(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2016-539638
(P2016-539638A)
(43)公表日　平成28年12月22日(2016.12.22)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12N 15/02	(2006.01)	C12N	15/00	ZNAC	4B064
C07K 16/24	(2006.01)	C07K	16/24		4B065
C12N 1/19	(2006.01)	C12N	1/19		4C085
C12N 1/21	(2006.01)	C12N	1/21		4H045
C12N 5/10	(2006.01)	C12N	5/10		

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 244 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2016-530124 (P2016-530124)
(86)(22)出願日　平成26年11月12日 (2014.11.12)
(85)翻訳文提出日　平成28年7月5日 (2016.7.5)
(86)国際出願番号　PCT/US2014/065293
(87)国際公開番号　WO2015/073580
(87)国際公開日　平成27年5月21日 (2015.5.21)
(31)優先権主張番号　61/903,836
(32)優先日　平成25年11月13日 (2013.11.13)
(33)優先権主張国　米国 (US)
(31)優先権主張番号　61/912,374
(32)優先日　平成25年12月5日 (2013.12.5)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　510069249
ファイザー・インコーポレイテッド
アメリカ合衆国１００１７ニューヨーク州ニューヨーク市イースト・フォーティセカンド・ストリート２３５
(71)出願人　510149389
ブリストル－マイヤーズ・スクイブ・カンパニー
アメリカ合衆国ニュージャージー州０８５４０．プリンストン．ルート２０６・アンド・プロヴィンスラインロード
(74)代理人　100127926
弁理士　結田　純次
(74)代理人　100140132
弁理士　竹林　則幸

最終頁に続く

(54)【発明の名称】腫瘍壊死因子様リガンド１Ａ特異的抗体ならびにその組成物および使用

(57)【要約】
本発明は、ＴＬ１Ａに特異的に結合する抗体、またはその抗原結合断片を提供する。本発明はさらに、そのような抗体およびそれをコードする核酸を取得する方法を提供する。本発明はさらに、ＴＬ１Ａにより媒介される疾患、障害、または状態の処置および／または防止のための組成物およびこれらの抗体の使用のための治療方法に関する。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
腫瘍壊死因子様リガンド１Ａ（ＴＬ１Ａ）に特異的に結合する単離された抗体またはその抗原結合断片であって、１Ｄ１　１．３１、２６Ｂ１１、９Ｂ３、７Ｄ４、２２Ｆ９、１５Ａ９、および１５Ｃ１１からなる群から選択される抗体と、ＴＬＡ１への結合について競合するか、またはそれと同じＴＬ１Ａエピトープに結合する、前記抗体またはその抗原結合断片。
【請求項２】
ａ．配列番号３７４、３７５および３７６からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＶＨ相補性決定領域１（ＣＤＲ－Ｈ１）、
ｂ．配列番号３７７、３７８および３７９からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＶＨ相補性決定領域２（ＣＤＲ－Ｈ２）；ならびに
ｃ．配列番号３８０、３８１、および３８２からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＶＨ相補性決定領域３（ＣＤＲ－Ｈ３）
を含む重鎖可変領域（ＶＨ）を含む、請求項１に記載の抗体またはその抗原結合断片。
【請求項３】
ａ．配列番号３７６のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ１；
ｂ．配列番号３７９のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ２；および
ｃ．配列番号３８２のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ３
を含むＶＨを含む、請求項１または２に記載の抗体またはその抗原結合断片。
【請求項４】
配列番号１０２、１、２２、３６、５０、６４、および８８からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）をさらに含み、配列番号２２６、３、５、２４、３８、５２、６６、６８、７０、９０、１０４、１１６、１１８、１２０、１２２、１２４、１２６、１２８、１３０、１３２、１３４、１３６、１３８、１４０、１４２、１４４、１４６、１４８、１５０、１５２、１５４、１５６、１５８、１６０、１６２、１６４、１６６、１６８、１７０、１７２、１７４、１７６、１７８、１８０、１８２、１８４、１８６、１８８、１９０、１９２、１９４、１９６、１９８、２０５、２１２、２１９、２３３、２４０、および２４７からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域（ＶＨ）をさらに含む、請求項１～３のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片。
【請求項５】
配列番号１０２のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）を含み、配列番号２２６のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域（ＶＨ）をさらに含む、請求項１～４のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片。
【請求項６】
示された位置の以下のアミノ酸：２３４Ａ、２３５Ａ、および２３７Ａを有するヒトＩｇＧ１　ＣＨ２ドメインを含み、位置がＥＵ番号付けシステムにより番号付けられる、請求項１～５のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片。
【請求項７】
ａ．配列番号２２６の番号付けによる、位置７７にＴまたはＲを含むＶＨ；および
ｂ．配列番号２２６の番号付けによる、位置８２にＤまたはＥを含むＶＨ
を含む、請求項１～６のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片。
【請求項８】
ａ．ｉ．配列番号２０２のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ１；
ｉｉ．配列番号２０３、２１０、２１７、２２４、２３１、２３８、２４５、または２５２から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ２；
ｉｉｉ．配列番号２３２、２０４、２１１、２１８、２２５、２３９、２４６、または２５３から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ３

を含むＶＨ；ならびに
ｂ．配列番号１１０のアミノ酸配列を有するＶＬ相補性決定領域１（ＣＤＲ－Ｌ１）、配列番号１１１のアミノ酸配列を有するＶＬ相補性決定領域２（ＣＤＲ－Ｌ２）、および配列番号１１２のアミノ酸配列を有するＶＬ相補性決定領域３（ＣＤＲ－Ｌ３）を含むＶＬ
を含む、請求項１～７のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片。
【請求項９】
ａ．配列番号２３０のＣＤＲ－Ｈ１アミノ酸配列、配列番号２３１のＣＤＲ－Ｈ２アミノ酸配列、配列番号２３２のＣＤＲ－Ｈ３アミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１１０のＣＤＲ－Ｌ１アミノ酸配列、配列番号１１１のＣＤＲ－Ｌ２アミノ酸配列、および配列番号１１２のＣＤＲ－Ｌ３アミノ酸配列を含むＶＬ；
ｂ．配列番号２２６のＶＨアミノ酸配列のＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２、およびＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨと、配列番号１０２のＶＬアミノ酸配列のＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、およびＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ｃ．配列番号２２６のアミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１０２のアミノ酸配列を含むＶＬ；
ｄ．配列番号２２８のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）と、配列番号１０６のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）；
ｅ．配列番号２２７の核酸配列によりコードされるＶＨのＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２、およびＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨと、配列番号１０３の核酸配列によりコードされるＶＬのＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、およびＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ｆ．配列番号２２７の核酸配列によりコードされるＶＨと、配列番号１０３の核酸配列によりコードされるＶＬ；
ｇ．配列番号２２９の核酸配列によりコードされる重鎖と、配列番号１０７の核酸配列によりコードされる軽鎖；ならびに
ｈ．配列番号２２６のアミノ酸配列をコードする核酸によりコードされるＶＨと、配列番号１０２のアミノ酸配列をコードする核酸によりコードされるＶＬ
からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項１～８のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片。
【請求項１０】
腫瘍壊死因子様リガンド１Ａ（ＴＬ１Ａ）に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片であって、
ａ．配列番号２３０のＣＤＲ－Ｈ１アミノ酸配列、配列番号２３１のＣＤＲ－Ｈ２アミノ酸配列、配列番号２３２のＣＤＲ－Ｈ３アミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１１０のＣＤＲ－Ｌ１アミノ酸配列、配列番号１１１のＣＤＲ－Ｌ２アミノ酸配列、および配列番号１１２のＣＤＲ－Ｌ３アミノ酸配列を含むＶＬ；
ｂ．配列番号２２６のＶＨアミノ酸配列のＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２、およびＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨと、配列番号１０２のＶＬアミノ酸配列のＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、およびＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ｃ．配列番号２２６のアミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１０２のアミノ酸配列を含むＶＬ；
ｄ．配列番号２２８のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）と、配列番号１０６のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）；
ｅ．配列番号２２７の核酸配列によりコードされるＶＨのＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２、およびＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨと、配列番号１０３の核酸配列によりコードされるＶＬのＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、およびＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ｆ．配列番号２２７の核酸配列によりコードされるＶＨと、配列番号１０３の核酸配列によりコードされるＶＬ；
ｇ．配列番号２２９の核酸配列によりコードされる重鎖と、配列番号１０７の核酸配列によりコードされる軽鎖；ならびに

ｈ．配列番号２２６のアミノ酸配列をコードする核酸によりコードされるＶＨと、配列番号１０２のアミノ酸配列をコードする核酸によりコードされるＶＬ
からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、前記抗体またはその抗原結合断片。

【請求項１１】

ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１２０６３９を有する１Ｄ１　１．３１　ＶＨとして寄託されたベクターの挿入物の核酸配列によりコードされるＶＨと、ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１２０６４０を有する１Ｄ１　１．３１　ＶＬとして寄託されたベクターの挿入物の核酸配列によりコードされるＶＬとを含む単離された抗体。

【請求項１２】

腫瘍壊死因子様リガンド１Ａ（ＴＬ１Ａ）に結合する単離された抗体またはその抗原結合断片であって、

ａ．該抗体が、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｔ３０、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｑ３４、Ｔ３５、Ｐ３６、Ｔ３７、Ｑ３８、Ｈ３９、Ｆ４０、Ｋ４１、Ｎ４２、Ｑ４３、Ｆ４４、Ｐ４５、Ｅ５０、Ｈ５１、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｔ５８、Ｒ８６、Ｇ８７、Ｍ８８、Ｔ８９、Ｅ９１、Ｇ９９、Ｒ１００、Ｐ１０１、Ｎ１０２、Ｋ１０３、Ｐ１０４、Ｄ１０５、Ｓ１０６、Ｓ１３６、Ｎ１３７、Ｆ１３９、Ｓ１６１、Ｄ１６２、Ｉ１６３、Ｓ１６４、Ｌ１６５、Ｖ１６６、Ｄ１６７、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、Ｅ１７１、Ｄ１７２、Ｎ４２、Ｆ４４、Ｋ１０３、Ｐ１０４、Ｄ１０５、Ｓ１０６、Ｋ１１３、Ｔ１１５、Ｓ１１７、Ｙ１１８、Ｐ１１９、Ｅ１２０、Ｐ１２１、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｍ１４７、Ｆ１４８、Ｓ１４９、およびＱ１５１からなる群から選択される少なくとも１つのＴＬ１Ａアミノ酸に結合する；または

ｂ．該抗体が、ＴＬ１Ａのホモマルチマーに結合し、該ホモマルチマーが少なくとも第１および第２のＴＬ１Ａモノマーを含み、該抗体が該第１のＴＬ１Ａモノマー上の第１のエピトープに結合し、該第１のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｎ４２、Ｆ４４、Ｋ１０３、Ｐ１０４、Ｄ１０５、Ｓ１０６、Ｋ１１３、Ｔ１１５、Ｓ１１７、Ｙ１１８、Ｐ１１９、Ｅ１２０、Ｐ１２１、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｍ１４７、Ｆ１４８、Ｓ１４９、およびＱ１５１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含み、該抗体が該第２のＴＬ１Ａモノマー上の第２のエピトープに結合し、該第２のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｔ３０、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｑ３４、Ｔ３５、Ｐ３６、Ｔ３７、Ｑ３８、Ｈ３９、Ｆ４０、Ｋ４１、Ｎ４２、Ｑ４３、Ｆ４４、Ｐ４５、Ｅ５０、Ｈ５１、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｔ５８、Ｒ８６、Ｇ８７、Ｍ８８、Ｔ８９、Ｅ９１、Ｇ９９、Ｒ１００、Ｐ１０１、Ｎ１０２、Ｋ１０３、Ｐ１０４、Ｄ１０５、Ｓ１０６、Ｓ１３６、Ｎ１３７、Ｆ１３９、Ｓ１６１、Ｄ１６２、Ｉ１６３、Ｓ１６４、Ｌ１６５、Ｖ１６６、Ｄ１６７、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、Ｅ１７１、およびＤ１７２からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含む、前記単離された抗体またはその抗原結合断片。

【請求項１３】

ａ．ＴＬ１Ａへの抗体もしくはその抗原結合断片の結合が、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｒ３３、Ｑ３４、Ｔ３５、Ｐ３６、Ｔ３７、Ｑ３８、Ｈ３９、Ｆ４０、Ｋ４１、Ｎ４２、Ｐ４５、Ｅ５０、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ｆ５７、Ｔ５８、Ｒ８６、Ｍ８８、Ｔ８９、Ｐ１０１、Ｎ１０２、Ｋ１０３、Ｐ１０４、Ｄ１０５、Ｓ１３６、Ｎ１３７、Ｄ１６２、Ｉ１６３、Ｓ１６４、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、Ｅ１７１、Ｎ４２、Ｋ１０３、Ｐ１０４、Ｄ１０５、Ｋ１１３、Ｓ１１７、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｓ１４９、およびＱ１５１からなる群から選択されるＴＬ１Ａアミノ酸との抗体の相互作用のため埋まった表面積の非ゼロ変化を引き起こす；または

ｂ．抗体もしくはその抗原結合断片が、少なくとも第１および第２のＴＬ１Ａモノマーを含むＴＬ１Ａのホモマルチマーに結合し、該第１のＴＬ１Ａモノマー上の第１のエピトープに結合する抗体が、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによ

る、Ｎ４２、Ｋ１０３、Ｐ１０４、Ｄ１０５、Ｋ１１３、Ｓ１１７、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｓ１４９、およびＱ１５１からなる群から選択されるＴＬ１Ａアミノ酸との抗体の相互作用のため埋まった表面積の非ゼロ変化を引き起こし、該第２のＴＬ１Ａモノマー上の第２のエピトープに結合する抗体が、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｒ３３、Ｑ３４、Ｔ３５、Ｐ３６、Ｔ３７、Ｑ３８、Ｈ３９、Ｆ４０、Ｋ４１、Ｎ４２、Ｐ４５、Ｅ５０、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ｆ５７、Ｔ５８、Ｒ８６、Ｍ８８、Ｔ８９、Ｐ１０１、Ｎ１０２、Ｋ１０３、Ｐ１０４、Ｄ１０５、Ｓ１３６、Ｎ１３７、Ｄ１６２、Ｉ１６３、Ｓ１６４、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１からなる群から選択されるＴＬ１Ａアミノ酸との抗体の相互作用のため埋まった表面積の非ゼロ変化を引き起こす、
請求項１～１２のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項１４】

抗体の１つまたはそれ以上のアミノ酸残基が、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ａ５６、Ｄ２３２、Ｅ１７１、Ｅ５２、Ｈ１０９、Ｋ１１１、Ｋ１７３、Ｎ１１２、Ｎ１７２、Ｎ２０７、Ｐ１０６、Ｐ１７１、Ｑ１０４、Ｑ１０８、Ｒ１５６、Ｒ３３、Ｓ１４９、Ｔ１２２、Ｔ１６９、Ｙ１１８、Ｙ１６８、およびＹ２３８からなる群から選択されるＴＬ１Ａ中の１つまたはそれ以上のアミノ酸残基との水素結合に関与する、請求項１～１３のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項１５】

抗体の１つまたはそれ以上のアミノ酸残基が、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｔ１２２、Ｓ１４９、Ｅ５２、Ａ５６、Ｙ１６８、Ｔ１６９、およびＥ１７１からなる群から選択されるＴＬ１Ａ中の１つまたはそれ以上のアミノ酸残基との水素結合に関与する、請求項１～１４のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項１６】

抗体の１つまたはそれ以上のアミノ酸残基が、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｒ３３、Ｋ４１、Ｅ５０、Ｅ５２、およびＫ１１３からなる群から選択される１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａアミノ酸残基との塩架橋に関与する、請求項１～１５のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項１７】

請求項１～１６のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片と、薬学的に許容される担体または賦形剤とを含む医薬組成物。

【請求項１８】

請求項１～１６のいずれか１項に記載の抗体もしくはその抗原結合断片、または請求項１７に記載の医薬組成物の有効量を、それを必要とする対象に投与することを含む、ＴＬ１Ａにより媒介される疾患、障害または状態を防止、改善または処置する方法。

【請求項１９】

ＴＬ１Ａにより媒介される疾患、障害または状態の防止、改善または処置における使用のための、請求項１～１６のいずれか１項に記載の抗体もしくはその抗原結合断片、または請求項１７に記載の医薬組成物。

【請求項２０】

ＴＬ１Ａにより媒介される疾患、障害または状態の防止、改善または処置のための医薬の製造における、請求項１～１６のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片の使用。

【請求項２１】

疾患、障害または状態が、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、クローン病、潰瘍性大腸炎、喘息、アレルギー、糖尿病、関節炎、関節リウマチ、若年性関節リウマチ、骨関節炎、乾癬性関節炎、強直性脊椎炎、多発性硬化症、移植拒絶、移植片対宿主病（ＧＶＨＤ）、脊椎関節症、原発性硬化性胆管炎、原発性胆汁性肝硬変、アテローム性動脈硬化症、膀胱症候群／間質性膀胱炎、尿路腸機能障害、敗血症、ブドウ膜炎、脳脊髄炎、重症筋無力症、全身

性エリテマトーデス、皮膚エリテマトーデス、自己免疫性甲状腺炎、アトピー性皮膚炎、湿疹性皮膚炎、乾癬、シェーグレン症候群、強皮症、および血管炎からなる群から選択される少なくとも１つである、請求項１８に記載の方法、請求項１９に記載の抗体もしくはその抗原結合断片、または請求項２０に記載の抗体もしくはその抗原結合断片の使用。

【請求項２２】

試料、組織または細胞中のＴＬ１Ａを検出する方法であって、前記試料、組織または細胞を請求項１～１６のいずれか１項に記載の抗体、またはその抗原結合断片と接触させること、および前記抗体を検出し、それにより該試料、組織または細胞中のＴＬ１Ａを検出することを含む、前記方法。

【請求項２３】

請求項１～１６のいずれか１項に記載の抗体、またはその抗原結合断片をコードする単離された核酸。

【請求項２４】

ＴＬ１Ａに特異的に結合する抗体、またはその抗原結合断片をコードする単離された核酸であって、

ａ．配列番号１０３の核酸配列；
ｂ．配列番号１０５の核酸配列；
ｃ．配列番号１０７の核酸配列；
ｄ．配列番号１０９の核酸配列；
ｅ．配列番号１０３および配列番号１０５の核酸配列；
ｆ．配列番号１０７および配列番号１０９の核酸配列；
ｇ．ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１２０６３９を有する１Ｄ１　１．３１　ＶＨとして寄託されたベクターの挿入物の核酸配列；
ｈ．ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１２０６４０を有する１Ｄ１　１．３１　ＶＬとして寄託されたベクターの挿入物の核酸配列；
ｉ．ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１２０６３９を有する１Ｄ１　１．３１　ＶＨとして寄託されたベクターの挿入物の核酸配列およびＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１２０６４０を有する１Ｄ１　１．３１　ＶＬとして寄託されたベクターの挿入物の核酸配列；
ｊ．配列番号２２７の核酸配列；
ｋ．配列番号２２９の核酸配列；
ｌ．配列番号２２７および配列番号１０３の核酸配列；
ｍ．配列番号２２９および配列番号１０７の核酸配列；
ｎ．配列番号１９９の核酸配列；
ｏ．配列番号２０１の核酸配列；
ｐ．配列番号１９９および配列番号１０３の核酸配列；
ｑ．配列番号２０１および配列番号１０７の核酸配列；
ｒ．配列番号２０６の核酸配列；
ｓ．配列番号２０８の核酸配列；
ｔ．配列番号２０６および配列番号１０３の核酸配列；
ｕ．配列番号２０８および配列番号１０７の核酸配列；
ｖ．配列番号２１３の核酸配列；
ｗ．配列番号２１５の核酸配列；
ｘ．配列番号２１３および配列番号１０３の核酸配列；
ｙ．配列番号２１５および配列番号１０７の核酸配列；
ｚ．配列番号２２０の核酸配列；
ａａ．配列番号２２２の核酸配列；
ｂｂ．配列番号２２０および配列番号１０３の核酸配列；
ｃｃ．配列番号２２２および配列番号１０７の核酸配列；
ｄｄ．配列番号２３４の核酸配列；
ｅｅ．配列番号２３６の核酸配列；

ｆｆ．配列番号２３４および配列番号１０３の核酸配列；
ｇｇ．配列番号２３６および配列番号１０７の核酸配列；
ｈｈ．配列番号２４１の核酸配列；
ｉｉ．配列番号２４３の核酸配列；
ｊｊ．配列番号２４１および配列番号１０３の核酸配列；
ｋｋ．配列番号２４３および配列番号１０７の核酸配列；
ｌｌ．配列番号２４８の核酸配列；
ｍｍ．配列番号２５０の核酸配列；
ｎｎ．配列番号２４８および配列番号１０３の核酸配列；
ｏｏ．配列番号２５０および配列番号１０７の核酸配列；
ｐｐ．配列番号６５の核酸配列；
ｑｑ．配列番号６７の核酸配列；
ｒｒ．配列番号６９の核酸配列；
ｓｓ．配列番号７１の核酸配列；
ｔｔ．配列番号７３の核酸配列；
ｕｕ．配列番号７５の核酸配列；
ｖｖ．配列番号６７および配列番号６５の核酸配列；
ｗｗ．配列番号６９および配列番号６５の核酸配列；
ｘｘ．配列番号７１および配列番号６５の核酸配列；
ｙｙ．配列番号７３および配列番号７５の核酸配列；
ｚｚ．配列番号２の核酸配列；
ａａａ．配列番号４の核酸配列；
ｂｂｂ．配列番号６の核酸配列；
ｃｃｃ．配列番号８の核酸配列；
ｄｄｄ．配列番号１０の核酸配列；
ｅｅｅ．配列番号１２の核酸配列；
ｆｆｆ．配列番号４および配列番号２の核酸配列；
ｇｇｇ．配列番号６および配列番号２の核酸配列；
ｈｈｈ．配列番号１０および配列番号８の核酸配列；ならびに
ｉｉｉ．配列番号１２および配列番号８の核酸配列

からなる群から選択される、前記核酸。

【請求項２５】

請求項２３または２４に記載の核酸を含むベクター。

【請求項２６】

細菌細胞、真菌細胞、昆虫細胞または哺乳動物細胞である、請求項２５に記載のベクターを含む宿主細胞。

【請求項２７】

ＴＬ１Ａに特異的に結合する抗体、またはその抗原結合断片を生成する方法であって、前記抗体が発現される条件下で請求項２６に記載の宿主細胞を培養することを含み、前記抗体を単離することをさらに含む、前記方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

本発明は、腫瘍壊死因子（ＴＮＦ）様リガンド１Ａ（ＴＬ１Ａ）に特異的に結合する抗体、例えば、完全長抗体およびその抗原結合断片に関する。本発明はさらに、ＴＬ１Ａに対する抗体を含む組成物、および該抗体を医薬として使用する方法に関する。ＴＬ１Ａ抗体は、ＴＬ１Ａにより媒介される疾患および障害を処置および防止するのに有用である。

【背景技術】

【０００２】

腫瘍壊死因子（ＴＮＦ）様リガンド１Ａ（ＴＬ１Ａ）は、ＴＮＦＳＦ１５としても知ら

れるＴＮＦファミリーのサイトカインのメンバーである。ＴＬ１Ａは、ＴＮＦＲＳＦ２５としても知られるその受容体である細胞死受容体３（ＤＲ３）の唯一の公知のリガンドである。抗原提示細胞（単球、マクロファージ、樹状細胞）上でのＴＬ１Ａ発現およびエフェクター細胞（Ｔ細胞、ＮＫおよびＮＫＴ細胞）上でのＤＲ３発現は、炎症促進性状態に高度に依存する（非特許文献１、非特許文献２、非特許文献３）。ｉｎ　ｖｉｖｏおよびｉｎ　ｖｉｔｒｏでの証拠は、Ｔ細胞上でのＴＬ１Ａ／ＤＲ３経路に関する、ならびにエフェクター細胞機能、炎症細胞拡張およびサイトカイン分泌の増強における同時刺激的役割を支持する。さらに、この経路は、免疫媒介性疾患における、病原性Ｔｈ１、Ｔｈ２およびＴｈ１７　ヘルパーＴ細胞応答、ならびにＮＫおよびＮＫ－Ｔ細胞応答の調節に関与してきた（非特許文献４、非特許文献２、非特許文献５、非特許文献６、非特許文献７）。

【０００３】

ＤＲ３もしくはＴＬ１Ａ遺伝子欠損マウスまたは抗ＴＬ１Ａ抗体で処置されたマウスの研究により、ＩＢＤ、喘息、多発性硬化症、および関節炎などのいくつかの自己免疫疾患モデルにおけるこの経路の役割が証明される（非特許文献８、非特許文献６、非特許文献９を参照されたい）。

【０００４】

さらに、非臨床種およびヒトを含む研究からの意義のある文献によれば、潰瘍性大腸炎（ＵＣ）およびクローン病（ＣＤ）などの、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）の病態生理にＴＬ１Ａが最も顕著に関与している。すなわち、いくつかのゲノムワイド関連研究は、日本、欧州、およびアジア起源の患者集団において、ＴＬ１Ａ遺伝子のいくつかの多型性をＵＣおよびＣＤに関連付けてきた（非特許文献１０、非特許文献１１、非特許文献１２、非特許文献１３、非特許文献１４）。

【０００５】

さらに、ヒトの炎症を起こしたＩＢＤ組織は、高レベルのＴＬ１ＡおよびＤＲ３発現を示し、いくつかの独立した研究室により、ＴＬ１Ａの抗体遮断がいくつかのマウスＩＢＤモデルにおける確立された腸炎症を防止するか、または減衰させることが証明された（非特許文献１５、非特許文献２、非特許文献１６、非特許文献７、非特許文献３、非特許文献１７、非特許文献１８、非特許文献１９、非特許文献２０）。

【０００６】

ＩＢＤ、例えば、ＣＤおよびＵＣの正確な原因は依然として不明であるが、炎症促進性サイトカインおよび接着分子の阻害は、いくらかの治療利益を提供することが示されている。しかしながら、現在の内科的療法にも関わらず、多くのＣＤ患者は最終的には外科手術を必要とし、時間と共に、切除の繰り返しは短腸症候群をもたらし、最終的には患者に生涯にわたる非経口栄養およびその関連する合併症をもたらすことになる。したがって、ＣＤ患者のためのより強固な療法のための長年にわたる満たされていない必要性が存在する。さらに、ＵＣおよびＣＤを含むＩＢＤを処置または改善する、ならびに他のＴＬ１Ａ媒介性疾患および状態を処置するための新規治療剤のための長年にわたる満たされていない必要性が存在する。本発明は、これらの必要性を満たす。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【０００７】

【非特許文献１】Ｍｉｇｏｎｅら、２００２、Ｉｍｍｕｎｉｔｙ　１６（３）：４７９～４９２頁

【非特許文献２】Ｐｒｅｈｎら、２００４、Ｃｌｉｎ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１１２（１）：６６～７７頁

【非特許文献３】Ｓｈｉｈら、２００９、Ｅｕｒ　Ｊ　Ｉｍｍｕｎｏｌ　３９（１１）：３２３９～３２５０頁

【非特許文献４】Ｐａｐａｄａｋｉｓら、２００４、Ｊ　Ｉｍｍｕｎｏｌ　１７２（１１）：７００２～７００７頁

【非特許文献５】Ｐａｐａｄａｋｉｓら、２００５、Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ １７４（８）：４９８５～４９９０頁
【非特許文献６】Ｐａｐｐｕら、２００８、Ｊ Ｅｘｐ Ｍｅｄ ２０５（５）：１０４９～１０６２頁
【非特許文献７】Ｔａｋｅｄａｔｓｕら、２００８、Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌｏｇｙ １３５（２）：５５２～５６７頁
【非特許文献８】Ｍｅｙｌａｎら、２００８、Ｉｍｍｕｎｉｔｙ ２９（１）：７９～８９頁
【非特許文献９】ＨｓｕおよびＶｉｎｅｙ、２０１１、Ｍｕｃｏｓａｌ Ｉｍｍｕｎ．４（４）：３６８～３７０頁
【非特許文献１０】Ｙａｍａｚａｋｉら、２００５、Ｈｕｍ Ｍｏｌ Ｇｅｎｅｔ １４（２２）：３４９９～３５０６頁
【非特許文献１１】Ｂａｒｒｅｔｔら、２００８、Ｎａｔ Ｇｅｎｅｔ ４０（８）：９５５～９６２頁
【非特許文献１２】Ｋａｋｕｔａら、２００９、Ｈｕｍ Ｍｏｌ Ｇｅｎｅｔ １８（６）：１０８９～１０９８頁
【非特許文献１３】Ｊｏｓｔｉｎｓら、２０１２、Ｎａｔｕｒｅ ４９１（７４２２）：１１９～１２４頁
【非特許文献１４】Ｙａｍａｚａｋｉら、２０１３、Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌｏｇｙ １４４（４）：７８１～７８８頁
【非特許文献１５】Ｂａｍｉａｓら、２００３、Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ １７１（９）：４８６８～４８７４頁
【非特許文献１６】Ｂａｍｉａｓら、２００６、Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ １０３（２２）：８４４１～８４４６頁
【非特許文献１７】Ｋａｍａｄａら、２０１０、Ｉｎｆｌａｍｍ Ｂｏｗｅｌ Ｄｉｓ １６（４）：５６８～５７５頁
【非特許文献１８】Ｍｅｙｌａｎら、２０１１、Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｒｅｖ ２４４（１）：１８８～１９６頁
【非特許文献１９】Ｔａｒａｂａｎら、２０１１、Ｍｕｃｏｓａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌ ４（２）：１８６～１９６頁
【非特許文献２０】Ｂａｍｉａｓら、２０１２、Ｄｉｇ Ｌｉｖｅｒ Ｄｉｓ．４４（１）：３０～３６頁

【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【０００８】
腫瘍壊死因子様リガンド１Ａ（ＴＬ１Ａ）に特異的に結合する単離された抗体、またはその抗原結合断片、ならびに関連する試薬、組成物および方法が開示される。
【課題を解決するための手段】
【０００９】
Ｅ１．本発明の第１の態様によれば、腫瘍壊死因子様リガンド１Ａ（ＴＬ１Ａ）に特異的に結合する単離された抗体またはその抗原結合断片が提供される。
【００１０】
以下に記載されるのは、本発明のこの第１の態様のいくつかの実施形態（Ｅ）であり、ここで、便宜上、Ｅ１はそれと同一である。
【００１１】
Ｅ２．約４ｎＭ以下の親和性でヒトＴＬ１Ａに結合する、Ｅ１に記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００１２】
Ｅ３．約１ｎＭ以下の親和性でヒトＴＬ１Ａに結合する、Ｅ１またはＥ２いずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００１３】
Ｅ４．約５００ｐＭ以下の親和性でヒトＴＬ１Ａに結合する、Ｅ１～Ｅ３いずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００１４】
Ｅ５．約２５０ｐＭ以下の親和性でヒトＴＬ１Ａに結合する、Ｅ１～Ｅ４いずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００１５】
Ｅ６．約１００ｐＭ以下の親和性でヒトＴＬ１Ａに結合する、Ｅ１～Ｅ５いずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００１６】
Ｅ７．約５０ｐＭ以下の親和性でヒトＴＬ１Ａに結合する、Ｅ１～Ｅ６いずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００１７】
Ｅ８．約２５ｐＭ以下の親和性でヒトＴＬ１Ａに結合する、Ｅ１～Ｅ７いずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００１８】
Ｅ９．約１０ｐＭ以下の親和性でヒトＴＬ１Ａに結合する、Ｅ１～Ｅ８いずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００１９】
Ｅ１０．約５ｐＭ以下の親和性でヒトＴＬ１Ａに結合する、Ｅ１～Ｅ９いずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００２０】
Ｅ１１．約２ｐＭ以下の親和性でヒトＴＬ１Ａに結合する、Ｅ１～Ｅ９いずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００２１】
Ｅ１２．抗体またはその抗原結合断片が、ヒトＴＬ１ＡよりもＴＬ１Ａのヒト相同体に対するより低い親和性を有し、ＴＬ１Ａの前記ヒト相同体がＴＮＦＳＦ６である、Ｅ１～Ｅ１１のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００２２】
Ｅ１３．抗体またはその抗原結合断片が、ヒトＴＬ１ＡよりもＴＬ１Ａのヒト相同体に対するより低い親和性を有し、ＴＬ１Ａの前記ヒト相同体がＴＮＦＳＦ１０である、Ｅ１～Ｅ１２のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００２３】
Ｅ１４．抗体またはその抗原結合断片が、ヒトＴＬ１ＡよりもＴＬ１Ａのヒト相同体に対するより低い親和性を有し、ＴＬ１Ａの前記ヒト相同体がＴＮＦＳＦ１４である、Ｅ１～Ｅ１３のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００２４】
Ｅ１５．抗体またはその抗原結合断片が、ヒトＴＬ１ＡよりもＴＬ１Ａのヒト相同体に対するより低い親和性を有し、ＴＬ１Ａの前記ヒト相同体がＴＮＦ－βである、Ｅ１～Ｅ１４のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００２５】
Ｅ１６．抗体またはその抗原結合断片が、ヒトＴＬ１ＡよりもＴＬ１Ａのヒト相同体に対するより低い親和性を有し、ＴＬ１Ａの前記ヒト相同体がＴＮＦ－αである、Ｅ１～Ｅ１５のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００２６】
Ｅ１７．抗体またはその抗原結合断片が、ヒトＴＬ１ＡよりもＴＬ１Ａのヒト相同体に対するより低い親和性を有し、ＴＬ１Ａの前記ヒト相同体がリンホトキシンα２－β１である、Ｅ１～Ｅ１６のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００２７】
Ｅ１８．抗体またはその抗原結合断片が、ヒトＴＬ１ＡよりもＴＬ１Ａのヒト相同体に

対するより低い親和性を有し、ＴＬ１Ａの前記ヒト相同体がリンホトキシンα１－β２である、Ｅ１～Ｅ１９のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００２８】

Ｅ１９．抗体またはその抗原結合断片が、ヒトＴＬ１ＡよりもＴＬ１Ａのヒト相同体に対するより低い親和性を有し、ＴＬ１Ａの前記ヒト相同体がＴＮＦＳＦ６、ＴＮＦＳＦ１０、ＴＮＦＳＦ１４、ＴＮＦ－β、ＴＮＦ－α、リンホトキシンα２－β１、およびリンホトキシンα１－β２からなる群から選択される、Ｅ１～Ｅ１８のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００２９】

Ｅ２０．約１μＭ以上、約３μＭ以上、約１０μＭ以上、約３０μＭ以上、および約１００μＭ以上からなる群から選択される値のＴＬ１Ａのヒト相同体に対する親和性を有する、Ｅ１２～Ｅ１９のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００３０】

Ｅ２１．約１μＭ以上のＴＬ１Ａのヒト相同体に対する親和性を有する、Ｅ１２～Ｅ２０のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００３１】

Ｅ２２．約３μＭ以上のＴＬ１Ａのヒト相同体に対する親和性を有する、Ｅ１２～Ｅ２０のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００３２】

Ｅ２３．約１０μＭ以上のＴＬ１Ａのヒト相同体に対する親和性を有する、Ｅ１２～Ｅ２２のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００３３】

Ｅ２４．約１００μＭ以上のＴＬ１Ａのヒト相同体に対する親和性を有する、Ｅ１２～Ｅ２３のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００３４】

Ｅ２５．約１ｍＭ以上のＴＬ１Ａのヒト相同体に対する親和性を有する、Ｅ１２～Ｅ２４のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００３５】

Ｅ２６．約１μＭ以上のＴＬ１Ａのヒト相同体に対する親和性を有する、Ｅ１２～Ｅ２５のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００３６】

Ｅ２７．約１０ｎＭ以下のマウスＴＬ１Ａに対する親和性を有する、Ｅ１～Ｅ２６のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００３７】

Ｅ２８．約３ｎＭ以下のマウスＴＬ１Ａに対する親和性を有する、Ｅ１～Ｅ２７のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００３８】

Ｅ２９．約１ｎＭ以下のマウスＴＬ１Ａに対する親和性を有する、Ｅ１～Ｅ２８のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００３９】

Ｅ３０．約３００ｐＭ以下のマウスＴＬ１Ａに対する親和性を有する、Ｅ１～Ｅ２９のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００４０】

Ｅ３１．約１００ｐＭ以下のマウスＴＬ１Ａに対する親和性を有する、Ｅ１～Ｅ３０のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００４１】

Ｅ３２．約１００ｐＭ以下のヒトＴＬ１Ａに対する親和性、約３００ｐＭ以下のマウスＴＬ１Ａに対する親和性、および約１μＭ以下のヒトＴＮＦ－αに対する親和性を有する、Ｅ１～Ｅ３１のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００４２】

Ｅ３３．抗体またはその抗原結合断片のヒトＴＬ１Ａに対する親和性が、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）により測定される、Ｅ１～Ｅ３２のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００４３】

Ｅ３４．親和性がＳＰＲにより測定されるＫＤ値である、Ｅ１～Ｅ３３のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００４４】

Ｅ３５．ＳＰＲが捕捉された抗体、および液相標的を用いる、Ｅ１～Ｅ３４のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００４５】

Ｅ３６．捕捉された抗体が、抗アイソタイプ抗体またはその抗原結合部分を用いてセンサーチップ上に固定される、Ｅ３５に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００４６】

Ｅ３７．抗アイソタイプ抗体またはその抗原結合部分が、約４，０００～約１３，０００応答単位の密度でセンサーチップ上に固定される、Ｅ３６に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００４７】

Ｅ３８．ＳＰＲ測定が実施例８に記載のプロトコールに従って実質的に実行される、Ｅ３３～Ｅ３７のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００４８】

Ｅ３９．ＳＰＲが捕捉された標的、および液相抗体を用いる、Ｅ３３またはＥ３４に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００４９】

Ｅ４０．ＳＰＲ測定がＢｉａｃｏｒｅ　Ｔ１００またはＴ２００装置を用いて実行される、Ｅ３３～Ｅ３９のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００５０】

Ｅ４１．抗体またはその抗原結合断片のヒトＴＬ１Ａに対する親和性が、溶液系結合平衡除外アッセイ（ｋｉｎｅｔｉｃ　ｅｘｃｌｕｓｉｏｎ　ａｓｓａｙ）（ＫｉｎＥｘＡ）により測定される、Ｅ１～Ｅ３２のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００５１】

Ｅ４２．親和性が溶液系結合平衡除外アッセイ（ＫｉｎＥｘＡ）により測定される、Ｅ４１に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００５２】

Ｅ４３．ＫｉｎＥｘＡが、固相上の捕捉された標的、および液相抗体を用いる、Ｅ４１またはＥ４２に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００５３】

Ｅ４４．抗体および標的が、平衡に達するのに十分に長く溶液中で予備インキュベートされる、Ｅ４３に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００５４】

Ｅ４５．未結合の抗体のレベルが、抗体と標的が平衡に達した後に測定される、Ｅ４４に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００５５】

Ｅ４６．ＫｉｎＥｘＡ測定が、ＫｉｎＥｘＡ　３２００装置（Ｓａｐｉｄｙｎｅ）を用いて実行される、Ｅ４１～Ｅ４５のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００５６】

Ｅ４７．ヒト化抗体である、Ｅ１～Ｅ４６のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００５７】

Ｅ４８．キメラ抗体である、Ｅ１～Ｅ４６のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００５８】
Ｅ４９．エフェクター機能が低下したＦｃドメインを含む、Ｅ１～Ｅ４８のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００５９】
Ｅ５０．エフェクター機能が低下したか、または無効化された定常領域を含む、Ｅ１～Ｅ４９のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００６０】
Ｅ５１．Ｆｃγ受容体に結合しない、Ｅ５０に記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００６１】
Ｅ５２．ヒトＩｇＧに由来するＣＨ２配列と少なくとも約９０％相同であるアミノ酸配列を含むエフェクタードメインを含む、Ｅ５０またはＥ５１に記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００６２】
Ｅ５３．ＩｇＧがＩｇＧ１、ＩｇＧ２およびＩｇＧ４からなる群から選択される、Ｅ５２に記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００６３】
Ｅ５４．抗体またはその抗原結合部分が、ヒトＩｇＧ１　ＣＨ２ドメインを含み、ＣＨ２ドメインが配列番号２２８の位置２３４、２３５および２３７（ＥＵ番号付けシステムに関して番号付けられる）からなる群から選択される位置、または位置２４１、２４２および２４４に１つまたはそれ以上の欠失を含む、Ｅ１～Ｅ５３のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００６４】
Ｅ５５．抗体またはその抗原結合部分が、ヒトＩｇＧ１　ＣＨ２ドメインを含み、ＣＨ２ドメインが配列番号２２８の位置２３４、２３５および２３７（ＥＵ番号付けシステム（Ｋａｂａｔら、「Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ　ｏｆ　ｐｒｏｔｅｉｎｓ　ｏｆ　ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ　ｉｎｔｅｒｅｓｔ」、Ｂｅｔｈｅｓｄａ、ＵＳ　Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ　ｏｆ　Ｈｅａｌｔｈ　ａｎｄ　Ｈｕｍａｎ　Ｓｅｒｖｉｃｅｓ、ＮＩＨ、１９９１を参照されたい）に関して番号付けられる）からなる群から選択される位置に対応する位置、または位置２４１、２４２および２４４に１つまたはそれ以上の置換を含む、Ｅ１～Ｅ５４のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００６５】
Ｅ５６．置換がセリン、アラニン、およびプロリンからなる群から選択される任意のアミノ酸を含んでもよい、Ｅ５５に記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００６６】
Ｅ５７．配列番号２２８の番号付けによる、Ｌ２４１Ａ、Ｌ２４２Ａ、およびＧ２４４Ａからなる群から選択される少なくとも１つの残基を含む、Ｅ１～Ｅ５６のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００６７】
Ｅ５８．配列番号２２８の番号付けによる、以下の残基Ｌ２４１Ａ、Ｌ２４２Ａ、およびＧ２４４Ａのそれぞれを含む、Ｅ１～Ｅ５７のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００６８】
Ｅ５９．配列番号２５７のアミノ酸配列を含む、Ｅ１～Ｅ５８のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００６９】
Ｅ６０．少なくとも約１０ｍｇ／ｍｌの溶解度を有する、Ｅ１～Ｅ５９のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００７０】
Ｅ６１．少なくとも約２０ｍｇ／ｍｌ、少なくとも約３０ｍｇ／ｍｌ、少なくとも約４０ｍｇ／ｍｌ、少なくとも約５０ｍｇ／ｍｌ、少なくとも約６０ｍｇ／ｍｌ、少なくとも

約７０ｍｇ／ｍｌ、少なくとも約８０ｍｇ／ｍｌ、少なくとも約９０ｍｇ／ｍｌ、少なくとも約１００ｍｇ／ｍｌ、少なくとも約１２５ｍｇ／ｍｌ、少なくとも約１５０ｍｇ／ｍｌ、少なくとも約１７５ｍｇ／ｍｌ、および少なくとも約２００ｍｇ／ｍｌからなる群から選択される水性溶液中での溶解度を有する、Ｅ１～Ｅ６０のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００７１】

Ｅ６２．水性溶液が約ｐＨ５．０～約ｐＨ８．０のｐＨを有する、Ｅ６１に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００７２】

Ｅ６３．水性溶液が約ｐＨ６．０～約ｐＨ７．０のｐＨを有する、Ｅ６１またはＥ６２に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００７３】

Ｅ６４．水性溶液が生理食塩バッファー、例えば、ＰＢＳとほぼ等価であるイオン強度を含む、Ｅ６１～Ｅ６３のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００７４】

Ｅ６５．示差走査熱量測定法により測定された場合に、約６０℃以上の融点（Ｔｍ）を有する熱安定性を有する、Ｅ１～Ｅ６４のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００７５】

Ｅ６６．示差走査熱量測定法により測定された場合に、約６０℃以上、約６５℃以上、約７０℃以上、および約７５℃以上からなる群から選択される融点（Ｔｍ）を有する熱安定性を有する、Ｅ１～Ｅ６５のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００７６】

Ｅ６７．少なくとも約３７℃の、Ｔ１％、またはタンパク質が１％アンフォールドされた温度を有する、Ｅ１～Ｅ６６のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００７７】

Ｅ６８．少なくとも約３７℃、少なくとも約４０℃、少なくとも約４５℃、少なくとも約５０℃、または少なくとも約５５℃からなる群から選択される、Ｔ１％、またはタンパク質が１％アンフォールドされた温度を有する、Ｅ１～Ｅ６７のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００７８】

Ｅ６９．本明細書に定義される１Ｄ１　１．３１、２６Ｂ１１、９Ｂ３、７Ｄ４、２２Ｆ９、１５Ａ９、および１５Ｃ１１からなる群から選択される抗体と、ＴＬ１Ａへの結合について競合するか、またはそれと同じＴＬ１Ａエピトープに結合する、Ｅ１～Ｅ６８のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００７９】

Ｅ７０．

ａ．配列番号３７４のアミノ酸配列を含むＶＨ相補性決定領域１（ＣＤＲ－Ｈ１）；

ｂ．配列番号３７７のアミノ酸配列を含むＶＨ相補性決定領域２（ＣＤＲ－Ｈ２）；および

ｃ．配列番号３８０のアミノ酸配列を含むＶＨ相補性決定領域３（ＣＤＲ－Ｈ３）

を含む重鎖可変領域（ＶＨ）を含む、Ｅ１～Ｅ６９のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００８０】

Ｅ７１．

ａ．配列番号３７５のアミノ酸配列を含むＶＨ相補性決定領域１（ＣＤＲ－Ｈ１）；

ｂ．配列番号３７８のアミノ酸配列を含むＶＨ相補性決定領域２（ＣＤＲ－Ｈ２）；および

ｃ．配列番号３８１のアミノ酸配列を含むＶＨ相補性決定領域３（ＣＤＲ－Ｈ３）

を含む重鎖可変領域（ＶＨ）を含む、Ｅ１～Ｅ７０のいずれか１つに記載の抗体またはそ

の抗原結合断片。
【００８１】
Ｅ７２．
ａ．配列番号３７６のアミノ酸配列を含むＶＨ相補性決定領域１（ＣＤＲ－Ｈ１）；
ｂ．配列番号３７９のアミノ酸配列を含むＶＨ相補性決定領域２（ＣＤＲ－Ｈ２）；および
ｃ．配列番号３８２のアミノ酸配列を含むＶＨ相補性決定領域３（ＣＤＲ－Ｈ３）
を含む重鎖可変領域（ＶＨ）を含む、Ｅ１～Ｅ７１のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００８２】
Ｅ７３．配列番号１０２、１、２２、３６、５０、６４、８８からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）を含む、Ｅ１～Ｅ７２のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００８３】
Ｅ７４．配列番号１０２のアミノ酸配列と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）を含む、Ｅ１～Ｅ７３のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００８４】
Ｅ７５．配列番号１０２、１、２２、３６、５０、６４、８８からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）を含む、Ｅ１～Ｅ７４のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００８５】
Ｅ７６．配列番号１０２のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）を含む、Ｅ１～Ｅ７５のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００８６】
Ｅ７７．配列番号２２６、３、５、２４、３８、５２、６６、６８、７０、９０、１０４、１１６、１１８、１２０、１２２、１２４、１２６、１２８、１３０、１３２、１３４、１３６、１３８、１４０、１４２、１４４、１４６、１４８、１５０、１５２、１５４、１５６、１５８、１６０、１６２、１６４、１６６、１６８、１７０、１７２、１７４、１７６、１７８、１８０、１８２、１８４、１８６、１８８、１９０、１９２、１９４、１９６、１９８、２０５、２１２、２１９、２３３、２４０、および２４７からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域（ＶＨ）を含む、Ｅ１～Ｅ７６のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００８７】
Ｅ７８．配列番号２２６のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域（ＶＨ）を含む、Ｅ１～Ｅ７７のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００８８】
Ｅ７９．配列番号１１０のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ１、配列番号１１１のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ２、および配列番号１１２のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬを含む、Ｅ１～Ｅ７８のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００８９】
Ｅ８０．配列番号１０２のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）を含む、Ｅ１～Ｅ７９のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００９０】
Ｅ８１．配列番号１０３の核酸配列によりコードされるＶＬを含む、Ｅ１～Ｅ８０のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００９１】
Ｅ８２．配列番号１、５０、８８、および６４からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも約９０％同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）を含む、Ｅ１

～Ｅ８１のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００９２】
Ｅ８３．配列番号１３のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ１、配列番号１４のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ２、および配列番号１５のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬを含む、Ｅ１～Ｅ８２のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００９３】
Ｅ８４．配列番号１のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）を含む、Ｅ１～Ｅ８３のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００９４】
Ｅ８５．配列番号２の核酸配列によりコードされるＶＬを含む、Ｅ１～Ｅ８４のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００９５】
Ｅ８６．配列番号５８のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ１、配列番号５９のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ２、および配列番号６０のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬを含む、Ｅ１～Ｅ８５のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００９６】
Ｅ８７．配列番号５０のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）を含む、Ｅ８６に記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００９７】
Ｅ８８．配列番号５１の核酸配列によりコードされるＶＬを含む、Ｅ８６またはＥ８７に記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００９８】
Ｅ８９．配列番号７６のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ１、配列番号７７のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ２、および配列番号７８のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬを含む、Ｅ１～Ｅ８５のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００９９】
Ｅ９０．配列番号６４のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）を含む、Ｅ８９に記載の抗体またはその抗原結合断片。
【０１００】
Ｅ９１．配列番号８９の核酸配列によりコードされるＶＬを含む、Ｅ８９またはＥ９０に記載の抗体またはその抗原結合断片。
【０１０１】
Ｅ９２．ＶＨのＫａｂａｔ番号付けにより決定された場合、位置７６にＴまたはＲを含む、Ｅ１～Ｅ９１のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【０１０２】
Ｅ９３．ＶＨのＫａｂａｔ番号付けにより決定された場合、位置８１にＤまたはＥを含む、Ｅ１～Ｅ９２のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【０１０３】
Ｅ９４．
ａ．ｉ．配列番号２０２のアミノ鎖配列を含むＣＤＲ－Ｈ１；
ｉｉ．配列番号２０３、２１０、２１７、２２４、２３１、２３８、２４５、または２５２から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ２；
ｉｉｉ．配列番号２３２、２０４、２１１、２１８、２２５、２３９、２４６、または２５３から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ３
を含むＶＨ；ならびに
ｂ．配列番号１１０のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ１、配列番号１１１のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ２、および配列番号１１２のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ
を含む、Ｅ１～Ｅ９３のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【０１０４】

Ｅ９５．配列番号２３０のＣＤＲ－Ｈ１アミノ酸配列、配列番号２３１のＣＤＲ－Ｈ２アミノ酸配列、配列番号２３２のＣＤＲ－Ｈ３アミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１１０のＣＤＲ－Ｌ１アミノ酸配列、配列番号１１１のＣＤＲ－Ｌ２アミノ酸配列、および配列番号１１２のＣＤＲ－Ｌ３アミノ酸配列を含むＶＬとを含む、Ｅ１～Ｅ９４のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【０１０５】

Ｅ９６．配列番号２２６のＶＨアミノ酸配列のＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２、およびＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨと、配列番号１０２のＶＬアミノ酸配列のＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２およびＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬとを含む、Ｅ１～Ｅ９５のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【０１０６】

Ｅ９７．配列番号２２６のアミノ酸配列を含むＶＨおよび配列番号１０２のアミノ酸配列を含むＶＬを含む、Ｅ１～Ｅ９６のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【０１０７】

Ｅ９８．配列番号２２８のアミノ酸配列を含む重鎖および配列番号１０６のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含む、Ｅ１～Ｅ９７のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【０１０８】

Ｅ９９．配列番号２２７の核酸配列によりコードされるＶＨのＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２、およびＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨと、配列番号１０３の核酸配列によりコードされるＶＬのＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２およびＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬとを含む、Ｅ１～Ｅ９８のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【０１０９】

Ｅ１００．配列番号２２６のアミノ酸配列をコードする核酸によりコードされるＶＨを含む、Ｅ１～Ｅ９９のいずれか１つに記載の抗体もしくはその抗原結合断片、または配列番号２２７の核酸配列によりコードされるＶＨ、および配列番号１０３の核酸配列によりコードされるＶＬを含む、Ｅ１～Ｅ９９のいずれか１つに記載の抗体もしくはその抗原結合断片。

【０１１０】

Ｅ１０１．配列番号２２９の核酸配列によりコードされる重鎖、および配列番号１０７の核酸配列によりコードされる軽鎖を含む、Ｅ１～Ｅ１００のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【０１１１】

Ｅ１０２．ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１２０６３９を有する１Ｄ１　１．３１　ＶＨとして寄託されたベクターの挿入物の核酸配列によりコードされるＶＨを含む、Ｅ１～Ｅ１０１のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【０１１２】

Ｅ１０３．ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１２０６４０を有する１Ｄ１　１．３１　ＶＬとして寄託されたベクターの挿入物の核酸配列によりコードされるＶＬを含む、Ｅ１～Ｅ１０２のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【０１１３】

Ｅ１０４．ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１２０６３９を有する１Ｄ１　１．３１　ＶＨとして寄託されたベクターの挿入物の核酸配列によりコードされるＶＨと、ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１２０６４０を有する１Ｄ１　１．３１　ＶＬとして寄託されたベクターの挿入物の核酸配列によりコードされるＶＬとを含む、Ｅ１～Ｅ１０２のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【０１１４】

Ｅ１０５．抗体がＴＬ１Ａ上のエピトープに結合し、エピトープが、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｔ３０、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｑ

３４、Ｔ３５、Ｐ３６、Ｔ３７、Ｑ３８、Ｈ３９、Ｆ４０、Ｋ４１、Ｎ４２、Ｑ４３、Ｆ４４、Ｐ４５、Ｅ５０、Ｈ５１、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｔ５８、Ｒ８６、Ｇ８７、Ｍ８８、Ｔ８９、Ｅ９１、Ｇ９９、Ｒ１００、Ｐ１０１、Ｎ１０２、Ｋ１０３、Ｐ１０４、Ｄ１０５、Ｓ１０６、Ｓ１３６、Ｎ１３７、Ｆ１３９、Ｓ１６１、Ｄ１６２、Ｉ１６３、Ｓ１６４、Ｌ１６５、Ｖ１６６、Ｄ１６７、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、Ｅ１７１、Ｄ１７２、Ｎ４２、Ｆ４４、Ｋ１０３、Ｐ１０４、Ｄ１０５、Ｓ１０６、Ｋ１１３、Ｔ１１５、Ｓ１１７、Ｙ１１８、Ｐ１１９、Ｅ１２０、Ｐ１２１、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｍ１４７、Ｆ１４８、Ｓ１４９、およびＱ１５１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含む、腫瘍壊死因子様リガンド１Ａ（ＴＬ１Ａ）に結合する、単離された抗体またはその抗原結合断片。

【０１１５】

Ｅ１０６．抗体がＴＬ１Ａのホモマルチマーに結合し、該ホモマルチマーが少なくとも第１および第２のＴＬ１Ａモノマーを含み、該抗体が該第１のＴＬ１Ａモノマー上の第１のエピトープに結合し、該第１のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｎ４２、Ｆ４４、Ｋ１０３、Ｐ１０４、Ｄ１０５、Ｓ１０６、Ｋ１１３、Ｔ１１５、Ｓ１１７、Ｙ１１８、Ｐ１１９、Ｅ１２０、Ｐ１２１、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｍ１４７、Ｆ１４８、Ｓ１４９、およびＱ１５１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含み、該抗体が該第２のＴＬ１Ａモノマー上の第２のエピトープに結合し、該第２のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｔ３０、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｑ３４、Ｔ３５、Ｐ３６、Ｔ３７、Ｑ３８、Ｈ３９、Ｆ４０、Ｋ４１、Ｎ４２、Ｑ４３、Ｆ４４、Ｐ４５、Ｅ５０、Ｈ５１、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｔ５８、Ｒ８６、Ｇ８７、Ｍ８８、Ｔ８９、Ｅ９１、Ｇ９９、Ｒ１００、Ｐ１０１、Ｎ１０２、Ｋ１０３、Ｐ１０４、Ｄ１０５、Ｓ１０６、Ｓ１３６、Ｎ１３７、Ｆ１３９、Ｓ１６１、Ｄ１６２、Ｉ１６３、Ｓ１６４、Ｌ１６５、Ｖ１６６、Ｄ１６７、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、Ｅ１７１、およびＤ１７２からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含む、Ｅ１～Ｅ１０５のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【０１１６】

Ｅ１０７．抗体が、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｔ３５、Ｐ３６、Ｔ３７、Ｑ３８、Ｈ３９、Ｆ４０、Ｑ４３、Ｅ５０、Ｈ５１、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｒ８６、Ｇ８７、Ｍ８８、Ｓ１３６、Ｎ１３７、Ｓ１６４、Ｌ１６５、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、Ｅ１７１、Ｋ１１３、Ｓ１１７、Ｙ１１８、Ｐ１１９、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｍ１４７、Ｆ１４８、Ｓ１４９、およびＱ１５１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含むＴＬ１Ａ上のエピトープに結合する、Ｅ１～Ｅ１０６のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【０１１７】

Ｅ１０８．抗体がＴＬ１Ａのホモマルチマーに結合し、該ホモマルチマーが少なくとも第１および第２のＴＬ１Ａモノマーを含み、該抗体が該第１のＴＬ１Ａモノマー上の第１のエピトープに結合し、該第１のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｓ１１７、Ｙ１１８、Ｐ１１９、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｍ１４７、Ｆ１４８、Ｓ１４９、およびＱ１５１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含み、該抗体が該第２のＴＬ１Ａモノマー上の第２のエピトープに結合し、該第２のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｔ３５、Ｐ３６、Ｔ３７、Ｑ３８、Ｈ３９、Ｆ４０、Ｑ４３、Ｅ５０、Ｈ５１、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｒ８６、Ｇ８７、Ｍ８８、Ｓ１３６、Ｎ１３７、Ｓ１６４、Ｌ１６５、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含む、Ｅ１～Ｅ１０７のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【０１１８】

Ｅ１０９．抗体が、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｓ１６４、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、Ｅ１７１、Ｙ１１８、およびＱ１５１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含むＴＬ１Ａ上のエピトープに結合する、Ｅ１～Ｅ１１０のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【０１１９】

Ｅ１１０．抗体がＴＬ１Ａのホモマルチマーに結合し、該ホモマルチマーが少なくとも第１および第２のＴＬ１Ａモノマーを含み、該抗体が該第１のＴＬ１Ａモノマー上の第１のエピトープに結合し、該第１のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｙ１１８およびＱ１５１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含み、該抗体が該第２のＴＬ１Ａモノマー上の第２のエピトープに結合し、該第２のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｓ１６４、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含む、Ｅ１～Ｅ１０９のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【０１２０】

Ｅ１１１．抗体が、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｒ３３、Ｙ１６８、およびＴ１６９からなる群から選択される少なくとも１つのＴＬ１Ａのアミノ酸を含むＴＬ１Ａ上のエピトープに結合する、Ｅ１～Ｅ１１０のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【０１２１】

Ｅ１１２．別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片がＴＬ１Ａに特異的に結合し、該抗体が、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｈ５１、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、Ｅ１７１、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｍ１４７、Ｆ１４８、Ｓ１４９、およびＱ１５１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含むＴＬ１Ａ上のエピトープに結合する、Ｅ１～Ｅ１１１のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【０１２２】

Ｅ１１３．抗体が少なくとも第１および第２のＴＬ１Ａモノマーを含むＴＬ１Ａのホモマルチマーに結合し、該抗体が該第１のＴＬ１Ａ上の第１のエピトープに結合し、該第１のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｍ１４７、Ｆ１４８、Ｓ１４９、およびＱ１５１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含み、該抗体が該第２のＴＬ１Ａモノマー上の第２のエピトープに結合し、該第２のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｈ５１、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、Ｅ１７１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含む、Ｅ１～Ｅ１１２のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【０１２３】

Ｅ１１４．ＴＬ１Ａへの抗体の結合が、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｒ３３、Ｑ３４、Ｔ３５、Ｐ３６、Ｔ３７、Ｑ３８、Ｈ３９、Ｆ４０、Ｋ４１、Ｎ４２、Ｐ４５、Ｅ５０、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ｆ５７、Ｔ５８、Ｒ８６、Ｍ８８、Ｔ８９、Ｐ１０１、Ｎ１０２、Ｋ１０３、Ｐ１０４、Ｄ１０５、Ｓ１３６、Ｎ１３７、Ｄ１６２、Ｉ１６３、Ｓ１６４、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、Ｅ１７１、Ｎ４２、Ｋ１０３、Ｐ１０４、Ｄ１０５、Ｋ１１３、Ｓ１１７、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｓ１４９、およびＱ１５１からなる群から選択されるＴＬ１Ａアミノ酸との抗体の相互作用のため埋まった表面積の非ゼロ変化を引き起こす、Ｅ１～Ｅ１１３のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【０１２４】

Ｅ１１５．少なくとも第１および第２のＴＬ１Ａモノマーを含むＴＬ１Ａのホモマルチマーに結合し、該第１のＴＬ１Ａモノマー上の第１のエピトープへの抗体の結合が、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｎ４２、Ｋ１０３、Ｐ１０４、Ｄ１０５、Ｋ１１３、Ｓ１１７、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｓ１４９、およびＱ１５１からなる群から選択されるＴＬ１Ａアミノ酸との抗体の相互作用のため埋まった表面積の非ゼロ変化を引き起こし、該第２のＴＬ１Ａモノマー上の第２のエピトープへの抗体の結合が、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｒ３３、Ｑ３４、Ｔ３５、Ｐ３６、Ｔ３７、Ｑ３８、Ｈ３９、Ｆ４０、Ｋ４１、Ｎ４２、Ｐ４５、Ｅ５０、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ｆ５７、Ｔ５８、Ｒ８６、Ｍ８８、Ｔ８９、Ｐ１０１、Ｎ１０２、Ｋ１０３、Ｐ１０４、Ｄ１０５、Ｓ１３６、Ｎ１３７、Ｄ１６２、Ｉ１６３、Ｓ１６４、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１からなる群から選択されるＴＬ１Ａアミノ酸との抗体の相互作用のため埋まった表面積の非ゼロ変化を引き起こす、Ｅ１～Ｅ１１４のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【０１２５】

Ｅ１１６．ＴＬ１Ａへの抗体の結合が、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｒ３３、Ｔ３５、Ｐ３６、Ｑ３８、Ｈ３９、Ｆ４０、Ｋ４１、Ｎ４２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ｒ８６、Ｍ８８、Ｐ１０１、Ｎ１０２、Ｋ１０３、Ｄ１０５、Ｎ１３７、Ｓ１６４、Ｙ１６８、Ｅ１７１、Ｎ４２、Ｋ１０３、Ｄ１０５、およびＹ１１８からなる群から選択されるＴＬ１Ａアミノ酸との抗体の相互作用のため埋まった表面積の非ゼロ変化を引き起こす、Ｅ１～Ｅ１１５のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【０１２６】

Ｅ１１７．抗体が、少なくとも第１および第２のＴＬ１Ａモノマーを含むＴＬ１Ａのホモマルチマーに結合し、該第１のＴＬ１Ａモノマー上の第１のエピトープへの抗体の結合が、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｎ４２、Ｋ１０３、Ｄ１０５、およびＹ１１８からなる群から選択されるＴＬ１Ａアミノ酸との抗体の相互作用のため埋まった表面積の非ゼロ変化を引き起こし、該第２のＴＬ１Ａモノマー上の第２のエピトープへの抗体の結合が、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｒ３３、Ｔ３５、Ｐ３６、Ｑ３８、Ｈ３９、Ｆ４０、Ｋ４１、Ｎ４２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ｒ８６、Ｍ８８、Ｐ１０１、Ｎ１０２、Ｋ１０３、Ｄ１０５、Ｎ１３７、Ｓ１６４、Ｙ１６８、およびＥ１７１からなる群から選択されるＴＬ１Ａアミノ酸との抗体の相互作用のため埋まった表面積の非ゼロ変化を引き起こす、Ｅ１～Ｅ１１６のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【０１２７】

Ｅ１１８．ＴＬ１Ａへの抗体の結合が、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｒ３３、Ｑ３８、Ｆ４０、Ｋ４１、Ｌ５３、Ｒ８６、Ｍ８８、およびＹ１１８からなる群から選択されるＴＬ１Ａアミノ酸との抗体の相互作用のため埋まった表面積の非ゼロ変化を引き起こす、Ｅ１～Ｅ１１７のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【０１２８】

Ｅ１１９．抗体が第１および第２のＴＬ１Ａモノマーを含むＴＬ１Ａのホモマルチマーに結合し、該第１のＴＬ１Ａモノマー上の第１のエピトープへの抗体の結合が配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｙ１１８での抗体との相互作用のため埋まった表面積の非ゼロ変化を引き起こし、該第２のＴＬ１Ａモノマー上の第２のエピトープへの抗体の結合が配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｒ３３、Ｑ３８、Ｆ４０、Ｋ４１、Ｌ５３、Ｒ８６、およびＭ８８からなる群から選択されるＴＬ１Ａアミノ酸との抗体の相互作用のため埋まった表面積の非ゼロ変化を引き起こす、Ｅ１～Ｅ１１８のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【０１２９】

Ｅ１２０．抗体の１つまたはそれ以上のアミノ酸残基が、配列番号２５４に記載のＴＬ

１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ａ５６、Ｄ２３２、Ｅ１７１、Ｅ５２、Ｈ１０９、Ｋ１１１、Ｋ１７３、Ｎ１１２、Ｎ１７２、Ｎ２０７、Ｐ１０６、Ｐ１７１、Ｑ１０４、Ｑ１０８、Ｒ１５６、Ｒ３３、Ｓ１４９、Ｔ１２２、Ｔ１６９、Ｙ１１８、Ｙ１６８、およびＹ２３８からなる群から選択されるＴＬ１Ａ中の１つまたはそれ以上のアミノ酸残基との水素結合に関与する、Ｅ１～Ｅ１１９のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【０１３０】

Ｅ１２１．抗体の１つまたはそれ以上のアミノ酸残基が、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｑ１０８、Ｈ１０９、Ｋ１１１、Ｎ１１２、Ｐ１７１、Ｎ１７２、およびＫ１７３からなる群から選択されるＴＬ１Ａ中の１つまたはそれ以上のアミノ酸残基との水素結合に関与する、Ｅ１～Ｅ１２０のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【０１３１】

Ｅ１２２．抗体の１つまたはそれ以上のアミノ酸残基が、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｑ１０４、Ｐ１０６、Ｒ１５６、Ｎ２０７、Ｄ２３２、およびＹ２３８からなる群から選択されるＴＬ１Ａ中の１つまたはそれ以上のアミノ酸残基との水素結合に関与する、Ｅ１～Ｅ１２１のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【０１３２】

Ｅ１２３．抗体の１つまたはそれ以上のアミノ酸残基が、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｔ１２２、Ｓ１４９、Ｅ５２、Ａ５６、Ｙ１６８、Ｔ１６９、およびＥ１７１からなる群から選択されるＴＬ１Ａ中の１つまたはそれ以上のアミノ酸残基との水素結合に関与する、Ｅ１～Ｅ１２２のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【０１３３】

Ｅ１２４．抗体の１つまたはそれ以上のアミノ酸残基が、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｙ１１８、Ｓ１４９、Ｒ３３、Ｅ５２、Ａ５６、およびＹ１６８からなる群から選択されるＴＬ１Ａ中の１つまたはそれ以上のアミノ酸残基との水素結合に関与する、Ｅ１～Ｅ１２３のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【０１３４】

Ｅ１２５．抗体の１つまたはそれ以上のアミノ酸残基が、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｒ３３、Ｋ４１、Ｅ５０、Ｅ５２、およびＫ１１３からなる群から選択される１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａアミノ酸残基との塩架橋に関与する、Ｅ１～Ｅ１２４のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【０１３５】

Ｅ１２６．本明細書に記載の抗体またはその抗原結合断片が、ＴＬ１Ａに結合し、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｒ３３、Ｑ３８、Ｋ４１、Ｎ４２、Ｌ５５、Ｎ１０２、Ｄ１０５、およびＭ１４７からなる群から選択されるＴＬ１Ａの１つまたはそれ以上の残基との水媒介性水素結合に関与する、Ｅ１～Ｅ１２５のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【０１３６】

Ｅ１２７．抗体の１つまたはそれ以上のアミノ酸残基がＴＬ１Ａ中の１つまたはそれ以上の残基との水素結合に関与し、ＴＬ１Ａの１つまたはそれ以上の残基との水媒介性水素結合に関与し、ＴＬ１Ａ中の１つまたはそれ以上の残基との塩架橋に関与し、ＴＬ１Ａとの相互作用のため埋まった表面積の非ゼロ変化を有する場合、または抗体の１つもしくはそれ以上の残基に由来する重原子がＴＬ１Ａ中の重原子から４Å以内の距離にある場合、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合断片がＴＬ１Ａに結合する、Ｅ１～Ｅ１２６のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【０１３７】

Ｅ１２８．Ｅ１～Ｅ１２７のいずれか１つに記載の抗体、またはその抗原結合断片を含み、薬学的に許容される担体または賦形剤をさらに含む、医薬組成物。

【０１３８】

Ｅ１２９．Ｅ１～Ｅ１２７のいずれか１つに記載の抗体、もしくはその抗原結合断片、またはＥ１２８に記載の医薬組成物の有効量を、それを必要とする対象に投与することを含む、ＴＬ１Ａにより媒介される疾患、障害または状態を防止、改善または処置する方法。

【０１３９】

Ｅ１３０．ＴＬ１Ａにより媒介される疾患、障害または状態の防止、改善または処置における使用のための、Ｅ１～Ｅ１２７のいずれか１つに記載の抗体、もしくはその抗原結合断片、またはＥ１２８に記載の医薬組成物。

【０１４０】

Ｅ１３１．ＴＬ１Ａにより媒介される疾患、障害または状態の防止、改善または処置のための医薬の製造における、Ｅ１～Ｅ１２７のいずれか１つに記載の抗体、またはその抗原結合断片の使用。

【０１４１】

Ｅ１３２．疾患、障害または状態が、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、クローン病、潰瘍性大腸炎、喘息、アレルギー、糖尿病、関節炎、関節リウマチ、若年性関節リウマチ、骨関節炎、乾癬性関節炎、強直性脊椎炎、多発性硬化症、移植拒絶、移植片対宿主病（ＧＶＨＤ）、脊椎関節症、原発性硬化性胆管炎、原発性胆汁性肝硬変、アテローム性動脈硬化症、膀胱症候群／間質性膀胱炎、尿路腸機能障害、敗血症、ブドウ膜炎、脳脊髄炎、重症筋無力症、全身性エリテマトーデス、皮膚エリテマトーデス、自己免疫性甲状腺炎、アトピー性皮膚炎、湿疹性皮膚炎、乾癬、シェーグレン症候群、強皮症、および血管炎からなる群から選択される、Ｅ１３１に記載の使用。

【０１４２】

Ｅ１３３．試料、組織または細胞中のＴＬ１Ａを検出する方法であって、該試料、組織または細胞をＥ１～Ｅ１２７のいずれか１つに記載の抗体、またはその抗原結合断片と接触させること、および前記抗体を検出することを含む、前記方法。

【０１４３】

Ｅ１３４．Ｅ１～Ｅ１２７に記載のＴＬ１Ａに特異的に結合する抗体、またはその抗原結合断片をコードする単離された核酸。

【０１４４】

Ｅ１３５．

ａ．配列番号１０３の核酸配列；
ｂ．配列番号１０５の核酸配列；
ｃ．配列番号１０７の核酸配列；
ｄ．配列番号１０９の核酸配列；
ｅ．配列番号１０３および配列番号１０５の核酸配列；
ｆ．配列番号１０７および配列番号１０９の核酸配列；
ｇ．ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１２０６３９を有する１Ｄ１　１．３１　ＶＨとして寄託されたベクターの挿入物の核酸配列；
ｈ．ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１２０６４０を有する１Ｄ１　１．３１　ＶＬとして寄託されたベクターの挿入物の核酸配列；
ｉ．ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１２０６３９を有する１Ｄ１　１．３１　ＶＨとして寄託されたベクターの挿入物の核酸配列およびＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１２０６４０を有する１Ｄ１　１．３１　ＶＬとして寄託されたベクターの挿入物の核酸配列；
ｊ．配列番号２２７の核酸配列；
ｋ．配列番号２２９の核酸配列；
ｌ．配列番号２２７および配列番号１０３の核酸配列；
ｍ．配列番号２２９および配列番号１０７の核酸配列；

ｎ．配列番号１９９の核酸配列；
ｏ．配列番号２０１の核酸配列；
ｐ．配列番号１９９および配列番号１０３の核酸配列；
ｑ．配列番号２０１および配列番号１０７の核酸配列；
ｒ．配列番号２０６の核酸配列；
ｓ．配列番号２０８の核酸配列；
ｔ．配列番号２０６および配列番号１０３の核酸配列；
ｕ．配列番号２０８および配列番号１０７の核酸配列；
ｖ．配列番号２１３の核酸配列；
ｗ．配列番号２１５の核酸配列；
ｘ．配列番号２１３および配列番号１０３の核酸配列；
ｙ．配列番号２１５および配列番号１０７の核酸配列；
ｚ．配列番号２２０の核酸配列；
ａａ．配列番号２２２の核酸配列；
ｂｂ．配列番号２２０および配列番号１０３の核酸配列；
ｃｃ．配列番号２２２および配列番号１０７の核酸配列；
ｄｄ．配列番号２３４の核酸配列；
ｅｅ．配列番号２３６の核酸配列；
ｆｆ．配列番号２３４および配列番号１０３の核酸配列；
ｇｇ．配列番号２３６および配列番号１０７の核酸配列；
ｈｈ．配列番号２４１の核酸配列；
ｉｉ．配列番号２４３の核酸配列；
ｊｊ．配列番号２４１および配列番号１０３の核酸配列；
ｋｋ．配列番号２４３および配列番号１０７の核酸配列；
ｌｌ．配列番号２４８の核酸配列；
ｍｍ．配列番号２５０の核酸配列；
ｎｎ．配列番号２４８および配列番号１０３の核酸配列；
ｏｏ．配列番号２５０および配列番号１０７の核酸配列；
ｐｐ．配列番号６５の核酸配列；
ｑｑ．配列番号６７の核酸配列；
ｒｒ．配列番号６９の核酸配列；
ｓｓ．配列番号７１の核酸配列；
ｔｔ．配列番号７３の核酸配列；
ｕｕ．配列番号７５の核酸配列；
ｖｖ．配列番号６７および配列番号６５の核酸配列；
ｗｗ．配列番号６９および配列番号６５の核酸配列；
ｘｘ．配列番号７１および配列番号６５の核酸配列；
ｙｙ．配列番号７３および配列番号７５の核酸配列；
ｚｚ．配列番号２の核酸配列；
ａａａ．配列番号４の核酸配列；
ｂｂｂ．配列番号６の核酸配列；
ｃｃｃ．配列番号８の核酸配列；
ｄｄｄ．配列番号１０の核酸配列；
ｅｅｅ．配列番号１２の核酸配列；
ｆｆｆ．配列番号４および配列番号２の核酸配列；
ｇｇｇ．配列番号６および配列番号２の核酸配列；
ｈｈｈ．配列番号１０および配列番号８の核酸配列；
ｉｉｉ．配列番号１２および配列番号８の核酸配列；
ｊｊｊ．配列番号１０２のアミノ酸配列をコードする核酸；および
ｋｋｋ．配列番号２２６のアミノ酸配列をコードする核酸

からなる群から選択される、Ｅ１３４に記載の単離された核酸。
【０１４５】
Ｅ１３６．Ｅ１３４またはＥ１３５に記載の核酸を含むベクター。
【０１４６】
Ｅ１３７．Ｅ１３６に記載のベクターを含む宿主細胞。
【０１４７】
Ｅ１３８．細菌細胞、真菌細胞、昆虫細胞、鳥類細胞、植物細胞または哺乳動物細胞からなる群から選択される、Ｅ１３７に記載の宿主細胞。
【０１４８】
Ｅ１３９．Ｅ１３７またはＥ１３８に記載の宿主細胞を培養すること、および抗体が発現される条件下で細胞を増殖させることを含み、抗体を単離することをさらに含む、ＴＬ１Ａに特異的に結合する抗体、またはその抗原結合断片を生成する方法。
【０１４９】
Ｅ１４０．腫瘍壊死因子様リガンド１Ａ（ＴＬ１Ａ）に特異的に結合し、
ａ）ｉ）アミノ酸配列ＧＹX_1Ｆ$X_2$$X_3$ＹＧＩＳ（式中、$X_1$はＳ、Ｄ、Ｑ、ＮまたはＰであり；$X_2$はＴまたはＲであり；$X_3$はＹまたはＨである）（配列番号３８４）を含むＶＨ相補性決定領域１（ＣＤＲ－Ｈ１）；
ｉｉ）アミノ酸配列ＷＩＳX_4ＹＮＧ$X_5$$X_6$$X_7$ＹＡ$X_8$Ｍ$X_9$ＱＧ（式中、$X_4$はＴ、Ｐ、Ｓ、またはＡであり；$X_5$はＫ、Ａ、Ｇ、Ｎ、またはＶであり；$X_6$はＴまたはＫであり；$X_7$はＮまたはＨであり；$X_8$はＲまたはＱであり；$X_9$はＬまたはＨである）（配列番号３８５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；および
ｉｉｉ）アミノ酸配列ＥＮＹＹＧＳＧ$X_9$$X_{10}$ＲＧＧＭＤ$X_{11}$（式中、$X_9$はＳまたはＡであり；$X_{10}$はＹまたはＦであり；$X_{11}$はＶ、Ｇ、またはＡである）（配列番号３８２）を含むＣＤＲ－Ｈ３
を含む重鎖可変領域（ＶＨ）；
ｂ）ｉ）アミノ酸配列ＧＹX_1Ｆ$X_2$$X_3$ＹＧＩＳ（式中、$X_1$はＳ、Ｄ、Ｑ、ＮまたはＰであり；$X_2$はＴまたはＲであり；$X_3$はＹまたはＨである）（配列番号３８４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；
ｉｉ）アミノ酸配列ＷＩＳX_4ＹＮＧ$X_5$$X_6$$X_7$ＹＡ$X_8$Ｍ$X_9$ＱＧ（式中、$X_4$はＴ、Ｐ、ＳまたはＡであり；$X_5$はＫ、Ａ、Ｇ、Ｎ、またはＶであり；$X_6$はＴまたはＫであり；$X_7$はＮまたはＨであり；$X_8$はＲまたはＱであり；$X_9$はＬまたはＨである）（配列番号３８５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；
ｉｉｉ）アミノ酸配列ＥＮＹＹＧＳＧ$X_9$$X_{10}$ＲＧＧＭＤ$X_{11}$（式中、$X_9$はＳまたはＡであり；$X_{10}$はＹまたはＦであり；$X_{11}$はＶ、Ｇ、またはＡである）（配列番号３８２）を含むＣＤＲ－Ｈ３
を含むＶＨと、
配列番号１０２のアミノ酸配列と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）；
ｃ）ｉ）アミノ酸配列ＧＹX_1Ｆ$X_2$$X_3$ＹＧＩＳ（式中、$X_1$はＳ、Ｄ、Ｑ、ＮまたはＰであり；$X_2$はＴまたはＲであり；$X_3$はＹまたはＨである）（配列番号３８４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；
ｉｉ）アミノ酸配列ＷＩＳX_4ＹＮＧ$X_5$$X_6$$X_7$ＹＡ$X_8$Ｍ$X_9$ＱＧ（式中、$X_4$はＴ、Ｐ、ＳまたはＡであり；$X_5$はＫ、Ａ、Ｇ、Ｎ、またはＶであり；$X_6$はＴまたはＫであり；$X_7$はＮまたはＨであり；$X_8$はＲまたはＱであり；$X_9$はＬまたはＨである）（配列番号３８５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；
ｉｉｉ）アミノ酸配列ＥＮＹＹＧＳＧ$X_9$$X_{10}$ＲＧＧＭＤ$X_{11}$（式中、$X_9$はＳまたはＡであり；$X_{10}$はＹまたはＦであり；$X_{11}$はＶ、Ｇ、またはＡである）（配列番号３８２）を含むＣＤＲ－Ｈ３；
ｉｖ）ＶＨのＫａｂａｔ番号付けにより決定される位置Ｈ７６のＴまたはＲ；
ｖ）ＶＨのＫａｂａｔ番号付けにより決定される位置Ｈ８１のＤまたはＥ

を含むＶＨと、
配列番号１１０のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ１、配列番号１１１のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ２、および配列番号１１２のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ｄ）ｉ）配列番号２０２のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ１；
ｉｉ）配列番号２０３、２１０、２１７、２２４、２３１、２３８、２４５または２５２から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ２；
ｉｉｉ）配列番号２０４、２１１、２１８、２２５、２３２、２３９、２４６、または２５３から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ２
を含むＶＨと、
配列番号１１０のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ１、配列番号１１１のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ２、および配列番号１１２のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ｅ）配列番号１１３のＣＤＲ－Ｈ１アミノ酸配列、配列番号１１４のＣＤＲ－Ｈ２アミノ酸配列、配列番号１１５のＣＤＲ－Ｈ３アミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１１０のＣＤＲ－Ｌ１アミノ酸配列、配列番号１１１のＣＤＲ－Ｌ２アミノ酸配列、および配列番号１１２のＣＤＲ－Ｌ３アミノ酸配列を含むＶＬ；
ｆ）配列番号１０４のＶＨアミノ酸配列のＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２およびＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨと、配列番号１０２のＶＬアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、およびＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ｇ）配列番号１０４のアミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１０２のアミノ酸配列を含むＶＬ；
ｈ）配列番号１０８のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号１０６のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）；
ｉ）配列番号１０５の核酸配列によりコードされるＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２、およびＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨと、配列番号１０３の核酸配列によりコードされるＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、およびＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ｊ）配列番号１０５の核酸配列によりコードされるＶＨと、配列番号１０３の核酸配列によりコードされるＶＬ；
ｋ）配列番号１０９の核酸配列によりコードされる重鎖と、配列番号１０７の核酸配列によりコードされる軽鎖；
ｌ）配列番号２３０のＣＤＲ－Ｈ１アミノ酸配列、配列番号２３１のＣＤＲ－Ｈ２アミノ酸配列、配列番号２３２のＣＤＲ－Ｈ３アミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１１０のＣＤＲ－Ｌ１アミノ酸配列、配列番号１１１のＣＤＲ－Ｌ２アミノ酸配列、および配列番号１１２のＣＤＲ－Ｌ３アミノ酸配列を含むＶＬ；
ｍ）配列番号２２６のＶＨアミノ酸配列のＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２およびＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨと、配列番号１０２のＶＬアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、およびＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ｎ）配列番号２２６のアミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１０２のアミノ酸配列を含むＶＬ；
ｏ）配列番号２２８のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号１０６のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）；
ｐ）配列番号２２７の核酸配列によりコードされるＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２、およびＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨと、配列番号１０３の核酸配列によりコードされるＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、およびＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ｑ）配列番号２２７の核酸配列によりコードされるＶＨと、配列番号１０３の核酸配列によりコードされるＶＬ；
ｒ）配列番号２２９の核酸配列によりコードされる重鎖と、配列番号１０７の核酸配列によりコードされる軽鎖；
ｓ）配列番号２０２のＣＤＲ－Ｈ１アミノ酸配列、配列番号２０３のＣＤＲ－Ｈ２アミノ

酸配列、配列番号２０４のＣＤＲ－Ｈ３アミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１１０のＣＤＲ－Ｌ１アミノ酸配列、配列番号１１１のＣＤＲ－Ｌ２アミノ酸配列、および配列番号１１２のＣＤＲ－Ｌ３アミノ酸配列を含むＶＬ；
ｔ）配列番号１９８のＶＨアミノ酸配列のＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２およびＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨと、配列番号１０２のＶＬアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、およびＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ｕ）配列番号１９８のアミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１０２のアミノ酸配列を含むＶＬ；
ｖ）配列番号２００のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号１０６のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）；
ｗ）配列番号１９９の核酸配列によりコードされるＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２、およびＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨと、配列番号１０３の核酸配列によりコードされるＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、およびＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ｘ）配列番号１９９の核酸配列によりコードされるＶＨと、配列番号１０３の核酸配列によりコードされるＶＬ；
ｙ）配列番号２０１の核酸配列によりコードされる重鎖と、配列番号１０７の核酸配列によりコードされる軽鎖；
ｚ）配列番号２０９のＣＤＲ－Ｈ１アミノ酸配列、配列番号２１０のＣＤＲ－Ｈ２アミノ酸配列、配列番号２１１のＣＤＲ－Ｈ３アミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１１０のＣＤＲ－Ｌ１アミノ酸配列、配列番号１１１のＣＤＲ－Ｌ２アミノ酸配列、および配列番号１１２のＣＤＲ－Ｌ３アミノ酸配列を含むＶＬ；
ａａ）配列番号２０５のＶＨアミノ酸配列のＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２およびＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨと、配列番号１０２のＶＬアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、およびＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ｂｂ）配列番号２０５のアミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１０２のアミノ酸配列を含むＶＬ；
ｃｃ）配列番号２０７のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号１０６のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）；
ｄｄ）配列番号２０６の核酸配列によりコードされるＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２、およびＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨと、配列番号１０３の核酸配列によりコードされるＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、およびＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ｅｅ）配列番号２０６の核酸配列によりコードされるＶＨと、配列番号１０３の核酸配列によりコードされるＶＬ；
ｆｆ）配列番号２０８の核酸配列によりコードされる重鎖と、配列番号１０７の核酸配列によりコードされる軽鎖；
ｇｇ）配列番号２１６のＣＤＲ－Ｈ１アミノ酸配列、配列番号２１７のＣＤＲ－Ｈ２アミノ酸配列、配列番号２１８のＣＤＲ－Ｈ３アミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１１０のＣＤＲ－Ｌ１アミノ酸配列、配列番号１１１のＣＤＲ－Ｌ２アミノ酸配列、および配列番号１１２のＣＤＲ－Ｌ３アミノ酸配列を含むＶＬ；
ｈｈ）配列番号２１２のＶＨアミノ酸配列のＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２およびＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨと、配列番号１０２のＶＬアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、およびＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ｉｉ）配列番号２１２のアミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１０２のアミノ酸配列を含むＶＬ；
ｊｊ）配列番号２１４のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号１０６のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）；
ｋｋ）配列番号２１３の核酸配列によりコードされるＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２、およびＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨと、配列番号１０３の核酸配列によりコードされるＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、およびＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ｌｌ）配列番号２１３の核酸配列によりコードされるＶＨと、配列番号１０３の核酸配列

によりコードされるＶＬ；
ｍｍ）配列番号２１５の核酸配列によりコードされる重鎖と、配列番号１０７の核酸配列によりコードされる軽鎖；
ｎｎ）配列番号２２３のＣＤＲ－Ｈ１アミノ酸配列、配列番号２２４のＣＤＲ－Ｈ２アミノ酸配列、配列番号２２５のＣＤＲ－Ｈ３アミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１１０のＣＤＲ－Ｌ１アミノ酸配列、配列番号１１１のＣＤＲ－Ｌ２アミノ酸配列、および配列番号１１２のＣＤＲ－Ｌ３アミノ酸配列を含むＶＬ；
ｏｏ）配列番号２１９のＶＨアミノ酸配列のＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２およびＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨと、配列番号１０２のＶＬアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、およびＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ｐｐ）配列番号２１９のアミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１０２のアミノ酸配列を含むＶＬ；
ｑｑ）配列番号２２１のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号１０６のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）；
ｒｒ）配列番号２２０の核酸配列によりコードされるＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２、およびＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨと、配列番号１０３の核酸配列によりコードされるＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、およびＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ｓｓ）配列番号２２０の核酸配列によりコードされるＶＨと、配列番号１０３の核酸配列によりコードされるＶＬ；
ｔｔ）配列番号２２２の核酸配列によりコードされる重鎖と、配列番号１０７の核酸配列によりコードされる軽鎖；
ｕｕ）配列番号２３７のＣＤＲ－Ｈ１アミノ酸配列、配列番号２３８のＣＤＲ－Ｈ２アミノ酸配列、配列番号２３９のＣＤＲ－Ｈ３アミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１１０のＣＤＲ－Ｌ１アミノ酸配列、配列番号１１１のＣＤＲ－Ｌ２アミノ酸配列、および配列番号１１２のＣＤＲ－Ｌ３アミノ酸配列を含むＶＬ；
ｖｖ）配列番号２３３のＶＨアミノ酸配列のＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２およびＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨと、配列番号１０２のＶＬアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、およびＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ｗｗ）配列番号２３３のアミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１０２のアミノ酸配列を含むＶＬ；
ｘｘ）配列番号２３５のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号１０６のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）；
ｙｙ）配列番号２３４の核酸配列によりコードされるＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２、およびＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨと、配列番号１０３の核酸配列によりコードされるＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、およびＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ｚｚ）配列番号２３４の核酸配列によりコードされるＶＨと、配列番号１０３の核酸配列によりコードされるＶＬ；
ａａａ）配列番号２３６の核酸配列によりコードされる重鎖と、配列番号１０７の核酸配列によりコードされる軽鎖；
ｂｂｂ）配列番号２４４のＣＤＲ－Ｈ１アミノ酸配列、配列番号２４５のＣＤＲ－Ｈ２アミノ酸配列、配列番号２４６のＣＤＲ－Ｈ３アミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１１０のＣＤＲ－Ｌ１アミノ酸配列、配列番号１１１のＣＤＲ－Ｌ２アミノ酸配列、および配列番号１１２のＣＤＲ－Ｌ３アミノ酸配列を含むＶＬ；
ｃｃｃ）配列番号２４０のＶＨアミノ酸配列のＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２およびＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨと、配列番号１０２のＶＬアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、およびＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ｄｄｄ）配列番号２４０のアミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１０２のアミノ酸配列を含むＶＬ；
ｅｅｅ）配列番号２４２のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号１０６のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）；

ｆｆｆ）配列番号２４１の核酸配列によりコードされるＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２、およびＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨと、配列番号１０３の核酸配列によりコードされるＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、およびＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ｇｇｇ）配列番号２４１の核酸配列によりコードされるＶＨと、配列番号１０３の核酸配列によりコードされるＶＬ；
ｈｈｈ）配列番号２４３の核酸配列によりコードされる重鎖と、配列番号１０７の核酸配列によりコードされる軽鎖；
ｉｉｉ）配列番号２５１のＣＤＲ－Ｈ１アミノ酸配列、配列番号２５２のＣＤＲ－Ｈ２アミノ酸配列、配列番号２５３のＣＤＲ－Ｈ３アミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１１０のＣＤＲ－Ｌ１アミノ酸配列、配列番号１１１のＣＤＲ－Ｌ２アミノ酸配列、および配列番号１１２のＣＤＲ－Ｌ３アミノ酸配列を含むＶＬ；
ｊｊｊ）配列番号２４７のＶＨアミノ酸配列のＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２およびＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨと、配列番号１０２のＶＬアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、およびＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ｋｋｋ）配列番号２４７のアミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１０２のアミノ酸配列を含むＶＬ；
ｌｌｌ）配列番号２４９のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号１０６のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）；
ｍｍｍ）配列番号２４８の核酸配列によりコードされるＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２、およびＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨと、配列番号１０３の核酸配列によりコードされるＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、およびＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ｎｎｎ）配列番号２４８の核酸配列によりコードされるＶＨと、配列番号１０３の核酸配列によりコードされるＶＬ；
ｏｏｏ）配列番号２５０の核酸配列によりコードされる重鎖と、配列番号１０７の核酸配列によりコードされる軽鎖；
ｐｐｐ）ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１２０６３９を有する１Ｄ１　１．３１　ＶＨとして寄託されたベクターの挿入物の核酸配列によりコードされるＶＨと、ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１２０６４０を有する１Ｄ１　１．３１　ＶＬとして寄託されたベクターの挿入物の核酸配列によりコードされるＶＬ；
ｑｑｑ）配列番号１０２のアミノ酸配列をコードする核酸によりコードされるＶＬ；ならびに
ｒｒｒ）配列番号２２６のアミノ酸配列をコードする核酸によりコードされるＶＨ
を含む、単離された抗体、またはその抗原結合断片。

【０１５０】

Ｅ１４１．抗体が、
ａ）ｉ）アミノ酸配列ＧＹＴＦＴＳＹＸ$_1$Ｘ$_2$Ｘ$_3$（式中、Ｘ$_1$はＧまたはＡであり；Ｘ$_2$はＩまたはＭであり；Ｘ$_3$はＮまたはＨである）（配列番号３８６）を含むＣＤＲ－Ｈ１；
ｉｉ）アミノ酸配列ＷＩＸ$_4$Ｘ$_5$Ｘ$_6$ＮＧＮＴＸ$_7$Ｘ$_8$Ｘ$_9$ＱＫＸ$_{10}$ＱＧ（式中、Ｘ$_4$はＳまたはＮであり；Ｘ$_5$はＴまたはＡであり；Ｘ$_6$はＹまたはＧであり；Ｘ$_7$はＮまたはＫであり；Ｘ$_8$はＳまたはＹであり；Ｘ$_9$はＡまたはＳであり；Ｘ$_{10}$はＬまたはＦである）（配列番号３８７）を含むＣＤＲ－Ｈ２；
ｉｉｉ）アミノ酸配列Ｘ$_{11}$Ｘ$_{12}$ＳＳＸ$_{13}$ＷＦＤＡＦＤＩ（式中、Ｘ$_{11}$はＡまたはＧであり；Ｘ$_{12}$はＨまたはＹであり；Ｘ$_{13}$はＳまたはＡである）（配列番号３８８）を含むＣＤＲ－Ｈ３；
ｉｖ）ＶＨのＫａｂａｔ番号付けにより決定される位置Ｈ８５のＤまたはＥ
を含むＶＨと、
配列番号９６のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ１、配列番号９７のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ２、および配列番号９８のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ｂ）配列番号５２または配列番号９０を含むＶＨ、および配列番号５０を含むＶＬ；

ｃ）配列番号９９のＣＤＲ－Ｈ１アミノ酸配列、配列番号１００のＣＤＲ－Ｈ２アミノ酸配列、配列番号１０１のＣＤＲ－Ｈ３アミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号９６のＣＤＲ－Ｌ１アミノ酸配列、配列番号９７のＣＤＲ－Ｌ２アミノ酸配列、および配列番号９８のＣＤＲ－Ｌ３アミノ酸配列を含むＶＬ；
ｄ）配列番号９０のＶＨアミノ酸配列のＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２およびＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨと、配列番号８８のＶＬアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、およびＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ｅ）配列番号９０のアミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号８８のアミノ酸配列を含むＶＬ；
ｆ）配列番号９４のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号９２のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）；
ｇ）配列番号９１の核酸配列によりコードされるＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２、およびＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨと、配列番号８９の核酸配列によりコードされるＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、およびＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ｈ）配列番号９１の核酸配列によりコードされるＶＨと、配列番号８９の核酸配列によりコードされるＶＬ；
ｉ）配列番号９５の核酸配列によりコードされる重鎖と、配列番号９３の核酸配列によりコードされる軽鎖；
ｊ）配列番号６１のＣＤＲ－Ｈ１アミノ酸配列、配列番号６２のＣＤＲ－Ｈ２アミノ酸配列、配列番号６３のＣＤＲ－Ｈ３アミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号５８のＣＤＲ－Ｌ１アミノ酸配列、配列番号５９のＣＤＲ－Ｌ２アミノ酸配列、および配列番号６０のＣＤＲ－Ｌ３アミノ酸配列を含むＶＬ；
ｋ）配列番号５２のＶＨアミノ酸配列のＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２およびＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨと、配列番号５０のＶＬアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、およびＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ｌ）配列番号５２のアミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号５０のアミノ酸配列を含むＶＬ；
ｍ）配列番号５６のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号５４のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）；
ｎ）配列番号５３の核酸配列によりコードされるＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２、およびＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨと、配列番号５１の核酸配列によりコードされるＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、およびＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ｏ）配列番号５３の核酸配列によりコードされるＶＨと、配列番号５１の核酸配列によりコードされるＶＬ；または
ｐ）配列番号５７の核酸配列によりコードされる重鎖と、配列番号５５の核酸配列によりコードされる軽鎖
を含む、Ｅ１～Ｅ１２７、またはＥ１４０のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

【０１５１】

Ｅ１４２．Ｅ１～Ｅ１２７、Ｅ１４０またはＥ１４１のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片であって、
ａ）ｉ）アミノ酸配列ＧＦＴＦＳＸ$_1$Ｘ$_2$ＡＸ$_3$Ｈ（式中、Ｘ$_1$はＮもしくはＳであり；Ｘ$_2$はＹもしくはＦであり；Ｘ$_3$はＬ、ＭもしくはＩである）（配列番号３８９）を含むＣＤＲ－Ｈ１；
ｉｉ）アミノ酸配列ＬＩＸ$_4$Ｘ$_5$ＤＧＳＸ$_6$Ｘ$_7$ＹＹＡＤＳＶＫＧ（式中、Ｘ$_4$はＳもしくはＰであり；Ｘ$_5$はＹもしくはＦであり；Ｘ$_6$はＤ、Ｓ、もしくはＮであり；Ｘ$_7$はＫもしくはＮである）（配列番号３９０）を含むＣＤＲ－Ｈ２；
ｉｉｉ）アミノ酸配列ＤＲＸ$_8$ＹＸ$_9$Ｘ$_{10}$Ｘ$_{11}$Ｘ$_{12}$ＳＸ$_{13}$ＳＸ$_{14}$ＤＡＦＤＩ（式中、Ｘ$_8$はＥもしくはＮであり；Ｘ$_9$はＣもしくはＹであり；Ｘ$_{10}$はＴもしくはＧであり；Ｘ$_{11}$はＹもしくはＳであり；Ｘ$_{12}$はＳもしくはＧであり；Ｘ$_{13}$はＣもし

くはＦであり；Ｘ$_{14}$はＹもしくはＦである）（配列番号３９１）を含むＣＤＲ－Ｈ３；
ｉｖ）ＶＨのＫａｂａｔ番号付けにより決定される位置Ｈ８５のＡもしくはＴ；
ｖ）ＶＨのＫａｂａｔ番号付けにより決定される位置１０８のＭもしくはＬ
を含むＶＨと、
配列番号７６のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ１、配列番号７７のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ２、および配列番号７８のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ３；およびＶＬのＫａｂａｔ番号付けにより決定される位置Ｌ８３のＦもしくはＹを含むＶＬ；
ｂ）配列番号６６、６８もしくは７０を含むＶＨと、配列番号１もしくは６４を含むＶＬ；
ｃ）ｉ）配列番号７９のＣＤＲ－Ｈ１アミノ酸配列、配列番号８０のＣＤＲ－Ｈ２アミノ酸配列、および配列番号８１のＣＤＲ－Ｈ３アミノ酸配列；
ｉｉ）配列番号８２のＣＤＲ－Ｈ１アミノ酸配列、配列番号８３のＣＤＲ－Ｈ２アミノ酸配列、および配列番号８４のＣＤＲ－Ｈ３アミノ酸配列；または
ｉｉｉ）配列番号８５のＣＤＲ－Ｈ１アミノ酸配列、配列番号８６のＣＤＲ－Ｈ２アミノ酸配列、および配列番号８７のＣＤＲ－Ｈ３アミノ酸配列
を含むＶＨと、
配列番号７６のＣＤＲ－Ｌ１アミノ酸配列、配列番号７７のＣＤＲ－Ｌ２アミノ酸配列、および配列番号７８のＣＤＲ－Ｌ３アミノ酸配列を含むＶＬ；
ｄ）配列番号６６のＶＨアミノ酸配列のＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２、およびＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨと、配列番号６４のＶＬアミノ酸配列のＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、およびＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ｅ）配列番号６８のＶＨアミノ酸配列のＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２、およびＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨと、配列番号６４のＶＬアミノ酸配列のＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、およびＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ｆ）配列番号７０のＶＨアミノ酸配列のＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２、およびＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨと、配列番号６４のＶＬアミノ酸配列のＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、およびＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ｇ）配列番号６６のアミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号６４のアミノ酸配列を含むＶＬ；
ｈ）配列番号６８のアミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号６４のアミノ酸配列を含むＶＬ；
ｉ）配列番号７０のアミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号６４のアミノ酸配列を含むＶＬ；
ｊ）配列番号７４のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号７２のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）；
ｋ）配列番号６７の核酸配列によりコードされるＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２、およびＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨと、配列番号６５の核酸配列によりコードされるＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、およびＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ｌ）配列番号６９の核酸配列によりコードされるＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２、およびＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨと、配列番号６５の核酸配列によりコードされるＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、およびＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ｍ）配列番号７１の核酸配列によりコードされるＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２、およびＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨと、配列番号６５の核酸配列によりコードされるＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、およびＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ｎ）配列番号６７の核酸配列によりコードされるＶＨと、配列番号６５の核酸配列によりコードされるＶＬ；
ｏ）配列番号６９の核酸配列によりコードされるＶＨと、配列番号６５の核酸配列によりコードされるＶＬ；
ｐ）配列番号７１の核酸配列によりコードされるＶＨと、配列番号６５の核酸配列によりコードされるＶＬ；

ｑ）配列番号７５の核酸配列によりコードされる重鎖と、配列番号７３の核酸配列によりコードされる軽鎖；
ｒ）配列番号１６のＣＤＲ－Ｈ１アミノ酸配列、配列番号１７のＣＤＲ－Ｈ２アミノ酸配列、配列番号１８のＣＤＲ－Ｈ３アミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１３のＣＤＲ－Ｌ１アミノ酸配列、配列番号１４のＣＤＲ－Ｌ２アミノ酸配列、および配列番号１５のＣＤＲ－Ｌ３アミノ酸配列を含むＶＬ；
ｓ）配列番号１９のＣＤＲ－Ｈ１アミノ酸配列、配列番号２０のＣＤＲ－Ｈ２アミノ酸配列、配列番号２１のＣＤＲ－Ｈ３アミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１３のＣＤＲ－Ｌ１アミノ酸配列、配列番号１４のＣＤＲ－Ｌ２アミノ酸配列、および配列番号１５のＣＤＲ－Ｌ３アミノ酸配列を含むＶＬ；
ｔ）配列番号３のＶＨアミノ酸配列のＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２、およびＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨと、配列番号１のＶＬアミノ酸配列のＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、およびＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ｕ）配列番号５のＶＨアミノ酸配列のＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２、およびＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨと、配列番号１のＶＬアミノ酸配列のＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、およびＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ｖ）配列番号３のアミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１のアミノ酸配列を含むＶＬ；
ｗ）配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１のアミノ酸配列を含むＶＬ；
ｘ）配列番号９のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）；
ｙ）配列番号１１のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）；
ｚ）配列番号４の核酸配列によりコードされるＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２、およびＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨと、配列番号２の核酸配列によりコードされるＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、およびＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ａａ）配列番号６の核酸配列によりコードされるＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２、およびＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨと、配列番号２の核酸配列によりコードされるＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、およびＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；
ｂｂ）配列番号４の核酸配列によりコードされるＶＨと、配列番号２の核酸配列によりコードされるＶＬ；
ｃｃ）配列番号６の核酸配列によりコードされるＶＨと、配列番号２の核酸配列によりコードされるＶＬ；
ｄｄ）配列番号１０の核酸配列によりコードされる重鎖と、配列番号８の核酸配列によりコードされる軽鎖；または
ｅｅ）配列番号１２の核酸配列によりコードされる重鎖と、配列番号８の核酸配列によりコードされる軽鎖
を含む、前記単離された抗体またはその抗原結合断片。

【０１５２】

Ｅ１４３．配列番号９０のＶＨ配列と少なくとも８４％同一であるＶＨ配列を含む、単離された抗体またはその抗原結合断片。

【０１５３】

Ｅ１４４．配列番号８８のＶＬと少なくとも９５％同一であるＶＬ配列をさらに含む、Ｅ１４３に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【０１５４】

Ｅ１４５．配列番号６８のＶＨ配列と少なくとも８７％同一であるＶＨ配列を含む、単離された抗体またはその抗原結合断片。

【０１５５】

Ｅ１４６．配列番号６４のＶＬ配列と少なくとも９８％同一であるＶＬ配列を含む、単離された抗体またはその抗原結合断片。

【０１５６】

Ｅ１４７．ＴＬ１Ａに結合する単離された抗体またはその抗原結合断片であって、ＴＬ１Ａへの結合についてＥ１～Ｅ１２０、またはＥ１３３～Ｅ１３９のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片と競合する、前記抗体。

【０１５７】

Ｅ１４８．Ｅ１～Ｅ１２７、またはＥ１４０～Ｅ１４７のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片であって、

ａ）配列番号１０４の配列に関するＫａｂａｔ番号付けに基づく、Ｇｌｙ２６、Ｔｙｒ２７、Ｓｅｒ２８、Ｔｈｒ３０、Ｔｙｒ３１、Ｔｒｐ５０、Ｔｙｒ５３、Ａｓｎ５４、Ａｓｎ５６、Ａｓｎ５８、Ｔｈｒ７３、Ａｒｇ７６、Ｔｙｒ９７、Ｇｌｙ９９、Ｓｅｒ１００、Ｇｌｙ１００Ａ、Ｓｅｒ１００Ｂ、およびＡｒｇ１００Ｄから選択される１つもしくはそれ以上の重鎖可変ドメイン残基と、配列番号１０２の配列に関するＫａｂａｔ番号付けに基づく、Ｔｙｒ３２およびＴｒｐ９４から選択される１つもしくはそれ以上の軽鎖可変ドメイン残基；または

ｂ）配列番号１０４の配列に関するＫａｂａｔ番号付けに基づく、１つもしくはそれ以上の重鎖可変ドメイン残基Ｇｌｙ２６、Ａｓｐ２８、Ｔｈｒ３０、Ｔｙｒ３１、Ｔｒｐ５０、Ｔｙｒ５３、Ａｓｎ５４、Ａｓｎ５６、Ｈｉｓ５８、Ｔｈｒ７３、Ａｒｇ７６、Ｔｙｒ９７、Ｇｌｙ９９、Ｓｅｒ１００、Ｇｌｙ１００Ａ、Ｓｅｒ１００Ｂ、Ａｒｇ１００Ｄと、配列番号１０２の配列に関するＫａｂａｔ番号付けに基づく、１つもしくはそれ以上の軽鎖可変ドメイン残基Ｔｙｒ３２およびＴｒｐ９４

を含むパラトープを有する、前記抗体またはその抗原結合断片。

【０１５８】

Ｅ１４９．抗体が４ｎＭ～１ｐＭの範囲のＫＤでヒトＴＬ１Ａに結合する、Ｅ１～Ｅ１２７、またはＥ１４０～Ｅ１４８のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【０１５９】

Ｅ１５０．２ｎＭ未満のＫＤでヒトＴＬ１Ａに結合する、Ｅ１～Ｅ１２７、またはＥ１４０～Ｅ１４９のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【０１６０】

Ｅ１５１．抗体が１ｎＭ未満のＫＤでヒトＴＬ１Ａに結合する、Ｅ１～Ｅ１２７、またはＥ１４０～Ｅ１５０のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【０１６１】

Ｅ１５２．Ｅ１～Ｅ１２７、またはＥ１４０～Ｅ１５１のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片であって、

ａ）該抗体が、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｔ１１５、Ｓ１１７、Ｙ１１８、Ｐ１１９、Ｐ１２１、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｍ１４７、Ｆ１４８、Ｓ１４９、Ｑ１５１、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｈ５１、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｔ５８、Ｅ９１、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１からなる群から選択される少なくとも１つのＴＬ１Ａアミノ酸に結合する；

ｂ）該抗体がＴＬ１Ａのホモマルチマーに結合し、該ホモマルチマーが少なくとも第１および第２のＴＬ１Ａモノマーを含み、該抗体が該第１のＴＬ１Ａモノマー上の第１のエピトープに結合し、該第１のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｔ１１５、Ｓ１１７、Ｙ１１８、Ｐ１１９、Ｐ１２１、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｍ１４７、Ｆ１４８、Ｓ１４９、およびＱ１５１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含み、該抗体が該第２のＴＬ１Ａモノマー上の第２のエピトープに結合し、該第２のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｈ５１、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｔ５８、Ｅ９１、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含む；

ｃ）該抗体が配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｍ１４７、Ｆ１４８、Ｓ１４９、Ｑ１５１、Ｖ３１

、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｈ５１、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１からなる群から選択される少なくとも１つのＴＬ１Ａアミノ酸に結合する；

ｄ）該抗体が少なくとも第１および第２のＴＬ１Ａモノマーを含むＴＬ１Ａのホモマルチマーに結合し、該抗体が該第１のＴＬ１Ａモノマー上の第１のエピトープに結合し、該第１のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｍ１４７、Ｆ１４８、Ｓ１４９、およびＱ１５１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含み、該抗体が該第２のＴＬ１Ａモノマー上の第２のエピトープに結合し、該第２のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｈ５１、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含む；

ｅ）該抗体が配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｍ１４７、Ｓ１４９、Ｑ１５１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｈ５１、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１からなる群から選択される少なくとも１つのＴＬ１Ａアミノ酸に結合する；

ｆ）該抗体が少なくとも第１および第２のＴＬ１Ａモノマーを含むＴＬ１Ａのホモマルチマーに結合し、該抗体が該第１のＴＬ１Ａモノマー上の第１のエピトープに結合し、該第１のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｍ１４７、Ｓ１４９、およびＱ１５１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含み、該抗体が該第２のＴＬ１Ａモノマー上の第２のエピトープに結合し、該第２のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｈ５１、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含む；

ｇ）該抗体が配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｍ１４７、Ｓ１４９、Ｑ１５１、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１からなる群から選択される少なくとも１つのＴＬ１Ａアミノ酸に結合する；

ｈ）該抗体が少なくとも第１および第２のＴＬ１Ａモノマーを含むＴＬ１Ａのホモマルチマーに結合し、該抗体が該第１のＴＬ１Ａモノマー上の第１のエピトープに結合し、該第１のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｍ１４７、Ｓ１４９、およびＱ１５１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含み、該抗体が該第２のＴＬ１Ａモノマー上の第２のエピトープに結合し、該第２のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含む；

ｉ）該抗体が配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｍ１４７、Ｓ１４９、Ｑ１５１、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｙ１６８、Ｔ１６９、およびＥ１７１からなる群から選択される少なくとも１つのＴＬ１Ａアミノ酸に結合する；

ｊ）該抗体が少なくとも第１および第２のＴＬ１Ａモノマーを含むＴＬ１Ａのホモマルチマーに結合し、該抗体が該第１のＴＬ１Ａモノマー上の第１のエピトープに結合し、該第１のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｍ１４７、Ｓ１４９、およびＱ１５１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含み、該抗体が該第２のＴＬ１Ａモノマー上の第２のエピトープに結合し、該第２のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ

５７、Ｙ１６８、Ｔ１６９、およびＥ１７１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含む；
ｋ）該抗体が配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｓ１４９、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３、Ａ５６、Ｆ５７、Ｙ１６８、Ｔ１６９、およびＥ１７１からなる群から選択される少なくとも１つのＴＬ１Ａアミノ酸に結合する；
ｌ）該抗体が少なくとも第１および第２のＴＬ１Ａモノマーを含むＴＬ１Ａのホモマルチマーに結合し、該抗体が該第１のＴＬ１Ａモノマー上の第１のエピトープに結合し、該第１のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、およびＳ１４９からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含み、該抗体が該第２のＴＬ１Ａモノマー上の第２のエピトープに結合し、該第２のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３、Ａ５６、Ｆ５７、Ｙ１６８、Ｔ１６９、およびＥ１７１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含む；
ｍ）該抗体が配列番号２５４の残基１１７～１２３および配列番号２５４の残基５０～５８からなる群から選択される少なくとも１つのＴＬ１Ａアミノ酸に結合する；
ｎ）該抗体が少なくとも第１および第２のＴＬ１Ａモノマーを含むＴＬ１Ａのホモマルチマーに結合し、該抗体が該第１のＴＬ１Ａモノマー上の第１のエピトープに結合し、該第１のエピトープが配列番号２５４の残基１１７～１２３に由来する少なくとも１つのアミノ鎖を含み、該抗体が該第２のモノマー上の第２のエピトープに結合し、該第２のエピトープが配列番号２５４の残基５０～５８に由来する少なくとも１つのアミノ鎖を含む；
ｏ）該抗体が配列番号２５４のＫ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｓ１４９、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３、Ａ５６、Ｙ１６８、Ｔ１６９およびＥ１７１からなる群から選択される少なくとも１つのＴＬ１Ａに結合する；
ｐ）該抗体が少なくとも第１および第２のＴＬ１Ａモノマーを含むＴＬ１Ａのホモマルチマーに結合し、該抗体が該第１のＴＬ１Ａモノマー上の第１のエピトープに結合し、該第１のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、およびＳ１４９からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含み、該抗体が該第２のモノマー上の第２のエピトープに結合し、該第２のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３、Ａ５６、Ｙ１６８、Ｔ１６９およびＥ１７１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含む；
ｑ）該抗体が配列番号２５４のＫ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｓ１４９、Ｅ５０、Ｅ５２、Ａ５６、およびＹ１６８からなる群から選択される少なくとも１つのＴＬ１Ａアミノ酸に結合する；
ｒ）該抗体が少なくとも第１および第２のＴＬ１Ａモノマーを含むＴＬ１Ａのホモマルチマーに結合し、該抗体が該第１のＴＬ１Ａモノマー上の第１のエピトープに結合し、該第１のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、およびＳ１４９からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含み、該抗体が該第２のモノマー上の第２のエピトープに結合し、該第２のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｅ５０、Ｅ５２、Ａ５６、およびＹ１６８からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含む；
ｓ）該抗体が配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｔ１１５、Ｙ１１８、Ｐ１２１、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｍ１４７、Ｆ１４８、Ｓ１４９、Ｑ１５１、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｈ５１、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｔ５８、Ｅ９１、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１からなる群から選択される少なくとも１つのＴＬ１Ａアミノ酸に結合する；
ｔ）該抗体が少なくとも第１および第２のＴＬ１Ａモノマーを含むＴＬ１Ａのホモマルチマーに結合し、該抗体が該第１のＴＬ１Ａモノマー上の第１のエピトープに結合し、該第

１のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｔ１１５、Ｙ１１８、Ｐ１２１、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｍ１４７、Ｆ１４８、Ｓ１４９、およびＱ１５１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含み、該抗体が該第２のＴＬ１Ａモノマー上の第２のエピトープに結合し、該第２のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｈ５１、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｔ５８、Ｅ９１、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含む；

ｕ）該抗体が配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｙ１１８、Ｍ１４７、Ｓ１４９、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５５、Ａ５６、およびＹ１６８からなる群から選択される少なくとも１つのＴＬ１Ａアミノ酸に結合する；

ｖ）該抗体が少なくとも第１および第２のＴＬ１Ａモノマーを含むＴＬ１Ａのホモマルチマーに結合し、該抗体が該第１のＴＬ１Ａモノマー上の第１のエピトープに結合し、該第１のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｙ１１８、Ｍ１４７、およびＳ１４９からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含み、該抗体が該第２のＴＬ１Ａモノマー上の第２のエピトープに結合し、該第２のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５５、Ａ５６、およびＹ１６８からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含む；

ｗ）該抗体が配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｓ１４９、Ｑ１５１、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｔ５８、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１からなる群から選択される少なくとも１つのＴＬ１Ａアミノ酸に結合する；

ｘ）該抗体が少なくとも第１および第２のＴＬ１Ａモノマーを含むＴＬ１Ａのホモマルチマーに結合し、該抗体が該第１のＴＬ１Ａモノマー上の第１のエピトープに結合し、該第１のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｓ１４９、およびＱ１５１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含み、該抗体が該第２のＴＬ１Ａモノマー上の第２のエピトープに結合し、該第２のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｔ５８、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含む；

ｙ）該抗体が配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｙ１１８、Ｅ５０、Ｅ５２、およびＬ５３からなる群から選択される少なくとも１つのＴＬ１Ａアミノ酸に結合する；

ｚ）該抗体が少なくとも第１および第２のＴＬ１Ａモノマーを含むＴＬ１Ａのホモマルチマーに結合し、該抗体が該第１のＴＬ１Ａモノマー上の第１のエピトープに結合し、該第１のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、少なくともＹ１１８を含み、該抗体が該第２のＴＬ１Ａモノマー上の第２のエピトープに結合し、該第２のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含む；

ａａ）該抗体が配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｓ１１７、Ｙ１１８、Ｐ１１９、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｍ１４７、Ｆ１４８、Ｓ１４９、Ｑ１５１、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｈ５１、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１からなる群から選択される少なくとも１つのＴＬ１Ａアミノ酸に結合する；

ｂｂ）該抗体が少なくとも第１および第２のＴＬ１Ａモノマーを含むＴＬ１Ａのホモマルチマーに結合し、該抗体が該第１のＴＬ１Ａモノマー上の第１のエピトープに結合し、該第１のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、

Ｋ１１３、Ｓ１１７、Ｙ１１８、Ｐ１１９、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｍ１４７、Ｆ１４８、Ｓ１４９、およびＱ１５１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含み、該抗体が該第２のＴＬ１Ａモノマー上の第２のエピトープに結合し、該第２のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｈ５１、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含む；

ｂｂ）該抗体が配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｔ１２２、Ｓ１４９、Ｅ５０、Ｅ５２、Ａ５６、Ｙ１６８、Ｔ１６９、およびＥ１７１からなる群から選択される少なくとも１つのＴＬ１Ａアミノ酸に結合する；

ｃｃ）該抗体が少なくとも第１および第２のＴＬ１Ａモノマーを含むＴＬ１Ａのホモマルチマーに結合し、該抗体が該第１のＴＬ１Ａモノマー上の第１のエピトープに結合し、該第１のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｔ１２２、およびＳ１４９からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含み、該抗体が該第２のＴＬ１Ａモノマー上の第２のエピトープに結合し、該第２のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｅ５０、Ｅ５２、Ａ５６、Ｙ１６８、Ｔ１６９、およびＥ１７１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含む；

ｄｄ）該抗体が配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｓ１１７、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｓ１４９、Ｑ１５１、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｙ１６８、Ｔ１６９、およびＥ１７１からなる群から選択される少なくとも１つのＴＬ１Ａアミノ酸に結合する；

ｅｅ）該抗体が少なくとも第１および第２のＴＬ１Ａモノマーを含むＴＬ１Ａのホモマルチマーに結合し、該抗体が該第１のＴＬ１Ａモノマー上の第１のエピトープに結合し、該第１のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｓ１１７、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｓ１４９、およびＱ１５１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含み、該抗体が該第２のＴＬ１Ａモノマー上の第２のエピトープに結合し、該第２のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｙ１６８、Ｔ１６９、およびＥ１７１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含む；

ｆｆ）該抗体が配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｅ５０、Ｅ５２、およびＬ５３からなる群から選択される少なくとも１つのＴＬ１Ａアミノ酸に結合する；

ｇｇ）該抗体が少なくとも第１および第２のＴＬ１Ａモノマーを含むＴＬ１Ａのホモマルチマーに結合し、該抗体が該第１のＴＬ１Ａモノマー上の第１のエピトープに結合し、該第１のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、およびＴ１２２からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含み、該抗体が該第２のＴＬ１Ａモノマー上の第２のエピトープに結合し、該第２のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｅ５０、Ｅ５２、およびＬ５３からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含む；

ｈｈ）該抗体が配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｆ１４８、Ｓ１４９、Ｑ１５１、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｅ９１、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１からなる群から選択される少なくとも１つのＴＬ１Ａアミノ酸に結合する；

ｉｉ）該抗体が少なくとも第１および第２のＴＬ１Ａモノマーを含むＴＬ１Ａのホモマルチマーに結合し、該抗体が該第１のＴＬ１Ａモノマー上の第１のエピトープに結合し、該第１のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｆ１４８、Ｓ１４９、およびＱ１５１からなる群から選

択される少なくとも１つのアミノ酸を含み、該抗体が該第２のＴＬ１Ａモノマー上の第２のエピトープに結合し、該第２のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｅ９１、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含む；

ｊｊ）該抗体が配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｐ１１９、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｆ１４８、Ｓ１４９、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１からなる群から選択される少なくとも１つのＴＬ１Ａアミノ酸に結合する；

ｋｋ）該抗体が少なくとも第１および第２のＴＬ１Ａモノマーを含むＴＬ１Ａのホモマルチマーに結合し、該抗体が該第１のＴＬ１Ａモノマー上の第１のエピトープに結合し、該第１のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｐ１１９、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｆ１４８、およびＳ１４９からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含み、該抗体が該第２のＴＬ１Ａモノマー上の第２のエピトープに結合し、該第２のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含む；

ｌｌ）該抗体が配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｐ１１９、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｆ１４８、Ｓ１４９、Ｑ１５１、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｅ９１、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１からなる群から選択される少なくとも１つのＴＬ１Ａアミノ酸に結合する；

ｍｍ）該抗体が少なくとも第１および第２のＴＬ１Ａモノマーを含むＴＬ１Ａのホモマルチマーに結合し、該抗体が該第１のＴＬ１Ａモノマー上の第１のエピトープに結合し、該第１のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｐ１１９、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｆ１４８、Ｓ１４９、およびＱ１５１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含み、該抗体が該第２のＴＬ１Ａモノマー上の第２のエピトープに結合し、該第２のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｅ９１、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含む；

ｎｎ）該抗体が配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｆ１４８、Ｓ１４９、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１からなる群から選択される少なくとも１つのＴＬ１Ａアミノ酸に結合する；または

ｏｏ）該抗体が少なくとも第１および第２のＴＬ１Ａモノマーを含むＴＬ１Ａのホモマルチマーに結合し、該抗体が該第１のＴＬ１Ａモノマー上の第１のエピトープに結合し、該第１のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｆ１４８、およびＳ１４９からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含み、該抗体が該第２のＴＬ１Ａモノマー上の第２のエピトープに結合し、該第２のエピトープが配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含む

前記抗体またはその抗原結合断片。

【０１６２】

Ｅ１５３．抗体の１つもしくはそれ以上のアミノ酸残基が、ＴＬ１Ａの１つもしくはそれ以上の残基との水素結合に関与する、ＴＬ１Ａの１つもしくはそれ以上の残基との水媒

介性水素結合に関与する、ＴＬ１Ａの１つもしくはそれ以上の残基との塩架橋に関与する、ＴＬ１Ａとの相互作用のため埋まった表面積の非ゼロ変化を有する、または抗体の１つもしくはそれ以上の残基に由来する重原子がＴＬ１Ａ中の重原子から４Å以内の距離にある場合、抗体がＴＬ１Ａに結合する、Ｅ１～Ｅ１２７、またはＥ１４０～Ｅ１５２のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【０１６３】

Ｅ１５４．Ｅ１～Ｅ１２７、またはＥ１４０～Ｅ１５３のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片をコードする単離された核酸。

【０１６４】

Ｅ１５５．Ｅ１５４に記載の抗体またはその抗原結合断片をコードする単離された核酸であって、

ａ）配列番号１０３の核酸配列；
ｂ）配列番号１０５の核酸配列；
ｃ）配列番号１０７の核酸配列；
ｄ）配列番号１０９の核酸配列；
ｅ）配列番号１０３および配列番号１０５の核酸配列；
ｆ）配列番号１０７および配列番号１０９の核酸配列；
ｇ）ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１２０６３９を有する１Ｄ１　１．３１　ＶＨとして寄託されたベクターの挿入物の核酸配列；
ｈ）ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１２０６４０を有する１Ｄ１　１．３１　ＶＬとして寄託されたベクターの挿入物の核酸配列；
ｉ）ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１２０６３９を有する１Ｄ１　１．３１　ＶＨとして寄託されたベクターの挿入物の核酸配列およびＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１２０６４０を有する１Ｄ１　１．３１　ＶＬとして寄託されたベクターの挿入物の核酸配列；
ｊ）配列番号２２７の核酸配列；
ｋ）配列番号２２９の核酸配列；
ｌ）配列番号２２７および配列番号１０３の核酸配列；
ｍ）配列番号２２９および配列番号１０７の核酸配列；
ｎ）配列番号１９９の核酸配列；
ｏ）配列番号２０１の核酸配列；
ｐ）配列番号１９９および配列番号１０３の核酸配列；
ｑ）配列番号２０１および配列番号１０７の核酸配列；
ｒ）配列番号２０６の核酸配列；
ｓ）配列番号２０８の核酸配列；
ｔ）配列番号２０６および配列番号１０３の核酸配列；
ｕ）配列番号２０８および配列番号１０７の核酸配列；
ｖ）配列番号２１３の核酸配列；
ｗ）配列番号２１５の核酸配列；
ｘ）配列番号２１３および配列番号１０３の核酸配列；
ｙ）配列番号２１５および配列番号１０７の核酸配列；
ｚ）配列番号２２０の核酸配列；
ａａ）配列番号２２２の核酸配列；
ｂｂ）配列番号２２０および配列番号１０３の核酸配列；
ｃｃ）配列番号２２２および配列番号１０７の核酸配列；
ｄｄ）配列番号２３４の核酸配列；
ｅｅ）配列番号２３６の核酸配列；
ｆｆ）配列番号２３４および配列番号１０３の核酸配列；
ｇｇ）配列番号２３６および配列番号１０７の核酸配列；ｈｈ）配列番号２４１の核酸配列；
ｉｉ）配列番号２４３の核酸配列；

ｊｊ）配列番号２４１および配列番号１０３の核酸配列；
ｋｋ）配列番号２４３および配列番号１０７の核酸配列；
ｌｌ）配列番号２４８の核酸配列；
ｍｍ）配列番号２５０の核酸配列；
ｎｎ）配列番号２４８および配列番号１０３の核酸配列；または
ｏｏ）配列番号２５０および配列番号１０７の核酸配列
からなる群から選択される核酸配列を含む、前記核酸。
【０１６５】
Ｅ１５６．Ｅ１５４またはＥ１５５に記載の抗体またはその抗原結合断片をコードする単離された核酸であって、
ａ）配列番号８９の核酸配列；
ｂ）配列番号９１の核酸配列；
ｃ）配列番号９３の核酸配列；
ｄ）配列番号９５の核酸配列；
ｅ）配列番号８９および配列番号９１の核酸配列；
ｆ）配列番号９３および配列番号９５の核酸配列；
ｊ）配列番号５３の核酸配列；
ｋ）配列番号５７の核酸配列；
ｌ）配列番号５３および配列番号８９の核酸配列；
ｍ）配列番号５７および配列番号９３の核酸配列；
ｎ）配列番号１０２のアミノ酸配列をコードする核酸；または
ｏ）配列番号２２６のアミノ酸配列をコードする核酸
を含む、前記核酸。
【０１６６】
Ｅ１５７．Ｅ１５４～Ｅ１５６のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片をコードする単離された核酸であって、
ａ）配列番号６５の核酸配列；
ｂ）配列番号６７の核酸配列；
ｃ）配列番号６９の核酸配列；
ｄ）配列番号７１の核酸配列；
ｅ）配列番号７３の核酸配列；
ｆ）配列番号７５の核酸配列；
ｇ）配列番号６７および配列番号６５の核酸配列；
ｈ）配列番号６９および配列番号６５の核酸配列；
ｉ）配列番号７１および配列番号６５の核酸配列；
ｊ）配列番号７３および配列番号７５の核酸配列；
ｋ）配列番号２の核酸配列；
ｌ）配列番号４の核酸配列；
ｍ）配列番号６の核酸配列；
ｎ）配列番号８の核酸配列；
ｏ）配列番号１０の核酸配列；
ｐ）配列番号１２の核酸配列；
ｑ）配列番号４および配列番号２の核酸配列；
ｒ）配列番号６および配列番号２の核酸配列；
ｓ）配列番号１０および配列番号８の核酸配列；または
ｔ）配列番号１２および配列番号８の核酸配列
を含む、前記核酸。
【０１６７】
Ｅ１５８．Ｅ１５４～Ｅ１５７のいずれか１つに記載の核酸を含むベクター。
【０１６８】

Ｅ１５９．Ｅ１５４～Ｅ１５７のいずれか１つに記載の核酸またはＥ１５８に記載のベクターを含む宿主細胞。

【０１６９】

Ｅ１６０．細胞が細菌細胞または哺乳動物細胞である、Ｅ１５９に記載の宿主細胞。

【０１７０】

Ｅ１６１．ＴＬ１Ａに特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片を生成する方法であって、前記抗体が発現される条件下でＥ１５９またはＥ１６０に記載の宿主細胞を培養することを含み、前記抗体を単離することをさらに含む、前記方法。

【０１７１】

Ｅ１６２．Ｅ１～Ｅ１２７、およびＥ１４０～Ｅ１５３のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片と、薬学的に許容される担体または賦形剤とを含む医薬組成物。

【０１７２】

Ｅ１６３．ＴＬ１Ａにより媒介される疾患、障害または状態を防止または処置するための方法であって、Ｅ１～Ｅ１２０、およびＥ１３３～Ｅ１４５のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片、またはＥ１５４に記載の医薬組成物の有効量を、それを必要とする対象に投与することを含む、前記方法。

【０１７３】

Ｅ１６４．ＴＬ１Ａにより媒介される疾患、障害または状態を防止または処置するのに使用するための、Ｅ１～Ｅ１２７、およびＥ１４０～Ｅ１５３のいずれか１つに記載の抗体もしくはその抗原結合断片、またはＥ１６２に記載の医薬組成物。

【０１７４】

Ｅ１６５．ＴＬ１Ａにより媒介される疾患、障害または状態を防止または処置するための医薬の製造における、Ｅ１～Ｅ１２７、およびＥ１４０～Ｅ１５３のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片の使用。

【０１７５】

Ｅ１６６．疾患、障害または状態が、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、クローン病、潰瘍性大腸炎、喘息、アレルギー、糖尿病、関節炎、関節リウマチ、若年性関節リウマチ、骨関節炎、乾癬性関節炎、強直性脊椎炎、多発性硬化症、移植拒絶、移植片対宿主病（ＧＶＨＤ）、脊椎関節症、原発性硬化性胆管炎、原発性胆汁性肝硬変、アテローム性動脈硬化症、膀胱症候群／間質性膀胱炎、尿路腸機能障害、敗血症、ブドウ膜炎、脳脊髄炎、重症筋無力症、全身性エリテマトーデス、皮膚エリテマトーデス、自己免疫性甲状腺炎、アトピー性皮膚炎、湿疹性皮膚炎、乾癬、シェーグレン症候群、強皮症、および血管炎からなる群から選択される少なくとも１つである、Ｅ１６３に記載の方法、Ｅ１６２に記載の抗体もしくは医薬組成物、またはＥ１６５に記載の使用。

【０１７６】

Ｅ１５９．Ｅ１～Ｅ１２７、およびＥ１４０～Ｅ１５３のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片を用いて試料、組織、または細胞中のＴＬ１Ａを検出する方法であって、該試料、組織または細胞を、該抗体と接触させること、および該抗体を検出することを含む、前記方法。

【０１７７】

前記の概要ならびに以下の発明の詳細な説明は、添付の図面とともに読まれると、より十分に理解される。本発明を例示する目的で、図面には現在好ましい実施形態が示されている。しかし、本発明は、示される正確な配置および手段に制限されないということは理解されなければならない。

【図面の簡単な説明】

【０１７８】

【図１－１】本発明の種々の抗ＴＬ１Ａ抗体のアミノ酸配列を表す図である。図１を通じて、抗体Ｍによって定義されるＶＨドメインＣＤＲ　Ｈ１領域は、太字で、イタリック体で示されている。Ｋａｂａｔによって定義されるＣＤＲ領域に下線が引かれている。図１Ａは、抗体９Ｂ３、１５Ａ９、１５Ｃ１１および２２Ｆ９のＶＨおよびＶＬ領域アミノ酸

配列を表す。図１Ｂは、抗体２６Ｂ１１、７Ｄ４および１Ｄ１のＶＨおよびＶＬ領域アミノ酸配列を表す。図１Ｃおよび図１Ｄは、ファージディスプレイによって親和性成熟され、１Ｄ１　Ｄ５、１Ｄ１　Ｄ１８、１Ｄ１　Ｄ２１、１Ｄ１　Ｄ２４、１Ｄ１　Ｄ２５、１Ｄ１　Ｄ２８、１Ｄ１　Ｄ２９、１Ｄ１　Ｄ３１、１Ｄ１　Ｄ３７、１Ｄ１　Ｄ３８、１Ｄ１　Ｄ３９、１Ｄ１　ＤＨ３、１Ｄ１　ＤＨ８、１Ｄ１　ＤＨ９および１Ｄ１　ＤＨ１０と名付けられた一連の１Ｄ１抗体のＶＨ領域アミノ酸配列を表す。図１Ｅ～図１Ｈは、共結晶構造およびファージディスプレイ分析によって親和性成熟され、１Ｄ１　１．１～１Ｄ１　１．３４と名付けられた１Ｄ１抗体のＶＨ領域アミノ酸配列を表す。図１Ｃ～図１Ｈにおける親和性成熟された抗体については、ＶＬ領域は、親抗体１Ｄ１ＶＬ領域と同一のアミノ酸配列を有する。図１Ｉ－１は、２６Ｂ１１、７Ｄ４および１Ｄ１のＶＬ領域のアミノ酸配列のアラインメントを表し、図１Ｉ－２は、親抗体１Ｄ１、７Ｄ４および２６Ｂ１１のＶＨ領域の配列アラインメントを示す。これらの抗体の各々は、異なるエピトープ－結合抗体ビン／基を表す。図１Ｊは、エピトープ結合ビンを共有する、抗体７Ｄ４および２２Ｆ９に由来するアミノ酸配列のアラインメントを表す。図１Ｋは、エピトープ結合ビンを共有する、抗体２６Ｂ１１および９Ｂ３の間のアミノ酸配列のアラインメントを表す。図１Ｌは、エピトープ－結合ビンを共有する、抗体１Ｄ１および抗体１５Ａ９および１５Ｃ１１のアミノ酸配列のアラインメントを表す。図１Ｍ－１は、１Ｄ１および種々の１Ｄ１変異体抗ＴＬ１Ａ抗体のＶＨドメイン間で共有されるアミノ酸配列同一性パーセントを表す表を示す。図１Ｍ－２は、種々の抗ＴＬ１Ａ抗体（１Ｄ１、１５Ａ９、１５Ｃ１１、９Ｂ３、２６Ｂ１１、７Ｄ４および２２Ｆ９）のＶＬドメイン間のアミノ酸配列同一性パーセントを表す表を示す。図１Ｍ－３は、種々の抗ＴＬ１Ａ抗体（１Ｄ１、１５Ａ９、１５Ｃ１１、９Ｂ３／２６Ｂ１１　ＶＨ１、９Ｂ３／２６Ｂ１１　ＶＨ２、２６Ｂ１１　ＭＤＸ、７Ｄ４および２２Ｆ９）のＶＨドメイン間のアミノ酸配列同一性パーセントを表す表を示す。

【図１－２】図１－１の続き。

【図１－３】図１－２の続き。

【図１－４】図１－３の続き。

【図１－５】図１－４１の続き。

【図１－６】図１－５の続き。

【図１－７】図１－６の続き。

【図１－８】図１－７の続き。

【図１－９】図１－８の続き。

【図１－１０】図１－９の続き。

【図１－１１】図１－１０の続き。

【図１－１２】図１－１１の続き。

【図１－１３】図１－１２の続き。

【図２】エピトープビンによる抗ＴＬ１Ａ抗体を示すベン図である。同一円内の抗体は、ヒトＴＬ１Ａに対する結合について競合するが、別個の円の中の抗体は、ヒトＴＬ１Ａでの結合について競合しない。

【図３】エピトープビンによる抗体を示す抗ＴＬ１Ａ抗体の別のベン図である。同一円内の抗体は、ヒトＴＬ１Ａへの結合について競合するが、別個の円の中の抗体は、ヒトＴＬ１Ａでの結合について競合しない。

【図４】抗ＴＬ１Ａ抗体のエピトープビンのベン図である。同一円内の抗体は、マウスＴＬ１Ａへの結合について競合するが、別個の円の中の抗体は、マウスＴＬ１Ａでの結合について競合しない。図は、ポリクローナルＡｂ　ＡＴ１２７が、その他の円の中の抗体のいずれとも（１Ｄ１、２７Ｆ８、１１Ｆ５、３Ｃ５、１６Ｂ３、２０Ｃ１０、１６ｇ９および６Ｄ７）競合しないことを実証するデータを示し、円内の抗体のすべてがマウスＴＬ１Ａへの結合について互いに競合することも示す。

【図５】３種のＴＬ１Ａモノマー（薄い灰色、濃い灰色および黒色として示されるＴＬ１Ａ分子を有する表面モデル）と結合している３種の１Ｄ１　ｓｃＦｖ分子（リボン）の共

結晶構造を表す図である。１Ｄ１の重鎖は、その後ろにある軽鎖よりも見る人により近い。

【図６】１Ｄ１　ｓｃＦｖのＣＤＲＨ１（ＡｂＭによって定義される）中の選択された領域の拡大図であり、ＣＤＲＨ１のセリン２８残基が、ＴＬ１Ａ上の任意の残基との強いＨ結合パートナーを有さないことを示す。

【図７】図６において示される、１Ｄ１　ｓｃＦｖのＣＤＲＨ１（ＡｂＭによって定義される）の選択された領域の拡大図である。図は、セリン２８のアスパラギン酸との置換が、強い相互作用（例えば、Ｈ結合および塩橋）の機会を提供することをモデルが示すことを示す。

【図８】ヒトＴＬ１Ａと共結晶化された抗ＴＬ１Ａ抗体７Ｄ４のＦａｂの結晶構造を表す図である。個々のＴＬ１Ａモノマーは、薄い灰色、濃い灰色および黒色の表面として示されている。７Ｄ４　Ｆａｂは、濃い灰色のＶＬおよび薄い灰色のＶＨを有するリボンとして示されている。

【図９】ヒトＴＬ１Ａと共結晶化された抗ＴＬ１Ａ抗体２６Ｂ１１のＦａｂの結晶構造のモデルを表す図である。モデルは、ＴＬ１Ａ三量体の構造への単一複合体の結晶構造の連続重ね合わせによって形成される。個々のＴＬ１Ａモノマーは、異なる灰色の陰影を有する表面として示されている。２６Ｂ１１　Ｆａｂは、濃い灰色の軽鎖および薄い灰色の重鎖を有するリボンとして示されている。

【図１０】ヒトＴＬ１Ａと共結晶化された抗ＴＬ１Ａ抗体１Ｄ１　１．３１のｓｃＦｖの結晶構造を表す図である。個々のＴＬ１Ａモノマーは、各々、薄い灰色、濃い灰色および黒色の表面として示されている。１Ｄ１　１．３１ｓｃＦｖは、薄い灰色の重鎖および濃い灰色の軽鎖を有するリボンで示されている。

【図１１】抗体の残基５８の周囲の領域における、抗ＴＬ１Ａ抗体１Ｄ１（親）およびヒトＴＬ１Ａを用いて親和性最適化された１Ｄ１　１．３１の結晶構造の比較を表す図である。１Ｄ１　１．３１は、黒色（右側の重鎖）および濃い灰色（左側の軽鎖）で示されている。親１Ｄ１は、薄い灰色で示されている。ＴＬ１Ａは、薄いスティックとして示されている。

【図１２】抗体の残基２８の周囲の領域における抗ＴＬ１Ａ抗体１Ｄ１（親）および１Ｄ１　１．３１およびヒトＴＬ１Ａの結晶構造の比較を表す図である。親１Ｄ１は、薄い灰色の薄いスティックで示されている。１Ｄ１　１．３１は、黒色のスティックで示されている。ＴＬ１Ａは、薄い灰色の親１Ｄ１共構造に由来する立体構造および黒色の１Ｄ１　１．３１共構造に由来する立体構造を有する薄いスティックで示されている。

【図１３】抗ＴＬ１Ａ抗体１Ｄ１　１．３１の存在下および不在下での単球による膜結合型ＴＬ１Ａ（ｍＴＬ１Ａ）の発現を表すグラフである。全血から得たヒト単球を、プレート結合型ＩＣによって４時間±１Ｄ１　１．３１で刺激し、アイソタイプ対照（薄い灰色）および非刺激細胞（濃い灰色）の両方によって実証された重ね合わせピークの右側にピークを示す。膜ＴＬ１Ａを、ストレプトアビジンＰＥを使用して検出し、蛍光シグナルが増大するにつれて細胞表面上のＴＬ１Ａの量が、０～10^5ｍＴＬ１Ａの範囲でｘ軸に沿って表されるようフローサイトメトリーによって測定した。

【図１４－１】パネルＡ～Ｅを含む、抗ＴＬ１Ａ抗体によるＮＦκＢ阻害の阻害を示すグラフである。図１４Ａは、ＧＭ－ＣＳＦを伴わない一晩培養後のＴＦ－１細胞でのＤＲ３の構成的発現を実証するグラフを表す。市販のビオチン化抗ＤＲ３抗体を用いる染色と、それに続く、ストレプトアビジン－ＰＥを用いる染色によって、ＴＦ－１細胞でのＤＲ３の構成的発現を実証した。染色後、フローサイトメトリー分析によってＤＲ３発現を調べた。ストレプトアビジン－ＰＥ対照細胞（濃い灰色）と比較した、ＤＲ３抗体を用いて染色された細胞（薄い灰色）におけるＭＦＩの増大によって実証されるＤＲ３発現の尺度として、細胞カウントを平均蛍光強度（ＭＦＩ）に対してプロットした。図１４Ｂは、ＴＦ－１－ＮＦκＢ－ルシフェラーゼ細胞におけるＮＦκＢ活性のＴＬ１Ａ用量依存性活性化を示すグラフを表す。ＴＦ－１－ＮＦκＢ－ルシフェラーゼ細胞を、示したｐＭ濃度のＴＬ１Ａを用いて、３７℃で６時間刺激した。ＮＦκＢ活性を、ルシフェラーゼ活性（光単

位）の発現によって測定した。相対光単位をルミノメーターによって測定し、ＴＬ１Ａ濃度に対してプロットした。図１４Ｃは、ＴＬ１Ａ刺激に応じたＴＦ－１－ＮＦκＢ－ルシフェラーゼ細胞における抗体１Ｄ１　１．３１活性によるＮＦκＢ活性化の用量依存性阻害を実証する代表的なグラフを表す。ＴＦ－１－ＮＦκＢ－ルシフェラーゼ細胞を、示した濃度の１Ｄ１　１．３１の存在下で１５０ｐＭ　ＴＬ１Ａによって、３７℃で６時間刺激した。ＮＦκＢ活性は、ルシフェラーゼ活性の発現によって測定した。相対光単位をルミノメーターによって測定し、１Ｄ１　１．３１濃度に対してプロットした。図１４Ｄは、３ｎＭのアイソタイプ対照抗体の存在下または不在下でのＴＦ－１－ＮＦκＢ－ルシフェラーゼ細胞におけるＮＦκＢ活性のＴＬ１Ａ用量依存性活性化を示すグラフを表す。ＴＦ－１－ＮＦκＢ－ルシフェラーゼ細胞を、示した濃度のＴＬ１Ａを用い、３ｎＭのアイソタイプ対照抗体とともに、または伴わずに、３７℃で６時間刺激した。ＮＦκＢ活性を、ルシフェラーゼ活性の発現によって測定した。相対光単位をルミノメーターによって測定し、ＴＬ１Ａ濃度に対してプロットした。図１４Ｅは、ＴＬ１Ａ刺激に応じたＴＦ－１－ＮＦκＢ－ルシフェラーゼ細胞におけるＮＦκＢ活性化の抗破傷風トキソイドアイソタイプ対照抗体用量依存性阻害を示すグラフを表す。ＴＦ－１－ＮＦκＢ－ルシフェラーゼ細胞を、示した濃度のアイソタイプ対照抗体の存在下で１５０ｐＭ　ＴＬ１Ａによって、３７℃で６時間刺激した。ＮＦκＢ活性を、ルシフェラーゼ活性の発現によって測定した。相対光単位をルミノメーターによって測定し、１Ｄ１　１．３１抗体濃度に対してプロットした。

【図１４－２】図１４－１の続き。

【図１５】パネルＡおよびＢを含む、抗ＴＬ１Ａ抗体によるＴＦ－１細胞におけるカスパーゼ活性の阻害を実証する図である。図１５Ａは、ＴＦ－１細胞におけるカスパーゼ活性のＴＬ１Ａ用量依存性活性化を示すグラフを表す。ＴＦ－１細胞を、シクロヘキシミドの存在下で、示した濃度のＴＬ１Ａを用いて３７℃で６時間刺激した。カスパーゼ活性を、カスパーゼ特異的基質の切断時に放出されるルシフェリン活性によって測定した。相対光単位をルミノメーターによって測定し、ＴＬ１Ａ濃度に対してプロットした。示されたデータは、約９４．１７のＥＣ５０を実証する。図１５Ｂは、ＴＬ１Ａ刺激に応じたＴＦ－１細胞における抗体１Ｄ１　１．３１によるカスパーゼ活性の用量依存性阻害を示すグラフを表す。ＴＦ－１細胞を、シクロヘキシミドの存在下で、示した濃度の１Ｄ１　１．３１の存在下で、８７ｐＭのＴＬ１Ａによって３７℃で６時間刺激した。カスパーゼ活性を、カスパーゼ特異的基質の切断時に放出されるルシフェリン活性によって測定した。相対光単位をルミノメーターによって測定し、１Ｄ１　１．３１濃度に対してプロットした。示されたデータは、Ａｂ　１Ｄ１　１．３１についてＩＣ５０約５４．２６を実証する。

【図１６】パネルＡおよびＢを含む、ヒト全血における抗ＴＬ１Ａ抗体によるサイトカインの阻害および枯渇を表す図である。図１６Ａは、１Ｄ１　１．３１によるヒト末梢血の免疫複合体（ＩＣ）ならびにＩＬ－１２およびＩＬ－１８刺激でのＩＦＮγ分泌の阻害を示すグラフを表す。０．５ｎｇ／ｍＬの組換えヒトＩＬ－１２および５ｎｇ／ｍＬの組換えヒトＩＬ－１８を用いて処理したヒト末梢血を、示した１Ｄ１　１．３１またはアイソタイプ対照抗体濃度の不在下または存在下で、免疫複合体によってコーティングされたプレートによって３７℃で２４時間（それぞれ、ＮＫ／ＮＫＴ細胞でＤＲ３を、単球でＴＬ１Ａを上方調節するために）刺激した。これらの試料から血漿を調製し、メソスケール（ＭＳＤ）キットを使用する定量的免疫－リガンド結合アッセイによって血漿試料中のＩＦＮγを測定した。図１６Ｂは、ヒト末梢血のＩＣならびにＩＬ－１２およびＩＬ－１８刺激の際の、１Ｄ１－１．３１－遊離可溶性ＴＬ１Ａ（ｓＴＬ１Ａ）での１Ｄ１　１．３１減少を示すグラフを表す。０．５ｎｇ／ｍＬの組換えヒトＩＬ－１２および５ｎｇ／ｍＬの組換えヒトＩＬ－１８を用いて処理したヒト末梢血を、示した１Ｄ１　１．３１またはアイソタイプ対照抗体濃度の不在下または存在下で、免疫複合体によってコーティングされたプレートによって３７℃で２４時間（それぞれ、ＮＫ／ＮＫＴ細胞でＤＲ３を、単球でＴＬ１Ａを上方調節するために）刺激した。これらの試料から血漿を調製し、メソスケール（ＭＳＤ）を使用する定量的免疫リガンド結合アッセイによって血漿試料中の１Ｄ１

１．３１－遊離ｓＴＬ１Ａを測定した。
【図１７】パネルＡおよびＢを含む、カニクイザル全血における抗ＴＬ１Ａ抗体によるサイトカインの阻害および枯渇を表す図である。図１７Ａは、カニクイザル末梢血のＩＣならびにＩＬ－１２およびＩＬ－１８刺激でのＩＦＮγ生成の抗体１Ｄ１　１．３１阻害を表す。１ｎｇ／ｍＬの組換えヒトＩＬ－１２および１０ｎｇ／ｍＬの組換えヒトＩＬ－１８を用いて処理したカニクイザル末梢血を、示した１Ｄ１　１．３１またはアイソタイプ対照抗体濃度の不在下または存在下で、免疫複合体によってコーティングされたプレートによって、３７℃で２４時間（それぞれ、ＮＫ／ＮＫＴ細胞でＤＲ３を、単球でＴＬ１Ａを上方調節するために）刺激した。これらの試料から血漿を調製し、メソスケール（ＭＳＤ）キットを使用する定量的免疫－リガンド結合アッセイによって血漿試料中のＩＦＮγを測定した。図１７Ｂは、カニクイザル血液のＩＣならびにＩＬ－１２およびＩＬ－８刺激下での抗体１Ｄ１－１．３１－遊離可溶性ＴＬ１Ａでの減少を示すグラフを表す。１ｎｇ／ｍＬの組換えヒトＩＬ－１２および１０ｎｇ／ｍＬの組換えヒトＩＬ－１８を用いて処理したカニクイザル末梢血を、示した１Ｄ１　１．３１またはアイソタイプ対照抗体濃度の不在下または存在下で、免疫複合体によってコーティングされたプレートによって３７℃で２４時間（それぞれ、ＮＫ／ＮＫＴ細胞でＤＲ３を、単球でＴＬ１Ａを上方調節するために）刺激した。これらの試料から血漿を調製し、メソスケール（ＭＳＤ）キットを使用する定量的免疫リガンド結合アッセイによって血漿試料中の１Ｄ１　１．３１－遊離ｓＴＬ１Ａを測定した。
【図１８－１】Ａ～Ｃは、１Ｄ１抗体残基およびＴＬ１Ａ残基の対の間の相互作用によって埋まる正規化された表面積（Å^2）を要約する表である。１Ｄ１残基は、鎖（重鎖についてはＨまたは軽鎖についてはＬ）、１文字アミノ酸コードおよび残基番号によって名付けられている。ＴＬ１Ａ残基は、ＴＬ１Ａモノマー／鎖（ＡまたはＢ）、１文字アミノ酸コードおよび残基番号によって名付けられている。水素結合を形成する対は、「ｈ」を用いて示されている。塩橋を形成する対は、「Ｓ」を用いて示されている。水分子を一緒に配位する対は、「ｗ」を用いて示されている。
【図１８－２】図１８－１の続き。
【図１８－３】図１８－２の続き。
【図１９－１】Ａ～Ｃは、１Ｄ１　１．３１抗体残基およびＴＬ１Ａ残基の対の間の相互作用によって埋まる正規化された表面積（Å^2）を要約する表である。１Ｄ１　１．３１残基は、鎖（重鎖についてはＨまたは軽鎖についてはＬ）、１文字アミノ酸コードおよび残基番号によって名付けられている。ＴＬ１Ａ残基は、ＴＬ１Ａモノマー／鎖（ＡまたはＢ）、１文字アミノ酸コードおよび残基番号によって名付けられている。水素結合を形成する対は、「ｈ」を用いて示されている。塩橋を形成する対は、「Ｓ」を用いて示されている。水分子を一緒に配位する対は、「ｗ」を用いて示されている。
【図１９－２】図１８－１の続き。
【図１９－３】図１８－２の続き。
【図２０】１Ｄ１　１．３１のＴＬ１ＡおよびＴＮＦＳＦ６との結合を比較するグラフである。抗体結合は、材料および方法に記載される通りに決定した。このグラフは、２連で実行した３回の独立した実験（ｎ＝６）を表す。１Ｄ１　１．３１は、８．４ｐｇ／ｍＬのＥＣ$_{50}$値でＴＬ１Ａと結合したが（下三角）、ＴＮＦＳＦ６と結合しなかった（星）。抗ＴＮＦＳＦ６抗体は、３ｐｇ／ｍＬのＥＣ$_{50}$値でＴＮＦＳＦ６（丸）と結合した。
【図２１】抗ＴＬ１Ａ抗体１Ｄ１　１．３１による、ビオチン化－ＴＬ１Ａの、ＤＲ３発現性ＨＥＫ２９３細胞との結合の阻害を実証するグラフである。抗ＴＬ１Ａ抗体１Ｄ１　１．３１は、１０μｇ／ｍＬのビオチン化－ＴＬ１ＡのＤＲ３発現性ＨＥＫ２９３細胞との結合を、１８．６８μｇ／ｍＬのＩＣ$_{50}$で阻害した。
【図２２－１】Ａ～Ｅは、ＨＤＭマウスモデルにおける気道炎症に対する抗ＴＬ１Ａ抗体の投与の結果を示す図である。１Ｄ１抗体の投与は、総ＢＡＬ細胞型［図２２（ａ）］、ＢＡＬ好酸球の数［図２２（ｂ）］、ＢＡＬリンパ球［図２２（ｃ）］およびＢＡＬマクロファージ［図２２（ｄ）］の数の大幅な低下をもたらした。ＢＡＬ好中球数は、抗ＴＬ

１Ａ処理によって大きく調節されないようであった［図２２（ｅ）］が、ＢＡＬ好中球が、このモデルにおいて小細胞集団に相当することは注目に値する。
【図２２－２】図２２－１の続き。
【図２３－１】Ａ～Ｃは、７Ｄ４抗体残基およびＴＬ１Ａ残基の対の間の相互作用によって埋まる正規化された表面積（Å^2）を要約する表である。７Ｄ４残基は、鎖（重鎖についてはＨまたは軽鎖についてはＬ）、１文字アミノ酸コードおよび残基番号によって名付けられている。ＴＬ１Ａ残基は、ＴＬ１Ａモノマー／鎖（ＡまたはＢ）、１文字アミノ酸コードおよび残基番号によって名付けられている。水素結合を形成する対は、「ｈ」を用いて示されている。塩橋を形成する対は、「Ｓ」を用いて示されている。水分子を一緒に配位する対は、「ｗ」を用いて示されている。
【図２３－２】図２３－１の続き。
【図２３－３】図２３－２の続き。
【図２４－１】Ａ～Ｃは、２６Ｂ１１抗体残基およびＴＬ１Ａ残基の対の間の相互作用によって埋まる正規化された表面積（Å^2）を要約する表である。２６Ｂ１１残基は、鎖（重鎖についてはＨまたは軽鎖についてはＬ）、１文字アミノ酸コードおよび残基番号によって名付けられている。ＴＬ１Ａ残基は、ＴＬ１Ａモノマー／鎖（ＡまたはＢ）、１文字アミノ酸コードおよび残基番号によって名付けられている。ＴＬ１Ａ残基は、ＴＬ１Ａモノマー／鎖（ＡまたはＢ）、１文字アミノ酸コードおよび残基番号によって名付けられている。水素結合を形成する対は、「ｈ」を用いて示されている。塩橋を形成する対は、「Ｓ」を用いて示されている。水分子を一緒に配位する対は、「ｗ」を用いて示されている。
【図２４－２】図２４－１の続き。
【図２４－３】図２４－２の続き。
【発明を実施するための形態】
【０１７９】
ＴＬ１Ａに特異的に結合する抗体およびさらに、ＤＲ３へのその結合を阻害する抗体が本明細書に開示される。ＴＬ１Ａ抗体を作製する方法、これらの抗体を含む組成物、およびこれらの抗体の使用方法が提供される。ＴＬ１Ａ抗体を、免疫関連疾患または炎症疾患などの、ＴＬ１Ａにより引き起こされる、および／またはそれと関連する疾患、障害または状態の防止、処置および／または改善において用いることができる。そのような疾患、障害または状態としては、限定されるものではないが、ＵＣおよびＣＤを含むＩＢＤ、喘息、多発性硬化症、乾癬、および関節リウマチが挙げられ、特に、当業者には理解されるように、本明細書に開示される教示と共に提供される。
【０１８０】
一般技術
本明細書で別途定義されない限り、本発明と関連して用いられる科学用語および技術用語は、当業者によって一般的に理解される意味を有する。さらに、文脈によって別途要求されない限り、単数形の用語は複数形を含み、複数形の用語は単数形を含む。一般に、本明細書に記載の細胞および組織培養、分子生物学、免疫学、微生物学、遺伝学ならびにタンパク質および核酸化学およびハイブリダイゼーションと関連して用いられる命名法、およびその技術は、当技術分野で周知であり、一般的に用いられるものである。
【０１８１】
本発明の実施は、別途指摘しない限り、当技術分野の技術の範囲内にある分子生物学（組換え技術を含む）、微生物学、細胞生物学、生化学および免疫学の従来技術を用いる。そのような技術は、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ、第2版（Ｓａｍｂｒｏｏｋら、１９８９）Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｐｒｅｓｓ；Ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ（Ｍ．Ｊ．Ｇａｉｔ（編）、１９８４）；Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ、Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ；Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌｏｇｙ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｎｏｔｅｂｏｏｋ（Ｊ．Ｅ．Ｃｅｌｌｉｓ（編）、１９９８）Ａｃａｄｅｍｉｃ

Ｐｒｅｓｓ；Ａｎｉｍａｌ Ｃｅｌｌ Ｃｕｌｔｕｒｅ（Ｒ．Ｉ．Ｆｒｅｓｈｎｅｙ（編）、１９８７）；Ｉｎｔｒｏｄｕｃｔｉｏｎ ｔｏ Ｃｅｌｌ ａｎｄ Ｔｉｓｓｕｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ（Ｊ．Ｐ．ＭａｔｈｅｒおよびＰ．Ｅ．Ｒｏｂｅｒｔｓ、１９９８）Ｐｌｅｎｕｍ Ｐｒｅｓｓ；Ｃｅｌｌ ａｎｄ Ｔｉｓｓｕｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ：Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｏｃｅｄｕｒｅｓ（Ａ．Ｄｏｙｌｅ、Ｊ．Ｂ．Ｇｒｉｆｆｉｔｈｓ、およびＤ．Ｇ．Ｎｅｗｅｌｌ（編）、１９９３～１９９８）Ｊ．Ｗｉｌｅｙ ａｎｄ Ｓｏｎｓ；Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ（Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｉｎｃ．）；Ｈａｎｄｂｏｏｋ ｏｆ Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ（Ｄ．Ｍ．ＷｅｉｒおよびＣ．Ｃ．Ｂｌａｃｋｗｅｌｌ（編））；Ｇｅｎｅ Ｔｒａｎｓｆｅｒ Ｖｅｃｔｏｒｓ ｆｏｒ Ｍａｍｍａｌｉａｎ Ｃｅｌｌｓ（Ｊ．Ｍ．ＭｉｌｌｅｒおよびＭ．Ｐ．Ｃａｌｏｓ（編）、１９８７）；Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ（Ｆ．Ｍ．Ａｕｓｕｂｅｌら（編）、１９８７）；ＰＣＲ：Ｔｈｅ Ｐｏｌｙｍｅｒａｓｅ Ｃｈａｉｎ Ｒｅａｃｔｉｏｎ（Ｍｕｌｌｉｓら（編）、１９９４）；Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ（Ｊ．Ｅ．Ｃｏｌｉｇａｎら（編）、１９９１）；ＳａｍｂｒｏｏｋおよびＲｕｓｓｅｌｌ、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ、第３版、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ、ＮＹ（２００１）；Ａｕｓｕｂｅｌら、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ、ＮＹ（２００２）；ＨａｒｌｏｗおよびＬａｎｅ Ｕｓｉｎｇ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ、ＮＹ（１９９８）；Ｃｏｌｉｇａｎら、Ｓｈｏｒｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｃｉｅｎｃｅ、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ、ＮＹ（２００３）；Ｓｈｏｒｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ（ＷｉｌｅｙおよびＳｏｎｓ、１９９９）；Ｉｍｍｕｎｏｂｉｏｌｏｇｙ（Ｃ．Ａ．ＪａｎｅｗａｙおよびＰ．Ｔｒａｖｅｒｓ、１９９７）；Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ（Ｐ．Ｆｉｎｃｈ、１９９７）；Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：ａ ｐｒａｃｔｉｃａｌ ａｐｐｒｏａｃｈ（Ｄ．Ｃａｔｔｙ．（編）、ＩＲＬ Ｐｒｅｓｓ、１９８８～１９８９）；Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：ａ ｐｒａｃｔｉｃａｌ ａｐｐｒｏａｃｈ（Ｐ．ＳｈｅｐｈｅｒｄおよびＣ．Ｄｅａｎ（編）、Ｏｘｆｏｒｄ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｐｒｅｓｓ、２０００）；Ｕｓｉｎｇ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：ａ ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ ｍａｎｕａｌ（Ｅ．ＨａｒｌｏｗおよびＤ．Ｌａｎｅ、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ、１９９９）；Ｔｈｅ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ（Ｍ．ＺａｎｅｔｔｉおよびＪ．Ｄ．Ｃａｐｒａ（編）、Ｈａｒｗｏｏｄ Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒｓ、１９９５）などの文献中で完全に説明されている。

【０１８２】

酵素反応および精製技術は、当技術分野で一般的に達成されるか、または本明細書に記載されるように、製造業者の明細書に従って実施される。本明細書に記載の分析化学、生化学、免疫学、分子生物学、合成有機化学、ならびに医薬品化学および製薬化学と関連して用いられる命名法、ならびにその実験手順および技術は、当技術分野で周知であり、一般的に用いられるものである。標準的な技術が、化学合成、化学分析、薬剤調製、製剤化、および送達、ならびに患者の処置のために用いられる。

【０１８３】

定義

以下の用語は、別途指摘しない限り、以下の意味を有すると理解される：用語「単離された分子」（ここで、分子は、例えば、ポリペプチド、ポリヌクレオチド、または抗体もしくはその断片である）は、その起源または誘導源に基づいて、（１）その天然状態でそれに付随する天然に会合する成分と会合しない、（２）同じ種に由来する他の分子を実質

的に含まない、（３）異なる種に由来する細胞により発現される、または（４）天然には存在しない分子である。したがって、化学的に合成されるか、またはそれが天然に起源とする細胞とは異なる細胞系中で発現される分子は、その天然に会合する成分から「単離」されている。分子はまた、当技術分野で周知の精製技術を用いる単離によって、天然に会合する成分を実質的に含まないようにすることができる。分子の純度または均一性を、当技術分野で周知のいくつかの手段によってアッセイすることができる。例えば、ポリペプチド試料の純度を、当技術分野で周知の技術を用いた、ポリペプチドを可視化するためのポリアクリルアミドゲル電気泳動およびゲルの染色を用いてアッセイすることができる。ある特定の目的のために、ＨＰＬＣまたは精製に関する当技術分野で周知の他の手段を用いることにより、より高い分解能を提供することができる。

【０１８４】

本明細書で用いられる場合、「実質的に純粋」とは、目的の種が存在する主たる種であり（すなわち、モルベースで、それが組成物中の任意の他の個々の種よりも豊富である）、好ましくは、実質的に精製された画分が、目的の種（例えば、抗体または受容体などの糖タンパク質）が存在する全ての大分子種の少なくとも約５０パーセント（モルベースで）を占める組成物であることを意味する。一般に、実質的に純粋な組成物は、組成物中に存在する全ての大分子種の約８０パーセント以上を占め、より好ましくは、約８５％、９０％、９５％、および９９％以上を占める。最も好ましくは、目的の種は、組成物が単一の大分子種から本質的になる本質的な均一性にまで精製される（従来の検出方法によって組成物中に夾雑種を検出することができない）。

【０１８５】

「抗体」は、免疫グロブリン分子の可変領域に位置する少なくとも１つの抗原認識部位を介して、炭水化物、ポリヌクレオチド、脂質、ポリペプチドなどの標的に特異的に結合することができる免疫グロブリン分子である。本明細書で用いられる場合、この用語は、無傷のポリクローナルまたはモノクローナル抗体だけでなく、別途特定されない限り、特異的結合について無傷の抗体と競合するその任意の抗原結合部分、抗原結合部分を含む融合タンパク質、および抗原認識部位を含む免疫グロブリン分子の任意の他の改変された構成も包含する。抗原結合部分としては、例えば、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$、Ｆｄ、Ｆｖ、ドメイン抗体（ｄＡｂ、例えば、サメおよびラクダ科抗体）、相補性決定領域（ＣＤＲ）を含む断片、単鎖可変断片抗体（ｓｃＦｖ）、マキシボディ、ミニボディ、イントラボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ｖ－ＮＡＲおよびビス－ｓｃＦｖ、ならびにポリペプチドへの特異的抗原結合を付与するのに十分なものである免疫グロブリンの少なくとも一部を含有するポリペプチドが挙げられる。抗体は、ＩｇＧ、ＩｇＡ、またはＩｇＭ（またはそのサブクラス）などの任意のクラスの抗体またはその抗原結合断片を含み、抗体は任意の特定のクラスのものである必要はない。その重鎖の定常領域の抗体アミノ酸配列に応じて、免疫グロブリンを異なるクラスに割り当てることができる。５つの主要なクラスの免疫グロブリン：ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧおよびＩｇＭが存在し、これらのいくつかはサブクラス（アイソタイプ）、例えば、ＩｇＧ$_1$、ＩｇＧ$_2$、ＩｇＧ$_3$、ＩｇＧ$_4$、ＩｇＡ$_1$およびＩｇＡ$_2$にさらに分割することができる。異なるクラスの免疫グロブリンに対応する重鎖定常領域は、それぞれ、アルファ、デルタ、エプシロン、ガンマおよびミューと呼ばれる。異なるクラスの免疫グロブリンのサブユニット構造および三次元構成は周知である。

【０１８６】

本明細書では互換的に用いられる、抗体の「抗原結合部分」または「抗原結合断片」という用語（または単に「抗体部分」）とは、抗原（例えば、ＴＬ１Ａ）に特異的に結合する能力を保持する抗体の１つまたはそれ以上の断片を指す。抗体の抗原結合機能を、完全長抗体の断片によって実行することができることが示されている。抗体の「抗原結合部分」という用語内に包含される結合断片の例としては、（ｉ）ＶＬ、ＶＨ、ＣＬおよびＣＨ１ドメインからなる一価断片であるＦａｂ断片；（ｉｉ）ヒンジ領域でジスルフィド架橋により連結された２つのＦａｂ断片を含む二価断片であるＦ（ａｂ’）２断片；（ｉｉｉ

）ＶＨおよびＣＨ１ドメインからなるＦｄ断片；（ｉｖ）抗体の単一アームのＶＬおよびＶＨドメインからなるＦｖ断片；（ｖ）ＶＨドメインからなるｄＡｂ断片（Ｗａｒｄら（１９８９）Ｎａｔｕｒｅ　３４１：５４４～５４６頁）；ならびに（ｖｉ）単離された相補性決定領域（ＣＤＲ）、ジスルフィド結合したＦｖ（ｄｓＦｖ）、および抗イディオタイプ（抗Ｉｄ）抗体およびイントラボディが挙げられる。さらに、Ｆｖ断片の２つのドメインであるＶＬおよびＶＨは別々の遺伝子によってコードされるが、それらを、組換え方法を用いて、ＶＬおよびＶＨ領域が対形成して一価分子（単鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）として知られる）を形成する単一のタンパク質鎖としてそれらを作製することができる合成リンカーによって連結することができる；例えば、Ｂｉｒｄら、Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４２：４２３～４２６頁（１９８８）およびＨｕｓｔｏｎら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８５：５８７９～５８８３頁（１９８８）を参照されたい。そのような単鎖抗体もまた、抗体の「抗原結合部分」という用語内に包含されることが意図される。ダイアボディなどの、他の形態の単鎖抗体も包含される。ダイアボディは、ＶＨおよびＶＬドメインが単一のポリペプチド鎖上で発現されるが、同じ鎖上で２つのドメイン間で対形成させるには短すぎるリンカーを用いることによって、ドメインに別の鎖の相補的ドメインと対形成させ、２つの抗原結合部位を作出する、二価の二特異的抗体である（例えば、Ｈｏｌｌｉｇｅｒら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　９０：６４４４～６４４８頁（１９９３）；Ｐｏｌｊａｋら、１９９４、Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ　２：１１２１～１１２３頁を参照されたい）。

【０１８７】

抗体を、限定されるものではないが、ヒト、サル、ブタ、ウマ、ウサギ、イヌ、ネコ、マウスなどの任意の哺乳動物、または鳥類（例えば、ニワトリ）、魚類（例えば、サメ）およびラクダ科動物（例えば、ラマ）などの他の動物から誘導することができる。

【０１８８】

抗体の「可変領域」とは、単独で、または組み合わせて、抗体軽鎖（ＶＬ）の可変領域または抗体重鎖（ＶＨ）の可変領域を指す。当技術分野で公知のように、重鎖および軽鎖の可変領域はそれぞれ、超可変領域としても知られる３つの相補性決定領域（ＣＤＲ）により接続された４つのフレームワーク領域（ＦＲ）からなり、抗体の抗原結合部位の形成に寄与する。特に、ＣＤＲ領域の外部のアミノ酸残基（すなわち、フレームワーク領域）中に置換を有する、対象となる可変領域の変異体が望ましい場合、対象となる可変領域を、対象となる可変領域と同じ標準クラス中にＣＤＲ１およびＣＤＲ２配列を含有する他の抗体の可変領域と比較することにより、適切なアミノ酸置換、好ましくは、保存的アミノ酸置換を同定することができる（ＣｈｏｔｈｉａおよびＬｅｓｋ、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１９６（４）：９０１～９１７頁、１９８７）。

【０１８９】

ある特定の実施形態では、ＣＤＲの明確な解明および抗体の結合部位を含む残基の同定は、抗体の構造を解明することおよび／または抗体－リガンド複合体の構造を解明することによって達成される。ある特定の実施形態では、それを、Ｘ線結晶解析などの当業者には公知の様々な技術のいずれかによって達成することができる。ある特定の実施形態では、様々な分析方法を用いて、ＣＤＲ領域を同定または近似することができる。そのような方法の例としては、限定されるものではないが、Ｋａｂａｔの定義、Ｃｈｏｔｈｉａの定義、ＡｂＭの定義、Ｃｏｎｔａｃｔの定義、およびコンフォメーション定義が挙げられる。

【０１９０】

Ｋａｂａｔの定義は、抗体中の残基を番号付けるための基準であり、典型的には、ＣＤＲ領域を同定するために用いられる。例えば、Ｊｏｈｎｓｏｎ　＆　Ｗｕ、２０００、Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．、２８：２１４～８頁を参照されたい。Ｃｈｏｔｈｉａの定義は、Ｋａｂａｔの定義と類似するが、Ｃｈｏｔｈｉａの定義はある特定の構造ループ領域の位置を考慮に入れるものである。例えば、Ｃｈｏｔｈｉａら、１９８６、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、１９６：９０１～１７頁；Ｃｈｏｔｈｉａら、１９８９、Ｎａｔ

ｕｒｅ、３４２：８７７～８３頁を参照されたい。ＡｂＭの定義は、抗体構造をモデル化するＯｘｆｏｒｄ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｇｒｏｕｐにより生成されたコンピュータプログラムの統合スイートを用いる。例えば、Ｍａｒｔｉｎら、１９８９、Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ （ＵＳＡ）、８６：９２６８～９２７２頁；「ＡｂＭ（商標）、Ａ Ｃｏｍｐｕｔｅｒ Ｐｒｏｇｒａｍ ｆｏｒ Ｍｏｄｅｌｉｎｇ Ｖａｒｉａｂｌｅ Ｒｅｇｉｏｎｓ ｏｆ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ」、Ｏｘｆｏｒｄ、ＵＫ；Ｏｘｆｏｒｄ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ、Ｌｔｄ．を参照されたい。ＡｂＭの定義は、知識データベースと、Ｓａｍｕｄｒａｌａら、１９９９、「Ａｂ Ｉｎｉｔｉｏ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ Ｐｒｅｄｉｃｔｉｏｎ Ｕｓｉｎｇ ａ Ｃｏｍｂｉｎｅｄ Ｈｉｅｒａｒｃｈｉｃａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈ」、ＰＲＯＴＥＩＮＳ、Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ、Ｆｕｎｃｔｉｏｎ ａｎｄ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ Ｓｕｐｐｌ．，３：１９４～１９８頁により記載されたものなどのアブイニシオ法との組合せを用いて一次配列から抗体の三次構造をモデル化するものである。Ｃｏｎｔａｃｔの定義は、利用可能な複雑な結晶構造の分析に基づくものである。例えば、ＭａｃＣａｌｌｕｍら、１９９６、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、５：７３２～４５頁を参照されたい。本明細書でＣＤＲの「コンフォメーション定義」と呼ばれる、別のアプローチにおいては、ＣＤＲの位置を、抗原結合へのエンタルピー寄与を作る残基として同定することができる。例えば、Ｍａｋａｂｅら、２００８、Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ、２８３：１１５６～１１６６頁を参照されたい。さらに他のＣＤＲ境界定義は上記のアプローチの１つに厳密に従わなくてもよいが、それにも関わらず、ＫａｂａｔのＣＤＲの少なくとも一部と重複するが、それらを、特定の残基または残基群が抗原結合に有意に影響しないという予測または実験的知見を考慮して短縮または伸長することができる。本明細書で用いられるように、ＣＤＲは、アプローチの組合せを含む、当技術分野で公知の任意のアプローチにより定義されるＣＤＲを指してもよい。本明細書で用いられる方法は、これらのアプローチのいずれかに従って定義されるＣＤＲを用いてもよい。２つ以上のＣＤＲを含有する任意の所与の実施形態について、ＣＤＲを、Ｋａｂａｔ、Ｃｈｏｔｈｉａ、拡張、ＡｂＭ、ｃｏｎｔａｃｔ、および／またはコンフォメーション定義のいずれかに従って定義することができる。

【０１９１】

本明細書の他の場所に概略されるように、抗体分子のある特定の位置を変化させることができる。本明細書で用いられる「位置」とは、タンパク質の配列中の場所を意味する。位置を、連続的に、または確立された形式に従って番号付けることができ、例えば、ＥＵインデックスおよびＫａｂａｔインデックスを用いて、抗体のアミノ酸残基を番号付けることができる。例えば、位置２９７は、ヒト抗体ＩｇＧ１中の位置である。対応する位置は、上記に概略されたように、一般には、他の親配列とのアラインメントを介して決定される。

【０１９２】

本明細書で用いられる「残基」とは、タンパク質およびその関連するアミノ酸同一性における位置を意味する。例えば、アスパラギン２９７（Ａｓｎ２９７とも呼ばれ、Ｎ２９７とも呼ばれる）は、ヒト抗体ＩｇＧ１中の残基である。

【０１９３】

本明細書で用いられる場合、「モノクローナル抗体」とは、実質的に同種の抗体の集団から得られる抗体を指し、すなわち、集団を含む個々の抗体は、少量で存在してもよい可能な天然の突然変異を除いて同一である。モノクローナル抗体は高度に特異的であり、単一の抗原部位に対するものである。さらに、典型的には、異なる決定基（エピトープ）に対する異なる抗体を含むポリクローナル抗体調製物とは対照的に、それぞれのモノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対するものである。修飾語句「モノクローナル」は、抗体の実質的に同種の集団から得られる抗体の特徴を示すものであり、任意の特定の方法による抗体の生成を必要とすると解釈されるものではない。例えば、本発明に従って用いられるモノクローナル抗体を、ＫｏｈｌｅｒおよびＭｉｌｓｔｅｉｎ、１９７５、Ｎａｔｕｒｅ ２５６：４９５頁により初めて記載されたハイブリドーマ法により作製するか

、または米国特許第４，８１６，５６７号に記載のものなどの組換えＤＮＡ法により作製することができる。また、モノクローナル抗体を、例えば、ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙら、１９９０、Ｎａｔｕｒｅ　３４８：５５２～５５４頁に記載の技術を用いて生成されたファージライブラリーから単離することもできる。本明細書で用いられる場合、「ヒト化」抗体は、キメラ免疫グロブリン、免疫グロブリン鎖、または非ヒト免疫グロブリンから誘導される最小限の配列を含有するその断片（Ｆｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$もしくは抗体の他の抗原結合サブ配列）である、非ヒト（例えば、マウス）抗体の形態を指す。好ましくは、ヒト化抗体は、レシピエントのＣＤＲに由来する残基が、所望の特異性、親和性および能力を有するマウス、ラット、またはウサギなどの非ヒト種のＣＤＲ（ドナー抗体）に由来する残基により置き換えられたヒト免疫グロブリン（レシピエント抗体）である。ヒト化抗体は、レシピエント抗体中にも、インポートされたＣＤＲまたはフレームワーク配列中にも見出されないが、抗体の性能をさらに精緻化し、最適化するために含有される残基を含んでもよい。

【０１９４】

「ヒト抗体」は、ヒトにより生成される、および／または本明細書に開示されるヒト抗体を作製するための任意の技術を用いて作製された抗体のものと一致するアミノ酸配列を有するものである。ヒト抗体のこの定義は、非ヒト抗原結合残基を含むヒト化抗体を特に含まない。

【０１９５】

用語「キメラ抗体」は、可変領域配列がマウス抗体から誘導され、定常領域配列がヒト抗体から誘導されるか、またはその逆である抗体などの、可変領域配列がある種から誘導され、定常領域配列が別の種から誘導される抗体を指すことが意図される。この用語はまた、ある種に由来するある個体（例えば、第１のマウス）に由来するＶ領域と、同じ種に由来する別の個体（例えば、第２のマウス）に由来する定常領域とを含む抗体も包含する。

【０１９６】

用語「抗原」および「Ａｇ」とは、Ａｇを認識する抗体（Ａｂ）を生成するため、または発現ライブラリー（例えば、特に、ファージ、酵母もしくはリボソームディスプレイライブラリー）をスクリーニングするための免疫応答性脊椎動物の免疫感作のために用いられる分子実体を指す。したがって、Ａｇはより広く言われ、一般に、Ａｂにより特異的に認識される標的分子を含むことが意図され、したがって、Ａｂを生じさせるための免疫感作プロセスまたはＡｂを選択するためのライブラリースクリーニングにおいて用いられる分子の断片または模倣体を含む。したがって、ＴＬ１Ａに結合する本発明の抗体について、モノマーおよびそのダイマー、トリマーなどのマルチマーを含む、哺乳動物種（例えば、ヒト、サル、マウスおよびラットＴＬ１Ａ）に由来する完全長ＴＬ１Ａは、抗原と呼ばれる。

【０１９７】

一般に、用語「エピトープ」とは、抗体が、例えば、抗体と相互作用する接触残基を含むエリアまたは領域に特異的に結合する抗原のエリアまたは領域を指す。したがって、用語「エピトープ」とは、抗体の１つまたはそれ以上の抗原結合領域で抗体により認識され、結合される分子の部分を指す。典型的には、エピトープは、抗体またはその抗原結合断片と、その対応する抗原との分子相互作用の文脈において定義される。エピトープは、アミノ酸または糖側鎖などの分子の表面基からなり、特定の三次元構造特性ならびに特異的電荷特性を有することが多い。いくつかの実施形態では、エピトープは、タンパク質エピトープであってもよい。タンパク質エピトープは、線状または立体的であってもよい。線状エピトープにおいては、タンパク質と相互作用分子（抗体など）との全ての相互作用点はタンパク質の一次アミノ酸配列に沿って直線的に存在する。「非線状エピトープ」または「立体的エピトープ」は、エピトープに特異的な抗体が結合する抗原性タンパク質内に非連続的ポリペプチド（またはアミノ酸）を含む。本明細書で用いられる用語「抗原性エピトープ」は、当技術分野で周知の任意の方法、例えば、従来のイムノアッセイにより決

定されるように抗体が特異的に結合する抗原の部分と定義される。あるいは、探索プロセス中に、抗体の生成および特徴付けは、望ましいエピトープに関する情報を解明することができる。次いで、この情報から、同じエピトープへの結合について抗体を競合的にスクリーニングすることができる。これを達成するためのアプローチは、ＴＬ１Ａへの結合について互いに競合するか、または交差競合する抗体、例えば、抗原への結合について競合する抗体を発見するための競合および交差競合試験を行うことである。

【０１９８】

本明細書で用いられる用語「野生型アミノ酸」、「野生型ＩｇＧ」、「野生型抗体」または「野生型ｍＡｂ」とは、ある特定の集団（例えば、ヒト、マウス、ラット、細胞など）内に天然に存在するアミノ酸または核酸の配列を指す。

【０１９９】

用語「アンタゴニスト抗体」とは、標的に結合し、その標的の生物学的効果を防止するか、または減少させる抗体を指す。いくつかの実施形態では、この用語は、抗体が結合する標的が、生物学的機能、例えば、その同族受容体への結合を実行するのを防止する抗体を指してもよい。

【０２００】

本明細書で用いられる場合、「抗ＴＬ１Ａアンタゴニスト抗体」とは、ＴＬ１Ａ生物活性、もしくはＴＬ１Ａを含むホモポリマー（ホモダイマーもしくはホモトリマーなど）の活性ならびに／または限定されるものではないが、ＤＲ３などの、その受容体への結合を含むＴＬ１Ａにより媒介される下流の事象、およびそれによるシグナリングの媒介を阻害することができる抗体を指す。ＴＬ１Ａアンタゴニスト抗体は、ＤＲ３結合および下流のシグナリングなどの、ＴＬ１Ａにより媒介される下流の事象を含む、ＴＬ１Ａ生物活性を遮断する、拮抗する、抑制する、または低下させる（有意に、など任意の程度で）抗体を包含する。本発明の目的のために、用語「抗ＴＬ１Ａ抗体」（用語「アンタゴニストＴＬ１Ａ抗体」、「アンタゴニスト抗ＴＬ１Ａ抗体」、「抗ＴＬ１Ａアンタゴニスト抗体」と互換的に用いられる）は、ＴＬ１Ａ自体、ＴＬ１Ａ生物活性（限定されるものではないが、受容体に結合するその能力など）、または生物活性の結果が、任意の意味のある程度で実質的に無効化される、減少する、または中和される全ての予め定義された用語、表題、ならびに機能的状態および特徴を包含することが明示的に理解される。いくつかの実施形態では、抗ＴＬ１Ａ抗体はＴＬ１Ａに結合し、ＤＲ３によるその結合およびシグナリングを防止する。いくつかの実施形態では、アンタゴニスト能力は、本明細書に開示されるＮＦκＢ阻害アッセイまたはキャスパーゼ阻害アッセイなどの細胞に基づくアッセイにより特徴付けられるおよび／または記載される。いくつかの実施形態では、アンタゴニスト能力は、IC_{50}またはEC_{50}値を単位として記載される。いくつかの実施形態では、本開示のＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片は、それが抗体の不在下でのＴＬ１Ａ活性と比較してＴＬ１Ａ活性を５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％以上低下させる場合、ＴＬ１Ａ活性を遮断する、それと拮抗する、抑制する、または低下させると考えられる。

【０２０１】

当技術分野で公知のように、抗体の「定常領域」とは、単独で、または組み合わせて、抗体軽鎖の定常領域または抗体重鎖の定常領域を指す。

【０２０２】

用語「ポリペプチド」、「オリゴペプチド」、「ペプチド」および「タンパク質」は、任意の長さのアミノ酸の鎖を指すように本明細書で互換的に用いられる。鎖は、線状または分枝状であってもよく、それは改変アミノ酸を含んでもよく、および／または非アミノ酸によって中断していてもよい。この用語はまた、天然に、または介入；例えば、ジスルフィド結合形成、グリコシル化、脂質化、アセチル化、リン酸化、もしくは標識成分とのコンジュゲーションなどの、任意の他の操作もしくは改変により改変されたアミノ酸鎖も包含する。また、例えば、アミノ酸の１つまたはそれ以上の類似体（例えば、非天然アミ

ノ酸などを含む）を含有するポリペプチド、ならびに当技術分野で公知の他の改変も定義内に含まれる。ポリペプチドは単鎖または会合した鎖として存在することができることが理解される。

【０２０３】

抗原上のアミノ酸に結合する、または抗原上のアミノ酸を含むエピトープに結合する本発明の抗原結合タンパク質（例えば、抗体、またはその抗原結合断片）の文脈において、用語「結合する」とは、抗原のアミノ酸残基が、抗原結合タンパク質との静電相互作用に関与する、抗原結合タンパク質との水素結合に関与する、もしくは抗原結合タンパク質との水媒介性水素結合に関与する、もしくは抗原結合タンパク質との塩架橋に関与すること、またはそれが、抗原結合タンパク質との相互作用のため、および／もしくは抗原アミノ酸残基の重原子が抗原結合タンパク質の残基の重原子の４Å以内に位置するため、埋まった表面積の非ゼロ変化を有することを意味する。

【０２０４】

抗体に関して本明細書で用いられる用語「競合する」は、第１の抗体のその同族エピトープとの結合の結果が、第２の抗体の不在下での第１の抗体の結合と比較して第２の抗体の存在下で検出可能に減少するような、第２の抗体、その抗原結合部分、または抗体ではないリガンドの結合と十分に類似する様式で、第１の抗体、またはその抗原結合部分がエピトープに結合することを意味する。第２の抗体のそのエピトープへの結合も、第１の抗体の存在下で検出可能に減少する代替手段もそうである必要はない。すなわち、第１の抗体は、第２の抗体が第１の抗体のその対応するエピトープへの結合を阻害することなく、第２の抗体のそのエピトープへの結合を阻害することができる。しかしながら、それぞれの抗体が他の抗体のその同族エピトープまたはリガンドとの結合を検出可能に阻害する場合、同程度、より大きい程度、またはより小さい程度であっても、抗体はその対応するエピトープの結合に関して互いに「交差競合する」と言われる。競合抗体と交差競合抗体の両方が本発明によって包含される。そのような競合または交差競合が起こる機構（例えば、立体障害、コンフォメーション変化、または共通エピトープ、もしくはその一部への結合）にも関わらず、当業者であれば、本明細書に提供される教示に基づいて、そのような競合および／または交差競合抗体が包含され、本明細書に開示される方法にとって有用であることを理解できる。

【０２０５】

抗体またはそれにより特異的に結合される抗原に関して本明細書で用いられる場合、「接触残基」とは、同族抗体／抗原上に存在するアミノ酸残基の重原子の４Å以下以内にある少なくとも１つの重原子（すなわち、水素ではない）を含む抗体／抗原上に存在するアミノ酸残基を指す。

【０２０６】

本明細書で用いられる場合、平衡解離定数（ＫＤ）が５ｎＭに等しいか、またはそれ未満、好ましくは１ｎＭ未満、好ましくは１００ｐＭ未満、好ましくは約５０ｐＭ未満、より好ましくは約２０ｐＭ未満、最も好ましくは約１０ｐＭ未満、より好ましくは約５ｐＭ未満、さらにより好ましくは約２ｐＭ未満である場合、抗体はＴＬ１Ａと「相互作用する」。用語「解離定数」は、「平衡解離定数」と互換的に用いられることもあり、平衡にある滴定測定において得られる値、または解離速度定数（ｋｏｆｆ）を結合速度定数（ｋｏｎ）で除算することにより得られる値を指す。結合速度定数、解離速度定数および平衡解離定数は、抗原に対する抗体の結合親和性を表すために用いられる。結合および解離速度定数を決定するための方法は、当技術分野で周知である。蛍光に基づく技術の使用は、高感度および平衡にある生理的バッファー中の試料を検査する能力を提供する。ＢＩＡｃｏｒｅ（登録商標）（生体分子相互作用分析）アッセイなどの他の実験的アプローチおよび装置を用いることができる（例えば、ＢＩＡｃｏｒｅ Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ ＡＢ、ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ ｃｏｍｐａｎｙ、Ｕｐｐｓａｌａ、Ｓｗｅｄｅｎから入手可能な装置）。さらに、Ｓａｐｉｄｙｎｅ Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ（Ｂｏｉｓｅ，Ｉｄ．）から入手可能なＫｉｎＥｘＡ（登録商標）（結合平衡除外アッセイ）アッセイを

用いることもできる。一実施形態では、解離定数は、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）法（Ｂｉａｃｏｒｅ）を用いて測定される。ある特定の実施形態では、親和性は、ＳＰＲにより測定されるＫＤ値である。さらに他の場合、ＳＰＲは捕捉された抗体、および液相標的を用いる。いくつかの実施形態では、捕捉された抗体は、抗アイソタイプ抗体またはその抗原結合部分を用いてセンサーチップ上に固定される。例えば、抗アイソタイプ抗体またはその抗原結合部分を、約４，０００～約１３，０００応答単位の密度でセンサーチップ上に固定することができる。ＳＰＲ測定を、例えば、実質的に実施例８に記載のプロトコールに従って行われるように実行することもできる。いくつかの場合、ＳＰＲは、捕捉された標的、および液相抗体を用いる。いくつかの実施形態では、ＳＰＲ測定は、Ｂｉａｃｏｒｅ　Ｔ１００またはＴ２００装置を用いて行われる。別の実施形態では、解離定数は、溶液系結合平衡除外アッセイ（ＫｉｎＥｘＡ）を用いて測定される。他の実施形態では、ヒトＴＬ１Ａに対する抗体またはその抗原結合断片の親和性は、溶液系結合平衡除外アッセイ（ＫｉｎＥｘＡ）により測定される。例えば、いくつかの場合、親和性は、溶液系結合平衡除外アッセイ（ＫｉｎＥｘＡ）により測定されるＫＤ値である。他の場合、ＫｉｎＥｘＡは、固相上の捕捉された標的、および液相抗体を用いる。さらに他の場合、抗体および標的は、平衡に達するのに十分に長く溶液中で予備インキュベートされる。一実施形態では、未結合の抗体のレベルは、抗体および標的が平衡に達した後に測定される。特定の実施形態では、ＫｉｎＥｘＡ測定は、ＫｉｎＥｘＡ　３２００装置（Ｓａｐｉｄｙｎｅ）を用いて行われる。一実施形態では、ＫｉｎＥｘＡにより測定された場合に、K_Dが約２０ｐＭ～約１ｐＭの範囲である場合、抗体はＴＬ１Ａと相互作用する。一実施形態では、ＫｉｎＥｘＡにより測定された場合、抗体は約１．３８ｐＭのK_DでＴＬ１Ａと相互作用する。

【０２０７】

抗体のその抗原に対する結合親和性の測定のためのいくつかの方法が利用可能であり、１つのそのような方法はＫｉｎＥｘＡ（商標）である。結合平衡除外アッセイ（ＫｉｎＥｘＡ（商標））は、抗原／抗体相互作用に関する平衡解離定数、ならびに結合および解離速度定数を測定することができる一般目的のイムノアッセイプラットフォーム（基本的には、フロー蛍光分光計）である。ＫｉｎＥｘＡ（商標）は平衡が得られた後に実行されるため、それは相互作用のオフレートが非常にゆっくりであり得る高親和性相互作用のＫＤを測定するために用いるための有利な技術である。ＫｉｎＥｘＡ（商標）の使用は、抗体と抗原の親和性が表面プラズモン共鳴分析により正確に予測することができるものよりも高いこの場合に特に適切である。ＫｉｎＥｘＡ（商標）法を、一般的には、全体が参照により本明細書に組み込まれる、Ｄｒａｋｅら（２００４）Ａｎａｌｙｔｉｃａｌ　Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　３２８、３５～４３頁に記載のように、およびまた、実施例の節に詳述されるように行うことができる。本明細書で用いられる用語「表面プラズモン共鳴」とは、例えば、ＢＩＡＣＯＲＥ（商標）システムを用いる、バイオセンサーマトリックス内のタンパク質濃度の変化の検出によるリアルタイムの生体特異的相互作用の分析を可能にする光学的現象を指す。

【０２０８】

エピトープに「選択的に結合する」または「特異的に結合する」（本明細書では互換的に用いられる）抗体は、当技術分野で良好に理解される用語であり、そのような特異的または選択的結合を決定するための方法も当技術分野で周知である。分子は、それが代替的な細胞または物質よりも特定の細胞または物質とより頻繁に、より迅速に、より長い持続時間で、および／またはより高い親和性で反応または結合する場合、「特異的結合」または「選択的結合」を示すと言われる。抗体が他の物質に結合するよりも高い親和性、アビディティで、より容易に、および／またはより長い持続時間でそれが結合する場合、抗体は標的に「特異的に結合する」または「選択的に結合する」。また、抗体が試料中に存在する他の物質に結合するよりも高い親和性、アビディティで、より容易に、および／またはより長い持続時間で、それが試料中のその標的に結合する場合、抗体は標的に「特異的に結合する」または「選択的に結合する」。例えば、ＴＬ１Ａエピトープに特異的または

選択的に結合する抗体は、それが他のＴＬ１Ａエピトープまたは非ＴＬ１Ａエピトープに結合するよりも高い親和性、アビディティで、より容易に、および／またはより長い持続時間でこのエピトープに結合する抗体である。また、例えば、第１の標的に特異的または選択的に結合する抗体（または部分もしくはエピトープ）が第２の標的に特異的または選択的に結合しても、またはしなくてもよいことは、この定義を読むことにより理解される。したがって、「特異的結合」または「選択的結合」は、排他的結合を必ずしも必要としない（が、含んでもよい）。一般に、必ずではないが、結合に対する参照は選択的結合を意味する。「特異的結合」または「選択的結合」は、特定の分子を認識し、これに結合するが、試料中の他の分子を実質的に認識しないか、または結合しない化合物、例えば、タンパク質、核酸、抗体などを含む。例えば、試料中の同族リガンドまたは結合パートナー（例えば、ＴＬ１Ａに結合する抗ＴＬ１Ａ抗体）を認識し、これに結合するが、試料中の他の分子を実質的に認識しないか、またはこれに結合しない抗体またはペプチド受容体は、その同族リガンドまたは結合パートナーに特異的に結合する。したがって、指定のアッセイ条件下で、特定の結合部分（例えば、抗体もしくはその抗原結合部分または受容体もしくはそのリガンド結合部分）は、特定の標的分子に選択的に結合し、試験試料中に存在する他の成分に対して有意な量で結合しない。

【０２０９】

様々なアッセイ形式を用いて、対象となる分子に特異的に結合する抗体またはペプチドを選択することができる。例えば、特に、固相ＥＬＩＳＡイムノアッセイ、免疫沈降、Ｂｉａｃｏｒｅ（商標）（ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ、Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ、ＮＪ）、ＫｉｎＥｘＡ、蛍光活性化細胞選別（ＦＡＣＳ）、Ｏｃｔｅｔ（商標）（ＦｏｒｔｅＢｉｏ，Ｉｎｃ．、Ｍｅｎｌｏ Ｐａｒｋ、ＣＡ）およびウェスタンブロット分析は、抗原もしくは受容体と特異的に反応する抗体、または同族リガンドもしくは結合パートナーと特異的に結合するそのリガンド結合部分を同定するために用いることができるアッセイである。典型的には、特異的または選択的反応は、バックグラウンドシグナルまたはノイズの少なくとも２倍、より典型的には、バックグラウンドの１０倍を超える、さらにより典型的には、バックグラウンドの５０倍を超える、より典型的には、バックグラウンドの１００倍を超える、さらにより典型的には、バックグラウンドの５００倍を超える、さらにより典型的には、バックグラウンドの１０００倍を超える、およびさらにより典型的には、バックグラウンドの１０，０００倍を超える。また、抗体は、平衡解離定数（K_D）が１μＭ以下、好ましくは、１００ｎＭ以下、より好ましくは、１０ｎＭ以下、さらにより好ましくは、なおより好ましくは、１ｎＭ以下、さらにより好ましくは、１００ｐＭ以下、なおより好ましくは、１０ｐＭ以下、およびさらにより好ましくは、１ｐＭ以下である場合、抗原に「特異的に結合する」と言われる。

【０２１０】

用語「結合親和性」は、２つの分子間、例えば、抗体、またはその断片と、抗原との非共有相互作用の強度の尺度として本明細書で用いられる。用語「結合親和性」は、一価相互作用（固有の活性）を記述するために用いられる。

【０２１１】

一価相互作用による、２つの分子間、例えば、抗体、またはその断片と、抗原との結合親和性を、解離定数（K_D）の決定により定量することができる。次いで、K_Dを、例えば、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）法（Ｂｉａｃｏｒｅ）を用いる、複合体形成および解離の動力学の測定により決定することができる。一価複合体の結合および解離に対応する速度定数は、それぞれ、結合速度定数k_a（またはk_{on}）および解離速度定数k_d（またはk_{off}）と呼ばれる。K_Dは、式$K_D = k_d / k_a$により、k_aおよびk_dと関連する。解離定数の値を、周知の方法により直接決定し、例えば、Ｃａｃｅｃｉら（１９８４、Ｂｙｔｅ ９：３４０～３６２頁）に記載のものなどの方法によって複雑な混合物についても計算することができる。例えば、K_Dを、Ｗｏｎｇ ＆ Ｌｏｈｍａｎ（１９８３、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９０：５４２８～５４３２頁）により開示されたものなどの二重フィルターニトロセルロースフィルター結合アッセイを用

いて確立することができる。例えば、ＥＬＩＳＡ、ウェスタンブロット、ＲＩＡ、およびフローサイトメトリー分析、ならびに本明細書の他の場所に例示される他のアッセイなどの、標的抗原に対する抗体などのリガンドの結合能力を評価するための他の標準的なアッセイが当技術分野で公知である。抗体の結合動力学および結合親和性を、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）などの当技術分野で公知の標準的なアッセイにより、例えば、Ｂｉａｃｏｒｅ（商標）システム、またはＫｉｎＥｘＡを用いることにより評価することもできる。

【０２１２】

抗体の抗原への結合を、そうでなければ標的に結合する別の抗体または可溶性受容体などのその標的の別のリガンドによる標的の結合と比較する競合的結合アッセイを行うことができる。５０％阻害が起こる濃度はK_iとして知られる。理想的な条件下で、K_iはK_Dと等しい。K_i値はK_D未満では決してなく、したがって、K_iの測定を都合よく置換してK_Dの上限を提供することができる。

【０２１３】

上記の定義に従って、異なる分子相互作用と関連する結合親和性、例えば、所与の抗原に対する異なる抗体の結合親和性の比較を、個々の抗体／抗原複合体に関するK_D値の比較により比較することができる。抗体または他の結合パートナーに関するK_D値を、当技術分野で明確に確立された方法を用いて決定することができる。K_Dを決定するための１つの方法は、表面プラズモン共鳴を用いることによる、典型的には、Ｂｉａｃｏｒｅ（登録商標）システムなどのバイオセンサーシステムを用いることによるものである。

【０２１４】

同様に、相互作用の特異性を、対象となる相互作用、例えば、抗体と抗原との特異的相互作用に関するK_D値と、対象ではない相互作用、例えば、ＴＬ１Ａに結合しないことが知られる対照抗体のK_D値の決定および比較により評価することができる。

【０２１５】

その標的に特異的に結合する抗体は、高い親和性でその標的に結合することができる、すなわち、上記で論じた低いK_Dを示し、他の、非標的分子にはより低い親和性で結合することができる。例えば、抗体は、$1x10^{-6}$Ｍ以上、より好ましくは、$1x10^{-5}$Ｍ以上、より好ましくは、$1x10^{-4}$Ｍ以上、より好ましくは、$1x10^{-3}$Ｍ以上、さらにより好ましくは、$1x10^{-2}$Ｍ以上のK_Dで非標的分子に結合することができる。本発明の抗体またはその抗原結合断片は、好ましくは、別の非ＴＬ１Ａ分子への結合に関するその親和性よりも少なくとも２倍、１０倍、５０倍、１００倍、２００倍、５００倍、１，０００倍または１０，０００倍以上高い親和性でその標的に結合することができる。

【０２１６】

当技術分野では公知のように、用語「Ｆｃ領域」は、免疫グロブリン重鎖のＣ末端領域を定義するために用いられる。「Ｆｃ領域」は、天然配列のＦｃ領域または変異体Ｆｃ領域であってもよい。免疫グロブリン重鎖のＦｃ領域の境界は変化してもよいが、ヒトＩｇＧ重鎖Ｆｃ領域は通常、位置Ｃｙｓ２２６のアミノ酸残基、またはＰｒｏ２３０から、そのカルボキシル末端まで伸びると定義される。Ｆｃ領域中の残基の番号付けは、Ｋａｂａｔら、Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ、第５版、Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ、Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ、Ｂｅｔｈｅｓｄａ、ＭＤ.、１９９１に記載のＥＵインデックスのものである。免疫グロブリンのＦｃ領域は一般に、２つの定常ドメイン、ＣＨ２およびＣＨ３を含む。当技術分野では公知のように、Ｆｃ領域はダイマーまたはモノマー形態で存在してもよい。

【０２１７】

本明細書で用いられる場合、「Ｆｃ受容体」および「ＦｃＲ」は、抗体のＦｃ領域に結合する受容体を記載する。好ましいＦｃＲは、天然配列のヒトＦｃＲである。さらに、好ましいＦｃＲは、ＩｇＧ抗体に結合するもの（ガンマ受容体）であり、ＦｃγＲＩ、ＦｃγＲＩＩ、およびＦｃγＲＩＩＩサブクラスの受容体、例えば、これらの受容体の対立遺

伝子変異体および選択的にスプライスされた形態を含む。ＦｃγＲＩＩ受容体は、ＦｃγＲＩＩＡ（「活性化受容体」）およびＦｃγＲＩＩＢ（「阻害受容体」）を含み、主にその細胞質ドメインにおいて異なる類似するアミノ酸配列を有する。ＦｃＲは、ＲａｖｅｔｃｈおよびＫｉｎｅｔ、１９９１、Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、９：４５７～９２頁；Ｃａｐｅｌら、１９９４、Ｉｍｍｕｎｏｍｅｔｈｏｄｓ、４：２５～３４頁；およびｄｅ　Ｈａａｓら、１９９５、Ｊ．Ｌａｂ．Ｃｌｉｎ．Ｍｅｄ．、１２６：３３０～４１頁に概説されている。「ＦｃＲ」はまた、母体のＩｇＧの胎児への移動を担う、新生児受容体ＦｃＲｎも含む（Ｇｕｙｅｒら、１９７６、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１１７：５８７頁；およびＫｉｍら、１９９４、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、２４：２４９頁）。

【０２１８】

「機能的Ｆｃ領域」は、天然配列のＦｃ領域の少なくとも１つのエフェクター機能を有する。例示的な「エフェクター機能」は、Ｃ１ｑ結合；補体依存的細胞傷害性；Ｆｃ受容体結合；抗体依存的細胞媒介性細胞傷害性；食作用；細胞表面受容体（例えば、Ｂ細胞受容体）の下方調節などを含む。そのようなエフェクター機能は一般に、Ｆｃ領域を、結合ドメイン（例えば、抗体可変ドメインまたはその抗原結合部分）と組み合わせる必要はなく、そのような抗体エフェクター機能を評価するための当技術分野で公知の様々なアッセイを用いて評価することができる。

【０２１９】

「天然配列のＦｃ領域」は、天然に見出されるＦｃ領域のアミノ酸配列と同一であるアミノ酸配列を含む。「変異体Ｆｃ領域」は、少なくとも１つのアミノ酸改変の理由で天然配列のＦｃ領域のものとは異なるが、天然配列のＦｃ領域の少なくとも１つのエフェクター機能を依然として保持するアミノ酸配列を含む。好ましくは、変異体Ｆｃ領域は、天然配列のＦｃ領域または親ポリペプチドのＦｃ領域と比較して、少なくとも１つのアミノ酸置換、例えば、天然配列のＦｃ領域または親ポリペプチドのＦｃ領域中に約１～約１０アミノ酸の置換、好ましくは、約１～約５アミノ酸の置換を有する。本明細書の変異体Ｆｃ領域は、好ましくは、天然配列のＦｃ領域および／または親ポリペプチドのＦｃ領域との少なくとも約８０％の配列同一性、最も好ましくは、それとの少なくとも約９０％の配列同一性、より好ましくは、それとの少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、少なくとも約９９％の配列同一性を有する。

【０２２０】

当技術分野では公知のように、本明細書で互換的に用いられる「ポリヌクレオチド」または「核酸」は、任意の長さのヌクレオチドの鎖を指し、ＤＮＡおよびＲＮＡを含む。ヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、改変ヌクレオチドまたは塩基、および／もしくはその類似体、またはＤＮＡもしくはＲＮＡポリメラーゼにより鎖中に組み込むことができる任意の基質であってもよい。ポリヌクレオチドは、メチル化ヌクレオチドなどの改変ヌクレオチドおよびその類似体を含んでもよい。存在する場合、ヌクレオチド構造に対する改変を、鎖のアセンブリの前または後に授与することができる。ヌクレオチドの配列を、非ヌクレオチド成分により中断することができる。ポリヌクレオチドを、標識成分とのコンジュゲーションなどにより、重合後にさらに改変することができる。他の型の改変としては、例えば、「キャップ」、１つまたはそれ以上の天然ヌクレオチドの類似体との置換、例えば、非荷電連結を有するもの（例えば、メチルホスホナート、ホスホトリエステル、ホスホアミダート、カルバマートなど）および荷電連結を有するもの（例えば、ホスホロチオアート、ホスホロジチオアートなど）、例えば、タンパク質（例えば、ヌクレアーゼ、毒素、抗体、シグナルペプチド、ポリ－Ｌ－リシンなど）などのペンダント部分を含有するもの、挿入剤（例えば、アクリジン、プソラレンなど）を有するもの、キレーターを含有するもの（例えば、金属、放射性金属、ホウ素、酸化金属など）、アルキル化剤を含有するもの、改変された連結を有するもの（例えば、アルファアノマー核酸など）などのヌクレオチド間改変、ならびに非改変形態のポリヌクレオチドが挙げられる。さらに、糖に通常存在する任意のヒドロキシル基を、例えば、ホスホナート基、ホスファート基により置き換える、標準的な保護基により保護する、もしくは追加

のヌクレオチドへの追加の連結を準備するために活性化することができるか、または固相支持体にコンジュゲートさせることができる。５’および３’末端ＯＨをリン酸化するか、またはアミンもしくは１～２０個の炭素原子の有機キャッピング基部分と置換することができる。他のヒドロキシルを、標準的な保護基に誘導体化することもできる。ポリヌクレオチドはまた、例えば、２’－Ｏ－メチル、２’－Ｏ－アリル、２’－フルオロ－、もしくは２’－アジド－リボース、炭素環式糖類似体、アルファ－もしくはベーター－アノマー糖、アラビノース、キシロースもしくはリキソースなどのエピマー糖、ピラノース糖、フラノース糖、セドヘプツロース、非環式類似体およびメチルリボシドなどの非塩基ヌクレオシド類似体などの、当技術分野で一般に公知である類似形態のリボースもしくはデオキシリボース糖を含有してもよい。１つまたはそれ以上のホスホジエステル結合を、代替的な連結基により置き換えることができる。これらの代替的な連結基としては、限定されるものではないが、リン酸がＰ（Ｏ）Ｓ（「チオアート」）、Ｐ（Ｓ）Ｓ（「ジチオアート」）、（Ｏ）NR_2（「アミダート」）、Ｐ（Ｏ）Ｒ、Ｐ（Ｏ）ＯＲ’、ＣＯまたはCH_2（「ホルムアセタール」）（ここで、ＲまたはＲ’はそれぞれ独立に、Ｈまたは場合によりエーテル（－Ｏ－）結合を含有する置換もしくは非置換アルキル（１～２０個のＣ）、アリール、アルケニル、シクロアルキル、シクロアルケニルまたはアラルジルである）により置き換えられる実施形態が挙げられる。ポリヌクレオチド中の全ての結合が同一である必要はない。前記説明はＲＮＡおよびＤＮＡなどの本明細書に記載の全てのポリヌクレオチドに適用される。

【０２２１】

本明細書で用いられる場合、「ベクター」とは、宿主細胞中の対象となる１つまたはそれ以上の遺伝子または配列を送達することができる、好ましくは、発現することができる構築物を意味する。ベクターの例としては、限定されるものではないが、ウイルスベクター、ネイキッドＤＮＡまたはＲＮＡ発現ベクター、プラスミド、コスミドまたはファージベクター、カチオン性縮合剤と結合したＤＮＡまたはＲＮＡ発現ベクター、リポソーム中に封入されたＤＮＡまたはＲＮＡ発現ベクター、および産生細胞などのある特定の真核細胞が挙げられる。

【０２２２】

本明細書で用いられる場合、「発現制御配列」とは、核酸の転写を指令する核酸配列を意味する。発現制御配列は、構成的もしくは誘導的プロモーターなどのプロモーター、またはエンハンサーであってもよい。発現制御配列は、転写される核酸配列に作動可能に連結される。

【０２２３】

「宿主細胞」は、ポリヌクレオチド挿入物の組込みのためのベクターのレシピエントであってよいか、またはそうであった個々の細胞または細胞培養物を含む。宿主細胞は、単一の宿主細胞の子孫を含み、その子孫は天然の、偶発的な、または意図的な突然変異のため元の親細胞と完全に同一である必要はない（形態またはゲノムＤＮＡ相補体において）。宿主細胞は、本発明のポリヌクレオチドをｉｎ　ｖｉｖｏでトランスフェクトされた、および／またはそれで形質転換された細胞を含む。

【０２２４】

本明細書で用いられる場合、「処置」は、有益な、または所望の臨床結果を得るためのアプローチである。本発明の目的のために、有益な、または所望の臨床結果としては、限定されるものではないが、以下の１つまたはそれ以上：生存率の改善（死亡率の低下）、疾患に対する炎症応答の減少、組織線維化の量の減少、疾患病変の外見の改善、病巣部位への病理学的病変の限定、疾患の持続期間の減少、および／または疾患と関連する症状の数、程度、もしくは持続期間の減少が挙げられる。この用語は、疾患の症状、合併症、もしくは生化学的兆候の開始を防止するか、もしくは遅延させる、症状を改善する、または疾患、状態、もしくは障害のさらなる発達を停止させるか、もしくは阻害するための本発明の化合物または薬剤の投与を含む。処置は、疾患の兆候後の症状の予防的（疾患の開始を防止するか、もしくは遅延させる、またはその臨床もしくは亜臨床症状の兆候を防止す

るため）または治療的抑制もしくは軽減であってもよい。

【０２２５】

「改善」とは、ＴＬ１Ａ抗体を投与しない場合と比較した１つまたはそれ以上の症状の軽減または改善を意味する。「改善」はまた、症状の持続期間の短縮または減少も含む。

【０２２６】

本明細書で用いられる場合、薬物、化合物または医薬組成物の「有効用量」または「有効量」は、任意の１つまたはそれ以上の有益な、または所望の結果をもたらすのに十分な量である。より特定の態様では、有効量は、疾患もしくは感染の症状を防止する、軽減する、もしくは改善する、および／または処置される対象の生存を延長する。予防的使用については、有益な、または所望の結果は、リスクの排除もしくは減少、重症度の低下、または疾患、例えば、疾患の生化学的、組織学的、および／もしくは行動学的症状、その合併症および疾患の発達中に呈する中間の病理学的表現型の開始の遅延化を含む。治療的使用については、有益な、または所望の結果は、ＴＬ１Ａ媒介性疾患、障害もしくは状態の１つもしくはそれ以上の症状の減少、疾患を処置するのに必要とされる他の医薬品の用量の減少、別の医薬品の効果の増強、および／または患者の疾患の進行の遅延化などの臨床的結果を含む。有効用量を、１回またはそれ以上の投与において投与することができる。本発明の目的のために、薬物、化合物、または医薬組成物の有効用量は、直接または間接に予防的または治療的処置を達成するのに十分な量である。臨床的文脈において理解されるように、薬物、化合物、または医薬組成物の有効用量は、別の薬物、化合物、または医薬組成物と同時に達成するか、または達成しなくてもよい。したがって、「有効用量」を、１つまたはそれ以上の治療剤を投与する文脈で考えることができ、１つまたはそれ以上の他の薬剤と同時に、望ましい結果を達成することができるか、またはそれが達成される場合、単一の薬剤は有効量で投与されると考えることができる。

【０２２７】

「個体」または「対象」は、哺乳動物、より好ましくは、ヒトである。哺乳動物としては、限定されるものではないが、家畜（例えば、ウシ、ブタ、ウマ、ニワトリなど）、運動用動物、ペット、霊長類、ウマ、イヌ、ネコ、マウスおよびラットも挙げられる。いくつかの実施形態では、個体は、ＴＬ１Ａにより媒介されるか、またはその受容体へのＴＬ１Ａの結合およびそれにより媒介されるシグナリングと関連する疾患、障害または状態のリスクにあると考えられる。

【０２２８】

本明細書で用いられる場合、「薬学的に許容される担体」または「薬学的に許容される賦形剤」は、活性成分と組み合わせた場合、その成分が生物活性を保持することができ、対象の免疫系と反応しない任意の材料を含む。例としては、限定されるものではないが、リン酸緩衝生理食塩溶液、水、油／水乳濁液などの乳濁液、および様々な型の湿潤剤などの任意の標準的な医薬担体が挙げられる。エアロゾルまたは非経口投与のための好ましい希釈剤は、リン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）または生理食塩水（０．９％）である。そのような担体を含む組成物は、周知の従来の方法によって製剤化される（例えば、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ、第１８版、Ａ．Ｇｅｎｎａｒｏ（編）、Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏ．、Ｅａｓｔｏｎ、ＰＡ、１９９０；およびＲｅｍｉｎｇｔｏｎ、Ｔｈｅ Ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｙ、第２０版、Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ、２０００を参照されたい）。

【０２２９】

本明細書の値またはパラメータの「約」に対する参照は、その値またはパラメータ自体に対する実施形態を含む（および記述する）。例えば、「約Ｘ」を参照する記述は、「Ｘ」の記述を含む。数値範囲は、範囲を定義する数を含む。一般的に言えば、用語「約」は、示された値の変数および示された値の実験誤差の範囲内（例えば、平均に関する９５％信頼区間の範囲内）にあるか、または示された値の１０パーセント以内にある、いずれか大きい方の変数の全ての値を指す。用語「約」が時間（年、月、週、日など）の文脈内で

用いられる場合、用語「約」は、時間プラスもしくはマイナス一定量の次の下位時間（例えば、約１年は１１～１３カ月を意味する；約６カ月は６カ月プラスもしくはマイナス１週間を意味する；約１週間は６～８日を意味するなど）、または示された値の１０パーセント以内のいずれか大きい方を意味する。

【０２３０】

本発明の広い範囲を説明する数値範囲およびパラメータは近似値であるにも関わらず、特定例に記載される数値はできるだけ正確に報告される。しかしながら、任意の数値は、その対応する試験測定において見出される標準偏差から必ず生じるある特定の誤差を本質的に含有する。さらに、本明細書に開示される全ての範囲は、その中に包含される任意かつ全てのサブ範囲を包含することが理解されるべきである。例えば、「１～１０」の記述される範囲は、１の最小値と１０の最大値との間（およびそれを含む）の任意かつ全てのサブ範囲を含む；すなわち、全てのサブ範囲が、１またはそれ以上の最小値、例えば、１～６．１で始まり、１０またはそれ以下の最大値、例えば、５．５～１０で終わると考えるべきである。

【０２３１】

実施形態が言語「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）」と共に本明細書のどこに記載されるとしても、さもなければ「からなる（ｃｏｎｓｉｓｔｉｎｇ　ｏｆ）」および／または「本質的にからなる（ｃｏｎｓｉｓｔｉｎｇ　ｅｓｓｅｎｔｉａｌｌｙ　ｏｆ）」に関して記載される同様の実施形態も提供されることが理解される。本明細書および特許請求の範囲を通して、単語「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｅ）」、または「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｅｓ）」もしくは「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）」などの変形は、記述される整数または整数群の含有を意味するが、任意の他の整数または整数群の排除を意味するものではないことが理解される。文脈によって別途要求されない限り、単数形の用語は複数形を含み、複数形の用語は単数形を含む。用語「例えば（ｅ．ｇ．）」または「例えば（ｆｏｒ　ｅｘａｍｐｌｅ）」に続く任意の例は、包括的または限定的であることを意味するものではない。

【０２３２】

本発明の態様または実施形態がマーカッシュ群または他の選択肢群に関して記載される場合、本発明は全体として列挙される群全体だけでなく、群の各メンバーを個々に、および主要な群の全ての可能な亜群も包含し、また、主要な群に存在しない群の１つまたはそれ以上のメンバーも包含する。本発明はまた、特許請求される発明における１つまたはそれ以上の任意の群のメンバーの明確な排除も想定する。

【０２３３】

別途定義しない限り、本明細書で用いられる全ての技術用語および科学用語は、本発明が属する当技術分野における通常の知識を有する者によって一般的に理解されるものと同じ意味を有する。矛盾する場合、定義を含む本明細書が制御するものとする。

【０２３４】

例示的な方法および材料が本明細書に記載されるが、本明細書に記載のものと類似するか、または等価である方法および材料を本発明の実施または試験において用いることもできる。材料、方法、および実施例は、例示に過ぎず、限定を意図するものではない。

【０２３５】

ＴＬ１Ａ抗体

本発明は、ＴＬ１Ａに結合する抗体に関する。抗体は、好ましくはＴＬ１Ａに特異的に結合する。特に、本発明は、ＴＬ１Ａに結合し、その活性をモジュレートする抗体に関する。例えば、本発明の抗体またはその抗原結合断片は、ＴＬ１Ａのその受容体ＤＲ３への結合を減少させるか、または阻害することによって、下流の受容体シグナリングを減少させるか、または阻害する能力を有してもよい。本発明はまた、そのような抗体を含む組成物ならびに治療的使用および薬学的使用を含む、そのような抗体のための使用にも関する。

【０２３６】

用語「ＴＬ１Ａ」は、モノマーであろうと、ダイマー、トリマーなどのマルチマーであろうと、任意の天然形態のＴＬ１Ａを意味し、任意の好適な生物から誘導することができる。本明細書で用いられる場合、「ＴＬ１Ａ」とは、ヒト、ラットまたはマウス、ならびに非ヒト霊長類、ウシ、ヒツジ、またはブタＴＬ１Ａなどの、哺乳動物ＴＬ１Ａを指す。好ましくは、ＴＬ１Ａはヒトである（例えば、Ｇｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＰ＿００５１０９、配列番号２５８を参照されたい）。用語「ＴＬ１Ａ」はまた、そのようなＴＬ１Ａ分子の断片、変異体、アイソフォーム、および他の相同体も包含する。変異体ＴＬ１Ａ分子は一般に、ＤＲ３に結合する能力、および受容体媒介性活性を誘導する能力などの天然のＴＬ１Ａと同じ方の活性を有することを特徴とする。

【０２３７】

ＴＬ１Ａは、ホモマルチマー形態にあってもよい。ホモマルチマーは、２、３、４、５、６個以上のＴＬ１Ａモノマー単位を含んでもよい。いくつかの態様では、ホモマルチマーは、ホモダイマーまたはホモトリマーであってもよい。いくつかの態様では、ホモマルチマー中に３個のＴＬ１Ａモノマーが存在し、ＴＬ１Ａホモマルチマーはホモトリマーである。いくつかの態様では、ＴＬ１Ａホモマルチマー中に２個のＴＬ１Ａモノマーが存在し、ホモマルチマーはホモダイマーである。

【０２３８】

ＴＬ１Ａは、１個もしくはそれ以上、２個以上、３個以上、４個以上、５個以上、６個以上、７個以上、８個以上、９個以上、１０個以上、１２個以上または１５個以上のＴＬ１Ａの表面接近可能残基を含んでもよい。ＴＬ１Ａがホモマルチマー形態のＴＬ１Ａを含む場合、標的は１個もしくはそれ以上、２個以上、３個以上、４個以上、５個以上、６個以上、７個以上、８個以上、９個以上、１０個以上、１２個以上または１５個以上のＴＬ１Ａの第１のサブユニットの表面接近可能残基と、１個もしくはそれ以上、２個以上、３個以上、４個以上、５個以上、６個以上、７個以上、８個以上、９個以上、１０個以上、１２個以上または１５個以上のＴＬ１Ａの第２のサブユニットの表面接近可能残基とを含んでもよい。

【０２３９】

標的分子は、ＴＬ１Ａに由来する公知のエピトープを含んでもよい。

【０２４０】

本発明の抗体またはその抗原結合断片は、ＴＬ１Ａに特異的に結合し、ＤＲ３とのその相互作用を阻害することによって、ＴＬ１Ａ活性を阻害する。本明細書で互換的に用いられる用語「ＴＬ１Ａ媒介性活性」、「ＴＬ１Ａ媒介性効果」、「ＴＬ１Ａ活性」、「ＴＬ１Ａ生物活性」または「ＴＬ１Ａ機能」とは、限定されるものではないが、ＤＲ３の結合によるＤＲ３へのＴＬ１Ａ結合、サイトカイン、特に、ＩＦＮγ、ＩＬ－６、ＴＮＦ－α、ＩＬ－１７、ＩＬ－２２、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－１３、ＩＬ－２５などの炎症促進性サイトカイン、および当業者には周知の他のサイトカインの下流の発現／分泌の活性化、当技術分野で公知の、または将来解明されるＴＬ１Ａの任意の他の活性を含む、同族受容体とのＴＬ１Ａの相互作用により媒介される任意の活性を意味する。

【０２４１】

したがって、本発明の方法は、その受容体であるＤＲ３に結合するＴＬ１Ａにより媒介される下流の事象を含む、ＴＬ１Ａ活性を遮断する、抑制する、または低下させる（例えば、有意に低下させる）本発明のＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片を用いる。本発明のＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片は、以下の特徴のいずれか１つまたはそれ以上を示してもよい：（ａ）ＴＬ１Ａに特異的に結合する；（ｂ）その受容体であるＤＲ３とのＴＬ１Ａの相互作用を遮断する；（ｃ）ＤＲ３により活性化される下流のシグナリング事象を遮断する、抑制する、または低下させる；および（ｄ）ＴＬ１Ａにより媒介される活性の任意の他のＴＬ１Ａ活性を遮断する、抑制する、または低下させる。

【０２４２】

一実施形態では、本開示は、以下のいずれか、または以下の抗体：１Ｄ１、１Ｄ１　１．２７、１Ｄ１　１．２８、１Ｄ１　１．２９、１Ｄ１　１．３０、１Ｄ１　１．３１、

１Ｄ１　１．３２、１Ｄ１　１．３３、１Ｄ１　１．３４、１５Ａ９、１５Ｃ１１、７Ｄ４、２２Ｆ９、９Ｂ３、２Ｂ１１のいずれかから誘導される、軽鎖配列、もしくはその一部、および重鎖、もしくはその一部を有する抗体を含む組成物（医薬組成物を含む）を提供する。

【０２４３】

本発明において有用な抗体は、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、抗体断片（例えば、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$、Ｆｖ、Ｆｃなど）、キメラ抗体、二特異的抗体、ヘテロコンジュゲート抗体、単鎖（ＳｃＦｖ）、その突然変異体、抗体部分を含む融合タンパク質（例えば、ドメイン抗体）、ヒト化抗体、ならびに抗体のグリコシル化変異体、抗体のアミノ酸配列変異体、および共有改変された変異体などの、必要とされる特異性の抗原認識部位を含む免疫グロブリン分子の任意の他の改変された構成を包含してもよい。抗体は、マウス、ラット、ヒト、または任意の他の起源（キメラもしくはヒト化抗体を含む）であってもよい。いくつかの実施形態では、ＴＬ１Ａ抗体はモノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、抗体はキメラ、ヒト化またはヒト抗体である。特定の実施形態では、抗体はヒト抗体である。

【０２４４】

いくつかの場合、本発明の抗体は、相補性決定領域（「ＣＤＲ」）によって定義される。ある特定の場合、ＣＤＲはヒト可変ドメイン中にある。別の実施形態では、ＣＤＲはヒト化可変ドメイン内にある。さらに他の実施形態では、ＣＤＲはキメラ可変ドメイン内にある。本発明による抗体またはその抗原結合断片は、ＩｇＧ、ＩｇＡ、ＩｇＥまたはＩｇＭ（もしくはそのサブクラス）などの、任意のクラスの抗体またはその抗原結合断片を含む。一実施形態では、抗体は任意の主要なサブクラス（例えば、ＩｇＧ$_1$、ＩｇＧ$_2$、ＩｇＧ$_3$、ＩｇＧ$_4$）を含むＩｇＧ$_1$である。一実施形態では、抗体はＩｇＧ$_1$サブタイプのものである。別の実施形態では、抗体はＩｇＧ$_2$サブタイプのものである。他の場合、抗体はＩｇＧ$_3$サブタイプのものであってもよい。さらに他の場合、抗体はＩｇＧ$_4$であってもよい。他の場合、抗体は任意のサブタイプを含むＩｇＡ抗体であってもよい。一実施形態では、抗体はＩｇＡ$_1$である。別の実施形態では、抗体はＩｇＡ$_2$である。

【０２４５】

一実施形態では、本発明による抗体またはその抗原結合断片は、フレームワーク領域を含む可変領域を含み、ここでフレームワーク領域はＩｇＧ、ＩｇＡ、ＩｇＭ、ＩｇＥおよびＩｇＤフレームワーク領域からなる群から選択される。別の実施形態では、本発明による抗体またはその抗原結合断片は、フレームワーク領域を含む可変領域を含み、ここで、フレームワーク領域はＩｇＧ$_1$、ＩｇＧ$_2$、ＩｇＧ$_3$、ＩｇＧ$_4$フレームワーク領域からなる群から選択される。さらに別の実施形態では、本発明による抗体またはその抗原結合断片は、フレームワーク領域を含む可変領域を含み、ここで、フレームワーク領域はヒト、ヒト化およびキメラフレームワーク領域からなる群から選択される。

【０２４６】

本発明のＴＬ１Ａ抗体を、当技術分野で公知の任意の方法によって作製することができる。ヒトおよびマウス抗体の生成のための一般的な技術は、当技術分野で公知である、および／または本明細書に記載される。

【０２４７】

当技術分野で公知の方法を用いて、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合断片により媒介されるＴＬ１Ａ活性の低下、改善、または中和を検出および／または測定することができる。いくつかの実施形態では、ＴＬ１Ａ抗体は、候補薬剤（例えば、ＤＲ３）をＴＬ１Ａと共にインキュベートし、結合および／またはＴＬ１Ａの生物活性の付随する低下もしくは阻害をモニタリングすることにより同定される。結合アッセイを、例えば、精製されたＴＬ１Ａポリペプチド、または様々な受容体を天然に発現する、もしくはＴＬ１Ａ受容体を発現するようにトランスフェクトされた細胞を用いて実施することができる。一実施形態では、結合アッセイは、ＴＬ１Ａ結合について既知のＴＬ１Ａ抗体と競合する候補抗体の能力が評価される競合結合アッセイである。アッセイを、ＥＬＩＳＡ形式を含む

様々な形式で実施することができる。いくつかの実施形態では、ＴＬ１Ａ抗体は、候補抗体をＴＬ１Ａと共にインキュベートし、結合をモニタリングすることにより同定される。いくつかの実施形態では、ＴＬ１Ａ抗体は、候補抗体（例えば、ヒト抗ＴＬ１Ａ抗体）をＴＬ１Ａと共にインキュベートし、ＴＬ１Ａへの第２のＴＬ１Ａ抗体の結合をモニタリングして、１つの抗体がＴＬ１Ａの結合について第２の抗体と競合するかどうかを評価することによって同定される。

【０２４８】

さらに、候補ＴＬ１Ａ抗体の活性を、標的となる生物活性を試験するために公知のバイオアッセイにより測定することができる。いくつかの実施形態では、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ細胞アッセイを用いて、候補ＴＬ１Ａ抗体をさらに特徴付ける。例えば、バイオアッセイを用いて、候補を直接スクリーニングすることができる。ＴＬ１Ａ抗体を同定し、特徴付けるためのいくつかの方法が、実施例で詳細に説明される。

【０２４９】

上記で論じたように、本発明のＴＬ１Ａ抗体は、１つまたはそれ以上の以下の特徴を示す：（ａ）ＴＬ１Ａに特異的に結合する；（ｂ）その受容体であるＤＲ３とのＴＬ１Ａの相互作用を遮断する、および（ｃ）下流のシグナリング事象を減衰させる、または遮断する。好ましくは、本発明のＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片は、これらの特徴の少なくとも１つを有し、より好ましくは、前記抗体は、これらの特徴の２つ以上を有する。より好ましくは、抗体は前記特徴の全部を有する。

【０２５０】

ＴＬ１Ａエピトープ

ＴＬ１Ａ抗体を、当技術分野で周知のさらなる方法を用いて特徴付けることができる。例えば、１つの方法は、それが結合するエピトープを同定すること、または「エピトープマッピング」である。例えば、ＨａｒｌｏｗおよびＬａｎｅ、Ｕｓｉｎｇ　Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ、Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｐｒｅｓｓ、Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ、Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ、１９９９の第１１章に記載のような、抗体－抗原複合体の結晶構造の解析、競合アッセイ、遺伝子断片発現アッセイ、および合成ペプチドに基づくアッセイを含む、タンパク質上のエピトープの位置をマッピングし、特徴付けるための当技術分野で公知の多くの方法が存在する。さらなる例においては、エピトープマッピングを用いて、ＴＬ１Ａ抗体が結合する配列を決定することができる。エピトープマッピングは、様々な供給源、例えば、Ｐｅｐｓｃａｎ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（Ｅｄｅｌｈｅｒｔｗｅｇ　１５、８２１９　ＰＨ　Ｌｅｌｙｓｔａｄ、Ｔｈｅ　Ｎｅｔｈｅｒｌａｎｄｓ）から商業的に入手可能である。エピトープは、すなわち、アミノ酸の単一ストレッチに含まれる線状エピトープ、または単一ストレッチ中に必ずしも含まれないアミノ酸の三次元相互作用により形成される立体的エピトープであってもよい。様々な長さのペプチド（例えば、少なくとも４～６アミノ酸長）を単離または合成（例えば、組換え的に）し、ＴＬ１Ａ抗体を用いる結合アッセイのために用いることができる。別の例においては、ＴＬ１Ａ抗体が結合するエピトープを、ＴＬ１Ａ配列から誘導される重複ペプチドを使用し、抗体による結合を決定することにより体系的スクリーニングにおいて決定することができる。遺伝子断片発現アッセイに従って、ＴＬ１Ａをコードするオープンリーディングフレームを、無作為に、または特定の遺伝子構築物によって断片化し、ＴＬ１Ａの発現された断片と、試験しようとする抗体との反応性を決定する。遺伝子断片を、例えば、ＰＣＲにより生成した後、転写し、放射性アミノ酸の存在下、ｉｎ　ｖｉｔｒｏでタンパク質に翻訳することができる。次いで、放射性標識されたＴＬ１Ａ断片への抗体の結合を、免疫沈降およびゲル電気泳動により決定する。ある特定のエピトープを、ファージ粒子（ファージライブラリー）または酵母（酵母ディスプレイ）の表面上に提示される無作為ペプチド配列の大きいライブラリーを用いることにより同定することもできる。あるいは、重複ペプチド断片の規定のライブラリーを、単純結合アッセイにおいて試験抗体への結合について試験することができる。さらなる例において、抗原の突然変異誘発、ドメインスワッピング実験およびア

ラニン走査突然変異誘発を実施して、エピトープ結合にとって必要とされる、十分な、および／または必要な残基を同定することができる。例えば、アラニン走査突然変異誘発実験を、ＴＬ１Ａポリペプチドの様々な残基をアラニンで置換したＴＬ１Ａ突然変異体を用いて実施することができる。ＴＬ１Ａ突然変異体への抗体の結合を評価することにより、抗体結合に対する特定のＴＬ１Ａ残基の重要性を評価することができる。

【０２５１】

ＴＬ１Ａ抗体を特徴付けるために用いることができるさらに別の方法は、同じ抗原、すなわち、ＴＬ１Ａ上の様々な断片に結合することが知られる他の抗体を用いる競合アッセイを使用して、ＴＬ１Ａ抗体が他の抗体と同じエピトープに結合するかどうかを決定することである。競合アッセイは、当業者には周知である。

【０２５２】

さらに、所与の抗体／抗原結合対のためのエピトープを、様々な実験的およびコンピュータ的エピトープマッピング法を用いて様々な詳細なレベルで定義し、特徴付けることができる。実験的方法としては、突然変異誘発、Ｘ線結晶学、核磁気共鳴（ＮＭＲ）分光法、水素／重水素交換質量分析（Ｈ／Ｄ－ＭＳ）および当技術分野で周知の様々な競合結合法が挙げられる。それぞれの方法は独特の原理に依拠するため、エピトープの説明は、それが決定された方法と密接に関連する。したがって、所与の抗体／抗原対のためのエピトープは、用いられるエピトープマッピング法に依存して異なるように定義される。

【０２５３】

その最も詳細なレベルで、ＡｇとＡｂとの相互作用のためのエピトープを、Ａｇ－Ａｂ相互作用中に存在する原子接触を規定する空間座標、ならびに結合熱力学へのその相対的寄与に関する情報により定義することができる。より低い詳細レベルで、エピトープを、ＡｇとＡｂとの原子接触を定義する空間座標により特徴付けることができる。さらにより低い詳細レベルで、エピトープを、特定の基準により、例えば、ＡｂとＡｇ中の原子（例えば、重原子、すなわち、非水素原子）間の距離により定義されるそれが含むアミノ酸残基によって特徴付けることができる。さらにより低い詳細レベルで、エピトープを、機能によって、例えば、他のＡｂとの競合結合によって特徴付けることができる。また、エピトープを、別のアミノ酸による置換がＡｂとＡｇとの相互作用の特徴を変化させるアミノ酸残基を含むとしてより一般的に定義することもできる（例えば、アラニン走査を用いる）。

【０２５４】

抗体、例えば、Ｆａｂ断片と、そのＡｇとの複合体の空間座標により定義されるＸ線由来結晶構造の文脈において、エピトープという用語は、文脈によって別途特定または否定されない限り、本明細書ではＡｂ中の重原子から４Å以内の距離にある重原子（すなわち、非水素原子）を有することを特徴とするＴＬ１Ａ残基と特に定義される。あるいは、所与のＴＬ１Ａアミノ酸残基は、それが抗体との、もしくはまた抗体に水素結合した水分子との水素結合（水媒介性水素結合）に関与するか、またはそれが抗体上の残基への塩架橋に関与するか、またはそれが抗体との相互作用のために埋まった表面積の非ゼロ変化を有する場合、エピトープの一部であると考えられる。あるいは、所与のＴＬ１Ａアミノ酸残基は、それが抗体との水素結合に関与する場合、またはそれがまた抗体に水素結合した水分子と水素結合する場合（水媒介性水素結合）、またはそれが抗体上の残基との塩架橋に関与する場合、またはそれが抗体との相互作用のために埋まった表面積の非ゼロ変化を有する場合、エピトープの一部であると考えられる。したがって、抗体上のアミノ酸は、これらの条件の少なくとも１つが満たされる場合、例えば、ＴＬ１Ａアミノ酸残基が抗体のアミノ酸残基上の重原子から４Å以内にある重原子を有する場合、ＴＬ１Ａアミノ酸残基が抗体のアミノ酸残基との水素結合に関与する場合、ＴＬ１Ａアミノ酸残基が、同じ水分子もまた抗体のアミノ酸残基と水素結合した水分子と水素結合する場合、ＴＬ１Ａアミノ酸残基が抗体のアミノ酸残基との塩架橋に関与する場合、およびＴＬ１Ａアミノ酸残基が抗体との相互作用のために埋まった表面積の非ゼロ変化を有する場合、ＴＬ１Ａ上のアミノ酸に「結合する」と考えられる。

【０２５５】
用いられるエピトープマッピング法に応じて、エピトープの説明および定義は様々な詳細レベルで得られるという事実から、同じＡｇ上の異なるＡｂに対するエピトープの比較を様々な詳細レベルで同様に行うことができるということになる。
【０２５６】
アミノ酸レベルで記載される、例えば、Ｘ線構造から決定されるエピトープは、それらが同じセットのアミノ酸残基を含有する場合、同一であると言われる。エピトープは、少なくとも１つのアミノ酸がエピトープにより共有される場合、重複すると言われる。エピトープは、アミノ酸残基がエピトープにより共有されない場合、別々（個別）であると言われる。
【０２５７】
競合結合を特徴とするエピトープは、対応する抗体の結合が相互排他的である、すなわち、ある抗体の結合が他の抗体の同時的または連続的結合を排除する場合、重複すると言われる。エピトープは、抗原が両方の対応する抗体の結合に同時に適合することができる場合、別々（個別）であると言われる。
【０２５８】
用語「パラトープ」の定義は、視点を逆転させることによって、「エピトープ」の上記定義から誘導される。したがって、用語「パラトープ」は、抗原に特異的に結合する抗体上のエリアまたは領域、すなわち、「接触」が本明細書の他の場所に定義されるように、抗原（ＴＬ１Ａ）との接触を作る抗体上のアミノ酸残基を指す。
【０２５９】
抗体、例えば、Ｆａｂ断片または２つのＦａｂ断片と、その抗原との複合体の空間座標により定義されるＸ線由来結晶構造の文脈において、パラトープという用語は、文脈によって別途特定または否定されない限り、本明細書では、ＴＬ１Ａ中の重原子から４Å以内の距離にある重原子（すなわち、非水素原子）を有することを特徴とする抗原残基と特に定義される。あるいは、またはさらに、所与のＴＬ１Ａアミノ酸残基は、それが抗体との、もしくは抗体に水素結合した水分子との水素結合（水媒介性水素結合）に関与する場合、またはそれが抗体上の残基との塩架橋に関与する場合、またはそれが抗体との相互作用のために埋まった表面積の非ゼロ変化を有する場合、エピトープの一部であると考えられる。前記による任意のアミノ酸は、互いに「接触する」と言われる。
【０２６０】
所与の抗体／抗原対に関するエピトープおよびパラトープを、日常的な方法により同定することができる。例えば、エピトープの一般的な位置を、抗体が異なる断片または変異体ＴＬ１Ａポリペプチドに結合する能力を評価することによって決定することができる。抗体と接触するＴＬ１Ａ内の特定のアミノ酸（エピトープ）およびＴＬ１Ａと接触する抗体中の特定のアミノ酸（パラトープ）を、実施例に記載されるものなどの日常的な方法を用いて決定することもできる。例えば、抗体と標的分子とを組み合わせて、抗体／抗原複合体を結晶化することができる。複合体の結晶構造を決定し、これを用いて抗体とその標的との相互作用の特異的部位を同定することができる。
【０２６１】
本発明による抗体またはその抗原結合断片は、本明細書に特に開示される本発明の抗体と同じＴＬ１Ａのエピトープまたはドメインに結合することができる。例えば、その他のまだ同定されていない本発明の抗体を、ＴＬ１Ａへのその結合と、以下のモノクローナル抗体：１Ｄ１、１Ｄ１　１．２７、１Ｄ１　１．２８、１Ｄ１　１．２９、１Ｄ１　１．３０、１Ｄ１　１．３１、１Ｄ１　１．３２、１Ｄ１　１．３３、１Ｄ１　１．３４、１５Ａ９、１５Ｃ１１、７Ｄ４、２２Ｆ９、９Ｂ３、２Ｂ１１、およびその変異体のいずれかのものとを比較することにより；またはまだ同定されていない抗体の機能を、本明細書に記載の抗体のものと比較することにより；ならびに／またはまだ同定されていない抗体のＴＬ１Ａ上のエピトープ／接触残基を、本発明の抗体のものと比較することにより同定することができる。そのような同定のために用いることができる分析およびアッセイは、

実施例１０～１４に記載の生物活性アッセイにおいて、および抗体の結晶構造の分析において、ＴＬ１Ａの結合について、対象となる抗体またはその抗原結合断片とＤＲ３との間の競合を評価するアッセイを含む。

【０２６２】

本明細書に開示されるように、そのような結晶構造分析を、１Ｄ１親抗体とＴＬ１Ａとの間、および変異体抗体１Ｄ１　１．３１とＴＬ１Ａとの間の相互作用に関して実行した。この分析は、実施例により詳細に記載される。抗体１Ｄ１とＴＬ１Ａ、および抗体１Ｄ１　１．３１とＴＬ１Ａとの結合エピトープを、これも実施例にさらに詳細に記載されるようにマッピングした。

【０２６３】

ＴＬ１Ａとその天然リガンドＤＲ３との詳細な相互作用も本明細書に開示される。したがって、ＤＲ３と同じアミノ酸残基でＴＬ１Ａと「接触」する抗体は、ＴＬ１ＡとＤＲ３との相互作用を阻害すると予想される。したがって、いくつかの実施形態では、本発明の抗体またはその抗原結合断片により結合されるＴＬ１Ａエピトープは、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付け［括弧内は配列番号２５８の番号付け］による、Ｔ３０（Ｔ１００）、Ｖ３１（Ｖ１０１）、Ｖ３２（Ｖ１０２）、Ｒ３３（Ｒ１０３）、Ｅ５０（Ｅ１２０）、Ｌ５３（Ｌ１２３）、Ｇ５４（Ｇ１２４）、Ｒ８６（Ｒ１５６）、Ｇ８７（Ｇ１５７）、Ｍ８８（Ｍ１５８）、Ｓ１３６（Ｓ２０６）、Ｎ１３７（Ｎ２０７）、Ｆ１３９（Ｆ２０９）、Ｓ１６４（Ｓ２３４）、Ｌ１６５（Ｌ２３５）、Ｙ１６８（Ｙ２３８）、Ｔ１６９（Ｔ２３９）、Ｋ１７０（Ｋ２４０）、Ｅ１７１（Ｅ２４１）、Ｎ４２（Ｎ１１２）、Ｆ４４（Ｆ１１４）、Ｋ１０３（Ｋ１７３）、Ｐ１０４（Ｐ１７４）、Ｄ１０５（Ｄ１７５）、Ｓ１０６（Ｓ１７６）、Ｓ１１７（Ｓ１８７）、Ｙ１１８（Ｙ１８８）、Ｐ１１９（Ｐ１８９）、Ｅ１２０（Ｅ１９０）、Ｑ１５１（Ｑ２２１）から選択される１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ残基を包含する。

【０２６４】

リガンドＤＲ３ならびに抗体１Ｄ１　１．３１、１Ｄ１、２６Ｂ１１および７Ｂ４と相互作用するＴＬ１Ａのアミノ酸を提示する表４２に示されるように、本明細書に記載のいくつかの抗体は、リガンドＤＲ３と相互作用するものと同じアミノ酸と相互作用する。したがって、特定の実施形態では、抗体により結合されるＴＬ１Ａエピトープは、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付け［括弧内は配列番号２５８の番号付け］による、Ｖ３１（Ｖ１０１）、Ｖ３２（Ｖ１０２）、Ｒ３３（Ｒ１０３）、Ｅ５０（Ｅ１２０）、Ｌ５３（Ｌ１２３）、Ｇ５４（Ｇ１２４）、Ｒ８６（Ｒ１５６）、Ｇ８７（Ｇ１５７）、Ｍ８８（Ｍ１５８）、Ｓ１３６（Ｓ２０６）、Ｎ１３７（Ｎ２０７）、Ｓ１６４（Ｓ２３４）、Ｌ１６５（Ｌ２３５）、Ｙ１６８（Ｙ２３８）、Ｔ１６９（Ｔ２３９）、Ｋ１７０（Ｋ２４０）、Ｅ１７１（Ｅ２４１）、Ｓ１１７（Ｓ１８７）、Ｙ１１８（Ｙ１８８）、Ｐ１１９（Ｐ１８９）、およびＱ１５１（Ｑ２２１）からなる群から選択される１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ残基を包含する。

【０２６５】

図５に記載されるように、いくつかの実施形態では、ＴＬ１Ａ抗体１Ｄ１および１Ｄ１　１．３１は、２つのＴＬ１Ａモノマー間のＴＬ１Ａホモトリマーに結合する。したがって、単一の１Ｄ１または１Ｄ１　１．３１は、２つのＴＬ１Ａモノマーに同時に結合してもよく、単一の抗体が単一のＴＬ１Ａモノマー上の全てのエピトープ残基に結合する可能性は低い。あるいは、本発明の１つのＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片は、ＴＬ１Ａタンパク質上のいくつかのエピトープに結合してもよいが、別のＴＬ１Ａ抗体は他のエピトープに結合する。

【０２６６】

したがって、いくつかの実施形態では、本発明の抗体またはその抗原結合断片により結合されるＴＬ１Ａエピトープは、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｔ１１５、Ｓ１１７、Ｙ１１８、Ｐ１１９、Ｐ１２１、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｍ１４７、Ｆ１４８、Ｓ１４９、Ｑ１５１、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｅ５

０、Ｈ５１、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｔ５８、Ｅ９１、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１から選択される１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ残基を包含する。２つのＴＬ１Ａモノマー間での抗体１Ｄ１および１Ｄ１　１．３１のＴＬ１Ａへの結合の形状を考慮すれば、いくつかの結合残基は第１のモノマー（ＴＬ１Ａの鎖Ａのモノマーとも呼ばれる）上に見出され、他の結合残基は第２のモノマー（ＴＬ１Ａの鎖Ｂのモノマーとも呼ばれる）上に見出される。特に、モノマーＡ上の１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ結合エピトープ残基は、Ｋ１１３、Ｔ１１５、Ｓ１１７、Ｙ１１８、Ｐ１１９、Ｐ１２１、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｍ１４７、Ｆ１４８、Ｓ１４９、Ｑ１５１から選択され、モノマーＢ上の１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ結合エピトープは、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｈ５１、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｔ５８、Ｅ９１、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１から選択される。いくつかの実施形態では、モノマーＡ上に見出されるエピトープは１つのＴＬ１Ａ抗体により結合されるが、モノマーＢ上に見出されるエピトープは別のＴＬ１Ａ抗体により結合される。

【０２６７】

別の実施形態では、本開示のＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｍ１４７、Ｆ１４８、Ｓ１４９、Ｑ１５１、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｈ５１、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１から選択される１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ残基を含むＴＬ１Ａ上のエピトープに結合し、ここでモノマーＡ上の１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ結合エピトープ残基は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｍ１４７、Ｆ１４８、Ｓ１４９、Ｑ１５１からなる群から選択され、モノマーＢ上の１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ結合エピトープ残基は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｈ５１、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１からなる群から選択される。

【０２６８】

さらなる実施形態では、ＴＬ１Ａエピトープは、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｍ１４７、Ｓ１４９、Ｑ１５１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｈ５１、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１からなる群から選択されるアミノ酸残基を含んでもよく、ここで、モノマーＡ上の１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ結合エピトープ残基は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｍ１４７、Ｓ１４９、およびＱ１５１からなる群から選択され、モノマーＢ上の１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ結合エピトープ残基は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｈ５１、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１からなる群から選択され、残基は本発明のＴＬ１Ａ抗体もしくはその抗原結合断片と、ＴＬ１Ａとの間の静電相互作用に関与するか、または残基の周囲の埋まった表面積は、本発明のＴＬ１Ａ抗体もしくはその抗原結合断片に結合した場合、２０Å^{2}より大きい。

【０２６９】

別の実施形態では、ＴＬ１Ａエピトープは、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｓ１４９、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３、Ａ５６、Ｆ５７、Ｙ１６８、Ｔ１６９、およびＥ１７１からなる群から選択されるアミノ酸残基を含んでもよく、ここで、モノマーＡ上の１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ結合エピトープ残基は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、およびＳ１４９からなる群から選択され、モノマーＢ上の１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ結合エピトープ残基は、配列番号２５４に

記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３、Ａ５６、Ｆ５７、Ｙ１６８、Ｔ１６９、およびＥ１７１からなる群から選択され、残基は本発明のＴＬ１Ａ抗体もしくはその抗原結合断片と、ＴＬ１Ａとの間の静電相互作用に関与するか、または残基の周囲の埋まった表面積は、本発明のＴＬ１Ａ抗体もしくはその抗原結合断片に結合した場合、４０Å^{2}より大きい。

【０２７０】

いくつかの実施形態では、本開示のＴＬ１Ａ抗体により結合されるＴＬ１Ａエピトープは、配列番号２５４の１つまたはそれ以上のアミノ酸残基１１７～１２３および配列番号２５４の残基５０～１５８からなる群から選択され、ここで、モノマーＡ上の１つまたはそれ以上の残基は、配列番号２５４の残基１１７～１２３から選択され、モノマーＢ上の１つまたはそれ以上の残基は、配列番号２５４の残基５０～５８から選択される。

【０２７１】

別の実施形態では、本開示のＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｓ１４９、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３、Ａ５６、Ｙ１６８、Ｔ１６９およびＥ１７１から選択される１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ残基を含むＴＬ１Ａ上のエピトープに結合し、ここで、モノマーＡ上の１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ結合エピトープ残基は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、およびＳ１４９からなる群から選択され、モノマーＢ上の１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ結合エピトープ残基は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３、Ａ５６、Ｙ１６８、Ｔ１６９およびＥ１７１からなる群から選択される。

【０２７２】

さらなる実施形態では、本開示のＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｓ１４９、Ｅ５０、Ｅ５２、Ａ５６、およびＹ１６８から選択される１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ残基を含むＴＬ１Ａ上のエピトープに結合し、ここで、モノマーＡ上の１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ結合エピトープ残基は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、およびＳ１４９からなる群から選択され、モノマーＢ上の１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ結合エピトープ残基は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｅ５０、Ｅ５２、Ａ５６、およびＹ１６８からなる群から選択される。

【０２７３】

別の実施形態では、本開示のＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｐ１１９、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｆ１４８、Ｓ１４９、Ｑ１５１、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｅ９１、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１から選択される１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ残基を含むＴＬ１Ａ上のエピトープに結合し、ここで、モノマーＡ上の１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ結合エピトープ残基は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｐ１１９、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｆ１４８、Ｓ１４９、およびＱ１５１からなる群から選択され、モノマーＢ上の１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ結合エピトープ残基は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｅ９１、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１からなる群から選択され、残基の重原子は、結合したＴＬ１Ａが１Ｄ１と共に見出される場合、抗体１Ｄ１　１．３１のアミノ酸残基の重原子の３．８Å以内に見出される。

【０２７４】

いくつかの実施形態では、本開示のＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２

２、Ｆ１４８、Ｓ１４９、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１から選択される１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ残基を含むＴＬ１Ａ上のエピトープに結合し、ここで、モノマーＡ上の１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ結合エピトープ残基は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｆ１４８、およびＳ１４９からなる群から選択され、モノマーＢ上の１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ結合エピトープ残基は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１からなる群から選択され、ＴＬ１Ａエピトープ残基は、ＴＬ１Ａ抗体がＴＬ１Ａに結合される場合、ＴＬ１Ａ抗体残基の重原子の３．８Å以内に見出される。

【０２７５】

別の実施形態では、抗体１Ｄ１は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｔ１１５、Ｙ１１８、Ｐ１２１、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｍ１４７、Ｆ１４８、Ｓ１４９、Ｑ１５１、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｈ５１、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｔ５８、Ｅ９１、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１から選択される１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ残基を含むＴＬ１Ａ上のエピトープに結合し、ここで、モノマーＡ上の１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ結合エピトープ残基は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｔ１１５、Ｙ１１８、Ｐ１２１、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｍ１４７、Ｆ１４８、Ｓ１４９、およびＱ１５１からなる群から選択され、モノマーＢ上の１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ結合エピトープ残基は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｈ５１、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｔ５８、Ｅ９１、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１からなる群から選択される。

【０２７６】

さらなる実施形態では、抗体１Ｄ１は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｙ１１８、Ｍ１４７、Ｓ１４９、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５５、Ａ５６、およびＹ１６８から選択される１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ残基を含むＴＬ１Ａ上のエピトープに結合し、ここで、モノマーＡ上の１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ結合エピトープ残基は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｙ１１８、Ｍ１４７、およびＳ１４９からなる群から選択され、モノマーＢ上の１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ結合エピトープ残基は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５５、Ａ５６、およびＹ１６８からなる群から選択され、エピトープは抗体１Ｄ１とＴＬ１Ａとの間の静電相互作用に関与する。

【０２７７】

さらなる実施形態では、抗体１Ｄ１は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｓ１４９、Ｑ１５１、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｔ５８、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１から選択される１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ残基を含むＴＬ１Ａ上のエピトープに結合し、ここで、モノマーＡ上の１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ結合エピトープ残基は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｓ１４９、およびＱ１５１からなる群から選択され、モノマーＢ上の１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ結合エピトープ残基は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｔ５８、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１からなる群から選択され、エピトープは抗体１Ｄ１とＴＬ１Ａとの間の静電相互作用に関与するか、または残基の周囲の埋まった表面積は、本発明のＴＬ１Ａ抗体もしくはその抗原結合断片に結合した場合、２０Å^{2}よりも大きい。

【０２７８】
いくつかの実施形態では、抗体１Ｄ１は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｙ１１８、Ｅ５０、Ｅ５２、およびＬ５３から選択される１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ残基を含むＴＬ１Ａ上のエピトープに結合し、ここで、Ｙ１１８はモノマーＡ上に見出され、モノマーＢ上の１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ結合エピトープ残基は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３からなる群から選択され、エピトープは抗体１Ｄ１とＴＬ１Ａとの間の塩架橋に関与するか、または残基の周囲の埋まった表面積は、本発明のＴＬ１Ａ抗体もしくはその抗原結合断片に結合した場合、１００Å^{2}よりも大きい。

【０２７９】
さらに別の実施形態では、抗体１Ｄ１は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｆ１４８、Ｓ１４９、Ｑ１５１、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｅ９１、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１から選択される１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ残基を含むＴＬ１Ａ上のエピトープに結合し、ここで、モノマーＡ上の１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ結合エピトープ残基は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｆ１４８、Ｓ１４９、およびＱ１５１からなる群から選択され、モノマーＢ上の１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ結合エピトープ残基は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｅ９１、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１からなる群から選択され、残基は、結合したＴＬ１Ａが１Ｄ１と共に見出される場合、抗体１Ｄ１の３．８Å以内に見出される。

【０２８０】
別の実施形態では、抗体１Ｄ１　１．３１は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｓ１１７、Ｙ１１８、Ｐ１１９、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｍ１４７、Ｆ１４８、Ｓ１４９、Ｑ１５１、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｈ５１、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１から選択される１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ残基を含むＴＬ１Ａ上のエピトープに結合し、ここで、モノマーＡ上の１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ結合エピトープ残基は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｓ１１７、Ｙ１１８、Ｐ１１９、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｍ１４７、Ｆ１４８、Ｓ１４９、およびＱ１５１からなる群から選択され、モノマーＢ上の１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ結合エピトープ残基は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｈ５１、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１からなる群から選択される。

【０２８１】
さらなる実施形態では、抗体１Ｄ１　１．３１は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｔ１２２、Ｓ１４９、Ｅ５０、Ｅ５２、Ａ５６、Ｙ１６８、Ｔ１６９、およびＥ１７１から選択される１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ残基を含むＴＬ１Ａ上のエピトープに結合し、ここで、モノマーＡ上の１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ結合エピトープ残基は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｔ１２２、およびＳ１４９からなる群から選択され、モノマーＢ上の１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ結合エピトープ残基は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｅ５０、Ｅ５２、Ａ５６、Ｙ１６８、Ｔ１６９、およびＥ１７１からなる群から選択され、エピトープは抗体１Ｄ１　１．３１とＴＬ１Ａとの間の静電相互作用に関与する。

【０２８２】
さらなる実施形態では、抗体１Ｄ１　１．３１は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａの

アミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｓ１１７、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｓ１４９、Ｑ１５１、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｙ１６８、Ｔ１６９、およびＥ１７１から選択される１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ残基を含むＴＬ１Ａ上のエピトープに結合し、ここで、モノマーＡ上の１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ結合エピトープ残基は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｓ１１７、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｓ１４９、およびＱ１５１からなる群から選択され、モノマーＢ上の１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ結合エピトープ残基は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｙ１６８、Ｔ１６９、およびＥ１７１からなる群から選択され、エピトープは抗体１Ｄ１　１．３１とＴＬ１Ａとの間の静電相互作用に関与するか、または残基の周囲の埋まった表面積は、抗体１Ｄ１　１．３１に結合した場合、２０Å^{2}よりも大きい。

【０２８３】

いくつかの実施形態では、抗体１Ｄ１　１．３１は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｅ５０、Ｅ５２、およびＬ５３から選択される１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ残基を含むＴＬ１Ａ上のエピトープに結合し、ここで、モノマーＡ上の１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ結合エピトープ残基は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、およびＴ１２２からなる群から選択され、モノマーＢ上の１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ結合エピトープ残基は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３からなる群から選択され、エピトープは抗体１Ｄ１とＴＬ１Ａとの間の塩架橋に関与するか、または残基の周囲の埋まった表面積は、本発明のＴＬ１Ａ抗体もしくはその抗原結合断片に結合した場合、１００Å^{2}よりも大きい。

【０２８４】

さらに別の実施形態では、抗体１Ｄ１　１．３１は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｐ１１９、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｆ１４８、Ｓ１４９、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１から選択される１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ残基を含むＴＬ１Ａ上のエピトープに結合し、ここで、モノマーＡ上の１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ結合エピトープ残基は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｐ１１９、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｆ１４８、およびＳ１４９からなる群から選択され、モノマーＢ上の１つまたはそれ以上のＴＬ１Ａ結合エピトープ残基は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、およびＥ１７１からなる群から選択され、残基は、結合したＴＬ１Ａが１Ｄ１と共に見出される場合、抗体１Ｄ１　１．３１の３．８Å以内に見出される。

【０２８５】

さらなる実施形態では、抗体１Ｄ１は、配列番号１０４の配列に関するＫａｂａｔの番号付けに基づく、Ｇｌｙ２６、Ｔｙｒ２７、Ｓｅｒ２８、Ｔｈｒ３０、Ｔｙｒ３１、Ｔｒｐ５０、Ｔｙｒ５３、Ａｓｎ５４、Ａｓｎ５６、Ａｓｎ５８、Ｔｈｒ７３、Ａｒｇ７６、Ｔｙｒ９７、Ｇｌｙ９９、Ｓｅｒ１００、Ｇｌｙ１００Ａ、Ｓｅｒ１００Ｂ、およびＡｒｇ１００Ｄから選択される１つまたはそれ以上の重鎖可変ドメイン残基と、配列番号１０２に関するＫａｂａｔの番号付けに基づくＴｙｒ３２およびＴｒｐ９４から選択される１つまたはそれ以上の軽鎖可変ドメイン残基とを包含するパラトープを含む。

【０２８６】

さらに別の実施形態では、抗体１Ｄ１　１．３１は、配列番号１０４の配列に関するＫａｂａｔの番号付けに基づく、Ｇｌｙ２６、Ａｓｐ２８、Ｔｈｒ３０、Ｔｙｒ３１、Ｔｒｐ５０、Ｔｙｒ５３、Ａｓｎ５４、Ａｓｎ５６、Ｈｉｓ５８、Ｔｈｒ７３、Ａｒｇ７６、Ｔｙｒ９７、Ｇｌｙ９９、Ｓｅｒ１００、Ｇｌｙ１００Ａ、Ｓｅｒ１００Ｂ、およびＡｒ

ｇ１００Ｄから選択される１つまたはそれ以上の重鎖可変ドメイン残基と、配列番号１０２に関するＫａｂａｔの番号付けに基づくＴｙｒ３２およびＴｒｐ９４から選択される１つまたはそれ以上の軽鎖可変ドメイン残基とを包含するパラトープを含む。

【０２８７】

本発明の抗体またはその抗原結合断片は、本明細書に記載のＴＬ１Ａへの結合について、本発明の別の抗体またはその抗原結合断片と競合するか、または交差競合する能力を有してもよい。例えば、本発明の抗体またはその抗原結合断片は、ＴＬ１Ａ、または本明細書に開示される抗体により結合されるＴＬ１Ａの好適な断片もしくは変異体への結合について、本明細書に記載の抗体と競合または交差競合してもよい。

【０２８８】

すなわち、第１の抗体がＴＬ１Ａへの結合について第２の抗体と競合するが、それが第２の抗体がＴＬ１Ａに最初に結合する場合には競合しない場合、それは第２の抗体と競合すると依然として見なされる（一方向性競合とも呼ばれる）。抗体がＴＬ１Ａに最初に結合するかどうかに関係なく、抗体が別の抗体と競合する場合、抗体は他の抗体とＴＬ１Ａへの結合について交差競合する。そのような競合または交差競合抗体を、標準的な結合アッセイにおいて本発明の既知の抗体またはその抗原結合断片と競合／交差競合するその能力に基づいて同定することができる。例えば、Ｂｉａｃｏｒｅ（商標）システムを用いることなどによるＳＰＲ、ＥＬＩＳＡアッセイまたはフローサイトメトリーを用いて、競合／交差競合を証明することができる。そのような競合／交差競合は、２つの抗体が同一の、重複する、または類似するエピトープに結合することを示唆してもよい。

【０２８９】

したがって、本発明の抗体またはその抗原結合断片を、試験抗体が、標的分子上の結合部位について本発明の参照抗体またはその抗原結合断片（例えば、特に、１Ｄ１、１Ｄ１変異体、７Ｄ４、９Ｂ３、および２６Ｂ１１）と競合／交差競合することができるかどうかを評価する結合アッセイを含む方法によって同定することができる。競合的結合アッセイを実行するための方法は、本明細書に開示される、および／または当技術分野で周知である。例えば、それらは、抗体が標的分子に結合することができる条件を用いて、本発明の参照抗体またはその抗原結合断片を標的分子に結合させることを含んでもよい。次いで、抗体／標的複合体を試験／第２抗体に曝露し、試験抗体が抗体／標的複合体から本発明の参照抗体またはその抗原結合断片を除去することができる程度を評価することができる。代替的な方法は、抗体結合を可能にする条件下で試験抗体を標的分子と接触させること、次いで、その標的分子に結合することができる本発明の参照抗体またはその抗原結合断片を添加すること、および本発明の参照抗体またはその抗原結合断片が抗体／標的複合体から試験抗体を除去するか、または標的（すなわち、非競合抗体）に同時に結合することができる程度を評価することを含んでもよい。

【０２９０】

標的への本発明の参照抗体またはその抗原結合断片の結合を阻害する試験抗体の能力は、試験抗体が標的への結合について本発明の参照抗体またはその抗原結合断片と競合することができること、およびしたがって、試験抗体が本発明の参照抗体またはその抗原結合断片と同じか、または実質的に同じＴＬ１Ａタンパク質上のエピトープまたは領域に結合することを証明する。そのような方法において本発明の参照抗体またはその抗原結合断片と競合すると同定される試験抗体は、本発明の抗体またはその抗原結合断片でもある。試験抗体が本発明の参照抗体またはその抗原結合断片と同じ領域中でＴＬ１Ａに結合することができ、本発明の参照抗体またはその抗原結合断片と競合することができるという事実は、試験抗体が本発明の抗体またはその抗原結合断片と同じ結合部位でリガンドとして作用することができ、したがって試験抗体が参照抗体の作用を模倣することができ、したがって、本発明の抗体またはその抗原結合断片であることを示唆する。これを、本明細書の他の場所でより完全に説明されるアッセイを用いて、さもなければ同一の条件下、試験抗体の存在下でのＴＬ１Ａの活性と、参照抗体の存在下でのＴＬ１Ａの活性とを比較することにより確認することができる。

【０２９１】
本発明の参照抗体またはその抗原結合断片は、１Ｄ１、１Ｄ１　１．２７、１Ｄ１　１．２８、１Ｄ１　１．２９、１Ｄ１　１．３０、１Ｄ１　１．３１、１Ｄ１　１．３２、１Ｄ１　１．３３、１Ｄ１　１．３４、１５Ａ９、１５Ｃ１１、７Ｄ４、２２Ｆ９、９Ｂ３、２Ｂ１１などの本明細書に記載の抗体、またはＴＬ１Ａに結合する能力を保持する本明細書に記載のその任意の変異体もしくは断片であってもよい。本発明の抗体またはその抗原結合断片は、本明細書に記載の参照抗体またはＴＬ１Ａに結合する能力を保持する本明細書に記載のその任意の変異体もしくは断片と同じエピトープに結合することができる。

【０２９２】
本明細書の他の場所で以前に記述されたように、特異的結合を、標的ではない分子への抗体の結合を参照して評価することができる。この比較を、標的および別の分子に結合する抗体の能力を比較することにより行うことができる。この比較を、K_DまたはK_iの評価において上記のように行うことができる。そのような比較において用いられる他の分子は、標的分子ではない任意の分子であってもよい。好ましくは、他の分子は、標的分子と同一ではない。好ましくは、標的分子は、標的分子の断片ではない。

【０２９３】
本発明の抗体またはその抗原結合断片のK_Dは、５０ｎＭ未満、例えば、１０ｎＭ未満、例えば、５ｎＭ未満、例えば、１ｎＭ未満、例えば、７５０ｐＭ未満、例えば、５００ｐＭ未満、例えば、１００ｐＭ未満、例えば、５０ｐＭ未満、例えば、２５ｐＭ未満、例えば、２０ｐＭ未満、例えば、１０ｐＭ未満、例えば、９ｐＭ未満、例えば、８ｐＭ未満、例えば、７ｐＭ未満、例えば、６ｐＭ未満、例えば、５ｐＭ未満、例えば、４ｐＭ未満、例えば、３ｐＭ未満、例えば、２ｐＭ未満、例えば、１ｐＭ未満、例えば、２０ｐＭ～１ｐＭであってもよい。

【０２９４】
他の実施形態では、ＴＬ１ＡへのＴＬ１Ａ抗体の結合親和性（K_D）は、約０．００１～約２５０ｎＭであってもよい。いくつかの実施形態では、結合親和性は、約２００ｎＭ、約１００ｎＭ、約５０ｎＭ、約１０ｎＭ、約１ｎＭ、約５００ｐＭ、約１００ｐＭ、約６０ｐＭ、約５０ｐＭ、約２０ｐＭ、約１５ｐＭ、約１０ｐＭ、約５ｐＭ、約２ｐＭ、または約１ｐＭのいずれかである。いくつかの実施形態では、結合親和性は、約２５０ｎＭ、約２００ｎＭ、約１００ｎＭ、約５０ｎＭ、約１０ｎＭ、約１ｎＭ、約５００ｐＭ、約１００ｐＭ、約５０ｐＭ、約２０ｐＭ、約１０ｐＭ、約５ｐＭ、約２ｐＭ、または約１ｐＭのいずれかより低い。いくつかの実施形態では、ＴＬ１Ａ抗体のK_Dは、約７０ｐＭ～約１ｐＭの範囲である。いくつかの実施形態では、ヒトＴＬ１Ａに関するＴＬ１Ａ抗体のK_Dは、約３０ｐＭ～約２ｐＭの範囲である。いくつかの実施形態では、本発明のＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片の結合親和性は、約６９ｐＭ、約２８ｐＭ、約２５ｐＭ、約１５ｐＭ、約１３ｐＭ、約１０ｐＭ、約４ｐＭ、および約２ｐＭである。

【０２９５】
特異的結合を決定するために用いられる他の分子は、構造または機能において標的と関連しなくてもよい。例えば、他の分子は、環境中の非関連材料または付随する材料であってもよい。

【０２９６】
特異的結合を決定するために用いられる他の分子は、標的分子、すなわち、ＴＬ１Ａと同じｉｎ　ｖｉｖｏ経路に関与する別の分子であってもよい。本発明の抗体またはその抗原結合断片が別のそのような分子を超えるＴＬ１Ａに対する特異性を有することを確保することにより、望ましくないｉｎ　ｖｉｖｏでの交差反応を回避することができる。

【０２９７】
本発明の抗体またはその抗原結合断片は、標的分子と関連するいくつかの分子に結合する能力を保持してもよい。

【０２９８】

あるいは、本発明の抗体またはその抗原結合断片は、特定の標的分子に対する特異性を有してもよい。例えば、それは本明細書に記載の１つの標的分子に結合してもよいが、結合しなくてもよく、または本明細書に記載の異なる標的分子に有意に低下した親和性で結合してもよい。例えば、完全長成熟ヒトＴＬ１Ａを標的として用いてもよいが、その標的に結合する抗体は、他の哺乳動物ＴＬ１Ａなどの他の種に由来する他のＴＬ１Ａタンパク質に結合することができないか、またはより低い親和性でそれに結合してもよい。

【０２９９】

本発明の抗体またはその抗原結合断片は、ＴＬ１Ａに結合し、そうすることにおいて、ＴＬ１Ａの活性を阻害してもよい。

【０３００】

本発明によるポリペプチドまたは抗体「断片」もしくは「部分」を、トランケーション、例えば、ポリペプチドのＮおよび／またはＣ末端からの１つまたはそれ以上のアミノ酸の除去によって作製することができる。最大で１０個、最大で２０個、最大で３０個、最大で４０個以上のアミノ酸を、このようにＮおよび／またはＣ末端から除去することができる。また、断片を１つまたはそれ以上の内部欠失により生成することもできる。

【０３０１】

本発明の抗体またはその抗原結合断片は、抗体１Ｄ１、１Ｄ１　１．２７、１Ｄ１　１．２８、１Ｄ１　１．２９、１Ｄ１　１．３０、１Ｄ１　１．３１、１Ｄ１　１．３２、１Ｄ１　１．３３、１Ｄ１　１．３４、１５Ａ９、１５Ｃ１１、７Ｄ４、２２Ｆ９、９Ｂ３、２Ｂ１１のいずれか１つの断片、またはその変異体であるか、またはそれを含んでもよい。本発明の抗体またはその抗原結合断片は、この抗体の抗原結合部分またはその変異体であるか、またはそれを含んでもよい。例えば、本発明の抗体またはその抗原結合断片は、この抗体のＦａｂ断片もしくはその変異体であるか、またはこの抗体から誘導される単鎖抗体もしくはその変異体であってもよい。

【０３０２】

変異体抗体は、上記で論じた特定の配列および断片からの１、２、３、４、５、最大１０、最大２０、最大３０個以上のアミノ酸置換および／または欠失および／または挿入を含んでもよい。「欠失」変異体は、個々のアミノ酸の欠失、２、３、４もしくは５アミノ酸などの小群のアミノ酸の欠失、または特定のアミノ酸ドメインもしくは他の特徴の欠失などのより大きいアミノ酸領域の欠失を含んでもよい。「挿入」変異体は、個々のアミノ酸の挿入、２、３、４もしくは５アミノ酸などの小群のアミノ酸の挿入、または特定のアミノ酸ドメインもしくは他の特徴の挿入などのより大きいアミノ酸領域の挿入を含んでもよい。「置換」変異体は、好ましくは、１つまたはそれ以上のアミノ酸の、同じ数のアミノ酸による置き換えおよび保存的アミノ酸置換の作製を含む。例えば、アミノ酸を、類似する特性を有する代替的なアミノ酸、例えば、別の塩基性アミノ酸、別の酸性アミノ酸、別の中性アミノ酸、別の荷電アミノ酸、別の親水性アミノ酸、別の疎水性アミノ酸、別の極性アミノ酸、別の芳香族アミノ酸または別の脂肪族アミノ酸で置換することができる。好適な置換基を選択するために用いることができる２０種の主要アミノ酸のいくつかの特性は以下の通りである。

【０３０３】

置換変異体は、抗体中の少なくとも１つのアミノ酸残基が除去されており、異なる残基がその代わりに挿入されたものである。置換突然変異誘発のための最大の対象となる部位としては、超可変領域が挙げられるが、フレームワーク変化も企図される。保存的置換を、「保存的置換」の見出しの下に表１中に示す。そのような置換が生物活性の変化をもたらす場合、以下に示される「例示的置換」と命名され、またはアミノ酸クラスを参照して以下にさらに記載される、より実質的な変化を導入し、生成物をスクリーニングすることができる。

【０３０４】

【表１】

表 1: アミノ酸置換

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

【０３０５】

抗体の生物学的特性の実質的な改変は、（ａ）例えば、β－シートもしくはらせんコンフォメーションとしての、置換のエリアにおけるポリペプチド骨格の構造、（ｂ）標的部位での分子の電荷もしくは疎水性、または（ｃ）側鎖の嵩を維持することに対するその効果において有意に異なる置換を選択することにより達成される。天然の残基は、共通の側鎖特性に基づいて群に分けられる：

（１）非極性：ノルロイシン、Ｍｅｔ、Ａｌａ、Ｖａｌ、Ｌｅｕ、Ｉｌｅ；

（２）電荷を持たない極性：Ｃｙｓ、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ、Ａｓｎ、Ｇｌｎ；

（３）酸性（負に荷電）：Ａｓｐ、Ｇｌｕ；

（４）塩基性（正に荷電）：Ｌｙｓ、Ａｒｇ；

（５）鎖の向きに影響する残基：Ｇｌｙ、Ｐｒｏ；および

（６）芳香族：Ｔｒｐ、Ｔｙｒ、Ｐｈｅ、Ｈｉｓ。

【０３０６】

非保存的置換は、これらのクラスの１つのメンバーを別のクラスに交換することによって作製される。

【０３０７】

例えば、行うことができる１つの型の置換は、化学的に反応性であってもよい抗体中の１つまたはそれ以上のシステインを、限定されるものではないが、アラニンまたはセリン

などの別の残基に変化させることである。例えば、非標準システインの置換が存在してもよい。置換を、抗体の可変ドメインのＣＤＲもしくはフレームワーク領域または抗体の定常領域中で作製することができる。いくつかの実施形態では、システインは標準である。抗体の適切なコンフォメーションの維持に関与しない任意のシステイン残基を、一般的には、セリンで置換して、分子の酸化安定性を改善し、異常な架橋を防止することもできる。逆に、特に、抗体がＦｖ断片などの抗体断片である場合、システイン結合を抗体に付加して、その安定性を改善することができる。

【０３０８】

本発明はまた、ＴＬ１Ａ抗体を生成、選択、および作製する方法も提供する。本発明の抗体を、当技術分野で公知の手順によって作製することができる。いくつかの実施形態では、抗体を組換え的に作製し、当技術分野で公知の任意の方法を用いて発現させることができる。

【０３０９】

いくつかの実施形態では、ファージディスプレイ技術によって抗体を調製および選択することができる。例えば、米国特許第５，５６５，３３２号；第５，５８０，７１７号；第５，７３３，７４３号；および第６，２６５，１５０号；ならびにＷｉｎｔｅｒら、Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１２：４３３～４５５頁、１９９４を参照されたい。あるいは、ファージディスプレイ技術（ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙら、Ｎａｔｕｒｅ　３４８：５５２～５５３頁、１９９０）を用いて、免疫感作されていないドナーに由来する免疫グロブリン可変（Ｖ）ドメイン遺伝子レパートリーから、ｉｎ　ｖｉｔｒｏでヒト抗体および抗体断片を生成することができる。この技術に従って、抗体Ｖドメイン遺伝子を、Ｍ１３またはｆｄなどの、線維性バクテリオファージのメジャーまたはマイナーコートタンパク質遺伝子にインフレームでクローニングし、ファージ粒子の表面上に機能的抗体断片として提示する。線維性粒子はファージゲノムの一本鎖ＤＮＡコピーを含有するため、抗体の機能的特性に基づく選択は、これらの特性を示す抗体をコードする遺伝子の選択をももたらす。したがって、ファージはＢ細胞のいくつかの特性を模倣する。ファージディスプレイを、様々な形式で実施することができる；概説については、例えば、Ｊｏｈｎｓｏｎ，　Ｋｅｖｉｎ　Ｓ．およびＣｈｉｓｗｅｌｌ，　Ｄａｖｉｄ　Ｊ．、Ｃｕｒｒｅｎｔ　Ｏｐｉｎｉｏｎ　ｉｎ　Ｓｔｒｕｃｔｕｒａｌ　Ｂｉｏｌｏｇｙ　３：５６４～５７１頁、１９９３を参照されたい。Ｖ遺伝子セグメントのいくつかの供給源をファージディスプレイのために用いることができる。Ｃｌａｃｋｓｏｎら、Ｎａｔｕｒｅ　３５２：６２４～６２８頁、１９９１は、免疫感作されたマウスの脾臓から誘導されるＶ遺伝子の小さい無作為なコンビナトリアルライブラリーから、抗オキサゾロン抗体の多様なアレイを単離した。ヒトドナーに由来するＶ遺伝子のレパートリーを構築し、抗原（自己抗原を含む）の多様なアレイに対する抗体を、本質的には、Ｍａｒｋら、１９９１、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２２：５８１～５９７頁、またはＧｒｉｆｆｉｔｈら、１９９３、ＥＭＢＯ　Ｊ．１２：７２５～７３４頁により記載された技術に従って単離することができる。天然の免疫応答においては、抗体遺伝子は高率で突然変異を蓄積させる（体細胞超変異）。導入されるいくつかの変化はより高い親和性を提供し、高親和性表面免疫グロブリンを提示するＢ細胞がその後の抗原チャレンジの間に選択的に複製および分化される。この天然のプロセスを、「鎖シャッフリング」として知られる技術を用いることによって模倣することができる（Ｍａｒｋｓら、１９９２、Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌ．１０：７７９～７８３頁）。この方法において、ファージディスプレイにより得られる「一次」ヒト抗体の親和性を、重鎖および軽鎖Ｖ領域を、免疫感作されていないドナーから得られるＶドメイン遺伝子の天然変異体のレパートリー（レパートリー）で連続的に置き換えることにより改善することができる。この技術により、ｐＭ～ｎＭ範囲の親和性を有する抗体および抗体断片の生成が可能になる。非常に大きいファージ抗体レパートリー（「究極のライブラリー」としても知られる）を作製するための戦略は、Ｗａｔｅｒｈｏｕｓｅら、Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．２１：２２６５～２２６６頁、１９９３により記載されている。遺伝子シャッフリングを用いて、げっ歯類抗体から、出発げっ歯類抗体と類似する親和性およ

び特異性を有するヒト抗体を誘導することもできる。「エピトープマッピング」とも呼ばれるこの方法に従って、ファージディスプレイ技術により得られるげっ歯類抗体の重鎖または軽鎖Ｖドメイン遺伝子を、ヒトＶドメイン遺伝子のレパートリーと置き換えて、げっ歯類－ヒトキメラを作出する。抗原上での選択は、機能的抗原結合部位を修復することができるヒト可変領域の単離をもたらす、すなわち、エピトープはパートナーの選択を支配する（刷り込む）。残りのげっ歯類Ｖドメインを置き換えるためにプロセスを繰り返す場合、ヒト抗体が得られる（ＰＣＴ公開第ＷＯ９３／０６２１３号を参照されたい）。ＣＤＲ移植によるげっ歯類抗体の伝統的なヒト化と違って、この技術はげっ歯類起源のフレームワークまたはＣＤＲ残基を有さない完全ヒト抗体を提供する。

【０３１０】

いくつかの実施形態では、抗体を、ハイブリドーマ技術を用いて作製することができる。ヒトまたはそれに由来する抗体生成細胞を含む任意の哺乳動物対象を、ヒト、ハイブリドーマ細胞株を含む哺乳動物の生成のための基礎として役立つように操作することができる。宿主動物の免疫感作の経路およびスケジュールは、一般に、本明細書にさらに記載されるように、抗体の刺激および生成のための確立された従来の技術を踏まえたものである。典型的には、宿主動物に、本明細書に記載のものを含む一定量の免疫原を腹腔内的、筋肉内的、経口的、皮下的、足底内的、および／または皮内的に接種する。

【０３１１】

Ｋｏｈｌｅｒ，Ｂ．およびＭｉｌｓｔｅｉｎ，Ｃ．、１９７５、Ｎａｔｕｒｅ ２５６：４９５～４９７頁の一般的な体細胞ハイブリドーマ技術を用いて、またはＢｕｃｋ，Ｄ．Ｗ．ら、Ｉｎ Ｖｉｔｒｏ、１８：３７７～３８１頁、１９８２により改変されたように、リンパ球および不死化ミエローマ細胞からハイブリドーマを調製することができる。限定されるものではないが、Ｘ６３－Ａｇ８．６５３およびＳａｌｋ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ、Ｃｅｌｌ Ｄｉｓｔｒｉｂｕｔｉｏｎ Ｃｅｎｔｅｒ、Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ、Ｃａｌｉｆ．、ＵＳＡなどの利用可能なミエローマ株を、ハイブリダイゼーションにおいて用いることができる。一般に、その技術は、ポリエチレングリコールなどの融合原を用いて、または当業者には周知の電気的手段によりミエローマ細胞とリンパ系細胞を融合することを含む。融合後、細胞を融合培地から分離し、ヒポキサンチン－アミノプテリン－チミジン（ＨＡＴ）培地などの選択増殖培地中で増殖させて、ハイブリダイズしなかった親細胞を除去する。血清を添加した、または添加しない本明細書に記載の培地のいずれかを、モノクローナル抗体を分泌するハイブリドーマを培養するために用いることができる。細胞融合技術に対する別の代替手段として、ＥＢＶ不死化Ｂ細胞を用いて、本発明のＴＬ１Ａモノクローナル抗体を生成することができる。ハイブリドーマまたは他の不死化Ｂ細胞を拡張およびサブクローニングし、必要に応じて、従来のイムノアッセイ手順（例えば、ラジオイムノアッセイ、酵素イムノアッセイ、または蛍光イムノアッセイ）により抗免疫原活性について上清をアッセイする。

【０３１２】

抗体の供給源として用いることができるハイブリドーマは、ＴＬ１Ａ、またはその一部に対して特異的なモノクローナル抗体を生成する親ハイブリドーマの全ての誘導体、子孫細胞を包含する。

【０３１３】

そのような抗体を生成するハイブリドーマを、公知の手順を用いてｉｎ ｖｉｔｒｏまたはｉｎ ｖｉｖｏで増殖させることができる。モノクローナル抗体を、必要に応じて、硫酸アンモニウム沈降、ゲル電気泳動、透析、クロマトグラフィー、および限外濾過などの従来の免疫グロブリン精製手順により培養培地または体液から単離することができる。存在する場合、望ましくない活性を、例えば、固相に結合した免疫原から作られる吸着体上で調製物を泳動し、免疫原から所望の抗体を溶出させるか、または遊離されることにより除去することができる。二官能性薬剤または誘導体化剤、例えば、マレイミドベンゾイルスルホスクシンイミドエステル（システイン残基を介するコンジュゲーション）、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミド（リシン残基を介する）、グルタルアルデヒド、無水コハク酸

、ＳＯＣｌ$_2$、またはＲ^{1}Ｎ＝Ｃ＝ＮＲ（式中、ＲおよびＲ^{1}は異なるアルキル基である）を用いた、ＴＬ１Ａポリペプチド、または免疫感作される種において免疫原性であるタンパク質、例えば、キーホールリンペットヘモシアニン、血清アルブミン、ウシサイログロブリン、もしくは大豆トリプシン阻害剤にコンジュゲートされた標的アミノ酸配列を含有する断片による宿主動物の免疫感作により、抗体（例えば、モノクローナル抗体）の集団が得られる。

【０３１４】

必要に応じて、対象となるＴＬ１Ａ抗体（モノクローナルまたはポリクローナル）を配列決定した後、ポリヌクレオチド配列を発現または増殖のためにベクター中にクローニングすることができる。対象となる抗体またはその抗原結合断片をコードする配列を、宿主細胞中のベクター中で維持した後、宿主細胞を拡張し、将来の使用のために凍結することができる。細胞培養物中での組換えモノクローナル抗体の生成を、当技術分野で公知の手段によるＢ細胞からの抗体遺伝子のクローニングによって実行することができる。例えば、Ｔｉｌｌｅｒら、２００８、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ　３２９、１１２頁；米国特許第７，３１４，６２２号を参照されたい。

【０３１５】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド配列を、抗体をヒト化するため、または親和性、もしくは抗体の他の特徴を改善するための遺伝子操作のために用いることができる。また、抗体を、例えば、イヌ、ネコ、霊長類、ウマおよびウシにおける使用のためにカスタマイズすることもできる。

【０３１６】

いくつかの実施形態では、完全ヒト抗体を、特定のヒト免疫グロブリンタンパク質を発現するように操作された商業的に入手可能なマウスを用いることにより取得することができる。より望ましい（例えば、完全ヒト抗体）またはより強固な免疫応答を生成するように設計されるトランスジェニック動物を、ヒト化またはヒト抗体の生成のために用いることもできる。そのような技術の例は、Ａｂｇｅｎｉｘ，Ｉｎｃ．（Ｆｒｅｍｏｎｔ、ＣＡ）からのＸｅｎｏｍｏｕｓｅ（商標）ならびにＭｅｄａｒｅｘ，Ｉｎｃ．（Ｐｒｉｎｃｅｔｏｎ、ＮＪ）からのＨｕＭＡｂ－Ｍｏｕｓｅ（登録商標）およびＴＣ　Ｍｏｕｓｅ（商標）である。

【０３１７】

最初に宿主動物から抗体および抗体生成細胞を単離し、遺伝子配列を取得し、ならびに宿主細胞（例えば、ＣＨＯ細胞）中で組換え的に抗体を発現させるためにその遺伝子配列を用いることにより、抗体を組換え的に作製することができる。用いることができる別の方法は、植物（例えば、タバコ）またはトランスジェニックミルク中で抗体配列を発現させることである。植物またはミルク中で組換え的に抗体を発現させるための方法が開示されている。例えば、Ｐｅｅｔｅｒｓら、Ｖａｃｃｉｎｅ　１９：２７５６頁、２００１；Ｌｏｎｂｅｒｇ，Ｎ．およびＤ．Ｈｕｓｚａｒ　Ｉｎｔ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ　１３：６５頁、１９９５；ならびにＰｏｌｌｏｃｋら、Ｊ　Ｉｍｍｕｎｏｌ　Ｍｅｔｈｏｄｓ　２３１：１４７頁、１９９９を参照されたい。抗体の誘導体、例えば、ドメイン抗体、単鎖抗体などを作製するための方法は当技術分野で公知である。

【０３１８】

イムノアッセイおよび蛍光活性化細胞選別（ＦＡＣＳ）などのフローサイトメトリー選別技術を用いて、ＴＬ１Ａに特異的である抗体を単離することもできる。

【０３１９】

モノクローナル抗体をコードするＤＮＡは、従来の手順を用いて（例えば、モノクローナル抗体の重鎖および軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合することができるオリゴヌクレオチドプローブを用いることにより）容易に単離および配列決定される。ハイブリドーマ細胞は、そのようなＤＮＡの好ましい供給源として役立つ。一度単離されたら、ＤＮＡを発現ベクター（ＰＣＴ公開第ＷＯ８７／０４４６２号に開示された発現ベクターなど）に入れた後、大腸菌細胞、サルＣＯＳ細胞、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細

胞、またはそうでなければ免疫グロブリンタンパク質を生成しないミエローマ細胞などの宿主細胞中にトランスフェクトして、組換え宿主細胞中でのモノクローナル抗体の合成を得ることができる。例えば、ＰＣＴ公開第ＷＯ８７／０４４６２号を参照されたい。また、例えば、コード配列を、相同なマウス配列の代わりにヒト重鎖および軽鎖定常ドメインに置換することにより（Ｍｏｒｒｉｓｏｎら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．８１：６８５１頁、１９８４）、または非免疫グロブリンポリペプチドのコード配列の全部もしくは一部を免疫グロブリンコード配列に共有的に連結することにより、ＤＮＡを改変することもできる。その様式で、本明細書のＴＬ１Ａ抗体の結合特異性を有するキメラまたはハイブリッド抗体を調製する。

【０３２０】

抗体断片を、上記の組換え方法（すなわち、単一もしくは融合ポリペプチド）により、または化学的合成により、抗体のタンパク質分解または他の分解により生成することができる。抗体のポリペプチド、特に、約５０アミノ酸までのより短いポリペプチドは、化学的合成により都合よく作製される。化学的合成の方法は当技術分野で公知であり、商業的に入手可能である。例えば、抗体を、固相法を用いる自動化ポリペプチド合成装置により生成することができる。また、米国特許第５，８０７，７１５号；第４，８１６，５６７号；および第６，３３１，４１５号も参照されたい。

【０３２１】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、本開示のＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片の重鎖および／または軽鎖可変領域をコードする配列を含む。対象となる抗体またはその抗原結合断片をコードする配列を、宿主細胞中のベクター中で維持した後、宿主細胞を拡張し、将来の使用のために凍結することができる。ベクター（発現ベクターを含む）および宿主細胞は、本明細書にさらに記載される。

【０３２２】

本発明は、親和性成熟された実施形態を含む。例えば、親和性成熟された抗体を、当技術分野で公知の手順により生成することができる（Ｍａｒｋｓら、１９９２、Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、１０：７７９～７８３頁；Ｂａｒｂａｓら、１９９４、Ｐｒｏｃ Ｎａｔ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ，ＵＳＡ ９１：３８０９～３８１３頁；Ｓｃｈｉｅｒら、１９９５、Ｇｅｎｅ、１６９：１４７～１５５頁；Ｙｅｌｔｏｎら、１９９５、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１５５：１９９４～２００４頁；Ｊａｃｋｓｏｎら、１９９５、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ、１５４（７）：３３１０～９頁；Ｈａｗｋｉｎｓら、１９９２、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、２２６：８８９～８９６頁；およびＰＣＴ公開第ＷＯ２００４／０５８１８４号）。

【０３２３】

以下の方法を、抗体の親和性を調整するため、およびＣＤＲを特徴付けるために用いることができる。抗体のＣＤＲを特徴付ける、および／または抗体などのポリペプチドの結合親和性を変化させる（改善するなど）１つの方法は、「ライブラリー走査突然変異誘発」と呼ばれる。一般に、ライブラリー走査突然変異誘発は、以下のように作用する。ＣＤＲ中の１つまたはそれ以上のアミノ酸位置を、認識された方法を用いて、２つ以上（３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、または２０など）のアミノ酸と置き換える。これにより、それぞれ、２つ以上のメンバーの複雑性を有する（２つ以上のアミノ酸が全ての位置で置換される）、クローンの小さいライブラリー（いくつかの実施形態では、分析される全てのアミノ酸位置に関するもの）が生成される。一般に、ライブラリーは、天然（非置換）アミノ酸を含むクローンも含む。各ライブラリーからの少数のクローン、例えば、約２０～８０個のクローン（ライブラリーの複雑性に依存する）を、標的ポリペプチド（または他の結合標的）に対する結合親和性についてスクリーニングし、結合が増加した、同じである、減少した、または結合がない候補を同定する。結合親和性を決定するための方法は当技術分野で周知である。結合親和性を、例えば、約２倍以上の結合親和性の差異を検出する、Ｂｉａｃｏｒｅ（商標）表面プラズモン共鳴分析、Ｋｉｎｅｘａ（登録商標）Ｂｉｏｓｅｎｓｏｒ、シンチレ

ーション近接アッセイ、ＥＬＩＳＡ、ＯＲＩＧＥＮ（登録商標）イムノアッセイ、蛍光クエンチング、蛍光移動、および／または酵母ディスプレイを用いて決定することができる。結合親和性を、好適なバイオアッセイを用いてスクリーニングすることもできる。Ｂｉａｃｏｒｅ（商標）は、出発抗体が比較的高い親和性、例えば、約１０ｎＭ以下のK_Dで既に結合する場合、特に有用である。

【０３２４】

いくつかの実施形態では、ＣＤＲ中の全てのアミノ酸位置を、当技術分野で認識される突然変異誘発法（そのうちのいくつかは本明細書に記載される）を用いて２０種全ての天然アミノ酸と置き換える（いくつかの実施形態では、同時に１つ）。これにより、それぞれ、２０のメンバーの複雑性を有する（２０種全てのアミノ酸が全ての位置で置換される場合）、クローンの小さいライブラリー（いくつかの実施形態では、分析される全てのアミノ酸位置に関するもの）が生成される。

【０３２５】

いくつかの実施形態では、スクリーニングされるライブラリーは、同じＣＤＲまたは２つ以上のＣＤＲ中にあってもよい、２つ以上の位置に置換を含む。したがって、ライブラリーは、１つのＣＤＲ中の２つ以上の位置に置換を含んでもよい。ライブラリーは、２つ以上のＣＤＲ中の２つ以上の位置に置換を含んでもよい。ライブラリーは、２、３、４、５または６つのＣＤＲ中に見出される、３、４、５つ以上の位置に置換を含んでもよい。置換を、低冗長性コドンを用いて調製することができる。例えば、Ｂａｌｉｎｔら、１９９３、Ｇｅｎｅ　１３７（１）：１０９～１８頁の表２を参照されたい。

【０３２６】

ＣＤＲは、重鎖可変領域（ＶＨ）ＣＤＲ３および／または軽鎖可変領域（ＶＬ）ＣＤＲ３であってもよい。ＣＤＲは、ＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、ＶＨ　ＣＤＲ３、ＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、および／またはＶＬ　ＣＤＲ３のうちの１つまたはそれ以上であってもよい。ＣＤＲは、ＫａｂａｔのＣＤＲ、ＣｈｏｔｈｉａのＣＤＲ、拡張ＣＤＲ、ＡｂＭ　ＣＤＲ、ｃｏｎｔａｃｔ　ＣＤＲ、またはコンフォメーションＣＤＲであってもよい。

【０３２７】

結合が改善された候補を配列決定することによって、親和性の改善をもたらすＣＤＲ置換突然変異体を同定することができる（「改善された」置換とも呼ばれる）。結合する候補を配列決定することによって、結合を保持するＣＤＲ置換を同定することもできる。

【０３２８】

複数回のスクリーニングを行ってもよい。例えば、結合が改善された候補（それぞれ、１つまたはそれ以上のＣＤＲの１つまたはそれ以上の位置にアミノ酸置換を含む）は、それぞれ改善されたＣＤＲ位置（すなわち、置換突然変異体が結合の改善を示したＣＤＲ中のアミノ酸位置）に少なくとも元のアミノ酸および置換されたアミノ酸を含有する第２のライブラリーの設計にとっても有用である。このライブラリーの調製、およびスクリーニングまたは選択は、以下でさらに論じられる。

【０３２９】

ライブラリー走査突然変異誘発は、結合が改善した、結合が同じである、結合が減少した、または結合がないクローンの頻度が抗体－抗原複合体の安定性のためのそれぞれのアミノ酸位置の重要性に関する情報も提供する限りにおいて、ＣＤＲを特徴付けるための手段も提供する。例えば、ＣＤＲの位置が２０種全てのアミノ酸に変化した場合に結合を保持する場合、その位置は抗原結合にとって必要である可能性が低い位置と同定される。逆に、ＣＤＲの位置が小さいパーセンテージの置換のみにおいて結合を保持する場合、その位置はＣＤＲ機能にとって重要である位置と同定される。したがって、ライブラリー走査突然変異誘発法は、多くの異なるアミノ酸（２０種全部のアミノ酸を含む）に変化させることができるＣＤＲ中の位置、および変化させることができない、または２～３のアミノ酸に変化させることしかできないＣＤＲ中の位置に関する情報をもたらす。

【０３３０】

親和性が改善した候補を、改善されたアミノ酸、その位置での元のアミノ酸を含み、望まれるか、または望ましいスクリーニング法もしくは選択法を用いて許容されるライブラリーの複雑性に応じて、その位置にさらなる置換をさらに含んでもよい第２のライブラリー中で組み合わせることができる。さらに、必要に応じて、隣接するアミノ酸位置を少なくとも２つ以上のアミノ酸に無作為化することができる。隣接するアミノ酸の無作為化はＣＤＲ突然変異体におけるさらなる立体的可撓性を許容し、次いで、より多数の改善する突然変異の導入を許容するか、または容易にすることができる。ライブラリーはまた、１回目のスクリーニングにおいて親和性の改善を示さなかった位置に置換を含んでもよい。

【０３３１】

第２のライブラリーは、Ｂｉａｃｏｒｅ、Ｋｉｎｅｘａ（商標）バイオセンサー分析を用いるスクリーニング、ならびにファージディスプレイ、酵母ディスプレイ、およびリボソームディスプレイなどの選択のための当技術分野で公知の任意の方法を用いる選択などの、当技術分野で公知の任意の方法を用いて、結合親和性が改善された、および／または変化したライブラリーメンバーについてスクリーニングまたは選択される。

【０３３２】

本発明のＴＬ１Ａ抗体を発現させるために、ＶＨおよびＶＬ領域をコードするＤＮＡ断片を、上記のいずれかの方法を用いて最初に取得することができる。様々な改変、例えば、突然変異、欠失、および／または付加を、当業者には公知の標準的な方法を用いてＤＮＡ配列中に導入することもできる。例えば、突然変異誘発を、ＰＣＲ産物が所望の突然変異または部位特異的突然変異誘発を含有するように、突然変異したヌクレオチドをＰＣＲプライマー中に組み込む、ＰＣＲ媒介性突然変異誘発などの標準的な方法を用いて実行することができる。

【０３３３】

本発明は、図１に示される可変領域および図１に示されるＣＤＲに対する改変を包含する。例えば、本発明は、その特性に有意に影響しない機能的に等価な可変領域およびＣＤＲを含む抗体ならびに活性および／または親和性が増強または低下した変異体を含む。例えば、アミノ酸配列を突然変異させて、ＴＬ１Ａに対する所望の結合親和性を有する抗体を取得することができる。改変ポリペプチドの例としては、アミノ酸残基の保存的置換を有するポリペプチド、機能的活性を有意に有害に変化させないか、もしくはそのリガンドに対するポリペプチドの親和性を成熟させる（増強する）アミノ酸の１つもしくはそれ以上の欠失もしくは付加、または化学的類似体の使用が挙げられる。

【０３３４】

アミノ酸配列挿入は、長さ１残基から１００以上の残基を含有するポリペプチドまでの範囲のアミノおよび／またはカルボキシル末端融合物、ならびに単一または複数のアミノ酸残基の配列間挿入を含む。末端挿入の例としては、Ｎ末端メチオニル残基を有する抗体またはエピトープタグに融合した抗体が挙げられる。抗体分子の他の挿入変異体は、血液循環中での抗体の半減期を増加させる酵素またはポリペプチドの抗体またはその抗原結合断片のＮまたはＣ末端への融合物を含む。

【０３３５】

抗体を、例えば、抗体の結合特性を変化させるために、例えば、重鎖および／または軽鎖の可変ドメイン中で改変することもできる。可変領域での変化は、結合親和性および／または特異性を変化させることができる。いくつかの実施形態では、１～５個以下の保存的アミノ酸置換を、ＣＤＲドメイン内で作製する。他の実施形態では、１～３個以下の保存的アミノ酸置換を、ＣＤＲドメイン内で作製する。例えば、突然変異を、１つまたはそれ以上のＣＤＲ領域中で作製して、ＴＬ１Ａに対する抗体のK_Dを増加もしくは低下させる、k_{off}を増加もしくは低下させる、または抗体の結合特異性を変化させることができる。部位特異的突然変異誘発における技術は当技術分野で周知である。例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋら、およびＡｕｓｕｂｅｌら、前掲を参照されたい。

【０３３６】

改変または突然変異を、フレームワーク領域または定常領域中で作製して、ＴＬ１Ａ抗

体の半減期を増加させることもできる。例えば、ＰＣＴ公開第ＷＯ００／０９５６０号を参照されたい。フレームワーク領域または定常領域中の突然変異を行って、抗体の免疫原性を変化させる、別の分子への共有もしくは非共有結合のための部位を提供する、または補体固定、ＦｃＲ結合および抗体依存的細胞媒介性細胞傷害性などの特性を変化させることもできる。本発明によれば、単一の抗体は、ＣＤＲまたは可変ドメインのフレームワーク領域または定常領域のいずれか１つまたはそれ以上の中に突然変異を有してもよい。

【０３３７】

改変は、グリコシル化および非グリコシル化ポリペプチド、ならびに例えば、異なる糖を有するグリコシル化、アセチル化、およびリン酸化などの他の翻訳後改変を有するポリペプチドも含む。抗体は、その定常領域中の保存された位置でグリコシル化される（ＪｅｆｆｅｒｉｓおよびＬｕｎｄ、１９９７、Ｃｈｅｍ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．６５：１１１～１２８頁；ＷｒｉｇｈｔおよびＭｏｒｒｉｓｏｎ、１９９７、ＴｉｂＴＥＣＨ １５：２６～３２頁）。免疫グロブリンのオリゴ糖側鎖はタンパク質の機能（Ｂｏｙｄら、１９９６、Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．３２：１３１１～１３１８頁；ＷｉｔｔｗｅおよびＨｏｗａｒｄ、１９９０、Ｂｉｏｃｈｅｍ．２９：４１７５～４１８０頁）ならびに糖タンパク質のコンフォメーションおよび提示される三次元表面に影響し得る糖タンパク質の部分間の分子内相互作用（ＪｅｆｆｅｒｉｓおよびＬｕｎｄ、前掲；ＷｙｓｓおよびＷａｇｎｅｒ、１９９６、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｏｐｉｎ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．７：４０９～４１６頁）に影響する。オリゴ糖は、特異的認識構造に基づいてある特定の分子に所与の糖タンパク質を標的化するのにも役立ち得る。また、抗体のグリコシル化は抗体依存的細胞性細胞傷害性（ＡＤＣＣ）に影響することも報告されている。特に、二分岐ＧｌｃＮＡｃの形成を触媒するグリコシルトランスフェラーゼであるβ（１，４）－Ｎ－アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼＩＩＩ（ＧｎＴＩＩＩ）のテトラサイクリン調節性発現を示すＣＨＯ細胞により生成される抗体は、改善されたＡＤＣＣ活性を有すると報告された（Ｕｍａｎａら、１９９９、Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈ．１７：１７６～１８０頁）。

【０３３８】

抗体のグリコシル化は、典型的には、Ｎ結合またはＯ結合である。Ｎ結合とは、アスパラギン残基の側鎖への炭水化物部分の結合を指す。トリペプチド配列、アスパラギン－Ｘ－セリン、アスパラギン－Ｘ－トレオニン、およびアスパラギン－Ｘ－システイン（式中、Ｘはプロリン以外の任意のアミノ酸である）は、アスパラギン側鎖への炭水化物部分の酵素的結合のための認識配列である。したがって、ポリペプチド中のこれらのトリペプチド配列のいずれかの存在は、潜在的なグリコシル化部位を作出する。Ｏ結合グリコシル化とは、ヒドロキシアミノ酸、最も一般的には、セリンまたはトレオニンへの、１つの糖Ｎ－アセチルガラクトサミン、ガラクトース、またはキシロースの結合を指すが、５－ヒドロキシプロリンまたは５－ヒドロキシリシンを用いることもできる。

【０３３９】

抗体へのグリコシル化部位の付加は、それが１つまたはそれ以上の上記のトリペプチド配列（Ｎ結合グリコシル化部位のための）を含有するようにアミノ酸配列を変化させることにより都合よく達成される。また、変化を、元の抗体の配列（Ｏ結合グリコシル化部位のための）への１つまたはそれ以上のセリンまたはトレオニン残基の付加、またはそれによる置換によって行うこともできる。

【０３４０】

基礎となるヌクレオチド配列を変化させることなく、抗体のグリコシル化パターンを変化させることもできる。グリコシル化は、抗体を発現させるために用いられる宿主細胞に大きく依存する。潜在的な治療剤としての、組換え糖タンパク質、例えば、抗体の発現のために用いられる細胞型が天然の細胞であることは稀であるため、抗体のグリコシル化パターンの変化を予想することができる（例えば、Ｈｓｅら、１９９７、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７２：９０６２～９０７０頁を参照されたい）。

【０３４１】

宿主細胞の選択に加えて、抗体の組換え生成中にグリコシル化に影響する因子としては

、増殖様式、培地の処方、培養密度、酸素供給、ｐＨ、精製スキームなどが挙げられる。様々な方法が、オリゴ糖生成に関与するある特定の酵素を導入するか、または過剰発現させることを含む、特に宿主生物において達成されるグリコシル化パターンを変化させることが提唱されている（米国特許第５．０４７，３３５号；第５，５１０，２６１号および第５，２７８，２９９号）。グリコシル化、またはある特定の型のグリコシル化を、例えば、エンドグリコシダーゼＨ（Ｅｎｄｏ　Ｈ）、Ｎ－グリコシダーゼＦ、エンドグリコシダーゼＦ１、エンドグリコシダーゼＦ２、エンドグリコシダーゼＦ３を用いて、糖タンパク質から酵素的に除去することができる。さらに、組換え宿主細胞を、ある特定の型の多糖をプロセッシングする際に欠陥があるように遺伝子操作することができる。これらの技術および同様の技術は、当技術分野で周知である。

【０３４２】

他の改変方法としては、限定されるものではないが、酵素的手段、酸化的置換およびキレート化などの当技術分野で公知のカップリング技術の使用が挙げられる。改変を、例えば、イムノアッセイのための標識の結合のために用いることができる。改変ポリペプチドを当技術分野における確立された手順を用いて作製し、当技術分野で公知の標準的なアッセイを用いてスクリーニングすることができ、そのいくつかは以下および実施例に記載される。

【０３４３】

いくつかの実施形態では、抗体は、ヒトＦｃガンマ受容体に対する結合親和性が増加もしくは低下した、免疫学的に不活性もしくは部分的に不活性である、例えば、補体媒介性溶解を誘発しない、抗体依存的細胞媒介性細胞傷害性（ＡＤＣＣ）を刺激しない、またはミクログリアを活性化しない；または以下：補体媒介性溶解の誘発、ＡＤＣＣの刺激、もしくはミクログリアの活性化のうちのいずれか１つもしくはそれ以上における活性が低下した（非改変抗体と比較して）改変された定常領域を含む。定常領域の様々な改変を用いて、エフェクター機能の最適なレベルおよび／または組合せを達成することができる。例えば、Ｍｏｒｇａｎら、Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　８６：３１９～３２４頁、１９９５；Ｌｕｎｄら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　１５７：４９６３～９頁、１５７：４９６３～４９６９頁、１９９６；Ｉｄｕｓｏｇｉｅら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　１６４：４１７８～４１８４頁、２０００；Ｔａｏら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　１４３：２５９５～２６０１頁、１９８９；およびＪｅｆｆｅｒｉｓら、Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｒｅｖｉｅｗｓ　１６３：５９～７６頁１９９８を参照されたい。いくつかの実施形態では、定常領域は、Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１９９９、２９：２６１３～２６２４頁；ＰＣＴ出願第ＰＣＴ／ＧＢ９９／０１４４１号；および／または英国特許出願第９８０９９５１．８号に記載のように改変される。

【０３４４】

いくつかの実施形態では、抗体定常領域を改変して、Ｆｃガンマ受容体ならびに保体および免疫系との相互作用を回避することができる。そのような抗体の調製のための技術は、ＷＯ９９／５８５７２に記載されている。例えば、抗体がヒトにおける臨床試験および処置において用いられる場合、定常領域をより類似したヒト定常領域に対して操作して、免疫応答を回避することができる。例えば、米国特許第５，９９７，８６７号および第５，８６６，６９２号を参照されたい。

【０３４５】

いくつかの実施形態では、定常領域は、Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１９９９、２９：２６１３～２６２４頁；ＰＣＴ出願第ＰＣＴ／ＧＢ９９／０１４４１号；および／または英国特許出願第９８０９９５１．８号に記載のように改変される。そのような実施形態では、Ｆｃは、ヒトＩｇＧ$_2$またはヒトＩｇＧ$_4$であってもよい。Ｆｃは、アミノ酸残基が野生型ＩｇＧ$_2$配列を参照して番号付けられる、Ａ３３０Ｐ３３１からＳ３３０Ｓ３３１への突然変異（ＩｇＧ$_{2\Delta a}$）を含有するヒトＩｇＧ$_2$であってもよい。Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１９９９、２９：２６１３～２６２４頁。いくつかの実施形態では、抗体は、以下の突然変異を含むＩｇＧ$_4$の定常領域を含む（Ａｒｍｏｕｒら、２００３

、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ ４０：５８５～５９３頁）：番号付けが野生型ＩｇＧ$_4$を参照したものである、Ｅ２３３Ｆ２３４Ｌ２３５からＰ２３３Ｖ２３４Ａ２３５（ＩｇＧ$_{4\Delta b}$）。さらに別の実施形態では、Ｆｃは、欠失Ｇ２３６を含む、ヒトＩｇＧ$_4$ Ｅ２３３Ｆ２３４Ｌ２３５からＰ２３３Ｖ２３４Ａ２３５（ＩｇＧ$_{4\Delta b}$）。別の実施形態では、ＦｃはＳ２２８からＰ２２８への突然変異を安定化するヒンジを含有する任意のヒトＩｇＧ$_4$ Ｆｃ（ＩｇＧ$_4$、ＩｇＧ$_{4\Delta b}$またはＩｇＧ$_{4\Delta c}$）である（Ａａｌｂｅｒｓｅら、２００２、Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ １０５、９～１９頁）。

【０３４６】

いくつかの実施形態では、抗体は、以下の突然変異：Ａ３３０Ｐ３３１からＳ３３０Ｓ３３１（アミノ酸番号付けは野生型ＩｇＧ$_2$配列を参照したものである）を含むヒト重鎖ＩｇＧ$_2$定常領域を含む。Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１９９９、２９：２６１３～２６２４頁。さらに他の実施形態では、定常領域はＮ結合グリコシル化について無グリコシル化されている。いくつかの実施形態では、定常領域は、オリゴ糖結合残基を突然変異させること、および／または定常領域中のＮ－グリコシル化認識配列の一部である残基にフランキングすることにより、Ｎ結合グリコシル化について無グリコシル化されている。例えば、Ｎ－グリコシル化部位Ｎ２９７を、例えば、Ａ、Ｑ、Ｋ、またはＨに突然変異させることができる。Ｔａｏら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ １４３：２５９５～２６０１頁、１９８９；およびＪｅｆｆｅｒｉｓら、Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｒｅｖｉｅｗｓ １６３：５９～７６頁、１９９８を参照されたい。いくつかの実施形態では、定常領域はＮ結合グリコシル化について無グリコシル化される。定常領域を、酵素的に（ＰＮＧａｓｅ酵素による炭水化物の除去など）、またはグリコシル化欠損宿主細胞中での発現によりＮ結合グリコシル化について無グリコシル化することができる。

【０３４７】

他の抗体改変は、ＰＣＴ公開第ＷＯ９９／５８５７２号に記載のように改変された抗体を含む。これらの抗体は、標的分子を指向する結合ドメインに加えて、ヒト免疫グロブリン重鎖の定常領域の全部または一部と実質的に相同であるアミノ酸配列を有するエフェクタードメインを含む。これらの抗体は、標的の有意な補体依存的溶解、または細胞媒介性破壊を誘発することなく、標的分子に結合することができる。いくつかの実施形態では、エフェクタードメインは、ＦｃＲｎおよび／またはＦｃγＲＩＩｂに特異的に結合することができる。これらのものは、典型的には２つ以上のヒト免疫グロブリン重鎖ＣＨ２ドメインから誘導されるキメラドメインに基づくものである。この様式で改変された抗体は、従来の抗体療法に対する炎症および他の有害反応を回避するための、慢性抗体療法における使用にとって特に好適である。

【０３４８】

本開示はまた、さらに改変することができる抗体定常ドメインを提供する。Ｆｃ領域の変異体、例えば、アミノ酸置換、挿入、および／または付加および／または欠失は、エフェクター機能を増強するか、または減少させる。例えば、Ｐｒｅｓｔａら、２００２、Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．Ｔｒａｎｓ．３０：４８７～４９０頁；Ｓｔｒｏｈｌ、２００９、Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．２０（６）：６８５～６９１頁；米国特許第５，６２４，８２１号、第５，６４８，２６０号、第５，８８５，５７３号、第６，７３７，０５６号、第７，３１７，０９１号；ＰＣＴ公開第ＷＯ９９／５８５７２号、第ＷＯ００／４２０７２号、第ＷＯ０４／０２９２０７号、第ＷＯ２００６／１０５３３８号、第ＷＯ２００８／０２２１５２号、第ＷＯ２００８／１５０４９４号、第ＷＯ２０１０／０３３７３６号；米国特許出願公開第２００４／０１３２１０１号、第２００６／００２４２９８号、第２００６／０１２１０３２号、第２００６／０２３５２０８号、第２００７／０１４８１７０号；Ａｒｍｏｕｒら、１９９９、Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２９（８）：２６１３～２６２４頁（ＡＤＣＣおよびＣＤＣの低下）；Ｓｈｉｅｌｄｓら、２００１、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７６（９）：６５９１～６６０４頁（ＡＤＣＣおよびＣＤＣの低下）；Ｉｄｕｓｏｇｉｅら、２０００、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１６４（８）：４１７８～４１８４頁（ＡＤＣＣおよびＣＤＣの増加）；Ｓｔｅｕｒｅｒら、１９

９５、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５５（３）：１１６５～１１７４頁（ＡＤＣＣおよびＣＤＣの低下）；Ｉｄｕｓｏｇｉｅら、２００１、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１６６（４）：２５７１～２５７５頁（ＡＤＣＣおよびＣＤＣの増加）；Ｌａｚａｒら、２００６、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ １０３（１１）：４００５～４０１０頁（ＡＤＣＣの増加）；Ｒｙａｎら、２００７、Ｍｏｌ．Ｃａｎｃｅｒ．Ｔｈｅｒ．、６：３００９～３０１８頁（ＡＤＣＣの増加）；Ｒｉｃｈａｒｄｓら、２００８、Ｍｏｌ．Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒ．７（８）：２５１７～２５２７頁を参照されたい。

【０３４９】

いくつかの実施形態では、抗体は、非改変抗体と比較して、ＦｃＲｎに対する結合親和性が増加した、および／または血清半減期が増加した改変された定常領域を含む。

【０３５０】

「生殖系列化」として知られるプロセスにおいては、ＶＨおよびＶＬ配列中のある特定のアミノ酸を突然変異させて、生殖系列ＶＨおよびＶＬ配列中に天然に見出されるものと適合させることができる。特に、ＶＨおよびＶＬ配列中のフレームワーク領域のアミノ酸配列を突然変異させて、生殖系列配列と適合させ、抗体が投与された場合に免疫原性の危険性を低下させることができる。ヒトＶＨおよびＶＬ遺伝子のための生殖系列ＤＮＡ配列も当技術分野で公知である（例えば、「Ｖｂａｓｅ」ヒト生殖系列配列データベースを参照されたい；また、Ｋａｂａｔ，Ｅ．Ａ．ら、１９９１、Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ、第５版、Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ、ＮＩＨ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ Ｎｏ．９１－３２４２；Ｔｏｍｌｉｎｓｏｎら、１９９２、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２７：７７６～７９８頁；およびＣｏｘら、１９９４、Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２４：８２７～８３６頁も参照されたい）。

【０３５１】

行うことができる別の型のアミノ酸置換は、抗体中の潜在的なタンパク質分解部位を除去することである。そのような部位は、抗体の可変ドメインのＣＤＲもしくはフレームワーク領域または定常領域中に存在し得る。システイン残基の置換およびタンパク質分解部位の除去は、抗体生成物の異種性の危険性を低下させ、したがって、その同種性を増加させることができる。別の型のアミノ酸置換は、一方または両方の残基を変化させることにより、潜在的な脱アミド化部位を形成する、アスパラギン－グリシン対を除去することである。別の例においては、本発明のＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片の重鎖のＣ末端リシンを、切断するか、またはさもなければ除去することができる。本発明の様々な実施形態では、抗体の重鎖および軽鎖は、場合によりシグナル配列を含んでもよい。

【０３５２】

一度、本発明のＶＨおよびＶＬセグメントをコードするＤＮＡ断片が得られたら、これらのＤＮＡ断片を、標準的な組換えＤＮＡ技術によりさらに操作して、例えば、可変領域遺伝子を完全長抗体鎖遺伝子に、Ｆａｂ断片遺伝子に、またはｓｃＦｖ遺伝子に変換することができる。これらの操作において、ＶＬまたはＶＨをコードするＤＮＡ断片を、抗体定常領域または可撓性リンカーなどの、別のタンパク質をコードする別のＤＮＡ断片に作動可能に連結する。本文脈において用いられる用語「作動可能に連結される」は、２つのＤＮＡ断片が、２つのＤＮＡ断片によりコードされるアミノ酸配列がインフレームで保持するように連結されることを意味すると意図される。

【０３５３】

ＶＨをコードするＤＮＡを、重鎖定常領域（ＣＨ１、ＣＨ２およびＣＨ３）をコードする別のＤＮＡ分子に作動可能に連結することにより、ＶＨ領域をコードする単離されたＤＮＡを完全長重鎖遺伝子に変換することができる。ヒト重鎖定常領域遺伝子の配列は、当技術分野で公知であり（例えば、Ｋａｂａｔ，Ｅ．Ａ．ら、１９９１、Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ、第５版、Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ、ＮＩＨ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ Ｎｏ．９１－３２４２を参照され

たい）、これらの領域を包含するＤＮＡ断片を、標準的なＰＣＲ増幅により取得することができる。重鎖定常領域は、ＩｇＧ$_1$、ＩｇＧ$_2$、ＩｇＧ$_3$、ＩｇＧ$_4$、ＩｇＡ、ＩｇＥ、ＩｇＭまたはＩｇＤ定常領域であってもよいが、最も好ましくは、ＩｇＧ$_1$、またはＩｇＧ$_2$定常領域である。ＩｇＧ定常領域配列は、Ｇｍ（１）、Ｇｍ（２）、Ｇｍ（３）、およびＧｍ（１７）などの、異なる個体間に存在することが知られる様々な対立遺伝子またはアロタイプのいずれかであってもよい。これらのアロタイプは、ＩｇＧ１定常領域中の天然のアミノ酸置換である。Ｆａｂ断片重鎖遺伝子については、ＶＨをコードするＤＮＡを、重鎖ＣＨ１定常領域のみをコードする別のＤＮＡ分子に作動可能に連結することができる。ＣＨ１重鎖定常領域を、任意の重鎖遺伝子から誘導することができる。

【０３５４】

ＶＬをコードするＤＮＡを、軽鎖定常領域ＣＬをコードする別のＤＮＡ分子に作動可能に連結することにより、ＶＬ領域をコードする単離されたＤＮＡを、完全長軽鎖遺伝子（ならびにＦａｂ軽鎖遺伝子）に変換することができる。ヒト軽鎖定常領域遺伝子の配列は当技術分野で公知であり（例えば、Ｋａｂａｔ，Ｅ．Ａ．ら、１９９１、Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ、第５版、Ｕ．Ｓ． Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ、ＮＩＨ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ Ｎｏ．９１－３２４２を参照されたい）、これらの領域を包含するＤＮＡ断片を、標準的なＰＣＲ増幅により取得することができる。軽鎖定常領域は、カッパまたはラムダ定常領域であってもよい。カッパ定常領域は、Ｉｎｖ（１）、Ｉｎｖ（２）およびＩｎｖ（３）などの、異なる個体間に存在することが知られる様々な対立遺伝子のいずれかであってもよい。ラムダ定常領域を、３つのラムダ遺伝子のいずれかから誘導することができる。

【０３５５】

ｓｃＦｖ遺伝子を作出するために、ＶＨおよびＶＬ配列を連続する単鎖タンパク質として発現させ、ＶＬおよびＶＨ領域を可撓性リンカーにより連結することができるように、ＶＨおよびＶＬをコードするＤＮＡ断片を、可撓性リンカーをコードする別の断片に作動可能に連結する。例えば、Ｂｉｒｄら、１９８８、Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４２：４２３～４２６頁；Ｈｕｓｔｏｎら、１９８８、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８５：５８７９～５８８３頁；ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙら、１９９０、Ｎａｔｕｒｅ ３４８：５５２～５５４頁を参照されたい。連結ペプチドの一例は、一方の可変領域のカルボキシ末端と、他方の可変領域のアミノ末端との間の約３．５ｎｍを架橋する、（ＧＧＧＧＳ）$_3$（配列番号３８３）である。他の配列のリンカーが設計および使用されている（Ｂｉｒｄら、１９８８、前掲）。次いで、リンカーを、薬物の結合または固相支持体への結合などのさらなる機能のために改変することができる。単鎖抗体は、単一のＶＨおよびＶＬのみが用いられる場合、一価であってもよく、２つのＶＨおよびＶＬが用いられる場合、二価であってもよく、または２つを超えるＶＨおよびＶＬが用いられる場合、多価であってもよい。ＴＬ１Ａおよび別の分子に特異的に結合する二特異的または多価抗体を作製することができる。単鎖変異体を、組換え的または合成的に生成することができる。ｓｃＦｖの合成的生成のために、自動化合成装置を用いることができる。ｓｃＦｖの組換え生成のために、ｓｃＦｖをコードするポリヌクレオチドを含有する好適なプラスミドを、酵母、植物、昆虫もしくは哺乳動物細胞などの真核性、または大腸菌などの原核性である好適な宿主細胞中に導入することができる。対象となるｓｃＦｖをコードするポリヌクレオチドを、ポリヌクレオチドのライゲーションなどの日常的な操作によって作製することができる。得られるｓｃＦｖを、当技術分野で公知の標準的なタンパク質精製技術を用いて単離することができる。

【０３５６】

ダイアボディなどの、他の形態の単鎖抗体も包含される。ダイアボディは、ＶＨおよびＶＬが単一のポリペプチド鎖として発現されるが、同じ鎖上の２つのドメイン間で対形成するには短すぎるリンカーを用いることによって、そのドメインに別の鎖の相補的ドメインと対形成させ、２つの抗原結合部位を作出する二価の二特異的抗体である（例えば、Ｈ

ｏｌｌｉｇｅｒ，Ｐ．ら、１９９３、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ　Ｓｃｉ．ＵＳＡ　９０：６４４４～６４４８頁；Ｐｏｌｊａｋ，Ｒ．Ｊ．ら、１９９４、Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ　２：１１２１～１１２３頁を参照されたい）。

【０３５７】

２つの共有的に連結された抗体を含むヘテロコンジュゲート抗体も、本発明の範囲内にある。そのような抗体は、望ましくない細胞に対して免疫系の細胞を標的化するため（米国特許第４，６７６，９８０号）、およびＨＩＶ感染の処置のため（ＰＣＴ公開第ＷＯ９１／００３６０号および第ＷＯ９２／２００３７３号；ＥＰ０３０８９）に用いられてきた。ヘテロコンジュゲート抗体を、任意の従来の架橋法を用いて作製することができる。好適な架橋剤および技術は当技術分野で周知であり、米国特許第４，６７６，９８０号に記載されている。

【０３５８】

キメラ抗体またはハイブリッド抗体を、架橋剤を含むものなどの合成タンパク質化学の公知の方法を用いてｉｎ　ｖｉｔｒｏで調製することもできる。例えば、ジスルフィド交換反応を用いて、またはチオエーテル結合を形成させることにより、免疫毒素を構築することができる。この目的のための好適な試薬の例としては、イミノチオラートおよびメチル－４－メルカプトブチルイミダートが挙げられる。

【０３５９】

本発明はまた、本明細書に開示される抗体に由来する１つまたはそれ以上の断片または領域を含む融合タンパク質も包含する。いくつかの実施形態では、別のポリペプチドに連結された本発明のＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片の全部または一部を含む融合抗体を作製することができる。別の実施形態では、ＴＬ１Ａ抗体の可変ドメインのみを、ポリペプチドに連結する。別の実施形態では、ＴＬ１Ａ抗体のＶＨドメインを第１のポリペプチドに連結するが、ＴＬ１Ａ抗体のＶＬドメインを、ＶＨおよびＶＬドメインが互いに相互作用して抗原結合部位を形成できるような様式で第１のポリペプチドと結合する第２のポリペプチドに連結する。別の好ましい実施形態では、ＶＨおよびＶＬドメインが互いに相互作用することができるようなリンカーにより、ＶＨドメインをＶＬドメインから分離する。次いで、ＶＨ－リンカー－ＶＬ抗体を、対象となるポリペプチドに連結する。さらに、２つ（以上）の単鎖抗体が互いに連結される融合抗体を作出することができる。単一ポリペプチド鎖上で二価もしくは多価抗体を作出することを望む場合、または二特異的抗体を作出することを望む場合、これは有用である。

【０３６０】

いくつかの実施形態では、配列番号１、２２、３６、５０、６４、８８、もしくは１０２に示される可変軽鎖領域の少なくとも１０個の連続するアミノ酸および／または配列番号３、５、２４、３８、５２、６６、６８、６７、１９８、２０５、２１２、２１９、２２６、２３３、２４０、もしくは２４７に示される可変重鎖領域の少なくとも１０個のアミノ酸を含む融合ポリペプチドが提供される。他の実施形態では、可変軽鎖領域の少なくとも約１０個、少なくとも約１５個、少なくとも約２０個、少なくとも約２５個、もしくは少なくとも約３０個の連続するアミノ酸および／または可変重鎖領域の少なくとも約１０個、少なくとも約１５個、少なくとも約２０個、少なくとも約２５個、もしくは少なくとも約３０個の連続するアミノ酸を含む融合ポリペプチドが提供される。別の実施形態では、融合ポリペプチドは、１つまたはそれ以上のＣＤＲを含む。さらに他の実施形態では、融合ポリペプチドは、ＶＨ　ＣＤＲ３および／またはＶＬ　ＣＤＲ３を含む。本発明の目的のために、融合タンパク質は、１つまたはそれ以上の抗体と、天然の分子、例えば、別の領域に由来する異種配列もしくは同種配列に結合しない別のアミノ酸配列とを含有する。例示的な異種配列としては、限定されるものではないが、ＦＬＡＧタグまたは６Ｈｉｓタグ（配列番号３９２）などの「タグ」が挙げられる。タグは当技術分野で周知である。

【０３６１】

融合ポリペプチドを、当技術分野で公知の方法により、例えば、合成的または組換え的

に作出することができる。典型的には、本発明の融合タンパク質を、本明細書に記載の組換え方法を用いて、それらをコードする発現ポリヌクレオチドを調製することにより作製するが、それらを、例えば、化学的合成などの当技術分野で公知の他の手段により調製することもできる。

【０３６２】

他の実施形態では、他の改変抗体を、ＴＬ１Ａ抗体をコードする核酸分子を用いて調製することができる。例えば、「カッパボディ」（Ｉｌｌら、１９９７、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇ．１０：９４９～５７頁）、「ミニボディ」（Ｍａｒｔｉｎら、１９９４、ＥＭＢＯ Ｊ．１３：５３０３～９頁）、「ダイアボディ」（Ｈｏｌｌｉｇｅｒら、前掲）、または「ジャヌシン」（Ｔｒａｕｎｅｃｋｅｒら、１９９１、ＥＭＢＯ Ｊ．１０：３６５５～３６５９頁およびＴｒａｕｎｅｃｋｅｒら、１９９２、Ｉｎｔ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ（Ｓｕｐｐｌ．）７：５１～５２頁）を、本明細書の教示に従って標準的な分子生物学技術を用いて調製することができる。

【０３６３】

例えば、少なくとも２つの異なる抗原に対する結合特異性を有するモノクローナル抗体である二特異的抗体を、本明細書に開示される抗体を用いて調製することができる。二特異的抗体を作製するための方法は、当技術分野で公知である（例えば、Ｓｕｒｅｓｈら、１９８６、Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ １２１：２１０頁を参照されたい）。例えば、二特異的抗体またはその抗原結合断片を、ハイブリドーマの融合またはＦａｂ’断片の連結により生成することができる。例えば、Ｓｏｎｇｓｉｖｉｌａｉ ＆ Ｌａｃｈｍａｎｎ、１９９０、Ｃｌｉｎ．Ｅｘｐ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．７９：３１５～３２１頁、Ｋｏｓｔｅｌｎｙら、１９９２、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１４８：１５４７～１５５３頁を参照されたい。伝統的には、二特異的抗体の組換え生成は、２つの免疫グロブリン重鎖－軽鎖対の同時発現に基づくものであり、２つの重鎖は異なる特異性を有していた（ＭｉｌｌｓｔｅｉｎおよびＣｕｅｌｌｏ、１９８３、Ｎａｔｕｒｅ ３０５、５３７～５３９頁）。さらに、二特異的抗体を、「ダイアボディ」または「ジャヌシン」として形成させることができる。いくつかの実施形態では、二特異的抗体は、ＴＬ１Ａの２つの異なるエピトープに結合する。いくつかの実施形態では、上記の改変抗体は、本明細書に提供されるＴＬ１Ａ抗体に由来する１つまたはそれ以上の可変ドメインまたはＣＤＲ領域を用いて調製される。

【０３６４】

二特異的抗体を作製するための１つのアプローチによれば、所望の結合特異性を有する抗体可変ドメイン（抗体－抗原結合部位）は、免疫グロブリン定常領域配列に融合される。融合物は、好ましくは、ヒンジ、ＣＨ２およびＣＨ３領域の少なくとも一部を含む、免疫グロブリン重鎖定常領域を有する。それは、融合物の少なくとも１つに存在する、軽鎖結合にとって必要な部位を含有する、第１の重鎖定常領域（ＣＨ１）を有することが好ましい。免疫グロブリン重鎖融合物と、必要に応じて、免疫グロブリン軽鎖とをコードするＤＮＡを、別々の発現ベクターに挿入し、好適な宿主生物中に同時トランスフェクトする。これは、構築物中で用いられる３つのポリペプチド鎖の等しくない比が最適な収率を提供する実施形態において３つのポリペプチド断片の相互の割合を調整する際に大きな可撓性を提供する。しかしながら、等しい比での少なくとも２つのポリペプチド鎖の発現が高い収率をもたらすか、または比が特に有意なものではない場合、１つの発現ベクター中に２つまたは３つ全部のポリペプチド鎖のコード配列を挿入することができる。

【０３６５】

１つのアプローチにおいて、二特異的抗体は、一方のアーム中の第１の結合特異性を有するハイブリッド免疫グロブリン重鎖と、他方のアーム中の（第２の結合特異性を提供する）ハイブリッド免疫グロブリン重鎖－軽鎖対とから構成される。二特異的分子の半分のみにおける免疫グロブリン軽鎖に関するこの非対称構造は、望ましくない免疫グロブリン鎖組合せからの望ましい二特異的化合物の分離を容易にする。このアプローチは、ＰＣＴ公開第ＷＯ９４／０４６９０号に記載されている。

【０３６６】
本発明はまた、固相支持体（ビオチンまたはアビジンなど）へのカップリングを容易にする薬剤にコンジュゲート（例えば、連結）された抗体を含む組成物も提供する。簡単にするために、一般的には、これらの方法が本明細書に記載の任意のＴＬ１Ａ結合および／またはアンタゴニストの実施形態に適用されるという理解と共に抗体を参照する。コンジュゲーションとは一般に、本明細書に記載のこれらの成分を連結することを指す。連結（一般的には、これらの成分を、少なくとも投与のために近い関係で固定することである）を、任意数の方法において達成することができる。例えば、薬剤と抗体との直接的反応は、それぞれが他方と反応することができる置換基を有する場合に可能である。例えば、一方の上のアミノまたはスルフヒドリル基などの求核基は、無水物もしくは酸ハロゲン化物などのカルボニル含有基、または他方の上の良好な脱離基（例えば、ハロゲン化物）を含有するアルキル基と反応することができる。
【０３６７】
抗体を多くの異なる担体に結合することができる。担体は、活性および／または不活性であってもよい。周知の担体の例としては、ポリプロピレン、ポリスチレン、ポリエチレン、デキストラン、ナイロン、アミラーゼ、ガラス、中性および改変セルロース、ポリアクリルアミド、アガロースおよびマグネタイトが挙げられる。担体の性質は、本発明の目的のために、可溶性または不溶性であってもよい。当業者であれば、抗体を結合させるための他の好適な担体を知っているか、または日常的な実験を用いてそのようなものを確認することができる。
【０３６８】
本発明の抗体またはポリペプチドを、蛍光分子、放射性分子などの標識剤または当技術分野で公知の任意の他の標識に連結することができる。標識は当技術分野で公知であり、一般的には（直接または間接に）シグナルを提供する。
【０３６９】
実施例１でより詳細に説明されるように、本出願は、３つの異なるエピトープ「ビン」のうちの１つに属すると特徴付けることができる複数のＴＬ１Ａ抗体を開示する。すなわち、１つのエピトープビン中の一緒にグループ化される抗体は、ＴＬ１Ａへの結合について互いに競合する。より特には、抗体１Ｄ１、その親和性最適化変異体、ならびに抗体１５Ａ９および１５Ｃ１１は、それぞれＴＬ１Ａへの結合について競合し、したがって、第１のエピトープビン中に一緒にグループ化される。抗体７Ｄ４および２２Ｆ９もＴＬ１Ａへの結合について互いに競合するが、本明細書に開示される他の抗体とは異なるエピトープに結合し、したがって、第２のエピトープビンにグループ化される。抗体２６Ｂ１１および９Ｂ３はＴＬ１Ａへの結合について競合するが、本明細書に開示される他の抗体とは異なるエピトープにも結合し、したがって、それらは第３のエピトープビンにグループ化される。それぞれのエピトープビン内の抗体の詳細を、以下に提供する。
【０３７０】
本明細書に開示されるＴＬ１Ａ抗体の軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）、重鎖可変ドメイン（ＶＨ）、完全長軽鎖（ＬＣ）、および完全長重鎖（ＨＣ）のアミノ酸配列を、配列番号により表２に要約する。これらの抗体のＶＬ、ＶＨ、ＬＣおよびＨＣをコードする核酸配列を、配列番号により表３に要約する。表２および表３に提供される配列番号により指定されるこれらの配列は、配列表（表４０）に記載される。
【０３７１】

【表２】

表 2: TL1A 抗体のアミノ酸配列の配列番号

領域				
抗体	VL	VH	LC	HC
1D1	102	104	106	108
1.27	102	198	106	200
1.28	102	205	106	207
1.29	102	212	106	214
1.30	102	219	106	221
1.31	102	226	106	228
1.32	102	233	106	235
1.33	102	240	106	242
1.34	102	247	106	249
15A9	22	24	26	28
15C11	36	38	40	42
7D4	88	90	92	94
22F9	50	52	54	56
26B11	64	66 または 68 または 70	72	74
9B3	1	3 または 5	7	9 または 11

【０３７２】

【表３】

表 3: TL1A 抗体の核酸配列の配列番号

核酸の配列番号				
抗体	VL	VH	LC	HC
1D1	103	105	107	109
1.27	103	199	107	201
1.28	103	206	107	208
1.29	103	213	107	215
1.30	103	220	107	222
1.31	103	227	107	229
1.32	103	234	107	236
1.33	103	241	107	243
1.34	103	248	107	250
15A9	23	25	27	29
15C11	37	39	41	43
7D4	89	91	93	95
22F9	51	53	55	57
26B11	65	67 または 69 または 71	73	75
9B3	2	4 または 6	8	10 または 12

【０３７３】

【表４】

表 3A. CDR-H1 配列のアラインメント

配列番号	説明	エピトープビン	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
16	9B3 CDR-VH1	1	G	F	T	F	S	N	Y	A	L	H
19	9B3 CDR-VH2	1	G	F	T	F	S	S	F	A	M	H
79	26B11 CDR-VH1	1	G	F	T	F	S	N	Y	A	L	H
82	26B11 CDR-VH2	1	G	F	T	F	S	S	F	A	M	H
85	26B11 CDR-VH-MDX	1	G	F	T	F	S	N	Y	A	I	H
33	15A9 CDR	2B	G	Y	P	F	T	N	Y	G	I	S
47	15C11 CDR	2B	G	Y	S	F	T	T	Y	G	I	S
61	22F9 CDR	2A	G	Y	T	F	T	S	Y	A	M	H
99	7D4 CDR	2A	G	Y	T	F	T	S	Y	G	I	N
113	1D1 CDR	2B	G	Y	S	F	T	Y	Y	G	I	S
263	1D1 D5 VH	2B	G	Y	S	F	T	Y	Y	G	I	S
266	1D1 D18 VH	2B	G	Y	S	F	T	Y	Y	G	I	S
269	1D1 D21 VH	2B	G	Y	S	F	T	Y	Y	G	I	S
272	1D1 D24 VH	2B	G	Y	S	F	T	Y	Y	G	I	S
275	1D1 D25 VH	2B	G	Y	S	F	T	Y	Y	G	I	S
278	1D1 D28 VH	2B	G	Y	S	F	T	Y	Y	G	I	S
281	1D1 D29 VH	2B	G	Y	S	F	T	Y	Y	G	I	S
284	1D1 D31 VH	2B	G	Y	S	F	T	Y	Y	G	I	S
287	1D1 D37 VH	2B	G	Y	S	F	T	Y	Y	G	I	S
290	1D1 D38 VH	2B	G	Y	S	F	T	Y	Y	G	I	S
293	1D1 D39 VH	2B	G	Y	S	F	T	Y	Y	G	I	S
296	1D1 DH3 VH	2B	G	Y	S	F	T	Y	Y	G	I	S
299	1D1 DH8 VH	2B	G	Y	S	F	T	Y	Y	G	I	S
302	1D1 DH9 VH	2B	G	Y	S	F	T	Y	Y	G	I	S
305	1D1 DH10 VH	2B	G	Y	S	F	T	Y	Y	G	I	S
308	1D1 1.1	2B	G	Y	D	F	T	Y	Y	G	I	S
311	1D1 1.3	2B	G	Y	Q	F	T	Y	Y	G	I	S
314	1D1 1.4	2B	G	Y	S	F	T	H	Y	G	I	S
317	1D1 1.5	2B	G	Y	N	F	R	Y	Y	G	I	S
320	1D1 1.7	2B	G	Y	S	F	T	Y	Y	G	I	S
323	1D1 1.8	2B	G	Y	S	F	R	Y	Y	G	I	S
326	1D1 1.9	2B	G	Y	S	F	T	Y	Y	G	I	S
329	1D1 1.10	2B	G	Y	S	F	T	Y	Y	G	I	S
332	1D1 1.11	2B	G	Y	S	F	R	Y	Y	G	I	S
335	1D1 1.13	2B	G	Y	S	F	T	H	Y	G	I	S
338	1D1 1.15	2B	G	Y	S	F	T	Y	Y	G	I	S
341	1D1 1.16	2B	G	Y	S	F	T	Y	Y	G	I	S
344	1D1 1.17	2B	G	Y	S	F	T	Y	Y	G	I	S

【０３７４】

【表５】

347	1D1 1.18	2B	G	Y	S	F	T	Y	Y	G	I	S
350	1D1 1.19	2B	G	Y	S	F	T	Y	Y	G	I	S
353	1D1 1.20	2B	G	Y	S	F	T	Y	Y	G	I	S
356	1D1 1.21	2B	G	Y	S	F	T	Y	Y	G	I	S
359	1D1 1.22	2B	G	Y	S	F	T	Y	Y	G	I	S
362	1D1 1.23	2B	G	Y	S	F	T	Y	Y	G	I	S
365	1D1 1.24	2B	G	Y	S	F	T	Y	Y	G	I	S
368	1D1 1.25	2B	G	Y	S	F	T	Y	Y	G	I	S
371	1D1 1.26	2B	G	Y	S	F	T	Y	Y	G	I	S
202	1D1 1.27 CDR	2B	G	Y	D	F	T	Y	Y	G	I	S
209	1D1 1.28 CDR	2B	G	Y	D	F	T	Y	Y	G	I	S
216	1D1 1.29 CDR	2B	G	Y	D	F	T	Y	Y	G	I	S
223	1D1 1.30 CDR	2B	G	Y	D	F	T	Y	Y	G	I	S
230	1D1 1.31 CDR	2B	G	Y	D	F	T	Y	Y	G	I	S
237	1D1 1.32 CDR	2B	G	Y	D	F	T	Y	Y	G	I	S
244	1D1 1.33 CDR	2B	G	Y	D	F	T	Y	Y	G	I	S
251	1D1 1.34 CDR	2B	G	Y	D	F	T	Y	Y	G	I	S
エピトープビン 1、2A および 2B にわたる抗体のコンセンサス CH1 配列 (配列番号 374)			G	F Y	T P S D Q N	F	S T R	N S T Y H	Y F	A G	L M I	H S N
エピトープビン 2A および 2B にわたる抗体のコンセンサス CH1 配列 (配列番号 375)			G	Y	P S T D Q N	F	T R	N T S Y H	Y	A G	I M	S H N
エピトープビン 2B 中の抗体のコンセンサス CH1 配列 (配列番号 376)			G	Y	P S D Q N	F	T R	N T Y H	Y	G	I	S

【０３７５】

【表６】

表 3B. CDR-H2 配列のアラインメント

配列番号	エピトープビン	説明	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
17	1	9B3 CDR-H2-VH1	L	I	S	Y	D	G	S	D	K	Y	Y	A	D	S	V	K	G
20	1	9B3 CDR-H2-VH2	L	I	P	F	D	G	S	S	N	Y	Y	A	D	S	V	K	G
80	1	26B11 CDR-H2-VH1	L	I	S	Y	D	G	S	D	K	Y	Y	A	D	S	V	K	G
83	1	26B11 CDR-H2-VH2	L	I	P	F	D	G	S	S	N	Y	Y	A	D	S	V	K	G
86	1	26B11 CDR-H2-VH-MDX	L	I	P	Y	D	G	S	N	N	Y	Y	A	A	S	V	K	G
62	2A	22F9 CDR-H2	W	I	N	A	G	N	G	N	T	K	Y	S	Q	K	F	Q	G
100	2A	7D4 CDR-H2	W	I	S	T	Y	N	G	N	T	N	S	A	Q	K	L	Q	G
34	2B	15A9 CDR-H2	W	I	S	T	Y	N	G	N	T	H	Y	A	Q	K	L	Q	G
48	2B	15C11 CDR-H2	W	I	S	T	Y	N	G	N	T	H	Y	A	Q	K	L	Q	G
114	2B	1D1 CDR-H2	W	I	S	T	Y	N	G	N	T	N	Y	A	R	M	L	Q	G
203	2B	1D1 1.27 CDR-H2	W	I	S	T	Y	N	G	N	T	H	Y	A	R	M	L	Q	G
210	2B	1D1 1.28 CDR-H2	W	I	S	T	Y	N	G	N	K	H	Y	A	R	M	L	Q	G
217	2B	1D1 1.29 CDR-H2	W	I	S	T	Y	N	G	G	T	H	Y	A	R	M	L	Q	G
224	2B	1D1 1.30 CDR-H2	W	I	S	T	Y	N	G	V	T	H	Y	A	R	M	L	Q	G
231	2B	1D1 1.31 CDR-H2	W	I	S	T	Y	N	G	N	T	H	Y	A	R	M	L	Q	G
238	2B	1D1 1.32 CDR-H2	W	I	S	T	Y	N	G	G	T	H	Y	A	R	M	L	Q	G
245	2B	1D1 1.33 CDR-H2	W	I	S	T	Y	N	G	V	T	H	Y	A	R	M	L	Q	G
252	2B	1D1 1.34 CDR-H2	W	I	S	T	Y	N	G	K	T	H	Y	A	R	M	H	Q	G
114	2B	1D1 親 VH	W	I	S	T	Y	N	G	N	T	N	Y	A	R	M	L	Q	G
264	2B	1D1 D5 VH	W	I	S	T	Y	N	G	N	T	N	Y	A	R	M	L	Q	G
267	2B	1D1 D18 VH	W	I	S	T	Y	N	G	N	T	H	Y	A	R	M	L	Q	G
270	2B	1D1 D21 VH	W	I	S	T	Y	N	G	K	T	H	Y	A	R	M	L	Q	G
273	2B	1D1 D24 VH	W	I	S	P	Y	N	G	N	T	H	Y	A	R	M	L	Q	G
276	2B	1D1 D25 VH	W	I	S	T	Y	N	G	A	T	H	Y	A	R	M	L	Q	G
279	2B	1D1 D28 VH	W	I	S	T	Y	N	G	K	T	H	Y	A	R	M	H	Q	G
282	2B	1D1 D29 VH	W	I	S	S	Y	N	G	N	T	H	Y	A	R	M	L	Q	G
285	2B	1D1 D31 VH	W	I	S	T	Y	N	G	N	K	H	Y	A	R	M	L	Q	G
288	2B	1D1 D37 VH	W	I	S	T	Y	N	G	G	T	H	Y	A	R	M	L	Q	G
291	2B	1D1 D38 VH	W	I	S	T	Y	N	G	V	T	H	Y	A	R	M	L	Q	G
294	2B	1D1 D39 VH	W	I	S	T	Y	N	G	N	T	N	Y	A	R	M	L	Q	G
297	2B	1D1 DH3 VH	W	I	S	T	Y	N	G	N	T	H	Y	A	Q	M	L	Q	G
300	2B	1D1 DH8 VH	W	I	S	A	Y	N	G	N	T	H	Y	A	R	M	L	Q	G
303	2B	1D1 DH9 VH	W	I	S	P	Y	N	G	K	T	H	Y	A	R	M	L	Q	G
306	2B	1D1 DH10 VH	W	I	S	T	Y	N	G	N	T	N	Y	A	R	M	L	Q	G
309	2B	1D1 1.1	W	I	S	T	Y	N	G	N	T	N	Y	A	R	M	L	Q	G
312	2B	1D1 1.3	W	I	S	T	Y	N	G	N	T	N	Y	A	R	M	L	Q	G
315	2B	1D1 1.4	W	I	S	T	Y	N	G	N	T	N	Y	A	R	M	L	Q	G
318	2B	1D1 1.5	W	I	S	T	Y	N	G	N	T	N	Y	A	R	M	L	Q	G
321	2B	1D1 1.7	W	I	S	T	Y	N	G	K	T	N	Y	A	R	M	L	Q	G

【０３７６】

【表７】

324	2B	1D1 1.8	W	I	S	T	Y	N	G	N	T	H	Y	A	R	M	L	Q	G
327	2B	1D1 1.9	W	I	S	T	Y	N	G	N	T	H	Y	A	R	M	L	Q	G
330	2B	1D1 1.10	W	I	S	P	Y	N	G	K	T	H	Y	A	R	M	L	Q	G
333	2B	1D1 1.11	W	I	S	T	Y	N	G	N	T	H	Y	A	R	M	L	Q	G
336	2B	1D1 1.13	W	I	S	P	Y	N	G	K	T	H	Y	A	R	M	L	Q	G
339	2B	1D1 1.15	W	I	S	P	Y	N	G	G	T	H	Y	A	Q	M	L	Q	G
342	2B	1D1 1.16	W	I	S	P	Y	N	G	V	T	H	Y	A	Q	M	L	Q	G
345	2B	1D1 1.17	W	I	S	P	Y	N	G	A	T	H	Y	A	Q	M	L	Q	G
348	2B	1D1 1.18	W	I	S	P	Y	N	G	N	K	H	Y	A	Q	M	L	Q	G
351	2B	1D1 1.19	W	I	S	T	Y	N	G	G	T	H	Y	A	R	M	L	Q	G
354	2B	1D1 1.20	W	I	S	P	Y	N	G	N	T	H	Y	A	R	M	L	Q	G
357	2B	1D1 1.21	W	I	S	T	Y	N	G	N	T	H	Y	A	Q	M	L	Q	G
360	2B	1D1 1.22	W	I	S	T	Y	N	G	V	T	H	Y	A	R	M	L	Q	G
363	2B	1D1 1.23	W	I	S	T	Y	N	G	A	T	H	Y	A	R	M	L	Q	G
366	2B	1D1 1.24	W	I	S	T	Y	N	G	N	K	H	Y	A	R	M	L	Q	G
369	2B	1D1 1.25	W	I	S	T	Y	N	G	K	T	H	Y	A	R	M	H	Q	G
372	2B	1D1 1.26	W	I	S	T	Y	N	G	N	T	H	Y	A	R	M	L	Q	G
203	2B	1D1 1.27	W	I	S	T	Y	N	G	N	T	H	Y	A	R	M	L	Q	G
210	2B	1D1 1.28	W	I	S	T	Y	N	G	N	K	H	Y	A	R	M	L	Q	G
217	2B	1D1 1.29	W	I	S	T	Y	N	G	G	T	H	Y	A	R	M	L	Q	G
224	2B	1D1 1.30	W	I	S	T	Y	N	G	V	T	H	Y	A	R	M	L	Q	G
231	2B	1D1 1.31	W	I	S	T	Y	N	G	N	T	H	Y	A	R	M	L	Q	G
238	2B	1D1 1.32	W	I	S	T	Y	N	G	G	T	H	Y	A	R	M	L	Q	G
245	2B	1D1 1.33	W	I	S	T	Y	N	G	V	T	H	Y	A	R	M	L	Q	G
252	2B	1D1 1.34	W	I	S	T	Y	N	G	K	T	H	Y	A	R	M	H	Q	G
		エピトープビン1、2Aおよび2Bにわたる抗体のコンセンサスCH2配列(配列番号377)	L W	I	S P N	Y F A T P S	D G Y	G N	S G	D S N G V K A	K N T	Y K N H	Y S	A S	D A Q R	S K M	V F L H	K Q	G
		エピトープビン2Aおよび2Bにわたる抗体のコンセンサスCH2配列(配列番号378)	W	I	N S	A T P S	G Y	N	G	N G V K A	T K	K N H	Y S	S A	Q R	K M	F L H	Q	G
		エピトープビン2B中の抗体のコンセンサスCH2配列(配列番号379)	W	I	S	T P S A	Y	N	G	N G V K A	T K	H N	Y	A	Q R	K M	L H	Q	G

【０３７７】

【表８】

表 3C. CDR-H3 配列のアラインメント

配列番号	説明	エピトープビン	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
18	9B3 CDR-H3-VH1	1	D	R	E	Y	C	T	Y	S	S	C	S	Y	D	A	F	D	I
21	9B3 CDR-H3-VH2	1	D	R	N	Y	Y	G	S	G	S	F	S	F	D	A	F	D	I
81	26B11 CDR-H3-VH1	1	D	R	E	Y	C	T	Y	S	S	C	S	Y	D	A	F	D	I
84	26B11 CDR-H3-VH2	1	D	R	N	Y	Y	G	S	G	S	F	S	F	D	A	F	D	I
87	26B11 CDR-H3-VH-MDX	1	D	R	N	Y	Y	G	S	G	S	F	S	F	D	A	F	D	I
35	15A9 CDR-H3	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	S	Y	R	G	G	M	D	V	.	.
49	15C11 CDR-H3	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	S	Y	R	G	G	M	D	V	.	.
63	22F9 CDR-H3	2A	.	.	.	G	Y	S	S	A	W	F	D	A	F	D	I	.	.
101	7D4 CDR-H3	2A	.	.	.	A	H	S	S	S	W	F	D	A	F	D	I	.	.
115	1D1 CDR-H3	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	S	Y	R	G	G	M	D	V	.	.
204	1D1 1.27 CDR-H3	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	S	Y	R	G	G	M	D	V	.	.
211	1D1 1.28 CDR-H3	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	S	Y	R	G	G	M	D	V	.	.
218	1D1 1.29 CDR-H3	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	S	Y	R	G	G	M	D	V	.	.
225	1D1 1.30 CDR-H3	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	S	Y	R	G	G	M	D	V	.	.
232	1D1 1.31 CDR-H3	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	A	Y	R	G	G	M	D	V	.	.
239	1D1 1.32 CDR-H3	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	A	Y	R	G	G	M	D	A	.	.
246	1D1 1.33 CDR-H3	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	A	Y	R	G	G	M	D	A	.	.
253	1D1 1.34 CDR-H3	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	A	Y	R	G	G	M	D	A	.	.
265	1D1 D5 VH	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	A	F	R	G	G	M	D	G	.	.
268	1D1 D18 VH	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	S	Y	R	G	G	M	D	V	.	.
271	1D1 D21 VH	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	S	Y	R	G	G	M	D	V	.	.
274	1D1 D24 VH	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	S	Y	R	G	G	M	D	V	.	.
277	1D1 D25 VH	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	S	Y	R	G	G	M	D	V	.	.
280	1D1 D28 VH	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	S	Y	R	G	G	M	D	V	.	.
283	1D1 D29 VH	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	S	Y	R	G	G	M	D	V	.	.
286	1D1 D31 VH	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	S	Y	R	G	G	M	D	V	.	.
289	1D1 D37 VH	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	S	Y	R	G	G	M	D	V	.	.
292	1D1 D38 VH	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	S	Y	R	G	G	M	D	V	.	.
295	1D1 D39 VH	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	A	Y	R	G	G	M	D	A	.	.
298	1D1 DH3 VH	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	S	Y	R	G	G	M	D	V	.	.
301	1D1 DH8 VH	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	S	Y	R	G	G	M	D	V	.	.
304	1D1 DH9 VH	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	S	Y	R	G	G	M	D	V	.	.
307	1D1 DH10 VH	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	A	Y	R	G	G	M	D	V	.	.
310	1D1 1.1	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	S	Y	R	G	G	M	D	V	.	.
313	1D1 1.3	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	S	Y	R	G	G	M	D	V	.	.
316	1D1 1.4	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	S	Y	R	G	G	M	D	V	.	.
319	1D1 1.5	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	S	Y	R	G	G	M	D	V	.	.

【０３７８】

【表９】

322	1D1 1.7	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	S	Y	R	G	G	M	D	V	.	.
325	1D1 1.8	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	S	Y	R	G	G	M	D	V	.	.
328	1D1 1.9	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	A	Y	R	G	G	M	D	V	.	.
331	1D1 1.10	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	A	Y	R	G	G	M	D	V	.	.
334	1D1 1.11	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	A	Y	R	G	G	M	D	V	.	.
337	1D1 1.13	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	A	Y	R	G	G	M	D	V	.	.
340	1D1 1.15	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	A	Y	R	G	G	M	D	A	.	.
343	1D1 1.16	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	A	Y	R	G	G	M	D	A	.	.
346	1D1 1.17	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	A	Y	R	G	G	M	D	A	.	.
349	1D1 1.18	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	A	Y	R	G	G	M	D	A	.	.
352	1D1 1.19	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	A	Y	R	G	G	M	D	A	.	.
355	1D1 1.20	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	A	Y	R	G	G	M	D	A	.	.
358	1D1 1.21	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	A	Y	R	G	G	M	D	A	.	.
361	1D1 1.22	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	A	Y	R	G	G	M	D	A	.	.
364	1D1 1.23	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	A	Y	R	G	G	M	D	A	.	.
367	1D1 1.24	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	A	Y	R	G	G	M	D	A	.	.
370	1D1 1.25	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	A	Y	R	G	G	M	D	A	.	.
373	1D1 1.26	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	A	Y	R	G	G	M	D	A	.	.
204	1D1 1.27	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	S	Y	R	G	G	M	D	V	.	.
211	1D1 1.28	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	S	Y	R	G	G	M	D	V	.	.
218	1D1 1.29	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	S	Y	R	G	G	M	D	V	.	.
225	1D1 1.30	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	S	Y	R	G	G	M	D	V	.	.
232	1D1 1.31	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	A	Y	R	G	G	M	D	V	.	.
239	1D1 1.32	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	A	Y	R	G	G	M	D	A	.	.
246	1D1 1.33	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	A	Y	R	G	G	M	D	A	.	.
253	1D1 1.34	2B	E	N	Y	Y	G	S	G	A	Y	R	G	G	M	D	A	.	.
エピトープビン 1、2A および 2B にわたる抗体のコンセンサス CH3 配列 (配列番号 380)			D E	R N	E N Y	Y G A	C Y G H	T G S	Y S G	S G A	S Y W F	C F R	S G D	Y G A	D M F	A D	F V I A G	D	I
エピトープビン 2A および 2B にわたる抗体のコンセンサス CH3 配列 (配列番号 381)			E	N	Y	Y G A	G Y H	S	G S	S A	Y W F	R F	G D	G A	M F	D	V I A G		
エピトープビン 2B 中の抗体のコンセンサス CH3 配列 (配列番号 382)			E	N	Y	Y	G	S	G	S A	Y F	R	G	G	M	D	V A G		

【０３７９】

抗体１Ｄ１およびその変異体

一実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ｉ）配列番号３７４のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ１；ｉｉ）配列番号３７７のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ２；およびｉｉｉ）配列番号３８０のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨを含む。この実施形態による抗体またはその抗原結合断片はまた、配列番号１、２２、３６、５０、６４、

８８および１０２からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＶＬ配列と少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％同一であるアミノ酸配列を含むＶＬを含んでもよい。

【０３８０】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ｉ）配列番号３７５のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ１；ｉｉ）配列番号３７８のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ２；およびｉｉｉ）配列番号３８１のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨを含む。この実施形態による抗体またはその抗原結合断片はまた、配列番号５０、６４および１０２からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＶＬ配列と少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％同一であるアミノ酸配列を含むＶＬを含んでもよい。

【０３８１】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ｉ）配列番号３７６のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ１；ｉｉ）配列番号３７９のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ２；およびｉｉｉ）配列番号３８２のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨを含む。この実施形態による抗体またはその抗原結合断片はまた、配列番号１０２のＶＬ配列と少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％同一であるアミノ酸配列を含むＶＬを含んでもよい。

【０３８２】

一実施形態では、本発明の抗体またはその抗原結合断片は、ｉ）アミノ酸配列ＧＹＸ$_1$ＦＸ$_2$Ｘ$_3$ＹＧＩＳ（式中、Ｘ$_1$はＳ、Ｄ、Ｑ、ＮまたはＰであり；Ｘ$_2$はＴまたはＲであり；Ｘ$_3$はＹまたはＨである）（配列番号３８４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；ｉｉ）アミノ酸配列ＷＩＳＸ$_4$ＹＮＧＸ$_5$Ｘ$_6$Ｘ$_7$ＹＡＸ$_8$ＭＸ$_9$ＱＧ（式中、Ｘ$_4$はＴ、Ｐ、Ｓ、またはＡであり；Ｘ$_5$はＫ、Ａ、Ｇ、Ｎ、またはＶであり；Ｘ$_6$はＴまたはＫであり；Ｘ$_7$はＮまたはＨであり；Ｘ$_8$はＲまたはＱであり；Ｘ$_9$はＬまたはＨである）（配列番号３８５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；ならびにｉｉｉ）アミノ酸配列ＥＮＹＹＧＳＧＸ$_9$Ｘ$_{10}$ＲＧＧＭＤＸ$_{11}$（式中、Ｘ$_9$はＳまたはＡであり；Ｘ$_{10}$はＹまたはＦであり；Ｘ$_{11}$はＶ、Ｇ、またはＡである）（配列番号３８２）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨを含む。

【０３８３】

本発明の抗体またはその抗原結合断片は、配列番号１０２のアミノ酸配列と少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であるアミノ酸配列を含むＶＬを含んでもよい。

【０３８４】

別の実施形態では、本発明の抗体またはその抗原結合断片は、ｉ）アミノ酸配列ＧＹＸ$_1$ＦＸ$_2$Ｘ$_3$ＹＧＩＳ（式中、Ｘ$_1$はＳ、Ｄ、Ｑ、ＮまたはＰであり；Ｘ$_2$はＴまたはＲであり；Ｘ$_3$はＹまたはＨである）（配列番号３８４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；ｉｉ）アミノ酸配列ＷＩＳＸ$_4$ＹＮＧＸ$_5$Ｘ$_6$Ｘ$_7$ＹＡＸ$_8$ＭＸ$_9$ＱＧ（式中、Ｘ$_4$はＴ、Ｐ、Ｓ、またはＡであり；Ｘ$_5$はＫ、Ａ、Ｇ、Ｎ、またはＶであり；Ｘ$_6$はＴまたはＫであり；Ｘ$_7$はＮまたはＨであり；Ｘ$_8$はＲまたはＱであり；Ｘ$_9$はＬまたはＨである）（配列番号３８５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；ｉｉｉ）アミノ酸配列ＥＮＹＹＧＳＧＸ$_9$Ｘ$_{10}$ＲＧＧＭＤＸ$_{11}$（式中、Ｘ$_9$はＳまたはＡであり；Ｘ$_{10}$はＹまたはＦであり；Ｘ$_{11}$はＶ、Ｇ、またはＡである）（配列番号３８２）を含むＣＤＲ－Ｈ３；ｉｖ）ＶＨのＫａｂａｔ番号付けにより決定される位置Ｈ７６のＴまたはＲ；ｖ）ＶＨのＫａｂａｔ番号付けにより決定される位置のＤまたはＥを含むＶＨと、配列番号１１０のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ１、配列番号１１１のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ２、および配列番号１１２のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬとを含んでもよい。

【０３８５】

さらなる実施形態では、本発明の抗体またはその抗原結合断片は、ｉ）配列番号２０２のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ１；ｉｉ）配列番号２０３、２１０、２１７、２２４、２３１、２３８、２４５、または２５２から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ２

；ｉｉｉ）配列番号２０４、２１１、２１８、２２５、２３２、２３９、２４６、または２５３から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ２を含むＶＨと、配列番号１１０のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ１、配列番号１１１のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ２、および配列番号１１２のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬとを含んでもよい。

【０３８６】

本発明の抗体またはその抗原結合断片は、

ａ）配列番号１０４のアミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１０２のアミノ酸配列を含むＶＬ；または

ｂ）配列番号１９８のアミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１０２のアミノ酸配列を含むＶＬ；または

ｃ）配列番号２０５のアミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１０２のアミノ酸配列を含むＶＬ；または

ｄ）配列番号２１２のアミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１０２のアミノ酸配列を含むＶＬ；または

ｅ）配列番号２１９のアミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１０２のアミノ酸配列を含むＶＬ；または

ｆ）配列番号２２６のアミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１０２のアミノ酸配列を含むＶＬ；または

ｇ）配列番号２３３のアミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１０２のアミノ酸配列を含むＶＬ；または

ｈ）配列番号２４０のアミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１０２のアミノ酸配列を含むＶＬ；または

ｉ）配列番号２４７のアミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１０２のアミノ酸配列を含むＶＬ；または

ｊ）配列番号２４のアミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号２２のアミノ酸配列を含むＶＬ；または

ｋ）配列番号３８のアミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号３６のアミノ酸配列を含むＶＬの両方を含んでもよい。

【０３８７】

一態様では、抗体は、配列番号１０２、配列番号２２、または配列番号３６の配列を含むＶＬを含む。別の態様では、抗体は、配列番号１０６、配列番号１９８、配列番号２０５、配列番号２１２、配列番号２１９、配列番号２２６、配列番号２３３、配列番号２４０、配列番号２４７、配列番号２４、または配列番号３８のアミノ酸配列を含むＶＨを含む。別の態様では、抗体は、これらの配列の変異体を含み、ここで、そのような変異体は保存的および非保存的置換、欠失および／または付加の両方を含んでもよく、典型的には、本明細書に開示される特定の配列のいずれかに対する少なくとも６０％、少なくとも６５％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも８７％、少なくとも８９％、少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の配列同一性を有するペプチドを含む。

【０３８８】

例えば、一態様では、本開示は、配列番号１０６、配列番号１９８、配列番号２０５、配列番号２１２、配列番号２１９、配列番号２２６、配列番号２３３、配列番号２４０、配列番号２４７、配列番号２４、もしくは配列番号３８に記載のV_H鎖アミノ酸配列、またはその変異体を含む単離された抗体またはその抗原結合部分を提供する。一態様では、前記抗体変異体は、配列番号１０６、配列番号１９８、配列番号２０５、配列番号２１２、配列番号２１９、配列番号２２６、配列番号２３３、配列番号２４０、配列番号２４７、配列番号２４、または配列番号３８に対する、１、２、３、４、５、６、７、８、９、

１０、１１、１２、１３、１４もしくは１５個の保存的もしくは非保存的置換、ならびに／または１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、もしくは１５個の付加および／もしくは欠失を含む。さらなる態様では、前記変異体は、配列番号１０６、配列番号１９８、配列番号２０５、配列番号２１２、配列番号２１９、配列番号２２６、配列番号２３３、配列番号２４０、配列番号２４７、配列番号２４、または配列番号３８との少なくとも６５％、少なくとも７５％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の配列同一性を有し、ここで、前記抗体またはその抗原結合部分はＴＬ１Ａに特異的に結合する。

【０３８９】

さらなる態様では、本開示は、配列番号１０２、配列番号２２、もしくは配列番号３６に記載のV_L鎖アミノ酸配列、またはその変異体を含む単離された抗体またはその抗原結合部分を提供する。一態様では、前記抗体変異体は、配列番号１０２、配列番号２２、または配列番号３６に対する、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４もしくは１５個の保存的もしくは非保存的置換、ならびに／または１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、もしくは１５個の付加および／もしくは欠失を含む。さらなる態様では、前記変異体は、配列番号１０２、配列番号２２、または配列番号３６との少なくとも６５％、少なくとも７５％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の配列同一性を有し、ここで、前記抗体またはその抗原結合部分はＴＬ１Ａに特異的に結合する。

【０３９０】

本発明の抗体またはその抗原結合断片は、配列番号１０６、配列番号１９８、配列番号２０５、配列番号２１２、配列番号２１９、配列番号２２６、配列番号２３３、配列番号２４０、配列番号２４７、配列番号２４、または配列番号３８のアミノ酸配列を含むＶＨを含む重鎖を含んでもよく、ここで、抗体は重鎖定常ドメインをさらに含む。本明細書の他の場所により完全に記載されるように、抗体重鎖定常ドメインを、IgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、ＩｇＡ、ＩｇＥ、ＩｇＭまたはＩｇＤ定常領域から選択することができるが、最も好ましくは、IgG_1またはIgG_2定常領域である。ＩｇＧ定常領域配列は、Ｇｍ（１）、Ｇｍ（２）、Ｇｍ（３）、およびＧｍ（１７）などの異なる個体間に存在することが知られる様々な対立遺伝子またはアロタイプのいずれかであってもよい。Ｆａｂ断片重鎖遺伝子については、ＶＨをコードするＤＮＡを、重鎖ＣＨ１定常領域のみをコードする別のＤＮＡ分子に作動可能に連結することができる。ＣＨ１重鎖定常領域を、任意の重鎖遺伝子から誘導することができる。

【０３９１】

一態様では、抗体は、配列番号１０６、配列番号１９８、配列番号２０５、配列番号２１２、配列番号２１９、配列番号２２６、配列番号２３３、配列番号２４０、配列番号２４７、配列番号２４、または配列番号３８のアミノ酸配列を含むＶＨから選択されるＶＨを含み、配列番号２５６のアミノ酸配列を含むヒト野生型ＩｇＧ１定常ドメインをさらに含む重鎖を含んでもよい。別の態様では、ＩｇＧ１定常ドメインは、Ｆｃエフェクター機能を低下させるか、または無効化する三重突然変異を含む（ｈＩｇＧ１－３ｍ；配列番号２５７）。一態様では、本発明の抗体またはその抗原結合断片は、完全長重鎖アミノ酸配列が配列番号１０８、配列番号２００、配列番号２０７、配列番号２１４、配列番号２２１、配列番号２２８、配列番号２３５、配列番号２４２、配列番号２４９、配列番号２８、または配列番号４２を含むように、配列番号１０６、配列番号１９８、配列番号２０５、配列番号２１２、配列番号２１９、配列番号２２６、配列番号２３３、配列番号２４０、配列番号２４７、配列番号２４、または配列番号３８の配列を含むＶＨを含み、ヒトＩｇＧ１－３ｍ定常ドメインをさらに含む重鎖を含んでもよい。

【０３９２】

さらなる態様では、本開示は、配列番号１０８、配列番号２００、配列番号２０７、配

列番号２１４、配列番号２２１、配列番号２２８、配列番号２３５、配列番号２４２、配列番号２４９、配列番号２８、もしくは配列番号４２に記載のアミノ酸配列、またはその変異体を含む完全長重鎖を含む単離された抗体またはその抗原結合部分を提供する。一態様では、前記抗体変異体は、配列番号１０８、配列番号２００、配列番号２０７、配列番号２１４、配列番号２２１、配列番号２２８、配列番号２３５、配列番号２４２、配列番号２４９、配列番号２８、または配列番号４２に対する、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４もしくは１５個の保存的もしくは非保存的置換、ならびに／または１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、もしくは１５個の付加および／もしくは欠失を含む。さらなる態様では、前記変異体は、配列番号１０８、配列番号２００、配列番号２０７、配列番号２１４、配列番号２２１、配列番号２２８、配列番号２３５、配列番号２４２、配列番号２４９、配列番号２８、または配列番号４２との少なくとも６５％、少なくとも７５％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の配列同一性を有し、ここで、前記抗体またはその抗原結合部分はＴＬ１Ａに特異的に結合する。

【０３９３】

本発明の抗体またはその抗原結合断片は、配列番号１０２、配列番号２２、または配列番号３６のアミノ酸配列を含むＶＬを含む軽鎖を含んでもよく、ここで、抗体は軽鎖定常ドメインをさらに含む。本明細書の他の場所により完全に記載されるように、抗体軽鎖定常ドメインを、ＣκまたはＣλ定常領域、好ましくは、Ｃκ定常領域から選択することができる。

【０３９４】

一態様では、抗体は、完全長軽鎖アミノ酸配列が配列番号１０６、配列番号２６、または配列番号４０を含むように、配列番号１０２、配列番号２２、または配列番号３６のアミノ酸配列を含むＶＬから選択されるＶＬを含み、配列番号２５５のアミノ酸配列を含むヒト野生型Ｃλ定常ドメインをさらに含む軽鎖を含んでもよい。

【０３９５】

さらなる態様では、本開示は、配列番号１０６、配列番号２６、もしくは配列番号４０に記載のアミノ酸配列、またはその変異体を含む完全長軽鎖を含む単離された抗体またはその抗原結合部分を提供する。一態様では、前記抗体変異体は、配列番号１０６、配列番号２６、または配列番号４０に対する、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４もしくは１５個の保存的もしくは非保存的置換、ならびに／または１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、もしくは１５個の付加および／もしくは欠失を含む。さらなる態様では、前記変異体は、配列番号１０６、配列番号２６、または配列番号４０との少なくとも６５％、少なくとも７５％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の配列同一性を有し、ここで、前記抗体またはその抗原結合部分はＴＬ１Ａに特異的に結合する。

【０３９６】

本発明は、１Ｄ１　１．３１　ＶＨ（ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１２０６３９）として２０１３年１０月１７日にＡＴＣＣに寄託されたベクターのポリヌクレオチド挿入物によりコードされる重鎖可変ドメインアミノ酸配列の３つのＣＤＲを含む、抗体、またはその抗原結合断片を包含する。一態様では、本発明の抗体、またはその抗原結合断片は、１Ｄ１　１．３１　ＶＨ（ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１２０６３９）としてＡＴＣＣに寄託されたベクターのポリヌクレオチド挿入物によりコードされるV_Hドメインアミノ酸配列を含む。

【０３９７】

本発明は、１Ｄ１　１．３１　ＶＬ（ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１２０６４０）として２０１３年１０月１７日にＡＴＣＣに寄託されたベクターのポリヌクレオチド挿入物によりコードされる軽鎖可変ドメインアミノ酸配列の３つのＣＤＲを含む、抗体、またはその

抗原結合断片を包含する。一態様では、本発明の抗体、またはその抗原結合断片は、１Ｄ１　１．３１　ＶＬ（ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１２０６４０）としてＡＴＣＣに寄託されたベクターのポリヌクレオチド挿入物によりコードされるＶＬドメインアミノ酸配列を含む。

【０３９８】

本発明は、１Ｄ１　１．３１　ＶＬ（ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１２０６４０）として２０１３年１０月１７日にＡＴＣＣに寄託されたベクターのポリヌクレオチド挿入物によりコードされる軽鎖可変ドメインアミノ酸配列の３つのＣＤＲと、１Ｄ１　１．３１　ＶＨ（ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１２０６３９）としてＡＴＣＣに寄託されたベクターのポリヌクレオチド挿入物によりコードされる重鎖可変ドメインアミノ酸配列の３つのＣＤＲとを含む、抗体、またはその抗原結合断片を包含する。

【０３９９】

本発明は、１Ｄ１　１．３１　ＶＬ（ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１２０６４０）として２０１３年１０月１７日にＡＴＣＣに寄託されたベクターのポリヌクレオチド挿入物によりコードされる軽鎖可変ドメインアミノ酸配列と、１Ｄ１　１．３１　ＶＨ（ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１２０６３９）としてＡＴＣＣに寄託されたベクターのポリヌクレオチド挿入物によりコードされる重鎖可変ドメインアミノ酸配列とを含む、抗体、またはその抗原結合断片を包含する。

【０４００】

ＶＬをコードするＤＮＡを、軽鎖定常領域ＣＬをコードする別のＤＮＡ分子に作動可能に連結することにより、ＶＬ領域をコードする単離されたＤＮＡを、完全長軽鎖遺伝子（ならびにＦａｂ軽鎖遺伝子）に変換することができる。ヒト軽鎖定常領域遺伝子の配列は当技術分野で公知であり（例えば、Ｋａｂａｔ，Ｅ．Ａ．ら、１９９１、Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ　ｏｆ　Ｐｒｏｔｅｉｎｓ　ｏｆ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｉｎｔｅｒｅｓｔ、第５版、Ｕ．Ｓ．　Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ　ｏｆ　Ｈｅａｌｔｈ　ａｎｄ　Ｈｕｍａｎ　Ｓｅｒｖｉｃｅｓ、ＮＩＨ　Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ　Ｎｏ．９１－３２４２を参照されたい）、これらの領域を包含するＤＮＡ断片を、標準的なＰＣＲ増幅により取得することができる。軽鎖定常領域は、カッパまたはラムダ定常領域であってもよい。カッパ定常領域は、Ｉｎｖ（１）、Ｉｎｖ（２）およびＩｎｖ（３）などの、異なる個体間に存在することが知られる様々な対立遺伝子のいずれかであってもよい。ラムダ定常領域を、３つのラムダ遺伝子のいずれかから誘導することができる。

【０４０１】

本発明の抗体またはその抗原結合断片は、図１に示されるＶＬまたはＶＨアミノ酸配列の１つの断片を含んでもよい。例えば、本発明の抗体またはその抗原結合断片は、配列番号１０６、配列番号１９８、配列番号２０５、配列番号２１２、配列番号２１９、配列番号２２６、配列番号２３３、配列番号２４０、配列番号２４７、配列番号２４、もしくは配列番号３８を含むＶＨに由来する、または配列番号１０２、配列番号２２、もしくは配列番号３６を含むＶＬに由来する、少なくとも７個、少なくとも８個、少なくとも９個、少なくとも１０個、少なくとも１２個、少なくとも１５個、少なくとも１８個、少なくとも２０個または少なくとも２５個の連続するアミノ酸の断片を含んでもよい。そのような断片は、好ましくは、ＴＬ１Ａに結合する能力などの、上記で論じた１つまたはそれ以上の機能を保持する。

【０４０２】

これらのＶＨまたはＶＬ配列のいずれかの好適な断片または変異体は、ＴＬ１Ａに結合する能力を保持する。それは、好ましくはＴＬ１Ａに特異的に結合する能力を保持する。それは、好ましくは、それが誘導される抗体と同じか、または類似するＴＬ１Ａ分子のエピトープまたは領域に特異的に結合する能力を保持する。それは、好ましくは、特に、その受容体へのＴＬ１Ａの結合を阻害する能力などの、それが誘導される抗体の１つまたはそれ以上のさらなる機能を保持する。

【０４０３】

好適な断片または変異体ＶＬ配列は、好ましくは、配列番号１０２の配列に関するＫａｂａｔの番号付けに基づく位置Ｔｙｒ３２およびＴｒｐ９４のアミノ酸を保持する。好適な断片または変異体ＶＨ配列は、好ましくは、配列番号１０４の配列に関するＫａｂａｔの番号付けに基づく位置Ｇｌｙ２６、Ｔｙｒ２７、Ｓｅｒ２８、Ｔｈｒ３０、Ｔｙｒ３１、Ｔｒｐ５０、Ｔｙｒ５３、Ａｓｎ５４、Ａｓｎ５６、Ａｓｎ５８、Ｔｈｒ７３、Ａｒｇ７６、Ｔｙｒ９７、Ｇｌｙ９９、Ｓｅｒ１００、Ｇｌｙ１００Ａ、Ｓｅｒ１００Ｂ、Ａｒｇ１００Ｄのアミノ酸、または配列番号１０４の配列に関するＫａｂａｔの番号付けに基づく位置Ｇｌｙ２６、Ａｓｐ２８、Ｔｈｒ３０、Ｔｙｒ３１、Ｔｒｐ５０、Ｔｙｒ５３、Ａｓｎ５４、Ａｓｎ５６、Ｈｉｓ５８、Ｔｈｒ７３、Ａｒｇ７６、Ｔｙｒ９７、Ｇｌｙ９９、Ｓｅｒ１００、Ｇｌｙ１００Ａ、Ｓｅｒ１００Ｂ、Ａｒｇ１００Ｄのアミノ酸を保持する。実施例で同定されるように、これらのものは２０Å^{2}以上の埋まった表面（ＢＳＡ）を有するか、または抗体がＴＬ１Ａに結合する場合に静電相互作用に関与する、１Ｄ１および１Ｄ１　１．３１軽鎖および重鎖可変ドメイン配列中の残基である。

【０４０４】

本発明の抗体またはその抗原結合断片は、配列番号１０６、配列番号１９８、配列番号２０５、配列番号２１２、配列番号２１９、配列番号２２６、配列番号２３３、配列番号２４０、配列番号２４７、配列番号２４、配列番号３８、配列番号１０２、配列番号２２、または配列番号３６内のＣＤＲ領域などの本明細書に同定される特異的抗体に由来するＣＤＲ領域を含んでもよい。そのような抗体は、好ましくは本明細書に記載されるＴＬ１Ａに結合する能力を保持する。

【０４０５】

例えば、本発明の抗体のＣＤＲ配列を、Ｋａｂａｔの定義とＡｎｔｉｂｏｄｙＭの定義の両方を用いて、図１、表８、表１１、および配列表（表４０）に示す。

【０４０６】

一態様では、本開示は、

ａ）ｉ）配列番号２０２のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ１；ｉｉ）配列番号２０３、２１０、２１７、２２４、２３１、２３８、２４５、または２５２から選択されるアミノ酸を含むＣＤＲ－Ｈ２；ｉｉｉ）配列番号２０４、２１１、２１８、２２５、２３２、２３９、２４６、または２５３から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ２を含むＶＨと、配列番号１１０のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ１、配列番号１１１のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ２、および配列番号１１２のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬ；

ｂ）配列番号１１３のＣＤＲ－Ｈ１アミノ酸配列、配列番号１１４のＣＤＲ－Ｈ２アミノ酸配列、配列番号１１５のＣＤＲ－Ｈ３アミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１１０のＣＤＲ－Ｌ１アミノ酸配列、配列番号１１１のＣＤＲ－Ｌ２アミノ酸配列、および配列番号１１２のＣＤＲ－Ｌ３アミノ酸配列を含むＶＬ；

ｃ）配列番号２０２のＣＤＲ－Ｈ１アミノ酸配列、配列番号２０３のＣＤＲ－Ｈ２アミノ酸配列、配列番号２０４のＣＤＲ－Ｈ３アミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１１０のＣＤＲ－Ｌ１アミノ酸配列、配列番号１１１のＣＤＲ－Ｌ２アミノ酸配列、および配列番号１１２のＣＤＲ－Ｌ３アミノ酸配列を含むＶＬ；

ｄ）配列番号２０９のＣＤＲ－Ｈ１アミノ酸配列、配列番号２１０のＣＤＲ－Ｈ２アミノ酸配列、配列番号２１１のＣＤＲ－Ｈ３アミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１１０のＣＤＲ－Ｌ１アミノ酸配列、配列番号１１１のＣＤＲ－Ｌ２アミノ酸配列、および配列番号１１２のＣＤＲ－Ｌ３アミノ酸配列を含むＶＬ；

ｅ）配列番号２１６のＣＤＲ－Ｈ１アミノ酸配列、配列番号２１７のＣＤＲ－Ｈ２アミノ酸配列、配列番号２１８のＣＤＲ－Ｈ３アミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１１０のＣＤＲ－Ｌ１アミノ酸配列、配列番号１１１のＣＤＲ－Ｌ２アミノ酸配列、および配列番号１１２のＣＤＲ－Ｌ３アミノ酸配列を含むＶＬ；

ｆ）配列番号２２３のＣＤＲ－Ｈ１アミノ酸配列、配列番号２２４のＣＤＲ－Ｈ２アミノ酸配列、配列番号２２５のＣＤＲ－Ｈ３アミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１１０のＣ

ＤＲ－Ｌ１アミノ酸配列、配列番号１１１のＣＤＲ－Ｌ２アミノ酸配列、および配列番号１１２のＣＤＲ－Ｌ３アミノ酸配列を含むＶＬ；
ｇ）配列番号２３０のＣＤＲ－Ｈ１アミノ酸配列、配列番号２３１のＣＤＲ－Ｈ２アミノ酸配列、配列番号２３２のＣＤＲ－Ｈ３アミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１１０のＣＤＲ－Ｌ１アミノ酸配列、配列番号１１１のＣＤＲ－Ｌ２アミノ酸配列、および配列番号１１２のＣＤＲ－Ｌ３アミノ酸配列を含むＶＬ；
ｈ）配列番号２３７のＣＤＲ－Ｈ１アミノ酸配列、配列番号２３８のＣＤＲ－Ｈ２アミノ酸配列、配列番号２３９のＣＤＲ－Ｈ３アミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１１０のＣＤＲ－Ｌ１アミノ酸配列、配列番号１１１のＣＤＲ－Ｌ２アミノ酸配列、および配列番号１１２のＣＤＲ－Ｌ３アミノ酸配列を含むＶＬ；
ｉ）配列番号２４４のＣＤＲ－Ｈ１アミノ酸配列、配列番号２４５のＣＤＲ－Ｈ２アミノ酸配列、配列番号２４６のＣＤＲ－Ｈ３アミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１１０のＣＤＲ－Ｌ１アミノ酸配列、配列番号１１１のＣＤＲ－Ｌ２アミノ酸配列、および配列番号１１２のＣＤＲ－Ｌ３アミノ酸配列を含むＶＬ；
ｊ）配列番号２５１のＣＤＲ－Ｈ１アミノ酸配列、配列番号２５２のＣＤＲ－Ｈ２アミノ酸配列、配列番号２５３のＣＤＲ－Ｈ３アミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１１０のＣＤＲ－Ｌ１アミノ酸配列、配列番号１１１のＣＤＲ－Ｌ２アミノ酸配列、および配列番号１１２のＣＤＲ－Ｌ３アミノ酸配列を含むＶＬ；
ｋ）配列番号３３のＣＤＲ－Ｈ１アミノ酸配列、配列番号３４のＣＤＲ－Ｈ２アミノ酸配列、配列番号３５のＣＤＲ－Ｈ３アミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号３０のＣＤＲ－Ｌ１アミノ酸配列、配列番号３１のＣＤＲ－Ｌ２アミノ酸配列、および配列番号３２のＣＤＲ－Ｌ３アミノ酸配列を含むＶＬ；
ｌ）配列番号４７のＣＤＲ－Ｈ１アミノ酸配列、配列番号４８のＣＤＲ－Ｈ２アミノ酸配列、配列番号４９のＣＤＲ－Ｈ３アミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号４４のＣＤＲ－Ｌ１アミノ酸配列、配列番号４５のＣＤＲ－Ｌ２アミノ酸配列、および配列番号４６のＣＤＲ－Ｌ３アミノ酸配列を含むＶＬ
を含む単離された抗体またはその抗原結合部分を提供する。

【０４０７】

一態様では、本開示は、上記に列挙されたＣＤＲに対する、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４もしくは１５個の保存的もしくは非保存的置換、ならびに／または１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、もしくは１５個の付加および／もしくは欠失を含む抗体変異体を提供する。さらなる態様では、変異体は、上記に列挙されたＣＤＲ配列との少なくとも６５％、少なくとも７５％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の配列同一性を有し、ここで、抗体またはその抗原結合部分はＴＬ１Ａに特異的に結合する。

【０４０８】

抗体７Ｄ４、２２Ｆ９、およびその変異体

本発明の抗体またはその抗原結合断片は、ｉ）アミノ酸配列ＧＹＴＦＴＳＹ$X_1$$X_2$$X_3$（式中、$X_1$はＧまたはＡであり；$X_2$はＩまたはＭであり；$X_3$はＮまたはＨである）（配列番号３８６）を含むＣＤＲ－Ｈ１；ｉｉ）アミノ酸配列ＷＩ$X_4$$X_5$$X_6$ＮＧＮＴ$X_7$$X_8$$X_9$ＱＫ$X_{10}$ＱＧ（式中、$X_4$はＳまたはＮであり；$X_5$はＴまたはＡであり；$X_6$はＹまたはＧであり；$X_7$はＮまたはＫであり；$X_8$はＳまたはＹであり；$X_9$はＡまたはＳであり；$X_{10}$はＬまたはＦである）（配列番号３８７）を含むＣＤＲ－Ｈ２；ｉｉｉ）アミノ酸配列$X_{11}$$X_{12}$ＳＳ$X_{13}$ＷＦＤＡＦＤＩ（式中、$X_{11}$はＡまたはＧであり；$X_{12}$はＨまたはＹであり；$X_{13}$はＳまたはＡである）（配列番号３８８）を含むＣＤＲ－Ｈ３；ｉｖ）ＶＨのＫａｂａｔ番号付けにより決定される位置Ｈ８５のＤまたはＥを含むＶＨと、
配列番号９６のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ１、配列番号９７のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ２、および配列番号９８のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬと

を含んでもよい。

【０４０９】

さらなる実施形態では、本発明の抗体またはその抗原結合断片は、配列番号５２または９０を含むＶＨと、配列番号５０を含むＶＬとを含んでもよい。

【０４１０】

本発明の抗体またはその抗原結合断片は、

ａ）配列番号９０のアミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号８８のアミノ酸配列を含むＶＬ；または

ｂ）配列番号５２のアミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号５０のアミノ酸配列を含むＶＬ

の両方を含んでもよい。

【０４１１】

一態様では、抗体は、配列番号８８、または配列番号５０の配列を含むＶＬを含む。別の態様では、抗体は、これらの配列の変異体を含み、ここで、そのような変異体は保存的および非保存的置換、欠失および／または付加の両方を含んでもよく、典型的には、本明細書に開示される特定の配列のいずれかに対する少なくとも６０％、少なくとも６５％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも８７％、少なくとも８９％、少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の配列同一性を有するペプチドを含む。

【０４１２】

例えば、一態様では、本開示は、配列番号８８、もしくは配列番号５０に記載のV_L鎖アミノ酸配列、またはその変異体を含む単離された抗体またはその抗原結合部分を提供する。一態様では、前記抗体変異体は、配列番号８８、または配列番号５０に対する、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４もしくは１５個の保存的もしくは非保存的置換、ならびに／または１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、もしくは１５個の付加および／もしくは欠失を含む。さらなる態様では、前記変異体は、配列番号８８、または配列番号５０との少なくとも６５％、少なくとも７５％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の配列同一性を有し、ここで、前記抗体またはその抗原結合部分はＴＬ１Ａに特異的に結合する。

【０４１３】

さらなる態様では、本開示は、配列番号９０、もしくは配列番号５２に記載のV_H鎖アミノ酸配列、またはその変異体を含む単離された抗体またはその抗原結合部分を提供する。一態様では、抗体変異体は、配列番号９０、または配列番号５２に対する、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４もしくは１５個の保存的もしくは非保存的置換、ならびに／または１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、もしくは１５個の付加および／もしくは欠失を含む。さらなる態様では、前記変異体は、配列番号９０、または配列番号５２との少なくとも６５％、少なくとも７５％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の配列同一性を有し、ここで、抗体またはその抗原結合部分はＴＬ１Ａに特異的に結合する。

【０４１４】

本発明の抗体またはその抗原結合断片は、配列番号９０、または配列番号５２のアミノ酸配列を含むＶＨを含む重鎖を含んでもよく、ここで、抗体は重鎖定常ドメインをさらに含む。本明細書の他の場所により完全に記載されるように、抗体重鎖定常ドメインを、IgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、ＩｇＡ、ＩｇＥ、ＩｇＭまたはＩｇＤ定常領域から選択することができるが、最も好ましくは、IgG_1またはIgG_2定常領域である。ＩｇＧ定常領域配列は、Ｇｍ（１）、Ｇｍ（２）、Ｇｍ（３）、およびＧｍ（１７）などの異なる個体間に存在することが知られる様々な対立遺伝子またはアロタイプのいずれ

かであってもよい。Ｆａｂ断片重鎖遺伝子については、ＶＨをコードするＤＮＡを、重鎖ＣＨ１定常領域のみをコードする別のＤＮＡ分子に作動可能に連結することができる。ＣＨ１重鎖定常領域を、任意の重鎖遺伝子から誘導することができる。

【０４１５】

一態様では、抗体は、配列番号９０、または配列番号５２のアミノ酸配列を含むＶＨから選択されるＶＨを含み、配列番号２５６のアミノ酸配列を含むヒト野生型ＩｇＧ１定常ドメインをさらに含む重鎖を含んでもよい。別の態様では、ＩｇＧ１定常ドメインは、Ｆｃエフェクター機能を低下させるか、または無効化する三重突然変異を含む（ｈＩｇＧ１－３ｍ；配列番号２５７）。一態様では、本発明の抗体またはその抗原結合断片は、完全長重鎖アミノ酸配列が配列番号９４、または配列番号５６を含むように、配列番号９０、または配列番号５２の配列を含むＶＨを含み、ヒトＩｇＧ１－３ｍ定常ドメインをさらに含む重鎖を含んでもよい。

【０４１６】

さらなる態様では、本開示は、配列番号９４、もしくは配列番号５６に記載のアミノ酸配列、またはその変異体を含む完全長重鎖を含む単離された抗体またはその抗原結合部分を提供する。一態様では、抗体変異体は、配列番号９４、または配列番号５６に対する、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４もしくは１５個の保存的もしくは非保存的置換、ならびに／または１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、もしくは１５個の付加および／もしくは欠失を含む。さらなる態様では、変異体は、配列番号９４、または配列番号５６との少なくとも６５％、少なくとも７５％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の配列同一性を有し、ここで、抗体またはその抗原結合部分はＴＬ１Ａに特異的に結合する。

【０４１７】

本発明の抗体またはその抗原結合断片は、配列番号８８、または配列番号５０のアミノ酸配列を含むＶＬを含む軽鎖を含んでもよく、ここで、抗体は軽鎖定常ドメインをさらに含む。本明細書の他の場所により完全に記載されるように、抗体軽鎖定常ドメインを、ＣκまたはＣλ定常領域、好ましくは、Ｃκ定常領域から選択することができる。

【０４１８】

一態様では、抗体は、完全長軽鎖アミノ酸配列が配列番号９２、または配列番号５４を含むように、配列番号８８、または配列番号５０のアミノ酸配列を含むＶＬから選択されるＶＬを含み、配列番号２５５のアミノ酸配列を含むヒト野生型Ｃλ定常ドメインをさらに含む軽鎖を含んでもよい。

【０４１９】

さらなる態様では、本開示は、配列番号９２、もしくは配列番号５４に記載のアミノ酸配列、またはその変異体を含む完全長軽鎖を含む単離された抗体またはその抗原結合部分を提供する。一態様では、抗体変異体は、配列番号９２、または配列番号５４に対する、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４もしくは１５個の保存的もしくは非保存的置換、ならびに／または１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、もしくは１５個の付加および／もしくは欠失を含む。さらなる態様では、変異体は、配列番号９２、または配列番号５４との少なくとも６５％、少なくとも７５％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の配列同一性を有し、ここで、抗体またはその抗原結合部分はＴＬ１Ａに特異的に結合する。

【０４２０】

本発明の抗体またはその抗原結合断片は、図１に示されるＶＬまたはＶＨアミノ酸配列の１つの断片を含んでもよい。例えば、本発明の抗体またはその抗原結合断片は、配列番号９０もしくは配列番号５２を含むＶＨに由来する、または配列番号８８もしくは配列番号５０を含むＶＬに由来する、少なくとも７個、少なくとも８個、少なくとも９個、少なくとも１０個、少なくとも１２個、少なくとも１５個、少なくとも１８個、少なくとも２

０個または少なくとも２５個の連続するアミノ酸の断片を含んでもよい。そのような断片は、好ましくは、特に、ＴＬ１Ａに結合する能力、その受容体ＤＲ３へのＴＬ１Ａの結合を阻害する能力、その受容体を介するＴＬ１Ａシグナリングを阻害する能力などの、上記で論じた１つまたはそれ以上の機能を保持する。

【０４２１】

これらのＶＨまたはＶＬ配列のいずれかの好適な断片または変異体は、ＴＬ１Ａに結合する能力を保持する。それは、好ましくはＴＬ１Ａに特異的に結合する能力を保持する。それは、好ましくは、それが誘導される抗体と同じか、または類似するＴＬ１Ａ分子のエピトープまたは領域に特異的に結合する能力を保持する。それは、好ましくは、特に、その受容体（例えば、ＤＲ３）へのＴＬ１Ａの結合を阻害する能力、その受容体によるＴＬ１Ａシグナリングを阻害する能力などの、それが誘導される抗体の１つまたはそれ以上のさらなる機能を保持する。

【０４２２】

本発明の抗体またはその抗原結合断片は、配列番号８８、配列番号５０、配列番号９０、または配列番号５０内のＣＤＲ領域などの本明細書に同定される特異的抗体に由来するＣＤＲ領域を含んでもよい。そのような抗体は、好ましくは本明細書に記載されるＴＬ１Ａに結合する能力を保持する。

【０４２３】

例えば、本発明の抗体のＣＤＲ配列を、Ｋａｂａｔの定義とＡｎｔｉｂｏｄｙＭの定義の両方を用いて、図１および配列表（表４０）に示す。

【０４２４】

一態様では、本開示は、

ａ）配列番号９９のＣＤＲ－Ｈ１アミノ酸配列、配列番号１００のＣＤＲ－Ｈ２アミノ酸配列、配列番号１０１のＣＤＲ－Ｈ３アミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号９６のＣＤＲ－Ｌ１アミノ酸配列、配列番号９７のＣＤＲ－Ｌ２アミノ酸配列、および配列番号８８のＣＤＲ－Ｌ３アミノ酸配列を含むＶＬ；または

ｂ）配列番号６１のＣＤＲ－Ｈ１アミノ酸配列、配列番号６２のＣＤＲ－Ｈ２アミノ酸配列、配列番号６３のＣＤＲ－Ｈ３アミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号５８のＣＤＲ－Ｌ１アミノ酸配列、配列番号５９のＣＤＲ－Ｌ２アミノ酸配列、および配列番号６０のＣＤＲ－Ｌ３アミノ酸配列を含むＶＬ

を含む単離された抗体またはその抗原結合部分を提供する。

【０４２５】

一態様では、本開示は、配列番号９６～１０１または配列番号５８～６３として上記に列挙されたＣＤＲに対する、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４もしくは１５個の保存的もしくは非保存的置換、ならびに／または１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、もしくは１５個の付加および／もしくは欠失を含む抗体変異体を提供する。さらなる態様では、変異体は、上記に列挙されたＣＤＲ配列との少なくとも６５％、少なくとも７５％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の配列同一性を有し、ここで、抗体またはその抗原結合部分はＴＬ１Ａに特異的に結合する。

【０４２６】

抗体２６Ｂ１１、９Ｂ３、およびその変異体

本発明の抗体またはその抗原結合断片は、ｉ）アミノ酸配列ＧＦＴＦＳＸ$_1$Ｘ$_2$ＡＸ$_3$Ｈ（式中、Ｘ$_1$はＮもしくはＳであり；Ｘ$_2$はＹもしくはＦであり；Ｘ$_3$はＬ、ＭもしくはＩである）（配列番号３８９）を含むＣＤＲ－Ｈ１；ｉｉ）アミノ酸配列ＬＩＸ$_4$Ｘ$_5$ＤＧＳＸ$_6$Ｘ$_7$ＹＹＡＤＳＶＫＧ（式中、Ｘ$_4$はＳもしくはＰであり；Ｘ$_5$はＹもしくはＦであり；Ｘ$_6$はＤ、Ｓ、もしくはＮであり；Ｘ$_7$はＫもしくはＮである）（配列番号３９０）を含むＣＤＲ－Ｈ２；ｉｉｉ）アミノ酸配列ＤＲＸ$_8$ＹＸ$_9$Ｘ$_{10}$Ｘ$_{11}$Ｘ$_{12}$ＳＸ$_{13}$ＳＸ$_{14}$ＤＡＦＤＩ（式中、Ｘ$_8$はＥもしくはＮであり；Ｘ$_9$はＣもしくはＹであ

り；X_{10}はＴもしくはＧであり；X_{11}はＹもしくはＳであり；X_{12}はＳもしくはＧであり；X_{13}はＣもしくはＦであり；X_{14}はＹもしくはＦである）を含むＣＤＲ－Ｈ３；ｉｖ）ＶＨのＫａｂａｔ番号付けにより決定される位置Ｈ８５のＡもしくはＴ；ｖ）ＶＨのＫａｂａｔ番号付けにより決定される位置１０８のＭもしくはＬを含むＶＨと、配列番号７６のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ１、配列番号７７のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ２、および配列番号７８のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ３；およびＶＬのＫａｂａｔ番号付けにより決定される位置Ｌ８３のＦもしくはＹを含むＶＬとを含んでもよい。

【０４２７】

さらなる実施形態では、本発明の抗体またはその抗原結合断片は、配列番号６６、６８、または７０を含むＶＨと、配列番号１、または６４を含むＶＬとを含んでもよい。

【０４２８】

本発明の抗体またはその抗原結合断片は、

ａ）配列番号６６のアミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号６４のアミノ酸配列を含むＶＬ；または

ｂ）配列番号６８のアミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号６４のアミノ酸配列を含むＶＬ；または

ｃ）配列番号７０のアミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号６４のアミノ酸配列を含むＶＬ；または

ｄ）配列番号３のアミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１のアミノ酸配列を含むＶＬ；または

ｅ）配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１のアミノ酸配列を含むＶＬ

の両方を含んでもよい。

【０４２９】

一態様では、抗体は、配列番号６４、または配列番号１の配列を含むＶＬを含む。別の態様では、抗体は、これらの配列の変異体を含み、ここで、そのような変異体は保存的および非保存的置換、欠失および／または付加の両方を含んでもよく、典型的には、本明細書に開示される特定の配列のいずれかに対する少なくとも６０％、少なくとも６５％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも８７％、少なくとも８９％、少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の配列同一性を有するペプチドを含む。

【０４３０】

例えば、一態様では、本開示は、配列番号６４、もしくは配列番号１に記載のV_L鎖アミノ酸配列、またはその変異体を含む単離された抗体またはその抗原結合部分を提供する。一態様では、前記抗体変異体は、配列番号６４、または配列番号１に対する、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４もしくは１５個の保存的もしくは非保存的置換、ならびに／または１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、もしくは１５個の付加および／もしくは欠失を含む。さらなる態様では、前記変異体は、配列番号６４、または配列番号１との少なくとも６５％、少なくとも７５％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の配列同一性を有し、ここで、前記抗体またはその抗原結合部分はＴＬ１Ａに特異的に結合する。

【０４３１】

さらなる態様では、本開示は、配列番号６６、配列番号６８、または配列番号７０、配列番号３、もしくは配列番号５に記載のV_H鎖アミノ酸配列、またはその変異体を含む単離された抗体またはその抗原結合部分を提供する。一態様では、前記抗体変異体は、配列番号６６、配列番号６８、または配列番号７０、配列番号３、もしくは配列番号５に対する、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４もしくは１５

個の保存的もしくは非保存的置換、ならびに／または１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、もしくは１５個の付加および／もしくは欠失を含む。さらなる態様では、前記変異体は、配列番号６６、配列番号６８、または配列番号７０、配列番号３、もしくは配列番号５との少なくとも６５％、少なくとも７５％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の配列同一性を有し、ここで、前記抗体またはその抗原結合部分はＴＬ１Ａに特異的に結合する。

【０４３２】

本発明の抗体またはその抗原結合断片は、配列番号６６、配列番号６８、または配列番号７０、配列番号３、もしくは配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＨを含む重鎖を含んでもよく、ここで、抗体は重鎖定常ドメインをさらに含む。本明細書の他の場所により完全に記載されるように、抗体重鎖定常ドメインを、ＩｇＧ$_1$、ＩｇＧ$_2$、ＩｇＧ$_3$、ＩｇＧ$_4$、ＩｇＡ、ＩｇＥ、ＩｇＭまたはＩｇＤ定常領域から選択することができるが、最も好ましくは、ＩｇＧ$_1$またはＩｇＧ$_2$定常領域である。ＩｇＧ定常領域配列は、Ｇｍ（１）、Ｇｍ（２）、Ｇｍ（３）、およびＧｍ（１７）などの異なる個体間に存在することが知られる様々な対立遺伝子またはアロタイプのいずれかであってもよい。Ｆａｂ断片重鎖遺伝子については、ＶＨをコードするＤＮＡを、重鎖ＣＨ１定常領域のみをコードする別のＤＮＡ分子に作動可能に連結することができる。ＣＨ１重鎖定常領域を、任意の重鎖遺伝子から誘導することができる。

【０４３３】

一態様では、抗体は、配列番号６６、配列番号６８、または配列番号７０、配列番号３、もしくは配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＨから選択されるＶＨを含み、配列番号２５６のアミノ酸配列を含むヒト野生型ＩｇＧ１定常ドメインをさらに含む重鎖を含んでもよい。別の態様では、ＩｇＧ１定常ドメインは、Ｆｃエフェクター機能を低下させるか、または無効化する三重突然変異を含む（ｈＩｇＧ１－３ｍ；配列番号２５７）。一態様では、本発明の抗体またはその抗原結合断片は、完全長重鎖アミノ酸配列が配列番号７４、配列番号９、または配列番号１１を含むように、配列番号６６、配列番号６８、または配列番号７０、配列番号３、もしくは配列番号５の配列を含むＶＨを含み、ヒトＩｇＧ１－３ｍ定常ドメインをさらに含む重鎖を含んでもよい。

【０４３４】

さらなる態様では、本開示は、配列番号７４、配列番号９、もしくは配列番号１１に記載のアミノ酸配列、またはその変異体を含む完全長重鎖を含む単離された抗体またはその抗原結合部分を提供する。一態様では、前記抗体変異体は、配列番号７４、配列番号９、または配列番号１１に対する、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４もしくは１５個の保存的もしくは非保存的置換、ならびに／または１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、もしくは１５個の付加および／もしくは欠失を含む。さらなる態様では、前記変異体は、配列番号７４、配列番号９、または配列番号１１との少なくとも６５％、少なくとも７５％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の配列同一性を有し、ここで、前記抗体またはその抗原結合部分はＴＬ１Ａに特異的に結合する。

【０４３５】

本発明の抗体またはその抗原結合断片は、配列番号６４、または配列番号１のアミノ酸配列を含むＶＬを含む軽鎖を含んでもよく、ここで、抗体は軽鎖定常ドメインをさらに含む。本明細書の他の場所により完全に記載されるように、抗体軽鎖定常ドメインを、ＣκまたはＣλ定常領域、好ましくは、Ｃκ定常領域から選択することができる。

【０４３６】

一態様では、抗体は、完全長軽鎖アミノ酸配列が配列番号７２、または配列番号７を含むように、配列番号６４、または配列番号１のアミノ酸配列を含むＶＬから選択されるＶＬを含み、配列番号２５５のアミノ酸配列を含むヒト野生型Ｃλ定常ドメインをさらに含

む軽鎖を含んでもよい。

【０４３７】

さらなる態様では、本開示は、配列番号７２、もしくは配列番号７に記載のアミノ酸配列、またはその変異体を含む完全長軽鎖を含む単離された抗体またはその抗原結合部分を提供する。一態様では、前記抗体変異体は、配列番号７２、または配列番号７に対する、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４もしくは１５個の保存的もしくは非保存的置換、ならびに／または１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、もしくは１５個の付加および／もしくは欠失を含む。さらなる態様では、前記変異体は、配列番号７２、または配列番号７との少なくとも６５％、少なくとも７５％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の配列同一性を有し、ここで、前記抗体またはその抗原結合部分はＴＬ１Ａに特異的に結合する。

【０４３８】

本発明の抗体またはその抗原結合断片は、図１に示されるＶＬまたはＶＨアミノ酸配列の１つの断片を含んでもよい。例えば、本発明の抗体またはその抗原結合断片は、配列番号６６、配列番号６８、または配列番号７０、配列番号３、もしくは配列番号５を含むＶＨに由来する、または配列番号７２、もしくは配列番号７を含むＶＬに由来する、少なくとも７個、少なくとも８個、少なくとも９個、少なくとも１０個、少なくとも１２個、少なくとも１５個、少なくとも１８個、少なくとも２０個または少なくとも２５個の連続するアミノ酸の断片を含んでもよい。そのような断片は、好ましくは、ＴＬ１Ａに結合する能力などの、上記で論じた１つまたはそれ以上の機能を保持する。

【０４３９】

これらのＶＨまたはＶＬ配列のいずれかの好適な断片または変異体は、ＴＬ１Ａに結合する能力を保持する。それは、好ましくはＴＬ１Ａに特異的に結合する能力を保持する。それは、好ましくは、それが誘導される抗体と同じか、または類似するＴＬ１Ａ分子のエピトープまたは領域に特異的に結合する能力を保持する。それは、好ましくは、特に、その受容体へのＴＬ１Ａの結合を阻害する能力などの、それが誘導される抗体の１つまたはそれ以上のさらなる機能を保持する。

【０４４０】

本発明の抗体またはその抗原結合断片は、配列番号６６、配列番号６８、または配列番号７０、配列番号３、配列番号５、配列番号６４、もしくは配列番号１内のＣＤＲ領域などの本明細書に同定される特異的抗体に由来するＣＤＲ領域を含んでもよい。そのような抗体は、好ましくは本明細書に記載されるＴＬ１Ａに結合する能力を保持する。

【０４４１】

例えば、本発明の抗体のＣＤＲ配列を、Ｋａｂａｔの定義とＡｎｔｉｂｏｄｙＭの定義の両方を用いて、図１および配列表（表４０）に示す。

【０４４２】

一態様では、本開示は、

ａ）配列番号７９のＣＤＲ－Ｈ１アミノ酸配列、配列番号８０のＣＤＲ－Ｈ２アミノ酸配列、および配列番号８１のＣＤＲ－Ｈ３アミノ酸配列と、配列番号７６のＣＤＲ－Ｌ１アミノ酸配列、配列番号７７のＣＤＲ－Ｌ２アミノ酸配列、および配列番号７８のＣＤＲ－Ｌ３アミノ酸配列を含むＶＬ；

ｂ）配列番号８２のＣＤＲ－Ｈ１アミノ酸配列、配列番号８３のＣＤＲ－Ｈ２アミノ酸配列、および配列番号８４のＣＤＲ－Ｈ３アミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号７６のＣＤＲ－Ｌ１アミノ酸配列、配列番号７７のＣＤＲ－Ｌ２アミノ酸配列、および配列番号７８のＣＤＲ－Ｌ３アミノ酸配列を含むＶＬ；または

ｃ）配列番号８５のＣＤＲ－Ｈ１アミノ酸配列、配列番号８６のＣＤＲ－Ｈ２アミノ酸配列、および配列番号８７のＣＤＲ－Ｈ３アミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号７６のＣＤＲ－Ｌ１アミノ酸配列、配列番号７７のＣＤＲ－Ｌ２アミノ酸配列、および配列番号７８のＣＤＲ－Ｌ３アミノ酸配列を含むＶＬ；または

ｄ）配列番号１６のＣＤＲ－Ｈ１アミノ酸配列、配列番号１７のＣＤＲ－Ｈ２アミノ酸配列、配列番１８のＣＤＲ－Ｈ３アミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１３のＣＤＲ－Ｌ１アミノ酸配列、配列番号１４のＣＤＲ－Ｌ２アミノ酸配列、および配列番号１５のＣＤＲ－Ｌ３アミノ酸配列を含むＶＬ；または
ｅ）配列番号１９のＣＤＲ－Ｈ１アミノ酸配列、配列番号２０のＣＤＲ－Ｈ２アミノ酸配列、および配列番号２１のＣＤＲ－Ｈ３アミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１３のＣＤＲ－Ｌ１アミノ酸配列、配列番号１４のＣＤＲ－Ｌ２アミノ酸配列、および配列番号１５のＣＤＲ－Ｌ３アミノ酸配列を含むＶＬ
を含む単離された抗体またはその抗原結合部分を提供する。

【０４４３】

一態様では、本開示は、上記に列挙されたＣＤＲに対する、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４もしくは１５個の保存的もしくは非保存的置換、ならびに／または１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、もしくは１５個の付加および／もしくは欠失を含む抗体変異体を提供する。さらなる態様では、変異体は、上記に列挙されたＣＤＲ配列との少なくとも６５％、少なくとも７５％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の配列同一性を有し、ここで、抗体またはその抗原結合部分はＴＬ１Ａに特異的に結合する。

【０４４４】

ポリヌクレオチド、ベクターおよび宿主細胞

本発明はまた、例えば、エフェクター機能が損なわれた抗体などの、本明細書に記載された抗体断片および改変された抗体を含めた抗体のいずれかをコードするポリヌクレオチドを提供する。別の態様では、本発明は、本明細書に記載されたポリヌクレオチドのいずれかを作製する方法を提供する。ポリヌクレオチドは、当技術分野で公知の手順によって作製し、発現させることができる。したがって、本発明は、以下のＴＬ１Ａ抗体およびその抗原結合断片：１Ｄ１　ＶＬ（配列番号１０２）、１Ｄ１　ＶＨ（配列番号１０４）、１Ｄ１　ＬＣ（配列番号１０６）、１Ｄ１－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣ（配列番号１０８）、１Ｄ１　１．２７　ＶＨ（配列番号１９８）、１Ｄ１　１．２７－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣ（配列番号２００）、１Ｄ１　１．２８　ＶＨ（配列番号２０５）、１Ｄ１　１．２８－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣ（配列番号２０７）、１Ｄ１　１．２９　ＶＨ（配列番号２１２）、１Ｄ１　１．２９－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣ（配列番号２１４）、１Ｄ１　１．３０　ＶＨ（配列番号２１９）、１Ｄ１　１．３０－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣ（配列番号２２１）、１Ｄ１　１．３１　ＶＨ（配列番号２２６）、１Ｄ１　１．３１－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣ（配列番号２２８）、１Ｄ１　１．３２　ＶＨ（配列番号２３３）、１Ｄ１　１．３２－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣ（配列番号２３５）、１Ｄ１　１．３３　ＶＨ（配列番号２４０）、１Ｄ１　１．３３－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣ（配列番号２４２）、１Ｄ１　１．３４　ＶＨ（配列番号２４７）、１Ｄ１　１．３４－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣ（配列番号２４９）、１５Ａ９　ＶＬ（配列番号２２）、１５Ａ９　ＶＨ（配列番号２４）、１５Ａ９　ＬＣ（配列番号２６）、１Ｄ１－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣ（配列番号２８）、１５Ｃ１１　ＶＬ（配列番号３６）、１５Ｃ１１　ＶＨ（配列番号３８）、１５Ｃ１１　ＬＣ（配列番号４０）、１５Ｃ１１－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣ（配列番号４２）、７Ｄ４　ＶＬ（配列番号８８）、７Ｄ４　ＶＨ（配列番号９０）、７Ｄ４　ＬＣ（配列番号９２）、７Ｄ４－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣ（配列番号９４）、２２Ｆ９　ＶＬ（配列番号５０）、２２Ｆ９　ＶＨ（配列番号５２）、２２Ｆ９　ＬＣ（配列番号５４）、２２Ｆ９－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣ（配列番号５６）、２６Ｂ１１　ＶＬ（配列番号６４）、２６Ｂ１１　ＶＨ１（配列番号６６）、２６Ｂ１１　ＶＨ２（配列番号６８）、２６Ｂ１１　ＶＨ－ＭＤＸ（配列番号７０）、２６Ｂ１１　ＬＣ（配列番号７２）、２６Ｂ１１－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣ（配列番号７４）、９Ｂ３　ＶＬ（配列番号１）、９Ｂ３　ＶＨ１（配列番号３）；９Ｂ３　ＶＨ２（配列番号５）、９Ｂ３　ＬＣ（配列番号７）、９Ｂ３－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣ１（配列番号９）、９Ｂ３－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣ２（配列番号

１１）、またはＴＬ１Ａと結合する能力を有するそのいずれかの断片もしくは部分のいずれかをコードするポリヌクレオチド、またはポリヌクレオチドを含む医薬組成物を含めた組成物を提供する。

【０４４５】

本発明は、１Ｄ１　ＶＬ（配列番号１０２）、１Ｄ１　ＶＨ（配列番号１０４）、１Ｄ１　ＬＣ（配列番号１０６）、１Ｄ１－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣ（配列番号１０８）、１Ｄ１　１．２７　ＶＨ（配列番号１９８）、１Ｄ１　１．２７－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣ（配列番号２００）、１Ｄ１　１．２８　ＶＨ（配列番号２０５）、１Ｄ１　１．２８－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣ（配列番号２０７）、１Ｄ１　１．２９　ＶＨ（配列番号２１２）、１Ｄ１　１．２９－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣ（配列番号２１４）、１Ｄ１　１．３０　ＶＨ（配列番号２１９）、１Ｄ１　１．３０－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣ（配列番号２２１）、１Ｄ１　１．３１　ＶＨ（配列番号２２６）、１Ｄ１　１．３１－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣ（配列番号２２８）、１Ｄ１　１．３２　ＶＨ（配列番号２３３）、１Ｄ１　１．３２－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣ（配列番号２３５）、１Ｄ１　１．３３　ＶＨ（配列番号２４０）、１Ｄ１　１．３３－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣ（配列番号２４２）、１Ｄ１　１．３４　ＶＨ（配列番号２４７）、１Ｄ１　１．３４－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣ（配列番号２４９）、１５Ａ９　ＶＬ（配列番号２２）、１５Ａ９　ＶＨ（配列番号２４）、１５Ａ９　ＬＣ（配列番号２６）、１Ｄ１－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣ（配列番号２８）、１５Ｃ１１　ＶＬ（配列番号３６）、１５Ｃ１１　ＶＨ（配列番号３８）、１５Ｃ１１　ＬＣ（配列番号４０）、１５Ｃ１１－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣ（配列番号４２）、７Ｄ４　ＶＬ（配列番号８８）、７Ｄ４　ＶＨ（配列番号９０）、７Ｄ４　ＬＣ（配列番号９２）、７Ｄ４－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣ（配列番号９４）、２２Ｆ９　ＶＬ（配列番号５０）、２２Ｆ９　ＶＨ（配列番号５２）、２２Ｆ９　ＬＣ（配列番号５４）、２２Ｆ９－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣ（配列番号５６）、２６Ｂ１１　ＶＬ（配列番号６４）、２６Ｂ１１　ＶＨ１（配列番号６６）、２６Ｂ１１　ＶＨ２（配列番号６８）、２６Ｂ１１　ＶＨ－ＭＤＸ（配列番号７０）、２６Ｂ１１　ＬＣ（配列番号７２）、２６Ｂ１１－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣ（配列番号７４）、９Ｂ３　ＶＬ（配列番号１）、９Ｂ３　ＶＨ１（配列番号３）；９Ｂ３　ＶＨ２（配列番号５）、９Ｂ３　ＬＣ（配列番号７）、９Ｂ３－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣ１（配列番号９）、９Ｂ３－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣ２（配列番号１１）、またはＴＬ１Ａと結合する能力を有するそのいずれかの断片もしくは部分を含めた、本発明のＴＬ１Ａ抗体およびその抗原結合断片のいずれかをコードするポリヌクレオチド、またはポリヌクレオチドを含む組成物を提供し、ここで、ポリヌクレオチドの配列は、配列番号１０３（１Ｄ１ＶＬをコードする）、配列番号１０５（１Ｄ１ＶＨをコードする）、配列番号１０７（１Ｄ１　ＬＣをコードする）、配列番号１０９（１Ｄ１－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣをコードする）、配列番号１９９（１Ｄ１　１．２７　ＶＨをコードする）、配列番号２０１（１Ｄ１　１．２７－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣをコードする）、配列番号２０６（１Ｄ１　１．２８　ＶＨをコードする）、配列番号２０８（１Ｄ１　１．２８－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣをコードする）、配列番号２１３（１Ｄ１　１．２９　ＶＨをコードする）、配列番号２１５（１Ｄ１　１．２９－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣをコードする）、配列番号２２０（１Ｄ１　１．３０　ＶＨをコードする）、配列番号２２２（１Ｄ１　１．３０－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣをコードする）、配列番号２２７（１Ｄ１　１．３１　ＶＨをコードする）、配列番号２２９（１Ｄ１　１．３１－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣをコードする）、配列番号２３４（１Ｄ１　１．３２　ＶＨをコードする）、配列番号２３６（１Ｄ１　１．３２－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣをコードする）、配列番号２４１（１Ｄ１　１．３３　ＶＨをコードする）、配列番号２４３（１Ｄ１　１．３３－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣをコードする）、配列番号２４８（１Ｄ１　１．３４　ＶＨをコードする）、配列番号２５０（１Ｄ１　１．３４－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣをコードする）、配列番号２３（１５Ａ９　ＶＬをコードする）、配列番号２５（１５Ａ９　ＶＨをコードする）、配列番号２７（１５Ａ９　ＬＣをコードする）、配列番号２９（１Ｄ１－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣをコードする）、配列番号３７（１５Ｃ１１　ＶＬをコードする）、配列

番号３９（１５Ｃ１１　ＶＨをコードする）、配列番号４１（１５Ｃ１１　ＬＣをコードする）、配列番号４３（１５Ｃ１１－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣをコードする）、配列番号８９（７Ｄ４　ＶＬをコードする）、配列番号９１（７Ｄ４　ＶＨをコードする）、配列番号９３（７Ｄ４　ＬＣをコードする）、配列番号９５（７Ｄ４－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣをコードする）、配列番号５１（２２Ｆ９　ＶＬをコードする）、配列番号５３（２２Ｆ９　ＶＨをコードする）、配列番号５５（２２Ｆ９　ＬＣをコードする）、配列番号５７（２２Ｆ９－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣをコードする）、配列番号６５（２６Ｂ１１　ＶＬをコードする）、配列番号６７（２６Ｂ１１　ＶＨ１をコードする）、配列番号６９（２６Ｂ１１　ＶＨ２をコードする）、配列番号７１（２６Ｂ１１　ＶＨ－ＭＤＸをコードする）、配列番号７３（２６Ｂ１１　ＬＣをコードする）、配列番号７５（２６Ｂ１１－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣをコードする）、配列番号２（９Ｂ３　ＶＬをコードする）、配列番号４（９Ｂ３　ＶＨ１をコードする）、配列番号６（９Ｂ３　ＶＨ２をコードする）、配列番号８（９Ｂ３　ＬＣをコードする）、配列番号１０（９Ｂ３－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣ１をコードする）、配列番号１２（９Ｂ３－ｈＩｇＧ１－３ｍ－ＨＣ２をコードする）、またはＴＬ１Ａと結合する能力を有するそのいずれかの断片もしくは部分の配列を包含する。

【０４４６】

一実施形態では、ＶＨおよびＶＬドメインもしくはその抗原結合断片または全長ＨＣもしくはＬＣは、別個のポリヌクレオチドによってコードされる。あるいは、ＶＨおよびＶＬの両方もしくはその抗原結合断片またはＨＣおよびＬＣは、単一のポリヌクレオチドによってコードされる。

【０４４７】

別の態様では、本発明は、ＴＬ１Ａ抗体をコードするポリヌクレオチドおよびその変異体を提供し、ここで、このような変異体ポリヌクレオチドは、本明細書に開示される特定の核酸のいずれかと、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも８７％、少なくとも８９％、少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％または少なくとも９９％の配列同一性を共有する。

【０４４８】

いずれかのこのような配列と相補的であるポリヌクレオチドも、本発明によって包含される。ポリヌクレオチドは、一本鎖（コードまたはアンチセンス）または二本鎖であり得、ＤＮＡ（ゲノム、ｃＤＮＡもしくは合成）またはＲＮＡ分子であり得る。ＲＮＡ分子は、イントロンを含有し、ＤＮＡ分子に１対１で対応するＨｎＲＮＡ分子およびイントロンを含有しないｍＲＮＡ分子を含む。本発明のポリヌクレオチド内にさらなるコードまたは非コード配列が存在し得るが、必ずしもそうではなく、ポリヌクレオチドが、その他の分子および／または支持材料と連結している場合もあるが、必ずしもそうではない。

【０４４９】

ポリヌクレオチドは、天然配列（すなわち、抗体またはその断片をコードする内因性配列）を含み得るか、またはこのような配列の変異体を含み得る。ポリヌクレオチド変異体は、天然の免疫反応性分子に対する、コードされるポリペプチドの免疫反応性が減少しないように、１つまたはそれ以上の置換、付加、欠失および／または挿入を含有する。コードされるポリペプチドの免疫反応性に対する効果は、全般的に本明細書に記載されるように評価される。変異体は、天然抗体またはその断片をコードするポリヌクレオチド配列に対して、好ましくは、少なくとも約７０％の同一性、より好ましくは、少なくとも約８０％の同一性、さらにより好ましくは、少なくとも約９０％の同一性および最も好ましくは、少なくとも約９５％の同一性を示す。

【０４５０】

２種のポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列は、以下に記載されるように、最大対応を求めてアラインされたときに、２種の配列中のヌクレオチドまたはアミノ酸の配列が

同一である場合に「同一」であるといわれる。２種の配列間の比較は、通常、配列類似性の局所領域を同定および比較するために比較ウィンドウにわたって配列を比較することによって実施される。本明細書において「比較ウィンドウ」とは、２種の配列が最適にアラインされた後に、同数の連続位置の参照配列に対して配列が比較される、少なくとも約２０の連続位置、普通、３０～約７５または４０～約５０のセグメントを指す。

【０４５１】

比較のための配列の最適アラインメントは、生物情報科学ソフトウェアのＬａｓｅｒｇｅｎｅ（登録商標）スーツ中のＭｅｇＡｌｉｇｎ（登録商標）プログラム（ＤＮＡＳＴＡＲ（登録商標），Ｉｎｃ．、Ｍａｄｉｓｏｎ、ＷＩ）を使用し、デフォルトパラメータを使用して実施される。このプログラムは、以下の参考文献中に記載されるいくつかのアラインメントスキームを実施する：Ｄａｙｈｏｆｆ，Ｍ．Ｏ．、１９７８、Ａ ｍｏｄｅｌ ｏｆ ｅｖｏｌｕｔｉｏｎａｒｙ ｃｈａｎｇｅ ｉｎ ｐｒｏｔｅｉｎｓ － Ｍａｔｒｉｃｅｓ ｆｏｒ ｄｅｔｅｃｔｉｎｇ ｄｉｓｔａｎｔ ｒｅｌａｔｉｏｎｓｈｉｐｓ．Ｉｎ Ｄａｙｈｏｆｆ，Ｍ．Ｏ．（編）Ａｔｌａｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｅｑｕｅｎｃｅ ａｎｄ Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ、Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｂｉｏｍｅｄｉｃａｌ Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｆｏｕｎｄａｔｉｏｎ、Ｗａｓｈｉｎｇｔｏｎ ＤＣ 第５巻、付録３、３４５～３５８頁；Ｈｅｉｎ Ｊ．、１９９０、Ｕｎｉｆｉｅｄ Ａｐｐｒｏａｃｈ ｔｏ Ａｌｉｇｎｍｅｎｔ ａｎｄ Ｐｈｙｌｏｇｅｎｅｓ ６２６～６４５頁 Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ 第１８３巻、Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｉｎｃ．、Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ、ＣＡ；Ｈｉｇｇｉｎｓ，Ｄ．Ｇ．およびＳｈａｒｐ，Ｐ．Ｍ．、１９８９、ＣＡＢＩＯＳ ５：１５１～１５３頁；Ｍｙｅｒｓ，Ｅ．Ｗ．およびＭｕｌｌｅｒ Ｗ．、１９８８、ＣＡＢＩＯＳ ４：１１～１７頁；Ｒｏｂｉｎｓｏｎ，Ｅ．Ｄ．、１９７１、Ｃｏｍｂ．Ｔｈｅｏｒ．第１１巻：１０５頁；Ｓａｎｔｏｕ，Ｎ．、Ｎｅｓ，Ｍ．、１９８７、Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．Ｅｖｏｌ．第４巻：４０６～４２５頁；Ｓｎｅａｔｈ，Ｐ．Ｈ．Ａ．およびＳｏｋａｌ，Ｒ．Ｒ．、１９７３、Ｎｕｍｅｒｉｃａｌ Ｔａｘｏｎｏｍｙ ｔｈｅ Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｎｕｍｅｒｉｃａｌ Ｔａｘｏｎｏｍｙ、Ｆｒｅｅｍａｎ Ｐｒｅｓｓ、Ｓａｎ Ｆｒａｎｃｉｓｃｏ、ＣＡ；Ｗｉｌｂｕｒ，Ｗ．Ｊ．およびＬｉｐｍａｎ，Ｄ．Ｊ．、１９８３、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ 第８０巻：７２６～７３０頁。

【０４５２】

好ましくは、「配列同一性パーセント」は、２種の最適にアラインされた配列を、少なくとも２０位置の比較のウィンドウにわたって比較することによって決定され、ここで、比較ウィンドウ中のポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列の一部は、２種の配列の最適アラインメントのための参照配列（付加または欠失を含まない）と比較して、２０パーセント以下、普通、５～１５パーセントまたは１０～１２パーセントの付加または欠失（すなわち、ギャップ）を含み得る。パーセンテージは、両配列中に同一核酸塩基またはアミノ酸残基が生じる位置数を決定して、マッチした位置数を得ること、マッチした位置数を、参照配列中の総位置数（すなわち、ウィンドウサイズ）で除することおよび結果に１００を乗じて、配列同一性パーセントを得ることによって算出する。

【０４５３】

変異体はまた、あるいは、天然遺伝子またはその一部もしくは相補体に対して実質的に相同であり得る。このようなポリヌクレオチド変異体は、中程度にストリンジェントな条件下で、天然抗体をコードする天然に存在するＤＮＡ配列（または相補配列）とハイブリダイズ可能である。

【０４５４】

適した「中程度にストリンジェントな条件」は、５ＸＳＳＣ、０．５％ ＳＤＳ、１．０ｍＭ ＥＤＴＡ（ｐＨ８．０）の液剤中で予め洗浄すること；５０℃～６５℃、５ＸＳＳＣで一晩ハイブリダイズすること；続いて、０．１％ ＳＤＳを含有する、各々２Ｘ、０．５Ｘおよび０．２ＸＳＳＣを用いて６５℃で２０分間、２回洗浄することを含む。

【０４５５】
本明細書において、「高度にストリンジェントな条件」または「高度にストリンジェンシーな条件」とは、（１）洗浄に、低イオン強度および高温を使用するもの、例えば、５０℃で、０．０１５Ｍの塩化ナトリウム／０．００１５Ｍのクエン酸ナトリウム／０．１％のドデシル硫酸ナトリウム；（２）ハイブリダイゼーションの際に、ホルムアミドなどの変性剤を使用するもの、例えば、４２℃で、０．１％ウシ血清アルブミン／０．１％フィコール／０．１％ポリビニルピロリドンを有する５０％（ｖ／ｖ）ホルムアミド／７５０ｍＭの塩化ナトリウム、７５ｍＭのクエン酸ナトリウムを有する、ｐＨ６．５の５０ｍＭリン酸ナトリウムバッファー；または（３）４２℃で、５０％ホルムアミド、５ｘＳＳＣ（０．７５Ｍ　ＮａＣｌ、０．０７５Ｍクエン酸ナトリウム）、５０ｍＭリン酸ナトリウム（ｐＨ６．８）、０．１％ピロリン酸ナトリウム、５ｘデンハート液剤、超音波処理サケ精子ＤＮＡ（５０μｇ／ｍｌ）、０．１％　ＳＤＳおよび１０％硫酸デキストランを使用するものならびに４２℃の０．２ｘＳＳＣ（塩化ナトリウム／クエン酸ナトリウム）および５５℃の５０％ホルムアミドでの洗浄と、それに続く、５５℃のＥＤＴＡを含有する０．１ｘＳＳＣからなる高ストリンジェンシー洗浄である。当業者ならば、プローブ長などといった因子に適応するために、必要に応じて、温度、イオン強度などを調節する方法を認識するであろう。

【０４５６】
当業者には理解されるであろうが、遺伝子コードの縮重の結果として、本明細書に記載されるポリペプチドをコードする多数のヌクレオチド配列がある。これらのポリヌクレオチドの一部は、任意の天然遺伝子のヌクレオチド配列に対して最小の相同性を有する。それにも関わらず、コドン使用の差異のために異なるポリヌクレオチドは、本発明によって具体的に考慮される。さらに、本明細書に提供されたポリヌクレオチド配列を含むこれらの遺伝子の対立遺伝子が、本発明の範囲内にある。対立遺伝子は、ヌクレオチドの欠失、付加および／または置換などの１つまたはそれ以上の突然変異の結果として変更される内因性遺伝子である。得られるｍＲＮＡおよびタンパク質は、変更された構造または機能を有することがあるが、必ずしもそうではない。対立遺伝子は、標準技術（ハイブリダイゼーション、増幅および／またはデータベース配列比較など）を使用して同定される。

【０４５７】
本発明のポリヌクレオチドは、化学合成、組換え法またはＰＣＲを使用して得ることができる。化学的ポリヌクレオチド合成の方法は、当技術分野で周知であり、本明細書に詳細に記載される必要はない。当業者ならば、本明細書に提供された配列および市販のＤＮＡシンセサイザーを使用して、所望のＤＮＡ配列を生成できる。

【０４５８】
組換え法を使用してポリヌクレオチドを調製するために、本明細書においてさらに論じられるように、所望の配列を含むポリヌクレオチドが適したベクター中に挿入され、次に、複製および増幅のために、ベクターが適した宿主細胞中に導入される。ポリヌクレオチドは、当技術分野で公知の任意の手段によって宿主細胞中に挿入される。細胞は、直接取り込み、エンドサイトーシス、トランスフェクション、Ｆ－交配またはエレクトロポレーションによって外因性ポリヌクレオチドを導入することによって形質転換される。外因性ポリヌクレオチドは、ひとたび導入されると、組み込まれていないベクター（プラスミドなど）として細胞内で維持されるか、または宿主細胞ゲノム中に組み込まれる。そのように増幅されたポリヌクレオチドが、当技術分野内で周知の方法によって宿主細胞から単離される。例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋら、１９８９を参照のこと。

【０４５９】
あるいは、ＰＣＲは、ＤＮＡ配列の再生を可能にする。ＰＣＲ技術は、当技術分野で周知であり、米国特許第４，６８３，１９５号、同４，８００，１５９号、同４，７５４，０６５号および同４，６８３，２０２号ならびにＰＣＲ：Ｔｈｅ　Ｐｏｌｙｍｅｒａｓｅ　Ｃｈａｉｎ　Ｒｅａｃｔｉｏｎ、Ｍｕｌｌｉｓら編、Ｂｉｒｋａｕｓｗｅｒ　Ｐｒｅｓｓ、Ｂｏｓｔｏｎ、１９９４に記載されている。

【０４６０】
ＲＮＡは、適当なベクターにおいて単離ＤＮＡを使用することおよび適した宿主細胞中に挿入することによって得ることができる。細胞が増殖し、ＤＮＡがＲＮＡに転写される場合には、次いで、例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋら、１９８９、前掲に示されるように、当業者に周知の方法を使用してＲＮＡを単離することができる。
【０４６１】
標準技術に従って、適したクローニングベクターを構築できるか、または、当技術分野で利用可能な多数のクローニングベクターから選択できる。選択されるクローニングベクターは、使用されるよう意図される宿主細胞に従って変わり得るが、有用なクローニングベクターは、全般的に、自己複製する能力を有し、特定の制限エンドヌクレアーゼの単一標的を有し得、および／またはベクターを含有するクローンの選択において使用できるマーカーの遺伝子を保持し得る。適した例として、プラスミドおよび細菌ウイルス、例えば、ｐＵＣ１８、ｐＵＣ１９、Ｂｌｕｅｓｃｒｉｐｔ（例えば、ｐＢＳ　ＳＫ＋）およびその誘導体、ｍｐ１８、ｍｐ１９、ｐＢＲ３２２、ｐＭＢ９、ＣｏｌＥ１、ｐＣＲ１、ＲＰ４、ファージＤＮＡならびにｐＳＡ３およびｐＡＴ２８などのシャトルベクターが挙げられる。これらのおよび多数のその他のクローニングベクターが、ＢｉｏＲａｄ、ＳｔｒａｔｅｇｅｎｅおよびＩｎｖｉｔｒｏｇｅｎなどの商業的供給業者から入手可能である。
【０４６２】
発現ベクターがさらに提供される。発現ベクターは、一般に、本発明のポリヌクレオチドを含有する複製可能なポリヌクレオチド構築物である。発現ベクターは、エピソームとしてか、または染色体ＤＮＡの不可欠の部分として、宿主細胞において複製可能でなくてはならないということは暗示される。適した発現ベクターとして、それだけには限らないが、プラスミド、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、レトロウイルス、コスミドを含めたウイルスベクターおよびＰＣＴ公開番号ＷＯ８７／０４４６２に開示される発現ベクターが挙げられる。ベクター成分は、一般的に、それだけには限らないが、以下：シグナル配列、複製起点、１つまたはそれ以上のマーカー遺伝子；適した転写調節エレメント（プロモーター、エンハンサーおよびターミネーターなど）のうち１つまたはそれ以上を含み得る。発現（すなわち、翻訳）のためには、リボソーム結合部位、翻訳開始部位および停止コドンなどの、１種またはそれ以上の翻訳調節エレメントも、普通必要である。
【０４６３】
対象となるポリヌクレオチドを含有するベクターおよび／またはポリヌクレオチド自体が、エレクトロポレーション、塩化カルシウム、塩化ルビジウム、リン酸カルシウム、ＤＥＡＥ－デキストランまたはその他の物質を使用するトランスフェクション；微粒子銃；リポフェクション；および感染（例えば、ベクターが、ワクシニアウイルスなどの感染性物質である場合）を含めたいくつかの適当な手段のうちいずれかによって宿主細胞中に導入され得る。導入ベクターまたはポリヌクレオチドの選択は、宿主細胞の特徴に応じて変わる。
【０４６４】
本発明はまた、本明細書に記載されたポリヌクレオチドのいずれかを含む宿主細胞も提供する。対象となる抗体、ポリペプチドまたはタンパク質をコードする遺伝子を単離する目的で、異種ＤＮＡを過剰発現可能である任意の宿主細胞を使用できる。哺乳動物宿主細胞の限定されない例として、それだけには限らないが、ＣＯＳ、ＨｅＬａおよびＣＨＯ細胞が挙げられる。ＰＣＴ公開番号ＷＯ８７／０４４６２も参照のこと。適した非哺乳動物宿主細胞として、原核生物（大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）または枯草菌（Ｂ．ｓｕｂｔｉｌｉｓ）など）および酵母（出芽酵母（Ｓ．ｃｅｒｅｖｉｓａｅ）、分裂酵母（Ｓ．ｐｏｍｂｅ）；またはＫ．ラクチス（ｌａｃｔｉｓ）など）が挙げられる。好ましくは、宿主細胞は、宿主細胞において存在する場合には、対応する対象となる内因性抗体またはタンパク質よりも約５倍高い、より好ましくは、１０倍高い、さらにより好ましくは、２０倍高いレベルでｃＤＮＡを発現する。ＴＬ１Ａへの特異的結合について宿主細胞をスクリーニングすることは、イムノアッセイまたはＦＡＣＳによって達成される。対象となる抗体ま

たはタンパク質を過剰発現する細胞を同定できる。

【０４６５】

発現ベクターを、ＴＬ１Ａ抗体の発現に向けるために使用できる。当業者は、ｉｎ ｖｉｖｏで外因性タンパク質の発現を得るための発現ベクターの投与に精通している。例えば、米国特許第６，４３６，９０８号；同６，４１３，９４２号；および同６，３７６，４７１号を参照のこと。発現ベクターの投与は、注射、経口投与、パーティクルガンまたはカテーテル処置した投与を含めた、局所または全身投与および局部投与を含む。別の実施形態では、発現ベクターは、交感神経幹もしくは神経節に、または冠動脈、心房、心室もしくは心膜中に直接投与される。

【０４６６】

発現ベクターまたはサブゲノムポリヌクレオチドを含有する治療用組成物の標的化送達も使用できる。受容体媒介性ＤＮＡ送達技術は、例えば、Ｆｉｎｄｅｉｓら、Ｔｒｅｎｄｓ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．、１９９３、第１１巻：２０２頁；Ｃｈｉｏｕら、Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ：Ｍｅｔｈｏｄｓ Ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ Ｏｆ Ｄｉｒｅｃｔ Ｇｅｎｅ Ｔｒａｎｓｆｅｒ、Ｊ．Ａ．Ｗｏｌｆｆ編、１９９４；Ｗｕら、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．、１９８８、第２６３巻：６２１頁；Ｗｕら、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．、１９９４、第２６９巻：５４２頁；Ｚｅｎｋｅら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、１９９０、第８７巻：３６５５頁；Ｗｕら、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．、１９９１、第２６６巻：３３８頁に記載されている。ポリヌクレオチドを含有する治療用組成物は、遺伝子療法プロトコールにおける局所投与用には約１００ｎｇ～約２００ｍｇのＤＮＡの範囲で投与される。遺伝子療法プロトコールの際に、約５００ｎｇ～約５０ｍｇ、約１μｇ～約２ｍｇ、約５μｇ～約５００μｇおよび約２０μｇ～約１００μｇのＤＮＡの濃度範囲も使用できる。治療用ポリヌクレオチドおよびポリペプチドは、遺伝子送達ビヒクルを使用して送達することができる。遺伝子送達ビヒクルは、ウイルスまたは非ウイルス起源のものであり得る（全般的に、Ｊｏｌｌｙ、Ｃａｎｃｅｒ Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒａｐｙ、１９９４、第１巻：５１頁；Ｋｉｍｕｒａ、Ｈｕｍａｎ Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒａｐｙ、１９９４、第５巻：８４５頁；Ｃｏｎｎｅｌｌｙ、Ｈｕｍａｎ Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒａｐｙ、１９９５、第１巻：１８５頁；およびＫａｐｌｉｔｔ、Ｎａｔｕｒｅ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ、１９９４、第６巻：１４８頁を参照のこと）。このようなコード配列の発現は、内因性哺乳動物または異種プロモーターを使用して誘導できる。コード配列の発現は、構成的である場合も、調節できる場合もある。

【０４６７】

所望のポリヌクレオチドの送達および所望の細胞における発現のためのウイルスベースのベクターは、当技術分野で周知である。例示的ウイルスベースのビヒクルとして、それだけには限らないが、組換えレトロウイルス（例えば、ＰＣＴ公開番号ＷＯ９０／０７９３６；ＷＯ９４／０３６２２；ＷＯ９３／２５６９８；ＷＯ９３／２５２３４；ＷＯ９３／１１２３０；ＷＯ９３／１０２１８；ＷＯ９１／０２８０５；米国特許第５，２１９，７４０号および同４，７７７，１２７号；英国特許第２，２００，６５１号；および欧州特許第０３４５２４２号を参照のこと）、アルファウイルスベースのベクター（例えば、シンビドスウイルスベクター、セムリキ森林ウイルス（ＡＴＣＣ ＶＲ－６７；ＡＴＣＣ ＶＲ－１２４７）、ロスリバーウイルス（ＡＴＣＣ ＶＲ－３７３；ＡＴＣＣ ＶＲ－１２４６）およびベネズエラウマ脳炎ウイルス（ＡＴＣＣ ＶＲ－９２３；ＡＴＣＣ ＶＲ－１２５０；ＡＴＣＣ ＶＲ １２４９；ＡＴＣＣ ＶＲ－５３２））およびアデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）ベクター（例えば、ＰＣＴ公開番号ＷＯ９４／１２６４９、ＷＯ９３／０３７６９；ＷＯ９３／１９１９１；ＷＯ９４／２８９３８；ＷＯ９５／１１９８４およびＷＯ９５／００６５５）が挙げられる。Ｃｕｒｉｅｌ、Ｈｕｍ．Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒ．、１９９２、第３巻：１４７頁に記載される死滅したアデノウイルスと連結しているＤＮＡの投与も使用できる。

【０４６８】

それだけには限らないが、死滅したアデノウイルスと連結しているか、または連結して

いない単独のポリカチオンの縮合ＤＮＡ（例えば、Ｃｕｒｉｅｌ、Ｈｕｍ．Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒ．、１９９２、第３巻：１４７頁を参照のこと）；リガンド連結型ＤＮＡ（例えば、Ｗｕ、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．、１９８９、第２６４巻：１６９８５頁を参照のこと）；真核細胞送達ビヒクル細胞（例えば、米国特許第５，８１４，４８２号；ＰＣＴ公開番号ＷＯ９５／０７９９４；ＷＯ９６／１７０７２；ＷＯ９５／３０７６３；およびＷＯ９７／４２３３８を参照のこと）ならびに核電荷中和（ｎｕｃｌｅｉｃ ｃｈａｒｇｅ ｎｅｕｔｒａｌｉｚａｔｉｏｎ）または細胞膜との融合を含めた、非ウイルス送達ビヒクルおよび方法も使用できる。裸のＤＮＡも使用できる。例示的な裸のＤＮＡ導入法は、ＰＣＴ公開番号ＷＯ９０／１１０９２および米国特許第５，５８０，８５９号に記載されている。遺伝子送達ビヒクルとして作用し得るリポソームは、米国特許第５，４２２，１２０号；ＰＣＴ公開番号ＷＯ９５／１３７９６；ＷＯ９４／２３６９７；ＷＯ９１／１４４４５；およびＥＰ０５２４９６８に記載されている。さらなるアプローチは、Ｐｈｉｌｉｐ、Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌ．、１９９４、第１４巻：２４１１頁、およびＷｏｆｆｅｎｄｉｎ、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．、１９９４、第９１巻：１５８１頁に記載されている。

【０４６９】

抗体結合

本明細書において記載される抗体またはその抗原結合断片は、腫瘍壊死因子様リガンド１Ａ（ＴＬ１Ａ）と選択的に結合する。一実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ヒト腫瘍壊死因子様リガンド１Ａ（ｈＴＬ１Ａ）と結合する。

【０４７０】

特定の場合には、特に、治療薬を開発している場合には、抗体にとって、安全性および／または効能の代用モデルとして使用できるその他の種由来のＴＬ１Ａと交差反応することは、有利である。例えば、いくつかの場合には、治療薬の毒性および／または効能を、特定の疾患の代用動物モデルにおいて測定できる。したがって、一実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ヒト腫瘍壊死因子様リガンド１Ａ（ｈＴＬ１Ａ）ならびにマウス、ラット、イヌおよびカニクイザルからなる群から選択される少なくとも１種のその他の哺乳動物由来の腫瘍壊死因子様リガンド１Ａと結合する。特定の実施形態では、マウス、ラット、イヌおよびカニクイザルからなる群から選択される少なくとも１種のその他の哺乳動物由来の腫瘍壊死因子様リガンド１Ａの抗体のＫＤは、ｈＴＬ１Ａの抗体のＫＤよりも３０倍程度高い、例えば、２０倍程度高い、１５倍程度高いまたは１０倍程度高い。さらに別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ＳＰＲによって測定されるように、１０ｎＭ以下の、例えば、３ｎＭ以下の、１ｎＭ以下の、３００ｐＭ以下の、または１００ｐＭ以下のマウスＴＬ１Ａに対する親和性を有する。

【０４７１】

別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ＳＰＲによって測定されるように、１μＭ以上の、例えば、３μＭ以上の、１０μＭ以上の、３０μＭ以上の、１００μＭ以上のヒトＴＮＦαに対する親和性を有する。

【０４７２】

さらに別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ＳＰＲによって測定されるように、１０ｎＭ以下、例えば、３ｎＭ以下、１ｎＭ以下、３００ｐＭ以下または１００ｐＭ以下のマウスＴＬ１Ａに対する親和性を有する。特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ＳＰＲによって測定されるように、１００ｐＭ以下のヒトＴＬ１Ａに対する親和性、３００ｐＭ以下のマウスＴＬ１Ａに対する親和性、を有する。および１μＭ以上のヒトＴＮＦαに対する親和性を有する。

【０４７３】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）によって測定される、４ｎＭ以下の、例えば、１ｎＭ以下の、５００ｐＭ以下の、２５０ｐＭ以下の、１００ｐＭ以下の、５０ｐＭ以下の、２５ｐＭ以下の、１０ｐＭ以下の、５ｐＭ以下のヒトＴＬ１Ａに対する親和性を有する。

【０４７４】
別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ＳＰＲによって測定されるように、１μＭ以上の、例えば、３μＭ以上の、１０μＭ以上の、３０μＭ以上の、１００μＭ以上の、ヒトＴＮＦαに対する親和性を有する。
【０４７５】
さらに別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、以下に詳細に定義されるように、１Ｄ１　１．３１、２６Ｂ１１、９Ｂ３、７Ｄ４、２２Ｆ９、１５Ａ９および１５Ｃ１１からなる群から選択される抗体と競合する。
【０４７６】
特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ＳＰＲによって測定されるように、１００ｐＭ以下のヒトＴＬ１Ａに対する親和性、３００ｐＭ以下のマウスＴＬ１Ａに対する親和性および１μＭ以上のヒトＴＮＦαに対する親和性を有する。
【０４７７】
特定の場合には、抗体またはその抗原結合断片のＴＬ１Ａまたは任意のその他のタンパク質との結合は、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）を使用して測定できる。ある特定の実施形態では、親和性は、ＳＰＲにより測定されるＫＤ値である。さらに他の場合、ＳＰＲは捕捉された抗体、および液相標的を用いる。いくつかの実施形態では、捕捉された抗体は、抗アイソタイプ抗体またはその抗原結合部分を用いてセンサーチップ上に固定される。例えば、抗アイソタイプ抗体またはその抗原結合部分を、約４，０００～約１３，０００応答単位の密度でセンサーチップ上に固定することができる。ＳＰＲ測定を、例えば、実質的に実施例８に記載のプロトコールに従って行われるように実行することもできる。いくつかの場合、ＳＰＲは、捕捉された標的、および液相抗体を用いる。いくつかの実施形態では、ＳＰＲ測定は、Ｂｉａｃｏｒｅ　Ｔ１００またはＴ２００装置を用いて行われる。
【０４７８】
他の実施形態では、ヒトＴＬ１Ａに対する抗体またはその抗原結合断片の親和性は、溶液系結合平衡除外アッセイ（ＫｉｎＥｘＡ）により測定される。例えば、いくつかの場合、親和性は、溶液系結合平衡除外アッセイ（ＫｉｎＥｘＡ）により測定されるＫＤ値である。他の場合、ＫｉｎＥｘＡは、固相上の捕捉された標的、および液相抗体を用いる。さらに他の場合、抗体および標的は、平衡に達するのに十分に長く溶液中で予備インキュベートされる。一実施形態では、未結合の抗体のレベルは、抗体および標的が平衡に達した後に測定される。特定の実施形態では、ＫｉｎＥｘＡ測定は、ＫｉｎＥｘＡ　３２００装置（Ｓａｐｉｄｙｎｅ）を用いて行われる。
【０４７９】
治療法
治療法は、治療を必要とする対象に、治療上有効な量または有効な量の本発明のＴＬ１Ａ抗体または抗原結合部分を投与することを含み、本開示によって考慮される。本明細書において、「治療上有効な」または「有効な」量とは、単独またはその他の薬剤と組み合わせて、単回用量として、または複数回用量のレジメンに従ってのいずれかで、疾患症状の重症度の低減、疾患症状のない期間の頻度および期間の増大または疾患苦悩による機能障害もしくは身体障害の防止をもたらすのに十分な量である抗体またはその一部の量を指す。当業者ならば、対象の大きさ、対象の症状の重症度および特定の組成物または選択される投与経路などの因子に基づいてこのような量を決定できる。対象は、ヒトまたは非ヒト動物（例えば、ウサギ、ラット、マウス、サルまたはその他の低次霊長類）であり得る。
【０４８０】
本発明の抗体または抗原結合部分は、既知医薬と同時投与でき、いくつかの場合には、抗体自体を改変できる。例えば、抗体は、効能を潜在的にさらに増大するために免疫毒素または放射性同位元素とコンジュゲートできる。さらなる治療薬との同時投与に関しては、このような薬剤として、細胞傷害性薬剤、放射性毒性物質または免疫抑制剤を挙げるこ

とができる。抗体を、薬剤と連結してもよく（免疫複合体として）、または薬剤とは別個に投与してもよい。後者の場合には（別個の投与）、抗体を、薬剤の前に、後に、もしくはそれと同時に投与できる、またはその他の既知治療、例えば、抗癌治療、例えば、放射線照射と同時投与できる。本開示のＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片の、異なる機序によって働く２種の薬剤を提供する治療薬との同時投与は、ヒト疾患に対する治療薬と、おそらくは相乗作用を提供する。

【０４８１】

本明細書に開示される抗体および抗原結合部分は、例えば、Ｈｓｕ　ａｎｄ　Ｖｉｎｅｙ、前掲において概説されるように、ＴＬ１Ａが望ましくなく発現されるか、見出される種々の状況において、治療または診断ツールとして使用できる。炎症経路における、ならびに神経疾患、障害および状態におけるＴＬ１Ａの関与を考えると、多数のこのような疾患、障害または状態が、本発明の抗体または抗原結合部分を用いる治療に特に適している。したがって、ＴＬ１Ａ媒介性障害の治療または防止において、本開示のＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片を使用できる。さらに、本発明は、ＴＬ１Ａ媒介性障害の治療または防止において使用するための医薬の製造における本開示のＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片の使用を提供する。別の実施形態では、本出願は、ＴＬ１Ａ媒介性障害の治療において使用するためのＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片を開示する。さらなる実施形態では、本出願は、ＴＬ１Ａ媒介性疾患の治療または防止において使用するための、本開示のＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片を含む医薬組成物を開示する。これらのＴＬ１Ａ媒介性疾患または状態として、それだけには限らないが、ＩＢＤ（クローン病および潰瘍性大腸炎を含む）、喘息（内因性喘息およびアレルギー性喘息を含む）、アレルギー（例えば、アトピー性アレルギー）、糖尿病、関節炎障害（関節リウマチ、若年性関節リウマチ、変形性関節症、乾癬関節炎および強直性脊椎炎を含む）、多発性硬化症、移植拒絶、移植片対宿主病（ＧＶＨＤ）、脊椎関節症、原発性硬化性胆管炎、原発性胆汁性肝硬変、アテローム性動脈硬化症、膀胱症候群／間質性膀胱炎、膀胱腸機能障害、敗血症、ブドウ膜炎、脳脊髄炎、重症筋無力症、全身性エリテマトーデス、皮膚紅斑性狼瘡、自己免疫甲状腺炎、皮膚炎（アトピー性皮膚炎および湿疹性皮膚炎を含む）、乾癬、シェーグレン症候群、強皮症および脈管炎などの炎症性障害が挙げられる。

【０４８２】

以下により十分に論じるように、前記の障害のいずれかを治療するために、本開示に従って使用するための医薬組成物を、１種またはそれ以上の薬学的に許容される担体または賦形剤を使用して従来法で製剤化し、投与できる。

【０４８３】

本開示に従う抗体または抗原結合部分の治療上有効な量を決定することは、個々の患者の特徴、投与経路および治療されている障害の性質に大きく左右され、以下に、より十分に論じる。

【０４８４】

抗体の投与および投薬を、以下で、別の場所でより十分に論じる。

【０４８５】

診断法

本明細書に開示されるＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合部分を、診断試験およびイメージングのために使用できる。例えば、ＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合部分を、ＥＬＩＳＡアッセイにおいて使用できる。抗体またはその抗原結合部分はまた、放射標識したモノクローナル抗体として使用できる。例えば、Ｓｒｉｖａｓｔａｖａ（編）、Ｒａｄｉｏｌａｂｅｌｅｄ　Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ　Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ　Ｆｏｒ　Ｉｍａｇｉｎｇ　Ａｎｄ　Ｔｈｅｒａｐｙ、Ｐｌｅｎｕｍ　Ｐｒｅｓｓ（１９８８）；Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ、第１８版、Ｇｅｎｎａｒｏら（編）、Ｍａｃｋ　Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ　Ｃｏ．、６２４～６５２頁（１９９０）におけるＣｈａｓｅ、”Ｍｅｄｉｃａｌ　Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ　ｏｆ　Ｒａｄｉｏｉｓｏｔｏｐｅｓ”；およびＢｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　ａｎｄ　Ｐｈａｒｍａｃｙ、Ｐ

ｅｚｚｕｔｏら（編）、Ｃｈａｐｍａｎ ａｎｄ Ｈａｌｌ、２２７～２４９頁（１９９３）におけるＢｒｏｗｎ、”Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｕｓｅ ｏｆ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ”；Ｇｒｏｓｓｍａｎ、１９８６、Ｕｒｏｌ．Ｃｌｉｎ．Ｎｏｒｔｈ Ａｍｅｒ．第１３巻：４６５～４７４頁；Ｕｎｇｅｒら、１９８５、Ｉｎｖｅｓｔ．Ｒａｄｉｏｌ．第２０巻：６９３～７００頁；およびＫｈａｗら、１９８０、Ｓｃｉｅｎｃｅ第２０９巻：２９５～２９７頁を参照のこと。免疫シンチグラフィーとしても知られるこの技術は、γカメラを使用して、モノクローナル抗体とコンジュゲートしているγ線放射性同位元素の位置を検出する。画像診断法を使用して、癌、自己免疫疾患、感染性疾患および／または心血管疾患を診断できる（例えば、Ｂｒｏｗｎ、前掲を参照のこと）。

【０４８６】

一実施形態では、ＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片を使用して、免疫関連疾患を含めたＴＬ１Ａ関連疾患、障害または状態を診断できる。例えば、抗体またはその抗原結合断片を使用して、その他の使用の中でも、患者においてＴＬ１Ａレベルを検出できる。

【０４８７】

診断に加えて、ＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片を使用して、治療反応をモニタリングし、疾患の再発を検出し、その後の臨床決定を導くことができる。

【０４８８】

いくつかの実施形態では、診断およびモニタリング目的で、放射性同位元素を、抗体断片に直接的または中間官能基を使用することによって間接的に結合することができる。このような中間官能基として、例えば、ＤＴＰＡ（ジエチレントリアミン五酢酸）およびＥＤＴＡ（エチレンジアミン四酢酸）が挙げられる。患者に送達される放射線量は、通常、できる限り低いレベルで維持される。これは、最小半減期、身体における最小保持および検出および正確な測定を可能にする同位元素の最小量の最良の組合せのための同位元素の選択によって達成される。抗体に結合させることができ、画像診断にとって適当である放射性同位元素の例として、^{99}ｍＴｃおよび^{111}Ｉｎが挙げられる。

【０４８９】

研究は、抗体断片、特に、ＦａｂおよびＦａｂ’が、適した腫瘍／バックグラウンド比を提供することを示す（例えば、Ｂｒｏｗｎ、前掲を参照のこと）。

【０４９０】

ｉｎ ｖｉｖｏ診断のために、ＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片を、常磁性イオンを用いて標識できる。磁気共鳴画像法のために特に有用である元素として、Ｇｄ、Ｍｎ、ＤｙおよびＦｅイオンが挙げられる。

【０４９１】

ＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片はまた、ｉｎ ｖｉｔｒｏでＴＬ１Ａの存在を検出できる。このようなイムノアッセイでは、抗体またはその抗原結合断片は、液相中で利用してもよく、または固相担体と結合させてもよい。例えば、無傷の抗体またはその抗原結合断片を、アミノデキストランなどのポリマーと結合させて、抗体成分を、ポリマーコーティングされたビーズ、プレートまたはチューブなどの不溶性支持体と連結することができる。

【０４９２】

あるいは、ＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片を使用して、組織学的試料から調製した組織切片において特定の抗原の存在を検出できる。このようなｉｎ ｓｉｔｕ検出は、例えば、組織切片に検出可能に標識されたＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片を適用することによって達成できる。ｉｎ ｓｉｔｕ検出を使用して、調べた組織における特定の抗原の存在を調べることができ、抗原の分布を調べることができる。ｉｎ ｓｉｔｕ検出の一般的な技術は、当業者に周知である。（例えば、Ｍａｍｍａｌｉａｎ Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ：Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈ、Ｍｏｎｋ（編）、ＩＲＬ Ｐｒｅｓｓ、１１５～１３８頁（１９８７）におけるＰｏｎｄｅｒ、”Ｃｅｌｌ Ｍａｒｋｉｎｇ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ ａｎｄ Ｔｈｅｉｒ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎ”；Ｃｏｌｉｇａｎら、前掲を参照のこと）。

【０４９３】
酵素、蛍光化合物、電子移動剤などといった検出可能な標識を、当技術分野で周知の従来法によって担体に連結できる。抗体コンジュゲートは、標識の抗体との直接結合によって調製できるが、これらの標識された担体およびそれらから調製された抗体コンジュゲートは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏイムノアッセイのために、ｉｎ　ｓｉｔｕ検出のために使用できる。複数の標識を有する抗体コンジュゲートのローディングは、抗体または抗体断片の標的抗原との低い程度の結合しか達成されない場合に、イムノアッセイまたは組織学的手順の感受性を高め得る。
【０４９４】
組成物
本発明はまた、有効量の本明細書において記載されたＴＬ１Ａ抗体を含む医薬組成物を提供する。このような組成物の例ならびに製剤化する方法も、本明細書に記載されている。いくつかの実施形態では、組成物は、１種またはそれ以上のＴＬ１Ａ抗体を含む。その他の実施形態では、ＴＬ１Ａ抗体は、ＴＬ１Ａを認識する。その他の実施形態では、ＴＬ１Ａ抗体は、ヒト抗体である。その他の実施形態では、ＴＬ１Ａ抗体は、ヒト化抗体である。いくつかの実施形態では、ＴＬ１Ａ抗体は、抗体媒介性溶解またはＡＤＣＣなどの所望の免疫応答を誘発可能である定常領域を含む。その他の実施形態では、ＴＬ１Ａ抗体は、抗体媒介性溶解またはＡＤＣＣなどの不要のまたは望ましくない免疫応答を誘発しない定常領域を含む。その他の実施形態では、ＴＬ１Ａ抗体は、抗体の１種またはそれ以上のＣＤＲ（１種、２種、３種、４種、５種または、いくつかの実施形態では、６種すべてのＣＤＲなど）を含む。
【０４９５】
組成物は、２種以上のＴＬ１Ａ抗体（例えば、ＴＬ１Ａの異なるエピトープを認識するＴＬ１Ａ抗体の混合物）を含み得るということが理解される。その他の例示的組成物は、同一エピトープを認識する２種以上のＴＬ１Ａ抗体またはＴＬ１Ａの異なるエピトープと結合する異なる種のＴＬ１Ａ抗体を含む。いくつかの実施形態では、組成物は、ＴＬ１Ａの異なる変異体を認識するＴＬ１Ａ抗体の混合物を含む。
【０４９６】
いくつかの場合には、水性液剤中または医薬製剤中で高い溶解度を有する抗体または抗原結合断片を有することが望ましい。したがって、一実施形態では、本発明の抗体またはその抗原結合断片は、水性液剤中で、少なくとも約１０ｍｇ／ｍｌ、例えば、少なくとも約２０ｍｇ／ｍｌ、少なくとも約３０ｍｇ／ｍｌ、少なくとも約４０ｍｇ／ｍｌ、少なくとも約５０ｍｇ／ｍｌ、少なくとも約６０ｍｇ／ｍｌ、少なくとも約７０ｍｇ／ｍｌ、少なくとも約８０ｍｇ／ｍｌ、少なくとも約９０ｍｇ／ｍｌ、少なくとも約１００ｍｇ／ｍｌ、少なくとも約１２５ｍｇ／ｍｌ、少なくとも約１５０ｍｇ／ｍｌ、少なくとも約１７５ｍｇ／ｍｌおよび少なくとも約２００ｍｇ／ｍｌの溶解度を有する。特定の場合には、水性液剤は、約５．０～９．０のｐＨを有する液剤である。その他の場合には、水性液剤のｐＨは、約ｐＨ６．０からｐＨ８．０の間である。
【０４９７】
本発明において使用される組成物は、凍結乾燥製剤または水性液剤の形態で、薬学的に許容される担体、賦形剤または安定剤をさらに含み得る（Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ：Ｔｈｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅ　ａｎｄ　ｐｒａｃｔｉｃｅ　ｏｆ　Ｐｈａｒｍａｃｙ　第２０版、２０００、Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ　ＷｉｌｌｉａｍｓおよびＷｉｌｋｉｎｓ編　Ｋ．Ｅ．Ｈｏｏｖｅｒ）。許容される担体、賦形剤または安定剤は、投与量および濃度でレシピエントにとって非毒性であり、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めた抗酸化剤；保存料（オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド；ヘキサメトニウムクロリド；ベンザルコニウムクロリド；ベンゼトニウムクロリド；フェノール；ブチルもしくはベンジルアルコール；メチルもしく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、ゼラチンもしく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、アルギニンもしくはリシンなどのアミノ酸；グルコース、マンノースもしくはデキストランを含めた単糖類、二糖類およびその他の炭水化物；ＥＤＴＡなどのキレート化剤；スクロース、マンニトール、トレハロースもしくはソルビトールなどの糖類；ナトリウムなどの塩形成性対イオン；金属錯体（例えば、Ｚｎ－タンパク質複合体）；ならびに／またはＴＷＥＥＮ（商標）、ＰＬＵＲＯＮＩＣＳ（商標）もしくはポリエチレングリコール（ＰＥＧ）などの非イオン性界面活性剤を含み得る。薬学的に許容される賦形剤が、本明細書においてさらに記載される。

【０４９８】

また、ＴＬ１Ａ抗体およびその組成物を、薬剤の有効性を増強および／または補完するよう役立つその他の薬剤とともに使用できる。

【０４９９】

本発明はまた、本発明のポリヌクレオチドのいずれかを含む医薬組成物を含めた組成物を提供する。いくつかの実施形態では、組成物は、本明細書に記載される抗体をコードするポリヌクレオチドを含む発現ベクターを含む。その他の実施形態では、組成物は、本明細書に記載される抗体のいずれかをコードするポリヌクレオチドを含む発現ベクターを含む。さらなるその他の実施形態では、組成物は、配列番号１０３および配列番号１０５に示される配列を含むポリヌクレオチドのいずれかもしくは両方、配列番号１０７および配列番号１０９に示されるポリヌクレオチドのいずれかもしくは両方、配列番号１０３および配列番号１９９に示されるポリヌクレオチドのいずれかもしくは両方、配列番号１０７および配列番号２０１に示されるポリヌクレオチドのいずれかもしくは両方、配列番号１０３および配列番号２０６に示されるポリヌクレオチドのいずれかもしくは両方、または配列番号１０７および配列番号２０８に示されるポリヌクレオチドのいずれかもしくは両方、または配列番号１０３および配列番号２１３に示されるポリヌクレオチドのいずれかもしくは両方、または配列番号１０７および配列番号２１５に示されるポリヌクレオチドのいずれかもしくは両方、または配列番号１０３および配列番号２２０に示されるポリヌクレオチドのいずれかもしくは両方、または配列番号１０７および配列番号２２２に示されるポリヌクレオチドのいずれかもしくは両方、または配列番号１０３および配列番号２２７に示されるポリヌクレオチドのいずれかもしくは両方、または配列番号１０７および配列番号２２９に示されるポリヌクレオチドのいずれかもしくは両方、または配列番号１０３および配列番号２４１に示されるポリヌクレオチドのいずれかもしくは両方、または配列番号１０７および配列番号２４３に示されるポリヌクレオチドのいずれかもしくは両方、または配列番号１０３および配列番号２４８に示されるポリヌクレオチドのいずれかもしくは両方、または配列番号１０７および配列番号２５０に示されるポリヌクレオチドのいずれかもしくは両方、または配列番号２３および配列番号２５に示されるポリヌクレオチドのいずれかもしくは両方、または配列番号２７および配列番号２９に示されるポリヌクレオチドのいずれかもしくは両方、または配列番号３７および配列番号３９に示されるポリヌクレオチドのいずれかもしくは両方、または配列番号４１および配列番号４３に示されるポリヌクレオチドのいずれかもしくは両方、または配列番号８９および配列番号９１に示されるポリヌクレオチドのいずれかもしくは両方、または配列番号９３および配列番号９５に示されるポリヌクレオチドのいずれかもしくは両方、または配列番号５１および配列番号５３に示されるポリヌクレオチドのいずれかもしくは両方、または配列番号５５および配列番号５７に示されるポリヌクレオチドのいずれかもしくは両方、または配列番号６５および配列番号６７に示されるポリヌクレオチドのいずれかもしくは両方、または配列番号６５および配列番号６９に示されるポリヌクレオチドのいずれかもしくは両方、または配列番号６５および配列番号７１に示されるポリヌクレオチドのいずれかもしくは両方、または配列番号７３および配列番号７５に示されるポリヌクレオチドのいずれかもしくは両方、または配列番号２および配列番号４に示されるポリヌクレオチドのいずれかもしくは両方、または配列番号２および配列番号６に示されるポリヌクレオチドのい

ずれかもしくは両方、または配列番号８および配列番号１０に示されるポリヌクレオチドのいずれかもしくは両方、または配列番号８および配列番号１２に示されるポリヌクレオチドのいずれかもしくは両方を含む。

【０５００】

別の態様では、ポリヌクレオチドは、本発明の抗体またはその抗原結合断片のＶＨ、ＶＬならびに／またはＶＨおよびＶＬの両方をコードし得る。すなわち、組成物は、本発明の抗体またはその抗原結合部分をコードする単一ポリヌクレオチドまたは２種以上のポリヌクレオチドを含む。

【０５０１】

本開示の医薬組成物はまた、その他の薬剤と組み合わせてなど、併用療法で投与される。例えば、併用療法は、手術、免疫療法、化学療法、放射線治療または薬物療法であり得る少なくとも１種のその他の療法と組み合わせて、本開示のＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片を含み得る。

【０５０２】

本開示の医薬化合物は、１種またはそれ以上の薬学的に許容される塩を含み得る。このような塩の例として、酸付加塩および塩基付加塩が挙げられる。酸付加塩として、塩酸、硝酸、リン酸、硫酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸、亜リン酸などといった非毒性無機酸に由来するものならびに脂肪族モノ－およびジカルボン酸、フェニル置換アルカン酸、ヒドロキシアルカン酸、芳香族酸、脂肪族および芳香族スルホン酸などといった非毒性有機酸に由来するものが挙げられる。塩基付加塩として、ナトリウム、カリウム、マグネシウム、カルシウムなどといったアルカリ土類金属に由来するものならびにＮ，Ｎ’－ジベンジルエチレンジアミン、Ｎ－メチルグルカミン、クロロプロカイン、コリン、ジエタノールアミン、エチレンジアミン、プロカインなどといった非毒性有機アミンに由来するものが挙げられる。

【０５０３】

本開示の医薬組成物はまた、薬学的に許容される抗酸化剤を含み得る。薬学的に許容される抗酸化剤の例として、（１）アスコルビン酸、システインヒドロクロリド、重硫酸ナトリウム、メタ重亜硫酸ナトリウム、亜硫酸ナトリウムなどといった水溶性抗酸化剤；（２）パルミチン酸アスコルビル、ブチル化ヒドロキシアニソール（ＢＨＡ）、ブチル化ヒドロキシトルエン（ＢＨＴ）、レシチン、没食子酸プロピル、α－トコフェロールなどといった油溶性抗酸化剤；および（３）クエン酸、エチレンジアミン四酢酸（ＥＤＴＡ）、ソルビトール、酒石酸、リン酸などといった金属キレート化剤が挙げられる。

【０５０４】

本開示の医薬組成物において使用できる適した水性および非水性担体の例として、水、エタノール、ポリオール（グリセリン、プロピレングリコール、ポリエチレングリコールなどといった）およびそれらの適した混合物、オリーブオイルなどの植物油およびオレイン酸エチルなどの注射用有機エステルが挙げられる。適切な流動性は、例えば、レシチンなどのコーティング材料の使用によって、分散物の場合には必要な粒径の維持によっておよび界面活性剤の使用によって維持される。

【０５０５】

これらの組成物はまた、保存料、湿潤剤、乳化剤および分散剤などのアジュバントを含有し得る。微生物の存在を防ぐことは、滅菌手順ならびに種々の抗菌剤および抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノールソルビン酸などを含めることの両方によって確実にされる。また、糖、塩化ナトリウムなどの等張剤を組成物中に含めることが望ましいことであり得る。さらに、注射用医薬形態の長期吸収は、モノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチンなどの吸収を遅延する薬剤を含めることによって起こり得る。

【０５０６】

医薬組成物は、通常、製造および貯蔵の条件下で無菌で安定でなければならない。組成物は、液剤、マイクロエマルジョン、リポソームまたは高薬物濃度に適したその他の秩序構造として製剤化される。担体は、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリ

セリン、プロピレングリコールおよび液体ポリエチレングリコールなど）およびそれらの適した混合物を含有する溶媒または分散媒であり得る。適切な流動性は、例えば、レシチンなどのコーティングの使用によって、分散物の場合には必要な粒径の維持によって、および界面活性剤の使用によって維持される。多数の場合には、組成物中に等張剤、例えば、マンニトール、ソルビトールまたは塩化ナトリウムなどの糖、ポリアルコールを含むことが適していよう。注射用組成物の長期吸収は、組成物中に、吸収を遅延する薬剤、例えば、モノステアリン酸塩およびゼラチンを含めることによって起こり得る。

【０５０７】

滅菌注射用液剤は、活性化合物を、必要に応じて、上記で列挙された成分のうち１種または組合せとともに、適当な溶媒中に必要な量で組み込むことと、続いて、滅菌精密濾過によって調製できる。一般に、分散物は、活性化合物を、基礎分散媒および上記で列挙されたものに由来する必要なその他の成分を含有する滅菌ビヒクル中に組み込むことによって調製される。滅菌注射用液剤を調製するための滅菌散剤の場合には、好ましい調製方法は、有効成分および先に滅菌濾過されたその液剤に由来する任意のさらなる所望の成分の粉末が得られる、真空乾燥および凍結－乾燥（凍結乾燥）である。

【０５０８】

本開示の医薬組成物は、眼の投与に適した製剤で、調製され、パッケージングされるか、または販売される。このような製剤は、例えば、水性または油性液体担体中の有効成分の０．１　１．０％（ｗ／ｗ）液剤または懸濁液を含めた、例えば、点眼薬の形態であり得る。このような点眼薬は、緩衝剤、塩または本明細書に記載されるさらなる成分のうち１種もしくはそれ以上のその他のものをさらに含み得る。有用であるその他の眼に投与可能な製剤として、微晶質形態で、またはリポソーム製剤で有効成分を含むものが挙げられる。

【０５０９】

本明細書において、「さらなる成分」として、それだけには限らないが、以下のうち１種またはそれ以上が挙げられる：賦形剤；界面活性剤；分散剤；不活性の希釈剤；造粒剤および崩壊剤；結合剤；滑沢剤；甘味剤；香味剤；着色剤；保存料；ゼラチンなどの生理学的に分解可能な組成物；水性ビヒクルおよび溶媒；油性ビヒクルおよび溶媒；懸濁剤；分散剤または湿潤剤；乳化剤、粘滑剤；バッファー；塩；増粘剤；増量剤；乳化剤；抗酸化剤；抗生物質；抗真菌剤；分解防止剤；および薬学的に許容されるポリマーまたは疎水性材料。本発明の医薬組成物中に含まれるその他の「さらなる成分」が、当技術分野で公知であり、例えば、参照によって本明細書に組み入れる、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ｇｅｎａｒｏ編、Ｍａｃｋ　Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ　Ｃｏ．、Ｅａｓｔｏｎ、ＰＡ（１９８５）に記載されている。

【０５１０】

一実施形態では、ＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片は、約５～６の範囲のｐＨの、５ｍｇ／ｍｌまたはより好ましくは、約１０ｍｇ／ｍｌまたはさらにより好ましくは、約１５ｍｇ／ｍｌまたはさらにより好ましくは、約２０ｍｇ／ｍｌの抗体を、酢酸ナトリウム、ポリソルベート８０および塩化ナトリウムとともに含有する滅菌水性液剤として、静脈製剤で投与される。好ましくは、静脈製剤は、ｐＨ５．５の、５または１０ｍｇ／ｍｌの抗体を、２０ｍＭの酢酸ナトリウム、０．２ｍｇ／ｍｌのポリソルベート８０および１４０ｍＭの塩化ナトリウムとともに含有する滅菌水性液剤である。さらに、抗体またはその抗原結合断片を含む液剤は、多数のその他の化合物の中でも、ヒスチジン、マンニトール、スクロース、トレハロース、グリシン、ポリ（エチレン）グリコール、ＥＤＴＡ、メチオニンおよびそれらの任意の組合せならびに関連技術分野で公知の多数のその他の化合物を含み得る。

【０５１１】

一実施形態では、本開示の医薬組成物は、以下の成分を含む：ｐＨ５．８の、１００ｍｇの本開示のＴＬ１Ａ抗体または抗原結合断片、１０ｍＭのヒスチジン、５％スクロースおよび０．０１％ポリソルベート８０。この組成物は、凍結乾燥粉末として提供される。

粉末が全容量で再構成される場合には、組成物は、同一製剤を保持する。あるいは、粉末が半容量で再構成される場合には、組成物は、ｐＨ５．８の１００ｍｇの本開示のＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片、２０ｍＭのヒスチジン、１０％スクロースおよび０．０２％のポリソルベート８０を含む。

【０５１２】

一実施形態では、用量の一部が静脈内ボーラスによって投与され、残りが抗体製剤の注入によって投与される。例えば、ＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片の０．０１ｍｇ／ｋｇの静脈内注射は、ボーラスとして与えられ、抗体用量の残りは、静脈内注射によって投与される。ＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片の所定の用量が、例えば、１時間半ないし２時間ないし５時間にわたって投与される。

【０５１３】

治療薬に関しては、薬剤が、例えば、小分子である場合には、当技術分野で周知であるように、生理学的に許容されるカチオンまたはアニオンと組み合わせてなど、生理学的に許容されるエステルまたは塩の形態で医薬組成物中に存在し得る。

【０５１４】

本明細書に記載される医薬組成物の製剤は、薬理学の技術分野で公知のまたは今後開発される任意の方法によって調製できる。一般に、このような調製方法は、有効成分を、担体または１種もしくはそれ以上のその他の補助成分と関連付ける工程、次いで、必要なまたは望ましい場合には、生成物を所望の単回－または複数回用量単位に成形またはパッケージングする工程を含む。

【０５１５】

一実施形態では、本開示の組成物は、内毒素および／または関連発熱物質を実質的に含まない発熱物質を含まない製剤である。内毒素は、微生物内に限定され、微生物が破壊されるもしくは死滅すると放出される毒素を含む。発熱物質はまた、細菌およびその他の微生物の外膜に由来する発熱誘導性、熱安定性物質（糖タンパク質）を含む。これらの物質の両方が、ヒトに投与された場合に、発熱、低血圧症およびショックを引き起こし得る。可能性ある有害な効果のために、静脈内に投与された医薬液剤から少量の内毒素であっても除去することは有利である。食品医薬品局（ＦＤＡ）は、静脈内薬物適用のための単回の１時間期間において体重１ｋｇあたり用量あたり５内毒素単位（ＥＵ）の上限を定めた（Ｔｈｅ Ｕｎｉｔｅｄ Ｓｔａｔｅｓ Ｐｈａｒｍａｃｏｐｅｉａｌ Ｃｏｎｖｅｎｔｉｏｎ、Ｐｈａｒｍａｃｏｐｅｉａｌ Ｆｏｒｕｍ ２６（１）：２２３頁（２０００））。治療用タンパク質が、体重１キログラムあたり数百または数千ミリグラムの量で投与されると、微量であっても内毒素を除去することが有利である。一実施形態では、組成物中の内毒素および発熱物質レベルは、１０ＥＵ／ｍｇ未満または５ＥＵ／ｍｇ未満または１ＥＵ／ｍｇ未満または０．１ＥＵ／ｍｇ未満または０．０１ＥＵ／ｍｇ未満または０．００１ＥＵ／ｍｇ未満である。別の実施形態では、組成物中の内毒素および発熱物質レベルは、約１０ＥＵ／ｍｇ未満または約５ＥＵ／ｍｇ未満または約１ＥＵ／ｍｇ未満または約０．１ＥＵ／ｍｇ未満または約０．０１ＥＵ／ｍｇ未満または約０．００１ＥＵ／ｍｇ未満である。

【０５１６】

一実施形態では、本開示は、組成物を投与することを含み、ここで、前記投与は、経口、非経口、筋肉内、鼻腔内、膣、直腸、舌、舌下、頬側、頬側内、静脈内、皮膚、皮下または経皮である。

【０５１７】

別の実施形態では、本開示は、組成物を、手術、化学療法、ホルモン療法、バイオ医薬品治療、免疫療法または放射線療法などのその他の治療と組み合わせて投与することをさらに含む。

【０５１８】

いくつかの態様では、本発明の組成物および方法は、アセトアミノフェン、ナプロキセンナトリウム、イブプロフェン、トラマドール、アスピリン、セレコキシブ、バルデコキ

シブ、インドメタシンおよびその他のＮＳＡＩＤなどの鎮痛薬；ＣＯＸ－２阻害剤；抗炎症薬；スルファサラジン、メサラミン、バルサラジドおよびオルサラジン；ならびにプレドニゾンおよびブデソニドなどの副腎皮質ステロイド；アザチオプリンなどの免疫抑制薬、メルカププリン、インフリキシマブおよびアダリムマブなどのＴＮＦブロッカー、メトトレキサートおよびシクロスポリン；メトロニダゾールおよびシプロフロキサシンなどの抗生物質；ロペラミドなどの止痢薬；アザチオプリン、メルカププリン、副腎皮質ステロイドなどの免疫抑制薬；免疫抑制剤；ヤヌスキナーゼ－３（Ｊａｋ－３）阻害剤；および緩下剤；クロロフェニラミン、デスロラタジン、レボセチリジン、ジフェンヒドラミン、コハク酸ドキシラミン、トリプロリジン、クレマスチン、フェニラミン、ブロムフェニラミン、デクスブロムフェニラミン、ロラタジン、セチリジンおよびフェキソフェナジン、アンレキサノクス、アルキルアミン誘導体、クロモリン、アクリバスチン、イブジラスト、バミピン、ケトチフェン、ネドクロミル、オマリズマブ、ジメチンデン、オキサトミド、ペミロラスト、ピロブタミン、ペンチゲチド（ｐｅｎｔｉｇｅｔｉｄｅ）、テナルジン（ｔｈｅｎａｌｄｉｎｅ）、ピクマスト（ｐｉｃｕｍａｓｔ）、トルプロパミン、ラマトロバン、レピリナスト、スプラタストトシレートアミノアルキルエーテル、タザノラスト、ブロモジフェンヒドラミン、トラニラスト、カルビノキサミン、トラキサノックス（ｔｒａｘａｎｏｘ）、クロルフェノキサミン、ジフェニルピアリン（ｄｉｐｈｅｎｙｌｐｙａｌｉｎｅ）、エンブラミン（ｅｍｂｒａｍｉｎｅ）、ｐ－メチルジフェンヒドラミン、モキサスチン（ｍｏｘａｓｔｉｎｅ）、オルフェナドリン、フェニルトロキサミン（ｐｈｅｎｙｌｔｏｌｏｘａｍｉｎｅ）、セタスチン（ｓｅｔａｓｔｉｎｅ）、エチレンジアミン誘導体、クロロピラミン、クロロテン（ｃｈｌｏｒｏｔｈｅｎ）、メタピリレン、ピリラミン、タラスチン、テニルジアミン、トンジルアミンヒドロクロリド、トリペレナミン、ピペラジン、クロルシクリジン、クロシニジン（ｃｌｏｃｉｎｉｚｉｎｅ）、ホモクロルシクリジン、ヒドロキシジン、三環系、フェノチアジン、メキタジン、プロメタジン、メチル硫酸チアジナミウム、アザタジン、シプロヘプタジン、デプトロピン、デスロラタジン、イソチペンジル、オロパタジン、ルパタジン、アンタゾリン、アステミゾール、アゼラスチン、ベポタスチン、クレミゾール、エバスチン、エメダスチン、エピナスチン、レボカバスチン、メブヒドロリン、ミゾラスチン、フェニンダミン、テルフェナジン、トリトクアリンなどの抗ヒスタミン剤からなる群から選択される１種またはそれ以上の製剤およびクラスと組み合わせた使用について具体的に意図される。

【０５１９】

投薬／投与

本開示のＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片を含む医薬または滅菌組成物を調製するために、抗体を、薬学的に許容される担体または賦形剤と混合する。治療薬および診断薬の製剤は、例えば、凍結乾燥粉末、スラリー、水性液剤、ローションまたは懸濁液の形態の、生理学的に許容される担体、賦形剤または安定剤と混合することによって調製できる（例えば、Ｈａｒｄｍａｎら（２００１）Ｇｏｏｄｍａｎ ａｎｄ Ｇｉｌｍａｎ’ｓ Ｔｈｅ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｉｃａｌ Ｂａｓｉｓ ｏｆ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ、ＭｃＧｒａｗ－Ｈｉｌｌ、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ、Ｎ．Ｙ．；Ｇｅｎｎａｒｏ（２０００）Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ：Ｔｈｅ Ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｙ、Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ、Ｗｉｌｌｉａｍｓ、およびＷｉｌｋｉｎｓ、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ、Ｎ．Ｙ．；Ａｖｉｓら（編）（１９９３）Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ：Ｐａｒｅｎｔｅｒａｌ Ｍｅｄｉｃａｔｉｏｎｓ、Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ、ＮＹ；Ｌｉｅｂｅｒｍａｎら（編）（１９９０）Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ：Ｔａｂｌｅｔｓ、Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ、ＮＹ；Ｌｉｅｂｅｒｍａｎら（編）（１９９０）Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ：Ｄｉｓｐｅｒｓｅ Ｓｙｓｔｅｍｓ、Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ、ＮＹ；ＷｅｉｎｅｒおよびＫｏｔｋｏｓｋｉｅ（２０００）Ｅｘｃｉｐｉｅｎｔ Ｔｏｘｉｃｉｔｙ ａｎｄ Ｓａｆｅｔｙ、Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ、Ｎ．Ｙ．を参照のこと）。

【０５２０】
治療薬の投与レジメンを選択することは、実体の血清または組織ターンオーバー速度、症状のレベル、実体の免疫原性およびバイオ医薬品マトリックス中の標的細胞の到達性を含めたいくつかの因子に応じて変わる。特定の実施形態では、投与レジメンは、副作用の許容されるレベルと一致する患者に送達される治療薬の量を最大化する。したがって、送達されるバイオ医薬品の量は、幾分かは、特定の実体および治療されている状態の重症度に応じて変わる。抗体、サイトカインおよび小分子の適当な用量の選択においてガイダンスが利用可能である（例えば、Ｗａｗｒｚｙｎｃｚａｋ、１９９６、Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｔｈｅｒａｐｙ、Ｂｉｏｓ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ Ｐｕｂ．Ｌｔｄ、Ｏｘｆｏｒｄｓｈｉｒｅ、ＵＫ；Ｋｒｅｓｉｎａ（編）、１９９１、Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ、Ｃｙｔｏｋｉｎｅｓ ａｎｄ Ａｒｔｈｒｉｔｉｓ、Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ、Ｎ．Ｙ．；Ｂａｃｈ（編）、１９９３、Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｐｅｐｔｉｄｅ Ｔｈｅｒａｐｙ ｉｎ Ａｕｔｏｉｍｍｕｎｅ Ｄｉｓｅａｓｅｓ、Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ、Ｎ．Ｙ．；Ｂａｅｒｔら、２００３、Ｎｅｗ Ｅｎｇｌ．Ｊ．Ｍｅｄ．第３４８巻：６０１～６０８頁；Ｍｉｌｇｒｏｍら、１９９９、Ｎｅｗ Ｅｎｇｌ．Ｊ．Ｍｅｄ．第３４１巻：１９６６～１９７３頁；Ｓｌａｍｏｎら、２００１、Ｎｅｗ Ｅｎｇｌ．Ｊ．Ｍｅｄ．第３４４巻：７８３～７９２頁；Ｂｅｎｉａｍｉｎｏｖｉｔｚら、２０００、Ｎｅｗ Ｅｎｇｌ．Ｊ．Ｍｅｄ．第３４２巻：６１３～６１９頁；Ｇｈｏｓｈら、２００３、Ｎｅｗ Ｅｎｇｌ．Ｊ．Ｍｅｄ．第３４８巻：２４～３２頁；Ｌｉｐｓｋｙら、２０００、Ｎｅｗ Ｅｎｇｌ．Ｊ．Ｍｅｄ．第３４３巻：１５９４～１６０２頁を参照のこと）。
【０５２１】
適当な用量の決定は、臨床医によって、例えば、治療に影響を及ぼすと当技術分野で公知であるか、もしくは疑われる、または治療に影響を及ぼすと予測されるパラメータまたは因子を使用して行われる。一般に、用量は、最適用量より幾分か少ない量で始まり、その後、任意の負の副作用に対して所望のまたは最適な効果が達成されるまで、わずかな増分で増大される。重要な診断尺度は、例えば、炎症の症状のものまたは生じる炎症性サイトカインのレベルを含む。
【０５２２】
本開示の医薬組成物中の有効成分の実際の投与量レベルは、特定の患者、組成物および投与様式について所望の治療反応を達成するのに有効であり、患者にとって毒性ではない有効成分の量を得るよう変えられる。選択された投与量レベルは、使用される本開示の特定の組成物またはそのエステル、塩もしくはアミドの活性、使用されている特定の化合物の投与経路、投与時間、排出速度、治療の期間、使用される特定の組成物と組み合わせて使用されるその他の薬物、化合物および／または材料、治療されている患者の年齢、性別、体重、状態、全身の健康および従前の病歴ならびに医学の技術分野において周知の同様の因子を含めた種々の薬物動態因子に応じて変わる。
【０５２３】
本開示のＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片を含む組成物は、連続注入によって、または例えば、１日、１週間の間隔の用量または１週間に１～７回の用量によって提供することができる。用量は、静脈内に、皮下に、局所に、経口的に、経鼻的に、直腸に、筋肉内に、脳内に、または吸入によって提供することができる。特定の用量プロトコールは、当に望ましくない副作用を避ける、最大用量または用量頻度を含むものである。総週用量は、少なくとも０．０５μｇ／体重１ｋｇ、少なくとも０．２μｇ／ｋｇ、少なくとも０．５μｇ／ｋｇ、少なくとも１μｇ／ｋｇ、少なくとも１０μｇ／ｋｇ、少なくとも１００μｇ／ｋｇ、少なくとも０．２ｍｇ／ｋｇ、少なくとも１．０ｍｇ／ｋｇ、少なくとも２．０ｍｇ／ｋｇ、少なくとも１０ｍｇ／ｋｇ、少なくとも１５ｍｇ／ｋｇ、少なくとも２０ｍｇ／ｋｇ、少なくとも２５ｍｇ／ｋｇまたは少なくとも５０ｍｇ／ｋｇであり得る（例えば、Ｙａｎｇら、２００３、Ｎｅｗ Ｅｎｇｌ．Ｊ．Ｍｅｄ．第３４９巻：４２７～４３４頁；Ｈｅｒｏｌｄら、２００２、Ｎｅｗ Ｅｎｇｌ．Ｊ．Ｍｅｄ．第３４６巻：

１６９２～１６９８頁；Ｌｉｕら、１９９９、Ｊ．Ｎｅｕｒｏｌ．Ｎｅｕｒｏｓｕｒｇ．Ｐｓｙｃｈ．第６７巻：４５１～４５６頁；Ｐｏｒｔｉｅｌｊｉら、２００３、Ｃａｎｃｅｒ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒ．第５２巻：１３３～１４４頁を参照のこと）。用量は、少なくとも１５μｇ、少なくとも２０μｇ、少なくとも２５μｇ、少なくとも３０μｇ、少なくとも３５μｇ、少なくとも４０μｇ、少なくとも４５μｇ、少なくとも５０μｇ、少なくとも５５μｇ、少なくとも６０μｇ、少なくとも６５μｇ、少なくとも７０μｇ、少なくとも７５μｇ、少なくとも８０μｇ、少なくとも８５μｇ、少なくとも９０μｇ、少なくとも９５μｇまたは少なくとも１００μｇであり得る。対象に投与される用量は、少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１または１２またはそれ以上になり得る。

【０５２４】

本開示のＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片について、患者に投与される投与量は、患者の体重の０．０００１ｍｇ／ｋｇ～１００ｍｇ／ｋｇであり得る。投与量は、患者の体重の０．０００１ｍｇ／ｋｇ～２０ｍｇ／ｋｇ、０．０００１ｍｇ／ｋｇ～１０ｍｇ／ｋｇ、０．０００１ｍｇ／ｋｇ～５ｍｇ／ｋｇ、０．０００１～２ｍｇ／ｋｇ、０．０００１～１ｍｇ／ｋｇ、０．０００１ｍｇ／ｋｇ～０．７５ｍｇ／ｋｇ、０．０００１ｍｇ／ｋｇ～０．５ｍｇ／ｋｇ、０．０００１ｍｇ／ｋｇ～０．２５ｍｇ／ｋｇ、０．０００１～０．１５ｍｇ／ｋｇ、０．０００１～０．１０ｍｇ／ｋｇ、０．００１～０．５ｍｇ／ｋｇ、０．０１～０．２５ｍｇ／ｋｇまたは０．０１～０．１０ｍｇ／ｋｇの間であり得る。

【０５２５】

ＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片の投与量は、ｍｇ／ｋｇでの投与されるべき用量によって乗じられる、キログラム（ｋｇ）での患者の体重を使用して算出することができる。本開示の抗体の投与量は、患者の体重の１５０μｇ／ｋｇ以下、１２５μｇ／ｋｇ以下、１００μｇ／ｋｇ以下、９５μｇ／ｋｇ以下、９０μｇ／ｋｇ以下、８５μ／ｋｇ以下、８０μ／ｋｇ以下、７５μ／ｋｇ以下、７０μ／ｋｇ以下、６５μ／ｋｇ以下、６０μ／ｋｇ以下、５５μ／ｋｇ以下、５０μ／ｋｇ以下、４５μ／ｋｇ以下、４０μ／ｋｇ以下、３５μ／ｋｇ以下、３０μ／ｋｇ以下、２５μ／ｋｇ以下、２０μ／ｋｇ以下、１５μ／ｋｇ以下、１０μ／ｋｇ以下、５μ／ｋｇ以下、２．５μ／ｋｇ以下、２μ／ｋｇ以下、１．５μ／ｋｇ以下、１μ／ｋｇ以下、０．５μ／ｋｇ以下または０．１μ／ｋｇ以下であり得る。

【０５２６】

本開示のＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片の単位用量は、０．１ｍｇ～２００ｍｇ、０．１ｍｇ～１７５ｍｇ、０．１ｍｇ～１５０ｍｇ、０．１ｍｇ～１２５ｍｇ、０．１ｍｇ～１００ｍｇ、０．１ｍｇ～７５ｍｇ、０．１ｍｇ～５０ｍｇ、０．１ｍｇ～３０ｍｇ、０．１ｍｇ～２０ｍｇ、０．１ｍｇ～１５ｍｇ、０．１ｍｇ～１２ｍｇ、０．１ｍｇ～１０ｍｇ、０．１ｍｇ～８ｍｇ、０．１ｍｇ～７ｍｇ、０．１ｍｇ～５ｍｇ、０．１～２．５ｍｇ、０．２５ｍｇ～２０ｍｇ、０．２５～１５ｍｇ、０．２５～１２ｍｇ、０．２５～１０ｍｇ、０．２５～８ｍｇ、０．２５ｍｇ～７ｍｇ、０．２５ｍｇ～５ｍｇ、０．５ｍｇ～２．５ｍｇ、１ｍｇ～２０ｍｇ、１ｍｇ～１５ｍｇ、１ｍｇ～１２ｍｇ、１ｍｇ～１０ｍｇ、１ｍｇ～８ｍｇ、１ｍｇ～７ｍｇ、１ｍｇ～５ｍｇまたは１ｍｇ～２．５ｍｇであり得る。

【０５２７】

本開示のＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片の投与量は、対象において、少なくとも０．１μｇ／ｍｌ、少なくとも０．５μｇ／ｍｌ、少なくとも１μｇ／ｍｌ、少なくとも２μｇ／ｍｌ、少なくとも５μｇ／ｍｌ、少なくとも６μｇ／ｍｌ、少なくとも１０μｇ／ｍｌ、少なくとも１５μｇ／ｍｌ、少なくとも２０μｇ／ｍｌ、少なくとも２５μｇ／ｍｌ、少なくとも５０μｇ／ｍｌ、少なくとも１００μｇ／ｍｌ、少なくとも１２５μｇ／ｍｌ、少なくとも１５０μｇ／ｍｌ、少なくとも１７５μｇ／ｍｌ、少なくとも２００μｇ／ｍｌ、少なくとも２２５μｇ／ｍｌ、少なくとも２５０μｇ／ｍｌ、少なくとも２

７５μｇ／ｍｌ、少なくとも３００μｇ／ｍｌ、少なくとも３２５μｇ／ｍｌ、少なくとも３５０μｇ／ｍｌ、少なくとも３７５μｇ／ｍｌまたは少なくとも４００μｇ／ｍｌの血清力価に達し得る。あるいは、本開示の抗体の投与量は、対象において、少なくとも０．１μｇ／ｍｌ、少なくとも０．５μｇ／ｍｌ、少なくとも１μｇ／ｍｌ、少なくとも、２μｇ／ｍｌ、少なくとも５μｇ／ｍｌ、少なくとも６μｇ／ｍｌ、少なくとも１０μｇ／ｍｌ、少なくとも１５μｇ／ｍｌ、少なくとも２０μｇ／ｍｌ、少なくとも２５μｇ／ｍｌ、少なくとも５０μｇ／ｍｌ、少なくとも１００μｇ／ｍｌ、少なくとも１２５μｇ／ｍｌ、少なくとも１５０μｇ／ｍｌ、少なくとも１７５μｇ／ｍｌ、少なくとも２００μｇ／ｍｌ、少なくとも２２５μｇ／ｍｌ、少なくとも２５０μｇ／ｍｌ、少なくとも２７５μｇ／ｍｌ、少なくとも３００μｇ／ｍｌ、少なくとも３２５μｇ／ｍｌ、少なくとも３５０μｇ／ｍｌ、少なくとも３７５μｇ／ｍｌまたは少なくとも４００μｇ／ｍｌの血清力価に達し得る。

【０５２８】

本開示のＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片の用量は、反復され、投与は、少なくとも１日、２日、３日、５日、１０日、１５日、３０日、４５日、２カ月、７５日、３カ月または少なくとも６カ月離れ得る。

【０５２９】

特定の患者の有効量は、治療されている状態、患者の全体的な健康、投与の方法経路および用量ならびに副作用の重症度などの因子に応じて変わり得る（例えば、Ｍａｙｎａｒｄら、１９９６、Ａ Ｈａｎｄｂｏｏｋ ｏｆ ＳＯＰｓ ｆｏｒ Ｇｏｏｄ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｐｒａｃｔｉｃｅ、Ｉｎｔｅｒｐｈａｒｍ Ｐｒｅｓｓ、Ｂｏｃａ Ｒａｔｏｎ、ＦＩａ．；Ｄｅｎｔ、２００１、Ｇｏｏｄ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ ａｎｄ Ｇｏｏｄ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｐｒａｃｔｉｃｅ、Ｕｒｃｈ Ｐｕｂｌ、Ｌｏｎｄｏｎ、ＵＫを参照のこと）。

【０５３０】

投与の経路は、例えば、局所または皮膚適用、注射または注入によって、静脈内、腹腔内、大脳内の、筋肉内の、眼球内、動脈内、脳脊髄内、病巣内によって、または持続放出系もしくはインプラントによってであり得る（例えば、Ｓｉｄｍａｎら、１９８３、Ｂｉｏｐｏｌｙｍｅｒｓ 第２２巻：５４７～５５６頁；Ｌａｎｇｅｒら、１９８１、Ｊ．Ｂｉｏｍｅｄ．Ｍａｔｅｒ．Ｒｅｓ．第１５巻：１６７～２７７頁；Ｌａｎｇｅｒ、１９８２、Ｃｈｅｍ．Ｔｅｃｈ．第１２巻：９８～１０５頁；Ｅｐｓｔｅｉｎら、１９８５、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ 第８２巻：３６８８～３６９２頁；Ｈｗａｎｇら、１９８０、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ 第７７巻：４０３０～４０３４頁；米国特許第６，３５０４６６号および同６，３１６，０２４号を参照のこと）。組成物はまた、必要に応じ、可溶化剤および注射部位での疼痛を和らげるためのリドカインなどの局所麻酔薬を含み得る。さらに、肺の投与はまた、吸入器または噴霧器およびエアロゾル化剤を有する製剤の使用によって使用される。例えば、各々、参照によりその全文を本明細書に組み込む、米国特許第６，０１９，９６８号、同５，９８５，３２０号、同５，９８５，３０９号、同５，９３４，２７２号、同５，８７４，０６４号、同５，８５５，９１３号、同５，２９０，５４０号および同４，８８０，０７８号；ならびにＰＣＴ公開番号ＷＯ９２／１９２４４、ＷＯ９７／３２５７２、ＷＯ９７／４４０１３、ＷＯ９８／３１３４６およびＷＯ９９／６６９０３を参照のこと。一実施形態では、本開示のＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片または組成物は、Ａｌｋｅｒｍｅｓ ＡＩＲ（商標）肺の薬物送達技術（Ａｌｋｅｒｍｅｓ，Ｉｎｃ．、Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ、Ｍａｓｓ．）を使用して投与される。

【０５３１】

本開示の組成物はまた、当技術分野で公知の種々の方法のうち１種またはそれ以上を使用する１種またはそれ以上の投与経路によって投与される。当業者には理解されるであろうが、投与の経路および／または様式は、所望の結果に応じて変わる。本開示の抗体の選択された投与経路は、投与の静脈内、筋肉内、皮内、腹腔内、皮下、脊髄またはその他の

非経口経路、例えば、注射または注入によってを含む。非経口投与は、普通、注射による、経腸および局所投与以外の投与様式、制限するものではないが、静脈内、筋肉内、動脈内、くも膜下腔内、関節内、眼窩内、心臓内、皮内、腹腔内、経気管、皮下、表皮下、関節内、嚢下、くも膜下、脊髄内、硬膜外および胸骨内注射および注入を表し得る。あるいは、本開示の組成物を、局所、上皮または粘膜投与経路、例えば、鼻腔内、経口的、経膣的、直腸に、舌下にまたは局所になどの非経口ではない経路によって投与することができる。

【０５３２】

本開示のＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片が、制御放出または持続放出系で投与される場合には、制御または持続放出を達成するためにポンプを使用することができる（Ｌａｎｇｅｒ、前掲；Ｓｅｆｔｏｎ、１９８７、ＣＲＣ　Ｃｒｉｔ．Ｒｅｆ．Ｂｉｏｍｅｄ．Ｅｎｇ．第１４巻：２０頁；Ｂｕｃｈｗａｌｄら、１９８０、Ｓｕｒｇｅｒｙ　第８８巻：５０１頁；Ｓａｕｄｅｋら、１９８９、Ｎ．Ｅｎｇｌ．Ｊ．Ｍｅｄ．第３２１巻：５１４頁を参照のこと）。

【０５３３】

ポリマー材料を使用して、本開示の治療薬の制御または持続放出を達成できる（例えば、Ｍｅｄｉｃａｌ　Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ　ｏｆ　Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ　Ｒｅｌｅａｓｅ、ＬａｎｇｅｒおよびＷｉｓｅ（編）、ＣＲＣ　Ｐｒｅｓ．、Ｂｏｃａ　Ｒａｔｏｎ、ＦＩａ．（１９７４）；Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ　Ｄｒｕｇ　Ｂｉｏａｖａｉｌａｂｉｌｉｔｙ、Ｄｒｕｇ　Ｐｒｏｄｕｃｔ　Ｄｅｓｉｇｎ　ａｎｄ　Ｐｅｒｆｏｒｍａｎｃｅ、ＳｍｏｌｅｎおよびＢａｌｌ（編）、Ｗｉｌｅｙ、Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ（１９８４）；ＲａｎｇｅｒおよびＰｅｐｐａｓ、１９８３、Ｊ．，Ｍａｃｒｏｍｏｌ．ＳｃＬ　Ｒｅｖ．Ｍａｃｒｏｍｏｌ．Ｃｈｅｍ．第２３巻：６１頁を参照のこと；Ｌｅｖｙら、１９８５、Ｓｃｉｅｎｃｅ　１１　第２２５巻：１９０頁；Ｄｕｒｉｎｇら、１９Ｚ９、Ａｎｎ．Ｎｅｕｒｏｌ．第２５巻：３５１頁；Ｈｏｗａｒｄら、１９８９、Ｊ．Ｎｅｕｒｏｓｕｒｇ．第７１巻：１０５頁；米国特許第５，６７９，３７７号；同５，９１６，５９７号；同５，９１２，０１５号；同５，９８９，４６３号；同５，１２８，３２６号；ＰＣＴ公開番号ＷＯ９９／１５１５４；およびＰＣＴ公開番号ＷＯ９９／２０２５３を参照のこと）。持続放出製剤において使用されるポリマーの例として、それだけには限らないが、ポリ（２－ヒドロキシエチルメタクリレート）、ポリ（メチルメタクリレート）、ポリ（アクリル酸）、ポリ（エチレン－ｃｏ－ビニルアセテート）、ポリ（メタクリル酸）、ポリグリコリド（ＰＬＧ）、ポリ酸無水物、ポリ（Ｎ－ビニルピロリドン）、ポリ（ビニルアルコール）、ポリアクリルアミド、ポリ（エチレングリコール）、ポリ乳酸（ＰＬＡ）、ポリ（乳酸－ｃｏ－グリコリド）（ＰＬＧＡ）およびポリオルトエステルが挙げられる。一実施形態では、持続放出製剤において使用されるポリマーは、不活性の、浸出可能な不純物を含まない、貯蔵で安定性の、無菌で、生分解性である。制御放出または持続放出系は、予防標的または治療標的の近くに置くことができ、そのため、全身用量の何分の１しか必要としない（例えば、Ｇｏｏｄｓｏｎ、Ｍｅｄｉｃａｌ　Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ　ｏｆ　Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ　Ｒｅｌｅａｓｅ、前掲、第２巻、１１５～１３８頁（１９８４）を参照のこと）。

【０５３４】

制御放出系は、Ｌａｎｇｅｒ、１９９０、Ｓｃｉｅｎｃｅ　第２４９巻：１５２７～１５３３頁によって概説において論じられている。当業者に公知の任意の技術を使用して、本開示の１種またはそれ以上の抗体またはそのコンジュゲートを含む持続放出製剤を生成できる。例えば、各々、参照によりその全文を本明細書に組み込む、米国特許第４，５２６，９３８号、国際特許公開番号ＷＯ９１／０５５４８、ＷＯ９６／２０６９８、Ｎｉｎｇら、１９９６年、”Ｉｎｔｒａｔｕｍｏｒａｌ　Ｒａｄｉｏｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒａｐｈｙ　ｏｆ　ａ　Ｈｕｍａｎ　Ｃｏｌｏｎ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｘｅｎｏｇｒａｆｔ　Ｕｓｉｎｇ　ａ　Ｓｕｓｔａｉｎｅｄ－Ｒｅｌｅａｓｅ　Ｇｅｌ”、Ｒａｄｉｏｔｈｅｒａｐｙ　ａｎｄ　Ｏｎｃｏｌｏｇｙ　第５９巻：１７９～１８９頁、Ｓｏｎｇら、１９９５、”

Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｍｅｄｉａｔｅｄ Ｌｕｎｇ Ｔａｒｇｅｔｉｎｇ ｏｆ Ｌｏｎｇ－Ｃｉｒｃｕｌａｔｉｎｇ Ｅｍｕｌｓｉｏｎｓ”、ＰＤＡ Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ 第５０巻：３７２～３９７頁、Ｃｌｅｅｋら、１９９７、”Ｂｉｏｄｅｇｒａｄａｂｌｅ Ｐｏｌｙｍｅｒｉｃ Ｃａｒｒｉｅｒｓ ｆｏｒ ａ ｂＦＧＦ Ａｎｔｉｂｏｄｙ ｆｏｒ Ｃａｒｄｉｏｖａｓｃｕｌａｒ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎ”、Ｐｒｏ．Ｍｌ．Ｓｙｍｐ．Ｃｏｎｔｒｏｌ．Ｒｅｌ．Ｂｉｏａｃｔ．Ｍａｔｅｒ．第２４巻：８５３～８５４頁およびＬａｍら、１９９７、”Ｍｉｃｒｏｅｎｃａｐｓｕｌａｔｉｏｎ ｏｆ Ｒｅｃｏｍｂｉｎａｎｔ Ｈｕｍａｎｉｚｅｄ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｙ ｆｏｒ Ｌｏｃａｌ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ”、Ｐｒｏｃ．Ｍｌ．Ｓｙｍｐ．Ｃｏｎｔｒｏｌ Ｒｅｌ．Ｂｉｏａｃｔ．Ｍａｔｅｒ．第２４巻：７５９～１６０頁を参照のこと。

【０５３５】

本開示のＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片が、局所に投与される場合には、軟膏（ｏｉｎｔｍｅｎｔ）、クリーム、経皮パッチ、ローション、ゲル、シャンプー、スプレー、エアロゾル、液剤、エマルジョンの形態または当業者に周知のその他の形態に製剤化できる。例えば、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ ａｎｄ Ｉｎｔｒｏｄｕｃｔｉｏｎ ｔｏ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ、第１９版、Ｍａｃｋ Ｐｕｂ．Ｃｏ．、Ｅａｓｔｏｎ、Ｐａ．（１９９５）を参照のこと。噴霧可能ではない局所投与形態については、局所適用に適合し、いくつかの場合には水よりも大きい動的粘度を有する、担体または１種もしくはそれ以上の賦形剤を含む粘稠から半固体または固体形態が、通常、使用される。適した製剤として、制限されるものではないが、液剤、懸濁液、エマルジョン、クリーム、軟膏（ｏｉｎｔｍｅｎｔｓ）、散剤、リニメント剤、軟膏（ｓａｌｖｅｓ）などが挙げられ、これらは、必要な場合には、滅菌されるか、または例えば、浸透圧などの種々の特性に影響を及ぼすために補助剤（例えば、保存料、安定剤、湿潤剤、バッファーまたは塩）と混合される。その他の適した局所投与形態として、いくつかの場合には、有効成分が、固体または液体不活性担体と組み合わせて、加圧された揮発性物質（例えば、フレオンなどの気体の噴射剤）との混合物中に、またはスクイーズボトル中にパッケージングされる噴霧可能なエアゾール調製物が挙げられる。保湿剤または保水剤も、必要に応じて医薬組成物および投与形態に添加できる。このようなさらなる成分の例は、当技術分野で周知である。

【０５３６】

ＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片を含む組成物が、鼻腔内に投与される場合には、エアゾール形態、スプレー、ミストまたは液滴の形態に製剤化できる。特に、本開示に従って使用するための予防薬または治療薬は、適した噴射剤（例えば、ジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、二酸化炭素またはその他の適したガス）を使用して、加圧パックまたはネブライザーからエアゾールスプレー調製物の形態で好都合に送達できる。加圧したエアゾールの場合には、投与量単位は、定量を送達するようバルブを提供することによって決定される。化合物およびラクトースまたはデンプンなどの適した粉末基剤の粉末混合物を含有する吸入器または吹入器において使用するためのカプセルおよびカートリッジ（例えば、ゼラチンからなる）が製剤化される。

【０５３７】

第２の治療薬、例えば、サイトカイン、ステロイド、化学療法薬、抗生物質または放射線と同時投与または治療する方法は、当技術分野で周知である（例えば、Ｈａｒｄｍａｎら（編）（２００１）Ｇｏｏｄｍａｎ ａｎｄ Ｇｉｌｍａｎ’ｓ Ｔｈｅ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｉｃａｌ Ｂａｓｉｓ ｏｆ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ、第１０版、ＭｃＧｒａｗ－Ｈｉｌｌ、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ、Ｎ．Ｙ．；ＰｏｏｌｅおよびＰｅｔｅｒｓｏｎ（編）（２００１）Ｐｈａｒｍａｃｏｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ ｆｏｒ Ａｄｖａｎｃｅｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ：Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈ、Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ、Ｗｉｌｌｉａｍｓ ａｎｄ Ｗｉｌｋｉｎｓ、Ｐｈｉｌａ．、Ｐａ．；Ｃｈａｂ

ｎｅｒおよびＬｏｎｇｏ（編）（２００１）Ｃａｎｃｅｒ Ｃｈｅｍｏｔｈｅｒａｐｙ ａｎｄ Ｂｉｏｔｈｅｒａｐｙ、Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ、Ｗｉｌｌｉａｍｓ ａｎｄ Ｗｉｌｋｉｎｓ、Ｐｈｉｌａ．、Ｐａ．を参照のこと）。有効量の治療薬は、症状を少なくとも１０パーセント；少なくとも２０パーセント；少なくとも約３０パーセント；少なくとも４０パーセントまたは少なくとも５０パーセント低減できる。

【０５３８】

本開示のＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片と組み合わせて投与できるさらなる治療（例えば、予防または治療薬）は、本開示の抗体から５分未満離れて、３０分未満離れて、１時間離れて、約１時間離れて、約１～約２時間離れて、約２時間～約３時間離れて、約３時間～約４時間離れて、約４時間～約５時間離れて、約５時間～約６時間離れて、約６時間～約７時間離れて、約７時間～約８時間離れて、約８時間～約９時間離れて、約９時間～約１０時間離れて、約１０時間～約１１時間離れて、約１１時間～約１２時間離れて、約１２時間～１８時間離れて、１８時間～２４時間離れて、２４時間～３６時間離れて、３６時間～４８時間離れて、４８時間～５２時間離れて、５２時間～６０時間離れて、６０時間～７２時間離れて、７２時間～８４時間離れて、８４時間～９６時間離れてまたは９６時間～１２０時間離れて投与できる。２種またはそれ以上の療法を、１回の同一患者訪問内に投与できる。

【０５３９】

本開示のＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片およびその他の治療を、周期的に投与できる。サイクリング療法は、一定期間の第１の療法（例えば、第１の予防薬または治療薬）の投与と、それに続く、一定期間の第２の療法（例えば、第２の予防薬または治療薬）の投与、任意選択で、それに続く、一定期間の第３の療法（例えば、予防薬または治療薬）の投与など、およびこの逐次投与、すなわち、療法の１種に対する耐性の発生を低減するための、または療法の１種の副作用を避けるもしくは低減するための、および／または療法の効能を改善するためのサイクルを反復することを含む。

【０５４０】

一実施形態では、本発明のＴＬ１Ａ抗体を、ＮＳＡＩＤ、５－アミノサリチル酸、グルココルチコイド／副腎皮質ステロイド、６－メルカププリンなどの炎症促進性サイトカインおよび接着分子の阻害のための組成物またはアダリムマブ、インフリキシマブおよび当業者に公知であるその他のものを含めたＴＮＦ－α阻害剤を含む、クローン病を治療するための組成物と同時投与できる。

【０５４１】

特定の実施形態では、ｉｎ ｖｉｖｏでの適切な分布を確実にするよう、本開示のＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片を製剤化できる。例えば、血液脳関門（ＢＢＢ）は、多数の高度に親水性の化合物を排除する。本開示の治療用化合物がＢＢＢを通過することを確実にするために（必要な場合には）、それらを、例えば、リポソーム中に製剤化することができる。リポソームを製造する方法については、例えば、米国特許第４，５２２，８１１号；同５，３７４，５４８号；および同５，３９９，３３１号を参照のこと。リポソームは、特定の細胞または臓器中に選択的に輸送され、従って、標的化された薬物送達を増強する１つまたはそれ以上の部分を含み得る（例えば、Ｖ．Ｖ．Ｒａｎａｄｅ、１９８９、Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．第２９巻：６８５頁を参照のこと）。例示的標的化部分として、葉酸またはビオチン（例えば、米国特許第５，４１６，０１６号を参照のこと）；マンノシド（Ｕｍｅｚａｗａら、Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｒｅｓ．Ｃｏｍｍｕｎ．第１５３巻：１０３８頁）；抗体（Ｐ．Ｇ．Ｂｌｏｅｍａｎら、１９９５、ＦＥＢＳ Ｌｅｔｔ．第３５７巻：１４０頁；Ｍ．Ｏｗａｉｓら、１９９５、Ａｎｔｉｍｉｃｒｏｂ．Ａｇｅｎｔｓ Ｃｈｅｍｏｔｈｅｒ．第３９巻：１８０頁）；界面活性剤タンパク質Ａ受容体（Ｂｒｉｓｃｏｅら（１９９５）Ａｍ．Ｊ．Ｐｈｙｓｉｏｌ．第１２３３巻：１３４頁）；ｐｌ２０（Ｓｃｈｒｅｉｅｒら（１９９４）Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．第２６９巻：９０９０頁）が挙げられ、Ｋ．Ｋｅｉｎａｎｅｎ；Ｍ．Ｌ．Ｌａｕｋｋａｎｅｎ、１９９４、ＦＥＢＳ Ｌｅｔｔ．第３４６巻：１２３頁；Ｋｉｌｌｉｏｎ；Ｆ

ｉｄｌｅｒ、１９９４；Ｉｍｍｕｎｏｍｅｔｈｏｄｓ　第４巻：２７３頁も参照のこと。

【０５４２】

本開示は、本開示のＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片を含む医薬組成物の、それを必要とする対象への、単独でのまたはその他の療法と組み合わせた投与のためのプロトコールを提供する。本開示の併用療法の療法（例えば、予防薬または治療薬）は、対象に同時にまたは逐次投与することができる。本開示の併用療法の療法（例えば、予防薬または治療薬）をまた、周期的に投与することができる。サイクリング療法は、一定期間の第１の療法（例えば、第１の予防薬または治療薬）の投与と、それに続く、一定期間の第２の療法（例えば、第２の予防薬または治療薬）の投与およびこの逐次投与、すなわち、療法（例えば、薬剤）の１種に対する耐性の発生を低減するための、または療法（例えば、薬剤）の１種の副作用を避けるもしくは低減するための、および／または療法の効能を改善するためのサイクルを反復することを含む。

【０５４３】

本開示の併用療法の療法（例えば、予防薬または治療薬）を、対象に同時に投与することができる。用語「同時に」とは、正確に同時での療法（例えば、予防薬または治療薬）の投与に制限されず、むしろ、本開示のＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片を含む医薬組成物が、本開示の抗体またはそのコンジュゲートが、その他の療法と一緒に作用し、そうではなく投与された場合よりも増大した利益を提供し得る、一定の順序で、時間間隔内に対象に投与されることを意味する。例えば、各療法を、対象に、同時にまたは異なる時点で任意の順序で逐次投与できるが、同時に投与されない場合には、それらは、所望の治療効果または予防効果を提供するよう十分に近接して時間で投与されなければならない。各療法は、任意の適当な形態で、任意の適した経路によって対象に別個に投与できる。種々の実施形態では、療法（例えば、予防薬または治療薬）は、１５分未満、３０分未満、１時間未満離れて、約１時間離れて、約１時間～約２時間離れて、約２時間～約３時間離れて、約３時間～約４時間離れて、約４時間～約５時間離れて、約５時間～約６時間離れて、約６時間～約７時間離れて、約７時間～約８時間離れて、約８時間～約９時間離れて、約９時間～約１０時間離れて、約１０時間～約１１時間離れて、約１１時間～約１２時間離れて、２４時間離れて、４８時間離れて、７２時間離れてまたは１週間離れて対象に投与される。その他の実施形態では、２種またはそれ以上の療法（例えば、予防薬または治療薬）が、同一患者訪問内に投与される。

【０５４４】

併用療法の予防薬または治療薬を、同一医薬組成物中で対象に投与できる。あるいは、併用療法の予防薬または治療薬を、別個の医薬組成物中で対象に同時に投与できる。予防薬または治療薬は、同一または異なる投与経路によって対象に投与できる。

【０５４５】

キット

本発明はまた、本明細書に記載される抗体のいずれかまたはすべてを含むキットを提供する。本発明のキットは、本明細書に記載されるＴＬ１Ａ抗体を含む１つまたはそれ以上の容器および本明細書に記載される本発明の方法のいずれかに従って使用するための使用説明書を含む。一般に、これらの使用説明書は、上記の治療的処置のための抗体の投与の説明を含む。いくつかの実施形態では、単回用量投与単位を作製するためのキットが提供される。特定の実施形態では、キットは、乾燥タンパク質を有する第１の容器と、水性製剤を有する第２の容器の両方を含有し得る。特定の実施形態では、アプリケーター、例えば、単一チャンバー型および複数チャンバー型の予め充填されたシリンジ（例えば、液体シリンジおよび分散シリンジ（ｌｙｏｓｙｒｉｎｇｅｓ））を含有するキットが含まれる。

【０５４６】

ＴＬ１Ａ抗体の使用に関連する使用説明書は、一般に、意図される治療の投与量、投薬スケジュールおよび投与経路についての情報を含む。容器は、単位用量、バルクパッケージ（例えば、複数回用量パッケージ）または単位未満の用量であり得る。本発明のキット

中に供給される使用説明書は、通常、ラベルまたは添付文書（例えば、キット中に含まれる紙シート）上の書面の使用説明書であるが、機械によって読み取り可能な使用説明書（例えば、磁気または光学保存ディスクで実施された使用説明書）も許容される。

【０５４７】

本発明のキットは、適したパッケージング中にある。適したパッケージングとして、それだけには限らないが、バイアル、瓶、ジャー、可動性のパッケージング（例えば、密閉マイラーまたはプラスチックバッグ）などが挙げられる。また、吸入器、鼻腔投与装置（例えば、噴霧器）またはミニポンプなどの注入装置などの特定の装置と組み合わせて使用するためのパッケージも考慮される。キットは、無菌アクセスポートを有し得る（例えば、容器は、皮下注射針によって穿刺可能な栓を有する静脈内液剤バッグまたはバイアルであり得る）。容器もまた、無菌アクセスポートを有し得る（例えば、容器は、皮下注射針によって穿刺可能な栓を有する静脈内液剤バッグまたはバイアルであり得る）。組成物中の少なくとも１種の活性薬剤は、本発明のＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片である。容器は、第２の薬学的に活性な薬剤をさらに含み得る。

【０５４８】

キットは、任意選択で、バッファーおよび解釈情報などのさらなる成分を提供し得る。普通、キットは、容器および容器上のまたは容器と関連した表示または添付文書を含む。

【０５４９】

本発明はまた、本明細書に記載された抗体のいずれかまたはすべてを含む診断キットを提供する。診断キットは、例えば、試料中のＴＬ１Ａの存在を検出するのに有用である。いくつかの実施形態では、診断キットを使用して、ＴＬ１Ａ媒介性疾患、障害または状態を発症するリスクに曝し得る潜在性の疾患、障害または状態を有する個体を同定できる。いくつかの実施形態では、診断キットを使用して、ＴＬ１Ａ媒介性疾患を有すると疑われる個体におけるＴＬ１Ａの存在および／またはレベルを検出できる。

【０５５０】

本発明の診断キットは、本明細書に記載されたＴＬ１Ａ抗体を含む１つまたはそれ以上の容器および本明細書に記載される本発明の方法のいずれかに従って使用するための使用説明書を含む。一般に、これらの使用説明書は、ＴＬ１Ａ媒介性疾患の危険にある、またはそれを有すると疑われる個体においてＴＬ１Ａの存在を検出するためのＴＬ１Ａ抗体の使用の説明を含む。いくつかの実施形態では、例示的診断キットは、例えば、ＴＬ１Ａ抗体などの試薬、陰性対照試料、陽性対照試料およびキットを使用するための指示書を含有するよう構成される。

【０５５１】

生物学的寄託物

本発明の代表的材料は、２０１３年１０月１７日にＡｍｅｒｉｃａｎ Ｔｙｐｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ、１０８０１ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｂｏｕｌｅｖａｒｄ、Ｍａｎａｓｓａｓ、Ｖａ．２０１１０－２２０９、ＵＳＡに寄託された。ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１２０６３９を有するベクター１Ｄ１ １．３１ＶＨは、抗体１Ｄ１ １．３１の重鎖可変領域をコードするＤＮＡ挿入部分を含み、ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１２０６４０を有するベクター１Ｄ１ １．３１ＶＬは、抗体１Ｄ１ １．３１の軽鎖可変領域をコードするＤＮＡ挿入部分を含む。寄託は、Ｂｕｄａｐｅｓｔ Ｔｒｅａｔｙ ｏｎ ｔｈｅ Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ Ｒｅｃｏｇｎｉｔｉｏｎ ｏｆ ｔｈｅ Ｄｅｐｏｓｉｔ ｏｆ Ｍｉｃｒｏｏｒｇａｎｉｓｍｓ ｆｏｒ ｔｈｅ Ｐｕｒｐｏｓｅ ｏｆ Ｐａｔｅｎｔ Ｐｒｏｃｅｄｕｒｅ ａｎｄ Ｒｅｇｕｌａｔｉｏｎｓ ｔｈｅｒｅｕｎｄｅｒ（ブダペスト条約）の規定のもとでなされた。これは寄託物の生存可能な培養物を寄託日から３０年間維持することを保証する。寄託物はブダペスト条約の条項の下で、Ｐｆｉｚｅｒ，Ｉｎｃ．およびＡＴＣＣ間の合意を条件として、ＡＴＣＣによって入手可能となり、これは、該当する米国特許が発行された時点、またはあらゆる米国もしくは外国特許出願が公開された時点で、どちらが先にきても、寄託物の培養物の子孫を、公衆が永続的に無制限に入手できることを保証し、そして、米国特許法１２２条およ

びそれに準ずるＣｏｍｍｉｓｓｉｏｎｅｒ’ｓ　ｒｕｌｅｓ（８８６ＯＧ６３８に特に言及している３７Ｃ．Ｆ．Ｒ．１．１４条を含む）によって、米国特許商標庁長官によってその権利があると決定されたものが子孫を入手できることを保証する。

【０５５２】

本出願の譲受人は、寄託した材料の培養物が適した条件下で培養されている時に死滅したまたは失われたまたは破壊された場合、材料は、通知に対して直ちに別の同じものと交換されることに同意した。寄託した材料の入手可能性は、あらゆる政府の権威のもとでその特許法に従って授与された権利に抵触して本発明を実施するライセンスとは解釈されてはならない。

【０５５３】

等価物

前記の書面の明細書は、当業者が本開示を実施することを可能にするのに十分であると考えられる。前記の記載および実施例は、本開示の特定の例示的実施形態を詳述する。しかし、前記のものをどんなに詳述したものが本文中に現れても、本開示は、多数の方法で実施することができ、本開示は、添付の特許請求の範囲およびその任意の等価物に一致して解釈されなければならないと理解される。

【０５５４】

特許、特許出願、論文、教本などを含めた本明細書において引用されるすべての参考文献およびすでにそうではない限りその中で列挙された参考文献は、参照によりその全文が本明細書に組み込まれる。

【０５５５】

例示的実施形態

本発明は、以下の実験例を参照してさらに詳述される。これらの例は、単に例示目的で提供され、特に断りのない限り、制限であると意図されるものではない。したがって、本発明は、決して、以下の実施例に制限されると解釈されてはならず、本明細書において提供される教示の結果として明らかになるありとあらゆる変法を包含すると解釈されなければならない。

【実施例１】

【０５５６】

抗ＴＬ１Ａ抗体の作製

ＨＥＫ２９３細胞において、組換え可溶性ヒトおよびマウスＴＬ１Ａタンパク質を一過性に発現させた。ＴＬ１Ａタンパク質を、ＨｉｔｒａｐＮＴＡ、Ｈｉｔｒａｐ　Ｑおよび　Ｓｅｐｈａｃｒｙｌ－２００（すべてＧＥ　ｈｅａｌｔｈｃａｒｅから購入した）によって精製した。得られた精製タンパク質溶液を濃縮し、－８０℃未満で保存した。精製は、ＳＤＳ－ＰＡＧＥおよび分析的ＳＥＣによって確認した。

【０５５７】

組換え可溶性ヒトおよびマウスＴＬ１Ａタンパク質を使用して、Ｍｅｄａｒｅｘ　ＫＭおよびＨｃｏマウスを免疫感作した。一部のマウスには、交互のヒトおよびマウスＴＬ１Ａを与え、その他のものには、ヒトＴＬ１Ａのみを与えた。いくつかの場合には、マウスにＲｉｂｉアジュバント中の３×２５μｇの組換えヒトＴＬ１Ａおよび１×２５μｇの組換えマウスＴＬ１Ａを、毎週、腹膜内投与および皮下投与した。Ｅ－融合プロトコールによって生成したハイブリドーマは、血清力価分析によってＴＬ１Ａに対して反応性を示したマウスから作製した。その後のハイブリドーマは、ＴＬ１Ａと結合したが、ＴＮＦαとは結合しなかった抗体の生成についてスクリーニングした。ＴＬ１Ａに対して特異的結合を示したそれらのハイブリドーマを、中和抗体についてさらにスクリーニングした。

【実施例２】

【０５５８】

ＳＰＲによる抗ＴＬ１Ａ抗体のエピトープビニング

ペアワイズ結合戦略を使用して、表面プラズモン共鳴を使用するエピトープビニングによって抗ＴＬ１Ａ抗体を特徴付けた。ある抗体を、Ｂｉａｃｏｒｅ　２０００または３０

００機器を使用して、アミンカップリングを介してカルボキシメチル化デキストランセンサーチップ表面（ＣＭ５）上に直接固定化した。次いで、８．１ｍＭ　Na_2HPO_4、１．４７ｍＭ　KH_2PO_4、ｐＨ７．２、２３７ｍＭ　ＮａＣｌ、２．７ｍＭ　ＫＣｌ、３．４ｍＭ　ＥＤＴＡおよび０．０１％　ｔｗｅｅｎ　２０（ＰＢＳ－ＮＥＴ）で１０ｎＭに希釈した組換え可溶性ヒトＴＬ１ＡまたはマウスＴＬ１Ａを、１０μｌ／分の流速で約１分間注入して、少なくとも１００反応単位（ＲＵ）の固定化された抗体またはその抗原結合断片上での結合レベルを達成した。次いで、チップ上に固定化された同一抗体を、３０ｎＭで５分間注入して、三量体ＴＬ１Ａ上の可能性ある結合部位のすべてを飽和させた。抗体の反復注入を実施して、この飽和を確実にした。最後に、ＰＢＳ－ＮＥＴまたはＰＢＳ－ＮＥＴ中の二次抗体単独を対照として、３０ｎＭで５分間注入した。二次抗体が、一次抗体で飽和したＴＬ１Ａと結合した場合には、これは、二次抗体が、一次抗体と比較してＴＬ１Ａ上の非競合エピトープと結合することを示した。二次抗体が、飽和ＴＬ１Ａと結合できなかった場合には、これは、２種の抗体は、ＴＬ１Ａ上の同一または競合エピトープを共有していることを示した。この戦略を、上部の中和抗体について反復した。各サイクルの最後に、３Ｍ　$MgCl_2$を３０秒瞬間適用することによって、または０．１％　ＴＦＡと、それに続く、ＰＢＳ－ＮＥＴの２回の連続した１５秒の瞬間適用によって、固定化した抗体表面を再生した。すべての注入を、１０Ｈｚの収集速度で２５℃で実施した。対照表面およびバッファー注入の両方を使用することによって、すべてのセンサーグラムを二重にリファレンスをとった。

【０５５９】

ヒトＴＬ１Ａに対する最初の１５種の中和抗体のエピトープビニングは、少なくとも２種の別個のエピトープを示した（図２）。２回目のエピトープビン内に重複エピトープがあると思われた。抗体２５Ａ４は、７Ｄ４および２２Ｆ９に対する非競合エピトープと結合したが、１Ｄ１に対する競合エピトープを有すると示された。続いて、抗体を、１Ｄ１、７Ｄ４および２５Ａ４に対して比較して、この第２のエピトープビン内でのその位置を決定した（図３）。さらに、第１のエピトープビン内で、固定化した１６Ｆ９に対して抗体１４Ｇ１、４Ｃ１および１０Ｇ３を各々比較して、ヒトＴＬ１Ａへの結合についてのそのビニングを再確認した。これらの抗体は各々、２６Ｂ１１および９Ｂ３と同様に、１６Ｆ９との競合エピトープと結合する。抗体１Ｄ１を、１６Ｆ９との結合の対照として使用したが、これは、これら２種の抗体が、非競合エピトープでヒトＴＬ１Ａと結合するからである。

【０５６０】

マウスＴＬ１Ａに対するエピトープビニングを、８種の抗ＴＬ１Ａ抗体（細胞ベースのカスパーゼアッセイにおいてマウスＴＬ１Ａを中和する能力を示した）ならびに市販の抗ＴＬ１Ａポリクローナル抗体ＡＴ１２７（Ｅｎｚｏ　Ｌｉｆｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ｆａｒｍｉｎｇｄａｌｅ、ＮＹ）について実施した。ＡＴ１２７以外の抗ＴＬ１Ａ抗体のすべてが、マウスＴＬ１Ａと競合エピトープで結合した。ＡＴ１２７は、別個の非重複エピトープでマウスＴＬ１Ａと結合すると思われた（図４）。

【実施例３】

【０５６１】

中和抗体のＴＬ１Ａ結合動態の特徴付け

表面プラズモン共鳴によって抗ＴＬ１Ａ抗体のＴＬ１Ａへの結合動態を特徴付けるために、Ｂｉａｃｏｒｅ　Ｔ１００またはＴ２００機器を使用して、各抗ＴＬ１Ａ抗体を、カルボキシメチル化デキストランセンサーチップ表面（ＣＭ５）上に直接固定化した抗ヒトＩｇＧ（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）を介して捕捉した。抗ヒトＩｇＧを、アミンカップリングによっておよそ４，０００～１３，０００反応単位（ＲＵ）の密度に固定化した。各抗ＴＬ１Ａ抗体を、８．１ｍＭ　Na_2HPO_4、１．４７ｍＭ　KH_2PO_4、ｐＨ７．２、２３７ｍＭ　ＮａＣｌ、２．７ｍＭ　ＫＣｌ、３．４ｍＭ　ＥＤＴＡおよび０．０１％　ｔｗｅｅｎ　２０（ＰＢＳ－ＮＥＴ）で０．０７５～０．１５μｇ／ｍｌに希釈し、５μｌ／分の流速で抗ｈＩｇＧ表面上に約１～２分間注入して、３０ＲＵ程度の低

い捕捉レベルを達成した。捕捉後、流速を１００μｌ／分に増大し、ＰＢＳ－ＮＥＴ中の０．１９５ｎＭ～１００ｎＭの範囲の種々の濃度の組換え可溶性ヒトＴＬ１Ａ、カニクイザルＴＬ１ＡまたはマウスＴＬ１Ａを、２～３分間会合のために注入し、最大６０分間解離させた。各サイクルの最後に、３Ｍ　ＭｇＣｌ$_2$の３０秒の瞬間適用と、それに続く、ＰＢＳ－ＮＥＴの２回の連続した１５秒の瞬間適用によって、抗ヒトＩｇＧ（ｈＩｇＧ）表面全体を再生した。すべての注入を、１０Ｈｚの収集速度で２５℃で実施した。対照表面およびバッファー注入の両方を使用することによって、すべてのセンサーグラムを二重にリファレンスをとった。速度定数は、データを、Ｂｉａｃｏｒｅ　Ｔ１００、Ｔ２００評価ソフトウェアｖ１．０またはＢＩＡｅｖａｌｕａｔｉｏｎソフトウェアｖ４．１．１における１：１モデルおよび方程式$K_D = k_d / k_a$にフィッティングすることによって決定した。

【０５６２】

最初に、抗ＴＬ１Ａ抗体を選択するためにヒトおよびマウスＴＬ１Ａの結合を、Ｂｉａｃｏｒｅ　Ｔ１００機器でリアルタイムで測定した。すべての抗体が、ヒトＴＬ１Ａまたはマウスと、同様の平衡解離定数（K_D）で結合した。決定したK_Dはまた、これまでに生じた細胞ベースのアッセイのＩＣ５０にも匹敵した（示されていないデータ）。

【０５６３】

リアルタイムでのＴＬ１Ａ結合のその後の評価のために、ＴＬ１Ａの異なるエピトープと結合する抗体の代表的なものである抗体１Ｄ１、２６Ｂ１１および７Ｄ４を、以下のとおりに発現させた。組換え抗ＴＬ１Ａ抗体の一過性発現を、哺乳動物発現ベクターにクローニングされた重鎖および軽鎖Ｖ領域の同時トランスフェクションによって評価した。例えば、各１００ｍｍの組織培養ディッシュ（Ｃｏｒｎｉｎｇ　４３０１７６）に、４０μｌのＴｒａｎｓＩＴ（Ｍｉｒｕｓ　ＭＩＲ２３０６）を、２ｍｌの室温Ｏｐｔｉｍｅｍ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ－Ｇｉｂｃｏ　１１０５８－０２１）＋グルタミン２ｍＭ最終濃度に添加した。このＯｐｔｉｍｅｍおよびＴｒａｎｓ－ＩＴの混合物をボルテックス処理し、室温で１５分間インキュベートした。混合物にＭａｘｉｐｒｅｐ　ＤＮＡを添加し（８μｇの重鎖および８μｇの軽鎖）、室温で１５分間インキュベートした。次いで、この液剤を、約８ｍｌの増殖培地（ＤＭＥＭ＋ＨＩＦＢＳ＋Ｐｅｎｎ＋Ｓｔｒｅｐ＋グルタミン）を含有するｐ１００に添加した。３７℃、１０％　CO_2で２４時間後、細胞をＲ１ＣＤ１（血清不含増殖培地）ですすぎ、次いで、各ｐ１００に１０ｍｌのＲ１ＣＤ１＋ＰＳＧを添加した。３７℃、１０％　CO_2で４８時間後、馴化培地を回収し、細胞をペレットに沈降させ、上清を新規チューブに回収した。これを、大きな発現実施のためにさらなる細胞を順応させるためにそれに応じて調整した。

【０５６４】

一過性トランスフェクションから得た馴化培地を、総ヒトＩｇＧ－Ｆｃ－特異的ＥＬＩＳＡによって定量化した。手短には、平底ＥＬＩＳＡプレート（Ｃｏｓｔａｒ　３５９０）を、各ウェル１００μｌの、ＰＢＳ中の１μｇ／ｍｌのヤギ抗ヒトＩｇＧ（Ｐｉｅｒｃｅ　３１１２５）を用いて、室温で一晩コーティングした。プレートを、１００μｌ／ウェルの、ＰＢＳ中の０．０２％カゼイン液剤を用いて、最小３時間または最大２４時間、室温でブロッキングした。プレートが直ちに使用されなかった場合には、貯蔵バッファー、ＰＢＳ中の０．０２％　NaN_3中、４℃で最大１カ月保存した。標準および試料を、アッセイバッファー（ＰＢＳ中の０．５％ウシ血清アルブミン＋０．０２％Ｔｗｅｅｎ－２０）での段階希釈系列で実施し、ＥＬＩＳＡプレートの洗浄したウェルに１００μｌを添加し、室温で３～２４時間インキュベートした。ヤギ抗ヒトＩｇＧ（Ｐｉｅｒｃｅ　３１４１３）を、アッセイバッファーで１：５０００希釈し、プレートを洗浄した後にウェルに１００μｌを添加し、室温で１５分間インキュベートさせた。プレートを洗浄し、ウェルあたり１００μｌのＢｉｏＦＸ　ＴＭＢ（ＴＭＢＷ－０１００－０１）中で発色させ、反応をウェルあたり１００μｌの０．１８Ｎ　H_2SO_4で停止させ、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｅｖｉｃｅｓ　ｖＭａｘプレートリーダーで４５０ｎｍでプレートを読み取った

。未知物は、標準の希釈系列から得られた直線範囲から算出した。抗体２６Ｂ１１を、この実験において定量化した馴化培地として使用し、１Ｄ１および７Ｄ４をプロテインＡ精製した。

【０５６５】

抗ＴＬ１Ａ抗体を、Ｂｉａｃｏｒｅ　Ｔ１００機器でＣＭ５センサーチップ上の固定化した抗ヒトＦｃ上で捕捉した。ヒトＴＬ１Ａ（０．４～１００ｎＭ）またはカニクイザルＴＬ１Ａ（８～２００ｎＭ）を、捕捉した抗ＴＬ１Ａ抗体上に注入した。表中に示された速度定数は、ＢｉａＥｖａｌｕａｔｉｏｎ　ｖ４．１．１において１：１ラングミュア結合モデルにフィッティングすることによって求めた（赤で示されたフィットライン）。示されたデータは、２実験間の少なくとも３つの独立表面の平均および標準偏差である。固定化された抗ヒトＦｃとの組換え可溶性ヒトまたはカニクイザルＴＬ１Ａの非特異的結合が観察された。

【０５６６】

捕捉レベルを、意図的に低く維持して、１：１結合の条件を可能にし、結合活性の衝撃を避け、解離の際の再結合を最小化した。３０ＲＵを超える捕捉レベルで、抗体とのより遅いオフレートが観察され、これは、これらの複雑な関係による可能性が高かった（示されていないデータ）。

【０５６７】

ヒトまたはカニクイザルＴＬ１Ａのいずれかについても、抗ＴＬ１Ａ抗体との結合は、試験されたＴＬ１Ａの濃度に左右された。最高サイトカイン濃度で、解離相は、結合シグナルの少なくとも５％の減少を達成するのに６０分に延長することもあった。これは、比較的遅い抗原解離速度を正確に測定するために推奨される最小減少である（Ｋａｔｓａｍｂａら Ｋｉｎｅｔｉｃ ａｎａｌｙｓｉｓ ｏｆ ａ ｈｉｇｈ ａｆｆｉｎｉｔｙ ａｎｔｉｂｏｄｙ／ａｎｔｉｇｅｎ ｉｎｔｅｒａｃｔｉｏｎ ｐｅｒｆｏｒｍｅｄ ｂｙ ｍｕｌｔｉｐｌｅ Ｂｉａｃｏｒｅ ｕｓｅｒｓ．Ａｎａｌｙｔｉｃａｌ Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ２００６ Ｍａｙ １５；３５２（２）：２０８～２１頁）。この条件が満たされる場合には、ＴＬ１Ａの各種と各抗体の間の会合および解離速度定数は、１：１ラングミュア結合モデルを使用して結合センサーグラムから算出した。ヒトおよびｃｙｎｏ　ＴＬ１Ａへの抗体１Ｄ１、７Ｄ４および２６Ｂ１１結合のＫｄ値が、表４に要約されている。

【０５６８】

【表１０】

表 4: 抗体 1D1、7D4 および 26B11 の Kd 値

抗体	ヒト TL1A			Cyno TL1A		
	k_a (1/Ms)1xE+05	k_d(1/s) 1xE-03	K_D(nM)	k_a (1/Ms)1xE+05	k_d(1/s) 1xE-03	K_D(nM)
1D1	6±2	1.8±0. 2	3.1±0.8	6±1	4.1±0.9	7±1
7D4	4±1	0.4±0.1	0.9±0.2	2.0±0.5	1.4±0.3	6.9±0.9
26B11	1.7±0.1	0.11±0.04	0.6±0.2	2.0±0.9	6±2	36±12

【実施例４】

【０５６９】

抗ＴＬ１Ａ抗体配列

種々のエピトープビンを代表する上部中和抗体を、配列決定のために選択した。以下のとおり、抗ＴＬ１Ａ抗体１Ｄ１、７Ｄ４、２６Ｂ１１、１５Ｃ１１、１５Ａ９、９Ｂ３および２２Ｆ９の配列が得られた。可変性ドメインをクローニングするために、対象となる抗ＴＬ１Ａハイブリドーマを選択した。ハイブリドーマからＲＮＡを抽出し、ＲＴ－ＰＣＲクローニングによって発現された抗体から可変領域ＤＮＡ配列を得た。一般に、全ＲＮＡ単離のために１００～５００万のサブクローニングされたハイブリドーマ細胞をホモジナイズし、ＱＩＡＧＥＮ　ＲＮＡｅａｓｙ　Ｍｉｎｉキットを用いてＱＩＡＳｈｒｅｄｄ

ｅｒに流すか、またはＲＮＡｅａｓｙ　ｍｉｃｒｏキットなどのその他のＱｉａｇｅｎキットを使用するために細胞数を調整した。次いで、スーパースクリプトＩＩまたはスーパースクリプトＩＩＩ逆転写酵素（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を使用して第１鎖ｃＤＮＡを生成した。抗ＴＬ１Ａ　ＩｇＧの可変領域の二本鎖ｃＤＮＡを続いて作製し、定常領域に特異的なプライマーおよびＳＭＡＲＴ　ＩＩａオリゴなどの５’既知キャップを使用するＰＣＲによって増幅した。得られたＲＴ－ＰＣＲ産物を、ＴＯＰＯ－Ｂｌｕｎｔクローニングベクター、ｚｅｒｏ　ｂｌｕｎｔ、ｔｏｐｏ　ＴＡまたは同様のベクター（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）中にクローニングし、従来法によって配列決定した。

【０５７０】

配列は、配列表（表４０）に列挙されており、図１に示されている。抗体９Ｂ３および２６Ｂ１１については、ハイブリドーマから複数の重鎖をクローニングし、配列表（表４０）および図１に列挙されている。２６Ｂ１１については、ＶＨ２重鎖可変鎖ドメイン（配列番号７４）を有する構築物を用いて実験を実施した。

【０５７１】

図１Ｉは、上記で論じた３回のエピトープビンを代表する抗体１Ｄ１、７Ｄ４および２６Ｂ１１の配列のアラインメントを表す。図１Ｊは、競合ＴＬ１Ａエピトープと結合する抗体７Ｄ４および２２Ｆ９由来のＶＨおよびＶＬ配列のアラインメントを表す。これらの抗体は、同一ＶＬを有するが、異なるＶＨ領域を有する。表５は、抗体７Ｄ４および２２Ｆ９のＶＨドメイン間のアミノ酸差異の要約を提供する。図１Ｋは、競合ＴＬ１Ａエピトープと結合する抗体２６Ｂ１１および９Ｂ３間の配列のアラインメントを表す。これらの抗体は、異なるＶＬ領域を有するが、各々は、複数の同一のＶＨ領域（ＶＨ１、ＶＨ２）を生成する。抗体２６Ｂ１１はまた、ＭＤＸ－ＶＨと名付けられた第３のＶＨドメインを生成する。表６は、抗体２６Ｂ１１および９Ｂ３間のアミノ酸差異の要約を提供する。図１Ｌは、ＴＬ１Ａへの結合について競合する抗体１Ｄ１および抗体１５Ａ９および１５Ｃ１１の配列のアラインメントを表す。これらの抗体は、同一のＶＬを有するが、各々は、異なるＶＨ領域を有する。表１２は、抗体１Ｄ１、１５Ａ９および１５Ｃ１１および１Ｄ１親和性成熟変異体間のアミノ酸差異の要約を提供する。図１Ｍは、種々の抗ＴＬ１Ａ抗体間の配列同一性パーセンテージを表す図である。

【０５７２】

【表１１】

表5: 抗体7D4および22F9のVHドメインにおけるアミノ酸差異の要約。CDR-H1については、配列は、AntibodyMによって定義され、Kabatによって定義された残基は、太字およびイタリック体である。

CDR-H1		CDR-H2		CDR-H3		VHドメイン	
22F9中のアミノ酸配列(配列番号61)	7D4中のアミノ酸配列(配列番号99)	22F9中のアミノ酸配列(配列番号62)	7D4中のアミノ酸配列(配列番号100)	22F9中のアミノ酸配列(配列番号63)	7D4中のアミノ酸配列(配列番号101)	22F9中のアミノ酸配列	7D4中のアミノ酸配列
G	G	W	W	G	A	D85	E85
Y	Y	I	I	Y	H		
T	T	N	S	S	S		
F	F	A	T	S	S		
T	T	G	Y	A	S		
S	***S***	N	N	W	W		
Y	***Y***	G	G	F	F		
A	***G***	N	N	D	D		
M	***I***	T	T	A	A		
H	***N***	K	N	F	F		
		Y	S	D	D		
		S	A	I	I		
		Q	Q				
		K	K				
		F	L				
		Q	Q				
		G	G				

【０５７３】

【表１２】

表 6: 抗体 9B3 および 26B11 の VH および VL ドメインにおけるアミノ酸差異の要約。CDR-H1 について、配列は、AntibodyM によって定義され、Kabat によって定義された残基は、太字およびイタリック体である。

CDR-L1		VL ドメイン		CDR-H1		
26B11 中のアミノ酸配列 (配列番号 76)	9B3 中のアミノ酸配列 (配列番号 13)	26B11 中のアミノ酸配列	9B3 中のアミノ酸配列	26B11 中のアミノ酸配列 (配列番号 79)/9B3 VH1 (配列番号 16)	26B11 中のアミノ酸配列 (配列番号 82)/9B3 VH2 (配列番号 19)	26B11 MDX 中のアミノ酸配列 (配列番号 85)
R	R	83F	83Y	G	G	G
A	A			F	F	F
S	S			T	T	T
Q	Q			F	F	F
G	G			S	S	S
I	I			***N***	***S***	***N***
S	S			***Y***	***F***	***Y***
N	S			***A***	***A***	***A***
W	W			***L***	***M***	***I***
L	L			***H***	***H***	***H***
A	A					

CDR-H2			CDR-H3			VH ドメイン		
26B11 中のアミノ酸配列 (配列番号 80) /9B3 VH1 (配列番号 17)	26B11 中のアミノ酸配列 (配列番号 83) /9B3 VH2 (配列番号 20)	26B11 MDX 中のアミノ酸配列 (配列番号 86)	26B11 中のアミノ酸配列 (配列番号 81) /9B3 VH1 (配列番号 18)	26B11 中のアミノ酸配列 (配列番号 84) /9B3 VH2 (配列番号 21)	26B11 MDX 中のアミノ酸配列 (配列番号 87)	VH1 中のアミノ酸	VH2 中のアミノ酸	MDX 中のアミノ酸
L	L	L	D	D	D	68A	68T	68T
I	I	I	R	R	R	108 M	108L	108 M
S	P	P	E	N	N			
Y	F	Y	Y	Y	Y			
D	D	D	C	Y	Y			
G	G	G	T	G	G			
S	S	S	Y	S	S			
D	S	N	S	G	G			
K	N	N	S	S	S			
Y	Y	Y	C	F	F			
Y	Y	Y	S	S	S			
A	A	A	Y	F	F			
D	D	A	D	D	D			
S	S	S	A	A	A			
V	V	V	F	F	F			
K	K	K	D	D	D			
G	G	G	I	I	I			

【実施例５】

【０５７４】

ファージディスプレイライブラリーによる抗ＴＬ１Ａ抗体１Ｄ１の親和性成熟

ａ）ファージライブラリー設計

３種のライブラリーを計画し、その各々は、１Ｄ１（本明細書において「親１Ｄ１」または野生型１Ｄ１またはＷＴ　１Ｄ１とも呼ばれる）のＶＨＣＤＲ１、ＶＨＣＤＲ２またはＶＨＣＤＲ３領域においてランダム化を含有していた。ヒトＴＬ１Ａ三量体と結合している１Ｄ１　ＩｇＧのＸ線結晶学研究（実施例６を参照のこと）は、ＶＬが、結合相互作用に大きく関与しなかったことを示し、したがって、ＶＬ領域は突然変異しなかった。２種のランダム化、Ｅｕｒｏｆｉｎｓによって供給されるオリゴヌクレオチドを用いる二成分置換およびＩＤＴ（Ｉｎｔｅｇｒａｔｅｄ　ＤＮＡ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）によって供給されるオリゴヌクレオチドを用いるスパイキング突然変異誘発を使用した。二成分置換法では、野生型アミノ酸を、元の野生型アミノ酸または密接に関連した相同体のいずれかを組み込むコドンで置換した。この突然変異誘発によって、導入される適した変化が可能となる。スパイキング突然変異誘発は、野生型アミノ酸を５０％の割合ですべてのその他のアミノ酸で置換することを含む。

【０５７５】

いくつかの高度に保存されたアミノ酸が、構築されたライブラリーを通じて維持された－例えば、Ｙ３１、Ｉ５１およびＤ１０１は、ヒト抗体におけるその保存のために突然変異させなかった。ＶＨＣＤＲ２ループのＣ末端は、結合機能におけるこれらの残基の重要性を指摘したこれまでに作成されたデータに留意して、突然変異させなかった。一部の恐らくは重要な位置は、二成分置換によってのみ突然変異させた。その他のものは、ランダム化の２種の方法に付され、これらの位置は、結合親和性に影響を及ぼすより大きな可能性を有すると考えられた。

【０５７６】

ＶＨＣＤＲ３は、最も大きく突然変異させたが、これは、伝統的にこのループが、親和性決定において最大の役割を有するからである。ループ全体（Ｄ１０１を除く）を、二成分置換およびスパイキング突然変異誘発の両方によって突然変異させた。ＶＨＣＤＲ３については、その長さのために２種のスパイキング突然変異誘発オリゴを使用した。

【０５７７】

ｂ）構築されたファージライブラリー

突然変異体ライブラリーの構築を実施した。一次および二次（ＳＯＥ）ＰＣＲは、製造業者の推奨に従う、Ｐｌａｔｉｎｕｍ（登録商標）Ｔａｑ　ＤＮＡ　Ｐｏｌｙｍｅｒａｓｅ　Ｈｉｇｈ　Ｆｉｄｅｌｉｔｙ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）の使用を含んでいた。ＳＯＥ－ＰＣＲ産物を制限消化し、精製し、大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）ＴＧ１中のｐＷＲＩＬ－１ベクター中にクローニングした。総ライブラリーサイズは、形質転換の段階希釈物を、２ＹＴ寒天／１ミリリットルあたり１００μｇのカルベニシリン／２％（ｖ／ｖ）グルコース（２ＹＴ－ＣＧ）上にプレーティングすることによって算出した。各エレクトロポレーションから得られた総細胞集団を、２ＹＴ寒天／１ミリリットルあたり１００μｇのカルベニシリン／２％（ｖ／ｖ）グルコース（２ＹＴ－ＣＧ）を含有する２２ｃｍのバイオアッセイディッシュ（Ｇｅｎｅｔｉｘ）上にプレーティングし、３０℃で一晩インキュベートし、最後に、掻きとることによって回収し、２ＹＴ培養液／２０％（ｖ／ｖ）グリセリンに再懸濁した。次いで、ライブラリーアリコートを－８０℃で凍結した。

【０５７８】

ｃ）ファージライブラリーレスキューおよび選択

ファージライブラリーをレスキューし、２種の異なるスタイルで選択を実施し、第１のものは、伝統的な液相法であった。これらの選択では、ライブラリーを３ラウンドにわたって選択し、３ｎＭのビオチン化ｈＴＬ１Ａの出発濃度を用い、ラウンド３では５０ｐＭを用いて終えた。洗浄を、ラウンド１における１２からラウンド３における１８に増大した。また、ラウンド３では、「オフレート競合」工程を含有する別のブランチを含め、ここで、５０ｎＭ過剰の非標識抗原を３０分間添加した。

【０５７９】

選択の第２のスタイルは、第１のものと同一のビオチン化抗原およびビーズを含んでいた。これらの選択の目的は、第１のラウンドにおいて高親和性に向けて効果的に駆動し、

続いて、第２のラウンドにおいて穏やかに回収することである。選択の４つのブランチが完了し、そのうち２つは、ラウンド１において１ｎＭのビオチン化ｈＴＬ１Ａを含有しており、残りのブランチは、ラウンド１において１００ｐＭのビオチン化抗原を含有していた。第１ラウンドはまた、一晩「オフレート競合」工程を含有しており、ここで、１００ｎＭの非標識抗原を１８時間添加した。ラウンド１においてストリンジェント洗浄も使用し、１３回の洗浄を適用した。選択の第２ラウンドは、４つのブランチを含んでおり、そのうち２つは、１ｎＭのビオチン化組換え可溶性ヒトＴＬ１Ａを含有し、残りの２つは、１ｎＭのビオチン化組換え可溶性マウスＴＬ１Ａを含有していた、ラウンド２では１０回の洗浄を適用した。

【０５８０】

ｄ）一次スクリーニング－ｓｃＦｖ発現および精製

ハイスループットスクリーニングのために、大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）クローンを、２２ｃｍバイオアッセイトレイ（Ｇｅｎｅｔｉｘ）中の２ＹＴ－ＣＧ寒天にプレーティングし、ＱＰｉｘ　ＩＩコロニーピッカー（Ｇｅｎｅｔｉｘ）を使用して２ＹＴ－ＣＧ培養液を含有する標準滅菌９６ウェルプレート中に選び取り、６００ｒｐｍ、３７℃および８０％湿度で一晩、Ｍｕｌｔｉｔｒｏｎマルチプレートインキュベーター（Ｉｎｆｏｒｓ　ＡＧ）中で増殖させた。増殖後、グリセリンを３０％（ｖ／ｖ）の最終濃度に添加し、プレートを－８０℃で保存するか、９００μｌの２ＹＴ－ＣＧ培養液を含有する９６ウェルのディープウェルプレートに直ちに播種するために使用した。これらを、３７℃、８０％湿度および６００ｒｐｍで５～６時間増殖させ、０．５ｍＭの最終濃度へのＩＰＴＧの付加および２８℃での一晩のインキュベーションによって発現を誘導した。細胞を１２６０ｇでの遠心分離によってペレット化し１５０μｌの氷冷ペリプラズムバッファー［５０ｍＭのＴｒｉｓ－ＨＣｌ、１ｍＭエチレンジアミン四酢酸および２０％スクロース（ｗ／ｖ）、ｐＨ８］に再懸濁した。１５０μｌ／ウェルの１：５希釈ペリプラズムバッファーの付加によって浸透圧ショックを誘導し、試料を氷上に３０分間置いた。これに、３２２０ｇでの遠心分離を１０分間続け、発現されたｓｃＦｖを含有するペリプラズム画分からなる上清を回収した。単一点分析において粗ペリプラズム抽出物を使用して、ＥＬＩＳＡまたはＨＴＲＦアッセイによるハイスループットスクリーニングを実施した。

【０５８１】

より詳細なＨＴＲＦ力価測定およびカスパーゼ活性測定法分析のために、小規模単一工程ｓｃＦｖ精製を実施した。対象となる大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）クローンを、結合ＥＬＩＳＡおよびＨＴＲＦスクリーニングアッセイにおける性能に基づいて選択し、小規模タンパク質発現および精製のために播種した。

【０５８２】

ｅ）結合ＥＬＩＳＡ

Ｍａｘｉｓｏｒｐプレート（Ｎｕｎｃ）を、ＰＢＳ中の１μｇ／ｍｌのヒトまたはマウスＴＬ１Ａを用いて４℃で一晩コーティングした。ウェルを、Ｚｏｏｍｗａｓｈｅｒ液体ハンドリングロボット（Ｔｉｔｅｒｔｅｋ）を使用し、２５０μｌの、０．０２％（ｖ／ｖ）のＴｗｅｅｎ－２０を含有するＰＢＳを用いて３回洗浄し、１００μｌのＰＢＳ／３％（ｗ／ｖ）粉ミルクタンパク質および１％ウシ血清アルブミン中で１時間ブロッキングした。粗ペリプラズム抽出物（５０％、ｖ／ｖ）を、ＰＢＳ／６％（ｗ／ｖ）粉ミルクタンパク質および２％ウシ血清アルブミン中で１時間ブロッキングした。ブロッキングされたペリプラズム抽出物（５０％、ｖ／ｖ）を、次いで、１：２５００の最終濃度のＨＲＰコンジュゲート抗ｃ－ｍｙｃ抗体（Ｒｏｃｈｅ）とともに３０分間インキュベートし、その後、コーティングされたＥＬＩＳＡプレートに付加し、これをさらに２時間インキュベートした。Ｚｏｏｍｗａｓｈｅｒでの４回の洗浄サイクルの後、反応をＵｌｔｒａＴＭＢ（Ｐｉｅｒｃｅ）を使用して発色させ、０．１８Ｍリン酸の１：１付加によって停止した。プレートをＥｎＶｉｓｉｏｎマルチプレートリーダーで４５０ｎｍで読み取った。すべてのデータをＤｅｃｉｓｉｏｎ　Ｓｉｔｅ　８（Ｓｐｏｔｆｉｒｅ）およびＰｒｉｓｍ５（ＧｒａｐｈＰａｄ）ソフトウェアを使用してプロットした。

【０５８３】
ｆ）ハイスループット競合ＨＴＲＦアッセイ
親和性が改善されたクローンの同定を可能にするために、ハイスループット競合ＨＴＲＦアッセイを確立した。親１Ｄ１抗体を、クリプテート標識キット（ＣｉｓＢｉｏ）を製造業者の使用説明書に従って使用して、ユウロピウムクリプテートを用いて標識した。最終反応混合物は、ＨＴＲＦ検出バッファー（Ｃｉｓｂｉｏ）中の、２０μｌの総反応容量中に、上記のように調製した、６ｎＭのビオチン化組換え可溶性ヒトまたはマウスＴＬ１Ａ、１：１６００希釈のＳＡ－ＸＬ６６５（ＣｉｓＢｉｏ）、１：１０００希釈のユウロピウムクリプテート標識した親１Ｄ１および１０％（ｖ／ｖ）の対象となるｓｃＦｖを含有するペリプラズム抽出物を含有していた。試薬は、ＭｉｎｉＴｒａｋ Ｌｉｑｕｉｄ Ｈａｎｄｌｉｎｇプラットフォーム（Ｐｅｒｋｉｎ－Ｅｌｍｅｒ）で３８４ウェル小容量黒色プレート（Ｎｕｎｃ）中に逐次添加した。反応を室温で3時間進行させ、その後、３４０ｎｍでの励起および６１５ｎｍ（１Ｄ１－ユウロピウムクリプテートからのインプットドナー蛍光を測定する）および６６５ｎｍ（ＳＡＸＬ６６５からのアウトプットアクセプター蛍光を測定する）での２種の発光試薬を用いてＥｎＶｉｓｉｏｎ Ｍｕｌｔｉｌａｂｅｌプレートリーダー（Ｐｅｒｋｉｎ－Ｅｌｍｅｒ）でプレートを読み取った。すべての読み取り値は、これまでに記載されたように（Ｆｉｎｌａｙら、Ｊ．Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ ３８８（３）：５４１～５８頁（２００９））、蛍光の変化のパーセンテージ、％ΔＦとして表した。すべてのデータは、Ｄｅｃｉｓｉｏｎ Ｓｉｔｅ ８（Ｓｐｏｔｆｉｒｅ）およびＰｒｉｓｍ ５（ＧｒａｐｈＰａｄ）ソフトウェアを使用してプロットした。

【０５８４】
ｇ）ＩｇＧへの再編成および発現および精製
選択されたクローンを、その凍結ストックから播種し、１５０μＬの、１００μｇ／ｍＬのカルベニシリンを有する２ＹＴ培地を含有する単一ウェル中で２５０ｒｐｍ、３７℃で一晩増殖させた。次いで、０．５μＬの各一晩培養物を、ＰＣＲ混合物に添加した。フォワードプライマーリード５’ＣＡＡＣＡＧＣＴＡＣＡＧＧＣＧＣＧＣＡＣＴＣＣＣＡＧＧＴＴＣＡＧＣＴＧＧＴＧ３’（配列番号３９３）およびリバースプライマー５’ＧＡＣＣＧＡＴＧＧＧＣＣＣＴＴＧＧＴＣＧＡＣＧＣＴＧＡＧＧＡＧＡＣＧＧＴＧＡＣ３’（配列番号３９４）。次いで、すべてのＰＣＲ反応をプールし、２％アガロースゲルで分離した。およそ４００ｂｐのバンドを切り出し、ＱＩＡｑｕｉｃｋゲル抽出キット（Ｑｉａｇｅｎ）を使用して精製した。次いで、精製したＰＣＲ産物を、５０℃で3時間のＢｓｓＨＩＩ消化に付し、続いて、８０℃で２０分間不活性化した。次いで、反応物に０．６μＬのウシ血清アルブミン（１００×）および３μＬのＳａｌＩ酵素を添加し、５０℃でさらに3時間消化させ、痛いて、６５℃で２０分間不活性化した。バルク消化物を２％アガロースゲル上で分離し、ゲル精製し、次いで、Ｆｃ中にエフェクター機能ヌル突然変異を含むよう遺伝子操作した発現ベクター（「三重変異体」または「３ｍｕｔ」とも呼ばれる）中にライゲーションした。

【０５８５】
ＩｇＧを、標準トランスフェクション後に３０ｍｌのＨＥＫ２９３細胞（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）において一過性に発現させた。３７℃、７％ CO_2 で5日後に馴化培地を回収し、細胞を遠心分離によって除去した。得られた上清を濾過し、ＭＥＡロボットとともにＰｒｏＰｌｕｓ ４０μｌ樹脂チップ（両方ともＰｈｙｎｅｘｕｓ Ｉｎｃ）を使用して精製を実施した。手短には、チップを洗浄バッファー（Ｐｈｙｎｅｘｕｓ）で平衡化した後、１ｍｌの馴化培地を０．５ｍｌ／分の流速で各チップに6回通し、ＰｒｏＡ／Ｇ混合樹脂によるＩｇＧの捕捉を可能にし、その後、廃棄した。この工程を３０ｍｌの培地すべてを用いて一晩反復した。２種のバッファー（Ｐｈｙｎｅｘｕｓ Ｉｎｃ）を用いる洗浄工程後、０．１Ｍ グリシンｐＨ２を用いて捕捉されたタンパク質を溶出し、１Ｍ Ｔｒｉｓ ｐＨ９を用いて中和した。精製されたタンパク質をＰＢＳにバッファー交換し、ＭｉｃｒｏＢＣＡ（Ｔｈｅｒｍｏ）によって濃度を決定し、還元ＳＤＳ－ＰＡＧＥによって精製した。

【０５８６】
ｈ）カスパーゼ活性測定法
最初のスクリーニング後に同定された精製されたｓｃＦｖおよび後に再編成されたＩｇＧを、ＴＦ－１細胞（ヒト赤白血病細胞系統）においてＴＬ１Ａ誘導性カスパーゼ活性を中和するその能力について試験し、機能性が維持されたことを確実にした。１日目に、ＴＦ－１細胞を３×１０^{5}個細胞／ｍｌの密度に播種し、３７℃、５％ ＣＯ$_{2}$でインキュベートした。２日目に、シクロヘキシミド（２０μｇ／ｍｌ）およびｈＴＬ１Ａ（１２５ｎｇ／ｍｌ）の刺激混合物を、４０ｎＭで出発するｓｃＦｖの３倍希釈系列とともに、３７℃で３０分間インキュベートした。刺激－ｓｃＦｖ混合物にＴＦ－１細胞（５００００個細胞／ウェル）を添加した。３７℃で６時間インキュベートした後、１００μｌ／ウェルのＣａｓｐａｓｅ－Ｇｌｏ ３／７試薬（Ｐｒｏｍｅｇａ）を添加した。プレートを室温で１５分間インキュベートし、その後、Ｅｎｖｉｓｉｏｎプレートリーダー（Ｐｅｒｋｉｎ－Ｅｌｍｅｒ）で７００ｎｍで読み取った。分析は２連で実施し、データは、Ｐｒｉｓｍ ５（ＧｒａｐｈＰａｄ）ソフトウェアを使用してプロットした。
【０５８７】
ｉ）ＩｇＧのＢｉａｃｏｒｅ分析
Ｂｉａｃｏｒｅ分析を、Ｔ－２００バイオセンサー、シリーズＳ ＣＭ５チップおよびｐＨ５．０の１０ｍＭ酢酸ナトリウム固定バッファー中で固定化された、およそ４０００ＲＵ（反応単位）の抗ヒトＩｇＧ（ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）を使用して実施した。アッセイ条件は、以下に記載されるように、物質移動、結合活性および再結合事象の影響を最小にするよう確立した。参照差し引きのために、別個のフローセルでブランク固定化を実施した。精製されたＩｇＧを、ランニングバッファー（ＰＢＳ、３００ｍＭの塩化ナトリウム、３．２ｍＭのエチレンジアミン四酢酸、０．０１％ Ｔｗｅｅｎ２０）で希釈し、１００μｌ／分の流速を２分間使用して低レベル（＜３０ＲＵ）が捕捉され、三量体ＴＬ１Ａによる可能性ある再結合を低減した。ＴＬ１Ａを、ランニングバッファー中のさまざまな濃度（０．４～３３ｎＭ）で、１００μｌ／分の流速で３０秒間注入し、３Ｍ塩化マグネシウムおよびランニングバッファーを用いる２回の３０秒間の再生工程を続けた。Ｂｉａｃｏｒｅ Ｔ－２００評価ソフトウェア（ｖ１．０）を使用して、各濃度の参照を差し引いたセンサーグラムを分析した。
【０５８８】
ｋ）ライブラリーＱＣ配列決定
構築された１Ｄ１突然変異体ｓｃＦｖライブラリーの各々（ＶＨＣＤＲ１、ＶＨＣＤＲ２、ＶＨＣＤＲ３ＡおよびＶＨＣＤＲ３Ｂ）から、単一コロニーをＱＣ配列分析のために送った。配列結果の分析は、突然変異誘発戦略において標的とされた位置のすべてでの、すべての所望の突然変異の組込みを示した。
【０５８９】
ｌ）親和性成熟した変異体の同定および分析
クローンを、選択の各ブランチから無作為に選び取り、最初に、粗、単一点ペリプレップ形式でスクリーニングした。結合ＥＬＩＳＡによって、ファージディスプレイ選択プロセスによって濃縮された、ＴＬ１Ａ結合性ｓｃＦｖを発現するクローンを同定し、両選択アプローチのラウンド１からラウンド３で増大する数の結合物が観察された。ＨＴＲＦアッセイは、競合ｓｃＦｖ抗体の存在下での、ユウロピウムクリプテート標識された親１Ｄ１ ＩｇＧの、組換え可溶性ヒト／マウスＴＬ１Ａへの結合の際に観察される蛍光の減少を測定する。これによって、１Ｄ１の元のエピトープとの結合について強力に競合するクローンの同定が可能となり、これは、ｉｎ ｖｉｖｏで生物学的効力を媒介することがわかっている。同様に、選択のラウンド３後に回収された競合クローン数の増大が観察された。ペリプレップ濃度は決定できないので、アッセイシグナルに対する発現の効果を調べるために、親１Ｄ１ペリプレップと同等またはそれよりも良好な％ΔＦを有するものをさらなる分析に進めた。伝統的な選択から、８００種のクローンをスクリーニングし、確認スクリーニングおよび配列分析のために２７０種を選択し、第２の選択法からは、さらな

る８００種のクローンをスクリーニングし、１２０種を進めた。

【０５９０】

ｍ）配列分析

一次スクリーニングにおいて陽性であったクローンの配列分析は、伝統的な選択から４０種の独特の配列の同定につながり、グリコシル化モチーフ（ＮＸＳ、ＮＸＴ）を有するクローンをいずれも除去した後に、第２の選択からさらなる１３種の独特の配列につながった。３種のＶＨ　ＣＤＲのすべてにおいて突然変異を同定した。これらの変異体の一部の重鎖可変ドメイン（ＶＨ）配列が、配列表（表４０）および図１に提供されている。

【０５９１】

すべてのクローンを、ＨＴＲＦ競合アッセイおよびカスパーゼ活性測定法の両方で、精製ｓｃＦｖとしてさらなる分析に付し、これは、すべてのクローンが、ＴＬ１Ａへの結合について親１Ｄ１と競合し、カスパーゼ活性を濃度依存的に阻害し得ることを示した（示されていないデータ）。その後、さらなる分析のためにｓｃＦｖをＩｇＧに再編成し、同様に、すべてのヒットが、ＨＴＲＦアッセイにおいて親１Ｄ１と競合し、カスパーゼ活性を阻害する能力を示した。しかし、あり得るスタッキング効果のために、クローンをランク付けするためにどちらのアッセイも使用できなかった。カスパーゼアッセイにおいて２ｎＭのＴＬ１Ａの最終濃度を使用したので、クローンは、アッセイの検出限界を通過すると考えられ、各クローンの効力を正確にランク付けするにはさらなる最適化が必要となろう。

【０５９２】

ＩｇＧのＢｉａｃｏｒｅ分析は、ＫＤ＜２ｎＭを有するいくつかのヒットを示し、１５のヒットは、ＫＤ＜１ｎＭを有していた（表７）。ＫＤの２～６倍の獲得を有する最大の親和性改善は、ＶＨＣＤＲ３およびＶＨＣＤＲ２に突然変異を有するクローン、ＡｓｎからＨｉｓへの突然変異を含むすべてのＶＨＣＤＲ３変異体を有するクローンで観察された。ＶＨＣＤＲ３変異体はすべて、位置９３でのセリン（Ｓ）からアラニン（Ａ）への突然変異を含んでいた。これらの変異体の重鎖可変ドメイン（ＶＨ）の配列は、表８、配列表（表４０）および図１に提供されている。これらの変異体は、親１Ｄ１抗体と同一の軽鎖を有する。

【０５９３】

【表１３】

表7: ファージディスプレイによって親和性成熟された抗TL1A IgGにおける親和性改善

抗体クローン	ka (1/Ms) x10^{+5}	kd (1/s) x10^{-3}	平均KD (nM)
1D1	11.7	1.77	2 (±0.5)
D37	12.6	0.35	0.3258 (±0.03)
D24	20.44	0.806	0.3941 (±0.03)
DH3	24.91	1.017	0.4117 (±0.07)
D38	10.5	0.463	0.4399 (±0.046)
D39	7.84	0.355	0.4417 (±0.04)
D25	8.68	0.387	0.4530 (± 0.08)
D31	8.221	0.42	0.518 (±0.06)
D28	10.89	0.568	0.527 (±0.08)
DH10	8.528	0.5	0.5885 (±0.04)
D5	7.765	0.478	0.6248 (± 0.03)
D18	7.173	0.473	0.6624 (± 0.06)
D29	10.13	0.712	0.705 (±0.08)
D21	7.452	0.52	0.7093 (± 0.08)
DH9	10.35	0.866	0.84 (±0.1)
DH8	9.768	0.896	0.9245 (±0.137)

【０５９４】

【表１４】

表8: ファージディスプレイによって親和性成熟された1D1変異体のVH CDRの配列。1D1親クローンに対する突然変異された位置に下線が引かれている。CDR-H1については、配列は、AntibodyMによって定義され、Kabatによって定義された残基は、太字およびイタリック体である。

クローン名	CDR-H1	CDR-H2	CDR-H3
1D1 親 VH	GYSFT***YYGIS*** 配列番号 113	WISTYNGNTNYARMLQG 配列番号 114	ENYYGSGSYRGGMDV 配列番号 115
1D1 D5 VH	GYSFT***YYGIS*** 配列番号 263	WISTYNGNTNYARMLQG 配列番号 264	ENYYGSGAERGGMDG 配列番号 265
1D1 D18 VH	GYSFT***YYGIS*** 配列番号 266	WISTYNGNTHYARMLQG 配列番号 267	ENYYGSGSYRGGMDV 配列番号 268
1D1 D21 VH	GYSFT***YYGIS*** 配列番号 269	WISTYNGKTHYARMLQG 配列番号 270	ENYYGSGSYRGGMDV 配列番号 271
1D1 D24 VH	GYSFT***YYGIS*** 配列番号 272	WISPYNGNTHYARMLQG 配列番号 273	ENYYGSGSYRGGMDV 配列番号 274
1D1 D25 VH	GYSFT***YYGIS*** 配列番号 275	WISTYNGATHYARMLQG 配列番号 276	ENYYGSGSYRGGMDV 配列番号 277
1D1 D28 VH	GYSFT***YYGIS*** 配列番号 278	WISTYNGKTHYARMHQG 配列番号 279	ENYYGSGSYRGGMDV 配列番号 280
1D1 D29 VH	GYSFT***YYGIS*** 配列番号 281	WISSYNGNTHYARMLQG 配列番号 282	ENYYGSGSYRGGMDV 配列番号 283
1D1 D31 VH	GYSFT***YYGIS*** 配列番号 284	WISTYNGNKHYARMLQG 配列番号 285	ENYYGSGSYRGGMDV 配列番号 286
1D1 D37 VH	GYSFT***YYGIS*** 配列番号 287	WISTYNGGTHYARMLQG 配列番号 288	ENYYGSGSYRGGMDV 配列番号 289
1D1 D38 VH	GYSFT***YYGIS*** 配列番号 290	WISTYNGVTHYARMLQG 配列番号 291	ENYYGSGSYRGGMDV 配列番号 292
1D1 D39 VH	GYSFT***YYGIS*** 配列番号 293	WISTYNGNTNYARMLQG 配列番号 294	ENYYGSGAYRGGMDA 配列番号 295
1D1 DH3 VH	GYSFT***YYGIS*** 配列番号 296	WISTYNGNTHYAQMLQG 配列番号 297	ENYYGSGSYRGGMDV 配列番号 298
1D1 DH8 VH	GYSFT***YYGIS*** 配列番号 299	WISAYNGNTHYARMLQG 配列番号 300	ENYYGSGSYRGGMDV 配列番号 301
1D1 DH9 VH	GYSFT***YYGIS*** 配列番号 302	WISPYNGKTHYARMLQG 配列番号 303	ENYYGSGSYRGGMDV 配列番号 304
1D1 DH10 VH	GYSFT***YYGIS*** 配列番号 305	WISTYNGNTNYARMLQG 配列番号 306	ENYYGSGAYRGGMDV 配列番号 307

【０５９５】

クローンをまた、マウスおよびｃｙｎｏ　ＴＬ１Ａの両方に対する親和性について調べ、同様の親和性獲得が観察された（表９）。親和性獲得は、オフレートの改善から最も導かれた。親和性の改善はまた、マウスおよびｃｙｎｏ　ＴＬ１Ａに対する異種間反応性について試験した場合にも観察された（表９）。

【０５９６】

【表１５】

表9: ヒト、マウスおよびCyno TL1Aに対するリード抗TL1A IgGの親和性

抗体クローン	ヒトTL1A KD pM	マウスTL1A KD pM	Cyno TL1A KD pM
1D1	1436	1320	1670
D37	305	786.6	334.9
D24	931.6	803.9	942.5
DH3	560.3	620.3	674.6
D38	686.6	1294	610.8
D39	441	612.6	395.5

【実施例６】

【０５９７】

抗ＴＬ１Ａ抗体１Ｄ１の結晶構造決定

野生型ヒトＴＬ１Ａは、精製を複雑にする、ジスルフィド連結されたマルチマーを形成し、文献では、低分解結晶構造につながった。この理由のために、結晶化にはＣ９５Ｓ／Ｃ１３５Ｓ二重突然変異体を使用した。大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）において突然変異体ＴＬ１Ａを発現させ、Ｎｉキレート化クロマトグラフィーとそれに続くイオン交換クロマトグラフィーおよび最終のサイズ排除工程を使用して精製した。

【０５９８】

パパインでの消化によって親１Ｄ１　ＩｇＧからＦａｂ断片を調製した。ＴＬ１Ａの１Ｄ１　Ｆａｂとの複合体の結晶を成長させる最初の試みは、失敗した。その後、ＨＥＫ細胞において１Ｄ１　ｓｃＦｖ－Ｆｃを発現させた。プロテインＡ捕捉によって馴化培地からｓｃＦｖ－Ｆｃを精製し、パパインを使用してｓｃＦｖをＦｃから切断した。単離されたｓｃＦｖは、ＶＨおよびＶＬドメインの間のリンカーで部分的に切断されたが、切られた材料は、依然としてＴＬ１Ａと結合できた。１Ｄ１　ｓｃＦｖのＴＬ１Ａへの複合体は、チオシアン酸カリウムおよびコハク酸の溶液中で立方晶を形成した。

【０５９９】

データは、Ａｄｖａｎｃｅｄ　Ｐｈｏｔｏｎ　Ｓｏｕｒｃｅでビームライン１７－ＩＤで２．５Åに集められた。ＴＬ１Ａの公開された構造（ＰＤＢコード２ＲＪＬ）および可変ドメイン構造の集合体を使用して分子置換によって構造を解析した。再構築および精密化後、最終Ｒｆｒｅｅ値は、０．２３７であり、０．１９９のＲｗｏｒｋである。結晶構造は、非対称単位中に、単一ＴＬ１Ａモノマーと結合している１Ｄ１　ｓｃＦｖの単一コピーを有する。立方空間群Ｐ４３２において単位格子の反対の角をつなぐ３部の軸からの結晶学的対称性によって、三量体が作製される（図５）。抗体は、ＴＬ１Ａへのその共構造においてデコイ受容体ＤＣＲ３について見られるものと同一の溝において結合する２つのモノマーの隣接面と相互作用する。そのシグナル伝達受容体を有するその他のＴＮＦファミリーメンバーの構造との類似性によって、この抗体結合様式が、ＤＲ３受容体とのシグナル伝達相互作用の直接阻止につながると考えられる。パラトープのほとんどすべてが重鎖内に含有される。

【実施例７】

【０６００】

親和性が増強された点突然変異のコンピュータによる設計

結晶構造を使用して、ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｐｌｏｓｏｎｅ．ｏｒｇ／ａｒｔｉｃｌｅ／ｉｎｆｏ％３Ａｄｏｉ％２Ｆ１０．１３７１％２Ｆｊｏｕｒｎａｌ．ｐｏｎｅ．００２０４５１で公的に利用可能なＳｍｉｔｈおよびＫｏｒｔｅｍｍｅ　２０１０から適応される、配列耐容性プロトコールを使用して、ＴＬ１Ａに対する１Ｄ１の結合親和性を改善し得る突然変異を同定した。このプロトコールは、ワシントン大学（Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ　ｏｆ　Ｗａｓｈｉｎｇｔｏｎ）製のＲｏｓｅｔｔａタンパク質設計ソフトウェアパッケージを使用して、極めて多数の配列を比較的迅速に評価する。重鎖ＣＤＲの各々につい

て別個の実験を行った。ＴＬ１Ａ干渉の既定の距離内の残基は、変わり得た。

【０６０１】

ＣＤＲ２および３由来の接触残基は、パラレルファージディスプレイ最適化において十分にサンプリングされたので、本発明者らは、ＣＤＲ　Ｈ１からの結果に焦点を当てた。特に、１Ｄ１中のセリン２８が界面に埋まったが、強力な水素結合を全く作製しなかったことは明らかであった（図６）。配列耐容性プロトコールは、位置３１でアスパラギン酸（図７）、アスパラギンまたはグルタミンおよびまた好ましくはチロシンをヒスチジンに置換する突然変異を示唆した。これらの選択肢を、Ｆｏｘ　Ｃｈａｓｅ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｃｅｎｔｅｒ製のプログラムＳＣＷＲＬを使用し、Ｓｃｈｒｏｄｉｎｇｅｒ，Ｉｎｃ．製のＭａｃｒｏｍｏｄｅｌを使用して突然変異をモデル化して、結合エネルギーの変化を最小にし、算出することによってさらに調べた。次いで、これらの突然変異（表１０）を作製し、得られたタンパク質を結合について調べた。

【０６０２】

【表１６】

表 10: 1D1 結合における改善について試験するために選択された突然変異

突然変異	予測される ddG	Kd (nM)
WT 1D1 (親)	0	2.3
S28D	-6.7	0.42
S28N	-10.2	結合なし(作製されたグリコシル化部位)
S28Q	-10.0	6.8
Y31H	-17.7	12.7

【０６０３】

Ｋｄ＜０．１ｎＭを有する変異体をもたらす、ＣＤＲ　Ｈ２およびＨ３のファージディスプレイ最適化から得られた最良配列との組合せのために、Ｓ２８Ｄの改変を選択した。これらの変異体およびそのＶＨ　ＣＤＲ配列は、表１１に列挙されている（クローン１Ｄ１　１．１～１．１４）。親和性をさらに改善しようとして、ＣＤＲＨ２およびＣＤＲＨ３にわたるファージディスプレイスクリーニングにおいて見られた有益な突然変異を、組み合わせて、相乗作用を探した（クローン１Ｄ１　１．１５～１．２６）。これらのクローンのすべてを分析した後、最良のＣＤＲＨ２およびＣＤＲＨ３の組合せ、ＶＨ１．２７～ＶＨ１．３４に突然変異Ｓ２８Ｄを加えた添加した。これらの変異体の各々の重鎖可変ドメイン（ＶＨ）配列は、表４０および図１に列挙されている。これらの変異体は、親抗体１Ｄ１と同一の軽鎖を有する。

【０６０４】

表１２は、表８および表１１からの親和性成熟された変異体と比較した、抗体１Ｄ１のＶＨ領域における種々のアミノ酸置換の要約ならびに抗体１Ｄ１と同一のＴＬ１Ａエピトープとの結合について競合する抗体１５Ｃ１１および１５Ａ９を提供する（図１Ｌを参照のこと）。

【０６０５】

【表１７】

表 11: 1D1 を上回る改善された親和性を有する、コンピュータによる設計およびファージディスプレイによって親和性成熟された 1D1 変異体の一覧。1D1 親クローンに対して突然変異された位置に下線が引かれている。CDR-H1 については、配列は、AntibodyM によって定義され、Kabat によって定義された残基は、太字およびイタリック体である。

クローン名	CDR-H1	配列番号	CDR-H2	配列番号	CDR-H3	配列番号
1D1	GYSFT***YYGIS***	113	WISTYNGNTNYARMLQG	114	ENYYGSGSYRGGMDV	115
1D1 1.1	GY**D**FT***YYGIS***	308	WISTYNGNTNYARMLQG	309	ENYYGSGSYRGGMDV	310
1D1 1.3	GY**Q**FT***YYGIS***	311	WISTYNGNTNYARMLQG	312	ENYYGSGSYRGGMDV	313
1D1 1.4	GYSFT***H***YGIS	314	WISTYNGNTNYARMLQG	315	ENYYGSGSYRGGMDV	316
1D1 1.5	GY**N**F**R*YYGIS***	317	WISTYNGNTNYARMLQG	318	ENYYGSGSYRGGMDV	319
1D1 1.7	GYSFT***YYGIS***	320	WISTYNG**K**TNYARMLQG	321	ENYYGSGSYRGGMDV	322
1D1 1.8	GYSF**R*YYGIS***	323	WISTYNGNT**H**YARMLQG	324	ENYYGSGSYRGGMDV	325
1D1 1.9	GYSFT***YYGIS***	326	WISTYNGNT**H**YARMLQG	327	ENYYGSG**A**YRGGMDV	328
1D1 1.10	GYSFT***YYGIS***	329	WIS**P**YNG**K**T**H**YARMLQG	330	ENYYGSG**A**YRGGMDV	331
1D1 1.11	GYSF**R*YYGIS***	332	WISTYNGNT**H**YARMLQG	333	ENYYGSG**A**YRGGMDV	334
1D1 1.13	GYSFT***H***YGIS	335	WIS**P**YNG**K**T**H**YARMLQG	336	ENYYGSG**A**YRGGMDV	337
1D1 1.15	GYSFT***YYGIS***	338	WIS**P**YNG**G**T**H**YA**Q**MLQG	339	ENYYGSG**A**YRGGMD**A**	340
1D1 1.16	GYSFT***YYGIS***	341	WIS**P**YNG**V**T**H**YA**Q**MLQG	342	ENYYGSG**A**YRGGMD**A**	343
1D1 1.17	GYSFT***YYGIS***	344	WIS**P**YNG**A**T**H**YA**Q**MLQG	345	ENYYGSG**A**YRGGMD**A**	346
1D1 1.18	GYSFT***YYGIS***	347	WIS**P**YNGN**K**H**Y**A**Q**MLQG	348	ENYYGSG**A**YRGGMD**A**	349
1D1 1.19	GYSFT***YYGIS***	350	WISTYNG**G**T**H**YARMLQG	351	ENYYGSG**A**YRGGMD**A**	352
1D1 1.20	GYSFT***YYGIS***	353	WIS**P**YNGNT**H**YARMLQG	354	ENYYGSG**A**YRGGMD**A**	355
1D1 1.21	GYSFT***YYGIS***	356	WISTYNGNT**H**YA**Q**MLQG	357	ENYYGSG**A**YRGGMD**A**	358
1D1 1.22	GYSFT***YYGIS***	359	WISTYNG**V**T**H**YARMLQG	360	ENYYGSG**A**YRGGMD**A**	361
1D1 1.23	GYSFT***YYGIS***	362	WISTYNG**A**T**H**YARMLQG	363	ENYYGSG**A**YRGGMD**A**	364
1D1 1.24	GYSFT***YYGIS***	365	WISTYNGN**K**H**Y**ARMLQG	366	ENYYGSG**A**YRGGMD**A**	367
1D1 1.25	GYSFT***YYGIS***	368	WISTYNG**K**T**H**YARM**H**QG	369	ENYYGSG**A**YRGGMD**A**	370
1D1 1.26	GYSFT***YYGIS***	371	WISTYNGNT**H**YARMLQG	372	ENYYGSG**A**YRGGMD**A**	373
1D1 1.27	GY**D**FT***YYGIS***	202	WISTYNGNT**H**YARMLQG	203	ENYYGSGSYRGGMDV	204
1D1 1.28	GY**D**FT***YYGIS***	209	WISTYNGN**K**H**Y**ARMLQG	210	ENYYGSGSYRGGMDV	211
1D1 1.29	GY**D**FT***YYGIS***	216	WISTYNG**G**T**H**YARMLQG	217	ENYYGSGSYRGGMDV	218
1D1 1.30	GY**D**FT***YYGIS***	223	WISTYNG**V**T**H**YARMLQG	224	ENYYGSGSYRGGMDV	225
1D1 1.31	GY**D**FT***YYGIS***	230	WISTYNGNT**H**YARMLQG	231	ENYYGSG**A**YRGGMDV	232
1D1 1.32	GY**D**FT***YYGIS***	237	WISTYNG**G**T**H**YARMLQG	238	ENYYGSG**A**YRGGMD**A**	239
1D1 1.33	GY**D**FT***YYGIS***	244	WISTYNG**V**T**H**YARMLQG	245	ENYYGSG**A**YRGGMD**A**	246
1D1 1.34	GY**D**FT***YYGIS***	251	WISTYNG**K**T**H**YARM**H**QG	252	ENYYGSG**A**YRGGMD**A**	253

【０６０６】

【表１８】

表 12: 1D1 変異体抗体におけるアミノ酸置換の要約、ならびに VH および VH CDR における親 1D1 抗体に対する抗体 15C11 および 15A9。CDR-H1 については、配列は、AntibodyM によって定義され、Kabat によって定義された残基は、太字およびイタリック体である。

CDR-H1*		CDR-H2		CDR-H3		VH ドメイン	
1D1 中のアミノ酸配列 (配列番号 113)	変異体アミノ酸 (配列番号 376)	1D1 中のアミノ酸配列 (配列番号 114)	変異体アミノ酸 (配列番号 379)	1D1 中のアミノ酸配列 (配列番号 115)	変異体アミノ酸 (配列番号 382)	1D1 中のアミノ酸配列	変異体アミノ酸
G		W		E		76R	76T
Y		I		N		81E	81D
S	D, Q, N, P	S		Y			
F		T	P, S, A	Y			
T	R	Y		G			
Y	H, N, T	N		S			
Y		G		G			
G		N	K, A, G, V,	S	A		
I		T	K,	Y	F		
S		N	H	R			
		Y		G			
		A		G			
		R	Q	M			
		M	K	D			
		L	H	V	G, A		
		Q	Q				
		G	G				

【実施例８】

【０６０７】

Ｂｉａｃｏｒｅ／Ｋｉｎｅｘａによる１Ｄ１によるＴＬ１Ａ結合の決定および上部の親和性が最適化されたクローン

表面プラズモン共鳴によって、可溶性組換えＴＬ１Ａへの種々の１Ｄ１変異体抗ＴＬ１Ａ抗体の結合動態を特徴付けるために、各抗ＴＬ１Ａ抗体をＩｇＧ１抗体として発現させた。ＴＬ１Ａを認識する抗体（１Ｄ１親、７Ｄ４および２６Ｂ１１）の安定なプール発現を、リポフェクタミントランスフェクションプロトコールを使用して確立した。ＣＨＯ細胞を、８０％コンフルエンスに増殖させ、重鎖および軽鎖の両方の２５μｇのＤＮＡを添加した。消費した培地をＲ１＋１０％ＦＢＳを用いて交換し、３／４日のスケジュールで反復し、プールが確立された。その後、プールを血清不含懸濁液に適応させた。この材料をプロテインＡによって精製し、プログラムにおいて対照として使用した。

【０６０８】

１Ｄ１の新規クローン変異体を、５０ｍＬのＨＥＫ２９３一過性トランスフェクションにおいて小規模発現によって試験した。ＡＫＴＡ発現系を使用するプロテインＡ樹脂での小規模精製によって、スクリーニングのための早期のＢｉａｃｏｒｅおよび細胞ベースのアッセイでは、流すことができなかったタンパク質が得られた。さらなる特徴付けのためのクローンが選択されたので、大規模一過性発現および安定な細胞株発色を実施した。

【０６０９】

抗体を、Ｂｉａｃｏｒｅ　Ｔ１００またはＴ２００機器を使用して、カルボキシメチル化デキストランセンサーチップ表面（ＣＭ５）上に直接固定化した抗ヒトＩｇＧ（ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）によって捕捉した。抗ヒトＩｇＧを、アミンカップリングによっておよそ４，０００～１３，０００反応単位（ＲＵ）の密度に固定化した。抗体を、８．１ｍＭ　Na_2HPO_4、１．４７ｍＭ　KH_2PO_4、ｐＨ７．２、２３７ｍＭ　Ｎａ

Ｃｌ、２．７ｍＭ　ＫＣｌ、３．４ｍＭ　ＥＤＴＡおよび０．０１％　ｔｗｅｅｎ　２０（ＰＢＳ－ＮＥＴ）で０．０７５～０．１５μｇ／ｍｌに希釈し、抗ｈＩｇＧ表面上に５μｌ／分の流速で約１～２分間注入して、３０ＲＵ未満の低い捕捉レベルを達成した。捕捉後、流速を１００μｌ／分に増大し、ＰＢＳ－ＮＥＴ中、０．１９５ｎＭ～１００ｎＭの範囲の種々の濃度の組換え可溶性ヒトＴＬ１Ａ（配列番号２５４）、組換え可溶性カニクイザルＴＬ１Ａ（配列番号２５９）、組換え可溶性マウスＴＬ１Ａ（配列番号２６０）、組換え可溶性ラットＴＬ１Ａ（配列番号２６１）または組換え可溶性ウサギＴＬ１Ａ（配列番号２６２）を、およそ２～３分の会合の間注入し、約３～６０分間解離させた。各サイクルの最後に、３Ｍ　$MgCl_2$の３０秒の瞬間適用と、それに続く、ＰＢＳ－ＮＥＴの２回の連続した１５秒の瞬間適用によって、抗ｈＩｇＧ表面全体を再生した。あるいは、表面を、０．４６Ｍ　ＫＳＣＮ、１．８３Ｍ　$MgCl_2$、０．９２Ｍ　尿素および１．８３Ｍ　グアニジン－ＨＣｌ　ｐＨ７．４を含有するイオン性液剤の、２回の３０秒の瞬間適用と、それに続く、ＰＢＳ－ＮＥＴを用いる単回の３０秒の瞬間適用を用いて再生した。すべての注入を１０Ｈｚの収集速度で２５℃で実施した。対照表面およびバッファー注入の両方を使用することによって、すべてのセンサーグラムを二重にリファレンスをとった。速度定数は、データを、Ｂｉａｃｏｒｅ　Ｔ１００、Ｔ２００評価ソフトウェアｖ１．０またはＢＩＡｅｖａｌｕａｔｉｏｎソフトウェアｖ４．１．１における１：１モデルおよび方程式$K_D = k_d / k_a$にフィッティングすることによって決定した。

【０６１０】

ヒトＴＬ１Ａに対する各抗ＴＬ１Ａ抗体の平衡解離定数（K_D）を、ＫｉｎＥｘＡ　３２００機器（Ｓａｐｉｄｙｎｅ）で結合平衡除外アッセイ（ＫｉｎＥｘＡ）を使用して測定した。このアッセイは、液剤中の抗体：抗原混合物を、平衡に達するのに十分なほど長くプレインキュベートすることおよびその後、固相成分を使用して結合していない抗体のレベルを測定することを含む。固相を調製するために、２００ミリグラムのポリメチルメタクリレートビーズ（ＰＭＭＡ、Ｓａｐｉｄｙｎｅ）を、１ｍｌのＰＢＳ　ｐＨ７．４中の３０μｇ／ｍｌの組換えヒトＴＬ１Ａを用いてコーティングし、室温で２時間転がした。ビーズを、ＰＢＳおよび１０ｍｇ／ｍｌのウシ血清アルブミン（ウシ血清アルブミン、Ｓｉｇｍａ）を用いて室温で１時間ブロッキングし、その後、ＰＢＳで最大合計２７ｍｌに希釈した。液剤中成分については、各抗体を一定濃度で維持し、ヒト、ｃｙｎｏまたはマウスＴＬ１Ａを、ＰＢＳおよび１ｍｇ／ｍｌのウシ血清アルブミン中の２４０ｆＭ～１００ｎＭの広い範囲にわたって力価測定した。抗体濃度を、K_D対照曲線の推定されるK_D付近または抗原結合濃度（ＡＢＣ）対照曲線の推定されるK_Dの１０倍またはそれ以上上回る濃度のいずれかで維持した。各力価測定系列について、バッファー試料および抗体単独の試料が含まれていた。各抗体：ＴＬ１Ａ混合物を、室温で少なくとも６時間転がして、平衡に到達し、次いで、機器フローセル中のＴＬ１Ａがコーティングされたビーズの固相上に各混合物を注入した。遊離の占有されていない抗体のみがビーズに結合し、０．２５ｍｌ／分でフローセルに送達された、５００μｌの０．２５μｇ／ｍｌまたは１．５μｇ／ｍｌのＡｌｅｘａ－６４７－ヤギ抗ヒトＩｇＧ（Ｈ＋Ｌ）抗体（Ｊａｃｋｓｏｎ）を用いて検出された。ビーズを各試料間に補充した。検出された遊離抗体の結合シグナルを、抗体のみの試料によって測定されたような遊離の未結合抗体のパーセンテージに変換し、ＴＬ１Ａの各濃度に対してプロットした。各抗体について、K_DおよびＡＢＣ対照曲線を、ｎ－Ｃｕｒｖｅ　Ａｎａｌｙｓｉｓソフトウェアｖ３．１．４を使用して同時にフィッティングして、曲線を「親和性未知リガンド」モデルに曲線をフィッティングし、平衡K_Dを測定した。

【０６１１】

リアルタイムでのＴＬ１Ａ結合の評価のために、各抗体を、Ｂｉａｃｏｒｅセンサーチップ表面上の抗ＩｇＧを介して３０ＲＵ未満の低密度で捕捉した。捕捉レベルは、意図的に低く維持して、１：１結合の状態を可能にし、結合活性の衝撃を避け、解離の際の再結合を最小化した。３０ＲＵを超える捕捉レベルで、１Ｄ１についてより遅いオフレートが観察され、これは、これらの複雑な関係による可能性が高かった。

【０６１２】

すべての種のＴＬ１Ａについて、１Ｄ１および親和性成熟されたクローンの各々との結合は、予測されたように、試験したＴＬ１Ａの濃度に応じて変わった。最高サイトカイン濃度では、結合シグナルの少なくとも５％の低減を達成するために、解離相が６０分に延長されることもあった。これは、比較的遅い抗原解離速度を正確に測定するために推奨される最小の低減である。この条件が満たされた場合には、ＴＬ１Ａの各種と、各抗体の間の会合および解離速度定数を、１：１ラングミュア結合モデルを使用して結合センサーグラムから算出した（表１３～表１７）。この判定基準を満たさなかった親和性成熟された抗体については、ヒトＴＬ１Ａに結合している場合には、オフレートが遅すぎて、測定できず、K_Dを１００ｐＭ未満であると推定した（表１３）。

【０６１３】

【表１９】

表 13: ヒト TL1A への抗 TL1A 抗体の結合動態

抗体	k_a (1/Ms)1xE+05	k_d (1/s) 1xE-04	$t_{1/2}$ (s)	K_D (pM)
1D1	6 ± 2	18 ± 2	397	3112 ± 816
1D1 1.27		遅すぎて測定できない		< 100
1D1 1.28		遅すぎて測定できない		< 100
1D1 1.29		遅すぎて測定できない		< 100
1D1 1.30		遅すぎて測定できない		< 100
1D1 1.31		遅すぎて測定できない		< 100
1D1 1.32		遅すぎて測定できない		< 100
1D1 1.33		遅すぎて測定できない		< 100
1D1 1.34		遅すぎて測定できない		< 100

【０６１４】

【表２０】

表 14: カニクイザル TL1A への抗 TL1A 抗体の結合動態

抗体	k_a (1/Ms)1xE+05	k_d (1/s) 1xE-04	$t_{1/2}$ (s)	K_D (pM)
1D1	6 ± 1	41 ± 9	169	6694 ± 1094
1D1 1.27	3.9 ± 0.8	0.8 ± 0.2	8443	220 ± 87
1D1 1.28	3.8 ± 0.2	0.54 ± 0.05	12924	144 ± 21
1D1 1.29	4.9 ± 0.4	0.45 ± 0.004	15553	92 ± 14
1D1 1.30	4.1 ± 0.3	0.6 ± 0.1	11915	142 ± 21
1D1 1.31	4.5 ± 0.4	0.36 ± 0.07	19236	81 ± 23
1D1 1.32	4.6 ± 0.5	0.29 ± 0.05	23874	66 ± 17
1D1 1.33	3.6 ± 0.4	0.37 ± 0.05	18517	107 ± 28
1D1 1.34	4.4 ± 0.4	0.36 ± 0.05	19380	83 ± 18

【０６１５】

【表２１】

表 15: マウス TL1A への抗 TL1A 抗体の結合動態

抗体	k_a (1/Ms)1xE+05	k_d(1/s) 1xE-04	$t_{1/2}$ (s)	K_D(pM)
1D1	4.9 ± 0.9	36 ± 6	195	7286 ± 756
1D1 1.27	2.7 ± 0.5	4.3 ± 0.5	1616	1643 ± 547
1D1 1.28	2.1 ± 0.4	3.2 ± 0.5	2166	153 ± 430
1D1 1.29	2.6 ± 0.4	7 ± 1	947	2860 ± 812
1D1 1.30	1.4 ± 0.3	7 ± 2	1075	5253 ± 1964
1D1 1.31	2.7 ± 0.3	2.7 ± 0.06	2525	1059 ± 336
1D1 1.32	2.6 ± 0.4	2.3 ± 0.03	2971	906 ± 234
1D1 1.33	1.6 ± 0.1	2.9 ± 0.06	2342	1910 ± 485
1D1 1.34	2.5 ± 0.3	2.8 ± 0.6	2508	1109 ± 335

【０６１６】

【表２２】

表 16: ラット TL1A への抗 TL1A 抗体の結合動態

抗体	k_a (1/Ms)1xE+05	k_d(1/s) 1xE-03	$t_{1/2}$ (s)	K_D(pM)
1D1	17.1 ± 3.2	13.4 ± 0.4	52	8141 ± 1775
1D1 1.27	6.7 ± 0.2	7.2 ± 0.4	96	10903 ± 1047
1D1 1.30	2.4 ± 0.1	9.8 ± 2.1	71	41890 ± 10820
1D1 1.31	5.4 ± 0.1	2.6 ± 0.1	263	4858 ± 249
1D1 1.32	5.8 ± 0.01	2.9 ± 0.1	237	5022 ± 95
1D1 1.34	4.1 ± 0.2	2.4 ± 0.01	286	5924 ± 306

【０６１７】

【表２３】

表 17: ウサギ TL1A への抗 TL1A 抗体の結合動態

抗体	k_a (1/Ms)1xE+05	k_d(1/s) 1xE-04	$t_{1/2}$ (s)	K_D(pM)
1D1	6.1 ± 0.7	7.9 ± 0.24	877	1313 ± 191
1D1 1.27	3.0 ± 0.2	1.4 ± 0.02	4928	478 ± 31
1D1 1.31	3.2 ± 0.4	1.1 ± 0.04	6075	361 ± 31

【０６１８】

液剤ベースの結合平衡除外アッセイ（ＫｉｎＥｘＡ）を、平衡K_D値を測定するための直交技術として実施した。ＴＬ１Ａを用いて親和性成熟された抗体各々の、K_D対照およびＡＢＣ対照曲線を作成した。同様に、親１Ｄ１抗体および１Ｄ１抗体から作製したＦａｂの曲線を作成して、比較物質（ｃｏｍｐａｒａｔｏｒｓ）として使用した。「親和性未知リガンド」モデルを使用してＮ曲線分析を実施し、各抗体の平衡K_Dを求めた（表１８）。表面プラズモン共鳴によって決定できなかったK_Dを有する親和性成熟された抗体については、測定された平衡K_Dによって、これらの抗体を親１Ｄ１抗体と区別することができた。

【０６１９】

【表２４】

表 18: 1D1 変異体抗体の平衡 KD

抗体	ヒト TL1A	Cyno TL1A	マウス TL1A
	KinExA K_D (pM)	KinExA K_D (pM)	KinExA K_D (pM)
1D1	84, 127 (n=2)	384	383
1D1 Fab	3000	N.D.	N.D.
1D1 1.27	7.69	N.D.	N.D.
1D1 1.28	2.52	N.D.	N.D.
1D1 1.29	19.4	N.D.	N.D.
1D1 1.30	6.8	N.D.	N.D.
1D1 1.31	1.38, 3.6 (n=2)	3.5	95.3
1D11.32	6.15	N.D.	N.D.
1D11.33	10.6	N.D.	N.D.
1D11.34	1.16	N.D.	N.D.

【０６２０】

ＴＬ１Ａのホモ三量体組成物およびＫｉｎＥｘＡ　K_Dは、液剤中で実施されているという事実のために、多価ＴＬ１Ａが、二価抗体とともに格子構造を形成することが可能である。したがってＫｉｎＥｘＡ　K_D値は、結合活性指数を含む可能性が高い。１Ｄ１Ｆａｂタンパク質が入手可能であることにより、１Ｄ１抗体の結合活性指数が決定された。１Ｄ１のＦａｂは、３ｎＭの平衡K_DでヒトＴＬ１Ａと結合した（表１８）。Ｆａｂは、ヒトＴＬ１Ａに対して一価であり、したがって、ＫｉｎＥｘＡ　K_Dは、Ｂｉａｃｏｒｅセンサーチップ表面での１：１結合の条件下で全長抗体から得られた３．２±０．９ｎＭのK_Dと一致した。ＳＰＲによってヒトＴＬ１ＡへのK_Dを測定するのに十分なＦａｂはなかった。ＫｉｎＥｘＡによって測定された１２７ｐＭ　K_Dと比較して、１Ｄ１の結合活性指数は、およそ２４であった。親和性成熟された抗体の結合活性指数は未知であり、親１Ｄ１抗体の見かけの２４倍の指数と必ずしも同一ではない。

【実施例９】

【０６２１】

ＴＬ１Ａを伴う７Ｄ４　Ｆａｂ、２６Ｂ１１　ＦａｂおよびＤＲ３の結晶構造

Ｃ９５Ｓ／Ｃ１３５Ｓ二重突然変異体ＴＬ１Ａを、大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）で発現させ、実施例６に記載されるように精製した。抗体７Ｄ４のＦａｂ断片を、全長ＩｇＧをパパインを用いて切断することおよびプロテインＡ樹脂を使用してＦｃを除去することによって得た。Ｆａｂを、二重突然変異体ＴＬ１Ａと１：１モル比で混合し、得られた複合体をＳＥＣによって精製した。１００ｍＭ　Ｔｒｉｓ　ｐＨ８、２５％　ＰＥＧ４００中で複合体の結晶が形成された。

【０６２２】

データは、Ａｄｖａｎｃｅｄ　Ｐｈｏｔｏｎ　Ｓｏｕｒｃｅでビームライン１７－ＩＤで３．１Åに集められた。分子置換によって構造を解析し、０．１８７／０．２３８のＲ／Ｒｆｒｅｅに精密化した（図８）。結晶構造は、空間群Ｉ２１３において非対称単位中に、単一７Ｄ４　Ｆａｂ断片に結合しているＴＬ１Ａの単一コピーを有する。１Ｄ１については、結晶学的対称性によって生物学的三量体が作製される。隣接するＴＬ１Ａモノマー間の受容体結合溝と相互作用する１Ｄ１とは対照的に、７Ｄ４エピトープは、ほとんど完全に単一ＴＬ１Ａモノマー内に含有される。それにも関わらず、エピトープは、細胞ベースの中和アッセイにおいて見られるように、７Ｄ４結合が受容体結合を直接干渉すると予測されるほど十分に広い。

【０６２３】

２６Ｂ１１を伴うＴＬ１Ａの共構造を決定するために、同一二重突然変異体ＴＬ１Ａを２６Ｂ１１のＦａｂ断片と組み合わせ、得られた複合体をＳＥＣによって精製した。結晶が、１６％　ＰＥＧ　３３５０、２５０ｍＭ硝酸アンモニウム中で得られ、Ａｄｖａｎｃ

ｅｄ　Ｐｈｏｔｏｎ　Ｓｏｕｒｃｅでビームライン１７－ＩＤで２．５Åに回折した。構造を、０．１７７／０．２２４のＲ／Ｒｆｒｅｅ値に精密化した（図９）。結晶学的非対称単位は、２コピーの複合体を含有する。驚くべきことに、結晶中のＴＬ１Ａ分子は、生物学的に活性な三量体を形成しない。結晶化液剤の低ｐＨが、三量体の解離を引き起こした可能性がある。複合体は、２６Ｂ１１　ＦａｂおよびＴＬ１Ａの３：３複合体の分子量と一致する時間でゲル濾過カラムから溶出し、抗体が三量体化を干渉しないことを実証する。さらに、２６Ｂ１１複合体中のＴＬ１ＡをＴＬ１Ａ三量体の構造に重ね合わせると、２６Ｂ１１　Ｆａｂの個々のコピーの間に対立は観察されない。７Ｄ４および２６Ｂ１１エピトープは、重複しているが、実施例２におけるデータによれば、これらの抗体は、ＴＬ１Ａへの結合について競合しなかった。

【０６２４】

１Ｄ１　１．３１を伴うＴＬ１Ａの共構造を決定するために、親和性最適化された抗体のｓｃＦｖ版を、Ｆｃ融合物として発現させ、パパインで切断し、親１Ｄ１抗体について精製した。精製されたｓｃＦｖを、二重突然変異体ＴＬ１Ａと混合し、複合体をＳＥＣによって精製した。結晶が、１８００ｍＭ硫酸アンモニウム、８．３３３３３％ジオキサン、１００ｍＭ　ＭＥＳ　ｐＨ６．５中で得られ、Ａｄｖａｎｃｅｄ　Ｐｈｏｔｏｎ　Ｓｏｕｒｃｅでビームライン１７－ＩＤで３．２Åに回折した（図１０）。非対称単位は、３つのＴＬ１Ａモノマーと３つの１．３１ｓｃＦｖ分子からなる全三量体複合体の単一コピーを含有する。

【０６２５】

１Ｄ１　１．３１のＴＬ１Ａへの結合様式全体は、親１Ｄ１のものと同一である。１Ｄ１　１．３１と１Ｄ１の間には、ＴＬ１Ａとの界面内に位置すると予測された２つの配列差異がある：位置Ｈ５８での１Ｄ１　１．３１中のヒスチジン対１Ｄ１中のアスパラギンおよび位置Ｈ２８での１Ｄ１　１．３１中のアスパラギン酸対セリン（図１１を参照のこと）。予測されたように、ヒスチジンは、ＴＬ１Ａのグルタミン酸５５と、元のアスパラギンと本質的に同一の相互作用をもたらすが、この相互作用は、グルタミン酸の近接が、ヒスチジンのｐＫａを生理学的ｐＨで正電荷を保持する点に高める可能性が高いのでより強力である。位置２８のアスパラギン酸は、予測された改善された水素結合協調および親のセリンに相補的な電荷を示す（図１２を参照のこと）。さらに、結晶構造は、１Ｄ１と結合しているコンフォメーションに対して、隣接するＴＬ１Ａループ１１８～１２１においてコンフォメーションの変更を示す。ＴＬ１Ａのチロシン１２１は、異なる回転異性体中にあり、骨格軌道が変更される。Ｙ１２１側鎖は、この抗体の親和性の増大に寄与し得る、１Ｄ１　１．３１との新規疎水性相互作用を形成する。１Ｄ１との構造では、水分子は、１Ｄ１　１．３１との構造中のＹ１２１側鎖によって保持される位置を占める。これらの差異は、複合体の３つのコピーすべてにおいて観察されるが、１Ｄ１および１Ｄ１　１．３１間の配列差異よりもむしろ異なる結晶化条件の効果であるということは除外できない。

【０６２６】

同様に、ＴＬ１Ａ：ＤＲ３複合体の結晶が得られた。ＴＬ１ＡおよびＤＲ３の残基間の相互作用ならびにＴＬ１Ａと、抗体１Ｄ１、１Ｄ１　１．３１（１．３１）、７Ｄ４および２６Ｂ１１間の相互作用が、表４２に要約されている。表４２に示されるように、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｔ３０、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｑ３４、Ｔ３５、Ｐ３６、Ｔ３７、Ｑ３８、Ｈ３９、Ｆ４０、Ｋ４１、Ｎ４２、Ｑ４３、Ｆ４４、Ｐ４５、Ｅ５０、Ｈ５１、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｔ５８、Ｒ８６、Ｇ８７、Ｍ８８、Ｔ８９、Ｅ９１、Ｇ９９、Ｒ１００、Ｐ１０１、Ｎ１０２、Ｋ１０３、Ｐ１０４、Ｄ１０５、Ｓ１０６、Ｓ１３６、Ｎ１３７、Ｆ１３９、Ｓ１６１、Ｄ１６２、Ｉ１６３、Ｓ１６４、Ｌ１６５、Ｖ１６６、Ｄ１６７、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、Ｅ１７１、Ｄ１７２、Ｎ４２、Ｆ４４、Ｋ１０３、Ｐ１０４、Ｄ１０５、Ｓ１０６、Ｋ１１３、Ｔ１１５、Ｓ１１７、Ｙ１１８、Ｐ１１９、Ｅ１２０、Ｐ１２１、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｍ１４７、Ｆ１４８、Ｓ１４９、およびＱ１５１を含

めたいくつかのアミノ酸は、１Ｄ１、１．３１、７Ｄ４、２６Ｂ１１抗体またはＤＲ３のうち少なくとも１つと相互作用し；いくつかの場合には、ＴＬ１Ａアミノ酸は、ＴＬ１Ａマルチマーの異なるサブユニット内にあり得、その結果、抗体は、少なくとも第１および第２のＴＬ１Ａモノマーを含むＴＬ１Ａのホモマルチマーと結合し、該抗体は、第１のＴＬ１Ａモノマー上の第１のエピトープと結合し、該第１のエピトープは、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによるＮ４２、Ｆ４４、Ｋ１０３、Ｐ１０４、Ｄ１０５、Ｓ１０６、Ｋ１１３、Ｔ１１５、Ｓ１１７、Ｙ１１８、Ｐ１１９、Ｅ１２０、Ｐ１２１、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｍ１４７、Ｆ１４８、Ｓ１４９およびＱ１５１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含み、該抗体は、第２のＴＬ１Ａモノマー上の第２のエピトープと結合し、該第２のエピトープは、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによるＴ３０、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｑ３４、Ｔ３５、Ｐ３６、Ｔ３７、Ｑ３８、Ｈ３９、Ｆ４０、Ｋ４１、Ｎ４２、Ｑ４３、Ｆ４４、Ｐ４５、Ｅ５０、Ｈ５１、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｔ５８、Ｒ８６、Ｇ８７、Ｍ８８、Ｔ８９、Ｅ９１、Ｇ９９、Ｒ１００、Ｐ１０１、Ｎ１０２、Ｋ１０３、Ｐ１０４、Ｄ１０５、Ｓ１０６、Ｓ１３６、Ｎ１３７、Ｆ１３９、Ｓ１６１、Ｄ１６２、Ｉ１６３、Ｓ１６４、Ｌ１６５、Ｖ１６６、Ｄ１６７、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、Ｅ１７１およびＤ１７２からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含む。

【０６２７】

ＴＬ１Ａのアミノ酸残基の一部は、抗体１Ｄ１、１Ｄ１　１．３１（１．３１）、７Ｄ４および２６Ｂ１１またはＤＲ３のうち２つ以上との相互作用に関与している可能性がある。表４２に示されるように、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、アミノ酸Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｔ３５、Ｐ３６、Ｔ３７、Ｑ３８、Ｈ３９、Ｆ４０、Ｑ４３、Ｅ５０、Ｈ５１、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｒ８６、Ｇ８７、Ｍ８８、Ｓ１３６、Ｎ１３７、Ｓ１６４、Ｌ１６５、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、Ｅ１７１、Ｋ１１３、Ｓ１１７、Ｙ１１８、Ｐ１１９、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｍ１４７、Ｆ１４８、Ｓ１４９およびＱ１５１は、１Ｄ１、１．３１、７Ｄ４、２６Ｂ１１抗体またはＤＲ３のうち少なくとも２つと相互作用した。いくつかの場合には、ＴＬ１Ａアミノ酸は、ＴＬ１Ａマルチマーの異なるサブユニット内にあり得、その結果、抗体は、少なくとも第１および第２のＴＬ１Ａモノマーを含むＴＬ１Ａのホモマルチマーと結合し、該抗体は、第１のＴＬ１Ａモノマー上の第１のエピトープと結合し、該第１のエピトープは、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｓ１１７、Ｙ１１８、Ｐ１１９、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｍ１４７、Ｆ１４８、Ｓ１４９およびＱ１５１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含み、該抗体は、第２のＴＬ１Ａモノマー上の第２のエピトープと結合し、該第２のエピトープは、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｔ３５、Ｐ３６、Ｔ３７、Ｑ３８、Ｈ３９、Ｆ４０、Ｑ４３、Ｅ５０、Ｈ５１、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｒ８６、Ｇ８７、Ｍ８８、Ｓ１３６、Ｎ１３７、Ｓ１６４、Ｌ１６５、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０およびＥ１７１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含む。

【０６２８】

ＴＬ１Ａのアミノ酸残基の一部は、表４２に示されるように、抗体１Ｄ１、１Ｄ１　１．３１（１．３１）、７Ｄ４および２６Ｂ１１またはＤＲ３のうち３つ以上との相互作用に関与している可能性がある。したがって、一実施形態では、本発明のＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｓ１６４、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、Ｅ１７１、Ｙ１１８およびＱ１５１からなる群から選択される１つまたはそれ以上のアミノ酸と結合し、１Ｄ１、１．３１、７Ｄ４、２６Ｂ１１抗体またはＤＲ３のうち少なくとも３つと相互作用する。いくつかの場合には、ＴＬ１Ａ抗体は、ＴＬ１Ａマルチマーの異なるサブユニット内にあるＴＬ１Ａのアミノ酸と相互作用し得、その結果、抗体は、少なくとも第１および第２のＴＬ１Ａモノマーを含むＴＬ１Ａのホモマルチマー

と結合し、該抗体は、第１のＴＬ１Ａモノマー上の第１のエピトープと結合し、該第１のエピトープは、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによるＹ１１８およびＱ１５１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含み、該抗体は、第２のＴＬ１Ａモノマー上の第２のエピトープと結合し、該第２のエピトープは、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｓ１６４、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０およびＥ１７１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含む。

【０６２９】

ＴＬ１Ａの一部のアミノ酸は、表４２に示されるように、抗体１Ｄ１、１Ｄ１　１．３１（１．３１）、７Ｄ４および２６Ｂ１１またはＤＲ３のうち４つ以上との相互作用に関与している可能性がある。したがって、一実施形態では、本発明のＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｒ３３、Ｙ１６８およびＴ１６９からなる群から選択されるＴＬ１Ａのアミノ酸と相互作用する。

【０６３０】

さらにその他の場合には、ＴＬ１Ａアミノ酸残基は、１Ｄ１および１Ｄ１　１．３１抗体との相互作用に関与している。したがって、特定の実施形態では、本発明のＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片は、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｈ５１、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、Ｅ１７１、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｍ１４７、Ｆ１４８、Ｓ１４９およびＱ１５１からなる群から選択される少なくとも１つのＴＬ１Ａアミノ酸と結合する。その他の場合には、抗体は、ＴＬ１Ａホモマルチマーの異なるサブユニット内のアミノ酸と結合し得る。したがって、一実施形態では、本発明のＴＬ１Ａ抗体またはその抗原結合断片は、第１および第２のＴＬ１Ａモノマーを含むＴＬ１Ａのホモマルチマーと結合し、該抗体は、第１のＴＬ１Ａモノマー上の第１のエピトープと結合し、該第１のエピトープは、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｍ１４７、Ｆ１４８、Ｓ１４９およびＱ１５１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含み、該抗体は、第２のＴＬ１Ａモノマー上の第２のエピトープと結合し、該第２のエピトープは、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｈ５１、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、Ｅ１７１からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸を含む。

【０６３１】

さらにその他の場合には、ＴＬ１Ａへの抗体の結合が、ＴＬ１Ａのアミノ酸において埋まった表面積の非ゼロ変化を引き起こす。例えば、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、アミノ酸Ｒ３３、Ｑ３４、Ｔ３５、Ｐ３６、Ｔ３７、Ｑ３８、Ｈ３９、Ｆ４０、Ｋ４１、Ｎ４２、Ｐ４５、Ｅ５０、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ｆ５７、Ｔ５８、Ｒ８６、Ｍ８８、Ｔ８９、Ｐ１０１、Ｎ１０２、Ｋ１０３、Ｐ１０４、Ｄ１０５、Ｓ１３６、Ｎ１３７、Ｄ１６２、Ｉ１６３、Ｓ１６４、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０、Ｅ１７１、Ｎ４２、Ｋ１０３、Ｐ１０４、Ｄ１０５、Ｋ１１３、Ｓ１１７、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｓ１４９およびＱ１５１において埋まった表面積が少なくとも２０Å^{2}増大する。これらのアミノ酸は、ＴＬ１Ａの異なるサブユニット上：例えば、配列番号２５４の番号付けによる、第１のＴＬ１Ａサブユニットの Ｎ４２、Ｋ１０３、Ｐ１０４、Ｄ１０５、Ｋ１１３、Ｓ１１７、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｓ１４９およびＱ１５１のアミノ酸ならびに第２のＴＬ１Ａサブユニットの Ｒ３３、Ｑ３４、Ｔ３５、Ｐ３６、Ｔ３７、Ｑ３８、Ｈ３９、Ｆ４０、Ｋ４１、Ｎ４２、Ｐ４５、Ｅ５０、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ｆ５７、Ｔ５８、Ｒ８６、Ｍ８８、Ｔ８９、Ｐ１０１、Ｎ１０２、Ｋ１０３、Ｐ１０４、Ｄ１０５、Ｓ１３６、Ｎ１３７、Ｄ１６２、Ｉ１６３、Ｓ１６４、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０およびＥ１７１に存在し得る。その他の場合には、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａの

アミノ酸配列の番号付けによる、アミノ酸Ｒ３３、Ｔ３５、Ｐ３６、Ｑ３８、Ｈ３９、Ｆ４０、Ｋ４１、Ｎ４２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ｒ８６、Ｍ８８、Ｐ１０１、Ｎ１０２、Ｋ１０３、Ｄ１０５、Ｎ１３７、Ｓ１６４、Ｙ１６８、Ｅ１７１、Ｎ４２、Ｋ１０３、Ｄ１０５およびＹ１１８において埋まった表面積が少なくとも５０Å^{2}増大する。これらのアミノ酸は、ＴＬ１Ａの異なるサブユニット上：例えば、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、第１のＴＬ１ＡサブユニットのＮ４２、Ｋ１０３、Ｄ１０５およびＹ１１８のアミノ酸ならびにＲ３３、Ｔ３５、Ｐ３６、Ｑ３８、Ｈ３９、Ｆ４０、Ｋ４１、Ｎ４２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ｒ８６、Ｍ８８、Ｐ１０１、Ｎ１０２、Ｋ１０３、Ｄ１０５、Ｎ１３７、Ｓ１６４、Ｙ１６８およびＥ１７１に存在し得る。その他の場合には、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、アミノ酸Ｒ３３、Ｑ３８、Ｆ４０、Ｋ４１、Ｌ５３、Ｒ８６、Ｍ８８およびＹ１１８において埋まった表面積が少なくとも１００Å^{2}増大する。これらのアミノ酸は、ＴＬ１Ａの異なるサブユニット上：例えば、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、第１のＴＬ１Ａサブユニットのアミノ酸Ｙ１１８ならびにＲ３３、Ｑ３８、Ｆ４０、Ｋ４１、Ｌ５３、Ｒ８６およびＭ８８に存在し得る。

【０６３２】

ＴＬ１Ａのいくつかのアミノ酸残基、例えば、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、アミノ酸Ａ５６、Ｄ２３２、Ｅ１７１、Ｅ５２、Ｈ１０９、Ｋ１１１、Ｋ１７３、Ｎ１１２、Ｎ１７２、Ｎ２０７、Ｐ１０６、Ｐ１７１、Ｑ１０４、Ｑ１０８、Ｒ１５６、Ｒ３３、Ｓ１４９、Ｔ１２２、Ｔ１６９、Ｙ１１８、Ｙ１６８およびＹ２３８は、ＤＲ３または本発明の抗体との水素結合に関与している。例えば、表４２に示されるように、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、ＴＬ１Ａアミノ酸Ｑ１０８、Ｈ１０９、Ｋ１１１、Ｎ１１２、Ｐ１７１、Ｎ１７２およびＫ１７３は、抗体２６Ｂ１１との水素結合形成に関与している。抗体との結合のために、７Ｄ４、Ｑ１０４、Ｐ１０６、Ｒ１５６、Ｎ２０７、Ｄ２３２およびＹ２３８が、水素結合を形成すると示されている。配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、アミノ酸Ｙ１１８、Ｓ１４９、Ｒ３３、Ｅ５２、Ａ５６およびＹ１６８は、抗体１Ｄ１との水素結合を形成し得る。アミノ酸Ｔ１２２、Ｓ１４９、Ｅ５２、Ａ５６、Ｙ１６８、Ｔ１６９およびＥ１７１は、ＴＬ１Ａが１．３１に結合される場合に、水素結合を形成し得る。

【０６３３】

特定の場合には、本発明の抗体またはその抗原結合断片は、ＴＬ１Ａと結合し、配列番号２５４に記載のＴＬ１Ａのアミノ酸配列の番号付けによる、Ｒ３３、Ｑ３８、Ｋ４１、Ｎ４２、Ｌ５５、Ｎ１０２、Ｄ１０５およびＭ１４７からなる群から選択されるＴＬ１Ａの１個またはそれ以上の残基に結合される水素でもある水分子とともに関与する。

【実施例１０】

【０６３４】

ヒト単球細胞表面ＴＬ１Ａへの抗ＴＬ１Ａ抗体の結合

この研究は、ＴＬ１Ａが、免疫複合体を用いる刺激の際に単球の表面上に発現されることおよび抗体１Ｄ１　１．３１が、ヒト単球細胞表面ＴＬ１Ａと結合することを実証する。重鎖Ｆｃ中にエフェクター機能－ヌル突然変異を有する全長ヒトＩｇＧ１として発現される抗体１Ｄ１　１．３１（１Ｄ１　１．３１－ｈＩｇＧ１－３ｍｕｔ）を、ＣＨＯ細胞で生成した。アイソタイプ対照抗体は、１Ｄ１　１．３１と同一の３つのエフェクター機能－ヌル突然変異を含有する同様にヒトＩｇＧ１抗体である抗破傷風トキソイド（ａＴＴ）抗体とした。

【０６３５】

末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）を、リン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）を用いて、まず全血を５０：５０希釈することおよび希釈した血液の２５ｍＬを、１５ｍＬのＦｉｃｏｌｌ－Ｐａｑｕｅ上に層にすることによって１００ｍＬのヒト末梢血から単離した。層にした血液を、９３０ｘｇで３０分間遠心分離した。遠心分離後、ＰＢＭＣを含有する細胞界面を

集め、１０ｍＬの滅菌ＰＢＳを用いて２回洗浄した。細胞を、５ｍＬのＰｈａｒｍ Ｌｙｓｉｎｇバッファー（ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ｓａｎ Ｊｏｓｅ、ＣＡ）に再懸濁し、室温で５分間インキュベートして、混入している赤血球を溶解した。インキュベーション後、細胞を、１０％ 熱不活化ウシ胎児血清（ＦＢＳ）、１０ｍＭ ＨＥＰＥＳ、１０ユニット／ｍＬペニシリン／ストレプトマイシンおよび２ｍＭグルタミンを含有するＲＰＭＩ １６４０培地を用いて２回洗浄し、２×１０^{6}個細胞／ｍＬの最終濃度で完全培地に再懸濁した。

【０６３６】

単球上でのＴＬ１Ａの誘導および１Ｄ１ １．３１を用いる染色を、２ｍＬの４×１０^{6}個のＰＢＭＣを含有する完全培地を、１Ｄ１ １．３１の存在下または不在下でＩＣコーティングされた１２ウェルプレートにプレーティングすることおよび細胞を３７℃で４時間刺激することによって達成した。誘導を、最適濃度のヒトＩｇＧおよびマウス抗ヒトＩｇＧによって形成されたＩＣを使用して達成した。プレート結合型ＩＣを、１２ウェルプレートのウェルあたり５００μＬの、ＰＢＳ中０．５ｍｇ／ｍｌのヒトＩｇＧ（Ｊａｃｋｓｏｎ ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、Ｗｅｓｔ Ｇｒｏｖｅ、ＰＡ）を３７℃で１時間インキュベートすることによって調製した。インキュベーション後、プレートをＰＢＳを用いて３回洗浄し、ＰＢＳ中のマウス抗ヒトＩｇＧ（Ｊａｃｋｓｏｎ ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、Ｗｅｓｔ Ｇｒｏｖｅ、ＰＡ）（２０μｇ／ｍＬ）とともに１時間インキュベートした。コーティングされたプレートを、ＰＢＳを用いて３回洗浄し、ＰＢＳ中で保存し、その後使用した。

【０６３７】

ヒト単球での膜結合型ＴＬ１Ａ発現を、ビオチン化１Ｄ１ １．３１抗体を用いて染色することによって実証した。４時間刺激した後、接着細胞をウェルから剥離するためにセルリフター／スクレーパーを使用することによって細胞を集めた。回収された細胞を、遠心分離によって集め、１００μＬのＢＤ Ｐｈａｒｍｉｎｇｅｎ（商標）染色バッファー（ＦＢＳ；ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ｓａｎ Ｊｏｓｅ、ＣＡ）に再懸濁し、ＴｒｕＳｔａｉｎ ＦｃＸ（ＢｉｏＬｅｇｅｎｄ（商標）、Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ、ＣＡ）を用いて氷上で１０分間ブロッキングした。抗ＣＤ１４ Ｐａｃｉｆｉｃ Ｂｌｕｅ（ＢＤ Ｐｈａｒｍｉｎｇｅｎ（商標）、ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ｓａｎ Ｊｏｓｅ、ＣＡ）および１０μｇ／ｍＬのビオチン化１Ｄ１ １．３１またはアイソタイプ対照抗体を添加し、細胞を氷上で１５分間インキュベートした。インキュベーション後、細胞を３ｍＬの染色バッファーを用いて洗浄し、８００ｘｇで５分間遠心分離し、４００μＬの、フィコエリトリン（ＰＥ）－ストレプトアビジン（蛍光標識されたストレプトアビジンの１：１０００希釈）を含有する染色バッファーに再懸濁した。インキュベーション後、細胞を２回洗浄し、遠心分離し、４００μＬの染色バッファーに再懸濁した。膜結合型ＴＬ１Ａ発現を、ＢＤ ＬＳＲＦｏｒｔｅｓｓａ（商標）機器を使用して測定し、ビオチン化アイソタイプ対照抗体と比較した平均蛍光強度（ＭＦＩ）の増加によって実証した。

【０６３８】

膜結合型ＴＬ１Ａへの１Ｄ１ １．３１の結合を、刺激されたヒト単球で評価した。予備的研究は、休止末梢血単球が膜結合型ＴＬ１Ａを構成的に発現しないことを示した。したがって、単球を、免疫複合体刺激（Ｆｃ受容体関与を介した）後に内因性ＴＬ１Ａを発現するよう誘導して、単球細胞表面ＴＬ１Ａへの１Ｄ１ １．３１の結合を実証した。ＴＬ１Ａの徹底的な特徴付けに先立って、上方調節の動態は、ＩＣ刺激後４時間、単球への１Ｄ１ １．３１結合を実証するその後の研究において使用される時点での最大発現を実証した。ＩＣコーティングされたプレートは、刺激後４時間での単球細胞表面でのＴＬ１Ａ発現を誘導した（図１３）。１Ｄ１ １．３１を用いて処理した細胞は、アイソタイプ処理および非刺激対照細胞と比較して平均蛍光強度を増大した。この結合の特異性は、１および１０μｇ／ｍＬの精製された裸の抗ＴＬ１Ａ抗体を使用する競合アッセイにおいて確認した（示されていないデータ）。これらの研究は、抗体１Ｄ１ １．３１が、刺激された循環単球上に発現された膜結合型ＴＬ１Ａと特異的に結合する抗ＴＬ１Ａ抗体である

ことを示す。

【実施例１１】

【０６３９】

ＴＦ－１細胞における抗ＴＬ１Ａ抗体によるＮＦκＢの阻害

ＤＲ３を介してＴＬ１Ａの細胞内シグナル伝達を阻害する、抗体１Ｄ１　１．３１の機能的阻害性効力および能力を評価するために、抗体を、ＤＲ３を構成的に発現し、ＮＦκＢ－プロモーターによって駆動されるルシフェラーゼ遺伝子を用いて形質導入されたＴＦ－１細胞（赤芽球腫細胞株）において評価した。

【０６４０】

重鎖Ｆｃ中にエフェクター機能－ヌル突然変異を有する全長ヒトＩｇＧ１として発現される抗体１Ｄ１　１．３１（１Ｄ１　１．３１－ｈＩｇＧ１－３ｍｕｔ）を、ＣＨＯ細胞で生成した。アイソタイプ対照抗体は、１Ｄ１　１．３１と同一の３つのエフェクター機能－ヌル突然変異を含有する同様にヒトＩｇＧ１抗体である抗破傷風トキソイド（ａＴＴ）抗体とした。可溶性ＴＬ１Ａ（ｒｓＴＬ１Ａ）を組換え生成した。

【０６４１】

ＴＦ－１細胞は、Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｔｉｓｓｕｅ　Ｔｙｐｉｎｇ　Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ（ＡＴＣＣ、Ｍａｎａｓｓａｓ、ＶＡ）から得た。ＴＦ－１細胞は、ＡＴＣＣから得たヒト造血赤芽球腫細胞株に由来する。ＴＦ－１－ＮＦκＢ－ルシフェラーゼリポーター細胞は、ＴＦ－１細胞に、レンチウイルスｐＣｉｇｎａｌ　Ｌｅｎｔｉ　ＮＦκＢ－ルシフェラーゼリポーター（カタログ番号ＣＬＳ－０１３Ｌ；ＳＡ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ｖａｌｅｎｃｉａ、ＣＡ）を感染させることによって作製した。手短には、２４ウェルプレートのウェルあたり３０，０００個の細胞を、１５０μＬのＲＰＭＩ　１６４０、１０％ウシ胎児血清（ＦＢＳ）および２ｎｇ／ｍＬの顆粒球マクロファージ－コロニー刺激因子（ＧＭ－ＣＳＦ）中に播種した。翌日、６μｇ／ｍＬのポリブレンの存在下で、５０μＬ（１×）および１００μＬ（２×）のレンチウイルスｐＣｉｇｎａｌ　Ｌｅｎｔｉ　ＮＦκＢ－ルシフェラーゼリポーターを用いて感染させた。４日後、細胞を増殖させ、安定な組み込み体の選択のために１μｇ／ｍＬのピューロマイシンに曝露した。選択は、すべての偽の感染細胞が死滅するまで継続した。安定なプールにおけるリポーターの活性を、ＴＦ－１－ＮＦκＢ－Ｌｕｃ　１×および２×細胞を、種々のＴＮＦまたはＴＬ１Ａ濃度を用いて処理することによって評価した。細胞（１００μＬのＧＭ－ＣＳＦを含まない培地中、９６ウェルあたり２０，０００個）を、サイトカインを用いて３７℃、５％ CO_2 で５時間処理した。次いで、Ｄ－ルシフェリン基質（１５００μｇ／ｍＬ）を添加し、３７℃で１０分インキュベートした後、ＥｎＶｉｓｉｏｎルミノメーター（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ、Ｗａｌｔｈａｍ、ＭＡ）で発光シグナルを読み取った。その後の研究のために、ＴＦ－１－ＮＦκＢ－Ｌｕｃ　２Ｘ細胞を選択した。ＴＦ－１細胞は、その長期増殖のためにインターロイキン１３（ＩＬ１３）またはＧＭ－ＣＳＦのいずれかを必要とする。細胞を、１０％熱不活化ＦＢＳ、１０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、１ｍＭのピルビン酸ナトリウム、２ｎｇ／ｍＬの組換えヒトＧＭ－ＣＳＦおよび１μｇ／ｍＬのピューロマイシンを含有するＲＰＭＩ　１６４０で増殖させた。

【０６４２】

ＴＦ－１細胞でのＤＲ３の構成的発現を、市販のビオチン化－抗ＤＲ３抗体を用いて染色することによって実証した。細胞を、ＴＬ１Ａ誘導性カスパーゼ活性化アッセイについて節５．４に記載されるようにＧＭ－ＣＳＦを用いずに一晩増殖させた。細胞を回収し、ＢＤ　Ｐｈａｒｍｉｎｇｅｎ（登録商標）染色バッファー（ＦＢＳ）に１×10^6個細胞／ｍＬで再懸濁し、１０μｇ／ｍＬの抗ＤＲ３抗体とともに氷上で１５分間インキュベートした。インキュベーション後、細胞を３ｍＬの染色バッファーを用いて洗浄し、８００ｇで遠心分離し、１×10^6個細胞／ｍＬでフィコエリトリン（ＰＥ）－ストレプトアビジン、１：１０００希釈の蛍光標識ストレプトアビジンを有する同一バッファーに再懸濁した。インキュベーション後、細胞を洗浄し、遠心分離し、染色バッファーに１×10^6個細胞／ｍＬで再懸濁した。ＤＲ３発現を、ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ　ＬＳＲＦｏ

ｒｔｅｓｓａ（商標）機器（Ｓａｎ　Ｊｏｓｅ、ＣＡ）でフローサイトメトリー分析によって調べた。ＤＲ３発現は、ストレプトアビジン－ＰＥ対照と比較した平均蛍光強度（ＭＦＩ）の増大によって実証される。

【０６４３】

ｒｓＴＬ１Ａの、転写因子ＮＦκＢを活性化する能力を調べるために、ＮＦκＢの転写制御下のルシフェラーゼ遺伝子を用いてトランスフェクトされたＴＦ－１細胞においてｒｓＴＬ１Ａに応じて、ルシフェラーゼ活性を測定した。実験の２日前に、ＴＦ－１細胞を、ピューロマイシンを含有するがＧＭ－ＣＳＦを含有しないＴＦ－１培養培地中、０．３×１０^{6}個細胞／ｍＬの細胞密度で培養した。５０μＬの、ピューロマイシンまたはＧＭ－ＣＳＦを有さないＴＦ－１培地中の、ｒｓＴＬ１Ａの２×の各最終濃度を含有する液剤を、９６ウェルプレート（発光プレートのための平底）中、２連で調製した。８種のｒｓＴＬ１Ａ濃度を、３９８６ｐＭで出発して３倍希釈で力価測定した（３９６８．３、１３２２．８、４４０．９、１４７、４９、１６．３、５．４および１．８ｐＭ）。このＴＬ１Ａ用量反応実験も、３ｎＭのアイソタイプ対照抗体の最終濃度の存在下で実施した。この場合には、上記の同一ＴＬ１Ａ用量反応液剤はまた、アイソタイプ対照抗体の２×最終濃度を含有していた。次いで、プレートをアルミニウムホイルで密閉し、平衡に達するよう４℃で一晩静置した。翌日、プレートを３７℃で３０分間予め加温し、細胞を回収し、リン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）で１回洗浄し、ピューロマイシンまたはＧＭ－ＣＳＦを有さないＴＦ－１培地に１×１０^{6}個細胞／ｍＬで再懸濁し、５０μＬ中５０，０００個細胞の細胞懸濁液を、５０μＬの予め加温したＴＬ１Ａ液剤に添加し、３７℃で６時間インキュベートした。１００μＬウェルに１００（１００）μＬの２×最終濃度の１５０μｇ／ｍＬのカブトムシルシフェリンを添加し、十分に混合し、３７℃で３０分間インキュベートした。プレートをルミノメーター（ＥｎＶｉｓｉｏｎ、１秒／ウェル）で読み取った。平均相対発光単位（ＲＬＵ）を、対数ＴＬ１Ａまたは対数１Ｄ１　１．３１濃度に対してプロットした。

【０６４４】

ＥＣ５０およびＩＣ５０決定

発光値をそれぞれ、ＴＬ１Ａまたは抗体濃度の対数に対してプロットすることによって、ＴＬ１Ａ活性化曲線または抗体阻害曲線を作成した。これらのグラフからＥＣ５０（ＴＬ１Ａについて）またはＩＣ５０値（１Ｄ１　１．３１について）を、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍ（登録商標）（バージョン５．０２、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｓｏｆｔｗａｒｅ，Ｉｎｃ．、Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ、ＣＡ）非線形回帰曲線フィットおよびアゴニスト（３パラメータ）またはアンタゴニスト用量反応（可変傾斜、４パラメータ）モデル（ＴＬ１Ａアゴニストのための方程式１およびアンタゴニスト１Ｄ１　１．３１のための方程式２）のＳ字対数を使用して決定した。

方程式１：

対数（アゴニスト）対反応（３パラメータ）

Ｙ＝Ｂｏｔｔｏｍ＋（Ｔｏｐ－Ｂｏｔｔｏｍ）／（１＋１０＾（ＬｏｇＥＣ５０－Ｘ））

方程式２：

対数（阻害剤）対反応－可変傾斜（４パラメータ）

Ｙ＝Ｂｏｔｔｏｍ＋（Ｔｏｐ－Ｂｏｔｔｏｍ）／（１＋１０＾（（ＬｏｇＩＣ５０－Ｘ）＊ＨｉｌｌＳｌｏｐｅ））

式中、Ｙは発光値であり、ＸはアゴニストＴＬ１Ａ（方程式１）またはアンタゴニスト１Ｄ１　１．３１（方程式２）濃度であり、Ｔｏｐは、Ｓ字曲線の上部プラトーに対応する最大Ｙ値であり、Ｂｏｔｔｏｍは、Ｓ字曲線の下部プラトーに対応する最小Ｙ値であり、ＬｏｇＥＣ５０またはＬｏｇＩＣ５０は、それぞれ、最大と最小の間の中ほどにある屈曲点でのアゴニストまたはアンタゴニストの濃度の対数である。ＥＣ５０またはＩＣ５０値は、平均および標準偏差（ＳＴＤＥＶ）を使用して実験にわたって要約した。

【０６４５】

ＤＲ３によるＴＬ１Ａのシグナル伝達の阻害における１Ｄ１　１．３１の効力および能力を、ＴＬ１Ａ刺激に応じたＴＦ－１－ＮＦκＢ－ルシフェラーゼ細胞におけるＮＦκＢ活性化を測定するアッセイにおいて評価した。図１４Ａは、ＧＭ－ＣＳＦを伴わずに一晩培養した後のＴＦ－１細胞でのＤＲ３の構成的発現を実証する。ビオチン－抗ＤＲ３抗体染色細胞は、ストレプトアビジン二次検出試薬のみを用いて処理した細胞よりも増大した平均蛍光強度を有していた。ビオチン－ＴＬ１Ａもまた、細胞を染色したが、ビオチン－ＤＲ３抗体もビオチン－ＴＬ１Ａも、いくつかのその他のＤＲ３陰性細胞を染色せず、染色の特異性を実証した（示されていない）。

【０６４６】

ＮＦκＢによって調節される遺伝子転写を活性化するＴＬ１Ａの能力を、ＴＬ１Ａを用いて刺激されたＴＦ－１－ＮＦκＢ－ルシフェラーゼ細胞において評価した。図１４Ｂにおける代表的な実験について、ＮＦκＢ活性の組換えヒト可溶性ＴＬ１Ａ用量依存性増大が示される。ＴＬ１Ａは、ＴＦ－１－ＮＦκＢ－ルシフェラーゼ細胞においてＮＦκＢ活性を刺激し、１４９±３８ｐＭの平均ＥＣ５０値を有していた（ｎ＝８）。このアッセイでは、相対光単位（ＲＬＵ）は、飽和ＴＬ１Ａ濃度でバックグラウンドを上回って１０～１５倍増大した。図１４Ｃにおける代表的な実験について、ＴＦ－１－ＮＦκＢ－ルシフェラーゼ細胞における１５０ｐＭ　ＴＬ１ＡによるＮＦκＢ活性化の１Ｄ１　１．３１用量依存性阻害が示される。１Ｄ１　１．３１は、ＮＦκＢのＴＬ１Ａ活性化を阻害し、９５±５．５ｐＭ（ｎ＝４）の平均ＩＣ５０値を有していた。これらの機能的効力値は、ＴＬ１Ａに対する１Ｄ１　１．３１の結合親和性と一致する。さらに、ＴＦ－１におけるカスパーゼ活性の活性化の阻害（実施例１２を参照のこと）ならびにヒト全血におけるＩＣ、ＩＬ－１２およびＩＬ－１８刺激に応じたＩＦＮγの生成（実施例１３を参照のこと）を測定するその他の機能研究において、同様の効力値を算出した。

【０６４７】

アイソタイプ対照抗体は、図１４Ｄおよび図１４Ｅに示されるようにこのアッセイに対して阻害効果を有さなかった。図１４Ｄにおける代表的な実験について、結果が示されている、。アイソタイプ対照抗体の不在下でのＮＦκＢ活性のＴＬ１Ａ刺激の平均ＥＣ５０値は、１０３±２７ｐＭ（ｎ＝４）であり、アイソタイプ対照抗体の存在下では、１１０±１８ｐＭ（ｎ＝４）であった。さらに、最大３０ｎＭのＴＬ１Ａを用いるアイソタイプ対照抗体用量反応実験は、阻害を引き起こさなかった（図１４Ｅに示される）。これらの実験は、アイソタイプ抗体に原因がある阻害はなかったということを示した。

【０６４８】

記載される研究は、１Ｄ１　１．３１の、ＴＦ－１－ＮＦκＢ－ルシフェラーゼ細胞においてＮＦκＢ活性化につながるＴＬ１Ａ／ＤＲ３相互作用の下流シグナル伝達を強力に遮断する能力を実証する。これらの実験は、１Ｄ１　１．３１が、ＴＬ１Ａ／ＤＲ３シグナル伝達の強力なアンタゴニストであることを示す。

【実施例１２】

【０６４９】

抗ＴＬ１Ａ抗体によるカスパーゼ活性化反応の阻害

ＴＬ１Ａは、ＴＦ－１細胞においてＮＦκＢ経路を活性化するが、ＮＦκＢ経路が、シクロヘキシミドなどのタンパク質合成阻害剤によって阻害される場合には、カスパーゼ経路を活性化することによってアポトーシスを誘導することもできる。この研究の目的は、組換え可溶性ヒトＴＬ１Ａ（ｒｓＴＬ１Ａ）による刺激に応じたＴＦ－１細胞におけるカスパーゼ活性化アッセイにおいて抗ＴＬ１Ａ抗体１Ｄ１　１．３１の中和活性および効力を評価することであった。

【０６５０】

ＴＦ－１細胞は、ＡＴＣＣから得たヒト造血赤芽球腫細胞株に由来するものであった。ＴＦ－１細胞は、その長期増殖のためにＩＬ－１３または顆粒球マクロファージ－コロニー刺激因子（ＧＭ－ＣＳＦ）のいずれかを必要とする。ＴＦ－１細胞を、１０％熱不活化ウシ胎児血清（ＦＢＳ）、１０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、１ｍＭ　ピルビン酸ナトリウムおよび

２ｎｇ／ｍＬの組換えヒトＧＭ－ＣＳＦを含有するＲＰＭＩ　１６４０で増殖させた。

【０６５１】

ＴＦ－１細胞におけるＤＲ３の発現

ＴＦ－１細胞でのＤＲ３の構成的発現を、市販のビオチン化－抗ＤＲ３抗体（ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ、ＣＡ）を用いて染色することによって実証した。細胞を、ＴＬ１Ａ誘導性カスパーゼ活性化アッセイについて以下に記載されるようにＧＭ－ＣＳＦを用いずに一晩増殖させた。細胞を回収し、ＢＤ　Ｐｈａｒｍｉｎｇｅｎ（商標）染色バッファー（ＦＢＳ；ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ｓａｎ　Ｊｏｓｅ、ＣＡ）に1×10^{6}個細胞／ｍＬで再懸濁し、１０μｇ／ｍＬの抗ＤＲ３抗体とともに氷上で１５分間分インキュベートした。インキュベーション後、細胞を３ｍＬの染色バッファーを用いて洗浄し、８００×ｇで遠心分離し、フィコエリトリン（ＰＥ）－ストレプトアビジン、１：１０００希釈の蛍光標識ストレプトアビジンを有する同一バッファーに、1×10^{6}個細胞／ｍＬで再懸濁した。インキュベーション後、細胞を洗浄し、遠心分離し、染色バッファーに1×10^{6}個細胞／ｍＬで再懸濁した。ＤＲ３発現を、ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ　ＬＳＲＦｏｒｔｅｓｓａ（商標）機器でフローサイトメトリー分析によって調べた。ＤＲ３発現は、ストレプトアビジン－ＰＥ対照と比較した平均蛍光強度（ＭＦＩ）の増大によって実証される。

【０６５２】

組換え可溶性ＴＬ１ＡによるＴＦ－１細胞におけるカスパーゼ活性化

ｒｓＴＬ１Ａの、アポトーシス経路を活性化する能力を決定するために、外因性ｒｓＴＬ１Ａに応じたカスパーゼ活性化を、ＮＦκＢ経路に向かうシグナル伝達を阻害し、カスパーゼおよびアポトーシス経路活性化を可能にするようシクロヘキシミド（ＣＨＸ）を用いて処理したＴＦ－１細胞において評価した。実験の前日に、ＴＦ－１細胞を２ｎｇ／ｍＬのＧＭ－ＣＳＦを含有するＴＦ－１培養培地中、0.3×10^{6}個細胞／ｍＬの細胞密度で培養した。別個に、５０μＬの、ＧＭ－ＣＳＦを有さないＴＦ－１培地中の、ｒｓＴＬ１Ａの２×の各最終濃度およびＣＨＸ（２ｎＭ最終濃度）を含有する液剤を、９６ウェルプレート（発光プレートのための平底）中、３連で調製した。１２種のｒｓＴＬ１Ａ濃度を、３９８６ｐＭで出発して２倍希釈で力価測定した（３９８６、１９８４、９９２、４９６、２４８、１２４、６２、３１、１５．５、７．７５、３．８８および１．９４ｐＭ）。翌日、プレートを３７℃で３０分間予め加温し、細胞を回収し、リン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）で１回洗浄し、ＧＭ－ＣＳＦを有さないＴＦ－１培地に0.6×10^{6}個細胞／ｍＬで再懸濁し、５０μＬ中３０，０００個細胞の細胞懸濁液を、５０μＬの予め加温したＴＬ１Ａ／ＣＨＸ液剤に添加し、３７℃で６時間インキュベートした。１００（１００）μＬのＣａｓｐａｓｅ－Ｇｌｏ（登録商標）３／７キット（Ｐｒｏｍｅｇａ、Ｍａｄｉｓｏｎ、ＷＩ）を添加し、室温で１５分間インキュベートした。プレートをＥｎＶｉｓｉｏｎｓ（商標）ルミノメーター（１秒／ウェル；ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ、Ｗａｌｔｈａｍ、ＭＡ）で読み取った。アポトーシスの初期工程は、カスパーゼ－３および－７を含めたカスパーゼの活性化に関与する。Ｃａｓｐａｓｅ－Ｇｌｏ（登録商標）３／７アッセイは、精製酵素調製物または接着または懸濁液細胞の培養物においてカスパーゼ－３および－７活性を測定する均一発光アッセイである。アッセイは、テトラペプチド配列ＤＥＶＤ（配列番号３９５）（認識配列）を含有するルミノジェニックカスパーゼ－３／７選択基質を提供する。この基質は切断されて、アミノルシフェリン、光の生成において使用されるルシフェラーゼの基質を放出する。Ｃａｓｐａｓｅ－Ｇｌｏ（登録商標）３／７試薬は、カスパーゼ活性、ルシフェラーゼ活性および細胞溶解のために最適化される。「添加－混合－測定（ａｄｄ－ｍｉｘ－ｍｅａｓｕｒｅ）」形式におけるＣａｓｐａｓｅ－Ｇｌｏ（登録商標）３／７試薬の付加は、細胞溶解と、それに続く、基質のカスパーゼ切断および「グロータイプ」発光シグナルの生成をもたらす。アッセイは、広い範囲のアッセイ条件にわたって安定なシグナルを生成するよう製剤化された特許熱安定性ルシフェラーゼ（Ｕｌｔｒａ－Ｇｌｏ　Ｌｕｃｉｆｅｒａｓｅ（登録商標）、Ｐｒｏｍｅｇａ）の特性に左右される。発光は、存在するカスパーゼ活性の量に比例する。

【０６５３】
組換え可溶性ＴＬ１ＡによるＴＦ－１細胞におけるカスパーゼ活性化の抗体１Ｄ１　１．３１阻害
ＣＨＸの存在下でのＴＦ－１細胞におけるカスパーゼ活性化の抗体１Ｄ１　１．３１阻害を評価した。手短には、実験の前日に、ＴＦ－１細胞を２ｎｇ／ｍＬのＧＭ－ＣＳＦを含有するＴＦ－１培養培地中、０．３×１０^{6}個細胞／ｍＬで培養した。別個に、５０μＬの、ＴＦ－１培地（ＧＭ－ＣＳＦを有さない）中の、ｒｓＴＬ１Ａの２×の各最終濃度およびＣＨＸ（２ｎＭ最終濃度）を含有する液剤を、９６ウェルプレート（発光プレートのための平底）中、３連で調製した。抗体、ＣＨＸ（２０μｇ／ｍＬまたは２ｎＭ最終濃度）およびｒｓＴＬ１Ａ（５．５ｎｇ／ｍＬまたは８７ｐＭ最終濃度）の最終濃度の各２×を含有する液剤を、９６ウェルプレート中、３連で調製した。次いで、プレートをアルミニウムホイルで密閉し、平衡に達するよう４℃で一晩静置した。１０または１２点の抗体濃度を、実験に応じて１、２または３ｎＭで出発して２および／または３倍希釈で力価測定した。図１５Ｂにおける代表的な実験について、濃度を３０００、１０００、３３３、１８５、１０３、５７、３１．８、１７．６、４．１および０．５ｐＭとした。ｒｓＴＬ１Ａ（８７ｐＭ）を、上記のようなこれまでのｒｓＴＬ１Ａ用量反応カスパーゼ活性化実験（ｎ＝３）において最大反応の半量をもたらす平均濃度（ＥＣ５０）として算出した。翌日、プレートを３７℃で３０分間予め加温し、細胞を回収し、ＰＢＳで１回洗浄し、ＧＭ－ＣＳＦを有さないＴＦ－１培地に０．６×１０^{6}個細胞／ｍＬで再懸濁し、５０μＬ中３０，０００個細胞の細胞懸濁液を、５０μＬの予め加温した抗体／ＴＬ１Ａ／ＣＨＸ液剤に添加し、３７℃で６時間インキュベートした。１００（１００）μＬのＣａｓｐａｓｅ－Ｇｌｏ（登録商標）３／７キット（Ｐｒｏｍｅｇａ）を添加し、室温で１５分間インキュベートした。プレートをルミノメーター（Ｅｎｖｉｓｉｏｎ、１秒／ウェル）で読み取った。１Ｄ１　１．３１阻害用量反応実験と並行して、ｒｓＴＬ１Ａ用量反応実験を実施して、各個々の実験のＥＣ５０を算出し、８７ｐＭ、抗体の阻害効力を評価するために使用した濃度に対応するおよそのパーセントを確認した。

【０６５４】
ＥＣ５０およびＩＣ５０決定
平均相対発光単位（ＲＬＵ）を、対数ＴＬ１Ａまたは対数１Ｄ１　１．３１濃度に対してプロットした。発光値をそれぞれ、ＴＬ１Ａまたは抗体濃度の対数に対してプロットすることによって、ＴＬ１Ａ活性化曲線または抗体阻害曲線を作成した。これらのグラフからＥＣ５０（ＴＬ１Ａについて）またはＩＣ５０値（１Ｄ１　１．３１について）を、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍ（登録商標）（バージョン５．０２、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｓｏｆｔｗａｒｅ，Ｉｎｃ．、Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ、ＣＡ）非線形回帰曲線フィットおよびアゴニストまたはアンタゴニスト用量反応モデル（ＴＬ１Ａアゴニストのための方程式１およびアンタゴニスト１Ｄ１　１．３１のための方程式２）のＳ字対数を使用して決定した。
方程式１：
対数（アゴニスト）対反応（３パラメータ）
Ｙ＝Ｂｏｔｔｏｍ＋（Ｔｏｐ－Ｂｏｔｔｏｍ）／（１＋１０＾（ＬｏｇＥＣ５０－Ｘ））
方程式２：
対数（阻害剤）対反応－可変傾斜（４パラメータ）
Ｙ＝Ｂｏｔｔｏｍ＋（Ｔｏｐ－Ｂｏｔｔｏｍ）／（１＋１０＾（（ＬｏｇＩＣ５０－Ｘ）＊ＨｉｌｌＳｌｏｐｅ））
式中、Ｙは発光値であり、ＸはアゴニストＴＬ１Ａ（方程式１）またはアンタゴニスト１Ｄ１　１．３１（方程式２）濃度であり、Ｔｏｐは、Ｓ字曲線の上部プラトーに対応する最大Ｙ値であり、Ｂｏｔｔｏｍは、Ｓ字曲線の下部プラトーに対応する最小Ｙ値であり、ＬｏｇＥＣ５０またはＬｏｇＩＣ５０は、それぞれ、最大と最小の間の中ほどにある屈曲点でのアゴニストまたはアンタゴニストの濃度の対数である。ＥＣ５０またはＩＣ５０値

は、平均および標準偏差（ＳＴＤＥＶ）を使用して実験にわたって要約した。

【０６５５】

ＤＲ３によるＴＬ１Ａのシグナル伝達の阻害における１Ｄ１　１．３１の効力および能力を、ＴＬ１Ａ刺激に応じたＴＦ－１細胞におけるカスパーゼ活性化を測定するアッセイにおいて評価した。ＤＲ３は、ＧＭ－ＣＳＦを用いずに一晩培養した後のカスパーゼ活性化実験を実施する時点で、ＴＦ－１細胞で構成的に発現された。ビオチン－抗ＤＲ３抗体処理した細胞は、ストレプトアビジン二次検出試薬のみを用いて処理した細胞よりも増大した平均蛍光強度を有していた。ビオチン－ＴＬ１Ａもまた、細胞を染色したが、ビオチン－ＤＲ３抗体もビオチン－ＴＬ１Ａも、いくつかのその他のＤＲ３陰性細胞を染色せず、染色の特異性を実証した（示されていない）。

【０６５６】

ＴＬ１Ａ誘導性カスパーゼ活性化を、ＮＦκＢ経路によるシグナル伝達を遮断し、結果として、カスパーゼ活性化によるアポトーシス経路に向かう下流受容体シグナル伝達機序に偏向させるためのＣＨＸの存在下で、ＴＦ－１細胞において評価した。組換え可溶性ＴＬ１Ａ（ｒｓＴＬ１Ａ）によるカスパーゼ活性の用量依存性増大が、図１５Ａにおける代表的な実験から示される。ＴＬ１Ａは、ＴＦ－１細胞においてカスパーゼ活性を刺激し、９０±７ｐＭの平均ＥＣ５０値を有していた（ｎ＝３）。このアッセイでは、ＲＬＵは、飽和ＴＬ１Ａ濃度でバックグラウンドを上回って３～５倍増大した。図１５Ｂにおける代表的な実験から、ＴＦ－１細胞における８７ｐＭ　ＴＬ１Ａによるカスパーゼ活性化の１Ｄ１　１．３１用量依存性阻害が示される。１Ｄ１　１．３１は、カスパーゼ活性のＴＬ１Ａ依存性増大を阻害し、６９±１５ｐＭ（ｎ＝３）の平均ＩＣ５０値を有していた。これらの機能的効力値は、ＴＬ１Ａに対する１Ｄ１　１．３１の結合親和性と一致した。さらに、ＴＦ－１細胞におけるＮＦκＢの活性化の阻害またはヒト全血における免疫複合体（ＩＣ）、ＩＬ－１２およびＩＬ－１８刺激に応じたＩＦＮγの生成を測定するその他の研究において、同様の効力値を算出した。

【０６５７】

これらの研究は、１Ｄ１　１．３１の、ＣＨＸで処理されたＴＦ－１細胞においてカスパーゼ活性化およびアポトーシスにつながるＴＬ１Ａ／ＤＲ３相互作用の下流シグナル伝達を強力に遮断する能力を実証する。これらの研究は、１Ｄ１　１．３１が、ＴＬ１Ａ／ＤＲ３シグナル伝達の強力なアンタゴニストであることを示す。

【実施例１３】

【０６５８】

ヒト全血における抗ＴＬ１Ａ抗体によるサイトカインの阻害および枯渇

この研究の目的は、膜発現型内因性ＴＬ１ＡおよびＤＲ３の上方調節および活性化の条件下でサイトカイン分泌を測定するヒト末梢血におけるアッセイにおいて、抗ＴＬ１Ａ抗体１Ｄ１　１．３１の中和活性および効力を評価することであった。このアッセイでは、ＴＬ１Ａの膜結合型の発現が、ＴＬ１Ａの両方の型、細胞会合型および可溶性型の阻害ならびに生理学的に関連のあるｅｘ　ｖｉｖｏヒト全血系における可溶性ＴＬ１Ａ標的適用範囲の評価を可能にする。

【０６５９】

ヒト血液の免疫複合体（ＩＣ）刺激のために、実験の前日にＩＣプレートを調製した。９６ウェル（９６）、平底組織培養プレートを、ウェルあたり５０μＬの、リン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）中、０．５ｍｇ／ｍＬまたは０．２５ｍｇ／ｍＬのヒト免疫グロブリンＧ（ｈＩｇＧ）を用いてコーティングし、４℃で一晩維持した。翌朝、プレートをウェルあたり１５０μＬのＰＢＳを用いて３回洗浄した。ＰＢＳを除去した後、ウェルあたり５０μＬの、ＰＢＳ中、０．０２ｍｇ／ｍＬまたは０．０８ｍｇ／ｍＬのマウス抗ヒトＩｇＧを添加し、プレートを３７℃で１時間インキュベートした。次いで、プレートをウェルあたり１５０μＬのＰＢＳを用いて３回洗浄し、その後、使用した。

【０６６０】

ヒト全血のＩＣおよびＩＬ－１２およびＩＬ－１８刺激のために、健常なドナーからお

よそ１０ｍＬの血液を、Ｎａヘパリンコーティングした試験管中に採取した。血液試料は、普通、採血後１時間内に室温で送達された。ＩＬ－１２（０．５ｎｇ／ｍＬの最終濃度）およびＩＬ－１８（５ｎｇ／ｍＬの最終濃度）を血液と混合し、その後、ＩＣコーティングしたプレートの各ウェルに１９０μＬの血液／ＩＬ－１２／ＩＬ－１８混合物を添加した。１Ｄ１　１．３１の阻害性効力を評価するために、ウェルあたり１０μＬの、ＰＢＳ中、０．１％ウシ血清アルブミン（ウシ血清アルブミン）中の２０×最終濃度の１Ｄ１　１．３１（またはアイソタイプ対照抗体）を添加することによって、１２の濃度用量反応曲線を作成した。１Ｄ１　１．３１（またはアイソタイプ対照抗体）濃度は、３０００、１００００、３３３３．３３、１１１１．１１、３７０．３７、１２３．４５、１２．３４、１．２３４、０．１２３４、０．０１２３４、０．００１２３４および０．０００１ｐＭ；ならびに３００００、１００００、３３３３．３、１１１１．１１、３７０．３７、３７．０３７、３．７０３７、０．３７０４、０．０３７、０．００２、９Ｅ－０５および４．６Ｅ－０６ｐＭとした。すべての条件は、３連で行ったが、対照（抗体なし）は、１０～１２ウェルで反復し；刺激なしまたは単一刺激対照（ＩＣのみまたはＩＬ－１２／ＩＬ－１８のみ）も３連またはそれ以上の複製で含めた。３７℃で２４時間培養した後、１００μＬの、ＰＢＳ中、５％のウシ血清アルブミンを添加し、２００μＬの血液培養物と十分に混合して、血漿を希釈した（希釈係数：１．５）。プレートを９３０×ｇ（２０００ｒｐｍ）で１５分間遠心分離した後に、ウェルあたり１５０（１５０）μＬの希釈した血漿を回収し、ＭＳＤ（Ｍｅｓｏｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ、Ｒｏｃｋｖｉｌｌｅ、ＭＤ）ベースのリガンド結合アッセイを使用する、ＩＦＮγおよび１Ｄ１　１．３１不含型のＴＬ１Ａの定量化のために、ＰＢＳ中の５％のウシ血清アルブミンでさらに３倍希釈した。ＩＦＮγを、ＭＳＤヒトＩＦＮγキット（カタログ番号Ｋ１５１ＡＥＢ－１）を製造業者の使用説明書に従って使用して測定した。２つのアッセイ、抗体が結合していないｓＴＬ１Ａのみを測定するものおよび全ｓＴＬ１Ａ（抗体が結合しているものおよび結合していないもの）を測定するもう１つのものを、ｓＴＬ１Ａを測定するためにＰＧＲＤで発色させた。手短には、１Ｄ１　１．３１不含ｓＴＬ１Ａを測定するために、ＭＳＤ黒色プレート（ＭＳＤ、カタログ番号Ｌ１５ＸＡ－６）を、ウェルあたり３０μＬの、ＰＢＳ中の２μｇ／ｍＬの抗ＴＬ１Ａクローン番号２６Ｂ１１を用いて、４℃で一晩コーティングした。翌日、プレートを、ウェルあたり１５０μＬの、ＰＢＳ中、０．１％のＴｗｅｅｎ　２０を用いて３回、続いて、ウェルあたり１５０μＬのブロッキング液剤（ＰＢＳ中、５％のウシ血清アルブミン）を用いて洗浄し、次いで、プレートを軌道振盪（１５００ｒｐｍ）しながら室温で１時間インキュベートした。プレートを上記のように洗浄した後、希釈した血漿試料を添加し、４℃で一晩インキュベートした。翌日、プレートを洗浄した後に、０．２５μｇ／ｍＬのＳｕｌｆｏ－タグ標識した検出Ａｂ（ＭＳＤ抗ＴＬ１Ａクローン番号１Ｄ１－ＶＨ－３７（１Ｄ１　Ｄ３７）；ウェルあたり３０μＬ；製造業者の使用説明書の通りに標識した）を添加し、軌道振盪（１５００ｒｐｍ）しながら室温で２時間インキュベートし、上記の同一プレート洗浄プロトコールを続けた。組換えヒト可溶性ＴＬ１Ａを使用してＴＬ１Ａ標準曲線を作成した。製造業者の手順に従って、プレートを読み取り、ＭＳＤソフトウェアを用いてサイトカインの標準曲線および血漿中濃度を算出した。同様であるが、捕捉および検出の両方のために非競合抗体を使用するプロトコールを使用して、全ＴＬ１Ａ（１Ｄ１　１．３１不含および１Ｄ１　１．３１結合型可溶性ＴＬ１Ａ）を検出した。

【０６６１】

ｐｇ／１ｍＬの血漿でのＩＦＮγまたは可溶性ＴＬ１Ａのいずれかの濃度を抗体濃度の対数に対してプロットすることによって、抗体１Ｄ１　１．３１阻害用量反応曲線を作成した。ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍ（登録商標）（バージョン５．０２、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｓｏｆｔｗａｒｅ，Ｉｎｃ、Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ、ＣＡ）　非線形回帰曲線フィットおよびアンタゴニスト用量反応（可変傾斜、４パラメータ）モデル（方程式１）のＳ字対数を使用して、これらのグラフから１Ｄ１　１．３１のＩＣ５０値を決定した。

方程式１：

対数（阻害剤）対反応－可変傾斜（４パラメータ）

Ｙ＝Ｂｏｔｔｏｍ＋（Ｔｏｐ－Ｂｏｔｔｏｍ）／（１＋１０＾（（ＬｏｇＩＣ５０－Ｘ）＊ＨｉｌｌＳｌｏｐｅ））

式中、Ｙはサイトカインの濃度であり、Ｘはアンタゴニスト１Ｄ１　１．３１（方程式１）濃度であり、Ｔｏｐは、Ｓ字曲線の上部プラトーに対応する最大Ｙ値であり、Ｂｏｔｔｏｍは、Ｓ字曲線の下部プラトーに対応する最小Ｙ値であり、ＬｏｇＩＣ５０は、最大と最小の間の中ほどにある屈曲点でのアンタゴニストの濃度の対数である。ＩＣ５０値は、平均および標準偏差（ＳＴＤＥＶ）を使用して実験にわたって要約した。

【０６６２】

１Ｄ１　１．３１の、ヒト全血におけるＤＲ３発現性一次細胞の内因性ＴＬ１Ａ活性化を阻害する効力および能力を、ＩＣ（単球でのＴＬ１Ａ発現を上方調節する）ならびにＩＬ－１２およびＩＬ－１８（ＮＫおよびＮＫＴ細胞でのＣＤ３発現を上方調節する）による刺激に応じたＩＦＮγの放出を測定するアッセイにおいて評価した。末梢血白血球でのＴＬ１AおよびＤＲ３の構成的発現の欠如のために、また内因性ＴＬ１Ａ関与の際の下流ＤＲ３活性化（ＩＦＮγ分泌など）を測定するために、単球でのＴＬ１Ａおよび反応しているＮＫまたはＮＫＴでのＤＲ３の発現の上方調節が必要である。最適刺激条件は、ＩＣ刺激による単球でのＴＬ１Ａ上方調節ならびにＩＬ－１２およびＩＬ－１８サイトカインの組合せによるＮＫおよびＮＫＴ細胞でのＤＲ３の上方調節の動態を実証するこれまでの実験から導いた。単一刺激条件（例えば、ＩＣのみまたはＩＬ－１２／ＩＬ－１８のみ）は、ＩＣ刺激が、達成されるＴＬ１Ａ上方調節のレベルにとって十分であることおよびＩＬ－１２／ＩＬ－１８単独が、ＤＲ３を上方調節するのに十分であることを示した。しかし、両刺激は、発現の上方調節に対するその効果を超えて最適機能的反応のために協力する可能性が高い。条件はまた、サイトカイン製造およびその製造のＴＬ１Ａ依存のために最適化した。ＩＣならびにＩＬ－１２およびＩＬ－１８刺激後の平均ＩＦＮγ濃度は、４０８９±２９０８ｐｇ／ｍＬ（２８９～８９４６ｐｇ／ｍＬにわたる；非刺激血液を上回る平均５３７倍の誘導；ｎ＝１４；８人の個別のドナー）であった。図１６Ａにおける代表的な実験について、ＩＣならびにＩＬ－１２およびＩＬ－１８によって刺激された全血によるＩＦＮγ生成の１Ｄ１　１．３１用量依存性阻害が示される。より高い飽和１Ｄ１　１．３１濃度で、阻害は、完全阻害を達成することなく最大に達し、これは、反応の部分阻害を示唆する。これは、多数の炎症促進性経路が炎症性サイトカイン生成につながることおよび使用される刺激条件がＴＬ１Ａ／ＤＲ３経路に対して特異的ではなく、ＴＬ１Ａ／ＤＲ３経路に加えてその他の経路を活性化する可能性が高いことを考えると、驚くべきことではない。測定されるＩＦＮγ反応は、ＴＬ１Ａ依存性および独立性経路によって提供される可能性が高い。それにも関わらず、これらの条件下で、この系における１Ｄ１　１．３１によるＩＦＮγ分泌の平均最大阻害が、６２％±１０％　ｎ＝１４；８人の個別のドナー；３８～７７％にわたる）であり、ＴＬ１Ａ依存性反応が、およそ反応の平均２／３を占めることおよびＴＬ１Ａ独立性機序もこのアッセイ系において全ＩＦＮγ生成に寄与することを示唆するので、ＴＬ１Ａ経路が、反応の主要な原因であると思われる。ＴＬ１Ａ媒介性反応のＩＣ５０を算出することによって１Ｄ１　１．３１の効力を決定した。１Ｄ１　１．３１は、ＩＣによって全血において上方調節された内因性ＴＬ１AによるＩＦＮγ分泌を阻害し、２７７±１２５ｐＭのＩＣ５０を有していた（ｎ＝１１；８人の個別のドナー）。

【０６６３】

１Ｄ１　１．３１が、ＩＣならびにＩＬ－１２およびＩＬ－１８刺激に応じたＩＦＮγレベルに対するその抑制について評価される同一ヒト末梢血アッセイでは、１Ｄ１　１．３１はまた、ｓＴＬ１Ａ血漿レベルに対するその効果についても評価される。ヒト全血のＩＣならびにＩＬ－１２およびＩＬ－１８刺激は、内因性可溶性ＴＬ１Ａの９４０±２９３ｐｇ／ｍＬの平均値への上昇をもたらした（図１６Ｂ；５３５～１４０９ｐｇ／ｍＬにわたる；非刺激血液を上回る平均５０倍の誘導；ｎ＝８、５人の個別のドナー）。２４時間でのｓＴＬ１Ａのこれらの増大は、ＩＣ刺激の際の早期時点で単球で最大に、一過性に

発現されることがわかった。単球膜ＴＬ１Ａからのタンパク質分解による切断を反映する可能性が高い。可溶性ＴＬ１Ａへの１Ｄ１　１．３１結合は、１Ｄ１　１．３１不含可溶性ＴＬ１Ａの用量依存性の完全な枯渇によって測定した。１Ｄ１　１．３１は、抗体不含可溶性ＴＬ１Ａを枯渇させ、１．０６±１．６８ｐＭの平均ＩＣ５０値（ｎ＝８；５人の個別のドナー）を有していた。ｓＴＬ１Ａの存在は、全ｓＴＬ１Ａの測定（抗体が結合しているＴＬ１Ａも検出し得る）によって確認した。ＩＦＮγ生成の阻害は、抗体不含可溶性ＴＬ１Ａの枯渇が≧９０％である１Ｄ１　１．３１の濃度で開始した。抗体不含ｓＴＬ１Ａ枯渇の、およびＩＦＮγ阻害のＩＣ５０値の差異は、膜結合型ＴＬ１Ａ活性が、細胞間相互作用を媒介することによってＩＦＮγ生成を媒介し得ることを示唆する。実際、早期アッセイ発色実験は、ＩＬ－１２／ＩＬ－１８刺激された血液への、同様に高濃度の内因性可溶性ＴＬ１Ａを含有する血漿の付加は、単球でのＴＬ１Ａ上方調節のＩＣ刺激ほど、ＩＦＮγ生成の増大に対して効果的ではないことを示した。

【０６６４】

本明細書に開示されるデータは、１Ｄ１　１．３１が、ヒト末梢血における内因性膜型および可溶性型のＴＬ１Ａの活性の強力な阻害剤であることを実証する。１Ｄ１　１．３１は、ＩＣならびにＩＬ－１２およびＩＬ－１８刺激による、単球でのＴＬ１Ａの、およびエフェクター細胞でのＤＲ３のヒト末梢血上方調節および活性化後にＩＦＮγ分泌を阻害し、２７７±１２５ｐＭの平均ＩＣ５０値を有していた。

【実施例１４】

【０６６５】

カニクイザル全血の免疫複合体およびＩＬ－１２／ＩＬ－１８刺激に応じた、ＩＦＮγ生成の阻害および抗体不含可溶性ＴＬ１Ａの枯渇

この研究の目的は、膜で発現された内因性ＴＬ１ＡおよびＤＲ３の上方調節および活性化の条件下で、サイトカイン分泌を測定する、カニクイザル末梢血におけるアッセイにおいて、抗ＴＬ１Ａ抗体１Ｄ１　１．３１の中和活性および効力を評価することであった。このアッセイでは、膜結合型のＴＬ１Ａの発現が、ＴＬ１Ａの両方の型、細胞会合型および可溶性型の阻害ならびに生理学的に関連のあるｅｘ　ｖｉｖｏカニクイザル全血系における可溶性ＴＬ１Ａ標的適用範囲の評価を可能にする。

【０６６６】

これらの実験に使用した１Ｄ１　１．３１抗体は、ＣＨＯ細胞において生成された。アイソタイプ対照抗体は、１Ｄ１　１．３１と同一の３つのエフェクター機能－ヌル突然変異を含有する同様にヒトＩｇＧ１抗体である抗体とした。組換えカニクイザル可溶性ＴＬ１Ａ（ｃｙｎｏ　ｒｓＴＬ１Ａ）（Ｌｅｕ７２－Ｌｅｕ２５１、配列番号２５９を参照のこと）は、当技術分野で公知の標準プロトコールを使用して生成された。

【０６６７】

ｃｙｎｏ血液の免疫複合体（ＩＣ）ＩＣ刺激のために、実験当日にＩＣプレートを調製した。９６ウェル（９６）、平底組織培養プレートを、ウェルあたり５０μＬの、リン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）中、１ｍｇ／ｍｌのヒト免疫グロブリンＧ（ｈＩｇＧ）を用いてコーティングし、３７℃で１時間インキュベートした。次いで、ウェルを、ウェルあたり１５０μＬのＰＢＳを用いて３回洗浄した。ＰＢＳを除去した後、ウェルあたり５０μＬの、ＰＢＳ中、０．０４ｍｇ／ｍｌのマウス抗ヒトＩｇＧを添加し、プレートを３７℃で１時間インキュベートした。次いで、プレートを、ウェルあたり１５０μＬのＰＢＳを用いて３回洗浄し、その後、使用した。

【０６６８】

ＩＣならびにＩＬ－１２およびＩＬ－１８刺激のために、カニクイザル血液をナトリウムヘパリンコーティングした試験管中に採取し、採血後１時間内に使用した。ヒトＩＬ－１２（１ｎｇ／ｍＬの最終濃度）およびヒトＩＬ－１８（１０ｎｇ／ｍＬの最終濃度）を、血液と混合し、その後、ＩＣコーティングしたプレートの各ウェルに９５μＬの血液／ＩＬ－１２／ＩＬ－１８混合物を添加した。１Ｄ１　１．３１の阻害性効力を評価するために、ウェルあたり５μＬの、ＰＢＳ中、０．１％ウシ血清アルブミン（ウシ血清アルブ

ミン）中の２０×最終濃度の１Ｄ１　１．３１（またはアイソタイプ対照抗体）を添加することによって、１２の濃度用量反応曲線を作成した。１Ｄ１　１．３１（またはアイソタイプ対照抗体）濃度は、実験の一部のセットについては、１０００００、３３３３３、１１１１１、３７０３．７、１２３４．５、４１１．５、１３７．１７、１３．７１７、１．３７１７、０．１３７１７および０．０１３７および０．００１３７ｐＭならびに実験のその他のセットについては、１００００００、２００００、４０００、８００、１６０、３２、６．４、０．６４、０．０６４、０．００６４、０．０００６４および０．０００００６４ｐＭとした。すべての実験は、３連で行った。対照は、抗体を伴わない刺激ならびに刺激なしまたは単一刺激対照（ＩＣのみまたはＩＬ－１２／ＩＬ－１８のみ）を３連で含んでいた。３７℃で２４時間培養した後、２００μＬの、ＰＢＳ中、５％のウシ血清アルブミンを添加し、１００μＬの血液培養物と十分に混合して、血漿を希釈した（希釈係数：３）。プレートを９３０×ｇ（２０００ｒｐｍ）で１５分間遠心分離した後に、ウェルあたり１５０（１５０）μＬの希釈した血漿を回収し、ＭＳＤ（Ｍｅｓｏｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ、Ｒｏｃｋｖｉｌｌｅ、ＭＤ）ベースのリガンド結合アッセイを使用して、ＩＦＮγおよび１Ｄ１　１．３１不含型のＴＬ１Ａの定量化のために直ちに試験した。ＩＦＮγを、ＭＳＤヒトＩＦＮγキット（カタログ番号Ｋ１５１ＡＥＢ－１）を製造業者の使用説明書に従って使用して測定した。手短には、１Ｄ１　１．３１不含ｓＴＬ１Ａを測定するために、ＭＳＤ黒色プレート（ＭＳＤ、カタログ番号Ｌ１５ＸＡ－６）を、ウェルあたり３０μＬの、ＰＢＳ中の４μｇ／ｍＬの抗ＴＬ１Ａクローン番号２６Ｂ１１を用いて、４℃で一晩コーティングした。翌日、プレートを、ウェルあたり１５０μＬの、ＰＢＳ中、０．１％のＴｗｅｅｎ　２０を用いて３回、続いて、ウェルあたり１５０μＬのブロッキング液剤（ＰＢＳ中、５％のウシ血清アルブミン）を用いて洗浄し、次いで、プレートを軌道振盪（１５００ｒｐｍ）しながら室温で１時間インキュベートした。プレートを上記のように洗浄した後、４０μｌの血漿試料を添加し、４℃で２時間インキュベートし、同じ洗浄を３回続け、１μｇ／ｍＬのＳｕｌｆｏ－タグ標識した検出Ａｂ（ＭＳＤ抗ＴＬ１Ａクローン番号１Ｄ１　１．３１；ウェルあたり３０μＬ；製造業者の使用説明書の通りに標識した）の添加を続けた。プレートを軌道振盪（１５００ｒｐｍ）しながら室温で２時間インキュベートし、上記の同一プレート洗浄プロトコールを続けた。組換えカニクイザル可溶性ＴＬ１Ａを使用してＴＬ１Ａ標準曲線を作成した。製造業者の手順に従って、プレートを読み取り、ＭＳＤソフトウェアを用いてサイトカインの標準曲線および血漿中濃度を算出した。

【０６６９】

ＩＣ５０決定

ｐｇ／１ｍＬの血漿でのＩＦＮγまたは可溶性ＴＬ１Ａのいずれかの濃度を抗体濃度の対数に対してプロットすることによって、１Ｄ１　１．３１阻害用量反応曲線を作成した。ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍ（登録商標）（バージョン５．０２、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｓｏｆｔｗａｒｅ，Ｉｎｃ、Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ、ＣＡ）非線形回帰曲線フィットおよびアンタゴニスト用量反応（可変傾斜、４パラメータ）モデル（方程式１）のＳ字対数を使用して、これらのグラフから１Ｄ１　１．３１のＩＣ５０値を決定した。

方程式１：

対数（阻害剤）対反応－可変傾斜（４パラメータ）

Ｙ＝Ｂｏｔｔｏｍ＋（Ｔｏｐ－Ｂｏｔｔｏｍ）／（１＋１０＾（（ＬｏｇＩＣ５０－Ｘ）＊ＨｉｌｌＳｌｏｐｅ））

式中、Ｙはサイトカインの濃度であり、Ｘはアンタゴニスト１Ｄ１　１．３１（方程式１）濃度であり、Ｔｏｐは、Ｓ字曲線の上部プラトーに対応する最大Ｙ値であり、Ｂｏｔｔｏｍは、Ｓ字曲線の下部プラトーに対応する最小Ｙ値であり、ＬｏｇＩＣ５０は、最大と最小の間の中ほどにある屈曲点でのアンタゴニストの濃度の対数である。ＩＣ５０値は、平均および標準偏差（ＳＴＤＥＶ）を使用して実験にわたって要約した。

【０６７０】

免疫複合体およびＩＬ－２／ＩＬ－１８によって活性化された全血におけるＩＦＮγ生成

の１Ｄ１　１．３１阻害
　１Ｄ１　１．３１の、カニクイザル全血におけるＤＲ３発現性一次細胞の内因性ＴＬ１Ａ活性化を阻害する能力を、ＩＣ（単球でのＴＬ１Ａ発現を上方調節する）ならびにＩＬ－１２およびＩＬ－１８（ＮＫおよびＮＫＴ細胞でのＣＤ３発現を上方調節する）による刺激に応じたＩＦＮγの放出を測定するアッセイにおいて評価した。ヒト全血において開発されたアッセイから実験条件を適応させ、カニクイザル血液におけるサイトカイン生成のためにさらに最適化した。ＩＣならびにＩＬ－１２およびＩＬ－１８刺激後の平均ＩＦＮγ濃度は、２２２±２２０ｐｇ／ｍＬ（９９～６６７ｐｇ／ｍＬにわたる；非刺激血液を上回る平均２２２倍の誘導；ｎ＝６匹のサル）であった。このＩＦＮγ生成は、おそらくは、ヒト（カニクイザルの代わりに）ＩＬ－１２およびＩＬ－１８を使用して経路を活性化したという事実のために、ヒト血液において（４０８９±２９０８ｐｇ／ｍＬ）よりも低い。それにも関わらず、ＩＣ刺激は、ヒト血液においてと同様のレベルのｓＴＬ１Ａ生成をもたらし、系は、試験品の薬理学的活性の評価のために適当であった。図１７Ａにおける代表的な実験について、ＩＣならびにＩＬ－１２およびＩＬ－１８によって刺激されたサル全血細胞によるＩＦＮγ生成の、１Ｄ１　１．３１による用量依存性阻害が示されている。最高飽和１Ｄ１　１．３１濃度で、阻害は、完全阻害を達成することなく最大阻害のプラトーに到達し、これは、反応の部分阻害を示唆する。これは、使用される刺激条件がＴＬ１Ａ／ＤＲ３経路に対して特異的ではなく、炎症性サイトカインの生成をもたらし得るその他の経路も活性化する可能性が高いことを考えると、驚くべきことではない。したがって、測定されるＩＦＮγ反応は、ＴＬ１Ａ依存性および独立性経路によって提供される可能性が高い。それにも関わらず、これらの条件下で、この系における１Ｄ１　１．３１によるＩＦＮγ分泌の平均最大阻害が、７１％±２１％（ｎ＝６匹の異なるサル；５０～９９％にわたる）であり、ＴＬ１Ａ依存性反応が、およそ反応の平均２／３を占めることを示唆するので、ＴＬ１Ａ経路が、反応の主要な原因であると思われる。これらの結果はまた、ヒト系においてと同様であった（平均最大阻害は、６２％±１０％であった）。ＴＬ１Ａ媒介性反応のＩＣ５０を算出することによって１Ｄ１　１．３１の効力を決定した。１Ｄ１　１．３１は、ＩＣによってサル全血において上方調節された内因性ＴＬ１ＡによるＩＦＮγ分泌を阻害し、３６±４２ｐＭのＩＣ５０を有していた（ｎ＝６匹のサル；６～１１９ｐＭにわたる）。これらの結果は、カニクイザルＴＬ１Ａ／ＤＲ３経路についての１Ｄ１　１．３１の阻害性効力は、ヒト経路の阻害におけるその効力（２７７±１２５ｐＭのＩＣ５０）と同様であるか、それより高いことを示す。このアッセイでは、アイソタイプ対照抗体による用量依存性阻害はなかった。

【０６７１】

免疫複合体ならびにＩＬ－１２／ＩＬ－１８によって活性化された、および１Ｄ１　１．３１によって処理された全血における可溶性ＴＬ１Ａレベル
　１Ｄ１　１．３１が、ＩＣならびにＩＬ－１２およびＩＬ－１８刺激に応じたＩＦＮγレベルに対するその抑制について評価された同一ヒト末梢血アッセイでは、１Ｄ１　１．３１はまた、ｓＴＬ１Ａ血漿レベルに対するその効果についても評価された。サル全血のＩＣならびにＩＬ－１２およびＩＬ－１８刺激は、内因性可溶性ＴＬ１Ａの１５１９±６８６ｐｇ／ｍＬの平均値への上昇をもたらした（図１７Ｂ；４８５～２５９７ｐｇ／ｍＬにわたる；非刺激血液を上回る平均１１６倍の誘導；ｎ＝６匹のサル）。これらの値は、ヒト全血において測定されたもの（９４０±２９３ｐｇ／ｍＬ；５０倍誘導）と同様であり、また、カニクイザル血液のＩＣ刺激単独を用いて（ＩＬ－１２／ＩＬ－１８なし）測定された値１４３０±２１１ｐｇ／ｍＬとも同様であった。２４時間でのｓＴＬ１Ａのこれらの増大は、ＩＣ刺激の際の早期時点でヒト単球で最大に、一過性に発現されることがわかった。可溶性ＴＬ１Ａへの１Ｄ１　１．３１結合は、１Ｄ１　１．３１不含可溶性ＴＬ１Ａの用量依存性低減によって測定した。１Ｄ１　１．３１は、抗体不含可溶性ＴＬ１Ａを枯渇させ、２２±３５ｐＭの平均ＩＣ５０値を有していた（０．１１４～９０ｐｇ／ｍＬにわたる；ｎ＝６匹のサル）。対応するヒトＩＣ５０値は、１．０６±１．６８であった。

【０６７２】
抗ＴＬ１Ａ抗体１Ｄ１　１．３１は、ＩＣならびにＩＬ－１２およびＩＬ－１８を用いる刺激によるカニクイザル末梢血におけるＴＬ１Ａ／ＤＲ３経路の活性化後にＩＦＮγ分泌を阻害し、３６±４５ｐＭの平均ＩＣ５０値を有する。これらの値は、カニクイザルにおいて薬理学的活性を示し、ヒト末梢血における１Ｄ１　１．３１の効力に匹敵する。
【実施例１５】
【０６７３】
１Ｄ１変異体抗体を使用する生物学的アッセイ
上記のＮＦｋＢアッセイ、カスパーゼアッセイおよびヒト全血サイトカインアッセイ（実施例１１、１２および１３）を、抗体１Ｄ１　１．２７、１Ｄ１　１．２８、１Ｄ１　１．２９、１Ｄ１　１．３０、１Ｄ１　１．３１、１Ｄ１　１．３２、１Ｄ１　１．３３および１Ｄ１　１．３４を用いて反復した。これらの実験の結果は、表１９に要約されている。親和性成熟された抗体の各々は、１Ｄ１親抗体を上回る改善された活性を実証した。
【０６７４】
【表２５】

表 19: NFκB アッセイにおける抗体 1D1 および親和性成熟された変異体の平均 IC50

	平均 IC50 (pM)		
抗体	カスパーゼアッセイ	NFkB アッセイ	HWB アッセイ
1D1 親	216.6	742.0	247.8
1D1 1.27	70.2	139.6	0.968
1D1 1.28	96.2	189.3	N/T
1D1 1.29	85	281.1	N/T
1D1 1.30	102.6	370.4	N/T
1D1 1.31	106.5	150.1	1.667
1D1 1.32	61.5	180.4	N/T
1D1 1.33	145.6	200.3	N/T
1D1 1.34	62.7	181.9	N/T

N/T=試験されていない

【実施例１６】
【０６７５】
抗体１Ｄ１親と結合しているＴＬ１Ａのエピトープマッピング
本開示では、抗原および抗体の残基は、その他の分子中に孤立電子対を有する水素結合アクセプター原子の３．２Å内に位置する１つの分子中に水素結合ドナー原子（陽性水素と結合している）を含む場合に、水素結合しているといわれる。
【０６７６】
抗体および抗原の残基は、その他の分子中に負電荷を有する原子の４Å内の１つの分子中に正電荷を有する原子を含有する場合に形成するといわれる。
【０６７７】
残基あたりの溶媒排除を、複合体中の抗体および抗原の各残基の溶媒が接近可能な表面積を算出することおよびこれを個別に考えられる２種の成分の溶媒が接近可能な表面積の合計から差し引くことによって決定した。
【０６７８】
溶媒が接近可能な表面積は、ＳｔｒａｋｅおよびＲｕｐｌｅｙ（Ｊ　Ｍｏｌ　Ｂｉｏｌ　７９（２）：３５１～７１頁、１９７３）の方法に従って算出した。対によって埋まった表面積を使用して、結合エネルギーに対する埋まった表面積の全体的な効果への、抗体

および抗原に由来する残基の対の個々の貢献を推定した。埋まった表面積は、対分解可能ではないので、エピトープ中の各残基の埋まった表面積を、個々の抗体残基各々の存在下で、抗体の残りの部分の不在下で算出した。次いで、これらの個々の寄与を、所与のエピトープ残基の埋まった表面積への、すべての抗体残基のすべての個々の寄与の合計が、全抗体の結合によるそのエピトープ残基の合計の埋まった表面積に等しいように正規化した。このプロセスを、抗体残基の埋まった表面積への、エピトープ残基の個々の寄与について逆に反復した。表に示される残基の各対の値は、その残基の対のこれら２つの算出の合計である。

【０６７９】

１Ｄ１を伴うＴＬ１Ａの共結晶構造の分析

相同ＴＮＦファミリーメンバーの、その受容体との共結晶構造に基づいて、ＴＬ１Ａは、三量体ＴＬ１Ａ四次構造内のモノマー間の交差部で、その受容体、ＤＲ３と相互作用すると予測される。抗体１Ｄ１のエピトープは、この交差部に広がり（図５）、したがって、ＴＬ１Ａ上の受容体結合界面を直接塞ぐことによって受容体活性化を遮断すると予測される。１Ｄ１可変ドメインとＴＬ１Ａ上のエピトープ間の相互作用の幾何学は、単一の二量体の１Ｄ１分子が、三量体ＴＬ１Ａ分子上の２つのエピトープと同時に結合し得ることはありそうもないというようなものである。

【０６８０】

１Ｄ１を用いるＴＬ１Ａエピトープのマッピング

１Ｄ１結合は、１つのＴＬ１Ａモノマー（モノマーＡまたは鎖Ａ）が原因となる６９７Å^{2}およびその隣のもの（モノマーＢまたは鎖Ｂ）が原因となる３２１Å^{2}を有するＴＬ１Ａ上のおよそ１０１８Å^{2}の表面積を埋める。相互作用に関与する２つのモノマーの各々に由来する残基は、鎖Ａまたは鎖Ｂとして標識されている。相互作用の結合エネルギーへの各残基の全体的な寄与は、水素結合および塩橋を含む静電相互作用および埋まった表面積（ＢＳＡ）と関連しているファンデルワールス力の両方の関数である。

【０６８１】

図１８は、相互作用する残基の各対によって埋まるＴＬ１Ａおよび１Ｄ１の両方上の面積を示す。表２０、２１、２２および２３は、重鎖および軽鎖のＣＤＲ領域中に分けられた図１８から得られるデータを要約している。

【０６８２】

【表２６】

表 20: 抗 TL1A 抗体 1D1 親 CDR-H1(AbM によって定義される)および TL1A の間の相互作用における埋まった表面積。数字は、2 つの残基間の正規化された埋まった表面積を表す。

		1D1 重鎖 CHR-H1 残基					
TL1A モノマー	TL1A 残基	S25	G26	Y27	S28	T30	Y31
A	K113				18.8	42.1	
A	T115				28.6		
A	Y118	15.5	48.8	50.4	36.8		
A	P121						14.6
A	T122				28		59.2
A	Q123						43.5
B	L55					21.4	35.6
B	E171						22.4

【０６８３】

【表２７】

表21: 抗体1D1親CDR-H2/フレームワーク３とTL1Aの間の相互作用における埋まった表面積。数字は、２つの残基間の正規化された埋まった表面積を表す。相互作用が静電相互作用を含む場合には、埋まった表面積は、以下の符号化:h=水素結合、s=塩橋、w=水媒介性水素結合を用いて注釈がつけられている。

		1D1 重鎖 CHR-H2/フレームワーク 3 残基								
TL1A モノマー	TL1A 残基	W50	S52	Y53	N54	N56	T57	N58	T73	R76
A	Y118									50.5 h
A	M147			17.6 w						
A	F148			28.3						
A	S149			71.6 h						
A	Q151								71.9	
B	H51				12.7	26.6				
B	E52	36.2	15.8		22.4 h	33.1	6.4	34.8 h		
B	L53	33.4			5.9					
B	G54		9.5	21.9	4.5					
B	L55			62.7 w						
B	A56			18.7	18.8 h					
B	F57			30.7	30.2					
B	T58					33.2				

【０６８４】

【表２８】

表22: 抗体1D1親CDR-H3およびTL1Aの間の相互作用における埋まった表面積。数字は、２つの残基間の正規化された埋まった表面積を表す。相互作用が静電相互作用を含む場合には、埋まった表面積は、以下の符号化:h=水素結合、s=塩橋、w=水媒介性水素結合を用いて注釈がつけられている。

		1D1 重鎖 CHR-H3 残基							
TL1A モノマー	TL1A 残基	Y97	Y98	G99	S100	G100A	S100B	Y100C	R100D
B	V31					28.8			
B	V32					24.9			
B	R33					22.5 w	43.2		
B	E50								50.5 S
B	L53	44.7			16.4				55.8
B	G54	42.6			19.6				
B	E91						20.5		
B	Y168					14.7	33.6 h		
B	T169			3.1	12.1	10.3	27.7	15	
B	K170		25.9	40.2	11.8	10	2.1	15.8	
B	E171			34.3	36.5	13.8			

【０６８５】

【表２９】

表 23: 抗体 1D1 親軽鎖および TL1A 間の相互作用における埋まった表面積。数字は、２つの残基間の正規化された埋まった表面積を表す。相互作用が静電相互作用を含む場合には、埋まった表面積は、以下の符号化:h=水素結合、s=塩橋、w=水媒介性水素結合を用いて注釈がつけられている。

		1D1 軽鎖残基			
TL1A モノマー	TL1A 残基	S31	Y32	W94	W96
B	V32		7.4		
B	R33	34.7 h	56.8 w		
B	E52			42.7 h	
B	L53			21.2	27

【０６８６】

１００Å^{2}より大きい埋まった表面積を有するエピトープ中に３つの重要な残基がある。これらは、ＴＬ１Ａ鎖ＡまたはモノマーＡ上のチロシン１１８（Ｙ１１８）ならびにＴＬ１Ａ鎖ＢまたはモノマーＢ上のグルタミン酸５２（Ｅ５２）およびロイシン５３（Ｌ５３）である。鎖Ｂ上のアルギニン３３も、９３．４Å^{2}の大きな埋まった表面積を有する。これらの残基は、受容体結合間隙の両側で重要な相互作用を規定する。

【０６８７】

ＴＬ１Ａ－１Ｄ１複合体の結晶構造において見られる、９つの直接水素結合（残基：Ｙ１１８、Ｓ１４９、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｅ５２、Ａ５６およびＹ１６８によって形成される）、４つの水媒介性水素結合（Ｍ１４７、Ｒ３３およびＬ５５）および１つの塩橋（Ｅ５０）がある。これらは、表２４に列挙されている。さらなる水素結合および塩橋相互作用の導入は、１Ｄ１の親和性最適化された型において見られる改善のほとんどに関与している。

【０６８８】

【表３０】

表 24: TL1A および抗体 1D1(親)の間の静電相互作用に関与する残基。

塩橋される残基対			
TL1A 鎖	残基数	1D1 鎖	残基数
B	50	H	100D
水素結合される残基対			
TL1A 鎖	残基数	1D1 鎖	残基数
A	118	H	76
A	149	H	53
B	33	L	31
B	50	H	100D
B	52	H	54
B	52	H	58
B	52	L	94
B	56	H	54
B	168	H	100B
共有される水残基対			
TL1A 鎖	残基数	1D1 鎖	残基数
A	147	H	53
B	55	H	53
B	33	H	100A
B	33	L	32

【０６８９】

表２５には、抗体１Ｄ１親と結合している場合に、２０Å^{2}またはそれ以上の埋まった表面積を有する静電相互作用を有するＴＬ１Ａエピトープ残基が要約されている。

【０６９０】

【表３１】

表25: 静電相互作用および/または1D1との相互作用によって20Å^{2}を超える埋まった表面積(BSA)を有するTL1Aエピトープ残基。静電相互作用符号:H=水素結合、S=塩橋、W=水媒介性水素結合

TL1A モノマー	TL1A 残基	埋まった表面積	静電相互作用	
A	K113	25.0		
A	Y118	118.1	H	
A	T122	43.7		
A	S149	39.1	H	
A	Q151	38.8		
B	R33	93.4	H	W
B	E50	20.4	H	S
B	E52	110.5	H	
B	L53	118.1		
B	G54	51.3		
B	L55	53.4	W	
B	A56	11.9	H	
B	F57	26.3		
B	T58	20.1		
B	Y168	15.6	H	
B	T169	33.0		
B	K170	46.0		
B	E171	49.0		

【０６９１】

以下の表２６には、抗体１Ｄ１との重要な相互作用、すなわち、１００Å^{2}を超える埋まった表面積を有するか、または埋まった塩橋相互作用に関与しているＴＬ１Ａ残基が要約されている。

【０６９２】

【表３２】

表26: 埋まった表面積(BSA)>100Å^{2}を有するか、または埋まった塩橋相互作用に関与しているTL1Aエピトープ残基

TL1A モノマー	TL1A 残基	BSA	静電相互作用	
A	Y118	118.1	H	
B	E50	20.4	H	S
B	E52	110.5	H	
B	L53	118.1		

【０６９３】

さらに、いくつかのＴＬ１Ａ残基は、抗体の３．８Å内にあり、その多くは、上記で同定された静電相互作用残基；Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｔ１２２、Ｆ１４８、Ｓ１４９、Ｑ１５１、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｒ３３、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｆ５７、Ｅ９１、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０およびＥ１７１と重複する。これらは、Ｔ

Ｌ１Ａモノマー上のエピトープ残基の位置に関する注釈とともに表２７に示されている。

【０６９４】

【表３３】

表 27: 抗体 1D1 親の残基の 3.8Å内の TL1A 残基

TL1A モノマー	TL1A 残基	抗体鎖	抗体残基
A	113	H	30
A	118	H	26
A	118	H	27
A	118	H	76
A	122	H	31
A	148	H	53
A	149	H	53
A	151	H	73
B	31	H	100A
B	32	H	100A
B	33	H	100A
B	33	H	100B
B	33	L	30
B	33	L	31
B	33	L	32
B	50	H	100D
B	52	H	50
B	52	H	54
B	52	H	56
B	52	H	58
B	52	L	94
B	53	H	50
B	53	H	100D
B	54	H	53
B	54	H	97
B	54	H	100
B	55	H	53
B	56	H	53
B	56	H	54
B	57	H	54
B	91	H	100B
B	168	H	100A
B	168	H	100B
B	169	H	100
B	169	H	100B
B	170	H	99
B	171	H	99
B	171	H	100

【０６９５】

抗体１Ｄ１上のパラトープは、ＴＬ１Ａと結合している場合には、ほとんど完全にその

重鎖中にある。重鎖ＣＤＲ－Ｈ１およびＣＤＲ－Ｈ２領域は、両ＴＬ１Ａ鎖と接触する。特に、１Ｄ１重鎖チロシン３１およびチロシン５３は、両ＴＬ１Ａモノマーと幅広く接触する。重鎖ＣＤＲ－Ｈ３は、１つのみのＴＬ１Ａモノマーと幅広く接触する。１Ｄ１のフレームワーク３ループとＴＬ１Ａの間にもまた、２種の相当な相互作用がある。１Ｄ１の軽鎖は、多数の、重鎖よりも小さい接触をするが、ＴＬ１Ａとの相互作用において役割を果たす。抗体１Ｄ１のパラトープ残基は、表２８に列挙されている。

【０６９６】

【表３４】

表 28: 静電相互作用および/またはTL1A との相互作用によって埋まる 20Å^2 を超える表面を有する、抗体 1D1 親のパラトープ残基。静電相互作用符号:H=水素結合、S=塩橋、W=水媒介性水素結合

抗体鎖	Kabat 位置	残基	埋まった表面積	TL1A との静電相互作用	
H	26	GLY	23.5		
H	27	TYR	20.2		
H	28	SER	57.7		
H	30	THR	33.2		
H	31	TYR	99.0		
H	50	TRP	28.4		
H	53	TYR	152.7	H	W
H	54	ASN	58.1	H	
H	56	ASN	48.2		
H	58	ASN	13.1	H	
H	73	THR	33.0		
H	76	ARG	22.6	H	
H	97	TYR	39.2		
H	99	GLY	45.1		
H	100	SER	50.1		
H	100A	GLY	72.2	W	
H	100B	SER	79.4	H	
H	100D	ARG	54.0	H	S
L	32	TYR	29.7	W	
L	94	TRP	26.1	H	

【実施例１７】

【０６９７】

抗体１Ｄ１　１．３１によるＴＬ１Ａの結合エピトープのマッピング

１．３１を伴うＴＬ１Ａの共結晶構造の分析

ＴＬ１Ａの抗体１Ｄ１　１．３１との複合体の結晶構造も、解析した。１Ｄ１　１．３１の結合様式は、本質的にその親抗体のものと同一である。１Ｄ１と１Ｄ１　１．３１の間に３つの配列の差異がある。重鎖残基２８でのセリンからアスパラギン酸への変更は、１Ｄ１：ＴＬ１Ａ複合体結晶構造の上記のコンピュータによる分析によって示差された。１Ｄ１複合体中のセリンヒドロキシルは、適当な水素結合パートナーを有さない（図１１）。アスパラギン酸での置換によって、ＴＬ１Ａトレオニン１２２との水素結合およびＴＬ１Ａリシン１１３との塩橋の形成が可能になる。いくつかの周囲の残基のさらなるコンフォメーション変化があり、その結果、１Ｄ１－ＴＬ１Ａ複合体中で外を向いていたＴＬ１Ａチロシン１１８が、１Ｄ１　１．３１複合体中のエピトープの中心に向かって内側に向けられる。

【０６９８】
重鎖位置５８でのアスパラギンからヒスチジンへの変更は、ファージディスプレイ親和性最適化アプローチから見出された。ヒスチジン１２２は、ＴＬ１Ａグルタミン酸５２とのより強い静電相互作用を生じると推測された（図１２）。
【０６９９】
抗体重鎖位置１００Ｂでのアラニンのセリンとの置換による結合における何らかの改善の構造的基礎は、あまり明らかではない。元のセリンは、明確な水素結合パートナーを有さない。いずれか特定の理論に拘束されようとは思わないが、アラニンとの置換によるセリンヒドロキシルの除去は、不飽和水素結合ドナーおよびアクセプター原子を用いて埋まった極性基を排除することによって複合体を安定化することがあり得る。
【０７００】
１Ｄ１　１．３１とＴＬ１Ａの間の相互作用の全リストが、図１９および表２９～３８に示されている。１Ｄ１を有する構造において見られる水媒介性水素結合は、１Ｄ１　１．３１を有する構造では見られない。これは、後者の構造のより低い解像度による可能性がある。そのより緊密な結合にも関わらず、抗体結合による埋まった表面積全体は、１Ｄ１　１．３１について（８７７Å^2）、１Ｄ１（１０１８Å^2）よりも幾分か低い。この差異の多くは、上記のＴＬ１Ａ　チロシン１１８が絡むコンフォメーション変化による。いずれか特定の理論に拘束されようとは思わないが、１Ｄ１　１．３１の結合の増強は、重鎖残基２８および５８の静電相互作用の改善による可能性がある。
【０７０１】
ＴＬ１Ａ－１Ｄ１複合体の結晶構造中に見られる、１１の直接水素結合（残基：Ｔ１２２、Ｓ１４９、Ｅ５０、Ｅ５２、Ａ５６、Ｙ１６８、Ｔ１６９およびＥ１７１によって形成される）および３つの塩橋（Ｋ１１３、Ｅ５０、Ｅ５２）がある。これらは、表２９に列挙されている。さらなる水素結合および塩橋相互作用の導入は、１Ｄ１を上回って見られる親和性改善のほとんどに関与していると思われる。
【０７０２】

【表３５】

表 29: TL1A および抗体 1D1 1.31 の間の静電相互作用に関与する残基

塩橋される残基対			
TL1A モノマー	TL1A 残基	1D1 1.31 鎖	1D1 1.31 残基
B	E50	H	100D
B	E52	H	58
A	K113	H	28
水素結合される残基対			
TL1A モノマー	TL1A 残基	1D1 1.31 鎖	1D1 1.31 残基
A	T122	H	28
A	S149	H	53
B	E50	H	100D
B	E52	H	54
B	E52	H	58
B	E52	L	94
B	A56	H	54
B	Y168	H	100B
B	T169	H	100
B	T169	H	100B
B	E171	H	99

【０７０３】

【表３６】

表 30: 抗 TL1A 抗体 1D1 1.31 CDRH1(AbM によって定義される)と TL1A の間の埋まった表面積相互作用。数字は、2 つの残基間の正規化された埋まった表面積を表す。相互作用が静電相互作用を含む場合には、埋まった表面積は、以下の符号化:h=水素結合、s=塩橋、w=水媒介性水素結合を用いて注釈がつけられている。

		1D1 1.31 重鎖 CDR-H1 残基				
TL1A モノマー	TL1A 残基	G26	Y27	D28	T30	Y31
A	K113			29.3 s	18	
A	S117	24.5	7.7			
A	Y118	15.2	37.3	54.2		
A	P119	28.8				
A	T122			37.4 h		50.2
A	Q123					42.2
A	Q151			6.6	41.6	
B	L55				21.8	38.9
B	E171					26.4

【０７０４】

【表３７】

表31: 1D1 1.31 CDRH2/フレームワーク３とTL1Aの間の相互作用における埋まった表面積。数字は、２つの残基間の正規化された埋まった表面積を表す。相互作用が静電相互作用を含む場合には、埋まった表面積は、以下の符号化:h=水素結合、s=塩橋、w=水媒介性水素結合を用いて注釈がつけられている。

		1D1 1.31 重鎖 CDR-H2/FW3 残基							
TL1A モノマー	TL1A 残基	W50	S52	Y53	N54	N56	H58	T73	R76
A	S117								44.5
A	M147			7.8					
A	F148			32.7					
A	S149			71.8 h					
A	Q151							47.2	
B	H51				14.1				
B	E52	33.3	16.2		25.8 h	56.3	33.3 S		
B	L53	33.1							
B	G54		12	23.2	4.1				
B	L55			57.8					
B	A56			20.2	17.3 h				
B	F57			30.2	31				

【０７０５】

【表３８】

表32: 1D1 1.31 CDR-H3とTL1Aの間の相互作用における埋まった表面積。数字は、２つの残基間の正規化された埋まった表面積を表す。相互作用が静電相互作用を含む場合には、埋まった表面積は、以下の符号化:h=水素結合、s=塩橋、w=水媒介性水素結合を用いて注釈がつけられている。

		1D1 1.31 重鎖 CDR-H3 残基						
TL1A モノマー	TL1A 残基	Y97	G99	S100	G100A	A100B	Y100C	R100D
B	V31				32			
B	V32				27.6			
B	R33				13.2			
B	E50							42.0 S
B	L53	43		16				46.3
B	G54	40.9		19.8				
B	Y168			1.7	15.9	43.2 h		
B	T169		5	14.5 h	10.6	28.8 h	21.7	
B	K170		25.6	7.1	8.2	2.8		
B	E171		30.9 h	36.9	14.3			
B	D172		5.9					

【０７０６】

【表３９】

表 33: 1D1 1.31 軽鎖と TL1A の間の相互作用における埋まった表面積。数字は、2 つの残基間の正規化された埋まった表面積を表す。相互作用が静電相互作用を含む場合には、埋まった表面積は、以下の符号化:h=水素結合、s=塩橋、w=水媒介性水素結合を用いて注釈がつけられている。

		1D1 1.31 軽鎖残基		
TL1A モノマー	TL1A 残基	L Y32	L W94	L W96
B	R33	45.5		
B	E52		40.2 h	
B	L53		22.5	30.2

【０７０７】
【表４０】

表 34: 静電相互作用および/または 1D1 1.31 との相互作用によって 20Å^2 を超える埋まった表面を有する TL1A エピトープ残基。静電相互作用符号:H=水素結合、S=塩橋、W=水媒介性水素結合

TL1A モノマー	TL1A 残基	埋まった表面積	静電相互作用	
A	K113	17.7	S	
A	S117	41.9		
A	Y118	48.9		
A	T122	43.9	H	
A	S149	35.4	H	
A	Q151	49.3		
B	R33	31.6		
B	E50	19.6	H	S
B	E52	110.9	H	S
B	L53	113.8		
B	G54	51.3		
B	L55	56.3		
B	A56	10.7	H	
B	F57	26.4		
B	Y168	25.6	H	
B	T169	43.6	H	
B	E171	51.2	H	

【０７０８】

【表４１】

表35: 静電相互作用および/またはTL1Aとの相互作用によって20Å^{2}を超える埋まった表面を有する1D1 1.31パラトープ残基。静電相互作用符号:H=水素結合、S=塩橋、W=水媒介性水素結合

鎖	残基	Kabat位置	BSA	静電相互作用	
H	GLY	26	32.8		
H	ASP	28	76.3	H	S
H	THR	30	34.1		
H	TYR	31	88.1		
H	TRP	50	25.2		
H	TYR	53	151.1	H	
H	ASN	54	50.5	H	
H	ASN	56	35.1		
H	HIS	58	11.1	H	S
H	THR	73	24.7		
H	ARG	76	24.0		
H	TYR	97	36.0		
H	GLY	99	38.5	H	
H	SER	100	48.2	H	
H	GLY	100A	68.0		
H	ALA	100B	46.9	H	
H	ARG	100D	41.7	H	S
L	TYR	32	20.9		
L	TRP	94	26.3	H	

【０７０９】

【表４２】

表36: 埋まった表面積>100Å^{2}を有し、埋まった塩橋に関与するか、または1D1親抗体の親和性最適化の際に変更された残基との相互作用に関与する、TL1A-1D1 1.31結合エピトープ残基

TL1A モノマー	TL1A 残基	埋まった表面積	静電相互作用	
A	K113	17.7	S	
A	Y118	48.9		
A	T122	43.9	H	
B	E50	19.6	H	S
B	E52	110.9	H	S
B	L53	113.8		

【０７１０】

さらに、いくつかのＴＬ１Ａ残基は、抗体１Ｄ１　１．３１と結合している場合に３．８Å内にある；Ｋ１１３、Ｙ１１８、Ｐ１１９、Ｔ１２２、Ｑ１２３、Ｆ１４８、Ｓ１４９、Ｖ３１、Ｖ３２、Ｅ５０、Ｅ５２、Ｌ５３、Ｇ５４、Ｌ５５、Ａ５６、Ｙ１６８、Ｔ１６９、Ｋ１７０およびＥ１７１（表３７）。

【０７１１】

【表４３】

表 37 1D1 1.31 の 3.8 オングストローム内の原子を有する TL1A 結合エピトープ残基

抗原鎖	抗原残基	抗体鎖	抗体残基
A	K113	H	28
A	Y118	H	27
A	Y118	H	28
A	P119	H	26
A	T122	H	28
A	T122	H	31
A	Q123	H	31
A	F148	H	53
A	S149	H	53
B	V31	H	100A
B	V32	H	100A
B	E50	H	100D
B	E52	H	52
B	E52	H	54
B	E52	H	56
B	E52	H	58
B	E52	L	94
B	L53	H	50
B	L53	H	97
B	L53	H	100D
B	G54	H	53
B	G54	H	97
B	L55	H	31
B	L55	H	53
B	A56	H	53
B	A56	H	54
B	Y168	H	100A
B	Y168	H	100B
B	T169	H	100
B	T169	H	100A
B	T169	H	100B
B	K170	H	99
B	E171	H	31
B	E171	H	99
B	E171	H	100

【実施例１８】

【０７１２】

ＴＬ１Ａ抗体１Ｄ１　１．３１の製剤化

抗体１Ｄ１　１．３１は、１００ｍｇ／バイアルの有効性成分含量の注射のための液剤のための散剤として提供される。薬物製品は、コーティングされたゴム栓およびフリップオフアルミニウムシールで密閉された、６ｍＬタイプの１つの透明ガラスバイアル中で供

給される。薬物製品は、静脈内投与（ＩＶ）を可能にするために２．２ｍＬの滅菌注射水（ｓＷＦＩ）を用いて全容量で、または静脈内（ＩＶ）投与もしくは皮下（ＳＣ）投与を可能にするために１．０ｍＬのｓＷＦＩを用いておよそ半分の容量で再構成されるよう設計される。製剤は、凍結乾燥粉末としての、１０ｍＭヒスチジン、５％スクロース、０．０１％ポリソルベート－８０　ｐＨ５．８であり、全容量で再構成される場合の、１０ｍＭヒスチジン、５％スクロース、０．０１％ポリソルベート－８０　ｐＨ５．８であり、半分の容量で再構成される場合の、２０ｍＭヒスチジン、１０％スクロース、０．０２％ポリソルベート－８０　ｐＨ５．８である。

【０７１３】

薬物製品の製造において使用されるすべての成分およびその機能は、以下の表３８に提供される。

【０７１４】

【表４４】

表 38: 注射用液剤のための抗体 1D1 1.31 散剤、100mg/バイアルの組成

成分名	機能	単位製剤 (mg/バイアル)	単位製剤再構成 全容量(mg/mL)	単位製剤再構成 半容量(mg/mL)
1D1 1.31	有効成分	100	50	100
L-ヒスチジン	バッファー成分[a]	1.2	0.6	1.2
L-ヒスチジン、塩酸塩、一水和物	バッファー成分[a]	2.6	1.3	2.6
スクロース(低内毒素)	凍結保護物質、等張剤	100	50	100
ポリソルベート-80	界面活性剤	0.2	0.1	0.2
注射水	溶媒(凍結乾燥の際に除去される)	2.0mL まで適量	1.0mL まで適量	1.0mL まで適量
窒素	バイアルヘッドスペース	必要に応じて	N/A	N/A

【０７１５】

過剰充填

全容量再構成後にバイアルから２ｍＬの容量が引き出され得ることおよび半容量再構成後にバイアルから１ｍＬの容量が引き出され得ることを確実にするために、０．４ｍＬの過剰充填がある。製造過剰はない。

【０７１６】

抗体１Ｄ１　１．３１薬物製品は、５０ｍｇ／ｍＬの濃度で製剤化し、凍結乾燥のために２．４ｍＬを各バイアルに充填する。投薬に先立って、異なる注射容量および濃度に適応するよう、薬物製品を全容量または半容量のいずれかに再構成する。全容量再構成のためには、２．２ｍＬの滅菌注射水をバイアルに添加し、その結果、再構成されたおよそ２．４ｍＬの総容量が得られ、そのうち、２．０ｍＬが投薬のために引き出され得る。全容量再構成は、静脈内（ＩＶ）投与に適している。半容量再構成のためには、１．０ｍＬの滅菌注射水をバイアルに添加し、その結果、再構成されたおよそ１．２ｍＬの総容量が得られ、そのうち、１．０ｍＬが投薬のために引き出され得る。半容量再構成は、静脈内（ＩＶ）投与または皮下（ＳＣ）投与のいずれかに適している。全容量および半容量再構成両方のためにバイアルに添加される再構成容量は、凍結乾燥ケーキの容量を考慮する。抗体１Ｄ１　１．３１薬物製品は、放出し、安定性試験は、２．２ｍＬの滅菌注射水を用いる全容量再構成後に実施する。

【０７１７】

凍結乾燥製剤のための賦形剤の選択は、長期の薬物製品有効期間および温度変動に関する頑強性を可能にする安定性プロファイルを備えた、ＩＶ注入およびＳＣ注射用の、再構成の際に適当な液剤を達成するよう行った。さらに、製剤は、原薬の凍結および解凍サイ

クルに関して頑強であるよう設計される。
【０７１８】
ｐＨ５．８の、スクロースおよびポリソルベート８０を伴うヒスチジンの選択は、初期製剤開発研究に基づいていた。ポリソルベート８０は、凝集体形成の可能性を低減するために１Ｄ１　１．３１製剤に添加されている。スクロースは、凍結乾燥および貯蔵安定性のためのその安定性効果のために選択された。製剤のために選択されたスクロースの量は、半容量で再構成された場合に等張性液剤を狙うものである。
【０７１９】
開発研究は、投与成分適合性を評価し、提案された臨床研究設計を支援する時間を保持するために実施した。これらの研究の結論は、投与形態は、提案された臨床研究において使用される投与成分と適合し、用量調製および投与の間、安定であるということである。
【実施例１９】
【０７２０】
ＴＬ１Ａおよび相同体への抗ＴＬ１Ａ抗体クローン１Ｄ１　１．３１の結合特異性
これらの研究の目的は、ヒトＴＬ１Ａ（ＴＮＦＳＦ１５）対その最も近いヒト相同体：それぞれ、ＴＬ１Ａと３６％、３５％、３１％、３０％、２９％および２５％同一である；ＴＮＦＳＦ６（ＦＡＳリガンド）；ＴＮＦＳＦ１０（ＴＲＡＩＬ）；ＴＮＦＳＦ１４（ＬＩＧＨＴ）；ＴＮＦ－β；ＴＮＦ－アルファ；およびリンホトキシン－βアイソフォームに対する１Ｄ１　１．３１の結合特異性を評価することであった。
【０７２１】
材料および方法
１Ｄ１　１．３１結合選択性を、プレートベースのＥＬＩＳＡアッセイにおいて評価した。
【０７２２】
各サイトカインへの１Ｄ１　１．３１の結合を調べるために、各サイトカインおよびＴＬ１Ａを９６ウェルプレートで別個に試験した。すべての条件を２連で実施した。各プレートの最初の６列は、試験品サイトカインを用いてコーティングし、最後の２列は、陽性対照としてＴＬ１Ａを用いてコーティングした。列１および２は、試験品サイトカインを、漸増濃度のその対応する抗サイトカイン陽性対照抗体への結合について試験した２連の列とした。列３および４は、漸増濃度の抗ＴＬ１Ａアイソタイプ対照抗体８．８に対して試験した２連の列とし；列５から８は、漸増濃度の抗ＴＬ１Ａ抗体１Ｄ１　１．３１に対して試験した（サイトカイン試験品を含有する５および６の２連の列ならびに抗ＴＬ１Ａ抗体の陽性対照としてＴＬ１Ａを含有する７および８の２連の列）。各サイトカインの実験は、３回反復した。
【０７２３】
手短には、各ウェルに、５０μＬの、ＰＢＳ中のサイトカインの１μｇ／ｍＬ液剤を添加することによって、プレートをサイトカインを用いてコーティングした（列１～６は、試験品サイトカインを用いてコーティングし、列７および８は、ＴＬ１Ａを用いてコーティングした）（Ｒ＆Ｄ　ｓｙｓｔｅｍｓ製のＴＮＦＳＦ６、ＴＮＦＳＦ１０、ＴＮＦＳＦ１４およびＴＮＦ－α、Ｓｉｇｍａから購入したヒトリンホトキシンα２－β１およびリンホトキシンα１－β２、Ｐｅｐｒｏｔｅｃｈ製のヒトＴＮＦ－β）。プレートを４℃で一晩インキュベートした。プレートを、プレートウォッシャー（モデルＥＬｘ４０５；ＢｉｏＴｅｋ）を使用して３００μＬのＰＢＳＴを用いて３回（３×）洗浄した後、各ウェルにおいて３００μＬのブロッキングバッファー（ＰＢＳＴ＋０．５％　ＢＳＡ）とともに室温で１時間インキュベートすることによってプレートをブロッキングした。プレートを上記のようにＰＢＳＴを用いて３回洗浄し、その後、５０μＬの、２５μｇ／ｍＬの出発濃度の（２５μｇ／ｍＬ～２×１０$^{-6}$μｇ／ｍＬの範囲の合計１１種の抗体濃度のために、ＰＢＳＴ＋０．５％　ＢＳＡでの１：５のその後の希釈を続けた）、対応する抗体液剤（種々の列について上記で示したような）およびＰＢＳＴのみの対照を添加した。プレートを室温で１時間インキュベートし、次いで、プレートウォッシャーを使用して３０

０μＬのＰＢＳＴを用いて５回洗浄し、５０μＬの、１：５０００抗ヒトＩｇＧ　ＨＲＰ（Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｉｍｍｕｎｏｒｅｓｅａｒｃｈ製）（抗ＴＬ１Ａ；アイソタイプ対照８．８または抗ＴＮＦ－αインフリキシマブ抗体の検出のため）；または１：８０００のストレプトアビジンＨＲＰ（Ｐｉｅｒｃｅ／Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ製）（ビオチン化抗ヒトＴＮＦＳＦ６、ＴＮＦＳＦ１０、ＴＮＦＳＦ１４またはＴＮＦ－β、すべてＲ＆Ｄ　ｓｙｓｔｅｍｓ製の検出のため）；または１：５０００の抗マウスＩｇＧ　ＨＲＰ（Ｒ＆Ｄ　ｓｙｓｔｅｍｓ）（抗リンホトキシン検出のため）の添加および室温で１時間のインキュベーションを続けた。次いで、プレートウォッシャーを使用してＰＢＳＴを用いてプレートを５回洗浄した。各ウェルに５０μＬのホースラディッシュペルオキシダーゼ基質ＴＭＢ１を添加し、プレートを室温で５分間インキュベートし、その後、５０μＬの停止液剤（０．１８Ｍ　H_2SO_4）（Ｆｉｓｈｅｒ製のＴＭＢ１）を添加した。次いで、プレートリーダー（Ｅｎｖｉｓｉｏｎ；Ｐｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ）で４５０ｎｍでプレートを読み取った。抗体濃度の対数に対して４５０ｎｍでの光学濃度の値をプロットすることによって抗体結合曲線を作成した。これらのグラフから、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍ（登録商標）（バージョン５．０２、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｓｏｆｔｗａｒｅ，Ｉｎｃ．、Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ、ＣＡ）非線形回帰曲線フィットおよびアゴニスト（３パラメータ）用量反応モデルのＳ字対数を使用してEC_{50}値（ＴＬ１Ａへの１Ｄ１　１．３１結合またはその対応するサイトカインへのサイトカイン抗体結合の）を決定した。

【０７２４】

結果

抗ＴＬ１Ａ　１Ｄ１　１．３１は、試験した最も近いＴＬ１Ａ相同－サイトカインのいずれとも結合しなかったが、ＴＬ１Ａのサイトカイン相同体が試験された同一プレート中のＴＬ１Ａと結合した。試験した各サイトカインは、結合が抗リンホトキシン抗体の極めて高い抗体濃度でのみ検出されたリンホトキシンを除いて、その対応する抗サイトカイン特異的抗体と結合した。

【０７２５】

図２０は、ＴＬ１Ａの最も近い相同体、ＴＮＦＳＦ６への１Ｄ１　１．３１の結合の選択性を試験するための実験結果を示す（ｎ＝６；３回の２連での独立実験）。ＴＮＦＳＦ６は、抗ＴＮＦＳＦ６抗体（丸）と結合したが、抗ＴＬ１Ａ　１Ｄ１　１．３１（上向き三角）とは結合しなかった。ＴＬ１Ａは、１Ｄ１　１．３１と結合した。このプロットは、その特異的抗リンホトキシン抗体との結合が、高い抗体濃度でのみ起こったリンホトキシンを除く、試験したすべてのその他のサイトカインの代表するプロットである。

【０７２６】

表３９は、各プレートにおける、ＴＬ１Ａへの抗ＴＬ１Ａ　１Ｄ１　１．３１の結合および各対応するサイトカインへの抗サイトカイン抗体結合についての各サイトカイン実験（ｎ＝６；３回の２連での独立実験）について得られたEC_{50}値を示す。

【０７２７】

【表４５】

表39には、TL1Aへの抗TL1A 1D1 1.31の、および各サイトカインについて実施した３連の実験での、その対応するサイトカインへのそれぞれの抗サイトカイン抗体の結合について得られたEC_{50}値が要約されている。

	EC_{50} (pg/mL)													
	TNF SF6	TL1A	TNF SF10	TL1A	TNF SF14	TL1A	TNFβ	TL1A	TNFα	TL1A	Lymβ1	TL1A	Lymβ2	TL1A
1D1 1.31	NB	8.5	NB	8	NB	8.4	NB	2.3	NB	8.2	NB	6.3	NB	5.8
サイトカインAB	3	Nd	1.8	Nd	1.8	Nd	2	Nd	40	Nd	NB	Nd	NB	Nd

NB=結合なし;Nd-:測定されなかったので適用なし。データは、２連で実施された３回の独立実験からのn=6。EC_{50}は、飽和抗体濃度で得られる最大光学濃度の半量をもたらす抗体の濃度として規定される。

【０７２８】

結論

１Ｄ１　１．３１は、ヒトＴＬ１Ａへの結合について選択的であり、ＴＬ１Ａの最も近い相同体：ＴＮＦＳＦ６、ＴＮＦＳＦ１０、ＴＮＦＳＦ１４、ＴＮＦ－β、ＴＮＦ－α、リンホトキシンα２－β１またはリンホトキシンα１－β２のいずれとも検出可能に結合しない。

【実施例２０】

【０７２９】

抗ＴＬ１Ａ抗体１Ｄ１　１．３１を使用するＴＬ１Ａ：ＤＲ３相互作用の阻害

目的

この研究の目的は、ＤＲ３発現性ＨＥＫ２９３細胞における、抗ＴＬ１Ａ抗体１Ｄ１　１．３１の、ＴＬ１Ａのその受容体ＤＲ３への結合を阻害する能力を評価することであった。

【０７３０】

材料および方法

ＤＲ３がトランスフェクトされたＨＥＫ２９３細胞を、ＰＢＳ　４％　ＦＣＳ中、ウェルあたり１００，０００細胞の細胞密度で９６ラウンドウェルプレートにプレーティングし、１０μｇ／ｍＬのビオチン化ＴＬ１Ａおよび１０種の濃度のために２倍希釈で０．５μｇ／ｍＬ～２５０μｇ／ｍＬの濃度範囲の漸増濃度の抗ＴＬ１Ａ抗体１Ｄ１　１．３１またはそのアイソタイプ対照（８．８　ＩｇＧ１　３ｍ）とともに４℃で１５分間インキュベートした。陽性対照として、細胞をビオチン化ＴＬ１Ａとともに抗体は全く伴わずにインキュベートした。並行実験では、ビオチン化ＴＬ１Ａをまた、非トランスフェクト親ＨＥＫ２９３細胞とともにインキュベートし、結合を有さないと実証した（示されていないデータ）。

【０７３１】

この１５分のインキュベーション後、細胞を４８５ｇで遠心分離し、上清を吸引し、細胞をストレプトアビジン－ＰＥ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）（ＰＢＳ／ウシ胎児血清（ＦＣＳ）で１：５００希釈）の液剤に再懸濁した。次いで、細胞を４℃で１５分間インキュベートした。インキュベーション後、細胞を同一バッファーを用いて３回洗浄し、２００μＬの同一バッファーに再懸濁し、ＴＬ１Ａの結合を、ＬＳＲ　Ｆｏｒｔｅｓｓａ　ｃｙｔｏｍｅｔｅｒ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）でのフローサイトメトリー分析によって調べた。

【０７３２】

データ分析

データをＦｌｏｗＪｏソフトウェアを用いて分析した。

【０７３３】
シングレット細胞を同定した後、ＰＥの細胞集団の蛍光強度の幾何平均を測定した。これは、ストレプトアビジン－ＰＥがどれほど多く細胞上にあるかの測定値であり、これは、ＴＬ１Ａ－ビオチンとのみ結合するはずである。未染色細胞の幾何平均を、バックグラウンドとしてすべての値から差し引いた。ストレプトアビジン単独対照バックグラウンドは、未染色細胞のバックグラウンドと同様であった。
【０７３４】
これらの補正した幾何平均値を、Ａｂ濃度の対数に対してプロットし、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍソフトウェアを用いてIC_{50}を算出した。
【０７３５】
結果
ビオチン化ＴＬ１Ａは、ＤＲ３－ＨＥＫ２９３トランスフェクトされた細胞と結合すると示され（しかし、非トランスフェクト細胞とは結合しない）、この結合は、抗ＴＬ１Ａ抗体１Ｄ１　１．３１によって完全に阻害された（図２１）。アイソタイプ対照抗体８．８ＩｇＧ１　３ｍは、阻害を全く示さなかった。１Ｄ１　１．３１は、１０μｇ／ｍＬのＴＬ１Ａの結合を１８．６８μｇ／ｍＬのIC_{50}値で阻害した。
【０７３６】
結論
ビオチン化ＴＬ１Ａは、ＤＲ３－ＨＥＫ２９３トランスフェクト細胞と結合すると示され（しかし、非トランスフェクト細胞とは結合しない）、この結合は抗ＴＬ１Ａ抗体１Ｄ１　１．３１によって完全に阻害されたが、アイソタイプ対照抗体８．８　ＩｇＧ１　３ｍによっては阻害されなかった。１Ｄ１　１．３１は、１０μｇ／ｍＬのビオチン化ＴＬ１Ａの結合を１８．６８μｇ／ｍＬのIC_{50}値で阻害した。
【実施例２１】
【０７３７】
代表的な抗体の熱安定性
目的
目的は、熱安定性に関して親和性成熟および構造ベースの設計によって作製した抗ＴＬ１Ａ抗体を特徴付けることおよびこれらの抗体の安定性が突然変異によって影響を受けなかったこと確認することであった。
【０７３８】
方法
示差走査熱量測定を、本質的に、参照により本明細書に組み込むＫｉｎｇら（２０１１）、Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｓｃｉ．、２０（９）：１５４６～１５５７頁に記載されたように実施した。手短には、抗体試料をＰＢＳで０．１ｍｇ／ｍＬに希釈した。Ｓｙｐｒｏ　Ｏｒａｎｇｅを、その元の５０００×濃度から２．５×の作業濃度に希釈した。２１０μＬの総容量を、ＰＣＲマイクロウェルプレート中の４つのウェルに分け、１分あたり１℃で２０～９５℃に加熱した。ＳＹＢＲフィルターを使用して蛍光を集めた。３ガウシアンにデータをフィッティングした後、各アンフォールディング遷移のＴｍ値ならびにアンフォールディングの開始を決定することができた。
【０７３９】
結果
表４３は、親抗体（１Ｄ１）と比較した、種々の突然変異された抗体の遷移温度を示す。
【０７４０】

【表４６】

構築物	Tm1	Tm2	Tm3	T1%
1D1	70.98±0.07	79.46±0.12	86.04±0.11	62.67
VH 1.29	71.32±0.06	80.90±0.11	85.67±0.37	61.64
VH 1.28	71.20±0.06	81.06±0.04	86.25±0.25	61.73
VH 1.32	70.42±0.03	78.72±0.02	85.61±0.35	61.77
VH 1.34	70.72±0.09	79.42±0.05	86.26±0.25	61.80
VH 1.27	71.90±0.04	82.38±0.09	87.00±0.19	61.85
VH 1.30	71.84±0.10	83.04±0.12	87.35±0.19	61.91
VH 1.33	71.48±0.16	81.14±0.10	86.75±0.07	62.06
VH 1.31	72.24±0.15	82.37±0.08	87.60±0.40	62.36

【０７４１】

Ｔ１％またはタンパク質が１％アンフォールディングされるまたはアンフォールディングの開始の温度を、Ｋｉｎｇら（同著）に記載されるように算出した。各融解温度は、異なる重要な界面の融解を指す。基準の抗体では、ＴＭ３は、２つのＣＨ３ドメインの界面が融解する温度であり、ＴＭ１は、２つのＣＨ２ドメインの界面が融解する温度であり、ＴＭ２は、重鎖および軽鎖の界面が融解する温度である。

【０７４２】

結論

試験したすべての抗体が安定であり、Ｔｍ１＞６５℃および５０℃より高いＴ１％を有していた。Ｆａｂドメインに対応するＴｍ２において、熱安定性の変動を見ることができた。

【実施例２２】

【０７４３】

抗ＴＬ１Ａ抗体の高濃度安定性試験

目的

生物学的製剤の安定性は、治療薬が、規定の期間その安全性および効力を維持するよう製剤化され得ることを確実にするために極めて重要な特徴である。本発明の抗ＴＬ１Ａ抗体の長期安定性を試験した。

【０７４４】

方法

抗体１Ｄ１　１．２７、１Ｄ１　１．３１および１Ｄ１　１．３２の試料を、Ａｍｉｃｏｎ　Ｕｌｔｒａ　４ｍＬおよび３０ｋＤａのカットオフ膜を備えたＶｉｖａｓｐｉｎ　５００遠心濃縮器で濃縮した。最終容量、通常、約３０μＬに達した時点で、すべての試料の濃度を１０倍希釈した後にＮａｎｏｄｒｏｐを使用して測定した。試料を約１５０ｍｇ／ｍＬに調整し、次いで、ＳＥＣバイアルに入れ、１５μＬの鉱油を上に乗せ、室温または４℃のいずれかに入れた。試料を凝集体の形成について毎週測定した。ＳＥＣ実施は、ＴＯＳＯＨ　ＧＳＫ－３００カラム上の１μＬの注入およびＰＢＳランニングバッファー、流速０．５ｍＬ／分からなるものであった。回収率は、曲線下面積を使用して算出した。

【０７４５】

結果および考察

試料を、１５０ｍｇ／ｍＬに濃縮し、ＮａｎｏｄｒｏｐおよびＳＥＣ回収数間で良好な一致が見られた。室温または４℃で１２週間後、約６週間で凝集の増大が始まり、１２週間後におよそ７．５％の凝集に達した抗体１Ｄ１　１．３２を除いて、すべての試料において２％未満の凝集体が見られた。したがって、全体的に、これらの抗体は、安定と思われ、１Ｄ１　１．３２抗体を除くすべてが、室温で１２週間後に高濃度で５％未満の凝集を示す。

【実施例２３】

【０７４６】
チリダニ（ＨＤＭ）誘発性アレルギー性気道疾患モデルにおける抗ＴＬ１Ａ抗体の効能
背景
ＴＮＦＲＳＦ２５としても知られるＤＲ３は、リンパ球細胞の種々のサブセット上に発現されるデスドメイン含有腫瘍壊死因子（ＴＮＦ）ファミリー受容体である。ＴＬ１Ａ、ＤＲ３のＴＮＦ－ファミリーリガンドは、骨髄細胞、例えば、樹状細胞によって発現され、リンパ球の炎症組織への蓄積ならびにタイプ１７およびタイプ２免疫応答に関与するサイトカインの放出に寄与する［Ｍｅｙｌａｎ，Ｆ．ら（２００８）Ｔｈｅ ＴＮＦ－ｆａｍｉｌｙ ｒｅｃｅｐｔｏｒ ＤＲ３ ｉｓ ｅｓｓｅｎｔｉａｌ ｆｏｒ ｄｉｖｅｒｓｅ Ｔ ｃｅｌｌ－ｍｅｄｉａｔｅｄ ｉｎｆｌａｍｍａｔｏｒｙ ｄｉｓｅａｓｅｓ．Ｉｍｍｕｎｉｔｙ ２９、７９～８９頁］。
【０７４７】
材料および方法
すべてのｉｎ－ｖｉｖｏ実験を、Ｐｆｉｚｅｒの動物実験委員会によって承認されたプロトコールに従って実施した。チリダニ（ＨＤＭ）誘発性アレルギー性気道疾患のマウスモデルは、Ｆｉｔｚ ＬＪら、第４６巻（２０１２）、７１～７９頁にこれまでに記載されている。手短には、８～１２週齢のＢＡＬＢ／ｃ雌マウスを、Ｔａｃｏｎｉｃ Ｆａｒｍｓ（Ｈｕｄｓｏｎ、ＮＹ）から購入した。研究の０、７および１４日目に、マウスをイソフランを用いて麻酔し、１００μｇの気管内に注入されるＨＤＭ抽出物（Ｄｅｒｍａｔｏｐｈａｇｏｉｄｅｓ ｐｔｅｒｏｎｙｓｓｉｎｕｓ、Ｇｒｅｅｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、Ｌｅｎｏｉｒ、ＮＣ）を与えた。抗ＴＬ１Ａ抗体（２０ｍｇ／ｋｇ、クローン１Ｄ１マウスＩｇＧ１－４ｍｕｔ）、抗ニワトリ盲腸コクシジウム（Ｅｉｍｅｒｉａ ｔｅｎｅｌｌａ）ＩｇＧ１アイソタイプ対照抗体またはビヒクル（生理食塩水）を、研究の０、２、４、７、９、１１、１４および１６日目に腹膜内に注射した。１７日目にすべての動物をCO_2窒息によって安楽死させ、気管支肺胞洗浄（ＢＡＬ）液試料を集めて、肺の炎症を評価した。マンホイットニーのＵ検定を使用して統計分析を実施した。群間の差異は、ｐ値＜０．０５について有意であると考えられた。
【０７４８】
結果
抗ＴＬ１Ａ治療によるＨＤＭ誘発性アレルギー性気道炎症の調節。Ｃｅｌｌ－Ｄｙｎ ３７００分析機器（Ａｂｂｏｔｔ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、Ａｂｂｏｔｔ Ｐａｒｋ、ＩＬ）を使用して総ＢＡＬ細胞型を決定し、Ｄｉｆｆ－Ｑｕｉｋ法によって染色したサイトスピンスライド上の細胞集団を手作業で評価することによって差次的細胞カウントが得られた。データは、各群、９～１０匹の動物／群の平均±ＳＥＭを表す。マウスを抗ＴＬ１Ａ抗体の腹膜内注射によって１週間あたり３回処置した場合、総ＢＡＬ細胞型は、ビヒクル処置動物と比較して大幅に減少した（ｐ＝０．０００２１）。図２２は、ＨＤＭを用いる３回の毎週の気管内抗原投与後に、マウスが、ＢＡＬリンパ球、マクロファージおよび好中球数も増大したが、好酸球増加症によって支配された頑強な気道炎症を発症したことを示す。対照ＩｇＧ１とは対照的に、１Ｄ１抗体の投与は、総ＢＡＬ細胞型、［図２２（ａ）］、ＢＡＬ好酸球数［図２２（ｂ）］（ｐ＜０．０００１、ビヒクル処理動物と比較して）、ＢＡＬリンパ球［図２２（ｃ）］（ｐ＝０．０２８５）およびＢＡＬマクロファージ［図２２（ｄ）］（ｐ＝０．０２０７）の有意な減少をもたらした。ＢＡＬ好中球は、このモデルにおいて小細胞集団を表すことは注目に値するが、ＢＡＬ好中球数は、抗ＴＬ１Ａ治療によって有意に調節されないと思われた［図２２（ｅ）］。
【０７４９】
結論
ＨＤＭを用いる反復気道抗原投与のマウスモデルにおいて使用した全身抗ＴＬ１Ａ処置は、好酸球増加症を含めたアレルギー性気道炎症を有意に軽減した。
【実施例２４】
【０７５０】

健常なボランティアにおける、抗ＴＬ１Ａ（１Ｄ１　１．３１）の単回静脈内および複数回皮下および静脈内用量の安全性、耐容性、薬物動態および薬動力学を評価するための第１相無作為化二重盲検第三者オープンプラセボ対照、用量漸増研究

目的

研究の第１次の目的は、健常な対象において、１Ｄ１　１．３１の単回（ＩＶ）および複数回注入（ＳＣおよびＩＶ）の投与の安全性および耐容性を決定することである。

【０７５１】

第２の目的は、単回ＩＶ注入ならびに複数回ＳＣおよびＩＶ用量後の１Ｄ１　１．３１のＰＫプロファイルを特徴付けることである。さらに、第２の目的は、１Ｄ１　１．３１の免疫原性を評価することである。

【０７５２】

最後に、研究の探索的目的は、１Ｄ１　１．３１の薬理学的効果の実証において情報を与え得る探索的バイオマーカーの評価を含む。

【０７５３】

エンドポイント

研究の第１次のエンドポイントは、有害事象（ＡＥ）と関連する用量制限または不耐容性治療の発生率、治療中に発生したＡＥ（ＴＥＡＥ）と治療中に発生した有害事象による退薬の発生率、重症度および因果関係；検査所見異常の発生率および規模；ならびにバイタルサイン、血圧（ＢＰ）および心電図（ＥＣＧ）パラメータにおける異常な、臨床上関連のある変化の同定を決定することである。

【０７５４】

第２の（薬物動態）エンドポイントは、検証済みアッセイによって決定されるべき、単回用量（ＳＡＤ）または複数回用量（ＭＡＤ）後の血清１Ｄ１　１．３１濃度の決定を含む。ＰＫパラメータは、ノンコンパートメント法によって作成され、それだけには限らないが、以下が挙げられる：

・単回漸増用量相（ＩＶ注入）：C_{max}、T_{max}、AUC_{14days}、AUC_{inf}、AUC_{last}、C_{max}（ｄｎ）、AUC_{inf}（ｄｎ）、AUC_{last}（ｄｎ）、ｔ１／２、平均滞留時間（ＭＲＴ）、分布容積（V_{ss}）およびクリアランス（ＣＬ）。

・複数回用量相（ＳＣ投薬およびＩＶ注入）：

・第１の用量：C_{max}、T_{max}、AUC_{τ}、C_{max}（ｄｎ）、AUC_{T}（ｄｎ）、ｔ１／２、ＭＲＴ、見かけの分布容積（Ｖｚ／Ｆ）、Ｖｓｓ、見かけの全身クリアランス（ＣＬ／Ｆ）およびＣＬ。

・複数回用量：C_{max}、T_{max}、AUC_{τ}、C_{max}（ｄｎ）、AUC_{T}（ｄｎ）、ｔ１／２、ＭＲＴ、Ｖｚ／Ｆ、V_{ss}、ＣＬ／Ｆ、ＣＬ、投薬間隔にわたる最小濃度（C_{min}）、定常状態での平均濃度（C_{av}）、観察された蓄積割合（R_{ac}）およびピーク対トラフ変動（ＰＴＦ）。

・さらなるパラメータ：対応するＩＶ用量でのＳＣ投与のバイオアベイラビリティ（Ｆ）の推定（AUC_{T}（ＳＣ、最初の用量）／AUC_{14days}（ＩＶ、単回用量）の割合）。

【０７５５】

第２の（免疫原性）エンドポイントは、抗薬物抗体（ＡＤＡ）の発生の発生率を含む。

【０７５６】

探索的エンドポイントは、血清および白血球分析における高感受性Ｃ反応性タンパク質（ｈｓＣＲＰ）およびＩＰ－１０遺伝子発現およびタンパク質濃度、総ＴＬ１Ａタンパク質濃度の評価を含む。

【０７５７】

研究設計

およそ９２人の健常な対象が、単一研究施設で以下に列挙される提案されたコホート中に登録された。今日までに、８０人を超える対象に、抗ＴＬ１抗体を種々の用量で投与し

た。

【０７５８】

開示された教示は、種々の適用、方法、キットおよび組成物を参照して記載されているが、本明細書における教示および以下の特許請求される本発明から逸脱することなく、種々の変法および改変を行うことができるということは認められよう。前記の実施例は、開示される教示をより良好に例示するために提供されるのであって、本明細書に提示される教示の範囲を制限するよう意図するものではない。本教示は、これらの例示的実施形態において記載したが、当業者ならば、これらの例示的実施形態の多数の変動および改変は、過度の実験を行わずに可能であるということは容易に理解されよう。すべてのこのような変動および改変は、本教示の範囲内にある。

【０７５９】

特許、特許出願、論文、教本などならびにそこで列挙された参考文献を含めた本明細書において引用されるすべての参考文献は、まだそうではない限り、参照によりその全文が本明細書に組み込まれる。組み込まれた文献および同様の材料のうち１つまたはそれ以上が、それだけには限らないが、定義された用語、用語の用法、記載された技術などを含めた本出願と異なるか、または矛盾する事象では、本出願が支配する。

【０７６０】

前記の記載および実施例は、本発明のある特定の実施形態を詳述し、本発明者らによって考慮される最良の様式を記載する。しかし、前記が教本中に現れ得るとどんなに詳述されようとも、本発明は、多数の方法で実施することができ、本発明は、添付の特許請求の範囲およびその任意の等価物に従って考えられなければならないということは理解されるであろう。

【０７６１】

【表４７】

表 40: 配列表

Kabat によって定義される CDR アミノ酸配列には下線が引かれており、CDR H1 アミノ酸配列は、イタリック体で示されている。重鎖配列では、エフェクターヌル突然変異にも下線が引かれている。

配列番号	説明	配列
2	9B3 軽鎖 V ドメイン (9B3-VL)の NA 配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCACTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCAC CATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAAC CAGAGAAAGCCCCTAAGTCCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAGAGTGGGGTCCCA TCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGTAGCCTGCA GCCTGAAGATTATGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTACCCGTACACTTTTG GCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA
4	9B3 重鎖 V ドメイン 1(9B3-VH1) の NA 配列	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT CTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTAACTATGCTCTGCACTGGGTCCGCCAGG CTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCACTTATATCATATGATGGAAGCGATAAATAC TACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCGCCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCT GTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAG ATCGGGAATATTGTACTTATAGTAGCTGCTCCTATGATGCTTTTGATATCTGGGGCCAA GGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
6	9B3 重鎖 V ドメイン 2(9B3-VH2) の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGGGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT CTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTTTGCTATGCACTGGGTCCGCCAGG CTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCACTTATACCGTTTGATGGAAGCAGTAACTAT TACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCT GTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAG ATAGGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTTTTCCTTTGATGCTTTTGATATCTGGGGCCAA GGGACACTGGTCACCGTCTCCTCA
7	9B3 全長軽鎖(9B3-LC) の AA 配列	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDYATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
8	9B3 全長軽鎖(9B3-LC) の NA 配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCACTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCAC CATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAAC CAGAGAAAGCCCCTAAGTCCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAGAGTGGGGTCCCA TCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGTAGCCTGCA GCCTGAAGATTATGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTACCCGTACACTTTTG GCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGTACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTC CCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAA CTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTA ACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGC ACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCAC CCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT
9	VH1 およびエフェクターヌル突然変異 IgG1 定常ドメインを有する 9B3 全長重鎖 (9B3-hIgG1-3m-HC1)の AA 配列	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYALHWVRQAPGKGLEWVALISYDGSDKY YADSVKGRFAISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDREYCTYSSCSYDAFDIWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP PCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

【０７６２】

【表４８】

10	VH1 およびエフェクターヌル突然変異 IgG1 定常ドメインを有する 9B3 全長重鎖 (9B3-hIgG1-3m-HC1)の NA 配列	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT CTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTAACTATGCTCTGCACTGGGTCCGCCAGG CTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCACTTATATCATATGATGGAAGCGATAAATAC TACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCGCCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCT GTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAG ATCGGGAATATTGTACTTATAGTAGCTGCTCCTATGATGCTTTTGATATCTGGGGCCAA GGGACAATGGTCACCGTCTCTTCAGCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGC ACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACT ACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCAC ACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGT GCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCA ACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCA CCGTGCCCAGCACCTGAAGCCGCTGGGGCACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACC CAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGA GCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAAT GCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCT CACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACA AAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAA CCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCT GACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATG GGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTC TTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTC ATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGT CCCCGGGT
11	VH2 およびエフェクターヌル突然変異 IgG1 定常ドメインを有する 9B3 全長重鎖 (9B3-hIgG1-3m-HC2)の AA 配列	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSFAMHWVRQAPGKGLEWVALIPFDGSSNY YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRNYYGSGSFSFDAFDIWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP PCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
12	VH2 およびエフェクターヌル突然変異 IgG1 定常ドメインを有する 9B3 全長重鎖 (9B3-hIgG1-3m-HC2)の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGGGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT CTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTTTGCTATGCACTGGGTCCGCCAGG CTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCACTTATACCGTTTGATGGAAGCAGTAACTAT TACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCT GTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAG ATAGGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTTTTCCTTTGATGCTTTTGATATCTGGGGCCAA GGGACACTGGTCACCGTCTCCTCAGCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGC ACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACT ACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCAC ACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGT GCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCA ACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCA CCGTGCCCAGCACCTGAAGCCGCTGGGGCACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACC CAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGA GCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAAT GCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCT CACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACA AAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAA CCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCT GACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATG GGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTC TTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTC ATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGT CCCCGGGT

【０７６３】

【表４９】

23	15A9軽鎖Vドメイン(15A9-VL)のNA配列	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCAC CCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAAC CTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCA GCCAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGA GCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAGCAACTGGCCGTGGACGTTCG GCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA
25	15A9重鎖Vドメイン(15A9-VH)のNA配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCACTGAAGGT CTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACCCCTTTACCAACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCACTTACAATGGTAACACTCAC TATGCACAGAAGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACATCCACGACCACAGC CTACATGGACCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
26	15A9全長軽鎖(15A9-LC)のAA配列	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIP ARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
27	15A9全長軽鎖(15A9-LC)のNA配列	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCAC CCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAAC CTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCA GCCAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGA GCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAGCAACTGGCCGTGGACGTTCG GCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGTACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTC CCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAA CTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTA ACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGC ACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCAC CCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT
28	エフェクターヌル突然変異IgG1定常ドメインを有する15A9全長重鎖(15A9-hIgG1-3m-HC)のAA配列	QVQLVQSGAEVKKPGASLKVSCKASGYPFTNYGISWVRQAPGQGLEWMGWISTYNGNTH YAQKLQGRVTMTTDTSTTTAYMDLRSLRSDDTAVYYCARENYYGSGSYRGGMDVWGQGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC PAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

【０７６４】

【表５０】

29	エフェクターヌル突然変異 IgG1 定常ドメインを有する 15A9 全長重鎖 (15A9-hIgG1-3m-HC)の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCACTGAAGGT CTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACCCCTTTACCAACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCACTTACAATGGTAACACTCAC TATGCACAGAAGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACATCCACGACCACAGC CTACATGGACCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCAGCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTC CTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCC CCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTC CCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCA AGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGC CCAGCACCTGAAGCCGCTGGGGCACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGA CACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACG AAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGT CCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCC TCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAG GTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTG CCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGC CGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTC TATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTC CGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGG GT
37	15C11 軽鎖 V ドメイン (15C11-VL) の NA 配列	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCAC CCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAAC CTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCA GCCAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGA GCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAGCAACTGGCCGTGGACGTTCG GCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA
39	15C11 重鎖 V ドメイン (15C11-VH) の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACTCCTTTACCACCTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCACTTACAATGGTAACACACAC TATGCACAGAAGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACATCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
40	15C11 全長軽鎖 (15C11-LC) の AA 配列	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIP ARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
41	15C11 全長軽鎖 (15C11-LC) の NA 配列	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCAC CCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAAC CTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCA GCCAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGA GCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAGCAACTGGCCGTGGACGTTCG GCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGTACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTC CCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAA CTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTA ACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGC ACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCAC CCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT

【０７６５】

【表５１】

42	エフェクターヌル突然変異 IgG1 定常ドメインを有する 15C11 全長重鎖 (15C11-hIgG1-3m-HC)の AA 配列	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTTYGISWVRQAPGQGLEWMGWISTYNGNTH YAQKLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAVYYCARENYYGSGSYRGGMDVWGQGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC PAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
43	エフェクターヌル突然変異 IgG1 定常ドメインを有する 15C11 全長重鎖 (15C11-hIgG1-3m-HC)の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACTCCTTTACCACCTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCACTTACAATGGTAACACACAC TATGCACAGAAGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACATCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCAGCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTC CTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCC CCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTC CCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCA AGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGC CCAGCACCTGAAGCCGCTGGGGCACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGA CACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACG AAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGT CCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCC TCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAG GTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTG CCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGC CGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTC TATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTC CGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGG GT
51	22F9 軽鎖 V ドメイン (22F9-VL)の NA 配列	GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCAC CATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGCAGTGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAAC CAGGGAAAGCTCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTGGGGTCCCA TCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCA GCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAATAGTTACCCGCTCACTTTCG GCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA
53	22F9 重鎖 V ドメイン (22F9-VH)の NA 配列	CAGGTCCAGCTTGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT TTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACCTTCACTAGCTATGCTATGCATTGGGTGCGCCAGG CCCCCGGACAAAGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAACGCTGGCAATGGTAACACAAAA TATTCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATTACCAGGGACACATCCGCGAGCACAGC CTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAAGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAG GGTATAGCAGTGCCTGGTTCGATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACC GTCTCTTCA
54	22F9 全長軽鎖(22F9-LC)の AA 配列	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

【０７６６】

【表５２】

55	22F9 全長軽鎖(22F9-LC)の NA 配列	GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCAC CATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGCAGTGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAAC CAGGGAAAGCTCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTGGGGTCCCA TCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCA GCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAATAGTTACCCGCTCACTTTCG GCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGTACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTC CCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAA CTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTA ACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGC ACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCAC CCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT
56	エフェクターヌル突然変異 IgG1 定常ドメインを有する 22F9 全長重鎖(22F9-hIgG1-3m-HC)の AA 配列	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYAMHWVRQAPGQRLEWMGWINAGNGNTK YSQKFQGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGYSSAWFDAFDIWGQGTMVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP EAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
57	エフェクターヌル突然変異 IgG1 定常ドメインを有する 22F9 全長重鎖(22F9-hIgG1-3m-HC)の NA 配列	CAGGTCCAGCTTGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT TTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACCTTCACTAGCTATGCTATGCATTGGGTGCGCCAGG CCCCCGGACAAAGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAACGCTGGCAATGGTAACACAAAA TATTCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATTACCAGGGACACATCCGCGAGCACAGC CTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAAGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAG GGTATAGCAGTGCCTGGTTCGATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACC GTCTCTTCAGCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAG CACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGG TGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTC CTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTT GGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACA AGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCT GAAGCCGCTGGGGCACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCAT GATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTG AGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCG CGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCA GGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCC CCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACC CTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA ACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTATAGCAAG CTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGT
65	26B11 軽鎖Vドメイン(26B11-VL)の NA 配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCACTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCAC CATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAACTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAAC CAGAGAAAGCCCCTAAGTCCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCA TCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCA GCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTACCCGTACACTTTTG GCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA
67	26B11 重鎖Vドメイン 1(26B11-VH 1)の NA 配列	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT CTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTAACTATGCTCTGCACTGGGTCCGCCAGG CTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCACTTATATCATATGATGGAAGCGATAAATAC TACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCGCCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCT GTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAG ATCGGGAATATTGTACTTATAGTAGCTGCTCCTATGATGCTTTTGATATCTGGGGCCAA GGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA

【０７６７】

【表５３】

69	26B11重鎖Vドメイン2(26B11-VH2)のNA配列	CAGGTTCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGGGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT CTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTTTGCTATGCACTGGGTCCGCCAGG CTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCACTTATACCGTTTGATGGAAGCAGTAACTAT TACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCT GTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAG ATAGGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTTTTCCTTTGATGCTTTTGATATCTGGGGCCAA GGGACACTGGTCACCGTCTCCTCA
71	26B11重鎖Vドメイン MDX(26B11-VH-MDX)のNA配列	CAGGTTCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT CTCCTGTGAAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTAACTATGCTATTCACTGGGTCCGCCAGG CTCCAGGCAAGGGGCTGGAATGGGTGGCACTTATACCATATGATGGAAGCAATAACTAT TACGCAGCCTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCT GTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAG ATAGGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTTTTCCTTTGATGCTTTTGATATCTGGGGCCAA GGCACAATGGTCACCGTCTCCTCA
72	26B11全長軽鎖(26B11-LC)のAA配列	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
73	26B11全長軽鎖(26B11-LC)のNA配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCACTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCAC CATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAACTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAAC CAGAGAAAGCCCCTAAGTCCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCA TCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCA GCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTACCCGTACACTTTTG GCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGTACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTC CCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAA CTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTA ACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGC ACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCAC CCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT
74	エフェクターヌル突然変異IgG1定常ドメインを有する26B11全長重鎖2(26B11-hIgG1-3m-HC)のAA配列	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSFAMHWVRQAPGKGLEWVALIPFDGSSNY YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRNYYGSGSFSFDAFDIWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP PCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

【０７６８】

【表５４】

75	エフェクターヌル突然変異 IgG1 定常ドメインを有する 26B11 全長重鎖 2(26B11-hIgG1-3m-HC)の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGGGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT CTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTTTGCTATGCACTGGGTCCGCCAGG CTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCACTTATACCGTTTGATGGAAGCAGTAACTAT TACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCT GTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAG ATAGGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTTTTCCTTTGATGCTTTTGATATCTGGGGCCAA GGGACACTGGTCACCGTCTCCTCAGCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGC ACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACT ACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCAC ACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGT GCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCA ACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCA CCGTGCCCAGCACCTGAAGCCGCTGGGGCACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACC CAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGA GCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAAT GCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCT CACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACA AAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAA CCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCT GACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATG GGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTC TTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTC ATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGT CCCCGGGT
89	7D4 軽鎖 V ドメイン (7D4-VL)の NA 配列	GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCAC CATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGCAGTGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAAC CAGGGAAAGCTCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTGGGGTCCCA TCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCA GCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAATAGTTACCCGCTCACTTTCG GCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA
91	7D4 重鎖 V ドメイン (7D4-VH)の NA 配列	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTTTACCAGCTATGGTATCAACTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGGGTGGATCAGCACTTACAATGGTAACACAAAC TCTGCACAGAAGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG CGCATAGCAGCAGCTGGTTTGATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACC GTCTCCTCA
92	7D4 全長軽鎖(7D4-LC)の AA 配列	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
93	7D4 全長軽鎖(7D4-LC)の NA 配列	GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCAC CATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGCAGTGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAAC CAGGGAAAGCTCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTGGGGTCCCA TCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCA GCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAATAGTTACCCGCTCACTTTCG GCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGTACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTC CCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAA CTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTA ACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGC ACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCAC CCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT

【０７６９】

【表５５】

94	エフェクターヌル突然変異 IgG1 定常ドメインを有する 7D4 全長重鎖 (7D4-hIgG1-3m-HC)の AA 配列	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGINWVRQAPGQGLEWMGWISTYNGNTN SAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARAHSSSWFDAFDIWGQGTMVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP EAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
95	エフェクターヌル突然変異 IgG1 定常ドメインを有する 7D4 全長重鎖 (7D4-hIgG1-3m-HC)の NA 配列	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTTTACCAGCTATGGTATCAACTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGGTGGATCAGCACTTACAATGGTAACACAAAC TCTGCACAGAAGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG CGCATAGCAGCAGCTGGTTTGATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACC GTCTCCTCAGCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAG CACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGG TGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTC CTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTT GGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACA AGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCT GAAGCCGCTGGGGCACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCAT GATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTG AGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCG CGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCA GGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCC CCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACC CTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA ACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTATAGCAAG CTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGT
103	1D1 軽鎖 V ドメイン (1D1-VL)の NA 配列	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCAC CCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAAC CTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCA GCCAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGA GCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAGCAACTGGCCGTGGACGTTCG GCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA
105	1D1 重鎖 V ドメイン (1D1-VH)の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACTCCTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCACTTACAATGGTAACACAAAC TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
106	1D1 全長軽鎖(1D1-LC) の AA 配列	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIP ARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

【０７７０】

【表５６】

107	1D1 全長軽鎖(1D1-LC)のNA配列	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCAC CCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAAC CTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCA GCCAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGA GCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAGCAACTGGCCGTGGACGTTCG GCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGTACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTC CCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAA CTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTA ACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGC ACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCAC CCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT
108	エフェクターヌル突然変異IgG1定常ドメインを有する1D1全長重鎖(1D1-hIgG1-3m-HC)のAA配列	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTYYGISWVRQAPGQGLEWMGWISTYNGNTN YARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAVYYCARENYYGSGSYRGGMDVWGQGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC PAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
109	エフェクターヌル突然変異IgG1定常ドメインを有する1D1全長重鎖(1D1-hIgG1-3m-HC)のNA配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACTCCTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCACTTACAATGGTAACACAAAC TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCAGCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTC CTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCC CCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTC CCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCA AGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGC CCAGCACCTGAAGCCGCTGGGGCACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGA CACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACG AAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGT CCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCC TCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAG GTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTG CCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGC CGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTC TATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTC CGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGG GT
117	1D1 D5 VHのNA配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACTCCTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCACTTACAATGGTAACACAAAC TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCTGGCGCCTTCAGAGGGGGTATGGACGGTTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
119	1D1 D18 VHのNA配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACTCCTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCTCTACTTACAATGGTAATACACAT TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA

【０７７１】

【表５７】

121	1D1 D21 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACTCCTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCTCGACCTACAATGGTAAAACACAC TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
123	1D1 D24 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACTCCTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCTCTCCCTACAATGGTAATACACAT TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
125	1D1 D25 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACTCCTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCTCCACCTACAATGGTGCTACACAT TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
127	1D1 D28 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACTCCTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCTCTACCTACAATGGTAAAACACAT TATGCACGGATGCACCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
129	1D1 D29 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACTCCTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCTCTTCCTACAATGGTAATACACAC TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
131	1D1 D31 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACTCCTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCTCTACCTACAATGGTAATAAACAT TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
133	1D1 D37 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACTCCTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCTCTACCTACAATGGTGGAACACAT TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
135	1D1 D38 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACTCCTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCTCTACCTACAATGGTGTTACACAT TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA

【０７７２】

【表５８】

137	1D1 D39 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACTCCTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCACTTACAATGGTAACACAAAC TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCTGGCGCCTACAGAGGTGGCATGGACGCTTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
139	1D1 DH3 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACTCCTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCTCTACCTACAATGGTAATACACAT TATGCACAGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
141	1D1 DH8 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACTCCTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCTCCGCCTACAATGGTAATACACAT TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
143	1D1 DH9 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACTCCTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCTCTCCATACAATGGTAAGACACAT TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
145	1D1 DH10 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACTCCTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCACTTACAATGGTAACACAAAC TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCTGGTGCTTACAGAGGTGGTATGGACGTTTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
147	1D1 1.1 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACGACTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCACTTACAATGGTAACACAAAC TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
149	1D1 1.2 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACAACTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCACTTACAATGGTAACACAAAC TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
151	1D1 1.3 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACCAATTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCACTTACAATGGTAACACAAAC TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA

【０７７３】

【表５９】

153	1D1 1.4 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACTCCTTTACCCACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCACTTACAATGGTAACACAAAC TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
155	1D1 1.5 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACAACTTTCGCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCACTTACAATGGTAACACAAAC TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
157	1D1 1.6 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACAACTTTACCCACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCACTTACAATGGTAACACAAAC TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
159	1D1 1.7 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACTCCTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCACTTACAATGGTAAGACAAAC TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
161	1D1 1.8 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACTCCTTTCGCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCACTTACAATGGTAACACACAC TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
163	1D1 1.9 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACTCCTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCACTTACAATGGTAACACACAC TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGGCTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
165	1D1 1.10 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACTCCTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCCCTTACAATGGTAAAACACAC TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGGCTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
167	1D1 1.11 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACTCCTTTCGCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCACTTACAATGGTAACACACAC TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGGCTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA

【０７７４】

【表６０】

169	1D1 1.12 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACAACTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCCCTTACAATGGTAAAACACAC TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGGCTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
171	1D1 1.13 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACTCCTTTACCCACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCCCTTACAATGGTAAAACACAC TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGGCTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
173	1D1 1.14 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACAACTTTACCCACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCCCTTACAATGGTAAAACACAC TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGGCTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
175	1D1 1.15 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACTCCTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCCCTTACAATGGTGGCACACAC TATGCACAGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGGCTTATAGAGGGGGTATGGACGCCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
177	1D1 1.16 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACTCCTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCCCTTACAATGGTGTCACACAC TATGCACAGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGGCTTATAGAGGGGGTATGGACGCCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
179	1D1 1.17 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACTCCTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCCCTTACAATGGTGCCACACAC TATGCACAGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGGCTTATAGAGGGGGTATGGACGCCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
181	1D1 1.18 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACTCCTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCCCTTACAATGGTAACAAGCAC TATGCACAGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGGCTTATAGAGGGGGTATGGACGCCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
183	1D1 1.19 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACTCCTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCACTTACAATGGTGGCACACAC TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGGCTTATAGAGGGGGTATGGACGCCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA

【０７７５】

【表６１】

185	1D1 1.20 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACTCCTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCCCTTACAATGGTAACACACAC TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGGCTTATAGAGGGGGTATGGACGCCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
187	1D1 1.21 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACTCCTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCACTTACAATGGTAACACACAC TATGCACAGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGGCTTATAGAGGGGGTATGGACGCCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
189	1D1 1 22 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACTCCTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCACTTACAATGGTGTCACACAC TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGGCTTATAGAGGGGGTATGGACGCCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
191	1D1 1.23 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACTCCTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCACTTACAATGGTGCCACACAC TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGGCTTATAGAGGGGGTATGGACGCCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
193	1D1 1.24 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACTCCTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCACTTACAATGGTAACAAACAC TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGGCTTATAGAGGGGGTATGGACGCCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
195	1D1 1.25 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACTCCTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCACTTACAATGGTAAGACACAC TATGCACGGATGCACCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGGCTTATAGAGGGGGTATGGACGCCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
197	1D1 1.26 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACTCCTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCACTTACAATGGTAACACACAC TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGGCTTATAGAGGGGGTATGGACGCCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
199	1D1 1.27 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACGACTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCTCTACTTACAATGGTAATACACAT TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA

【０７７６】

【表６２】

200	エフェクターヌル突然変異 IgG1 定常ドメインを有する 1D1 1.27 全長重鎖(1D1 1.27-hIgG1-3m-HC)の AA 配列	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYDFTYYGISWVRQAPGQGLEWMGWISTYNGNTH YARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAVYYCARENYYGSGSYRGGMDVWGQGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC PAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
201	エフェクターヌル突然変異 IgG1 定常ドメインを有する 1D1 1.27 全長重鎖(1D1 1.27-hIgG1-3m-HC)の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACGACTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCTCTACTTACAATGGTAATACACAT TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCAGCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTC CTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCC CCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTC CCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCA AGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGC CCAGCACCTGAAGCCGCTGGGGCACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGA CACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACG AAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGT CCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCC TCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAG GTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTG CCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGC CGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTC TATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTC CGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGG GT
206	1D1 1.28 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACGACTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCTCTACCTACAATGGTAATAAACAT TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
207	エフェクターヌル突然変異 IgG1 定常ドメインを有する 1D1 1.28 全長重鎖(1D1 1.28-hIgG1-3m-HC)の AA 配列	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYDFTYYGISWVRQAPGQGLEWMGWISTYNGNKH YARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAVYYCARENYYGSGSYRGGMDVWGQGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC PAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

【０７７７】

【表６３】

208	エフェクターヌル突然変異 IgG1 定常ドメインを有する 1D1 1.28 全長重鎖(1D1 1.28-hIgG1-3m-HC)の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACGACTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCTCTACCTACAATGGTAATAAACAT TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCAGCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTC CTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCC CCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTC CCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCA AGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGC CCAGCACCTGAAGCCGCTGGGGCACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGA CACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACG AAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGT CCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCC TCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAG GTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTG CCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGC CGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTC TATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTC CGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGG GT
213	1D1 1.29 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACGACTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCTCTACCTACAATGGTGGAACACAT TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
214	エフェクターヌル突然変異 IgG1 定常ドメインを有する 1D1 1.29 全長重鎖(1D1 1.29-hIgG1-3m-HC)の AA 配列	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYDFTYYGISWVRQAPGQGLEWMGWISTYNGGTH YARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAVYYCARENYYGSGSYRGGMDVWGQGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC PAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

【０７７８】

【表６４】

215	エフェクターヌル突然変異 IgG1 定常ドメインを有する 1D1 1.29 全長重鎖(1D1 1.29-hIgG1-3m-HC)の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACGACTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCTCTACCTACAATGGTGGAACACAT TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCAGCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTC CTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCC CCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTC CCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCA AGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGC CCAGCACCTGAAGCCGCTGGGGCACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGA CACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACG AAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGT CCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCC TCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAG GTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTG CCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGC CGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTC TATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTC CGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGG GT
220	1D1 1.30 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACGACTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCTCTACCTACAATGGTGTTACACAT TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
221	エフェクターヌル突然変異 IgG1 定常ドメインを有する 1D1 1.30 全長重鎖(1D1 1.30-hIgG1-3m-HC)の AA 配列	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYDFTYYGISWVRQAPGQGLEWMGWISTYNGVTH YARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAVYYCARENYYGSGSYRGGMDVWGQGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC PAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

【０７７９】

【表６５】

222	エフェクターヌル突然変異 IgG1 定常ドメインを有する 1D1 1.30 全長重鎖(1D1 1.30-hIgG1-3m-HC)の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACGACTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCTCTACCTACAATGGTGTTACACAT TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGAGTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCAGCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTC CTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCC CCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTC CCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCA AGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGC CCAGCACCTGAAGCCGCTGGGGCACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGA CACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACG AAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGT CCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCC TCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAG GTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTG CCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGC CGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTC TATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTC CGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGG GT
227	1D1 1.31 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACGACTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCACTTACAATGGTAACACACAC TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGGCTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
228	エフェクターヌル突然変異 IgG1 定常ドメインを有する 1D1 1.31 全長重鎖(1D1 1.31-hIgG1-3m-HC)の AA 配列	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYDFTYYGISWVRQAPGQGLEWMGWISTYNGNTH YARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAVYYCARENYYGSGAYRGGMDVWGQGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC PAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

【０７８０】

【表６６】

229	エフェクターヌル突然変異 IgG1 定常ドメインを有する 1D1 1.31 全長重鎖(1D1 1.31-hIgG1-3m-HC)の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACGACTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCACTTACAATGGTAACACACAC TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGGCTTATAGAGGGGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCAGCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTC CTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCC CCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTC CCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCA AGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGC CCAGCACCTGAAGCCGCTGGGGCACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGA CACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACG AAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGT CCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCC TCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAG GTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTG CCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGC CGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTC TATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTC CGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGG GT
234	1D1 1.32 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACGACTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCACTTACAATGGTGGCACACAC TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGGCTTATAGAGGGGGTATGGACGCCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
235	エフェクターヌル突然変異 IgG1 定常ドメインを有する 1D1 1.32 全長重鎖(1D1 1.32-hIgG1-3m-HC)の AA 配列	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYDFTYYGISWVRQAPGQGLEWMGWISTYNGGTH YARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAVYYCARENYYGSGAYRGGMDAWGQGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC PAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

【０７８１】

【表６７】

236	エフェクターヌル突然変異 IgG1 定常ドメインを有する 1D1 1.32 全長重鎖(1D1 1.32-hIgG1-3m-HC)の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACGACTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCACTTACAATGGTGGCACACAC TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGGCTTATAGAGGGGGTATGGACGCCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCAGCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTC CTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCC CCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTC CCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCA AGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGC CCAGCACCTGAAGCCGCTGGGGCACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGA CACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACG AAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGT CCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCC TCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAG GTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTG CCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGC CGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTC TATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTC CGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGG GT
241	1D1 1.33 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACGACTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCACTTACAATGGTGTCACACAC TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGGCTTATAGAGGGGGTATGGACGCCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
242	エフェクターヌル突然変異 IgG1 定常ドメインを有する 1D1 1.33 全長重鎖(1D1 1.33-hIgG1-3m-HC)の AA 配列	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYDFTYYGISWVRQAPGQGLEWMGWISTYNGVTH YARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAVYYCARENYYGSGAYRGGMDAWGQGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC PAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

【０７８２】

【表６８】

243	エフェクターヌル突然変異 IgG1 定常ドメインを有する 1D1 1.33 全長重鎖(1D1 1.33-hIgG1-3m-HC)の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACGACTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCACTTACAATGGTGTCACACAC TATGCACGGATGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGGCTTATAGAGGGGGTATGGACGCCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCAGCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTC CTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCC CCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTC CCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCA AGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGC CCAGCACCTGAAGCCGCTGGGGCACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGA CACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACG AAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGT CCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCC TCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAG GTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTG CCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGC CGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTC TATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTC CGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGG GT
248	1D1 1.34 VH の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACGACTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCACTTACAATGGTAAGACACAC TATGCACGGATGCACCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGGCTTATAGAGGGGGTATGGACGCCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA
249	エフェクターヌル突然変異 IgG1 定常ドメインを有する 1D1 1.34 全長重鎖(1D1 1.34-hIgG1-3m-HC)の AA 配列	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYDFTYYGISWVRQAPGQGLEWMGWISTYNGKTH YARMHQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAVYYCARENYYGSGAYRGGMDAWGQGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC PAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

【０７８３】

【表６９】

250	エフェクターヌル突然変異 IgG1 定常ドメインを有する 1D1 1.34 全長重鎖(1D1 1.34-hIgG1-3m-HC)の NA 配列	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT CTCCTGCAAGGCCTCTGGTTACGACTTTACCTACTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCACTTACAATGGTAAGACACAC TATGCACGGATGCACCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACGTCCACGCGCACAGC CTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG AGAATTACTATGGTTCGGGGGCTTATAGAGGGGGTATGGACGCCTGGGGCCAAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCAGCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTC CTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCC CCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTC CCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCA AGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGC CCAGCACCTGAAGCCGCTGGGGCACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGA CACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACG AAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGT CCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCC TCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAG GTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTG CCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGC CGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTC TATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTC CGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGG GT
254	組換え可溶性ヒト TL1A(rsTL1A)の AA 配列	ALKGQEFAPSHQQVYAPLRADGDKPRAHLTVVRQTPTQHFKNQFPALHWEHELGLAFTK NRMNYTNKFLLIPESGDYFIYSQVTFRGMTSECSEIRQAGRPNKPDSITVVITKVTDSY PEPTQLLMGTKSVCEVGSNWFQPIYLGAMFSLQEGDKLMVNVSDISLVDYTKEDKTFFG AFLL
255	ヒト野生型κ定常ドメイン(Cκ)の AA 配列	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
256	ヒト野生型 IgG1 定常領域(hIgG1)の AA 配列	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
257	ヒト IgG1 三重変異体(3m)エフェクターヌル突然変異体定常領域(hIgG1-3m)の AA 配列	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
258	ヒト TL1A(ヒト TL1A)の AA 配列	MAEDLGLSFGETASVEMLPEHGSCRPKARSSSARWALTCCLVLLPFLAGLTTYLLVSQL RAQGEACVQFQALKGQEFAPSHQQVYAPLRADGDKPRAHLTVVRQTPTQHFKNQFPALH WEHELGLAFTKNRMNYTNKFLLIPESGDYFIYSQVTFRGMTSECSEIRQAGRPNKPDSI TVVITKVTDSYPEPTQLLMGTKSVCEVGSNWFQPIYLGAMFSLQEGDKLMVNVSDISLV DYTKEDKTFFGAFL(L)
259	組換え可溶性カニクイザル TL1A(cyno rsTL1A)の AA 配列	TGLKGQEFAPSHQQVYAPLRADGDKPRAHLTVVRQTPTQHLKNQFPALHWEHELGLAFT KNRMNYTNKFLLIPESGDYFVYSQVTFRGMTSECSEIRQAGRPNKPDSITVVITKVTDS YPEPTQLLMGTKSVCEVGSNWFQPIYLGAMFSLQEGDKLMVNVSDISLVDYTKEDKTFF GAFLL

【０７８４】

【表７０】

260	組換え可溶性マウスTL1A(マウスrsTL1A)のAA配列	AITEERSEPSPQQVYSPPRGKPRAHLTIKKQTPAPHLKNQLSALHWEHDLGMAFTKNGM KYINKSLVIPESGDYFIYSQITFRGTTSVCGDISRGRRPNKPDSITVVITKVADSYPEP ARLLTGSKSVCEISNNWFQSLYLGAMFSLEEGDRLMVNVSDISLVDYTKEDKTFFGAFL L
261	ラット組換え可溶性TL1A(ラットrsTL1A)のAA配列	TGVTEERSAPSAQPVYTPSRDKPKAHLTIMRQTPVPHLKNELAALHWENNLGMAFTKNR MNYTNKFLVIPESGDYFIYSQITFRGTTSECGDISRVRRPKKPDSITVVITKVADSYPE PAHLLTGTKSVCEISSNWFQPIYLGAMFSLEEGDRLMVNVSDISLVDYTKEDKTFFGAF LI
262	組換え可溶性ウサギTL1A(ウサギrsTL1A)のAA配列	TGLKGREFGPSQQRAYMPLRADGNKPRAHLTAVKQTPTQPLRNHFPALHWEHELGLAFT KNRMNYTNKFLVIPESGDYFVYSQVTFRGTTSECGVINQRRRQTKPDSIVVVITKVTDN YPEPAQLLTGTKSVCEMGNWFQPIYLGAMFSLEEGDKLMVNVSDVSLVDYTKEDKTFFG AFLL
374	エピトープビン1、2Aおよび2Bにわたる抗体のコンセンサスCH1配列	G F T F S N Y A L H Y P S T S F G M S S D R T Y I N Q H N
375	エピトープビン2Aおよび2Bにわたる抗体のコンセンサスCH1配列	G Y P F T N Y A I S S R T S G M H T Y N D H Q N
376	エピトープビン2B中の抗体のコンセンサスCH1配列	G Y P F T N Y G I S S R T Y D H Q N
377	エピトープビン1、2Aおよび2Bにわたる抗体のコンセンサスCH2配列	L I S Y D G S D K Y Y A D S V K G W P F G G S N T N S S A Q K F Q N A Y N G N T N A M L T Y G V H H P K A S
378	エピトープビン2Aおよび2Bにわたる抗体のコンセンサスCH2配列	W I N A G N G N T K Y S Q K F Q G S T Y G K N S A R M L P V H H S K A

【０７８５】

【表７１】

379	エピトープビン2B中の抗体のコンセンサスCH2配列	W I S T Y N G N T H Y A Q K L Q G P G K N R M H S V A K A
380	エピトープビン1、2Aおよび2Bにわたる抗体のコンセンサスCH3配列	. . . Y C T Y S S C S Y D A F . . D R E G Y G S G Y F G F M D V D I E N N A G S G A W R D G F I A Y H F A G
381	エピトープビン2Aおよび2Bにわたる抗体のコンセンサスCH3配列	. . . Y G S G S Y R G G M D V . . E N Y G Y S A W F D A F I A H F A G
382	エピトープビン2B中の抗体のコンセンサスCH3配列	E N Y Y G S G S Y R G G M D V . . A F A G
383	リンカー配列	GGGGSGGGGSGGGGS
384	コンセンサスCH1配列	G Y S F T Y Y G I S D R H Q N P
385	コンセンサスCH2配列	W I S T Y N G K T N Y A Q M L Q G P A K H R H S G A N V
386	コンセンサスCH1配列	G Y T F T S Y G I N A M H
387	コンセンサスCH2配列	W I S T Y N G N T N S A Q K L Q G N A G K Y S F
388	コンセンサスCH3配列	A H S S S W F D A F D I G Y A
389	コンセンサスCH1配列	G F T F S N Y A L H S F M I
390	コンセンサスCH2配列	L I S Y D G S D K Y Y A D S V K G P F S N N
391	コンセンサスCH3配列	D R E Y C T Y S S C S Y D A F D I N Y G S G F F

【０７８６】

【表７２】

392	6X ヒスチジンタグ	HHHHHH
393	フォワード PCR プライマー	5' CAACAGCTACAGGCGCGCACTCCCAGGTTCAGCTGGTG 3'
394	リバース PCR プライマー	5' GACCGATGGGCCCTTGGTCGACGCTGAGGAGACGGTGAC 3'
395	認識配列	DEVD

【０７８７】

表 41: 抗体の構造的特徴の配列表

Kabat によって定義される CDR アミノ酸配列には下線が引かれており、CDR H1 アミノ酸配列は、イタリック体で示されている。重鎖配列では、エフェクターヌル突然変異にも下線が引かれている。

抗体	VL タンパク質	VL DNA	VH タンパク質	VH DNA	FL 軽鎖タンパク質	FL 軽鎖 DNA	FL 重鎖タンパク質	FL 重鎖 DNA	FL 重鎖タンパク質	FL 重鎖 DNA	CDR-L1	CDR-L2	CDR-L3	CDR-H1	CDR-H2	CDR-H3
9B3	1	2	3 (VH1) 5 (VH2)	4 (VH1) 6 (VH2)	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16 (VH1) 19 (VH2)	17 (VH1) 20 (VH2)	18 (VH1) 21 (VH2)
15A9	22	23	24	25	26	27	28	29			30	31	32	33	34	35
15C1	36	37	38	39	40	41	42	43			44	45	46	47	48	49
22F9	50	51	52	53	54	55	56	57			58	59	60	61	62	63
26B1	64	65	66 (VH1) 68 (VH2) 70 (VH MDX)	67 (VH1) 69 (VH2) 71 (VH MDX)	72	73	74	75			76	77	78	79 (VH1) 82 (VH2) 85 (VH MDX)	80 (VH1) 83 (VH2) 86 (VH MDX)	81 (VH1) 84 (VH2) 87 (VH MDX)
7D4	88	89	90	91	92	93	94	95			96	97	98	99	100	101
1D1	102	103	104	105	106	107	108	109			110	111	112	113	114	115
1D1 D5	102	103	116	117	106	107					110	111	112	263	264	265
1D1 D18	102	103	118	119	106	107					110	111	112	266	267	268
1D1 D21	102	103	120	121	106	107					110	111	112	269	270	271
1D1 D24	102	103	122	123	106	107					110	111	112	272	273	274
1D1 D25	102	103	124	125	106	107					110	111	112	275	276	277
1D1 D28	102	103	126	127	106	107					110	111	112	278	279	280
1D1 D29	102	103	128	129	106	107					110	111	112	281	282	283
1D1 D31	102	103	130	131	106	107					110	111	112	284	285	286
1D1 D37	102	103	132	133	106	107					110	111	112	287	288	289
1D1 D38	102	103	134	135	106	107					110	111	112	290	291	292

【表７４】

抗体	VL タンパク質	VL DNA	VH タンパク質	VH DNA	FL 軽鎖タンパク質	FL 軽鎖 DNA	FL 重鎖タンパク質	FL 重鎖 DNA	CDR-L1	CDR-L2	CDR-L3	CDR-H1	CDR-H2	CDR-H3
1D1 D39	102	103	136	137	106	107			110	111	112	293	294	295
1D1 DH3	102	103	138	139	106	107			110	111	112	296	297	298
1D1 DH8	102	103	140	141	106	107			110	111	112	299	300	301
1D1 DH9	102	103	142	143	106	107			110	111	112	302	303	304
1D1 DH10	102	103	144	145	106	107			110	111	112	305	306	307
1D1 1.1	102	103	146	147	106	107			110	111	112	308	309	310
1D1 1.2	102	103	148	149	106	107			110	111	112			
1D1 1.3	102	103	150	151	106	107			110	111	112	311	312	313
1D1 1.4	102	103	152	153	106	107			110	111	112	314	315	316
1D1 1.5	102	103	154	155	106	107			110	111	112	317	318	319
1D1 1.6	102	103	156	157	106	107			110	111	112			
1D1 1.7	102	103	158	159	106	107			110	111	112	320	321	322
1D1 1.8	102	103	160	161	106	107			110	111	112	323	324	325
1D1 1.9	102	103	162	163	106	107			110	111	112	326	327	328
1D1 1.10	102	103	164	165	106	107			110	111	112	329	330	331
1D1 1.11	102	103	166	167	106	107			110	111	112	332	333	334
1D1 1.12	102	103	168	169	106	107			110	111	112			
1D1 1.13	102	103	170	171	106	107			110	111	112	335	336	337
1D1 1.14	102	103	172	173	106	107			110	111	112			
1D1 1.15	102	103	174	175	106	107			110	111	112	338	339	340
1D1 1.16	102	103	176	177	106	107			110	111	112	341	342	343
1D1 1.17	102	103	178	179	106	107			110	111	112	344	345	346
1D1 1.18	102	103	180	181	106	107			110	111	112	347	348	349
1D1 1.19	102	103	182	183	106	107			110	111	112	350	351	352
1D1 1.20	102	103	184	185	106	107			110	111	112	353	354	355

【０７８９】

【表７５】

抗体	VL タンパク質	VL DNA	VH タンパク質	VH DNA	FL 軽鎖タンパク質	FL 軽鎖 DNA	FL 重鎖タンパク質	FL 重鎖 DNA	FL 重鎖タンパク質	FL 重鎖 DNA	CDR-L1	CDR-L2	CDR-L3	CDR-H1	CDR-H2	CDR-H3
1D1 1.21	102	103	186	187	106	107					110	111	112	356	357	358
1D1 1.22	102	103	188	189	106	107					110	111	112	359	360	361
1D1 1.23	102	103	190	191	106	107					110	111	112	362	363	364
1D1 1.24	102	103	192	193	106	107					110	111	112	365	366	367
1D1 1.25	102	103	194	195	106	107					110	111	112	368	369	370
1D1 1.26	102	103	196	197	106	107					110	111	112	371	372	373
1D1 1.27	102	103	198	199	106	107	200	201			110	111	112	202	203	204
1D1 1.28	102	103	205	206	106	107	207	208			110	111	112	209	210	211
1D1 1.29	102	103	212	213	106	107	214	215			110	111	112	216	217	218
1D1 1.30	102	103	219	220	106	107	221	222			110	111	112	223	224	225
1D1 1.31	102	103	226	227	106	107	228	229			110	111	112	230	231	232
1D1 1.32	102	103	233	234	106	107	235	236			110	111	112	237	238	239
1D1 1.33	102	103	240	241	106	107	242	243			110	111	112	244	245	246
1D1 1.34	102	103	247	248	106	107	249	250			110	111	112	251	252	253

【０７９０】

【表７６】

表 42. TL1A と、DR3 および本明細書に記載される種々の抗体の相互作用。
リガンド DR3 または抗体 1D1、1D1 1.31(1.31)、26B11 もしくは 7D4 と相互作用する TL1A のアミノ酸残基が示される。TL1A のアミノ酸位置(全長または成熟した配列のいずれかに基づいた)が示される。1D1 抗体残基と TL1A 残基の対の間の相互作用によって埋まる正規化された表面積(Å^2)を有する残基の形態の相互作用、TL1A アミノ酸残基によって形成される、水素結合、塩橋および水媒介性水素結合の形成が示されている。

サブユニット	位置 (FL)	位置 (成熟した)	AA	相互作用する残基				埋まった表面積(Å^2)				水素結合				塩橋				H_2O 媒介性 H 結合			
				DR3	1.31	1D1	26B11	7D4	1.31	1D1	26B11	7D4	1.31	1D1	26B11	7D4	1.31	1D1	26B11	7D4	1.31	1D1	26B11	7D4
0	100	30	T	+																				
0	101	31	V	+	+	+																		
0	102	32	V	+	+	+																		
0	103	33	R	+	+	+		+	31.6	93.4		108.4		1						+		+		
0	104	34	Q					+				35.6				1								
0	105	35	T				+	+			23.2	51.3												
0	106	36	P				+	+			40.9	63.5				1								
0	107	37	T				+	+			31.6	18.7												
0	108	38	Q				+	+			172.9	25			3							+		
0	109	39	H				+	+			61.3	93			1									
0	110	40	F				+	+			150.9	6.5												
0	111	41	K				+				126.4				1				+			+		
0	112	42	N				+				54.3				1							+		
0	113	43	Q				+	+			15.8	13.1												
0	114	44	F					+				0.2												
0	115	45	P					+				24.2												
0	120	50	E	+	+	+			19.6	20.4							+	+						
0	121	51	H		+	+																		

【０７９１】

【表７７】

サブユニット	位置 (FL)	位置 (成熟した)	AA	相互作用する残基				埋まった表面積(Å^2)				水素結合				塩橋				H_2O 媒介性H結合			
				DR3	1.31	1D1	26B11	7D4	1.31	1D1	26B11	7D4	1.31	1D1	26B11	7D4	1.31	1D1	26B11	7D4	1.31	1D1	26B11	7D4
0	122	52	E		+	+			110.9	110.5			2	3			+							
0	123	53	L	+	+	+			113.8	118.1														
0	124	54	G	+	+	+			51.3	51.3														
0	125	55	L		+	+			56.3	53.4												+		
0	126	56	A		+	+			10.7	11.9			1	1										
0	127	57	F		+	+			26.4	26.3														
0	128	58	T			+				20.1														
0	156	86	R	+				+			100.9					2								
0	157	87	G	+				+			6.3													
0	158	88	M	+				+			144.5													
0	159	89	T					+			47.6													
0	161	91	E			+																		
0	169	99	G				+				6.7													
0	170	100	R				+				0													
0	171	101	P				+				77.3				1									
0	172	102	N				+				66.5				3							+		
0	173	103	K				+				68.8				2									
0	174	104	P				+				20.8													
0	175	105	D				+				80											+		
0	176	106	S				+				13.3													
0	206	136	S	+				+			26.6													
0	207	137	N	+				+			58.9					1								
0	209	139	F	+																				
0	231	161	S					+			10.5													

【０７９２】

【表７８】

サブユニット	位置 (FL)	位置 (成熟した)	AA	相互作用する残基					埋まった表面積(Å^2)				水素結合				塩橋				H_2O媒介性H結合			
				DR3	1.31	1D1	26B11	7D4	1.31	1D1	26B11	7D4	1.31	1D1	26B11	7D4	1.31	1D1	26B11	7D4	1.31	1D1	26B11	7D4
0	232	162	D					+				42.5				1								
0	233	163	I					+				22.9												
0	234	164	S	+			+	+			29.4	91.2												
0	235	165	L	+				+				8.6												
0	236	166	V					+				8.7												
0	237	167	D					+				3.9												
0	238	168	Y	+	+	+		+	25.6	15.6		71	1	1		1								
0	239	169	T	+	+	+		+	43.6	33		4.4	2											
0	240	170	K	+	+	+				46														
0	241	171	E	+	+	+			51.2	49			1											
0	242	172	D		+																			
1	112	42	N	+							54.3													
1	114	44	F	+								0.2												
1	173	103	K	+							68.8													
1	174	104	P	+							20.8													
1	175	105	D	+							80													
1	176	106	S	+							13.3													
1	183	113	K		+	+			17.7	25							+							
1	185	115	T			+																		
1	187	117	S	+	+				41.9															
1	188	118	Y	+	+	+			48.9	118.1				1										
1	189	119	P	+	+																			
1	190	120	E	+																				
1	191	121	P			+																		
1	192	122	T		+	+			43.9	43.7			1											

【０７９３】

【表７９】

サブユニット	位置(FL)	位置(成熟したた)	AA	相互作用する残基					埋まった表面積(Å^2)				水素結合				塩橋				H_2O媒介性H結合			
				DR3	1.31	1D1	26B11	7D4	1.31	1D1	26B11	7D4	1.31	1D1	26B11	7D4	1.31	1D1	26B11	7D4	1.31	1D1	26B11	7D4
1	193	123	Q		+	+																		
1	217	147	M		+	+																+		
1	218	148	F		+	+																		
1	219	149	S		+	+			35.4	39.1			1	1										
1	221	151	Q	+	+	+			49.3	38.8														

【図１－１】

1A

9B3 VH1 QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS***GFTFSNYALH***WVRQAPGKGLE
WVALISYDGSDKYYADSVKGRFAISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVY
YCARDREYCTYSSCSYDAFDIWGQGTMVTVSS

9B3 VH2 QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS***GFTFSSFAMH***WVRQAPGKGLE
WVALIPFDGSSNYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVY
YCARDRNYYGSGSFSFDAFDIWGQGTLVTVSS

9B3 VL DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLI
YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDYATYYCQQYNSYPY
TFGQGTKLEIK

15A9 VH QVQLVQSGAEVKKPGASLKVSCKAS***GYPFTNYGIS***WVRQAPGQGLE
WMGWISTYNGNTHYAQKLQGRVTMTTDTSTTAYMDLRSLRSDDTA
VYYCARENYYGSGSYRGGMDVWGQGTTVTVSS

15A9 VL EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLI
YDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWP
WTFGQGTKVEIK

15C11 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYSFTTYGIS***WVRQAPGQGLE
WMGWISTYNGNTHYAQKLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTA
VYYCARENYYGSGSYRGGMDVWGQGTTVTVSS

15C11 VL EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLI
YDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWP
WT

22F9 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYTFTSYAMH***WVRQAPGQRLE
WMGWINAGNGNTKYSQKFQGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAV
YYCARGYSSAWFDAFDIWGQGTMVTVSS

22F9 VL AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIY
DASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPLT
FGGGTKVEIK

【図１－２】

1B

26B11 VH1 QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS***GFTFSNYALH***WVRQAPGKGLEW
VALISYDGSDKYYADSVKGRFAISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
ARDREYCTYSSCSYDAFDIWGQGTMVTVSS

26B11 VH2 QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS***GFTFSSFAMH***WVRQAPGKGLE
WVALIPFDGSSNYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY
CARDRNYYGSGSFSFDAFDIWGQGTLVTVSS

26B11 VH MDX QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCEAS***GFTFSNYAIH***WVRQAPGKGLEW
VALIPYDGSNNYYAASVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
ARDRNYYGSGSFSFDAFDIWGQGTMVTVSS

26B11 VL DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPEKAPKSLIY
AASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPYTF
GQGTKLEIK

7D4 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYTFTSYGIN***WVRQAPGQGLEW
MGWISTYNGNTNSAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYY
CARAHSSSWFDAFDIWGQGTMVTVSS

7D4 VL AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYD
ASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFG
GGTKVEIK

1D1 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYSFTYYGIS***WVRQAPGQGLEW
MGWISTYNGNTNYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAVYY
CARENYYGSGSYRGGMDVWGQGTTVTVSS

1D1 VL EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIY
DASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPWTF
GQGTKVEIK

【図１－３】

1C

1D1 D5 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYSFTYYGIS***WVRQAPGQGL
EWMGWISTYNGNTNYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDD
TAVYYCARENYYGSGAFRGGMDGWGQGTTVTVSS

1D1 D18 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYSFTYYGIS***WVRQAPGQGL
EWMGWISTYNGNTHYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDD
TAVYYCARENYYGSGSYRGGMDVWGQGTTVTVSS

1D1 D21 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYSFTYYGIS***WVRQAPGQGL
EWMGWISTYNGKTHYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDD
TAVYYCARENYYGSGSYRGGMDVWGQGTTVTVSS

1D1 D24 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYSFTYYGIS***WVRQAPGQGL
EWMGWISPYNGNTHYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDD
TAVYYCARENYYGSGSYRGGMDVWGQGTTVTVSS

1D1 D25 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYSFTYYGIS***WVRQAPGQGL
EWMGWISTYNGATHYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDD
TAVYYCARENYYGSGSYRGGMDVWGQGTTVTVSS

1D1 D28 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYSFTYYGIS***WVRQAPGQGL
EWMGWISTYNGKTHYARMHQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDD
TAVYYCARENYYGSGSYRGGMDVWGQGTTVTVSS

1D1 D29 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYSFTYYGIS***WVRQAPGQGL
EWMGWISSYNGNTHYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDD
TAVYYCARENYYGSGSYRGGMDVWGQGTTVTVSS

1D1 D31 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYSFTYYGIS***WVRQAPGQGL
EWMGWISTYNGNKHYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDD
TAVYYCARENYYGSGSYRGGMDVWGQGTTVTVSS

1D1 D37 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYSFTYYGIS***WVRQAPGQGLE
WMGWISTYNGGTHYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDT
AVYYCARENYYGSGSYRGGMDVWGQGTTVTVSS

【図１－４】

1D

1D1 D38 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYSFTYYGIS***WVRQAPGQGLEW
MGWISTYNGVTHYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAVY
YCARENYYGSGSYRGGMDVWGQGTTVTVSS

1D1 D39 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYSFTYYGIS***WVRQAPGQGLEW
MGWISTYNGNTNYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAVY
YCARENYYGSGAYRGGMDAWGQGTTVTVSS

1D1 DH3 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYSFTYYGIS***WVRQAPGQGLEW
MGWISTYNGNTHYAQMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAVY
YCARENYYGSGSYRGGMDVWGQGTTVTVSS

1D1 DH8 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYSFTYYGIS***WVRQAPGQGLEW
MGWISAYNGNTHYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAVY
YCARENYYGSGSYRGGMDVWGQGTTVTVSS

1D1 DH9 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYSFTYYGIS***WVRQAPGQGLEW
MGWISPYNGKTHYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAVY
YCARENYYGSGSYRGGMDVWGQGTTVTVSS

1D1 DH10 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYSFTYYGIS***WVRQAPGQGLEW
MGWISTYNGNTNYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAVY
YCARENYYGSGAYRGGMDVWGQGTTVTVSS

【図１－５】

1E

1D1 1.1 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYDFTYYGIS***WVRQAPGQGLE
WMGWISTYNGNTNYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAV
YYCARENYYGSGSYRGGMDVWGQGTTVTVSS

1D1 1.2 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYNFTYYGIS***WVRQAPGQGLE
WMGWISTYNGNTNYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAV
YYCARENYYGSGSYRGGMDVWGQGTTVTVSS

1D1 1.3 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYQFTYYGIS***WVRQAPGQGLE
WMGWISTYNGNTNYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAV
YYCARENYYGSGSYRGGMDVWGQGTTVTVSS

1D1 1.4 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYSFTHYGIS***WVRQAPGQGLE
WMGWISTYNGNTNYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAV
YYCARENYYGSGSYRGGMDVWGQGTTVTVSS

1D1 1.5 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYNFRYYGIS***WVRQAPGQGLE
WMGWISTYNGNTNYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAV
YYCARENYYGSGSYRGGMDVWGQGTTVTVSS

1D1 1.6 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYNFTHYGIS***WVRQAPGQGLE
WMGWISTYNGNTNYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAV
YYCARENYYGSGSYRGGMDVWGQGTTVTVSS

1D1 1.7 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYSFTYYGIS***WVRQAPGQGLEW
MGWISTYNGKTNYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAVY
YCARENYYGSGSYRGGMDVWGQGTTVTVSS

1D1 1.8 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYSFRYYGIS***WVRQAPGQGLE
WMGWISTYNGNTHYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAV
YYCARENYYGSGSYRGGMDVWGQGTTVTVSS

1D1 1.9 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYSFTYYGIS***WVRQAPGQGLEW
MGWISTYNGNTHYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAVY
YCARENYYGSGAYRGGMDVWGQGTTVTVSS

【図１－６】

1F

1D1 1.10 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYSFTYYGIS***WVRQAPGQGLEW
MGWISPYNGKTHYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAVY
YCARENYYGSGAYRGGMDVWGQGTTVTVSS

1D1 1.11 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYSFRYYGIS***WVRQAPGQGLE
WMGWISTYNGNTHYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAV
YYCARENYYGSGAYRGGMDVWGQGTTVTVSS

1D1 1.12 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYNFTYYGIS***WVRQAPGQGLE
WMGWISPYNGKTHYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAV
YYCARENYYGSGAYRGGMDVWGQGTTVTVSS

1D1 1.13 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYSFTHYGIS***WVRQAPGQGLE
WMGWISPYNGKTHYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAV
YYCARENYYGSGAYRGGMDVWGQGTTVTVSS

1D1 1.14 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYNFTHYGIS***WVRQAPGQGLE
WMGWISPYNGKTHYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAV
YYCARENYYGSGAYRGGMDVWGQGTTVTVSS

1D1 1.15 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYSFTYYGIS***WVRQAPGQGLEW
MGWISPYNGGTHYAQMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAVY
YCARENYYGSGAYRGGMDAWGQGTTVTVSS

1D1 1.16 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYSFTYYGIS***WVRQAPGQGLEW
MGWISPYNGVTHYAQMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAVY
YCARENYYGSGAYRGGMDAWGQGTTVTVSS

1D1 1.17 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYSFTYYGIS***WVRQAPGQGLEW
MGWISPYNGATHYAQMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAVY
YCARENYYGSGAYRGGMDAWGQGTTVTVSS

1D1 1.18 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYSFTYYGIS***WVRQAPGQGLEW
MGWISPYNGNKHYAQMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAVY
YCARENYYGSGAYRGGMDAWGQGTTVTVSS

【図１－７】

1G

1D1 1.19 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYSFTYYGIS***WVRQAPGQGLEW
MGWISTYNGGTHYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAVY
YCARENYYGSGAYRGGMDAWGQGTTVTVSS

1D1 1.20 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYSFTYYGIS***WVRQAPGQGLEW
MGWISPYNGNTHYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAVY
YCARENYYGSGAYRGGMDAWGQGTTVTVSS

1D1 1.21 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYSFTYYGIS***WVRQAPGQGLEW
MGWISTYNGNTHYAQMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAVY
YCARENYYGSGAYRGGMDAWGQGTTVTVSS

1D1 1.22 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYSFTYYGIS***WVRQAPGQGLEW
MGWISTYNGVTHYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAVY
YCARENYYGSGAYRGGMDAWGQGTTVTVSS

1D1 1.23 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYSFTYYGIS***WVRQAPGQGLEW
MGWISTYNGATHYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAVY
YCARENYYGSGAYRGGMDAWGQGTTVTVSS

1D1 1.24 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYSFTYYGIS***WVRQAPGQGLEW
MGWISTYNGNKHYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAVY
YCARENYYGSGAYRGGMDAWGQGTTVTVSS

1D1 1.25 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYSFTYYGIS***WVRQAPGQGLEW
MGWISTYNGKTHYARMHQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAVY
YCARENYYGSGAYRGGMDAWGQGTTVTVSS

1D1 1.26 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYSFTYYGIS***WVRQAPGQGLEW
MGWISTYNGNTHYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAVY
YCARENYYGSGAYRGGMDAWGQGTTVTVSS

【図１－８】

1H

1D1 1.27 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYDFTYYGIS***WVRQAPGQGLE
WMGWISTYNGNTHYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAV
YYCARENYYGSGSYRGGMDVWGQGTTVTVSS

1D1 1.28 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYDFTYYGIS***WVRQAPGQGLE
WMGWISTYNGNKHYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAV
YYCARENYYGSGSYRGGMDVWGQGTTVTVSS

1D1 1.29 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYDFTYYGIS***WVRQAPGQGLE
WMGWISTYNGGTHYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAV
YYCARENYYGSGSYRGGMDVWGQGTTVTVSS

1D1 1.30 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYDFTYYGIS***WVRQAPGQGLE
WMGWISTYNGVTHYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAV
YYCARENYYGSGSYRGGMDVWGQGTTVTVSS

1D1 1.31 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYDFTYYGIS***WVRQAPGQGLE
WMGWISTYNGNTHYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAV
YYCARENYYGSGAYRGGMDVWGQGTTVTVSS

1D1 1.32 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYDFTYYGIS***WVRQAPGQGLE
WMGWISTYNGGTHYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAV
YYCARENYYGSGAYRGGMDAWGQGTTVTVSS

1D1 1.33 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYDFTYYGIS***WVRQAPGQGLE
WMGWISTYNGVTHYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAV
YYCARENYYGSGAYRGGMDAWGQGTTVTVSS

1D1 1.34 VH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS***GYDFTYYGIS***WVRQAPGQGLE
WMGWISTYNGKTHYARMHQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAV
YYCARENYYGSGAYRGGMDAWGQGTTVTVSS

【図１－９】

1I

軽鎖可変ドメインのアラインメント：

```
26B11   1 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPEKAP 44
7D4     1 AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAP 44
1D1     1 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP 44

26B11  45 KSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE 81
7D4    45 KLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE 81
1D1    45 RLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPE 81

26B11  82 DFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIK 107
7D4    82 DFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIK 107
1D1    82 DFAVYYCQQRSNWPWTFGQGTKVEIK 107
```

重鎖可変ドメインのアラインメント：

```
1D1     1 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTYYGISWVRQAPGQGL 45
7D4     1 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGINWVRQAPGQGL 45
26B11   1 QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSFAMHWVRQAPGKGL 45

1D1    46 EWMGWISTYNGNTNYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYM 80
7D4    46 EWMGWISTYNGNTNSAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYM 80
26B11  46 EWVALIPFDGSSNYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYL 80

1D1    81 ELRSLRSDDTAVYYCARENYYGSG..SYRGGMDVWGQGTTVTVSS 113
7D4    81 ELRSLRSDDTAVYYCARAHSS.....SWFDAFDIWGQGTMVTVSS 113
26B11  81 QMNSLRAEDTAVYYCARDRNYYGSGSFSFDAFDIWGQGTLVTVSS 113
```

【図１－１０】

1J

軽鎖可変ドメインのアラインメント：

```
22F9 VL   1 AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALA 34
7D4  VL   1 AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALA 34

22F9 VL  35 WYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE 81
7D4  VL  35 WYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE 81

22F9 VL  82 DFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIK 107
7D4  VL  82 DFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIK 107
```

重鎖可変ドメインのアラインメント：

```
                                        ***
7D4  VH   1 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGINWVR 38
22F9 VH   1 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYAMHWVR 38

                      ***    ***  *
7D4  VH  39 QAPGQGLEWMGWISTYNGNTNSAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYM 80
22F9 VH  39 QAPGQRLEWMGWINAGNGNTKYSQKFQGRVTITRDTSASTAYM 80

                    *          **  *
7D4  VH  81 ELRSLRSDDTAVYYCARAHSSSWFDAFDIWGQGTMVTVSS 113
22F9 VH  81 ELSSLRSEDTAVYYCARGYSSAWFDAFDIWGQGTMVTVSS 113
                    |
                    85
```

【図１－１１】

1K

軽鎖可変ドメインのアラインメント：

```
                                          *
26B11 VL   1 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNWLA 34
9B3   VL   1 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLA 34

26B11 VL  35 WYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE 81
9B3   VL  35 WYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE 81

            *
26B11 VL  82 DFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIK 107
9B3   VL  82 DYATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIK 107
             |
             83
```

抗体９Ｂ３および２６Ｂ１１の重鎖可変ドメインＶＨ１およびＶＨ２ならびに
２６Ｂ１１のＭＤＸ－ＶＨのアラインメント（９Ｂ３および２６Ｂ１１は、
同一配列を有する複数の機能的重鎖を製造する）

```
                                                ** *
9B3/26B11 VH1   1 QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYALHWVR 38
9B3/26B11 VH2   1 QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSFAMHWVR 38
26B11     MDX   1 QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCEASGFTFSNYAIHWVR 38

                              **   **          *
9B3/26B11 VH1  39 QAPGKGLEWVALISYDGSDKYYADSVKGRFAISRDNSKNTLYL 80
9B3/26B11 VH2  39 QAPGKGLEWVALIPFDGSSNYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYL 80
26B11     MDX  39 QAPGKGLEWVALIPYDGSNNYYAASVKGRFTISRDNSKNTLYL 80
                                                 |
                                                 68

                                      * **** * *          *
9B3/26B11 VH1  81 QMNSLRAEDTAVYYCARDREYCTYSSCSYDAFDIWGQGTMVTVSS 113
9B3/26B11 VH2  81 QMNSLRAEDTAVYYCARDRNYYGSGSFSFDAFDIWGQGTLVTVSS 113
26B11     MDX  81 QMNSLRAEDTAVYYCARDRNYYGSGSFSFDAFDIWGQGTMVTVSS 113
                                                          |
                                                          108
```

【図１－１２】

1L

軽鎖可変ドメインのアラインメント：

```
15C11   1 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLA 34
1D1     1 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLA 34
15A9    1 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLA 34

15C11  35 WYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSL 78
1D1    35 WYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSL 78
15A9   35 WYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSL 78

15C11  79 EPEDFAVYYCQQRSNWPWTFGQGTKVEIK 107
1D1    79 EPEDFAVYYCQQRSNWPWTFGQGTKVEIK 107
15A9   79 EPEDFAVYYCQQRSNWPWTFGQGTKVEIK 107
```

重鎖可変ドメインのアラインメント：

```
                                      *  *
15A9    1 QVQLVQSGAEVKKPGASLKVSCKASGYPFTNYGIS 35
15C11   1 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTTYGIS 35
1D1     1 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTTYGIS 35

                                   **             *
15A9   36 WVRQAPGQGLEWMGWISTYNGNTHYAQKLQGRVTMTTDTSTTTAYM 80
15C11  36 WVRQAPGQGLEWMGWISTYNGNTHYAQKLQGRVTMTTDTSTRTAYM 80
1D1    36 WVRQAPGQGLEWMGWISTYNGNTNYARMLQGRVTMTTDTSTRTAYM 80
                                                    |
                                                    76
          *
15A9   81 DLRSLRSDDTAVYYCARENYYGSGSYRGGMDVWGQGTTVTVSS 113
15C11  81 ELRSLRSDDTAVYYCARENYYGSGSYRGGMDVWGQGTTVTVSS 113
1D1    81 ELRSLRSDDTAVYYCARENYYGSGSYRGGMDVWGQGTTVTVSS 113
          |
          81
```

【図１－１３】

1M

１Ｄ１および変異体（１Ｄ１変異体は、親抗体１Ｄ１と同一の軽鎖を共有する）の可変重鎖ドメインの同一性パーセンテージ

	1D1	1.27	1.28	1.29	1.30	1.31	1.32	1.33	1.34
1D1	100	98.4	97.6	97.6	97.6	97.6	96.0	96.0	95.2
1.27	98.4	100	99.2	99.2	99.2	99.2	97.6	97.6	96.8
1.28	97.6	99.2	100	98.4	98.4	98.4	96.8	96.8	96.0
1.29	97.6	99.2	98.4	100	99.2	98.4	98.4	97.6	96.8
1.30	97.6	99.2	98.4	99.2	100	98.4	97.6	98.4	96.8
1.31	97.6	99.2	98.4	98.4	98.4	100	98.4	98.4	97.6
1.32	96.0	97.6	96.8	98.4	97.6	98.4	100	99.2	98.4
1.33	96.0	97.6	96.8	97.6	98.4	98.4	99.2	100	98.4
1.34	95.2	96.8	96.0	96.8	96.8	97.6	98.4	98.4	100

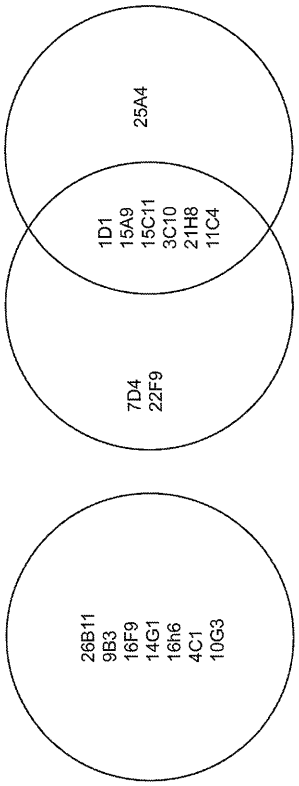
ＴＬ１Ａ抗体の可変軽鎖同一性％

	1D1	15A9	15C11	9B3	26B11	7D4	22F9
1D1	100	100	100	68.2	68.2	72.9	72.9
15A9	100	100	100	68.2	68.2	72.9	72.9
15C11	100	100	100	68.2	68.2	72.9	72.9
9B3	68.2	68.2	68.2	100	98.1	88.8	88.8
26B11	68.2	68.2	68.2	98.1	100	88.8	88.8
7D4	72.9	72.9	72.9	88.8	88.8	100	100
22F9	72.9	72.9	72.9	88.8	88.8	100	100

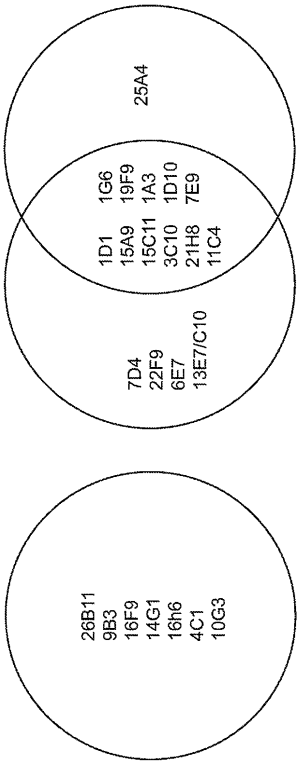
ＴＬ１Ａ抗体の可変重鎖同一性％

	1D1	15A9	15C11	9B3/26B11 VH1	9B3/26B11 VH2	26B11 MDX	7D4	22F9
1D1	100	93.5	96.8	56.6	57.0	59.4	86.0	75.2
15A9	93.5	100	96.0	56.1	55.6	58.9	85.1	75.2
15C11	96.8	96.0	100	54.5	54.8	57.3	86.8	76.9
9B3/26B11 VH1	56.6	56.1	54.5	100	87.3	88.9	59.2	60.3
9B3/26B11 VH2	57.0	55.6	54.8	87.3	100	93.7	59.2	61.2
26B11 MDX	59.4	58.9	57.3	88.9	93.7	100	61.7	62.0
7D4	86.0	85.1	86.8	59.2	59.2	61.7	100	84.3
22F9	75.2	75.2	76.9	60.3	61.2	62.0	84.3	100

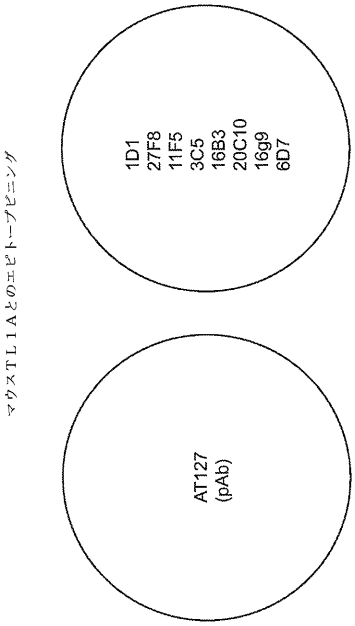
【図２】



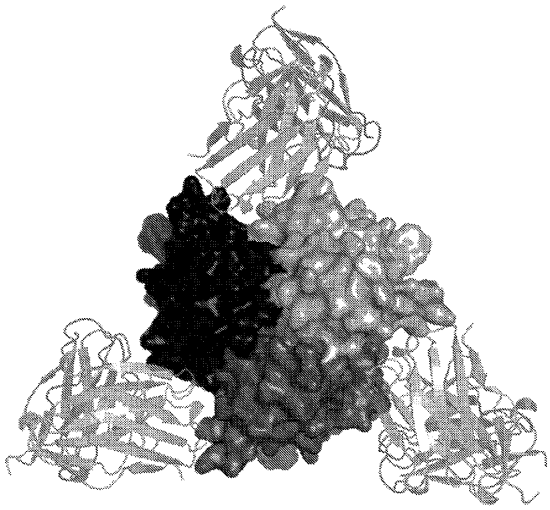
【図３】



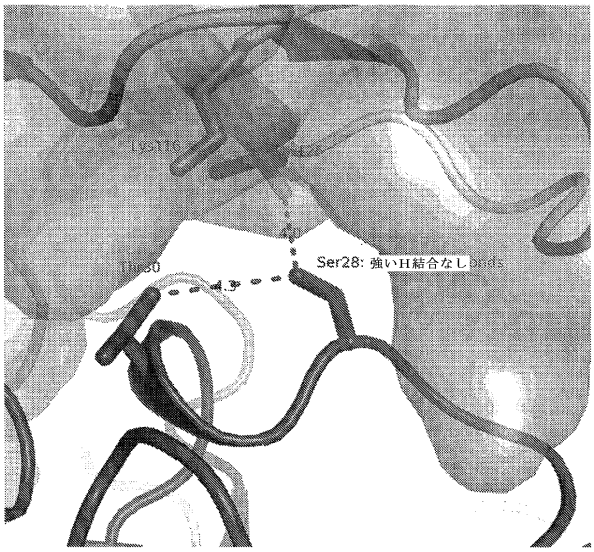
【図４】



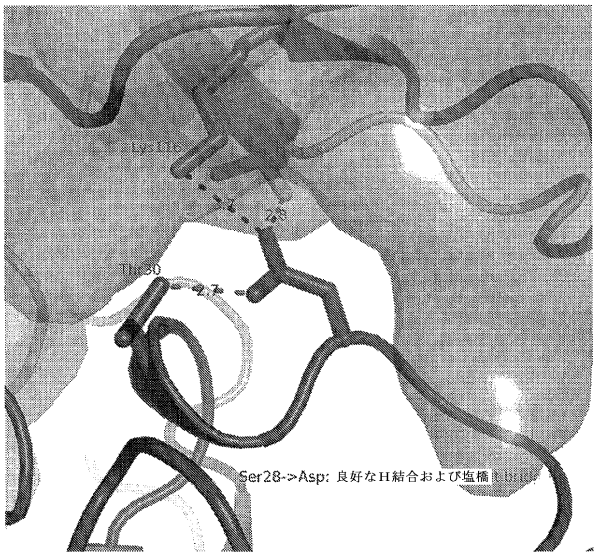
【図５】



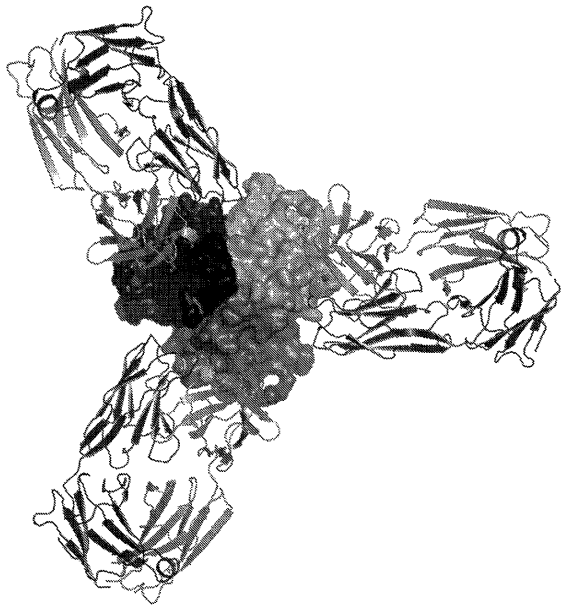
【図６】



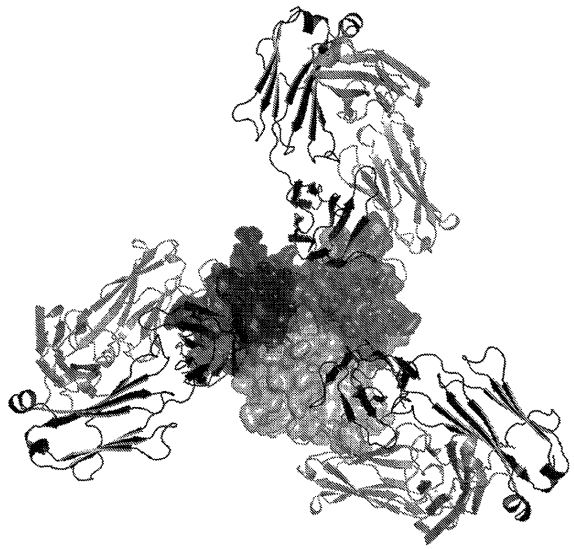
【図７】



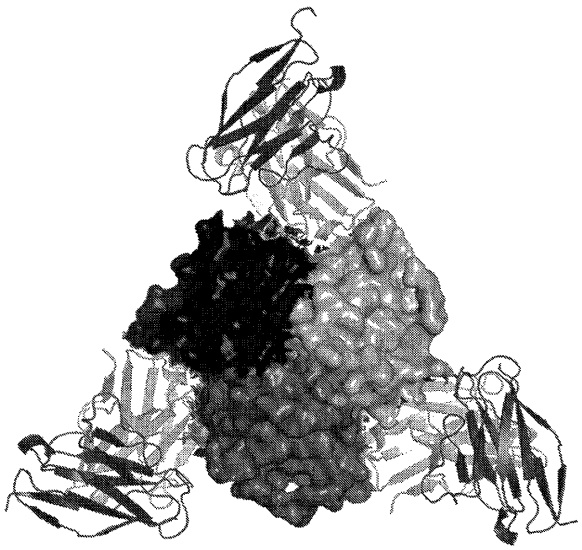
【図８】



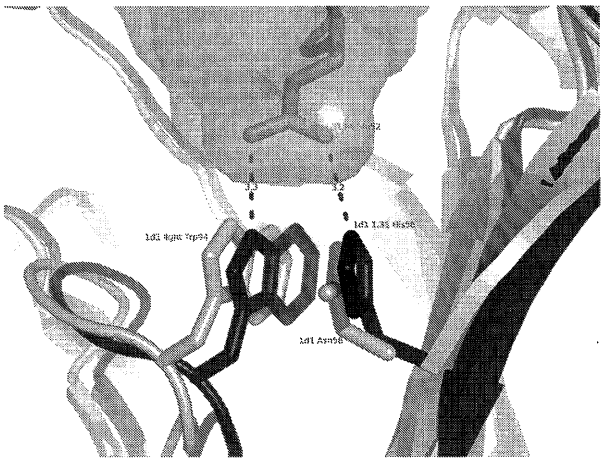
【図９】



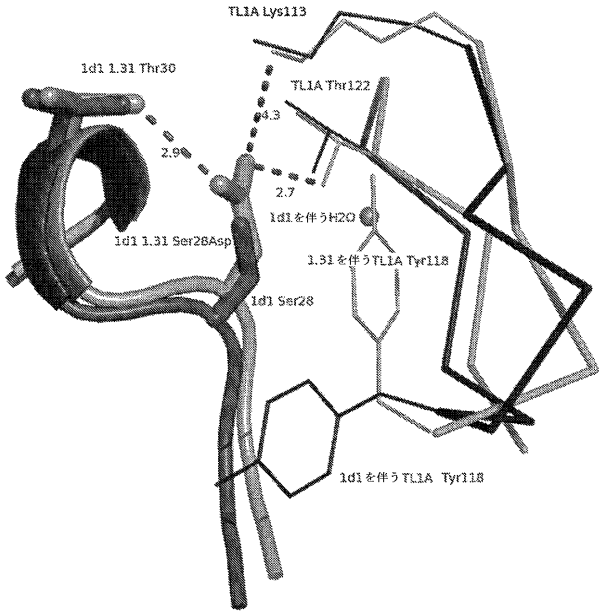
【図１０】



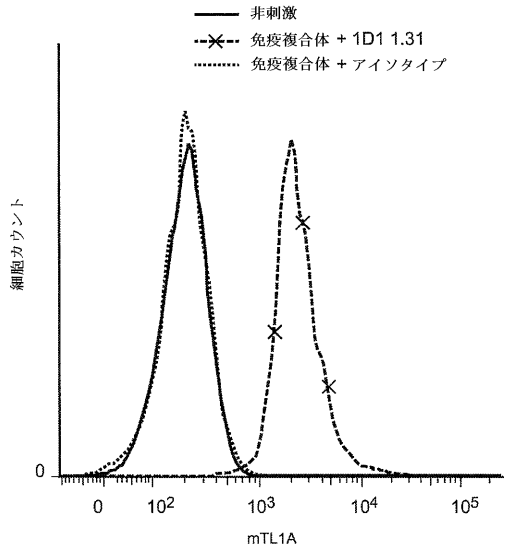
【図１１】



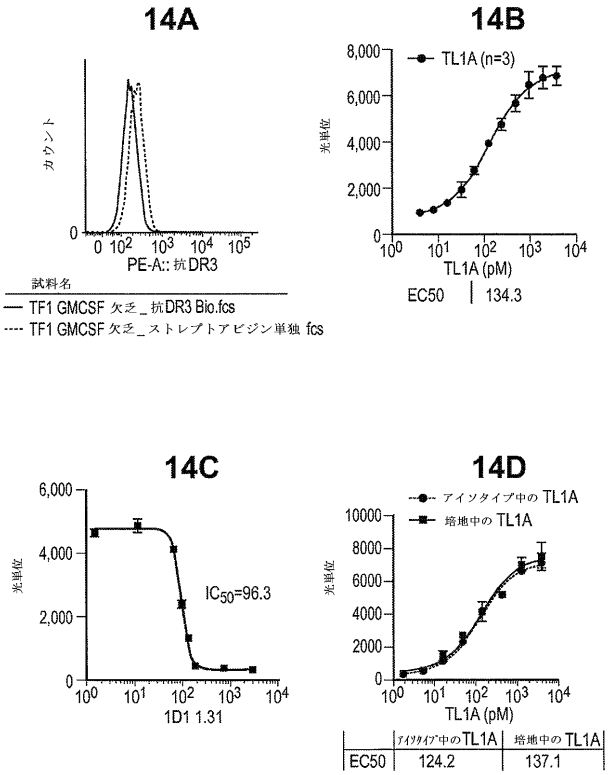
【図１２】



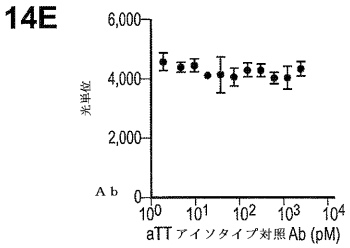
【図１３】



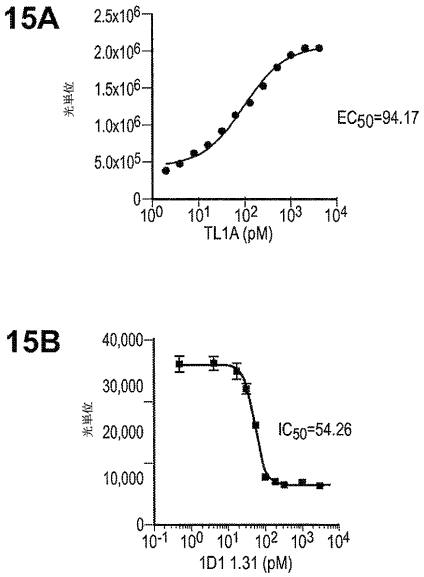
【図１４－１】



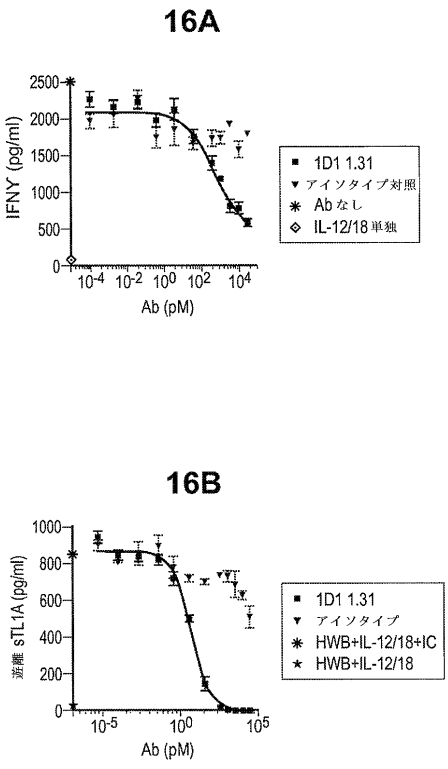
【図１４－２】



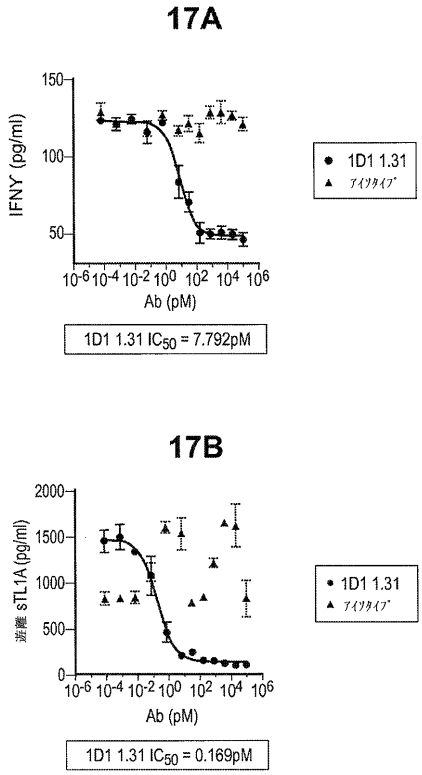
【図１５】



【図１６】



【図１７】



【図１８－１】

18A

	1D1	CDHR H1						CDR H2						
		H S25	H G26	H Y27	H S28	H T30	H Y31	H W50	H S52	H Y53	H N54	H N56	H T57	H N58
TL1A	合計	0	23.5	20.2	57.7	33.2	99	28.4	5.5	152.7	58.1	48.2	0.7	13.1
A K113	25				18.8	42.1								
A T115	12.7				28.6									
A Y118	118	15.5	48.8	50.4	36.8									
A P121	7						14.6							
A T122	43.7				28		59.2							
A Q123	16.9						43.5							
A M147	0.2									17.6w				
A F148	5.5									28.3				
A S149	39.1									71.6h				
A Q151	38.8													
B V31	11.8													
B V32	16.3													
B R33	93.4													
B E50	20.4													
B H51	12.2										12.7	26.6		
B E52	111							36.2	15.8		22.4h	33.1	6.4	34.8h
B L53	118							33.4			5.9			
B G54	51.3								9.5	21.9	4.5			
B L55	53.4					21.4	35.6			62.7w				
B A56	11.9									18.7	18.8h			
B F57	26.3									30.7	30.2			
B T58	20.1											33.2		
B E91	6													
B Y168	15.6													
B T169	33													
B K170	46													
B E171	49						22.4							

続く

【図１８－２】

18B 続き

	FW3		CDR H3							
	H T73	H R76	H Y97	H Y98	H G99	H S100	H G100A	H S100B	H Y100C	H R100D
TL1A	33	22.6	39.2	12.6	45.1	50.1	72.2	79.4	14.4	54
A K113										
A T115		50.5 h								
A Y118										
A P121										
A T122										
A Q123										
A M147										
A F148										
A S149										
A Q151	71.9									
B V31							28.8			
B V32							24.9			
B R33							22.5 w	43.2		
B E50										50.5 S
B H51										
B E52										
B L53			44.7			16.4				55.8
B G54			42.6			19.6				
B L55										
B A56										
B F57										
B T58										
B E91								20.5		
B Y168							14.7	33.6 h		
B T169					3.1	12.1	10.3	27.7	15	
B K170				25.9	40.2	11.8	10	2.1	15.8	
B E171					34.3	36.5	13.8			

続く

【図１８－３】

18C 続き

	L1			CDR L3	
	L S30	L S31	L Y32	L W94	L W96
TL1A	9.6	15.5	29.7	26.1	6.4
A K113					
A T115					
A Y118					
A P121					
A T122					
A Q123					
A M147					
A F148					
A S149					
A Q151					
B V31					
B V32			7.4		
B R33	23.2	34.7 h	56.8 w		
B E50					
B H51					
B E52				42.7 h	
B L53				21.2	27
B G54					
B L55					
B A56					
B F57					
B T58					
B E91					
B Y168					
B T169					
B K170					
B E171					

【図１９－１】

19A

	1.31	CDHR H1					CDR H2					
TL1A		H G26	H Y27	H D28	H T30	H Y31	H W50	H S52	H Y53	H N54	H N56	H H58
	合計	32.8	18	76.3	34.1	88.1	25.2	9.6	151.1	50.5	35.1	11.1
A K113	17.7			29.3 S	18							
A S117	41.9	24.5	7.7									
A Y118	48.9	15.2	37.3	54.2								
A P119	14.2	28.8										
A T122	43.9			37.4 h		50.2						
A Q123	16.5					42.2			7.8			
A M147	0								32.7			
A F148	6.1								71.8 h			
A S149	35.4											
A Q151	49.3			6.6	41.6							
B V31	13.1											
B V32	11.7											
B R33	31.6											
B E50	19.6											
B H51	6.4									14.1		
B E52	110.9						33.3	16.2		25.8 h	56.3	33.3 S
B L53	113.8						33.1					
B G54	51.3							12	23.2	4.1		
B L55	56.3				21.8	38.9			57.8			
B A56	10.7								20.2	17.3 h		
B F57	26.4								30.2	31		
B Y168	25.6											
B T169	43.6											
B K170	15.2											
B E171	51.2					26.4						
B D172	0											

続く

【図１９－２】

19B 続き

	FW3		CDR H3						
TL1A	H T73	H R76	H Y97	H G99	H S100	H G100A	H S100B	H Y100C	H R100D
	24.7	24	36	38.5	48.2	68	46.9	8.4	41.7
A K113									
A S117		44.5							
A Y118									
A P119									
A T122									
A Q123									
A M147									
A F148									
A S149									
A Q151	47.2								
B V31						32			
B V32						27.6			
B R33						13.2			
B E50									42.0 S
B H51									
B E52									
B L53			43		16				46.3
B G54			40.9		19.8				
B L55									
B A56									
B F57									
B Y168					1.7	15.9	43.2 h		
B T169				5	14.5 h	10.6	28.8 h	21.7	
B K170				25.6	7.1	8.2	2.8		
B E171				30.9 h	36.9	14.3			
B D172				5.9					

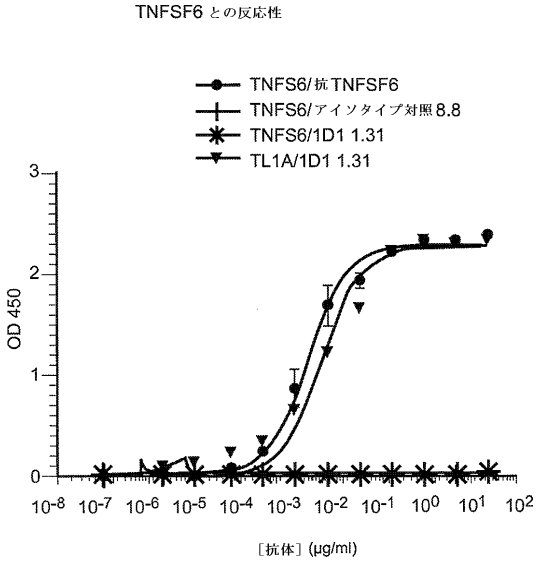
続く

【図１９－３】

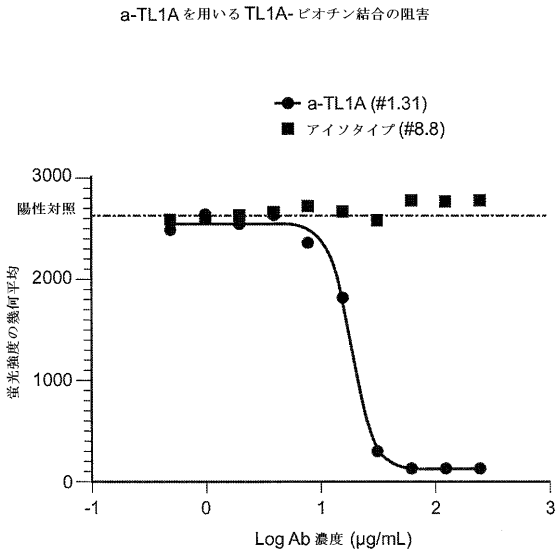
19C 続き

	L1	CDR L3	
TL1A	L Y32	L W94	L W96
	20.9	26.3	8.1
A K113			
A S117			
A Y118			
A P119			
A T122			
A Q123			
A M147			
A F148			
A S149			
A Q151			
B V31			
B V32			
B R33	45.5		
B E50			
B H51			
B E52		40.2 h	
B L53		22.5	30.2
B G54			
B L55			
B A56			
B F57			
B Y168			
B T169			
B K170			
B E171			
B D172			

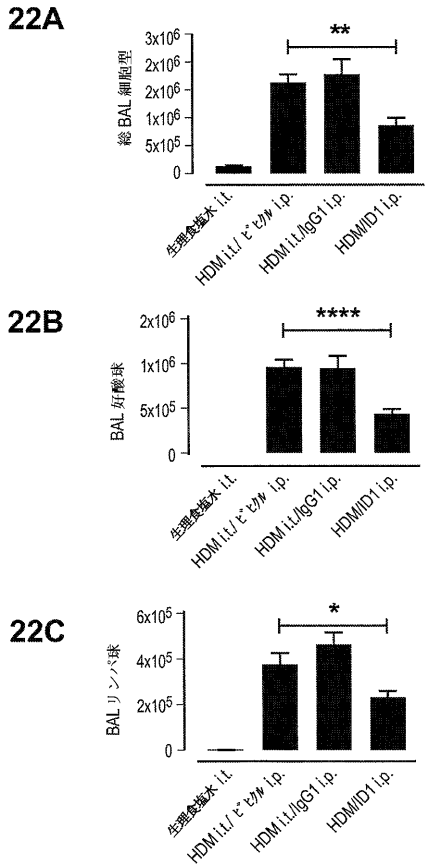
【図２０】



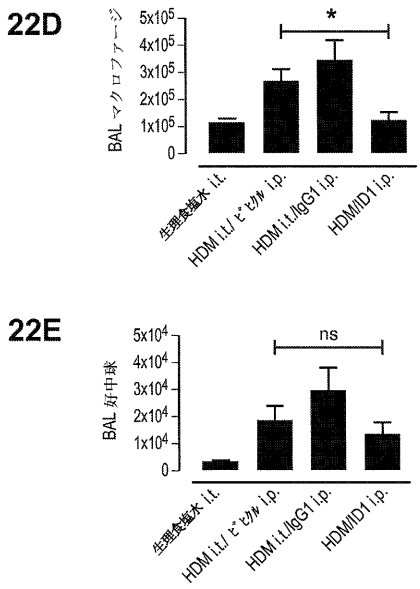
【図２１】



【図２２－１】



【図２２－２】



【図２３－１】

23A

7D4		H T28	H T30	H S31	H Y32	H W47	H W50	H S52	H T52A	H Y53	H N54	H N56
	合計	19.4	25.3	55.6	21.1	6.7	22.1	3	0.9	143	46.8	12.5
AR103	108.4											
AQ104	35.6			8.2								
AT105	51.3			38.2	50							
AP106	63.5	8	21.7	42.0 h						34.3		
AT107	18.7	24.4		13.4						7.1		
AQ108	25	11.7								38.5		
AH109	93		43.1						12.9	79.6		
AF110	6.5									16.3		
Q113	13.1									28.5		
AF114	0.2									8		
AP115	24.2									52.7		
AR156	100.9											
AG157	6.3											
AM158	144.5					25	39.5					
AT159	47.6											
AS206	26.6											
AN207	58.9											
AS231	10.5										22.6	
AD232	42.5							5			47.2 h	28.6
AI233	22.9											
AS234	91.2						27.6	13.9			13.3	
AL235	8.6											
AV236	8.7											
AD237	3.9											
AY238	71											
AT239	4.4											

続く

【図２３－２】

23B 続き

7D4	H N58	H Q61	H Q64	H T73	H H96	H S97	H S98	H S99	H W100	H F100A	H D100B
	53.8	16.8	5.1	13.3	15.2	38.7	67.4	28.5	90.7	106.9	18.1
AR103						41.9	30				28.2 S
AQ104							28.8	31.8 h			
AT105							11.4	4.4			
AP106								17.3			
AT107											
AQ108											
AH109				27.6							
AF110											
Q113											
AF114											
AP115											
AR156									35.0 h	52	
AG157									29.1		
AM158	52.6								66.2		
AT159	51.7	14	10								
AS206		22.2									
AN207									13.6		
AS231											
AD232											
AI233							39.4	13.1			
AS234							27	26.3	23.5	10.8	
AL235								3.7	21	15.3	
AV236								11		19.4	
AD237										27.1	
AY238						9.5		19.3		37.1 h	23.6
AT239										15.9	

続く

【図２３－３】

23C 続き

7D4	L Y49	L D50	L F91	L N92	L S93	L Y94
	3.8	24.7	6.4	28.5	13	71.9
AR103	22.1 S	40.2 S	9.7			
AQ104						
AT105						
AP106						
AT107						
AQ108						
AH109						
AF110						
Q113						
AF114						
AP115						
AR156			13.3	64.8 h	7.6	
AG157						
AM158						51.3
AT159						21.5
AS206						33.5
AN207					37.4	46.7 h
AS231						
AD232						
AI233						
AS234						
AL235						
AV236						
AD237						
AY238			10.7	16		
AT239						

【図２４－１】

24A

26B11		H A33	H L50	H P52	H F52A	H D53	H S55	H Y58	H R96	H N97	H Y99	H S100A
	合計	2.4	6.7	4.3	9.6	30.4	26.6	29.4	25.6	14.2	6	32.9
D T105	23.2										16.2	
D P106	40.9					10.9						
D T107	31.6					22.9	35.1					
D Q108	172.9	13.9		26.3	45.2 h	29.1h	18.6			16.5 w		
D H109	61.3											
D F110	150.9		18.1					47				
D K111	126.4									5.4		
D N112	54											
D Q113	15.8							24.7				
D G169	6.7											17.7
D R170	0											
D P171	77.3								30.7 h	17.8		41.4
D N172	66.5								12.7	13.9 h		
D K173	68.8								7.2			
D P174	20.8											
D D175	80											
D S176	13.3											
D S234	29.4											

続く

【図２４－２】

24B 続き

26B11	H G100B	H S100C	H F100D	H S100E	H F100F	H D100G	L S30	L N31	L W32	L Y49	L A50	L S53
	29	32.2	102.9	56.5	66	9	15.9	45	73.6	31.4	17.6	15.8
D T105			30.3									
D P106			68.6									
D T107			19.3									
D Q108			34.1 h	11.1	37.2							
D H109			33	46.6	38.0 h							
D F110				8.8	47.2							
D K111		0.5		33.1 h	29.0 w	20.3 S			50			
D N112												
D Q113												
D G169												
D R170		6.5										
D P171	11.6	16.6				4.7				9		
D N172		24.6 h		12.5 h		16.4 w			26.9	6.2	12	
D K173								16.7h	14.1	46.5 h	24.1	33
D P174								17.9	35.2			
D D175								48.4			1.3	
D S176							29	4.2				
D S234	44.5	16.7										

続く

【図２４－３】

24C 続き

26B11	L G66	L S67	L Y91	L N92	L S93	L Y94	L Y96	H D95
	13.4	16.3	11.2	43	28.3	35.6	11.4	0
D T105								
D P106								
D T107								
D Q108								13.3 w
D H109				1.4				
D F110				8.7	10.3	20.7	51.8	29.5
D K111				40.1 w	28.3			2.3
D N112					41.6 h		41	27.1 w
D Q113								5.6
D G169								
D R170								
D P171				2.3				
D N172				9.8 w				
D K173								
D P174								
D D175	41.0 w	41.2						
D S176								
D S234								

【配列表】

2016539638000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2014/065293

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07K16/28
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2013/044298 A1 (CEPHALON AUSTRALIA PTY LTD [AU]) 4 April 2013 (2013-04-04) page page 8, line 18 - line 24; example all; tables 1,2	1-27
X	WO 2012/161856 A1 (US GOV HEALTH & HUMAN SERV [US]; SIEGEL RICHARD M [US]; MEYLAN FRANCOI) 29 November 2012 (2012-11-29) paragraph [0116]; example all	1-27
X	WO 2012/064682 A1 (REGENERON PHARMA [US]; CLASSON BRENDAN J [US]; SKOKOS DIMITRIS [US]) 18 May 2012 (2012-05-18) paragraph [0008] - paragraph [0022]; claim all; tables 1-12	1-27

-/--

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
17 March 2015	26/03/2015

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Fellows, Edward

1

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2014/065293

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2009/064854 A2 (COGENESYS INC [US]; SMITH RODGER [US]; KANAKARAJ PALANISAMY [US]; ROSC) 22 May 2009 (2009-05-22) paragraph [0024] - paragraph [0038]; figure 1; example all -----	1-27

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2014/065293

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2013044298 A1	04-04-2013	AU 2012315474 A1	20-03-2014
		CA 2850549 A1	04-04-2013
		CN 104114577 A	22-10-2014
		EA 201400390 A1	30-09-2014
		EP 2760889 A1	06-08-2014
		JP 2014531210 A	27-11-2014
		KR 20140101727 A	20-08-2014
		US 2014255302 A1	11-09-2014
		WO 2013044298 A1	04-04-2013
WO 2012161856 A1	29-11-2012	AU 2012259312 A1	12-12-2013
		CA 2836898 A1	29-11-2012
		EP 2709664 A1	26-03-2014
		JP 2014518883 A	07-08-2014
		KR 20140104344 A	28-08-2014
		US 2012263718 A1	18-10-2012
		WO 2012161856 A1	29-11-2012
WO 2012064682 A1	18-05-2012	AR 083785 A1	20-03-2013
		AU 2011326097 A1	09-05-2013
		CA 2816799 A1	18-05-2012
		CL 2013001279 A1	07-03-2014
		CN 103261228 A	21-08-2013
		EA 201370105 A1	30-12-2013
		EP 2638069 A1	18-09-2013
		JP 2014500014 A	09-01-2014
		KR 20130132842 A	05-12-2013
		SG 190176 A1	28-06-2013
		TW 201233796 A	16-08-2012
		US 2012114654 A1	10-05-2012
		US 2014120109 A1	01-05-2014
		UY 33715 A	31-05-2012
		WO 2012064682 A1	18-05-2012
WO 2009064854 A2	22-05-2009	AU 2008320987 A1	22-05-2009
		CA 2705292 A1	22-05-2009
		CN 101903402 A	01-12-2010
		EA 201070596 A1	30-12-2010
		EP 2220122 A2	25-08-2010
		EP 2500362 A2	19-09-2012
		JP 2011502522 A	27-01-2011
		KR 20100097683 A	03-09-2010
		NZ 585559 A	30-11-2012
		UA 104132 C2	10-01-2014
		US 2009280116 A1	12-11-2009
		US 2012308480 A1	06-12-2012
		US 2014315250 A1	23-10-2014
		WO 2009064854 A2	22-05-2009

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		FI			テーマコード（参考）
C12P 21/02	*(2006.01)*	C12P	21/02	C	
A61K 39/395	*(2006.01)*	A61K	39/395	N	
A61P 43/00	*(2006.01)*	A61P	43/00	111	
A61P 1/04	*(2006.01)*	A61P	1/04		
A61P 11/06	*(2006.01)*	A61P	11/06		
A61P 37/08	*(2006.01)*	A61P	37/08		
A61P 3/10	*(2006.01)*	A61P	3/10		
A61P 19/02	*(2006.01)*	A61P	19/02		
A61P 29/00	*(2006.01)*	A61P	29/00	101	
A61P 17/06	*(2006.01)*	A61P	17/06		
A61P 19/04	*(2006.01)*	A61P	19/04		
A61P 25/00	*(2006.01)*	A61P	25/00		
A61P 37/06	*(2006.01)*	A61P	37/06		
A61P 1/16	*(2006.01)*	A61P	1/16		
A61P 9/10	*(2006.01)*	A61P	9/10	101	
A61P 13/10	*(2006.01)*	A61P	13/10		
A61P 11/02	*(2006.01)*	A61P	11/02		
A61P 31/04	*(2006.01)*	A61P	31/04		
A61P 27/14	*(2006.01)*	A61P	27/14		
A61P 21/04	*(2006.01)*	A61P	21/04		
A61P 37/02	*(2006.01)*	A61P	37/02		
A61P 17/00	*(2006.01)*	A61P	17/00		
A61P 5/14	*(2006.01)*	A61P	5/14		
A61P 9/00	*(2006.01)*	A61P	9/00		
G01N 33/53	*(2006.01)*	G01N	33/53	D	

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JP,KE,KG,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US

(72)発明者 ロバート・アーチ
アメリカ合衆国ミネソタ州６３１１９．セント・ルイス．グラント・ロード１６１５
(72)発明者 ジュィン・チャン
中華人民共和国ベイジン１０００１３．ヘピングリ．フィフス・キュー．ビルディング１．エー１－１－４０１
(72)発明者 ミシェル・マーダー
アメリカ合衆国マサチューセッツ州０２４７６．アーリントン．スプリング・ロード７エー
(72)発明者 テツヤ・イシノ
アメリカ合衆国マサチューセッツ州０２１１４．ボストン．ピンクニー・ストリート ナンバー５０６ １４５
(72)発明者 ジョエル・バード
アメリカ合衆国マサチューセッツ州０２４５８．ニュートン．ホーランド・ストリート６
(72)発明者 ウィリアム・フィンレイ

アイルランド共和国ダブリン８．ポートベロー．ウィンザー・テラス２３
(72)発明者　オルラ・カニンガム
アイルランド共和国ダブリン１４．チャーチタウン．ニュータウン・ヴィラズ．シング・コート３
(72)発明者　シアラ・ライリー
アイルランド共和国ダブリン１２．ドリムナ．ラフターズ・ロード６８
(72)発明者　ピーター・ブラムス
アメリカ合衆国カリフォルニア州９５８１５．サクラメント．イレヴンス・アヴェニュー２７４０
(72)発明者　ブリジット・デヴォー
アメリカ合衆国カリフォルニア州９４３０６．パロ・アルト．ダルース・サークル３２０
(72)発明者　ハイチン・ハン
アメリカ合衆国カリフォルニア州９４５３９．フレモント．スエノ・ウェイ２４２５
(72)発明者　カルラ・ヘニング
アメリカ合衆国カリフォルニア州９５０３５．ミルピタス．カーティス・アヴェニュー１３１

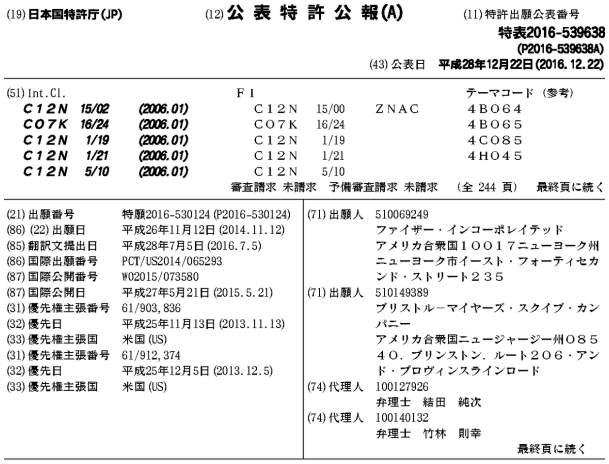
Ｆターム(参考) 4B064 AG26 AG27 CA02 CA05 CA10 CA19 CA20 CC24 DA01
4B065 AA01X AA57X AA58X AA90X AA90Y AB01 AC14 BA01 BA08 CA24
CA25 CA44
4C085 AA14 BB17 EE01
4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 CA40 DA75 DA76 EA20 FA74

专利名称(译)	肿瘤坏死因子样配体1A特异性抗体及其组合物和用途		
公开(公告)号	JP2016539638A	公开(公告)日	2016-12-22
申请号	JP2016530124	申请日	2014-11-12
[标]申请(专利权)人(译)	美国辉瑞有限公司 百时美施贵宝公司		
申请(专利权)人(译)	辉瑞公司 布里斯托尔 - 迈尔斯宝公司		
[标]发明人	ロバートアーチ ジュィンチャン ミシェルマーダー テツヤイシノ ジョエルバード ウィリアムフィンレイ オルラカニンガム シアラライリー ピーターブラムス ブリジットデヴォー ハイチンハン カルラヘニング		
发明人	ロバート·アーチ ジュィン·チャン ミシェル·マーダー テツヤ·イシノ ジョエル·バード ウィリアム·フィンレイ オルラ·カニンガム シアラ·ライリー ピーター·ブラムス ブリジット·デヴォー ハイチン·ハン カルラ·ヘニング		
IPC分类号	C12N15/02 C07K16/24 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12P21/02 A61K39/395 A61P43/00 A61P1/04 A61P11/06 A61P37/08 A61P3/10 A61P19/02 A61P29/00 A61P17/06 A61P19/04 A61P25/00 A61P37/06 A61P1/16 A61P9/10 A61P13/10 A61P11/02 A61P31/04 A61P27/14 A61P21/04 A61P37/02 A61P17/00 A61P5/14 A61P9/00 G01N33/53		
CPC分类号	A61P1/04 A61P1/16 A61P3/10 A61P5/14 A61P9/00 A61P9/10 A61P11/02 A61P11/06 A61P13/10 A61P17/00 A61P17/06 A61P19/02 A61P19/04 A61P21/04 A61P25/00 A61P27/14 A61P29/00 A61P31/04 A61P37/00 A61P37/02 A61P37/06 A61P37/08 A61P43/00 C07K16/2875 C07K2317/56 C07K2317/565 C07K2317/76 C07K2317/90 C07K2317/92 A61K39/395 A61K2039/505 G01N33/6863		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.C C07K16/24 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12P21/02.C A61K39/395.N A61P43/00.111 A61P1/04 A61P11/06 A61P37/08 A61P3/10 A61P19/02 A61P29/00.101 A61P17/06 A61P19/04 A61P25/00 A61P37/06 A61P1/16 A61P9/10.101 A61P13/10 A61P11/02 A61P31/04 A61P27/14 A61P21/04 A61P37/02 A61P17/00 A61P5/14 A61P9/00 G01N33/53.D		
F-TERM分类号	4B064/AG26 4B064/AG27 4B064/CA02 4B064/CA05 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CA20 4B064/CC24 4B064/DA01 4B065/AA01X 4B065/AA57X 4B065/AA58X 4B065/AA90X 4B065/AA90Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA01 4B065/BA08 4B065/CA24 4B065/CA25 4B065/CA44 4C085/AA14		

	4C085/BB17 4C085/EE01 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA75 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/FA74
优先权	61/903836 2013-11-13 US 61/912374 2013-12-05 US
外部链接	Espacenet

摘要(译)

本发明提供与肿瘤坏死因子样配体1A（TL1A）特异性结合的抗体或其抗原结合片段。 本发明进一步提供了获得这种抗体和编码该抗体的核酸的方法。 本发明进一步涉及使用这些抗体来治疗和/或预防TL1A介导的疾病，病症或病状的组合物和治疗方法。



(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2016-539638
(P2016-539638A)
(43)公表日　平成28年12月22日(2016.12.22)

(51)Int.Cl.			F I			テーマコード（参考）
C12N	15/02	(2006.01)	C12N	15/00	ZNAC	4B064
C07K	16/24	(2006.01)	C07K	16/24		4B065
C12N	1/19	(2006.01)	C12N	1/19		4C085
C12N	1/21	(2006.01)	C12N	1/21		4H045
C12N	5/10	(2006.01)	C12N	5/10		

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 244 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2016-530124 (P2016-530124)
(86)(22)出願日　平成26年11月12日 (2014.11.12)
(85)翻訳文提出日　平成28年7月5日 (2016.7.5)
(86)国際出願番号　PCT/US2014/065293
(87)国際公開番号　WO2015/073580
(87)国際公開日　平成27年5月21日 (2015.5.21)
(31)優先権主張番号　61/903,836
(32)優先日　平成25年11月13日 (2013.11.13)
(33)優先権主張国　米国 (US)
(31)優先権主張番号　61/912,374
(32)優先日　平成25年12月5日 (2013.12.5)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　510069249
ファイザー・インコーポレイテッド
アメリカ合衆国１００１７ニューヨーク州ニューヨーク市イースト・フォーティセカンド・ストリート２３５
(71)出願人　510149389
ブリストル－マイヤーズ・スクイブ・カンパニー
アメリカ合衆国ニュージャージー州０８５４０．プリンストン．ルート２０６・アンド・プロヴィンスラインロード
(74)代理人　100127926
弁理士　結田　純次
(74)代理人　100140132
弁理士　竹林　則幸

最終頁に続く

(54)【発明の名称】腫瘍壊死因子様リガンド１Ａ特異的抗体ならびにその組成物および使用