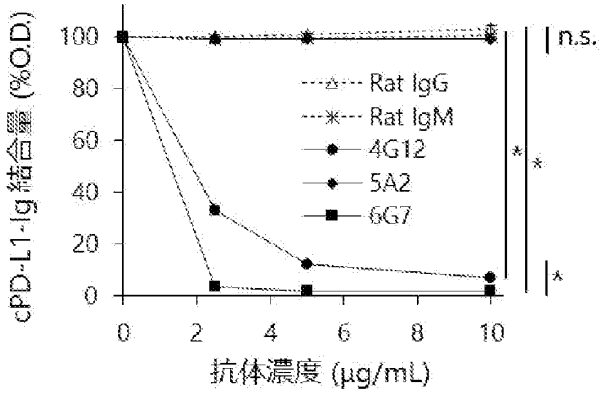
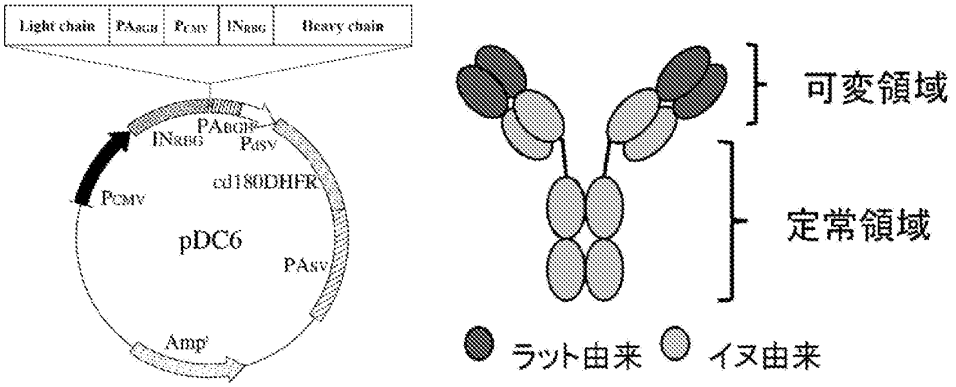
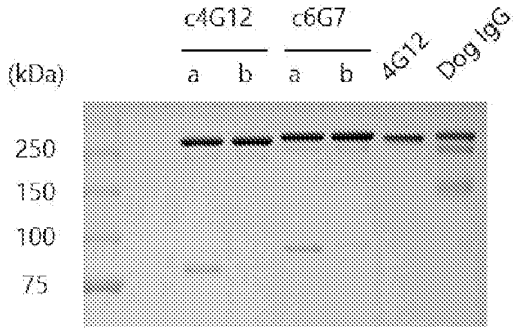
[図1]


cPD-L1-Ig結合量 (%O.D.)
100
80
60
40
20
0
0
2
4
6
8
10
抗体濃度 (μg/mL)
Rat IgG
Rat IgM
4G12
5A2
6G7
n.s.
*
*
*

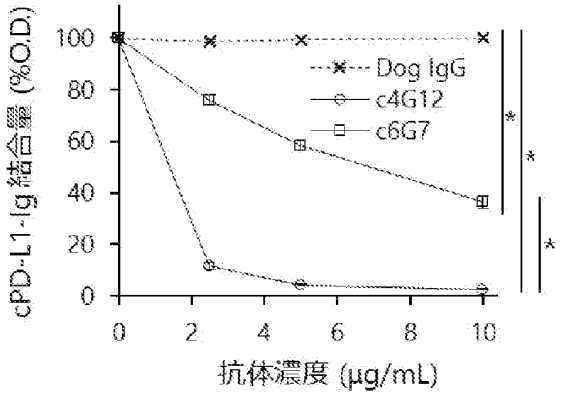
[図2]


Light chain
Heavy chain
pDC6
cd18ODHFR
Amp
可変領域
定常領域
ラット由来
イヌ由来

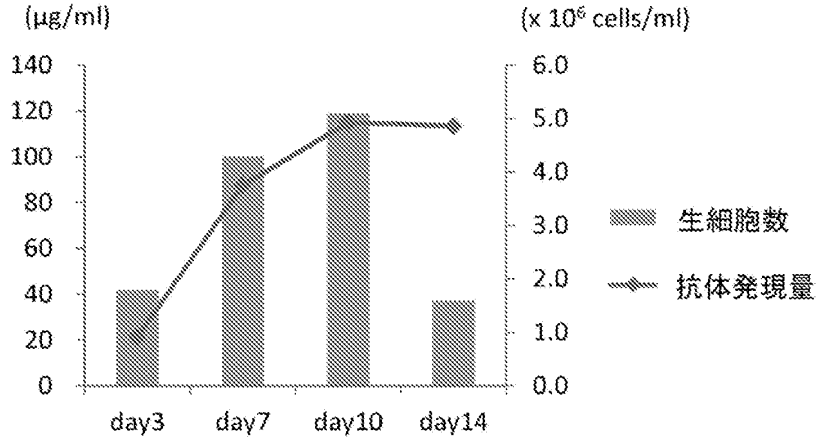
[図3]


c4G12
c6G7
(kDa)
a
b
a
b
4G12
Dog IgG
250
150
100
75

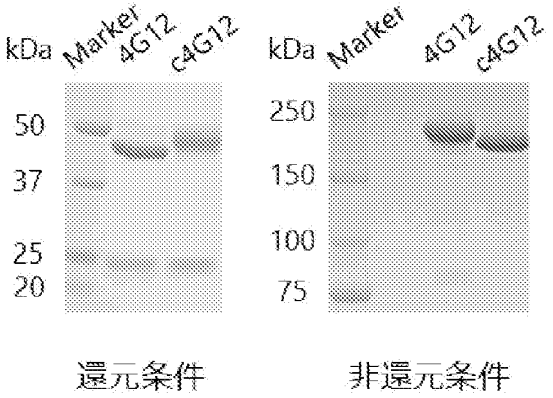
[図4]


cPD-L1-Ig結合量 (%O.D.)
100
80
60
40
20
0
0
2
4
6
8
10
抗体濃度 (μg/mL)
Dog IgG
c4G12
c6G7
*
*
*

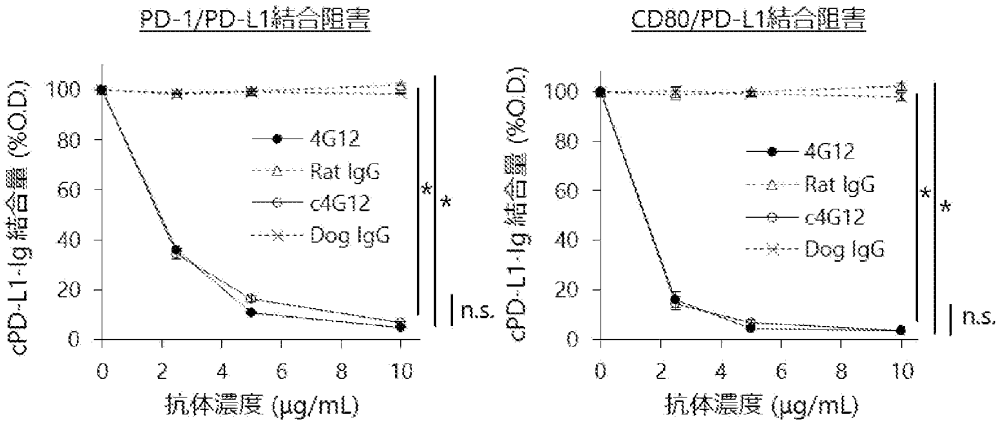
[図5]


(μg/ml)
(x 10⁶ cells/ml)
140
120
100
80
60
40
20
0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
day3
day7
day10
day14
生細胞数
抗体発現量

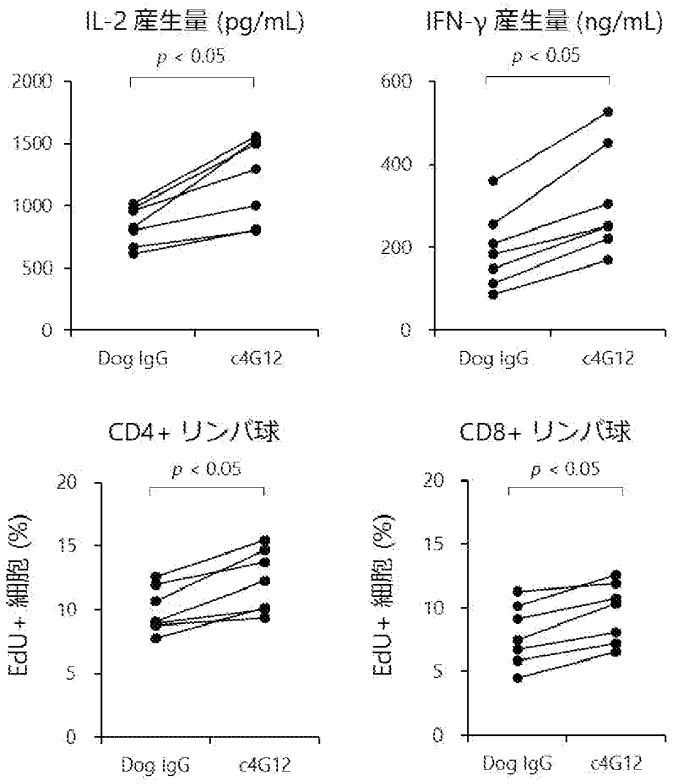
[図6]


kDa
Marker
4G12
c4G12
50
37
25
20
還元条件
kDa
Marker
4G12
c4G12
250
150
100
75
非還元条件

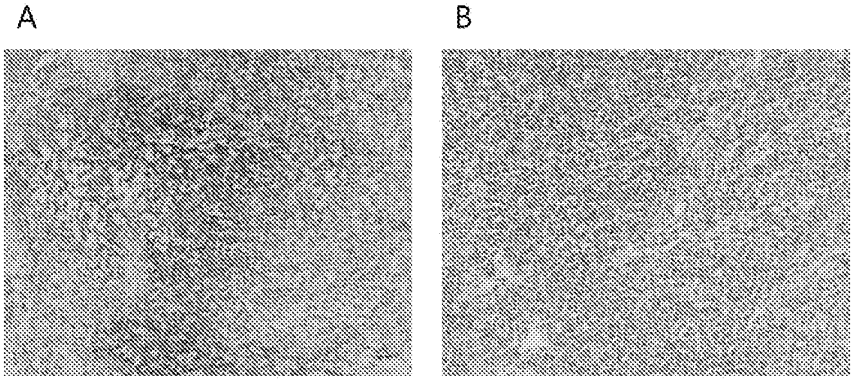
[図7]


PD-1/PD-L1結合阻害
CD80/PD-L1結合阻害
cPD-L1-Ig 結合量 (%O.D.)
抗体濃度 (μg/mL)
4G12
Rat IgG
c4G12
Dog IgG
*
n.s.

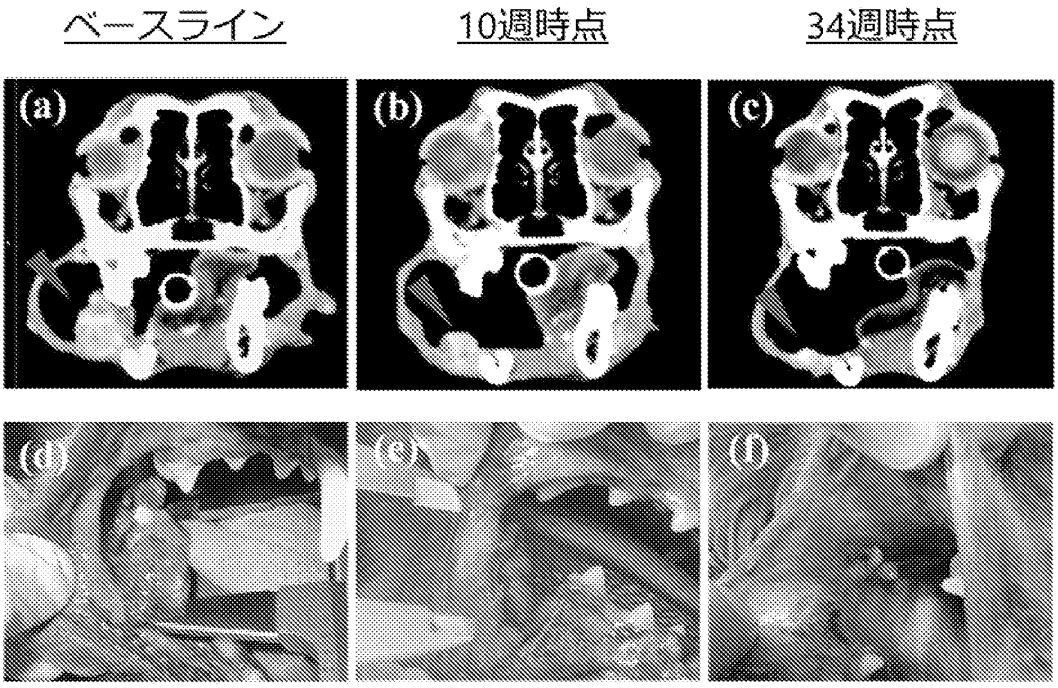
[図8]


IL-2 産生量 (pg/mL)
IFN-γ 産生量 (ng/mL)
CD4+ リンパ球
CD8+ リンパ球
EdU+ 細胞 (%)
p < 0.05
Dog IgG
c4G12

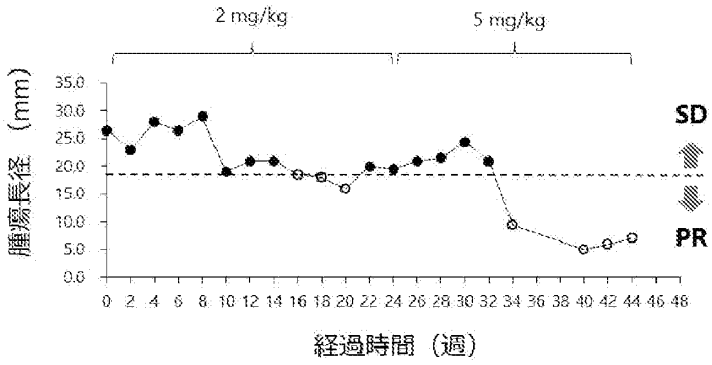
[図9]


A
B
口腔内メラノーマ
未分化肉腫

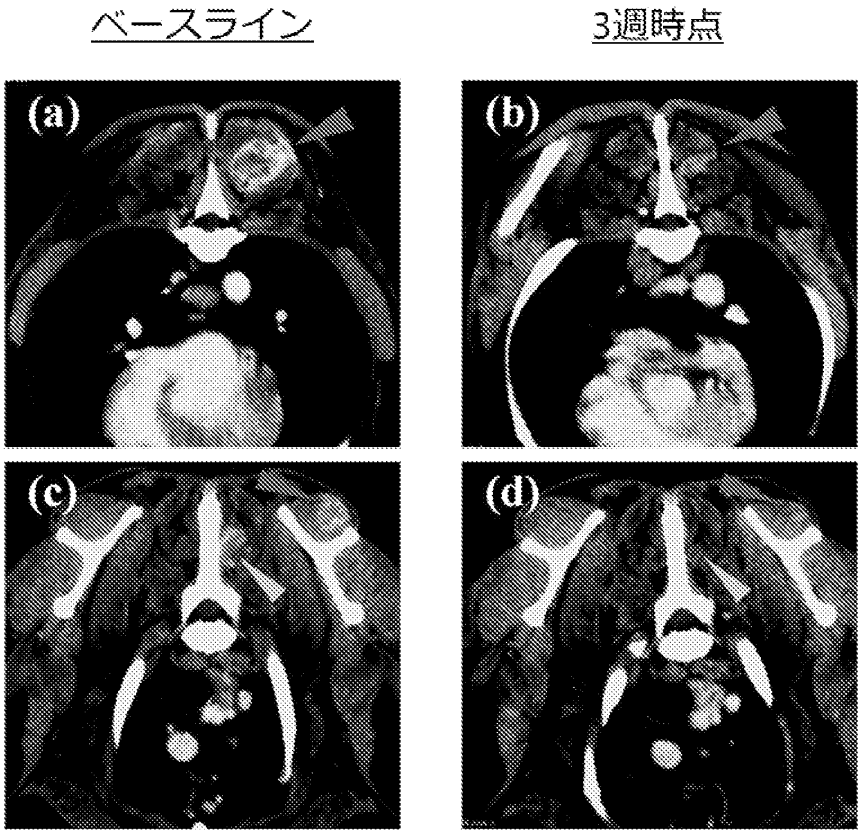
[図10]


ベースライン
10週時点
34週時点
(a)
(b)
(c)
(d)
(e)
(f)

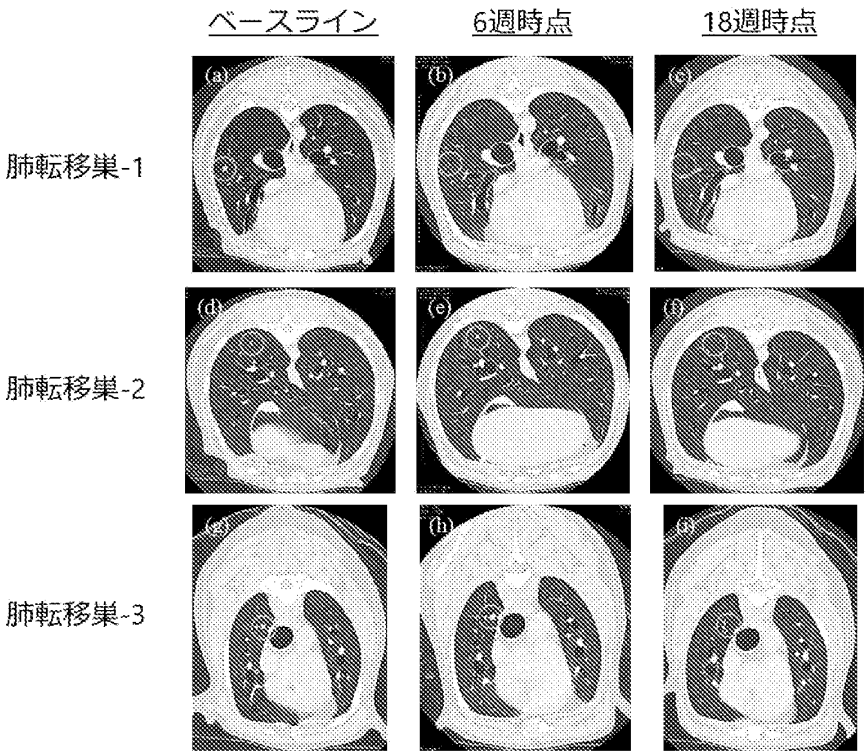
[図11]


2 mg/kg
5 mg/kg
腫瘍長径（mm）
35.0
30.0
25.0
20.0
15.0
10.0
5.0
0.0
SD
PR
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30 32 34 36 38 40 42 44 46 48
経過時間（週）

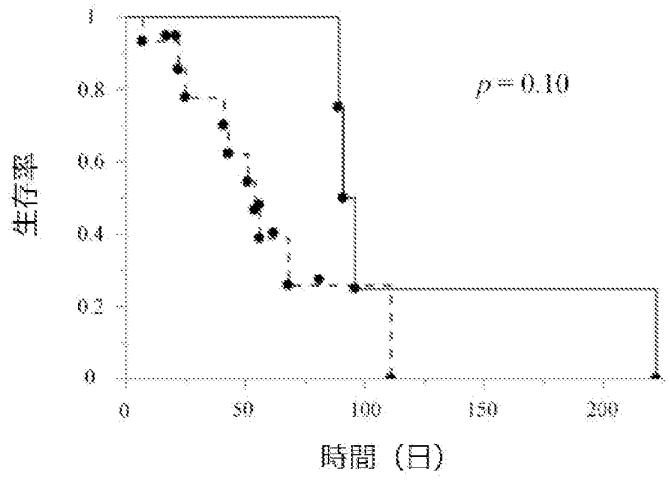
[図12]



[図13]



[図14]



[図15]

CDR1
CDR2
CDR3

軽鎖可変領域

MESQTHVLISLLLSVSGTYGDIAITQSPSSVAVSVGETVTLSCKSSQSLLYSENQKDYL
CDR1

GWYQQKPGQTPKPLIYWATNRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLIISSVQAEDLADYYC
CDR2

GQYLVYPFTFGPGTKLELK
CDR3

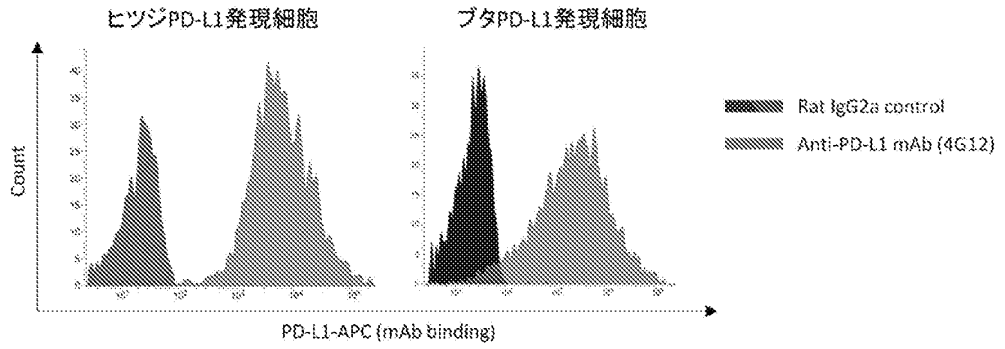
重鎖可変領域

MGWSQIILFLVAAATCVHSQVQLQQSGAELVKPGSSVKISCKASGYTFTSNFMHWV
CDR1

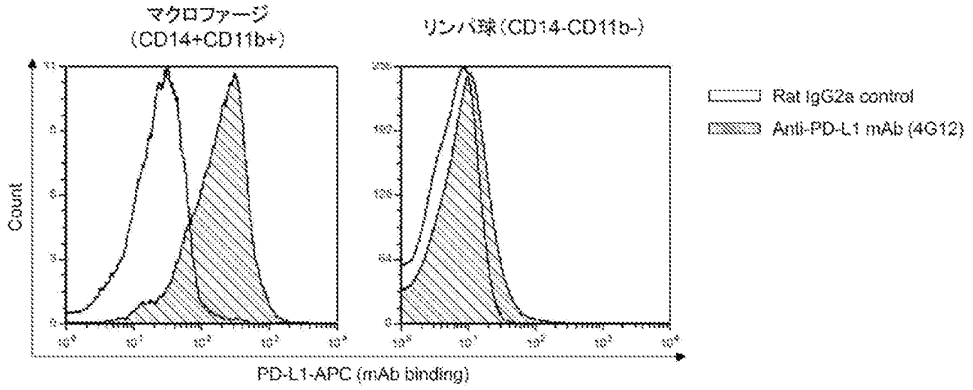
KQQPGNGLEWIGWIYPEYGNTKYNQKFDGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAV
CDR2

YFCASEEAVISLVYWGQGTLVTVSS
CDR3

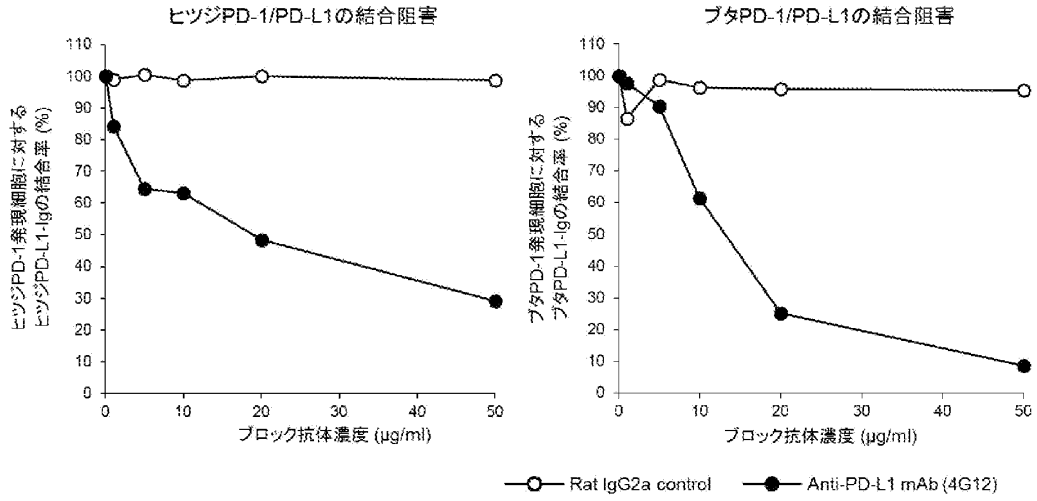
[図16]


ヒツジPD-L1発現細胞
ブタPD-L1発現細胞
Count
PD-L1-APC (mAb binding)
Rat IgG2a control
Anti-PD-L1 mAb (4G12)

[図17]


マクロファージ
(CD14+CD11b+)
リンパ球(CD14-CD11b-)
Count
PD-L1-APC (mAb binding)
Rat IgG2a control
Anti-PD-L1 mAb (4G12)

[図18]


ヒツジPD-1/PD-L1の結合阻害
ブタPD-1/PD-L1の結合阻害
ヒツジPD-1発現細胞に対するヒツジPD-L1-Igの結合率 (%)
ブタPD-1発現細胞に対するブタPD-L1-Igの結合率 (%)
ブロック抗体濃度 (μg/ml)
Rat IgG2a control
Anti-PD-L1 mAb (4G12)

[図19]

軽鎖

*斜体：可変領域配列（**太字下線部**：NH2 末端から順に CDR1, CDR2, CDR3）*

正体：定常領域配列（ウシ Ig lambda, GenBank: X62917）

*MESQTHVLISLLLSVSGTYGDIAITQSPSSVAVSVGETVTLSCKSS**QSLLYSENQKDY**L*
*GWYQQKPGQTPKPLIY**WAT**NRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLIISSVQAEDLADYYC**G***
***QYLVYPFT**FGPGTKLELK*QPKSPPSVTLFPPSTEELNGNKATLVCLISDFYPGSVTVV
WKADGSTITRNVETTRASKQSNSKYAASSYLSLTSSDWKSKGSYSCEVTHEGSTVTK
TVKPSECS*

重鎖

*斜体：可変領域配列（**太字下線部**：NH2 末端から順に CDR1, CDR2, CDR3）*

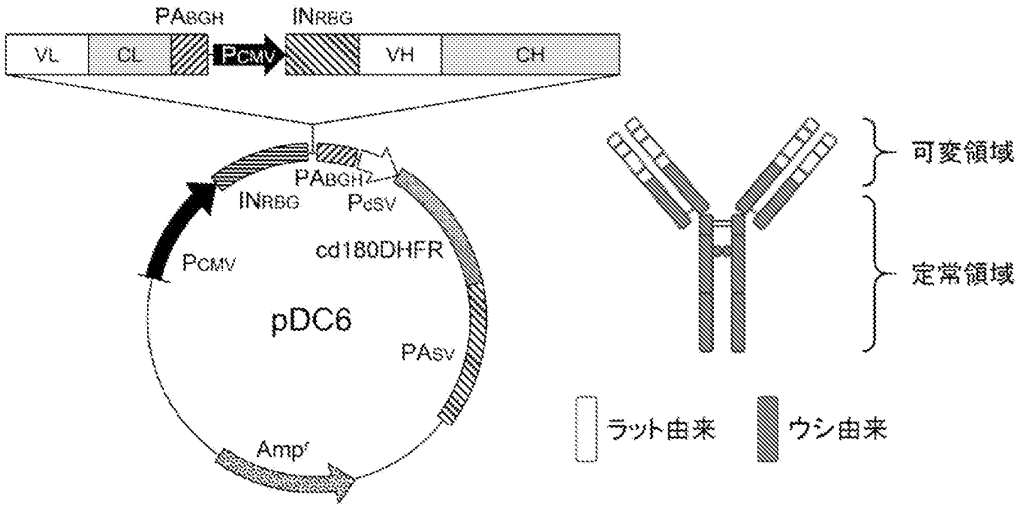
正体：定常領域配列（ウシ IgG1, GenBank: X62916 を改変）

二重下線：ウシ IgG1（CH2 ドメイン）に変異を加えたアミノ酸

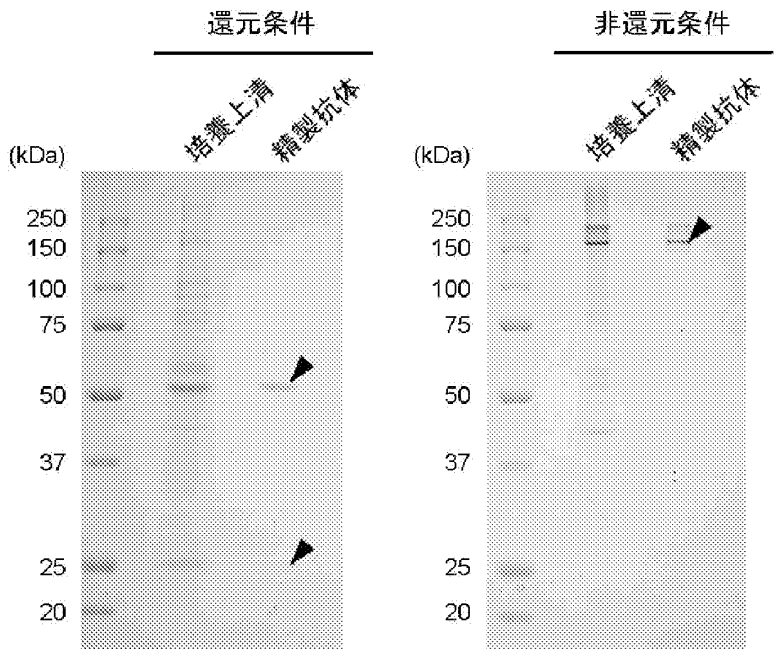
（アミノ酸番号および変異：250 E→P, 251 L→V, 252 P→A, 253 G→deletion, 347 A→S, 348 P→S）

*MGWSQIILFLVAAATCVHSQVQLQQSGAELVKPGSSVKISCKAS**GYTFTSNF**MHWV*
*KQQPGNGLEWIGW**IYPEYGNT**KYNQKFDGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAV*
*YFC**ASEEAVISLVY**WGQGTLVTVSS*ASTTAPKVYPLSSCCGDKSSSTVTLGCLVSSYM
PEPVTVTWNSGALKSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSMVTVPGSTSGQTFTCNVAHPASS
TKVDKAVDPTCKPSPCDCCPPPPVAGPSVFIFPPKPKDTLTISGTPEVTCVVVDVGHD
DPEVKFSWFVDDVEVNTATTKPREEQFNSTYRVVSALRIQHQDWTGGKEFKCKVH
NEGLPSSIVRTISRTKGPAREPQVYVLAPPQEELSKSTVSLTCMVTSFYPDYIAVEWQ
RNGQPESEDKYGTTPPQLDADSSYFLYSKLRVDRNSWQEGDTYTCVVMHEALHNH
YTQKSTSKSAGK*

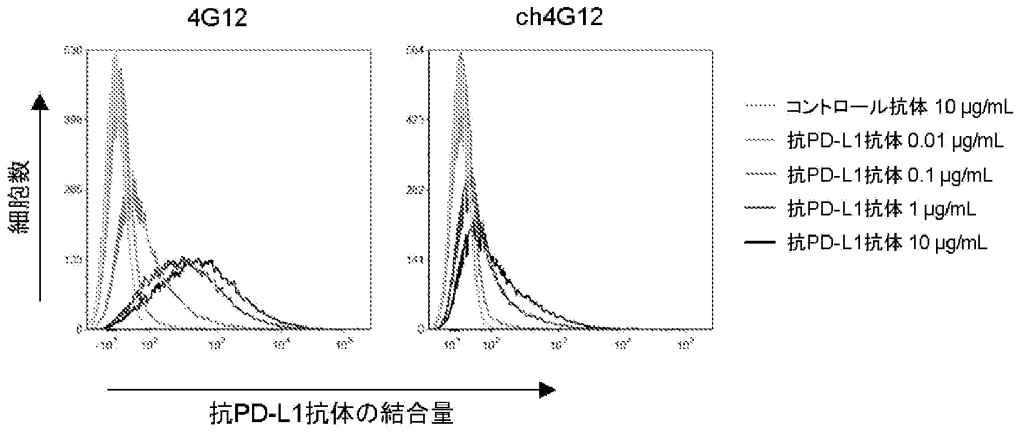
[図20]



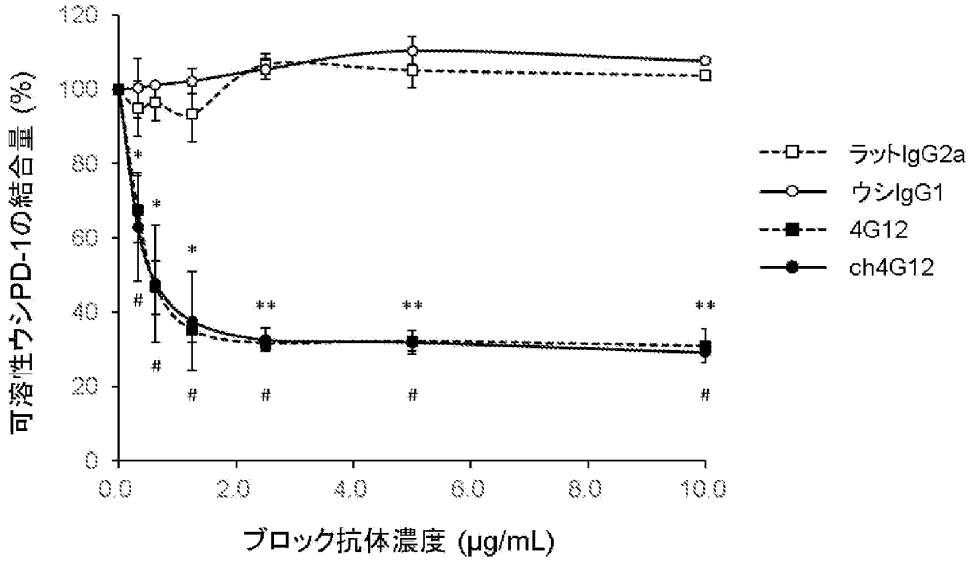
[図21]


還元条件
非還元条件
培養上清
精製抗体
培養上清
精製抗体
(kDa)
(kDa)
250
150
100
75
50
37
25
20
250
150
100
75
50
37
25
20

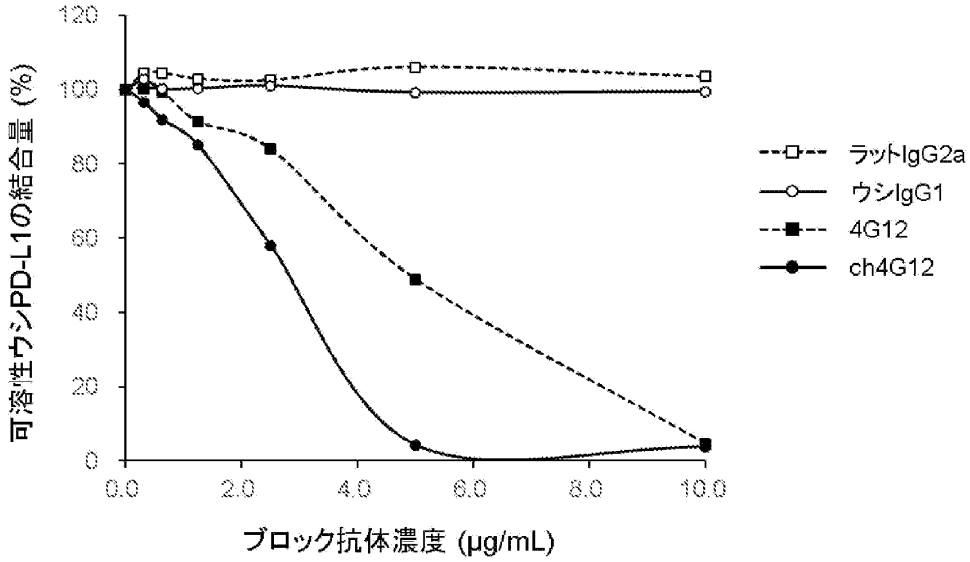
[図22]


4G12
ch4G12
細胞数
抗PD-L1抗体の結合量
コントロール抗体 10 μg/mL
抗PD-L1抗体 0.01 μg/mL
抗PD-L1抗体 0.1 μg/mL
抗PD-L1抗体 1 μg/mL
抗PD-L1抗体 10 μg/mL

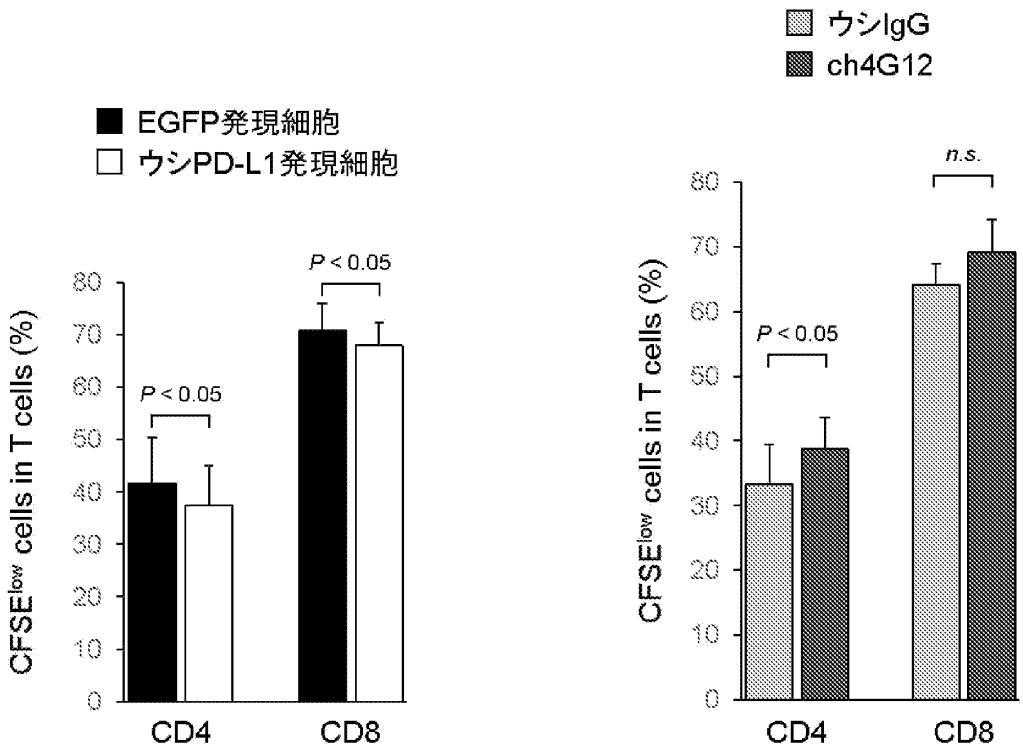
[図23]


可溶性ウシPD-1の結合量 (%)
120
100
80
60
40
20
0
0.0
2.0
4.0
6.0
8.0
10.0
ブロック抗体濃度 (μg/mL)
ラットIgG2a
ウシIgG1
4G12
ch4G12

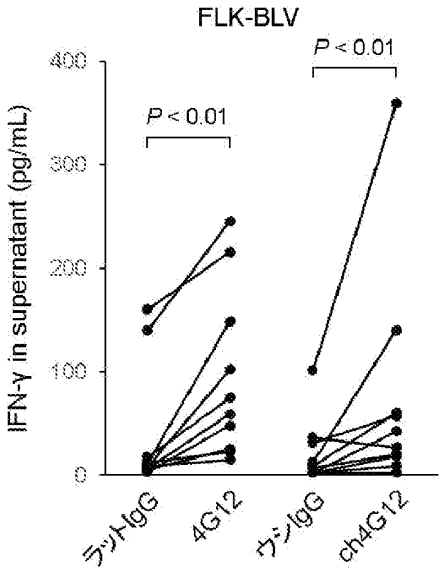
[図24]


可溶性ウシPD-L1の結合量 (%)
120
100
80
60
40
20
0
0.0
2.0
4.0
6.0
8.0
10.0
ブロック抗体濃度 (μg/mL)
ラットIgG2a
ウシIgG1
4G12
ch4G12

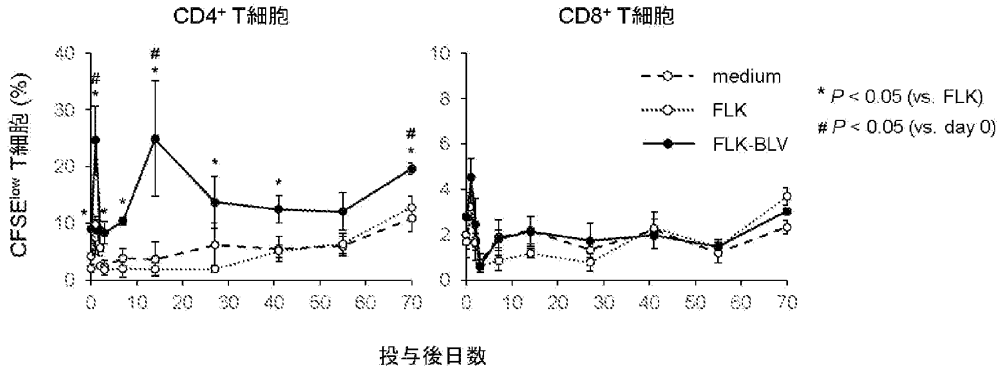
[図25]


EGFP発現細胞
ウシPD-L1発現細胞
CFSE^low cells in T cells (%)
P < 0.05
P < 0.05
CD4
CD8
ウシIgG
ch4G12
n.s.
P < 0.05
CD4
CD8

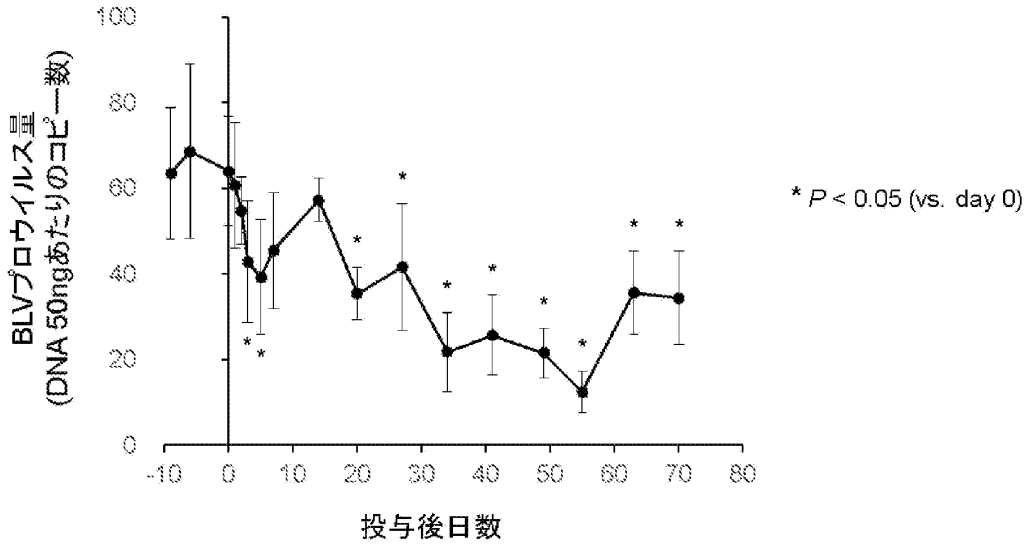
[図26]


FLK-BLV
IFN-γ in supernatant (pg/mL)
P < 0.01
P < 0.01
ラットIgG
4G12
ウシIgG
ch4G12

[図27]


CD4+ T細胞
CD8+ T細胞
CFSElow T細胞 (%)
medium
FLK
FLK-BLV
* P < 0.05 (vs. FLK)
# P < 0.05 (vs. day 0)
投与後日数

[図28]


BLVプロウイルス量
(DNA 50ngあたりのコピー数)
* P < 0.05 (vs. day 0)
投与後日数