

(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2015-534546

(P2015-534546A)

(43) 公表日 平成27年12月3日(2015.12.3)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07K 16/24 (2006.01)	C07K 16/24 ZNA	4B024
C12N 15/09 (2006.01)	C12N 15/00 A	4B064
C12N 15/00 (2006.01)	C12N 15/00 ZTD	4B065
C12P 21/08 (2006.01)	C12P 21/08	4C084
C12N 1/15 (2006.01)	C12N 1/15	4C085
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 176 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2015-530535 (P2015-530535)
 (86) (22) 出願日 平成25年9月5日 (2013.9.5)
 (85) 翻訳文提出日 平成27年5月1日 (2015.5.1)
 (86) 国際出願番号 PCT/IB2013/058317
 (87) 国際公開番号 W02014/037899
 (87) 国際公開日 平成26年3月13日 (2014.3.13)
 (31) 優先権主張番号 61/697, 981
 (32) 優先日 平成24年9月7日 (2012.9.7)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 504389991
 ノバルティス アーゲー
 スイス国 バーゼル リヒトシュトラーセ
 35
 (74) 代理人 100092783
 弁理士 小林 浩
 (74) 代理人 100120134
 弁理士 大森 規雄
 (74) 代理人 100181168
 弁理士 丸山 智裕
 (74) 代理人 100104282
 弁理士 鈴木 康仁

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 IL-18結合分子

(57) 【要約】

IL-18は、自然免疫および獲得免疫の両方に関与する。IL-18の生物活性は、天然に存在する高度に特異的な阻害剤であるIL-18結合タンパク質(IL18BP)によって負に調節される。この可溶性タンパク質は遊離IL-18と複合体を形成し、IL-18受容体とのその相互作用を阻止し、それによってその生物学的活性を中和および阻害する。本発明は、IL-18に結合するがIL-18BPに結合したIL-18(IL-18/IL-18BP複合体)に結合しない結合分子、特に抗体またはその断片を開示する。その生理的役割は別として、IL-18は、様々な自己免疫性および炎症性の疾患を媒介することが示されている。本発明の結合分子は、IL-18関連の自己免疫性および炎症性疾患を処置する治療分子として、または、総IL-18プールの構成成分としての、IL-18BPに結合していないIL-18を特徴付け、検出および/または測定するための診断ツールとして使用することができる。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

IL - 18 に特異的に結合し、IL - 18 / IL - 18 結合タンパク質 (IL - 18 B P) 複合体に結合せず、IL - 18 B P ではない結合分子。

【請求項 2】

配列番号 1 に規定される IL - 18 上の IL - 18 エピトープに結合し、エピトープはアミノ酸 Arg 140 および Glu 152 を含む、請求項 1 に記載の結合分子。

【請求項 3】

エピトープがアミノ酸 Gln 92、Pro 93、Gly 95、Pro 143、Glu 157 または Glu 177 のいずれか 1 つまたは複数をさらに含む、請求項 2 に記載の結合分子。 10

【請求項 4】

エピトープがアミノ酸 Lys 89、Arg 94、Met 96、Phe 138、Ser 141、Gly 144、His 145、Asp 146、Gln 150 または Leu 180 のいずれか 1 つまたは複数をさらに含む、請求項 2 または 3 のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 5】

IL - 18 B P が IL - 18 に結合しているとき、IL - 18 との結合に関して IL - 18 B P と競合しない、前記請求項のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 6】

単離された抗体、単離された抗体の断片、単一の可変ドメイン抗体、二重もしくは多重特異的抗体、多価抗体、二重可変ドメイン抗体、免疫コンジュゲート、フィブロネクチン分子、アドネクチン、DARPin、アビマー、アフィボディ、アンチカリン、アフィリン、タンパク質エピトープ模倣体、またはそれらの組合せから選択される、前記請求項のいずれか一項に記載の結合分子。 20

【請求項 7】

IL - 18 が配列番号 1 または配列番号 2 のアミノ酸 37 からアミノ酸 193 までを含む、前記請求項のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 8】

IL - 18 依存性インターフェロンガンマ (IFN -) の生成を阻害する、前記請求項のいずれか一項に記載の結合分子。 30

【請求項 9】

100 pM 以下の K_D で IL - 18 に結合する、前記請求項のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 10】

単離された完全ヒト抗体、ヒト化抗体もしくはキメラ抗体またはその断片である、請求項 1 から 9 のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 11】

単離された完全ヒト抗体である、請求項 10 に記載の結合分子。

【請求項 12】

抗体断片または単一の可変ドメイン抗体である、請求項 10 に記載の結合分子。 40

【請求項 13】

Fab、Fab'、F(ab')₂、scFv、dAb または V_HH である、請求項 12 に記載の結合分子。

【請求項 14】

IL - 18 に対する第 1 の特異性および別のポリペプチド、例えば IL - 12 もしくは IL - 1 に対する第 2 の特異性を含む、単離された二重特異的抗体またはその断片である、請求項 1 に記載の結合分子。

【請求項 15】

突然変異したまたは化学的に改変されたアミノ酸 Fc 領域を含む単離された抗体であり 50

、突然変異したまたは化学的に改変されたアミノ酸Fc領域は、野生型Fc領域と比較してADCC活性を阻止もしくは減少させ、かつ/または半減期を増加させる、請求項1に記載の結合分子。

【請求項16】

突然変異したまたは化学的に改変されたアミノ酸Fc領域がサイレントなIgG1Fc領域である、請求項15に記載の単離された抗体。

【請求項17】

i . 配列番号3またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H - CDR1、および
 ii . 配列番号4もしくは配列番号9もしくは配列番号10もしくは配列番号11もしくは配列番号12もしくは配列番号13またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H - CDR2、および
 iii . 配列番号5またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H - CDR3、および
 iv . 配列番号6またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L - CDR1、および
 v . 配列番号7またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L - CDR2、および
 vi . 配列番号8またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L - CDR3
 を含む、請求項10に記載の単離された抗体またはその断片。

10

【請求項18】

配列番号9を含む重鎖可変領域H - CDR2を含む、請求項17に記載の単離された抗体またはその断片。

【請求項19】

配列番号13を含む重鎖可変領域H - CDR2を含む、請求項17に記載の単離された抗体またはその断片。

20

【請求項20】

配列番号16もしくは配列番号20またはその保存的変異体を含む軽鎖可変ドメインを含む、請求項10に記載の単離された抗体またはその断片。

【請求項21】

i . 配列番号14もしくは配列番号22もしくは配列番号25もしくは配列番号28もしくは配列番号31もしくは配列番号34またはその保存的変異体を含む重鎖可変ドメイン、および配列番号16またはその保存的変異体を含む軽鎖可変ドメイン、あるいは
 ii . 配列番号18もしくは配列番号37もしくは配列番号40またはその保存的変異体を含む重鎖可変ドメイン、および配列番号20またはその保存的変異体を含む軽鎖可変ドメイン
 を含む、請求項20に記載の単離された抗体またはその断片。

30

【請求項22】

配列番号14またはその保存的変異体を含む重鎖可変ドメイン、および配列番号16またはその保存的変異体を含む軽鎖可変ドメインを含む、請求項21に記載の単離された抗体またはその断片。

【請求項23】

配列番号14における30位のアミノ酸リシン(Lys; K)が、アスパラギン(Asn; N)またはセリン(Ser; S)またはトレオニン(Thr; T)またはアラニン(Ala; A)またはグルタミン酸(Glu; E)またはヒスチジン(His; H)またはロイシン(Leu; L)またはグルタミン(Gln; Q)またはアルギニン(Arg; R)またはバリン(Val; V)またはチロシン(Tyr; Y)またはイソロイシン(Ile; I)から選択されるアミノ酸と置き換えられる、請求項22に記載の単離された抗体またはその断片。

40

【請求項24】

配列番号18またはその保存的変異体を含む重鎖可変ドメイン、および配列番号20またはその保存的変異体を含む軽鎖可変ドメインを含む、請求項21に記載の単離された抗体またはその断片。

【請求項25】

50

i . 配列番号 4 3 もしくは配列番号 4 7 もしくは配列番号 5 0 もしくは配列番号 5 6 またはその保存的変異体を含む重鎖、および配列番号 4 5 またはその保存的変異体を含む軽鎖、あるいは

i i . 配列番号 5 3 もしくは配列番号 1 0 0 もしくは配列番号 1 5 8 またはその保存的変異体を含む重鎖、および配列番号 1 6 0 またはその保存的変異体を含む軽鎖を含む、請求項 1 0 に記載の単離された抗体。

【請求項 2 6】

i . 配列番号 4 3 またはその保存的変異体を含む重鎖、および配列番号 4 5 またはその保存的変異体を含む軽鎖、あるいは

i i . 配列番号 1 5 8 またはその保存的変異体を含む重鎖、および配列番号 1 6 0 またはその保存的変異体を含む軽鎖を含む、請求項 2 5 に記載の単離された抗体。

【請求項 2 7】

i . 配列番号 7 4 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 1、および

i i . 配列番号 7 5 もしくは配列番号 7 6 もしくは配列番号 7 7 もしくは配列番号 7 8 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 2、および

i i i . 配列番号 7 9 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 3、および

i v . 配列番号 8 0 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 1、および

v . 配列番号 8 1 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 2、および

v i . 配列番号 8 2 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 3

を含む、請求項 1 0 に記載の単離された抗体またはその断片。

【請求項 2 8】

配列番号 8 5 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変ドメイン、および配列番号 8 3 もしくは配列番号 8 7 もしくは配列番号 9 0 もしくは配列番号 9 3 またはその保存的変異体を含む重鎖可変ドメインを含む、請求項 1 0 に記載の単離された抗体またはその断片。

【請求項 2 9】

配列番号 9 6 もしくは配列番号 1 0 3 またはその保存的変異体を含む重鎖、および配列番号 9 8 またはその保存的変異体を含む軽鎖を含む、請求項 1 0 に記載の単離された抗体またはその断片。

【請求項 3 0】

i . 配列番号 1 0 6 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 1、および

i i . 配列番号 1 0 7 もしくは配列番号 1 2 2 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 2、および

i i i . 配列番号 1 0 8 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 3、および

i v . 配列番号 1 0 9 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 1、および

v . 配列番号 1 1 0 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 2、および

v i . 配列番号 1 1 1 もしくは配列番号 1 2 6 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 3

を含む、請求項 1 0 に記載の単離された抗体またはその断片。

【請求項 3 1】

i . 配列番号 1 0 6 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 1、および

i i . 配列番号 1 0 7 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 2、および

i i i . 配列番号 1 0 8 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 3、および

i v . 配列番号 1 0 9 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 1、および

び

10

20

30

40

50

v . 配列番号 1 1 0 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 2、および
 v i . 配列番号 1 1 1 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 3
 を含む、請求項 1 0 に記載の単離された抗体またはその断片。

【請求項 3 2】

i . 配列番号 1 1 2 またはその保存的変異体を含む重鎖可変ドメイン、および配列番号
 1 1 4 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変ドメイン、あるいは

i i . 配列番号 1 3 8 またはその保存的変異体を含む重鎖可変ドメイン、および配列番
 号 1 4 0 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変ドメイン
 を含む、請求項 1 0 に記載の単離された抗体またはその断片。

【請求項 3 3】

i . 配列番号 1 1 6 またはその保存的変異体を含む重鎖、および配列番号 1 1 8 または
 その保存的変異体を含む軽鎖、あるいは

i i . 配列番号 1 4 2 またはその保存的変異体を含む重鎖、および配列番号 1 4 4 また
 はその保存的変異体を含む軽鎖
 を含む、請求項 1 0 に記載の単離された抗体。

【請求項 3 4】

i . 配列番号 1 2 0 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 1、および

i i . 配列番号 1 2 1 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 2、およ
 び

i i i . 配列番号 1 2 3 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 3、お
 よび

i v . 配列番号 1 2 4 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 1、およ
 び

v . 配列番号 1 2 5 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 2、および
 v i . 配列番号 1 2 7 もしくは配列番号 1 2 8 もしくは配列番号 1 2 9 またはその保存
 的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 3

を含む、請求項 1 0 に記載の単離された抗体またはその断片。

【請求項 3 5】

配列番号 1 3 0 またはその保存的変異体を含む重鎖可変ドメイン、および配列番号 1 3
 2 もしくは配列番号 1 4 7 もしくは配列番号 1 5 3 またはその保存的変異体を含む軽鎖可
 変ドメインを含む、請求項 1 0 に記載の単離された抗体またはその断片。

【請求項 3 6】

配列番号 1 3 4 またはその保存的変異体を含む重鎖、および配列番号 1 3 6 もしくは配
 列番号 1 5 0 もしくは配列番号 1 5 6 またはその保存的変異体を含む軽鎖を含む、請求項
 1 0 に記載の単離された抗体。

【請求項 3 7】

請求項 1 から 3 6 のいずれか一項に記載の結合分子をコードする単離されたポリヌクレ
 オチド。

【請求項 3 8】

重鎖可変ドメインをコードし、

i . 配列番号 1 5 または配列番号 1 9 または配列番号 2 3 または配列番号 2 6 または配
 列番号 2 9 または配列番号 3 2 または配列番号 3 5 または配列番号 3 8 または配列番号 4
 1 または配列番号 8 4 または配列番号 8 8 または配列番号 9 1 または配列番号 9 4 または
 配列番号 1 1 3 または配列番号 1 3 1 または配列番号 1 3 9 または配列番号 1 4 6 または
 配列番号 1 5 2 と少なくとも 9 0 % 同一であるか、

i i . 配列番号 1 5 または配列番号 1 9 または配列番号 2 3 または配列番号 2 6 または
 配列番号 2 9 または配列番号 3 2 または配列番号 3 5 または配列番号 3 8 または配列番号
 4 1 または配列番号 8 4 または配列番号 8 8 または配列番号 9 1 または配列番号 9 4 また
 は配列番号 1 1 3 または配列番号 1 3 1 または配列番号 1 3 9 または配列番号 1 4 6 また
 は配列番号 1 5 2 を含むか、

10

20

30

40

50

i i i . 配列番号 1 5 または配列番号 1 9 または配列番号 2 3 または配列番号 2 6 または配列番号 2 9 または配列番号 3 2 または配列番号 3 5 または配列番号 3 8 または配列番号 4 1 または配列番号 8 4 または配列番号 8 8 または配列番号 9 1 または配列番号 9 4 または配列番号 1 1 3 または配列番号 1 3 1 または配列番号 1 3 9 または配列番号 1 4 6 または配列番号 1 5 2 から本質的になる、
請求項 3 7 に記載の単離されたポリヌクレオチド。

【請求項 3 9】

軽鎖可変ドメインをコードし、

i . 配列番号 1 7 または配列番号 2 1 または配列番号 2 4 または配列番号 2 7 または配列番号 3 0 または配列番号 3 3 または配列番号 3 6 または配列番号 3 9 または配列番号 4 2 または配列番号 8 6 または配列番号 8 9 または配列番号 9 2 または配列番号 9 5 または配列番号 1 1 5 または配列番号 1 3 3 または配列番号 1 4 1 または配列番号 1 4 8 または配列番号 1 5 4 と少なくとも 9 0 % 同一であるか、

i i . 配列番号 1 7 または配列番号 2 1 または配列番号 2 4 または配列番号 2 7 または配列番号 3 0 または配列番号 3 3 または配列番号 3 6 または配列番号 3 9 または配列番号 4 2 または配列番号 8 6 または配列番号 8 9 または配列番号 9 2 または配列番号 9 5 または配列番号 1 1 5 または配列番号 1 3 3 または配列番号 1 4 1 または配列番号 1 4 8 または配列番号 1 5 4 を含むか、

i i i . 配列番号 1 7 または配列番号 2 1 または配列番号 2 4 または配列番号 2 7 または配列番号 3 0 または配列番号 3 3 または配列番号 3 6 または配列番号 3 9 または配列番号 4 2 または配列番号 8 6 または配列番号 8 9 または配列番号 9 2 または配列番号 9 5 または配列番号 1 1 5 または配列番号 1 3 3 または配列番号 1 4 1 または配列番号 1 4 8 または配列番号 1 5 4 から本質的になる、
請求項 3 7 に記載の単離されたポリヌクレオチド。

【請求項 4 0】

重鎖をコードし、

i . 配列番号 4 4 または配列番号 4 8 または配列番号 5 1 または配列番号 5 4 または配列番号 5 7 または配列番号 9 7 または配列番号 1 0 1 または配列番号 1 0 4 または配列番号 1 1 7 または配列番号 1 3 5 または配列番号 1 4 3 または配列番号 1 4 9 または配列番号 1 5 5 または配列番号 1 5 9 と少なくとも 9 0 % 同一であるか、

i i . 配列番号 4 4 または配列番号 4 8 または配列番号 5 1 または配列番号 5 4 または配列番号 5 7 または配列番号 9 7 または配列番号 1 0 1 または配列番号 1 0 4 または配列番号 1 1 7 または配列番号 1 3 5 または配列番号 1 4 3 または配列番号 1 4 9 または配列番号 1 5 5 または配列番号 1 5 9 を含むか、

i i i . 配列番号 4 4 または配列番号 4 8 または配列番号 5 1 または配列番号 5 4 または配列番号 5 7 または配列番号 9 7 または配列番号 1 0 1 または配列番号 1 0 4 または配列番号 1 1 7 または配列番号 1 3 5 または配列番号 1 4 3 または配列番号 1 4 9 または配列番号 1 5 5 または配列番号 1 5 9 から本質的になる、
請求項 3 7 に記載の単離されたポリヌクレオチド。

【請求項 4 1】

軽鎖をコードし、

i . 配列番号 4 6 または配列番号 4 9 または配列番号 5 2 または配列番号 5 5 または配列番号 5 8 または配列番号 9 9 または配列番号 1 0 2 または配列番号 1 0 5 または配列番号 1 1 9 または配列番号 1 3 7 または配列番号 1 4 5 または配列番号 1 5 1 または配列番号 1 5 7 または配列番号 1 6 1 と少なくとも 9 0 % 同一であるか、

i i . 配列番号 4 6 または配列番号 4 9 または配列番号 5 2 または配列番号 5 5 または配列番号 5 8 または配列番号 9 9 または配列番号 1 0 2 または配列番号 1 0 5 または配列番号 1 1 9 または配列番号 1 3 7 または配列番号 1 4 5 または配列番号 1 5 1 または配列番号 1 5 7 または配列番号 1 6 1 を含むか、

i i i . 配列番号 4 6 または配列番号 4 9 または配列番号 5 2 または配列番号 5 5 また

10

20

30

40

50

は配列番号 5 8 または配列番号 9 9 または配列番号 1 0 2 または配列番号 1 0 5 または配列番号 1 1 9 または配列番号 1 3 7 または配列番号 1 4 5 または配列番号 1 5 1 または配列番号 1 5 7 または配列番号 1 6 1 から本質的になる、請求項 3 7 に記載の単離されたポリヌクレオチド。

【請求項 4 2】

請求項 3 7 から 4 1 のいずれか一項に記載の 1 つまたは複数のポリヌクレオチドを含むクローニングベクターまたは発現ベクター。

【請求項 4 3】

配列番号 4 4 または配列番号 4 8 または配列番号 5 1 または配列番号 5 4 または配列番号 5 7 または配列番号 1 0 1 または配列番号 1 5 9 または配列番号 9 7 または配列番号 1 0 4 または配列番号 1 1 7 または配列番号 1 4 3 または配列番号 1 3 5 または配列番号 1 4 9 または配列番号 1 5 5 または配列番号 4 6 または配列番号 4 9 または配列番号 5 2 または配列番号 5 5 または配列番号 5 8 または配列番号 1 0 2 または配列番号 1 6 1 または配列番号 9 9 または配列番号 1 0 5 または配列番号 1 1 9 または配列番号 1 4 5 または配列番号 1 3 7 または配列番号 1 5 1 または配列番号 1 5 7 の群から選択される少なくとも 1 つのポリヌクレオチドを含む、請求項 4 2 に記載のクローニングベクターまたは発現ベクター。

10

【請求項 4 4】

請求項 4 2 または 4 3 に記載の 1 つまたは複数のクローニングベクターまたは発現ベクターを含む宿主細胞。

20

【請求項 4 5】

請求項 3 7 から 4 1 のいずれか一項に記載の 1 つまたは複数のポリヌクレオチドを含む、安定して形質転換またはトランスフェクトされた宿主細胞。

【請求項 4 6】

結合分子の生成に適する条件下で請求項 4 4 または 4 5 のいずれか一項に記載の宿主細胞を培養することを含む、結合分子を生成する方法。

【請求項 4 7】

請求項 1 から 3 6 のいずれか一項に記載の結合分子または単離された抗体またはその断片、および医薬用担体を含み、任意選択で第 2 の治療化合物を含む医薬組成物。

30

【請求項 4 8】

静脈内、吸入または皮下投与可能な形態である、請求項 4 7 に記載の医薬組成物。

【請求項 4 9】

療法に用いられる、請求項 1 から 3 6 のいずれか一項に記載の結合分子または請求項 4 7 もしくは 4 8 に記載の医薬組成物。

【請求項 5 0】

哺乳動物患者におけるサルコイドーシス、特に肺サルコイドーシス、血球貪食性リンパ組織球増多症 (HLH)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症 (FHL) および他の免疫不全症候群、巨細胞動脈炎 (GCA)、慢性閉塞性肺疾患 (COPD)、成人発症スチル病 (AOSD)、全身性若年性特発性関節炎 (SJA)、重度の喘息、ブドウ膜炎、地理的萎縮、1 型糖尿病、2 型糖尿病またはアテローム硬化症および任意のその組合せを処置および/または予防するために使用するための、請求項 1 から 3 6 のいずれか一項に記載の結合分子または請求項 4 7 もしくは 4 8 に記載の医薬組成物。

40

【請求項 5 1】

哺乳動物患者におけるサルコイドーシス、特に肺サルコイドーシス、血球貪食性リンパ組織球増多症 (HLH)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症 (FHL) および他の免疫不全症候群、巨細胞動脈炎 (GCA)、慢性閉塞性肺疾患 (COPD)、成人発症スチル病 (AOSD)、全身性若年性特発性関節炎 (SJA)、重度の喘息、ブドウ膜炎、地理的萎縮、1 型糖尿病、2 型糖尿病またはアテローム硬化症および任意のその組合せを処置および/または予防する方法であって、哺乳動物患者に、請求項 1 から 3 6 のいずれか一項に記載の結合分子または請求項 4 7 もしくは 4 8 に記載の医薬組成物の治療有効量

50

を投与することを含む方法。

【請求項 5 2】

哺乳動物患者がヒト患者である、請求項 4 9 から 5 1 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 5 3】

IL - 1 8 および請求項 1 から 3 6 のいずれか一項に記載の結合分子を含む複合体。

【請求項 5 4】

診断で使用するためまたは診断キットで使用するのための、請求項 1 から 3 6 のいずれか一項に記載の結合分子または単離された抗体またはその断片。

【請求項 5 5】

診断で使用するため、または試料中の遊離 IL - 1 8 (すなわち IL - 1 8 B P に結合していない IL - 1 8) の存在および / もしくは量を検出および / もしくは測定するために使用するのための、請求項 1 から 3 6 のいずれか一項に記載の結合分子または単離された抗体またはその断片。

10

【請求項 5 6】

試料中の遊離 IL - 1 8 (すなわち IL - 1 8 B P に結合していない IL - 1 8) の存在および / または量を検出および / または測定するための方法であって、試料は任意選択でヒト試料であり、請求項 1 から 3 6 のいずれか一項に記載の結合分子または単離された抗体またはその断片と試料を接触させることを含む方法。

【請求項 5 7】

試料が血液、任意選択でヒト血液である、請求項 5 6 に記載の方法。

20

【請求項 5 8】

請求項 1 から 3 6 のいずれか一項に記載の結合分子もしくは単離された抗体もしくはその断片、および / または請求項 5 3 に記載の複合体を含み、任意選択で第 1 の対照化合物を含む診断キット。

【請求項 5 9】

第 1 の対照化合物が遊離 IL - 1 8 であり、マウス抗体 1 2 5 - 2 H である第 2 の対照化合物を任意選択で含む、請求項 5 8 に記載の診断キット。

【請求項 6 0】

請求項 1 から 3 6 のいずれか一項に記載の結合分子もしくは単離された抗体もしくはその断片、および / または請求項 5 2 に記載の複合体を含む、医療用または診断用装置。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は、サイトカインインターロイキン 1 8 (IL - 1 8) に結合するが、インターロイキン 1 8 結合タンパク質 (IL - 1 8 B P) 内因性阻害剤との複合体中の IL - 1 8 に結合しない結合分子、より詳しくは抗体またはその断片などの免疫グロブリンに関する。本発明は、前記結合分子をコードするポリヌクレオチド、前記結合分子を含む医薬組成物、前記結合分子を使用して疾患を処置および / または予防する方法、ならびに IL - 1 8 B P に結合していない IL - 1 8 の存在および / または量を検出および / または測定する方法にも関する。本発明の他の態様、目的および利点は、以下の記載から明らかとなる。

40

【背景技術】

【0 0 0 2】

インターロイキン 1 8 (IL - 1 8) は、当初 1 9 8 9 年にインターフェロン 誘導因子 (I G I F) として記載された。IL - 1 8 は、IL - 1 ファミリーに関係し、IL - 1 に構造的に関係がある (Okamura H ら (1 9 9 5) Nature ; 3 7 8 : 8 8 ~ 9 1) 。 IL - 1 8 は前駆体タンパク質 (プロ IL - 1 8) としてマクロファージおよび T 細胞によって主に生成され、カスパーゼ - 1 による開裂の後に活性タンパク質として分泌される (Dinarello CA ら (1 9 9 9) J Allergy Clin Immunol ; 1 0 3 : 1 1 ~ 2 4) 。 正常な生理では、IL - 1 8 は、IL - 1 2 との相乗効果で、リポ多糖 (L P S) などの微生物生成物による感染に続く

50

細胞媒介免疫の誘導と関連する (Sareneva Tら (2000) J Immunol ; 165 (4) : 1933~8) 。 I L - 18 による刺激の後、ナチュラルキラー (NK) 細胞および T 細胞はサイトカインインターフェロン (I N F -) を放出し、それは、マクロファージおよび他の細胞の活性化で重要な役割をする。 I L - 18 は、インターフェロン を誘導する能力に加えて、様々な機能も有する。これらの生物学的特性には、 N F - B の活性化、 F a s リガンド発現、 C C および C X C ケモカイン両方の誘導、ならびにコンピテントヒト免疫欠損ウイルスの生成の増加が含まれる。 T 細胞およびマクロファージで I F N - 生成を誘導する I L - 18 の能力のために、それは T h 1 型免疫応答で重要な役割を演じ、自然免疫および獲得免疫の両方に関与する。

【 0 0 0 3 】

I L - 18 は、 I L - 18 受容体 (I L - 18 R) を通して、それぞれ遺伝子 I L 18 R 1 および I L 18 R A P によってコードされるアルファおよびベータ鎖のヘテロマー複合体に高い親和性およびシグナルで結合する (Torigoe Kら (1997) J Biol Chem ; 272 (41) : 25737~42) 。 I L - 18 の生物活性は、天然に存在する高度に特異的な阻害剤である I L - 18 結合タンパク質 (I L 18 B P) によって負に調節される。この可溶性タンパク質は遊離 I L - 18 と複合体を形成し、 I L - 18 受容体とのその相互作用を阻止し、それによってその生物学的活性を中和および阻害する (Dinarello CA (2000) Ann Rheum Dis ; 59増補1 : i17~20) 。 I L - 18 B P は、 I L - 18 への高親和性結合を有する構成的に分泌されるタンパク質である。 I L - 18 B P の選択的 m R N A スプライシング変異体は、4つのアイソフォームをもたらす。優勢な「 a 」アイソフォームは、 I L - 18 と比較して 20 倍のモル過剰で健全なヒト血清中に存在する (DinarelloおよびKaplanski (2005) Expert Rev Clin Immunol、1 (4) 、619~632) 。

【 0 0 0 4 】

その生理的役割は別として、 I L - 18 は、様々な自己免疫性および炎症性の疾患を媒介することが示されている。 I L - 18 発現はいくつかの自己免疫性疾患、例えばクローン病、乾癬、慢性関節リウマチ、多発性硬化症および心血管疾患で上方制御されることが実証されている (Braddockら (2004) Expert Opin Biol Ther ; 4 (6) : 847~860) 。 I L - 18 は特定の炎症性疾患、例えば慢性閉塞性肺疾患 (C O P D) (Imaokaら (2008) Eur Respir ; J31 : 287~297) 、特発性の肺線維症 (I P F) (Kitasatoら (2004) Am J Resp Cell Mol Biol ; 31 : 619~625) 、マクロファージ活性化症候群 (M A S) (DinarelloおよびKaplanski (2005) Expert Rev Clin Immunol ; 1 (4) : 619~632) 、成人発症スチル病 (A O S D) (Arlet JBら (2006) Ann Rheum Dis 65 (12) : 1596~601) 、および全身性若年性特発性関節炎 (S J I A) (Akashiら (1994) Br J Haematol ; 87 (2) : 243~50) でも上方制御される。

【 0 0 0 5 】

近年の研究は、血球貪食性リンパ組織球増多症 (H L H) の遺伝性および獲得性の両方の形態において、高い量の I L - 18 および I F N - を示している。 H L H は、高い量の炎症性サイトカインを分泌する活性化リンパ球および組織球 (Janka GEら (2007) Eur J Paediatr ; 166 : 95~109) ならびに N K 細胞および細胞傷害性 T 細胞の機能障害を特徴とする。最も重要なことは、両方の形態が I L - 18 の無調節で特徴付けられることが示されている (Mazodierら (2005) Immunobiology 106 (10) : 3483~89) 。

【 発明の概要 】

【 発明が解決しようとする課題 】

【 0 0 0 6 】

天然の阻害剤によって調節される I L - 18 などの標的のための治療的分子の開発は、非常に困難なことがある。全身または局所の総 I L - 18 量の増加の存在は、生物学的活性タンパク質 (I L - 18 B P のない I L - 18) のレベルを必ずしも反映しない。 I L - 18 の活性を中和することが潜在的に可能であるが、遊離 I L - 18 および I L - 18 B P との複合体の I L - 18 の両方に結合する治療的化合物は、生物学的に活性な遊離 I L - 18 だけに選択的に結合することができるものより高い用量が必要とされる。高い用

10

20

30

40

50

量で投与される必要がある治療的化合物は、より顕著な副作用につながる可能性があるか、または免疫原性になることがある。高い投薬量は、高い生産費にもつながる。

【0007】

IL18BPに結合しているときのIL-18と競合する治療的化合物は、IL-18無調節で特徴付けられる疾患/障害を患う患者に存在する、遊離/活性IL-18とIL-18BP結合/不活性IL-18との微妙な平衡を妨げる可能性がある。

【0008】

最後に、総IL-18の構成成分としてIL-18BPのないIL-18を検出および/または測定することが可能な診断ツールの不在下で、遊離IL-18の無調節で特徴付けられる疾患を調査することは非常に困難であろう。

10

【課題を解決するための手段】

【0009】

したがって一態様では、本発明はIL-18に特異的に結合する結合分子を提供し、その結合分子はIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合せず、その結合分子はIL-18BPではない。

【0010】

この態様の一実施形態では、結合分子は、配列番号1に規定されるIL-18上のIL-18エピトープに結合し、エピトープはアミノ酸Arg140およびGlu152を含む。

【0011】

この態様の別の実施形態では、エピトープはアミノ酸Gln92、Pro93、Gly95、Pro143、Glu157またはGlu177の任意の1つまたは複数を含めることができる。

20

【0012】

この態様のさらに別の実施形態では、エピトープはアミノ酸Lys89、Arg94、Met96、Phe138、Ser141、Gly144、His145、Asp146、Gln150またはLeu180の任意の1つまたは複数を含めることができる。

【0013】

この態様の別の実施形態では、IL-18BPがIL-18に結合しているとき、結合分子はIL-18との結合に関してIL-18BPと競合しない。

30

【0014】

この態様の別の実施形態では、結合分子は、単離された抗体、単離された抗体の断片、単一の可変ドメイン抗体、二重もしくは多重特異的抗体、多価抗体、二重可変ドメイン抗体、免疫コンジュゲート、フィブロネクチン分子、アドネクチン、DARPin、アビマー、アフィボディ、アンチカリン、アフィリン、タンパク質エピトープ模倣体、またはそれらの組合せから選択される。

【0015】

この態様の別の実施形態では、結合分子はIL-18に結合し、IL-18は配列番号1または配列番号2のアミノ酸37からアミノ酸193までを含む。

【0016】

この態様の別の実施形態では、結合分子はIL-18依存性インターフェロンガンマ(IFN- γ)の生成を阻害する。

40

【0017】

この態様の別の実施形態では、結合分子は100pM以下の K_D でIL-18に結合する。

【0018】

この態様の別の実施形態では、本発明による結合分子は、単離された完全にヒトの、ヒト化された、またはキメラの抗体またはその断片、好ましくは単離された完全にヒトの抗体である。

【0019】

50

この態様の別の実施形態では、結合分子は、抗体断片または単一の可変ドメイン抗体、好ましくは F a b、F a b'、F (a b')₂、s c F v、d A b または V H H である。

【0020】

この態様の別の実施形態では、結合分子は I L - 1 8 に対する第 1 の特異性および別のポリペプチド、例えば I L - 1 2 もしくは I L - 1 に対する第 2 の特異性を含む、単離された二重特異的抗体またはその断片である。

【0021】

この態様の別の実施形態では、結合分子は突然変異したまたは化学的に改変されたアミノ酸 F c 領域を含む単離された抗体であり、突然変異したまたは化学的に改変されたアミノ酸 F c 領域は、野生型 F c 領域と比較して A D C C 活性を阻止しもしくは減少させ、かつ/または半減期を増加させる。好ましくは、突然変異したまたは化学的に改変されたアミノ酸 F c 領域はサイレントな I g G 1 F c 領域である。

【0022】

別の実施形態では、本発明の結合分子が I L - 1 8 に結合するが I L - 1 8 / I L - 1 8 結合タンパク質 (I L - 1 8 B P) 複合体に結合しない単離された抗体またはその断片であるとき、単離された抗体またはその断片は以下を含む：

- i . 配列番号 3 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 1、および
- i i . 配列番号 4 もしくは配列番号 9 もしくは配列番号 1 0 もしくは配列番号 1 1 もしくは配列番号 1 2 もしくは配列番号 1 3 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 2、および
- i i i . 配列番号 5 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 3、および
- i v . 配列番号 6 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 1、および
- v . 配列番号 7 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 2、および
- v i . 配列番号 8 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 3。

【0023】

好ましくは、抗体またはその断片は、配列番号 9 または配列番号 1 3 を含む重鎖可変領域 H - C D R 2 を含む。

【0024】

別の実施形態では、本発明の結合分子が I L - 1 8 に結合するが I L - 1 8 / I L - 1 8 結合タンパク質 (I L - 1 8 B P) 複合体に結合しない単離された抗体またはその断片であるとき、単離された抗体またはその断片は、配列番号 1 6 もしくは配列番号 2 0 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変ドメインを含む。

【0025】

別の実施形態では、本発明の結合分子が I L - 1 8 に結合するが I L - 1 8 / I L - 1 8 結合タンパク質 (I L - 1 8 B P) 複合体に結合しない単離された抗体またはその断片であるとき、単離された抗体またはその断片は以下を含む：

- i . 配列番号 1 4 もしくは配列番号 2 2 もしくは配列番号 2 5 もしくは配列番号 2 8 もしくは配列番号 3 1 もしくは配列番号 3 4 またはその保存的変異体を含む重鎖可変ドメイン、および配列番号 1 6 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変ドメイン、あるいは
- i i . 配列番号 1 8 もしくは配列番号 3 7 もしくは配列番号 4 0 またはその保存的変異体を含む重鎖可変ドメイン、および配列番号 2 0 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変ドメイン。

【0026】

好ましくは、重鎖可変ドメインは、配列番号 1 4 またはその保存的変異体を含み、軽鎖可変ドメインは配列番号 1 6 またはその保存的変異体を含み、任意選択で、配列番号 1 4 における 3 0 位のアミノ酸リシン (L y s ; K) は、アスパラギン (A s n ; N) またはセリン (S e r ; S) またはトレオニン (T h r ; T) またはアラニン (A l a ; A) またはグルタミン酸 (G l u ; E) またはヒスチジン (H i s ; H) またはロイシン (L e u ; L) またはグルタミン (G l n ; Q) またはアルギニン (A r g ; R) またはバリン (V a l ; V) またはチロシン (T y r ; Y) またはイソロイシン (I l e ; I) から選

10

20

30

40

50

扱われるアミノ酸と置き換えられる。

【0027】

別の実施形態では、本発明の結合分子がIL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合しない単離された抗体またはその断片であるとき、単離された抗体またはその断片は、配列番号18またはその保存的変異体を含む重鎖可変ドメイン、および配列番号20またはその保存的変異体を含む軽鎖可変ドメインを含む。

【0028】

別の実施形態では、本発明の結合分子がIL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合しない単離された抗体であるとき、単離された抗体またはその断片は以下を含む：

i . 配列番号43もしくは配列番号47もしくは配列番号50もしくは配列番号56またはその保存的変異体を含む重鎖、および配列番号45またはその保存的変異体を含む軽鎖、あるいは

ii . 配列番号53もしくは配列番号100もしくは配列番号158またはその保存的変異体を含む重鎖、および配列番号160またはその保存的変異体を含む軽鎖。

【0029】

別の実施形態では、本発明の結合分子がIL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合しない単離された抗体であるとき、単離された抗体またはその断片は以下を含む：

i . 配列番号43またはその保存的変異体を含む重鎖、および配列番号45またはその保存的変異体を含む軽鎖、あるいは

ii . 配列番号158またはその保存的変異体を含む重鎖、および配列番号160またはその保存的変異体を含む軽鎖。

【0030】

別の実施形態では、本発明の結合分子がIL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合しない単離された抗体またはその断片であるとき、単離された抗体またはその断片は以下を含む：

i . 配列番号74またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR1、および

ii . 配列番号75もしくは配列番号76もしくは配列番号77もしくは配列番号78またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR2、および

iii . 配列番号79またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR3、および

iv . 配列番号80またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR1、および

v . 配列番号81またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR2、および

vi . 配列番号82またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR3。

【0031】

別の実施形態では、本発明の結合分子がIL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合しない単離された抗体またはその断片であるとき、単離された抗体またはその断片は、配列番号85またはその保存的変異体を含む軽鎖可変ドメイン、および配列番号83もしくは配列番号87もしくは配列番号90もしくは配列番号93またはその保存的変異体を含む重鎖可変ドメインを含む。

【0032】

別の実施形態では、本発明の結合分子がIL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合しない単離された抗体であるとき、単離された抗体は、配列番号96もしくは配列番号103またはその保存的変異体を含む重鎖、および配列番号98またはその保存的変異体を含む軽鎖を含む。

【0033】

別の実施形態では、本発明の結合分子がIL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合しない単離された抗体またはその断片

10

20

30

40

50

であるとき、単離された抗体またはその断片は以下を含む：

- i . 配列番号 106 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 1、および
- ii . 配列番号 107 もしくは配列番号 122 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 2、および
- iii . 配列番号 108 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 3、および
- iv . 配列番号 109 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 1、および
- v . 配列番号 110 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 2、および
- vi . 配列番号 111 もしくは配列番号 126 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 3。

10

【0034】

別の実施形態では、本発明の結合分子が I L - 18 に結合するが I L - 18 / I L - 18 結合タンパク質 (I L - 18 B P) 複合体に結合しない単離された抗体またはその断片であるとき、単離された抗体またはその断片は以下を含む：

- i . 配列番号 106 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 1、および
- ii . 配列番号 107 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 2、および
- iii . 配列番号 108 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 3、および
- iv . 配列番号 109 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 1、および
- v . 配列番号 110 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 2、および
- vi . 配列番号 111 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 3。

20

【0035】

別の実施形態では、本発明の結合分子が I L - 18 に結合するが I L - 18 / I L - 18 結合タンパク質 (I L - 18 B P) 複合体に結合しない単離された抗体またはその断片であるとき、単離された抗体またはその断片は以下を含む：

- i . 配列番号 112 またはその保存的変異体を含む重鎖可変ドメイン、および配列番号 114 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変ドメイン、あるいは
- ii . 配列番号 138 またはその保存的変異体を含む重鎖可変ドメイン、および配列番号 140 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変ドメイン。

30

【0036】

別の実施形態では、本発明の結合分子が I L - 18 に結合するが I L - 18 / I L - 18 結合タンパク質 (I L - 18 B P) 複合体に結合しない単離された抗体またはその断片であるとき、単離された抗体またはその断片は以下を含む：

- i . 配列番号 116 もしくはその保存的変異体を含む重鎖、および配列番号 118 もしくはその保存的変異体を含む軽鎖、または
- ii . 配列番号 142 もしくはその保存的変異体を含む重鎖、および配列番号 144 もしくはその保存的変異体を含む軽鎖。

40

【0037】

別の実施形態では、本発明の結合分子が I L - 18 に結合するが I L - 18 / I L - 18 結合タンパク質 (I L - 18 B P) 複合体に結合しない単離された抗体またはその断片であるとき、単離された抗体またはその断片は以下を含む：

- i . 配列番号 120 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 1、および
- ii . 配列番号 121 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 2、および
- iii . 配列番号 123 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 3、および
- iv . 配列番号 124 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 1、および

50

び

v . 配列番号 1 2 5 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 2、および
v i . 配列番号 1 2 7 もしくは配列番号 1 2 8 もしくは配列番号 1 2 9 またはその保存的
変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 3。

【 0 0 3 8 】

別の実施形態では、本発明の結合分子が I L - 1 8 に結合するが I L - 1 8 / I L - 1
8 結合タンパク質 (I L - 1 8 B P) 複合体に結合しない単離された抗体またはその断片
であるとき、単離された抗体またはその断片は、配列番号 1 3 0 またはその保存的変異体
を含む重鎖可変ドメイン、および配列番号 1 3 2 もしくは配列番号 1 4 7 もしくは配列番
号 1 5 3 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変ドメインを含む。

10

【 0 0 3 9 】

別の実施形態では、本発明の結合分子が I L - 1 8 に結合するが I L - 1 8 / I L - 1
8 結合タンパク質 (I L - 1 8 B P) 複合体に結合しない単離された抗体であるとき、単
離された抗体は、配列番号 1 3 4 またはその保存的変異体を含む重鎖、および配列番号 1
3 6 もしくは配列番号 1 5 0 もしくは配列番号 1 5 6 またはその保存的変異体を含む軽鎖
を含む。

【 0 0 4 0 】

別の態様では、本発明による結合分子をコードする単離されたポリヌクレオチドが提供
される。

【 0 0 4 1 】

この後の態様の一実施形態では、本発明による単離されたポリヌクレオチドは、重鎖可
変ドメインをコードし、ポリヌクレオチドは、

20

i . 配列番号 1 5 または配列番号 1 9 または配列番号 2 3 または配列番号 2 6 または配
列番号 2 9 または配列番号 3 2 または配列番号 3 5 または配列番号 3 8 または配列番号 4
1 または配列番号 8 4 または配列番号 8 8 または配列番号 9 1 または配列番号 9 4 または
配列番号 1 1 3 または配列番号 1 3 1 または配列番号 1 3 9 または配列番号 1 4 6 または
配列番号 1 5 2 と少なくとも 9 0 % 同一であるか、

i i . 配列番号 1 5 または配列番号 1 9 または配列番号 2 3 または配列番号 2 6 または
配列番号 2 9 または配列番号 3 2 または配列番号 3 5 または配列番号 3 8 または配列番号
4 1 または配列番号 8 4 または配列番号 8 8 または配列番号 9 1 または配列番号 9 4 また
は配列番号 1 1 3 または配列番号 1 3 1 または配列番号 1 3 9 または配列番号 1 4 6 また
は配列番号 1 5 2 を含むか、

30

i i i . 配列番号 1 5 または配列番号 1 9 または配列番号 2 3 または配列番号 2 6 また
は配列番号 2 9 または配列番号 3 2 または配列番号 3 5 または配列番号 3 8 または配列番
号 4 1 または配列番号 8 4 または配列番号 8 8 または配列番号 9 1 または配列番号 9 4 ま
たは配列番号 1 1 3 または配列番号 1 3 1 または配列番号 1 3 9 または配列番号 1 4 6 ま
たは配列番号 1 5 2 から本質的になる。

【 0 0 4 2 】

この態様の別の実施形態では、本発明による単離されたポリヌクレオチドは、軽鎖可変
ドメインをコードし、ポリヌクレオチドは、

40

i . 配列番号 1 7 または配列番号 2 1 または配列番号 2 4 または配列番号 2 7 または配
列番号 3 0 または配列番号 3 3 または配列番号 3 6 または配列番号 3 9 または配列番号 4
2 または配列番号 8 6 または配列番号 8 9 または配列番号 9 2 または配列番号 9 5 または
配列番号 1 1 5 または配列番号 1 3 3 または配列番号 1 4 1 または配列番号 1 4 8 または
配列番号 1 5 4 と少なくとも 9 0 % 同一であるか、

i i . 配列番号 1 7 または配列番号 2 1 または配列番号 2 4 または配列番号 2 7 または
配列番号 3 0 または配列番号 3 3 または配列番号 3 6 または配列番号 3 9 または配列番号
4 2 または配列番号 8 6 または配列番号 8 9 または配列番号 9 2 または配列番号 9 5 また
は配列番号 1 1 5 または配列番号 1 3 3 または配列番号 1 4 1 または配列番号 1 4 8 また
は配列番号 1 5 4 を含むか、

50

i i i . 配列番号 1 7 または配列番号 2 1 または配列番号 2 4 または配列番号 2 7 または配列番号 3 0 または配列番号 3 3 または配列番号 3 6 または配列番号 3 9 または配列番号 4 2 または配列番号 8 6 または配列番号 8 9 または配列番号 9 2 または配列番号 9 5 または配列番号 1 1 5 または配列番号 1 3 3 または配列番号 1 4 1 または配列番号 1 4 8 または配列番号 1 5 4 から本質的になる。

【 0 0 4 3 】

この態様の別の実施形態では、本発明による単離されたポリヌクレオチドは重鎖をコードし、ポリヌクレオチドは、

i . 配列番号 4 4 または配列番号 4 8 または配列番号 5 1 または配列番号 5 4 または配列番号 5 7 または配列番号 9 7 または配列番号 1 0 1 または配列番号 1 0 4 または配列番号 1 1 7 または配列番号 1 3 5 または配列番号 1 4 3 または配列番号 1 4 9 または配列番号 1 5 5 または配列番号 1 5 9 と少なくとも 9 0 % 同一であるか、

i i . 配列番号 4 4 または配列番号 4 8 または配列番号 5 1 または配列番号 5 4 または配列番号 5 7 または配列番号 9 7 または配列番号 1 0 1 または配列番号 1 0 4 または配列番号 1 1 7 または配列番号 1 3 5 または配列番号 1 4 3 または配列番号 1 4 9 または配列番号 1 5 5 または配列番号 1 5 9 を含むか、

i i i . 配列番号 4 4 または配列番号 4 8 または配列番号 5 1 または配列番号 5 4 または配列番号 5 7 または配列番号 9 7 または配列番号 1 0 1 または配列番号 1 0 4 または配列番号 1 1 7 または配列番号 1 3 5 または配列番号 1 4 3 または配列番号 1 4 9 または配列番号 1 5 5 または配列番号 1 5 9 から本質的になる。

【 0 0 4 4 】

この態様の別の実施形態では、本発明による単離されたポリヌクレオチドは、軽鎖をコードし、ポリヌクレオチドは、

i . 配列番号 4 6 または配列番号 4 9 または配列番号 5 2 または配列番号 5 5 または配列番号 5 8 または配列番号 9 9 または配列番号 1 0 2 または配列番号 1 0 5 または配列番号 1 1 9 または配列番号 1 3 7 または配列番号 1 4 5 または配列番号 1 5 1 または配列番号 1 5 7 または配列番号 1 6 1 と少なくとも 9 0 % 同一であるか、

i i . 配列番号 4 6 または配列番号 4 9 または配列番号 5 2 または配列番号 5 5 または配列番号 5 8 または配列番号 9 9 または配列番号 1 0 2 または配列番号 1 0 5 または配列番号 1 1 9 または配列番号 1 3 7 または配列番号 1 4 5 または配列番号 1 5 1 または配列番号 1 5 7 または配列番号 1 6 1 を含むか、

i i i . 配列番号 4 6 または配列番号 4 9 または配列番号 5 2 または配列番号 5 5 または配列番号 5 8 または配列番号 9 9 または配列番号 1 0 2 または配列番号 1 0 5 または配列番号 1 1 9 または配列番号 1 3 7 または配列番号 1 4 5 または配列番号 1 5 1 または配列番号 1 5 7 または配列番号 1 6 1 から本質的になる。

【 0 0 4 5 】

この態様の別の態様では、本明細書で請求される 1 つまたは複数のポリヌクレオチドを含むクローニングベクターまたは発現ベクターが提供される。

【 0 0 4 6 】

一実施形態では、本発明によるクローニングベクターまたは発現ベクターは、以下の群から選択される少なくとも 1 つのポリヌクレオチドを含む：配列番号 4 4 または配列番号 4 8 または配列番号 5 1 または配列番号 5 4 または配列番号 5 7 または配列番号 1 0 1 または配列番号 1 5 9 または配列番号 9 7 または配列番号 1 0 4 または配列番号 1 1 7 または配列番号 1 4 3 または配列番号 1 3 5 または配列番号 1 4 9 または配列番号 1 5 5 または配列番号 4 6 または配列番号 4 9 または配列番号 5 2 または配列番号 5 5 または配列番号 5 8 または配列番号 1 0 2 または配列番号 1 6 1 または配列番号 9 9 または配列番号 1 0 5 または配列番号 1 1 9 または配列番号 1 4 5 または配列番号 1 3 7 または配列番号 1 5 1 または配列番号 1 5 7 。

【 0 0 4 7 】

本発明は、本明細書で請求される 1 つまたは複数のクローニングベクターまたは発現ベ

10

20

30

40

50

クターを含む宿主細胞をさらに提供する。

【0048】

本発明の別の態様では、本明細書で請求される1つまたは複数のポリヌクレオチドを含む、安定して形質転換またはトランスフェクトされた宿主細胞が提供される。

【0049】

本発明は、結合分子を生成する方法であって、本明細書で請求される宿主細胞を、結合分子を生成するのに適する条件下で培養することを含む方法をさらに提供する。

【0050】

別の態様では、本発明は、医薬担体、およびIL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合しない結合分子または単離された抗体またはその断片を含み、結合分子はIL-18BPではない医薬組成物をさらに提供する。

10

【0051】

好ましくは、本発明による医薬組成物は、静脈内に、吸入によりまたは皮下に投与可能な形態である。

【0052】

本発明は、療法で使用するための、IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合しない結合分子であって、IL-18BPではない結合分子、またはその結合分子を含む医薬組成物をさらに提供する。

【0053】

本発明の別の態様では、哺乳動物患者におけるサルコイドーシス、特に肺サルコイドーシス、血球貪食性リンパ組織球増多症(HLH)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症(FHL)および他の免疫不全症候群、巨細胞動脈炎(GCA)、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、成人発症スチル病(AOSD)、全身性若年性特発性関節炎(SJIA)、重度の喘息、ブドウ膜炎、地理的萎縮、1型糖尿病、2型糖尿病またはアテローム硬化症および任意のその組合せを処置および/または予防する際に用いられる、IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合しない結合分子であって、IL-18BPではない結合分子、またはその結合分子を含む医薬組成物が提供される。

20

【0054】

本発明の別の態様では、哺乳動物患者におけるサルコイドーシス、特に肺サルコイドーシス、血球貪食性リンパ組織球増多症(HLH)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症(FHL)および他の免疫不全症候群、巨細胞動脈炎(GCA)、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、成人発症スチル病(AOSD)、全身性若年性特発性関節炎(SJIA)、重度の喘息、ブドウ膜炎、地理的萎縮、1型糖尿病、2型糖尿病またはアテローム硬化症および任意のその組合せを処置および/または予防する方法であって、哺乳動物患者に、IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合しない結合分子であって、IL-18BPではない結合分子、またはその結合分子を含む医薬組成物の治療有効量を投与することを含む方法が提供される。

30

【0055】

本発明のさらに別の態様では、哺乳動物患者におけるサルコイドーシス、特に肺サルコイドーシス、血球貪食性リンパ組織球増多症(HLH)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症(FHL)および他の免疫不全症候群、巨細胞動脈炎(GCA)、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、成人発症スチル病(AOSD)、全身性若年性特発性関節炎(SJIA)、重度の喘息、ブドウ膜炎、地理的萎縮、1型糖尿病、2型糖尿病またはアテローム硬化症および任意のその組合せを処置および/または予防するための医薬の製造における、IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合しない結合分子であって、IL-18BPではない結合分子、またはその結合分子を含む医薬組成物の使用が提供される。

40

【0056】

50

本発明の使用による一実施形態では、哺乳動物患者はヒト患者である。

【0057】

別の態様では、IL-18と、IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合しない結合分子であって、本発明によるIL-18BPではない結合分子を含む複合体が提供される。

【0058】

別の態様では、本発明は、診断で使用するための、または診断キットで使用するための、IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合しない結合分子または単離された抗体またはその断片を提供し、結合分子はIL-18BPではない。

10

【0059】

さらに別の態様では、本発明は、診断で使用するため、または試料中の遊離IL-18(すなわちIL-18BPに結合していないIL-18)の存在および/または量を検出および/または測定するために使用するための、IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合しない結合分子または単離された抗体またはその断片を提供し、結合分子はIL-18BPではない。

【0060】

本発明のさらなる態様では、試料中の遊離IL-18(すなわちIL-18BPに結合していないIL-18)の存在および/または量を検出および/または測定する方法が提供され、試料は任意選択でヒト試料であり、この方法は、試料を、IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合しない結合分子または単離された抗体またはその断片と接触させることを含み、結合分子はIL-18BPではない

20

【0061】

この態様の一実施形態では、試料はヒト血液である。

【0062】

別の態様では、本発明は、IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合しない結合分子または単離された抗体またはその断片を含む診断キットをさらに提供し、結合分子はIL-18BPではなく、および/または複合体はIL-18およびその結合分子を含み、キットは第1の対照化合物を任意選択で含む。

30

【0063】

この態様の一実施形態では、第1の対照化合物は遊離IL-18であり、キットはマウス抗体125-2Hである第2の対照化合物を任意選択で含む。

【0064】

本発明の別の態様では、IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合しない結合分子または単離された抗体またはその断片を含む医療用または診断用装置が提供され、結合分子はIL-18BPではなく、および/または複合体はIL-18およびその結合分子を含む。

40

【図面の簡単な説明】

【0065】

【図1】本明細書に例示される抗体の重鎖可変領域のCDRを示す図である。

【図2】本明細書に例示される抗体の軽鎖可変領域のCDRを示す図である。

【図3A】LPS/IL-12によって誘導されるPBMCからのIFN-放出(生来のIL-18による刺激)に及ぼす本発明の抗IL-18抗体およびその断片の影響を示す図である。データは、個々のドナーから新たに単離されたヒトPBMCからの生来のIL-18によって誘導されるIFN-放出の濃度依存的阻害を示し、各データポイントはn=4ウェルからの平均±SEMを表す。生来のIL-18はLPS/IL-12処置によって刺激され、点線は、ヒトIL-18BPα-Fcの最大効力によって判定された、IL-18依存性の程度を表す。

50

【図3B】LPS/IL-12によって誘導されるPBMCからのIFN-放出(生来のIL-18による刺激)に及ぼす本発明の抗IL-18抗体およびその断片の影響を示す図である。データは、個々のドナーから新たに単離されたヒトPBMCからの生来のIL-18によって誘導されるIFN-放出の濃度依存的阻害を示し、各データポイントはn=4ウェルからの平均±SEMを表す。生来のIL-18はLPS/IL-12処置によって刺激され、点線は、ヒトIL-18Bpa-Fcの最大効力によって判定された、IL-18依存性の程度を表す。

【図3C】LPS/IL-12によって誘導されるPBMCからのIFN-放出(生来のIL-18による刺激)に及ぼす本発明の抗IL-18抗体およびその断片の影響を示す図である。データは、個々のドナーから新たに単離されたヒトPBMCからの生来のIL-18によって誘導されるIFN-放出の濃度依存的阻害を示し、各データポイントはn=4ウェルからの平均±SEMを表す。生来のIL-18はLPS/IL-12処置によって刺激され、点線は、ヒトIL-18Bpa-Fcの最大効力によって判定された、IL-18依存性の程度を表す。

10

【図3D】LPS/IL-12によって誘導されるPBMCからのIFN-放出(生来のIL-18による刺激)に及ぼす本発明の抗IL-18抗体およびその断片の影響を示す図である。データは、個々のドナーから新たに単離されたヒトPBMCからの生来のIL-18によって誘導されるIFN-放出の濃度依存的阻害を示し、各データポイントはn=4ウェルからの平均±SEMを表す。生来のIL-18はLPS/IL-12処置によって刺激され、点線は、ヒトIL-18Bpa-Fcの最大効力によって判定された、IL-18依存性の程度を表す。

20

【図4A】組換えIL-18によって誘導されるPBMCからのIFN-放出に及ぼす本発明の抗IL-18抗体およびその断片の影響を示す図である。データは、代表的な個々のドナーから新たに単離されたヒトPBMCからの組換えヒトIL-18(1nM)によって誘導されるIFN-放出の濃度依存的阻害を示し、各データポイントはn=4ウェルからの平均±SEMを表す。

【図4B】組換えIL-18によって誘導されるPBMCからのIFN-放出に及ぼす本発明の抗IL-18抗体およびその断片の影響を示す図である。データは、代表的な個々のドナーから新たに単離されたヒトPBMCからの組換えヒトIL-18(1nM)によって誘導されるIFN-放出の濃度依存的阻害を示し、各データポイントはn=4ウェルからの平均±SEMを表す。

30

【図5A】ヒトIL-18によって誘導されるKG-1細胞からのIFN-放出に及ぼす本発明の抗IL-18抗体およびその断片の影響を示す図である。データは、KG-1細胞からの組換えヒトIL-18(1nM)によって誘導されるIFN-放出の濃度依存的阻害を示し、各データポイントはn=4ウェルからの平均±SEMを表す。

【図5B】ヒトIL-18によって誘導されるKG-1細胞からのIFN-放出に及ぼす本発明の抗IL-18抗体およびその断片の影響を示す図である。データは、KG-1細胞からの組換えヒトIL-18(1nM)によって誘導されるIFN-放出の濃度依存的阻害を示し、各データポイントはn=4ウェルからの平均±SEMを表す。

【図5C】ヒトIL-18によって誘導されるKG-1細胞からのIFN-放出に及ぼす本発明の抗IL-18抗体およびその断片の影響を示す図である。データは、KG-1細胞からの組換えヒトIL-18(1nM)によって誘導されるIFN-放出の濃度依存的阻害を示し、各データポイントはn=4ウェルからの平均±SEMを表す。

40

【図6A】カニクイザルIL-18によって誘導されるKG-1細胞からのIFN-放出に及ぼす本発明の抗IL-18抗体およびその断片の影響を示す図である。データは、KG-1細胞からの組換えカニクイザルIL-18(0.2nM)によって誘導されるIFN-放出の濃度依存的阻害を示し、各データポイントはn=4ウェルからの平均±SEMを表す。

【図6B】カニクイザルIL-18によって誘導されるKG-1細胞からのIFN-放出に及ぼす本発明の抗IL-18抗体およびその断片の影響を示す図である。データは、

50

KG-1細胞からの組換えカニクイザルIL-18(0.2nM)によって誘導されるIFN-放出の濃度依存的阻害を示し、各データポイントはn=4ウェルからの平均±SEMを表す。

【図6C】カニクイザルIL-18によって誘導されるKG-1細胞からのIFN-放出に及ぼす本発明の抗IL-18抗体およびその断片の影響を示す図である。データは、KG-1細胞からの組換えカニクイザルIL-18(0.2nM)によって誘導されるIFN-放出の濃度依存的阻害を示し、各データポイントはn=4ウェルからの平均±SEMを表す。

【図7A】LPS/IL-12によって誘導されるヒトIL-18(生来のIL-18による刺激)およびヒト全血における以降のIFN-放出に及ぼす、本発明の抗IL-18抗体およびその断片の影響を示す図である。 10

【図7B】LPS/IL-12によって誘導されるヒトIL-18(生来のIL-18による刺激)およびヒト全血における以降のIFN-放出に及ぼす、本発明の抗IL-18抗体およびその断片の影響を示す図である。

【図7C】LPS/IL-12によって誘導されるヒトIL-18(生来のIL-18による刺激)およびヒト全血における以降のIFN-放出に及ぼす、本発明の抗IL-18抗体およびその断片の影響を示す図である。

【図7D】LPS/IL-12によって誘導されるヒトIL-18(生来のIL-18による刺激)およびヒト全血における以降のIFN-放出に及ぼす、本発明の抗IL-18抗体およびその断片の影響を示す図である。 20

【図7E】LPS/IL-12によって誘導されるヒトIL-18(生来のIL-18による刺激)およびヒト全血における以降のIFN-放出に及ぼす、本発明の抗IL-18抗体およびその断片の影響を示す図である。

【図8A】ヒト全血におけるヒトIL-18によって誘導されるIFN-放出に及ぼす本発明の抗IL-18抗体およびその断片の影響を示す図である。データは、個々のドナーからとられた全血からの組換えヒトIL-18によって誘導されるIFN-放出の濃度依存的阻害を示し、各データポイントはn=4ウェルからの平均±SEMを表す。

【図8B】ヒト全血におけるヒトIL-18によって誘導されるIFN-放出に及ぼす本発明の抗IL-18抗体およびその断片の影響を示す図である。データは、個々のドナーからとられた全血からの組換えヒトIL-18によって誘導されるIFN-放出の濃度依存的阻害を示し、各データポイントはn=4ウェルからの平均±SEMを表す。 30

【図8C】ヒト全血におけるヒトIL-18によって誘導されるIFN-放出に及ぼす本発明の抗IL-18抗体およびその断片の影響を示す図である。データは、個々のドナーからとられた全血からの組換えヒトIL-18によって誘導されるIFN-放出の濃度依存的阻害を示し、各データポイントはn=4ウェルからの平均±SEMを表す。

【図8D】ヒト全血におけるヒトIL-18によって誘導されるIFN-放出に及ぼす本発明の抗IL-18抗体およびその断片の影響を示す図である。データは、個々のドナーからとられた全血からの組換えヒトIL-18によって誘導されるIFN-放出の濃度依存的阻害を示し、各データポイントはn=4ウェルからの平均±SEMを表す。

【図8E】ヒト全血におけるヒトIL-18によって誘導されるIFN-放出に及ぼす本発明の抗IL-18抗体およびその断片の影響を示す図である。データは、個々のドナーからとられた全血からの組換えヒトIL-18によって誘導されるIFN-放出の濃度依存的阻害を示し、各データポイントはn=4ウェルからの平均±SEMを表す。 40

【図9A】IL-18/IL-18BP複合体への抗IL-18抗体および断片の結合を示す図である。(A)親のMOR08775およびMOR08776は、IL-18/IL-18BP複合体を認識しない。この実験では、MOR08775およびMOR08776は、ビオチン化IL-18/IL-18BP複合体とインキュベートした。

【図9B】IL-18/IL-18BP複合体への抗IL-18抗体および断片の結合を示す図である。(B)実験は、非ビオチン化ヒトIL-18を使用したことを除いて、A)に示すのと同様の方法で実施した。MOR03207は抗リゾチーム抗体であり、12 50

5 - 2 H は I L - 1 8 / I L - 1 8 B P 複合体に結合する抗 I L - 1 8 マウス I g G である。

【図 1 0 A】抗 I L - 1 8 抗体 M O R 8 7 7 5、M O R 8 7 7 6 (A) に結合するエピトープを示す図である。黒塗りセルは類似のエピトープをめぐって競合をする抗体を示し、空のセルは競合がないことを示す。

【図 1 0 B】抗体 M O R 9 4 6 4、M O R 9 4 6 4 _ _ N 3 0 K、M O R 1 0 2 2 2 _ _ N 3 0 S _ _ M 5 4 I および M O R 1 4 4 3 1 (B) に結合するエピトープを示す図である。黒塗りセルは類似のエピトープをめぐって競合をする抗体を示し、空のセルは競合がないことを示す。

【図 1 1 A】A) I L - 1 / I L - 1 R 複合体の構造の上で作製された I L - 1 8 / I L - 1 8 R のモデルに重ね合わせた I L - 1 / I L - 1 R 複合体の構造を示す図である。全ての構造は、リボンで表されている。重ね合わせのために、I L - 1 および I L - 1 の構造を使用した。I L - 1 8 R (面表示で示す)は、3つの免疫グロブリン様ドメイン、D 1、D 2 および D 3 を含む。I L - 1 8 (リボン表示で示す)の上で、部位 1 および 2 は I L - 1 8 R 結合部位である。部位 3 は、I L - 1 8 R 結合部位である。

【図 1 1 B】B) I L - 1 / I L - 1 R 複合体の構造の上で作製された I L - 1 8 / I L - 1 8 R 複合体のモデルを示す図である。I L - 1 8 R (面表示で示す)は、3つの免疫グロブリン様ドメイン、D 1、D 2 および D 3 を含む。I L - 1 8 (リボン表示で示す)の上で、部位 1 および 2 は I L - 1 8 R 結合部位である。部位 3 は、I L - 1 8 R 結合部位である。

【図 1 2】I L - 1 8 上に結合した、関連するアミノ酸の比較を示す図である。1) 配列番号 1 のアミノ酸 3 7 ~ 1 9 3 による I L - 1 8 の配列。2) Kim ら、(2000) Proc Natl Acad Sci ; 97 (3) : 1190 ~ 1195 から (I L - 1 8 B P および ヒト I L - 1 8 とのその複合体のモデル化)。3) Krumm ら、(2008) Proc Natl Acad Sci ; 2008 105 (52) : 20711 ~ 2071552 から、表 1。4) Kato ら、(2003) Nature Struct. Biol. 2003 ; 10 (11) : 966 ~ 971 から ; I L - 1 8 R 結合に關与する残基。5) I L - 1 8 に結合した M O R 9 4 6 4 の H / D x M S 結果。

【図 1 3】ヒト I L - 1 8 (C トレースおよび溶媒接触可能面で示す)と M O R 9 4 6 4 _ _ N 3 0 K (カートゥーン表示で示す)の間の複合体の三次元構造の全体像を示す図である。

【図 1 4 A】(A) 成熟ヒトおよびカニクイザル I L - 1 8 (アミノ酸 3 7 ~ 1 9 3) の配列の配列アラインメントを示す図である。

【図 1 4 B】(B) 2つの種にわたって異なる 6 アミノ酸の空間充填表示を示す図である。E 1 7 7 は、抗体複合体界面に存在する唯一のものである。I L - 1 8 は C トレースおよび溶媒接触可能面で示し、M O R 9 4 6 4 _ _ N 3 0 K はカートゥーン表示で示す。

【図 1 5】I L - 1 / I L - 1 R 複合体の構造の上で作製された I L - 1 8 / I L - 1 8 R 複合体のモデルに重ね合わせた I L 1 8 / M O R 9 4 6 4 _ _ N 3 0 K 複合体のリボン表示を示す図である。I L - 1 8 R 構造は面表示で示し、M O R 9 4 6 4 _ _ N 3 0 K 重鎖および軽鎖はそれぞれ暗灰色および淡灰色で示す。

【図 1 6】ボックスウイルスからの I L - 1 8 B P (左) および M O R 9 4 6 4 _ _ N 3 0 K 抗体断片 (右) に結合したヒト I L - 1 8、ならびにそれらの重ね合わせ (中央) のリボン表示を示す図である。オーバーレイは、I L - 1 8 構造に基づく。I L - 1 8 は C トレースおよび溶媒接触可能面で示し、M O R 9 4 6 4 _ _ N 3 0 K およびボックスウイルスからの I L - 1 8 B P はカートゥーン表示で示す。

【図 1 7】M O R 9 4 6 4 _ _ N 3 0 K 抗体断片 (右) およびマウス 1 2 5 - 2 H 抗体断片 (右) に結合したヒト I L - 1 8、ならびにそれらの重ね合わせ (中央) のリボン表示を示す図である。オーバーレイは、I L - 1 8 構造に基づく。I L - 1 8 は C トレースおよび溶媒接触可能面で示し、M O R 9 4 6 4 _ _ N 3 0 K および 1 2 5 - 2 H はカートゥーン表示で示す。

10

20

30

40

50

【図18】ボックスウイルスからのIL-18BPに結合したIL-18にオーバーレイされた125-2Hに結合したヒトIL-18のリボン表示を示す図である。オーバーレイは、IL-18構造に基づく。IL-18はCトレースおよび溶媒接触可能面で示し、MOR9464__N30K、125-2HおよびボックスウイルスからのIL-18BPはカーブ表示で示す。

【図19】MOR9464__N30K抗体断片に結合したヒトIL-18のリボン表示を示す図であり、エピトープおよびパラトープ残基は棒表示で表し、MOR9464__N30Kの30位のアミノ酸リシンとの特異的相互作用を示す。

【発明を実施するための形態】

【0066】

1. 定義

この明細書の解釈のために、以下の定義が適用され、該当する限り、単数形で使用される用語は複数形も含み、逆もまた同じである。詳細な説明を通して、追加の定義が示される。

【0067】

用語「IL-18」は、IL-18ポリペプチド、インターロイキン18ポリペプチド、IFNガンマ誘導因子またはインターフェロン誘導因子またはIFN-誘導因子と同義である。用語「IL-18」は、配列番号1のアミノ酸37~193を含むヒトIL-18を指す。この明細書全体で、プロまたは成熟の形態を意味することが明記されていない限り、用語IL-18は、プロIL-18（プロテアーゼ開裂前の成熟IL-18の前駆体）および成熟IL-18（プロテアーゼ開裂後）を互換的に包含する。

【0068】

用語cm IL-18は、配列番号2のアミノ酸37~193を含むカニクイザルIL-18を指す。

【0069】

用語「抗体」は、インタクトな免疫グロブリンまたはその機能的断片を指す。天然に存在する抗体は、少なくとも2つの重(H)鎖および少なくとも2つの軽(L)鎖で通常構成される四量体を一般的に含む。各重鎖は、重鎖可変領域（本明細書でVHと略す）ならびに3つのドメイン（CH1、CH2およびCH3）で通常構成される重鎖定常領域で構成される。重鎖は、IgG（IgG1、IgG2、IgG3およびIgG4サブタイプ）、IgA（IgA1およびIgA2サブタイプ）、IgMおよびIgEを含む任意のアイソタイプであってもよい。各軽鎖は、軽鎖可変領域（本明細書でVLと略す）および軽鎖定常領域（CL）で構成される。軽鎖は、カップ鎖およびラムダ鎖を含む。重鎖および軽鎖可変領域は、一般的に抗原認識を担うが、重鎖および軽鎖定常領域は、免疫系の様々な細胞（例えば、エフェクター細胞）および古典的補体系の第1構成成分（C1q）を含む、宿主の組織または因子への免疫グロブリンの結合を媒介することができる。VHおよびVL領域は、フレームワーク領域（FR）と呼ばれる、より保存されている領域が間に散在する、相補性決定領域（CDR）と呼ばれる超可変性の領域にさらに細分化することができる。各VHおよびVLは、アミノ末端からカルボキシ末端まで以下の順序で配列される3つのCDRおよび4つのFRで構成される：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重鎖および軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含有する。

【0070】

本明細書で用いるように、抗体の「抗原結合部分」（または単に「抗原部分」という用語は、完全長またはIL-18に特異的に結合する能力を保持する抗体の1つまたは複数の断片を指す。抗体の抗原結合機能は、完全長抗体の断片が遂行することができることが示されている。抗体の「抗原結合部分」という用語に包含される結合性断片の例には、Fab断片、VL、VH、CLおよびCH1ドメインからなる一価の断片；F(ab)2断片、ヒンジ領域でジスルフィド架橋によって連結される2つのFab断片を含む二価の断片；VHおよびCH1ドメインからなるFd断片；抗体の単一のアームのVLおよびV

10

20

30

40

50

HドメインからなるFv断片；VHドメインからなるdAb断片（Wardら、（1989）Nature；341：544～546）；ならびに単離された相補性決定領域（CDR）が含まれる。

【0071】

さらに、Fv断片の2つのドメインVLおよびVHは別々の遺伝子によってコードされるが、それらは、組換え方法を使用して、VLおよびVH領域が対になって一価の分子（単鎖Fv（scFv））として知られる；例えば、Birdら、（1988）Science 242：423～426；およびHustonら、（1988）Proc Natl Acad Sc；85：5879～5883を参照）を形成する単一のタンパク質鎖としてそれらが作製されることを可能にする、フレキシブルリンカーによって連結することができる。そのような単鎖抗体は、抗体の「抗原結合部分」という用語に包含されることも意図される。これらの抗体断片は、当業者に公知である従来の技術を使用して得られ、断片はインタクトな抗体と同様に有用性についてスクリーニングされる。

10

【0072】

この明細書全体において用語「単離された」は、免疫グロブリン、抗体またはポリヌクレオチドが、場合によっては、それが天然に存在することができる環境と異なる物理的環境に存在することを意味する。

【0073】

しかし、IL18ポリペプチドに特異的に結合する単離された抗体は、他の種からのIL18（例えばカニクイザル（cm）IL-18）などの他の抗原との交差反応性を有することができる。さらに、単離された抗体は、他の細胞物質および/または化学物質を実質的に含まなくてもよい。

20

【0074】

この明細書全体で、CDRがChothiaの定義によって定義されるか、または両方の定義によって定義されると明記されていない限り、相補性決定領域（「CDR」）はKababatの定義によって定義される。Kababatの定義は抗体の残基を数えるための標準であり、CDR領域を特定するために一般的に使用される（Kabatら、（1991）、5版、NIH publication No. 91-3242）。Chothiaの定義はKababatの定義に類似するが、特定の構造ループの位置を考慮する（Chothiaら、（1987）J. Mol. Biol.、196：901～17；Al-Lazikaniら、（1997）J.Mol.Biol. 273：927～948）。

【0075】

慣例により、重鎖のCDR領域は一般的にH-CDR1、H-CDR2およびH-CDR3と呼ばれ、軽鎖ではL-CDR1、LCDR2およびL-CDR3と呼ばれる。それらは、アミノ末端からカルボキシ末端の方向で順番に番号づけられる。

30

【0076】

本明細書で用いられる用語「モノクローナル抗体」または「モノクローナル抗体組成物」は、単一分子組成の抗体分子の調製物を指す。モノクローナル抗体組成物は、特定のエピトープについての単一の結合特異性および親和性を提示する。

【0077】

本明細書で用いるように、用語「ヒト抗体」は、フレームワークとCDR領域の両方がヒト起源の配列から誘導される可変領域を有する抗体を含むものとする。さらに、抗体が定常領域を含有する場合は、定常領域もそのようなヒト配列、例えばヒト生殖細胞系配列、またはヒト生殖細胞系配列の突然変異版、またはヒトフレームワーク配列分析から導かれるコンセンサスフレームワーク配列を含有する抗体から誘導され、これは、例えば、Knappikら、（2000）J Mol Biol；296：57～86に記載されている。

40

【0078】

本発明のヒト抗体は、ヒト配列によってコードされないアミノ酸残基を含むことができる（例えば、in vitroでのランダムもしくは部位特異的突然変異誘発、またはin vivoでの体細胞突然変異によって導入される突然変異）。しかし、本明細書で用いるように、用語「ヒト抗体」は、マウスなどの別の哺乳動物種の生殖細胞系から誘導されたCDR配列がヒトフレームワーク配列に移植されている抗体を含まないものとする。

50

【0079】

用語「ヒトモノクローナル抗体」は、フレームワークとCDR領域の両方がヒト配列から誘導される可変領域を有する、単一の結合特異性を提示する抗体を指す。

【0080】

本明細書で用いるように、用語「組換えヒト抗体」は、組換え手段によって調製、発現、作製または単離される全てのヒト抗体、例えば、ヒト免疫グロブリン遺伝子に関してトランスジェニックもしくはトランスクロモソーム型である動物（例えば、マウス）から単離された抗体、またはそれから調製されるハイブリドーマ、ヒト抗体を発現するように形質転換された宿主細胞から、例えばトランスフェクターマから単離された抗体、組換え型の組合せヒト抗体ライブラリーから単離された抗体、およびヒト免疫グロブリン遺伝子の全体または一部のスプライシングを含む任意の他の手段によって調製、発現、作製または単離される抗体を含む。そのような組換えヒト抗体は、フレームワークおよびCDR領域がヒト生殖細胞系の免疫グロブリン配列から誘導される可変領域を有する。しかし特定の実施形態では、そのような組換えヒト抗体は、*in vitro*突然変異誘発（または、ヒトIg配列にトランスジェニックである動物が使用される場合は*in vivo*体細胞突然変異誘発）にかけることができ、したがって、組換え抗体のVHおよびVL領域のアミノ酸配列は、ヒト生殖細胞系のVHおよびVL配列から誘導され、それに関係があるが、*in vivo*でヒト抗体生殖細胞系レパートリーの中に本来存在することができない配列である。

10

【0081】

語句「抗原を認識する抗体」および「抗原に特異的な抗体」は、本明細書において用語「抗原に特異的に結合する抗体」と互換的に使用される。

20

【0082】

本明細書で用いるように、「IL-18に特異的に結合する」結合分子は、100 nM以下、10 nM以下、1 nM以下の K_D でヒトIL-18に結合する結合分子を指すものとする。

【0083】

「IL-18以外の抗原と交差反応する」結合分子は、100 nM以下、10 nM以下、1 nM以下の K_D でその抗原に結合する結合分子を指すものとする。「特定の抗原と交差反応しない」結合分子は、標準の結合アッセイではこれらのタンパク質に対して本質的に検出不能である結合を示す結合分子を指すものとする。

30

【0084】

本明細書で用いるように、用語「アンタゴニスト」は、ヒト血液細胞でのIL-18依存性インターフェロンガンマ（IFN- γ ）生成アッセイなどのヒト細胞アッセイにおいて、IL-18の存在下でIL-18依存性シグナル伝達活性を阻害する結合分子を指すものとする。ヒト血液細胞でのIL-18依存性IFN- γ 生成アッセイの例は、下の例でより詳細に記載される。

【0085】

本明細書で用いるように、「アゴニスト活性」のない抗体は、ヒト血液細胞IFN- γ 生成アッセイなどの細胞ベースのアッセイで、IL-18の不在および/または存在下でIL-18依存性シグナル伝達活性を有意に増加させない結合分子を指すものとする。そのようなアッセイは、下の例でより詳細に記載される。

40

【0086】

本明細書で用いるように、用語「 K_{assoc} 」または「 K_a 」は、特定の結合分子-抗原相互作用の会合速度を指すものとし、本明細書で用いるように、用語「 K_{diss} 」または「 K_d 」は、特定の結合分子-抗原相互作用の解離速度を指すものとする。本明細書で用いるように、用語「 K_D 」は、 K_d 対 K_a の比（すなわち K_d/K_a ）から得られ、モル濃度（M）で表される解離定数を指すものとする。抗体の K_D 値は、当技術分野で十分に確立されている方法を使用して判定することができる。抗体の K_D を判定する方法は、Biacore（登録商標）システムなどの表面プラズモン共鳴を使用することによる

50

。

【0087】

本明細書で用いるように、用語「親和性」は、単一の抗原部位での結合分子と抗原の間の相互作用の強度を指す。

【0088】

本明細書で用いるように、抗体の「高い親和性」という用語は、標的抗原に対して 1 nM 以下の K_D を有する抗体を指す。

【0089】

本明細書で用いるように、用語「対象」は、任意のヒトまたはヒト以外の動物を含む。

【0090】

用語「ヒト以外の動物」には、全ての脊椎動物、例えば哺乳動物および非哺乳動物、例えばヒト以外の霊長類、ヒツジ、イヌ、ネコ、ウマ、ウシ、ニワトリ、両生類、爬虫類などが含まれる。

【0091】

本明細書で用いるように、用語「最適化されたヌクレオチド配列」は、そのヌクレオチド配列が、生成する細胞または生物体、一般に真核生物の細胞、例えばピキア・パストリス (*Pichia pastoris*) の細胞、チャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO) またはヒト細胞で好ましいコドンを使用してアミノ酸配列をコードするように改変されたことを意味する。最適化されるヌクレオチド配列は、「親」配列としても知られる出発ヌクレオチド配列によって当初コードされたアミノ酸配列を完全に保持するように操作される。本明細書では、最適化された配列は、CHO 哺乳動物細胞で好ましいコドンを有するように操作された；しかし、他の真核生物の細胞でのこれらの配列の最適化発現も、本明細書で想定される。

【0092】

用語「同一性」は、少なくとも2つの異なる配列間の類似性を指す。この同一性は同一性パーセントで表すことができ、標準のアラインメントアルゴリズム、例えば Basic Local Alignment Tool (BLAST) (Altschul ら、(1990) *J Mol Biol* ; 215 : 403 ~ 410) ; Needleman ら、(1970) *J Mol Biol* ; 48 : 444 ~ 453 のアルゴリズムまたは Meyers ら、(1988) *Comput Appl Biosci* ; 4 : 11 ~ 17 のアルゴリズムによって判定することができる。パラメータセットは、12 のギャップペナルティ、4 のギャップ拡張ペナルティおよび5 のフレームシフトギャップペナルティによる Blosum62 スコアリングマトリックスであってもよい。2つのアミノ酸またはヌクレオチド配列間の同一性パーセントは、ALIGN プログラム (バージョン 2.0) に組み込まれている E. Meyers および W. Miller、(1989) *CABIOS* ; 4 (1) : 1 ~ 17 のアルゴリズムを使用し、PAM120 重み付け残基表、12 のギャップ長ペナルティおよび4 のギャップペナルティを使用して判定することもできる。同一性パーセントは、類似の長さの配列を比較することによって通常計算される。

【0093】

用語「免疫応答」は、侵入する病原体、病原体に感染した細胞もしくは組織、がん性細胞、または自己免疫性もしくは病理学的炎症の場合は正常なヒト細胞もしくは組織への選択的な傷害、その破壊、またはヒトの体からの排除をもたらす、例えばリンパ球、抗原提示細胞、食細胞、顆粒球、および上の細胞または肝臓によって生成される可溶性巨大分子 (抗体、サイトカインおよび補体を含む) の作用を指す。

【0094】

「シグナル伝達経路」または「シグナル伝達活性」は、細胞の1部分から細胞の別の部分へのシグナルの伝達をもたらす、受容体への増殖因子の結合などのタンパク質間相互作用によって一般に開始される、生化学的因果関係を指す。一般に、伝達は、シグナル伝達を引き起こす一連の反応における1つまたは複数のタンパク質の1つまたは複数のチロシン、セリンまたはトレオニン残基の特異的リン酸化を含む。最後から2番目の過程は、遺伝子発現の変化をもたらす核事象を一般的に含む。

10

20

30

40

50

【0095】

この明細書全体で、用語「中和する」およびその文法上の変異形は、結合タンパク質または場合によっては抗体の存在下で、標的の生物学的活性が完全に、または部分的に低減されることを意味する。

【0096】

用語「核酸」または「ポリヌクレオチド」は、一本鎖または二本鎖の形態のデオキシリボ核酸(DNA)またはリボ核酸(RNA)およびそのポリマーを指す。特に限定されない限り、この用語は、参照核酸に類似した結合特性を有し、天然に存在するヌクレオチドに類似の方法で代謝される、天然ヌクレオチドの公知の類似体を含む核酸を包含する。特に指示されない限り、特定の核酸配列は、明示的に示される配列だけでなく、保存的に改変されたその変異体(例えば変性コドン置換)、対立遺伝子、オルソログ、SNP、および相補的な配列も暗に包含する。具体的には、変性コドン置換は、1つまたは複数の選択される(または全ての)コドンの第3位が混合基および/またはデオキシイノシン残基で置換される配列を生成することによって達成することができる(Batzerら、Nucleic Acid Res. 19:5081(1991); Ohtsukaら、J. Biol. Chem. 260:2605~2608(1985); およびRossoliniら、Mol. Cell. Probes 8:91~98(1994))。

10

【0097】

「ポリヌクレオチド」または「核酸」のヌクレオチドは、塩基改変、例えばプロモウリジンおよびイノシン誘導体、リボース改変、例えばホスホロチオエート、ホスホロジチオエート、ホスホロセレノエート、ホスホロジセレノエート、ホスホロアニロチオエート、ホスホラニラデートおよびホスホロアミデートを含む改変を含むことができる。

20

【0098】

用語「ベクター」は、宿主細胞の形質転換またはトランスフェクションに適する任意の分子または実体(例えば核酸、プラスミド、バクテリオファージまたはウイルス)を意味し、それに作動可能に連結される1つまたは複数の異種コード領域の発現を(宿主細胞と一緒に)指示および/または制御する核酸配列を含む。

【0099】

結合分子、抗体またはその断片をコードする配列の「保存的変異体」は、保存的なアミノ酸改変を含む配列を指す。「保存的なアミノ酸改変」は、アミノ酸配列を含む抗体の結合特性に有意に影響を及ぼさないか変化させないアミノ酸改変を指すものとする。そのような保存的な改変には、アミノ酸の置換、付加および欠失が含まれる。保存的なアミノ酸置換は、アミノ酸残基が類似の側鎖を有するアミノ酸残基で置き換えられるものである。類似の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは、当技術分野で規定されている。これらのファミリーには、塩基性側鎖(例えば、リシン、アルギニン、ヒスチジン)、酸性側鎖(例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸)、無電荷極性側鎖(例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、トリプトファン)、無極性側鎖(例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン)、ベータ分枝状側鎖(例えば、トレオニン、バリン、イソロイシン)、および芳香族側鎖(例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン)を有するアミノ酸が含まれる。部位特異的突然変異誘発およびPCR媒介突然変異誘発などの、当技術分野で公知の標準技術によって、改変を本発明の結合タンパク質に導入することができる。保存的なアミノ酸置換は、生物学的系での合成によってではなく、化学的ペプチド合成によって一般的に組み込まれる天然に存在しないアミノ酸残基を包含することもできる。天然に存在しないアミノ酸には、ペプチド様物質、アミノ酸部分の逆転または反転形態が含まれるが、これらに限定されない。

30

40

【0100】

用語「エピトープ」は、免疫系、例えば抗体またはその断片によって認識される抗原の部分である。本明細書の中で、用語「エピトープ」は、立体構造エピトープおよび線状エピトープの両方について互換的に使用される。立体構造エピトープが抗原のアミノ酸配列の不連続な区分で構成されるが、線状エピトープは抗原のアミノ酸の連続的配列によって

50

形成される。

【0101】

用語「処置する」、「処置すること」、「処置」、「予防する」、「予防すること」または「予防」には、対象が障害を発症する危険または他の危険因子を低減する治療処置、予防処置および適用が含まれる。処置は障害の完全な治癒を必要とせず、症状または根底にある危険因子の低減を包含する。

【0102】

2. 結合分子

本明細書で用いられる用語「結合分子」は、IL-18ポリペプチドに特異的に結合する任意のタンパク質またはペプチドを意味する。「結合分子」には、限定されずに、抗体およびその断片、例えば免疫学的に機能的な断片が含まれる。本明細書で用いられる抗体または免疫グロブリン鎖の「免疫学的に機能的な断片」という用語は、完全長鎖に存在するアミノ酸の少なくともいくつかを欠くが、IL-18ポリペプチドに特異的に結合することがなお可能である抗体の部分（その部分がどのように得られるか、合成されるかに関係なく）を含む結合タンパク質の種である。そのような断片はIL-18ポリペプチドに結合するという点で、生物学的に活性である。「結合分子」は、IL-18ポリペプチドに特異的に結合し、IL-18ポリペプチドとIL-18受容体の相互作用をさらに中和する可能性があるタンパク質を指す。

10

【0103】

本明細書で用いられる用語「結合分子」は、例えばWO2001/085201に記載される、天然に存在するIL-18結合タンパク質および単離されたIL-18BPを排除もする。

20

【0104】

本発明の結合分子はIL-18に特異的に結合し、結合分子はIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合せず、結合分子はIL-18BPではない。

【0105】

本明細書で用いるように、「IL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合しない」という用語は、IL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に 1×10^{-5} M以上の K_D で結合する結合分子を指すものとする。

30

【0106】

結合分子がIL-18に結合するが、IL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合しないかどうか評価する1つの方法が、本明細書において例証、セクション9に記載される。

【0107】

本発明の別の態様では、結合分子はIL-18に特異的に結合し、そこで、IL-18BPがIL-18に結合しているときに、結合分子はIL-18との結合に関してIL-18結合タンパク質(IL-18BP)と競合しない。

【0108】

用語「競合する」、「競合すること」および「交差競合する」、およびその文法上の変異形態は本明細書で互換的に使用され、IL-18BPがIL-18に既に結合しているときにIL-18との結合に関してIL-18BPと競合する結合分子の能力を意味する。本発明の結合分子、例えば抗体またはその断片はこの意味で競合しない。結合分子間の競合は、IL-18がIL-18BPに結合しているときにIL-18への特異的結合について結合分子が試験されるアッセイによって判定される。いかなる疑いも避けるために、結合分子がIL-18/IL-18BP複合体からIL-18を置換することができるならば、その結合分子はIL-18結合に関してIL-18BPと競合する。

40

【0109】

本発明による結合分子はIL-18BPでなく、単離されたか天然に存在するIL-18BPのいずれでもない。

50

【0110】

結合分子は、本明細書で下に記載される通り、以下の足場から選択することができる：抗体、抗体の断片、単一の可変ドメイン抗体、二重もしくは多重特異的抗体、多価抗体、二重可変ドメイン抗体、免疫コンジュゲート、フィブロネクチン分子、アドネクチン、DARPin、アビマー、アフィボディ、アンチカリン、アフィリン、タンパク質エピトープ模倣体、またはそれらの組合せ。

【0111】

好ましくは、IL-18は配列番号1（ヒトIL-18）または配列番号2（カニクイザルIL-18）のアミノ酸37からアミノ酸193までを含む。

【0112】

IL-18BP構造は単一のIg様ドメインで特徴付けられ、Ig様構造を有するサイトカイン受容体の細胞外セグメントに類似する。ヒトIL-18BPは、4つの異なるアイソフォームで識別される。IL-18BPアイソフォームa（IL-18BPa）はIL-18に最大の親和性を示し、速いオンレート、遅いオフレート、および399pMの解離定数（ K_D ）を有する。IL-18BPアイソフォームc（IL-18BPC）は、C末端の最後の29アミノ酸を除いてIL-18BPaのIgドメインを共有する。IL-18BPCの K_D は、IL-18BPaより10倍低い（2.94nM）。それにもかかわらず、IL-18BPaおよびIL-18BPCは、2のモル過剰でIL-18を>95%中和する。IL-18BPアイソフォームbおよびdは完全なIgドメインを欠き、IL-18に結合するかそれを中和する能力を欠く。マウスIL-18BPは2つのアイソフォーム、cおよびdアイソフォームで知られ、同一のIgドメインを保有し、同様に2のモル過剰でマウスIL-18を>95%中和する。しかし、ヒトIL-18BPaと共通のC末端モチーフを共有するマウスIL-18Bpdも、ヒトIL-18を中和する（Kimら（2000）Proc Natl Acad Sci、97（3）：1190～1195）。

【0113】

この明細書全体で、用語「IL-18BP」は、天然に存在するか、単離されたか、または操作されたかどうにかかわらず、あらゆるアイソフォームのヒト、マウスまたはウイルスのIL-18結合タンパク質、例えば、1つまたは複数のアミノ酸が挿入されるか、異なる保存的置換と置き換えられるか、または欠失しているIL-18BP類似体（「突然変異タンパク質」）を記載するWO2001/085201に開示されるIL-18BP、IL-18BP融合タンパク質（例えば、IL-18BPと免疫グロブリン重鎖領域またはFcの融合タンパク質）およびペグ化IL-18BPなどの機能的誘導体を指す。

【0114】

一実施形態では、IL-18に結合し、IL-18/IL-18結合タンパク質（IL-18BP）複合体に結合せず、IL-18BPではない本発明による結合分子であって、配列番号1に規定されるIL-18上のIL-18エピトープに結合し、エピトープは、

- a. 配列番号1に規定されるIL-18の以下のアミノ酸に含まれ：
 - i. アミノ酸41および42およびアミノ酸87～97；または
 - ii. アミノ酸138～160；または
 - iii. アミノ酸177～181；または
 - iv. アミノ酸41および42、アミノ酸87～97、アミノ酸138～160、およびアミノ酸177～181；または
 - v. アミノ酸41、42、87；89；90；または
 - vi. アミノ酸93、94；95、96；または
 - vii. アミノ酸140；141；150；177；または
 - viii. アミノ酸92；93；94；138；140；152；157；または
 - ix. アミノ酸142；143；150；152；または
 - x. アミノ酸143；144；145；177；180；または

10

20

30

40

50

x i . アミノ酸 4 1、4 2、8 7 ; 8 9 ; 9 0 ; 9 3、9 4 ; 9 5、9 6 ; 1 4 0 ; 1 4 1 ; 1 5 0 ; 1 7 7 ; または

x i i . アミノ酸 9 2 ; 9 3 ; 9 4 ; 1 3 8 ; 1 4 0 ; 1 4 2 ; 1 4 3 ; 1 4 4 ; 1 4 5 ; 1 5 0 ; 1 5 2 ; 1 5 7 ; 1 7 7 ; 1 8 0 ; または

x i i i . アミノ酸 4 1 ; 4 2、8 7 ; 8 9 ; 9 0 ; 9 2 ; 9 3、9 4 ; 9 5、9 6 ; 1 3 8 ; 1 4 0 ; 1 4 1 ; 1 4 2 ; 1 4 3 ; 1 4 4 ; 1 4 5 ; 1 5 0 ; 1 5 2 ; 1 5 7 ; 1 7 7 ; 1 8 0 ; または

b . a) に掲載される (i) ~ (x i i i) 群のいずれか 1 つに規定されるアミノ酸の少なくとも 1、2、3、4 個を含み、または

c . a) に掲載される (i v) ~ (x i i) 群のいずれか 1 つに規定されるアミノ酸を含む、
結合分子。

10

【 0 1 1 5 】

別の実施形態では、I L - 1 8 に結合し、I L - 1 8 / I L - 1 8 結合タンパク質 (I L - 1 8 B P) 複合体に結合せず、I L - 1 8 B P ではない本発明による結合分子であって、配列番号 1 に規定される I L - 1 8 上の I L - 1 8 エピトープに結合し、エピトープはアミノ酸 A r g 1 4 0 および G l u 1 5 2 を含む結合分子。一実施形態では、エピトープはアミノ酸 G l n 9 2、P r o 9 3、G l y 9 5、P r o 1 4 3、G l u 1 5 7 または G l u 1 7 7 の任意の 1 つまたは複数をさらに含む。別の実施形態では、エピトープはアミノ酸 L y s 8 9、A r g 9 4、M e t 9 6、P h e 1 3 8、S e r 1 4 1、G l y 1 4 4、H i s 1 4 5、A s p 1 4 6、G l n 1 5 0 または L e u 1 8 0 の任意の 1 つまたは複数をさらに含む。

20

【 0 1 1 6 】

本発明の一実施形態では、結合分子は I L - 1 8 に特異的に結合し、結合分子は I L - 1 8 / I L - 1 8 結合タンパク質アイソフォーム a またはアイソフォーム c (I L - 1 8 B P a または I L - 1 8 B P c) 複合体に結合せず、結合分子は以下から選択される：抗体、抗体の断片、単一の可変ドメイン抗体、二重もしくは多重特異的抗体、多価抗体、二重可変ドメイン抗体、免疫コンジュゲート、フィブロネクチン分子、アドネクチン、D A R P i n、アビマー、アフィボディ、アンチカリン、アフィリン、タンパク質エピトープ模倣体、またはそれらの組合せ。好ましくは、I L - 1 8 は配列番号 1 (ヒト I L - 1 8) または配列番号 2 (カニクイザル I L - 1 8) のアミノ酸 3 7 からアミノ酸 1 9 3 までを含む。より好ましくは、結合分子は、抗体またはその断片である。

30

【 0 1 1 7 】

別の実施形態では、I L - 1 8 に結合し、I L - 1 8 / I L - 1 8 結合タンパク質アイソフォーム a またはアイソフォーム c (I L - 1 8 B P a または I L - 1 8 B P c) 複合体に結合せず、I L - 1 8 B P ではない本発明による結合分子であって、配列番号 1 に規定される I L - 1 8 上の I L - 1 8 エピトープに結合し、エピトープはアミノ酸 A r g 1 4 0 および G l u 1 5 2 を含む結合分子。一実施形態では、エピトープはアミノ酸 G l n 9 2、P r o 9 3、G l y 9 5、P r o 1 4 3、G l u 1 5 7 または G l u 1 7 7 の任意の 1 つまたは複数をさらに含む、結合分子は以下から選択される：抗体、抗体の断片、単一の可変ドメイン抗体、二重もしくは多重特異的抗体、多価抗体、二重可変ドメイン抗体、免疫コンジュゲート、フィブロネクチン分子、アドネクチン、D A R P i n、アビマー、アフィボディ、アンチカリン、アフィリン、タンパク質エピトープ模倣体、またはそれらの組合せ。

40

【 0 1 1 8 】

別の実施形態では、I L - 1 8 に結合し、I L - 1 8 / I L - 1 8 結合タンパク質アイソフォーム a またはアイソフォーム c (I L - 1 8 B P a または I L - 1 8 B P c) 複合体に結合せず、I L - 1 8 B P ではない本発明による結合分子であって、配列番号 1 に規定される I L - 1 8 上の I L - 1 8 エピトープに結合し、エピトープはアミノ酸 A r g 1 4 0 および G l u 1 5 2 を含む、結合分子は抗体またはその断片である結合分子。この実

50

施形態では、エピトープはアミノ酸 G l n 9 2、P r o 9 3、G l y 9 5、P r o 1 4 3、G l u 1 5 7 または G l u 1 7 7 の任意の 1 つまたは複数をさらに含むことができる。

【 0 1 1 9 】

本発明の結合分子は、I L - 1 8 生物活性の 1 つまたは複数、例えば T h 1 モジュレーション；T h 2 モジュレーション、N K モジュレーション、好中球モジュレーション、単球 - マクロファージ系統のモジュレーション、好酸球モジュレーション、B 細胞モジュレーション、サイトカインモジュレーション、ケモカインモジュレーション；細胞接着因子モジュレーションおよび細胞補充モジュレーションを阻害することが可能である。一実施形態では、本発明の結合分子は、好ましくは K G - 1 細胞で、I L - 1 8 依存性インターフェロンガンマ (I F N -) の生成を阻害する。本発明の別の実施形態では、本明細書

10

【 0 1 2 0 】

I L - 1 8 に特異的に結合する本発明の結合分子は、本明細書で下の実施例に規定されるアッセイで、1 0 n M 以下の解離定数 (K _D) を有する。一実施形態では、K _D は 1 n M 以下である。別の実施形態では、結合分子は 1 0 0 p M 以下の K _D を有し、結合分子は抗体またはその断片である。

【 0 1 2 1 】

本発明による結合分子は、結晶化結合分子、好ましくは制御放出結晶化結合分子および / または無担体であってもよい。一実施形態では、結晶化結合分子は、抗体またはその断片である。別の実施形態では、結晶化結合分子は、i n v i v o で可溶性対応物より大きい半減期を有し、結晶化の後にその生物学的機能を保持する。

20

【 0 1 2 2 】

本発明による結合分子は、結合分子および I L - 1 8 を含む複合体の一部であってもよい。好ましくは、結合分子は、I L - 1 8 との複合体である抗体またはその断片である。

【 0 1 2 3 】

最後に、本発明による結合分子は、ヒト I L - 1 8 との結合に関してマウス抗体 1 2 5 - 2 H と競合することもできる。

【 0 1 2 4 】

2) 抗体

本発明による結合分子は、後述するように、および図 1、2 に示すように単離され、構造的に特徴付けられた抗体またはその断片を含む。

30

【 0 1 2 5 】

2 . 1) ヒト抗体

本明細書で用いるように、抗体の可変領域または完全長鎖がヒト生殖細胞系免疫グロブリン遺伝子を使用する系から得られる場合は、ヒト抗体またはその断片は、特定の生殖細胞系配列の「生成物」であるか、それから「誘導される」重鎖もしくは軽鎖可変領域または完全長重鎖もしくは軽鎖を含む。そのような系は、対象の抗原を有するヒト免疫グロブリン遺伝子を載せているトランスジェニックマウスを免疫化すること、または対象の抗原を有するファージの上に提示されるヒト免疫グロブリン遺伝子ライブラリーをスクリーニングすることを含む。ヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列の「生成物」であるか、それから「誘導される」ヒト抗体またはその断片は、ヒト抗体のアミノ酸配列をヒト生殖細胞系免疫グロブリンのアミノ酸配列と比較すること、およびヒト抗体の配列と配列が最も近い (すなわち、最大の同一性%) ヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列を選択することによってそのように同定することができる。特定のヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列の「生成物」であるか、それから「誘導される」ヒト抗体は、例えば天然に存在する体細胞突然変異または部位特異的突然変異の意図的導入のために、生殖細胞系配列と比較してアミノ酸の差を含有することができる。しかし、選択されるヒト抗体は、ヒト生殖細胞系免疫グロブリン遺伝子によってコードされるアミノ酸配列とアミノ酸配列が一般的に少なくとも 9

40

50

0%同一であり、他の種の生殖細胞系免疫グロブリンアミノ酸配列（例えば、マウス生殖細胞系配列）と比較するときヒト抗体をヒトであると同定するアミノ酸残基を含有する。特定の場合には、ヒト抗体は、生殖細胞系免疫グロブリン遺伝子によってコードされるアミノ酸配列とアミノ酸配列が少なくとも60%、70%、80%、90%もしくは少なくとも95%、または少なくとも96%、97%、98%もしくは99%さえも同一であってよい。一般的に、特定のヒト生殖細胞系配列から誘導されるヒト抗体は、ヒト生殖細胞系免疫グロブリン遺伝子によってコードされるアミノ酸配列からの、10以下のアミノ酸の差を示す。特定の場合には、ヒト抗体は、生殖細胞系免疫グロブリン遺伝子によってコードされるアミノ酸配列から、5以下、または4、3、2もしくは1以下のアミノ酸の差さえも示すことができる。

10

【0126】

当業者に公知であるいくつかの方法によって、ヒト抗体を生成することができる。ヒト抗体は、ヒト骨髄腫またはマウス-ヒトヘテロ骨髄腫細胞系を使用したハイブリドーマ方法によって作製することができる（Kozbor, *J Immunol*; (1984) 133:3001; Brodeur, *Monoclonal Isolated Antibody Production Techniques and Applications*, 51~63, Marcel Dekker Inc, 1987)。代替方法には、両方ともヒト可変領域レポトリーを利用する、ファージライブラリーまたはトランスジェニックマウスの使用が含まれる（Winter G; (1994) *Annu Rev Immunol* 12:433~455, Green LL, (1999) *J Immunol Methods* 231:11~23)。

20

【0127】

それらのマウス免疫グロブリン遺伝子座がヒト免疫グロブリン遺伝子セグメントで置き換えられた、トランスジェニックマウスのいくつかの系統が今では入手できる（Tomizuka K, (2000) *Proc Natl Acad Sci*, 97:722~727; Fishwild DM (1996) *Nature Biotechnol* 14:845~851; Mendez MJ, (1997) *Nature Genetics* 15:146~156)。抗原投与の結果、そのようなマウスは、対象の抗体を選択することができるヒト抗体のレポトリーを生成することが可能である。注目すべきは、ヒトリンパ球が照射マウスに移植される *Trimer* (商標)系（Eren Rら、(1988) *Immunology* 93:154~161）、ヒト（または他の種）のリンパ球が大量のプールされた *in vitro* 単離抗体生成手順に効果的に通される、*Selected Lymphocyte Isolated* 抗体系（SLAM, Babcookら、*Proc Natl Acad Sci* (1996) 93:7843~7848）、続いて、解析された、制限希釈および選択手順ならびに *Xenomouse* (商標) (*Abgenix Inc*) である。代替アプローチは、*Morphodoma* (商標) 技術を使用する *Morphotek Inc* から入手できる。

30

【0128】

ヒト抗体およびその断片を生成するために、ファージディスプレイ技術を使用することができる（McCafferty; (1990) *Nature*, 348:552~553およびGriffiths ADら (1994) *EMBO* 13:3245~3260)。この技術により、単離された抗体可変ドメイン遺伝子は、M13またはfdなどの繊維状バクテリオファージのタンパク質遺伝子の主要または副次的なコートにインフレームでクローニングされ、ファージ粒子の表面に機能的な単離抗体断片として提示される（通常、ヘルパーファージを用いて）。単離された抗体の機能特性に基づく選択は、これらの特性を示す単離された抗体をコードする遺伝子の選択をもたらす。ファージディスプレイ技術は、疾患もしくは障害で苦しむ個体から、あるいは非免疫化ヒトドナーからとられるヒトB細胞から作製されるライブラリーから、抗原特異的抗体を選択するために使用することができる（Marks; *J Mol Bio* (1991) 222:581~591)。Fcドメインを含むインタクトなヒト単離抗体が所望の場合、ファージディスプレイによって誘導された断片を所望の定常領域を含む哺乳動物発現ベクターに再クローンし、安定した発現細胞系を確立することが必要である。

40

【0129】

HおよびL鎖可変領域を天然に存在する変異体に順次置き換え、向上した結合親和性に基づいて選択することによって、ヒトの単離された一次抗体の親和性が向上する結合親和

50

性を提供するために、親和性成熟技術 (Marks ; Biotechnol (1992) 10 : 779 ~ 783) を使用することができる。「エピトープインプリンティング」などのこの技術の変形体も、今では入手できる (WO 93 / 06213 ; Waterhouse ; Nucl Acids Res (1993) 21 : 2265 ~ 2266)。

【0130】

本発明の様々な (列挙される) 実施形態が、本明細書に記載される。各実施形態で規定される特色を他の特定の特色と組み合わせて、本発明のさらなる実施形態を提供することができることが認識されよう。

【0131】

実施形態1 : IL - 18 に結合するが IL - 18 / IL - 18 結合タンパク質 (IL - 18 BP) 複合体に結合しない結合分子であって、単離されたヒト抗体またはその断片である結合分子 ; 好ましくは、単離されたヒトモノクローナル抗体またはその断片。

10

【0132】

実施形態2 : 配列番号1に規定される IL - 18 上の IL - 18 エピトープに結合し、エピトープは、

a . 配列番号1に規定される IL - 18 の以下のアミノ酸に含まれ :

i . アミノ酸41および42およびアミノ酸87 ~ 97 ; または

ii . アミノ酸138 ~ 160 ; または

iii . アミノ酸177 ~ 181 ; または

iv . アミノ酸41および42、アミノ酸87 ~ 97、アミノ酸138 ~ 160、およびアミノ酸177 ~ 181 ; または

20

v . アミノ酸41、42、87 ; 89 ; 90 ; または

vi . アミノ酸93、94 ; 95、96 ; または

vii . アミノ酸140 ; 141 ; 150 ; 177 ; または

viii . アミノ酸92 ; 93 ; 94 ; 138 ; 140 ; 152 ; 157 ; または

ix . アミノ酸142 ; 143 ; 150 ; 152 ; または

x . アミノ酸143 ; 144 ; 145 ; 177 ; 180 ; または

xi . アミノ酸41、42、87 ; 89 ; 90 ; 93、94 ; 95、96 ; 140 ; 141 ; 150 ; 177 ; または

xii . アミノ酸92 ; 93 ; 94 ; 138 ; 140 ; 142 ; 143 ; 144 ; 145 ; 150 ; 152 ; 157 ; 177 ; 180 ; または

30

xiii . アミノ酸41 ; 42、87 ; 89 ; 90 ; 92 ; 93、94 ; 95、96 ; 138 ; 140 ; 141 ; 142 ; 143 ; 144 ; 145 ; 150 ; 152 ; 157 ; 177 ; 180 ; または

b . a) に掲載される (i) ~ (xiii) 群のいずれか1つに規定されるアミノ酸の少なくとも1、2、3、4個を含み、または

c . a) に掲載される (iv) ~ (xii) 群のいずれか1つに規定されるアミノ酸を含む、

実施形態1による単離されたヒト抗体またはその断片。

【0133】

実施形態3 : 配列番号1に規定される IL - 18 上の IL - 18 エピトープに結合し、エピトープはアミノ酸 Arg 140 および Glu 152 を含む、実施形態1による単離されたヒト抗体またはその断片。

40

【0134】

実施形態4 : エピトープはアミノ酸 Gln 92、Pro 93、Gly 95、Pro 143、Glu 157 または Glu 177 の任意の1つまたは複数をさらに含む、実施形態3による単離されたヒト抗体またはその断片。

【0135】

実施形態5 : エピトープはアミノ酸 Lys 89、Arg 94、Met 96、Phe 138、Ser 141、Gly 144、His 145、Asp 146、Gln 150 または L

50

e u 1 8 0 の任意の 1 つまたは複数をさらに含む、実施形態 3 および 4 による単離されたヒト抗体またはその断片。

【 0 1 3 6 】

実施形態 6 : I L - 1 8 は配列番号 1 または配列番号 2 のアミノ酸 3 7 からアミノ酸 1 9 3 までを含む、前記実施形態のいずれか 1 つによる単離されたヒト抗体またはその断片。

【 0 1 3 7 】

実施形態 7 : I L - 1 8 依存性インターフェロンガンマ (I N F -) の生成を阻害する、前記実施形態のいずれか 1 つによる単離されたヒト抗体またはその断片。

【 0 1 3 8 】

実施形態 8 : 1 0 0 p M 以下の K D で I L - 1 8 に結合する、前記実施形態のいずれか 1 つによる単離されたヒト抗体またはその断片。

【 0 1 3 9 】

実施形態 9 : I L - 1 8 との結合に関してマウス抗体 1 2 5 - 2 H とさらに競合する、前記実施形態のいずれか 1 つによる単離されたヒト抗体またはその断片。

【 0 1 4 0 】

実施形態 1 0 : I L - 1 8 に結合するが I L - 1 8 / I L - 1 8 結合タンパク質 (I L - 1 8 B P) 複合体に結合せず、配列番号 3 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 1、配列番号 4 もしくは配列番号 9 もしくは配列番号 1 0 もしくは配列番号 1 1 もしくは配列番号 1 2 もしくは配列番号 1 3 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 2、配列番号 5 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 3、配列番号 6 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 1、配列番号 7 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 2、配列番号 8 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 3 を含む、前記実施形態のいずれか 1 つによる単離されたヒト抗体またはその断片。

【 0 1 4 1 】

実施形態 1 1 : I L - 1 8 に結合するが I L - 1 8 / I L - 1 8 結合タンパク質 (I L - 1 8 B P) 複合体に結合せず、配列番号 3 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 1、配列番号 4 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 2、配列番号 5 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 3、配列番号 6 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 1、配列番号 7 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 2、配列番号 8 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 3 を含む、実施形態 1 0 による単離されたヒト抗体またはその断片。

【 0 1 4 2 】

実施形態 1 2 : I L - 1 8 に結合するが I L - 1 8 / I L - 1 8 結合タンパク質 (I L - 1 8 B P) 複合体に結合せず、配列番号 3 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 1、配列番号 4 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 2、配列番号 5 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 3、配列番号 6 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 1、配列番号 7 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 2、配列番号 8 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 3 を含み、I L - 1 8 との結合に関してマウス抗体 1 2 5 - 2 H と競合する、実施形態 1 1 による単離されたヒト抗体またはその断片。

【 0 1 4 3 】

実施形態 1 3 : I L - 1 8 に結合するが I L - 1 8 / I L - 1 8 結合タンパク質 (I L - 1 8 B P) 複合体に結合せず、配列番号 3 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 1、配列番号 9 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 2、配列番号 5 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 3、配列番号 6 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 1、配列番号 7 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 2、配列番号 8 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 3 を含む、実施形態 1 0 による単離されたヒト抗体またはその断片。

10

20

30

40

50

【0144】

実施形態14：IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質（IL-18BP）複合体に結合せず、配列番号3またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR1、配列番号9またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR2、配列番号5またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR3、配列番号6またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR1、配列番号7またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR2、配列番号8またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR3を含み、IL-18との結合に関してマウス抗体125-2Hと競合する、実施形態13による単離されたヒト抗体またはその断片。

【0145】

実施形態15：IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質（IL-18BP）複合体に結合せず、配列番号1に規定されるIL-18上のArg140およびGlu152を含むエピトープに結合し、

- i . 配列番号3またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR1、
 - ii . 配列番号9またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR2、
 - iii . 配列番号5またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR3、
 - iv . 配列番号6またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR1、
 - v . 配列番号7またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR2、および
 - vi . 配列番号8またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR3を含む、
- 実施形態13または14による単離されたヒト抗体またはその断片。

【0146】

好ましくは、この単離されたヒト抗体は単離された完全ヒト抗体またはその断片であり、より好ましくは、単離された完全ヒトモノクローナル抗体またはその断片である。

【0147】

実施形態16：IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質（IL-18BP）複合体に結合せず、配列番号3またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR1、配列番号10またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR2、配列番号5またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR3、配列番号6またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR1、配列番号7またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR2、配列番号8またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR3を含む、実施形態10による単離されたヒト抗体またはその断片。

【0148】

実施形態17：IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質（IL-18BP）複合体に結合せず、配列番号3またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR1、配列番号11またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR2、配列番号5またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR3、配列番号6またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR1、配列番号7またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR2、配列番号8またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR3を含む、実施形態10による単離されたヒト抗体またはその断片。

【0149】

実施形態18：IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質（IL-18BP）複合体に結合せず、配列番号3またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR1、配列番号12またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR2、配列番号5またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR3、配列番号6またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR1、配列番号7またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR2、配列番号8またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR3を含む、実施形態10による単離されたヒト抗体またはその断片。

【0150】

実施形態19：IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質（IL-18BP）複合体に結合せず、配列番号3またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域

10

20

30

40

50

H - C D R 1、配列番号 1 3 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 2、配列番号 5 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 3、配列番号 6 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 1、配列番号 7 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 2、配列番号 8 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 3 を含む、実施形態 1 0 による単離されたヒト抗体またはその断片。

【 0 1 5 1 】

実施形態 2 0 : I L - 1 8 に結合するが I L - 1 8 / I L - 1 8 結合タンパク質 (I L - 1 8 B P) 複合体に結合せず、配列番号 3 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 1、配列番号 1 3 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 2、配列番号 5 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 3、配列番号 6 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 1、配列番号 7 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 2、配列番号 8 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 3 を含む、I L - 1 8 との結合に関してマウス抗体 1 2 5 - 2 H と競合する、実施形態 1 9 による単離されたヒト抗体またはその断片。

10

【 0 1 5 2 】

実施形態 2 1 : I L - 1 8 に結合するが I L - 1 8 / I L - 1 8 結合タンパク質 (I L - 1 8 B P) 複合体に結合せず、配列番号 1 に規定される I L - 1 8 上の A r g 1 4 0 および G l u 1 5 2 を含むエピトープに結合し、

- i . 配列番号 3 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 1、
 - i i . 配列番号 1 3 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 2、
 - i i i . 配列番号 5 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 3、
 - i v . 配列番号 6 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 1、
 - v . 配列番号 7 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 2、および
 - v i . 配列番号 8 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 3 を含む、
- 実施形態 1 9 または 2 0 による単離されたヒト抗体またはその断片。

20

【 0 1 5 3 】

好ましくは、この単離されたヒト抗体は単離された完全ヒト抗体またはその断片であり、より好ましくは、単離された完全ヒトモノクローナル抗体またはその断片である。

【 0 1 5 4 】

実施形態 2 2 : I L - 1 8 に結合するが I L - 1 8 / I L - 1 8 結合タンパク質 (I L - 1 8 B P) 複合体に結合せず、配列番号 7 4 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 1、配列番号 7 5 もしくは配列番号 7 6 もしくは配列番号 7 7 もしくは配列番号 7 8 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 2、配列番号 7 9 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 3、配列番号 8 0 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 1、配列番号 8 1 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 2、配列番号 8 2 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 3 を含む、実施形態 1 ~ 9 のいずれか 1 つによる単離されたヒト抗体またはその断片。

30

【 0 1 5 5 】

実施形態 2 3 : I L - 1 8 に結合するが I L - 1 8 / I L - 1 8 結合タンパク質 (I L - 1 8 B P) 複合体に結合せず、配列番号 7 4 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 1、配列番号 7 5 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 2、配列番号 7 9 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 3、配列番号 8 0 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 1、配列番号 8 1 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 2、配列番号 8 2 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 3 を含む、実施形態 2 2 による単離されたヒト抗体またはその断片。

40

【 0 1 5 6 】

実施形態 2 4 : I L - 1 8 に結合するが I L - 1 8 / I L - 1 8 結合タンパク質 (I L - 1 8 B P) 複合体に結合せず、配列番号 7 4 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 1、配列番号 7 6 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 2

50

、配列番号 79 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 3、配列番号 80 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 1、配列番号 81 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 2、配列番号 82 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 3 を含む、実施形態 22 による単離されたヒト抗体またはその断片。

【0157】

実施形態 25：IL - 18 に結合するが IL - 18 / IL - 18 結合タンパク質 (IL - 18 B P) 複合体に結合せず、配列番号 74 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 1、配列番号 77 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 2、配列番号 79 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 3、配列番号 80 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 1、配列番号 81 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 2、配列番号 82 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 3 を含む、実施形態 22 による単離されたヒト抗体またはその断片。

10

【0158】

実施形態 26：IL - 18 に結合するが IL - 18 / IL - 18 結合タンパク質 (IL - 18 B P) 複合体に結合せず、配列番号 74 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 1、配列番号 78 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 2、配列番号 79 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 3、配列番号 80 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 1、配列番号 81 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 2、配列番号 82 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 3 を含む、実施形態 22 による単離されたヒト抗体またはその断片。

20

【0159】

実施形態 27：IL - 18 に結合するが IL - 18 / IL - 18 結合タンパク質 (IL - 18 B P) 複合体に結合せず、配列番号 106 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 1、配列番号 107 もしくは配列番号 122 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 2、配列番号 108 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 3、配列番号 109 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 1、配列番号 110 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 2、配列番号 111 もしくは配列番号 126 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 3 を含む、実施形態 1 ~ 9 のいずれか 1 つによる単離されたヒト抗体またはその断片。

30

【0160】

実施形態 28：IL - 18 に結合するが IL - 18 / IL - 18 結合タンパク質 (IL - 18 B P) 複合体に結合せず、配列番号 106 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 1、配列番号 107 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 2、配列番号 108 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 3、配列番号 109 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 1、配列番号 110 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 2、配列番号 111 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 3 を含む、実施形態 27 による単離されたヒト抗体またはその断片。

40

【0161】

好ましくは、この単離されたヒト抗体またはその断片は単離された完全ヒト抗体またはその断片であり、より好ましくは、単離された完全ヒトモノクローナル抗体またはその断片である。

【0162】

実施形態 29：IL - 18 に結合するが IL - 18 / IL - 18 結合タンパク質 (IL - 18 B P) 複合体に結合せず、配列番号 106 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 1、配列番号 122 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 2、配列番号 108 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 3、配列番

50

号109またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR1、配列番号110またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR2、配列番号126またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR3を含む、実施形態1~9のいずれか1つによる単離されたヒト抗体またはその断片。

【0163】

実施形態30：IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合せず、配列番号120またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR1、配列番号121またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR2、配列番号123またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR3、配列番号124またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR1、配列番号125またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR2、配列番号127もしくは配列番号128もしくは配列番号129またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR3を含む、実施形態1~9のいずれか1つによる単離されたヒト抗体またはその断片。

10

【0164】

実施形態31：IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合せず、配列番号120またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR1、配列番号121またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR2、配列番号123またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR3、配列番号124またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR1、配列番号125またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR2、配列番号127またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR3を含む、実施形態30による単離されたヒト抗体またはその断片。

20

【0165】

実施形態32：IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合せず、配列番号120またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR1、配列番号121またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR2、配列番号123またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR3、配列番号124またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR1、配列番号125またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR2、配列番号128またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR3を含む、実施形態30による単離されたヒト抗体またはその断片。

30

【0166】

実施形態33：IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合せず、配列番号120またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR1、配列番号121またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR2、配列番号123またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR3、配列番号124またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR1、配列番号125またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR2、配列番号129またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR3を含む、実施形態30による単離されたヒト抗体またはその断片。

40

【0167】

上で概説されるCDR領域は、Kabatシステム(Kabat, E. A.ら、1991 Sequences of Proteins of Immunological Interest、Fifth Edition、U.S. Department of Health and Human Services、NIH Publication No. 91-3242)を使用して詳細に描写される。

【0168】

本発明の一部の他の実施形態では、ヒト抗体またはその断片は、Chothiaの定義(Chothiaら、(1987) J Mol Biol 196:901~17)を使用して詳細に描写されるCDR領域を含む。

【0169】

実施形態34：IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL

50

- 18BP)複合体に結合せず、配列番号59もしくは配列番号65もしくは配列番号66またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR1、配列番号60もしくは配列番号67またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR2、配列番号61またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR3、配列番号62またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR1、配列番号63またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR2、配列番号64またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR3を含む、実施形態1~9のいずれか1つによる単離されたヒト抗体またはその断片。

【0170】

実施形態35:IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合せず、配列番号59またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR1、配列番号60またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR2、配列番号61またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR3、配列番号62またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR1、配列番号63またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR2、配列番号64またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR3を含む、実施形態34による単離されたヒト抗体またはその断片。

10

【0171】

実施形態36:IL-18との結合に関してマウス抗体125-2Hと競合する、実施形態35による単離されたヒト抗体またはその断片。

【0172】

実施形態37:IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合せず、配列番号65またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR1、配列番号60またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR2、配列番号61またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR3、配列番号62またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR1、配列番号63またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR2、配列番号64またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR3を含む、実施形態34による単離されたヒト抗体またはその断片。

20

【0173】

実施形態38:IL-18との結合に関してマウス抗体125-2Hと競合する、実施形態37による単離されたヒト抗体またはその断片。

30

【0174】

実施形態39:IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合せず、配列番号66またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR1、配列番号67またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR2、配列番号61またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR3、配列番号62またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR1、配列番号63またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR2、配列番号64またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR3を含む、実施形態34による単離されたヒト抗体またはその断片。

40

【0175】

実施形態40:IL-18との結合に関してマウス抗体125-2Hと競合する、実施形態39による単離されたヒト抗体またはその断片。

【0176】

実施形態41:IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合せず、配列番号68またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR1、配列番号69またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR2、配列番号70またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域H-CDR3、配列番号71またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR1、配列番号72またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域L-CDR2、配列番号73またはその保存的変異体を含む

50

軽鎖可変領域 L - C D R 3 を含む、実施形態 3 4 による単離されたヒト抗体またはその断片。

【 0 1 7 7 】

実施形態 4 2 : I L - 1 8 に結合するが I L - 1 8 / I L - 1 8 結合タンパク質 (I L - 1 8 B P) 複合体に結合せず、配列番号 1 6 2 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 1、配列番号 1 6 3 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 2、配列番号 1 6 4 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 H - C D R 3、配列番号 1 6 5 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 1、配列番号 1 6 6 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 2、配列番号 1 6 7 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 L - C D R 3 を含む、実施形態 1 ~ 9 のいずれか 1 つによる単離されたヒト抗体またはその断片。

10

【 0 1 7 8 】

上記のように、K a b a t の定義の下で、重鎖可変ドメイン (V H) の C D R アミノ酸残基は、3 1 ~ 3 5 (H - C D R 1)、5 0 ~ 6 5 (H - C D R 2) および 9 5 ~ 1 0 2 (H - C D R 3) と番号づけられ、軽鎖可変ドメイン (V L) の C D R アミノ酸残基は、2 4 ~ 3 4 (L - C D R 1)、5 0 ~ 5 6 (L - C D R 2) および 8 9 ~ 9 7 (L - C D R 3) と番号づけられる。C h o t h i a の下で、V H の C D R アミノ酸は、2 6 ~ 3 2 (H - C D R 1)、5 2 ~ 5 6 (H - C D R 2) および 9 5 ~ 1 0 2 (H - C D R 3) と番号づけられ、V L のアミノ酸残基は、2 6 ~ 3 2 (L - C D R 1)、5 0 ~ 5 2 (L - C D R 2) および 9 1 ~ 9 6 (L - C D R 3) と番号づけられる。K a b a t および C h o t h i a の C D R 定義を組み合わせ、より長いループの挿入を考慮することによって、C D R は、ヒト V H のアミノ酸残基 2 6 ~ 3 5 (H - C D R 1)、5 0 ~ 6 5 (H - C D R 2) および 9 5 ~ 1 0 2 (H - C D R 3) ならびにヒト V L のアミノ酸残基 2 4 ~ 3 4 (L - C D R 1)、5 0 ~ 5 6 (L - C D R 2) および 8 9 ~ 9 7 (L - C D R 3) からなる。

20

【 0 1 7 9 】

実施形態 4 3 :

I L - 1 8 に結合するが I L - 1 8 / I L - 1 8 結合タンパク質 (I L - 1 8 B P) 複合体に結合せず、配列番号 1 4 またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域 (V H)、および配列番号 1 6 またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域 (V L) を含み、重鎖可変領域 (V H) は、

30

i . 配列番号 1 4 のアミノ酸 2 6 ~ 3 5 に対応する重鎖可変領域 H - C D R 1 ; および

i i . 配列番号 1 4 のアミノ酸 5 0 ~ 6 6 に対応する重鎖可変領域 H - C D R 2 ; および

i i i . 配列番号 1 4 のアミノ酸 9 9 ~ 1 0 8 に対応する重鎖可変領域 H - C D R 3 ; を含み、軽鎖可変領域 (V L) は、

i v . 配列番号 1 6 のアミノ酸 2 3 ~ 3 5 に対応する軽鎖可変領域 L - C D R 1 ; および

v . 配列番号 1 6 のアミノ酸 5 1 ~ 5 7 に対応する軽鎖可変領域 L - C D R 2 ; および

v i . 配列番号 1 6 のアミノ酸 9 0 ~ 1 0 0 に対応する軽鎖可変領域 L - C D R 3

40

を含む、実施形態 1 ~ 9 のいずれか 1 つによる単離されたヒト抗体またはその断片。

【 0 1 8 0 】

実施形態 4 4 : I L - 1 8 に結合するが I L - 1 8 / I L - 1 8 結合タンパク質 (I L - 1 8 B P) 複合体に結合せず、I L - 1 8 との結合に関してマウス抗体 1 2 5 - 2 H と競合する、実施形態 4 3 による単離されたヒト抗体またはその断片。

【 0 1 8 1 】

実施形態 4 5 : I L - 1 8 に結合するが I L - 1 8 / I L - 1 8 結合タンパク質 (I L - 1 8 B P) 複合体に結合せず、配列番号 1 に規定される I L - 1 8 上の A r g 1 4 0 および G l u 1 5 2 を含むエピトープに結合し、任意選択で、エピトープはアミノ酸 L y s 8 9、G l n 9 2、P r o 9 3、A r g 9 4、G l y 9 5、M e t 9 6、P h e 1 3 8、

50

Ser 141、Pro 143、Gly 144、Glu 157、Glu 177またはLeu 180の任意の1つまたは複数をさらに含み、好ましくは、エピトープはアミノ酸Lys 89、Gln 92、Pro 93、Arg 94、Gly 95、Met 96、Phe 138、Ser 141、Pro 143、Gly 144、Glu 157、Glu 177およびLeu 180をさらに含む、実施形態43または44による単離されたヒト抗体またはその断片。

【0182】

実施形態46：IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合せず、配列番号18またはその保存的変異体を含む重鎖可変領域(VH)、および配列番号20またはその保存的変異体を含む軽鎖可変領域(VL)を含み、重鎖可変領域(VH)は、

i . 配列番号18のアミノ酸26~35に対応する重鎖可変領域H-CDR1；および
ii . 配列番号18のアミノ酸50~66に対応する重鎖可変領域H-CDR2；および

iii . 配列番号18のアミノ酸99~108に対応する重鎖可変領域H-CDR3；
を含み、軽鎖可変領域(VL)は、

iv . 配列番号20のアミノ酸23~35に対応する軽鎖可変領域L-CDR1；および

v . 配列番号20のアミノ酸51~57に対応する軽鎖可変領域L-CDR2；および

vi . 配列番号20のアミノ酸90~100に対応する軽鎖可変領域L-CDR3
を含む、実施形態1~9のいずれか1つによる単離されたヒト抗体またはその断片。

【0183】

実施形態47：IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合せず、IL-18との結合に関してマウス抗体125-2Hと競合する、実施形態46による単離されたヒト抗体またはその断片。

【0184】

実施形態48：IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合せず、配列番号1に規定されるIL-18上のArg 140およびGlu 152を含むエピトープに結合する、実施形態46または47による単離されたヒト抗体またはその断片。

【0185】

これらのヒト抗体の各々がIL18に結合することができ、その抗原結合特異性がCDR1、2および3領域によって主に提供されると想定すると、H-CDR1、2および3の配列ならびにL-CDR1、2および3の配列は「混合してマッチさせる」ことができ(すなわち、異なるヒト抗体からのCDRを混合してマッチさせることができ)、H-CDR1、2および3のセットならびにL-CDR1、2および3のセットを含有する各抗体は、本発明の他の抗IL18結合分子を形成する。そのような「混合してマッチさせた」抗体のIL18結合は、実施例の結合アッセイ(例えば、ELISA)を使用して試験することができる。VH CDR配列を混合してマッチさせるとき、特定のVH配列からのCDR1、CDR2および/またはCDR3配列は、構造的に類似したCDR配列(複数可)で置き換えるべきである。同様に、VL CDR配列を混合してマッチさせるとき、特定のVL配列からのCDR1、CDR2および/またはCDR3配列は、構造的に類似したCDR配列(複数可)で置き換えるべきである。1つまたは複数のVHおよび/またはVL CDR領域の配列を、本発明のヒト抗体について本明細書に示すCDR配列からの構造的に類似した配列で置換することによって、新規のVHおよびVL配列を作製することができることは、当業者に容易に明白になる(図1および2)。

【0186】

別の態様では、本発明は、IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合せず、配列番号14、18、22、25、28、31、34、37、40、83、87、90、93、112、130および138に示す配

列から選択されるVHアミノ酸配列ならびに配列番号16、20、85、114、132、140、147および153に示す配列から選択されるVLアミノ酸配列を含む、単離されたヒト抗体を提供する。本発明の他の抗体は、アミノ酸の欠失、挿入または置換によって突然変異したアミノ酸を含むが、上記の配列で表すCDR領域とCDR領域の少なくとも60、70、80、90または95パーセントの同一性を有する。一部の実施形態では、上記の配列で表すCDR領域と比較したとき、CDR領域で1、2、3、4または5個以下のアミノ酸がアミノ酸の欠失、挿入または置換によって突然変異している突然変異アミノ酸配列をそれは含む。

【0187】

実施形態49：IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合せず、配列番号28に示す配列またはその保存的変異体から選択される重鎖可変領域(VH)アミノ酸配列、および配列番号16に示す配列またはその保存的変異体から選択される軽鎖可変領域(VL)アミノ酸配列を含む、実施形態1~9のいずれか1つによる単離されたヒト抗体またはその断片。

10

【0188】

実施形態50：IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合せず、配列番号28に示す配列またはその保存的変異体から選択される重鎖可変領域(VH)アミノ酸配列、および配列番号16に示す配列またはその保存的変異体から選択される軽鎖可変領域(VL)アミノ酸配列を含み、配列番号28における30位のアミノ酸アスパラギン(Asn; N)は、リシン(Lys; K)またはセリン(Ser; S)またはトレオニン(Thr; T)またはアラニン(Ala; A)またはグルタミン酸(Glu; E)またはヒスチジン(His; H)またはロイシン(Leu; L)またはグルタミン(Gln; Q)またはアルギニン(Arg; R)またはバリン(Val; V)またはチロシン(Tyr; Y)またはイソロイシン(Ile; I)またはグリシン(Gly; G)から選択されるアミノ酸と置き換えられる、実施形態49による単離されたヒト抗体またはその断片。

20

【0189】

実施形態51：IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合せず、IL-18との結合に関してマウス抗体125-2Hと競合する、実施形態49または50による単離されたヒト抗体またはその断片。

30

【0190】

実施形態52：IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合せず、配列番号1に規定されるIL-18上のArg140およびGlu152を含むエピトープに結合し、任意選択で、エピトープはアミノ酸Lys89、Gln92、Pro93、Arg94、Gly95、Met96、Phe138、Ser141、Pro143、Gly144、Glu157、Glu177またはLeu180の任意の1つまたは複数をさらに含み、好ましくは、エピトープはアミノ酸Lys89、Gln92、Pro93、Arg94、Gly95、Met96、Phe138、Ser141、Pro143、Gly144、Glu157、Glu177およびLeu180をさらに含む、実施形態49~51のいずれか1つによる単離されたヒト抗体またはその断片。

40

【0191】

実施形態53：IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合せず、配列番号14に示す配列またはその保存的変異体から選択される重鎖可変領域(VH)アミノ酸配列、および配列番号16に示す配列またはその保存的変異体から選択される軽鎖可変領域(VL)アミノ酸配列を含む、実施形態1~9のいずれか1つによる単離されたヒト抗体またはその断片。

【0192】

実施形態54：IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合せず、IL-18との結合に関してマウス抗体125-2Hと

50

競合する、実施形態 53 による単離されたヒト抗体またはその断片。

【0193】

実施形態 55 : IL - 18 に結合するが IL - 18 / IL - 18 結合タンパク質 (IL - 18 BP) 複合体に結合せず、配列番号 1 に規定される IL - 18 上の Arg 140 および Glu 152 を含むエピトープに結合し、任意選択で、エピトープはアミノ酸 Lys 89、Gln 92、Pro 93、Arg 94、Gly 95、Met 96、Phe 138、Ser 141、Pro 143、Gly 144、Glu 157、Glu 177 または Leu 180 の任意の 1 つまたは複数をさらに含み、好ましくは、エピトープはアミノ酸 Lys 89、Gln 92、Pro 93、Arg 94、Gly 95、Met 96、Phe 138、Ser 141、Pro 143、Gly 144、Glu 157、Glu 177 および Leu 180 をさらに含む、実施形態 53 ~ 55 のいずれか 1 つによる単離されたヒト抗体またはその断片。

10

【0194】

実施形態 56 : IL - 18 に結合するが IL - 18 / IL - 18 結合タンパク質 (IL - 18 BP) 複合体に結合せず、配列番号 14 に示す配列またはその保存的変異体から選択される重鎖可変領域 (VH) アミノ酸配列、および配列番号 16 に示す配列またはその保存的変異体から選択される軽鎖可変領域 (VL) アミノ酸配列を含み、配列番号 14 における 30 位のアミノ酸リシン (Lys ; K) は、アスパラギン (Asn ; N) またはセリン (Ser ; S) またはトレオニン (Thr ; T) またはアラニン (Ala ; A) またはグルタミン酸 (Glu ; E) またはヒスチジン (His ; H) またはロイシン (Leu ; L) またはグルタミン (Gln ; Q) またはアルギニン (Arg ; R) またはバリン (Val ; V) またはチロシン (Tyr ; Y) またはイソロイシン (Ile ; I) またはグリシン (Gly ; G) から選択されるアミノ酸と置き換えられる、実施形態 53 による単離されたヒト抗体またはその断片。

20

【0195】

実施形態 57 : IL - 18 に結合するが IL - 18 / IL - 18 結合タンパク質 (IL - 18 BP) 複合体に結合せず、IL - 18 との結合に関してマウス抗体 125 - 2 H と競合する、実施形態 56 による単離されたヒト抗体またはその断片。

【0196】

実施形態 58 : IL - 18 に結合するが IL - 18 / IL - 18 結合タンパク質 (IL - 18 BP) 複合体に結合せず、配列番号 1 に規定される IL - 18 上の Arg 140 および Glu 152 を含むエピトープに結合し、任意選択で、エピトープはアミノ酸 Lys 89、Gln 92、Pro 93、Arg 94、Gly 95、Met 96、Phe 138、Ser 141、Pro 143、Gly 144、Glu 157、Glu 177 または Leu 180 の任意の 1 つまたは複数をさらに含み、好ましくは、エピトープはアミノ酸 Lys 89、Gln 92、Pro 93、Arg 94、Gly 95、Met 96、Phe 138、Ser 141、Pro 143、Gly 144、Glu 157、Glu 177 および Leu 180 をさらに含む、実施形態 55 または 57 のいずれか 1 つによる単離されたヒト抗体またはその断片。

30

【0197】

実施形態 59 : IL - 18 に結合するが IL - 18 / IL - 18 結合タンパク質 (IL - 18 BP) 複合体に結合せず、配列番号 18 に示す配列またはその保存的変異体から選択される重鎖可変領域 (VH) アミノ酸配列、および配列番号 20 に示す配列またはその保存的変異体から選択される軽鎖可変領域 (VL) アミノ酸配列を含む、実施形態 1 ~ 9 のいずれか 1 つによる単離されたヒト抗体またはその断片。

40

【0198】

実施形態 60 : IL - 18 に結合するが IL - 18 / IL - 18 結合タンパク質 (IL - 18 BP) 複合体に結合せず、IL - 18 との結合に関してマウス抗体 125 - 2 H と競合する、実施形態 59 による単離されたヒト抗体またはその断片。

【0199】

50

実施形態 61 : IL - 18 に結合するが IL - 18 / IL - 18 結合タンパク質 (IL - 18 B P) 複合体に結合せず、配列番号 1 に規定される IL - 18 上の Arg 140 および Glu 152 を含むエピトープに結合し、任意選択で、エピトープはアミノ酸 Lys 89、Gln 92、Pro 93、Arg 94、Gly 95、Met 96、Phe 138、Ser 141、Pro 143、Gly 144、Glu 157、Glu 177 または Leu 180 の任意の 1 つまたは複数をさらに含み、好ましくは、エピトープはアミノ酸 Lys 89、Gln 92、Pro 93、Arg 94、Gly 95、Met 96、Phe 138、Ser 141、Pro 143、Gly 144、Glu 157、Glu 177 および Leu 180 をさらに含む、実施形態 59 または 60 のいずれか 1 つによる単離されたヒト抗体またはその断片。

10

【0200】

実施形態 62 : IL - 18 に結合するが IL - 18 / IL - 18 結合タンパク質 (IL - 18 B P) 複合体に結合せず、配列番号 40 に示す配列またはその保存的変異体から選択される重鎖可変領域 (V H) アミノ酸配列、および配列番号 20 に示す配列またはその保存的変異体から選択される軽鎖可変領域 (V L) アミノ酸配列を含む、実施形態 1 ~ 9 のいずれか 1 つによる単離されたヒト抗体またはその断片。

【0201】

実施形態 63 : IL - 18 に結合するが IL - 18 / IL - 18 結合タンパク質 (IL - 18 B P) 複合体に結合せず、配列番号 40 に示す配列またはその保存的変異体から選択される重鎖可変領域 (V H) アミノ酸配列、および配列番号 20 に示す配列またはその保存的変異体から選択される軽鎖可変領域 (V L) アミノ酸配列を含み、

20

i . 配列番号 40 における 1 位のアミノ酸グルタミン酸 (Glu ; E) がアミノ酸グルタミン (Gln ; Q) と置き換えられ、

ii . 配列番号 40 における 30 位のアミノ酸アスパラギン (Asn ; N) が、セリン (Ser ; S) またはトレオニン (Thr ; T) またはアスパラギン酸 (Asp ; D) から選択されるアミノ酸と置き換えられる、

実施形態 62 による単離されたヒト抗体またはその断片。

【0202】

実施形態 64 : IL - 18 に結合するが IL - 18 / IL - 18 結合タンパク質 (IL - 18 B P) 複合体に結合せず、配列番号 40 に示す配列またはその保存的変異体から選択される重鎖可変領域 (V H) アミノ酸配列、および配列番号 20 に示す配列またはその保存的変異体から選択される軽鎖可変領域 (V L) アミノ酸配列を含み、

30

i . 配列番号 40 における 1 位のアミノ酸グルタミン酸 (Glu ; E) がアミノ酸グルタミン (Gln ; Q) と置き換えられ、

ii . 配列番号 40 における 30 位のアミノ酸アスパラギン (Asn ; N) が、セリン (Ser ; S) またはトレオニン (Thr ; T) またはアスパラギン酸 (Asp ; D) から選択されるアミノ酸と置き換えられ、

iii . 配列番号 40 における 54 位のアミノ酸メチオニン (Met ; M) が、チロシン (Tyr ; Y) またはアスパラギン (Asn ; N) またはイソロイシン (Ile ; I) から選択されるアミノ酸と置き換えられる、

40

実施形態 63 による単離されたヒト抗体またはその断片。

【0203】

実施形態 65 : IL - 18 に結合するが IL - 18 / IL - 18 結合タンパク質 (IL - 18 B P) 複合体に結合せず、IL - 18 との結合に関してマウス抗体 125 - 2 H と競合する、実施形態 62 ~ 64 による単離されたヒト抗体またはその断片。

【0204】

実施形態 66 : IL - 18 に結合するが IL - 18 / IL - 18 結合タンパク質 (IL - 18 B P) 複合体に結合せず、配列番号 1 に規定される IL - 18 上の Arg 140 および Glu 152 を含むエピトープに結合し、任意選択で、エピトープはアミノ酸 Lys 89、Gln 92、Pro 93、Arg 94、Gly 95、Met 96、Phe 138、

50

Ser 141、Pro 143、Gly 144、Glu 157、Glu 177またはLeu 180の任意の1つまたは複数をさらに含み、好ましくは、エピトープはアミノ酸Lys 89、Gln 92、Pro 93、Arg 94、Gly 95、Met 96、Phe 138、Ser 141、Pro 143、Gly 144、Glu 157、Glu 177およびLeu 180をさらに含む、実施形態65～66のいずれか1つによる単離されたヒト抗体またはその断片。

【0205】

実施形態67：IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合せず、配列番号40に示す配列またはその保存的変異体から選択される重鎖可変領域(VH)アミノ酸配列、および配列番号20に示す配列またはその保存的変異体から選択される軽鎖可変領域(VL)アミノ酸配列を含み、

i. 配列番号40における1位のアミノ酸グルタミン酸(Glu; E)がアミノ酸グルタミン(Gln; Q)と置き換えられ、

ii. 配列番号40における31位のアミノ酸セリン(Ser; S)が、トレオニン(Thr; T)またはアスパラギン(Asp; N)またはアラニン(Ala; A)から選択されるアミノ酸と置き換えられる、

実施形態62による単離されたヒト抗体またはその断片。

【0206】

実施形態68：IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合せず、配列番号40に示す配列またはその保存的変異体から選択される重鎖可変領域(VH)アミノ酸配列、および配列番号20に示す配列またはその保存的変異体から選択される軽鎖可変領域(VL)アミノ酸配列を含み、

i. 配列番号40における1位のアミノ酸グルタミン酸(Glu; E)がアミノ酸グルタミン(Gln; Q)と置き換えられ、

ii. 配列番号40における31位のアミノ酸セリン(Ser; S)が、トレオニン(Thr; T)またはアスパラギン(Asp; N)またはアラニン(Ala; A)から選択されるアミノ酸と置き換えられ、

iii. 配列番号40における54位のアミノ酸メチオニン(Met; M)が、チロシン(Tyr; Y)またはアスパラギン(Asn; N)またはイソロイシン(Ile; I)から選択されるアミノ酸と置き換えられる、

実施形態67による単離されたヒト抗体またはその断片。

【0207】

実施形態69：IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合せず、IL-18との結合に関してマウス抗体125-2Hと競合する、実施形態67または68による単離されたヒト抗体またはその断片。

【0208】

実施形態70：IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合せず、配列番号1における規定されるIL-18上のArg 140およびGlu 152を含むエピトープに結合し、任意選択で、エピトープはアミノ酸Lys 89、Gln 92、Pro 93、Arg 94、Gly 95、Met 96、Phe 138、Ser 141、Pro 143、Gly 144、Glu 157、Glu 177またはLeu 180の任意の1つまたは複数をさらに含み、好ましくは、エピトープはアミノ酸Lys 89、Gln 92、Pro 93、Arg 94、Gly 95、Met 96、Phe 138、Ser 141、Pro 143、Gly 144、Glu 157、Glu 177およびLeu 180をさらに含む、実施形態67～69のいずれか1つによる単離されたヒト抗体またはその断片。

【0209】

実施形態72：IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合せず、配列番号22もしくは配列番号25もしくは配列番号28もしくは配列番号31もしくは配列番号34に示す配列またはその保存的変異体から選

10

20

30

40

50

択される重鎖可変領域（VH）アミノ酸配列、および配列番号16に示す配列またはその保存的変異体から選択される軽鎖可変領域（VL）アミノ酸配列を含む、実施形態1～9のいずれか1つによる単離されたヒト抗体またはその断片。

【0210】

実施形態73：IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質（IL-18BP）複合体に結合せず、配列番号37に示す配列から選択される重鎖可変領域（VH）アミノ酸配列、および配列番号20に示す配列またはその保存的変異体から選択される軽鎖可変領域（VL）アミノ酸配列を含む、実施形態1～9のいずれか1つによる単離されたヒト抗体またはその断片。

【0211】

実施形態74：IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質（IL-18BP）複合体に結合せず、配列番号43、47、50、53、56、96、100、103、116、134、142および158に示す配列またはその保存的変異体から選択されるVHアミノ酸配列、および配列番号45、98、118、136、144、150、156および160に示す配列またはその保存的変異体から選択されるVLアミノ酸配列を含む、実施形態1～9のいずれか1つによる単離されたヒト抗体またはその断片。

10

【0212】

実施形態75：IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質（IL-18BP）複合体に結合せず、配列番号43に示す配列またはその保存的変異体から選択されるVHアミノ酸配列、および配列番号45に示す配列またはその保存的変異体から選択されるVLアミノ酸配列を含む、実施形態1～9のいずれか1つによる単離されたヒト抗体またはその断片。

20

【0213】

実施形態76：IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質（IL-18BP）複合体に結合せず、IL-18との結合に関してマウス抗体125-2Hと競合する、実施形態75による単離されたヒト抗体またはその断片。

【0214】

実施形態77：IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質（IL-18BP）複合体に結合せず、配列番号1に規定されるIL-18上のArg140およびGlu152を含むエピトープに結合し、任意選択で、エピトープはアミノ酸Lys89、Gln92、Pro93、Arg94、Gly95、Met96、Phe138、Ser141、Pro143、Gly144、Glu157、Glu177またはLeu180の任意の1つまたは複数をさらに含み、好ましくは、エピトープはアミノ酸Lys89、Gln92、Pro93、Arg94、Gly95、Met96、Phe138、Ser141、Pro143、Gly144、Glu157、Glu177およびLeu180をさらに含む、実施形態75または76のいずれか1つによる単離されたヒト抗体またはその断片。

30

【0215】

実施形態78：IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質（IL-18BP）複合体に結合せず、配列番号158に示す配列またはその保存的変異体から選択されるVHアミノ酸配列、および配列番号160に示す配列またはその保存的変異体から選択されるVLアミノ酸配列を含む、実施形態1～9のいずれか1つによる単離されたヒト抗体またはその断片。

40

【0216】

実施形態79：IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質（IL-18BP）複合体に結合せず、IL-18との結合に関してマウス抗体125-2Hと競合する、実施形態78による単離されたヒト抗体またはその断片。

【0217】

実施形態80：IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質（IL

50

- 18BP) 複合体に結合せず、配列番号1に規定されるIL-18上のArg140およびGlu152を含むエピトープに結合し、任意選択で、エピトープはアミノ酸Lys89、Gln92、Pro93、Arg94、Gly95、Met96、Phe138、Ser141、Pro143、Gly144、Glu157、Glu177またはLeu180の任意の1つまたは複数をさらに含み、好ましくは、エピトープはアミノ酸Lys89、Gln92、Pro93、Arg94、Gly95、Met96、Phe138、Ser141、Pro143、Gly144、Glu157、Glu177およびLeu180をさらに含む、実施形態78または79のいずれか1つによる単離されたヒト抗体またはその断片。

【0218】

実施形態81: IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合せず、配列番号47もしくは配列番号50もしくは配列番号56に示す配列またはその保存的変異体から選択されるVHアミノ酸配列、および配列番号45に示す配列またはその保存的変異体から選択されるVLアミノ酸配列を含む、実施形態1~9のいずれか1つによる単離されたヒト抗体またはその断片。

【0219】

実施形態82: IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合せず、配列番号53もしくは配列番号100に示す配列またはその保存的変異体から選択されるVHアミノ酸配列、および配列番号160に示す配列またはその保存的変異体から選択されるVLアミノ酸配列を含む、実施形態1~9のいずれか1つによる単離されたヒト抗体またはその断片。

【0220】

実施形態83: IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合せず、IL-18との結合に関してマウス抗体125-2Hと競合する、実施形態81または82による単離されたヒト抗体またはその断片。

【0221】

実施形態84: IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合せず、配列番号1に規定されるIL-18上のArg140およびGlu152を含むエピトープに結合し、任意選択で、エピトープはアミノ酸Lys89、Gln92、Pro93、Arg94、Gly95、Met96、Phe138、Ser141、Pro143、Gly144、Glu157、Glu177またはLeu180の任意の1つまたは複数をさらに含み、好ましくは、エピトープはアミノ酸Lys89、Gln92、Pro93、Arg94、Gly95、Met96、Phe138、Ser141、Pro143、Gly144、Glu157、Glu177およびLeu180をさらに含む、実施形態81~83のいずれか1つによる単離されたヒト抗体またはその断片。

【0222】

実施形態85: IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合せず、配列番号96もしくは配列番号103に示す配列またはその保存的変異体から選択されるVHアミノ酸配列、および配列番号98に示す配列またはその保存的変異体から選択されるVLアミノ酸配列を含む、実施形態1~9のいずれか1つによる単離されたヒト抗体またはその断片。

【0223】

実施形態86: IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合せず、配列番号116に示す配列またはその保存的変異体から選択されるVHアミノ酸配列、および配列番号118に示す配列またはその保存的変異体から選択されるVLアミノ酸配列を含む、実施形態1~9のいずれか1つによる単離されたヒト抗体またはその断片。

【0224】

実施形態87: IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL

10

20

30

40

50

- 18BP) 複合体に結合せず、配列番号142に示す配列またはその保存的変異体から選択されるVHアミノ酸配列、および配列番号144に示す配列またはその保存的変異体から選択されるVLアミノ酸配列を含む、実施形態1~9のいずれか1つによる単離されたヒト抗体またはその断片。

【0225】

実施形態88: IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合せず、配列番号134に示す配列またはその保存的変異体から選択されるVHアミノ酸配列、および配列番号136もしくは配列番号150もしくは配列番号156に示す配列またはその保存的変異体から選択されるVLアミノ酸配列を含む、実施形態1~9のいずれか1つによる単離されたヒト抗体またはその断片。

10

【0226】

2.2) ヒト化またはキメラ抗体

本明細書に開示される本発明の明らかな代替物は、ヒト抗体の代わりにヒト化またはキメラ抗体を使用することである。

【0227】

ヒト疾患または障害の処置でのインタクトなヒト以外の抗体の使用は、今では確立されている免疫原性の問題の可能性を有する。すなわち、患者の免疫系は、ヒト以外のインタクトな単離された抗体を非自己と認識して、抗体応答を開始することができる。これは、ヒト患者へのヒト以外の単離された抗体の複数回投与の後に特に明白である。これらの問題を克服するために様々な技術が長年にわたって開発されており、一般には、免疫化動物、例えばマウス、ラットまたはウサギからヒト以外の抗体を得る相対的容易さを保持しつつ、インタクトな単離された抗体でヒト以外の免疫原性シグネチャーを低減することを含む。これを達成するために、大まかに2つのアプローチが使用されている。第1のものはキメラ(chimeric)(時には「キメラ(chimaeric)」)抗体であり、それはヒト定常領域と融合しているヒト以外の(例えばマウスなどのげっ歯動物)可変ドメインを一般に含む。単離された抗体の抗原結合部位は可変領域の中に局在化するので、キメラの単離された抗体は抗原へのその結合親和性を保持するが、ヒト定常領域のエフェクター機能を獲得し、したがって上記のものなどのエフェクター機能を発揮することができる。キメラ抗体は、組換えDNA方法を使用して一般的に生成される。抗体をコードするDNA(例えばcDNA)は、従来手法を用いて(例えば、本発明の単離された抗体の重鎖および軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合することが可能であるオリゴヌクレオチドプローブを使用して)単離され、配列決定される。ハイブリドーマ細胞は、そのようなDNAの一般的な供給源の役割をする。単離されると、DNAを発現ベクターに入れ、次に、さもなければ免疫グロブリンタンパク質を生成しない大腸菌(E.coli)、COS細胞、CHO細胞または骨髄腫細胞などの宿主細胞にそれをトランスフェクトさせ、単離された抗体の合成を得る。ヒトのLおよびH鎖のコード配列を、対応するヒト以外(例えばマウス)のHおよびL定常領域と置換することによって、DNAを改変することができる(Morrison; PNAS 81, 6851 (1984))。

20

30

【0228】

第2のアプローチは、単離された抗体のヒト以外の内容物が可変領域のヒト化によって低減されるヒト化抗体の生成を含む。ヒト化の2つの技術が人気を得ている。最初は、CDRグラフトによるヒト化である。CDRは単離された抗体のN末端の近くにループを構築し、そこでそれらは、フレームワーク領域によって提供される足場に据えられる表面を形成する。単離された抗体の抗原結合特異性は、主に地形により、およびそのCDR表面の化学的特性によって規定される。これらの特色は、次に個々のCDRの立体構造、CDRの相対的配置、ならびにCDRを含む残基の側鎖の性質および配置によって決定される。ヒトのフレームワーク(「アクセプターフレームワーク」)および定常領域にヒト以外(例えばマウス)の抗体(「ドナー」抗体)のCDRだけを移植することによって、免疫原性の大きな減少を達成することができる(Jonesら(1986) Nature 321: 522~525およびVerhoeyen Mら(1988) Science 239: 1534~1536)。しかし、CDRグラフト自体は抗

40

50

原結合特性の完全な保持をもたらすことができず、かなりの抗原結合親和性を回復させようとするならば、ドナーの単離された抗体の一部のフレームワーク残基（時には「復帰突然変異」と呼ばれる）をヒト化合物で保存する必要性があることが頻繁に見出される（Queen Cら、（1989）Proc Natl Acad Sci 86：10029～10033、Co, Mら（1991）Nature 351、501～502）。この場合では、ヒトフレームワーク（FR）を提供するために、ヒト以外のドナーの単離された抗体と最大の配列相同性を示すヒト可変領域がデータベースから選択される。ヒトコンセンサス抗体または個々のヒト抗体からヒトFRを選択することができる。必要な場合、CDR立体構造を保存するために、ドナーの単離された抗体からの鍵となる残基がヒトアクセプターフレームワークに置換される。そのような構造的に重要な残基の同定を助けるために、単離された抗体のコンピュータモデル化を使用することができる。

10

【0229】

あるいは、ヒト化は「ベニヤリング」の方法によって達成することができる。特異なヒトおよびマウスの免疫グロブリン重鎖および軽鎖可変領域の統計解析は、露出した残基の正確なパターンがヒトおよびマウスの抗体で異なること、ならびにほとんどの個々の表面位置は少数の異なる残基への強力な好みを有することを明らかにした（Padlan Eら；（1991）Mol Immunol 28：489～498およびPedersen Jら（1994）J Mol Biol 235：959～973）。したがって、ヒト抗体で通常見出されるものと異なるそのフレームワーク領域で露出した残基を置き換えることによって、ヒト以外のFvの免疫原性を低減することが可能である。タンパク質の抗原性は表面のアクセス可能性と相関している可能性があるので、表面残基の置き換えはマウス可変領域をヒト免疫系に「不可視」にさせるのに十分である可能性がある（さらに、Mark G Eら（1994）、Handbook of Experimental Pharmacology 113巻：The pharmacology of monoclonal Antibodies、Springer-Verlag、105～134頁）。単離された抗体の表面だけが変化し、支持する残基はそのままであるので、ヒト化のこの手順は「ベニヤリング」と呼ばれる。

20

【0230】

2.3) 単離された抗体断片および単一の可変ドメイン抗体

本発明の別の実施形態では、結合分子は、IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質（IL-18BP）複合体に結合しない、抗体の断片または単一の可変ドメイン抗体である。好ましくは、結合分子は、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、scFv、dAbまたはV_HHである。

30

【0231】

伝統的に、そのような断片は、インタクトな抗体のタンパク分解、例えばパイン消化（例えばWO94/29348を参照）によって生成されるが、組換えで形質転換された宿主細胞から直接に生成することができる。さらに、単離された抗体断片は、下記のような様々な操作技術を使用して生成することができる。

【0232】

Fv断片は、それらの2つの鎖の、Fab断片より低い相互作用エネルギーを有するようである。VHおよびVLドメインの会合を安定させるために、それらは、ペプチド（Birdら、（1988）Science、242：423～426、Hustonら、（1998）PNAS、85：5879～5883）、ジスルフィド架橋（Glockshuberら、（1990）Biochemistry、29：1362～1367）、および「ノブ・イン・ホール」突然変異（Zhuら（1997）、Protein Sci、6：781～788）で連結されている。scFv断片は、当業者に周知の方法によって生成することができる（Whitlowら（1991）、Methods companion Methods Enzymol、2：97～105およびHustonら（1993）Int Rev Immunol 10：195～217）。scFvは大腸菌（E.coli）などの細菌細胞で生成することができるが、真核生物の細胞でより好ましく生成される。scFvの1つの欠点は、多価結合による結合力の増加を排除する生成物の一価性、およびそれらの短い半減期である。これらの問題点を克服する試みには、化学的連結（Adamsら（1993）Can Res 53：4026～4034およびMcCartneyら（1995）Protein Eng、8：301～314）または不對のC末端システイン残基を含有するscFvの自然発生部位特異的二量体化（Kipriyanovら（19

40

50

95) Cell. Biophys 26 : 187 ~ 204) によって追加の C 末端システインを含有する s c F v から生成される二価の (s c F v ')₂ が含まれる。あるいは、ペプチドリンカーを 3 および 1 2 残基に短くして「ダイアボディ」を形成することによって、s c F v に多量体を形成させることができる (Holligerら PNAS (1993)、90 : 6444 ~ 6448)。リンカーをさらに低減することは、s c F v 三量体 (「トリアボディ」、Korttら (1997) Protein Eng、10 : 423 ~ 433 を参照) および四量体 (「テトラボディ」、Le Gallら (1999) FEBS Lett、453 : 164 ~ 168) をもたすことができる。「ミニ抗体」(Packら (1992) Biochemistry 31 : 1579 ~ 1584) および「ミニボディ」(Huら (1996)、Cancer Res. 56 : 3055 ~ 3061) を形成するタンパク質二量体化モチーフによる遺伝子融合によって、二価 s c F v 化合物の構築を達成することもできる。第 3 のペプチドリンカーによって 2 つの s c F v 単位を連結することによって、s c F v - s c - F v タンデム ((s c F v)₂) を生成することもできる (Kuruczら (1995) J Immunol、154 : 4576 ~ 4582 を参照)。短いリンカーによって別の単離された抗体の V L ドメインに接続される 1 つの単離された抗体からの V H ドメインからなる 2 つの単鎖融合生成物の非共有会合を通して、二重特異的ダイアボディを生成することができる (Kipriyanovら (1998)、Int J Can 77 : 763 ~ 772 を参照)。そのような二重特異的ダイアボディの安定性は、上記のジスルフィド架橋もしくは「ノブ・イン・ホール」突然変異の導入によって、または、2 つの雑種 s c F v 断片がペプチドリンカーを通して接続される単鎖ダイアボディ (S c D b) の形成によって強化することができる (Kontermannら (1999) J Immunol Methods 226 : 179 ~ 188 を参照)。例えば I g G 化合物の C H 3 ドメインまたはヒンジ領域を通して F a b 断片に s c F v 断片を融合することによって、四価の二重特異的化合物を入手できる (Colomaら (1997) Nature Biotechnol、15 : 159 ~ 163 を参照)。あるいは、二重特異的単鎖ダイアボディの融合によって、四価の二重特異的化合物が作製されている (Altら (1999) FEBS Lett 454 : 90 ~ 94 を参照)。より小さな四価の二重特異的化合物は、ヘリックス - ループ - ヘリックスモチーフを含有するリンカーを有する s c F v - s c F v タンデム (D i B i ミニ抗体、Mullerら (1998) FEBS Lett 432 : 45 ~ 49 を参照) または 4 つの単離された抗体可変ドメイン (V H および V L) を、分子内対形成を阻止する配向で含む単鎖化合物 (タンデムダイアボディ、Kipriyanovら、(1999) J Mol Biol 293 : 41 ~ 56 を参照) の二量体化によって形成することもできる。二重特異的 F (a b ')₂ 断片は、F a b ' 断片の化学的連結またはロイシンジッパーを通してのヘテロ二量体化によって作製することができる (Shalabyら (1992) J Exp Med 175 : 217 ~ 225 および Kostelnyら (1992)、J Immunol 148 : 1547 ~ 1553 を参照)。

10

20

30

40

【 0 2 3 3 】

用語「単一の可変ドメイン抗体」は、異なる V 領域またはドメインと独立して抗原またはエピトープに特異的に結合する抗体可変ドメイン (V H、V_{H H}、V L) を指す。単一の可変ドメイン抗体は、他の異なる可変領域または可変ドメインと一緒にフォーマット (例えば、ホモマルチマーまたはヘテロマルチマー) で存在することができ、そこで、他の領域またはドメインは単一の可変ドメインによる抗原結合のために必要とされない (すなわち、単一のドメイン抗体は追加の可変ドメインと独立して抗原に結合する)。本明細書で使用されるように、「ドメイン抗体」または「d A b」は、抗原との結合が可能である「単一の可変ドメイン抗体」と同じである。単一の可変ドメイン抗体はヒト抗体可変ドメインであってもよいが、他の種からの単一の抗体可変ドメイン、例えばげっ歯動物 (例えば、W O O O / 2 9 0 0 4 に開示されるように)、テンジクザメおよびラクダ科の動物の V_{H H} d A b も含む。ラクダ科の動物の V_{H H} は、軽鎖が自然に欠けている重鎖抗体を生成する、ラクダ、ラマ、アルパカ、ヒトコブラクダおよびグアナコを含む種に由来する単一の可変ドメインポリペプチドである。そのような V_{H H} ドメインは当技術分野で利用できる標準の技術によってヒト化することができ、そのようなドメインは本発明による「ドメイン抗体」であるとなおみなされる。本明細書で用いるように、「V H」はラクダ科の動物の V_{H H} ドメインを含む。

【 0 2 3 4 】

50

2.4) 同種抗体またはその断片および保存的変異体

本発明の別の実施形態では、結合分子は、可変領域重鎖および軽鎖アミノ酸配列、または本明細書に記載される抗体のアミノ酸配列に同種である重鎖および軽鎖アミノ酸配列を有する抗体またはその断片であり、同種抗体またはその断片は、本発明による結合分子の所望の機能的特性を保持する。

【0235】

例えば、本発明は、VHおよびVLを含む、単離された抗体またはその断片を提供し、VHは、配列番号14;18;22;25;28;31;34;37;40;83;87;90;93;112;130または138からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも80%または少なくとも90%同一であり、VLは、配列番号16;20;85;114;132;140;147または153からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも80%または少なくとも90%同一であり、同種抗体はIL18に特異的に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合しない。同種抗体は、IL18RへのIL18の結合を阻害するか、IL18依存性のIFN-生成を阻害することなどの、少なくとも1つの追加の機能的特性を示すことができる。

10

【0236】

他の実施形態では、VHおよび/またはVLアミノ酸配列は、上記の配列と50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%または99%同一であってもよい。他の実施形態では、VHおよび/またはVLアミノ酸配列は、1、2、3、4または5個以下のアミノ酸位置でのアミノ酸置換以外は同一であってもよい。それぞれ配列番号14;18;22;25;28;31;34;37;40;83;87;90;93;112;130または138ならびに配列番号16;20;85;114;132;140;147または153のVHおよびVL領域と高い(すなわち、80%以上の)同一性を有するVHおよびVL領域を有する抗体は、それぞれ配列番号15;19;23;26;29;32;35;38;41;84;88;91;94;113;131;139;146または152および17;21;24;27;30;33;36;39;42;86;89;92;95;115;133;141;148または154をコードする核酸分子の突然変異誘発(例えば、部位特異的またはPCR媒介突然変異誘発)と、その後、本明細書に記載される機能アッセイを使用して、保持される機能(すなわち、上に示す機能)についてコードされる改変抗体を試験することによって得ることができる。

20

30

【0237】

同種抗体は、例えば、ヒト抗体、ヒト化抗体またはキメラ抗体であってもよい。好ましくは、抗体は完全にヒトのサイレントIgG1抗体である。

【0238】

本明細書で用いるように、2つの配列間の同一性パーセントは、2つの配列の最適なアラインメントのために導入する必要があるギャップの数および各ギャップの長さを考慮する、配列によって共有される同一位置の数の関数である(すなわち、同一性% = 同一位置の数 / 位置合計数 × 100)。配列の比較および2つの配列間の同一性パーセントの判定は、下記のように、数学アルゴリズムを用いて達成することができる。

40

【0239】

2つのアミノ酸配列間の同一性パーセントは、ALIGNプログラム(バージョン2.0)に組み込まれたE. MeyersおよびW. Miller、(1988) Comput. Appl. Biosci 4:11~17のアルゴリズムを使用し、PAM120重み付け残基表、12のギャップ長ペナルティおよび4のギャップペナルティを使用して判定することができる。あるいは、2つのアミノ酸配列間の同一性パーセントは、GCGソフトウェアパッケージ(<http://www.gcg.com>で入手可能)中のギャッププログラムに組み込まれているNeedlemanおよびWunsch(1970) J Mol Biol 48:444~453のアルゴリズムを使用し、Blossom62マトリックスまたはPAM250マトリックスのいずれか、ならびに16、14、12、10、8、6または4のギャップ重み付けおよび1、2、3、4、5または6の長さ重み付けを使用し

50

て判定することができる。

【0240】

2.5) 二重可変ドメイン抗体

二重可変ドメイン(DVD)抗体は2個以上の抗原結合部位を含み、例えば二価および四価のように、四価または多価の抗体である。多価抗体は、2個以上の抗原結合部位を有するように特に操作され、一般に天然に存在する抗体でない。DVD抗体は、2個以上の関連しているか、関連していない標的に結合することが可能である。そのようなDVD抗体は単一特異的であってもよいか、すなわち1つの抗原に結合することが可能であるか、多重特異的であってもよく、すなわち2個以上の抗原に結合することが可能である。一部の実施形態では、DVD抗体は2つの重鎖および2つの軽鎖を含む。各重鎖および軽鎖は、2つの抗原結合部位を含む。各結合部位は、抗原結合部位につき、抗原結合に關与する合計6つのCDRを有する、重鎖可変ドメインおよび軽鎖可変ドメインを含む。

10

【0241】

一実施形態では、本発明の結合分子は、IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合しない二重可変ドメイン(DVD)抗体である。

【0242】

詳細には、本発明による二重可変ドメイン抗体は、IL-18および第2の標的に結合することが可能である。第2の標的は、IL-1、IL-6、IL-8、IL-11、IL-12、IL-17、IL-25、IL-33、IL-1、TNFアルファ/ベータおよびIFN- から選択することができる。

20

【0243】

2.6) 二重特異的および多重特異的分子および抗体

一実施形態では、本発明の結合分子は、IL-18に対する第1の特異性および別のポリペプチド、例えばIL-12に対する第2の特異性を含む、単離された二重特異的抗体またはその断片であり、二重特異的抗体はIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合しない。

【0244】

詳細には、本発明による二重特異的抗体は、IL-18および第2の標的に結合することが可能である。第2の標的は、IL-1、IL-6、IL-8、IL-11、IL-12、IL-17、IL-25、IL-33、IL-1、TNFアルファ/ベータおよびIFN- から選択することができる。

30

【0245】

さらに別の態様では、本発明は、IL-18に対する第1の特異性、別のポリペプチド、例えばIL-12に対する第2の特異性、および別のポリペプチドに対する少なくとも第3の特異性を含む、単離された多重特異的抗体またはその断片である結合分子を提供し、そこで、多重特異的抗体はIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合しない。

【0246】

詳細には、本発明による多重特異的抗体は、IL-18、第2および第3の標的に結合することが可能である。第2および第3の標的は、IL-1、IL-6、IL-8、IL-11、IL-12、IL-17、IL-25、IL-33、IL-1、TNFアルファ/ベータおよびIFN- から選択することができる。

40

【0247】

単離された二重特異的抗体は、少なくとも2つの異なるエピトープに結合特異性を有する単離された抗体である。そのような抗体の作製方法は、当技術分野で公知である。伝統的に、二重特異的抗体の組換えによる生成は、2つの免疫グロブリンH鎖-L鎖対の同時発現に基づき、そこで、2つのH鎖は異なる結合特異性を有する(Millsteinら、(1983) Nature 305:537~539、WO 93/08829およびTrauneckerら、(1991) EMBO 10:3655~3659を参照)。HおよびL鎖のランダムな寄せ集めのため、10個の異なる単離

50

された抗体構造の可能な混合物が生成され、そのわずか1つが所望の結合特異性を有する。代替アプローチは、所望の結合特異性を有する可変ドメインを、ヒンジ領域、C H 2 および C H 3 領域の少なくとも一部を含む重鎖定常領域と融合させることを含む。融合の少なくとも1つに存在する軽鎖結合に必要な部位を含む、C H 1 領域を有することが好ましい。これらの融合、および所望によりL鎖をコードするDNAは、別々の発現ベクターに挿入され、次に適する宿主生物体に同時トランスフェクトされる。しかし、1つの発現ベクターに2つまたは全3つの鎖のコード配列を挿入することが可能である。好ましいアプローチでは、二重特異的な単離された抗体は、一方の腕の第1の結合特異性を有するH鎖、および他方の腕の第2の結合特異性を提供するH-L鎖対で構成される。WO 94 / 04690を参照。Sureshら、Methods in Enzymology 121、210、1986も参照。

10

【0248】

本発明の二重特異的および多重特異的抗体は、別の官能分子、例えば別のペプチドまたはタンパク質（例えば、受容体のための別の抗体またはリガンド）に誘導体化するか、連結させて、少なくとも2つの異なる結合部位または標的分子に結合する二重特異的分子を生成することができる。2つを超える異なる結合部位および/または標的分子に結合する多重特異的分子を生成するために、本発明の抗体は、実際複数の他の官能分子に誘導体化するか、連結させることができる；そのような多重特異的分子も、本明細書で用いられる用語「二重特異的分子」に包含されるものとする。本発明の二重特異的分子を作製するために、本発明の抗体は、二重特異的分子がもたらされるように、1つまたは複数の他の結合分子、例えば別の抗体、抗体断片、ペプチドまたは結合模倣体に機能的に連結させる（例えば、化学的連結、遺伝子融合、非共有会合その他によって）ことができる。

20

【0249】

一実施形態では、本発明の二重特異的分子は、結合特異性として少なくとも1つの抗体またはその抗体断片、例えば、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fvまたは単鎖Fvを含む。抗体は軽鎖もしくは重鎖二量体、またはその任意の最小限の断片、例えばFvもしくは単鎖構築物であってもよい（Ladnerら、米国特許第4,946,778号に記載）。

【0250】

本発明の二重特異的分子で用いることができる他の抗体は、マウス、キメラ、およびヒト化モノクローナル抗体である。

30

【0251】

本発明の二重特異的および多重特異的分子は、当技術分野で公知の方法を使用して、構成要素の結合特異性をコンジュゲートすることによって調製することができる。例えば、二重特異的分子の各結合特異性は、別々に生成し、その後お互いにコンジュゲートすることができる。結合特異性がタンパク質またはペプチドである場合は、共有結合性コンジュゲーションのために様々な連結または架橋剤を使用することができる。架橋剤の例には、プロテインA、カルボジイミド、N-スクシンイミジル-S-アセチル-チオアセテート(SATA)、5,5'-ジチオビス(2-ニトロ安息香酸)(DTNB)、o-フェニレンジマレイミド(OPDM)、N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)プロピオネート(SPDP)、およびスルホスクシンイミジル4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシレート(スルホ-SMCC)が含まれる（例えば、Karpovskyら(1984) J Exp Med ; 160 : 1686 ; Liu, MAら(1985) Proc Natl Acad Sci USA ; 82 : 8648を参照）。他の方法には、Paulus(1985) Behring Inst Mitt ; 78 : 118 ~ 132 ; Rennanら(1985) Science ; 229 : 81 ~ 83、およびGlennieら(1987) J Immunol ; 139 : 2367 ~ 2375に記載されるものが含まれる。コンジュゲート剤はSATAおよびスルホ-SMCCであり、両方ともPierce Chemical Co. (Rockford, IL)から入手できる。

40

【0252】

結合特異性が抗体である場合は、2つの重鎖のC末端ヒンジ領域のスルフヒドリル結合によって、それらをコンジュゲートすることができる。特定の実施形態では、ヒンジ領域

50

は、コンジュゲーションの前に奇数、例えば1つのスルフヒドリル残基を含有するように改変される。

【0253】

あるいは、両方の結合特異性を同じベクターにコードして発現させ、同じ宿主細胞で組み立てることができる。二重特異的分子が $mAb \times mAb$ 、 $mAb \times Fab$ 、 $Fab \times F(ab')$ またはリガンド $\times Fab$ 融合タンパク質である場合に、この方法は特に有益である。本発明の二重特異的分子は、1つの単鎖抗体および結合決定因子を含む単鎖分子、または2つの結合決定因子を含む単鎖の二重特異的分子であってもよい。二重特異的分子は、少なくとも2つの単鎖分子を含むことができる。二重特異的分子を調製する方法は、例えば、米国特許第5,260,203号；米国特許第5,455,030号；米国特許第4,881,175号；米国特許第5,132,405号；米国特許第5,091,513号；米国特許第5,476,786号；米国特許第5,013,653号；米国特許第5,258,498号；および米国特許第5,482,858号に記載される。

10

【0254】

それらの特異的標的への二重特異的分子の結合は、例えば、酵素結合免疫吸着検定法 (ELISA)、放射免疫測定法 (RIA)、FACS分析、バイオアッセイ (例えば、増殖阻害) またはウエスタンブロットアッセイによって確認することができる。これらのアッセイの各々は、対象の複合体に特異的な標識試薬 (例えば、抗体) を用いることによって、特に興味があるタンパク質 - 抗体複合体の存在を一般に検出する。

20

【0255】

2.7) 多価抗体

別の態様では、本発明は、IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質 (IL-18BP) 複合体に結合しない本発明の抗体の少なくとも2つの同一であるか異なる抗原結合部分を含む、多価抗体を提供する。

【0256】

一実施形態では、多価抗体は、本明細書に記載される抗体の少なくとも2つ、3つまたは4つの抗原結合部分を提供する。抗原結合部分は、タンパク質融合または共有結合性もしくは非共有結合性の連結を通して一緒に連結することができる。あるいは、二重特異的分子のための連結の方法が記載されている。例えば、本発明の抗体の定常領域、例えばFcまたはヒンジ領域に結合する抗体と本発明の抗体を架橋させることによって、四価の化合物を得ることができる。

30

【0257】

2.8) 免疫コンジュゲート

別の実施形態では、本発明の結合分子は、IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質 (IL-18BP) 複合体に結合しない抗体またはその断片であり、抗体またはその断片は、治療的部分、例えば細胞毒素、薬物 (例えば、免疫抑制薬) または放射性毒物にコンジュゲートされる。

【0258】

そのようなコンジュゲートは、本明細書において「免疫コンジュゲート」と呼ばれる。1つまたは複数の細胞毒素を含む免疫コンジュゲートは、「免疫毒素」と呼ばれる。細胞毒素または細胞毒性剤には、細胞に有害である (例えば、殺傷する) 任意の薬剤が含まれる。例には、タキソール、サイトカラシンB、グラミシジンD、臭化エチジウム、エメチン、マイトマイシン、エトポシド、テノポシド、ピンクリスチン、ピンブラスチン、t.コルヒチン、ドキシソルピシン、ダウノルピシン、ジヒドロキシアントラシンジオン、ミトキサントロン、ミトラマイシン、アクチノマイシンD、1-デヒドロテストステロン、糖質コルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロール、およびピユーロマイシン、およびその類似体または相同体が含まれる。治療剤には、例えば、代謝拮抗薬 (例えば、メトトレキセート、6-メルカプトプリン、6-チオグアニン、シタラピン、5-フルオロウラシルデカルバジン)、切除剤 (例えば、メクロルエタミン、チオテパクロラムブシル、メイファラン、カルムスチン (BSNU) およびロムスチン (CC

40

50

NU)、シクロホスファミド、ブスルファン、ジプロモマンニトール、ストレプトゾトシン、マイトマイシンC、およびシス-ジクロロジアミン白金(II)(DDP)シスプラチン、アントラサイクリン(例えば、ダウノルビシン(旧ダウノマイシン)およびドキシロビシン)、抗生物質(例えば、ダクチノマイシン(旧アクチノマイシン)、プレオマイシン、ミトラマイシンおよびアントラマイシン(AMC))、および有糸分裂阻害剤(例えば、ピンクリスチンおよびピンブラスチン)も含まれる。

【0259】

本発明の抗体にコンジュゲートすることができる治療的細胞毒素の他の例には、デュオカルマイシン、カリケアマイシン、マイタンシンおよびアウリスタチンおよびその誘導体が含まれる。カリケアマイシン抗体コンジュゲートの例は、市販されている(Myloctarg(商標); Wyeth-Ayerst)。

10

【0260】

当技術分野で利用できるリンカー技術を使用して、本発明の抗体に細胞毒素をコンジュゲートすることができる。抗体に細胞毒素をコンジュゲートするために使用したリンカータイプの例には、ヒドラゾン、チオエーテル、エステル、ジスルフィドおよびペプチド含有リンカーが含まれるが、これらに限定されない。例えば、リソソームコンパートメント中の低pHによる開裂に感受性であるか、プロテアーゼ、例えばカテプシン(例えば、カテプシンB、C、D)などの腫瘍組織で優先的に発現されるプロテアーゼによる開裂に感受性であるリンカーを選択することができる。

20

【0261】

細胞毒素、リンカーのタイプおよび抗体に治療剤をコンジュゲートする方法のさらなる議論については、Saito, Gら(2003) Adv Drug Deliv Rev; 55: 199~215; Trail, PAら(2003) Cancer Immunol Immunother; 52: 328~337; Payne, G(2003) Cancer Cell; 3: 207~212; Allen, TM(2002) Nat Rev Cancer; 2: 750~763; Pastan, IおよびKreitman, RJ(2002) Curr Opin Investig Drugs; 3: 1089~1091; Senter, PDおよびSpringer, CJ(2001) Adv Drug Deliv Rev; 53: 247~264も参照。

【0262】

放射性免疫コンジュゲートとも呼ばれる細胞毒性放射性医薬品を生成するために、本発明の抗体を放射性同位体にコンジュゲートすることもできる。診断または治療用のための抗体にコンジュゲートすることができる放射性同位体の例には、ヨウ素131、インジウム111、イットリウム90およびルテチウム177が含まれるが、これらに限定されない。放射性免疫コンジュゲートを調製する方法は、当技術分野で確立されている。Zevalin(商標)(DEC Pharmaceuticals)およびBexxar(商標)(Corixa Pharmaceuticals)を含めて、放射性免疫コンジュゲートの例は市販されており、本発明の抗体を使用して放射性免疫コンジュゲートを調製するために類似の方法を使用することができる。

30

【0263】

所与の生物学的応答を改変するために本発明の抗体コンジュゲートを使用することができ、薬物部分は古典的薬学治療剤に限定されると解釈すべきでない。例えば、薬物部分は、所望の生物学的活性を有するタンパク質またはポリペプチドであってもよい。そのようなタンパク質には、例えば、酵素活性毒素またはその活性断片、例えばアブリン、リシンA、シュードモナス外毒素またはジフテリア毒素; または増殖因子を含めることができる。

40

【0264】

抗体にそのような治療部分をコンジュゲートする技術は、周知である、例えば、Amonら「Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy」、Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy、Reisfeldら(編)、243~56頁(Alan R. Liss, Inc. 1985); Hellstromら「Antibodies For Drug Delivery」、Controlled Drug Delivery(2版)Robinsonら(編)、623~53頁(Marcel Dekker, Inc. 1987); Thorpe、「Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review」、Monoclonal Antib

50

odies '84: Biological And Clinical Applications、Pincheraら(編)、475~506頁(1985); 「Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy」、Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy、Baldwinら(編)、303~16頁(Academic Press 1985)およびThorpeら、「The Preparation And Cytotoxic Properties Of Antibody-Toxin Conjugates」、(1982) Immunol Rev; 62: 119~58を参照。

【0265】

2.9) ヘテロコンジュゲート抗体

ヘテロコンジュゲート抗体も、本発明の実施形態を形成する。ヘテロコンジュゲート抗体は、任意の便利な架橋方法を使用して形成される2つの共有結合した抗体で構成され、そこで、連結される抗体の少なくとも1つは、IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合しない本発明による抗体である。例えば、US4,676,980を参照。

10

【0266】

2.10) フレームワーク操作

本発明の操作された抗体には、例えば抗体の特性を向上させるために、VHおよび/またはVLの中のフレームワーク残基に改変が加えられたものが含まれる。一般的に、そのようなフレームワーク改変は、抗体の免疫原性を減少させるために加えられる。例えば、1つのアプローチは、1つまたは複数のフレームワーク残基を対応する生殖細胞系配列に「復帰突然変異」させることである。より具体的には、体細胞突然変異を経た抗体は、その抗体が由来する生殖細胞系配列と異なるフレームワーク残基を含有することができる。抗体のフレームワーク配列を抗体が由来する生殖細胞系配列と比較することによって、そのような残基を同定することができる。それらの生殖細胞系構成にフレームワーク領域配列を戻すために、体細胞突然変異を、例えば部位特異的突然変異誘発またはPCR媒介突然変異誘発によって生殖細胞系配列に「復帰突然変異」させることができる。そのような「復帰突然変異」した抗体も、本発明に包含されるものとする。

20

【0267】

フレームワーク改変の別のタイプは、T細胞エピトープを除去し、それによって抗体の潜在的な免疫原性を低減するために、フレームワーク領域中の、または1つもしくは複数のCDR領域の中の1つまたは複数の残基さえも突然変異させることを含む。このアプローチは「脱免疫化」とも呼ばれ、Carrらによる米国特許出願公開第20030153043号でさらに詳細に記載される。

30

【0268】

2.11) 他の改変

フレームワークまたはCDR領域に加えられる改変に加え、またはその代替で、抗体の1つまたは複数の機能的特性、例えば血清中半減期、補体結合、Fc受容体結合および/または抗原依存性細胞性細胞毒性を一般的に変化させるために、本発明の抗体は、Fc領域中の改変を含むように操作することができる。さらに、前と同じように抗体の1つまたは複数の機能的特性を変化させるために、本発明の抗体は、化学的改変(例えば、1つまたは複数の化学部分を抗体に付着することができる)または改変して、そのグリコシル化を変化させることができる。これらの実施形態の各々は、さらに詳細に下に記載される。Fc領域の残基の番号付けは、KabattのEUIンデックスのそれである。

40

【0269】

一実施形態では、CH1のヒンジ領域は、ヒンジ領域のシステイン残基の数が変化し、例えば増加または減少するように改変される。このアプローチは、Bodmerらによる米国特許第5,677,425号でさらに記載される。CH1のヒンジ領域のシステイン残基の数は、例えば軽鎖および重鎖のアセンブリーを促進するか、抗体の安定性を増減させるために変化する。

【0270】

別の実施形態では、抗体の生物学的半減期を減少させるために、抗体のFcヒンジ領域

50

を突然変異させる。より具体的には、抗体が天然の Fc ヒンジドメイン SpA 結合と比較して障害のあるブドウ球菌プロンテイン A (SpA) 結合を有するように、1つまたは複数のアミノ酸突然変異が Fc ヒンジ断片の CH2 - CH3 ドメイン界面領域に導入される。このアプローチは、Wardらによる米国特許第 6, 165, 745 号でさらに詳細に記載される。

【0271】

別の実施形態では、抗体は、その生物学的半減期を増加させるために改変される。様々なアプローチが可能である。例えば、Wardへの米国特許第 6, 277, 375 号に記載されているように、以下の突然変異の1つまたは複数を導入することができる：T252L、T254S、T256F。あるいは、生物学的半減期を増加させるために、Prestaらによる米国特許第 5, 869, 046 号および第 6, 121, 022 号に記載の通り、IgG の Fc 領域の CH2 ドメインの2つのループからとられるサルベージ受容体結合エピートープを含有するように、抗体を CH1 または CL 領域中で変化させることができる。

10

【0272】

さらに他の実施形態では、抗体のエフェクター機能を変化させるために、少なくとも1つのアミノ酸残基を異なるアミノ酸残基で置き換えることによって、Fc 領域を変化させる。例えば、抗体がエフェクターリガンドに対して変化した親和性を有するが、親抗体の抗原結合能力を保持するように、1つまたは複数のアミノ酸を異なるアミノ酸残基で置き換えることができる。それに対する親和性を変化させるエフェクターリガンドは、例えば、Fc 受容体または C1 補体成分であってもよい。このアプローチは、Winterらによる米国特許第 5, 624, 821 号および第 5, 648, 260 号でさらに詳細に記載される。

20

【0273】

別の実施形態では、抗体が変化した C1q 結合および/または低減もしくは消滅した補体依存細胞毒性 (CDC) を有するように、アミノ酸残基から選択される1つまたは複数のアミノ酸を異なるアミノ酸残基で置き換えることができる。このアプローチは、Idusogieらによる米国特許第 6, 194, 551 号でさらに詳細に記載される。

【0274】

別の実施形態では、補体を固定する抗体の能力を変化させるために、1つまたは複数のアミノ酸残基を変化させる。このアプローチは、Bodmerらによる PCT 公開 WO 94 / 29351 でさらに記載される。

30

【0275】

さらに別の実施形態では、1つまたは複数のアミノ酸を改変することによって抗体依存性細胞毒性 (ADCC) を媒介する抗体の能力および/または Fc 受容体への抗体の親和性を増加させる抗体の能力を増加させるために、Fc 領域を改変する。このアプローチは、Prestaによる PCT 公開 WO 00 / 42072 でさらに記載される。さらに、Fc RI、Fc RII、Fc RIII および Fc Rn のためのヒト IgG1 の上の結合部位がマッピングされ、向上した結合を有する変異体が記載された (Shields, R.L. ら、(2001) J Biol Chem 276 : 6591 ~ 6604 を参照)。

40

【0276】

特定の実施形態では、IgG1 アイソタイプの Fc ドメインが使用される。一部の具体的な実施形態では、IgG1 Fc 断片の突然変異変異体、例えば抗体依存性細胞毒性 (ADCC) を媒介する融合ポリペプチドの能力、および/または Fc 受容体に結合する融合ポリペプチドの能力を低減または消去するサイレント IgG1 Fc が使用される。アミノ酸位置 234 および 235 でロイシン残基がアラニン残基と置き換えられる IgG1 アイソタイプのサイレント突然変異体の例は、Hezarehら、J. Virol (2001) ; 75 (24) : 12161 ~ 8 によって記載される。

【0277】

特定の実施形態では、Fc ドメインは、Fc ドメインの 297 位でのグリコシル化を防止する突然変異体である。例えば、Fc ドメインは、297 位のアスパラギン残基のアミ

50

ノ酸置換を含有する。そのようなアミノ酸置換の例は、グリシンまたはアラニンによる N 2 9 7 の置き換えである。

【0278】

さらに別の実施形態では、抗体のグリコシル化が改変される。例えば、無グリコシル化抗体を作製することができる（すなわち、抗体はグリコシル化を欠く）。グリコシル化は変化させること、例えば抗原への抗体の親和性を増加させることができる。そのような炭水化物改変は、例えば、抗体配列内のグリコシル化の1つまたは複数の部位を変化させることによって達成することができる。例えば、1つまたは複数の可変領域フレームワークグリコシル化部位の消去をもたらし、それによってその部位のグリコシル化を消去する1つまたは複数のアミノ酸置換を加えることができる。そのような無グリコシル化は、抗原

10

【0279】

さらに、または代わりに、変化したタイプのグリコシル化を有する抗体、例えば低減された量のフコシル残基を有する低フコシル化抗体、または増加した二分 G 1 c N a c 構造を有する抗体を作製することができる。そのような変化したグリコシル化パターンは、抗体の A D C C 能力を増加させることが実証されている。そのような炭水化物改変は、例えば変化したグリコシル化機構を有する宿主細胞で抗体を発現させることによって達成することができる。変化したグリコシル化機構を有する細胞は当技術分野で記載されており、本発明の組換え抗体を発現させ、それによって変化したグリコシル化を有する抗体を生成

20

30

【0280】

本発明によって企図される、本明細書の抗体の別の改変はペグ化である。抗体は、例えば抗体の生物学的（例えば、血清中）半減期を増加させるために、ペグ化することができる。抗体をペグ化するには、1つまたは複数の P E G 基が抗体または抗体断片に付着する条件下で、抗体またはその断片をポリエチレングリコール（P E G）、例えば P E G の反応性エステルまたはアルデヒド誘導体と一般的に反応させる。ペグ化は、反応性 P E G 分子（または類似した反応性水溶性ポリマー）とのアシル化反応またはアルキル化反応によって実行することができる。本明細書で用いるように、用語「ポリエチレングリコール」は、他のタンパク質を誘導体化するために使用した P E G 形態のいずれも、例えばモノ（C 1 ~ C 1 0）アルコキシ - もしくはアリアルオキシ - ポリエチレングリコールまたはポリエチレングリコール - マレイミドも包含するものとする。特定の実施形態では、ペグ化する抗体は、無グリコシル化抗体である。タンパク質をペグ化する方法は当技術分野で公知であり、本発明の抗体に適用することができる。例えば、Nishimuraらによる E P 0 1

40

50

54316、およびIshikawaらによるEP0401384を参照。

【0281】

本発明によって企図される抗体の別の改変は、生じる分子の半減期を増加させるための、本発明の抗体の少なくとも抗原結合領域の、血清中タンパク質、例えばヒト血清アルブミンまたはその断片とのコンジュゲートまたはタンパク質融合である。そのようなアプローチは、例えばBallanceらEP0322094に記載される。

【0282】

3. 代替フレームワークまたは足場に抗原結合性ドメインを移植する

生じるポリペプチドが、IL18に特異的に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合しない少なくとも1つの結合領域を含む限り、多種多様な抗体/免疫グロブリンフレームワークまたは足場を用いることができ、そこで、結合分子はIL-18BPではない。そのようなフレームワークまたは足場には、ヒト免疫グロブリンの5つの主要イデオタイプまたはその断片(本明細書の他の場所で開示されるものなど)が含まれ、好ましくはヒト化態様を有する他の動物種の免疫グロブリンが含まれる。この点に関しては、ラクダ科の動物で同定されたものなどの単一重鎖抗体が特に興味がある。当業者によって、新規のフレームワーク、足場および断片が継続して発見され、開発される。

10

【0283】

3.1) 非免疫グロブリンフレームワーク

IL-18に特異的であるがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合しない結合領域を含む限り、公知であるか将来の非免疫グロブリンフレームワークおよび足場を用いることができ、そこで、結合分子はIL-18BPではない。そのような化合物は、本明細書において「標的特異的結合領域を含むポリペプチド」と呼ばれる。公知の非免疫グロブリンフレームワークまたは足場には、アドネクチン(Adnectins(登録商標)-Compound Therapeutics, Inc., Waltham, MA)、DARPin、アビマー、Affibody(登録商標)(Affibody AG, Sweden)、アンチカリン(Pieris ProteoLab AG, Freising, Germany)、Affilins(登録商標)(ガンマ-クリスタリンまたはユビキチン; Scil Proteins GmbH, Halle, Germany)、およびタンパク質エピトープ模倣体(PEM; Polypor(登録商標)Ltd, Allschwil, Switzerland)が含まれるが、これらに限定されない。

20

30

【0284】

3.2) フィブロネクチン分子およびアドネクチン

本発明の一態様では、結合分子はフィブロネクチン分子である。フィブロネクチン分子は、好ましくはフィブロネクチンタイプIIドメイン(例えば、フィブロネクチンタイプIIの第10モジュール(10Fn3ドメイン))に基づく足場を有する。一実施形態では、結合分子はアドネクチン(Adnectins(登録商標))である。

【0285】

フィブロネクチンタイプIIドメインは、それら自身互いに対してバックしてタンパク質のコアを形成する2つのベータシートの間で分配され、ベータ鎖を互いに接続させ、溶媒に曝露されるループ(CDRに類似する)をさらに含有する、7つまたは8つのベータ鎖を有する。そのようなベータシートサンドイッチの各エッジに少なくとも3つのそのようなループがあり、エッジはベータ鎖の方向に直角であるタンパク質の境界である(US6,818,418)。

40

【0286】

これらのフィブロネクチンをベースとした足場は、免疫グロブリンでないが、全体の折重なりは、最も小さな機能的抗体断片、ラクダおよびラマのIgGでの全体の抗原認識単位を含む重鎖の可変領域のそれに緊密に関連する。この構造のため、非免疫グロブリン抗体は、性質および親和性が抗体のそれらに類似する抗原結合特性を模倣する。これらの足

50

場は、*in vivo*での抗体の親和性成熟の過程に類似する、*in vitro*でのルーブリグ化およびシャフリング戦略で使うことができる。これらのフィブロネクチンをベースとした分子は足場として使うことができ、そこでは、標準のクローニング技術を使用して分子のルーブリグ領域を本発明のCDRで置き換えることができる。

【0287】

したがって、一実施形態では、結合分子は、IL18に結合する（例えば特異的に結合する）がIL-18/IL-18結合タンパク質（IL-18BP）複合体に結合しないフィブロネクチン分子である。

【0288】

別の実施形態では、結合分子は、IL18に結合する（例えば特異的に結合する）がIL-18/IL-18結合タンパク質（IL-18BP）複合体に結合しないアドネクチンである。

10

【0289】

3.3) DARP in

この技術は、異なる標的との結合のために使うことができる可変領域を支えるための足場として、アンキリン由来の反復モジュールを有するタンパク質を使うことに基づく。アンキリン反復モジュールは、2つの逆行性ヘリックスおよびターンからなる33アミノ酸ポリペプチドである。可変領域の結合は、大部分はリボソームディスプレイを使用して最適化される。

【0290】

したがって、一実施形態では、結合分子は、IL18に結合する（例えば特異的に結合する）がIL-18/IL-18結合タンパク質（IL-18BP）複合体に結合しないアンキリン/DARP inである。

20

【0291】

3.4) アビマー

アビマーは、LRP-1などのタンパク質を含有する天然のA-ドメインから誘導される。これらのドメインは、タンパク質間相互作用のために本来使用され、ヒトでは、250個以上のタンパク質がA-ドメインに構造的に基づく。アビマーは、アミノ酸リンカーを通して連結されるいくつかの異なる「A-ドメイン」モノマー（2~10）からなる。例えばUS20040175756；US20050053973；US20050048512；およびUS20060008844に記載される方法論を使用して、標的抗原に結合するアビマーを作製することができる。

30

【0292】

したがって、一実施形態では、結合分子は、IL18に結合する（例えば特異的に結合する）がIL-18/IL-18結合タンパク質（IL-18BP）複合体に結合しないアビマーである。

【0293】

3.5) Affibody (登録商標)

Affibody (登録商標)は、プロテインAのIgG結合ドメインの1つの足場に基づく3ヘリックス束で構成される小さな、単純なタンパク質である。プロテインAは、細菌黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) からの表面タンパク質である。この足場ドメインは58アミノ酸からなり、そのうちの13個は多数のリガンド変異体のAffibody (登録商標)ライブラリーを生成するために無作為化される（例えば、US5,831,012を参照）。Affibody (登録商標)分子は、抗体を模倣する；150kDaである抗体の分子量と比較して、それらは6kDaの分子量を有する。その小さいサイズにもかかわらず、Affibody (登録商標)分子の結合部位は、抗体のそれに類似している。

40

【0294】

したがって、一実施形態では、結合分子は、IL18に結合する（例えば特異的に結合する）がIL-18/IL-18結合タンパク質（IL-18BP）複合体に結合しない

50

アフィボディである。

【0295】

3.6) Anticalins (登録商標)

Anticalins (登録商標)は、Pieris ProteoLab AG社によって開発された製品である。それらは、通常化学的に感受性であるか不溶性の化合物の生理的輸送または保存に關与する、小さくて頑強なタンパク質の広範囲にわたる群であるリボカリンに由来する。いくつかの天然のリボカリンが、ヒト組織または体液に存在する。

【0296】

超可変ループが強固なフレームワークの上にあって、タンパク質構成は免疫グロブリンを暗示する。しかし、抗体またはそれらの組換え断片と対照的に、リボカリンは160～180個のアミノ酸残基を有する単一のポリペプチド鎖で構成され、単一の免疫グロブリンドメインよりわずかに大きい。

10

【0297】

結合ポケットを構成する4つのループのセットは顕著な構造可塑性を示し、様々な側鎖を許容する。したがって、高い親和性および特異性を有する異なる形状の所与の標的化合物を認識するために、結合部位を専有の方法で再構築することができる。

【0298】

4つのループのセットを突然変異させることによってアンチカリンを発生させるために、リボカリンファミリーの1つのタンパク質、シロチョウ(Pieris Brassicae)のピリン結合タンパク質(BBP)を使用した。「アンチカリン」を記載する特許出願の1つの例は、PCT WO199916873である。

20

【0299】

したがって、一実施形態では、結合分子は、IL18に結合する(例えば特異的に結合する)がIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合しないアンチカリンである。

【0300】

3.7) Affilin (登録商標)

Affilin (登録商標)分子は、タンパク質および小分子への特異的親和性のために設計される小さな非免疫グロブリンタンパク質である。新しいAffilin (登録商標)分子は2つのライブラリーから非常に速やかに選択することができ、その各々は異なるヒト由来足場タンパク質に基づく。

30

【0301】

Affilin (商標)分子は、免疫グロブリンタンパク質といかなる構造相同性も示さない。Scilタンパク質は2つのAffilin (商標)足場を用い、その1つはガンマ結晶性、ヒト構造眼レンズタンパク質であり、他は「ユビキチン」スーパーファミリータンパク質である。両方のヒト足場は非常に小さく、高温安定性を示し、pH変化および変性剤にほとんど抵抗性である。この高い安定性は、主にタンパク質の拡張されたベータシート構造による。ガンマ結晶性誘導タンパク質の例はWO200104144に記載され、「ユビキチン様」タンパク質の例はWO2004106368に記載される。

40

【0302】

したがって、一実施形態では、結合分子は、IL18に結合する(例えば特異的に結合する)がIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合しないアフィリンである。

【0303】

3.8) タンパク質エピトープ模倣体

タンパク質エピトープ模倣体(PEM)は、タンパク質のベータヘアピン二次構造を模倣する、中型の環状ペプチド様分子(約1～2kDa)であり、主二次構造はタンパク質間相互作用に關与する。

【0304】

50

したがって、一実施形態では、結合分子は、IL18に結合する（例えば特異的に結合する）がIL-18/IL-18結合タンパク質（IL-18BP）複合体に結合しないタンパク質エピトープ模倣体である。

【0305】

4. 本発明の結合分子をコードするポリヌクレオチド

本発明の別の態様は、本発明の結合分子をコードする単離されたポリヌクレオチドに関する。

【0306】

本明細書に記載される単離されたヒト抗体をコードする重鎖可変ドメインポリヌクレオチドを、配列番号15、19、23、26、29、32、35、38、41、84、88、91、94、113、131、139、146および152に示す。本明細書に記載される単離されたヒト抗体をコードする軽鎖可変ドメインポリヌクレオチドを、配列番号17、21、24、27、30、33、36、39、42、86、89、92、95、115、133、141、148および154に示す。本発明の抗体をコードする他のポリヌクレオチドには、突然変異しているが、上記の配列と少なくとも60、70、80、90または95パーセントの同一性を有するポリヌクレオチド、例えば哺乳動物細胞、例えばCHO細胞系でのタンパク質発現のために最適化されたポリヌクレオチドが含まれる。

【0307】

実施形態89：上記の配列で表す可変領域と比較したとき、可変領域で1、2、3、4または5個以下のヌクレオチドがヌクレオチドの欠失、挿入または置換によって変化している変異核酸。

【0308】

実施形態90：本発明による抗体またはその断片の重鎖可変ドメインをコードし、

a. 配列番号15または配列番号19または配列番号23または配列番号26または配列番号29または配列番号32または配列番号35または配列番号38または配列番号41または配列番号84または配列番号88または配列番号91または配列番号94または配列番号113または配列番号131または配列番号139または配列番号146または配列番号152と少なくとも90%同一であるか、

b. 配列番号15または配列番号19または配列番号23または配列番号26または配列番号29または配列番号32または配列番号35または配列番号38または配列番号41または配列番号84または配列番号88または配列番号91または配列番号94または配列番号113または配列番号131または配列番号139または配列番号146または配列番号152を含むか、

c. 配列番号15または配列番号19または配列番号23または配列番号26または配列番号29または配列番号32または配列番号35または配列番号38または配列番号41または配列番号84または配列番号88または配列番号91または配列番号94または配列番号113または配列番号131または配列番号139または配列番号146または配列番号152から本質的になる、単離されたポリヌクレオチド。

【0309】

実施形態91：本発明による抗体またはその断片の軽鎖可変ドメインをコードし、

a. 配列番号17または配列番号21または配列番号24または配列番号27または配列番号30または配列番号33または配列番号36または配列番号39または配列番号42または配列番号86または配列番号89または配列番号92または配列番号95または配列番号115または配列番号133または配列番号141または配列番号148または配列番号154と少なくとも90%同一であるか、

b. 配列番号17または配列番号21または配列番号24または配列番号27または配列番号30または配列番号33または配列番号36または配列番号39または配列番号42または配列番号86または配列番号89または配列番号92または配列番号95または配列番号115または配列番号133または配列番号141または配列番号148または配列番号154を含むか、

10

20

30

40

50

c. 配列番号 17 または配列番号 21 または配列番号 24 または配列番号 27 または配列番号 30 または配列番号 33 または配列番号 36 または配列番号 39 または配列番号 42 または配列番号 86 または配列番号 89 または配列番号 92 または配列番号 95 または配列番号 115 または配列番号 133 または配列番号 141 または配列番号 148 または配列番号 154 から本質的になる、単離されたポリヌクレオチド。

【0310】

実施形態 92：本発明による抗体の重鎖をコードし、

a. 配列番号 44 または配列番号 48 または配列番号 51 または配列番号 54 または配列番号 57 または配列番号 101 または配列番号 159 または配列番号 97 または配列番号 104 または配列番号 117 または配列番号 143 または配列番号 135 または配列番号 149 または配列番号 155 と少なくとも 90% 同一であるか、

b. 配列番号 44 または配列番号 48 または配列番号 51 または配列番号 54 または配列番号 57 または配列番号 101 または配列番号 159 または配列番号 97 または配列番号 104 または配列番号 117 または配列番号 143 または配列番号 135 または配列番号 149 または配列番号 155 を含むか、

c. 配列番号 44 または配列番号 48 または配列番号 51 または配列番号 54 または配列番号 57 または配列番号 101 または配列番号 159 または配列番号 97 または配列番号 104 または配列番号 117 または配列番号 143 または配列番号 135 または配列番号 149 または配列番号 155 から本質的になる、単離されたポリヌクレオチド。

【0311】

実施形態 93：本発明による抗体の軽鎖をコードし、

a. 配列番号 46 または配列番号 49 または配列番号 52 または配列番号 55 または配列番号 58 または配列番号 102 または配列番号 161 または配列番号 99 または配列番号 105 または配列番号 119 または配列番号 145 または配列番号 137 または配列番号 151 または配列番号 157 と少なくとも 90% 同一であるか、

b. 配列番号 46 または配列番号 49 または配列番号 52 または配列番号 55 または配列番号 58 または配列番号 102 または配列番号 161 または配列番号 99 または配列番号 105 または配列番号 119 または配列番号 145 または配列番号 137 または配列番号 151 または配列番号 157 を含むか、

c. 配列番号 46 または配列番号 49 または配列番号 52 または配列番号 55 または配列番号 58 または配列番号 102 または配列番号 161 または配列番号 99 または配列番号 105 または配列番号 119 または配列番号 145 または配列番号 137 または配列番号 151 または配列番号 157 から本質的になる、単離されたポリヌクレオチド。

【0312】

ポリヌクレオチドは、全細胞で、細胞溶解物で存在することができるか、部分的に精製されたか実質的に純粋な形態であってもよい。アルカリ性 / SDS 処理、CsCl バンディング、カラムクロマトグラフィー、アガロースゲル電気泳動および当技術分野で周知である他を含む標準の技術によって、他の細胞構成成分または他の汚染物質、例えば他の細胞核酸またはタンパク質から精製されるとき、ポリヌクレオチドは「単離される」か「実質的に純粋にされる」。F. Ausubel ら、(1987) Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York を参照。本発明のポリヌクレオチドは、例えば DNA または RNA であってもよく、イントロン配列を含有しても含有しなくてもよい。一実施形態では、ポリヌクレオチドは cDNA 分子である。ポリヌクレオチドは、ファージディスプレイベクターまたは組換えプラスミドベクターなどのベクターに存在してもよい。

【0313】

本発明のポリヌクレオチドは、標準の分子生物学技術を用いて得ることができる。ハイブリドーマ (例えば、さらに下で記載されるヒト免疫グロブリン遺伝子を運ぶトランスジェニックマウスから調製されるハイブリドーマ) によって発現される抗体については、ハイブリドーマによって作製される抗体の軽鎖および重鎖をコードする cDNA は、標準の

10

20

30

40

50

PCR増幅またはcDNAクローニング技術によって得ることができる。免疫グロブリン遺伝子ライブラリーから（例えば、ファージディスプレイ技術を使用して）得られる抗体については、抗体をコードするポリヌクレオチドは、ライブラリーのメンバーである様々なファージクローンから回収することができる。

【0314】

VHおよびVLセグメントをコードするDNA断片が得られると、例えば可変領域遺伝子を完全長抗体鎖遺伝子、Fab断片遺伝子またはscFv遺伝子に変換するために、標準の組換えDNA技術によってこれらのDNA断片をさらに操作することができる。これらの操作では、VLまたはVHをコードするDNA断片を、別のDNA分子、または別のタンパク質、例えば抗体定常領域もしくはフレキシブルリンカーをコードする断片に作動可能に連結する。この文脈で使用するように、用語「作動可能に連結する」は、例えば、2つのDNA断片によってコードされるアミノ酸配列がインフレームのままであるように、またはタンパク質が所望のプロモーターの制御下で発現されるように、2つのDNA断片が機能的に連結されることを意味する。

10

【0315】

VH領域をコードする単離されたDNAは、重鎖定常領域（CH1、CH2およびCH3）をコードする別のDNA分子にVHコードDNAを作動可能に連結することによって、完全長重鎖遺伝子に変換することができる。ヒト重鎖定常領域遺伝子の配列は、当技術分野で公知であり（例えば、Kabat, E. A.ら、(1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest、5版、U.S. Department of Health and Human Services、NIH Publication No. 91-3242を参照）、これらの領域を包含するDNA断片は、標準のPCR増幅によって得ることができる。重鎖定常領域は、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgE、IgMまたはIgDの定常領域であってもよい。一部の実施形態では、重鎖定常領域は、IgG1アイソタイプの中から選択される。Fab断片重鎖遺伝子については、VHコードDNAを、重鎖CH1定常領域だけをコードする別のDNA分子に作動可能に連結することができる。

20

【0316】

VL領域をコードする単離されたDNAは、軽鎖定常領域CLをコードする別のDNA分子にVLコードDNAを作動可能に連結することによって、完全長軽鎖遺伝子（ならびにFab軽鎖遺伝子）に変換することができる。ヒト軽鎖定常領域遺伝子の配列は当技術分野で公知であり（例えば、Kabat, E. A.ら、(1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest、5版、U.S. Department of Health and Human Services、NIH Publication No. 91-3242を参照）、これらの領域を包含するDNA断片は、標準のPCR増幅によって得ることができる。軽鎖定常領域は、カッパまたはラムダ定常領域であってもよい。

30

【0317】

scFv遺伝子を作製するために、VLおよびVH領域がフレキシブルリンカーによって連結され、VHおよびVL配列を連続した単鎖タンパク質として発現させることができるように、VHおよびVLをコードするDNA断片を、フレキシブルリンカーをコードする、例えばアミノ酸配列（Gly4-Ser）₃をコードする別の断片に作動可能に連結する（例えば、Birdら、1988 Science 242: 423~426; Hustonら、(1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 5879~5883; McCaffertyら、(1990) Nature 348: 552~554を参照）。

40

【0318】

哺乳動物細胞に注射したときに、それがポリヌクレオチドの消化を防止し、哺乳動物細胞の翻訳機構が改変ポリヌクレオチドから出発して抗体を生成することを可能にするような方法で、実施形態89~93のいずれか1つによるポリヌクレオチドをin vitroで改変することができる（例えば、Karikoらの米国特許第8,278,036B2号に記載のように）。そのようなin vitro合成改変RNAは、遺伝子療法の一部として哺乳動物細胞または患者に次に注射することができる。

50

【0319】

したがって、本発明の別の態様は、本明細書に記載される抗体を生成する哺乳動物細胞を誘導する方法を包含し、その方法は、前記哺乳動物細胞を、実施形態89～93のいずれか1つによるポリヌクレオチドから誘導される *in vitro* 合成改変RNAと接触させることを含み、前記 *in vitro* 合成改変RNAは、米国特許第8,278,036B2号に記載の1つまたは複数の改変を含む。

【0320】

5. 抗体生成

モノクローナル抗体 (mAb) は、従来のモノクローナル抗体方法論、例えばKohlerおよびMilstein、(1975) *Nature* 256:495の標準体細胞雑種形成技術を含む、様々な技術によって生成することができる。モノクローナル抗体を生成するための多くの技術、例えばBリンパ球のウイルスまたは腫瘍形成性の形質転換を用いることができる。

10

【0321】

融合のための免疫化脾細胞の単離のための免疫化プロトコルおよび技術は、当技術分野で公知である。融合パートナー (例えば、マウス骨髄腫細胞) および融合手順も公知である。

【0322】

本発明のキメラまたはヒト化モノクローナル抗体は、上記の通り調製されるマウスモノクローナル抗体の配列に基づいて調製することができる。免疫グロブリンの重鎖および軽鎖をコードするDNAは、対象のマウスハイブリドーマから得ることができ、標準の分子生物学技術を使用してマウス以外 (例えば、ヒト) の免疫グロブリン配列を含有するように操作することができる。例えば、キメラ抗体を作製するために、当技術分野で公知の方法を使用してヒト定常領域にマウス可変領域を連結することができる (例えば、Cabillyらの米国特許第4,816,567号を参照)。ヒト化抗体を作製するために、当技術分野で公知の方法を使用してヒトフレームワークにマウスCDR領域を挿入することができる。例えば、Winterへの米国特許第5,225,539号およびQueenらの米国特許第5,530,101号; 第5,585,089号; 第5,693,762号および第6,180,370号を参照。

20

【0323】

ヒトモノクローナル抗体は、マウス系ではなくヒト免疫系の部分を運ぶトランスジェニックまたは染色体導入マウスを使用して生成することができる。これらのトランスジェニックおよび染色体導入マウスには、それぞれHuMAbマウスおよびKMマウスと本明細書で呼ばれるマウスが含まれ、「ヒトIgマウス」と本明細書で総称される。

30

【0324】

HuMAbマウス (登録商標) (Medarex, Inc.) は、再構成されていないヒト重鎖 (μ および δ) および 軽鎖免疫グロブリン配列をコードするヒト免疫グロブリン遺伝子ミニ遺伝子座を、内因性 μ および δ 鎖遺伝子座を不活性化する標的突然変異と一緒に含有する (例えば、Lonbergら (1994) *Nature*; 368 (6474): 856~859を参照)。したがって、マウスはマウスIgMまたは δ の低減された発現を示し、免疫化に応じて、導入されたヒト重鎖および軽鎖導入遺伝子はクラススイッチングおよび体細胞突然変異を経て、高親和性ヒトIgGモノクローナルを生成する (上記Lonberg, Nら (1994); Lonberg, N (1994) *Handbook of Experimental Pharmacology* 113: 49~101でレビューされる; Lonberg, NおよびHuszar, D (1995) *Intern Rev Immunol*; 3: 65~93およびHarding, FおよびLonberg, N (1995) *Ann NY Acad Sci*; 764: 536~546)。HuMAbマウスの調製および使用、ならびにそのようなマウスによって運ばれるゲノム改変は、Taylor, Lら; (1992) *Nucl Acids Res*; 20: 6287~6295; Chen, Jら (1993) *Int Immunol*; 5: 647~656; Tuailonら (1993) *Proc Natl Acad Sci USA*; 94: 3720~3724; Choiら (1993) *Nature Gen*; 4: 117~123; Chen, Jら (1993) *EMBO J*; 12: 821~830; Tuailonら (1994) *J Immunol*; 152: 2912~2920; Taylor, Lら (1994) *Int Immunol*; 6: 579~591; およびFishwild, Dら (1996) *Nature Biotech*; 14: 845~851でさらに記載され、その全ての内容はこ

40

50

れにより具体的に参照により完全に組み込まれる。さらに、全てLonbergおよびKayへの米国特許第5,545,806号；第5,569,825号；第5,625,126号；第5,633,425号；第5,789,650号；第5,877,397号；第5,661,016号；第5,814,318号；第5,874,299号；および第5,770,429号；Suraniらの米国特許第5,545,807号；全てLonbergおよびKayへのPCT公開WO92103918、WO93/12227、WO94/25585、WO97113852、WO98/24884およびWO99/45962；およびKormanらのPCT公開WO01/14424を参照。

【0325】

一実施形態では、本発明によるヒト抗体は、導入遺伝子および導入染色体の上にヒト免疫グロブリン配列を運ぶマウス、例えばヒト重鎖導入遺伝子およびヒト軽鎖導入染色体を運ぶマウスを使用して作製することができる。本明細書において「KMマウス」と呼ぶそのようなマウスは、IshidaらのPCT公開WO02/43478で詳細に記載される

10

【0326】

さらに、ヒト免疫グロブリン遺伝子を発現する代わりにトランスジェニック動物系が当技術分野で利用でき、本発明の抗体を作製するために使用することができる。例えば、ゼノマウス(Abgenix, Inc.)と呼ばれる代替のトランスジェニック系を使用することができる。そのようなマウスは、例えば、Kucherlapatiらの米国特許第5,939,598号；第6,075,181号；第6,114,598号；第6,150,584号および第6,162,963号に記載される。

20

【0327】

さらに、ヒト免疫グロブリン遺伝子を発現する代わりに染色体導入動物系が当技術分野で利用でき、本発明の抗体を作製するために使用することができる。例えば、「TCマウス」と呼ばれるヒト重鎖導入染色体およびヒト軽鎖導入染色体の両方を運ぶマウスを使用することができる；そのようなマウスは、Tomizukaら、2000 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:722~727に記載される。さらに、ヒト重鎖および軽鎖導入染色体を運ぶウシが、当技術分野で記載されている(Kuroiwaら、2002 Nature Biotech 20:889~894)。

【0328】

本発明のヒト組換え抗体は、ヒト免疫グロブリン遺伝子のライブラリーをスクリーニングするためのファージディスプレイ方法を使用して調製することもできる。ヒト抗体を単離するためのそのようなファージディスプレイ方法は、当技術分野で確立されているか、下の実施例に記載される。例えば、Ladnerらの米国特許第5,223,409号；第5,403,484号；および第5,571,698号；Dowerらの米国特許第5,427,908号および第5,580,717号；McCaffertyらの米国特許第5,969,108号および第6,172,197号；ならびにGriffithsらの米国特許第5,885,793号；第6,521,404号；第6,544,731号；第6,555,313号；第6,582,915号および第6,593,081号を参照。

30

【0329】

本発明のヒトモノクローナル抗体は、免疫化によってヒト抗体応答を生成させることができるようにヒト免疫細胞が再構成された、SCIDマウスを使用して調製することもできる。そのようなマウスは、例えば、Wilsonらの米国特許第5,476,996号および第5,698,767号に記載される。

40

【0330】

本発明の抗体は、例えば当技術分野で周知である組換えDNA技術および遺伝子トランスフェクション方法の組合せを使用して、宿主細胞トランスフェクターマで生成することもできる(例えば、Morrison, S. (1985) Science 229:1202)。

【0331】

例えば、抗体またはその抗体断片を発現させるために、標準の分子生物学技術(例えば、対象の抗体を発現するハイブリドーマを使用するPCR増幅またはcDNAクローニング)によって、部分的または完全長の軽鎖および重鎖をコードするDNAを得ることがで

50

き、遺伝子が転写および翻訳制御配列に作動可能に連結されるように、DNAをクローニングベクターまたは発現ベクターに挿入することができる。この文脈において、用語「作動可能に連結する」は、ベクターの中の転写および翻訳制御配列が抗体遺伝子の転写および翻訳を調節するそれらの意図された機能を果たすように、抗体遺伝子がベクターにライゲーションされることを意味するものとする。クローニングベクターまたは発現ベクターおよび発現制御配列は、使用する発現宿主細胞に適合するように選択される。抗体軽鎖遺伝子および抗体重鎖遺伝子を別々のベクターに挿入することができるか、より一般的には、両方の遺伝子は同じ発現ベクターに挿入される。抗体遺伝子は、標準の方法（例えば、抗体遺伝子断片の上の相補的制限部位およびベクターのライゲーション、または制限部位が存在しない場合は、平滑末端ライゲーション）によって発現ベクターに挿入される。本明細書に記載される抗体の軽鎖および重鎖可変領域は、VHセグメントがベクター中のCHセグメントに作動可能に連結され、VLセグメントがベクター中のCLセグメントに作動可能に連結されるように、所望のアイソタイプの重鎖定常領域および軽鎖定常領域を既にコードしている発現ベクターにそれらを挿入することによって、任意の抗体アイソタイプの完全長抗体遺伝子を作製するために使用することができる。さらに、または代わりに、組換え発現ベクターは、宿主細胞からの抗体鎖の分泌を促進するシグナルペプチドをコードすることができる。シグナルペプチドが抗体鎖遺伝子のアミノ末端にインフレームで連結されるように、抗体鎖遺伝子をベクターにクローニングすることができる。シグナルペプチドは、免疫グロブリンシグナルペプチドまたは異種シグナルペプチド（すなわち、免疫グロブリン以外のタンパク質からのシグナルペプチド）であってもよい。

10

20

【0332】

一態様では、本発明は、本発明による1つまたは複数のポリヌクレオチドを含むクローニングベクターまたは発現ベクターを提供する。

【0333】

実施形態94：以下から選択される少なくとも1つのポリヌクレオチドを含むクローニングベクターまたは発現ベクター：配列番号44または配列番号48または配列番号51または配列番号54または配列番号57または配列番号101または配列番号159または配列番号97または配列番号104または配列番号117または配列番号143または配列番号135または配列番号149または配列番号155または配列番号46または配列番号49または配列番号52または配列番号55または配列番号58または配列番号102または配列番号161または配列番号99または配列番号105または配列番号119または配列番号145または配列番号137または配列番号151または配列番号157。

30

【0334】

抗体鎖をコードするポリヌクレオチドに加えて、本発明のクローニングベクターまたは発現ベクターは、宿主細胞で抗体鎖遺伝子の発現を制御する調節配列を運ぶ。用語「調節配列」は、抗体鎖遺伝子の転写または翻訳を制御するプロモーター、エンハンサーおよび他の発現制御エレメント（例えば、ポリアデニル化シグナル）を含むものとする。そのような調節配列は、例えばGoeddel (Gene Expression Technology, Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA 1990)に記載される。調節配列の選択を含む発現ベクターの設計は、形質転換する宿主細胞の選択、所望のタンパク質の発現レベルなどの因子によって決めることができることは、当業者に理解される。哺乳動物宿主細胞での発現のための調節配列には、哺乳動物細胞での高レベルのタンパク質発現を誘導するウイルスエレメント、例えばサイトメガロウイルス(CMV)、シミアンウイルス40(SV40)、アデノウイルス（例えば、アデノウイルス主後期プロモーター(AdMLP)）およびポリオーマに由来するプロモーターおよび/またはエンハンサーが含まれる。あるいは、ユビキチンプロモーターまたはP-グロビンプロモーターなどの、非ウイルス調節配列を使用することができる。さらに、調節エレメントは、SV40初期プロモーターからの配列を含有するSRαプロモーター系、および1型ヒトT細胞白血病ウイルスの長末端反復配列などの異なる供給源からの配列で構成された(Takebe, Y.ら、1988 Mol. Cell.

40

50

Biol. 8 : 466 ~ 472) 。

【 0 3 3 5 】

さらに、本発明のクローニングベクターまたは発現ベクターは、宿主細胞でのベクターの複製を調節する配列（例えば複製開始点）などの追加の配列、および選択マーカー遺伝子を運ぶことができる。選択マーカー遺伝子は、ベクターが導入された宿主細胞の選択を容易にする（例えば、全てAxelらによる、米国特許第4,399,216号、第4,634,665号および第5,179,017号を参照）。例えば、一般的に、選択マーカー遺伝子は、ベクターが導入された宿主細胞に、G418、ハイグロマイシンまたはメトトレキセートなどの薬物への抵抗性を付与する。選択マーカー遺伝子には、ジヒドロ葉酸レダクターゼ（DHFR）遺伝子（dhfr - 宿主細胞でのメトトレキセート選択 / 増幅で使用するため）およびネオ遺伝子（G418選択のため）が含まれる。

10

【 0 3 3 6 】

軽鎖および重鎖の発現のために、重鎖および軽鎖をコードする発現ベクターは、標準の技術によって宿主細胞にトランスフェクトされる。用語「トランスフェクション」の様々な形態は、原核生物または真核生物の宿主細胞への外因性DNAの導入のために一般的に使用される様々な技術、例えば、エレクトロポレーション、リン酸カルシウム沈殿、DEAE-デキストラントランスフェクション等を包含するものとする。原核生物または真核生物の宿主細胞で本発明の抗体を発現させることは、理論的に可能である。真核生物の細胞、例えば哺乳動物宿主細胞、酵母または糸状菌での抗体の発現が議論されるが、その理由は、そのような真核生物の細胞、特に哺乳動物細胞は、適切に折り畳まれて免疫学的に活性な抗体を組み立て、分泌する可能性が原核細胞より高いからである。原核生物による抗体遺伝子の発現は、活性抗体の高収率生成のために有効でないことが報告されている（Boss, M. A. およびWood, C. R., 1985 Immunology Today 6 : 12 ~ 13）。

20

【 0 3 3 7 】

本発明の抗体をコードするクローニングベクターまたは発現ベクターに適する宿主細胞は、原核生物、酵母または高等真核細胞である。適する原核細胞には、真正細菌、例えば腸内細菌科、例えば、エシェリキア属（*Escherichia*）、例えば大腸菌（*E. coli*）（例えばATCC 31,446 ; 31,537 ; 27,325）、エンテロバクター属（*Enterobacter*）、エルウィニア属（*Erwinia*）、クレブシエラ・プロテウス（*Klebsiella proteus*）、サルモネラ属（*Salmonella*）、例えばネズミチフス菌（*Salmonella typhimurium*）、セラチア属（*Serratia*）、例えばセラチア・マルセッセンス（*Serratia marcescens*）および赤痢菌（*Shigella*）ならびに桿菌（*Bacilli*）、例えば枯草菌（*B. subtilis*）およびB・リケニフォルミス（*B. licheniformis*）（DD 266710を参照）、シュードモナス属（*Pseudomonas*）、例えば緑膿菌（*P. aeruginosa*）およびストレプトマイセス属（*Streptomyces*）が含まれる。酵母または真菌宿主細胞のうち、出芽酵母（*Saccharomyces cerevisiae*）、分裂酵母（*Schizosaccharomyces pombe*）、クルイベロミセス属（*Kluyveromyces*）（例えばATCC 16,045 ; 12,424 ; 24178 ; 56,500）、ヤロウシア属（*Yarrowia*）（EP 402,226）、ピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）（EP 183070、Pengら（2004）J Biotechnol ; 108 : 185 ~ 192も参照）、カンジダ属（*Candida*）、トリコデルマ・リーゼイ（*Trichoderma reesei*）（EP 244234）、ペニシリウム属（*Penicillium*）、トリポクラジウム属（*Tolypocladium*）およびアスペルギルス属（*Aspergillus*）宿主、例えばA・ニジュランス（*A. nidulans*）およびA・ニガー（*A. niger*）も企図される。

30

40

【 0 3 3 8 】

原核生物および酵母の宿主細胞が本発明によって具体的に企図されているが、好ましくは、本発明の宿主細胞は高等真核細胞である。

【 0 3 3 9 】

したがって、一態様では、本発明は、本明細書に記載されるポリヌクレオチドを含む1つまたは複数のクローニングベクターまたは発現ベクターを含む宿主細胞を提供する。

【 0 3 4 0 】

50

別の態様では、本発明は、本明細書に記載される1つまたは複数のポリヌクレオチドを含む、安定して形質転換またはトランスフェクトされた宿主細胞を提供する。

【0341】

実施形態95：実施形態1～88のいずれか1つによる単離された抗体またはその断片の重鎖および/または軽鎖をコードするベクターを含む安定して形質転換された宿主細胞。好ましくは、そのような宿主細胞は、軽鎖をコードする第1のベクターおよび前記重鎖をコードする第2のベクターを含む。

【0342】

適する高等真核生物の宿主細胞には、哺乳動物細胞、例えばCOS-1(ATCC番号CRL1650)COS-7(ATCC CRL1651)、ヒト胚腎臓系293、ペビーハムスター腎臓細胞(BHK)(ATCC CRL1632)、BHK570(ATCC番号CRL10314)、293(ATCC番号CRL1573)、チャイニーズハムスター卵巣細胞CHO(例えばCHO-K1、ATCC番号CCL61、DG44などのDHFRCCHO細胞(Urlaubr, (1986) Somatic Cell Mol. Genet. 12, 555~556を参照)、特に懸濁培養に適合するCHO細胞系、マウスSertoli細胞、サル腎臓細胞、アフリカミドリザル腎臓細胞(ATCC CRL-1587)、ヒーラ細胞、イヌ腎臓細胞(ATCC CCL34)、ヒト肺細胞(ATCC CCL75)、Hep G2、および骨髄腫またはリンパ腫細胞、例えばNSO(US5807715を参照)、Sp2/0、YOが含まれる。

10

【0343】

好ましくは、本発明の結合分子を発現させるための哺乳動物宿主細胞には、例えばUS6946292に記載されるFUT8遺伝子発現に欠陥がある哺乳動物細胞系が含まれる。

20

【0344】

結合分子をコードするベクターで形質転換された宿主細胞は、当業者に公知である任意の方法で培養することができる。宿主細胞はスピナーフラスコ、ローラーボトルまたはホローファイバー系で培養することができるが、大規模生産のためには、特に懸濁培養のために攪拌槽型反応器を使用することが好ましい。好ましくは、攪拌タンカーは、例えばスパージャー、パッフルまたは低剪断インペラーを使用する曝気に適合する。空気または酸素気泡による気泡塔およびエアリフト反応器直接曝気を、使用することができる。宿主細胞を無血清培地で培養する場合、曝気工程の結果としての細胞傷害を防止するのに助けるために、培地にプルロニックF-68などの細胞保護剤を追加することが好ましい。宿主細胞の特徴によって、付着依存性細胞系のための増殖基質としてマイクロキャリアを使用するか、細胞を懸濁培養に適合させる(これが一般的である)ことができる。宿主細胞、特に無脊椎宿主細胞の培養は、流加、反復パッチ処理(Drapeaur(1994) cytotechnology 15:103~109を参照)、長期パッチ工程または灌流培養などの様々な操作様式を利用することができる。組換え形質転換哺乳動物宿主細胞はウシ胎仔血清(FCS)などの血清含有培地で培養することができるが、そのような宿主細胞は、合成無血清培地、例えばKeenr(1995) Cytotechnology 17:153~163に開示されるもの、または市販培地、例えばProCHO-CDMもしくはUltraCHO(商標)(Cambrex NJ、USA)に、必要な場合グルコースなどのエネルギー源および組換えインスリンなどの合成増殖因子を追加して培養することが好ましい。宿主細胞の無血清培養は、それらの細胞が無血清条件での成長に適応していることが必要である可能性がある。1つの適応アプローチは、宿主細胞が無血清条件に適応することを学ぶように、そのような宿主細胞を血清含有培地で培養し、培地の80%を無血清培地に繰り返し交換することである(例えば、Scharfenberg Kr(1995)、Animal Cell technology: Developments towards the 21st century (Beuvery E.G.ら編)、619~623頁、Kluwer Academic publishersを参照)。

30

40

【0345】

培地に分泌される本発明の結合分子は、様々な技術を用いて回収、精製して、使用目的に適する精製度を提供することができる。例えば、ヒト患者の処置のための本発明の単離

50

された抗体の使用は、少なくとも95%の純度、より一般的には98%、または99%以上の純度（粗培地と比較して）を一般的に指示する。第一に、培地からの細胞細片は、遠心分離と、続く例えば精密濾過法、限外濾過および/または深層濾過を使用する上清の清澄化ステップを使用して一般的に除去される。透析およびゲル電気泳動などの様々な他の技術、ならびにヒドロキシアパタイト（HA）、親和性クロマトグラフィー（ポリヒスチジンなどの親和性標識系を任意選択で含む）および/または疎水性相互作用クロマトグラフィー（HIC、US5429746を参照）などのクロマトグラフィー技術が利用可能である。一実施形態では、本発明の抗体は、様々な清澄化ステップの後、プロテインAまたはG親和性クロマトグラフィーと、続くさらなるクロマトグラフィーステップ、例えばイオン交換および/またはHAクロマトグラフィー、陰イオンまたは陽イオン交換、サイズ排除クロマトグラフィー、ならびに硫酸沈殿を用いて捕捉される。一般的に、様々なウイルス除去ステップも用いられる（例えば、DV-20フィルターを使用する、例えばナノ濾過）。これらの様々なステップの後に、本発明の単離された抗体またはその抗原結合断片を少なくとも75mg/ml以上、例えば100mg/ml以上含む精製された（好ましくはモノクローナルの）調製物が提供され、したがって本発明の実施形態を形成する。適切には、そのような調製物は、本発明の抗体の凝集形を実質的に含まない。

10

20

30

40

50

【0346】

上記の非免疫グロブリン結合分子の発現のために、細菌系を使用することができる。細菌系は、単離された抗体断片の発現にも特に適している。そのような断片は細胞内、またはペリプラズムの中に局在化される。当業者に公知である方法により、不溶性ペリプラズムタンパク質を抽出、リフォールディングして、活性タンパク質を形成することができる、Sanchezら（1999）J.Biotechnol. 72、13~20およびCupit PMら（1999）Lett Appl Microbiol、29、273~277を参照。

【0347】

したがって、一態様では、本発明は、IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質（IL-18BP）複合体に結合しない結合分子を生成する方法であって、結合分子を生成するのに適する条件下で宿主細胞を培養することを含み、宿主細胞は本明細書に記載されるベクターを含む方法を提供する。

【0348】

実施形態95：実施形態1~88のいずれか1つによるヒト抗体またはその断片を生成する方法であって、結合分子を生成するのに適する条件下で宿主細胞を培養することを含み、宿主細胞は本明細書に記載されるベクターを含む方法。

【0349】

6. 医薬組成物

本発明は、IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質（IL-18BP）複合体に結合しない結合分子であって、IL-18BPではない結合分子と、薬学的に許容される担体を含む医薬組成物を提供する。

【0350】

実施形態96：実施形態1~88のいずれか1つによるヒト抗体またはその断片と、薬学的に許容される担体を含む医薬組成物。

【0351】

組成物は、下記のヒトの疾患または障害を処置または予防するのに適する他の治療剤をさらに含有することができる。薬学的には、担体は組成物を強化もしくは安定させるか、組成物の調製を促進する。薬学的に許容される担体には、溶媒、分散媒体、コーティング、抗細菌および抗真菌剤、等張性および吸収遅延剤、ならびに生理的に適合する類似物が含まれる。

【0352】

本発明の医薬組成物は、当技術分野で公知の様々な方法によって投与することができる。投与の経路および/または様式は、所望の結果によって異なる。投与は、静脈内、筋肉内、腹腔内または皮下であるか、標的部位の近位に投与されることが好ましい。薬学的に

許容される担体は、静脈内、筋肉内、皮下、非経口、脊髄または表皮の投与（例えば、注射または注入による）に適するべきである。投与経路に従い、活性化化合物（特に低分子量化学実体）は、化合物を酸の作用および化合物を不活性化する可能性がある他の天然の条件から保護する材料でコーティングしてもよい。

【0353】

組成物は無菌であり、流体であるべきである。適切な流動性は、例えばレシチンなどのコーティングの使用によって、分散液の場合は所望の粒径の維持によって、および界面活性剤の使用によって維持することができる。多くの場合、等張剤、例えば糖、多価アルコール、例えばマンニトールまたはソルビトール、および塩化ナトリウムを組成物に含めることが好ましい。吸収を遅らせる薬剤、例えばモノステアリン酸アルミニウムまたはゼラチンを組成物に含めることによって、注射可能な組成物の長期吸収をもたらすことができる。

10

【0354】

本発明の医薬組成物は、当技術分野で周知であり日常的に実施される方法に従って調製することができる。例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy、Mack Publishing Co.、20版、2000；およびSustained and Controlled Release Drug Delivery Systems、J.R. Robinson編、Marcel Dekker, Inc.、New York、1978を参照。医薬組成物は、好ましくはGMP条件の下で製造される。一般的に、本明細書に記載される本発明の抗体の治療的有効用量または効果的な用量が、本発明の医薬組成物で用いられる。一般的にそれらは、当業者に公知である従来の方法によって、薬学的に許容される剤形に製剤化される。投与計画は、最適な所望の応答（例えば、治療応答）を提供するように調整される。例えば、単一のボラスを投与することができるか、いくつかの分割用量を経時的に投与することができるか、または治療状況の緊急性が指示するときは、用量をそれ相応に低減または増加することができる。投与の容易さおよび投薬量の均一性のために、投薬単位剤形で非経口組成物を製剤化することが特に有利である。本明細書で用いられる投薬単位剤形は、処置対象のための単一投薬量として適している物理的に別個の単位を指し、各単位は、必要な医薬用担体と共同して所望の治療効果を生むように計算された活性化化合物の所定量を含有する。

20

【0355】

患者に毒性でなく、特定の患者、組成物および投与様式のために所望の治療応答を達成するために有効である有効成分の量を得るように、本発明の医薬組成物での有効成分の実際の投薬量レベルを変化させることができる。選択される投薬量レベルは、用いられる本発明の特定の組成物、またはそのエステル、塩もしくはアミドの活性、投与経路、投与時間、用いられる特定の化合物の排泄速度、処置の持続時間、用いられる特定の組成物と一緒に使用される他の薬物、化合物および/または材料、処置患者の年齢、性別、体重、状態、健康状態および以前の病歴ならびに類似の因子を含む、様々な薬物動態学的因子による。

30

【0356】

医師は、医薬組成物で用いられる本発明の抗体の用量を、所望の治療効果を達成するのに必要とされるものより低いレベルから出発し、所望の効果が達成されるまで投薬量を徐々に増加させることができる。一般に、本明細書に記載される線維性疾患または障害の処置のための本発明の組成物の有効用量は、投与の手段、標的部位、患者の生理的状态、患者がヒトであるか動物であるか、投与される他の医薬品、および処置が予防的であるか治療的であるかを含む、多くの異なる因子によって異なる。安全性および効力を最適化するために、処置投薬量を滴定する必要がある。抗体による投与のために、投薬量は宿主体重の約0.0001から100mg/kg、より普通には0.01から5mg/kgの範囲内である。例えば、投薬量は体重1kgにつき1mgもしくは10mg、または1~10mg/kgの範囲内であってもよい。例示的な処置レジメは、2週間ごとに1回、または月1回、または3~6カ月ごとに1回の投与を必要とする。

40

【0357】

50

本発明の結合分子、特に抗体およびその断片は、通常複数の機会に投与される。単一の投薬量の間隔は、週ごと、月ごと、または年ごとであってもよい。患者での治療的タンパク質の血中レベルの測定によって指示されるときは、間隔は不規則であってもよい。一部の方法では、投薬量は1～1000 μg/ml、一部の方法では25～300 μg/mlの血漿抗体濃度を達成するように調整される。あるいは、本発明の抗体は、持続放出製剤として投与することができ、その場合には、より頻繁でない投与が必要とされる。投薬量および頻度は、患者での抗体の半減期次第で異なる。一般に、ヒト化抗体はキメラ抗体およびヒト以外の抗体のそれより長い半減期を示す。投与の投薬量および頻度は、処置が予防的であるか治療的であるかによって異なってもよい。予防的（防止的）適用では、比較的低い投薬量が長い期間にわたって比較的低い頻度の間隔で投与される。一部の患者は、残りの存命期間中、処置を受け続ける。治療的適用では、疾患の進行が低減または終了するまで、好ましくは疾患の症状の部分的または完全な改善を患者が示すまで、比較的短い間隔の比較的高い投薬量が時には必要とされる。その後、予防的レジメを患者に施すことができる。

10

20

30

40

50

【0358】

医薬組成物は、（例えばそのただ1つの治療有効成分として）、IL18に結合する（例えば特異的に結合する）がIL-18/IL-18結合タンパク質（IL-18BP）複合体に結合しない結合分子であってIL-18BPではない結合分子を含むことができ、結合分子は、単離された抗体、単離された抗体の断片、単一の可変ドメイン抗体、二重もしくは多重特異的抗体、多価抗体、二重可変ドメイン抗体、免疫コンジュゲート、フィ

【0359】

一般的に、組成物は、静脈内、吸入または皮下投与可能な形態になる。他の実施形態では、組成物は凍結乾燥形態であってもよい。

【0360】

好ましくは、本明細書に記載されるように、結合分子は抗体、好ましくはモノクローナルのインタクトな抗体（例えば、ヒト、ヒト化またはキメラ）またはその断片である。

【0361】

実施形態97：医薬組成物は、（例えばそのただ1つの治療有効成分として）、IL18に結合する（例えば特異的に結合する）がIL-18/IL-18結合タンパク質（IL-18BP）複合体に結合しない抗体またはその断片を含み、前記抗体は、

- (a) 配列番号3のCDRH1；
- (b) 配列番号9のCDRH2；
- (c) 配列番号5のCDRH3；
- (d) 配列番号6のCDRL1；
- (e) 配列番号7のCDRL2および
- (f) 配列番号8のCDRL3

を含む。

【0362】

実施形態98：抗体がIL-18との結合に関してマウス抗体125-2Hと競合する、実施形態97による医薬組成物。

【0363】

実施形態99：医薬組成物は、（例えばそのただ1つの治療有効成分として）、IL18に結合する（例えば特異的に結合する）がIL-18/IL-18結合タンパク質（IL-18BP）複合体に結合しない抗体またはその断片を含み、前記抗体は、

- (a) 配列番号3のCDRH1；
- (b) 配列番号10のCDRH2；
- (c) 配列番号5のCDRH3；

- (d) 配列番号6のCDRL1；
 - (e) 配列番号7のCDRL2および
 - (f) 配列番号8のCDRL3
- を含む。

【0364】

実施形態100：医薬組成物は、（例えばそのただ1つの治療有効成分として）、IL18に結合する（例えば特異的に結合する）がIL-18/IL-18結合タンパク質（IL-18BP）複合体に結合しない抗体またはその断片を含み、前記抗体は、

- (a) 配列番号3のCDRH1；
- (b) 配列番号13のCDRH2；
- (c) 配列番号5のCDRH3；
- (d) 配列番号6のCDRL1；
- (e) 配列番号7のCDRL2および
- (f) 配列番号8のCDRL3

10

を含む。

【0365】

実施形態101：抗体がIL-18との結合に関してマウス抗体125-2Hと競合する、実施形態100による医薬組成物。

【0366】

実施形態102：医薬組成物は、（例えばそのただ1つの治療有効成分として）、IL18に結合する（例えば特異的に結合する）がIL-18/IL-18結合タンパク質（IL-18BP）複合体に結合しない抗体またはその断片を含み、前記抗体は、

20

- (a) 配列番号106のCDRH1；
- (b) 配列番号107のCDRH2；
- (c) 配列番号108のCDRH3；
- (d) 配列番号109のCDRL1；
- (e) 配列番号110のCDRL2および
- (f) 配列番号111のCDRL3

を含む。

【0367】

実施形態103：医薬組成物は、（例えばそのただ1つの治療有効成分として）、IL18に結合する（例えば特異的に結合する）がIL-18/IL-18結合タンパク質（IL-18BP）複合体に結合しない抗体を含み、前記抗体は、

30

- a. 配列番号14の重鎖可変ドメインおよび配列番号16の軽鎖可変ドメイン、または
- b. 配列番号25の重鎖可変ドメインおよび配列番号16の軽鎖可変ドメイン、または
- c. 配列番号28の重鎖可変ドメインおよび配列番号16の軽鎖可変ドメイン、または
- d. 配列番号18の重鎖可変ドメインおよび配列番号20の軽鎖可変ドメイン、または
- e. 配列番号37の重鎖可変ドメインおよび配列番号20の軽鎖可変ドメイン、または
- f. 配列番号40の重鎖可変ドメインおよび配列番号20の軽鎖可変ドメイン、または
- g. 配列番号112の重鎖可変ドメインおよび配列番号114の軽鎖可変ドメインを含

40

む。

【0368】

実施形態104：前記抗体が配列番号14の重鎖可変ドメインおよび配列番号16の軽鎖可変ドメイン、または配列番号18の重鎖可変ドメインおよび配列番号20の軽鎖可変ドメインを含む、実施形態103による医薬組成物。

【0369】

実施形態105：抗体がIL-18との結合に関してマウス抗体125-2Hと競合する、実施形態104による医薬組成物。

【0370】

実施形態106：医薬組成物は、（例えばそのただ1つの治療有効成分として）、IL

50

18に結合する(例えば特異的に結合する)がIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合しない抗体を含み、前記抗体は、

a. 配列番号14または18または25または28または37または40または112をコードする単離されたポリヌクレオチドと少なくとも90%の同一性(例えば95%以上、例えば96%、97%、98%または99%)を有する単離されたポリヌクレオチドによってコードされることが可能な重鎖可変ドメイン、および

b. 配列番号16または20または114をコードする単離されたポリヌクレオチドと少なくとも90%の同一性(例えば95%以上、例えば96%、97%、98%または99%)を有する単離されたポリヌクレオチドによってコードされることが可能な軽鎖可変ドメインを含む。

【0371】

実施形態107: 医薬組成物は、(例えばそのただ1つの治療有効成分として)、IL18に結合する(例えば特異的に結合する)がIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合しない抗体を含み、前記抗体は、

a. 配列番号43の重鎖および配列番号45の軽鎖可変ドメイン、または

b. 配列番号47の重鎖および配列番号45の軽鎖可変ドメイン、または

c. 配列番号50の重鎖および配列番号45の軽鎖可変ドメイン、または

d. 配列番号53の重鎖可変ドメインおよび配列番号160の軽鎖可変ドメイン、または

e. 配列番号100の重鎖可変ドメインおよび配列番号160の軽鎖可変ドメイン、または

f. 配列番号158の重鎖可変ドメインおよび配列番号160の軽鎖可変ドメイン、または

g. 配列番号116の重鎖可変ドメインおよび配列番号118の軽鎖可変ドメインを含む。

【0372】

実施形態108: 抗体が配列番号43の重鎖および配列番号45の軽鎖可変ドメイン、または配列番号158の重鎖可変ドメインおよび配列番号160の軽鎖可変ドメインを含む、実施形態107による医薬組成物。

【0373】

実施形態109: 抗体がIL-18との結合に関してマウス抗体125-2Hと競合する、実施形態108による医薬組成物。

【0374】

実施形態110: 医薬組成物は、(例えばそのただ1つの治療有効成分として)、IL18に結合する(例えば特異的に結合する)がIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合しない抗体を含み、前記抗体は、

a. 配列番号43または47または50または53または100または116または158をコードする単離されたポリヌクレオチドと少なくとも90%の同一性(例えば95%以上、例えば96%、97%、98%または99%)を有する単離されたポリヌクレオチドによってコードされることが可能な重鎖、および

b. 配列番号45または160または118をコードする単離されたポリヌクレオチドと少なくとも90%の同一性(例えば95%以上、例えば96%、97%、98%または99%)を有する単離されたポリヌクレオチドによってコードされることが可能な軽鎖を含む。

【0375】

7. 臨床使用。

いくつかの自己免疫性、心血管および炎症性疾患でIL-18発現が上方制御されることが実証されている。

【0376】

したがって、IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-

10

20

30

40

50

18BP)複合体に結合せず、IL-18BPではない本発明の結合分子は、療法で使用する事ができる。

【0377】

実施形態110：療法で使用される実施形態1～88のいずれか1つによる抗体。

【0378】

本発明の一態様では、自己免疫性疾患、例えば慢性関節リウマチ(RA)、全身発症若年性関節炎(SOJA)、全身性若年性特発性関節炎(SJIA)、強直性脊椎炎、自己免疫性内耳疾患(AIED)、自己免疫性リンパ球増殖性症候群(ALPS)、ベーチェット病、ベルジェ病(IgA腎症)、水疱性類天疱瘡、チャグストラウス症候群、大腸炎、クローン病(CD)、1型糖尿病、2型糖尿病、シェーグレン症候群(SS)、移植片対宿主病(GVHD)、糸球体腎炎、狼瘡、多発性硬化症(MS)、乾癬、リウマチ熱、サルコイドーシス、強皮症、成人発症スチル病(AOSD)、全身性紅斑性狼瘡(SLE)、潰瘍性大腸炎、血球貪食性リンパ組織球増多症(HLH、食血細胞症候群、マクロファージ活性化症候群としても知られる)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症(FHL)および他の免疫不全症候群、巨細胞性動脈炎(GCA)、冠状動脈疾患(CAD)、冠状脈管障害(CV)、急性冠動脈症候群(ACS)、うっ血心不全(CHF)、アテローム動脈硬化症、動脈硬化、心筋梗塞(MI)、心腎症候群(CRS)、急性の腎臓損傷(AKI)、糖尿病腎症、インスリン抵抗性、肥満およびメタボリックシンドローム(MetS)、肺疾患、例えば肺サルコイドーシス、特に肺サルコイドーシス肺線維症、喘息、特に重度の喘息、ブドウ膜炎、地理的萎縮慢性閉塞性肺疾患(COPD)、嚢胞性線維症、成人呼吸窮迫症候群(ARDS)、急性肺損傷(ALI)、ベンチレータ誘導肺損傷(VILI)、肺動脈高血圧(PAH)、アルツハイマー病(AD)および敗血症、およびその任意の組合せを処置および/または予防する方法が提供され、その方法は、哺乳動物患者に、IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合しない、本明細書に記載の結合分子(例えば抗体)または医薬組成物の治療有効量を投与することを含む。

10

20

【0379】

実施形態111：哺乳動物患者におけるサルコイドーシス、特に肺サルコイドーシス、血球貪食性リンパ組織球増多症(HLH)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症(FHL)、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、成人発症スチル病(AOSD)、アテローム動脈硬化症、全身性若年性特発性関節炎(SJIA)、重度の喘息、ブドウ膜炎、地理的萎縮、巨細胞動脈炎(GCA)、1型糖尿病、2型糖尿病および任意のその組合せを処置および/または予防する方法であって、哺乳動物患者に、IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合しない、本明細書に記載の結合分子(例えば抗体)または医薬組成物の治療有効量を投与することを含み、結合分子はIL-18BPでない方法。

30

【0380】

実施形態112：哺乳動物患者におけるサルコイドーシス、特に肺サルコイドーシス、血球貪食性リンパ組織球増多症(HLH)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症(FHL)、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、成人発症スチル病(AOSD)、アテローム動脈硬化症、全身性若年性特発性関節炎(SJIA)、重度の喘息、ブドウ膜炎、地理的萎縮、巨細胞動脈炎(GCA)、1型糖尿病、2型糖尿病および任意のその組合せを処置および/または予防する際に使用するための、IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合せず、IL-18BPではない本発明の結合分子または医薬組成物。

40

【0381】

実施形態113：自己免疫性疾患、例えば慢性関節リウマチ(RA)、全身発症若年性関節炎(SOJA)、全身性若年性特発性関節炎(SJIA)、強直性脊椎炎、自己免疫性内耳疾患(AIED)、自己免疫性リンパ球増殖性症候群(ALPS)、ベーチェット病、ベルジェ病(IgA腎症)、水疱性類天疱瘡、チャグストラウス症候群、大腸炎、

50

クローン病（CD）、1型糖尿病、2型糖尿病、シェーグレン症候群（SS）、移植片対宿主病（GVHD）、糸球体腎炎、狼瘡、多発性硬化症（MS）、乾癬、リウマチ熱、サルコイドーシス、強皮症、成人発症スチル病（AOSD）、全身性紅斑性狼瘡（SLE）、潰瘍性大腸炎、血球貪食性リンパ組織球増多症（HLH、食血細胞症候群、マクロファージ活性化症候群としても知られる）、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症（FHL）および他の免疫不全症候群、巨細胞性動脈炎（GCA）、冠状動脈疾患（CAD）、冠状動脈管障害（CV）、急性冠動脈症候群（ACS）、うっ血心不全（CHF）、アテローム動脈硬化症、動脈硬化、心筋梗塞（MI）、心腎症候群（CRS）、急性の腎臓損傷（AKI）、糖尿病腎症、インスリン抵抗性、肥満およびメタボリックシンドローム（MetS）、肺疾患、例えば肺サルコイドーシス、肺線維症、喘息、特に重度の喘息、ブドウ膜炎、地理的萎縮、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、嚢胞性線維症、成人呼吸窮迫症候群（ARDS）、急性肺損傷（ALI）、ベンチレータ誘導肺損傷（VILI）、肺動脈高血圧（PAH）、アルツハイマー病（AD）および敗血症、およびその任意の組合せを処置および/または予防する方法であって、哺乳動物患者に、IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質（IL-18BP）複合体に結合しない、実施形態1~88または96~110のいずれか1つに記載の抗体または医薬組成物の治療有効量を投与することを含む方法。

10

【0382】

実施形態114：哺乳動物患者におけるサルコイドーシス、特に肺サルコイドーシス、血球貪食性リンパ組織球増多症（HLH）、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症（FHL）、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、成人発症スチル病（AOSD）、アテローム動脈硬化症、全身性若年性特発性関節炎（SJIA）、重度の喘息、ブドウ膜炎、地理的萎縮、巨細胞動脈炎（GCA）、1型糖尿病、2型糖尿病および任意のその組合せを処置および/または予防する方法であって、哺乳動物患者に、IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質（IL-18BP）複合体に結合しない、実施形態1~88または96~110のいずれか1つに記載の抗体または医薬組成物の治療有効量を投与することを含む方法。

20

【0383】

実施形態115：哺乳動物患者におけるサルコイドーシス、特に肺サルコイドーシス、血球貪食性リンパ組織球増多症（HLH）、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症（FHL）、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、成人発症スチル病（AOSD）、アテローム動脈硬化症、全身性若年性特発性関節炎（SJIA）、重度の喘息、ブドウ膜炎、地理的萎縮、巨細胞動脈炎（GCA）、1型糖尿病、2型糖尿病および任意のその組合せを処置および/または予防する際に使用するための、IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質（IL-18BP）複合体に結合せず、結合分子はIL-18BPではない実施形態1~88または96~110のいずれか1つに記載の抗体または医薬組成物。

30

【0384】

8. 診断使用およびキット

本明細書に記載される結合分子または単離された抗体またはその断片の利点の1つは、それらがIL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質（IL-18BP）複合体に結合しないこと、およびそれらがIL-18BPではないことである。したがって、本明細書に記載される結合分子または単離された抗体またはその断片は、IL-18BPに結合していない遊離IL-18を検出することだけが可能である。遊離IL-18は生物学的に活性な分子であるので、そのような実体だけを認識することが可能な結合分子が、IL-18BPに結合している不活性なIL-18からの遊離IL-18の識別を可能にすることは、直ちに明らかになる。さらに、本発明の結合分子は、単離されたものであれ天然に存在するものであれIL-18BPを包含しないので、それらは治療剤としてだけでなく例えば診断、または診断キットなどの他の多くの適用におけるツールとしても役に立つ。

40

50

【0385】

したがって別の態様では、本発明は、診断で使用するため、または診断キットで使用するための、IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合しない本明細書に記載の結合分子または単離された抗体またはその断片を提供し、結合分子はIL-18BPではない。

【0386】

本明細書に記載される結合分子または単離された抗体またはその断片は、ELISAアッセイ、ウエスタンブロットなどで検出抗体と一緒に使用することができ、遊離IL-18の存在を検出するだけでなく、遊離IL-18の量を測定するためにも使用することができる。

10

【0387】

したがって別の態様では、本発明は、診断で使用するため、または試料中の遊離IL-18(すなわちIL-18BPに結合していないIL-18)の存在および/または量を検出および/または測定する際に使用するのための、IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合しない結合分子または単離された抗体またはその断片を提供し、結合分子はIL-18BPではない。

【0388】

本発明のさらなる態様では、試料中の遊離IL-18(すなわちIL-18BPに結合していないIL-18)の存在および/または量を検出および/または測定するための方法が提供され、試料は任意選択でヒト試料であり、この方法は、試料を、IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合しない結合分子または単離された抗体またはその断片と接触させることを含み、結合分子はIL-18BPではない。

20

【0389】

本発明のさらなる態様では、

a. 対象(例えば、炎症性疾患または障害で苦しむ対象)から得た試料を、IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質(IL-18BP)複合体に結合しない本明細書に記載の結合分子または単離された抗体またはその断片と接触させるステップであって、結合分子はIL-18BPではないステップと、

b. 遊離IL-18のレベルを測定するステップと、

30

c. 任意選択で、総IL-18およびIL-18BPのレベルを測定するステップとを含む方法が提供され、

d. ステップb)およびc)は同時に、または連続して、または逆順で(例えばステップc)の前にステップb)、またはステップb)の前にステップc)で)実行することができる。

【0390】

試料は、哺乳動物体、好ましくはヒトの体から単離される試料であってもよい。単離される試料は、

i. アクセス可能な身体部位、例えば鼻の粘膜、皮膚、結膜、口もしくはのど、肛門、膣、尿道、頸部からのものであってもよく、かつまたは

40

ii. 流体または半固体(例えば体液または半固体、例えば排液、嘔吐、分泌、排泄物、胃および/または腸液、痰、血液、血清、血漿、尿、涙、滑液、精液、前立腺液、唾液、組織ホモジネートまたは粘液)を含むことができ、かつまたは

iii. 固体(例えば、大便、組織または生検試料)を含むことができ、かつ/または

iv. 培養物(例えばマクロファージ培養物)を含むことができる。

【0391】

試料は、ヒト血液または血漿などのヒト血液の一部であってもよい。

【0392】

単離される試料は、好ましくはヒト全血、ヒト血液単球に由来するマクロファージ、およびヒト肺マクロファージから選択されてもよい。

50

【0393】

別の態様では、本発明は、結合分子または単離された抗体またはその断片（IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質（IL-18BP）複合体に結合せず、結合分子はIL-18BPではない）を含む診断キットをさらに提供し、および/または複合体はIL-18およびその結合分子を含み、キットは第1の対照化合物を任意選択で含む。

【0394】

対照化合物は、診断キットが機能していることを示す化合物である。対照化合物は陽性が陰性であってもよく、それは任意の結果が有効なことを検証する。

【0395】

第1の対照化合物は遊離IL-18であってもよく、キットはマウス抗体125-2Hである第2の対照化合物を任意選択で含むことができる。

【0396】

本発明の別の態様では、（IL-18に結合するがIL-18/IL-18結合タンパク質（IL-18BP）複合体に結合しない）結合分子または単離された抗体またはその断片、および/またはIL-18およびその結合分子を含む、結合分子はIL-18BPではない複合体を含む医療用または診断用装置が提供される。

【0397】

9. 例示

本明細書に例示される本発明の抗体の配列は、この明細書の終わりの方で配列対比表と一緒に記載される。

【0398】

9.1) 材料

組換えヒトIL-18（Liuら（2000）Cytokine 12（10）：1519～25によって記載される方法を使用して大腸菌（E. coli）で生成した）。

組換えカニクイザルIL18（米国特許第6,432,678号に記載される方法を使用して大腸菌（E. coli）で生成した）。

組換えヒトTNF（R&D #210-TA）

組換えヒトIL-18結合タンパク質-IgG₁ Fc（hIL-18BPα-Fc、R&D Systems #119-BP-100）

マウス抗ヒトIL-18 IgG₁（125-2H；R&D Systems #D044-3）

ヒト抗リゾチーム抗体（MOR03207 Morphosys）

KG-1細胞系（ATCC #CCL-246）

細胞培地：10%ウシ胎児血清（Invitrogen #10108-157）、1% L-グルタミン（Invitrogen #25030-03）、1%ペニシリン/ストレプトマイシン（Invitrogen #15140-148）を追加したRPMI 1640（Invitrogen #31870）。

平底組織培養処理96ウェルプレート（Costar #3596）

ヒトIFN- DuoSet ELISAアッセイ（R&D #DY285）

Maxisorbマイクロタイタープレート（Sigma #M9410）

ヘパリン（Sigma #H3393）

組換えヒトIL-12（R&D Systems #219-IL-CF）

LPS（Sigma #L4516）

ファルコン管（Corning #430829）

Ficoll- Paque（商標）Plus（GE Healthcare Life Sciences #17-1440-02）

KG-1細胞は、10% FBS、1% L-グルタミンおよび1%ペニシリン/ストレプトマイシンを追加したRPMI 1640において、 $2 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ 生存細胞数/mlの密度で維持した。

10

20

30

40

50

【0399】

9.2) 機能分析のために選択された抗体およびその断片

抗体およびその断片を、ファージディスプレイによって生成した。使用したファージミドライブラリーは、H u C A L (登録商標) 概念 (Knappik, A. ら (2000) J Mol Biol 296、57~86) に基づき、ファージ表面で F a b を提示するために C y s D i s p l a y (商標) 技術を用いる (W O O 1 / 0 5 9 5 0)。選択された抗体断片の親和性および生物学的活性を増加させるために、トリヌクレオチド定方向突然変異誘発を使用するカセット式変異誘発によって L - C D R 3 および H - C D R 2 領域を並行して最適化し (Virnekas, B ら (1994) Nucleic Acids Res 22、5600~5607)、一方ではフレームワーク領域を一定にしておいた。I g G 変換および機能的特徴付けのために、異なる親フレームワークからの抗体を選択した。これらの抗体およびその断片を、下の表 1 A に示す。

10

【0400】

【表 1】

表1A:機能分析のために選択されたIgGおよびFab

	フレームワーク
MOR08776	VL1/VH4
MOR10497	VL1/VH4
MOR10501	VL1/VH4
MOR10502	VL1/VH4
MOR8775	VL1/VH1
MOR9441	VL1/VH1
MOR9464	VL1/VH1
MOR9465	VL1/VH1
MOR9466	VL1/VH1
MOR10579	VL1/VH1
MOR10222	VL1/VH1
MOR13363	VK1/VH3
MOR13361	VK1/VH3
MOR13341	VK1/VH1
MOR13342	VK1/VH1
MOR13347	VK1/VH1

20

30

【0401】

液剤で製剤化したとき、抗体 M O R 9 4 6 4 は経時的に失効するようであった。その分子は、その効力に影響を及ぼす多少の改変を受ける可能性があるかと仮定された。効力の減少の出現を速めるために、生理的溫度より高い溫度で M O R 9 4 6 4 をインキュベートした。質量分析および逆相 H P L C を含む複雑な生物物理技術を組み合わせることによって、未知の2つの異なる形態の M O R 9 4 6 4 を単離した。

40

【0402】

i n v i t r o 操作および *i n v i v o* 循環の過程で、それらが細胞外の培地中にあるとき、タンパク質にいくつかの改変が起こる可能性がある。改変がいかなるものであれ、それはタンパク質ベースの医薬に関連する特性に広く衝撃を与えることができる。したがって、これらの改変の構造機能関係を理解することが最も重要になる。細胞外改変は、治療タンパク質が輸送経路を完成させ、細胞表面に到達し、それらが細胞外の媒体環境

50

に放出され、生成期間中そこでインキュベートされたすぐ後に起こる改変である。それらは、*in vitro*操作、例えば適する緩衝剤中での精製および製剤化の過程、または *in vivo*循環の過程で起こる改変さえも包含する (Zhong X. および Wright J.F., *Int J of Cell Biol.*、2013、1~19)。タンパク分解処理は最も一般的であり、その生成物としての周知の細胞外改変は容易に同定される。単一のアミノ酸残基の酸化は特徴付けるのがより困難であり、メチオニン残基だけでなくトリプトファン、システイン、ヒスチジンおよびチロシン残基が関与することがある。N末端ピログルタミン酸の形成も周知の細胞外改変であり、それによって、N末端のグルタミンまたはグルタミン酸残基がそれ自身の末端基と容易に環化して、ピロリドンカルボン酸を形成することができる。アスパラギンおよびアスパラギン酸残基のアミド分解またはアスパラギン酸異性化も、公知であるが、特徴付けがまだ不十分な改変である。

10

【0403】

細胞外改変が抗体の特異領域で起こる場合は、それらは、抗体の機能的特性に対して効力の減少などの甚大な影響を及ぼすことができる。改変がCDRまたは非常に近い位置で起こる場合は、それは、その抗原を認識し、および/または特異的に結合する抗体の能力に衝撃を与えることができる。

【0404】

細胞外改変の潜在部位を同定するために、MOR9464配列の分析を実行した。表1Bに示す突然変異体が生成された。

【0405】

20

【表 2】

表2B:MOR9464/MOR10222突然変異体

MOR9464_N30T	
MOR9464_N30A	
MOR9464_N30E	
MOR9464_N30H	
MOR9464_N30K	
MOR9464_N30Q	10
MOR9464_N30G	
MOR9464_N30V	
MOR9464_N30Y	
MOR9464_N30R	
MOR9464_N30I	
MOR9464_N30L	
MOR9464_N30S	20
MOR10222_E1Q	
MOR10222_E1Q_N30S	
MOR10222_E1Q_N30D	
MOR10222_E1Q_N30T	
MOR10222_E1Q_N30S_M54Y	
MOR10222_E1Q_N30S_M54N	
MOR10222_E1Q_N30S_M54I (以後、MOR10222_N30S_M54Iと表示される)	30
MOR10222_E1Q_S31T	
MOR10222_E1Q_S31N	
MOR10222_E1Q_S31A	
MOR10222_E1Q_S31T_M54Y	
MOR10222_E1Q_S31T_M54N	
MOR10222_E1Q_S31T_M54I	
MOR10222_E1Q_S31N_M54Y	40
MOR10222_E1Q_S31N_M54N	
MOR10222_E1Q_S31N_M54I	

【0406】

MOR9464のH-CDR1に直接連なっているアスパラギン30は、H-CDR1のセリン31およびH-CDR2のメチオニン54と一緒に改変の可能な部位であるとみなされた。アスパラギン酸およびグルタミン酸へのアスパラギンおよびグルタミン残基の非酵素的アミド分解は加水分解反応を通して起こり、pH、温度およびイオン強度依存性である。それはアスパラギンおよびグルタミン残基の前のアミノ酸残基にも依存し、セリンおよびトレオニンがアミド分解速度を増加させる。

【0407】

メチオニン突然変異の有り無しに関係なく、MOR10222__S31X突然変異体のほとんどは、生成の後に激しく凝集した。したがって、これらの突然変異体はそれ以上特徴付けられなかった。

【0408】

9.3) 溶液平衡滴定 (SET) を使用した親和性の判定

溶液平衡滴定 (SET) による K_D 判定のために、抗体のモノマー部分を使用した (分析 SEC によって分析した)。

【0409】

溶液での親和性判定は、基本的には文献に記載されている通りに実施した (Friguet Bら (1985) J Immunol Methods ; 77 (2) : 305~19)。SET 方法の感受性および精度を向上させるために、それは古典的 ELISA から電気化学発光 (ECL) に基づく技術に変えられた (HaeneI Cら (2005) Anal Biochem ; 339 (1) : 182~4)。

10

【0410】

ヤギ抗ヒト (Fab)₂ 断片特異的抗体 (Dianova) を、製造業者の指示に従って MSD SULFO-TAG (商標) NHS-Ester (Meso Scale Discovery, Gaithersburg, MD, USA) で標識した。ポリプロピレンマイクロタイタープレートおよびリン酸ベースのアッセイ緩衝剤で実験を実行した。予想される K_D より少なくとも 10 倍高い濃度から出発して、非標識のヒト IL-18 を連続的に希釈した。 B_{max} 値を判定するために、抗原なしのウェルを使用し ; バックグラウンドを判定するために、アッセイ緩衝剤を含むウェルを使用した。抗体またはその断片の一定量 (例えば 60 μ l の最終容量に 10 pM の最終濃度) を添加した後、混合物を RT で一晩インキュベートした。抗体またはその断片の適用濃度は、予想される K_D に類似するかそれ以下であった。

20

【0411】

ストレプトアビジン MSD プレートを、BSA 含有リン酸緩衝液で一晩ブロッキングした。プレートのブロッキングの後、ビオチン化ヒト IL-18 を加え、RT で 1 時間インキュベートした。その後、平衡した試料をそれらのプレートに移し、RT で短時間インキュベートした。洗浄の後、MSD SULFO-TAG 標識検出抗体 (ヤギ抗ヒト (Fab)₂) を MSD プレートに加え、RT で短時間インキュベートした。

30

【0412】

プレートを洗浄して、界面活性剤と MSD Read Buffer T を加えた後、Sector Imager 6000 (Meso Scale Discovery, Gaithersburg, MD, USA) を使用して電気化学発光シグナルを検出した。

【0413】

カスタマイズしたフィッティングモデルを適用して、XLfit (IDBS) ソフトウェアでデータを評価した。Fab 分子の K_D 判定のために、Abrahamら、1996によって改変された以下の適合度モデルを使用した (HaeneIら、2005による) :

40

【0414】

【数1】

$$y = B_{max} - \left(\frac{B_{max}}{2[Fab]_t} \left([Fab]_t + x + K_D - \sqrt{([Fab]_t + x + K_D)^2 - 4x[Fab]_t} \right) \right)$$

[Fab]_t : 総 Fab 適用濃度

x : 総可溶性抗原適用濃度 (結合部位)

B_{max} : 抗原なしの Fab の最大シグナル

K_D : 親和性

【0415】

50

原則として、抗体および断片の K_D 値を判定するために同じプロトコルを適用し、差は以下の通りであった：全抗体を抗原の連続希釈系に加え、RTで一晩平衡させた。その後、試料を上記の通り処理した。

【0416】

データ評価、すなわち IgG 分子の K_D 判定のために、IgG のための以下の適合度モデルを使用した (Piehler ら、1997 によって改変した) :

【0417】

【数2】

$$y = \frac{2B_{\max}}{[IgG]} \left[\frac{[IgG]}{2} - \frac{\left(\frac{x + [IgG] + K_D}{2} - \sqrt{\frac{(x + [IgG] + K_D)^2}{4} - x[IgG]} \right)^2}{2[IgG]} \right]$$

10

[IgG] : 総 IgG 適用濃度

x : 総可溶性抗原適用濃度 (結合部位)

B_{\max} : 抗原なしの IgG の最大シグナル

K_D : 親和性

20

【0418】

抗 IL-18 抗体またはその断片の親和性は、上記のアッセイ条件を使用して溶液状態で判定し、表 2A (2 欄) に示す。カニクイザルからの IL-18 (cm IL-18) も試験した場合、生じた K_D はブラケットで示す。

【0419】

9.4) IL-18 で刺激したヒト PBMC からの IFN- 放出の阻害

標準技術を使用して、ヘパリン処置ヒト全血から末梢血単核細胞 (PBMC) を新たに単離した。簡潔には、抗凝血薬としてヘパリン (15 U/ml) を含有する希釈血液を、Ficoll-Plus (商標) Plus に重層し、遠心分離した (800 x g、20 分、18)。PBMC を血漿：フィコール界面から収集し、洗浄 (600 x g、10 分、4) を 2 回した後、培地に再懸濁させた。

30

【0420】

PBMC を培地に再懸濁させ、96 ウェル細胞培養プレートに加えて、 1.5×10^6 / ml (200 μ l の最終アッセイ容量に) の最終細胞密度を与えた。本発明による抗体およびその断片が、グリコシル化されている可能性がある天然の IL-18 を認識することを確実にするために、IL-18 依存性オートクリンフィードバックを通して IFN- を誘導する LPS および IL-12 で PBMC を刺激した。

【0421】

天然の IL-18 タンパク質の分泌を誘導するために、3 nM のヒト組換え IL-18 と IL-12 (1 ng/ml) または LPS (3 μ g/ml) と IL-12 (10 ng/ml) で細胞を刺激した (全て最終濃度)。組換えヒト IL-18 の場合、選択した濃度は、このアッセイでのおよその EC₅₀ として前もって決定した。天然の IL-18 の場合、LPS は IL-18 の生成を刺激するが、IL-12 は IL-18 受容体発現を増加させる (Yoshimoto T ら (1998) J Immunol ; 161 (7) : 3400~7)。このアッセイでの IL-18 依存性の程度は、陽性対照として高度に特異的なタンパク質、IL-18 結合タンパク質 - IgG₁ Fc (hIL-18 BPa - Fc) の組入れを通して判定した (図 3 (A~D) の点線)。

40

【0422】

それらの力価および効力を評価するために、0.1 から 300 nM の間の最終濃度で細胞に適用する前に、抗体およびその断片を、IL-12 および LPS (天然の状態) また

50

は I L - 1 2 および I L - 1 8 (組換え状態) のいずれかにより 3 0 分間予備平衡させた。抗リゾチーム対照抗体 M O R 0 3 2 0 7 を、陰性対照として使用した。

【 0 4 2 3 】

各処置群から、平均 ± S E M 値 (n = 3 以上) を n = 2 ~ 5 ウェルから判定した。

【 0 4 2 4 】

処置後の 2 4 時間、細胞を 3 7 ° C、5 % C O ₂ でインキュベートし、その後、遠心分離 (1 2 0 0 r p m で 5 分間) によって上清を収集し、以降の分析のために - 2 0 ° C で保存した。製造業者の指示に従って E L I S A を使用して、I F N - γ タンパク質レベルを評価した。

【 0 4 2 5 】

全ての抗体およびその断片は、最も高い濃度で達成された、組換え I L - 1 8 B P a - F c で見られたものに類似の効力レベルで I F N - γ 生成を用量依存的に阻害した (表 2 A の 5 ~ 6 欄、表 2 B の 2 欄、および図 3 (A ~ D))、I L - 1 8 B P a の効力は点線で表す)。対照抗体、M O R 0 3 2 0 7 (抗リゾチーム対照抗体) は、I L - 1 8 応答を阻害しなかった。M O R 0 9 4 6 4 からの生殖細胞系抗体、(例えば M O R 0 9 4 4 1 および M O R 1 0 2 2 2 からの M O R 1 0 5 7 9) は、それらの中和能を有意に変化させなかった。M O R 9 4 6 4 および M O R 1 0 2 2 2 の突然変異体、特に M O R 9 4 6 4 _ N 3 0 K および M O R 1 0 2 2 2 _ N 3 0 S _ M 5 4 I は、野生型抗体と同等の中和能を有した。

【 0 4 2 6 】

10

20

【表3】

表2A:IL-18親和性のK_D値およびヒト組換え(hr)IL-18(1nM)および天然のIL-18によって誘導されたIFN γ 放出の阻害のIC₅₀値(nM)

	K _D (SET, pM) ヒトIL-18	KG-1 ヒトIL-18	KG-1 カニクイザルIL-18	PBMC ヒトIL-18	PBMC 天然のIL-18
MOR08776	38	18	ND	50.8	5.9
MOR010497	2	0.3	0.3	5.8 ± 2.2	1.8 ± 0.6
MOR010501	1	0.3	0.2	6.3 ± 1.5	1.3 ± 0.5
MOR010502	4	0.4	0.2	6.3 ± 0.7	2.3 ± 1.1
MOR08775	65	68	22	9.2	0.7
MOR09465	6	0.3	1.8	0.6	0.89 ± 0.3
MOR09466	5	0.4	5.6	1.2	2.1 ± 0.6
MOR09441	1	0.6 ± 0.1	16.4 ± 7.1	2.5 ± 1.0	0.45 ± 0.1
MOR09464	3	0.8 ± 0.2	8.3 ± 1.6	1.3 ± 0.5	0.2 ± 0.03
MOR010579	N/A	0.8 ± 0.2	9.8 ± 5.3	1.9 ± 0.6	0.3 ± 0.02
MOR010222	N/A	0.7 ± 0.1	6.6 ± 2.0	2.3 ± 0.5	0.22 ± 0.03
IL-18BP-Fc	N/A	0.3 ± 0.1	0.4 ± 0.1	1.0 ± 0.5	0.17 ± 0.02
MOR09464_ N30K	2±1 (20±10)	0.36± 0.15	4.7		0.2±0.14
MOR1022_ N30S_M54I	3±2 (30±0)	4.21± 0.14	8.12		0.05±0.03
MOR13363	10±0 (10±0)	0.49±0.9*	0.28±0.16 [#]		0.18±0.1
MOR13361	7±3 (6±1)	0.41*	0.13 [#]		0.5±0.01
MOR13341	3±2 (30±0)	0.13±0.08*	2.8±0.26 [#]		0.8±0.7
MOR13342	N/A	0.11±0.03*	2.9 [#]		0.5±0.4
MOR13347	N/A	0.12 ± 0.07 *	2.8±0.3 [#]		0.5±0.4

N/A=入手不可能; *ヒトIL-18濃度=[0.5nM]; [#]カニクイザルIL-18濃度=[0.2nM]

【0427】

10

20

30

【表 4】

表2B:ヒト組換え(hr)IL-18(1nM)、天然のIL-18によって誘導されたIFN γ 放出の阻害のIC₅₀

値(nM)

同定	KG-1	PBMC
	ヒトIL-18	天然のIL-18
MOR1022_N30S	3.3 ± 2.1	0.05 ± 0.00
MOR1022_N30S_M54Y	4.8 ± 0.3	0.09 ± 0.01
MOR1022_N30S_M54N	5.2 ± 4.4	0.03 ± 0.02
MOR1022_N30S_M54I	4.2 ± 1.4	0.05 ± 0.03*
MOR09464_N30T	0.31 ± 0.02	0.19 ± 0.09
MOR09464_N30E	0.49 ± 0.05	0.13 ± 0.05
MOR09464_N30H	0.23 ± 0.11	0.10 ± 0.05
MOR09464_N30K	0.36 ± 0.15	0.20 ± 0.14
MOR09464_N30Q	0.22 ± 0.03	0.07 ± 0.14
MOR09464_N30G	0.54 ± 0.06	0.11 ± 0.07
MOR09464_N30V	0.29 ± 0.03	0.11 ± 0.02
MOR09464_N30Y	0.23 ± 0.01	0.03 ± 0.01
MOR09464_N30R	0.47 ± 0.49	0.04 ± 0.01
MOR09464_N30I	0.32 ± 0.09	0.11 ± 0.06
MOR09464_N30L	0.23 ± 0.03	0.05 ± 0.04

(n=2; 平均+/-SD n=3 平均+/-SEM

* n = 2, 平均+/-SD

10

20

30

【0428】

9.5) IL-18で刺激したKG-1細胞からのIFN γ 放出の阻害

抗IL-18抗体およびその断片を、IL-18で刺激したKG-1細胞からのIFN γ 放出を阻害するそれらの能力について分析した。アンタゴニストの不在下では、IL-18は、TNF α およびIL-12などの同時刺激の存在下でIL-18受容体の上方制御を通して、IFN γ 放出の最大刺激を促進する(Nakamura Sら(2000) Leukemia; 14(6):1052~9)。抗体および断片の阻害活性は、この細胞ベースの系でEC₅₀として前もって決められた、1nMのヒトまたはカニクイザルのIL-18(特記しない限り)に対して評価した。

40

【0429】

KG-1細胞を培地に再懸濁させ、96ウェル細胞培養プレートに加えて、 $0.3 \times 10^6 / ml$ (200 μl の最終アッセイ容量に)の最終細胞密度を与えた。1nMのヒトまたはカニクイザルの組換えIL-18とTNF α で細胞を刺激した(最終濃度20ng/ml)。選択した組換えIL-18の濃度は、このアッセイでのおよそのEC₅₀として前もって決定した。

【0430】

これらの抗体の力価および効力を評価するために、0.1から300nMの間の最終濃度で細胞に適用する前に、抗体およびその断片をTNF α およびIL-18(ヒトまたは

50

カニクイザル)により30分間予備平衡させた。抗リゾチーム対照抗体MOR03207を、陰性対照として使用した。

【0431】

各処置群から、平均±SEM値(入手可能な場合)をn=2~5ウェルから判定した。

【0432】

処置後の24時間、細胞を37℃、5%CO₂でインキュベートし、その後、遠心分離(885×gで5分間)によって上清を収集し、以降の分析のために-20℃で保存した。製造業者の指示に従ってELISAを使用して、IFN-γタンパク質レベルを評価した。

【0433】

全ての抗体およびその断片はIFN-γ生成を用量依存的に阻害し、最も高い濃度で完全阻害を達成した。親和性成熟抗体については、IC₅₀値は0.8nMヒトIL-18に対して0.3~0.8nMの範囲であって、したがって1:1以上のモル比の抗体:抗原を表した。VH4__3bフレームワーク抗体(MOR08776、MOR010501、MOR010502)は、ヒトおよびカニクイザルIL-18に対して類似の力価を実証したが、VH1A__3フレームワーク抗体はカニクイザルIL-18に対して力価がわずかに低かった(表2、3欄および4欄)。対照抗体、MOR03207はIL-18応答を阻害しなかった。

10

【0434】

9.6)IL-18はヒト全血でIFN-γ放出を誘導した

IL-18BPは主に脾臓によって生成され、健全な個体ではおよそ10~20ng/mlのレベルで全身に存在するので、全血アッセイは内因性IL-18BPの存在および機能を組み込む。IL-18BPはIL-18に高い親和性で結合してその活性を中和し、したがって、この複合体のアクセス可能なエピトープを認識する抗体にとってシンクに相当する可能性がある。

20

【0435】

健全なボランティアからとられたヘパリン処置ヒト全血で、抗IL-18抗体の活性を評価した。全ての試薬は、無血清培地を用いて所望の最終濃度の20倍で調製した。天然のIL-18タンパク質の分泌を誘導するために、7nMのヒト組換えIL-18とIL-12(1ng/ml)またはLPS(10μg/ml)とIL-12(10ng/ml)のいずれかで細胞を刺激した(全て最終濃度)。組換えヒトIL-18の場合、選択した濃度は、このアッセイでのおよそのEC₈₀として前もって決定した。天然のIL-18の場合、LPSはIL-18の生成を刺激するが、IL-12はIL-18受容体の発現を増加させ、IL-18依存性の程度は、陽性対照として組換えヒトIL-18結合タンパク質-IgG₁-Fc(hIL-18BPa-Fc)の組入れを通して判定する。

30

【0436】

これらの抗体の力価および効力を評価するために、0.1から1000nMの間の最終濃度で細胞に適用する前に、抗IL-18抗体およびその断片を関連する刺激物質により30分間予備平衡させた。抗リゾチーム対照抗体MOR03207を、陰性対照として使用した。

40

【0437】

刺激混合物(+/-抗体または断片)を96ウェル組織培養無菌マイクロタイタープレートの各ウェルに30μLに加え、次に各ウェルでの最終容量が200μLになるように170μLのヘパリン処置全血を各ウェルに加えた。次に、加湿インキュベーター(37℃)にプレートを戻した。24時間後、プレートを遠心分離にかけ(885×g、4分、5分間)、上清を取り出し、市販のELISAキットを使用してhIFN-γ生成を分析した。最終データは、3~5人の健全なヒトドナーから平均±平均の標準誤差として導いた。

【0438】

全ての抗体および断片は、いずれの刺激に対してもIFN-γ生成を用量依存的に阻害し

50

た。組換え I L - 1 8 によって誘導された応答の完全阻害は最も高い濃度で達成されたが、I L - 1 8 B P a - F c のそれと類似した効力が L P S / I L - 1 2 刺激に対して観察された (表 3 ; 図 7 (A ~ E) および図 8 (A ~ E)) 。生殖細胞系 M O R 0 9 4 4 1 および M O R 0 9 4 6 4 は、それらの中和能を有意に変化させなかった。対照抗体、M O R 0 3 2 0 7 は、I L - 1 8 応答を阻害しなかった。カニクイザルからの全血での組換えカニクイザル I L - 1 8 生物活性 (7 n M) を阻害するそれらの能力についても、選択された抗体を評価した。M O R 0 9 4 4 1 、 M O R 0 9 4 6 4 、 M O R 0 9 4 6 5 、 M O R 0 9 4 6 6 の全ては I F N - 生成を用量依存的に阻害し、最も高い濃度で完全阻害が観察された。観察された I C ₅₀ 値は、それぞれ 110 ± 36 n M 、 51 ± 8 n M 、 55 ± 3 n M 、 179 ± 30 n M であった。

【 0 4 3 9 】

【表 5】

表3:全血でのIL-18によって誘導されたIFN γ 放出の阻害のIC₅₀値(nM)

同定	組換えヒトIL-18(7nM))で刺激したヒト全血	LPS/IL-12で刺激したヒト全血
MOR010497	16.1 ± 6.6	107.9 ± 8.3
MOR010501	20.3 ± 5.6	101.3 ± 44
MOR010502	17.9 ± 5.0	110.4
MOR09465	4.2 ± 1.0	19.4 ± 7.8
MOR09466	5.6 ± 0.5	18.5 ± 1.6
MOR09441	8 ± 2.1	16.3 ± 5.4
MOR09464	3.6 ± 0.4	9.8 ± 3.2
MOR010579	5.6 ± 1.4	16.7 ± 7.0
MOR010222	4.7 ± 1.5	21.6 ± 9.9
IL-18BP-Fc	5.7 ± 2.0	12.1 ± 6.2
MOR13363	29.4	91.7±66.9
MOR13361	15.72±5.5	39.4±13.5
MOR13341	5.6±0.4	19.6±5.3
MOR13342	6.6±1.0	21.5±6.7
MOR13347	3.5	8.3
MOR1022_N30S	58.4 ± 14.4	16.9 ± 7.4
MOR1022_N30S_M54Y	34.3 ± 16.6	18.8 ± 6.5
MOR1022_N30S_M54N	46.5 ± 9.9	16.1 ± 5.1
MOR1022_N30S_M54I	47.3 ± 15.1	9.3 ± 4.4
MOR09464_N30T	12.46 ± 2.67	20.76 ± 5.74
MOR09464_N30E	12.88 ± 2.79	19.16 ± 6.67
MOR09464_N30H	11.93 ± 2.14	22.98 ± 11.04
MOR09464_N30K	8.62 ± 2.62	17.09 ± 3.64
MOR09464_N30Q	8.10 ± 1.00	13.40 ± 2.91
MOR09464_N30G	25.14 ± 5.26	15.07 ± 2.80
MOR09464_N30V	12.68 ± 1.86	19.60 ± 4.90
MOR09464_N30Y	12.39 ± 1.59	17.85 ± 5.12
MOR09464_N30R	10.07 ± 1.32	11.03 ± 1.26
MOR09464_N30I	11.42 ± 2.37	13.15 ± 4.53
MOR09464_N30L	9.85 ± 1.64	15.46 ± 2.29
	n=3-4 平均+/-SEM	n=3-4 平均+/-SEM * n=2, 平均+/-SD

10

20

30

40

【 0 4 4 0 】

50

MOR9464およびMOR10222の突然変異体、特にMOR9464__N30KおよびMOR10222__N30S__M54Iは、野生型抗体と同等の中和能を有した。

【0441】

9.7) IL-18-IL-18BP複合体への抗IL-18抗体のELISA結合
本明細書に記載される抗IL18抗体またはその断片がIL-18BPに結合しているIL-18(IL-18/IL-18BP複合体)を認識しないことを確認するために、IL-18をIL-18BP(rhIL-18BP/Fc、R&D Systems、Cat#119)とモル過剰でインキュベートした。抗IL18抗体および断片を下記のように加え、複合体との結合を検出した。一般に、抗IL-18抗体および断片の高い濃度でシグナルが検出され、それらはIL-18BPと異なる抗原上のアクセス可能なエピトープに結合する(すなわち、IL-18/IL-1BP複合体を認識する)。第1のセットアップでは、PBST/0.5%BSAを使用して対照抗体および抗IL18抗体および断片を希釈し、ビオチン化IL-18/IL18-BP複合体に加えた(RTで30分間、および軽い振盪でポリプロピレンプレートでのインキュベーション)。対照抗体は、陰性対照としてMOR03207(抗リゾチーム)、陽性対照抗体としてMOR08741ならびにマウス125-2H、抗ヒトIL-18マウスIgGであった(それらの両方は、IL-18/IL-18BP複合体を認識する)(Argiriadi MAら(2009)J Biol Chem; 284(36):24478~89)。全複合体は、1xChemiblocker-PBSによってo/nでブロックしたNeutravidinプレートの上へビオチン部分を通して捕捉した。

10

20

【0442】

プレートをPBSTで5回洗浄し、0.5%BSA/0.05%Tween20/1xPBSで1:5000に希釈した、20μl/ウェルの検出抗体抗Fab-AP-ヤギ抗ヒトIgG、F(ab)2断片特異的(Jackson Immuno Research、109-055-097、ロット:69655)、または抗マウスIgG(全分子)-AP(SIGMA、#A4312)と1時間インキュベートした。プレートをTBSTで5回洗浄し、20μlのAttoPhos(Roche)溶液(ddH2Oで1:5に希釈した)を加え、Tecan読取装置で蛍光を測定した。

【0443】

IL-18/IL-18BP複合体に結合しない抗IL-18抗体MOR8775およびMOR8776については、結合シグナルは有意に減少したか、シグナルは観察されなかった(図9(A))。それに比べて、マウス125-2Hの存在下で強力なシグナルが観察され、IL-18BPのそれと異なるエピトープに結合するこの対照抗体の報告された能力を裏づけた。同様に、対照抗体MOR08741の存在下で用量依存的シグナルが観察された。

30

【0444】

第2のセットアップでは、非ビオチン化hu IL-18を使用したことを除いて同様の方法で実験を実施した。ヤギ抗hu IgG(Fcガンマ断片特異的、Jackson Immuno Research #109-005-098)を使用して、rhIL-18BP/FcのFcタグによって、IL-18/IL-18BP複合体をMaxisorpプレートの上に捕捉した。対照MOR08741で濃度依存的シグナルが観察され、前と同様に、IL-18/IL-18BP複合体を認識するこの抗体の能力を鮮明にした。これに比べ、MOR09441、MOR09464、MOR09465、MOR09466でシグナルは観察されず、それらがIL-18/IL-18BP複合体に結合しないことを確認した。

40

【0445】

9.8) ELISAによる抗IL18抗体および断片のエピトープ結合
エピトープ結合のために、2つのセットアップを使用した。第1のセットアップのために、抗体断片(FabA)を滴定して、ビオチン化ヒトIL-18とインキュベートした。FabAを、抗体B(IgGB)の一定濃度で試験した。陽性対照として、Fab

50

AをIgGフォーマットのそれ自身で分析した。NeutrAvidinプレート(Thermo Scientific Cat#15402)をChemiblocker(PBSで1:1に希釈した)でブロッキングし、RTで2時間(または4で一晩)インキュベートした。次の日、プレートをPBSTで2回洗浄し、10nM最終濃度のビオチン化ヒトIL-18を含有するPBS緩衝液で、Fabを500nMから2nMまで滴定した。抗体断片およびビオチン化IL-18の複合体をNeutrAvidinプレートに加え、1時間インキュベートした。PBSTで3回洗浄した後に、IgG BをNeutrAvidinプレートの対応するウェルに20nMで加えた。20分のインキュベーションおよび3回のPBST洗浄の後に、検出抗体抗Fc-AP-ヤギ抗ヒトIgG、Fcガンマ鎖特異的(Jackson Immuno Research、109-055-098)、および抗マウスIgG(全分子)-AP(SIGMA、#A4312、ロット:067K4863)を、0.5%BSA/0.05%Tween20/1xPBSで1:5000に希釈して加えた。

【0446】

プレートをPBSTで5回洗浄し、20μlのAttoPhos溶液(ddH₂Oで1:5に希釈した)を加え、プレートをTecan読取装置で測定した。535nmの蛍光発光を、430nmの励起で記録した。

【0447】

一般に、試験したFab A(すなわち異なるエピトープに結合する抗体)と異なる抗原上のアクセス可能なエピトープにIgG Bが結合することができたときだけ、シグナルを得ることができた。対照的に、部分的に重複するか同一のエピトープによる抗体では、結合シグナルは、対照と比較して有意に減少した。

【0448】

第2のELISAセットアップは、Maxisorpプレートで実施した。Fab AをPBSで異なる濃度にコーティングし、4で一晩インキュベートした。次の日、プレートをPBSTで3回洗浄し、RTで2時間、5%MPBST(100μl/ウェル)でブロッキングした。3回のPBST洗浄ステップの後、ヒトIL-18を一定濃度で1時間加えた。プレートをPBSTで3回洗浄し、ビオチン化抗体断片(ビオチン化Fab B)を滴定した(最大濃度5μg/mL、10μg/mLまたは20μg/mL)。IL-18およびビオチン化Fab BによるFab Aの複合体形成のために、プレートを1時間インキュベートし、その後PBSTで3回洗浄し、検出抗体ZyMaxストレプトアビジン-アルカリ性ホスファターゼ(Zymed、Cat.No.43-8322、ロット51102099)をPBSTで1:2,000に希釈し、20μL/ウェルをELISAプレートに加えた。プレートをTBSTで5回洗浄し、20μLのAttoPhos(Roche)溶液(ddH₂Oで1:5に希釈した)を加え、プレートをTecan読取装置で測定した。

【0449】

この場合、第1のセットアップについては、試験したFab A(すなわち異なるエピトープに結合する抗体)と異なる抗原上のアクセス可能なエピトープにビオチン化Fab Bが結合することができたときだけ、シグナルを得ることができた。

【0450】

図10Aに示すように、IL-18との結合に関して抗体MOR8775はマウス抗体125-2Hと競合する(黒塗りセル)が、MOR8776は125-2Hと競合しない(空のセル)。IL-18との結合に関して、両方の抗体はIL-18BP-Fcと競合する(黒塗りセル)。MOR8775もMOR8776も、ABT325抗体と競合しない(米国特許出願第09/780,035号および10/988,360号)。実験設定に従い、MOR8775およびMOR8776は互いに競合する(縞模様のセル)。

【0451】

第2の実験セットでは、Proteon XPR36機器、表面プラズモン共鳴(SPR)ベースのリアルタイム無標識バイオセンサーを使用して、抗体MOR9464、MO

10

20

30

40

50

R 9 4 6 4 __ N 3 0 K、M O R 1 0 2 2 2 __ N 3 0 S __ M 5 4 I および M O R 1 3 3 4 1 を、これらの抗体 I L - 1 8 B P - F c、A B T 3 2 5 およびマウス抗体 1 2 5 - 2 H のいずれかの存在下で、I L - 1 8 に結合するそれらの能力について試験した。分析の前に、タンパク質の完全性を確認し、濃度を L C - M S によって評価した。

【0452】

標準のアミン結合によって、全ての抗体および I L 1 8 B P - F c を G L C センサーチップの相互作用スポットの上に固定化した。第 1 段階では、I L 1 8 を分析物 1 として注入し、第 2 の段階では、抗 I L 1 8 抗体が I L 1 8 B P a - F c のいずれかを分析物 2 として注入した。

【0453】

固定化するリガンドは、10 mM の酢酸緩衝液 pH 4 . 0 に、20 μ g / mL (抗体) または 10 μ g / mL (I L 1 8 B P - F c) のいずれかの濃度で調製した。0 . 0 0 5 % T w e e n 2 0 を含有する P B S 緩衝液 (T E K N O V A) で分析物を希釈し、機器のための流動緩衝液として同じ緩衝液を使用した。分析物 1 (25 nM の I L 1 8) を 50 μ L / 分の流量で 180 秒間注入し、解離時間は 60 秒であった。分析物 2 (25 nM の I L 1 8 B P a - F c または抗 I L - 1 8 抗体) を 50 μ L / 分の流量で 180 秒間注入し、解離時間は 180 秒であった。再生は、100 μ L / 分の流量で、10 mM グリシン pH 1 . 5 で 20 秒間実施した。2 つの独立した実験セットを実施した。データ評価は、分析物 1 のシグナルと比較して分析物 2 の注入によりセンソグラムシグナルが増加したかどうかに基づいた。シグナルが増加した場合は、固定化リガンドおよび注入された分析物 2 は異なるエピトープを認識すると結論づけられた。シグナルが増加しなかった場合は、2 つが同じか重複するエピトープを共有すると結論づけられた。

【0454】

図 1 0 B に示すように、抗体 M O R 9 4 6 4、M O R 9 4 6 4 __ N 3 0 K、M O R 1 0 2 2 2 __ N 3 0 S __ M 5 4 I および M O R 1 3 3 4 1 は、互いに (黒塗りセル)、I L - 1 8 B P - F c と、およびマウス抗体 1 2 5 - 2 H と競合する。これらの抗体のいずれも、A B T 3 2 5 と競合しない (空白セル)。

【0455】

I L - 1 8 B P - F c およびマウス抗体 1 2 5 - 2 H と二重に競合することを示す M O R 9 4 6 4 __ N 3 0 K および M O R 1 0 2 2 2 __ N 3 0 S __ M 5 4 I などの抗体は、天然の阻害剤 I L - 1 8 B P - F c に結合していない遊離 I L - 1 8 に結合する利点を有するだけでなく、I L - 1 8 R / への I L - 1 8 の結合を防ぐ能力を有するようにも見える。Wu ら (Wu C. ら、J. Immunol. 2003、170 : 5571 ~ 5577) に記載のように、I L - 1 8 R は単独で I L - 1 8 に結合しないが、I L - 1 8 に応じてシグナル伝達することができる、I L - 1 8 R との機能的な高親和性受容体複合体を形成するようである。I L - 1 8 上の 1 2 5 - 2 H のエピトープマッピングと合わせた生化学データは、ヒト I L - 1 8 の C 末端の 1 7 アミノ酸がヘテロダイマー受容体を通してのシグナル伝達のために決定的であることを明らかにした。したがって、1 2 5 - 2 H エピトープの中に結合して、I L - 1 8 との結合に関して I L - 1 8 B P と対等に競合することが可能な抗体は、I L - 1 8 R との結合をブロックすることだけでなく I L - 1 8 R / 複合体への I L - 1 8 の結合をブロックすることを通して、I L - 1 8 依存性経路の活性化を防止する能力を有するようである。セクション 9 . 1 1 で明らかになるように、抗体 M O R 9 4 6 4 __ N 3 0 K は、中でも、Wu らに記載されるひと続きの 1 7 アミノ酸の中にあるアミノ酸 G l u 1 7 7 および L e u 1 8 0 に結合する。

【0456】

9 . 9) モデル化による I L - 1 8 エピトープマッピング

P D B で構造情報を探すために、S w i s s P r o t エントリー Q 1 4 1 1 6 からのヒト I L - 1 8 を使用した (Berman H. M ら (2000) Nucl Acids Res ; 28 : 235 ~ 242)。コード 1 J 0 S (Kato Z ら (2003) Nat Struct Biol ; 10 : 966)、2 V X T (Argiriadi M ら (2009) J Biol Chem ; 284 : 24478) および 3 F 6 2 (Krumm B ら (2008) Proc Natl Acad

10

20

30

40

50

Sci USA ; 105 : 20711) の 3 つの構造が見出された。1 J 0 S は、ヒト I L - 1 8 の N M R 構造である。2 V X T は、1 . 4 9 分解能における、マウス 1 2 5 - 2 H 抗体断片との複合体の形態である、操作されたヒト I L - 1 8 の結晶構造であり、3 F 6 2 は、2 . 0 分解能における、ポックスウイルス I L - 1 8 結合タンパク質との複合体の形態である、操作されたヒト I L - 1 8 の結晶構造である。

【 0 4 5 7 】

突然変異分析によって、I L - 1 8 上の 3 つの結合部位が同定された。それらのうちの 2 つ、部位 1 および 2 は I L - 1 8 R との結合に重要であり、第 3 の部位 3 は I L - 1 8 R との結合に重要である (Kato Z. ら (2003) Nat. Struct. Biol. , 10 : 966) 。部位 2 は、I L - 1 8 B P との結合にとっても重要である。

10

【 0 4 5 8 】

I L - 1 と I L - 1 R 1 の間の構造複合体も入手できる (1 I T B , Vigers G. P ら (1997) Nature , 386 : 190) 。 I L - 1 と I L - 1 R 1 の間の複合体の構造は、I L - 1 が受容体への 2 つの結合部位、部位 1 および 2 を有することを示す (図 1 1 (A)) 。 I L - 1 8 と I L - 1 8 R の間の複合体に関する構造が入手できないので、I L - 1 R 1 との複合体の形態の I L - 1 の結晶構造をタンパク質モデル化のための鋳型として使用した (P D B コード 1 I T B) 。 I L - 1 8 R のモデルは、鋳型として I L - 1 R 1 の構造を使用して構築した。I L - 1 8 の結晶構造 (p d b コード 2 V X T , Argiriadi M. A ら (2009) J. Biol. Chem. , 284 : 24478) および I L - 1 8 R のモデル化構造を、複合体 I L - 1 / I L - 1 R 1 に構造的に重ね合わせ、こうして得られた I L - 1 8 / I L - 1 8 R モデルを精密化して、最終構造モデルを得た (図 1 1 (B)) 。 M O E v 2 0 0 9 . 1 (C h e m i c a l C o m p u t i n g G r o u p I n c .) は、I L - 1 8 と I L - 1 8 R の間の複合体をモデル化するために使用されるソフトウェアである。A M B E R 9 9 力場およびデフォルトパネルパラメータを選択することによって I L - 1 8 R のモデルを構築するために、相同性モデルパネルを使用した。最終 I L - 1 8 / I L - 1 8 R 複合体の精密化のために、M O E のエネルギー最小化パネルを使用した。

20

【 0 4 5 9 】

ヒト I L - 1 8 の全体構造は、I L - 1 のそれとの類似性を示す。特に、二次構造要素での I L - 1 8 と I L - 1 C 原子の間の R M S D (根二乗平均偏差) は、それらが同じ構造クラスに属する関連タンパク質であることを示す (Kato Z. ら (2003) Nat. Struct. Biol. , 10 : 966) 。 I L - 1 と I L - 1 8 の構造の間の比較は、I L - 1 8 の部位 1 および 2 が I L - 1 の部位 1 および 2 に対応することを明らかにした。図 1 1 (B) では、I L - 1 8 と I L - 1 8 R の間の複合体のモデルでの部位 1 および 2 を示し、部位 3 も示す。部位 3 は、I L - 1 8 R の相互作用部位と報告されている (Kato Z. ら (2003) Nat. Struct. Biol. , 10 : 966) 。

30

【 0 4 6 0 】

I L - 1 8 B P のための I L - 1 8 結合部位は、アラニン突然変異、および I L - 1 8 との複合体のポックスウイルス I L - 1 8 B P の X 線結晶構造によってどうにか同定された (Krumm ら (2008) Proc Natl Acad Sci USA ; 105 (52) : 20711 ~ 20715) 。この推定上の結合部位は、I L - 1 8 R との I L - 1 8 の 2 つの相互作用領域の 1 つである、部位 2 と同定された I L - 1 8 上の領域にも対応する。

40

【 0 4 6 1 】

9 . 1 0) 水素 / 重水素交換質量分析 (H / D x M S) による I L - 1 8 エピトープマッピング

M O R 9 4 6 4 のためのエピトープに関する情報についてヒト I L - 1 8 を探査するために、水素 / 重水素交換質量分析を使用した。H / D x M S マッピングは、「正常な」水素原子と、正常な水素原子核に存在する単一陽子に加えて中性子を含む「重い」同位体重水素の間の質量差に依存する。

【 0 4 6 2 】

50

水から重水素ベースの溶媒系（重水）への移動により、タンパク質骨格上のアミド水素が重陽子（水素のより重い同位体）で徐々に置き換えられるので、タンパク質は質量の増加を経る。水素/重水素交換事象の可能性は、タンパク質構造および溶媒アクセス性によってほとんど決定する。H/D x MS技術は、相対的水素/重水素交換、およびその結果としてタンパク質構造および溶媒アクセス性を測定するために使用する。

【0463】

タンパク質結合パートナーが抗体に結合する（例えば、抗原/抗体相互作用）場合、その交換速度の実験的に観察可能な変化を観察することができる。複合体形成の結果として溶媒を排除する表面領域は、かなりより遅く交換する。溶媒が排除された領域は、結合部位の位置を推測するのに有益である。抗原抗体相互作用の場合、重水素交換の速度の変化は、エピトープの位置だけでなく、抗原への抗体の結合からもたらされる他のいかなる混乱も鮮明にする可能性がある。例えば、抗体結合から所与の交換時間の後の抗原における重水素取り込み量の減少は、この領域への抗体の直接結合による保護の増強、または抗体結合に起因する構造の間接的混乱（アロステリック変化）のいずれかを表す可能性がある。これらの2つの影響はあまり容易に識別することができないが、観察される最も強力な影響は抗体の直接保護にしばしば帰される。

10

【0464】

抗体結合後の重陽子組込みの減少位置は、水素/重水素交換後の標的タンパク質の消化（例えば、ペプシンなどの適する酵素による）、次に関連する断片の質量を判定する質量分析によって推測することができる。

20

【0465】

IL-18の保存溶液を95%重水素化PBS緩衝液で83.6%Dの濃度まで希釈することによって、3分および25分の重水素交換時間時に、316 pmolのIL-18抗原で3反復の対照実験を実施した。クエンチ緩衝液（6M尿素および1M TCEP）で重水素交換をクエンチした。クエンチングの後、オンラインペプシン消化/LC-MS分析によってバイアルを分析した。2.0 x 20 mmカラムに詰めたLife ScienceのPoroszyme固定化ペプシンを用いて、オンラインペプシン消化を実施し、全てのペプチドが20分未満で溶出するように高速勾配を使用して、100 μL/分の流量で、LC分離をThermo C18 BioBasicカラム（1.0 x 50 mm）で実施した。移動相は、標準の逆相移動相：0.1%ギ酸水溶液およびアセトニトリル中の0.1%ギ酸である。これらの実験では、IL-18の表面に曝露される骨格アミド水素は、重陽子を組み込む。

30

【0466】

次に、3反復の標識実験を実施した。最初に、標準技術を使用してMOR9464抗体をプロテインGアガロースビーズ（Thermo 22851）の上に固定化した。PBS溶液を除去するために、抗体ビーズを遠心分離した。次に、200 μLの冷PBS（pH 7.4）および6 μL（316 pmol）のIL-18を固定化MOR9464抗体に加え、4で15分間インキュベートした。インキュベーションの後、複合体を遠心分離し、200 μLのPBSで洗浄し、再び遠心分離した。重水素交換については、3分または25分間の4でのインキュベーションのために、200 μLの83.6%重水素PBS緩衝液を抗原抗体複合体に加えた。重水素緩衝液を次に除去し、直後に、125 μLのクエンチ緩衝液（上記）を加えた。クエンチングの後、フロースルーを前冷却させたHPLCバイアルに移し、対照実験でのものと同一のオンラインペプシン消化/LC-MS分析を使用して分析した。抗原抗体界面に存在する骨格アミドは、所与の交換時間で対照実験と比較してより少ない重陽子を組み込む。標識および対照実験のH/D xパターンを比較することによって、エピトープは標識実験でのオン交換（on-exchange）から保護される、抗原の領域として明らかにされる。

40

【0467】

MOR9464で実行したとき、この分析の結果は、IL-18上の3つの最も重要な保護領域を明らかにした。これらは、（配列番号1を参照して）アミノ酸87~99、ア

50

ミノ酸 119 ~ 137、およびアミノ酸 138 ~ 160 であった。これらの領域は、IL - 18BP の結合に関与するアミノ酸を含有することが示されている (図 12)。

【0468】

9.11) IL - 18 / 抗体断片の X 線構造特徴付け

モデル化および H / D x M S によって提供された一般的なエピトープ同定は、本明細書に記載される抗体およびその断片が、IL - 18BP によっても認識される IL - 18 上の領域を認識することを確認した (図 12)。これらの領域での IL - 18 上の関連アミノ酸を同定するために、IL - 18 / 抗体複合体の X 線構造決定を実施した。

【0469】

抗体断片を調製するために、10 mM のヒスチジン pH 5.0 中の 18 mg / mL の濃度の 13 mg の MOR 9464 __ N30K を、100 mM トリス HCl pH 7.0 中の 1 / 300 (w / w) のパイン、10 mM の DTT によって室温で 200 分間開裂した。50 μM のパイン阻害剤 E64 で反応を停止した。次に、20 mM リン酸ナトリウム緩衝液 pH 7.0 で平衡させたプロテイン A カラムの上で、Fab 断片を精製した。

【0470】

IL - 18 との Fab 複合体の精製：1.33 倍過剰のヒト IL - 18 (PBS に 1.6 mg) を 3.2 mg の MOR 9464 __ N30K 抗体断片 (プロテイン A フロースルーから回収された) に加えた。MOR 9464 __ N30K 抗体断片との IL - 18 複合体を限外濾過によって濃縮し、SPX - 75 サイズ排除クロマトグラフィーに送り、10 mM トリス HCl pH 7.4、25 mM NaCl で定組成的に溶出した。

【0471】

結晶化：IL - 18 / MOR 9464 __ N30K 抗体断片複合体を限外濾過によって 1.8 mg / mL まで濃縮し、96 ウェルプレートのシッティングドロップでの蒸気拡散によって結晶化スクリーニングを実施した。実験は Phoenix ロボットシステムで設定し、19 の Rock Imager ホテルに保存した。以下の 2 つの結晶形 (A 形と B 形) が同定され、特徴付けられた：

1) 結晶形 A は、0.1 M 硫酸リチウム、0.1 M ADA pH 6.5、12% PEG 4,000 から成長した。(凍結保護物質は、20% PEG 4,000、30% グリセロールによる貯蔵溶液の 1:1 の混合であった)

2) 結晶形 B は、59.5% の 2 - メチル - 2,4 - ペンタンジオール (MPD)、15% グリセロール、85 mM HEPES pH 7.5 から成長した。(凍結保護物質は不要)。

【0472】

X 線データは、Pilatus ピクセル検出器により、Swiss Light Source、ビームライン X10SA で収集した。APRV で実施されたように、全ての回折像は XDS (2010 年 12 月 6 日版) で処理した。

【0473】

結晶形 A については、各々 0.25° 振動の 720 枚の画像を、0.99999 波長の放射 X 線を用いて、460 mm の結晶 - 検出器距離で記録した。

【0474】

結晶形 B については、各々 0.25° 振動の 720 枚の画像を、0.99984 波長の放射 X 線を用いて、430 mm の結晶 - 検出器距離で記録した。

【0475】

結晶形 A の構造は、MOR 9464 __ N30K 抗体断片および IL - 18 分子のための出発モデルとして、PDB エントリー 3GBM.pdb および 2VXT.pdb をそれぞれ使用して、プログラム Phaser による分子置換によって決定した。3GBM.pdb での抗体断片の可変ドメインおよび第 1 定常ドメインを、独立検索モデルとして使用した。非対称単位につき 1 つの IL - 18 / MOR 9464 __ N30K 抗体断片複合体の明瞭な解が、容易に得られた。結晶形 B の構造を同様に決定したが、PDB エントリーの代わりに結晶形 A に由来する精密化モデルを使用した。

10

20

30

40

50

【 0 4 7 6 】

構造精密化：Coot 0.6.2での複数サイクルの電子密度地図検査およびモデル再建と、続くautoBUSTER(1.11.2/バスター2.11.2)を使用する自動精密化によって、構造を精密化した。分子間接触をNCONTで同定し、埋め込まれた表面はAREAIMOLで分析したが、両方ともCCP4プログラムスイート(バージョン6.1.2)からのものである。X線データ収集および精密化統計値を、下の表4に示す。

【 0 4 7 7 】

【表6】

表4:X線データ収集および精密化統計値

	結晶形A	結晶形B
データ収集		
空間群	P2 ₁	C2
細胞寸法		
a, b, c (Å)	43.46, 85.86, 85.77	213.72, 41.81, 71.37
α, β, γ (°)	90.00, 94.29, 90.00	90.00, 100.13, 90.00
分解能(Å)	2.80 (2.87-2.80)*	2.70 (2.77-2.70)*
R _{sym} またはR _{merge}	0.10 (0.454)	0.074 (0.487)
I / σI	13.0 (3.2)	12.0 (2.8)
完全性(%)	98.7 (98.2)	98.8 (98.6)
冗長性	3.4 (3.5)	3.3 (3.4)
精密化		
分解能(Å)	85.53-2.80	54.19-2.70
反射数	15,406	17,335
R _{work} / R _{free}	0.175 / 0.257	0.192 / 0.254
原子数		
タンパク質	4,447	4,445
緩衝剤成分	10 (2硫酸イオン)	6 (1グリセロール)
水	89	62
B因子(Å ²)		
抗体軽鎖(L)	54.3 (V _L : 34.6; V _C : 76.5)	50.3
抗体重鎖(H)	37.0	51.4
hIL-18 (I)	35.3	64.7
水	30.4	51.6
R.m.s.偏差		
結合長(Å)/角度(°)	0.010 / 1.31	0.010 / 1.28

10

20

30

40

IL - 18 / MOR9464__N30K断片の複合体の構造の全体像を、図13に示す。複合体形成の結果、溶媒アクセス性の低減したIL - 18上の36アミノ酸が、IL - 18と抗体断片の結合界面で同定される。これらの残基は、Leu41、Glu42、Met87、Tyr88、Lys89、Asp90、Ser91、Gln92、Pro93、Arg94、Gly95、Met96、Ala97、Phe138、Gln139、Arg140、Ser141、Val142、Pro143、Gly144、His145、Asp146、Asn147、Met149、Gln150、Glu152、Ser153、Ser154、Glu157、Gly158、Phe160、Glu177、Asp178、Glu179、Leu180およびGly181である。

【0479】

複合体界面で形成された関連する接触のさらなる特徴付けは、Arg140およびGlu152がこの特定の複合体形成に最も寄与する可能性があるアミノ酸であると同定した。両残基は結合界面の中心に位置し、多数の分子間接触に寄与する（それぞれ21個および18個、4.0のカットオフ距離を使用する）。Arg140は、L - CDR3（Tyr94L）およびH - CDR3（Tyr101H、His102H）残基と相互作用する。Glu152はL - CDR2 Arg51Lと強力な（埋め込まれた）塩橋相互作用を形成し、L - CDR3 Tyr94LからのH結合を受け入れる。抗体鎖の全ての残基は順番に数えられ、残基番号の後の文字LまたはHはそれぞれ軽鎖または重鎖内の残基を示す。

【0480】

IL - 18 / MOR9464__N30K抗体断片複合体の三次元構造は、ヒトIL - 18とカニクイザルIL - 18の間の異なる交差反応性に関する多少のさらなる調査を可能にした。MOR9464__N30Kは、ヒトIL - 18に対して2pMと比較してカニクイザルIL - 18（20pM）に対して10倍弱い（表2）。カニクイザルIL - 18は、以下の6つの位置でヒトIL - 18と異なる（ヒト対カニクイザル）：V47I；S86N；T99A；K115R；F170YおよびE177K（図14（A））。これらの位置のうち、グルタミン酸177（Glu177；E177）だけがIL - 18 / 抗体断片複合体界面にある（図14（B））。したがって、カニクイザルIL - 18のカニクイザル配列中のK177が、ヒトIL - 18についてのMOR9464__N30KのK_D（SET、pM）は2 ± 1pMであり、カニクイザルIL - 18については20 ± 10pMである、表2Aの1欄に示すようなMOR9464__N30Kへの親和性の10倍の低下を引き起こすことは疑わしい。

【0481】

IL - 18R MOR9464__N30K抗体断片のどの部分が競合するのかを同定するために、IL - 18 / MOR9464__N30K抗体断片複合体とIL - 18 / IL - 18R 複合体との重ね合わせを実施した。手短かに言えば、PyMol（The PyMol Molecular Graphic system、バージョン1.2r3pre、Schroedinger LLC）のalign命令を使用して、IL - 18 / IL - 18R 複合体中のIL - 18およびIL - 18 / MOR9464__N30K複合体中のIL - 18の構造を重ね合わせた。

【0482】

図15に示すように、MOR9464__N30K抗体断片は、IL - 18との結合に関してIL - 18R のIg - ドメインD3と競合するようである。

【0483】

同様に、PyMOL（The PyMOL Molecular Graphic system、バージョン1.5.0、Schrodinger LLC）の「align」命令を使用して、IL - 18 / MOR9464__N30K抗体断片複合体の構造を、ボックスウイルスIL - 18BP（座標ファイルは3F62.pdbを使用した）との複合体の形態のヒトIL - 18の構造の上に重ね合わせた。

【0484】

10

20

30

40

50

図16に示すように、ボックスウイルスIL-18BPはMOR9464__N30K抗体断片の重鎖可変ドメインと衝突し、主にIL-18上のアミノ酸残基Met87からMet96の結合に関して競合する。

【0485】

これらの知見は、本明細書に示す生化学的およびエピトープ結合データをさらに確認し、本明細書に記載される結合分子、特に抗体およびその断片がIL-18/IL-18BP複合体に結合しないことを示す。

【0486】

最後に、先行技術のマウス抗体125-2Hとの比較を実施した。2VXT.pdbファイルで見出される125-2H抗体断片の構造で、分析を実施した。手短に言えば、PyMOL(The PyMOL Molecular Graphic system、バージョン1.5.0.、Schrodinger LLC)の「align」命令を使用して、MOR9464__N30K抗体断片との複合体の形態のIL-18の構造を、125-2H Fabとの複合体の形態のIL-18上に重ね合わせた。

10

【0487】

図17に示すように、MOR9464__N30K抗体断片(重ね合わせの左側)および125-2H抗体断片(重ね合わせの右側)は、IL-18の認識で重複する。しかし、125-2H/IL-18複合体をボックスウイルスIL-18BP/IL複合体と重ね合わせた図18に示すように、125-2H抗体断片は、IL-18BPによって認識されるエピトープに結合しない。これらのデータ、125-2Hに関する先行技術文献(Ar giriadi M.Aら(2009)J.Biol.Chem. 284:24478)ならびに本明細書に示す生化学的およびエピトープ結合データの両方は、マウス抗体125-2HがIL-18/IL-18BP複合体に結合することをさらに確認する。

20

【0488】

最後に、図19に示すように、MOR9464__N30Kの重鎖中の30位のリシンは、ヒトIL-18のAsp146およびAsn147と静電/極性相互作用を形成するようであり、リシン30が抗体抗原複合体の形成に参与することを示している。したがって、本明細書のセクション9.2に記載される細胞外改変、例えばアスパラギンアミド分解が、MOR9464の力価の経時的減少に寄与することができたことは明らかである。MOR9464__N30Kにおけるリシンによるアスパラギン30の置換は、安定性の増加したMOR9464__N30Kを提供するようである。

30

【0489】

【表 7】

配列対比表

配列番号	アイデンティティ
1	ヒトIL-18
2	カニクイザルIL-18
3	MOR8775; MOR9464; MOR9441; MOR10222; MOR10579; MOR9464_N30K; MOR10222_N30S_M54I; MOR9465; MOR9466のH-CDR1;
4	MOR8775のH-CDR2;
5	MOR8775; MOR9464; MOR9441; MOR10222; MOR10579; MOR9464_N30K; MOR10222_N30S_M54I; MOR9465; MOR9466のH-CDR3;
6	MOR8775; MOR9464; MOR9441; MOR10222; MOR10579; MOR9464_N30K; MOR10222_N30S_M54I; MOR9465; MOR9466のL-CDR1;
7	MOR8775; MOR9464; MOR9441; MOR10222; MOR10579; MOR9464_N30K; MOR10222_N30S_M54I; MOR9465; MOR9466のL-CDR2;
8	MOR8775; MOR9464; MOR9441; MOR10222; MOR10579; MOR9464_N30K; MOR10222_N30S_M54I; MOR9465; MOR9466のL-CDR3;
9	MOR9464; MOR10222; MOR9464_N30KのH-CDR2;
10	MOR9441; MOR10579のH-CDR2;
11	MOR9465のH-CDR2
12	MOR9466のH-CDR2
13	MOR10222_N30S_M54IのH-CDR2;
14	MOR9464_N30KのVH
15	MOR9464_N30KのポリヌクレオチドVH
16	MOR9464_N30K; MOR9464; MOR8775; MOR9465; MOR9466; MOR9441のVL
17	MOR9464_N30KのポリヌクレオチドVL
18	MOR10222_N30S_M54IのVL
19	MOR10222_N30S_M54IのポリヌクレオチドVH
20	MOR10222_N30S_M54I; MOR10579; MOR10222のVL
21	MOR10222_N30S_M54IのポリヌクレオチドVL
22	VH MOR8775;
23	ポリヌクレオチドVH MOR8775;
24	ポリヌクレオチドVL MOR8775;
25	VH MOR9441;
26	ポリヌクレオチドVH MOR9441;
27	ポリヌクレオチドVL MOR9441;
28	VH MOR9464;
29	ポリヌクレオチドVH MOR9464;
30	ポリヌクレオチドVL MOR9464;
31	VH MOR9465;
32	ポリヌクレオチドVH MOR9465;
33	ポリヌクレオチドVL MOR9465;
34	VH MOR9466;
35	ポリヌクレオチドVH MOR9466;
36	ポリヌクレオチドVL MOR9466;
37	VH MOR10579;
38	ポリヌクレオチドVH MOR10579;
39	ポリヌクレオチドVL MOR10579;
40	VH MOR10222;
41	ポリヌクレオチドVH MOR10222;
42	ポリヌクレオチドVL MOR10222;
43	MOR9464_N30Kの重鎖

10

20

30

40

44	MOR9464_N30Kのポリヌクレオチド重鎖
45	MOR9464_N30K; MOR9464; MOR8775; MOR9441の軽鎖
46	MOR9464_N30Kのポリヌクレオチド軽鎖;
47	重鎖 MOR9464;
48	ポリヌクレオチド重鎖 MOR9464;
49	ポリヌクレオチド軽鎖 MOR9464;
50	重鎖 MOR9441;
51	ポリヌクレオチド重鎖 MOR9441;
52	ポリヌクレオチド軽鎖 MOR9441;
53	重鎖 MOR10222;
54	ポリヌクレオチド重鎖 MOR10222;
55	ポリヌクレオチド軽鎖 MOR10222;
56	重鎖 MOR8775;
57	ポリヌクレオチド重鎖 MOR8775;
58	ポリヌクレオチド軽鎖 MOR8775;
59	(Chothia) H-CDR1 MOR9464;
60	(Chothia) H-CDR2 MOR9464; MOR9464_N30K
61	(Chothia) H-CDR3 MOR9464; MOR9464_N30K; MOR10222_N30S_M54I
62	(Chothia) L-CDR1 MOR9464; MOR9464_N30K; MOR10222_N30S_M54I
63	(Chothia) L-CDR2 MOR9464; MOR9464_N30K; MOR10222_N30S_M54I
64	(Chothia) L-CDR3 MOR9464; MOR9464_N30K; MOR10222_N30S_M54I
65	(Chothia) H-CDR1 MOR9464_N30K;
66	(Chothia) H-CDR1 MOR10222_N30S_M54I
67	(Chothia) H-CDR2 MOR10222_N30K_M54I;
68	(Chothia) H-CDR1 MOR13363;
69	(Chothia) H-CDR2 MOR13363;
70	(Chothia) H-CDR3 MOR13363;
71	(Chothia) L-CDR1 MOR13363;
72	(Chothia) L-CDR2 MOR13363;
73	(Chothia) L-CDR3 MOR13363;
74	MOR8776; MOR10497; MOR10501; MOR10502のH-CDR1;
75	MOR8776のH-CDR2;
76	MOR10501のH-CDR2
77	MOR1010502のH-CDR2;
78	MOR10497のH-CDR2;
79	MOR8776; MOR10497; MOR10501; MOR10502のH-CDR3;
80	MOR8776; MOR10497; MOR10501; MOR10502のL-CDR1;
81	MOR8776; MOR10497; MOR10501; MOR10502のL-CDR2;
82	MOR8776; MOR10497; MOR10501; MOR10502のL-CDR3;
83	VH MOR8776;
84	ポリヌクレオチドVH MOR8776;
85	VL MOR8776; MOR10497; MOR10501; MOR10502
86	ポリヌクレオチドVL MOR8776;
87	VH MOR10497;
88	ポリヌクレオチドVH MOR10497;
89	ポリヌクレオチドVL MOR10497;
90	VH MOR10501;
91	ポリヌクレオチドVH MOR10501;
92	ポリヌクレオチドVL MOR10501;
93	VH MOR10502;
94	ポリヌクレオチドVH MOR10502;
95	ポリヌクレオチドVL MOR10502;

10

20

30

40

96	MOR8776の重鎖;
97	MOR8776の重鎖ポリヌクレオチド;
98	MOR8776; MOR10497の軽鎖
99	MOR8776のポリヌクレオチド軽鎖;
100	重鎖 MOR10579;
101	ポリヌクレオチド重鎖 MOR10579;
102	ポリヌクレオチド軽鎖 MOR10579;
103	重鎖 MOR10497;
104	ポリヌクレオチド重鎖 MOR10497;
105	ポリヌクレオチド軽鎖 MOR10497;
106	MOR13363; MOR13361のH-CDR1
107	MOR13363のH-CDR2
108	MOR13363; MOR13361のH-CDR3
109	MOR13363; MOR13361のL-CDR1
110	MOR13363; MOR13361のL-CDR2
111	MOR13363のL-CDR3
112	MOR13363のVH
113	MOR13363のポリヌクレオチドVH
114	MOR13363のVL
115	MOR13363のポリヌクレオチドVL
116	MOR13363の重鎖
117	MOR13363のポリヌクレオチド重鎖
118	MOR13363の軽鎖
119	MOR13363のポリヌクレオチド軽鎖
120	H-CDR1 MOR13341; MOR13342; MOR13347
121	H-CDR2 MOR13341; MOR13342; MOR13347
122	H-CDR2 MOR13361
123	H-CDR3 MOR13341; MOR13342; MOR13347
124	L-CDR1 MOR13341; MOR13342; MOR13347
125	L-CDR2 MOR13341; MOR13342; MOR13347
126	L-CDR3 MOR13361
127	L-CDR3 MOR13341
128	L-CDR3 MOR13342
129	L-CDR3 MOR13347
130	VH MOR13341; MOR13342; MOR13347
131	ポリヌクレオチドVH MOR13341
132	VL MOR13341
133	ポリヌクレオチドVL MOR13341
134	重鎖 MOR13341; MOR13342; MOR13347
135	ポリヌクレオチド重鎖 MOR13341
136	軽鎖 MOR13341
137	ポリヌクレオチド軽鎖 MOR13341
138	VH MOR13361
139	ポリヌクレオチドVH MOR13361
140	VL MOR13361
141	ポリヌクレオチドVL MOR13361
142	重鎖 MOR13361
143	ポリヌクレオチド重鎖 MOR13361
144	軽鎖 MOR13361
145	ポリヌクレオチド軽鎖 MOR13361

10

20

30

40

146	ポリヌクレオチドVH MOR13342
147	VL MOR13342
148	ポリヌクレオチドVL MOR13342
149	ポリヌクレオチド重鎖 MOR13342
150	軽鎖 MOR13342
151	ポリヌクレオチド軽鎖 MOR13342
152	ポリヌクレオチドVH MOR13347
153	VL MOR13347
154	ポリヌクレオチドVL MOR13347
155	ポリヌクレオチド重鎖 MOR13347
156	軽鎖 MOR13347
157	ポリヌクレオチド軽鎖 MOR13347
158	MOR10222_N30S_M54Iの重鎖
159	MOR10222_N30S_M54Iのポリヌクレオチド重鎖
160	MOR10222_N30S_M54I; MOR10222; MOR10579の軽鎖
161	MOR10222_N30S_M54Iのポリヌクレオチド軽鎖
162	(Chothia) H-CDR1 MOR10497
163	(Chothia) H-CDR2 MOR10497
164	(Chothia) H-CDR3 MOR10497
165	(Chothia) L-CDR1 MOR10497
166	(Chothia) L-CDR2 MOR10497
167	(Chothia) L-CDR3 MOR10497
168	重鎖 MOR10501
169	ポリヌクレオチド重鎖 MOR10501
170	軽鎖 MOR10501
171	ポリヌクレオチド軽鎖 MOR10501
172	重鎖 MOR10502
173	ポリヌクレオチド重鎖 MOR10502
174	軽鎖 MOR10502
175	ポリヌクレオチド軽鎖 MOR10502
176	重鎖 MOR9465
177	ポリヌクレオチド重鎖 MOR9465
178	軽鎖 MOR9465
179	ポリヌクレオチド軽鎖 MOR9465
180	重鎖 MOR9466
181	ポリヌクレオチド重鎖 MOR9466
182	軽鎖 MOR9466
183	ポリヌクレオチド軽鎖 MOR9466
184	(Chothia) H-CDR1 MOR8776
185	(Chothia) H-CDR2 MOR8776
186	(Chothia) H-CDR3 MOR8776
187	(Chothia) L-CDR1 MOR8776
188	(Chothia) L-CDR2 MOR8776
189	(Chothia) L-CDR3 MOR8776
190	(Chothia) H-CDR1 MOR10501
191	(Chothia) H-CDR2 MOR10501
192	(Chothia) H-CDR3 MOR10501
193	(Chothia) L-CDR1 MOR10501
194	(Chothia) L-CDR2 MOR10501
195	(Chothia) L-CDR3 MOR10501
196	H-CDR2 MOR10502
197	(Chothia) H-CDR1 MOR10502

10

20

30

40

198	(Chothia) H-CDR2 MOR10502
199	(Chothia) H-CDR3 MOR10502
200	(Chothia) L-CDR1 MOR10502
201	(Chothia) L-CDR2 MOR10502
202	(Chothia) L-CDR3 MOR10502
203	(Chothia) H-CDR1 MOR8775
204	(Chothia) H-CDR2 MOR8775
205	(Chothia) H-CDR3 MOR8775
206	(Chothia) L-CDR1 MOR8775
207	(Chothia) L-CDR2 MOR8775
208	(Chothia) L-CDR3 MOR8775
209	(Chothia) H-CDR1 MOR9441
210	(Chothia) H-CDR2 MOR9441
211	(Chothia) H-CDR3 MOR9441
212	(Chothia) L-CDR1 MOR9441
213	(Chothia) L-CDR2 MOR9441
214	(Chothia) L-CDR3 MOR9441
215	(Chothia) H-CDR1 MOR9465
216	(Chothia) H-CDR2 MOR9465
217	(Chothia) H-CDR3 MOR9465
218	(Chothia) L-CDR1 MOR9465
219	(Chothia) L-CDR2 MOR9465
220	(Chothia) L-CDR3 MOR9465
221	(Chothia) H-CDR1 MOR9466
222	(Chothia) H-CDR2 MOR9466
223	(Chothia) H-CDR3 MOR9466
224	(Chothia) L-CDR1 MOR9466
225	(Chothia) L-CDR2 MOR9466
226	(Chothia) L-CDR3 MOR9466
227	(Chothia) H-CDR1 MOR10579
228	(Chothia) H-CDR2 MOR10579
229	(Chothia) H-CDR3 MOR10579
230	(Chothia) L-CDR1 MOR10579
231	(Chothia) L-CDR2 MOR10579
232	(Chothia) L-CDR3 MOR10579
233	(Chothia) H-CDR1 MOR10222
234	(Chothia) H-CDR2 MOR10222
235	(Chothia) H-CDR3 MOR10222
236	(Chothia) L-CDR1 MOR10222
237	(Chothia) L-CDR2 MOR10222
238	(Chothia) L-CDR3 MOR10222
239	H-CDR2 MOR10222_N30S_M54I
240	(Chothia) H-CDR1 MOR13341
241	(Chothia) H-CDR2 MOR13341
242	(Chothia) H-CDR3 MOR13341
243	(Chothia) L-CDR1 MOR13341
244	(Chothia) L-CDR2 MOR13341
245	(Chothia) L-CDR3 MOR13341
246	(Chothia) H-CDR1 MOR13342
247	(Chothia) H-CDR2 MOR13342
248	(Chothia) H-CDR3 MOR13342
249	(Chothia) L-CDR1 MOR13342
250	(Chothia) L-CDR2 MOR13342
251	(Chothia) L-CDR3 MOR13342

10

20

30

40

252	(Chothia) H-CDR1 MOR13347
253	(Chothia) H-CDR2 MOR13347
254	(Chothia) H-CDR3 MOR13347
255	(Chothia) L-CDR1 MOR13347
256	(Chothia) L-CDR2 MOR13347
257	(Chothia) L-CDR3 MOR13347
258	(Chothia) H-CDR1 MOR13361
259	(Chothia) H-CDR2 MOR13361
260	(Chothia) H-CDR3 MOR13361
261	(Chothia) L-CDR1 MOR13361
262	(Chothia) L-CDR2 MOR13361
263	(Chothia) L-CDR3 MOR13361

10

【 0 4 9 0 】

配列表

配列番号:1

MAAEPVEDNC I NFVAMKF I DNTLYF I AEDDENLESDYFGKLESKLSV I RNLNDQVLF I DQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPR
T I F I I SMYKDSQPRGMAVT I SVKCEK I STLSCENK I I SFKEMNPPDN I KDTKSD I I FFQRSVPGHDNKMQFESSYEGYF
LACEKERDLFKL I LKKEDELGDRS I MFTVQNE

20

配列番号:2

MAAEPEDNC I NFVAMKP I DSTLYF I AEDDENLESDYFGKLESKLS I RNLNDQVLF I DQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPR
T I F I I NMYKDSQPRGMAVA I SVKCEK I STLSCENR I I SFKEMNPPDN I KDTKSD I I FFQRSVPGHDNKMQFESSYEGYF
LACEKERDLYKL I LKKKDELGDRS I MFTVQNE

配列番号:3

SYAIS

配列番号:4

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

30

配列番号:5

AAYHPLVFDN

配列番号:6

SGSSSN I GNHYVN

配列番号:7

RNNHRPS

40

配列番号:8

QSWDYSGFSTV

配列番号:9

N I I P M T G Q T Y Y A Q K F Q G

配列番号:10

W I N P F Y I G E T F Y A Q K F Q G

配列番号:11

50

NIIPHYGFAYYAQKFQG

配列番号:12

NIIPYSGFAYYAQKFQG

配列番号:13

NIIPITGQTYAQQKFQG

配列番号:14

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFKSYAISWVRQAPGQGLEWMGNIIPMTGQTYAQQKFQGRVTITADESTSTAY
MELSSLRSEDTAVYYCARAAHYHPLVFDNWGQGLTVTVSS

10

配列番号:15

GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCTCTAGCGTGAAAAGTCAGCTGTAAAGCTAGTGGCGG
CACCTTCAAGTCCTACGCTATTAGCTGGGTCAGACAGGCCCCAGGTCAGGGCCTGGAGTGGATGGCAATATTATCCCTA
TGACCGTGCAGACCTACTACGCTCAGAAAATTCAGGGTAGAGTACTATCACCGCCGACGAGTCTACTAGCACCGCCTAT
ATGGAAGTGTCTAGCCTGAGATCAGAGGACACCGCGTCTACTACTGCGCTAGAGCCGCCTATCACCCCTGGTGTTCGA
TAACTGGGGTCAGGGCACCCCTGGTCACCGTGTCTAGC

配列番号:16

DIVLTQPPSVSGAPGQRVTISCSGSSSNIGNHYVNWYQQLPGTAPKLLIYRNNHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQ
SEDEADYYCQSWDYSGFSTVFGGGTKLTVL

20

配列番号:17

GATATCGTCCTGACTCAGCCCCCTAGCGTCAGCGGCGCTCCCGGTGAGAGAGTACTATTAGCTGTAGCGGCTCTAGCTC
TAATATCGTAATCACTACGTGAACTGGTATCAGCAGCTGCCCGGCACCGCCCCTAAGCTGCTGATCTATAGAAACAATC
ACCGCCTAGCGGCGTGCCCGATAGGTTTAGCGGATCTAAGTCAGGCACTAGCGCTAGTCTGGCTATCACCGGACTGCAG
TCAGAGGACGAGGCCGACTACTACTGTGAGTCCCTGGGACTATAGCGGCTTTAGCACCGTGTTTCGGCGGAGGCACTAAGCT
GACCGTGCTG

30

配列番号:18

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYASWVRQAPGQGLEWMGNIIPITGQTYAQQKFQGRVTITADESTSTAY
MELSSLRSEDTAVYYCARAAHYHPLVFDNWGQGLTVTVSS

配列番号:19

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCTCTAGCGTGAAAAGTCAGCTGTAAAGCTAGTGGCGG
CACCTTCTAGCTACGCTATTAGCTGGGTCAGACAGGCCCCAGGTCAGGGCCTGGAGTGGATGGCAATATTATCCCTA
TCACCGTGCAGACCTACTACGCTCAGAAAATTCAGGGTAGAGTACTATCACCGCCGACGAGTCTACTAGCACCGCCTAT
ATGGAAGTGTCTAGCCTGAGATCAGAGGACACCGCGTCTACTACTGCGCTAGAGCCGCCTATCACCCCTGGTGTTCGA
TAACTGGGGTCAGGGCACCCCTGGTCACCGTGTCTAGC

40

配列番号:20

QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGNHYVNWYQQLPGTAPKLLIYRNNHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQ
SEDEADYYCQSWDYSGFSTVFGGGTKLTVL

配列番号:21

CAGTCAGTCCTGACTCAGCCCCCTAGCGCTAGTGGCACCCCTGGTCAGAGAGTACTATTAGCTGTAGCGGCTCTAGCTC
TAATATCGTAATCACTACGTGAACTGGTATCAGCAGCTGCCCGGCACCGCCCCTAAGCTGCTGATCTATAGAAACAATC
ACCGCCTAGCGGCGTGCCCGATAGGTTTAGCGGATCTAAGTCAGGGACTAGCGCTAGTCTGGCTATTAGCGGCTGCAG
TCAGAGGACGAGGCCGACTACTACTGTGAGTCCCTGGGACTATAGCGGCTTTAGCACCGTGTTTCGGCGGAGGCACTAAGCT

50

GACCGTGCTG

配列番号:22

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFNSYA I SWVRQAPGQGLEWMGG I I P I YGTANYAQKFQGRVT I TADESTSTAY
MELSSLRSEDTAVYYCARAAHYHPLVFDNWGQGLTVTVSS

配列番号:23

CAGGTGCAATTGGTTCAGTCTGGCGCGGAAGTGAAAAACCGGGCAGCAGCGTGAAAAGTGAGCTGCAAAGCCTCCGGAGG
CACTTTTAATTCTTATGCTATTTCTTGGGTGCGCCAAGCCCCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCGGTATCATTCCGA
TTTATGGCACTGCGAATTACGCGCAGAAGTTTCAGGGCCGGGTGACCATTACCGCGGATGAAAGCACCAGCACCAGCGTAT
ATGGAAGTACTGAGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGCTGCTTATCATCCTCTTGTGTTTTGA
TAATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCA

10

配列番号:24

GATATCGTGCTGACCCAGCCGCTTCAGTGAGTGGCGCACCCAGGTCAGCGTGTGACCATCTCGTGTAGCGGCAGCAGCAG
CAACATTGGTAATCATTATGTGAATTGGTACCAGCAGTTGCCCGGGACGGCGCGGAAACTTCTGATTTATCGTAATAATC
ATCGTCCCTCAGGCGTGCCGGATCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCACCAGCGCGAGCCTTGCATTACGGGCGCTGCAA
AGCGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCCAGTCTTGGGATTATTCTGGTTTTTCTACTGTGTTTTGGCGGCGGCACGAAGTT
AACCGTCCTA

20

配列番号:25

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFNSYA I SWVRQAPGQGLEWMGW I NPFY I GETFYAQKFQGRVT I TADESTSTA
YMELSSLRSEDTAVYYCARAAHYHPLVFDNWGQGLTVTVSS

配列番号:26

GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGCTCCTCCGTCAAGGTGTCTCTGCAAGGCCTCCGGCGG
CACCTTCAACTCCTACGCTATCTCTTGGGTGCGCCAGGCTCCCGGACAGGGCCTGGAGTGGATGGGCTGGATCAACCCTT
TCTACATCGGGGAGACATTCTACGCCAGAAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATCACCGCCGACGAGTCCACCTCCACCGCC
TACATGGAGCTGTCTCCCTGCGGTCAGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGCCGCTACCACCTCTGGTGTT
CGACAACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGTGTCTCTCC

30

配列番号:27

GATATCGTGCTGACCCAGCCTCCTTCTGTGTCTGGCGCCCCTGGCCAGAGAGTGACCATCTCCTGCTCTGGCTCCTCCTC
CAATATCGGAACCACTACGTGAACTGGTATCAGCAGCTGCCCGGAACCGCCCCTAAGCTGCTGATCTACCGGAACAACC
ACCGGCCTTCCGGCGTGCCCGACCGGTTCTCCGGCTCCAAGTCTGGCACCTCTGCCTCCCTGGCCATCACCGGCCTGCAG
TCCGAGGACGAGGCCGACTACTACTGCCAGTCTGGGACTACTCCGGCTTCTCAACCGTGTTCGGCGGAGGCACCAAGCT
GACCGTGCTG

配列番号:28

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFNSYA I SWVRQAPGQGLEWMGN I I PMTGQTYAQKFQGRVT I TADESTSTAY
MELSSLRSEDTAVYYCARAAHYHPLVFDNWGQGLTVTVSS

40

配列番号:29

GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGCTCCTCCGTCAAGGTGTCTCTGCAAGGCCTCCGGCGG
CACCTTCAACTCCTACGCTATCTCTTGGGTGCGCCAGGCTCCCGGACAGGGCCTGGAGTGGATGGGCAACATCATCCCTA
TGACCGGCCAGACCTACTACGCCAGAAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATCACCGCCGACGAGTCCACCTCCACCGCCTAC
ATGGAGCTGTCTCCCTGCGGTCAGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGCCGCTACCACCTCTGGTGTTTCGA
CAACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGTGTCTCTCC

配列番号:30

50

GACATCGTGCTGACACAGCCTCCCTCTGTGTCTGGCGCCCTGGCCAGAGAGTGACCATCTCCTGCTCTGGCTCCTCCTC
CAATATCGGCAACCACTACGTGAACTGGTATCAGCAGCTGCCCGGAACCGCCCTAAGCTGCTGATCTACCGGAACAACC
ACCGGCTTCCGGCGTGCCCGACCGTTCTCCGGCTCCAAGTCTGGCACCTCTGCCTCCCTGGCCATCACCGGCCTGCAG
TCAGAGGACGAGGCCGACTACTACTGCCAGTCTGGGACTACTCCGGCTTCTCCACCGTGTTTCGGCGGAGGCACCAAGCT
GACCGTGCTG

配列番号:31

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFNSYA I SWVRQAPGQGLEWMGN I I PHYGFAYYAQKFQGRVT I TADESTSTAY
MELSSLRSEDTAVYYCARAAHYHPLVFDNWGQGLTVTVSS

10

配列番号:32

GAGGTGCAATTGGTTCAGTCTGGCGCGGAAGTGAAAAACCGGGCAGCAGCGTGAAAAGTGAGCTGCAAAGCCTCCGGAGG
CACTTTTAATTCTTATGCTATTTCTTGGGTGCGCCAAGCCCCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCAATATTATTCCTC
ATTATGGTTTTGCTTATTATGCTCAGAAGTTTCAGGGTCGGGTGACCATTACCGCGGATGAAAAGCACCAGCACCGCGTAT
ATGGAAGTGAAGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACGGCCGTGATTATTGCGCGCGTGCTGCTTATCATCCTCTTGTTTTTGA
TAATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCA

配列番号:33

GATATCGTGCTGACCCAGCCGCTTCAGTGAGTGGCGCACCCAGGTGAGCGTGTGACCATCTCGTGTAGCGGCAGCAGCAG
CAACATTGGTAATCATTATGTGAATTGGTACCAGCAGTTGCCCGGGACGGCGCCGAAACTTCTGATTTATCGTAATAATC
ATCGTCCCTCAGGCGTGCCGGATCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCACCAGCGCGAGCCTTTCGATTACGGGCCTGCAA
AGCGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCCAGTCTTGGGATTATTCTGGTTTTTCTACTGTGTTTTGGCGGCGGCACGAAGTT
AACCGTCCTA

20

配列番号:34

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFNSYA I SWVRQAPGQGLEWMGN I I PYSGFAYYAQKFQGRVT I TADESTSTAY
MELSSLRSEDTAVYYCARAAHYHPLVFDNWGQGLTVTVSS

配列番号:35

GAGGTGCAATTGGTTCAGTCTGGCGCGGAAGTGAAAAACCGGGCAGCAGCGTGAAAAGTGAGCTGCAAAGCCTCCGGAGG
CACTTTTAATTCTTATGCTATTTCTTGGGTGCGCCAAGCCCCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCAATATTATTCCTT
ATTCTGGTTTTGCTTATTATGCTCAGAAGTTTCAGGGTCGGGTGACCATTACCGCGGATGAAAAGCACCAGCACCGCGTAT
ATGGAAGTGAAGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACGGCCGTGATTATTGCGCGCGTGCTGCTTATCATCCTCTTGTTTTTGA
TAATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCA

30

配列番号:36

GATATCGTGCTGACCCAGCCGCTTCAGTGAGTGGCGCACCCAGGTGAGCGTGTGACCATCTCGTGTAGCGGCAGCAGCAG
CAACATTGGTAATCATTATGTGAATTGGTACCAGCAGTTGCCCGGGACGGCGCCGAAACTTCTGATTTATCGTAATAATC
ATCGTCCCTCAGGCGTGCCGGATCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCACCAGCGCGAGCCTTTCGATTACGGGCCTGCAA
AGCGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCCAGTCTTGGGATTATTCTGGTTTTTCTACTGTGTTTTGGCGGCGGCACGAAGTT
AACCGTCCTA

40

配列番号:37

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFNSYA I SWVRQAPGQGLEWMGN I I NPFY I GETFYAQKFQGRVT I TADESTSTA
YMELSSLRSEDTAVYYCARAAHYHPLVFDNWGQGLTVTVSS

配列番号:38

GAGGTGCAAGTGGTGCAGTCTGGCGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGCTCCTCCGTCAAGGTGTCCTGCAAGGCCTCCGGCGG
CACCTTCAACTCCTACGCTATCTCTTGGGTGCGCCAGGCTCCCGGACAGGGCCTGGAGTGGATGGGCTGGATCAACCCTT
TCTACATCGGCGAGACATTCTACGCCAGAAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATCACCGCCGACGAGTCCACCTCCACCGCC

50

TACATGGAGCTGTCCCTCCCTGCGGTCAGAGGACACCGCCGTGTACTIONGCGCCAGGGCCGCTACCACCTCTGGTGTT
CGACAACCTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGTGTCCCTCC

配列番号: 39

CAGTCCGTGCTGACCCAGCCTCCTTCTGCCTCTGGCACCCCTGGCCAGAGAGTGACCATCTCCTGCTCTGGCTCCTCCTC
CAATATCGGCAACCACTACGTGAACTGGTATCAGCAGCTGCCCGGAACCGCCCTAAGCTGCTGATCTACCGGAACAACC
ACCGGCCTTCCGGCGTGCCCGACCGTTCTCCGGCTCCAAGTCTGGCACCTCCGCCTCCCTGGCCATCTCTGGCTGCAG
TCAGAGGACGAGGCCGACTACTACTGCCAGTCTGGGACTACTCCGGCTTCTCCACCGTGTTCGGCGGAGGCACCAAGCT
GACCGTGCTG

10

配列番号: 40

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFNSYA I SWVRQAPGQGLEWMGN I I PMTGQTYAQQFKQGRVT I TADESTSTAY
MELSSLRSEDTAVYYCARAAHYHPLVFDNWGQGLTVTVSS

配列番号: 41

GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCTGGCTCCTCCGTCAAGGTGTCTGCAAGGCCTCCGGCGG
CACCTTCAACTCCTACGCCATCTCTGGGTGCGCCAGGCTCCTGGACAGGGCCTGGAGTGGATGGGCAACATCATCCCTA
TGACCGGCCAGACCTACTACGCCAGAAAGTTCAGGGCAGAGTACCATCACCGCCGACGAGTCCACCTCCACCGCCTAC
ATGGAGCTGTCTCCCTGCGGTGAGAGGACACCGCGTGTACTACTGCGCCAGGGCCGCTACCACCTCTGGTGTTCGA
CAACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGTGTCCCTCC

20

配列番号: 42

CAGTCCGTGCTGACCCAGCCTCCTTCTGCCTCTGGCACCCCTGGCCAGAGAGTGACCATCTCCTGCTCTGGCTCCTCCTC
CAATATCGGCAACCACTACGTGAACTGGTATCAGCAGCTGCCCGGAACCGCCCTAAGCTGCTGATCTACCGGAACAACC
ACCGGCCTTCCGGCGTGCCCGACCGTTCTCCGGCTCCAAGTCTGGCACCTCCGCCTCCCTGGCCATCTCTGGCTGCAG
TCAGAGGACGAGGCCGACTACTACTGCCAGTCTGGGACTACTCCGGCTTCTCCACCGTGTTCGGCGGAGGCACCAAGCT
GACCGTGCTG

配列番号: 43

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFKSYA I SWVRQAPGQGLEWMGN I I PMTGQTYAQQFKQGRVT I TADESTSTAY
MELSSLRSEDTAVYYCARAAHYHPLVFDNWGQGLTVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW
NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTY I CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKHTHTCPPCPAPEAAGGP
SVFLFPPKPKDTLM I SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAP I EKT I SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD I AVEWESNGQPENNYKTTTPVL
DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

30

配列番号: 44

GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCTCTAGCGTGAAAGTCAGCTGTAAAGCTAGTGGCGG
CACCTTCAAGTCCCTACGCTATTAGCTGGGTGAGACAGGCCCCAGGTCAGGGCCTGGAGTGGATGGGCAATATTATCCCTA
TGACCGGTGACACCTACTACGCTCAGAAATTTAGGGTAGAGTACTATCACCGCCGACGAGTCTACTAGCACCGCCTAT
ATGGAAGTGTCTAGCCTGAGATCAGAGGACACCGCGTCTACTACTGCGCTAGAGCCGCTATCACCCCTGGTGTTCGA
TAACTGGGGTCAGGGCACCCCTGGTCACCGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCCCTTCCA
GCAAGTCTACCTCCGGCGGCACAGTGTCTCTGGGTGCTGGTCAAGGACTACTTCCCTGAGCCTGTGACAGTGTCTGG
AACTCTGGCGCCCTGACCTCTGGCGTGCACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTCTCCGGCCTGTACTIONTCCCTGTCTCCGT
GGTACAGTGCCTTCAAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTATATCTGCAACGTGAACCACAAGCCTTCCAACACCAAGGTGG
ACAAGCGGGTGGAGCCTAAGTCTGCGACAAGACCCACACCTGTCTCCCTGCCCTGCTCCTGAAGCTGCTGGCGGCCCT
TCTGTGTTCCCTGTTCCCTCCAAGCCCAAGGACACCCGTATGATCTCCCGGACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGG
CGTGTCCCACGAGGATCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTC
GGGAGGAACAGTACAACCTCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGACACAGGACTGGCTGAACGGCAAGAG
TACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCTATCGAAAAGACAATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTAGGGA

40

50

ACCCAGGTGTACACCTGCCACCCAGCCGGGAGGAAATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGCT
TCTACCCTTCCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGTCTAACGGCCAGCCTGAGAACAACACTACAAGACCACCCCTCCTGTGCTG
GACTCCGACGGCTCCTTCTTCTGACTCCAAACTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTG
CTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAAG

配列番号:45

DIVLTQPPSVSGAPGQRVT | SCSGSSSN | GNHYVNWYQQLPGTAPKLL | YRNNHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLA | TGLQ
SEDEADYYCQSWDYSGFSTVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCL | SDFYPGAVTVAWKADSSPVK
AGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRYSQVTHEGSTVEKTVAPTECS

10

配列番号:46

GATATCGTCCTGACTCAGCCCCCTAGCGTCAGCGGCGCTCCCGGTCAGAGAGTACTATTAGCTGTAGCGGCTCTAGCTC
TAATATCGGTAATCACTACGTGAACCTGGTATCAGCAGCTGCCCGGCACCGCCCCTAAGCTGCTGATCTATAGAAAACAATC
ACCGGCCTAGCGGCGTCCCGATAGGTTTAGCGGATCTAAGTCAGGCACTAGCGCTAGTCTGGCTATCACCGGACTGCAG
TCAGAGGACGAGGCCGACTACTACTGTCACTCTGGGACTATAGCGGCTTTAGCACCGTGTTCGGCGGAGGCACTAAGCT
GACCGTGTGGGTCAGCCTAAGGCTGCCCCAGCGTGACCCGTGTTCCCCCAGCAGCGAGGAGCTGCAGGCCAACAAAGG
CCACCCTGGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTACCCAGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGACAGCAGCCCCGTGAAG
GCCGCGTGGAGACCACCACCCCGAGCAAGCAGAGCAACAACAAGTACGCCGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCCCCGA
GCAGTGAAGAGCCACAGTCTACAGCTGCCAGGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAAAAGACCGTGGCCCCAACCG
AGTGCAGC

20

配列番号:47

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV|SCKASGGTFNSYA | SWVRQAPGQGLEWMGN | | PMTGQTYAQQKFQGRVT | TADESTSTAY
MELSSLRSEDTAVYYCARAAHYHPLVFDNWGQGLTVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW
NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV|VTPSSSLGTQTY | CNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGP
SVFLFPPKPKDTLM | SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAP | EKT | SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD | AVEWESNGQPENNYKTTTPV
DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV|FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

配列番号:48

GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGCTCCTCCGTCAAGGTGTCCCTGCAAGGCCTCCGGCGG
CACCTTCAACTCCTACGCTATCTCTTGGGTGCGCCAGGCTCCCGGACAGGGCCTGGAGTGGATGGCAACATCATCCCTA
TGACCGGCCAGACCTACTACGCCAGAAGTTCAGGGCAGAGTCAACCATCACCGCCGACGAGTCCACCTCCACCGCCTAC
ATGGAGCTGTCTCCCTGCGGTGAGGACACCGCGTACTACTGCGCCAGGGCCGCTACCACCTCTGGTGTTCGA
CAACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGTGTCTCCGCTAGCACCAAGGGCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCCCTTCCA
GCAAGTCTACCTCCGGCGGCACAGCTGCTCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCTGAGCCTGTGACAGTGTCTGG
AACTCTGGCGCCCTGACCTCTGGCGTGACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCTCCGT
GGTCACAGTGCCTTCAAGCAGCTGGGCACCCAGACCTATATCTGCAACGTGAACCACAAGCCTTCCAACACCAAGGTGG
ACAAGCGGGTGGAGCCTAAGTCTGCGACAAGACCCACACCTGTCTCCCTGCCCTGCTCCTGAAGCTGCTGGCGGCCCT
TCTGTGTTCCCTGTTCCCTCCAAAGCCCAAGGACACCCCTGATGATCTCCCGACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGA
CGTGTCCACGAGGATCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTC
GGGAGGAACAGTACAACCTCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGACACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAG
TACAAGTGCAAAGTCTCAACAAGGCCCTGCCTGCCCTATCGAAAAGACAATCTCAAGGCCAAGGGCCAGCCTAGGGA
ACCCAGGTGTACACCTGCCACCCAGCCGGGAGGAAATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGCT
TCTACCCTTCCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGTCTAACGGCCAGCCTGAGAACAACACTACAAGACCACCCCTCCTGTGCTG
GACTCCGACGGCTCCTTCTTCTGACTCCAAACTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTG
CTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAAG

30

40

配列番号:49

GACATCGTGCTGACACAGCCTCCCTCTGTGTCTGGCGCCCTGGCCAGAGAGTGACCATCTCCTGCTCTGGCTCCTCCTC

50

CAATATCGGCAACCACTACGTGAACTGGTATCAGCAGCTGCCCGGAACCGCCCCTAAGCTGCTGATCTACCGGAACAACC
 ACCGGCCTTCCGGCGTGCCCGACCGGTTCTCCGGCTCCAAGTCTGGCACCTCTGCCTCCCTGGCCATCACCGGCCTGCAG
 TCAGAGGACGAGGCCGACTACTACTGCCAGTCTGGGACTACTCCGGCTTCTCCACCGTGTTCGGCGGAGGCACCAAGCT
 GACCGTGCTGGGACAGCCTAAGGCTGCCCCAGCGTGACCCGTGTTCCCCCAGCAGCGAGGAGCTGCAGGCCAACAAGG
 CCACCCTGGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTACCCAGGCGCCGTGACCGTGCCCTGGAAGGCCGACAGCAGCCCCGTGAAG
 GCCGGCGTGGAGACCACCACCCCCAGCAAGCAGAGCAACAACAAGTACGCCGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCCCCGA
 GCAGTGGAAGAGCCACAGGTCTACAGCTGCCAGGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGAAAAAGACCGTGCCCCAACCG
 AGTGCAGC

配列番号:50

10

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV/SCKASGGTFNFSYA I SWVRQAPGQGLEWMGW I NPFY I GETFYAQKFQGRVT I TADESTSTA
 YMELSSLRSEDTAVYYCARAAHYHPLVFDNWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS
 WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV/PPSSSLGTQTY I CNV/NHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGG
 PSVFLFPPKPKDTLM I SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK
 EYKCKVSNKALPAP I EKT I SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD I AVEWESNGQPENNYKTTTPPV
 LDSDGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV/FSCSV/MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

配列番号:51

20

GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGCTCCTCCGTCAAGGTGTCTGCAAGGCCTCCGGCGG
 CACCTTCAACTCCTACGCTATCTCTGGGTGCGCCAGGCTCCCGGACAGGGCCTGGAGTGGATGGCTGGATCAACCCTT
 TCTACATCGGGGAGACATTCTACGCCAGAAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATCACCGCCGACGAGTCCACCTCCACCGCC
 TACATGGAGCTGTCTCCCTGCGGTGAGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGCCGCTACCACCTCTGGTGT
 CGACAACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGTGTCTCCGCTAGCACCAAGGGCCCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCCCCCT
 CCAGCAAGTCTACCTCCGGCGGCACAGCTGCTCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCTGAGCCTGTGACAGTGTCC
 TGAACTCTGGCGCCCTGACCTCTGGCGTGCACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCTCTC
 CGTGGTACAGTGCCTTCAAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTATATCTGCAACGTGAACCACAAGCCTTCCAACACCAAGG
 TGGACAAGCGGGTGGAGCCTAAGTCCCTGCGACAAGACCCACACCTGTCTCCCTGCCCTGCTCCTGAAGCTGCTGGCGGC
 CCTTCTGTGTTCCCTGTTCCCTCCAAAGCCAAAGGACACCCCTGATGATCTCCCGGACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGT
 GGACGTGTCCCACGAGGATCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGC
 CTCGGGAGGAACAGTACAACCTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGACCCAGGACTGGCTGAACGGCAAA
 GAGTACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCTATCGAAAAGACAATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTAG
 GGAACCCAGGTGTACACCCTGCCACCCAGCCGGGAGGAAATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGG
 GCTTCTACCCTTCCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGTCTAACGGCCAGCCTGAGAACAACACTACAAGACCACCCCTCCTGTG
 CTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTGACTCCAAACTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTC
 CTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAAGTCCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAAG

30

配列番号:52

40

GATATCGTGCTGACCCAGCCTCCTTCTGTGTCTGGCGCCCTGGCCAGAGAGTGACCATCTCCTGCTCTGGCTCCTCCTC
 CAATATCGGCAACCACTACGTGAACTGGTATCAGCAGCTGCCCGGAACCGCCCCTAAGCTGCTGATCTACCGGAACAACC
 ACCGGCCTTCCGGCGTGCCCGACCGGTTCTCCGGCTCCAAGTCTGGCACCTCTGCCTCCCTGGCCATCACCGGCCTGCAG
 TCCGAGGACGAGGCCGACTACTACTGCCAGTCTGGGACTACTCCGGCTTCTCAACCGTGTTCGGCGGAGGCACCAAGCT
 GACCGTGCTGGGACAGCCTAAGGCTGCCCCAGCGTGACCCGTGTTCCCCCAGCAGCGAGGAGCTGCAGGCCAACAAGG
 CCACCCTGGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTACCCAGGCGCCGTGACCGTGCCCTGGAAGGCCGACAGCAGCCCCGTGAAG
 GCCGGCGTGGAGACCACCACCCCCAGCAAGCAGAGCAACAACAAGTACGCCGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCCCCGA
 GCAGTGGAAGAGCCACAGGTCTACAGCTGCCAGGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGAAAAAGACCGTGCCCCAACCG
 AGTGCAGC

配列番号:53

50

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV/SCKASGGTFNFSYA I SWVRQAPGQGLEWMGN I I PMTGQTYAQKFQGRVT I TADESTSTAY
 MELSSLRSEDTAVYYCARAAHYHPLVFDNWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW

NSGALTSVHTFFPAVLQSSGLYSLSSV/TVPSSSLGTQTY | CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGP
SVFLFPPKPKDTLM | SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAP | EKT | SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD | AVEWESNGQPENNYKTTTPVL
DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

配列番号:54

GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCTGGCTCCTCCGTCAAGGTGTCTGCAAGGCCTCCGGCGG
CACCTTCAACTCCTACGCCATCTCTTGGGTGCGCCAGGCTCCTGGACAGGGCCTGGAGTGGATGGGCAACATCATCCCTA
TGACCGGCCAGACCTACTACGCCAGAAAGTTCCAGGGCAGAGTACCATCACCGCCGACGAGTCCACCTCCACCGCCTAC
ATGGAGCTGTCTCCCTGCGGTGAGAGGACACCGCGTGTACTACTGCGCCAGGGCCGCTACCACCTCTGGTGTTCGA
CAACTGGGGCCAGGGCACCTGGTGACCGTGTCTCCGTAGCACCAAGGGCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCCCTTCCA
GCAAGTCTACCTCCGGCGGCACAGCTGCTCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCTGAGCCTGTGACAGTGTCTGG
AACTCTGGCGCCCTGACCTCTGGCGTGACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCTCCGT
GGTACAGTGCCTTCAAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTATATCTGCAACGTGAACCACAAGCCTTCCAACACCAAGGTGG
ACAAGCGGGTGGAGCCTAAGTCTGCGACAAGACCCACACCTGTCTCCCTGCCCTGCTCTGAAGCTGCTGGCGGCCCT
TCTGTGTTCCCTGTTCCCTCAAAGCCCAAGGACACCTGATGATCTCCCGACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGA
CGTGTCCACGAGGATCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTC
GGGAGGAACAGTACAACCTACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGACACAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAG
TACAAGTGCAAAGTCTCAAACAAGGCCCTGCCTGCCCTATCGAAAAGACAATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTAGGGA
ACCCAGGTGTACACCTGCCACCCAGCCGGGAGGAAATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGCT
TCTACCCTTCCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGTCTAACGGCCAGCCTGAGAACAACCTACAAGACCACCCCTCCTGTGCTG
GACTCCGACGGCTCCTTCTTCCCTGTACTCCAAACTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTG
CTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAAG

10

20

配列番号:55

CAGTCCGTGCTGACCCAGCCTCCTTCTGCCTCTGGCACCCCTGGCCAGAGAGTGACCATCTCCTGCTCTGGCTCCTCCTC
CAATATCGGCAACCACTACGTGAACTGGTATCAGCAGCTGCCCGGAACCGCCCTAAGCTGCTGATCTACCGGAACAACC
ACCGGCCTTCCGGCGTGCCCGACCGGTTCTCCGGCTCCAAGTCTGGCACCTCCGCCTCCCTGGCCATCTCTGGCCTGCAG
TCAGAGGACGAGGCCACTACTACTGCCAGTCTGGGACTACTCCGGCTTCTCCACCGTGTTCGGCGGAGGCACCAAGCT
GACCGTGTGGGACAGCCTAAGGCTGCCCCAGCGTGACCTGTTCCCCCAGCAGCGAGGAGCTGCAGGCCAACAAGG
CCACCCTGGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTACCCAGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGACAGCAGCCCCGTGAAG
GCCGGCTGGAGACCACCACCCCCAGCAAGCAGAGCAACAACAAGTACGCCGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCCCCGA
GCAGTGAAGAGCCACAGTCTACAGCTGCCAGGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAAAAGACCGTGGCCCCAACCG
AGTGCAGC

30

配列番号:56

QVQLVQSGAEVKKPGSSVK/SCKASGGTFNSYA | SWVRQAPGQGLEWMGG | I P | YGTANYAQKFQGRVT | TADESTSTAY
MELSSLRSEDTAVYYCARAAHYHPLVFDNWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW
NSGALTSVHTFFPAVLQSSGLYSLSSV/TVPSSSLGTQTY | CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP
SVFLFPPKPKDTLM | SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAP | EKT | SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD | AVEWESNGQPENNYKTTTPVL
DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

40

配列番号:57

CAGGTGCAATTGGTTCAGTCTGGCGCGGAAGTGAAAAACCGGCAGCAGCGTGAAAGTGAGCTGCAAAGCCTCCGGAGG
CACTTTTAATTCTTATGCTATTTCTTGGGTGCGCCAAGCCCCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCGGTATCATTCCGA
TTTATGGCACTGCGAATTACGCGCAGAAGTTTCAGGGCCGGGTGACCATTACCGCGGATGAAAGCACCAGCACCAGCGTAT
ATGGAAGTGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACGGCCGTGATTATTGCGCGCGTGTCTTATCATCCTCTTGTTTTTGA
TAATTGGGGCCAAAGCACCTGGTGACGGTTAGCTCAGCCTCCACCAAGGGTCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCCT
CCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGG

50

AACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGT
 GGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGG
 ACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCACAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCG
 TCAGTCTTCCTCTTCCCCCAAACCCAAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACACATGCGTGGTGGTGA
 CGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGC
 GGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAG
 TACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGA
 ACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCT
 TCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTG
 GACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATG
 CTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA

10

配列番号:58

GATATCGTGCTGACCCAGCCGCCTTCAGTGAGTGGCGCACCCAGGTGACCGTGTGACCATCTCGTGTAGCGGCAGCAGCAG
 CAACATTGGTAATCATTATGTGAATTGGTACCAGCAGTTGCCCGGACGGCGCCGAAACTTCTGATTTATCGTAATAATC
 ATCGTCCCTCAGGCGTGCCGGATCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCACCAGCGCGAGCCTTGCGATTACGGGCCTGCAA
 AGCGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCCAGTCTTGGGATTATTCTGGTTTTTCTACTGTGTTTGGCGGCGGCACGAAGTT
 AACCGTCTAGGTGACCCCAAGGCTGCCCCCTCGGTCACTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTCAAGCCAACAAGG
 CCACACTGGTGTGTCTCATAAGTGACTTCTACCCGGGAGCCGTGACAGTGGCCTGGAAGGCAGATAGCAGCCCCGTCAAG
 GCGGGAGTGGAGACCACCACACCCTCCAAACAAAGCAACAACAAGTACGCGCCAGCAGCTATCTGAGCCTGACGCCTGA
 GCAGTGAAGTCCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTACGCATGAAGGGAGCACCGTGGAGAAGACAGTGGCCCCCTACAG
 AATGTTCA

20

配列番号:59

GGTFNSY

配列番号:60

IPMTGQ

配列番号:61

AAYHPLVFDN

30

配列番号:62

SSSNIGNHY

配列番号:63

RNN

配列番号:64

WDYSGFST

40

配列番号:65

GGTFKSY

配列番号:66

GGTFSSY

配列番号:67

IPITGQ

50

配列番号:68
GFTFSSY

配列番号:69
SGEGSN

配列番号:70
VMIGYGFYD

配列番号:71
SQSIFNY

10

配列番号:72
DSS

配列番号:73
YSGFLF

配列番号:74
TGSYYWN

20

配列番号:75
EINHMGITYYNPSLKG

配列番号:76
EIHWSGPTFYNPSLKS

配列番号:77
EIHGHGFTFYNPSLKS

30

配列番号:78
EIQSPGYTFYNSLKS

配列番号:79
TTRYWMSHILAYGMDY

配列番号:80
SGSSNIGNHYVS

配列番号:81
ANTKRPS

40

配列番号:82
SSYDGSQSIV

配列番号:83
QVQLQESGPGLVKPGETLSLTCTVSGGSISTGSYYWNWIRQAPGKGLEWIGEINHMGITYYNPSLKGRVTISVDTSKNQF
SLKLSVTAEDTAVYYCARTTRYWMSHILAYGMDYWGGTGLVTVSS

配列番号:84

50

CAGGTGCAATTGCAAGAAAAGTGGTCCGGGCCTGGTGAAAACCGGGCGAAAACCTGAGCCTGACCTGCACCGTTTCCGGAGG
TAGCATTCTACTGGTTCTTATTATTGGAATTGGATTGCGCCAGGCCCTGGGAAGGGTCTCGAGTGGATTGGCGAGATCA
ATCATATGGGCATTACCTATTATAATCCGAGCCTGAAAAGCCGGGTGACCATTAGCGTTGATACTTCGAAAAACCAGTTT
AGCCTGAAACTGAGCAGCGTGACGGCGGAAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTACTACTCGTTATTGGATGTCTCA
TATTCTTGCTTATGGTATGGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCA

配列番号:85

DIVLTQPPSVSGAPGQRVTISCSGSSSNIGNHYVSWYQQLPGTAPKLLIYANTKRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAI TGLQ
SEDEADYYCSSYDGSQSIVFGGGTKLTVL

10

配列番号:86

GATATCGTGCTGACCCAGCCGCTTCAGTGAGTGGCGCACCCAGGTCAGCGTGTGACCATCTCGTGTAGCGGCAGCAGCAG
CAACATTGGTAATCATTATGTGTCTTGGTACCAGCAGTTGCCCGGGACGGCGCCGAAACTTCTGATTTATGCTAATACTA
AGCGTCCCTCAGGCGTGCCGGATCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCACCAGCGCGAGCCTTTCGATTACGGGCCTGCAA
AGCGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCTCTTCTTATGATGGTTCTCAGTCTATTGTGTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAAC
CGTCCTA

配列番号:87

EVQLQESGPGLVKPGETLSLTCTVSGGSISTGSYYWNWIRQAPGKGLEWIGEIQSPGYTFYNPSLKSRVTISVDTSKNQF
SLKLSSVTAADTAVYYCARTTRYWMSHILAYGMDYWGQGLVTVSS

20

配列番号:88

GAGGTGCAATTGCAAGAAAAGTGGTCCGGGCCTGGTGAAAACCGGGCGAAAACCTGAGCCTGACCTGCACCGTTTCCGGAGG
TAGCATTCTACTGGTTCTTATTATTGGAATTGGATTGCGCCAGGCCCTGGGAAGGGTCTCGAGTGGATTGGCGAGATTC
AGTCTCCTGGTTATACTTTTTATAATCCTTCTCTTAAGTCTCGGGTGACCATTAGCGTTGATACTTCGAAAAACCAGTTT
AGCCTGAAACTGAGCAGCGTGACGGCGGCGGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTACTACTCGTTATTGGATGTCTCA
TATTCTTGCTTATGGTATGGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCA

配列番号:89

GATATCGTGCTGACCCAGCCGCTTCAGTGAGTGGCGCACCCAGGTCAGCGTGTGACCATCTCGTGTAGCGGCAGCAGCAG
CAACATTGGTAATCATTATGTGTCTTGGTACCAGCAGTTGCCCGGGACGGCGCCGAAACTTCTGATTTATGCTAATACTA
AGCGTCCCTCAGGCGTGCCGGATCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCACCAGCGCGAGCCTTTCGATTACGGGCCTGCAA
AGCGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCTCTTCTTATGATGGTTCTCAGTCTATTGTGTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAAC
CGTCCTA

30

配列番号:90

EVQLQESGPGLVKPGETLSLTCTVSGGSISTGSYYWNWIRQAPGKGLEWIGELWHSGPFTFYNPSLKSRVTISVDTSKNQF
SLKLSSVTAADTAVYYCARTTRYWMSHILAYGMDYWGQGLVTVSS

配列番号:91

GAGGTGCAATTGCAAGAAAAGTGGTCCGGGCCTGGTGAAAACCGGGCGAAAACCTGAGCCTGACCTGCACCGTTTCCGGAGG
TAGCATTCTACTGGTTCTTATTATTGGAATTGGATTGCGCCAGGCCCTGGGAAGGGTCTCGAGTGGATTGGCGAGATTT
GGCATTCTGGTCTACTTTTTATAATCCTTCTCTTAAGTCTCGGGTGACCATTAGCGTTGATACTTCGAAAAACCAGTTT
AGCCTGAAACTGAGCAGCGTGACGGCGGCGGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTACTACTCGTTATTGGATGTCTCA
TATTCTTGCTTATGGTATGGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCA

40

配列番号:92

GATATCGTGCTGACCCAGCCGCTTCAGTGAGTGGCGCACCCAGGTCAGCGTGTGACCATCTCGTGTAGCGGCAGCAGCAG
CAACATTGGTAATCATTATGTGTCTTGGTACCAGCAGTTGCCCGGGACGGCGCCGAAACTTCTGATTTATGCTAATACTA
AGCGTCCCTCAGGCGTGCCGGATCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCACCAGCGCGAGCCTTTCGATTACGGGCCTGCAA

50

AGCGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCTCTTCTTATGATGGTTCTCAGTCTATTGTGTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAAC
CGTCCTA

配列番号:93

EVQLQESGPGLVKPGETLSLTCTVSGGS | STGSYYWNW | RQAPGKGLEW | GE | HGHGFTFYNP SLKSRVT | SVDTSKNQF
SLKLSSVTAADTAVYYCARTTRYWMSH | LAYGMDYWGQGLVTVSS

配列番号:94

GAGGTGCAATTGCAAGAAAAGTGGTCCGGGCCTGGTCAAACCGGGCGAAAACCTGAGCCTGACCTGCACCGTTTTCCGGAGG
TAGCATTCTACTGGTTCTTATTATTGGAATTGGATTCGCCAGGCCCTGGGAAGGGTCTCGAGTGGATTGGCGAGATTC
ATGGTCATGGTTTTACTTTTTATAATCCTTCTCTTAAGTCTCGGGTGACCATTAGCGTTGATACTTCGAAAAACCAGTTT
AGCCTGAAACTGAGCAGCGTGACGGCGCGGATACGGCCGTGATTATTGCGCGCGTACTACTCGTTATTGGATGTCTCA
TATTCTTGCTTATGGTATGGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCA

10

配列番号:95

GATATCGTGCTGACCCAGCCGCTTCAGTGAGTGCGCACCCAGGTACAGCGTGTGACCATCTCGTGTAGCGGCAGCAGCAG
CAACATTGGTAATCATTATGTGTCTTGGTACCAGCAGTTGCCCGGGACGGCGCCGAAACTTCTGATTTATGCTAATACTA
AGCGTCCCTCAGGCGTGCCGGATCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCACCAGCGCGAGCCTTGCGATTACGGGCCTGCAA
AGCGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCTCTTCTTATGATGGTTCTCAGTCTATTGTGTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAAC
CGTCCTA

20

配列番号:96

QVQLQESGPGLVKPGETLSLTCTVSGGS | STGSYYWNW | RQAPGKGLEW | GE | NHMG | TYYNP SLKGRVT | SVDTSKNQF
SLKLSSVTAEDTAVYYCARTTRYWMSH | LAYGMDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY | CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKHTCPPCPA
PELLGGPSVFLFPPKPKDTLM | SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAP | EKT | SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD | AVEWESNGQPENNY
KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

30

配列番号:97

CAGGTGCAATTGCAAGAAAAGTGGTCCGGGCCTGGTCAAACCGGGCGAAAACCTGAGCCTGACCTGCACCGTTTTCCGGAGG
TAGCATTCTACTGGTTCTTATTATTGGAATTGGATTCGCCAGGCCCTGGGAAGGGTCTCGAGTGGATTGGCGAGATCA
ATCATATGGGCATTACCTATTATAATCCGAGCCTGAAAGGCCGGGTGACCATTAGCGTTGATACTTCGAAAAACCAGTTT
AGCCTGAAACTGAGCAGCGTGACGGCGGAAGATACGGCCGTGATTATTGCGCGCGTACTACTCGTTATTGGATGTCTCA
TATTCTTGCTTATGGTATGGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCAGCCTCCACCAAGGGTCCATCGG
TCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCC
GAACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCAAGCGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGG
ACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACA
AGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCAAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCA
CCTGAACTCCTGGGGGACCGTCAGTCTTCTTCTTCCCCCAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGA
GGTCACATGCGTGGTGGTGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGC
ATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTGCACCG
GACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAA
AGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCC
TGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTAC
AAGACCACGCTCCCGTGTCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCA
GCAGGGAAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTC
CGGTAAA

40

配列番号:98

50

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

配列番号:99

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

10

配列番号:100

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

20

配列番号:101

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

30

40

配列番号:102

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

50

GCAGTGGAAAGAGCCACAGGTCCTACAGCTGCCAGGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAAAAGACCGTGGCCCCAACCG
AGTGCAGC

配列番号:103

EVQLQESGPGLVKPGETLSLTCTVSGGSISTGSYYWNWIRQAPGKGLEWIGEIQSPGYTFYNPSLKSRVTISVDTSKNQF
SLKLSSVTAADTAVYYCARTTRYWMSHILAYGMDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTHTCPPCPA
PEAAGGSPVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

配列番号:104

GAGGTGCAATTGCAAGAAAAGTGGTCCGGGCCTGGTGAAAACCGGGCGAAAACCTGAGCCTGACCTGCACCGTTTTCCGGAGG
TAGCATTCTACTGGTTCTTATTATTGGAATTGGATTCGCCAGGCCCTGGGAAGGGTCTCGAGTGGATTGGCGAGATTC
AGTCTCCTGGTTATACTTTTTATAATCCTTCTCTTAAGTCTCGGGTGACCATTAGCGTTGATACTTCGAAAAACAGTTT
AGCCTGAAACTGAGCAGCGTGACGGCGCGGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTACTACTCGTTATTGGATGTCTCA
TATTCTTGCTTATGGTATGGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCAGCCTCCACCAAGGGTCCATCGG
TCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCC
GAACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCAAGCGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCCTCAGG
ACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACA
AGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCACCGTGCCAGCA
CCTGAAGCAGCGGGGGGACCGTCAGTCTTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGA
GGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGC
ATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGTGGTCAGCGTCCCTACCGTCCCTGCACCAG
GACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAAACCATCTCCAA
AGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCC
TGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTAC
AAGACCACGCCTCCCGTGTGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCA
GCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTC
CGGGTAAA

20

30

配列番号:105

GATATCGTGCTGACCCAGCCGCTTTCAGTGAGTGGCGCACCCAGGTGACCGTGTGACCATCTCGTGTAGCGGCAGCAGCAG
CAACATTGGTAATCATTATGTGTCTTGGTACCAGCAGTTGCCCGGGACGGCGCCGAAACTTCTGATTTATGCTAATACTA
AGCGTCCCTCAGGCGTGCCGGATCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCACCAGCGCGAGCCTTGCGATTACGGGCCTGCAA
AGCGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCTCTTCTTATGATGGTTCTCAGTCTATTGTGTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAAC
CGTCTAGGTGACCCAAAGGCTGCCCCCTCGGTCACTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTCAAGCCAACAAGGCCA
CACTGGTGTGTCTCATAAGTGACTTCTACCCGGGAGCCGTGACAGTGGCCTGGAAGGCAGATAGCAGCCCCGTCAAGGGC
GGAGTGGAGACCACCACACCCTCCAAAACAAAGCAACAACAAGTACCGGCCAGCAGCTATCTGAGCCTGACGCCTGAGCA
GTGGAAGTCCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTCACGCATGAAGGGAGCACCGTGGAGAAGACAGTGGCCCCCTACAGAAT
GTTCA

40

配列番号:106

SYA IH

配列番号:107

VISGEGSNTYYADSVKG

配列番号:108

VMIGYGFDY

50

配列番号:109

RASQSI FNYLN

配列番号:110

DSSTLQS

配列番号:111

LQYSGFLFT

10

配列番号:112

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

配列番号:113

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

20

配列番号:114

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

配列番号:115

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

30

配列番号:116

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

40

配列番号:117

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

50

GTGTTCCCTGTTCCCTCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGT
 GTCCCACGAGGATCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGGG
 AGGAACAGTACAACCTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTAC
 AAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCCTGCCCTGCCCTATCGAAAAGACAATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTAGGGAACC
 CCAGGTGTACACCCTGCCACCCAGCCGGGAGGAAATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGCTTCT
 ACCCTTCCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGTCTAACGGCCAGCCTGAGAACAACCTACAAGACCACCCCTCCTGTGCTGGAC
 TCCGACGGCTCCTTCTTCCCTGTACTCCAAACTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTC
 CGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAAGTCCCTGTCCCTGTCTCCCGCAAG

配列番号:118

10

DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSI FNYLNWYQQKPKAPKLLI YDSSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE
 EDFATYYCLQYSGFLFTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
 ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

配列番号:119

GATATTCAGATGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGAGCGCTAGTGTGGGCGATAGAGTGACTATCACCTGTAGAGCCTCTCA
 GTCTATCTTTAACTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGTAAAGCCCTAAGCTGCTGATCTACGACTCTAGCACCC
 TGCAGTCAGGCGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCGACTTCACCCTGACTATCTCTAGCCTGCAGCCC
 GAGGACTTCGCTACTACTACTGCCTGCAGTATAGCGGCTTCTGTTACCTTCGGTCAGGGCACTAAGGTCGAGATTAA
 GCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGT
 GCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAG
 GAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGA
 GAAGCATAAGGTGTACGCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGT
 GC

20

配列番号:120

TFSIS

配列番号:121

GIIPIFGTANYAQKFQG

30

配列番号:122

TIQSSGENKFYADSVKG

配列番号:123

GGYGGYYFDY

配列番号:124

RASQISNRLN

40

配列番号:125

KGSTLQS

配列番号:126

HQYSGLLFT

配列番号:127

QQHKVWLTT

配列番号:128

50

QQHYVWSTT

配列番号:129

QQHYQWLTT

配列番号:130

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSTFS | SWVRQAPGQGLEWMGG | I P I FGTANYAQKFQGRVT I TADESTSTAY
MELSSLRSEDTAVYYCARGGYGGYYFDYWGQGLTVTVSS

配列番号:131

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCTCTAGCGTGAAAAGTCAGCTGTAAAAGCTAGTGGCGG
CACCTTCAGCACCTTCTCTATTAGCTGGGTCAGACAGGCCCCAGGTCAGGGCCTGGAGTGGATGGGCGGAATTATCCCTA
TCTTCGGCACCGCTAACTACGCTCAGAAAATTTAGGGTAGAGTGACTATCACCGCCGACGAGTCTACTAGCACCGCCTAT
ATGGAAGTGTCTAGCCTGAGATCAGAGGACACCGCCGCTACTACTGCGCTAGGGCGGCTACGGCGGCTATTACTACTT
CGACTACTGGGGTCAGGGCACCTGGTCACCGTGTCTAGC

配列番号:132

DIQMTQSPSSLSASVGRVT I TCRASQS | SNRLNWIYQQKPKAPKLL I YKGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT I SSLQP
EDFATYYCQHKVWLTTFGQGTKVEIK

配列番号:133

GATATTCAGATGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGAGCGCTAGTGTGGGCGATAGAGTGACTATCACCTGTAGAGCCTCTCA
GTCTATCTCTAATAGGCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGTAAAGCCCTAAGCTGCTGATCTATAAGGGCTCTACCC
TGCAGTCAGGCGTGCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCGACTTCACCTGACTATCTCTAGCCTGCAGCCC
GAGGACTTCGCTACCTACTACTGTGTCAGCAGCACAAAGTGTGGCTGACTACCTTCGGTCAGGGCACTAAGGTCGAGATTAA
G

配列番号:134

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSTFS | SWVRQAPGQGLEWMGG | I P I FGTANYAQKFQGRVT I TADESTSTAY
MELSSLRSEDTAVYYCARGGYGGYYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY I CNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKHTHTCPPCPAPEAAGG
PSVFLFPPKPKDTLM I SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK
EYKCKVSNKALPAP I EKT I SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD I AVEWESNGQPENNYKTTTPPV
LDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

配列番号:135

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCTCTAGCGTGAAAAGTCAGCTGTAAAAGCTAGTGGCGG
CACCTTCAGCACCTTCTCTATTAGCTGGGTCAGACAGGCCCCAGGTCAGGGCCTGGAGTGGATGGGCGGAATTATCCCTA
TCTTCGGCACCGCTAACTACGCTCAGAAAATTTAGGGTAGAGTGACTATCACCGCCGACGAGTCTACTAGCACCGCCTAT
ATGGAAGTGTCTAGCCTGAGATCAGAGGACACCGCCGCTACTACTGCGCTAGGGCGGCTACGGCGGCTATTACTACTT
CGACTACTGGGGTCAGGGCACCTGGTCACCGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGCCCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCCCCCTT
CCAGCAAGTCTACCTCCGGCGGCACAGCTGCTCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCTGAGCCTGTGACAGTGTCC
TGGAAGTCTGGCGCCCTGACCTCTGGCGTGCACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTCCCGGCCTGTACTCCCTGTCCCTC
CGTGGTCCAGTGCCTTCAAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTATATCTGCAACGTGAACCACAAGCCTTCCAACACCAAGG
TGGACAAGCGGGTGGAGCCTAAGTCCCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCCTCCCTGCCCTGCTCCTGAAGCTGCTGGCGGC
CCTTCTGTGTTCCCTGTTCCCTCCAAAGCCCAAGGACACCTGATGATCTCCCGGACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGT
GGACGTGTCCACGAGGATCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGC
CTCGGGAGGAACAGTACAACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGACCAAGGACTGGCTGAACGGCAAA
GAGTACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCCTGCCCTGCCCTATCGAAAAGACAATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTAG
GGAACCCAGGTGTACACCCTGCCACCCAGCCGGGAGGAAATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGG

10

20

30

40

50

GCTTCTACCCTTCCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGTCTAACGGCCAGCCTGAGAACAACACTACAAGACCACCCCTCCTGTG
CTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTGTACTCCAAACTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTC
CTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAAG

配列番号:136

DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQSI SNRLNWIYQQKPKAPKLLI YKGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQP
EDFATYYCQQHKVWLTTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
ESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

配列番号:137

GATATTCAGATGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGAGCGCTAGTGTGGGCGATAGAGTGACTATCACCTGTAGAGCCTCTCA
GTCTATCTCTAATAGGCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGTAAAGCCCTAAGCTGCTGATCTATAAGGGCTCTACCC
TGCAGTCAGGCGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCGACTTCACCTGACTATCTCTAGCCTGCAGCCC
GAGGACTTCGCTACCTACTACTGTGTCAGCAGCACAAAGTGTGGCTGACTACCTTCGGTTCAGGGCACTAAGGTCGAGATTAA
GCGTACGGTGGCCGCTCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGT
GCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCGGGAGGCCAAGGTGTCAGTGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAG
GAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCCTGACCCCTGAGCAAGGCCGACTACGA
GAAGCATAAGGTGTACGCCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGT
GC

10

20

配列番号:138

QVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAIHWVRQAPGKGLEWVSTIQSSGENKFYADSVKGRFTISRDNSKNTLY
LQMNSLRAEDTAVYYCARVMIGYFDYWGQGLTVTVSS

配列番号:139

CAGGTGCAGCTGCTGGAATCAGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGTAGCCTGAGACTGAGCTGCGCTGCTAGTGGCTT
CACCTTCTAGCTACGCTATTTCACTGGGTGAGACAGGCCCTGGTAAAGGCCCTGGAGTGGGTGAGCACTATTCAGTCTA
GCGGCGAGAACAAGTTCTACGCCGATAGCGTGAAGGGCCGGTTCACTATCTCTAGGGATAACTCTAAGAACACCCTGTAC
CTGCAGATGAATAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAGTGATGATCGGCTACGGCTTCGACTA
CTGGGGTCAGGGCACCCCTGGTCACCGTGTCTAGC

30

配列番号:140

DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQSI FNYLNWIYQQKPKAPKLLI YDSSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQP
EDFATYYCHQYSGLLFTFGQGTKVEIK

配列番号:141

GATATTCAGATGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGAGCGCTAGTGTGGGCGATAGAGTGACTATCACCTGTAGAGCCTCTCA
GTCTATCTTTAACTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGTAAAGCCCTAAGCTGCTGATCTACGACTCTAGCACCC
TGCAGTCAGGCGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCGACTTCACCTGACTATCTCTAGCCTGCAGCCC
GAGGACTTCGCTACCTACTACTGTCCACAGTATAGCGGCCTGCTGTTACCTTCGGTTCAGGGCACTAAGGTCGAGATTAA
G

40

配列番号:142

QVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAIHWVRQAPGKGLEWVSTIQSSGENKFYADSVKGRFTISRDNSKNTLY
LQMNSLRAEDTAVYYCARVMIGYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPS
VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
KCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD
SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

50

配列番号:143

CAGGTGCAGCTGCTGGAATCAGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGTAGCCTGAGACTGAGCTGCGCTGCTAGTGGCTT
CACCTTCTCTAGCTACGCTATTTACTGGGTGACACAGGCCCTGGTAAAGGCCCTGGAGTGGGTGAGCACTATTCAGTCTA
GCGGCGAGAACAAGTTCTACGCCGATAGCGTGAAGGGCCGGTTCACTATCTCTAGGGATAACTCTAAGAACACCCCTGTAC
CTGCAGATGAATAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCGTCTACTACTGCGCTAGAGTGATGATCGGCTACGGCTTCGACTA
CTGGGGTCAGGGCACCCCTGGTCACCGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCCCTTCCAGCA
AGTCTACCTCCGGCGGCACAGCTGCTCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCTGAGCCTGTGACAGTGTCTGGAAC
TCTGGCGCCCTGACCTCTGGCGTGCACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCTCCGTGGT
CACAGTGCCTTCAAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTATATCTGCAACGTGAACCACAAGCCTTCCAACACCAAGGTGGACA
AGCGGGTGGAGCCTAAGTCTGCGACAAGACCCACACCTGTCTCCCTGCCCTGCTCCTGAAGCTGCTGGCGGCCCTTCT
GTGTTCCCTGTTCCCTCCAAAGCCCAAGGACACCCCTGATGATCTCCCGGACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGT
GTCCACGAGGATCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGGG
AGGAACAGTACAACCTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGACCCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTAC
AAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCCTGCCCTGCCCTATCGAAAAGACAATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTAGGGAACC
CCAGGTGTACACCCTGCCACCCAGCCGGGAGGAAAATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGCTTCT
ACCCTTCCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGTCTAACGGCCAGCCTGAGAACAACATAAGACCACCCCTCCTGTGCTGGAC
TCCGACGGCTCCTTCTTCCCTGACTCCAAACTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTC
CGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAAG

10

配列番号:144

DIQMTQSPSSLSASVDRVTITCRASQSIFNYLNWYQQKPKAPKLLIYDSSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP
EDFATYYCHQYSGLLFTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
ESVTEQDSKDSSTSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

20

配列番号:145

GATATTCAGATGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGAGCGCTAGTGTGGGCGATAGAGTGACTATCACCTGTAGAGCCTCTCA
GTCTATCTTTAACTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGTAAAGCCCTAAGCTGCTGATCTACGACTCTAGCACCC
TGCAGTCAGGCGTGCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCGACTTCACCTGACTATCTCTAGCCTGCAGCCC
GAGGACTTCGCTACCTACTACTGTACCAAGTATAGCGCCTGCTGTTACCTTCGGTCAGGGCACTAAGGTCGAGATTAA
CGGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCCGCCAGCGTGGTGT
GCCTGCTGAACAACCTTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAAGTGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAG
GAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCCTGACCCCTGAGCAAGGCCGACTACGA
GAAGCATAAGGTGTACGCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGT
GC

30

配列番号:146

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCTCTAGCGTGAAAGTCAGCTGTAAAGCTAGTGGCGG
CACCTTCAGCACCTTCTCTATTAGCTGGGTGACACAGGCCCCAGGTGAGGGCCTGGAGTGGATGGCGGAATTATCCCTA
TCTTCGGCACCCGCTAACTACGCTCAGAAAATTTAGGGTAGAGTGACTATCACCGCCGACGAGTCTACTAGCACCCCTAT
ATGGAAGTGTCTAGCCTGAGATCAGAGGACACCGCGTCTACTACTGCGCTAGGGCGGCTACGGCGGCTATTACTACTT
CGACTACTGGGGTCAGGGCACCCCTGGTCACCGTGTCTAGC

40

配列番号:147

DIQMTQSPSSLSASVDRVTITCRASQSISNRLNWYQQKPKAPKLLIYKGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP
EDFATYYCQHYVWSTFTFGQGTKVEIK

配列番号:148

GATATTCAGATGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGAGCGCTAGTGTGGGCGATAGAGTGACTATCACCTGTAGAGCCTCTCA
GTCTATCTCTAATAGGCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGTAAAGCCCTAAGCTGCTGATCTATAAGGGCTCTACCC
TGCAGTCAGGCGTGCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCGACTTCACCCCTGACTATCTCTAGCCTGCAGCCC

50

GAGGACTTCGCTACCTACTACTGTCAGCAGCACTACGTGTGGTCTACTACCTTCGGTCAGGGCACTAAGGTCGAGATTAA
G

配列番号: 149

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCTCTAGCGTGAAAGTCAGCTGTAAAGCTAGTGGCGG
CACCTTCAGCACCTTCTCTATTAGCTGGGTGTCAGACAGGCCCCAGGTCAGGGCCTGGAGTGGATGGCGGAATTATCCCTA
TCTTCGGCACCGCTAACTACGCTCAGAAATTTAGGGTAGAGTACTATCACCGCCGACGAGTCTACTAGCACCGCCTAT
ATGGAAGTGTCTAGCCTGAGATCAGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGGGGCGGCTACGGCGGCTATTACTACTT
CGACTACTGGGGTCAGGGCACCTGGTACCCTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGCCCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCCCCCTT
CCAGCAAGTCTACCTCCGGCGGCACAGCTGCTCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCTGAGCCTGTGACAGTGTCC
TGGAACTCTGGCGCCCTGACCTCTGGCGTGCACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCCCTC
CGTGGTACAGTGCCTTCAAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTATATCTGCAACGTGAACCACAAGCCTTCCAACACCAAGG
TGGACAAGCGGGTGGAGCCTAAGTCCCTGCGACAAGACCCACACCTGTCTCCCTGCCCTGCTCCTGAAGCTGCTGGCGGC
CCTTCTGTGTTCCCTGTTCCCTCCAAAGCCAAAGGACACCCCTGATGATCTCCCGGACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGT
GGACGTGTCCACGAGGATCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGC
CTCGGGAGGAACAGTACAACCTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGACCCAGGACTGGCTGAACGGCAAA
GAGTACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCTATCGAAAAGACAATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTAG
GGAACCCAGGTGTACACCTGCCACCCAGCCGGGAGGAAATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGG
GCTTCTACCCTTCCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGTCTAACGGCCAGCCTGAGAACAACCTACAAGACCACCCCTCCTGTG
CTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTGTAAGTCCAAACTGACCGTGGACAAGTCCCGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTC
CTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAAGTCCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAAG

10

20

配列番号: 150

DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSI SNRLNWIYQQKPKAPKLLI YKGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQP
EDFATYYCQQHYWSTTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
ESVTEQDSKSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

配列番号: 151

GATATTCAGATGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGAGCGCTAGTGTGGGCGATAGAGTACTATCACCTGTAGAGCCTCTCA
GTCTATCTCTAATAGGCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGTAAAGCCCTAAGCTGCTGATCTATAAGGGCTCTACCC
TGCAGTCAGGCGTCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCGACTTACCCCTGACTATCTCTAGCCTGCAGCCC
GAGGACTTCGCTACCTACTACTGTCAGCAGCACTACGTGTGGTCTACTACCTTCGGTCAGGGCACTAAGGTCGAGATTAA
GCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGT
GCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAG
GAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCCTGACCCCTGAGCAAGGCCGACTACGA
GAAGCATAAGGTGTACGCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGT
GC

30

配列番号: 152

CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGTGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCAGCAGCGTGAAGATTAGCTGCAAAGCATCCGGAGG
GACGTTTTCTACTTTCTCTATCTTGGGTGCGCCAGGCCCCGGGCCAGGGCCTCGAGTGGATGGCGGTATCATCCCGA
TCTTCGGCACTGCGAACTACGCCAGAAATTTAGGGCCGGGTGACCATTACCGCCGATGAAAGCACCAGCACCGCCTAT
ATGGAAGTGCAGCAGCCTGCGCAGCGAAGATACGGCCGTGATTATTGCGCGGTGGTGGTTACGGTGGTTACTACTACTT
CGATTACTGGGGCCAAGGCACCCCTGGTACTGTTAGCTCA

40

配列番号: 153

DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSI SNRLNWIYQQKPKAPKLLI YKGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQP
EDFATYYCQQHYQWLTTFGQGTKVEIK

配列番号: 154

50

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCGAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGATCGCGTGACCATTACCTGCAGAGCCAGCCA
 GTCTATTTCTAACCGTCTGAACTGGTACCAGCAGAAAACCGGGCAAAGCGCCGAAACTATTAATCTACAAAGTTTCTACTC
 TGCAAAGCGGCGTGCCGAGCCGCTTTAGCGGCAGCGGATCCGGCACCGATTTACCCCTGACCATTAGCTCTCTGCAACCG
 GAAGACTTTGCGACCTATTATTGCCAGCAGCATTACCAGTGGCTGACTACCTTTGGCCAGGGCAGCAAAGTTGAAATTA
 A

配列番号:155

CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGTGCCGAAGTGAAAAAACCGGGCAGCAGCGTGAAAAGTTAGCTGCAAAGCATCCGGAGG
 GACGTTTTCTACTTTCTCTATCTCTTGGGTGCGCCAGGCCCGGGCCAGGGCTCGAGTGGATGGGCGGTATCATCCCGA
 TCTTCGGCACTGCGAACTACGCCAGAAAATTCAGGGCCGGGTGACCATTACCGCGATGAAAGCACCAGCACCGCCTAT
 ATGGAAGTGCAGCAGCTGCGCAGCGAAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGGTGGTTACGGTGGTTACTACTACTT
 CGATTACTGGGGCAAAGCACCCCTGGTACTGTTAGCTCAGCCTCCACCAAGGGTCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCT
 CCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTGC
 TGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAG
 CGTGGTACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGG
 TGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCAGCGGGGGGA
 CCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGT
 GGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGC
 CGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGTGGTACGCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAG
 GAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCG
 AGAACACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAG
 GCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCTCCCGTG
 CTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGAACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTC
 ATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAA

10

20

配列番号:156

DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQSI SNRLNWIYQQKPKGKAPKLLI YKGSTLQSGVPSRFSGSGSDFTLTI SSLQP
 EDFATYYCQQHYQWLTTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNIFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
 ESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

30

配列番号:157

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCGAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGATCGCGTGACCATTACCTGCAGAGCCAGCCA
 GTCTATTTCTAACCGTCTGAACTGGTACCAGCAGAAAACCGGGCAAAGCGCCGAAACTATTAATCTACAAAGTTTCTACTC
 TGCAAAGCGGCGTGCCGAGCCGCTTTAGCGGCAGCGGATCCGGCACCGATTTACCCCTGACCATTAGCTCTCTGCAACCG
 GAAGACTTTGCGACCTATTATTGCCAGCAGCATTACCAGTGGCTGACTACCTTTGGCCAGGGCAGCAAAGTTGAAATTA
 ACGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGT
 GCCTGCTGAACAACTTCTACCCCGGGAGGCCAAGGTGCAAGTGGGAAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAG
 GAAAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGA
 GAAGCACAAAGGTGTACGCCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGT
 GT

40

配列番号:158

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGNIPIPI TGQTYIAQKFKQGRVTITADESTSTAY
 MELSSLRSEDTAVYYCARAAYHPLVFDNWGGQTLVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW
 NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVIVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTHTCPPCPAPEAAGGP
 SVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
 YKCKVSNKALPAPIEKTSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVL
 DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

配列番号:159

50

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAAACCCGGCTCTAGCGTGAAAGTCAGCTGTAAAGCTAGTGGCGG
CACCTTCTCTAGCTACGCTATTAGCTGGGTCAGACAGGCCCCAGGTCAGGGCCTGGAGTGGATGGCAATATTATCCCTA
TCACCGGTACAGACCTACTACGCTCAGAAATTTACAGGGTAGAGTGACTATCACCGCCGACGAGTCTACTAGCACCGCCTAT
ATGGAAGTGTCTAGCCTGAGATCAGAGGACACCGCGTCTACTACTGCGCTAGAGCCGCTATCACCCCCTGGTGTTCGA
TAACTGGGGTCAGGGCACCTGGTACCGTGTCTAGCGTAGCACTAAGGGCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCCCCTTCCA
GCAAGTCTACCTCCGGCGGCACAGCTGCTCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCTGAGCCTGTGACAGTGTCTGG
AACTCTGGCGCCCTGACCTCTGGCGTGCACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTCCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCTCCGT
GGTCACAGTGCCTTCAAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTATATCTGCAACGTGAACCACAAGCCTTCCAACACCAAGGTGG
ACAAGCGGGTGGAGCCTAAGTCCCTGCGACAAGACCCACACCTGTCTCCCTGCCCTGCTCCTGAAGCTGCTGGCGGCCCT
TCTGTGTTCCCTGTTCCCTCCAAAGCCCAAGGACACCTGATGATCTCCCGACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGGA
CGTGTCCCACGAGGATCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTC
GGGAGGAACAGTACAACCTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAG
TACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCTATCGAAAAGACAATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTAGGGA
ACCCAGGTGTACACCTGCCACCCAGCCGGGAGGAAATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGCT
TCTACCTTCCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGTCTAACGGCCAGCCTGAGAACAATAAGACCACCCCTCTGTGCTG
GACTCCGACGGCTCCTTCTTCCCTGTACTCCAACTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTG
CTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCTCCCGCAAG

10

配列番号:160

QSVLTQPPSASGTPGQRVT | SCSGSSSN | GNHYV/NWYQQLPGTAPKLL | YRNNHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLA | SGLQ
SEDEADYYCQSWDYSGFSTVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCL | SDFYPGAVTVAWKADSSPVK
AGVETTTSPKQSNKYAASSYLSLTPEQW/KSHRSYSCQV/THEGSTVEKTVAPTECS

20

配列番号:161

CAGTCAGTCCTGACTCAGCCCCCTAGCGTAGTGGCACCCCTGGTCAGAGAGTGACTATTAGCTGTAGCGGCTCTAGCTC
TAATATCGTAATCACTACGTGAACTGGTATCAGCAGCTGCCCGGCACCGCCCCTAAGCTGCTGATCTATAGAAACAATC
ACCGCCTAGCGGCGTGCCCGATAGGTTTAGCGGATCTAAGTCAGGGACTAGCGCTAGTCTGGCTATTAGCGGCCTGCAG
TCAGAGGACGAGGCCGACTACTACTGTGAGTCCCTGGGACTATAGCGGCTTTAGCACCGTGTTCGGCGGAGGCACTAAGCT
GACCGTGTGGGTACGCTAAGGCTGCCCCAGCGTGACCTGTTCCCCCAGCAGCGAGGAGCTGCAGGCCAACAAGG
CCACCCTGGTGTGCTGATCAGCGACTTCTACCCAGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGACAGCAGCCCCGTGAAG
GCCGGCGTGGAGACCACCACCCAGCAAGCAGAGCAACAACAAGTACGCCGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCCCCGA
GCAGTGGAAAGACCACAGGTCTACAGCTGCCAGGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAAAAGACCGTGGCCCCAACCG
AGTGCAGC

30

配列番号:162

GGSI STGSY

配列番号:163

QSPGY

40

配列番号:164

TTRYWMSH I LAYGMDY

配列番号:165

SSSN I GNHY

配列番号:166

ANT

配列番号:167

50

YDGSQS I

配列番号:168

EVQLQESGPGLVKPGETLSLTCTVSGGS I STGSYYWNW I RQAPGKGLEW I GE I WHSGPTFYNP SLKSRVT I SVDTSKNQF
SLK LSSVTAADTA VYYCARTTRYWMSH I LAYGMDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY I CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPA
PEAAGGPSVFLFPPKPKDTLM I SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAP I EKT I SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD I AVEWESNGQPENNY
KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

配列番号:169

GAGGTGCAATTGCAAGAAAGTGGTCCGGGCCTGGTGAAACCGGGCGAAACCCCTGAGCCTGACCTGCACCGTTTTCCGGAGG
TAGCATTCTACTGGTTCTTATTATTGGAATTGGATTCGCCAGGCCCTGGGAAGGGTCTCGAGTGGATTGGCGAGATTT
GGCATTCTGGTCTACTTTTTATAATCCTTCTCTTAAGTCTCGGGTGACCATTAGCGTTGATACTTCGAAAAACCAGTTT
AGCCTGAAACTGAGCAGCGTGACGGCGCGGATACGGCCGTGATTATTGCGCGCGTACTACTCGTTATTGGATGTCTCA
TATTCTTGCTTATGGTATGGATTATTGGGGCCAAGGCACCCCTGGTGACGGTTAGCTCAGCCTCCACCAAGGGTCCATCGG
TCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCC
GAACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCAAGCGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGG
ACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACA
AGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCACCGTGCCAGCA
CCTGAAGCAGCGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGA
GGTCACATGCGTGGTGGTGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGC
ATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTGCACCAG
GACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAA
AGCCAAAGGCGAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCC
TGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTAC
AAGACCACGCTCCCGTGTCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCA
GCAGGGAAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTC
CGGTAAA

20

30

配列番号:170

D I VLTQPPSVSGAPGQRVT I SCSGSSSN I GNHYVSWYQQLPGTAPKLL I YANTKRPSGVPDRFSGSKSGTSASLA I TGLQ
SEDEADYYCSSYDGSQS I VFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLPFPPSSEELQANKATLVCL I SDFYPGAVTVAWKADSSPVKA
GVETTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQW/KSHRSYSCQV/THEGSTVEKTVAPTECS

配列番号:171

GATATCGTGCTGACCCAGCCGCTTCAGTGAGTGGCGCACCCAGGTGACCGTGTGACCATCTCGTGTAGCGGCAGCAGCAG
CAACATTGGTAATCATTATGTGTCTTGGTACCAGCAGTTGCCCGGACGGCGCCGAAACTTCTGATTTATGCTAATACTA
AGCGTCCCTCAGGCGTGCCGGATCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCACCAGCGCGAGCCTTGCGATTACGGGCCTGCAA
AGCGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCTCTTCTTATGATGGTTCTCAGTCTATTGTGTTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAAC
CGTCTAGGTGACCCCAAGGCTGCCCCCTCGGTCACTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTCAAGCCAACAAGGCCA
CACTGGTGTGTCTCATAAGTGACTTCTACCCGGGAGCCGTGACAGTGGCCTGGAAGGCAGATAGCAGCCCCGTCAAGGGC
GGAGTGGAGACCACCACACCCTCCAAACAAAAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGCAGCTATCTGAGCCTGACGCCTGAGCA
GTGGAAGTCCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTACGCATGAAGGGAGCACCGTGGAGAAGACAGTGGCCCTACAGAAT
GTTCA

40

配列番号:172

EVQLQESGPGLVKPGETLSLTCTVSGGS I STGSYYWNW I RQAPGKGLEW I GE I HGHGFTFYNP SLKSRVT I SVDTSKNQF
SLK LSSVTAADTA VYYCARTTRYWMSH I LAYGMDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY I CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPA

50

PEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAP I EKT I SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD I AVEWESNGQPENNY
KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

配列番号:173

GAGGTGCAATTGCAAGAAAGTGGTCCGGGCTGGTGAACCCGGGCGAAACCCCTGAGCCTGACCTGCACCGTTTTCCGGAGG
TAGCATTCTACTGGTTCTTATTATTGGAATTGGATTCGCCAGGCCCTGGGAAGGGTCTCGAGTGGATTGGCGAGATTC
ATGGTCATGGTTTTACTTTTTATAATCCTTCTCTTAAGTCTCGGGTGACCATTAGCGTTGATACTTCGAAAAACCAGTTT
AGCCTGAAACTGAGCAGCGTGACGGCGGGGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTACTACTCGTTATTGGATGTCTCA
TATTCTTGCTTATGGTATGGATTATTGGGGCCAAGGCACCCCTGGTGACGGTTAGCTCAGCCTCCACCAAGGGTCCATCGG
TCTTCCCCCTGGCACCCCTCTCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCC
GAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCCTCAGG
ACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACA
AGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCA
CCTGAAGCAGCGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGA
GGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGC
ATAATGCCAAGACAAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTGCACCAG
GACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAA
AGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCC
TGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGAGAACAACACTAC
AAGACCACGCCTCCCGTGTGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCA
GCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTC
CGGGTAAA

10

20

配列番号:174

DIVLTQPPSVSGAPGQRVT I SCSGSSSN I GNHYVSWYQQLPGTAPKLL I YANTKRPSGVPDRFSGSKSGTSASLA I TGLQ
SEDEADYYCSSYDGSQS I VFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCL I SDFYPGAVTVAWKADSSPVKA
GVETTTPSKQSNKYYAASSYLSLTPEQWKSQRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

配列番号:175

GATATCGTGCTGACCCAGCCGCTTCAGTGAGTGGCGCACCCAGGTGACCGTGTGACCATCTCGTGTAGCGGCAGCAGCAG
CAACATTGGTAATCATTATGTGTCTTGGTACCAGCAGTTGCCCGGGACGGCGCCGAAACTTCTGATTTATGCTAATACTA
AGCGTCCCTCAGGCGTGCCGGATCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCACCAGCGCGAGCCTTTCGATTACGGGCCTGCAA
AGCGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCTCTTCTTATGATGGTTCTCAGTCTATTGTGTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAAC
CGTCCTAGTGCAGCCCAAGGCTGCCCCCTCGGTCACTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTCAAGCCAACAAGGCCA
CACTGGTGTGTCTCATAAGTGACTTCTACCCGGGAGCCGTGACAGTGGCCTGGAAGGCAGATAGCAGCCCCGTCAAGGCG
GGAGTGGAGACCACACCCCTCCAAAACAAGCAACAACAAGTACCGGCCAGCAGCTATCTGAGCCTGACGCCTGAGCA
GTGGAAGTCCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTACGCATGAAGGGAGCACCGTGGAGAAGACAGTGGCCCTACAGAAT
GTTCA

30

40

配列番号:176

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFNSYA I SWVRQAPGQGLEWMGN I I PHYGFAYYAQKFQGRVT I TADESTSTAY
MELSSLRSEDTAVYYCARAAHYHPLVFDNWGQGLTVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW
NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY I CNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTHTCPPCPAPEAAGGP
SVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAP I EKT I SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD I AVEWESNGQPENNYKTTTPV
LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

配列番号:177

GAGGTGCAATTGGTTCAGTCTGGCGCGGAAGTGAAAAACCGGGCAGCAGCGTGAAAGTGAGCTGCAAAGCCTCCGGAGG

50

CACTTTTAATTCTTATGCTATTTCTTGGGTGCGCCAAGCCCCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCAATATTATTCTC
ATTATGGTTTTGCTTATTATGCTCAGAAGTTTCAGGGTCGGGTGACCATTACCGCGGATGAAAGCACCAGCACCGCGTAT
ATGGAAGTGAAGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACGGCCGTGATTATTGCGCGCGTGCTGCTTATCATCCTCTTGTTTTTGA
TAATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCAGCCTCCACCAAGGGTCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCT
CCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGG
AACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGT
GGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGG
ACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCAGCGGGGGACCG
TCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACACATGCGTGGTGGTGA
CGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGC
GGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAG
TACAAGTGCAAGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGA
ACCACAGGTGTACACCCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCGTGCCTGGTCAAAGGCT
TCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTG
GACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGAAACGTCTTCTCATG
CTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA

10

配列番号: 178

DIVLTQPPSVSGAPGQRVT | SCSGSSSN | GNHYVNWYQQLPGTAPKLL | YRNNHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLA | TGLQ
SEDEADYYCQSWDYSGFSTVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCL | SDFYPGAVTVAWKADSSPVK
AGVETTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRYSQCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

20

配列番号: 179

GATATCGTGCTGACCCAGCCGCTTTCAGTGAGTGGCGCACCCAGGTGACCGTGTGACCATCTCGTGTAGCGGCAGCAGCAG
CAACATTGGTAATCATTATGTGAATTGGTACCAGCAGTTGCCCGGGACGGCGCCGAAACTTCTGATTTATCGTAATAATC
ATCGTCCCTCAGGCGTGCCGGATCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCACCAGCGCGAGCCTTTCGATTACGGGCTGCAA
AGCGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCCAGTCTTGGGATTATTCTGGTTTTTCTACTGTGTTTTGGCGGCGGCACGAAGTT
AACCGTCTAGGTGACCCAAAGGCTGCCCCCTCGGTCACTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTCAAGCCAACAAGG
CCACACTGGTGTGTCTATAAGTGACTTCTACCCGGGAGCCGTGACAGTGGCCTGGAAGGCAGATAGCAGCCCCGTCAAG
GCGGGAGTGGAGACCACCACACCCTCCAAACAAAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGCAGCTATCTGAGCCTGACGCTGA
GCAGTGAAGTCCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTACGCATGAAGGGAGCACCGTGGAGAAGACAGTGGCCCCCTACAG
AATGTTCA

30

配列番号: 180

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV|SCKASGGTFNFSYA | SWVRQAPGQGLEWMGN | I | PYSGFAYYAQKFKQGRVT | I | TADESTSTAY
MELSSLRSEDTAVYYCARAAHYHPLVFDNWGGTLVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW
NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTY | CNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTHTCPPCPAPEAAGGP
SVFLFPPKPKDTLM | SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAP | EKT | SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD | AVEWESNGQPENNYKTTTPVL
DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

40

配列番号: 181

GAGGTGCAATTGGTTCAGTCTGGCGCGGAAGTAAAAAACCGGCAGCAGCGTGAAAGTGAAGTGGCTGCAAAGCCTCCGGAGG
CACTTTTAATTCTTATGCTATTTCTTGGGTGCGCCAAGCCCCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCAATATTATTCTC
ATTCTGGTTTTGCTTATTATGCTCAGAAGTTTCAGGGTCGGGTGACCATTACCGCGGATGAAAGCACCAGCACCGCGTAT
ATGGAAGTGAAGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACGGCCGTGATTATTGCGCGCGTGCTGCTTATCATCCTCTTGTTTTTGA
TAATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCAGCCTCCACCAAGGGTCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCT
CCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGG
AACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGT
GGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGG

50

ACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCAGCGGGGGACCG
 TCAGTCTTCTCTTCCCCAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGA
 CGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGC
 GGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAG
 TACAAGTGAAGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGA
 ACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCT
 TCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTG
 GACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATG
 CTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA

10

配列番号:182

DIVLTQPPSVSGAPGQRVTISCSGSSSNIGNHYVNWYQQLPGTAPKLLIYRNNHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAI TGLQ
 SEDEADYYCQSWDYSGFSTVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVK
 AGVETTTTPSKQSNKNKYAASSYLSTPEQWKSHRYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

配列番号:183

GATATCGTGCTGACCCAGCCGCTTCAGTGAGTGGCGCACCCAGGTGAGCGTGTGACCATCTCGTGTAGCGGCAGCAGCAG
 CAACATTGGTAATCATTATGTGAATTGGTACCAGCAGTTGCCCGGGACGGCGCCGAAACTTCTGATTTATCGTAATAATC
 ATCGTCCCTCAGGCGTGCCGGATCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCACCAGCGCGAGCCTTGCGATTACGGGCCTGCAA
 AGCGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCCAGTCTTGGGATTATTCTGGTTTTTCTACTGTGTTTGGCGGCGGCACGAAGTT
 AACCGTCTTAGGTGAGCCCAAGGCTGCCCCCTCGGTCACTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTCAAGCCAACAAGG
 CCACACTGGTGTGTCTCATAAGTGACTTCTACCCGGGAGCCGTGACAGTGGCCTGGAAGGCAGATAGCAGCCCCGTCAAG
 GCGGGAGTGGAGACCACCACACCCCTCCAAACAAAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGCAGCTATCTGAGCCTGACGCCTGA
 GCAGTGAAGTCCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTACGCATGAAGGGAGCACCGTGGAGAAGACAGTGGCCCCACAG
 AATGTTCA

20

配列番号:184

GGSI STGSY

配列番号:185

NHMG I

30

配列番号:186

TTRYWMSHILAYGMDY

配列番号:187

SSSNIGNHY

配列番号:188

ANT

40

配列番号:189

YDGSQSI

配列番号:190

GGSI STGSY

配列番号:191

WHS GP

50

配列番号:192
TTRYWMSHILAYGMDY

配列番号:193
SSSNIGNHY

配列番号:194
ANT

配列番号:195
YDGSQSI

10

配列番号:196
EIHGHGFTFYNP SLKS

配列番号:197
GGSISTGSY

配列番号:198
HG HGF

20

配列番号:199
TTRYWMSHILAYGMDY

配列番号:200
SSSNIGNHY

配列番号:201
ANT

30

配列番号:202
YDGSQSI

配列番号:203
GGTFNSY

配列番号:204
IPIYGT

配列番号:205
AAYHPLVFDN

40

配列番号:206
SSSNIGNHY

配列番号:207
RNN

配列番号:208
WDYSGFST

50

配列番号:209
GGTFNSY

配列番号:210
NPFYIGE

配列番号:211
AAZHPLVFDN

10

配列番号:212
SSNIGNHY

配列番号:213
RNN

配列番号:214
WDYSGFST

配列番号:215
GGTFNSY

20

配列番号:216
IPHYGF

配列番号:217
AAZHPLVFDN

配列番号:218
SSNIGNHY

30

配列番号:219
RNN

配列番号:220
WDYSGFST

配列番号:221
GGTFNSY

40

配列番号:222
IPYSGF

配列番号:223
AAZHPLVFDN

配列番号:224
SSNIGNHY

配列番号:225

50

RNN

配列番号:226
WDYSGFST

配列番号:227
GGTFNSY

配列番号:228
NPFYIGE

10

配列番号:229
AAYHPLVFDN

配列番号:230
SSSNIGNHY

配列番号:231
RNN

20

配列番号:232
WDYSGFST

配列番号:233
GGTFNSY

配列番号:234
IPMTGQ

配列番号:235
AAYHPLVFDN

30

配列番号:236
SSSNIGNHY

配列番号:237
RNN

配列番号:238
WDYSGFST

40

配列番号:239
NIIPITGQTYAQQFQG

配列番号:240
GGTFSTF

配列番号:241
IPIFGT

50

配列番号:242
GGYGGYYFDY

配列番号:243
SQSISNR

配列番号:244
KGS

配列番号:245
HKVWLT

10

配列番号:246
GGTFSTF

配列番号:247
IPIFGT

配列番号:248
GGYGGYYFDY

20

配列番号:249
SQSISNR

配列番号:250
KGS

配列番号:251
HYVWST

30

配列番号:252
GGTFSTF

配列番号:253
IPIFGT

配列番号:254
GGYGGYYFDY

配列番号:255
SQSISNR

40

配列番号:256
KGS

配列番号:257
HYQWLT

配列番号:258
GFTFSSY

50

配列番号:259
QSSGEN

配列番号:260
VMIGYGFDY

配列番号:261
SQSIFNY

配列番号:262
DSS

配列番号:263
YSGLLF

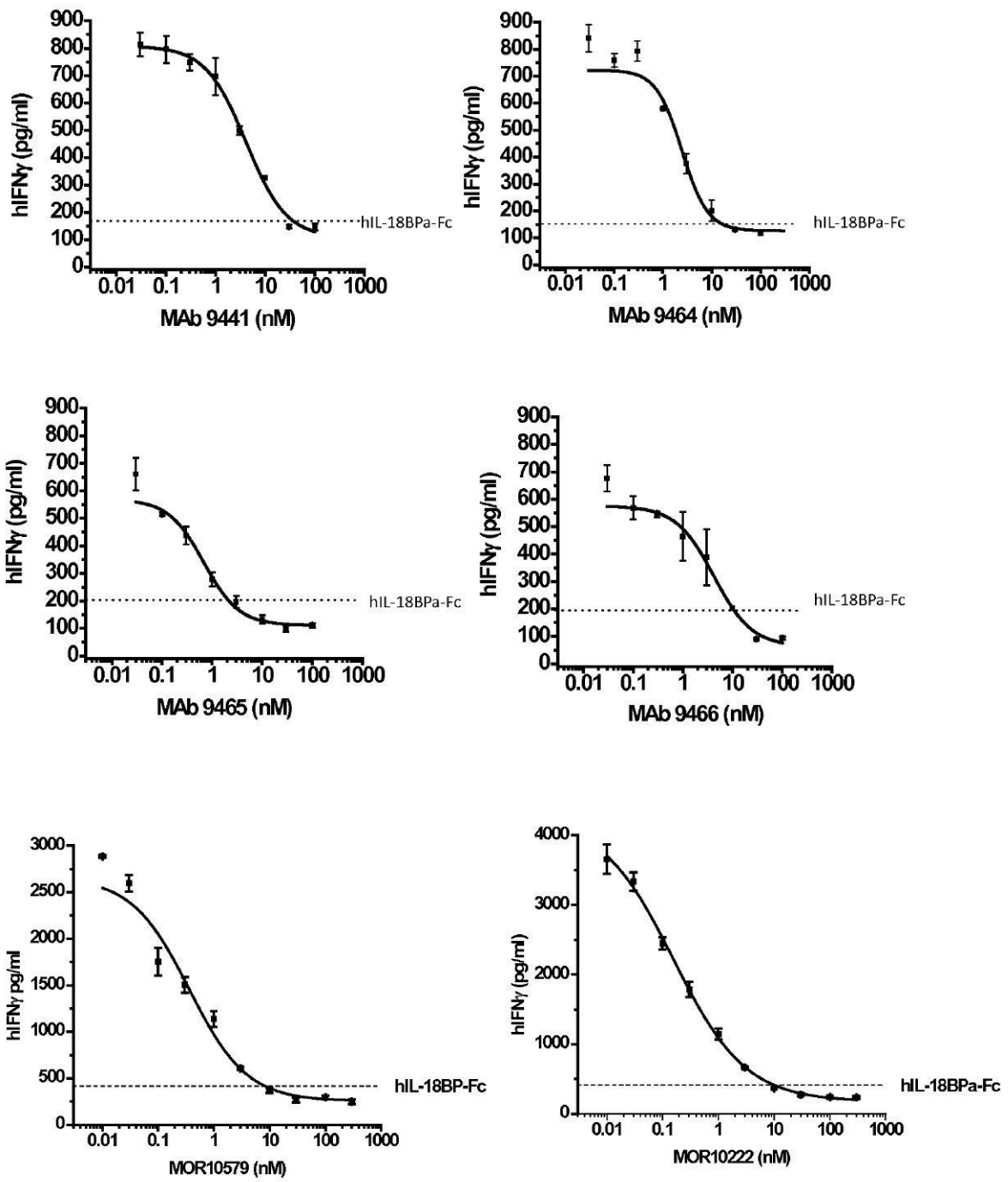
【 図 1 】

	H-CDR1	H-CDR2	H-CDR3	
MOR9464	SYAIS (配列番号 3)	NIIP-MTGQTYAQAQKFOG (配列番号 9)	AAHPLVFDN (配列番号 5)	
MOR9464N30K	SYAIS (配列番号 3)	NIIP-MTGQTYAQAQKFOG (配列番号 9)	AAHPLVFDN (配列番号 5)	
MOR10222N30SM54I	SYAIS (配列番号 3)	NIIP-ITGQTYAQAQKFOG (配列番号 13)	AAHPLVFDN (配列番号 5)	
MOR8775	SYAIS (配列番号 3)	GIIP-IYGTANYAQAQKFOG (配列番号 4)	AAHPLVFDN (配列番号 5)	
MOR9465	SYAIS (配列番号 3)	NIIP-HYGFAYYAQAQKFOG (配列番号 11)	AAHPLVFDN (配列番号 5)	
MOR9466	SYAIS (配列番号 3)	NIIP-YSGFAYYAQAQKFOG (配列番号 12)	AAHPLVFDN (配列番号 5)	
MOR10222	SYAIS (配列番号 3)	NIIP-MTGQTYAQAQKFOG (配列番号 9)	AAHPLVFDN (配列番号 5)	
MOR9441	SYAIS (配列番号 3)	WINPFYIGETFYAQAQKFOG (配列番号 10)	AAHPLVFDN (配列番号 5)	
MOR10579	SYAIS (配列番号 3)	WINPFYIGETFYAQAQKFOG (配列番号 10)	AAHPLVFDN (配列番号 5)	
MOR13363	SYAIIH (配列番号 106)	VISGEGSNTYYADSVKG (配列番号 107)	VMIGYGFY (配列番号 108)	
MOR13361	SYAIIH (配列番号 106)	TIQSSGENKFYADSVKG (配列番号 122)	VMIGYGFY (配列番号 108)	
MOR13341	TFSIS (配列番号 120)	GIIP-IFGTANYAQAQKFOG (配列番号 121)	GGYGGYYFVY (配列番号 123)	
MOR13342	TFSIS (配列番号 120)	GIIP-IFGTANYAQAQKFOG (配列番号 121)	GGYGGYYFVY (配列番号 123)	
MOR13347	TFSIS (配列番号 120)	GIIP-IFGTANYAQAQKFOG (配列番号 121)	GGYGGYYFVY (配列番号 123)	
MOR8776	TGSYYWN (配列番号 74)	EINHMGITYYNPSLKG (配列番号 75)	TTRYWMSHILAYGMDY (配列番号 79)	
MOR10497	TGSYYWN (配列番号 74)	EIQSPGYTFYFNPSLKS (配列番号 78)	TTRYWMSHILAYGMDY (配列番号 79)	
MOR10501	TGSYYWN (配列番号 74)	EIWHSGPTFYFNPSLKS (配列番号 76)	TTRYWMSHILAYGMDY (配列番号 79)	
MOR10502	TGSYYWN (配列番号 74)	EIHGHGFTFYFNPSLKS (配列番号 77)	TTRYWMSHILAYGMDY (配列番号 79)	

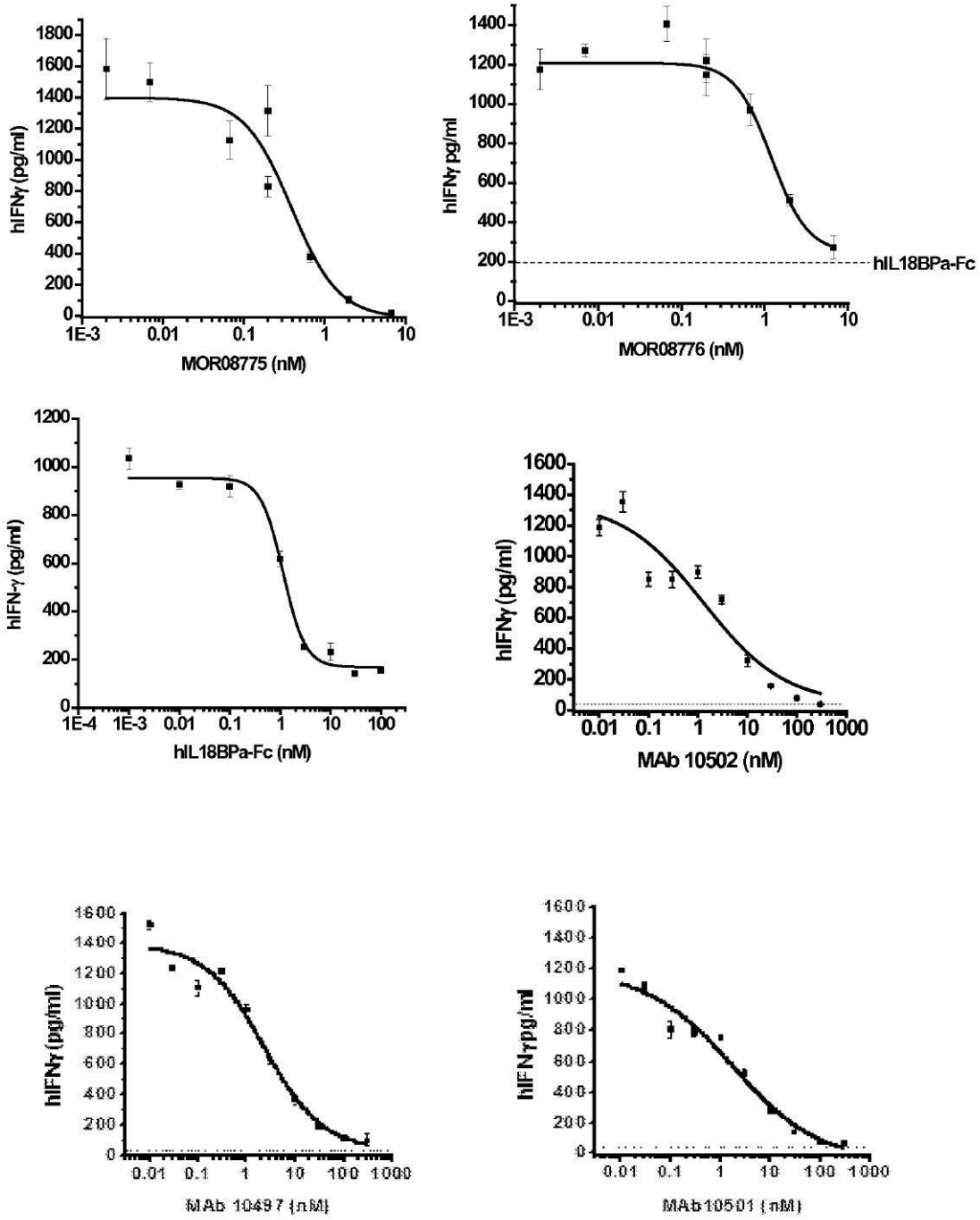
【 図 2 】

	L-CDR1		L-CDR2		L-CDR3	
MOR9464	SGSSSNIGNHYVN (配列番号 6)	RNNHRPS (配列番号 7)	QSWDYSGFSTV (配列番号 8)
MOR9464N30K	SGSSSNIGNHYVN (配列番号 6)	RNNHRPS (配列番号 7)	QSWDYSGFSTV (配列番号 8)
MOR10222N30SM54I	SGSSSNIGNHYVN (配列番号 6)	RNNHRPS (配列番号 7)	QSWDYSGFSTV (配列番号 8)
MOR8775	SGSSSNIGNHYVN (配列番号 6)	RNNHRPS (配列番号 7)	QSWDYSGFSTV (配列番号 8)
MOR9465	SGSSSNIGNHYVN (配列番号 6)	RNNHRPS (配列番号 7)	QSWDYSGFSTV (配列番号 8)
MOR9466	SGSSSNIGNHYVN (配列番号 6)	RNNHRPS (配列番号 7)	QSWDYSGFSTV (配列番号 8)
MOR10579	SGSSSNIGNHYVN (配列番号 6)	RNNHRPS (配列番号 7)	QSWDYSGFSTV (配列番号 8)
MOR10222	SGSSSNIGNHYVN (配列番号 6)	RNNHRPS (配列番号 7)	QSWDYSGFSTV (配列番号 8)
MOR9441	SGSSSNIGNHYVN (配列番号 6)	RNNHRPS (配列番号 7)	QSWDYSGFSTV (配列番号 8)
MOR13363	RASQSIIFYLN (配列番号 109)	DSSLQS (配列番号 110)	LQYSGFLFT (配列番号 111)
MOR13361	RASQSIIFYLN (配列番号 109)	DSSLQS (配列番号 110)	HQYSGLLFT (配列番号 126)
MOR13341	RASQSI SNRLN (配列番号 124)	KGSTLQS (配列番号 125)	QQHKVWLTT (配列番号 127)
MOR13342	RASQSI SNRLN (配列番号 124)	KGSTLQS (配列番号 125)	QQHYVWSIT (配列番号 128)
MOR13347	RASQSI SNRLN (配列番号 124)	KGSTLQS (配列番号 125)	QQHYQWLTT (配列番号 129)
MOR8776	SGSSSNIGNHYVS (配列番号 80)	ANTKRPS (配列番号 81)	SSYDGSQSIV (配列番号 82)
MOR10497	SGSSSNIGNHYVS (配列番号 80)	ANTKRPS (配列番号 81)	SSYDGSQSIV (配列番号 82)
MOR10501	SGSSSNIGNHYVS (配列番号 80)	ANTKRPS (配列番号 81)	SSYDGSQSIV (配列番号 82)
MOR10502	SGSSSNIGNHYVS (配列番号 80)	ANTKRPS (配列番号 81)	SSYDGSQSIV (配列番号 82)

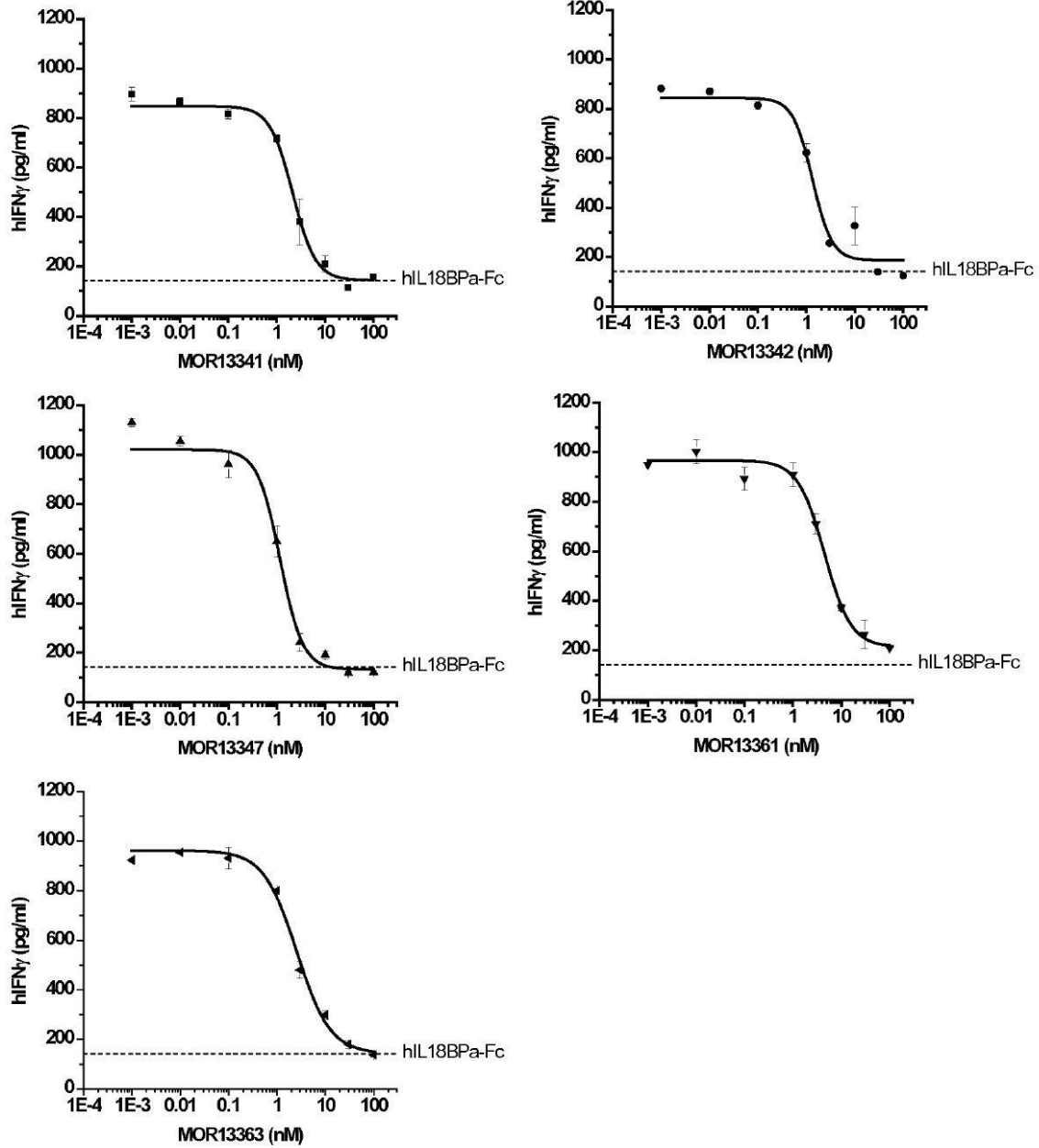
【 図 3 A 】



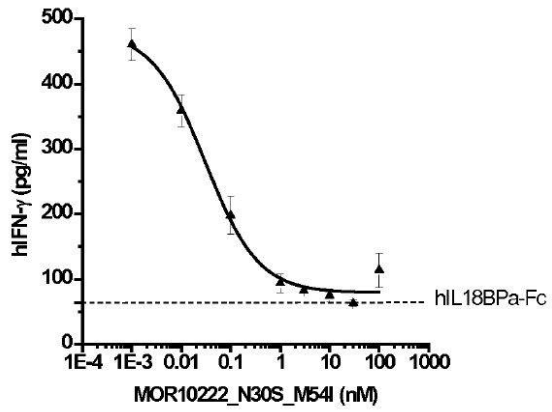
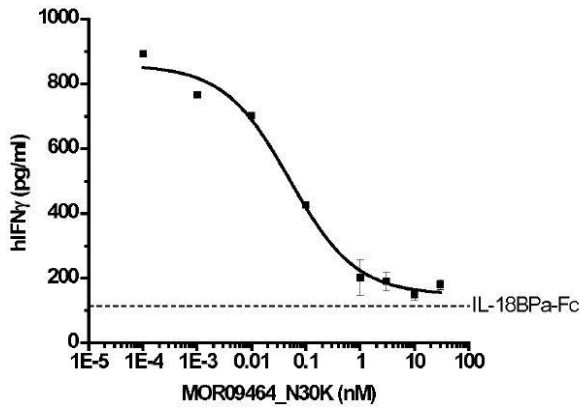
【 図 3 B 】



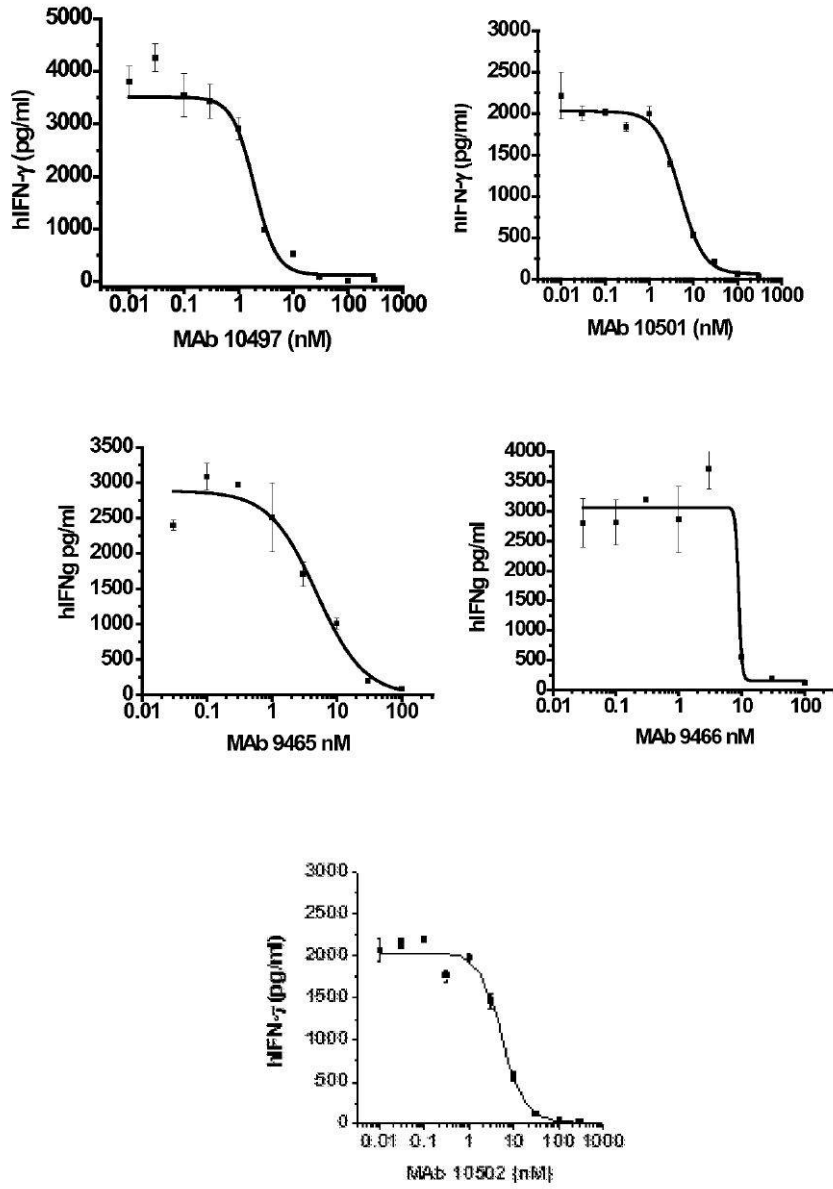
【 図 3 C 】



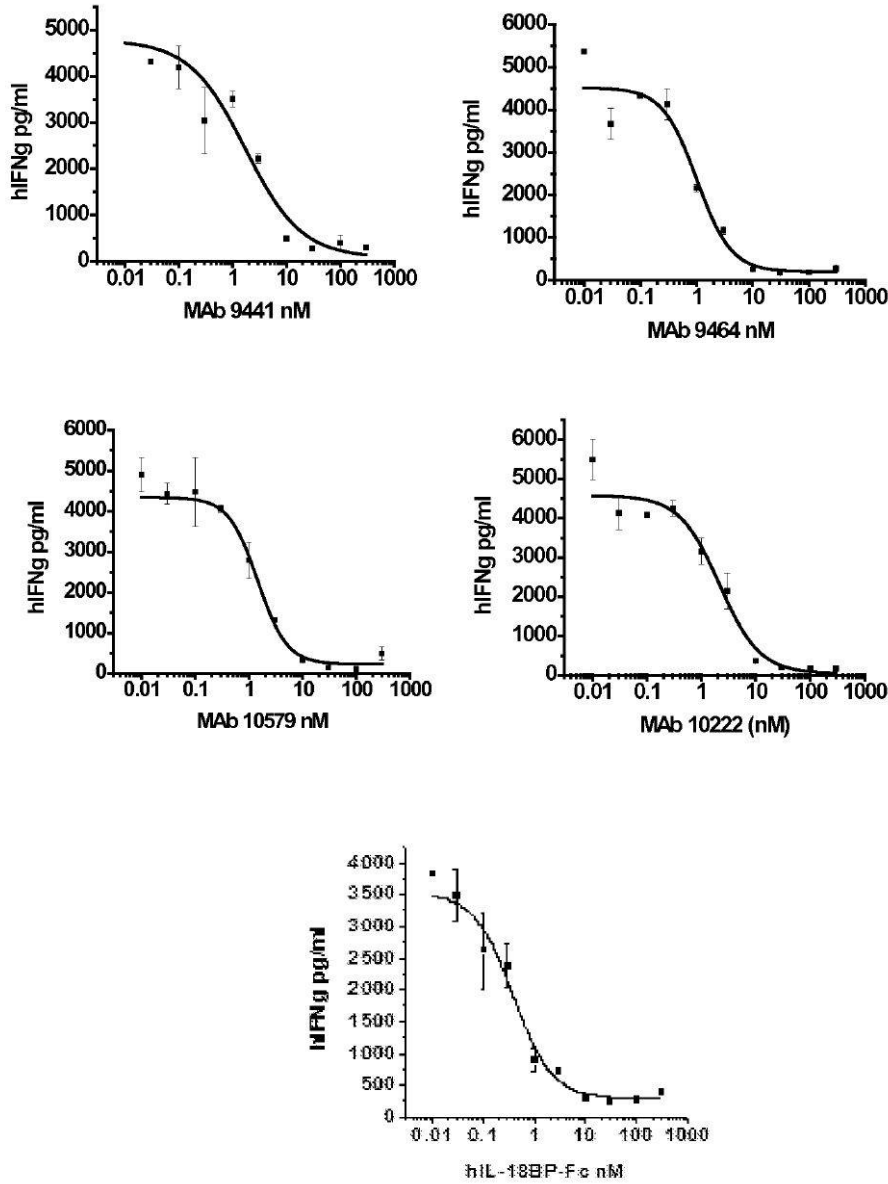
【 図 3 D 】



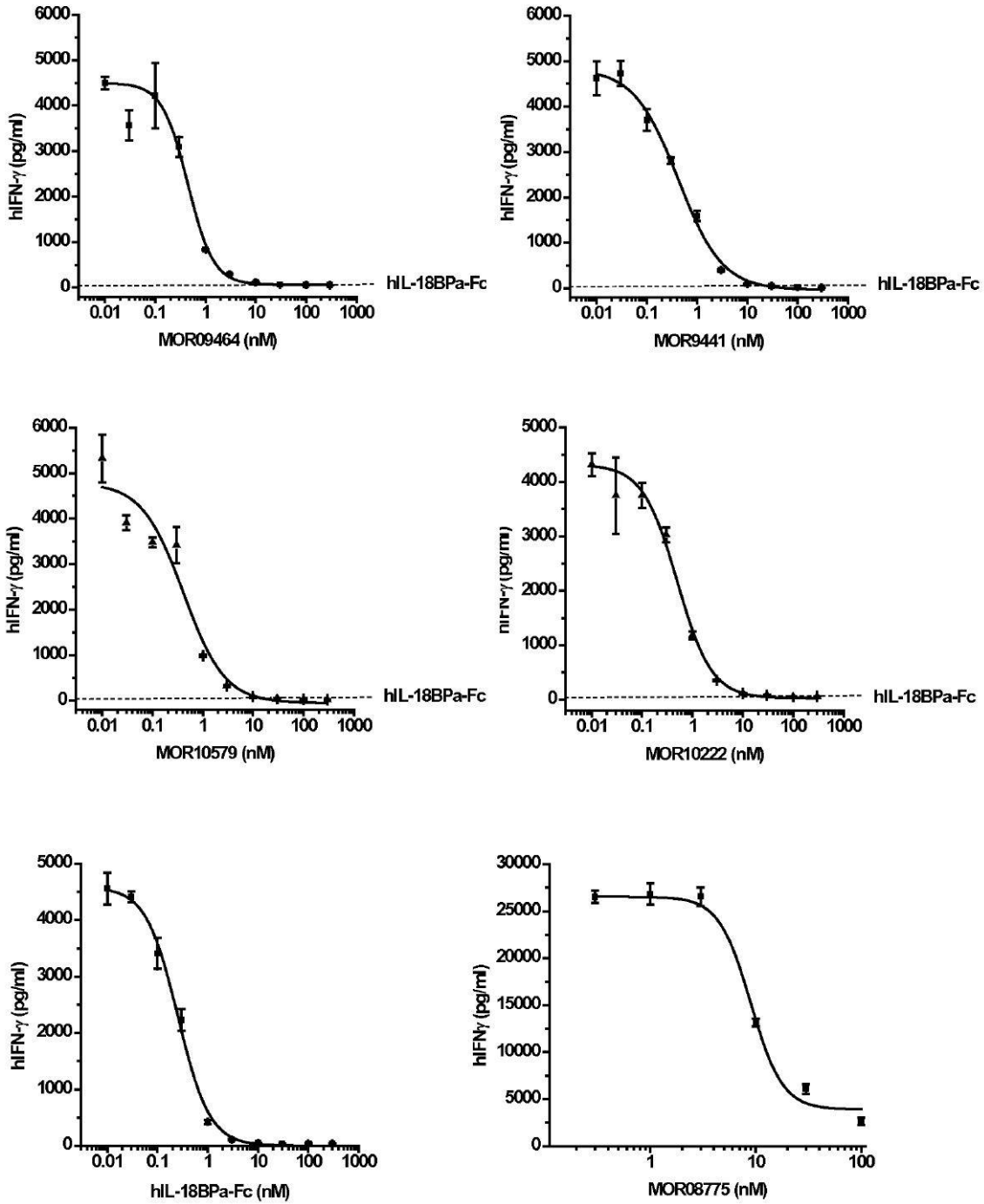
【 図 4 A 】



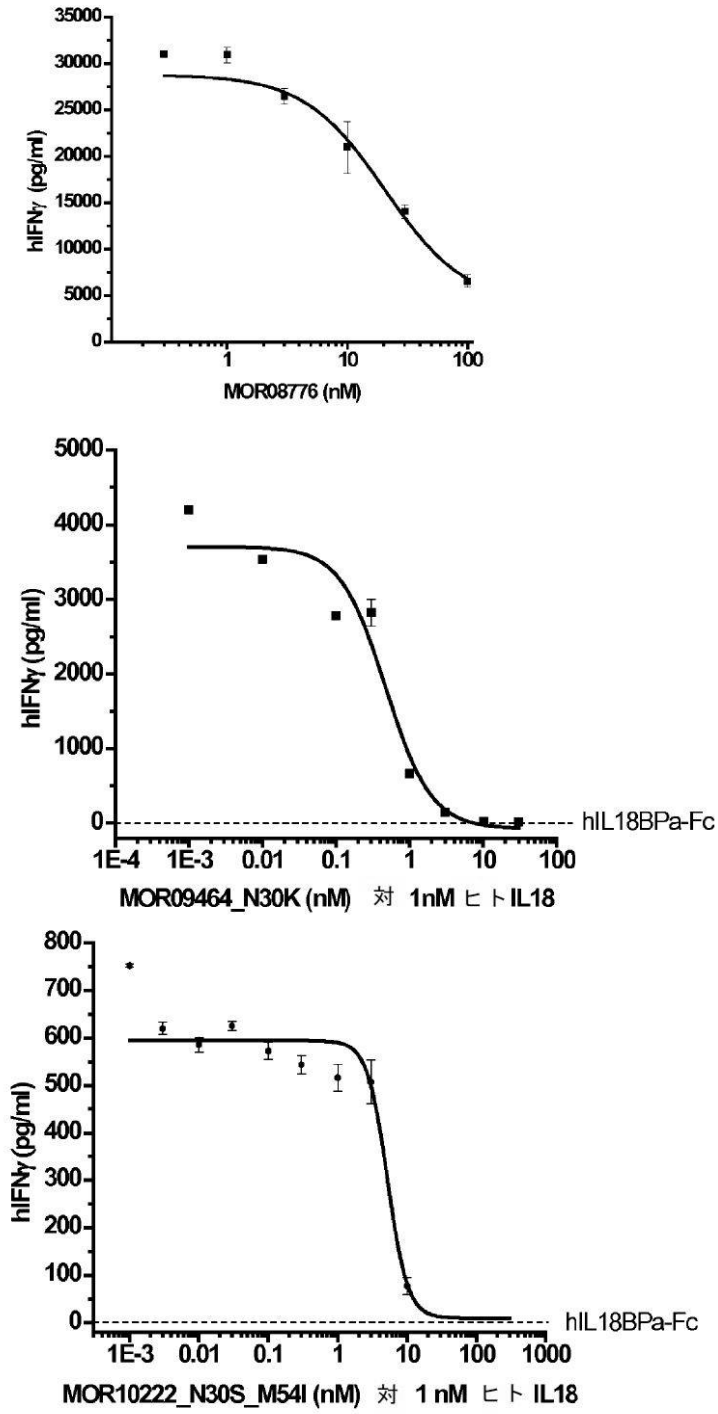
【 図 4 B 】



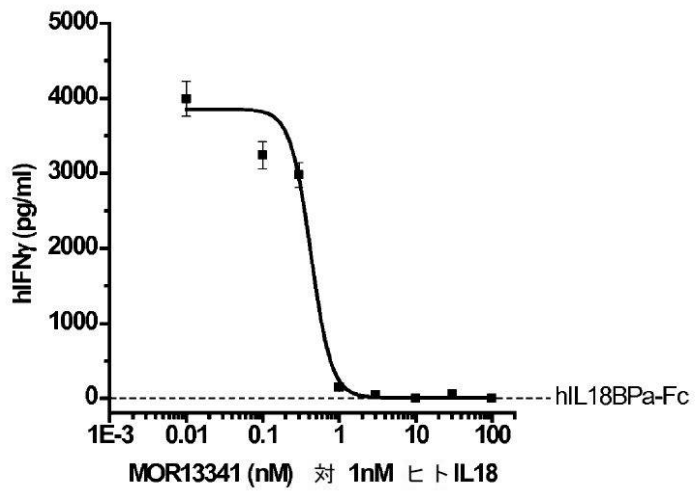
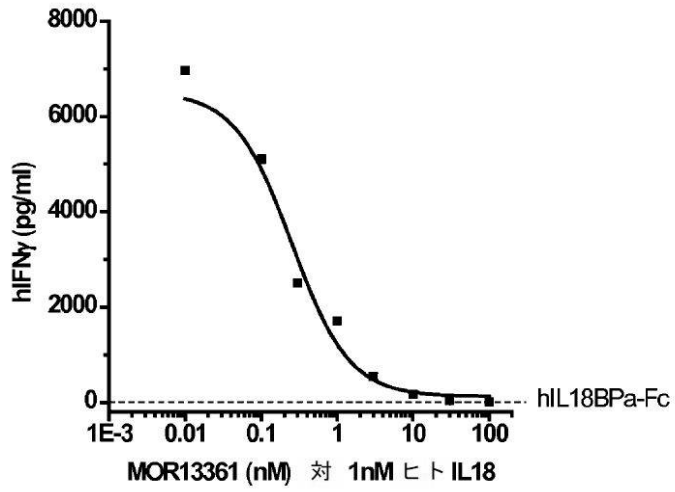
【 図 5 A 】



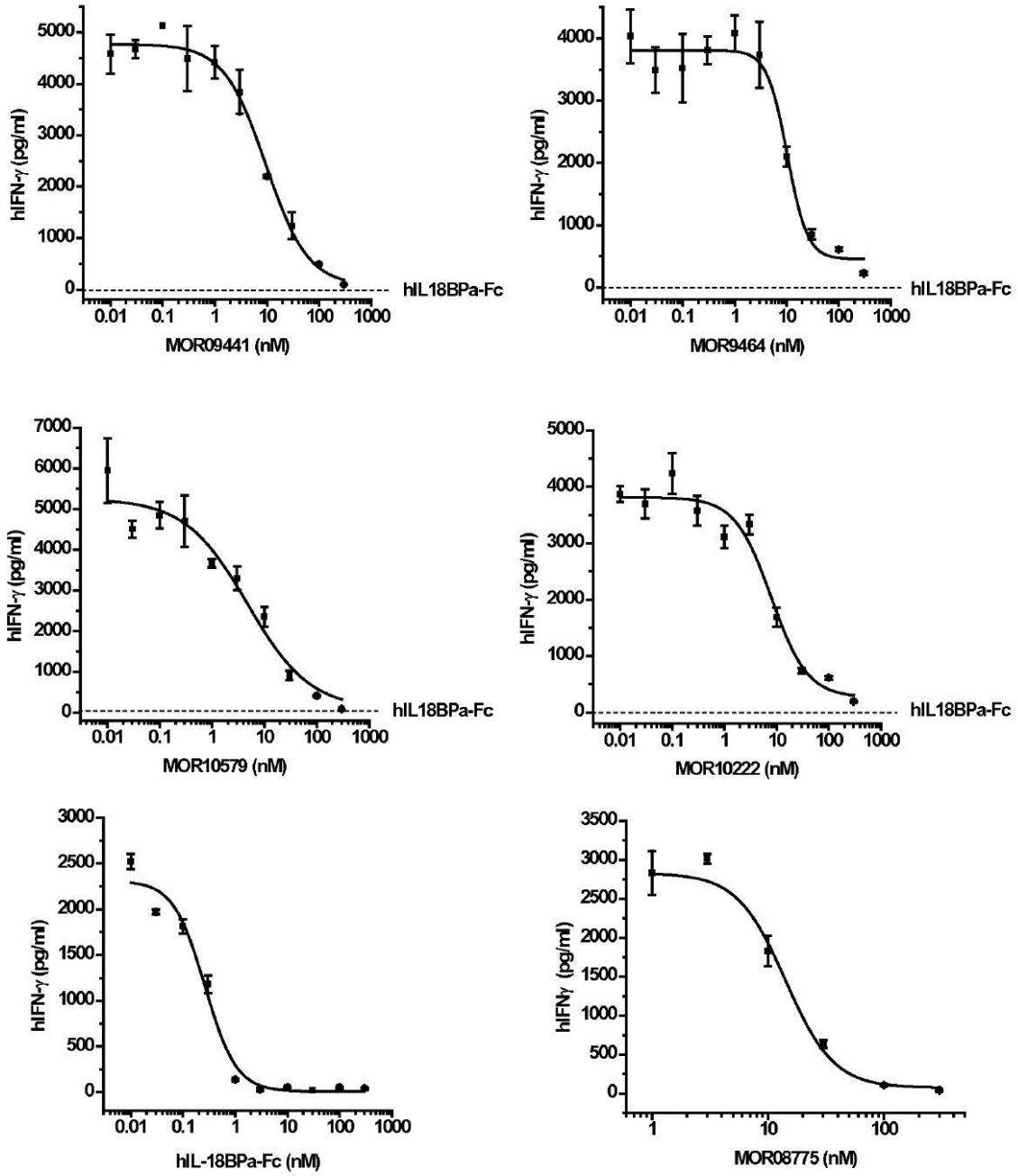
【 図 5 B 】



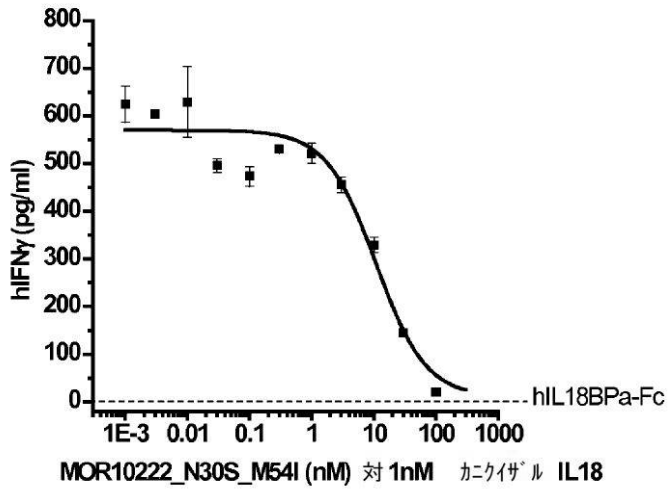
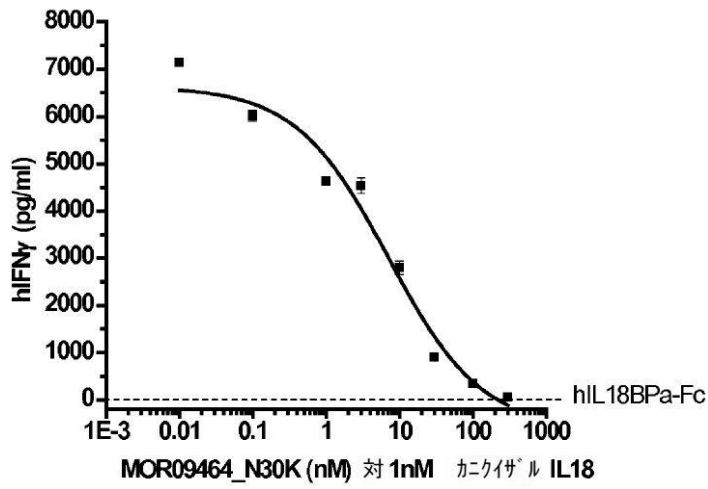
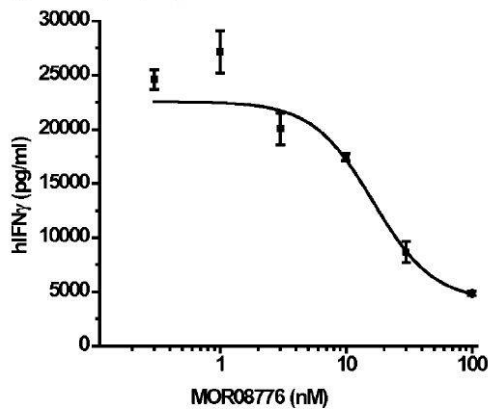
【 図 5 C 】



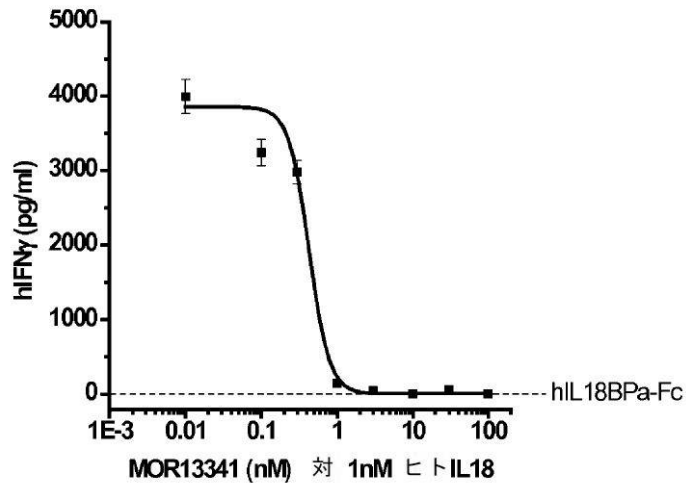
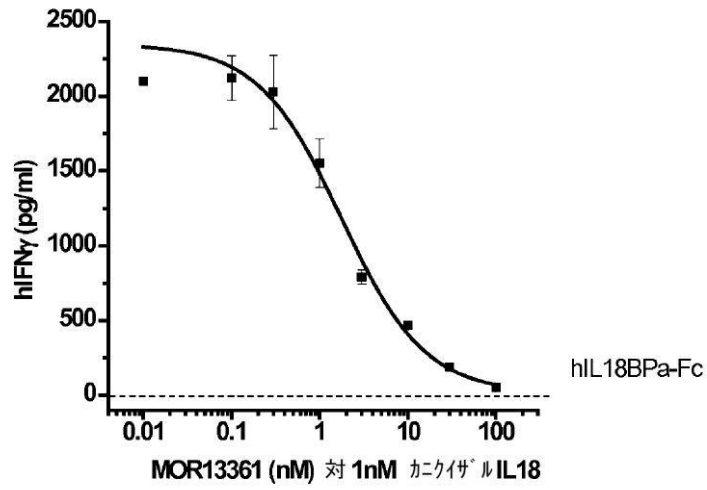
【 図 6 A 】



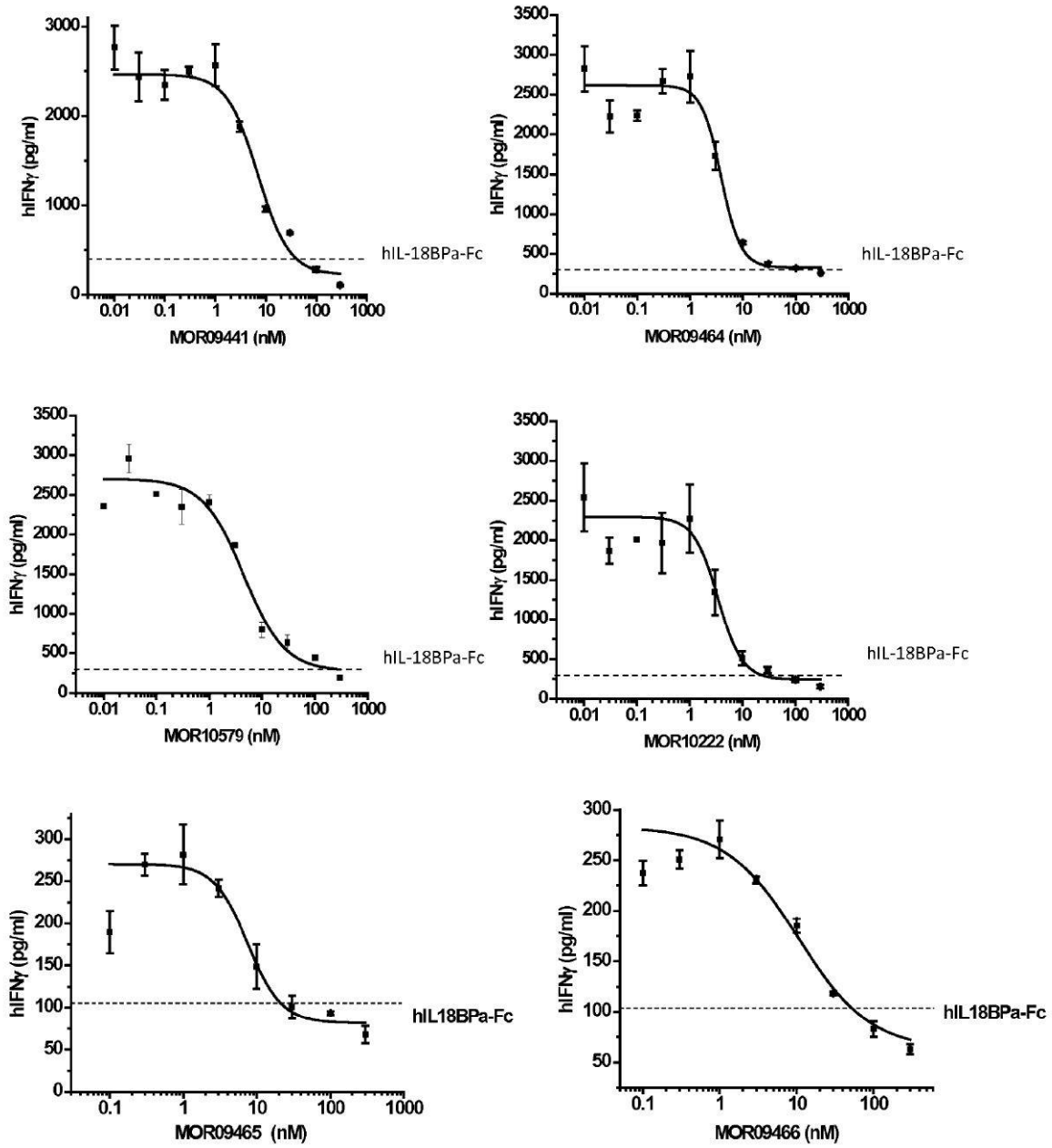
【 図 6 B 】



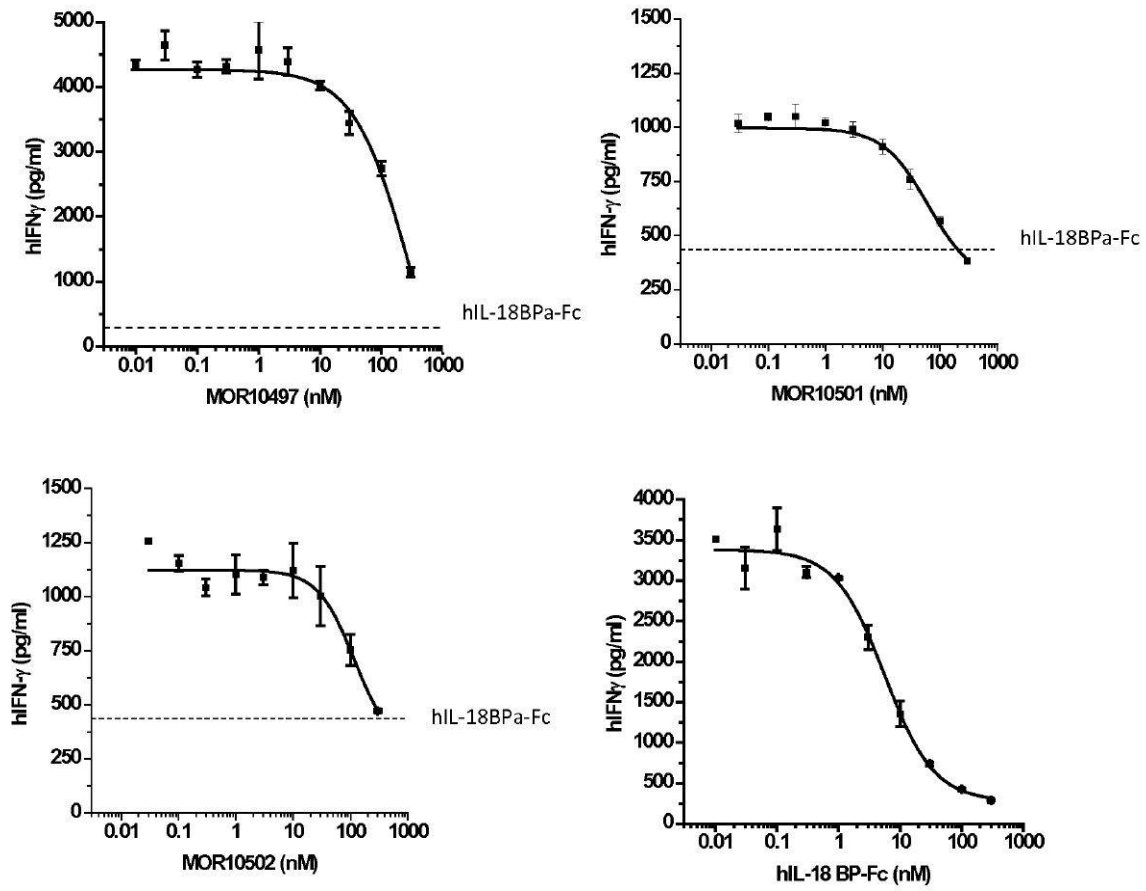
【 図 6 C 】



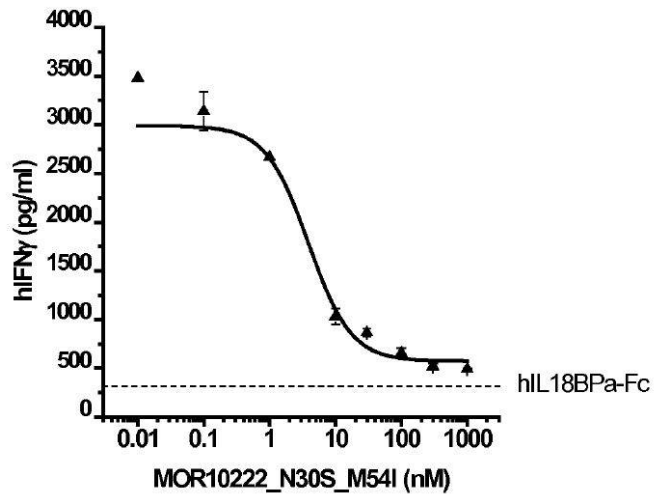
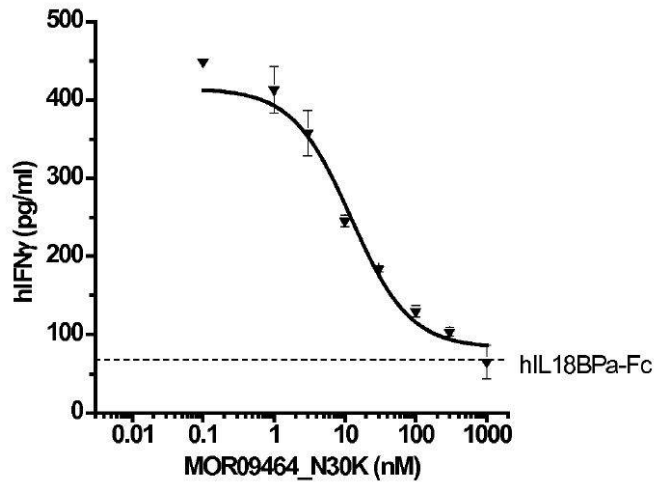
【 図 7 A 】



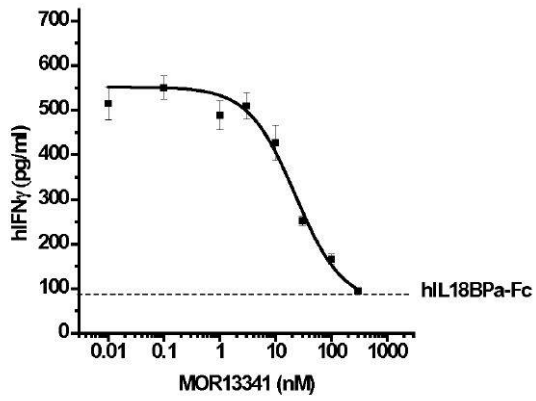
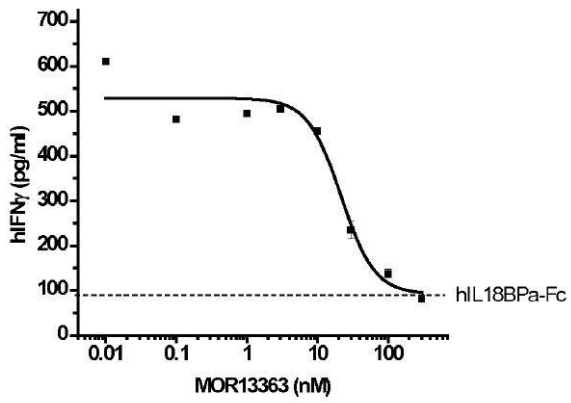
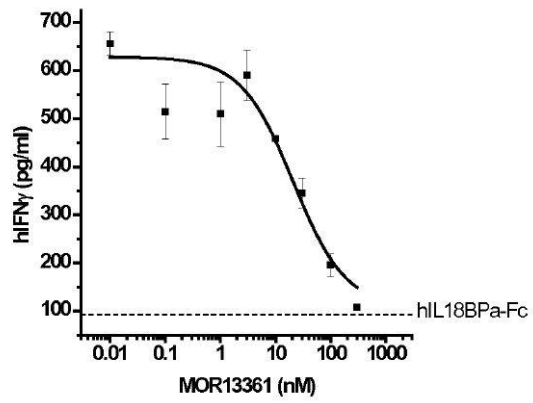
【 図 7 B 】



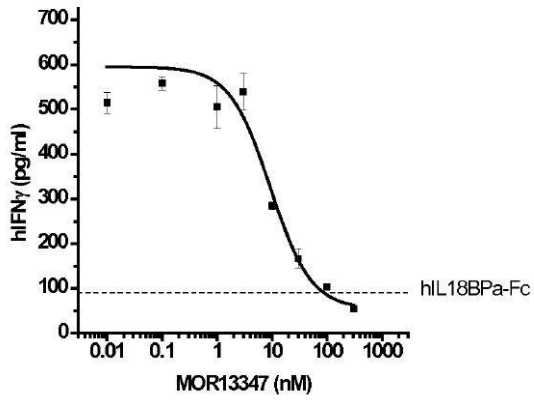
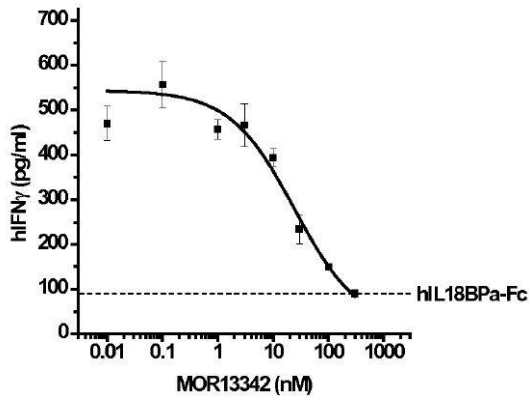
【 図 7 C 】



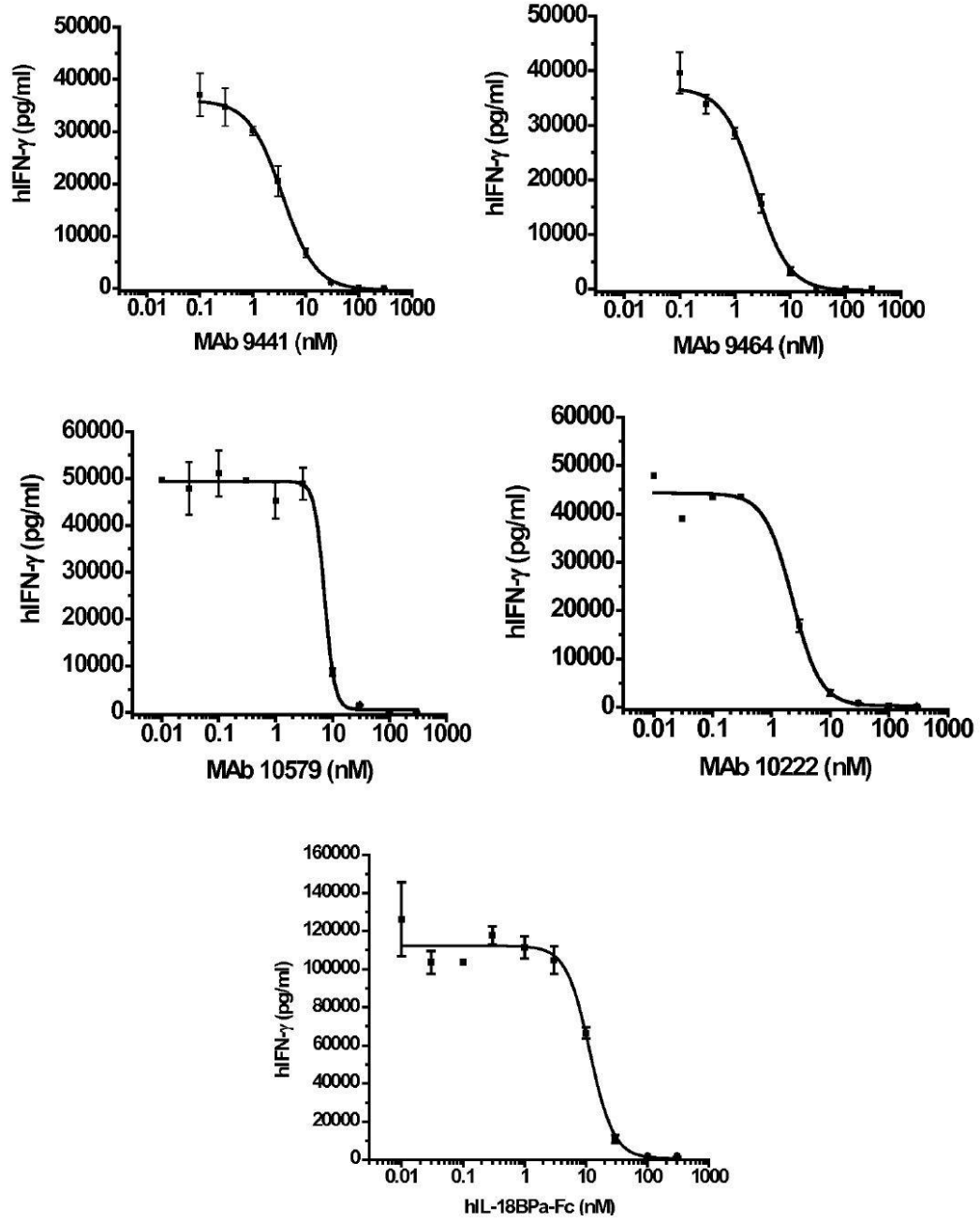
【 図 7 D 】



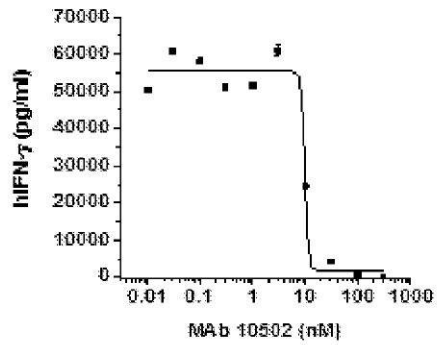
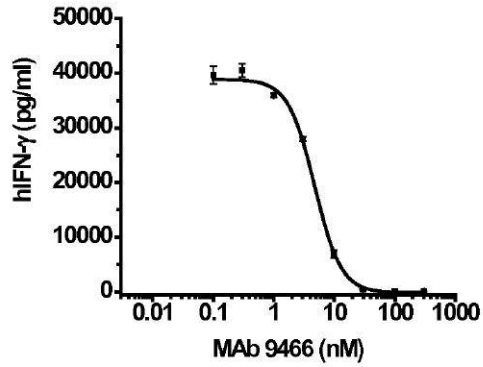
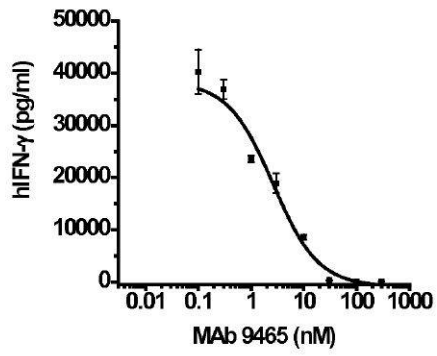
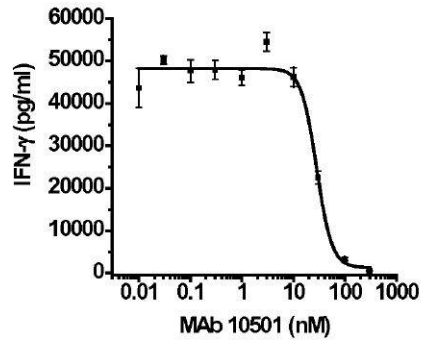
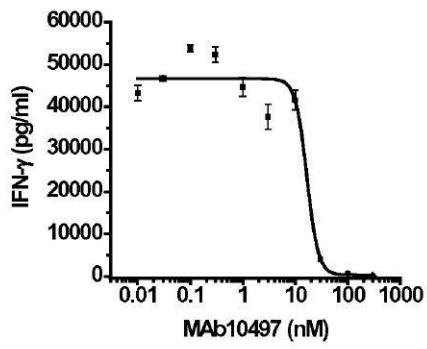
【 図 7 E 】



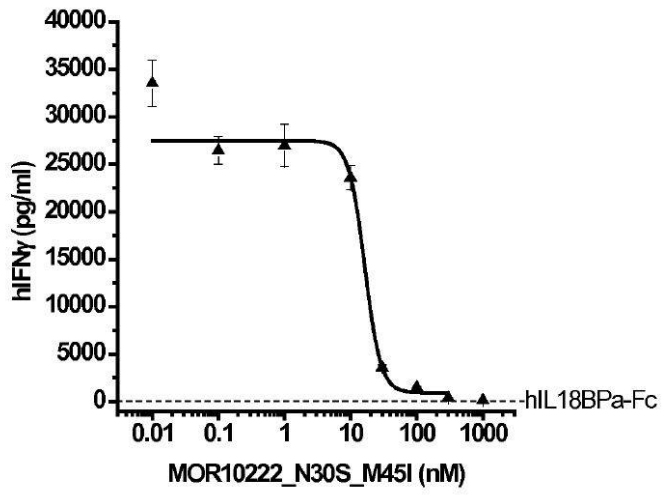
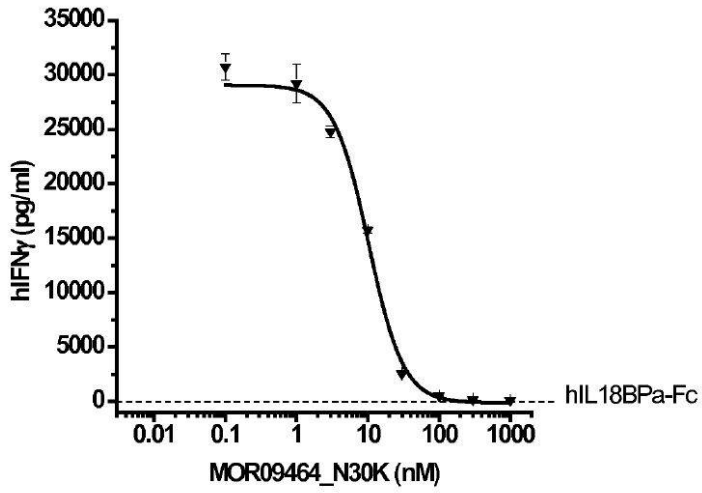
【 図 8 A 】



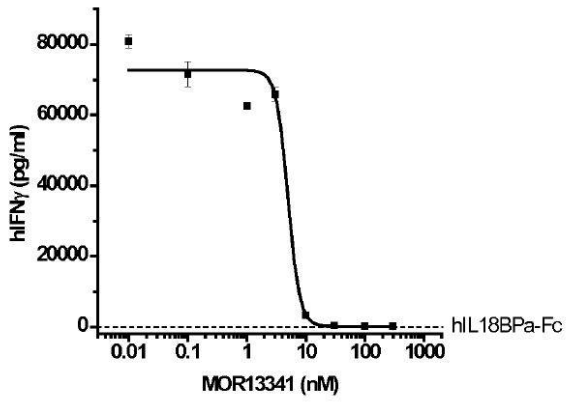
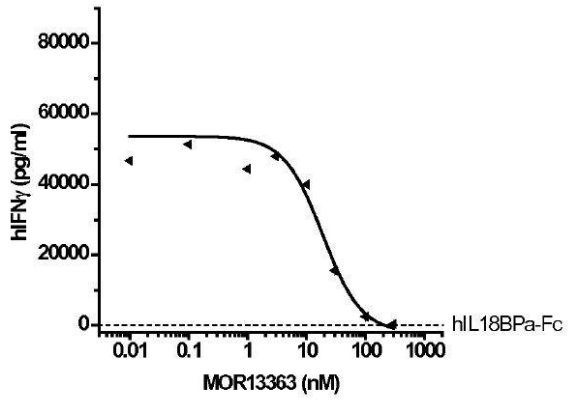
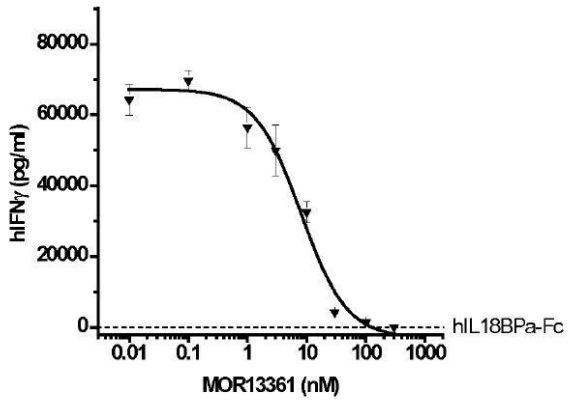
【 図 8 B 】



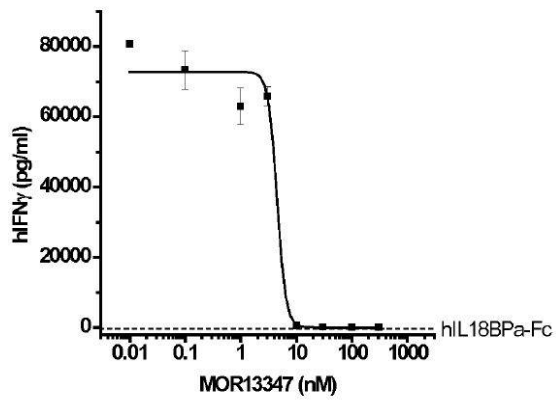
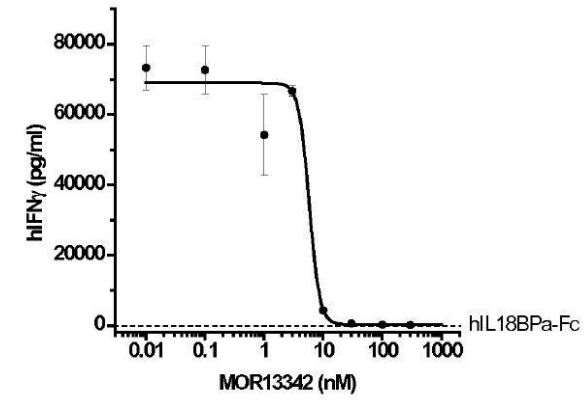
【 図 8 C 】



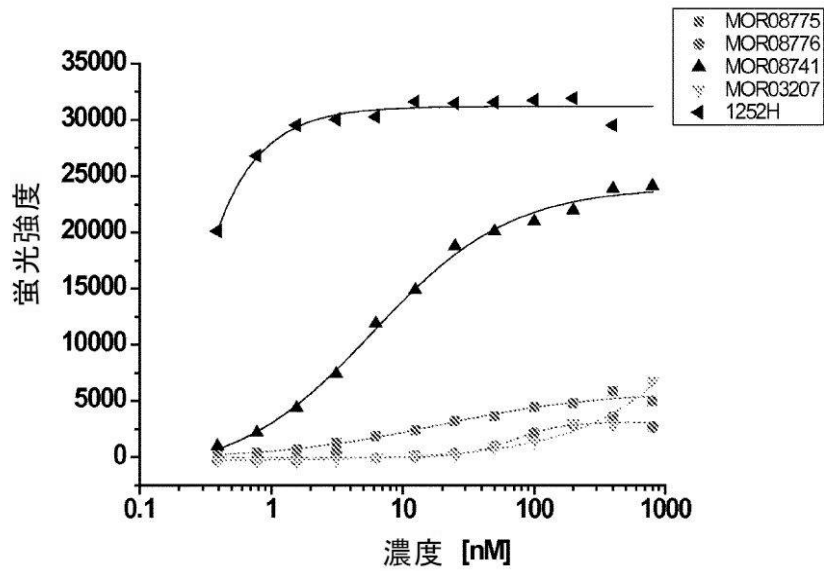
【 図 8 D 】



【 図 8 E 】



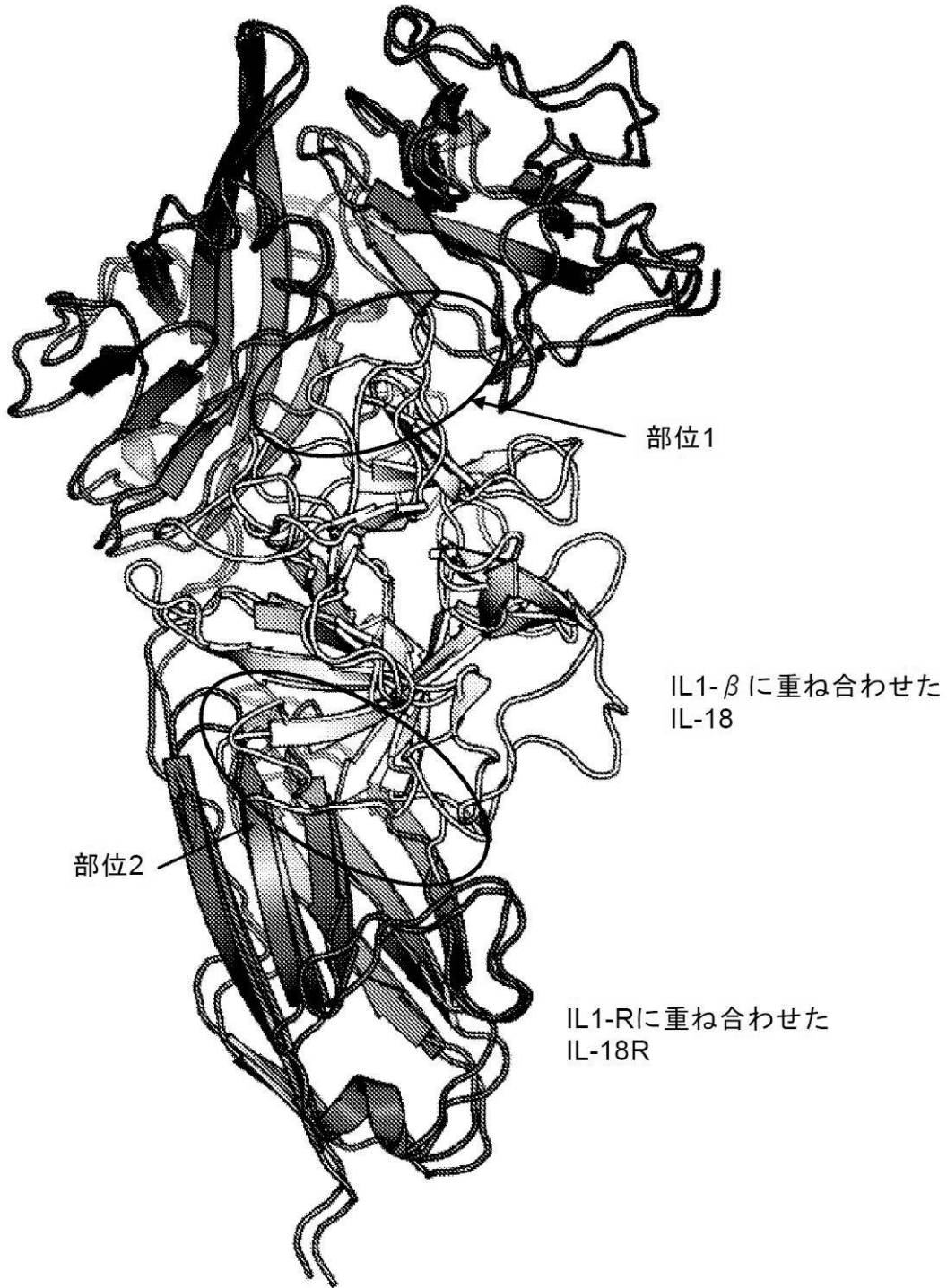
【 図 9 A 】



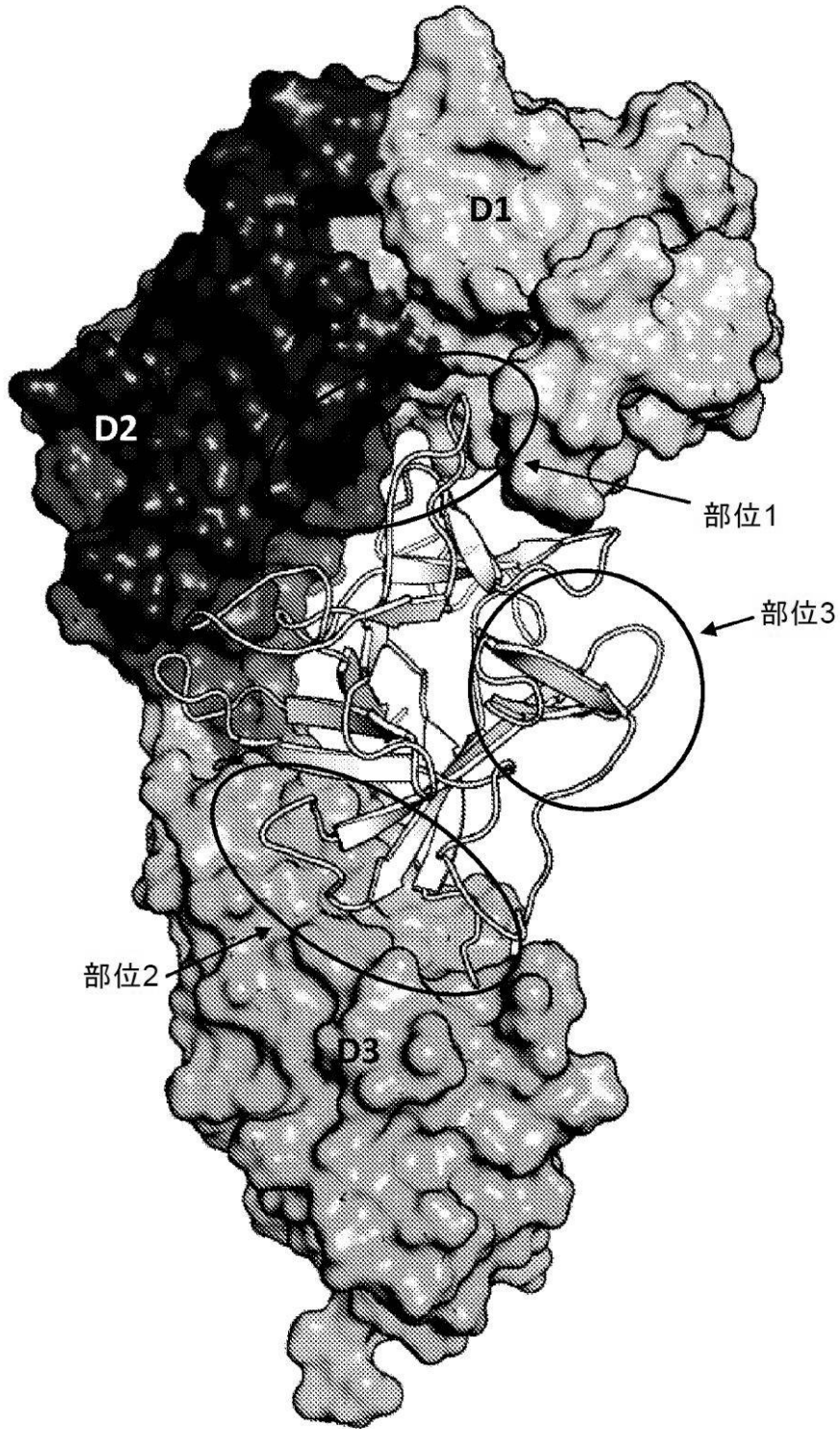
【 ☒ 1 0 B 】

	ABT325	125-2H	IL18-BP	MOR9464 _N30K	MOR10222_N30S _M54I	MOR13341	MOR9464
ABT325							
125-2H							
IL18-BP							
MOR9464 _N30K							
MOR10222 _N30S_M54I							
MOR13341							
MOR9464							

【図 1 1 A】



【図 1 1 B】



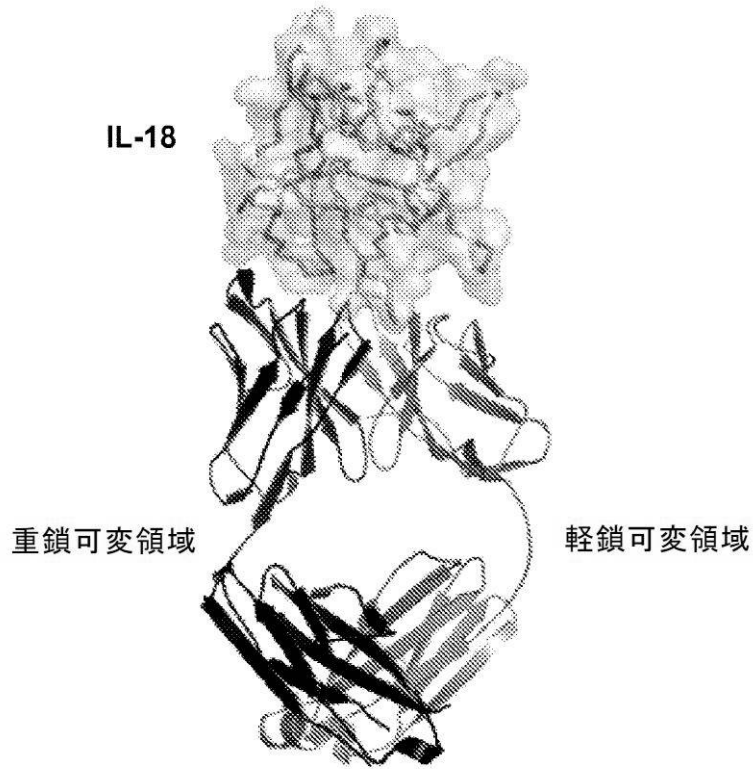
【 ☒ 1 2 】

1) E T IL-18	YFGK ⁴⁰ LESKLSVIRN ⁵⁰ LNDQVLFIDQ ⁶⁰ GNRPLFEDMT ⁷⁰ DSDCRDNAPR ⁸⁰ TIFIISMVKD ⁹⁰ SQPRGMAVTI ¹⁰⁰ SVKCNKI
2) Kim b	E I M K M
3) Krumm b	YFG L K I MYKD ⁹⁰ S PRGMAV
4) IL-18α	K ⁴⁰ L K R D M D R M
5) H/DxMS	MYKD ⁹⁰ SQPRGMAVT

1) E T IL-18	STL ¹¹⁰ SCENKIISFK ¹²⁰ EMNPPDNIKD ¹³⁰ TKSDIIFFQR ¹⁴⁰ SVPGHDKMKQ ¹⁵⁰ FESSSYEGYF ¹⁶⁰ LACEKERDLF ¹⁷⁰ KLILK
2) Kim b	N N QR ¹⁴⁰ S DNKM
3) Krumm b	N N QR ¹⁴⁰ S DN M
4) IL-18α	R R
5) H/DxMS	FK ¹²⁰ EMNPPDNIKD ¹³⁰ TKSDIIFFQR ¹⁴⁰ SVPGHDKMKQ ¹⁵⁰ FESSSYEGYF

1) E T IL-18	KEDEL ¹⁸⁰ GDRSIMFTVQ ¹⁹⁰ NEED
2) Kim b	V N
3) Krumm b	V
4) IL-18α	
5) H/DxMS	

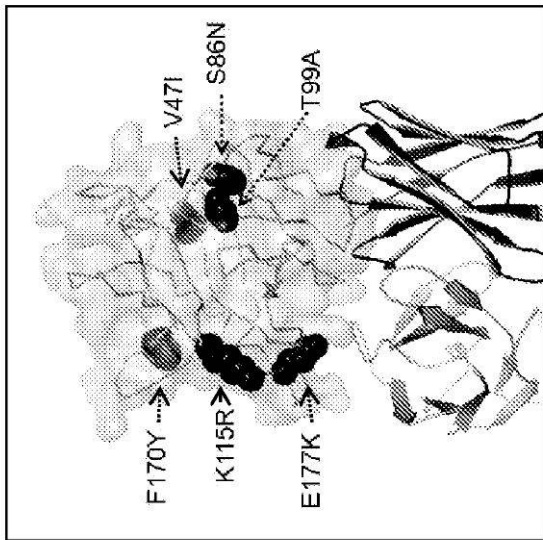
【 図 1 3 】



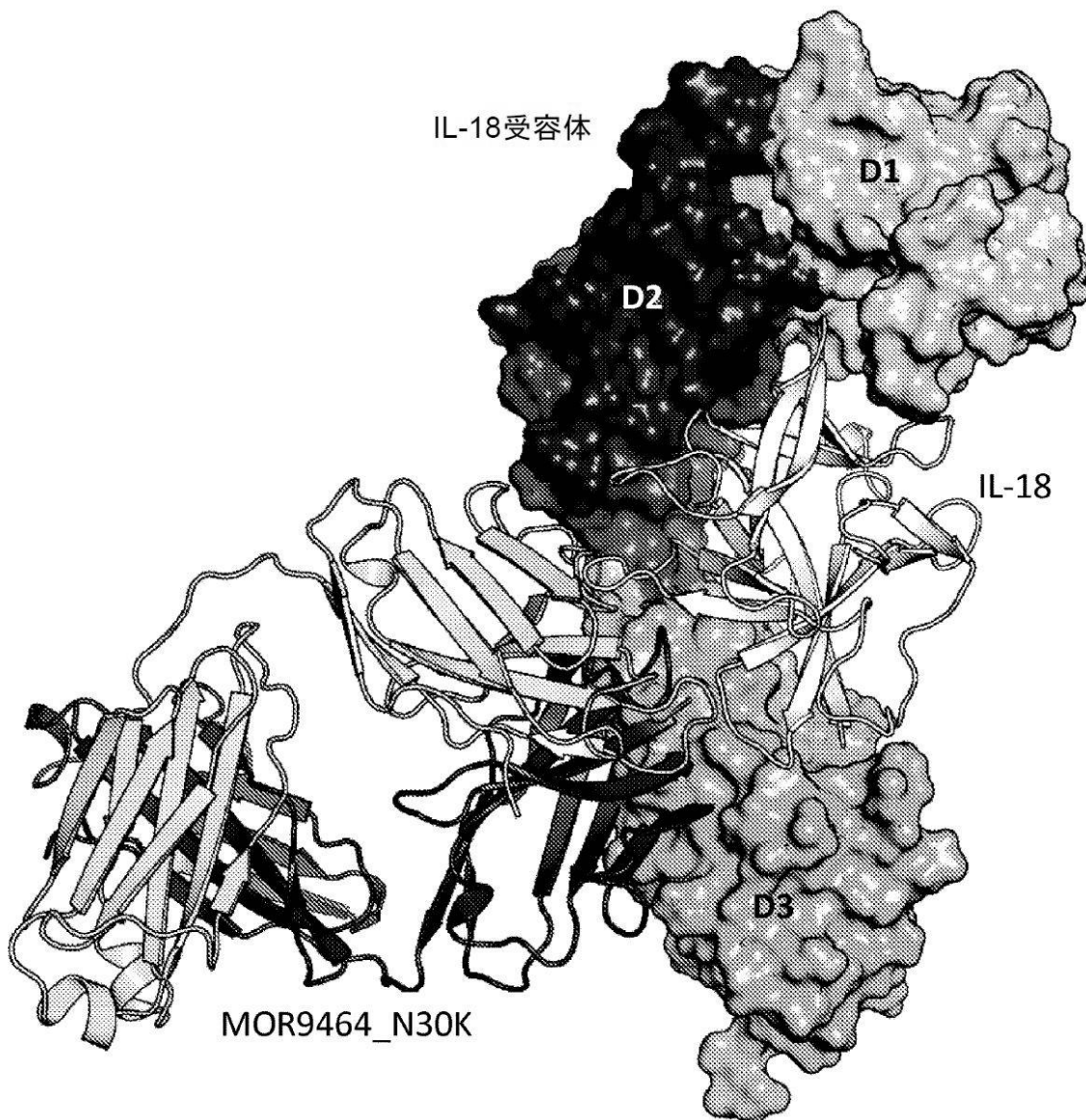
【 14A 】

	47	86	99	115
ヒト IL-18	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFII	SMYKDSQPRGMAVT	ISVKCENK	IISTLSCE
カニクイ [*] Ⅱ IL-18	YFGKLESKLSIIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFII	NMYKDSQPRGMAVA	ISVKCENR	IISTLSCE [*]
			170	177
ヒト IL-18	NKIIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFQRSVPGHDNKMQFESSYEGYFLACEKERDII	FKLILKK	DELGDRSIMFTVQNE	
カニクイ [*] Ⅱ IL-18	NKIIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFQRSVPGHDNKMQFESSYEGYFLACEKERDII	YKLILKKK	DELGDRSIMFTVQNE [*]	

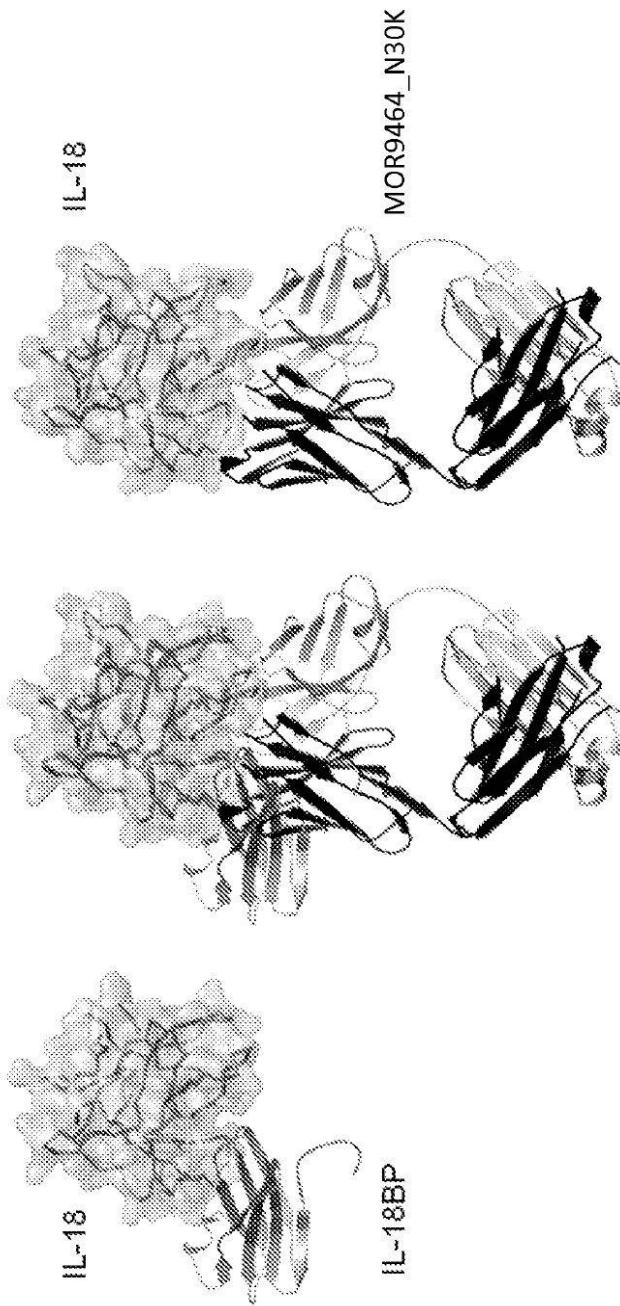
【 図 1 4 B 】



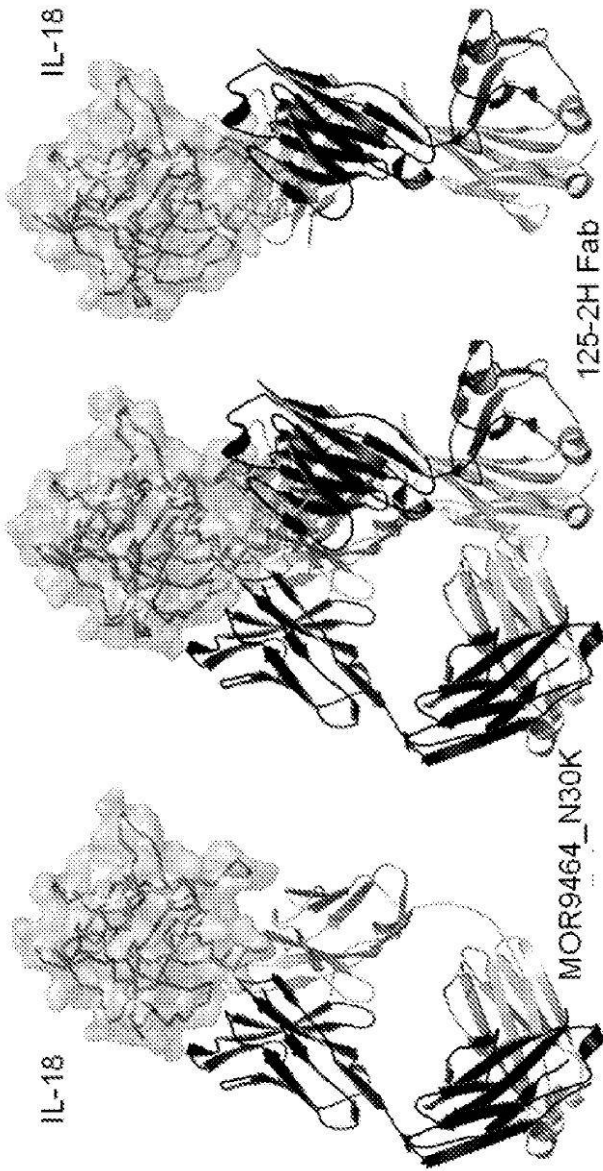
【 図 1 5 】



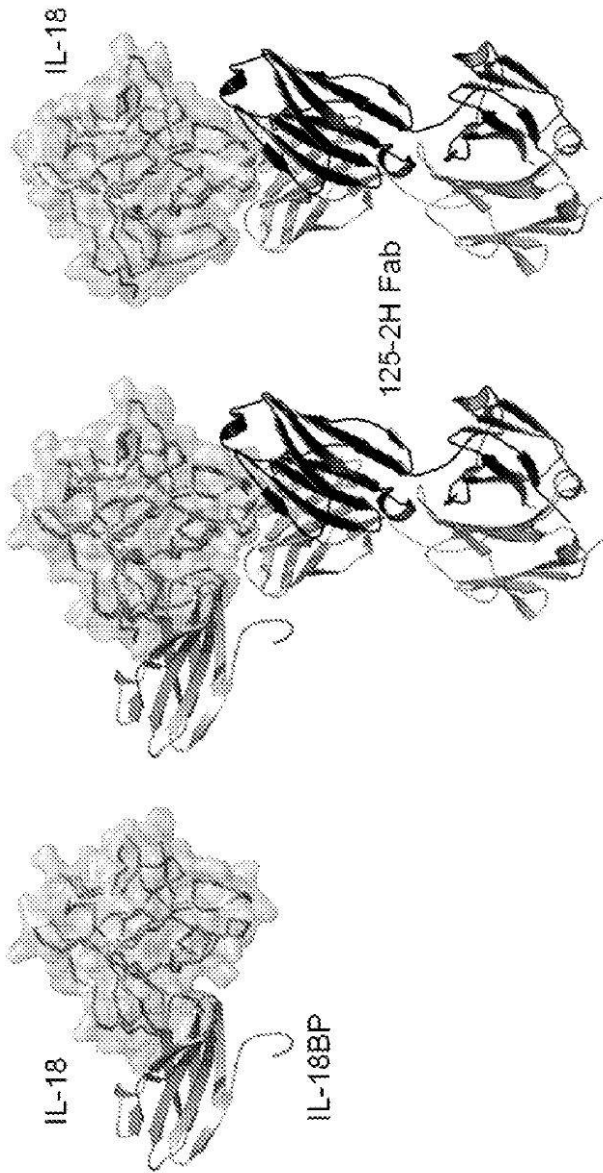
【 図 1 6 】



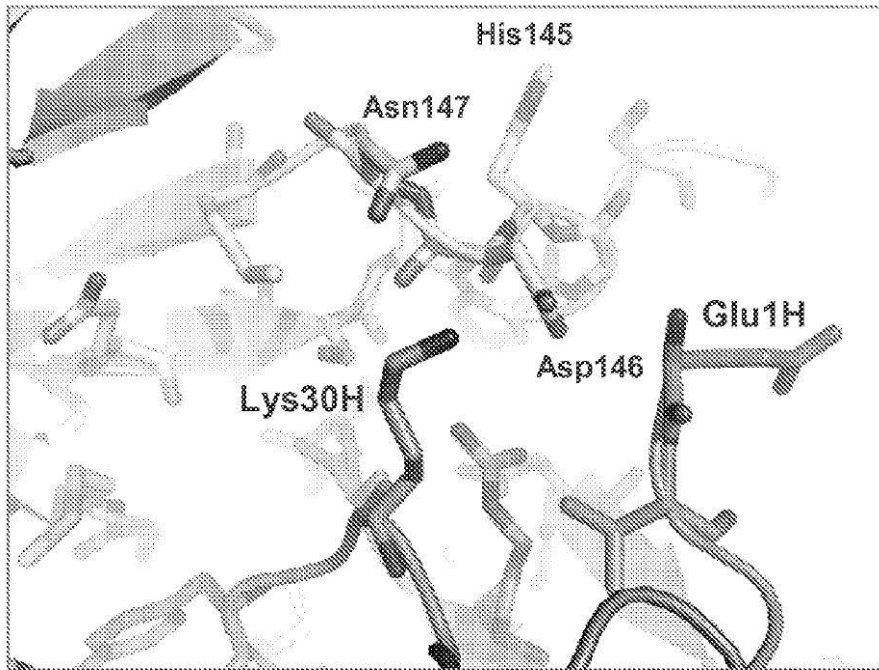
【 図 17 】



【 図 18 】



【 図 1 9 】



【 配 列 表 】

2015534546000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2013/058317

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07K16/24 A61K39/395 G01N33/50 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, EMBASE, BIOSIS, Sequence Search, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2012/085015 A1 (MEDIMMUNE LTD [GB]; DOBSON CLAIRE [GB]; LANE STEVEN [GB]; NEWTON PHILI) 28 June 2012 (2012-06-28) the whole document	1-26, 37-60
A	----- EISENHARDT STEFFEN U ET AL: "Subtractive single-chain antibody (scFv) phage-display: tailoring phage-display for high specificity against function-specific conformations of cell membrane molecules.", NATURE PROTOCOLS 2007, vol. 2, no. 12, 2007, pages 3063-3073, XP009175982, ISSN: 1750-2799 the whole document ----- -/--	1-26, 37-60
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents :		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search 5 February 2014		Date of mailing of the international search report 15/04/2014
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Weikl, Martina

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/IB2013/058317**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.:
- 17-26(completely); 1-16, 37-60(partially)

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/IB2013/058317

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>NOVICK D ET AL: "High circulating levels of free interleukin-18 in patients with active SLE in the presence of elevated levels of interleukin-18 binding protein", JOURNAL OF AUTOIMMUNITY, LONDON, GB, vol. 34, no. 2, 1 March 2010 (2010-03-01), pages 121-126, XP026886091, ISSN: 0896-8411, DOI: 10.1016/J.JAUT.2009.08.002 [retrieved on 2009-08-22] the whole document</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	<p>1-26, 37-60</p>

International Application No. PCT/IB2013/058317

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 17-26(completely); 1-16, 37-60(partially)

Claims relating to antibodies that specifically bind IL-18 wherein the antibodies do not bind the IL-18/IL-18 binding protein complex wherein the antibodies are from the group of antibodies MOR8775, MOR9441, MOR9464 (including MOR9464 N30K), MOR9465, MOR9466, MOR10579 and MOR10222 (including MOR10222 N30S M54I) which share five common CDRs; nucleic acids encoding these antibodies; compositions comprising these antibodies and therapeutic and diagnostic methods using these antibodies

2. claims: 27-29(completely); 1-16, 37-60(partially)

Claims relating to antibodies that specifically bind IL-18 wherein the antibodies do not bind the IL-18/IL-18 binding protein complex wherein the antibodies are from the group of antibodies MOR08776, MOR10497, MOR10501 and MOR10502 which share some common CDRs; nucleic acids encoding these antibodies; compositions comprising these antibodies and therapeutic and diagnostic methods using these antibodies

3. claims: 30-33(completely); 1-16, 37-60(partially)

Claims relating to antibodies that specifically bind IL-18 wherein the antibodies do not bind the IL-18/IL-18 binding protein complex wherein the antibodies are from the group of antibodies MOR13363 and MOR 13361 which share some common CDRs; nucleic acids encoding these antibodies; compositions comprising these antibodies and therapeutic and diagnostic methods using these antibodies

4. claims: 34-36(completely); 1-16, 37-60(partially)

Claims relating to antibodies that specifically bind IL-18 wherein the antibodies do not bind the IL-18/IL-18 binding protein complex wherein the antibodies are from the group of antibodies MOR13341, MOR13342 and MOR13347 which share some common CDRs; nucleic acids encoding these antibodies; compositions comprising these antibodies and therapeutic and diagnostic methods using these antibodies

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2013/058317

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2012085015 A1	28-06-2012	AU 2011347354 A1	01-08-2013
		CA 2822515 A1	28-06-2012
		CN 103339147 A	02-10-2013
		EP 2655416 A1	30-10-2013
		KR 20140003467 A	09-01-2014
		US 2014004128 A1	02-01-2014
		WO 2012085015 A1	28-06-2012

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 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/19	4 H 0 4 5
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/00	1 0 1
A 6 1 K 38/00 (2006.01)	A 6 1 K 37/02	
A 6 1 P 11/00 (2006.01)	A 6 1 P 11/00	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 0 5
A 6 1 P 37/02 (2006.01)	A 6 1 P 37/02	
A 6 1 P 9/00 (2006.01)	A 6 1 P 9/00	
A 6 1 P 19/02 (2006.01)	A 6 1 P 19/02	
A 6 1 P 11/06 (2006.01)	A 6 1 P 11/06	
A 6 1 P 3/10 (2006.01)	A 6 1 P 3/10	
A 6 1 P 9/10 (2006.01)	A 6 1 P 9/10	
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	P

(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, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, H R, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, 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, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ

- (72) 発明者 バードロフ, マイケル オットー
スイス国 ツェーハー - 4 0 0 2 バーゼル, ポストファッハ, ノバルティス ファーマ アーゲ
ー
- (72) 発明者 ブラネッティ, バーバラ
スイス国 ツェーハー - 4 0 0 2 バーゼル, ポストファッハ, ノバルティス ファーマ アーゲ
ー
- (72) 発明者 キャンベル, エマ ミシェル
イギリス国 アールエイチ 1 2 5 エービー ホーシャム サセックス, ウィンブルハースト ロ
ード, ノバルティス ファーマシューティカルズ ユーケー リミテッド
- (72) 発明者 ディーフェンバッハ - ストリーパー, ビート
ドイツ連邦共和国 8 2 1 5 2 ブラネック, レナ - キリスト - シュトラーセ 4 8, モルフォシ
ス アーゲー
- (72) 発明者 エーベルト, エディーナ
ドイツ連邦共和国 8 2 1 5 2 ブラネック, レナ - キリスト - シュトラーセ 4 8, モルフォシ
ス アーゲー
- (72) 発明者 クンツ, クリスチャン カルステン シルヴェスター
ドイツ連邦共和国 8 2 1 5 2 ブラネック, レナ - キリスト - シュトラーセ 4 8, モルフォシ
ス アーゲー
- (72) 発明者 マーシャル, シルウィア
イギリス国 アールエイチ 1 2 5 エービー ホーシャム サセックス, ウィンブルハースト ロ
ード, ノバルティス ファーマシューティカルズ ユーケー リミテッド
- (72) 発明者 ロンドー, ジャン - ミシェル レネ
スイス国 ツェーハー - 4 0 0 2 バーゼル, ポストファッハ, ノバルティス ファーマ アーゲ

-

(72)発明者 スレツピ, ジャン - マルク アルフレッド
 スイス国 ツェーハー - 4 0 0 2 バーゼル, ポストファッハ, ノバルティス ファーマ アーゲ

-

(72)発明者 ヴァン ヒーク, ギノ アンセルマス
 イギリス国 アールエイチ 1 2 5 エービー ホーシャム サセックス, ウィンブルハースト ロ
 ード, ノバルティス ファーマシューティカルズ ユーケー リミテッド

F ターム(参考) 4B024 AA01 AA11 BA21 BA44 CA04 CA06 DA02 DA06 EA03 EA04
 GA11 HA01
 4B064 CA02 CA10 CA19 CC24 CE12 DA01 DA13
 4B065 AA01X AA26X AA57X AA90X AA90Y AB01 AC14 BA01 CA25 CA44
 CA46
 4C084 AA02 AA19 DC50 MA02 MA55 MA66 NA05 NA14 ZA361 ZA452
 ZA591 ZA961 ZB071 ZC351 ZC511
 4C085 AA14 AA16 BB36 CC23 EE03 GG02 GG04 GG10
 4H045 AA11 AA20 AA30 CA40 DA01 DA75 DA76 EA20 EA50 FA74
 GA26

專利名称(译)	il-18結合分子		
公开(公告)号	JP2015534546A	公开(公告)日	2015-12-03
申請号	JP2015530535	申請日	2013-09-05
[标]申請(專利权)人(译)	瑞士商諾華公司		
申請(專利权)人(译)	諾華公司		
[标]發明人	バードロフマイケルオットー ブラネッティバーバラ キャンベルエマミシエル ディーフェンバッハストリーバービート エーベルトエディーナ クンツクリスチャンカルステンシルヴェスター マーシャルシルウィア ロンドージャンミシエルレネ スレップジャンマルクアルフレッド ヴァンヒークギノアンセルマス		
發明人	バードロフ,マイケル オットー ブラネッティ,バーバラ キャンベル,エマ ミシエル ディーフェンバッハ-ストリーバー,ビート エーベルト,エディーナ クンツ,クリスチャン カルステン シルヴェスター マーシャル,シルウィア ロンドー,ジャン-ミシエル レネ スレップ,ジャン-マルク アルフレッド ヴァン ヒーク,ギノ アンセルマス		
IPC分類号	C07K16/24 C12N15/09 C12N15/00 C12P21/08 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 A61K38/00 A61P11/00 A61P43/00 A61P37/02 A61P9/00 A61P19/02 A61P11/06 A61P3/10 A61P9/10 A61K45/00 A61K39/395 G01N33/53		
CPC分類号	A61K39/395 C07K16/24 C07K16/244 C07K2317/34 C07K2317/76 C07K2317/92 C12P21/005 G01N33 /50 G01N33/6854 G01N2333/54 A61P3/10 A61P9/00 A61P9/10 A61P11/00 A61P11/06 A61P19/02 A61P27/02 A61P29/00 A61P35/00 A61P37/00 A61P37/02 A61P37/04 A61P43/00		
FI分類号	C07K16/24.ZNA C12N15/00.A C12N15/00.ZTD C12P21/08 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/00. 101 A61K37/02 A61P11/00 A61P43/00.105 A61P37/02 A61P9/00 A61P19/02 A61P11/06 A61P3/10 A61P9/10 A61K45/00 A61K39/395.N G01N33/53.P		
F-TERM分類号	4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA21 4B024/BA44 4B024/CA04 4B024/CA06 4B024/DA02 4B024 /DA06 4B024/EA03 4B024/EA04 4B024/GA11 4B024/HA01 4B064/CA02 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/CE12 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA01X 4B065/AA26X 4B065/AA57X 4B065/AA90X 4B065/AA90Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA01 4B065/CA25 4B065/CA44 4B065 /CA46 4C084/AA02 4C084/AA19 4C084/DC50 4C084/MA02 4C084/MA55 4C084/MA66 4C084/NA05 4C084/NA14 4C084/ZA361 4C084/ZA452 4C084/ZA591 4C084/ZA961 4C084/ZB071 4C084/ZC351 4C084/ZC511 4C085/AA14 4C085/AA16 4C085/BB36 4C085/CC23 4C085/EE03 4C085/GG02 4C085 /GG04 4C085/GG10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/CA40 4H045/DA01 4H045/DA75 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA74 4H045/GA26		
代理人(译)	小林 浩 丸山 智		

鈴木康仁

優先権 61/697981 2012-09-07 US

其他公开文献 JP6404817B2

外部链接 Espacenet

摘要(译)

IL-18参与先天免疫和获得性免疫。IL-18的生物活性受IL-18结合蛋白 (IL18BP) 的负调控, IL-18结合蛋白是一种天然存在的高度特异性抑制剂。该可溶性蛋白质与游离IL-18形成复合物, 阻止其与IL-18受体的相互作用, 从而中和并抑制其生物活性。本发明公开了结合分子, 特别是抗体或其片段, 其结合IL-18并且不结合与IL-18BP结合的IL-18 (IL-18 / IL-18BP复合物)。除了其生理作用外, IL-18还被证明可以介导多种自身免疫和炎症性疾病。本发明的结合分子可用作治疗IL-18相关自身免疫和炎症性疾病的治疗分子, 或用作表征, 检测和/或测量未与IL-18BP结合的IL-18作为总IL的组分的诊断工具。 -18游泳池。

(21) 出願番号 特願2015-530535 (P2015-530535)
(86) (22) 出願日 平成25年9月5日 (2013.9.5)
(85) 翻訳文提出日 平成27年5月1日 (2015.5.1)
(86) 国際出願番号 PCT/JP2013/058317
(87) 国際公開番号 WO2014/037899
(87) 国際公開日 平成26年3月13日 (2014.3.13)
(31) 優先権主張番号 61/697,981
(32) 優先日 平成24年9月7日 (2012.9.7)
(33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 504389991
ノバルティス アーゲー
スイス国 バーゼル リヒトシュトラッセ
35
(74) 代理人 100092783
弁理士 小林 浩
(74) 代理人 100120134
弁理士 大森 規雄
(74) 代理人 100181168
弁理士 丸山 智裕
(74) 代理人 100104282
弁理士 鈴木 康仁

最終頁に続く