	1.13E-04	1.72E-09
4Ch	2.09E+05	1.15E-04	5.48E-10
4Hu1(低いRU)	2.24E+05	1.43E-04	6.34E-10
53Hu2	3.05E+04	2.04E-04	6.70E-09
82Hu2	8.67E+04	2.62E-04	3.02E-09
135Hu3	6.68E+04	3.35E-04	5.01E-09
135Ch	5.52E+04	3.82E-04	6.93E-09
12Ch	9.66E+04	4.52E-04	5.00E-09
82Hu3	3.40E+05	4.82E-04	1.42E-09
82Ch	1.61E+05	8.92E-04	5.54E-09
12Hu2	6.39E+04	1.02E-03	1.60E-08
12Hu3	6.60E+04	1.02E-03	1.56E-08
CXCL10	1.36E+05	1.27E-03	9.76E-09
mCXCL11	3.69E+06	4.26E-03	1.17E-09
CXCL11	2.58E+06	4.41E-03	1.72E-09
CXCL9	低いデータ品質		
135Hu2	結合なし		
12Hu1			
53Hu1			
82Hu1			
135Hu1			

表 7B

【0175】

表 7 A で示されたように、KD で上位 4 つの変異体は、キメラクロン 4（速い結合速度、遅い解離速度）、Hu 3 クロン 4（速い結合速度、遅い解離速度）、Hu 3 クロン 8 2（速い結合速度、平均の解離速度）、およびキメラクロン 5 3（平均の結合速度、遅い解離速度）である。

【0176】

CXCR 3 を発現する細胞で抗体結合をさらに評価した。ヒト CXCR 3 でトランスフェクションした 300.19 細胞を、精製したヒト化抗 hCXCR 3 抗体変異体 Hu 1、Hu 2、Hu 3、およびキメラ抗体と接触させた。図 19 において、クロン 4、12、53、82、および 135 のそれぞれに関して、 $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ （黒のライン）、 $0.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ （暗い灰色のライン）、または $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ （黒の点線）または $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ の二次抗体単独（塗り潰された灰色のヒストグラム）で示した。細胞を非標識抗体クロンで氷上で 30 分染色し、続いて PBS-1% FBS で 2 回洗浄し、FITC コンジュゲート抗ヒト IgG 1 特異的二次抗体を使用して、暗所で氷上で 30 分インキュベートすることにより結合した抗体を検出した。サンプルを 2 回洗浄し、2% パラホルムアルデヒド PBS 溶液中で固定し、暗所で 4°C で保存し、フローサイトメーターに捕捉させた。図 19 に生存可能な細胞にゲーティングした CXCR 3 のヒストグラムの陽性を示す。

【0177】

〔実施例 10〕

抗体 1C6 との比較

抗 hCXCR 3 mAb クロン 1C6（Becton, Dickinson、カタログ番号 557183、同じクロンが米国特許第 6,184,358 号で報告されている）を、Biacore の全受容体アッセイ方法を使用してマウス抗 hCXCR 3 mAb クロ

ーン4、ならびにそのヒト化変異体Hu2およびHu3と比較した。クローン4は、約2倍より優れた親和性(KD)を示した。ヒト化変異体は、さらに改善された親和性(Hu2およびHu3変異体の両方でおおよそ4倍より優れた親和性)を示した。表8に、クローン1C6およびクローン4、ならびにそのヒト化変異体Hu2およびHu3に関する結合動態および親和性を列挙した。

【0178】

【表10】

サンプル	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
1C6-ハイブリドーマ	4.11E+04	1.42E-04	3.51E-09
4-ハイブリドーマ	1.18E+05	2.22E-04	1.88E-09
4Hu3	1.54E+05	8.62E-05	5.60E-10
4Hu2	1.59E+05	8.18E-05	5.15E-10

表8

【0179】

〔実施例11〕

機能性アッセイ

20種の変異体抗体の機能的な作用を評価した。これらの抗体を、CXCL9、CXCL10、およびCXCL11に応答する細胞走化性、およびカルシウム動員の阻害に対するそれらの作用に関して、FLIPR（登録商標）カルシウムアッセイにより評価した。

【0180】

ヒトCXCR3でトランスフェクションした300.19細胞の、CXCR3リガンドのCXCL9、CXCL10、およびCXCL11に対する走化性を、10μg/mlの、クローン4、12、53、82、および135のヒト化抗ヒトCXCR3抗体変異体の存在または非存在下で評価した。トランスフェクションされた細胞を、10μg/mlのヒト化抗ヒトCXCR3抗体変異体または市販の抗体1C6で37℃で20分前処置した。抗体を含む細胞を5ミクロンのトランスウェルに移し、それぞれ100または300ng/mlの組換えマウスのCXCL10およびCXCL11またはCXCL9を含有する受け取りウェルにインサートを入れた。走化性プレートを、37℃で、5%CO₂で4時間インキュベートした。トランスウェルインサートを除去し、受け取りウェルに移動した細胞をU字型底の96ウェルプレートに移し、ペレット化し、カルセインAM色素に再懸濁した。細胞を37℃で30分、5%CO₂中でインキュベートし、1回洗浄し、黒色のクリアプレートに移し、即座にFlexStationで490/520nmで読み取った。データは、走化性のパーセント阻害として示される。図20は、5つのクローンそれぞれに関する異なる変異体の、CXCL9、CXCL10、およびCXCL11に対する走化性を阻害する能力を示す代表的なデータを示す。

【0181】

細胞内カルシウム動員の阻害を評価するために、様々な濃度の抗CXCR3抗体変異体または陽性対照抗体1C6の存在または非存在下で、CXCL10に応答する、ヒトCXCR3-Gqi4qi4でトランスフェクションしたCHO細胞におけるカルシウムフローを測定した。384-ブラックプレート中に細胞を播き(12,000/ウェル)、そのまま一晩付着させた。次の日、細胞に、カルシウム感受性色素のFluo-4NW色素を40分で投入し、その後、抗体を添加し37℃でインキュベートした。抗体を添加し、20分インキュベートし、その後、CXCR3リガンドの組換えヒトCXCL10を、以前に決定されたCXCL10のEC₅₀濃度で添加した。色素の添加は手作業で電動マルチチャンネルピペットを使用して行ったが、抗体およびアゴニスト添加はFLIPR Tetra（登録商標）で自動的になされ、CXCL10添加後すぐに、プレートを470~495nmで読取った。サンプルを二連で処理し、各抗体濃度における平均パーセント

阻害（±標準偏差）をグラフ化した。クローン4Hu1は、カルシウム動員を阻害しなかったことから、これらの実験で陰性対照として使用した。図21は、5つのクローンそれぞれの異なる変異体のカルシウム動員を阻害する能力を示しており、それらを市販のクローン1C6と比較している。以下の表9に、カルシウム動員アッセイにおけるCXCL10に対する抗体の代表的なIC50値（M）を示す。

【0182】

【表11】

	クローン4	クローン12	クローン53	クローン82	クローン135	1C6
Hu1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	-
Hu2	N/A	1.038E-06	1.675E-06	1.772E-06	N/A	-
Hu3	1.146E-06	8.636E-07	1.261E-06	1.169E-06	1.499E-06	-
キメラ	9.352E-07	1.204E-06	1.87E-06	6.778E-07	1.891E-06	3.135E-06*

10

表9

【0183】

表9中の（*）は、1C6抗体はキメラ抗体ではないが、ヒトCXCR3に対する完全マウスIgG1抗体であることを示す。

【0184】

20

表10で示されるように、結合反応動態のデータ（実施例9を参照）は、機能性アッセイの結果とよく関連している。結合反応動態データおよび機能性アッセイの結果に基づいて、さらなる評価および4Dヒト化のためにクローン4および53を選択した。

【0185】

【表 1 2】

表 1 0

陰影のコード	最良	平均	不十分	Biacore の全受容体結合				In Vitro アッセイ					
				Octet のペプチド結合		ケモカイン		ケモカイン		主要な			
				応答	KD (M)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	フロー	CXCL11	CXCL9	CXCL10	FLIPR
クロニンのグループ	4 キメラ	2	7.1859	0.57E-11	2.09E+05	1.15E-04	5.48E-10						
	4 Hu1	2	3.5399	1.52E-08	2.24E+05	1.40E-04	6.34E-10						
	4 Hu2	2	6.7746	3.78E-11	1.59E+05	1.70E-03	1.07E-08						
	4 Hu3	2	6.8723	4.08E-11	2.26E+05	1.47E-04	6.49E-10						
	12 キメラ	1	6.4409	<1.0E-12	9.66E+04	4.52E-04	5.00E-09						
	12 Hu1	1	4.6044	9.54E-09	結合なし								
	12 Hu2	1	6.9715	3.44E-10	6.39E+04	1.02E-03	1.60E-08						
	12 Hu3	1	7.0274	<1.0E-12	6.60E+04	1.02E-03	1.58E-08						
	53 キメラ	3	6.1886	<1.0E-12	4.44E+04	7.07E-05	1.60E-09						
	53 Hu1	3	2.0452	5.27E-08	結合なし								
	53 Hu2	3	6.0166	2.98E-11	3.05E+04	2.04E-04	6.70E-09						
	53 Hu3	3	6.929	1.43E-11	6.88E+04	1.13E-04	1.72E-09						
82 キメラ	4	0.6554	<1.0E-12	1.61E+05	8.92E-04	5.54E-09							
82 Hu1	4	2.2913	3.81E-09	結合なし									
82 Hu2	4	6.225	4.89E-12	8.67E+04	2.62E-04	3.02E-09							
82 Hu3	4	8.1277	5.07E-12	3.40E+05	4.82E-04	1.42E-09							
135 キメラ	3	7.0143	<1.0E-12	5.52E+04	3.82E-04	6.93E-09							
135 Hu1	3	0.0289	5.74E-05	結合なし									
135 Hu2	3	0.9256	4.00E-08	結合なし									
135 Hu3	3	7.1572	2.42E-11	6.68E+04	3.35E-04	5.01E-09							

【0 1 8 6】

【実施例 1 2】

4 D ヒト化

抗 hCXCR3 抗体クローンの 4 D ヒト化は、WO 2 0 0 9 / 0 3 2 6 6 1 (例えば、段落 [0 0 3 7] ~ [0 0 4 4]) で説明されているようになされる。簡単に言えば、4

10

20

30

40

50

Dヒト化は：a) ヒト化しようとする可変ドメインの3-Dモデルを構築すること；b) 可変ドメインの3-Dモデルの分子動力学シミュレーションを使用して、そのドメイン中のフレキシブルな残基を同定すること；c) 3-Dモデルの分子動力学の軌道を、49種のヒト生殖細胞系の分子動力学軌道と比較することにより、最も近いヒト生殖細胞系を同定すること（従来のヒト化で行われるような抗体配列の比較ではなく）；およびd) CDRの一部ではないフレキシブルな残基を、（工程cで同定された）それらのヒト生殖細胞系の対応物に突然変異させることを含む。この方法を使用して重鎖4.4～4.6および軽鎖4.4～4.7を設計した。特に、最初の4Dヒト化コンストラクト（VH4.4およびVL4.4）を設計し、次いで重鎖および軽鎖へのさらなる改変を設計して（VH4.5～4.6およびVL4.5～4.7）、安定化および抗凝集性突然変異を導入し、他の不要なモチーフを除去した。また類似の方法を使用して、4Dヒト化コンストラクトVH53.7～53.10およびVL53.10～53.13も設計した。

10

【0187】

表11に、ヒト化および4Dヒト化鎖（VH＝重鎖；VK＝軽鎖）を包含するクローン4、12、53、82、および135の重鎖および軽鎖変異体を調製するのに使用されるヒト化法（さらに適用される場合は、追加の改変）を表示する。

【0188】

クローン4（4Hu6、4Hu7、4Hu8、4Hu9、4Hu10）の数種の4D変異体を、結合動態およびCXCR3親和性を評価するためにBiacoreの全受容体アッセイによって評価して、クローン4キメラ抗体と比較した。表2で示したように、クローン4Hu6は、重鎖4.4および軽鎖4.4を含有していた。クローン4Hu7は、重鎖4.4および軽鎖4.7を含有していた。クローン4Hu8は、重鎖4.5および軽鎖4.5を含有していた。クローン4Hu9は、重鎖4.5および軽鎖4.6を含有していた。さらにクローン4Hu10は、重鎖4.6および軽鎖4.4を含有していた。

20

【0189】

表12で示されるように、クローン4の4Dでモデリングした変異体をキメラ変異体（4Ch）と比較したところ、5つの変異体のうち4つが改良された親和性（KD）を示した。しかしながら、4D変異体の4Hu10は、ほぼ1桁レベルの親和性の減少を示した。

。

【0190】

30

【表 1 3】

加-ン	重鎖/軽鎖変異体	戦略
4	VH1	CDRグラフティング
4	VH2	CDRグラフティング
4	VH3	CDRグラフティング
4	VH4	4Dモデリング
4	VH5	4Dモデリング、突然変異の安定化を包含する
4	VH6	4Dモデリング、不要なモチーフを除去するための突然変異を包含する
4	VH7	CDRグラフティング、CDR2脱アミド部位を除去するためのVH4.2の残基NG>QGの改変
4	VH8	CDRグラフティング、CDR2脱アミド部位を除去するためのVH4.2の残基NG>NLの改変
4	VH9	CDR2脱アミド部位を除去するためのVH4.2の残基NG>NSの改変
4	VH10	CDR2脱アミド部位を除去するためのVH4.2の残基NG>DGの改変
4	VH11	CDR2脱アミド部位を除去するためのVH4.2の残基NG>NVの改変
4	VK1	CDRグラフティング
4	VK2	CDRグラフティング
4	VK3	CDRグラフティング
4	VK4	4Dモデリング
4	VK5	4Dモデリング、突然変異の安定化を包含する
4	VK6	4Dモデリング、他の突然変異の安定化を包含する
4	VK7	4Dモデリング、抗凝集性突然変異を包含する
53	VH1	CDRグラフティング
53	VH2	CDRグラフティング
53	VH3	CDRグラフティング
53	VH4	VH4.2の残基T50>Vの改変-VH4.1残基を取り入れるための復帰突然変異
53	VH5	VH4.2の残基P61>Aの改変-VH4.1残基を取り入れるための復帰突然変異
53	VH6	VH4.2の残基M93>Vの改変-VH4.1残基を取り入れるための復帰突然変異
53	VH7	4Dモデリング
53	VH8	4Dモデリング
53	VH9	4Dモデリング
53	VH10	4Dモデリング

【0191】

【表 1 4】

53	VK1	CDRグラフティング
53	VK2	CDRグラフティング
53	VK3	CDRグラフティング
53	VK4	VK4.2の残基I32>Lの改変-VK1残基を取り入れるための復帰突然変異
53	VK5	VK4.2の残基Y33>Aの改変-VK1残基を取り入れるための復帰突然変異
53	VK6	VK4.2の残基N52>Tの改変-VK1残基を取り入れるための復帰突然変異
53	VK7	VK4.2の残基A54>Qの改変-VK1残基を取り入れるための復帰突然変異
53	VK8	VK4.2の残基P55>Sの改変-VK1残基を取り入れるための復帰突然変異
53	VK9	VK4.2の残基G99>Qの改変-VK1残基を取り入れるための復帰突然変異
53	VK10	4Dモデリング
53	VK11	4Dモデリング
53	VK12	4Dモデリング
53	VK13	4Dモデリング
12	VH1	CDRグラフティング
12	VH2	CDRグラフティング
12	VH3	CDRグラフティング
12	VK1	CDRグラフティング
12	VK2	CDRグラフティング
12	VK3	CDRグラフティング
82	VH1	CDRグラフティング
82	VH2	CDRグラフティング
82	VH3	CDRグラフティング
82	VK1	CDRグラフティング
82	VK2	CDRグラフティング
82	VK3	CDRグラフティング
135	VH1	CDRグラフティング
135	VH2	CDRグラフティング
135	VH3	CDRグラフティング
135	VK1	CDRグラフティング
135	VK2	CDRグラフティング
135	VK3	CDRグラフティング

表11

【表 1 5】

曲線	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
4Ch	1.71E+05	8.57E-05	5.09E-10
4Hu6	4.76E+05	1.55E-04	3.27E-10
4Hu7	4.12E+05	1.33E-04	3.26E-10
4Hu8	3.27E+05	1.13E-04	3.49E-10
4Hu9	3.48E+05	1.34E-04	3.87E-10
4Hu10	3.55E+05	1.05E-03	2.96E-09

10

表12

【0 1 9 3】

〔実施例 1 3〕

N S G－P B L マウスモデル

0 日目に、N O D－s c i d I L 2 r γ^{n u l l} (N S G) マウスに、フィコールにより単離した新鮮な 2 E 7 一次ヒト末梢血単核細胞 (P B M C) を注入した。動物 (n = 8 / グループ) を、5 m g / k g 抗ヒト C X C R 3 キメラ抗体または対照ヒト I g G 1 (ハーセプチン) で週 2 回処置し、ここで全ての研究を細胞の移動から 3 日目に開始した。開始から 14 日目に採取した血液をフローサイトメトリー用に処理し、標準的手法を使用して、ヒト C D 4 5 (h C D 4 5)、ヒト C D 3 (h C D 3)、ヒト C D 4 (h C D 4)、ヒト C D 8 (h C D 8)、およびヒト C X C R 3 に対する抗体で染色した。リンパ球のゲート中の細胞を、h C D 4 5 + 細胞でゲーティングし、続いて h C D 3 + 細胞でゲーティングした。h C D 4 5 + h C D 3 + T 細胞における h C D 4 および h C D 8 発現を評価し、ヒト C D 4 + C D 4 5 + C D 3 + T 細胞とヒト C D 8 + C 4 5 + C D 3 + T 細胞とのパーセンテージを決定した。C X C R 3 を発現するヒト C D 4 + T 細胞と C D 8 + T 細胞とのパーセンテージを決定した。図 2 2 中の各ドットは、単一のマウスを表し、3 つの実験のうち代表的なデータを示す。データから、異種 G v H D (移植片対宿主病) の N S G－P B L マウスモデルにおける抗 C X C R 3 抗体処置により、C X C R 3 を発現する T 細胞が調節されたことが示されるが、5 つのクローン間の機能的な差が明らかになった。

20

30

【0 1 9 4】

表 1 2 は、キメラ抗ヒト C X C R 3 候補抗体で処置した後の異種 G v H D を有する N S G－P B L マウスの生存期間中央値を示す。

【0 1 9 5】

【表 16】

処置	生存期間中央値(日)
PBS	31
hulgG1	33.5
クローン4 キメラ	43**
クローン12 キメラ	41
クローン53 キメラ	44*
クローン82 キメラ	36.5
クローン135 キメラ	45***

表13

【0196】

ログランク検定を使用した、h u l g G 1 処置に対する、* $p = 0.043$; * * $p = 0.016$; * * * $p = 0.010$ の抗 C X C R 3 抗体処置である。

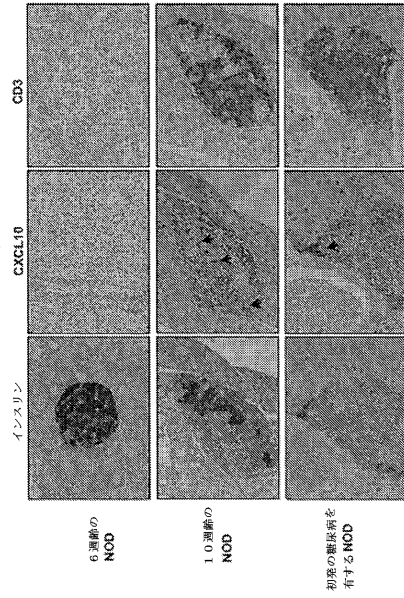
【0197】

前記の実施例は、説明を意図しており、本開示を限定する意図はまったくない。開示された装置および方法の他の実施形態は、明細書の考察や本明細書で開示された装置および方法の実施から当業者には明らかである。

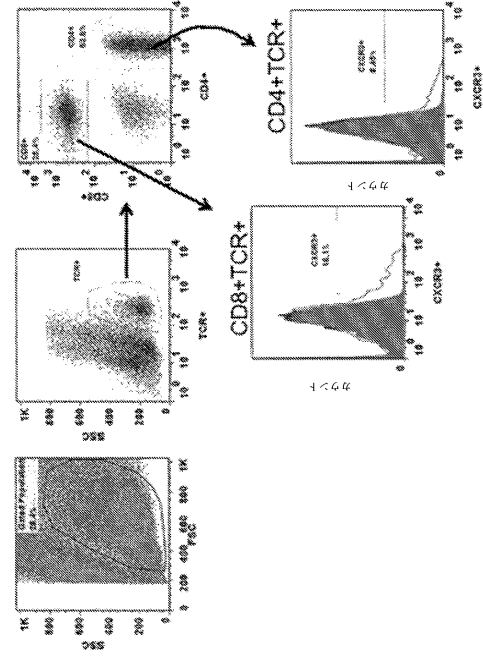
10

20

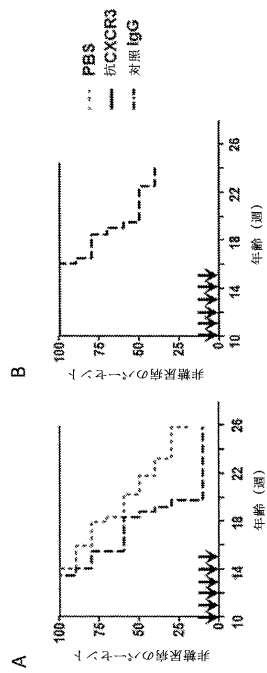
【図 1】



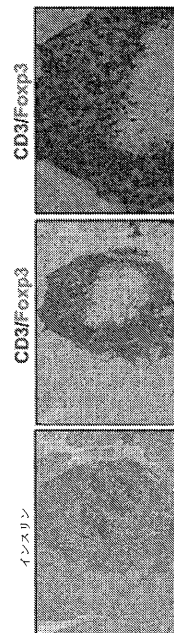
【図 2】



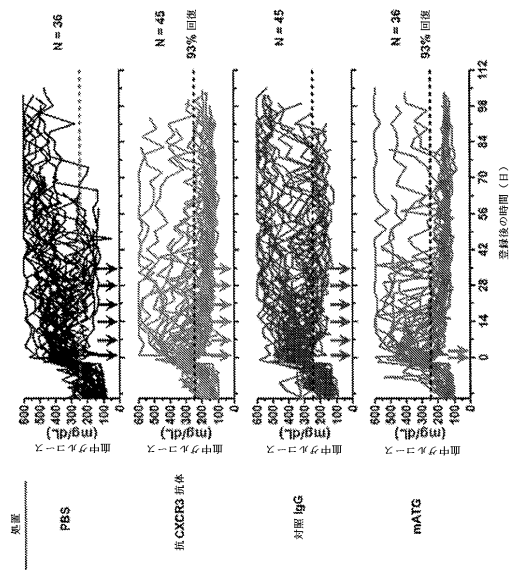
【図 3】



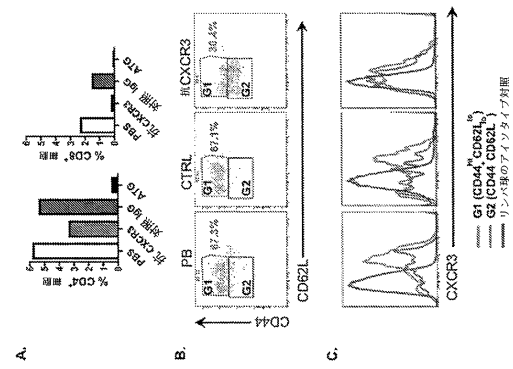
【図 4】



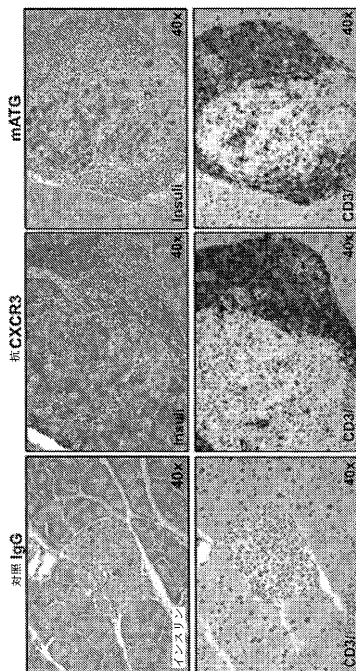
【図 5】



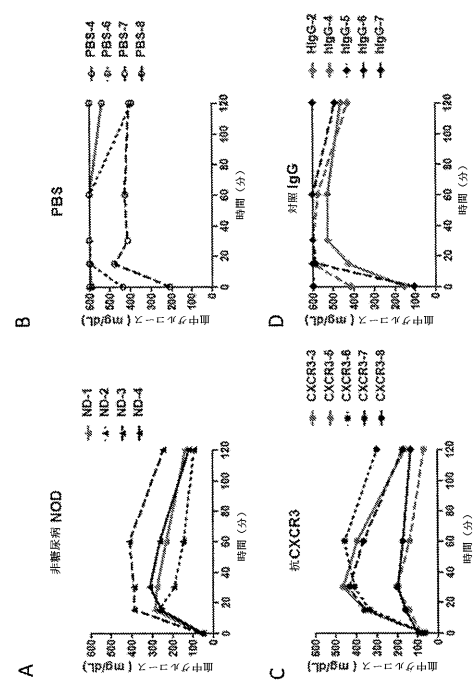
【図 6】



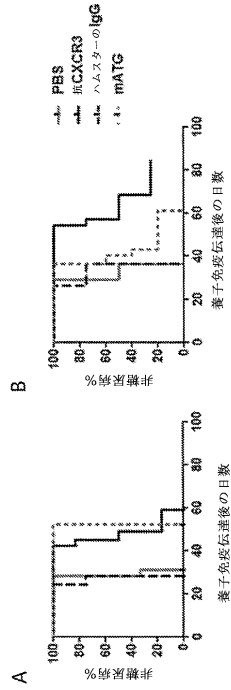
【図 7】



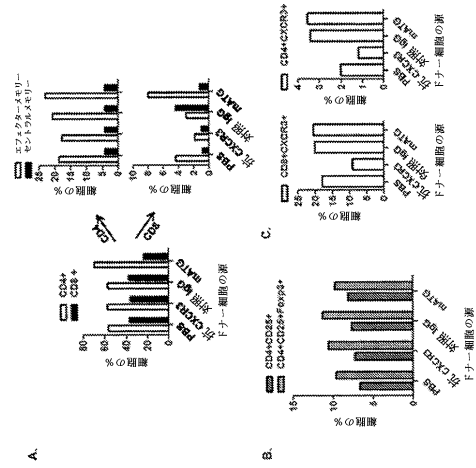
【図 8】



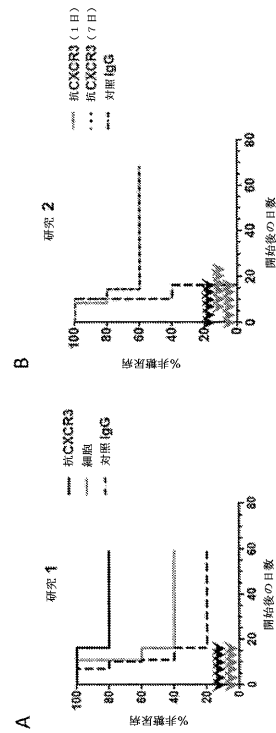
【図 9】



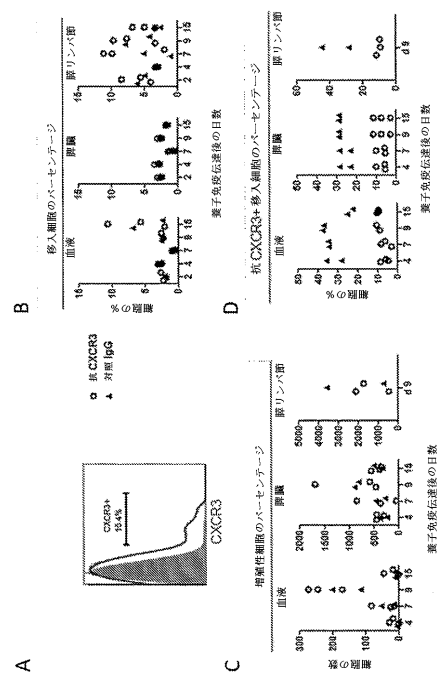
【図 10】



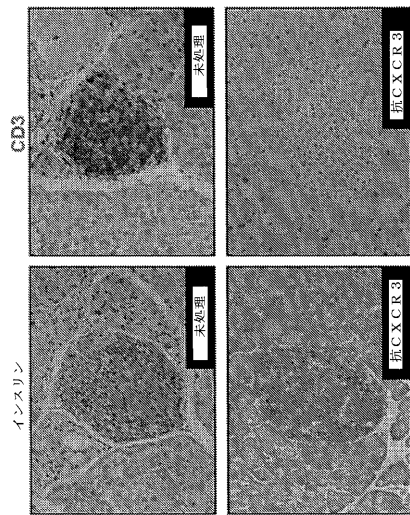
【図 11】



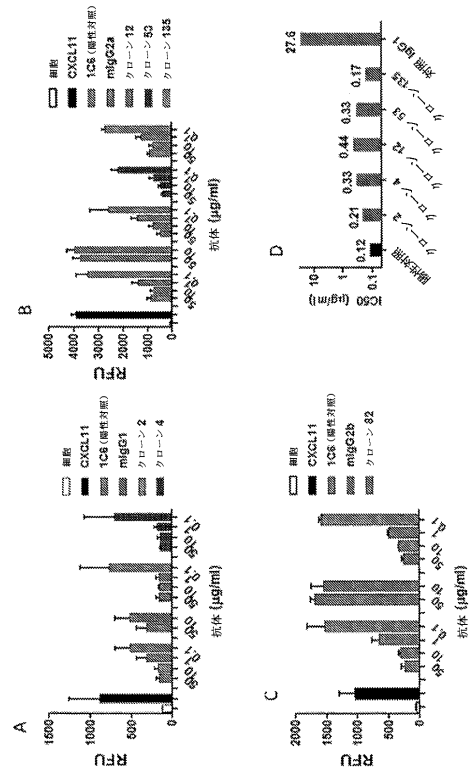
【図 12】



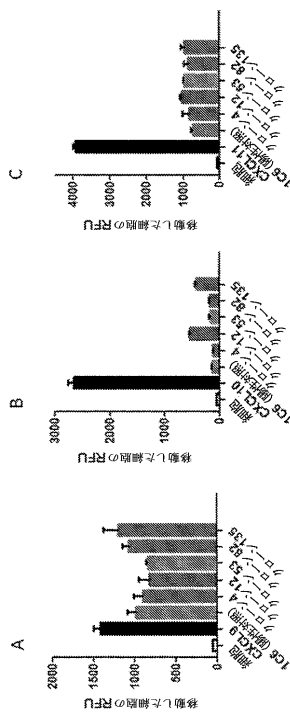
【図 13】



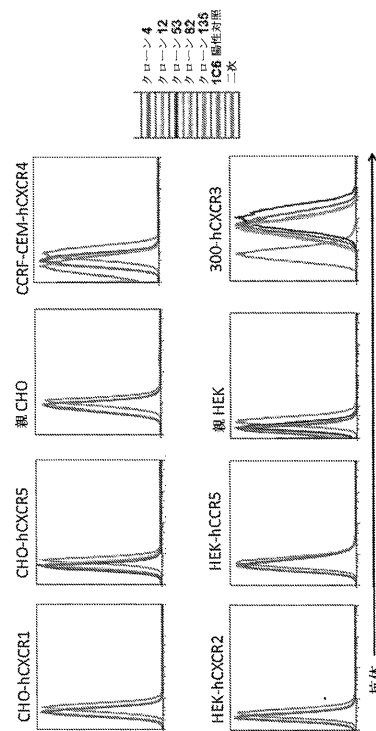
【図 14】



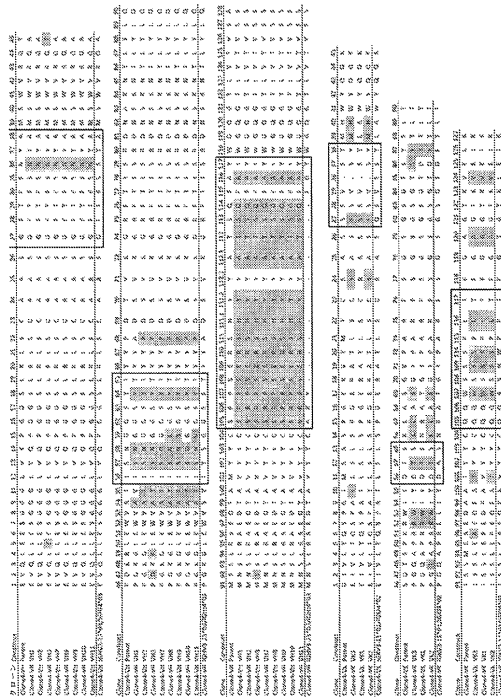
【図 15】



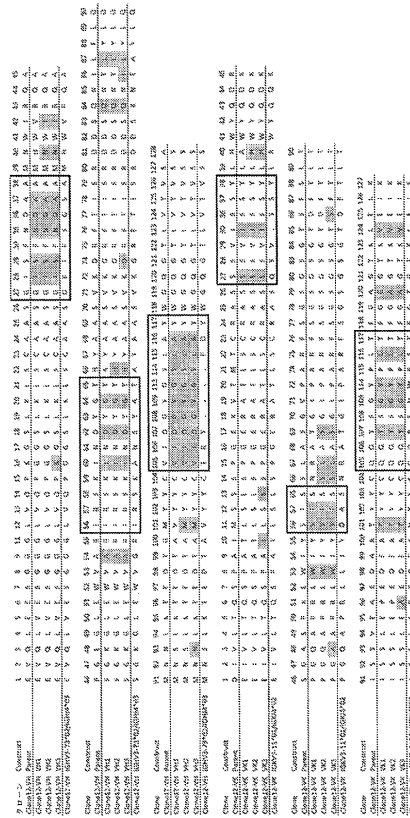
【図 16】



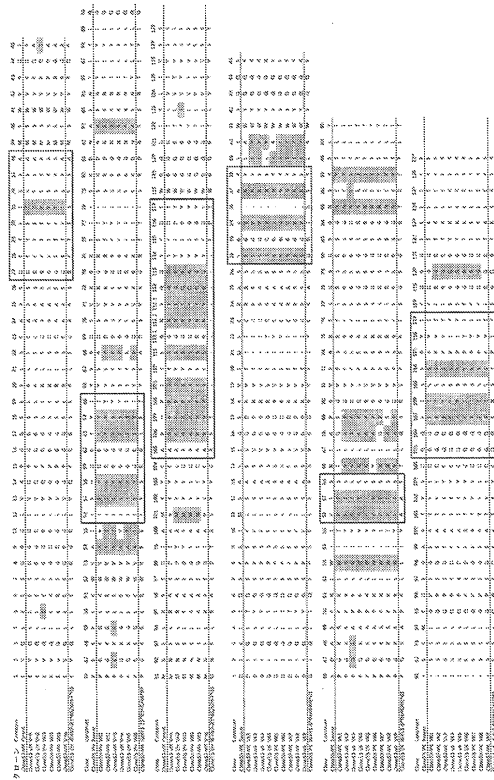
【図 17 A】



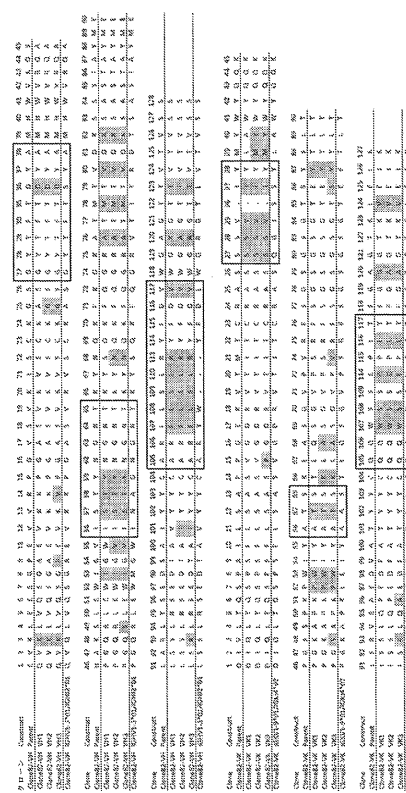
【図 17 B】



【図 17 C】



【図 17 D】



【図 17 F】

[illegible]

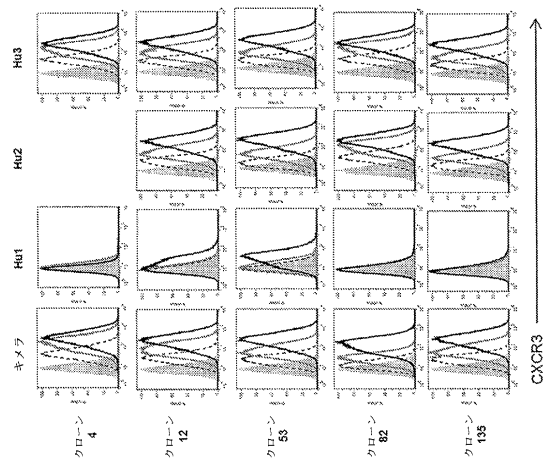
【図 17 H】

[illegible]

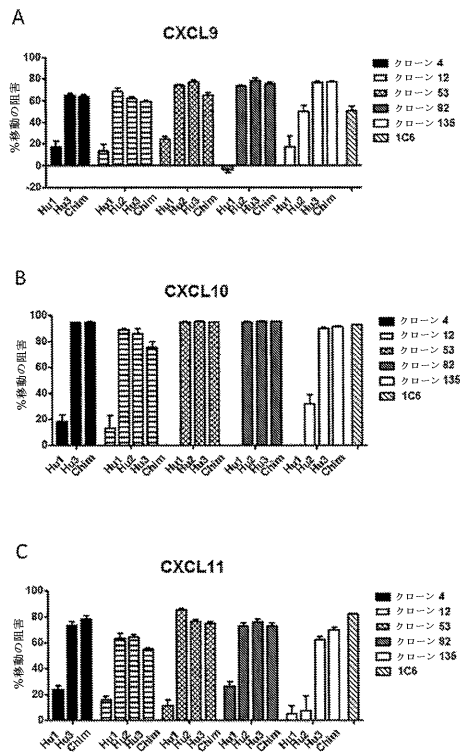
【図 18】



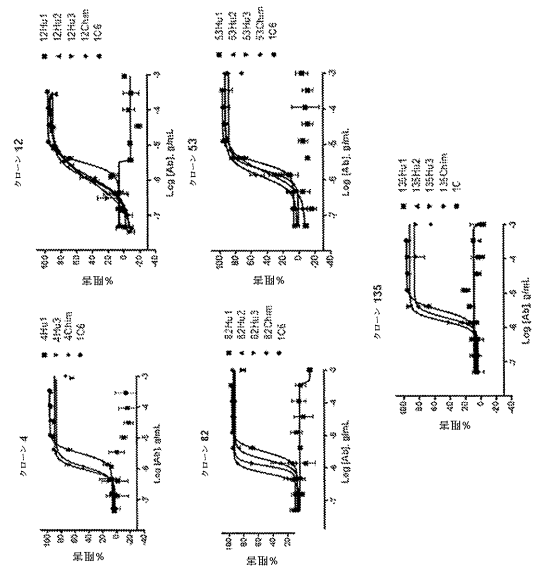
【図 19】



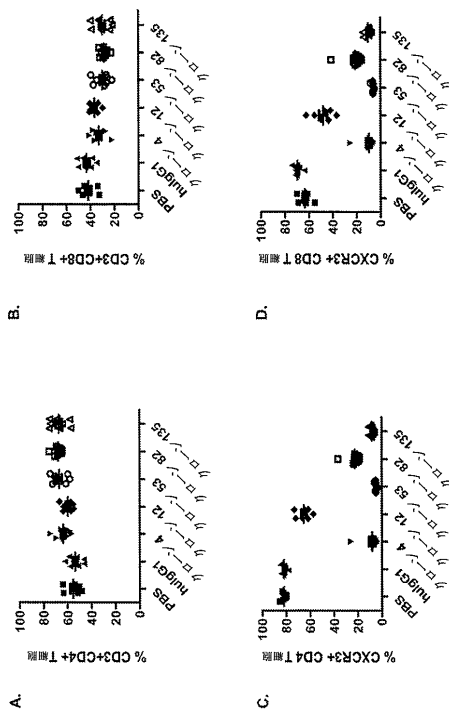
【図 20】



【図 21】



【 図 2 2 】



【図 2 3 A】

クローン12、0-VHのアミノ酸配列-CDRを太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EVQLQESGGGLVQPGKSLKLSAASGISFNDAAMNWIRQAPGEGLEWVAR

60 70 80 90 100
IRSKINDYGYTHYAAASVKDRFTISRDSQNILFLQMNNLKTEDTGMYYCVI

110
DGYGSLAYWGQGLTVTVSA (配列番号2)

クローン12. 0-VLのアミノ酸配列-CDRを太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIVLTQSPALMSSSFGEKVTMTCRASSSSVISSYLHWYQQRGSGASPKLNIY
60 70 80 90 100
STSSLASGVPARFSGSGSTFSLTISSEAEADARTYYCQQYSGYPLTFG

配列番号	領域	配列
		重鎖
	FR1	EVQLLESGGGGLVQPGKSLIKLSCAAS
	CDR1	GISFNDAE
	FR2	MNWIRQAPGEGLEWVAR
	CDR2	IRSKINDYGT
	FR3	HYAASVKDRPTISRDSQNILFLQMNNLKTEDTGMYYC
	CDR3	VIDGYSGLAY
	FR4	WGQGTFLVTVSA
		軽鎖
	FR1	DIVLTQSPAIMSSSGPGRVMTCSRAS
	CDR1	SSVISSY
	FR2	LHWYQQRSYGASPKLWY
	CDR2	STS
	FR3	SLASGVPARFSGSGSQTSTSLTISSEAREDAATYYC
	CDR3	QQYSGYPLT
	FR4	FGASTKLELK

【図 2 3 B】

クローン12. 1-VHのアミノ酸配列-CDRを太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGTSFNDAAMHWVRQASGKGLWVAR
60 70 80 90 100
IRSKINDYGTAYAAASVKGKRTISRDDSQNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCVI
110
DGYGSLAYGCGGLVTVSS (配列番号 4)

クローン12. 1-VLのアミノ酸配列-CDRを太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSSVISSLAWYQQKPGQAPRLMIY
 60 70 80 90 100

配列番号	領域	配列
重鎖		
	FR1	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS
	CDR1	GISFNDAAG
	FR2	MHWVQASGKGLEWVAR
	CDR2	IRSKINDYGT
	FR3	AYAAQSVKRFTISRDDQNTLYLQMNSLKTDATVYYC
	CDR3	VIDGYGSLAY
	FR4	WGQGTLVTVSS
軽鎖		
	FR1	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAS
	CDR1	SSVSIY
	FR2	LAWYQKPGQAPRLWIY
	CDR2	STG
	FR3	NRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFATYYC
	CDR3	QQSYGYPLT
	FR4	FGGGTKVEIK

【図 2 3 C】

クローン12. 2-VHのアミノ酸配列-CDRを太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGISFNDAAMNWIRQASGKGLEWVAR
60 70 80 90 100
IRSKINDYGHYAASVKGRFTISRDDSGNTLYLQMNSLKTEDTAMYYCVI
110
DGYGSLAYGGGTLTVSS (配列番号 6)

クローン12. 2-VLのアミノ酸配列-CDRを太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EIVLTQSPATLSISLSPGERATLSCRASSSSVISSYLHWYQQKPGQAPRLMIY

60 70 80 90 100
STSSLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFATYYCQQSYGYPLTFG

配列番号	領域	配列
重鎖		
FR1		EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS
CDR1		GISFNDA
FR2		MNWIQASGSGKLEWVAR
CDR2		IRSKINDYGT
FR3		HYEASVKGRFTISRDSQNTILYLMNSLRKTDAMTYC
CDR3		VIDYGSGLAY
FR4		WGQGTLVTVSS
軽鎖		
FR1		EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAS
CDR1		SSVISY
FR2		LHWYQQKPGQAPRLWIY
CDR2		STS
FR3		SLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISLEFEDFATYYC
CDR3		QQYSGYPLT
FR4		FGAGTKVEIK

【図 2 3 D】

クローン 1 2、3-VH のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

```
1      10      20      30      40      50
EVQLVESGGGLVQPGKSLKLSCAASGISFNDAAMNWIRQASGKGLEWVAR

      60      70      80      90     100
IRSKINDYGTHYAASVKDRFTISRDDSQNLYLQMNILKTEDTAMYYCVI

      110
DGYGSLAYWGQGLTVTVSS   (配列番号 8)
```

クローン 1 2、3-VL のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

```
1      10      20      30      40      50
EIVLTQSPAILSSSPGERATLSCRASSSVISSLHWYQQKPGAPRLWIY

      60      70      80      90     100
STSSLASGIPARFSGSGSGTSFTLTISSLAEDEFATYYCQQYSGYPLTFG

AGTKVEIK   (配列番号 9)
```

配列番号	領域	配列
重鎖		
FR1		EVQLVESGGGLVQPGKSLKLSCAAS
CDR1		GISFNDA
FR2		MNWIRQASGKGLEWVAR
CDR2		IRSKINDYGT
FR3		HYAASVKDRFTISRDDSQNLYLQMNILKTEDTAMYYC
CDR3		VIDGYGSLAY
FR4		WGQGLTVTVSS
軽鎖		
FR1		EIVLTQSPAILSSSPGERATLSCRAS
CDR1		SSVISY
FR2		LHWYQQKPGAPRLWIY
CDR2		STS
FR3		SLASGIPARFSGSGSGTSFTLTISSLAEDEFATYYC
CDR3		QQYSGYPLT
FR4		FGAGTKVEIK

【図 2 4 A】

クローン 1 3 5、0-VH のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

```
1      10      20      30      40      50
EVKLEESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFTSYALSWVRQTPEKRLEWVAT

      60      70      80      90     100
ISHGGSYTYFDSVKGRFTISRDNKNTLNLMSSLSRSEDTAMYYCARHP

      110      120
FYSGNYQGYFDYWGQGLTVTVSS   (配列番号 10)
```

クローン 1 3 5、0-VL のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

```
1      10      20      30      40      50
DIVLTQSPAIMSASLGERVTMNCRANSGVNYMYWYQQKSDASPKLWIYFT

      60      70      80      90     100
SNLAPGVPARFSGSGSGNSYSLTISMEGEDAATYYCQQTSSPYTFGGG

TKLEIK   (配列番号 11)
```

配列番号	領域	配列
重鎖		
FR1		EVKLEESGGGLVKPGGSLKLSCAAS
CDR1		GFTFTSYA
FR2		LSWVRQTPEKRLEWVAT
CDR2		ISHGGSYT
FR3		YFDSVKGRFTISRDNKNTLNLMSSLSRSEDTAMYYC
CDR3		ARHPFYSGNYQGYFDY
FR4		WGQGLTVTVSS
軽鎖		
FR1		DIVLTQSPAIMSASLGERVTMNCRAN
CDR1		SGVNY
FR2		MYWYQQKSDASPKLWIY
CDR2		FTS
FR3		NLAPGVPARFSGSGSGNSYSLTISMEGEDAATYYC
CDR3		QQTSSPYT
FR4		EGGGTKLEIK

【図 2 4 B】

クローン 1 3 5、1-VH のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

```
1      10      20      30      40      50
EVQLEESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMSWVRQAPGKGLEWVAV

      60      70      80      90     100
ISHGGSYTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHP

      110      120
FYSGNYQGYFDYWGQGLTVTVSS   (配列番号 12)
```

クローン 1 3 5、1-VL のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

```
1      10      20      30      40      50
DIQLTQSPSFSLASVGDRTITCRANSGVNYLAWYQQKPGKAPKLWIYFT

      60      70      80      90     100
STLQSGVPSRFSGSGSGNEYTLTISLQFEDFATYYCQQTSSPYTFGGG

TKLEIK   (配列番号 13)
```

配列番号	領域	配列
重鎖		
FR1		EVQLEESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
CDR1		GFTFTSYA
FR2		MSWVRQAPGKGLEWVAV
CDR2		ISHGGSYT
FR3		TYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
CDR3		ARHPFYSGNYQGYFDY
FR4		WGQGLTVTVSS
軽鎖		
FR1		DIQLTQSPSFSLASVGDRTITCRAN
CDR1		SGVNY
FR2		LAWYQQKPGKAPKLWIY
CDR2		FTS
FR3		TLQSGVPSRFSGSGSGNEYTLTISLQFEDFATYYC
CDR3		QQTSSPYT
FR4		FGGGTKLEIK

【図 2 4 C】

クローン 1 3 5、2-VH のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

```
1      10      20      30      40      50
EVQLEESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYALSWVRQAPGKGLEWVAT

      60      70      80      90     100
ISHGGSYTYFDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHP

      110      120
FYSGNYQGYFDYWGQGLTVTVSS   (配列番号 14)
```

クローン 1 3 5、2-VL のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

```
1      10      20      30      40      50
DIQLTQSPSFSLASVGDRTITCRANSGVNYMYWYQQKPGKAPKLWIYFT

      60      70      80      90     100
SNLAPGVPSRFSGSGSGNEYTLTISLQFEDFATYYCQQTSSPYTFGGG

TKLEIK   (配列番号 15)
```

配列番号	領域	配列
重鎖		
FR1		EVQLEESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
CDR1		GFTFTSYA
FR2		LSWVRQAPGKGLEWVAT
CDR2		ISHGGSYT
FR3		YFDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
CDR3		ARHPFYSGNYQGYFDY
FR4		WGQGLTVTVSS
軽鎖		
FR1		DIQLTQSPSFSLASVGDRTITCRAN
CDR1		SGVNY
FR2		MYWYQQKPGKAPKLWIY
CDR2		FTS
FR3		NLAPGVPSRFSGSGSGNEYTLTISLQFEDFATYYC
CDR3		QQTSSPYT
FR4		EGGGTKLEIK

【図 2 4 D】

クローン 135. 3-VH のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

```
1      10      20      30      40      50
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYALSWVRQTPEKRLIEWAT

      60      70      80      90     100
ISHGGSYTYYFDSVKGRFTISRDNKNTLNLMSSLAEDTAVYYCARHP

      110      120
FYSGNYQQYFDYWGQGLTVTVSS (配列番号 16)
```

クローン 135. 3-VL のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

```
1      10      20      30      40      50
DIQLTQSPFSLASVGDRTITCRANSGVNYMHWYQKPDAAFKLWIYFT

      60      70      80      90     100
SNLAPGVPSRFSGSGSGNSYTLTISSLQFEDFATYYCQQFTSSPYTFGGG
```

TKLEIK (配列番号 17)

配列番号	領域	配列
重鎖		
FR1		EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
CDR1		GFTFTSYA
FR2		LSWVRQTPEKRLIEWAT
CDR2		ISHGGSYTY
FR3		YYPDSVKGRFTISRDNKNTLNLMSSLAEDTAVYYC
CDR3		ARHPFYSGNYQQYFDY
FR4		WGQGLTVTVSS
軽鎖		
FR1		DIQLTQSPFSLASVGDRTITCRAN
CDR1		SGVNY
FR2		MHWYQKPDAAFKLWIY
CDR2		FTS
FR3		NLAPGVPSRFSGSGSGNSYTLTISSLQFEDFATYYC
CDR3		QQFTSSPYT
FR4		FGGGTKLEIK

【図 2 5 A】

クローン 4. 0-VH のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

```
1      10      20      30      40      50
EVQLEESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSNYAMSWVRQTPDKRLIEWAT

      60      70      80      90     100
ISNGGSYTYYFDTVKGRFTISRDNKNTLSLQMSLSRAEDTAMYYCSRPS

      110      120
ERSHYATSQFAYWGQGLTVTVSA (配列番号 18)
```

クローン 4. 0-VL のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

```
1      10      20      30      40      50
DIVLTQSPGIMSASFGKEVTMTCSASSSSVSYMHYQQKSGTSEKRWIYDT

      60      70      80      90     100
SKLASGVPARFSGSGSGTYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSSPLTFGAG
```

TKVELK (配列番号 19)

配列番号	領域	配列
重鎖		
FR1		EVQLEESGGGLVQPGGSLKLSCAAS
CDR1		GFTFSNYA
FR2		MSWVRQTPDKRLIEWAT
CDR2		ISNGGSYTY
FR3		YYPDTVKGRFTISRDNKNTLSLQMSLSRAEDTAMYYC
CDR3		SRPSERSHYATSQFAY
FR4		WGQGLTVTVSA
軽鎖		
FR1		DIVLTQSPGIMSASFGKEVTMTCSAS
CDR1		SSVS
FR2		MHWYQQKSGTSEKRWIY
CDR2		DT
FR3		KLASGVPARFSGSGSGTYSLTISSMEAEDAATYYC
CDR3		QQWSSSPLT
FR4		FGAGTKVELK

【図 2 5 B】

クローン 4. 1-VH のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

```
1      10      20      30      40      50
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVAV

      60      70      80      90     100
ISNGGSYTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCSRPS

      110      120
ERSHYATSQFAYWGQGLTVTVSS (配列番号 20)
```

クローン 4. 1-VL のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

```
1      10      20      30      40      50
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAASSSVSYLANWYQKPGQAPRRWIYDT

      60      70      80      90     100
SNRATGIPARFSGSGSGTDYTLTISLLEPEDFAVYYCQQWSSSPLTFGGG
```

TKVEIK (配列番号 21)

配列番号	領域	配列
重鎖		
FR1		EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
CDR1		GFTFSNYA
FR2		MSWVRQAPGKGLEWVAV
CDR2		ISNGGSYTY
FR3		YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
CDR3		SRPSERSHYATSQFAY
FR4		WGQGLTVTVSS
軽鎖		
FR1		EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAAS
CDR1		SSVS
FR2		LANWYQKPGQAPRRWIY
CDR2		DT
FR3		SNRATGIPARFSGSGSGTDYTLTISLLEPEDFAVYYC
CDR3		QQWSSSPLT
FR4		FGGGTKVELK

【図 2 5 C】

クローン 4. 2-VH のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

```
1      10      20      30      40      50
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVAT

      60      70      80      90     100
ISNGGSYTYYFDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCSRPS

      110      120
ERSHYATSQFAYWGQGLTVTVSS (配列番号 22)
```

クローン 4. 2-VL のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

```
1      10      20      30      40      50
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCASASSSVSYMHYQQKPGTAPRRWIYDT

      60      70      80      90     100
SKLASGIPARFSGSGSGTDYTLTISLLEPEDFATYYCQQWSSSPLTFGAG
```

TKVEIK (配列番号 23)

配列番号	領域	配列
重鎖		
FR1		EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
CDR1		GFTFSNYA
FR2		MSWVRQAPGKGLEWVAT
CDR2		ISNGGSYTY
FR3		YYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
CDR3		SRPSERSHYATSQFAY
FR4		WGQGLTVTVSS
軽鎖		
FR1		EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCASAS
CDR1		SSVS
FR2		MHWYQQKPGTAPRRWIY
CDR2		DT
FR3		KLASGIPARFSGSGSGTDYTLTISLLEPEDFAVYYC
CDR3		QQWSSSPLT
FR4		FGAGTKVELK

【図 2 5 D】

クローン 4、3-VH のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

```
1      10      20      30      40      50
EVQLEESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQTPDKRLEWVAT

      60      70      80      90     100
ISNGGSYTYYPDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMSLRAEDTAVYYCSRPS

      110     120
ERSHYATSQFAYWGQGTILTVSS (配列番号 24)
```

クローン 4、3-VL のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

```
1      10      20      30      40      50
EIVLTQSFALLSLSPGERATLSCASSVSYMHWYQQKPGQAPRRRIYDT

      60      70      80      90     100
SKLASGIPARFSGSGGTSYTLTISISLEAEDFATYYCQWSSSPLTFGAG
```

TKVEIK (配列番号 25)

配列番号	領域	配列
重鎖		
	FR1	EVQLEESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
	CDR1	GFTFSNYA
	FR2	MSWVRQTPDKRLEWVAT
	CDR2	ISNGGSYT
	FR3	YYPDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMSLRAEDTAVYYC
	CDR3	SRPERSHYATSQFAY
	FR4	WGQGTILTVSS
軽鎖		
	FR1	EIVLTQSFALLSLSPGERATLSCAS
	CDR1	SVSY
	FR2	MHWYQQKPGQAPRRRIY
	CDR2	DT
	FR3	KLASGIPARFSGSGGT SYTLTISISLEAEDFATYYC
	CDR3	QWSSSPLT
	FR4	FGAGTKVEIK

【図 2 5 E】

クローン 4、4-VH のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

```
1      10      20      30      40      50
EVQLVESGGGVKKPGGSLKLSCAASGFTFSNYAMSWVRQTPGKGLEWVAT

      60      70      80      90     100
ISNGGSYTYYPDSFQGRFTISRDN AKSTLSLQMSLKS EDTAMYYCSRPS

      110     120
ERSHYATSQFAYWGQGTILTVSA (配列番号 26)
```

配列番号	領域	配列
重鎖		
	FR1	EVQLVESGGGVKKPGGSLKLSCAAS
	CDR1	GFTFSNYA
	FR2	MSWVRQTPGKGLEWVAT
	CDR2	ISNGGSYT
	FR3	YYPDSFQGRFTISRDN AKSTLSLQMSLKS EDTAMYYC
	CDR3	SRPERSHYATSQFAY
	FR4	WGQGTILTVSA

【図 2 5 F】

クローン 4、5-VH のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

```
1      10      20      30      40      50
EVQLVESGGGVKKPGGSLKLSCAASGFTFSNYAMSWVRQTPGKGLEWVAT

      60      70      80      90     100
ISNGGSYTYYPDSFQGRFTISRDN AKSTLSLQMSLKAEDTAMYYCSRPS

      110     120
ERSHYATSQFAYWGQGTILTVSS (配列番号 27)
```

配列番号	領域	配列
重鎖		
	FR1	EVQLVESGGGVKKPGGSLKLSCAAS
	CDR1	GFTFSNYA
	FR2	MSWVRQTPGKGLEWVAT
	CDR2	ISNGGSYT
	FR3	YYPDSFQGRFTISRDN AKSTLSLQMSLKAEDTAMYYC
	CDR3	SRPERSHYATSQFAY
	FR4	WGQGTILTVSS

【図 2 5 G】

クローン 4、6-VH のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

```
1      10      20      30      40      50
EVQLVESGGGVKKPGGSLKLSCAASGFTFSNYAMSWVRQTPGKGLEWVAT

      60      70      80      90     100
ISQGGSYTYYPDSFQGRFTISRDAQSKTSLQMSLKS EDTAMYYCSRPS

      110     120
ERSHYATSQFAYWGQGTILTVSA (配列番号 28)
```

配列番号	領域	配列
重鎖		
	FR1	EVQLVESGGGVKKPGGSLKLSCAAS
	CDR1	GFTFSNYA
	FR2	MSWVRQTPGKGLEWVAT
	CDR2	ISQGGSYT
	FR3	YYPDSFQGRFTISRDAQSKTSLQMSLKS EDTAMYYC
	CDR3	SRPERSHYATSQFAY
	FR4	WGQGTILTVSA

【図 2 5 I】

クローン 4、8-VH のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

```
1      10      20      30      40      50
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVAT

      60      70      80      90     100
ISNLGSYTYYPDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCSRPS

      110     120
ERSHYATSQFAYWGQGTILTVSS (配列番号 30)
```

配列番号	領域	配列
重鎖		
	FR1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
	CDR1	GFTFSNYA
	FR2	MSWVRQAPGKGLEWVAT
	CDR2	ISNLGSYT
	FR3	YYPDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
	CDR3	SRPERSHYATSQFAY
	FR4	WGQGTILTVSS

【図 2 5 H】

クローン 4、7-VH のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

```
1      10      20      30      40      50
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVAT

      60      70      80      90     100
ISQGGSYTYYPDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCSRPS

      110     120
ERSHYATSQFAYWGQGTILTVSS (配列番号 29)
```

配列番号	領域	配列
重鎖		
	FR1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
	CDR1	GFTFSNYA
	FR2	MSWVRQAPGKGLEWVAT
	CDR2	ISQGGSYT
	FR3	YYPDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
	CDR3	SRPERSHYATSQFAY
	FR4	WGQGTILTVSS

【図 2 5 J】

クローン 4、9-VH のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

```
1      10      20      30      40      50
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVAT

      60      70      80      90     100
ISNGGSYTYYPDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCSRPS

      110     120
ERSHYATSQFAYWGQGTILTVSS (配列番号 31)
```

配列番号	領域	配列
重鎖		
	FR1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
	CDR1	GFTFSNYA
	FR2	MSWVRQAPGKGLEWVAT
	CDR2	ISNGGSYT
	FR3	YYPDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
	CDR3	SRPERSHYATSQFAY
	FR4	WGQGTILTVSS

【図 2 5 K】

クローン4、10-VHのアミノ酸配列-CDRを太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFSNYA**MSWVRQAPGKLEWVAT

60 70 80 90 100
ISDGGSYTYYPD~~SV~~KGRFTISRDN~~SKNT~~LYLQMNSLRAEDTAVYYC**SRPS**

110 120
ERSHYATSQFAYWGQGTILTVSS (配列番号 32)

配列番号	領域	配列
重鎖		
	FR1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
	CDR1	GFTFSNYA
	FR2	MSWVRQAPGKLEWVAT
	CDR2	ISDGGSYT
	FR3	YYPD ~~SV~~ KGRFTISRDN ~~SKNT~~ LYLQMNSLRAEDTAVYYC
	CDR3	SRP ~~S~~ ERSHYATSQFAY
	FR4	WGQGTILTVSS

【図 2 5 L】

クローン4、11-VHのアミノ酸配列-CDRを太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFSNYA**MSWVRQAPGKLEWVAT

60 70 80 90 100
ISNVGSYTYYPD~~SV~~KGRFTISRDN~~SKNT~~LYLQMNSLRAEDTAVYYC**SRPS**

110 120
ERSHYATSQFAYWGQGTILTVSS (配列番号 33)

配列番号	領域	配列
重鎖		
	FR1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
	CDR1	GFTFSNYA
	FR2	MSWVRQAPGKLEWVAT
	CDR2	ISNVGSYT
	FR3	YYPD ~~SV~~ KGRFTISRDN ~~SKNT~~ LYLQMNSLRAEDTAVYYC
	CDR3	SRP ~~S~~ ERSHYATSQFAY
	FR4	WGQGTILTVSS

【図 2 5 O】

クローン4、6-VLのアミノ酸配列-CDRを太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIVLTQSPFSSLSASVGDRTVTITCSAS**SSVSY**MHWYQKPGTSPKRWIY**DT**

60 70 80 90 100
SKLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSLQPEDAATYYC**QQWSSSPLT**FGAG

TKVEIK (配列番号 36)

配列番号	領域	配列
軽鎖		
	FR1	DIVLTQSPFSSLSASVGDRTVTITCSAS
	CDR1	SSVSY
	FR2	MHWYQKPGTSPKRWIY
	CDR2	DTs
	FR3	KLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSLQPEDAATYYC
	CDR3	QQWSSSPLT
	FR4	FGAGTKVEIK

【図 2 5 P】

クローン4、7-VLのアミノ酸配列-CDRを太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIQLTQSPGSLASVGDRTVTMTCSAS**SSVSY**MHWYQKPGTSPKRWIY**DT**

60 70 80 90 100
SKLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSLQPEDAATYYC**QQWSSSPLT**FGAG

TKVELK (配列番号 37)

配列番号	領域	配列
軽鎖		
	FR1	DIQLTQSPGSLASVGDRTVTMTCSAS
	CDR1	SSVSY
	FR2	MHWYQKPGTSPKRWIY
	CDR2	DTs
	FR3	KLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSLQPEDAATYYC
	CDR3	QQWSSSPLT
	FR4	FGAGTKVELK

【図 2 5 M】

クローン4、4-VLのアミノ酸配列-CDRを太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIVLTQSPFSGLSASVGDRTVTMTCSAS**SSVSY**MHWYQKPGTSPKRWIY**DT**

60 70 80 90 100
SKLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSLQPEDAATYYC**QQWSSSPLT**FGAG

TKVELK (配列番号 34)

配列番号	領域	配列
軽鎖		
	FR1	DIVLTQSPFSGLSASVGDRTVTMTCSAS
	CDR1	SSVSY
	FR2	MHWYQKPGTSPKRWIY
	CDR2	DTs
	FR3	KLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSLQPEDAATYYC
	CDR3	QQWSSSPLT
	FR4	FGAGTKVELK

【図 2 5 N】

クローン4、5-VLのアミノ酸配列-CDRを太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIVLTQSPFSSLSASVGDRTVTITCSAS**SSVSY**MHWYQKPGTSPKRWIY**DT**

60 70 80 90 100
SKLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSLQPEDAATYYC**QQWSSSPLT**FGAG

TKVEIK (配列番号 35)

配列番号	領域	配列
軽鎖		
	FR1	DIVLTQSPFSSLSASVGDRTVTITCSAS
	CDR1	SSVSY
	FR2	MHWYQKPGTSPKRWIY
	CDR2	DTs
	FR3	KLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSLQPEDAATYYC
	CDR3	QQWSSSPLT
	FR4	FGAGTKVEIK

【図 2 6 A】

クローン53、0-VHのアミノ酸配列-CDRを太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EVQLLESGGGLVKPGGSLRLSCAAS**GFTTTSYA**MSWVRQTPFKRLWVAT

60 70 80 90 100
ISHGGTYTYYPD~~SV~~KGRFTISRDN~~AKNT~~LYLQMSSLRSEDTAMYYC**ARHP**

110 120
IYSGNYQGYFDYWGQGTTLTVSS (配列番号 38)

クローン53、0-VLのアミノ酸配列-CDRを太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIVLTQSPAIMSASLGERVTMTSCRAS**SGVNY**IYWYQKSDASPKLWIY**FT**

60 70 80 90 100
SNLAPGVPARFSGSGSGNSYSLTISMEGEDAATYYC**QQFTSSPYT**FGGG

TKLEIK (配列番号 39)

配列番号	領域	配列
重鎖		
	FR1	EVQLLESGGGLVKPGGSLRLSCAAS
	CDR1	GFTTTSYA
	FR2	MSWVRQTPFKRLWVAT
	CDR2	ISHGGTYT
	FR3	YYPD ~~SV~~ KGRFTISRDN ~~AKNT~~ LYLQMSSLRSEDTAMYYC
	CDR3	ARHP ~~IY~~ SGNYQGYFDY
	FR4	WGQGTTLTVSS
軽鎖		
	FR1	DIVLTQSPAIMSASLGERVTMTSCRAS
	CDR1	SGVNY
	FR2	IYWYQKSDASPKLWIY
	CDR2	FTS
	FR3	NLAPGVPARFSGSGSGNSYSLTISMEGEDAATYYC
	CDR3	QQFTSSPYT
	FR4	FGGGTKLEIK

【図 26B】

クローン53. 1-VHのアミノ酸配列-CDRを太字および下線で示す

```
1      10      20      30      40      50
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMSWVRQAPGKGLEWVAV

      60      70      80      90     100
ISHGGTYTYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHP

      110     120
IYSGNYQGYFDYWGQGLTVTVSS (配列番号 40)
```

クローン53. 1-VLのアミノ酸配列-CDRを太字および下線で示す

```
1      10      20      30      40      50
DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRASSSGVNYLAWYQQKPGKAPKLIWYFT

      60      70      80      90     100
STLQSGVPSRFSSGSGSGNEYTLTISSLQPEDFATYYCQQFTSSPYTFGQG
```

TKLEIK (配列番号 41)

配列番号	領域	配列
重鎖		
FR1		EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
CDR1		GFTFTSYA
FR2		MSWVRQAPGKGLEWVAV
CDR2		ISHGGTYT
FR3		YYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
CDR3		ARHPIYSGNYQGYFDY
FR4		WGQGLTVTVSS
軽鎖		
FR1		DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRAS
CDR1		SGVNY
FR2		LAWYQQKPGKAPKLIWY
CDR2		FTS
FR3		TLQSGVPSRFSGSGSGNE ~~Y~~ TLTISSLQPEDFATYYC
CDR3		QQFTSSPYT
FR4		FGGGTKLEIK

【図 26C】

クローン53. 2-VHのアミノ酸配列-CDRを太字および下線で示す

```
1      10      20      30      40      50
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMSWVRQAPGKGLEWVAT

      60      70      80      90     100
ISHGGTYTYFDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAMYYCARHP

      110     120
IYSGNYQGYFDYWGQGLTVTVSS (配列番号 42)
```

クローン53. 2-VLのアミノ酸配列-CDRを太字および下線で示す

```
1      10      20      30      40      50
DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRASSSGVNYIYWYQQKPGKAPKLIWYFT

      60      70      80      90     100
SNLAPGVPSRFSSGSGSGNEYTLTISSLQPEDFATYYCQQFTSSPYTFGGG
```

TKLEIK (配列番号 43)

配列番号	領域	配列
重鎖		
FR1		EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
CDR1		GFTFTSYA
FR2		MSWVRQAPGKGLEWVAT
CDR2		ISHGGTYT
FR3		YYFDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAMYYC
CDR3		ARHPIYSGNYQGYFDY
FR4		WGQGLTVTVSS
軽鎖		
FR1		DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRAS
CDR1		SGVNY
FR2		IYWYQQKPGKAPKLIWY
CDR2		FTS
FR3		NLAPGVPSRFSGSGSGNE ~~Y~~ TLTISSLQPEDFATYYC
CDR3		QQFTSSPYT
FR4		FGGGTKLEIK

【図 26D】

クローン53. 3-VHのアミノ酸配列-CDRを太字および下線で示す

```
1      10      20      30      40      50
EVQLEESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMSWVRQTPEKRLWVAT

      60      70      80      90     100
ISHGGTYTYFDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAMYYCARHP

      110     120
IYSGNYQGYFDYWGQGTITVTVSS (配列番号 44)
```

クローン53. 3-VLのアミノ酸配列-CDRを太字および下線で示す

```
1      10      20      30      40      50
DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRASSSGVNYIYWYQQKPDAPKLIWYFT

      60      70      80      90     100
SNLAPGVPSRFSSGSGSGNSYTLTISSLQPEDFATYYCQQFTSSPYTFGGG
```

TKLEIK (配列番号 45)

配列番号	領域	配列
重鎖		
FR1		EVQLEESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
CDR1		GFTFTSYA
FR2		MSWVRQTPEKRLWVAT
CDR2		ISHGGTYT
FR3		YYFDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAMYYC
CDR3		ARHPIYSGNYQGYFDY
FR4		WGQGTITVTVSS
軽鎖		
FR1		DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRAS
CDR1		SGVNY
FR2		IYWYQQKPDAPKLIWY
CDR2		FTS
FR3		NLAPGVPSRFSGSGSGNSYTLTISSLQPEDFATYYC
CDR3		QQFTSSPYT
FR4		FGGGTKLEIK

【図 26E】

クローン53. 4-VHのアミノ酸配列-CDRを太字および下線で示す

```
1      10      20      30      40      50
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMSWVRQAPGKGLEWVAV

      60      70      80      90     100
ISHGGTYTYFDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAMYYCARHP

      110     120
IYSGNYQGYFDYWGQGLTVTVSS (配列番号 46)
```

配列番号	領域	配列
重鎖		
FR1		EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
CDR1		GFTFTSYA
FR2		MSWVRQAPGKGLEWVAV
CDR2		ISHGGTYT
FR3		YYFDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAMYYC
CDR3		ARHPIYSGNYQGYFDY
FR4		WGQGLTVTVSS

【図 26F】

クローン53. 5-VHのアミノ酸配列-CDRを太字および下線で示す

```
1      10      20      30      40      50
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMSWVRQAPGKGLEWVAT

      60      70      80      90     100
ISHGGTYTYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAMYYCARHP

      110     120
IYSGNYQGYFDYWGQGLTVTVSS (配列番号 47)
```

配列番号	領域	配列
重鎖		
FR1		EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
CDR1		GFTFTSYA
FR2		MSWVRQAPGKGLEWVAT
CDR2		ISHGGTYT
FR3		YYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAMYYC
CDR3		ARHPIYSGNYQGYFDY
FR4		WGQGLTVTVSS

【図 2 6 G】

クローン 5 3. 6-VH のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFTSYA**MSWVRQAPGKLEWVAT
60 70 80 90 100
ISHGGTTYYYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC**ARHP**
110 120
IYSGNYQGYFDYWGQGTLLTVSS (配列番号 48)

配列番号	領域	配列
重鎖		
FR1		EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAAS
CDR1		GFTFTSYA
FR2		MSWVRQAPGKLEWVAT
CDR2		ISHGGTTY
FR3		YYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
CDR3		ARHPTIYSGNYQGYFDY
FR4		WGQGTLLTVSS

【図 2 6 H】

クローン 5 3. 4-VL のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIQLTQSPSFLSASVGDRTVITCRAS**SGVNI**LYWYQKPGKAPKLWIY**FT**
60 70 80 90 100
SNLAPGVPSRFSGSGSGNEYTLTISSLQPEDFATYYC**QQFTSSPY**TFGGG

TKLEIK (配列番号 49)

配列番号	領域	配列
軽鎖		
FR1		DIQLTQSPSFLSASVGDRTVITCRAS
CDR1		SGVNI
FR2		LYWYQKPGKAPKLWIY
CDR2		FTS
FR3		NLAPGVPSRFSGSGSGNEYTLTISSLQPEDFATYYC
CDR3		QQFTSSPYT
FR4		FGGGTKLEIK

【図 2 6 K】

クローン 5 3. 7-VL のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIQLTQSPSFLSASVGDRTVITCRAS**SGVNI**IYWYQKPGKAPKLWIY**FT**
60 70 80 90 100
SNLPGVPSPRFSGSGSGNEYTLTISSLQPEDFATYYC**QQFTSSPY**TFGGG

TKLEIK (配列番号 52)

配列番号	領域	配列
軽鎖		
FR1		DIQLTQSPSFLSASVGDRTVITCRAS
CDR1		SGVNI
FR2		IYWYQKPGKAPKLWIY
CDR2		FTS
FR3		NLPGVPSPRFSGSGSGNEYTLTISSLQPEDFATYYC
CDR3		QQFTSSPYT
FR4		FGGGTKLEIK

【図 2 6 L】

クローン 5 3. 8-VL のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIQLTQSPSFLSASVGDRTVITCRAS**SGVNI**IYWYQKPGKAPKLWIY**FT**
60 70 80 90 100
SNLASGVPSRFSGSGSGNEYTLTISSLQPEDFATYYC**QQFTSSPY**TFGGG

TKLEIK (配列番号 53)

配列番号	領域	配列
軽鎖		
FR1		DIQLTQSPSFLSASVGDRTVITCRAS
CDR1		SGVNI
FR2		IYWYQKPGKAPKLWIY
CDR2		FTS
FR3		NLASGVPSRFSGSGSGNEYTLTISSLQPEDFATYYC
CDR3		QQFTSSPYT
FR4		FGGGTKLEIK

【図 2 6 I】

クローン 5 3. 5-VL のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIQLTQSPSFLSASVGDRTVITCRAS**SGVNI**IYWYQKPGKAPKLWIY**FT**
60 70 80 90 100
SNLAPGVPSRFSGSGSGNEYTLTISSLQPEDFATYYC**QQFTSSPY**TFGGG

TKLEIK (配列番号 50)

配列番号	領域	配列
軽鎖		
FR1		DIQLTQSPSFLSASVGDRTVITCRAS
CDR1		SGVNI
FR2		IYWYQKPGKAPKLWIY
CDR2		FTS
FR3		NLAPGVPSRFSGSGSGNEYTLTISSLQPEDFATYYC
CDR3		QQFTSSPYT
FR4		FGGGTKLEIK

【図 2 6 J】

クローン 5 3. 6-VL のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIQLTQSPSFLSASVGDRTVITCRAS**SGVNI**IYWYQKPGKAPKLWIY**FT**
60 70 80 90 100
STLAPGVPSRFSGSGSGNEYTLTISSLQPEDFATYYC**QQFTSSPY**TFGGG

TKLEIK (配列番号 51)

配列番号	領域	配列
軽鎖		
FR1		DIQLTQSPSFLSASVGDRTVITCRAS
CDR1		SGVNI
FR2		IYWYQKPGKAPKLWIY
CDR2		FTS
FR3		TLAPGVPSRFSGSGSGNEYTLTISSLQPEDFATYYC
CDR3		QQFTSSPYT
FR4		FGGGTKLEIK

【図 2 6 M】

クローン 5 3. 9-VL のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIQLTQSPSFLSASVGDRTVITCRAS**SGVNI**IYWYQKPGKAPKLWIY**FT**
60 70 80 90 100
SNLAPGVPSRFSGSGSGNEYTLTISSLQPEDFATYYC**QQFTSSPY**TFGGG

TKLEIK (配列番号 54)

配列番号	領域	配列
軽鎖		
FR1		DIQLTQSPSFLSASVGDRTVITCRAS
CDR1		SGVNI
FR2		IYWYQKPGKAPKLWIY
CDR2		FTS
FR3		NLAPGVPSRFSGSGSGNEYTLTISSLQPEDFATYYC
CDR3		QQFTSSPYT
FR4		FGGGTKLEIK

【図 2 6 N】

クローン 5 3. 7-VH のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFTSYA**MSWVRQTPGKLEWVAT
60 70 80 90 100
ISHGGTTYYYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSSLRSEDAMYYC**ARHP**
110 120
IYSGNYQGYFDYWGQGTLLTVSS (配列番号 63)

配列番号	領域	配列
重鎖		
FR1		EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAAS
CDR1		GFTFTSYA
FR2		MSWVRQTPGKLEWVAT
CDR2		ISHGGTTY
FR3		YYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSSLRSEDAMYYC
CDR3		ARHPTIYSGNYQGYFDY
FR4		WGQGTLLTVSS

【図 26 O】

クローン 53、8-VH のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFTSYA**MSWVRQAPGKGLEWVAT

 60 70 80 90 100
ISHGGTTYYYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYC**ARHP**

 110 120
IYSGNYQG**YFDY**WGQGTLLTVSS (配列番号 64)

配列番号	領域	配列
重鎖		
	FR1	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAAS
	CDR1	GFTFTSYA
	FR2	MSWVRQAPGKGLEWVAT
	CDR2	ISHGGTYT
	FR3	YYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYC
	CDR3	ARHPIYSGNYQGYFDY
	FR4	WGQGTLLTVSS

【図 26 Q】

クローン 53、10-VH のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFTSYA**MSWVRQAPGKGLEWVAT

 60 70 80 90 100
ISHGGTTYYYPESVKGRFTISRDKSKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYC**ARHP**

 110 120
IYSGNYQG**YFDY**WGQGTLLTVSS (配列番号 66)

配列番号	領域	配列
重鎖		
	FR1	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAAS
	CDR1	GFTFTSYA
	FR2	MSWVRQAPGKGLEWVAT
	CDR2	ISHGGTYT
	FR3	YYPESVKGRFTISRDKSKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYC
	CDR3	ARHPIYSGNYQGYFDY
	FR4	WGQGTLLTVSS

【図 26 P】

クローン 53、9-VH のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFTSYA**MSWVRQTPGKRLEWVAT

 60 70 80 90 100
ISHGGTTYYYPESVKGRFTISRDKSKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYC**ARHP**

 110 120
IYSGNYQG**YFDY**WGQGTLLTVSS (配列番号 65)

配列番号	領域	配列
重鎖		
	FR1	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAAS
	CDR1	GFTFTSYA
	FR2	MSWVRQTPGKRLEWVAT
	CDR2	ISHGGTYT
	FR3	YYPESVKGRFTISRDKSKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYC
	CDR3	ARHPIYSGNYQGYFDY
	FR4	WGQGTLLTVSS

【図 26 R】

クローン 53、10-VL のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIQLTQSPAIMSASVGDRTVMSCRAS**SGVNY**IYWYQQKPGASPKLWIY**FT**

 60 70 80 90 100
SNLAPGVPARFSGSGSGNSYSLTISMQGEDAATYYC**QQFTSSPY**TFGGG

TKLEIK (配列番号 67)

配列番号	領域	配列
軽鎖		
	FR1	DIQLTQSPAIMSASVGDRTVMSCRAS
	CDR1	SGVNY
	FR2	IYWYQQKPGASPKLWIY
	CDR2	FTS
	FR3	NLAPGVPARFSGSGSGNSYSLTISMQGEDAATYYC
	CDR3	QQFTSSPYT
	FR4	FGGGTKLEIK

【図 26 S】

クローン 53、11-VL のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIQLTQSPAILSASVGDRTVISCRA**S****SGVNY**IYWYQQKPGQSPKLIWY**FT**

 60 70 80 90 100
SNLAPGVPARFSGSGSGNSYSLTISMQGEDAATYYC**QQFTSSPY**TFGGG

TKLEIK (配列番号 68)

配列番号	領域	配列
軽鎖		
	FR1	DIQLTQSPAILSASVGDRTVISCRA
	CDR1	SGVNY
	FR2	IYWYQQKPGQSPKLIWY
	CDR2	FTS
	FR3	NLAPGVPARFSGSGSGNSYSLTISMQGEDAATYYC
	CDR3	QQFTSSPYT
	FR4	FGGGTKLEIK

【図 26 U】

クローン 53、13-VL のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIQLTQSPAILSASVGDRTVISCRA**S****SGVNY**IYWYQQKPGQSPKLIWY**FT**

 60 70 80 90 100
SNLAPGVPARFSGSGSGNSYSLTISMQGEDAATYYC**QQFTSSPY**TFGGG

TKLEIK (配列番号 70)

配列番号	領域	配列
軽鎖		
	FR1	DIQLTQSPAILSASVGDRTVISCRA
	CDR1	SGVNY
	FR2	IYWYQQKPGQSPKLIWY
	CDR2	FTS
	FR3	NLAPGVPARFSGSGSGNSYSLTISMQGEDAATYYC
	CDR3	QQFTSSPYT
	FR4	FGGGTKLEIK

【図 26 T】

クローン 53、12-VL のアミノ酸配列-CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIQLTQSPAILSASVGDRTVMSCRAS**SGVNY**IYWYQQKPGASPKLIWY**FT**

 60 70 80 90 100
SNLAPGVPARFSGSGSGNSYSLTISMQGEDAATYYC**QQFTSSPY**TFGGG

TKLEIK (配列番号 69)

配列番号	領域	配列
軽鎖		
	FR1	DIQLTQSPAILSASVGDRTVMSCRAS
	CDR1	SGVNY
	FR2	IYWYQQKPGASPKLIWY
	CDR2	FTS
	FR3	NLAPGVPARFSGSGSGNSYSLTISMQGEDAATYYC
	CDR3	QQFTSSPYT
	FR4	FGGGTKLEIK

配列番号	領域	配列
重鎖		
FR1		QYKLVSQGPVEKVPGASVKVCKGS
CDR1		GVTFTDYA
FR2		MHWVRQAPGSGLEWIGV
CDR2		ISTYNGNT
FR3		KYNQKFGQGRATMTVKASASTAYMELSRLSRSDTAIYYC
CDR3		ARELSIRYFDV
FR4		WGAGTITTVSS
軽鎖		
FR1		DIQLTQSQPFSLASPGDRVTITCRAS
CDR1		SSVIY
FR2		MYWYQKPGSAPKPNIIY
CDR2		ATS
FR3		KLASGVDPVRFSGSGSTSYTLTISRLLQAEFDATYYC
CDR3		QQWSSSEFLT
FR4		EGATKKVEIK

【図 28 A】

配列番号	抗体	配列
	12.0 VH	5'GAGGTGCAAGTGGAAAGAGTCCGGCGGAGGCTGGTGCAGCCCAAG GGCAGCCTGAAGCTGAGCTGTGCCGCCAGCGCATCAGCTTCAACGA CGCCGCCATGAATGGATCCGGCAGGCCCCCTGGCAGGGGCTGGAAAT GGGTGGCCCGGATCAGAGCAAGATCAACGACTACGGCACCCACTAC GCCGCCAGCGTGAAGGACCGGTTACCATCAGCGGGGACGACAGCCA GAATATCCTGTTCTGCAGATGAACACCTGAAACCGAGGACACCG GCATGTACTACTGCGTGATCGACGGCTACGGCAGCCTGGCCTACTGG GGCCAGGGAACCTGGTGACAGTGTCCGCC3'
	12.0 VL	5'GACATCGTGCTGACCCAGAGCCCGGCATCATGAGCAGCAGCCCT GGCGAGAAAGTGAACATGACCTGCCGGGCCAGCAGCAGCGTGATCAG CAGCTACCTGCATGCTATCAGCAGCGGAGCGGGCCAGCCCCAAGC TGTGGATCTACAGCAGCAGCGCTGGCCAGCGGCGTGCCAGCCAGA TTTCTGGCAGCGGCGAGCGGCACTTCTCAGCCTGACCATCAGCAG CGTGGAAGCCGAGGAGCGCGCACCTACTACTGCCAGCAGTACAGCG GCTACCCCTGACCTTCGGAGCGGCAACCAAGCTGGAACTGAAG3'
	12.1 VH	5'GAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGCGGAGGACTGGTGACAGCTTGC GGCAGCTTGAAGCTGTCTTGTGCCGCCAGCGGCATCAGCTTCAACGA CGCCGCCATGCACTGGGTGGCGCAGGCTTCTGGCAAGGGCTGGAAAT GGGTGGCCCGGATCAGAGCAAGATCAACGACTACGGCACCCGCTAC GCCGCCAGCGTGAAGGGCAGATTCAACCATCAGCGGGGACGACAGCCA GAACACCCCTGTACTCTGAGATGAACAGCCTGAAACCGAGGACACCG CCGTGTACTACTGCGTGATCGACGGCTACGGCAGCCTGGCCTACTGG GGCCAGGGAACCTGGTGACAGTGTCCAGC3'
	12.1 VL	5'GAGATCGTGCTGACCCAGAGCCCGGCCACCTGTCTCTGAGCCCT GGCGAGAGAGCCACCTTGAAGCTGAGAGCTCAGAGCAGCGGTGATCAG CAGCTACTCTGGCCTGGTATCAGCAGAAAGCCCGGCCAGGCCCCAGC TGTGGATCTACAGCAGCAGCAGCGGCGCACCGGCATGCCGCCAGA TTTCTGGCAGCGGCGAGCGGCACTTCTCAGCCTGACCATCAGCAG CCTGGAAGCCGAGGAGCTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAGCG GCTACCCCTGACCTTCGGCGGAGGCAACCAAGTGGAAATCAAG3'

【図 28 B】

配列番号	抗体	配列
	12.2 VH	5'GAGGTGCAAGTGGTGGAAAGCGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGC GGCAGCCTGAAGCTGTCTTGTGCCGCCAGCGCATCAGCTTCAACGA CGCCGCCATGAATGGATCCGGCAGGCCCCCTGGCAGGGGCTGGAAAT GGGTGGCCCGGATCAGAGCAAGATCAACGACTACGGCACCCACTAC GCCGCCAGCGTGAAGGCGCGGTTACCATCAGCGGGGACGACAGCCA GAACACCCCTGTACTCTGCAGATGAACAGCCTGAAACCGAGGACACCG CCATGTACTACTGCGTGATCGACGGCTACGGCAGCCTGGCCTACTGG GGCCAGGGAACCTGGTGACAGTGTCCAGC3'
	12.2 VL	5'GAGATCGTGCTGACCCAGAGCCCGGCCACCTGTCTCTGAGCCCT GGCGAGAGAGCCACCTTGAAGCTGAGAGCGCAGCAGCAGCGTGATCAG CAGCTACCTGCATGCTGATCAGCAGGAGCCCGGCCAGGCCCCAGAC TGTGGATCTACAGCAGCAGCGCTGGCCAGCGGCGATCCCGGCCAGA TTTCTGGCAGCGGCGAGCGGCACTTCAACCATCAGCGGGGACGACAGCCA CCTGGAAGCCGAGGAGCTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAGCG GCTACCCCTGACCTTCGGAGCGGCGACCAAGTGGAAATCAAG3'
	12.3 VH	5'GAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGCGGAGGACTGGTGACAGCCTAAG GGCAGCTTGAAGCTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCATCAGCTTCAACGA CGCCGCCATGCACTGGATCCGGCAGGCGCAGCGCAAGGGCTGGAAAT GGGTGGCCCGGATCAGAGCAAGATCAACGACTACGGCACCCACTAC GCCGCCAGCGTGAAGGGACCGGTTACCATCAGCGGGGACGACAGCCA GAACATCCTGTACTCTGCAGATGAACAGCCTGAAACCGAGGACACCG CCATGTACTACTGCGTGATCGACGGCTACGGCAGCCTGGCCTACTGG GGCCAGGGAACCTGGTGACAGTGTCCAGC3'
	12.3 VL	5'GAGATCGTGCTGACCCAGAGCCCGGCCACCTGTCTCTGAGCAGCTTCCA GGCGAGAGAGCCACCTTGAAGCTGAGAGCGCAGCAGCAGCGGTGATCAG CAGCTACTCTGGCCTGGTATCAGCAGAAAGCCCGGCCAGGCCCCAGC TGTGGATCTACAGCAGCAGCAGCGCTGGCCAGCGGCATCCCGGCCAGA TTTCTGGCAGCGGCGAGCGGCACTTCAACCATCAGCGGGGACGACAGCCA CCTGGAAGCCGAGGAGCTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAGCG GCTACCCCTGACCTTCGGAGCGGCGACCAAGTGGAAATCAAG3'

【図 28 C】

配列番号	抗体	配列
	135.0 VH	5'GAAGTGAAGCTGGAAGAGTCCGGCGGAGGCTGGTGAACCTGGCGCA GCCTGAAGCTGAGCTGGCGGCCAGAGCGGCTTCACTCTCAACAGCTACGCC TGAGCTGGGTGGCGCAGAGCCCCCGAGAGAGAGCTGGAATGGGTGGCCACCA TCAGCCACGGCGCAGCTACACCTACTACCCGACAGCGTGAAGGGCCGGT TCAACCATCAGCAGAGACAGCCGACAGACACCTGAAACCTGCAGATGAGCA GCCTGGCGAGCGAGGACACCGCATCTACTACTGCCAGCGCACCCCTTCT ACAGCGGCAACTACAGGGCTACTTGCAGTACTGGGCGCAGGCGACCCCTGC TGACCGTGTCTCT3'
	135.0 VL	5'GACATCGTGCTGACCCAGAGCCCGGCCATCATGAGCGCCAGCCTGGGCG AGAAGTGAACCTGAACTGGCGGGCGAACAGCGGCTGAACTACATGTACT GGTATCAGCAAGAGCTGCGAGCGCAGCCCAAGCTGTGGATCTACTTACCCA CAACCTGGGCCCCCTGGCGTGGCCGAGATTCTTCTGGCAGCGGCGAGCGCA ACAGCTACAGCTGACATCAGCAGCATGGAAGCGAGGAGCGCCGCACT ACTACTGCCAGCAGTTTACACGACGCCCTACCTTCCGCGGAGGCAACCA AGCTGGAATCAAG3'
	135.1 VH	5'GAGGTGCAAGTGGAAAGTCCGGCGGAGGACTGGTGAGCCTGGCGCA GCCTGAGACTGTCTTGGCGGCCAGAGCGGCTTCACTTACACAGCTACGCCA TGAGCTGGGTGGCGCAGGCCCCCTGGCAGGGAGTGGAAATGGGTGGCGTGA TCAGCTACGGCGCAGCTACACCTACTACCGCAGACGCTGAAGGGCCGGT TCAACCATCAGCGGAGCAGCAGCAAGACACCTGTACTCAGATGAACCA GCCTGGCGGCGAGGAGACCCGCGTGTACTACTGCCAGCAGACCCCTTCT ACAGCGCAACTACAGGGCTACTTGCAGTACTGGGCGCAGGCGACCCCTGG TGACAGTGTCCAGC3'
	135.1 VL	5'GACATCGAGCTGACCCAGAGCCCGGCCATCATGAGCGCCAGCCTGGGCG ACAGGTGACATCACTTGTGGCGGCCAGCGGCTTCACTTACACAGCTACGCCA GGTATCAGCAGAAAGCCCGGCCAGGCGCTCCCAAGCTGTGGATCTACTTACCCA GCAACCTGGGCCCCCTGGCGTGGCCGAGATTCTTCTGGCAGCGGCGAGCGCA ACAGCTACAGCTGACATCAGCAGCATGGAAGCGAGGAGCGCCGCACT ACTACTGCCAGCAGTTTACACGACGCCCTACCTTCCGCGGAGGCAACCA AGCTGGAATCAAG3'

【図 28 D】

配列番号	抗体	配列
	135.2 VH	5'GAGGTGCAAGTGGAAAGTCCGGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCGCA GCCTGAGACTGTCTTGGCGGCCAGCGGCTTCACTTCAACAGCTACGCC TGAGCTGGGTGGCGCAGGCCCCCTGGCAAGAGATGGAATGGGTGGCCACCA TCAGCCACGGCGCAGCTACACCTACTACCCGACAGCGTGAAGGGCCGGT TCAACCATCAGCAGAGACAAACAGCAGAACCCCTGTACTGCAATGAACA GCCTGGCGGCGAGGAGACCCGCGTGTACTACTGGCGCAGACACCCCTTCT ACAGCGCAACTACAGGGCTACTTGCAGTACTGGGCGCAGGCGACCCCTGG TGACAGTGTCCAGC3'
	135.2 VL	5'GACATCGAGCTGACCCAGAGCCCGGCCATCATGAGCGCCAGCCTGGGCG ACAGAGTGAACATCACTTGTGGGCGCAACAGCGGCGTGAATGATGTACT GGTATCAGCAGAAAGCCCGGCCAGGCCCCCAAGCTGTGGATCTACTTACCCA GCAACCTGGGCCCCCTGGCGTGGCCAGAGATTCTTCTGGCAGCGGCGAGCGCA ACAGTACAGCCCTGACATCAGCAGCCTGAGTTCGAGGACTTCCGCCACT ACTACTGCCAGCAGTTTACACGACGCCCTACACCTTCCGCGGAGGCAACCA AGCTGGAATCAAG3'
	135.3 VH	5'GAGGTGCAAGTGGTGGAAAGCGCGGAGGACTGGTGAGCCTGGCGCA GCCTGAGACTGTCTTGGCGGCCAGCGGCTTCACTTCAACAGCTACGCC TGAGCTGGGTGGCGCAGACCCCGAGAGAGAGATGGAATGGGTGGCCACCA TCAGCCACGGCGCAGCTACACCTACTACCCGACAGCGTGAAGGGCCGGT TCAACCATCAGCAGAGACAAACAGCAGAACCCCTGAACCTGCAGATGAACA GCCTGGCGGCGAGGAGACCCGCGTGTACTACTGGCGCAGGCGACCCCTTCT ACAGCGCAACTACAGGGCTACTTGCAGTACTGGGCGCAGGCGACCCCTGG TGACAGTGTCCAGC3'
	135.3 VL	5'GACATCGAGCTGACCCAGAGCCCGGCCATCATGAGCGCCAGCCTGGGCG ACAGAGTGAACATCACTTGTGGGCGCAACAGCGGCGTGAATGATGTACT GGTATCAGCAGAAAGCCCGGCCAGGCCCCCAAGCTGTGGATCTACTTACCCA GCAACCTGGGCCCCCTGGCGTGGCCAGAGATTCTTCTGGCAGCGGCGAGCGCA ACAGCTACAGCTGACATCAGCAGCCTGAGTTCGAGGACTTCCGCCACT ACTACTGCCAGCAGTTTACACGACGCCCTACACCTTCCGCGGAGGCAACCA AGCTGGAATCAAG3'

【図 28 E】

配列番号	抗体	配列
	4.0 VH	5' GAAGTGCAGCTGGAGGAGTCAGGGGAGGCTTAGTGAAGCCTGGAGGGT CCCTAAACTCTCTGTGCGACCTCTGGATTCACTTTACAGTAATATGCCA TGTCTTGGGTTCGCCAGACTCCGGATAAGCGGCTGGAGTGGTTCGCAACCA TTAGTAATGGTGGTAGTTACCTACTATCCAGACACTGTGAAGGTCGCT TCACCATCTCCAGAGCAATGCCAAGAACCCCTGTCTCTGCAATGAGCA GTCTGAGGTCTGAGGACACGGCCATGTATTACTGTTCAGACCCCTCTGAGA GATCCATTACTACGCTACTAGCCAGTTGCTTACTG GGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA3'
	4.0 VL	5' GACATTTGGCTGACCCAGTCTCCAGGAATCATGTCTGCATCTCCAGGGG AGAAAGTCAACATGACCTGCAGTGCAGCTCAAGTGTAAGTACATGCATT GGTACCAGCAGAGTTCAGGCACCTCCCCAAAGATGGATTTATGACACAT CCAAACTGGCTTCTGGAGTCCCTGCTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGA CCTCTACTCTCTCACAATCAGCAGCATGAGGGCTGAAGATGCTGCCACTT ATTACTGCCAGCAGTGGAGTAGTAGCCCGCTCAGCTTCGGTCTGGGACCA AGGTGGAGCTGAAA3'
	4.1 VH	5' GAGGTGCAGCTGTCTGGAAAGCGCGGAGGACTGCTGCAGCCTGGCGGCA GCCTGAGACTGTCTGTGCGCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCACTACGCCA TGAGCTGGGTTCGCGCAGGCCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGGCGTGA TCAGCAACGGCGGCACTACACCTACTACGCGGACAGCTGAAGGGCCGCT TCACCATCAGCGGGGACACAGCAAGAACACCCCTGTACCTGCAGATGAACA GCCTGCGGGCGGAGGACACCGCGGTGTACTACTGCAGCCGGCCAGCGAGC GGAGCCACTACTACGCCACACGCCAGTTGCGCTACTGGGGCCAGGGCACCC TGGTGACAGTGTCCAGC3'
	4.1 VL	5' GAGATCGTGCTGACCCAGAGGCCCGCCACCCCTGTCTCTGAGCCCTGGGG AGAGAGCCACCTTGAGCTGCAGAGCCAGCAGCAGCTGTCTCTACCTGGGCT GGTATCAGCAGAGGCCCGGCCAGGCCCCAGAGCGGTGGATCTACGACACCA GCAACCGGGCCACCGGCTACCCCGCAGATTTTCTGGCAGCGGCAGCGGCA CCGACTACACCTGACCATCAGCAGCCTGGACCCAGGAGCTTCGCGTGT ACTACTGCCAGCAGTGGTCCAGCAGCCCTGACCTTCGGCGGAGGCACCA AGGTGGAAATCAAG3'

【図 28 F】

配列番号	抗体	配列
	4.2 VH	5' GAGGTGCAGCTGTCTGGAAAGCGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCGGCA GCCTGAGACTGTCTTTCGCGCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCACTACGCCA TGAGCTGGGTTCGCGCAGGCCCCCTGCAGAGGACTGGAATGGGTGGCCACCA TCAGCAACGGCGGCACTACCTACTACCCCGACAGCTGAAGGGCCGCT TCACCATCAGCGGGGACACAGCAAGAACACCCCTGTACCTGCAGATGAACA GCCTGCGGGCCGAGGACACCGCGGTGTACTACTGCAGCCCGCCAGCGAGC GGAGCCACTACTACGCCACACGCCAGTTGCGCTACTGGGGCCAGGGCACCC TGGTGACAGTGTCCAGC3'
	4.2 VL	5' GAGATCGTGCTGACCCAGAGGCCCGCCACCCCTGTCTCTGAGCCTGGCG AGAGAGCCACCTTGAGCTGTAGCGCACAGCAGCGCTGTCTCTACATGCACT GGTATCAGCAGAGGCCCGGCAACCGGCCAGAGCGGTGGATCTACATACCA GCAAGCTGGCGCAGCGGCTTCGCCGCAAGTTTCTGGCAGCGGCAAGCGGCA CCGACTACACCTGACCATCAGCAGCCTGGACCCAGGAGCTTCGCGACCT ACTACTGCCAGCAGTGGTCCAGAGCCCTGACCTTCGGAGCCGGCACCA AGGTGGAAATCAAG3'
	4.3 VH	5' GAGGTGCAGCTGGAAGAGTCCGGCGGAGGACTGCTGCAGCCTGGCGGCA GCCTGAGACTGTCTGTGCGCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCACTACGCCA TGAGCTGGGTTCGCGCAGACCCCGCAAGCGGCTGGAATGGGTGGCCACCA TCAGCAACGGCGGCACTACACCTACTACCCCGACAGCTGAAGGGCCGCT TCACCATCAGCGGGGACACAGCAAGAACACCCCTGTACCTGCAGATGAACA GCCTGCGGGCCGAGGACACCGCGGTGTACTACTGCAGCCCGCCAGCGAGC GGAGCCACTACTACGCCACACGCCAGTTGCGCTACTGGGGCCAGGGCACCC TGGTGACAGTGTCCAGC3'
	4.3 VL	5' GAGATCGTGCTGACCCAGAGGCCCGCCACCTCTGAGCCTGTCTCCAGCGG AGAGAGCCACCTTGAGCTGCAGCGCCAGCAGCAGCTGTCTCTACATGCACT GGTATCAGCAGAGGCCCGGCCAGGCCCCAGAGCGGTGGATCTACATACCA GCAAGCTGGCGCAGCGGCTTCGCCGCAAGTTTCTGGCAGCGGCAGCGGCA CCGACTACACCTGACCATCAGCAGCCTGGAGCCAGGAGCTTCGCGACCT ACTACTGCCAGCAGTGGTCCAGCAGCCCTGACCTTCGGAGCCGGCACCA AGGTGGAAATCAAG3'

【図 28 G】

配列番号	抗体	配列
	4.4 VH	5' GAGGTGCAGCTGTCTGGAAAGCGCGGAGGCTGGAAGAGCCTGGCGGCA GCCTGGAAGTGTGAGCTGTGCGCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCACTACGCCA TGAGCTGGGTTCGCGCAGAGCCCCCGCAAGGGCTGGAAATGGGTGGCCACCA TCAGCAACGGCGGCACTACACCTACTACCCCGACAGCTTCGAGGGCCGCT TCACCATCAGCGGGGACACAGCAAGAGCACCCCTGAGCTGTGAGATGTCCA GCCTGGAAGTTCGAGGACACCGCCATGTACTACTGCAGCCCGGCCAGCGAGC GGAGCCACTACTACGCCACACGCCAGTTGCGCTACTGGGGCCAGGGCACCC TGGTCACTGTCTGCT3'
	4.5 VH	5' GAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGCGGAGGCTGGAAGAGCCTGGCGGCA GCCTGGAAGTGTGAGCTGTGCGCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCACTACGCCA TGAGCTGGGTTCGCGCAGAGCCCCCGCAAGGGCTGGAAATGGGTGGCCACCA TCAGCAACGGCGGCACTACACCTACTACCCCGACAGCTTCGAGGGCCGCT TCACCATCAGCGGGGACACAGCAAGAGCACCCCTGAGCTGTGAGATGTCCA GCCTGGAAGTTCGAGGACACCGCCATGTACTACTGCAGCCCGGCCAGCGAGC GGAGCCACTACTACGCCACACGCCAGTTGCGCTACTGGGGCCAGGGCACCC TGGTCACTGTCTGCT3'
	4.6 VH	5' GAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGCGGAGGCTGGAAGAGCCTGGCGGCA GCCTGGAAGTGTGAGCTGTGCGCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCACTACGCCA TGAGCTGGGTTCGCGCAGAGCCCCCGCAAGGGCTGGAAATGGGTGGCCACCA TCAGCAACGGCGGCACTACACCTACTACCCCGACAGCTTCGAGGGCCGCT TCACCATCAGCGGGGACACAGCAAGAGCACCCCTGAGCTGTGAGATGTCCA GCCTGGAAGTTCGAGGACACCGCCATGTACTACTGCAGCCCGGCCAGCGAGC GGAGCCACTACTACGCCACACGCCAGTTGCGCTACTGGGGCCAGGGCACCC TGGTCACTGTCTGCT3'
	4.7 VH	5' GAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCGGCA GCCTGGAAGTGTGAGCTGTGCGCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCACTACGCCA TGAGCTGGGTTCGCGCAGGCCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGGCCACCA TCAGCAACGGGTGGAGCTACACCTACTACCCCGACAGCTGAAGGGCCGCT TCACCATCAGCGGGGACACAGCAAGAACACCCCTGTACTCTGAGATGAACA GCCTGCGGGCCGAGGACACCGCGGTGTACTACTGCAGCCCGGCCAGCGAGC GGAGCCACTACTACGCCACACGCCAGTTGCGCTACTGGGGCCAGGGCACCC TGGTGACAGTGTCCAGC3'

【図 28 H】

配列番号	抗体	配列
	4.8 VH	5' GAGGTGCAGCTGTCTGGAAAGCGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCGGCA GCCTGGAAGTGTGAGCTGTGCGCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCACTACGCCA TGAGCTGGGTTCGCGCAGAGCCCCCGCAAGGGACTGGAATGGGTGGCCACCA TCAGCAACGGCGGCACTACACCTACTACCCCGACAGCTGAAGGGCCGCT TCACCATCAGCGGGGACACAGCAAGAACACCCCTGTACCTGCAGATGAACA GCCTGCGGGCCGAGGACACCGCGGTGTACTACTGCAGCCCGGCCAGCGAGC GGAGCCACTACTACGCCACACGCCAGTTGCGCTACTGGGGCCAGGGCACCC TGGTGACAGTGTCCAGC3'
	4.9 VH	5' GAGGTGCAGCTGTCTGGAAAGCGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCGGCA GCCTGGAAGTGTGAGCTGTGCGCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCACTACGCCA TGAGCTGGGTTCGCGCAGGCCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGGCCACCA TCAGCAACGGCGGCACTACACCTACTACCCCGACAGCTGAAGGGCCGCT TCACCATCAGCGGGGACACAGCAAGAACACCCCTGTACCTGCAGATGAACA GCCTGCGGGCCGAGGACACCGCGGTGTACTACTGCAGCCCGGCCAGCGAGC GGAGCCACTACTACGCCACACGCCAGTTGCGCTACTGGGGCCAGGGCACCC TGGTGACAGTGTCCAGC3'
	4.10 VH	5' GAGGTGCAGCTGTCTGGAAAGCGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCGGCA GCCTGGAAGTGTGAGCTGTGCGCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCACTACGCCA TGAGCTGGGTTCGCGCAGGCCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGGCCACCA TCAGCAACGGGTGGAGCTACACCTACTACCCCGACAGCTGAAGGGCCGCT TCACCATCAGCGGGGACACAGCAAGAACACCCCTGTACCTGCAGATGAACA GCCTGCGGGCCGAGGACACCGCGGTGTACTACTGCAGCCCGGCCAGCGAGC GGAGCCACTACTACGCCACACGCCAGTTGCGCTACTGGGGCCAGGGCACCC TGGTGACAGTGTCCAGC3'
	4.11 VH	5' GAGGTGCAGCTGTCTGGAAAGCGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCGGCA GCCTGGAAGTGTGAGCTGTGCGCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCACTACGCCA TGAGCTGGGTTCGCGCAGGCCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGGCCACCA TCAGCAACGGGTGGAGCTACACCTACTACCCCGACAGCTGAAGGGCCGCT TCACCATCAGCGGGGACACAGCAAGAACACCCCTGTACTCTGAGATGAACA GCCTGCGGGCCGAGGACACCGCGGTGTACTACTGCAGCCCGGCCAGCGAGC GGAGCCACTACTACGCCACACGCCAGTTGCGCTACTGGGGCCAGGGCACCC TGGTGACAGTGTCCAGC3'

【図 28 I】

配列番号	抗体	配列
	4.4 VL	5'GACATCGTGTGACCCAGAGCCCGGCAGCCTGTCTGCGAGCGTGGGCG ACAGAGTGACCATGACCTGGAGCGCCAGCAGCAGCGGTCTCTACATGCACT GGTATCAGCAGAGCGCCGCGCAGCCCAAGCGCGTGGATCTACGACACCA GCAAGCTGGCCAGCGCGCTGCCCGCAGATTTCCTGGCAGCGGCAGCGCCA CCAGCTACAGCCTGACCATCAGCAGCCTGACAGCCGAGGAGCGCCACCT ACTACTGCCAGCAGTGGTCCAGCAGCCCTGACCTTTGGAGCCGCGACCA AGGTGGAAATCAAG3'
	4.5 VL	5'GACATCGTGTGACCCAGAGCCCGGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCG ACAGAGTGACCATGACCTGTAGCGCCAGCAGCAGCGGTCTCTACATGCACT GGTATCAGCAGAGCGCCGCGCAGCCCAAGCGGTGGATCTACGACACCA GCAAGCTGGCCAGCGCGCTGCCCGCAGATTTCCTGGCAGCGGCAGCGCCA CCAGCTACAGCCTGACCATCAGCAGCCTGACAGCCGAGGAGCGCCACCT ACTACTGCCAGCAGTGGTCCAGCAGCCCTGACCTTTGGAGCCGCGACCA AGGTGGAAATCAAG3'
	4.6 VL	5'GACATCGTGTGACCCAGAGCCCGGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCG ACAGAGTGACCATGACCTGTAGCGCCAGCAGCAGCGGTCTCTACATGCACT GGTATCAGCAGAGCGCCGCGCAGTCCCGCAGCGGTGGATCTACGACACCA GCAAGCTGGCCAGCGCGCTGCCCGCAGATTTCCTGGCAGCGGCAGCGCCA CCAGCTACAGCCTGACCATCAGCAGCCTGACAGCCGAGGAGCGCCACCT ACTACTGCCAGCAGTGGTCCAGCAGCCCTGACCTTTGGAGCCGCGACCA AGGTGGAAATCAAG3'
	4.7 VL	5'GACATCCAGCTGACCCAGAGCCCGGCAGCCTGCTGCGAGCGTGGGCG ACAGAGTGACCATGACCTGACGCGCCAGCAGCAGCGGTCTCTACATGCACT GGTATCAGCAGAGCGCCGCGCAGCCCAAGCGGTGGATCTACGACACCA GCAAGCTGGCCAGCGCGCTGCCCGCAGATTTCCTGGCAGCGGCAGCGCCA CCAGCTACAGCCTGACCATCAGCAGCCTGACAGCCGAGGAGCGCCACCT ACTACTGCCAGCAGTGGTCCAGCAGCCCTGACCTTTGGAGCCGCGACCA AGGTGGAAATCAAG3'

【図 28 J】

配列番号	抗体	配列
	53.0 VH	5'GAGGTTTCAGCTGGAGGAGTCAGGGGAGGCTTAGTGAAGCCTGAGGGT CCCTGAAACTCTCTGTGAGCCTCTGGATTTCATCTAGCTATGCCA TGCTCTGGGTCTGCCAGCTCCCGAGAGAGGGTGGATGGGTGCCAACCA TTAGTTCATGGTGGTATTACACTATATCCAGAGAGTGTGAAGGACGAT TCACCTCTTCAGAGACAAAGCCAGAACACCTGTACCTGCRAATGAGCA GTCTGAGGTCTGAGGACACGGCCATGTATTACTGTGCAAGACATCTATCT ACTCTGGTAACTACCGGGATACTTTGACTACTGG GGCCAAAGCACCACTCTCAGACTCTCCTCA3'
	53.0 VL	5'GACATTTGGTTCACCGAGTCTCAGCAATCATGTCTGCATCTCTAGGGG AGAGGTCACCATGAGCTGCGAGGGCAGCTCAGGTGTAAATATATATCT GGTACAGCAGAGAGTCAGTGGCTGCCCCAAAGTATGATTTATTTCACT CCAACTGGCTCTGGAGTCCCAAGTCTGCTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGA ACTCTTATTTCTCACAATCAGCAGCATGAGGGTGAAGATGCTGCCACTT ATTACTGCCAGCAGTTTACTAGTTCCTCCGCTACACCTTCGAGGGGGGACCA AGCTGGAAATATAA3'
	53.1 VH	5'GAGGTGACGCTGCTGGAAGCGGCGAGGACTGGTGCAGCCTGGCGGCA GCTTGAGACTGTCTTGCGCGCCAGCGGCTTCACCTTCACCAAGCTACGCCA TGAGCTGGGTGGCGCAGGCCCTTGCGAAGGAGCTGGAATGGGTGGCGCTGA TCAGCCACGGCGGCACTACACCTTACAGCGGAGCAGGTGAAGGGCGGT TCACCATCAGCGGGGACACCGCCAGAGAACCTGTACTGAGATGAACA GCTTGGCGGCGGAGGACACCGCGCTGTACTACTGGCGCAGACACCCATCT ACAGCGGCAACTACAGGGCTACTTCGACTACTGGGGCAGGGCAACCTGG TGCAGTGTCCAGC3'
	53.1 VL	5'GACATCCAGCTGACCCAGAGCCCGAGCTCTCTGAGCGCAGCTGGGCG ACAGAGTGACCATGACCTGTGCGGCGAGCAGCGGCTGAACTACTTCACT GGTATCAGCAGAGAGCGCGCAGGCCCAAGCTGTGATCTACTTTCACCA GCACCTTCAGAGGGCGGTGCCCGCAGAGATTTCCTGGCAGCGGCAGCGGCA ACGAGTACACCTGACCATCAGCAGCCTGACAGCCGAGGAGCTTGCACACT ACTACTGCCAGCAGTGGTCCAGCAGCCCTGACCTTTGGAGCCGCGACCA AGCTGGAAATCAAG3'

【図 28 K】

配列番号	抗体	配列
	53.2 VH	5'GAGGTGCGAGCTGCTGGAAAGCGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCGGCA GCCTGAGACTGTCTTGCGCGCCAGCGGCTTCACTTCACCAAGCTACGCCA TGAGCTGGGTGGCGCAGGCCCTTGCGAAGGAGCTGGAATGGGTGGCGCAAA TCAGCCACGGCGGCACTACACCTACTACCCGACAGCGTGAAGGGCCGGT TCACCATCAGCGGGGACACCGCAAGAACACCTGTACTCTGCAGATGAACA GCCTGCGGGCCGAGGACACCGCATGTACTACTGCGCCAGACACCCATCT ACAGCGGCAACTACAGGGCTACTTGCAGTACTGGGGCCAGGGCAACCTGG TGACAGTGTCCAGC3'
	53.2 VL	5'GACATCCAGCTGACCCAGAGCCCGAGCTTCGAGAGCGCCAGCGTGGGCG ACAGAGTGACCATGACCTGTGCGCGCCAGCGGCTTCACTTCACCAAGCTACGCCA GGTATCAGCAGAGCGCCGCGCAGGCCCAAGCGTGTGGATCTACTTCACCA GCAACCTGGCCCGCTGGCGTCCCGCAGAGTTTCCTGGCAGCGGCAGCGGCA ACGAGTACACCTGACCATCAGCAGCCTGACAGCCGAGGAGCTTCGCCACCT ACTACTGCCAGCAGTTCACAGCAGCCCTACACCTTCGCGGAGGCAACCA AGCTGGAAATCAAG3'
	53.3 VH	5'GAGGTGCGAGCTGCTGGAAAGCGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCGGCA GCCTGAGACTGTCTTGCGCGCCAGCGGCTTCACTTCACCAAGCTACGCCA TGAGCTGGGTGGCGCAGGCCCTTGCGAAGGAGCTGGAATGGGTGGCGCAAA TCAGCCACGGCGGCACTACACCTACTACCCGACAGCGTGAAGGGCCGGT TCACCATCAGCGGGGACACCGCAAGAACACCTGTACTCTGCAGATGAACA GCCTGCGGGCCGAGGACACCGCATGTACTACTGCGCCAGGCAACCCATCT ACAGCGGCAACTACAGGGCTACTTGCAGTACTGGGGCCAGGGCAACCG TGACCGTGTCTCT3'
	53.3 VL	5'GACATCCAGCTGACCCAGAGCCCGAGCTTCGAGAGCGCCAGCGTGGGCG ACAGAGTGACCATGACCTGTGCGCGCCAGCGGCTTCACTTCACATCTACT GGTATCAGCAGAGCGCCGAGCGCTTCCAGAGCTGTGGATCTACTTCACCA GCACCTTGGCCCTGGCGTCCCGCAGAGATTTCCTGGCAGCGGCAGCGGCA ACAGCTACACCTGACCATCAGCAGCCTGACAGCCGAGGAGCTTGCGCCACT ACTACTGCCAGCAGTTCACAGCAGCCCTACACCTTCGCGGAGGCAACCA AGCTGGAAATCAAG3'

【図 28 L】

配列番号	抗体	配列
	53.4 VH	5'GAGGTGCGAGCTGCTGGAAAGCGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCGGCA GCCTGAGACTGTCTTGCGCGCCAGCGGCTTCACTTCACCAAGCTACGCCA TGAGCTGGGTGGCGCAGGCCCTTGCGAAGGAGCTGGAATGGGTGGCGCAAA TCAGCCACGGCGGCACTACACCTACTACCCGACAGCGTGAAGGGCCGGT TCACCATCAGCGGGGACACCGCAAGAACACCTGTACTCTGCAGATGAACA GCCTGCGGGCCGAGGACACCGCATGTACTACTGCGCCAGACACCCATCT ACAGCGGCAACTACAGGGCTACTTGCAGTACTGGGGCCAGGGCAACCTGG TGACAGTGTCCAGC3'
	53.5 VH	5'GAGGTGCGAGCTGCTGGAAAGCGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCGGCA GCCTGAGACTGTCTTGCGCGCCAGCGGCTTCACTTCACCAAGCTACGCCA TGAGCTGGGTGGCGCAGGCCCTTGCGAAGGAGCTGGAATGGGTGGCGCAAA TCAGCCACGGCGGCACTACACCTACTACCCGACAGCGTGAAGGGCCGGT TCACCATCAGCGGGGACACCGCAAGAACACCTGTACTCTGCAGATGAACA GCCTGCGGGCCGAGGACACCGCATGTACTACTGCGCCAGACACCCATCT ACAGCGGCAACTACAGGGCTACTTGCAGTACTGGGGCCAGGGCAACCTGG TGACAGTGTCCAGC3'
	53.6 VH	5'GAGGTGCGAGCTGCTGGAAAGCGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCGGCA GCCTGAGACTGTCTTGCGCGCCAGCGGCTTCACTTCACCAAGCTACGCCA TGAGCTGGGTGGCGCAGGCCCTTGCGAAGGAGCTGGAATGGGTGGCGCAAA TCAGCCACGGCGGCACTACACCTACTACCCGACAGCGTGAAGGGCCGGT TCACCATCAGCGGGGACACCGCAAGAACACCTGTACTCTGCAGATGAACA GCCTGCGGGCCGAGGACACCGCATGTACTACTGCGCCAGACACCCATCT ACAGCGGCAACTACAGGGCTACTTGCAGTACTGGGGCCAGGGCAACCTGG TGACAGTGTCCAGC3'

【図 28 M】

配列番号	抗体	配列
	53.4 VL	5'GACATCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCTTCCTGAGGCGCAGCGTGGGCG ACAGAGTGACCATCACCTGTCTGGGCGAGCAGCGCGGTGAATCTACTTACT GGTATCAGCAGAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGTGGATCTACTTCAACA GCAACCTGGCCCTTGGCCATGCCAGCAGATTTCTGGCAGCGGCAAGCGCA ACGAGTACACCTTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCT ACTACTGCCAGCAGTTTACACGAGCCCCACCTTCGGCGGAGGCACCA AGCTGGAAATCAAG3'
	53.5 VL	5'GACATCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCTTCCTGAGGCGCAGCGTGGGCG ACAGAGTGACCATCACCTGTCTGGGCGAGCAGCGCGGTGAATCTACTTACT GGTATCAGCAGAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGTGGATCTACTTCAACA GCAACCTGGCCCTTGGCCATGCCAGCAGATTTCTGGCAGCGGCAAGCGCA ACGAGTACACCTTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCT ACTACTGCCAGCAGTTTACACGAGCCCCACCTTCGGCGGAGGCACCA AGCTGGAAATCAAG3'
	53.6 VL	5'GACATCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCTTCCTGAGGCGCAGCGTGGGCG ACAGAGTGACCATCACCTGTCTGGGCGAGCAGCGCGGTGAATCTACTTACT GGTATCAGCAGAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGTGGATCTACTTCAACA GCAACCTGGCCCTTGGCCATGCCAGCAGATTTCTGGCAGCGGCAAGCGCA ACGAGTACACCTTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCT ACTACTGCCAGCAGTTTACACGAGCCCCACCTTCGGCGGAGGCACCA AGCTGGAAATCAAG3'
	53.7 VL	5'GACATCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCTTCCTGAGGCGCAGCGTGGGCG ACAGAGTGACCATCACCTGTCTGGGCGAGCAGCGCGGTGAATCTACTTACT GGTATCAGCAGAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGTGGATCTACTTCAACA GCAACCTGGCCCTTGGCCATGCCAGCAGATTTCTGGCAGCGGCAAGCGCA ACGAGTACACCTTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCT ACTACTGCCAGCAGTTTACACGAGCCCCACCTTCGGCGGAGGCACCA AGCTGGAAATCAAG3'

【図 28 N】

配列番号	抗体	配列
	53.8 VL	5'GACATCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCTTCCTGAGGCGCAGCGTGGGCG ACAGAGTGACCATCACCTGTCTGGGCGAGCAGCGCGGTGAATCTACTTACT GGTATCAGCAGAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGTGGATCTACTTCAACA GCAACCTGGCCCTTGGCCATGCCAGCAGATTTCTGGCAGCGGCAAGCGCA ACGAGTACACCTTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCT ACTACTGCCAGCAGTTTACACGAGCCCCACCTTCGGCGGAGGCACCA AGCTGGAAATCAAG3'
	53.9 VL	5'GACATCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCTTCCTGAGGCGCAGCGTGGGCG ACAGAGTGACCATCACCTGTCTGGGCGAGCAGCGCGGTGAATCTACTTACT GGTATCAGCAGAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGTGGATCTACTTCAACA GCAACCTGGCCCTTGGCCATGCCAGCAGATTTCTGGCAGCGGCAAGCGCA ACGAGTACACCTTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCT ACTACTGCCAGCAGTTTACACGAGCCCCACCTTCGGCGGAGGCACCA AGCTGGAAATCAAG3'

【図 28 O】

配列番号	抗体	配列
	82.0 VH	5'GAAGTGAAGCTGGAAGAGTCCGGCCCTGAGGTGGTGGCCCTGGCGTGT CCGTGAAGATCAGCTGCAAGGGCAGCGGCTACACCTTCACCGACTACGCCA TGCACTGGGTGAAGCAGAGCCAGCCCAAGCCTTGGAAATGGATCGGCGTGA TCAGCACCTACACCGGCAACCAAGTACACCAAGTTCAGAGGCGAAGG CCACATGACCGTGGCAAGAGCAGCAGCAGCCGCTTACATGGAATTCGCGCC GGCTGACCGAGCGAGGACAGCGCCATCTACTACTCGCCCGGTTCTTGAGCC TGCGGTACTTCGATGTGTGGGAGCGGCAACCCGTGACCGTGTCTAGC3 ,
	82.0 VL	5'GACATCTGTGCTGACCCAGAGGCCCGCCATCCTGTCTGCCCCCTGGCG AGAAAGTGACCATCACCTGTCTGGGCGAGCAGCGCGTGAATCTACTTACT GGTATCAGCAGAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCCTTGGATCTACTTCAACA GCAAGCTGCGCAGCGCGCTGCAAGTGGCTTTAGCGGCAAGCGCTCTGGCA CCAGCTACACCTGACCATCAGCCTGGTGGAGCGGAGGACGTGGCCACCT ACTACTGCCAGCAGTGGTCCAGCGAGCCCTGACCTTCGGAGCCGCGACCA AGCTGGAAATCAAG3'
	82.1 VH	5'CAAGGTGAAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAGTGAAGAACTTGGCGCCA GCGTGAAGTGTCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCGACTACGCCA TGCACTGGGTGGCGCAGCGCCCTTGGCGAGAGCTGGAATGGATCGGCTGGA TCAGCACCTACACCGGCAACCAAGTACACCAAGTTCAGAGGCGAAGG CCACATGACCGTGGCAAGAGCGGCCAGCAGCCCTTACATGGAATTCGAGCA GCTTGGCGAGCGAGGACACCGCGTGTACTACTGCGCCGCTTCTTGAGCC TGCGGTACTTCGAGCTGTGGGCAAGGCCACACCCGTGACCGTGTCTAGC3 ,
	82.1 VL	5'GACATCCAGCTGACCCAGAGGCCCGCCATCCTGTGAGCGCCAGCGTGGGCG ACAGAGTGACCATCACCTGTCTGGGCGAGCAGCGCGTGAATCTACTTACT GGTATCAGCAGAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCCTTGGATCTACTTCAACA GCAACCTGGCCCTTGGCCATGCCAGCAGATTTCTGGCAGCGGCAAGCGCA ACGAGTACACCTTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCT ACTACTGCCAGCAGTTTACACGAGCCCCACCTTCGGCGGAGGCACCA AGCTGGAAATCAAG3'

【図 28 P】

配列番号	抗体	配列
	82.2 VH	5'CAAGGTGAAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAGTGAAGAACTTGGCGCCA GCGTGAAGTGTCTGCAAGGGCAGCGGCTACACCTTCACCGACTACGCCA TGCACTGGGTGGCGCAGCGCCCTTGGCGAGAGCTGGAATGGATCGGCGTGA TCAGCACCTACACCGGCAACCAAGTACACCAAGTTCAGAGGCGAAGG CCACATGACCGTGGCAAGAGCGGCCAGCAGCCGCTTACATGGAATTCGAGCA GCTTGGCGAGCGAGGACACCGCCATCTACTACTGCGCCCGGTTCTTGAGCC TGCGGTACTTCGATGTGTGGGAGCGGCAACCCGTGACCGTGTCTAGC3 ,
	82.2 VL	5'GACATCCAGCTGACCCAGAGGCCCGCCATCCTGTGAGCGCCAGCGTGGGCG ACAGAGTGACCATCACCTGTCTGGGCGAGCAGCGCGTGAATCTACTTACT GGTATCAGCAGAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCCTTGGATCTACTTCAACA GCAAGCTGCGCAGCGCGCTGCCAGCAGATTTCTGGCAGCGGCAAGCGCA CCAGTACACCTTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCT ACTACTGCCAGCAGTGGTCCAGCGAGCCCTGACCTTCGGAGCCGCGACCA AGCTGGAAATCAAG3'
	82.3 VH	5'CAAGGTGAAGCTGGTGCAGAGCGGCCCTTGAAGTGAAGTTCAGAGGCGCCA GCGTGAAGTGTCTGCAAGGGCAGCGGCTACACCTTCACCGACTACGCCA TGCACTGGGTGGCGCAGGCCCTTGGCGAGAGCTGGAATGGATCGGCGTGA TCAGCACCTACACCGGCAACCAAGTACACCAAGTTCAGAGGCGAAGG CCACATGACCGTGGCAAGAGCGGCCAGCAGCCGCTTACATGGAATTCGAGCA GCTTGGCGAGCGAGGACACCGCCATCTACTACTGCGCCCGGTTCTTGAGCC TGCGGTACTTCGATGTGTGGGAGCGGCAACCCGTGACCGTGTCTAGC3 ,
	82.3 VL	5'GACATCCAGCTGACCCAGAGGCCCGCCATCCTGTGAGCGCCAGCGTGGGCG ACAGAGTGACCATCACCTGTCTGGGCGAGCAGCGCGTGAATCTACTTACT GGTATCAGCAGAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCCTTGGATCTACTTCAACA GCAAGCTGGCGAGCGCGCTGCCGTGGCTTTAGCGGCTTGGCAGCGGCA CCAGTACACCTTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCT ACTACTGCCAGCAGTGGTCCAGCGAGCCCTGACCTTCGGAGCCGCGACCA AGCTGGAAATCAAG3'

【手続補正書】

【提出日】平成25年12月19日(2013.12.19)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0012

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0012】

したがって、一態様において、CXCR3活性を中和することができる抗体および抗原結合フラグメントが、本明細書において開示される。ある特定の実施形態において、CXCR3中和抗体は、配列番号1の残基1～58、1～16、または1～37から選択されるペプチドに結合する能力を特徴としていてもよい。いくつかの実施形態において、本抗体は、C112、C1135、C182、C153、および／またはC14と表示される抗体クローン(C1)の全部または一部を含む。ある特定の実施形態において、開示された抗体のCDR-グラフト化変異体、ヒト化変異体、復帰突然変異した変異体、および完全ヒト変異体などの、抗体C112、C1135、C182、C153、および／またはC14の変異体が提供される。特定の実施形態において、本抗体は、本明細書で開示されたクローンC112、C1135、C182、C153、および／もしくはC14、またはクローン4、12、53、82、および135の変異体のいずれかからの、1つまたはそれ以上の相補性決定領域(CDR)、例えば、1つまたはそれ以上の重鎖CDR1、CDR2、およびCDR3、ならびに／もしくは1つまたはそれ以上の軽鎖CDR1、CDR2、およびCDR3を含む。いくつかの実施形態において、C112、C1135、C182、C153、および／もしくはC14からの抗体、またはそれらのキメラおよびヒト化バージョンは、抗CXCR3クローン5H7、7H5、V44D7、1C6、および／または49801と比較してある特定の有益な特性を示す。例えば、本明細書で開示された抗体は、抗hCXCR3クローン5H7、7H5、V44D7、1C6、および49801と比較して高い結合親和性を示す可能性がある。例えば、本抗体は、例えば表面プラズモン共鳴(例えば、BIACORE(商標)アッセイを使用)によって測定した場合、1C6のような抗CXCR3抗体よりも1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、またはそれより高い倍率(またはその間のあらゆる値)で優れた親和性を示す可能性がある。また本明細書で開示されたヒト化抗体は、マウス抗hCXCR3クローン5H7、7H5、V44D7、1C6、および49801と比較して、予測された免疫原性の低下も示す。加えて、本明細書で開示された重鎖クローン4.7～4.11は、58位および59位(IMG Tによる番号付けを使用して)における脱アミド部位が除去されるように最適化されており、それによって、最初のマウス抗hCXCR3重鎖可変ドメイン(VH)CDR2配列よりも安定性が強化される。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0020

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0020】

【図1】6週齢の雌NODマウス(第1の列)、10週齢の雌NODマウス(第2の列)、および初発の糖尿病雌NODマウス(第3の列)からの膵臓の切片における、インスリン(左のパネル)、CXCL10(中心のパネル)、およびCD3(右のパネル)の発現を示す図である。

【図2】初発の糖尿病を有する雌NODマウスの膵臓からのT細胞におけるCXCR3発現のフローサイトメトリー分析のグラフである。下の2つのグラフにおいて実線で示されたように、CD4+およびCD8+T細胞を同定し、CXCR3発現に関して染色した。

同じ2つのグラフにおいて、アイソタイプ対照の染色は、影付きの曲線によって示される。

【図3】経時的な非糖尿病雌NODマウスのパーセンテージを示す図であり、PBS、抗CXCR3、および対照IgGでの動物の処置は、糖尿病発病前、10週齢で開始した。図3Aおよび3Bに2つの独立した研究からの結果を示す。

【図4】抗CXCR3抗体で予防的に処置した26週齢の非糖尿病雌NODマウスからの膵臓の切片を示す図であり、上記処置は、10週齢で開始し、染色は、インスリン（左のパネル）またはCD3/Foxp3（中心および右のパネル）に関してなされた。右のパネルは、中心のパネルで示される切片の倍率を高めた画像である。

【図5】PBS、抗CXCR3抗体、対照IgG、およびマウス抗胸腺細胞グロブリン（マウスサイモグロブリン、mATG）抗体で処置した雌NODマウスの1日の早朝血液グルコース値を示す図であり、上記処置は、マウスが糖尿病とみなされてから3～4日以内に開始された。各ラインは、個々のマウスを表す。矢印は、処置がなされた日を表示する。

【図6】Aは、PBS、抗CXCR3抗体、対照IgG、ならびにCD4+（左のグラフ）およびCD8+（右のグラフ）であるmATG抗体で処置した雌NODマウスからのT細胞のパーセンテージを示す棒グラフである。処置の経過中に、5回目の被験物質注入後のマウスから、加えて年齢を適合させたmATG処置マウスから、膵臓を回収した。Bは、PBS、対照抗体、または抗CXCR3抗体で処置したマウスの膵臓からのCD4+T細胞における、CD44発現（縦軸）とCD62L発現（横軸）とのプロットである。G1およびG2は、それぞれ、ゲーティングした高CD44/低CD62Lおよび低CD44/低CD62LのT細胞を指す。Cは、アイソタイプ対照抗体で染色してリンパ球でゲーティングした細胞におけるCXCR3発現と比較した、G1およびG2でのCD4+T細胞におけるCXCR3の発現を示す。

【図7】対照IgG（左のパネル）、抗CXCR3抗体（中心のパネル）、およびmATG（右のパネル）で処置し、インスリン（上の列）またはCD3/Foxp3（下の列）に関して染色した、雌NODマウスからの膵臓の切片を示す図である。

【図8】年齢を適合させた非糖尿病雌NODマウス（図8A）、PBSで処置した糖尿病NODマウス（図8B）、抗CXCR3抗体処置後に疾患が寛解しているNODマウス（図8C）、および対照IgG抗体で処置した糖尿病NODマウス（図8D）におけるグルコース刺激後の血液グルコースレベルのプロットである。グルコース刺激は、最初の糖尿病の診断および研究への登録の100日後におけるマウスに行われた。各ラインは、個々の動物からのデータを表す。

【図9】PBS、抗CXCR3、対照IgG、またはmATG抗体で処置した雌NODマウスから単離したプールしたドナーCD4+およびCD8+T細胞を受け入れたNOD.Scidレシピエントに関する、経時的な非糖尿病マウスのパーセンテージを示す図である。PBSもしくは対照IgGでの処置から約80～90日後に糖尿病雌NODマウスから、または抗CXCR3もしくはmATG抗体での処置から約80～90日間後に疾患が寛解している雌NODマウスから、T細胞を単離した。図9Aおよび9Bに2つの独立した研究からの結果を示す。

【図10】Aは、図9で説明されているように、PBS、抗CXCR3、対照IgG、またはmATG抗体で処置した雌NODマウスから単離したCD4+およびCD8+ドナーT細胞のパーセンテージを示すグラフである（左のパネル）。図10Aの右のパネルに、各処置群に関するCD4+およびCD8+T細胞ドナープールにおけるエフェクターおよびセントラルメモリー細胞（central memory cell）のパーセンテージを示す。Bは、CD4およびCD25の発現またはCD4、CD25、およびFoxp3の発現によって同定された、ドナーT細胞プールにおける制御性T細胞のパーセンテージを示すグラフである。Cは、CXCR3も発現するドナーT細胞プールにおけるCD8+（左のパネル）およびCD4+（右のパネル）のパーセンテージを示すグラフである。

【図 1 1】未処置のままの、または抗 C X C R 3 抗体もしくは対照 I g G で処置した R I P - O V A レシピエントマウスへの、ドナー O V A 特異的 T C R トランスジェニックマウスからの T 細胞の養子免疫伝達 (a d o p t i v e t r a n s f e r) 後の、経時的な非糖尿病マウスのパーセンテージを示すグラフである。図 1 1 A および 1 1 B に 2 つの研究からの結果を示す。

【図 1 2】A は、R I P - O V A レシピエントマウスへの養子免疫伝達前の、フローサイトメトリーによって分析したドナー T 細胞における C X C R 3 発現 (実線の曲線) を示すグラフである。アイソタイプ対照抗体での染色を影付きの曲線で示す。B は、養子免疫伝達後 2、4、7、9、および 15 日目の、抗 C X C R 3 または対照 I g G 抗体で処置したレシピエントマウスの血液、脾臓、および脾リンパ節におけるドナー細胞のパーセンテージを示すグラフである。C は、養子免疫伝達後、抗 C X C R 3 または対照 I g G 抗体で処置したレシピエントマウスの血液、脾臓、および脾リンパ節におけるドナー増殖性細胞のパーセンテージを示すグラフである。D は、養子免疫伝達後、抗 C X C R 3 または対照 I g G 抗体で処置したレシピエントマウスの血液、脾臓、および脾リンパ節における C X C R 3 + ドナー細胞のパーセンテージを示すグラフである。

【図 1 3】処置せずに、インスリン (左上) もしくは C D 3 (右上) に関して染色した、または抗 C X C R 3 抗体で処置し、インスリン (左下) もしくは C D 3 (右下) に関して染色した R I P - O V A レシピエントマウスからの脾臓の切片を示す写真である。脾臓を、ドナー T 細胞の養子免疫伝達から 60 日後に回収した。

【図 1 4】A ~ C は、クローン C 1 4、1 2、5 3、8 2、および 1 3 5 が介在する、C X C L 1 1 に対する C X C R 3 介在走化性の障害のレベルを示すグラフである。データは、走化性アッセイで移動する細胞の平均相対的な蛍光単位 (R F U) として示される。D は、抗体クローン C 1 4、1 2、5 3、および 1 3 5 についてカルシウム動員を 50 % 阻害するのに必要な抗体の濃度を示すグラフである。

【図 1 5】クローン C 1 4、1 2、5 3、8 2、および 1 3 5 が介在する、C X C L 9 (図 1 5 A)、C X C L 1 0 (図 1 5 B)、および C X C L 1 1 (図 1 5 C) に対する C X C R 3 介在走化性の障害のレベルを示すグラフである。データは、走化性アッセイで移動する細胞の平均相対的な蛍光単位 (R F U) として示される。

【図 1 6】様々な異なるケモカイン受容体を発現する細胞への抗体結合のヒストグラムプロットを示すグラフである。各ヒストグラムプロットについて、結合した抗体の濃度は、横軸に沿って増加する。

【図 1 7 A】クローン 4. 0 (「親」と標識) ならびにある特定のヒト化変異体 (V H 1 - 3 および 7 ~ 1 1 および V K 1 - 3 と標識) に関する重鎖 (V H) および軽鎖 (V K) 可変ドメインのアラインメントを示す図である。図 1 7 A は、配列番号 1 8、2 0、2 2、2 4、2 9 ~ 3 3、および 6 5 9 で示される重鎖配列、ならびに配列番号 1 9、2 5、2 1、2 3、および 6 6 0 で示される軽鎖配列を開示するものであり、これらはそれぞれ、アラインメントに記載された順である。

【図 1 7 B】クローン 1 2. 0 (「親」と標識) ならびにある特定のヒト化変異体 (V H 1 - 3 および V K 1 - 3 と標識) に関する重鎖 (V H) および軽鎖 (V K) 可変ドメインのアラインメントを示す図である。図 1 7 B は、配列番号 2、4、6、8、および 6 6 1 で示される重鎖配列、ならびに配列番号 3、5、7、9、および 6 6 2 で示される軽鎖配列を開示するものであり、これらはそれぞれ、アラインメントに記載された順である。

【図 1 7 C】クローン 5 3. 0 (「親」と標識) ならびにある特定のヒト化変異体 (V H 1 - 6 および V K 1 - 9 と標識) に関する重鎖 (V H) および軽鎖 (V K) 可変ドメインのアラインメントを示す図である。図 1 7 C は、配列番号 3 8、4 0、4 2、4 4、4 6 ~ 4 8、および 6 6 3 で示される重鎖配列、ならびに配列番号 3 9、4 1、4 3、4 5、4 9 ~ 5 4、および 6 6 4 で示される軽鎖配列を開示するものであり、これらはそれぞれ、アラインメントに記載された順である。

【図 1 7 D】クローン 8 2. 0 (「親」と標識) ならびにある特定のヒト化変異体 (V H 1 - 3 および V K 1 - 3 と標識) に関する重鎖 (V H) および軽鎖 (V K) 可変ドメイン

のアラインメントを示す図である。図 17 D は、配列番号 55、57、59、61、および 665 で示される重鎖配列、ならびに配列番号 56、58、60、62、および 666 で示される軽鎖配列を開示するものであり、これらはそれぞれ、アラインメントに記載された順である。

【図 17 E】クローン 135.0（「親」と標識）ならびにある特定のヒト化変異体（VH 1-3 および VK 1-3 と標識）に関する重鎖（VH）および軽鎖（VK）可変ドメインのアラインメントを示す図である。図 17 E は、配列番号 10、12、14、16、および 667 で示される重鎖配列、ならびに配列番号 11、13、15、17、および 668 で示される軽鎖配列を開示するものであり、これらはそれぞれ、アラインメントに記載された順である。

【図 17 F】クローン 4.0（「親」と標識）ならびにある特定の 4 D ヒト化変異体（VH 4-6 および VK 4-7 と標識）に関する重鎖（VH）および軽鎖（VK）可変ドメインのアラインメントを示す図である。図 17 F は、配列番号 19、34~37、および 669 で示される軽鎖配列、ならびに配列番号 18、27、28、および 26 で示される重鎖配列を開示するものであり、これらはそれぞれ、アラインメントに記載された順である。

【図 17 G】クローン 53.0（「親」と標識）ならびにある特定の 4 D ヒト化変異体（VH 7-10 および VK 10-13 と標識）に関する重鎖（VH）および軽鎖（VK）可変ドメインのアラインメントを示す図である。図 17 G は、配列番号 38、63~66、および 663 で示される重鎖配列、ならびに配列番号 39、67~70、および 664 で示される軽鎖配列を開示するものであり、これらはそれぞれ、アラインメントに記載された順である。図 17 A~G における各アラインメントの下の配列は、最も近いヒト生殖細胞系の配列を表す。黒い囲みは、CDR ドメインを表示し、影付きの残基は、それに対応する生殖細胞系の残基（図 17 A~E）またはそれに対応する親の残基（図 17 F~G）と配列が異なっており、ここでは IMGT による番号付けと CDR の境界が使用される。

【図 17 H】クローン 4.0、12.0、82.0、および 135、加えて抗体クローン 5H7 および 7H5 に関する重鎖（VH）および軽鎖（VK）可変ドメインのアラインメントを示す図である。図 17 H は、配列番号 18、2、38、55、10、および 670~671 で示される重鎖配列、ならびに配列番号 19、3、39、56、11、および 672~673 で示される軽鎖配列を開示するものであり、これらはそれぞれ、アラインメントに記載された順である。黒枠は、CDR ドメインを表示し、影付きの残基は、アラインメント中の前の配列と配列が異なっており、IMGT による番号付けが使用されている。

【図 18】抗体クローン 4、12、53、82、および 135 に関する最小限のエピトープ残基の境界を示す図である。結合活性に重要な残基は、X で表示される。図 18 は配列番号 81 を開示するものである。

【図 19】キメラクローン 4、12、53、82、および 135、加えてヒト化変異体 Hu1、Hu2、Hu3 に関する、ヒト CXCR3 でトランスフェクションした 300.19 細胞における抗体結合を示すヒストグラムプロットである。抗体を $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ （黒のライン）、 $0.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ （暗い灰色のライン）、もしくは $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ （黒の点線）で投与し、または $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ の二次抗体を単独（塗り潰された灰色のヒストグラム）で投与し、データを、蛍光の最大パーセンテージに対する細胞数（横軸）としてプロットする。

【図 20】クローン 4、12、53、82、および 135、または市販のクローン 1C6 の $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ のキメラ（Chim）またはヒト化（Hu1、Hu2 または Hu3）抗体変異体の存在下または非存在下で、CXCL9（図 20 A）、CXCL10（図 20 B）、および CXCL11（図 20 C）へのヒト CXCR3 でトランスフェクションした細胞の移動（縦軸）の阻害パーセンテージを示すグラフである。

【図 21】クローン 4、12、53、82、および 135 および市販のクローン 1C6 のキメラ（Chim）およびヒト化（Hu1、Hu2 または Hu3）抗体変異体の、ヒト C

XCR3-Gq i 4 q i 4でトランスフェクションしたCHO細胞におけるカルシウム動員を阻害する能力を示すプロットである。抗体濃度（横軸）は、最大の阻害のパーセント（縦軸）に対してプロットされる。

【図22】NOD-scid IL2ry^{nu/l} (NSG) マウスにおける、CD3+/CD4+T細胞（図22A）、CD3+/CD8+T細胞（図22B）、CXCR3+/CD3+/CD4+T細胞（図22C）、およびCXCR3+/CD3+/CD8+T細胞（図22D）のパーセンテージに対する抗CXCR3抗体処置の作用を示すグラフである。HuIgG1は、ヒトIgG1（ハーセプチン）を表示し、クローン4、12、53、82、および135は、キメラ抗体クローンを指す。

【図23A】重鎖および軽鎖クローン12.0に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図23B】重鎖および軽鎖クローン12.1に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図23C】重鎖および軽鎖クローン12.2に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図23D】重鎖および軽鎖クローン12.3に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図24A】重鎖および軽鎖クローン135.0に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図24B】重鎖および軽鎖クローン135.1に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図24C】重鎖および軽鎖クローン135.2に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図24D】重鎖および軽鎖クローン135.3に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図25A】重鎖および軽鎖クローン4.0に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図25B】重鎖および軽鎖クローン4.1に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図25C】重鎖および軽鎖クローン4.2に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図25D】重鎖および軽鎖クローン4.3に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図25E】重鎖クローン4.4に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図25F】重鎖クローン4.5に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図25G】重鎖クローン4.6に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図25H】重鎖クローン4.7に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図25I】重鎖クローン4.8に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図25J】重鎖クローン4.9に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図25K】重鎖クローン4.10に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図25L】重鎖クローン4.11に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図25M】軽鎖クローン4.4に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図25N】軽鎖クローン4.5に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図25O】軽鎖クローン4.6に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図25P】軽鎖クローン4.7に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図26A】重鎖および軽鎖クローン53.0に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図26B】重鎖および軽鎖クローン53.1に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図26C】重鎖および軽鎖クローン53.2に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図26D】重鎖および軽鎖クローン53.3に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図26E】重鎖クローン53.4に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図26F】重鎖クローン53.5に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図26G】重鎖クローン53.6に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図26H】軽鎖クローン53.4に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図26I】軽鎖クローン53.5に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図26J】軽鎖クローン53.6に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図26K】軽鎖クローン53.7に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図26L】軽鎖クローン53.8に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図26M】軽鎖クローン53.9に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図26N】重鎖クローン53.7に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図26O】重鎖クローン53.8に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図26P】重鎖クローン53.9に関するアミノ酸配列を表す図である。

【図26Q】重鎖クローン53.10に関するアミノ酸配列を表す図である。

- 【図 2 6 R】軽鎖クローン 5 3 . 1 0 に関するアミノ酸配列を表す図である。
- 【図 2 6 S】軽鎖クローン 5 3 . 1 1 に関するアミノ酸配列を表す図である。
- 【図 2 6 T】軽鎖クローン 5 3 . 1 2 に関するアミノ酸配列を表す図である。
- 【図 2 6 U】軽鎖クローン 5 3 . 1 3 に関するアミノ酸配列を表す図である。
- 【図 2 7 A】重鎖および軽鎖クローン 8 2 . 0 に関するアミノ酸配列を表す図である。
- 【図 2 7 B】重鎖および軽鎖クローン 8 2 . 1 に関するアミノ酸配列を表す図である。
- 【図 2 7 C】重鎖および軽鎖クローン 8 2 . 2 に関するアミノ酸配列を表す図である。
- 【図 2 7 D】重鎖および軽鎖クローン 8 2 . 3 に関するアミノ酸配列を表す図である。
- 【図 2 8 A】図 2 8 A～P は、重鎖クローン 1 2 . 0～1 2 . 3 および軽鎖クローン 1 2 . 0～1 2 . 3、重鎖クローン 1 3 5 . 0～1 3 5 . 3 および軽鎖クローン 1 3 5 . 0～1 3 5 . 3、重鎖クローン 4 . 0～4 . 1 1 および軽鎖クローン 4 . 0～4 . 7、重鎖クローン 5 3 . 0～5 3 . 6 および軽鎖クローン 5 3 . 0～5 3 . 9、ならびに重鎖クローン 8 2 . 0～8 2 . 3 および軽鎖クローン 8 2 . 0～8 2 . 3 に関する核酸配列を示す。
- 【図 2 8 B】図 2 8 A の続き。
- 【図 2 8 C】図 2 8 B の続き。
- 【図 2 8 D】図 2 8 C の続き。
- 【図 2 8 E】図 2 8 D の続き。
- 【図 2 8 F】図 2 8 E の続き。
- 【図 2 8 G】図 2 8 F の続き。
- 【図 2 8 H】図 2 8 G の続き。
- 【図 2 8 I】図 2 8 H の続き。
- 【図 2 8 J】図 2 8 I の続き。
- 【図 2 8 K】図 2 8 J の続き。
- 【図 2 8 L】図 2 8 K の続き。
- 【図 2 8 M】図 2 8 L の続き。
- 【図 2 8 N】図 2 8 M の続き。
- 【図 2 8 O】図 2 8 N の続き。
- 【図 2 8 P】図 2 8 O の続き。
- 【手続補正 3】
- 【補正対象書類名】明細書
- 【補正対象項目名】0 0 5 3
- 【補正方法】変更
- 【補正の内容】
- 【0 0 5 3】

【表 2】

クローン	抗体	重鎖	VH 配列番号	軽鎖	VK 配列番号
クローン 4	4Ch	VH	18	VK	19
クローン 4	4Hu1	VH1	20	VK1	21
クローン 4	4Hu2	VH2	22	VK2	23
クローン 4	4Hu3	VH3	24	VK3	25
クローン 4	4Hu4	VH2	22	VK3	25
クローン 4	4Hu5	VH3	24	VK2	23
クローン 4	4Hu6	VH4	26	VK4	34
クローン 4	4Hu7	VH4	26	VK7	37
クローン 4	4Hu8	VH5	27	VK5	35
クローン 4	4Hu9	VH5	27	VK6	36
クローン 4	4Hu10	VH6	28	VK4	34
クローン 4	4Hu11	VH2	22	VK1	21
クローン 4	4Hu12	VH1	20	VK2	23
クローン 4	4Hu13	VH3	24	VK1	21
クローン 4	4Hu14	VH1	20	VK3	25
クローン 4	4Hu15	VH7	29	VK2	23
クローン 4	4Hu16	VH8	30	VK2	23
クローン 4	4Hu17	VH9	31	VK2	23
クローン 4	4Hu18	VH10	32	VK2	23
クローン 4	4Hu19	VH11	33	VK2	23
クローン 12	12Ch	VH	2	VK	3
クローン 12	12Hu1	VH1	4	VK1	5
クローン 12	12Hu2	VH2	6	VK2	7
クローン 12	12Hu3	VH3	8	VK3	9
クローン 82	82Ch	VH	55	VK	56
クローン 82	82Hu1	VH1	57	VK1	58
クローン 82	82Hu2	VH2	59	VK2	60
クローン 82	82Hu3	VH3	61	VK3	62
クローン 135	135Ch	VH	10	VK	11
クローン 135	135Hu1	VH1	12	VK1	13
クローン 135	135Hu2	VH2	14	VK2	15
クローン 135	135Hu3	VH3	16	VK3	17
クローン 53	53Ch	VH	38	VK	39

【手続補正 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0054

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0054】

【表3】

クローン 53	53Hu1	VH1	40	VK1	41
クローン 53	53Hu2	VH2	42	VK2	43
クローン 53	53Hu3	VH3	44	VK3	45
クローン 53	53Hu4	VH1	40	VK2	43
クローン 53	53Hu5	VH2	42	VK1	41
クローン 53	53Hu6	VH2	42	VK4	49
クローン 53	53Hu7	VH2	42	VK5	50
クローン 53	53Hu8	VH2	42	VK6	51
クローン 53	53Hu9	VH2	42	VK7	52
クローン 53	53Hu10	VH2	42	VK8	53
クローン 53	53Hu11	VH2	42	VK9	54
クローン 53	53Hu12	VH4	46	VK2	43
クローン 53	53Hu13	VH5	47	VK2	43
クローン 53	53Hu14	VH6	48	VK2	43
クローン 53	53Hu15	VH1	40	VK4	49
クローン 53	53Hu16	VH1	40	VK6	51
クローン 53	53Hu17	VH6	48	VK4	49
クローン 53	53Hu18	VH6	48	VK6	51
クローン 53	53Hu19	VH7	63	VK10	67
クローン 53	53Hu20	VH7	63	VK11	68

表2

【手続補正5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0063

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0063】

本明細書で開示された単離されたCXCR3抗体は、CXCR3の特異的なエピトープと結合するものを包含し得る。例えば、本発明で使用するための抗体は、配列番号1の残基1～58、1～16、または1～37から選択される配列の全部または一部（例えば、少なくとも5、6、8、10、12、14、15、16、18、または20残基のフラグメント）を含むペプチドと結合してもよい。いくつかの実施形態において、本明細書で開示された抗体は、図18で同定されたエピトープのうち1つまたはそれ以上と結合するものを包含する。いくつかの実施形態において、抗CXCR3抗体は、SDHQVLNDAE（配列番号71）を含むCXCR3エピトープに結合する抗体を含んでもよい。いくつかの実施形態において、エピトープは、SDHQVLND（配列番号72）、DHQVLND（配列番号73）、および／またはVLNDAE（配列番号74）を含む。ある特定の実施形態において、エピトープは、配列VLND（配列番号75）を含む。いくつ

かの実施形態において、エピトープは、X D X X V X N D X X（配列番号76）を含み、ここでXは、任意のアミノ酸を示す。いくつかの実施形態において、エピトープは、X D X X V X N D（配列番号77）、D X X V X N D（配列番号78）、および／またはV X N D X X（配列番号79）を含み、ここでXは、任意のアミノ酸を示す。ある特定の実施形態において、エピトープは、配列V X N D（配列番号80）を含み、ここでXは、任意のアミノ酸を示す。

【手続補正6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0127

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0127】

〔実施例1〕

材料および方法

免疫原の生成。CHO細胞を全長ヒトCXCR3をコードするDNAで形質転換して、CXCR3を細胞表面上に発現させた（「r-CXCR3-CHO細胞」）。細胞を形質転換するのに使用されるCXCR3配列を得て、CXCR3のオープンリーディングフレームを発現ベクターpcDNA3.1neo-DESTに入れ、次いで300-19細胞（免疫原）にトランスフェクションした。アミノ酸配列、MVLVSDHQVLNDAEVAALLLENFSSSYDYGENESDSC（配列番号81）を有するCXCR3細胞外ドメイン（ECDメイン）のN末端ペプチドフラグメントをC末端のシステインを介してKLHにコンジュゲートし、これを免疫原として使用した。CXCR3を発現する細胞を、37℃で、5%CO₂下で、10%の透析したウシ胎児血清（FBS）（Invitrogen）が補充されたRPMI（Invitrogen、Carlsbad、Calif.）中で維持した。上記の培地を5mMのEDTAが補充されたリン酸緩衝（Ca/Mg非含有）塩類溶液（CMF-PBS）で交換して、その緩衝液中で細胞を回収することにより注入用の細胞を調製した。回収した細胞を500×gで約5分の遠心分離によってペレット化し、ペレットをCMF-PBS中に再懸濁して前と同様にして遠心分離することにより1回洗浄し、細胞ペレットをCMF-PBSに再懸濁することにより、注入に適切な体積（例えば0.2ml中に5×10⁶細胞）に計数して調節した。

【手続補正7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0139

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0139】

Biacoreの全受容体アッセイ。C末端に6×His（配列番号82）とHPC4タグとを有する全長ヒトCXCR3受容体タンパク質をバキュロウイルスベクターを有する昆虫Sf9細胞で発現させた。次いで受容体タンパク質をNi-NTAおよびHPC4親和性精製により精製した。最終産物の緩衝液を、10mMのHEPES、300mMのNaCl、0.5%n-ドデシルβ-D-マルトピラノシド、および5%グリセロールに交換した。受容体タンパク質をNi-キレート化によりNTAチップに捕捉し、0.1MのN-ヒドロキシスクシンイミド（NHS）および0.4MのN-エチル-N'-（3-ジメチルアミノプロピル）カルボジイミド塩酸塩（EDC）の1:1混合物の1:10の希釈混合物を使用したアミンカップリングによってさらに安定化した。20nMのhCXCL10およびhCXCL11リガンドを注入することにより、安定化した受容体表面をリガンド結合活性に関して試験した。動態分析のために、ヒトCXCR3リガンド（hCXCL9、hCXCL10、およびhCXCL11）を、HBS-EP+で20、10、5、2.5、1.25、0.6125、0.3125、および0nMの濃度に希釈した。抗CXCR3抗体を、HBS-EP+で80、40、20、10、5、2.5、1.25

、および 0 nM の濃度に希釈した。分析物を 50 μ l / 分の流速で 5 分注入し、結合を測定し、次いで HBS-E P+ で 50 μ l / 分の流速で 10 分洗浄し、解離を測定した。アッセイサイクル間で 10 mM のグリシン-HCl、pH 1.7 を 50 μ l / 分で 1 分使用して、受容体表面を再生した。Biacore T100 カイネティクス・エバリュエーション・ソフトウェア v2.0 (GE Healthcare) で分析を行った。センサーグラムを、1 : 1 の結合モデルと参照フローセルおよび 0 nM 濃度の差分 (二重参照差分) とにフィッティングした。

【手続補正 8】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0166

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0166】

【表 6】

表 5

配列 番号	配列	配列 番号	配列
83	AVLEVSDHQVLNDAEV	91	MVLEVSDHAVLNDAEV
84	MALEVSDHQVLNDAEV	92	MVLEVSDHQALNDAEV
85	MVAEVSDHQVLNDAEV	93	MVLEVSDHQVANDAEV
86	MVLAVSDHQVLNDAEV	94	MVLEVSDHQVLADAEV
87	MVLEASDHQVLNDAEV	95	MVLEVSDHQVLNAAEV
88	MVLEVADHQVLNDAEV	96	MVLEVSDHQVLNDAEV (野生型)
89	MVLEVSAHQVLNDAEV	97	MVLEVSDHQVLNDAEV
90	MVLEVSDAQVLNDAEV	98	MVLEVSDHQVLNDAEA

【手続補正 9】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0168

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0168】

【表 7】

表 6 (配列番号 99～114、それぞれ記載順)

配列	α-hCXCR3 mAb クローン				
	4	12	53	82	135
ビオチン-AVLEVSDHQVLNDAEV	+++	+++	+++	+++	+++
ビオチン-MALEVSDHQVLNDAEV	+++	+++	+++	+++	+++
ビオチン-MVAEVSDHQVLNDAEV	+++	+++	+++	+++	+++
ビオチン-MVLAVSDHQVLNDAEV	+++	+++	+++	+++	+++
ビオチン-MVLEASDHQVLNDAEV	+++ *	+++ *	+++	+++	+++
ビオチン-MVLEVADHQVLNDAEV	+++	+	+++	+++	+++
ビオチン-MVLEVSAHQVLNDAEV	-	+	+	+++	+
ビオチン-MVLEVSDAQVLNDAEV	+++ *	+	+++	+++	+++ *
ビオチン-MVLEVSDHAVLNDAEV	+++	+++	+++	+++ *	+++
ビオチン-MVLEVSDHQALNDAEV	-	++ *	+ *	++ *	+ *
ビオチン-MVLEVSDHQVANDAEV	+ *	+++	+++	+++	++
ビオチン-MVLEVSDHQVLADAEV	+ *	+++	+++	-	++ *
ビオチン-MVLEVSDHQVLNAAEV	-	++	-	-	-
ビオチン-MVLEVSDHQVLNDAEV	+++	+++	+++	+++	+++
ビオチン-MVLEVSDHQVLNDAAV	+++ *	+++	+++	++ *	+++ *
ビオチン-MVLEVSDHQVLNDAEA	+++	+++	+++	+++	+++

【手続補正 10】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

CXCR3 に結合することができる抗体または抗原結合フラグメントにおいて、
 該抗体または抗原結合フラグメントは、

6 つの相補性決定領域 (CDR) : 重鎖可変ドメイン (VH) CDR1、VH CDR2、
 VH CDR3、軽鎖可変ドメイン (VL) CDR1、VL CDR2、および VL
 CDR3 を含む：

VH CDR1 は：

G I S F N D A A (配列番号 116)、
 G F T F T S Y A (配列番号 172)、
 G F T F S N Y A (配列番号 228)、
 G F T F T S Y A (配列番号 368)、および
 G Y T F T D Y A (配列番号 543)

からなる群から選択され、

VH CDR2 は：

I R S K I N D Y G T (配列番号 118)、
 I S H G G S Y T (配列番号 174)、
 I S N G G S Y T (配列番号 230)、
 I S H G G T Y T (配列番号 370)、および
 I S T Y N G N T (配列番号 545)

からなる群から選択され、

VH CDR3 は：

V I D G Y G S L A Y (配列番号 120)、

ARHPFYSGNYQGYFDY（配列番号176）、
 SRPSERSHYATSQFAY（配列番号232）、
 ARHPIYSGNYQGYFDY（配列番号372）、および
 ARFLSLRYFDV（配列番号547）

からなる群から選択され、

VL CDR1は：

SSVISSY（配列番号123）、
 SGVNY（配列番号179）、
 SSVSY（配列番号235）、
 SGVNY（配列番号375）、および
 SSVIY（配列番号550）

からなる群から選択され、

VL CDR2は：

STS（配列番号125）、
 FTS（配列番号181）、
 DTS（配列番号237）、
 FTS（配列番号377）、および
 ATS（配列番号552）

からなる群から選択され、

および

VL CDR3は：

QQYSGYPLT（配列番号127）、
 QQFTSSPYT（配列番号183）、
 QQWSSSPLT（配列番号239）、
 QQFTSSPYT（配列番号379）、および
 QQWSSEPLT（配列番号554）

からなる群から選択される、前記抗体または抗原結合フラグメント。

【請求項2】

キメラであり、CDRグラフト化され、突然変異し、1つまたはそれ以上の脱アミド部位が除去されるように突然変異し、ヒトであり、ヒト化され、ヒト化され復帰突然変異し、合成であり、または組換えである、請求項1に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項3】

Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、単鎖Fv(scFv)、ダイアボディ(Fd)、線状抗体、ナノボディ(VHH)、二重特異性抗体、または多重特異性抗体である、請求項1または2に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項4】

- a) 配列番号1の残基1～58を含むペプチド；
- b) 配列番号1の残基1～16を含むペプチド；および
- c) 配列番号1の残基1～37を含むペプチド

からなる群から選択されるペプチドを含むポリペプチドに結合することができる、請求項1～3のいずれか1項に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項5】

- a) アミノ酸配列SDHQVLNDAE（配列番号71）を含むペプチド；
- b) アミノ酸配列SDHQVLND（配列番号72）を含むペプチド；
- c) アミノ酸配列DHQVLND（配列番号73）を含むペプチド；
- d) アミノ酸配列VLNDAE（配列番号74）を含むペプチド；
- e) アミノ酸配列VLND（配列番号75）を含むペプチド；
- f) アミノ酸配列DXXXVXNDXX（配列番号76）を含むペプチド；
- g) アミノ酸配列DXXXVXND（配列番号77）を含むペプチド；
- h) アミノ酸配列DXXVXND（配列番号78）を含むペプチド；

i) アミノ酸配列 V X N D X X (配列番号 79) を含むペプチド ;
および

j) アミノ酸配列 V X N D (配列番号 80) を含むペプチド
(ここで X は、任意のアミノ酸を示す)

からなる群から選択されるペプチドを含むポリペプチドに結合することができる、請求項 1～4 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 6】

重鎖可変領域を含み、

該重鎖可変領域は、配列番号 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26～33、38、40、42、44、46～48、63～66、55、57、59、および 61 からなる群から選択される配列に少なくとも約 85%、90%、95%、または 99% 同一な配列を含む、請求項 1～5 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 7】

軽鎖可変領域を含み、

該軽鎖可変領域は、配列番号 3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、34～37、39、41、43、45、49～54、67～70、56、58、60、および 62 からなる群から選択される配列に少なくとも約 85%、90%、95%、または 99% 同一な配列を含む、

請求項 1～6 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 8】

重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含み、

該重鎖可変領域は、配列番号 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26～33、38、40、42、44、46～48、63～66、55、57、59、および 61 からなる群から選択される配列に少なくとも約 85%、90%、95%、または 99% 同一な配列を含み；かつ該軽鎖可変領域は、配列番号 3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、34～37、39、41、43、45、49～54、67～70、56、58、60、および 62 からなる群から選択される配列に少なくとも約 85%、90%、95%、または 99% 同一な配列を含む、請求項 1～7 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 9】

重鎖可変領域は、配列番号 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26～33、38、40、42、44、46～48、63～66、55、57、59、および 61 からなる群から選択される配列を含み；

かつ軽鎖可変領域は、配列番号 3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、34～37、39、41、43、45、49～54、67～70、56、58、60、および 62 からなる群から選択される配列を含む、請求項 1～8 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 10】

クローン 12 の V H C D R セット：配列番号 116、配列番号 118、および配列番号 120；

クローン 12 の V L C D R セット：配列番号 123、配列番号 125、および配列番号 127；

クローン 135 の V H C D R セット：配列番号 172、配列番号 174、および配列番号 176；

クローン 135 の V L C D R セット：配列番号 179、配列番号 181、および配列番号 183；

クローン 4 の V H C D R セット：配列番号 228、配列番号 230、および配列番号 232；

クローン 4 の V L C D R セット：配列番号 235、配列番号 237、および配列番号

2 3 9 ;

クローン 5 3 の V H C D R セット : 配列番号 3 6 8、配列番号 3 7 0、および配列番号 3 7 2 ;

クローン 5 3 の V L C D R セット : 配列番号 3 7 5、配列番号 3 7 7、および配列番号 3 7 9 ;

クローン 8 2 の V H C D R セット : 配列番号 5 4 3、配列番号 5 4 5、および配列番号 5 4 7 ; ならびに

クローン 8 2 の V L C D R セット : 配列番号 5 5 0、配列番号 5 5 2、および配列番号 5 5 4

からなる可変ドメイン C D R のセットからなる群から選択される 3 つの C D R を含む、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 1 1】

クローン 1 2 の V H C D R セットおよびクローン 1 2 の V L C D R セット ;

クローン 1 3 5 の V H C D R セットおよびクローン 1 3 5 の V L C D R セット ;

クローン 4 の V H C D R セットおよびクローン 4 の V L C D R セット ;

クローン 5 3 の V H C D R セットおよびクローン 5 3 の V L C D R セット ; ならびに

クローン 8 2 の V H C D R セットおよびクローン 8 2 の V L C D R セット

からなる群から選択される 2 つの可変ドメイン C D R セットを含む、請求項 1 0 に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 1 2】

C X C R 3 に結合することができる抗体または抗原結合フラグメントにおいて、該抗体またはフラグメントは、重鎖可変領域 (V H) および軽鎖可変領域 (V L) を含み ;

該重鎖可変領域は、配列番号 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26 ~ 33、38、40、42、44、46 ~ 48、63 ~ 66、55、57、59、および 61 からなる群から選択される配列に少なくとも約 85 %、90 %、95 %、または 99 % 同一な配列を含み ;

かつ該軽鎖可変領域は、配列番号 3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、34 ~ 37、39、41、43、45、49 ~ 54、67 ~ 70、56、58、60、および 62 からなる群から選択される配列に少なくとも約 85 %、90 %、95 %、または 99 % 同一な配列を含む、前記抗体またはフラグメント。

【請求項 1 3】

重鎖可変領域は、配列番号 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26 ~ 33、38、40、42、44、46 ~ 48、63 ~ 66、55、57、59、および 61 からなる群から選択される配列と比べて 1 ~ 10 のアミノ酸残基の置換を有する配列を含み ;

かつ軽鎖可変領域は、配列番号 3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、34 ~ 37、39、41、43、45、49 ~ 54、67 ~ 70、56、58、60、および 62 からなる群から選択される配列と比べて 1 ~ 10 のアミノ酸残基の置換を有する配列を含む、請求項 1 2 に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 1 4】

重鎖可変領域は、配列番号 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26 ~ 33、38、40、42、44、46 ~ 48、63 ~ 66、55、57、59、および 61 からなる群から選択される配列を含み ; かつ軽鎖可変領域は、配列番号 3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、34 ~ 37、39、41、43、45、49 ~ 54、67 ~ 70、56、58、60、および 62 からなる群から選択される配列を含む、請求項 1 2 または 1 3 に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 1 5】

配列番号 1 8 および 1 9 ; 配列番号 2 0 および 2 1 ; 配列番号 2 2 および 2 3 ; 配列番号

号 2 4 および 2 5 ; 配列番号 2 2 および 2 5 ; 配列番号 2 4 および 2 3 ; 配列番号 2 6 および 3 4 ; 配列番号 2 6 および 3 7 ; 配列番号 2 7 および 3 5 ; 配列番号 2 7 および 3 6 ; 配列番号 2 8 および 3 4 ; 配列番号 2 2 および 2 1 ; 配列番号 2 0 および 2 3 ; 配列番号 2 4 および 2 1 ; 配列番号 2 0 および 2 5 ; 配列番号 2 9 および 2 3 ; 配列番号 3 0 および 2 3 ; 配列番号 3 1 および 2 3 ; 配列番号 3 2 および 2 3 ; 配列番号 3 3 および 2 3 ; 配列番号 2 および 3 ; 配列番号 4 および 5 ; 配列番号 6 および 7 ; 配列番号 8 および 9 ; 配列番号 5 5 および 5 6 ; 配列番号 5 7 および 5 8 ; 配列番号 5 9 および 6 0 ; 配列番号 6 1 および 6 2 ; 配列番号 1 0 および 1 1 ; 配列番号 1 2 および 1 3 ; 配列番号 1 4 および 1 5 ; 配列番号 1 6 および 1 7 ; 配列番号 3 8 および 3 9 ; 配列番号 4 0 および 4 1 ; 配列番号 4 2 および 4 3 ; 配列番号 4 4 および 4 5 ; 配列番号 4 0 および 4 3 ; 配列番号 4 2 および 4 1 ; 配列番号 4 2 および 4 9 ; 配列番号 4 2 および 5 0 ; 配列番号 4 2 および 5 1 ; 配列番号 4 2 および 5 2 ; 配列番号 4 2 および 5 3 ; 配列番号 4 2 および 5 4 ; 配列番号 4 6 および 4 3 ; 配列番号 4 7 および 4 3 ; 配列番号 4 8 および 4 3 ; 配列番号 4 0 および 4 9 ; 配列番号 4 0 および 5 1 ; 配列番号 4 8 および 4 9 ; 配列番号 4 8 および 5 1 ; 配列番号 6 3 および 6 7 ; 配列番号 6 3 および 6 8 からなる群から選択される重鎖および軽鎖可変領域の組み合わせを含む、請求項 1 ~ 1 4 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 1 6】

抗体は、少なくとも約 10^8 M^{-1} の親和定数で C X C R 3 に結合することができる、請求項 1 ~ 1 5 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 1 7】

C X C R 3 の A および B アイソフォームの両方に結合することができる、請求項 1 ~ 1 6 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 1 8】

C X C R 3 の A - アイソフォームに優先的に結合することができる、請求項 1 ~ 1 7 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 1 9】

C X C R 3 活性を中和することができる、請求項 1 ~ 1 8 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 2 0】

請求項 1 ~ 1 9 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメントのアミノ酸配列をコードする単離された核酸。

【請求項 2 1】

請求項 2 0 に記載の単離された核酸を含むベクター。

【請求項 2 2】

請求項 2 1 に記載のベクターを含む単離された宿主細胞。

【請求項 2 3】

請求項 1 ~ 1 9 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメントを産生する方法において、該抗体またはフラグメントを産生するのに適した条件下で、培地中で請求項 2 2 に記載の宿主細胞を培養することを含む、前記方法。

【請求項 2 4】

請求項 1 ~ 1 9 のいずれか 1 項に記載の抗体もしくはフラグメントまたは請求項 2 0 に記載の核酸と、該抗体もしくはフラグメントを調査、診断、または治療目的で使用するための説明書とを含むキット。

【請求項 2 5】

初発の 1 型糖尿病 (T 1 D) を防止し、処置し、またはその進行を低減する方法において：

- a) T 1 D を発症するリスクがある、または初発の T 1 D を有する対象を特定すること ; および
- b) 対象に、有効量の請求項 1 ~ 1 9 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメント

を投与すること
を含む、前記方法。

【請求項 26】

対象は、哺乳動物である、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 27】

対象は、ヒトである、請求項 25 または 26 に記載の方法。

【請求項 28】

対象は、約 0.2 nmol/L より高いかまたはそれに等しい基底の血清 C-ペプチドレベルを有し、かつ／または対象は、C-ペプチド刺激の間、約 $0.033 \sim 1.0 \text{ nmol/L}$ × 分の合計の空腹時血清 C-ペプチドレベルを有する、請求項 25 ～ 27 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 29】

対象は、外因性インスリンの非存在下で約 120 mg/dL より高い空腹時血液グルコースレベルを有する、請求項 25 ～ 28 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 30】

抗体またはそのフラグメントは、ヒト化されている、請求項 25 ～ 29 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 31】

抗体またはそのフラグメントは、約 $0.03 \sim 3.7 \text{ mg/kg}$ / 用量の用量で投与される、請求項 25 ～ 30 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 32】

抗体またはそのフラグメントは、1 日 1 回、週 1 回、2 週に 1 回、月 1 回、2 か月に 1 回、年 4 回、または年 1 回投与される、請求項 25 ～ 31 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 33】

抗体またはそのフラグメントは、全ての投与に対する用量の合計が約 $0.16 \sim 18 \text{ mg/kg}$ で投与される、請求項 25 ～ 32 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 34】

抗体またはそのフラグメントは、静脈内、腹腔内、経鼻、経眼、経口、非経口、皮下、または経皮で投与される、請求項 25 ～ 33 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 35】

抗体またはそのフラグメントは、膵臓に直接投与される、請求項 25 ～ 34 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 36】

抗体またはそのフラグメントは、膵臓中の膵島細胞の近傍に投与される、請求項 35 に記載の方法。

【請求項 37】

β 細胞刺激因子、インスリン、またはインスリン産生細胞を投与することをさらに含む、請求項 25 ～ 36 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 38】

免疫抑制剤を投与することをさらに含む、請求項 25 ～ 37 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 39】

初発の 1 型糖尿病 (T1D) を処置しまたはその進行を低減する方法において：

a) 初発の T1D を有し、約 0.2 nmol/L より高いかまたはそれに等しい基底の血清 C-ペプチドレベルを有し、かつ／または C-ペプチド刺激の間、約 $0.033 \sim 1.0 \text{ nmol/L}$ × 分の合計の空腹時血清 C-ペプチドレベルを有するヒト対象を特定すること；および

b) 約 $0.03 \sim 3.7 \text{ mg/kg}$ / 用量の請求項 1 ～ 19 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメントを投与すること
を含む、前記方法。

【請求項 40】

請求項 1～19 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメントを含む、対象における初発の 1 型糖尿病（T1D）を防止し、処置し、またはその進行を低減するための CXCR3 中和抗体またはそのフラグメント。

【請求項 41】

疾患または障害を処置するための医薬品の製造における、請求項 1～19 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメントから選択される CXCR3 抗体またはそのフラグメントの使用。

【請求項 42】

疾患または障害は、CXCR3 に関連している、請求項 41 に記載の使用。

【請求項 43】

疾患または障害は、初発の 1 型糖尿病（T1D）である、請求項 41 または 42 に記載の使用。

【請求項 44】

請求項 1～19 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメントと、少なくとも 1 種の追加の作用剤を含むコンジュゲート。

【請求項 45】

前記追加の作用剤は、治療剤、可溶化剤、安定剤、免疫抑制剤、受容体、または抗原結合ペプチドである、請求項 44 に記載のコンジュゲート。

【請求項 46】

請求項 1～19 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメント、または請求項 20 に記載の核酸、および薬学的に許容される担体を含む医薬組成物。

【請求項 47】

少なくとも 1 種の追加の治療剤をさらに含む、請求項 46 に記載の医薬組成物。

【請求項 48】

少なくとも 1 種の追加の治療剤は、CXCR3 に関連する疾患または障害を処置するための作用剤を含む、請求項 47 に記載の医薬組成物。

【請求項 49】

少なくとも 1 種の追加の治療剤は、β細胞刺激因子、インスリン、またはインスリン産生細胞を含む、請求項 47 または 48 に記載の医薬組成物。

【請求項 50】

試験サンプル中の CXCR3 の存在または濃度を検出する *in vitro* の方法において、該試験サンプルを、請求項 1～19 のいずれか 1 項に記載の抗体またはフラグメントおよび検出可能な標識と接触させることからなり、CXCR3 の存在または濃度は、検出可能な標識によって生成したシグナルと直接的または間接的に相関する、前記方法。

【請求項 51】

CXCR3 に関連する状態を診断するのに使用される、請求項 50 に記載の方法。

【請求項 52】

状態は、T1D である、請求項 51 に記載の方法。

【手続補正 11】

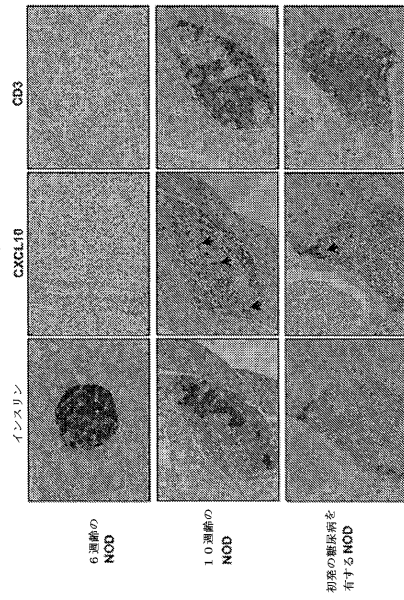
【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】全図

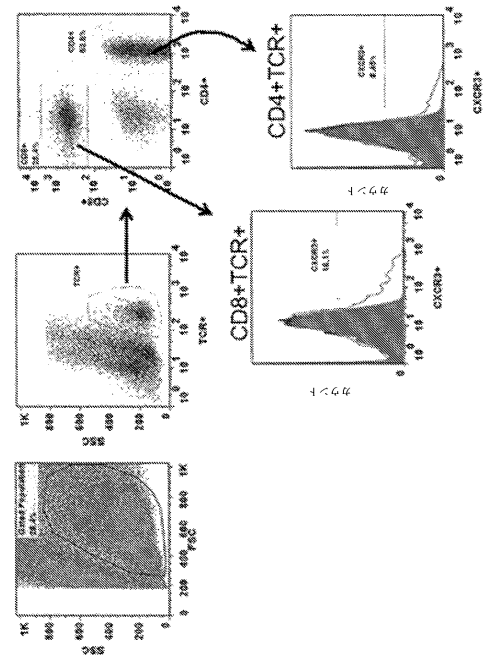
【補正方法】変更

【補正の内容】

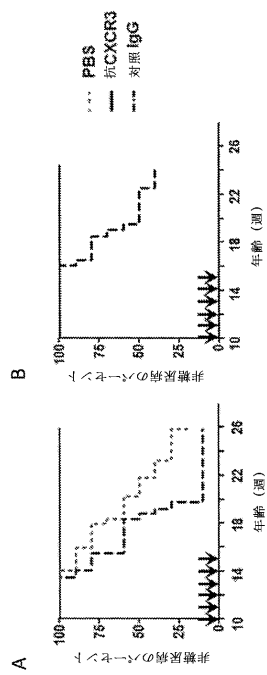
【図 1】



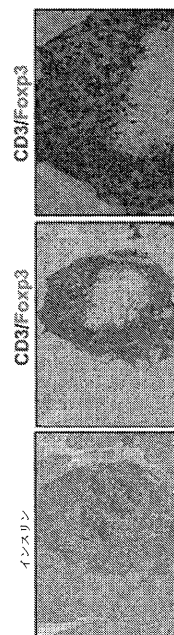
【図 2】



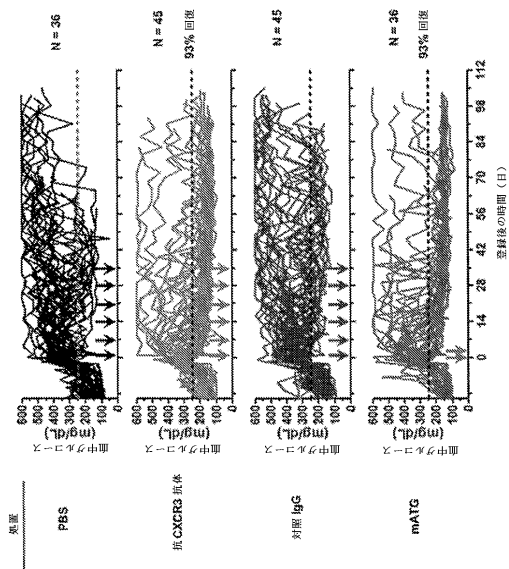
【図 3】



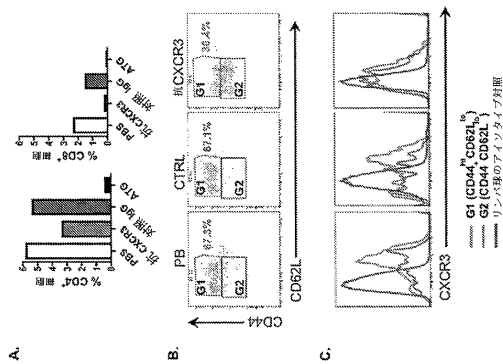
【図 4】



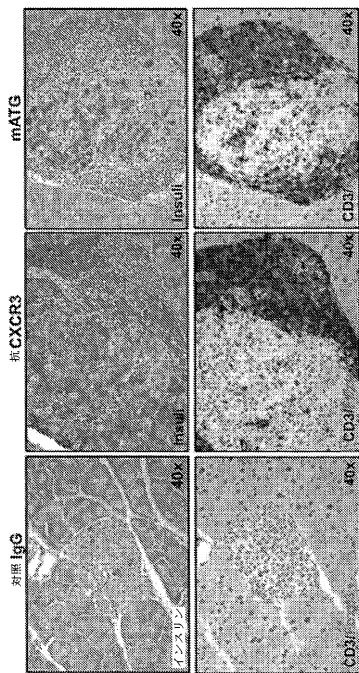
【図 5】



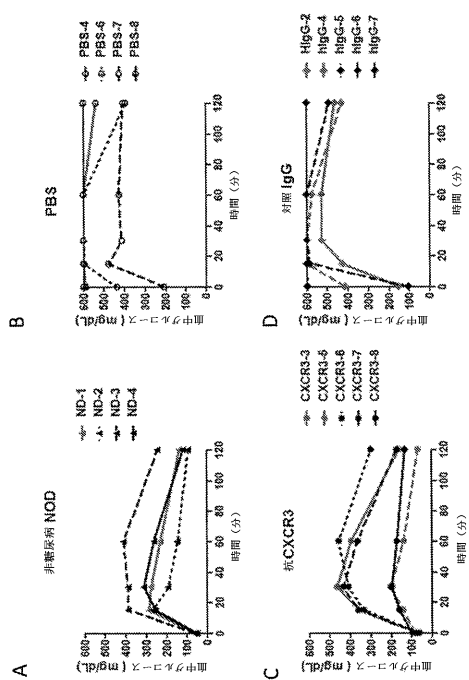
【図 6】



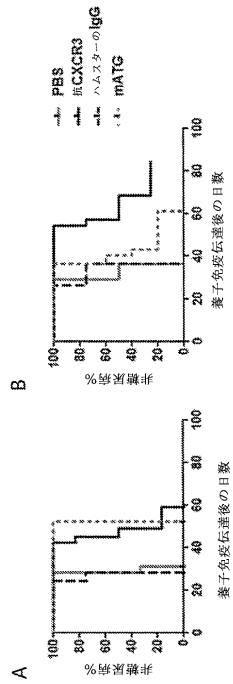
【図 7】



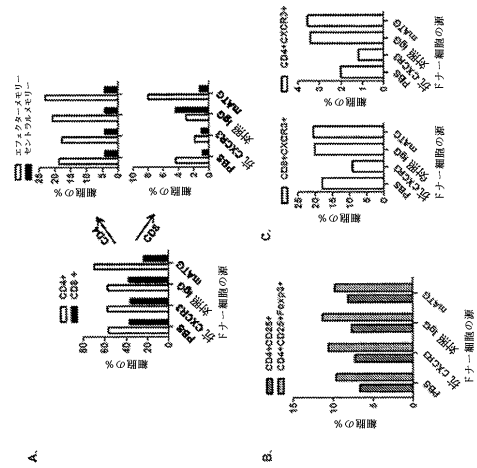
【図 8】



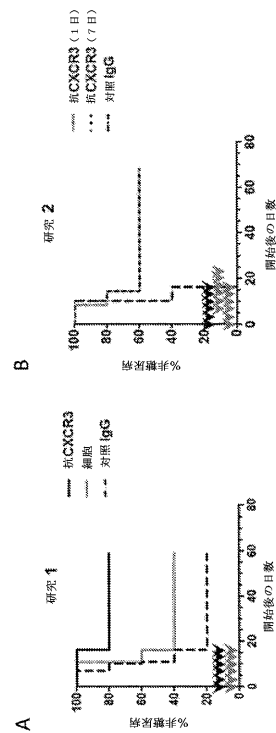
【図 9】



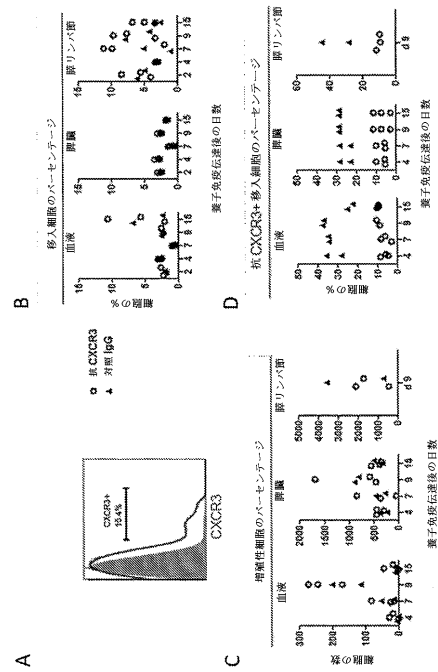
【図 10】



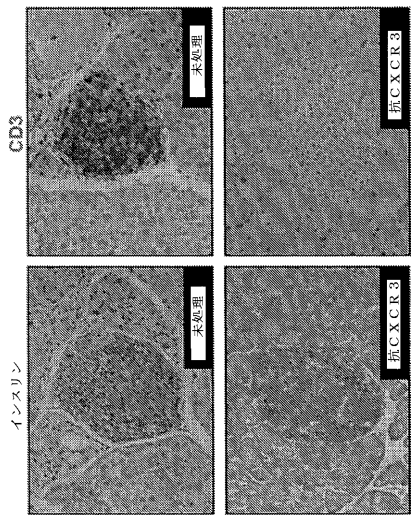
【図 11】



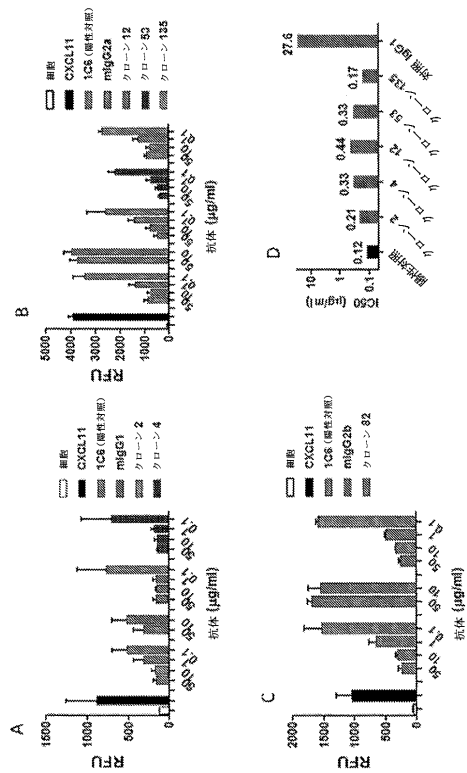
【図 12】



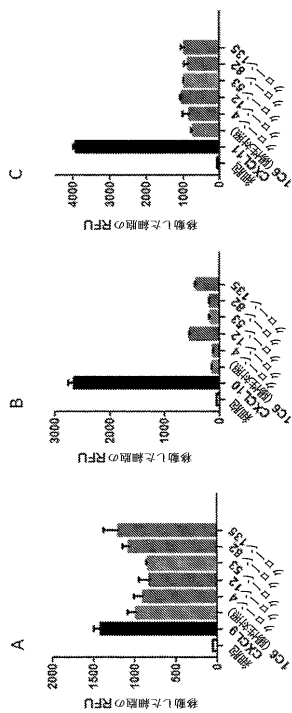
【図 1 3】



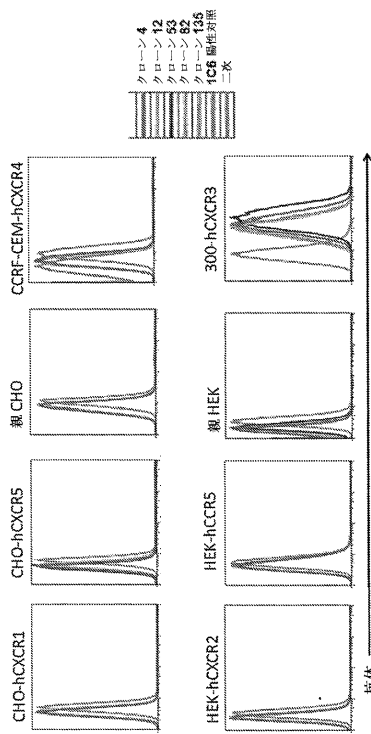
【図 1 4】



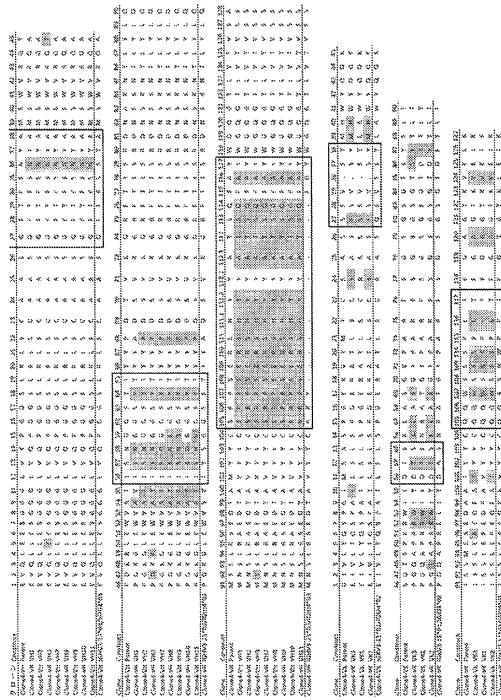
【図 1 5】



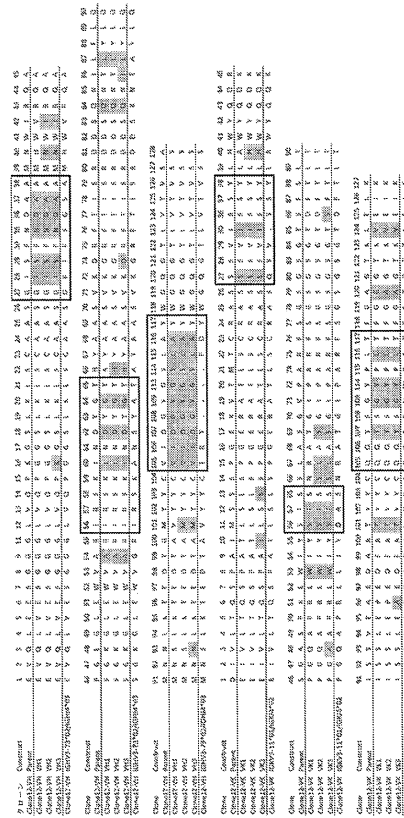
【図 1 6】



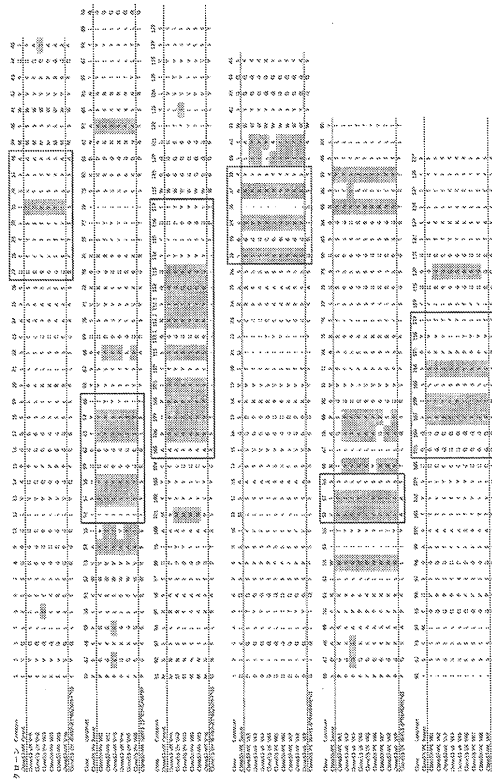
【図 17 A】



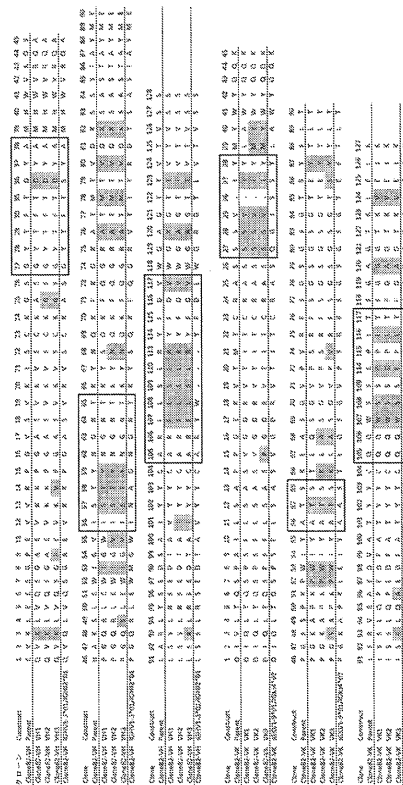
【図 17 B】



【図 17 C】



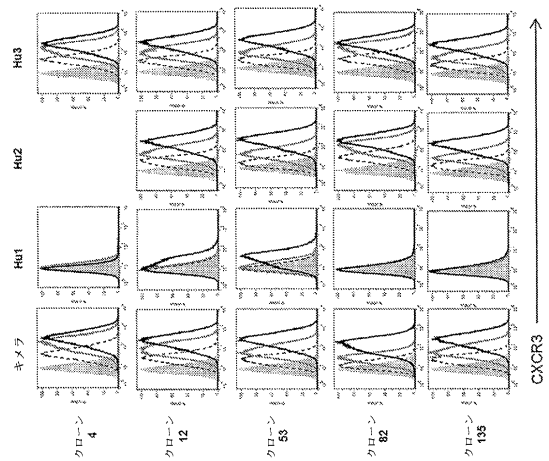
【図 17 D】



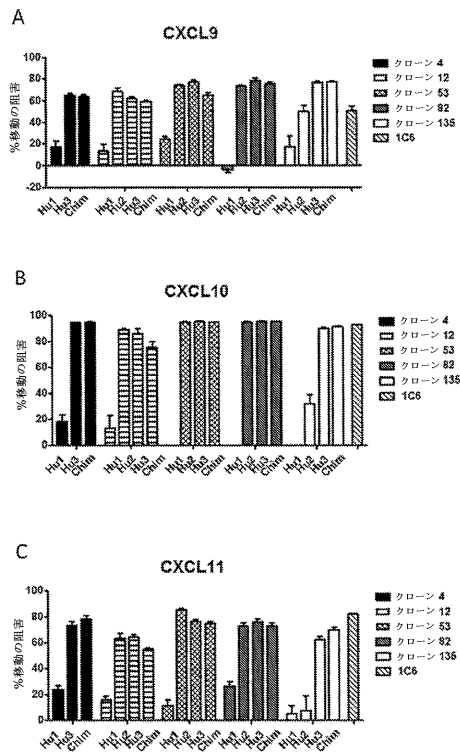
【図 18】



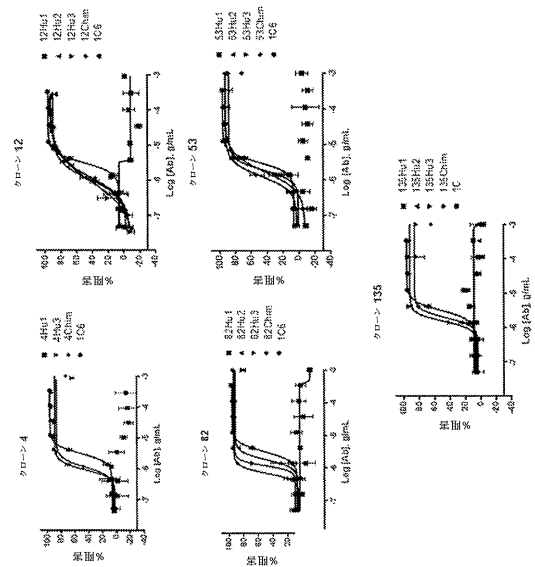
【図 19】



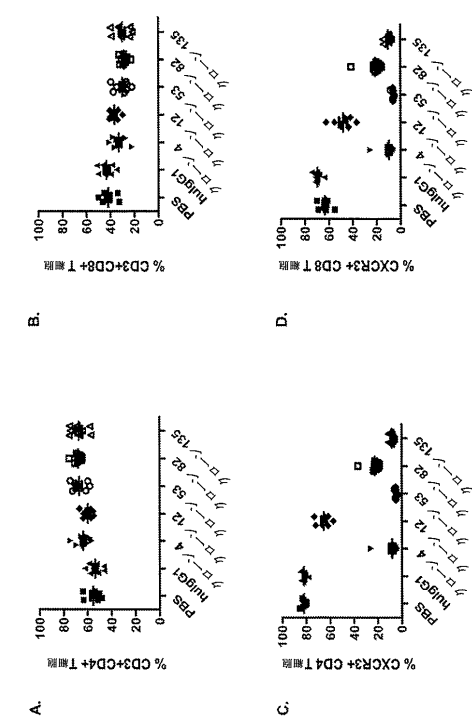
【図 20】



【図 21】



【図 2 2】



【図 2 3 A】

クローン12.0 - VHのアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

```
1      10      20      30      40      50
EVQLEESGGGLVQPKGSLKLSCAASGISFNDAAMNWIRQAPGEGLEWVAR

60      70      80      90      100
IRSKINDYGTHYAASVKDRFTISRDDSQNIFLQMNNLKTEDTGMYYCVI

110
DGYGSLAYWGQGLTVTVSA (配列番号 2)
```

クローン12.0 - VLのアミノ酸配列 - CDR を太字および下線で示す

```
1      10      20      30      40      50
DIVLTQSPAIMSSSPGKVTMTCRASSSVISSYLHWYQQRSGASPKLWIY

60      70      80      90      100
STSSSLASGVPARFSGSGSGTSFSLTISSVEADAATYYCQQYSGYPLTFG

AGTKLELK (配列番号 3)
```

配列番号	領域	配列
重鎖		
115	FR1	EVQLEESGGGLVQPKGSLKLSCAAS
116	CDR1	GISFNDAAM
117	FR2	MNWIQAPGEGLEWVAR
118	CDR2	IRSKINDYGT
119	FR3	HYAASVKDRFTISRDDSQNIFLQMNNLKTEDTGMYYC
120	CDR3	VIDGYGSLAY
121	FR4	WGQGLTVTVSA
軽鎖		
122	FR1	DIVLTQSPAIMSSSPGKVTMTCRAS
123	CDR1	SSVISSY
124	FR2	LHWYQQRSGASPKLWIY
125	CDR2	STS
126	FR3	SLASGVPARFSGSGSGTSFSLTISSVEADAATYYC
127	CDR3	QQYSGYPLT
128	FR4	FGAGTKLELK

【図 2 3 B】

クローン12.1 - VHのアミノ酸配列- CDRを太字および下線で示す

```
1      10      20      30      40      50
EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGISFNDAAMHWVRQASGKGLEWVAR

60      70      80      90      100
IRSKINDYGTAYAASVKGRFTISRDDSQNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCVI

110
DGYGSLAYWGQGLTVTVSS (配列番号 4)
```

クローン12.1 - VLのアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

```
1      10      20      30      40      50
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVISSYLAWYQKPGQAPRLWIY

60      70      80      90      100
STSNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFATYYCQQYSGYPLTFG

GGTKVEIK (配列番号 5)
```

配列番号	領域	配列
重鎖		
129	FR1	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS
130	CDR1	GISFNDAAM
131	FR2	MHWVRQASGKGLEWVAR
132	CDR2	IRSKINDYGT
133	FR3	AYAASVKGRFTISRDDSQNTLYLQMNSLKTEDTAVYYC
134	CDR3	VIDGYGSLAY
135	FR4	WGQGLTVTVSS
軽鎖		
136	FR1	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAS
137	CDR1	SSVISSY
138	FR2	LAWYQKPGQAPRLWIY
139	CDR2	STS
140	FR3	NRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFATYYC
141	CDR3	QQYSGYPLT
142	FR4	FGGGTKVEIK

【図 2 3 C】

クローン 12.2 - VHのアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

```
1      10      20      30      40      50
EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGISFNDAAMNWIRQASGKGLEWVAR

60      70      80      90      100
IRSKINDYGTHYAASVKGRFTISRDDSQNTLYLQMNSLKTEDTAMYYCVI

110
DGYGSLAYWGQGLTVTVSS (配列番号 6)
```

クローン 12.2 - VLのアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

```
1      10      20      30      40      50
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVISSYLHWYQKPGQAPRLWIY

60      70      80      90      100
STSSSLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFATYYCQQYSGYPLTFG

AGTKVEIK (配列番号 7)
```

配列番号	領域	配列
重鎖		
143	FR1	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS
144	CDR1	GISFNDAAM
145	FR2	MNWIQASGKGLEWVAR
146	CDR2	IRSKINDYGT
147	FR3	HYAASVKGRFTISRDDSQNTLYLQMNSLKTEDTAMYYC
148	CDR3	VIDGYGSLAY
149	FR4	WGQGLTVTVSS
軽鎖		
150	FR1	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAS
151	CDR1	SSVISSY
152	FR2	LHWYQKPGQAPRLWIY
153	CDR2	STS
154	FR3	SLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFATYYC
155	CDR3	QQYSGYPLT
156	FR4	FGAGTKVEIK

【図 2 3 D】

クローン 12.3 - VH のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EVQLVESGGGLVQPKGSLKLSCAAS**GISFNDAA**MNWIRQASGKGLEWVAR
60 70 80 90 100
IRSKINDYGTHYAASVKDRFTISRDDSQNILYLQMNNLKTEDTAMYYC**VI**
110
DGYGSLAYWGQGLTLTVSS (配列番号 8)

クローン 12.3 - VL のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EIVLTQSPAILSSSPGERATLSCRASS**SVISSY**LHWYQQKPGAAPRLWIY
60 70 80 90 100
STSSSLASGIPARFSGSGSGTSFTLTISLSLEAEDFATYYC**QQYSGYPLT**FG

AGTKVEIK (配列番号 9)

配列番号	領域	配列
重鎖		
157	FR1	EVQLVESGGGLVQPKGSLKLSCAAS
158	CDR1	GISFNDA
159	FR2	MNWIRQASGKGLEWVAR
160	CDR2	IRSKINDYGT
161	FR3	HYAASVKDRFTISRDDSQNILYLQMNNLKTEDTAMYYC
162	CDR3	VIDGYGSLAY
163	FR4	WGQGLTLTVSS
軽鎖		
164	FR1	EIVLTQSPAILSSSPGERATLSCRAS
165	CDR1	SVISSY
166	FR2	LHWYQQKPGAAPRLWIY
167	CDR2	STS
168	FR3	SLASGIPARFSGSGSGTSFTLTISLSLEAEDFATYYC
169	CDR3	QQYSGYPLT
170	FR4	FGACTKVEIK

【図 2 4 A】

クローン 135.0 - VH のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EVKLEESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFTSYA**LSWVRQTPEKRLEWVAT
60 70 80 90 100
ISHGGSYTYYPDSVKGRFTISRDNNAKNTLNLQMSLSRSEDAMYYC**CARHP**
110 120
FYSGNYQGYFDYWGQGLTLTVSS (配列番号 10)

クローン 135.0 - VL のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIVLTQSPAIMASASLGEKVTMNCRAN**SGVNY**MYWYQQKSDASPKLWIY**FT**
60 70 80 90 100
SNLAPGVPARFSGSGSGNSYSLTISSMEGEDAATYYC**QQFTSSPYT**FGGG

TKLEIK (配列番号 11)

配列番号	領域	配列
重鎖		
171	FR1	EVKLEESGGGLVQPGGSLKLSCAAS
172	CDR1	GFTFTSYA
173	FR2	LSWVRQTPEKRLEWVAT
174	CDR2	ISHGGSYT
175	FR3	YYPDSVKGRFTISRDNNAKNTLNLQMSLSRSEDAMYYC
176	CDR3	ARHFFYSGNYQGYFDY
177	FR4	WGQGLTLTVSS
軽鎖		
178	FR1	DIVLTQSPAIMASASLGEKVTMNCRAN
179	CDR1	SGVNY
180	FR2	MYWYQQKSDASPKLWIY
181	CDR2	FTS
182	FR3	NLAPGVPARFSGSGSGNSYSLTISSMEGEDAATYYC
183	CDR3	QQFTSSPYT
184	FR4	FGGGTKLEIK

【図 2 4 B】

クローン 135.1 - VH のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EVQLEESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFTSYA**MSWVRQAPGKGLEWVAV
60 70 80 90 100
ISHGGSYTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC**CARHP**
110 120
FYSGNYQGYFDYWGQGLTLTVSS (配列番号 12)

クローン 135.1 - VL のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRAS**SGVNY**LAWYQQKPGKAPKLWIY**FT**
60 70 80 90 100
STLQSGVPSRFSGSGSGNEYTLTISSLQFEDFATYYC**QQFTSSPYT**FGQG

TKLEIK (配列番号 13)

配列番号	領域	配列
重鎖		
185	FR1	EVQLEESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
186	CDR1	GFTFTSYA
187	FR2	MSWVRQAPGKGLEWVAV
188	CDR2	ISHGGSYT
189	FR3	YYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
190	CDR3	ARHFFYSGNYQGYFDY
191	FR4	WGQGLTLTVSS
軽鎖		
192	FR1	DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRAS
193	CDR1	SGVNY
194	FR2	LAWYQQKPGKAPKLWIY
195	CDR2	FTS
196	FR3	TLQSGVPSRFSGSGSGNEYTLTISSLQFEDFATYYC
197	CDR3	QQFTSSPYT
198	FR4	FGGGTKLEIK

【図 2 4 C】

クローン 135.2 - VH のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EVQLEESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFTSYA**LSWVRQAPGKGLEWVAT
60 70 80 90 100
ISHGGSYTYYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC**CARHP**
110 120
FYSGNYQGYFDYWGQGLTLTVSS (配列番号 14)

クローン 135.2 - VL のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRAN**SGVNY**MYWYQQKPGKAPKLWIY**FT**
60 70 80 90 100
SNLAPGVPSRFSGSGSGNEYTLTISSLQFEDFATYYC**QQFTSSPYT**FGGG

TKLEIK (配列番号 15)

配列番号	領域	配列
重鎖		
199	FR1	EVQLEESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
200	CDR1	GFTFTSYA
201	FR2	LSWVRQAPGKGLEWVAT
202	CDR2	ISHGGSYT
203	FR3	YYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
204	CDR3	ARHFFYSGNYQGYFDY
205	FR4	WGQGLTLTVSS
軽鎖		
206	FR1	DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRAN
207	CDR1	SGVNY
208	FR2	MYWYQQKPGKAPKLWIY
209	CDR2	FTS
210	FR3	NLAPGVPSRFSGSGSGNEYTLTISSLQFEDFATYYC
211	CDR3	QQFTSSPYT
212	FR4	FGGGTKLEIK

【図 2 4 D】

クローン 135.3 - VH のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFTSYA**LSWVRQTPDKRLEWVAT
60 70 80 90 100
ISHGGSYTYYPDSVKGRFTISRDNKNTLNLMSSSLRAEDTAVYYC**ARHP**
110 120
FYSGNYQGYFDYWGQGLTVTVSS (配列番号 16)

クローン 135.3 - VL のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRAN**SGVNY**MYWYQQKPDAAPKLWIY**FT**
60 70 80 90 100
SNLAPGVPSRFSGSGSGNSYTLTISSLQFEDFATYYC**QQFTSSPYT**FGGG

TKLEIK (配列番号 17)

配列番号	領域	配列
重鎖		
213	FR1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
214	CDR1	GFTFTSYA
215	FR2	LSWVRQTPDKRLEWVAT
216	CDR2	ISHGGSYT
217	FR3	YYPDSVKGRFTISRDNKNTLNLMSSSLRAEDTAVYYC
218	CDR3	ARHPFYSGNYQGYFDY
219	FR4	WGQGLTVTVSS
軽鎖		
220	FR1	DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRAN
221	CDR1	SGVNY
222	FR2	MYWYQQKPDAAPKLWIY
223	CDR2	FTS
224	FR3	NLAPGVPSRFSGSGSGNSYTLTISSLQFEDFATYYC
225	CDR3	QQFTSSPYT
226	FR4	FGGGTKLEIK

【図 2 5 A】

クローン 4.0 - VH のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EVQLLESGGGLVKPGGSLKLSCAAS**GFTFSNYA**MSWVRQTPDKRLEWVAT
60 70 80 90 100
ISNGGSYTYYPDTVKGRFTISRDNKNTLSLQMSLSRSEDTAMYYC**SRPS**
110 120
ERSHYIATSQFAYWGQGLTVTVSA (配列番号 18)

クローン 4.0 - VL のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIVLTQSPGIMASPGKVTMTCSAS**SSVSY**MHWYQQKSGTSPKRWIY**DT**
60 70 80 90 100
SKLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYC**QQWSSSPLT**FGAG

TKVELK (配列番号 19)

配列番号	領域	配列
重鎖		
227	FR1	EVQLLESGGGLVKPGGSLKLSCAAS
228	CDR1	GFTFSNYA
229	FR2	MSWVRQTPDKRLEWVAT
230	CDR2	ISNGGSYT
231	FR3	YYPDTVKGRFTISRDNKNTLSLQMSLSRSEDTAMYYC
232	CDR3	SRPSERSHYIATSQFAY
233	FR4	WGQGLTVTVSA
軽鎖		
234	FR1	DIVLTQSPGIMASPGKVTMTCSAS
235	CDR1	SSVSY
236	FR2	MHWYQQKSGTSPKRWIY
237	CDR2	DTS
238	FR3	KLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYC
239	CDR3	QQWSSSPLT
240	FR4	FGACTKVELK

【図 2 5 B】

クローン 4.1 - VH のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFSNYA**MSWVRQAPGKGLEWVAV
60 70 80 90 100
ISNGGSYTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC**SRPS**
110 120
ERSHYIATSQFAYWGQGLTVTVSS (配列番号 20)

クローン 4.1 - VL のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAS**SSVSY**LAWYQQKPGQAPRRWIY**DT**
60 70 80 90 100
SNRATGIPARFSGSGSGTDYTLTISLLEPEDFAVYYC**QQWSSSPLT**FGGG

TKVEIK (配列番号 21)

配列番号	領域	配列
重鎖		
241	FR1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
242	CDR1	GFTFSNYA
243	FR2	MSWVRQAPGKGLEWVAV
244	CDR2	ISNGGSYT
245	FR3	YYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
246	CDR3	SRPSERSHYIATSQFAY
247	FR4	WGQGLTVTVSS
軽鎖		
248	FR1	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAS
249	CDR1	SSVSY
250	FR2	LAWYQQKPGQAPRRWIY
251	CDR2	DTS
252	FR3	NRATGIPARFSGSGSGTDYTLTISLLEPEDFAVYYC
253	CDR3	QQWSSSPLT
254	FR4	FGGGTKVEIK

【図 2 5 C】

クローン 4.2 - VH のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFSNYA**MSWVRQAPGKGLEWVAT
60 70 80 90 100
ISNGGSYTYYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC**SRPS**
110 120
ERSHYIATSQFAYWGQGLTVTVSS (配列番号 22)

クローン 4.2 - VL のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSAS**SSVSY**MHWYQQKPGTAPRRWIY**DT**
60 70 80 90 100
SKLASGIPARFSGSGSGTDYTLTISLLEPEDFAVYYC**QQWSSSPLT**FGAG

TKVEIK (配列番号 23)

配列番号	領域	配列
重鎖		
255	FR1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
256	CDR1	GFTFSNYA
257	FR2	MSWVRQAPGKGLEWVAT
258	CDR2	ISNGGSYT
259	FR3	YYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
260	CDR3	SRPSERSHYIATSQFAY
261	FR4	WGQGLTVTVSS
軽鎖		
262	FR1	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSAS
263	CDR1	SSVSY
264	FR2	MHWYQQKPGTAPRRWIY
265	CDR2	DTS
266	FR3	KLASGIPARFSGSGSGTDYTLTISLLEPEDFAVYYC
267	CDR3	QQWSSSPLT
268	FR4	FGAGTKVEIK

【図 2 5 D】

クローン 4.3 - VH のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EVQLEESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFSNYA**MSWVRQTPDKRLEWVAT
60 70 80 90 100
ISNGGSYTYYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYC**SRPS**
110 120
ERSHYATSQFAYWGQGLTVTVSS (配列番号 24)

クローン 4.3 - VL のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EIVLTQSPAILSLSPGERATLSCSASS**SSVSY**MHWYQQKPGQAPRRWIY**DT**
60 70 80 90 100
SKLAGIPARFSGSGSGTSYTLTISISLEAEDFATYYC**QQWSSSPLT**FGAG

TKVEIK (配列番号 25)

配列番号	領域	配列
重鎖		
269	FR1	EVQLEESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
270	CDR1	GFTFSNYA
271	FR2	MSWVRQTPDKRLEWVAT
272	CDR2	ISNGGSYT
273	FR3	YYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYC
274	CDR3	SRPSERSHYATSQFAY
275	FR4	WGQGLTVTVSS
軽鎖		
276	FR1	EIVLTQSPAILSLSPGERATLSCSAS
277	CDR1	SSVSY
278	FR2	MHWYQQKPGQAPRRWIY
279	CDR2	DTS
280	FR3	KLASGIPARFSGSGSGTSYTLTISISLEAEDFATYYC
281	CDR3	QQWSSSPLT
282	FR4	FGAGTKVEIK

【図 2 5 G】

クローン 4.6 - VH のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EVQLVESGGGVKKPGGSLKLSCAAS**GFTFSNYA**MSWVRQTPGKGLEWVAT
60 70 80 90 100
ISQGGSYTYYPESFQGRFTISRDAQSTLSLQMSSLKSEDATAMYYC**SRPS**
110 120
ERSHYATSQFAYWGQGLTVTVSA (配列番号: 28)

配列番号	領域	配列
重鎖		
297	FR1	EVQLVESGGGVKKPGGSLKLSCAAS
298	CDR1	GFTFSNYA
299	FR2	MSWVRQTPGKGLEWVAT
300	CDR2	ISQGGSYT
301	FR3	YYPESFQGRFTISRDAQSTLSLQMSSLKSEDATAMYYC
302	CDR3	SRPSERSHYATSQFAY
303	FR4	WGQGLTVTVSA

【図 2 5 H】

クローン 4.7 - VH のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFSNYA**MSWVRQAPGKGLEWVAT
60 70 80 90 100
ISQGGSYTYYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC**SRPS**
110 120
ERSHYATSQFAYWGQGLTVTVSS (配列番号 29)

配列番号	領域	配列
重鎖		
304	FR1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
305	CDR1	GFTFSNYA
306	FR2	MSWVRQAPGKGLEWVAT
307	CDR2	ISQGGSYT
308	FR3	YYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
309	CDR3	SRPSERSHYATSQFAY
310	FR4	WGQGLTVTVSS

【図 2 5 E】

クローン 4.4 - VH のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EVQLVESGGGVKKPGGSLKLSCAAS**GFTFSNYA**MSWVRQTPGKGLEWVAT
60 70 80 90 100
ISNGGSYTYYPDSFQGRFTISRDNASTLSLQMSSLKSEDATAMYYC**SRPS**
110 120
ERSHYATSQFAYWGQGLTVTVSA (配列番号 26)

配列番号	領域	配列
重鎖		
283	FR1	EVQLVESGGGVKKPGGSLKLSCAAS
284	CDR1	GFTFSNYA
285	FR2	MSWVRQTPGKGLEWVAT
286	CDR2	ISNGGSYT
287	FR3	YYPDSFQGRFTISRDNASTLSLQMSSLKSEDATAMYYC
288	CDR3	SRPSERSHYATSQFAY
289	FR4	WGQGLTVTVSA

【図 2 5 F】

クローン 4.5 - VH のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EVQLVESGGGVKKPGGSLKLSCAAS**GFTFSNYA**MSWVRQTPGKGLEWVAT
60 70 80 90 100
ISNGGSYTYYPDSFQGRFTISRDNASTLSLQMSSLKAEDTAMYYC**SRPS**
110 120
ERSHYATSQFAYWGQGLTVTVSS (配列番号 27)

配列番号	領域	配列
重鎖		
290	FR1	EVQLVESGGGVKKPGGSLKLSCAAS
291	CDR1	GFTFSNYA
292	FR2	MSWVRQTPGKGLEWVAT
293	CDR2	ISNGGSYT
294	FR3	YYPDSFQGRFTISRDNASTLSLQMSSLKAEDTAMYYC
295	CDR3	SRPSERSHYATSQFAY
296	FR4	WGQGLTVTVSS

【図 2 5 I】

クローン 4.8 - VH のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFSNYA**MSWVRQAPGKGLEWVAT
60 70 80 90 100
ISNLGSYTYYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC**SRPS**
110 120
ERSHYATSQFAYWGQGLTVTVSS (配列番号 30)

配列番号	領域	配列
重鎖		
311	FR1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
312	CDR1	GFTFSNYA
313	FR2	MSWVRQAPGKGLEWVAT
314	CDR2	ISNLGSYT
315	FR3	YYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
316	CDR3	SRPSERSHYATSQFAY
317	FR4	WGQGLTVTVSS

【図 2 5 J】

クローン 4.9 - VH のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFSNYA**MSWVRQAPGKGLEWVAT
60 70 80 90 100
ISNSGSYTYYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC**SRPS**
110 120
ERSHYATSQFAYWGQGLTVTVSS (配列番号 31)

配列番号	領域	配列
重鎖		
318	FR1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
319	CDR1	GFTFSNYA
320	FR2	MSWVRQAPGKGLEWVAT
321	CDR2	ISNSGSYT
322	FR3	YYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
323	CDR3	SRPSERSHYATSQFAY
324	FR4	WGQGLTVTVSS

【図 2 5 K】

クローン 4.10 - VH のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFSNYAM**SWVRQAPGKGLEWVAT
60 70 80 90 100
ISDGGSYTYPDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC**SRPS**
110 120
ERSHYATSQFAYWGQGLTVTVSS (配列番号 32)

配列番号	領域	配列
重鎖		
325	FR1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
326	CDR1	GFTFSNYA
327	FR2	MSWVRQAPGKGLEWVAT
328	CDR2	ISDGGSYT
329	FR3	YPDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
330	CDR3	SRPSERSHYATSQFAY
331	FR4	WGQGLTVTVSS

【図 2 5 L】

クローン 4.11 - VH のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFSNYAM**SWVRQAPGKGLEWVAT
60 70 80 90 100
ISNVGSYTYPDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC**SRPS**
110 120
ERSHYATSQFAYWGQGLTVTVSS (配列番号 33)

配列番号	領域	配列
重鎖		
332	FR1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
333	CDR1	GFTFSNYA
334	FR2	MSWVRQAPGKGLEWVAT
335	CDR2	ISNVGSYT
336	FR3	YPDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
337	CDR3	SRPSERSHYATSQFAY
338	FR4	WGQGLTVTVSS

【図 2 5 O】

クローン 4.6 - VL のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIVLTQSPSSLSASVGDRVTTITCSAS**SSVSY**MHWYQQKPGTSPKRWIY**DT**
60 70 80 90 100
SKLAGVPARFSGSGSGTSYSLTISSLQPEDAATYYC**QQWSSSPLT**FGAG
TKVEIK (配列番号 36)

配列番号	領域	配列
軽鎖		
353	FR1	DIVLTQSPSSLSASVGDRVTTITCSAS
354	CDR1	SSVSY
355	FR2	MHWYQQKPGTSPKRWIY
356	CDR2	DT
357	FR3	KLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSLQPEDAATYYC
358	CDR3	QQWSSSPLT
359	FR4	FGAGTKVEIK

【図 2 5 P】

クローン 4.7 - VL のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIQLTQSPGSLASVGDRVMTCSAS**SSVSY**MHWYQQKPGTSPKRWIY**DT**
60 70 80 90 100
SKLAGVPARFSGSGSGTSYSLTISSLQPEDAATYYC**QQWSSSPLT**FGAG
TKVELK (配列番号 37)

配列番号	領域	配列
軽鎖		
360	FR1	DIQLTQSPGSLASVGDRVMTCSAS
361	CDR1	SSVSY
362	FR2	MHWYQQKPGTSPKRWIY
363	CDR2	DT
364	FR3	KLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSLQPEDAATYYC
365	CDR3	QQWSSSPLT
366	FR4	FGAGTKVELK

【図 2 5 M】

クローン 4.4 - VL のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIVLTQSPGSLASVGDRVMTCSAS**SSVSY**MHWYQQKPGTSPKRWIY**DT**
60 70 80 90 100
SKLAGVPARFSGSGSGTSYSLTISSLQPEDAATYYC**QQWSSSPLT**FGAG
TKVELK (配列番号 34)

配列番号	領域	配列
軽鎖		
339	FR1	DIVLTQSPGSLASVGDRVMTCSAS
340	CDR1	SSVSY
341	FR2	MHWYQQKPGTSPKRWIY
342	CDR2	DT
343	FR3	KLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSLQPEDAATYYC
344	CDR3	QQWSSSPLT
345	FR4	FGAGTKVELK

【図 2 5 N】

クローン 4.5 - VL のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIVLTQSPSSLSASVGDRVTTITCSAS**SSVSY**MHWYQQKPGTSPKRWIY**DT**
60 70 80 90 100
SKLAGVPARFSGSGSGTSYSLTISSLQPEDAATYYC**QQWSSSPLT**FGAG
TKVEIK (配列番号 35)

配列番号	領域	配列
軽鎖		
346	FR1	DIVLTQSPSSLSASVGDRVTTITCSAS
347	CDR1	SSVSY
348	FR2	MHWYQQKPGTSPKRWIY
349	CDR2	DT
350	FR3	KLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSLQPEDAATYYC
351	CDR3	QQWSSSPLT
352	FR4	FGAGTKVEIK

【図 2 6 A】

クローン 53.0 - VH のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EVQLEESGGGLVKPGGSLKLSCAAS**GFTFTSYAM**SWVRQTPKRLIEWAT
60 70 80 90 100
ISHGGTYTYPDSVKGRFTISRDN AKNTLYLQMSSLRSEDAMYYC**ARHP**
110 120
IYSGNYQGYFDYWGQGTTLTVSS (配列番号 38)

クローン 53.0 - VL のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIVLTQSPAIMASASLGKVTMSCRAS**SGVNI**IYWYQQKSDASPKLWIY**FT**
60 70 80 90 100
SNLAPGVPARFSGSGSGNSYSLTISSMEGEDAATYYC**QQFTSSPYT**FGGG
TKLEIK (配列番号 39)

配列番号	領域	配列
重鎖		
367	FR1	EVQLEESGGGLVKPGGSLKLSCAAS
368	CDR1	GFTFTSYA
369	FR2	MSWVRQTPKRLIEWAT
370	CDR2	ISHGGTYT
371	FR3	YPDSVKGRFTISRDN AKNTLYLQMSSLRSEDAMYYC
372	CDR3	ARHPIYSGNYQGYFDY
373	FR4	WGQGTTLTVSS
軽鎖		
374	FR1	DIVLTQSPAIMASASLGKVTMSCRAS
375	CDR1	SGVNI
376	FR2	IYWYQQKSDASPKLWIY
377	CDR2	FTS
378	FR3	NLAPGVPARFSGSGSGNSYSLTISSMEGEDAATYYC
379	CDR3	QQFTSSPYT
380	FR4	FGGGTKLEIK

【図 26 B】

クローン 53.1 - VH のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFTSYA**MSWVRQAPGKGLEWVAV

60 70 80 90 100
ISHGGTYTYYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC**ARHP**

110 120
IYSGNYQGYFDYWGQGTLLTVSS (配列番号 40)

クローン 53.1 - VL のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRAS**SGVNY**LAWYQQKPGKAPKLWIY**FT**

60 70 80 90 100
STLQSGVPSRFSSGSGSGNEYTLTISSLQPEDFATYYC**QQFTSSPYT**FGQG

TKLEIK (配列番号 41)

配列番号	領域	配列
重鎖		
381	FR1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
382	CDR1	GFTFTSYA
383	FR2	MSWVRQAPGKGLEWVAV
384	CDR2	ISHGGTYT
385	FR3	YYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
386	CDR3	ARHPIYSGNYQGYFDY
387	FR4	WGQGTLLTVSS
軽鎖		
388	FR1	DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRAS
389	CDR1	SGVNY
390	FR2	LAWYQQKPGKAPKLWIY
391	CDR2	FTS
392	FR3	TLQSGVPSRFS
393	CDR3	QQFTSSPYT
394	FR4	FGGGTKLEIK

【図 26 C】

クローン 53.2 - VH のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFTSYA**MSWVRQAPGKGLEWVAT

60 70 80 90 100
ISHGGTYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAMYYC**ARHP**

110 120
IYSGNYQGYFDYWGQGTLLTVSS (配列番号 42)

クローン 53.2 - VL のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRAS**SGVNY**IYWYQQKPGKAPKLWIY**FT**

60 70 80 90 100
SNLAPGVPSRFSSGSGSGNEYTLTISSLQPEDFATYYC**QQFTSSPYT**FGGG

TKLEIK (配列番号 43)

配列番号	領域	配列
重鎖		
395	FR1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
396	CDR1	GFTFTSYA
397	FR2	MSWVRQAPGKGLEWVAT
398	CDR2	ISHGGTYT
399	FR3	YYPDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAMYYC
400	CDR3	ARHPIYSGNYQGYFDY
401	FR4	WGQGTLLTVSS
軽鎖		
402	FR1	DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRAS
403	CDR1	SGVNY
404	FR2	IYWYQQKPGKAPKLWIY
405	CDR2	FTS
406	FR3	NLAPGVPSRFS
407	CDR3	QQFTSSPYT
408	FR4	FGGGTKLEIK

【図 26 D】

クローン 53.3 - VH のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EVQLEESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFTSYA**MSWVRQTPEKRLEWVAT

60 70 80 90 100
ISHGGTYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAMYYC**ARHP**

110 120
IYSGNYQGYFDYWGQGTLLTVSS (配列番号 44)

クローン 53.3 - VL のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRAS**SGVNY**IYWYQQKPDAPKLWIY**FT**

60 70 80 90 100
SNLAPGVPSRFSSGSGSGNSYTLTISSLQPEDFATYYC**QQFTSSPYT**FGGG

TKLEIK (配列番号 45)

配列番号	領域	配列
重鎖		
409	FR1	EVQLEESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
410	CDR1	GFTFTSYA
411	FR2	MSWVRQTPEKRLEWVAT
412	CDR2	ISHGGTYT
413	FR3	YYPDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAMYYC
414	CDR3	ARHPIYSGNYQGYFDY
415	FR4	WGQGTLLTVSS
軽鎖		
416	FR1	DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRAS
417	CDR1	SGVNY
418	FR2	IYWYQQKPDAPKLWIY
419	CDR2	FTS
420	FR3	NLAPGVPSRFS
421	CDR3	QQFTSSPYT
422	FR4	FGGGTKLEIK

【図 26 E】

クローン 53.4 - VH のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFTSYA**MSWVRQAPGKGLEWVAT

60 70 80 90 100
ISHGGTYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAMYYC**ARHP**

110 120
IYSGNYQGYFDYWGQGTLLTVSS (配列番号 46)

配列番号	領域	配列
重鎖		
423	FR1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
424	CDR1	GFTFTSYA
425	FR2	MSWVRQAPGKGLEWVAV
426	CDR2	ISHGGTYT
427	FR3	YYPDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAMYYC
428	CDR3	ARHPIYSGNYQGYFDY
429	FR4	WGQGTLLTVSS

【図 26 F】

クローン 53.5 - VH のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFTSYA**MSWVRQAPGKGLEWVAT

60 70 80 90 100
ISHGGTYTYYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAMYYC**ARHP**

110 120
IYSGNYQGYFDYWGQGTLLTVSS (配列番号 47)

配列番号	領域	配列
重鎖		
430	FR1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
431	CDR1	GFTFTSYA
432	FR2	MSWVRQAPGKGLEWVAT
433	CDR2	ISHGGTYT
434	FR3	YYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAMYYC
435	CDR3	ARHPIYSGNYQGYFDY
436	FR4	WGQGTLLTVSS

【図 2 6 G】

クローン 53.6 - VH のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFTSY**AMSWVRQAPGKGLEWVAT
60 70 80 90 100
ISHGGTYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC**CARHP**
110 120
IYSGNYQGYFDYWGQGLTVTVSS (配列番号 48)

配列番号	領域	配列
重鎖		
437	FR1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
438	CDR1	GFTFTSYA
439	FR2	MSWVRQAPGKGLEWVAT
440	CDR2	ISHGGTYT
441	FR3	YYPDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
442	CDR3	ARHPIYSGNYQGYFDY
443	FR4	WGQGLTVTVSS

【図 2 6 H】

クローン 53.4 - VL のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRAS**SGVNY**LYWYQQKPGKAPKLWIY**FT**
60 70 80 90 100
SNLAPGVPSRFSGSGSGNEYTLTISSLQPEDFATYYC**QQFTSSPY**TFGGG
TKLEIK (配列番号 49)

配列番号	領域	配列
軽鎖		
444	FR1	DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRAS
445	CDR1	SGVNY
446	FR2	LYWYQQKPGKAPKLWIY
447	CDR2	FTS
448	FR3	NLAPGVPSRFSGSGSGNEYTLTISSLQPEDFATYYC
449	CDR3	QQFTSSPYT
450	FR4	FGGGTKLEIK

【図 2 6 I】

クローン 53.5 - VL のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRAS**SGVNY**IAWYQQKPGKAPKLWIY**FT**
60 70 80 90 100
SNLAPGVPSRFSGSGSGNEYTLTISSLQPEDFATYYC**QQFTSSPY**TFGGG
TKLEIK (配列番号 50)

配列番号	領域	配列
軽鎖		
451	FR1	DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRAS
452	CDR1	SGVNY
453	FR2	IAWYQQKPGKAPKLWIY
454	CDR2	FTS
455	FR3	NLAPGVPSRFSGSGSGNEYTLTISSLQPEDFATYYC
456	CDR3	QQFTSSPYT
457	FR4	FGGGTKLEIK

【図 2 6 J】

クローン 53.6 - VL のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRAS**SGVNY**IYWYQQKPGKAPKLWIY**FT**
60 70 80 90 100
STLAPGVPSRFSGSGSGNEYTLTISSLQPEDFATYYC**QQFTSSPY**TFGGG
TKLEIK (配列番号 51)

配列番号	領域	配列
軽鎖		
458	FR1	DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRAS
459	CDR1	SGVNY
460	FR2	IYWYQQKPGKAPKLWIY
461	CDR2	FTS
462	FR3	TLAPGVPSRFSGSGSGNEYTLTISSLQPEDFATYYC
463	CDR3	QQFTSSPYT
464	FR4	FGGGTKLEIK

【図 2 6 L】

クローン 53.8 - VL のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRAS**SGVNY**IYWYQQKPGKAPKLWIY**FT**
60 70 80 90 100
SNLASGVPSRFSGSGSGNEYTLTISSLQPEDFATYYC**QQFTSSPY**TFGGG
TKLEIK (配列番号 53)

配列番号	領域	配列
軽鎖		
472	FR1	DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRAS
473	CDR1	SGVNY
474	FR2	IYWYQQKPGKAPKLWIY
475	CDR2	FTS
476	FR3	NLASGVPSRFSGSGSGNEYTLTISSLQPEDFATYYC
477	CDR3	QQFTSSPYT
478	FR4	FGGGTKLEIK

【図 2 6 M】

クローン 53.9 - VL のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRAS**SGVNY**IYWYQQKPGKAPKLWIY**FT**
60 70 80 90 100
SNLAPGVPSRFSGSGSGNEYTLTISSLQPEDFATYYC**QQFTSSPY**TFGGG
TKLEIK (配列番号 54)

配列番号	領域	配列
軽鎖		
479	FR1	DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRAS
480	CDR1	SGVNY
481	FR2	IYWYQQKPGKAPKLWIY
482	CDR2	FTS
483	FR3	NLAPGVPSRFSGSGSGNEYTLTISSLQPEDFATYYC
484	CDR3	QQFTSSPYT
485	FR4	FGGGTKLEIK

【図 2 6 K】

クローン 53.7 - VL のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRAS**SGVNY**IYWYQQKPGKAPKLWIY**FT**
60 70 80 90 100
SNLQPGVPSRFSGSGSGNEYTLTISSLQPEDFATYYC**QQFTSSPY**TFGGG
TKLEIK (配列番号 52)

配列番号	領域	配列
軽鎖		
465	FR1	DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRAS
466	CDR1	SGVNY
467	FR2	IYWYQQKPGKAPKLWIY
468	CDR2	FTS
469	FR3	NLQPGVPSRFSGSGSGNEYTLTISSLQPEDFATYYC
470	CDR3	QQFTSSPYT
471	FR4	FGGGTKLEIK

【図 26 N】

クローン 53.7 - VH のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

```

1      10      20      30      40      50
EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFTSYAMSWVRQTPGKRLEWVAT

      60      70      80      90      100
ISHGGTTYYYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSSLRSEDTAMYYCARHP

      110      120
IYSGNYQGYFDYWGQGTTLTVSS      (配列番号 63)
  
```

配列番号	領域	配列
重鎖		
486	FR1	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAAS
487	CDR1	GFTFTSYA
488	FR2	MSWVRQTPGKRLEWVAT
489	CDR2	ISHGGTYT
490	FR3	YYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSSLRSED TAMY YCARHP
491	CDR3	ARHPIYSGNYQGYFDY
492	FR4	WGQGTTLTVSS

【図 26 O】

クローン 53.8 - VH のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

```

1      10      20      30      40      50
EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFTSYAMSWVRQAPGKLEWVAT

      60      70      80      90      100
ISHGGTTYYYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCARHP

      110      120
IYSGNYQGYFDYWGQGTTLTVSS      (配列番号 64)
  
```

配列番号	領域	配列
重鎖		
493	FR1	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAAS
494	CDR1	GFTFTSYA
495	FR2	MSWVRQAPGKLEWVAT
496	CDR2	ISHGGTYT
497	FR3	YYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSSLRAED TAVYYCARHP
498	CDR3	ARHPIYSGNYQGYFDY
499	FR4	WGQGTTLTVSS

【図 26 Q】

クローン 53.10 - VH のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

```

1      10      20      30      40      50
EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFTSYAMSWVRQAPGKLEWVAT

      60      70      80      90      100
ISHGGTTYYYPESVKGRFTISRQSKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCARHP

      110      120
IYSGNYQGYFDYWGQGTTLTVSS      (配列番号 66)
  
```

配列番号	領域	配列
重鎖		
507	FR1	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAAS
508	CDR1	GFTFTSYA
509	FR2	MSWVRQAPGKLEWVAT
510	CDR2	ISHGGTYT
511	FR3	YYPESVKGRFTISRQSKNTLYLQMSSLRAED TAVYYCARHP
512	CDR3	ARHPIYSGNYQGYFDY
513	FR4	WGQGTTLTVSS

【図 26 R】

クローン 53.10 - VL のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

```

1      10      20      30      40      50
DIQLTQSPAIMSASVGDRTMSCRASSGVNYIYWYQKPGASPKLWIYFT

      60      70      80      90      100
SNLAPGVPARFSGSGSGNSYSLTISMQGEDAATYYCQQFTSSPYTFGGG
  
```

TKLEIK (配列番号 67)

配列番号	領域	配列
軽鎖		
514	FR1	DIQLTQSPAIMSASVGDRTMSCRAS
515	CDR1	SGVNY
516	FR2	IYWYQKPGASPKLWIY
517	CDR2	FTS
518	FR3	NLAPGVPARFSGSGSGNSYSLTISMQGEDAATYYC
519	CDR3	QQFTSSPYT
520	FR4	FGGGTKLEIK

【図 26 P】

クローン 53.9 - VH のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

```

1      10      20      30      40      50
EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFTSYAMSWVRQTPGKRLEWVAT

      60      70      80      90      100
ISHGGTTYYYPESVKGRFTISRQSKNTLYLQMSSLRSEDTAVYYCARHP

      110      120
IYSGNYQGYFDYWGQGTTLTVSS      (配列番号 65)
  
```

配列番号	領域	配列
重鎖		
500	FR1	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAAS
501	CDR1	GFTFTSYA
502	FR2	MSWVRQTPGKRLEWVAT
503	CDR2	ISHGGTYT
504	FR3	YYPESVKGRFTISRQSKNTLYLQMSSLRSED TAVYYCARHP
505	CDR3	ARHPIYSGNYQGYFDY
506	FR4	WGQGTTLTVSS

【図 26 S】

クローン 53.11 - VL のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

```

1      10      20      30      40      50
DIQLTQSPAILSASVGDRTMSCRASSGVNYIYWYQKPGASPKLWIYFT

      60      70      80      90      100
SNLAPGVPARFSGSGSGNSYSLTISMQGEDAATYYCQQFTSSPYTFGGG
  
```

TKLEIK (配列番号 68)

配列番号	領域	配列
軽鎖		
521	FR1	DIQLTQSPAILSASVGDRTMSCRAS
522	CDR1	SGVNY
523	FR2	IYWYQKPGASPKLWIY
524	CDR2	FTS
525	FR3	NLAPGVPARFSGSGSGNSYSLTISMQGEDAATYYC
526	CDR3	QQFTSSPYT
527	FR4	FGGGTKLEIK

【図 26 T】

クローン 53.12 - VL のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

```

1      10      20      30      40      50
DIQLTQSPAILSASVGDRTMSCRASSGVNYIYWYQKPGASPKLWIYFT

      60      70      80      90      100
SNLAPGVPARFSGSGSGNSYSLTISMQGEDAATYYCQQFTSSPYTFGGG
  
```

TKLEIK (配列番号 69)

配列番号	領域	配列
軽鎖		
528	FR1	DIQLTQSPAILSASVGDRTMSCRAS
529	CDR1	SGVNY
530	FR2	IYWYQKPGASPKLWIY
531	CDR2	FTS
532	FR3	NLAPGVPARFSGSGSGNSYSLTISMQGEDAATYYC
533	CDR3	QQFTSSPYT
534	FR4	FGGGTKLEIK

【図 2 6 U】

クローン 53.13 - VL のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIQLTQSPAILSASVGRVITISCRASSGVNYIYWYQKPGQSPKLWIYFT
60 70 80 90 100
SNLAPGVPARFSGSGSGNSYSLTISMQGEDAATYYCQQFTSSPYTFGGG

TKLEIK (配列番号 70)

配列番号	領域	配列
重鎖		
535	FR1	DIQLTQSPAILSASVGRVITISCRAS
536	CDR1	SGVNY
537	FR2	IYWYQKPGQSPKLWIY
538	CDR2	FTS
539	FR3	NLAPGVPARFSGSGSGNSYSLTISMQGEDAATYYC
540	CDR3	QQFTSSPYT
541	FR4	EGGGTKLEIK

【図 2 7 A】

クローン 82.0 - VH のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
EVKLEESGPEVVRPGVSVKISCKGSGYTFTDYAMHWVKQSHAKSLEWIGV
60 70 80 90 100
ISTYNGNTKYNQKFKGKATMTVDKSSSTAYMELARLTSEDSAIYYCCARFL

110
SLRYFDVWGAGTTVTVSS (配列番号 55)

クローン 82.0 - VL のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIVLTQSPAILSAPPGEKVTMTCRASSSSVIYMYWYQKPGSSPKPWIYAT
60 70 80 90 100
SKLASGVPVRFSGSGSGTSYSLTISRVEAEDVATYYCQQWSSEPLTFGAG

TKLELK (配列番号 56)

配列番号	領域	配列
重鎖		
542	FR1	EVKLEESGPEVVRPGVSVKISCKGS
543	CDR1	GYTFTDYA
544	FR2	MHWVKQSHAKSLEWIGV
545	CDR2	ISTYNGNT
546	FR3	KYNQKFKGKATMTVDKSSSTAYMELARLTSEDSAIYYC
547	CDR3	ARFLSLRYFDV
548	FR4	WGAGTTVTVSS
軽鎖		
549	FR1	DIVLTQSPAILSAPPGEKVTMTCRAS
550	CDR1	SSVIY
551	FR2	MYWYQKPGSSPKPWIY
552	CDR2	ATS
553	FR3	KLASGVPVRFSGSGSGTSYSLTISRVEAEDVATYYC
554	CDR3	QQWSSEPLT
555	FR4	FGAGTKLELK

【図 2 7 B】

クローン 82.1 - VH のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
QVKLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTDYAMHWVRQAPGQRLEWIGV
60 70 80 90 100
ISTYNGNTKYSQKFQGRATMTVDKSASTAYMELSSLRSEDATVYYCCARFL

110
SLRYFDVWGKTTVTVSS (配列番号 57)

クローン 82.1 - VL のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIQLTQSPSFLSASVGRVITICRASSSVIYLAWYQKPGKAPKPIYAT
60 70 80 90 100
STLQSGVPSRFSGSGSTEYTLTISSLQPEDFATYYCQQWSSEPLTFGGG

TKVEIK (配列番号 58)

配列番号	領域	配列
重鎖		
556	FR1	QVKLVQSGAEVKKPGASVKVCKAS
557	CDR1	GYTFTDYA
558	FR2	MHWVRQAPGQRLEWIGV
559	CDR2	ISTYNGNT
560	FR3	KYSQKFQGRATMTVDKSASTAYMELSSLRSEDATVYYC
561	CDR3	ARFLSLRYFDV
562	FR4	WGKTTVTVSS
軽鎖		
563	FR1	DIQLTQSPSFLSASVGRVITICRAS
564	CDR1	SSVIY
565	FR2	LAWYQKPGKAPKPIY
566	CDR2	ATS
567	FR3	TLQSGVPSRFSGSGSTEYTLTISSLQPEDFATYYC
568	CDR3	QQWSSEPLT
569	FR4	EGGGTKVEIK

【図 2 7 C】

クローン 82.2 - VH のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
QVKLVQSGAEVKKPGASVKVCKGSGYTFTDYAMHWVRQAPGQRLEWIGV
60 70 80 90 100
ISTYNGNTKYNQKFQGRATMTVDKSASTAYMELSSLRSEDATVYYCCARFL

110
SLRYFDVWGAGTTVTVSS (配列番号 59)

クローン 82.2 - VL のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIQLTQSPSFLSASVGRVITICRASSSVIYMYWYQKPGKAPKPIYAT
60 70 80 90 100
SKLASGVPSPRFSGSGSTEYTLTISSLQPEDFATYYCQQWSSEPLTFGAG

TKVEIK (配列番号 60)

配列番号	領域	配列
重鎖		
570	FR1	QVKLVQSGAEVKKPGASVKVCKGS
571	CDR1	GYTFTDYA
572	FR2	MHWVRQAPGQRLEWIGV
573	CDR2	ISTYNGNT
574	FR3	KYNQKFQGRATMTVDKSASTAYMELSSLRSEDATVYYC
575	CDR3	ARFLSLRYFDV
576	FR4	WGAGTTVTVSS
軽鎖		
577	FR1	DIQLTQSPSFLSASVGRVITICRAS
578	CDR1	SSVIY
579	FR2	MYWYQKPGKAPKPIY
580	CDR2	ATS
581	FR3	KLASGVPSPRFSGSGSTEYTLTISSLQPEDFATYYC
582	CDR3	QQWSSEPLT
583	FR4	FGAGTKVEIK

【図 27D】

クローン 82.3 - VH のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
QVKLVQSGPEVKVPGASVKVCKGSGYTFDYAMHWVRQAPGQSLIEWIGV
60 70 80 90 100
ISTYNGNTKYNQKFQGRATMTVDKSASTAYMELSLRSEDTAIYYCARFL
110
SLRYFDVWGAGTTVTVSS (配列番号 61)

クローン 82.3 - VL のアミノ酸配列- CDR を太字および下線で示す

1 10 20 30 40 50
DIQLTQSPSFLSASPGRDVTITCRASSSVIYMYWYQKPGSAPKPIWYAT
60 70 80 90 100
SLKASGVFVRFSGSGSGTSYTLTISRLLQAEDEFATYYCQWSSEPLTFGAG

TKVEIK (配列番号 62)

配列番号	領域	配列
重鎖		
584	FR1	QVKLVQSGPEVKVPGASVKVCKGS
585	CDR1	GYTFDYA
586	FR2	MHWVRQAPGQSLIEWIGV
587	CDR2	ISTYNGNT
588	FR3	KYNQKFQGRATMTVDKSASTAYMELSLRSEDTAIYYC
589	CDR3	ARFLSLRYFDV
590	FR4	WGAGTTVTVSS
軽鎖		
591	FR1	DIQLTQSPSFLSASPGRDVTITCRAS
592	CDR1	SSVIY
593	FR2	MYWYQKPGSAPKPIWY
594	CDR2	ATS
595	FR3	KLASGVFVRFSGSGSGTSYTLTISRLLQAEDEFATYYC
596	CDR3	QWSSEPLT
597	FR4	FGAGTKVEIK

【図 28A】

配列番号	抗体	配列
598	12.0 VH	5' GAGGTGCAGCTGGAAGAGTCCGGCGGAGGCTGGTGCAGCCCAAG GGCAGCCTGAAGCTGAGCTGTGCCCGCAGCGGCATCAGCTTCAACGA CGCCGCATGAAGTGGATCCGGCAGGCGCCCTGGCGAGGGCTGGAAAT GGTGGCCCGGATCAGAAGCAAGATCAACGACTACGGCACCACATAC GCGCGCAGCGTGAAGGACCGGTTACCATCAGCCGGGACGACAGCCA GAATATCCTGTCTTCGAGATGAACAACCTGAAACCAGGAGACACCG GCATGTACTACTGCGTGATCGACGGCTACGGCAGCCTGGCCTACTGG GGCCAGGGAACCTGGTGACAGTGTCCGCC3'
599	12.0 VL	5' GACATCGTGCTGACCCAGAGCCCGCCATCATGAGCAGCAGCCCT GGCGAGAAAGTGACCATGACCTGCCGGGCGCAGCAGCGGTGATCAG CAGCTACCTGCATGGTATCAGCAGCGGAGCGCGCCAGCCCAAGC TGTGGATCTACAGCAGCAGCGCCTGGCCAGCGGCTGCCAGCCAGA TTTTCTGGCAGCGGACGCGCACCTCTTACGCTGACCATCAGCAG CGTGAAGCGCAGGACGCGCCACCTACTACTGCCAGCATCAGCGG GCTACCCCTGACCTTCGGAGCCGGACCAAGCTGGAAGTGAAG3'
600	12.1 VH	5' GAGGTGCAGCTGGTGAAGGCGGCGGAGGAGTGGTGCAGCCTGGC GGCAGCCTGAAGCTGTCTTGTGCGCCAGCGGCATCAGCTTCAACGA CGCCGCATGCACTGGGTGGCGCAGGCGCTTGGCAAGGCGCTGGAAT GGGTGGCCCGGATCAGAAGCAAGATCAACGACTACGGCAGCGCCTAC GCGCCAGCGCTGAAGGCGAGATTACCATCAGCCGGGACGACAGCCA GAACACCTGTACTGCGTGATGAACAGCCTGAAAACCGAGGACACCG CCGTGTACTACTGCGTGATCGACGGCTACGGCAGCCTGGCCTACTGG GGCCAGGGAACCTGGTGACAGTGTCCAGC3'
601	12.1 VL	5' GAGATCGTGCTGACCCAGAGCCCGCCACCTGTCTTGAGCCCT GGCGAGAGGCCACCTGAGCTGCAGAGCCAGCAGCAGCGGTGATCAG CAGCTACTTGGCTGGTATCAGCAGAAAGCCGGCGAGGCCCGCCAGAG TGTGGATCTACAGCAGCAGCAACCGGGCCACCGCATCCCGCCAGA TTTTCTGGCAGCGGACGCGCACCTTACCTGACCATCAGCAG CCTGGAACCGGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAGCG GCTACCCCTGACCTTCGGCGGAGGACCAAGTGGAAATCAAG3'

【図 28B】

配列番号	抗体	配列
602	12.2 VH	5' GAGGTGCAGCTGGTGAAGAGCGGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCG GCAGCCTGAAGCTGTCTTGTGCCCGCAGCGGCATCAGCTTCAACGACG CCGCCATGAAGTGGATCCGGCAGGCGCAGCGCAAGGGCCTGGAATGGG TGGCCCGGATCAGAAGCAAGATCAACGACTACGGCACCACATACGCCG CCAGCGTGAAGGGCCGGTTACCATCAGCCGGGACGACAGCCAGAACCA CCCTGTACTGCAGATGAACAGCCTGAAACCAGGAGACACCGCCATGT ACTACTGCGTGATCGACGGCTACGGCAGCCTGGCCTACTGGGGCCAGG GAACCTTGGTGACAGTGTCCAGC3'
603	12.2 VL	5' GAGATCGTGCTGACCCAGAGCCCGCCACCTGTCTTGAGCCCTG GCGAGAGAGCCACCTGAGCTGCAGAGCCAGCAGCAGCGTGATCAGCA GCTACCTGCACTGGTATCAGCAGAAAGCCCGCCAGGCGCCAGACTGT GGATCTACAGCAGCAGCAGCGCTGGCGCAGCGCATCCCGCCAGATTTT CTGGCAGCGGCGGCGCACCGACTTCAACCTGACCATCAGCTCCCTGG AACCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAGCGGCTACC CCCTGACCTTCGGAGCGGCGACCAAGGTGGAATCAAG3'
604	12.3 VH	5' GAGGTGCAGCTGGTGAAGAGCGGCGGAGGCTGGTGCAGCCCAAGG GCAGCCTGAAGCTGAGCTGTGCCCGCAGCGGCATCAGCTTCAACGACG CGCCATGAAGTGGATCCGGCAGGCGCAGCGGCAAGGGCCTGGAATGGG TGGCCCGGATCAGAAGCAAGATCAACGACTACGGCACCACATACGCGG CCAGCGTGAAGGACCGGTTACCATCAGCCGGGACGACAGCCAGAACCA TCCTGTACTGCAGATGAACAACCTGAAACCAGGAGACACCGCCATGT ACTACTGCGTGATCGACGGCTACGGCAGCCTGGCCTACTGGGGCCAGG GAACCTTGGTGACAGTGTCCAGC3'
605	12.3 VL	5' GAGATCGTGCTGACCCAGAGCCCGCCACCTGTCTTGAGCAGCTTCCAG GCGAGAGAGCCACCTGAGCTGCAGAGCCAGCAGCAGCGTGATCAGCA GCTACCTGCACTGGTATCAGCAGAAAGCTGGCGCGCCTCCCGGCTGT GGATCTACAGCAGCAGCAGCGCTGGCCAGCGGCATCCCGCCAGATTTT CTGGCAGCGGCGGCGCACCGACTTCAACCTGACCATCAGCAGCCTGG AAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAGCGGCTACC CCCTGACCTTCGGAGCGGCGACCAAGGTGGAATCAAG3'

【図 28C】

配列番号	抗体	配列
606	135.0 VH	5' GAAGTGAAGCTGGAAGAGTCCGGCGGAGGCTGGTGAACCTGGC GGCAGCCTGAAGCTGAGCTGCGCGCGCAGCGGCTTCACTTCAACAG CTACGCCCTGAGCTGGGTGCGCCAGAGCCCGGAGAGAGACTGGAAT GGGTGGCCACCATCAGCCAGCGCGGCGAGCTACACCTACTACCCCGAC AGCGTGAAGGGCCGGTTACCATCAGCAGAGACAAAGCCAGAACAC CCTGAACCTGCAGATGAGCAGCCTGCGGAGCGGAGACACCGCCATGT ACTACTGCGCCAGGCAACCTTCTCAGCGGCACTACCAAGGCTAC TTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCTGCTGACCGTGCTCTCT3'
607	135.0 VL	5' GACATCGTGCTGACCCAGAGCCCGCCATCATGAGCGCGCAGCCTG GGCGAGAAAGTGACCATGAGCTGCCGGGCAACAGCGGCGTGAACCTA CATGTACTGGTATCAGCAGAAAGTCCGAGCCAGCCCAAGCTGTGGA CTACTTCAACAGCAACCTGGCCCTGGCGTGGCCGCCAGATTTTCT GGCAGCGGCGGCGGCAACAGCTACAGCCTGACCATCAGCAGCATGGA AGCGGAGGAGCGCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTTCACCCAGCAGCC CCTACACCTTCGGCGGAGGACCAAGCTGGAATCAAG3'
608	135.1 VH	5' GAGGTGCAGCTGGAAGAGTCCGGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGC GGCAGCCTGAGACTGTCTTGGCGCGCAGCGGCTTCACTTCAACAG CTACGCCATGAGCTGGGTGCGCCAGGCGCCTGGCAAGGAGCTGGAAT GGGTGGCCGTGATCAGCAGCGCGGCGAGCTACACCTACTACGCGGAC AGCGTGAAGGGCCGGTTACCATCAGCGGGGACAAAGCAGAACAC CCTGTACTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCGGAGGACACCGCGTGT ACTACTGCGCAGACACCCCTTCTACAGCGGCACTACCAAGGCTAC TTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCTGGTGACAGTGTCCAGC3'
609	135.1 VL	5' GACATCCAGCTGACCCAGAGCCCGCAGCTTCTGAGCGCCAGCGTG GGCGACAGAGTGACCATCAGCTTGGGGCCAGCAGCGCGCTGAACTA CCTGGCCTGGTATCAGCAGAAAGCCGGCAAGGCCCGCCAGCTGTGGA TCTACTTCAACAGCAACCTGCAGAGCGGCTGGCCAGCAGATTTTCT GGCAGCGGCGGCGGCAACAGTACACCTGACCATCAGCAGCCTGCA GTTCAGGAGCTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTTCACCCAGCAGCC CCTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGTGGAAATCAAG3'

【図 28 D】

配列番号	抗体	配列
610	135.2 VH	5' GAGGTGCAGCTGGAAGAGTCCGGCGGAGGACTGGTGACGCTGGCGCAGCCTGAGACTGTCTTGGCGCCGACGCGCTTCACTTCCACAGCTACGCCCTGAGCTGGTGGCCAGGCCCTGGCAAGGACTGGAATGGTGGCCACCATCAGCCAGCGCGGAGCTACACCTACTACCCCGACAGCGTGAAGGCGGTTACACATCAGCAGAGACAACAGCAAGAACACCTGTACCTGCAGATGAACAGCTGCGGGCCGAGGACACCGCGGTGTACTACTGCGCCAGACACCCCTTCTACAGCGCACTACCAAGGCTACTCGACTACTGGGCGAGGCAACCTGGTGACAGTGTCCAGC3'
611	135.2 VL	5' GACATCCAGCTGACCCAGAGCCCGAGCTTCCGTAGCGCCAGCGTGGCAGCAGATGACCATCACTGTCCGGCCAAACAGCGGCTGAACATCATGTACTGGTATCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCAAGCTGTGGAATCTACTTCCACAGCAACCTGGCCCTGGCGTCCCGCAGAGATTTTCTGGCAGCGCAGCGGCAACAGTACACCTGACCATCAGCAGCCTGCA GTTCAGAGACTTCCGACCTACTACTGCGCAGCAGTTCACGAGCACCCTACACTTCCGCGGAGGCCACCAAGCTGGAATCAAG3'
612	135.3 VH	5' GAGGTGCAGCTGTGGAAGCGCGGAGGACTGGTGACGCTGGCGCAGCCTGAGACTGTCTTGGCGCCGACGCGCTTCACTTCCACAGCTACGCCCTGAGCTGGTGGCCAGCCCGGAGAGAGACTGGAATGGTGGCCACCATCAGCCAGCGCGGAGCTACACCTACTACCCCGACAGCGTGAAGGCGGTTACCATCAGCAGAGACAACAGCAAGAACACCTGAACTTGCAGATGAGCAGCTGCGGGCCGAGGACACCGCGGTGTACTACTGCGCGAGGACCCCTTCTACAGCGCACTACCAAGGCTACTTCCACTACTGGGCGAGGCCACCTGGTGACAGTGTCCAGC3'
613	135.3 VL	5' GACATCCAGCTGACCCAGAGCCCGAGCTTCCGTAGCGCCAGCGTGGCAGAGAGTGAACATCACTGTCCGGCCAAACAGCGGCTGAACATCATGTACTGGTATCAGCAGAAGCCCGAGCGCCCTCCCAAGCTGTGGAATCTACTTCCACAGCAACCTGGCCCTGGCGTCCCGCAGAGATTTTCTGGCAGCGCAGCGGCAACAGCTACACCTGACCATCAGCAGCCTGCA GTTTCAGGACTTCCGCACTACTACTGCGCAGAGTTCACGAGCACCCTACACTTCCGCGGAGGCCACCAAGCTGGAATCAAG3'

【図 28 E】

配列番号	抗体	配列
614	4.0 VH	5' GAAGTGCAGCTGGAGGAGTCAGGGGAGGCTTAGTGAAGCCTGGAGGTCCCTAAAACCTCTCTGTGAGCCTCTGGATTCACTTTCAGTAATTATGCCATGTCTTGGTTCGCGAGACTCCGGATAAGCGGCTGGAGTGGTTCGCAACCATTAGTAATGGTGGTAGTTACACCTACTATCCAGACACTGTGAAGGTGCTTCAACATCTCCAGAGACAATGCCAAGAACACCTGTCTCTGCAATGAGCAGTCTGAGGTCTGAGGACACGCCCATGTATTACTGTTCAA GACCTCTGAGAGATCCCATTAACCTACTAGCTACTAGCCATTGTCTACTG GGGCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA3'
615	4.0 VL	5' GACATTGTGCTGACCCAGTCTCCAGGAATCATGTCTGCATCTCCAGGGAGAACTCACCATGACCTGCGAGTGCAGCTCAAGTGAAGTTACATGCATTGGTACCAGCAGAGTCAGGACCTCCCCAAAAGATGGATTATGACACATCCAAACTGGCTTCTGGAGTCCCTGCTGCTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACCTTACTCTCTCACAATCAGCAGCATGGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTACTGCGCAGCAGTGGAGTAGCCCGCTCAGCTTCG GTCTGGGACCAAGGTGGAGCTGAAA3'
616	4.1 VH	5' GAGGTGCAGCTGCTGGAAGCGCGGAGGACTGGTGACGCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGGCGCCGACGCGCTTCACTTCCAGCACTACGCCATGAGCTGGTGGCGCAGCGCCCTGGCAAGGACTGGAATGGTGGCCGTGATCAGCAACGGCGGAGTACACCTACTACGCCAGACGCTGAAGGGCGGTTACCATCAGCGGGGACACAGCAAGAACACCTGTACTCTGAGATGAACAGCTGCGGGCCGAGGACACCGCGTGTACTACTGAGCCGGCCAGCAGCGGAGCCACTACTACGCCACCGCAGTTCGCTACTG GGGCAGGGCACCTGGTGACAGTGTCCAGC3'
617	4.1 VL	5' GAGATCGTGTGACCCAGAGCCCGCCACCTGTCTCTGAGCCCTGGCGAGAGGCCACCTGAGCTGCAAGAGCCAGCAGCAGCGTGTCTTACTCTGCTGGTATCAGCAGAAGCCCGCCAGCGCCCAAGCGTGGATCTACGACACCAAGCCGGCCACCGGATCCCGCGCAGATTCTTGGCAGCGGCAGCGGACCACTACACCTGACCATCAGCAGCCTGGAACCCGAGGAC TTCGCGCTGACTACTGCGCAGAGTGGTCCAGCAGCCCCCTGACCTTCGCGGAGGCCAAGGTGGAATCAAG3'

【図 28 F】

配列番号	抗体	配列
618	4.2 VH	5' GAGGTGCAGCTGTGGAAGCGCGGAGGACTGGTGACGCTGGCGCAGCCTGAGACTGTCTTGGCGCCGACGCGCTTCACTTCCAGCAACTACGCCATGAGCTGGTGGCCAGGCCCTGGCAAGGACTGGAATGGGTGGCCACCATCAGCAACGGCGGAGCTACACCTACTACCCCGACAGCGTGAAGGCGCGTTACCATCAGCGGGACAAACAGCAAGAACACCTGTACCTGCAGATGAACAGCTGCGGGCCGAGGACACCGCGGTGTACTACTGCAGCGGCCACGAGCGGAGCCACTACTACGCCACCAAGCCAGTTTCGCTACTGGGCGCAGGGCACCTGGTGACAGTGTCCAGC3'
619	4.2 VL	5' GAGATCGTGTGACCCAGAGCCCGCCACCTGTCTGAGGCCCTGGCAGAGAGCCACCTGAGCTGTAGCGCCAGCAGCAGCGTGTCTTACATGCACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAACGCCCGCAGAGCTGGATCTACGATACCAAGCAAGTGGCGAGCGCATCCCGCCAGATTTTCTGGCAGCGCAGCGGCAACGACTACACCTGACCATCAGCAGCTGGAACCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCGCAGCAGTGGTCCAGCAGCCCCCTGACCTTCGGAGCCGCAACCAAGGTGGAATCAAG3'
620	4.3 VH	5' GAGGTGCAGCTGGAAGAGTCCGGCGGAGGACTGGTGACGCTGGCGCAGCCTGAGACTGTCTTGGCGCCGACGCGCTTCACTTCCAGCAACTACGCCATGAGCTGGTGGCCAGACCCCGCAAGCGGCTGGAATGGGTGGCCACCATCAGCAACGGCGGAGCTACACCTACTACCCCGACAGCGTGAAGGCGCGTTACCATCAGCGGGACACAGCAAGAACACCTGTACCTGCAGATGAGCAGCTGCGGGCCGAGGACACCGCGGTGTACTACTGCAGCGGCCAGCGAGCGGAGCACTACTACGCCACCAAGCCAGTTCGCTACTGGGCGCAGGGCACCTGGTGACAGTGTCCAGC3'
621	4.3 VL	5' GAGATCGTGTGACCCAGAGCCCGCCACCTGTGAGCCTGTCTCCAGCGCAGAGAGCCACCTGAGCTGCAGCGCCAGCAGCAGCGTGTCTTACATGCACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGCGCCCGCAGCGGTGGATCTACGATACCAAGCAAGTGGCCAGCGCATCCCGCGAGATTTTCTGGCAGCGCAGCGGCAACGACTACACCTGACCATCAGCAGCTGGAAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCGCAGAGTGGTCCAGCAGCCCCCTGACCTTCGGAGCCGCAACCAAGGTGGAATCAAG3'

【図 28 G】

配列番号	抗体	配列
622	4.4 VH	5' GAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGCGGAGGCGTGAAGAAGCCTGGCGCAGCCTGAAGCTGAGCTGTGCCCGCAGCGGCTTCACTTCCAGCAACTACGCCATGAGCTGGTCCGACAGACCCCGGCAAGGGCTGGAATGGGTGGCCACCATCAGCAACGGCGGAGCTACACCTACTACCCCGACAGCTTCCAGGGCCGGTTACCATCAGCGGGACAAACGCAAGAGCACCTGAGCCTGCAGATGTCCAGCTGAAGTCCGAGGACACCGCCATGTACTACTGCAGCGGCCAGCGAGCGGAGCCACTACTACGCCACCAAGCCAGTTTCGCTACTGGGCGCAGGGCACCTGGTGACAGTGTCTGCT3'
623	4.5 VH	5' GAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGCGGAGGCGTGAAGAAGCCTGGCGCAGCCTGAAGCTGAGCTGTGCCCGCAGCGGCTTCACTTCCAGCAACTACGCCATGAGCTGGTCCGACAGACCCCGGCAAGGGCTGGAATGGGTGGCCACCATCAGCAACGGCGGAGCTACACCTACTACCCCGACAGCTTCCAGGGCCGGTTACCATCAGCGGGACAAACGCAAGAGCACCTGAGCCTGCAGATGTCCAGCTGAAGTCCGAGGACACCGCCATGTACTACTGCAGCGGCCAGCGAGCGGAGCCACTACTACGCCACCAAGCCAGTTTCGCTACTGGGCGCAGGGCACCTGGTGACAGTGTCTGCT3'
624	4.6 VH	5' GAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGCGGAGGCGTGAAGAAGCCTGGCGCAGCCTGAAGCTGAGCTGTGCCCGCAGCGGCTTCACTTCCAGCAACTACGCCATGAGCTGGTCCGACAGACCCCGGCAAGGGCTGGAATGGGTGGCCACCATCAGCGGGCGGAGCTACACCTACTACCCCGAGAGCTTCCAGGGCCGGTTACCATCAGCGGGACCAAGGCAAGAGCACCTGAGCCTGCAGATGTCCAGCTGAAGTCCGAGGACACCGCCATGTACTACTGCAGCGGCCAGCGAGCGGAGCCACTACTACGCCACCAAGCCAGTTTCGCTACTGGGCGCAGGGCACCTGGTGACAGTGTCTGCT3'
625	4.7 VH	5' GAGGTGCAGCTGTGGAAGCGCGGAGGACTGGTGACGCTGGCGCAGCCTGAGACTGTCTTGGCGCCGACGCGCTTCACTTCCAGCAACTACGCCATGAGCTGGTGGCCAGGCCCTGGCAAGGACTGGAATGGGTGGCCACCATCAGCGGGCGGAGCTACACCTACTACCCCGACAGCGTGAAGGCGCGTTACCATCAGCGGGACAAACAGCAAGAACACCTGTACCTGCAGATGAACAGCTGCGGGCCGAGGACACCGCGGTGTACTACTGCAGCGGCCAGCGAGCGGAGCCACTACTACGCCACCAAGCCAGTTTCGCTACTGGGCGCAGGGCACCTGGTGACAGTGTCCAGC3'

【図 28 H】

配列番号	抗体	配列
626	4.8 VH	5'GAGGTGCAGCTGCTGGAAGCGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGC GGCAGCCTGAGACTGTCTTGGCGCCGAGCGGCTTACCTTCAGCAA CTACGCCATGAGCTGGGTGCGCCAGGCCCCCTGGCAAGGACTTGGAA GGGTGGCCACCATCAGCAATCTGGCAGCTACACCTACTACCCGAC AGCGTGAAGGCGCGGTTCACCATCAGCGGGCAACAGCAAGAACAC CCTGTACCTGCAGATGAACAGCTTGGCGGCGAGGACACCGCCGTCT ACTACTGCAGCGCGCCAGCGAGCGGAGCACTACTACGCCACACAGC CAGTTCCGCTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACAGTGTCCAGC3'
627	4.9 VH	5'GAGGTGCAGCTGCTGGAAGCGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGC GGCAGCCTGAGACTGTCTTGGCGCCGAGCGGCTTACCTTCAGCAA CTACGCCATGAGCTGGGTGCGCCAGGCCCCCTGGCAAGGACTTGGAA GGGTGGCCACCATCAGCAATCTGGCAGCTACACCTACTACCCGAC AGCGTGAAGGCGCGGTTCACCATCAGCGGGCAACAGCAAGAACAC CCTGTACCTGCAGATGAACAGCTTGGCGGCGAGGACACCGCCGTCT ACTACTGCAGCGCGCCAGCGAGCGGAGCACTACTACGCCACACAGC CAGTTCCGCTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACAGTGTCCAGC3'
628	4.10 VH	5'GAGGTGCAGCTGCTGGAAGCGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGC GGCAGCCTGAGACTGTCTTGGCGCCGAGCGGCTTACCTTCAGCAA CTACGCCATGAGCTGGGTGCGCCAGGCCCCCTGGCAAGGACTTGGAA GGGTGGCCACCATCAGCAATCTGGCAGCTACACCTACTACCCGAC AGCGTGAAGGCGCGGTTCACCATCAGCGGGCAACAGCAAGAACAC CCTGTACCTGCAGATGAACAGCTTGGCGGCGAGGACACCGCCGTCT ACTACTGCAGCGCGCCAGCGAGCGGAGCACTACTACGCCACACAGC CAGTTCCGCTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACAGTGTCCAGC3'
629	4.11 VH	5'GAGGTGCAGCTGCTGGAAGCGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGC GGCAGCCTGAGACTGTCTTGGCGCCGAGCGGCTTACCTTCAGCAA CTACGCCATGAGCTGGGTGCGCCAGGCCCCCTGGCAAGGACTTGGAA GGGTGGCCACCATCAGCAATCTGGCAGCTACACCTACTACCCGAC AGCGTGAAGGCGCGGTTCACCATCAGCGGGCAACAGCAAGAACAC CCTGTACCTGCAGATGAACAGCTTGGCGGCGAGGACACCGCCGTCT ACTACTGCAGCGCGCCAGCGAGCGGAGCACTACTACGCCACACAGC CAGTTCCGCTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACAGTGTCCAGC3'

【図 28 I】

配列番号	抗体	配列
630	4.4 VL	5'GACATCGTGTGACCCAGAGCCCCGGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGG GCGACAGAGTGACCATGACCTGCAGCGCCAGCAGCAGCGTGTCTTACA TGCACTGGTATCAGCAGAGCCCCGGCAGCAGCCCCAAGCGGTGGATCT ACGACACAGCAAGCTGGCGCAGCGGCTGCGCGCCAGATTTTCTGGCA GCGGCAGCGGCACAGCTACAGCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCG AGGACGCCGCCACTACTACTGCCAGCAGTGGTCCAGCAGCCCCCTGA CCTTTGGAGCGCGCACCAAGGTGGAATCAAG3'
631	4.5 VL	5'GACATCGTGTGACCCAGAGCCCCGAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGG GCGACAGAGTGACCATGACCTGCAGCGCCAGCAGCAGCGTGTCTTACA TGCACTGGTATCAGCAGAGCCCCGGCAGCAGCCCCAAGCGGTGGATCT ACGACACAGCAAGCTGGCGCAGCGGCTGCGCGCCAGATTTTCTGGCA GCGGCAGCGGCACAGCTACAGCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCG AGGACGCCGCCACTACTACTGCCAGCAGTGGTCCAGCAGCCCCCTGA CCTTTGGAGCGCGCACCAAGGTGGAATCAAG3'
632	4.6 VL	5'GACATCGTGTGACCCAGAGCCCCGAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGG GCGACAGAGTGACCATGACCTGCAGCGCCAGCAGCAGCGTGTCTTACA TGCACTGGTATCAGCAGAGCCCCGGCAGTCCCCAAGCGGTGGATCT ACGACACAGCAAGCTGGCGCAGCGGCTGCGCGCCAGATTTTCTGGCA GCGGCAGCGGCACAGCTACAGCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCG AGGACGCCGCCACTACTACTGCCAGCAGTGGTCCAGCAGCCCCCTGA CCTTTGGAGCGCGCACCAAGGTGGAATCAAG3'
633	4.7 VL	5'GACATCCAGCTGACCCAGAGCCCCGGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGG GCGACAGAGTGACCATGACCTGCAGCGCCAGCAGCAGCGTGTCTTACA TGCACTGGTATCAGCAGAGCCCCGGCAGCAGCCCCAAGCGGTGGATCT ACGACACAGCAAGCTGGCGCAGCGGCTGCGCGCCAGATTTTCTGGCA GCGGCAGCGGCACAGCTACAGCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCG AGGACGCCGCCACTACTACTGCCAGCAGTGGTCCAGCAGCCCCCTGA CCTTTGGAGCGCGCACCAAGGTGGAATCAAG3'

【図 28 J】

配列番号	抗体	配列
634	53.0 VH	5'GAGGTTAGCTGGAGGAGTCAGGGGAGGCTTAGTGAAGCCTGGAG GGTCCCTGAAACTCTCCTGTGCGACGCTCTGGATTCACTTCACTAGCT ATGCCATGTCTTGGGTCGCCAGACTTCGGAGAAGAGGCTGGAGTGGG TCGCAACCATTAGTCACTGGTGGTACTTACACCTACTATCCAGACAGTG TGAAGGGACGATTACCATCTCCAGAGACAAATGCCAAGAACACCCCTGT ACCTGCAAAATGAGCAGTCTGAGGTCTGAGGACACGGCAATGTATTACT GTGCAAGACATCCTATCTACTTGGTAATACCAGGGATACTTTGACT ACTGG GGCCAAAGGCACCACTCTCAGACTCTCCTCA3'
635	53.0 VL	5'GACATTGCTCACCAGCTCTCCAGCAATCATGTCTGCATCTCTAG GGGAGAAGGTCAACATGAGCTGCAGGGCCAGCTCAGGTGTAAATTACA TATACTGGTACCAGCAGAGTCAAGTGCCTCCCAAACTATGGATTT ATTTCACATCCAACCTGGCTCCTGGAGTCCAGCTCGCTTCAGTGGCA GTGGTCTGGGAATCTTATTTCTCTCAACATCAGCAGCATGGAGGGTG AAGATGCTGCCACTTATTACTGCCAGCAGTTTACTAGTTCCCGCTACA CGTTCCGAGGGGGGACCAAGCTTGGAAATAAA3'
636	53.1 VH	5'GAGGTGCAGCTGCTGGAAGCGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCG GCAGCCTGAGACTGTCTTGGCGCCGAGCGGCTTACCTTCACCAAGCT ACGCCATGAGCTGGGTGCGCCAGGCCCCCTGGCAAGGACTGGAATGGG TGGCCCTGATCAGCCAGCGCGGCACTACACCTACTACGCGCAGACGG TGAAGGGCCGGTTACCATCAGCGCGGACACGCCAAGAACACCCCTGT ACCTGCAGATGAACAGCTCGCGGCGGAGGACACCGCGCTACTACT GCGCCAGACACCCCATCTACAGCGGCACTACCAAGGCTACTTCGACT ACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACAGTGTCCAGC3'
637	53.1 VL	5'GACATCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCTTCTTGAAGCGCCAGCGTGG GCGACAGAGTGACCATCACTGTGCGGCCAGCAGCGCGCTGAATACC TGGCCTGGTATCAGCAGAGCCCCGGCAAGGCCCAAGCTTGGATCT ACTTCACCAAGCACTTCAGAGCGCGGTGCCCAGCAGATTTTCTGGCA GCGGCAGCGGCACAGGATACACCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCG AGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTTTCCAGCAGCCCCCTACA CCTTCGCGCAGGGCACCAAGCTGGAATCAAG3'

【図 28 K】

配列番号	抗体	配列
638	53.2 VH	5'GAGGTGCAGCTGCTGGAAGCGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCG GCAGCCTGAGACTGTCTTGGCGCCGAGCGGCTTACCTTCACCAAGCT ACGCCATGAGCTGGGTGCGCCAGGCCCCCTGGCAAGGACTGGAATGGG TGGCCACCAATCAGCCAGCGCGGCACTACACCTACTACCCGACAGCG TGAAGGGCCGGTTACCATCAGCGCGGACACGCCAAGAACACCCCTGT ACCTGCAGATGAACAGCTCGCGGCGGAGGACACCGCAATGTACTACT GCGCCAGACACCCCATCTACAGCGGCACTACCAAGGCTACTTCGACT ACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACAGTGTCCAGC3'
639	53.2 VL	5'GACATCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCTTCTTGAAGCGCCAGCGTGG GCGACAGAGTGACCATCACTGTGCGGCCAGCAGCGCGCTGAATACA TCTACTGGTATCAGCAGAGCCCCGGCAGGCCCCAAGCTGTGGATCT ACTTCACCAAGCACTGGCCCCCTGGGTGCGCCAGCAGATTTTCTGGCA GCGGCAGCGGCACAGGATACACCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCG AGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTTTCCAGCAGCCCCCTACA CCTTCGCGGAGGGCACCAAGCTGGAATCAAG3'
640	53.3 VH	5'GAGGTGCAGCTGGAAGAGTCCGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCG GCAGCCTGAGACTGTCTTGGCGCCGAGCGGCTTACCTTCACCAAGCT ACGCCATGAGCTGGGTGCGCCAGAGCCCCGAGAGCGGCTGGAATGGG TGGCCACCAATCAGCCAGCGCGGCACTACACCTACTACCCGACAGCG TGAAGGGCCGGTTACCATCAGCGCGGACACGCCAAGAACACCCCTGT ACCTGCAGATGAACAGCTCGCGGCGGAGGACACCGCAATGTACTACT GCGCCAGGACCCCATCTACAGCGGCACTACCAAGGCTACTTCGACT ACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACAGTGTCCAGC3'
641	53.3 VL	5'GACATCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCTTCTTGAAGCGCCAGCGTGG GCGACAGAGTGACCATCACTGTGCGGCCAGCAGCGCGCTGAATACA TCTACTGGTATCAGCAGAGCCCCGAGCGGCTTCCCAAGCTGTGGATCT ACTTCACCAAGCACTGGCCCCCTGGGTGCGCCAGCAGATTTTCTGGCA GCGGCAGCGGCACAGGATACACCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCG AGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTTTCCAGCAGCCCCCTACA CCTTCGCGGAGGGCACCAAGCTGGAATCAAG3'

【図 28 L】

配列番号	抗体	配列
642	53.4 VH	5'GAGGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGAGGACTGGTGACGCTGGCGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCGCCGACGCGCTTACACCTTCAACAGCTACGCCATGAGCTGGGTGCGCCAGGCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGGCCGTAAATCAGCCAGCGCGGACCTACACCTACTACCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTTCAACATCAGCCGGGACACGCCAAGAAACACCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCGAGGACACGCCCATGTACTACTGCGCCAGACACCCCATCTACAGCGGCAACTACCAGGGCTACTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCTGGTGACAGTGTCCAGC3'
643	53.5 VH	5'GAGGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGAGGACTGGTGACGCTGGCGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCGCCGACGCGCTTACACCTTCAACAGCTACGCCATGAGCTGGGTGCGCCAGGCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGGCCCAATCAGCCAGCGCGGACCTACACCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTTCAACATCAGCCGGGACACGCCAAGAAACACCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCGAGGACACGCCCATGTACTACTGCGCCAGACACCCCATCTACAGCGGCAACTACCAGGGCTACTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCTGGTGACAGTGTCCAGC3'
644	53.6 VH	5'GAGGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGAGGACTGGTGACGCTGGCGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCGCCGACGCGCTTACACCTTCAACAGCTACGCCATGAGCTGGGTGCGCCAGGCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGGCCCAATCAGCCAGCGCGGACCTACACCTACTACCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTTCAACATCAGCCGGGACACGCCAAGAAACACCTGTACCTGCAGGTGAACAGCCTGCGGGCGAGGACACGCCCATGTACTACTGCGCCAGACACCCCATCTACAGCGGCAACTACCAGGGCTACTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCTGGTGACAGTGTCCAGC3'

【図 28 M】

配列番号	抗体	配列
645	53.4 VL	5'GACATCCAGTGACCCAGAGCCCCAGCTTCTTGAGCGCCAGCGTGGCGCAGAGTGACCATCACCTGTGGGCCAGCAGCGGCGTGAACATACCTACTGGTATCAGCAGAGCCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGTGGATCTACTTCAACAGCAACCTTGGCCCTGGCGTGCCGACAGATTTTCTGGCA GCGGCAGCGGCAACGAGTACACCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGAGTTTCAACAGCAGCCCCATACA CTTTCGGCGGAGGCCACCAAGCTGGAATCAAG3'
646	53.5 VL	5'GACATCCAGTGACCCAGAGCCCCAGCTTCTTGAGCGCCAGCGTGGCGCAGAGTGACCATCACCTGTGGGCCAGCAGCGGCGTGAACATAC TCGCCTGGTATCAGCAGAGAGCCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGTGGATCT ACTTCAACAGCAACCTTGGCCCTGGCGTGCCGACAGATTTTCTGGCA GCGGCAGCGGCAACGAGTACACCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGAGTTTCAACAGCAGCCCCATACA CTTTCGGCGGAGGCCACCAAGCTGGAATCAAG3'
647	53.6 VL	5'GACATCCAGTGACCCAGAGCCCCAGCTTCTTGAGCGCCAGCGTGGCGCAGAGTGACCATCACCTGTGGGCCAGCAGCGGCGTGAACATACA TCTACTGGTATCAGCAGAGAGCCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGTGGATCT ACTTCAACAGCAACCTTGGCCCTGGCGTGCCGACAGATTTTCTGGCA GCGGCAGCGGCAACGAGTACACCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGAGTTTCAACAGCAGCCCCATACA CTTTCGGCGGAGGCCACCAAGCTGGAATCAAG3'
648	53.7 VL	5'GACATCCAGTGACCCAGAGCCCCAGCTTCTTGAGCGCCAGCGTGGCGCAGAGTGACCATCACCTGTGGGCCAGCAGCGGCGTGAACATACA TCTACTGGTATCAGCAGAGAGCCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGTGGATCT ACTTCAACAGCAACCTTGAACCTTGGCGTGCCGACAGATTTTCTGGCA GCGGCAGCGGCAACGAGTACACCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGAGTTTCAACAGCAGCCCCATACA CTTTCGGCGGAGGCCACCAAGCTGGAATCAAG3'

【図 28 N】

配列番号	抗体	配列
649	53.8 VL	5'GACATCCAGTGACCCAGAGCCCCAGCTTCTTGAGCGCCAGCGTGGCGCAGAGTGACCATCACCTGTGGGCCAGCAGCGGCGTGAACATACA TCTACTGGTATCAGCAGAGAGCCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGTGGATCT ACTTCAACAGCAACCTTGGCCCTGGCGTGCCGACAGATTTTCTGGCA GCGGCAGCGGCAACGAGTACACCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGAGTTTCAACAGCAGCCCCATACA CTTTCGGCGGAGGCCACCAAGCTGGAATCAAG3'
650	53.9 VL	5'GACATCCAGTGACCCAGAGCCCCAGCTTCTTGAGCGCCAGCGTGGCGCAGAGTGACCATCACCTGTGGGCCAGCAGCGGCGTGAACATACA TCTACTGGTATCAGCAGAGAGCCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGTGGATCT ACTTCAACAGCAACCTTGGCCCTGGCGTGCCGACAGATTTTCTGGCA GCGGCAGCGGCAACGAGTACACCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGAGTTTCAACAGCAGCCCCATACA CTTTCGGCCAGGCAACCAAGCTGGAATCAAG3'

【図 28 O】

配列番号	抗体	配列
651	82.0 VH	5'GAAGTGAAGCTGGAAGAGTCCGGCCCTGAGGTGGTGCGCCCTGGC GTCTCCGTGAAGATCAGCTGCAAGGGCAGCGGCTACACCTTCAACGGA CTACGCCATGCACCTGGGTGAACAGAGCCACGCCAAGAGCCTGGAAT. GGATTCGGCGTGTATCAGCACTTACAACGGCAACCAAGTACAAACAG AAGTTCAAGGGCAAGGCCACCATGACCGTGGCAAGAGCAGCAGCAC CGCCTACATGGAACTGGCCCGGCTGACCCAGGAGGACAGCGCCATCT ACTACTCGCCCGGTTTCTGAGCCTGCGGTACTTCGATGTGTGGGGA GCGCGCACCAACCGTGAOCCTGTCTAGC3'
652	82.0 VL	5'GACATCGTGTGACCCAGAGCCCCGCCATCCTGTCTGCCCCCCCT GCGGAGAAAGTGACCATGACCTGCGGGGCGCAGCAGCGGTGATCTA CATGTACTGGTATCAGCAGAGAGCCGCGCAGCAGCCCAAGCCCTGGA TCTACGCCACCAGCAAGCTGGCCAGCGGCGTGCAGTGGCGTTTAGC GGCAGCGGCTCTGGCAACAGCTACAGCCTGACCATCAGCCGGGTGGA AGCCGAGGACCTGGCCACCTACTACTGCGCAGCAGTGGTCCAGCGAGC CCTGACCTTCGGAGCGGCGACCAAGCTGGAAGTGAAG3'
653	82.1 VH	5'GAGGTGAAACTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGC GCCAGCGTGAAGGTGCTCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCAACGGA CTACGCCATGCACTGGGTGCGCCAGGCCCTGGCCAGAGACTGGAAT GGATCGGCTGGATCAGCACTTACAACGGCAACCAAGTACAGCCAG AAGTTTCAAGGGCAGAGCCACCATGACCGTGGCAAGAGCGGCCAGCAC CGCCTACATGGAAGTGAAGCAGCTGCGGAGCGAGGACAGCCGCGTGT ACTACTGGCCCGGTTTCTGAGCCTGCGGTACTTCGAGTGTGGGGC AAGGGCACACCGTGAOCCTGTCTAGC3'
654	82.1 VL	5'GACATCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCTTCTTGAGCGCCAGCGTG GCGCAGAGAGTGACCATCACCTGTGGGCCAGCAGCAGCGTGAATCTA CTTGGCCCTGGTATCAGCAGAGCCGCGCAAGGCCCAAGCCCTGGA TCTACGCCACCAGCACTGACAGAGCGGCGTGCACAGCAGATTACGC GGCAGCGGCTCTGGCAACGAGTACACCTGACCATCAGCAGCCTGCA GCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGAGCTGGTCCAGCGAGC CCTGACCTTCGCGGAGGCCACCAAGGTGGAATCAAG3'

【図 28 P】

配列番号	抗体	配列
655	82.2 VH	5'GAGGTGAAACTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCG CCAGCGTGAAGGTGTCTGCAAGGGCAGCGGCTACACCTTCAACGACT ACGCCATGCACTGGGTGCGCCAGGCCCTGGCCAGAGACTGGAATGGA TCGGCGTGATCAGCACTTACAACGGCAACCAAGTACACAGCAAGT TCCAGGGCAGAGCCACCATGACCTTGGCAAGAGCGCCAGCAACCGCT ACATGGAAGTGAAGCAGCTGCGGAGCGAGGACACCGCCATCTACTACT GCGCCCGTTCTTGAGCCTGCGGTACTTCGATGTGTGGGAGCGCGCA CCACCTGACCGTGTCTAGC3'
656	82.2 VL	5'GACATCCAGTGACCCAGAGCCCCAGCTTCTTGAGCGCCAGCGTGGCGCAGAGTGACCATCACCTGTGGGCCAGCAGCGGCTGAATCTACA TGTACTGGTATCAGCAGAGAGCCCCGCAAGGCCCCCAAGCCCTGGATCT ACGCCACCAGCAAGCTGGCCAGCGGCGTGCCAGCAGATTTTCTGGCA GCGGCAGCGGCAACGAGTACACCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGAGTTTCAACAGCAGCCCCATACA CTTTCGGAGCGGCGACCAAGGTGGAATCAAG3'
657	82.3 VH	5'GAGGTGAAACTGGTGCAGAGCGGCCCTGAAGTGAAGGTGCCAGGCG CCAGCGTGAAGGTGTCTGCAAGGGCAGCGGCTACACCTTCAACGACT ACGCCATGCACTGGGTGCGCCAGGCCCTGGCCAGAGCCTGGAATGGA TCGGCGTGATCAGCACTTACAACGGCAACCAAGTACACAGCAAGT TCCAGGGCAGAGCCACCATGACCTTGGCAAGAGCGGCCAGCAGCCCT ACATGGAAGTGAAGCGGCTGCGGAGCGAGGACACCGCCATCTACTACT GCGCCCGTTTCTTGAGCCTGCGGTACTTCGATGTGTGGGAGCGCGCA CCACCTGACCGTGTCTAGC3'
658	82.3 VL	5'GACATCCAGTGACCCAGAGCCCCAGCTTCTTGAGCGCCAGCGCTG GCGCAGAGTGACCATCACCTGTGGGCCAGCAGCAGCGTGAATCTACA TGTACTGGTATCAGCAGAGAGCCCCGCAAGGCCCCCAAGCCCTGGATCT ACGCCACAAGCAAGCTGGCCAGCGGCGTGCCCGTGGGTTTAGCGGCT CTGGCAGCGGCAACAGCTTACACCTGACCATCAGCAGCGCTGCAGGCGG AGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGAGTTTCAACAGCAGCCCCATACA CTTTCGGAGCGGCGACCAAGGTGGAATCAAG3'

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2013/022280

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07K16/28 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EP0-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE, FSTA, CHEM ABS Data, EMBL		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2005/030793 A2 (MILLENNIUM PHARM INC [US]; QIN SHIXIN [US]; KASSAM NASIM [US]; NEWMAN) 7 April 2005 (2005-04-07) the whole document	1-52
X	WO 01/72334 A2 (CORIXA CORP [US]; ARIMILLI SUBHASHINI [US]; FERLIN WALTER [FR]; DESHPA) 4 October 2001 (2001-10-04) the whole document	1-52
X	WO 2008/094942 A2 (COGENESYS INC [US]; SMITH RODGER [US]; KANAKARAJ PALANISAMY [US]; ROSC) 7 August 2008 (2008-08-07) the whole document	1-52
	----- -/-	
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another claim or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 11 September 2013		Date of mailing of the international search report 23/09/2013
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 6818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040 Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Valcárcel, Rafael

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International application No.
PCT/US2013/022280

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

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

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

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

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

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

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

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

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

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☒ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2013/022280

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 6 184 358 B1 (LOETSCHER MARCEL [CH] ET AL) 6 February 2001 (2001-02-06) cited in the application the whole document -----	1-52
Y	I. CLARK-LEWIS: "Structure-Function Relationship between the Human Chemokine Receptor CXCR3 and Its Ligands", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 278, no. 1, 27 December 2002 (2002-12-27), pages 289-295, XP55009694, ISSN: 0021-9258, DOI: 10.1074/jbc.M209470200 the whole document -----	1-52
Y	US 6 686 175 B1 (LOETSCHER MARCEL [CH] ET AL) 3 February 2004 (2004-02-03) the whole document -----	1-52
Y	WO 2010/103517 A1 (RAPPAPORT FAMILY INST FOR RES [IL]; KARIN NATHAN [IL]; WILDBAUM GIZI []) 16 September 2010 (2010-09-16) the whole document -----	1-52
Y	WO 2009/032661 A1 (SANOFI AVENTIS [FR]; LEE RENATA [US]; MIKOL VINCENT [FR]; ALLEN ELIZAB) 12 March 2009 (2009-03-12) cited in the application the whole document -----	1-52

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2013/022280

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2005030793 A2	07-04-2005	EP 1631315 A2 US 2005112119 A1 US 2009285835 A1 US 2011280875 A1 WO 2005030793 A2	08-03-2006 26-05-2005 19-11-2009 17-11-2011 07-04-2005
WO 0172334 A2	04-10-2001	AU 4954601 A WO 0172334 A2	08-10-2001 04-10-2001
WO 2008094942 A2	07-08-2008	AU 2008210589 A1 CA 2677163 A1 CN 101796073 A EP 2115006 A2 JP 2010517531 A KR 20100014869 A US 2010047238 A1 WO 2008094942 A2	07-08-2008 07-08-2008 04-08-2010 11-11-2009 27-05-2010 11-02-2010 25-02-2010 07-08-2008
US 6184358 B1	06-02-2001	JP 4955040 B2 JP 2009278990 A US 6140064 A US 6184358 B1 US 6686175 B1 US 6833439 B1 US 7029862 B1 US 2003158392 A1 US 2010061983 A1	20-06-2012 03-12-2009 31-10-2000 06-02-2001 03-02-2004 21-12-2004 18-04-2006 21-08-2003 11-03-2010
US 6686175 B1	03-02-2004	JP 4955040 B2 JP 2009278990 A US 6140064 A US 6184358 B1 US 6686175 B1 US 6833439 B1 US 7029862 B1 US 2003158392 A1 US 2010061983 A1	20-06-2012 03-12-2009 31-10-2000 06-02-2001 03-02-2004 21-12-2004 18-04-2006 21-08-2003 11-03-2010
WO 2010103517 A1	16-09-2010	NONE	
WO 2009032661 A1	12-03-2009	AR 068354 A1 AU 2008296538 A1 CA 2698203 A1 CN 101842115 A CO 6270238 A2 CR 11293 A DO P2010000069 A EC SP109985 A EP 2195023 A1 JP 2010537636 A KR 20100061815 A MA 31821 B1 NZ 583605 A PA 8794201 A1 PE 09932009 A1 RU 2010111751 A SV 2010003494 A TW 200918558 A	11-11-2009 12-03-2009 12-03-2009 22-09-2010 20-04-2011 23-03-2010 31-03-2010 31-03-2010 16-06-2010 09-12-2010 09-06-2010 01-11-2010 26-10-2012 23-07-2009 08-07-2009 10-10-2011 25-01-2011 01-05-2009

Information on patent family members

International application No

PCT/US2013/022280

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		US 2011027266 A1	03-02-2011
		UY 31309 A1	31-03-2009
		WO 2009032661 A1	12-03-2009

International Application No. PCT/US2013/022280

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-52(partially)

An antibody or antigen binding fragment capable of binding to CXCR3 as defined in claim 1 a): i.e. comprising the 3 CDRs of SEQ ID NO: 2 and the three CDRs of SEQ ID NO: 3. The DNA encoding said antibody. Vectors comprising said DNA. A method of producing said antibody. Pharmaceutical compositions comprising the antibody or the corresponding DNA. Methods of treatment or diagnosis involving the use of said antibody.

2-5. claims: 1-52(partially)

As subject 1 but for the groups defined in claim 1b), corresponding to group of inventions 2; claim 1c) , corresponding to group of inventions 3; claim 1d), corresponding to group of inventions 4; claim 1e) , corresponding to group of inventions 5.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I			テーマコード (参考)
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/00	1 0 1	4 H 0 4 5
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	C 1 2 P	21/08		
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	C 1 2 Q	1/68	A	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	N	
A 6 1 P 3/10 (2006.01)	A 6 1 P	3/10		
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	G 0 1 N	33/53	D	

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

- (72)発明者 ジェニファー・テッドストーン
アメリカ合衆国マサチューセッツ州01748. ホプキントン. プレザントストリート45ビー
- (72)発明者 トレイシー・ロディー
アメリカ合衆国マサチューセッツ州01534. ノースブリッジ. リンカーンサークル317
- (72)発明者 カレン・ビー・カーター
アメリカ合衆国マサチューセッツ州01518. フィスクデール. サミットアヴェニュー4
- (72)発明者 ティモシー・ディー・コナーズ
アメリカ合衆国マサチューセッツ州01545. シュルーズベリー. ロビンロード3
- (72)発明者 ジェイソン・ロバート・ピンクニー
アメリカ合衆国マサチューセッツ州01752. マルボロ. ブロードメドーストリートナンバー7
87ビー
- (72)発明者 エリザベス・マスタージョン
アメリカ合衆国マサチューセッツ州01749. ハドソン. ブリガムストリート6シー 113
- (72)発明者 ルイイン・チュウ
アメリカ合衆国ニュージャージー州08502. ベルミード. ボイスレーン29

Fターム(参考) 4B024 AA01 AA11 BA53 CA02 DA02 EA04 GA03 GA09 HA14
4B063 QA01 QA19 QQ03 QQ42 QQ52 QR32 QR35
4B064 AG27 CA10 CA20 CC24 DA01 DA13
4B065 AA01X AA58X AA72X AA87X AA90X AA92X AB01 AC14 BA02 BA08
BB25 BC03 BC07 CA25 CA44 CA46
4C085 AA14 CC08 DD62 DD63
4H045 AA11 AA20 AA30 DA76 EA20 FA74