

(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2017-519816

(P2017-519816A)

(43) 公表日 平成29年7月20日(2017.7.20)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>C07K 16/18 (2006.01)</b>	C07K 16/18 ZNA	2G045
<b>C07K 16/46 (2006.01)</b>	C07K 16/46	4B065
<b>C07K 14/47 (2006.01)</b>	C07K 14/47	4H045
<b>C12N 5/16 (2006.01)</b>	C12N 5/16	
<b>C12N 5/0781 (2010.01)</b>	C12N 5/0781	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 45 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2017-514957 (P2017-514957)  
 (86) (22) 出願日 平成27年5月28日 (2015. 5. 28)  
 (85) 翻訳文提出日 平成29年1月25日 (2017. 1. 25)  
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2015/061776  
 (87) 国際公開番号 W02015/181266  
 (87) 国際公開日 平成27年12月3日 (2015. 12. 3)  
 (31) 優先権主張番号 62/004, 594  
 (32) 優先日 平成26年5月29日 (2014. 5. 29)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)  
 (31) 優先権主張番号 62/067, 742  
 (32) 優先日 平成26年10月23日 (2014. 10. 23)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 516357063  
 スプリング バイオサイエンス コーポレ  
 ーション  
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 945  
 88, プレザントン, ハシエンダ ド  
 ライブ 4300  
 (74) 代理人 110002077  
 園田・小林特許業務法人  
 (72) 発明者 チュー, イーフエイ  
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 951  
 31, サン ノゼ, マックスウェル  
 ウェイ 1408

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗インドールアミン2, 3-ジオキシゲナーゼ1抗体及びその診断的使用

(57) 【要約】

本発明は、ヒトインドールアミン2, 3-ジオキシゲナーゼ1 (IDO1) に特異的に結合する抗体、及びそれを使用する方法を提供する。本抗体は、配列番号1を含む配列に結合可能であり、ホルマリン固定パラフィン包埋組織においてヒトIDO1に特異的に結合する。本抗体は、免疫組織化学法 (IHC) 及び免疫細胞化学法 (ICC) を含む多くの異なる分析手法に有用である。

【選択図】 図2

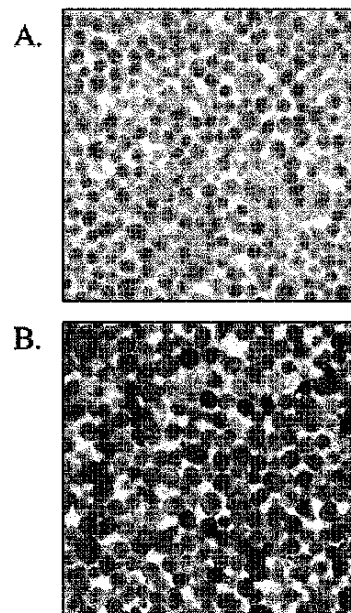


Fig. 2

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

ホルマリン固定パラフィン包埋組織における配列番号 1 を含むヒトインドールアミン 2 , 3 - ジオキシゲナーゼ 1 ( I D O 1 ) の領域に特異的に結合可能な単離された抗体。

## 【請求項 2】

次の超可変領域 ( H V R ) :

- ( a ) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 ;
- ( b ) 配列番号 3 又は配列番号 1 8 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 ; 及び
- ( c ) 配列番号 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3

を含む、請求項 1 に記載の抗体。

10

## 【請求項 3】

次の重鎖可変ドメインフレームワーク領域 ( F R ) :

- ( a ) 配列番号 5 又は配列番号 1 9 のアミノ酸配列を含む F R - H 1 ;
- ( b ) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む F R - H 2 ;
- ( c ) 配列番号 7 又は配列番号 2 0 のアミノ酸配列を含む F R - H 3 ; 及び
- ( d ) 配列番号 8 のアミノ酸配列を含む F R - H 4

をさらに含む、請求項 2 に記載の抗体。

## 【請求項 4】

次の H V R :

- ( a ) 配列番号 9 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 ;
- ( b ) 配列番号 1 0 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2 ; 及び
- ( c ) 配列番号 1 1 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3

を含む、請求項 2 又は 3 に記載の抗体。

20

## 【請求項 5】

次の軽鎖可変ドメイン F R :

- ( a ) 配列番号 1 2 のアミノ酸配列を含む F R - L 1 ;
- ( b ) 配列番号 1 3 のアミノ酸配列を含む F R - L 2 ;
- ( c ) 配列番号 1 4 のアミノ酸配列を含む F R - L 3 ; 及び
- ( d ) 配列番号 1 5 のアミノ酸配列を含む F R - L 4

をさらに含む、請求項 4 に記載の抗体。

30

## 【請求項 6】

次の H V R :

- ( a ) 配列番号 9 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 ;
- ( b ) 配列番号 1 0 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2 ; 及び
- ( c ) 配列番号 1 1 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3

を含む、請求項 1 に記載の抗体。

## 【請求項 7】

次の軽鎖可変ドメイン F R :

- ( a ) 配列番号 1 2 のアミノ酸配列を含む F R - L 1 ;
- ( b ) 配列番号 1 3 のアミノ酸配列を含む F R - L 2 ;
- ( c ) 配列番号 1 4 のアミノ酸配列を含む F R - L 3 ; 及び
- ( d ) 配列番号 1 5 のアミノ酸配列を含む F R - L 4

をさらに含む、請求項 6 に記載の抗体。

40

## 【請求項 8】

( a ) 配列番号 1 6 、配列番号 2 1 、配列番号 2 3 、又は配列番号 2 5 のアミノ酸配列と少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する V H 配列 ; ( b ) 配列番号 1 7 、配列番号 2 2 、配列番号 2 4 、又は配列番号 2 6 のアミノ酸配列と少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する V L 配列 ; 又は ( c ) ( a ) に記載の V H 配列及び ( b ) に記載の V L 配列を含む、請求項 1 に記載の抗体。

## 【請求項 9】

50

配列番号 16、配列番号 21、配列番号 23、又は配列番号 25 の V H 配列を含む、請求項 8 に記載の抗体。

【請求項 10】

配列番号 17、配列番号 22、配列番号 24、又は配列番号 26 の V L 配列を含む、請求項 8 に記載の抗体。

【請求項 11】

I D O 1 に特異的に結合する単離された抗体であって、次の H V R :

- (a) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 ;
- (b) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 ;
- (c) 配列番号 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 ;
- (d) 配列番号 9 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 ;
- (e) 配列番号 10 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2 ; 及び
- (f) 配列番号 11 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3

10

を含む抗体。

【請求項 12】

次の重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメイン F R :

- (a) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含む F R - H 1 ;
- (b) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む F R - H 2 ;
- (c) 配列番号 7 のアミノ酸配列を含む F R - H 3 ;
- (d) 配列番号 8 のアミノ酸配列を含む F R - H 4 ;
- (e) 配列番号 12 のアミノ酸配列を含む F R - L 1 ;
- (f) 配列番号 13 のアミノ酸配列を含む F R - L 2 ;
- (g) 配列番号 14 のアミノ酸配列を含む F R - L 3 ; 及び
- (h) 配列番号 15 のアミノ酸配列を含む F R - L 4

20

をさらに含む、請求項 11 に記載の抗体。

【請求項 13】

配列番号 16 の V H 配列及び配列番号 17 の V L 配列を含む、請求項 11 又は 12 に記載の抗体。

【請求項 14】

I D O 1 に特異的に結合する単離された抗体であって、次の H V R :

- (a) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 ;
- (b) 配列番号 18 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 ;
- (c) 配列番号 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 ;
- (d) 配列番号 9 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 ;
- (e) 配列番号 10 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2 ; 及び
- (f) 配列番号 11 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3

30

を含む抗体。

【請求項 15】

次の重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメイン F R :

- (a) 配列番号 19 のアミノ酸配列を含む F R - H 1 ;
- (b) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む F R - H 2 ;
- (c) 配列番号 7 のアミノ酸配列を含む F R - H 3 ;
- (d) 配列番号 8 のアミノ酸配列を含む F R - H 4 ;
- (e) 配列番号 12 のアミノ酸配列を含む F R - L 1 ;
- (f) 配列番号 13 のアミノ酸配列を含む F R - L 2 ;
- (g) 配列番号 14 のアミノ酸配列を含む F R - L 3 ; 及び
- (h) 配列番号 15 のアミノ酸配列を含む F R - L 4

40

をさらに含む、請求項 14 に記載の抗体。

【請求項 16】

配列番号 21 の V H 配列及び配列番号 22 の V L 配列を含む、請求項 14 又は 15 に記

50

載の抗体。

【請求項 17】

次の重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインFR：

- (a) 配列番号5のアミノ酸配列を含むFR-H1；
- (b) 配列番号6のアミノ酸配列を含むFR-H2；
- (c) 配列番号7のアミノ酸配列を含むFR-H3；
- (d) 配列番号8のアミノ酸配列を含むFR-H4；
- (e) 配列番号12のアミノ酸配列を含むFR-L1；
- (f) 配列番号13のアミノ酸配列を含むFR-L2；
- (g) 配列番号14のアミノ酸配列を含むFR-L3；及び
- (h) 配列番号15のアミノ酸配列を含むFR-L4

10

をさらに含む、請求項14に記載の抗体。

【請求項 18】

配列番号23のVH配列及び配列番号24のVL配列を含む、請求項14又は17に記載の抗体。

【請求項 19】

次の重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインFR：

- (a) 配列番号5のアミノ酸配列を含むFR-H1；
- (b) 配列番号6のアミノ酸配列を含むFR-H2；
- (c) 配列番号20のアミノ酸配列を含むFR-H3；
- (d) 配列番号8のアミノ酸配列を含むFR-H4；
- (e) 配列番号12のアミノ酸配列を含むFR-L1；
- (f) 配列番号13のアミノ酸配列を含むFR-L2；
- (g) 配列番号14のアミノ酸配列を含むFR-L3；及び
- (h) 配列番号15のアミノ酸配列を含むFR-L4

20

をさらに含む、請求項14に記載の抗体。

【請求項 20】

配列番号25のVH配列及び配列番号26のVL配列を含む、請求項14又は19に記載の抗体。

【請求項 21】

インドールアミン2,3-ジオキシゲナーゼ1(IDO1)への結合に対してSP260と競合する、単離された抗体。

30

【請求項 22】

モノクローナル抗体である、請求項1から21のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項 23】

モノクローナル抗体がウサギモノクローナル抗体である、請求項22に記載の抗体。

【請求項 24】

IgG抗体である、請求項1から23のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項 25】

IDO1に特異的に結合する抗体断片である、請求項1から21のいずれか一項に記載の抗体。

40

【請求項 26】

抗体断片が、Fab、一本鎖可変断片(scFv)、Fv、Fab'、Fab'-SH、F(ab')<sub>2</sub>、及びダイアボディからなる群より選択される、請求項25に記載の抗体。

【請求項 27】

請求項1から26のいずれか一項に記載の抗体を含むイムノコンジュゲート。

【請求項 28】

免疫組織化学法(IHC)又は免疫細胞化学法(ICC)による、生物学的試料中のIDO1の存在又は発現レベルの検出に使用するための請求項1から26のいずれか一項に

50

記載の抗体。

【請求項 29】

生物学的試料が固定組織を含む、請求項 28 に記載の抗体。

【請求項 30】

固定組織がホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 組織である、請求項 29 に記載の抗体。

【請求項 31】

試料が、がん又は自己免疫疾患を有する対象、若しくは、がん又は自己免疫疾患にかかりやすい素因を有する対象に由来する、請求項 28 から 30 のいずれか一項に記載の抗体。

10

【請求項 32】

生物学的試料中の IDO1 の存在又は発現レベルを検出する方法であって、生物学的試料を請求項 1 から 26 のいずれか一項に記載の抗体と接触させること、及び結合した抗体の存在を免疫組織化学法又は免疫細胞化学法によって検出することを含む方法。

【請求項 33】

検出することが IHC による、請求項 32 に記載の方法。

【請求項 34】

試料が固定組織を含む、請求項 33 に記載の方法。

【請求項 35】

固定組織が FFPE 組織である、請求項 34 に記載の方法。

20

【請求項 36】

試料が、がん又は自己免疫疾患を有する対象、若しくは、がん又は自己免疫疾患にかかりやすい素因を有する対象に由来する、請求項 32 から 35 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 37】

請求項 1 から 26 及び 28 から 31 のいずれか一項に記載の抗体を産生するハイブリドーマ。

【請求項 38】

配列番号 1 を含む単離されたペプチドであって、完全長 IDO1 タンパク質ではないことを条件とする、ペプチド。

30

【請求項 39】

キャリアタンパク質に結合した配列番号 1 を含むヒト IDO1 断片を含む融合タンパク質。

【請求項 40】

ヒト IDO1 断片が 12 から 50 のアミノ酸長である、請求項 39 に記載の融合タンパク質。

【請求項 41】

ヒト IDO1 断片が 12 から 40 のアミノ酸長である、請求項 39 に記載の融合タンパク質。

【請求項 42】

ヒト IDO1 断片が 12 から 30 のアミノ酸長である、請求項 39 に記載の融合タンパク質。

40

【請求項 43】

ヒト IDO1 断片が 12 から 25 のアミノ酸長である、請求項 39 に記載の融合タンパク質。

【請求項 44】

ヒト IDO1 断片が 12 から 20 のアミノ酸長である、請求項 39 に記載の融合タンパク質。

【請求項 45】

ヒト IDO1 断片が配列番号 1 から本質的になる、請求項 39 に記載の融合タンパク質

50

。

## 【請求項 46】

ヒト IDO1 断片が配列番号 1 からなる、請求項 39 に記載の融合タンパク質。

## 【請求項 47】

キャリアタンパク質がキーホールリンペットヘモシアニン (KLH) である、請求項 39 から 46 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

## 【請求項 48】

請求項 39 から 47 のいずれか一項に記載の融合タンパク質で免疫されたウサギ、ラット、マウス、又はヤギ。

## 【請求項 49】

請求項 44 に記載のウサギ、ラット、マウス、又はヤギから得られる単離された B 細胞であって、配列番号 1 を含むヒト IDO1 のエピトープに特異的に結合可能な抗体を産生する、B 細胞。

## 【請求項 50】

請求項 49 に記載の単離された B 細胞から産生されるハイブリドーマ。

10

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

## 関連出願の相互参照

本開示は、その内容全体が参照により本願に援用される、2014年5月29日に出願された米国仮出願第62/004594号、及び2014年10月23日に出願された米国仮出願第62/067742号の利益を主張する。

20

## 【0002】

本発明は、抗インドールアミン 2, 3 - ジオキシゲナーゼ 1 (IDO1) 抗体及びそれを使用する方法に関する。

## 【背景技術】

## 【0003】

ヒトインドールアミン 2, 3 - ジオキシゲナーゼ 1 (IDO1) は、トリプトファンから N - ホルミルキヌレニンへの変換における第 1 の律速段階をもたらす 403 - アミノ酸一本鎖オキソレダクターゼである。それは、未知の分泌型又は細胞外形を有する細胞質タンパク質である。IDO1 介在型のトリプトファン異化の下流生成物は、抗増殖性効果及びアポトーシス効果を有すること、及び免疫寛容の誘導にも関与することが知られている。IDO1 はまた、妊娠維持においても重要でありうる。

30

## 【0004】

IDO1 は、抗菌及び抗腫瘍防御、神経病理学、免疫調節、及び抗酸化活性を含む、複数の病態生理学的過程に関係している。IDO1 活性及び / 又は mRNA 発現は、急性骨髄性白血病 (AML)、成人 T 細胞白血病 / リンパ腫 (ATLL)、乳がん、肺がん、皮膚がん、結腸がん、膵管腺がん (PDA)、肝臓がん、卵巣がん、腎細胞癌 (RCC)、子宮頸がん、子宮内膜がん、及びブドウ膜メラノーマを含む多くのがんに関連している。さらには、改変された IDO1 活性又は発現の役割は、炎症性腸疾患、原発性胆汁性肝硬変、HIV 及び SIV の持続、及び鬱病に想定されている。

40

## 【0005】

これらの過程における IDO1 の役割を所与として、IDO1 タンパク質を検出するためのさらなる材料及び方法が必要とされる。

## 【発明の概要】

## 【0006】

本開示は、抗 IDO1 抗体及びその使用方法に関する。

## 【0007】

一態様では、ヒト IDO1 に特異的に結合可能な抗体、それらの抗原結合断片、又はそ

50

これらの組み換えタンパク質が開示される。

【0008】

一態様では、ヒトID01のC末端に特異的に結合可能な抗体、それらの抗原結合断片、又はそれらの組み換えタンパク質が開示される。

【0009】

一実施態様では、抗体、それらの抗原結合断片、又はそれらの組み換えタンパク質が開示され、ここで抗体はID01に特異的に結合することができ、抗体は、ヒトID01ポリペプチド(配列番号1)のアミノ酸残基392~403を含むエピトープに結合する。

【0010】

幾つかの実施態様では、抗体、それらの抗原結合断片、又はそれらの組み換えタンパク質が開示され、ここで抗体はID01に特異的に結合することができ、かつ、ヒトID01ポリペプチド(配列番号1)のアミノ酸残基392~403を含むエピトープに結合し、並びに、次の重鎖超可変領域を含む：(A) TNYWIC(配列番号2)のアミノ酸配列を含むHVR-H1；(b) CIYVGGRGSIYYASWAKG(配列番号3)のアミノ酸配列を含むHVR-H2；及び(c) DLT TAYGATDLRF(配列番号4)のアミノ酸配列を含むHVR-H3。幾つかの実施態様では、抗体は、次の重鎖可変ドメインフレームワーク領域(FR)をさらに含む：(a) QEQLVESGGGLVQP EGS LTLTCTASGFSFS(配列番号5)のアミノ酸配列を含むFR-H1；(b) WVRQAPGKGLEWTA(配列番号6)のアミノ酸配列を含むFR-H2；(c) RFTISKTSSTTVTLQMTSLTAADTATYFCAR(配列番号7)のアミノ酸配列を含むFR-H3；及び(d) WGPGLVTVSS(配列番号8)のアミノ酸配列を含むFR-H4。幾つかの実施態様では、抗体は、次の軽鎖HVRをさらに含む：(a) QSSQSVGDNNRLS(配列番号9)のアミノ酸配列を含むHVR-L1；(b) SASTLAS(配列番号10)のアミノ酸配列を含むHVR-L2；及び(c) LGEFSGSDEDV(配列番号11)のアミノ酸配列を含むHVR-L3。幾つかの実施態様では、抗体は、次の軽鎖可変ドメインFRをさらに含む：(a) DVVMTQTSPVSAAVGGTVSISC(配列番号12)のアミノ酸配列を含むFR-L1；(b) WFQQKPGQPPLLIY(配列番号13)のアミノ酸配列を含むFR-L2；(c) GVP SRFKGS GSGTEYTLTISGVQCDDAATYYC(配列番号14)のアミノ酸配列を含むFR-L3；及び(d) FGGGTEVVVK(配列番号15)のアミノ酸配列を含むFR-L4。幾つかの実施態様では、抗体は、(a) 配列番号16のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有するV<sub>H</sub>配列；(b) 配列番号17のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有するV<sub>L</sub>配列；又は(c) (a)に記載のV<sub>H</sub>配列及び(b)に記載のV<sub>L</sub>配列を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、配列番号16を含む又は配列番号16からなるV<sub>H</sub>配列を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、配列番号17を含む又は配列番号17からなるV<sub>L</sub>配列を含む。

【0011】

幾つかの実施態様では、抗体、それらの抗原結合断片、又はそれらの組み換えタンパク質が開示され、ここで抗体はID01に特異的に結合することができ、ヒトID01ポリペプチド(配列番号1)のアミノ酸残基392~403を含むエピトープに結合し、かつ、次の重鎖超可変領域を含む：(a) TNYWIC(配列番号2)のアミノ酸配列を含むHVR-H1；(b) CIYIGGRGSIYYASWAKG(配列番号18)のアミノ酸配列を含むHVR-H2；及び(c) DLT TAYGATDLRF(配列番号4)のアミノ酸配列を含むHVR-H3。幾つかの実施態様では、抗体は、次の重鎖可変ドメインフレームワーク領域(FR)をさらに含む：(a) QEQLVESGGGLVLRPEGS LTLTCTASGFSFS(配列番号19)のアミノ酸配列を含むFR-H1；(b) WVRQAPGKGLEWTA(配列番号6)のアミノ酸配列を含むFR-H2；(c) RFTISKTSSTTVTLQMTSLTAADTATYFCAR(配列番号7)のアミノ酸配列を含むFR-H3；及び(d) WGPGLVTVSS(配列番号8)のアミノ酸配列を含むFR-H4。幾つかの実施態様では、抗体は、次の軽鎖HVRをさらに含

10

20

30

40

50

む：(a) Q S S Q S V G D N N R L S (配列番号9)のアミノ酸配列を含むH V R - L 1；(b) S A S T L A S (配列番号10)のアミノ酸配列を含むH V R - L 2；及び(c) L G E F S G S D E D V (配列番号11)のアミノ酸配列を含むH V R - L 3。幾つかの実施態様では、抗体は、次の軽鎖可変ドメインFRをさらに含む：(a) D V V M T Q T P S P V S A A V G G T V S I S C (配列番号12)のアミノ酸配列を含むFR - L 1；(b) W F Q Q K P G Q P P K L L I Y (配列番号13)のアミノ酸配列を含むFR - L 2；(c) G V P S R F K G S G S G T E Y T L T I S G V Q C D D A A T Y Y C (配列番号14)のアミノ酸配列を含むFR - L 3；及び(d) F G G G T E V V V K (配列番号15)のアミノ酸配列を含むFR - L 4。幾つかの実施態様では、抗体は、(a) 配列番号21のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有するV<sub>H</sub>配列；(b) 配列番号22のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有するV<sub>L</sub>配列；又は(c) (a)に記載のV<sub>H</sub>配列及び(b)に記載のV<sub>L</sub>配列を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、配列番号21を含む又は配列番号21からなるV<sub>H</sub>配列を含む。幾つかの実施態様では、抗体は配列番号22を含む又は配列番号22からなるV<sub>L</sub>配列を含む。

10

### 【0012】

幾つかの実施態様では、抗体、それらの抗原結合断片、又はそれらの組み換えタンパク質が開示され、ここで抗体はI D O 1に特異的に結合することができ、ヒトI D O 1ポリペプチド(配列番号1)のアミノ酸残基392~403を含むエピトープに結合し、かつ、次の重鎖超可変領域を含む：(a) T N Y W I C (配列番号2)のアミノ酸配列を含むH V R - H 1；(b) C I Y I G G R G S I Y Y A S W A K G (配列番号18)のアミノ酸配列を含むH V R - H 2；及び(c) D L T T A Y G A T D L R F (配列番号4)のアミノ酸配列を含むH V R - H 3。幾つかの実施態様では、抗体は、次の重鎖可変ドメインフレームワーク領域(FR)をさらに含む：(a) Q E Q L V E S G G G L V Q P E G S L T L T C T A S G F S F S (配列番号5)のアミノ酸配列を含むFR - H 1；(b) W V R Q A P G K G L E W T A (配列番号6)のアミノ酸配列を含むFR - H 2；(c) R F T I S K T S S T T V T L Q M T S L T A A D T A T Y F C A R (配列番号7)のアミノ酸配列を含むFR - H 3；及び(d) W G P G T L V T V S S (配列番号8)のアミノ酸配列を含むFR - H 4。幾つかの実施態様では、抗体は、次の軽鎖H V Rをさらに含む：(a) Q S S Q S V G D N N R L S (配列番号9)のアミノ酸配列を含むH V R - L 1；(b) S A S T L A S (配列番号10)のアミノ酸配列を含むH V R - L 2；及び(c) L G E F S G S D E D V (配列番号11)のアミノ酸配列を含むH V R - L 3。幾つかの実施態様では、抗体は、次の軽鎖可変ドメインFRをさらに含む：(a) D V V M T Q T P S P V S A A V G G T V S I S C (配列番号12)のアミノ酸配列を含むFR - L 1；(b) W F Q Q K P G Q P P K L L I Y (配列番号13)のアミノ酸配列を含むFR - L 2；(c) G V P S R F K G S G S G T E Y T L T I S G V Q C D D A A T Y Y C (配列番号14)のアミノ酸配列を含むFR - L 3；及び(d) F G G G T E V V V K (配列番号15)のアミノ酸配列を含むFR - L 4。幾つかの実施態様では、抗体は、(a) 配列番号23のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有するV<sub>H</sub>配列；(b) 配列番号24のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有するV<sub>L</sub>配列；又は(c) (a)に記載のV<sub>H</sub>配列及び(b)に記載のV<sub>L</sub>配列を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、配列番号23を含む又は配列番号23からなるV<sub>H</sub>配列を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、配列番号24を含む又は配列番号24からなるV<sub>L</sub>配列を含む。

20

30

40

### 【0013】

幾つかの実施態様では、抗体、それらの抗原結合断片、又はそれらの組み換えタンパク質が開示され、ここで抗体はI D O 1に特異的に結合することができ、ヒトI D O 1ポリペプチド(配列番号1)のアミノ酸残基392~403を含むエピトープに結合し、かつ、次の重鎖超可変領域を含む：(a) T N Y W I C (配列番号2)のアミノ酸配列を含むH V R - H 1；(b) C I Y I G G R G S I Y Y A S W A K G (配列番号18)のアミノ酸配列を含むH V R - H 2；及び(c) D L T T A Y G A T D L R F (配列番号4)のアミノ酸配列を含むH V R - H 3。幾つかの実施態様では、抗体は、次の重鎖可変ドメイン

50

フレームワーク領域 (FR) をさらに含む：(a) QEQLVESGGGLVQPEGS  
 LTLTCTASGF SFS (配列番号5) のアミノ酸配列を含むFR-H1；(b) W  
 VRQAPGKGLEWTA (配列番号6) のアミノ酸配列を含むFR-H2；(c) R  
 FTISKTSSTTVTLQMTSLTAADTATYSCAR (配列番号20) のア  
 ミノ酸配列を含むFR-H3；及び(d) WGPGLVTVSS (配列番号8) のアミ  
 ノ酸配列を含むFR-H4。幾つかの実施態様では、抗体は、次の軽鎖HVRをさらに含  
 む：(a) QSSQSVGDNNRLS (配列番号9) のアミノ酸配列を含むHVR-L  
 1；(b) SASTLAS (配列番号10) のアミノ酸配列を含むHVR-L2；及び(c)  
 LGEFSGSDEDV (配列番号11) のアミノ酸配列を含むHVR-L3。幾つ  
 かの実施態様では、抗体は、次の軽鎖可変ドメインFRをさらに含む：(a) DVVMT  
 QTPSPVSAAVGGTVSISC (配列番号12) のアミノ酸配列を含むFR-L  
 1；(b) WFQQKPGQPPLLIY (配列番号13) のアミノ酸配列を含むFR  
 -L2；(c) GVP SRFKGS SGT EYTLTISGVQCDDAATYYC (配  
 列番号14) のアミノ酸配列を含むFR-L3；及び(d) FGGGTEVVVK (配  
 列番号15) のアミノ酸配列を含むFR-L4。幾つかの実施態様では、抗体は、(a)  
 配列番号25のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有するV<sub>H</sub>配列；(b)  
 配列番号26のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有するV<sub>L</sub>配列；又は(c)  
 (a)に記載のV<sub>H</sub>配列及び(b)に記載のV<sub>L</sub>配列を含む。幾つかの実施態様では、  
 抗体は配列番号25を含む又は配列番号25からなるV<sub>H</sub>配列を含む。幾つかの実施態  
 様では、抗体は配列番号26を含む又は配列番号26からなるV<sub>L</sub>配列を含む。

#### 【0014】

幾つかの実施態様では、抗体、それらの抗原結合断片、又はそれらの組み換えタンパク  
 質が開示され、ここで抗体はIDO1に特異的に結合することができ、ヒトIDO1ポリ  
 ペプチド(配列番号1)のアミノ酸残基392~403を含むエピトープに結合し、かつ  
 、次の重鎖超可変領域を含む：(a)アミノ酸配列TNYWIC(配列番号2)を含むH  
 VR-H1；(b)アミノ酸配列CIYVGG RGS IYYASWAKG(配列番号3  
 )又はCIYIGGRGS IYYASWAKG(配列番号18)を含むHVR-H2；  
 及び(c)アミノ酸配列DLTTAYGATDLRF(配列番号4)を含むHVR-H3  
 。幾つかの実施態様では、抗体は、次の重鎖可変ドメインフレームワーク領域(FR)を  
 さらに含む：(A)QEQLVESGGGLVQPEGS LTLTCTASGF SFS (配  
 列番号5)又はQEQLVESGGGLV RPEGS LTLTCTASGF SFS (配  
 列番号19)を含むFR-H1；(b)WVRQAPGKGLEWTA(配列番号6)を  
 含むFR-H2；(c)RFTISKTSSTTVTLQMTSLTAADTATYFC  
 AR(配列番号7)又はRFTISKTSSTTVTLQMTSLTAADTATYSC  
 AR(配列番号20)を含むFR-H3；及び(d)WGPGLVTVSS(配列番号  
 8)を含むFR-H4。幾つかの実施態様では、抗体は、次の軽鎖HVRをさらに含む：  
 (a)QSSQSVGDNNRLS(配列番号9)のアミノ酸配列を含むHVR-L1；  
 (b)SASTLAS(配列番号10)のアミノ酸配列を含むHVR-L2；及び(c)  
 LGEFSGSDEDV(配列番号11)のアミノ酸配列を含むHVR-L3。幾つかの  
 実施態様では、抗体は、次の軽鎖可変ドメインFRをさらに含む：(a)DVVMTQT  
 PSPVSAAVGGTVSISC(配列番号12)のアミノ酸配列を含むFR-L1；  
 (b)WFQQKPGQPPLLIY(配列番号13)のアミノ酸配列を含むFR-L  
 2；(c)GVP SRFKGS SGT EYTLTISGVQCDDAATYYC(配  
 列番号14)のアミノ酸配列を含むFR-L3；及び(d)FGGGTEVVVK(配  
 列番号15)のアミノ酸配列を含むFR-L4。幾つかの実施態様では、抗体は、(a)配  
 列番号16、21、23、又は25のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有す  
 るV<sub>H</sub>配列；(b)配列番号17、22、24、又は26のアミノ酸配列と少なくとも9  
 5%の配列同一性を有するV<sub>L</sub>配列；又は(c)(a)に記載のV<sub>H</sub>配列及び(b)に記  
 載のV<sub>L</sub>配列を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、配列番号16、21、23、又は  
 25を含む又はそれらからなるV<sub>H</sub>配列を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、配列番

号 17、22、24、又は 26 を含む又はそれらからなる  $V_L$  配列を含む。

【0015】

幾つかの実施態様では、抗体、それらの抗原結合断片、又はそれらの組み換えタンパク質が開示され、ここで抗体は IDO1 に特異的に結合することができ、ヒト IDO1 ポリペプチド（配列番号 1）のアミノ酸残基 392 ~ 403 を含むエピトープに結合し、かつ、（a）配列番号 16、21、23、又は 25 のアミノ酸配列と少なくとも 95% の配列同一性を有する  $V_H$  配列；（b）配列番号 17、22、24、又は 26 のアミノ酸配列と少なくとも 95% の配列同一性を有する  $V_L$  配列；又は（c）（a）に記載の  $V_H$  配列及び（b）に記載の  $V_L$  配列を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、配列番号 16、21、23、又は 25 を含む又はそれらからなる  $V_H$  配列を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、配列番号 17、22、24、又は 26 を含む又はそれらからなる  $V_L$  配列を含む。

10

【0016】

幾つかの実施態様では、抗体、それらの抗原結合断片、又はそれらの組み換えタンパク質が開示され、ここで抗体は IDO1 に特異的に結合することができ、ヒト IDO1 ポリペプチド（配列番号 1）のアミノ酸残基 392 ~ 403 を含むエピトープに結合し、かつ、（a）配列番号 16 のアミノ酸配列と少なくとも 95% の配列同一性を有する  $V_H$  配列；及び（b）配列番号 17 のアミノ酸配列と少なくとも 95% の配列同一性を有する  $V_L$  配列を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、配列番号 16 を含む又は配列番号 16 からなる  $V_H$  配列、及び配列番号 17 を含む又は配列番号 17 からなる  $V_L$  配列を含む。

20

【0017】

幾つかの実施態様では、抗体、それらの抗原結合断片、又はそれらの組み換えタンパク質が開示され、ここで抗体は IDO1 に特異的に結合することができ、ヒト IDO1 ポリペプチド（配列番号 1）のアミノ酸残基 392 ~ 403 を含むエピトープに結合し、かつ、（a）配列番号 21 のアミノ酸配列と少なくとも 95% の配列同一性を有する  $V_H$  配列；及び（b）配列番号 22 のアミノ酸配列と少なくとも 95% の配列同一性を有する  $V_L$  配列を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、配列番号 21 を含む又は配列番号 21 からなる  $V_H$  配列、及び配列番号 22 を含む又は配列番号 22 からなる  $V_L$  配列を含む。

30

【0018】

幾つかの実施態様では、抗体、それらの抗原結合断片、又はそれらの組み換えタンパク質が開示され、ここで抗体は IDO1 に特異的に結合することができ、ヒト IDO1 ポリペプチド（配列番号 1）のアミノ酸残基 392 ~ 403 を含むエピトープに結合し、かつ、（a）配列番号 23 のアミノ酸配列と少なくとも 95% の配列同一性を有する  $V_H$  配列；及び（b）配列番号 24 のアミノ酸配列と少なくとも 95% の配列同一性を有する  $V_L$  配列を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、配列番号 23 を含む又は配列番号 23 からなる  $V_H$  配列、及び配列番号 24 を含む又は配列番号 24 からなる  $V_L$  配列を含む。

40

【0019】

幾つかの実施態様では、抗体、それらの抗原結合断片、又はそれらの組み換えタンパク質が開示され、ここで抗体は IDO1 に特異的に結合することができ、ヒト IDO1 ポリペプチド（配列番号 1）のアミノ酸残基 392 ~ 403 を含むエピトープに結合し、かつ、（a）配列番号 25 のアミノ酸配列と少なくとも 95% の配列同一性を有する  $V_H$  配列；及び（b）配列番号 26 のアミノ酸配列と少なくとも 95% の配列同一性を有する  $V_L$  配列を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、配列番号 25 を含む又は配列番号 25 からなる  $V_H$  配列、及び配列番号 26 を含む又は配列番号 26 からなる  $V_L$  配列を含む。

40

【0020】

幾つかの実施態様では、抗体、それらの抗原結合断片、又はそれらの組み換えタンパク質が開示され、ここで抗体は IDO1 に特異的に結合することができ、ヒト IDO1 ポリペプチド（配列番号 1）のアミノ酸残基 392 ~ 403 を含むエピトープに結合し、かつ、重鎖超可変領域（HVR）HVR - H1、HVR - H2、及び HVR - H3、及び軽鎖超可変領域 HVR - L1、HVR - L2、HVR - L3 を含み、HVR - H3 は DLT T A Y G A T D L R F（配列番号 4）のアミノ酸配列を含む。さらなる実施態様では、H

50

VR - H 1 は配列番号 2 を含み、HVR - H 2 は配列番号 3 又は配列番号 18 を含む。さらなる実施態様では、HVR - L 1 は配列番号 9 を含み；HVR - L 2 は配列番号 10 を含み；HVR - L 3 は配列番号 11 を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、次の重鎖可変ドメインフレームワーク領域 (FR) をさらに含む：(A) QEQLVESGGGLVQPEGSLLTCTASGFSFS (配列番号 5) 又は QEQLVESGGGLVVRPEGSLLTCTASGFSFS (配列番号 19) を含む FR - H 1；(b) WVRQAPGKGLEWTA (配列番号 6) を含む FR - H 2；(c) RFTISKTSSTTVTLQMTSLTAADTATYFCAR (配列番号 7) 又は RFTISKTSSTTVTLQMTSLTAADTATYSCAR (配列番号 20) を含む FR - H 3；及び (d) WGPGLVTVSS (配列番号 8) を含む FR - H 4。幾つかの実施態様では、抗体は、次の軽鎖可変ドメイン FR をさらに含む：(a) DVVMTQTPSPVSAAVGGTVSISC (配列番号 12) のアミノ酸配列を含む FR - L 1；(b) WFQKPGQPPLLIY (配列番号 13) のアミノ酸配列を含む FR - L 2；(c) GVPSRFKGS GSGTEYTLTISGVQCDDAATYYC (配列番号 14) のアミノ酸配列を含む FR - L 3；及び (d) FGGGTEVVVK (配列番号 15) のアミノ酸配列を含む FR - L 4。幾つかの実施態様では、抗体は、(a) 配列番号 16、21、23、又は 25 のアミノ酸配列と少なくとも 95% の配列同一性を有する V<sub>H</sub> 配列；(b) 配列番号 17、22、24、又は 26 のアミノ酸配列と少なくとも 95% の配列同一性を有する V<sub>L</sub> 配列；又は (c) (a) に記載の V<sub>H</sub> 配列及び (b) に記載の V<sub>L</sub> 配列を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、配列番号 16、21、23、又は 25 を含む又はそれらからなる V<sub>H</sub> 配列を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、配列番号 17、22、24、又は 26 を含む又はそれらからなる V<sub>L</sub> 配列を含む。

#### 【0021】

別の態様では、本発明は、前述の抗体のいずれか 1 つと IDO 1 への結合について競合する単離された抗体を特徴とする。

#### 【0022】

別の態様では、本発明は、前述の抗体のいずれか 1 つと同一のエピトープに結合する単離された抗体を特徴とする。

#### 【0023】

幾つかの実施態様では、前述の抗体のいずれか 1 つはモノクローナル抗体でありうる。幾つかの実施態様では、モノクローナル抗体はウサギモノクローナル抗体でありうる。

#### 【0024】

幾つかの実施態様では、前述の抗体のいずれか 1 つは IgG 抗体 (例えば、IgG 1 抗体) でありうる。

#### 【0025】

幾つかの実施態様では、前述の抗体のいずれか 1 つは、IDO 1 に特異的に結合する抗体断片でありうる。幾つかの実施態様では、抗体断片は、Fab、一本鎖可変断片 (scFv)、Fv、Fab'、Fab' - SH、F(ab')<sub>2</sub>、及びダイアボディからなる群より選択される。

#### 【0026】

別の態様では、本発明は、前述の抗体のいずれか 1 つを含むイムノコンジュゲートを特徴とする。

#### 【0027】

別の態様では、本発明は、本明細書に記載の抗体のいずれか、又はそれらの軽鎖又はそれらの重鎖をコードする単離された核酸を特徴とする。別の態様では、本発明は、抗体を発現する核酸を含むベクター (例えば、発現ベクター) を特徴とする。別の態様では、本発明は、前述の核酸及び / 又はベクターを含む宿主細胞を特徴とする。

#### 【0028】

幾つかの態様では、前述の抗体のいずれか 1 つは、生物学的試料中の IDO 1 の存在又は発現レベルの検出に使用するためでありうる。幾つかの実施態様では、検出することは

、免疫組織化学法（IHC）、免疫細胞化学法（ICC）、免疫蛍光法（IF）、又は免疫プロット法による。幾つかの実施態様では、検出することはIHCによる。幾つかの実施態様では、試料は固定組織を含む。幾つかの実施態様では、固定組織はホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）組織である。幾つかの実施態様では、抗体は、FFPE組織内のIDO1に特異的に結合する。幾つかの実施態様では、試料は、がん又は自己免疫疾患を有する対象、若しくは、がん又は自己免疫疾患にかかりやすい素因を有する対象に由来する。

#### 【0029】

本発明のさらなる態様は、生物学的試料を前述の抗体のいずれか1つと接触させること、及び結合した抗体の存在を検出することを含む、生物学的試料中のIDO1の存在又は発現レベルを検出する方法である。幾つかの実施態様では、検出することは、IHC、IF、又は免疫プロット法による。幾つかの実施態様では、検出することはIHCによる。幾つかの実施態様では、試料は固定組織を含む。幾つかの実施態様では、固定組織はFFPE組織である。幾つかの実施態様では、試料は、がん又は自己免疫疾患を有する対象、若しくは、がん又は自己免疫疾患にかかりやすい素因を有する対象に由来する。

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0030】

本願のファイルはカラーで作成された図面を少なくとも一点含む。カラー図面を伴う本特許又は特許出願の複写物は、請求及び必要な料金の納付により特許庁から提供される。

【図1】抗IDO1抗体の一般的な抗体産生方法を示す概略図。

【図2】ホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）HeLa細胞上、SP260を使用する免疫組織化学法（IHC）の結果を示す画像：（A）未処理のHeLa；（B）IFNガンマで処理されたHeLa。

【図3】ホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）組織上、SP260を使用する免疫組織化学法（IHC）の結果を示す画像：（A）扁桃腺、（B）胸腺、（C）結腸、（D）子宮内膜腺がん、（E）卵巣腺がん、（F）膵臓腺がん、及び（G）胃腺がん。

【図4】ホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）HeLa細胞上、J6H12L16を使用する免疫組織化学法（IHC）の結果を示す画像：（A）未処理のHeLa；（B）IFNガンマで処理されたHeLa。

【図5】ホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）組織上、J6H12L16を使用する免疫組織化学法（IHC）：（A）扁桃腺、（B）胸腺、（C）結腸、（D）子宮内膜腺がん、（E）卵巣腺がん、及び（F）膵臓腺がん。

【図6】ホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）HeLa細胞上、J6H15L16を使用する免疫組織化学法（IHC）の結果を示す画像：（A）未処理のHeLa；（B）IFNガンマで処理されたHeLa。

【図7】ホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）組織上、J6H15L16を使用する免疫組織化学法（IHC）の結果を示す画像：（A）扁桃腺、（B）胸腺、（C）結腸、（D）子宮内膜腺がん、（E）卵巣腺がん、及び（F）膵臓腺がん。

【図8】ホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）HeLa細胞上、J6H20L16を使用する免疫組織化学法（IHC）の結果を示す画像：（A）未処理のHeLa；（B）IFNガンマで処理されたHeLa。

【図9】ホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）組織上、J6H20L16を使用する免疫組織化学法（IHC）の結果を示す画像：（A）扁桃腺、（B）胸腺、（C）結腸、（D）子宮内膜腺がん、（E）卵巣腺がん、及び（F）膵臓腺がん。

【図10】SP262（H14）、J6H12L16、J6H15L16、及びJ6H20L16の重鎖HVRとFR間の配列アラインメント。

#### 【発明を実施するための形態】

#### 【0031】

#### I. 定義

用語「抗IDO1抗体」、「抗IDO1抗体」、「IDO1に特異的に結合する抗体」

及び「I D O 1 に結合する抗体」とは、I D O 1 を標的とする際に、抗体が診断薬及び/又は治療薬として有用であるように、十分な親和性でI D O 1 に結合可能な抗体を指す。一実施態様では、抗I D O 1 抗体の、無関係な、非I D O 1 タンパク質への結合の程度は、例えば、ラジオイムノアッセイ ( R I A ) によって測定される場合、抗体のI D O 1 への結合の約10%未満である。ある特定の実施態様では、I D O 1 に結合する抗体は、1  $\mu$  M、100 nM、10 nM、1 nM、0.1 nM、0.01 nM、又は0.001 nM (例えば、 $10^{-8}$  M以下、例えば $10^{-8}$  Mから $10^{-13}$  Mまで、例えば、 $10^{-9}$  Mから $10^{-13}$  Mまで) の解離定数 ( K d ) を有する。ある特定の実施態様では、抗I D O 1 抗体は、異なる種に由来するI D O 1 間で保存されるI D O 1 のエピトープに結合する。

10

#### 【0032】

本明細書では用語「抗体」は最も広い意味で用いられ、さまざまな抗体構造を包含し、限定はしないが、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多特異性抗体 (例えば二重特異性抗体)、及び、所望の抗原結合活性を示す場合の抗体断片を含む。抗体は、例えばヤギ、ウサギ、ラット、マウス、及びその他のものなど、さまざまな宿主において産生されうる。これらは、I D O 1 のアミノ酸残基392 - 403 (例えば、ヒトI D O 1 のアミノ酸残基392 - 403 R S T T E K S L L K E G (配列番号1)) のC末端断片など、免疫原性の特性を有する、標的抗原又はその断片又はオリゴペプチドを注入することによって免疫されうる。宿主の種に応じて、さまざまなアジュバントが免疫応答を高めるために添加され、利用されうる。このようなアジュバントとしては、限定はしないが、フロイント、水酸化アルミニウムなどのゲル状鉱物、及びリゾレシチン、プルロニックポリオール、ポリアニオン、ペプチド、油エマルジョン、キーホールリンペットヘモシアニン、及びジニトロフェノールなどの界面活性物質が挙げられる。ヒトに用いられるアジュバントの中でもとりわけ、B C G (カルメット・ゲラン桿菌 (Bacille Calmette-Guerin)) 及びコリネバクテリウム パルヴム (Corynebacterium parvum) が特に有用である。本開示はまた、単離されたポリペプチド及びアジュバントも提供する。

20

#### 【0033】

「抗体断片」とは、インタクトな抗体が結合する抗原に結合するインタクトな抗体の部分を含む、インタクトな抗体以外の分子を指す。抗体断片の例としては、限定はしないが、F v、F a b、F a b'、F a b' - S H、F ( a b' )<sub>2</sub> ; ダイアボディ; 直鎖状抗体; 一本鎖抗体分子 (例えばs c F v) ; 及び抗体断片から形成される多特異的抗体が挙げられる。

30

#### 【0034】

参照抗体と「同一のエピトープに結合する抗体」とは、参照抗体のその抗原への結合を、競合アッセイにおいて50%以上ブロックする抗体のことを指し、反対に、参照抗体は抗体のその抗原への結合を競合アッセイにおいて50%以上ブロックする。例示的な競合アッセイは、本明細書に提供される。

#### 【0035】

「自己免疫疾患」とは、個別の自己の組織又は臓器若しくはその共分離又は徴候から生じる、それらに対する疾患又は障害、あるいはそこから生じた状態である。自己免疫疾患は、臓器特異的疾患 (すなわち、免疫応答は、特に、内分泌系、造血系、皮膚、心肺系、胃腸及び肝臓系、腎臓系、甲状腺、耳、筋神経系、中枢神経系等の臓器系に対するものである) 又は多臓器系に影響を及ぼしうる全身性疾患 (例えば、全身性紅斑性狼瘡 ( S L E )、関節リウマチ ( R A )、多発性筋炎等) でありうる。非限定的な例示的自己免疫疾患としては、自己免疫リウマチ疾患 (例えば、R A、シェーグレン症候群、強皮症、S L E 及びループス腎炎などの狼瘡、多発性 - 皮膚筋炎、クリオグロブリン血症、抗リン脂質抗体症候群、及び乾癬性関節炎など)、自己免疫性胃腸及び肝障害 (例えば、炎症性腸疾患 (例えば、炎症性大腸炎及びクローン病)、自己免疫性胃炎及び悪性貧血、自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎、及びセリアック病など)、脈管炎 (例えば、チャージストラウス脈管炎、ウェゲナー肉芽腫症、及び顕微鏡的多発血管炎を含む、

40

50

A N C A 陰性脈管炎及び A N C A 関連脈管炎など)、自己免疫性神経障害(例えば、多発性硬化症、眼球クローヌス・ミオクローヌス症候群、重症筋無力症、視神経脊髄炎、パーキンソン病、アルツハイマー病、及び自己免疫性多発性神経障害など)、腎疾患(例えば、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、及びバージャー病など)、自己免疫性皮膚疾患(例えば、乾癬、じん麻疹(urticaria, hives)、尋常性天疱瘡、水疱性類天疱瘡、及び皮膚エリテマトーデスなど)、血液疾患(例えば、血小板減少性紫斑病、血栓性血小板減少性紫斑病、輸血後紫斑病、及び自己免疫性溶血性貧血など)、アテローム性動脈硬化症、ブドウ膜炎、自己免疫性聴覚疾患(例えば、内耳疾患及び難聴など)、ベーチェット氏病、レイノー症候群、臓器移植、及び自己免疫性内分泌障害(例えば、インスリン依存性糖尿病(I D D M)などの糖尿病関連自己免疫疾患、アディソン病、及び自己免疫性甲状腺疾患(例えば、グレーブス病及び甲状腺炎)など)が挙げられる。さらに好ましいこのような疾患としては、例えば、R A、潰瘍性大腸炎、A N C A 関連脈管炎、狼瘡、多発性硬化症、シェーグレン症候群、グレーブス病、I D D M、悪性貧血、甲状腺炎、及び糸球体腎炎が挙げられる。

10

20

30

40

50

#### 【0036】

「生物学的試料」とは、対象又は患者から入手した同様の細胞の集合を意味する。生物学的試料は、組織又は細胞試料でありうる。組織又は細胞検体の供給源は、フレッシュ、凍結、及び/又は保存された臓器又は組織試料又は生検又は吸引物に由来する固形組織;血液又は任意の血液成分;脳脊髄液、羊水、腹水、又は間質液などの体液;対象の妊娠期又は発生期の任意の時点に由来する細胞でありうる。生物学的試料は、インビトロにおける組織又は細胞の培養から得ることもできる。組織試料は、本質的に組織と自然に混在しない化合物、例えば、防腐剤、抗凝血剤、緩衝剤、定着剤、栄養剤、抗生物質などを含む場合がある。本明細書における生物学的試料の例としては、限定はしないが、腫瘍生検、循環性腫瘍細胞、血清又は血漿、循環血漿タンパク質、腹水、腫瘍に由来する又は腫瘍様の特性を示す初代細胞培養物又は細胞株、並びにホルマリン固定パラフィン包埋腫瘍試料又は凍結腫瘍試料などの保存腫瘍試料が挙げられる。

#### 【0037】

用語「がん」及び「がん性」とは、典型的には、無秩序な細胞の成長/増殖を特徴とする、哺乳動物における生理学的状態を指す又は説明する。がんの例としては、限定はしないが、がん腫、リンパ腫(例えば、ホジキン及び非ホジキンリンパ腫)、芽細胞腫、肉腫、及び白血病が挙げられる。このようながんのさらなる具体例としては、扁平上皮細胞がん、小細胞肺がん、非小細胞肺がん、肺腺がん、扁平上皮型肺がん、腹膜のがん、肝細胞がん、胃腸がん、膵臓がん、神経膠腫、子宮頸がん、卵巣がん、肝臓がん、肝がん、乳がん、結腸がん、結腸直腸がん、子宮内膜又は子宮がん、唾液腺がん、腎臓がん、肝臓がん、前立腺がん、外陰部がん、甲状腺がん、肝がん、白血病及び他のリンパ増殖性疾患、及びさまざまな種類の頭頸部がんが挙げられる。

#### 【0038】

用語「キメラ」抗体とは、重鎖及び/又は軽鎖の一部が特定の起源又は種に由来し、重鎖及び/又は軽鎖の残りの部分は異なる起源又は種に由来する抗体のことを指す。

#### 【0039】

抗体の「クラス」は、その重鎖が保有する定常ドメイン又は定常領域の種類を指す。抗体には5つの主要なクラス: I g A、I g D、I g E、I g G及びI g Mが存在し、これらの幾つかは、さらにサブクラス(アイソタイプ)、例えば、I g G<sub>1</sub>、I g G<sub>2</sub>、I g G<sub>3</sub>、I g G<sub>4</sub>、I G A<sub>1</sub>、及びI g A<sub>2</sub>に分けられうる。免疫グロブリンの異なるクラスに対応する重鎖定常ドメインは、それぞれ、 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 、 $\delta$ 、及び $\mu$ と呼ばれる。

#### 【0040】

本明細書で使用される場合の用語「細胞傷害性剤」とは、細胞の機能を阻害又は阻止する、及び/又は、細胞死又は細胞破壊を生じる物質を指す。細胞傷害性剤としては、限定はしないが、放射性同位体(例えば、A t<sup>211</sup>、I<sup>131</sup>、I<sup>125</sup>、Y<sup>90</sup>、R e<sup>186</sup>、R e<sup>188</sup>、S m<sup>153</sup>、B i<sup>212</sup>、P<sup>32</sup>、P b<sup>212</sup>及びL uの放射性同位

体)；化学療法剤または化学療法薬(例えば、メトトレキセート、アドリアマイシン、ビンカルカロイド(ピンクリスチン、ピンブラスチン、エトポシド)、ドキシソルビシン、メルファラン、マイトマイシンC、クロラムブシル、ダウノルビシン又は他の挿入剤)；増殖阻害剤；酵素及びその断片、例えば核酸分解酵素など；抗生物質；小分子毒素などの毒素、又は細菌、真菌、植物又は動物由来の酵素活性毒素(それらの断片及び/又は変異体を含む)；及び以下に開示されるさまざまな抗腫瘍剤又は抗がん剤が挙げられる。

【0041】

「エフェクター機能」とは、抗体のアイソタイプにより変化する、抗体のFc領域に起因する生物学的活性を指す。抗体エフェクター機能の例としては：C1q結合及び補体依存性細胞傷害；Fc受容体結合(CDC)；抗体依存性細胞媒介性細胞傷害(ADCC)；食作用；細胞表面受容体(例えばB細胞受容体)の下方制御；及びB細胞活性化が挙げられる。

10

【0042】

本明細書では用語「Fc領域」は、定常領域の少なくとも一部を含む、免疫グロブリン重鎖のC末端領域を定義するために用いられる。この用語には、天然配列Fc領域と変異体Fc領域が含まれる。一実施態様では、ヒトIgG重鎖Fc領域は、Cys226から、又はPro230から重鎖のカルボキシル末端まで延在する。しかしながら、Fc領域のC末端リジン(Lys447)は、存在しても、存在しなくてもよい。本明細書において特に指示がない限り、Fc領域又は定常領域のアミノ酸残基の番号付けは、Kabat et al. Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991に記載されるEUインデックスとも呼ばれるEU番号付けシステムに従う。

20

【0043】

「フレームワーク」又は「FR」とは、超可変領域(HVR)残基以外の可変ドメイン残基を指す。可変ドメインのFRは、一般に、4つのFRドメイン：FR1、FR2、FR3、及びFR4で構成される。したがって、HVR及びFR配列は一般に、VH(又はVL)の次の配列に表示される：FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4。

【0044】

用語「完全長抗体」、「インタクトな抗体」、及び「全抗体」は、自然抗体の構造と実質的に同様の構造を有する抗体又は本明細書に定義されるFc領域を含む重鎖を有する抗体について言及するために、本明細書において互換的に用いられる。

30

【0045】

用語「発現のレベル」又は「発現レベル」とは、通常互換的に使用され、一般には、生体試料中のポリヌクレオチド、mRNA、又はアミノ酸産物又はタンパク質の量を指す。「発現」とは、一般に、遺伝子コード情報が、細胞中に存在し作動する構造へと変換される過程を指す。したがって、本発明によれば、遺伝子(例えば、IDO1遺伝子)の「発現」は、ポリヌクレオチドへの転写、タンパク質への翻訳、又はタンパク質の翻訳後修飾のことまでも指す場合がある。転写されたポリヌクレオチド、翻訳されたタンパク質、又は翻訳後修飾されたタンパク質の断片もまた、選択的スプライシングにより生成された転写物、又は分解された転写物に由来しようが、又は、例えばタンパク質分解による、タンパク質の翻訳後プロセッシングに由来しようが、発現したとみなされる。幾つかの実施態様では、「発現レベル」とは、免疫細胞化学法(ICC)、免疫組織化学法(IHC)、免疫プロット法(例えば、ウェスタンプロット法)、免疫蛍光(IF)、酵素結合免疫吸着法(ELISA)、又はフローサイトメトリーを使用して決定される、生物学的試料中のタンパク質(例えば、IDO1)の量のことを指す。

40

【0046】

用語「宿主細胞」、「宿主細胞株」及び「宿主細胞培養物」は互換的に使用され、外因性の核酸が導入された細胞を指し、そのような細胞の子孫を含める。宿主細胞は、「形質転換体」及び「形質転換された細胞」を含み、それには、継代の数に関係なく、一次形質

50

転換細胞及びそれに由来する子孫が含まれる。子孫は親細胞と核酸含量が完全に同一ではないかもしれず、突然変異が含まれる場合がある。本明細書には、元々形質転換された細胞においてスクリーニング又は選択されたものと同一の機能又は生物活性を有する変異型子孫が含まれる。

【0047】

「ヒト抗体」とは、ヒト抗体レパートリー又は他のヒト抗体をコードする配列を利用する、ヒト又はヒト細胞によって産生された抗体又は非ヒト起源に由来する抗体のものに対応するアミノ酸配列を有する抗体である。ヒト抗体のこの定義は、非ヒト抗原結合残基を含むヒト化抗体を明確に除外する。

【0048】

「ヒトコンセンサスフレームワーク」とは、ヒト免疫グロブリンV L又はV Hフレームワーク配列の選択において、最も共通して生じるアミノ酸残基を表すフレームワークである。一般に、ヒト免疫グロブリンV L又はV H配列は、可変ドメイン配列のサブグループから選択される。一般に、配列のサブグループとは、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD, Vols. 1-3, 1991に記載されるサブグループである。一実施態様では、V Lについて、サブグループはK a b a tらの上記文献に記載されるサブグループカッパIである。一実施態様では、V Hについて、サブグループはK a b a tらの上記文献に記載されるサブグループI I Iである。

【0049】

「ヒト化」抗体とは、非ヒトH V R由来のアミノ酸残基及びヒトF R由来のアミノ酸残基を含むキメラ抗体のことを指す。ある特定の実施態様では、ヒト化抗体は、少なくとも1つ、典型的には2つの可変ドメインのすべてを実質的に含み、ここで、H V R（例えばC D R）のすべて又は実質的にすべてが非ヒト抗体のものに対応し、かつ、F Rのすべて又は実質的にすべてがヒト抗体のものに対応する。ヒト化抗体は、任意選択的に、ヒト抗体に由来する抗体定常領域の少なくとも一部を含みうる。例えば非ヒト抗体などの抗体の「ヒト化型」とは、ヒト化がなされた抗体のことを指す。

【0050】

本明細書で用いられる用語「超可変領域」又は「H V R」とは、配列（「相補性決定領域」又は「C D R」）において超可変である、及び/又は構造的に定義されたループ（「超可変ループ」）を形成する、及び/又は抗原と接触する残基（「抗原接触」）を含む、抗体可変ドメインの各領域を指す。一般的に、抗体は、V Hに3つ（H 1、H 2、H 3）、及びV Lに3つ（L 1、L 2、L 3）の計6つのH V Rを含む。本明細書における例示的なH V Rとしては下記のもの挙げられる：

(a) アミノ酸残基26 - 32 (L 1)、50 - 52 (L 2)、91 - 96 (L 3)、26 - 32 (H 1)、53 - 55 (H 2)、及び96 - 101 (H 3)で生じる超可変ループ(Chothia et al. J. Mol. Biol. 196: 901-917, 1987)；

(b) アミノ酸残基24 - 34 (L 1)、50 - 56 (L 2)、89 - 97 (L 3)、31 - 35 b (H 1)、50 - 65 (H 2)、及び95 - 102 (H 3)で生じるC D R (Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991)；

(c) アミノ酸残基27 c - 36 (L 1)、46 - 55 (L 2)、89 - 96 (L 3)、30 - 35 b (H 1)、47 - 58 (H 2)、及び93 - 101 (H 3)で生じる抗原接触(MacCallum et al. J. Mol. Biol. 262: 732-745, 1996)；及び

(d) H V Rアミノ酸残基46 - 56 (L 2)、47 - 56 (L 2)、48 - 56 (L 2)、49 - 56 (L 2)、26 - 35 (H 1)、26 - 35 b (H 1)、49 - 65 (H 2)、93 - 102 (H 3)、及び94 - 102 (H 3)を含む、(a)、(b)、及び/又は(c)の組み合わせ。別途指示がない限り、可変ドメインにおけるH V R残基及び他の残基(例えばF R残基)は、本明細書では、上記文献に記載されるK a b a t等の手法に従って番号付けされる。

10

20

30

40

50

## 【0051】

「イムノコンジュゲート」とは、細胞傷害性剤を含むがそれに限定されない、1つ以上の異種分子にコンジュゲートした抗体である。

## 【0052】

「単離された」抗体は、その自然環境の成分から分離されたものである。いくつかの実施態様において、抗体は、例えば、電気泳動（例えば、SDS-PAGE、等電点電気泳動（IEF）、キャピラリー電気泳動）又はクロマトグラフィー（例えば、イオン交換又は逆相HPLC）によって決定して、95%又は99%を超える純度まで精製される。抗体純度の評価法の総説については、例えば、Flatman et al. J. Chromatogr. B. 848: 79-87, 2007を参照のこと。

10

## 【0053】

「単離された」核酸とは、その自然環境の成分から分離されている核酸分子のことを指す。単離された核酸は、核酸分子を通常含む細胞内に含まれるが、染色体外又はその自然の染色体上の位置とは異なる染色体位置に存在している核酸分子を含む。

## 【0054】

「抗IDO1抗体をコードする単離された核酸」とは、抗体重鎖及び/又は軽鎖（又はそれらの断片）をコードする1つ以上の核酸分子を指し、単一のベクター又は別々のベクター内にこのような核酸分子、及び宿主細胞内の1つ以上の位置に存在するこのような核酸分子を含む。

## 【0055】

本明細書で使用される用語「モノクローナル抗体」とは、実質的に均一な抗体の集団から得られる抗体、すなわち、集団を構成する個々の抗体が同一である、及び/又は同じエピトープに結合する、抗体のことを指し、例えば、自然発生する突然変異を含む又はモノクローナル抗体調製物の生産の間に生じる、一般に少量で存在する変異体の可能性を除外する。異なる決定基（エピトープ）に対する異なる抗体を典型的には含むポリクローナル抗体調製物とは対照的に、モノクローナル抗体調製物の各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対するものである。よって修飾語「モノクローナル」は、実質的に均一な抗体集団から得られる抗体の特徴を指しており、特定のいずれかの方法によって抗体を産生する必要があると解釈されるべきではない。例えば、本発明に従って用いられるモノクローナル抗体は、ハイブリドーマ法、組み換えDNA法、ファージディスプレイ法、及びヒト免疫グロブリン遺伝子座の全てまたは一部を含むトランスジェニック動物を利用する方法、又はこれらの組み合わせを含む、さまざまな手法によって作製されうる。

20

30

## 【0056】

「参照ポリペプチド配列に関する「パーセント（%）アミノ酸配列同一性」は、最大のパーセント配列同一性を得るために、必要に応じて、配列をアラインメントして間隙を導入した後、いかなる保存的置換も配列同一性の一部とはみなさない、参照ポリペプチド配列のアミノ酸残基と同一である候補配列中のアミノ酸残基のパーセントとして定義される。パーセントアミノ酸配列同一性を決定する目的のためのアラインメントは、当業者の技量の範囲にある種々の方法、例えばBLAST、BLAST-2、ALIGN、又はMegalign（DNASTAR）ソフトウェアなどの公に入手可能なコンピュータソフトウェアを使用して達成可能である。当業者であれば、比較される配列の完全長に対して最大のアラインメントを達成するために必要な任意のアルゴリズムを含む、配列をアラインメントするための適切なパラメータを決定することができる。しかしながら、ここでの目的のためには、%アミノ酸配列同一性の値は、配列比較コンピュータプログラムALIGN-2を使用して生成される。ALIGN-2配列比較コンピュータプログラムはジェネンテック社によって著作され、ソースコードは、ワシントンD.C.、20559に所在の米国著作権局に使用者用書類とともに提出され、米国著作権登録番号第TXU510087号の下で登録されている。また、ALIGN-2は、カリフォルニア州サウスサンフランシスコ所在のジェネンテック社から公的に入手可能であり、又はそのソースコードからコンパイルしてもよい。ALIGN-2プログラムは、デジタルUNIXのV4.0D

40

50

を含む、UNIXオペレーティングシステム上での使用のためにコンパイルされているはずである。すべての配列比較パラメータは、ALIGN-2プログラムによって設定され、変動しない。

【0057】

アミノ酸配列比較にALIGN-2が用いられる状況では、所与のアミノ酸配列Aの、所与のアミノ酸配列Bとの、又はそれに対する%アミノ酸配列同一性(或いは、所与のアミノ酸配列Bと、又はそれに対して特定の%アミノ酸配列同一性を有する又は含む所与のアミノ酸配列Aともいえる)は次のように計算される:

$$100 \times \text{分率 } X / Y$$

ここで、Xは、そのプログラムにおけるAとBのアラインメントにおいて、配列アラインメントプログラムALIGN-2によって完全一致としてスコアリングされたアミノ酸残基の数であり、YはBにおけるアミノ酸残基の総数である。アミノ酸配列Aの長さがアミノ酸配列Bの長さとは異なる場合、AのBに対する%アミノ酸配列同一性は、BのAに対する%アミノ酸配列同一性とは異なることが理解されよう。特に断りのない限り、本明細書で使用されるすべての%アミノ酸配列同一性の値は、ALIGN-2コンピュータプログラムを使用して、直前の段落で説明したように得られる。

【0058】

本明細書で使用する場合、用語「インドールアミン2,3-ジオキシゲナーゼ1;インドール2,3-ジオキシゲナーゼ;インドールアミン(indolamine)2,3ジオキシゲナーゼ;インドールアミン-ピロール2,3-ジオキシゲナーゼ、及びIDO1」とは、別途指示がない限り、霊長類(例えばヒト)などの哺乳動物及び齧歯動物(例えば、マウス及びラット)を含む、脊椎動物起源のいずれかに由来する天然のIDO1のことを指す。その用語は、「完全長」の未処理のIDO1、並びに細胞内での過程から生じた任意の形態のIDO1を包含する。その用語はまた、天然に存在するIDO1の変異体、例えば、スプライス変異体又は対立遺伝子変異体も包含する。ゲノムDNA配列を含むヒトIDO1遺伝子における追加情報は、NCBI遺伝子ID番号3620の下で確認できる。ゲノムDNA配列を含むマウスIDO1遺伝子における追加情報は、NCBI遺伝子ID番号15930の下で確認できる。例示的な完全長ヒトIDO1タンパク質のアミノ酸配列は配列番号27に示される。例示的な完全長ヒトIDO1タンパク質のアミノ酸配列は、例えば、NCBI寄託番号NP\_002155.1又はUniProt寄託番号P14902の下で確認でき、また、例示的な完全長マウスIDO1タンパク質の配列は、例えば、NCBI寄託番号NP\_032350.1又はUniProt寄託番号P28776の下で確認できる。

【0059】

本明細書で使用する場合、用語「~に特異的に結合する」又は「~に特異的な」とは、生物学的分子を含む分子の不均一な集団の存在下で、標的の存在を決定するものである、標的と抗体との間の結合などの測定可能かつ再現性のある相互作用のことを指す。例えば、標的に特異的に結合する抗体(例えば、ヒトIDO1のアミノ酸残基392-403(配列番号1)などのエピトープでありうる)は、より大きい親和性、結合力を伴って、より容易に、及び/又は他の標的への結合に比べてより長い持続時間、この標的に結合する抗体である。一実施態様では、無関係な標的に対する抗体の結合の程度は、例えば、ラジオイムノアッセイ(RIA)によって測定して、標的に対する抗体の結合の約10%未満である。ある特定の実施態様では、標的に特異的に結合する抗体は、 $1 \mu\text{M}$ 、 $100 \text{ nM}$ 、 $10 \text{ nM}$ 、 $1 \text{ nM}$ 、又は $0.1 \text{ nM}$ の解離定数(Kd)を有する。ある特定の実施態様では、抗体は、さまざまな種に由来するタンパク質間で保存されているタンパク質上のエピトープに特異的に結合する。別の実施態様では、特異的結合は排他的結合を含みうるが、排他的結合を必要とするわけではない。別の実施態様では、特異的結合は、抗原提示細胞(APC)及び腫瘍細胞における細胞質染色、及び間質細胞及び他の全ての正常な細胞型(上皮細胞、線維芽細胞、内皮細胞、神経細胞、内分泌細胞、及びリンパ球など)における細胞質、核、及び膜染色の欠如を含めた、ホルマリン固定パラフィン包埋

組織（FFPE）における特定の免疫組織化学的染色パターンを含む。

【0060】

「対象」又は「個体」は哺乳動物である。哺乳動物としては、限定はしないが、家畜動物（例えば、ウシ、ヒツジ、ネコ、イヌ、及びウマ）、霊長類（例えば、ヒト、及びサルなどの非ヒト霊長類）、ウサギ、齧歯類（例えば、マウス及びラット）が挙げられる。ある特定の実施態様では、個体又は対象はヒトである。

【0061】

用語「可変領域」又は「可変ドメイン」は、抗体の抗原への結合に關与する抗体の重鎖又は軽鎖のドメインを指す。天然型抗体の重鎖及び軽鎖の可変ドメイン（それぞれVH及びVL）は一般に、各々が4つの保存されたフレームワーク領域（FR）と3つの超可変領域（HVR）とを含む類似構造を有する。例えば、Kindt et al. *Kuby Immunology*, 6<sup>th</sup> ed., page 91, W. H. Freeman and Co., 2007を参照。単一のVH又はVLドメインは、抗原結合特異性を付与するのに十分でありうる。さらには、特定の抗原に結合する抗体は、相補的なVL又はVHドメインのライブラリをそれぞれスクリーニングするために、抗原に結合する抗体由来のVH又はVLドメインを使用して単離されうる。例えば、Portolano et al. *J. Immunol.* 150: 880-887, 1993及びClarkson et al. *Nature*. 352: 624-628, 1991を参照のこと。

10

【0062】

本明細書で使用される、用語「ベクター」は、それに結合する別の核酸を伝播することができる核酸分子を指す。この用語は、自己複製核酸構造としてのベクター、並びにそれが導入されている宿主細胞のゲノムに組み込まれたベクターを含む。ある特定のベクターは、動作可能なように結合された核酸の発現を対象とすることができる。このようなベクターは、本明細書では「発現ベクター」と称される。

20

【0063】

【003】「組織化学法」及び「細胞化学法」とは、顕微鏡上で視認できる方法で、バイオマーカーに特異的に結合する分子で試料を標識化することによって、インタクトな細胞の意味の範囲内でバイオマーカーを同定するためにしばしば利用される手法である。免疫組織化学法（IHC）及び免疫細胞化学法（ICC）は、抗体を使用してバイオマーカーを標識する、組織化学法及び細胞化学法の種類である。組織環境又は細胞環境の意味においてバイオマーカーを同定することによって、バイオマーカーと細胞又は組織試料の他の形態学的又は分子的特徴との間の空間関係を解明することができ、このことにより、他の分子的又は細胞的手法からは明白ではない情報が明らかになりうる。

30

【0064】

II. 組成物及び方法

本発明は、ヒトIDO1に結合する新規の抗体を提供する。本発明の抗体は、例えば、IDO1の存在又はIDO1の発現レベル（例えば生物学的試料中）の決定に有用である。

【0065】

A. 例示的な抗IDO1抗体

本発明は、例えば、診断的用途（例えば、免疫組織化学法（IHC）、免疫蛍光法（IF）、及び免疫プロット法（例えば、ウェスタンプロット法））に有用な抗IDO1抗体を提供する。一例では、本発明は、タンパク質のC末端領域に位置する、IDO1のアミノ酸残基392 - 403（例えば、ヒトIDO1のアミノ酸残基392 - 403 RSTTEKSLLEKEG（配列番号1））を含むエピトープに結合する抗IDO1抗体を提供する。IDO1上のエピトープは、立体構造依存性又は立体構造非依存性の方式で認識される。

40

【0066】

幾つかの例では、IDO1のアミノ酸残基392 - 403に結合する抗IDO1抗体は、（a）配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H1；（b）配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2；（c）配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3；（d）配

50

列番号9のアミノ酸配列を含むHVR-L1；(e)配列番号10のアミノ酸配列を含むHVR-L2；及び(f)配列番号11のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、又は6つのHVRを含む。例えば、幾つかの例では、抗IDO1抗体は、(a)配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H1；(b)配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2；及び(c)配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3を含む。幾つかの例では、抗IDO1抗体は、(a)配列番号9のアミノ酸配列を含むHVR-L1；(b)配列番号10のアミノ酸配列を含むHVR-L2；及び(c)配列番号11のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

#### 【0067】

抗IDO1抗体がIDO1のアミノ酸残基392-403に結合し、かつ、(a)配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H1；(b)配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2；及び(c)配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3を含む幾つかの例では、抗IDO1抗体は、次の重鎖可変ドメインフレームワーク領域(FR)をさらに含む：(a)配列番号5のアミノ酸配列を含むFR-H1；(b)配列番号6のアミノ酸配列を含むFR-H2；(c)配列番号7のアミノ酸配列を含むFR-H3；又は(d)配列番号8のアミノ酸配列を含むFR-H4。抗IDO1抗体がIDO1のアミノ酸残基392-403に結合し、かつ、(a)配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H1；(b)配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2；及び(c)配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3を含む幾つかの例では、抗IDO1抗体は、次の重鎖可変ドメインフレームワーク領域(FR)をさらに含む：(a)配列番号5のアミノ酸配列を含むFR-H1；(b)配列番号6のアミノ酸配列を含むFR-H2；(c)配列番号7のアミノ酸配列を含むFR-H3；及び(d)配列番号8のアミノ酸配列を含むFR-H4。

#### 【0068】

抗IDO1抗体がIDO1のアミノ酸残基392-403に結合する幾つかの例では、抗体は、(a)配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H1；(b)配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2；(c)配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3；(d)配列番号9のアミノ酸配列を含むHVR-L1；(e)配列番号10のアミノ酸配列を含むHVR-L2；及び(f)配列番号11のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。幾つかの例では、これらの抗IDO1抗体は次のFRを含む：(a)配列番号5のアミノ酸配列を含むFR-H1；(b)配列番号6のアミノ酸配列を含むFR-H2；(c)配列番号7のアミノ酸配列を含むFR-H3；及び(d)配列番号8のアミノ酸配列を含むFR-H4を含み、追加的に又は代替的に(e)配列番号12のアミノ酸配列を含むFR-L1；(f)配列番号13のアミノ酸配列を含むFR-L2；(g)配列番号14のアミノ酸配列を含むFR-L3；及び(h)配列番号15のアミノ酸配列を含むFR-L4。

#### 【0069】

幾つかの例では、IDO1のアミノ酸残基392-403に結合する抗IDO1抗体は、配列番号16のアミノ酸配列に対して少なくとも80%（例えば、少なくとも81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、又は89%）、少なくとも90%（例えば、少なくとも91%、92%、93%、又は94%）、又は少なくとも95%（例えば、少なくとも96%、97%、98%、又は99%）の配列同一性を有する、又は配列番号16のアミノ酸配列の配列を有する、重鎖可変ドメイン(VH)配列も含みうる。特定の実施態様において、少なくとも80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVH配列は、参照配列（配列番号16）に対して置換（例えば保存的置換）、挿入、又は欠失を含むが、その配列を含む抗IDO1抗体は、IDO1に結合する能力を保持する。ある特定の実施態様では、1から10アミノ酸（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10アミノ酸）の合計は、配列番号16において置換され、挿入され、及び/又は欠失している。ある特定の実施態様では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外（すなわちFR内）の

10

20

30

40

50

領域で生じる。任意選択的に、抗 I D O 1 抗体は、配列番号 1 6 の V H 配列を、その配列の翻訳後修飾も含めて、含む。特定の実施態様では、V H は、次から選択される、1 つ、2 つ、又は 3 つの H V R を含む：( a ) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、( b ) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、及び ( c ) 配列番号 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3。

#### 【 0 0 7 0 】

幾つかの例では、I D O 1 のアミノ酸残基 3 9 2 - 4 0 3 に結合する抗 I D O 1 抗体は、配列番号 1 7 のアミノ酸配列に対して少なくとも 8 0 % (例えば、少なくとも 8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、又は 8 9 %)、少なくとも 9 0 % (例えば、少なくとも 9 1 %、9 2 %、9 3 %、又は 9 4 %)、又は少なくとも 9 5 % (例えば、少なくとも 9 6 %、9 7 %、9 8 %、又は 9 9 %) の配列同一性を有する、又は配列番号 1 7 のアミノ酸配列の配列を有する、軽鎖可変ドメイン ( V L ) も含みうる。特定の実施態様において、少なくとも 8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、又は 9 9 % の同一性を有する V L 配列は、参照配列 (配列番号 1 7) に対して置換 (例えば保存的置換)、挿入、又は欠失を含むが、その配列を含む抗 I D O 1 抗体は、I D O 1 に結合する能力を保持する。ある特定の実施態様では、1 から 1 0 のアミノ酸 (例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は 1 0 アミノ酸) の合計は、配列番号 1 7 において置換、挿入、及び / 又は欠失している。特定の実施態様において、置換、挿入、又は欠失は、H V R の外 (すなわち F R 内) の領域で生じる。任意選択的に、抗 I D O 1 抗体は、配列番号 1 7 に V L 配列を、その配列の翻訳後修飾も含めて、含む。特定の実施態様では、V L は、( a ) 配列番号 9 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 ; ( b ) 配列番号 1 0 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2 ; 及び ( c ) 配列番号 1 1 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 から選択される 1 つ、2 つ、又は 3 つの H V R を含む。

10

20

#### 【 0 0 7 1 】

幾つかの例では、I D O 1 のアミノ酸残基 3 9 2 - 4 0 3 に結合する抗 I D O 1 抗体は、それぞれ、配列番号 1 6 及び 1 7 のアミノ酸配列に対して少なくとも 8 0 % (例えば、少なくとも 8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、又は 8 9 %)、少なくとも 9 0 % (例えば、少なくとも 9 1 %、9 2 %、9 3 %、又は 9 4 %)、又は少なくとも 9 5 % (例えば、少なくとも 9 6 %、9 7 %、9 8 %、又は 9 9 %) の配列同一性を有する、又は、それぞれ、配列番号 1 6 及び 1 7 のアミノ酸配列の配列を有する V H 及び V L の両方の配列を含み、これらの配列の翻訳後修飾を含んでも含まなくてもよい。

30

#### 【 0 0 7 2 】

他の例では、本発明は I D O 1 に特異的に結合する抗体であって、( a ) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 ; ( b ) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 ; ( c ) 配列番号 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 ; ( d ) 配列番号 9 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 ; ( e ) 配列番号 1 0 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2 ; 及び ( f ) 配列番号 1 1 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 を含む抗体を提供する。幾つかの例では、これらの抗 I D O 1 抗体は次の F R : ( a ) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含む F R - H 1 ; ( b ) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む F R - H 2 ; ( c ) 配列番号 7 のアミノ酸配列を含む F R - H 3 ; 及び ( d ) 配列番号 8 のアミノ酸配列を含む F R - H 4 を含み、かつ、追加的に又は代替的に ( e ) 配列番号 1 2 のアミノ酸配列を含む F R - L 1 ; ( f ) 配列番号 1 3 のアミノ酸配列を含む F R - L 2 ; ( g ) 配列番号 1 4 のアミノ酸配列を含む F R - L 3 ; 及び ( h ) 配列番号 1 5 のアミノ酸配列を含む F R - L 4 を含む。幾つかの実施態様では、例えば、抗 I D O 1 抗体は、それぞれ、配列番号 1 6 及び 1 7 のアミノ酸配列の配列を含む V H 及び V L の両方の配列を含み、翻訳後修飾を含んでも含まなくてもよい。

40

#### 【 0 0 7 3 】

50

例えば、本発明は、次の重鎖及び軽鎖可変領域配列を有する、抗IDO1抗体SP260などの抗IDO1抗体を特徴とする。

【0074】

重鎖可変領域のアミノ酸配列は、次のものである（太字下線付きで示されるHVR）：  
 QEQLVESGGGLVQPEGS L T L T C T A S G F S F S T N Y W I C W V R Q  
 A P G K G L E W T A C I Y V G G R G S I Y Y A S W A K G R F T I S K T S S T T V  
 T L Q M T S L T A A D T A T Y F C A R D L T T A Y G A T D L R F W G P G T L V T  
 V S S（配列番号16）

【0075】

軽鎖可変領域のアミノ酸配列は次のものである（太字下線付きで示されるHVR）：  
 D V V M T Q T P S P V S A A V G G T V S I S C Q S S Q S V G D N N R L S W F Q Q  
 K P G Q P P K L L I Y S A S T L A S G V P S R F K G S G S G T E Y T L T I S G V  
 Q C D D A A T Y Y C L G E F S G S D E D V F G G G T E V V V K

10

【0076】

幾つかの例では、本発明の抗IDO1抗体は、IDO1への結合について、上述の1つ以上の抗IDO1抗体と競合する抗体である。幾つかの例では、本発明の抗IDO1抗体は、上述の1つ以上の抗IDO1抗体と同一のエピトープ又は実質的に同一のエピトープに結合する抗体である。

【0077】

幾つかの例では、上記実施態様のいずれかに従った抗IDO1抗体は、キメラ、ヒト化、又はヒト抗体を含むモノクローナル抗体でありうる。一実施態様では、抗IDO1抗体は抗体断片であり、例えば、Fv、Fab、Fab'、scFv、ダイアボディ、又はF(ab')<sub>2</sub>断片である。別の実施態様では、抗体は完全長抗体であり、例えば、インタクトなIgG抗体（例えば、インタクトなIgG1抗体）又は本明細書において定義される他のクラス又はアイソタイプの抗体である。

20

【0078】

本発明の抗IDO1抗体は、下記実施例に例示されるように、生物学的試料におけるIDO1の存在又は発現レベルの検出に有用であるが、治療的利用のために使用又は適合されてもよいと解されるべきである。

【0079】

さらなる態様では、上記実施態様のいずれかによる抗IDO1抗体は、下記セクション1~5に記載されるように、特徴のいずれかを単一で又は組み合わせて取り込みうる。

30

【0080】

1. 抗体親和性

ある特定の実施態様では、本明細書に提供される抗体は、 $1\mu$ 、 $100n$ 、 $10n$ 、 $1nM$ 、 $0.1nM$ 、 $0.01nM$ 、又は $0.001nM$ （例えば $10^{-8}M$ 以下、例えば $10^{-8}M$ から $10^{-13}M$ 、例えば $10^{-9}M$ から $10^{-13}M$ ）の解離定数（Kd）を有する。

【0081】

一実施態様では、Kdは、次のアッセイに記載される目的の抗体のFabバージョン及びその抗原を用いて行われる放射標識抗原結合アッセイ（RIA）によって測定される。抗原に対するFabの溶液結合親和性は、標識されていない抗原の滴定系列の存在下で、最小濃度の（<sup>125</sup>I）で標識された抗原でFabを平衡化し、結合した抗原を抗Fab抗体でコーティングしたプレートを用いて捕捉することによって測定される（例えば、Chen et al. J. Mol. Biol. 293: 865-881, 1999を参照）。アッセイ条件を確立するため、マイクロタイター（登録商標）マルチウェルプレート（Thermo Scientific社）を、50mM炭酸ナトリウム（pH9.6）中、5μg/mlの捕捉抗Fab抗体（Cappel Labs社）で一晩コーティングし、その後、PBS中、2%（w/v）のウシ血清アルブミンを用いて室温（およそ23℃）で2~5時間ブロックする。非吸着プレート（Nunc #269620）内で、100pM又は26pMの[<sup>125</sup>

40

50

I ] - 抗原を、段階希釈した目的の F a b と混合する (例えば、Presta et. al. Cancer Res. 57: 4593-4599, 1997の抗 V E G F 抗体、F a b - 1 2 の評価と一致)。次いで、目的の F a b を一晩インキュベートする；しかしながら、平衡に達したことを確実にするために、より長い期間 (例えば約 6 5 時間)、インキュベーションを継続してもよい。その後、混合物を捕捉プレートに移し、室温で (例えば 1 時間) インキュベートする。次いで、溶液を除去し、プレートを P B S 中、0 . 1 % の p o l y s o r b a t e 2 0 ( T W E E N - 2 0 <sup>T M</sup> ) で 8 回洗浄する。プレートが乾燥したら、1 5 0 μ l / ウェルのシンチラント ( M I C R O S C I N T - 2 0 <sup>T M</sup> ; P a c k a r d 社 ) を加え、プレートを T O P C O U N T <sup>T M</sup> ガンマカウンター ( P a c k a r d 社 ) で 1 0 分間カウントする。最大結合の 2 0 % 以下の濃度を与える F a b を各々、競合的結合アッセイに用いるために選択する。

10

#### 【 0 0 8 2 】

別の実施態様によれば、K d 値は、2 5 で B I A C O R E (登録商標) - 2 0 0 0 又は B I A C O R E (登録商標) - 3 0 0 0 ( B I A c o r e , I n c . , ニュージャージー州ピスカタウェイ所在) を、~ 1 0 反応単位 ( R U ) の固定化抗原 C M 5 チップと共に用いる表面プラズモン共鳴アッセイを使用して測定する。簡潔に説明すると、カルボキシメチル化デキストランバイオセンサーチップ ( C M 5 , B I A C O R E , I n c . ) を、供給業者の指示書に従って N - エチル - N ' - ( 3 - ジメチルアミノプロピル ) - カルボジイミド塩酸塩 ( E D C ) 及び N - ヒドロキシスクシニミド ( N H S ) で活性化する。抗原を 1 0 m M 酢酸ナトリウム、p H 4 . 8 で 5 μ g / m l ( ~ 0 . 2 μ M ) に希釈した後、結合タンパク質の反応単位 ( R U ) がおよそ 1 0 に達するように 5 μ l / 分の流量で注入する。抗原の注入後、未反応の基をブロックするために 1 M のエタノールアミンを注入する。反応速度論的な測定のために、F a b の 2 倍の段階希釈 ( 0 . 7 8 n M から 5 0 0 n M ) を、2 5 で、およそ 2 5 μ l / 分の流量で 0 . 0 5 % ポリソルベート 2 0 ( T W E E N - 2 0 <sup>T M</sup> ) 界面活性剤 ( P B S T ) を含む P B S に注入する。会合センサーグラム及び解離センサーグラムを同時にフィットさせることによる単純一対一ラングミュア結合モデル ( simple one-to-one Langmuir binding model ) ( B I A C O R E (登録商標) 評価ソフトウェアバージョン 3 . 2 ) を用いて、会合速度 ( k<sub>o.n</sub> ) と解離速度 ( k<sub>o.f</sub> ) を算出する。平衡解離定数 ( K d ) は k<sub>o.f</sub> / k<sub>o.n</sub> 比として算出される。例えば、Chen et al. J. Mol. Biol. 293: 865-881, 1999 を参照。オンレートが上記表面プラズモン共鳴アッセイで 1 0 <sup>6</sup> M<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup> を超える場合、オンレートは、ストップフローを備えた分光光度計 ( A v i v I n s t r u m e n t s 社 ) 又は攪拌キュベットを備えた 8 0 0 0 シリーズ S L M - A m i n c o <sup>T M</sup> 分光光度計 ( T h e r m o S p e c t r o n i c 社 ) などの分光計で測定して漸増濃度の抗原の存在下、P B S ( p H 7 . 2 ) 中、2 0 n M の抗抗原抗体 ( F a b 型 ) の 2 5 における蛍光放出強度 ( 励起 = 2 9 5 n m ; 放出 = 3 4 0 n m 、帯域通過 1 6 n m ) の上昇又は低下を測定する蛍光消光法を使用して決定することができる。

20

30

#### 【 0 0 8 3 】

##### 2 . 抗体断片

ある特定の実施態様では、本明細書において提供される抗体は抗体断片である。抗体断片としては、限定はしないが、F a b 、 F a b ' 、 F a b ' - S H 、 F ( a b ' )<sub>2</sub> 、 F v 、及び s c F v 断片、及び以下に記載される他の断片が挙げられる。ある特定の抗体断片の総説については、Hudson et al. Nat. Med. 9: 129-134, 2003 を参照。s c F v 断片の総説については、例えば、Pluckthun. The Pharmacology of Monoclonal Antibodies. Vol. 113, pp. 269-315, Rosenberg and Moore eds. Springer-Verlag, New York, 1994 を参照；また、国際公開第 9 3 / 1 6 1 8 5 号；並びに米国特許第 5 5 7 1 8 9 4 号及び同第 5 5 8 7 4 5 8 号も参照のこと。サルベージ受容体結合エピトープ残基を含み、かつインビボ半減期を増加させた F a b 及び F ( a b ' )<sub>2</sub> 断片の論述については、米国特許第 5 8 6 9 0 4 6 号を参照のこと。

40

#### 【 0 0 8 4 】

50

ダイアボディは、2価又は二重特異性でありうる2つの抗原結合部位を有する抗体断片である。例えば、欧州特許出願公開第404097号；国際公開第1993/01161号；Hudson et al. Nat. Med. 9: 129-134, 2003；及びHollinger et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 90: 6444-6448, 1993を参照。トリアボディ (triabodies) 及びテトラボディ (tetrabodies) もHudson et al. Nat. Med. 9: 129-134, 2003に記載されている。

#### 【0085】

単ドメイン抗体は、抗体の重鎖可変ドメインのすべて又は一部、若しくは軽鎖可変ドメインのすべて又は一部を含む抗体断片である。ある特定の実施態様では、単ドメイン抗体は、ヒト単ドメイン抗体である (Domantis, Inc., マサチューセッツ州ウォルサム所在；例えば、米国特許第6248516号を参照)。

10

#### 【0086】

抗体断片はさまざまな手法で作製することができ、これらの手法としては、限定はしないが、本明細書に記載されるように、インタクトな抗体のタンパク質分解、並びに組換え宿主細胞 (例えば、大腸菌又はファージ) による産生が挙げられる。

#### 【0087】

### 3. キメラ抗体及びヒト化抗体

ある特定の実施態様では、本明細書において提供される抗体はキメラ抗体である。ある特定のキメラ抗体は、例えば、米国特許第4816567号；及びMorrison et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 81: 6851-6855, 1984に記載されている。一例では、キメラ抗体は、非ヒト可変領域 (例えば、マウス、ラット、ハムスター、ウサギ、又はサル等の非ヒト霊長類由来の可変領域) とヒト定常領域とを含む。更なる例では、キメラ抗体は、クラス又はサブクラスが親抗体のものから変更されている「クラススイッチ」抗体である。キメラ抗体は、その抗原結合断片を含む。

20

#### 【0088】

ある特定の実施態様では、キメラ抗体はヒト化抗体である。典型的には、非ヒト抗体は、親の非ヒト抗体の特異性と親和性を保持しつつ、ヒトに対する免疫原性を低減するようにヒト化される。一般に、ヒト化抗体は、例えばCDRなどのHVR (又はその一部) が非ヒト抗体に由来し、FR (又はその一部) がヒト抗体配列に由来する、1つ以上の可変ドメインを含む。ヒト化抗体はまた、任意選択的に、ヒト定常領域の少なくとも一部も含む。幾つかの実施態様において、ヒト化抗体の幾つかのFR残基は、例えば、抗体特異性又は親和性を回復又は改善するために、非ヒト抗体 (例えば、HVR残基が由来する抗体) 由来の対応する残基で置換される。

30

#### 【0089】

ヒト化抗体及びそれらの作製方法は、例えば、Almagro et al. Front. Biosci. 13: 1619-1633, 2008に記載されており、さらに、例えば、Riechmann et al. Nature. 332: 323-329, 1988；Queen et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 86: 10029-10033, 1989；米国特許第5821337号、同第7527791号、同第6982321号、及び同第7087409号；Kashmiri et al. Methods. 36: 25-34, 2005 (SDR (a-CDR) グラフティングについての説明)；Padlan. Mol. Immunol. 28: 489-498, 1991 (「リサーフェシング」についての説明)；DaU'Acqua et al. Methods. 36: 43-60, 2005 (「FRシャッフル」についての説明)；及びOsbourn et al. Methods 36: 61-68, 2005及びKlimka et al. Br. J. Cancer. 83: 252-260, 2000 (FRシャッフルに対する「誘導選択 (guided selection)」手法についての説明) に記載されている。

40

#### 【0090】

ヒト化に使用されうるヒトフレームワーク領域としては、限定はしないが次のものが挙げられる：「最良適合」法を使用して選択されるフレームワーク領域 (例えば、Sims et al. J. Immunol. 151: 2296, 1993を参照)；軽鎖又は重鎖可変領域の特定のサブグループのヒト抗体のコンセンサス配列に由来するフレームワーク領域 (例えば、Carter et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 89: 4285, 1992；及びPresta et al. J. Immunol. 151: 2623, 1993を参照)；ヒト成熟 (体細胞変異した) フレームワーク領域又はヒト生殖細胞系

50

フレームワーク領域（例えば、Almagro et al. *Front. Biosci.* 13: 1619-1633, 2008を参照）；及び、FRライブラリのスクリーニングに由来するフレームワーク領域（例えば、Baca et al. *J. Biol. Chem.* 272: 10678-10684, 1997及びRosok et al. *J. Biol. Chem.* 271: 22611-22618, 1996を参照）に記載されている。

#### 【0091】

##### 4. 多重特異性抗体

ある特定の実施態様では、本明細書で提供される抗体は、例えば二重特異性抗体などの多重特異性抗体である。二重特異性抗体は、少なくとも2つの異なる部位に対して結合特異性を有するモノクローナル抗体である。ある特定の実施態様では、結合特異性の1つはID01に対するものであり、他の1つは、任意の他の抗原に対するものである。ある特定の実施態様では、二重特異性抗体は、ID01の2つの異なるエピトープに結合されうる。二重特異性抗体はまた、ID01を発現する細胞に対して細胞傷害性剤を局在化するように使用されうる。二重特異性抗体は、完全長抗体又は抗体断片として調製することができる。

10

#### 【0092】

多重特異性抗体を作製する手法としては、限定はしないが、異なる特異性を有する2つの免疫グロブリン重鎖 - 軽鎖対の組み換え共発現 (Milstein et al. *Nature.* 305: 537, 1983、国際公開第93/08829号、及びTrauneker et al. *EMBO J.* 10: 3655, 1991を参照)、及び「ノブ・イン・ホール」改変（例えば、米国特許第5731168号を参照）が挙げられる。多重特異性抗体はまた、抗体Fc - ヘテロ二量体分子の作製用に静電ステアリング効果を改変すること（国際公開第2009/089004号(A1)）；2つ以上の抗体又は断片を架橋すること（例えば、米国特許第4676980号、及びBrennan et al. *Science.* 229: 81, 1985を参照）；ロイシンジッパーを使用して二重特異性抗体を産生すること（例えば、Kostelny et al. *J. Immunol.* 148(5): 1547-1553, 1992を参照）；二重特異性抗体断片の作製のために「ダイアボディ」技術を使用すること（例えば、Hollinger et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 90: 6444-6448, 1993を参照）；及び、単鎖Fv (sFv) ダイマーを使用すること（例えばGruber et al. *J. Immunol.* 152: 5368, 1994を参照）；及び、例えば、Tutt et al. *J. Immunol.* 147: 60, 1991に記載される三重特異性抗体を調製することによっても作製されうる。

20

#### 【0093】

「オクトパス抗体 (Octopus antibodies)」を含む3つ以上の機能的抗原結合部位を有する改変抗体も本明細書に含まれる（例えば、米国特許第2006/0025576号(A1)を参照）。

30

#### 【0094】

本明細書の抗体又は断片には、ID01並びに別の異なる抗原に結合する抗原結合部位を含む「二重作用 (Dual Acting) Fab」又は「DAF」も含まれる（例えば、米国特許出願公開第2008/0069820を参照）。

#### 【0095】

##### 5. 抗体変異体

ある特定の実施態様では、本明細書に提示される抗体のアミノ酸配列変異体が企図される。例えば、抗体の結合親和性及び/又は他の生物学的特性を改善することが望ましい場合がある。抗体のアミノ酸配列変異体は、抗体をコードするヌクレオチド配列に適切な改変を導入することにより、又はペプチド合成により調製されうる。このような改変としては、例えば、抗体のアミノ酸配列内の残基からの欠失、及び/又は残基内への挿入、及び/又は残基の置換が挙げられる。最終コンストラクトが所望の特性、例えば、抗原結合性を有していることを条件として、最終コンストラクトへの到達のために、欠失、挿入、及び置換の任意の組み合わせがなされうる。

40

#### 【0096】

##### a) 置換、挿入、及び欠失変異体

ある特定の実施態様では、1つ以上のアミノ酸置換を有する抗体変異体が提供される。

50

置換突然変異の対象となる部位は、HVR及びFRを含む。保存的置換を「好ましい置換」と題して表1に示す。より実質的な変更が、表1の「例示的置換」という見出しの列に与えられ、アミノ酸側鎖のクラスを参照して以下にさらに説明される。アミノ酸置換は、目的の抗体、及び、所望の活性、例えば、抗原結合の保持/改善、免疫原性の低下、又はADCC又はCDCの改善についてスクリーニングされたその産生物に導入される。  
【0097】

表1 例示的な及び好ましいアミノ酸置換

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

10

20

30

40

## 【0098】

アミノ酸は共通の側鎖特性に従ってグループ化される：

- (1) 疎水性：ノルロイシン、Met、Ala、Val、Leu、Ile；
- (2) 中性の親水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；
- (3) 酸性：Asp、Glu；
- (4) 塩基性：His、Lys、Arg；
- (5) 鎖配向に影響する残基：Gly、Pro；
- (6) 芳香族：Trp、Tyr、Phe；

## 【0099】

50

非保存的置換は、これらのクラスのうちの一つの成員を別のクラスの成員と交換することを必要とするであろう。

#### 【0100】

置換変異体の1種は、親抗体（例えばヒト化又はヒト抗体）の1つ以上の超可変領域残基の置換を包含する。一般的には、さらなる研究のために選択された変異体は、親抗体と比較して、ある特定の生物学的特性に修飾（例えば、改善）（例えば、親和性の上昇、免疫原性の低下）を有する、及び/又は、親抗体のある特定の生物学的特性を実質的に保持するであろう。例示的な置換型変異体は、親和性成熟抗体であり、例えば、本明細書に記載されるものなど、ファージディスプレイに基づく親和性成熟技術を使用するなどして、簡便に生成されうる。簡潔に言えば、1つ以上のHVR残基が突然変異され、変異体抗体がファージ上に表示され、かつ、特定の生物学的活性（例えば、結合親和性）についてスクリーニングされる。

10

#### 【0101】

改変（例えば、置換）は、例えば抗体の親和性を改善するために、HVRにおいて行われうる。このような改変は、HVR「ホットスポット」、すなわち、体細胞成熟過程の間に高頻度で突然変異誘発を受けるコドンによってコードされる残基（例えば、Chowdhury. *Methods Mol. Biol.* 207: 179-196、2008を参照）、及び/又はSDR（a-CDR）においてなされてもよく、得られた変異体VH又はVLは結合親和性について試験される。二次ライブラリから構築及び再選択することによる親和性の成熟は、例えば、Hoogenboom et al. *Methods in Molecular Biology*. 178: 1-37, O'Brien et al. eds., Human Press, Totowa, NJ, 2001に記載されている。親和性成熟の幾つかの実施態様では、多様性が、さまざまな方法（例えば、エラープロードPCR、鎖シャッフリング、又はオリゴヌクレオチドを標的とした突然変異誘発）のいずれかにより、成熟のために選択された可変遺伝子内に導入される。次いで、二次ライブラリが作出される。次いで、ライブラリは、所望の親和性を有する抗体変異体の同定のためにスクリーニングされる。多様性を導入する別の方法は、幾つかのHVR残基（例えば、一度に4から6残基）がランダム化された、HVR指向の手法を包含する。抗原結合に關与するHVR残基は、例えばアラニンスキャニング突然変異誘発又はモデリングを使用して、特異的に同定されうる。具体的にはHVR-H3及びHVR-L3がしばしば標的化される。

20

#### 【0102】

ある特定の実施態様では、置換、挿入、又は欠失は、そのような改変が抗原に結合する抗体の能力を実質的に低下させない限りにおいて、1つ以上のHVR内で生じうる。例えば、実質的に結合親和性を低下させない保存的改変（例えば本明細書で提示される保存的置換）はHVR内で行われうる。このような改変は、HVR「ホットスポット」又はSDRの外であってもよい。上記変異体VH又はVL配列のある特定の実施態様では、各HVRは非改変であるか、若しくは1つ、2つ、又は3つ以下のアミノ酸置換を含む。

30

#### 【0103】

突然変異誘発の標的とされうる抗体の残基または領域の同定に有用な方法は、Cunningham et al. *Science*. 244: 1081-1085, 1989に記載されるように「アラニンスキャニング突然変異誘発」と呼ばれる。この方法では、標的残基（例えば、Arg、Asp、His、Lys及びGluなどの荷電残基）の1つの残基又は基が同定され、抗原と抗体との相互作用が影響を受けるかどうかを決定するために、中性又は負に荷電したアミノ酸（例えば、アラニン又はポリアラニン）で置換される。更なる置換が、最初の置換に対する機能的感受性を示すアミノ酸の位置に導入されうる。代替的に又は追加的に、抗原抗体複合体の結晶構造が、抗体と抗原との接触点を同定する。そのような接触残基及び隣接残基は、置換の候補として標的とされる又は排除される。変異体は、それらが所望の特性を含むかどうかを決定するためにスクリーニングされうる。

40

#### 【0104】

アミノ酸配列挿入には、長さが1残基から、100以上の残基を有するポリペプチドに及ぶアミノ末端及び/又はカルボキシル末端融合、並びに単一又は複数のアミノ酸残基

50

の配列内挿入が含まれる。末端挿入の例には、N - 末端メチオニル残基を有する抗体が含まれる。抗体分子の他の挿入変異体には、抗体の血清半減期を延長させる酵素（例えば A D E P T のための）又はポリペプチドに対する抗体の N 末端又は C 末端への融合が含まれる。

【 0 1 0 5 】

b) グリコシル化変異体

ある特定の実施態様では、本明細書に提供される抗体は、抗体がグリコシル化される度合いを高める又は減じるために改変される。抗体へのグリコシル化部位の結合又は欠損は、1つ以上のグリコシル化部位が作出又は除去されるようにアミノ酸配列を改変することによって簡便に達成されうる。

【 0 1 0 6 】

抗体が F c 領域を含む場合には、それに結合する炭水化物を改変してもよい。哺乳動物細胞によって産生される自然抗体は、典型的には、F c 領域の C H 2 ドメインの A s n 2 9 7 に N - 結合によって一般に結合する、枝分かれした二分岐オリゴ糖を含む。例えば、Wright et al. TIBTECH. 15: 26-32, 1997を参照。オリゴ糖は、例えば、マンノース、N - アセチルグルコサミン ( G l c N A c )、ガラクトース、及びシアル酸、並びに二分岐オリゴ糖構造の「幹 ( stem )」において G l c N A c に結合したフコースなど、さまざまな炭水化物を含みうる。幾つかの実施態様では、ある特定の改善された特性を有する抗体変異体を作成するために、本発明の抗体にオリゴ糖の修飾がなされうる。

【 0 1 0 7 】

一実施態様では、F c 領域に結合する（直接的または間接的に）フコースを欠いた炭水化物構造を有する抗体変異体が提示される。例えば、このような抗体におけるフコースの量は、1%から80%、1%から65%、5%から65%、又は20%から40%でありうる。フコースの量は、例えば国際公開第2008/077546号に記載される、M A L D I - T O F 質量分析によって測定して、A s n 2 9 7 に結合したすべての糖構造体（例えば、複合体、ハイブリッド及び高マンノース構造）の合計に対する、糖鎖内の A s n 2 9 7 におけるフコースの平均量を算出することによって決定される。A s n 2 9 7 とは、F c 領域の約 2 9 7 位に位置するアスパラギン残基を指す（F c 領域残基の E U 番号付け）；しかしながら、A s n 2 9 7 は、抗体のわずかな配列の差異に起因して、2 9 7 位の上流又は下流の約 ± 3 アミノ酸、すなわち、位置 2 9 4 から 3 0 0 の間に位置してもよい。このようなフコシル化変異体は A D C C 機能を向上させうる。例えば、米国特許出願公開第 2 0 0 3 / 0 1 5 7 1 0 8 号及び米国特許出願公開第 2 0 0 4 / 0 0 9 3 6 2 1 号を参照。「非フコシル化」又は「フコース欠乏」抗体変異体に関する刊行物の例としては、次のものが挙げられる：米国特許出願公開第 2 0 0 3 / 0 1 5 7 1 0 8 号；国際公開第 2 0 0 0 / 6 1 7 3 9 号；国際公開第 2 0 0 1 / 2 9 2 4 6 号；米国特許出願公開第 2 0 0 3 / 0 1 1 5 6 1 4 号；米国特許出願公開第 2 0 0 2 / 0 1 6 4 3 2 8 号；米国特許出願公開第 2 0 0 4 / 0 0 9 3 6 2 1 号；米国特許出願公開第 2 0 0 4 / 0 1 3 2 1 4 0 号；米国特許出願公開第 2 0 0 4 / 0 1 1 0 7 0 4 号；米国特許出願公開第 2 0 0 4 / 0 1 1 0 2 8 2 号；米国特許出願公開第 2 0 0 4 / 0 1 0 9 8 6 5 号；国際公開第 2 0 0 3 / 0 8 5 1 1 9 号；国際公開第 2 0 0 3 / 0 8 4 5 7 0 号；国際公開第 2 0 0 5 / 0 3 5 5 8 6 号；国際公開第 2 0 0 5 / 0 3 5 7 7 8 号；国際公開第 2 0 0 5 / 0 5 3 7 4 2 号；国際公開第 2 0 0 2 / 0 3 1 1 4 0 号；Okazaki et al. J. Mol. Biol. 336: 1239-1249, 2004；及び Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614, 2004。脱フコシル化抗体を産生可能な細胞株の例としては、タンパク質のフコシル化を欠損している L e c 1 3 C H O 細胞 ( Ripka et al. Arch. Biochem. Biophys. 249: 533-545, 1986；米国特許出願公開第 2 0 0 3 / 0 1 5 7 1 0 8 号；及び国際公開第 2 0 0 4 / 0 5 6 3 1 2 号、特に実施例 1 1 )、及び、 - 1 , 6 - フコシルトランスフェラーゼ遺伝子、F U T 8、ノックアウト C H O 細胞などのノックアウト細胞株（例えば、Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614, 2004；Kanda et al. Biotechnol. Bioeng. 94(4) 680-688, 2006；及び国際公開第 2 0 0 3 / 0 8 5 1 0 7 号を参照）が挙げられる。

10

20

30

40

50

## 【0108】

抗体変異体は、例えば、抗体のFc領域に結合した二分岐オリゴ糖がGlcNAcによって二分された、二分されたオリゴ糖をさらに備えていてもよい。このような抗体変異体は、フコシル化を低減及び/又はADCC機能を向上しうる。このような抗体変異体の例は、例えば、国際公開第2003/011878号；米国特許第6602684号；及び米国特許出願公開第2005/0123546号に記載されている。Fc領域に結合したオリゴ糖内に少なくとも1つのガラクトース残基を有する抗体変異体もまた提供される。このような抗体変異体は、向上したCDC機能を有しうる。このような抗体変異体は、例えば、国際公開第1997/30087号；国際公開第1998/58964号；及び国際公開第1999/22764号に記載されている。

10

## 【0109】

## c) Fc領域変異体

ある特定の実施態様では、本明細書に提示される本発明の抗IDO1抗体（例えばSP260）のFc領域に1つ以上のアミノ酸修飾が導入され、それによってFc領域変異体を生じさせてもよい。Fc領域変異体は、1つ以上のアミノ酸位置にアミノ酸修飾（例えば、置換）を含む、ヒトFc領域配列（例えば、ヒトIgG<sub>1</sub>、IgG<sub>2</sub>、IgG<sub>3</sub>又はIgG<sub>4</sub> Fc領域）を含みうる。

## 【0110】

ある特定の実施態様では、本発明は、すべてではないが一部、エフェクター機能を有する抗体変異体を企図しており、これは、抗体のインビボでの半減期が重要であり、しかも、ある特定のエフェクター機能（補体及びADCCなど）が不必要又は有害となる用途にとって望ましい候補となる。CDC及び/又はADCC活性の低下又は喪失を確認するために、インビトロ及び/又はインビボでの細胞傷害性アッセイを行うことができる。抗体がFcγR結合を欠く（したがってADCC活性を欠失しやすい）が、FcRn結合能力を保持することを確実にするために、例えば、Fc受容体（FcR）結合アッセイを行うことができる。単球がFcRI、FcRII及びFcRIIIを発現するのに対し、ADCCを媒介する主要な細胞であるNK細胞はFcRIIIのみを発現する。造血細胞におけるFcR発現は、Ravetch et al. Annu. Rev. Immunol. 9: 457-492, 1991の464頁の表3にまとめられている。目的の分子のADCC活性を評価するためのインビトロでのアッセイの非限定的な例は、米国特許第5500362号及び同第5821337号；Hellstrom et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 83: 7059-7063, 1986；Hellstrom et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 82: 1499-1502, 1985；及びBruggemann et al. J. Exp. Med. 166: 1351-1361, 1987に記載されている。あるいは、非放射性アッセイ法を用いてもよい（例えば、フローサイトメトリー用のACTI<sup>TM</sup>非放射性細胞傷害性アッセイ（Cell Technology, Inc., カリフォルニア州マウンテンビュー所在）；及びCytotoxic 96（登録商標）非放射性細胞毒性アッセイ（Promega社、ウィスコンシン州マディソン所在））。このようなアッセイに有用なエフェクター細胞には、末梢血単核細胞（PBMC）及びナチュラルキラー（NK）細胞が含まれる。代替的に又は追加的に、目的の分子のADCC活性は、Clynes et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 95: 652-656, 1998に開示されるように、例えば動物モデルにおいて、インビボで評価してもよい。C1qに結合できず、したがってCDC活性を欠く抗体を確認するために、C1q結合アッセイを行ってもよい。例えば、国際公開第2006/029879号及び国際公開第2005/100402号のC1q及びC3c結合ELISAを参照。補体活性化を評価するため、CDCアッセイを行ってもよい（例えば、Gazzano-Santoro et al. J. Immunol. Methods. 202: 163, 1996；Cragg et al. Blood. 101: 1045-1052, 2003；及びCragg et al. Blood 103: 2738-2743, 2004を参照）。FcRn結合及びインビボにおけるクリアランス/半減期の決定もまた、当該技術分野で知られた方法を用いて行うことができる（例えば、Petkova et al. Intl. Immunol. 18(12): 1759-1769, 2006を参照）。

20

30

40

## 【0111】

50

エフェクター機能が低下した抗体には、Fc領域残基238、265、269、270、297、327、及び329のうち、1つ以上の置換を有するものが含まれる（米国特許第6737056号）。このようなFc突然変異体には、残基265及び297のアラニンへの置換を有する、いわゆる「DANA」Fc突然変異体を含む、アミノ酸位置265、269、270、297及び327のうち2つ以上における置換を有するFc突然変異体が含まれる（米国特許第7332581号）。

【0112】

FcRへの結合が向上又は低下した、ある特定の抗体変異体が記載されている。例えば、米国特許第6737056号；国際公開第2004/056312号；及びShields et al. *J. Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604, 2001を参照。

10

【0113】

ある特定の実施態様では、抗体変異体は、ADCCが改善された、例えば、Fc領域の位置298、333、及び/又は334（残基のEU番号付け）における置換など、1つ以上のアミノ酸置換を有するFc領域を含む。

【0114】

幾つかの実施態様では、改変はFc領域においてなされ、結果として、例えば、米国特許第6194551号、国際公開第99/51642号、及びIdusogie et al. *J. Immunol.* 164: 4178-4184, 2000に記載されるように、改変された（すなわち、向上又は低下のいずれか）C1q結合及び/又は補体依存性細胞傷害（CDC）を生じる。

【0115】

半減期が延長し、新生児Fc受容体（FcRn）への結合が向上した抗体は、母体IgGの胎児への移行に関与し（Guyer et al. *J. Immunol.* 117: 587, 1976及びKim et al. *J. Immunol.* 24: 249, 1994）、このような抗体は米国特許出願公開第2005/0014934号に記載される。こうした抗体は、Fc領域のFcRnへの結合性を向上させる、1つ以上の置換を有するFc領域を含む。このようなFc変異体には、次のFc領域残基の1つ以上において置換を有するものが含まれる：238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424、又は434、例えば、Fc領域残基434の置換（米国特許第7371826号）。Fc領域変異体の他の例に関するDuncan et al. *Nature.* 322: 738-740, 1988；米国特許第5648260号及び同第5624821号；及び国際公開第94/29351号も参照のこと。

20

30

【0116】

d) システイン改変抗体変異体

ある特定の実施態様では、抗体の1つ以上の残基がシステイン残基で置換された、例えば「チオMAb」などの、システイン改変抗体を作出することが望ましい場合がある。特定の実施態様では、置換残基は抗体の接触しやすい部位で生じる。これらの残基をシステインで置換することにより、反応性のチオール基が抗体の接触しやすい部位に位置づけられ、これは、抗体を薬物部分又はリンカー-薬物部分などの他の部分にコンジュゲートして、本明細書にさらに記載されるイムノコンジュゲートを作出するために用いられうる。ある特定の実施態様では、次の残基のいずれか1つ以上がシステインで置換されうる：軽鎖のV205（Kabab番号付け）；重鎖のA118（EU番号付け）；及び重鎖Fc領域のS400（EU番号付け）。システイン改変抗体は、例えば米国特許第7521541号に記載されるように生成されうる。

40

【0117】

e) 抗体誘導体

ある特定の実施態様では、本明細書に提供される本発明の抗IDO1抗体（例えばSP260）は、当技術分野で知られ、容易に入手可能な追加的な非タンパク性部分を含むようにさらに修飾されうる。抗体の誘導体化に適した部分としては、限定はしないが、水溶性ポリマーが挙げられる。水溶性ポリマーの非限定的な例としては、限定はしないが、ポリエチレングリコール（PEG）、エチレングリコール/プロピレングリコールの共重合体

50

、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリ - 1, 3 - ジオキソラン、ポリ - 1, 3, 6 - トリオキソラン、エチレン / 無水マレイン酸共重合体、ポリアミノ酸（単独重合体又はランダム共重合体）及びデキストラン又はポリ（*n* - ビニルピロリドン）ポリエチレングリコール、プロピレングリコール単独重合体、プロピレンオキシド / エチレンオキシド共重合体、ポリオキシエチル化ポリオール（例えばグリセロール）、ポリビニルアルコール及びこれらの混合物が挙げられる。ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドはその水中での安定性の理由から、製造上の利点を有しうる。ポリマーは任意の分子量のものであってよく、分枝鎖又は非分枝鎖でありうる。抗体に結合するポリマーの数は変化してもよく、2つ以上のポリマーが結合する場合、それらは同一の分子であっても異なる分子であってもよい。一般に、誘導体化に使用されるポリマーの数及び / 又は種類は、限定はしないが、改良すべき抗体の具体的な特性又は機能、その抗体誘導体が定められた条件下で治療に使用されるかどうか等を含む検討事項に基づいて決定されうる。

#### 【0118】

別の実施態様では、放射線への曝露によって選択的に加熱されてもよい非タンパク質部分と抗体とのコンジュゲートが提供される。一実施態様では、非タンパク質部分はカーボンナノチューブである（Kam et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 102: 11600-11605, 2005）。放射線は、任意の波長のものであって差し支えなく、限定はしないが、通常は細胞に害を与えないが抗体 - 非タンパク質部分に近い細胞が死滅する温度に非タンパク質部分を加熱する波長が含まれる。

#### 【0119】

##### B. 組み換え方法及び組成物

抗体は、例えば米国特許第 4 8 1 6 5 6 7 号に記載されるような、組み換え法及び組成物を使用して産生されうる。一実施態様では、本明細書に記載の抗 IDO 1 抗体（例えば SP 2 6 0）をコードする単離された核酸が提供される。このような核酸は、抗体の VL を含むアミノ酸配列及び / 又は VH を含むアミノ酸配列（例えば抗体の軽鎖及び / 又は重鎖）をコードしうる。さらなる実施態様では、このような核酸を含む 1 つ以上のベクター（例えば、発現ベクター）が提供される。さらなる実施態様では、このような核酸を含む宿主細胞が提供される。このような実施態様の 1 つでは、宿主細胞は、（1）抗体の VL を含むアミノ酸配列及び抗体の VH を含むアミノ酸配列をコードする核酸を含むベクター、又は（2）抗体の VL を含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第 1 のベクターと、抗体の VH を含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第 2 のベクターとを含む（例えば、それらで形質転換されている）。一実施態様では、宿主細胞は、例えばチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞又はリンパ球細胞（例えば Y 0、NSO、Sp 2 0 細胞）などの真核細胞である。一実施態様では、抗 IDO 1 抗体の作製方法が提供され、ここで、本方法は、上記提示される抗体をコードする核酸を含む宿主細胞を抗体の発現に適した条件下で培養すること、及び任意選択的に、宿主細胞（又は宿主細胞培養培地）から抗体を回収することを含む。

#### 【0120】

抗 IDO 1 抗体（例えば SP 2 6 0）の組み換え産生のため、例えば上述のような、抗体をコードする核酸は、単離され、さらなるクローニング及び / 又は宿主細胞における発現のために 1 つ以上のベクター内に挿入される。このような核酸は、容易に単離され、通常の手順を用いて（例えば、抗体の重鎖と軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合可能なオリゴヌクレオチドプローブを使用することによって）配列決定されうる。

#### 【0121】

抗体をコードするベクターのクローニング又は発現に適した宿主細胞としては、本明細書に記載の原核細胞又は真核細胞が挙げられる。例えば、抗体は、特にグリコシル化及び Fc エフェクター機能が必要とされない場合には、細菌内で産生されうる。細菌内での抗体断片及びポリペプチドの発現については、例えば、米国特許第 5 6 4 8 2 3 7 号、同第 5 7 8 9 1 9 9 号、及び同第 5 8 4 0 5 2 3 号を参照のこと。大腸菌における抗体断片の

10

20

30

40

50

発現について記載される、Charlton. *Methods in Molecular Biology*. Vol. 248, pp. 245-254, B.K.C.Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003も参照されたい。発現の後、抗体は可溶性画分において細菌の細胞ペーストから単離されてもよく、さらに精製することができる。

#### 【0122】

原核生物に加えて、糸状菌又は酵母菌のような真核微生物は、抗体をコードするベクターに適したクローニング宿主又は発現宿主であり、菌類や酵母菌株を含み、そのグリコシル化経路が「ヒト化」されており、部分的又は完全なヒトのグリコシル化パターンを有する抗体の産生をもたらす。Gerngross. *Nat. Biotech.* 22: 1409-1414, 2004及びLi et al. *Nat. Biotech.* 24: 210-215, 2006を参照。

10

#### 【0123】

グリコシル化抗体の発現に適した宿主細胞はまた、多細胞生物（無脊椎動物及び脊椎動物）にも由来する。無脊椎動物細胞の例には、植物細胞及び昆虫細胞が含まれる。多数のパキウウイルス株が同定されており、これらは特にヨトウガ（*Spodoptera frugiperda*）細胞のトランスフェクション用に、昆虫細胞と組み合わせて使用されうる。

#### 【0124】

植物細胞培養物もまた宿主として利用することができる。例えば、米国特許第5959177号、同第6040498号、同第6420548号、同第7125978号及び同第6417429号（トランスジェニック植物における抗体の産生のためのPLANTIBODIES<sup>TM</sup>技術について記載）を参照。

20

#### 【0125】

脊椎動物細胞も宿主として用いることができる。例えば、懸濁液中で増殖するように適応された哺乳動物細胞株は有用でありうる。有用な哺乳動物宿主細胞株の他の例は、SV40で形質転換したサル腎臓CV1株（COS-7）；ヒト胎児由来腎臓株（例えばGraham et al. *J. Gen Virol.* 36: 59, 1977に記載される293又は293細胞）；ベビーハムスター腎臓細胞（BHK）；マウスセルトリ細胞（例えば、Mather. *Biol. Reprod.* 23: 243-251, 1980に記載されるTM4細胞）；サル腎臓細胞（CV1）；アフリカミドリザル腎臓細胞（VERO-76）；ヒト頸部がん細胞（HELA）；イヌ腎臓細胞（MDCK）；バッファローラット肝細胞（BRL3A）；ヒト肺細胞（W138）；ヒト肝細胞（Hep G2）；マウス乳房腫瘍（MMT060562）；例えば、Mather et al. *Annals N.Y. Acad. Sci.* 383: 44-68, 1982に記載されるTRI細胞；MRC5細胞；及びFS4細胞である。他の有用な哺乳動物宿主細胞株には、DHFRI<sup>TM</sup>CHO細胞を含むチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞（Urlaub et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 77: 4216, 1980）；及びY0、NS0及びSp2/0などの骨髄腫細胞株が含まれる。抗体の産生に適したある特定の哺乳動物宿主細胞株の総説については、例えば、Yazaki et al. *Methods in Molecular Biology*. Vol. 248, pp. 255-268, B.K.C.Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003を参照。

30

#### 【0126】

##### C. アッセイ

本明細書に提示される抗IDO1抗体は、同定され、当技術分野で既知のさまざまなアッセイによってそれらの物理的/化学的性質及び/又は生物学的活性についてスクリーニングされ、又は特徴付けされる。

40

#### 【0127】

##### 1. 結合アッセイ及び他のアッセイ

一態様では、本発明の抗体は、例えば、ELISA、ウェスタンブロット法、免疫組織化学、免疫蛍光などの既知の方法によって、その抗原結合活性について試験される。

#### 【0128】

別の態様では、競合アッセイは、IDO1への結合について本発明の抗体のいずれか1つ（例えば、抗IDO1抗体SP260）と競合する抗体を同定するために使用されうる。ある特定の実施態様では、このような競合する抗体は、本発明の抗体のいずれか1つ（

50

例えば、抗 I D O 1 抗体 S P 2 6 0 ) に結合する同一のエピトープ (例えば、直鎖状エピトープ又は配座エピトープ) に結合する。抗体が結合するエピトープをマッピングするための典型的な方法の詳細は、MorrisのMethods in Molecular Biology Vol. 66の“Epitope Mapping Protocols” (Humana Press社、ニュージャージー州トトワ所在) に提示されている。

#### 【0129】

例示的な競合アッセイでは、I D O 1 に結合する第 1 の標識された抗体 (例えば抗 I D O 1 抗体 S P 2 6 0 )、及び I D O 1 への結合について第一の抗体と競合するその能力について試験されている第 2 の未標識抗体を含む溶液中で、固定化 I D O 1 をインキュベートする。第 2 の抗体はハイブリドーマ上清中に存在しうる。コントロールとして、第 1 の標識された抗体を含むが第 2 の未標識抗体は含まない溶液中で、固定化 I D O 1 をインキュベートする。第 1 の抗体の I D O 1 への結合を許容する条件下でインキュベートした後、過剰な未結合抗体を除去し、固定化された I D O 1 に結合した標識の量を測定する。固定化 I D O 1 に結合した標識の量がコントロール試料と比較して試験試料中で実質的に低減している場合、それは、第 2 の抗体が、I D O 1 に対する結合について第 1 の抗体と競合していることを示している。例えば、Harlow et al. Antibodies: A Laboratory Manual, Ch.14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY, 1988) を参照。

#### 【0130】

##### 2. 検出アッセイ

一態様では、アッセイは、例えば、免疫組織化学法 (IHC) 又は免疫蛍光 (IF) 測定法において、I D O 1 の存在を検出するのに有用な抗 I D O 1 抗体を同定するために提供される。ある特定の実施態様では、本発明の抗体は、このような活性について試験される。

#### 【0131】

##### D. イムノコンジュゲート

本発明はまた、1つ以上の標識及び/又は薬剤、例えば放射性同位体などとコンジュゲートする抗 I D O 1 抗体を含む、イムノコンジュゲートを提供する。

#### 【0132】

一実施態様では、イムノコンジュゲートは、放射性原子にコンジュゲートして放射性コンジュゲートを形成する、本明細書に記載の抗体を含む。さまざまな放射性同位体が放射性コンジュゲートの生成のために入手可能である。例としては、A t <sup>211</sup>、I <sup>131</sup>、I <sup>125</sup>、Y <sup>90</sup>、R e <sup>186</sup>、R e <sup>188</sup>、S m <sup>153</sup>、B i <sup>212</sup>、P <sup>32</sup>、P b <sup>212</sup>、及び L u の放射性同位体が挙げられる。放射性コンジュゲートが検出に使用される場合、この放射性コンジュゲートはシンチグラフ検査用の放射性原子、例えば t c <sup>99m</sup> 若しくは I <sup>123</sup>、又は核磁気共鳴 (NMR) 画像法 (磁気共鳴画像法、MRI としても知られている) のためのスピン標識、例えば、またもヨウ素 - 123、ヨウ素 - 131、インジウム - 111、フッ素 - 19、炭素 - 13、窒素 - 15、酸素 - 17、ガドリニウム、マンガン又は鉄を含みうる。

#### 【0133】

抗 I D O 1 抗体と標識又は薬剤とのコンジュゲートは、さまざまな二官能性タンパク質カップリング剤、例えば N - スクシンイミジル - 3 - (2 - ピリジルジチオ) プロピオナート (SPDP)、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 (SMCC)、イミノチオラン (IT)、イミドエステル類の二官能性誘導体 (例えばジメチルアジピミデート HCL)、活性エステル類 (例えば、スベリン酸ジスクシンイミジル)、アルデヒド類 (例えば、グルタルアルデヒド)、ビスアジド化合物 (例えば、ビス (p - アジドベンゾイル) ヘキサジアミン)、ビス - ジアゾニウム誘導体 (例えば、ビス - (p - ジアゾニウムベンゾイル) エチレンジアミン)、ジイソシアネート類 (例えば、トルエン - 2,6 - ジイソシアネート)、及び二活性フッ素化合物 (例えば、1,5 - ジフルオロ - 2,4 - ジニトロベンゼン) を使用して作製されうる。例えば、リシンイムノトキシンは、Vitetta et al., Science 238: 1098 (1987) に記載

されるように調製することができる。炭素 - 14 - 標識 1 - イソチオシアナトベンジル - 3 - メチルジエチレントリアミン五酢酸 (MX-DTPA) は、放射性核種の抗体へのコンジュゲーションのキレート剤の例である。国際公開第 94 / 11026 号を参照。リンカーは、標識又は薬剤の放出を促進する「開裂可能なリンカー」でありうる。例えば、酸に不安定なリンカー、ペプチダーゼ感受性リンカー、光解離性リンカー、ジメチルリンカー又はジスルフィド含有リンカー (Chari et al., Cancer Res. 52: 127-131(1992); 米国特許第 5208020 号) が使用されうる。

【0134】

本明細書のイムノコンジュゲートは、限定はしないが、BMPS、EMCS、GMB S、HBVS、LC-SMCC、MBS、MPBH、SBAP、SIA、SIAB、SMC C、SMPB、SMPH、スルホ-EMCS、スルホ-GMB S、スルホ-KMUS、スルホ-MBS、スルホ-SIAB、スルホ-SMCC、及びスルホ-SMPB、及びSVSB (スクシンイミジル - (4 - ビニルスルホン) ベンゾエート) を含む、市販されている (例えば、米国イリノイ州ロックフォード所在の Pierce Biotechnology, Inc. から) 架橋剤を用いて調製されたこのようなコンジュゲートを明確に企図している。

10

【0135】

E. 診断及び検出のための方法及び組成物

ある特定の実施態様では、ここに提供される抗IDO1抗体 (例えばSP260) は、生物学的試料中のIDO1の存在を検出するのに有用である。本明細書で用いられる用語「検出すること」は、定量的又は定性的検出を包含する。

20

【0136】

一例では、診断又は検出の方法における使用のための抗IDO1抗体 (例えばSP260) が提供される。一例では、例えば、後述される、生物学的試料中のIDO1の存在を検出する方法が提供される。ある特定の実施態様では、本方法は、抗IDO1抗体がIDO1に結合可能な条件下で、生物学的試料を本明細書に記載の抗IDO1抗体と接触させること、及び抗IDO1抗体とIDO1との間に複合体が形成されるかどうかを検出することを含む。このような方法は、インビトロ又はインビボにおける方法でありうる。本発明の抗IDO1抗体 (例えばSP260) は、例えば、免疫組織化学法 (IHC)、免疫蛍光法 (IF)、免疫プロット法 (例えば、ウェスタンプロット法)、フローサイトメトリー、及び酵素結合免疫吸着測定法 (ELISA) を含む、例えばイムノアッセイにおいて使用することができる。一実施態様では、抗IDO1抗体は、例えば、IDO1が患者選択用のバイオマーカーである場合、抗IDO1抗体を用いた治療にふさわしい対象を選択するために用いられる。

30

【0137】

ある特定の例では、標識された抗IDO1抗体が提示される。標識としては、限定はしないが、直接検出される標識又は部分 (蛍光標識、発色団標識、電子高密度標識、化学発光標識、及び放射性的標識など)、並びに、例えば、酵素反応又は分子間相互作用を通して間接的に検出される酵素又はリガンドなどの部分が挙げられる。例示的な標識としては、限定はしないが、放射性同位体  $^{32}\text{P}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^3\text{H}$ 、及び  $^{131}\text{I}$ 、フルオロフォア、例えば希土類キレート又はフルオレセイン及びその誘導体、ローダミン及びその誘導体、ダンシル、ウンベリフェロン、例えば、ホタルルシフェラーゼ及び細菌ルシフェラーゼ (米国特許第 4737456 号) などのルセリフェラーゼ (luciferase)、ルシフェリン、2, 3 - ジヒドロフタラジンジオン類、ホースラディッシュペルオキシダーゼ (HRP)、アルカリホスファターゼ、 $\alpha$ -ガラクトシダーゼ、グルコアミラーゼ、リゾチーム、例えば、グルコースオキシダーゼ、ガラクトースオキシダーゼ、及びグルコース - 6 - リン酸デヒドロゲナーゼなどの糖類オキシダーゼ、HRPなどの色素前駆体を酸化するために過酸化水素を用いる酵素と結合する、ウリカーゼ及びキサンチンオキシダーゼなどの複素環式オキシダーゼ、ラクトペルオキシダーゼ、又はミクロペルオキシダーゼ、ビオチン/アビジン、スピン標識、バクテリオファージ標識、安定なフリーラジカル

40

50

、及び同様のものが挙げられる。

【0138】

診断及び/又は検出のための上記方法は、非コンジュゲート抗IDO1抗体の代わりに、又は非コンジュゲート抗IDO1抗体に加えて、上述のような本発明のイムノコンジュゲートを使用して行われうることも理解される。

【0139】

F. 生物学的試料

ある特定の実施態様では、本発明の抗IDO1抗体(例えばSP260)は、当技術分野で既知の方法又は本明細書に記載の方法を使用して、生物学的試料中のIDO1の存在を検出するために用いることができる。

10

【0140】

幾つかの例では、生物学的試料は組織又は細胞試料を含む。例えば、生物学的試料は、例えば、乳房、結腸、肺、腎臓、骨、脳、筋肉、胃、膵臓、膀胱、卵巣、子宮、並びに心臓、胎児、及び胎盤の正常及びがん性の組織など、正常又はがん患者に由来する細胞又は組織を含みうる。

【0141】

ある特定の例では、組織又は細胞試料の供給源は、フレッシュ、凍結、及び/又は保存された臓器又は組織試料又は生検又は吸引物に由来する固形組織;血液又は任意の血液成分;脳脊髄液、羊水、腹水、又は間質液などの体液;対象の妊娠期又は発生の任意の時点に由来する細胞でありうる。幾つかの実施態様では、生物学的試料は、インビトロにおける組織又は細胞培養から得られる。本明細書における生物学的試料の例としては、限定はしないが、腫瘍生検、循環性腫瘍細胞、血清又は血漿、循環血漿タンパク質、腹水、腫瘍に由来する又は腫瘍様の特性を示す初代細胞培養物又は細胞株、並びにホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)腫瘍試料又は凍結腫瘍試料などの保存腫瘍試料が挙げられる。

20

【0142】

幾つかの実施態様では、生物学的試料は、本来、組織とは自然に混在しない化合物、例えば、保存剤、抗凝血剤、緩衝剤、栄養剤、抗生物質などを含む。ある特定の実施態様では、生物学的試料は、1つ以上の固定剤に曝露されている、及び/又は、1つ以上の固定剤を含む。本発明の方法及び組成物と共に用いることができる固定剤としては、ホルマリン、グルタルアルデヒド、四酸化オスミウム、酢酸、エタノール、アセトン、ピクリン酸、クロロホルム、重クロム酸カリウム及び塩化第二水銀、及び/又は、マイクロ波加熱又は凍結による安定化が挙げられる。

30

【0143】

幾つかの実施態様では、生物学的試料は、自己免疫疾患を有する、自己免疫疾患にかかりやすい、又は自己免疫疾患について試験される対象に由来する。ある特定の実施態様では、自己免疫疾患は、自己免疫性リウマチ疾患(関節リウマチ、シェーグレン症候群、強皮症、SLE及びループス腎炎などの狼瘡、多発性-皮膚筋炎、クリオグロブリン血症、抗リン脂質抗体症候群、及び乾癬性関節炎を含む)、自己免疫性胃腸及び肝障害(炎症性腸疾患(例えば、炎症性大腸炎及びクローン病)、自己免疫性胃炎及び悪性貧血、自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎、及びセリアック病を含む)、脈管炎(チャグストラウス脈管炎、ウェゲナー肉芽腫症、及び顕微鏡的多発血管炎を含む)、ANCA陰性脈管炎及びANCA関連脈管炎を含む)、自己免疫性神経障害(多発性硬化症、眼球クローヌス・ミオクローヌス症候群、重症筋無力症、視神経脊髄炎、パーキンソン病、アルツハイマー病、及び自己免疫性多発性神経障害を含む)、腎疾患(糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、及びバージャー病を含む)、自己免疫性皮膚疾患(乾癬、じん麻疹(urticaria, hives)、尋常性天疱瘡、水疱性類天疱瘡、及び皮膚エリテマトーデスを含む)、血液疾患(血小板減少性紫斑病、血栓性血小板減少性紫斑病、輸血後紫斑病、及び自己免疫性溶血性貧血を含む)、アテローム性動脈硬化症、ブドウ膜炎、自己免疫性聴覚疾患(内耳疾患及び難聴を含む)、ベーチェット氏病、レイノー症候群、臓器移植

40

50

、又は自己免疫性内分泌障害（インスリン依存性糖尿病（I D D M）などの糖尿病関連自己免疫疾患、アディソン病、及び自己免疫性甲状腺疾患（グレーブス病及び甲状腺炎を含む）を含む）である。

#### 【0144】

他の実施態様では、生物学的試料は、がんを有する、がんにかかりやすい、又はがんについて試験される対象に由来する。ある特定の実施態様では、がんは、カルシノーマ、リンパ腫（ホジキン及び非ホジキンリンパ腫を含む）、芽細胞腫、肉腫、白血病、扁平上皮細胞がん、小細胞肺がん、非小細胞肺がん、肺腺がん、扁平上皮型肺がん、腹膜のがん、肝細胞がん、胃腸がん、膵臓がん、神経膠腫、子宮頸がん、卵巣がん、肝臓がん、膀胱がん、肝がん、乳がん、結腸がん、結腸直腸がん、子宮内膜又は子宮がん、唾液腺がん、腎臓がん、肝臓がん、前立腺がん、外陰部がん、甲状腺がん、肝細胞癌、白血病及び他のリンパ増殖性疾患、又はさまざまな種類の頭頸部がんである。

10

#### 【実施例】

#### 【0145】

#### III. 実施例

以下は本発明の方法及び組成物の実施例である。上記提供された一般的な説明を所与として、他のさまざまな実施態様が実施されることが理解される。

#### 【0146】

#### 実施例1 抗IDO1抗体の生成

抗IDO1ウサギモノクローナル抗体を、図1に概略的に示されるように生成した。簡潔には、R S T T E K S L L K E G（配列番号1）のペプチド断片（ヒトIDO1のアミノ酸残基392 - 403）を合成した。免疫化を目的とする12 - アミノ酸断片を、抗体の産生を介して、実質的な免疫応答を刺激するために広く用いられるキャリアタンパク質である、キーホールリンペットヘモシアニン（K L H）にコンジュゲートした。配列の天然に存在するN末端への2つのアミノ酸（C y s - G l y）の結合は、キャリアタンパク質K L Hへのコンジュゲーションを可能にした。ニュージーランド・ホワイトウサギを、完全フロイントアジュバントでエマルジョン化したIDO1抗原をコンジュゲートしたK L Hで免疫し、その後、不完全フロイントアジュバントでエマルジョン化した一連のIDO1抗原の追加免疫（booster）を行った。抗体発現細胞を、IDO1のアミノ酸残基392 - 403（配列番号1）を使用する酵素結合免疫吸着測定法（E L I S A）によってスクリーニングした。全てのE L I S A陽性クローンを免疫組織化学法（I H C）によってさらにスクリーニングし、最も高い特異性を有する抗体を産生するクローンを選択した。抗IDO1抗体の組み換え産生のため、抗体の重鎖及び軽鎖配列をコードするc D N Aをクローニングし、共トランスフェクションによって発現させ、I H C法によってIDO1への結合についてスクリーニングした。これらの方法を使用してモノクローナル抗体を産生し、その後、プロテインAアフィニティークロマトグラフィーで精製した。

20

30

#### 【0147】

#### 実施例2 抗IDO1抗体の診断的使用

実施例1で生成した抗IDO1抗体をさらなるI H C分析に使用した。I H C分析のため、組織切片を抗体と共に16分間インキュベートし、その後、標準的な洗浄を行い、O p t i v i e w D A B I H C検出キット（V e n t a n a M e d i c a l S y s t e m , I n c . , アリゾナ州ツーソン所在）を用いて二次的検出を行った。各抗体の特異性について、異なるIDO1発現レベルを有するホルマリン固定パラフィン包埋（F F P E）細胞上で評価した（コントロール（陰性）として未処理のまま、又はインターフェロン - で処理した（高発現）のいずれかである、ヒト頸部がんH e L a細胞；図2 A - 2 b参照）、又は異なる組織の種類に由来する（扁桃腺、胸腺、結腸、子宮内膜腺がん、卵巣腺がん、膵臓腺がん、及び胃腺がん；図3 A - 3 G参照）。

40

#### 【0148】

図2及び3から分かるように、S P 2 6 0で表される抗体は優れた特異性及び染色レベルを示した。

50

## 【0149】

図4から9から分かるように、J6H12L16、J6H15L16、及びJ6H20L16で表される抗体は、核染色を伴う、強い細胞質染色を示した。

## 【0150】

SP260抗体の重鎖及び軽鎖可変領域配列は次の通りである。

重鎖可変領域(太字下線で示されるHVR)：

QEQLVESGGGLVQPEGS L T L T C T A S G F S F S T N Y W I C W V R Q  
A P G K G L E W T A C I Y V G G R G S I Y Y A S W A K G R F T I S K T S S T T V  
T L Q M T S L T A A D T A T Y F C A R D L T T A Y G A T D L R F W G P G T L V T  
V S S (配列番号16)

10

軽鎖可変領域(太字下線で示されるHVR)：

D V V M T Q T P S P V S A A V G G T V S I S C Q S S Q S V G D N N R L S W F Q Q  
K P G Q P P K L L I Y S A S T L A S G V P S R F K G S G S G T E Y T L T I S G V  
Q C D D A A T Y Y C L G E F S G S D E D V F G G G T E V V V K (配列番号17)

## 【0151】

J6H12L16抗体の重鎖及び軽鎖可変領域配列は次の通りである：

重鎖可変領域(太字下線で示されるHVR)：

QEQLVESGGGLV R P E G S L T L T C T A S G F S F S T N Y W I C W V R Q  
A P G K G L E W T A C I Y I G G R G S I Y Y A S W A K G R F T I S K T S S T T V  
T L Q M T S L T A A D T A T Y F C A R D L T T A Y G A T D L R F W G P G T L V T  
V S S (配列番号21)

20

軽鎖可変領域(太字下線で示されるHVR)：

D V V M T Q T P S P V S A A V G G T V S I S C Q S S Q S V G D N N R L S W F Q Q  
K P G Q P P K L L I Y S A S T L A S G V P S R F K G S G S G T E Y T L T I S G V  
Q C D D A A T Y Y C L G E F S G S D E D V F G G G T E V V V K (配列番号22)

## 【0152】

J6H15L16抗体の重鎖及び軽鎖可変領域配列は次の通りである：

重鎖可変領域(太字下線で示されるHVR)：

QEQLVESGGGLVQPEGS L T L T C T A S G F S F S T N Y W I C W V R Q  
A P G K G L E W T A C I Y I G G R G S I Y Y A S W A K G R F T I S K T S S T T V  
T L Q M T S L T A A D T A T Y F C A R D L T T A Y G A T D L R F W G P G T L V T  
V S S (配列番号23)

30

軽鎖可変領域(太字下線で示されるHVR)：

D V V M T Q T P S P V S A A V G G T V S I S C Q S S Q S V G D N N R L S W F Q Q  
K P G Q P P K L L I Y S A S T L A S G V P S R F K G S G S G T E Y T L T I S G V  
Q C D D A A T Y Y C L G E F S G S D E D V F G G G T E V V V K (配列番号24)

## 【0153】

J6H20L16抗体の重鎖及び軽鎖可変領域配列は次の通りである：

重鎖可変領域(太字下線で示されるHVR)：

QEQLVESGGGLVQPEGS L T L T C T A S G F S F S T N Y W I C W V R Q  
A P G K G L E W T A C I Y I G G R G S I Y Y A S W A K G R F T I S K T S S T T V  
T L Q M T S L T A A D T A T Y S C A R D L T T A Y G A T D L R F W G P G T L V T  
V S S (配列番号25)

40

軽鎖可変領域(太字下線で示されるHVR)：

D V V M T Q T P S P V S A A V G G T V S I S C Q S S Q S V G D N N R L S W F Q Q  
K P G Q P P K L L I Y S A S T L A S G V P S R F K G S G S G T E Y T L T I S G V  
Q C D D A A T Y Y C L G E F S G S D E D V F G G G T E V V V K (配列番号26)

## 【0154】

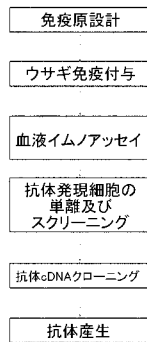
その他の実施態様

前述の発明は、明確な理解の目的のために例示及び実施例によってある程度詳細に説明

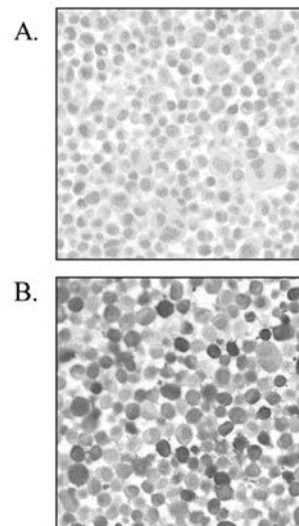
50

されてきたが、これらの説明や例は、本発明の範囲を限定するものとして解釈されるべきではない。本明細書に引用されるすべての特許及び科学文献の開示内容は、参照によりその全体が本明細書に明確に取り込まれる。

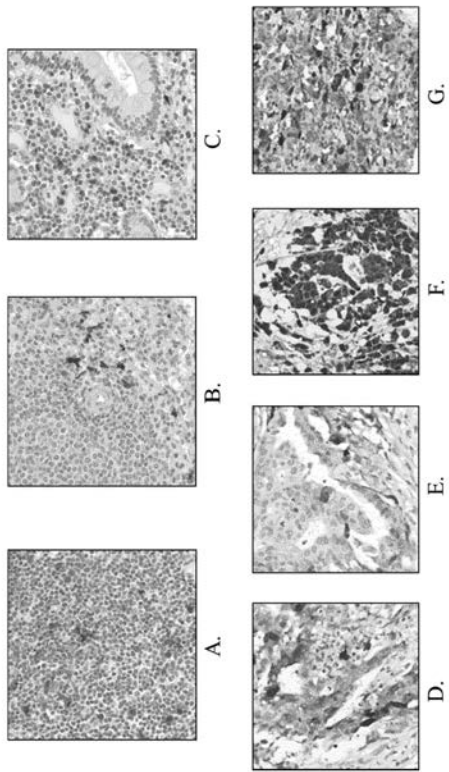
【 図 1 】



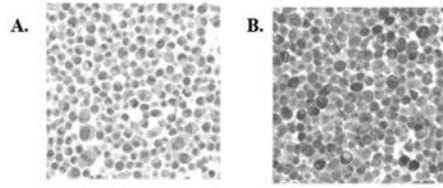
【 図 2 】



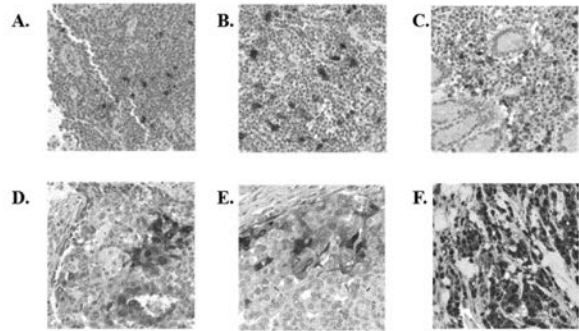
【 図 3 】



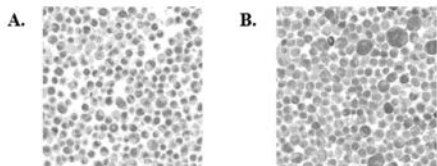
【 図 4 】



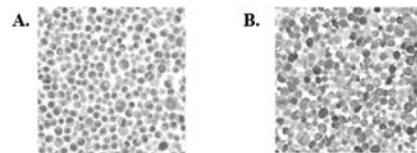
【 図 5 】



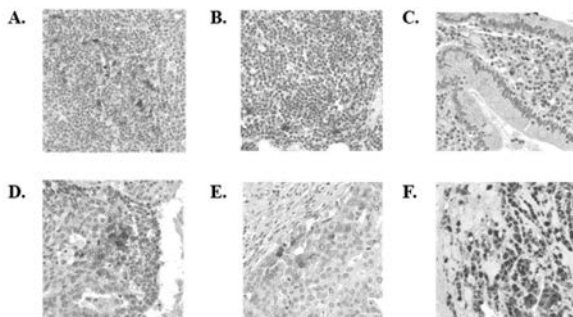
【 図 6 】



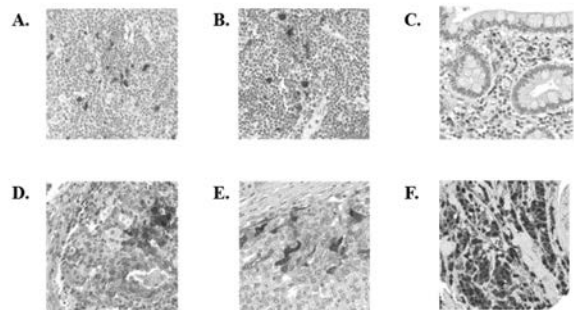
【 図 8 】



【 図 7 】



【 図 9 】



【 図 1 0 】

	HVR-H1	HVR-H2	HVR-H3
H14	TMWVIC ( 配列番号: 2)	CIYVGGGSIYASWANG ( 配列番号: 3)	DLTAVGADLRF ( 配列番号: 4)
H12	-----I-----	-----I-----	-----I-----
H15	-----I-----	-----I-----	-----I-----
H20	-----I-----	-----I-----	-----I-----

	FR-H1	FR-H2
H14	QECLVFSGGSLVGFSSUTICTPAGSFS ( 配列番号: 5)	WVQAPGKLEMTA ( 配列番号: 6)
H12	-----R-----	-----R-----
H15	-----Q-----	-----Q-----
H20	-----Q-----	-----Q-----

	FR-H1	FR-H2
H14	RPTISKTSSTVTYQMTSLDADQATFCAR ( 配列番号: 7)	WGSOTIVTSS ( 配列番号: 8)
H12	-----S-----	-----S-----
H15	-----S-----	-----S-----
H20	-----S-----	-----S-----

【 配列表 】

2017519816000001.app

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2015/061776
---

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> INV. C07K16/40 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, PAJ, WPI Data		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	XIE BL ET AL: "Preparation of anti-human indoleamine 2,3-dioxygenase polyclonal antibody", AIZHENG - CHINESE JOURNAL OF CANCER, GAI KAN BIANJIBU, GUANGZHOU, CN, vol. 26, no. 3, 1 January 2007 (2007-01-01), pages 329-332, XP009185455, ISSN: 1000-467X abstract, p. 330 middle column 1st paragraph - p. 331 left-hand column 1st paragraph -----	1-50
X	WO 2009/143843 A1 (HERLEV HOSPITAL [DK]; ANDERSEN MADSD HALD [DK]; STRATEN PER THOR [DK]) 3 December 2009 (2009-12-03)	38
A	abstract, p. 3 line 7 - p. 5 line 31, p. 10 line 32 - p. 11 line 8, claim 1 -----	1-37, 39-50
	-/--	
<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		Date of mailing of the international search report
22 July 2015		31/07/2015
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  Hermann, Patrice

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2015/061776

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2004/024075 A2 (MED COLLEGE GEORGIA RES INST [US]; MUNN DAVID H [US]; MELLOR ANDREW L) 25 March 2004 (2004-03-25) abstract, example 2 -----	1-50
X	WO 2009/056580 A1 (UNI DEGLI STUDI PERUGIA [IT]; VACCA CARMINE [IT]) 7 May 2009 (2009-05-07) abstract, p. 2 line 9 - p. 3 line 2, examples 4-7, claims 1-16 -----	1-50
X	TAKIKAWA O ET AL: "Mechanism of interferon-gamma action. Characterization of indoleamine 2,3-dioxygenase in cultured human cells induced by interferon-gamma and evaluation of the enzyme-mediated tryptophan degradation in its anticellular activity", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, AMERICAN SOCIETY FOR BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY, US, vol. 263, no. 4, 5 February 1988 (1988-02-05), pages 2041-2048, XP002515475, ISSN: 0021-9258 p. 2042 right-hand column 1st full paragraph -----	1-50
X	MICHAEL J. STRONG ET AL: "Differences in Gastric Carcinoma Microenvironment Stratify According to EBV Infection Intensity: Implications for Possible Immune Adjuvant Therapy", PLOS PATHOGENS, vol. 9, no. 5, 9 May 2013 (2013-05-09), page e1003341, XP055203071, DOI: 10.1371/journal.ppat.1003341 p. 15 left-hand column second full paragraph; figure 9 -----	1-50
X	& "Anti-Indoleamine 2, 3-dioxygenase antibody ab134197", 1 May 2013 (2013-05-01), XP055203087, Retrieved from the Internet: URL: <a href="http://www.abcam.com/Indoleamine-2-3-dioxygenase-antibody-ab134197.pdf">http://www.abcam.com/Indoleamine-2-3-dioxygenase-antibody-ab134197.pdf</a> [retrieved on 2015-07-17] the whole document -----	1-50

-/--

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2015/061776
---

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	"Anti-IDO, clone 1F8.2", 1 October 2010 (2010-10-01), XP055203301, Retrieved from the Internet: URL:http://www.merckmillipore.com/DE/en/pr oduct/Anti-IDO-Antibody,-clone-1F8.2,MM_NF -MAB10009 [retrieved on 2015-07-17] the whole document	1-50
A	----- Valentina Folgiero ET AL: "Indoleamine 2,3-dioxygenase 1 (IDO1) activity in leukemia blasts correlates with poor outcome in childhood acute myeloid leukemia", Oncotarget, 30 April 2014 (2014-04-30), page 2052, XP055203284, United States Retrieved from the Internet: URL:http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/249 03009 [retrieved on 2015-07-15] the whole document	1-50
A	----- A. CURTI ET AL: "The role of indoleamine 2,3-dioxygenase in the induction of immune tolerance: focus on hematology", BLOOD, vol. 113, no. 11, 20 November 2008 (2008-11-20), pages 2394-2401, XP055203074, ISSN: 0006-4971, DOI: 10.1182/blood-2008-07-144485 the whole document	1-50
A	----- STEFAN LÖB ET AL: "Inhibitors of indoleamine-2,3- dioxygenase for cancer therapy: can we see the wood for the trees?", NATURE REVIEWS CANCER, vol. 9, 1 June 2009 (2009-06-01), pages 445-452, XP055203135, the whole document	1-50

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2015/061776

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2009143843 A1	03-12-2009	AU 2009253539 A1	03-12-2009
		CA 2721150 A1	03-12-2009
		CN 102088994 A	08-06-2011
		CN 104056261 A	24-09-2014
		EP 2280721 A1	09-02-2011
		JP 2011520783 A	21-07-2011
		NZ 588757 A	25-05-2012
		US 2011318372 A1	29-12-2011
		WO 2009143843 A1	03-12-2009
		WO 2004024075 A2	25-03-2004
US 2004161425 A1	19-08-2004		
US 2009041787 A1	12-02-2009		
WO 2004024075 A2	25-03-2004		
WO 2009056580 A1	07-05-2009	NONE	

## フロントページの続き

(51) Int. Cl.		F I		テーマコード (参考)
<b>G 0 1 N 33/53</b>	<b>(2006.01)</b>	G 0 1 N	33/53	D
<b>G 0 1 N 33/48</b>	<b>(2006.01)</b>	G 0 1 N	33/48	P

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, 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, RS, 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, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, 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

(72) 発明者 リャオ, チミン

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 5 5 0, リバモア, メディナ ストリート 1 7 5

(72) 発明者 コウト, フェルナンド

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 5 8 8, プレザントン, オーク クリーク ドライブ  
7 8 1 4

F ターム(参考) 2G045 AA25 CB01 DA36 FA16 FB03

4B065 AA90X AB04 CA25 CA44

4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 CA40 DA76 EA20 FA72 FA74

GA26

专利名称(译)	抗吲哚胺2,3-双加氧酶1抗体及其诊断用途		
公开(公告)号	<a href="#">JP2017519816A</a>	公开(公告)日	2017-07-20
申请号	JP2017514957	申请日	2015-05-28
[标]发明人	チューイーフェイ リャオチミン コウトフェルナンド		
发明人	チュー, イーフェイ リャオ, チミン コウト, フェルナンド		
IPC分类号	C07K16/18 C07K16/46 C07K14/47 C12N5/16 C12N5/0781 G01N33/53 G01N33/48		
CPC分类号	C07K16/40 C07K2317/34 C12N9/0069 C12N9/96 C12Y113/11052 G01N33/573 C07K2317/14 C07K2317/20 C07K2317/56 C07K2317/567 G01N33/57496 G01N2333/90241		
FI分类号	C07K16/18.ZNA C07K16/46 C07K14/47 C12N5/16 C12N5/0781 G01N33/53.D G01N33/48.P		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/CB01 2G045/DA36 2G045/FA16 2G045/FB03 4B065/AA90X 4B065/AB04 4B065 /CA25 4B065/CA44 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/BA41 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/FA72 4H045/FA74 4H045/GA26		
优先权	62/004594 2014-05-29 US 62/067742 2014-10-23 US		
其他公开文献	JP2017519816A5 JP6605591B2		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

本发明提供了与人吲哚胺2, 3-二加氧酶1 (IDO1) 特异性结合的抗体及其使用方法。抗体能够结合包含SEQ ID NO: 1的序列, 并且在福尔马林固定的石蜡包埋的组织中特异性结合人IDO1。该抗体可用于多种不同的分析技术, 包括免疫组织化学 (IHC) 和免疫细胞化学 (ICC)。

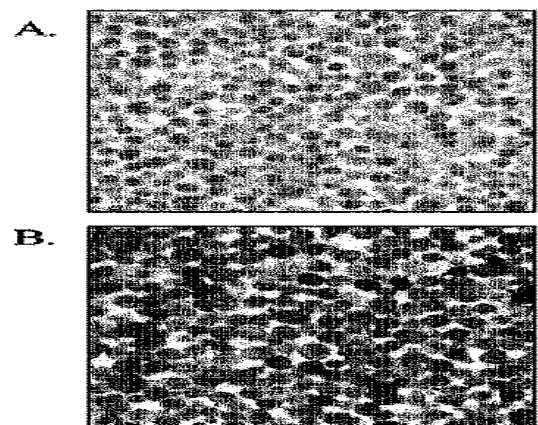


Fig. 2