

(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2020-519562

(P2020-519562A)

(43) 公表日 令和2年7月2日(2020.7.2)

| (51) Int.Cl.                | F I            | テーマコード (参考) |
|-----------------------------|----------------|-------------|
| <b>C07K 16/24 (2006.01)</b> | C07K 16/24 ZNA | 4B065       |
| <b>C12N 15/13 (2006.01)</b> | C12N 15/13     | 4C085       |
| <b>C12N 15/63 (2006.01)</b> | C12N 15/63 Z   | 4H045       |
| <b>C12N 1/15 (2006.01)</b>  | C12N 1/15      |             |
| <b>C12N 1/19 (2006.01)</b>  | C12N 1/19      |             |

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 49 頁) 最終頁に続く

|                    |                              |          |   |
|--------------------|------------------------------|----------|---|
| (21) 出願番号          | 特願2019-519653 (P2019-519653) | (71) 出願人 | 519127708<br>エリクシロン イミュノセラピューティクス (ホンコン) リミテッド<br>中華人民共和国 香港 セントラル デ<br>ヴー ロード セントラル 136 ビー<br>オーシー グループ ライフ アシュアラ<br>ンス タワー 15エフ |
| (86) (22) 出願日      | 平成30年5月7日 (2018.5.7)         | (74) 代理人 | 100094569<br>弁理士 田中 伸一郎   |
| (85) 翻訳文提出日        | 平成31年4月8日 (2019.4.8)         | (74) 代理人 | 100103610<br>弁理士 ▲吉▼田 和彦  |
| (86) 国際出願番号        | PCT/CN2018/085836            | (74) 代理人 | 100109070<br>弁理士 須田 洋之  |
| (87) 国際公開番号        | W02018/202200                | (74) 代理人 | 100119013<br>弁理士 山崎 一夫  |
| (87) 国際公開日         | 平成30年11月8日 (2018.11.8)       |          |   |
| (31) 優先権主張番号       | 62/501, 952                  |          |   |
| (32) 優先日           | 平成29年5月5日 (2017.5.5)         |          |   |
| (33) 優先権主張国・地域又は機関 | 米国 (US)                      |          |   |

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗インターフェロンガンマ抗体およびその使用法

(57) 【要約】

抗 I F N - 抗体が提供される。前記抗体を含む組成物および I F N - 媒介症候群の治療における前記抗体の医薬用途が提供される。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

単離抗体であって、

配列番号：120、123、126、129、144、147、150、または153から選択されるアミノ酸配列を含むV<sub>H</sub> CDR1と、

配列番号：121、124、127、130、145、148、151、または154から選択されるアミノ酸配列を含むV<sub>H</sub> CDR2と、

配列番号：122、125、128、131、146、149、152、または155から選択されるアミノ酸配列を含むV<sub>H</sub> CDR3と、

配列番号：132、135、138、141、156、158、160、または162から選択されるアミノ酸配列を含むV<sub>L</sub> CDR1と、

配列番号：133、136、139、142、157、159、161、または163から選択されるアミノ酸配列を含むV<sub>L</sub> CDR2と、

配列番号：134、137、140、または143から選択されるアミノ酸配列を含むV<sub>L</sub> CDR3と、を含む単離抗体。

10

## 【請求項 2】

請求項1に記載の単離抗体であって、V<sub>H</sub> CDR1、V<sub>H</sub> CDR2、およびV<sub>H</sub> CDR3がそれぞれ配列番号：120、配列番号：121、および配列番号：122であり、前記V<sub>L</sub> CDR1、V<sub>L</sub> CDR2、およびV<sub>L</sub> CDR3がそれぞれ配列番号：132、配列番号：133、および配列番号：134である単離抗体。

20

## 【請求項 3】

請求項1に記載の単離抗体であって、前記V<sub>H</sub> CDR1、V<sub>H</sub> CDR2、およびV<sub>H</sub> CDR3がそれぞれ配列番号：144、配列番号：145、および配列番号：146であり、前記V<sub>L</sub> CDR1、V<sub>L</sub> CDR2、およびV<sub>L</sub> CDR3がそれぞれ配列番号：156、配列番号：157、および配列番号：134である単離抗体。

## 【請求項 4】

請求項1に記載の単離抗体であって、前記V<sub>H</sub> CDR1、V<sub>H</sub> CDR2、およびV<sub>H</sub> CDR3がそれぞれ配列番号：123、配列番号：124、および配列番号：125であり、前記V<sub>L</sub> CDR1、V<sub>L</sub> CDR2、およびV<sub>L</sub> CDR3がそれぞれ配列番号：135、配列番号：136、および配列番号：137である単離抗体。

30

## 【請求項 5】

請求項1に記載の単離抗体であって、前記V<sub>H</sub> CDR1、V<sub>H</sub> CDR2、およびV<sub>H</sub> CDR3がそれぞれ配列番号：147、配列番号：148、および配列番号：149であり、前記V<sub>L</sub> CDR1、V<sub>L</sub> CDR2、およびV<sub>L</sub> CDR3がそれぞれ配列番号：158、配列番号：159、および配列番号：137である単離抗体。

## 【請求項 6】

請求項1に記載の単離抗体であって、前記V<sub>H</sub> CDR1、V<sub>H</sub> CDR2、およびV<sub>H</sub> CDR3がそれぞれ配列番号：126、配列番号：127、および配列番号：128であり、前記V<sub>L</sub> CDR1、V<sub>L</sub> CDR2、およびV<sub>L</sub> CDR3がそれぞれ配列番号：138、配列番号：139、および配列番号：140である単離抗体。

40

## 【請求項 7】

請求項1に記載の単離抗体であって、前記V<sub>H</sub> CDR1、V<sub>H</sub> CDR2、およびV<sub>H</sub> CDR3がそれぞれ配列番号：150、配列番号：151、および配列番号：152であり、前記V<sub>L</sub> CDR1、V<sub>L</sub> CDR2、およびV<sub>L</sub> CDR3がそれぞれ配列番号：160、配列番号：161、および配列番号：140である単離抗体。

## 【請求項 8】

請求項1に記載の単離抗体であって、前記V<sub>H</sub> CDR1、V<sub>H</sub> CDR2、およびV<sub>H</sub> CDR3がそれぞれ配列番号：129、配列番号：130、および配列番号：131であり、前記V<sub>L</sub> CDR1、V<sub>L</sub> CDR2、およびV<sub>L</sub> CDR3がそれぞれ配列番号：141、配列番号：142、および配列番号：143である単離抗体。

50

## 【請求項 9】

請求項 1 に記載の単離抗体であって、前記  $V_H$  CDR 1、 $V_H$  CDR 2、および  $V_H$  CDR 3 がそれぞれ配列番号：153、配列番号：154、および配列番号：155 であり、前記  $V_L$  CDR 1、 $V_L$  CDR 2、および  $V_L$  CDR 3 がそれぞれ配列番号：162、配列番号：163、および配列番号：143 である単離抗体。

## 【請求項 10】

請求項 1 に記載の単離抗体であって、前記  $V_H$  CDR 1、 $V_H$  CDR 2、および  $V_H$  CDR 3 がそれぞれ配列番号：120、配列番号：121、および配列番号：122 であり、前記  $V_L$  CDR 1、 $V_L$  CDR 2、および  $V_L$  CDR 3 がそれぞれ配列番号：135、配列番号：136、および配列番号：137 である単離抗体。

10

## 【請求項 11】

請求項 1 に記載の単離抗体であって、前記  $V_H$  CDR 1、 $V_H$  CDR 2、および  $V_H$  CDR 3 がそれぞれ配列番号：144、配列番号：145、および配列番号：146 であり、前記  $V_L$  CDR 1、 $V_L$  CDR 2、および  $V_L$  CDR 3 がそれぞれ配列番号：158、配列番号：159、および配列番号：137 である単離抗体。

## 【請求項 12】

請求項 1 に記載の単離抗体であって、前記  $V_H$  CDR 1、 $V_H$  CDR 2、および  $V_H$  CDR 3 がそれぞれ配列番号：123、配列番号：124、および配列番号：125 であり、前記  $V_L$  CDR 1、 $V_L$  CDR 2、および  $V_L$  CDR 3 がそれぞれ配列番号：132、配列番号：133、および配列番号：134 である単離抗体。

20

## 【請求項 13】

請求項 1 に記載の単離抗体であって、前記  $V_H$  CDR 1、 $V_H$  CDR 2、および  $V_H$  CDR 3 がそれぞれ配列番号：147、配列番号：148、および配列番号：149 であり、前記  $V_L$  CDR 1、 $V_L$  CDR 2、および  $V_L$  CDR 3 がそれぞれ配列番号：156、配列番号：157、および配列番号：134 である単離抗体。

## 【請求項 14】

請求項 1 に記載の単離抗体であって、 $V_H$  が配列番号：109、110、111、または 112 に対して少なくとも 90% の同一性を有し、 $V_L$  が配列番号：113、114、115 または 116 に対して少なくとも 90% の同一性を持つ配列を含む単離抗体。

## 【請求項 15】

$V_H$  が N 結合型グリコシル化部位を含まない、請求項 1 に記載の単離抗体。

30

## 【請求項 16】

請求項 15 に記載の単離抗体であって、 $V_H$  が配列番号：164 に対して少なくとも 90% の同一性を有する、76 位の前記アミノ酸が A である配列、または配列番号：165 に対して少なくとも 90% の同一性を有する、76 位の前記アミノ酸が Q である配列を含み、 $V_L$  が配列番号 113 に対して少なくとも 90% の同一性を有する配列を含む単離抗体。

## 【請求項 17】

前記抗体がマウス抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、またはヒト抗体である、請求項 1 ~ 16 のいずれか一項に記載の単離抗体。

40

## 【請求項 18】

前記抗体がヒトおよびアカゲザル/カニクイザルからの IFN- と交差反応する、請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載の単離抗体。

## 【請求項 19】

請求項 1 ~ 18 のいずれか一項に記載の抗体と同じエピトープと特異的に結合する単離抗体。

## 【請求項 20】

請求項 1 ~ 19 のいずれか一項に記載の単離抗体であって、前記抗体が、ヒト IFN- のアミノ酸 30 ~ 52 または 36 ~ 48、およびアミノ酸 78 ~ 92 または 82 ~ 92 内の 1 つまたは複数のアミノ酸残基に特異的に結合し、前記アミノ酸 30 ~ 52 が配列番

50

号：167のアミノ酸を含み、前記アミノ酸36～48が配列番号：171のアミノ酸を含み、前記78～92が配列番号：168のアミノ酸を含み、前記82～92が配列番号：172のアミノ酸を含む単離抗体。

【請求項21】

請求項20に記載の単離抗体であって、前記抗体が、ヒトIFN- $\gamma$ のアミノ酸36～48または82～92内の1つまたは複数のアミノ酸残基に特異的に結合し、前記アミノ酸36～48が配列番号：171のアミノ酸を含み、前記82～92が配列番号：172のアミノ酸を含む単離抗体。

【請求項22】

単離抗体であって、前記抗体が、ヒトIFN- $\gamma$ のアミノ酸30～52または36～48、およびアミノ酸78～92または82～92内の1つまたは複数のアミノ酸残基に特異的に結合し、前記アミノ酸30～52が配列番号：167のアミノ酸を含み、前記アミノ酸36～48が配列番号：171のアミノ酸を含み、前記78～92が配列番号：168のアミノ酸を含み、前記82～92が配列番号：172のアミノ酸を含む単離抗体。

10

【請求項23】

請求項22に記載の単離抗体であって、前記抗体が、ヒトIFN- $\gamma$ のアミノ酸36～48または82～92内の1つまたは複数のアミノ酸残基に特異的に結合し、前記アミノ酸36～48が配列番号：171のアミノ酸を含み、前記82～92が配列番号：172のアミノ酸を含む単離抗体。

【請求項24】

ヒトIFN- $\gamma$ のエピトープに特異的に結合する単離抗体であって、前記エピトープがヒトIFN- $\gamma$ のK43、Q48、およびK86を含み、前記ヒトIFN- $\gamma$ が配列番号：166を含む単離抗体。

20

【請求項25】

前記エピトープがヒトIFN- $\gamma$ のK37、E38、K43、Q46、Q48、K86、およびR89を含み、前記ヒトIFN- $\gamma$ が配列番号：166を含む、請求項24に記載の単離抗体。

【請求項26】

前記単離抗体が、 $1 \times 10^{-8}$ M未満、 $1 \times 10^{-9}$ M未満、 $1 \times 10^{-10}$ M未満、 $1 \times 10^{-11}$ M未満、またはさらに小さい結合値 $K_D$ でヒトIFN- $\gamma$ に特異的に結合する、請求項1～25のいずれか一項に記載の単離抗体。

30

【請求項27】

前記特異的IFN- $\gamma$ 結合値 $K_D$ がバイオレイヤー干渉法解析によって測定される、請求項26に記載の単離抗体。

【請求項28】

前記単離抗体が、50ng/mL未満、25ng/mL未満、または10ng/mL未満の $IC_{50}$ 値でヒトIFN- $\gamma$ 媒介性活性を阻害する、請求項1～25のいずれか一項に記載の単離抗体。

【請求項29】

前記 $IC_{50}$ 値がHLA-D $\beta$ 発現解析によって測定される、請求項28に記載の単離抗体。

40

【請求項30】

請求項1～29のいずれか一項に記載の抗体をコードする単離ポリヌクレオチドであって、配列番号：173、175、176、177、179、または181に対して少なくとも90%の同一性を有し、前記抗体の $V_H$ をコードしている第一の配列、および配列番号：174、178、180または182に対して少なくとも90%の同一性を有し、前記抗体の $V_L$ をコードしている第二の配列を含む単離ポリヌクレオチド。

【請求項31】

前記ポリヌクレオチドが、哺乳動物細胞の前記抗体の最適な発現のために選択された1つまたは複数のコドンを含むポリヌクレオチド配列を含む、請求項30に記載の単離ポリ

50

ヌクレオチド。

【請求項 3 2】

前記哺乳動物細胞が、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞、NS0細胞、BHK細胞、SP2/0細胞、HEK 293細胞、HEK 293 EBNA細胞、PER.C6（登録商標）細胞、およびCOS細胞である、請求項 3 1に記載の単離ポリヌクレオチド。

【請求項 3 3】

請求項 3 0 ~ 3 2 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチドを含むベクター。

【請求項 3 4】

請求項 3 3 に記載のベクターを含む単離宿主細胞。

10

【請求項 3 5】

請求項 1 ~ 2 9 のいずれか一項に記載の抗体を発現する単離宿主細胞。

【請求項 3 6】

前記宿主細胞が、大腸菌、昆虫、酵母、または哺乳動物細胞から成る群から選択される、請求項 3 5 に記載の宿主細胞。

【請求項 3 7】

インターフェロン - の活性を中和するための組成物であって、  
請求項 1 ~ 2 9 のいずれか一項に記載の単離抗体、および担体を含む組成物。

【請求項 3 8】

20

IFN - 媒介性症候群を治療するための医薬組成物であって、  
請求項 1 ~ 2 9 のいずれか一項に記載の単離抗体の有効量、および薬学的に許容可能な担体を含む医薬組成物。

【請求項 3 9】

前記「IFN - 媒介性症候群」が、炎症、後天性免疫不全症候群（AIDS）、若年性関節リウマチを含む関節リウマチ、潰瘍性大腸炎およびクローン病を含む炎症性腸疾患、多発性硬化症、アジソン病、糖尿病（1型）、精巣上体炎、糸球体腎炎、グレーブス病、ギラン・バレー症候群、橋本病、溶血性貧血、全身性エリテマトーデス（SLE）、ループス腎炎、重症筋無力症、天疱瘡、乾癬、乾癬性関節炎、アテローム性動脈硬化症、エリスロポエチン抵抗性、移植片対宿主病、移植拒絶反応、自己免疫性肝炎誘発性肝障害、胆汁性肝硬変、アルコール性肝硬変を含むアルコール性肝障害、リウマチ熱、サルコイドーシス、強皮症、シェーグレン症候群、脊椎関節症、強直性脊椎炎、川崎病、ドライアイ疾患、血球貪食性リンパ組織球症、マクロファージ活性化症候群、甲状腺炎、血管炎、またはその組み合わせを含む、請求項 3 8 に記載の組成物。

30

【請求項 4 0】

IFN - 媒介性症候群を治療するための方法であって、  
それを必要とする被験者に、請求項 1 ~ 2 9 のいずれか一項に記載の単離抗体の有効量を投与する工程を含む方法。

【請求項 4 1】

前記投与が注射、注入、点滴、および吸入によって実行される、請求項 4 0 に記載の方法。

40

【請求項 4 2】

前記投与が注射によるものであり、前記注射が静脈内、筋肉内、動脈内、髄腔内、脳室内、関節包内、眼窩内、心臓内、皮内、腹腔内、硝子体内、経気管、皮下、表皮下、関節内、眼窩下、クモ膜下、脊髄内、脳脊髄内、ならびに胸骨内注射および注入から選択される、請求項 4 0 に記載の方法。

【請求項 4 3】

前記「IFN - 媒介性症候群」が、炎症、後天性免疫不全症候群（AIDS）、若年性関節リウマチを含む関節リウマチ、潰瘍性大腸炎およびクローン病を含む炎症性腸疾患、多発性硬化症、アジソン病、糖尿病（1型）、精巣上体炎、糸球体腎炎、グレーブス病

50

、ギラン・バレー症候群、橋本病、溶血性貧血、全身性エリテマトーデス（SLE）、ループス腎炎、重症筋無力症、天疱瘡、乾癬、乾癬性関節炎、アテローム性動脈硬化症、エリスロポエチン抵抗性、移植片対宿主病、移植拒絶反応、自己免疫性肝炎誘発性肝障害、胆汁性肝硬変、アルコール性肝硬変を含むアルコール性肝障害、リウマチ熱、サルコイドーシス、強皮症、シェーグレン症候群、脊椎関節症、強直性脊椎炎、川崎病、ドライアイ疾患、血球貪食性リンパ組織球症、マクロファージ活性化症候群、甲状腺炎、血管炎、またはその組み合わせを含む、請求項40に記載の方法。

【請求項44】

環境中のインターフェロン- を検出するための方法であって、

(a) 請求項1～29のいずれか一項に記載の単離抗体を前記環境に適用する工程と

10

(b) 前記環境を抗IgG抗体と共にインキュベートする工程であって、前記抗IgG抗体が検出可能な標識と結合している工程と、

(c) 前記検出可能な標識を検出する工程と、を含む方法。

【請求項45】

前記抗IgG抗体がFc特異的抗体である、請求項44に記載の方法。

【請求項46】

前記検出可能な標識がアルカリホスファターゼを含み、前記方法が、工程(b)の後かつ工程(c)の前に、前記環境をp-ニトロフェニルホスフェート溶液と共にインキュベートする工程をさらに含む、請求項44に記載の方法。

20

【請求項47】

工程(c)の前記検出が、OD<sub>405</sub>での前記環境の吸光度を決定することによって実施される、請求項44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)

本出願は、2017年5月5日に出願された米国仮出願番号第62/501,952号の優先権を主張し、その仮出願はすべての目的に対して、参照により本明細書に組み込まれる。

30

【0002】

本開示は、インターフェロンガンマ（IFN-）に対する新しい組換え抗体またはその任意の抗原結合フラグメントに関する。本開示は、IFN- 媒介性疾患の改善、治療または予防における、前記抗体またはその任意の抗原結合フラグメントの使用法にも関する。

【背景技術】

【0003】

インターフェロンガンマ（IFN-）は、先天免疫および適応免疫の両方に重要な役割を果たすサイトカインである。IFN- は炎症および自己免疫疾患に関連することが当技術分野で知られている。例えば、Kine Edvardsenらは、大量のIFN- を生産する自己反応性21 OH特異的T細胞はアジソン病患者にも多く見られることを発表した（J Interferon Cytokine Res. 2015 Oct 1; 35(10): 759-770）。Bisping Gらは、炎症性腸疾患患者は、疾患の非活動状態にあっても、腸上皮細胞によって媒介されるCD8+リンパ球のIFN- 誘導に対する能力増加を示す、と結論付けた（Clin Exp Immunol. 2001 Jan; 123(1): 15-22）。

40

【0004】

前述の炎症誘発機能とは対照的に、特定の状況では、IFN- 発現はT細胞活性の抑制につながり得る。例えば、Benci JLらは、腫瘍IFN- シグナル伝達が、免疫チェックポイント阻害に対する多重遺伝子耐性プログラムを制御する可能性があること

50

を示した (Cell, 2016, Dec 167:1540-1554)。彼らのデータは、IFN- $\gamma$  のを阻害するまたは中和することによって、特有の疲弊したT細胞サブセットの機能を改善する可能性があることを示した。従って、抗IFN- $\gamma$  の中和薬剤も、T細胞免疫性を増強するために使用することができる。

【0005】

炎症関連疾患の治療に対する抗IFN- $\gamma$  薬剤の医薬用途の可能性を考慮すると、工業的および医薬的用途に有用な抗IFN- $\gamma$  抗体に対するニーズが引き続き存在する。

【発明の概要】

【0006】

本開示の目的の一つは、インターフェロン- $\gamma$  媒介性活性を中和するための、新しい抗IFN- $\gamma$  抗体およびこれを含む組成物を提供することである。本開示の別の目的は、IFN- $\gamma$  媒介症候群を治療するための、前記抗IFN- $\gamma$  抗体を含む医薬組成物を提供することである。

【0007】

前記目的を達成するために、本開示は以下を含む単離抗体を提供する：配列番号：120、123、126、129、144、147、150、または153から選択されるアミノ酸配列を含むV<sub>H</sub> CDR1；配列番号：121、124、127、130、145、148、151、または154から選択されるアミノ酸配列を含むV<sub>H</sub> CDR2；配列番号：122、125、128、131、146、149、152、または155から選択されるアミノ酸配列を含むV<sub>H</sub> CDR3；配列番号：132、135、138、141、156、158、160、または162から選択されるアミノ酸配列を含むV<sub>L</sub> CDR1；配列番号：133、136、139、142、157、159、161、または163から選択されるアミノ酸配列を含むV<sub>L</sub> CDR2；配列番号：134、137、140、または143から選択されるアミノ酸配列を含むV<sub>L</sub> CDR3。

【0008】

本開示は、前記抗体と同じエピトープに特異的に結合する単離抗体も提供する。一部の実施形態では、前記抗体は、下記および本明細書のその他の場所に記述されるようなエピトープ結合特性をさらに含む。

【0009】

次に本開示は単離抗体を提供し、ここで抗体は、ヒトIFN- $\gamma$  のアミノ酸30~52または36~48およびアミノ酸78~92または82~92内の1つまたは複数のアミノ酸残基に特異的に結合し、前記アミノ酸30~52は配列番号：167のアミノ酸を含み、前記アミノ酸36~48は配列番号：171のアミノ酸を含み、前記78~92は配列番号：168のアミノ酸を含み、前記82~92は配列番号：172のアミノ酸を含む。

【0010】

本開示は単離抗体をさらに提供し、ここで抗体は、ヒトIFN- $\gamma$  のアミノ酸36~48または82~92内の1つまたは複数のアミノ酸残基に特異的に結合し、前記アミノ酸36~48は配列番号：171のアミノ酸を含み、前記アミノ酸82~92は配列番号：172のアミノ酸を含む。

【0011】

本開示は、ヒトIFN- $\gamma$  のエピトープに特異的に結合する単離抗体も提供し、ここで前記エピトープはヒトIFN- $\gamma$  のK43、Q48、およびK86を含み、前記ヒトIFN- $\gamma$  は配列番号：166を含む。

【0012】

次に本開示は前記単離抗体をコードする単離ポリヌクレオチドを提供する。一部の実施形態では、単離ポリヌクレオチドは抗体をコードし、ここで抗体は、配列番号：120、123、126、129、144、147、150、または153から選択されるアミノ酸配列を含むV<sub>H</sub> CDR1；配列番号：121、124、127、130、145、148、151、または154から選択されるアミノ酸配列を含むV<sub>H</sub> CDR2；配列番

号：122、125、128、131、146、149、152、または155から選択されるアミノ酸配列を含むV<sub>H</sub> CDR3；配列番号：132、135、138、141、156、158、160、または162から選択されるアミノ酸配列を含むV<sub>L</sub> CDR1；配列番号：133、136、139、142、157、159、161、または163から選択されるアミノ酸配列を含むV<sub>L</sub> CDR2；配列番号：134、137、140、または143から選択されるアミノ酸配列を含むV<sub>L</sub> CDR3、を含む。

【0013】

一部の実施形態では、単離ポリヌクレオチドは、配列番号：173、175、176、177、179、または181に対して少なくとも90%の同一性を有し、抗体のV<sub>H</sub>をコードしている第一の配列、および配列番号：174、178、180または182に対して少なくとも90%の同一性を有し、抗体のV<sub>L</sub>をコードしている第二の配列を含む。

10

【0014】

本開示は前記ポリヌクレオチドを含むベクターも提供する。

【0015】

本開示は前記ベクターを含む単離宿主細胞も提供する。

【0016】

次に本開示は前記単離抗体を発現する単離宿主細胞を提供する。

【0017】

本開示は、前記単離抗体および担体を含む、インターフェロン- $\gamma$  活性を中和するための組成物も提供する。

20

【0018】

次に本開示は、前記単離抗体の有効量および薬学的に許容可能な担体を含む、IFN- $\gamma$  媒介性症候群を治療するための組成物を提供する。

【0019】

本開示はさらに、単離抗体の有効量を必要とする被験者に投与することを含む、IFN- $\gamma$  媒介性症候群の治療方法を提供する。

【0020】

本開示は、環境中のインターフェロン- $\gamma$  を検出するための方法も提供し、方法は、(A)前記単離抗体を前記環境中に適用する工程、(B)前記環境を抗IgG抗体と共に培養する工程であって、前記IgG抗体が検出可能な標識と結合している工程、および(C)前記検出可能な標識を検出する工程を含む。

30

【図面の簡単な説明】

【0021】

【図1】実施例1の抗体2A6のPNGase F消化分析の結果を示す。「-」は未処理群を表し、「+」はPNGase Fで処理された群を表す。矢印はPNGase F処理後のバンドのシフトを示す。

【図2】実施例1の抗体2A6、2A6\_\_Aおよび2A6\_\_QのSDS-PAGE分析の結果を示す。

【図3】実施例2のAHCバイオセンサーに固定された抗IFN- $\gamma$  mAb上に異なる濃度(0、0.625、1.25、2.5、5、10nM)の組換えヒトIFN- $\gamma$  を通すことによって得られた結合曲線を示す。

40

【図4】実施例2のAHCバイオセンサーに固定された抗IFN- $\gamma$  mAb上に異なる濃度(0、0.625、1.25、2.5、5、10、20nM)の組換えヒトIFN- $\gamma$  を通すことによって得られた結合曲線を示す。AMG811は、米国特許第7,335,743号に記述された抗IFN- $\gamma$  抗体であり、それに記述されたように調製された。コントロールAbはヒトIgG1イソタイプコントロール抗体である(Bio X cell; BP0297)。

【図5】IFN- $\gamma$  誘導性HLA-DR発現が本開示の抗体によって用量依存性的に、且つ効果的に阻害され得ることを示す。

【図6】本開示の抗体のIFN- $\gamma$  結合親和性を表す、実施例2のELISAの結果を示す

50

す。

【図7】本開示の抗体のヒトIFN- $\gamma$ （R&D systems 285-IF-100）結合親和性を表す、実施例3のELISAの結果を示す。

【図8】本開示の抗体のアカゲザル/カニクイザルIFN- $\gamma$ （R&D systems 961-RM-025）結合親和性を表す、実施例3のELISAの結果を示す。

【図9】本開示の抗体のIFN- $\gamma$ に対する中和活性を示す。

【図10】実施例3で実施された抗IFN- $\gamma$ 抗体の全血分析におけるCXCL9産生の阻害を示す。

【図11】実施例3で実施された抗IFN- $\gamma$ 抗体の全血分析におけるCXCL10産生の阻害を示す。

10

【図12】HLA-DRのIFN- $\gamma$ 誘導性発現に対する本開示の抗体の阻害効果を示す。

【図13】PD-L1のIFN- $\gamma$ 誘導性発現に対する本開示の抗体の阻害効果を示す。

【図14】実施例4で実施されたエピトープビニング実験の結果を示す。

【発明を実施するための形態】

【0022】

本明細書および添付の請求項の説明については、文脈により明らかにそうでないことが示されていない限り、単数形「a」、および「an」には複数の対象物が含まれる。従って、例えば、「タンパク質（a protein）」への言及には複数のたんぱく質が含まれ、「化合物（a compound）」への言及は複数の化合物を指す。「含む（comprise、comprises、comprising）」「含む（include、includes、including）」の使用は互換的であり、制限することを意図しない。さまざまな実施形態の説明で「含む（comprising）」という用語を使用する場合、一部の特定例では、実施例は「実質的に～から成る」または「～から成る」という言い回しを使用して代替的に記述され得ることを、当業者であれば理解することをさらに理解すべきである。

20

【0023】

値の範囲が提供されている場合、文脈により明らかにそうでないことが示されていない限り、その範囲の上限と下限の間の値のそれぞれの介在整数、および値のそれぞれの介在整数の10分の1、および言明された範囲内の言明された値または介在値が本発明に包含されることが理解される。言明された範囲中の特に除外される限度に制限される、これらのより小さな範囲の上限および下限は、そのより小さな範囲に独立して含まれる可能性があり、本発明内にも包含される。言明された範囲には、限度の一つまたは両方を含み、これらの含まれた限度の（i）いずれか、または（ii）両方を除く範囲も本発明に含まれる。例えば、「1～50」は「2～25」、「5～20」、「25～50」、「1～10」などを含む。

30

【0024】

本開示に言及されたすべての出版物、特許、特許出願、およびその他の文書は、各個別の出版物、特許、特許出願またはその他の文書が、すべての目的に対して参照により本明細書に組み込まれるものとする。あたかも個別に示されたかのように、すべての目的に対してその全体が参照により本明細書に組み込まれる。

40

【0025】

図面を含む前述の一般的説明、および以下の詳細説明の両方は例示的であり、例示のみであり、本開示を制限しないことを理解すべきである。

【0026】

他に特に定義されていない限り、本明細書の記述に使用された技術的および科学的用語は、当業者によって一般的に理解される意味を持つものとする。

【0027】

「抗体」という用語は本明細書で使用される場合、インタクト抗体および任意の抗原結合フラグメント（すなわち、「抗原結合部分」）またはその単鎖を含む。「抗体」とは、

50

ジスルフィド結合によって相互接続した少なくとも2つの重(H)鎖および2つの軽(L)鎖を含む糖タンパク質、またはその抗原結合部分を指す。各重鎖は重鎖可変領域(本明細書ではV<sub>H</sub>と略される)および重鎖定常領域から成る。重鎖定常領域は3つのドメインCH1、CH2およびCH3から成る。各軽鎖は軽鎖可変領域(本明細書ではV<sub>L</sub>と略される)および軽鎖定常領域から成る。軽鎖定常領域は1つのドメインCLから成る。V<sub>H</sub>およびV<sub>L</sub>領域は、フレームワーク領域(FR)と呼ばれるより保存された領域に挿入された相補性決定領域(CDR)と呼ばれる超可変性の領域にさらに細分化することができる。V<sub>H</sub>およびV<sub>L</sub>のそれぞれは、3つのCDRおよび4つのFRから構成され、アミノ末端からカルボキシ末端まで以下の順序で配列されている: FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重鎖および軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含む。抗体の定常領域は、免疫系のさまざまな細胞(例えば、エフェクター細胞)および古典的補体系の第一成分(C1q)を含む宿主組織または因子への免疫グロブリンの結合を媒介し得る。

#### 【0028】

フレームワーク領域およびCDRの範囲は、Kabata( Kabata et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Department of Health and Human Services, 1991を参照)およびIMMUNOGENETICSデータベース(IMGT)(Lefranc, Nucleic Acids Res 29:207-9, 2001およびオンラインimgt.cines.fr/IMGT\_vquest/vquest?livret=0&Option=humanIgを参照)によって定義されている。

#### 【0029】

本開示の文脈においての「Kabataシステム」は、Kabata(1991; Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th edit., NIH publication no. 91-3242 U.S. Department of Health and Human Services)およびChothia(1987; J. Mol. Biol. 196, 901-917)による一貫した方法で残基に付番する基準を意味する。この付番方式は当業者によって広く使用されており、配列多様性および、抗原結合活性において重要な可変ドメイン領域の三次元ループに基づいている。軽鎖または重鎖のすべての残基は、Kabataシステムでは別個の位置を持つ。すなわち、Kabata方式はCDRに適用され、フレームワーク領域にも適用される。任意の抗体の特定残基の位置はKabataシステムによって付番され得る。Kabataシステムに従ってV<sub>H</sub>およびV<sub>L</sub>鎖のCDR領域を特定するための規則は、www.bioinf.org.uk/absに示されている。

#### 【0030】

IMGT特別な付番方式はKabataシステムの代替方式であり、抗原受容体、鎖のタイプ、または種に限らずに可変ドメインを比較することができる[Lefranc M.-P., Immunology Today 18, 509 (1997)/Lefranc M.-P., The Immunologist, 7, 132-136 (1999)/Lefranc, M.-P., Pommie, C., Ruiz, M., Giudicelli, V., Foulquier, E., Truong, L., Thouvenin-Contet, V. and Lefranc, Dev. Comp. Immunol., 27, 55-77 (2003)]。IMGT特別な付番方式では、例えば、システイン23(1st-CYS)、トリプトファン41(CONSERVED-TRP)、疎水性アミノ酸89、システイン104(2nd-CYS)、フェニルアラニンまたはトリプトファン118(J-PHEまたはJ-TRP)などの保存されたアミノ酸は必ず同じ位置にある。IMGT特別な付番方式は、フレームワーク領域(FR1-IMGT:位置1~26、FR2-IMGT:39~55

10

20

30

40

50

、FR3-IMGT:66~104およびFR4-IMGT:118~128)ならびに相補性決定領域(CDR1-IMGT:27~38、CDR2-IMGT:56~65およびCDR3-IMGT:105~117)の標準化限界を提供する。切れ目は占有されていない位置を表すため、CDR-IMGTの長さ(括弧の間に、点で分離されて示される、例えば、[8.8.13])は重要な情報となる。IMGT特別な付番方式は、IMGT Collie rs de Perles [Ruiz, M. and Lefranc, M.-P., Immunogenetics, 53, 857-883 (2002)/Kaas, Q. and Lefranc, M.-P., Current Bioinformatics, 2, 21-30 (2007)]と表される2Dグラフィック表示、およびIMGT/3D構造-DBの3D構造[Kaas, Q., Ruiz, M. and Lefranc, M.-P., T cell receptor and MHC structural data. Nucl. Acids. Res., 32, D208-D210 (2004)]で使用される。

#### 【0031】

「抗原結合フラグメント」という用語は本明細書で使用される時、例えば、二重特異性抗体、Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fvフラグメント、ジスルフィド安定化Fvフラグメント(dsFv)、(dsFv)<sub>2</sub>、二重特異性dsFv(dsFv-dsFv')、ジスルフィド安定化二重特異性抗体(ds二重特異性抗体)、単鎖抗体分子(scFv)、scFv二量体(二価二重特異性抗体)、1つまたは複数のCDRを含む抗体の一部から形成された多重特異性抗体、または抗原には結合するが、完全もしくはインタクト抗体構造を含まない任意のその他の抗体フラグメントなどの、抗体フラグメントを指す。抗原結合フラグメントは、親抗体または親抗体フラグメント(例えば、親scFv)が結合するのと同じ抗原に結合することができる。特定の実施形態では、抗原結合フラグメントは、1つまたは複数の異なるヒト抗体からのフレームワーク領域にグラフトされた特定のヒト抗体からの1つまたは複数のCDRを含み得る。

#### 【0032】

上述の抗原結合フラグメントのうち、Fabは、軽鎖および重鎖可変領域、軽鎖定常領域、重鎖第一定常領域(CH1)および1つの抗原結合部位を持つ。Fab'は、Fab'が重鎖CH1ドメインのC末端にある少なくとも1つのシステイン残基を含むヒンジ領域を持つという点で、Fabとは異なる。F(ab')<sub>2</sub>は、Fab'のヒンジ領域にあるシステイン残基がジスルフィド結合で連結される時に生産される。

#### 【0033】

Fvは、重鎖可変領域および軽鎖可変領域のみを持つ最小抗体フラグメントである。Fvフラグメントを生産するための組換え技術は当技術分野でよく知られている。「一本鎖Fv抗体」または「scFv」は、互いに直接にまたはペプチドリンカー配列を介して接続された軽鎖可変領域および重鎖可変領域から成る改変抗体を指す。二本鎖Fvは、重鎖可変領域が非共有結合によって軽鎖可変領域に連結されている構造を持ち得る。一本鎖Fvは一般的に、二本鎖Fvのように二量体構造を形成することができ、ここで重鎖可変領域はペプチドリンカーを介して軽鎖可変領域に共有結合されているか、または重鎖および軽鎖可変領域は、そのC末端で互いに直接に連結されている。リンカーは任意の1~100個または2~50個のアミノ酸を含むペプチドリンカーであってよく、そのために有用な適正配列は当技術分野でよく知られている。

#### 【0034】

抗原結合フラグメントは、プロテアーゼを使用して取得する(例えば、全抗体をパイピンで消化してFabフラグメントを得るか、ペプシンで消化してF(ab')<sub>2</sub>フラグメントを得ることができる)か、または遺伝子組換え技術によって調製することができる。

#### 【0035】

「単離抗体」は本明細書で使用される場合、異なる抗原特異性(例えば、IFN-を特異的に結合する単離抗体は、IFN-以外の抗原に特異的に結合する抗体を実質的に含まない)を持つその他の抗体を実質的に含まない抗体を指すことを意図する。しかし、

I F N - に特異的に結合する単離抗体は、その他の種からの I F N - 分子など、その他の抗原に対して交差反応性を持ち得る。さらに、単離抗体はその他の細胞物質および/または化学物質を実質的に含まない可能性がある。

【 0 0 3 6 】

「モノクローナル抗体」または「モノクローナル抗体組成物」という用語は本明細書で使用される場合、同種分子組成物の抗体分子の調製物を指す。モノクローナル抗体組成物は、特定エピトープに対する単一結合特異性および親和性を示す。

【 0 0 3 7 】

「ヒト抗体」という用語は本明細書で使用される場合、フレームワーク領域および C D R 領域の両方がヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列に由来している可変領域を持つ抗体を含むことを意図する。さらに、抗体が定常領域を含む場合、定常領域もヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列に由来する。本開示のヒト抗体は、ヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列によってコードされていないアミノ酸残基（例えば、*in vitro* の部位特異的突然変異誘発によって、または *in vivo* の体細胞変異によって導入された変異）を含み得る。しかし、「ヒト抗体」という用語は本明細書で使用される場合、マウスなどの別の哺乳動物種の生殖細胞系に由来する C D R がヒトフレームワーク配列上にグラフトされている抗体を含むことを意図しない。

10

【 0 0 3 8 】

「ヒトモノクローナル抗体」という用語は、フレームワーク領域および C D R 領域の両方がヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列に由来している可変領域を持ち、単一結合特異性を示す抗体を指す。

20

【 0 0 3 9 】

「組換えヒト抗体」という用語は本明細書で使用される場合、( a ) ヒト免疫グロブリン遺伝子についてトランスジェニックもしくはトランスクロモソームである動物（例えば、マウス）またはそれから調製されたハイブリドーマ（下記でさらに説明する）から単離された抗体、( b ) 例えばトランスフェクターマからなど、ヒト抗体を発現するように形質転換された宿主細胞から単離された抗体、( c ) 組換え、組み合わせヒト抗体ライブラリから単離された抗体、( d ) ヒト免疫グロブリン遺伝子配列をその他の DNA 配列へのスプライシングに關与する任意のその他の手段によって調製、発現、作成または単離された抗体など、組換え手段によって調製、発現、作成または単離されたすべてのヒト抗体を含む。このような組換えヒト抗体は、フレームワーク領域および C D R 領域がヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列に由来する可変領域を持つ。しかし特定の実施形態では、このような組換えヒト抗体は、*in vitro* 突然変異誘発（または、ヒト I g 配列についてトランスジェニックな動物を使用する時は、*in vivo* 体細胞突然変異誘発）を受けさせることができ、そのため組換えヒト抗体の V<sub>H</sub> および V<sub>L</sub> 領域のアミノ酸配列は、ヒト生殖細胞系 V<sub>H</sub> および V<sub>L</sub> 配列に由来しこれに關連するものの、*in vivo* のヒト抗体生殖細胞系レパートリー内に本来存在しない可能性がある配列である。

30

【 0 0 4 0 】

「ヒト化抗体」という用語は、非ヒト種から作られ、ヒトで本来生成される抗体バリエーションに対する類似性を増すように改変されたタンパク質配列を含む抗体を指す。ヒト化プロセスは、非ヒト起源抗体をヒトに適用する時、望ましくない免疫原性効果を回避するために必要となる可能性がある。比較すると、「キメラ抗体」という用語は本明細書で言及される場合、1つの種からの抗原結合領域（すなわち、V<sub>H</sub> および V<sub>L</sub>）を別の定常ドメインと融合することによって作られる抗体である。

40

【 0 0 4 1 】

「K<sub>assoc</sub>」または「K<sub>a</sub>」という用語は本明細書で使用される場合、特定の抗原抗体相互作用の会合速度を指すことを意図する一方、「K<sub>diss</sub>」または「K<sub>d</sub>」という用語は本明細書で使用される場合、特定の抗原抗体反応の解離速度を指すことを意図する。「K<sub>D</sub>」という用語は本明細書で使用される場合、K<sub>d</sub> の K<sub>a</sub> に対する比率（すなわち、K<sub>d</sub> / K<sub>a</sub>）から得られ、モル濃度（M）として表される解離定数を指すことを意図する。抗体の K<sub>D</sub>

50

値は、本技術分野で十分に確立された方法を使用して決定することができる。

【0042】

本明細書で使用される場合、「エピトープ」は、特異抗体によって認識され結合される抗原の一部を指し、抗原の抗原特異性を決定する。エピトープは抗原決定基としても知られる。特に、本開示では、エピトープはヒトIFN- $\gamma$ の特異ドメインまたはドメインの組み合わせであり得る。本開示の一部の実施形態では、特異ドメインまたはドメインの組み合わせは、配列番号：166のアミノ酸配列を含むヒトIFN- $\gamma$ のものである。

【0043】

本開示の一実施形態では、IFN- $\gamma$ は配列番号：166を含み、本開示の抗体は、配列番号：166のアミノ酸30～52または36～48および配列番号：166のアミノ酸78～92または82～92内の1つまたは複数のアミノ酸残基に特異的に結合する。本開示の特定実施形態では、本開示の抗体は、配列番号：166のアミノ酸30～52およびアミノ酸78～92でIFN- $\gamma$ に特異的に結合する。この特定実施形態では、配列番号：166の前記アミノ酸30～52およびアミノ酸78～92が本開示の抗体のエピトープを形成する。別の実施形態では、本開示の抗体は、配列番号：166のアミノ酸36～48およびアミノ酸82～92でIFN- $\gamma$ に特異的に結合する。この特定実施形態では、配列番号：166の前記アミノ酸36～48およびアミノ酸82～92が本開示の抗体のエピトープを形成する。

10

【0044】

本明細書で使用される場合、「IFN- $\gamma$ に特異的に結合する」抗体は、 $1 \times 10^{-8}$ M未満、 $1 \times 10^{-9}$ M未満、 $1 \times 10^{-10}$ M未満、 $1 \times 10^{-11}$ M未満またはさらに小さい結合値 $K_D$ でIFN- $\gamma$ に結合する抗体を指すことを意図する。

20

【0045】

本開示の第一の態様。

【0046】

本開示の第一の態様では、単離抗体または任意の抗原結合部分が提供される。前記単離抗体または任意の抗原結合部分は：

(a) 配列番号：120、123、126、129、144、147、150、または153から選択されるアミノ酸配列を含む $V_H$  CDR1；

(b) 配列番号：121、124、127、130、145、148、151、または154から選択されるアミノ酸配列を含む $V_H$  CDR2；

(c) 配列番号：122、125、128、131、146、149、152、または155から選択されるアミノ酸配列を含む $V_H$  CDR3；

(d) 配列番号：132、135、138、141、156、158、160、または162から選択されるアミノ酸配列を含む $V_L$  CDR1；

(e) 配列番号：133、136、139、142、157、159、161、または163から選択されるアミノ酸配列を含む $V_L$  CDR2；および

(f) 配列番号：134、137、140、または143から選択されるアミノ酸配列を含む $V_L$  CDR3を含む。

30

【0047】

特定実施形態では、抗体2A6が提供される。前記抗体2A6の前記 $V_H$  CDR1、 $V_H$  CDR2、および $V_H$  CDR3はそれぞれ、配列番号：120、配列番号：121、および配列番号：122のアミノ酸配列を含み、前記抗体2A6の前記 $V_L$  CDR1、 $V_L$  CDR2、および $V_L$  CDR3はそれぞれ、配列番号：132、配列番号：133、および配列番号：134のアミノ酸配列を含む。あるいは、前記抗体2A6の前記 $V_H$  CDR1、 $V_H$  CDR2、および $V_H$  CDR3はそれぞれ、配列番号：144、配列番号：145、および配列番号：146のアミノ酸配列を含み、前記抗体2A6の前記 $V_L$  CDR1、 $V_L$  CDR2、および $V_L$  CDR3はそれぞれ、配列番号：156、配列番号：157、および配列番号：134のアミノ酸配列を含む。

40

【0048】

50

特定実施形態では、抗体 2 B 6 が提供される。前記抗体 2 B 6 の前記 V<sub>H</sub> CDR 1、V<sub>H</sub> CDR 2、および V<sub>H</sub> CDR 3 はそれぞれ、配列番号：123、配列番号：124、および配列番号：125 のアミノ酸配列を含み、ここで前記抗体 2 B 6 の前記 V<sub>L</sub> CDR 1、V<sub>L</sub> CDR 2、および V<sub>L</sub> CDR 3 はそれぞれ、配列番号：135、配列番号：136、および配列番号：137 のアミノ酸配列を含む。あるいは、前記抗体 2 B 6 の前記 V<sub>H</sub> CDR 1、V<sub>H</sub> CDR 2、および V<sub>H</sub> CDR 3 はそれぞれ、配列番号：147、配列番号：148、および配列番号：149 のアミノ酸配列を含み、ここで前記抗体 2 B 6 の前記 V<sub>L</sub> CDR 1、V<sub>L</sub> CDR 2、および V<sub>L</sub> CDR 3 はそれぞれ、配列番号：158、配列番号：159、および配列番号：137 のアミノ酸配列を含む。

【0049】

特定実施形態では、抗体 1 E 8 が提供される。前記抗体 1 E 8 の前記 V<sub>H</sub> CDR 1、V<sub>H</sub> CDR 2、および V<sub>H</sub> CDR 3 はそれぞれ、配列番号：126、配列番号：127、および配列番号：128 のアミノ酸配列を含み、ここで前記抗体 1 E 8 の前記 V<sub>L</sub> CDR 1、V<sub>L</sub> CDR 2、および V<sub>L</sub> CDR 3 はそれぞれ、配列番号：138、配列番号：139、および配列番号：140 のアミノ酸配列を含む。あるいは、前記抗体 1 E 8 の前記 V<sub>H</sub> CDR 1、V<sub>H</sub> CDR 2、および V<sub>H</sub> CDR 3 はそれぞれ、配列番号：150、配列番号：151、および配列番号：152 のアミノ酸配列を含み、ここで前記抗体 1 E 8 の前記 V<sub>L</sub> CDR 1、V<sub>L</sub> CDR 2、および V<sub>L</sub> CDR 3 はそれぞれ、配列番号：160、配列番号：161、および配列番号：140 のアミノ酸配列を含む。

【0050】

特定実施形態では、抗体 2 F 2 が提供される。前記抗体 2 F 2 の前記 V<sub>H</sub> CDR 1、V<sub>H</sub> CDR 2、および V<sub>H</sub> CDR 3 はそれぞれ、配列番号：129、配列番号：130、および配列番号：131 のアミノ酸配列を含み、ここで前記抗体 2 F 2 の前記 V<sub>L</sub> CDR 1、V<sub>L</sub> CDR 2、および V<sub>L</sub> CDR 3 はそれぞれ、配列番号：141、配列番号：142、および配列番号：143 のアミノ酸配列を含む。あるいは、前記抗体 2 F 2 の前記 V<sub>H</sub> CDR 1、V<sub>H</sub> CDR 2、および V<sub>H</sub> CDR 3 はそれぞれ、配列番号：153、配列番号：154、および配列番号：155 のアミノ酸配列を含み、ここで前記抗体 2 F 2 の前記 V<sub>L</sub> CDR 1、V<sub>L</sub> CDR 2、および V<sub>L</sub> CDR 3 はそれぞれ、配列番号：162、配列番号：163、および配列番号：143 のアミノ酸配列を含む。

【0051】

特定実施形態では、抗体 A B が提供される（「A B」は、2 A 6 の V<sub>H</sub> CDR および 2 B 6 の V<sub>L</sub> CDR を含み、「V<sub>H</sub> 2 A 6 / V<sub>L</sub> 2 B 6」とも呼ばれる）。前記抗体 A B の前記 V<sub>H</sub> CDR 1、V<sub>H</sub> CDR 2、および V<sub>H</sub> CDR 3 はそれぞれ、配列番号：120、配列番号：121、および配列番号：122 のアミノ酸配列を含み、ここで前記抗体 A B の前記 V<sub>L</sub> CDR 1、V<sub>L</sub> CDR 2、および V<sub>L</sub> CDR 3 はそれぞれ、配列番号：135、配列番号：136、および配列番号：137 のアミノ酸配列を含む。あるいは、前記抗体 A B の前記 V<sub>H</sub> CDR 1、V<sub>H</sub> CDR 2、および V<sub>H</sub> CDR 3 はそれぞれ、配列番号：144、配列番号：145、および配列番号：146 のアミノ酸配列を含み、ここで前記抗体 A B の前記 V<sub>L</sub> CDR 1、V<sub>L</sub> CDR 2、および V<sub>L</sub> CDR 3 はそれぞれ、配列番号：158、配列番号：159、および配列番号：137 のアミノ酸配列を含む。

【0052】

特定実施形態では、抗体 B A が提供される（「B A」は、2 B 6 の V<sub>H</sub> CDR および 2 A 6 の V<sub>L</sub> CDR を含み、「V<sub>H</sub> 2 B 6 / V<sub>L</sub> 2 A 6」とも呼ばれる）。前記抗体 B A の前記 V<sub>H</sub> CDR 1、V<sub>H</sub> CDR 2、および V<sub>H</sub> CDR 3 はそれぞれ、配列番号：123、配列番号：124、および配列番号：125 のアミノ酸配列を含み、ここで前記抗体 B A の前記 V<sub>L</sub> CDR 1、V<sub>L</sub> CDR 2、および V<sub>L</sub> CDR 3 はそれぞれ、配列番号：132、配列番号：133、および配列番号：134 のアミノ酸配列を含む。あるいは、前記抗体 B A の前記 V<sub>H</sub> CDR 1、V<sub>H</sub> CDR 2、および V<sub>H</sub> CDR 3 はそれぞれ、配列番号：147、配列番号：148、および配列番号：149 のアミノ酸配列を

10

20

30

40

50

含み、ここで前記抗体 B A の前記  $V_L$  C D R 1、 $V_L$  C D R 2、および  $V_L$  C D R 3 はそれぞれ、配列番号：156、配列番号：157、および配列番号：134 のアミノ酸配列を含む。

【0053】

一部の実施形態では、本開示は、本明細書のその他の場所に記述された配列のいずれかを持つ  $V_H$  C D R および  $V_L$  C D R を含み、さらに、配列番号：109、110、111、または112に対して少なくとも90%の同一性を有する  $V_H$  領域、および配列番号：113、114、115、または116に対して少なくとも90%の同一性を有する  $V_L$  領域を含む、単離抗体または抗原結合フラグメントを提供する。別の実施形態では、前記同一性は95%である、前記同一性は98%である、または前記同一性は99%である。

10

【0054】

一部の実施形態では、本開示は、本明細書に開示された実施形態のいずれかによる単離抗体を提供し、ここで抗体は重鎖および軽鎖をさらに含む。一部の実施形態では、前記重鎖は、配列番号：109、110、111、または112に対して少なくとも90%の同一性を有する  $V_H$  配列を含み、前記軽鎖は配列番号：113、114、115、または116に対して少なくとも90%の同一性を有する  $V_L$  領域を含む。別の実施形態では、前記同一性は95%である、前記同一性は98%である、または前記同一性は99%である。

【0055】

特定実施形態では、本開示は抗体 2 A 6 の C D R を含み、さらに、配列番号：109に対して少なくとも90%の同一性を有する  $V_H$  領域配列および配列番号：113に対して少なくとも90%の同一性を有する  $V_L$  領域配列を含む、抗体を提供する。別の実施形態では、前記同一性は95%である、前記同一性は98%である、または前記同一性は99%である。

20

【0056】

特定実施形態では、本開示は抗体 2 B 6 の C D R を含み、さらに、配列番号：110に対して少なくとも90%の同一性を有する  $V_H$  配列および配列番号：114に対して少なくとも90%の同一性を有する  $V_L$  配列を含む、抗体を提供する。別の実施形態では、前記同一性は95%である、前記同一性は98%である、または前記同一性は99%である。

30

【0057】

特定実施形態では、本開示は抗体 1 E 8 の C D R を含み、さらに、配列番号：111に対して少なくとも90%の同一性を有する  $V_H$  配列および配列番号：115に対して少なくとも90%の同一性を有する  $V_L$  配列を含む、抗体を提供する。別の実施形態では、前記同一性は95%である、前記同一性は98%である、または前記同一性は99%である。

【0058】

特定実施形態では、本開示は抗体 2 F 2 の C D R を含み、さらに、配列番号：112に対して少なくとも90%の同一性を有する  $V_H$  配列および配列番号：116に対して少なくとも90%の同一性を有する  $V_L$  配列を含む、抗体を提供する。別の実施形態では、前記同一性は95%である、前記同一性は98%である、または前記同一性は99%である。

40

【0059】

特定実施形態では、本開示は抗体 A B の C D R を含み、さらに、配列番号：109に対して少なくとも90%の同一性を有する  $V_H$  配列および配列番号：114に対して少なくとも90%の同一性を有する  $V_L$  配列を含む、抗体を提供する。別の実施形態では、前記同一性は95%である、前記同一性は98%である、または前記同一性は99%である。

【0060】

特定実施形態では、本開示は抗体 B A の C D R を含み、さらに、配列番号：110に対

50

して少なくとも90%の同一性を有するV<sub>H</sub>配列および配列番号：113に対して少なくとも90%の同一性を有するV<sub>L</sub>配列を含む、抗体を提供する。別の実施形態では、前記同一性は95%である、前記同一性は98%である、または前記同一性は99%である。

【0061】

本開示の抗体のいずれかの別の実施形態では、前記抗体はその可変領域にN結合型グリコシル化部位を含まないように改変される。例えば、一部の実施形態では、前記抗体は、そのV<sub>H</sub>領域の76位(N76)にあるアスパラギンアミノ酸の点突然変異によって改変される。一実施形態では、N76はアラニン、アルギニン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン酸、グルタミン、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リシン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、トレオニン、トリプトファン、チロシン、またはバリンに変異している。本明細書に開示された単離抗体の特定の実施形態では、抗体はそのV<sub>H</sub>領域の位置76(N76)にあるアスパラギンアミノ酸の点突然変異によって改変され、ここでN76位はアラニン(A)またはグルタミン(Q)に変異している。

10

【0062】

可変領域にN結合型グリコシル化部位を含まない抗体の特定の実施形態では、本開示は抗体2A6\_\_Aおよび2A6\_\_Qを提供し、ここで重鎖の前記N76はそれぞれアラニンおよびグルタミンに変異している。よって、一実施形態では、本開示は、配列番号：164に対して少なくとも90%の同一性を有する配列をV<sub>H</sub>が含む単離抗体「2A6\_\_Q」を提供し、ここで76位のアミノ酸はA、または配列番号：165であり、76位のアミノ酸はQであり、V<sub>L</sub>は配列番号113に対して少なくとも90%の同一性を有する配列を含む。別の実施形態では、前記同一性は95%である、前記同一性は98%である、または前記同一性は99%である。

20

【0063】

別の実施形態では、前記単離抗体は、 $1 \times 10^{-8}$  M未満、 $1 \times 10^{-9}$  M未満、 $1 \times 10^{-10}$  M未満、 $1 \times 10^{-11}$  M未満、またはさらに小さい結合値K<sub>D</sub>でヒトIFN- $\gamma$ に特異的に結合する。IFN- $\gamma$ の前記結合値K<sub>D</sub>はバイオレイヤー干渉解析で測定することが好ましい。

【0064】

別の実施形態では、前記単離抗体は、50 ng/mL未満、25 ng/mL未満、または10 ng/mL未満のIC<sub>50</sub>値でヒトIFN- $\gamma$ 媒介性活性を阻害する。前記IC<sub>50</sub>値はHLA-DR発現解析で測定することが好ましい。

30

【0065】

別の実施形態では、本開示の前記抗体は、さまざまな目的のための使用、または異なる動物モデルの研究者が使用する際に便利であるように、種と種間の交差反応性を持つ可能性がある。例えば、一部の実施形態では、前記抗体は、ヒト、アカゲザル/カニクイザルからなど、異なる哺乳類からのIFN- $\gamma$ と交差反応し得る。

【0066】

別の実施形態では、本明細書に記述した前記単離抗体(例えば、2A6、2B6、2A6\_\_A、2A6\_\_Q、1E8、2F2、AB、BA、およびその抗原結合フラグメント)はさらに、配列番号：166のヒトIFN- $\gamma$ の1つまたは複数のアミノ酸不連続アミノ酸配列を含むエピトープに特異的に結合する特性を備える。一実施形態では、抗体は、ヒトIFN- $\gamma$ のアミノ酸30~52および78~92を含むエピトープに特異的に結合することができる。一実施形態では、抗体は、ヒトIFN- $\gamma$ のアミノ酸36~48および82~92を含むエピトープに特異的に結合することができる。

40

【0067】

本開示の第二の態様。

【0068】

本開示の第二の態様では、別の単離抗体が提供される。抗体は、本開示の第一の態様に記述された抗体と同じエピトープに特異的に結合する。

50

## 【0069】

特定の実施形態では、抗体は、ヒトIFN- $\alpha$  のアミノ酸30～52および78～92内の1つまたは複数のアミノ酸残基に特異的に結合し、ここでアミノ酸30～52は配列番号：167のアミノ酸を含み、前記アミノ酸78～92は配列番号：168のアミノ酸を含む。別の実施形態では、抗体は、ヒトIFN- $\alpha$  のアミノ酸36～48および82～92内の1つまたは複数のアミノ酸残基に特異的に結合し、ここでアミノ酸36～48は配列番号：171のアミノ酸を含み、前記アミノ酸82～92は配列番号：172のアミノ酸を含む。

## 【0070】

代替的实施形態では、前記エピトープはヒトIFN- $\alpha$  のK43、Q48、およびK86を含み、ここで前記ヒトIFN- $\alpha$  は配列番号：166を含む。別の実施形態では、前記エピトープはヒトIFN- $\alpha$  のK37、E38、K43、Q46、Q48、K86、およびR89を含み、ここで前記ヒトIFN- $\alpha$  は配列番号：166を含む。

10

## 【0071】

本開示の第三の態様。

## 【0072】

本開示の第三の態様では、抗体をコードする単離ポリヌクレオチドが提供される。特に、前記ポリヌクレオチドは、本開示の第一の態様および第二の態様の前記抗体をコードする。特定の実施形態では、前記ポリヌクレオチドは前記2A6、2A6\_\_A、2A6\_\_Q、2B6、1E8、2F2、AB、またはBAをコードする。例えば、一部の实施形態では、単離ポリヌクレオチドは抗体をコードし、ここで抗体は、配列番号：120、123、126、129、144、147、150、または153から選択されるアミノ酸配列を含むV<sub>H</sub> CDR1；配列番号：121、124、127、130、145、148、151、または154から選択されるアミノ酸配列を含むV<sub>H</sub> CDR2；配列番号：122、125、128、131、146、149、152、または155から選択されるアミノ酸配列を含むV<sub>H</sub> CDR3；配列番号：132、135、138、141、156、158、160、または162から選択されるアミノ酸配列を含むV<sub>L</sub> CDR1；配列番号：133、136、139、142、157、159、161、または163から選択されるアミノ酸配列を含むV<sub>L</sub> CDR2；配列番号：134、137、140、または143から選択されるアミノ酸配列を含むV<sub>L</sub> CDR3、を含む。

20

30

## 【0073】

特定の実施形態では、前記抗体2A6をコードしている前記ポリヌクレオチドは、配列番号：173および配列番号：174に対して少なくとも90%の同一性を有する配列を含む。特定の実施形態では、前記抗体2A6\_\_Aをコードしている前記ポリヌクレオチドは、配列番号：175および配列番号：174に対して少なくとも90%の同一性を有する配列を含む。特定の実施形態では、前記抗体2A6\_\_Qをコードしている前記ポリヌクレオチドは、配列番号：176および配列番号：174に対して少なくとも90%の同一性を有する配列を含む。特定の実施形態では、前記抗体2B6をコードしている前記ポリヌクレオチドは、配列番号：177および配列番号：178に対して少なくとも90%の同一性を有する配列を含む。特定の実施形態では、前記抗体1E8をコードしている前記ポリヌクレオチドは、配列番号：179および配列番号：180に対して少なくとも90%の同一性を有する配列を含む。特定の実施形態では、前記抗体2F2をコードしている前記ポリヌクレオチドは、配列番号：181および配列番号：182に対して少なくとも90%の同一性を有する配列を含む。特定の実施形態では、前記抗体ABをコードしている前記ポリヌクレオチドは、配列番号：173および配列番号：178に対して少なくとも90%の同一性を有する配列を含む。特定の実施形態では、前記抗体BAをコードしている前記ポリヌクレオチドは、配列番号：174および配列番号：177に対して少なくとも90%の同一性を有する配列を含む。別の実施形態では、前記同一性は95%である、前記同一性は98%である、または前記同一性は99%である。

40

## 【0074】

50

別の実施形態では、前記ポリヌクレオチドは、哺乳動物細胞の抗体の最適な発現のために選択された1つまたは複数のコドンを含むポリヌクレオチド配列を含む。これは生成物の精度および効率を改善するためのもう一つの特徴である。特定の実施形態では、前記哺乳動物細胞はチャニーズハムスター卵巣（CHO）細胞、NS0細胞、ベビーハムスター腎臓（BHK）細胞、SP2/0細胞、HEK 293細胞、HEK 293 EBNA細胞、PER.C6（登録商標）細胞、およびCOS細胞である。

【0075】

本開示の第四の態様。

【0076】

本開示の第四の態様では、ベクターおよびこれを含む単離宿主細胞が提供される。前記ベクターは、本開示の第三の態様に記述されたポリヌクレオチドを含み、任意の種類 of 宿主細胞によって保持されるかまたは発現されて、その結果、本開示の抗体が生成され得るように設計されている。前記宿主細胞は、大腸菌、昆虫、酵母、または哺乳動物細胞から成る群から選択される。

10

【0077】

本開示の第五の態様。

【0078】

本開示の第五の態様では、本開示の抗体を含む組成物が提供される。実施形態で、前記組成物は *in vivo* または *in vitro* で IFN- の活性を中和するために使用される。別の実施形態では、前記組成物は、IFN- 媒介性症候群を治療するための医薬組成物である。前記「IFN- 媒介性症候群」には、炎症、後天性免疫不全症候群（AIDS）、若年性関節リウマチを含む関節リウマチ、潰瘍性大腸炎およびクローン病を含む炎症性腸疾患、多発性硬化症、アジソン病、糖尿病（1型）、精巣上体炎、糸球体腎炎、グレーブス病、ギラン・バレー症候群、橋本病、溶血性貧血、全身性エリテマトーデス（SLE）、ループス腎炎、重症筋無力症、天疱瘡、乾癬、乾癬性関節炎、アテローム性動脈硬化症、エリスロポエチン抵抗性、移植片対宿主病、移植拒絶反応、自己免疫性肝炎誘発性肝障害、胆汁性肝硬変、アルコール性肝硬変を含むアルコール性肝障害、リウマチ熱、サルコイドーシス、強皮症、シェーグレン症候群、脊椎関節症、強直性脊椎炎、川崎病、ドライアイ疾患、血球貪食性リンパ組織球症、マクロファージ活性化症候群、甲状腺炎、血管炎、またはその組み合わせが含まれるがこれらに限定されない。「IFN- 媒介性症候群」という用語は、IFN- のレベルの増加またはIFN- に対する感受性の増加と関連する任意の医学的状態も包含する。

20

30

【0079】

実施形態では、前記組成物は本開示の前記抗体および担体を含む。前記抗体は、前記組成物の目的に対する有効量で含有され得る。前記「有効量」は本明細書で使用される場合、単独でまたは1つもしくは複数のその他の活性薬剤と併用して、望ましい効果（例えば、本開示のIFN- 媒介性症候群を治療する）を被験者に与えるために必要な各活性薬剤の量を指す。当業者であれば認識するように、有効量は治療される特定の状態、状態の重症度、年齢、体調、体形、性別および体重を含む個別の患者パラメータ、治療の期間、（存在する場合）併用療法の性質、特定の投与経路および医療関係者の知見および専門知識内の因子に応じて変動する。これらの因子は当業者にはよく知られており、日常的な実験だけで対応することができる。個別の成分またはその組み合わせの最大用量、つまり賢明な医学的判断に従った最大安全量を使用することが一般的に好ましい。しかし、患者は、医学的理由、精神的理由、または実質的にその他任意の理由で、より低い用量または耐えられる用量を要求し得ることが、当業者には理解されるであろう。

40

【0080】

このような抗体組成物は、望ましい純度を持つ本開示の抗IFN- 抗体を、1つまたは複数の担体と混合することによって調製することができる。典型的には、このような抗体組成物は、水溶液（例えば、米国特許第6,171,586号およびWO2006/044908を参照）として、または凍結乾燥製剤（例えば、米国特許第6,267,95

50

8号を参照)として調製することができる。

【0081】

本開示の抗体組成物に有用な担体は、薬学的に許容可能な担体とすることができ、これには生理的に適合性のバッファー、賦形剤、安定剤、保存剤、溶媒、分散媒、コーティング、抗生剤および抗真菌剤、等張剤および吸収遅延剤などが一般的に含まれるが、これらに限定されない。担体は、(例えば、注射または注入による)静脈内、筋肉内、皮下、非経口、脊髄または表皮投与に適していることが好ましい。薬学的に許容可能な担体は一般的に、用いられる投薬量および濃度では投与される被験者に対して無毒である。

【0082】

幅広いこのような薬学的に許容可能な担体が当技術分野ではよく知られている(例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)を参照)。本開示の抗体組成物に有用である例示的な薬学的に許容可能な担体には、リン酸、クエン酸、およびその他の有機酸などのバッファー;アスコルビン酸およびメチオニンを含む抗酸化剤;保存剤(オクタデシルジメチルベンジル塩化アンモニウム;塩化ヘキサメトニウム;塩化ベンザルコニウム;塩化ベンゼトニウム;フェノール;ブチルまたはベンジルアルコール;メチルまたはプロピルパラベンなどのアルキルパラベン;カテコール;レゾルシノール;シクロヘキサノール;3-ペンタノール;およびm-クレゾールなど);低分子量(約10残基未満)ポリペプチド;血清アルブミン、ゼラチン、または免疫グロブリンなどのタンパク質;ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー;グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、またはリシンなどのアミノ酸;グルコース、マンノース、またはデキストリンを含む、単糖、二糖、およびその他の炭化水素;EDTAなどのキレート剤;スクロース、マンニトール、トレハロースまたはソルビトールなどの糖;ナトリウムなどの塩形成対イオン;金属錯体(例えば、Zn-タンパク質錯体);および/またはポリエチレングリコール(PEG)などの非イオン性表面活性剤が含まれるがこれらに限定されない。

10

20

【0083】

本開示の抗体組成物に有用である薬学的に許容可能な担体は、可溶性中性活性ヒアルロニダーゼ糖タンパク質(sHASEGP)(例えば、米国特許公報第2005/0260186号および第2006/0104968号)など、ヒト可溶性PH-20ヒアルロニダーゼ糖タンパク質(例えば、rHuPH20またはHYLENE X(登録商標)、Baxter International, Inc.)などの間質薬物分散剤も含むことができる。

30

【0084】

前記組成物は、崩壊剤、結合剤、滑沢剤、保存剤、またはその組み合わせなどの薬学的に許容可能な賦形剤をさらに含むことができる。

【0085】

本開示の第六の態様。

【0086】

本開示の第六の態様では、IFN- 媒介性症候群を治療するための方法が提供される。前記方法は、本開示の抗体の有効量を、それを必要とする被験者に投与する工程を含む。必要としている前記被験者は、IFN- 媒介性症候群を患う患者(すなわち、人間)であり得る。前記IFN- 媒介性症候群は、上述のように解釈することができるが、上述に列挙された状態または疾患に限定されない。よって、一部の実施形態では、本開示の抗体は医薬組成物として投与するために製剤化され、ここで前記組成物は本明細書に開示された抗体および薬学的に許容可能な担体を含む。抗体と使用するための本技術分野で知られている薬学的に許容可能な担体のいずれかを本開示の子の態様で使用することができ、これには水、PBS、塩類溶液、ゼラチン、オイル、アルコール、またはその組み合わせが含まれるが、これらに限定されない。

40

【0087】

50

当技術分野で知られている、抗体を含む医薬組成物を投与するための方法のいずれかを使用して、本開示の医薬組成物を投与できることが企図されている。よって、本開示の第六の態様の一部の実施形態では、前記投与は、抗体を被験者に全身的に、または望ましい標的組織に送達する任意の様式によって行われる。全身投与は一般的に、望ましい標的部位、組織、または器官に直接投与することを除き、抗体またはその製剤が被験者の循環系に入り、従って代謝およびその他のプロセスを受けるように、被験者の部位への抗体投与の任意の様式を指す。

【0088】

よって、本開示の治療方法に有用な投与の様式には、注射、注入、点滴、および吸入が含まれ得るが、これらに限定されない。注射による投与には、静脈内、筋肉内、動脈内、髄腔内、脳室内、関節包内、眼窩内、心臓内、皮内、腹腔内、硝子体内、経気管、皮下、表皮下、関節内、眼窩下、クモ膜下、脊髄内、脳脊髄内、ならびに胸骨内注射および注入が含まれ得る。

10

【0089】

前記抗体は、薬学的に許容可能な担体と共に投与することができる。前記薬学的に許容可能な担体には、水、PBS、塩類溶液、ゼラチン、オイル、アルコール、またはその組み合わせが含まれるが、これらに限定されない。

【0090】

本開示の第七の態様。

【0091】

本開示の第七の態様では、環境中のIFN- を検出するための方法が提供される。前記方法は、サンプル中のIFN- の存在を検出するために実験室で使用し得る。別の実施形態では、前記方法はサンプル中のIFN- の定量のために使用し得る。前記方法は、(A)本開示の抗体を適用する工程、(B)前記環境を抗IgG抗体と共に培養する工程であって、前記IgG抗体が検出可能な標識と結合している工程、および(C)前記検出可能な標識を検出する工程を含む。特定の実施形態では、前記方法はウェスタンブロットまたは酵素結合免疫吸着測定法(ELISA)の部分である。特定の実施形態では、前記抗IgG抗体はFc特異的抗体である。

20

【0092】

特定の実施形態では、前記環境はサンプルを含む容器、膜、プレートである。前記検出可能な標識は、検出目的のために前記抗IgG抗体と結合した分子を指す。前記検出可能な標識には、ペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、-ガラクトシダーゼ、蛍光標識またはその組み合わせが含まれるがこれらに限定されない。特定の実施形態では、前記検出可能な標識はペルオキシダーゼであり、前記方法は、工程(B)の後かつ工程(C)の前に、前記環境をp-ニトロフェニルホスフェート溶液(別の実施形態では、TMB溶液が使用される)と共に培養する工程をさらに含む。この特定の実施形態では、呈色反応により、OD<sub>405</sub>で観察することによってIFN- を検出・定量することができる。

30

【実施例】

【0093】

本開示のさまざまな特徴および実施形態が、以下の代表的実施例に示されており、これは例示的であり制限的であることを意図しない。当業者であれば、特定の実施例は、後述の請求項をより詳細に説明する本発明の例証のみであることを、容易に理解するであろう。本明細書に記述された各実施形態および特徴は、その中に含まれる各実施形態と互換性があり組み合わせ可能であることが理解されるべきである。

40

[実施例1] 組換え抗IFN- 抗体の調製。

【0094】

蛍光活性化セルソーティングによる単一ヒトB細胞の単離。

【0095】

治験審査委員会(IRB)審査済みプロトコルに従って、インフォームドコンセント署名後に、マイコバクテリア疾患を有する患者から末梢静脈血サンプルを採取した。製造業

50

者の使用説明に従ってFicoll-Paque (GE Healthcare) 密度勾配遠心分離法により精製した後、患者の末梢静脈血から単核細胞を単離した。精製した単核細胞を、5%正常マウス血清 (Jackson ImmunoResearch) のFACSバッファー (PBS中1% FBS、2 mM EDTA、0.1% NaN<sub>3</sub>) 中に $1 \times 10^7$ 細胞/mLの濃度で再懸濁し、30分間氷冷した。その間に、 $20 \mu\text{g/mL}$ の抗ヒトCD119抗体 (BioLegend) を細胞に加えた。次に、 $1 \times 10^6$ 細胞のアリコートでFACSバッファーで洗浄し、 $1 \times 10^6$ 細胞内の組換えIFN-タンパク質 (R&D systems)  $1 \mu\text{g}$ を、氷冷しながら20分間で加えた。ソーティング過程前に、DNAマーカーとして、抗ヒトIgG PE (BD bioscience)、抗ヒトIgD APC (BD bioscience)、抗ヒトCD3 PE-Cyanine7 (eBioscience)、抗ヒトCD19 APC-eFluor 780 (eBioscience)、抗ヒトIFN- FITC (BD Bioscience)、および7-Aminoactinomycin D (Sigma) で、氷冷下30分間、細胞を染色した。IFN- に結合している個別の単一B細胞をCD19<sup>+</sup>IgG<sup>+</sup>CD3<sup>-</sup>IgD<sup>-</sup>FITC<sup>+</sup>でゲート制御し、 $18 \mu\text{L}$ /ウェルのRT-lysisバッファー (200 ngのランダムヘキサマープライマー (Thermo Scientific)、 $1 \mu\text{L}$ のdNTP-mix (Thermo Scientific)、0.5% v/vのIgepal CA-630 (Sigma)、および40 UのRibolock (Fermentas) を含む) を含む96ウェルプレートの個別ウェルにソートし、それにより、単一B細胞のトータルRNAを有するライセート混合物を得た。96ウェルプレートをアルミニウムシーリングテープ (Corning) で密封し、 $-80^\circ\text{C}$  で直ちに保存した。

10

20

30

40

#### 【0096】

シングルセルRT-PCRおよび免疫グロブリン (Ig) 遺伝子増幅。

#### 【0097】

各ウェルのDEPC処理水中に $2 \mu\text{L}$  (50 U)のMaxima Hマイナス逆転写酵素 (Thermo Scientific) を含む上記の96ウェルプレート中、合計容量 $20 \mu\text{L}$ /ウェルでcDNAを合成した。IFN- に結合した各B細胞のトータルRNAを逆転写 (RT) 反応にかけた。この反応のアニーリング工程は $42^\circ\text{C}$  で10分間、プライマー前の伸長工程は $25^\circ\text{C}$  で10分間、重合工程は $50^\circ\text{C}$  で45分間、酵素不活性化工程は $85^\circ\text{C}$  で5分間実施した。こうして形成されたファーストストランドcDNAを $-20^\circ\text{C}$  で保存した。

#### 【0098】

各B細胞のIgH、Ig、Ig V遺伝子転写物をネステッドPCRで増幅した。各ネステッドPCRには、上記で得られたファーストストランドcDNAをテンプレートとして $2.5 \mu\text{L}$ から開始した第一ラウンドPCR、次にテンプレートとして、第一ラウンドPCRから得られた未精製の第一ラウンドPCR生成物の $2.5 \mu\text{L}$ を使用した第二ラウンドPCRが含まれた。すべてのPCR反応は、 $0.5 \mu\text{m}$ のプライマーミックス (プライマーミックスの詳細は表1に記載 (プライマー一覧表を参照))、 $200 \mu\text{m}$ の各dNTP (Thermo Scientific) および0.5 UのPhusion High-Fidelity DNAポリメラーゼ (Thermo Scientific) を含む、反応あたり $25 \mu\text{L}$ の合計容量で実施した。すべてのPCR反応はDEPC処理水を使用して実施した。ネステッドPCR反応の第一および第二ラウンドのそれぞれは35サイクル実施され、変性工程は $98^\circ\text{C}$  で10分間、アニーリング工程は $65^\circ\text{C}$  で15秒間、伸長工程は $72^\circ\text{C}$  で30秒間行なった。

【表 1】

| ネステッドPCR | プライマー              | I g H V 遺伝子 | I g κ V 遺伝子 | I g λ V 遺伝子 |
|----------|--------------------|-------------|-------------|-------------|
| 第一ラウンド   | フォワードプライマー (配列番号:) | 1~13        | 24~31       | 40~51       |
|          | リバースプライマー (配列番号:)  | 63          | 65          | 67          |
| 第二ラウンド   | フォワードプライマー (配列番号:) | 14~23       | 32~39       | 52~62       |
|          | リバースプライマー (配列番号:)  | 64          | 66          | 68          |

10

## 【0099】

I g V 遺伝子配列解析。

## 【0100】

各 B 細胞の V<sub>H</sub>、V<sub>L</sub> および V<sub>H</sub> 鎖の PCR 生成物 (前述の第二 PCR から取得された) のアリコート、製造業者の使用説明に従って Q I A q u i c k PCR 精製キット (Q i a g e n) で精製し、それぞれ配列番号: 64、配列番号: 66 および配列番号: 69 によって特定されたプライマーで配列決定した (「プライマー一覧表」を参照)。取得した配列を I M G T (登録商標)、the international Immuno Genetics information system (登録商標) (<http://www.imgy.org>) で解析し、高い同一性を持つ生殖細胞系 V (D) J 遺伝子セグメントを特定した。

20

## 【0101】

取得された I g V 配列によってコードされた重鎖可変領域 (V<sub>H</sub>) および軽鎖可変領域 (V<sub>L</sub>) のアミノ酸配列が示され、I M G T または K a b a t 方式で決定された「プライマー一覧表」においてのフレームワーク領域およびその相補性決定領域と互いに整合された。

## 【0102】

発現ベクターのクローニング。

30

## 【0103】

配列決定後、ネステッド PCR と類似の反応条件下でさらなる PCR 反応を行うために、最も高い同一性を持つ V または J セグメント (表 2 を参照) により、遺伝子特異的プライマー (「プライマー一覧表」を参照) を選択した。反応では (上述の第二ラウンド PCR から得られた) 各 B 細胞の V<sub>H</sub>、V<sub>L</sub> および V<sub>H</sub> 鎖の PCR 生成物をテンプレートとして使用した。「2A6」、「2B6」、「2F2」および「1E8」として特定される 4 つの抗体に対する 4 つの発現ベクターを得るために、得られた PCR 生成物を上述のように精製し、ヒト I g G<sub>1</sub> 発現ベクター (台湾、中央研究院の Dr. T s e - W e n C h a n g からの寄贈) にクローン化した。

40

【表 2】

| 抗体  | V <sub>H</sub> 鎖             | V <sub>L</sub> 鎖 |
|-----|------------------------------|------------------|
|     | フォワードプライマー/リバースプライマー (配列番号:) |                  |
| 2A6 | 70/80                        | 102/106          |
| 2B6 | 70/80                        | 102/106          |
| 2F2 | 70/83                        | 96/106           |
| 1E8 | 75/80                        | 100/106          |

## 【0104】

50

上記の4つの発現ベクター以外に、2A6 V<sub>H</sub>重鎖および2B6 V<sub>L</sub>軽鎖の組み合わせ(VH2A6/VL2B6と示され、「AB」と呼ばれる)ならびに2B6 V<sub>H</sub>重鎖および2A6 V<sub>L</sub>軽鎖の組み合わせ(VH2B6/VL2A6と示され、「BA」と呼ばれる)の発現のためのベクターも作製した。

【0105】

AMG811のV<sub>H</sub>およびV<sub>L</sub>のDNAは、GeneArt Gene Synthesis (Thermo Fisher)を使用して合成した。AMG811の発現のためのベクターは、上述のPCRベースクローニングを使用して作製した。

【0106】

組換えは、GeneArt (登録商標) Seamless Cloning and Assembly Enzyme Mix (Invitrogen)で行なった。コンピテントE. coliは、5μL組換え生成物を使用して42°Cで形質転換した。形質転換されたE. coliのコロニーを、pIgG<sub>1</sub>-screen+ (配列番号: 117)またはpIgG<sub>1</sub>-screen+ (配列番号: 118)をフォワードプライマーとして、pIgG1-screen- (配列番号: 119)をリバースプライマーとしてそれぞれ使用したPCRでスクリーニングした(「プライマー一覧表」を参照)。予測されるサイズ(約1,800 bps)のPCR生成物が、元のPCR生成物との同一性の確認のために配列決定された。形質転換したE. coliを、100 μg/mLのアンピシリンを含むLuria-Bertani培地で37°Cで16時間培養した細菌培養物3mLから、QIAprep (登録商標) Spinカラム(Qiagen)を使用してプラスミドDNAを単離した。

10

20

【0107】

組換え抗体の生産。

【0108】

FreeStyle (商標) 293-F細胞(Thermo Scientific, R79007)を、FreeStyle (商標) 293発現培地(Gibco, 12338018)を含む250-mLフラスコ中、標準条件下、 $1 \times 10^6$ 細胞の濃度で培養した。平均分子量25 kDaの直鎖ポリエチレンイミン(PEI)(Polysciences、ペンシルベニア州、ウォリントン)をトランスフェクション試薬として、および合計88 μgのプラスミドDNAを使用して、指数関数的に増殖しているFreeStyle (商標) 293-F細胞( $1.5 \sim 2 \times 10^6$ 細胞/mL)の一過性トランスフェクションを行なった。トランスフェクション後、細胞を3日間培養して培地を採取した。培地を3000 rpmで10分間遠心分離して、FreeStyle (商標) 293-F細胞の破片を除去し、その後、結果として生じる上清を収集して0.45 μmフィルターでろ過した。

30

【0109】

組換え抗体の精製。

【0110】

組換え抗体を得るために、上述で得られた結果として生じる上清をその後、Protein A Sepharose Fast Flowビーズ(GE Healthcare, 17-1279-01)で精製した。手短に言えば、80mLの上清を80μLのProtein A Sepharose Fast Flowビーズに加え、2本の50-mL試験管に同等に分割し、これを回転しながら4°Cで24時間インキュベートした。次に、試験管を3000 rpmで10分間遠心分離し、その後、結果として生じる上清を除去して、ビーズをPBSで平衡化した。組換え抗体を得るために、平衡化したビーズを0.1 Mグリシン(pH 3.0)で溶出し、溶出液を1 Mトリス(pH 8.0)を含む試験管に収集して、PBS緩衝液に対して透析した。

40

【0111】

明確にするために、モノクローナル抗体のそれぞれのV<sub>H</sub>鎖およびV<sub>L</sub>鎖上のCDRが、表3および表4にそれぞれ要約されている。CDRはKabat方式およびIMGT方式

50

の両方に基づいて、配列アノテーションおよびインターネットベースの配列解析 ([http://www.imgt.org/IMGT\\_vquest/share/textes/index.html](http://www.imgt.org/IMGT_vquest/share/textes/index.html)および<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/igblast/>)によって特定された。以下の表3および4では、「K:」に続くCDRは Kabat方式が使用されたことを示し、「I:」に続くCDRは IMGT方式が使用されたことを示す。

【表3】

| 抗体                    | V <sub>H</sub> CDR1            | V <sub>H</sub> CDR2                   | V <sub>H</sub> CDR3                   |
|-----------------------|--------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| 2A6                   | I: GFTFSNYF<br>(配列番号120)       | I: ISGRTKYM<br>(配列番号121)              | I: VRGYDHSDS<br>NSAADLLH<br>(配列番号122) |
|                       | K: GFTFSNYFI<br>H<br>(配列番号144) | K: TISGRTKYM<br>FYSDSLRG<br>(配列番号145) | K: GYDHSDSNS<br>AADLLH<br>(配列番号146)   |
| 2B6                   | I: GFPFSRYS<br>(配列番号123)       | I: MTSRTNHK<br>(配列番号124)              | I: ARGYDTSGS<br>DSGVDFQY<br>(配列番号125) |
|                       | K: GFPFSRYSM<br>H<br>(配列番号147) | K: SMTSRTNHK<br>YYADSLKG<br>(配列番号148) | K: GYDTSGSDS<br>GVDFQY<br>(配列番号149)   |
| 1E8                   | I: GFTFSIYS<br>(配列番号126)       | I: ISGSGDNT<br>(配列番号127)              | I: AKSGRNIIS<br>PGFDS<br>(配列番号128)    |
|                       | K: GFTFSIYSM<br>N<br>(配列番号150) | K: SISGSGDNT<br>YYADSVKG<br>(配列番号151) | K: SGRNISPGF<br>DS<br>(配列番号152)       |
| 2F2                   | I: GFNFSDYY<br>(配列番号129)       | I: ISNSGSHT<br>(配列番号130)              | I: ARDPSIMRG<br>TYYMDV<br>(配列番号131)   |
|                       | K: GFNFSDYYM<br>T<br>(配列番号153) | K: YISNSGSHT<br>YYADAVKG<br>(配列番号154) | K: DPSIMRGTY<br>YMDV<br>(配列番号155)     |
| VH2A<br>6 / V<br>L2B6 | I: GFTFSNYF<br>(配列番号120)       | I: ISGRTKYM<br>(配列番号121)              | I: VRGYDHSDS<br>NSAADLLH<br>(配列番号122) |
|                       | K: GFTFSNYFI<br>H<br>(配列番号144) | K: TISGRTKYM<br>FYSDSLRG<br>(配列番号145) | K: GYDHSDSNS<br>AADLLH<br>(配列番号146)   |
| VH2B<br>6 / V<br>L2A6 | GFPFSRYS<br>(配列番号123)          | MTSRTNHK<br>(配列番号124)                 | ARGYDTSGSDS<br>GVDFQY<br>(配列番号125)    |
|                       | K: GFPFSRYSM<br>H<br>(配列番号147) | K: SMTSRTNHK<br>YYADSLKG<br>(配列番号148) | K: GYDTSGSDS<br>GVDFQY<br>(配列番号149)   |

10

20

30

40

【表 4】

| 抗体                    | V <sub>L</sub> CDR1               | V <sub>L</sub> CDR2      | V <sub>L</sub> CDR3               |
|-----------------------|-----------------------------------|--------------------------|-----------------------------------|
| 2A6                   | I: SGSVASHY<br>(配列番号132)          | I: EDS<br>(配列番号133)      | I: QSYYGNNQV<br>L<br>(配列番号134)    |
|                       | K: VRSSGSVA<br>SHYVQ<br>(配列番号156) | K: EDSHRPS<br>(配列番号157)  | K: QSYYGNNQV<br>L<br>(配列番号134)    |
| 2B6                   | I: RGYIASYY<br>(配列番号135)          | I: EDT<br>(配列番号136)      | I: QSYDDANHV<br>I<br>(配列番号137)    |
|                       | K: TRGRGYIA<br>SYYVQ<br>(配列番号158) | K: EDTQRPS<br>(配列番号159)  | K: QSYDDANHV<br>I<br>(配列番号137)    |
| 1E8                   | I: SDYGDYK<br>(配列番号138)           | I: VGTGGIVG<br>(配列番号139) | I: GADHGSANN<br>FIWV<br>(配列番号140) |
|                       | K: TLNSDYGD<br>YKVD<br>(配列番号160)  | K: VGTGGIV<br>(配列番号161)  | K: GADHGSANN<br>FIWV<br>(配列番号140) |
| 2F2                   | I: SSNIGTNP<br>(配列番号141)          | I: FNN<br>(配列番号142)      | I: ASWDDTLNG<br>LV<br>(配列番号143)   |
|                       | K: SGSSSNIG<br>TNPVS<br>(配列番号162) | K: FNNQRPS<br>(配列番号163)  | K: ASWDDTLNG<br>LV<br>(配列番号143)   |
| VH2A<br>6 / V<br>L2B6 | I: RGYIASYY<br>(配列番号135)          | I: EDT<br>(配列番号136)      | I: QSYDDANHV<br>I<br>(配列番号137)    |
|                       | K: TRGRGYIA<br>SYYVQ<br>(配列番号158) | K: EDTQRPS<br>(配列番号159)  | K: QSYDDANHV<br>I<br>(配列番号137)    |
| VH2B<br>6 / V<br>L2A6 | I: SGSVASHY<br>(配列番号132)          | I: EDS<br>(配列番号133)      | I: QSYYGNNQV<br>L<br>(配列番号134)    |
|                       | K: VRSSGSVA<br>SHYVQ<br>(配列番号156) | K: EDSHRPS<br>(配列番号157)  | K: QSYYGNNQV<br>L<br>(配列番号134)    |

10

20

30

40

## 【0112】

単一部位グリコシル化変異体のクローン化および解析。

## 【0113】

抗体2A6が哺乳動物細胞で発現された時、重鎖の2つのバンドが観察された(図1、レーン1)。これは翻訳後修飾によって可能である。N結合型グリコシル化に対するコンセンサス配列はAsn-Xaa-Ser/Thrであり、まれにはAsn-X-Cysであることもある。モノクローナル抗体は、N297位のFc部分に1つの保存されたN結合型グリコシル化を有する。抗体2A6は、その可変領域に1つのN結合型グリコシル化部位を含むことが認められた(その重鎖の76番目のアミノ酸)。

## 【0114】

50

N結合型グリコシル化部位の存在は、PNGase F消化分析で確認された。簡潔には、3.5 μgの抗体、1 μlのGlycoprotein Denaturing Buffer (10x)およびH<sub>2</sub>O(必要な場合)を混合して、15 μlの合計反応容量にした。抗体を、変性目的のため100℃で10分間加熱した。次に変性した抗体を氷上で冷却し、10秒間遠心分離した。合計反応混合物(30 μl)は、3 μlのGlyco Buffer 2(10x)、3 μlの10% NP-40および9 μlのH<sub>2</sub>Oを加えることにより調製した。反応混合物を37℃で1時間インキュベートし、その後SDS-PAGEで解析した。抗体の脱グリコシル化は、移動度シフトによって判断された。

【0115】

PNGase F消化の後、抗体2A6はサイズが減少しており、N結合型炭化水素が除去されたことを示した。低めの見掛け分子質量を持つ重鎖の明確な単一バンドのみが検出された(図1、レーン2)。これは、PNGase F処理前に観察された重鎖の低めのバンドは、N結合型グリコシル化部位の部分的グリコシル化によるものであることを示唆する。

10

【0116】

N結合型グリコシル化部位は部分的グリコシル化部位と見なされ、抗体2A6の大量生産を行った場合、分子均一性のないものにするであろう。抗体2A6の商業的有用性を促進するために、点変異を設計・実施して前述のN結合型グリコシル化部位を除去した。

【0117】

部位特異的グリコシル化変異体プラスミドを生成するために、NEBからのQ5ポリメラーゼを使用して部位特異的変異導入を実施した。各構成物の変異導入に使用されたオリゴヌクレオチドは以下の通りである(センス配列): c2A6\_\_Q 5'-CGTTTC TAGAGACAACGCCCAAGAAATTCGGTATATCTCCACA-3'(配列番号:169)およびc2A6\_\_A 5'-CGTTTC TAGAGACAACGCCCGCCAATTCGGTATATCTCCAC-3'(配列番号:170)。次に変異体配列を、各構成物のDNA配列決定で確認した。前述の点変異の後、抗体2A6の重鎖可変領域の76番目のアミノ酸はアスパラギンからグルタミンまたはアラニンに変異し、抗体2A6\_\_Q(重鎖にN76Q変異を有する)および抗体2A6\_\_A(重鎖にN76A変異を有する)と命名された。その結果、抗体2A6\_\_Qおよび抗体2A6\_\_Aの重鎖はそれぞれ、配列番号:165および配列番号:164を含む。

20

30

【0118】

抗体2A6\_\_Aおよび抗体2A6\_\_Qを見てみると、2A6の重鎖は2つのバンドを示したのに対し、2A6\_\_Aまたは2A6\_\_Qの重鎖は低めの分子質量を持つ鮮明な単一バンドを示したことが、SDS-PAGE解析で示された(図2)。これらのデータは、2A6\_\_Qおよび2A6\_\_AではN結合型グリコシル化部位が破壊されたことを示す。2A6、2A\_\_Qおよび2A6\_\_Aのグリコシル化状態を、質量分析を用いてさらに調査した。UPLCシステムは、クオータナリーUPLCポンプ(QSM)、50 μlのサンプルループを備えた自動サンプル注入装置(SM)およびフォトダイオードアレイ検出器(Waters)を有するAcquity H-class バイオシステムで構成された。クロマトグラムはMasslynxソフトウェア(V4.1、Waters)を使用して処理した。2A6のN結合型グリコシル化Asn-76が確認された。Asn-76をAla(2A6\_\_A)またはGln(2A6\_\_Q)で置換すると、このグリコシル化シグナルが失われた。

40

[実施例2]組換え抗IFN- $\gamma$  抗体の活性の決定。

【0119】

実験手順:

【0120】

A. バイオレイヤー干渉法(BLI)解析。

【0121】

抗体結合動力学的速度定数( $k_a$ および $k_d$ )をバイオレイヤー干渉法(BLI、For

50

teBio Octet RED96)で測定した。BLIアッセイは、AHC (Anti-hIgG Fc Capture) バイオセンサー (ForteBio) を使用してそれぞれの抗IFN- $\gamma$  mAbs (750 ng/mL) を捕捉して0.5 nmのシフトを取得し、次にバイオセンサーを、滅菌水中に0.1%ウシ血清アルブミン (BSA)、0.1% Tween-20、250 mM NaCl、2.7 mM KCl、10 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>および1.8 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>を含む泳動バッファー中の組換えヒトIFN- $\gamma$  タンパク質 (R&D systems、285-IF-100) の異なる濃度 (すなわち、0、0.625、1.25、2.5、5、10、20および40 nM) に浸漬した。速度定数は、5分間の会合および15分間の解離相互作用時間における結合反応のカーブフィッティング解析 (1:1ラングミュアモデル) により計算した。

10

【0122】

B. HLA-DR発現。

【0123】

2 × 10<sup>5</sup> THP-1細胞 (BCRC 60430) を、10% FBSおよび1% ペニシリン/ストレプトマイシンを添加した100  $\mu$ LのRoswell Park Memorial Institute (RPMI) - 1640培地 (Gibco、11875-093) で培養し、次に2A6、2B6、1E8および2F2 anti-IFN- $\gamma$  mAbの異なる濃度 (すなわち、0.017、0.05、0.15、0.45、1.37、4.11、12.34、37.03、111.1、333.3、1000、3000、5000および10000 ng/mL) で30分間処理した。処理されたTHP-1細胞を2 ng/mLの組換えヒトIFN- $\gamma$  タンパク質で刺激し、インキュベーター (37 °C、5% CO<sub>2</sub>) で24時間培養した。未刺激THP-1細胞を対照として使用した。その後、刺激済みおよび未刺激THP-1細胞をHLA-DR-PE抗体 (BD Pharmingen™) で染色し、暗所で30分間氷冷した。染色細胞を2 mLのPBSで洗浄し、500  $\mu$ LのPBSで再懸濁した。染色細胞の蛍光強度をFACSVerseフローサイトメーターで取得し、FACSuiteソフトウェアで解析した。各抗体のHLA-DR発現の阻害パーセントを、以下の式で取得した：

20

[数1]

$$A = (B / C) \times 100$$

【0124】

式中、A = HLA-DR発現の阻害パーセント；B = 刺激細胞の蛍光強度の中央値；C = 未刺激細胞の蛍光強度の中央値

30

【0125】

C. 抗IFN- $\gamma$  抗体のELISAアッセイ。

【0126】

透明ポリスチレン製96ウェル平底プレート (Nunc) を、ウェルあたり100  $\mu$ Lの重炭酸塩バッファー (pH 9.6) 中の組換えヒトIFN- $\gamma$  タンパク質 (2  $\mu$ g/mL) またはBSA (2  $\mu$ g/mL) でコーティングし、4 °Cで一晩インキュベートした。0.05% Tween 20を含むリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) を使用してプレートを3回洗浄し、次にPBS中の5%ヒト正常血清アルブミン (Aventis) を用いて25 °Cで2時間ブロックした。0.05% Tween 20を含むPBSでプレートを再び洗浄し、その後、組換えヒトIFN- $\gamma$  タンパク質と結合させるために、1  $\mu$ g/mLおよび0.1  $\mu$ g/mLの2つの異なる濃度で1E8、2F2、2A6、2B6、ABおよびBA mAbのそれぞれをプレートのウェルに加え、25 °Cで2時間反応させた。0.05% Tween 20を含むPBSを使用してプレートを徹底的に洗浄した後、Fc特異的アルカリホスファターゼ結合AffiniPure Goat anti-hIgG (Cappel) を1:2500の希釈率で加えた。プレートを37 °Cで90分間放置した後、0.05% Tween 20を含むPBSを使用して5回洗浄した。p-ニトロフェニルリン酸 (pNPP) 溶液 (100  $\mu$ L/ウェル) を加えた後、プレートを37 °Cで30分間放置した。吸光度は、VICTOR X3 Multilabel

40

50

Plate Reader (PerkinElmer) を用いて OD<sub>405 nm</sub> で測定した。

【0127】

結果：

【0128】

A . バイオレイヤー干渉法解析。

【0129】

図3は、AHCバイオセンサーに固定された抗IFN- $\gamma$  mAb上に組換えヒトIFN- $\gamma$  (0、0.625、1.25、2.5、5、10 nM) の異なる濃度を通すことによって得られた結合曲線を示す。抗体結合動力学的速度定数 ( $K_a$  および  $K_d$ ) に加えて平衡解離定数 ( $K_D = K_d / K_a$ ) が表5に示されている。

10

【0130】

表5を参照すると、組換え2A6、2B6、1E8および2F2抗体は低い $K_D$ 値を持つことがわかり、本開示の組換え抗体がヒトIFN- $\gamma$  に対して高い親和性を持つことを示す。

【表5】

| mAb | $K_a$ (1/Ms)       | $K_d$ (1/s)           | $K_D$ (M)              |
|-----|--------------------|-----------------------|------------------------|
| 2A6 | $1.08 \times 10^6$ | $3.97 \times 10^{-5}$ | $3.68 \times 10^{-11}$ |
| 2B6 | $1.48 \times 10^6$ | $1.08 \times 10^{-4}$ | $7.31 \times 10^{-11}$ |
| 1E8 | $4.64 \times 10^5$ | $1.21 \times 10^{-4}$ | $2.61 \times 10^{-10}$ |
| 2F2 | $3.44 \times 10^5$ | $1.09 \times 10^{-4}$ | $3.17 \times 10^{-10}$ |

20

【0131】

AMG811 (AMG811は米国特許第7,335,743号に記述された抗IFN- $\gamma$  抗体であり、その明細書に記述されたように調製された)、2A6、2B6、2A6\_\_A、2A6\_\_Q、AB、およびBA抗体を含む別の実験は、本開示の抗体がAMG811と同等またはそれ以上の抗IFN- $\gamma$  活性を呈したことを示した(図4および表6)。

【表6】

| mAb    | $K_a$ (1/Ms)       | $K_d$ (1/s)           | $K_D$ (M)              |
|--------|--------------------|-----------------------|------------------------|
| AMG811 | $2.48 \times 10^6$ | $8.59 \times 10^{-5}$ | $3.47 \times 10^{-11}$ |
| 2A6    | $2.61 \times 10^6$ | $4.90 \times 10^{-5}$ | $1.87 \times 10^{-11}$ |
| 2B6    | $3.13 \times 10^6$ | $5.40 \times 10^{-5}$ | $1.72 \times 10^{-11}$ |
| 2A6__A | $2.32 \times 10^6$ | $5.17 \times 10^{-5}$ | $2.23 \times 10^{-11}$ |
| 2A6__Q | $2.41 \times 10^6$ | $5.23 \times 10^{-5}$ | $2.17 \times 10^{-11}$ |
| AB     | $2.19 \times 10^6$ | $5.46 \times 10^{-5}$ | $2.50 \times 10^{-11}$ |
| BA     | $2.76 \times 10^6$ | $1.31 \times 10^{-4}$ | $4.75 \times 10^{-11}$ |

30

【0132】

B . HLA - DR 発現。

【0133】

図5は、IFN- $\gamma$  誘導性HLA - DR発現が用量依存性であり、本開示の抗体によって効果的に阻害され得ることを示す。2A6、2B6、1E8、および2F2抗IFN- $\gamma$  抗体のそれぞれの濃度が増加すると、阻害パーセントが増加したことが、図5から分かる。

【0134】

2F2、1E8、2A6、および2B6抗IFN- $\gamma$  抗体のIC<sub>50</sub> (ng/mL) は、それぞれ36.1、8.6、3.4、および3.5であった。2F2、1E8、2A6、

40

50

および2B6抗IFN- $\gamma$ 抗体のIC<sub>90</sub>(ng/mL)は、それぞれ507.7、48.6、3851.3、および1020.5であった。上記の結果は、本開示の抗体がIFN- $\gamma$ 媒介性活性を効果的に阻害することができ、IFN- $\gamma$ 媒介性症候群の治療に使用され得ることを示した。

【0135】

C. 抗IFN- $\gamma$ 抗体のELISAアッセイ。

【0136】

ヒト抗IFN- $\gamma$ 抗体の検出に対して405 nm(OD<sub>405</sub>)の光学密度で表されたプレートウェルの吸光度が、図6に示されている。高い濃度(1  $\mu$ g/mL)のmAbは、低い濃度(0.1  $\mu$ g/mL)よりも強い吸光度を示したことが、図6から分かる。さらに、mAbはBSAに結合しておらず、本開示の抗体がヒトIFN- $\gamma$ に特異的に結合できることを示す。

10

[実施例3] 組換え抗IFN- $\gamma$ 抗体の活性の決定。

【0137】

この実施例では、本開示の抗体2A6、2A6\_\_A、2A6\_\_Q、2B6、ABおよびBAを、IFN- $\gamma$ との結合親和性(ELISA)および中和活性(細胞ベースアッセイおよび全血分析)について試験した。それに加えて、AMG811は正の対照および比較例としても使用された。

【0138】

A. ビオチン化IFN- $\gamma$ を使用した抗IFN- $\gamma$ 抗体のELISAアッセイ。

20

【0139】

組換えヒトIFN- $\gamma$ (R&D systems 285-IF-100)およびカニクイザルIFN- $\gamma$ (R&D systems 961-RM-025)をキットマニュアル(EZ-Link NHS-LC-Biotin; Thermo # 21336)に従ってビオチン化し、それぞれをストレプトアビジンをコートしたプレートに結合させた。室温で1~2時間インキュベートした後、プレートを300  $\mu$ L洗浄バッファーで3回洗浄した。抗IFN- $\gamma$ 抗体の段階希釈をウェルに加えた。室温で1~2時間インキュベートした後、プレートを300  $\mu$ L洗浄バッファーで3回洗浄した。室温で各ウェルにHRP抗ヒトIgGを適用し、1時間インキュベーションした。洗浄後、プレートをTMB基質で培養し、OD<sub>450-650</sub>で解析した。

30

【0140】

結果を図7および図8に示す。試験された本開示の抗IFN- $\gamma$ 抗体すべてがヒトIFN- $\gamma$ との良好な結合親和性を示したことが認められた。さらに、それらの結合親和性はAMG811の親和性と有意な差がないことを示した(図7)。試験された本開示の抗IFN- $\gamma$ 抗体は、アカゲザル/カニクイザルIFN- $\gamma$ との交差反応性も示したが、ヒトIFN- $\gamma$ との親和性の方が高かった。AMG811が、本開示の抗IFN- $\gamma$ 抗体による交差反応性を示さなかった(図8)ことは本開示の抗体の顕著な利点であり注目に値した。

【0141】

B. 抗IFN- $\gamma$ 抗体の細胞ベースアッセイ。

40

【0142】

pGL4[luc2P/GAS-RE/Hygro]を発現しているLuciferase Reporter HeLa Stable Cell Line(Promega #CS179301)を使用して抗IFN- $\gamma$ 抗体の中和活性を測定した。簡潔には、HeLa細胞株を8 $\times$ 10<sup>3</sup>細胞/ウェルで96ウェル白色プレートに蒔いた。1 ng/mL IFN- $\gamma$ および異なる濃度の抗IFN- $\gamma$ 抗体で、細胞を18時間処理した。ONE-Glo(商標) Luciferase Assay System(Promega #E6110)を使用して、ルシフェラーゼ活性を解析した。

【0143】

結果は、試験された抗体すべてがIFN- $\gamma$ の活性を中和できたことを示す(図9)。

50

試験されたすべての抗体は、工業用または医薬用途に対して十分な中和活性を持つと見なされた。

【0144】

C. 抗IFN- 抗体の全血分析。

【0145】

カルメット・ゲラン桿菌 (BCG) のワクチン接種を受けている健康ボランティアからの全血を、10 - ml ヘパリン添加試験管に採取した。全血の20 -  $\mu$ l サンプルを、96 ウェルマイクロタイタープレートの丸底ウェル中、BCG + IL12 (20 ng / ml) 添加または無添加のRPMI 1640 培地80  $\mu$ l に加えた。マイクロタイタープレートを37、5% CO<sub>2</sub> で48時間インキュベートした。インキュベート後、CXCL9 ELISAキット (R&D systems DCX900) を使用してCXCL9を測定した。CXCL10はCXCL10 ELISAキット (Biolegend 439905) を使用して測定した。希釈係数での補正後にサイトカインレベルが示された。実験では、負の対照としてヒトIgG1アイソタイプコントロールを使用した。

10

【0146】

予想通り、ヒト全血サンプルは高いレベルのIFN-、およびCXCL9に加えてCXCL10を生産し、これらの生産はIFN- によって制御されることが知られている。内因性IFN- を阻害することにより、CXCL9およびCXCL10のIFN- 依存性生産を阻止することになる。

20

【0147】

本開示の抗IFN- 抗体は、内因性IFN- を中和することにより、CXCL9およびCXCL10の生産を効果的に阻害することが、結果によって確認された (図10および図11)。

【0148】

D. 抗IFN- 抗体によるT細胞阻害性受容体リガンドの阻害。

【0149】

THP-1細胞をATCCの指示に従って培養した。中和アッセイについては、500  $\mu$ l のRPMI-1640中の40 ng / ml IFN- を、異なる量の抗IFN- 抗体と共に10分間インキュベートし、混合物を4 x 10<sup>5</sup>細胞 (500  $\mu$ l) に加えた。IFN- 抗体の最終濃度は0、40、200または1000 ng / mlであった。37のインキュベータで72時間インキュベートした後、細胞を、PE抗ヒトPD-L1抗体 (Biolegend 329706) またはFITC抗ヒトHLA-DR抗体 (Biolegend 327006) で染色し、暗所で氷上30分間インキュベートした。細胞を2 mLのFACSバッファで2回洗浄し、300  $\mu$ l のFACS中で再懸濁した。データはFACSCaliburフローサイトメーターで取得した。

30

【0150】

本開示の抗IFN- 抗体は、HLA-DR (図12) およびPD-L1 (図13) のIFN- 誘導性発現を用量依存的に阻害できたことが、結果により確認された。上記の細胞ベースアッセイおよび全血分析のデータを併せると、本開示の抗体はIFN- との結合親和性を示しただけでなく、IFN- の活性を阻害することもできる。

40

[実施例4] 本開示の抗体のエピトープ決定。

【0151】

A. エピトープピニング実験。

【0152】

どの抗IFN- 抗体がIFN- への結合について競合し、従ってIFN- と同じまたは類似のエピトープに結合するかを決定するために、エピトープピニング実験を実施した。簡潔には、ストレプトアビジンをコートしたOctetバイオセンサーチップ (ForteBio) を使用して、本開示の4つの抗IFN- 抗体: 1E8、2F2、2A6および2B6のセットでエピトープを調べた。初めに、2  $\mu$ g / mLのビオチン化組

50

換えヒトIFN- $\gamma$  をストレプトアビジンセンサーチップに充填し、0.5 nmシフトを取得した。100秒の安定および120秒ベースライン過程に続いて、一次抗IFN- $\gamma$ 抗体を会合過程において600秒間、5  $\mu$ g/mLでチップに個別充填した。さらに、二次抗IFN- $\gamma$ 抗体はバイオセンサーチップともインキュベートし、5  $\mu$ g/mLで600秒間会合させた。シグナルがチップへの質量蓄積を示した場合、それは異なるエピトープに結合したと見なされた。

#### 【0153】

本開示の4つの抗IFN- $\gamma$ 抗体2A6、2B6、1E8、および2F2に対するエピトープマッピング実験の結果は、図14に提供されている。これらの4つの抗IFN- $\gamma$ 抗体は2つのエピトープ群に分けられる：1E8および2F2を含むグループI、ならびに2A6および2B6を含むグループII。つまり、1E8および2F2は類似/同一のIFN- $\gamma$ エピトープを持ち、2A6および2B6は類似/同一のIFN- $\gamma$ エピトープを持つ。

10

#### 【0154】

B. HDXを使用したヒトIFN- $\gamma$ 上のエピトープのマッピング。

#### 【0155】

IFN- $\gamma$ の水素重水素交換(HDX)は、抗IFN- $\gamma$ 抗体の存在下および不在下、HDX MS法を使用して、ペプシン処理済みフラグメントで測定した。組換えタンパク質(15 pmol)およびタンパク質・抗体複合体(15 pmol : 10 pmol)を交換バッファー(PBS中99.9% D<sub>2</sub>O、pH 7.4)中、1:10の比率で希釈し、室温でHD交換を開始した。7時点(10秒、40秒、80秒、180秒、600秒、1800秒、3600秒)で、アリコート(標的タンパク質の1.5 pmol)を吸引し、(1.5 M塩酸グアニジン、150 mMトリス(2-カルボキシエチル)ホスフィン、0.8%ギ酸の最終濃度になるように)事前冷却されたクエンチングバッファーと混合した。混合物をOrbitrap質量分析計で解析した。MSおよびMS/MS自動利得制御は、最大累積時間またはイオンに対して、それぞれ1,000 ms(フルスキャン)および120 ms(MS/MS)、または $2 \times 10^6$ イオン(フルスキャン)および $3 \times 10^3$ イオン(MS/MS)に設定された。交換時間中の平均重水素導入の10%より大きな変化は、我々の解析では有意であると見なされた。

20

30

#### 【0156】

HDX-MSエピトープマッピングデータに基づくと、抗体2A6-Qおよび抗体2B6に対するヒトIFN- $\gamma$ 上の提案されるエピトープは、2つの不連続アミノ酸セグメント：配列番号：166のアミノ酸30~52およびアミノ酸78~92の残基を含む。より具体的には、抗体2A6-Qおよび抗体2B6に対するヒトIFN- $\gamma$ 上の提案されるエピトープは、2つの不連続アミノ酸セグメント：配列番号：166のアミノ酸36~48およびアミノ酸82~92の残基を含む。抗IFN- $\gamma$ 抗体2A6-Qおよび2B6に対するHDXエピトープが表7に提供されている。

#### 【0157】

C. アラニンスキャニング変異導入。

#### 【0158】

アラニンスキャニング変異導入を使用して、結合のために重要なこれらの領域の特定残基を特定した。配列番号：166のアミノ酸36~48および82~92がそれぞれアラニンに変異した。すべての変異体のうち、11の置換(残基39、41、42、44、45、47、85、88、91、92)はIFN- $\gamma$ の生物学的活性を減少させた(pGL4[luc2P/GAS-RE/Hygroを発現しているHeLa Stable Cell Line(Promega #CS179301)を使用して決定した)ので、アラニン置換の結果としての構造変化の可能性のためにELISAアッセイから除外された。

40

#### 【0159】

2A6-Qまたは2B6の、IFN- $\gamma$ 変異体タンパク質の残りへのELISA結合を

50

野生型 I F N - と比較した。最大 E L I S A 結合シグナルの野生型の 20% 以下への減少によって示されるような、結合の減少を起こす変異変異は、I F N - と抗体との結合に有意に影響すると見なされた。結果を表 7 に示す。結合アッセイデータは、H D X M S によってマッピングされた結合領域と十分一致した。

【 0 1 6 0 】

さらに、H D X 解析からのデータを時間対 H 交換の減少としてプロットした。これらのデータプロットと M S データと併せた解析では、抗体が、少なくとも配列番号：166 のアミノ酸 36 ~ 48 および 82 ~ 92 を含む非連続エピトープに結合することが示された。より長い領域の H D X 解析では、エピトープはさらに延長し、配列番号：166 の I F N - 配列の非連続アミノ酸 30 ~ 52 および 78 ~ 92 を含むことが示された。

10

【 0 1 6 1 】

上述を考慮すると、抗体 2 A 6、2 B 6 および 2 A 6 \_\_ Q は、I F N - の K 3 7、E 3 8、K 4 3、Q 4 6、Q 4 8、K 8 6、および R 8 9 (配列番号：166) を認識し、I F N - の K 4 3、Q 4 8、および K 8 6 (配列番号：166) に対してより強い結合親和性を示したと結論付けられる。

【表 7】

| 2 A 6 __ Q<br>HDX                   | 領域1<br>アミノ酸 30 ~ 52 またはア<br>ミノ酸 36 ~ 48 | 領域2<br>アミノ酸 78 ~ 92 またはアミ<br>ノ酸 82 ~ 92 |
|-------------------------------------|---|---|
| アラニンスキャン<br>ニング<br>結合を > 20% 減<br>少 | K 3 7、E 3 8、K 4 3、Q 4<br>6、Q 4 8        | K 8 6、R 8 9                             |
| アラニンスキャン<br>ニング<br>結合を > 50% 減<br>少 | K 4 3、Q 4 8                             | K 8 6                                   |
| 2 B 6<br>HDX                        | 領域1<br>アミノ酸 30 ~ 52 またはア<br>ミノ酸 36 ~ 48 | 領域2<br>アミノ酸 78 ~ 92 またはアミ<br>ノ酸 82 ~ 92 |
| アラニンスキャン<br>ニング<br>結合を > 20% 減<br>少 | K 3 7、E 3 8、K 4 3、Q 4<br>6、Q 4 8        | K 8 6、R 8 9                             |
| アラニンスキャン<br>ニング<br>結合を > 50% 減<br>少 | K 4 3、Q 4 8                             | K 8 6、                                  |

20

30

40

[ プライマー一覧表 ]

| フォワードプライマー | 5' - 3' 配列   | 配列番号 |    |
|------------|--|------|----|
| VH1/7L     | a c c a t g g a c t g s a c c t g g<br>a g               | 1    |    |
| VH2L       | c a c c a t g g a c a c a c t t t g<br>c t m c a c       | 2    |    |
| VH2-70L    | a c c a t g g a c a t a c t t t g t<br>t c c a c g       | 3    |    |
| VH3L       | a t g g a g t t t g g g c t g a g c<br>t g               | 4    |    |
| VH3-21L    | a t g g a a c t g g g g c t c c g c<br>t g               | 5    | 10 |
| VH3-48L    | a t g g a g t t t g g g c t g t g c<br>t g               | 6    |    |
| VH3-49L    | c a t g g a g t t t g g g c t t a g<br>c t g             | 7    |    |
| VH3-53L    | c a t g g a g t t t t g g c t g a g<br>c t g             | 8    |    |
| VH4L       | c a t g a a a c a c c t g t g g t t<br>c t t c c t       | 9    |    |
| VH4-39L    | a a t g a a g c a c c t g t g g t t<br>c t t c c t       | 10   | 20 |
| VH4-59L    | a c a t g a a a c a t c t g t g g t<br>t c t t c c t     | 11   |    |
| VH5L       | a t g g g g t c a a c c g c c a t c<br>c t               | 12   |    |
| VH6L       | a a t g t c t g t c t c c t t c c t<br>c a t c t t c c t | 13   |    |
| VH1/3/5f   | s a g g t g c a g c t g g t g s a g<br>t c               | 14   |    |
| VH1-3f     | c a g g t c c a g c t t g t g c a g<br>t c               | 15   | 30 |
| VH1-18f    | c a g g t t c a g c t g g t g c a g<br>t c               | 16   |    |
| VH1-24f    | c a g g t c c a g c t g g t a c a g<br>t c t g           | 17   |    |
| VH2f       | c a g g t c a c c t g a r g g a g t<br>c t g g t         | 18   |    |
| VH3-23f    | g a g g t g c a g c t g t t g g a g<br>t c t             | 19   |    |
| VH4f       | c a g s t g c a g c t g c a g g a g<br>t                 | 20   | 40 |

|            |  |    |    |
|------------|--|----|----|
| VH4-34f    | c a g g t g c a g c t a c a r c a g<br>t g g               | 21 |    |
| VH6f       | c a g g t a c a g c t g c a g c a g<br>t c a               | 22 |    |
| VH7f       | c a g g t g c a g c t g g t g c a a<br>t                   | 23 |    |
| KV1L       | g g t c c c c g c t c a g c t c c t<br>g g                 | 24 |    |
| KV1-16L    | a g t c c t c g c t c a g c t c c t<br>g g                 | 25 | 10 |
| V2L        | g c t c c c t g c t c a g c t c c t<br>g g                 | 26 |    |
| KV2-24L    | g c t c c t t g c t c a g c t t c t<br>g g                 | 27 |    |
| KV3L       | c c t g c t a c t c t g g c t c c c<br>a g                 | 28 |    |
| KV4L       | a t t t c t c t g t t g c t c t g g<br>a t c t c t g       | 29 |    |
| KV5L       | c t t c c t c c t c c t t t g g a t<br>c t c t g           | 30 | 20 |
| KV6L       | t c t g c t g c t c t g g g t t c c<br>a g                 | 31 |    |
| VK1f       | g a c a t c c a g w t g a c c c a g<br>t c t c c           | 32 |    |
| VK2f       | g a t a t t g t g a t g a c c c a g<br>a c t c c a c t c t | 33 |    |
| VK2-28f    | g a t a t t g t g a t g a c t c a g<br>t c t c c a c t c t | 34 |    |
| VK3f       | g a a a t t g t g t t g a c r c a g<br>t c t c c a g       | 35 | 30 |
| VK3-15f    | g a a a t a g t g a t g a c g c a g<br>t c t c c a g       | 36 |    |
| VK4f       | g a c a t c g t g a t g a c c c a g<br>t c t c             | 37 |    |
| VK5f       | g a a a c g a c a c t c a c g c a g<br>t c t c             | 38 |    |
| VK6f       | g a a a t t g t g c t g a c t c a g<br>t c t c c a         | 39 |    |
| LV1L       | g g t c c t g g g c c c a g t c t g<br>t g                 | 40 | 40 |
| LV2L       | g g t c c t g g g c y c a g t c t g<br>c c                 | 41 |    |
| LV3L       | g c t c t g w g g c c t c c t a t g<br>a g c t             | 42 |    |
| LV3-12/21L | g c t c t g t g a c c t c c t a t g<br>w g c t g           | 43 |    |

|                   |  |    |    |
|-------------------|--|----|----|
| LV3-19L           | g t t c t g t g g t t t c t t c t g<br>a g c t g a c t | 44 |    |
| LV4L              | g g t c t c t c t c c c w g c y t g<br>t g c           | 45 |    |
| LV5L              | g t t c c c t c t c g c a g g c t g<br>t g             | 46 |    |
| LV5/9L            | g k t c c c t c t c c c a g c c t g<br>t g             | 47 |    |
| LV6L              | g t t c t t g g g c c a a t t t t a<br>t g c t g       | 48 | 10 |
| LV7L              | g g t c c a a t t c y c a g r c t g<br>t g g t g       | 49 |    |
| LV8L              | g a g t g g a t t c t c a g a c t g<br>t g g t g a     | 50 |    |
| LV10L             | t g t c a g t g g t c c a g g c a g<br>g g             | 51 |    |
| LV1-40/50/<br>51f | c a g t c t g t g y t g a c g c a g<br>c c             | 52 |    |
| LV1-36/44/<br>47f | c a g t c t g t g c t g a c t c a g<br>c c a           | 53 | 20 |
| LV2f              | c a g t c t g c c c t g a c t c a g<br>c c             | 54 |    |
| LV3f              | t c c t a t g a g c t g a c w c a g<br>c c a           | 55 |    |
| LV3-19f           | t c t t c t g a g c t g a c t c a g<br>g a c c         | 56 |    |
| LV4/5/9f          | c a g s c t g t g c t g a c t c a g<br>c c             | 57 |    |
| LV4-60f           | c a g c c t g t g c t g a c t c a a<br>t c a t         | 58 | 30 |
| LV4-69f           | c a g c t t g t g c t g a c t c a a<br>t c g           | 59 |    |
| LV6f              | a a t t t t a t g c t g a c t c a g<br>c c c c a c     | 60 |    |
| LV7/8f            | c a g r c t g t g g t g a c y c a g<br>g a g c         | 61 |    |
| LV10f             | c a g g c a g g g c t g a c t c a g<br>c c             | 62 |    |
| <hr/>             |  |    |    |
| リバープライマー          |  |    |    |
| C $\gamma$ CH1-1  | a g g t g t g c a c g c c g c t g g<br>t c             | 63 | 40 |
| C $\gamma$ CH1-2  | g g t t c g g g g a a g t a g t c c<br>t t g a c       | 64 |    |

|           |  |    |
|-----------|--|----|
| Cκ543-566 | g t t t c t c g t a g t c t g c t t<br>t g c t c a | 65 |
| Cκ494-516 | g t g c t g t c c t t g c t g t c c<br>t g c t     | 66 |
| CA156-178 | t t g g a g g g t k t g g t g g t c<br>t c c a c   | 67 |
| CA129-148 | t t g a c g g g g c t g c y a t c t<br>g c         | 68 |
| CA93-113  | c a c r g c t c c c g g g t a g a a<br>g t c       | 69 |

10

| プライマー            | 5' - 3' 配列   | 配列番号 |
|------------------|--|------|
| SL-VH1/3<br>/5 f | g t t g c t a c g c g t g t c c t g a g c s<br>a g g t g c a g c t g g t g s a g t c     | 70   |
| SL-VH1-3<br>f    | g t t g c t a c g c g t g t c c t g a g c c<br>a g g t c c a g c t t g t g c a g t c     | 71   |
| SL-VH1-1<br>8 f  | g t t g c t a c g c g t g t c c t g a g c c<br>a g g t t c a g c t g g t g c a g t c     | 72   |
| SL-VH1-2<br>4 f  | g t t g c t a c g c g t g t c c t g a g c c<br>a g g t c c a g c t g g t a c a g t c t g | 73   |
| SL-VH2 f         | g t t g c t a c g c g t g t c c t g a g c c<br>a g g t c a c c t t g a r g g a g t c t g | 74   |
| SL-VH3-2<br>3 f  | g t t g c t a c g c g t g t c c t g a g c g<br>a g g t g c a g c t g t t g g a g t c t   | 75   |
| SL-VH4 f         | g t t g c t a c g c g t g t c c t g a g c c<br>a g s t g c a g c t g c a g g a g t       | 76   |
| SL-VH4-3<br>4 f  | g t t g c t a c g c g t g t c c t g a g c c<br>a g g t g c a g c t a c a r c a g t g g   | 77   |
| SL-VH6 f         | g t t g c t a c g c g t g t c c t g a g c c<br>a g g t a c a g c t g c a g c a g t c a   | 78   |
| SL-VH7 f         | g t t g c t a c g c g t g t c c t g a g c c<br>a g g t g c a g c t g g t g c a a t       | 79   |
| SL-JH1/4<br>/5 r | g a t g g g c c c t t g g t g c t a g c t g<br>a g g a g a c g g t g a c c a g g         | 80   |
| SL-JH2 r         | g a t g g g c c c t t g g t g c t a g c t g<br>a g g a g a c a g t g a c c a g g g t     | 81   |
| SL-JH3 r         | g a t g g g c c c t t g g t g c t a g c t g<br>a a g a g a c g g t g a c c a t t g t c   | 82   |

20

30

40

SL-JH6 r gatgggccccttggtgctagctg 83  
 aggagacggtgaccgtg  
 SL-VK1 f ggctcccagggtgcacgatgtga 84  
 catccagwtgacccagtctcc  
 SL-VK2 f ggctcccagggtgcacgatgtga 85  
 tattgtgatgacccagactcca  
 ctct  
 SL-VK3 f ggctcccagggtgcacgatgtga 86  
 aattgtgttgacrcagctctcca  
 g  
 SL-VK4 f ggctcccagggtgcacgatgtga 87  
 catcgtgatgacccagtctc  
 SL-VK5 f ggctcccagggtgcacgatgtga 88  
 aacgacactcacgcagtctc  
 SL-VK6 f ggctcccagggtgcacgatgtga 89  
 aattgtgtctgactcagtctcca  
 SL-JK1 r tgcagccaccgtacgtttgatt 90  
 tccacccttggtccct  
 SL-JK2 r tgcagccaccgtacgtttgatc 91  
 tccagccttggtccct  
 SL-JK3 r tgcagccaccgtacgtttgata 92  
 tccacttttggtccca  
 SL-JK4 r tgcagccaccgtacgtttgatc 93  
 tccacccttggtccct  
 SL-JK5 r tgcagccaccgtacgtttaatc 94  
 tccagtcgtgtccctt  
 SL-LV1-4 tcccttgcttatagggtccggagt 95  
 0/50/51 f ggattctcagtcctgtgytgacg  
 cagcc

10

20

30

SL-LV1-3 tccttgcttatagggtccggagt 96  
 6/44/47 f ggattctcagtcctgtgctgact  
 cagcca  
 SL-LV2 f tccttgcttatagggtccggagt 97  
 ggattctcagtcctgcccctgact  
 cagcc  
 SL-LV3 f tccttgcttatagggtccggagt 98  
 ggattcttccctatgagctgacw  
 cagcca

40

|                    |   |     |    |
|--------------------|---|-----|----|
| SL-LV3-1<br>9 f    | t c c t t g c t t a t g g g t c c g g a g t<br>g g a t t c t t c t t c t g a g c t g a c t<br>c a g g a c | 99  |    |
| SL-LV4/5<br>/9 f   | t c c t t g c t t a t g g g t c c g g a g t<br>g g a t t c t c a g s c t g t g c t g a c t<br>c a g c c   | 100 |    |
| SL-LV4-6<br>0/69 f | t c c t t g c t t a t g g g t c c g g a g t<br>g g a t t c t c a g y c t g t g c t g a c t<br>c a a t c   | 101 |    |
| SL-LV6 f           | t c c t t g c t t a t g g g t c c g g a g t<br>g g a t t c t a a t t t t a t g c t g a c t<br>c a g c c c | 102 | 10 |
| SL-LV7/8<br>f      | t c c t t g c t t a t g g g t c c g g a g t<br>g g a t t c t c a g r c t g t g g t g a c y<br>c a g g a g | 103 |    |
| SL-LV10 f          | t c c t t g c t t a t g g g t c c g g a g t<br>g g a t t c t c a g g c a g g g c t g a c t<br>c a g c c   | 104 |    |
| SL-JL1 r           | g g c c t t g g g c t g a c c t a g g a c g<br>g t g a c c t t g g t c c                                  | 105 | 20 |
| SL-JL2/3<br>f      | g g c c t t g g g c t g a c c t a g g a c g<br>g t c a g c t t g g t c c                                  | 106 |    |
| SL-JL6 r           | g g c c t t g g g c t g a c c t a g g a c g<br>g t c a c c t t g g t g c                                  | 107 |    |
| SL-JL7 r           | g g c c t t g g g c t g a c c t a g g a c g<br>g t c a g c t g g g t g c                                  | 108 |    |

| プライマー                             | 5' - 3' 配列   | 配列番号 |    |
|-----------------------------------|--|------|----|
| p I g G <sub>1κ</sub> -スクリー<br>ン+ | g c t c c c a g g t g c a c g a t<br>g t g         | 117  |    |
| p I g G <sub>1λ</sub> -スクリー<br>ン+ | g c t t a t g g g t c c g g a g t<br>g g a t t c t | 118  |    |
| p I g G <sub>1</sub> -スクリー<br>ン-  | g a t g g g c c c t t g g t g c t<br>a g c         | 119  | 30 |

【 図 1 】

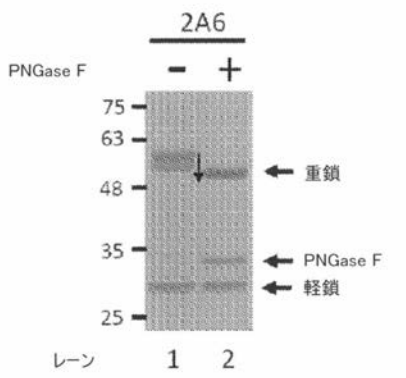


Figure 1

【 図 2 】

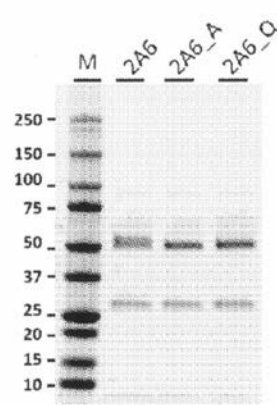


Figure 2

【 図 3 】

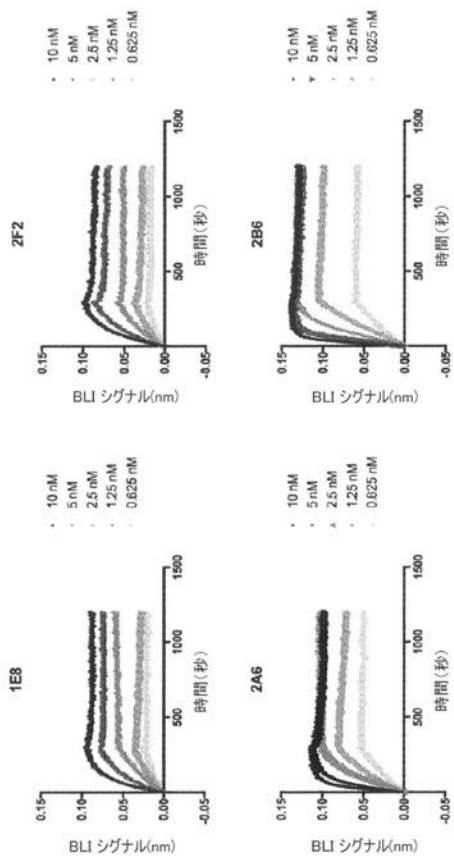


Figure 3

【 図 4 - 1 】

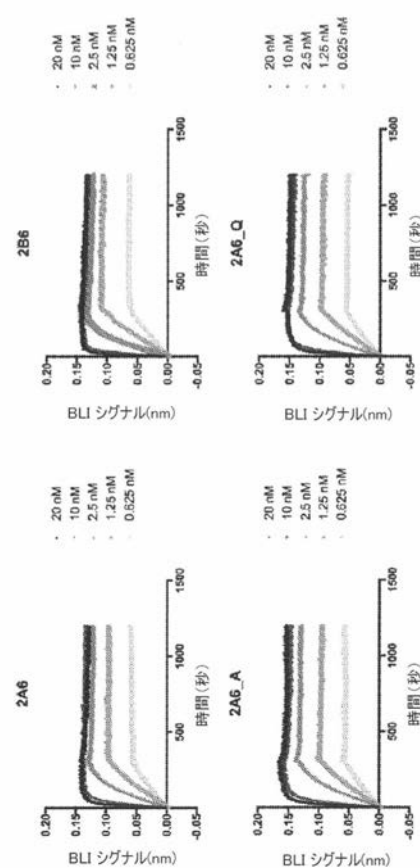


Figure 4

【 図 4 - 2 】

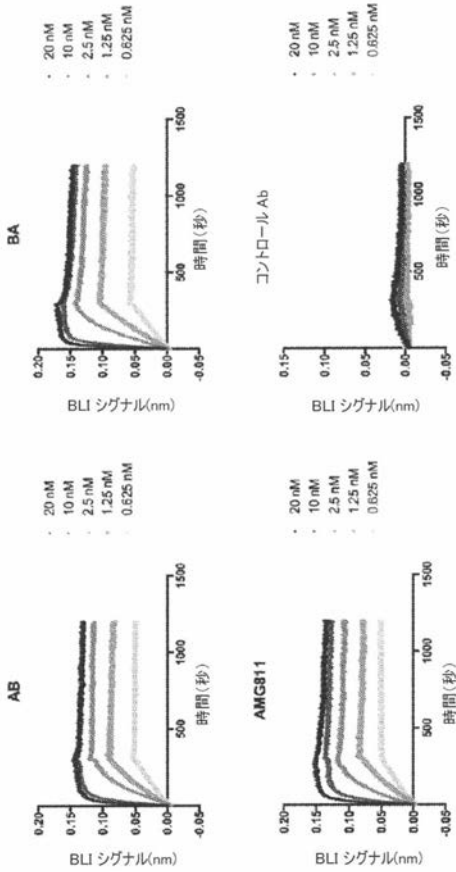


Figure 4 (cont)

【 図 5 】

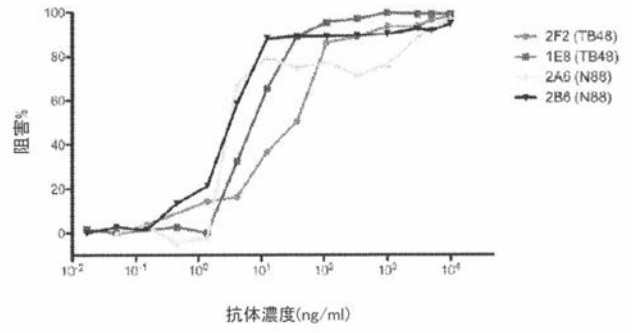


Figure 5

【 図 6 】

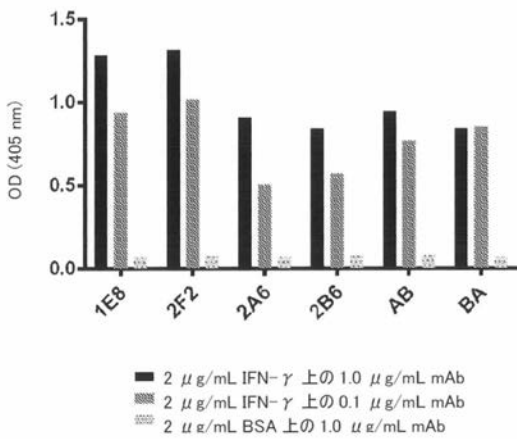


Figure 6

【 図 7 】

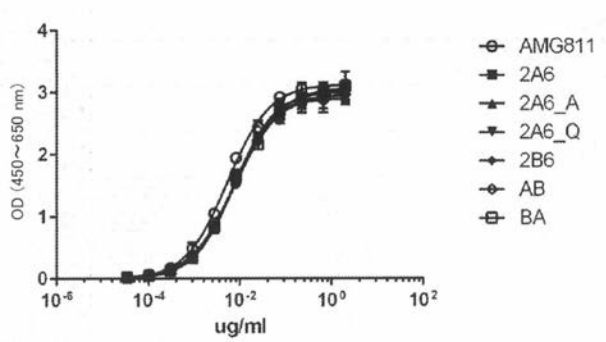


Figure 7

【 図 8 】

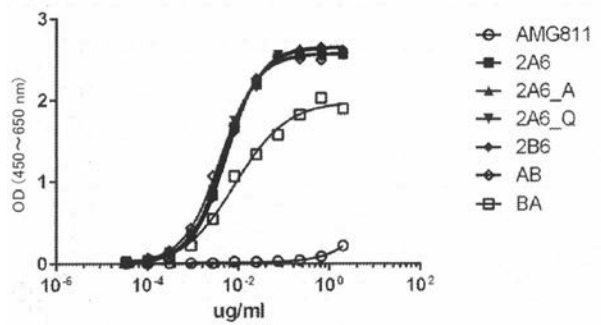


Figure 8

【 図 9 】

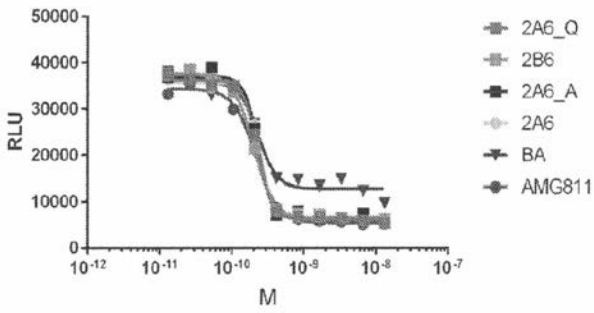


Figure 9

【 図 1 1 】

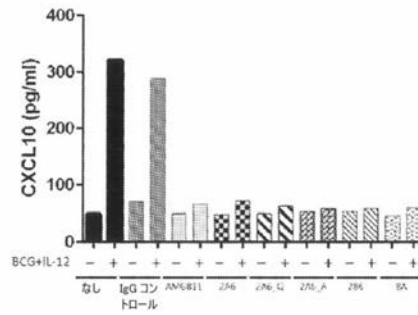


Figure 11

【 図 1 0 】

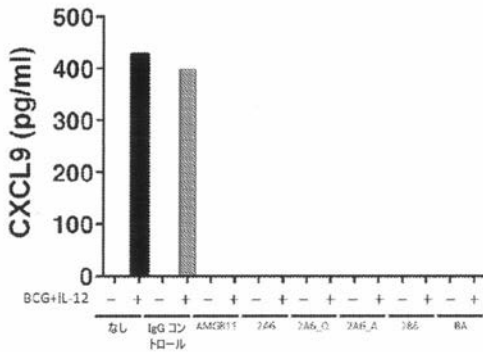


Figure 10

【 図 1 2 】

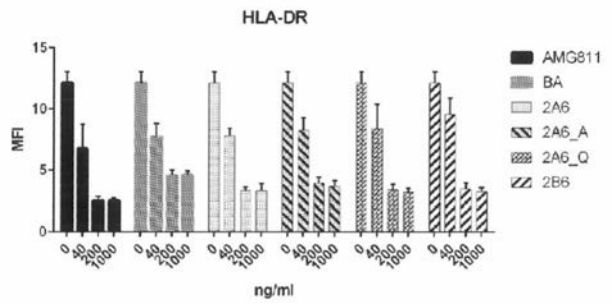


Figure 12

【 図 1 3 】

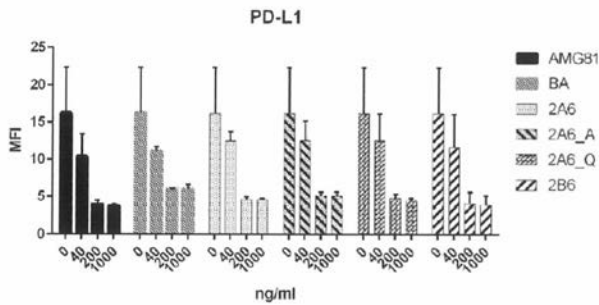


Figure 13

【 図 1 4 】

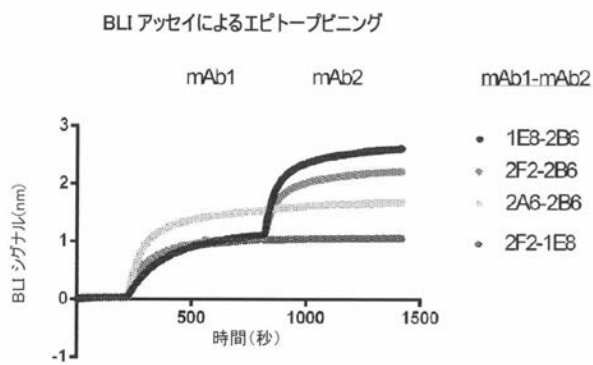


Figure 14

【配列表】

2020519562000001.app

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2018/085836

|  |  |
|--|--|
| <b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>   |  |
| C07K 16/24(2006.01)i; C12N 15/13(2006.01)i; A61K 39/395(2006.01)i; A61P 31/18(2006.01)i; A61P 29/00(2006.01)i; A61P 37/06(2006.01)i  |  |
| According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC  |  |
| <b>B. FIELDS SEARCHED</b>  |  |
| Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  |  |
| C07K; C12N; A61K; A61P   |  |
| Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched  |  |
| Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)   |  |
| CNABS; CNKI; CNPAT; DWPI; CPEA; SPOABS; EPTXT; WOTXT; USTXT; JPTXT; WEB OF SCIENCE; ELSEVIER and searched terms: INF, interferon, y, antibody GENBANK; EMBL; STN; Retrieving System for Biological Sequence of Chinese Patent and searched sequences: SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 144, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 145, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 146, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 147, SEQ ID NO: 124, SEQ ID NO: 148, SEQ ID NO: 125, SEQ ID NO: 149 |  |
| <b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>  |  |
| Category*  | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages   |
| A  | US 2014004127 A1 (WELCHER ANDREW A ET AL.) 02 January 2014 (2014-01-02)<br>the whole document  |
| A  | CN 104159919 A (AMGEN INC) 19 November 2014 (2014-11-19)<br>the whole document   |
|  | Relevant to claim No.  |
|  | 1, 14-15, 17-47<br>(all partially), 2-5, 10-13, 16(all)  |
|  | 1, 14-15, 17-47<br>(all partially), 2-5, 10-13, 16(all)  |
| <input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.   |  |
| * Special categories of cited documents:   | "I" 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  |
| "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance   | "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   |
| "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date  | "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 |
| "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)  | "&" document member of the same patent family  |
| "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   |  |
| Date of the actual completion of the international search  | Date of mailing of the international search report   |
| 20 July 2018   | 16 August 2018   |
| Name and mailing address of the ISA/CN   | Authorized officer   |
| STATE INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE OF THE<br>P.R.CHINA<br>6, Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District, Beijing<br>100088<br>China   | YUE,Lixi   |
| Facsimile No. (86-10)62019451  | Telephone No. 86-(010)-62411096  |

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2018/085836

**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:

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2018/085836

**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.: **40-43**  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
  - [1] Rule 39.1(iv) PCT—methods for treatment of the human or animal body by surgery or therapy. The international search report made out by the international searching authority is based on the subject-matter that could reasonably be expected to be claimed, i.e., the use of the isolated antibody of any of claims 1-29 in preparation of medicine for treating an IFN- $\gamma$  mediated syndrome.
2.  Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

- [1] Group I: claims 1, 14-15, 17-47 (all partially), 2-3, 10-11, 16(all)
- [2] an isolated antibody comprising a VH CDR1 comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 120 or SEQ ID NO: 144, a VH CDR2 comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 121 or SEQ ID NO: 145, and a VH CDR3 comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 122 or SEQ ID NO: 146, and subject-matter related thereto;
- [3] Group II: claims 1, 14-15, 17-47 (all partially), 4-5, 12-13(all)
- [4] an isolated antibody comprising a VH CDR1 comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 123 or SEQ ID NO: 147, a VH CDR2 comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 124 or SEQ ID NO: 148, and a VH CDR3 comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 125 or SEQ ID NO: 149, and subject-matter related thereto;
- [5] Group III: claims 1, 14-15, 17-47 (all partially), 6-7(all)
- [6] an isolated antibody comprising a VH CDR1 comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 126 or SEQ ID NO: 150, a VH CDR2 comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 127 or SEQ ID NO: 151, and a VH CDR3 comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 128 or SEQ ID NO: 152, and subject-matter related thereto;
- [7] Group IV: claims 1, 14-15, 17-47 (all partially), 8-9(all)
- [8] an isolated antibody comprising a VH CDR1 comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 129 or SEQ ID NO: 153, a VH CDR2 comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 130 or SEQ ID NO: 154, and a VH CDR3 comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 131 or SEQ ID NO: 155, and subject-matter related thereto.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2018/085836

**Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)**

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying 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.: **1, 14-15, 17-47 (all partially), 2-5, 10-13, 16(all)**
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

- Remark on Protest**
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
  - The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
  - No protest accompanied the payment of additional search fees.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
**Information on patent family members**

International application No.

**PCT/CN2018/085836**

| Patent document<br>cited in search report | Publication date<br>(day/month/year) | Patent family member(s) | Publication date<br>(day/month/year) |
|---|--------------------------------------|-------------------------|--------------------------------------|
| US 2014004127 A1                          | 02 January 2014                      | US 2011045537 A1        | 24 February 2011                     |
|   |                                      | EP 2298811 B8           | 18 February 2015                     |
|   |                                      | EP 2298811 A3           | 18 May 2011                          |
|   |                                      | ME 00205 B              | 10 February 2011                     |
|   |                                      | SI EP1578936 T1         | 29 February 2012                     |
|   |                                      | ES 2370473 T3           | 16 December 2011                     |
|   |                                      | EP 2298811 A2           | 23 March 2011                        |
|   |                                      | JP 2009082133 A         | 23 April 2009                        |
|   |                                      | EP 1578936 A2           | 28 September 2005                    |
|   |                                      | HK 1084689 A1           | 22 June 2012                         |
|   |                                      | US 7335743 B2           | 26 February 2008                     |
|   |                                      | US 8202976 B2           | 19 June 2012                         |
|   |                                      | US 2005004353 A1        | 06 January 2005                      |
|   |                                      | US 2008107655 A1        | 08 May 2008                          |
|   |                                      | EP 1578936 A4           | 14 March 2007                        |
|   |                                      | EA 200500497 A3         | 25 August 2006                       |
|   |                                      | ME P30308 A             | 10 October 2010                      |
|   |                                      | AU 2003286437 A1        | 04 May 2004                          |
|   |                                      | PL 377338 A1            | 23 January 2006                      |
|   |                                      | WO 2004035747 A2        | 29 April 2004                        |
|   |                                      | AT 520416 T             | 15 September 2011                    |
|   |                                      | WO 2004034988 A2        | 29 April 2004                        |
|   |                                      | EA 200500497 A2         | 24 February 2006                     |
|   |                                      | WO 2004034988 A3        | 27 July 2006                         |
|   |                                      | US 8529893 B2           | 10 September 2013                    |
|   |                                      | BR 0315161 A            | 16 August 2005                       |
|   |                                      | WO 2004035747 A3        | 17 November 2005                     |
|   |                                      | US 2012269819 A1        | 25 October 2012                      |
|   |                                      | ZA 200503821 B          | 29 March 2006                        |
|   |                                      | RS 20050298 A           | 03 August 2007                       |
|   |                                      | CY 1111812 T1           | 12 February 2014                     |
|   |                                      | KR 100816124 B1         | 21 March 2008                        |
|   |                                      | DK 1578936 T3           | 05 December 2011                     |
|   |                                      | JP 2006508689 A         | 16 March 2006                        |
|   |                                      | CA 2501653 C            | 27 January 2015                      |
|   |                                      | AU 2003285874 A1        | 04 May 2004                          |
|   |                                      | RS 52690 B              | 30 August 2013                       |
|   |                                      | ZA 200503821 A          | 29 March 2006                        |
|   |                                      | SI 1578936 T1           | 29 February 2012                     |
|   |                                      | CN 1820026 B            | 23 June 2010                         |
|   |                                      | SG 155054 A1            | 30 September 2009                    |
|   |                                      | KR 20050059213 A        | 17 June 2005                         |
|   |                                      | AU 2003286437 B2        | 13 March 2008                        |
|   |                                      | MX PA05003907 A         | 17 June 2005                         |
|   |                                      | NZ 538893 A             | 30 June 2008                         |
|   |                                      | EP 1578936 B1           | 17 August 2011                       |
|   |                                      | CN 1820026 A            | 16 August 2006                       |
|   |                                      | EP 2298811 B1           | 26 November 2014                     |
|   |                                      | US 8906371 B2           | 09 December 2014                     |
| CN 104159919 A                            | 19 November 2014                     | AU 2012340624 A1        | 05 June 2014                         |

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (January 2015)

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
**Information on patent family members**

International application No.

**PCT/CN2018/085836**

| Patent document<br>cited in search report | Publication date<br>(day/month/year) | Patent family member(s) | Publication date<br>(day/month/year) |
|---|--------------------------------------|-------------------------|--------------------------------------|
|   |                                      | MX 2014006241 A         | 03 March 2015                        |
|   |                                      | US 2013142809 A1        | 06 June 2013                         |
|   |                                      | JP 2015505300 A         | 19 February 2015                     |
|   |                                      | PH 12014501122 A1       | 04 August 2014                       |
|   |                                      | AU 2012340624 A2        | 03 July 2014                         |
|   |                                      | EP 2791168 A1           | 22 October 2014                      |
|   |                                      | HK 1203519 A1           | 30 October 2015                      |
|   |                                      | JP 2018008951 A         | 18 January 2018                      |
|   |                                      | KR 20140097336 A        | 06 August 2014                       |
|   |                                      | CA 2854921 A1           | 30 May 2013                          |
|   |                                      | SG 11201402490X A       | 27 June 2014                         |
|   |                                      | WO 2013078378 A1        | 30 May 2013                          |
|   |                                      | US 2018030132 A1        | 01 February 2018                     |
|   |                                      | BR 112014012607 A2      | 20 June 2017                         |
|   |                                      | EP 3196210 A1           | 26 July 2017                         |
|   |                                      | US 2016046709 A1        | 18 February 2016                     |
|   |                                      | AU 2012340624 B2        | 24 August 2017                       |
|   |                                      | NZ 625324 A             | 26 August 2016                       |
|   |                                      | EA 201491011 A1         | 30 September 2014                    |
|   |                                      | IL 232510 D0            | 30 June 2014                         |
|   |                                      | ZA 201403451 B          | 28 January 2015                      |
|   |                                      | CL 2014001345 A1        | 07 November 2014                     |

## フロントページの続き

| (51)Int.Cl.              | F I     |        | テーマコード(参考) |
|--------------------------|---------|--------|------------|
| C 1 2 N 1/21 (2006.01)   | C 1 2 N | 1/21   |            |
| C 1 2 N 5/10 (2006.01)   | C 1 2 N | 5/10   |            |
| A 6 1 K 39/395 (2006.01) | A 6 1 K | 39/395 | N          |
| A 6 1 P 37/06 (2006.01)  | A 6 1 K | 39/395 | U          |
| A 6 1 P 29/00 (2006.01)  | A 6 1 P | 37/06  |            |
| G 0 1 N 33/53 (2006.01)  | A 6 1 P | 29/00  |            |
| G 0 1 N 33/543 (2006.01) | A 6 1 P | 29/00  | 1 0 1      |
|                          | G 0 1 N | 33/53  | P          |
|                          | G 0 1 N | 33/543 | 5 4 5 A    |

(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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1 . T W E E N

(74)代理人 100123777

弁理士 市川 さつき

(74)代理人 100111796

弁理士 服部 博信

(72)発明者 ク チェン - ルン

中華人民共和国 台湾 3 3 3 タオユアン シティ グイシャン ディストリクト ウェンファ  
ファースト ロード ナンバー 2 5 9

(72)発明者 シー ハン - ポ

中華人民共和国 台湾 3 3 3 タオユアン シティ グイシャン ディストリクト ウェンファ  
ファースト ロード ナンバー 2 5 9

(72)発明者 リン チア - ハオ

中華人民共和国 台湾 2 4 2 ニュー タイペイ シティ シンジュアン ディストリクト チ  
ンシャン ロード セクション 1 レーン 2 8 ナンバー 8

(72)発明者 ディン ジン - ヤ

中華人民共和国 台湾 3 3 3 タオユアン シティ グイシャン ディストリクト ウェンファ  
ファースト ロード ナンバー 2 5 9

(72)発明者 ファン ジン - イー

中華人民共和国 台湾 1 0 0 タイペイ シティ ジョンジェン ディストリクト ジョンファ  
ロード セクション 2 レーン 4 1 6 ナンバー 6 2 6エフ

(72)発明者 クオ イー - ティン

中華人民共和国 台湾 4 3 7 タイチュン シティ ダージア ディストリクト ジョンシャオ  
ストリート レーン 1 3 1

F ターム(参考) 4B065 AA01X AA57X AA72X AA90X AB01 BA02 CA25 CA44 CA46

4C085 AA13 AA14 AA16 AA19 BB18 CC05 DD62 EE01 GG01 GG10

4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 DA76 EA20 EA50 FA72 FA74

GA26

|           |   |         |            |
|-----------|---|---------|------------|
| 专利名称(译)   | 抗干扰素 $\gamma$ 抗体及其用途  |         |            |
| 公开(公告)号   | <a href="#">JP2020519562A</a>   | 公开(公告)日 | 2020-07-02 |
| 申请号       | JP2019519653  | 申请日     | 2018-05-07 |
| 发明人       | ク チェン-ルン<br>シー ハン-ポ<br>リン チア-ハオ<br>ディン ジン-ヤ<br>フアン ジン-イー<br>クオ イー-ティン   |         |            |
| IPC分类号    | C07K16/24 C12N15/13 C12N15/63 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 A61K39/395 A61P37/06 A61P29/00 G01N33/53 G01N33/543   |         |            |
| CPC分类号    | A61P29/00 A61P31/18 A61P37/06 C07K16/249 C07K2317/10 C07K2317/21 C07K2317/33 C07K2317/34 C07K2317/41 C07K2317/524 C07K2317/76 C07K2317/92   |         |            |
| FI分类号     | C07K16/24.ZNA C12N15/13 C12N15/63.Z C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 A61K39/395.N A61K39/395.U A61P37/06 A61P29/00 A61P29/00.101 G01N33/53.P G01N33/543.545.A  |         |            |
| F-TERM分类号 | 4B065/AA01X 4B065/AA57X 4B065/AA72X 4B065/AA90X 4B065/AB01 4B065/BA02 4B065/CA25 4B065/CA44 4B065/CA46 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/AA16 4C085/AA19 4C085/BB18 4C085/CC05 4C085/DD62 4C085/EE01 4C085/GG01 4C085/GG10 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA72 4H045/FA74 4H045/GA26 |         |            |
| 代理人(译)    | 田中真一郎<br>▲▼吉尔场和彦<br>须田博之<br>山崎 一夫<br>服部博信   |         |            |
| 优先权       | 62/501952 2017-05-05 US   |         |            |
| 外部链接      | <a href="#">Espacenet</a>   |         |            |

|                    |  |                                     |   |
|--------------------|--|-------------------------------------|---|
| 摘要(译)              | (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<br>特表2020-519562<br>(P2020-519562A)<br>(43) 公表日 令和2年7月2日 (2020. 7. 2) |
|                    | <p>提供了抗IFN-<math>\gamma</math>抗体。 提供了包含所述抗体的组合物以及所述抗体在治疗IFN-<math>\gamma</math>介导的综合征中的药物用途。</p> |                                     |   |
|                    | (51) Int. Cl.  | F I                                 | テーマコード (参考)   |
|                    | <b>C 0 7 K 1 6 / 2 4</b> (2006. 01)  | C 0 7 K 1 6 / 2 4                   | Z N A 4 B 0 6 5   |
|                    | <b>C 1 2 N 1 5 / 1 3</b> (2006. 01)  | C 1 2 N 1 5 / 1 3                   | 4 C 0 8 5   |
|                    | <b>C 1 2 N 1 5 / 6 3</b> (2006. 01)  | C 1 2 N 1 5 / 6 3                   | Z 4 H 0 4 5   |
|                    | <b>C 1 2 N 1 / 1 5</b> (2006. 01)  | C 1 2 N 1 / 1 5                     |   |
|                    | <b>C 1 2 N 1 / 1 9</b> (2006. 01)  | C 1 2 N 1 / 1 9                     |   |
|                    |  | 審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 49 頁) 最終頁に続く |   |
| (21) 出願番号          | 特願2019-519653 (P2019-519653)   | (71) 出願人                            | 519127708   |
| (86) (22) 出願日      | 平成30年5月7日 (2018. 5. 7)   |                                     | エリクシロン イミヌセラピューティクス (ホンコン) リミテッド  |
| (88) 翻訳文提出日        | 平成31年4月8日 (2019. 4. 8)   |                                     | 中華人民共和国 香港 セントラル デヴ ロー ド セントラル 1 3 6 ビー オーシー グループ ライフ アシユアランス タワー 1 5 エフ            |
| (88) 国際出願番号        | PCT/CN2018/085836  | (74) 代理人                            | 100094569   |
| (87) 国際公開番号        | W02018/202300  |                                     | 弁理士 田中 伸一郎  |
| (87) 国際公開日         | 平成30年11月8日 (2018. 11. 8)   |                                     | 100103610   |
| (31) 優先権主張番号       | 62/501, 952  |                                     | 弁理士 ▲吉▼田 和彦   |
| (32) 優先日           | 平成29年5月5日 (2017. 5. 5)   |                                     | 100109070   |
| (33) 優先権主張国・地域又は機関 | 米国 (US)  |                                     | 弁理士 須田 洋之   |
|                    |  |                                     | 100118013   |
|                    |  |                                     | 弁理士 山崎 一夫   |
|                    |  |                                     | 最終頁に続く  |
| (54) 【発明の名称】       | 抗インターフェロン $\gamma$ 抗体およびその使用方法   |                                     |   |