

(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2019-525751

(P2019-525751A)

(43) 公表日 令和1年9月12日 (2019.9.12)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/13 (2006.01)	C 1 2 N 15/13 Z N A	4 B 0 6 4
C 1 2 N 15/63 (2006.01)	C 1 2 N 15/63 Z	4 B 0 6 5
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/10	4 C 0 7 6
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	4 C 0 8 5
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	C 1 2 P 21/08	4 H 0 4 5
審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 157 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2019-501456 (P2019-501456)	(71) 出願人	514266932
(86) (22) 出願日	平成29年7月11日 (2017.7.11)		カイト ファーマ インコーポレイテッド
(85) 翻訳文提出日	平成31年3月8日 (2019.3.8)		K i t e P h a r m a, I n c
(86) 国際出願番号	PCT/US2017/041534		アメリカ合衆国 カリフォルニア州 90
(87) 国際公開番号	W02018/013563		404 サンタモニカ コロラド アベニ
(87) 国際公開日	平成30年1月18日 (2018.1.18)		ュー 2225
(31) 優先権主張番号	62/361,420		2225 Colorado Ave.,
(32) 優先日	平成28年7月12日 (2016.7.12)		Santa Monica, Cali
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)	(74) 代理人	110000796
(31) 優先権主張番号	62/415,786		特許業務法人三枝国際特許事務所
(32) 優先日	平成28年11月1日 (2016.11.1)	(72) 発明者	ウィルツィアス ジェド
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		アメリカ合衆国 カリフォルニア州 90
			404 サンタモニカ コロラド アベニ
			ュー 2225
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗原結合分子及びその使用方法

(57) 【要約】

G S T S G S G K P G S G E G S T K G (配列番号1)、G S G K P G S G E G (配列番号2)、G K P G S G E G (配列番号3)、S G K P G S G E (配列番号499)及びK P G S G (配列番号500)からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子に特異的に結合する単離抗原結合分子が提供される。この抗原結合分子は、本明細書で提供される方法に使用することができる。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号 1）、G S G K P G S G E G（配列番号 2）、G K P G S G E G（配列番号 3）、S G K P G S G E（配列番号 499）及び K P G S G（配列番号 500）からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子に特異的に結合する単離抗原結合分子。

【請求項 2】

抗体、s c F v、F a b、F a b'、F v、F（a b'）₂、d A b、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、組み換え抗体、I g E 抗体、I g D 抗体、I g M 抗体、I g G 1 抗体、ヒンジ領域中に少なくとも 1 つの変異を有する I g G 1 抗体、I g G 2 抗体、ヒンジ領域中に少なくとも 1 つの変異を有する I g G 2 抗体、I g G 3 抗体、ヒンジ領域中に少なくとも 1 つの変異を有する I g G 1 抗体、I g G 4 抗体、ヒンジ領域中に少なくとも 1 つの変異を有する I g G 4 抗体、少なくとも 1 つの非自然発生アミノ酸を含む抗体及びこれらの任意の組合せからなる群から選択される、請求項 1 に記載の抗原結合分子。

10

【請求項 3】

抗体を含む、請求項 2 に記載の抗原結合分子。

【請求項 4】

重鎖（H C）を含む、請求項 2 に記載の抗原結合分子。

【請求項 5】

前記 H C が配列番号 5 及び配列番号 17 からなる群から選択される重鎖可変領域（V H）配列を含む、請求項 4 に記載の抗原結合分子。

20

【請求項 6】

前記可変領域（V H）が（a）C D R 1、（b）C D R 2 及び（c）C D R 3 の 1 つ以上を含む、請求項 5 に記載の抗原結合分子。

【請求項 7】

配列番号 7 及び配列番号 19 からなる群から選択される重鎖 C D R 1 を含む、請求項 6 に記載の抗原結合分子。

【請求項 8】

配列番号 8 及び配列番号 20 からなる群から選択される重鎖 C D R 2 を含む、請求項 6 に記載の抗原結合分子。

30

【請求項 9】

配列番号 9 及び配列番号 21 からなる群から選択される重鎖 C D R 3 を含む、請求項 6 に記載の抗原結合分子。

【請求項 10】

前記重鎖が重鎖 C D R 1、重鎖 C D R 2 及び重鎖 C D R 3 を含み、各 C D R が図 6、図 8 及び図 9 に示されるアミノ酸配列を含む、請求項 6 に記載の抗原結合分子。

【請求項 11】

請求項 5 に記載の抗原結合分子の V H に対して少なくとも約 70%、少なくとも約 75%、少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99% 又は約 100% 同一の V H アミノ酸配列を含む抗原結合分子。

40

【請求項 12】

軽鎖（L C）を含む、請求項 2 に記載の抗原結合分子。

【請求項 13】

前記 L C が配列番号 11 及び配列番号 23 からなる群から選択される軽鎖可変領域（V L）配列を含む、請求項 12 に記載の抗原結合分子。

【請求項 14】

前記可変領域（V L）が（a）C D R 1、（b）C D R 2 及び（c）C D R 3 の 1 つ以上を含む、請求項 13 に記載の抗原結合分子。

50

【請求項 15】

配列番号 13 及び配列番号 25 からなる群から選択される軽鎖 C D R 1 を含む、請求項 14 に記載の抗原結合分子。

【請求項 16】

配列番号 14 及び配列番号 26 からなる群から選択される軽鎖 C D R 2 を含む、請求項 14 に記載の抗原結合分子。

【請求項 17】

配列番号 15 及び配列番号 27 からなる群から選択される軽鎖 C D R 3 を含む、請求項 14 に記載の抗原結合分子。

【請求項 18】

前記軽鎖が軽鎖 C D R 1、軽鎖 C D R 2 及び軽鎖 C D R 3 を含み、各 C D R が図 6、図 8 及び図 9 の 1 つに示されるアミノ酸配列を含む、請求項 14 に記載の抗原結合分子。

【請求項 19】

請求項 13 に記載の抗原結合分子の V L に対して少なくとも約 70 %、少なくとも約 75 %、少なくとも約 80 %、少なくとも約 85 %、少なくとも約 90 %、少なくとも約 95 %、少なくとも約 96 %、少なくとも約 97 %、少なくとも約 98 %、少なくとも約 99 % 又は約 100 % 同一の V L アミノ酸配列を含む抗原結合分子。

【請求項 20】

(a) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含む V H と、
(b) 配列番号 11 のアミノ酸配列を含む V L と、
を含む、請求項 2 に記載の抗原結合分子。

【請求項 21】

(a) 配列番号 7 のアミノ酸配列を含む V H C D R 1 領域、
(b) 配列番号 8 のアミノ酸配列を含む V H C D R 2 領域、
(c) 配列番号 9 のアミノ酸配列を含む V H C D R 3 領域、
(d) 配列番号 13 のアミノ酸配列を含む V L C D R 1 領域、
(e) 配列番号 14 のアミノ酸配列を含む V L C D R 2 領域、及び
(f) 配列番号 15 のアミノ酸配列を含む V L C D R 3 領域、
を含む、請求項 20 に記載の抗原結合分子。

【請求項 22】

(a) 配列番号 17 のアミノ酸配列を含む V H と、
(b) 配列番号 23 のアミノ酸配列を含む V L と、
を含む、請求項 2 に記載の抗原結合分子。

【請求項 23】

(a) 配列番号 19 のアミノ酸配列を含む V H C D R 1 領域と、
(b) 配列番号 20 のアミノ酸配列を含む V H C D R 2 領域と、
(c) 配列番号 21 のアミノ酸配列を含む V H C D R 3 領域と、
(d) 配列番号 25 のアミノ酸配列を含む V L C D R 1 領域と、
(e) 配列番号 26 のアミノ酸配列を含む V L C D R 2 領域と、
(f) 配列番号 27 のアミノ酸配列を含む V L C D R 3 領域と、
を含む、請求項 22 に記載の抗原結合分子。

【請求項 24】

検出可能な標識を更に含む、請求項 1～23 のいずれか一項に記載の抗原結合分子。

【請求項 25】

前記検出可能な標識が蛍光標識、フォトクロミック化合物、タンパク性蛍光標識、磁気標識、放射標識及びハプテンからなる群から選択される、請求項 24 に記載の抗原結合分子。

【請求項 26】

前記蛍光標識が A t t o 色素、A l e x a f l u o r 色素、量子ドット、ヒドロキシクマリン、アミノクマリン、メトキシクマリン、C a s c a d e B l u e、P a c i f i

10

20

30

40

50

c Blue、Pacific Orange、Lucifer Yellow、NBD、R-フィコエリトリン (PE)、PE-Cy5コンジュゲート、PE-Cy7コンジュゲート、Red 613、PerCP、TruRed、FluorX、フルオレセイン、BODIPY-FL、Cy2、Cy3、Cy3B、Cy3.5、Cy5、Cy5.5、Cy7、TRITC、X-ローダミン、リサミンローダミンB、Texas Red、アロフィコシアニン (APC)、APC-Cy7コンジュゲート、Indo-1、Fluo-3、Fluo-4、DCFH、DHR、SNARF、GFP (Y66H変異)、GFP (Y66F変異)、EBFP、EBFP2、アズライト、GFPuv、T-Sapphir e、Cerulean、mCFP、mTurquoise2、ECFP、CyPet、GFP (Y66W変異)、mKeima-Red、TagCFP、AmCyan1、mTFP1、GFP (S65A変異)、Midorishi Cyan、Wild Type GFP、GFP (S65C変異)、TurboGFP、TagGFP、GFP (S65L変異)、Emerald、GFP (S65T変異)、EGFP、Azami Green、ZsGreen1、TagYFP、EYFP、Topaz、Venus、mCitrine、YPet、TurboYFP、ZsYellow1、Kusabira Orange、mOrange、アロフィコシアニン (APC)、mKO、TurboRFP、tdTomato、TagRFP、DsRedモノマー、DsRed2 (「RFP」)、mStrawberry、TurboFP602、AsRed2、mRFP1、J-Red、R-フィコエリトリン (RPE)、B-フィコエリトリン (BPE)、mCherry、HcRed1、Katusha、P3、ペリジニクロロフィル (PerCP)、mKate (TagFP635)、TurboFP635、mPlum及びmRaspberryからなる群から選択される、請求項25に記載の抗原結合分子。

【請求項27】

請求項1～23のいずれか一項に記載の抗原結合分子を含む組成物。

【請求項28】

請求項1～23のいずれか一項に記載の抗原結合分子の重鎖をコードするポリヌクレオチド。

【請求項29】

請求項1～23のいずれか一項に記載の抗原結合分子の軽鎖をコードするポリヌクレオチド。

【請求項30】

請求項28及び29の一つに記載のポリヌクレオチドを含むベクター。

【請求項31】

請求項30に記載のベクターの一方又は両方を含む細胞。

【請求項32】

該細胞が、CHO細胞、Sp2/0細胞、ウサギ細胞及び大腸菌細胞からなる群から選択される細胞を含む、請求項31に記載の細胞。

【請求項33】

請求項32に記載の細胞を好適な条件下でインキュベートすることを含む、請求項1～23のいずれか一項に記載の抗原結合分子を製造する方法。

【請求項34】

GSTSGSGKPGSGEGSTKG (配列番号1)、GSGKPGSGEG (配列番号2)、GKPGSGEG (配列番号3)、SGKPGSGE (配列番号499) 及びKPGSG (配列番号500) からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む治療用分子を提示する予め選択される数の細胞を含む用量の薬剤を被験体に投与する方法であって、

(a) GSTSGSGKPGSGEGSTKG (配列番号1)、GSGKPGSGEG (配列番号2)、GKPGSGEG (配列番号3)、SGKPGSGE (配列番号499) 及びKPGSG (配列番号500) からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む治療用分子を発現することが知られている又は疑われる、既知の数の細胞を含む集団を含む既知の容量のサンプルを準備すること、

10

20

30

40

50

(b) 前記選択されるアミノ酸配列を含む分子を提示する細胞の集団を含む前記サンプルのアリコートを準備すること、

(c) 前記選択されるアミノ酸配列を特異的に結合し、検出可能な標識を含む抗原結合分子を準備すること、

(d) 前記(b)のアリコートと前記(c)の抗原結合分子とを、前記サンプル中に存在する細胞及び該抗原結合分子を含む結合複合体の形成を可能にする条件下で接触させること、

(e) 前記アリコート中の(d)の結合複合体に存在する細胞の割合を決定すること、

(f) (e)において決定された細胞の割合に基づいて、前記サンプル中の前記選択されるアミノ酸配列を含む分子を提示する細胞の濃度を決定すること、

(g) 前記選択される数の細胞を含む前記サンプルの容量を決定すること、及び

(h) (g)において決定された容量の前記サンプルを前記被験体に投与すること、を含む、方法。

【請求項35】

(a) 前記治療用分子がCARであり、(b) 前記細胞がCD8+T細胞、CD4+T細胞、腫瘍浸潤リンパ球(TIL)、NK細胞、TCR発現細胞、樹状細胞及びNK-T細胞からなる群から選択される免疫細胞である、請求項34に記載の方法。

【請求項36】

前記CARがCD2、CD3デルタ、CD3イプシロン、CD3ガンマ、CD4、CD7、CD8 α 、CD8 β 、CD11a(ITGAL)、CD11b(ITGAM)、CD11c(ITGAX)、CD11d(ITGAD)、CD18(ITGB2)、CD19(B4)、CD27(TNFRSF7)、CD28、CD29(ITGB1)、CD30(TNFRSF8)、CD40(TNFRSF5)、CD48(SLAMF2)、CD49a(ITGA1)、CD49d(ITGA4)、CD49f(ITGA6)、CD66a(CEACAM1)、CD66b(CEACAM8)、CD66c(CEACAM6)、CD66d(CEACAM3)、CD66e(CEACAM5)、CD69(CLEC2)、CD79A(B細胞抗原受容体複合体関連アルファ鎖)、CD79B(B細胞抗原受容体複合体関連ベータ鎖)、CD84(SLAMF5)、CD96(Tactile)、CD100(SEMA4D)、CD103(ITGAE)、CD134(OX40)、CD137(4-1BB)、CD150(SLAMF1)、CD158A(KIR2DL1)、CD158B1(KIR2DL2)、CD158B2(KIR2DL3)、CD158C(KIR3DP1)、CD158D(KIRDL4)、CD158F1(KIR2DL5A)、CD158F2(KIR2DL5B)、CD158K(KIR3DL2)、CD160(BY55)、CD162(SELP1G)、CD226(DNAM1)、CD229(SLAMF3)、CD244(SLAMF4)、CD247(CD3-ゼータ)、CD258(LIGHT)、CD268(BAFFR)、CD270(TNFSF14)、CD272(BTLA)、CD276(B7-H3)、CD279(PD-1)、CD314(NKG2D)、CD319(SLAMF7)、CD335(NK-p46)、CD336(NK-p44)、CD337(NK-p30)、CD352(SLAMF6)、CD353(SLAMF8)、CD355(CRTAM)、CD357(TNFRSF18)、誘導性T細胞共刺激分子(ICOS)、LFA-1(CD11a/CD18)、NKG2C、DAP-10、ICAM-1、NKp80(KLRP1)、IL-2Rベータ、IL-2Rガンマ、IL-7Rアルファ、LFA-1、SLAMF9、LAT、GADS(GrpL)、SLP-76(LCP2)、PAG1/CBP、CD83リガンド、Fcガンマ受容体、MHCクラス1分子、MHCクラス2分子、TNF受容体タンパク質、免疫グロブリンタンパク質、サイトカイン受容体、インテグリン、活性化NK細胞受容体、Toll様受容体及びそれらの組合せからなる群から選択される分子又はそのフラグメントを含む、請求項35に記載の方法。

【請求項37】

前記免疫細胞がT細胞である、請求項35に記載の方法。

【請求項 38】

前記 T 細胞が *in vitro* に配置される、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 39】

前記 T 細胞が *in vivo* に配置される、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 40】

前記 T 細胞が血液、摘出組織、*ex vivo* で成長させた組織及び細胞培養培地の 1 つの中にある、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 41】

前記 T 細胞が自己 T 細胞である、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 42】

前記 T 細胞が同種異系 T 細胞である、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 43】

前記用量が 1 kg 当たり 1.0×10^6 個の細胞を含む、請求項 34 に記載の方法。

【請求項 44】

前記検出可能な標識が蛍光標識、フォトクロミック化合物、タンパク性蛍光標識、磁気標識、放射標識及びハプテンからなる群から選択される、請求項 34 に記載の方法。

【請求項 45】

前記蛍光標識が Atto 色素、Alexa fluor 色素、量子ドット、ヒドロキシクマリン、アミノクマリン、メトキシクマリン、Cascade Blue、Pacific Blue、Pacific Orange、Lucifer Yellow、NBD、R-フィコエリトリン (PE)、PE-Cy5 コンジュゲート、PE-Cy7 コンジュゲート、Red 613、PerCP、TruRed、FluorX、フルオレセイン、BODIPY-FL、Cy2、Cy3、Cy3B、Cy3.5、Cy5、Cy5.5、Cy7、TRITC、X-ローダミン、リサミンローダミンB、Texas Red、アロフィコシアニン (APC)、APC-Cy7 コンジュゲート、Indo-1、Fluo-3、Fluo-4、DCFH、DHR、SNARF、GFP (Y66H 変異)、GFP (Y66F 変異)、EBFP、EBFP2、アズライト、GFPuv、T-Sapphire、Cerulean、mCFP、mTurquoise2、ECFP、CyPet、GFP (Y66W 変異)、mKeima-Red、TagCFP、AmCyan1、mTFP1、GFP (S65A 変異)、Midorishi Cyan、Wild Type GFP、GFP (S65C 変異)、TurboGFP、TagGFP、GFP (S65L 変異)、Emerald、GFP (S65T 変異)、EGFP、Azami Green、ZsGreen1、TagYFP、EYFP、Topaz、Venus、mCitrine、YPet、TurboYFP、ZsYellow1、Kusabira Orange、mOrange、アロフィコシアニン (APC)、mKO、TurboRFP、tdTomato、TagRFP、DsRed モノマー、DsRed2 (「RFP」)、mStrawberry、TurboFP602、AsRed2、mRFP1、J-Red、R-フィコエリトリン (RPE)、B-フィコエリトリン (BPE)、mCherry、HcRed1、Katusha、P3、ペリジニクロロフィル (PerCP)、mKate (TagFP635)、TurboFP635、mPlum 及び mRaspberry からなる群から選択される、請求項 44 に記載の方法。

【請求項 46】

前記抗原結合分子が請求項 1～23 のいずれか一項に記載の抗原結合分子及びそのヒト化形態を含む、請求項 34 に記載の方法。

【請求項 47】

GSTSGSGKPGSGEGSTKG (配列番号 1)、GSGKPGSGEG (配列番号 2)、GKPGSGEG (配列番号 3)、SGKPGSGE (配列番号 499) 及び KPGSG (配列番号 500) からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子を発現する免疫細胞を活性化する方法であって、

(a) GSTSGSGKPGSGEGSTKG (配列番号 1)、GSGKPGSGEG

10

20

30

40

50

(配列番号2)、G K P G S G E G (配列番号3)、S G K P G S G E (配列番号499)及びK P G S G (配列番号500)からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子を提示することが知られている又は疑われる免疫細胞を含むサンプルを準備すること、及び

(b) 抗原結合分子と前記サンプルとを、該抗原結合分子及び前記選択されるアミノ酸配列を含む2つの分子を含み、該選択されるアミノ酸配列を含む分子が2つの異なる免疫細胞上に配置される結合複合体の形成を可能にする条件下で接触させること、を含む、方法。

【請求項48】

(a) 前記選択されるアミノ酸配列を含む分子がCARであり、(b) 前記免疫細胞がCD8+T細胞、CD4+T細胞、腫瘍浸潤リンパ球(TIL)、NK細胞、TCR発現細胞、樹状細胞及びNK-T細胞からなる群から選択される、請求項47に記載の方法。

【請求項49】

前記CARがCD2、CD3デルタ、CD3イプシロン、CD3ガンマ、CD4、CD7、CD8 α 、CD8 β 、CD11a(ITGAL)、CD11b(ITGAM)、CD11c(ITGAX)、CD11d(ITGAD)、CD18(ITGB2)、CD19(B4)、CD27(TNFRSF7)、CD28、CD29(ITGB1)、CD30(TNFRSF8)、CD40(TNFRSF5)、CD48(SLAMF2)、CD49a(ITGA1)、CD49d(ITGA4)、CD49f(ITGA6)、CD66a(CEACAM1)、CD66b(CEACAM8)、CD66c(CEACAM6)、CD66d(CEACAM3)、CD66e(CEACAM5)、CD69(CLEC2)、CD79A(B細胞抗原受容体複合体関連アルファ鎖)、CD79B(B細胞抗原受容体複合体関連ベータ鎖)、CD84(SLAMF5)、CD96(Tactile)、CD100(SEMA4D)、CD103(ITGAE)、CD134(OX40)、CD137(4-1BB)、CD150(SLAMF1)、CD158A(KIR2DL1)、CD158B1(KIR2DL2)、CD158B2(KIR2DL3)、CD158C(KIR3DP1)、CD158D(KIRDL4)、CD158F1(KIR2DL5A)、CD158F2(KIR2DL5B)、CD158K(KIR3DL2)、CD160(BY55)、CD162(SELP1)、CD226(DNAM1)、CD229(SLAMF3)、CD244(SLAMF4)、CD247(CD3-ゼータ)、CD258(LIGHT)、CD268(BAFFR)、CD270(TNFSF14)、CD272(BTLA)、CD276(B7-H3)、CD279(PD-1)、CD314(NKG2D)、CD319(SLAMF7)、CD335(NK-p46)、CD336(NK-p44)、CD337(NK-p30)、CD352(SLAMF6)、CD353(SLAMF8)、CD355(CRTAM)、CD357(TNFRSF18)、誘導性T細胞共刺激分子(ICOS)、LFA-1(CD11a/CD18)、NKG2C、DAP-10、ICAM-1、NKp80(KLRP1)、IL-2Rベータ、IL-2Rガンマ、IL-7Rアルファ、LFA-1、SLAMF9、LAT、GADS(GrpL)、SLP-76(LCP2)、PAG1/CBP、CD83リガンド、Fcガンマ受容体、MHCクラス1分子、MHCクラス2分子、TNF受容体タンパク質、免疫グロブリンタンパク質、サイトカイン受容体、インテグリン、活性化NK細胞受容体、Toll様受容体及びそれらの組合せからなる群から選択される分子又はそのフラグメントを含む、請求項48に記載の方法。

【請求項50】

前記免疫細胞がT細胞である、請求項48に記載の方法。

【請求項51】

前記T細胞が*in vitro*に配置される、請求項50に記載の方法。

【請求項52】

前記T細胞が*in vivo*に配置される、請求項50に記載の方法。

【請求項53】

10

20

30

40

50

前記 T 細胞が血液、摘出組織、*ex vivo* で成長させた組織及び細胞培養培地の 1 つの中にある、請求項 50 に記載の方法。

【請求項 54】

前記 T 細胞が自己 T 細胞である、請求項 50 に記載の方法。

【請求項 55】

前記 T 細胞が同種異系 T 細胞である、請求項 50 に記載の方法。

【請求項 56】

前記抗原結合分子が請求項 1～23 のいずれか一項に記載の抗原結合分子及びそのヒト化形態を含む、請求項 47 に記載の方法。

【請求項 57】

サンプル中の GSTSGSGKPGSGEGSTKG (配列番号 1)、GSGKPGSGEG (配列番号 2)、GKPGSGEG (配列番号 3)、SGKPGSGE (配列番号 499) 及び KPGSG (配列番号 500) からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子を提示する細胞の数を決定する方法であって、

(a) GSTSGSGKPGSGEGSTKG (配列番号 1)、GSGKPGSGEG (配列番号 2)、GKPGSGEG (配列番号 3)、SGKPGSGE (配列番号 499) 及び KPGSG (配列番号 500) からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子を提示することが知られている又は疑われる細胞を含むサンプルを準備すること、

(b) 前記 (a) のサンプルと、前記選択されるアミノ酸配列を特異的に結合し、検出可能な標識を含む抗原結合分子とを、前記サンプル中に存在する細胞及び該抗原結合分子を含む結合複合体の形成を可能にする条件下で接触させること、及び

(c) 前記サンプル中の (b) の結合複合体に存在する細胞の数を決定すること、を含む、方法。

【請求項 58】

(a) 前記アミノ酸配列を含む分子が CAR であり、(b) 前記選択されるアミノ酸配列を含む分子を提示する細胞が CD8+T 細胞、CD4+T 細胞、腫瘍浸潤リンパ球 (TIL)、NK 細胞、TCR 発現細胞、樹状細胞及び NK-T 細胞からなる群から選択される免疫細胞である、請求項 57 に記載の方法。

【請求項 59】

前記 CAR が CD2、CD3 デルタ、CD3 イプシロン、CD3 ガンマ、CD4、CD7、CD8 α 、CD8 β 、CD11a (ITGAL)、CD11b (ITGAM)、CD11c (ITGAX)、CD11d (ITGAD)、CD18 (ITGB2)、CD19 (B4)、CD27 (TNFRSF7)、CD28、CD29 (ITGB1)、CD30 (TNFRSF8)、CD40 (TNFRSF5)、CD48 (SLAMF2)、CD49a (ITGA1)、CD49d (ITGA4)、CD49f (ITGA6)、CD66a (CEACAM1)、CD66b (CEACAM8)、CD66c (CEACAM6)、CD66d (CEACAM3)、CD66e (CEACAM5)、CD69 (CLEC2)、CD79A (B細胞抗原受容体複合体関連アルファ鎖)、CD79B (B細胞抗原受容体複合体関連ベータ鎖)、CD84 (SLAMF5)、CD96 (Tactile)、CD100 (SEMA4D)、CD103 (ITGAE)、CD134 (OX40)、CD137 (4-1BB)、CD150 (SLAMF1)、CD158A (KIR2DL1)、CD158B1 (KIR2DL2)、CD158B2 (KIR2DL3)、CD158C (KIR3DP1)、CD158D (KIRDL4)、CD158F1 (KIR2DL5A)、CD158F2 (KIR2DL5B)、CD158K (KIR3DL2)、CD160 (BY55)、CD162 (SELP1G)、CD226 (DNAM1)、CD229 (SLAMF3)、CD244 (SLAMF4)、CD247 (CD3-ゼータ)、CD258 (LIGHT)、CD268 (BAFFR)、CD270 (TNFSF14)、CD272 (BTLA)、CD276 (B7-H3)、CD279 (PD-1)、CD314 (NKG2D)、CD319 (SLAMF7)、CD335 (NK-p46)、CD336 (NK-p44)、CD337 (NK-p30)、CD352 (SLAMF

10

20

30

40

50

6)、CD353 (SLAMF8)、CD355 (CRTAM)、CD357 (TNFRSF18)、誘導性T細胞共刺激分子 (ICOS)、LFA-1 (CD11a/CD18)、NKG2C、DAP-10、ICAM-1、NKP80 (KLRF1)、IL-2Rベータ、IL-2Rガンマ、IL-7Rアルファ、LFA-1、SLAMF9、LAT、GADS (GrpL)、SLP-76 (LCP2)、PAG1/CBP、CD83リガンド、Fcガンマ受容体、MHCクラス1分子、MHCクラス2分子、TNF受容体タンパク質、免疫グロブリンタンパク質、サイトカイン受容体、インテグリン、活性化NK細胞受容体、Toll様受容体及びそれらの組合せからなる群から選択される分子又はそのフラグメントを含む、請求項58に記載の方法。

【請求項60】

10

前記免疫細胞がT細胞である、請求項57に記載の方法。

【請求項61】

前記T細胞が *in vitro* に配置される、請求項60に記載の方法。

【請求項62】

前記T細胞が *in vivo* に配置される、請求項60に記載の方法。

【請求項63】

前記T細胞が血液、摘出組織、*ex vivo* で成長させた組織及び細胞培養培地の1つの中にある、請求項60に記載の方法。

【請求項64】

前記T細胞が自己T細胞である、請求項60に記載の方法。

20

【請求項65】

前記T細胞が同種異系T細胞である、請求項60に記載の方法。

【請求項66】

前記検出可能な標識が蛍光標識、フォトクロミック化合物、タンパク性蛍光標識、磁気標識、放射標識及びハプテンからなる群から選択される、請求項57に記載の方法。

【請求項67】

前記蛍光標識がAtto色素、Alexafluor色素、量子ドット、ヒドロキシクマリン、アミノクマリン、メトキシクマリン、Cascade Blue、Pacific Blue、Pacific Orange、Lucifer Yellow、NBD、R-フィコエリトリン (PE)、PE-Cy5コンジュゲート、PE-Cy7コンジュゲート、Red 613、PerCP、TruRed、FluorX、フルオレセイン、BODIPY-FL、Cy2、Cy3、Cy3B、Cy3.5、Cy5、Cy5.5、Cy7、TRITC、X-ローダミン、リサミンローダミンB、Texas Red、アロフィコシアニン (APC)、APC-Cy7コンジュゲート、Indo-1、Fluo-3、Fluo-4、DCFH、DHR、SNARF、GFP (Y66H変異)、GFP (Y66F変異)、EBFP、EBFP2、アズライト、GFPuv、T-Sapphire、Cerulean、mCFP、mTurquoise2、ECFP、CyPet、GFP (Y66W変異)、mKeima-Red、TagCFP、AmCyan1、mTFP1、GFP (S65A変異)、Midorishi Cyan、Wild Type GFP、GFP (S65C変異)、TurboGFP、TagGFP、GFP (S65L変異)、Emerald、GFP (S65T変異)、EGFP、Azami Green、ZsGreen1、TagYFP、EYFP、Topaz、Venus、mCitrine、YPet、TurboYFP、ZsYellow1、Kusabira Orange、mOrange、アロフィコシアニン (APC)、mKO、TurboRFP、tdTomato、TagRFP、DsRedモノマー、DsRed2 (「RFP」)、mStrawberry、TurboFP602、AsRed2、mRFP1、J-Red、R-フィコエリトリン (RPE)、B-フィコエリトリン (BPE)、mCherry、HcRed1、Katusha、P3、ペリジニクロロフィル (PerCP)、mKate (TagFP635)、TurboFP635、mPlum及びmRaspberryからなる群から選択される、請求項66に記載の方法。

30

40

50

【請求項 68】

前記抗原結合分子が請求項 1～23 のいずれか一項に記載の抗原結合分子及びそのヒト化形態を含む、請求項 57 に記載の方法。

【請求項 69】

G S T S G S G K P G S G E G S T K G (配列番号 1)、G S G K P G S G E G (配列番号 2)、G K P G S G E G (配列番号 3)、S G K P G S G E (配列番号 499) 及び K P G S G (配列番号 500) からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子を単離する方法であって、

(a) G S T S G S G K P G S G E G S T K G (配列番号 1)、G S G K P G S G E G (配列番号 2)、G K P G S G E G (配列番号 3)、S G K P G S G E (配列番号 499) 及び K P G S G (配列番号 500) からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子を含むことが知られている又は疑われるサンプルを準備すること、

(b) 前記選択されるアミノ酸配列を特異的に結合し、任意に検出可能な標識を含む抗原結合分子を準備すること、

(c) 前記サンプルと前記抗原結合分子とを、前記選択されるアミノ酸配列を含む分子及び該抗原結合分子を含む結合複合体の形成を可能にする条件下で接触させることと、

(d) 結合複合体の一部ではないあらゆる分子を形成される結合複合体から分離すること、及び

(e) 形成される結合複合体を (1) 前記選択されるアミノ酸配列を含む分子及び (2) 抗原結合分子に分離すること、を含む、方法。

【請求項 70】

前記選択されるアミノ酸配列を含む分子が C A R である、請求項 69 に記載の方法。

【請求項 71】

前記 C A R が C D 2、C D 3 デルタ、C D 3 イプシロン、C D 3 ガンマ、C D 4、C D 7、C D 8 α、C D 8 β、C D 11 a (I T G A L)、C D 11 b (I T G A M)、C D 11 c (I T G A X)、C D 11 d (I T G A D)、C D 18 (I T G B 2)、C D 19 (B 4)、C D 27 (T N F R S F 7)、C D 28、C D 29 (I T G B 1)、C D 30 (T N F R S F 8)、C D 40 (T N F R S F 5)、C D 48 (S L A M F 2)、C D 49 a (I T G A 1)、C D 49 d (I T G A 4)、C D 49 f (I T G A 6)、C D 66 a (C E A C A M 1)、C D 66 b (C E A C A M 8)、C D 66 c (C E A C A M 6)、C D 66 d (C E A C A M 3)、C D 66 e (C E A C A M 5)、C D 69 (C L E C 2)、C D 79 A (B 細胞抗原受容体複合体関連アルファ鎖)、C D 79 B (B 細胞抗原受容体複合体関連ベータ鎖)、C D 84 (S L A M F 5)、C D 96 (T a c t i l e)、C D 100 (S E M A 4 D)、C D 103 (I T G A E)、C D 134 (O X 40)、C D 137 (4-1 B B)、C D 150 (S L A M F 1)、C D 158 A (K I R 2 D L 1)、C D 158 B 1 (K I R 2 D L 2)、C D 158 B 2 (K I R 2 D L 3)、C D 158 C (K I R 3 D P 1)、C D 158 D (K I R D L 4)、C D 158 F 1 (K I R 2 D L 5 A)、C D 158 F 2 (K I R 2 D L 5 B)、C D 158 K (K I R 3 D L 2)、C D 160 (B Y 5 5)、C D 162 (S E L P L G)、C D 226 (D N A M 1)、C D 229 (S L A M F 3)、C D 244 (S L A M F 4)、C D 247 (C D 3-ゼータ)、C D 258 (L I G H T)、C D 268 (B A F F R)、C D 270 (T N F S F 1 4)、C D 272 (B T L A)、C D 276 (B 7-H 3)、C D 279 (P D-1)、C D 314 (N K G 2 D)、C D 319 (S L A M F 7)、C D 335 (N K-p 4 6)、C D 336 (N K-p 4 4)、C D 337 (N K-p 3 0)、C D 352 (S L A M F 6)、C D 353 (S L A M F 8)、C D 355 (C R T A M)、C D 357 (T N F R S F 1 8)、誘導性 T 細胞共刺激分子 (I C O S)、L F A-1 (C D 11 a / C D 18)、N K G 2 C、D A P-10、I C A M-1、N K p 8 0 (K L R F 1)、I L-2 R ベータ、I L-2 R ガンマ、I L-7 R アルファ、L F A-1、S L A M F 9、L A T、G A D S (G r p L)、S L P-7 6 (L C P 2)、P A G 1 / C B P、C D 83 リガン

ド、Fcガンマ受容体、MHCクラス1分子、MHCクラス2分子、TNF受容体タンパク質、免疫グロブリンタンパク質、サイトカイン受容体、インテグリン、活性化NK細胞受容体、Toll様受容体及びそれらの組合せからなる群から選択される分子又はそのフラグメントを含む、請求項70に記載の方法。

【請求項72】

前記抗原結合分子がアガロースビーズ、磁性ビーズ、プラスチックウェルプレート、ガラスウェルプレート、セラミックウェルプレート及び細胞培養バッグからなる群から選択される表面上に配置される、請求項69に記載の方法。

【請求項73】

前記検出可能な標識が蛍光標識、フォトクロミック化合物、タンパク性蛍光標識、磁気標識、放射標識及びハプテンからなる群から選択される、請求項69に記載の方法。

10

【請求項74】

前記蛍光標識がAtto色素、Alexafluor色素、量子ドット、ヒドロキシクマリン、アミノクマリン、メトキシクマリン、Cascade Blue、Pacific Blue、Pacific Orange、Lucifer Yellow、NBD、R-フィコエリトリン(PE)、PE-Cy5コンジュゲート、PE-Cy7コンジュゲート、Red 613、PerCP、TruRed、FluorX、フルオレセイン、BODIPY-FL、Cy2、Cy3、Cy3B、Cy3.5、Cy5、Cy5.5、Cy7、TRITC、X-ローダミン、リサミンローダミンB、Texas Red、アロフィコシアニン(APC)、APC-Cy7コンジュゲート、Indo-1、Fluo-3、Fluo-4、DCFH、DHR、SNARF、GFP(Y66H変異)、GFP(Y66F変異)、EBFP、EBFP2、アズライト、GFPuv、T-Sapphire、Cerulean、mCFP、mTurquoise2、ECFP、CyPet、GFP(Y66W変異)、mKeima-Red、TagCFP、AmCyan1、mTFP1、GFP(S65A変異)、Midorishi Cyan、Wild Type GFP、GFP(S65C変異)、TurboGFP、TagGFP、GFP(S65L変異)、Emerald、GFP(S65T変異)、EGFP、Azami Green、ZsGreen1、TagYFP、EYFP、Topaz、Venus、mCitrine、YPet、TurboYFP、ZsYellow1、Kusabira Orange、mOrange、アロフィコシアニン(APC)、mKO、TurboRFP、tdTomato、TagRFP、DsRedモノマー、DsRed2(「RFP」)、mStrawberry、TurboFP602、AsRed2、mRFP1、J-Red、R-フィコエリトリン(RPE)、B-フィコエリトリン(BPE)、mCherry、HcRed1、Katusha、P3、ペリジニクロロフィル(PerCP)、mKate(TagFP635)、TurboFP635、mPlum及びmRaspberryからなる群から選択される、請求項73に記載の方法。

20

30

【請求項75】

前記抗原結合分子が請求項1～23のいずれか一項に記載の抗原結合分子及びそのヒト化形態を含む、請求項69に記載の方法。

【請求項76】

40

GSTSGSGKPGSGEGSTKG(配列番号1)、GSGKPGSGEG(配列番号2)、GKPGSGEG(配列番号3)、SGKPGSGE(配列番号499)及びKPGSG(配列番号500)からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子の有無を決定する方法であって、

(a) GSTSGSGKPGSGEGSTKG(配列番号1)、GSGKPGSGEG(配列番号2)、GKPGSGEG(配列番号3)、SGKPGSGE(配列番号499)及びKPGSG(配列番号500)からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子を含むことが知られている又は疑われるサンプルを準備すること、

(b) 前記選択されるアミノ酸配列を特異的に結合し、検出可能な標識を更に含む、抗原結合分子を準備すること、

50

(c) 前記サンプルと前記抗原結合分子とを、結合複合体の形成を可能にする条件下で接触させること、

(d) 結合複合体の一部ではないあらゆる分子を形成される結合複合体から分離すること、及び

(e) 結合複合体の有無を検出することと、
を含む、方法。

【請求項 77】

前記選択されるアミノ酸配列を含む分子が CAR である、請求項 76 に記載の方法。

【請求項 78】

前記 CAR が CD 2、CD 3 デルタ、CD 3 イプシロン、CD 3 ガンマ、CD 4、CD 7、CD 8 α、CD 8 β、CD 11 a (ITGAL)、CD 11 b (ITGAM)、CD 11 c (ITGAX)、CD 11 d (ITGAD)、CD 18 (ITGB2)、CD 19 (B4)、CD 27 (TNFRSF7)、CD 28、CD 29 (ITGB1)、CD 30 (TNFRSF8)、CD 40 (TNFRSF5)、CD 48 (SLAMF2)、CD 49 a (ITGA1)、CD 49 d (ITGA4)、CD 49 f (ITGA6)、CD 66 a (CEACAM1)、CD 66 b (CEACAM8)、CD 66 c (CEACAM6)、CD 66 d (CEACAM3)、CD 66 e (CEACAM5)、CD 69 (CLEC2)、CD 79 A (B 細胞抗原受容体複合体関連アルファ鎖)、CD 79 B (B 細胞抗原受容体複合体関連ベータ鎖)、CD 84 (SLAMF5)、CD 96 (Tactile)、CD 100 (SEMA4D)、CD 103 (ITGAE)、CD 134 (OX40)、CD 137 (4-1BB)、CD 150 (SLAMF1)、CD 158 A (KIR2DL1)、CD 158 B1 (KIR2DL2)、CD 158 B2 (KIR2DL3)、CD 158 C (KIR3DP1)、CD 158 D (KIRDL4)、CD 158 F1 (KIR2DL5A)、CD 158 F2 (KIR2DL5B)、CD 158 K (KIR3DL2)、CD 160 (BY55)、CD 162 (SELP LG)、CD 226 (DNAM1)、CD 229 (SLAMF3)、CD 244 (SLAMF4)、CD 247 (CD3-ゼータ)、CD 258 (LIGHT)、CD 268 (BAFFR)、CD 270 (TNFSF14)、CD 272 (BTLA)、CD 276 (B7-H3)、CD 279 (PD-1)、CD 314 (NKG2D)、CD 319 (SLAMF7)、CD 335 (NK-p46)、CD 336 (NK-p44)、CD 337 (NK-p30)、CD 352 (SLAMF6)、CD 353 (SLAMF8)、CD 355 (CRTAM)、CD 357 (TNFRSF18)、誘導性 T 細胞共刺激分子 (ICOS)、LFA-1 (CD11a/CD18)、NKG2C、DAP-10、ICAM-1、NKp80 (KLRF1)、IL-2R ベータ、IL-2R ガンマ、IL-7R アルファ、LFA-1、SLAMF9、LAT、GADS (GrpL)、SLP-76 (LCP2)、PAG1/CBP、CD83 リガンド、Fc ガンマ受容体、MHC クラス 1 分子、MHC クラス 2 分子、TNF 受容体タンパク質、免疫グロブリンタンパク質、サイトカイン受容体、インテグリン、活性化 NK 細胞受容体、Toll 様受容体及びそれらの組合せからなる群から選択される分子又はそのフラグメントを含む、請求項 77 に記載の方法。

【請求項 79】

前記抗原結合分子がアガロースビーズ、磁性ビーズ、プラスチックウェルプレート、ガラスウェルプレート、セラミックウェルプレート及び細胞培養バッグからなる群から選択される表面上に配置される、請求項 76 に記載の方法。

【請求項 80】

前記検出可能な標識が蛍光標識、フォトクロミック化合物、タンパク性蛍光標識、磁気標識、放射標識及びハプテンからなる群から選択される、請求項 76 に記載の方法。

【請求項 81】

前記蛍光標識が Atto 色素、Alexafluor 色素、量子ドット、ヒドロキシクマリン、アミノクマリン、メトキシクマリン、Cascade Blue、Pacific Blue、Pacific Orange、Lucifer Yellow、NBD

、R-フィコエリトリン (PE)、PE-Cy5コンジュゲート、PE-Cy7コンジュゲート、Red 613、PerCP、TruRed、FluorX、フルオレセイン、BODIPY-FL、Cy2、Cy3、Cy3B、Cy3.5、Cy5、Cy5.5、Cy7、TRITC、X-ローダミン、リサミンローダミンB、Texas Red、アロフィコシアニン (APC)、APC-Cy7コンジュゲート、Indo-1、Fluo-3、Fluo-4、DCFH、DHR、SNARF、GFP (Y66H変異)、GFP (Y66F変異)、EBFP、EBFP2、アズライト、GFPuv、T-Sapphire、Cerulean、mCFP、mTurquoise2、ECFP、CyPet、GFP (Y66W変異)、mKeima-Red、TagCFP、AmCyan1、mTFP1、GFP (S65A変異)、Midorishi Cyan、Wild Type GFP、GFP (S65C変異)、TurboGFP、TagGFP、GFP (S65L変異)、Emerald、GFP (S65T変異)、EGFP、Azami Green、ZsGreen1、TagYFP、EYFP、Topaz、Venus、mCitrine、YPet、TurboYFP、ZsYellow1、Kusabira Orange、mOrange、アロフィコシアニン (APC)、mKO、TurboRFP、tdTomato、TagRFP、DsRedモノマー、DsRed2 (「RFP」)、mStrawberry、TurboFP602、AsRed2、mRFP1、J-Red、R-フィコエリトリン (RPE)、B-フィコエリトリン (BPE)、mCherry、HcRed1、Katusha、P3、ペリジニクロロフィル (PerCP)、mKate (TagFP635)、TurboFP635、mPlum及びmRaspberryからなる群から選択される、請求項80に記載の方法。

【請求項82】

前記抗原結合分子が請求項1～23のいずれか一項に記載の抗原結合分子及びそのヒト化形態を含む、請求項76に記載の方法。

【請求項83】

GSTSGSGKPGSGEGSTKG (配列番号1)、GSGKPGSGEG (配列番号2)、GKPGSGEG (配列番号3)、SGKPGSGE (配列番号499) 及びKPGSG (配列番号500) からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子を提示する細胞の濃度を増大する方法であって、

(a) GSTSGSGKPGSGEGSTKG (配列番号1)、GSGKPGSGEG (配列番号2)、GKPGSGEG (配列番号3)、SGKPGSGE (配列番号499) 及びKPGSG (配列番号500) からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子を含むことが知られている又は疑われる細胞を含むサンプルを準備すること、

(b) 前記選択されるアミノ酸配列を特異的に結合し、任意に検出可能な標識を含む抗原結合分子を準備すること、

(c) 前記サンプルと前記抗原結合分子とを、前記選択されるアミノ酸配列を含む分子及び該抗原結合分子を含む結合複合体の形成を可能にする条件下で接触させることと、

(d) 結合複合体の一部ではない任意の構成成分を除去すること、及び

(e) 工程 (a) ～ (d) を所望の回数繰り返すこと、を含む、方法。

【請求項84】

(a) 前記選択されるアミノ酸配列を含む分子がCARであり、(b) 前記細胞がCD8+T細胞、CD4+T細胞、腫瘍浸潤リンパ球 (TIL)、NK細胞、TCR発現細胞、樹状細胞及びNK-T細胞からなる群から選択される免疫細胞である、請求項83に記載の方法。

【請求項85】

前記CARがCD2、CD3デルタ、CD3イプシロン、CD3ガンマ、CD4、CD7、CD8 α 、CD8 β 、CD11a (ITGAL)、CD11b (ITGAM)、CD11c (ITGAX)、CD11d (ITGAD)、CD18 (ITGB2)、CD19 (B4)、CD27 (TNFRSF7)、CD28、CD29 (ITGB1)、CD30

(TNFRSF8)、CD40 (TNFRSF5)、CD48 (SLAMF2)、CD49a (ITGA1)、CD49d (ITGA4)、CD49f (ITGA6)、CD66a (CEACAM1)、CD66b (CEACAM8)、CD66c (CEACAM6)、CD66d (CEACAM3)、CD66e (CEACAM5)、CD69 (CLEC2)、CD79A (B細胞抗原受容体複合体関連アルファ鎖)、CD79B (B細胞抗原受容体複合体関連ベータ鎖)、CD84 (SLAMF5)、CD96 (Tactile)、CD100 (SEMA4D)、CD103 (ITGAE)、CD134 (OX40)、CD137 (4-1BB)、CD150 (SLAMF1)、CD158A (KIR2DL1)、CD158B1 (KIR2DL2)、CD158B2 (KIR2DL3)、CD158C (KIR3DP1)、CD158D (KIRDL4)、CD158F1 (KIR2DL5A)、CD158F2 (KIR2DL5B)、CD158K (KIR3DL2)、CD160 (BY55)、CD162 (SELP LG)、CD226 (DNAM1)、CD229 (SLAMF3)、CD244 (SLAMF4)、CD247 (CD3-ゼータ)、CD258 (LIGHT)、CD268 (BAFFR)、CD270 (TNFSF14)、CD272 (BTLA)、CD276 (B7-H3)、CD279 (PD-1)、CD314 (NKG2D)、CD319 (SLAMF7)、CD335 (NK-p46)、CD336 (NK-p44)、CD337 (NK-p30)、CD352 (SLAMF6)、CD353 (SLAMF8)、CD355 (CRTAM)、CD357 (TNFRSF18)、誘導性T細胞共刺激分子 (ICOS)、LFA-1 (CD11a/CD18)、NKG2C、DAP-10、ICAM-1、NKp80 (KLRF1)、IL-2Rベータ、IL-2Rガンマ、IL-7Rアルファ、LFA-1、SLAMF9、LAT、GADS (GrpL)、SLP-76 (LCP2)、PAG1/CBP、CD83リガンド、Fcガンマ受容体、MHCクラス1分子、MHCクラス2分子、TNF受容体タンパク質、免疫グロブリンタンパク質、サイトカイン受容体、インテグリン、活性化NK細胞受容体、Toll様受容体及びそれらの組合せからなる群から選択される分子又はそのフラグメントを含む、請求項84に記載の方法。

【請求項86】

前記免疫細胞がT細胞である、請求項84に記載の方法。

【請求項87】

前記T細胞が *in vitro* に配置される、請求項86に記載の方法。

【請求項88】

前記T細胞が *in vivo* に配置される、請求項86に記載の方法。

【請求項89】

前記T細胞が血液、摘出組織、*ex vivo* で成長させた組織及び細胞培養培地の1つの中にある、請求項86に記載の方法。

【請求項90】

前記T細胞が自己T細胞である、請求項86に記載の方法。

【請求項91】

前記T細胞が同種異系T細胞である、請求項86に記載の方法。

【請求項92】

前記抗原結合分子が請求項1～23のいずれか一項に記載の抗原結合分子及びそのヒト化形態を含む、請求項83に記載の方法。

【請求項93】

GSTSGSGKPGSGEGSTKG (配列番号1)、GSGKPGSGEG (配列番号2)、GKPGSGEG (配列番号3)、SGKPGSGE (配列番号499) 及びKPGSG (配列番号500) からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子を提示する免疫細胞の集団を枯渇させる方法であって、

(a) GSTSGSGKPGSGEGSTKG (配列番号1)、GSGKPGSGEG (配列番号2)、GKPGSGEG (配列番号3)、SGKPGSGE (配列番号499) 及びKPGSG (配列番号500) からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子

を発現することが知られている又は疑われる、枯渇させるべき免疫細胞の集団を準備すること、及び

(b) 前記免疫細胞と、(1) 前記選択されるアミノ酸配列を含む分子及び(2) 該選択されるアミノ酸配列を含まない該免疫細胞の表面上に提示される活性化分子に特異的に結合する抗原結合分子とを、該選択されるアミノ酸配列を含む分子、該活性化分子及び該抗原結合分子を含む三元結合複合体の形成を可能にする条件下で接触させること、を含む、方法。

【請求項 9 4】

(a) 前記アミノ酸配列を含む分子が CAR であり、(b) 前記免疫細胞が CD 8 + T 細胞、CD 4 + T 細胞、腫瘍浸潤リンパ球 (TIL)、NK 細胞、TCR 発現細胞、樹状細胞及び NK-T 細胞からなる群から選択される、請求項 9 3 に記載の方法。

【請求項 9 5】

前記 CAR が CD 2、CD 3 デルタ、CD 3 イプシロン、CD 3 ガンマ、CD 4、CD 7、CD 8 α、CD 8 β、CD 11 a (ITGAL)、CD 11 b (ITGAM)、CD 11 c (ITGAX)、CD 11 d (ITGAD)、CD 18 (ITGB2)、CD 19 (B4)、CD 27 (TNFRSF7)、CD 28、CD 29 (ITGB1)、CD 30 (TNFRSF8)、CD 40 (TNFRSF5)、CD 48 (SLAMF2)、CD 49 a (ITGA1)、CD 49 d (ITGA4)、CD 49 f (ITGA6)、CD 66 a (CEACAM1)、CD 66 b (CEACAM8)、CD 66 c (CEACAM6)、CD 66 d (CEACAM3)、CD 66 e (CEACAM5)、CD 69 (CLEC 2)、CD 79 A (B 細胞抗原受容体複合体関連アルファ鎖)、CD 79 B (B 細胞抗原受容体複合体関連ベータ鎖)、CD 84 (SLAMF5)、CD 96 (Tactile)、CD 100 (SEMA4D)、CD 103 (ITGAE)、CD 134 (OX40)、CD 137 (4-1BB)、CD 150 (SLAMF1)、CD 158 A (KIR2DL1)、CD 158 B1 (KIR2DL2)、CD 158 B2 (KIR2DL3)、CD 158 C (KIR3DP1)、CD 158 D (KIRDL4)、CD 158 F1 (KIR2DL5A)、CD 158 F2 (KIR2DL5B)、CD 158 K (KIR3DL2)、CD 160 (BY55)、CD 162 (SELP LG)、CD 226 (DNAM1)、CD 229 (SLAMF3)、CD 244 (SLAMF4)、CD 247 (CD3-ゼータ)、CD 258 (LIGHT)、CD 268 (BAFFR)、CD 270 (TNFSF14)、CD 272 (BTLA)、CD 276 (B7-H3)、CD 279 (PD-1)、CD 314 (NKG2D)、CD 319 (SLAMF7)、CD 335 (NK-p46)、CD 336 (NK-p44)、CD 337 (NK-p30)、CD 352 (SLAMF6)、CD 353 (SLAMF8)、CD 355 (CRTAM)、CD 357 (TNFRSF18)、誘導性 T 細胞共刺激分子 (ICOS)、LFA-1 (CD11a/CD18)、NKG2C、DAP-10、ICAM-1、NKp80 (KLRF1)、IL-2R ベータ、IL-2R ガンマ、IL-7R アルファ、LFA-1、SLAMF9、LAT、GADS (GrpL)、SLP-76 (LCP2)、PAG1/CBP、CD83 リガンド、Fc ガンマ受容体、MHC クラス 1 分子、MHC クラス 2 分子、TNF 受容体タンパク質、免疫グロブリンタンパク質、サイトカイン受容体、インテグリン、活性化 NK 細胞受容体、Toll 様受容体及びそれらの組合せからなる群から選択される分子又はそのフラグメントを含む、請求項 9 4 に記載の方法。

【請求項 9 6】

前記免疫細胞が T 細胞である、請求項 9 4 に記載の方法。

【請求項 9 7】

前記 T 細胞が *in vitro* に配置される、請求項 9 6 に記載の方法。

【請求項 9 8】

前記 T 細胞が *in vivo* に配置される、請求項 9 6 に記載の方法。

【請求項 9 9】

前記 T 細胞が血液、摘出組織、*ex vivo* で成長させた組織及び細胞培養培地の 1

10

20

30

40

50

つの中にある、請求項 96 に記載の方法。

【請求項 100】

前記 T 細胞が自己 T 細胞である、請求項 96 に記載の方法。

【請求項 101】

前記 T 細胞が同種異系 T 細胞である、請求項 96 に記載の方法。

【請求項 102】

前記抗原結合分子が請求項 1～23 のいずれか一項に記載の抗原結合分子及びそのヒト化形態を含む、請求項 93 に記載の方法。

【請求項 103】

G S T S G S G K P G S G E G S T K G (配列番号 1)、G S G K P G S G E G (配列番号 2)、G K P G S G E G (配列番号 3)、S G K P G S G E (配列番号 499) 及び K P G S G (配列番号 500) からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子を提示する細胞の集団の *in vivo* 分布をモニタリングする方法。 10

【請求項 104】

前記細胞の集団が CAR 細胞である、請求項 103 に記載の方法。

【請求項 105】

抗原結合分子を準備する工程、及び
陽電子放出断層撮影 (PET) スキャンを行う工程、
を含む、請求項 103 又は 104 に記載の方法。

【請求項 106】 20

前記抗原結合分子が前記 CAR 細胞を *in vivo* で刺激する又は枯渇させる、請求項 105 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

[関連出願の相互参照]

本願は、2016 年 7 月 12 日付で出願された米国仮特許出願第 62/361,420 号及び 2016 年 11 月 1 日付で出願された米国仮特許出願第 62/415,786 号の優先権を主張し、各々の全体が引用することにより本明細書の一部をなす。

【0002】 30

[配列表]

本願は、ASCII フォーマットで電子的に提出された配列表を含み、その全体が引用することにより本明細書の一部をなす。2017 年 7 月 10 日付けで作製された上記 ASCII コピーの名前は K1033_03_SL.txt であり、571539 バイトのサイズである。

【0003】

本開示は、配列 G S T S G S G K P G S G E G S T K G (配列番号 1) 及びその部分配列、特に G S G K P G S G E G (配列番号 2)、G K P G S G E G (配列番号 3)、S G K P G S G E (配列番号 499) 及び／又は K P G S G (配列番号 500)、これらの配列を含む分子並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗体等の抗原結合分子、かかる抗原結合分子をコードするポリヌクレオチド、並びに抗原結合分子のヒト化形態に関する。抗原結合分子を使用する方法も開示する。 40

【背景技術】

【0004】

抗体を含む抗原結合分子は免疫療法、並びにバイオセンサー、アフィニティークロマトグラフィー及びイムノアッセイ等の固相ベースの用途に使用される。これらの抗体及び抗原結合分子は、それらの標的を特異的に結合する能力のために有用性を得る。

【0005】

バイオテクノロジー及び生物療法用途に用いられる場合にペプチドベースであることが多いリンカー配列は、様々な科学的に関連した用途に役立つ可能性がある。例えば、リン 50

カーは単に、より大きな分子に対して所望の構造特性及び／又は機能特性を与えるためにスパーサー部分として使用することができる。別の例では、リンカーは、より大きな分子に対して構造特性又は機能特性を殆ど又は全く与えることができないが、単により大きな分子を独自に特定する特徴的な特徴部（例えば、「マーカー」又は「バイオマーカー」又は「タグ」）として使用することができる。更に別の例では、リンカーは、リンカー配列を含むより大きな分子に対する抗体の結合部位として働くことができる認識可能な特徴部を与えるために使用することができる。

【0006】

リンカー配列がより大きな分子の特徴的な、検出可能な又は識別可能な特徴部として使用される場合、より大きな分子中に存在する他の配列を除くリンカー配列を特異的に結合する抗体である抗体が検出剤として働くことができる。かかる抗体は、或る特定の条件下で検出可能な部分で標識することができる。かかる抗体の付加的な用途としては、リンカーを含む分子の精製及び単離、特定の状況における分子の特性化、リンカーを含む及び／又は提示する分子の集団の濃度の富化、並びに治療用途も挙げられる。

【0007】

1993年に、Whitlow et al.がアミノ酸配列GSTSGSGKPGSGEGSTKG（配列番号1）を含む合成リンカーペプチドを開示している（非特許文献1）。開示のペプチドはscFvの構成成分として研究され、これまでのリンカーペプチドにおいて同定されたタンパク質分解部位を除去するように設計された。Whitlow et al.は、この新たに設計された合成リンカーペプチドが、その配列がベースとする以前のリンカーペプチドと比較した場合にin vitroでタンパク質分解に対してより安定しており、更には同じ以前のリンカーと比較して少ない凝集を示すと結論付けた。Whitlow et al.は、それらの第二世代リンカーペプチドに対する任意の抗原結合分子は開示していない。

【0008】

配列GSTSGSGKPGSGEGSTKG（配列番号1）及びその部分配列、特にGSTSGKPGSGEG（配列番号2）、GKPGSGEG（配列番号3）、SGKPGSGEG（配列番号499）及び／又はKPGSG（配列番号500）、これらの配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞を特異的に結合する抗体を含む抗原結合分子が本明細書に開示される。抗原結合分子のヒト化形態も提供される。その適用及び使用も開示される。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0009】

【非特許文献1】Whitlow et al., (1993) Prot. Eng. 6(8):989-95

【発明の概要】

【0010】

GSTSGSGKPGSGEGSTKG（配列番号1）、GSTSGKPGSGEG（配列番号2）、GKPGSGEG（配列番号3）、SGKPGSGEG（配列番号499）及びKPGSG（配列番号500）からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子に特異的に結合する単離抗原結合分子が提供される。様々な実施の形態では、抗原結合分子は、抗体、scFv、Fab、Fab'、Fv、F(ab')₂、dAb、非ヒト抗体（例えば、ウサギ）、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、組み換え抗体、IgE抗体、IgD抗体、IgM抗体、IgG1抗体、ヒンジ領域中に少なくとも1つの変異を有するIgG1抗体、IgG2抗体、ヒンジ領域中に少なくとも1つの変異を有するIgG2抗体、IgG3抗体、ヒンジ領域中に少なくとも1つの変異を有するIgG1抗体、IgG4抗体、ヒンジ領域中に少なくとも1つの変異を有するIgG4抗体、少なくとも1つの非自然発生アミノ酸を含む抗体及びそれらの任意の組合せからなる群から選択される。特定の実施の形態では、抗原結合分子は、抗体を含む。

【0011】

様々な実施の形態では、抗原結合分子は、重鎖（HC）を含み、幾つかの実施の形態では、HCは、配列番号5及び配列番号17からなる群から選択される重鎖可変領域（VH）配列を含む。他の実施の形態では、可変領域（VH）は、（a）CDR1、（b）CDR2及び（c）CDR3の1つ以上を含む。幾つかの実施の形態では、抗原結合分子は、配列番号7及び配列番号19からなる群から選択される重鎖CDR1を含み、他の実施の形態では、抗原結合分子は、配列番号8及び配列番号20からなる群から選択される重鎖CDR2を含み、更なる他の実施の形態では、抗原結合分子は、配列番号9及び配列番号21からなる群から選択される重鎖CDR3を含む。様々な実施の形態では、抗原結合分子は、重鎖CDR1、重鎖CDR2及び重鎖CDR3を含み、各CDRが図6及び図8に示されるアミノ酸配列を含み、更なる実施の形態では、抗原結合分子は、本明細書、例えば添付の配列表並びに図6及び図8で提供される抗原結合分子のVHに対して少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%又は約100%同一のVHアミノ酸配列を含む。

10

【0012】

様々な実施の形態では、抗原結合分子は、軽鎖（LC）を含み、幾つかの実施の形態では、抗原結合分子は、LCは、配列番号11及び配列番号23からなる群から選択される軽鎖可変領域（VL）配列を含む。他の実施の形態では、可変領域（VL）は、（a）CDR1、（b）CDR2及び（c）CDR3の1つ以上を含む。幾つかの実施の形態では、抗原結合分子は、配列番号13及び配列番号25からなる群から選択される軽鎖CDR1を含み、他の実施の形態では、抗原結合分子は、配列番号14及び配列番号26からなる群から選択される軽鎖CDR2を含み、更なる他の実施の形態では、抗原結合分子は、配列番号15及び配列番号27からなる群から選択される軽鎖CDR3を含む。様々な実施の形態では、抗原結合分子は、軽鎖CDR1、軽鎖CDR2及び軽鎖CDR3を含み、各CDRが図6及び図8に示されるアミノ酸配列を含み、更なる実施の形態では、抗原結合分子は、本明細書、例えば添付の配列表並びに図6及び図8で提供される抗原結合分子のVLに対して少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%又は約100%同一のVLアミノ酸配列を含む。

20

30

【0013】

特定の実施の形態では、抗原結合分子は、（a）配列番号5のアミノ酸配列を含むVH；及び（b）配列番号11のアミノ酸配列を含むVLを含む。更に特定の実施の形態では、抗原結合分子は、（a）配列番号7のアミノ酸配列を含むVH CDR1領域；（b）配列番号8のアミノ酸配列を含むVH CDR2領域；（c）配列番号9のアミノ酸配列を含むVH CDR3領域；（d）配列番号13のアミノ酸配列を含むVL CDR1領域；（e）配列番号14のアミノ酸配列を含むVL CDR2領域；及び（f）配列番号15のアミノ酸配列を含むVL CDR3領域を含む。

【0014】

特定の実施の形態では、抗原結合分子は、（a）配列番号17のアミノ酸配列を含むVH；及び（b）配列番号23のアミノ酸配列を含むVLを含む。更に特定の実施の形態では、抗原結合分子は、（a）配列番号19のアミノ酸配列を含むVH CDR1領域；（b）配列番号20のアミノ酸配列を含むVH CDR2領域；（c）配列番号21のアミノ酸配列を含むVH CDR3領域；（d）配列番号25のアミノ酸配列を含むVL CDR1領域；（e）配列番号26のアミノ酸配列を含むVL CDR2領域；及び（f）配列番号27のアミノ酸配列を含むVL CDR3領域を含む。

40

【0015】

幾つかの実施の形態では、本明細書で提供される抗原結合分子は、蛍光標識、フォトクロミック化合物、タンパク性蛍光標識、磁気標識、放射標識及びハプテンからなる群から選択することができる検出可能な標識を更に含む。特定の実施の形態では、検出可能な標

50

識は、蛍光標識であり、Atto色素、Alexafluor色素、量子ドット、ヒドロキシクマリン、アミノクマリン、メトキシクマリン、Cascade Blue、Pacific Blue、Pacific Orange、Lucifer Yellow、NBD、R-フィコエリトリン (PE)、PE-Cy5コンジュゲート、PE-Cy7コンジュゲート、Red 613、PerCP、TruRed、FluorX、フルオレセイン、BODIPY-FL、Cy2、Cy3、Cy3B、Cy3.5、Cy5、Cy5.5、Cy7、TRITC、X-ローダミン、リサミンローダミンB、Texas Red、アロフィコシアニン (APC)、APC-Cy7コンジュゲート、Indo-1、Fluo-3、Fluo-4、DCFH、DHR、SNARF、GFP (Y66H変異)、GFP (Y66F変異)、EBFP、EBFP2、アズライト、GFPuv、T-Sapphire、Cerulean、mCFP、mTurquoise2、ECFP、Cypet、GFP (Y66W変異)、mKeima-Red、TagCFP、AmCyan1、mTFP1、GFP (S65A変異)、Midorishi Cyan、Wild Type GFP、GFP (S65C変異)、TurboGFP、TagGFP、GFP (S65L変異)、Emerald、GFP (S65T変異)、EGFP、Azami Green、ZsGreen1、TagYFP、EYFP、Topaz、Venus、mCitrine、YPet、TurboYFP、ZsYellow1、Kusabira Orange、mOrange、アロフィコシアニン (APC)、mKO、TurboRFP、tdTomato、TagRFP、DsRedモノマー、DsRed2 (「RFP」)、mStrawberry、TurboFP602、AsRed2、mRFP1、J-Red、R-フィコエリトリン (RPE)、B-フィコエリトリン (BPE)、mCherry、HcRed1、Katusha、P3、ペリジニクロロフィル (PerCP)、mKate (TagFP635)、TurboFP635、mPlum及びmRaspberryからなる群から選択される。

【0016】

抗原結合分子を含む組成物、抗原結合分子の重鎖をコードするポリヌクレオチド及び抗原結合分子の軽鎖をコードするポリヌクレオチドも提供される。ポリヌクレオチドを含むベクター及びかかるベクターを含む細胞が本開示の付加的な態様を形成する。様々な実施の形態において、細胞はCHO細胞、Sp2/O細胞、ウサギ細胞、他の哺乳動物細胞、酵母細胞、又は大腸菌 (E. coli) 細胞等の細菌細胞からなる群から選択することができる。細胞を好適な条件下でインキュベートすることを含み得る、本明細書に開示される抗原結合分子を作製する方法も提供される。

【0017】

別の態様では、GSTSGSGKPGSGEGSTKG (配列番号1)、GSGKPGSGEG (配列番号2)、GKPGSGEG (配列番号3)、SGKPGSGE (配列番号499) 及びKPGSG (配列番号500) からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む治療用分子を提示する予め選択される数の細胞を含む用量の薬剤を被験体に投与する方法が提供される。1つの実施の形態では、上記方法は、(a) GSTSGSGKPGSGEGSTKG (配列番号1)、GSGKPGSGEG (配列番号2)、GKPGSGEG (配列番号3)、SGKPGSGE (配列番号499) 及びKPGSG (配列番号500) からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む治療用分子を発現することが知られている又は疑われる、既知の数の細胞を含む集団を含む既知の容量のサンプルを準備することと、(b) 選択されるアミノ酸配列を含む分子を提示する細胞の集団を含むサンプルのアリコートを準備することと、(c) 選択されるアミノ酸配列を特異的に結合し、検出可能な標識を含む抗原結合分子を準備することと、(d) (b) のアリコートと (c) の抗原結合分子とを、サンプル中に存在する細胞及び該抗原結合分子を含む結合複合体の形成を可能にする条件下で接触させることと、(e) アリコート中の (d) の結合複合体に存在する細胞の割合 (fraction) を決定することと、(f) (e) において決定された細胞の割合に基づいて、サンプル中の選択されるアミノ酸配列を含む分子を提示する細胞の濃度を決定することと、(g) 選択される数の細胞を含むサンプルの容量を決定することと

、(h)(g)において決定された容量のサンプルを被験体に投与することを含む。

【0018】

幾つかの実施の形態では、(a)治療用分子がCARであり、(b)細胞がCD8+T細胞、CD4+T細胞、腫瘍浸潤リンパ球(TIL)、NK細胞、TCR発現細胞、樹状細胞及びNK-T細胞からなる群から選択される免疫細胞である。特定の実施の形態では、CARは、CD2、CD3デルタ、CD3イプシロン、CD3ガンマ、CD4、CD7、CD8 α 、CD8 β 、CD11a(ITGAL)、CD11b(ITGAM)、CD11c(ITGAX)、CD11d(ITGAD)、CD18(ITGB2)、CD19(B4)、CD27(TNFRSF7)、CD28、CD29(ITGB1)、CD30(TNFRSF8)、CD40(TNFRSF5)、CD48(SLAMF2)、CD49a(ITGA1)、CD49d(ITGA4)、CD49f(ITGA6)、CD66a(CEACAM1)、CD66b(CEACAM8)、CD66c(CEACAM6)、CD66d(CEACAM3)、CD66e(CEACAM5)、CD69(CLEC2)、CD79A(B細胞抗原受容体複合体関連アルファ鎖)、CD79B(B細胞抗原受容体複合体関連ベータ鎖)、CD84(SLAMF5)、CD96(Tactile)、CD100(SEMA4D)、CD103(ITGAE)、CD134(OX40)、CD137(4-1BB)、CD150(SLAMF1)、CD158A(KIR2DL1)、CD158B1(KIR2DL2)、CD158B2(KIR2DL3)、CD158C(KIR3DP1)、CD158D(KIRDL4)、CD158F1(KIR2DL5A)、CD158F2(KIR2DL5B)、CD158K(KIR3DL2)、CD160(BY55)、CD162(SELPLG)、CD226(DNAM1)、CD229(SLAMF3)、CD244(SLAMF4)、CD247(CD3-ゼータ)、CD258(LIGHT)、CD268(BAFFR)、CD270(TNFSF14)、CD272(BTLA)、CD276(B7-H3)、CD279(PD-1)、CD314(NKG2D)、CD319(SLAMF7)、CD335(NK-p46)、CD336(NK-p44)、CD337(NK-p30)、CD352(SLAMF6)、CD353(SLAMF8)、CD355(CRTAM)、CD357(TNFRSF18)、誘導性T細胞共刺激分子(ICOS)、LFA-1(CD11a/CD18)、NKG2C、DAP-10、ICAM-1、NKp80(KLRP1)、IL-2Rベータ、IL-2Rガンマ、IL-7Rアルファ、LFA-1、SLAMF9、LAT、GADS(GrpL)、SLP-76(LCP2)、PAG1/CBP、CD83リガンド、Fcガンマ受容体、MHCクラス1分子、MHCクラス2分子、TNF受容体タンパク質、免疫グロブリンタンパク質、サイトカイン受容体、インテグリン、活性化NK細胞受容体、Toll様受容体及びそれらの組合せからなる群から選択される分子又はそのフラグメントを含む。幾つかの実施の形態では、免疫細胞は、*in vitro*又は*in vivo*に配置されていてもよく、血液、摘出組織、*ex vivo*で成長させた組織及び細胞培養培地の1つの中にあってもよいT細胞である。T細胞は自己T細胞又は同種異系T細胞であり得る。幾つかの実施の形態では、上記用量は被験体の1キログラム当たり0.5 $\times 10^6$ 個の細胞、被験体の1キログラム当たり1.0 $\times 10^6$ 個の細胞、被験体の1キログラム当たり2.0 $\times 10^6$ 個の細胞、被験体の1キログラム当たり3.0 $\times 10^6$ 個の細胞、被験体の1キログラム当たり4.0 $\times 10^6$ 個の細胞又は被験体の1キログラム当たり5.0 $\times 10^6$ 個の細胞を含む。特定の実施の形態では、上記用量は、1kg当たり1.0 $\times 10^6$ 個の細胞を含む。他の実施の形態では、検出可能な標識は、蛍光標識、フォトクロミック化合物、タンパク性蛍光標識、磁気標識、放射標識及びハプテンからなる群から選択される。検出可能な標識が蛍光標識である場合、蛍光標識は、Atto色素、Alexafluor色素、量子ドット、ヒドロキシクマリン、アミノクマリン、メトキシクマリン、Cascade Blue、Pacific Blue、Pacific Orange、Lucifer Yellow、NBD、R-フィコエリトリン(PE)、PE-Cy5コンジュゲート、PE-Cy7コンジュゲート、Red 613、PerCP、TruRed、FluorX、フルオレセイン、BODIPY-FL、Cy

2、Cy3、Cy3B、Cy3.5、Cy5、Cy5.5、Cy7、TRITC、X-ローダミン、リサミンローダミンB、Texas Red、アロフィコシアニン (APC)、APC-Cy7コンジュゲート、Indo-1、Fluo-3、Fluo-4、DCFH、DHR、SNARF、GFP (Y66H変異)、GFP (Y66F変異)、EBFP、EBFP2、アズライト、GFPuv、T-Sapphire、Cerulean、mCFP、mTurquoise2、ECFP、CyPet、GFP (Y66W変異)、mKeima-Red、TagCFP、AmCyan1、mTFP1、GFP (S65A変異)、Midorishi Cyan、Wild Type GFP、GFP (S65C変異)、TurboGFP、TagGFP、GFP (S65L変異)、Emerald、GFP (S65T変異)、EGFP、Azami Green、ZsGreen1、TagYFP、EYFP、Topaz、Venus、mCitrine、YPet、TurboYFP、ZsYellow1、Kusabira Orange、mOrange、アロフィコシアニン (APC)、mKO、TurboRFP、tdTomato、TagRFP、DsRedモノマー、DsRed2 (「RFP」)、mStrawberry、TurboFP602、AsRed2、mRFP1、J-Red、R-フィコエリトリン (RPE)、B-フィコエリトリン (BPE)、mCherry、HcRed1、Katusha、P3、ペリジニクロロフィル (PerCP)、mKate (TagFP635)、TurboFP635、mPlum及びmRaspberryからなる群から選択することができる。また更なる実施の形態では、抗原結合分子はヒト化抗原結合分子である。

10

20

【0019】

別の態様では、GSTSGSGKPGSGEGSTKG (配列番号1)、GSGKPGSGEG (配列番号2)、GKPGSGEG (配列番号3)、SGKPGSGE (配列番号499) 及びKPGSG (配列番号500) からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子を発現する免疫細胞を活性化する方法が提供される。1つの実施の形態では、上記方法は、(a) GSTSGSGKPGSGEGSTKG (配列番号1)、GSGKPGSGEG (配列番号2)、GKPGSGEG (配列番号3)、SGKPGSGE (配列番号499) 及びKPGSG (配列番号500) からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子を発現することが知られている又は疑われる免疫細胞を含むサンプルを準備することと、(b) 抗原結合分子とサンプルとを、該抗原結合分子及び選択されるアミノ酸配列を含む2つの分子を含み、該選択されるアミノ酸配列を含む分子が2つの異なる免疫細胞上に配置される結合複合体の形成を可能にする条件下で接触させることとを含む。

30

【0020】

幾つかの実施の形態では、免疫細胞は、CD8+T細胞、CD4+T細胞、腫瘍浸潤リンパ球 (TIL)、NK細胞、TCR発現細胞、樹状細胞及びNK-T細胞からなる群から選択される。特定の実施の形態では、GSTSGSGKPGSGEGSTKG (配列番号1)、GSGKPGSGEG (配列番号2)、GKPGSGEG (配列番号3)、SGKPGSGE (配列番号499) 及びKPGSG (配列番号500) からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子は、CARである。更なる実施の形態では、CARは、CD2、CD3デルタ、CD3イプシロン、CD3ガンマ、CD4、CD7、CD8α、CD8β、CD11a (ITGAL)、CD11b (ITGAM)、CD11c (ITGAX)、CD11d (ITGAD)、CD18 (ITGB2)、CD19 (B4)、CD27 (TNFRSF7)、CD28、CD29 (ITGB1)、CD30 (TNFRSF8)、CD40 (TNFRSF5)、CD48 (SLAMF2)、CD49a (ITGA1)、CD49d (ITGA4)、CD49f (ITGA6)、CD66a (CEACAM1)、CD66b (CEACAM8)、CD66c (CEACAM6)、CD66d (CEACAM3)、CD66e (CEACAM5)、CD69 (CLEC2)、CD79A (B細胞抗原受容体複合体関連アルファ鎖)、CD79B (B細胞抗原受容体複合体関連ベータ鎖)、CD84 (SLAMF5)、CD96 (Tactile)、CD100 (SEMA4D)、CD103 (ITGAE)、CD134 (OX40)、CD137 (4-

40

50

1BB)、CD150 (SLAMF1)、CD158A (KIR2DL1)、CD158B1 (KIR2DL2)、CD158B2 (KIR2DL3)、CD158C (KIR3DP1)、CD158D (KIRDL4)、CD158F1 (KIR2DL5A)、CD158F2 (KIR2DL5B)、CD158K (KIR3DL2)、CD160 (BY55)、CD162 (SELP LG)、CD226 (DNAM1)、CD229 (SLAMF3)、CD244 (SLAMF4)、CD247 (CD3-ゼータ)、CD258 (LIGHT)、CD268 (BAFFR)、CD270 (TNFSF14)、CD272 (BTLA)、CD276 (B7-H3)、CD279 (PD-1)、CD314 (NKG2D)、CD319 (SLAMF7)、CD335 (NK-p46)、CD336 (NK-p44)、CD337 (NK-p30)、CD352 (SLAMF6)、CD353 (SLAMF8)、CD355 (CRTAM)、CD357 (TNFRSF18)、誘導性T細胞共刺激分子 (ICOS)、LFA-1 (CD11a/CD18)、NKG2C、DAP-10、ICAM-1、NKp80 (KLRF1)、IL-2Rベータ、IL-2Rガンマ、IL-7Rアルファ、LFA-1、SLAMF9、LAT、GADS (GrpL)、SLP-76 (LCP2)、PAG1/CBP、CD83リガンド、Fcガンマ受容体、MHCクラス1分子、MHCクラス2分子、TNF受容体タンパク質、免疫グロブリンタンパク質、サイトカイン受容体、インテグリン、活性化NK細胞受容体、Toll様受容体及びそれらの組合せからなる群から選択される分子又はそのフラグメントを含む。幾つかの実施の形態では、免疫細胞は、*in vitro*又は*in vivo*に配置されていてもよく、血液、摘出組織、*ex vivo*で成長させた組織及び細胞培養培地の1つの中にあってもよいT細胞である。T細胞は自己T細胞又は同種異系T細胞であり得る。また更なる実施の形態では、抗原結合分子はヒト化抗原結合分子である。

【0021】

別の態様では、サンプル中のGSTSGSGKPGSGEGSTKG (配列番号1)、SGSGKPGSGEG (配列番号2)、GKPGSGEG (配列番号3)、SGKPGSGE (配列番号499)及びKPGSG (配列番号500)からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子を提示する細胞の数を決定する方法が提供される。1つの実施の形態では、上記方法は、(a) GSTSGSGSGKPGSGEGSTKG (配列番号1)、SGSGKPGSGEG (配列番号2)、GKPGSGEG (配列番号3)、SGKPGSGE (配列番号499)及びKPGSG (配列番号500)からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子を提示することが知られている又は疑われる細胞を含むサンプルを準備することと、(b) (a)のサンプルと、選択されるアミノ酸配列を特異的に結合し、検出可能な標識を含む抗原結合分子とを、サンプル中に存在する細胞及び該抗原結合分子を含む結合複合体の形成を可能にする条件下で接触させることと、(c) サンプル中の(b)の結合複合体に存在する細胞の数を決定することを含む。

【0022】

幾つかの実施の形態では、GSTSGSGSGKPGSGEGSTKG (配列番号1)、SGSGKPGSGEG (配列番号2)及びGKPGSGEG (配列番号3)、SGKPGSGE (配列番号499)及びKPGSG (配列番号500)からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子は、CARである。特定の実施の形態では、CARは、CD2、CD3デルタ、CD3イプシロン、CD3ガンマ、CD4、CD7、CD8 α 、CD8 β 、CD11a (ITGAL)、CD11b (ITGB2)、CD11c (ITGAX)、CD11d (ITGAD)、CD18 (ITGB2)、CD19 (B4)、CD27 (TNFRSF7)、CD28、CD29 (ITGB1)、CD30 (TNFRSF8)、CD40 (TNFRSF5)、CD48 (SLAMF2)、CD49a (ITGA1)、CD49d (ITGA4)、CD49f (ITGA6)、CD66a (CEACAM1)、CD66b (CEACAM8)、CD66c (CEACAM6)、CD66d (CEACAM3)、CD66e (CEACAM5)、CD69 (CLEC2)、CD79A (B細胞抗原受容体複合体関連アルファ鎖)、CD79B (B細胞抗原受容体複合体関連ベータ鎖)、CD84 (SLAMF5)、CD96 (Tactile)、CD100 (SEMA4

D)、CD103 (ITGAE)、CD134 (OX40)、CD137 (4-1BB)、CD150 (SLAMF1)、CD158A (KIR2DL1)、CD158B1 (KIR2DL2)、CD158B2 (KIR2DL3)、CD158C (KIR3DP1)、CD158D (KIRDL4)、CD158F1 (KIR2DL5A)、CD158F2 (KIR2DL5B)、CD158K (KIR3DL2)、CD160 (BY55)、CD162 (SELP LG)、CD226 (DNAM1)、CD229 (SLAMF3)、CD244 (SLAMF4)、CD247 (CD3-ゼータ)、CD258 (LIGHT)、CD268 (BAFFR)、CD270 (TNFSF14)、CD272 (BTLA)、CD276 (B7-H3)、CD279 (PD-1)、CD314 (NKG2D)、CD319 (SLAMF7)、CD335 (NK-p46)、CD336 (NK-p44)、CD337 (NK-p30)、CD352 (SLAMF6)、CD353 (SLAMF8)、CD355 (CRTAM)、CD357 (TNFRSF18)、誘導性T細胞共刺激分子 (ICOS)、LFA-1 (CD11a/CD18)、NKG2C、DAP-10、ICAM-1、NKp80 (KLRF1)、IL-2Rベータ、IL-2Rガンマ、IL-7Rアルファ、LFA-1、SLAMF9、LAT、GADS (GrpL)、SLP-76 (LCP2)、PAG1/CBP、CD83リガンド、Fcガンマ受容体、MHCクラス1分子、MHCクラス2分子、TNF受容体タンパク質、免疫グロブリンタンパク質、サイトカイン受容体、インテグリン、活性化NK細胞受容体、Toll様受容体及びそれらの組合せからなる群から選択される分子又はそのフラグメントを含む。他の実施の形態では、細胞はCD8+T細胞、CD4+T細胞、腫瘍浸潤リンパ球 (TIL)、NK細胞、TCR発現細胞、樹状細胞及びNK-T細胞からなる群から選択される免疫細胞である。幾つかの実施の形態では、細胞は、*in vitro*又は*in vivo*に配置されていてもよく、血液、摘出組織、*ex vivo*で成長させた組織及び細胞培養培地の1つの中にあってもよいT細胞である。T細胞は自己T細胞又は同種異系T細胞であり得る。また更なる実施の形態では、抗原結合分子はヒト化抗原結合分子である。

【0023】

別の態様では、GSTSGSGKPGSGEGSTKG (配列番号1)、GSGKPGSGEG (配列番号2)、GKPGSGEG (配列番号3)、SGKPGSGE (配列番号499) 及びKPGSG (配列番号500) からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子を単離する方法が提供される。分子は、選択されるアミノ酸をN末端、C末端、ドメイン間、ループ中、又は構造を分断しても若しくは分断しなくてもよい分子中の任意の場所に含むことができる。1つの実施の形態では、上記方法は、(a) GSTSGSGKPGSGEGSTKG (配列番号1)、GSGKPGSGEG (配列番号2)、GKPGSGEG (配列番号3)、SGKPGSGE (配列番号499) 及びKPGSG (配列番号500) からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子を含むことが知られている又は疑われるサンプルを準備することと、(b) 選択されるアミノ酸配列を特異的に結合し、任意に検出可能な標識を含む抗原結合分子を準備することと、(c) サンプルと抗原結合分子とを、選択されるアミノ酸配列を含む分子及び該抗原結合分子を含む結合複合体の形成を可能にする条件下で接触させることと、(d) 結合複合体の一部ではないあらゆる分子を形成される結合複合体から分離することと、(e) 形成される結合複合体を(1) 選択されるアミノ酸配列を含む分子及び(2) 抗原結合分子に分離することを含む。

【0024】

幾つかの実施の形態では、GSTSGSGKPGSGEGSTKG (配列番号1)、GSGKPGSGEG (配列番号2)、GKPGSGEG (配列番号3)、SGKPGSGE (配列番号499) 及びKPGSG (配列番号500) からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子はCARである。特定の実施の形態では、CARは、CD2、CD3デルタ、CD3イプシロン、CD3ガンマ、CD4、CD7、CD8 α 、CD8 β 、CD11a (ITGAL)、CD11b (ITGAM)、CD11c (ITGAX)、CD11d (ITGAD)、CD18 (ITGB2)、CD19 (B4)、CD27 (TNFR

S F 7)、CD 2 8、CD 2 9 (I T G B 1)、CD 3 0 (T N F R S F 8)、CD 4 0 (T N F R S F 5)、CD 4 8 (S L A M F 2)、CD 4 9 a (I T G A 1)、CD 4 9 d (I T G A 4)、CD 4 9 f (I T G A 6)、CD 6 6 a (C E A C A M 1)、CD 6 6 b (C E A C A M 8)、CD 6 6 c (C E A C A M 6)、CD 6 6 d (C E A C A M 3)、CD 6 6 e (C E A C A M 5)、CD 6 9 (C L E C 2)、CD 7 9 A (B 細胞抗原受容体複合体関連アルファ鎖)、CD 7 9 B (B 細胞抗原受容体複合体関連ベータ鎖)、CD 8 4 (S L A M F 5)、CD 9 6 (T a c t i l e)、CD 1 0 0 (S E M A 4 D)、CD 1 0 3 (I T G A E)、CD 1 3 4 (O X 4 0)、CD 1 3 7 (4 - 1 B B)、CD 1 5 0 (S L A M F 1)、CD 1 5 8 A (K I R 2 D L 1)、CD 1 5 8 B 1 (K I R 2 D L 2)、CD 1 5 8 B 2 (K I R 2 D L 3)、CD 1 5 8 C (K I R 3 D P 1)、CD 1 5 8 D (K I R D L 4)、CD 1 5 8 F 1 (K I R 2 D L 5 A)、CD 1 5 8 F 2 (K I R 2 D L 5 B)、CD 1 5 8 K (K I R 3 D L 2)、CD 1 6 0 (B Y 5 5)、CD 1 6 2 (S E L P L G)、CD 2 2 6 (D N A M 1)、CD 2 2 9 (S L A M F 3)、CD 2 4 4 (S L A M F 4)、CD 2 4 7 (C D 3 - ゼータ)、CD 2 5 8 (L I G H T)、CD 2 6 8 (B A F F R)、CD 2 7 0 (T N F S F 1 4)、CD 2 7 2 (B T L A)、CD 2 7 6 (B 7 - H 3)、CD 2 7 9 (P D - 1)、CD 3 1 4 (N K G 2 D)、CD 3 1 9 (S L A M F 7)、CD 3 3 5 (N K - p 4 6)、CD 3 3 6 (N K - p 4 4)、CD 3 3 7 (N K - p 3 0)、CD 3 5 2 (S L A M F 6)、CD 3 5 3 (S L A M F 8)、CD 3 5 5 (C R T A M)、CD 3 5 7 (T N F R S F 1 8)、誘導性 T 細胞共刺激分子 (I C O S)、L F A - 1 (C D 1 1 a / C D 1 8)、N K G 2 C、D A P - 1 0、I C A M - 1、N K p 8 0 (K L R F 1)、I L - 2 R ベータ、I L - 2 R ガンマ、I L - 7 R アルファ、L F A - 1、S L A M F 9、L A T、G A D S (G r p L)、S L P - 7 6 (L C P 2)、P A G 1 / C B P、CD 8 3 リガンド、F c ガンマ受容体、M H C クラス 1 分子、M H C クラス 2 分子、T N F 受容体タンパク質、免疫グロブリンタンパク質、サイトカイン受容体、インテグリン、活性化 N K 細胞受容体、T o l l 様受容体及びそれらの組合せからなる群から選択される分子又はそのフラグメントを含む。他の実施の形態では、抗原結合分子は、アガロースビーズ、磁性ビーズ、プラスチックウェルプレート、ガラスウェルプレート、セラミックウェルプレート及び細胞培養バッグからなる群から選択される表面上に配置される。他の実施の形態では、検出可能な標識は、蛍光標識、フォトクロミック化合物、タンパク性蛍光標識、磁気標識、放射標識及びハプテンからなる群から選択される。検出可能な標識が蛍光標識である場合、蛍光標識は、A t t o 色素、A l e x a f l u o r 色素、量子ドット、ヒドロキシクマリン、アミノクマリン、メトキシクマリン、C a s c a d e B l u e、P a c i f i c B l u e、P a c i f i c O r a n g e、L u c i f e r Y e l l o w、N B D、R - フィコエリトリン (P E)、P E - C y 5 コンジュゲート、P E - C y 7 コンジュゲート、R e d 6 1 3、P e r C P、T r u R e d、F l u o r X、フルオレセイン、B O D I P Y - F L、C y 2、C y 3、C y 3 B、C y 3. 5、C y 5、C y 5. 5、C y 7、T R I T C、X - ローダミン、リサミンローダミン B、T e x a s R e d、アロフィコシアニン (A P C)、A P C - C y 7 コンジュゲート、I n d o - 1、F l u o - 3、F l u o - 4、D C F H、D H R、S N A R F、G F P (Y 6 6 H 変異)、G F P (Y 6 6 F 変異)、E B F P、E B F P 2、アズライト、G F P u v、T - S a p p h i r e、C e r u l e a n、m C F P、m T u r q u o i s e 2、E C F P、C y P e t、G F P (Y 6 6 W 変異)、m K e i m a - R e d、T a g C F P、A m C y a n 1、m T F P 1、G F P (S 6 5 A 変異)、M i d o r i s h i C y a n、W i l d T y p e G F P、G F P (S 6 5 C 変異)、T u r b o G F P、T a g G F P、G F P (S 6 5 L 変異)、E m e r a l d、G F P (S 6 5 T 変異)、E G F P、A z a m i G r e e n、Z s G r e e n 1、T a g Y F P、E Y F P、T o p a z、V e n u s、m C i t r i n e、Y P e t、T u r b o Y F P、Z s Y e l l o w 1、K u s a b i r a O r a n g e、m O r a n g e、アロフィコシアニン (A P C)、m K O、T u r b o R F P、t d T o m a t o、T a g R F P、D s R e d モノマー、D s R e d 2 (「RFP」)、m S t r a w b e r r y、T u r

b o F P 6 0 2、A s R e d 2、m R F P 1、J - R e d、R - フィコエリトリン (R P E)、B - フィコエリトリン (B P E)、m C h e r r y、H c R e d 1、K a t u s h a、P 3、ペリジニクロロフィル (P e r C P)、m K a t e (T a g F P 6 3 5)、T u r b o F P 6 3 5、m P l u m 及び m R a s p b e r r y からなる群から選択することができる。また更なる実施の形態では、抗原結合分子はヒト化抗原結合分子である。

【0025】

更なる態様では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G (配列番号1)、G S G K P G S G E G (配列番号2)、G K P G S G E G (配列番号3)、S G K P G S G E (配列番号499) 及び K P G S G (配列番号500) からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子の有無を決定する方法が提供される。実施の形態では、上記方法は、(a) G S T S G S G K P G S G E G S T K G (配列番号1)、G S G K P G S G E G (配列番号2)、G K P G S G E G (配列番号3)、S G K P G S G E (配列番号499) 及び K P G S G (配列番号500) からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子を含むことが知られている又は疑われるサンプルを準備することと、(b) 検出可能な標識を更に含む、選択されるアミノ酸配列を特異的に結合する抗原結合分子を準備することと、(c) サンプルと抗原結合分子とを、結合複合体の形成を可能にする条件下で接触させることと、(d) 結合複合体の一部ではないあらゆる分子を形成される結合複合体から分離することと、(e) 結合複合体の有無を検出することを含む。

【0026】

実施の形態では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G (配列番号1)、G S G K P G S G E G (配列番号2)、G K P G S G E G (配列番号3)、S G K P G S G E (配列番号499) 及び K P G S G (配列番号500) からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子は C A R である。更に別の実施の形態では、C A R は、C D 2、C D 3 デルタ、C D 3 イプシロン、C D 3 ガンマ、C D 4、C D 7、C D 8 α 、C D 8 β 、C D 11 a (I T G A L)、C D 11 b (I T G A M)、C D 11 c (I T G A X)、C D 11 d (I T G A D)、C D 18 (I T G B 2)、C D 19 (B 4)、C D 27 (T N F R S F 7)、C D 28、C D 29 (I T G B 1)、C D 30 (T N F R S F 8)、C D 40 (T N F R S F 5)、C D 48 (S L A M F 2)、C D 49 a (I T G A 1)、C D 49 d (I T G A 4)、C D 49 f (I T G A 6)、C D 66 a (C E A C A M 1)、C D 66 b (C E A C A M 8)、C D 66 c (C E A C A M 6)、C D 66 d (C E A C A M 3)、C D 66 e (C E A C A M 5)、C D 69 (C L E C 2)、C D 79 A (B 細胞抗原受容体複合体関連アルファ鎖)、C D 79 B (B 細胞抗原受容体複合体関連ベータ鎖)、C D 84 (S L A M F 5)、C D 96 (T a c t i l e)、C D 100 (S E M A 4 D)、C D 103 (I T G A E)、C D 134 (O X 40)、C D 137 (4-1 B B)、C D 150 (S L A M F 1)、C D 158 A (K I R 2 D L 1)、C D 158 B 1 (K I R 2 D L 2)、C D 158 B 2 (K I R 2 D L 3)、C D 158 C (K I R 3 D P 1)、C D 158 D (K I R D L 4)、C D 158 F 1 (K I R 2 D L 5 A)、C D 158 F 2 (K I R 2 D L 5 B)、C D 158 K (K I R 3 D L 2)、C D 160 (B Y 55)、C D 162 (S E L P L G)、C D 226 (D N A M 1)、C D 229 (S L A M F 3)、C D 244 (S L A M F 4)、C D 247 (C D 3-ゼータ)、C D 258 (L I G H T)、C D 268 (B A F F R)、C D 270 (T N F S F 14)、C D 272 (B T L A)、C D 276 (B 7-H 3)、C D 279 (P D-1)、C D 314 (N K G 2 D)、C D 319 (S L A M F 7)、C D 335 (N K-p 46)、C D 336 (N K-p 44)、C D 337 (N K-p 30)、C D 352 (S L A M F 6)、C D 353 (S L A M F 8)、C D 355 (C R T A M)、C D 357 (T N F R S F 18)、誘導性 T 細胞共刺激分子 (I C O S)、L F A-1 (C D 11 a / C D 18)、N K G 2 C、D A P-10、I C A M-1、N K p 80 (K L R F 1)、I L-2 R ベータ、I L-2 R ガンマ、I L-7 R アルファ、L F A-1、S L A M F 9、L A T、G A D S (G r p L)、S L P-76 (L C P 2)、P A G 1 / C B P、C D 83 リガンド、F c ガンマ受容体、M H C クラス 1 分子、M H C クラス 2 分子、T N F 受容体タンパク質、免疫グロブリンタンパク質、サ

10

20

30

40

50

イトカイン受容体、インテグリン、活性化NK細胞受容体、T o l l 様受容体及びそれらの組合せからなる群から選択される分子又はそのフラグメントを含む。他の実施の形態では、抗原結合分子は、アガロースビーズ、磁性ビーズ、プラスチックウェルプレート、ガラスウェルプレート、セラミックウェルプレート及び細胞培養バッグからなる群から選択される表面上に配置される。他の実施の形態では、検出可能な標識は、蛍光標識、フォトクロミック化合物、タンパク性蛍光標識、磁気標識、放射標識及びハプテンからなる群から選択される。検出可能な標識が蛍光標識である場合、蛍光標識は、A t t o 色素、A l e x a f l u o r 色素、量子ドット、ヒドロキシクマリン、アミノクマリン、メトキシクマリン、C a s c a d e B l u e、P a c i f i c B l u e、P a c i f i c O r a n g e、L u c i f e r Y e l l o w、NBD、R-フィコエリトリン (P E)、P E-C y 5 コンジュゲート、P E-C y 7 コンジュゲート、R e d 6 1 3、P e r C P、T r u R e d、F l u o r X、フルオレセイン、B O D I P Y-FL、C y 2、C y 3、C y 3 B、C y 3. 5、C y 5、C y 5. 5、C y 7、T R I T C、X-ローダミン、リサミンローダミンB、T e x a s R e d、アロフィコシアニン (A P C)、A P C-C y 7 コンジュゲート、I n d o-1、F l u o-3、F l u o-4、D C F H、D H R、S N A R F、G F P (Y 6 6 H 変異)、G F P (Y 6 6 F 変異)、E B F P、E B F P 2、アズライト、G F P u v、T-S a p p h i r e、C e r u l e a n、m C F P、m T u r q u o i s e 2、E C F P、C y P e t、G F P (Y 6 6 W 変異)、m K e i m a-Red、T a g C F P、A m C y a n 1、m T F P 1、G F P (S 6 5 A 変異)、M i d o r i s h i C y a n、W i l d T y p e G F P、G F P (S 6 5 C 変異)、T u r b o G F P、T a g G F P、G F P (S 6 5 L 変異)、E m e r a l d、G F P (S 6 5 T 変異)、E G F P、A z a m i G r e e n、Z s G r e e n 1、T a g Y F P、E Y F P、T o p a z、V e n u s、m C i t r i n e、Y P e t、T u r b o Y F P、Z s Y e l l o w 1、K u s a b i r a O r a n g e、m O r a n g e、アロフィコシアニン (A P C)、m K O、T u r b o R F P、t d T o m a t o、T a g R F P、D s R e d モノマー、D s R e d 2 (「R F P」)、m S t r a w b e r r y、T u r b o F P 6 0 2、A s R e d 2、m R F P 1、J-Red、R-フィコエリトリン (R P E)、B-フィコエリトリン (B P E)、m C h e r r y、H c R e d 1、K a t u s h a、P 3、ペリジニクロロフィル (P e r C P)、m K a t e (T a g F P 6 3 5)、T u r b o F P 6 3 5、m P l u m 及び m R a s p b e r r y からなる群から選択することができる。また更なる実施の形態では、抗原結合分子はヒト化抗原結合分子である。

【0027】

G S T S G S G K P G S G E G S T K G (配列番号1)、G S G K P G S G E G (配列番号2)、G K P G S G E G (配列番号3)、S G K P G S G E (配列番号499) 及び K P G S G (配列番号500) からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子を提示する細胞の濃度を増大する方法が更に提供される。幾つかの実施の形態では、上記方法は、(a) G S T S G S G K P G S G E G S T K G (配列番号1)、G S G K P G S G E G (配列番号2)、G K P G S G E G (配列番号3)、S G K P G S G E (配列番号499) 及び K P G S G (配列番号500) からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子を含むことが知られている又は疑われる細胞を含むサンプルを準備することと、(b) 選択されるアミノ酸配列を特異的に結合し、任意に検出可能な標識を含む抗原結合分子を準備することと、(c) サンプルと抗原結合分子とを、選択されるアミノ酸配列を含む分子及び該抗原結合分子を含む結合複合体の形成を可能にする条件下で接触させることと、(d) 結合複合体の一部ではない任意の構成成分を除去することと、(e) 工程 (a) ~ (d) を所望の回数繰り返すこととを含む。

【0028】

実施の形態では、(a) G S T S G S G K P G S G E G S T K G (配列番号1)、G S G K P G S G E G (配列番号2)、G K P G S G E G (配列番号3)、S G K P G S G E (配列番号499) 及び K P G S G (配列番号500) からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子は C A R であり、(b) 細胞は、C D 8 + T 細胞、C D 4 + T 細胞、腫

瘍浸潤リンパ球（TIL）、NK細胞、TCR発現細胞、樹状細胞及びNK-T細胞からなる群から選択される免疫細胞である。更なる実施の形態では、CARは、CD2、CD3デルタ、CD3イプシロン、CD3ガンマ、CD4、CD7、CD8 α 、CD8 β 、CD11a（ITGAL）、CD11b（ITGAM）、CD11c（ITGAX）、CD11d（ITGAD）、CD18（ITGB2）、CD19（B4）、CD27（TNFRSF7）、CD28、CD29（ITGB1）、CD30（TNFRSF8）、CD40（TNFRSF5）、CD48（SLAMF2）、CD49a（ITGA1）、CD49d（ITGA4）、CD49f（ITGA6）、CD66a（CEACAM1）、CD66b（CEACAM8）、CD66c（CEACAM6）、CD66d（CEACAM3）、CD66e（CEACAM5）、CD69（CLEC2）、CD79A（B細胞抗原受容体複合体関連アルファ鎖）、CD79B（B細胞抗原受容体複合体関連ベータ鎖）、CD84（SLAMF5）、CD96（Tactile）、CD100（SEMA4D）、CD103（ITGAE）、CD134（OX40）、CD137（4-1BB）、CD150（SLAMF1）、CD158A（KIR2DL1）、CD158B1（KIR2DL2）、CD158B2（KIR2DL3）、CD158C（KIR3DP1）、CD158D（KIRDL4）、CD158F1（KIR2DL5A）、CD158F2（KIR2DL5B）、CD158K（KIR3DL2）、CD160（BY55）、CD162（SELP LG）、CD226（DNAM1）、CD229（SLAMF3）、CD244（SLAMF4）、CD247（CD3-ゼータ）、CD258（LIGHT）、CD268（BAFFR）、CD270（TNFSF14）、CD272（BTLA）、CD276（B7-H3）、CD279（PD-1）、CD314（NKG2D）、CD319（SLAMF7）、CD335（NK-p46）、CD336（NK-p44）、CD337（NK-p30）、CD352（SLAMF6）、CD353（SLAMF8）、CD355（CRTAM）、CD357（TNFRSF18）、誘導性T細胞共刺激分子（ICOS）、LFA-1（CD11a/CD18）、NKG2C、DAP-10、ICAM-1、NKp80（KLRF1）、IL-2Rベータ、IL-2Rガンマ、IL-7Rアルファ、LFA-1、SLAMF9、LAT、GADS（GrpL）、SLP-76（LCP2）、PAG1/CBP、CD83リガンド、Fcガンマ受容体、MHCクラス1分子、MHCクラス2分子、TNF受容体タンパク質、免疫グロブリンタンパク質、サイトカイン受容体、インテグリン、活性化NK細胞受容体、Toll様受容体及びそれらの組合せからなる群から選択される分子又はそのフラグメントを含む。幾つかの実施の形態では、細胞は、*in vitro*又は*in vivo*に配置されていてもよく、血液、摘出組織、*ex vivo*で成長させた組織及び細胞培養培地の1つの中にあってもよいT細胞である。T細胞は自己T細胞又は同種異系T細胞であり得る。また更なる実施の形態では、抗原結合分子はヒト化抗原結合分子である。

【0029】

また更なる態様では、GSTSGSGKPGSGEGSTKG（配列番号1）、GSGKPGSGEG（配列番号2）、GKPGSGEG（配列番号3）、SGKPGSGE（配列番号499）及びKPGSG（配列番号500）からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子を提示する細胞（例えば、免疫細胞）の集団を枯渇させる方法が提供される。実施の形態では、上記方法は、（a）GSTSGSGKPGSGEGSTKG（配列番号1）、GSGKPGSGEG（配列番号2）、GKPGSGEG（配列番号3）、SGKPGSGE（配列番号499）及びKPGSG（配列番号500）からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子を発現することが知られている又は疑われる、枯渇させるべき免疫細胞の集団を準備することと、（b）免疫細胞と、（a）選択されるアミノ酸配列を含む分子及び（b）該選択されるアミノ酸配列を含まない該免疫細胞の表面上に提示される活性化分子に特異的に結合する抗原結合分子とを、該選択されるアミノ酸配列を含む分子、該活性化分子及び該抗原結合分子を含む三元結合複合体の形成を可能にする条件下で接触させることとを含む。

【0030】

特定の実施の形態では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号1）、G S
 G K P G S G E G（配列番号2）、G K P G S G E G（配列番号3）、S G K P G S G E
 （配列番号499）及びK P G S G（配列番号500）からなる群から選択されるアミノ
 酸配列を含む分子はC A Rである。更なる実施の形態では、C A Rは、C D 2、C D 3 デ
 ルタ、C D 3 イプシロン、C D 3 ガンマ、C D 4、C D 7、C D 8 α、C D 8 β、C D 1
 1 a（I T G A L）、C D 1 1 b（I T G A M）、C D 1 1 c（I T G A X）、C D 1 1
 d（I T G A D）、C D 1 8（I T G B 2）、C D 1 9（B 4）、C D 2 7（T N F R S
 F 7）、C D 2 8、C D 2 9（I T G B 1）、C D 3 0（T N F R S F 8）、C D 4 0（
 T N F R S F 5）、C D 4 8（S L A M F 2）、C D 4 9 a（I T G A 1）、C D 4 9 d
 （I T G A 4）、C D 4 9 f（I T G A 6）、C D 6 6 a（C E A C A M 1）、C D 6 6
 b（C E A C A M 8）、C D 6 6 c（C E A C A M 6）、C D 6 6 d（C E A C A M 3）
 、C D 6 6 e（C E A C A M 5）、C D 6 9（C L E C 2）、C D 7 9 A（B細胞抗原受
 容体複合体関連アルファ鎖）、C D 7 9 B（B細胞抗原受容体複合体関連ベータ鎖）、C
 D 8 4（S L A M F 5）、C D 9 6（T a c t i l e）、C D 1 0 0（S E M A 4 D）、
 C D 1 0 3（I T G A E）、C D 1 3 4（O X 4 0）、C D 1 3 7（4-1 B B）、C D
 1 5 0（S L A M F 1）、C D 1 5 8 A（K I R 2 D L 1）、C D 1 5 8 B 1（K I R 2
 D L 2）、C D 1 5 8 B 2（K I R 2 D L 3）、C D 1 5 8 C（K I R 3 D P 1）、C D
 1 5 8 D（K I R D L 4）、C D 1 5 8 F 1（K I R 2 D L 5 A）、C D 1 5 8 F 2（K
 I R 2 D L 5 B）、C D 1 5 8 K（K I R 3 D L 2）、C D 1 6 0（B Y 5 5）、C D 1
 6 2（S E L P L G）、C D 2 2 6（D N A M 1）、C D 2 2 9（S L A M F 3）、C D
 2 4 4（S L A M F 4）、C D 2 4 7（C D 3-ゼータ）、C D 2 5 8（L I G H T）、
 C D 2 6 8（B A F F R）、C D 2 7 0（T N F S F 1 4）、C D 2 7 2（B T L A）、
 C D 2 7 6（B 7-H 3）、C D 2 7 9（P D-1）、C D 3 1 4（N K G 2 D）、C D
 3 1 9（S L A M F 7）、C D 3 3 5（N K-p 4 6）、C D 3 3 6（N K-p 4 4）、
 C D 3 3 7（N K-p 3 0）、C D 3 5 2（S L A M F 6）、C D 3 5 3（S L A M F 8
 ）、C D 3 5 5（C R T A M）、C D 3 5 7（T N F R S F 1 8）、誘導性T細胞共刺激
 分子（I C O S）、L F A-1（C D 1 1 a/C D 1 8）、N K G 2 C、D A P-1 0、
 I C A M-1、N K p 8 0（K L R F 1）、I L-2 R ベータ、I L-2 R ガンマ、I L
 -7 R アルファ、L F A-1、S L A M F 9、L A T、G A D S（G r p L）、S L P-
 7 6（L C P 2）、P A G 1/C B P、C D 8 3 リガンド、F c ガンマ受容体、M H C ク
 ラス1分子、M H C クラス2分子、T N F 受容体タンパク質、免疫グロブリンタンパク質
 、サイトカイン受容体、インテグリン、活性化NK細胞受容体、T o l l 様受容体及びそ
 れらの組合せからなる群から選択される分子又はそのフラグメントを含む。幾つかの実施
 の形態では、免疫細胞は、i n v i t r o 又は i n v i v o に配置されていてもよく
 、血液、摘出組織、e x v i v o で成長させた組織及び細胞培養培地の1つの中にあっ
 てもよいT細胞である。T細胞は自己T細胞又は同種異系T細胞であり得る。また更なる
 実施の形態では、抗原結合分子はヒト化抗原結合分子である。

【0031】

一態様では、本発明はG S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号1）、G S G
 K P G S G E G（配列番号2）、G K P G S G E G（配列番号3）、S G K P G S G E（
 配列番号499）及びK P G S G（配列番号500）からなる群から選択されるアミノ酸
 配列を含む分子を提示する細胞の集団のi n v i v o 分布をモニタリングする方法を提
 供する。幾つかの実施の形態では、細胞の集団はC A R 細胞である。幾つかの実施の形態
 では、本発明は、抗原結合分子を準備することと、陽電子放出断層撮影（P E T）スキャ
 ンを行うこととを含む、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号1）、G S G
 K P G S G E G（配列番号2）、G K P G S G E G（配列番号3）、S G K P G S G E（
 配列番号499）及びK P G S G（配列番号500）からなる群から選択されるアミノ酸
 配列を含む分子を提示する細胞の集団のi n v i v o 分布をモニタリングする方法を提
 供する。幾つかの実施の形態では、抗原結合分子を準備することで、C A R T細胞をi
 n v i v o で刺激する又は枯渇させる。

【図面の簡単な説明】

【0032】

【図1】図1Aは、配列番号1のリンカー配列を含むs c F v配列のリボン図であり、図1Bは、配列番号1のリンカー配列を含むs c F v配列の空間充填図である。リンカーを灰色で示す。

【図2】配列番号1のリンカー配列を含むキメラ抗原受容体（CAR）を提示する細胞を用いて行ったフローサイトメトリー実験の結果を示す一連のプロットである。結果は、2つの異なるクローン（クローン8、左；及びクローン16、右）から生成した1 ng、10 ng又は100 ngの抗体を用いて得たものであり、3つ全ての量で発現されるCARに対する抗体の特異的結合を示す。

【図3】配列番号1のリンカー配列を含む5つの異なるCARを提示する細胞を用いて行ったフローサイトメトリー実験の結果を示す一連のプロットであり、発現されるCARに対する抗体の特異的結合を示す。

【図4】CARを提示する細胞を用いて行った免疫組織化学（IHC）研究の結果を示す一連の写真である。上の図は、CARを提示する細胞への、配列番号1のリンカー配列を含むCARに対する抗体クローン8の特異的結合を示し、下の図は、CARを提示する細胞への、配列番号1のリンカー配列を含むCARに対する抗体クローン16の特異的結合を示す。

【図5】抗体クローン8及びクローン16に対して行ったエピトープマッピングELISA実験の結果を示すヒストグラムである。結果から、全ての抗体が完全長18mer（配列番号1）に結合するが、クローン8は10mer部分配列G S G K P G S G E G（配列番号2）に特異的に結合し、クローン16は8mer部分配列G K P G S G E G（配列番号3）に特異的に結合することが実証される。図には配列番号1、配列番号485～配列番号488、配列番号1及び配列番号489～配列番号491がそれぞれ出現順に開示される。

【図6】クローン8及びクローン16によって分泌される抗体の重鎖（HC）及び軽鎖（LC）のCDR1、CDR2及びCDR3領域を示す一連の表である。重鎖及び軽鎖CDRは、各抗体についてKabat（それぞれ出現順に配列番号492、配列番号8、配列番号9、配列番号493、配列番号20、配列番号21、配列番号13～配列番号15及び配列番号25～配列番号27）、Chothia（それぞれ出現順に配列番号7～配列番号9、配列番号19～配列番号21、配列番号13～配列番号15及び配列番号25～配列番号27）及びIMGT（それぞれ出現順に配列番号494、配列番号8、配列番号9、配列番号495、配列番号20、配列番号21、配列番号13～配列番号15及び配列番号25～配列番号27）ナンバリングシステムを用いて示す。

【図7】18mer配列G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号1）、並びにクローン8の抗体が結合するこの配列上のエピトープ（G S G K P G S G E G；配列番号2及びS G K P G S G E；配列番号499）及びクローン16の抗体が結合するこの配列上のエピトープ（G K P G S G E G；配列番号3及びK P G S G；配列番号500）を示す表である。

【図8】本明細書で提供される抗原結合分子のヒト化形態を示す一連の表である。

【図9】ELISAによるエピトープマッピングから本明細書に開示される抗原結合分子が結合することが見出された配列番号1の領域を示す棒グラフである。このアッセイにより、これまでの実験で特定された領域に焦点を合わせたより狭い範囲のペプチド配列を用いることでリンカー抗体エピトープが図5に示されるELISAから更に狭められる。

【図10】本明細書に開示される抗原結合分子を用いて負及び正にゲーティングされたCAR-T細胞を示す蛍光活性化細胞選別（FACS）プロットの結果を示す図である。

【図11】OKT3抗体及び本明細書に開示される抗リンカー抗体を用いたCAR-T細胞のin vitro刺激の結果を示す一連の棒グラフである。OKT3は所与の集団中の全てのT細胞を活性化するが、抗リンカーMAbは、CAR+集団対CAR-集団の比率の勾配を用いることによって示されるように、CAR-T細胞の集団を優先的に活性化

10

20

30

40

50

することで経時的に富化する。

【図12】図12A及び図12Bは、CAR-T陽性細胞の*in vitro*刺激の影響を示す一連の棒グラフ及びプロットである。図面から、このOKT3抗体は全てのT細胞を刺激するが、本明細書に開示される抗原結合分子はCAR-T陽性細胞のみを選択的に刺激することが示される。

【図13】抗リンカークローン8 Mabによる刺激の前及び後のCAR-T細胞を予め注射した雌性NSGマウスのFDG-PETイメージングを示す図である。

【図14】図14A及び図14Bは、ペプチドGSTSGSGKPGSGEGSTKGを含むCAR構築物と共にインキュベートしたダイアボディ (diabody) が細胞死の増大をもたらすことを示す図である。図14Aに示されるように、ダイアボディ濃度が増大するにつれ、特定のペプチドを含有するCAR構築物の3回の反復試験の平均においてより大きな蛍光強度中央値が見られる。対照CAR又はモックを形質導入した細胞をダイアボディと共にインキュベートした場合、細胞毒性色素蛍光の量の有意な増大は見られない。図14Bでは、ダイアボディ濃度の増大に応じたCAR+T細胞のパーセンテージを測定する。

【発明を実施するための形態】

【0033】

本開示は、配列GSTSGSGKPGSGEGSTKG（配列番号1）及びその部分配列、特にGSGKPGSGEG（配列番号2）、GKPGSGEG（配列番号3）、SGKPGSGE（配列番号499）及び／又はKPGSG（配列番号500）を含む部分を特異的に結合する、抗体を含む抗原結合分子、並びに抗原結合分子のヒト化形態、配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499及び／又は配列番号500を含む分子、かかる分子を提示する細胞、分子をコードするポリヌクレオチド、並びにポリヌクレオチドを含むベクターに関する。ポリヌクレオチド及びベクターを含む*in vitro*細胞も開示される。

【0034】

開示の抗原結合分子を使用する方法が提供される。本明細書に記載される抗原結合分子、ポリヌクレオチド、ベクター、*in vitro*細胞及び方法は様々な用途で、例えばGSTSGSGKPGSGEGSTKG（配列番号1）及びその部分配列、特にGSGKPGSGEG（配列番号2）、GKPGSGEG（配列番号3）、SGKPGSGE（配列番号499）及び／又はKPGSG（配列番号500）を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞の存在を検出する試薬として、配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499及び／又は配列番号500を含む分子、分子並びにかかる分子を提示する細胞の量の定量化、配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499及び／又は配列番号500を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞のスクリーニング、配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499及び／又は配列番号500を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞の精製、並びに配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499及び／又は配列番号500を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に焦点を合わせたバイオマーカー研究に使用することができる。治療的使用、例えば配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499及び／又は配列番号500を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞の生物学的活性を変調する（増強又は抑制する）用途、並びに配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499及び／又は配列番号500を含む治療剤、並びにかかる分子を提示する細胞に関した投与量決定試験も提供される。

【0035】

本明細書に開示される抗原結合分子（抗体）は、ウサギ起源のB細胞を用いて生成したハイブリドーマから生成したが、当業者に知られている標準方法及び本明細書に記載される方法を用いて容易にヒト化することができる。開示の抗原結合分子の代表的なヒト化形態が本明細書で提供される。

【0036】

I. 定義

10

20

30

40

50

本開示がより容易に理解され得るように、特定の用語を最初に定義する。本出願で使用されるように、本明細書において別段の明らかな提供がなされる場合以外は、以下の用語は各々、下記に述べられる意味を有するものとする。追加の定義は、本出願全体を通して定められる。本明細書で提供される標題は、本開示の様々な態様を限定するものではなく、全体として本明細書を参照することによって理解され得る。

【0037】

本明細書において「含む、含んでいる」の言葉と共に態様が記載される時はいかなる場合でも、「からなる」及び／又は「から本質的になる」の用語で記載される別の類似する態様も提供されることが理解される。

【0038】

本明細書で使用される単位、接頭辞及び記号は、それらの国際単位系（S I : Systeme International de Unites）の容認される形態で提示される。数値範囲は、その範囲を規定する数字を含む。

【0039】

別段の規定がない限り、本明細書で使用される全ての技術用語及び科学用語は、この開示が関係する技術分野の当業者によって一般に理解されるのと同じ意味を有する。例えば、Juo, "The Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology", 2nd ed., (2001), CRC Press, "The Dictionary of Cell & Molecular Biology", 5th ed., (2013), Academic Press, 及び"The Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology", Cammack et al. eds., 2nd ed, (2006), Oxford University Pressは、この開示で使用される多くの用語の一般的な辞書を当業者に提供する。

【0040】

本明細書で使用される場合、20個の通常の（例えば、天然に存在する）アミノ酸及びそれらの略号は慣例的な用法に従う。例えば、Immunology - A Synthesis (2nd Edition, Golub and Gren, Eds., Sinauer Assoc., Sunderland, Mass. (1991))（いかなる目的についても引用することにより本明細書の一部をなす）を参照されたい。20個の通常のアミノ酸の立体異性体（例えば、D-アミノ酸）、アルファ、アルファ-二置換アミノ酸等の非天然アミノ酸、N-アルキルアミノ酸、乳酸、及び他の特殊（unconventional）アミノ酸も本発明のポリペプチドの好適な成分であり得る。特殊アミノ酸の例としては、4-ヒドロキシプロリン、ガンマーカルボキシグルタミン酸、イプシロン-N, N, N-トリメチルリシン、ε-N-アセチルリシン、O-ホスホセリン、N-アセチルセリン、N-ホルミルメチオニン、3-メチルヒスチジン、5-ヒドロキシリシン、シグマー-N-メチルアルギニン、並びに他の同様のアミノ酸及びイミノ酸（例えば、4-ヒドロキシプロリン）が挙げられる。本明細書で使用されるポリペプチドの表記においては、標準的用法及び慣行に従い、左手方向がアミノ末端方向であり、右手方向がカルボキシ末端方向である。

【0041】

本明細書で使用される場合、数量を特定していない用語（the terms "a" and "an"）は標準的な慣習に従って使用され、文脈上他の指示がない限り、1つ以上を意味する。

【0042】

本明細書で使用される場合、「約」の用語は、当業者によって決定される特定の値又は組成に対する許容可能な誤差範囲に含まれる値又は組成を指し、その値又は組成がどのように測定され又は決定されるのか、すなわち測定システムの制限に部分的に依存する。例えば、「約」又は「を本質的に含む、を本質的に含んでいる（comprising essentially of）」は、当該技術分野における1回の実施当たりの1以上の標準偏差の範囲内を意味し得る。「約」又は「を本質的に含む、を本質的に含んでいる」は、最大10%（すなわち±10%）の範囲を意味し得る。例えば、約5mgは、4.5mg～5.5mgの間の任意の数値を含み得る。さらに、特に生物学的なシステム又はプロセスに関して、上記用語は、或る値の最大10倍又は最大5倍を意味する場合がある。特定の値又は組成が本開示で提供される場合、別段の指示がない限り、「約」又は「を本質的に含む、を本質的に含

10

20

30

40

50

んでいる」の意味は、その特定の値又は組成に対する許容可能な誤差の範囲に含まれるとされる。

【0043】

本明細書に記載されるように、任意の濃度範囲、パーセンテージの範囲、比率範囲、又は整数の範囲は、別段の指示がない限り、述べられる範囲に含まれる任意の整数、また適切な場合には、その分数（或る整数の10分の1、及び100分の1等）の値を含むものと理解される。

【0044】

本明細書で使用される場合、「及び／又は」の用語は、2つの指定される特徴又は成分の各々ともう一方とを含む、又はもう一方を含まない具体的な開示として理解される。したがって、本明細書において「A及び／又はB」等の句で使用される「及び／又は」の用語は、「A及びB」；「A又はB」；「A」（単独）；及び「B」（単独）を含むことが意図される。同様に、「A、B、及び／又はC」等の句において使用される「及び／又は」の用語は、A、B及びC；A、B又はC；A又はC；A又はB；B又はC；A及びC；A及びB；B及びC；A（単独）；B（単独）；並びにC（単独）の態様の各々を包含することが意図される。

【0045】

本明細書で使用される場合、選択肢（例えば「又は」）の使用は、選択肢の1つ、それらの両方、又はそれらの組み合わせのいずれかを意味すると理解されるべきである。

【0046】

本明細書で使用される場合、「同種異系」の用語は、一個体に由来する任意の材料を指し、該材料はその後、同種の別の個体に導入される（例えば同種異系T細胞移植）。

【0047】

本明細書で使用される場合、「抗体」（Ab）の用語は、限定されず、抗原に特異的に結合する糖タンパク質免疫グロブリンを含む。一般に、抗体は、ジスルフィド結合によって相互に連結された少なくとも2本の重（HC）鎖及び2本の軽（LC）鎖、又はそれらの抗原結合分子を含み得る。各HC鎖は、重鎖可変領域（本明細書ではVHと略記する）及び重鎖定常領域を含む。重鎖定常領域は、3つの定常ドメイン、すなわちCH1、CH2及びCH3を含む。各軽鎖は、軽鎖可変領域（本明細書ではVLと略記する）及び軽鎖定常領域を含む。軽鎖定常領域は、1つの定常ドメイン、すなわちCLを含む。VH領域及びVL領域は、フレームワーク領域（FR）と称されるより保存される領域が介在する、相補性決定領域（CDR）と称される超可変性の領域に更に細分され得る。VH及びVLはそれぞれ、アミノ末端からカルボキシ末端にFR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、及びFR4の順で並ぶ、3つのCDR及び4つのFRを含む。重鎖及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む。Abの定常領域は、免疫系の様々な細胞（例えばエフェクター細胞）及び古典的補体系の第1成分（C1q）を含む、宿主の組織又は因子に対する免疫グロブリンの結合を媒介し得る。

【0048】

「抗体」の用語は、別段の指示がない限り、特異的結合について無傷抗体と競合する無傷免疫グロブリン又はその抗原結合部分も包含する。抗原結合部分は組み換えDNA法、又は無傷抗体の酵素的若しくは化学的切断によって作製することができる。抗原結合部分としては、特にFab、Fab'、F(ab')₂、Fv、ドメイン抗体（dAb）、相補性決定領域（CDR）を含むフラグメント、一本鎖抗体（scFv）、キメラ抗体、ダイアボディ、トリアボディ（triabodies）、テトラボディ（tetraabodies）、及びポリペプチドに特異的抗原結合をもたらすのに十分な免疫グロブリンの少なくとも一部を含有するポリペプチドが挙げられる。

【0049】

「抗体」の用語は、自然発生及び非自然発生（組み換えにより生成された）抗体の両方、ヒト及び非ヒト抗体、単一特異的抗体、多重特異的抗体（二重特異的抗体を含む）、免疫グロブリン、合成抗体、2本の重鎖分子及び2本の軽鎖分子を含む四量体抗体、抗体軽

10

20

30

40

50

鎖単量体、抗体重鎖単量体、抗体軽鎖二量体、抗体重鎖二量体、抗体軽鎖－抗体重鎖対、イントラボディ（intrabodies）（例えば、Stocks, (2004) Drug Discovery Today 9(22):960-66を参照されたい）、抗体融合体（この用語は抗体－薬物コンジュゲートを包含し、本明細書では「抗体コンジュゲート」と称されることがある）、ヘテロコンジュゲート抗体、単ドメイン抗体、一価抗体、一本鎖抗体又は一本鎖Fv（scFv）、ラクダ化抗体、アフィボディ（affibodies）、Fabフラグメント、F(ab')₂フラグメント、ジスルフィド連結Fv（sdFv）、抗イディオタイプ（抗Id）抗体（例えば、抗－抗Id抗体を含む）、ミニボディ、ドメイン抗体、合成抗体（本明細書では「抗体模倣物」と称されることがある）、並びにその抗原結合フラグメントを含む。或る特定の実施形態では、本明細書に記載される抗体はポリクローナル抗体集団を指す。

10

【0050】

非ヒト抗体は、GSTSGSGKPGSGEGSTKG（配列番号1）及びその部分配列、特にSGSGKPGSGEG（配列番号2）、GKPGSGEG（配列番号3）、SGKPGSGE（配列番号499）及び／又はKPGSG（配列番号500）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞を特異的に結合する抗体に関して本明細書に開示されるように、組み換え法を用いてヒト化し、ヒトにおけるその免疫原性を低減することができる。ヒト化抗体の例が本明細書で提供される。明示的に示された場合を除き、文脈上他の指定がない限り、「抗体」の用語は、上述の免疫グロブリンのいずれかの抗原結合分子の抗原結合フラグメントも含み、一価及び二価フラグメント又は部分、並びに一本鎖抗体（すなわち、scFv）を含む。

20

【0051】

様々な実施形態において、抗体は、GSTSGSGKPGSGEGSTKG（配列番号1）及びその部分配列、特にSGSGKPGSGEG（配列番号2）、GKPGSGEG（配列番号3）、SGKPGSGE（配列番号499）及び／又はKPGSG（配列番号500）、これらの配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞を特異的に結合する。幾つかの実施形態では、抗体は配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499及び／又は配列番号500を含むCAR（又はその構成成分）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する。配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499及び／又は配列番号500を提示する細胞は、T細胞等の免疫細胞であってもよいが、その必要はない。

30

【0052】

本明細書で使用される場合、「抗原」の用語は、免疫応答を誘発する、又は抗体若しくは他の抗原結合分子によって結合されることが可能な任意の分子を意味する。免疫応答は、抗体産生若しくは特定の免疫適格細胞（immunologically-competent cells）の活性化のいずれか、又はそれらの両方を含み得る。当業者は、実質的に全てのタンパク質又はペプチドを含む任意の高分子（配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499及び／又は配列番号500、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞を含む）が抗原としての役割を果たし得ることを容易に理解する。一般的には、抗原は内因性に発現され得て、すなわちゲノムDNAによって発現され得るか、又は組み換えによって発現され得るか、又は化学合成され得る。特定の一実施形態では、抗原は、GSTSGSGKPGSGEGSTKG（配列番号1）及びその部分配列、特にSGSGKPGSGEG（配列番号2）、GKPGSGEG（配列番号3）、SGKPGSGE（配列番号499）及び／又はKPGSG（配列番号500）、これらの配列を含む分子の全て又は一部を含み、キーホールリンペットヘモシニアン（KLH）等のアジュバントに任意にコンジュゲートされる。

40

【0053】

本明細書で使用される場合、「抗原結合分子」の用語は、抗原又は標的タンパク質に結合する部分、及び任意に抗原結合部分が抗原への抗原結合分子の結合を促進する立体配座をとるのを可能にするスキャフォールド又はフレームワーク部分を含むタンパク質を意味する。代表的なタイプの抗原結合分子の例としては、scFv、ヒト、マウス又はウサギ

50

抗体；ヒト化抗体；キメラ抗体；組み換え抗体；一本鎖抗体；ダイアボディ；トリアボディ；テトラボディ；F a b フラグメント；F (a b ') 2 フラグメント；I g D 抗体；I g E 抗体；I g M 抗体；I g G 1 抗体；I g G 2 抗体；I g G 3 抗体；又はI g G 4 抗体、及びそれらのフラグメントが挙げられる。

【0054】

抗原結合分子は、例えばグラフトされた相補性決定領域（C D R）又はC D R 誘導体を含む代替タンパク質スキファールド又は人工スキファールドを含み得る。かかるスキファールドとしては、例えば抗原結合分子の3次元構造を安定化するために導入される突然変異を含む抗体由来のスキファールド、及び例えば生体適合性ポリマーを含む完全合成スキファールドが挙げられるが、これらに限定されない。例えば、Korndorfer et al., 2003, Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics, 53(1):121-129 (2003)、Roque et al., Biotechnol. Prog. 20:639-654 (2004)を参照されたい。加えて、ペプチド抗体模倣物（「P A M」）、及び様々な構成成分（例えば、フィブロネクチン）をスキファールドとして利用する抗体模倣物をベースとしたスキファールドを使用することができる。抗原結合分子は、例えば自然発生免疫グロブリンの構造を有し得る。

10

【0055】

抗原結合分子は、1つ以上の結合部位を有し得る。2つ以上の結合部位が存在する場合、結合部位は互いに同一であっても、又は異なってもよい。例えば、自然発生ヒト免疫グロブリンは通例、2つの同一の結合部位を有するが、「二重特異的」又は「二官能性」抗体は2つの異なる結合部位を有し、2つの異なる抗原（例えば配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499及び／又は配列番号500、並びに細胞表面活性化分子）を特異的に結合することが可能である。

20

【0056】

様々な実施形態において、抗原結合分子は、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号1）及びその部分配列、特にG S G K P G S G E G（配列番号2）、G K P G S G E G（配列番号3）、S G K P G S G E（配列番号499）及び／又はK P G S G（配列番号500）、配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499及び／又は配列番号500を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞を特異的に結合する本明細書に開示され、図6及び図8に示される相補性決定領域（C D R）の1つ以上を含む抗体又はそのフラグメントである。更なる実施形態では、抗原結合分子は配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499及び／又は配列番号500を含むC A R に結合し、T細胞等の免疫細胞上で発現されることができる。

30

【0057】

「自己」の用語は、後に再導入されることになっているのと同じ個体に由来する任意の材料を指す。例えば、本明細書に記載される操作された自己細胞療法（e A C T（商標））の方法は、患者からのリンパ球の収集を含み、該リンパ球は、その後、構築物、例えばC A R 構築物を発現するように操作した後、同じ患者に戻される（administered back）。

【0058】

本明細書で使用される場合、「結合親和性」の用語は、分子（例えば、抗体等の抗原結合分子）の単一の結合部位と、その結合パートナー（例えば抗原）との間の非共有結合的な相互作用の合計の強さを意味する。別段の指示がない限り、本明細書で使用される「結合親和性」は、結合ペアのメンバー（例えば抗体及び抗原）間の1：1の相互作用を反映する、固有の結合親和性を指す。分子XのそのパートナーYに対する親和性は、一般的には、解離定数（ K_D ）によって表され得る。親和性は、限定されないが、平衡解離定数（ K_D ）及び平衡会合定数（ K_A ）を含む、当該技術分野で知られている多くの方法で測定され得る及び／又は表され得る。 K_D は k_{off}/k_{on} の商から計算されるが、 K_A は k_{on}/k_{off} の商から計算される。 k_{on} は、例えば抗原に対する抗体の会合速度定数を指し、 k_{off} は、例えば抗原に対する抗体の解離を指す。 k_{on} 及び k_{off} は、B I A c o r e（商標）又はK i n E x A又は表面プラズモン共鳴等の当業者に知られて

40

50

いる標準的な技法によって決定され得る。

【0059】

本明細書で使用される場合、「相補性決定領域」又は「CDR」の用語は、抗原結合特異性及び親和性に寄与するアミノ酸配列を意味する。フレームワーク領域は、抗原結合分子と抗原との間の結合を促進するCDRの適当な立体配座の維持に役立ち得る。重鎖及び軽鎖の可変領域の各々に3つのCDRが存在し、これらは可変領域の各々についてCDR1、CDR2及びCDR3と指定される。CDRの厳密な境界は、種々のシステムに従い異なって定義されている。

【0060】

CDRの多くの定義、すなわち、Kabatナンバリング、Chothiaナンバリング、AbMナンバリング、又は接触（contact）ナンバリングが一般に使用されている。AbM定義は、Oxford Molecular社のAbM抗体モデリングソフトウェアによって使用されるKabat及びChothiaのシステムの折衷案である。

【0061】

Kabatによって記載されるシステム（Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987) and (1991)）は、抗体の任意の可変領域に適用可能な残基ナンバリングシステムを提供し、3つのCDRを定義する正確な残基境界も提供する。

【0062】

Chothia及び共同研究者ら（Chothia and Lesk, (1987) J. Mol. Biol., 196:901-917及びChothia et al., (1989) Nature, 342: 877-883）は、KabatのCDR内の或る特定の一部分（sub-portions）が、アミノ酸配列のレベルで大きな多様性を有するにもかかわらず、ほぼ同一のペプチド骨格立体配座をとることを見出した。ChothiaのCDRは、KabatのCDRと重なり合う境界を有する。KabatのCDRと重なり合うCDRを定義する他の境界が、Padlan et al. ((1995) FASEB J., 9:133-139)、及びMacCallum et al. ((1996) J. Mol. Biol., 262(5):732-745)によって記載されている。更に他のCDR境界の定義は、記載のシステムの1つに厳密に従わない可能性もあるが、特定の残基若しくは残基の群、又は更にはCDR全体が抗原結合に大きな影響を与えないという予測又は実験的発見を考慮して短縮又は延長され得るが、それでもKabatのCDRと重なり合う。本明細書で用いられる方法では、これらのシステムのいずれかに従って定義されるCDRを利用することができるが、例示的な実施形態ではChothiaにより定義されるCDRを用いる。

【0063】

表Aに、各ナンバリングシステムを用いてCDRを定義する。接触の定義は、利用可能な複合体結晶構造の分析に基づく。

【0064】

【数1】

表A

ループ	Kabat	AbM	Chothia	接触
L1	L24--L34	L24--L34	L24--L34	L30--L36
L2	L50--L56	L50--L56	L50--L56	L46--L55
L3	L89--L97	L89--L97	L89--L97	L89--L96
H1	H31--H35B	H26--H35B	H26--H32..34	H30--H35B
H1	H31--H35	H26--H35	H26--H32	H30--H35
H2	H50--H65	H50--H58	H52--H56	H47--H58
H3	H95--H102	H95--H102	H95--H102	H93--H101

【0065】

「Kabatナンバリング」の用語及び類似の用語は、当該技術分野において認められ、抗体の重鎖及び軽鎖の可変領域、又はその抗原結合分子中のアミノ酸残基をナンバリングするシステムを指す。特定の態様では、Kabatナンバリングシステムに従って、抗体のCDRを特定することができる（例えば、Kabat et al. in Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed., NIH Publication 91-3242, Bethesda MD 1991を参照されたい）。Kabatナンバリングシステムを使用すると、抗体重鎖分子内のCDRは、典型的には、35に続いて任意に1つ又は2つの追加のアミノ酸（Kabatナンバリングスキームでは35A及び35Bと呼ばれる）を含み得るアミノ酸31位～35位（CDR1）、アミノ酸50位～65位（CDR2）、及びアミノ酸95位～102位（CDR3）に存在する。Kabatナンバリングシステムを使用すると、抗体軽鎖分子内のCDRは、典型的には、アミノ酸24位～34位（CDR1）、アミノ酸50位～56位（CDR2）、及びアミノ酸89位～97位（CDR3）に存在する。特定の実施形態では、本明細書に記載される抗体のCDRは、Kabatナンバリングスキームに従って記載することができるが、表Aを用いて他のナンバリングシステムにて容易に構築させることができる。

10

【0066】

特定の態様では、抗体のCDRは、免疫グロブリンの構造ループの位置を指す、Chothiaナンバリングスキームに従って特定され得る（例えば、Chothia C & Lesk AM, (1987), J Mol Biol 196: 901-917, Al-Lazikani B et al., (1997) J Mol Biol 273: 927-948, Chothia C et al., (1992) J Mol Biol 227: 799-817, Tramontano A et al., (1990) J Mol Biol 215(1): 175-82、及び米国特許第7,709,226号を参照されたい）。典型的には、Kabatナンバリング規定を使用する場合、ChothiaのCDR-H1ループは重鎖のアミノ酸26～32、33又は34に存在し、ChothiaのCDR-H2ループは重鎖のアミノ酸52～56に存在し、ChothiaのCDR-H3ループは重鎖のアミノ酸95～102に存在するのに対し、ChothiaのCDR-L1ループは軽鎖のアミノ酸24～34に存在し、ChothiaのCDR-L2ループは軽鎖のアミノ酸50～56に存在し、ChothiaのCDR-L3ループは軽鎖のアミノ酸89～97に存在する。ChothiaのCDR-HIループの末端は、Kabatナンバリング規定を使用して番号を付与した場合には、ループの長さに応じてH32～H34の間で変動する（これは、KabatナンバリングスキームがH35A及びH35Bに挿入を置くため、すなわち35Aも35Bも存在しない場合には32でループが終了し、35Aのみが存在する場合には33でループが終了し、35Aと35Bの両方が存在する場合には34でループが終了するからである）。表Aを参照されたい。具体的な実施形態では、本明細書に記載される抗体のCDRは、図6及び図8に示されるように、Chothiaナンバリングスキームに従って特定された。

20

30

【0067】

本明細書で使用される「保存的アミノ酸置換」は、アミノ酸残基が同様の側鎖を有するアミノ酸残基で置換されるものである。側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは当該技術分野において定義されている。これらのファミリーは、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）、非荷電極性側鎖（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）、非極性側鎖（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）、ベータ分岐側鎖（例えば、トレオニン、バリン、イソロイシン）、及び芳香族側鎖（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）を有するアミノ酸を含む。特定の実施形態では、本明細書で提供される抗体又は抗原結合分子（又はそのフラグメント）のCDR（複数の場合がある）内又はフレームワーク領域（複数の場合がある）内の1以上のアミノ酸残基を、類似する側鎖を有するアミノ酸残基で置換することができる。

40

【0068】

50

本開示に包含される保存的アミノ酸置換は、通例は生物系における合成ではなく、化学ペプチド合成によって組み込まれる非自然発生アミノ酸残基を含み得る。これらはペプチド模倣体及び他の逆転型又は反転型のアミノ酸部分を含む。自然発生残基は、共通の側鎖特性に基づいて以下のクラスに分けることができる：

疎水性：ノルロイシン、Met、Ala、Val、Leu、Ile、

中性親水性 (neutral hydrophilic)：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln、

酸性：Asp、Glu、

塩基性：His、Lys、Arg、

鎖の配向に影響を与える残基：Gly、Pro、及び、

芳香族：Trp、Tyr、Phe。

10

【0069】

非保存的置換は、これらのクラスの1つのメンバーを別のクラスのメンバーと交換することを含み得る。このような置換された残基は、例えば非ヒト抗体と相同であるヒト抗体の領域、又は分子の非相同領域に導入することができる。例示的な保存的アミノ酸置換を下記表Bに示す。

【0070】

【数 2】

表B

元の残基	例示的な置換	好ましい置換
A l a	V a l、L e u、I l e	V a l
A r g	L y s、G l n、A s n	L y s
A s n	G l n	G l n
A s p	G l u	G l u
C y s	S e r、A l a	S e r
G l n	A s n	A s n
G l u	A s p	A s p
G l y	P r o、A l a	A l a
H i s	A s n、G l n、L y s、A r g	A r g
I l e	L e u、V a l、M e t、A l a、P h e、ノルロイシン	L e u
L e u	ノルロイシン、I l e、V a l、M e t、A l a、P h e	I l e
L y s	A r g、1, 4ジアミノ酪酸、G l n、A s n	A r g
M e t	L e u、P h e、I l e	L e u
P h e	L e u、V a l、I l e、A l a、T y r	L e u
P r o	A l a	G l y
S e r	T h r、A l a、C y s	T h r
T h r	S e r	S e r
T r p	T y r、P h e	T y r
T y r	T r p、P h e、T h r、S e r	P h e
V a l	I l e、M e t、L e u、P h e、A l a、ノルロイシン	L e u

【0071】

本明細書で使用される場合、「定常領域」及び「定常ドメイン」の用語は同義であり、当該技術分野で一般的な意味を有する。定常領域は、抗原への抗体の結合に直接関与しないが、Fc受容体との相互作用等の様々なエフェクター機能を示すことができる抗体部分、例えば軽鎖及び／又は重鎖のカルボキシル末端部分である。免疫グロブリン分子の定常領域は概して、免疫グロブリン可変ドメインと比べてより保存されたアミノ酸配列を有する。

【0072】

本明細書で使用される場合、「交差競合する (cross competes)」の用語は、抗原と第1の抗原結合分子又はその結合フラグメントとの相互作用が、抗原と相互作用する参照抗原結合分子又はその結合フラグメントの能力を遮断する、制限する、阻害する又はそうでなければ低減する状況を意味する。交差競合は、完全なものであってもよく、例えば、抗原に対する結合分子の結合が、参照結合分子の抗原を結合する能力を完全に遮断するか、又は交差競合は、部分的であってもよく、例えば、抗原に対する結合分子の結合が、参照結合分子の抗原を結合する能力を減少させる。特定の実施形態では、参照抗原結合分子と

交差競合する抗原結合分子は、参照抗原結合分子と同じ、又はそれと重複するエピトープを結合する。他の実施形態では、参照抗原結合分子と交差競合する抗原結合分子は、参照抗原結合分子とは異なるエピトープを結合する。多くの種類の競合結合アッセイ、例えば、固相直接又は間接ラジオイムノアッセイ (R I A) ; 固相直接又は間接酵素免疫定量法 (E I A) ; サンドイッチ競合アッセイ (Stahli et al., (1983) Method Enzymol 9:242-53) ; 固相直接ビオチン-アビジン E I A (Kirkland et al., (1986) J. Immunol. 137:3614-19) ; 固相直接標識アッセイ、固相直接標識サンドイッチアッセイ (Harlow and Lane, 1988, Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press) ; I¹²⁵ 標識を使用する固相直接標識 R I A (Morel et al., (1988) Molec Immunol 25:7-15) ; 固相直接ビオチン-アビジン E I A (Cheung, et al., (1990) Virology 176:546-52) ; 及び直接標識 R I A (Moldenhauer et al., (1990) Scand J Immunol 32:77-82) を使用して、或る一つの抗原結合分子が他方と競合するかどうかを判断することができる。

10

【0073】

「誘導体」の用語は、アミノ酸（又は核酸）の挿入、欠失又は置換以外の化学修飾を含む分子を指す。或る特定の実施形態では、誘導体はポリマー、脂質、又は他の有機若しくは無機部分との化学結合を含むが、これらに限定されない共有結合修飾を含む。或る特定の実施形態では、化学修飾された抗原結合分子（誘導体）は、化学修飾されていない抗原結合分子よりも長い循環半減期を有し得る。幾つかの実施形態では、誘導体抗原結合分子はポリエチレングリコール、ポリオキシエチレングリコール又はポリプロピレングリコールを含むが、これらに限定されない1つ以上の水溶性ポリマーの付着を含むように共有結合修飾される。

20

【0074】

本明細書で使用される場合、「ダイアボディ」又はd A Bの用語は、2つのポリペプチド鎖を含む二価抗体を意味し、各ポリペプチド鎖が、同じ鎖上の2つのドメイン間での対合を可能にするには短過ぎ、それにより各ドメインを別のポリペプチド鎖上の相補的なドメインと対合させるリンカーによって接合されるV H及びV Lドメインを含む（例えば、Holliger et al., (1993) Proc Natl Acad Sci U.S.A. 90:6444-48, Poljak et al., (1994) Structure 2: 1121-23、及びPerisic et al., (1994) Structure 2(12): 1217-26を参照されたい）。ダイアボディの2つのポリペプチド鎖が同一である場合、それらの対合により生じるダイアボディは2つの同一の抗原結合部位を有する。異なる配列を有するポリペプチド鎖は、2つの異なる抗原結合部位を有するダイアボディを作製するために使用することができる。同様に、トリアボディ及びテトラボディは、それぞれ3つ及び4つのポリペプチド鎖を含み、それぞれ同じであっても又は異なってもよい3つ及び4つの抗原結合部位を形成する抗体である。

30

【0075】

本明細書で使用される場合、「エピトープ」は、当該技術分野における用語であり、抗体が特異的に結合することができる抗原の局在化領域を指す。エピトープは、例えばポリペプチドの隣接するアミノ酸（直鎖の又は隣接するエピトープ）であってもよく、又はエピトープは、例えば、ポリペプチド（複数の場合がある）の2以上の隣接しない領域に共に由来するもの（配座、非直鎖、不連続、又は隣接しないエピトープ）であってもよい。或る特定の実施形態では、抗体が結合するエピトープは、例えば、NMR分光法、X線回折結晶学研究、E L I S Aアッセイ、質量分析と結合された水素/重水素交換（例えば液体クロマトグラフィーエレクトロスプレー質量分析）、アレイに基づくオリゴペプチド走査アッセイ、及び/又は突然変異誘発マッピング（例えば部位特異的変異誘発マッピング）によって特定され得る。X線結晶学研究のため、結晶化は、当該技術分野の既知の方法（例えば、Giege R. et al., (1994) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 50(Pt 4): 339-350, McPherson A (1990) Eur J Biochem 189: 1-23, Chayen NE (1997) Structure 5: 1269-1274, McPherson A (1976) J Biol Chem 251: 6300-6303) のいずれかを使用して遂行され得る。抗体：抗原の結晶は、良く知られているX線回折技術を使用して研究され得て、X - P L O R (Yale University, 1992, Molecular Simulations, Inc.によって

40

50

配布；例えば、Meth Enzymol (1985) volumes 114 & 115, eds Wyckoff HW et al.,を参照されたい)、及びB U S T E R (Bricogne, (1993) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 49(Pt 1): 37-60、Bricogne, (1997) Meth Enzymol 276A: 361-423, ed Carter、Roversi et al., (2000) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 56(Pt 10): 1316-1323)等のコンピューターソフトウェアを使用してリファインされ得る。突然変異誘発マッピング研究は、当業者に知られている任意の方法を使用して遂行され得る。例えば、アラニンスキニング突然変異誘発技術を含む、突然変異誘発技術の説明について、Champe M et al., (1995) J Biol Chem 270: 1388-94、及びCunningham & Wells, (1989) Science 244: 1081-85を参照されたい。

【0076】

10

本明細書で使用される場合、「F a bフラグメント」の用語はV L、V H、C L及びC Hドメインを有する一価フラグメントを意味する。「F (a b ')₂フラグメント」は、ヒンジ領域のジスルフィド架橋によって連結された2つのF a bフラグメントを有する二価フラグメントである。「F vフラグメント」は抗体の単一アームのV H及びV Lドメインを有し、「d A bフラグメント」はV Hドメイン、V Lドメイン、又はV H若しくはV Lドメインの抗原結合フラグメントを有する。

【0077】

本明細書で使用される場合、「免疫特異的に結合する」、「免疫特異的に認識する」、「特異的に結合する」及び「特異的に認識する」の用語は類似の用語であり、抗原結合分子との関連で区別なく使用され、所与の分子が抗原（例えば、エピトープ又は免疫複合体）に優先的に結合することを意味し、かかる結合は当業者によって理解される。例えば、抗原に特異的に結合する抗原結合分子は、例えばイムノアッセイ、B I A c o r e（商標）、K i n E x A 3000測定器（アイダホ州ボイスのSapidyne Instruments）又は当該技術分野で知られている他のアッセイによって特定されるように、他のペプチド又はポリペプチドに結合し得るが、その親和性はより低い。具体的な実施形態では、抗原に特異的に結合する分子は、分子が別の抗原に結合する場合の K_A と比べて少なくとも2 log、2.5 log、3 log、4 log以上の K_A で抗原に結合する。

20

【0078】

別の実施形態では、抗原（例えば、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号1）及びその部分配列、特にG S G K P G S G E G（配列番号2）、G K P G S G E G（配列番号3）、S G K P G S G E（配列番号499）及び／又はK P G S G（配列番号500）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞）に特異的に結合する分子は、約 1×10^{-7} Mの解離定数（ K_d ）で結合する。幾つかの実施形態では、抗原結合分子は、 K_d が約 1×10^{-9} M～約 5×10^{-9} Mである場合、抗原（例えば配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499及び／又は配列番号500、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞）を「高い親和性」で特異的に結合する。幾つかの実施形態では、抗原結合分子は、 K_d が約 1×10^{-10} M～約 5×10^{-10} Mである場合、抗原（例えば配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499及び／又は配列番号500、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞）を「非常に高い親和性」で特異的に結合する。

30

40

【0079】

更に別の実施形態では、抗原（例えば配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499及び／又は配列番号500、これらの配列を含む分子、かかる分子を提示する細胞）に特異的に結合する分子は、同様の結合条件下で他のタンパク質と交差反応しない。別の具体的な実施形態では、抗原（例えば配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499及び／又は配列番号500、これらの配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞）に特異的に結合する分子は、配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499及び／又は配列番号500、これらの配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞を含まない他のタンパク質と交差反応しない。具体的な実施形態では、別の無関係な抗原に対するよりも高い親和性で配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499

50

及び／又は配列番号500、これらの配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に結合する抗体又はそのフラグメントが本明細書で提供される。或る特定の実施形態では、例えばラジオイムノアッセイ、表面プラズモン共鳴又は動力的排除アッセイ (kinetic exclusion assay) によって測定されるように、別の無関係な抗原に対するよりも20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%以上の親和性で配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499及び／又は配列番号500、これらの配列を含む分子、並びにこの配列を含む分子のような分子を提示する細胞、並びにかかる分子を提示する細胞に結合する抗原結合分子 (例えば、抗体) 又はそのフラグメントが本明細書で提供される。具体的な実施形態では、配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499及び／又は配列番号500を含まない無関係なタンパク質と比較した、本明細書に記載される配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499及び／又は配列番号500、これらの配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞を特異的に結合する抗原結合分子、抗体又はその抗原結合フラグメントの結合の程度は、例えばラジオイムノアッセイによって測定されるように、10%、15%又は20%未満のリンカーフラグメントタンパク質に対する抗体の結合である。

10

【0080】

本明細書で使用される「重鎖」の用語は、抗体に関して使用される場合、定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、任意の異なる種類、IgGのサブクラス、例えばIgG₁、IgG₂、IgG₃及びIgG₄を含む、IgA、IgD、IgE、IgG及びIgMのクラスの抗体をそれぞれ生じさせる、例えばアルファ (α)、デルタ (δ)、イプシロン (ε)、ガンマ (γ) 及びミュー (μ) を指す場合がある。

20

【0081】

本明細書で使用される場合、「免疫グロブリン」の用語は、限定されないが、IgA、分泌型IgA、IgG及びIgMを含む、一般的に知られているアイソタイプのいずれかに由来する免疫分子を意味する。IgGサブクラスもまた、当業者によく知られており、限定されないが、ヒトIgG1、IgG2、IgG3及びIgG4を含む。本明細書に記載される分子の多くが免疫グロブリンである。本明細書で使用される場合、「アイソタイプ」は、重鎖定常領域遺伝子によってコードされる抗体クラス又はサブクラス (例えば、IgM又はIgG1) を意味する。

30

【0082】

免疫グロブリンは、通常は各対が1つの「軽」鎖 (約25kDa) 及び1つの「重」鎖 (約50kDa~70kDa) を有する2つの同一のポリペプチド鎖の対から構成される四量体分子である。各鎖のアミノ末端部分は、抗原認識に主に関与する約100個~130個以上のアミノ酸の可変領域を含む。各鎖のカルボキシ末端部分は、エフェクター機能に主に関与する定常領域を画定する。ヒト軽鎖はカッパー及びラムダ軽鎖に分類される。重鎖はミュー、デルタ、ガンマ、アルファ又はイプシロンに分類され、それぞれ抗体のアイソタイプをIgM、IgD、IgG、IgA又はIgEと画定する。軽鎖及び重鎖において、可変領域及び定常領域は約12個以上のアミノ酸の「J」領域によって接合され、重鎖は約10個以上のアミノ酸の「D」領域も含む。概して、Berzofsky & Berkower, in Fundamental Immunology (Paul, (ed), Lippincott Williams & Wilkins (2012); その章及び巻の全体が全ての目的で引用することにより本明細書の一部をなす) を参照されたい。各軽鎖／重鎖対の可変領域は、無傷免疫グロブリンが2つの主要結合部位を有するように抗体結合部位を形成する。

40

【0083】

自然発生免疫グロブリン鎖は、相補性決定領域又は「CDR」とも呼ばれる3つの超可変領域によって接合される比較的保存されたフレームワーク領域 (FR) の同じ全体構造を示す。N末端からC末端に向かって、軽鎖及び重鎖はどちらもドメインFR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3及びFR4を含む。各ドメインへのアミノ酸の割当ては、Kabat (例えば、Kabat et al. in Sequences of Proteins of Immunolog

50

ical Interest, 5th Ed., NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991)を参照されたい)又はChothia (本明細書で使用されるChothia;例えば、Chothia & Lesk (1987), J. Mol. Biol. 196:901-917、Chothia et al., 1989, Nature 342:878-883 or Honegger & Pluckthun (2001), J Mol Biol 309:657-670を参照されたい)の定義に従って行うことができる。Kabatt、Chothia及びAbm (Oxford Molecular)のナンバリングシステムは、本明細書でより詳しく記載される。

【0084】

本明細書で使用される場合、「in vitro細胞」の用語は、ex vivoで培養される任意の細胞を指す。in vitro細胞は、T細胞若しくは樹状細胞等のヒト細胞を含んでいてもよく、又はCHO、SP2/O、ウサギ及び他の非ヒト細胞を含んでいてもよい。

10

【0085】

本明細書で使用される「軽鎖」の用語は、抗体に関して使用される場合、定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、任意の異なる種類、例えばカッパー(κ)又はラムダ(λ)を指す場合がある。軽鎖アミノ酸配列は当該技術分野で知られている。具体的な実施形態では、軽鎖はヒト軽鎖である。

【0086】

「中和する、中和すること」の用語は、リガンド(例えば配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499及び／又は配列番号500を含む部分)に結合し、そのリガンドの生物学的効果を妨げる又は減少させる抗原結合分子、scFv、抗体又はそのフラグメントを指す。幾つかの実施形態では、抗原結合分子、scFv、抗体又はそのフラグメントは、リガンド上の結合部位を直接遮断する、或いは間接的な手段(リガンドの構造の又はエネルギーの変更等)によってリガンドの結合能を変更する。幾つかの実施形態では、抗原結合分子、scFv、抗体又はそのフラグメントは、結合されるタンパク質が生体機能を実施するのを妨げる。

20

【0087】

本明細書で使用される場合、「患者」の用語は、癌等の異常な生理的状态の治療を受けているか、又は障害と正式に診断された任意のヒト、正式に認識された障害を有しないヒト、治療を受けているヒト、障害を発症するリスクがあるヒト等を意味する。「被験体」及び「患者」の用語は、本明細書では区別なく使用され、ヒト及び非ヒト動物被験体の両方を含む。

30

【0088】

本明細書で使用される「ペプチド」、「ポリペプチド」及び「タンパク質」の用語は、本明細書では区別なく使用され、ペプチド結合によって共有結合的に連結されたアミノ酸残基で構成される化合物を意味する。ポリペプチド、タンパク質又はペプチドは、少なくとも2個のアミノ酸を含まなければならないが、タンパク質又はペプチドのアミノ酸配列を構成し得るアミノ酸の最大数に制限はない。本明細書で使用される場合、上記用語は、ペプチド、オリゴペプチド及びオリゴマーとも一般的に称される短い鎖と、一般的にはタンパク質と称される、より長い鎖との両方を指す。「ポリペプチド」としては例えば、特に、生物学的に活性なフラグメント、実質的に相同性のポリペプチド、オリゴペプチド、ホモダイマー、ヘテロダイマー、ポリペプチドの変異体、修飾ポリペプチド、誘導体、類縁体、融合タンパク質が挙げられる。「ポリペプチド」の用語は、天然ペプチド、組み換えペプチド、合成ペプチド又はそれらの組合せを含む。

40

【0089】

幾つかの態様では、ポリペプチド及び／又はタンパク質は、抗原結合分子の1個以上のアミノ酸の欠失、付加及び／又は置換を有する。有用なポリペプチドフラグメントは、限定されないが、1個以上のCDR領域、重鎖及び／又は軽鎖の可変ドメイン、抗体鎖の他の部分の一部等を含む、抗原結合分子の免疫学的に機能性のフラグメントを含み得る。抗原結合分子の1つ以上のアミノ酸と置き換えることができる部分としては、例えばD形態又はL形態のアミノ酸、(図6及び図8に提示されるこれらの配列、並びにそれらの列挙

50

される配列番号と比較して) 抗原結合分子の同じ位置に通常見られるアミノ酸とは異なるアミノ酸、欠失、非自然発生アミノ酸、及びアミノ酸の化学類縁体が挙げられる。

【0090】

ペプチド類縁体は、鑄型ペプチドと似た特性を有する非ペプチド薬として製薬業界で一般に使用され、本開示の一態様を形成する。これらのタイプの非ペプチド化合物は、「ペプチド模倣体 ("peptide mimetics" or "peptidomimetics") 」と称される。例えば、Fau chere, (1986) Adv. Drug Res. (Testa, ed.) 15:29-69、Veber & Freidinger, (1985) T INS, p.392、及びEvans et al., (1987) J. Med. Chem, 30:1229-39 (いかなる目的についても引用することにより本明細書の一部をなす) を参照されたい。

【0091】

配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499及び／又は配列番号500、これらの配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞を含むポリペプチド、ペプチド、タンパク質及び類似分子は、これらの用語によって具体的に包含される。

【0092】

本明細書で使用される場合、「パーセント同一性」の用語は、比較される分子中のアミノ酸又はヌクレオチド間で同一の残基のパーセントを意味する。これらの算出については、アラインメントにおけるギャップ(存在する場合は、特定の数理モデル又はコンピュータープログラム(すなわち、「アルゴリズム」)によってアドレス指定されなければならない。アラインメントさせた核酸又はポリペプチドの同一性を算出するために使用することができる方法としては、Computational Molecular Biology, (Lesk, ed.), (1988) N ew York: Oxford University Press、Biocomputing Informatics and Genome Projects, (Smith, ed.), 1993, New York: Academic Press、Computer Analysis of Sequence Data , Part I, (Griffin and Griffin, eds.), 1994, New Jersey: Humana Press、von Heinj e, (1987) Sequence Analysis in Molecular Biology, New York: Academic Press、Sequ ence Analysis Primer, (Gribskov and Devereux, eds.), 1991, New York: M. Stockton Press、及びCarillo et al., (1988) J. Applied Math. 48:1073に記載されるものが挙げられる。

【0093】

パーセント同一性の算出においては、配列間の最も大きな一致を与える方法で比較される配列をアラインメントさせる。パーセント同一性を特定するために使用されるコンピュータープログラムは、例えばMOE (Chemical Computing Group) 又はDNA STAR (ウィスコンシン州マディソンのウィスコンシン大学) であり得る。コンピューターアルゴリズムであるGAPを使用して、パーセント配列同一性が特定される2つのポリペプチド又はポリヌクレオチドをアラインメントさせることができる。配列を、それらの各アミノ酸又はヌクレオチドの最適なマッチング(アルゴリズムによって特定される、「一致スパン(matched span)」)についてアラインメントさせる。ギャップ開始ペナルティ(gap opening penalty) (平均対角(average diagonal)の3倍として算出され、ここで「平均対角」は使用される比較マトリクスの対角の平均である; 「対角」は、特定の比較マトリクスにより各々の完全なアミノ酸の一致に対して割り当てられるスコア又は数である) 及びギャップ伸長ペナルティ(通常は、ギャップ開始ペナルティの1/10倍である)、並びにPAM 250又はBLOSUM 62等の比較マトリクスがアルゴリズムと併せて用いられる。或る特定の実施形態では、上記アルゴリズムによって、標準的な比較マトリクス(例えば、Dayhoff et al., (1978) Atlas of Protein Sequence and Structure 5 :345-352 for the PAM 250 comparison matrix、Henikoff et al., (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89: 10915-10919 for the BLOSUM 62 comparison matrixを参照されたい) も使用される。

【0094】

2つのアミノ酸配列をアラインメントさせる或る特定のアラインメントスキームは、2つの配列の短い領域のみのマッチングをもたらすことができ、このアラインメントされた小さな領域は、2つの完全長配列間に有意な関連性が存在しないにもかかわらず、非常に

10

20

30

40

50

高い配列同一性を有し得る。したがって、選択されるアラインメント方法（例えば、GAPプログラム）は標的ポリペプチドの少なくとも50個の連続アミノ酸にわたるアラインメントをもたらすように必要に応じて調整され得る。

【0095】

本明細書で使用される場合、「一本鎖抗体」及び「一本鎖可変フラグメント（scFv）」の用語は区別なく使用され、VL及びVH領域が連続タンパク質鎖を形成するようにリンカーによって接合され、タンパク質鎖がそれ自体に折り重なり、一価抗原結合部位を形成するようにリンカーが十分に長い抗原結合分子を意味する（例えば、Bird et al., (1988) Science 242:423-26及びHuston et al., (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 85:5879-83 (1988)を参照されたい）。FMC 63 (Nicholson et al., (1997) Mol. Immunol. 34:(16-17) 1157-65) が scFv の具体例であり、CD19 に特異的である。 10

【0096】

治療剤（例えば配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499及び／又は配列番号500を含む部分、これらの配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞）の「治療的有效量」、「有効用量」、「有効量」又は「治療的に有効な投薬量」は、単独で又は別の治療剤と組み合わせて使用された場合に、疾患の発症から被験体を保護する、又は疾患症状の重症度の減少、疾患症状のない期間の頻度及び持続期間の増加、若しくは疾患の罹患に起因する機能障害若しくは身体障害の予防によって明示される疾患の退縮を促進する、任意の量である。治療剤の疾患の退縮を促進する能力は、熟練した専門家に知られている様々な方法を使用して、例えば、臨床試験中のヒト被験体において、ヒトにおける 20 効能を予測する動物モデル系において、又は *in vitro* アッセイにおいて薬剤の活性をアッセイすることによって評価され得る。

【0097】

「形質導入」及び「形質導入した」の用語は、外来性DNAがウイルスベクターによって細胞へと導入されるプロセスを指す (Hartl and Jones (1997) Genetics: Principles and Analysis, 4th ed, Jones & Bartlettを参照されたい)。幾つかの実施形態では、ベクターはレトロウイルスベクター、DNAベクター、RNAベクター、アデノウイルスベクター、バキュロウイルスベクター、エプスタインバーウイルスベクター、パポバウイルスベクター、ワクシニアウイルスベクター、単純ヘルペスウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター、レンチウイルスベクター又はそれらの任意の組合せである。 30

【0098】

本明細書で使用される場合、「可変領域」又は「可変ドメイン」の用語は区別なく使用され、抗体の一部、一般的には、軽鎖又は重鎖の一部、典型的には抗体のアミノ末端を意味し、重鎖中の約100個～130個のアミノ酸及び軽鎖中の約90個～115個のアミノ酸を含み、それらは、抗体間で配列が広範囲に異なり、特定の抗原に対する特定の抗体の結合及び特異性において使用される。配列における可変性は、相補性決定領域（CDR）と称される領域に濃縮されるのに対し、可変ドメイン中のより高度に保存された領域はフレームワーク領域（FR）と称される。軽鎖及び重鎖のCDRは、抗体の抗原との相互作用及び特異性を主として担うものである。

【0099】

或る特定の実施形態では、抗原結合分子の可変領域はヒト可変領域である。更なる実施形態では、可変領域は、齧歯類、ヒト又はマウスのCDR、及びヒトのフレームワーク領域（FR）を含む。更なる実施形態では、可変領域は霊長類（例えば非ヒト霊長類）の可変領域である。また更なる実施形態では、可変領域はウサギ可変領域である。他の実施形態では、可変領域は、ヒトCDR及び非ヒト（例えばウサギ、マウス、ラット又は非ヒト霊長類）フレームワーク領域（FR）を含む。他の実施形態では、可変領域は非ヒト（例えばウサギ、マウス、ラット又は非ヒト霊長類）CDR及びヒトフレームワーク領域（FR）を含む。 40

【0100】

「VH」、「VHドメイン」及び「VH鎖」の用語は区別なく使用され、抗原結合分子 50

、抗体又はその抗原結合フラグメントの重鎖可変領域を意味する。

【0101】

「VL」、「VLドメイン」及び「VL鎖」の用語は区別なく使用され、抗原結合分子、抗体又はその抗原結合フラグメントの軽鎖可変領域を意味する。

【0102】

本発明の様々な態様が以下の小節に更に詳細に記載される。

【0103】

I I. 抗原結合分子及びそれをコードするポリヌクレオチド

本開示は、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号1）及びその部分配列、特にG S G K P G S G E G（配列番号2）、G K P G S G E G（配列番号3）、S G K P G S G E（配列番号499）及び／又はK P G S G（配列番号500）、これらの配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞を特異的に結合する、抗体を含む抗原結合分子、及び／又は本明細書に記載される1つ以上の抗原結合分子（すなわち、図6及び図8に記載され、及び／又は添付の配列表に開示されるものの1つ以上）と交差競合する抗原結合分子に関する。抗原結合分子をコードするポリヌクレオチドも提供され、本開示の一態様を形成する。

【0104】

本発明のコードされる抗体又は抗原結合分子は、一本鎖又は二本鎖であり得る。幾つかの実施形態では、抗体又は抗原結合分子は一本鎖である。或る特定の実施形態では、抗原結合分子はs c F v、F a b、F a b'、F v、F (a b')₂、d A b及びそれらの任意の組合せからなる群から選択される。特定の一実施形態では、抗体又は抗原結合分子はs c F vを含む。

【0105】

或る特定の実施形態では、抗体等の抗原結合分子は、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域がリンカーによって接続された一本鎖（s c F v）を含む。幾つかの実施形態では、V HがリンカーのN末端に位置し、V LがリンカーのC末端に位置する。他の実施形態では、V LがリンカーのN末端に位置し、V HがリンカーのC末端に位置する。幾つかの実施形態では、リンカーは少なくとも約5個、少なくとも約8個、少なくとも約10個、少なくとも約13個、少なくとも約15個、少なくとも約18個、少なくとも約20個、少なくとも約25個、少なくとも約30個、少なくとも約35個、少なくとも約40個、少なくとも約45個、少なくとも約50個、少なくとも約60個、少なくとも約70個、少なくとも約80個、少なくとも約90個又は少なくとも約100個のアミノ酸を含む。幾つかの実施形態では、リンカーは約8個のアミノ酸～約18個のアミノ酸（例えば、10個のアミノ酸）を含む。

【0106】

幾つかの実施形態では、本発明の抗原結合分子は、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号1）及びその部分配列、特にG S G K P G S G E G（配列番号2）、G K P G S G E G（配列番号3）、S G K P G S G E（配列番号499）及び／又はK P G S G（配列番号500）、これらの配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する。或る特定の実施形態では、本開示の抗原結合分子は配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499及び／又は配列番号500、並びにこれらの配列を含む分子及びかかる分子を提示する細胞を 1×10^{-6} M未満、 1×10^{-7} M未満、 1×10^{-8} M未満又は 1×10^{-9} M未満の K_D で特異的に結合する。特定の一実施形態では、抗原結合分子は配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499及び／又は配列番号500、並びにこれらの配列を含む分子及びかかる分子を提示する細胞に 1×10^{-7} M未満の K_D で特異的に結合する。別の実施形態では、抗原結合分子は配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499及び／又は配列番号500、並びにこれらの配列を含む分子及びかかる分子を提示する細胞を 1×10^{-8} M未満の K_D で特異的に結合する。幾つかの実施形態では、抗原結合分子はs c F v F M C 6 3、並びにこの配列を含む分子及びかかる分子を提示する細胞を約 1×10^{-7} M、約 2×10^{-7} M、約 $3 \times$

10^{-7} M、約 4×10^{-7} M、約 5×10^{-7} M、約 6×10^{-7} M、約 7×10^{-7} M、約 8×10^{-7} M、約 9×10^{-7} M、約 1×10^{-8} M、約 2×10^{-8} M、約 3×10^{-8} M、約 4×10^{-8} M、約 5×10^{-8} M、約 6×10^{-8} M、約 7×10^{-8} M、約 8×10^{-8} M、約 9×10^{-8} M、約 1×10^{-9} M、約 2×10^{-9} M、約 3×10^{-9} M、約 4×10^{-9} M、約 5×10^{-9} M、約 6×10^{-9} M、約 7×10^{-9} M、約 8×10^{-9} M、約 9×10^{-9} M、約 1×10^{-10} M又は約 5×10^{-10} Mの K_D で結合する。 K_D は、本明細書に記載されるように標準的な方法論を用いて算出することができる。

【0107】

具体的な実施形態では、本開示の抗原結合分子は、クローン8又はクローン16として本明細書で同定される抗体であり、各々が提示及び標識される以下の重鎖及び軽鎖アミノ酸、コード配列、可変配列及びCDR配列を含む：

クローン8 VH DNAコード配列

ATGGAGACTGGGCTGCGCTGGCTTCTCCTGGTCTGCTCAAAGGTGTCCAGTGTGAGTCGGTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTACGCTGGGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGCCTCTGGATTACCATCAGTAACCTTGCAATAATCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAGGGGCTGGAATATATCGGAGACATTGATGGTCTGGTGCATATACTGTGCGACCTGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAAAACCTCGACCACACTGGATCTGAGATTACACAGCCGACAACCGAGGACACGGCCACCTACTTCTGTGCCGTAGATGGTGGTAGTGGTTGGGGTGACTTTAACTTTTGGGGCCCAGGCACCCTGGTCAACGTCTCCTCA (配列番号4)

クローン8 VH AA (CDRは下線)

METGLRWLLLVAVLKGVCQSQVEESGGRLVTPGTPLTLTCTASGFTISNLAI IWRQAPGKGLEYIGDIDGRGDIYCATWAKGRFTISKSTTLDLRFTSPPTEDTATYFCAVDGDGSGWGDFNFWPGTLVTVSS (配列番号5)

クローン8 HC AA (CDRは下線)

METGLRWLLLVAVLKGVCQSQVEESGGRLVTPGTPLTLTCTASGFTISNLAI IWRQAPGKGLEYIGDIDGRGDIYCATWAKGRFTISKSTTLDLRFTSPPTEDTATYFCAVDGDGSGWGDFNFWPGTLVTVSSGQPKAPSVFPLAPCCGDTSPSTVTLGCLVKGYLPEPVTVTWNSGTLTNGVTRTFPSVRQSSGLYSLSSVSVTSSSQPVTCNVAHPATNTKVDKTVAPSTCSKPTCPPPELLGGPSVFIFFPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSDDEPVQFTWYINNEQVTRARPLREQQFNSTIRVVSTLPIAHQDWLRGKEFKCKVHNKALPAPIEKTISKARGQPLEPKVYTMGPPREELSSRSVSLTCMINGFYPSDISVEWEKNGKAE DNYKTTPAVLDSGYSFLYSKLSVPTSEWQRGDVFTCSVMHEALHNHYTQKSISRSPGK (配列番号6)

クローン8 VH CDR1 AA

GFTISNL (配列番号7)

クローン8 VH CDR2 AA

DIDGRGDIYCATWAK (配列番号8)

クローン8 VH CDR3 AA

DGDGSGWGDFNF (配列番号9)

クローン8 VL DNAコード配列

ATGGACACGAGGGCCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGGCTCCCAGGTGCCAGATGTGCCTATGATATGACCAGACTCCAGCCTCTGTGGAGGTAGCTGTGGGAGGCACAGTCAGCATCAAGTGCCAGGCCAGTCAGAGCATTAGCACTGCATTAGCCTGGTATCAGCAGAAAACAGGACAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTACAGGGCATCCACTCTGGCATCTGGGGTCTCATCGCGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACCTCTCACCATCAGCGCGTGGAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCAACAGGGTTGGAGTACTGTGAATGTTGATAATGTTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAGA (配列番号10)

クローン8 VL AA (CDRは下線)

MDTRAPTQLLGLLLLWLPGARCAYDMTQTPASVEVAVGGTVSIKQASQSI¹STALAWYQQKPGQPPKLLIYRASTLASGVSSRFKSGSGTQFTLTISGVECDAAATYYCQQGWSTVNDNVFVGGGTEVVVR (配列番号11)

クローン8 LC AA (CDRは下線)

MDTRAPTQLLGLLLLWLPGARCAYDMTQTPASVEVAVGGTVSIKQASQSI¹STALAWYQQKPGQPPKLLIYRASTLASGVSSRFKSGSGTQFTLTISGVECDAAATYYCQQGWSTVNDNVFVGGGTEVVVRDPVAPT¹VLIFPPAADQVATGTVTIVCVANKYFPDVTVTWEVDGTTQTGTGIENSKTPQNSADCTYNLSSTLTLTSTQYN¹SHKEYTCKVTQGTTSVVQSFN¹RGDC (配列番号12)

10

20

30

40

50

クローン 8 V L C D R 1 A A

QASQSISTALA (配列番号 1 3)

クローン 8 V L C D R 2 A A

RASTLAS (配列番号 1 4)

クローン 8 V L C D R 3 A A

QQGWSTVNVDNV (配列番号 1 5)

クローン 1 6 V H D N A コード 配列

ATGGAGACTGGGCTGCGCTGGCTTCTCCTGGTTCGCTGTGCTCAAAGGTGTCCAGTGTCTCAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGG
TCGCCTGGTACACGCTGGGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGATCCGACATCAGTAGCTACCACATGGGCT
GGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGCTGGAATACATCGGAATCATTTGTTAGTAGTGGTAGCGCATACTACGCGACCTGG
GCAAAAGGCCGATTACCATCTCCAGGACCTCGACCACGGTGGATCTGAAAATCACCAGTCCGACAACCGAGGACTCGGC
CACCTATTTCTGTGCCAGAAATCAATATAGTGGTTATGGCTTTAGCTTCTGGGGCCCAGGCACCCCTGGTCACCGTCTCCT
CA (配列番号 1 6)

クローン 1 6 V H A A (C D R は下線)

METGLRWLLLVAVLKGVCQSLEESGGRVTPGTPLTLTCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEYIGIIVSSGSAYYATW
AKGRFTISRSTTTVDLKITSPPTEDSATYFCARNQYSGYGFSFWGPGTLVTVSS (配列番号 1 7)

クローン 1 6 H C A A (C D R は下線)

METGLRWLLLVAVLKGVCQSLEESGGRVTPGTPLTLTCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEYIGIIVSSGSAYYATW
AKGRFTISRSTTTVDLKITSPPTEDSATYFCARNQYSGYGFSFWGPGTLVTVSSGQPKAPSVFPLAPCCGDTSPSTVTLG
CLVKGYLPEPVTVTWNSGTLTNGVRTFPSVRQSSGLYSLSSVSVTSSSQPVTCNVAHPATNTKVDKTVAPSTCSKPTCP
PPELLGGPSVFIFFPKPKDTLMISRTPVTCVVVDVSQDDPEVQFTWYINNEQVRTARPPPLREQQFNSTIRVVSTLPIAH
QDWLRGKEFKCKVHNKALPAPIEKTISKARGQPLEPKVYTMGPPREELSSRSVSLTCMINGFYPSDISVEWEKNGKAEDN
YKTPPAVLDSGYSFLYSKLSVPTSEWQRGDVFTCSVMHEALHNHYTQKSISRSPGK (配列番号 1 8)

クローン 1 6 V H C D R 1 A A

GSDISSY (配列番号 1 9)

クローン 1 6 V H C D R 2 A A

IIVSSGSAYYATWAK (配列番号 2 0)

クローン 1 6 V H C D R 3 A A

NQYSGYGFSF (配列番号 2 1)

クローン 1 6 V L D N A コード 配列

ATGGACACGAGGGCCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGGCTCCCAGGTGCCACATTTGCCGTCGTGCTGAC
CCAGACTCCATCCCCAGTGTCTACAGCTGTAGGAGGCACAGTCACCATCAATTGCCAGTCCAGTCACAGTGTATTATTATG
GCGACTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCTAAGCTCCTGATCTACAGGGCATCCAATCTGGCATCT
GGTGTCCCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGGCGTGACGTGTGACGATGC
TGCCACTTACTACTGTCTAGGCGGTTATGATGATGATGGTGAGACTGCTTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAA
(配列番号 2 2)

クローン 1 6 V L A A (C D R は下線)

MDTRAPTQLLGLLLLWLPATFAVVLTPSPVSTAVGGTVTINCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGQPPKLLIYRASNLAS
GVPSRFKSGSGTQFTLTISGVQCDDAATYYCLGGYDDDGETAFGGGTEVVVK (配列番号 2 3)

クローン 1 6 L C A A (C D R は下線)

MDTRAPTQLLGLLLLWLPATFAVVLTPSPVSTAVGGTVTINCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGQPPKLLIYRASNLAS
GVPSRFKSGSGTQFTLTISGVQCDDAATYYCLGGYDDDGETAFGGGTEVVVKDPVAPTVLIFPPAADQVATGTVTIVCV
ANKYFPDVTVTWEVDGTTQTGTIENSKTPQNSADCTYNLSSSTLTLTSTQYNSHKEYTCKVTQGTTSVVQSFNRGDC (配
列番号 2 4)

クローン 1 6 V L C D R 1 A A

QSSHSVYYGDWLA (配列番号 2 5)

クローン 1 6 V L C D R 2 A A

RASNLAS (配列番号 2 6)

クローン 1 6 V L C D R 3 A A

LGGYDDDGETA (配列番号 2 7)

10

20

30

40

50

【0108】

一実施形態では、本開示の抗原結合分子は抗体及びその抗原結合フラグメントである。一実施形態では、本開示の抗体は、図6及び図8に記載される少なくとも1つのCDRを含む。別の態様では、本開示は、本明細書に記載され、当該技術分野で知られているように本明細書に開示される抗体を産生することが可能なハイブリドーマ及びハイブリドーマから抗体を作製する方法を提供する。

【0109】

ヒト化抗体は本明細書に記載され、既知の技法によって作製することができる。一実施形態では、ヒト化モノクローナル抗体は、マウス又はウサギ抗体の可変ドメイン（又はその抗原結合部位の全て若しくは一部）と、ヒト抗体に由来する定常ドメインとを含む。代替的には、ヒト化抗体フラグメントは、マウス又はウサギモノクローナル抗体の抗原結合部位と、ヒト抗体に由来する可変ドメインフラグメント（抗原結合部位を欠く）とを含み得る。操作されたモノクローナル抗体を作製する手順としては、Riechmann et al., (1988) Nature 332:323、Liu et al., (1987) Proc. Nat. Acad. Sci. USA 84:3439、Larrick et al., (1989) Bio/Technology 7:934、及びWinter et al., (1993) TIPS 14:139に記載されるものが挙げられる。一実施形態では、キメラ抗体はCDRグラフト化抗体である。抗体をヒト化する技法は、例えば米国特許第5,869,619号、同第5,225,539号、同第5,821,337号、同第5,859,205号、同第6,881,557号、Padlan et al., (1995) FASEB J. 9:133-39、Tamura et al., (2000) J. Immunol. 164:1432-41、Zhang et al., (2005) Mol. Immunol. 42(12):1445-1451、Hwang et al., Methods. (2005) 36(1):35-42、Dall'Acqua et al., (2005) Methods 36(1):43-60、及びClark, (2000) Immunology Today 21(8):397-402に論考されている。

【0110】

本発明の抗原結合分子は、完全ヒトモノクローナル抗体であってもよい。完全ヒトモノクローナル抗体は、当業者が精通している様々な技法によって生成することができる。かかる方法としては、ヒト末梢血細胞（例えば、Bリンパ球を含有する）のエプスタインバーウイルス（EBV）形質転換、ヒトB細胞の*in vitro*免疫化、挿入されたヒト免疫グロブリン遺伝子を保有する免疫化トランスジェニックマウスに由来する脾臓細胞の融合、ヒト免疫グロブリンV領域ファージライブラリーからの単離、又は当該技術分野で知られており、本明細書の本開示に基づく他の手順が挙げられるが、これらに限定されない。

【0111】

非ヒト動物においてヒトモノクローナル抗体を生成する手順が開発されている。例えば、1つ以上の内在性免疫グロブリン遺伝子を様々な手段によって不活性化したマウスが作製された。ヒト免疫グロブリン遺伝子をマウスに導入し、不活性化マウス遺伝子を置き換えた。この技法では、ヒト重鎖及び軽鎖遺伝子座の要素を、内在性重鎖及び軽鎖遺伝子座の標的破壊を含有する胚性幹細胞系に由来するマウスの株に導入する（Bruggemann et al., (1997) Curr. Opin. Biotechnol. 8:455-58も参照されたい）。

【0112】

ヒト抗体又は部分ヒト抗体の作製のためのトランスジェニック動物を作製及び使用する技法の例は、米国特許第5,814,318号、同第5,569,825号及び同第5,545,806号；Davis et al., Antibody Engineering: Methods and Protocols, (Lo, ed) Humana Press, NJ, 191-200 (2003)；Kellermann et al., (2002) Curr Opin Biotechnol. 13:593-97；Russel et al., (2000) Infect Immun. 68:1820-26；Gallo et al., (2000) Eur J. Immun. 30:534-40；Davis et al., (1999) Cancer Metastasis Rev. 18:421-25；Green, (1999) J Immunol Methods 231:11-23；Jakobovits, (1998) Advanced Drug Delivery Reviews 31:33-42；Green et al., (1998) J Exp Med. 188:483-95；Jakobovits, (1998) Exp. Opin. Invest. Drugs. 7:607-14；Tsuda et al., (1997) Genomics, 42:413-21；Mendez et al., (1997) Nat. Genet. 15:146-56；Jakobovits, (1994) Curr Biol. 4:761-63；Arbones et al., (1994) Immunity 1:247-60；Green et al., (1994)

Nat. Genet. 7:13-21; Jakobovits et al., (1993) Nature 362:255-58; Jakobovits et al., (1993) Proc Natl Acad Sci USA 90:2551-55; Chen et al., (1993) Intl Immunol 5:647-656; Choi et al., (1993) Nature Genetics 4:117-23; Fishwild et al., (1996) Nature Biotechnology 14:845-51; Lonberg et al., (1994) Nature 368: 856-59; Lonberg, (1994) Handbook of Experimental Pharmacology 113: 49-101; Neuberger, (1996) Nature Biotech 14:826; Taylor et al., (1992) Nucleic Acids Research 20:6287-95; Taylor et al., (1994) Intl Immunol 6:579-91; Tomizuka et al., (1997) Nature Genetics 16:133-43; Tomizuka et al., (2000) Proc Nat Acad Sci USA 97:722-27; Tuail lon et al., (1993) Proc Nat Acad Sci USA 90:3720-24; Tuail lon et al., (1994) J I mmunol 152:2912-20.; Lonberg et al., (1994) Nature 368:856; Taylor et al., (1994) Intl Immunol 6:579; 米国特許第 5, 8 7 7, 3 9 7 号; Bruggemann et al., (1997) Curr. Opin. Biotechnol. 8:455-58; Jakobovits et al., (1995) Ann. N.Y. Acad. Sci. 764:525-35に記載されている。

【0113】

本発明の抗原結合分子を得るための付加的な方法は、この目的で確立されているファージディスプレイを用いたものである。例えば、Winter et al., (1994) Ann. Rev. Immunol. 12:433-55、Burton et al., (1994) Adv. Immunol 57:191-280を参照されたい。ヒト又はマウス免疫グロブリン可変領域の遺伝子のコンビナトリアルライブラリーをファージベクターにおいて作成し、これをスクリーニングして、s c F v F M C 6 3、並びにこの配列を含む分子及びかかる分子を提示する細胞を結合する I g フラグメント (F a b、F v、s F v 又はその多量体) を選択することができる。例えば米国特許第 5, 2 2 3, 4 0 9 号、Huse et al., (1989) Science 246:1275-81、Sastry et al., (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:5728-32、Alting-Mees et al., (1990) Strategies in Molecular Biology 3:1-9、Kang et al., (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:4363-66、Hoo genboom et al., (1992) J. Mol. Biol. 227:381-388、Schlebusch et al., (1997) Hybridoma 16:47-52、及びこれらに引用される参考文献を参照されたい。例えば、I g 可変領域フラグメントをコードする複数のポリヌクレオチド配列を含有するライブラリーを、M 1 3 若しくはラムダファージ (λ Immunozap (商標) (H) 及び λ Immunozap (商標) (L) ベクター (カリフォルニア州ラホヤのStratagene) もこのアプローチに使用することができる)、又はそれらの変異体等の繊維状バクテリオファージのゲノムに、ファージコートタンパク質をコードする配列とインフレームで挿入することができる。

【0114】

簡潔に述べると、mRNAをB細胞集団から単離し、λ Immunozap (商標) (H) 及び λ Immunozap (商標) (L)、並びに同様のベクターにおいて重鎖及び軽鎖免疫グロブリン cDNA 発現ライブラリーを作成するために使用する。これらのベクターを個別にスクリーニングするか、又は同時発現させて F a b フラグメント又は抗体を形成することができる。陽性プラークを続いて E. コリからのモノクローナル抗体フラグメントの高レベルの発現を可能にする非溶解性プラスミドへと変換することができる。

【0115】

一実施形態では、ハイブリドーマにおいて、対象のモノクローナル抗体を発現する遺伝子の可変領域を、ヌクレオチドプライマーを用いて増幅する。これらのプライマーは、当業者が合成するか、又は商業的供給源 (特に V_H、V_L、C_H 及び C_L 領域のプライマーを含むマウス及びヒト可変領域のプライマーも販売している) から購入することができる。これらのプライマーを用いて重鎖又は軽鎖可変領域を増幅することができ、これを次いでベクターに挿入することができる。次いで、これらのベクターを発現のために E. コリ、酵母又は哺乳動物ベースの系に導入することができる。V_H 及び V_L ドメインの融合体を含有する多量の一本鎖タンパク質を、これらの方法を用いて作製することができる。

【0116】

上記の免疫化及び他の技法のいずれかを用いて本明細書で提供される抗原結合分子を産

生する細胞が得られた後、本明細書に記載されるような標準的な手順に従い、DNA又はmRNAをそれから単離し、増幅することによって特定の抗体遺伝子をクローニングすることができる。それにより産生される抗体をシーケンシングすることができ、同定されたCDR及びCDRをコードするDNAを、本発明による他の抗体を生成するために先に記載したように操作することができる。

【0117】

抗体等の幾つかのタンパク質が様々な翻訳後修飾を受ける可能性があることが当業者には理解される。これらの修飾のタイプ及び程度は多くの場合、タンパク質を発現させるために使用される宿主細胞株、及び培養条件によって決まる。かかる修飾はグリコシル化、メチオニン酸化、ジケトピペリジン (diketopiperazine) 形成、アスパラギン酸塩異性化及びアスパラギン脱アミド化の変化を含み得る。よく見られる修飾は、カルボキシペプチダーゼの作用によるカルボキシ末端塩基性残基 (リシン又はアルギニン等) の喪失である (例えば、Harris, (1995) J Chromatog 705:129-34に記載される)。

【0118】

マウスモノクローナル抗体を作製する代替的方法是、ハイブリドーマ細胞を同系マウス、例えばモノクローナル抗体を含有する腹水の形成を促進するために処理された (例えば、プリスタンで刺激された) マウスの腹膜腔に注射することである。モノクローナル抗体を、確立されている様々な技法によって単離し、精製することができる。かかる単離法として、プロテインAセファロースを用いたアフィニティークロマトグラフィー、サイズ排除クロマトグラフィー及びイオン交換クロマトグラフィーが挙げられる (例えば、Baines and Thorpe, (1992) in Methods in Molecular Biology, 10:79-104 (The Humana Press) を参照されたい)。モノクローナル抗体は、抗体の特定の性質 (例えば、重鎖又は軽鎖のアイソタイプ、結合特異性等) に基づいて選択された適切なリガンドを用いるアフィニティークロマトグラフィーによって精製することができる。固体支持体に固定化される好適なリガンドの例としては、プロテインA、プロテインG、抗定常領域 (軽鎖又は重鎖) 抗体及び抗イディオタイプ抗体が挙げられる。

【0119】

開示の抗原結合分子はウサギの系において産生させたが、ヒト、部分ヒト又はヒト化抗体が多く用途、特にヒト被験体への抗体の投与を伴う用途に好適な場合があり、他のタイプの抗原結合分子が或る特定の用途に好適である。かかる抗体は本明細書に記載されるように作製することができ、本開示の一態様を形成する。

【0120】

本開示は、GSTSGSGKPGSGEGSTKG (配列番号1) 及びその部分配列、特にGSGKPGSGEG (配列番号2)、GKPGSGEG (配列番号3)、SGKPGSGE (配列番号499) 及び／又はKPGSG (配列番号500)、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗原結合分子を提供する。本明細書に開示される抗原結合分子と交差競合する抗原結合分子が本開示の別の態様を形成する。

【0121】

或る特定の実施形態では、抗原結合分子は配列番号5、配列番号11、配列番号17及び配列番号23からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む参照抗体と交差競合する。或る特定の実施形態では、抗原結合分子は、配列番号13又は配列番号19のアミノ酸配列を含むVH CDR1を含む参照抗体と交差競合する。或る特定の実施形態では、抗原結合分子は、配列番号14又は配列番号20のアミノ酸配列を含むVH CDR2を含む参照抗体と交差競合する。或る特定の実施形態では、抗原結合分子は、配列番号15又は配列番号21のアミノ酸配列を含むVH CDR3を含む参照抗体と交差競合する。

【0122】

他の実施形態では、抗原結合分子は、配列番号13又は配列番号25のアミノ酸配列を含むVL CDR1を含む参照抗体と交差競合する。或る特定の実施形態では、抗原結合分子は、配列番号14又は配列番号26のアミノ酸配列を含むVL CDR2を含む参照

抗体と交差競合する。或る特定の実施形態では、抗原結合分子は、配列番号 15 又は配列番号 27 のアミノ酸配列を含む V L C D R 3 を含む参照抗体と交差競合する。

【0123】

幾つかの実施形態では、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 499 及び／又は配列番号 500 を特異的に結合する抗体又は抗原結合分子は、本明細書に開示される参照抗体と同じ又は重複するエピトープ（例えば、図 6 及び図 8 に提示される配列を含むもの）を結合する。或る特定の実施形態では、抗体又は抗原結合分子は、参照抗体と同じ又は重複するエピトープを結合する。

【0124】

I I a. クローン 8

幾つかの実施形態では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号 1）及びその部分配列、特に G S G K P G S G E G（配列番号 2）、G K P G S G E G（配列番号 3）、S G K P G S G E（配列番号 499）及び／又は K P G S G（配列番号 500）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗原結合分子又は抗体は、アミノ酸配列 G F T I S N L（配列番号 7）を含む、それからなる、又はそれから本質的になる V H C D R 1 を含む。

【0125】

幾つかの実施形態では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号 1）及びその部分配列、特に G S G K P G S G E G（配列番号 2）、G K P G S G E G（配列番号 3）、S G K P G S G E（配列番号 499）及び／又は K P G S G（配列番号 500）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗原結合分子又は抗体は、アミノ酸配列 D I D G R G D I Y C A T W A K（配列番号 8）を含む、それからなる、又はそれから本質的になる V H C D R 2 を含む。

【0126】

幾つかの実施形態では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号 1）及びその部分配列、特に G S G K P G S G E G（配列番号 2）、G K P G S G E G（配列番号 3）、S G K P G S G E（配列番号 499）及び／又は K P G S G（配列番号 500）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗原結合分子又は抗体は、アミノ酸配列 D G D G S G W G D F N F（配列番号 9）を含む、それからなる、又はそれから本質的になる V H C D R 3 を含む。

【0127】

幾つかの実施形態では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号 1）及びその部分配列、特に G S G K P G S G E G（配列番号 2）、G K P G S G E G（配列番号 3）、S G K P G S G E（配列番号 499）及び／又は K P G S G（配列番号 500）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗原結合分子又は抗体は、（a）アミノ酸配列 G F T I S N L（配列番号 7）を含む、それからなる、若しくはそれから本質的になる V H C D R 1、及び／又は（b）アミノ酸配列 D I D G R G D I Y C A T W A K（配列番号 8）を含む、それからなる、若しくはそれから本質的になる V H C D R 2、及び／又は（c）アミノ酸配列 D G D G S G W G D F N F（配列番号 9）を含む、それからなる、若しくはそれから本質的になる V H C D R 3 を含む重鎖 V H を含む。

【0128】

幾つかの実施形態では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号 1）及びその部分配列、特に G S G K P G S G E G（配列番号 2）、G K P G S G E G（配列番号 3）、S G K P G S G E（配列番号 499）及び／又は K P G S G（配列番号 500）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗原結合分子又は抗体は、図 6 及び図 8 に提示される V H C D R 1、V H C D R 2 及び V H C D R 3 配列のアミノ酸配列を含む V H C D R 1、V H C D R 2 及び V H C D R 3 を含む。

【0129】

10

20

30

40

50

幾つかの実施形態では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号1）及びその部分配列、特にG S G K P G S G E G（配列番号2）、G K P G S G E G（配列番号3）、S G K P G S G E（配列番号499）及び／又はK P G S G（配列番号500）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗原結合分子又は抗体は、図6及び図8のアミノ酸配列（例えば、（配列番号5））を含む重鎖可変領域配列を含む。

【0130】

幾つかの実施形態では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号1）及びその部分配列、特にG S G K P G S G E G（配列番号2）、G K P G S G E G（配列番号3）、S G K P G S G E（配列番号499）及び／又はK P G S G（配列番号500）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗原結合分子又は抗体は、本明細書に記載されるVHフレームワーク領域（FR）を含む。具体的な実施形態では、抗体又は抗原結合分子は、図6及び図8に提示される配列に記載される又はそれから誘導可能なVH FR（例えば、図6又は図8の1つの配列中のFRの1つ、2つ、3つ又は4つ）を含む。

【0131】

幾つかの実施形態では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号1）及びその部分配列、特にG S G K P G S G E G（配列番号2）、G K P G S G E G（配列番号3）、S G K P G S G E（配列番号499）及び／又はK P G S G（配列番号500）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗原結合分子又は抗体は、本明細書に開示される重鎖配列（例えば、図6の配列番号6）を含む。一実施形態では、抗体又は抗原結合分子は配列番号5のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む。

【0132】

様々な実施形態において、重鎖可変領域は、配列番号5の重鎖可変領域配列に対して80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%又は99%同一である。

【0133】

幾つかの実施形態では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号1）及びその部分配列、特にG S G K P G S G E G（配列番号2）、G K P G S G E G（配列番号3）、S G K P G S G E（配列番号499）及び／又はK P G S G（配列番号500）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗原結合分子又は抗体は、アミノ酸配列Q A S Q S I S T A L A（配列番号13）を含む、それからなる、又はそれから本質的になるV L C D R 1を含む。

【0134】

幾つかの実施形態では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号1）及びその部分配列、特にG S G K P G S G E G（配列番号2）、G K P G S G E G（配列番号3）、S G K P G S G E（配列番号499）及び／又はK P G S G（配列番号500）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗原結合分子又は抗体は、アミノ酸配列R A S T L A S（配列番号14）を含む、それからなる、又はそれから本質的になるV L C D R 2を含む。

【0135】

幾つかの実施形態では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号1）及びその部分配列、特にG S G K P G S G E G（配列番号2）、G K P G S G E G（配列番号3）、S G K P G S G E（配列番号499）及び／又はK P G S G（配列番号500）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗原結合分子又は抗体は、アミノ酸配列Q Q G W S T V N V D N V（配列番号15）を含む、それからなる、又はそれから本質的になるV L C D R 3を含む。

【0136】

幾つかの実施形態では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号1）及びそ

の部分配列、特にG S G K P G S G E G（配列番号2）、G K P G S G E G（配列番号3）、S G K P G S G E（配列番号499）及び／又はK P G S G（配列番号500）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗原結合分子又は抗体は、（a）アミノ酸配列Q A S Q S I S T A L A（配列番号13）を含む、それからなる、若しくはそれから本質的になるV L C D R 1、及び／又は（b）アミノ酸配列R A S T L A S（配列番号14）を含む、それからなる、若しくはそれから本質的になるV L C D R 2、及び／又は（c）アミノ酸配列Q Q G W S T V N V D N V（配列番号15）を含む、それからなる、若しくはそれから本質的になるV L C D R 3を含む軽鎖V Lを含む。

【0137】

幾つかの実施形態では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号1）及びその部分配列、特にG S G K P G S G E G（配列番号2）、G K P G S G E G（配列番号3）、S G K P G S G E（配列番号499）及び／又はK P G S G（配列番号500）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗原結合分子又は抗体は、図6及び図8に提示されるV L C D R 1、V L C D R 2及びV L C D R 3配列のアミノ酸配列を含むV L C D R 1、V L C D R 2及びV L C D R 3を含む。

【0138】

幾つかの実施形態では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号1）及びその部分配列、特にG S G K P G S G E G（配列番号2）、G K P G S G E G（配列番号3）、S G K P G S G E（配列番号499）及び／又はK P G S G（配列番号500）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗原結合分子又は抗体は、図6又は図8のアミノ酸配列（例えば、配列番号11）を含む軽鎖可変領域配列を含む。

【0139】

幾つかの実施形態では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号1）及びその部分配列、特にG S G K P G S G E G（配列番号2）、G K P G S G E G（配列番号3）、S G K P G S G E（配列番号499）及び／又はK P G S G（配列番号500）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗原結合分子又は抗体は、本明細書に記載されるV L フレームワーク領域（F R）を含む。具体的な実施形態では、抗体又は抗原結合分子は、図6及び図8に提示される配列に記載される又はそれから誘導可能なV L F R（例えば、図6又は図8の1つの配列中のF Rの1つ、2つ、3つ又は4つ）を含む。

【0140】

幾つかの実施形態では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号1）及びその部分配列、特にG S G K P G S G E G（配列番号2）、G K P G S G E G（配列番号3）、S G K P G S G E（配列番号499）及び／又はK P G S G（配列番号500）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗原結合分子又は抗体は、本明細書に開示される軽鎖配列（例えば、図6又は図8の配列番号12）を含む。一実施形態では、抗体又は抗原結合分子は配列番号11のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【0141】

様々な実施形態において、軽鎖可変領域は、配列番号11の軽鎖可変領域配列に対して80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%又は99%同一である。

【0142】

幾つかの実施形態では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号1）及びその部分配列、特にG S G K P G S G E G（配列番号2）、G K P G S G E G（配列番号3）、S G K P G S G E（配列番号499）及び／又はK P G S G（配列番号500）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗体又は抗原結

10

20

30

40

50

合分子は、本明細書に開示される V H C D R 配列のいずれか 1 つ、2 つ及び／又は 3 つを含む。或る特定の実施形態では、抗体又は抗原結合分子は、本明細書に開示される任意の V H C D R 1、V H C D R 2 及び V H C D R 3 のアミノ酸配列をそれぞれ有する V H C D R 1、V H C D R 2 及び V H C D R 3 を含む。幾つかの実施形態では、抗体又は抗原結合分子は、本明細書に開示される V L C D R 配列のいずれか 1 つ、2 つ及び／又は 3 つを含む。或る特定の実施形態では、抗体又は抗原結合分子は、本明細書に開示される任意の V L C D R 1、V L C D R 2 及び V L C D R 3 のアミノ酸配列をそれぞれ有する V L C D R 1、V L C D R 2 及び V L C D R 3 を含む。

【0143】

一実施形態では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号 1）及びその部分配列、特に G S G K P G S G E G（配列番号 2）、G K P G S G E G（配列番号 3）、S G K P G S G E（配列番号 499）及び／又は K P G S G（配列番号 500）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗体又は抗原結合分子は、（a）配列番号 7 のアミノ酸配列を含む V H C D R 1 領域、（b）配列番号 8 のアミノ酸配列を含む V H C D R 2 領域、（c）配列番号 9 のアミノ酸配列を含む V H C D R 3 領域、（d）配列番号 13 のアミノ酸配列を含む V L C D R 1 領域、（e）配列番号 14 のアミノ酸配列を含む V L C D R 2 領域、及び（f）配列番号 15 のアミノ酸配列を含む V L C D R 3 領域を含む。

【0144】

一実施形態では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号 1）及びその部分配列、特に G S G K P G S G E G（配列番号 2）、G K P G S G E G（配列番号 3）、S G K P G S G E（配列番号 499）及び／又は K P G S G（配列番号 500）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞（配列番号 1）、この配列を含む分子、並びにこの配列を提示する細胞に特異的に結合する抗体又は抗原結合分子は、（a）V H C D R 1 領域、（b）V H C D R 2 領域、（c）V H C D R 3 領域、（d）V L C D R 1 領域、（e）V L C D R 2 領域及び（f）V L C D R 3 領域を含み、ここで V H 及び V L C D R は図 6 及び図 8 に示される。

【0145】

幾つかの実施形態では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号 1）及びその部分配列、特に G S G K P G S G E G（配列番号 2）、G K P G S G E G（配列番号 3）、S G K P G S G E（配列番号 499）及び／又は K P G S G（配列番号 500）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗体又は抗原結合分子は、本明細書に（例えば、図 6 及び図 8 に）開示される重鎖可変領域配列及び本明細書に（例えば、図 6 及び図 8 に）開示される軽鎖可変領域配列を含む。

【0146】

一実施形態では、抗体又は抗原結合分子は、（a）配列番号 5 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び（b）配列番号 11 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。重鎖可変領域及び軽鎖可変領域をコードするヌクレオチド配列は図 6 に提示される。

【0147】

幾つかの実施形態では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号 1）及びその部分配列、特に G S G K P G S G E G（配列番号 2）、G K P G S G E G（配列番号 3）、S G K P G S G E（配列番号 499）及び／又は K P G S G（配列番号 500）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗体又は抗原結合分子は、本明細書に（例えば、図 6 及び図 8 に）開示される重鎖配列及び本明細書に（例えば、図 6 及び図 8 に）開示される軽鎖配列を含む。

【0148】

一実施形態では、抗体又は抗原結合分子は、（a）配列番号 6 のアミノ酸配列を含む重鎖、及び（b）配列番号 12 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0149】

一実施形態では、抗体又は抗原結合分子は、（a）配列番号 6 のアミノ酸配列に対して

80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%又は99%同一のアミノ酸配列を含む重鎖、及び(b)配列番号12のアミノ酸配列に対して80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%又は99%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0150】

IIb. クローン16

幾つかの実施形態では、GSTSGSGKPGSGEGSTKG(配列番号1)及びその部分配列、特にGSGKPGSGEG(配列番号2)、GKPGSGEG(配列番号3)、SGKPGSGE(配列番号499)及び／又はKPGSG(配列番号500)、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗原結合分子又は抗体は、アミノ酸配列GSDISSY(配列番号19)を含む、それからなる、又はそれから本質的になるVH CDR1を含む。

10

【0151】

幾つかの実施形態では、GSTSGSGKPGSGEGSTKG(配列番号1)及びその部分配列、特にGSGKPGSGEG(配列番号2)、GKPGSGEG(配列番号3)、SGKPGSGE(配列番号499)及び／又はKPGSG(配列番号500)、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗原結合分子又は抗体は、アミノ酸配列IIVSSGSAYYATWAK(配列番号20)を含む、それからなる、又はそれから本質的になるVH CDR2を含む。

20

【0152】

幾つかの実施形態では、GSTSGSGKPGSGEGSTKG(配列番号1)及びその部分配列、特にGSGKPGSGEG(配列番号2)、GKPGSGEG(配列番号3)、SGKPGSGE(配列番号499)及び／又はKPGSG(配列番号500)、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗原結合分子又は抗体は、アミノ酸配列NQYSGYGF SF(配列番号21)を含む、それからなる、又はそれから本質的になるVH CDR3を含む。

30

【0153】

幾つかの実施形態では、GSTSGSGKPGSGEGSTKG(配列番号1)及びその部分配列、特にGSGKPGSGEG(配列番号2)、GKPGSGEG(配列番号3)、SGKPGSGE(配列番号499)及び／又はKPGSG(配列番号500)、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗原結合分子又は抗体は、(a)アミノ酸配列GSDISSY(配列番号19)を含む、それからなる、若しくはそれから本質的になるVH CDR1、及び／又は(b)アミノ酸配列IIVSSGSAYYATWAK(配列番号20)を含む、それからなる、若しくはそれから本質的になるVH CDR2、及び／又は(c)アミノ酸配列NQYSGYGF SF(配列番号21)を含む、それからなる、若しくはそれから本質的になるVH CDR3を含む重鎖VHを含む。

【0154】

幾つかの実施形態では、GSTSGSGKPGSGEGSTKG(配列番号1)及びその部分配列、特にGSGKPGSGEG(配列番号2)、GKPGSGEG(配列番号3)、SGKPGSGE(配列番号499)及び／又はKPGSG(配列番号500)、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗原結合分子又は抗体は、図6及び図8に提示されるVH CDR1、VH CDR2及びVH CDR3配列のアミノ酸配列を含むVH CDR1、VH CDR2及びVH CDR3を含む。

40

【0155】

幾つかの実施形態では、GSTSGSGKPGSGEGSTKG(配列番号1)及びその部分配列、特にGSGKPGSGEG(配列番号2)、GKPGSGEG(配列番号3)、SGKPGSGE(配列番号499)及び／又はKPGSG(配列番号500)、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗原結合分子又

50

は抗体は、図 6 又は図 8 のアミノ酸配列（例えば、配列番号 17）を含む重鎖可変領域配列を含む。

【0156】

幾つかの実施形態では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号 1）及びその部分配列、特に G S G K P G S G E G（配列番号 2）、G K P G S G E G（配列番号 3）、S G K P G S G E（配列番号 499）及び／又は K P G S G（配列番号 500）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗原結合分子又は抗体は、本明細書に記載される V H フレームワーク領域（F R）を含む。具体的な実施形態では、抗体又は抗原結合分子は、図 6 に提示される配列に記載される又はそれから誘導可能な V H F R（例えば、図 6 又は図 8 の 1 つの配列（例えば、配列番号 17）中の F R の 1 つ、2 つ、3 つ又は 4 つ）を含む。

10

【0157】

幾つかの実施形態では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号 1）及びその部分配列、特に G S G K P G S G E G（配列番号 2）、G K P G S G E G（配列番号 3）、S G K P G S G E（配列番号 499）及び／又は K P G S G（配列番号 500）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗原結合分子又は抗体は、本明細書に開示される重鎖配列（例えば、図 6 の配列番号 18）を含む。一実施形態では、抗体又は抗原結合分子は配列番号 17 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む。

【0158】

様々な実施形態において、重鎖可変領域は、配列番号 17 の重鎖可変領域配列に対して 80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 % 又は 99 % 同一である。

20

【0159】

幾つかの実施形態では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号 1）及びその部分配列、特に G S G K P G S G E G（配列番号 2）、G K P G S G E G（配列番号 3）、S G K P G S G E（配列番号 499）及び／又は K P G S G（配列番号 500）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗原結合分子又は抗体は、アミノ酸配列 Q S S H S V Y Y G D W L A（配列番号 25）を含む、それからなる、又はそれから本質的になる V L C D R 1 を含む。

30

【0160】

幾つかの実施形態では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号 1）及びその部分配列、特に G S G K P G S G E G（配列番号 2）、G K P G S G E G（配列番号 3）、S G K P G S G E（配列番号 499）及び／又は K P G S G（配列番号 500）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗原結合分子又は抗体は、アミノ酸配列 R A S N L A S（配列番号 26）を含む、それからなる、又はそれから本質的になる V L C D R 2 を含む。

【0161】

幾つかの実施形態では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号 1）及びその部分配列、特に G S G K P G S G E G（配列番号 2）、G K P G S G E G（配列番号 3）、S G K P G S G E（配列番号 499）及び／又は K P G S G（配列番号 500）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗原結合分子又は抗体は、アミノ酸配列 L G G Y D D D G E T A（配列番号 27）を含む、それからなる、又はそれから本質的になる V L C D R 3 を含む。

40

【0162】

幾つかの実施形態では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号 1）及びその部分配列、特に G S G K P G S G E G（配列番号 2）、G K P G S G E G（配列番号 3）、S G K P G S G E（配列番号 499）及び／又は K P G S G（配列番号 500）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗原結合分子又は抗体は、（a）アミノ酸配列 Q S S H S V Y Y G D W L A（配列番号 25）を含む、そ

50

れからなる、若しくはそれから本質的になるV L C D R 1、及び／又は（b）アミノ酸配列R A S N L A S（配列番号26）を含む、それからなる、若しくはそれから本質的になるV L C D R 2、及び／又は（c）アミノ酸配列L G G Y D D D G E T A（配列番号27）を含む、それからなる、若しくはそれから本質的になるV L C D R 3を含む軽鎖V Lを含む。

【0163】

幾つかの実施形態では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号1）及びその部分配列、特にG S G K P G S G E G（配列番号2）、G K P G S G E G（配列番号3）、S G K P G S G E（配列番号499）及び／又はK P G S G（配列番号500）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗原結合分子又は抗体は、図6又は図8に提示されるV L C D R 1、V L C D R 2及びV L C D R 3配列のアミノ酸配列を含むV L C D R 1、V L C D R 2及びV L C D R 3を含む。

10

【0164】

幾つかの実施形態では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号1）及びその部分配列、特にG S G K P G S G E G（配列番号2）、G K P G S G E G（配列番号3）、S G K P G S G E（配列番号499）及び／又はK P G S G（配列番号500）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗原結合分子又は抗体は、図6又図8のアミノ酸配列（例えば、配列番号23）を含む軽鎖可変領域配列を含む。

20

【0165】

幾つかの実施形態では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号1）及びその部分配列、特にG S G K P G S G E G（配列番号2）、G K P G S G E G（配列番号3）、S G K P G S G E（配列番号499）及び／又はK P G S G（配列番号500）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗原結合分子又は抗体は、本明細書に記載されるV L フレームワーク領域（F R）を含む。具体的な実施形態では、抗体又は抗原結合分子は、図6及び図8に提示される配列に記載される又はそれから誘導可能なV L F R（例えば、図6又は図8の1つの配列中のF Rの1つ、2つ、3つ又は4つ）を含む。

【0166】

幾つかの実施形態では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号1）及びその部分配列、特にG S G K P G S G E G（配列番号2）、G K P G S G E G（配列番号3）、S G K P G S G E（配列番号499）及び／又はK P G S G（配列番号500）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗原結合分子又は抗体は、本明細書に開示される軽鎖配列（例えば、図6又は図8の配列番号24）を含む。一実施形態では、抗体又は抗原結合分子は配列番号23のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む。

30

【0167】

様々な実施形態において、軽鎖可変領域は、配列番号23の軽鎖可変領域配列に対して80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%又は99%同一である。

40

【0168】

幾つかの実施形態では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号1）及びその部分配列、特にG S G K P G S G E G（配列番号2）、G K P G S G E G（配列番号3）、S G K P G S G E（配列番号499）及び／又はK P G S G（配列番号500）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗体又は抗原結合分子は、本明細書に開示されるV H C D R 配列のいずれか1つ、2つ及び／又は3つを含む。或る特定の実施形態では、抗体又は抗原結合分子は、本明細書に開示される任意のV H C D R 1、V H C D R 2及びV H C D R 3のアミノ酸配列をそれぞれ有するV H C D R 1、V H C D R 2及びV H C D R 3を含む。幾つかの実施形態では、抗

50

体又は抗原結合分子は、本明細書に開示される V L C D R 配列のいずれか 1 つ、2 つ及び／又は 3 つを含む。或る特定の実施形態では、抗体又は抗原結合分子は、本明細書に開示される任意の V L C D R 1、V L C D R 2 及び V L C D R 3 のアミノ酸配列をそれぞれ有する V L C D R 1、V L C D R 2 及び V L C D R 3 を含む。

【0169】

一実施形態では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号 1）及びその部分配列、特に G S G K P G S G E G（配列番号 2）、G K P G S G E G（配列番号 3）、S G K P G S G E（配列番号 499）及び／又は K P G S G（配列番号 500）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗体又は抗原結合分子は、（a）配列番号 19 のアミノ酸配列を含む V H C D R 1 領域、（b）配列番号 20 のアミノ酸配列を含む V H C D R 2 領域、（c）配列番号 21 のアミノ酸配列を含む V H C D R 3 領域、（d）配列番号 25 のアミノ酸配列を含む V L C D R 1 領域、（e）配列番号 26 のアミノ酸配列を含む V L C D R 2 領域、及び（f）配列番号 27 のアミノ酸配列を含む V L C D R 3 領域を含む。

10

【0170】

一実施形態では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号 1）及びその部分配列、特に G S G K P G S G E G（配列番号 2）、G K P G S G E G（配列番号 3）、S G K P G S G E（配列番号 499）及び／又は K P G S G（配列番号 500）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞（配列番号 1）、この配列を含む分子、並びにこの配列を提示する細胞に特異的に結合する抗体又は抗原結合分子は、（a）V H C D R 1 領域、（b）V H C D R 2 領域、（c）V H C D R 3 領域、（d）V L C D R 1 領域、（e）V L C D R 2 領域及び（f）V L C D R 3 領域を含み、ここで V H 及び V L C D R は図 6 及び図 8 に示される。

20

【0171】

幾つかの実施形態では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号 1）及びその部分配列、特に G S G K P G S G E G（配列番号 2）、G K P G S G E G（配列番号 3）、S G K P G S G E（配列番号 499）及び／又は K P G S G（配列番号 500）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗体又は抗原結合分子は、本明細書に（例えば、図 6 及び図 8 に）開示される重鎖可変領域配列及び本明細書に（例えば、図 6 及び図 8 に）開示される軽鎖可変領域配列を含む。

30

【0172】

一実施形態では、抗体又は抗原結合分子は、（a）配列番号 17 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び（b）配列番号 23 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。重鎖可変領域及び軽鎖可変領域をコードするヌクレオチド配列は図 6 に提示される。

【0173】

幾つかの実施形態では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号 1）及びその部分配列、特に G S G K P G S G E G（配列番号 2）、G K P G S G E G（配列番号 3）、S G K P G S G E（配列番号 499）及び／又は K P G S G（配列番号 500）、この配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗体又は抗原結合分子は、本明細書に（例えば、図 6 及び図 8 に）開示される重鎖配列及び本明細書に（例えば、図 6 及び図 8 に）開示される軽鎖配列を含む。

40

【0174】

一実施形態では、抗体又は抗原結合分子は、（a）配列番号 18 のアミノ酸配列を含む重鎖、及び（b）配列番号 24 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0175】

一実施形態では、抗体又は抗原結合分子は、（a）配列番号 18 のアミノ酸配列に対して 80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 % 又は 99 % 同一のアミノ酸配列を含む重鎖、及び（b）配列番号 24 のアミノ酸配列に対して 80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 % 又は 99 % 同一のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

50

【0176】

I I I 抗体及び抗原結合分子をコードするポリヌクレオチド

本発明は、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号1）及びその部分配列、特にG S G K P G S G E G（配列番号2）、G K P G S G E G（配列番号3）、S G K P G S G E（配列番号499）及び／又はK P G S G（配列番号500）、これらの配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗体及び抗原結合分子をコードするポリヌクレオチドにも関する。

【0177】

幾つかの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号5及び配列番号17からなる群から選択される重鎖可変領域アミノ酸配列に対して少なくとも約75%、少なくとも約85%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%又は100%同一の重鎖可変領域アミノ酸配列を含む抗原結合分子をコードする。

10

【0178】

幾つかの実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号11及び配列番号23からなる群から選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列に対して少なくとも約75%、少なくとも約85%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%又は100%同一の軽鎖可変アミノ酸配列を含む抗原結合分子をコードする。

【0179】

或る特定の実施形態では、ポリヌクレオチドは、配列番号4及び配列番号16からなる群から選択される重鎖コード配列を含む。別の実施形態では、ポリヌクレオチドは、配列番号10及び配列番号22からなる群から選択される軽鎖コード配列を含む。

20

【0180】

当業者に理解されるように、開示のポリヌクレオチド配列の変異が遺伝コードの縮重により可能である。このため、開示のポリヌクレオチド配列のかかる変異体は、本開示の一態様を形成する。

【0181】

I V. ベクター、細胞及び医薬組成物

或る特定の態様では、本発明のポリヌクレオチドを含むベクターが本明細書で提供される。幾つかの実施形態では、本発明は、本明細書に記載されるようなG S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号1）及びその部分配列、特にG S G K P G S G E G（配列番号2）、G K P G S G E G（配列番号3）、S G K P G S G E（配列番号499）及び／又はK P G S G（配列番号500）、並びにこれらの配列を含む分子及びかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗体又は抗原結合分子をコードするポリヌクレオチドを含むベクター又はベクターのセットに関する。

30

【0182】

当該技術分野で知られている任意のベクターが本発明の抗体及び抗原結合分子の発現に好適であり得る。幾つかの実施形態では、ベクターはウイルスベクターである。幾つかの実施形態では、ベクターはレトロウイルスベクター、DNAベクター、マウス白血病ウイルスベクター、SFVベクター、プラスミド、RNAベクター、アデノウイルスベクター、バキュロウイルスベクター、エプスタインバーウイルスベクター、パポバウイルスベクター、ワクシニアウイルスベクター、単純ヘルペスウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター（AAV）、レンチウイルスベクター又はそれらの任意の組合せである。

40

【0183】

他の態様では、本発明のポリヌクレオチド又はベクターを含む細胞が本明細書で提供される。幾つかの実施形態では、本発明は、本明細書に記載されるような抗原結合分子をコードするポリヌクレオチドを含む細胞、in vitro細胞に関する。幾つかの実施形態では、本発明は、本明細書に開示されるようなG S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号1）及びその部分配列、特にG S G K P G S G E G（配列番号2）、G K P G

50

S G E G（配列番号3）、S G K P G S G E（配列番号499）及び／又はK P G S G（配列番号500）、これらの配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗体又はその抗原結合分子をコードするポリヌクレオチドを含む細胞、例えば *in vitro* 細胞に関する。

【0184】

任意の細胞を、本発明の抗体及び抗原結合分子の全て又はフラグメントをコードするポリヌクレオチド及びベクターの宿主細胞として使用することができる。幾つかの実施形態では、宿主細胞は原核細胞、真菌細胞、酵母細胞、又は哺乳動物細胞等のより高等な真核細胞であってもよい。好適な原核細胞として、限定されずに、グラム陰性又はグラム陽性の生物等の真正細菌、例えばエシェリヒア（*Escherichia*）、例えば *E. コリ* 等の腸内細菌科（*Enterobacteriaceae*）；*B. サチリス*（*subtilis*）及び *B. リケニフォルミス*（*licheniformis*）等の桿菌；*P. アエルギノーザ*（*aeruginosa*）等のシュードモナス；及び *ストレプトマイセス*（*Streptomyces*）等が挙げられる。幾つかの実施形態では、宿主細胞はヒト細胞等の哺乳動物細胞である。幾つかの実施形態では、宿主細胞はCHO細胞であり、他の実施形態では、宿主細胞はSP2／0又は他のマウス細胞である。本発明の宿主細胞は、当該技術分野で知られている任意の供給源によって得ることができる。

【0185】

本発明の他の態様は、本明細書に記載されるポリヌクレオチドを含む組成物、本明細書に記載されるベクター、抗体、本明細書に記載される抗原結合分子、及び／又は本明細書に記載される *in vitro* 細胞に関する。幾つかの実施形態では、組成物は薬学的に許容可能な担体、希釈剤、可溶化剤、乳化剤、防腐剤及び／又はアジュバントを含む。幾つかの実施形態では、組成物は賦形剤を含む。

【0186】

一実施形態では、組成物はG S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号1）、G S G K P G S G E G（配列番号2）、G K P G S G E G（配列番号3）、S G K P G S G E（配列番号499）及び／又はK P G S G（配列番号500）、並びにこれらの配列を含む分子及びかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗体又は抗原結合分子をコードするポリヌクレオチドを含む。別の実施形態では、組成物は配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499及び／又は配列番号500、並びにこれらの配列を含む分子及びかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する抗原結合分子を含む。別の実施形態では、組成物は、本明細書に開示される抗体をコードするポリヌクレオチド又はポリヌクレオチドによってコードされるその抗原結合分子を含む *in vitro* 細胞を含む。

【0187】

幾つかの実施形態では、組成物は、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号1）及びその部分配列、特にG S G K P G S G E G（配列番号2）、G K P G S G E G（配列番号3）、S G K P G S G E（配列番号499）及び／又はK P G S G（配列番号500）、並びにこれらの配列を含む分子及びかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する2つ以上の異なる抗体又は抗原結合分子を含む。幾つかの実施形態では、組成物は、配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499及び／又は配列番号500、並びにこれらの配列を含む分子及びかかる分子を提示する細胞に特異的に結合する2つ以上の抗体又は抗原結合分子を含み、ここで抗体又は抗原結合分子は2つ以上のエピトープを結合する。幾つかの実施形態では、抗体又は抗原結合分子は、そのエピトープへの結合について互いに競合しない。幾つかの実施形態では、本明細書で提供される抗体又は抗原結合分子の2つ以上を医薬組成物中で組み合わせる。かかる組成物は、ヒトを含む被験体への投与に好適であるのが好ましい。

【0188】

V. 例示的な方法

以下のセクションでは、本明細書に開示される抗原結合分子を使用する様々な例示的な方法を記載する。本明細書に開示される任意の抗原結合分子及びそのフラグメント（図面及び添付の配列表に提示されるものを含む）を開示の方法に使用することができる。

【0189】

開示の方法の一部でT細胞を用いることができる。かかるT細胞を当該技術分野で知られている任意の供給源によって得ることができる。例えばT細胞は、*in vitro*で造血幹細胞集団から分化されてもよく、又はT細胞は被験体から得られてもよい。T細胞は、例えば末梢血単核細胞(PBMC)、骨髓、リンパ節組織、臍帯血、胸腺組織、感染部位に由来する組織、腹水、胸水、脾臓組織及び腫瘍から得られてもよい。加えて、T細胞は、当該技術分野において利用可能な1つ以上のT細胞株に由来し得る。また、T細胞は、FICOLL(商標)分離及び／又はアフレーシス等の当業者に知られている数多くの技術を使用して被験体から収集された血液単位から得られてもよい。T細胞療法のためにT細胞を単離する付加的な方法は、米国特許出願公開第2013/0287748号(その全体が引用することにより本明細書の一部をなす)に開示されている。

10

【0190】

様々な実施形態において、抗原結合分子は、アミノ酸配列GSTSGSGKPGSGEGSTKG(配列番号1)、又はアミノ酸配列SGSGKPGSGEG(配列番号2)若しくはSGKPGSGE(配列番号499)を含む部分配列を含む分子、これらの配列を含む分子及びかかる配列を提示する細胞に特異的に結合する。更なる実施形態では、抗原結合分子は、(a)軽鎖CDR1、(b)軽鎖CDR2、(c)軽鎖CDR3、(d)重鎖CDR1、(e)重鎖CDR2及び(f)重鎖CDR3の1つ以上を含む。付加的な実施形態では、抗原結合分子は、配列番号9若しくは配列番号21の重鎖CDR3、又は配列番号15若しくは配列番号27の軽鎖CDR3、又は重鎖及び軽鎖の両方を含む。他の実施形態では、抗原結合分子は、配列番号7若しくは配列番号19のアミノ酸配列を含む重鎖CDR1、配列番号8若しくは配列番号20のアミノ酸配列を含む重鎖CDR2、又は配列番号13若しくは配列番号25のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1、又は配列番号14若しくは配列番号26のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2を含む。様々な実施形態において、抗原結合分子は重鎖CDR1、重鎖CDR2、重鎖CDR3、軽鎖CDR1、軽鎖CDR2及び軽鎖CDR3を含み、各CDRは図6に示されるアミノ酸配列を含む。

20

【0191】

様々な実施形態において、抗原結合分子は重鎖(HC)を含み、HCは配列番号5を含む重鎖可変領域(VH)配列を含み得る。様々な実施形態において、重鎖は重鎖CDR1、重鎖CDR2及び重鎖CDR3を含み、各CDRは図6及び図8に示されるアミノ酸配列を含む。さらに、幾つかの実施形態では、本明細書に開示される請求項の抗原結合分子(例えば、配列番号5を含む可変領域(VH)配列を含む抗原結合分子)のVHに対して少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%又は約100%同一のVHアミノ酸配列を含む抗原結合分子を用いることができる。

30

【0192】

様々な実施形態において、抗原結合分子は軽鎖(LC)を含み、LCは配列番号11を含む軽鎖可変領域(VL)配列を含み得る。様々な実施形態において、軽鎖は軽鎖CDR1、軽鎖CDR2及び軽鎖CDR3を含み、各CDRは図6及び図8に示されるアミノ酸配列を含む。さらに、幾つかの実施形態では、本明細書に開示される請求項の抗原結合分子(例えば、配列番号11を含む可変領域(VL)配列を含む抗原結合分子)のVHに対して少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%又は約100%同一のVLアミノ酸配列を含む抗原結合分子を用いることができる。

40

【0193】

様々な実施形態において、抗原結合分子は、アミノ酸配列GSTSGSGKPGSGEGSTKG(配列番号1)、又はアミノ酸配列GKPGSGEG(配列番号3)若しくはKPGSG(配列番号500)を含む部分配列を含む分子に特異的に結合することができ

50

る。開示の方法の更なる実施形態では、抗原結合分子は、(a) 軽鎖 C D R 1、(b) 軽鎖 C D R 2、(c) 軽鎖 C D R 3、(d) 重鎖 C D R 1、(e) 重鎖 C D R 2 及び (f) 重鎖 C D R 3 の 1 つ以上を含む。開示の方法の付加的な実施形態では、抗原結合分子は、配列番号 21 の重鎖 C D R 3 若しくは配列番号 27 の軽鎖 C D R 3、又は重鎖及び軽鎖の両方を含む。開示の方法の他の実施形態では、抗原結合分子は、配列番号 19 のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 1、又は配列番号 20 のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 2、又は配列番号 25 のアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 1、又は配列番号 26 のアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 2 を含む。

【0194】

様々な実施形態において、抗原結合分子は重鎖 C D R 1、重鎖 C D R 2、重鎖 C D R 3、軽鎖 C D R 1、軽鎖 C D R 2 及び軽鎖 C D R 3 を含み、各 C D R は図 6 及び図 8 に示されるアミノ酸配列を含む。

【0195】

開示の方法の様々な実施形態において、抗原結合分子は重鎖 (H C) を含み、H C は配列番号 17 を含む重鎖可変領域 (V H) 配列を含み得る。図面を参照すると、開示の方法の様々な実施形態において、重鎖は重鎖 C D R 1、重鎖 C D R 2 及び重鎖 C D R 3 を含み、各 C D R は図 6 に示されるアミノ酸配列を含む。さらに、開示の方法の実施形態では、本明細書に開示される請求項の抗原結合分子 (例えば、配列番号 17 を含む可変領域 (V H) 配列を含む抗原結合分子) の V H に対して少なくとも約 70 %、少なくとも約 75 %、少なくとも約 80 %、少なくとも約 85 %、少なくとも約 90 %、少なくとも約 95 %、少なくとも約 96 %、少なくとも約 97 %、少なくとも約 98 %、少なくとも約 99 % 又は約 100 % 同一の V H アミノ酸配列を含む抗原結合分子を用いることができる。

【0196】

開示の方法の様々な実施形態において、抗原結合分子は軽鎖 (L C) を含み、L C は配列番号 23 を含む軽鎖可変領域 (L H) 配列を含み得る。図面を参照すると、開示の方法の様々な実施形態において、軽鎖は軽鎖 C D R 1、軽鎖 C D R 2 及び軽鎖 C D R 3 を含み、各 C D R は図 6 及び図 8 に示されるアミノ酸配列を含む。さらに、開示の方法の実施形態では、本明細書に開示される請求項の抗原結合分子 (例えば、配列番号 23 を含む可変領域 (V L) 配列を含む抗原結合分子) の V H に対して少なくとも約 70 %、少なくとも約 75 %、少なくとも約 80 %、少なくとも約 85 %、少なくとも約 90 %、少なくとも約 95 %、少なくとも約 96 %、少なくとも約 97 %、少なくとも約 98 %、少なくとも約 99 % 又は約 100 % 同一の V L アミノ酸配列を含む抗原結合分子を用いることができる。

【0197】

開示の方法の具体的な実施形態では、抗原結合分子は、配列番号 19 のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 1、配列番号 20 のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 2、配列番号 21 のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 3、配列番号 25 のアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 1、配列番号 26 のアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 2、及び配列番号 27 のアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 3 を含む。

【0198】

開示の方法の具体的な実施形態では、抗原結合分子は、配列番号 7 のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 1、配列番号 8 のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 2、配列番号 9 のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 3、配列番号 13 のアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 1、配列番号 14 のアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 2、及び配列番号 15 のアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 3 を含む。

【0199】

ここで、開示の方法に用いることができる抗原結合分子の上記の説明に鑑みて、代表的な方法をより詳細に論考する。

【0200】

V a. 或る用量の薬剤を被験体に投与する方法

10

20

30

40

50

一態様では、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号1）、G S G K P G S G E G（配列番号2）、G K P G S G E G（配列番号3）、S G K P G S G E（配列番号499）及びK P G S G（配列番号500）からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む治療用分子を提示する予め選択される数の細胞を含む用量の薬剤を被験体に投与する方法が提供される。

【0201】

具体的な実施形態では、用量は被験体の1キログラム当たり 0.5×10^6 個の細胞、被験体の1キログラム当たり 1.0×10^6 個の細胞、被験体の1キログラム当たり 2.0×10^6 個の細胞、被験体の1キログラム当たり 3.0×10^6 個の細胞、被験体の1キログラム当たり 4.0×10^6 個の細胞又は被験体の1キログラム当たり 5.0×10^6 個の細胞を含むが、任意の用量を用いた方法を用いることができる。被験体の1キログラム当たり 1.0×10^6 個の細胞が好ましい用量である。

10

【0202】

本明細書に提示される定義と一致して、様々な実施形態において、被験体はヒト又は非ヒト被験体である。被験体がヒトである場合、被験体は例えば、癌等の異常な生理的状態の治療を受けているか、又は障害と正式に診断された任意のヒト、正式に認識された障害を有しないヒト、治療を受けているヒト、障害を発症するリスクがあるヒト、障害の有無について研究されているヒト等であり得る。

【0203】

初めに、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号1）及びその部分配列、特にG S G K P G S G E G（配列番号2）、G K P G S G E G（配列番号3）、S G K P G S G E（配列番号499）及び／又はK P G S G（配列番号500）からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む治療用分子を発現することが知られている又は疑われる、既知の数の細胞を含む集団を含むサンプルを準備する。

20

【0204】

一実施形態では、選択されるアミノ酸配列はG S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号1）を含み、別の実施形態では、選択されるアミノ酸配列はG S G K P G S G E G（配列番号2）を含み、別の実施形態では、選択されるアミノ酸配列はG K P G S G E G（配列番号3）を含み、別の実施形態では、選択されるアミノ酸配列はS G K P G S G E（配列番号499）を含み、別の実施形態では、選択されるアミノ酸配列はK P G S G（配列番号500）を含む。

30

【0205】

本明細書に提示される定義と一致して、様々な実施形態において、被験体はヒト又は非ヒト被験体である。被験体がヒトである場合、被験体は例えば、癌等の異常な生理的状態の治療を受けているか、又は障害と正式に診断された任意のヒト、正式に認識された障害を有しないヒト、治療を受けているヒト、障害を発症するリスクがあるヒト、障害の有無について研究されているヒト等であり得る。

【0206】

初めに、選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499又は配列番号500）を含む分子を提示することが知られている又は疑われる、既知の数の細胞を含む集団を含む既知の容量のサンプルを準備する。細胞の数は任意の既知の方法を用いて決定することができる。好ましい実施形態では、サンプル中の細胞をセルソーター（例えば、FACS）等の自動化装置を用いて計数することによって集団を決定するが、従来の非自動化細胞計数法を用いることもできる。

40

【0207】

この方法の細胞は任意のタイプの細胞を含むことができ、免疫細胞（例えばBリンパ球、単球、樹状細胞、ランゲルハンス細胞、ケラチノサイト、内皮細胞、星状細胞、線維芽細胞及び乏突起膠細胞）が好ましい。T細胞（細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞及びTreg細胞を含む）が特に好ましい。具体的な実施形態では、細胞は、本明細書に記載されるように、また当該技術分野で知られている方法によって得ることができるT細胞であ

50

る。任意のタイプの細胞を方法に用いることができ、細胞はヒト細胞又は非ヒト細胞（原核細胞及び真核細胞の両方を含む）であり得る。例示的な細胞としては、T細胞、腫瘍浸潤リンパ球（TIL）、NK細胞、TCR発現細胞、樹状細胞及びNK-T細胞等の免疫細胞が挙げられるが、これらに限定されない。T細胞は自己、同種異系若しくは異種であってもよく、又は*in vivo* T細胞若しくは*in vitro* T細胞であってもよく、CD4+T細胞若しくはCD8+T細胞であってもよい。付加的な実施形態では、細胞はCARを提示するT細胞である。さらに、細胞を血液、組織、又は被験体から得られる任意の他のサンプル、細胞培養培地、*ex vivo*で成長させた組織等のような細胞を生存形態に維持することが可能な任意の環境に配置する又はそれから単離することができる。勾配精製、細胞培養選択及び／又は細胞選別が細胞を得る際に有用であり得る。

10

【0208】

細胞によって発現される治療用分子は、それが投与される被験体に治療効果をもたらすことが知られる又は考えられる任意の分子を含み得る。このため、治療用分子は、任意の構造又は設計のペプチド又はポリペプチドであってもよい。選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499又は配列番号500）を含む治療用分子の一部が、少なくとも部分的に細胞外に、すなわち本開示の抗原結合分子等の細胞外相互作用パートナーによって認識され得る程度まで発現又は配置されるのが好ましい。

【0209】

具体的な実施形態では、治療用分子はCARである。治療用分子がCARである場合、治療用分子はCD2、CD3デルタ、CD3イプシロン、CD3ガンマ、CD4、CD7、CD8 α 、CD8 β 、CD11a（ITGAL）、CD11b（ITGAM）、CD11c（ITGAX）、CD11d（ITGAD）、CD18（ITGB2）、CD19（B4）、CD27（TNFRSF7）、CD28、CD29（ITGB1）、CD30（TNFRSF8）、CD40（TNFRSF5）、CD48（SLAMF2）、CD49a（ITGA1）、CD49d（ITGA4）、CD49f（ITGA6）、CD66a（CEACAM1）、CD66b（CEACAM8）、CD66c（CEACAM6）、CD66d（CEACAM3）、CD66e（CEACAM5）、CD69（CLEC2）、CD79A（B細胞抗原受容体複合体関連アルファ鎖）、CD79B（B細胞抗原受容体複合体関連ベータ鎖）、CD84（SLAMF5）、CD96（Tactile）、CD100（SEMA4D）、CD103（ITGAE）、CD134（OX40）、CD137（4-1BB）、CD150（SLAMF1）、CD158A（KIR2DL1）、CD158B1（KIR2DL2）、CD158B2（KIR2DL3）、CD158C（KIR3DP1）、CD158D（KIRDL4）、CD158F1（KIR2DL5A）、CD158F2（KIR2DL5B）、CD158K（KIR3DL2）、CD160（BY55）、CD162（SELP LG）、CD226（DNAM1）、CD229（SLAMF3）、CD244（SLAMF4）、CD247（CD3-ゼータ）、CD258（LIGHT）、CD268（BAFFR）、CD270（TNFSF14）、CD272（BTLA）、CD276（B7-H3）、CD279（PD-1）、CD314（NKG2D）、CD319（SLAMF7）、CD335（NK-p46）、CD336（NK-p44）、CD337（NK-p30）、CD352（SLAMF6）、CD353（SLAMF8）、CD355（CRTAM）、CD357（TNFRSF18）、誘導性T細胞共刺激分子（ICOS）、LFA-1（CD11a／CD18）、NKG2C、DAP-10、ICAM-1、NKP80（KLRF1）、IL-2Rベータ、IL-2Rガンマ、IL-7Rアルファ、LFA-1、SLAMF9、LAT、GADS（GrpL）、SLP-76（LCP2）、PAG1／CBP、CD83リガンド、Fcガンマ受容体、MHCクラス1分子、MHCクラス2分子、TNF受容体タンパク質、免疫グロブリンタンパク質、サイトカイン受容体、インテグリン、活性化NK細胞受容体、Toll様受容体及びそれらの組合せからなる群から選択される分子又はそのフラグメントを含み得る。

20

30

40

50

【0210】

続いて、選択されるアミノ酸配列を含む分子を提示する細胞の集団を含むサンプルのアリコートを用意する。アリコートは、任意の簡便な手段を用いて、例えばセルソーターによって、単にサンプルから物質をピペティングして取り出すことによって得ることができる。

【0211】

さらに、選択されるアミノ酸配列を特異的に結合し、検出可能な標識を含む抗原結合分子を用意する。抗原結合分子は本明細書、例えば図面、配列表又は本開示に開示される抗原結合分子であるのが好ましい。任意の検出可能な標識をこの方法に用いることができ、好適な標識は所望の基準のセットを用いて選択することができる。検出可能な標識のタイプの例としては、Atto色素、Alexafluor色素、量子ドット、ヒドロキシクマリン、アミノクマリン、メトキシクマリン、Cascade Blue、Pacific Blue、Pacific Orange、Lucifer yellow、NBD、R-フィコエリトリン (PE)、PE-Cy5コンジュゲート、PE-Cy7コンジュゲート、Red 613、PerCP、TruRed、FluorX、フルオレセイン、BODIPY-FL、Cy2、Cy3、Cy3B、Cy3.5、Cy5、Cy5.5、Cy7、TRITC、X-ローダミン、リサミンローダミンB、Texas Red、アロフィコシアニン (APC)、APC-Cy7コンジュゲート、Indo-1、Fluo-3、Fluo-4、DCFH、DHR、SNARF、GFP (Y66H変異)、GFP (Y66F変異)、EBFP、EBFP2、アズライト、GFPuv、T-Sapphir e、Cerulean、mCFP、mTurquoise2、EGFP、CyPet、GFP (Y66W変異)、mKeima-Red、TagCFP、AmCyan1、mTFP1、GFP (S65A変異)、Midoriishi Cyan、Wild Type GFP、GFP (S65C変異)、TurboGFP、TagGFP、GFP (S65L変異)、Emerald、GFP (S65T変異)、EGFP、Azami Green、ZsGreen1、TagYFP、EYFP、Topaz、Venus、mCitrine、YPet、TurboYFP、ZsYellow1、Kusabira Orange、mOrange、アロフィコシアニン (APC)、mKO、TurboRFP、tdTomato、TagRFP、DsRedモノマー、DsRed2 (「RFP」)、mStrawberry、TurboFP602、AsRed2、mRFP1、J-Red、R-フィコエリトリン (RPE)、B-フィコエリトリン (BPE)、mCherry、HcRed1、Katusha、P3、ペリジニクロフィル (PerCP)、mKate (TagFP635)、TurboFP635、mPlum及びmRaspberryからなる群から選択され得る蛍光色素が挙げられる。他のタイプの検出可能な標識としては、Johnson, Molecular Probes Handbook: A Guide to Fluorescent Probes and Labeling Techniques, 11th Edition, Life Technologies, (2010) (引用することにより明示的に本明細書の一部をなす)に記載される光学色素、放射標識 (例えば³H、¹¹C、¹⁴C、¹⁵N、¹⁸F、³⁵S、⁶⁴Cu、⁹⁰Y、⁹⁹Tc、¹¹¹In、¹²⁴I、¹²⁵I、¹³¹I等の同位体マーカー)、フォトクロミック化合物、磁気標識 (例えば、DYNABEADS) 等が挙げられる。タンパク質を標識化する戦略は当該技術分野で知られており、開示の方法に用いることができる。

【0212】

標識を分子中の任意の位置で抗原結合分子と会合させることができるが、そのような結合活性の変更が所望されない限りにおいて分子の結合特性が変更されないような位置 (又は複数の標識が用いられる場合に複数の位置) で標識を分子と会合させるのが好ましい。選択されるアミノ酸配列 (すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499又は配列番号500) を特異的に結合する任意の抗原結合分子を用いることができる。好適な抗原結合分子及びその構成成分の例は本明細書、例えば添付の配列表、並びに図6及び図8に提示される。開示の方法の具体的な実施形態では、抗原結合分子は、配列番号19のアミノ酸配列を含む重鎖CDR1、配列番号20のアミノ酸配列を含む重鎖CDR

2、配列番号21のアミノ酸配列を含む重鎖CDR3、配列番号25のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1、配列番号26のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2及び配列番号27のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3を含む。開示の方法の他の具体的な実施形態では、抗原結合分子は、配列番号7のアミノ酸配列を含む重鎖CDR1、配列番号8のアミノ酸配列を含む重鎖CDR2、配列番号9のアミノ酸配列を含む重鎖CDR3、配列番号13のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1、配列番号14のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2及び配列番号15のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3を含む。

【0213】

抗原結合分子を任意の表面上に配置しても、又は表面上に全く配置しなくてもよい。例えば、抗原結合分子がバッファー中に存在していても、バッファー抗原結合分子をサンプルと接触させてもよい。代替的には、抗原結合分子を表面と会合させることができる。好適な表面としては、アガロースビーズ、DYNABEADS等の磁性ビーズ、又はウェルプレート等のプラスチック、ガラス若しくはセラミックプレート、細胞培養バッグ等のバッグ等が挙げられる。表面自体をカラム等の別の構造内に配置してもよい。

10

【0214】

続いて、サンプル中に存在する細胞及び抗原結合分子を含む結合複合体の形成を可能にする条件下でサンプルのアリコートに抗原結合分子と接触させる。このため、この方法工程の結果は、検出可能な標識が会合した抗原結合分子が、選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499又は配列番号500）を含む治療用分子を発現する細胞に結合した結合複合体の形成である。このため、結合複合体自体が検出可能である。結合複合体の形成を可能にする条件は様々な要因に依存するが、一般的にはリン酸緩衝生理食塩水（PBS）中のような生理的pH及びイオン強度の水性バッファーが結合複合体の形成に有利であり、開示の方法で好ましい。

20

【0215】

アリコート中の結合複合体中に存在する細胞の割合を決定する。この算出は、検出可能な標識を有する細胞の数と標識を有しない細胞の数とを比較することによって行うことができ、パーセンテージとして表すことができる。結合複合体中の細胞の数を決定することができる。結合複合体中に存在する細胞の数を決定するために用いられる具体的な方法は、選択される標識の性質に依存する。例えば、蛍光標識が選択される場合にはFACSを用いることができ、同位体標識が選択される場合には質量分析、NMR又は他の技法を用いることができ、磁気標識が選ばれる場合には磁気ベースの細胞選別を用いることができ、顕微鏡検査を用いることもできる。サンプル中の細胞の数は最初から既知であるため、結合複合体中に存在する細胞の割合を容易に決定することができる。

30

【0216】

続いて、選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499又は配列番号500）を含む分子を発現する初期サンプル中の細胞の濃度を決定する。この決定は、結合複合体中に存在し、したがって検出可能な標識を有する治療用タンパク質を発現することが決定された細胞の割合に基づく。

【0217】

治療用タンパク質を提示する細胞の割合が既知であり、アリコートの容量が既知であるため、治療用分子を発現する、アリコートを取ったサンプル中の細胞の数のより大きなサンプルの容量との単純な比較が、治療用分子を有するサンプル中の細胞の割合（すなわち、より大きなサンプル中の治療用分子を有する細胞の濃度）を治療用分子／容量ベースでもたらす。

40

【0218】

選択される細胞の数を含むサンプルの容量を、サンプル中に存在する治療用分子を有する細胞の濃度に基づく外挿によって決定する。

【0219】

最後に、所望の数の細胞を含む容量のサンプルを被験体に投与する。投与は、サンプル中に存在し、サンプル中の細胞によって発現される治療用分子に基づく治療レジメンの一

50

態様を構成し得る。

【0220】

投与は1回又は2回以上行うことができるが、この方法の利点は、予め選択される数の細胞（この細胞の数は既知の又は期待される効力に基づいて決定される）を含む用量を投与することによって、治療用分子を提示する細胞の不必要な投与を回避する、すなわち、被験体が所望の治療効果をもたらす正確な数の細胞を受け、これが過度に多い又は過度に少ない細胞でないことである。

【0221】

Vb. 細胞を活性化する方法

免疫細胞を活性化する開示の方法をG S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号1）、G S G K P G S G E G（配列番号2）、G K P G S G E G（配列番号3）、S G K P G S G E（配列番号499）及びK P G S G（配列番号500）からなる群から選択される配列を含む分子を提示する任意の免疫細胞に関連して用いることができる。開示の方法との関連で、かかる分子を提示するT細胞（細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞及びT r e g細胞を含む）が好ましく、開示の方法を実証するために使用されるが、かかる分子を提示する他の免疫細胞（例えば腫瘍浸潤リンパ球（T I L）、細胞毒性Tリンパ球、腫瘍浸潤リンパ球等のリンパ球、好中球、好塩基球、又はヘルパーT細胞、T r e g細胞、樹状細胞、B細胞、造血幹細胞、マクロファージ、単球、ランゲルハンス細胞、ケラチノサイト、内皮細胞、星状細胞、線維芽細胞、及び乏突起膠細胞、及びNK細胞）を開示の方法に用いることもできる。

【0222】

T細胞の活性化（この用語は「刺激」の用語と区別なく使用される）は、抗原－特異的T細胞受容体認識及びT細胞上の補助受容体により伝達されるシグナルに依存する。例えばC D 3ガンマ、C D 3デルタ、C D 3 イプシロン及びC D 3ゼータタンパク質のクラスターリングが、T細胞受容体（T C R）の他の構成成分と更に会合し、T細胞の活性化を誘導し、これを免疫応答性にする。このため、本明細書で使用される「活性化」又は「刺激」は、結合がシグナル伝達事象を媒介する、リガンド（同じ分子の別のコピーであってもよい、例えばC D 3ゼータがC D 3ゼータの別のコピーと会合する）との分子の結合によって誘導される一次応答を指す。

【0223】

一実施形態では、T細胞は、本明細書で提供される抗原結合分子によりi n v i t r oで活性化され、本開示の方法に従って活性化されたT細胞を続いてe x v i v oで増殖させ、本明細書に開示されるものを含む様々な用途に使用することができる。

【0224】

別の実施形態では、活性化は本明細書で提供される抗原結合分子を用いてi n v i v oで行われ、本開示の方法に従って活性化されたT細胞について、活性化細胞が配置される生物において増殖が行われる。i n v i v o活性化は治療レジームの一部をなし、その例が本明細書に記載される。

【0225】

活性化の前に、T細胞等の免疫細胞を被験体（例えばヒト、イヌ、ネコ、マウス、ラット、ウサギ等の哺乳動物、又はそのトランスジェニック種；人工胸腺オルガノイド（A T O；例えば、引用することにより本明細書の一部をなす、Seet et al., Nature Methods 14(5):521 (2017)を参照されたい）等の人工系に由来する細胞を、開示のi n v i v o及びi n v i t r o活性化方法に用いることもできる）から得る。T細胞を含む免疫細胞はP B M C、骨髓、リンパ節組織、臍帯血、胸腺組織、感染部位に由来する組織、脾臓組織、腫瘍又はT細胞株を含む、本明細書に記載されるような多数の供給源から得ることができる。また、T細胞は、F I C O L L分離等の当業者に知られている数多くの技術を使用して被験体から収集された容量の血液から得られてもよい。勾配精製、細胞培養選択及び／又は細胞選別を用いることもできる。

【0226】

これに鑑みて、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号1）、G S G K P G S G E G（配列番号2）、G K P G S G E G（配列番号3）、S G K P G S G E（配列番号499）及びK P G S G（配列番号500）からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子を提示するT細胞等の免疫細胞を活性化する方法が提供される。

【0227】

初めに、G S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号1）、G S G K P G S G E G（配列番号2）、G K P G S G E G（配列番号3）、S G K P G S G E（配列番号499）及びK P G S G（配列番号500）からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子を提示することが知られている又は疑われる免疫細胞を含むサンプルを準備する。具体的実施形態では、選択されるアミノ酸配列はG S T S G S G K P G S G E G S T K G（配列番号1）であり、他の実施形態では、選択されるアミノ酸配列はG S G K P G S G E G（配列番号2）であり、他の実施形態では、選択されるアミノ酸配列はG K P G S G E G（配列番号3）であり、他の実施形態では、選択されるアミノ酸配列はS G K P G S G E（配列番号499）であり、他の実施形態では、選択されるアミノ酸配列はK P G S G（配列番号500）である。

【0228】

具体的実施形態では、細胞は、本明細書に記載されるように、また当該技術分野で知られている方法によって得ることができるT細胞である。細胞はヒト細胞又は非ヒト細胞であり得る。T細胞は自己、同種異系又は異種であり得る。T細胞が開示の方法に用いられる場合、T細胞は*in vivo* T細胞又は*in vitro* T細胞であり得る。さらに、細胞を血液、組織、又は被験体から得られる任意の他のサンプル、細胞培養培地、*ex vivo*で成長させた組織、好適なバッファー等のような細胞を生存形態に維持することが可能な任意の環境に配置する又はそれから単離することができる。

【0229】

具体的実施形態では、選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499又は配列番号500）を含む分子はCARである。分子がCARである場合、分子はCD2、CD3デルタ、CD3イプシロン、CD3ガンマ、CD4、CD7、CD8 α 、CD8 β 、CD11a（ITGAL）、CD11b（ITGAM）、CD11c（ITGAX）、CD11d（ITGAD）、CD18（ITGB2）、CD19（B4）、CD27（TNFRSF7）、CD28、CD29（ITGB1）、CD30（TNFRSF8）、CD40（TNFRSF5）、CD48（SLAMF2）、CD49a（ITGA1）、CD49d（ITGA4）、CD49f（ITGA6）、CD66a（CEACAM1）、CD66b（CEACAM8）、CD66c（CEACAM6）、CD66d（CEACAM3）、CD66e（CEACAM5）、CD69（CLEC2）、CD79A（B細胞抗原受容体複合体関連アルファ鎖）、CD79B（B細胞抗原受容体複合体関連ベータ鎖）、CD84（SLAMF5）、CD96（Tactile）、CD100（SEMA4D）、CD103（ITGAE）、CD134（OX40）、CD137（4-1BB）、CD150（SLAMF1）、CD158A（KIR2DL1）、CD158B1（KIR2DL2）、CD158B2（KIR2DL3）、CD158C（KIR3DP1）、CD158D（KIRDL4）、CD158F1（KIR2DL5A）、CD158F2（KIR2DL5B）、CD158K（KIR3DL2）、CD160（BY55）、CD162（SELP LG）、CD226（DNAM1）、CD229（SLAMF3）、CD244（SLAMF4）、CD247（CD3-ゼータ）、CD258（LIGHT）、CD268（BAFFR）、CD270（TNFSF14）、CD272（BTLA）、CD276（B7-H3）、CD279（PD-1）、CD314（NKG2D）、CD319（SLAMF7）、CD335（NK-p46）、CD336（NK-p44）、CD337（NK-p30）、CD352（SLAMF6）、CD353（SLAMF8）、CD355（CRTAM）、CD357（TNFRSF18）、誘導性T細胞共刺激分子（ICOS）、LFA-1（CD11a/CD18）、NKG2C、DAP-10、ICAM-1、NKp80（KLRF1）、I

L-2Rベータ、IL-2Rガンマ、IL-7Rアルファ、LFA-1、SLAMF9、LAT、GADS (GrpL)、SLP-76 (LCP2)、PAG1/CBP、CD83リガンド、Fcガンマ受容体、MHCクラス1分子、MHCクラス2分子、TNF受容体タンパク質、免疫グロブリンタンパク質、サイトカイン受容体、インテグリン、活性化NK細胞受容体、Toll様受容体及びそれらの組合せからなる群から選択される分子又はそのフラグメントを含み得る。

【0230】

次いで、抗原結合分子とサンプルとを、抗原結合分子及び選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499又は配列番号500）を含む2つの分子を含み、選択されるアミノ酸配列を含む分子が2つの異なる免疫細胞上に配置される結合複合体の形成を可能にする条件下で接触させる。結合事象は両方の免疫細胞を互いにより接近させる効果を有し、複数の細胞が複数の結合事象後に互いにクラスター化する。

10

【0231】

抗原結合分子は本明細書、例えば図面、配列表又は本開示の本セクションに開示される抗原結合分子（又はそのフラグメント）であるのが好ましい。選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499又は配列番号500）を特異的に結合する任意の抗原結合分子を用いることができる。好適な抗原結合分子の複数の例、例えば図6及び図8に示されるCDRの1つ以上を有するものが本明細書で提示される。結合複合体の各免疫細胞上に存在する選択される配列を含む分子は同じであってもよく、又は抗原結合分子によって特異的に認識される限りにおいて異なってもよい。

20

【0232】

開示の方法の具体的な実施形態では、抗原結合分子は、配列番号19のアミノ酸配列を含む重鎖CDR1、配列番号20のアミノ酸配列を含む重鎖CDR2、配列番号21のアミノ酸配列を含む重鎖CDR3、配列番号25のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1、配列番号26のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2及び配列番号27のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3を含む。開示の方法の他の具体的な実施形態では、抗原結合分子は、配列番号7のアミノ酸配列を含む重鎖CDR1、配列番号8のアミノ酸配列を含む重鎖CDR2、配列番号9のアミノ酸配列を含む重鎖CDR3、配列番号13のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1、配列番号14のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2及び配列番号15のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3を含む。

30

【0233】

抗原結合分子を任意の表面上に配置しても、又は表面上に全く配置しなくてもよい。例えば、*in vivo*用途では、抗原結合分子がバッファー中に存在していてもよく、抗原結合分子を被験体の身体に注射することによって接触を達成することができ、その際に、抗原結合分子がGSTSGSGKPGSGEGSTKG（配列番号1）、GSGKPGSGEG（配列番号2）、GKPGSGEG（配列番号3）、SGKPGSGE（配列番号499）及びKPGSG（配列番号500）からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子を提示する細胞と接触する場合に活性化が生じる。

【0234】

所望のレベルの活性化を達成する抗原結合分子の正確な量は、実験的に決定することができ、様々な被験体に特異的な基準に依存する。*in vivo*活性化については、抗原結合分子の量は、例えば25 µg/kg/日、20 µg/kg/日、15 µg/kg/日、10 µg/kg/日又は5 µg/kg/日であり得る。抗原結合分子は被験体に所望の日数、例えば5日間、4日間、3日間、2日間又は1日間投与することができる。他の活性化抗体を、どのくらいの抗原結合分子を被験体に投与するかを決定する際の指針として使用することができる。例えば、抗CD3活性化抗体OKT3を用いた臨床経験が開示の方法を行う際の実例となり、有益であり得る。

40

【0235】

特定の治療レジームを所与の被験体に合わせることができ、投与量及び条件が通常は臨

50

床医によって考慮される様々な要因に依存し得ることが当業者には認識される。i n v i v o 活性化についての抗原結合分子の好適な用量を決定する際に考慮することができる例としては、被験体の健康全般及び強さ、被験体の体重、選択される配列を有する分子を提示する細胞の所望の全体的な活性化の程度、効力及び i n v i v o 効力が挙げられる。

【0236】

i n v i t r o 活性化では、抗原結合分子がバッファー中に存在していても、バッファー-抗原結合分子をサンプルと接触させてもよい。代替的には、幾つかの実施形態では、抗原結合分子を表面と会合させることができる。好適な表面としては、アガロースビーズ、DYNABEADS等の磁性ビーズ、又はウェルプレート等のプラスチック、ガラス若しくはセラミックプレート、細胞培養バッグ等のバッグ等が挙げられる。表面自体をカラム等の別の構造内に配置してもよい。

【0237】

結合複合体の形成を可能にする条件は様々な要因に依存するが、一般的にはリン酸緩衝生理食塩水(PBS)中のような生理的pH及びイオン強度の水性バッファーが結合複合体の形成に有利であり、開示の方法で好ましい。

【0238】

実際には、抗原結合分子の結合が選択されるアミノ酸配列(すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499又は配列番号500)を含む分子(1つの分子が2つの異なる免疫細胞の各々にある)に特異的に結合する場合、2つの細胞が互いに接近して引き寄せられる。この接近、すなわちクラスターリングは、免疫細胞を活性化する効果を有する。

【0239】

Vc. 対象の分子を提示する細胞の数を決定する方法

対象の分子を発現するサンプル中に存在する細胞の数を決定することが望ましい場合がある状況が見られる。例えば、対象の分子を発現する被験体から得られるサンプル中に存在する免疫細胞の数を決定することが望ましい場合がある。また、トランスフェクションの効率のレベルの尺度として使用することができる、トランスフェクトされ、対象の分子を発現する細胞の数を決定することが望ましい場合がある。開示の方法をこれらの用途、及び対象の分子を発現するサンプル中に存在する細胞の数を決定することが望ましい他の用途に用いることができる。

【0240】

このため、GSTSGSGKPGSGEGSTKG(配列番号1)、GSGKPGSGEG(配列番号2)、GKPGSGEG(配列番号3)、SGKPGSGEG(配列番号499)及び／又はKPGSG(配列番号500)からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、サンプル中の分子を提示する細胞の数を決定する方法が提供される。

【0241】

一実施形態では、GSTSGSGKPGSGEGSTKG(配列番号1)、GSGKPGSGEG(配列番号2)、GKPGSGEG(配列番号3)、SGKPGSGEG(配列番号499)及びKPGSG(配列番号500)からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む対象の分子を発現することが知られている又は疑われる細胞を含むサンプルを準備する。

【0242】

具体的な実施形態では、選択されるアミノ酸配列はGSTSGSGKPGSGEGSTKG(配列番号1)であり、他の実施形態では、選択されるアミノ酸配列はGSGKPGSGEG(配列番号2)であり、他の実施形態では、選択されるアミノ酸配列はGKPGSGEG(配列番号3)であり、他の実施形態では、選択されるアミノ酸配列はSGKPGSGEG(配列番号499)であり、他の実施形態では、選択されるアミノ酸配列はKPGSG(配列番号500)である。

【0243】

細胞は任意のタイプとすることができ、ヒト又は非ヒト（例えばマウス、ラット、ウサギ、ハムスター等）であり得る。好ましい実施形態では、細胞は免疫細胞である。この方法の免疫細胞は、任意のタイプの免疫細胞（例えばBリンパ球、単球、樹状細胞、ランゲルハンス細胞、ケラチノサイト、内皮細胞、星状細胞、線維芽細胞及び乏突起膠細胞）であり得る。T細胞（細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞及びTreg細胞を含む）が特に好ましい。具体的な実施形態では、細胞は、本明細書に記載されるように、また当該技術分野で知られている方法によって得ることができるT細胞である。任意のタイプの免疫細胞を開示の方法の本実施形態に用いることができる。例示的な細胞としては、T細胞、腫瘍浸潤リンパ球（TIL）、NK細胞、TCR発現細胞、樹状細胞及びNK-T細胞等の免疫細胞が挙げられるが、これらに限定されない。T細胞は自己、同種異系又は異種であり得る。T細胞はCD4+T細胞又はCD8+T細胞であり得る。T細胞が開示の方法に用いられる場合、T細胞は*in vivo* T細胞又は*in vitro* T細胞であり得る。さらに、細胞を血液、組織、又は被験体から得られる任意の他のサンプル、細胞培養培地、*ex vivo*で成長させた組織、好適なバッファー等のような細胞を生存形態に維持することが可能な任意の環境に配置する又はそれから単離することができる。

10

【0244】

具体的な実施形態では、対象の分子はCARである。分子がCARである場合、分子はCD2、CD3デルタ、CD3イプシロン、CD3ガンマ、CD4、CD7、CD8 α 、CD8 β 、CD11a（ITGAL）、CD11b（ITGAM）、CD11c（ITGAX）、CD11d（ITGAD）、CD18（ITGB2）、CD19（B4）、CD27（TNFRSF7）、CD28、CD29（ITGB1）、CD30（TNFRSF8）、CD40（TNFRSF5）、CD48（SLAMF2）、CD49a（ITGA1）、CD49d（ITGA4）、CD49f（ITGA6）、CD66a（CEACAM1）、CD66b（CEACAM8）、CD66c（CEACAM6）、CD66d（CEACAM3）、CD66e（CEACAM5）、CD69（CLEC2）、CD79A（B細胞抗原受容体複合体関連アルファ鎖）、CD79B（B細胞抗原受容体複合体関連ベータ鎖）、CD84（SLAMF5）、CD96（Tactile）、CD100（SEMA4D）、CD103（ITGAE）、CD134（OX40）、CD137（4-1BB）、CD150（SLAMF1）、CD158A（KIR2DL1）、CD158B1（KIR2DL2）、CD158B2（KIR2DL3）、CD158C（KIR3DP1）、CD158D（KIRDL4）、CD158F1（KIR2DL5A）、CD158F2（KIR2DL5B）、CD158K（KIR3DL2）、CD160（BY55）、CD162（SELP LG）、CD226（DNAM1）、CD229（SLAMF3）、CD244（SLAMF4）、CD247（CD3-ゼータ）、CD258（LIGHT）、CD268（BAFFR）、CD270（TNFSF14）、CD272（BTLA）、CD276（B7-H3）、CD279（PD-1）、CD314（NKG2D）、CD319（SLAMF7）、CD335（NK-p46）、CD336（NK-p44）、CD337（NK-p30）、CD352（SLAMF6）、CD353（SLAMF8）、CD355（CRTAM）、CD357（TNFRSF18）、誘導性T細胞共刺激分子（ICOS）、LFA-1（CD11a/CD18）、NKG2C、DAP-10、ICAM-1、NKp80（KLRF1）、IL-2Rベータ、IL-2Rガンマ、IL-7Rアルファ、LFA-1、SLAMF9、LAT、GADS（GrpL）、SLP-76（LCP2）、PAG1/CBP、CD83リガンド、Fcガンマ受容体、MHCクラス1分子、MHCクラス2分子、TNF受容体タンパク質、免疫グロブリンタンパク質、サイトカイン受容体、インテグリン、活性化NK細胞受容体、Toll様受容体及びそれらの組合せからなる群から選択される分子又はそのフラグメントを含み得る。

20

30

40

【0245】

次いで、サンプルを、対象の分子を特異的に結合し、検出可能な標識を含む抗原結合分子と、サンプル中に存在する細胞及び抗原結合分子を含む結合複合体の形成を可能にする

50

条件下で接触させる。抗原結合分子は本明細書、例えば図面、配列表又は本開示の本セクションに開示される抗原結合分子（又はそのフラグメント）であるのが好ましい。選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499又は配列番号500）を特異的に結合する任意の抗原結合分子を開示の方法に用いることができる。好適な抗原結合分子の複数の例、例えば図6及び図8に示されるCDRの1つ以上を有するものが本明細書で提示される。

【0246】

任意の検出可能な標識をこの方法に用いることができ、好適な標識は所望の基準のセットを用いて選択することができる。検出可能な標識のタイプの例としては、Atto色素、Alexafluor色素、量子ドット、ヒドロキシクマリン、アミノクマリン、メトキシクマリン、Cascade Blue、Pacific Blue、Pacific Orange、Lucifer yellow、NBD、R-フィコエリトリン（PE）、PE-Cy5コンジュゲート、PE-Cy7コンジュゲート、Red 613、PerCP、TruRed、FluorX、フルオレセイン、BODIPY-FL、Cy2、Cy3、Cy3B、Cy3.5、Cy5、Cy5.5、Cy7、TRITC、X-ローダミン、リサミンローダミンB、Texas Red、アロフィコシアニン（APC）、APC-Cy7コンジュゲート、Indo-1、Fluo-3、Fluo-4、DCFH、DHR、SNARF、GFP（Y66H変異）、GFP（Y66F変異）、EBFP、EBFP2、アズライト、GFPuv、T-Sapphire、Cerulean、mCFP、mTurquoise2、ECFP、CyPet、GFP（Y66W変異）、mKeima-Red、TagCFP、AmCyan1、mTFP1、GFP（S65A変異）、Midoriishi Cyan、Wild Type GFP、GFP（S65C変異）、TurboGFP、TagGFP、GFP（S65L変異）、Emerald、GFP（S65T変異）、EGFP、Azami Green、ZsGreen1、TagYFP、EYFP、Topaz、Venus、mCitrine、YPet、TurboYFP、ZsYellow1、Kusabira Orange、mOrange、アロフィコシアニン（APC）、mKO、TurboRFP、tdTomato、TagRFP、DsRedモノマー、DsRed2（「RFP」）、mStrawberry、TurboFP602、AsRed2、mRFP1、J-Red、R-フィコエリトリン（RPE）、B-フィコエリトリン（BPE）、mCherry、HcRed1、Katusha、P3、ペリジニクロロフィル（PerCP）、mKate（TagFP635）、TurboFP635、mPlum及びmRaspberryからなる群から選択され得る蛍光色素が挙げられる。他のタイプの検出可能な標識としては、Johnson, Molecular Probes Handbook: A Guide to Fluorescent Probes and Labeling Techniques, 11th Edition, Life Technologies, (2010)（引用することにより明示的に本明細書の一部をなす）に記載される光学色素、放射標識（例えば³H、¹¹C、¹⁴C、¹⁵N、¹⁸F、³⁵S、⁶⁴Cu、⁹⁰Y、⁹⁹Tc、¹¹¹In、¹²⁴I、¹²⁵I、¹³¹I等の同位体マーカー）、フォトクロミック化合物、磁気標識（例えば、DYNABEADS）等が挙げられる。タンパク質を標識化する戦略は当該技術分野で知られており、開示の方法に用いることができる。

【0247】

標識を分子中の任意の位置で抗原結合分子と会合させることができるが、（そのような結合活性の変更が所望されない限りにおいて）分子の結合特性が変更されないような位置（又は複数の標識が用いられる場合に複数の位置）で標識を分子と会合させるのが好ましい。選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499又は配列番号500）を含む対象の分子を特異的に結合する任意の抗原結合分子又はそのフラグメントを開示の方法に用いることができる。

【0248】

開示の方法の具体的な実施形態では、抗原結合分子は、配列番号19のアミノ酸配列を含む重鎖CDR1、配列番号20のアミノ酸配列を含む重鎖CDR2、配列番号21のア

ミノ酸配列を含む重鎖CDR3、配列番号25のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1、配列番号26のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2及び配列番号27のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3を含む。開示の方法の他の具体的な実施形態では、抗原結合分子は、配列番号7のアミノ酸配列を含む重鎖CDR1、配列番号8のアミノ酸配列を含む重鎖CDR2、配列番号9のアミノ酸配列を含む重鎖CDR3、配列番号13のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1、配列番号14のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2及び配列番号15のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3を含む。

【0249】

抗原結合分子を任意の表面上に配置しても、又は表面上に全く配置しなくてもよい。例えば、抗原結合分子がバッファー中に存在していても、バッファー—抗原結合分子をサンプルと接触させてもよい。代替的には、抗原結合分子を表面と会合させることができる。好適な表面としては、アガロースビーズ、DYNABEADS等の磁性ビーズ、又はウェルプレート等のプラスチック、ガラス若しくはセラミックプレート、細胞培養バッグ等のバッグ等が挙げられる。表面自体をカラム等の別の構造内に配置してもよい。

【0250】

結合複合体の形成を可能にする条件は様々な要因に依存するが、一般的にはリン酸緩衝生理食塩水(PBS)中のような生理的pH及びイオン強度の水性バッファーが結合複合体の形成に有利であり、開示の方法で好ましい。

【0251】

続いて、サンプルにおいて結合複合体中に存在する細胞の数を決定する。結合複合体中に存在する細胞の数を決定するために用いられる具体的な方法は、選択される標識の性質に依存する。例えば、蛍光標識が選択される場合にはFACSを用いることができ、同位体標識が選択される場合には質量分析、NMR又は他の技法を用いることができ、磁気標識が選ばれる場合には磁気ベースの細胞選別を用いることができ、顕微鏡検査を用いることもできる。これらの検出方法の結果は細胞の数の形とすることができ、又は結果は結果に基づく細胞の数の算出を可能にする形とすることができ、又は結果は結果

【0252】

Vd. 分子を単離する方法

異なる分子、特に生物学的に関連した分子の集団を互いに分離する能力を有することは極めて有用である。本明細書で提供される抗原結合分子を使用することで、かかる分離を達成し、様々なバイオテクノロジー、生物薬剤学及び治療の用途に用いることができる。

【0253】

本開示の一態様では、GSTSGSGKPGSGEGSTKG(配列番号1)、GSGKPGSGEG(配列番号2)、GKPGSGEG(配列番号3)、SGKPGSGE(配列番号499)及びKPGSG(配列番号500)からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子を単離する方法が提供される。

【0254】

一実施形態では、この方法はGSTSGSGKPGSGEGSTKG(配列番号1)、GSGKPGSGEG(配列番号2)、GKPGSGEG(配列番号3)、SGKPGSGE(配列番号499)及びKPGSG(配列番号500)からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子を含むことが知られている又は疑われるサンプルを準備することを含む。

【0255】

具体的な実施形態では、選択されるアミノ酸配列はGSTSGSGKPGSGEGSTKG(配列番号1)であり、他の実施形態では、選択されるアミノ酸配列はGSGKPGSGEG(配列番号2)であり、他の実施形態では、選択されるアミノ酸配列はGKPGSGEG(配列番号3)であり、他の実施形態では、選択されるアミノ酸配列はSGKPGSGE(配列番号499)であり、他の実施形態では、選択されるアミノ酸配列はKPGSG(配列番号500)である。

【0256】

具体的な実施形態では、対象の分子はCARである。分子がCARである場合、分子はCD2、CD3デルタ、CD3イプシロン、CD3ガンマ、CD4、CD7、CD8 α 、CD8 β 、CD11a (ITGAL)、CD11b (ITGAM)、CD11c (ITGAX)、CD11d (ITGAD)、CD18 (ITGB2)、CD19 (B4)、CD27 (TNFRSF7)、CD28、CD29 (ITGB1)、CD30 (TNFRSF8)、CD40 (TNFRSF5)、CD48 (SLAMF2)、CD49a (ITGA1)、CD49d (ITGA4)、CD49f (ITGA6)、CD66a (CEACAM1)、CD66b (CEACAM8)、CD66c (CEACAM6)、CD66d (CEACAM3)、CD66e (CEACAM5)、CD69 (CLEC2)、CD79A (B細胞抗原受容体複合体関連アルファ鎖)、CD79B (B細胞抗原受容体複合体関連ベータ鎖)、CD84 (SLAMF5)、CD96 (Tactile)、CD100 (SEMA4D)、CD103 (ITGAE)、CD134 (OX40)、CD137 (4-1BB)、CD150 (SLAMF1)、CD158A (KIR2DL1)、CD158B1 (KIR2DL2)、CD158B2 (KIR2DL3)、CD158C (KIR3DP1)、CD158D (KIRDL4)、CD158F1 (KIR2DL5A)、CD158F2 (KIR2DL5B)、CD158K (KIR3DL2)、CD160 (BY55)、CD162 (SELP LG)、CD226 (DNAM1)、CD229 (SLAMF3)、CD244 (SLAMF4)、CD247 (CD3-ゼータ)、CD258 (LIGHT)、CD268 (BAFFR)、CD270 (TNFSF14)、CD272 (BTLA)、CD276 (B7-H3)、CD279 (PD-1)、CD314 (NKG2D)、CD319 (SLAMF7)、CD335 (NK-p46)、CD336 (NK-p44)、CD337 (NK-p30)、CD352 (SLAMF6)、CD353 (SLAMF8)、CD355 (CRTAM)、CD357 (TNFRSF18)、誘導性T細胞共刺激分子 (ICOS)、LFA-1 (CD11a/CD18)、NKG2C、DAP-10、ICAM-1、NKp80 (KLRF1)、IL-2Rベータ、IL-2Rガンマ、IL-7Rアルファ、LFA-1、SLAMF9、LAT、GADS (GrpL)、SLP-76 (LCP2)、PAG1/CBP、CD83リガンド、Fcガンマ受容体、MHCクラス1分子、MHCクラス2分子、TNF受容体タンパク質、免疫グロブリンタンパク質、サイトカイン受容体、インテグリン、活性化NK細胞受容体、Toll様受容体及びそれらの組合せからなる群から選択される分子又はそのフラグメントを含み得る。

【0257】

選択されるアミノ酸配列 (すなわち配列番号1、配列番号2又は配列番号3) を特異的に結合し、任意に検出可能な標識を含む抗原結合分子を準備する。検出可能な標識を用いることが決定される場合、本明細書に記載されるような任意の検出可能な標識をこの方法に用いることができ、好適な標識は所望の基準のセットを用いて選択することができる。検出可能な標識のタイプの例としては、蛍光標識 (例えばフルオレセイン、ローダミン、テトラメチルローダミン、エオシン、エリトロシン、クマリン、メチル-クマリン、ピレン、Malachite green、スチルベン、Lucifer Yellow、Cascade Blue、Texas Red、IAEDANS、EDANS、BODIPY FL、LC Red 640、Cy 5、Cy 5.5、LC Red 705、Oregon green、Alexa-Fluor色素 (Alexa Fluor 350、Alexa Fluor 430、Alexa Fluor 488、Alexa Fluor 546、Alexa Fluor 568、Alexa Fluor 594、Alexa Fluor 633、Alexa Fluor 647、Alexa Fluor 660、Alexa Fluor 680)、Cascade Blue、Cascade Yellow及びR-フィコエリトリン (PE) (Molecular Probes)、FITC、ローダミン及びTexas Red (Pierce)、Cy 5、Cy 5.5、Cy 7 (Amersham Life Science)) が挙げられる。フルオロフォアを含む好適な光学色素が、Johnson, Molecular Probes Handbook: A Guide to Fluorescent Probes and Label

ing Techniques, 11th Edition, Life Technologies, (2010) (引用することにより明示的に本明細書の一部をなす)に記載されている。放射標識(例えば³H、¹¹C、¹⁴C、¹⁵N、¹⁸F、³⁵S、⁶⁴Cu、⁹⁰Y、⁹⁹Tc、¹¹¹In、¹²⁴I、¹²⁵I、¹³¹I等の同位体マーカー)、フォトクロミック化合物、Halo-tag、Attot色素、Tracy色素、タンパク性蛍光標識(例えば、タンパク性蛍光標識としては、ウミシイタケ(Renilla)、ウミエラ(Ptilosarcus)又はオワンクラゲ(Aequorea)種のGFPを含む緑色蛍光タンパク質(Chalfie et al., (1994) Science 263:802-805)、EGFP(Clontech Labs., Inc.; Genbank アクセッション番号U55762)、青色蛍光タンパク質(BFP, Quantum Biotechnologies, Inc.; Stauber, (1998) Biotechniques 24:462-471; Heim et al., (1996) Curr. Biol. 6: 178-182)、高感度黄色蛍光タンパク質(Clontech Labs., Inc.)、ルシフェラーゼ(Ichiki et al., (1993) J. Immunol. 150:5408-5417)も挙げられるが、これらに限定されない)、磁気標識(例えば、DYNA BEADS)等を用いることもできる。タンパク質を標識化する戦略が当該技術分野で知られており、開示の方法に用いることができる。

【0258】

標識を分子中の任意の位置で抗原結合分子と会合させることができるが、(そのような結合活性の変更が所望されない限りにおいて)分子の結合特性が変更されないような位置(又は複数の標識が用いられる場合に複数の位置)で標識を分子と会合させるのが好ましい。本明細書に開示されるもの、例えば図6及び図8に示されるCDRの1つ以上を有するもの等の選択されるアミノ酸配列(すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499又は配列番号500)を特異的に結合する任意の抗原結合分子又はそのフラグメントを用いることができる。

【0259】

開示の方法の具体的な実施形態では、抗原結合分子は、配列番号19のアミノ酸配列を含む重鎖CDR1、配列番号20のアミノ酸配列を含む重鎖CDR2、配列番号21のアミノ酸配列を含む重鎖CDR3、配列番号25のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1、配列番号26のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2及び配列番号27のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3を含む。開示の方法の他の具体的な実施形態では、抗原結合分子は、配列番号7のアミノ酸配列を含む重鎖CDR1、配列番号8のアミノ酸配列を含む重鎖CDR2、配列番号9のアミノ酸配列を含む重鎖CDR3、配列番号13のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1、配列番号14のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2及び配列番号15のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3を含む。

【0260】

抗原結合分子を任意の表面上に配置しても、又は表面上に全く配置しなくてもよい。例えば、抗原結合分子がバッファー中に存在していても、バッファー-抗原結合分子をサンプルと接触させてもよい。代替的には、抗原結合分子を表面と会合させることができる。好適な表面としては、アガロースビーズ、DYNA BEADS等の磁性ビーズ、又はウェルプレート等のプラスチック、ガラス若しくはセラミックプレート、細胞培養バッグ等のバッグ等が挙げられる。表面自体をカラム等の別の構造内に配置してもよい。

【0261】

サンプルと抗原結合分子とを、選択されるアミノ酸配列を含む分子及び抗原結合分子を含む結合複合体の形成を可能にする条件下で接触させる。結合複合体の形成を可能にする条件は様々な要因に依存するが、一般的にはリン酸緩衝生理食塩水(PBS)中のような生理的pH及びイオン強度の水性バッファーが結合複合体の形成に有利であり、開示の方法で好ましい。結合複合体の構成部分が本明細書に記載されるように表面上に配置され得ることから、形成される結合複合体も表面上に配置することができる。

【0262】

この段階で、結合複合体が形成されていない可能性があり、又は選択されるアミノ酸配列(すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499又は配列番号500)を含む分子に結合した1つ以上の抗原結合分子を含む複数の結合複合体が形成されてい

る可能性がある。選択されるアミノ酸配列を含む非結合分子及び／又は非結合抗原結合分子が、任意の形成される結合複合体の局所環境中に存在する可能性もある。

【0263】

次いで、結合複合体の一部ではない任意の分子を任意の形成される結合複合体から分離する。除去の方法は、結合複合体の構造及び／又は局所環境によって決まる。例えば、抗原結合分子がビーズ、プレート又はバッグ上に配置される場合、反応混合物の非結合構成成分を、形成される結合複合体を無傷で残す溶液を用いて洗い流すことができる。結合複合体がビーズ上に配置される場合、ビーズ自体をカラム又は他の構造の中に入れてもよく、同じアプローチを用いることができる。

【0264】

結合複合体の形成を誘導するために使用される溶液は、例えば非結合構成成分を除去する洗浄溶液として使用することができる。形成される結合複合体を破壊しない任意の好適なバッファー又は溶液を使用することができる。通例、高塩濃度、非生理的 pH を有し、カオトロップ又は変性剤を含有するバッファーは、この方法工程を行う際に避けるのが好ましい。

【0265】

次いで、形成される結合複合体を、(a) 選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 499 又は配列番号 500）を含む分子、及び (b) 抗原結合分子に分離する。分離は、当業者に知られている標準的な方法論を用いて達成することができる。例えば、好適な pH 及び組成の溶液で複合体を洗浄することができる。この目的で一般に用いられる溶液は、0.1 M グリシン HCl (pH 2.5 ~ 3.0) であり、この溶液を用いて分離を達成することができる。用いることができる他の溶液としては、100 mM クエン酸 (pH 3.0)、50 mM ~ 100 mM トリエチルアミン又はトリエタノールアミン (pH 11.5)；150 mM 水酸化アンモニウム (pH 10.5)；0.1 M グリシン・NaOH (pH 10.0)；5 M 塩化リチウム、3.5 M 塩化マグネシウム又はカリウム、3.0 M 塩化カリウム、2.5 M ヨウ化ナトリウム又はカリウム、0.2 M ~ 3.0 M チオシアン酸ナトリウム、2.0 M NaCl を含む 0.1 M Tris-アセテート (pH 7.7)；2 M ~ 6 M グアニジン HCl、2 M ~ 8 M 尿素、1.0 M チオシアン酸アンモニウム、1% デオキシコール酸ナトリウム 1% SDS；及び 10% ジオキサン 50% エチレングリコール (pH 8 ~ 11.5) が挙げられる。

【0266】

分離に続いて、選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号 1、配列番号 2、配列番号 499 又は配列番号 500）を含む分子に最も対象が持たれる場合、これを収集することができる。代替的には、抗原結合分子に最も対象が持たれる場合、これを収集することができる。

【0267】

Ve. 分子の有無を決定する方法

本明細書に開示されるように、場合によっては、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 499 又は配列番号 500 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子を単離することが望ましいことがある。他の場合では、単に配列番号 1、配列番号 2、配列番号 499 又は配列番号 500 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子がサンプルに存在するか又は存在しないかを知ることが十分な情報である。例えば、発現のレベルに関わらず、かかる分子が発現されることを知ることが有益であり得る。他の場合では、かかる分子を除去するように設計された精製プロセス又は工程が効果的であったかを知ることが望ましい場合がある。このため、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 499 又は配列番号 500 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子の有無の定性的決定が、複数の用途で有用であり得る。

【0268】

これに鑑みて、サンプル中の GSTSGSGKPGSGEGSTKG (配列番号 1)、SGSGKPGSGEG (配列番号 2)、GKPGSGEG (配列番号 3)、SGKPGS

10

20

30

40

50

GE（配列番号499）及びKPGSG（配列番号500）からなる群から選択されるアミノ酸を含む分子のサンプルにおける有無を決定する方法が提供される。

【0269】

一実施形態では、この方法はGSTSGSGKPGSGEGSTKG（配列番号1）、GSGKPGSGEG（配列番号2）、GKPGSGEG（配列番号3）、SGKPGSGE（配列番号499）及びKPGSG（配列番号500）からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子を含むことが知られている又は疑われるサンプルを準備することを含む。

【0270】

具体的な実施形態では、選択されるアミノ酸配列はGSTSGSGKPGSGEGSTKG（配列番号1）であり、他の実施形態では、選択されるアミノ酸配列はGSGKPGSGEG（配列番号2）であり、他の実施形態では、選択されるアミノ酸配列はGKPGSGEG（配列番号3）であり、他の実施形態では、選択されるアミノ酸配列はSGKPGSGE（配列番号499）であり、他の実施形態では、選択されるアミノ酸配列はKPGSG（配列番号500）である。

【0271】

具体的な実施形態では、選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499又は配列番号500）を含む分子はCARである。分子がCARである場合、分子はCD2、CD3デルタ、CD3イプシロン、CD3ガンマ、CD4、CD7、CD8 α 、CD8 β 、CD11a（ITGAL）、CD11b（ITGAM）、CD11c（ITGAX）、CD11d（ITGAD）、CD18（ITGB2）、CD19（B4）、CD27（TNFRSF7）、CD28、CD29（ITGB1）、CD30（TNFRSF8）、CD40（TNFRSF5）、CD48（SLAMF2）、CD49a（ITGA1）、CD49d（ITGA4）、CD49f（ITGA6）、CD66a（CEACAM1）、CD66b（CEACAM8）、CD66c（CEACAM6）、CD66d（CEACAM3）、CD66e（CEACAM5）、CD69（CLEC2）、CD79A（B細胞抗原受容体複合体関連アルファ鎖）、CD79B（B細胞抗原受容体複合体関連ベータ鎖）、CD84（SLAMF5）、CD96（Tactile）、CD100（SEMA4D）、CD103（ITGAE）、CD134（OX40）、CD137（4-1BB）、CD150（SLAMF1）、CD158A（KIR2DL1）、CD158B1（KIR2DL2）、CD158B2（KIR2DL3）、CD158C（KIR3DP1）、CD158D（KIRDL4）、CD158F1（KIR2DL5A）、CD158F2（KIR2DL5B）、CD158K（KIR3DL2）、CD160（BY55）、CD162（SELP LG）、CD226（DNAM1）、CD229（SLAMF3）、CD244（SLAMF4）、CD247（CD3ゼータ）、CD258（LIGHT）、CD268（BAFFR）、CD270（TNFSF14）、CD272（BTLA）、CD276（B7-H3）、CD279（PD-1）、CD314（NKG2D）、CD319（SLAMF7）、CD335（NK-p46）、CD336（NK-p44）、CD337（NK-p30）、CD352（SLAMF6）、CD353（SLAMF8）、CD355（CRTAM）、CD357（TNFRSF18）、誘導性T細胞共刺激分子（ICOS）、LFA-1（CD11a/CD18）、NKG2C、DAP-10、ICAM-1、NKp80（KLRP1）、IL-2Rベータ、IL-2Rガンマ、IL-7Rアルファ、LFA-1、SLAMF9、LAT、GADS（GrpL）、SLP-76（LCP2）、PAG1/CBP、CD83リガンド、Fcガンマ受容体、MHCクラス1分子、MHCクラス2分子、TNF受容体タンパク質、免疫グロブリンタンパク質、サイトカイン受容体、インテグリン、活性化NK細胞受容体、Toll様受容体及びそれらの組合せからなる群から選択される分子又はそのフラグメントを含み得る。

【0272】

選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号499又は配列

番号500)を特異的に結合する、検出可能な標識を含む抗原結合分子を準備する。好適な標識は所望の基準のセットを用いて選択することができる。検出可能な標識のタイプの例としては、蛍光標識(例えばフルオレセイン、ローダミン、テトラメチルローダミン、エオシン、エリトロシン、クマリン、メチル-クマリン、ピレン、Malachite green、スチルベン、Lucifer Yellow、Cascade Blue、Texas Red、IAEDANS、EDANS、BODIPY FL、LC Red 640、Cy 5、Cy 5.5、LC Red 705、Oregon green、Alexa-Fluor色素(Alexa Fluor 350、Alexa Fluor 430、Alexa Fluor 488、Alexa Fluor 546、Alexa Fluor 568、Alexa Fluor 594、Alexa Fluor 633、Alexa Fluor 647、Alexa Fluor 660、Alexa Fluor 680)、Cascade Blue、Cascade Yellow及びR-フィコエリトリン(PE)(Molecular Probes)、FITC、ローダミン及びTexas Red(Pierce)、Cy 5、Cy 5.5、Cy 7(Amersham Life Science))が挙げられる。フルオロフォアを含む好適な光学色素が、Johnson, Molecular Probes Handbook: A Guide to Fluorescent Probes and Labeling Techniques, 11th Edition, Life Technologies, (2010)(引用することにより明示的に本明細書の一部をなす)に記載されている。放射標識(例えば³H、¹¹C、¹⁴C、¹⁵N、¹⁸F、³⁵S、⁶⁴Cu、⁹⁰Y、⁹⁹Tc、¹¹¹In、¹²⁴I、¹²⁵I、¹³¹I等の同位体マーカ)、フォトクロミック化合物、Halo-tag、Atto色素、Tracy色素、タンパク性蛍光標識(例えば、タンパク性蛍光標識としては、ウミシイタケ(Renilla)、ウミエラ(Ptilosarcus)又はオワンクラゲ(Aequorea)種のGFPを含む緑色蛍光タンパク質(Chalfie et al., (1994) Science 263:802-805)、EGFP(Clontech Labs., Inc.、Genbankアクセッション番号U55762)、青色蛍光タンパク質(BFP、Quantum Biotechnologies, Inc; Stauber, (1998) Biotechniques 24:462-471; Heim et al., (1996) Curr. Biol. 6: 178-182)、高感度黄色蛍光タンパク質(Clontech Labs., Inc.)、ルシフェラーゼ(Ichiki et al., (1993) J. Immunol. 150:5408-5417)も挙げられるが、これらに限定されない)、磁気標識(例えば、DYNA BEADS)等を用いることもできる。タンパク質を標識化する戦略が当該技術分野で知られており、開示の方法に用いることができる。

【0273】

開示の方法の具体的な実施形態では、抗原結合分子は、配列番号19のアミノ酸配列を含む重鎖CDR1、配列番号20のアミノ酸配列を含む重鎖CDR2、配列番号21のアミノ酸配列を含む重鎖CDR3、配列番号25のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1、配列番号26のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2及び配列番号27のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3を含む。開示の方法の他の具体的な実施形態では、抗原結合分子は、配列番号7のアミノ酸配列を含む重鎖CDR1、配列番号8のアミノ酸配列を含む重鎖CDR2、配列番号9のアミノ酸配列を含む重鎖CDR3、配列番号13のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1、配列番号14のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2及び配列番号15のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3を含む。

【0274】

標識を分子中の任意の位置で抗原結合分子と会合させることができるが、(そのような結合活性の変更が所望されない限りにおいて)分子の結合特性が変更されないような位置(又は複数の標識が用いられる場合に複数の位置)で標識を分子と会合させるのが好ましい。本明細書に開示されるもの、例えば図6及び図8に示されるCDRの1つ以上を有するもの等の、選択されるアミノ酸配列(すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499又は配列番号500)を含む分子を特異的に結合する任意の抗原結合分子を用いることができる。

【0275】

続いて、サンプルと抗原結合分子とを、サンプル中に存在する細胞及び抗原結合分子を

含む結合複合体の形成を可能にする条件下で接触させる。抗原結合分子を任意の表面上に配置しても、又は表面上に全く配置しなくてもよい。例えば、抗原結合分子がバッファー中に存在していても、バッファー抗原結合分子をサンプルと接触させてもよい。代替的には、抗原結合分子を表面と会合させることができる。好適な表面としては、アガロースビーズ、DYNABEADS等の磁性ビーズ、又はウェルプレート等のプラスチック、ガラス若しくはセラミックプレート、細胞培養バッグ等のバッグ等が挙げられる。表面自体をカラム等の別の構造内に配置してもよい。

【0276】

サンプルと抗原結合分子とを、選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499又は配列番号500）を含む分子及び抗原結合分子を含む結合複合体の形成を可能にする条件下で接触させる。結合複合体の形成を可能にする条件は様々な要因に依存するが、一般的にはリン酸緩衝生理食塩水（PBS）中のような生理的pH及びイオン強度の水性バッファーが結合複合体の形成に有利であり、開示の方法で好ましい。結合複合体の構成部分が本明細書に記載されるように表面上に配置され得ることから、形成される結合複合体も表面上に配置することができる。

【0277】

この段階で、結合複合体が形成されていない可能性があり、又は選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号499又は配列番号500）を含む分子に結合した1つ以上の抗原結合分子（又は抗原結合分子に結合した選択されるアミノ酸配列を含む1つ以上の分子）を含む複数の結合複合体が形成されている可能性がある。選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号499又は配列番号500）を含む非結合分子及び／又は非結合抗原結合分子が、任意の形成される結合複合体の局所環境中に存在する可能性もある。

【0278】

次いで、結合複合体の一部ではない任意の分子を任意の形成される結合複合体から分離する。除去の方法は、結合複合体の構造及び／又は局所環境によって決まる。例えば、抗原結合分子がビーズ、プレート又はバッグ上に配置される場合、反応混合物の非結合構成成分を、形成される結合複合体を無傷で残す溶液を用いて洗い流すことができる。結合複合体がビーズ上に配置される場合、ビーズ自体をカラム又は他の構造の中に入れてもよく、同じアプローチを用いることができる。

【0279】

結合複合体の形成を誘導するために使用される溶液は、例えば非結合構成成分を除去する洗浄溶液として使用することができる。形成される結合複合体を破壊しない任意の好適なバッファー又は溶液を使用することもできる。通例、高塩濃度、非生理的pHを有し、カオトロップ又は変性剤を含有するバッファーは、この方法工程を行う際に避けるのが好ましい。

【0280】

最後に、選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号499又は配列番号500）を含む分子及び抗原結合分子を含む結合複合体の有無を検出する。結合複合体の有無を検出するために用いられる具体的な方法は、選択される標識の性質に依存する。例えば、蛍光標識が選択される場合にはFACSを用いることができ、同位体標識が選択される場合には質量分析、NMR又は他の技法を用いることができ、磁気標識が選ばれる場合には磁気ベースの細胞選別を用いることができ、顕微鏡検査を用いることもできる。この方法の最終結果は、検出可能な標識を含む抗原結合分子の有無、ひいてはその結合パートナーである選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号499又は配列番号500）を含む分子の有無の定性的評価である。

【0281】

開示の方法の全てと同様に、選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号499又は配列番号500）を含む分子を任意の環境に配置することができる。好ましい実施形態では、選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号1、配列番号2

、配列番号499又は配列番号500)を含む分子を細胞の表面上に発現させる。本実施形態では、細胞は任意のタイプとすることができ、ヒト又は非ヒト(例えばマウス、ラット、ウサギ、ハムスター等)であり得る。好ましい実施形態では、細胞は免疫細胞である。この方法の免疫細胞は、任意のタイプの免疫細胞(例えばBリンパ球、単球、樹状細胞、ランゲルハンス細胞、ケラチノサイト、内皮細胞、星状細胞、線維芽細胞及び乏突起膠細胞)であり得る。T細胞(細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞及びTreg細胞を含む)が特に好ましい。具体的な実施形態では、細胞は、本明細書に記載されるように、また当該技術分野で知られている方法によって得ることができるT細胞である。任意のタイプの免疫細胞を開示の方法の本実施形態に用いることができ、細胞はヒト細胞又は非ヒト細胞であり得る。例示的な細胞としては、T細胞、腫瘍浸潤リンパ球(TIL)、NK細胞、TCR発現細胞、樹状細胞及びNK-T細胞等の免疫細胞が挙げられるが、これらに限定されない。T細胞は自己、同種異系又は異種であり得る。付加的な実施形態では、細胞はCARを提示するT細胞である。T細胞はCD4+T細胞又はCD8+T細胞であり得る。T細胞が開示の方法に用いられる場合、T細胞はin vivo T細胞又はin vitro T細胞であり得る。

【0282】

付加的な実施形態では、細胞を血液、組織、又は被験体から得られる任意の他のサンプル、細胞培養培地、ex vivoで成長させた組織、好適なバッファー等のような細胞を生存形態に維持することが可能な任意の環境に配置する又はそれから単離することができる。

【0283】

Vf. 分子の濃度を増大する方法

非常に多くの場合、対象の分子は所望より低いレベルでサンプル中に存在する。例えば、細胞に外来遺伝子をトランスフェクトする場合、外来遺伝子によってコードされるタンパク質(複数の場合もある)の発現レベルは低い。細胞から分泌される分子についても同じことが言える。かかる分子は少量で存在することが多い(しかし、分子が配列番号1、配列番号2又は配列番号3の開示のアミノ酸配列の1つを含む場合、依然として本明細書で提供される方法を用いて検出することができる)。低い発現レベルの問題に対する一解決策は、溶液中に遊離していても又は細胞の表面上に発現されていてもよい対象の分子の濃度を増大することである。細胞内で発現される対象の分子の濃度を高めることもできるが、初めに分子を放出させるために細胞を溶解させる必要がある。

【0284】

この問題に対処するために、GSTSGSGKPGSGEGSTKG(配列番号1)、GSGKPGSGEG(配列番号2)、GKPGSGEG(配列番号3)、SGKPGSGE(配列番号499)及びKPGSG(配列番号500)からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子を提示する細胞の濃度を増大する方法が提供される。

【0285】

一実施形態では、この方法はGSTSGSGKPGSGEGSTKG(配列番号1)、GSGKPGSGEG(配列番号2)、GKPGSGEG(配列番号3)、SGKPGSGE(配列番号499)及びKPGSG(配列番号500)からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子を含むことが知られている又は疑われる細胞を含むサンプルを準備することを含む。

【0286】

具体的な実施形態では、選択されるアミノ酸配列はGSTSGSGKPGSGEGSTKG(配列番号1)であり、他の実施形態では、選択されるアミノ酸配列はGSGKPGSGEG(配列番号2)であり、他の実施形態では、選択されるアミノ酸配列はGKPGSGEG(配列番号3)であり、他の実施形態では、選択されるアミノ酸配列はSGKPGSGE(配列番号499)であり、他の実施形態では、選択されるアミノ酸配列はKPGSG(配列番号500)である。

【0287】

10

20

30

40

50

具体的な実施形態では、選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499又は配列番号500）を含む分子はCARである。分子がCARである場合、分子はCD2、CD3デルタ、CD3イプシロン、CD3ガンマ、CD4、CD7、CD8 α 、CD8 β 、CD11a（ITGAL）、CD11b（ITGAM）、CD11c（ITGAX）、CD11d（ITGAD）、CD18（ITGB2）、CD19（B4）、CD27（TNFRSF7）、CD28、CD29（ITGB1）、CD30（TNFRSF8）、CD40（TNFRSF5）、CD48（SLAMF2）、CD49a（ITGA1）、CD49d（ITGA4）、CD49f（ITGA6）、CD66a（CEACAM1）、CD66b（CEACAM8）、CD66c（CEACAM6）、CD66d（CEACAM3）、CD66e（CEACAM5）、CD69（CLEC2）、CD79A（B細胞抗原受容体複合体関連アルファ鎖）、CD79B（B細胞抗原受容体複合体関連ベータ鎖）、CD84（SLAMF5）、CD96（Tactile）、CD100（SEMA4D）、CD103（ITGAE）、CD134（OX40）、CD137（4-1BB）、CD150（SLAMF1）、CD158A（KIR2DL1）、CD158B1（KIR2DL2）、CD158B2（KIR2DL3）、CD158C（KIR3DP1）、CD158D（KIRDL4）、CD158F1（KIR2DL5A）、CD158F2（KIR2DL5B）、CD158K（KIR3DL2）、CD160（BY55）、CD162（SELP LG）、CD226（DNAM1）、CD229（SLAMF3）、CD244（SLAMF4）、CD247（CD3-ゼータ）、CD258（LIGHT）、CD268（BAFFR）、CD270（TNFSF14）、CD272（BTLA）、CD276（B7-H3）、CD279（PD-1）、CD314（NKG2D）、CD319（SLAMF7）、CD335（NK-p46）、CD336（NK-p44）、CD337（NK-p30）、CD352（SLAMF6）、CD353（SLAMF8）、CD355（CRTAM）、CD357（TNFRSF18）、誘導性T細胞共刺激分子（ICOS）、LFA-1（CD11a/CD18）、NKG2C、DAP-10、ICAM-1、NKP80（KLRF1）、IL-2Rベータ、IL-2Rガンマ、IL-7Rアルファ、LFA-1、SLAMF9、LAT、GADS（GrpL）、SLP-76（LCP2）、PAG1/CBP、CD83リガンド、Fcガンマ受容体、MHCクラス1分子、MHCクラス2分子、TNF受容体タンパク質、免疫グロブリンタンパク質、サイトカイン受容体、インテグリン、活性化NK細胞受容体、Toll様受容体及びそれらの組合せからなる群から選択される分子又はそのフラグメントを含み得る。

【0288】

選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499又は配列番号500）を特異的に結合し、任意に検出可能な標識を含む抗原結合分子を準備する。検出可能な標識を用いることが好ましい場合、本明細書に記載されるような任意の検出可能な標識をこの方法に用いることができ、好適な標識は所望の基準のセットを用いて選択することができる。検出可能な標識のタイプの例としては、蛍光標識（例えばフルオレセイン、ローダミン、テトラメチルローダミン、エオシン、エリトロシン、クマリン、メチルークマリン、ピレン、Malachite green、スチルベン、Lucifer Yellow、Cascade Blue、Texas Red、IAEDANS、EDANS、BODIPY FL、LC Red 640、Cy 5、Cy 5.5、LC Red 705、Oregon green、Alexa-Fluor色素（Alexa Fluor 350、Alexa Fluor 430、Alexa Fluor 488、Alexa Fluor 546、Alexa Fluor 568、Alexa Fluor 594、Alexa Fluor 633、Alexa Fluor 647、Alexa Fluor 660、Alexa Fluor 680）、Cascade Blue、Cascade Yellow及びR-フィコエリトリン（PE）（Molecular Probes）、FITC、ローダミン及びTexas Red（Pierce）、Cy 5、Cy 5.5、Cy 7（Amersham Life Science））が挙げられる。フ

ルオロフォアを含む好適な光学色素が、Johnson, Molecular Probes Handbook: A Guide to Fluorescent Probes and Labeling Techniques, 11th Edition, Life Technologies, (2010) (引用することにより明示的に本明細書の一部をなす) に記載されている。放射標識 (例えば ^3H 、 ^{11}C 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{18}F 、 ^{35}S 、 ^{64}Cu 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{124}I 、 ^{125}I 、 ^{131}I 等の同位体マーカー)、フォトクロミック化合物、Halo-tag、Attotag、Tracy 色素、タンパク性蛍光標識 (例えば、タンパク性蛍光標識としては、ウミシイタケ (Renilla)、ウミエラ (Ptilosarcus) 又はオワンクラゲ (Aequorea) 種の GFP を含む緑色蛍光タンパク質 (Chalfie et al., (1994) Science 263:802-805)、EGFP (Clontech Labs., Inc.、Genbank アクセッション番号 U55762)、青色蛍光タンパク質 (BFP、Quantum Biotechnologies, Inc; Stauber, (1998) Biotechniques 24:462-471; Heim et al., (1996) Curr. Biol. 6: 178-182)、高感度黄色蛍光タンパク質 (Clontech Labs., Inc.)、ルシフェラーゼ (Ichiki et al., (1993) J. Immunol. 150:5408-5417) も挙げられるが、これらに限定されない)、磁気標識 (例えば、DYNA BEADS) 等を用いることもできる。タンパク質を標識化する戦略が当該技術分野で知られており、開示の方法に用いることができる。

10

【0289】

標識を分子中の任意の位置で抗原結合分子と会合させることができるが、(そのような結合活性の変更が所望されない限りにおいて) 分子の結合特性が変更されないような位置 (又は複数の標識が用いられる場合に複数の位置) で標識を分子と会合させるのが好ましい。本明細書に開示されるもの、例えば図6及び図8に示されるCDRの1つ以上を有するもの等の、選択されるアミノ酸配列 (すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499又は配列番号500) を含む分子を特異的に結合する任意の抗原結合分子 (又は抗原結合分子若しくはそのフラグメントに結合した選択されるアミノ酸配列を含む1つ以上の分子) を用いることができる。

20

【0290】

開示の方法の具体的な実施形態では、抗原結合分子は、配列番号19のアミノ酸配列を含む重鎖CDR1、配列番号20のアミノ酸配列を含む重鎖CDR2、配列番号21のアミノ酸配列を含む重鎖CDR3、配列番号25のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1、配列番号26のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2及び配列番号27のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3を含む。開示の方法の他の具体的な実施形態では、抗原結合分子は、配列番号7のアミノ酸配列を含む重鎖CDR1、配列番号8のアミノ酸配列を含む重鎖CDR2、配列番号9のアミノ酸配列を含む重鎖CDR3、配列番号13のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1、配列番号14のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2及び配列番号15のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3を含む。

30

【0291】

抗原結合分子を任意の表面上に配置しても、又は表面上に全く配置しなくてもよい。例えば、抗原結合分子がバッファー中に存在していても、バッファー抗原結合分子をサンプルと接触させてもよい。代替的には、抗原結合分子を表面と会合させることができる。好適な表面としては、アガロースビーズ、DYNA BEADS等の磁性ビーズ、又はウェルプレート等のプラスチック、ガラス若しくはセラミックプレート、細胞培養バッグ等のバッグ等が挙げられる。表面自体をカラム等の別の構造内に配置してもよい。

40

【0292】

選択されるアミノ酸配列 (すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499又は配列番号500) を含む分子を発現する細胞は任意のタイプとすることができ、ヒト又は非ヒト (例えばマウス、ラット、ウサギ、ハムスター等) であり得る。好ましい実施形態では、細胞は免疫細胞である。この方法の免疫細胞は、任意のタイプの免疫細胞 (例えばBリンパ球、単球、樹状細胞、ランゲルハンス細胞、ケラチノサイト、内皮細胞、星状細胞、線維芽細胞及び乏突起膠細胞) であり得る。T細胞 (細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞及びTreg細胞を含む) が特に好ましい。具体的な実施形態では、細胞は

50

、本明細書に記載されるように、また当該技術分野で知られている方法によって得ることができるT細胞である。任意のタイプの免疫細胞を用いることができ、細胞はヒト細胞又は非ヒト細胞であり得る。例示的な細胞としては、T細胞、腫瘍浸潤リンパ球（TIL）、NK細胞、TCR発現細胞、樹状細胞及びNK-T細胞等の免疫細胞が挙げられるが、これらに限定されない。T細胞は自己、同種異系又は異種であり得る。付加的な実施形態では、細胞はCARを提示するT細胞である。T細胞はCD4+T細胞又はCD8+T細胞であり得る。T細胞が開示の方法に用いられる場合、T細胞は*in vivo* T細胞又は*in vitro* T細胞であり得る。さらに、細胞を血液、組織、又は被験体から得られる任意の他のサンプル、細胞培養培地、*ex vivo*で成長させた組織、好適なバッファー等のような細胞を生存形態に維持することが可能な任意の環境に配置する又はそれから単離することができる。

10

【0293】

細胞を含むサンプルと抗原結合分子とを、選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499又は配列番号500）を含む分子及び抗原結合分子を含む結合複合体の形成を可能にする条件下で接触させる。結合複合体の形成を可能にする条件は様々な要因に依存するが、一般的にはリン酸緩衝生理食塩水（PBS）中のような生理的pH及びイオン強度の水性バッファーが結合複合体の形成に有利であり、開示の方法で好ましい。結合複合体の構成部分が本明細書に記載されるように表面上に配置され得ることから、形成される結合複合体も表面上に配置することができる。

【0294】

この段階で、結合複合体が形成されていない可能性があり、又は選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499又は配列番号500）を含む分子に結合した1つ以上の抗原結合分子を含む複数の結合複合体が形成されている可能性がある。選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499又は配列番号500）を含む非結合分子及び／又は非結合抗原結合分子が、任意の形成される結合複合体の局所環境中に存在する可能性もある。

20

【0295】

次いで、結合複合体の一部ではない任意の分子又は細胞を任意の形成される結合複合体から分離する。除去の方法は、結合複合体の構造及び／又は局所環境によって決まる。例えば、抗原結合分子がビーズ、プレート又はバッグ上に配置される場合、反応混合物の非結合構成成分を、形成される結合複合体を無傷で残す溶液を用いて洗い流すことができる。結合複合体がビーズ上に配置される場合、ビーズ自体をカラム又は他の構造の中に入れてもよく、同じアプローチを用いることができる。

30

【0296】

結合複合体の形成を誘導するために使用される溶液は、例えば非結合構成成分を除去する洗浄溶液として使用することができる。形成される結合複合体を破壊しない任意の好適なバッファー又は溶液も使用することができる。通例、高塩濃度、非生理的pHを有し、カオトロップ又は変性剤を含有するバッファーは、この方法工程を行う際に避けるべきである。

【0297】

この方法段階で、選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499又は配列番号500）を含む分子を提示する細胞の集団が存在する。検出可能な標識を用いた場合、標識の性質に応じて細胞の濃度を容易に決定することができる。選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499又は配列番号500）を含む分子を発現しない細胞が存在しないことで、選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499又は配列番号500）を含む分子を提示する細胞の集団（又は濃度）がこの方法の実施前のレベルと比較して増大する。

40

【0298】

選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4

50

99又は配列番号500)を含む分子の濃度が所望のレベルにない場合、上記の工程を所望の回数繰り返すことができる。この方法工程との関連で、所望の濃度の細胞が既に存在する場合に所望の回数はゼロであり得る。

【0299】

Vg. 免疫細胞の集団を枯渇させる方法

被験体が免疫細胞により媒介される病態を有する場合、被験体への害を阻止するために病態を適時に制御することが相当に重要であり得る。例えば、被験体が自己免疫反応を有する場合、害を阻止するために免疫細胞の集団を枯渇させることによって免疫細胞媒介性応答を抑制することが望ましい場合がある。別の例では、免疫療法を受けている被験体が療法に過度に強く反応し、害のリスクがある可能性がある。被験体に投与された免疫細胞の集団を枯渇させることが、免疫療法に対する被験体の反応を軽減する効果的なアプローチである場合もある。被験体の免疫細胞媒介性応答を制御する方法の必要性に鑑みて、GSTSGSGKPGSGEGSTKG(配列番号1)、GSGKPGSGEG(配列番号2)及びGKPGSGEG(配列番号3)、SGKPGSGE(配列番号499)、KPGSG(配列番号500)からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子を提示する免疫細胞の集団を枯渇させる方法が提供される。本明細書で提供されるもの、例えば図6及び図8に示されるCDRの1つ以上を有するもの等の、GSTSGSGKPGSGEGSTKG(配列番号1)、より具体的には部分配列GSGKPGSGEG(配列番号2)、部分配列GKPGSGEG(配列番号3)、部分配列SGKPGSGE(配列番号499)又は部分配列KPGSG(配列番号500)を特異的に認識する抗原結合分子を開示の方法に用いることができる。

10

20

【0300】

開示の方法の具体的な実施形態では、抗原結合分子は、配列番号19のアミノ酸配列を含む重鎖CDR1、配列番号20のアミノ酸配列を含む重鎖CDR2、配列番号21のアミノ酸配列を含む重鎖CDR3、配列番号25のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1、配列番号26のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2及び配列番号27のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3を含む。開示の方法の他の具体的な実施形態では、抗原結合分子は、配列番号7のアミノ酸配列を含む重鎖CDR1、配列番号8のアミノ酸配列を含む重鎖CDR2、配列番号9のアミノ酸配列を含む重鎖CDR3、配列番号13のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1、配列番号14のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2及び配列番号15のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3を含む。

30

【0301】

一実施形態では、この方法はGSTSGSGKPGSGEGSTKG(配列番号1)、GSGKPGSGEG(配列番号2)、GKPGSGEG(配列番号3)、SGKPGSGE(配列番号499)及びKPGSG(配列番号500)からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子を提示することが知られている又は疑われる、枯渇させるべき免疫細胞の集団を準備することを含む。

【0302】

具体的な実施形態では、選択されるアミノ酸配列はGSTSGSGKPGSGEGSTKG(配列番号1)であり、他の実施形態では、選択されるアミノ酸配列はGSGKPGSGEG(配列番号2)であり、他の実施形態では、選択されるアミノ酸配列はGKPGSGEG(配列番号3)であり、他の実施形態では、選択されるアミノ酸配列はSGKPGSGE(配列番号499)であり、他の実施形態では、選択されるアミノ酸配列はKPGSG(配列番号500)である。

40

【0303】

具体的な実施形態では、選択されるアミノ酸配列(すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499又は配列番号500)を含む分子はCARである。分子がCARである場合、分子はCD2、CD3デルタ、CD3イプシロン、CD3ガンマ、CD4、CD7、CD8 α 、CD8 β 、CD11a(ITGAL)、CD11b(ITGAM)、CD11c(ITGAX)、CD11d(ITGAD)、CD18(ITGB2)、

50

CD19 (B4)、CD27 (TNFRSF7)、CD28、CD29 (ITGB1)、CD30 (TNFRSF8)、CD40 (TNFRSF5)、CD48 (SLAMF2)、CD49a (ITGA1)、CD49d (ITGA4)、CD49f (ITGA6)、CD66a (CEACAM1)、CD66b (CEACAM8)、CD66c (CEACAM6)、CD66d (CEACAM3)、CD66e (CEACAM5)、CD69 (CLEC2)、CD79A (B細胞抗原受容体複合体関連アルファ鎖)、CD79B (B細胞抗原受容体複合体関連ベータ鎖)、CD84 (SLAMF5)、CD96 (Tactile)、CD100 (SEMA4D)、CD103 (ITGAE)、CD134 (OX40)、CD137 (4-1BB)、CD150 (SLAMF1)、CD158A (KIR2DL1)、CD158B1 (KIR2DL2)、CD158B2 (KIR2DL3)、CD158C (KIR3DP1)、CD158D (KIRDL4)、CD158F1 (KIR2DL5A)、CD158F2 (KIR2DL5B)、CD158K (KIR3DL2)、CD160 (BY55)、CD162 (SELP LG)、CD226 (DNAM1)、CD229 (SLAMF3)、CD244 (SLAMF4)、CD247 (CD3-ゼータ)、CD258 (LIGHT)、CD268 (BAFFR)、CD270 (TNFSF14)、CD272 (BTLA)、CD276 (B7-H3)、CD279 (PD-1)、CD314 (NKG2D)、CD319 (SLAMF7)、CD335 (NK-p46)、CD336 (NK-p44)、CD337 (NK-p30)、CD352 (SLAMF6)、CD353 (SLAMF8)、CD355 (CRTAM)、CD357 (TNFRSF18)、誘導性T細胞共刺激分子 (ICOS)、LFA-1 (CD11a/CD18)、NKG2C、DAP-10、ICAM-1、NKp80 (KLRF1)、IL-2Rベータ、IL-2Rガンマ、IL-7Rアルファ、LFA-1、SLAMF9、LAT、GADS (GrpL)、SLP-76 (LCP2)、PAG1/CBP、CD83リガンド、Fcガンマ受容体、MHCクラス1分子、MHCクラス2分子、TNF受容体タンパク質、免疫グロブリンタンパク質、サイトカイン受容体、インテグリン、活性化NK細胞受容体、Toll様受容体及びそれらの組合せからなる群から選択される分子又はそのフラグメントを含み得る。

【0304】

幾つかの実施形態では、CAR等の分子を発現する細胞を死滅させることが有益であり得る。上記のように、幾つかの実施形態では、CAR T細胞等の治療用細胞が患者において治療に使用され、続いて枯渇させる必要がある場合がある。一実施形態では、本発明は、CARを発現する他のT細胞を死滅させるためにT細胞を使用することを含む、これらのT細胞を除去する方法を提供する。本明細書に開示されるもの（すなわち、抗リンカークロン8及び／又は16、並びにそのフラグメント）等の特定の抗原結合分子によって認識される特異的エピトープを含む分子を提示する細胞を、クロン8及び／又は16のフラグメントから構成されるもの（本明細書に記載される）等の特異的抗原結合scFvに連結されたヒトCD3結合scFvを含む二重特異的分子であるダイアボディを用いて死滅させることができる。或る特定の実施形態では、ダイアボディは、GSTSGSGKPGSGEGSTKG（配列番号1）及びその部分配列、特にGSGKPGSGEG（配列番号2）、GKPGSGEG（配列番号3）、SGKPGSGE（配列番号499）及び／又はKPGSG（配列番号500）を含む分子を発現する細胞とヒトT細胞とに結合して免疫シナプスを形成し、細胞死を促進する。

【0305】

選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号1、2、3、499又は500）を含む分子を提示する免疫細胞は任意のタイプとすることができ、ヒト又は非ヒト（例えばマウス、ラット、ウサギ、ハムスター等）であり得る。この方法の免疫細胞は、任意のタイプの免疫細胞（例えばBリンパ球、単球、樹状細胞、ランゲルハンス細胞、ケラチノサイト、内皮細胞、星状細胞、線維芽細胞及び乏突起膠細胞）であり得る。T細胞（細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞及びTreg細胞を含む）が特に好ましい。具体的な実施形態では、細胞は、本明細書に記載されるように、また当該技術分野で知られている方法によって

得ることができるT細胞である。任意のタイプの免疫細胞を開示の方法の本実施形態に用いることができ、細胞はヒト細胞又は非ヒト細胞であり得る。例示的な細胞としては、T細胞、腫瘍浸潤リンパ球（TIL）、NK細胞、TCR発現細胞、樹状細胞及びNK-T細胞等の免疫細胞が挙げられるが、これらに限定されない。T細胞は自己、同種異系又は異種であり得る。付加的な実施形態では、細胞はCARを提示するT細胞である。T細胞はCD4+T細胞又はCD8+T細胞であり得る。T細胞が開示の方法に用いられる場合、T細胞は*in vivo* T細胞又は*in vitro* T細胞であり得る。さらに、細胞を血液、組織、又は被験体から得られる任意の他のサンプル、細胞培養培地、*ex vivo*で成長させた組織、好適なバッファー等のような細胞を生存形態に維持することが可能な任意の環境に配置する又はそれから単離することができる。開示の方法を治療的状况に用いることができることから、好ましい実施形態では、免疫細胞の集団は被験体、より好ましくはヒト被験体内に配置される。

10

【0306】

続いて、免疫細胞と、（a）選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号1、配列番号2又は配列番号3）を含む分子、及び（b）選択されるアミノ酸配列を含む分子を発現しない免疫細胞の表面上に発現される活性化分子に特異的に結合する抗原結合分子とを、選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499又は配列番号500）を含む分子、活性化分子及び抗原結合分子を含む三元結合複合体の形成を可能にする条件下で接触させる。抗原結合分子を任意の表面上に配置しても、又は表面上に全く配置しなくてもよい。例えば、抗原結合分子（枯渇させるべき免疫細胞の集団を含んでいてもよく、バッファー中に存在していてもよい）、及びバッファー抗原結合分子をサンプルと接触させてもよい。代替的には、抗原結合分子を表面と会合させることができる。好適な表面としては、アガロースビーズ、DYNABEADS等の磁性ビーズ、又はウェルプレート等のプラスチック、ガラス若しくはセラミックプレート、細胞培養バッグ等のバッグ等が挙げられる。表面自体をカラム等の別の構造内に配置してもよい。

20

【0307】

免疫細胞と抗原結合分子とを、選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499又は配列番号500）を含む分子、抗原結合分子、及び選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499又は配列番号500）を含む分子を発現しない免疫細胞の表面上に発現される活性化分子を含む三元結合複合体の形成を可能にする条件下で接触させる。結合複合体の形成を可能にする条件は様々な要因に依存するが、一般的にはリン酸緩衝生理食塩水（PBS）中のような生理的pH及びイオン強度の水性バッファーが結合複合体の形成に有利であり、開示の方法で好ましい。結合複合体の構成部分が本明細書に記載されるように表面上に配置され得ることから、形成される結合複合体も表面上に配置することができる。

30

【0308】

好ましい実施形態では、抗原結合分子を被験体に直接投与することによって接触を行う。本実施形態では、被験体は枯渇させるべき細胞の集団を既に有しており、細胞は選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499又は配列番号500）を含む分子を発現する。このため、これらの細胞及び活性化分子を提示する細胞は、抗原結合分子を被験体に投与する前に被験体中に存在する。ヒト血液、リンパ液及び組織の環境により三元結合複合体の形成が可能となる。抗原結合分子と選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499又は配列番号500）を含む分子との結合は、選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号499又は配列番号500）を含む分子を提示するこれらの細胞（すなわち、枯渇させるべき細胞）を「タグ付けする」働きをする。この結合事象自体が枯渇をもたらしても又はもたらさなくてもよい。しかしながら、抗原結合分子が活性化分子を結合して三元結合複合体を形成する場合、この結合事象が両方の細胞（すなわち、選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列

40

50

番号４９９又は配列番号５００）を含む分子を発現する細胞及び活性化分子を発現する細胞）を接近させる。結合事象の生理学的結果は、選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号１、配列番号２、配列番号３、配列番号４９９又は配列番号５００）を含む分子を発現する細胞の死滅である。このため、複数の結合事象が被験体全体で生じることで、選択されるアミノ酸配列（すなわち配列番号１、配列番号２、配列番号３、配列番号４９９又は配列番号５００）を含む分子を有する免疫細胞の集団が枯渇し、被験体に対する害のリスクが減少する。

【０３０９】

V h. 分子を *in vivo* でモニタリングする方法

陽電子放出断層撮影（PET）イメージングが腫瘍学研究及び患者ケアによく用いられている。頭部、胸部、腹部及び骨盤の占拠性病変については、最もよく報告されているPETの用途の１つは、良性の症例と悪性の症例との区別におけるものである。特に、 ^{18}F -フルオロデオキシグルコース（FDG）がこれらの用途の全てでグルコース取込みの分布のイメージングに使用されている。加えて、腫瘍の代謝及び成長の種々の態様をイメージングする他の放射性トレーサーの開発は、可能性の更なる局面をもたらす。これらのトレーサーとしては、アミノ酸組込みを測定するための ^{14}C -メチオニン、ヌクレオチド組込み（細胞増殖の尺度）を測定するための ^{18}F -チミジン、及び組織低酸素を測定するための ^{18}F -フルオロミソニダゾールが挙げられる。

【０３１０】

本発明は、FDG取込みの特異性を増大するためのPET分析における抗原結合分子の使用を提供する。特に、本明細書で提供される方法を用いることで、CAR T細胞のモニタリング、検出、刺激、活性化又は枯渇に加えて、CAR細胞による処理後早期に変化を評定することができる。具体的には、本明細書で提供される方法は、全身スキャンへのPETの使用を容易にすることができる。癌を病期分類するこの技法を用いることで、身体のほぼ全ての部位における潜在性の転移性疾患を、FDG蓄積の増大により潜在的に検出することができる。

【０３１１】

幾つかの実施形態では、本発明は配列番号１、配列番号２、配列番号４９９又は配列番号５００からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子を検出する*in vivo*方法を提供する。例えば、特定の実施形態では、抗原結合分子は、生体被験体における配列番号１、配列番号２、配列番号４９９又は配列番号５００からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子の有無を追跡又はモニタリングするために使用することができる。幾つかの実施形態では、生体被験体はヒトである。幾つかの実施形態では、配列番号１、配列番号２、配列番号４９９又は配列番号５００からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む分子を生体被験体に与え、該分子の有無が本明細書で提供される抗原結合分子及び陽電子放出断層撮影（PET）スキャンを用いて決定される。

【０３１２】

幾つかの実施形態では、本明細書で提供される抗原結合分子は、CAR T細胞を*in vivo*で制御するために使用することができる。幾つかの実施形態では、本明細書で提供される抗原結合分子は、CAR T細胞を*in vivo*で活性化又は刺激するために使用することができる。幾つかの実施形態では、本明細書で提供される抗原結合分子は、CAR T細胞を*in vivo*で枯渇させるために使用することができる。幾つかの実施形態では、本明細書で提供される抗原結合分子は、CAR T細胞を*in vivo*でモニタリングするために使用することができる。具体的には、PETと組み合わせることで、本明細書で提供される抗原結合分子（例えば、抗リンカー抗体）を使用して、*in vivo*での選択されるアミノ酸配列（例えば、配列番号１、配列番号２、配列番号４９９又は配列番号５００）を含む分子を発現する細胞の分布をモニタリング又は追跡することができる。

【０３１３】

参照による引用

本明細書で言及される全ての出版物、特許、及び特許出願は、個々の出版物、特許又は特許出願が各々、具体的かつ個別に引用することにより本明細書の一部をなすことが指示されるのと同じ程度に、引用することにより本明細書の一部をなす。しかしながら、本明細書における参照文献の引用は、かかる参照文献が本発明に対する先行技術の認識として解釈されるべきではない。引用することにより本明細書の一部をなす参照文献に提供される定義又は用語のいずれかが本明細書に提供される用語及び考察とは異なる場合は、本発明の用語及び定義を優先する。上記の明細書は、当業者が本発明を実施するのに十分であるとする。上記の記載及び下記の実施例は、本発明の或る特定の好ましい実施形態を詳述し、本発明者らにより企図される最良の形態を説明するものである。しかしながら、文書内で上記事項がどれほど詳述されていようと、多くの方法で本発明を実施することができ、本発明は添付の特許請求の範囲及びその任意の均等物に従って解釈されるべきであることを理解されたい。

10

【実施例】

【0314】

本発明は、以下の実施例によって更に説明されるが、更なる限定として解釈されるべきではない。本出願全体を通して引用される全ての参照文献の内容は、引用することにより明らかに本明細書の一部をなす。

【0315】

実施例1：抗原結合分子の生成

モノクローナル抗体を、免疫原としてキャリアタンパク質KLHにコンジュゲートした18merペプチドであるGSTSGSGKPGSGEGSTKG（配列番号1）を用いたウサギの免疫化により生成した。オボアルブミンにコンジュゲートした完全長リンカーペプチドであるGSTSGSGKPGSGEGSTKG（配列番号1）を用いたELISAによりポリクローナル血清をスクリーニングすることによって力価を決定した。フローサイトメトリーによりアッセイされるCAR T細胞を用いて二次スクリーニングを行った（図2及び図3）。力価が得られた後、免疫化したウサギを屠殺し、標準的なハイブリドーマ生成及びサブクロニングの技法を用いてモノクローナル抗体を誘導した。ハイブリドーマサブクロンの最終スクリーニングを、フローサイトメトリーの付加的なラウンド及び増殖性CAR T細胞又はCAR T細胞に由来する固定細胞ペレットそれぞれの免疫組織化学（IHC）により達成した。選択された2つの最終サブクロンの配列を、ハイブリドーマサブクロンの標準的なサンガーシーケンシングにより決定した。

20

30

【0316】

実施例2：免疫組織化学（IHC）

候補抗体を、免疫組織化学において有用性についてスクリーニングした（IHC；図4）。IHC染色のための固定細胞ペレットを作製するために、約 2×10^6 個のCAR T細胞を遠心分離し、PBSで洗浄した。細胞を、0.45%パラホルムアルデヒド（PFA）を含有するPBSに再懸濁し、振盪プラットホーム上において室温で2時間インキュベートした。インキュベーション後に細胞をPBSでもう一度洗浄し、5%BSAを含むPBSに再懸濁した。図4に示されるように、CAR形質導入細胞は本明細書で提供される例示的な抗リンカー抗体によって確実に認識された。

40

【0317】

実施例3：エピトープマッピング

抗体（すなわち、抗原結合分子）を、完全長ペプチドであるGSTSGSGKPGSGEGSTKG（配列番号1）、及びN末端又はC末端のいずれかが切断され、N末端のビオチン部分又はC末端のビオチン部分を有するリシン残基のいずれかを含有する変異体を用いたELISAによってエピトープマッピングした。抗体を、プロテインG（Pierce）で予めコーティングしたプレートを用いて96ウェルプレートフォーマットで捕捉した。プレートをPBSTバッファーで6回洗浄し、続いて標的ペプチドとのインキュベーションを行った。更に6回のPBSTによる洗浄を行い、抗体をストレプトアビジン-HRPと共に更にインキュベートした。PBSTでの最終の6回の洗浄後に、シグナルを検出し

50

、増強化学発光キット（ECL、GE Healthcare）及びVarioskan Flashプレートリーダー（Thermo Fisher）によって定量化した。エピトープマッピング研究の結果を図5、図7及び図9に示す。

【0318】

実施例4：ウサギ抗体クローン8-4及びクローン16-6からのヒト化配列の生成

Chemical Computing Group (CCG) によって開発されたMolecular Operating Environment (MOE) ソフトウェアを用いて、ウサギ抗体クローン8-4及び16-6、並びに以下の2つのデータベースのそれぞれに由来する可変軽鎖VL及び可変重鎖VHの対の間でアラインメントを生成した：

(1) Abysisのヒトデータベース：IMGT-Li g M DBに由来する約2000個の既知のヒトVL/VH配列対のデータベース；及び、

(2) ヒト生殖細胞系列データベース：生殖細胞系列配列のデータベース。

【0319】

ヒト化モデルは、最良の配列アラインメント（VL及びVHドメインの両方に対して最も高い同一性）を最小のギャップで示す。各々のヒトデータベースからの上位100個の抗体対をエクスポートし、kC l u s tを用いてクラスター化した（Hauser, Mayer, & Soding, (2013) BMC Bioinformatics, 248）。2つの抗体8-4（表1～8）及び8-16（表9～16）の各々についてのVL及びVH配列の表を下記に提示するが、2つのデータベースの各々からの配列は、90%（表1、表2、表5、表6、表9、表10、表13、表14）及び95%（表3、表4、表7、表8、表11、表12、表15、表16）でクラスター化する。結果を本明細書及び図8に提示する。

【0320】

表1.	8-4	VHヒト化配列	—	90%でクラスター化したIMGT-Li g M DB (Abysis) (18個の配列)	
表2.	8-4	VLヒト化配列	—	90%でクラスター化したIMGT-Li g M DB (Abysis) (39個の配列)	
表3.	8-4	VHヒト化配列	—	95%でクラスター化したIMGT-Li g M DB (Abysis) (47個の配列)	
表4.	8-4	LCヒト化配列	—	95%でクラスター化したIMGT-Li g M DB (Abysis) (99個の配列)	30
表5.	8-4	VHヒト化配列	—	90%でクラスター化した生殖細胞系列データベース (2個の配列)	
表6.	8-4	VLヒト化配列	—	90%でクラスター化した生殖細胞系列データベース (5個の配列)	
表7.	8-4	VHヒト化配列	—	95%でクラスター化した生殖細胞系列データベース (7個の配列)	
表8.	8-4	VLヒト化配列	—	95%でクラスター化した生殖細胞系列データベース (12個の配列)	
表9.	16-6	VHヒト化配列	—	90%でクラスター化したIMGT-Li g M DB (Abysis) (41個の配列)	40
表10.	16-6	VLヒト化配列	—	90%でクラスター化したIMGT-Li g M DB (Abysis) (21個の配列)	
表11.	16-6	VHヒト化配列	—	95%でクラスター化したIMGT-Li g M DB (Abysis) (81個の配列)	
表12.	16-6	VLヒト化配列	—	95%でクラスター化したIMGT-Li g M DB (Abysis) (64個の配列)	
表13.	16-6	VHヒト化配列	—	90%でクラスター化した生殖細胞系列データベース (3個の配列)	
表14.	16-6	VLヒト化配列	—	90%でクラスター化した生殖細胞系列データベース (1個の配列)	50

表 15. 16-6 VH ヒト化配列 — 95% でクラスター化した生殖細胞系列データベース (10 個の配列)

表 16. 16-6 VL ヒト化配列 — 95% でクラスター化した生殖細胞系列データベース (7 個の配列)

【0321】

表 1. 8-4 VH ヒト化配列 — 90% でクラスター化した I M G T - L i g M D B (Abysis) (18 個の配列)

【表 1-1】

>8_4_HC_humanized_866

VQLQESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVADIDGRGDI
YCATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRADDTAVYYCARDGDGSGWGDFNFWGQ
GTLVTVSS (SEQ ID NO: 28)

10

>8_4_HC_humanized_673

QSVVESGGVVVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGPEWVSDIDGRGDIY
CATWAKGRFTISRDNSSLYLQMNSLRATEDTAVYYCAKDGDGSGWGDFNFWGQGT
MVTVSS (SEQ ID NO: 29)

>8_4_HC_humanized_631

QSVVESGGRLVTPGATVKISCKVSGFTISNLAIIWVQQAPGKGLEWMGDIDGRGDIY
CATWAQGRVTITADSSTAYMELNGLRYADTAVYYCATDGDGSGWGDFNFWGQG
TLVTVSS (SEQ ID NO: 30)

20

>8_4_HC_humanized_1002

QSLEESGGGVVQPGKSLRLSCTASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLESVADIDGRGDIY
CATWATGRFAISRDNNSKLYLHMDNLRAEDTAVYYCARDGDGSGWGDFNFWGQG
TTVIVSS (SEQ ID NO: 31)

>8_4_HC_humanized_771

QSLEQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIY
CATWAKGRFTISKSKNTLYLQMNSLRATEDTAVYYCAVDGDGSGWGDFNFWGQG
TLVTVSS (SEQ ID NO: 32)

>8_4_HC_humanized_849

QSVVESGGDLVKPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWIRQAPGKGLEWLSIDIDGRGDIYC
ATWAKGRFTISRDNASLNLQMNSLRATEDTAVYYCAVDGDGSGWGDFNFWGQGT
LVTVSS (SEQ ID NO: 33)

30

【表 1 - 2】

>8_4_HC_humanized_706

VLLLES GGGLA QPGGTLRLSCSASGFTISNLAIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIY
CATWARGRFIISRDNSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDGDGSGWGDFNFWGQGIL
VTVSS (SEQ ID NO: 34)

>8_4_HC_humanized_703

VQLVESGGTLVQPGGSLRLSCSASGFTISNLAIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIY
CATWAKGRITISRDNSTLSLQMSTLRTEDTAVYYCVRDGDGSGWGDFNFWGQGTL
VTVSS (SEQ ID NO: 35)

>8_4_HC_humanized_278

VQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCEASGFTISNLAIWIRQAPGKGLEWVGIDIDGRGDIY
CATWAKGRFTISRDDSTLYLQVNSLKTEDSAVYYCTTDGDGSGWGDFNFWGQGT
LVTVSS (SEQ ID NO: 36)

>8_4_HC_humanized_800

QSVLES GPGLVKPSETLSLTCTVSGFTISNLAIWIRQPPGKGLEWIGDIDGRGDIYCA
TWAKSRLTISTSKNQFSLRLTSVTAADTAMYCAVDGDGSGWGDFNFWGQGTLV
SVSS (SEQ ID NO: 37)

>8_4_HC_humanized_809

VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIWVRQAPGKGLEWLSIDIDGRGDIY
CATWARGRFAISNARNSLYLQMNSLRDEDTAVYFCARDGDGSGWGDFNFWGQGT
LVTVSS (SEQ ID NO: 38)

>8_4_HC_humanized_273

VQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIWVRQASGKGLEWIGDIDGRGDIY
CATWAKGRFTVSRQNSVFLQMNSLETEDTAVYYCARDGDGSGWGDFNFWGQG
TLVTVSS (SEQ ID NO: 39)

>8_4_HC_humanized_716

QSVLES GGGWVQPGSLRLSCSASGFTISNLAIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIY
CATWAKGRFTISRDNNSLYLQMNSLRPEDTALYYCAKDGDGSGWGDFNFWGQGV
LVTVSS (SEQ ID NO: 40)

>8_4_HC_humanized_202

VQLQESGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIY
CATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDMAVYYCAVDGDGSGWGDFNFWGQG
TMVTVSS (SEQ ID NO: 41)

>8_4_HC_humanized_21

VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIWVRQAPGKGLEFVSDIDGRGDIY
CATWAKDRFTISRDNSTVYLQMDSLRTEDTAMYFCARDGDGSGWGDFNFWGQGT
LVTVSS (SEQ ID NO: 42)

>8_4_HC_humanized_173

QSVEESGGRLVTPGGSLRLSCTATGFTISNLAIWFRQAPGKGLEWVGIDIDGRGDIY
CATWAKGRFTISRDDNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARDGDGSGWGDFNFWGQGT
LVTVSS (SEQ ID NO: 43)

>8_4_HC_humanized_23

QSVLES GGDLVQPGGSLRLSCEASGFTISNLAIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIY
CATWAKGRFTISKSKHTLFLQMHSRLVEDTAVYYCAKDGDGSGWGDFNFWGQGT
TVTVSS (SEQ ID NO: 44)

>8_4_HC_humanized_879

QSVEESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTISNLAIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIY
CATWAKGRFTISRDSSTLYLQMNNLRVEDTALYYCAHDGDGSGWGDFNFWGRGT
QVTVSS (SEQ ID NO: 45)

【 0 3 2 2 】

D B (Abysis) (39個の配列)

【表2-1】

>8_4_LC_humanized_866

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKRLIYRASTLASG
VPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGQGTKVEIK (SEQ
ID NO: 46)

>8_4_LC_humanized_340

DIQMTQSPFSLASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQQGWSTVNVDNVFGGGGTKLEIK (SEQ
ID NO: 47)

>8_4_LC_humanized_322

DIQLTQSPSFLASVGDTVITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKHLIYRASTLASGV
PSRFSGGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGGTKVEIK (SEQ
ID NO: 48)

>8_4_LC_humanized_305

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWFQQKPGKAPKSLIYRASTLASGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDSATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGGTKVEIK (SEQ
ID NO: 49)

>8_4_LC_humanized_303

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFSGSGSGTDFTFTISLQPEDATYYCQQGWSTVNVDNVFGPGTKVDIK (SEQ
ID NO: 50)

>8_4_LC_humanized_291

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKGPKLLIYRASTLASGV
PSRFSGSGSGTDFSLTISLQPEDLATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGGTKVEIK (SEQ
ID NO: 51)

>8_4_LC_humanized_217

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCQASQSISTALAWYQQKPGQPPKLLIYRASTLASG
VPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQGWSTVNVDNVFGGQGTKVEIK
(SEQ ID NO: 52)

>8_4_LC_humanized_197

AYDMTQTPATLSLSPGERATLSCQASQSISTALAWYQQKPGQAPRLLIYRASTLASG
IPARFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQGWSTVNVDNVFGGQTEVVVR (SEQ
ID NO: 53)

>8_4_LC_humanized_169

EIVLTQSPSFLSAFVGDRITITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGV
PSRFSGSGSGTEFTLTISGLQPEDFASYCQQGWSTVNVDNVFGGGGTKLEIK (SEQ
ID NO: 54)

>8_4_LC_humanized_17

DIQLTQSPSSLSAAVGDRVTIACQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFSGSGSGTDFTLSISLQPGDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTKVQMK
(SEQ ID NO: 55)

>8_4_LC_humanized_13

DIQMTQSPSSLSASVGDSVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFSGSGSGTEFTLTINGLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGGTKLEIK (SEQ
ID NO: 56)

>8_4_LC_humanized_791

10

20

30

40

【表 2 - 2】

AYELTQTPLSSPVTLGQPASISCQASQSISTALAWLHQRPGQPPRLLIYRASTLASGV
PDRFSGSGAGTAFTLKISRVEVEDVGIIYCCQGWSTVNVDNVFGQGGTKVEIK (SEQ
ID NO: 57)

>8_4_LC_humanized_673

AYDMTQTPASVEVSPGERATLSCQASQSISTALAWYQHKPGQAPRLLIYRASTLAS
GIPARFSGSGSGTEFTLTISSVQSDDFAVYYCQQGWSTVNVDNVFGPGGTKVDIK
(SEQ ID NO: 58)

>8_4_LC_humanized_678

AYELTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWFQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLLPTDFATYFCQQGWSTVNVDNVFGQGTQVEVK (SEQ
ID NO: 59)

>8_4_LC_humanized_631

AYDMTQTPASVEVSVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLAS
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGGTKVEIK
(SEQ ID NO: 60)

>8_4_LC_humanized_1002

AYELTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VSSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGQGTCKLEIK (SEQ
ID NO: 61)

>8_4_LC_humanized_775

AYELTQTPLSSPVTLGQPASISCQASQSISTALAWLQQRPGQPPRLLIYRASTLASGV
PDRFSGSGARTDFTLNISRVEAEDAGVYYCQQGWSTVNVDNVFGQGTCKLEIK (SEQ
ID NO: 62)

>8_4_LC_humanized_771

AYELTQSPATLSLSPGERATLSCQASQSISTALAWYQQKPGQAPRLLIHRASTLASGI
PARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQGWSTVNVDNVFGGGGTRVEIK (SEQ
ID NO: 63)

>8_4_LC_humanized_188

DIQLTQSPSTLSASVGDRITITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGV
PPRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGQGTCKVVVR (SEQ
ID NO: 64)

>8_4_LC_humanized_717

ELVMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPNLLIYRASTLASG
IPSRFSGSGSGTYFTLTINGLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGGTKVDIK (SEQ
ID NO: 65)

>8_4_LC_humanized_1048

SYELTQTPPSVSVSPGQTARITCQASQSISTALAWYQQKPGQAPKVLIYRASTLASGI
PERFSGSSSGTTVTLTISGVQAEDEADYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTKLTVL (SEQ
ID NO: 66)

>8_4_LC_humanized_849

AYELTQSPLSLSVTPGQPASISCQASQSISTALAWYLQKPGQPPQLLIYRASTLASGV
PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQGWSTVNVDNVFGQGTCKVEIK (SEQ
ID NO: 67)

>8_4_LC_humanized_1016

DIELTQSPSSLSASIGDRVSITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVP
SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATFYCQQGWSTVNVDNVFGGGGTRVEIK (SEQ ID
NO: 68)

>8_4_LC_humanized_978

10

20

30

40

【表 2 - 3】

EIVLTQSPSSLSASVGDRVITITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISNLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTKVEIK (SEQ
ID NO: 69)

>8_4_LC_humanized_706

DIQMTQYPSSLSASVGDRVITACQASQSISTALAWYQQKPGKPPKLLIYRASTLASG
VPSRFSGSGSGTDFTLTISCLQPEDVATYYCQQGWSTVNVDNVFGQGTRVEFK
(SEQ ID NO: 70)

>8_4_LC_humanized_278

ELVLTQSPSSLSASVGDRVITITCQASQSISTALAWCQQKPGKSPTLLIYRASTLASGV
PSRFSGSGSGTGFTLTISGLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTKVEIR (SEQ
ID NO: 71)

10

>8_4_LC_humanized_129

EIVMTQSPSSLSASVGDRVITITCQASQSISTALAWYQHKPGKAPRLLIYRASTLASG
VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPDDEFATYYCQQGWSTVNVDNVFGQGGTKVEVK
(SEQ ID NO: 72)

>8_4_LC_humanized_1133

AYDMTTQPPSVSVSPGQTASITCQASQSISTALAWYQQKPGQSPVLVIYRASTLASG
IPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQQGWSTVNVDNVFGTGTEVVVR
(SEQ ID NO: 73)

20

>8_4_LC_humanized_881

AYDMTQSPSSLSASVGDRVITITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPNLLIYRASTLASG
VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTKVQIK (SEQ
ID NO: 74)

>8_4_LC_humanized_882

AYDMTQSPSSLSASVGDRVITITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFSGSGFGTDFTTISSLQPEDSATYYCQQGWSTVNVDNVFGQGGTKLEIK (SEQ
ID NO: 75)

>8_4_LC_humanized_273

ELVMTQSPSSLSASVGDRVITITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFSGSGSGTDFTLTISGLQSEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGQGGTKVEIK (SEQ
ID NO: 76)

30

>8_4_LC_humanized_716

ELVMTQSPSSLSASEGDRVITITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFSGSGSGTEFTLTISGLQSEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTTVDVK
(SEQ ID NO: 77)

>8_4_LC_humanized_677

AYDMTQSPSFLSASVGDRVITITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGQGTRLEIK (SEQ
ID NO: 78)

>8_4_LC_humanized_192

AYDMTQSPSSLSASVGDRVITITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDFTTYCQQGWSTVNVDNVFGQGGTKVEFK
(SEQ ID NO: 79)

40

>8_4_LC_humanized_802

AIRMTQSPSSFSASTGDRVITITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFSGSGSGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTKVEIK (SEQ
ID NO: 80)

>8_4_LC_humanized_54

【表 2 - 4】

AYGMTQSPDSLAVSLGERASINCQASQSISTALAWYQQKPGQPPKLLIYRASTLASG
VPDRFSGGGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTKVEIK
(SEQ ID NO: 81)

>8_4_LC_humanized_173

AIQMTQSPFSLASVGDRTITCQASQSISTALAWFQQKPGKAPKSLIYRASTLASG
VSSKFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGQGTRLVVR
(SEQ ID NO: 82)

>8_4_LC_humanized_224

AYDMTQTPASVSLSPGERATLSCQASQSISTALAWYQQKPGQAPRLLIYRASTLAS
GIPDRFRGSGSATDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTEVVVR
(SEQ ID NO: 83)

>8_4_LC_humanized_657

AYDMTQTPASVEVSVGDRTSITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLAS
GVPSRFSGSGSGTDFTLTITSLQPVDFAVYYCQQGWSTVNVDNVFGPGTTVDAK
(SEQ ID NO: 84)

10

【0 3 2 3】

表 3. 8 - 4 V H ヒト化配列 — 95% でクラスター化した I M G T - L i g M
D B (Abyss) (47 個の配列)

【表 3 - 1】

20

>cl|CABBABABA|10|117>8_4_HC_humanized_866>8_4_HC_humanized_340
>8_4_HC_humanized_336>8_4_HC_humanized_332>8_4_HC_humanized_322
VQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVADIDGRGDI
YCATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAVDGDGSGWGDFNFWGQ
GTLVTVSS (SEQ ID NO: 85)

>cl|KABBABABA|13|117>8_4_HC_humanized_315>8_4_HC_humanized_314
>8_4_HC_humanized_305>8_4_HC_humanized_303>8_4_HC_humanized_296
VQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVADIDGRGDI
YCATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAVDGDGSGWGDFNFWGQ
GTLVTVSS (SEQ ID NO: 86)

30

>cl|TABBABABA|8|117>8_4_HC_humanized_217>8_4_HC_humanized_197
>8_4_HC_humanized_678>8_4_HC_humanized_978>8_4_HC_humanized_635
VQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIY
CATWAKGRFTISRDNASLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGDGSGWGDFNFWGQG
TLVTVSS (SEQ ID NO: 87)

>cl|WABBABABA|7|117>8_4_HC_humanized_169>8_4_HC_humanized_122
>8_4_HC_humanized_676>8_4_HC_humanized_893>8_4_HC_humanized_57
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIY
CATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDGDGSGWGDFNFWGQGT
LTVTVSS (SEQ ID NO: 88)

>cl|ZABBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_17
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGRGLVWVSDIDGRGDIY
CATWAKGRFTISRDNATLYLQMNNLRAEDTAVYYCARDGDGSGWGDFNFWGQG
TLVTVSS (SEQ ID NO: 89)

40

>cl|CEBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_791
QSVLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIY
CATWARGRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDTAIYYCAKDGDGSGWGDFNFWGRGT
HVTVSS (SEQ ID NO: 90)

>cl|DEBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_673

【表 3 - 2】

QSVVESGGVVVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGPEWVSDIDGRGDIY
CATWAKGRFTISRDNSSLYLQMNSLRTEDTAVYYCAKDGDGSGWGDFNFWGQGT
MVTVSS (SEQ ID NO: 91)
>cl|GEBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_631
QSVEESGGRLVTPGATVKISCKVSGFTISNLAIIWVQQAPGKGLEWMGDIDGRGDIY
CATWAQGRVTITADSSTAYMELNGLRYADTAVYYCATDGDGSGWGDFNFWGQG
TLVTVSS (SEQ ID NO: 92)
>cl|HEBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_1002
QSLEESGGGVVQPGKSLRLSCTASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLESVADIDGRGDIY
CATWATGRFAISRDN SKLYLHMDNLRAEDTAVYYCARDGDGSGWGDFNFWGQG
TTVIVSS (SEQ ID NO: 93)
>cl|KEBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_775
QSLEESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQASGKGLEWVSDIDGRGDIY
CATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDTAVYSCAVDGDGSGWGDFNFWGQGT
LVTVSS (SEQ ID NO: 94)
>cl|LEBBABABA|2|117>8_4_HC_humanized_771>8_4_HC_humanized_772
QSLEQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIY
CATWAKGRFTISKSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAVDGDGSGWGDFNFWGQG
TLVTVSS (SEQ ID NO: 95)
>cl|NEBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_188
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWASDIDGRGDIY
CATWAKGRFTISRDSSTLYLQMNSLRD TDDTAVYYCAADGDGSGWGDFNFWGQGT
LVTVSS (SEQ ID NO: 96)
>cl|PEBBABABA|9|117>8_4_HC_humanized_186>8_4_HC_humanized_292
>8_4_HC_humanized_283>8_4_HC_humanized_204>8_4_HC_humanized_201
VQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVADIDGRGDI
YCATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDGDGSGWGDFNFWGQ
GTLVTVSS (SEQ ID NO: 97)
>cl|QEBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_717
QSVLESGGGWVQPGRSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVADIDGRGDI
YCATWAKGRFTISRDNASLYLEMKSLRAEDTAIYYCARDGDGSGWGDFNFWGQGT
VLVTVSS (SEQ ID NO: 98)
>cl|REBBABABA|2|117>8_4_HC_humanized_1048>8_4_HC_humanized_675
QSVEESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIY
CATWAKGRFTISRDNASLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGDGSGWGDFNFWGQG
TLVTVSS (SEQ ID NO: 99)
>cl|SEBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_849
QSVEESGGDLVKPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWLSIDIDGRGDIY
ATWAKGRFTISRDNASLNLMNSLRAEDTAVYYCAVDGDGSGWGDFNFWGQGT
LVTVSS (SEQ ID NO: 100)
>cl|TEBBABABA|3|117>8_4_HC_humanized_1016>8_4_HC_humanized_295
>8_4_HC_humanized_319
VQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVADIDGRGDI
YCATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAVDGDGSGWGDFNFWGQ
GTLVTVSS (SEQ ID NO: 101)
>cl|XEBBABABA|2|117>8_4_HC_humanized_868>8_4_HC_humanized_55
QQQLQESGGGLVQPGGSLRLSCSASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEYVSDIDGRGDIY
CATWAKGRFTISRDNSTLYLQMSSLRAEDTAVYYCVKDGDGSGWGDFNFWGQGT
LVTVSS (SEQ ID NO: 102)
>cl|YEBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_862

10

20

30

40

【表 3 - 3】

VRLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTISNLAIWVRQAPGKGLEWVADIDGRGDI
 YCATWAKGRFTISRDNSTLHLQMNSLRAEDTAVYYCAKDGDGSGWGDFNFWGK
 GTTVTVSS (SEQ ID NO: 103)

>cl|ZEBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_715
 VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIY
 CATWAKGRFTISRKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGDGSGWGDFNFWGQGT
 TVTVSS (SEQ ID NO: 104)

>cl|BIBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_706
 VLLLESGGGLAQPGGTLRLSCASGFTISNLAIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIY
 CATWARGRFIISRDNSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDGDGSGWGDFNFWGQGIL
 VTVSS (SEQ ID NO: 105)

>cl|CIBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_703
 VQLVESGGTLVQPGGSLRLSCASGFTISNLAIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIY
 CATWAKGRITISRDNSTLSLQMSLRTEDTAVYYCVRDGDGSGWGDFNFWGQGT
 VTVSS (SEQ ID NO: 106)

>cl|FIBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_341
 VQLVQSGGSLVQPGRSLRLSCAASGFTISNLAIWVRQAPGKGLEWVADIDGRGDIY
 CATWAKGRFTTSRDNSTLYLQMNSLRADDTAVYFCAVDGDGSGWGDFNFWGQG
 TLTVTVSS (SEQ ID NO: 107)

>cl|KIBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_301
 VQLVESGGDLVQPGESLRLSCAASGFTISNLAIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIY
 CATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGDGSGWGDFNFWGQGT
 LTVTVSS (SEQ ID NO: 108)

>cl|QIBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_278
 VQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCEASGFTISNLAIWIRQAPGKGLEWVGIDIDGRGDIY
 CATWAKGRFTISRDDSTLYLQVNSLKTEDSAVYYCTTDGDGSGWGDFNFWGQGT
 LTVTVSS (SEQ ID NO: 109)

>cl|TIBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_129
 MQLVESGGGLVQPGRSLRLSCVTSGFTISNLAIWVRQVPGKGLEWVSDIDGRGDIY
 CATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRPEDTAVYYCAKDGDGSGWGDFNFWGQGT
 LTVTVSS (SEQ ID NO: 110)

>cl|XIBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_800
 QSVLESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFTISNLAIWIRQPPGKGLEWIGDIDGRGDIYCA
 TWAKSRLTISTSKNQFSRLTSTVTAADTAMYYCAVDGDGSGWGDFNFWGQGT
 SVSS (SEQ ID NO: 111)

>cl|YIBBABABA|7|117>8_4_HC_humanized_1133>8_4_HC_humanized_881
 >8_4_HC_humanized_677>8_4_HC_humanized_192>8_4_HC_humanized_65
 QSVEESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTISNLAIWVRQAPGKGLEWVADIDGRGDIY
 CATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGDGSGWGDFNFWGQGT
 TVTVSS (SEQ ID NO: 112)

>cl|FOBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_882
 QSVEESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIWVRQPPGKGLEWVGIDIDGRGDIY
 CATWAKGRFTISRKSTVYLQMNSLKTEDTAVYYCTADGDGSGWGDFNFWGQG
 MLTVTVSS (SEQ ID NO: 113)

>cl|GOBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_660
 QSVEESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIYC
 ATWAKGRFTISRDNSTLYLQMTSLRAEDTAVYYCALDGDGSGWGDFNFWGQGT
 VTVSS (SEQ ID NO: 114)

>cl|HOBBABABA|2|117>8_4_HC_humanized_1051>8_4_HC_humanized_1050

10

20

30

40

【表 3 - 4】

VQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVGDIDGRGDI
YCATWAKGRFTISRSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTVDGDGSGWGDFNFWGQG
TLTVSS (SEQ ID NO: 115)

>cl|MOBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_809

VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIY
CATWARGRFAISNARNSLYLQMNSLRDEDTAVYFCARDGDGSGWGDFNFWGQGT
LVTVSS (SEQ ID NO: 116)

>cl|VOBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_273

VQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQASGKGLEWIGDIDGRGDIY
CATWAKGRFTVSRQNSVFLQMNSLETEDTAVYYCARDGDGSGWGDFNFWGQG
TLTVSS (SEQ ID NO: 117)

10

>cl|WOBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_716

QSVLES GGGLVQPGGSLRLSCSASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIY
CATWAKGRFTISRDNNSLYLQMNSLRPEDTALYYCAKDGDGSGWGDFNFWGQGV
LVTVSS (SEQ ID NO: 118)

>cl|ZOBABABABA|1|117>8_4_HC_humanized_202

VQLQESGEGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIY
CATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDMAVYYCAVDGDGSGWGDFNFWGQG
TMVTVSS (SEQ ID NO: 119)

20

>cl|GUBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_54

VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGFTISNLAIIWVRQPPGKGLEWVSDIDGRGDIY
CATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAVDGDGSGWGDFNFWGQGT
TLTVSS (SEQ ID NO: 120)

>cl|HUBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_21

VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIY
CATWAKDRFTISRDNSTVYLQMDSLRTEDTAMYFCARDGDGSGWGDFNFWGQGT
LVTVSS (SEQ ID NO: 121)

>cl|KUBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_788

QSVLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIY
CATWAKGRFTISRDNSTLFLQISSLRAEDTAVYYCAKDGDGSGWGDFNFWGPGTL
VTVSS (SEQ ID NO: 122)

30

>cl|MUBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_762

VKLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVADIDGRGDIY
CATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLGAEDTAVYYCARDGDGSGWGDFNFWGQGT
LVTVSS (SEQ ID NO: 123)

>cl|PUBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_173

QSVESGGRLVTPGGSLRLSCTATGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVGDIDGRGDIY
CATWAKGRFTISRDDNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARDGDGSGWGDFNFWGQGT
LVTVSS (SEQ ID NO: 124)

>cl|RUBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_224

QSVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVGDIDGRGDIY
CATWAKGRFTISRSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCATDGDGSGWGDFNFWGQGT
LVTVSS (SEQ ID NO: 125)

40

>cl|VUBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_672

QSVVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIY
CATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCALDGDGSGWGDFNFWGQGT
LVTVSS (SEQ ID NO: 126)

>cl|XUBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_267

【表 3 - 5】

QSVEQSGGGLVQPGESLRLSCAGSGFTISNLAIWVRQAPGKGLEWVADIDGRGDIY
CATWAKGRFTISRDNASLFLQMNSLRVEDTAVYYCARDGDGSGWGDFNFWGQGT
LVTVSS (SEQ ID NO: 127)

>cl|YUBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_23

QSVLES GGDLVQPGGSLRLSCEASGFTISNLAIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIY
CATWAKGRFTISKSKHTLFLQMNSLRVEDTAVYYCAKDGDGSGWGDFNFWGQGT
TVTVSS (SEQ ID NO: 128)

>cl|ZUBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_657

QSVEESGGRLVTPGGSLRLSCAASGFTISNLAIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIY
CATWAKGRFTISRDNSSLYLQMNSLRTEDSALYYCAIDGDGSGWGDFNFWGQGS
LVTVSS (SEQ ID NO: 129)

>cl|BACBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_879

QSVEESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTISNLAIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIY
CATWAKGRFTISRDSSTLYLQMNNLRVEDTALYYCAHDGDGSGWGDFNFWGRGT
QVTVSS (SEQ ID NO: 130)

10

【 0 3 2 4 】

表 4. 8 - 4 LC ヒト化配列 — 95% でクラスター化した IMG T - L i g M
D B (Abyss) (99 個の配列)

20

【表 4 - 1】

>cl|CACBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_866

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKRLIYRASTLASG
VPSRFGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGQGGTKVEIK (SEQ
ID NO: 131)

>cl|DACBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_340

DIQMTQSPFSLASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQQGWSTVNVDNVFGGGGTKLEIK (SEQ
ID NO: 132)

>cl|FACBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_336

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
PSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGQGGTKLEIK (SEQ
ID NO: 133)

30

>cl|GACBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_332

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLVYRASTLASG
VPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGQGGTKVEIK (SEQ
ID NO: 134)

>cl|HACBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_322

DIQLTQSPSFLSASVGDTVSTTCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKHLIYRASTLASG
PSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGGTKVEIK (SEQ
ID NO: 135)

40

>cl|KACBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_315

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
PSRFGSGSGTGFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGGTKVEIK (SEQ
ID NO: 136)

>cl|LACBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_314

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPNLLIYRASTLASG
VPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGQGGTKVEIK (SEQ
ID NO: 137)

>cl|MACBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_305

50

【表 4 - 2】

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWFQQKPGKAPKSLIYRASTLASGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDSATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTKVEIK (SEQ
ID NO: 138)

>cl|NACBABABA|1|110 >8_4_LC_humanized_303

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFSGSGSGTDFTFITISLQPEDATYYCQQGWSTVNVDNVFGPGTKVDIK (SEQ
ID NO: 139)

>cl|PACBABABA|1|110 >8_4_LC_humanized_296

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSTFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGQGTKVEIK (SEQ
ID NO: 140)

>cl|QACBABABA|1|110 >8_4_LC_humanized_294

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTKVEIK (SEQ
ID NO: 141)

>cl|RACBABABA|1|110 >8_4_LC_humanized_291

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKGP KLLIYRASTLASGV
PSRFSGSGSGTDFSLTISSLQPEDLATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTKVEIK (SEQ
ID NO: 142)

>cl|SACBABABA|1|110 >8_4_LC_humanized_284

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKSLIYRASTLASG
VPSKFSGSGSGTEFTLTISSLQPD F ATYYCQQGWSTVNVDNVFGQGTRLEIK (SEQ
ID NO: 143)

>cl|TACBABABA|1|110 >8_4_LC_humanized_217

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCQASQSISTALAWYQQKPGQPPKLLIYRASTLASG
VPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQGWSTVNVDNVFGQGTKVEIK
(SEQ ID NO: 144)

>cl|VACBABABA|1|110 >8_4_LC_humanized_197

AYDMTQTPATLSLSPGERATLS C QASQSISTALAWYQQKPGQAPRLLIYRASTLASG
IPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQGWSTVNVDNVFGQGTEVVVR (SEQ
ID NO: 145)

>cl|WACBABABA|1|110 >8_4_LC_humanized_169

EIVLTQSPSFLSAFVGDRITITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGV
PSRFSGSGSGTEFTLTISGLQPEDFASYCQQGWSTVNVDNVFGGGTKLEIK (SEQ
ID NO: 146)

>cl|XACBABABA|1|110 >8_4_LC_humanized_122

DVVM TQSPASLSASVGDRVTIICQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFSGSGSRTDFTFTISLQPEDATYYCQQGWSTVNVDNVFGPGTKVDIK (SEQ
ID NO: 147)

>cl|YACBABABA|1|110 >8_4_LC_humanized_44

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKR LIYRASTLASG
VPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGQGTKVEIK (SEQ
ID NO: 148)

>cl|ZACBABABA|1|110 >8_4_LC_humanized_17

DIQLTQSPSSLSAAVGDRVTIACQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFSGSGSGTDFTLSSISLQPGDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTKVQMK
(SEQ ID NO: 149)

>cl|BECBABABA|1|110 >8_4_LC_humanized_13

10

20

30

40

【表 4 - 3】

DIQMTQSPSSLSASVGDSVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFGSGSGTEFTLTINGLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTKLEIK (SEQ
ID NO: 150)

>cl|CECBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_791

AYELTQTPLSSPVTLGQPASISCQASQSISTALAWLHQRPGQPPRLLIYRASTLASGV
PDRFSGSGAGTAFTLKISRVEEDVGIYYCQQGWSTVNVDNVFGGQGTKVEIK (SEQ
ID NO: 151)

>cl|DECBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_673

AYDMTQTPASVEVSPGERATLSCQASQSISTALAWYQHKPGQAPRLLIYRASTLAS
GIPARFSGSGSGTEFTLTISSVQSDDFAVYYCQQGWSTVNVDNVFGPGTKVDIK
(SEQ ID NO: 152)

10

>cl|FECBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_678

AYELTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWFQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFGSGSGTDFTLTISLLPTDFATYFCQQGWSTVNVDNVFGGQGTQVEVK (SEQ
ID NO: 153)

>cl|GECBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_631

AYDMTQTPASVEVSVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLAS
GVPSRFGSGSGTDFTLTISLLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTKVEIK
(SEQ ID NO: 154)

20

>cl|HECBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_1002

AYELTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VSSRFGSGSGTDFTLTISLLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGQGTKLEIK (SEQ
ID NO: 155)

>cl|KECBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_775

AYELTQTPLSSPVTLGQPASISCQASQSISTALAWLQQRPGQPPRLLIYRASTLASGV
PDRFSGSGARTDFTLNISRVEAEDAGVYYCQQGWSTVNVDNVFGGQGTKLEIK (SEQ
ID NO: 156)

>cl|LECBABABA|2|110>8_4_LC_humanized_771>8_4_LC_humanized_772

AYELTQSPATLSLSPGERATLSCQASQSISTALAWYQQKPGQAPRLLIHRASTLASGI
PARFSGSGSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTRVEIK (SEQ
ID NO: 157)

30

>cl|MECBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_676

AYDMTQSPATLSLSPGERATLSCQASQSISTALAWYQQKPGQAPRLLIYRASTLASG
IPARFSGSGSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTKVEIK (SEQ
ID NO: 158)

>cl|NECBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_188

DIQLTQSPSTLSASVGDRITITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGV
PPRFSGSGSGTEFTLTISLLQPDDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGQGTKVVVR (SEQ
ID NO: 159)

>cl|PECBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_186

DIQLTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFGSGSGTEFTLTISLLQPDDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGQGTKVVVR
(SEQ ID NO: 160)

40

>cl|QECBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_717

ELVMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPNLLIYRASTLASG
IPSRFSGSGSGTYFTLTINGLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTKVDIK (SEQ
ID NO: 161)

>cl|RECBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_1048

【表 4 - 4】

SYELTQTPPSVSVSPGQTARITCQASQSISTALAWYQQKPGQAPKVLIYRASTLASGI
PERFSGSSSGTTVTLTISGVQAEDEADYYCQQGWSTVNVDNVFGGGKLTVL (SEQ
ID NO: 162)

>cl|SECBABABA|1|110 >8_4_LC_humanized_849

AYELTQSPLSLSVTPGQPASISCQASQSISTALAWYLQKPGQPPQLLIYRASTLASGV
PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQGWSTVNVDNVFQGQGTKVEIK (SEQ
ID NO: 163)

>cl|TECBABABA|1|110 >8_4_LC_humanized_1016

DIELTQSPSSLSASIGDRVSITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVP
SRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATFYCQQGWSTVNVDNVFGGGTRVEIK (SEQ ID
NO: 164)

>cl|VECBABABA|1|110 >8_4_LC_humanized_978

EIVLTQSPSSLSASVGDRTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISNLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGKVEIK (SEQ
ID NO: 165)

>cl|WECBABABA|1|110 >8_4_LC_humanized_893

DIEMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKRLIQRASTLASG
VPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYHCQQGWSTVNVDNVFGGGKVEIK (SEQ
ID NO: 166)

>cl|XECBABABA|1|110 >8_4_LC_humanized_868

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCQASQSISTALAWYQQKPGQPPKLLIYRASTLASG
VPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQGWSTVNVDNVFQGQGTKLEIK
(SEQ ID NO: 167)

>cl|YECBABABA|1|110 >8_4_LC_humanized_862

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFQGQGTKVEIK (SEQ
ID NO: 168)

>cl|ZECBABABA|1|110 >8_4_LC_humanized_715

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKFLIYRASTLASG
VPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFQGQGTKVEIK (SEQ
ID NO: 169)

>cl|BICBABABA|1|110 >8_4_LC_humanized_706

DIQMTQYPSSLSASVGDRTIACQASQSISTALAWYQQKPGKPPKLLIYRASTLASG
VPSRFSGSGSGTDFTLTISCLQPEDVATYYCQQGWSTVNVDNVFQGQGTRVEFK
(SEQ ID NO: 170)

>cl|CICBABABA|1|110 >8_4_LC_humanized_703

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCQASQSISTALAWYQQKAGQPPKLLIYRASTLASG
VPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQGWSTVNVDNVFGGGKVEIK
(SEQ ID NO: 171)

>cl|DICBABABA|1|110 >8_4_LC_humanized_635

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQSISTALAWYQQKPGKVPKLLIYRASTLASG
VPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCQQGWSTVNVDNVFQGQGTKLEIK (SEQ
ID NO: 172)

>cl|FICBABABA|1|110 >8_4_LC_humanized_341

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGKLEIK (SEQ
ID NO: 173)

>cl|GICBABABA|1|110 >8_4_LC_humanized_328

10

20

30

40

【表 4 - 5】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGRGTKVEIK (SEQ
ID NO: 174)

>cl|HICBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_324

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGNAPKSLIYRASTLASG
VPSKFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTKVEIK (SEQ
ID NO: 175)

>cl|KICBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_301

DIQMTQSPDSLAVSLGERATINCQASQSISTALAWYQQKPGQPPKLLIYRASTLASG
VPDRFGSGSGTDFTLTISLQAEADVAVYYCQQGWSTVNVDNVFGQGTKLEIK
(SEQ ID NO: 176)

>cl|LICBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_295

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGQGTRLEIK (SEQ
ID NO: 177)

>cl|MICBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_292

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPNLLIYRASTLASG
VPSRFGSVSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTKVEIK (SEQ
ID NO: 178)

>cl|NICBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_283

DIQLTQSPSSVSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGQGTRLEIK (SEQ
ID NO: 179)

>cl|PICBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_282

DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKLGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTKVEIK (SEQ
ID NO: 180)

>cl|QICBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_278

ELVLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWCQQKPGKSPTLLIYRASTLASGV
PSRFGSGSGTGFTLTISGLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTKVEIR (SEQ
ID NO: 181)

>cl|RICBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_204

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGV
PSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGQGTKVEIK (SEQ
ID NO: 182)

>cl|SICBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_201

DIRVTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFGSGSGTDFTFTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTKVDIK (SEQ
ID NO: 183)

>cl|TICBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_129

EIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQHKPGKAPRLLIYRASTLASG
VPSRFGSGSGTDFTLTISLQPDDEFATYYCQQGWSTVNVDNVFGQGTKVEVK
(SEQ ID NO: 184)

>cl|VICBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_108

DVVMTQSPSSVSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLAS
GVPSRFGSGSGTDFTLTITSLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTKVEIK
(SEQ ID NO: 185)

>cl|WICBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_57

10

20

30

40

【表 4 - 6】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKRLIYRASTLASG
VPSRFGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGQGTRLEIK (SEQ
ID NO: 186)

>cl|XICBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_800

AYELTQTTPPSLSVTPGQPASISCQASQSISTALAWYLQKPGQPPQLLIYRASTLASGV
PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQGWSTVNVDNVFGQGTKVEIK (SEQ
ID NO: 187)

>cl|YICBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_1133

AYDMTTQPPSVSVSPGQTASITCQASQSISTALAWYQQKPGQSPVLVIYRASTLASG
IPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQQGWSTVNVDNVFGTGTEVVVR
(SEQ ID NO: 188)

10

>cl|ZICBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_621

AYELTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGQGTKVEIK (SEQ
ID NO: 189)

>cl|COCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_881

AYDMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPNLLIYRASTLASG
VPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTKVQIK (SEQ
ID NO: 190)

20

>cl|DOCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_55

AYDMTQTPASVEVSPGERATLSCQASQSISTALAWYQQKPGQAPRLLIYRASTLAS
GIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQGWSTVNVDNVFGQGTEVVVR
(SEQ ID NO: 191)

>cl|FOCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_882

AYDMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFGSGSGFDFTFTISLQPEDSATYYCQQGWSTVNVDNVFGQGTKLEIK (SEQ
ID NO: 192)

>cl|GOCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_660

AYVMTQSPATLSLSPGERATLSCQASQSISTALAWYQQRPGQAPRLLIYRASTLASG
IPARFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTKVEIK (SEQ
ID NO: 193)

30

>cl|HOCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_1051

SYELTQTTPPSVSVSPGQTARITCQASQSISTALAWYQQKPGQAPVLVIYRASTLASGI
PERFSGSSSGTTVTLTISGVQAEDEADYYCQQGWSTVNVDNVFGTGTKVTVL (SEQ
ID NO: 194)

>cl|KOCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_1050

SYELTQTTPPSVSVSPGQTARITCQASQSISTALAWYQQKPGQAPVLVIYRASTLASGI
PERFSGSSSGTTVTLTISGVQAEDEADYYCQQGWSTVNVDNVFGTGTKVTVL (SEQ
ID NO: 195)

>cl|LOCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_860

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTKVEIK (SEQ
ID NO: 196)

40

>cl|MOCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_809

DIQMTQSPSSVSASVRDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGPGTKVDIK (SEQ
ID NO: 197)

>cl|NOCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_346

【表 4 - 7】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGQGKVEIK (SEQ
ID NO: 198)

>cl|POCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_345

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFGSGSGTDFTFTISSLQPDDEFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTKVEIK (SEQ
ID NO: 199)

>cl|QOCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_334

DIQMTQSPSFVSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTKVEIK (SEQ
ID NO: 200)

>cl|ROCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_319

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGQGKVEIK (SEQ
ID NO: 201)

>cl|SOCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_308

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTKVEIK (SEQ
ID NO: 202)

>cl|TOCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_281

DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTKVDIK (SEQ
ID NO: 203)

>cl|VOCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_273

ELVMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFGSGSGTDFTLTISGLQSEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGQGKVEIK (SEQ
ID NO: 204)

>cl|WOCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_716

ELVMTQSPSSLSASEGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFGSGSGTEFTLTISGLQSEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTTVDVK
(SEQ ID NO: 205)

>cl|XOCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_677

AYDMTQSPSFLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGQGTRLEIK (SEQ
ID NO: 206)

>cl|YOCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_192

AYDMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFGSGSGTDFTLTISLQAEDFTTYCQQGWSTVNVDNVFGQGKVEFK
(SEQ ID NO: 207)

>cl|ZOCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_202

DIRMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKVPKLLIYRASTLASG
VPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCQQGWSTVNVDNVFGPGTKVVVR
(SEQ ID NO: 208)

>cl|BUCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_802

AIRMTQSPSSFSASTGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFGSGSGTDFTLTISCLQSEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTKVEIK (SEQ
ID NO: 209)

>cl|CUCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_347

10

20

30

40

【表 4 - 8】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKRLIYRASTLASG
VPSRFGSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTKVEIK (SEQ
ID NO: 210)

>cl|DUCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_339

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGV
PSRFGSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTKVEIK (SEQ
ID NO: 211)

>cl|FUCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_168

DIVMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFGSGSGTEFTLTISGLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTKLEIK (SEQ
ID NO: 212)

>cl|GUCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_54

AYGMTQSPDSLAVSLGERASINCQASQSISTALAWYQQKPGQPPKLLIYRASTLASG
VPDRFGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTKVEIK
(SEQ ID NO: 213)

>cl|HUCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_21

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKVLIIYRASTLASG
VPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGPGTKVEVR (SEQ
ID NO: 214)

>cl|KUCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_788

AYELTQTPLSSPVTLGQPASISCQASQSISTALAWLQQRPGQPPRLLIYRASTLASGV
PDRFGSGAGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCQQGWSTVNVDNVFGQGKVEIK (SEQ
ID NO: 215)

>cl|LUCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_675

AYDMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFGSGSGTEFTLTITSLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGPGTKLEIK (SEQ
ID NO: 216)

>cl|MUCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_762

AYELTQSPDSLAVSLGERATINCQASQSISTALAWYQQKPGQPPKLLIYRASTLASG
VPDRFGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTKVEIK
(SEQ ID NO: 217)

>cl|NUCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_818

AYDMTQTPSSVSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLAS
GVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGQGKVEIK
(SEQ ID NO: 218)

>cl|PUCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_173

AIQMTQSPFSLASVGDRVTITCQASQSISTALAWFQQKPGKAPKSLIYRASTLASG
VSSKFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGQGTRLVVR
(SEQ ID NO: 219)

>cl|QUCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_65

DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFGSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCQQGWSTVNVDNVFGQGKVEIK (SEQ
ID NO: 220)

>cl|RUCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_224

AYDMTQTPASVSLSPGERATLSCQASQSISTALAWYQQKPGQAPRLLIYRASTLAS
GIPDRFRGSGSATDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTEVVVR
(SEQ ID NO: 221)

>cl|SUCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_230

10

20

30

40

【表 4 - 9】

AYDMTQTPASVSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKVLIIYRASTLAS
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISTLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGQGTKLEIK
(SEQ ID NO: 222)

>cl|TUCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_880

AYDMTQSPSSLSASVGDRVNITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLAS
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGPGTKVDIK
(SEQ ID NO: 223)

>cl|VUCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_672

AYDMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGQGTKLEIK (SEQ
ID NO: 224)

>cl|WUCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_299

DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTKVEIK (SEQ
ID NO: 225)

>cl|XUCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_267

AYDMTQSPSTLAASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLAS
GVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCQQGWSTVNVDNVFGQGTKVEVK
(SEQ ID NO: 226)

>cl|YUCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_23

AYELTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGPGTKVDIK (SEQ
ID NO: 227)

>cl|ZUCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_657

AYDMTQTPASVEVSVGDRVSITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLAS
GVPSRFSGSGSGTDFTLTITSLQPVD FATYYCQQGWSTVNVDNVFGPGTTVDAK
(SEQ ID NO: 228)

>cl|BADBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_879

AYDMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
VPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQQGWSTVNVDNVFGGGTKVEIK (SEQ
ID NO: 229)

【 0 3 2 5 】

表 5. 8 - 4 V H ヒト化配列 — — 90%でクラスター化した生殖細胞系列データ
ベース (2 個の配列)

【表 5】

>cl|CABBABABA|15|117>8_4_HC_humanized_356>8_4_HC_humanized_340

>8_4_HC_humanized_335>8_4_HC_humanized_303>8_4_HC_humanized_287

VQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDI
YCATWAKGRFTISRDNSSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGDGSGWGDFNFWGPG
TLVTVSS (SEQ ID NO: 230)

>cl|LABBABABA|85|117>8_4_HC_humanized_2049>8_4_HC_humanized_2033

>8_4_HC_humanized_1360>8_4_HC_humanized_1344>8_4_HC_humanized_777

VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIY
CATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGDGSGWGDFNFWGPGT
LVTVSS (SEQ ID NO: 231)

【 0 3 2 6 】

表 6. 8 - 4 V L ヒト化配列 — — 90%でクラスター化した生殖細胞系列データ
ベース (5 個の配列)

10

20

30

40

50

【表 6】

>cl|CACBABABA|76|110>8_4_LC_humanized_356>8_4_LC_humanized_340
 >8_4_LC_humanized_335>8_4_LC_humanized_303>8_4_LC_humanized_287
 AYDMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
 VPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTEVVVR
 (SEQ ID NO: 232)

>cl|LACBABABA|2|110>8_4_LC_humanized_2049>8_4_LC_humanized_2033
 AYDMTQSPDSLAVSLGERATINCQASQSISTALAWYQQKPGQPPKLLIYRASTLASG
 VPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTEVVVR
 (SEQ ID NO: 233)

10

>cl|NACBABABA|2|110>8_4_LC_humanized_1360>8_4_LC_humanized_1344
 AYDMTQTPLSLSVTPGQPASISCQASQSISTALAWYLQKPGQPPQLLIYRASTLASG
 VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTEVVVR
 (SEQ ID NO: 234)

>cl|CECBABABA|5|110>8_4_LC_humanized_2207>8_4_LC_humanized_2206
 >8_4_LC_humanized_2197>8_4_LC_humanized_2208>8_4_LC_humanized_2192
 AYDMTQSPAFLSVTPGEKVTITCQASQSISTALAWYQQKPDQAPKLLIKRASTLASG
 VPSRFSGSGSGTDFTFTISLAEADAATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTEVVVR
 (SEQ ID NO: 235)

>cl|DICBABABA|15|110>8_4_LC_humanized_2263>8_4_LC_humanized_2262
 >8_4_LC_humanized_2258>8_4_LC_humanized_2257>8_4_LC_humanized_2256
 AYDMTQSPASLAVSPGQRATITCQASQSISTALAWYQQKPGQPPKLLIYRASTLASG
 VPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTEVVVR
 (SEQ ID NO: 236)

20

【0327】

表 7. 8-4 VH ヒト化配列 — 95% でクラスター化した生殖細胞系列データ
 ベース (7 個の配列)

【表 7】

>cl|CABBABABA|2|117>8_4_HC_humanized_356>8_4_HC_humanized_303
 VQLVESRGVLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIY
 CATWAKGRFTISRDNSTLHLQMNSLRAEDTAVYYCKKDGSGWGDFNFWGPGT
 LVTVSS (SEQ ID NO: 237)

>cl|DABBABABA|17|117>8_4_HC_humanized_340>8_4_HC_humanized_335
 >8_4_HC_humanized_287>8_4_HC_humanized_282>8_4_HC_humanized_2207
 VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIY
 CATWAKGRFTISRDNASLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGDGSGWGDFNFWGPGT
 LVTVSS (SEQ ID NO: 238)

>cl|LABBABABA|37|117>8_4_HC_humanized_2049>8_4_HC_humanized_2033
 >8_4_HC_humanized_1360>8_4_HC_humanized_1344>8_4_HC_humanized_777
 VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVGDIIDGRGDI
 YCATWAKGRFTISRKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTRDGDGSGWGDFNFWGPG
 TLVTVSS (SEQ ID NO: 239)

>cl|DEBBABABA|22|117>8_4_HC_humanized_2206>8_4_HC_humanized_988
 >8_4_HC_humanized_987>8_4_HC_humanized_935>8_4_HC_humanized_934
 VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIY
 CATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGDGSGWGDFNFWGPGT
 LVTVSS (SEQ ID NO: 240)

>cl|FEBBABABA|16|117>8_4_HC_humanized_2197>8_4_HC_humanized_978
 >8_4_HC_humanized_925>8_4_HC_humanized_660>8_4_HC_humanized_395
 VQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIY
 CATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDGDGSGWGDFNFWGPGT
 LVTVSS (SEQ ID NO: 241)

>cl|HIBBABABA|3|117>8_4_HC_humanized_2257>8_4_HC_humanized_349
 >8_4_HC_humanized_296
 VQLVESGGGLVQPGRSRLSCTASGFTISNLAIIWFRQAPGKGLEWVGDIIDGRGDIY
 CATWAKGRFTISRKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRDGDGSGWGDFNFWGPGTL
 VTVSS (SEQ ID NO: 242)

>cl|LIBBABABA|3|117>8_4_HC_humanized_2254>8_4_HC_humanized_346
 >8_4_HC_humanized_293
 VQLVESGGVVVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDI
 YCATWAKGRFTISRDNSSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKDGDGSGWGDFNFWGPG
 TLVTVSS (SEQ ID NO: 243)

10

20

30

【0328】

表 8. 8-4 VL ヒト化配列 — 95% でクラスター化した生殖細胞系列データ
 ベース (12 個の配列)

【表 8 - 1】

>cl|CACBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_356
 AYDMTQSPSSVSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLAS
 GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTEVVVR
 (SEQ ID NO: 244)

>cl|LACBABABA|2|110>8_4_LC_humanized_2049>8_4_LC_humanized_2033
 AYDMTQSPDSLAVSLGERATINCQASQSISTALAWYQQKPGQPPKLLIYRASTLASG
 VPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTEVVVR
 (SEQ ID NO: 245)

>cl|NACBABABA|2|110>8_4_LC_humanized_1360>8_4_LC_humanized_1344
 AYDMTQTPLSLSVTPGQPASISCQASQSISTALAWYLQKPGQPPQLLIYRASTLASG
 VPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTEVVVR
 (SEQ ID NO: 246)

>cl|QACBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_777
 AYDMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
 VPSRFSGSGSGTDFTFTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTEVVVR (SEQ
 ID NO: 247)

>cl|VACBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_565
 AYDMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKRLIYRASTLASG
 VPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTEVVVR
 (SEQ ID NO: 248)

>cl|XACBABABA|2|110>8_4_LC_humanized_247>8_4_LC_humanized_231
 AYDMTQSPSFLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
 VPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTEVVVR
 (SEQ ID NO: 249)

>cl|ZACBABABA|2|110>8_4_LC_humanized_141>8_4_LC_humanized_125
 AYDMTQSPSSFSASTGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
 VPSRFSGSGSGTDFTLTISCLQSEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTEVVVR
 (SEQ ID NO: 250)

10

20

【表 8 - 2】

>cl|CECBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_2207
 AYDMTQSPAFLSVTPGEKVTITCQASQSISTALAWYQQKPDQAPKLLIKRASTLASG
 VPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTEVVVR
 (SEQ ID NO: 251)

>cl|GECBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_988
 AYDMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
 VPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTEVVVR
 (SEQ ID NO: 252)

>cl|PECBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_670
 AYDMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKVPKLLIYRASTLASG
 VPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTEVVVR
 (SEQ ID NO: 253)

>cl|ZECBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_34
 AYDMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASG
 VPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCQQGWSTVNVDNVFGGGTEVVVR
 (SEQ ID NO: 254)

>cl|DICBABABA|15|110>8_4_LC_humanized_2263>8_4_LC_humanized_2262
 >8_4_LC_humanized_2258>8_4_LC_humanized_2257>8_4_LC_humanized_2256
 AYDMTQSPASLAVSPGQRATITCQASQSISTALAWYQQKPGQPPKLLIYRASTLASG
 VPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYCQQGWSTVNVDNVFGGGTEVVVR
 (SEQ ID NO: 255)

10

20

【0329】

表 9. 16-6 VH ヒト化配列 — 90% でクラスター化した IMG T - L i g
 M D B (Abyss) (41 個の配列)

【表 9 - 1】

>cl|CABBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_586
 VQLQESGGGVVQPGTSLRLSCVVS GSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWLAIIVSSGSA
 YYATWAKGRFTVSRKSTLFLKMNSLRADDTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGTL
 VTVSS (SEQ ID NO: 256)

>cl|DABBABABA|2|115>16_6_HC_humanized_411>16_6_HC_humanized_213
 LQLQESGPRLVKPSETLSLTCTVSGSDISSYHMGWIRQPPGKGLEWIGIIVSSGSAYY
 ATWAKSRLTISTSKNQFSLRLSSVTAADSAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGTLVTVS
 S (SEQ ID NO: 257)

>cl|FABBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_372
 VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEAVAIIVSSGSA
 YYATWAKGRFTISRDSSTLFLQLNSLRVEDSGIYYCAKNQYSGYGFSFWGQGTLVT
 VSS (SEQ ID NO: 258)

>cl|GABBABABA|7|115>16_6_HC_humanized_1996>16_6_HC_humanized_230
 >16_6_HC_humanized_2056>16_6_HC_humanized_672>16_6_HC_humanized_657
 QSLEESGGRLVTPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVSIIVSSGSA
 YYATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGTL
 VTVSS (SEQ ID NO: 259)

>cl|HABBABABA|2|115>16_6_HC_humanized_1907>16_6_HC_humanized_716
 QSLLESGGGWVQPGSLRLSCSASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVGIIIVSSGSA
 YYATWAKGRFTISRDNNSLYLQMNSLRPEDTALYYCAKNQYSGYGFSFWGQGV
 VTVSS (SEQ ID NO: 260)

>cl|LABBABABA|3|115>16_6_HC_humanized_1945>16_6_HC_humanized_1451
 >16_6_HC_humanized_65

30

40

【表 9 - 2】

QSLEESGGGLVKPGESLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVGIIIVSSGSA
 YYATWAKGRFTISRDDSTVYLEMNSLKTEDTAVYYCATNQYSGYGFSFWGQGT
 LVTSS (SEQ ID NO: 261)
 >cl|NABBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_1004
 QSLLESGPRLVKPSETLSLTCSVSGSDISSYHMGWVRQPPGQGLEWIGIIIVSSGSAYY
 ATWARSRVSISTSQNQVSLKLTSTVTAADTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGILVT
 SS (SEQ ID NO: 262)
 >cl|PABBABABA|13|115>16_6_HC_humanized_1971>16_6_HC_humanized_305
 >16_6_HC_humanized_1877>16_6_HC_humanized_860>16_6_HC_humanized_283
 VQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIIIVSSGSA
 YYATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKNQYSGYGFSFWGQGT
 LVTSS (SEQ ID NO: 263)
 >cl|QABBABABA|22|115>16_6_HC_humanized_802>16_6_HC_humanized_587
 >16_6_HC_humanized_1012>16_6_HC_humanized_988>16_6_HC_humanized_129
 VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVSIIVSSGSA
 YYATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGT
 LVTSS (SEQ ID NO: 264)
 >cl|RABBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_609
 VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTTSGSDISSYHMGWVRQVPKGKLEWVSIIVSSGSA
 YYATWAKGRFTISRDNSTSYLQMTSLTPEDTAVYYCAKNQYSGYGFSFWGQGT
 VSVSS (SEQ ID NO: 265)
 >cl|YABBABABA|4|115>16_6_HC_humanized_910>16_6_HC_humanized_218
 >16_6_HC_humanized_912>16_6_HC_humanized_917
 VQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGSDISSYHMGWIRQPPGKGLEWIGIIIVSSGSAYY
 ATWAKSRVTISTSKNQSLKLTSTVTAADTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGT
 TTVTSS (SEQ ID NO: 266)
 >cl|GEBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_136
 VQLQQSGPGLVKTSETLPLTCTVSGSDISSYHMGWIRQPPGKGLEYIGIIIVSSGSAYY
 ATWAKNRVTISTSKNQFSLKLSSVTAADTALYYCARNQYSGYGFSFWGQGT
 LVTSS (SEQ ID NO: 267)
 >cl|KEBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_109
 VQLVESGPGLVKPSQTLSTCTVSGSDISSYHMGWIRQPPGKGLEYIGIIIVSSGSAYY
 ATWAKSRLTMSVDTSNYQLKLSSVTAADTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGT
 TTVTSS (SEQ ID NO: 268)
 >cl|LEBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_103
 VQLQQSGPGLVKPSGTLSTCDVSGSDISSYHMGWVRQPPGKGLEWIGIIIVSSGSAYY
 YATWAKSRVTISKSKNQFSLRLTSVTAADTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGT
 LVTSS (SEQ ID NO: 269)
 >cl|NEBBABABA|6|115>16_6_HC_humanized_902>16_6_HC_humanized_1982
 >16_6_HC_humanized_734>16_6_HC_humanized_920>16_6_HC_humanized_149
 VQLVESGPGLVKPSQTLSTCTVSGSDISSYHMGWIRQPPGKGLEWIGIIIVSSGSAYY
 ATWAKSRVTISTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGT
 LVTSS (SEQ ID NO: 270)
 >cl|PEBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_851
 VQLVQSGGGVVQPGGSLRVSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWMAIIIVSSGS
 AYYATWAKGRFTISRDNSTVSLQMSSLRAEDTAVYYCAKNQYSGYGFSFWGRGT
 LVTSS (SEQ ID NO: 271)
 >cl|SEBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_926

10

20

30

40

【表 9 - 3】

VQLVESGPGLVKPSQTLSTCTVSGSDISSYHMGWIRQHSKGTLEWIGIIVSSGSAY
 YATWAESRVTISADTSKISLKLSSVTAADTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGT TVT
 VSS (SEQ ID NO: 272)
 >cl|VEBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_904
 VQLVESGPGLVKPSQTLSTCTVSGSDISSYHMGWIRQSPGKGLEWIGIIVSSGSAY
 YATWARSRVTISADTSKVSLELSPMTAADTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGT TVT
 VSS (SEQ ID NO: 273)
 >cl|WEBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_903
 VQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGSDISSYHMGWIRQPPGTGLEWIGIIVSSGSAYY
 ATWAKSRVTISGDTSKFSLMLRSVTAADTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGT MVT
 VSS (SEQ ID NO: 274)
 >cl|YEBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_946
 VQLVESGGGLIKPGGSLRLSCEVPGSDISSYHMGWVRQGPGRGLEWVGIIVSSGSA
 YYATWARGRFTISRKSTVYLEMNALKTEDTGIYYCVTNQYSGYGFSFWGQGT MVT
 TVSS (SEQ ID NO: 275)
 >cl|ZEBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_882
 QSLEESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQPPGKGLEWVGIIVSSGSA
 YYATWAKGRFTISRKSTVYLQMNLSKTEDTAVYYCTANQYSGYGFSFWGQGM L
 VTVSS (SEQ ID NO: 276)
 >cl|CIBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_2041
 QSLVQSGTEVRKPGASVKVSCKASGSDISSYHMGWVRQAPGQGLEWMGIIVSSGS
 AYYATWAQGRVTMSDSTTVYMELSSLTSEDTAIYYCARNQYSGYGFSFWGPGTL
 VTVSS (SEQ ID NO: 277)
 >cl|KIBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_1944
 QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGSDISSYHMGWVRQPPGKGLEWIGIIVSSGSAY
 YATWAKNRVTISTSKNQFSLRLNSVTAADTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGT LVT
 VSS (SEQ ID NO: 278)
 >cl|LIBBABABA|4|115>16_6_HC_humanized_1895>16_6_HC_humanized_1992
 >16_6_HC_humanized_1995>16_6_HC_humanized_1949
 QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLVWVSIIVSSGSAY
 YATWAKGRFTISRDNATLYLQMNLSLRAEDTAVYYCARNQYSGYGFSFWGPGTL V
 TVSS (SEQ ID NO: 279)
 >cl|SIBBABABA|2|115>16_6_HC_humanized_993>16_6_HC_humanized_994
 VQLVESGGGLIQPRPLRLSCSGSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVGIIVSSGSA
 YYATWAKGRFTISRDDSVVHLQMNLSLRS EDTAVYYCTRNQYSGYGFSFWGQGT M
 VTVSS (SEQ ID NO: 280)
 >cl|TIBBABABA|2|115>16_6_HC_humanized_956>16_6_HC_humanized_965
 VQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGSDISSYHMGWIRQHPGKGLEWIGIIVSSGSAY
 YATWAESRLTISADTSNIQLRLSSVTAADTAVYFCARNQYSGYGFSFWGQGT TVTV
 SS (SEQ ID NO: 281)
 >cl|WIBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_278
 VQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCEASGSDISSYHMGWIRQAPGKGLEWVGIIVSSGSA
 YYATWAKGRFTISRDDSTLYLQVNSLKTEDSAVYYCTTNQYSGYGFSFWGQGT LV
 TVSS (SEQ ID NO: 282)
 >cl|GOBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_1894
 QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVSIIVSSGSAY
 YATWAKGRFTISRDNASLYLQMNLSLRAEDTAVYYCARNQYSGYGFSFFSDYWLVT
 VSS (SEQ ID NO: 283)
 >cl|MOBBABABA|3|115>16_6_HC_humanized_1917>16_6_HC_humanized_677
 >16_6_HC_humanized_267

10

20

30

40

【表 9 - 4】

QSLEESGGGVVQPGRSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIIVSSGSA
YYATWAKRRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGT
LVTSS (SEQ ID NO: 284)

>cl|POBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_2038

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIIVSSGSAY
YATWAKGRFTISRDNASLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNQYSGYGFSFPTSGYYY
MDVS (SEQ ID NO: 285)

>cl|QOBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_23

QSLLESGGDLVQPGGSLRLSCEASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVSIIVSSGSA
YYATWAKGRFTISRDKSTLFLQMHSRLVEDTAVYYCAKNQYSGYGFSFWGQGT
LVTSS (SEQ ID NO: 286)

>cl|VOBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_1013

VQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCEVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIIVSSGSA
YYATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLTAEDTALYFCARNQYSGYGFSFWGKGT
TVSS (SEQ ID NO: 287)

>cl|YOBABABABA|1|115>16_6_HC_humanized_113

LQLQESGPGLVKPSQTLSTLCTSVSGSDISSYHMGWVRQHPGKGLEWIGIIVSSGSAY
ATWAKSRITISTSKNQFSLKLTSTVTAADTALYYCARNQYSGYGFSFWGRGTLV
TS (SEQ ID NO: 288)

>cl|HUBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_12

VQLVQSGGGVVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIIVSSGS
AAYATWAQGRVTISRDNSTVHLQITSLKSEDVAVYYCAKNQYSGYGFSFWGQGT
LVTSS (SEQ ID NO: 289)

>cl|LUBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_273

VQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQASGKGLEWIGIIVSSGSA
YYATWAKGRFTVSRQNSVFLQMNSLETEDTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGT
LVTSS (SEQ ID NO: 290)

>cl|NUBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_879

QSLEESGGGLVQPGGSLRLSCTASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVSIIVSSGSA
YYATWAKGRFTISRDSSTLYLQMNNLRVEDTALYYCAHNQYSGYGFSFWGRGT
QVTSS (SEQ ID NO: 291)

>cl|TUBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_1934

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVSIIVSSGSAY
YATWAKGRFTISRDNASLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNQYSGYGFSFGIFYWV
TSS (SEQ ID NO: 292)

>cl|VUBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_200

VQLQESGPGLVKPSETLSLCTSVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWIGIIVSSGSAY
ATWARSRTMSMSKNHFLKLSVTAADTAVYFCARNQYSGYGFSFWGQGT
LVTSS (SEQ ID NO: 293)

>cl|WUBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_1977

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIIVSSGSAY
YATWAKGRFTISRKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNQYSGYGFSFTCPYFDY
WVSS (SEQ ID NO: 294)

>cl|XUBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_2027

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIIVSSGSAY
YATWAEGRFTISRDNSTLYLQMYSRLRTEDTAVYYCARNQYSGYGFSFYFGMGV
WVSS (SEQ ID NO: 295)

>cl|YUBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_1958

10

20

30

40

【表 9 - 5】

VHLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIIVSSGSA
YYATWAEGRFTISRDN SKLYLQMNSLRAEDSATYYCARNQYSGYGFSFFGPPYYY
YYMS (SEQ ID NO: 296)

>cl|BACBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_1905

QSLEESGGRLVTPGTPLTLCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVSIIVSSGSAY
YATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDTALYYCARNQYSGYGFSFVRGGYFYH
MDS (SEQ ID NO: 297)

【0330】

10

表 10. 16-6 VL ヒト化 配列 — 90% でクラスター化した IMG T - Li
g M DB (Abysis) (21 個の配列)

【表 10 - 1】

>cl|CACBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_586

IVLTQTPSSLSASVGDRITITCQSSH SVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLAS
GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLRPEDIATYYCLGGYDDDGETAFGGGKVEIK (SEQ
ID NO: 298)

>cl|DACBABABA|27|110>16_6_LC_humanized_411>16_6_LC_humanized_1004

>16_6_LC_humanized_587>16_6_LC_humanized_305>16_6_LC_humanized_988

IVLTQSPSSLSASVGDRVTITCQSSH SVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFGGGKVEIK
(SEQ ID NO: 299)

20

>cl|FACBABABA|15|110>16_6_LC_humanized_372>16_6_LC_humanized_1877

>16_6_LC_humanized_1012>16_6_LC_humanized_860>16_6_LC_humanized_283

IQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQSSH SVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFAATYYCLGGYDDDGETAFGGGKVEIK
(SEQ ID NO: 300)

>cl|GACBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_1996

VVLTQTPSPVSTAVGGTVTLSCQSSH SVYYGDWLAWYQQKPGQAPRLIYRASNL
ASGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCLGGYDDDGETAKGPGTEVVVK
(SEQ ID NO: 301)

30

>cl|HACBABABA|2|110>16_6_LC_humanized_1907>16_6_LC_humanized_716

LVMTQSPSSLSASEGDRVTITCQSSH SVYYGDWLAWYQQKPGRAPKLLIHRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISGLQSEDFATYYCLGGYDDDGETAFGGGTTVDVK
(SEQ ID NO: 302)

>cl|LACBABABA|2|110>16_6_LC_humanized_1945>16_6_LC_humanized_1451

VELTQPPSPVSAAPGQKVTISCQSSH SVYYGDWLAWYQQLPGTAPKLLIYRASNLA
SGIPDRFSGSGSGTSATLGITGLQTGDEADYYCLGGYDDDGETAFGGGTRLTVL
(SEQ ID NO: 303)

>cl|PACBABABA|10|110>16_6_LC_humanized_1971>16_6_LC_humanized_2041

>16_6_LC_humanized_2038>16_6_LC_humanized_2008>16_6_LC_humanized_1992

VVLTQTPSPVSTAVGGTVTITCQSSH SVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNL
ASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFGGGTEVVVK
(SEQ ID NO: 304)

40

>cl|QACBABABA|5|110>16_6_LC_humanized_802>16_6_LC_humanized_609

>16_6_LC_humanized_851>16_6_LC_humanized_908>16_6_LC_humanized_108

VVMTQSPSSLSASVGDRVTITCQSSH SVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNL
ASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFGGGKVEIK
(SEQ ID NO: 305)

>cl|CECBABABA|7|110>16_6_LC_humanized_253>16_6_LC_humanized_103

>16_6_LC_humanized_882>16_6_LC_humanized_1982>16_6_LC_humanized_734

50

【表 10 - 2】

IVLTQSPSSLSASVGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDSATYYCLGGYDDDGETAFGQGTKVEIK (SEQ
ID NO: 306)

>cl|KECBABABA|2|110>16_6_LC_humanized_109>16_6_LC_humanized_334
IQLTQSPSFVSASVGDRITITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLAS
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFGQGTKVEIK (SEQ
ID NO: 307)

>cl|RECBABABA|2|110>16_6_LC_humanized_17>16_6_LC_humanized_21
IQLTQSPSSLSAAVGDRVTIACQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFGGGTKVQMK
(SEQ ID NO: 308)

10

>cl|DICBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_202
IRMTQSPSSLSASVGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKVPKLLIYRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCLGGYDDDGETAFGPGTKVVVK
(SEQ ID NO: 309)

>cl|FICBABABA|14|110>16_6_LC_humanized_192>16_6_LC_humanized_956
>16_6_LC_humanized_230>16_6_LC_humanized_880>16_6_LC_humanized_2056
VVLTPSPSSLSASVGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFGQGTKVEIK
(SEQ ID NO: 310)

20

>cl|NICBABABA|2|110>16_6_LC_humanized_1938>16_6_LC_humanized_762
VELTQSPDSLAVSLGERATINCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGQPPKLLIYRASNLA
SGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCLGGYDDDGETAFGGGTKVEIK
(SEQ ID NO: 311)

>cl|WICBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_278
LVLTPSPSSLSASVGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWCQKPGKSPTLLIYRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTGFTLTISGLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFGGGTKVEIR
(SEQ ID NO: 312)

>cl|YICBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_169
IVLTQSPSFLSAFVGDRITITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLAS
GVPSRFSGSGSGTEFTLTISGLQPEDFASYCLGGYDDDGETAFGGGTKLEIK (SEQ
ID NO: 313)

30

>cl|GOCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_1894
VVLTPSPVSTAVGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWYRQKPGKVPKLLIYRASNL
ASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYGLGGYDDDGETAFGGGTEVVVK
(SEQ ID NO: 314)

>cl|LOCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_657
VVLTPSPVSTSVGDRVSITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPVDFATYYCLGGYDDDGETAFGPGTTVDAK
(SEQ ID NO: 315)

>cl|YOCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_113
IVLTQSPSSVSASVGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWYQLKPGKAPKLLINRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISGLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFGPGTTVDIK
(SEQ ID NO: 316)

40

>cl|MUCBABABA|3|110>16_6_LC_humanized_2032>16_6_LC_humanized_200
>16_6_LC_humanized_1905
VVLTPSPVSTAVGGTGTINCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGQPPKLLIYRASNL
ASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCLGGYDDDGETAFGGGTKVVVK
(SEQ ID NO: 317)

>cl|RUCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_1995

【表 1 0 - 3】

VVLTQTPSPVSTAVGGTVTINCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGQPXKLLIYRASNL
 ASGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCLGGYDDDGETAFGQGTEVVVK
 (SEQ ID NO: 318)

【0 3 3 1】

表 1 1. 1 6 - 6 V H ヒト化配列 — 9 5 % でクラスター化した I M G T - L i
 g M D B (Abysis) (8 1 個の配列)

【表 1 1 - 1】

>cl|CABBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_586
 VQLQESGGGVVQPGTSLRLSCVVSQSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWLAIIVSSGSA
 YYATWAKGRFTVSRKSTLFLKMNSLRADDTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGTL
 VTVSS (SEQ ID NO: 319)

10

>cl|DABBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_411
 LQLQESGPRLVKPSETLSLTCTVSGSDISSYHMGWVRQSPGKGLEWIGIIVSSGSAYY
 ATWAKSRLTMSTSKNQFSLRLSSVTAADSAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGTLVT
 VSS (SEQ ID NO: 320)

>cl|FABBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_372
 VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEAVAIIVSSGSA
 YYATWAKGRFTISRDSSTLFLQLNSLRVEDSGIYYCAKNQYSGYGFSFWGQGTLVT
 VSS (SEQ ID NO: 321)

20

>cl|GABBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_1996
 QSLEESGGRLVTPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVGIIIVSSGSA
 YYATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRVEDTARYYCARNQYSGYGFSFWGQGTL
 VTVSS (SEQ ID NO: 322)

>cl|HABBABABA|2|115>16_6_HC_humanized_1907>16_6_HC_humanized_716
 QSLES GG GWVQPG RSLRLSCSASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVGIIIVSSGSA
 YYATWAKGRFTISRDNNSLYLQMNSLRPEDTALYYCAKNQYSGYGFSFWGQGV
 L VTVSS (SEQ ID NO: 323)

>cl|LABBABABA|2|115>16_6_HC_humanized_1945>16_6_HC_humanized_1451
 QSLEESGGGLVKPGESLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVGIIIVSSGSA
 YYATWAKGRFTISRDDSTVYLEMNSLKTEDTAVYYCATNQYSGYGFSFWGQGTL
 VTVSS (SEQ ID NO: 324)

30

>cl|NABBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_1004
 QSLLESGPRLVKPSETLSLTCSVSGSDISSYHMGWVRQPPGQGLEWIGIIVSSGSAYY
 ATWARSRVSISTSQNQVSLKLTSTVTAADTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGILVT
 VSS (SEQ ID NO: 325)

>cl|PABBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_1971
 VQLVESGGGVVQPG RSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWLAIIVSSGSA
 YYATWAKGRFTISRDNSSLYLQLSSLRNEDTAVYYCAKNQYSGYGFSFWGPGTLV
 TVSS (SEQ ID NO: 326)

40

>cl|QABBABABA|2|115>16_6_HC_humanized_802>16_6_HC_humanized_988
 VQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVSIIVSSGSA
 YYATWAKGRFTISRDNASLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGTL
 VTVSS (SEQ ID NO: 327)

>cl|RABBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_609
 VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTTSGSDISSYHMGWVRQVPKGLEWVSIIVSSGSA
 YYATWAKGRFTISRDNSTSYLQMTSLTPEDTAVYYCAKNQYSGYGFSFWGQGT
 VSVSS (SEQ ID NO: 328)

>cl|SABBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_587

【表 1 1 - 2】

VQLVESGGGLVKPGGSLRLSCVVS GSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWLSIIVSSGSA
YYATWAKGRFTISRDNASLFLQMNSLRADDTALYFCARNQYSGYGFSFWGQGTLV
TVSS (SEQ ID NO: 329)

>cl|TABBABABA|6|115>16_6_HC_humanized_305>16_6_HC_humanized_283
>16_6_HC_humanized_334>16_6_HC_humanized_281>16_6_HC_humanized_339
VQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIIVSSGSA
YYATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKNQYSGYGFSFWGQGTL
VTVSS (SEQ ID NO: 330)

>cl|VABBABABA|4|115>16_6_HC_humanized_1877>16_6_HC_humanized_860
>16_6_HC_humanized_204>16_6_HC_humanized_818
VQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIIVSSGSA
YYATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGTL
VTVSS (SEQ ID NO: 331)

>cl|WABBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_1012
VQLQEWGGGVVQPGRSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIIVSSGS
A YYATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGT
L VTVSS (SEQ ID NO: 332)

>cl|YABBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_910
VQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGSDISSYHMGWIRQPPGKGLEWIGIIVSSGSAYY
ATWAQSRVLISTSKSQLSLKLTSTVTAADTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGTTVT
VSS (SEQ ID NO: 333)

>cl|CEBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_253
VQLVESGGGLVQPGRSLRLSCATSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVGIIIVSSGSA
YYATWAKGRFTISRDNASLYLQMSSLRAEDTALYYCAKNQYSGYGFSFWGQGTL
VTVSS (SEQ ID NO: 334)

>cl|DEBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_218
VQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGSDISSYHMGWIRQPPGKGLEWIGIIVSSGSAYY
ATWAKSRVTISTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGTTVT
VSS (SEQ ID NO: 335)

>cl|FEBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_213
LQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGSDISSYHMGWIRQPPGKGLEWIGIIVSSGSAYY
ATWAKSRVTISTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASNQYSGYGFSFWGQGTLVT
VSS (SEQ ID NO: 336)

>cl|GEBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_136
VQLQQSGPGLVKTSETLPLTCTVSGSDISSYHMGWIRQPPGKGLEYIGIIVSSGSAYY
ATWAKNRVTISTSKNQFSLKLSSVTAADTALYYCARNQYSGYGFSFWGQGTLVT
VSS (SEQ ID NO: 337)

>cl|HEBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_129
MQLVESGGGLVQPGRSLRLSCVTSGSDISSYHMGWVRQVPGKGLEWVGIIIVSSGSA
YYATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRPEDTAVYYCAKNQYSGYGFSFWGQGTL
VTVSS (SEQ ID NO: 338)

>cl|KEBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_109
VQLVESGPGLVKPSQTLSTCTVSGSDISSYHMGWIRQPPGKGLEYIGIIVSSGSAYY
ATWAKSRLTMSVDTSNYQLKLSSVTAADTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGTTVT
VSS (SEQ ID NO: 339)

>cl|LEBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_103
VQLQQSGPGLVKPSGTLSTCDVSGSDISSYHMGWVRQPPGKGLEWIGIIVSSGSAY
YATWAKSRVTISKSKNQFSLRLTSVTAADTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGTLVT
VSS (SEQ ID NO: 340)

>cl|MEBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_954

10

20

30

40

【表 1 1 - 3】

VQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIIVSSGSA
YYATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKNQYSGYGFSFWGQGT
TVSS (SEQ ID NO: 341)

>cl|NEBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_902

VQLVESGPGLVKPSQTLSTCTVSGSDISSYHMGWLRQPPGRGLEWIGIIVSSGSAY
YATWAKSRVTLSKNSQFSLKLSVTAADTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGT
TVSS (SEQ ID NO: 342)

>cl|PEBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_851

VQLVQSGGGVVQPGGSLRVSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWMAIIVSSGS
AYYATWAKGRFTISRDNSTVSLQMSSLRAEDTAVYYCAKNQYSGYGFSFWGRGTL
TVSS (SEQ ID NO: 343)

>cl|REBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_17

VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGRGLVWVSIIVSSGSA
YYATWAKGRFTISRDNATLYLQMNNLRAEDTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGT
TVSS (SEQ ID NO: 344)

>cl|SEBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_926

VQLVESGPGLVKPSQTLSTCTVSGSDISSYHMGWIRQHSKLTLEWIGIIVSSGSAY
YATWAESRVTISADTSKISLKLSSVTAADTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGT
TVSS (SEQ ID NO: 345)

>cl|TEBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_908

VQLVESGGGLVEPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWIRQAPGKGLEWLSIIVSSGSAY
YATWAKGRFTISRDNASLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRNQYSGYGFSFWGQGT
TVSS (SEQ ID NO: 346)

>cl|VEBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_904

VQLVESGPGLVKPSQTLSTCTCNVSGSDISSYHMGWIRQSPGKGLEWIGIIVSSGSAY
YATWARSRVTISADTSKVSLELSPMTAADTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGT
TVSS (SEQ ID NO: 347)

>cl|WEBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_903

VQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGSDISSYHMGWIRQPPGTGLEWIGIIVSSGSAY
ATWAKSRVTISGDTSKFSLMLRSVTAADTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGT
TVSS (SEQ ID NO: 348)

>cl|XEBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_108

VQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWIRQAPGKGLEWVSIIVSSGSA
YYATWAKGRFTISRDNASLFLQMNSLRAEDTAVYYCAKNQYSGYGFSFWGQGT
TVSS (SEQ ID NO: 349)

>cl|YEBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_946

VQLVESGGGLIKPGGSLRLSCEVPGSDISSYHMGWVRQGPGRGLEWVGIIIVSSGSA
YYATWARGRFTISRKSTVYLEMNALKTEDTGIYYCVTNQYSGYGFSFWGQGT
TVSS (SEQ ID NO: 350)

>cl|ZEBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_882

QSLEESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQPPGKGLEWVGIIIVSSGSA
YYATWAKGRFTISRKSTVYLQMNSLKTEDTAVYYCTANQYSGYGFSFWGQGT
TVSS (SEQ ID NO: 351)

>cl|BIBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_186

VQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLESVAIIVSSGSA
YYATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGT
TVSS (SEQ ID NO: 352)

>cl|CIBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_2041

10

20

30

40

【表 1 1 - 4】

QSLVQSGTEVRKPGASVKVSCASGSDISSYHMGWVRQAPGQGLEWMGIIVSSGS
 AYYATWAQGRVTMSDSTTTVYMESSLTSEDTAIYYCARNQYSGYGFSFWGPGTL
 VTVSS (SEQ ID NO: 353)

>cl|DIBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_202

VQLQESGEGLVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVSIIVSSGSA
 YYATWAKGRFTISRDNSTLYLQMGLSLRAEDMAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGT
 MVTVSS (SEQ ID NO: 354)

>cl|FIBBABABA|2|115 >16_6_HC_humanized_192 >16_6_HC_humanized_880

QHLEESGGGVVQGRSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIIVSSGSA
 YYATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGT
 VTVSS (SEQ ID NO: 355)

10

>cl|GIBBABABA|2|115 >16_6_HC_humanized_1982 >16_6_HC_humanized_734

QSLLESGPGLVKPSQTLSTCTVSGSDISSYHMGWVRQPPGKGLEWIGIIVSSGSAYY
 ATWAKSRVTMSTSKNHFSRLSSVTAADTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGT
 VSS (SEQ ID NO: 356)

>cl|KIBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_1944

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGSDISSYHMGWVRQPPGKGLEWIGIIVSSGSAY
 YATWAKNRVTISTSKNQFSLRLNSVTAADTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGT
 VSS (SEQ ID NO: 357)

20

>cl|LIBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_1895

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLVWVSIIVSSGSAY
 YATWAKGRFTISRDNATLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNQYSGYGFSFWGKGT
 TVSS (SEQ ID NO: 358)

>cl|MIBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_65

QSLEESGGGLVQPGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVGIIVSSGSA
 YYATWAKGRFTISRDNASLYLQMNSLRAEDTALYYCAKNQYSGYGFSFWGQGT
 VTVSS (SEQ ID NO: 359)

>cl|NIBBABABA|2|115 >16_6_HC_humanized_1938 >16_6_HC_humanized_762

VKLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIIVSSGSA
 YYATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLGAEDTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGT
 VTVSS (SEQ ID NO: 360)

30

>cl|QIBBABABA|2|115 >16_6_HC_humanized_2031 >16_6_HC_humanized_621

VQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVSIIVSSGSA
 YYATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNNLRAEDTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGT
 VTVLS (SEQ ID NO: 361)

>cl|SIBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_993

VQLVESGGGLIQPGRPLRLSCSGSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVGIIVSSGSA
 YYATWAKGRFTISRDDSVVHLQMNSLKSED
 TAVYYCTR
 NQYSGYGFSFWGQGT
 VTVSS (SEQ ID NO: 362)

>cl|TIBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_956

VQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGSDISSYHMGWVRQHPGKGLEWIGIIVSSGSAY
 YATWAESRLTISEDTSNIQLRLTSVTAADTAVYFCARNQYSGYGFSFWGQGT
 TVTVSS (SEQ ID NO: 363)

40

>cl|VIBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_920

VQLVESGPGLVKPSQTLSTCTVSGSDISSYHMGWVRQFPGKGLEWIGIIVSSGSAYY
 ATWAKSRFTISTSKNQFSLKVDSVTAADTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGT
 TVTVSS (SEQ ID NO: 364)

>cl|WIBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_278

【表 1 1 - 5】

VQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCEASGSDISSYHMGWIRQAPGKGLEWVGIIVSSGSA
YYATWAKGRFTISRDDSTLYLQVNSLKTEDSAVYYCTTNQYSGYGFSFWGQGTLV
TVSS (SEQ ID NO: 365)

>cl|YIBBABABA|2|115 >16_6_HC_humanized_169 >16_6_HC_humanized_168
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVSIIVSSGSA
YYATWAKGRFTISRDNSTLYLQMDSLRAEDTAIYYCAKNQYSGYGFSFWGQGTLV
TVSS (SEQ ID NO: 366)

>cl|ZIBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_994
VQLVESGGGLIQPGRSLRLSCSGSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVGIIVSSGSA
YYATWAKGRFTISRDDSVVYLQMNSLRSEDTAVYYCTRNQYSGYGFSFWGQGTMT
VTVSS (SEQ ID NO: 367)

10

>cl|BOBBABABA|2|115 >16_6_HC_humanized_975 >16_6_HC_humanized_978
VQLVESGGGVVVRPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVGIIVSSGSA
YYATWAKGRFTISRDNASLYLEMNSLRRAEDTALYFCARNQYSGYGFSFWGQGTMT
VTVSS (SEQ ID NO: 368)

>cl|DOBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_230
QSLEESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVSIIVSSGSA
YYATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRRAEDTAVYYCAKNQYSGYGFSFWGQGT
VTVSS (SEQ ID NO: 369)

20

>cl|GOBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_1894
QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVSIIVSSGSAY
YATWAKGRFTISRDNASLYLQMNSLRRAEDTAVYYCARNQYSGYGFSFSDYWLVT
VSS (SEQ ID NO: 370)

>cl|HOBBABABA|2|115 >16_6_HC_humanized_2056 >16_6_HC_humanized_672
QSLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVSIIVSSGSAY
YATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRRAEDTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGT
TVSS (SEQ ID NO: 371)

>cl|LOBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_657
QSLEESGGRLVTPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVSIIVSSGSA
YYATWAKGRFTISRDNSSLYLQMNSLRRTEDSALYYCALNQYSGYGFSFWGQGSLV
TVSS (SEQ ID NO: 372)

30

>cl|MOBBABABA|2|115 >16_6_HC_humanized_1917 >16_6_HC_humanized_677
QSLEESGGGVVQPGRSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIIVSSGSA
YYATWAKRRFTISRDNSTLYLQMNSLRRAEDTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGT
VTVSS (SEQ ID NO: 373)

>cl|POBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_2038
QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIIVSSGSAY
YATWAKGRFTISRDNASLYLQMNSLRRAEDTAVYYCARNQYSGYGFSFPTSGYYY
MDVS (SEQ ID NO: 374)

>cl|QOBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_23
QSLLESGGDLVQPGGSLRLSCEASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVSIIVSSGSA
YYATWAKGRFTISRDKSTLFLQMHSRVEDTAVYYCAKNQYSGYGFSFWGQGT
VTVSS (SEQ ID NO: 375)

40

>cl|ROBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_21
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEFVSIIVSSGSA
YYATWAKDRFTISRDNSTVYLQMDSLRTEDTAMYFCARNQYSGYGFSFWGQGT
VTVSS (SEQ ID NO: 376)

>cl|SOBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_469

【表 1 1 - 6】

VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIIVSSGSA
YYATWAKGRFTISRDNSTSLFLHMSLRGEDTAIYYCARNQYSGYGFSFWGQGLTV
TVSS (SEQ ID NO: 377)

>cl|TOBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_2008

QSLEESGGRLVTPGTSRLSCAVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVSIIVSSGSAY
YATWAKGRFTISRDNSTVYLQMNSLRAEDTAVFYCARNQYSGYGFSFWGQGLTV
TVSS (SEQ ID NO: 378)

>cl|VOBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_1013

VQLVQSGGGVQVQGRSLRLSCEVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIIVSSGSA
YYATWAKGRFTISRDNSTVYLQMNSLTAEDTALYFCARNQYSGYGFSFWGKGTTV
TVSS (SEQ ID NO: 379)

>cl|XOBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_149

VQLVQSGPGLVKPSRTLSTCTVSGSDISSYHMGWIRQPPGKGLEWIGIIVSSGSAY
YATWAQNRLTISTSKNQFSLKLASVTAADTAVYFCARNQYSGYGFSFWGQGLTV
VSS (SEQ ID NO: 380)

>cl|YOBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_113

LQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGSDISSYHMGWIRQHPGKGLEWIGIIVSSGSAY
ATWAKSRITISTSKNQFSLKLTSVTAADTALYYCARNQYSGYGFSFWGRGTLVTVS
S (SEQ ID NO: 381)

>cl|BUBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_965

VQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGSDISSYHMGWIRQHPGKGLEWIGIIVSSGSAY
YATWAKSRVTISADTSKISLKLSSVTAADTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGTTVT
VSS (SEQ ID NO: 382)

>cl|CUBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_912

VQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGSDISSYHMGWIRQPPGKGLEWIGIIVSSGSAY
ATWAKSRVLISTSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGTTVTV
SS (SEQ ID NO: 383)

>cl|HUBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_12

VQLVQSGGGVQVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIIVSSGS
AYYATWAQGRVTISRDNSTVHLQITSLKSEDTAVYYCAKNQYSGYGFSFWGQGLT
VTVSS (SEQ ID NO: 384)

>cl|KUBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_924

VQLVESGPGLVKPSQTLSTCTVSGSDISSYHMGWFRQPPGKGLEWIGIIVSSGSAY
YATWAKSRVTISTSKNQVSLKLSPVTGADTAVYFCARNQYSGYGFSFWGQGLTV
VSS (SEQ ID NO: 385)

>cl|LUBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_273

VQLVQSGGGGLVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQASGKGLEWIGIIVSSGSA
YYATWAKGRFTVSRQNSVFLQMNSLETEDTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGLT
VTVSS (SEQ ID NO: 386)

>cl|MUBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_2032

QSLEESGGRLVTPGGSLRLSCAGSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVSIIVSSGSA
YYATWAEGRFTISRDNATLYLQMNSLRVEDTAVYYCATNQYSGYGFSFWGQGLT
VTVSS (SEQ ID NO: 387)

>cl|NUBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_879

QSLEESGGGLVQPGGSLRLSCTASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVSIIVSSGSA
YYATWAKGRFTISRDSSTLYLQMNNLRVEDTALYYCAHNQYSGYGFSFWGRGTQ
VTVSS (SEQ ID NO: 388)

>cl|PUBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_267

10

20

30

40

【表 1 1 - 7】

QSLEQSGGGLVQPGESLRLSCAGSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIIVSSGSA
YYATWAKGRFTISRDNASLFLQMNSLRVEDTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGLT
VTVSS (SEQ ID NO: 389)

>cl|QUBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_1992

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLVWVSIIVSSGSAY
YATWAKGRFTISRDNATLYLQMNSLRVEDTAVYYCARNQYSGYGFSFWGPGTLV
TVSS (SEQ ID NO: 390)

>cl|RUBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_1995

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVSIIVSSGSAY
YATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKNQYSGYGFSFWGPGTLVT
VSS (SEQ ID NO: 391)

>cl|SUBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_917

VQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGSDISSYHMGWIRQPPGKGLEWIGIIVSSGSAY
ATWARSRITISSETSKNLSLKLTSVTAADTAVYYCARNQYSGYGFSFWGQGTTVTVS
S (SEQ ID NO: 392)

>cl|TUBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_1934

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVSIIVSSGSAY
YATWAKGRFTISRDNASLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNQYSGYGFSFGIFYWVT
VSS (SEQ ID NO: 393)

>cl|VUBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_200

VQLQESGPGLVKPSSETLSLTCVSGSDISSYHMGWIRQPAGKGLEWIGIIVSSGSAY
ATWARSRVMSMSKNHFSKLRSVTAADTAVYFCARNQYSGYGFSFWGQGTTLVT
VSS (SEQ ID NO: 394)

>cl|WUBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_1977

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIIVSSGSAY
YATWAKGRFTISRKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNQYSGYGFSFTCPYFDYW
VSS (SEQ ID NO: 395)

>cl|XUBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_2027

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIIVSSGSAY
YATWAEGRFTISRDNSTLYLQMYSRLRTEDTAVYYCARNQYSGYGFSFYFYGMGV
WVSS (SEQ ID NO: 396)

>cl|YUBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_1958

VHLVESGGGVVQPGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIIVSSGSA
YYATWAEGRFTISRDNKLYLQMNSLRAEDSATYYCARNQYSGYGFSFFGPPYYY
YYMS (SEQ ID NO: 397)

>cl|ZUBBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_1949

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVSIIVSSGSAY
YATWAKGRFTISRDNSTLYLQMSSLRAEDTAVYYCVKNQYSGYGFSFWGPGTLVT
VSS (SEQ ID NO: 398)

>cl|BACBABABA|1|115 >16_6_HC_humanized_1905

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVSIIVSSGSAY
YATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDTALYYCARNQYSGYGFSFVRGGYFYH
MDS (SEQ ID NO: 399)

10

20

30

40

【0 3 3 2】

表 1 2 . 1 6 - 6 V L ヒト化配列 — — 9 5 % でクラスター化した I M G T - L i
g M D B (Abyasis) (6 4 個の配列)

【表 1 2 - 1】

>cl|CACBABABA|1|110 >16_6_LC_humanized_586

IVLTQTPSSLSASVGDRITITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLAS
GVPSRFSGSRSGTDFTFITISLRPEDATYYCLGGYDDDGETAFGGGTKVEIK (SEQ
ID NO: 400)

>cl|DACBABABA|1|110 >16_6_LC_humanized_411

IVLTQSPSSLSASVGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPNLLIYRASNLA
SGVPSRFSGSGSATDFTLTISLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFGGGTRVEIK
(SEQ ID NO: 401)

>cl|FACBABABA|1|110 >16_6_LC_humanized_372

IQLTQSPSTLSASVGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKAGKAPTLLIYRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCLGGYDDDGETAFGGQGTKVDIK
(SEQ ID NO: 402)

>cl|GACBABABA|1|110 >16_6_LC_humanized_1996

VVLTQTPSPVSTAVGGTVTLSCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGQAPRLLIYRASNL
ASGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCLGGYDDDGETAKGPGTEVVVK
(SEQ ID NO: 403)

>cl|HACBABABA|2|110 >16_6_LC_humanized_1907 >16_6_LC_humanized_716

LVMTQSPSSLSASEGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGRAPKLLIHRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISGLQSEDFATYYCLGGYDDDGETAFGGGTTVDVK
(SEQ ID NO: 404)

>cl|LACBABABA|2|110 >16_6_LC_humanized_1945 >16_6_LC_humanized_1451

VELTQPPSPVSAAPGQKVTISCQSSHSVYYGDWLAWYQQKLPGTAPKLLIYRASNLA
SGIPDRFSGSGSGTSATLGITGLQTGDEADYYCLGGYDDDGETAFGGGTRLTVL
(SEQ ID NO: 405)

>cl|NACBABABA|2|110 >16_6_LC_humanized_1004 >16_6_LC_humanized_283

IQLTQSPSSVSASVGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTDFALTISLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFGGQGTRLEIK
(SEQ ID NO: 406)

>cl|PACBABABA|1|110 >16_6_LC_humanized_1971

VVLTQTPSPVSTAVGGTVTITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKSGKAPKLLIYRASNL
ASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFGGGTEVVVK
(SEQ ID NO: 407)

>cl|QACBABABA|1|110 >16_6_LC_humanized_802

IRMTQSPSSFSASTGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQSEDFATYYCLGGYDDDGETAFGGGTKVEIK
(SEQ ID NO: 408)

>cl|RACBABABA|1|110 >16_6_LC_humanized_609

IRLTQSPSFLSASVGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISTLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFGGQGTKLEIK
(SEQ ID NO: 409)

>cl|SACBABABA|1|110 >16_6_LC_humanized_587

VVMTQSPSSLSASVGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWFQQKPGKAPNLLIYRASNL
ASGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFGGQGTKVEIK
(SEQ ID NO: 410)

>cl|TACBABABA|1|110 >16_6_LC_humanized_305

IQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWFQQKPGKAPKSLIYRASNLAS
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDSATYYCLGGYDDDGETAFGGGTKVEIK (SEQ
ID NO: 411)

>cl|VACBABABA|12|110 >16_6_LC_humanized_1877 >16_6_LC_humanized_860

>16_6_LC_humanized_213 >16_6_LC_humanized_902 >16_6_LC_humanized_334

10

20

30

40

【表 1 2 - 2】

IQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLA
 SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFGGGKVEIK
 (SEQ ID NO: 412)
 >cl|WACBABABA|2|110>16_6_LC_humanized_1012>16_6_LC_humanized_65
 IQLTQSPSTLSASVGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLA
 SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCLGGYDDDGETAFGQGTKLEIK (SEQ
 ID NO: 413)
 >cl|XACBABABA|6|110>16_6_LC_humanized_988>16_6_LC_humanized_910
 >16_6_LC_humanized_956>16_6_LC_humanized_2056>16_6_LC_humanized_672
 IVLTQSPSSLSASVGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLA
 SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFGQGTRLEIK (SEQ
 ID NO: 414)
 >cl|CECBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_253
 IVLTQSPSAMSASVGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWFQQKPGKAPKLLIYRASNLA
 SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDSATYYCLGGYDDDGETAFGQGTKVDIK
 (SEQ ID NO: 415)
 >cl|DECBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_218
 IVMTQSPSSLSASVGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKVPKLLIYRASNLA
 SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGGYDDDGETAFGPGTKVEIK
 (SEQ ID NO: 416)
 >cl|GECBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_136
 VVMTQSPSTLSASVGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKVLIIYRASNL
 ASGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFASYCLGGYDDDGETAFGPGTKVDIK
 (SEQ ID NO: 417)
 >cl|HECBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_129
 IVMTQSPSSLSASVGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWYQHKPGKAPRLIIYRASNLA
 SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPDDFATYYCLGGYDDDGETAFGQGTKVEVK
 (SEQ ID NO: 418)
 >cl|KECBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_109
 IQLTQSPSSVSASVGDITITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLAS
 GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFGQGTKVEIK (SEQ
 ID NO: 419)
 >cl|LECBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_103
 IVLTQSPSTLSASVGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGQAPKLLIYRASNLA
 SGVPSRFSGSGSGTEFTLSINSLQPDDSATYFCLGGYDDDGETAFGQGTKVEIK
 (SEQ ID NO: 420)
 >cl|MECBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_954
 IVLTQSPSTLSASVGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLA
 SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCLGGYDDDGETAFGQGTKAEIK
 (SEQ ID NO: 421)
 >cl|PECBABABA|3|110>16_6_LC_humanized_851>16_6_LC_humanized_908
 >16_6_LC_humanized_912
 VVMTQSPSSLSASVGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNL
 ASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFGGGKVEIK
 (SEQ ID NO: 422)
 >cl|RECBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_17
 IQLTQSPSSLSAAVGDRVTIACQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLA
 SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPGDFATYYCLGGYDDDGETAFGGGKVKQMK
 (SEQ ID NO: 423)
 >cl|XECBABABA|2|110>16_6_LC_humanized_108>16_6_LC_humanized_946

10

20

30

40

【表 1 2 - 3】

IVLTQSPSSVSASVGDRVITITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFGGGKTKVEIK
(SEQ ID NO: 424)

>cl|ZECBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_882

VVLTQSPSSLSASVGDRVITITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDSATYYCLGGYDDDGETAFGQGTKLEIK (SEQ
ID NO: 425)

>cl|BICBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_186

IQLTQSPSTLSASVGDRVITITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDFFATYYCLGGYDDDGETAFGQGTKVVK
(SEQ ID NO: 426)

>cl|CICBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_2041

VVLTQTPSPVSTAVGGTVTITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNL
ASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISCLQSEDFATYYCLGGYDDDGETAFGGGTEVVVK
(SEQ ID NO: 427)

>cl|DICBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_202

IRMTQSPSSLSASVGDRVITITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKVPKLLIYRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGGYDDDGETAFGPGTKVVK
(SEQ ID NO: 428)

>cl|FICBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_192

VVMTQSPSSLSASVGDRVITITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNL
ASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDFTTYCLGGYDDDGETAFGQGTKVEFK
(SEQ ID NO: 429)

>cl|GICBABABA|2|110>16_6_LC_humanized_1982>16_6_LC_humanized_734

VELTQSPSSVSASVGDRVITITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTDFSLTISSLQPEDSATYYCLGGYDDDGETAFGQGTKVEIK
(SEQ ID NO: 430)

>cl|KICBABABA|2|110>16_6_LC_humanized_1944>16_6_LC_humanized_1895

IELTQSPSTLSASVGDRVIISCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLAS
GVPSRFSGSGSGTEFSLTINSLQPDFFATYYCLGGYDDDGETAFGPGTKVDIK (SEQ
ID NO: 431)

>cl|NICBABABA|2|110>16_6_LC_humanized_1938>16_6_LC_humanized_762

VELTQSPDSLAVSLGERATINCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGQPPKLLIYRASNLA
SGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCLGGYDDDGETAFGGGKTKVEIK
(SEQ ID NO: 432)

>cl|QICBABABA|2|110>16_6_LC_humanized_2031>16_6_LC_humanized_621

VELTQSPSSLSASVGDRVITITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFGQGTKVEIK
(SEQ ID NO: 433)

>cl|SICBABABA|4|110>16_6_LC_humanized_993>16_6_LC_humanized_880

>16_6_LC_humanized_23>16_6_LC_humanized_917

VVLTQSPSSLSASVGDRVITITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFGPGTKVDIK
(SEQ ID NO: 434)

>cl|VICBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_920

IVMTQSPSSLSASVGDRVITITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDATYYCLGGYDDDGETAFGQGTKVEIK (SEQ
ID NO: 435)

>cl|WICBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_278

10

20

30

40

【表 1 2 - 4】

LVLTQSPSSLSASVGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWCQQKPGKSPTLLIYRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTGFTLTISGLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFGGGKVEIR
(SEQ ID NO: 436)

>cl|YICBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_169

IVLTQSPSFLSAFVGDRITITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLAS
GVPSRFSGSGSGTEFTLTISGLQPEDFASYCLGGYDDDGETAFGGGKLEIK (SEQ
ID NO: 437)

>cl|ZICBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_994

IVLTQSPSSLSASVGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKVPKLLIYRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCLGGYDDDGETAFGQGTKVEIK
(SEQ ID NO: 438)

>cl|BOCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_975

IVLTQSPSTQSASVGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDDFATYYCLGGYDDDGETAFGQGTKLEIK (SEQ
ID NO: 439)

>cl|DOCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_230

VVLTQTPSPVSASVGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKVLIIYRASNL
ASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISTLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFGQGTKLEIK
(SEQ ID NO: 440)

>cl|GOCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_1894

VVLTQTPSPVSTAVGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWYRQKPGKVPKLLIYRASNL
ASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYGLGGYDDDGETAFGGGTEVVVK
(SEQ ID NO: 441)

>cl|LOCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_657

VVLTQTPSPVSTSVGDRVSITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTITSLQPVDFATYYCLGGYDDDGETAFGPGTTVDAK
(SEQ ID NO: 442)

>cl|MOCBABABA|2|110>16_6_LC_humanized_1917>16_6_LC_humanized_677

VVLTQSPSFLSASVGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQ
PEDFATYYCLGGYDDDGETAFGQGTRLEIK (SEQ ID NO: 443)

>cl|POCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_2038

VVLTQTPSPVSTAVGGRVTITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNL
ASGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQDKPFATYYCLGGYDDDGETAFGGGTEVVVK
(SEQ ID NO: 444)

>cl|ROCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_21

IQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKVLIIYRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFGPGTKVEVK
(SEQ ID NO: 445)

>cl|SOCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_469

IVLTQSPSLLSASIGDRVTIPCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLAS
GVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFGGGKVDIK (SEQ
ID NO: 446)

>cl|TOCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_2008

VVLTQTPSPVSTAVGGRVTITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNL
ASGVPSRFSGSGSGTDFTLTIGSLQPEDFAAYFCLGGYDDDGETAFGGGKVEIK
(SEQ ID NO: 447)

>cl|WOCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_168

10

20

30

40

【表 1 2 - 5】

IVMTQSPSTLSASVGDRVITITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISGLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFGGGGTKLEIK
(SEQ ID NO: 448)

>cl|XOCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_149

IVLTQSPSSLSASVGDRVITITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKRLIYRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISGLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFGQGTKVEIK (SEQ
ID NO: 449)

>cl|YOCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_113

IVLTQSPSSVSASVGDRVITITCQSSHSVYYGDWLAWYQLKPGKAPKLLINRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISGLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFGPGTTVDIK
(SEQ ID NO: 450)

>cl|ZOCBABABA|4|110>16_6_LC_humanized_978>16_6_LC_humanized_965

>16_6_LC_humanized_924>16_6_LC_humanized_879

IVLTQSPSSLSASVGDRVITITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFGGGGTKVEIK
(SEQ ID NO: 451)

>cl|GUCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_818

VVLTQTPSSVSASVGDRVITITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNL
ASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFGQGTKVEIK
(SEQ ID NO: 452)

>cl|HUCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_12

VVMTQSPSTVSASVGDRVITITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGQPPKLLIYRASNL
ASGVPRFSGSGSGTDFTLTISSLQADDFATYYCLGGYDDDGETAFGQGTKVEIK
(SEQ ID NO: 453)

>cl|LUCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_273

LVMTQSPSSLSASVGDRVITITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISGLQSEDFATYYCLGGYDDDGETAFGQGTKVEIK
(SEQ ID NO: 454)

>cl|MUCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_2032

VVLTQTPSPVSTAVGGTGPINCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGQPPKLLIYRASNLA
SGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCLGGYDDDGETAFGGGGTKLEIK
(SEQ ID NO: 455)

>cl|PUCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_267

VVLTQSPSTLAASVGDRVITITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNL
ASGVPSRFSGSGSGTEFTLTISGLQPDFFATYYCLGGYDDDGETAFGQGTKVEIK
(SEQ ID NO: 456)

>cl|QUCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_1992

VVLTQTPSPVSTAVGDRVITITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNL
ASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFGGGTEVVVK
(SEQ ID NO: 457)

>cl|RUCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_1995

VVLTQTPSPVSTAVGGTVTINCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGQPXKLLIYRASNL
ASGVPRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCLGGYDDDGETAFGQGTTEVVVK
(SEQ ID NO: 458)

>cl|TUCBABABA|2|110>16_6_LC_humanized_1934>16_6_LC_humanized_1977

VVLTQTPSPVSTAVGGTVTITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNL
ASGVPSRFSGSGSGTDFTFITISGLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFGGGTEVVVK
(SEQ ID NO: 459)

>cl|VUCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_200

10

20

30

40

【表 1 2 - 6】

VVLTQTPSPVSTAVGERATINCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGQPPLLIYRASNL
SGVPDRFSGTSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCLGGYDDDGETAFGGGTEVVVK
(SEQ ID NO: 460)

>cl|XUCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_2027

VVLTQTPSPVSTAVGGTVTITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKRLIYRASNL
ASGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYXLGGYDDDGETAFGGGTEVVVK
(SEQ ID NO: 461)

>cl|YUCBABABA|2|110>16_6_LC_humanized_1958>16_6_LC_humanized_1949

VVLTQTPSPVSTAVGGTVTIPCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNL
ASGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCLGGYDDDGETAFGGGTEVVVK
(SEQ ID NO: 462)

>cl|BADBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_1905

VVLTQTPSPVSTAVGGTVTINCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGQPPLLIYRASNL
ASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCLGGYDDDGETAFGGGTEVVVK
(SEQ ID NO: 463)

【0 3 3 3】

表 1 3. 1 6 - 6 V H ヒト化配列 — 9 0 % でクラスター化した生殖細胞系列データベース (3 個の配列)

【表 1 3】

>cl|CABBABABA|43|115>16_6_HC_humanized_775>16_6_HC_humanized_722
>16_6_HC_humanized_563>16_6_HC_humanized_139>16_6_HC_humanized_988
VQLVESGGGLVQPGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVSIIVSSGSA
YYATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNQYSGYGFSFWGPGLT
VTVSS (SEQ ID NO: 464)

>cl|DABBABABA|39|115>16_6_HC_humanized_724>16_6_HC_humanized_565

>16_6_HC_humanized_141>16_6_HC_humanized_990>16_6_HC_humanized_985
VQLVESGGGLVQPGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVGIIIVSSGSA
YYATWAKGRFTISRKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTRQYSGYGFSFWGPGLTV
TVSS (SEQ ID NO: 465)

>cl|REBBABABA|18|115>16_6_HC_humanized_365>16_6_HC_humanized_364

>16_6_HC_humanized_363>16_6_HC_humanized_360>16_6_HC_humanized_359
VQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGSDISSYHMGWIRQPPGKGLEWIGIIVSSGSAYY
ATWAKSRVTISTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARNQYSGYGFSFWGPGLTVTV
SS (SEQ ID NO: 466)

【0 3 3 4】

表 1 4. 1 6 - 6 V L ヒト化配列 — 9 0 % でクラスター化した生殖細胞系列データベース (1 個の配列)

【表 1 4】

>cl|CACBABABA|100|110>16_6_LC_humanized_775>16_6_LC_humanized_724
>16_6_LC_humanized_722>16_6_LC_humanized_565>16_6_LC_humanized_563
VVLTQSPSSLSASVGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNL
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFGGGTEVVVK
(SEQ ID NO: 467)

【0 3 3 5】

表 1 5. 1 6 - 6 V H ヒト化配列 — 9 5 % でクラスター化した生殖細胞系列データベース (1 0 個の配列)

【表 1 5】

>cl|CABBABABA|13|115>16_6_HC_humanized_775>16_6_HC_humanized_722
 >16_6_HC_humanized_563>16_6_HC_humanized_139>16_6_HC_humanized_987
 VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEYYVSIIVSSGSA
 YYATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDMAVYYCARNQYSGYGFSFWGPGTL
 VTVSS (SEQ ID NO: 468)

>cl|DABBABABA|12|115>16_6_HC_humanized_724>16_6_HC_humanized_565
 >16_6_HC_humanized_141>16_6_HC_humanized_989>16_6_HC_humanized_936
 VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVGIIIVSSGSA
 YYATWAKGRFTISRKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARNQYSGYGFSFWGPGTLV
 TVSS (SEQ ID NO: 469)

10

>cl|MABBABABA|9|115>16_6_HC_humanized_990>16_6_HC_humanized_937
 >16_6_HC_humanized_672>16_6_HC_humanized_407>16_6_HC_humanized_248
 VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQASGKGLEWVGIIIVSSGSA
 YYATWAKGRFTISRKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRNNQYSGYGFSFWGPGTLV
 TVSS (SEQ ID NO: 470)

>cl|NABBABABA|27|115>16_6_HC_humanized_988>16_6_HC_humanized_935
 >16_6_HC_humanized_670>16_6_HC_humanized_405>16_6_HC_humanized_246
 VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVSIIVSSGSA
 YYATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNQYSGYGFSFWGPGTL
 VTVSS (SEQ ID NO: 471)

20

>cl|PABBABABA|9|115>16_6_HC_humanized_985>16_6_HC_humanized_932
 >16_6_HC_humanized_667>16_6_HC_humanized_402>16_6_HC_humanized_243
 VQLVESGGGLVQPGSLRLSCTASGSDISSYHMGWFRQAPGKGLEWVGIIIVSSGSA
 YYATWAKGRFTISRKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRNNQYSGYGFSFWGPGTLV
 TVSS (SEQ ID NO: 472)

>cl|QABBABABA|9|115>16_6_HC_humanized_973>16_6_HC_humanized_920
 >16_6_HC_humanized_655>16_6_HC_humanized_390>16_6_HC_humanized_231
 VQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVGIIIVSSGSA
 YYATWAKGRFTISRKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTTNQYSGYGFSFWGPGTLV
 TVSS (SEQ ID NO: 473)

30

>cl|REBBABABA|12|115>16_6_HC_humanized_365>16_6_HC_humanized_364
 >16_6_HC_humanized_363>16_6_HC_humanized_360>16_6_HC_humanized_312
 VQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGSDISSYHMGWIRQPPGKGLEWIGIIIVSSGSAYY
 ATWAKSRVTISTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARNQYSGYGFSFWGPGTLVTV
 SS (SEQ ID NO: 474)

>cl|WEBBABABA|3|115>16_6_HC_humanized_359>16_6_HC_humanized_306
 >16_6_HC_humanized_41
 LQLQESGSGLVKPSQTLSTCAVSGSDISSYHMGWIRQPPGKGLEWIGIIIVSSGSAYY
 ATWAKSRVTISRKSNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARNQYSGYGFSFWGPGTLVTV
 SS (SEQ ID NO: 475)

>cl|XEBBABABA|3|115>16_6_HC_humanized_357>16_6_HC_humanized_304
 >16_6_HC_humanized_39
 VQLQESGPGLVKPPGTLSLTCAVSGSDISSYHMGWVRQPPGKGLEWIGIIIVSSGSAY
 YATWAKSRVTISKSNQFSLKLSSVTAADTAVYCCARNQYSGYGFSFWGPGTLVT
 VSS (SEQ ID NO: 476)

40

>cl|CIBBABABA|3|115>16_6_HC_humanized_343>16_6_HC_humanized_290
 >16_6_HC_humanized_25

VQLVESGGGVVQPGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIIIVSSGSA
 YYATWAKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNQYSGYGFSFWGPGTL
 VTVSS (SEQ ID NO: 477)

表 16. 16-6 VL ヒト化配列 — 95% でクラスター化した生殖細胞系列データベース (7 個の配列)

【表 16】

```
>cl|CACBABABA|3|110>16_6_LC_humanized_775>16_6_LC_humanized_724
>16_6_LC_humanized_722
VVLVTQSPSSLSASVGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFGGGTEVVVK
(SEQ ID NO: 478)
>cl|GACBABABA|2|110>16_6_LC_humanized_565>16_6_LC_humanized_563
VVLVTQSPSSLSASVGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKRLIYRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFGGGTEVVVK
(SEQ ID NO: 479)
>cl|KACBABABA|2|110>16_6_LC_humanized_141>16_6_LC_humanized_139
VVLVTQSPSSFSASTGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISCLQSEDFATYYCLGGYDDDGETAFGGGTEVVVK
(SEQ ID NO: 480)
>cl|MACBABABA|62|110>16_6_LC_humanized_990>16_6_LC_humanized_988
>16_6_LC_humanized_985>16_6_LC_humanized_973>16_6_LC_humanized_937
VVLVTQSPSSVSASVGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNL
ASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFGGGTEVVVK
(SEQ ID NO: 481)
>cl|WACBABABA|6|110>16_6_LC_humanized_672>16_6_LC_humanized_670
>16_6_LC_humanized_667>16_6_LC_humanized_655>16_6_LC_humanized_671
VVLVTQSPSSLSASVGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKVPKLLIYRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCLGGYDDDGETAFGGGTEVVVK
(SEQ ID NO: 482)
>cl|GECBABABA|6|110>16_6_LC_humanized_248>16_6_LC_humanized_246
>16_6_LC_humanized_243>16_6_LC_humanized_231>16_6_LC_humanized_247
VVLVTQSPSFLSASVGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFGGGTEVVVK
(SEQ ID NO: 483)
>cl|YICBABABA|19|110>16_6_LC_humanized_47>16_6_LC_humanized_46
>16_6_LC_humanized_45>16_6_LC_humanized_42>16_6_LC_humanized_41
VVLVTQSPSTLSASVGDRVTITCQSSHSVYYGDWLAWYQQKPGKAPKLLIYRASNLA
SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCLGGYDDDGETAFGGGTEVVVK
(SEQ ID NO: 484)
```

【0337】

実施例 5：高分子及び細胞の精製のための抗リンカー抗体の使用

本明細書に開示される抗原結合分子は、配列 G S T S G S G K P G S G E G S T K G (配列番号 1) 及びその部分配列、特に G S G K P G S G E G (配列番号 2)、G K P G S G E G (配列番号 3)、S G K P G S G E (配列番号 499) 及び／又は K P G S G (配列番号 500)、これらの配列を含む分子、並びにかかる分子を提示する細胞、かかる抗原結合分子をコードするポリヌクレオチドに特異的に結合する抗体等の抗原結合分子、並びに抗原結合分子のヒト化形態である。このため、本明細書に開示される抗原結合分子 (例えば、抗体) を用いて、本明細書に開示される抗原結合分子によって認識されるエピート (例えば、G S T S G S G K P G S G E G S T K G (配列番号 1) 及びその部分配列、特に G S G K P G S G E G (配列番号 2)、G K P G S G E G (配列番号 3)、S G K P G S G E (配列番号 499) 及び／又は K P G S G (配列番号 500)) を提示する高分子等の分子、ポリマー、細胞、物質等を精製することができる。

【0338】

一実施形態では、本明細書に開示される抗原結合分子 (例えば、クローン 8 及び／又は

16、並びにそのフラグメント)をビーズに付着させるか、樹脂に付着又は会合させ、これをカラム又は他の構造内に配置することができる。次いで、GSTSGSGKPGSGEGSTKG(配列番号1)及びその部分配列、特にGSGKPGSGEGG(配列番号2)、GKPGSGEGG(配列番号3)、SGKPGSGEG(配列番号499)及び／又はKPGSG(配列番号500)の全て又はフラグメントを含む分子を含むサンプルを、抗原結合分子を付着させた又は抗原結合分子と会合させたビーズ、樹脂等と接触させることができる。これにより、抗原結合分子とGSTSGSGSGKPGSGEGSTKG(配列番号1)及びその部分配列、特にGSGKPGSGEGG(配列番号2)、GKPGSGEGG(配列番号3)、SGKPGSGEG(配列番号499)及び／又はKPGSG(配列番号500)の全て又はフラグメントを含む分子とを含む会合複合体又は結合複合体の形成が可能となる。次いで、ビーズ又は樹脂をGSTSGSGSGKPGSGEGSTKG(配列番号1)及びその部分配列、特にGSGKPGSGEGG(配列番号2)、GKPGSGEGG(配列番号3)、SGKPGSGEG(配列番号499)及び／又はKPGSG(配列番号500)の全て又はフラグメントを含む分子の安定性を維持するように選択されたpHを有するバッファー溶液(例えばPBS、HEPES、MOPS、Tris、トリシン等)等の好適な溶液で洗浄することができる。洗浄によりサンプルの不要な非結合構成成分を除去することができる。洗浄工程に続いて、GSTSGSGSGKPGSGEGSTKG(配列番号1)及びその部分配列、特にGSGKPGSGEGG(配列番号2)、GKPGSGEGG(配列番号3)、SGKPGSGEG(配列番号499)及び／又はKPGSG(配列番号500)の全て又はフラグメントを含む分子を、形成された任意の会合又は結合複合体を破壊するように選択される溶出バッファー及び条件を用いて抗原結合分子から溶出させることができる。好適な溶出バッファーの例としては、モル過剰のペプチドエピトープとのインキュベーション、0.1Mグリシン(pH2.5~3.0)、及び0.1Mクエン酸(pH3.0)、50mM~100mMトリエチルアミン又はトリエタノールアミン(pH11.5)、10mM Tris中の3.5M~4.0M塩化マグネシウム(pH7.0)、2M~6Mグアニジン、及び2M~8M尿素、又は遊離ペプチドGSTSGSGKPGSGEGSTKG及びその部分配列、特にGSGKPGSGEGG(配列番号2)、GKPGSGEGG(配列番号3)、SGKPGSGEG(配列番号499)及び／又はKPGSG(配列番号500)を含有する、限定されないが、10mM Tris、HEPES若しくは1×PBSを含むバッファー溶液(pH約7~8)が挙げられる。溶出工程中にGSTSGSGSGKPGSGEGSTKG(配列番号1)及びその部分配列、特にGSGKPGSGEGG(配列番号2)、GKPGSGEGG(配列番号3)、SGKPGSGEG(配列番号499)及び／又はKPGSG(配列番号500)の全て又はフラグメントを含む、対象の溶出した分子、細胞及び部分を収集し、続いてサンプルをSDSポリアクリルアミドゲル上に流すことによって純度を確認することができる。

10

20

30

40

50

【0339】

別の実施形態では、抗原結合分子を、エピトープを提示する任意の分子実体を含む溶液中に配置し、分子、細胞等の混合集団から精製し、300mM~500mM塩化ナトリウムで洗浄するか、又はpHを低下させ、タンパク質については1M Tris、若しくはリン酸塩緩衝液、若しくはGSTSGSGKPGSGEGSTKG及びその部分配列、特にGSGKPGSGEGG(配列番号2)、GKPGSGEGG(配列番号3)、SGKPGSGEG(配列番号499)及び／又はKPGSG(配列番号500)等の遊離ペプチドを含有するバッファーで中和することによってビーズ、樹脂又は遊離抗体から溶出させることができる。続いて、透析を用いて物質を所望のバッファー条件に戻すことができる。

【0340】

具体的な実施形態では、GSTSGSGSGKPGSGEGSTKG(配列番号1)及びその部分配列、特にGSGKPGSGEGG(配列番号2)、GKPGSGEGG(配列番号3)、SGKPGSGEG(配列番号499)及び／又はKPGSG(配列番号500)の全て又はフラグメントを含む分子を提示する細胞を、本明細書に開示される抗原結合分子と会合させた磁性ビーズ(例えば、DYNABEADS)とインキュベートすることができ

る。インキュベーションは、生理的条件下等の結合／会合複合体のどちらの形成も可能にする条件下において、この目的で選択される培地（例えば、RPMI-1640）の存在下で行うのが好ましい。

【0341】

次いで、ビーズに結合した細胞（GSTSGSGKPGSGEGSTKG（配列番号1）及びその部分配列、特にGSGKPGSGEG（配列番号2）、GKPGSGEG（配列番号3）、SGKPGSGE（配列番号499）及び／又はKPGSG（配列番号500）を含む分子を提示する）を、GSTSGSGKPGSGEGSTKG（配列番号1）及びその部分配列、特にGSGKPGSGEG（配列番号2）、GKPGSGEG（配列番号3）、SGKPGSGE（配列番号499）及び／又はKPGSG（配列番号500）を含む分子を提示しない細胞から分離する。一実施形態では、磁石の存在下において10% FBSを添加したRPMI-1640等の培地でビーズを洗浄することができる。

10

【0342】

次いで、選択された細胞、すなわちGSTSGSGKPGSGEGSTKG（配列番号1）及びその部分配列、特にGSGKPGSGEG（配列番号2）、GKPGSGEG（配列番号3）、SGKPGSGE（配列番号499）及び／又はKPGSG（配列番号500）を含む分子を提示する細胞をビーズから分離することができる。初めに、選択された細胞を培地中で成長させる。細胞を48時間成長させた後、磁性ビーズを溶液中の細胞から分離し、捨てることで、所望の分子を提示する細胞の純粋な集団を残すことができる。

20

【0343】

代替的な実施形態では、ビーズは磁性ではないが、本実施形態でも、上記の工程を行い、細胞の完全性を維持するだけでなく、ビーズに結合した細胞とビーズに結合していない細胞との分離を可能にするように適合させることができる。

【0344】

代替的な実施形態では、本明細書に開示される抗原結合分子（例えば、クローン8及び／又は16、並びにそのフラグメント）をHisタグ付き（すなわち、短いポリヒスチジン配列で標識された）とし、これにより樹脂上に固定化された Ni^{2+} 、 Co^{2+} 、 Cu^{2+} 又は Zn^{2+} 等の遷移金属イオンを含む樹脂を用いた細胞の分離を容易にすることができる。次いで、抗原結合分子をGSTSGSGKPGSGEGSTKG（配列番号1）及びその部分配列、特にGSGKPGSGEG（配列番号2）、GKPGSGEG（配列番号3）、SGKPGSGE（配列番号499）及び／又はKPGSG（配列番号500）を含む分子を提示することが知られている又は疑われる細胞と共に、細胞及び抗原結合分子を含む複合体の形成に好適な条件下でインキュベートすることができる。インキュベーションに続いて、細胞をウェルプレート、カラム又は他の構造等の固体構造内に配置され得る樹脂と接触させる。次いで、抗原結合分子-細胞複合体を、結合複合体の形成時に用いられる任意の溶液に含まれる任意のイミダゾールよりも高濃度のイミダゾールで洗浄することによって互いに分離することができる。次いで、溶出した細胞を遠沈し、RPMI又は他の好適な培地中で洗浄した後、培地に再懸濁することができる。

30

【0345】

実施例6：CAR陽性T細胞の選別

PBMCを、Ficoll-Paque密度遠心分離を用い、製造業者の取扱説明書に従って健常ドナーのleukopak（Hemacare（商標））から単離した。PBMCを、R10培地+IL-2（300IU/ml、Proleukin（商標）、Prometheus（商標）Therapeutics and Diagnostics）中のOKT3（50ng/ml、Miltenyi Biotec（商標））を用いて刺激した。刺激の2日後に、これらの活性化初代ヒトT細胞のウイルス形質導入によりCAR T細胞を生成した。形質導入は、スクリーニングに用いられるCARの起源に応じてレトロウイルス（pMSVGベクター）又はレンチウイルス（pGARベクター）のいずれかを用いて行った。CAR構築物発現及びウイルス形質導入効率の確認は、フィコエリトリン（PE）又はフルオレセインイソチオシアネート（FITC）

40

50

C) にコンジュゲートしたプロテイン L を用いて決定した。

【0346】

培養した CAR T 細胞を培養物から取り出し、PBS で洗浄し、PBS (pH 7.4)、0.2% (w/v) ウシ血清アルブミン及び 0.09% アジ化ナトリウムを含む染色バッファー中で 30 分間、PE にコンジュゲートした抗リンカー抗体と共にインキュベートした。細胞を染色バッファー中で 2 回洗浄し、再懸濁し、BD Aria セルソーターを用いて選別した。負及び正にゲーティングされた細胞を選別後に組成について分析した (図 10)。

【0347】

実施例 7：抗原結合分子を用いた CAR 陽性 T 細胞の刺激／活性化

T 細胞は多くの場合、マウス抗 CD 3 抗体であるクローン OKT 3 等の抗 CD 3 抗体を、抗 CD 28 抗体と共に用いて、それらの T 細胞受容体 (TCR) により刺激することで、第 2 のシグナル又は共刺激シグナルを生じる。CAR T 細胞は、同種抗原との相互作用時に、CD 28 等のそれらの細胞内 CD 3 ゼータ及び共刺激ドメインにより両方のシグナルを生じることができる。

【0348】

したがって、特異的抗原結合分子 (例えば、本明細書に開示されるもの：クローン 8 及び／又は 16、並びにそのフラグメント等の GSTSGSGKPGSGEGSTKG (配列番号 1) 及びその部分配列、特に SGSGKPGSGEG (配列番号 2)、GKPGSGEG (配列番号 3)、SGKPGSGE (配列番号 499) 及び／又は KPGSG (配列番号 500) を含む分子を認識する抗体等の抗原結合分子) によって認識される特異的エピトープを含む分子を提示する CAR 陽性 T 細胞を活性化する方法も提供される。この方法は、GSTSGSGKPGSGEGSTKG (配列番号 1) 及びその部分配列、特に SGSGKPGSGEG (配列番号 2)、GKPGSGEG (配列番号 3)、SGKPGSGE (配列番号 499) 及び／又は KPGSG (配列番号 500) を含むキメラ抗原受容体 (CAR) 等の活性化ドメインを含有する T 細胞上の対象のタンパク質を認識する任意の抗体に適合させることができる。活性化は、CAR の細胞外構成成分又は同様の分子を特異的に認識するプレートに結合した、ビーズに結合した、ポリマーに結合した又は他の形態の抗体を用いて達成することができる。

【0349】

本実施例では、CAR + T 細胞を本明細書で提供されるもの等の抗リンカー抗体により *in vitro* で選択的に刺激することができることが示される。比較を目的として、T 細胞を *in vitro* で活性化するために一般に用いられる OKT 3 抗体 (例えば、Lande et al., (1984) Eur. J. Immunol. 14(4):325-28 を参照されたい) を、全ての T 細胞を刺激するために使用することができる。T 細胞を成長させるためのバッグ、フラスコ、プレート若しくは他の容器を刺激に使用してもよく、又は本明細書に記載されるようにウェルプレートに刺激に使用してもよい。

【0350】

一例では、CAR-T 細胞を実施例 4 に記載のように選別し (図 10)、混合して CAR 陽性細胞のパーセンテージが一定の細胞の集団を形成した。次いで、これらの細胞を OpTmizer 培地中において 37℃ で 24 時間にわたって選別から回復させた。12 ウェル組織培養処理プレートを、1.5 µg/mL の OKT 3 又は抗リンカー抗体のいずれかと共に HBSS 中において 37℃ で 2 時間インキュベートし、HBSS で 3 回洗浄した。規定の集団の 0.5 × 10⁶ 個の T 細胞を、IL-2 を含む 2 mL の OpTmizer 培地中において抗体で予めコーティングしたプレートに添加し、細胞を 37℃ で最大 1 週間インキュベートし、様々な時点でサンプリングした。

【0351】

サンプルをフローサイトメトリーによる分析に供し、CAR 並びに CD 25、CD 69 及び 4-1BB を含む様々な活性化マーカーの存在を確認した。時間と共に、OKT 3 抗体が全ての T 細胞を刺激し、CAR 陽性細胞のパーセンテージが変化しないことが観察さ

10

20

30

40

50

れた。対照的に、抗リンカー抗体と共にインキュベートした場合、CAR陽性であるT細胞が刺激を受けて増殖し、集団に占めるパーセンテージがより大きくなった（図11）。加えて、T細胞の表面上のCD69及び4-1BBのレベルによって観察されるようにOKT3が全てのT細胞を刺激することが観察された。対照的に、抗リンカー抗体による刺激はCAR陽性細胞を選択的に刺激した（図12A及び図12B）。

【0352】

このため、GSTSGSGKPGSGEGSTKG（配列番号1）及びその部分配列、特にGSGKPGSGEG（配列番号2）、GKPGSGEG（配列番号3）、SGKPGSGE（配列番号499）及び／又はKPGSG（配列番号500）を含む分子を提示する細胞を*in vitro*で選択的に刺激することができる。

10

【0353】

実施例8：*in vivo*での抗原結合分子を用いたCAR陽性T細胞の刺激／活性化

本実施例では、CAR+T細胞を本明細書で提供される抗リンカー抗体により*in vivo*で選択的に刺激した。MM1S細胞を雌性NSGマウスに移植した。MM1S細胞を除去するために、ペプチドGSTSGSGKPGSGEGSTKG（配列番号1）を含むCAR-T細胞を6日目に注射した。13日目に、フルデオキシグルコース陽電子放出断層撮影（FDG-PET）実験を行い、ベースライン代謝を評定した。クローン8抗リンカー抗体を各マウスに注射し、FDG-PET実験を24時間後に繰り返した。図13に示されるように、抗体処理後のFDG-PETシグナルの増大は、後肢において最もよく観察され、抗リンカー注射に応答した*in vivo*でのCAR+T細胞の刺激が示された。

20

【0354】

実施例9：ダイアボディを用いた特異的ペプチドを含有する分子を発現する細胞の枯渇

本実施例では、CAR+T細胞を、クローン8及び16等の抗リンカー結合部分を含む抗リンカー／抗ヒトCD3ダイアボディにより*in vitro*で選択的に死滅させることができる。特異的エピトープGSTSGSGKPGSGEGSTKG（配列番号1）を含有するCARを形質導入したT細胞（CAR1）、エピトープを含有しないCARを形質導入したT細胞（CAR2）、又は形質導入しないT細胞（モック）を、96ウェルU底プレートにおいてT細胞サブプリメント、ペニシリン、ストレプトマイシン、グルタミン及びIL-2を含むOpTmizer培地中で成長させた。各ウェルは20000個のT細胞を含有していた。ダイアボディをCAR及びモックで形質導入したT細胞サンプルの各々に1.28pM~100nMの濃度で添加した。16時間後に、細胞をLive/Dead Violet（Molecular Probes）及び組み換えプロテインL／ストレプトアビジン-PEで染色し、ダイアボディの濃度に応じた死細胞の数及びCAR+T細胞のパーセンテージを評定した。図14Aに示されるように、膜が破裂した細胞に結合する色素の量はCAR1サンプル中で増大し、対照CARの発現又はCARの非発現は色素蛍光の顕著な増大をもたらさない（それぞれCAR2及びモックを参照されたい）。このことは、CAR2 T細胞と比較したCAR1 T細胞のパーセンテージの減少によって更に観察することができる（図14B）。CAR1細胞はおよそ40%陽性から開始するが、最高のダイアボディ濃度で全T細胞の約10%まで枯渇し、CAR2 T細胞は20%と一定のCAR+にとどまる。このため、GSTSGSGKPGSGEGSTKG（配列番号1）及びその部分配列、特にGSGKPGSGEG（配列番号2）、GKPGSGEG（配列番号3）、SGKPGSGE（配列番号499）及び／又はKPGSG（配列番号500）を含む分子を提示する細胞を、T細胞に特異的なダイアボディ及び特異的ペプチドにより*in vitro*で選択的に枯渇させることができる。

30

40

【図 1】

Figure 1A

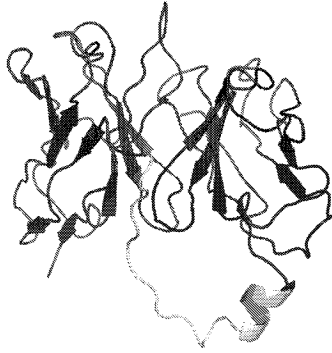
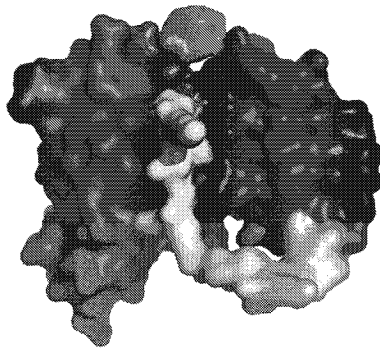


Figure 1B



【図 2】

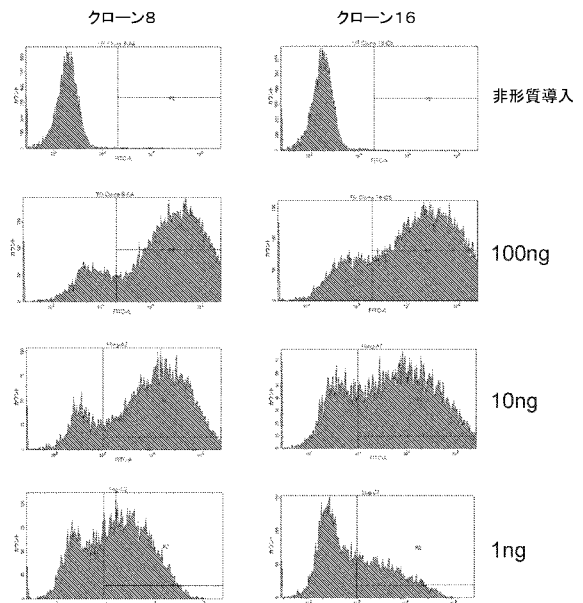


Figure 2

【図 3】

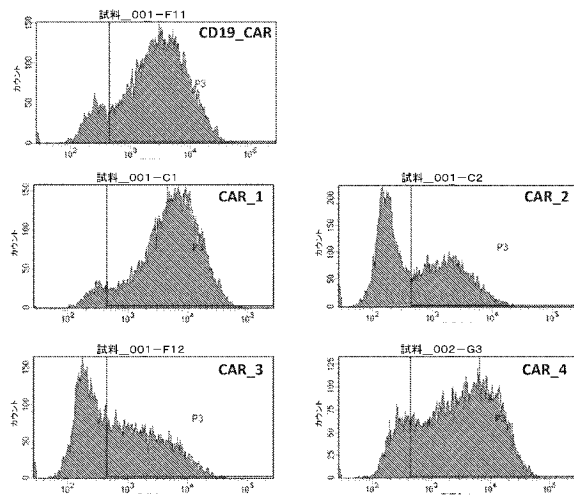


Figure 3

【図 4】

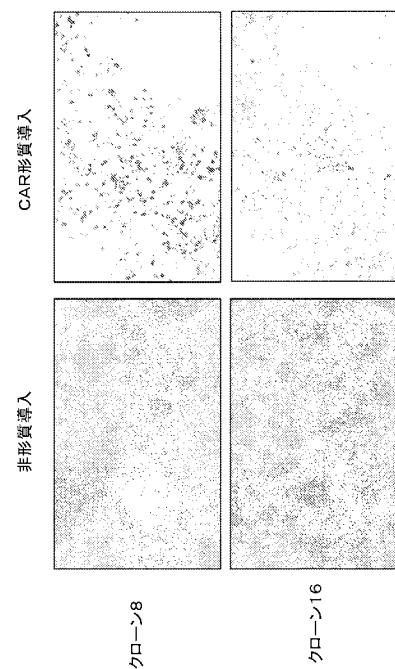


Figure 4

【図 7】

リンカー配列内の抗体エペトープ	リンカー配列	クローン8エペトープ	クローン16エペトープ
	GSTGGSGKPGSGESTKG	GSGKPGSGEG	GKPGSGEG
		配列番号2	配列番号3
		SGKPGSGE	KPGSG
	配列番号1	配列番号499	配列番号500

Figure 7

【図 8 － 1】

8－4 VHヒト化配列 ― 90%でクラスター化したIMGT－LigM DB (Abysis) (18個の配列)

>8_4_HC_humanized_866
VQLQESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVADIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNST
LYLQMNSLRADDATVYYCARDGSGSGWGFNFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 28)
>8_4_HC_humanized_673
QSVVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGPEWVSDIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNSSL
YLQMNSLRDTEATVYYCAKDGSGSGWGFNFWGQGTMTVTSS (SEQ ID NO: 29)
>8_4_HC_humanized_631
QSVVESGGRLVTPGATVKISCKVSGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWMDIDGRGDIYCATWAQGRVTITADSST
AYMELNGLRYADTAVYYCATDGDGSGSGWGFNFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 30)
>8_4_HC_humanized_1002
QSLVESGGGVVQPGKSLRLSCTASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLSVADIDGRGDIYCATWATGRFAISRDNKSLY
LHMDNLRAEDTAVYYCARDGSGSGWGFNFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 31)
>8_4_HC_humanized_771
QSLQSGGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIYCATWAKGRFTISKSKNTL
YLQMNSLRADTAVYYCAVDGSGSGWGFNFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 32)
>8_4_HC_humanized_849
QSVVESGGDLVKPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWRQAPGKGLEWLSIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNASLN
LQMNSLRADTAVYYCAVDGSGSGWGFNFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 33)
>8_4_HC_humanized_706
VLLLESGGGLAQPGGTLRLSCASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIYCATWARGRFAISRDNSTLY
LQMNSLRADTAVYYCAKDGSGSGWGFNFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 34)
>8_4_HC_humanized_703
VQLVESGGTLVQPGGSLRLSCASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIYCATWAKGRITISRDNSTLSL
QMSTLRDTEATVYYCVRDGDGSGSGWGFNFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 35)
>8_4_HC_humanized_278
VQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCASGFTISNLAIIWRQAPGKGLEWVGIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDDSTL
YLQVNSLKTEDSAVYYCTTDGSGSGWGFNFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 36)
>8_4_HC_humanized_800
QSVLESGLVQPGSETLTCTVSGFTISNLAIIWVRQPPGKGLEWIGDIDGRGDIYCATWAKSRLTISTSKNQFSLR
LTSVTAADTAMYYCAVDGSGSGWGFNFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 37)
>8_4_HC_humanized_809
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWLSIDGRGDIYCATWARGRFAISNARNSL
YLQMNSLRDTEATVYYCARDGSGSGWGFNFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 38)

Figure 8

【図 8 － 2】

>8_4_HC_humanized_273
VQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQASGKGLEWIGDIDGRGDIYCATWAKGRFTVSRSQNS
VFLQMNSLETEDTAVYYCARDGSGSGWGFNFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 39)
>8_4_HC_humanized_716
QSVLESGGGVVQPGGSLRLSCASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNNS
LYLQMNSLRPEDTALYYCAKDGSGSGWGFNFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 40)
>8_4_HC_humanized_202
VQLQFSGEGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNSTLY
LQMNSLRADTAMVYYCAVDGSGSGWGFNFWGQGTMTVTSS (SEQ ID NO: 41)
>8_4_HC_humanized_21
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEFVSDIDGRGDIYCATWAKDRFTISRDNSTVY
LQMDSLRTEATAMYYCARDGSGSGWGFNFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 42)
>8_4_HC_humanized_173
QSVVESGGRLVTPGGSLRLSCTATGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVGIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNSSL
YLQMNSLKTEDTAVYYCARDGSGSGWGFNFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 43)
>8_4_HC_humanized_23
QSVLESGGDLVQPGGSLRLSCASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIYCATWAKGRFTISKSKHTLF
LQMHSLRVEDTAVYYCAKDGSGSGWGFNFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 44)
>8_4_HC_humanized_879
QSVVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDSSTLY
LQMNNLRVEDTALYYCAHDGSGSGWGFNFWGRGTQVTVSS (SEQ ID NO: 45)

Figure 8 (cont.)

【図 8 － 3】

8－4 VHヒト化配列 ― 90%でクラスター化したIMGT－LigM DB (Abysis) (39個の配列)

>8_4_IC_humanized_866
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQISSTALAWYQQKPKGAPKRLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGTEFTLTIS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDFVGGGKVEIK (SEQ ID NO: 46)
>8_4_IC_humanized_340
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQISSTALAWYQQKPKGAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTIS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDFVGGGKLEIK (SEQ ID NO: 47)
>8_4_IC_humanized_322
DIQLTQSPSSLSASVGDVTISITCQASQISSTALAWYQQKPKGAPKHLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTISI
QPEDFATYYCQQGWSTVNVNDFVGGGKVEIK (SEQ ID NO: 48)
>8_4_IC_humanized_305
DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQISSTALAWYQQKPKGAPKSLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTISL
QPEDSATYYCQQGWSTVNVNDFVGGGKVEIK (SEQ ID NO: 49)
>8_4_IC_humanized_303
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQISSTALAWYQQKPKGAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTIS
LQPEDATYYCQQGWSTVNVNDFVGPQTKVDIK (SEQ ID NO: 50)
>8_4_IC_humanized_291
DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQISSTALAWYQQKPKGAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGTDFSLTISL
QPEDATYYCQQGWSTVNVNDFVGGGKVEIK (SEQ ID NO: 51)
>8_4_IC_humanized_217
DIVMTQSPDSLAVSLGERATINQASQISSTALAWYQQKPGQPPKLLIYRASTLASGVPDRFSGSGSGDTFTLTIS
LQAFEDAVYYCQQGWSTVNVNDFVGGGKVEIK (SEQ ID NO: 52)
>8_4_IC_humanized_197
AYDMTQTPTATLSLSPGERATLSCQASQISSTALAWYQQKPGQAPRLLIYRASTLASGIPARFSGSGSGDTFTLTIS
LEPEDFATYYCQQGWSTVNVNDFVGGGTEVVVR (SEQ ID NO: 53)
>8_4_IC_humanized_169
EIVLTQSPSFLAFVGDRTITTCQASQISSTALAWYQQKPKGAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGTEFTLTISGLC
PEDFASYCQQGWSTVNVNDFVGGGKLEIK (SEQ ID NO: 54)
>8_4_IC_humanized_17
DIQLTQSPSSLSAAGVDRVTIACQASQISSTALAWYQQKPKGAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLSISSI
QPQGFATYYCQQGWSTVNVNDFVGGGKTVQMK (SEQ ID NO: 55)
>8_4_IC_humanized_13
DIQMTQSPSSLSASVGDSTTITCQASQISSTALAWYQQKPKGAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGTEFTLTINC
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDFVGGGKLEIK (SEQ ID NO: 56)

Figure 8 (cont.)

【図 8 - 4】

>8_4_LC_humanized_791
AYELTQTPLSSPVTLGGPASISQASQSISTALAWLHQRPGQPRLLIYRASTLASGVPDRFSGSGAGTAFTLKISR
VEVEDVGYHCQGWSTVNVNDNVFVGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 57)
>8_4_LC_humanized_673
AYDMTQTASVEVSPGERATLSCQASQSISTALAWYQKPGQAPRLLIYRASTLASGIPARFSGSGSGTEFTLTIS5
VQSDDFAVYYCQGWSTVNVNDNVFPGTKVDIK (SEQ ID NO: 58)
>8_4_LC_humanized_678
AYELTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWFQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVP5RFSGSGSGTDFTLTISSL
LPTDFATYFCQGWSTVNVNDNVFVGQGTQVEVK (SEQ ID NO: 59)
>8_4_LC_humanized_631
AYDMTQTASVEVSPGDRVTITCQASQSISTALAWYQKPGKAPKLLIYRASTLASGVP5RFSGSGSGTDFTLTIS
SLQPEDFATYYCQGWSTVNVNDNVFVGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 60)
>8_4_LC_humanized_1002
AYELTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQKPGKAPKLLIYRASTLASGV5SRFSGSGSGTDFTLTISSL
QPEDFATYYCQGWSTVNVNDNVFVGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 61)
>8_4_LC_humanized_775
AYELTQTPLSSPVTLGGPASISQASQSISTALAWLQQRPGQPRLLIYRASTLASGVPDRFSGSGARTDFTLNISR
VEAEDAGVYYCQGWSTVNVNDNVFVGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 62)
>8_4_LC_humanized_771
AYELTQSPATLSLSPGERATLSCQASQSISTALAWYQKPGQAPRLLIYRASTLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSL
EPEDFAVYYCQGWSTVNVNDNVFVGQGTQVEIK (SEQ ID NO: 63)
>8_4_LC_humanized_188
DIQLTQSPSTLSASVGDRITITCQASQSISTALAWYQKPGKAPKLLIYRASTLASGVP5RFSGSGSGTEFTLTISLQ
PDDFATYYCQGWSTVNVNDNVFVGQGTKVVVR (SEQ ID NO: 64)
>8_4_LC_humanized_717
ELVMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQKPGKAPNLLIYRASTLASGIP5RFSGSGSGTYFTLTING
LQPEDFATYYCQGWSTVNVNDNVFVGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 65)
>8_4_LC_humanized_1048
SVELTQTSPSVSPGQATITCQASQSISTALAWYQKPGKAPKLLIYRASTLASGIPERFSGSSGTTVTTLTISGV
QAEDEADYYCQGWSTVNVNDNVFVGQGTKVLTVL (SEQ ID NO: 66)
>8_4_LC_humanized_849
AYELTQSPILSVTPGQPASISQASQSISTALAWYLKPGQPPQLIYRASTLASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR
VEAEDAGVYYCQGWSTVNVNDNVFVGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 67)
>8_4_LC_humanized_1016
DIELTQSPSSLSASIGDRVITCQASQSISTALAWYQKPGKAPKLLIYRASTLASGVP5RFSGSGSGTDFTLTISSLQ
PEDFATYYCQGWSTVNVNDNVFVGQGTQVEIK (SEQ ID NO: 68)

Figure 8 (cont.)

【図 8 - 5】

>8_4_LC_humanized_978
EIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQKPGKAPKLLIYRASTLASGVP5RFSGSGSGTDFTLTISNL
QPEDFATYYCQGWSTVNVNDNVFVGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 69)
>8_4_LC_humanized_706
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIACQASQSISTALAWYQKPGKAPKLLIYRASTLASGVP5RFSGSGSGTDFTLTISC
LQPEDVATYYCQGWSTVNVNDNVFVGQGTQVEIK (SEQ ID NO: 70)
>8_4_LC_humanized_278
ELVLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWCQKPGKSPPTLLIYRASTLASGVP5RFSGSGSGTGTFTLISGL
QPEDFATYYCQGWSTVNVNDNVFVGQGTKVEIR (SEQ ID NO: 71)
>8_4_LC_humanized_129
EIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQKPGKAPRLLIYRASTLASGVP5RFSGSGSGTDFTLTISSL
QPDDFATYYCQGWSTVNVNDNVFVGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 72)
>8_4_LC_humanized_1133
AYDMTTQPPSVSPGQTASITCQASQSISTALAWYQKPGKSPVLIIYRASTLASGIPERFSGSGSNGTALTITIS
GTQAMDEADYYCQGWSTVNVNDNVFVGTEVVVR (SEQ ID NO: 73)
>8_4_LC_humanized_881
AYDMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQKPGKAPNLLIYRASTLASGVP5RFSGSGSGTDFTLTISS
LQPEDFATYYCQGWSTVNVNDNVFVGQGTKVQIK (SEQ ID NO: 74)
>8_4_LC_humanized_882
AYDMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQKPGKAPKLLIYRASTLASGVP5RFSGSGSGTDFTTTIS5
LQPEDSATYYCQGWSTVNVNDNVFVGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 75)
>8_4_LC_humanized_273
ELVMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQKPGKAPKLLIYRASTLASGVP5RFSGSGSGTDFTLTISG
LQSEDFATYYCQGWSTVNVNDNVFVGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 76)
>8_4_LC_humanized_716
ELVMTQSPSSLSASEGDRVTITCQASQSISTALAWYQKPGKAPKLLIYRASTLASGVP5RFSGSGSGTEFTLTISG
LQSEDFATYYCQGWSTVNVNDNVFVGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 76)
>8_4_LC_humanized_716
ELVMTQSPSSLSASEGDRVTITCQASQSISTALAWYQKPGKAPKLLIYRASTLASGVP5RFSGSGSGTEFTLTISG
LQSEDFATYYCQGWSTVNVNDNVFVGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 77)
>8_4_LC_humanized_677
AYDMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQKPGKAPKLLIYRASTLASGVP5RFSGSGSGTEFTLTIS5
LQPEDFATYYCQGWSTVNVNDNVFVGQGTQVEIK (SEQ ID NO: 78)
>8_4_LC_humanized_192
AYDMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISTALAWYQKPGKAPKLLIYRASTLASGVP5RFSGSGSGTDFTLTISS
LQAEDEFTYYCQGWSTVNVNDNVFVGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 79)

Figure 8 (cont.)

【図 8 - 6】

>8_4_LC_humanized_802
AIRMTOQSPSSFSASTGDRVTITCQASQSISTALAWYQKPGKAPKLLIYRASTLASGVP5RFSGSGSGTDFTLTISCL
QSEDFATYYCQGWSTVNVNDNVFVGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 80)
>8_4_LC_humanized_54
AYGMTQSPDSLAVSLGERASINCAQASQSISTALAWYQKPGQPPKLLIYRASTLASGVPDRFSGSGSGTDFTLTIS
LQAEADVAVYYCQGWSTVNVNDNVFVGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 81)
>8_4_LC_humanized_173
AIQMTQSPFSLASVGDRVTITCQASQSISTALAWFQKPGKAPKSLIYRASTLASGVSSKSGSGSGTDFTLTISSL
QPEDFATYYCQGWSTVNVNDNVFVGQGTQLVVR (SEQ ID NO: 82)
>8_4_LC_humanized_224
AYDMTQTASVSLSPGERATLSCQASQSISTALAWYQKPGQAPRLLIYRASTLASGIPDRFRSGSGSATDFTLTIS
RLEPEDFAVYYCQGWSTVNVNDNVFVGQGTVEVVVR (SEQ ID NO: 83)
>8_4_LC_humanized_657
AYDMTQTASVEVSPGDRVITCQASQSISTALAWYQKPGKAPKLLIYRASTLASGVP5RFSGSGSGTDFTLTIT
SLQPVDFATYYCQGWSTVNVNDNVFVGQGTVDK (SEQ ID NO: 84)

Figure 8 (cont.)

【図 8 - 7】

8-4 VHヒト化配列 -- 95%でクラスター化したIMGT-LiGm DB
(Abysis) (47個の配列)

>cl|CABBABABA|10|117>8_4_HC_humanized_866>8_4_HC_humanized_340
>8_4_HC_humanized_336>8_4_HC_humanized_332>8_4_HC_humanized_322
VOLVSEGGGVQPGRSRLSCAASGFTISNLAIWVRQAPGKGLEWVADIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNSTL
YLQMNSLRAEDTAVYYCAVDGDSGSGWGFNFVGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 85)
>cl|KABBABABA|13|117>8_4_HC_humanized_315>8_4_HC_humanized_314
>8_4_HC_humanized_305>8_4_HC_humanized_303>8_4_HC_humanized_296
VOLVQSGGGVQPGRSRLSCAASGFTISNLAIWVRQAPGKGLEWVADIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNST
LYLQMNSLRAEDTAVYYCAVDGDSGSGWGFNFVGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 86)
>cl|TABBABABA|8|117>8_4_HC_humanized_217>8_4_HC_humanized_197
>8_4_HC_humanized_678>8_4_HC_humanized_978>8_4_HC_humanized_635
VOLVSEGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNASL
YLQMNSLRAEDTAVYYCARDGDSGSGWGFNFVGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 87)
>cl|WABBABABA|7|117>8_4_HC_humanized_169>8_4_HC_humanized_122
>8_4_HC_humanized_676>8_4_HC_humanized_893>8_4_HC_humanized_57
VOLVSEGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNSTL
YLQMNSLRAEDTAVYYCAKDGDSGSGWGFNFVGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 88)
>cl|ZABBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_17
VOLVSEGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIWVRQAPGRGLVWVSDIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNAT
LYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGDSGSGWGFNFVGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 89)
>cl|CEBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_791
QSVLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNSTL
YLQMNSLRAEDTAVYYCAKDGDSGSGWGFNFWRGRTHVTVSS (SEQ ID NO: 90)
>cl|DEBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_673
QSVVSEGGVVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIWVRQAPGKGPFWVSDIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNSSL
YLQMNSLRTEDTAVYYCAKDGDSGSGWGFNFVGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO: 91)
>cl|GEBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_631
QSVSESGRLVTPGATYKISCKVSGFTISNLAIWVRQAPGKGLEWMDIDGRGDIYCATWAQGRFTITADST5
AYMELNGLRYADTAVYYCATDGDGSGWGFNFVGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 92)
>cl|HEBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_1002
QSLSESGGGVQPGKSLRLSCASGFTISNLAIWVRQAPGKGLSEVADIDGRGDIYCATWATGRFAISRDN5KLY
LHMDNLRAEDTAVYYCARDGDSGSGWGFNFVGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 93)
>cl|KEBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_775
QSLSESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIWVRQASGKGLEWVSDIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNSTL
YLQMNSLRAEDTAVYYCAVDGDSGSGWGFNFVGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 94)

Figure 8 (cont.)

【図 8 - 8】

>c|LEBBABABA|2|117>8_4_HC_humanized_771>8_4_HC_humanized_772
QSLFQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSIDGRGDIYCATWAKGRFTISKSKNTL
YLQMNSLRAEDTAVYYCAVDGSGSGWGFNFVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 95)
>c|NEBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_188
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWASDIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDSSTL
YLQMNSLRTDDTAVYYCAADGDGSGSGWGFNFVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 96)
>c|PEBBABABA|9|117>8_4_HC_humanized_186>8_4_HC_humanized_292
>8_4_HC_humanized_283>8_4_HC_humanized_204>8_4_HC_humanized_201
VQLVESGGGVVQPGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVADIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNSTL
YLQMNSLRAEDTAVYYCAKDGSGSGWGFNFVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 97)
>c|QEBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_717
QSVLESGGGWVQPGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVADIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNAS
LYLEMKSLRAEDTAIYCARDGSGSGWGFNFVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 98)
>c|REBBABABA|2|117>8_4_HC_humanized_1048>8_4_HC_humanized_675
QSVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNASL
YLQMNSLRAEDTAVYYCARDGSGSGWGFNFVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 99)
>c|SEBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_849
QSVESGGDLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWLSIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNASLN
LQMNSLRAEDTAVYYCAVDGSGSGWGFNFVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 100)
>c|TEBBABABA|3|117>8_4_HC_humanized_1016>8_4_HC_humanized_295
>8_4_HC_humanized_319
VQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVADIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNSTL
YLQMNSLRAEDTAVYYCAVDGSGSGWGFNFVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 101)
>c|XEBBABABA|2|117>8_4_HC_humanized_868>8_4_HC_humanized_55
QQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNSTLY
LQMNSLRAEDTAVYYCVKDGSGSGWGFNFVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 102)
>c|YEBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_862
VRLVESGGGVVQPGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVADIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNSTL
HLQMNSLRAEDTAVYYCAKDGSGSGWGFNFVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 103)
>c|ZEBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_715
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSIDGRGDIYCATWAKGRFTISRKNSTL
YLQMNSLRAEDTAVYYCARDGSGSGWGFNFVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 104)
>c|BIBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_706
VLLESGGGLAQPGGTLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSIDGRGDIYCATWARGRFISRDNSTLY
LQMNSLRAEDTAVYYCAKDGSGSGWGFNFVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 105)

Figure 8 (cont.)

【図 8 - 9】

>c|CIBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_703
VQLVESGGTLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNSTLSL
QMSTLRTEDTAVYYCVRDGDGSGWGFNFVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 106)
>c|FIBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_341
VQLVQSGGSLVQPGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVADIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNST
LYLQMNSLRADDTAVYYCAVDGSGSGWGFNFVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 107)
>c|KIBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_301
VQLVESGGDLVQPGESLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNSTL
YLQMNSLRAEDTAVYYCARDGSGSGWGFNFVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 108)
>c|QIBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_278
VQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVGIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDDSTL
YLQVNSLKTEDSAVYYCTTDGSGSGWGFNFVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 109)
>c|TIBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_129
MQLVESGGGLVQPGSLRLSCVTSGFTISNLAIIWVRQVPGKGLEWVSIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNSTL
YLQMNSLRPEDTAVYYCAKDGSGSGWGFNFVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 110)
>c|XIBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_800
QSVLESGLVKPSETLSCTVSGFTISNLAIIWVRQPPGKGLEWIGIDGRGDIYCATWAKSRLTISTSKNQFSRLR
LTSVTAADTAMYYCAVDGSGSGWGFNFVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 111)
>c|YIBBABABA|7|117>8_4_HC_humanized_1133>8_4_HC_humanized_881
>8_4_HC_humanized_677>8_4_HC_humanized_192>8_4_HC_humanized_65
QSVESGGGVVQPGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVADIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNSTL
YLQMNSLRAEDTAVYYCARDGSGSGWGFNFVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 112)
>c|FOBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_882
QSVFESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQPPGKGLEWVGIDGRGDIYCATWAKGRFTISRKSSTV
YLQMNSLKTEDTAVYYCTADGSGSGWGFNFVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 113)
>c|GOBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_660
QSVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNSTLYL
QMTSLRAEDTAVYYCALDGDGSGWGFNFVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 114)
>c|HOBABABABA|2|117>8_4_HC_humanized_1051>8_4_HC_humanized_1050
VQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVGIDGRGDIYCATWAKGRFTISRKNSTL
YLQMNSLKTEDTAVYYCTVDGSGSGWGFNFVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 115)
>c|MOBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_809
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWLSIDGRGDIYCATWARGRFISNARNSL
YLQMNSLRDEDTAVYYCARDGSGSGWGFNFVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 116)

Figure 8 (cont.)

【図 8 - 10】

>c|VOBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_273
VQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQASGKGLEWIGIDGRGDIYCATWAKGRFTVSRSQNS
VFLQMNSLETEDTAVYYCARDGSGSGWGFNFVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 117)
>c|WOBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_716
QSVLESGGGWVQPGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNNS
LYLQMNSLRPEDTALYYCAKDGSGSGWGFNFVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 118)
>c|ZOBABABABA|1|117>8_4_HC_humanized_202
VQLQESGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNSTLY
LQMNSLRAEDTAVYYCAVDGSGSGWGFNFVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 119)
>c|GUBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_54
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGFTISNLAIIWVRQPPGKGLEWVSIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNATL
YLQMNSLRAEDTAVYYCAVDGSGSGWGFNFVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 120)
>c|HUBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_21
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSIDGRGDIYCATWAKDRFTISRDNSTVY
LQMDSLRTEDTAMYYCARDGSGSGWGFNFVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 121)
>c|KUBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_788
QSVLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNSTL
FLQISSLRAEDTAVYYCAKDGSGSGWGFNFVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 122)
>c|MUBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_762
VKLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVADIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNSTL
YLQMNSLGAEDTAVYYCARDGSGSGWGFNFVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 123)
>c|PUBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_173
QSVFESGGRLVTPGGSLRLSCTATGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVGIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNSSL
YLQMNSLKTEDTAVYYCARDGSGSGWGFNFVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 124)
>c|RUBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_224
QSVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVGIDGRGDIYCATWAKGRFTISRKNSTL
YLQMNSLKTEDTAVYYCATDGDGSGWGFNFVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 125)
>c|VUBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_672
QSVVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNSTL
YLQMNSLRAEDTAVYYCALDGDGSGWGFNFVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 126)
>c|XUBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_267
QSVQSGGGLVQPGESLRLSCASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVADIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNAS
LFLQMNSLRVEDTAVYYCARDGSGSGWGFNFVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 127)

Figure 8 (cont.)

【図 8 - 11】

>c|YUBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_23
QSVLESGGDLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSIDGRGDIYCATWAKGRFTISKSKHTLF
LQMNSLRVEDTAVYYCAKDGSGSGWGFNFVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 128)
>c|ZUBBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_657
QSVESGGRLVTPGGSLRLSCAASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNSSLY
LQMNSLRTEDSALYYCAIDGSGSGWGFNFVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 129)
>c|BACBABABA|1|117>8_4_HC_humanized_879
QSVFESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTISNLAIIWVRQAPGKGLEWVSIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDSSTLY
LQMNSLRVEDTALYYCAHDGDGSGWGFNFVWGRGTQVTVSS (SEQ ID NO: 130)

Figure 8 (cont.)

【図 8－1 2】

8－4 VHヒット配列 ― 95%でクラスター化したIMGT－LigM DB
(Abyxis) (99個の配列)

```
>cl|CACBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_866
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPsRfSGSGSGTEfTLTISS
LQPEDfATyYcQqGwStVnVdNfVgGgTKVEIK (SEQ ID NO: 131)
>cl|DACBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_340
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPsRfSGSGSGTDFTLTISS
LQPEDfATyYcQqGwStVnVdNfVgGgTKLEIK (SEQ ID NO: 132)
>cl|FACBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_336
DIQLTQSPSSLSASVGDRTVITTCQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPsRfSGSGSGTDFTLTISSL
QPEDfATyYcQqGwStVnVdNfVgGgTKLEIK (SEQ ID NO: 133)
>cl|GACBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_332
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPsRfSGSGSGTDFTLTISS
LQPEDfATyYcQqGwStVnVdNfVgGgTKVEIK (SEQ ID NO: 134)
>cl|HACBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_322
DIQLTQSPSSLSASVGDRTVITTCQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPsRfSGSGSGTDFTLTISSL
QPEDfATyYcQqGwStVnVdNfVgGgTKVEIK (SEQ ID NO: 135)
>cl|KACBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_315
DIQLTQSPSSLSASVGDRTVITTCQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPsRfSGSGSGTDFTLTISSL
QPEDfATyYcQqGwStVnVdNfVgGgTKVEIK (SEQ ID NO: 136)
>cl|LACBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_314
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPsRfSGSGSGTDFTLTISS
LQPEDfATyYcQqGwStVnVdNfVgGgTKVEIK (SEQ ID NO: 137)
>cl|MACBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_305
DIQLTQSPSSLSASVGDRTVITTCQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPsRfSGSGSGTDFTLTISSL
QPEDfATyYcQqGwStVnVdNfVgGgTKVEIK (SEQ ID NO: 138)
>cl|NACBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_303
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPsRfSGSGSGTDFTLTISS
LQPEDfATyYcQqGwStVnVdNfVgGgTKVDIK (SEQ ID NO: 139)
>cl|PACBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_296
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPsRfSGSGSGTDFTLTISS
LQPEDfATyYcQqGwStVnVdNfVgGgTKVEIK (SEQ ID NO: 140)
>cl|QACBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_294
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPsRfSGSGSGTDFTLTISS
LQPEDfATyYcQqGwStVnVdNfVgGgTKVEIK (SEQ ID NO: 141)
```

Figure 8 (cont.)

【図 8－1 4】

```
>cl|FECBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_678
AYELTQSPSSLSASVGDRTVITTCQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPsRfSGSGSGTDFTLTISSL
LPDfATyYcQqGwStVnVdNfVgGgTKVEIK (SEQ ID NO: 153)
>cl|GECBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_631
AYDMTQTpASVEVSvGDRTVITTCQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPsRfSGSGSGTDFTLTISS
SLQPEDfATyYcQqGwStVnVdNfVgGgTKVEIK (SEQ ID NO: 154)
>cl|HECBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_1002
AYELTQSPSSLSASVGDRTVITTCQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPsRfSGSGSGTDFTLTISSL
QPEDfATyYcQqGwStVnVdNfVgGgTKLEIK (SEQ ID NO: 155)
>cl|KECBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_775
AYELTQTPLSPVTLGQPASIScQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPDRfSGSGSGARTDFTLNISR
VEAFDAGVYyCqGwStVnVdNfVgGgTKLEIK (SEQ ID NO: 156)
>cl|LECBABABA|2|110>8_4_LC_humanized_771>8_4_LC_humanized_772
AYELTQSPATLSLSPGERATLSQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPsRfSGSGSGTDFTLTISSL
EPEDfAVYyCqGwStVnVdNfVgGgTKVEIK (SEQ ID NO: 157)
>cl|MECBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_676
AYDMTQSPATLSLSPGERATLSQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPsRfSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDfAVYyCqGwStVnVdNfVgGgTKVEIK (SEQ ID NO: 158)
>cl|NECBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_188
DIQLTQSPSTLSASVGDRTVITTCQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPsRfSGSGSGTEfTLTISSLQ
PDDfATyYcQqGwStVnVdNfVgGgTKVvVR (SEQ ID NO: 159)
>cl|PECBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_186
DIQLTQSPSTLSASVGDRTVITTCQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPsRfSGSGSGTEfTLTISSL
QPDDfATyYcQqGwStVnVdNfVgGgTKVvVR (SEQ ID NO: 160)
>cl|QECBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_717
ELVMTQSPSSLSASVGDRTVITTCQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPsRfSGSGSGTYfTLTING
LQPEDfATyYcQqGwStVnVdNfVgGgTKVDIK (SEQ ID NO: 161)
>cl|RECBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_1048
SYELTQTpPSVSvSPGQARITCQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPsRfSGSGSGTfTLTISSV
QAEDEADYyCqGwStVnVdNfVgGgTKLTVL (SEQ ID NO: 162)
>cl|SECBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_849
AYELTQSPSLSLVTPGQPASIScQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPDRfSGSGSGTDFTLKISR
VEAFEDGVYyCqGwStVnVdNfVgGgTKVEIK (SEQ ID NO: 163)
```

Figure 8 (cont.)

【図 8－1 3】

```
>cl|RACBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_291
DIQLTQSPSSLSASVGDRTVITTCQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPsRfSGSGSGTDFTLTISSL
QPEDfATyYcQqGwStVnVdNfVgGgTKVEIK (SEQ ID NO: 142)
>cl|SACBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_284
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPsRfSGSGSGTEfTLTISSL
QPDDfATyYcQqGwStVnVdNfVgGgTKLEIK (SEQ ID NO: 143)
>cl|TACBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_217
DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPDRfSGSGSGTDFTLTISS
LQAEDEVAYyCqGwStVnVdNfVgGgTKVEIK (SEQ ID NO: 144)
>cl|VACBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_197
AYDMTQTpATLSLSPGERATLSQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPsRfSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDfAVYyCqGwStVnVdNfVgGgTEVvVR (SEQ ID NO: 145)
>cl|WACBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_169
EIVLTQSPSFLSAFVGDRVITTCQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPsRfSGSGSGTEfTLTISLQ
PEDfASYyCqGwStVnVdNfVgGgTKLEIK (SEQ ID NO: 146)
>cl|XACBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_122
DIVMTQSPASLSASVGDRTVITTCQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPsRfSGSGSRTDFTLTISS
LQPEDfATyYcQqGwStVnVdNfVgGgTKVDIK (SEQ ID NO: 147)
>cl|YACBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_44
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPsRfSGSGSGTEfTLTISSL
LQPEDfATyYcQqGwStVnVdNfVgGgTKVEIK (SEQ ID NO: 148)
>cl|ZACBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_17
DIQLTQSPSSLSAAVGDRTVIACQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPsRfSGSGSGTDFTLTISSL
QPDDfATyYcQqGwStVnVdNfVgGgTKVQMK (SEQ ID NO: 149)
>cl|BECBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_13
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPsRfSGSGSGTEfTLTING
LQPEDfATyYcQqGwStVnVdNfVgGgTKLEIK (SEQ ID NO: 150)
>cl|CECBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_791
AYELTQTPLSPVTLGQPASIScQASQSIStALAWYHQPPKRLIYRAStLASGVPDRfSGSGAGTAfTLKISR
VEVEDGVYyCqGwStVnVdNfVgGgTKVEIK (SEQ ID NO: 151)
>cl|DECBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_673
AYDMTQTpASVEVSvSPGERATLSQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPsRfSGSGSGTEfTLTISS
VQSDDFAVYyCqGwStVnVdNfVgGgTKVDIK (SEQ ID NO: 152)
```

Figure 8 (cont.)

【図 8－1 5】

```
>cl|TECBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_1016
DIELTQSPSSLSASIGDRVSITCQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPsRfSGSGSGTDFTLTISSLQ
PEDfATyYcQqGwStVnVdNfVgGgTRVEIK (SEQ ID NO: 164)
>cl|VECBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_978
EIVLTQSPSSLSASVGDRTVITTCQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPsRfSGSGSGTDFTLTISSNL
QPEDfATyYcQqGwStVnVdNfVgGgTKVEIK (SEQ ID NO: 165)
>cl|WECBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_893
DIEMTQSPSSLSASVGDRTVITTCQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPsRfSGSGSGTEfTLTISS
LQPEDfATyYcQqGwStVnVdNfVgGgTKVEIK (SEQ ID NO: 166)
>cl|XECBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_868
DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPDRfSGSGSGTDFTLTISS
LQAEDEVAYyCqGwStVnVdNfVgGgTKLEIK (SEQ ID NO: 167)
>cl|YECBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_862
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPsRfSGSGSGTDFTLTISS
LQPEDfATyYcQqGwStVnVdNfVgGgTKVEIK (SEQ ID NO: 168)
>cl|ZECBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_715
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPsRfSGSGSGTDFTLTISS
LQPEDfATyYcQqGwStVnVdNfVgGgTKVEIK (SEQ ID NO: 169)
>cl|BICBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_706
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVIACQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPsRfSGSGSGTDFTLTISS
LQPEDfATyYcQqGwStVnVdNfVgGgTRVEIK (SEQ ID NO: 170)
>cl|CICBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_703
DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCQASQSIStALAWYQQKAGQPPKRLIYRAStLASGVPDRfSGSGSGTDFTLTISS
SLQAEDEVAYyCqGwStVnVdNfVgGgTKVEIK (SEQ ID NO: 171)
>cl|DICBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_635
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPsRfSGSGSGTDFTLTISS
LQPEDfATyYcQqGwStVnVdNfVgGgTKLEIK (SEQ ID NO: 172)
>cl|FICBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_341
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPsRfSGSGSGTDFTLTISS
LQPEDfATyYcQqGwStVnVdNfVgGgTKLEIK (SEQ ID NO: 173)
>cl|GICBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_328
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCQASQSIStALAWYQQKPGKAPKRLIYRAStLASGVPsRfSGSGSGTDFTLTISS
LQPEDfATyYcQqGwStVnVdNfVgGgTKVEIK (SEQ ID NO: 174)
```

Figure 8 (cont.)

【図 8 - 1 6】

>cl|HICBABA|1|110>8_4_LC_humanized_324
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCQASQISISTALAWYQQKPGNAPKSLIYRASTLASGVPSPKFSGSGSGDTFTLTSS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 175)
>cl|KICBABA|1|110>8_4_LC_humanized_301
DIQMTQSPDLSAVSLGERATINCAASQISISTALAWYQQKPGQPPKLLIYRASTLASGVPDRFSGSGSGDTFTLTIS
SLQAEDVAVYYCQGGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 176)
>cl|LICBABA|1|110>8_4_LC_humanized_295
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCQASQISISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTSS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 177)
>cl|MICBABA|1|110>8_4_LC_humanized_292
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCQASQISISTALAWYQQKPGKAPNLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTSS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 178)
>cl|NICBABA|1|110>8_4_LC_humanized_283
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCQASQISISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTSS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 179)
>cl|PICBABA|1|110>8_4_LC_humanized_282
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCQASQISISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTSS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 180)
>cl|QCBABA|1|110>8_4_LC_humanized_278
ELVLTQSPSSLSASVGDRTVITCQASQISISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTSS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 181)
>cl|RICBABA|1|110>8_4_LC_humanized_204
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCQASQISISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTSS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 182)
>cl|SICBABA|1|110>8_4_LC_humanized_201
DIRVTQSPSSLSASVGDRTVITCQASQISISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTSS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 183)
>cl|TICBABA|1|110>8_4_LC_humanized_129
EIVMTQSPSSLSASVGDRTVITCQASQISISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTSS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 184)
>cl|VICBABA|1|110>8_4_LC_humanized_108
DVVMTQSPSSLSASVGDRTVITCQASQISISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTSS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 185)

Figure 8 (cont.)

【図 8 - 1 7】

>cl|WICBABA|1|110>8_4_LC_humanized_57
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCQASQISISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTSS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 186)
>cl|XICBABA|1|110>8_4_LC_humanized_800
AYELTQTTPSLSVTPGQSPASISQASQISISTALAWYQQKPGQPPKLLIYRASTLASGVPDRFSGSGSGDTFTLKISR
VEAEDVGVYYCQGGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 187)
>cl|YICBABA|1|110>8_4_LC_humanized_1133
AYDMTQPPSVSPGQTASITCQASQISISTALAWYQQKPGQSPVLVIYRASTLASGIPERFSGSGSGNTATLTIS
GTQAMDEADYYCQGGWSTVNVNDNVFVGTEVVVR (SEQ ID NO: 188)
>cl|ZICBABA|1|110>8_4_LC_humanized_621
AYELTQSPSSLSASVGDRTVITCQASQISISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTSS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 189)
>cl|COCBABA|1|110>8_4_LC_humanized_883
AYDMTQSPSSLSASVGDRTVITCQASQISISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTSS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 190)
>cl|DOCBABA|1|110>8_4_LC_humanized_55
AYDMTQTPASVEVSPGERATLSCQASQISISTALAWYQQKPGQAPRLLIYRASTLASGIPARFSGSGSGTEFTLTSS
LQSEDFAVYYCQQGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 191)
>cl|FOCBABA|1|110>8_4_LC_humanized_882
AYDMTQSPSSLSASVGDRTVITCQASQISISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTSS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 192)
>cl|GOCBABA|1|110>8_4_LC_humanized_660
AYVMTQSPATLSLSPGERATLSCQASQISISTALAWYQQKPGQAPRLLIYRASTLASGIPARFSGSGSGDTFTLTSS
LEPDEFATYYCQQGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 193)
>cl|HOCBABA|1|110>8_4_LC_humanized_1051
SYELTQTTPSVSPGQTARITCQASQISISTALAWYQQKPGQAPVLVIYRASTLASGIPERFSGSGSGTTVTLTISGV
QAEDEADYYCQQGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 194)
>cl|KOCBABA|1|110>8_4_LC_humanized_1050
SYELTQTTPSVSPGQTARITCQASQISISTALAWYQQKPGQAPVLVIYRASTLASGIPERFSGSGSGTTVTLTISGV
QAEDEADYYCQQGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 195)
>cl|LOCBABA|1|110>8_4_LC_humanized_860
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCQASQISISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTSS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 196)

Figure 8 (cont.)

【図 8 - 1 8】

>cl|MOCBABA|1|110>8_4_LC_humanized_609
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCQASQISISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTSS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 197)
>cl|NOCBABA|1|110>8_4_LC_humanized_346
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCQASQISISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTSS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 198)
>cl|POCBABA|1|110>8_4_LC_humanized_345
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCQASQISISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTSS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 199)
>cl|QOCBABA|1|110>8_4_LC_humanized_334
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCQASQISISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTSS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 200)
>cl|ROCBABA|1|110>8_4_LC_humanized_319
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCQASQISISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTSS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 201)
>cl|SOCBABA|1|110>8_4_LC_humanized_308
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCQASQISISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTSS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 202)
>cl|TOCBABA|1|110>8_4_LC_humanized_281
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCQASQISISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTSS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 203)
>cl|VOCBABA|1|110>8_4_LC_humanized_273
ELVMTQSPSSLSASVGDRTVITCQASQISISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTSS
LQSEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 204)
>cl|WOCBABA|1|110>8_4_LC_humanized_716
ELVMTQSPSSLSASVGDRTVITCQASQISISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGTEFTLTSS
LQSEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 205)
>cl|XOCBABA|1|110>8_4_LC_humanized_677
AYDMTQSPSSLSASVGDRTVITCQASQISISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGTEFTLTSS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 206)
>cl|YOCBABA|1|110>8_4_LC_humanized_192
AYDMTQSPSSLSASVGDRTVITCQASQISISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTSS
LQSEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 207)

Figure 8 (cont.)

【図 8 - 1 9】

>cl|ZOCBABA|1|110>8_4_LC_humanized_202
DIRMTQSPSSLSASVGDRTVITCQASQISISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTSS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 208)
>cl|BUCBABA|1|110>8_4_LC_humanized_802
AIRMTQSPSSLSASVGDRTVITCQASQISISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTSS
LQSEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 209)
>cl|CUCBABA|1|110>8_4_LC_humanized_347
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCQASQISISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGTEFTLTSS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 210)
>cl|DUCBABA|1|110>8_4_LC_humanized_339
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCQASQISISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGTEFTLTSS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 211)
>cl|FUCBABA|1|110>8_4_LC_humanized_168
DIVMTQSPSTLSASVGDRTVITCQASQISISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGTEFTLTSS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 212)
>cl|GUCBABA|1|110>8_4_LC_humanized_54
AYGMTQSPDLSAVSLGERASINCAASQISISTALAWYQQKPGQPPKLLIYRASTLASGVPDRFSGSGSGDTFTLTSS
SLQAEDVAVYYCQGGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 213)
>cl|HUCBABA|1|110>8_4_LC_humanized_21
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCQASQISISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTSS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 214)
>cl|KUCBABA|1|110>8_4_LC_humanized_788
AYELTQTPLSSPTLGPASISQASQISISTALAWYQQKPGQPPKLLIYRASTLASGVPDRFSGSGAGDTFTLKISR
VEAEDVGVYYCQGGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 215)
>cl|LUCBABA|1|110>8_4_LC_humanized_675
AYDMTQSPSSLSASVGDRTVITCQASQISISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGTEFTLTSS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 216)
>cl|MUCBABA|1|110>8_4_LC_humanized_762
AYELTQSPDLSAVSLGERATINCAASQISISTALAWYQQKPGQPPKLLIYRASTLASGVPDRFSGSGSGDTFTLTSS
LQAEDVAVYYCQGGWSTVNVNDNVFVGQGTKEIK (SEQ ID NO: 217)

Figure 8 (cont.)

【図 8－20】

```
>c|NUCBABABA|1|110>8_4_LC_humanized_818
AYDMTQTPTSPSSVASVGDVRTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTISS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFGGGTVKEIK (SEQ ID NO: 218)
>c|PUCBABABABA|1|110>8_4_LC_humanized_173
AYDMTQSPSSLASVGDVRTITCQASQSISTALAWFQQKPGKAPKSLIYRASTLASGVSSKFSGSGSGDTFTLTISSL
QPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFQGQTRLVVR (SEQ ID NO: 219)
>c|QUCBABABABA|1|110>8_4_LC_humanized_65
DIQMTQSPSTLSASVGDVRTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGTEFTLTISSL
QPDDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFQGQTKVEIK (SEQ ID NO: 220)
>c|RUCBABABABA|1|110>8_4_LC_humanized_224
AYDMTQTPTASVSLSPGERATLSCQASQSISTALAWYQQKPGQAPRLIYRASTLASGIPDRFSGSGSATDFTLTIS
RLEPFDFAVYYCQQGWSTVNVNDNVFGGGTEVVVR (SEQ ID NO: 221)
>c|SUCBABABABA|1|110>8_4_LC_humanized_230
AYDMTQTPTASVSASVGDVRTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKVLIIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTIS
TLQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFQGQTKLEIK (SEQ ID NO: 222)
>c|TUCBABABABA|1|110>8_4_LC_humanized_880
AYDMTQSPSSLASVGDVRNITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTISS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFQGQTKVDIK (SEQ ID NO: 223)
>c|VUCBABABABA|1|110>8_4_LC_humanized_672
AYDMTQSPSSLASVGDVRTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTISS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFQGQTKLEIK (SEQ ID NO: 224)
>c|WUCBABABABA|1|110>8_4_LC_humanized_299
DIQMTQSPSSVASVGDVRTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSRFSGSGSGTEFTLTISS
LQPDDEFATYYCQQGWSTVNVNDNVFGGGTVKEIK (SEQ ID NO: 225)
>c|XUCBABABABA|1|110>8_4_LC_humanized_267
AYDMTQSPSTLAASVGDVRTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGTEFTLTISS
LQPDDEFATYYCQQGWSTVNVNDNVFGGGTVKEIK (SEQ ID NO: 226)
>c|YUCBABABABA|1|110>8_4_LC_humanized_23
AYELTQSPSSLASVGDVRTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSRFSGSGSGDTFTLTISSL
QPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFGGGTVKEIK (SEQ ID NO: 227)
>c|ZUCBABABABA|1|110>8_4_LC_humanized_657
AYDMTQTPTASVEVSVGDVRTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTIT
SLQPVDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFPGGTTVDAK (SEQ ID NO: 228)
>c|BADBABABABA|1|110>8_4_LC_humanized_879
AYDMTQSPSSLASVGDVRTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTISS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFGGGTVKEIK (SEQ ID NO: 229)
```

Figure 8 (cont.)

【図 8－21】

8－4 VHヒト化配列 ― 90%でクラスター化した生殖細胞系列データベース
(2個の配列)

```
>c|CABBABABA|15|117>8_4_HC_humanized_356>8_4_HC_humanized_340
>8_4_HC_humanized_335>8_4_HC_humanized_303>8_4_HC_humanized_287
VOLVESGGGVQPGGSLRLSCAASGFTISNLIWVRQAPGKGLEWVSDIGRGDIYCATWAKGRFTISRDNSSL
YLQMNSLRAEDTAVYYCARDGSGSGWGFNFWGPGLTVTVSS (SEQ ID NO: 230)
>c|LABBABABABA|85|117>8_4_HC_humanized_2049>8_4_HC_humanized_2033
>8_4_HC_humanized_1360>8_4_HC_humanized_1344>8_4_HC_humanized_777
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNSTL
YLQMNSLRAEDTAVYYCARDGSGSGWGFNFWGPGLTVTVSS (SEQ ID NO: 231)
```

8－4 VLヒト化配列 ― 90%でクラスター化した生殖細胞系列データベース
(5個の配列)

```
>c|CACBABABABA|76|110>8_4_LC_humanized_356>8_4_LC_humanized_340
>8_4_LC_humanized_335>8_4_LC_humanized_303>8_4_LC_humanized_287
AYDMTQSPSSLASVGDVRTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTISS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFGGGTEVVVR (SEQ ID NO: 232)
>c|LACBABABABA|2|110>8_4_LC_humanized_2049>8_4_LC_humanized_2033
AYDMTQSPDSLAVSLGERATINCQASQSISTALAWYQQKPGQPKGLIYRASTLASGVPDRFSGSGSGDTFTLTIS
SLQAEADVAVYYCQQGWSTVNVNDNVFGGGTEVVVR (SEQ ID NO: 233)
>c|NACBABABABA|2|110>8_4_LC_humanized_1360>8_4_LC_humanized_1344
AYDMTQTPLSLVTPGQPASISQASQSISTALAWYLOKPGQPPQLIYRASTLASGVPDRFSGSGSGDTFTLKIS
RVEAEDVGYYCQQGWSTVNVNDNVFGGGTEVVVR (SEQ ID NO: 234)
>c|CECBABABABA|5|110>8_4_LC_humanized_2207>8_4_LC_humanized_2206
>8_4_LC_humanized_2197>8_4_LC_humanized_2208>8_4_LC_humanized_2192
AYDMTQSPAFSLVTPGEKVTITCQASQSISTALAWYQQKPDQAPKLLIKRASTLASGVPDRFSGSGDTFTTIS
LEAEDAATYYCQQGWSTVNVNDNVFGGGTEVVVR (SEQ ID NO: 235)
>c|DICBABABABA|15|110>8_4_LC_humanized_2263>8_4_LC_humanized_2262
>8_4_LC_humanized_2258>8_4_LC_humanized_2257>8_4_LC_humanized_2256
AYDMTQSPASLAVSPGQRATITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPARFSGSGSGDTFTLI
NPVEANDTANYCQQGWSTVNVNDNVFGGGTEVVVR (SEQ ID NO: 236)
```

Figure 8 (cont.)

【図 8－22】

8－4 VHヒト化配列 ― 95%でクラスター化した生殖細胞系列データベース
(7個の配列)

```
>c|CABBABABABA|2|117>8_4_HC_humanized_356>8_4_HC_humanized_303
VQLVESRGLVLPQGGSLRLSCAASGFTISNLIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNSTL
HLQMNSLRAEDTAVYYCKDGDGSGWGFNFWGPGLTVTVSS (SEQ ID NO: 237)
>c|DABBABABABA|17|117>8_4_HC_humanized_340>8_4_HC_humanized_335
>8_4_HC_humanized_287>8_4_HC_humanized_282>8_4_HC_humanized_2207
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNASL
YLQMNSLRAEDTAVYYCARDGSGSGWGFNFWGPGLTVTVSS (SEQ ID NO: 238)
>c|LABBABABABA|37|117>8_4_HC_humanized_2049>8_4_HC_humanized_2033
>8_4_HC_humanized_1360>8_4_HC_humanized_1344>8_4_HC_humanized_777
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLIWVRQAPGKGLEWVGIDGRGDIYCATWAKGRFTISRKNLT
YLQMNSLKTEDTAVYYCTROGDGSGWGFNFWGPGLTVTVSS (SEQ ID NO: 239)
>c|DEBBABABABA|22|117>8_4_HC_humanized_2206>8_4_HC_humanized_988
>8_4_HC_humanized_987>8_4_HC_humanized_935>8_4_HC_humanized_934
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNSTL
YLQMNSLRAEDTAVYYCARDGSGSGWGFNFWGPGLTVTVSS (SEQ ID NO: 240)
>c|FEBBABABABA|16|117>8_4_HC_humanized_2197>8_4_HC_humanized_978
>8_4_HC_humanized_925>8_4_HC_humanized_660>8_4_HC_humanized_395
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISNLIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNSTL
YLQMNSLRAEDTAVYYCAKDGSGSGWGFNFWGPGLTVTVSS (SEQ ID NO: 241)
>c|HIBBABABABA|3|117>8_4_HC_humanized_2257>8_4_HC_humanized_349
>8_4_HC_humanized_296
VQLVESGGGLVQPGSLRLSCTASGFTISNLIWVRQAPGKGLEWVGIDGRGDIYCATWAKGRFTISRASKSIAY
LQMNSLKTEDTAVYYCTROGDGSGWGFNFWGPGLTVTVSS (SEQ ID NO: 242)
>c|LIBBABABABA|3|117>8_4_HC_humanized_2254>8_4_HC_humanized_346
>8_4_HC_humanized_293
VQLVESGGVVVQPGGSLRLSCAASGFTISNLIWVRQAPGKGLEWVSDIDGRGDIYCATWAKGRFTISRDNSSL
YLQMNSLRTEDTALYYCAKDGSGSGWGFNFWGPGLTVTVSS (SEQ ID NO: 243)
```

Figure 8 (cont.)

【図 8－23】

8－4 VLヒト化配列 ― 95%でクラスター化した生殖細胞系列データベース
(12個の配列)

```
>c|CACBABABABA|1|110>8_4_LC_humanized_356
AYDMTQSPSSVASVGDVRTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTISS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFGGGTEVVVR (SEQ ID NO: 244)
>c|LACBABABABA|2|110>8_4_LC_humanized_2049>8_4_LC_humanized_2033
AYDMTQSPDSLAVSLGERATINCQASQSISTALAWYQQKPGQPKGLIYRASTLASGVPDRFSGSGSGDTFTLTIS
SLQAEADVAVYYCQQGWSTVNVNDNVFGGGTEVVVR (SEQ ID NO: 245)
>c|NACBABABABA|2|110>8_4_LC_humanized_1360>8_4_LC_humanized_1344
AYDMTQTPLSLVTPGQPASISQASQSISTALAWYLOKPGQPPQLIYRASTLASGVPDRFSGSGSGDTFTLKIS
RVEAEDVGYYCQQGWSTVNVNDNVFGGGTEVVVR (SEQ ID NO: 246)
>c|QACBABABABA|1|110>8_4_LC_humanized_777
AYDMTQSPSSLASVGDVRTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTTIS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFGGGTEVVVR (SEQ ID NO: 247)
>c|VACBABABABA|1|110>8_4_LC_humanized_565
AYDMTQSPSSLASVGDVRTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGTEFTLTISS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFGGGTEVVVR (SEQ ID NO: 248)
>c|XACBABABABA|2|110>8_4_LC_humanized_247>8_4_LC_humanized_231
AYDMTQSPSSLASVGDVRTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGTEFTLTISS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFGGGTEVVVR (SEQ ID NO: 249)
>c|ZACBABABABA|2|110>8_4_LC_humanized_141>8_4_LC_humanized_125
AYDMTQSPSSFASTGDRVTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTISC
LQSEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFGGGTEVVVR (SEQ ID NO: 250)
>c|CECBABABABA|1|110>8_4_LC_humanized_2207
AYDMTQSPAFSLVTPGEKVTITCQASQSISTALAWYQQKPDQAPKLLIKRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTTIS
LEAEDAATYYCQQGWSTVNVNDNVFGGGTEVVVR (SEQ ID NO: 251)
>c|GECBABABABA|1|110>8_4_LC_humanized_988
AYDMTQSPSSLASVGDVRTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTISS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFGGGTEVVVR (SEQ ID NO: 252)
>c|PECBABABABA|1|110>8_4_LC_humanized_670
AYDMTQSPSSLASVGDVRTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGDTFTLTISS
LQPEDFATYYCQQGWSTVNVNDNVFGGGTEVVVR (SEQ ID NO: 253)
>c|ZECBABABABA|1|110>8_4_LC_humanized_34
AYDMTQSPSTLSASVGDVRTITCQASQSISTALAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSPRFSGSGSGTEFTLTISS
LQPDDEFATYYCQQGWSTVNVNDNVFGGGTEVVVR (SEQ ID NO: 254)
>c|DICBABABABA|15|110>8_4_LC_humanized_2263>8_4_LC_humanized_2262
>8_4_LC_humanized_2258>8_4_LC_humanized_2257>8_4_LC_humanized_2256
AYDMTQSPASLAVSPGQRATITCQASQSISTALAWYQQKPGQPPKLLIYRASTLASGVPARFSGSGSGDTFTLI
NPVEANDTANYCQQGWSTVNVNDNVFGGGTEVVVR (SEQ ID NO: 255)
```

Figure 8 (cont.)

【図 8 － 2 4】

16-6 VHヒト化配列 ― 90%でクラスター化したIMGT-LiGm DB(Abyxis) (41個の配列)

```
>cl|CABBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_586
VQLQFSGGGVVQPGTSLRLSCVSGSDISSYHMGWVVRQAPGKGLEWLAIIIVSSGSAYYATWAKGRFTVSRKST
LFLKMNSLRADDTAVYYCARNQYSYGYSFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 256)
>cl|DABBABABA|2|115>16_6_HC_humanized_411>16_6_HC_humanized_213
LQLQESGPRLVKPSQTLTCTVSGSDISSYHMGWIRQPPGKGLEWIGIIVSSGSAYYATWAKSRLTISTKNQFSL
RLSSVTAADSAVYYCARNQYSYGYSFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 257)
>cl|FABBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_372
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVVRQAPGKGLEAVAIIVSSGSAYYATWAKGRFTISRDSSTL
FLQLNSLRVEDSGIYCAKNQYSYGYSFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 258)
>cl|GABBABABA|7|115>16_6_HC_humanized_1996>16_6_HC_humanized_230
>16_6_HC_humanized_2056>16_6_HC_humanized_672>16_6_HC_humanized_657
QSLFESGGRLLVTPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVVRQAPGKGLEWVSIIVSSGSAYYATWAKGRFTISRDNSTL
YLQMNSLRAEDTAVYYCARNQYSYGYSFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 259)
>cl|HABBABABA|2|115>16_6_HC_humanized_1907>16_6_HC_humanized_716
QSLFESGGGWVQPGRLSLRSCAASGSDISSYHMGWVVRQAPGKGLEWVGIIVSSGSAYYATWAKGRFTISRDNN
SLYLQMNSLRPEDTALYYCAKNQYSYGYSFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 260)
>cl|LABBABABA|3|115>16_6_HC_humanized_1945>16_6_HC_humanized_1451
>16_6_HC_humanized_65
QSLFESGGGLVKPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVVRQAPGKGLEWVGIIVSSGSAYYATWAKGRFTISRDST
VYLEMNSLKTEDTAVYYCATNQYSYGYSFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 261)
>cl|NABBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_1004
QSLFESGPRLVKPSQTLTCTVSGSDISSYHMGWVVRQPPGQGLEWIGIIVSSGSAYYATWARSRVISSTQNQVS
LKLTSVTAADTAVYYCARNQYSYGYSFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 262)
>cl|PABBABABA|13|115>16_6_HC_humanized_1971>16_6_HC_humanized_305
>16_6_HC_humanized_1877>16_6_HC_humanized_860>16_6_HC_humanized_283
VQLVESGGGVVQPGRLSLRSCAASGSDISSYHMGWVVRQAPGKGLEWVAIIVSSGSAYYATWAKGRFTISRDNS
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKNQYSYGYSFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 263)
```

Figure 8 (cont.)

【図 8 － 2 5】

```
>cl|QABBABABA|22|115>16_6_HC_humanized_802>16_6_HC_humanized_587
>16_6_HC_humanized_1012>16_6_HC_humanized_988>16_6_HC_humanized_129
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVVRQAPGKGLEWVSIIVSSGSAYYATWAKGRFTISRDNST
LYLQMNSLRAEDTAVYYCARNQYSYGYSFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 264)
>cl|RABBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_609
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTTSGSDISSYHMGWVVRQVPGKGLEWVSIIVSSGSAYYATWAKGRFTISRDNST
SYLQMTSLTPEDTAVYYCAKNQYSYGYSFWGQGTTVSVSS (SEQ ID NO: 265)
>cl|YABBABABA|4|115>16_6_HC_humanized_910>16_6_HC_humanized_218
>16_6_HC_humanized_912>16_6_HC_humanized_917
VQLQESGPRLVKPSQTLTCTVSGSDISSYHMGWIRQPPGKGLEWIGIIVSSGSAYYATWAKSRVTISTKNQLS
KLTSVTAADTAVYYCARNQYSYGYSFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 266)
>cl|GEBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_136
VQLQSQSGPLVKSTSETPLTCTVSGSDISSYHMGWIRQPPGKGLEWIGIIVSSGSAYYATWAKNRVTISTKNQFS
LKLSVTAADTALYYCARNQYSYGYSFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 267)
>cl|KEBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_109
VQLVESGPGVLKPSQTLTCTVSGSDISSYHMGWIRQPPGKGLEWIGIIVSSGSAYYATWAKSRLTMSVDTSNY
KLKSSVTAADTAVYYCARNQYSYGYSFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 268)
>cl|LEBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_103
VQLQSQSGPLVKPSGTLSTCDVSGSDISSYHMGWVVRQPPGKGLEWIGIIVSSGSAYYATWAKSRVTISTKNQF
SLRLTSVTAADTAVYYCARNQYSYGYSFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 269)
>cl|NEBBABABA|6|115>16_6_HC_humanized_902>16_6_HC_humanized_1982
>16_6_HC_humanized_734>16_6_HC_humanized_920>16_6_HC_humanized_149
VQLVESGPGVLKPSQTLTCTVSGSDISSYHMGWIRQPPGKGLEWIGIIVSSGSAYYATWAKSRVTISTKNQFS
LKLSVTAADTAVYYCARNQYSYGYSFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 270)
>cl|PEBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_851
VQLVQSGGGVVQPGGSLRVCAA5GSDISSYHMGWVVRQAPGKGLEWMAIIVSSGSAYYATWAKGRFTISRDN
STVSLQMSSLRAEDTAVYYCAKNQYSYGYSFWGRGTTLTVSS (SEQ ID NO: 271)
>cl|SEBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_926
VQLVESGPGVLKPSQTLTCTVSGSDISSYHMGWIRQHSOKTLEWIGIIVSSGSAYYATWAKSRVTISADTSKISL
KLSSVTAADTAVYYCARNQYSYGYSFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 272)
```

Figure 8 (cont.)

【図 8 － 2 6】

```
>cl|VEBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_904
VQLVESGPGVLKPSQTLTCTVSGSDISSYHMGWVVRQAPGKGLEWVSIIVSSGSAYYATWAKSRVTISADTSKVS
LELSPMTAADTAVYYCARNQYSYGYSFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 273)
>cl|WEBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_903
VQLQESGPGVLKPSQTLTCTVSGSDISSYHMGWVVRQPPGTGLEWIGIIVSSGSAYYATWAKSRVTISGDTSKFS
LMLRSVTAADTAVYYCARNQYSYGYSFWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO: 274)
>cl|YEBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_946
VQLVESGGGLIKPGGSLRLSCFVPGSDISSYHMGWVVRQPGRGLEWVGIIVSSGSAYYATWAKGRFTISRSKSTV
YLEMNAKLTEDTGIYYCVTNQYSYGYSFWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO: 275)
>cl|ZEBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_882
QSLFESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVVRQPPGKGLEWVGIIVSSGSAYYATWAKGRFTISRSKST
VYLQMNSLKTEDTAVYYCTANQYSYGYSFWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO: 276)
>cl|CIBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_2041
QSLVQSGTEVRKPGASVKVCSKASGSDISSYHMGWVVRQAPGQGLEWMIIVSSGSAYYATWAKGRVMTSDT
STTVYMLSSLTSEDTAIYYCARNQYSYGYSFWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO: 277)
>cl|KIBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_1944
QSLFESGGRLLVTPGTPLTCTVSGSDISSYHMGWVVRQPPGKGLEWIGIIVSSGSAYYATWAKNRVTISTKNQF
SLRLNSVTAADTAVYYCARNQYSYGYSFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 278)
>cl|LIBBABABA|4|115>16_6_HC_humanized_1895>16_6_HC_humanized_1992
>16_6_HC_humanized_1995>16_6_HC_humanized_1949
QSLFESGGRLLVTPGTPLTCTVSGSDISSYHMGWVVRQAPGKGLVWVSIIVSSGSAYYATWAKGRFTISRDNATL
YLQMNSLRAEDTAVYYCARNQYSYGYSFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 279)
>cl|SIBBABABA|2|115>16_6_HC_humanized_993>16_6_HC_humanized_994
VQLVESGGGLIQGPRPLRLSCSGSGSDISSYHMGWVVRQAPGKGLEWVGIIVSSGSAYYATWAKGRFTISRDSDV
VHLQMNSLRSFEDTAVYYCTRNOQYSYGYSFWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO: 280)
>cl|TIBBABABA|2|115>16_6_HC_humanized_956>16_6_HC_humanized_965
VQLQESGPGVLKPSQTLTCTVSGSDISSYHMGWVVRQHPGKGLEWIGIIVSSGSAYYATWAKSRLTISADTSNIQ
LRLSSVTAADTAVYYCARNQYSYGYSFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 281)
>cl|WIBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_278
VQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVVRQAPGKGLEWVGIIVSSGSAYYATWAKGRFTISRDST
LYLQVNSLKLTEDSAVYYCTTNQYSYGYSFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 282)
```

Figure 8 (cont.)

【図 8 － 2 7】

```
>cl|GOBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_1894
QSLFESGGRLLVTPGTPLTCTVSGSDISSYHMGWVVRQAPGKGLEWVSIIVSSGSAYYATWAKGRFTISRDNASL
YLQMNSLRAEDTAVYYCARNQYSYGYSFSDYWLTVTVSS (SEQ ID NO: 283)
>cl|MOBBABABA|3|115>16_6_HC_humanized_1917>16_6_HC_humanized_677
>16_6_HC_humanized_267
QSLFESGGGVVQPGRLSLRSCAASGSDISSYHMGWVVRQAPGKGLEWVAIIVSSGSAYYATWAKRFTISRDNST
LYLQMNSLRAEDTAVYYCARNQYSYGYSFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 284)
>cl|POBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_2038
QSLFESGGRLLVTPGTPLTCTVSGSDISSYHMGWVVRQAPGKGLEWVAIIVSSGSAYYATWAKGRFTISRDNASL
YLQMNSLRAEDTAVYYCARNQYSYGYSFPTSYYMDVS (SEQ ID NO: 285)
>cl|QOBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_23
QSLFESGGDLVQPGGSLRLSCFASGSDISSYHMGWVVRQAPGKGLEWVSIIVSSGSAYYATWAKGRFTISRDKSTL
FLQMHSRLVEDTAVYYCAKNQYSYGYSFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 286)
>cl|VOBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_1013
VQLVQSGGGVVQPGRLSLRSCFVSGSDISSYHMGWVVRQAPGKGLEWVAIIVSSGSAYYATWAKGRFTISRSNN
TLYLQMNSLTAEDTALYFCARNQYSYGYSFWGKGTTLTVSS (SEQ ID NO: 287)
>cl|YOBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_113
LQLQESGPGVLKPSQTLTCTVSGSDISSYHMGWVVRQHPGKGLEWIGIIVSSGSAYYATWAKSRITISTKNQFSL
KLTSVTAADTALYYCARNQYSYGYSFWGRGTTLTVSS (SEQ ID NO: 288)
>cl|HUBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_12
VQLVQSGGGVVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVVRQAPGKGLEWVAIIVSSGSAYYATWAKGRVITISRDN
STVHLQITLSKEDTAVYYCAKNQYSYGYSFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 289)
>cl|LUBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_273
VQLVQSGGGVLQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVVRQASGKGLEWIGIIVSSGSAYYATWAKGRFTISRDSQNL
SVFLQMNSLLETEDTAVYYCARNQYSYGYSFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 290)
>cl|NUBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_879
QSLFESGGGLVQPGGSLRLSCTASGSDISSYHMGWVVRQAPGKGLEWVSIIVSSGSAYYATWAKGRFTISRDSSTL
YLQMNNLRVEDTALYYCAHNQYSYGYSFWGRGTQVTVSS (SEQ ID NO: 291)
>cl|TUBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_1934
QSLFESGGRLLVTPGTPLTCTVSGSDISSYHMGWVVRQAPGKGLEWVSIIVSSGSAYYATWAKGRFTISRDNASL
YLQMNSLRAEDTAVYYCARNQYSYGYSFIDYVTVTVSS (SEQ ID NO: 292)
```

Figure 8 (cont.)

【図 8－2 8】

```
>c|VUBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_200
VQLQESGPGLVKPSFETLSLTCVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWIGIIVSSGSAYYATWARSVRTMSMKNKH
FSLKLRSVTAADTAVVFCARNQYSYGYGFSFWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 293)
>c|VUBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_1977
QSLFESGGRLVTPGTLTLCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIVSSGSAYYATWAKGRFTISRKNLT
YLOMNSLRAEDTAVVYFCARNQYSYGYGFSFCTPYFDYWVSS (SEQ ID NO: 294)
>c|XUBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_2027
QSLFESGGRLVTPGTLTLCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIVSSGSAYYATWAFGRFTISRDNSTL
YQMYSRLTEDTAVVYFCARNQYSYGYGFSFYFGMGVWVSS (SEQ ID NO: 295)
>c|YUBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_1958
VHLVESGGGVQPGRLSLRSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIVSSGSAYYATWAEGRFTISRDN
KLYLQMNSLRAEDSATVYFCARNQYSYGYGFSFFGPPYYYYMS (SEQ ID NO: 296)
>c|BACBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_1905
QSLFESGGRLVTPGTLTLCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIVSSGSAYYATWAKGRFTISRDNSTL
YLOMNSLRAEDTALYFCARNQYSYGYGFSVRGGYFYHMS (SEQ ID NO: 297)
```

Figure 8 (cont.)

【図 8－2 9】

16－6 VLヒト化配列 ― 90%でクラスター化したIMGT－LigM DB (Abysis)
(21個の配列)

```
>c|CACBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_586
IVLTQTSPSSLASVGDRTITCQSSHVSYYGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSPRFSRSGTDFTTIS
SLRPEDIATYYCLGGYDDDGETAFFGGGTVKEIK (SEQ ID NO: 298)
>c|DACBABABA|27|110>16_6_LC_humanized_411>16_6_LC_humanized_1004
>16_6_LC_humanized_587>16_6_LC_humanized_305>16_6_LC_humanized_988
IVLTQSPSSLASVGDRTITCQSSHVSYYGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSPRFSRSGSGTDFTLTIS
SLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFFGGGTVKEIK (SEQ ID NO: 299)
>c|FACBABABA|15|110>16_6_LC_humanized_372>16_6_LC_humanized_1877
>16_6_LC_humanized_1012>16_6_LC_humanized_860>16_6_LC_humanized_283
IQLTQSPSSLASVGDRTITCQSSHVSYYGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSPRFSRSGSGTEFTLTIS
SLQPDDEFATYYCLGGYDDDGETAFFGGGTVKEIK (SEQ ID NO: 300)
>c|GACBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_1996
VVLQTPTSPVSTAVGGTVTLTSCSSHVSYYGDWLAWYQKPGQAPRLLIYRASNLASGIPDRFSGSGTDFTLT
ISRLEPDFAVYYCLGGYDDDGETAFFGGTEVVVK (SEQ ID NO: 301)
>c|HACBABABA|2|110>16_6_LC_humanized_1907>16_6_LC_humanized_716
LVMTQSPSSLASVGDRTITCQSSHVSYYGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSPRFSRSGSGTEFTLT
ISLQSGEDFATYYCLGGYDDDGETAFFGGGTTVDVK (SEQ ID NO: 302)
>c|LCBABABA|2|110>16_6_LC_humanized_1945>16_6_LC_humanized_1451
VELTQPPSPVSAAPGQKVTITCQSSHVSYYGDWLAWYQQLPGTAPKLLIYRASNLASGIPDRFSGSGSGTSATLGI
TGLQTGDEADYVCLGGYDDDGETAFFGGGTRTLVL (SEQ ID NO: 303)
>c|PACBABABA|10|110>16_6_LC_humanized_1971>16_6_LC_humanized_2041
>16_6_LC_humanized_2038>16_6_LC_humanized_2008>16_6_LC_humanized_1992
VVLQTPTSPVSTAVGGTVTLTSCSSHVSYYGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSPRFSRSGSGTDFTLT
ISSLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFFGGTEVVVK (SEQ ID NO: 304)
>c|QACBABABA|5|110>16_6_LC_humanized_802>16_6_LC_humanized_609
>16_6_LC_humanized_851>16_6_LC_humanized_908>16_6_LC_humanized_108
VVMTQSPSSLASVGDRTITCQSSHVSYYGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSPRFSRSGSGTDFTLT
ISSLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFFGGGTVKEIK (SEQ ID NO: 305)
>c|CECBABABA|7|110>16_6_LC_humanized_253>16_6_LC_humanized_103
>16_6_LC_humanized_882>16_6_LC_humanized_1982>16_6_LC_humanized_734
IVLTQSPSSLASVGDRTITCQSSHVSYYGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSPRFSRSGSGTEFTLTIS
SLQPEDSATYYCLGGYDDDGETAFFGGGTVKEIK (SEQ ID NO: 306)
```

Figure 8 (cont.)

【図 8－3 0】

```
>c|KECBABABA|2|110>16_6_LC_humanized_109>16_6_LC_humanized_334
IQLTQSPSPVSVASVGDRTITCQSSHVSYYGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSPRFSRSGSGTDFTLTIS
SLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFFGGGTVKEIK (SEQ ID NO: 307)
>c|RECBABABA|2|110>16_6_LC_humanized_17>16_6_LC_humanized_21
IQLTQSPSSLASVGDRTITACQSSHVSYYGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSPRFSRSGSGTDFTLSI
SSLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFFGGGTVQMK (SEQ ID NO: 308)
>c|DICBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_202
IRMTQSPSSLASVGDRTITCQSSHVSYYGDWLAWYQKPGKVPKLLIYRASNLASGVPSPRFSRSGSGTDFTLTIS
SSLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFFGGTKVVVK (SEQ ID NO: 309)
>c|FICBABABA|14|110>16_6_LC_humanized_192>16_6_LC_humanized_956
>16_6_LC_humanized_230>16_6_LC_humanized_880>16_6_LC_humanized_2056
VVLQSPSSLASVGDRTITCQSSHVSYYGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSPRFSRSGSGTDFTLTIS
SSLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFFGGGTVKEIK (SEQ ID NO: 310)
>c|NICBABABA|2|110>16_6_LC_humanized_1938>16_6_LC_humanized_762
VELTQSPDSLAVSLGERATINCQSSHVSYYGDWLAWYQKPGQPPKLLIYRASNLASGVPDRFSGSGTDFTLT
ISSLQAEADVAVYYCLGGYDDDGETAFFGGGTVKEIK (SEQ ID NO: 311)
>c|WICBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_278
LVLTQSPSSLASVGDRTITCQSSHVSYYGDWLAWCQKPGKPSLTLLIYRASNLASGVPSPRFSRSGSGTGFTLTIS
SGLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFFGGGTVKEIR (SEQ ID NO: 312)
>c|YICBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_169
IVLTQSPSPVSAFVGDRTITCQSSHVSYYGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSPRFSRSGSGTEFTLTIS
GLQPEDFASYYCLGGYDDDGETAFFGGGTVLEIK (SEQ ID NO: 313)
>c|GOCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_1894
VVLQTPTSPVSTAVGGTVTLTSCSSHVSYYGDWLAWYQKPGKVPKLLIYRASNLASGVPSPRFSRSGSGTDFTLTIS
SSLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFFGGTEVVVK (SEQ ID NO: 314)
>c|LOCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_657
VVLQTPTSPVSTVSGDRVTITCQSSHVSYYGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSPRFSRSGSGTDFTLTIS
TSLOPVDVFATYYCLGGYDDDGETAFFGGTVDVAK (SEQ ID NO: 315)
>c|YQCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_113
IVLTQSPSPVSVASVGDRTITCQSSHVSYYGDWLAWYQKPGKAPKLLINRASNLASGVPSPRFSRSGSGTDFTLTIS
SGLQPEDFATYYCLGGYDDDGETAFFGGTVDIK (SEQ ID NO: 316)
>c|MUCBABABA|3|110>16_6_LC_humanized_2032>16_6_LC_humanized_200
>16_6_LC_humanized_1905
VVLQTPTSPVSTAVGGTGTCQSSHVSYYGDWLAWYQKPGQPPKLLIYRASNLASGVPDRFSGSGSGTDFTLT
TISSLQAEADVAVYYCLGGYDDDGETAFFGGGTVVVK (SEQ ID NO: 317)
>c|RUCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_1995
VVLQTPTSPVSTAVGGTVTINCQSSHVSYYGDWLAWYQKPGQPKLLIYRASNLASGVPDRFSGSGSGTDFTLT
TISSLQAEADVAVYYCLGGYDDDGETAFFGGGTEVVVK (SEQ ID NO: 318)
```

Figure 8 (cont.)

【図 8－3 1】

16－6 VHヒト化配列 ― 95%でクラスター化したIMGT－LigM DB (Abysis)
(81個の配列)

```
>c|CABBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_586
VQLQESGGGVVQPGTSLRLSCVVSIGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIVSSGSAYYATWAKGRFTISRKNST
LFLKMNSLRADDTAVVYFCARNQYSYGYGFSFWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 319)
>c|FABBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_411
LQLQESGPRLVKPSFETLSLTCVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWIGIIVSSGSAYYATWAKSRLTMSTSKNQFS
LRLSVTAADSAVVYFCARNQYSYGYGFSFWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 320)
>c|FABBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_372
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEFAIVSSGSAYYATWAKGRFTISRDNSTL
FLQLNSLRVEDSGIYCAKNQYSYGYGFSFWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 321)
>c|GABBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_1996
QSLFESGGRLVTPGGSRLRSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVIGIIVSSGSAYYATWAKGRFTISRDNST
LYLQMNSLRVEDTARYYFCARNQYSYGYGFSFWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 322)
>c|HABBABABA|2|115>16_6_HC_humanized_1907>16_6_HC_humanized_716
QSLFESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVIGIIVSSGSAYYATWAKGRFTISRDN
SLYLQMNSLRPEDTALYCAKNQYSYGYGFSFWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 323)
>c|LABBABABA|2|115>16_6_HC_humanized_1945>16_6_HC_humanized_1451
QSLFESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVIGIIVSSGSAYYATWAKGRFTISRDNST
VYLEMNSLKTEDTAVVYCATNQYSYGYGFSFWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 324)
>c|NABBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_1004
QSLFESGPRLVKPSFETLSLTCVSGSDISSYHMGWVRQPPGQGLEWIGIIVSSGSAYYATWARSRVISSTQSNQVS
LKLTSTVTAADTAVVYFCARNQYSYGYGFSFWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 325)
>c|PABBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_1971
VQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIVSSGSAYYATWAKGRFTISRDNST
LYLQLSLRNEDTAVVYCAKNQYSYGYGFSFWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 326)
>c|QABBABABA|2|115>16_6_HC_humanized_802>16_6_HC_humanized_988
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVIGIIVSSGSAYYATWAKGRFTISRDN
LYLQMNSLRVEDTAVVYFCARNQYSYGYGFSFWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 327)
>c|RABBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_609
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCCTTSGSDISSYHMGWVRQVPKGKLEWVIVSSGSAYYATWAKGRFTISRDNST
SYLQMTSLTPEDTAVVYCAKNQYSYGYGFSFWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 328)
>c|SABBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_587
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVVSIGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVIVSSGSAYYATWAKGRFTISRDN
LFLQMNSLRADDTALYFCARNQYSYGYGFSFWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 329)
```

Figure 8 (cont.)

【图 8-3-3】

<c>|LEBBABAB|1|115>+16_6_HC_humanized_103
VQLVSGGGVLKPGVSGSLTCTVSGSDSISSYHMGWVRQPGKGLWIGIIVSSGSAYYATWAKSRVTISKKNQF
SURLTSYTAADTAVYACARNQSYSGYGSFVGQGLTIVTSS (SEQ ID NO: 340)
<c>|MEBBABABA|1|115>+16_6_HC_humanized_954
VQLVSGGGVVGPGRLSLRSLCAASGSDSISSYHMGWVRQAPGKGLWVWAIIVSSGSAYYATWAKGRFTSRDNS
TLYLQNMNSLRADTAVYCAKNQSYSGYGSFVGQGLTIVTSS (SEQ ID NO: 341)
<c>|NEBBABABA|1|115>+16_6_HC_humanized_902
VQLVSGGVLKPGVSGSLTCTVSGSDSISSYHMGWVRQPPRGLWIGIIVSSGSAYYATWAKSRVLTSSKNQF
SKLNSVTADTAVYACARNQSYSGYGSFVGQGLTIVTSS (SEQ ID NO: 342)
<c>|PEBBABABA|1|115>+16_6_HC_humanized_851
VQLVSGGGVVGPGSLRSLCAASGSDSISSYHMGWVRQAPGKGLWMAIIVSSGSAYYATWAKGRFTSRDN
STVSLQMSLRADTAVYCAKNQSYSGYGSFVGWRGLTIVTSS (SEQ ID NO: 343)
<c>|REBBABABA|1|115>+16_6_HC_humanized_17
VQLVSGGGVLKPGGRLSLRSLCAASGSDSISSYHMGWVRQAPGRGLWVWSIIVSSGSAYYATWAKGRFTSRDNA
TLYLQNMNLRADTAVYACARNQSYSGYGSFVGQGLTIVTSS (SEQ ID NO: 344)
<c>|SEBBABABA|1|115>+16_6_HC_humanized_926
VQLVSGGVLKPGVSGSLTCTVSGSDSISSYHMGWIRQSGTKLEWIGIIVSSGSAYYATWAEFRVTSIDATSKISL
KLSSVTAADTAVYACARNQSYSGYGSFVGQGLTIVTSS (SEQ ID NO: 345)
<c>|TEBBABABA|1|115>+16_6_HC_humanized_908
VQLVSGGGVLKPGVSGSLRSLCAASGSDSISSYHMGWVRQAPGKGLWIIIVSSGSAYYATWAKGRFTSRDNASL
YQNMNSLRADTAVYCAKNQSYSGYGSFVGQGLTIVTSS (SEQ ID NO: 346)
<c>|VEBBABABA|1|115>+16_6_HC_humanized_904
VQLVSGGGVLKPGVSGSLTCTVSGSDSISSYHMGWVRQSPGKGLWIGIIVSSGSAYYATWAKSRVTSIDATSKIS
LELSPMTAADTAVYACARNQSYSGYGSFVGQGLTIVTSS (SEQ ID NO: 347)
<c>|WBBABABA|1|115>+16_6_HC_humanized_903
VQLVSGGVLKPGVSGSLTCTVSGSDSISSYHMGWVRQPTGLEWIGIIVSSGSAYYATWAKSRVTISDQSKFS
LMLRSVTAADTAVYACARNQSYSGYGSFVGQGLTIVTSS (SEQ ID NO: 348)
<c>|XEBBABABA|1|115>+16_6_HC_humanized_108
VQLVSGGGVLKPGSLRSLCAASGSDSISSYHMGWVRQAPGKGLWIIIVSSGSAYYATWAKGRFTSRDNASL
FLQNMNSLRADTAVYCAKNQSYSGYGSFVGQGLTIVTSS (SEQ ID NO: 349)
<c>|YEBBABABA|1|115>+16_6_HC_humanized_946
VQLVSGGGVLKPGVSLRSLCVPGSDSISSYHMGWVRQGRGLWVWIIIVSSGSAYYATWARGFTSRISKSTV
YLEMNAKLTEDTIGYCNQSYSGYGSFVGQGLTIVTSS (SEQ ID NO: 350)

Figure 8 (cont.)

【图 8-35】

>>>|SIBBABA|1|115>16_6_HC_humanized_993
VQLVSGGGILQGPGRSLRSCSGSDISSYHMGWVRQAPGKLEWGVIISSGSAYYATWAKGRFTISRDDSV
VHLQMNLSRSEDATVAYYCTNRQYSGYGSFVWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO: 362)
>>>|TIBBABA|1|115>16_6_HC_humanized_956
VQLQSGGVLKPSQTLSTLCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKLEWGVIISSGSAYYATWAERLTISEDSTNIQ
LRLTSTVTAADTAYVFCARNQYSGYGSFVWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO: 363)
>>>|VIBBABA|1|115>16_6_HC_humanized_920
VQLQSGGVLKPSQTLSTLCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKLEWGVIISSGSAYYATWAKRSFTISKNQFSL
KYDVSVAADTAYVVCARNQYSGYGSFVWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO: 364)
>>>|WIBBABA|1|115>16_6_HC_humanized_278
VQLVSGGGVLKPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKLEWGVIISSGSAYYATWAKGRFTISRDDST
LYLQVNSLKTEDSAVYCTTNQYSGYGSFVWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO: 365)
>>>|YIBBABA|1|115>16_6_HC_humanized_169
VQLVSGGGVLQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKLEWGVIISSGSAYYATWAKGRFTISRDNST
LYLQMDSLRAEDATYVYCAKNQYSGYGSFVWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO: 366)
>>>|ZIBBABA|1|115>16_6_HC_humanized_994
VQLVSGGGILQGPGRSLRSCSGSDISSYHMGWVRQAPGKLEWGVIISSGSAYYATWAKGRFTISRDDSV
VYLQMNLSRSEDATVAYYCTNRQYSGYGSFVWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO: 367)
>>>|BOBBABA|1|115>16_6_HC_humanized_975
VQLVSGGGVVRPGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKLEWGVIISSGSAYYATWAKGRFTISRDN
SLYLEMNSLRADETALYFCARNQYSGYGSFVWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO: 368)
>>>|DOBBABA|1|115>16_6_HC_humanized_230
QSLSESGGVLQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKLEWGVIISSGSAYYATWAKGRFTISRDNST
LYLQMNLSRADETALYVCAKNQYSGYGSFVWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO: 369)
>>>|GOBBABA|1|115>16_6_HC_humanized_1894
QSLSESGGRVLTPGTPLTSLTSGSDISSYHMGWVRQAPGKLEWGVIISSGSAYYATWAKGRFTISRDNASL
LYLQMNLSRADETAYVVCARNQYSGYGSFVWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO: 370)
>>>|HOBBABA|1|115>16_6_HC_humanized_2056
VQLVSGGGILQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKLEWGVIISSGSAYYATWAKGRFTISRDNSTL
YLQMNLSRADETAYVVCARNQYSGYGSFVWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO: 371)
>>>|LOBBABA|1|115>16_6_HC_humanized_55
QSLSESGRVLTPGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKLEWGVIISSGSAYYATWAKGRFTISRDNSSL
LYLQMNLSRDETALYCALYNQYSGYGSFVWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO: 372)

Figure 8 (cont.)

【図 8－3 6】

>c|MOBBABABA|2|115>16_6_HC_humanized_1917>16_6_HC_humanized_677
QSLEESGGGVVQPGSRLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIVSSGSAYYATWAKRFTISRDNST
LYLQMNSLRAEDTAVVYCARNQSYGYGFSFWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 373)
>c|POBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_2038
QSLEESGGRLVTPGTPLTLCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIVSSGSAYYATWAKRFTISRDNASL
YLQMNSLRAEDTAVVYCARNQSYGYGFSFPTSGYYMDVS (SEQ ID NO: 374)
>c|QOBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_23
QSLLESGGDLVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIVSSGSAYYATWAKRFTISRDKSTL
FLQMHSRLVEDTAVVYCAKNQSYGYGFSFWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 375)
>c|ROBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_21
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEFVSIIVSSGSAYYATWAKDRFTISRDNSTV
YLQMDSLRTEDTAMVFCARNQSYGYGFSFWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 376)
>c|SOBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_469
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIVSSGSAYYATWAKRFTISRDNST
LFHIMSSLRGEDTAIYCARNQSYGYGFSFWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 377)
>c|TOBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_2008
QSLEESGGRLVTPGTSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIVSSGSAYYATWAKRFTISRDNSTV
YLQMNSLRAEDTAVVYCARNQSYGYGFSFWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 378)
>c|VOBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_1013
VQLVQSGGGVVQPGSRLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIVSSGSAYYATWAKRFTISRNN
TLYLQMNSLTAEDTALYFCARNQSYGYGFSFWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 379)
>c|XOBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_149
VQLVQSGGGLVKPSTRLSLCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWIGIIVSSGSAYYATWQNRITLSTKKNQFS
LKLASVTAADTAVVYCARNQSYGYGFSFWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 380)
>c|YOBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_113
LQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWIGIIVSSGSAYYATWAKSRITLSTKKNQFS
KLTSVTAADTALYFCARNQSYGYGFSFWGRTLVTVSS (SEQ ID NO: 381)
>c|BUBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_965
VQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWIGIIVSSGSAYYATWAKSRVTISADTSKIS
LKLSSVTAADTAVVYCARNQSYGYGFSFWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 382)
>c|CUBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_912
VQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWIGIIVSSGSAYYATWAKSRVLSTKKNQFS
LKLSSVTAADTAVVYCARNQSYGYGFSFWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 383)

Figure 8 (cont.)

【図 8－3 7】

>c|HUBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_12
VQLVQSGGGVVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIVSSGSAYYATWAKGRVTISRDN
STVHLQITSLKSEDTAVVYCAKNQSYGYGFSFWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 384)
>c|KUBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_924
VQLVESGPGLVKPSQTLSTCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWIGIIVSSGSAYYATWAKSRVTISTSKNOV
SLKLSPTVGADTAVVYCARNQSYGYGFSFWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 385)
>c|LUBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_273
VQLVQSGGGVLVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQASGKGLEWIGIIVSSGSAYYATWAKGRFTVSRQIN
SVFLQMNSLTEDTAVVYCARNQSYGYGFSFWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 386)
>c|MUBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_2032
QSLEESGGRLVTPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIVSSGSAYYATWAEGRFTISRDNATL
YLQMNSLRVEDTAVVYCATNQSYGYGFSFWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 387)
>c|NUBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_879
QSLEESGGGLVQPGGSLRLSCTASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIVSSGSAYYATWAKRFTISRDSSTL
YLQMNMLRVEDTALYCAHNQSYGYGFSFWGRGTQTVTVSS (SEQ ID NO: 388)
>c|PUBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_267
QSLEESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIVSSGSAYYATWAKRFTISRDNAS
LFQLMNMLRVEDTAVVYCARNQSYGYGFSFWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 389)
>c|QUBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_1992
QSLEESGGRLVTPGTPLTLCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLVVAIVSSGSAYYATWAKRFTISRDNATL
YLQMNMLRVEDTAVVYCARNQSYGYGFSFWGRTLVTVSS (SEQ ID NO: 390)
>c|RUBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_1995
QSLEESGGRLVTPGTPLTLCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIVSSGSAYYATWAKRFTISRDNSTL
YLQMNSLRAEDTAVVYCAKNQSYGYGFSFWGRTLVTVSS (SEQ ID NO: 391)
>c|SUBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_917
VQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWIGIIVSSGSAYYATWARSRITISSETSKNLS
KLTSVTAADTAVVYCARNQSYGYGFSFWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 392)
>c|TUBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_1934
QSLEESGGRLVTPGTPLTLCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIVSSGSAYYATWAKRFTISRDNASL
YLQMNMLRVEDTAVVYCARNQSYGYGFSFGIDYVTVTVSS (SEQ ID NO: 393)
>c|VUBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_200
VQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWIGIIVSSGSAYYATWARSRVTMSMSKNH
FSKLRSVTAADTAVVYCARNQSYGYGFSFWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 394)

Figure 8 (cont.)

【図 8－3 8】

>c|WUBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_1977
QSLEESGGRLVTPGTPLTLCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIVSSGSAYYATWAKRFTISRKNL
YLQMNMLRAEDTAVVYCARNQSYGYGFSFCTPYFDVWVS (SEQ ID NO: 395)
>c|XUBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_2027
QSLEESGGRLVTPGTPLTLCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIVSSGSAYYATWAEGRFTISRDNSTL
YLQMYSLRTEDTAVVYCARNQSYGYGFSFYHMGWVRQAPGKGLEWVAIVSSGSAYYATWAEGRFTISRDNSTL
KLYLQMNMLRAEDTAVVYCARNQSYGYGFSFFGPYYYYMS (SEQ ID NO: 397)
>c|ZUBBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_1949
QSLLESGGRLVTPGTPLTLCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIVSSGSAYYATWAKRFTISRDNSTLY
LQMNMLRAEDTAVVYCVKNQSYGYGFSFWGRTLVTVSS (SEQ ID NO: 398)
>c|BACBABABA|1|115>16_6_HC_humanized_1905
QSLEESGGRLVTPGTPLTLCTVSGSDISSYHMGWVRQAPGKGLEWVAIVSSGSAYYATWAKRFTISRDNSTL
YLQMNMLRAEDTALYFCARNQSYGYGFSFVGGYFHHMDS (SEQ ID NO: 399)

Figure 8 (cont.)

【図 8－3 9】

16-6 VLト化配列 ー 95%でクラスター化したIMG-T-LigM DB (Abysis)
(64個の配列)

>c|CACBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_586
IVLTQTPSSLSASVGDRTITCQSSHVSYYGDWLAWYQKPKAPKLLIYRASNLASGVPSPRFSGSGSDFTFTIS
SLRPEDIAATYCLGGYDDGGETAFGGGTVK (SEQ ID NO: 400)
>c|DACBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_411
IVLTQSPSSLSASVGDRTITCQSSHVSYYGDWLAWYQKPKAPKLLIYRASNLASGVPSPRFSGSGSDFTFTI
SSLQPEDFATYCLGGYDDGGETAFGGGTRVEIK (SEQ ID NO: 401)
>c|FACBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_372
IQLTQSPSTLSASVGDRTITCQSSHVSYYGDWLAWYQKPKAPKLLIYRASNLASGVPSPRFSGSGSGTEFTLIS
SLOPDFFATYCLGGYDDGGETAFGGGTVK (SEQ ID NO: 402)
>c|GACBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_1996
VVLITQTPSPVSTAVGGTVTLSCQSSHVSYYGDWLAWYQKPKAPKLLIYRASNLASGVPSPRFSGSGSGTDFLT
ISRLPEDFATYCLGGYDDGGETAKPGTEVVVK (SEQ ID NO: 403)
>c|HACBABABA|2|110>16_6_LC_humanized_1907>16_6_LC_humanized_716
LVMTQSPSSLSASVGDRTITCQSSHVSYYGDWLAWYQKPKAPKLLIYRASNLASGVPSPRFSGSGSGTEFTLT
ISGLQSEDFATYCLGGYDDGGETAFGGGTVK (SEQ ID NO: 404)
>c|IACBABABA|2|110>16_6_LC_humanized_1945>16_6_LC_humanized_1451
VELTQPPSPVASAPGQKVTISCQSSHVSYYGDWLAWYQKPKAPKLLIYRASNLASGVPSPRFSGSGSGTSATLGI
TGLTQGDFAATYCLGGYDDGGETAFGGGTRTLVL (SEQ ID NO: 405)
>c|NACBABABA|2|110>16_6_LC_humanized_1004>16_6_LC_humanized_283
IQLTQSPSSVSASVGDRTITCQSSHVSYYGDWLAWYQKPKAPKLLIYRASNLASGVPSPRFSGSGSGTDFALT
SSLQPEDFATYCLGGYDDGGETAFGGGTRLEIK (SEQ ID NO: 406)
>c|PACBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_1971
VVLITQTPSPVSTAVGGTVTLTQSSHVSYYGDWLAWYQKPKAPKLLIYRASNLASGVPSPRFSGSGSGTDFLT
SSLQPEDFATYCLGGYDDGGETAFGGGTEVVVK (SEQ ID NO: 407)
>c|QACBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_802
IRMTQSPSPSASTGDRVTITCQSSHVSYYGDWLAWYQKPKAPKLLIYRASNLASGVPSPRFSGSGSGTDFLT
SCLQSEDFATYCLGGYDDGGETAFGGGTVK (SEQ ID NO: 408)
>c|RACBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_609
IRLTQSPSFLSASVGDRTITCQSSHVSYYGDWLAWYQKPKAPKLLIYRASNLASGVPSPRFSGSGSGTDFLTIS
TLQPEDFATYCLGGYDDGGETAFGGGTVK (SEQ ID NO: 409)

Figure 8 (cont.)

【図 8－4 0】

>c|j|SACBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_587
VVMTQSPSSLASVGDRTVITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKAPKNLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTEFTLT
ISSLPQDFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 410)
>c|j|TACBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_305
IQLTQSPSSLASVGDRTVITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTI
SSLQPEDSFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 411)
>c|j|VACBABABA|12|110>16_6_LC_humanized_1877>16_6_LC_humanized_860
>16_6_LC_humanized_213>16_6_LC_humanized_902>16_6_LC_humanized_334
IQLTQSPSSLASVGDRTVITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTI
SSLQPEDSFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 412)
>c|j|WACBABABA|2|110>16_6_LC_humanized_1012>16_6_LC_humanized_65
IQLTQSPSTLSASVGDRTVITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTEFTLTIS
SLQPDDFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 413)
>c|j|XACBABABA|6|110>16_6_LC_humanized_988>16_6_LC_humanized_910
>16_6_LC_humanized_956>16_6_LC_humanized_2056>16_6_LC_humanized_672
IVLTQSPSSLASVGDRTVITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS
SLQPEDFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGKTRLEIK (SEQ ID NO: 414)
>c|j|CECBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_253
IVLTQSPSAMSASVGDRTVITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTEFTLTI
SSLQPEDSFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGKVDIK (SEQ ID NO: 415)
>c|j|DECBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_218
IVMTQSPSSLASVGDRTVITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKVPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTI
SSLQPEDFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 416)
>c|j|GECBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_136
VVMTQSPSTLSASVGDRTVITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTEFTL
TISSLPQPDFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGKVDIK (SEQ ID NO: 417)
>c|j|HECBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_129
IVMTQSPSSLASVGDRTVITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTI
SSLQPDDFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 418)
>c|j|KECBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_109
IQLTQSPSSVASVGDRTITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS
SLQPEDFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 419)

Figure 8 (cont.)

【図 8－4 1】

>c|j|LECBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_103
IVLTQSPSTLSASVGDRTVITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTEFTLSI
NSLPQDDSFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 420)
>c|j|MECBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_954
IVLTQSPSTLSASVGDRTVITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTEFTLTIS
SLQPDDFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGKAEIK (SEQ ID NO: 421)
>c|j|PECBABABA|3|110>16_6_LC_humanized_851>16_6_LC_humanized_908
>16_6_LC_humanized_912
VVMTQSPSSLASVGDRTVITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISSLPQDFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 422)
>c|j|RECBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_17
IQLTQSPSSLASVGDRTVITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLSI
SSLQPDFAFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGKVKQMK (SEQ ID NO: 423)
>c|j|XECBABABA|2|110>16_6_LC_humanized_108>16_6_LC_humanized_946
IVLTQSPSSVASVGDRTVITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTI
SSLQPEDFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 424)
>c|j|ZECBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_882
VVLQTQSPSSLASVGDRTVITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTDFTFTI
SSLQPEDSFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 425)
>c|j|BICBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_186
IQLTQSPSTLSASVGDRTVITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTEFTLTIS
SLQPDDFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGKVVVK (SEQ ID NO: 426)
>c|j|CICBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_2041
VVLTOTPSPVSTAVGGTVTITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISLQSEDFAFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGTEVVVK (SEQ ID NO: 427)
>c|j|DICBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_202
IRMTQSPSSLASVGDRTVITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKVPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTI
SSLQPDFAFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGKVVVK (SEQ ID NO: 428)
>c|j|FICBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_192
VVMTQSPSSLASVGDRTVITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISSLQAEODFTTYYCLGGYDDDGGETAFGGGKVEFK (SEQ ID NO: 429)
>c|j|GICBABABA|2|110>16_6_LC_humanized_1982>16_6_LC_humanized_734
VELTQSPSSVASVGDRTVITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLSI
SSLQPEDSFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 430)

Figure 8 (cont.)

【図 8－4 2】

>c|j|KICBABABA|2|110>16_6_LC_humanized_1944>16_6_LC_humanized_1895
IELTQSPSTLSASVGDRTVITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTEFTLTIN
SLQPDFAFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGKVDIK (SEQ ID NO: 431)
>c|j|NICBABABA|2|110>16_6_LC_humanized_1938>16_6_LC_humanized_762
VELTQSPDLSAVSLGERATINCOSSHSHVYGGDWLAWYQKPGQPPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISSLQAEADVAVYYCLGGYDDDGGETAFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 432)
>c|j|QICBABABA|2|110>16_6_LC_humanized_2031>16_6_LC_humanized_621
VELTQSPSSLASVGDRTVITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTI
SSLQPEDFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 433)
>c|j|SICBABABA|4|110>16_6_LC_humanized_993>16_6_LC_humanized_880
>16_6_LC_humanized_23>16_6_LC_humanized_917
VVLTTQSPSSLASVGDRTVITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTI
SSLQPEDFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGKVDIK (SEQ ID NO: 434)
>c|j|VICBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_920
IVMTQSPSSLASVGDRTVITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTI
SSLQPEDFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 435)
>c|j|WICBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_278
LVLTQSPSSLASVGDRTVITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTGFTLTI
SGLQPEDFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 436)
>c|j|YICBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_169
IVLTQSPFSLFAVGDRTITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTEFTLTIS
GLQPEDFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 437)
>c|j|ZICBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_994
IVLTQSPSSLASVGDRTVITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKVPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS
SLQPEDFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 438)
>c|j|BOCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_975
IVLTQSPSTQASVGDRTVITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTEFTLTI
SSLQPDFAFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 439)
>c|j|DOCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_230
VVLTTQTPSPVASVGDRTVITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISTLQPEDFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 440)
>c|j|GOCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_1894
VVLTTQTPSPVSTAVGDRTVITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKVPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTI
SSLQPEDFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGTEVVVK (SEQ ID NO: 441)

Figure 8 (cont.)

【図 8－4 3】

>c|j|LOCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_657
VVLTTQTPSPVSTVSGDRVITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTDFTI
TSLQPVDFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGTVDAK (SEQ ID NO: 442)
>c|j|MOCBABABA|2|110>16_6_LC_humanized_1917>16_6_LC_humanized_677
VVLTTQSPSFLASVGDRTVITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTEFTL
SSLQ
PEDFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGKTRLEIK (SEQ ID NO: 443)
>c|j|POCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_2038
VVLTTQTPSPVSTAVGGRTVITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTEFT
ISLQDKPFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGTEVVVK (SEQ ID NO: 444)
>c|j|ROCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_21
IQMTQSPSSLASVGDRTVITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTDFT
ISSLQPEDFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGKVEVK (SEQ ID NO: 445)
>c|j|SOCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_469
IVLTQSPSSLASVGDRTVITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTEFTLTI
LQPEDFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGKVDIK (SEQ ID NO: 446)
>c|j|TOCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_2008
VVLTTQTPSPVSTAVGGRTVITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTDFT
IGSLQPEDFAAYFLGGYDDDGGETAFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 447)
>c|j|WOCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_168
IVMTQSPSTLSASVGDRTVITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTEFTI
SGLQPEDFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 448)
>c|j|XOCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_149
IVLTQSPSSLASVGDRTVITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTEFTL
GLQPEDFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 449)
>c|j|YOCBABABA|1|110>16_6_LC_humanized_113
IVLTQSPSSVASVGDRTVITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLT
SGLQPEDFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGTVVDIK (SEQ ID NO: 450)
>c|j|ZOCBABABA|4|110>16_6_LC_humanized_978>16_6_LC_humanized_965
>16_6_LC_humanized_924>16_6_LC_humanized_879
IVLTQSPSSLASVGDRTVITCQSSHSHVYGGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTDFTL
SLQPEDFATYYCLGGYDDDGGETAFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 451)

Figure 8 (cont.)

【図 8 － 4 4】

```
>cl|GUCBABA[1]|110>16_6_LC_humanized_818
VVLTTQTSPSSVASVGDRVTITCQSSHVSYYGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPDRFSGSGSGDTFTLI
SSLQPEDFATYYCLGGYDDGGETAFGGGTVKVEIK (SEQ ID NO: 452)
>cl|HUCBABA[1]|110>16_6_LC_humanized_12
VVMTQSPSTVSASVGDRVTITCQSSHVSYYGDWLAWYQKPGQPKPCKLLIYRASNLASGVPDRFSGSGSGDTFT
LTISSLQADDATFATYYCLGGYDDGGETAFGGGTVKVEIK (SEQ ID NO: 453)
>cl|LUCBABA[1]|110>16_6_LC_humanized_273
LVMTQSPSSLASVGDRVTITCQSSHVSYYGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPDRFSGSGSGDTFTLI
ISGLQSEDFATYYCLGGYDDGGETAFGGGTVKVEIK (SEQ ID NO: 454)
>cl|MUCBABA[1]|110>16_6_LC_humanized_2032
VVLTTQTSPVSTAVGGTGPIQCQSSHVSYYGDWLAWYQKPGQPKPCKLLIYRASNLASGVPDRFSGSGSGDTFTL
TISSLQAEDVAVYYCLGGYDDGGETAFGGGTVKVEIK (SEQ ID NO: 455)
>cl|PUCBABA[1]|110>16_6_LC_humanized_267
VVLTTQSPSTLAASVGDRVTITCQSSHVSYYGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPDRFSGSGSGTEFTLI
SSLQDDDFATYYCLGGYDDGGETAFGGGTVKVEIK (SEQ ID NO: 456)
>cl|QUCBABA[1]|110>16_6_LC_humanized_1992
VVLTTQTSPVSTAVGDRVTITCQSSHVSYYGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPDRFSGSGSGDTFTLI
ISSLQPEDFATYYCLGGYDDGGETAFGGGTEVVVK (SEQ ID NO: 457)
>cl|RUCBABA[1]|110>16_6_LC_humanized_1995
VVLTTQTSPVSTAVGGTVTINCQSSHVSYYGDWLAWYQKPGQPKPCKLLIYRASNLASGVPDRFSGSGSGDTFTL
TISSLQAEDVAVYYCLGGYDDGGETAFGGGTEVVVK (SEQ ID NO: 458)
>cl|TUCBABA[2]|110>16_6_LC_humanized_1934>16_6_LC_humanized_1977
VVLTTQTSPVSTAVGGTVTITCQSSHVSYYGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPDRFSGSGSGDTFTT
ISSLQPEDATYYCLGGYDDGGETAFGGGTEVVVK (SEQ ID NO: 459)
>cl|VUCBABA[1]|110>16_6_LC_humanized_200
VVLTTQTSPVSTAVGERATINCQSSHVSYYGDWLAWYQKPGQPKPCKLLIYRASNLASGVPDRFSGTGSOTFTLI
TISSLQAEDVAVYYCLGGYDDGGETAFGGGTVKVEIK (SEQ ID NO: 460)
>cl|XUCBABA[1]|110>16_6_LC_humanized_2027
VVLTTQTSPVSTAVGGTVTITCQSSHVSYYGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPDRFSGSGSGTEFTLI
ISSLQPEDFATYYCLGGYDDGGETAFGGGTEVVVK (SEQ ID NO: 461)
>cl|YUCBABA[2]|110>16_6_LC_humanized_1958>16_6_LC_humanized_1949
VVLTTQTSPVSTAVGGTVTITCQSSHVSYYGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPDRFSGSGSGTEFTLI
SSLQDDDFATYYCLGGYDDGGETAFGGGTEVVVK (SEQ ID NO: 462)
>cl|BADBABA[1]|110>16_6_LC_humanized_1905
VVLTTQTSPVSTAVGGTVTINCQSSHVSYYGDWLAWYQKPGQPKPCKLLIYRASNLASGVPDRFSGSGSGDTFTL
TISSLQAEDVAVYYCLGGYDDGGETAFGGGTEVVVK (SEQ ID NO: 463)
```

Figure 8 (cont.)

【図 8 － 4 6】

16-6 VHヒト化配列 ― 95%でクラスター化した生殖細胞系列データベース (10個の配列)

```
>cl|CABBABABA[13]|115>16_6_HC_humanized_775>16_6_HC_humanized_722
>16_6_HC_humanized_563>16_6_HC_humanized_139>16_6_HC_humanized_987
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLVWSIIVSSGSAYYATWAKGRFTISRDNSTL
YLQMNSLRRAEDMAVYYCARNQYSYGYSFSGFWGPGTLTVVSS (SEQ ID NO: 468)
>cl|DABBABABA[12]|115>16_6_HC_humanized_724>16_6_HC_humanized_565
>16_6_HC_humanized_141>16_6_HC_humanized_989>16_6_HC_humanized_936
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLVWSIIVSSGSAYYATWAKGRFTISRKNK
LYLQMNSLKTEDTAVYYCARNQYSYGYSFSGFWGPGTLTVVSS (SEQ ID NO: 469)
>cl|MABBABABA[9]|115>16_6_HC_humanized_990>16_6_HC_humanized_937
>16_6_HC_humanized_672>16_6_HC_humanized_407>16_6_HC_humanized_248
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLVWSIIVSSGSAYYATWAKGRFTISRKNK
AYLQMNSLKTEDTAVYYCTRNYSGYGSFSGFWGPGTLTVVSS (SEQ ID NO: 470)
>cl|NABBABABA[27]|115>16_6_HC_humanized_988>16_6_HC_humanized_935
>16_6_HC_humanized_670>16_6_HC_humanized_405>16_6_HC_humanized_246
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLVWSIIVSSGSAYYATWAKGRFTISRDNST
LYLQMNSLRRAEDTAVYYCARNQYSYGYSFSGFWGPGTLTVVSS (SEQ ID NO: 471)
>cl|PABBABABA[9]|115>16_6_HC_humanized_985>16_6_HC_humanized_932
>16_6_HC_humanized_667>16_6_HC_humanized_402>16_6_HC_humanized_243
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLVWSIIVSSGSAYYATWAKGRFTISRKSIA
YLQMNSLKTEDTAVYYCTRNYSGYGSFSGFWGPGTLTVVSS (SEQ ID NO: 472)
>cl|QABBABABA[9]|115>16_6_HC_humanized_973>16_6_HC_humanized_920
>16_6_HC_humanized_655>16_6_HC_humanized_390>16_6_HC_humanized_231
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLVWSIIVSSGSAYYATWAKGRFTISRKNK
LYLQMNSLKTEDTAVYYCTTNYSGYGSFSGFWGPGTLTVVSS (SEQ ID NO: 473)
>cl|REBBABABA[12]|115>16_6_HC_humanized_365>16_6_HC_humanized_364
>16_6_HC_humanized_363>16_6_HC_humanized_360>16_6_HC_humanized_312
VQLQESGGLVKPSETLSLTCTVSGSDISSYHMGWVRQPPGKGLVWSIIVSSGSAYYATWAKSRVTISTSKNQFS
LKLSSVTAADTAVYYCARNQYSYGYSFSGFWGPGTLTVVSS (SEQ ID NO: 474)
>cl|WEBBABABA[3]|115>16_6_HC_humanized_359>16_6_HC_humanized_306
>16_6_HC_humanized_41
LQLQESGGLVKPSETLSLTCAVSGSDISSYHMGWVRQPPGKGLVWSIIVSSGSAYYATWAKSRVTISTSKNQFS
LKLSSVTAADTAVYYCARNQYSYGYSFSGFWGPGTLTVVSS (SEQ ID NO: 475)
```

Figure 8 (cont.)

【図 8 － 4 5】

16-6 VHヒト化配列 ― 90%でクラスター化した生殖細胞系列データベース (3個の配列)

```
>cl|CABBABABA[43]|115>16_6_HC_humanized_775>16_6_HC_humanized_722
>16_6_HC_humanized_563>16_6_HC_humanized_139>16_6_HC_humanized_988
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLVWSIIVSSGSAYYATWAKGRFTISRDNST
LYLQMNSLRRAEDTAVYYCARNQYSYGYSFSGFWGPGTLTVVSS (SEQ ID NO: 464)
>cl|DABBABABA[39]|115>16_6_HC_humanized_724>16_6_HC_humanized_565
>16_6_HC_humanized_141>16_6_HC_humanized_990>16_6_HC_humanized_985
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLVWSIIVSSGSAYYATWAKGRFTISRKNK
LYLQMNSLKTEDTAVYYCTRNYSGYGSFSGFWGPGTLTVVSS (SEQ ID NO: 465)
>cl|REBBABABA[18]|115>16_6_HC_humanized_365>16_6_HC_humanized_364
>16_6_HC_humanized_363>16_6_HC_humanized_360>16_6_HC_humanized_359
VQLQESGGLVKPSETLSLTCTVSGSDISSYHMGWVRQPPGKGLVWSIIVSSGSAYYATWAKSRVTISTSKNQFS
LKLSSVTAADTAVYYCARNQYSYGYSFSGFWGPGTLTVVSS (SEQ ID NO: 466)
```

16-6 VLヒト化配列 ― 90%でクラスター化した生殖細胞系列データベース (1個の配列)

```
>cl|CACBABABA[100]|110>16_6_LC_humanized_775>16_6_LC_humanized_724
>16_6_LC_humanized_722>16_6_LC_humanized_565>16_6_LC_humanized_563
VVLTTQSPSSLASVGDRVTITCQSSHVSYYGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPDRFSGSGSGDTFTLI
SSLQPEDFATYYCLGGYDDGGETAFGGGTEVVVK (SEQ ID NO: 467)
```

Figure 8 (cont.)

【図 8 － 4 7】

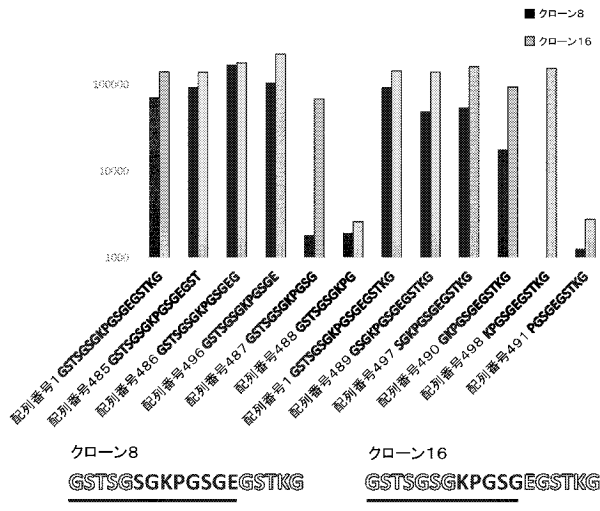
```
>cl|XEBBABABA[3]|115>16_6_HC_humanized_357>16_6_HC_humanized_304
>16_6_HC_humanized_39
VQLQESGGLVKPSETLSLTCAVSGSDISSYHMGWVRQPPGKGLVWSIIVSSGSAYYATWAKSRVTISTSKNQF
SLKLSVTAADTAVYYCARNQYSYGYSFSGFWGPGTLTVVSS (SEQ ID NO: 476)
>cl|CIBBABABA[3]|115>16_6_HC_humanized_343>16_6_HC_humanized_290
>16_6_HC_humanized_25
VQLVESGGGVQPGGSLRLSCAASGSDISSYHMGWVRQAPGKGLVWSIIVSSGSAYYATWAKGRFTISRDN
TLYLQMNSLRRAEDTAVYYCARNQYSYGYSFSGFWGPGTLTVVSS (SEQ ID NO: 477)
```

16-6 VLヒト化配列 ― 95%でクラスター化した生殖細胞系列データベース (7個の配列)

```
>cl|CACBABABA[3]|110>16_6_LC_humanized_775>16_6_LC_humanized_724
>16_6_LC_humanized_722
VVLTTQSPSSLASVGDRVTITCQSSHVSYYGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPDRFSGSGSGDTFTFTI
SSLQPEDATYYCLGGYDDGGETAFGGGTEVVVK (SEQ ID NO: 478)
>cl|GACBABABA[2]|110>16_6_LC_humanized_565>16_6_LC_humanized_563
VVLTTQSPSSLASVGDRVTITCQSSHVSYYGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPDRFSGSGSGTEFTLI
SSLQPEDFATYYCLGGYDDGGETAFGGGTEVVVK (SEQ ID NO: 479)
>cl|KACBABABA[2]|110>16_6_LC_humanized_141>16_6_LC_humanized_139
VVLTTQSPSSFASGDRVTITCQSSHVSYYGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPDRFSGSGSGDTFTLI
SLQSEDFATYYCLGGYDDGGETAFGGGTEVVVK (SEQ ID NO: 480)
>cl|MACBABABA[62]|110>16_6_LC_humanized_990>16_6_LC_humanized_988
>16_6_LC_humanized_985>16_6_LC_humanized_973>16_6_LC_humanized_937
VVLTTQSPSSVASVGDRVTITCQSSHVSYYGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPDRFSGSGSGDTFTLI
SSLQPEDFATYYCLGGYDDGGETAFGGGTEVVVK (SEQ ID NO: 481)
>cl|WACBABABA[6]|110>16_6_LC_humanized_672>16_6_LC_humanized_670
>16_6_LC_humanized_667>16_6_LC_humanized_655>16_6_LC_humanized_671
VVLTTQSPSSLASVGDRVTITCQSSHVSYYGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPDRFSGSGSGDTFTLI
SSLQPEDVATYYCLGGYDDGGETAFGGGTEVVVK (SEQ ID NO: 482)
>cl|GECBABABA[6]|110>16_6_LC_humanized_248>16_6_LC_humanized_246
>16_6_LC_humanized_243>16_6_LC_humanized_231>16_6_LC_humanized_247
VVLTTQSPSSLASVGDRVTITCQSSHVSYYGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPDRFSGSGSGTEFTLI
SSLQPEDFATYYCLGGYDDGGETAFGGGTEVVVK (SEQ ID NO: 483)
>cl|YICBABABA[19]|110>16_6_LC_humanized_47>16_6_LC_humanized_46
>16_6_LC_humanized_45>16_6_LC_humanized_42>16_6_LC_humanized_41
VVLTTQSPSSLASVGDRVTITCQSSHVSYYGDWLAWYQKPGKAPKLLIYRASNLASGVPDRFSGSGSGTEFTLI
SSLQPEDFATYYCLGGYDDGGETAFGGGTEVVVK (SEQ ID NO: 484)
```

Figure 8 (cont.)

【図 9】



【図 10】

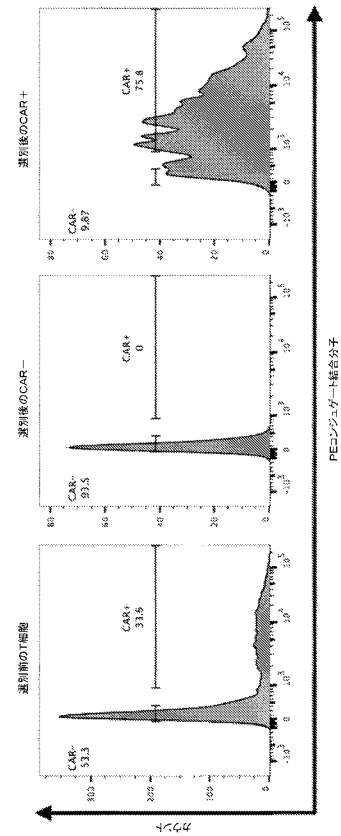
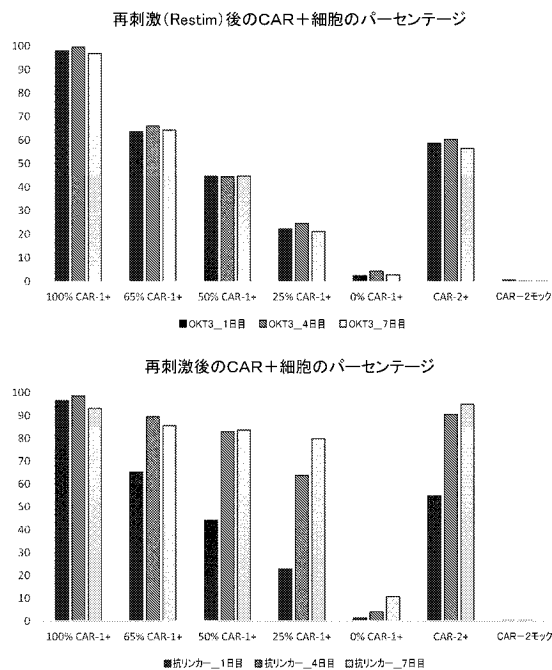


Figure 10

【図 1 1】



【図 1 2 - 1】

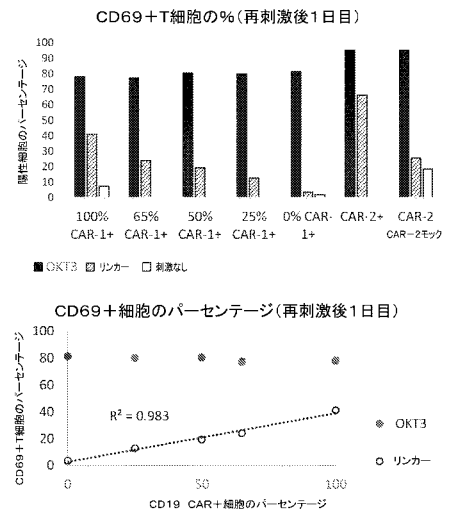


Figure 12A

Figure 11

【図 1 2 - 2】

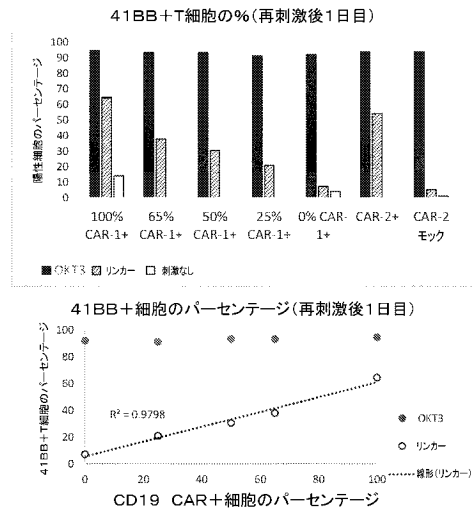


Figure 12B

【図 1 3】

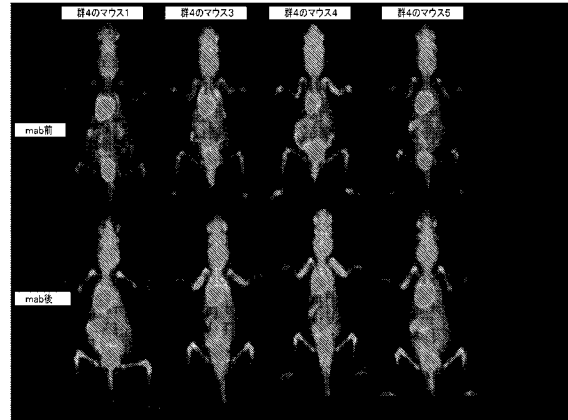


Figure 13

【図 1 4】

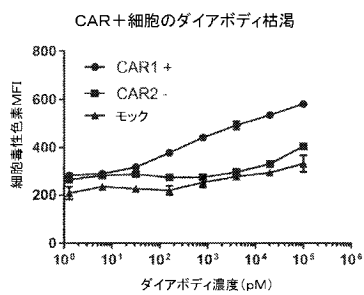


Figure 14A

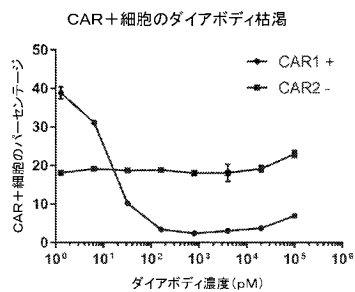


Figure 14B

【配列表】

2019525751000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2017/041534

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - A61K 35/17; C07K 16/42; C12N 5/00 (2017.01) CPC - A61K 2039/5156; C07K 16/4208; C07K 16/4266; C12N 5/0636; C12N 2510/00 (2017.08)		
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) See Search History document Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched USPC - 424/93.21; 424/134.1; 424/372.3 (keyword delimited) Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) See Search History document		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2016/0096902 A1 (UNIVERSITY OF TEXAS SYSTEM) 07 April 2016 (07.04.2016) entire document	1-4, 12, 24-29, 47-55
Y		34-45, 57-67, 69-74, 76-81, 83-91, 93-101
Y	US 7,666,424 B2 (CHEUNG et al) 23 February 2010 (23.02.2010) entire document	34-45, 57-67, 69-74, 76-81, 83-91
Y	WO 2016/019300 A1 (NOVARTIS AG et al) 04 February 2016 (04.02.2016) entire document	34-45, 69-74, 93-101
A	WO 2016/033331 A1 (BIOATLA, LLC et al) 03 March 2016 (03.03.2016) entire document	1-21, 24-29, 34-45, 47-55, 57-67, 69-74, 76-81, 83-91, 93-101
A	WO 2015/057834 A1 (THE CALIFORNIA INSTITUTE FOR BIOMEDICAL RESEARCH) 23 April 2015 (23.04.2015) entire document	1-21, 24-29, 34-45, 47-55, 57-67, 69-74, 76-81, 83-91, 93-101
A	WO 1994/012520 A1 (ENZON, INC.) 09 June 1994 (09.06.1994) entire document	1-21, 24-29, 34-45, 47-55, 57-67, 69-74, 76-81, 83-91, 93-101
A	US 2014/0065645 A1 (SAMSUNG ELECTRONICS CO., LTD.) 06 March 2014 (06.03.2014) entire document	1-21, 24-29, 34-45, 47-55, 57-67, 69-74, 76-81, 83-91, 93-101
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another 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 15 November 2017		Date of mailing of the international search report 01 DEC 2017
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer Blaine R. Copenheaver PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2017/041534

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

- a. ☒ forming part of the international application as filed:
☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
☐ on paper or in the form of an image file.
- b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

SEQ ID NOs: 1-15, 23, 499, and 500 were searched.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2017/041534

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.: 30-33, 46, 56, 68, 75, 82, 92, 102, 105, 106
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 extra sheet(s).

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 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.:
1-21, 24-29, 34-45, 47-55, 57-67, 69-74, 76-81, 83-91, and 93-101 to the extent that they read on an antigen binding molecule of SEQ ID NOs:4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, and 15.

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/US2017/041534

Continued from Box No. III Observations where unity of invention is lacking

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees need to be paid.

Group I+: claims 1-29, 34-45, 47-55, 57-67, 69-74, 76-81, 83-91, 93-101, 103, and 104 are drawn to antigen binding molecules, and methods comprising the same.

The first invention of Group I+ is restricted to an antigen binding molecule, and methods comprising the same, the antigen binding molecule comprising a heavy chain, wherein the heavy chain is selected to be SEQ ID NO:6, the heavy chain comprising a heavy chain variable region wherein in the heavy chain variable region is selected to be SEQ ID NO:5, encoded by SEQ ID NO:4, the heavy chain further comprising heavy chain complementary determining regions CDR1, CDR2, and CDR3, where CDR1 is selected to be SEQ ID NO:7, CDR2 is selected to be SEQ ID NO:8, and CDR3 is selected to be SEQ ID NO:9; and a light chain, wherein the light chain is selected to be SEQ ID NO:12, the heavy chain comprising a light chain variable region, wherein the light chain variable region is selected to be SEQ ID NO:11, encoded by SEQ ID NO:10, the light chain further comprising light chain complementary determining regions CDR1, CDR2, and CDR3, where CDR1 is selected to be SEQ ID NO:13, CDR2 is selected to be SEQ ID NO:14, and CDR3 is selected to be SEQ ID NO:15; wherein the antigen binding molecule specifically binds an antigen, wherein the antigen is selected to be SEQ ID NO:1. It is believed that claims 1-21, 24-29, 34-45, 47-55, 57-67, 69-74, 76-81, 83-91, and 93-101 read on this first named invention and thus these claims will be searched without fee to the extent that they read on an antigen binding molecule of SEQ ID NOs:4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, and 15.

Applicant is invited to elect additional heavy/light chains and/or heavy/light chain variable regions and/or heavy/light CDR1, CDR2, or CDR3, each with specified SEQ ID NO, to be searched in a specific combination for each antigen binding molecule by paying an additional fee for each set of election. An exemplary election would be an antigen binding molecule, and methods comprising the same, the antigen binding molecule comprising a heavy chain, wherein the heavy chain is selected to be SEQ ID NO:18, the heavy chain comprising a heavy chain variable region wherein in the heavy chain variable region is selected to be SEQ ID NO:17, encoded by SEQ ID NO:16, the heavy chain further comprising heavy chain complementary determining regions CDR1, CDR2, and CDR3, where CDR1 is selected to be SEQ ID NO:19, CDR2 is selected to be SEQ ID NO:20, and CDR3 is selected to be SEQ ID NO:21; and a light chain, wherein the light chain is selected to be SEQ ID NO:24, the heavy chain comprising a light chain variable region, wherein the light chain variable region is selected to be SEQ ID NO:23, encoded by SEQ ID NO:22, the light chain further comprising light chain complementary determining regions CDR1, CDR2, and CDR3, where CDR1 is selected to be SEQ ID NO:25, CDR2 is selected to be SEQ ID NO:26, and CDR3 is selected to be SEQ ID NO:27; wherein the antigen binding molecule specifically binds an antigen, wherein the antigen is selected to be SEQ ID NO:499. Additional antigen binding molecules will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that read on any additional elected inventions. Applicants must further indicate, if applicable, the claims which read on the first named invention if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined.

The inventions listed in Groups I+ do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1, because under PCT Rule 13.2 they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

The Groups I+ formulas do not share a significant structural element for binding an amino acid sequence selected from the group consisting of GSTSGSGKPGSGEGSTKG (SEQ ID NO: 1), GSGKPGSGEG (SEQ ID NO: 2), GKPGSGEG (SEQ ID NO: 3), SGKPGSGE (SEQ ID NO: 499), and KPGRSG (SEQ ID NO: 500), requiring the selection of alternatives for the heavy and light chain regions of the antigen binding molecule, where "the heavy chain comprises a heavy chain CDR1, a heavy chain CDR2, and a heavy chain CDR3, each CDR comprising an amino acid sequence shown in FIGURES 6, 8 and 9" and "the light chain comprises a light chain CDR1, a light chain CDR2, and a light chain CDR3, each CDR comprising an amino acid sequence shown in one of FIGURES 6, 8 and 9".

The Groups I+ share the technical features of an isolated antigen binding molecule that specifically binds to a molecule comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of GSTSGSGKPGSGEGSTKG (SEQ ID NO: 1), GSGKPGSGEG (SEQ ID NO: 2), GKPGSGEG (SEQ ID NO: 3), SGKPGSGE (SEQ ID NO: 499), and KPGRSG (SEQ ID NO: 500). However, these shared technical features do not represent a contribution over the prior art.

US 2014/0065645 A1 to Samsung Electronics Co., Ltd. discloses an isolated antigen binding molecule that specifically binds to a linker molecule comprising an amino acid sequence (an antibody that binds to the target material, the polypeptide linker described herein, Para. [0028]; [t]he polypeptide linker including an antibody-binding region, Para. [0021]).

WO 1994/012520 A1 to Enzon, Inc. discloses a linker molecule comprising GSTSGSGKPGSGEGSTKG (SEQ ID NO: 1) (a novel peptide linker comprising the amino acid sequence: GSTSGSGKPGSGEGSTKG (SEQ ID NO 1), Pg. 7, Lns. 19-21, where SEQ ID NO:1 of Enzon, Inc. is 100% identical to SEQ ID NO:1 of the instant application).

The inventions listed in Groups I+ therefore lack unity under Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical features.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 0 7 K 1/22 (2006.01)	C 0 7 K 1/22	
C 0 7 K 16/42 (2006.01)	C 0 7 K 16/42	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	D
A 6 1 P 37/04 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 37/04	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 0 7
A 6 1 K 47/68 (2017.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 K 49/16 (2006.01)	A 6 1 K 47/68	
A 6 1 K 51/02 (2006.01)	A 6 1 K 49/16	
A 6 1 K 51/10 (2006.01)	A 6 1 K 51/02	2 0 0
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	A 6 1 K 51/10	2 0 0
C 1 2 N 5/0783 (2010.01)	G 0 1 N 33/53	D
C 1 2 N 15/62 (2006.01)	C 1 2 N 5/0783	
C 1 2 N 15/12 (2006.01)	C 1 2 N 15/62	Z
C 0 7 K 19/00 (2006.01)	C 1 2 N 15/12	
C 0 7 K 16/28 (2006.01)	C 0 7 K 19/00	
	C 0 7 K 16/28	

(81)指定国・地域 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,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,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

(72)発明者 ジーベルス スチュアート
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 0 4 0 4 サンタモニカ コロラド アベニュー 2 2 2
 5
 (72)発明者 ベレス ガルシア アリアンヌ
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 0 4 0 4 サンタモニカ コロラド アベニュー 2 2 2
 5

Fターム(参考) 4B064 AG27 CA02 CA10 CA19 CC24 CE12 DA01 DA13
 4B065 AA26X AA90X AA90Y AB01 AC14 BA02 CA24 CA25 CA44 CA46
 4C076 AA95 EE41 EE59 FF32 FF34
 4C085 AA13 AA14 EE01 HH03 HH07 HH11 KA03 KA04 KA05 KA27
 KA28 KA29
 4H045 AA11 AA20 AA30 BA41 BA70 BA71 CA40 DA50 DA76 EA20
 EA50 FA74 GA26

專利名称(译)	抗原結合分子及其使用方法		
公开(公告)号	JP2019525751A	公开(公告)日	2019-09-12
申請号	JP2019501456	申請日	2017-07-11
[标]申請(專利权)人(译)	カイトファーマインコーポレイテッド		
申請(專利权)人(译)	风筝苹果公司名称		
発明人	ウィルツィアス ジェド ジーベルス スチュアート ペレス ガルシア アリアンヌ		
IPC分類号	C12N15/13 C12N15/63 C12N5/10 C12N1/21 C12P21/08 C07K1/22 C07K16/42 A61K39/395 A61P37/04 A61P43/00 A61P35/00 A61K47/68 A61K49/16 A61K51/02 A61K51/10 G01N33/53 C12N5/0783 C12N15/62 C12N15/12 C07K19/00 C07K16/28		
CPC分類号	A61K35/00 A61K38/00 A61K2039/505 A61P35/00 A61P37/04 A61P43/00 C07K16/24 C07K16/2809 C07K16/44 C07K2317/24 C07K2317/31 C07K2317/34 C07K2317/626 C07K2317/73 C07K2317/75 C07K2319/03 C07K2319/33 C12P21/00 Y02A50/473 C07K16/46 C07K2317/76 G01N33/537 G01N33/68 C07K1/14 C12N15/70 C12Q1/68		
FI分類号	C12N15/13.ZNA C12N15/63.Z C12N5/10 C12N1/21 C12P21/08 C07K1/22 C07K16/42 A61K39/395.D A61K39/395.N A61P37/04 A61P43/00.107 A61P35/00 A61K47/68 A61K49/16 A61K51/02.200 A61K51/10.200 G01N33/53.D C12N5/0783 C12N15/62.Z C12N15/12 C07K19/00 C07K16/28		
F-TERM分類号	4B064/AG27 4B064/CA02 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/CE12 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA26X 4B065/AA90X 4B065/AA90Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/CA24 4B065/CA25 4B065/CA44 4B065/CA46 4C076/AA95 4C076/EE41 4C076/EE59 4C076/FF32 4C076/FF34 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/EE01 4C085/HH03 4C085/HH07 4C085/HH11 4C085/KA03 4C085/KA04 4C085/KA05 4C085/KA27 4C085/KA28 4C085/KA29 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA41 4H045/BA70 4H045/BA71 4H045/CA40 4H045/DA50 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA74 4H045/GA26		
優先权	62/361420 2016-07-12 US 62/415786 2016-11-01 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

GSTSGSGKPGSGEGSTSTKG (SEQ ID NO : 1) , GSGKPGSGEG (SEQ ID NO : 2) , GKPGSGEG (SEQ ID NO : 3) , SGKPGSGE (SEQ ID NO : 499) 和KPGSG (SEQ ID NO : 500) 专门针对包含选自以下组成的组的氨基酸序列的分子 提供了結合の 分离的抗原結合分子。该抗原結合分子可用于本文提供的方法中。[选择图]无

(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2019-525751 (P2019-525751A) 令和1年9月12日 (2019.9.12)
(51) Int. Cl.	F 1	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/13 (2006.01)	C 1 2 N 15/13 Z N A	4 B 0 6 4
C 1 2 N 15/63 (2006.01)	C 1 2 N 15/63 Z	4 B 0 6 5
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/10	4 C 0 7 6
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	4 C 0 8 5
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	C 1 2 P 21/08	4 H 0 4 5
審査請求 有	予備審査請求 未請求	(全 157 頁) 最終頁に続く
(21) 出願番号 (86) (22) 出願日 (85) 翻訳文提出日 (86) 国際出願番号 (87) 国際公開番号 (87) 国際公開日 (31) 優先権主張番号 (32) 優先日 (33) 優先権主張国・地域又は機関 (31) 優先権主張番号 (32) 優先日 (33) 優先権主張国・地域又は機関	特願2019-501456 (P2019-501456) 平成29年7月11日 (2017.7.11) 平成31年3月8日 (2019.3.8) PCT/US2017/041534 W02018/013563 平成30年1月18日 (2018.1.18) 62/361,420 平成28年7月12日 (2016.7.12) 米国 (US) 62/415,786 平成28年11月1日 (2016.11.1) 米国 (US)	(71) 出願人 514266932 カイト ファーマ インコーポレイテッド Kite Pharma, Inc アメリカ合衆国 カリフォルニア州 90404 サンタモニカ コロラド アベニュー 2225 2225 Colorado Ave., Santa Monica, California 90404 U. S. A. 110000796 特許業務法人三枝国際特許事務所 (72) 発明者 ウィルツィアス ジェド アメリカ合衆国 カリフォルニア州 90404 サンタモニカ コロラド アベニュー 2225 最終頁に続く
(54) 【発明の名称】 抗原結合分子及びその使用方法		