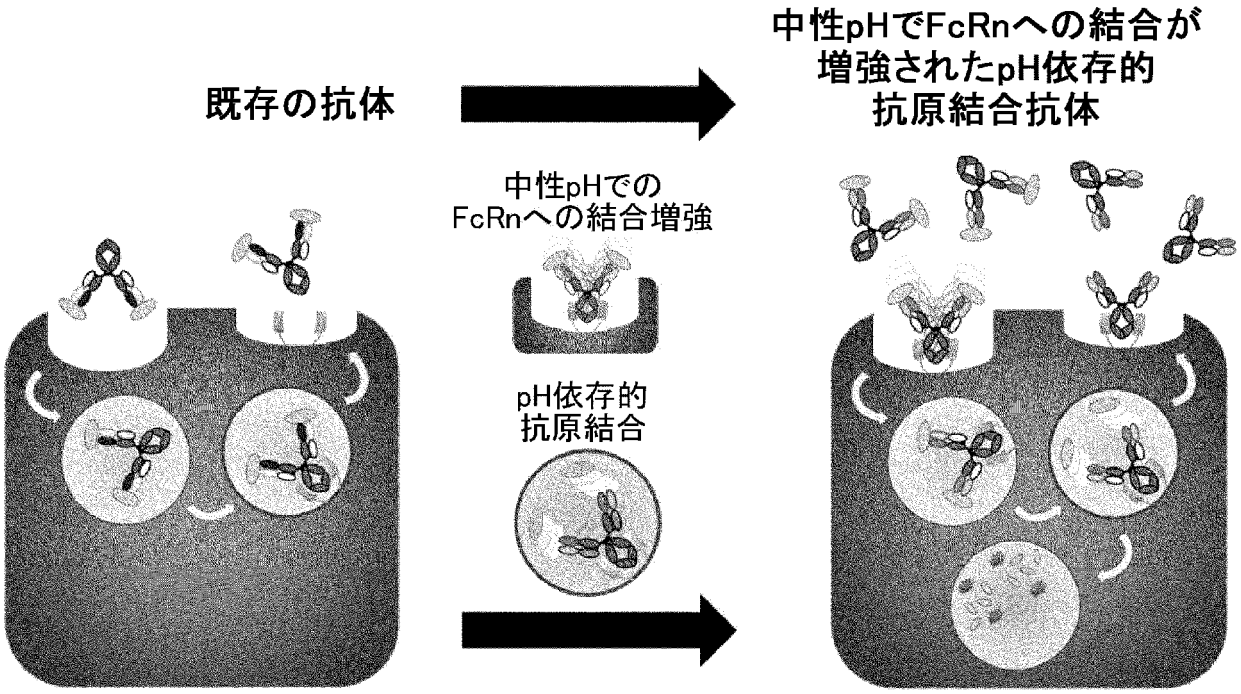
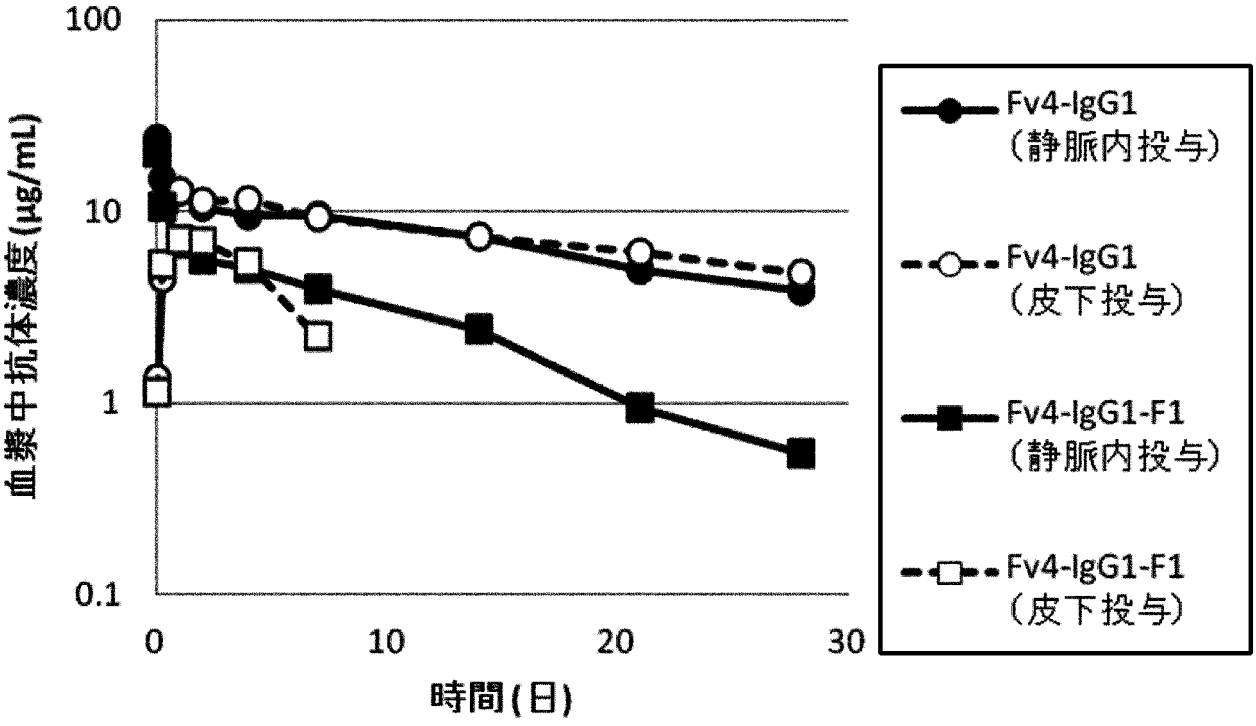
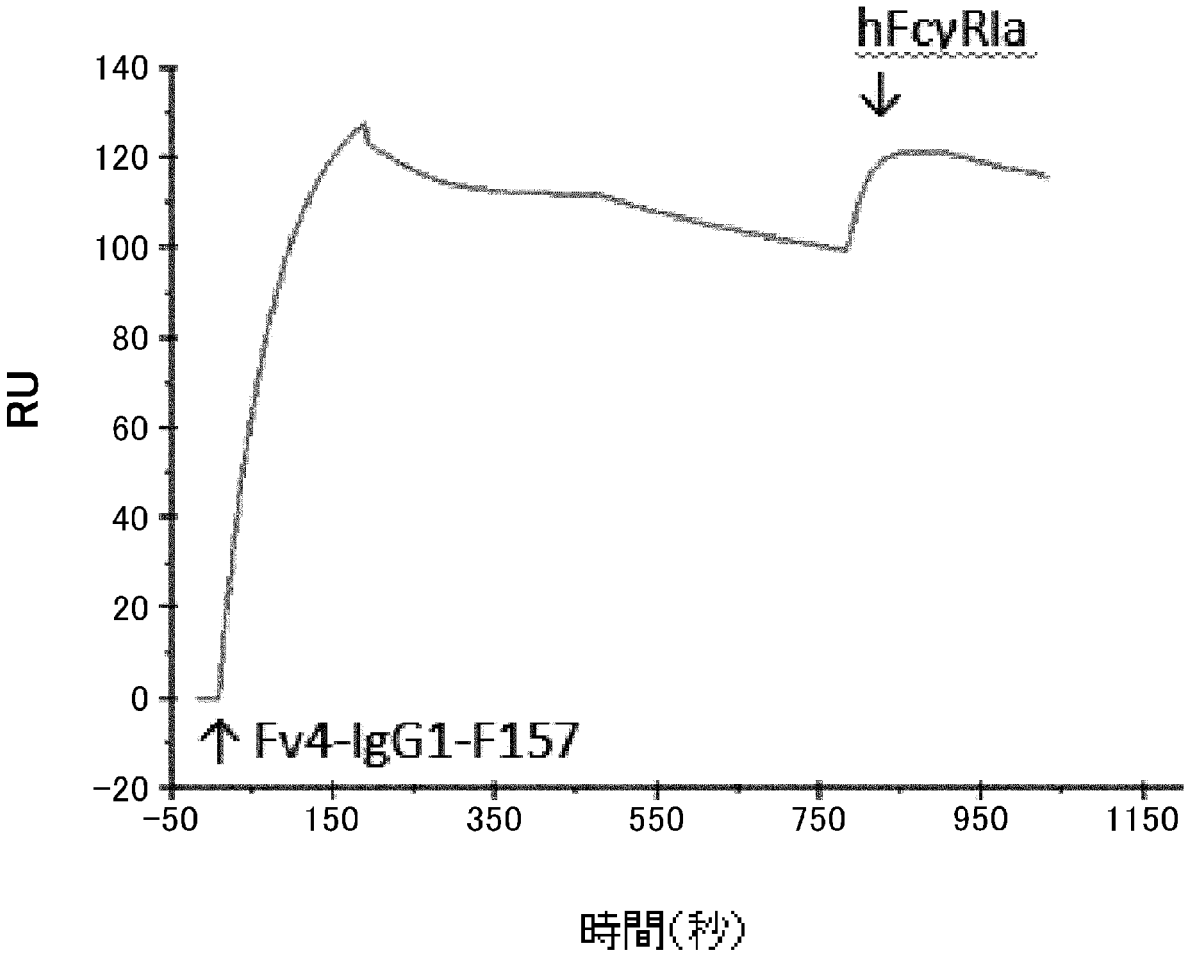
[図1]


既存の抗体
中性pHでFcRnへの結合が増強されたpH依存的抗原結合抗体
中性pHでの
FcRnへの結合増強
pH依存的
抗原結合

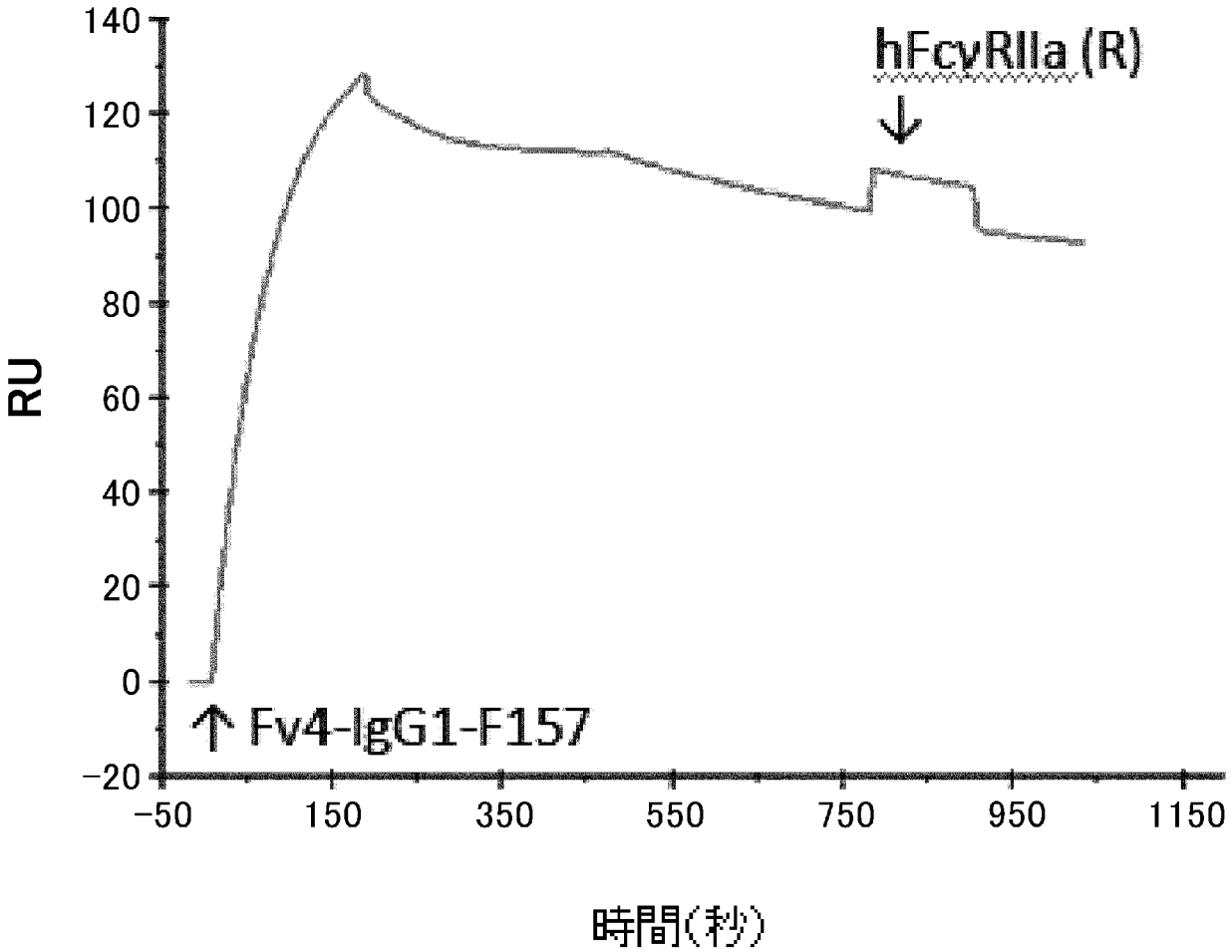
[図2]


100
10
1
0.1
0
10
20
30
血漿中抗体濃度(μg/mL)
時間(日)
Fv4-IgG1
(静脈内投与)
Fv4-IgG1
(皮下投与)
Fv4-IgG1-F1
(静脈内投与)
Fv4-IgG1-F1
(皮下投与)

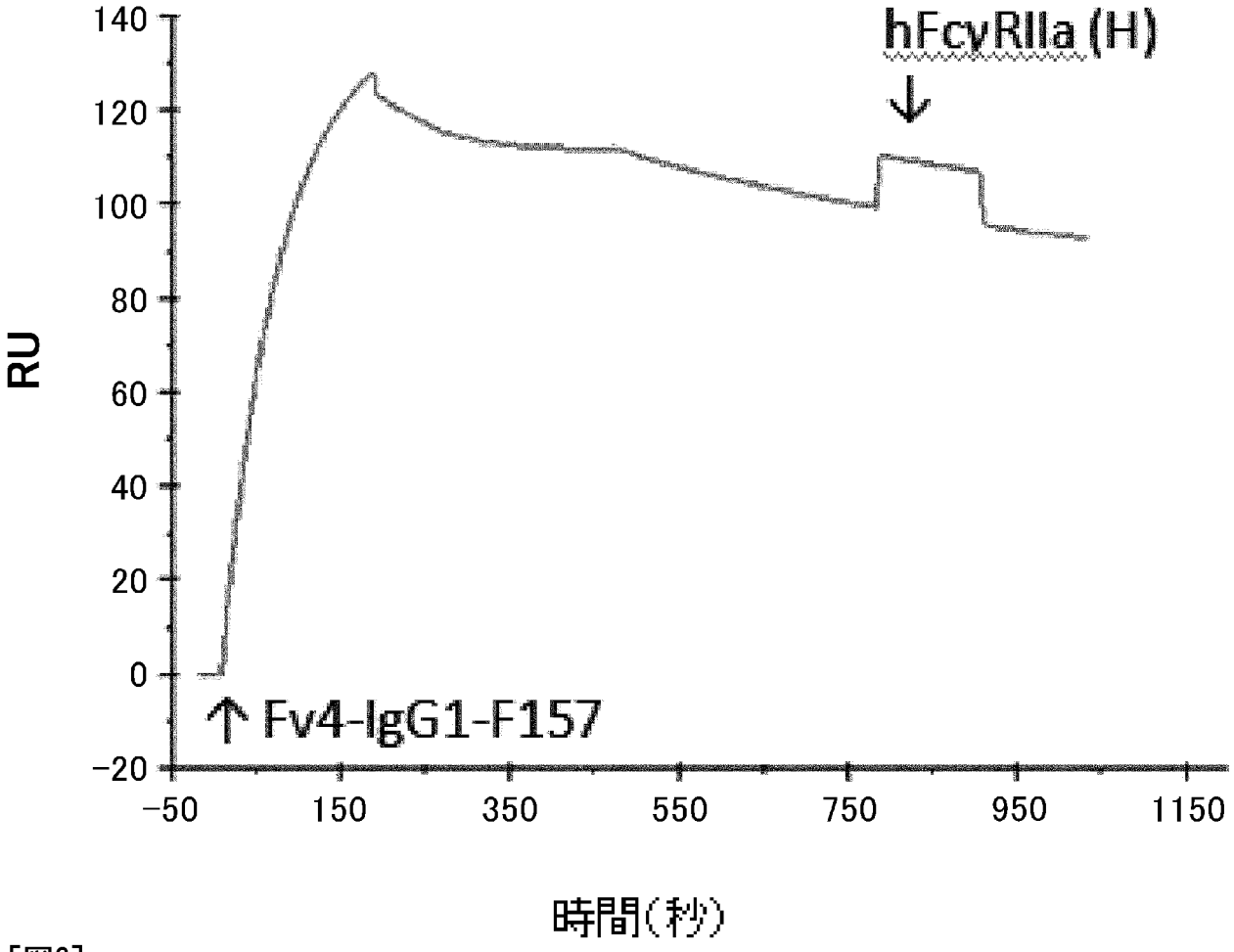
[図3]


hFcγRIa
RU
140
120
100
80
60
40
20
0
−20
↑ Fv4-IgG1-F157
−50
150
350
550
750
950
1150
時間(秒)

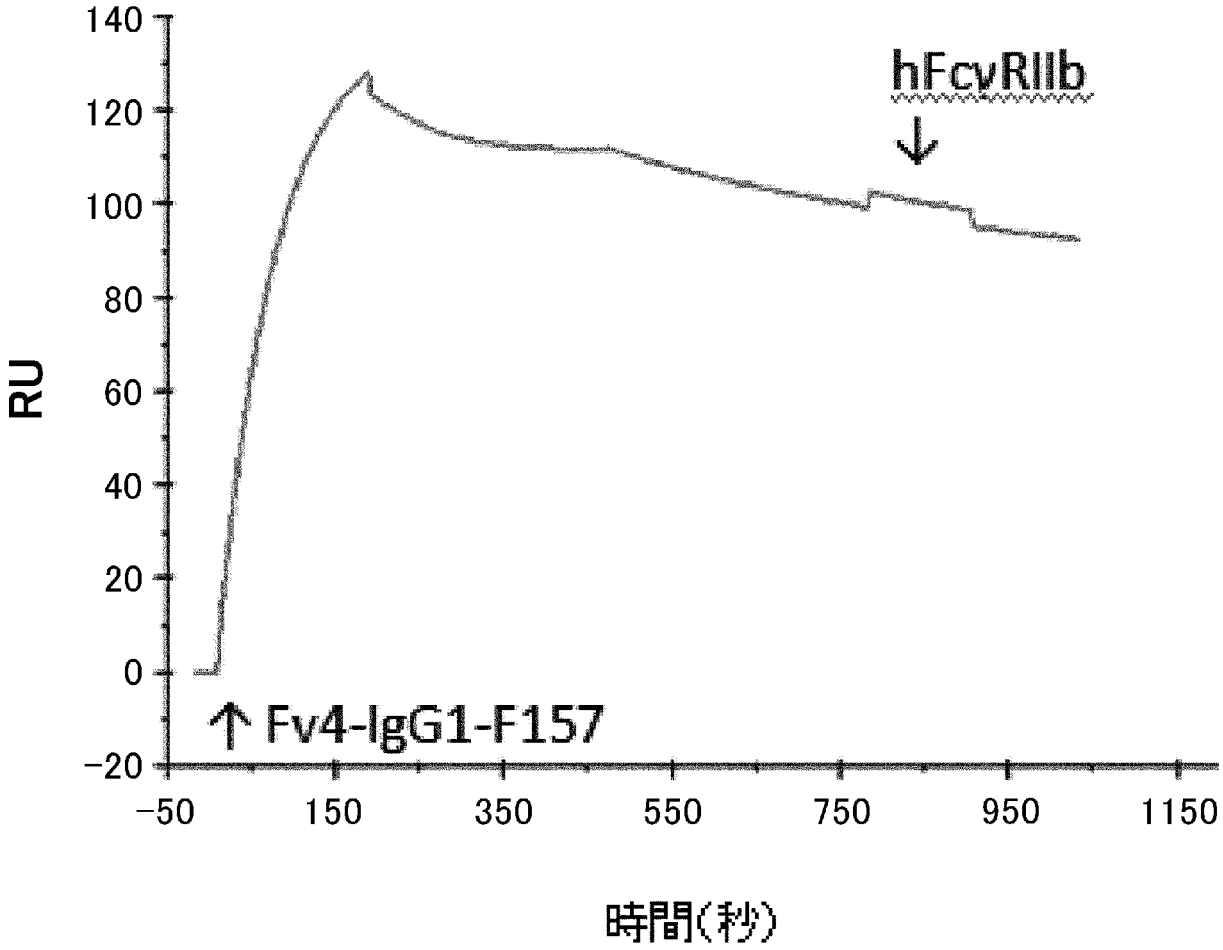
[図4]


hFcγRIIa (R)
RU
140
120
100
80
60
40
20
0
−20
↑ Fv4-IgG1-F157
−50
150
350
550
750
950
1150
時間(秒)

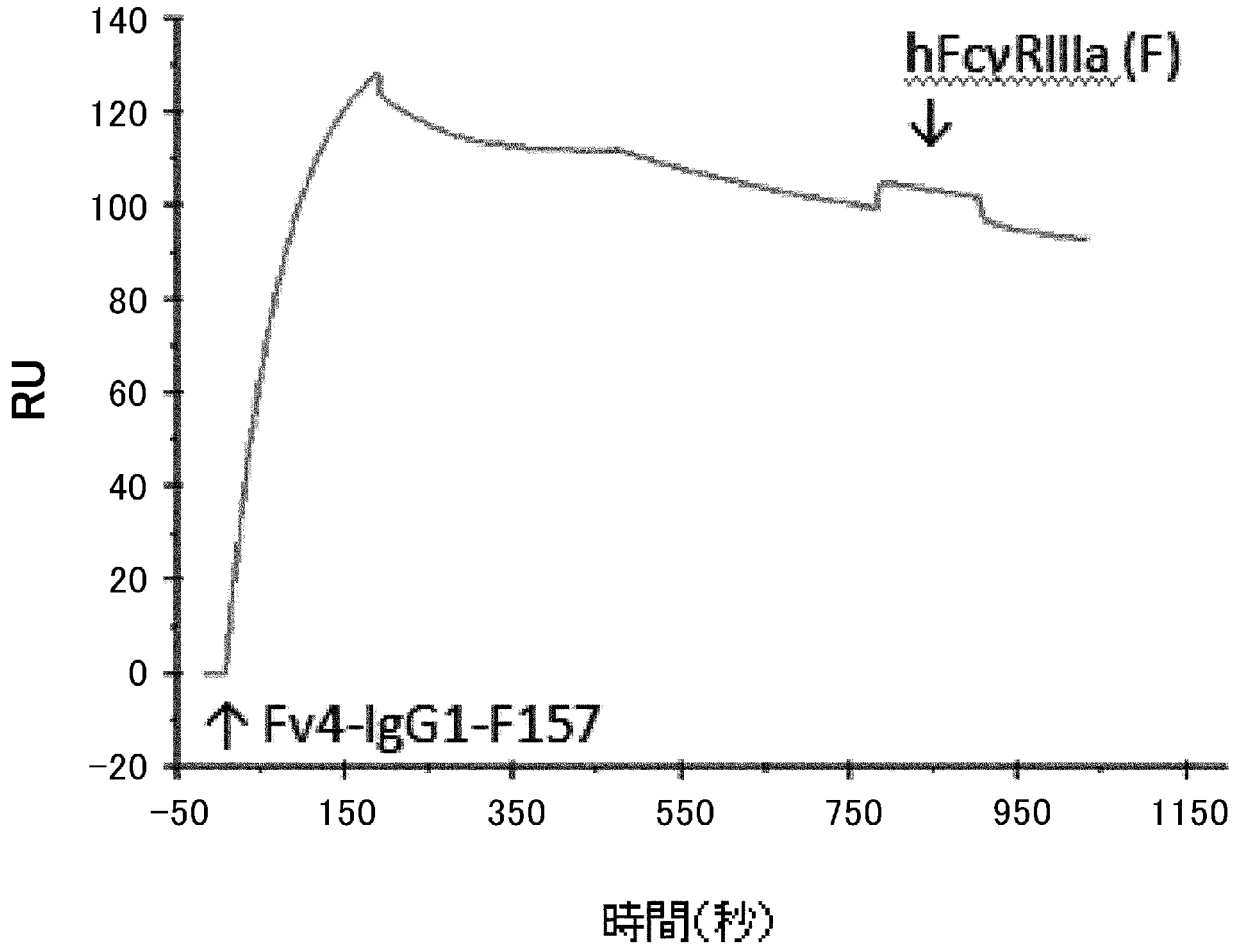
[図5]


hFcγRIIa (H)
↑ Fv4-IgG1-F157
RU
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
-50
150
350
550
750
950
1150
時間(秒)

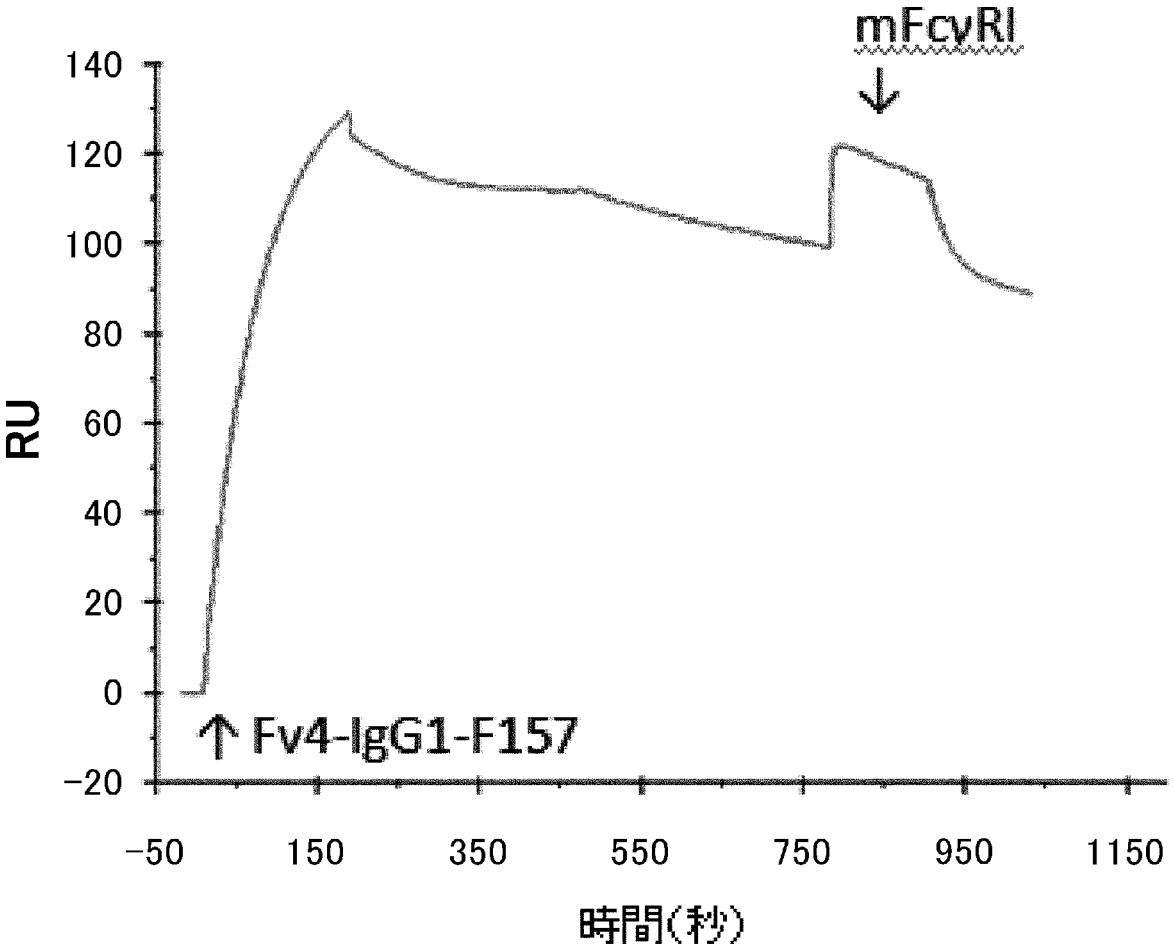
[図6]


hFcγRIIb
↑ Fv4-IgG1-F157
RU
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
-50
150
350
550
750
950
1150
時間(秒)

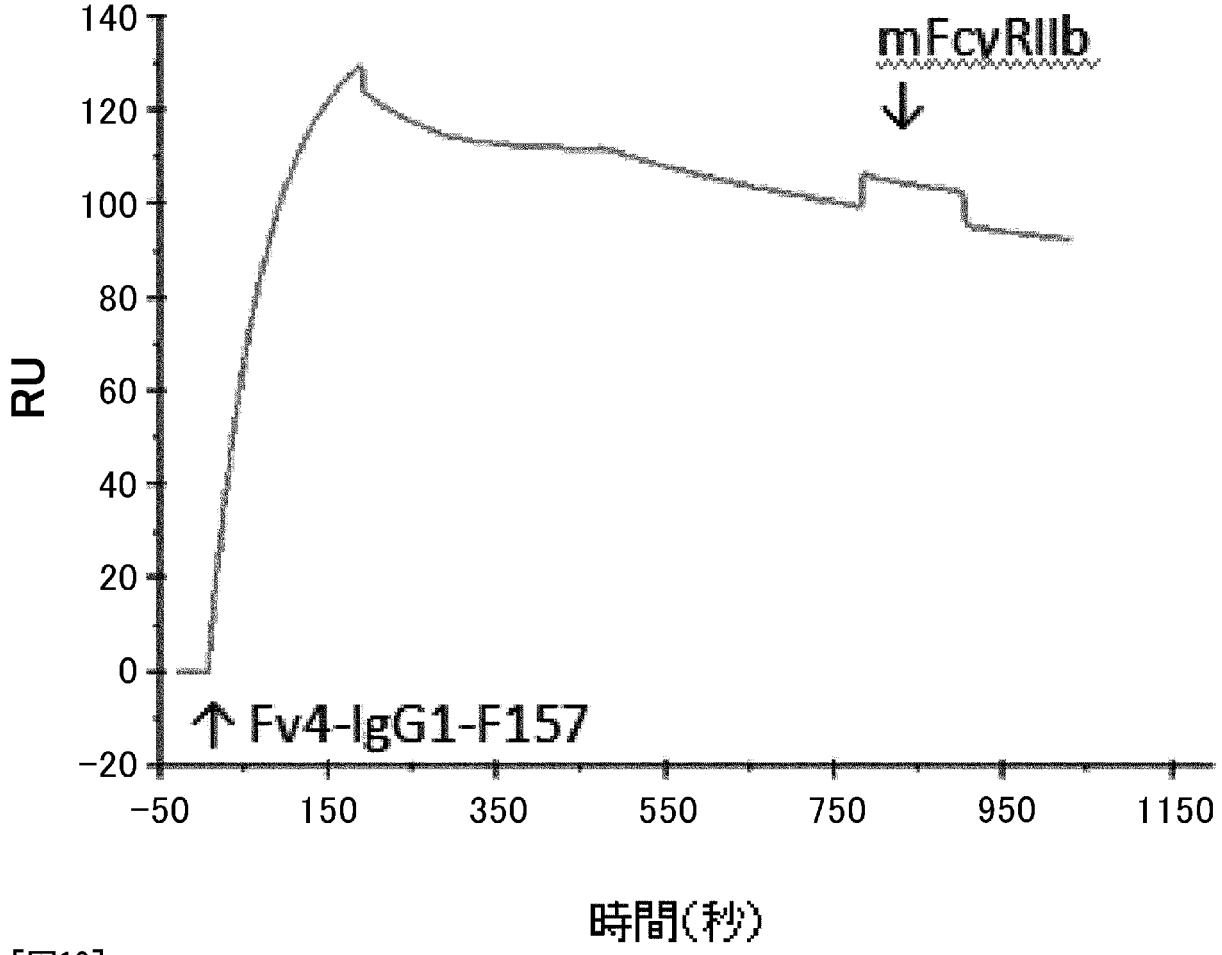
[図7]


hFcγRIIIa (F)
↓
↑ Fv4-IgG1-F157
RU
140
120
100
80
60
40
20
0
−20
−50
150
350
550
750
950
1150
時間(秒)

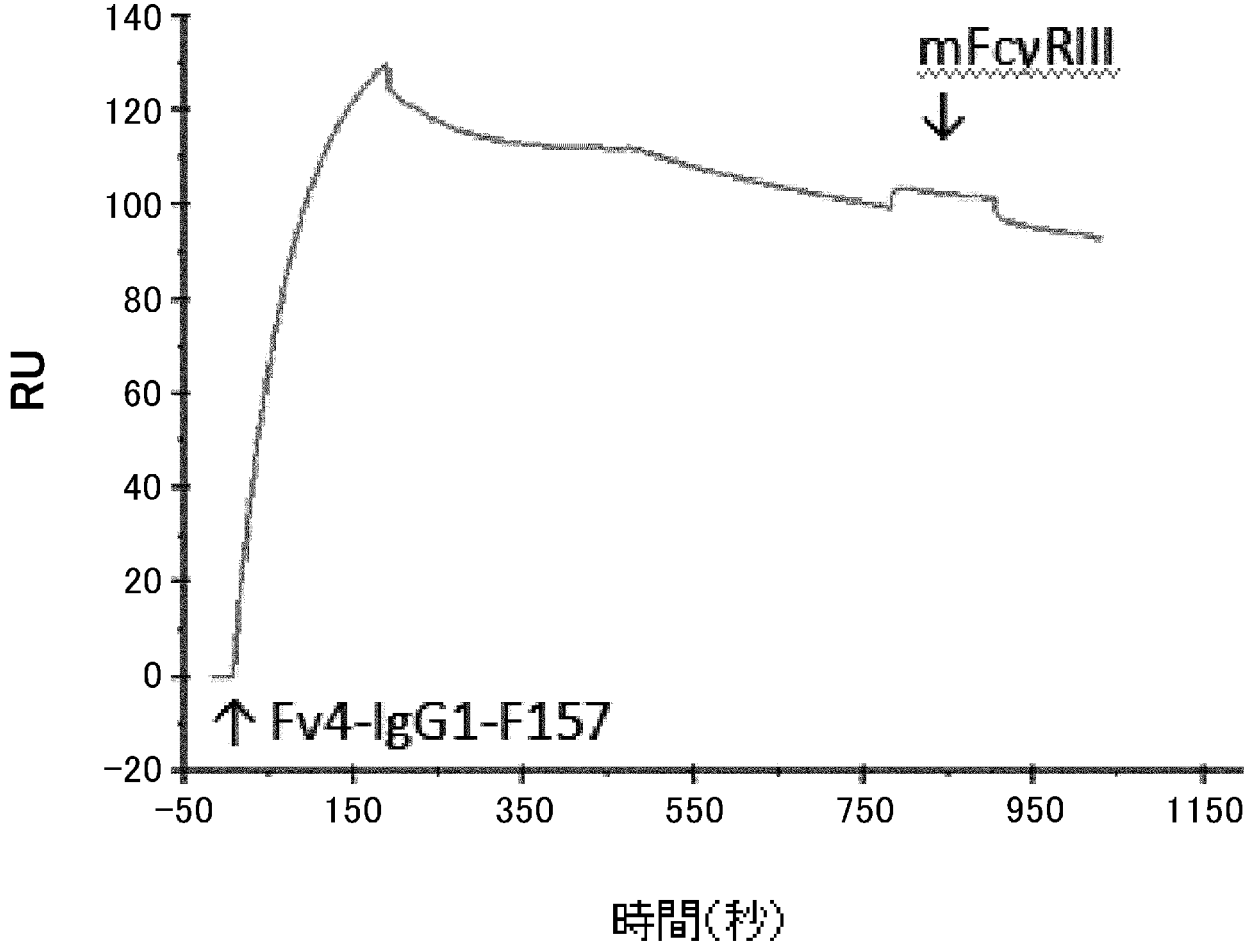
[図8]


mFcγRI
↓
↑ Fv4-IgG1-F157
RU
140
120
100
80
60
40
20
0
−20
−50
150
350
550
750
950
1150
時間(秒)

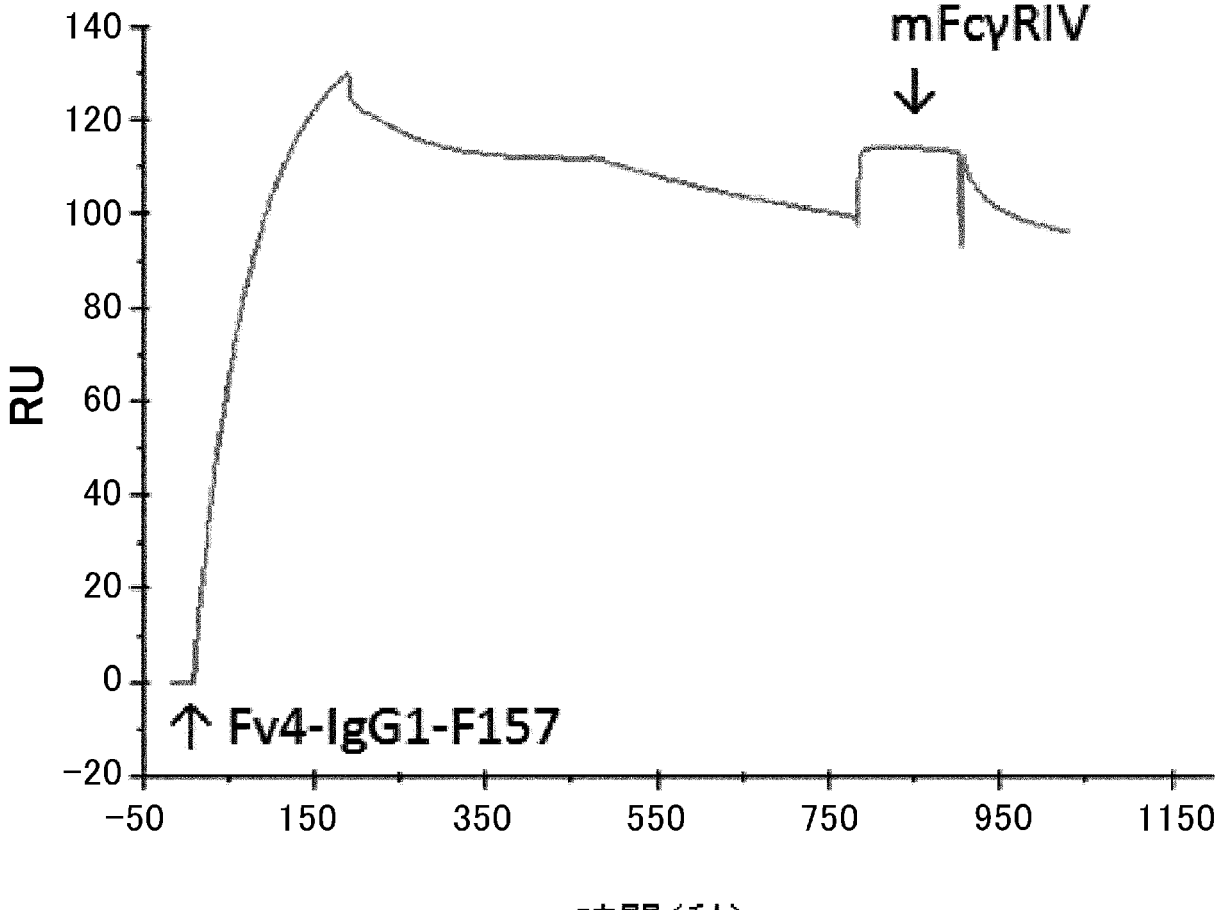
[図9]


mFcγRIIb
↑ Fv4-IgG1-F157
RU
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
-50
150
350
550
750
950
1150
時間(秒)

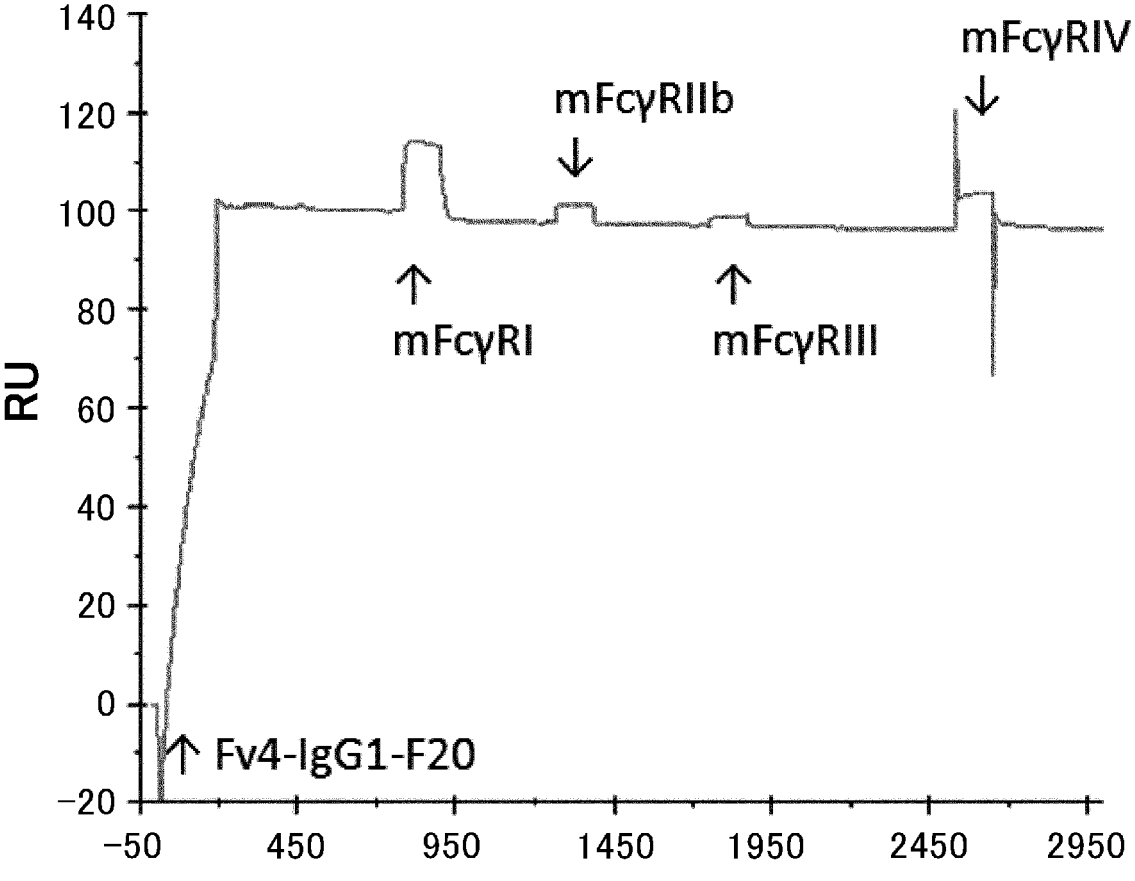
[図10]


mFcγRIII
↑ Fv4-IgG1-F157
RU
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
-50
150
350
550
750
950
1150
時間(秒)

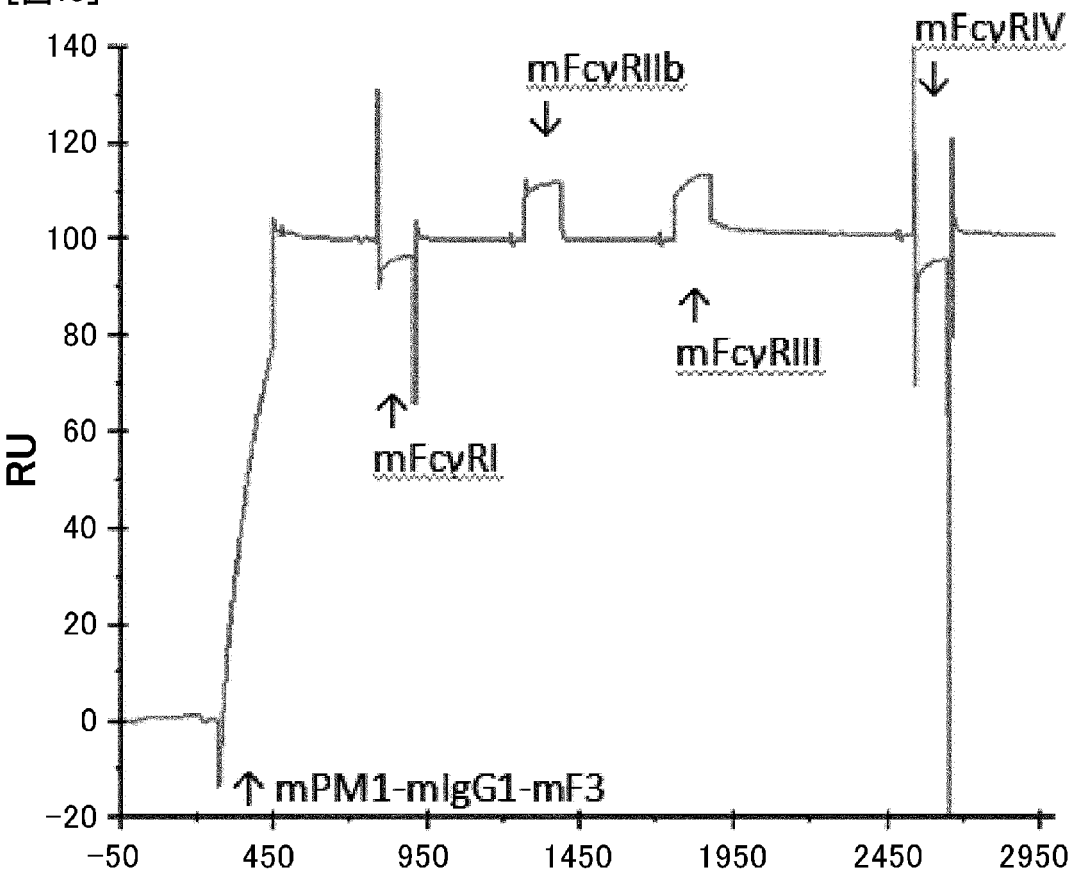
[図11]


mFcγRIV
RU
140
120
100
80
60
40
20
0
−20
Fv4-IgG1-F157
−50
150
350
550
750
950
1150
時間（秒）

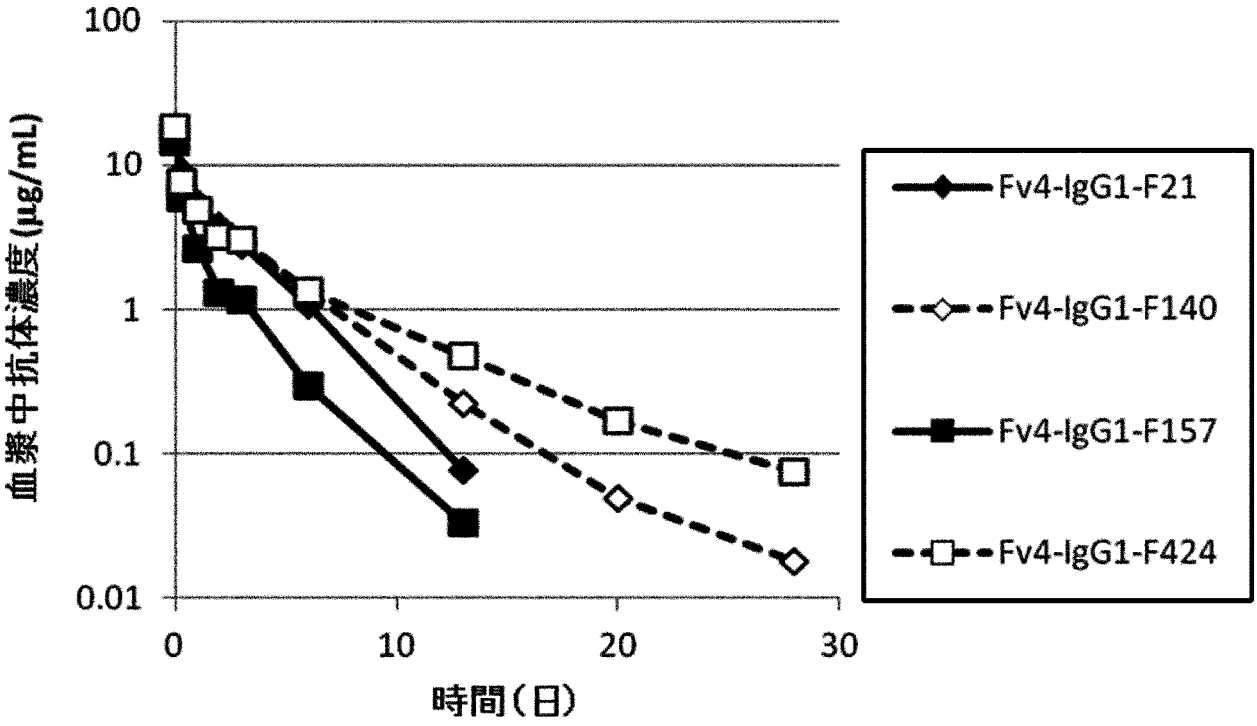
[図12]


mFcγRIV
mFcγRIIb
mFcγRI
mFcγRIII
RU
140
120
100
80
60
40
20
0
−20
Fv4-IgG1-F20
−50
450
950
1450
1950
2450
2950
時間（秒）

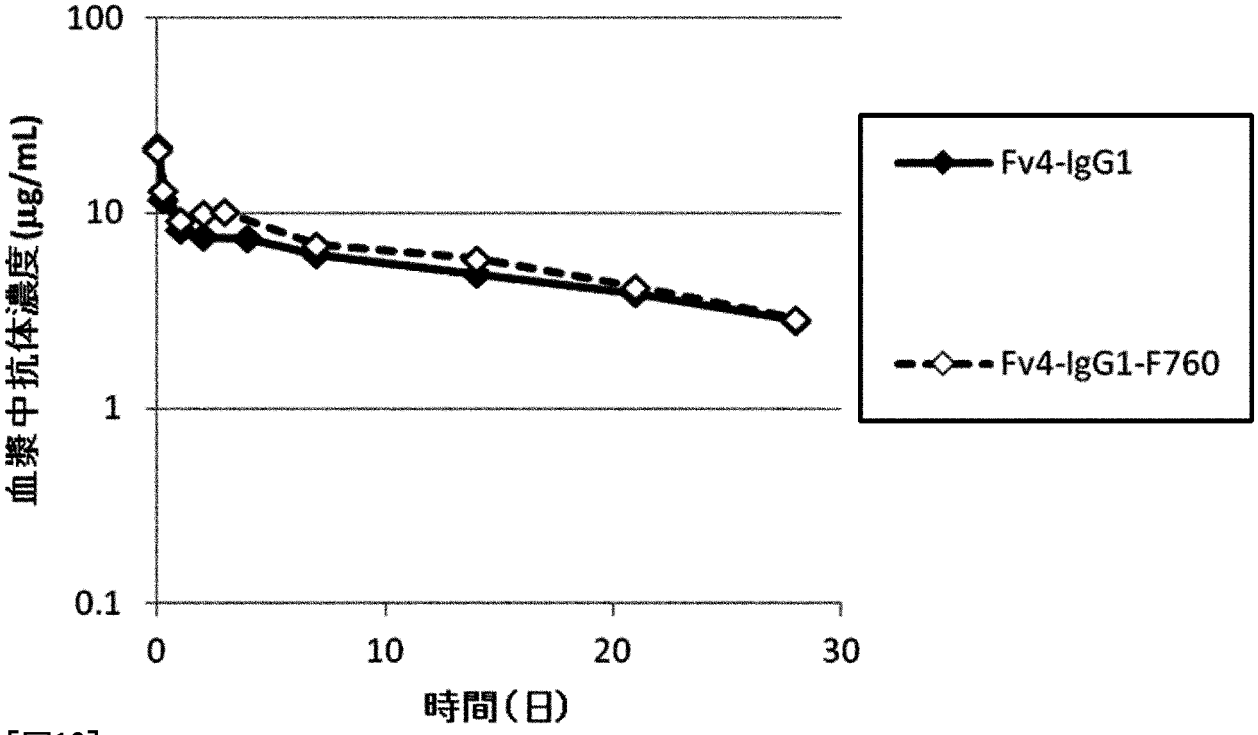
[図13]


mFcγRIV
mFcγRIIb
mFcγRIII
mFcγRI
mPM1-mIgG1-mF3
RU
140
120
100
80
60
40
20
0
−20
−50
450
950
1450
1950
2450
2950
時間(秒)

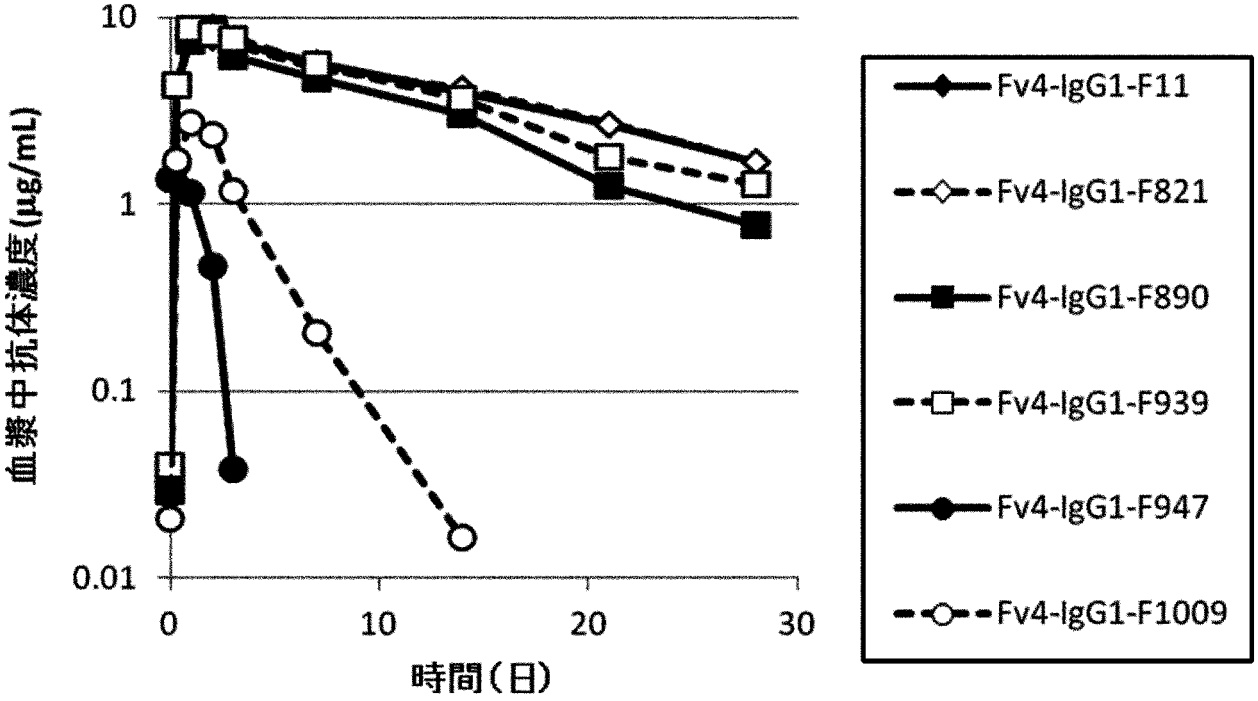
[図14]


血漿中抗体濃度(μg/mL)
100
10
1
0.1
0.01
0
10
20
30
時間(日)
Fv4-IgG1-F21
Fv4-IgG1-F140
Fv4-IgG1-F157
Fv4-IgG1-F424

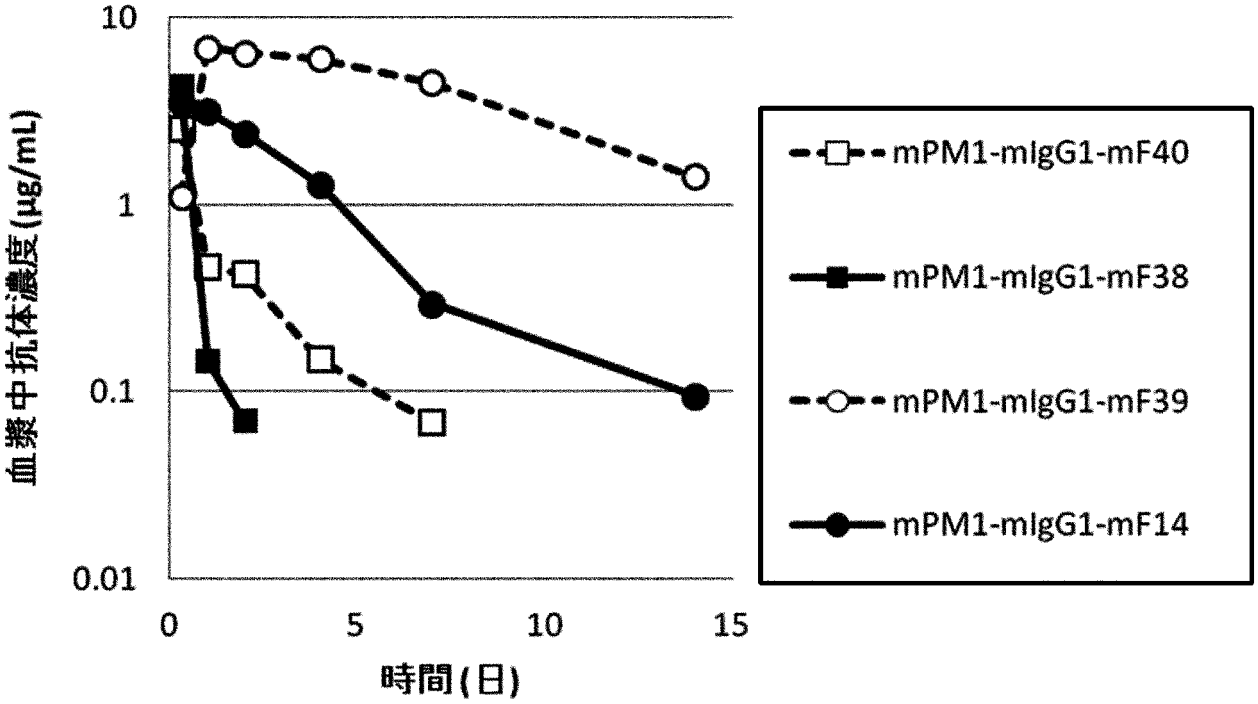
[図15]


100
10
1
0.1
0
10
20
30
血漿中抗体濃度(μg/mL)
時間(日)
Fv4-IgG1
Fv4-IgG1-F760

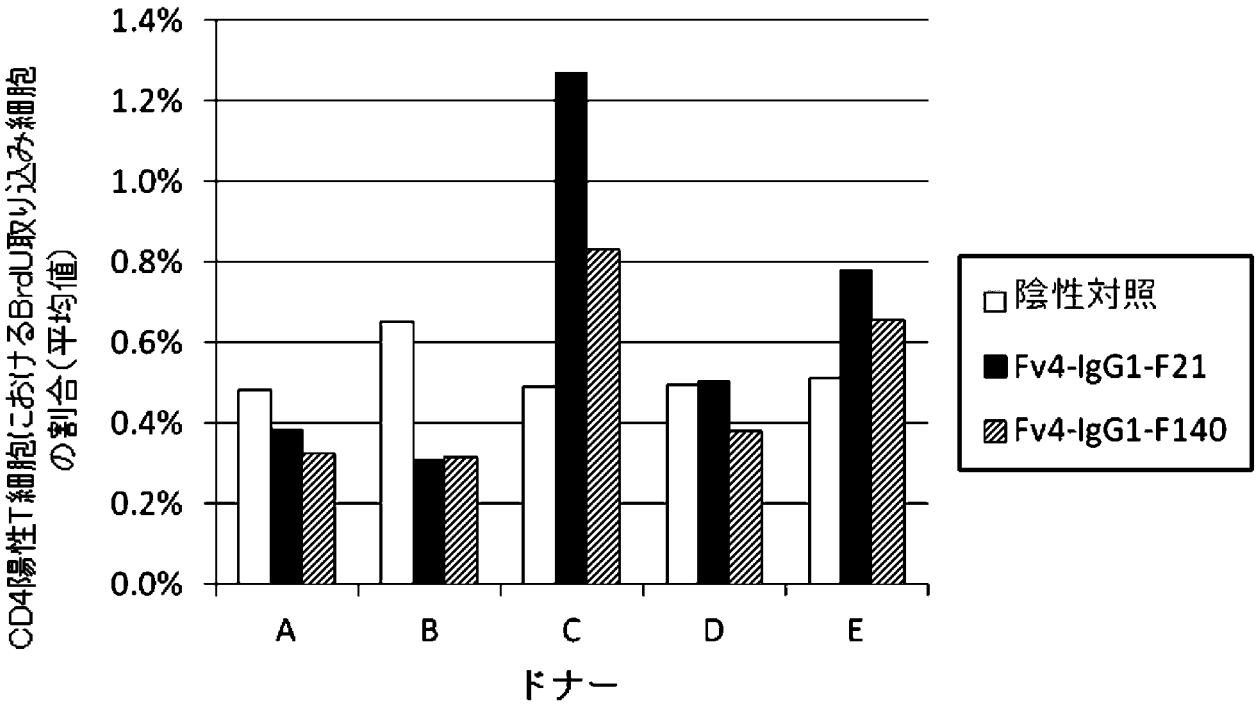
[図16]


10
1
0.1
0.01
0
10
20
30
血漿中抗体濃度(μg/mL)
時間(日)
Fv4-IgG1-F11
Fv4-IgG1-F821
Fv4-IgG1-F890
Fv4-IgG1-F939
Fv4-IgG1-F947
Fv4-IgG1-F1009

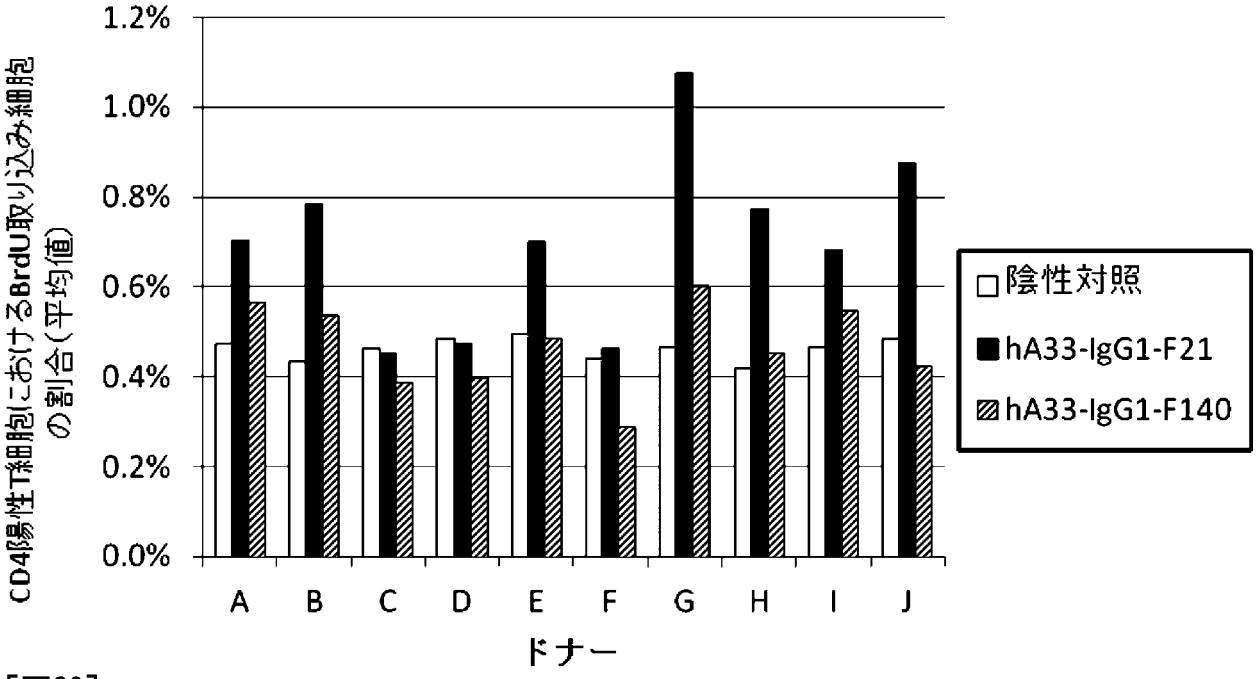
[図17]


10
1
0.1
0.01
血漿中抗体濃度(μg/mL)
0
5
10
15
時間(日)
mPM1-mIgG1-mF40
mPM1-mIgG1-mF38
mPM1-mIgG1-mF39
mPM1-mIgG1-mF14

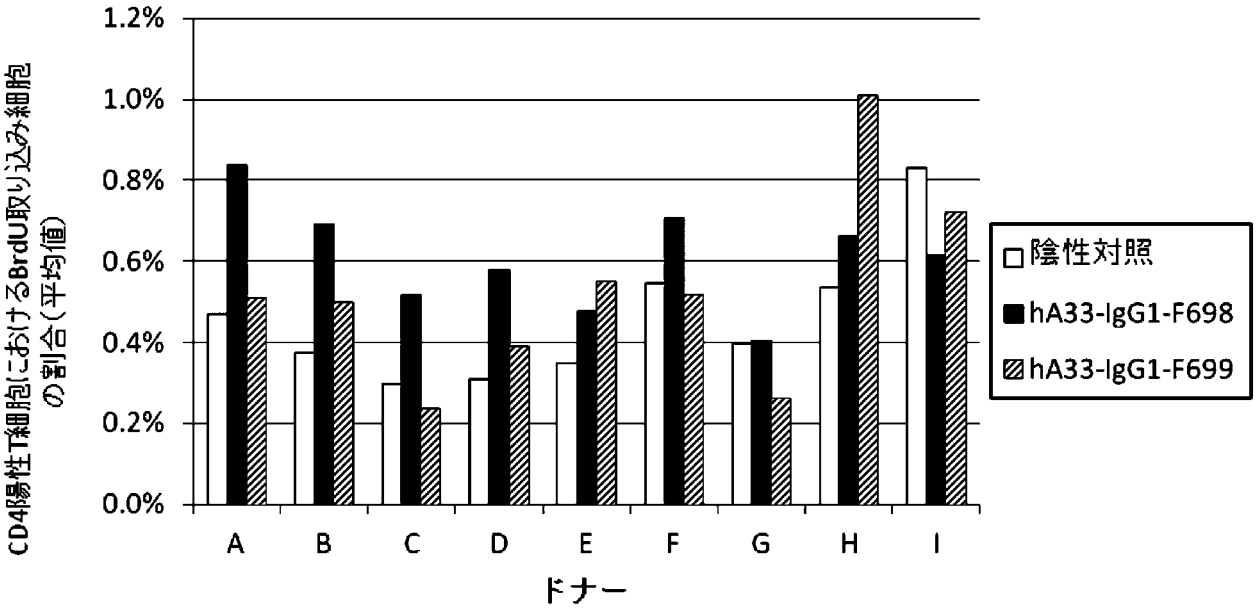
[図18]


1.4%
1.2%
1.0%
0.8%
0.6%
0.4%
0.2%
0.0%
CD4陽性T細胞におけるBrdU取り込み細胞の割合(平均値)
A
B
C
D
E
ドナー
陰性対照
Fv4-IgG1-F21
Fv4-IgG1-F140

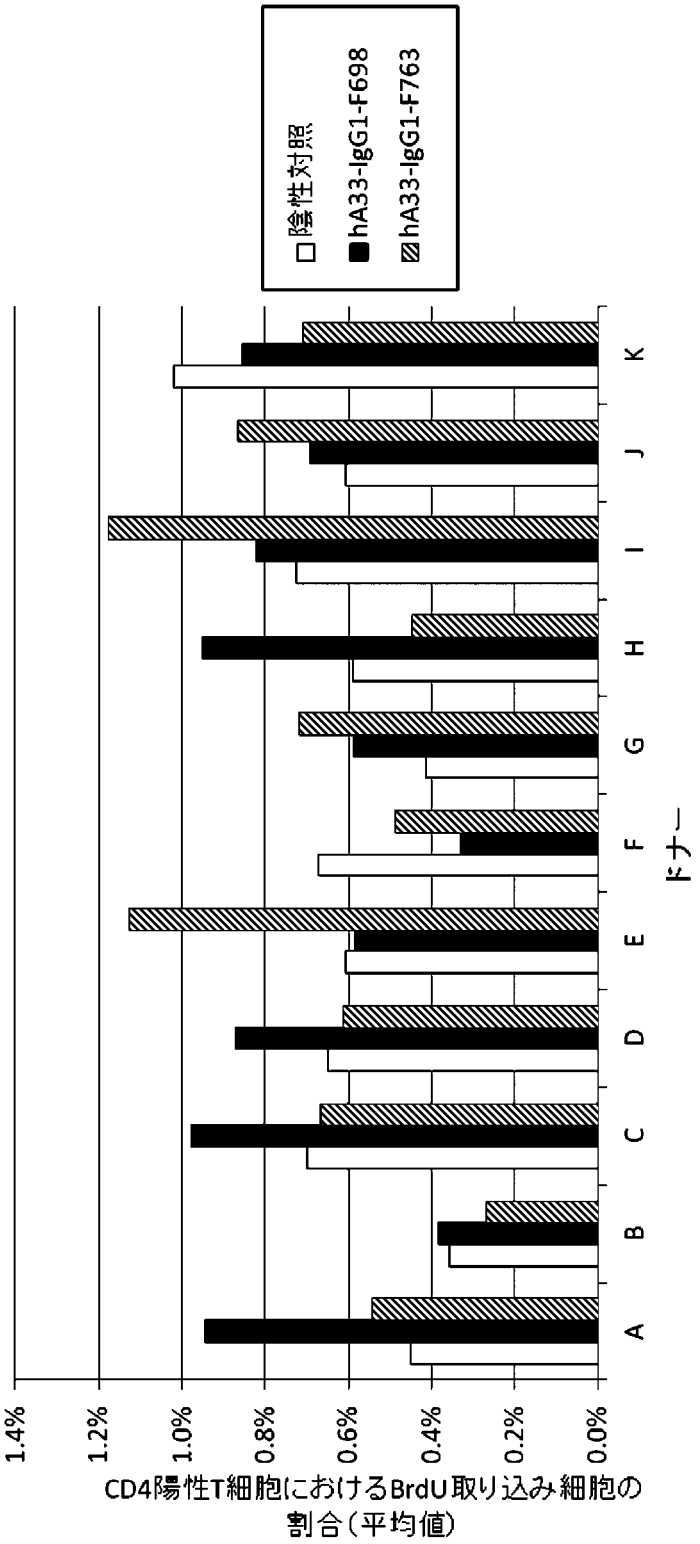
[図19]


CD4陽性T細胞におけるBrdU取り込み細胞の割合(平均値)
1.2%
1.0%
0.8%
0.6%
0.4%
0.2%
0.0%
A
B
C
D
E
F
G
H
I
J
ドナー
陰性対照
hA33-IgG1-F21
hA33-IgG1-F140

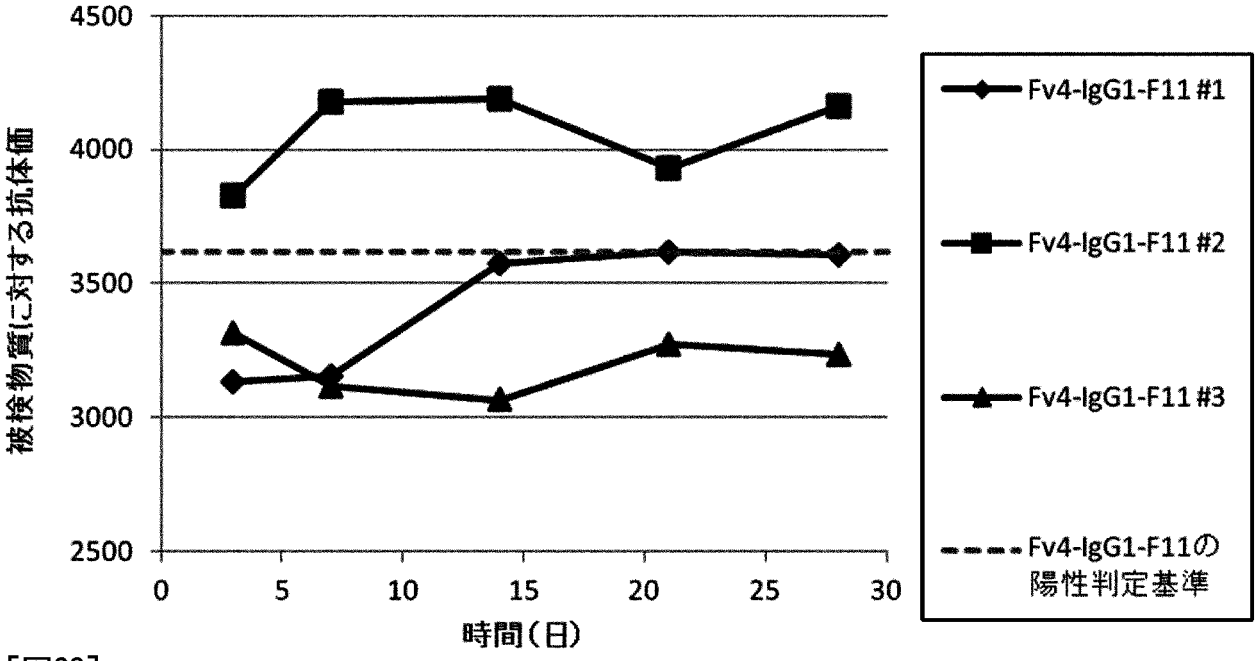
[図20]


CD4陽性T細胞におけるBrdU取り込み細胞の割合(平均値)
1.2%
1.0%
0.8%
0.6%
0.4%
0.2%
0.0%
A
B
C
D
E
F
G
H
I
ドナー
陰性対照
hA33-IgG1-F698
hA33-IgG1-F699

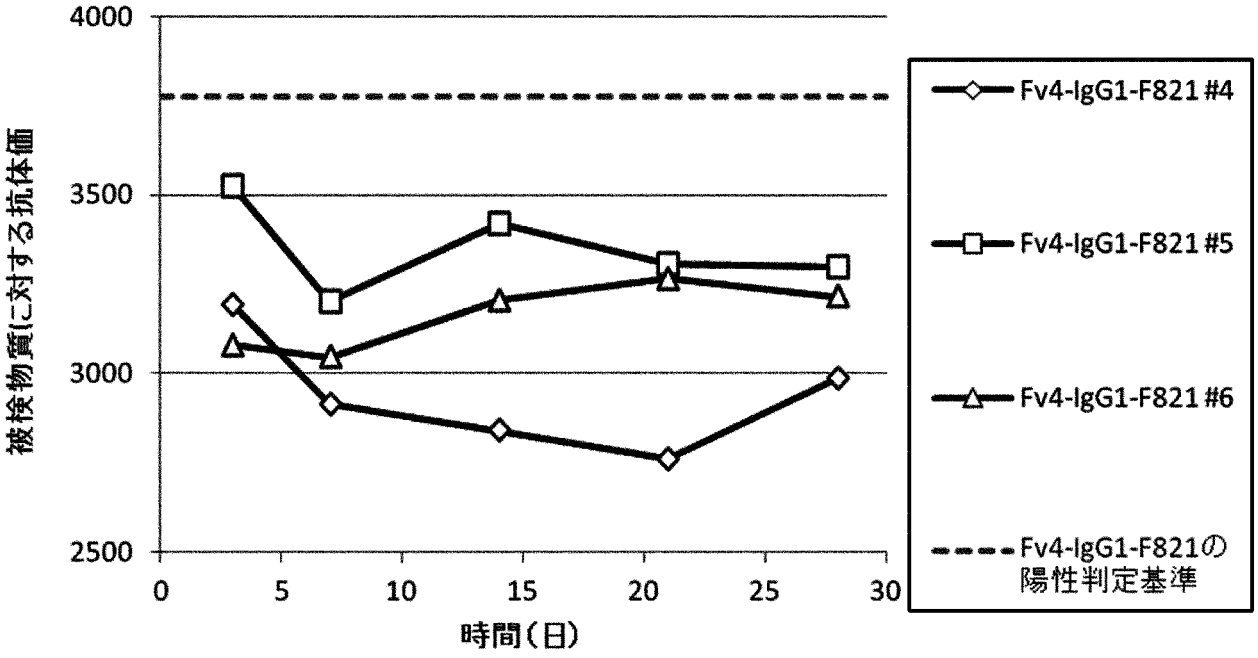
[図21]


□陰性対照
■hA33-IgG1-F698
▨hA33-IgG1-F763
A
B
C
D
E
F
G
H
I
J
K
ドナー
1.4%
1.2%
1.0%
0.8%
0.6%
0.4%
0.2%
0.0%
CD4陽性T細胞におけるBrdU取り込み細胞の割合（平均値）

[図22]

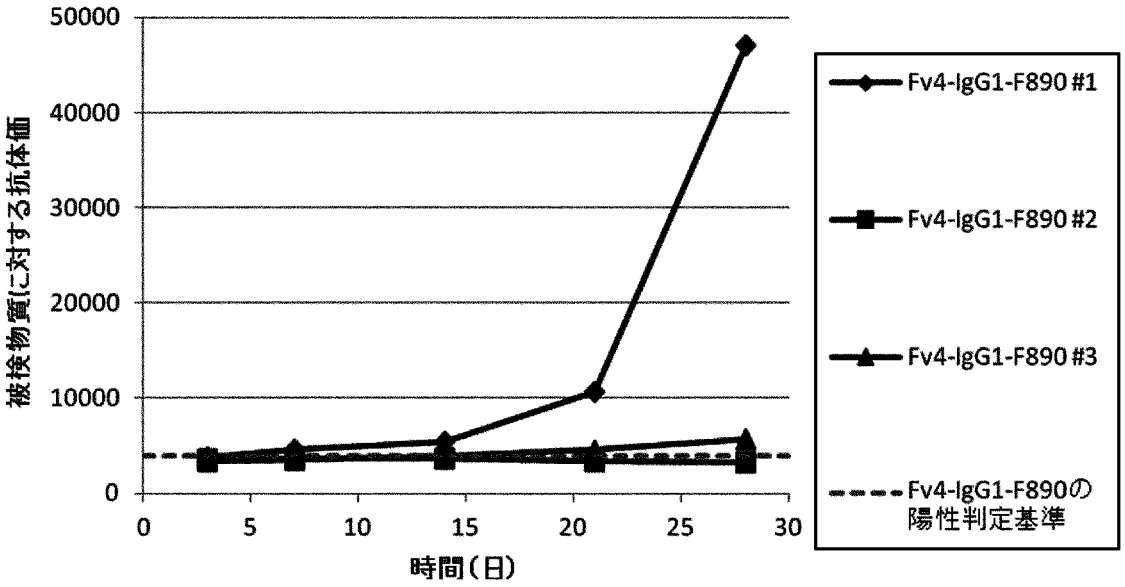

4500
4000
3500
3000
2500
0
5
10
15
20
25
30
被検物質に対する抗体価
時間(日)
Fv4-IgG1-F11 #1
Fv4-IgG1-F11 #2
Fv4-IgG1-F11 #3
Fv4-IgG1-F11の
陽性判定基準

[図23]

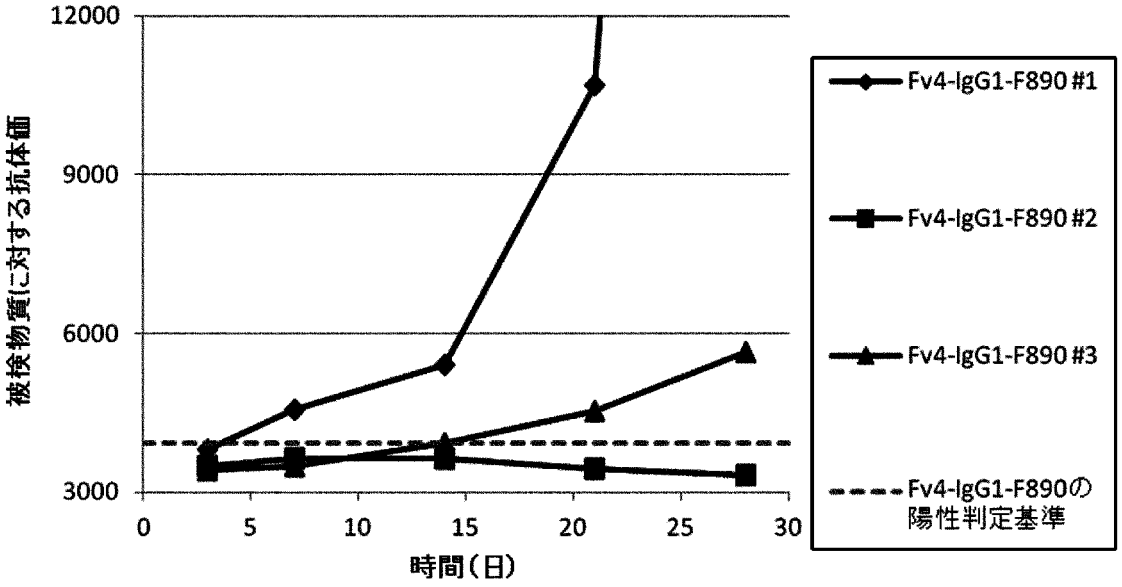

4000
3500
3000
2500
0
5
10
15
20
25
30
被検物質に対する抗体価
時間(日)
Fv4-IgG1-F821 #4
Fv4-IgG1-F821 #5
Fv4-IgG1-F821 #6
Fv4-IgG1-F821の
陽性判定基準

[図24]

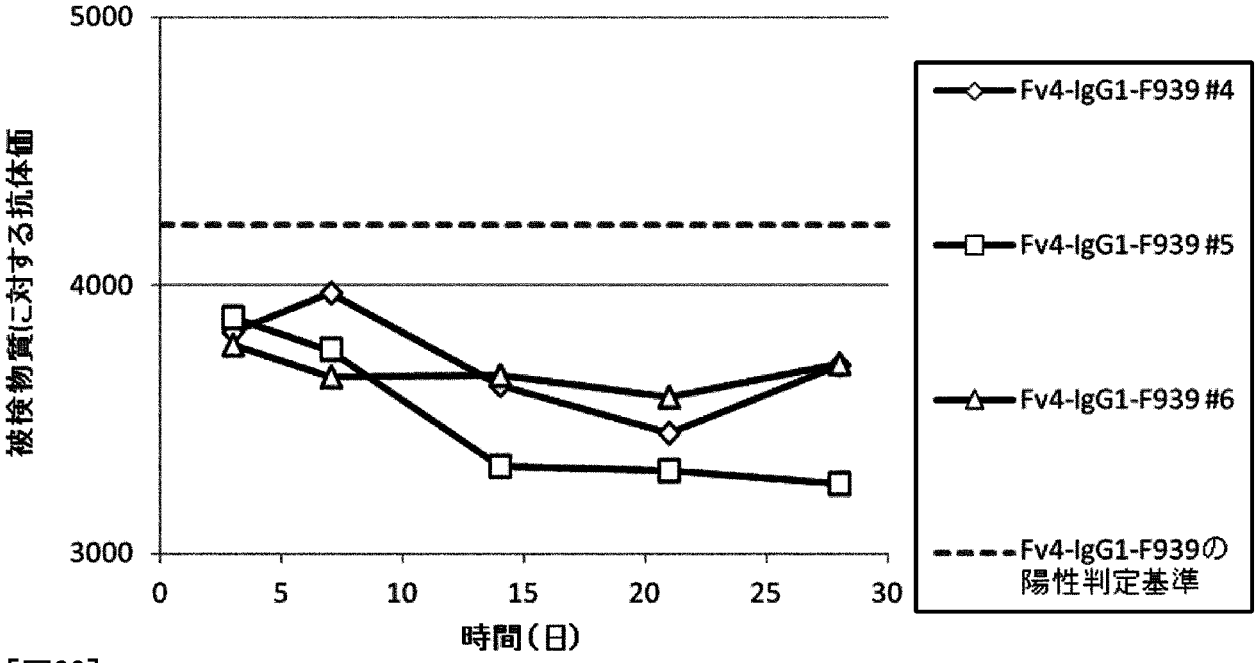
A


50000
40000
30000
20000
10000
0
被検物質に対する抗体価
0
5
10
15
20
25
30
時間(日)
Fv4-IgG1-F890#1
Fv4-IgG1-F890#2
Fv4-IgG1-F890#3
Fv4-IgG1-F890の
陽性判定基準

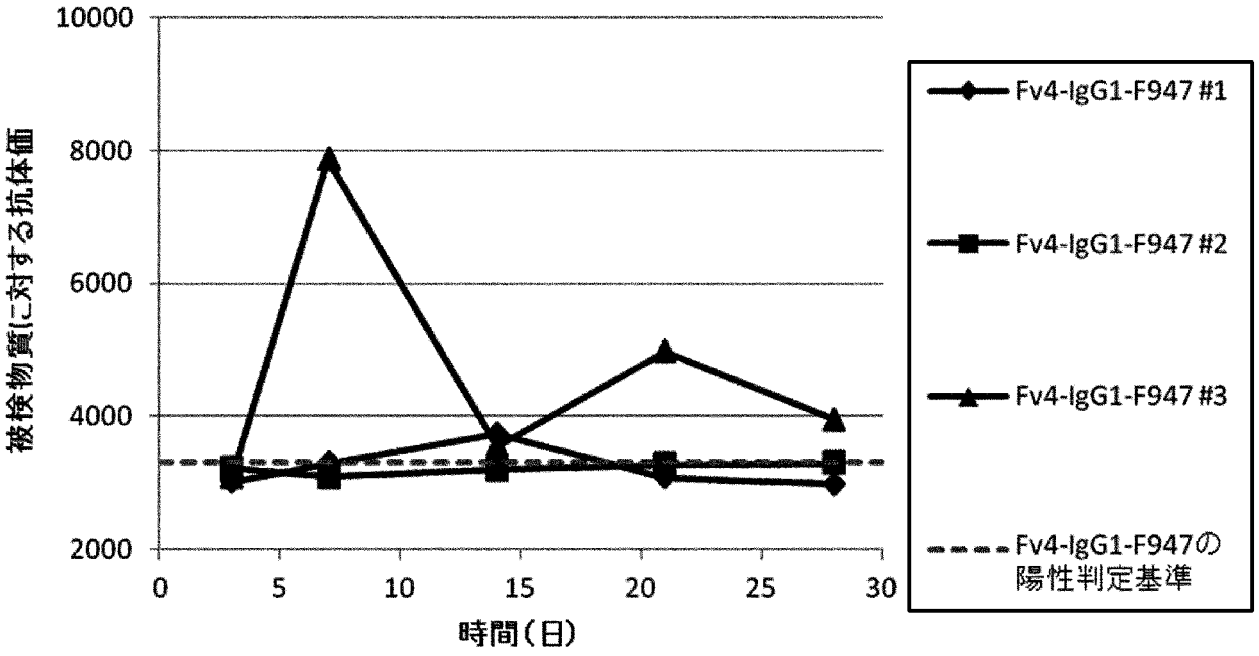
B


12000
9000
6000
3000
被検物質に対する抗体価
0
5
10
15
20
25
30
時間(日)
Fv4-IgG1-F890#1
Fv4-IgG1-F890#2
Fv4-IgG1-F890#3
Fv4-IgG1-F890の
陽性判定基準

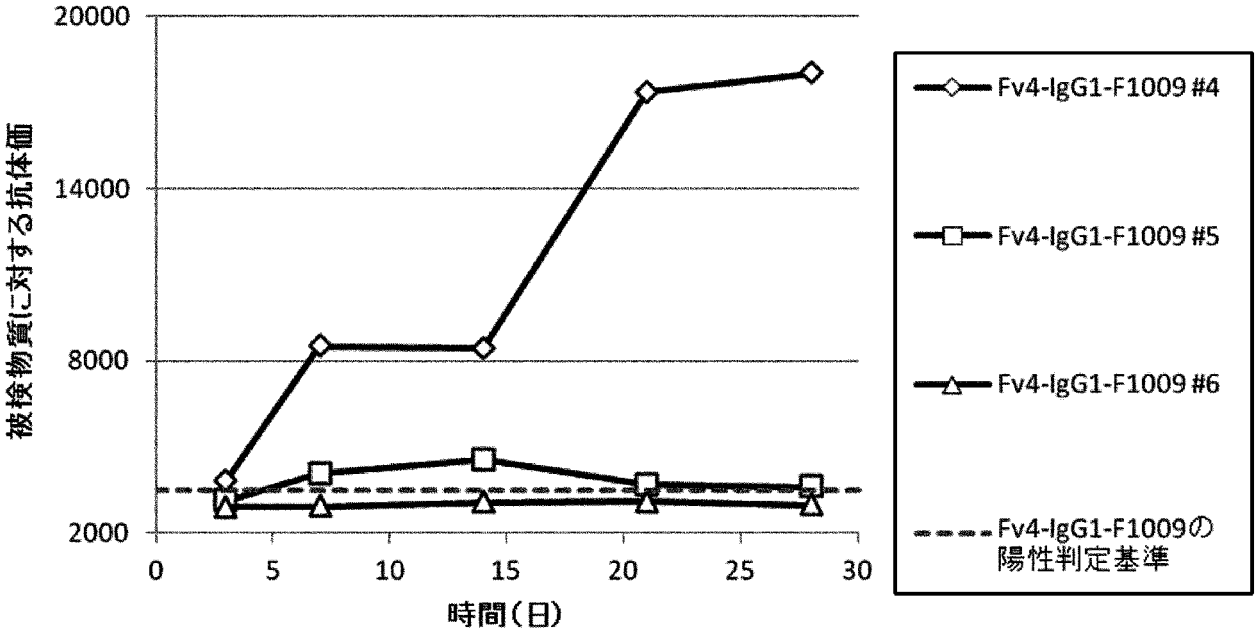
[図25]


5000
4000
3000
0
5
10
15
20
25
30
被検物質に対する抗体価
時間(日)
Fv4-IgG1-F939 #4
Fv4-IgG1-F939 #5
Fv4-IgG1-F939 #6
Fv4-IgG1-F939の
陽性判定基準

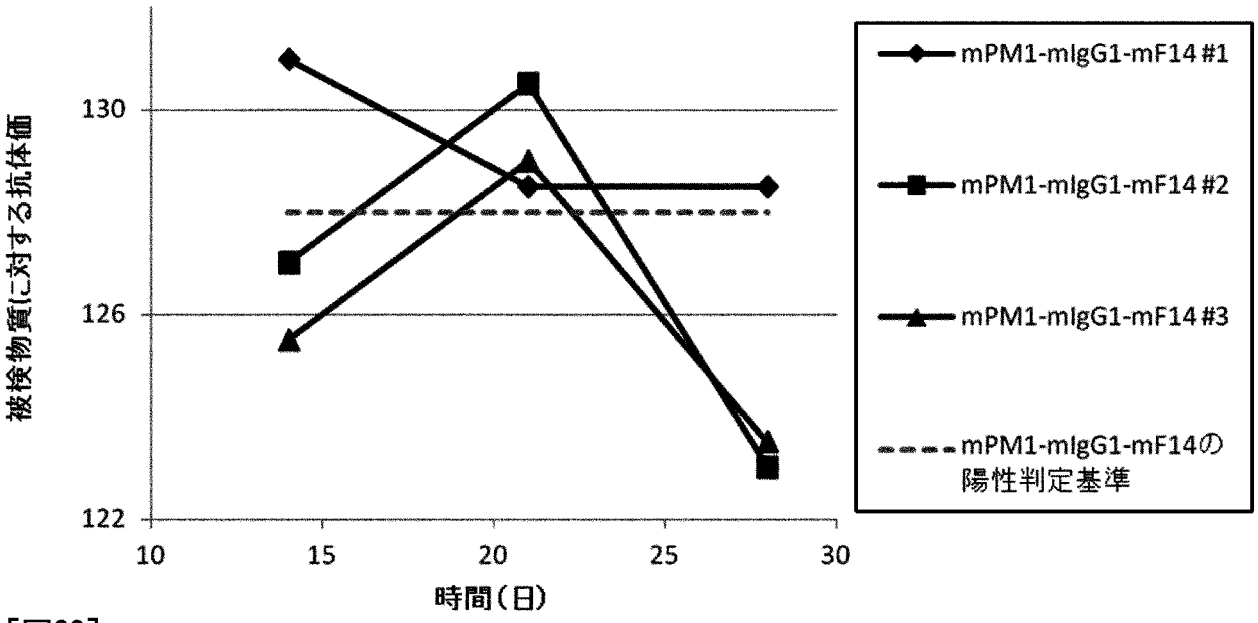
[図26]


10000
8000
6000
4000
2000
0
5
10
15
20
25
30
被検物質に対する抗体価
時間(日)
Fv4-IgG1-F947 #1
Fv4-IgG1-F947 #2
Fv4-IgG1-F947 #3
Fv4-IgG1-F947の
陽性判定基準

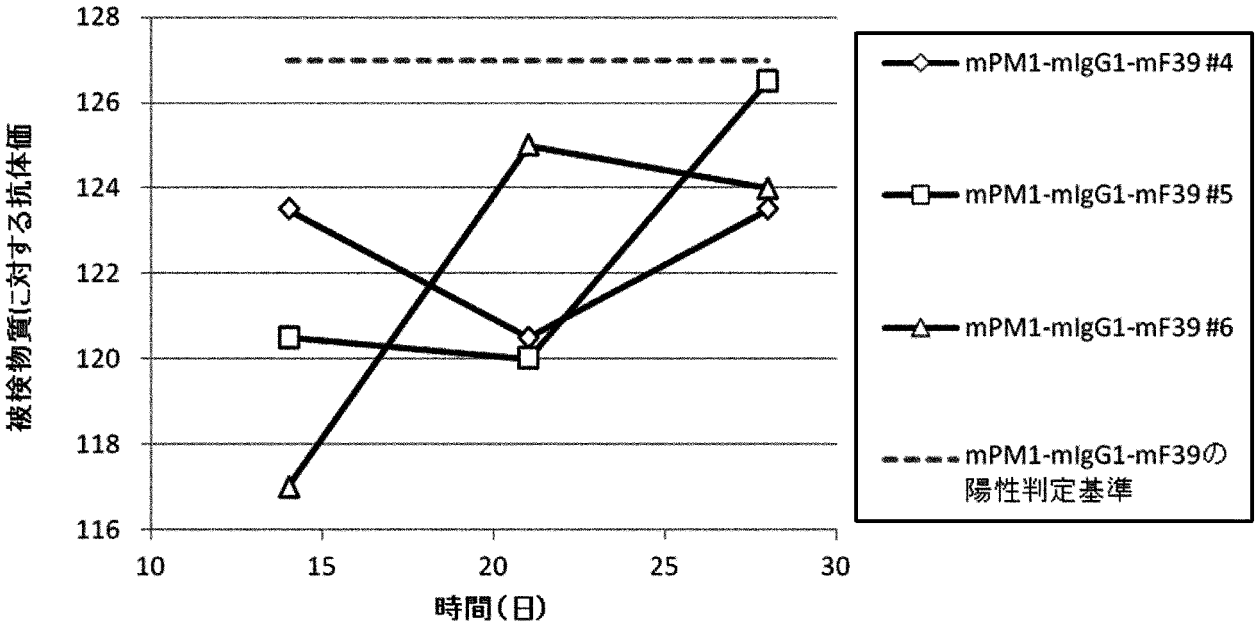
[図27]


20000
14000
8000
2000
0
5
10
15
20
25
30
被検物質に対する抗体価
時間(日)
Fv4-IgG1-F1009 #4
Fv4-IgG1-F1009 #5
Fv4-IgG1-F1009 #6
Fv4-IgG1-F1009の
陽性判定基準

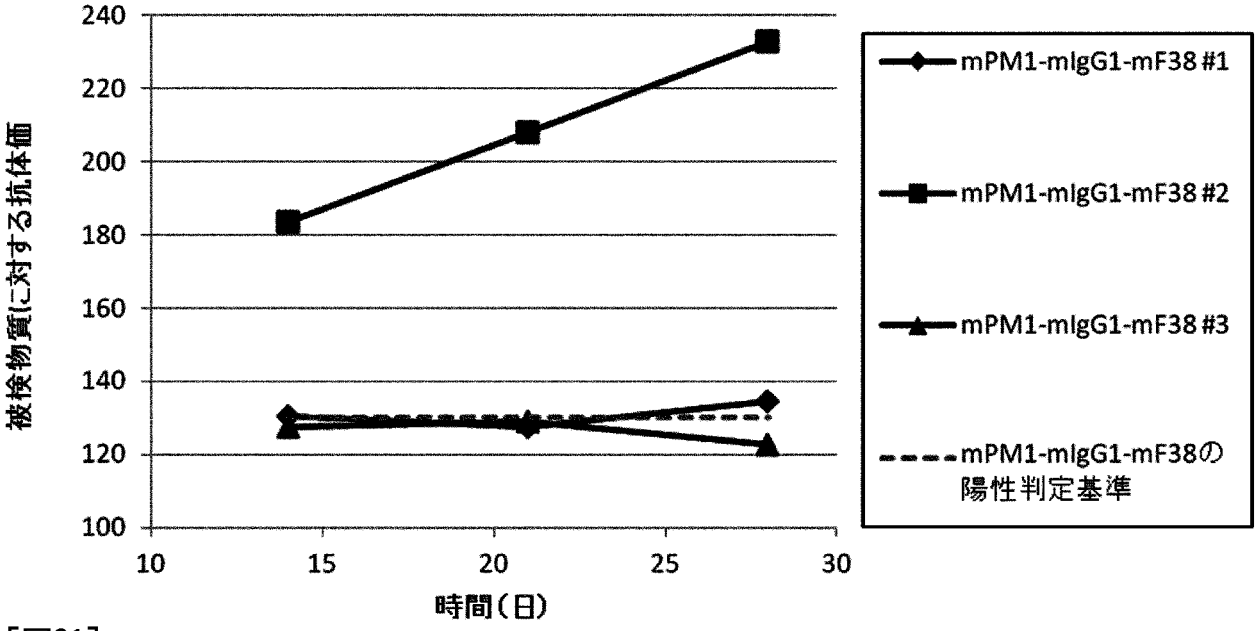
[図28]


130
126
122
10
15
20
25
30
被検物質に対する抗体価
時間(日)
mPM1-mIgG1-mF14 #1
mPM1-mIgG1-mF14 #2
mPM1-mIgG1-mF14 #3
mPM1-mIgG1-mF14の
陽性判定基準

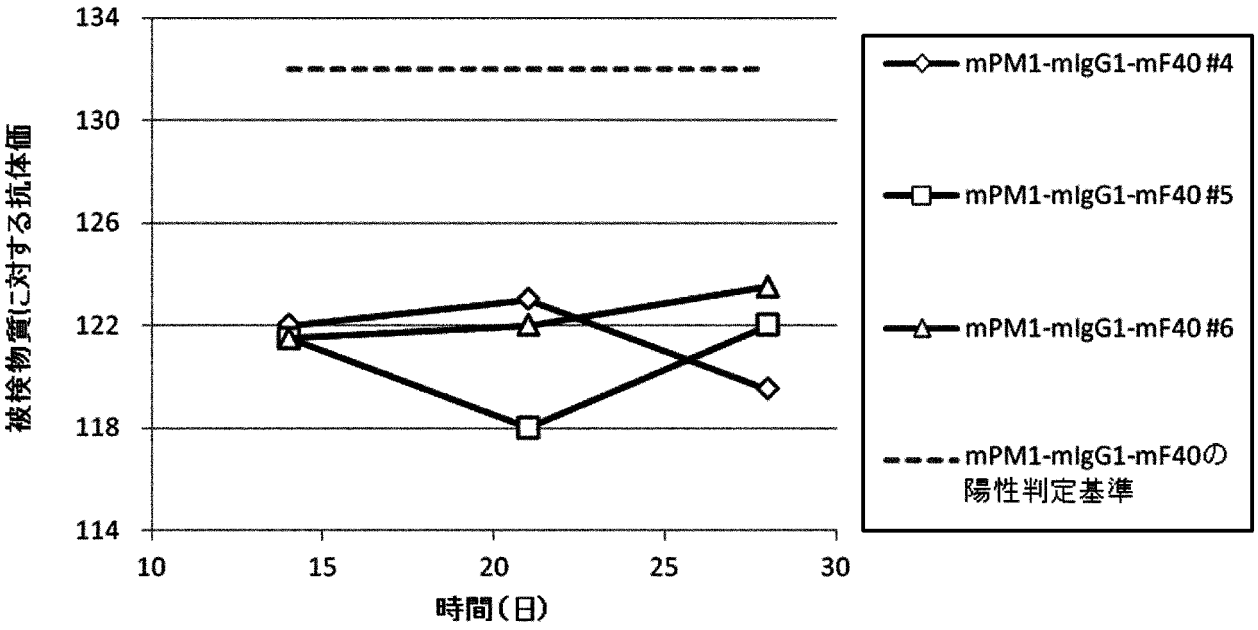
[図29]


128
126
124
122
120
118
116
10
15
20
25
30
被検物質に対する抗体価
時間(日)
mPM1-mIgG1-mF39 #4
mPM1-mIgG1-mF39 #5
mPM1-mIgG1-mF39 #6
mPM1-mIgG1-mF39の
陽性判定基準

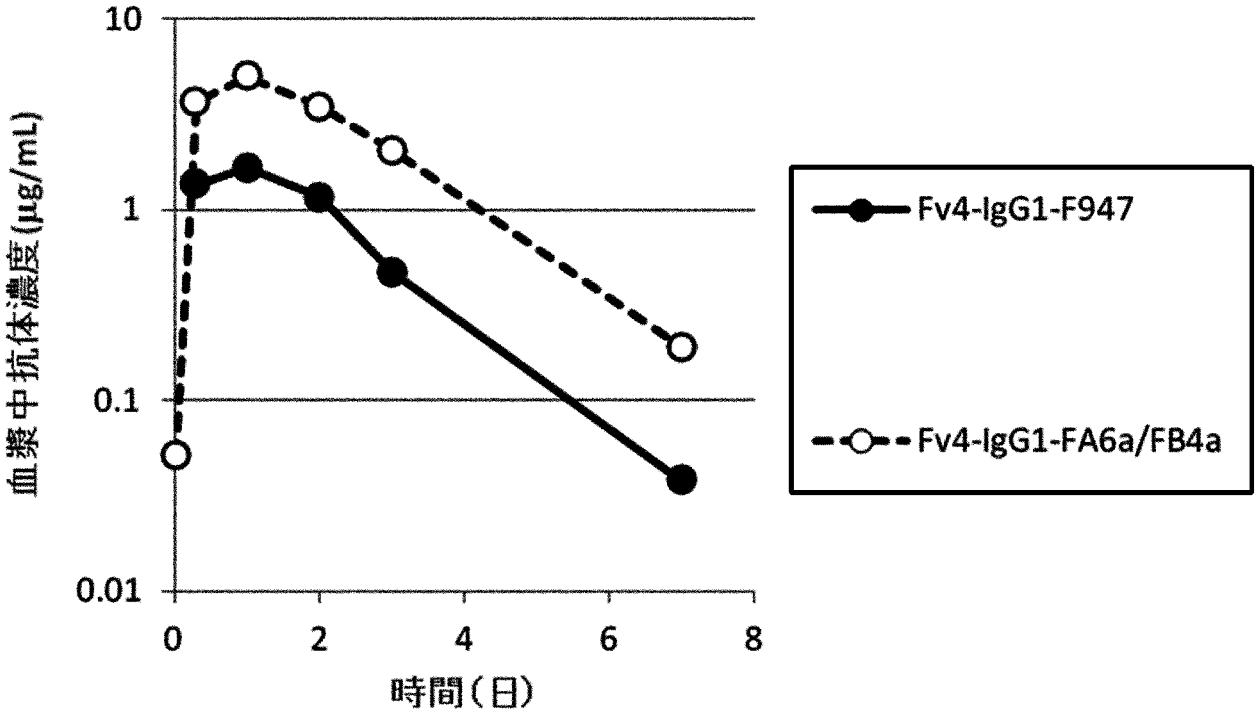
[図30]


240
220
200
180
160
140
120
100
10
15
20
25
30
被検物質に対する抗体価
時間(日)
mPM1-mIgG1-mF38 #1
mPM1-mIgG1-mF38 #2
mPM1-mIgG1-mF38 #3
mPM1-mIgG1-mF38の
陽性判定基準

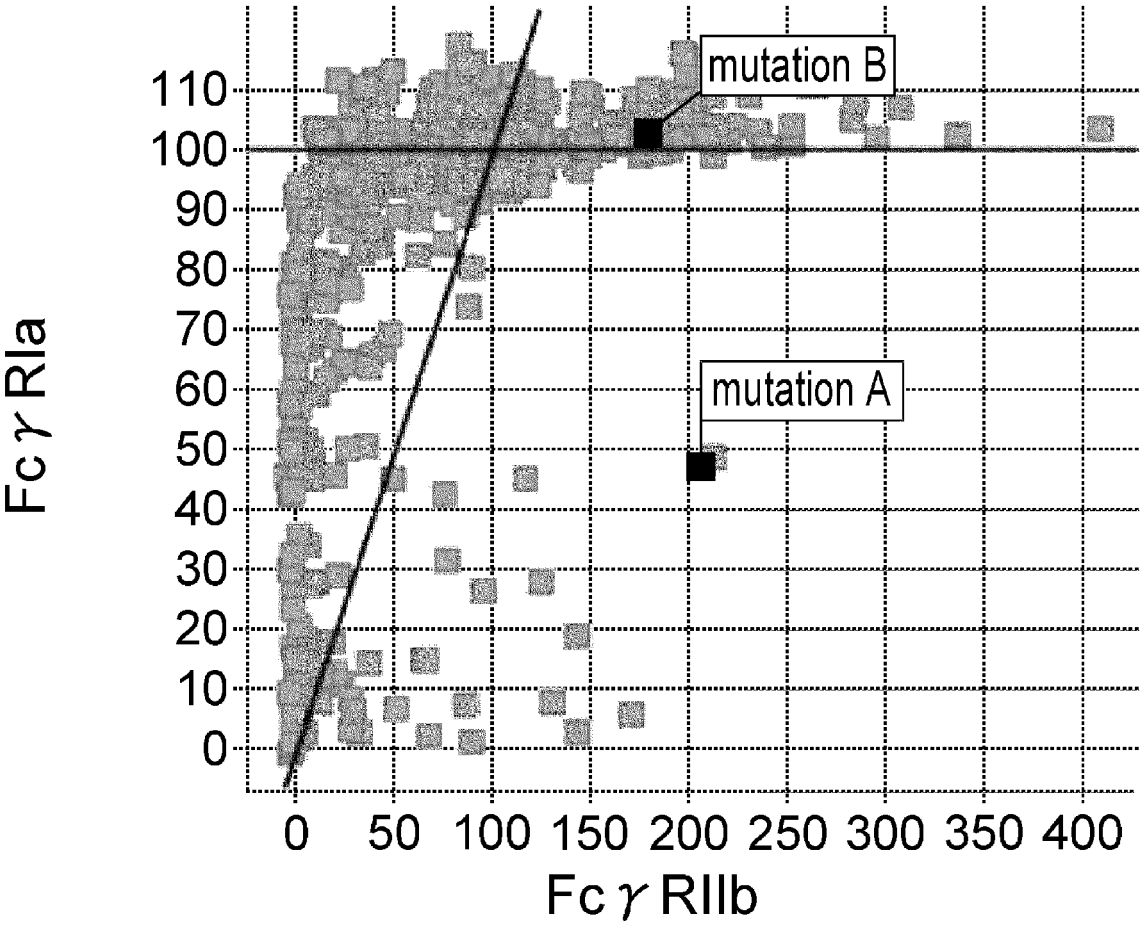
[図31]


134
130
126
122
118
114
10
15
20
25
30
被検物質に対する抗体価
時間(日)
mPM1-mIgG1-mF40 #4
mPM1-mIgG1-mF40 #5
mPM1-mIgG1-mF40 #6
mPM1-mIgG1-mF40の
陽性判定基準

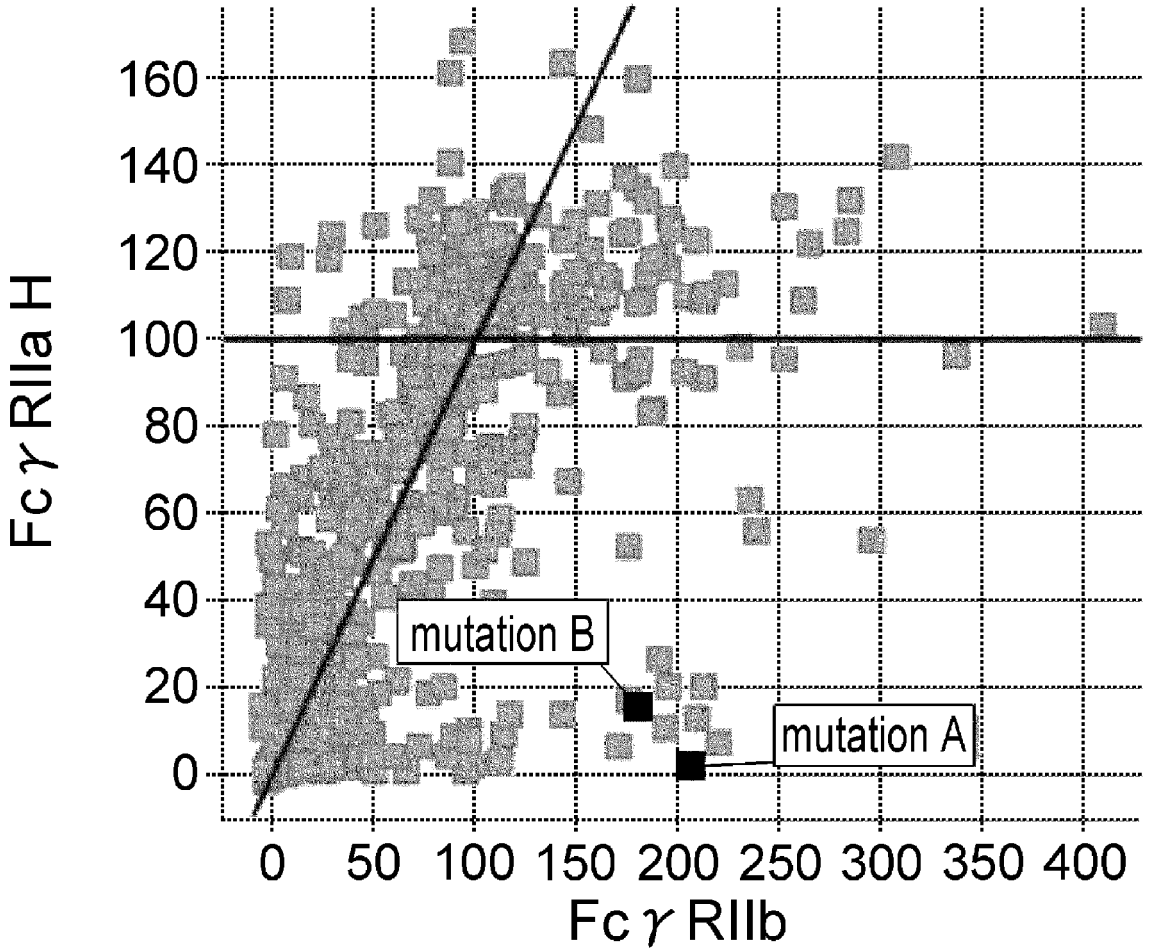
[図32]


10
1
0.1
0.01
血漿中抗体濃度(μg/mL)
0
2
4
6
8
時間(日)
Fv4-IgG1-F947
Fv4-IgG1-FA6a/FB4a

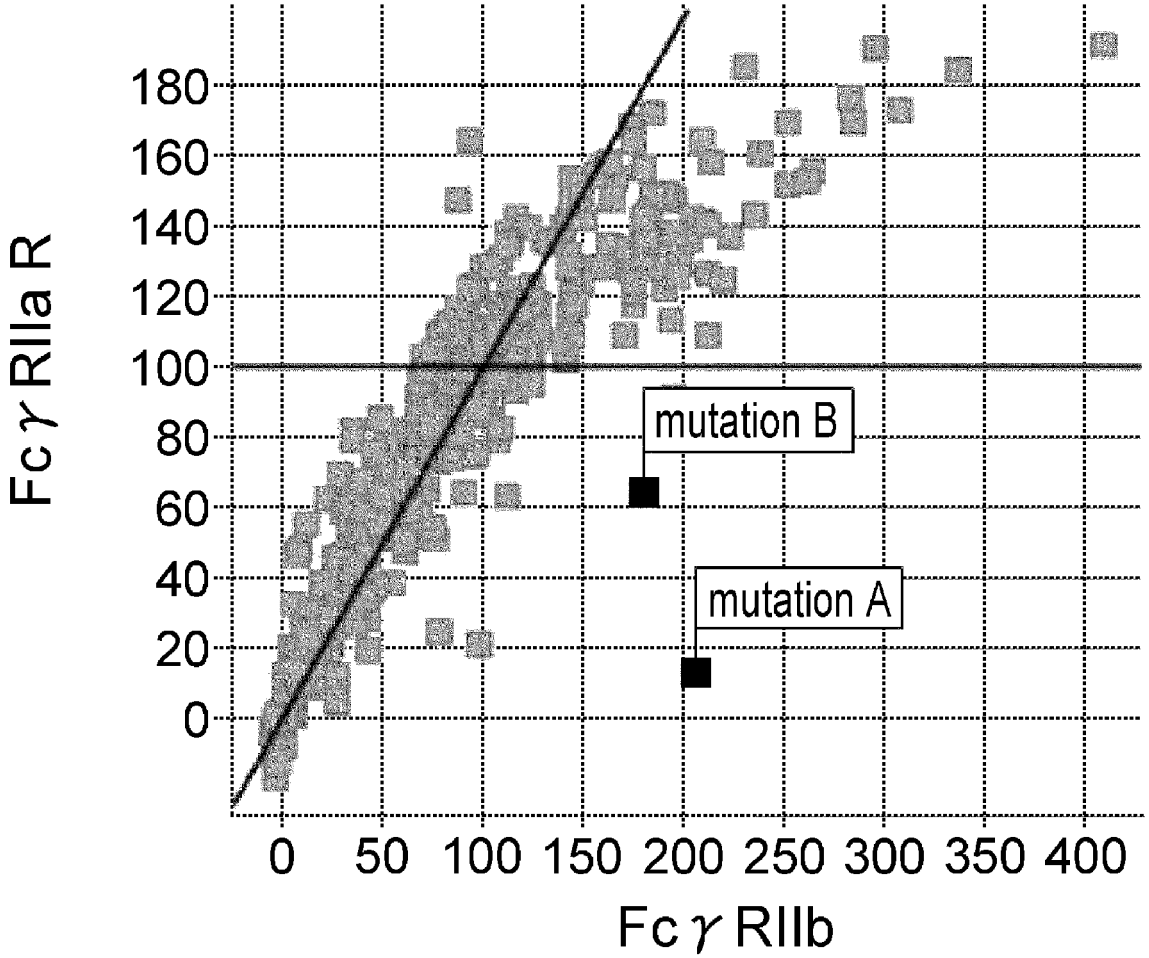
[図33]


mutation B
mutation A
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
50
100
150
200
250
300
350
400
FcγRIa
FcγRIIb

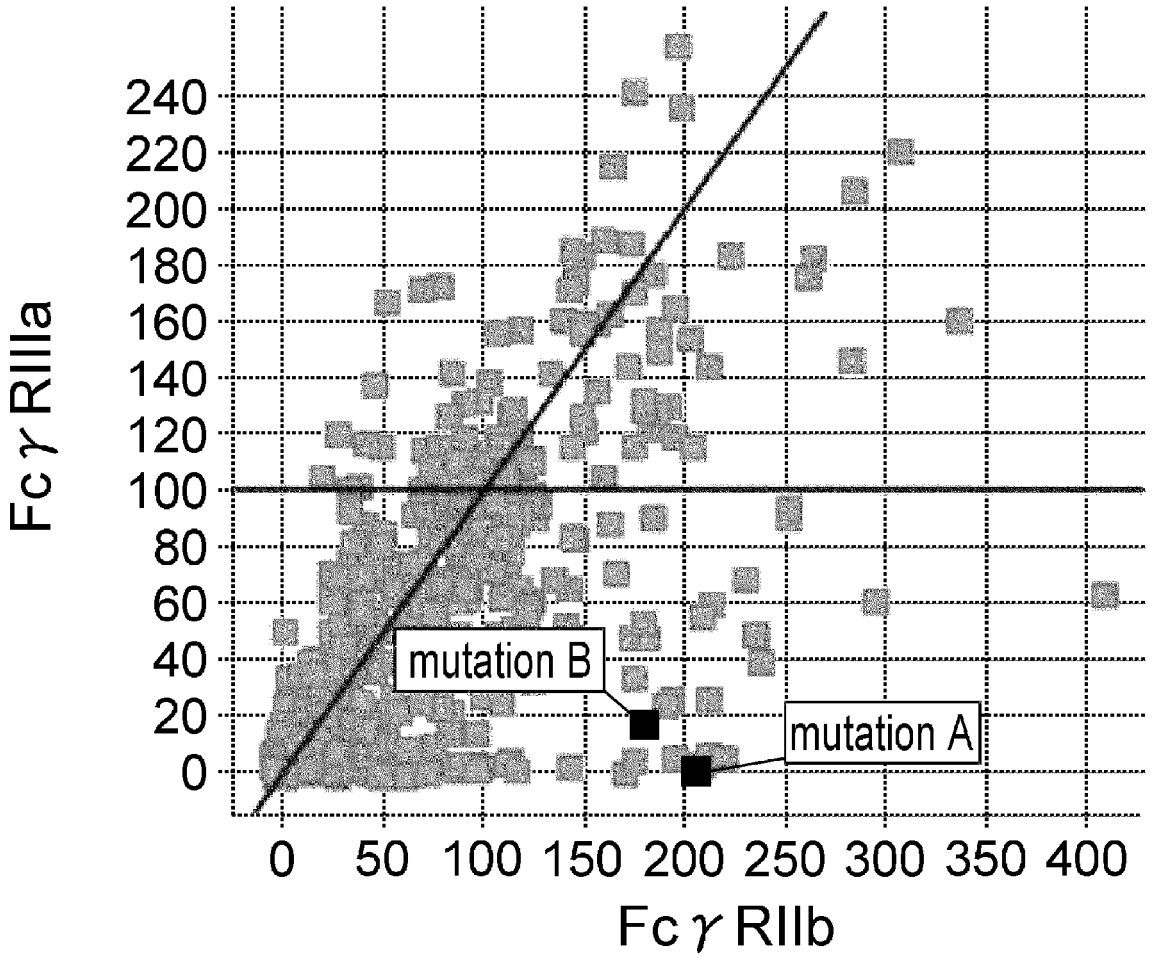
[図34]


160
140
120
100
80
60
40
20
0
FcγRIIa H
mutation B
mutation A
0 50 100 150 200 250 300 350 400
FcγRIIb

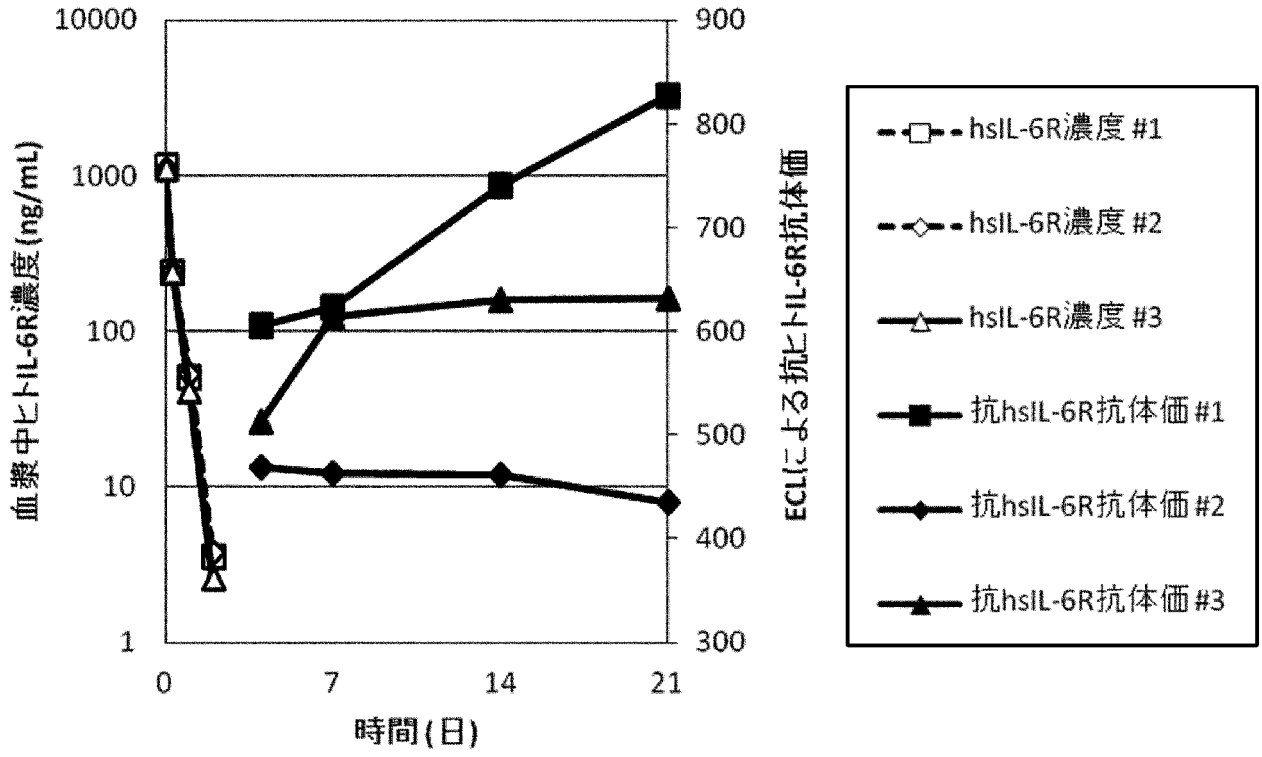
[図35]


180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
FcγRIIa R
mutation B
mutation A
0 50 100 150 200 250 300 350 400
FcγRIIb

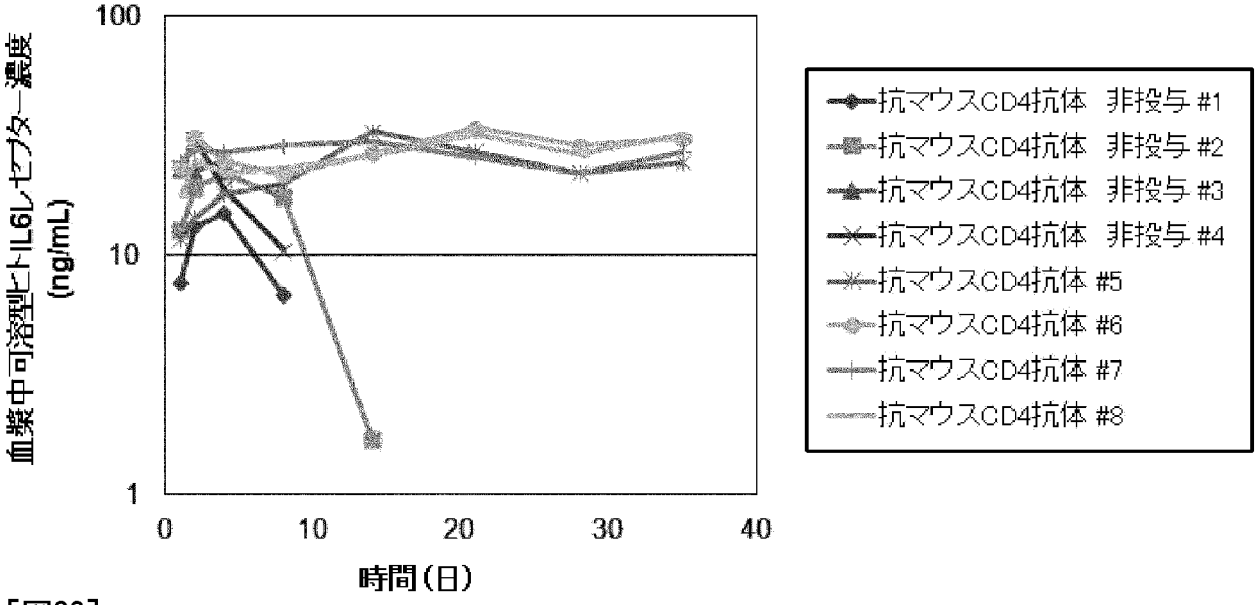
[図36]


FcγRIIIa
240
220
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
mutation B
mutation A
0
50
100
150
200
250
300
350
400
FcγRIIb

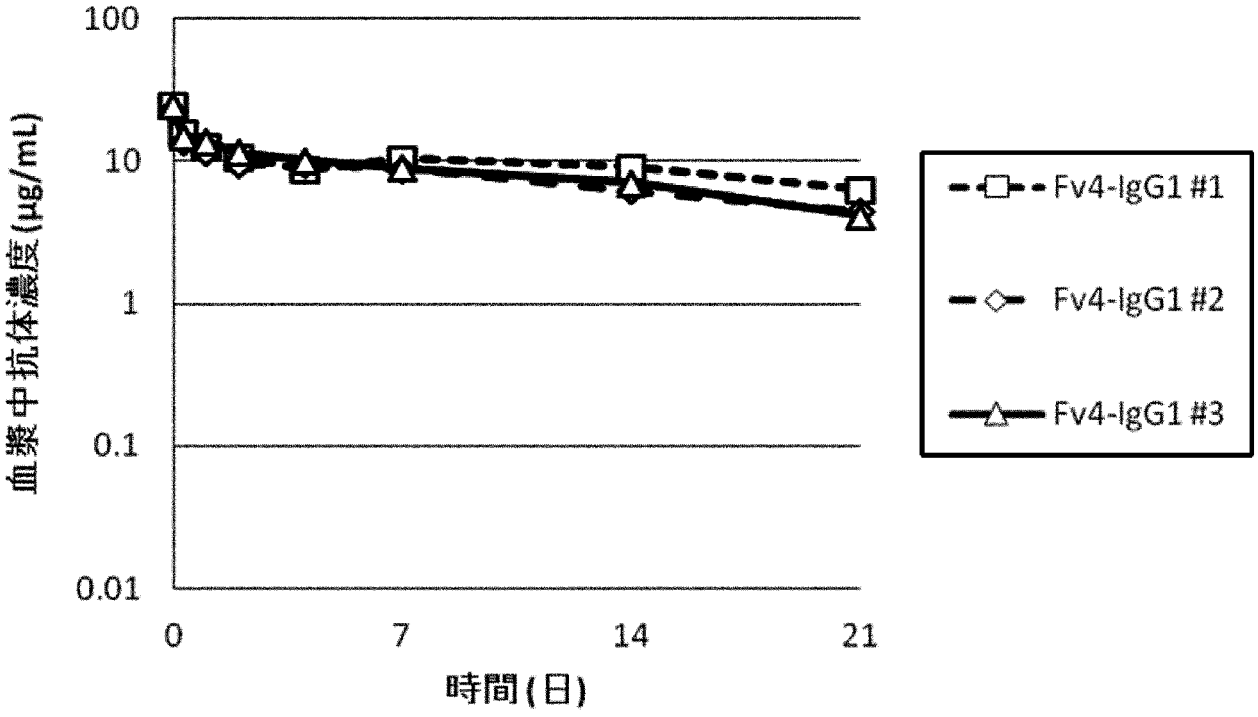
[図37]


血漿中ヒトIL-6R濃度(ng/mL)
10000
1000
100
10
1
ECLによる抗ヒトIL-6R抗体価
900
800
700
600
500
400
300
0
7
14
21
時間(日)
hsIL-6R濃度 #1
hsIL-6R濃度 #2
hsIL-6R濃度 #3
抗hsIL-6R抗体価 #1
抗hsIL-6R抗体価 #2
抗hsIL-6R抗体価 #3

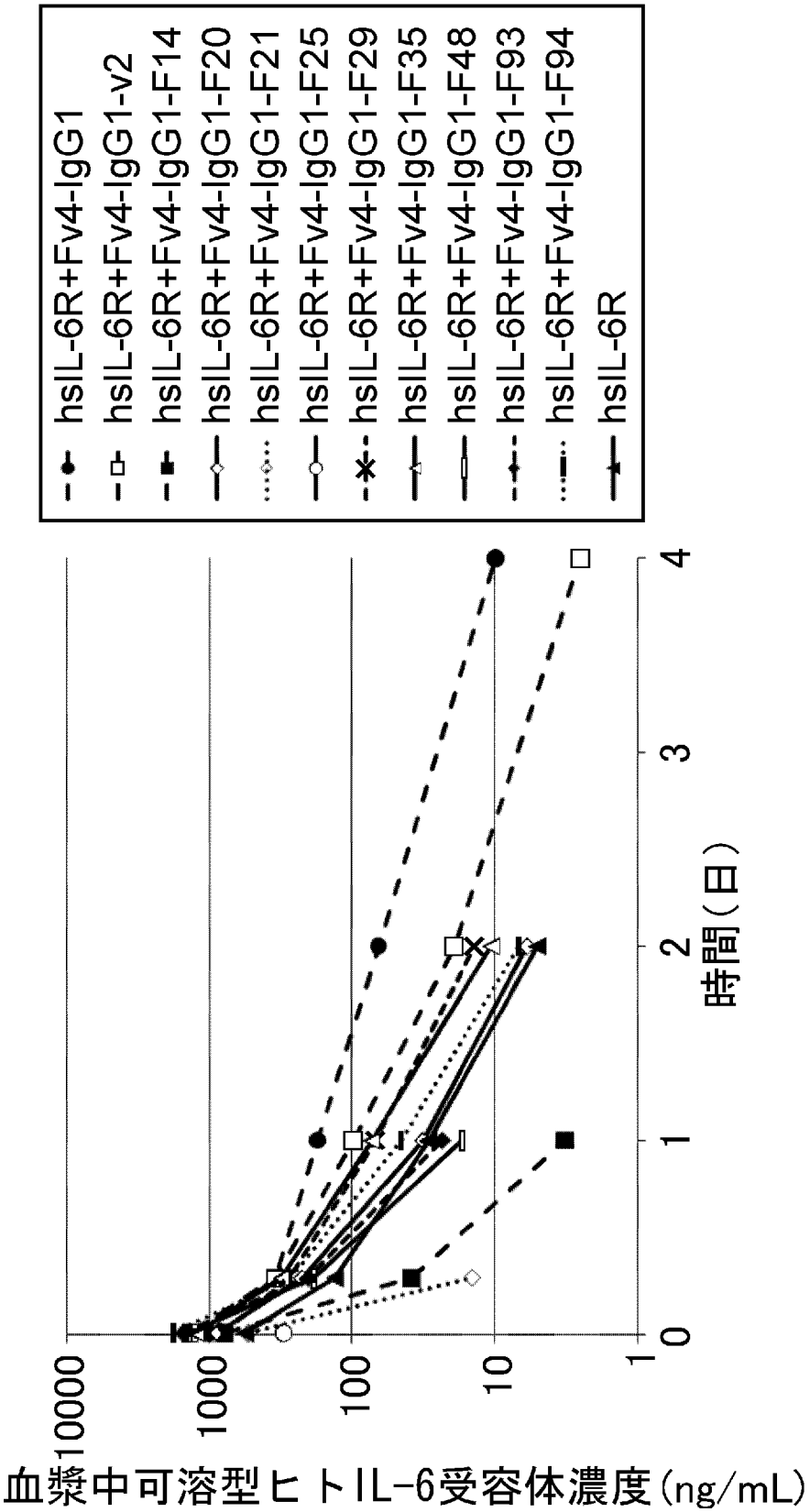
[図38]


血漿中可溶型ヒトIL6レセプター濃度 (ng/mL)
100
10
1
0
10
20
30
40
時間(日)
抗マウスCD4抗体 非投与 #1
抗マウスCD4抗体 非投与 #2
抗マウスCD4抗体 非投与 #3
抗マウスCD4抗体 非投与 #4
抗マウスCD4抗体 #5
抗マウスCD4抗体 #6
抗マウスCD4抗体 #7
抗マウスCD4抗体 #8

[図39]

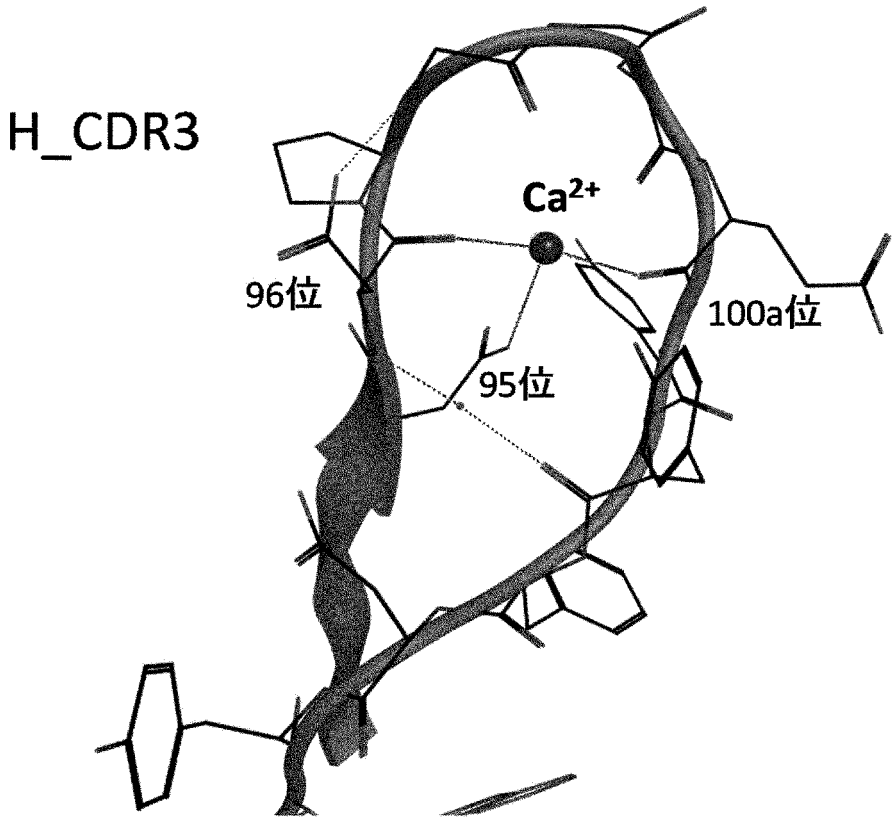

血漿中抗体濃度 (μg/mL)
100
10
1
0.1
0.01
0
7
14
21
時間(日)
Fv4-IgG1 #1
Fv4-IgG1 #2
Fv4-IgG1 #3

[図40]

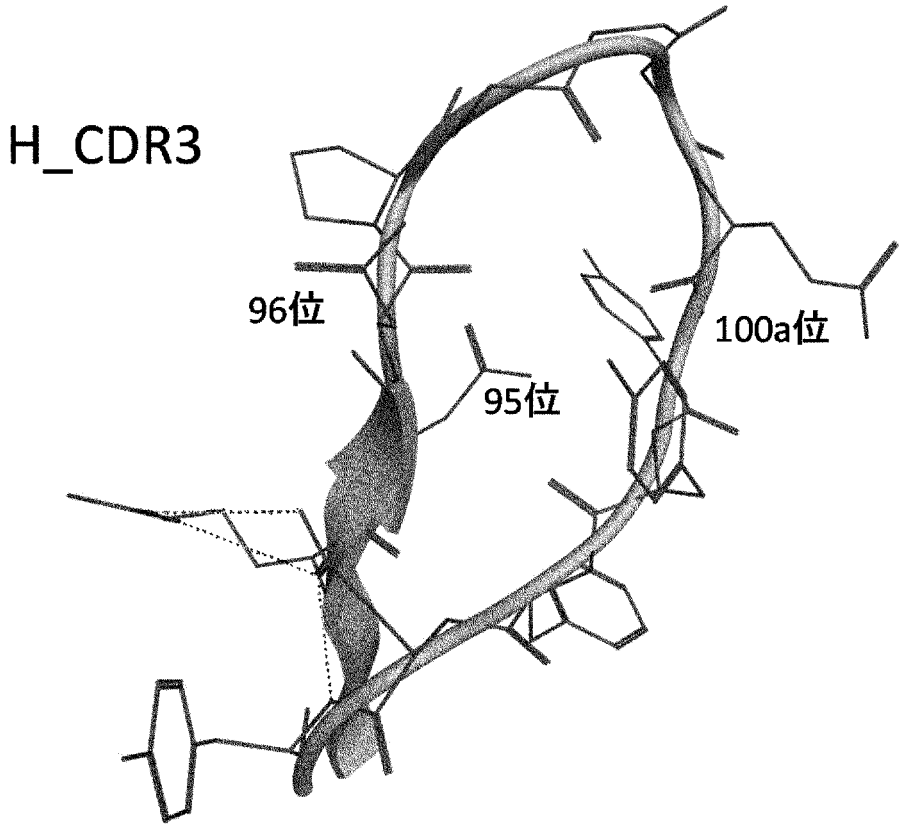

hsIL-6R+Fv4-IgG1
hsIL-6R+Fv4-IgG1-v2
hsIL-6R+Fv4-IgG1-F14
hsIL-6R+Fv4-IgG1-F20
hsIL-6R+Fv4-IgG1-F21
hsIL-6R+Fv4-IgG1-F25
hsIL-6R+Fv4-IgG1-F29
hsIL-6R+Fv4-IgG1-F35
hsIL-6R+Fv4-IgG1-F48
hsIL-6R+Fv4-IgG1-F93
hsIL-6R+Fv4-IgG1-F94
hsIL-6R
10000
1000
100
10
1
0
1
2
3
4
時間(日)
血漿中可溶型ヒトIL-6受容体濃度(ng/mL)

[図41]

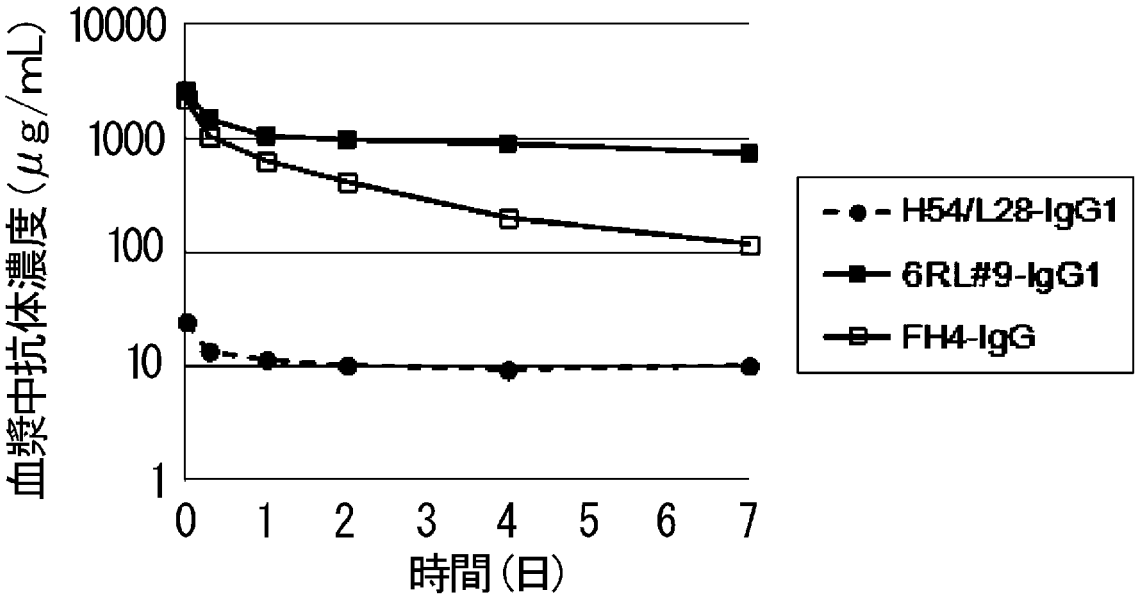
(i) カルシウムイオン存在下での結晶の構造



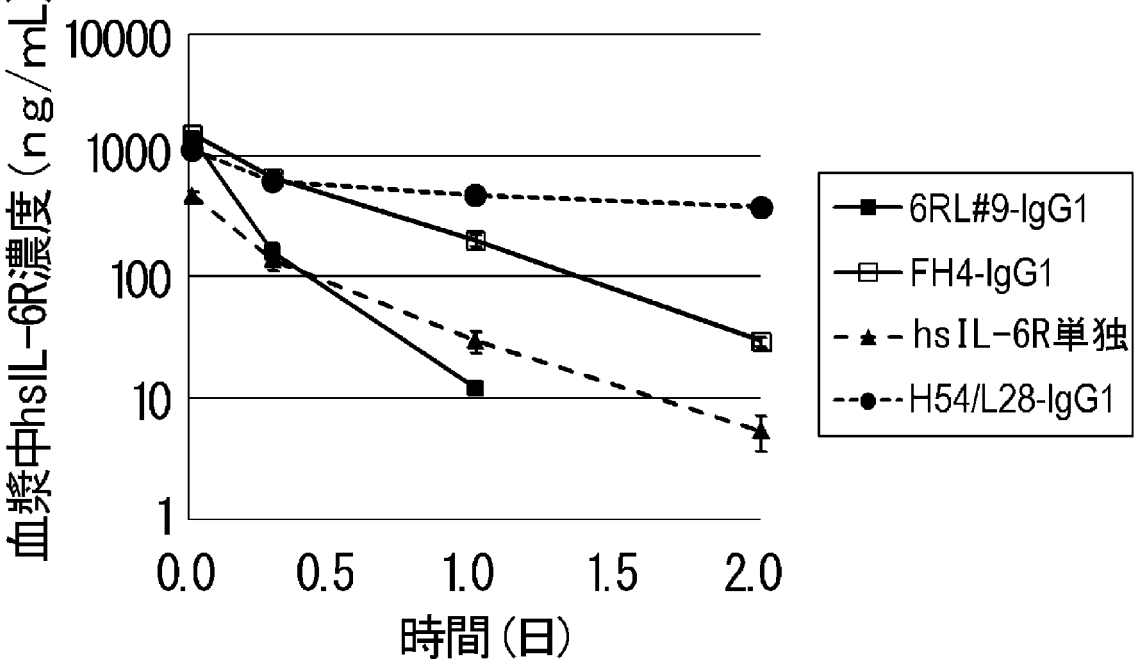
(ii) カルシウムイオン非存在下での結晶の構造



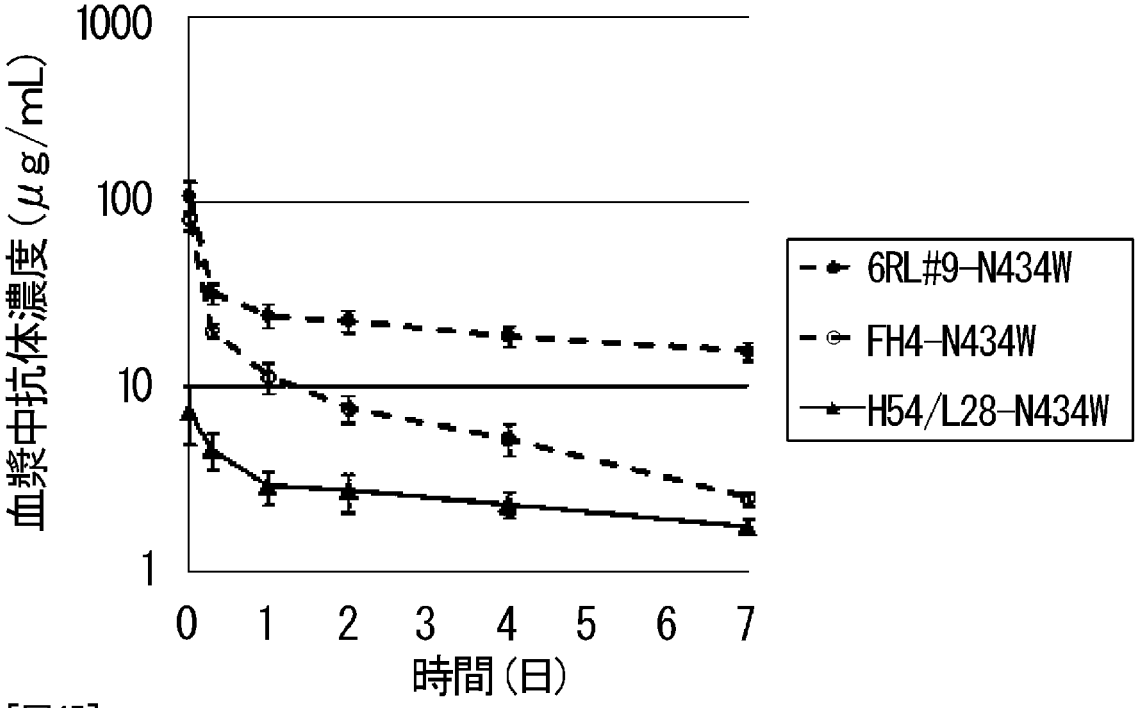
[図42]


血漿中抗体濃度（μg/mL）
10000
1000
100
10
1
0
1
2
3
4
5
6
7
時間（日）
H54/L28-IgG1
6RL#9-IgG1
FH4-IgG

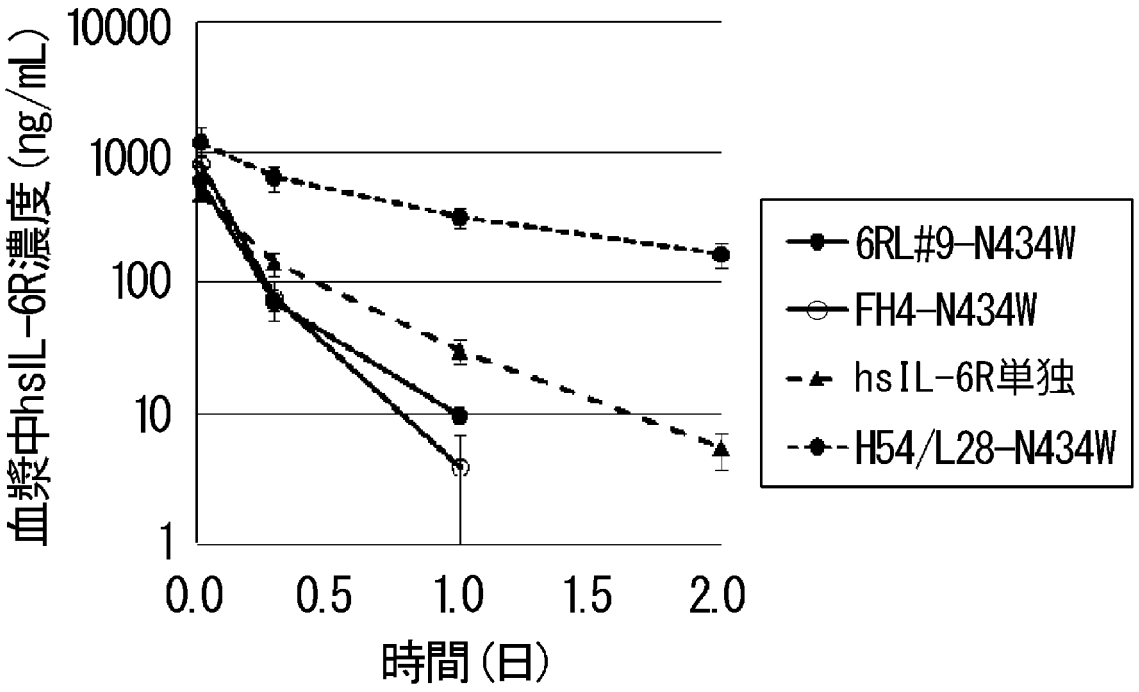
[図43]


血漿中hsIL-6R濃度（ng/mL）
10000
1000
100
10
1
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
時間（日）
6RL#9-IgG1
FH4-IgG1
hsIL-6R単独
H54/L28-IgG1

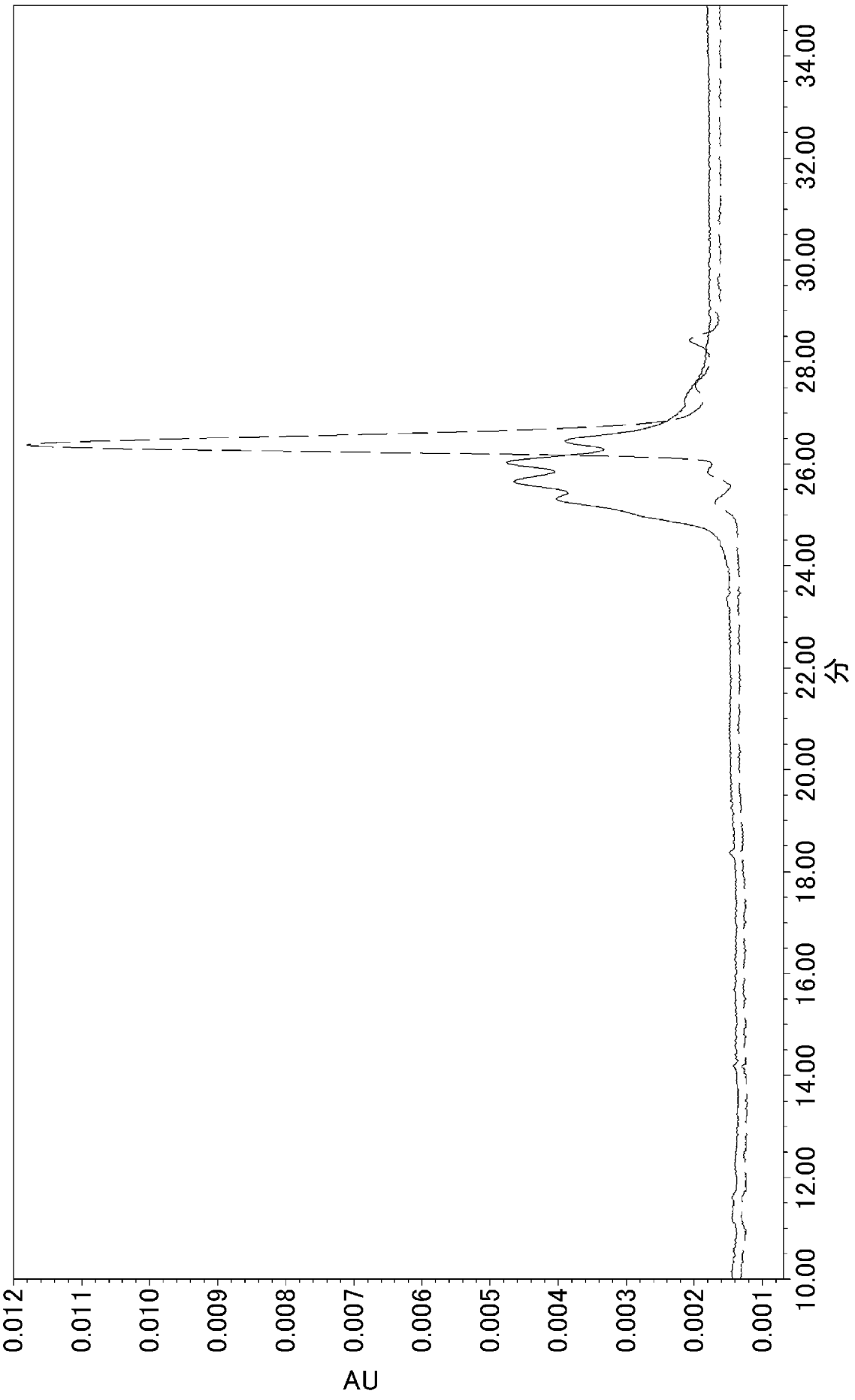
[図44]


1000
100
10
1
血漿中抗体濃度(μg/mL)
0
1
2
3
4
5
6
7
時間(日)
6RL#9-N434W
FH4-N434W
H54/L28-N434W

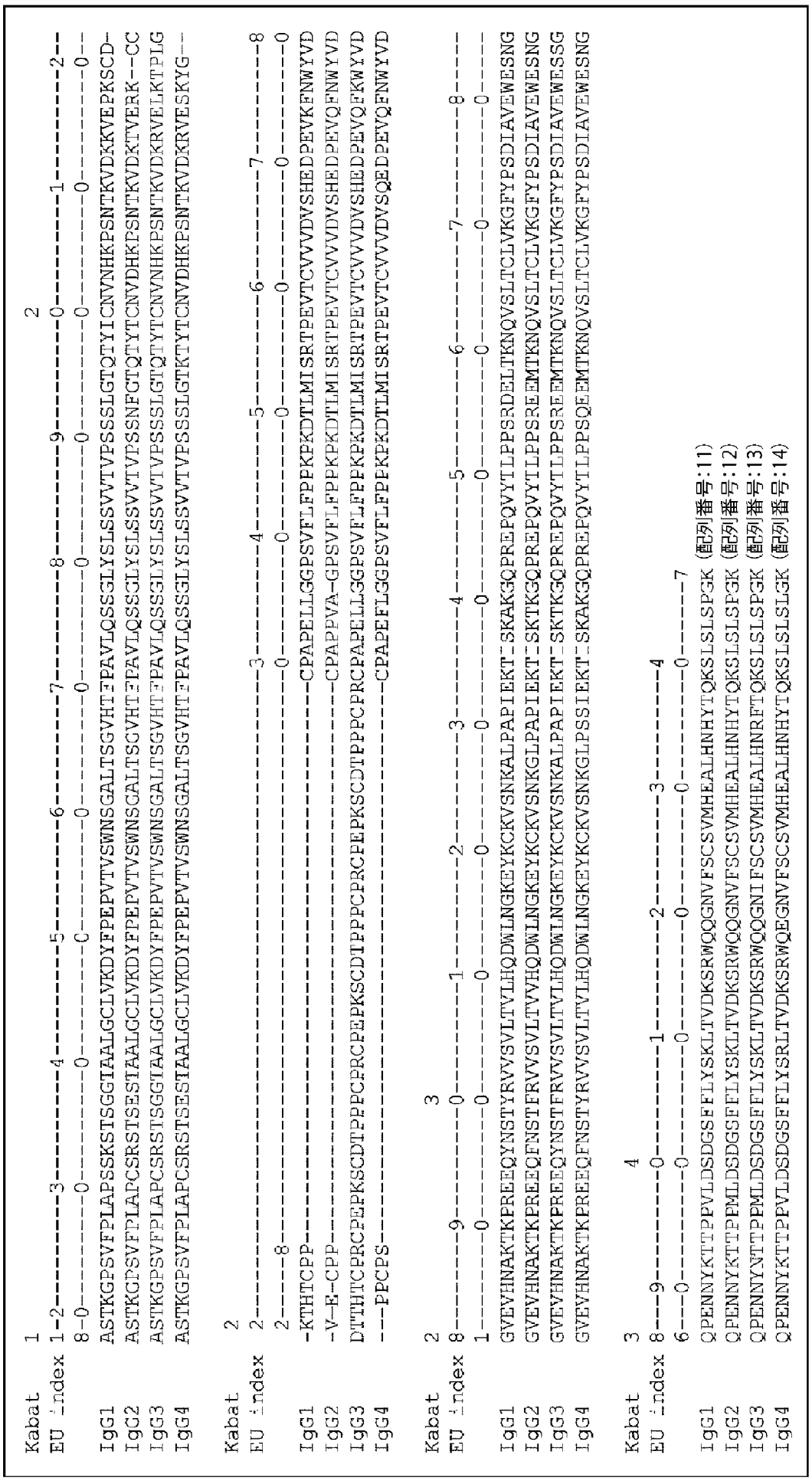
[図45]


10000
1000
100
10
1
血漿中hsIL-6R濃度(ng/mL)
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
時間(日)
6RL#9-N434W
FH4-N434W
hsIL-6R単独
H54/L28-N434W

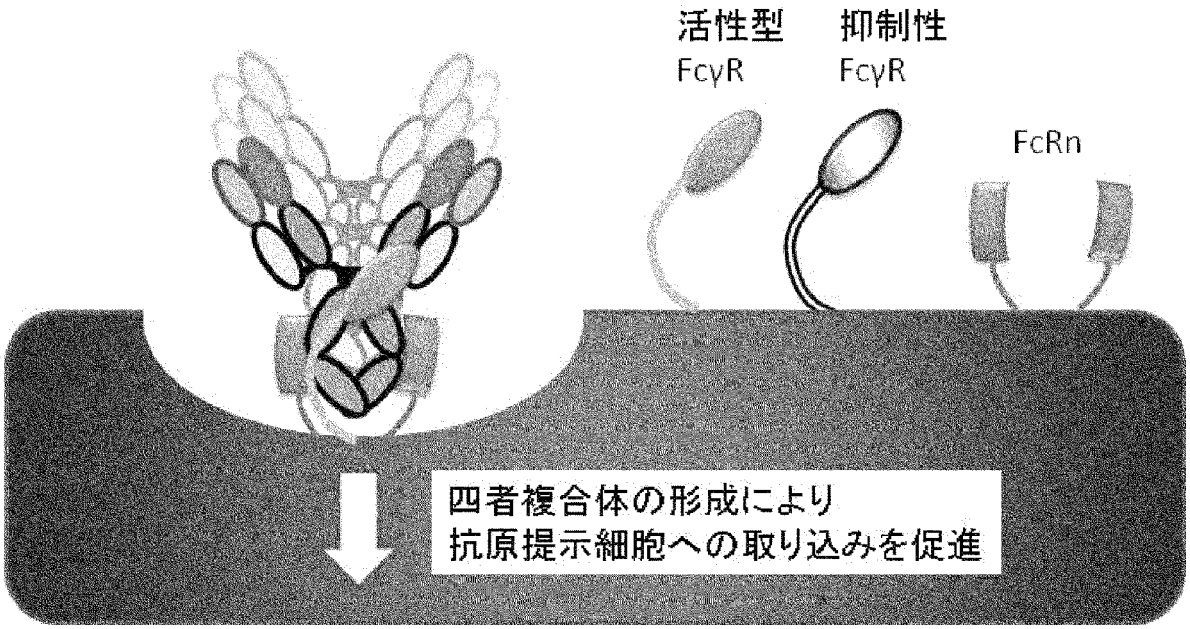
[図46]


0.012
0.011
0.010
0.009
0.008
0.007
0.006
0.005
0.004
0.003
0.002
0.001
AU
10.00
12.00
14.00
16.00
18.00
20.00
22.00
24.00
26.00
28.00
30.00
32.00
34.00
分

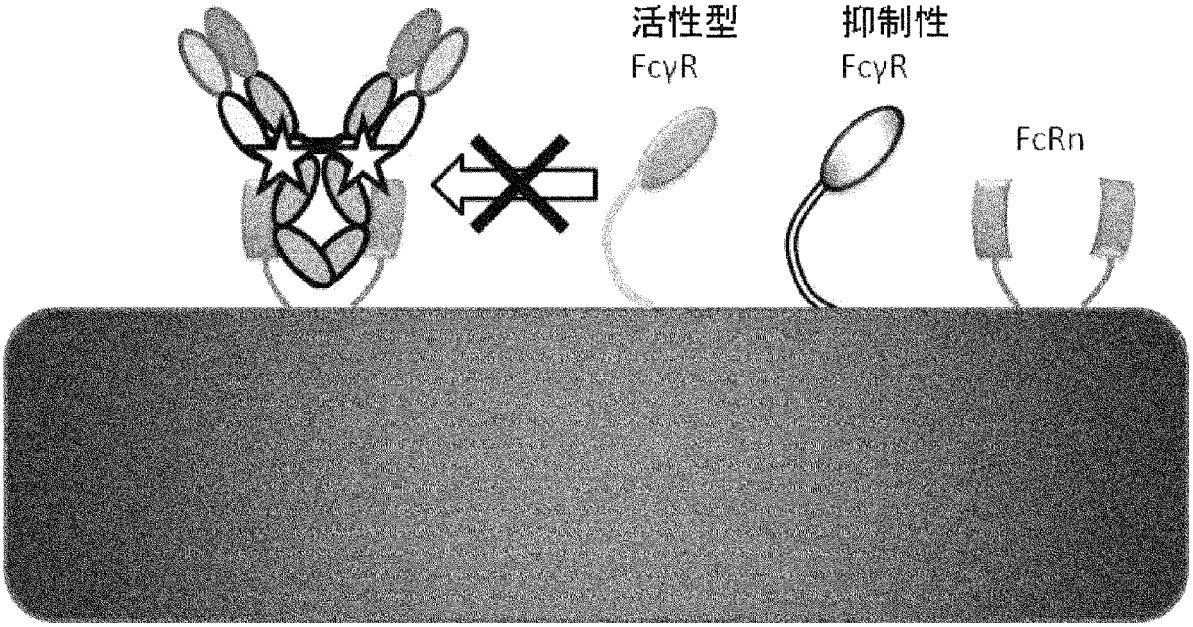
[図47]


Kabat 1 2
EU index 1-2---------3---------4---------5---------6---------7---------8---------9---------0---------1---------2--
8-0---------0---------0---------0---------0---------0---------0---------0---------0---------0--
IgG1 ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD-
IgG2 ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERK--CC
IgG3 ASTKGPSVFPLAPCSRSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVNHKPSNTKVDKRVELKTPLG
IgG4 ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYG--
Kabat 2
EU index 2---3---------4---------5---------6---------7---------8
2---------8---------------------------------------0---------0---------0---------0---------0---------0
IgG1 -KTHTCPP---CPAPELLGGPSVFLFPEKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
IgG2 -V-E-CPP---CPAPPVA-GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVD
IgG3 DTTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFKWYVD
IgG4 ---PPCPS---CPAPEFLGGPSVFLFPEKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVD
Kabat 2 3
EU index 8---------9---------0---------1---------2---------3---------4---------5---------6---------7---------8---------
1---------0---------0---------0---------0---------0---------0---------0---------0---------0---------0---------
IgG1 GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
IgG2 GVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
IgG3 GVEVHNAKTKPREEQYNSTFRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESSG
IgG4 GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
Kabat 3 4
EU index 8---9---------0---------1---------2---------3---------4
6---0---------0---------0---------0---------0---------0---------7
IgG1 QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号:11)
IgG2 QPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号:12)
IgG3 QPENNYNTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPGK (配列番号:13)
IgG4 QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK (配列番号:14)

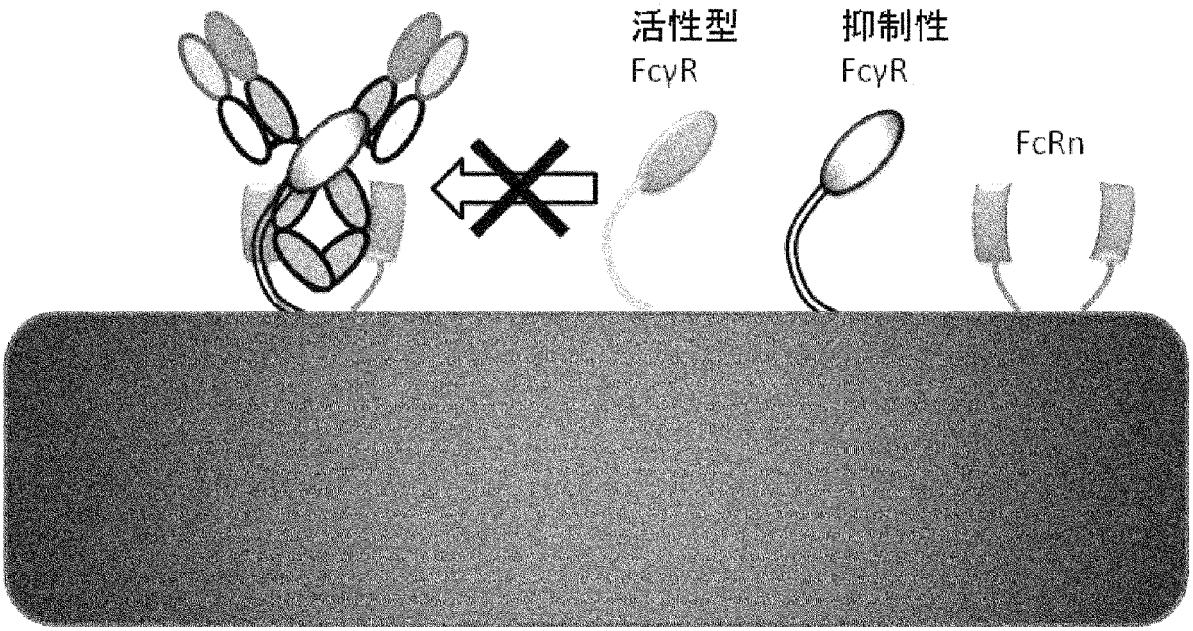
[図48]
中性条件下でFcRnの結合を増強した抗原結合分子
1分子のFc、2分子のFcRn、1分子の活性型FcγRによる四者複合体を形成



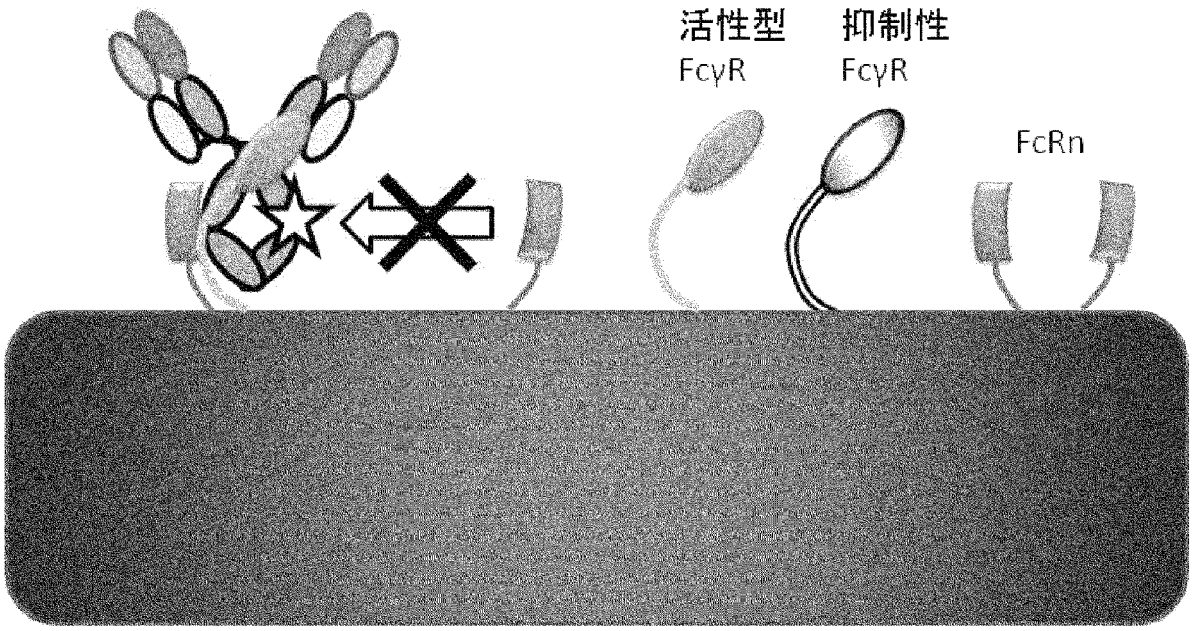
[図49]
（様態1） 中性条件下でのFcRnへの結合を増強し、
活性型FcγRへの結合を低下させた抗原結合分子



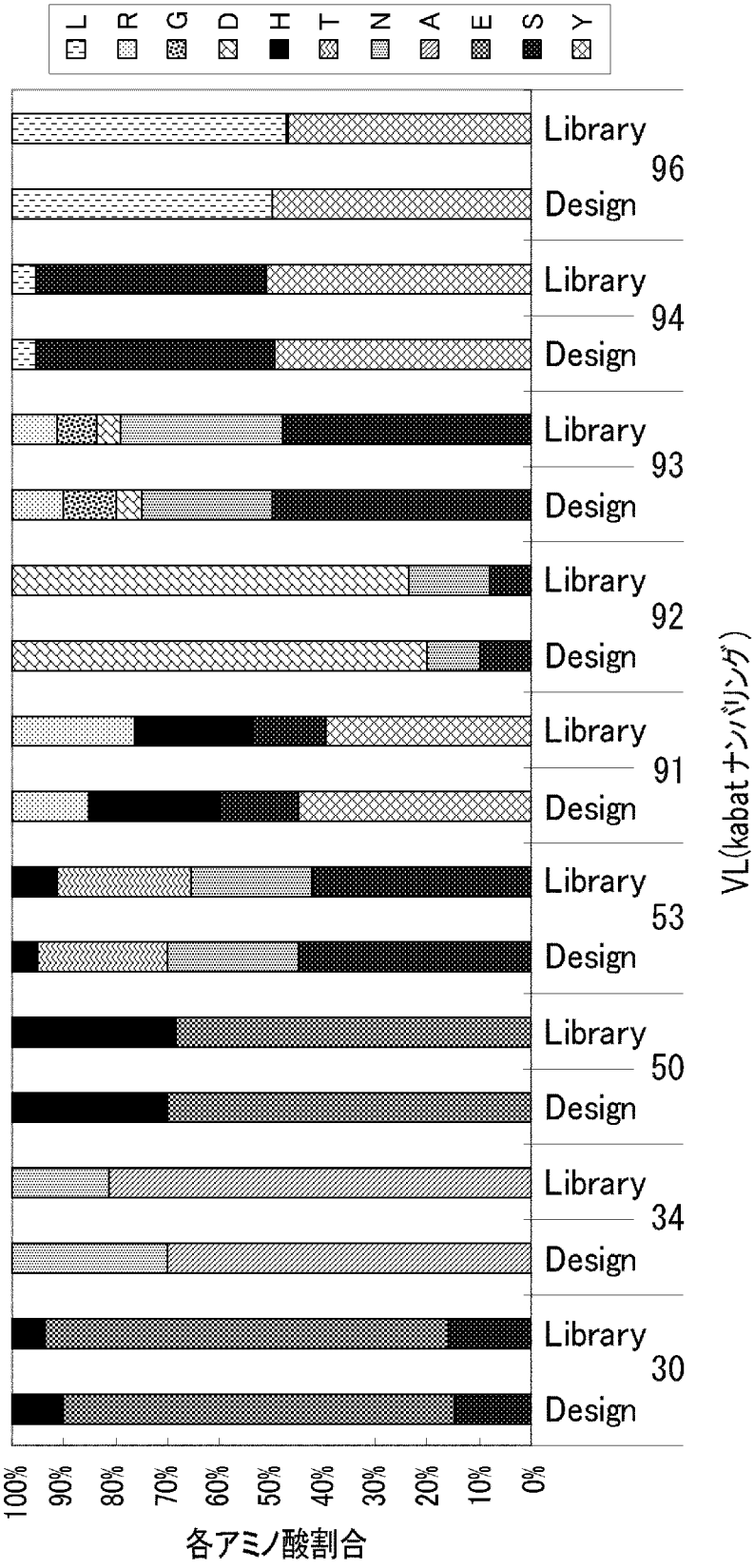
[図50]
（様態2） 中性条件下でのFcRnへの結合を増強し、
抑制性FcγRへの結合を選択的に増強させた抗原結合分子



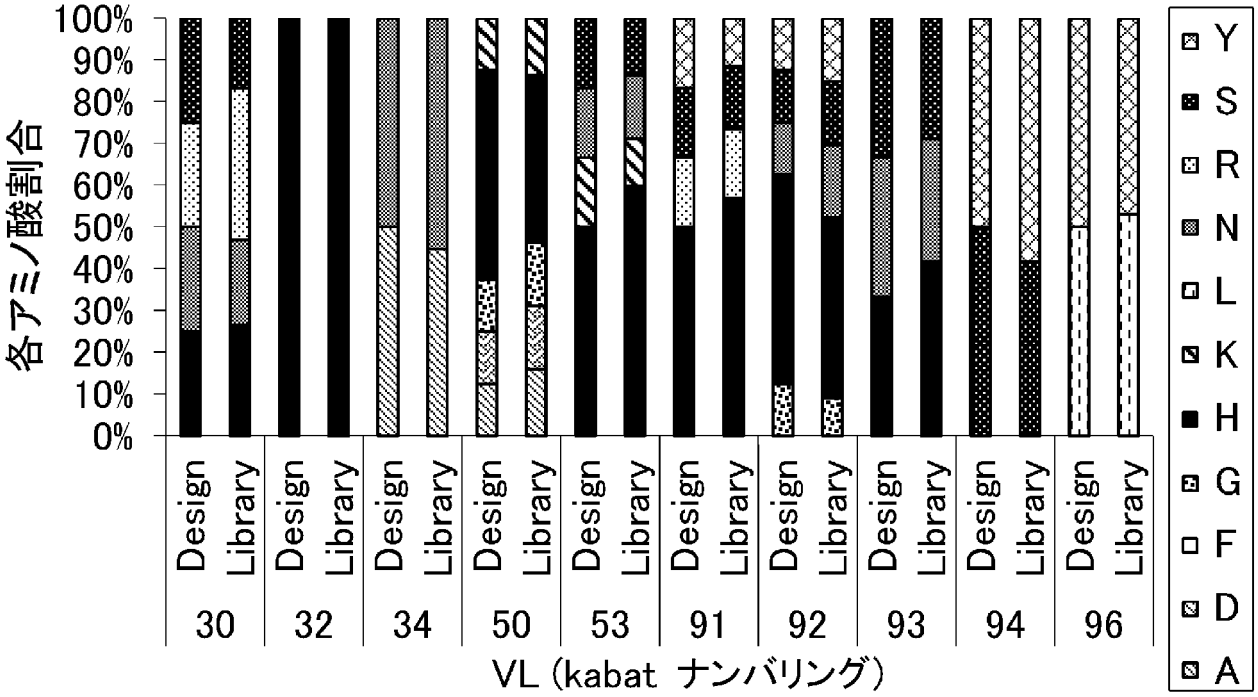
[図51]
（様態3） Fcの片側のみ中性条件下におけるFcRnへの結合を増強し、
もう片側は中性条件下におけるFcRn結合能を有さない抗原結合分子



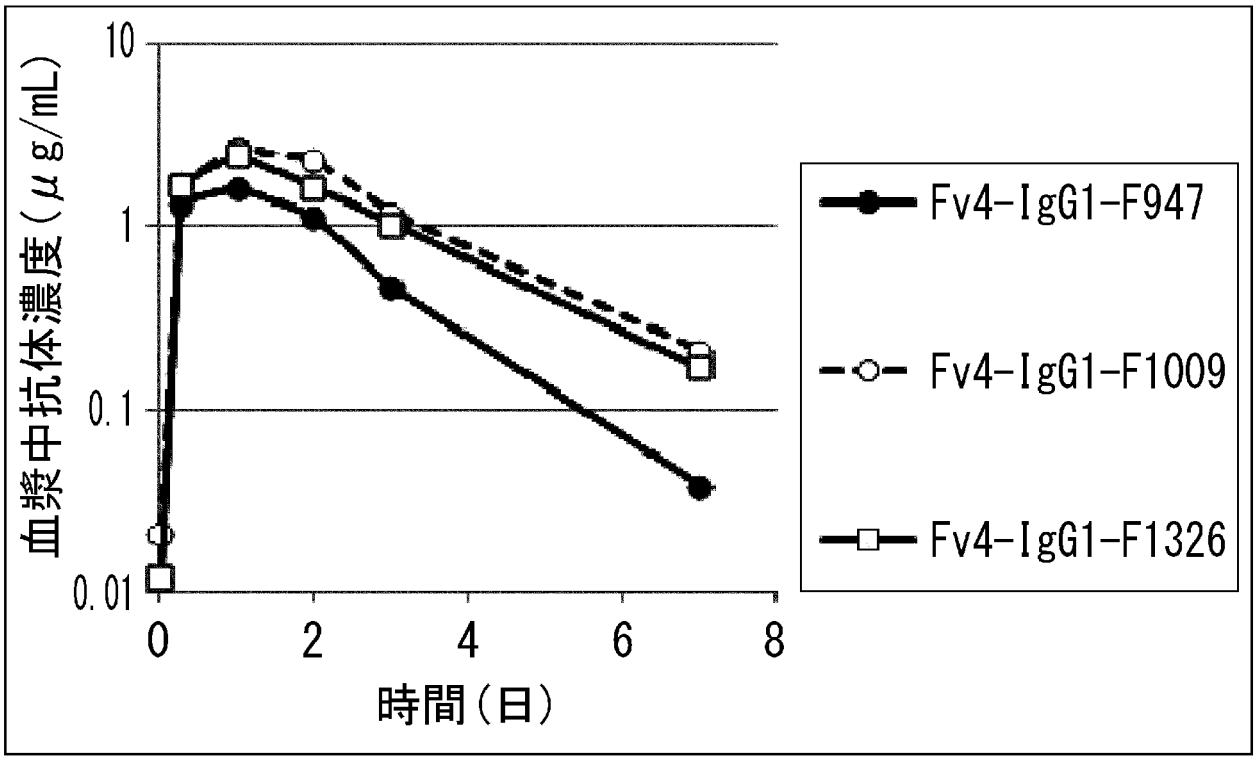
[図52]


L
R
G
D
H
T
N
A
E
S
Y
Library 96
Design
Library 94
Design
Library 93
Design
Library 92
Design
Library 91
Design
Library 53
Design
Library 50
Design
Library 34
Design
Library 30
Design
100%
90%
80%
70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
各アミノ酸割合
VL(kabatナンバリング)

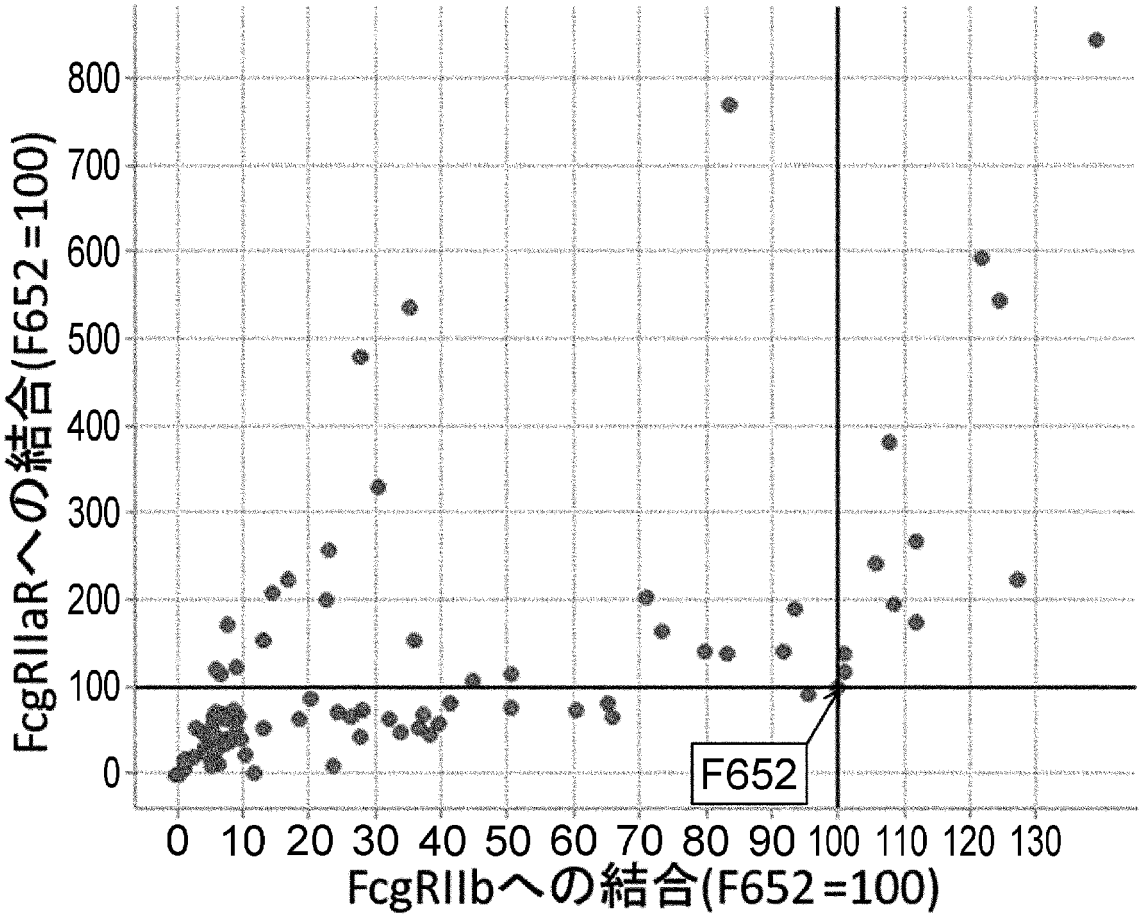
[図53]


各アミノ酸割合
100%
90%
80%
70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
Design
Library
30
32
34
50
53
91
92
93
94
96
VL (kabat ナンバリング)
Y
S
R
N
L
K
H
G
F
D
A

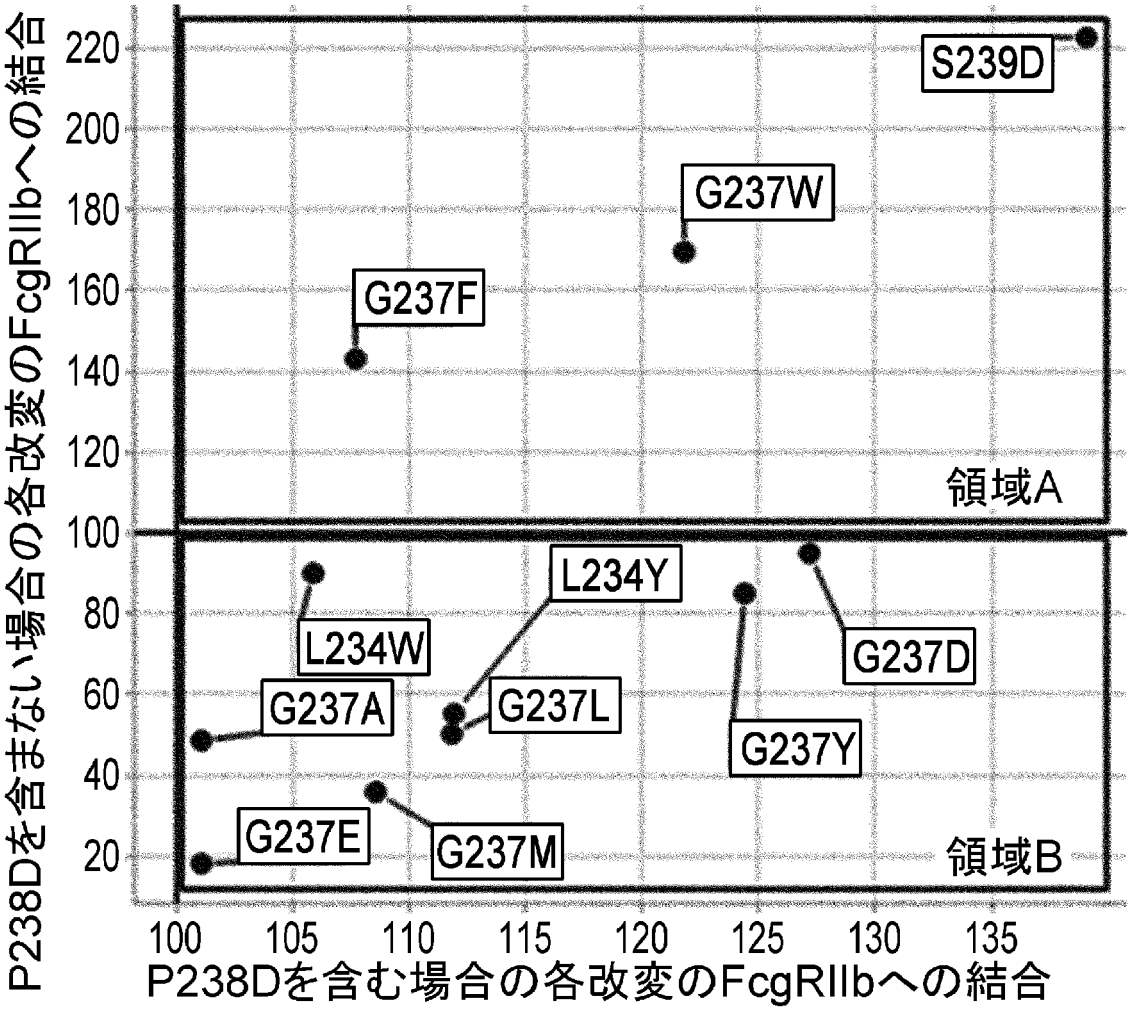
[図54]


血漿中抗体濃度(μg/mL)
10
1
0.1
0.01
0
2
4
6
8
時間(日)
Fv4-IgG1-F947
Fv4-IgG1-F1009
Fv4-IgG1-F1326

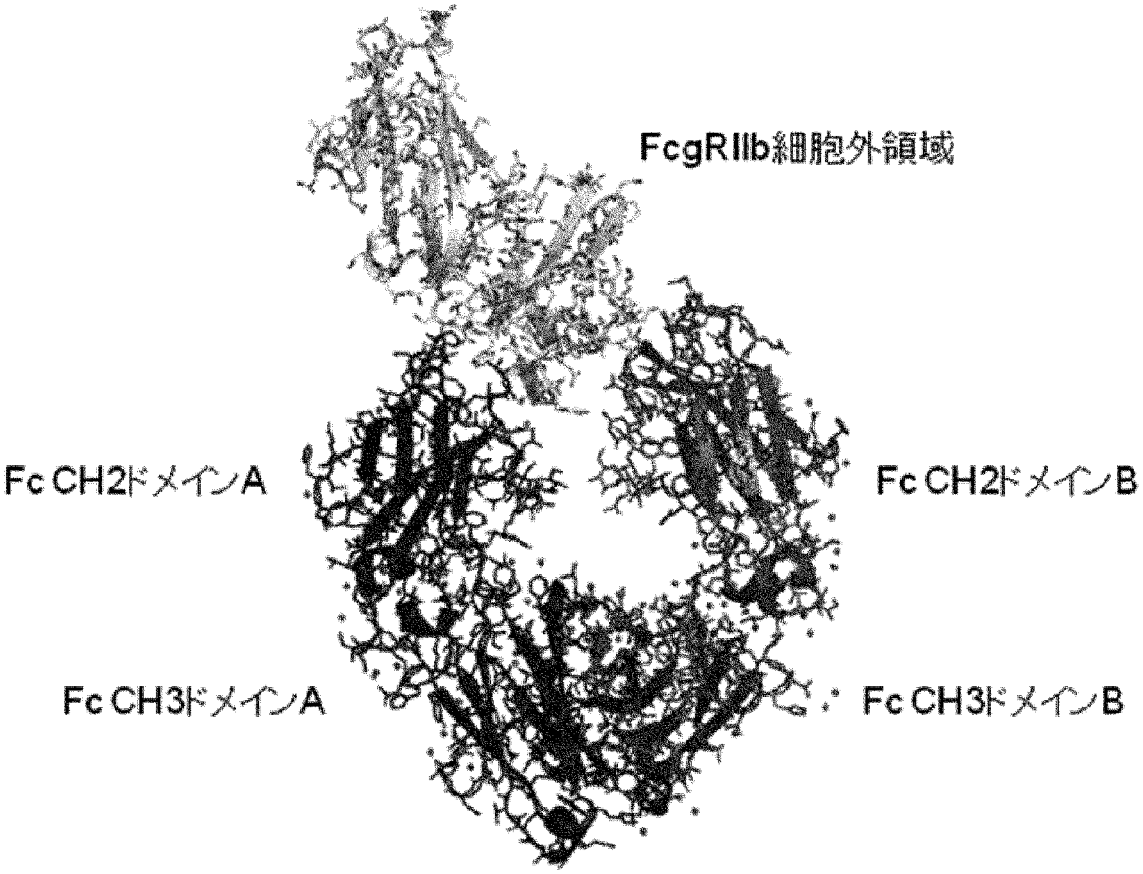
[図55]


FcgRIIaRへの結合(F652=100)
800
700
600
500
400
300
200
100
0
F652
0 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120 130
FcgRIIbへの結合(F652=100)

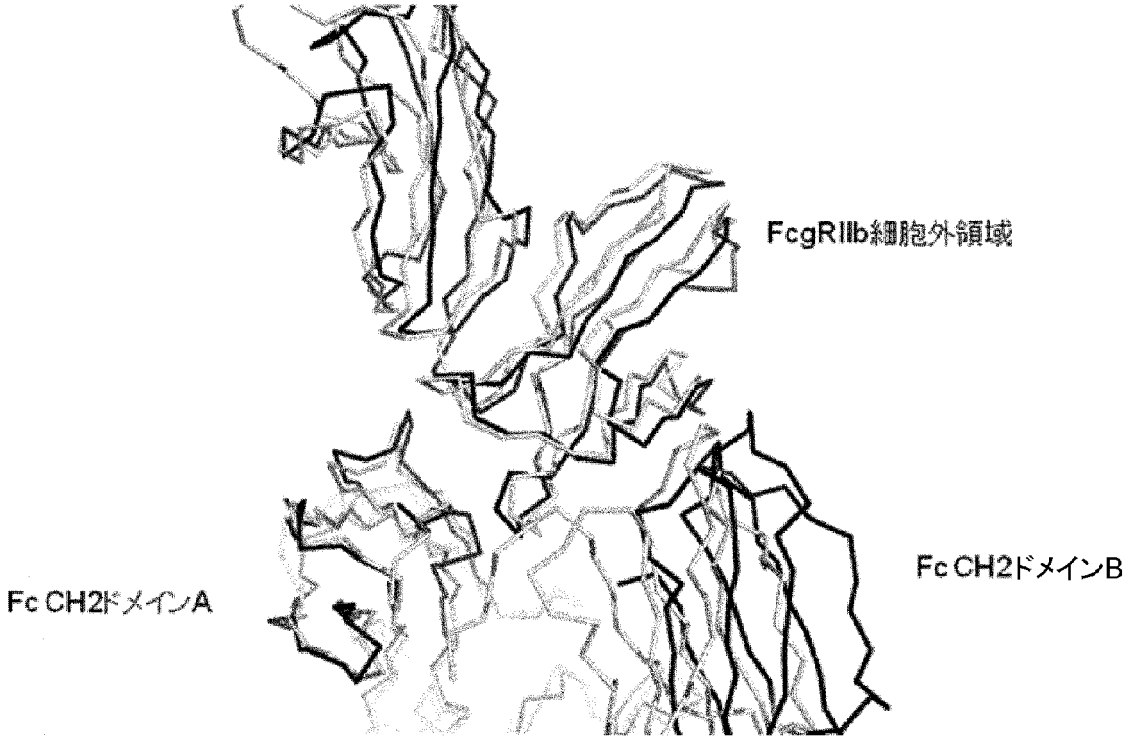
[図56]


P238Dを含まない場合の各改変のFcgRIIbへの結合
220
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
S239D
G237W
G237F
領域A
L234Y
L234W
G237D
G237A
G237L
G237Y
G237E
G237M
領域B
100
105
110
115
120
125
130
135
P238Dを含む場合の各改変のFcgRIIbへの結合

[図57]

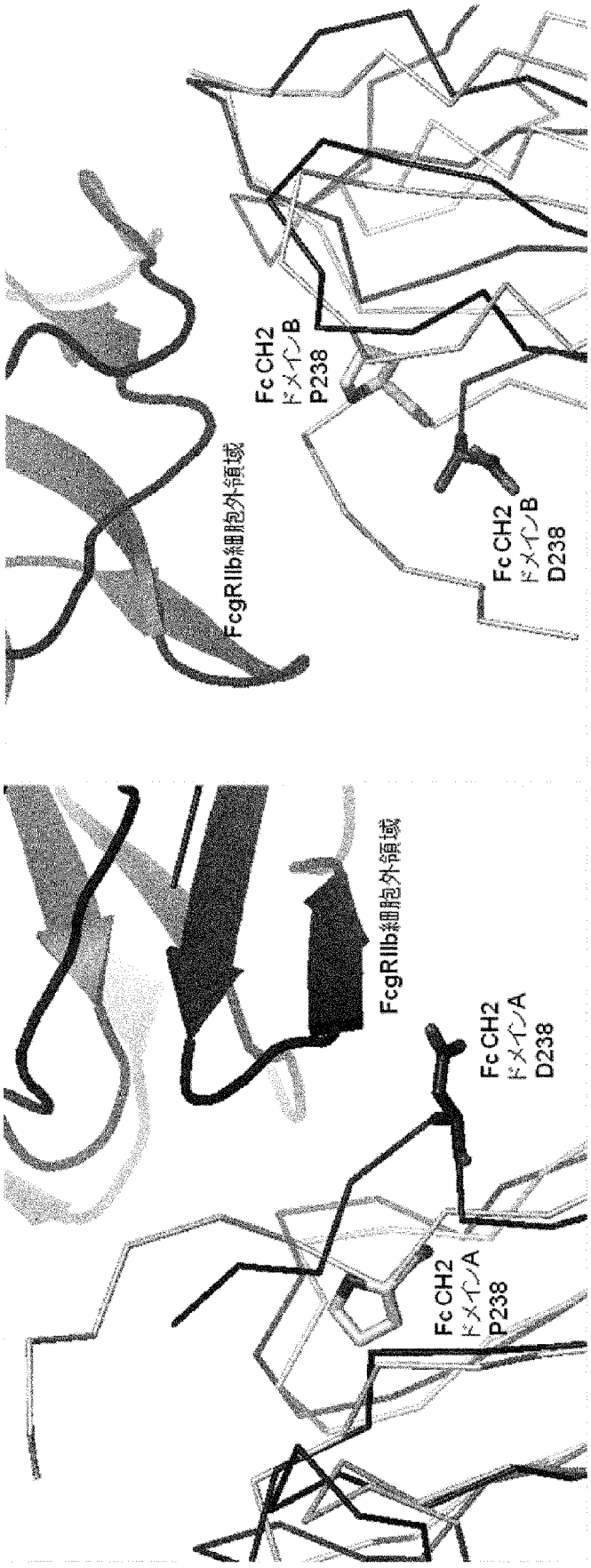

FcgRIIb細胞外領域
Fc CH2ドメインA
Fc CH2ドメインB
Fc CH3ドメインA
Fc CH3ドメインB

[図58]



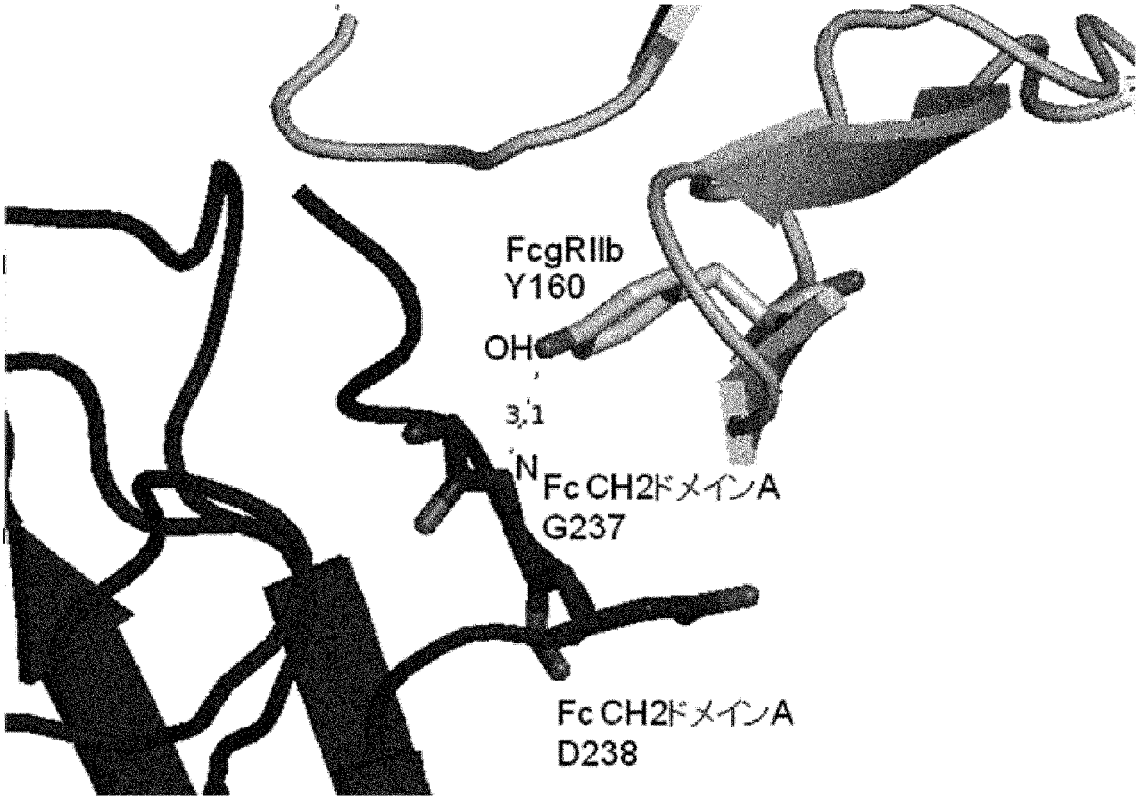
黒　Fc(P238D) / Fcγ RIIb細胞外領域複合体の 結晶構造
灰色　Fc(WT) / Fcγ RIIb 細胞外領域複合体のモデル構造

[図59]

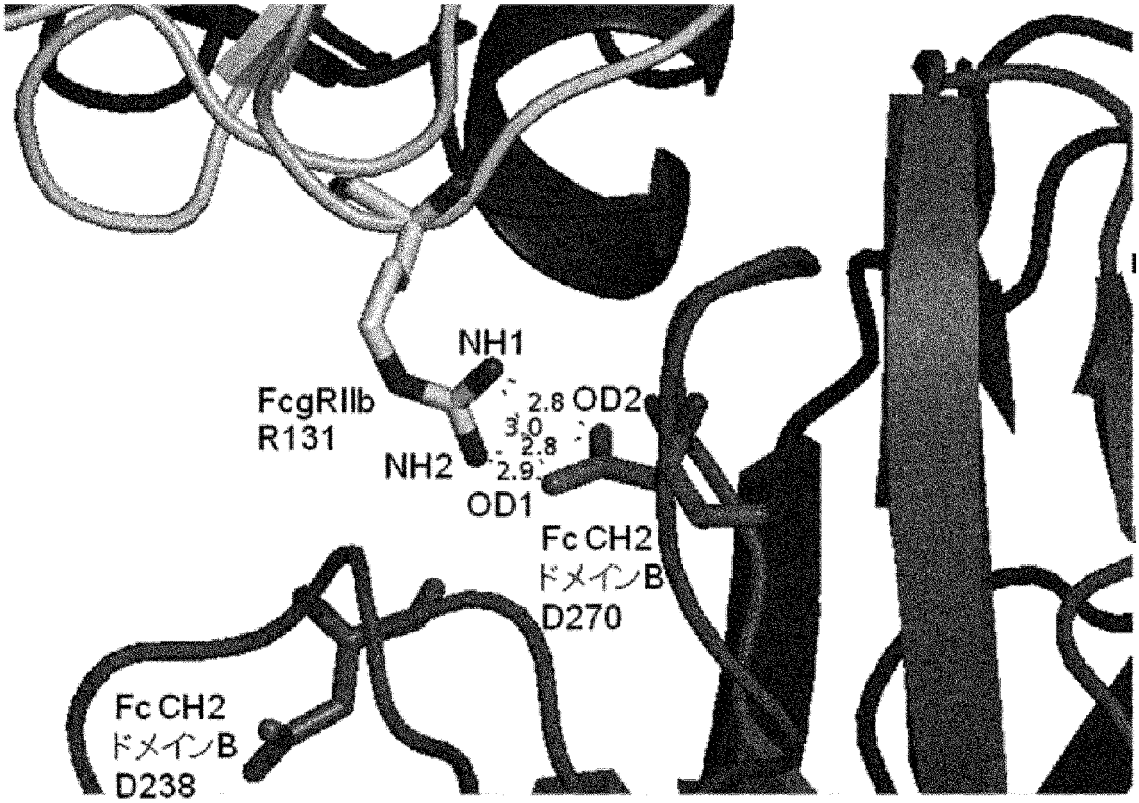


黒　Fc(P238D) / Fcγ RIIb細胞外領域複合体の結晶構造
灰色　Fc(WT) / Fcγ RIIb 細胞外領域複合体のモデル構造

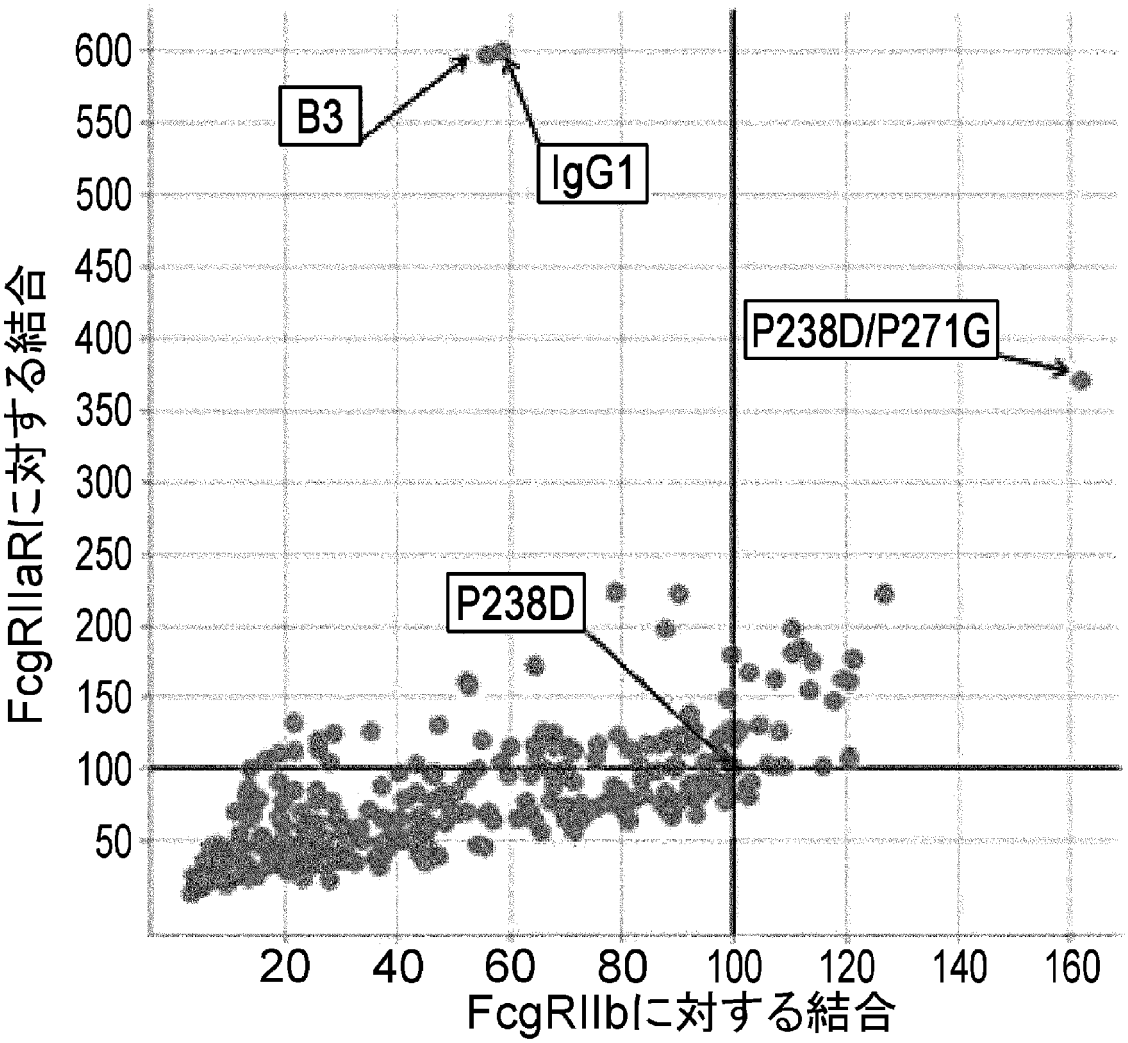
[図60]


FcgRIIb
Y160
OH
3.1
N
Fc CH2ドメインA
G237
Fc CH2ドメインA
D238

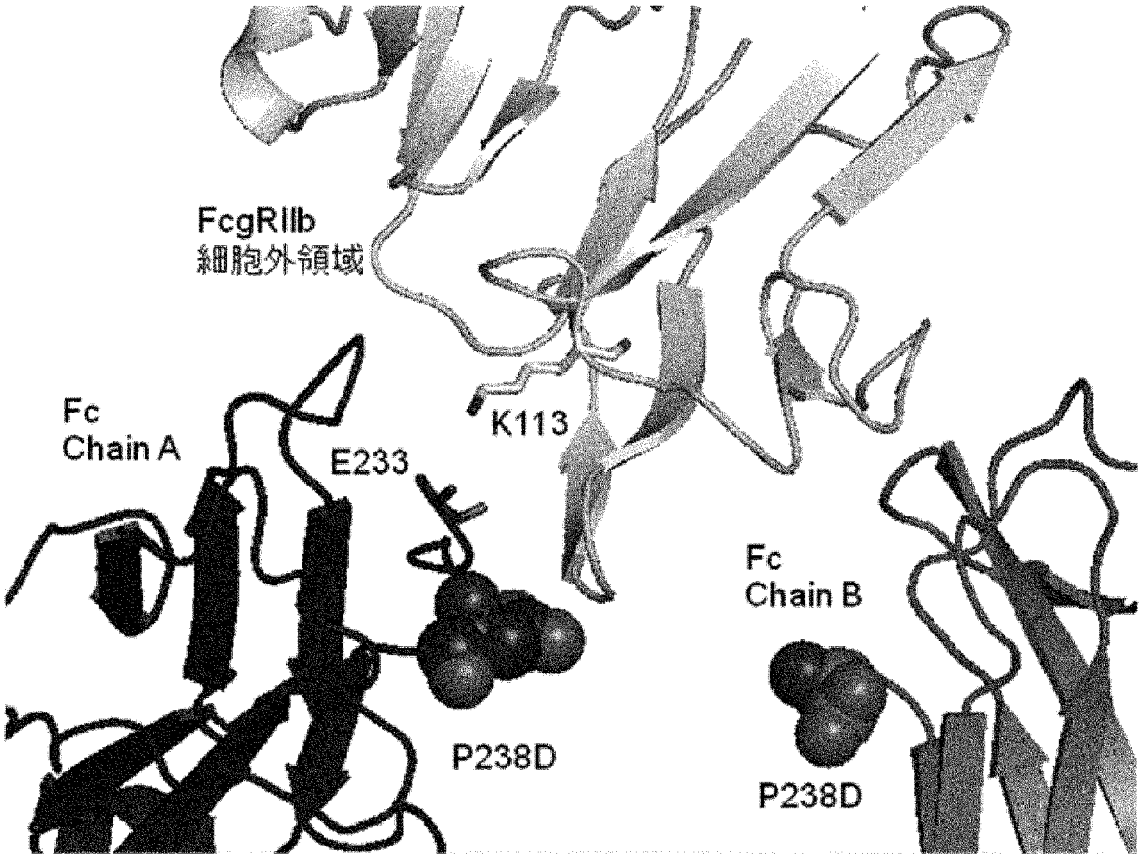
[図61]


NH1
FcgRIIb
R131
2.8
OD2
3.0
2.8
NH2
2.9
OD1
Fc CH2
ドメインB
D270
Fc CH2
ドメインB
D238

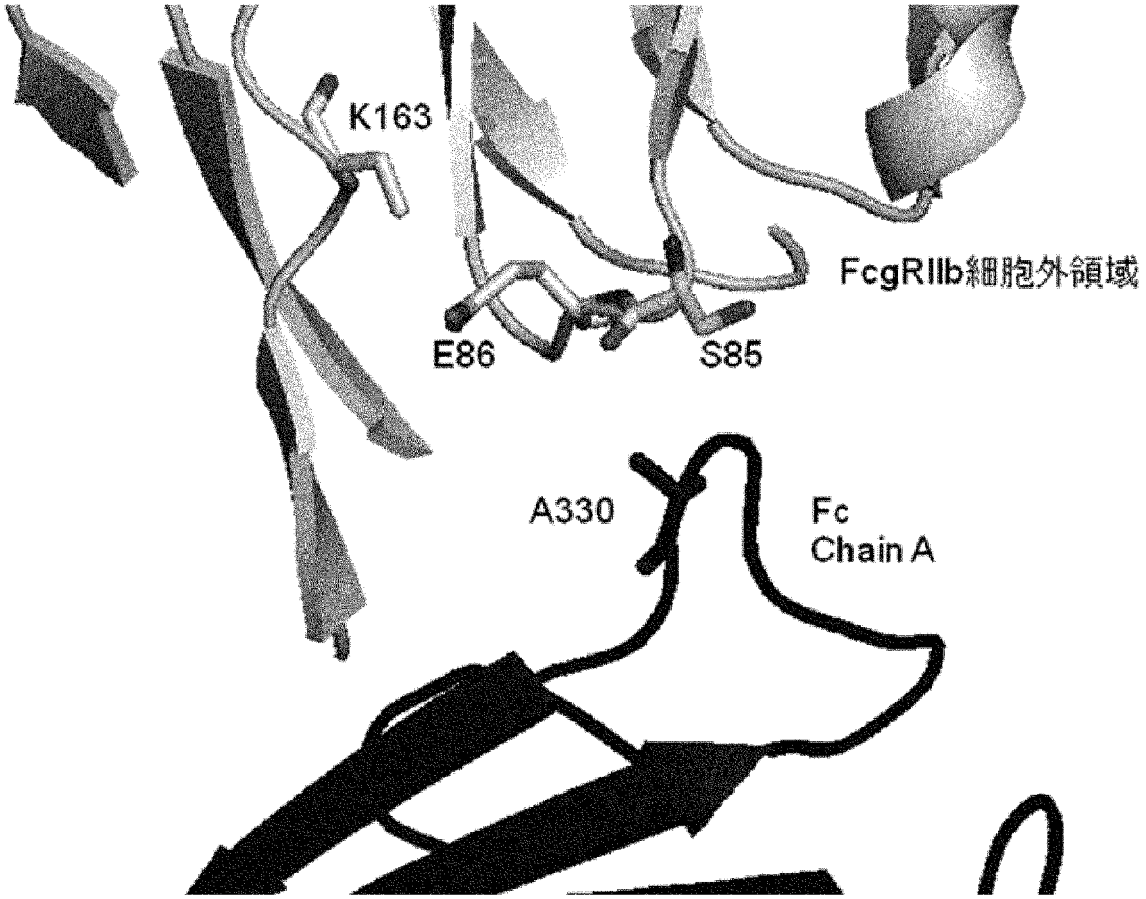
[図62]


600
550
500
450
400
350
300
250
200
150
100
50
FcgRIIaRに対する結合
B3
IgG1
P238D/P271G
P238D
20
40
60
80
100
120
140
160
FcgRIIbに対する結合

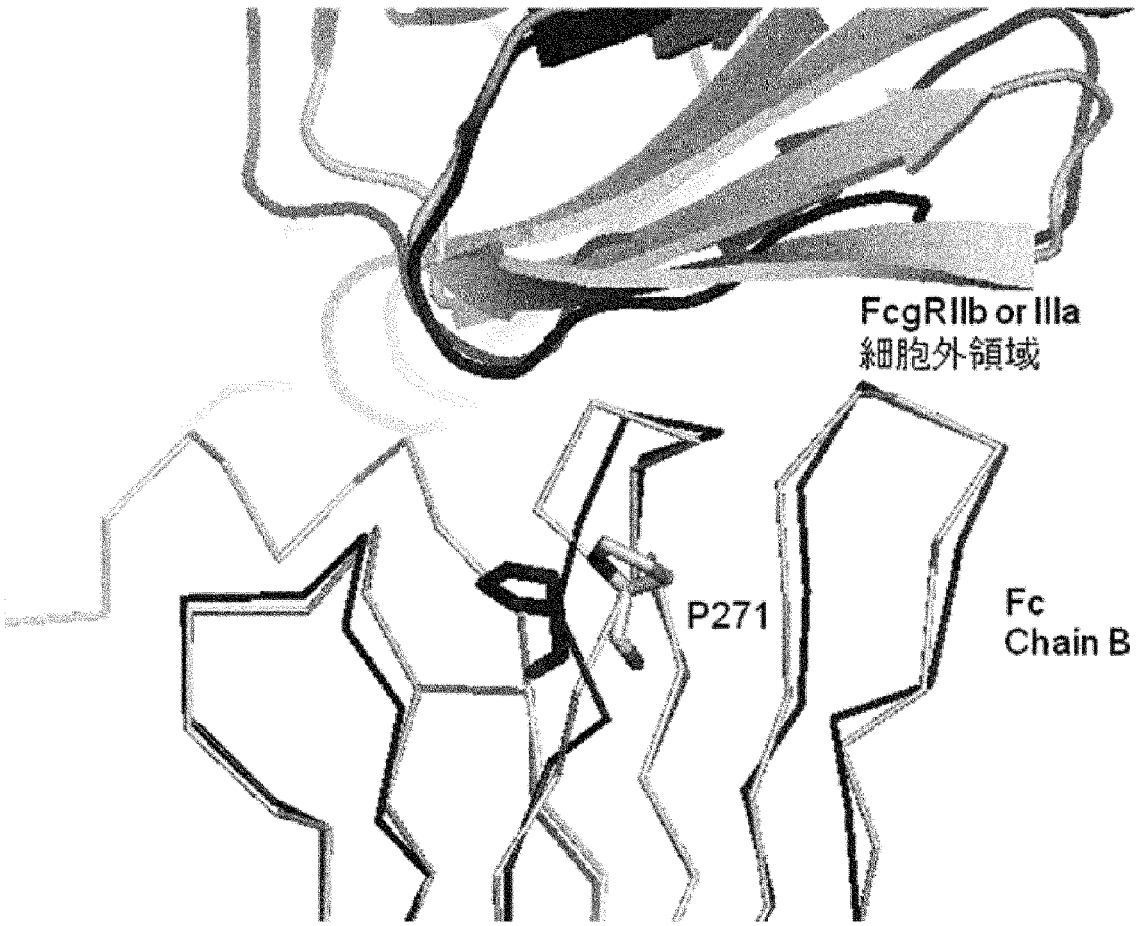
[図63]


FcgRIIb
細胞外領域
Fc
Chain A
E233
K113
P238D
Fc
Chain B
P238D

[図64]



[図65]



黒　Fc(P238D) / Fc γ RIIb細胞外領域複合体の結晶構造

灰色　Fc(WT) / Fc γ RIIIa細胞外領域複合体の結晶構造(PDB code:3SGJ)