

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6744313号
(P6744313)

(45) 発行日 令和2年8月26日 (2020.8.26)

(24) 登録日 令和2年8月3日 (2020.8.3)

(51) Int. Cl.

F I

C 1 2 N 15/13 (2006.01)

C 1 2 N 15/13

C O 7 K 16/46 (2006.01)

C O 7 K 16/46 Z N A

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 N 1/21

請求項の数 29 (全 95 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2017-534345 (P2017-534345)
 (86) (22) 出願日 平成27年12月31日 (2015.12.31)
 (65) 公表番号 特表2018-502572 (P2018-502572A)
 (43) 公表日 平成30年2月1日 (2018.2.1)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2015/068238
 (87) 国際公開番号 W02016/109774
 (87) 国際公開日 平成28年7月7日 (2016.7.7)
 審査請求日 平成30年12月27日 (2018.12.27)
 (31) 優先権主張番号 62/200,363
 (32) 優先日 平成27年8月3日 (2015.8.3)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 62/099,236
 (32) 優先日 平成27年1月2日 (2015.1.2)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 米国 (US)

(73) 特許権者 513168518
 ダイアックス コーポレーション
 アメリカ合衆国、マサチューセッツ州 O
 2421, レキシントン, 300 シャイ
 アー ウェイ
 (74) 代理人 100114775
 弁理士 高岡 亮一
 (74) 代理人 100121511
 弁理士 小田 直
 (74) 代理人 100202751
 弁理士 岩堀 明代
 (74) 代理人 100191086
 弁理士 高橋 香元

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 血漿カリクレインおよび第X I I 因子に対する二重特異性抗体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

第1の抗体の軽鎖を含む第1のポリペプチドであって、前記軽鎖が軽鎖可変領域 (V_L) および軽鎖定常領域 (C_L) を含む、第1のポリペプチドと、

前記第1の抗体の重鎖を含む第2のポリペプチドであって、前記重鎖が重鎖可変領域 (V_H) および重鎖定常領域 (C_H) を含む、第2のポリペプチドと、
 を含む二重特異性抗体であって、

前記第1のポリペプチドまたは前記第2のポリペプチドが、単鎖抗体である第2の抗体であって前記第1のポリペプチドまたは前記第2のポリペプチドのいずれかのC末端に融合されている第2の抗体をさらに含み、

前記第1の抗体および前記第2の抗体の一方が血漿カリクレイン (p K a 1) に結合し、他方の抗体が第X I I 因子に結合する、
 二重特異性抗体。

【請求項 2】

前記第2の抗体が前記第2のポリペプチドのC末端に融合されている、請求項1に記載の二重特異性抗体。

【請求項 3】

前記第1の抗体がp K a 1 に結合し、前記第2の抗体が第X I I 因子に結合する、請求項1または2に記載の二重特異性抗体。

【請求項 4】

前記第 1 の抗体および前記第 2 の抗体の一方が活性型血漿カリクレイン (p K a l) に結合し、および / または他方の抗体が活性型第 X I I 因子 (F X I I a) に結合する、請求項 1 ~ 3 のいずれかに記載の二重特異性抗体。

【請求項 5】

前記第 1 の抗体が I g G である、請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載の二重特異性抗体。

【請求項 6】

野生型の対応物と比較して C 末端リジン残基が欠失または変異している変異型重鎖を前記 I g G が含む、請求項 5 に記載の二重特異性抗体。

【請求項 7】

前記第 2 の抗体が、その C 末端に K R モチーフを含まない、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の二重特異性抗体。

10

【請求項 8】

四価である、請求項 1 ~ 7 のいずれかに記載の二重特異性抗体。

【請求項 9】

前記第 2 のポリペプチドが、前記第 1 の抗体の重鎖と前記第 2 の抗体との間にペプチドリンカーを含む、請求項 2 ~ 8 のいずれかに記載の二重特異性抗体。

【請求項 10】

前記 C_L が 軽鎖または 軽鎖である、請求項 1 ~ 9 のいずれかに記載の二重特異性抗体。

【請求項 11】

20

前記第 2 の抗体において V_H が V_L の N 末端に融合されているか V_L の C 末端に融合されている、請求項 1 ~ 10 のいずれかに記載の二重特異性抗体。

【請求項 12】

前記第 2 の抗体が、V_H 領域と V_L 領域との間にペプチドリンカーを含む、請求項 9 または 11 に記載の二重特異性抗体。

【請求項 13】

前記第 1 の抗体の V_H が、配列番号 1 におけるものと同一の相補性決定領域 (C D R) を有する、および / または前記第 1 の抗体の V_L が、配列番号 2 におけるものと同一の C D R を有する、請求項 1 ~ 12 のいずれかに記載の二重特異性抗体。

【請求項 14】

30

前記第 1 の抗体の V_H が、配列番号 1 のアミノ酸配列を含む、および / または
前記第 1 の抗体の V_L が、配列番号 2 のアミノ酸配列を含む、および / または
前記第 2 の抗体の V_H が、配列番号 3、4 および 123 ~ 126 のうちのいずれかにおけるものと同一の C D R を有する、および / または
前記第 2 の抗体の V_L が、配列番号 5 ~ 8 および 127 のうちのいずれかにおけるものと同一の C D R を有する、
請求項 13 に記載の二重特異性抗体。

【請求項 15】

前記第 1 の抗体の重鎖が、配列番号 9 の残基 20 ~ 470 のアミノ酸配列を含む、請求項 1 ~ 14 のいずれか 1 項に記載の二重特異性抗体。

40

【請求項 16】

前記第 1 の抗体の重鎖が、配列番号 9、149 または 150 のアミノ酸配列を含む、請求項 15 に記載の二重特異性抗体。

【請求項 17】

前記第 2 の抗体の V_H が、配列番号 3、4 および 123 ~ 126 のアミノ酸配列のうちのいずれかを含む、および / または

前記第 2 の抗体の V_L が、配列番号 5 ~ 8 および 127 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つの残基 1 ~ 111 を含む、
請求項 13 ~ 16 のいずれか 1 項に記載の二重特異性抗体。

【請求項 18】

50

前記第 1 のポリペプチドが、配列番号 10 のアミノ酸配列を含み、

前記第 2 のポリペプチドが、配列番号 11 ~ 20、47 ~ 122、141 ~ 148 および 151 ~ 158 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、
請求項 1 に記載の二重特異性抗体。

【請求項 19】

血漿カリクレイン (pKa1) に結合する第 1 の抗体と第 X I I a 因子に結合する第 2 の抗体とを含む、二重特異性抗体。

【請求項 20】

前記第 1 の抗体が、配列番号 1 におけるものと同一の相補性決定領域 (CDR) を含む V_H 鎖、および / もしくは配列番号 2 におけるものと同一の CDR を含む V_L 鎖、を含む、
ならびに / または

前記第 2 の抗体が、配列番号 3、4 および 123 ~ 126 のうちのいずれかにおけるものと同一の CDR を含む V_H 鎖、および / もしくは配列番号 5 ~ 8 および 127 のうちのいずれかにおけるものと同一の CDR を含む V_L 鎖、を含む、

請求項 19 に記載の二重特異性抗体。

【請求項 21】

前記第 1 の抗体の V_H が、配列番号 1 のアミノ酸配列を含む、および / または

前記第 1 の抗体の V_L が、配列番号 2 のアミノ酸配列を含む、および / または

前記第 2 の抗体の V_H 鎖が、配列番号 3、4 および 123 ~ 126 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つを含む、および / または

前記第 2 の抗体の V_L が、配列番号 5 ~ 8 および 127 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つの残基 1 ~ 111 を含む、

請求項 20 に記載の二重特異性抗体。

【請求項 22】

請求項 1 ~ 18 のいずれかに記載される第 1 のポリペプチドをコードする第 1 のヌクレオチド配列と請求項 1 ~ 18 のいずれかに記載される第 2 のポリペプチドをコードする第 2 のヌクレオチド配列とを含む、単離された核酸または核酸のセット。

【請求項 23】

前記第 1 のヌクレオチド配列および前記第 2 のヌクレオチド配列が、2 つの別個の核酸分子上に位置するか、または前記第 1 のヌクレオチド配列および前記第 2 のヌクレオチド配列が、1 つの核酸分子上に位置する、請求項 22 に記載の核酸または核酸のセット。

【請求項 24】

(i) 請求項 1 ~ 21 のいずれかに記載の二重特異性抗体あるいは請求項 22 または 23 の核酸または核酸のセット、および

(ii) 医薬的に許容される担体、
を含む医薬組成物。

【請求項 25】

請求項 22 または 23 の核酸または核酸のセットを含む、ベクターまたはベクターのセット。

【請求項 26】

請求項 25 のベクターまたはベクターのセットを含む、宿主細胞または宿主細胞のセット。

【請求項 27】

二重特異性抗体を調製するための方法であって、

前記第 1 のポリペプチドおよび前記第 2 のポリペプチドの発現を可能にする条件下で請求項 26 の宿主細胞または宿主細胞のセットを培養することと、

前記第 1 のポリペプチドおよび前記第 2 のポリペプチドを含む二重特異性抗体を単離することと、
を含む方法。

【請求項 28】

接触活性化系に関連する疾患の治療における使用のための医薬組成物であって、

(i) 請求項 1 ~ 2 1 のいずれか 1 項に記載の二重特異性抗体あるいは請求項 2 2 または 2 3 の核酸または核酸のセットあるいは請求項 2 5 のベクターまたはベクターのセット、および

(i i) 医薬的に許容される担体、を含む医薬組成物。

【請求項 2 9】

接触活性化系に関連する疾患が遺伝性血管性浮腫または血栓症である、請求項 2 8 に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願への相互参照

本出願は、2015年1月2日に出願された米国仮出願第62/099,236号、2015年8月3日に出願された米国仮出願第62/200,363号、および2015年12月1日に出願された米国仮出願第62/261,609号の出願日の恩典を主張する。言及されたこれらの出願の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【0002】

第XII因子(FXII)は、プレカリクレインを血漿カリクレイン(pKa1)に変換する主要活性化因子である。活性化された血漿カリクレインは、高分子量キノーゲン(HMWK)を切断してブラジキニン(BK)を遊離させる。pKa1はまた、潜在型第XII因子を活性化して活性型第XII因子(第XIIa因子)にすることもできる。遺伝性血管性浮腫など、接触系の異常活性化に関連する疾患状態では、制御されないBKレベルが患者の発作を誘発し得る。

【発明の概要】

【0003】

本開示の一態様は、第1の抗体の軽鎖を含む第1のポリペプチドであって、軽鎖が軽鎖可変領域(V_L)および軽鎖定常領域(C_L) (例えば、軽鎖または軽鎖)を含む、第1のポリペプチドと、第1の抗体の重鎖を含む第2のポリペプチドであって、重鎖が重鎖可変領域(V_H)および重鎖定常領域(C_H)を含む、第2のポリペプチドと、を含む二重特異性抗体である。二重特異性抗体の第1のポリペプチドまたは第2のポリペプチドのいずれかは、第2の抗体をさらに含み、第2の抗体は、単鎖抗体であり、第1のポリペプチドまたは第2のポリペプチドのいずれかのC末端に融合されていてよい。第1の抗体および第2の抗体の一方は血漿カリクレイン(pKa1) (例えば、活性型pKa1)に結合し、他方の抗体は第XII因子(例えば、活性型第XII因子またはFXIIa)に結合する。例えば、第1の抗体がpKa1に結合し、且つ第2の抗体がFXIIaに結合するか、あるいはその逆である。

【0004】

一部の実施形態において、第1の抗体はIgGである。一例では、IgGは、野生型の対応物と比較してC末端リジン残基が欠失または変異している変異型重鎖を含む。例えば、第1の抗体の変異型重鎖はC末端グリシン残基を、野生型のIgG重鎖におけるようなリジン残基の代わりに、含んでよい。一例では、二重特異性抗体は四価であってよい。

【0005】

一部の実施形態において、二重特異性抗体中の第2のポリペプチドは、第1の抗体の重鎖と第2の抗体との間にペプチドリinkerを含む。一例では、ペプチドリinkerはSGGGS(配列番号22)であってよい。

【0006】

scFv抗体である第2の抗体において、V_Hは、V_LのN末端に融合されていてよい。あるいは、V_Hは、V_LのC末端に融合されている。一部の例では、第2の抗体は、V

10

20

30

40

50

V_H 領域と V_L 領域との間にペプチドリinker、例えば $(G_4S)_4$ (配列番号 23) というリンカー、を含む。一部の実施形態において、scFc 抗体は、 V_H 鎖と V_L 鎖との間に形成されたジスルフィド結合を含む。例えば、 V_H 鎖は位置 44 にシステイン残基 (C_{44}) を含んでよく、 V_L 鎖は位置 100 にシステイン残基を含んでよく、ここで、 V_H の C_{44} と V_L の C_{100} との間にジスルフィド結合が形成され得る。一部の例では、第 2 の抗体は、その C 末端に KR モチーフを含まない。

【0007】

本明細書に記載される二重特異性抗体のいずれにおいても、第 1 の抗体の V_H は、配列番号 1 におけるものと同一の相補性決定領域 (CDR) を有する。一部の例では、第 1 の抗体の V_H は、配列番号 1 のアミノ酸配列を含む。一例では、第 1 の抗体の重鎖は、配列番号 9 の残基 20 ~ 470 のアミノ酸配列を含む。一例では、第 1 の抗体の重鎖は、配列番号 9、149 または 150 のアミノ酸配列を含む。代替的に、または追加的に、第 1 の抗体の V_L は、配列番号 2 におけるものと同一の CDR を有する。一部の例では、第 1 の抗体の V_L は、配列番号 2 のアミノ酸配列を含む。

【0008】

さらに、第 2 の抗体の V_H は、配列番号 3、4 および 123 ~ 126 のうちのいずれかにおけるものと同一の CDR を有してよい。一部の例では、第 2 の抗体の V_H は、配列番号 3、4 および 123 ~ 126 のアミノ酸配列のうちのいずれかを含む。代替的に、または追加的に、第 2 の抗体の V_L は、配列番号 5 ~ 8 および 127 ~ 130 のうちのいずれかにおけるものと同一の CDR を有する。一部の例では、第 2 の抗体の V_L は、配列番号 5 ~ 8 および 127 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つの残基 1 ~ 111 を含む。一例では、第 2 の抗体の V_L は、配列番号 5 ~ 8 および 127 ~ 130 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つを含む。

【0009】

一部の例では、本明細書に記載される二重特異性抗体は、配列番号 10 のアミノ酸配列を含む第 1 のポリペプチドを含み、第 2 のポリペプチドは、配列番号 11 ~ 20、47 ~ 122、141 ~ 148 および 151 ~ 158 のアミノ酸配列のうちのいずれかを含む。

【0010】

別の態様では、本開示は、血漿カリクレイン (pKa1) に結合する第 1 の抗体と、第 XII 因子に結合する第 2 の抗体と、を含む二重特異性抗体を提供し、例えば、第 1 の抗体は活性型 pKa1 に結合し、および/または、第 2 の抗体は活性型第 XII 因子 (FXIIa) に結合する。一部の実施形態において、第 1 の抗体は、配列番号 1 におけるものと同一の相補性決定領域 (CDR) を含む V_H 鎖および/または配列番号 2 におけるものと同一の CDR を含む V_L 鎖を含む。例えば、第 1 の抗体の V_H は配列番号 1 のアミノ酸配列を含み、および/または、第 1 の抗体の V_L は配列番号 2 のアミノ酸配列を含む。

【0011】

代替的に、または追加的に、第 2 の抗体は、配列番号 3 または 4 におけるものと同一の CDR を含む V_H 鎖および/または配列番号 5、6、7 または 8 におけるものと同一の CDR を含む V_L 鎖を含む。例えば、第 2 の抗体の V_H 鎖は配列番号 3 または 4 のアミノ酸配列を含み、および/または、第 2 の抗体の V_L は配列番号 5、6、7 または 8 のアミノ酸配列を含む。

【0012】

代替的に、または追加的に、第 2 の抗体は、配列番号 123 ~ 126 のいずれかにおけるものと同一の CDR を含む V_H 鎖および/または配列番号 127 におけるものと同一の CDR を含む V_L 鎖を含む。例えば、第 2 の抗体の V_H 鎖は配列番号 123 ~ 126 のうちのいずれか 1 つのアミノ酸配列を含み、および/または、第 2 の抗体の V_L は配列番号 5 ~ 8 および 127 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つの残基 1 ~ 111 を含む。

【0013】

さらに別の態様では、本開示は、本明細書に記載されるような第 1 のポリペプチドまたは第 1 の抗体をコードする第 1 のヌクレオチド配列と本明細書に記載されるような第 2 の

10

20

30

40

50

ポリペプチドまたは第2の抗体をコードする第2のヌクレオチド配列とを含む、単離された核酸または核酸のセットを提供する。一部の実施形態において、第1のヌクレオチド配列および第2のヌクレオチド配列は、2つの別個の核酸分子（例えば、2つのベクター（発現ベクターなど））上に位置する。あるいは、第1のヌクレオチド配列および第2のヌクレオチド配列は、1つの核酸分子（例えば、発現ベクターなどのベクター）上に位置する。

【0014】

本明細書に記載される核酸または核酸のセットは、第1のヌクレオチド配列を含む第1のベクターと第2のヌクレオチド配列を含む第2のベクターとを含む、ベクターのセットであってよい。一部の例では、第1のベクターおよび第2のベクターは、第1のヌクレオチド配列および第2のヌクレオチド配列がプロモーターに機能可能に連結している発現ベクターである。他の例では、本明細書に記載される核酸は、第1のヌクレオチド配列および第2のヌクレオチド配列の両方を含むベクターである。本明細書に記載されるベクターのいずれも、発現ベクターであってよい。例えば、発現ベクターは、プロモーターに機能可能に連結している第1のヌクレオチド配列および第2のヌクレオチド配列を含んでよい。また、本明細書に記載されるベクターまたはベクターのセットを含む宿主細胞も、本開示の範囲内に属する。

【0015】

さらに、本開示は、本明細書に記載されるような二重特異性抗体または核酸／核酸のセットのうちのいずれかと医薬的に許容される担体とを含む組成物を提供する。このような組成物は、接触活性化系に関連する疾患（例えば、遺伝性血管性浮腫（HAE）または血栓症）を治療するために使用できる。本明細書に記載される治療方法は、それを必要とする対象に本明細書に記載される医薬組成物の有効量を投与することを含む。本開示はまた、本明細書に記載されるような疾患の治療に使用するための医薬組成物であって本明細書に記載される二重特異性抗体または当該二重特異性抗体をコードする核酸／核酸のセットのうちのいずれかと医薬的に許容される担体とを含む医薬組成物、および、そのような疾患（HAEまたは血栓症など）の治療に使用するための医薬の製造におけるそのような医薬組成物の使用、も提供する。一部の実施形態において、血栓症は、心房細動、深部静脈血栓症（DVT）、肺塞栓症、脳卒中、または動脈もしくは静脈の血栓事象に関連している。

【0016】

さらに別の態様では、本開示は、二重特異性抗体を調製するための方法であって、（a）第1のポリペプチドおよび第2のポリペプチドの発現を可能にする条件下で本明細書に記載されるような宿主細胞または宿主細胞のセットを培養することと、（b）第1のポリペプチドおよび第2のポリペプチドを含む二重特異性抗体を単離することと、を含む方法の特徴とする。一部の例では、宿主細胞は、第1のポリペプチドをコードする第1のヌクレオチド配列と第2のポリペプチドをコードする第2のヌクレオチド配列とを含む発現ベクターを含む。

【0017】

本開示の1つ以上の実施形態の詳細は、以下の説明に記載される。本開示の他の特徴または利点は、以下の図面およびいくつかの実施形態の詳細な説明ならびに添付の特許請求の範囲から明らかになるであろう。

【0018】

以下の図面は、本明細書の一部を成し、本開示の特定の態様をさらに実証するために包含される。この本開示の特定の態様は、本明細書に提示される特定の実施形態の詳細な説明と組み合わせてこれらの図面のうちの1つ以上を参照することによって、より良く理解できる。

【図面の簡単な説明】

【0019】

【図1】図1は、クローンX120-A01（scFv=559C-M184-B04

10

20

30

40

50

H 4 L)、X 1 2 1 - E 0 1 (s c F v = 5 5 9 C - M 1 8 4 - G 0 3 H 4 L)、X 1 2 2 - A 0 1 (s c F v = 5 5 9 C - M 7 1 - F 0 6 H 4 L) および X 1 2 2 - C 0 1 (s c F v = 5 5 9 C - M 7 1 - F 0 6 L 4 H) を含む様々な二重特異性抗体クローンの、p K a l の阻害についての活性を示すグラフである。

【図 2 - 1】図 2 は、クローン X 1 2 0 - A 0 1 (A および B)、X 1 2 2 - A 0 1 (C)、X 1 2 1 - E 0 1 (D)、X 1 2 2 - C 0 1 (E) および対照クローン M 7 1 - F 0 6 I g G (F) の F X I I a 阻害活性を示すグラフを包含する。

【図 2 - 2】図 2 は、クローン X 1 2 0 - A 0 1 (A および B)、X 1 2 2 - A 0 1 (C)、X 1 2 1 - E 0 1 (D)、X 1 2 2 - C 0 1 (E) および対照クローン M 7 1 - F 0 6 I g G (F) の F X I I a 阻害活性を示すグラフを包含する。

10

【図 2 - 3】図 2 は、クローン X 1 2 0 - A 0 1 (A および B)、X 1 2 2 - A 0 1 (C)、X 1 2 1 - E 0 1 (D)、X 1 2 2 - C 0 1 (E) および対照クローン M 7 1 - F 0 6 I g G (F) の F X I I a 阻害活性を示すグラフを包含する。

【図 3 - 1】図 3 は、5 種の例示的二重特異性分子の分析用サイズ排除クロマトグラフィー (S E C) のトレースを示すグラフを包含する。前方のピークは、これらのクローンが高分子量の凝集体を有するということを示し、H M W の % は 1 6 . 5 ~ 3 3 . 8 の範囲である。A : 6 2 0 I - X 1 3 6 - C 1 1。B : 6 2 0 I - X 1 3 6 - C 0 5。C : 6 2 0 I - X 1 3 6 - G 0 5。D : 6 2 0 I - X 1 3 6 - D 1 2。E : 6 2 0 I - X 1 3 6 - A 0 1。

【図 3 - 2】図 3 は、5 種の例示的二重特異性分子の分析用サイズ排除クロマトグラフィー (S E C) のトレースを示すグラフを包含する。前方のピークは、これらのクローンが高分子量凝集体を有するということを示し、H M W の % は 1 6 . 5 ~ 3 3 . 8 の範囲である。A : 6 2 0 I - X 1 3 6 - C 1 1。B : 6 2 0 I - X 1 3 6 - C 0 5。C : 6 2 0 I - X 1 3 6 - G 0 5。D : 6 2 0 I - X 1 3 6 - D 1 2。E : 6 2 0 I - X 1 3 6 - A 0 1。

20

【図 4 - 1】図 4 は、ある範囲の濃度にわたる 6 2 0 I - X 0 1 7 3 - A 1 1 (H 4 4 / L 1 0 0 設計ジスルフィド結合を有する 6 2 0 I - X 0 1 3 6 - D 1 2) についての高分子量凝集体の減少を示すグラフを包含する。A : 1 m g / m L の 6 2 0 I - X 0 1 7 3 - A 1 1。B : 1 0 m g / m L の 6 2 0 I - X 0 1 7 3 - A 1 1。C : 2 0 m g / m l の 6 2 0 I - X 0 1 7 3 - A 1 1。D : 4 5 m g / m l の 6 2 0 I - X 0 1 7 3 - A 1 1。

30

【図 4 - 2】図 4 は、ある範囲の濃度にわたる 6 2 0 I - X 0 1 7 3 - A 1 1 (H 4 4 / L 1 0 0 設計ジスルフィド結合を有する 6 2 0 I - X 0 1 3 6 - D 1 2) についての高分子量凝集体の減少を示すグラフを包含する。A : 1 m g / m L の 6 2 0 I - X 0 1 7 3 - A 1 1。B : 1 0 m g / m L の 6 2 0 I - X 0 1 7 3 - A 1 1。C : 2 0 m g / m l の 6 2 0 I - X 0 1 7 3 - A 1 1。D : 4 5 m g / m l の 6 2 0 I - X 0 1 7 3 - A 1 1。

【図 5 - 1】図 5 は、再構成血漿アッセイ (reconstituted plasma assay) によって決定された抗 p K a l 抗体、抗 F X I I a 抗体、抗 p K a l 抗体と抗 F X I I a 抗体の組み合わせおよび二重特異性抗体 D 1 2 の阻害活性を示すグラフを包含する。A : 一本鎖 H M W K 存在下における D X - 2 9 3 0。B : 一本鎖 H M W K 存在下における抗 F X I I a 抗体。C : 一本鎖 H M W K 存在下における D X - 2 9 3 0 + 抗 F X I I a。D : 一本鎖 H M W K 存在下における二重特異性クローン 6 2 0 I - X 0 1 3 6 - D 1 2。

40

【図 5 - 2】図 5 は、再構成血漿アッセイ (reconstituted plasma assay) によって決定された抗 p K a l 抗体、抗 F X I I a 抗体、抗 p K a l 抗体と抗 F X I I a 抗体の組み合わせおよび二重特異性抗体 D 1 2 の阻害活性を示すグラフを包含する。A : 一本鎖 H M W K 存在下における D X - 2 9 3 0。B : 一本鎖 H M W K 存在下における抗 F X I I a 抗体。C : 一本鎖 H M W K 存在下における D X - 2 9 3 0 + 抗 F X I I a。D : 一本鎖 H M W K 存在下における二重特異性クローン 6 2 0 I - X 0 1 3 6 - D 1 2。

【図 6 - 1】図 6 は、再構成血漿アッセイによって決定された抗 p K a l 抗体、抗 F X I I a 抗体、抗 p K a l 抗体と抗 F X I I a 抗体の組み合わせおよび二重特異性抗体 D 1 2 の阻害活性を示すグラフを包含する。A : H M W K 非存在下における D X - 2 9 3 0。B

50

: H M W K 非存在下における抗 F X I I a 抗体。C : H M W K 非存在下における D X - 2 9 3 0 + 抗 F X I I a。D : H M W K 非存在下における二重特異性クローン 6 2 0 I - X 0 1 3 6 - D 1 2。

【図 6 - 2】図 6 は、再構成血漿アッセイによって決定された抗 p K a 1 抗体、抗 F X I I a 抗体、抗 p K a 1 抗体と抗 F X I I a 抗体の組み合わせおよび二重特異性抗体 D 1 2 の阻害活性を示すグラフを包含する。A : H M W K 非存在下における D X - 2 9 3 0。B : H M W K 非存在下における抗 F X I I a 抗体。C : H M W K 非存在下における D X - 2 9 3 0 + 抗 F X I I a。D : H M W K 非存在下における二重特異性クローン 6 2 0 I - X 0 1 3 6 - D 1 2。

【図 7】図 7 は、血漿アッセイ (plasma assay) によって決定された抗 p K a 1 抗体、抗 F X I I a 抗体、抗 p K a 1 抗体と抗 F X I I a 抗体の組み合わせおよび二重特異性抗体 D 1 2 の阻害活性を示すグラフを包含する。A : H M W K 非存在下における D X - 2 9 3 0。B : H M W K 非存在下における抗 F X I I a 抗体。C : H M W K 非存在下における D X - 2 9 3 0 + 抗 F X I I a。D : H M W K 非存在下における二重特異性クローン D 1 2。

10

【図 8】図 8 は、抗 F X I I a 抗体 (D 0 6) および抗 p K a 1 抗体 (H 0 3) と比較した、活性化部分トロンボプラスチン時間 (A P T T) アッセイにおける 3 種の濃度での二重特異性抗体 (D 1 2) の効果を示すグラフである。

【図 9】図 9 は、p K a 1 (上のセンサーグラム) および F X I I a (下のセンサーグラム) に対する 6 2 0 I - X 0 1 7 3 - A 1 1 (ジスルフィドを有する 6 2 0 I - X 0 1 3 6 - D 1 2) のピアコアでの結合を示すグラフを包含する。A : p K a 1 との結合 (上の曲線) は、ブランク表面 (中) およびプレカリクレイン (下) よりも高い。元の F X I I a 単離体はピアコアのチップに対して非特異的結合を示した。これは、プレ K a 1 およびブランクの場合に観察された結合シグナルを説明する。B : F X I I a との結合 (上の曲線) は、F X I I (下) およびブランク (中) よりも明らかに高い。

20

【図 10 - 1】図 10 は、血漿阻害アッセイ (Plasma Inhibition Assay) における 3 種のジスルフィド拘束 (disulfide-constrained) 二重特異性抗体の I C₅₀ および見かけの K_i の算出を示すグラフを包含する。A および B : クローン 6 2 0 I - X 0 1 7 3 - A 1 1。C および D : クローン 6 2 0 I - X 0 1 7 3 - C 0 7。E および F : クローン 6 2 0 I - X 0 1 7 3 - G 1 1。

30

【図 10 - 2】図 10 は、血漿阻害アッセイ (Plasma Inhibition Assay) における 3 種のジスルフィド拘束 (disulfide-constrained) 二重特異性抗体の I C₅₀ および見かけの K_i の算出を示すグラフを包含する。A および B : クローン 6 2 0 I - X 0 1 7 3 - A 1 1。C および D : クローン 6 2 0 I - X 0 1 7 3 - C 0 7。E および F : クローン 6 2 0 I - X 0 1 7 3 - G 1 1。

【図 10 - 3】図 10 は、血漿阻害アッセイ (Plasma Inhibition Assay) における 3 種のジスルフィド拘束 (disulfide-constrained) 二重特異性抗体の I C₅₀ および見かけの K_i の算出を示すグラフを包含する。A および B : クローン 6 2 0 I - X 0 1 7 3 - A 1 1。C および D : クローン 6 2 0 I - X 0 1 7 3 - C 0 7。E および F : クローン 6 2 0 I - X 0 1 7 3 - G 1 1。

40

【図 11】図 11 は、血漿阻害アッセイにおいて決定された二重特異性抗体 6 2 0 I - X 0 1 7 7 - A 0 1 (別称 6 2 0 I - X 0 1 7 3 - A 1 1) の阻害特性を示すグラフである。

【図 12 - 1】図 12 は、親 I g G と二重特異性抗体との間で親和性の低下が見られるということを示すグラフを包含する。A : 親クローン 5 5 9 C - X 0 2 1 1 - A 0 1 (左側のパネル) および二重特異性抗体 6 2 0 I - X 0 1 7 7 - A 0 1 (右側のパネル) の結合特性。B : 親クローン D X - 2 9 3 0 (左側のパネル) および二重特異性抗体 A 0 1 (右側のパネル) の結合特性。

【図 12 - 2】図 12 は、親 I g G と二重特異性抗体との間で親和性の低下が見られるということを示すグラフを包含する。A : 親クローン 5 5 9 C - X 0 2 1 1 - A 0 1 (左側

50

のパネル)および二重特異性抗体620I-X0177-A01(右側のパネル)の結合特性。B:親クローンDX-2930(左側のパネル)および二重特異性抗体A01(右側のパネル)の結合特性。

【図13】図13は、示される様々な抗体によるAPTTの用量依存的遅延を示すチャートである。クローンD06、1A01およびF12は抗FXIIa抗体である。クローンH03は抗pKa1抗体である。クローンD12および7A01は、それぞれ、ジスルフィド結合を有さない二重特異性抗体およびジスルフィド結合を有する二重特異性抗体である。

【図14】図14は、クローン1A01(559C-X211-A01)および7A01(620I-X0177-A01)によるフィブリン析出の用量依存的遅延を示すチャートである。

10

【図15】図15は、還元条件下(レーン2~4)および非還元条件下(レーン6~8)の二重特異性抗体620I-X0177-A01のサンプルを示すSDS-PAGEタンパク質ゲルである。

【図16】図16は、pH依存的切断を実証する二重特異性抗体620I-X0177-A01の分析用サイズ排除クロマトグラフィー(SEC)のトレースを示すグラフを包含する。15.7分~16.1分の間のピークは、正しく形成された二重特異性抗体を表す。17分のピークは、DX-2930 IgG1を表す。22分のピークは、切断された単鎖抗体を表す。A:pH6.0。B:pH7.0。C:8.0。

【図17】図17は、t=0における、IgGのC末端リジンを変異または欠失させるように改変された、示される二重特異性抗体のSDS-PAGEタンパク質ゲルを包含する。A:非還元条件。B:還元条件。

20

【図18】図18は、還元条件下でのt=48時間における、IgGのC末端リジンを変異または欠失させるように改変された、示される二重特異性抗体を含むSDS-PAGEタンパク質ゲルを示す。陽性対照は二重特異性抗体620I-X0177-A01である。

【図19】図19は、対照の二重特異性抗体620I-X0177-A01の分析用サイズ排除クロマトグラフィー(SEC)のトレースを示すグラフを包含する。15.7分~16.1分の間のピークは、正しく形成された二重特異性抗体を表す。17分のピークは、DX-2930 IgG1を表す。22分のピークは、切断された単鎖抗体を表す。A:t=0。B:t=48時間。

30

【図20-1】図20は、pH=7.5において室温で48時間経った後の再改変された二重特異性抗体の分析用サイズ排除クロマトグラフィー(SEC)のトレースを示すグラフを包含する。A:620I-X180-E07。B:620I-X180-G03。C:620I-X180-A05。D:620I-X180-E06。E:620I-X180-C11。F:620I-X179-C01。G:620I-X179-G05。H:620I-X179-A09。

【図20-2】図20は、pH=7.5において室温で48時間経った後の再改変された二重特異性抗体の分析用サイズ排除クロマトグラフィー(SEC)のトレースを示すグラフを包含する。A:620I-X180-E07。B:620I-X180-G03。C:620I-X180-A05。D:620I-X180-E06。E:620I-X180-C11。F:620I-X179-C01。G:620I-X179-G05。H:620I-X179-A09。

40

【図21】図21は、非還元条件下の、重鎖IgGのC末端リジンを変異または欠失させるように改変された、示される二重特異性抗体を示すSDS-PAGEタンパク質ゲルを示す。陽性対照は620I-X0177-A01である。37℃にて1時間、エンドプロテイナーゼLys Cと共にサンプルをインキュベートした。

【図22】図22は、例示的な二重特異性抗体によるpKa1の阻害を示すグラフを包含する。プレート1は、二重特異性抗体620I-X0179-A09(白丸)、620I-X0179-C01(黒三角)および620I-X0179-E05(白三角)の阻害

50

特性を示す。プレート 2 は、二重特異性抗体 6 2 0 I - X 0 1 7 9 - G 0 5 (白丸)、6 2 0 I - X 0 1 8 0 - E 0 7 (黒三角) および 6 2 0 I - X 0 1 8 0 - G 0 3 (白三角) の阻害特性を示す。プレート 3 は、二重特異性抗体 6 2 0 I - X 0 1 8 0 - A 0 5 (白丸) および 6 2 0 I - X 0 1 8 0 - C 1 1 (黒三角) の阻害特性を示す。プレートのそれぞれにおいて抗体 D X - 2 9 3 0 を対照として使用した。

【図 2 3】図 2 3 は、例示的な二重特異性抗体による F X I I a の阻害を示すグラフを包含する。プレート 1 は、二重特異性抗体 6 2 0 I - X 0 1 7 9 - A 0 9 (白丸)、6 2 0 I - X 0 1 7 9 - C 0 1 (黒三角) および 6 2 0 I - X 0 1 7 9 - E 0 5 (白三角) の阻害特性を示す。プレート 2 は、二重特異性抗体 6 2 0 I - X 0 1 7 9 - G 0 5 (白丸)、6 2 0 I - X 0 1 8 0 - E 0 7 (黒三角) および 6 2 0 I - X 0 1 8 0 - G 0 3 (白三角) の阻害特性を示す。プレート 3 は、二重特異性抗体 6 2 0 I - X 0 1 8 0 - A 0 5 (白丸) および 6 2 0 I - X 0 1 8 0 - C 1 1 (黒三角) の阻害特性を示す。プレートのそれぞれにおいて抗体 D X - 4 0 1 2 (5 5 9 C - M 0 1 9 2 - H 1 1) を対照として使用した。

10

【図 2 4】図 2 4 は、例示的な二重特異性抗体による活性化血漿 (activated plasma) の阻害を示すグラフを包含する。左上のパネルは、対照プレート 1、2 および 3 の D X - 2 9 3 0、ならびに D X - 4 0 1 2 の阻害特性を示す。右上のパネルは、二重特異性抗体 6 2 0 I - X 0 1 7 9 - A 0 9 (黒丸)、6 2 0 I - X 0 1 7 9 - C 0 1 (白丸) の阻害特性を示す。左下のパネルは、二重特異性抗体 6 2 0 I - X 0 1 7 9 - E 0 5 (黒丸)、6 2 0 I - X 0 1 7 9 - G 0 5 (白丸) および 6 2 0 I - X 0 1 8 0 - E 0 7 (黒三角) の阻害特性を示す。右下のパネルは、二重特異性抗体 6 2 0 I - X 0 1 8 0 - G 0 3 (黒丸)、6 2 0 I - X 0 1 8 0 - A 0 5 (白丸) および 6 2 0 I - X 0 1 8 0 - C 1 1 (黒三角) の阻害特性を示す。

20

【発明を実施するための形態】

【0020】

接触活性系は、炎症促進性ペプチドであるブラジキニン (B K) の遊離を介して凝固の内因性経路を開始させる。 B K の遊離は、接触活性化系における一連の酵素活性化ステップによって促進される。第 X I I a 因子 (F X I I a) は、プレカリクレインを血漿カリクレイン (p K a l) に変換する。活性化された p K a l は、次に、高分子量キノーゲン (H M W K) を切断してブラジキニン (B K) を遊離させる。重要なことに、 p K a l は、潜在型第 X I I 因子を活性化して追加的な活性型第 X I I a 因子をもたらすこともできる。 p K a l が F X I I を活性化して F X I I a にし、 F X I I a がプレカリクレインを活性化して p K a l にするという、正のフィードバックが形成されると考えられる。

30

【0021】

接触活性化系に関連する疾患 (遺伝性血管性浮腫 (H A E) または血栓症など) では、制御されない B K レベルが炎症反応 (患者の H A E 発作など) を誘発し得る。従って、 B K のレベルを制御するための作用物質 (例えば、 p K a l および F X I I の阻害剤) は、重要な治療上の価値を有する可能性がある。

【0022】

本明細書では、 p K a l および F X I I (例えば、活性型 p K a l および / または F X I I a) の両方に結合する二重特異性抗体、ならびに、 p K a l および F X I I の両方を阻害して、接触活性化系に関連する疾患 (遺伝性血管性浮腫 (H A E) および血栓症など) を治療することにおける当該二重特異性抗体の使用、が説明される。以下の実施例に示されるように、本明細書に記載されるような、いくつかの例示的な二重特異性抗体が p K a l 活性および F X I I a 活性の両方を阻害することが示された。理論に束縛されることを望むものではないが、本明細書に記載される二重特異性抗体は、 p K a l または F X I I のいずれかを阻害できる作用物質と比較して、接触活性化系に関連する疾患の治療において優れた治療効果を示すと予想される。これは、二重特異性抗体が p K a l および F X I I の両方の活性を阻害でき、それにより、例えば p K a l と F X I I との間の正のフィードバックループを遮断することによって、相乗的に B K レベルを低下させるためである

40

50

。

【0023】

p K a l および F X I I に結合する二重特異性抗体

本明細書で使用される場合、抗体（互換的に複数形で使用される）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標的抗原（炭水化物、ポリヌクレオチド、脂質、またはポリペプチドなど）に結合することが可能である免疫グロブリン分子またはその機能断片である。多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）は、複数種の標的抗原（例えば、2種の抗原、または1つの抗原の2種のエピトープ）に結合することが可能である免疫グロブリン分子またはその機能断片/バリエーションである。本明細書に記載される二重特異性抗体は、血漿カリクレイン（p K a l）および第X I I 因子の両方に結合できる。一部の実施形態において、二重特異性抗体は、活性型 p K a l および F X I I a の両方に結合してその両方を阻害できる。

10

【0024】

本明細書で使用される場合、抗原は、抗体を生じさせる能力を有する任意の分子（例えば、タンパク質、核酸、多糖、または脂質）を指す。エピトープは、抗体が結合する、抗原の一部（例えば、p K a l または F X I I の一部）である。エピトープは通常、アミノ酸または多糖側鎖などの部分の化学的に活性のある（極性、非極性または疎水性など）表面集団からなり、固有の三次元構造特性ならびに固有の電荷特性を有し得る。エピトープは、本質的に直鎖状であってよい、または不連続なエピトープ（例えば、アミノ酸の直鎖状の連なりではなく抗原の隣接していないアミノ酸同士の間空間的關係によって形成される、立体構造エピトープ）であってよい。立体構造エピトープには、抗原の直線的配列の別々の部分に由来するアミノ酸同士が3次元空間において極めて近接するようになる、抗原の折り畳みによって生じるエピトープが包含される。

20

【0025】

本明細書に記載される二重特異性抗体は、p K a l（例えば活性型 p K a l）に結合する第1の抗体部分および F X I I（例えば、F X I I a）に結合する第2の抗体部分という、2つの抗体部分を含む。第1の抗体部分および第2の抗体部分は、所望の抗原（すなわち、p K a l（例えば活性型 p K a l）および F X I I（例えば、F X I I a））に結合することが可能な2種の親抗体に由来してよい。本明細書に記載されるような二重特異性抗体を構築するための親抗体の一方または両方は、天然に存在する抗体（例えば、ヒト、マウス、ラット、ウサギ、ウマまたはヒツジなどの好適なドナーに由来する抗体）、遺伝子組換え抗体（例えば、ヒト化抗体、キメラ抗体）、または天然もしくは合成の抗体のライブラリーに由来する抗体であってよい。一部の実施形態において、一方の親抗体は I g G 抗体（例えば、p K a l に結合する I g G 抗体（D X 2 9 3 0 など）または F X I I a に結合する I g G 抗体）であり、他方の親抗体は s c F v 抗体（例えば、F X I I a に結合する s c F v 抗体（本明細書に記載される抗 F X I I a クローンなど）または p K a l に結合する s c F v 抗体）である。

30

【0026】

天然に存在する I g G 分子の重鎖は通常、C末端にリジン残基を含む。一部の実施形態では、このC末端リジン残基は、本明細書で開示される二重特異性抗体において欠失または（例えばグリシン残基に）変異させてよい。代替的に、または追加的に、軽鎖可変領域と軽鎖定常領域との接合部に通常存在する K R モチーフは、本明細書に記載される二重特異性抗体において、第1の抗体、第2の抗体、またはその両方、の軽鎖から欠失させてよい。一部の例では、K R モチーフは、本明細書に記載される二重特異性抗体のいずれかの s c F v 部分から（例えば、s c F v のC末端で）欠失している。これらの変異は、二重特異性抗体のタンパク質分解的切断を低減する可能性、ならびに/または二重特異性抗体の発現、産生および/もしくは製造を改善する可能性がある。

40

【0027】

一部の例では、少なくとも1つの親抗体は親和性成熟抗体であってよく、この親和性成熟抗体は、改変されていない親抗体と比較して1つ以上の C D R または フレームワーク領

50

域 (FR) に1つ以上の改変を有し、これが標的抗原に対する抗体の親和性の改善をもたらす、抗体を指す。好ましい親和性成熟抗体は、標的抗原に対してナノモルあるいはピコモルの親和性を有する可能性がある。抗体の親和性成熟は、可変ドメインシャッフリング (例えば、Marks et al., 1992, Bio/Technology 10: 779-783 を参照のこと)、CDRおよび/またはFRの残基のランダム変異誘発 (例えば、Barbas et al., 1994, Proc Natl Acad Sci, USA 91: 3809-3813; Schier et al., 1995, Gene 169: 147-155; Yelton et al., 1995, J. Immunol. 155: 1994-2004; Jackson et al., 1995, J. Immunol. 154 (7): 3310-9; および Hawkins et al., 1992, J. Mol. Biol. 226: 889-896 を参照のこと) によるものを含め当技術分野で公知の様々な方法によって実施できる。親抗体は、任意のクラス (IgD、IgE、IgG、IgA または IgM など)、またはそれらのサブクラス、または単鎖抗体 (scFv など) のものであってよい。

【0028】

本明細書に記載されるような二重特異性抗体中の各抗体部分は、限定されるものではないが完全なままの (すなわち完全長の) 抗体、その抗原結合断片 (Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv など)、単鎖抗体 (scFv 抗体) および四価抗体を含む、任意の形態の抗体であってよい。一部の実施形態において、二重特異性抗体は四価であり、これは、2つの pKa1 結合部位および2つの FXII 結合部位を含む。

【0029】

一部の実施形態において、本明細書に記載される二重特異性抗体中の抗 pKa1 部分、抗 FXII 部分またはその両方は、対応する標的抗原またはそのエピトープに特異的に結合する。抗原またはエピトープに「特異的に結合する」抗体は、当技術分野において十分に理解される用語であり、このような特異的結合を決定する方法も当技術分野において周知である。分子が、別の標的と反応または会合する場合に比べて、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、特定の標的抗原と反応または会合する場合、その分子は「特異的結合」を示すと言われる。抗体が、他の物質に結合する場合に比べて、より高い親和性、親和力で、より敏速に、および/またはより長い持続時間で、結合する場合、その抗体は、標的抗原またはエピトープに「特異的に結合する」。例えば、抗原 (例えば、ヒトの pKa1 または FXII) またはその中の抗原エピトープに特異的 (または優先的) に結合する抗体は、他の抗原または同じ抗原内の他のエピトープに結合する場合に比べて、より高い親和性、親和力で、より敏速に、および/またはより長い持続時間で、この標的抗原に結合する抗体である。この定義を読むことで、例えば、第1の標的抗原に特異的に結合する抗体は第2の標的抗原に特異的または優先的に結合してもしなくてもよいということも理解される。そのため、「特異的結合」または「優先的結合」は、必ずしも独占的結合を必要とするわけではない (但し、独占的結合を包含してもよい)。一般に、但し必ずしもそうであるわけではないが、結合への言及は優先的結合を意味する。一部の例では、標的抗原またはそのエピトープに「特異的に結合する」抗体は、他の抗原または同じ抗原内の他のエピトープに結合しない可能性がある。一部の実施形態において、本明細書に記載される二重特異性抗体は、活性型 pKa1 および FXIIa の両方に特異的に結合する。

【0030】

一部の実施形態において、本明細書に記載されるような二重特異性抗体は、その標的抗原 (例えば、pKa1 または FXIIa) もしくはそれらの抗原エピトープの一方または両方に対して好適な結合親和性を有する。本明細書で使用される場合、「結合親和性」は、見かけの会合定数または K_A を指す。 K_A は、解離定数 (K_D) の逆数である。本明細書に記載される二重特異性抗体は、その標的抗原もしくは抗原エピトープの一方または両方に対して、少なくとも 10^{-5} 、 10^{-6} 、 10^{-7} 、 10^{-8} 、 10^{-9} 、 10^{-10} M の結合親和性 (K_D)、またはそれよりも低い結合親和性 (K_D)、を有する可能性

がある。結合親和性の増加は、 K_D の減少に相当する。抗体が第1の抗原および第2の抗原に対して第3の抗原よりも高い親和性で結合することは、第3の抗原への結合についての K_A （または K_D の数値）に比べて第1の抗原および第2の抗原への結合についての K_A がより高い（または K_D の数値がより小さい）ことによって示され得る。このような場合、抗体は、第1の抗原および第2の抗原（例えば、第1の立体構造の第1のタンパク質またはその模倣物および第1の立体構造の第2のタンパク質またはその模倣物）に対して、第3の抗原（例えば、第2の立体構造である同じ第1もしくは第2のタンパク質またはその模倣物；または第3のタンパク質）よりも、特異性を有する。（例えば、特異性または他の比較に関しての）結合親和性の差は、少なくとも1.5、2、3、4、5、10、15、20、37.5、50、70、80、91、100、500、1000、10,000または 10^5 倍であってよい。

10

【0031】

結合親和性（または結合特異性）は、平衡透析、平衡結合、ゲル濾過、ELISA、表面プラズモン共鳴、または分光法（例えば蛍光アッセイを用いるもの）を含め、様々な方法によって決定できる。結合親和性を評価するための例示的な条件は、HBS-P緩衝液（10mM HEPES pH7.4、150mM NaCl、0.005%（v/v）Surfactant P20）中である。これらの手法を用いて、標的タンパク質の濃度の関数として、結合した結合タンパク質の濃度を測定できる。結合した結合タンパク質の濃度（[Bound]）は、以下の式：

$$[Bound] = [N][Free] / (K_d + [Free])$$

20

によって、遊離標的タンパク質の濃度（[Free]）および標的上の結合タンパク質結合部位の濃度に関連付けられ、ここで（N）は、標的分子あたりの結合部位の数である。

【0032】

しかし、例えばELISAまたはFACS解析などの方法を用いて決定され、 K_A に比例し、従って比較（高い方の親和性が例えば2倍高いかどうかを決定することなど）のために使用できる、親和性の定量的測定値を得ることで、または、例えば機能アッセイ（例えばインビトロまたはインビボのアッセイ）における活性から、親和性の推定値を得ることで、十分である場合があるため、必ずしも K_A を正確に決定する必要があるわけではない。

【0033】

30

（i）抗pKa1部分

活性型pKa1などのpKa1に結合することが可能な任意の抗体が、本明細書に記載される二重特異性抗体の構築に使用できる。一部の例では、二重特異性抗体中の抗pKa1抗体部分は、ヒトpKa1に結合でき、その活性を少なくとも50%（例えば、60%、70%、80%、90%、95%または95%超）阻害する。阻害定数（ K_i ）は、阻害剤の効力の尺度を提供する。阻害定数（ K_i ）は、酵素活性を半減させるのに必要な阻害剤の濃度であり、酵素または基質の濃度に依存しない。本明細書に記載される二重特異性抗体中の抗pKa1抗体部分の阻害活性は、通例の方法によって決定できる。一部の例では、本明細書に記載されるような二重特異性抗体は、1nM未満（例えば、0.5nM、0.2nM、0.1nM、0.09nM、0.08nM、0.07nM、0.06nM、0.05nM、0.04nM、0.03nM、0.02nM、0.01nM、または0.01nM未満）の抗pKa1 $K_{i,app}$ 値を有する。抗体の $K_{i,app}$ 値は、当技術分野で公知の方法に従って推定できる。

40

【0034】

一部の実施形態において、二重特異性抗体の抗pKa1部分は、ヒトpKa1の以下の残基：

V410、L412、T413、A414、Q415、R416、L418、C419、
H434、C435、F436、D437、G438、L439、W445、Y475、
K476、V477、S478、E479、G480、D483、F524、E527、
K528、Y552、D554、Y555、A564、D572、A573、C574、

50

K 5 7 5、G 5 7 6、S 5 7 8、T 5 9 6、S 5 9 7、W 5 9 8、G 5 9 9、E 6 0 0、
G 6 0 1、C 6 0 2、A 6 0 3、R 6 0 4、Q 6 0 7、P 6 0 8、G 6 0 9、V 6 1 0、
および Y 6 1 1、

のうちの 1 つ以上と相互作用できる。関与するアミノ酸残基（太字および下線）を包含するヒト p K a 1 の C 末端断片のアミノ酸配列を以下に示す（配列番号 2 1）。

【 0 0 3 5 】

【 化 1 】

```

391-IVGGTNSSWG EWPWQVSLQV KLTAQRHLCG GSLIGHQWVL TAAHCFDGLP
      LQDVWRIYSG ILNLSSDITKD TPFSQIKEII IHQNYYKVSEG NHDIALIKLQ
      APLNYTEFQK PISLPSKGDT STIYTNCWVT GWGFSKEKGE IQNILQKVNI
      PLVTNEECQK RYQDYKITQR MVCAGYKEGG KDACKGDSGG PLVCKHNGMW
      RLVGITSWGE GCARREQPGV YTKVAEYMDW ILEKTQSSDG KAQMQSPA -638
  
```

10

【 0 0 3 6 】

一部の例では、抗 p K a 1 抗体部分は、p K a 1 のエピトープであって上記の配列番号 2 1 の以下のセグメント：

V 4 1 0 - C 4 1 9、H 4 3 4 - L 4 3 9、Y 4 7 5 - G 4 8 0、F 5 2 4 - K 5 2 8、
Y 5 5 2 - Y 5 5 5、D 5 7 2 - S 5 7 8、T 5 9 6 - R 6 0 4、または Q 6 0 7 - Y 6
1 1、

20

のうちの 1 つを含むエピトープに結合できる。

【 0 0 3 7 】

一例では、本明細書に記載される二重特異性抗体の抗 p K a 1 部分は、米国出願公開第 2 0 1 2 0 2 0 1 7 5 6 号（参照により本明細書に組み込まれる）に記載される抗体 D X - 2 9 3 0 に由来する。D X - 2 9 3 0 の重鎖可変領域および軽鎖可変領域ならびにこの抗体の完全長の重鎖および軽鎖を以下に提示する（C D R 領域：太字および下線；シグナル配列：イタリック体）。

【 0 0 3 8 】

【化2】

D X - 2 9 3 0 の重鎖可変領域（配列番号1）：

EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSS

D X - 2 9 3 0 の軽鎖可変領域（配列番号2）：

DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASTLESGVPSRFSGSGSG
TEFTLTISSLQPDDEFATYYCQQYNTYWTFGQGTKVEIK

10

D X - 2 9 3 0 重鎖（配列番号9）

MGWSCIILFLVATATGAHSEVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVS
GIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGM
VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK
DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

20

D X - 2 9 3 0 軽鎖（配列番号10）

MGWSCIILFLVATATGVHSDIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIY
KASTLES GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDEFATYYCQQYNTYWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIF
PPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADY
EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNREGC

【0039】

一部の例では、二重特異性抗体の抗 p K a 1 部分は、配列番号1と少なくとも80%（例えば、85%、90%、95%、または98%）同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および/または配列番号2と少なくとも80%（例えば、85%、90%、95%、または98%）同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、を含む。2つのアミノ酸配列についての「パーセント同一性」は、Karlin and Altschul Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-77, 1993におけるように改変されたKarlin and Altschul Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-68, 1990のアルゴリズムを用いて決定される。このようなアルゴリズムは、Altschul, et al. J. Mol. Biol. 215:403-10, 1990のNBLASTおよびXBLASTのプログラム(version 2.0)に組み込まれている。XBLASTプログラム(score=50, wordlength=3)を用いてBLASTタンパク質検索を実施して、目的のタンパク質分子と相同なアミノ酸配列を得ることができる。2つの配列の間にギャップが存在する場合には、Altschul et al., Nucleic Acids Res. 25(17):3389-3402, 1997に記載されるようにGapped BLASTを利用できる。BLASTおよびGapped BLASTのプログラムを利用する場合、それぞれのプログラム（例えば、XBLASTおよびNBLAST）のデフォルトのパラメータを使用できる。

30

40

【0040】

他の例では、本明細書に記載されるような二重特異性抗体中の抗 p K a 1 部分は、配列番号1におけるものと同じの3つのCDRを含む重鎖可変領域、および/または配列番号2におけるものと同じの3つのCDR、を含む。同一のCDRを有する2つの重鎖可変領域（または2つの軽鎖可変領域）とは、同じ番号付けスキームによって決定される、その2つの重鎖可変領域（または軽鎖可変領域）内のCDRが同一であることを意味す

50

る。抗体のCDRを決定するための例示的な番号付けスキームには、「Kabat」番号付けスキーム(Kabat et al. (1991), 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md.)、「Chothia」番号付けスキーム(Al-Lazikani et al., (1997) JMB 273, 927-948)、「Contact」番号付けスキーム(MacCallum et al., J. Mol. Biol. 262: 732-745 (1996))、「IMGT」番号付けスキーム(Lefranc M P et al., Dev Comp Immunol, 2003 January; 27(1): 55-77)および「Aho」番号付けスキーム(Honegger A and Pluckthun A, J Mol Biol, 2001 Jun. 8; 309(3): 657-70)が含まれる。当業者であれば理解するが、本明細書で同定された例示的な抗pKa1および抗FXII抗体のCDR領域は、例として使用される「Chothia」番号付けスキームによって決定される。

10

【0041】

あるいは、抗pKa1部分は、配列番号1および/または配列番号2と比較して、CDRのうちの1つ以上に1つ以上(例えば、最大で2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、または8つ)の変異を含んでよい。このような変異は、保存的アミノ酸置換であってよい。本明細書で使用される場合、「保存的アミノ酸置換」は、アミノ酸置換がなされるタンパク質の相対電荷またはサイズ特性を変化させないアミノ酸置換を指す。アミノ酸の保存的置換には、以下のグループ内のアミノ酸間でなされる置換が含まれる：(a) M, I, L, V; (b) F, Y, W; (c) K, R, H; (d) A, G; (e) S, T; (f) Q, N; および (g) E, D。

20

【0042】

本明細書に記載される例のいずれにおいても、二重特異性抗体の抗pKa1部分は、参照抗体と比較して、1つ以上(例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つ以上)の変異または欠失を含んでよい。このような変異は、例えば、二重特異性抗体のタンパク質分解的切断を低減するために、ならびに/または二重特異性抗体の発現、産生および/もしくは製造を改善するために、導入されてよい。一部の実施形態において、二重特異性抗体の抗pKa1部分はIgGであり、このIgGの重鎖は、その野生型の対応物と比較して、C末端リジン残基が除去されているか変異している。一部の実施形態において、IgG重鎖のC末端リジンは、中性アミノ酸残基(例えば、グリシン残基またはアラニン残基)に変異している。

30

【0043】

二重特異性抗体の抗pKa1部分の、このような変異型重鎖の例示的配列を以下に提示する(例としてDX-2930の重鎖を使用)。

【0044】

【化 3】

C 末端リジン残基の欠失を含む D X - 2 9 3 0 重鎖 (配列番号 1 4 9)

MGWSCIILFLVATATGAHSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVS
GIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGT
MTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK
DTLMISRTPETVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

10

C 末端リジンのグリシンへの変異を含む D X - 2 9 3 0 重鎖 (配列番号 1 5 0)

MGWSCIILFLVATATGAHSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVS
GIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGT
MTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK
DTLMISRTPETVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGG

【 0 0 4 5 】

上記に提示した配列のイタリック体部分は、シグナルペプチドを指す。本明細書で開示
される二重特異性抗体の抗 p K a 1 部分は、同じシグナルペプチドを含んでよく、シグナ
ルペプチドが除去されるか異なるシグナルペプチドで置き換えられてもよい。分泌タン
パク質の作製に使用するためのシグナルペプチドが当技術分野において周知である。

20

【 0 0 4 6 】

二重特異性抗体中の抗 p K a 1 部分は、限定されるものではないが完全なままの (すな
わち完全長の) 抗体、その抗原結合断片 (F a b 、 F a b ' 、 F (a b ')₂ 、 F v など
)、および単鎖抗体を含む、任意の抗体形態であってよい。一部の例では、本明細書に記
載されるような抗 p K a 1 部分の重鎖可変領域は、重鎖定常領域 (C_H) に連結されてお
り、この重鎖定常領域 (C_H) は、完全長の重鎖定常領域またはその一部 (例えば、 C_H
1、 C_H 2、 C_H 3、またはそれらの組み合わせ) であってよい。重鎖定常領域は、当技
術分野において公知である任意の C_H に由来してよい。一部の実施形態において、 C_H は

30

重鎖である。代替的に、または追加的に、抗 p K a 1 部分の軽鎖可変領域は、軽鎖定常
領域 (C_L) に連結されており、この軽鎖定常領域 (C_L) は、当技術分野において公知
である任意の C_L であってよい。一部の例では、 C_L は 軽鎖である。他の例では、 C_L
は 軽鎖である。抗体の重鎖および軽鎖の定常領域は、当技術分野において周知である (
例えば、 I M G T データベース (www. imgt. org) または www. vbase2. org/ vbstat. php. に
いて提供されるもの ; これらは両方とも、参照により本明細書に組み込まれる)。一部の
例では、抗 p K a 1 部分は、 D X - 2 9 3 0 と同じ重鎖 (配列番号 9) および / または D
X - 2 9 3 0 と同じ軽鎖 (配列番号 1 0) を含んでよい I g G である。

【 0 0 4 7 】

40

あるいは、本明細書に記載されるような二重特異性抗体中の抗 p K a 1 部分は、例えば
ペプチドリンカー ((G G G G S)₄ (配列番号 2 3) というリンカーなど) を介して、
重鎖可変領域と軽鎖可変領域が融合されている単鎖抗体 (S c F v) であってよい。一例
では、重鎖可変領域と軽鎖可変領域は、 H L の方向で融合されている。別の例では、重
鎖可変領域と軽鎖可変領域は、 L H の方向で融合されている。一部の実施形態において
、 S c F v の軽鎖部分は、その C 末端に L y s - A r g (K R) モチーフを含まない。

【 0 0 4 8 】

一例では、本明細書に記載される二重特異性抗体中の抗 p K a 1 部分は、配列番号 9 の
重鎖と配列番号 1 0 の軽鎖とを含む本明細書に記載される D X - 2 9 3 0 (I g G 抗体)
、またはその抗原結合断片、である。

50

【 0 0 4 9 】

(i i) 抗 F X I I 部分

活性型 F X I I (F X I I a) などの F X I I に結合することが可能な任意の抗体が、本明細書に記載される二重特異性抗体の構築に使用できる。一部の例では、二重特異性抗体中の抗 F X I I 抗体部分は、ヒト F X I I a に結合でき、その活性を少なくとも 5 0 % (例えば、6 0 %、7 0 %、8 0 %、9 0 %、9 5 % または 9 5 % 超) 阻害する。本明細書に記載される二重特異性抗体中の抗 F X I I 抗体部分の阻害活性は、通例の方法によって決定できる。一部の例では、本明細書に記載されるような二重特異性抗体は、1 n M 未満 (例えば、0 . 5 n M、0 . 2 n M、0 . 1 n M、0 . 0 9 n M、0 . 0 8 n M、0 . 0 7 n M、0 . 0 6 n M、0 . 0 5 n M、0 . 0 4 n M、0 . 0 3 n M、0 . 0 2 n M、0 . 0 1 n M、または 0 . 0 1 n M 未満) の抗 p F X I I a K_i, a p p 値を有する。抗体の K_i, a p p 値は、当技術分野で公知の方法に従って推定できる。

10

【 0 0 5 0 】

一部の例では、本明細書に記載される二重特異性抗体の抗 F X I I 部分は、抗 F X I I クローン 5 5 9 C - M 0 0 7 1 - F 0 6、5 5 9 C - M 0 1 7 9 - D 0 4、5 5 9 C - M 0 1 8 1 - C 0 2、5 5 9 C - M 0 1 8 0 - G 0 3 および 5 5 9 C - M 0 1 8 4 - B 0 4 に由来する。これらのクローンの重鎖可変領域および軽鎖可変領域を以下に提示する (C D R : 太字および下線)。

【 0 0 5 1 】

【 化 4 】

20

クローン 5 5 9 C - M 0 0 7 1 - F 0 6、5 5 9 C - M 0 1 7 9 - D 0 4、5 5 9 C - M 0 1 8 1 - C 0 2 および 5 5 9 C - M 0 1 8 0 - G 0 3 の重鎖可変領域 (配列番号 3)

EVQLLES GGG L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S **GYIMAWVRQAPGKGLEWVS** **YIYPSGGITVYADSVKGRF**
TISRDN SKNTLY L Q M N S L R A E D T A V Y Y C T R **QRYRGPKYYYYMDV** W G K G T T V T V S S

クローン 5 5 9 C - M 0 1 8 4 - B 0 4 の重鎖可変領域 (配列番号 4)

EVQLLES GGG L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S **FYSMH** WVRQAPGKGLEWVS **RIYPSGGVTKYADSVKGRF**
TISRDN SKNTLY L Q M N S L R A E D T A V Y Y C T R **QRYRGPKYYYYMDV** W G K G T T V T V S S

30

クローン 5 5 9 C - M 0 0 7 1 - F 0 6 および 5 5 9 C - M 0 1 8 4 - B 0 4 の軽鎖可変領域 (配列番号 5)

DIQMTQSP L S L P V T P G E P A S I S C **RSSQSLLSNGYNYLD** W Y L Q K P G Q S P Q L L I Y **LGSNRAS** G V P D R F S
G S G S G T D F T L K I S R V E A E D V G V Y Y C **MQALQTPWT** F G Q G T K V E I K R

クローン 5 5 9 C - M 0 1 7 9 - D 0 4 の軽鎖可変領域 (配列番号 6)

DIQMTQSPLSLSVAPGEPASISCRSSQSLLRNGHNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPERFS
GSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVIYCMQALQARTFGQGTKVEIKR

クローン559C-M0181-C02の軽鎖可変領域（配列番号7）

DIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDFRS
GSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVIYCMQALQTRTFGQGTKVEIKR

クローン559C-M0180-G03の軽鎖可変領域（配列番号8）

DIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQIMIIYLGSNRASGVPDFRS
GSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVIYCMQALQTPRTFGQGTKVEIKR

10

クローン620I-X0173-A11（620I-X0177-A01）の重鎖可変領域（配列番号123）

EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYVMHWVRQAPGKCLEWVSSIWPSGGHTRYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGT TVTVSS

クローン620I-X0173-C07（620I-X0177-C01）の重鎖可変領域（配列番号124）

EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYVMHWVRQAPGKCLEWVSSIYPSGGKTSYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGT TVTVSS

20

クローン620I-X0173-E07（620I-X0177-E01）の重鎖可変領域（配列番号125）

EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYSMHWVRQAPGKCLEWVSVIYPSGGKTRYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGT TVTVSS

クローン620I-X0173-G11（620I-X0177-G01）の重鎖可変領域（配列番号126）

EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYVMHWVRQAPGKCLEWVSSIYPSGGGLTKYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGT TVTVSS

30

クローン620I-X0173-A11の軽鎖可変領域（配列番号127）

DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDFRS
GSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVIYCMQALQTPWTFGCGTKVEIKR

クローン620I-X0173-C07の軽鎖可変領域（配列番号128）

DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDFRS
GSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVIYCMQALQTPWTFGCGTKVEIKR

40

クローン620I-X0173-E07の軽鎖可変領域（配列番号129）

DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFS
GSGSGTDFTLKISRVEADVGVYYCMQALQTPWTFGCGTKVEIKR

クローン 6 2 0 I - X 0 1 7 3 - G 1 1 の軽鎖可変領域（配列番号 1 3 0）

DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFS
GSGSGTDFTLKISRVEADVGVYYCMQALQTPWTFGCGTKVEIKR

【 0 0 5 2 】

クローン 6 2 0 I - X 0 1 7 3 - A 1 1（配列番号：1 2 7）、6 2 0 I - X 0 1 7 3 - C 0 7（配列番号 1 2 8）、6 2 0 I - X 0 1 7 3 - E 0 7（配列番号 1 2 9）および 6 2 0 I - X 0 1 7 3 - G 1 1（配列番号 1 3 0）の軽鎖可変領域は同一である。

10

【 0 0 5 3 】

一部の例では、二重特異性抗体の抗 F X I I a 部分は、配列番号 3 もしくは配列番号 4 と少なくとも 8 0 %（例えば、8 5 %、9 0 %、9 5 %、または 9 8 %）同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および / または配列番号 5 ~ 8 のうちのいずれかと少なくとも 8 0 %（例えば、8 5 %、9 0 %、9 5 %、または 9 8 %）同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、を含む。例えば、重鎖可変領域は、配列番号 3 と少なくとも 8 0 %（例えば、8 5 %、9 0 %、9 5 %、または 9 8 %）同一であるアミノ酸配列を含んでよく、軽鎖可変領域は、配列番号 5 ~ 8 のうちのいずれかと少なくとも 8 0 %（例えば、8 5 %、9 0 %、9 5 %、または 9 8 %）同一であるアミノ酸配列を含んでよい。あるいは、重鎖可変領域は、配列番号 4 と少なくとも 8 0 %（例えば、8 5 %、9 0 %、9 5 %、または 9 8 %）同一であるアミノ酸配列を含んでよく、軽鎖可変領域は、配列番号 5 と少なくとも 8 0 %（例えば、8 5 %、9 0 %、9 5 %、または 9 8 %）同一であるアミノ酸配列を含んでよい。

20

【 0 0 5 4 】

一部の例では、二重特異性抗体の抗 F X I I a 部分は、配列番号 1 2 3 ~ 1 2 6 のうちのいずれかと少なくとも 8 0 %（例えば、8 5 %、9 0 %、9 5 %、または 9 8 %）同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および / または配列番号 1 2 7 ~ 1 3 0 のうちのいずれかと少なくとも 8 0 %（例えば、8 5 %、9 0 %、9 5 %、または 9 8 %）同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、を含む。例えば、重鎖可変領域は、配列番号 1 2 3 と少なくとも 8 0 %（例えば、8 5 %、9 0 %、9 5 %、または 9 8 %）同一であるアミノ酸配列を含んでよく、軽鎖可変領域は、配列番号 1 2 7 と少なくとも 8 0 %（例えば、8 5 %、9 0 %、9 5 %、または 9 8 %）同一であるアミノ酸配列を含んでよい。あるいは、重鎖可変領域は、配列番号 1 2 4 と少なくとも 8 0 %（例えば、8 5 %、9 0 %、9 5 %、または 9 8 %）同一であるアミノ酸配列を含んでよく、軽鎖可変領域は、配列番号 1 2 8 と少なくとも 8 0 %（例えば、8 5 %、9 0 %、9 5 %、または 9 8 %）同一であるアミノ酸配列を含んでよい。あるいは、重鎖可変領域は、配列番号 1 2 5 と少なくとも 8 0 %（例えば、8 5 %、9 0 %、9 5 %、または 9 8 %）同一であるアミノ酸配列を含んでよく、軽鎖可変領域は、配列番号 1 2 9 と少なくとも 8 0 %（例えば、8 5 %、9 0 %、9 5 %、または 9 8 %）同一であるアミノ酸配列を含んでよい。あるいは、重鎖可変領域は、配列番号 1 2 6 と少なくとも 8 0 %（例えば、8 5 %、9 0 %、9 5 %、または 9 8 %）同一であるアミノ酸配列を含んでよく、軽鎖可変領域は、配列番号 1 3 0 と少なくとも 8 0 %（例えば、8 5 %、9 0 %、9 5 %、または 9 8 %）同一であるアミノ酸配列を含んでよい。

30

40

【 0 0 5 5 】

他の例では、本明細書に記載されるような二重特異性抗体中の抗 F X I I a 部分は、クローン 5 5 9 C - M 0 0 7 1 - F 0 6、5 5 9 C - M 0 1 7 9 - D 0 4、5 5 9 C - M 0 1 8 1 - C 0 2、5 5 9 C - M 0 1 8 0 - G 0 3、5 5 9 C - M 0 1 8 4 - B 0 4、6 2 0 I - X 0 1 7 3 - A 1 1、6 2 0 I - X 0 1 7 3 - C 0 7、6 2 0 I - X 0 1 7 3 - E 0 7 もしくは 6 2 0 I - X 0 1 7 3 - G 1 1 のものと同一の 3 つの C D R を含む重鎖可変

50

領域および／または軽鎖可変領域、ならびに／あるいはこれらのクローンのものと同一の3つのCDR、を含む。以下の表1を参照のこと。

【0056】

【表1】

表1：抗FXIIaクローンのCDRの配列

クローン	LCDR1	LCDR2	LCDR3	HCDR1	HCDR2	HCDR3
559C-M0071-F06	RSSQSLLH SNGY NYLD (配列番号 34)	LGSNRAS (配列番号 36)	MQALQTP WT (配列番号 37)	GYIMA (配列番号 41)	YIYPSGGITV YA DSVKG (配列番号 43)	QRYRGPKYY YYMDV (配列番号 45)
559C-M0179-D04	RSSQSLLH RNGH NYLD (配列番号 35)	LGSNRAS (配列番号 36)	MQALQAR T (配列番号 38)	GYIMA (配列番号 41)	YIYPSGGITV YA DSVKG (配列番号 43)	QRYRGPKYY YYMDV (配列番号 45)
559C-M0181-C02	RSSQSLLH SNGY NYLD (配列番号 34)	LGSNRAS (配列番号 36)	MQALQTR T (配列番号 39)	GYIMA (配列番号 41)	YIYPSGGITV YA DSVKG (配列番号 43)	QRYRGPKYY YYMDV (配列番号 45)
559C-M0180-G03	RSSQSLLH SNGY NYLD (配列番号 34)	LGSNRAS (配列番号 36)	MQALQTP RT (配列番号 40)	GYIMA (配列番号 41)	YIYPSGGITV YA DSVKG (配列番号 43)	QRYRGPKYY YYMDV (配列番号 45)
559C-M0184-B04	RSSQSLLH SNGY NYLD (配列番号 34)	LGSNRAS (配列番号 36)	MQALQTP WT (配列番号 37)	FYSMH (配列番号 42)	RIYPSGGVTK YA DSVKG (配列番号 44)	QRYRGPKYY YYMDV (配列番号 45)
620I-X0173-A11	RSSQSLLH SNGYNYLD (配列番号 131)	LGSNRAS (配列番号 36)	MQALQTP WT (配列番号 37)	QYVMH (配列番号 132)	SIWPSGGHTR YADSVKG (配列番号 133)	QRYRGPKYY YYMDV (配列番号 134)
620I-X0173-C07	RSSQSLLH SNGYNYLD (配列番号 131)	LGSNRAS (配列番号 36)	MQALQTP WT (配列番号 37)	WYVMH (配列番号 135)	SIYPSGGKTS YADSVKG (配列番号 136)	QRYRGPKYY YYMDV (配列番号 134)
620I-X0173-E07	RSSQSLLH SNGYNYLD (配列番号 131)	LGSNRAS (配列番号 36)	MQALQTP WT (配列番号 37)	WYSMH (配列番号 137)	VIYPSGGKTR YADSVKG (配列番号 138)	QRYRGPKYY YYMDV (配列番号 134)
620I-X0173-G11	RSSQSLLH SNGYNYLD (配列番号 131)	LGSNRAS (配列番号 36)	MQALQTP WT (配列番号 37)	HYVMH (配列番号 139)	SIYPSGGLTK YADSVKG (配列番号 140)	QRYRGPKYY YYMDV (配列番号 134)

【0057】

あるいは、抗FXIIa部分は、クローン559C-M0071-F06、559C-M0179-D04、559C-M0181-C02、559C-M0180-G03、559C-M0184-B04、620I-X0173-A11、620I-X0173-C07、620I-X0173-E07または620I-X0173-G11のうちのいずれかと比較して、上記の表1に列挙される重鎖および／または軽鎖のCDRのうちの1つ以上に1つ以上（例えば、最大で2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、または8つ）の変異を含んでよい。このような変異は、本明細書に記載されるような保存的アミノ酸置換であってよい。

【0058】

一部の実施形態において、本明細書に記載される二重特異性抗体中の抗FXIIa部分はIgG分子であり、このIgG分子は、天然に存在するIgGまたは、例えば二重特異性抗体のタンパク質分解的切断を低減するために、二重特異性抗体の電荷不均一性を低減するために、ならびに／または二重特異性抗体の発現、産生および／もしくは製造を改善するために、例えば1つ以上（例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つ以上）の変異もしくは欠失を含む、変異体であってよい。一部の実施形態において、IgGの重鎖は、その野生型の対応物と比較して、C末端リジン残基が除去されているか変異している。一部の実施形態において、IgG重鎖のC末端リジンは、中性アミノ酸残基（例えば、グリシン残基またはアラニン残基）に変異している。

【 0 0 5 9 】

二重特異性抗体中の抗 F X I I a 部分は、限定されるものではないが完全なままの（すなわち完全長の）抗体、その抗原結合断片（F a b、F a b'、F（a b'）₂、F v など）、および単鎖抗体を含む、任意の抗体形態であってよい。一部の例では、本明細書に記載されるような抗 p K a l 部分の重鎖可変領域は、重鎖定常領域（C_H）に連結されており、この重鎖定常領域（C_H）は、完全長の重鎖定常領域またはその一部（例えば、C_H1、C_H2、C_H3、またはそれらの組み合わせ）であってよい。重鎖定常領域は、当技術分野において公知である任意の C_H に由来してよい。一部の実施形態において、C_H は 重鎖である。代替的に、または追加的に、抗 p K a l 部分の軽鎖可変領域は、軽鎖定常領域（C_L）に連結されており、この軽鎖定常領域（C_L）は、当技術分野において公知である任意の C_L であってよい。一部の例では、C_L は 軽鎖である。他の例では、C_L は 軽鎖である。抗体の重鎖および軽鎖の定常領域は、当技術分野において周知である（例えば本明細書に記載されるもの）。

10

【 0 0 6 0 】

あるいは、本明細書に記載されるような二重特異性抗体中の抗 F X I I a 部分は、例えば柔軟なペプチドリンカー（（G G G G S）₄（配列番号 2 3）というリンカーなど）を介して、重鎖可変領域と軽鎖可変領域が融合されている単鎖抗体であってよい。重鎖可変領域と軽鎖可変領域は、H L の方向で融合されていいてよい、または L H の方向で融合されていいてよい。一部の実施形態において、S c F v の軽鎖部分は、その C 末端に K R モチーフを含まない。

20

【 0 0 6 1 】

一部の実施形態において、抗 F X I I a 部分は、配列番号 3 もしくは配列番号 4 の重鎖可変領域、および / または配列番号 5 ~ 8 のうちのいずれかの軽鎖可変領域、を含む s c F v である。一例では、抗 F X I I a 部分は、H L または L H のいずれかの方向で配列番号 3 の重鎖可変領域および配列番号 5 ~ 8 のうちのいずれかの軽鎖可変領域を含む s c F v 抗体である。別の例では、抗 F X I I a 部分は、H L または L H のいずれかの方向で配列番号 4 の重鎖可変領域および配列番号 5 の軽鎖可変領域を含む s c F v 抗体である。一部の実施形態において、抗 F X I I a 部分は、配列番号 1 2 3 ~ 1 2 6 のうちのいずれかの重鎖可変領域、および / または配列番号 1 2 7 ~ 1 3 0 のうちのいずれかの軽鎖可変領域、を含む s c F v である。一例では、抗 F X I I a 部分は、H L または L H のいずれかの方向で配列番号 1 2 3 の重鎖可変領域および配列番号 1 2 7 の軽鎖可変領域を含む s c F v 抗体である。一例では、抗 F X I I a 部分は、H L または L H のいずれかの方向で配列番号 1 2 3 の重鎖可変領域および配列番号 1 2 7 の軽鎖可変領域を含む s c F v 抗体である。別の例では、抗 F X I I a 部分は、H L または L H のいずれかの方向で配列番号 1 2 4 の重鎖可変領域および配列番号 1 2 8 の軽鎖可変領域を含む s c F v 抗体である。別の例では、抗 F X I I a 部分は、H L または L H のいずれかの方向で配列番号 1 2 5 の重鎖可変領域および配列番号 1 2 9 の軽鎖可変領域を含む s c F v 抗体である。別の例では、抗 F X I I a 部分は、H L または L H のいずれかの方向で配列番号 1 2 6 の重鎖可変領域および配列番号 1 3 0 の軽鎖可変領域を含む s c F v 抗体である。

30

40

【 0 0 6 2 】

一部の実施形態において、本明細書に記載される s c F v 抗体のうちのいずれかの重鎖および軽鎖可変領域は、例えばジスルフィド結合（V_H の残基 4 4 と V_L の残基 1 0 0 との間のもなど）を介して、さらに連結されている。

【 0 0 6 3 】

（ i i i ）抗 p K a l / 抗 F X I I 二重特異性抗体の構成

本明細書に記載されるような抗 p K a l / 抗 F X I I a 二重特異性抗体は、当技術分野において公知であるような二重特異性抗体についての任意の構成（例えば、K l e i n e t a l . , m A b s 4 (6) : 6 5 3 - 6 6 3 , 2 0 1 2 ; K o n t e r m a n n e t a l . , m A b s 4 (2) : 1 8 2 - 1 9 7 , 2 0 1 2 ; および C o l o

50

ma et al., Nature Biotechnology 15:159-163, 1997に記載されるもの)であってよい。一部の例では、二重特異性抗体は、pKa1に結合する一本の腕(重鎖/軽鎖複合体)とFXIIに結合する別の腕(重鎖/軽鎖複合体)を含む完全長ハイブリッド抗体(クアドローマ抗体または三機能性(trifunctional)抗体としても知られている)であってよい。一部の例では、二重特異性抗体は、pKa1に結合する1つのFab断片とFXIIに結合する別のFab断片を含む二重特異性Fab₂、または、一方の標的抗原(例えば、pKa1またはFXIIa)に結合するFab断片を2コピーおよび他方の標的抗原(例えば、FXIIaまたはpKa1)に結合するFab断片を1コピー含むトリ-Fab分子(tri-Fab molecule)である。あるいは、二重特異性抗体は、pKa1に結合するscFvを少なくとも1コピーおよびFXIIaに結合する別のscFvを1コピー含むタンデムscFv分子である。本明細書に記載される二重特異性抗体はまた、当技術分野において公知であるようなダイアボディ(diabody)または単鎖ダイアボディであってよい。他の例としては、限定されるものではないが、IgG₂、F(ab')₂、CovX-body、scFv₄-Ig、IgG-scFv、scFv-IgG、DVD-Ig、IgG-sVD、sVD-IgG、2-in-1-IgG、mAb²、Tandemab common LC、kih IgG、kih IgG common LC、CrossMab、kih IgG-scFab、mAb-Fv、charge pairs、SEED-body、Diabody(Db)、dsDd、scDb、tandAbs、tandem scFv、triple body、Fab-scFvおよびF(ab')₂-scFv₂が挙げられる。例えば、Kontermann et al., mAbs 4(2):182-197, 2012のFig. 2を参照のこと。

【0064】

一部の実施形態において、本明細書に記載される二重特異性抗体の骨格は、IgG抗体部分と、IgG部分の重鎖または軽鎖のいずれかのC末端(例えば、IgGの重鎖のC末端;例えば、Coloma, M. J. & Morrison, S. L. Design and production of novel tetravalent bispecific antibodies. Nature Biotechnology. 15(2):159-163. 1997を参照のこと)に融合されたscFv部分と、を含むように設計されている。IgGの重鎖または軽鎖は、短いペプチドリンカー(Gly残基およびSer残基に富むペプチドなど)を介してscFvと融合されていてよい。一例では、ペプチドリンカーは、SGGGSG(配列番号22)というアミノ酸配列を含む。

【0065】

このような二重特異性抗体は、軽鎖可変領域(V_L)と軽鎖定常領域(C_L)とを含む第1の抗体の軽鎖を含む第1のポリペプチド;ならびに、N末端からC末端に向けて、重鎖可変領域(V_H)と重鎖定常領域(C_H)とを含む第1の抗体の重鎖、および単鎖抗体であってよい第2の抗体、を含む融合タンパク質を含む第2のポリペプチド、を含んでよい。あるいは、二重特異性抗体は、第1の抗体の重鎖であって重鎖可変領域(V_H)と重鎖定常領域(C_H)またはその一部とを含む重鎖、を含む第1のポリペプチド;および、N末端からC末端に向けて、軽鎖可変領域(V_L)と軽鎖定常領域(C_L)とを含む第1の抗体の軽鎖、および単鎖抗体である第2の抗体、を含む融合タンパク質を含む第2のポリペプチドを含んでよい。一部の例では、第1の抗体がpKa1(例えば、活性型pKa1)に結合でき、第2の抗体がFXII(例えば、FXIIa)に結合できる。他の例では、第1の抗体がFXIIaに結合でき、第2の抗体がpKa1に結合できる。

【0066】

第1の抗体の軽鎖のC_Lは、当技術分野において公知である任意のC_Lであってよい。一部の実施形態において、C_Lは軽鎖である。一部の実施形態において、C_Lは軽鎖である。第1の抗体の重鎖のC_Hは、当技術分野において公知である任意のC_Hであってよい。一部の実施形態において、C_Hは重鎖である。このような重鎖および軽鎖の定常領域は、例えば本明細書に記載されるように、当技術分野において周知である。

【 0 0 6 7 】

一例では、二重特異性体は、H LまたはL Hのいずれかの方向で、DX - 2930に由来するIgG抗体と、クローン559C - M0071 - F06、559C - M0179 - D04、559C - M0181 - C02、559C - M0180 - G03、559C - M0184 - B04、620I - X0173 - A11、620I - X0173 - C07、620I - X0173 - E07または620I - X0173 - G11に由来するscFv抗体と、を含む。上記の開示を参照のこと。親抗体に由来する抗体は、親抗体のものと実質的に類似する（少なくとも80%、85%、90%、95%または98%の配列同一性を有する）重鎖および軽鎖を含んでよい。一部の例では、このような抗体は、親抗体と同一の重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含む。他の例では、このような抗体は、親抗体のものと実質的に同一である（例えば、親抗体のCDRと比較して、最大で5つ、4つ、3つ、2つまたは1つのアミノ酸残基の変化（保存的アミノ酸残基置換など）を含む）重鎖CDRおよび/または軽鎖CDRを含む。

10

【 0 0 6 8 】

一部の実施形態において、二重特異性抗体中のscFv抗体は、V_LのN末端に融合されたV_Hを含む。他の実施形態において、scFv抗体は、V_LのC末端に融合されたV_Hを含む。本明細書に記載されるscFv抗体のいずれにおいても、V_H領域とV_L領域は、ペプチドリinkerなどのリンカーを介して融合されていてよい。

【 0 0 6 9 】

本明細書に記載されるようなペプチドリinkerは、例えば1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、または11個以上、のアミノ酸残基を含んでよい。一部の実施形態において、ペプチドリinkerは、2～50アミノ酸、5～25アミノ酸、または5～20アミノ酸を含んでよい。一部の実施形態において、ペプチドリinkerはSGGG Sである。一部の実施形態において、ペプチドリinkerは(G₄S)_xであり、ここでxは1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または11以上、であってよい。一部の実施形態において、xは4である。

20

【 0 0 7 0 】

本明細書に記載されるペプチドリinker（例えば、SGGG S（配列番号22）リンカーまたは(GGGGS)₄（配列番号23）リンカー）のいずれも、天然に存在するアミノ酸、および/または天然に存在しないアミノ酸、を含んでよい。天然に存在するアミノ酸には、アラニン(Ala)、アルギニン(Arg)、アスパラギン(Asn)、アスパラギン酸(Asp)、システイン(Cys)、グルタミン酸(Glu)、グルタミン(Gln)、グリシン(Gly)、ヒスチジン(His)、イソロイシン(He)、ロイシン(Leu)、リジン(Lys)、メチオニン(Met)、オルニチン(Orn)、フェニルアラニン(Phe)、プロリン(Pro)、セリン(Ser)、トレオニン(Thr)、トリプトファン(Trp)、チロシン(Tyr)およびバリン(Val)が包含される。天然に存在しないアミノ酸には、アセチル、ホルミル、トシル、ニトロ等などの基で保護された天然に存在するアミノ酸など、保護されたアミノ酸が包含され得る。天然に存在しないアミノ酸の非限定的な例としては、アジドホモアラニン、ホモプロパルギルグリシン、ホモアリルグリシン、p-プロモフェニルアラニン、p-ヨードフェニルアラニン、アジドフェニルアラニン、アセチルフェニルアラニンまたはエチニルフェニルアラニン(ethynylephenylalanine)、トランス-クロチルアルケン(trans-crotylalkene)などの内部アルケンを含むアミノ酸、セリンアリルエーテル、アリルグリシン、プロパルギルグリシン、ビニルグリシン、ピロールリジン、N-シグマ-o-アジドベンジルオキシカルボニル-L-リジン(AZZLys)、N-シグマ-プロパルギルオキシカルボニル-L-リジン、N-シグマ-2-アジドエトキシカルボニル-L-リジン、N-シグマ-tert-ブチルオキシカルボニル-L-リジン(BoCLys)、N-シグマ-アリルオキシカルボニル-L-リジン(AlloCLys)、N-シグマ-アセチル-L-リジン(ACLys)、N-シグマ-ベンジルオキシカルボニル-L-リジン(ZLys)、N-シグマ-シクロペンチルオキシカルボニル-L-リジン(CyCLys)、N-シグマ-D

30

40

50

- プロリル - L - リジン、N - シグマ - ニコチノイル - L - リジン (N i c L y s)、N - シグマ - N - M e - アントラニロイル - L - リジン (N m a L y s)、N - シグマ - ビオチニル - L - リジン、N - シグマ - 9 - フルオレニルメトキシカルボニル - L - リジン、N - シグマ - メチル - L - リジン、N - シグマ - ジメチル - L - リジン、N - シグマ - トリメチル - L - リジン、N - シグマ - イソプロピル - L - リジン、N - シグマ - ダンシル - L - リジン、N - シグマ - o , p - ジニトロフェニル - L - リジン、N - シグマ - p - トルエンシルホニル - L - リジン、N - シグマ - D L - 2 - アミノ - 2 カルボキシエチル - L - リジン、N - シグマ - フェニルピルバミド - L - リジン、N - シグマ - ピルバミド - L - リジン、アジドホモアラニン、ホモプロパルギルグリシン、ホモアリルグリシン、p - プロモフェニルアラニン、p - ヨードフェニルアラニン、アジドフェニルアラニン、アセチルフェニルアラニンまたはエチニルフェニルアラニン、トランス - クロチルアルケンなどの内部アルケンを含むアミノ酸、セリンアリルエーテル、アリルグリシン、プロパルギルグリシン、およびビニルグリシンが挙げられる。

【 0 0 7 1 】

一部の実施形態において、本明細書に記載される二重特異性抗体の s c F v 部分は、高分子量凝集体の形成を低減する可能性がある 1 つ以上のジスルフィド結合の形成のために V_H 鎖および V_L 鎖の両方にシステイン残基を導入するように改変されていてよい。一部の例では、システイン残基は、V_H 鎖の残基 44 に導入されていてよい。代替的に、または追加的に、システイン残基は、V_L 鎖の残基 100 に導入されていてよい。

【 0 0 7 2 】

例示的な抗 p K a 1 / 抗 F X I I a 二重特異性抗体には、以下の実施例に記載されるクローン X 0 1 2 0 - A 0 1、X 0 1 2 0 - C 0 1、X 0 1 2 0 - E 0 1、X 0 1 2 0 - G 0 1、X 0 1 2 1 - A 0 3、X 0 1 2 1 - C 0 1、X 0 1 2 1 - E 0 1、X 0 1 2 1 - G 0 1、X 0 1 2 2 - A 0 1、X 0 1 2 2 - C 0 1、6 2 0 I - X 0 1 7 3 - A 1 1、6 2 0 I - X 0 1 7 3 - C 0 7、6 2 0 I - X 0 1 7 3 - E 0 7 および 6 2 0 I - X 0 1 7 3 - G 1 1 が包含される。他の例示的な抗 p K a 1 / 抗 F X I I a 二重特異性抗体には、以下の実施例に記載されるクローン 6 2 0 I - X 1 3 8 - A 0 8、6 2 0 I - X 1 3 6 - B 0 2、6 2 0 I - X 1 3 9 - A 1 2、6 2 0 I - X 1 3 7 - B 0 8、6 2 0 I - X 1 4 2 - A 0 4、6 2 0 I - X 1 4 2 - B 1 1、6 2 0 I - X 1 3 8 - B 0 1、6 2 0 I - X 1 3 6 - C 0 1、6 2 0 I - X 1 3 8 - A 1 2、6 2 0 I - X 1 3 6 - A 1 2、6 2 0 I - X 1 3 8 - A 0 2、6 2 0 I - X 1 3 6 - A 0 5、6 2 0 I - X 1 3 8 - C 0 7、6 2 0 I - X 1 3 6 - E 0 7、6 2 0 I - X 1 4 2 - B 0 2、6 2 0 I - X 1 3 6 - F 1 1、6 2 0 I - X 1 4 2 - A 0 5、6 2 0 I - X 1 3 6 - C 0 9、6 2 0 I - X 1 3 8 - B 1 0、6 2 0 I - X 1 3 6 - C 0 8、6 2 0 I - X 1 3 9 - A 1 1、6 2 0 I - X 1 3 6 - D 0 5、6 2 0 I - X 1 3 8 - D 0 4、6 2 0 I - X 1 3 6 - G 0 8、6 2 0 I - X 1 4 2 - B 0 7、6 2 0 I - X 1 4 2 - A 1 1、6 2 0 I - X 1 3 8 - G 1 2、6 2 0 I - X 1 4 2 - A 1 0、6 2 0 I - X 1 3 8 - D 0 3、6 2 0 I - X 1 3 7 - C 0 8、6 2 0 I - X 1 4 2 - E 0 2、6 2 0 I - X 1 3 6 - E 0 5、6 2 0 I - X 1 3 8 - B 0 6、6 2 0 I - X 1 3 6 - A 0 9、6 2 0 I - X 1 3 8 - A 0 6、6 2 0 I - X 1 3 7 - A 1 0、6 2 0 I - X 1 3 9 - B 1 0、6 2 0 I - X 1 3 6 - A 0 4、6 2 0 I - X 1 3 8 - D 0 6、6 2 0 I - X 1 3 6 - C 1 1、6 2 0 I - X 1 3 8 - B 0 7、6 2 0 I - X 1 3 6 - A 0 2、6 2 0 I - X 1 3 9 - G 0 2、6 2 0 I - X 1 3 6 - B 0 7、6 2 0 I - X 1 3 8 - E 0 3、6 2 0 I - X 1 3 6 - G 0 5、6 2 0 I - X 1 3 9 - D 1 2、6 2 0 I - X 1 3 6 - A 0 1、6 2 0 I - X 1 3 8 - C 1 2、6 2 0 I - X 1 3 6 - G 1 0、6 2 0 I - X 1 3 8 - D 0 5、6 2 0 I - X 1 3 6 - F 0 7、6 2 0 I - X 1 3 8 - A 0 1、6 2 0 I - X 1 4 2 - E 0 9、6 2 0 I - X 1 3 8 - D 1 1、6 2 0 I - X 1 3 6 - C 0 5、6 2 0 I - X 1 4 2 - A 0 2、6 2 0 I - X 1 3 6 - C 0 4、6 2 0 I - X 1 3 8 - F 0 2、6 2 0 I - X 1 3 6 - G 0 4、6 2 0 I - X 1 3 9 - G 1 2、6 2 0 I - X 1 3 6 - B 1 1、6 2 0 I - X 1 4 2 - D 0 4、6 2 0 I - X 1 3 6 - D 0 6、6 2 0 I - X 1 3 9 - A 0 1、6 2 0 I - X 1 3 6 - D 1 2、6 2 0 I - X 1 3 8 - F 0 5、6 2 0 I - X 1

36 - A11、620I - X139 - E05、620I - X136 - C12および620I - X138 - E05が含まれる。

【0073】

二重特異性抗体の調製

本明細書に記載される二重特異性抗体の調製のために、当技術分野において公知である任意の好適な方法（例えば、標準的な組換え技術）を用いることができる。以下に例を提示する。

【0074】

好適な親抗体の重鎖および軽鎖の遺伝子は、通例の技術（例えば、好適な供給源からのPCR増幅）によって取得できる。一例では、標的抗原に特異的な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可能であるオリゴヌクレオチドプローブを使用して）容易に単離および配列決定できる。ハイブリドーマ細胞などの細胞は、このようなDNAの供給源として役立つ可能性がある。別の例では、標的抗原に特異的なモノクローナル抗体をコードするDNAの配列は、例えばデータベースまたは他の公的に利用可能な情報源から取得される可能性があり、当該DNAを合成できる。親抗体の遺伝子はまた、目的の抗原を用いて好適な抗体ライブラリーをスクリーニングすることによっても取得できる。

【0075】

このようにして取得された抗体の重鎖および軽鎖の遺伝子は、通例の技術に従って相補性決定領域（CDR）領域を特定するために解析されてよい。本明細書に記載されるような二重特異性抗体中のポリペプチドのいずれも、従来の組換え技術によって調製されてよく、好適な宿主細胞における生産のための好適な発現ベクター中に挿入されてよい。

【0076】

本明細書に記載されるような二重特異性抗体のポリペプチドのうちの1つ以上をコードするヌクレオチド配列は、各ヌクレオチド配列が好適なプロモーターに機能可能に連結している1つの発現ベクターにクローニングされてよい。あるいは、ヌクレオチド配列は、両方の配列が同じプロモーターから発現されるように、単一のプロモーターと機能可能に連結してよい。一部の例では、2つのポリペプチドの発現は、共通のプロモーターによって制御される。他の例では、2つのポリペプチドのそれぞれの発現は、別個のプロモーターの制御下にある。別の代替手段では、2つのポリペプチドをコードするヌクレオチド配列は、同じ細胞または別々の細胞に導入されてよい2つのベクターにクローニングされる。2つのポリペプチドが別々の細胞において発現される場合、2つのポリペプチドのそれぞれが、それらを発現する宿主細胞から単離されてよく、2つの単離された重鎖が、二重特異性抗体の形成を可能にする好適な条件下で混合およびインキュベートされてよい。

【0077】

一般に、当技術分野で公知の方法を用いて、二重特異性抗体の1つの鎖または全ての鎖をコードする核酸配列を好適な発現ベクターに、好適なプロモーターに機能可能に連結した状態でクローニングできる。例えば、好適な条件下でヌクレオチド配列およびベクターを制限酵素と接触させて、互いに対合できリガーゼでつなぎ合わせることができる相補的末端を各分子上に生じさせることができる。あるいは、合成核酸リンカーを遺伝子の末端に連結できる。これらの合成リンカーは、ベクター中の特定の制限部位に対応する核酸配列を含む。発現ベクター/プロモーターの選択は、抗体の生産に使用するための宿主細胞のタイプに左右されるであろう。

【0078】

本明細書に記載される二重特異性抗体の発現のために様々なプロモーターを使用でき、これらには、限定されるものではないがサイトメガロウイルス（CMV）中間初期プロモーター（intermediate early promoter）、ウイルスLTR（ラウス肉腫ウイルスLTR、HIV-LTR、HTLV-1 LTRなど）、サルウイルス40（SV40）初期プ

10

20

30

40

50

ロモーター、E. coli lac UV5プロモーター、および単純ヘルペス tk ウイルスプロモーターが包含される。

【0079】

調節可能なプロモーターも使用できる。そのような調節可能なプロモーターには、lac オペレーターを保持する哺乳動物細胞プロモーターからの転写を調節する転写モジュレーターとしてE. coli由来のlacリプレッサーを用いるもの[Brown, M. et al., Cell, 49: 603-612 (1987)]、テトラサイクリンリプレッサー(tetR)を用いるもの[Gossen, M., and Bujard, H., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 5547-5551 (1992); Yao, F. et al., Human Gene Therapy, 9: 1939-1950 (1998); Shockelt, P., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 92: 6522-6526 (1995)]が包含される。他の系には、FK506ダイマー、エストラジオール(astradiol)を用いるVP16もしくはp65、RU486、ジフェノールムリスステロン(diphenol murislerone)またはラパマイシンが包含される。誘導可能な系は、Invitrogen、Clontech およびAriadから入手可能である。

【0080】

オペロンと共にリプレッサーを包含する調節可能なプロモーターが使用できる。一実施形態において、E. coli由来のlacリプレッサーは、lacオペレーターを保持する哺乳動物細胞プロモーターからの転写を調節する転写モジュレーターとして機能できる[M. Brown et al., Cell, 49: 603-612 (1987)]。Gossen and Bujard (1992) [M. Gossen et al., Natl. Acad. Sci. USA, 89: 5547-5551 (1992)]は、テトラサイクリンリプレッサー(tetR)を転写活性化因子(VP16)と組み合わせてtetR-哺乳動物細胞転写活性化因子融合タンパク質tTa(tetR-VP16)を作り出し、ヒトサイトメガロウイルス(hCMV)主要前初期プロモーター由来の、tetOを保持する最小プロモーターと組み合わせて、哺乳動物細胞において遺伝子発現を制御するtetR-tetオペレーター系を作り出した。一実施形態において、テトラサイクリン誘導性スイッチが使用される。テトラサイクリンオペレーターがCMVIEプロモーターのTATAエレメントの下流に適切に位置する場合、tetR-哺乳動物細胞転写因子融合派生物ではなくテトラサイクリンリプレッサー(tetR)単体が、哺乳動物細胞において遺伝子発現を調節する強力なトランス-モジュレーターとして機能できる(Yao et al., Human Gene Therapy)。このテトラサイクリン誘導性スイッチの特別な利点の1つは、その調節可能という効果を達成するのにテトラサイクリンリプレッサーと哺乳動物細胞のトランス活性化因子またはリプレッサーとの融合タンパク質の使用(場合によっては細胞に対して毒性であることがある(Gossen et al., Natl. Acad. Sci. USA, 89: 5547-5551 (1992); Shockett et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 92: 6522-6526 (1995)))を必要としないということである。

【0081】

さらに、ベクターは、例えば以下のうちのいくつかまたは全てを含んでよい: 哺乳動物細胞における安定なトランスフェクタントまたは一過性のトランスフェクタントの選択のためのネオマイシン遺伝子などの選択マーカー遺伝子; 高レベルの転写のためのヒトCMVの前初期遺伝子に由来するエンハンサー/プロモーター配列; mRNAの安定性のためのSV40に由来する転写終結シグナルとRNAプロセッシングシグナル; 適切なエピソーム複製のためのSV40ポリオーマの複製開始点およびColE1; 内部リボソーム結合部位(IRES); 多用途のマルチクロニングサイト; ならびに、センスRNAおよびアンチセンスRNAのインビトロ転写のためのT7 RNAプロモーターおよびSP6 RNAプロモーター。導入遺伝子を含むベクターを作製するのに好適なベクターおよび方法は、当技術分野において周知であり利用可能である。

【0082】

本明細書に記載される方法を実施するのに有用なポリアデニル化シグナルの例としては、限定されるものではないが、ヒトコラーゲンⅠポリアデニル化シグナル、ヒトコラーゲンⅡポリアデニル化シグナル、およびSV40ポリアデニル化シグナルが挙げられる。

【0083】

本開示の他の態様は、二重特異性抗体を調製するための方法であって、第1のポリペプチドおよび第2のポリペプチドの発現を可能にする条件下で本明細書に記載される宿主細胞または宿主細胞のセットを培養することと、第1のポリペプチドおよび第2のポリペプチドを含む二重特異性抗体を単離することと、を含む方法に関する。一部の実施形態において、宿主細胞は、本明細書に記載されるような第1のポリペプチドをコードする第1のヌクレオチド配列と本明細書に記載されるような第2のポリペプチドをコードする第2のヌクレオチド配列とを含む発現ベクターを含む。

10

【0084】

本明細書に記載される二重特異性抗体の調製に使用するのに好適な宿主細胞は、限定されるものではないが細菌細胞、酵母細胞、昆虫細胞、植物細胞または哺乳動物細胞を含め、タンパク質生産に使用できる当技術分野で公知の任意の宿主細胞であってよい。

【0085】

本明細書に記載される二重特異性抗体は、細菌細胞（例えばE. coli細胞）において生産されてよい。あるいは、二重特異性抗体は、真核細胞において生産されてよい。一実施形態において、抗体は、Pichia（例えば、Powers et al., 2001, J. Immunol. Methods, 251: 123-35を参照のこと）、HansenulaまたはSaccharomycesなどの酵母細胞において発現される。別の実施形態において、二重特異性抗体は、哺乳動物細胞において生産されてよい。抗体を発現するための哺乳動物宿主細胞には、限定されるものではないが、293細胞（例えば、ATCC CRL-1573（American Type Culture Collection（登録商標））、およびExp293F（商標）細胞（Life Technologies（商標））を参照のこと）、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞（例えばKaufman and Sharp, 1982, Mol. Biol. 159: 601-621に記載されるように、DHFR選択マーカーと共に使用される、Urlaub and Chasin, 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 4216-4220に記載されるdhfr⁻ CHO細胞を含む）、リンパ球細胞株（例えば、NS0骨髓腫細胞およびSP2細胞）、COS細胞、およびトランスジェニック動物（例えば、トランスジェニック哺乳動物）由来の細胞が包含される。例えば、細胞は、乳腺上皮細胞である。

20

30

【0086】

本明細書に記載されるような二重特異性抗体の組換え発現のための例示的な系において、二重特異性抗体中のポリペプチドの両方をコードする組換え発現ベクターは、リン酸カルシウムにより媒介されるトランスフェクションによってdhfr⁻ CHO細胞に導入される。組換え発現ベクター内において、2つのポリペプチドをコードする核酸は、高レベルの遺伝子転写を駆動するためのエンハンサー/プロモーター調節エレメント（例えば、SV40、CMV、アデノウイルス等に由来するもの；CMVエンハンサー/AdMLPプロモーター調節エレメントまたはSV40エンハンサー/AdMLPプロモーター調節エレメントなど）に機能可能に連結されている。組換え発現ベクターはまた、メトトレキサート選択/増幅を用いて、ベクターでトランスフェクトされているCHO細胞を選択すること、を可能にするDHFR遺伝子も保持する。選択された形質転換宿主細胞を培養して2つのポリペプチドを発現させる。それにより形成された四量体分子は、培地から回収できる。別の例示的な組換え発現のための系は、実施例2に記載されている。

40

【0087】

組換え発現ベクターの調製、宿主細胞のトランスフェクション、形質転換体の選択、宿主細胞の培養および培地からの抗体の回収のために、標準的な分子生物学的手法が使用さ

50

れる。例えば、一部の抗体は、プロテイン A またはプロテイン G が結合したマトリックスを用いたアフィニティークロマトグラフィーによって単離できる。

【0088】

二重特異性抗体の有用性

本明細書に記載される二重特異性抗体またはコード核酸もしくは核酸のセットは、診断および治療を目的として使用できる。それらはまた、基礎研究および治療研究において研究ツールとしても使用できる。

【0089】

(i) 医薬組成物

本明細書に記載されるような二重特異性抗体（またはコード核酸もしくは核酸のセット）を医薬的に許容される担体（賦形剤）（緩衝剤を含む）と混合して、標的疾患の治療に使用するための医薬組成物を作製できる。「許容される」は、担体が組成物の有効成分に適合する（および好ましくは有効成分を安定化することが可能である）必要があり且つ治療される対象に有害でない必要があるということを意味する。医薬的に許容される賦形剤（担体）（緩衝剤を含む）は、当技術分野において周知である。例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy 20th Ed. (2000) Lippincott Williams and Wilkins, Ed. K. E. Hoover を参照のこと。

【0090】

本発明の方法において使用される医薬組成物は、凍結乾燥製剤または水溶液の形態で医薬的に許容される担体、賦形剤または安定剤を含んでよい (Remington: The Science and Practice of Pharmacy 20th Ed. (2000) Lippincott Williams and Wilkins, Ed. K. E. Hoover)。許容される担体、賦形剤または安定剤は、使用される用量および濃度においてレシipientに無毒性であり、リン酸塩、クエン酸塩および他の有機酸などの緩衝剤；抗酸化剤（アスコルビン酸およびメチオニンを含む）；防腐剤（塩化オクタデシルジメチルベンジルアンモニウム；塩化ヘキサメトニウム；塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム；フェノール、ブチルアルコールまたはベンジルアルコール；メチルパラベンまたはプロピルパラベンなどのアルキルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；3-ペンタノール；および m-クレゾールなど）；低分子量（約 10 残基未満）のポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチンまたは免疫グロブリンなどのタンパク質；ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニンまたはリジンなどのアミノ酸；単糖類、二糖類および他の炭水化物（グルコース、マンノースまたはデキストランを含む）；EDTA などのキレート剤；スクロース、マンニトール、トレハロースまたはソルビトールなどの糖；ナトリウムなどの塩形成対イオン；金属錯体（例えば、Zn-タンパク質錯体）；および/または 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んでよい。

【0091】

一部の例では、本明細書に記載される医薬組成物は、Epstein, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82: 3688 (1985)；Hwang, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 4030 (1980)；ならびに米国特許第 4,485,045 号および同第 4,544,545 号に記載されるものなど、当技術分野で公知の方法によって調製できる、二重特異性抗体を含むリポソームを含む。向上した循環時間を有するリポソームが米国特許第 5,013,556 号で開示されている。特に有用なリポソームは、ホスファチジルコリン、コレステロールおよび PEG 誘導体化ホスファチジルエタノールアミン（PEG-PE）を含む脂質組成物を用いた逆相蒸発法によって作製できる。所定の孔サイズのフィルターを通してリポソームを押し出して、所望の直径を有するリポソームを得る。

【0092】

二重特異性抗体またはコード核酸（複数可）はまた、例えばコアセルベーション技術または界面重合によって調製されたマイクロカプセル（それぞれ例えば、ヒドロキシメチルセルロースマイクロカプセルまたはゼラチンマイクロカプセル、およびポリ（メチルメタクリレート（methylmethacrylate））マイクロカプセル）、コロイド薬物送達系（例えば、リポソーム、アルブミンマイクロスフェア、マイクロエマルジョン、ナノ粒子およびナノカプセル）またはマクロエマルジョンに封入されてもよい。このような手法は、当技術分野において公知である。例えば、Remington, The Science and Practice of Pharmacy 20th Ed. Mack Publishing（2000）を参照のこと。

【0093】

他の例では、本明細書に記載される医薬組成物は、徐放性型に製剤化できる。徐放性調製物の好適な例としては、抗体を含む固体疎水性ポリマーの半透過性マトリックスが挙げられ、このマトリックスは成形品（例えば、フィルムまたはマイクロカプセル）の形態である。徐放性マトリックスの例としては、ポリエステル、ハイドロゲル（例えば、ポリ（2-ヒドロキシエチル-メタクリレート）またはポリ（ビニルアルコール））、ポリラクチド（米国特許第3,773,919号）、L-グルタミン酸と7-エチル-L-グルタメートのコポリマー、非分解性エチレン-酢酸ビニル、LUPRON DEPOT（商標）（乳酸-グリコール酸コポリマーおよび酢酸ロイプロリドから構成される注射用マイクロスフェア）などの分解性乳酸-グリコール酸コポリマー、スクロースアセテートイソブチレート、およびポリ-D-（-）-3-ヒドロキシ酪酸が挙げられる。

【0094】

生体内投与に使用される医薬組成物は無菌でなければならない。これは、例えば滅菌濾過膜による濾過によって、容易に達成される。治療用抗体組成物は一般に、無菌アクセスポートを有する容器（例えば、静脈内溶液の袋、または皮下注射針で穿孔可能な栓を有するバイアル）に入れられる。

【0095】

本明細書に記載される医薬組成物は、経口投与、非経口投与もしくは直腸投与、または吸入もしくは吹送による投与のための、錠剤、丸薬、カプセル、粉末、顆粒、溶液もしくは懸濁液、または坐薬などの単位剤形であってよい。錠剤などの固体組成物を調製するために、主要有効成分を医薬担体（例えば、コーンスターチ、ラクトース、スクロース、ソルビトール、タルク、ステアリン酸、ステアリン酸マグネシウム、リン酸二カルシウムまたはゴムなどの従来の打錠成分）および他の医薬希釈剤（例えば、水）と混合して、本発明の化合物またはその無毒性の医薬的に許容される塩の均質混合物を含む固体プレ製剤組成物を作製できる。これらのプレ製剤組成物を均質と称する場合、有効成分が組成物全体にわたって均一に分散されており、その結果、等しく有効な単位剤形（錠剤、丸薬およびカプセルなど）に組成物を容易に細分化できるということが意味される。この固体プレ製剤組成物は、次に、0.1～約500mgの本発明の有効成分を含む、上述のタイプの単位剤形に細分化される。新規の組成物の錠剤または丸薬をコーティングするか、そうでなければ混ぜ合わせて、持続性作用の利点をもたらす剤形を提供できる。例えば、錠剤または丸薬は、内側の投薬成分および外側の投薬成分を含んでよく、後者は、前者を覆う外被の形態である。これら2つの成分は腸溶層によって隔てられてよく、この腸溶層は、胃における崩壊を抑える働きをするとともに、内側の成分が完全なまま十二指腸へと通過するか、その放出が遅れることを可能にする。様々な材料が、このような腸溶層または腸溶コーティングに使用でき、そのような材料には、いくつかのポリマー酸、ならびにポリマー酸とセラック、セチルアルコールおよび酢酸セルロースのような材料との混合物が包含される。

【0096】

好適な界面活性剤には、特に、ポリオキシエチレンソルビタン（例えば、Tween（商標）20、40、60、80または85）および他のソルビタン（例えば、Span（商標）20、40、60、80または85）などの非イオン性界面活性剤が包含される。

界面活性剤を有する組成物は、好都合なことには0.05～5%の界面活性剤を含むであろうし、0.1～2.5%であってもよい。必要に応じて他の成分（例えばマンニトールまたは他の医薬的に許容されるビヒクル）を添加してよいということが理解されるであろう。

【0097】

好適なエマルジョンは、Intralipid（商標）、Liposyn（商標）、Infonutrol（商標）、Lipofundin（商標）およびLipiphysan（商標）などの市販の脂肪エマルジョンを用いて調製されてよい。有効成分は、予め混合されたエマルジョン組成物中に溶解されてよい、あるいは、有効成分を油（例えば、ダイズ油、ペニバナ油、綿実油、ゴマ油、コーン油またはアーモンド油）中に溶解し、リン脂質（例えば、卵リン脂質、ダイズリン脂質またはダイズレシチン）および水と混合してエマルジョンを形成してもよい。他の成分（例えば、グリセロールまたはグルコース）を添加してエマルジョンの張度を調整してよいということが理解されるであろう。好適なエマルジョンは、典型的には、最大で20%（例えば、5～20%）の油を含むであろう。脂肪エマルジョンは、0.1～1.0 μm（特に0.1～0.5 μm）の脂肪滴を含んでよく、5.5～8.0の範囲のpHを有してよい。

【0098】

エマルジョン組成物は、二重特異性抗体をIntralipid（商標）またはその構成要素（ダイズ油、卵リン脂質、グリセロールおよび水）と混合することによって調製されるものであってよい。

【0099】

吸入用または吹送用の医薬組成物には、医薬的に許容される水性溶媒もしくは有機溶媒またはそれらの混合物における溶液および懸濁液、ならびに粉末が包含される。液体組成物または固体組成物は、上記のような好適な医薬的に許容される賦形剤を含んでよい。一部の実施形態において、組成物は、局所的または全身的な効果のために、経口または経鼻の呼吸経路で投与される。

【0100】

好ましくは無菌の医薬的に許容される溶媒中の組成物は、ガスの使用によって噴霧されてよい。噴霧された溶液が噴霧装置から直接吸い込まれてよい、または、噴霧装置がフェイスマスク、テントまたは間欠的陽圧人工呼吸器に取り付けられてよい。溶液組成物、懸濁液組成物または粉末組成物は、適切な様式で製剤を送達する装置から投与（好ましくは経口投与または経鼻投与）されてよい。

【0101】

（ii）疾患治療

本明細書に記載される二重特異性抗体（またはコード核酸もしくは核酸のセット）は、二重特異性抗体が結合する抗原の一方または両方に関連する疾患または障害の治療に有用である。例えば、二重特異性抗体がpKalおよびFXIIaに結合してpKalおよびFXIIaの活性を遮断することが可能である場合、その二重特異性抗体は、接触活性化系の調節不全に関連する疾患（例えば、HAEおよび血栓症）の治療に使用できる。

【0102】

HAE（I型、II型およびIII型のHAEを含む）は、例えば四肢、顔、腸管および気道における、重度の腫脹の再発エピソードを特徴とする障害である。HAE発作（HAE attach）は、軽度の外傷またはストレスによって引き起こされる可能性がある。HAE発作に起因する腸管の腫脹は、重度の腹痛、吐き気および嘔吐を引き起こし得る。気道の腫脹は、呼吸を制限し、生命を脅かす気道の閉塞を引き起こし得る。

【0103】

血栓症（例えば、静脈血栓症または動脈血栓症）は、循環系を通る血流を妨げる可能性がある、血管内での血餅の形成を指す。血栓症には、心房細動、DVT、肺塞栓症、脳卒中または他の動脈もしくは静脈の血栓事象、に関連する血栓症が包含される可能性がある。

。

10

20

30

40

50

【0104】

本明細書で開示される方法を実施するために、上述の医薬組成物の有効量が、静脈内投与などの好適な経路を介して（例えば、ボラスとして、または一定期間にわたる連続的注入によって、筋肉内経路、腹腔内経路、脳脊髄内（intracerebrospinal）経路、皮下経路、関節内経路、滑液嚢内経路、髄腔内経路、経口経路、吸入経路もしくは局所経路によって）、治療を必要とする対象（例えば、ヒト）に投与されてよい。ジェット噴霧器および超音波噴霧器を含め、液体製剤用の市販の噴霧器が投与に有用である。液体製剤はそのまま噴霧でき、凍結乾燥粉末は再構成後に噴霧できる。あるいは、本明細書に記載されるような二重特異性抗体は、フルオロカーボン製剤および定量吸入器を用いてエアロゾル化できるか、または凍結乾燥され粉碎された粉末として吸入できる。

10

【0105】

本明細書に記載される方法によって治療される対象は、哺乳動物（より好ましくはヒト）であってよい。哺乳動物には、限定されるものではないが、家畜、スポーツ用動物、ペット、霊長類、ウマ、イヌ、ネコ、マウスおよびラットが包含される。治療を必要とするヒト対象は、HAEまたは血栓症などの標的疾患／障害を有するか、標的疾患／障害のリスクがあるか、標的疾患／障害を有することが疑われる、ヒト患者であってよい。一部の実施形態において、血栓症は、心房細動、深部静脈血栓症（DVT）、肺塞栓症、脳卒中または動脈もしくは静脈の血栓事象に関連している。標的の疾患または障害を有する対象は、通例の健康診断（例えば、臨床検査、臓器機能検査、CTスキャン、または超音波検査）によって特定できる。そのような標的疾患／障害のいずれかを有することが疑われる対象は、疾患／障害の症状を1つ以上示す可能性がある。疾患／障害のリスクがある対象は、その疾患／障害についての危険因子のうちの1つ以上を有する対象であってよい。

20

【0106】

本明細書で使用される場合、「有効量」は、単独で、あるいは1種以上の他の活性薬剤と共同で、対象に治療効果を与えるのに必要とされる、各活性薬剤の量を指す。当業者には認識されるように、有効量は、治療される特定の状態、状態の重症度、個々の患者のパラメータ（年齢、健康状態、サイズ、性別および体重を含む）、治療期間、併用療法の性質（存在する場合）、特定の投与経路、ならびに、医療関係者の知識および専門知識の範囲内に属する同様の因子、に応じて変動する。これらの因子は、当業者には周知であり、通例の実験だけで対処できる。個々の成分またはそれらの組み合わせの最大用量、すなわち健全な医学的判断に従った最大安全用量、を使用することが一般に好ましい。しかし、患者が、医学的理由、心理的理由または実質的に任意の他の理由のために、より低い用量または許容される用量を要求する可能性があるということが当業者には理解されるであろう。

30

【0107】

半減期など、実験による検討事項は一般に、投与量の決定に寄与するであろう。例えば、抗体の半減期を延長するために、および抗体が宿主の免疫系に攻撃されるのを防ぐために、ヒト化抗体または完全にヒトのものである抗体など、ヒトの免疫系に適合する抗体が使用されてよい。投与頻度は、治療の間に決定および調整されてよく、一般的に、ただし必ずというわけではないが、標的疾患／障害の治療および／または抑制および／または寛解および／または遅延に基づく。あるいは、二重特異性抗体の持続的連続放出製剤（sustained continuous release formulation）が適切である可能性がある。徐放を達成するための様々な製剤および装置が当技術分野において公知である。

40

【0108】

一例では、本明細書に記載されるような二重特異性抗体の投与量は、抗体を1回以上投与された個体において実験的に決定されてよい。個体には、徐々に増える投与量でアンタゴニストが与えられる。アンタゴニストの有効性を評価するために、疾患／障害の指標を追跡してよい。

【0109】

一般的に、本明細書に記載される抗体のうちのいずれかの投与については、最初の候補

50

投与量は約 $2 \text{ mg} / \text{kg}$ であってよい。本開示の目的のためには、典型的な 1 日投与量は、上述の因子に応じて、約 $0.1 \text{ } \mu\text{g} / \text{kg} \sim 3 \text{ } \mu\text{g} / \text{kg} \sim 30 \text{ } \mu\text{g} / \text{kg} \sim 300 \text{ } \mu\text{g} / \text{kg} \sim 3 \text{ mg} / \text{kg}$ のうちのいずれかから $30 \text{ mg} / \text{kg} \sim 100 \text{ mg} / \text{kg}$ 以上までの範囲である可能性がある。状態に応じて数日間以上にわたって繰り返し投与される場合、治療は、症状の所望の抑制が生じるまで、あるいは十分な治療レベルが達成されて標的の疾患もしくは障害またはそれらの症状が緩和されるまで、持続される。例示的な投与計画は、約 $2 \text{ mg} / \text{kg}$ という初回用量を投与した後、毎週の抗体約 $1 \text{ mg} / \text{kg}$ という維持用量または 1 週間おきの約 $1 \text{ mg} / \text{kg}$ という維持用量を投与することを含む。しかし、施術者が達成したい薬物動態学的減衰のパターンによっては、他の投与計画が有用である可能性がある。例えば、1 週間に 1 ~ 4 回の投与が企図される。一部の実施形態において、約 $3 \text{ } \mu\text{g} / \text{mg} \sim 2 \text{ mg} / \text{kg}$ の範囲（約 $3 \text{ } \mu\text{g} / \text{mg}$ 、約 $10 \text{ } \mu\text{g} / \text{mg}$ 、約 $30 \text{ } \mu\text{g} / \text{mg}$ 、約 $100 \text{ } \mu\text{g} / \text{mg}$ 、約 $300 \text{ } \mu\text{g} / \text{mg}$ 、約 $1 \text{ mg} / \text{kg}$ 、および約 $2 \text{ mg} / \text{kg}$ など）の投与が用いられてよい。一部の実施形態において、投与頻度は、1 週間、2 週間、4 週間、5 週間、6 週間、7 週間、8 週間、9 週間もしくは 10 週間に 1 回、または 1 ヶ月、2 ヶ月もしくは 3 ヶ月もしくは 3 ヶ月超に 1 回である。この療法の進展は、従来の技術およびアッセイによって容易にモニタリングされる。投与計画（使用される抗体を含む）は、時間と共に変化してよい。

10

【0110】

一部の実施形態において、正常体重の成人患者については、約 $0.3 \sim 5.00 \text{ mg} / \text{kg}$ の範囲の用量が投与されてよい。特定の投与計画（すなわち、用量、時期および頻度）は、特定の個体およびその個体の病歴ならびに個々の薬剤の特性（薬剤の半減期および当技術分野において周知である他の検討事項など）に左右されるであろう。

20

【0111】

本開示の目的のためには、本明細書に記載されるような二重特異性抗体の適切な投与量は、使用される特異抗体（またはその組成物）、疾患／障害のタイプおよび重症度、抗体が予防目的で投与されるのか治療目的で投与されるのか、以前の治療、患者の臨床歴およびアンタゴニストへの反応、ならびに主治医の裁量に左右されるであろう。典型的には、臨床医は、所望の結果が達成される投与量に達するまで二重特異性抗体を投与するであろう。1 種以上の二重特異性抗体の投与は、例えば、レシピエントの生理的状态、投与の目的が治療的であるのか予防的であるのか、および当業者に知られている他の因子に応じて、連続的または間欠的であってよい。二重特異性抗体の投与は、予め選択された期間にわたって本質的に連続的であってよいか、あるいは、間隔を空けた一連の投与（例えば、標的の疾患または障害の発症前、発症中または発症後）であってよい。

30

【0112】

本明細書で使用される場合、「治療」なる用語は、標的の疾患もしくは障害、当該疾患／障害の症状または当該疾患／障害の素因を有する対象に、障害、疾患の症状または疾患もしくは障害の素因を治癒する（cure）、治癒する（heal）、軽減する、緩和する、変化させる、改善する、寛解する、好転させる、またはそれらに影響を及ぼす目的で、1 種以上の活性薬剤を含む組成物を適用または投与することを指す。

【0113】

40

標的疾患／障害を軽減することには、疾患の発症もしくは進行を遅らせること、または疾患の重症度を低減することが包含される。疾患の軽減は、必ずしも治癒的結果を必要とするわけではない。その点において使用される場合、標的の疾患または障害の発症を「遅らせること」は、疾患の進行を遅延させること、妨げること、鈍化させること、遅くすること、安定化させること、および／または先送りにすることを意味する。この遅延は、治療される疾患および／または個体の病歴に応じて、様々な長さの時間のものであってよい。疾患の発症を「遅らせる」か軽減する方法または疾患の開始を遅らせる方法は、その方法を使用しない場合と比較して、所与の時間枠内で疾患の症状を 1 つ以上発症する可能性を低減する、および／または所与の時間枠内で症状の程度を低減する、方法である。そのような比較は、典型的には、統計学的に有意な結果をもたらすのに十分な数の対象を用い

50

た臨床研究に基づく。

【0114】

疾患の「発症」または「進行」は、疾患の最初の顕在化および／またはその後の進行を意味する。疾患の発症は、当技術分野において周知である標準的な臨床技術を用いて検出および評価できる。しかし、発症はまた、検出できない可能性がある進行も指す。本開示の目的のためには、発症または進行は、症状の生物学的経過を指す。「発症」には、発生、再発、および開始が含まれる。本明細書で使用される場合、標的の疾患または障害の「開始」または「発生」には、最初の開始および／または再発が含まれる。

【0115】

一部の実施形態において、本明細書に記載される二重特異性抗体は、治療を必要とする対象に、生体内で標的抗原の一方または両方の活性を少なくとも20%（例えば、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%または90%超）阻害するのに十分な量で投与される。他の実施形態において、抗体は、標的抗原の一方または両方のレベルを少なくとも20%（例えば、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%または90%超）低下させるのに有効な量で投与される。

10

【0116】

医薬分野の当業者に知られている従来の方法を用いて対象に医薬組成物を、治療される疾患のタイプまたは疾患の部位に応じて、投与できる。この組成物はまた、他の従来の経路を介して投与（例えば、経口投与、非経口投与、吸入スプレーによる投与、局所投与、直腸投与、経鼻投与、頬側投与、腔内投与または移植されたリザーバーを介した投与）で

20

【0117】

注射用組成物は、サラダ油、ジメチルラクタミド（dimethylactamide）、ジメチルホルムアミド（dimethylformamide）、乳酸エチル、炭酸エチル、ミリスチン酸イソプロピル、エタノールおよびポリオール（グリセロール、プロピレングリコール、液体ポリエチレングリコール等）などの様々な担体を含んでよい。静脈内注射の場合、水溶性の抗体を点滴法によって投与でき、それにより、抗体と生理学的に許容される賦形剤とを含む医薬製剤が注入される。生理学的に許容される賦形剤には、例えば、5%デキストロース、0.9%生理食塩水、リンゲル液または他の好適な賦形剤が含まれる可能性がある。筋肉内用調製物（例えば、抗体の好適な可溶性塩形態の無菌製剤）は、注射用水、0.9%生理食塩水または5%グルコース溶液などの医薬用賦形剤に溶解して投与できる。

30

【0118】

一実施形態において、二重特異性抗体は、部位特異的送達技術または標的化局所送達技術を介して投与される。部位特異的送達技術または標的化局所送達技術の例としては、二重特異性抗体の様々な移植可能デポ源または局所送達カテーテル（注入カテーテル、留置カテーテルまたはニードルカテーテルなど）、合成グラフト、外膜ラップ（adventitia l wrap）、シャントおよびステントもしくは他の移植可能なデバイス、部位特異的運搬体、直接注射、または直接適用が挙げられる。例えば、PCT国際公開第WO 00 / 53211号および米国特許第5,981,568号を参照のこと。

40

【0119】

アンチセンスポリヌクレオチド、発現ベクターまたはサブゲノムポリヌクレオチドを含む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、Findel et al., Trends Biotechnol. (1993) 11:202; Chiou et al., Gene Therapeutics: Methods And Applications Of Direct Gene Transfer (J. A. Wolff, ed.) (1994); Wu et al., J. Bi

50

ol. Chem. (1988) 263:621; Wu et al., J. Biol. Chem. (1994) 269:542; Zenke et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1990) 87:3655; Wu et al., J. Biol. Chem. (1991) 266:338に記載されている。

【0120】

ポリヌクレオチド（例えば、本明細書に記載される二重特異性抗体をコードするもの）を含む治療用組成物は、遺伝子治療プロトコルにおける局所投与のために、約100ng～約200mgのDNAという範囲で投与される。一部の実施形態において、約500ng～約50mg、約1μg～約2mg、約5μg～約500μg、および約20μg～約100μgのDNAという濃度範囲またはそれよりも高い濃度範囲が、遺伝子治療プロトコルの間に用いられてもよい。

10

【0121】

本明細書に記載される治療用の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用いて送達できる。遺伝子送達ビヒクルは、ウイルス起源または非ウイルス起源のものであってよい（一般的には、Jolly, Cancer Gene Therapy (1994) 1:51; Kimura, Human Gene Therapy (1994) 5:845; Connelly, Human Gene Therapy (1995) 1:185; および Kaplitt, Nature Genetics (1994) 6:148を参照のこと）。そのようなコード配列の発現は、内因性の哺乳動物の、または異種の、プロモーターおよび/またはエンハンサーを用いて誘導できる。コード配列の発現は、恒常的であっても調節されてもよい。

20

【0122】

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スペースのベクターは、当技術分野において周知である。例示的なウイルススペースのビヒクルには、限定されるものではないが、組換えレトロウイルス（例えば、PCT国際公開第WO90/07936号；同第WO94/03622号；同第WO93/25698号；同第WO93/25234号；同第WO93/11230号；同第WO93/10218号；同第WO91/02805号；米国特許第5,219,740号および同第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）、アルファウイルススペースのベクター（例えば、シンドビ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国際公開第WO94/12649号、同第WO93/03769号；同第WO93/19191号；同第WO94/28938号；同第WO95/11984号および同第WO95/00655号を参照のこと）が包含される。Curriel, Hum. Gene Ther. (1992) 3:147に記載されているような死滅アデノウイルスに連結したDNAの投与も利用できる。

30

【0123】

また、非ウイルス性の送達ビヒクルおよび方法も利用でき、これらには、限定されるものではないが、死滅アデノウイルスだけに連結された、または連結されていない、ポリカチオン凝縮DNA（例えば、Curriel, Hum. Gene Ther. (1992) 3:147を参照のこと）；リガンド連結DNA（例えば、Wu, J. Biol. Chem. (1989) 264:16985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国際公開第WO95/07994号；同第WO96/17072号；同第WO95/30763号；および同第WO97/42338号を参照のこと）および核電荷中和または細胞膜との融合が包含される。また、裸のDNAも利用できる。例示的な裸のDNAの導入方法は、PCT国際公開第WO90/11092号および米国特許第5,580,859号に記載されている。遺伝子送達ビヒクル

40

50

として働くことができるリボソームは、米国特許第5,422,120号;PCT国際公開第WO95/13796号;同第WO94/23697号;同第WO91/14445号;および欧州特許第0524968号に記載されている。さらなる手法が、Philip, Mol. Cell. Biol. (1994) 14:2411およびWoffendin, Proc. Natl. Acad. Sci. (1994) 91:1581に記載されている。

【0124】

本明細書に記載される方法において使用される特定の投与計画(すなわち、用量、時期および頻度)は、特定の対象およびその対象の病歴に左右されるであろう。一部の実施形態において、治療を必要とする対象に2種以上の二重特異性抗体、または二重特異性抗体と別の好適な治療薬との組み合わせ、が投与されてよい。二重特異性抗体はまた、薬剤の有効性を増強および/または補完するのに役立つ他の薬剤と共に使用されてもよい。

10

【0125】

標的の疾患/障害に対する治療有効性は、当技術分野で周知の方法によって評価できる。

【0126】

標的疾患の治療に使用するためのキット

本開示はまた、標的の疾患または障害の軽減に使用するためのキットも提供する。このようなキットは、本明細書に記載される二重特異性抗体のうちの1種以上および/または1種以上の単離された核酸または核酸のセットを含む、1つ以上の容器を含んでよい。

20

【0127】

一部の実施形態において、キットは、本明細書に記載される方法のいずれかに従った使用のための説明書を含んでよい。含まれる説明書は、HAEまたは血栓症などの標的疾患を治療するための、それらの開始を遅らせるための、またはそれらを軽減するための、二重特異性抗体の投与についての説明を含んでよい。キットは、治療に適した個体を、その個体が標的疾患を有するかどうかを特定することに基づいて選択することについての説明をさらに含む可能性がある。さらに他の実施形態において、説明書は、標的疾患のリスクがある個体に抗体を投与することについての説明を含む。

【0128】

本明細書に記載されるような二重特異性抗体の使用に関する説明書は一般に、意図される治療のための投与量、投与スケジュールおよび投与経路に関する情報を含む。容器は、単位用量、バルクパッケージ(例えば、複数用量パッケージ)または副単位用量(sub-unit dose)であってもよい。本発明のキットに入っている説明書は、典型的には、ラベルまたは添付文書(例えば、キットに含まれる紙シート)に記載された説明書であるが、機械で読み取ることができる説明書(例えば、磁気記憶ディスクまたは光学記憶ディスクに保持される説明書)も許容される。

30

【0129】

ラベルまたは添付文書は、組成物が、標的の疾患または障害を治療するために、それらの開始を遅らせるために、および/またはそれらを軽減するために、使用されることを示す。説明書は、本明細書に記載される方法のいずれかを実施するために提供されてよい。

40

【0130】

本発明のキットは、好適な包装状態で存在する。好適な包装には、限定されるものではないが、バイアル、ボトル、広口瓶、フレキシブル包装(例えば、密封されたマイラーまたはプラスチックの袋)等が包含される。また、吸入器、経鼻投与デバイス(例えば、噴霧器)または注入デバイス(ミニポンプなど)などの特定のデバイスと組み合わせて使用するためのパッケージも企図される。キットは、無菌アクセスポートを有してよい(例えば、容器は、静脈内溶液の袋、または皮下注射針で穿孔可能な栓を有するバイアル、であってよい)。容器はまた、無菌アクセスポートを有してもよい(例えば、容器は、静脈内溶液の袋、または皮下注射針で穿孔可能な栓を有するバイアル、であってよい)。組成物

50

中の少なくとも1種の活性薬剤は、本明細書に記載されるもののような二重特異性抗体である。

【0131】

キットは、任意選択で、緩衝液および判断情報などの追加的な構成要素を提供してもよい。通常、キットは、容器と、容器上のラベルもしくは添付文書（複数可）または容器に付随するラベルもしくは添付文書（複数可）と、を含む。一部の実施形態において、本発明は、上述のキットの内容物を含む製品を提供する。

【0132】

一般的な技術

本発明の実施は、別段の指示がない限り、当技術分野における通常の知識の範囲内に属する分子生物学（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利用するであろう。このような技術は、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, second edition (Sambrook, et al., 1989) Cold Spring Harbor Press; Oligonucleotide Synthesis (M. J. Gait, ed., 1984); Methods in Molecular Biology, Humana Press; Cell Biology: A Laboratory Notebook (J. E. Cellis, ed., 1998) Academic Press; Animal Cell Culture (R. I. Freshney, ed., 1987); Introduction to Cell and Tissue Culture (J. P. Mather and P. E. Roberts, 1998) Plenum Press; Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures (A. Doyle, J. B. Griffiths, and D. G. Newell, eds., 1993-8) J. Wiley and Sons; Methods in Enzymology (Academic Press, Inc.); Handbook of Experimental Immunology (D. M. Weir and C. C. Blackwell, eds.); Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J. M. Miller and M. P. Calos, eds., 1987); Current Protocols in Molecular Biology (F. M. Ausubel, et al., eds., 1987); PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis, et al., eds., 1994); Current Protocols in Immunology (J. E. Coligan et al., eds., 1991); Short Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons, 1999); Immunobiology (C. A. Janeway and P. Travers, 1997); Antibodies (P. Finch, 1997); Antibodies: a practical approach (D. Catty., ed., IRL Press, 1988-1989); Monoclonal antibodies: a practical approach (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000); Using antibodies: a laboratory manual (E. Harlow and D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999); The Antibodies (M. Zanetti and J. D. Capra, eds., Harwood Academic Publishers, 1995)などの文献において十分に説明されている。

【0133】

さらなる詳述がなくても、当業者は、上記の説明に基づいて、本発明を最大限に利用できると考えられる。従って、以下の特定の実施形態は、単なる例示として解釈されるべきであり、決して本開示の残りの部分を限定するものではない。本明細書で引用される刊行

10

20

30

40

50

物は全て、本明細書で言及される目的または主題のために、参照により組み込まれる。

【実施例】

【0134】

実施例1：pKa1および第XIIa因子に結合する例示的な二重特異性抗体の構築および特徴付け

親抗体としてDX-2930と抗FXIIaクローン559C-M0071-F06、559C-M0184-B04、559C-M0179-D04、559C-M0181-C02および559C-M0180-G03のうちの1つとを用いて、クローンX0120-A01、X0120-C01、X0120-E01、X0120-G01、X0121-A03、X0121-C01、X0121-E01、X0121-G01、X0122-A01およびX0122-C01を含む、いくつかの例示的な抗pKa1/抗FXIIa二重特異性抗体を構築した。以下の表2を参照のこと。

【0135】

【表2】

表2：例示的な二重特異性抗体の構成要素

二重特異性抗体 クローン	抗pKa1 部分	抗FXIIa部分
X0120-A01	DX-2930 (IgG)	DX-2930の重鎖のC末端に融合されたクローン559C-M0184-B04のscFv (H→L)
X0120-C01	DX-2930 (IgG)	DX-2930の重鎖のC末端に融合されたクローン559C-M0184-B04のscFv (L→H)
X0120-E01	DX-2930 (IgG)	DX-2930の重鎖のC末端に融合されたクローン559C-M0179-D04のscFv (H→L)
X0120-G01	DX-2930 (IgG)	DX-2930の重鎖のC末端に融合されたクローン559C-M0179-D04のscFv (L→H)
X0121-A03	DX-2930 (IgG)	DX-2930の重鎖のC末端に融合されたクローン559C-M0181-C02のscFv (H→L)
X0121-C01	DX-2930 (IgG)	DX-2930の重鎖のC末端に融合されたクローン559C-M0181-C02のscFv (L→H)
X0121-E01	DX-2930 (IgG)	DX-2930の重鎖のC末端に融合されたクローン559C-M0180-G03のscFv (H→L)
X0121-G01	DX-2930 (IgG)	DX-2930の重鎖のC末端に融合されたクローン559C-M0180-G03のscFv (L→H)
X0122-A01	DX-2930 (IgG)	DX-2930の重鎖のC末端に融合されたクローン559C-M0071-F06のscFv (H→L)
X0122-C01	DX-2930 (IgG)	DX-2930の重鎖のC末端に融合されたクローン559C-M0071-F06のscFv (L→H)

【0136】

抗FXIIaクローンのうち、559C-M0071-F06は親クローンであり、559C-M0184-B04はHC DR1+2の親和性成熟から取得され、559C-M0179-D04、559C-M0181-C02および559C-M0180-G03

は軽鎖の親和性成熟から取得されたクローンである。

【 0 1 3 7 】

上記の表 2 に列挙される例示的な二重特異性抗体クローンは全て、D X - 2 9 3 0 の軽鎖（上記で提示された配列番号 1 0 ）のポリペプチド鎖を 2 つ、および F X I I a クローンのうちの 1 つの s c F v 鎖に融合された D X - 2 9 3 0 の重鎖（定常鎖のヒンジドメイン中のリジン残基を除く）という融合ポリペプチド鎖を 2 つ含む、4 つのポリペプチド鎖を含む四価の分子である。5 種の抗 F X I I a クローンの各々の s c F v 鎖は、重鎖 - 軽鎖（H L）の方向および軽鎖 - 重鎖（L H）の方向の両方で合成した。s c F v 鎖の全ての例において、内部（G G G G S）₄ リンカー（配列番号 2 3）を使用した。軽鎖 - 重鎖の方向のクローンが、リンカー配列の始まる前に、定常領域を開始させる最初の 2 つのアミノ酸（R T）を含むように、s c F v を構築した。重鎖 - 軽鎖の方向のクローンは、終止コドンの前に、軽鎖定常領域由来の最初のアミノ酸（R）のみを含んだ。

10

【 0 1 3 8 】

例示的な二重特異性抗体の各々の融合ポリペプチドのアミノ酸配列を以下に提示する。

【 0 1 3 9 】

【化 5】

二重特異性抗体クローン X 0 1 2 0 - A 0 1 の重鎖 - S c F v 融合物（配列番号 1 1）

MGWSCIIILFLVATATGAHSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGG
ITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICN
VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDTHCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTP
PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYSMHWVRQAPGKGLEWVSR
IYPSGGVTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSSGG
GGSGGGGGGGGGGGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
NRASGVPRDFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKEIKR

20

二重特異性抗体クローン X 0 1 2 0 - C 0 1 の重鎖 - S c F v 融合物（配列番号 1 2）

MGWSCIIILFLVATATGAHSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGG
ITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICN
VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDTHCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTP
PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQ
LLIYLGSNRASGVPRDFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKEIKRTGGGGGGGGGGSG
GGGGGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYSMHWVRQAPGKGLEWVSRIYPSGGVTKYADSVK
GRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSS

30

二重特異性抗体クローン X 0 1 2 0 - E 0 1 の重鎖 - S c F v 融合物（配列番号 1 3）

MGWSCIIILFLVATATGAHSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGG
ITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICN
VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDTHCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTP
PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGCGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYIMAWVRQAPGKGLEWVSY
IYPSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSSGG
GGSGGGGGGGGGGGGGSDIQMTQSPLSLSVAPGEPAISCRSSQSLHRNGHNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
NRASGVPERFSGSGSGTDFTLRISRVEAEDVGVYYCMQALQARTFGQGTKEIKR

40

二重特異性抗体クローン X 0 1 2 0 - G 0 1 の重鎖 - S c F v 融合物（配列番号 1 4）

MGWSCIILFLVATATGAHSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGG
ITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICN
VNHKPSNTKVDKRVKPKSCDTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTP
PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLSVAPGEPASISCRSSQSLLRHNGHNYLDWYLQKPGQSPQ
LLIYLGSNRASGVPERFSGSGSGTDFTLRISRVEAEDVGVYYCMQALQARTFGQGTKEIKRTGGGSGGGGSGG
GGSGGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYIMAWVRQAPGKGLEWVSYYIPSGGITVYADSVKGR
FTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSS

二重特異性抗体クローンX0121-A03の重鎖-S c F v融合物(配列番号15)

10

MGWSCIILFLVATATGAHSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGG
ITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICN
VNHKPSNTKVDKRVKPKSCDTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTP
PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYIMAWVRQAPGKGLEWVS
YIYPSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSSGG
GGSGGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
SNRASGVPRDFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTRTFGQGTKEIKR

二重特異性抗体クローンX0121-C01の重鎖-S c F v融合物(配列番号16)

20

MGWSCIILFLVATATGAHSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGG
ITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICN
VNHKPSNTKVDKRVKPKSCDTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTP
PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHNGYNYLDWYLQKPGQSPQ
LLIYLGSNRASGVPRDFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTRTFGQGTKEIKRTGGGSGGGGSGG
GGSGGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYIMAWVRQAPGKGLEWVSYYIPSGGITVYADSVKGR
FTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSS

二重特異性抗体クローンX0121-E01の重鎖-S c F v融合物(配列番号17)

30

MGWSCIILFLVATATGAHSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGG
ITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICN
VNHKPSNTKVDKRVKPKSCDTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTP
PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYIMAWVRQAPGKGLEWVS
YIYPSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSSGG
GGSGGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHNGYNYLDWYLQKPGQSPQIMLYLGS
NRASGVPRDFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPRTFGQGTKEIKR

二重特異性抗体クローンX0121-G01の重鎖-S c F v融合物(配列番号18)

40

MGWSCIILFLVATATGAHSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGG
ITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICN
VNHKPSNTKVDKRVKPKSCDTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTP
PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHNGYNYLDWYLQKPGQSPQ
IMLYLGSNRASGVPRDFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPRTFGQGTKEIKRTGGGSGGGGSGG
GGSGGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYIMAWVRQAPGKGLEWVSYYIPSGGITVYADSVKGR
FTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSS

二重特異性抗体クローンX0122-A01の重鎖-S c F v融合物（配列番号19）

MGWSCIILFLVATATGAHSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGG
ITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICN
VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLN
PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
MHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYIMAWVRQAPGKGLEWVSY
IYPSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSSGG
GGSGGGGGGGGGGGGGSDIQMTQSPSLPVPVTPGEPASISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
NRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKEIKR

10

二重特異性抗体クローンX0122-C01の重鎖-S c F v融合物（配列番号20）

MGWSCIILFLVATATGAHSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGG
ITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICN
VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLN
PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
MHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPSLPVPVTPGEPASISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQ
LLIYLG
NRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKEIKRTGGGGGGGGGGSG
GGSGGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYIMAWVRQAPGKGLEWVSYIYPSGGITVYADSVK
RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSS

20

【0140】

上記の例示的な二重特異性抗体の発現カセットを構築するために、DX-2930の重鎖および軽鎖のコード配列を、s c F vコード配列につながるC末端SGGGSリンカーで改変してpRh1-CHOベクターにクローニングした。リンカー領域は、s c F vの効率的なクローニングのためにBamHI制限部位を含んだ。BamHI/XbaI制限部位によるコンストラクト中への挿入のために、5種の抗第XIIa因子クローンを選択した。

【0141】

上記で提示される配列のイタリック体部分は、シグナルペプチドを指す。本明細書で開示される二重特異性抗体の抗pKa1部分は、同じシグナルペプチドを含んでよい、または、そのシグナルペプチドが除去されるか異なるシグナルペプチドで置き換えられてよい。分泌タンパク質の生産に使用するためのシグナルペプチドは、当技術分野において周知である。

30

【0142】

（シストロンオペロン形式（cis-tronic operon format）で）二重特異性抗体をコードするヌクレオチド配列を以下に示す。

【0143】

【化6】

X0120-A01（配列番号24）

40

ATGGGATGGTCCTGCATCATCTGTTTCTGGTGGCTACAGCCACAGGCGTGCACTCCGACATCCAGAT
GACCCAGTCCCCCTCCACCCTGTCCGCCTCTGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTGCGGCCTCCC
AGTCCATCTCCAGCTGGCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCCAAGCTGCTGATCTAC
AAGGCCAGCACCTGGAATCCGGCGTGCCCTCCAGATTCTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCAGTTTAC
CCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCGACGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAACACCTACT
GGACCTTCGGCCAGGGCACCAGGTGGAAATCAAGCGGACCGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTATCTTC
CCACCCTCCGACGAGCAGCTCAAGTCCGGCACCGCCTCCGTGGTCTGCCTGCTGAACAATTTTACCC
CCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTGA
CCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCTCTTACCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTAC
GAGAAGCACAAAGGTGTACGCTTGCAGTGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTT
CAACCGGGGCGAGTGCTGATGAGGCGCGCTTCGCGTCCAGCATGCATCTAGGGCGGCCAATTCGGCC
CCTCTCCCCCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGAATAAGGCCGGTGTGCGTTTGTCT
ATATGTTATTTTCCACCATATTGCGCTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCCGAAACCTGGCCCTGTCTTC
TTGACGAGCATTCCTAGGGGTCTTTCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTGCTGAA
GGAAGCAGTCTCTTGGAAAGCTTTTGAAGACAAACAACGTCTGTAGCGACCTTTGACGGCAGCGGA
ACCCCCACCTGGCGACAGGTGCCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAAGGCG
GCACAACCCCAAGTGCCACGTTGTGAGTTGGATAGTTGTGGAAAGAGTCAAAATGGCTCTCTTCAAGCGT
ATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCCAGAAGGTACCCCATTTGATGAGGATCTGATCTGGGGCCTCGGT
GCAGATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAAACGTCCTAGGCCCCCGAACCACGGGGACGTG
GTTTTCTTTGAAAAACACGATGATAATATGGCCACAACCATGGGATGGTCTGCATCATCTGTTTC
TGGTGGCCACAGCCACAGGCGCTCACTCCGAGGTGCAATTGCTGGAATCCGGCGGAGGACTGGTGCAG
CCTGGCGGCTCCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCTCCGGCTTACCTTCTCCCACTACATCATGATGTG
GGTGGACAGGCTCCTGCCAAGCGGCTGGAATGGGTGTCCGGCATCTACTCTCCGGCGGCATCACCG
TGTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTACCATCTCTCGGACAACCTCCAAGAACACCCTGTACCTG
CAGATGAACCTCCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCTACCGGCGGATCGGCGTGCC
CAGACGGGACGAGTTCGACATCTGGGGGCGAGGACACCATGGTGACAGTGTCTCCGCCTCCACCAAGG
GCCCCCTCTGTGTTCCCGCTAGCACCTCCAGCAAGTCCACCTCCGGCGGCACCGCTGCTCTGGGCTGC
CTCGTCAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTTGGAACTCTGGCGCCCTGACCAGCGGAGT
GCATACCTTCCCTGCCGTGCTCCAGTCTCCGGCCTGTACAGCCTGTCTCTGTGCTGACCGTGCCCT
CCAGCTCCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAGTGGAC
AAGCGGGTGCAACCAAGTCTCGCACACCCACACCTGTCCCCCTTGCCCTGCCCTGAACTGCTGGG
CGGACCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCTAAAGCCCAAGGACACCTGATGATCTCCCGGACCCCGAAG
TGACCTGCGTGGTGGTGGACGTTGCCACGAGGACCTGAAGTGAAGTTTAATTGGTACGTGGACGGC
GTGGAAGTGATAACGCCAAGACCAAGCCAGAGAGGAACAGTACAACCTACCCGCTGGTGTCT
CGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGAGTACAAGTGAAGGTGTCCAACAAGG
CCCTGCCTGCCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAGCCCGAGGTGTAC
ACCTTGCCCCCTAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGCTT
CTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGCCCGAGAACAACCTACAAGACCACC
CCCCGTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCTGTACTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGG

10

20

30

CAGCAGGGCAACGTGTTCTCTCTGCTCCGTGATGCACGAGGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTC
CCTGTCCCTGTCTCCCGCAAGTCTGGCGGAGGATCCGAAGTGACGCTGCTGGAAAGCGGCGGAGGCC
TGGTGCAGCCTGGAGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCCTGCCAGCGGCTTACCTTACGCTTCTACAGC
ATGACACTGGGTCCGACAGGCTCCAGGCAAGGGCTTGAATGGGTGTCCCGGATCTACCCCTCTGGCGG
CGTGACCAAAATACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTACCATCAGCCGGGACAAACAGCAAGAACACCC
TGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCACCCGGCAGCGGTAC
AGAGGCCCCAAGTACTACTACTACATGGACGTGTGGGGCAAGGGCACAAACCGTGACCGTGTCTAGCGG
AGGCGGAGGATCTGCCGGAGGTGGAAGTGGTGGTGGCGGAAGTGGCGGAGGCGGCAGCGACATCCAGA
TGACCCAGAGCCCCCTGAGCCTGCCCGTGACACCTGGCGAGCCTGCCAGCATCAGCTGCAGAAGCAGC
CAGAGCCTGTGACAGCAACGGCTACAACCTACCTGGACTGGTATCTGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCC
CCAGCTGCTGATCTACCTGGGCAGCAACAGAGCCAGCGGCGTGCCCGACAGATTACGCGGCAGCGGCT
CCGGCACCCGACTTACCCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTATTGCATG
CAGGCCCTGCAGACCCCTTGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAGAGATGAATCTAGA

40

ATGGGATGGTCCTGCATCATCCTGTTTCTGGTGGCTACAGCCACAGGCGTGCACTCCGACATCCAGAT
GACCCAGTCCCCCTCCACCCTGTCCGCCTCTGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTCCGGCCTCCC
AGTCCATCTCCAGCTGGCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTAC
AAGGCCAGCACCTTGAATCCGGCGTGCCCTCCAGATTCTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCGAGTTTAC
CCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCGACGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAACACCTACT
GGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAATCAAGCGGACCGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTATCTTC
CCACCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTGGTCTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCC
CCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTGA
CCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCTCTACCCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTAC
GAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTT
CAACCGGGGGCAGTGCTGATGAGGCGCGCCTTCGCGTCCAGCATGCATCTAGGGCGGGCAATTCGGCC
CCTCTCCCCCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGGAAATAAGGCCGGTGTGCGTTTGTCT
ATATGTTATTTTCCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCCGAAACCTGGCCCTGTCTTC
TTGACGAGCATTTCTAGGGGTCTTTCCCTCTCGCCAAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAA
GGAAGCAGTTCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGTCTGTAGCGACCTTTGACGGCAGCGGA
ACCCCCACCTGGCGACAGGTGCCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAAGGCG
GCACAACCCCAAGTGCCACGTGTGTAGTTGGATAGTTGTGGAAAGAGTCAAATGGCTCTCTTCAAGCGT
ATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCAGAAGGTACCCCATTTGTATGGGATCTGATCTGGGGCCTCGGT
GCAGATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAAACGTCTAGGCCCCCGAACCACGGGGACGTG
GTTTTCTTTGAAAAACACGATGATAATATGGCCACAACCATGGGATGGTCCTGCATCATCCTGTTTC
TGGTGGCCACAGCCACAGGCGCTCACTCCGAGGTGCAATTGCTGGAATCCGGCGGAGGACTGGTGCAG
CCTGGCGGCTCCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCTCCGGCTTCACCTTCTCCCACTACATCATGATGTG
GGTGGCAGAGGCTCCTGGCAAGGGGCTGGAATGGGTGTCCGGCATCTACTCCTCCGGCGGCATCACCG
TGTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCTCGGGACAACCTCCAAGAACACCTGTACCTG
CAGATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCTACCGGCGGATCGGCGTGCC
CAGACGGGACGAGTTGACATCTGGGGGCAGGGCACCATGGTGACAGTGTCTCCGCTCCACCAAGG
GCCCCCTCTGTGTTCCCGCTAGCACCTCCAGCAAGTCCACCTCCGGCGGCACCGCTGCTCTGGGCTGC
CTCGTCAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTTGGAACTCTGGCGCCCTGACCAGCGGAGT
GCATACCTTCCCTGCCGTGCTCCAGTCTCCGGCCTGTACAGCCTGTCTCTGTCTGACCGTGCCCT
CCAGCTCCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAGTGGAC
AAGCGGGTGAACCCAAGTCTTGCAGACCCACACCTGTCCCCCTTGCCCTGCCCCCTGAACTGCTGGG
CGGACCCAGCGTGTTTCTGTTCCCCCAAGGCCAAGGACACCTGATGATCTCCCGGACCCCCGAAG
TGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCTGAAGTGAAGTTTAATTGGTACGTGGACGCG
GTGGAAGTGCATAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCTACCGGGTGGTGTG
CGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGG
CCCTGCCTGCCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAGCCCCAGGTGTAC
ACCCTGCCCCCTAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGCTT
CTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACCC
CCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCTGTACTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGG
CAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTC
CCTGTCCCTGTCTCCCGGCAAGTCTGGCGGAGGATCCGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCCTGAGCC
TGCCCGTGACACCTGGCGAGCCTGCCAGCATCAGCTGCAGAAGCAGCCAGAGCCTGCTGCACAGCAAC
GGCTACAACCTACCTGGACTGGTATCTGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCCCAGCTGCTGATCTACCTGGG
CAGCAACAGAGCCAGCGGCGTGCCCGACAGATTACGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGA
AGATCAGCCGGGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGCATGCAGGCCCTGCAGACCCCTGG
ACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAATCAAGCGGACAGGCGGCGGAGGCTCTGGCGGAGGTGGAAG
CGGAGGCGGAGGAAGTGGCGGAGGCGGCTCTGAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGAGGCGGACTGGTGC
AGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGTGCAGCGGCTTCACCTTCAGCTTCTACAGCATGCAC
TGGGTCCGACAGGCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGGTGTCCCGGATCTACCCCTCTGGCGGCGTGAC
CAAATACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCTGTACC
TGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCACCCGGCAGCGGTACAGAGGC
CCCAAGTACTACTACTACATGGACGTGTGGGGCAAGGGCACACCGTGACCGTGTCCAGCTGAATCTA
GA

10

20

30

40

ATGGGATGGTCTGCATCATCTGTTTCTGGTGGCTACAGCCACAGGCGTGCACTCCGACATCCAGAT
GACCCAGTCCCCCTCCACCTGTCCGCCTCTGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTCCGGCCCTCCC
AGTCCATCTCCAGCTGGCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCCGGAAGCCCCCAAGCTGCTGATCTAC
AAGGCCAGCACCTTGAATCCGGCGTGCCCTCCAGATTCTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCAGATTAC
CCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCAGCACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAACACCTACT
GGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAATCAAGCGGACCGCTCCGTGGTCTGCCTGCTGAACAACTTCTACCC
CCACCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTGGTCTGCCTGCTGAACAACTTCTACCC
CCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTGA
CCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCTCTACCTGACCTGTCCAAGGCCGACTAC
GAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTT
CAACCGGGCGAGTGCTGATGAGGCGCGCCTTCGCGTCGAGCATGCATCTAGGGCGGCCAATTCCGCC
CCTCTCCCCCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGAATAAGGCCGGTGTGCGTTTGTCT
ATATGTTATTTTCCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCGGAAACCTGGCCCTGTCTTC
TTGACGAGCATTTCTAGGGGTCTTTCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAA
GGAAGCAGTTCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGTCTGTAGCGACCTTTGCAGGCAGCGGA
ACCCCCACCTGGCGACAGGTGCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAAAGGCG
GCACAACCCCAAGTGCCACGTTGTGAGTTGGATAGTTGTGGAAGAGTCAAATGGCTCTCTTCAAGCGT
ATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCCAGAAGGTACCCATTGTATGGGATCTGATCTGGGGCCTCGGT
GCAGATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAAACGTCTAGGCCCCCGAACCACGGGGACGTG
GTTTTCTTTGAAAAACACGATGATAATATGGCCACAACCATGGGATGGTCTGCATCATCTGTTTC
TGGTGGCCACAGCCACAGGCGCTCACTCCGAGGTGCAATTGCTGGAATCCGGCGGAGGACTGGTGCAG
CCTGGCGGCTCCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCTCCGGCTTCACCTTCTCCCACTACATCATGATGTG
GGTGCAGACAGGCTCCTGGCAAGGGGCTGGAATGGGTGTCCGGCATCTACTCCTCCGGCGGCATCACCG
TGTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGTTTACCATCTCTCGGGACAACCTCCAAGAACACCTGTACCTG
CAGATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGACACCGCGTGTACTACTGCGCCTACCGGCGGATCGGCGTGCC
CAGACGGGACGAGTTGCACATCTGGGGGCAGGGCACCATGGTGACAGTGTCTCCGCTCCACCAAGG
GCCCCCTCTGTGTTCCCGCTAGCACCTCCAGCAAGTCCACCTCCGGCGGCACCGCTGCTCTGGGCTGC
CTCGTCAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACCTCTGGCGCCCTGACCAGCGGAGT
GCATACCTTCCCTGCGGTGCTCCAGTCTTCCGGCCTGTACAGCCTGTCTCTGTGCTGACCGTGCCCT
CCAGCTCCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACAAAGTGGAC
AAGCGGTTGGAACCAAGTCTGCGACACCAACACCTGTCCCCCTTGCCTGCCCCGTAACCTGTGGG
CGGAGGACCGTGTCTGTTTCCCCCAAGGCCAAGGACACCTGATGATCTCCCGGACCCCCGAAG
TGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTAATTGGTACGTGGACGGC
GTGGAAGTGCATAACGCCAAGACCAAGCCAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCTACCGGGTGGTGTG
CGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGG
CCCTGCCTGCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAGCCCCAGGTGTAC
ACCTGCCCCCTAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGCTT
CTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGCCCCGAGAACAACCTACAAGACCACC
CCCCGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCTGTACTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGG
CAGCAGGGCAACGTGTTCTCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTC
CCTGTCCCTGTCTCCCGGCAAGTCTGGCGGAGGATCCGAAGTGCAGCTGCTGGAAGCGGCGGAGGAC
TGGTGCAGCCTGGCGGCTCCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGCGGCTTACCTTCAGCGGCTACATC
ATGGCCTGGGTCCGACAGGCTCCAGGCAAGGGCCTGGAATGGGTGTCTTACATCTACCCAGCGGCGG
CATCACCGTGTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC
TGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCACCCGGCAGCGGTAC
AGAGGCCCCAAGTACTACTACTACATGGACGTGTGGGGCAAGGGCACCACCGTGACCGTGTCTAGCGG
AGGCGGAGGATCTGGCGGAGGTGGAAGTGGTGGTGGCGGAAGTGGCGGGGAGGCAGCGACATCCAGA
TGACCCAGAGCCCCCTGAGCCTGAGCGTGGCACCTGGCGAGCCTGCCAGCATCAGCTGCAGAAGCAGC
CAGAGCCTGTGCACCGGAACGGCCACAACCTACCTGGACTGGTATCTGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCC
CCAGCTGCTGATCTACCTGGGCAGCAACAGAGCCAGCGGCTGCCCCAGAGATTACGCGGCACCGGCT
CCGGCACCGACTTACCCTGCGGATCAGCCGGGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTATTGCATG
CAGGCTCTGCAGGCCAGAACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAATCAAGAGATGAATCTAGA

10

20

30

40

ATGGGATGGTCTGCATCATCCTGTTTCTGGTGGCTACAGCCACAGGCGTGCCTCCGACATCCAGAT
GACCCAGTCCCCCTCCACCCTGTCCGCCTCTGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTCCGGCCCTCCC
AGTCCATCTCCAGCTGGCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTAC
AAGGCCAGCACCTTGGAAATCCGGCGTGCCCTCCAGATTCTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCAGATTAC
CCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGACGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAACACCTACT
GGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAGCGGACCGTGCCCGCTCCCTCCGTGTTTATCTTC
CCACCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTGGTCTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCC
CCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTGA
CCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCTCTACCCCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTAC
GAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTT
CAACCGGGCGAGTGCTGATGAGGCGCGCCTTCGCGTGCAGCATGCATCTAGGGCGGCCAATTCCGCC
CCTCTCCCCCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGGAATAAGGCCGGTGTGCGTTTGTCT
ATATGTTATTTTCCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCCGAAACCTGGCCCTGTCTTC
TTGACGAGCATTCCTAGGGGTCTTTCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAA
GGAAGCAGTTCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGTCTGTAGCGACCCTTTGCAGGCAGCGGA
ACCCCCACCTGGCGACAGGTGCCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAAGGCG
GCACAACCCACAGTGCCACGTTGTGAGTTGGATAGTTGTGGAAAGAGTCAAATGGCTCTCTTCAAGCGT
ATTCAACAAGGGCTGAAGGATGCCCAGAAGGTACCCCATTTGTATGGGATCTGATCTGGGGCCTCGGT
GCAGATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAAACGTCTAGGCCCCCGAACACGGGGACGTG
GTTTTCTTTGAAAAACACGATGATAATATGGCCACAACCATGGGATGGTCTGTCATCATCTGTTTC
TGGTGGCCACAGCCACAGGCGCTCACTCCGAGGTGCAATTGCTGGAATCCGGCGGAGGACTGGTGCAG
CCTGGCGGCTCCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCCTCCGGCTTACCTTCTCCCACTACATCATGATGTG
GGTGGCAGAGGCTCCTGGCAAGGGGCTGGAATGGGTGTCCGGCATCTACTCCTCCGGCGGCATCACCG
TGTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTTACCATCTCTCGGGACAACCTCCAAGAACACCCGTGTACCTG
CAGATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCTACCGGCGGATCGGCGTGCC
CAGACGGGACGAGTTTCGACATCTGGGGGCAGGGCACCATGGTGACAGTGTCTCCGCCTCCACCAAGG
GCCCCCTGTGTGTTCCCGCTAGCACCCCTCCAGCAAGTCCACCTCCGGCGGCACCGCTGCTCTGGGCTGC
CTCGTCAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACCTCTGGCGCCCTGACCAGCGGAGT
GCATACCTTCCCTGCCGTGCTCCAGTCTTCCGGCCTGTACAGCCTGTCTCTGTGCTGACCGTGCCCT
CCAGTCTCCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCACCGTGAACCAAGCCCTCCAACACCAAGTGGAC
AAGCGGGTGGAACCCAAGTCTGCGACACCCACACCTGTCCCCCTTGCCCTGCCCCCTGAACTGCTGGG
CGGACCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCAAAAGGCCAAGGACACCCGTGATGATCTCCCGGACCCCCGAAG

10

20

TGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTTAATTGGTACGTGGACGGC
GTGGAAGTGCATAACGCCAAGACCAAGCCAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCTACCGGGTGGTGTG
CGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGG
CCCTGCCTGCCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAGCCCCAGGTGTAC
ACCTGCCCCCTAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGCTT
CTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGCCGAGAACAACCTACAAGACCACCC
CCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCCTGTACTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGG
CAGCAGGGCAACGTGTTCTCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTC
CCTGTCCCTGTCTCCCGCAAGTCTGGCGGAGGATCCGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCCTGAGCC
TGAGCGTGGCACCTGGCGAGCCTGCCAGCATCAGCTGCAGAAGCAGCCAGAGCCTGCTGCACCGGAAC
GGCCACAACCTACCTGGACTGGTATCTGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCCCAGCTGCTGATCTACCTGGG
CAGCAACAGAGCCAGCGGCGTGCCCGAGAGATTACGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCCTGC
GGATCAGCCGGGTGCAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGCATGCAGGCTCTGCAGGCCAGAACC
TTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAGCGGACAGGCGGCCGAGGCTCTGGCGGAGGTGGAAGCGG
AGGCGGAGGAAGTGGCGGAGGCGGCTCTGAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCCGACTGGTGCAGC
CTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGCGGCTTACCTTCAGCGGCTACATCATGGCCTGG
GTCCGACAGGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGGTGTCTTACATCTACCCACAGCGCGGCATCACCGT
GTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCGTGTACCTGC
AGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCACCCGGCAGCGGTACAGAGGCCCC
AAGTACTACTACTACATGGACGTGTGGGGCAAGGGCACACCCGTGACCGTGTCCAGCTGAATCTAGA

30

40

ATGGGATGGTCCTGCATCATCTGTTTCTGGTGGCTACAGCCACAGGCGTGCACTCCGACATCCAGAT
GACCCAGTCCCCCTCCACCCTGTCCGCTCTGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTGGGGCCTCCC
AGTCCATCTCCAGCTGGCTGGCCTGGTATCAGCAGAAAGCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTAC
AAGGCCAGCACCTTGAATCCGGCGTGCCCTCCAGATTCTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCAGATTAC
CCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCGACGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAACACCTACT
GGACCTTCGGCCAGGGCACCACCAAGGTGGAATCAAGCGGACCGTGCGCGCTCCCTCCGTGTTCATCTTC
CCACCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCAGCTCCGTGGTCTGCCTGCTGAACAACTTCTACCC
CCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTGA
CCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCTCTACCTTGACCCTGTCCAAGGCCGACTAC
GAGAAGCACAAGGTGTACGCTTGCAGTGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTT
CAACCGGGGCGAGTGTGTATGAGGCGCGCTTCGCGTGCAGCATGCATCTAGGGCGGCCAATTCCGCC
CCTCTCCCCCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGAATAAGGCCGGTGTGCGTTTGTCT
ATATGTTATTTTCCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCCGAAACCTGGCCCTGTCTTC
TTGACGAGCATTCTTAGGGGTCTTTCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTGCTGAA
GGAAGCAGTTCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGCTCTGTAGCGACCCCTTTGCAGGCCAGGA
ACCCCCACCTGCCGACAGGTGCCTCTGCGGCCAAAAGCCACCTGTATAAGATACACCTGCAAAGGCC
GCACAACCCAGTGCCACGTTGTGAGTTGGATAGTTGTGGAAAGAGTCAAATGGCTCTCTTCAAGCGT
ATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCAGAAAGGTACCCCATTTGTATGGGATCTGATCTGGGGCCTCGGT
GCAGATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAAACGTCCTAGGCCCCCGAACACGGGGACGTG
GTTTTCTTTGAAAAACACGATGATAATATGGCCACAACCATGGGATGGTCTGCATCATCTGTTTC
TGGTGGCCACAGCCACAGGCGCTCACTCCGAGGTGCAATTGCTGGAATCCGGCGGAGGACTGGTGCAG
CCTGGCGGCTCCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCTCCGGCTTACCTTCTCCCACTACATCATGATGTG
GGTGGCAGAGGCTCCTGGCAAGGGGCTGGAATGGGTGTCCGGCATCTACTCCTCCGGCGGCATACCG
TGTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGTTTACCATCTCTCGGGACAACCTCCAAGAACACCCTGTACCTG
CAGATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCTACCGGCGGATCGGCGTGCC
CAGACGGGACGAGTTCGACATCTGGGGGCGAGGGCACCATGGTGACAGTGTCTCCGCCTCCACCAAGG
GCCCCCTCTGTGTTCCCGCTAGCACCTCCAGCAAGTCCACCTCCGGCGGCACCGCTGCTCTGGGCTGC
CTCGTCAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACCTCTGGCGCCCTGACCAGCGGAGT
GCATACCTTCCCTGCGGTGCTCCAGTCTCCGGCCTGTACAGCCTGTCTCTGTGCTGACCGTGCCCT
CCAGCTCCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAGTGGAC

10

20

AAGCGGGTGAACCCAAGTCCTGCGACACCCACACCTGTCCCCCTTGCCCTGCCCCCTGAACTGCTGGG
CGGACCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCTAAAGCCCAAGGACACCTGATGATCTCCCGGACCCCCGAAG
TGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACAGGAGCCCTGAAGTGAAGTTAATTGGTACGTGGACGGC
GTGGAAGTGATAAGCCAAAGACCAAGCCCAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCTACCGGGTGGTGTG
CGTGCTGACCGTGTGCAACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGG
CCCTGCGCTGCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAGCCCCAGGTGTAC
ACCCTGCCCCCTAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGCTT
CTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGCCCGAGAACAACCTACAAGACCACCC
CCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCTGTACTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGG
CAGCAGGGCAACGTGTTCTCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTC
CCTGTCCCTGTCTCCCGGCAAGTCTGGCGGAGGATCCGAAGTGCAGCTGCTGGAAGCGGCGGAGGAC
TGGTGCAGCCTGGAGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGCGGCTTACCTTCAGCGGCTACATC
ATGGCCTGGGTCCGACAGGCTCCAGGCAAGGGCCTGGAATGGGTGTCTTACATCTACCCAGCGGCGG
CATCACCGTGTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC
TGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCACCCGGCAGCGGTAC
AGAGGCCCAAGTACTACTACTACATGGACGTGTGGGGCAAGGGCACCACCGTGACCGTGTCTAGCGG
AGGCGGAGGATCTGGCGGAGGTGGAAGTGGTGGTGGCGGAAGTGGCGGCGGAGGACAGCGACATCCAGA
TGACCCAGAGCCCCCTGAGCCTGCCCGTGACACCTGGCGAGCCTGCCAGCATCAGCTGCAGAAGCAGC
CAGAGCCTGCTCCACAGCAACGGCTACAACCTACCTGGACTGCTATCTGCAGAAGCCCCGGCCAGTCCCC
CCAGCTGCTGATCTACCTGGGCAGCAACAGAGCCAGCGGCTGCCCGACAGATTACGCGGCAGCGGCT
CCGGCACCGACTTACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTATTGCATG
CAGGCCCTGCAGACCCGACCTTCGGCCAGGGCACCACCAAGGTGCAATCAAGAGATGAATCTAGA

30

40

ATGGGATGGTCCTGCATCATCCTGTTTCTGGTGGCTACAGCCACAGGCGTGCACTCCGACATCCAGAT
GACCCAGTCCCCCTCCACCCTGTCCGCCTCTGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTGCGGCCTCCC
AGTCCATCTCCAGCTGGCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCCGGAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTAC
AAGGCCAGCACCTTGGAAATCCGGCGTGCCCTCCAGATTCTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCAGTTTAC
CCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGACGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAACACCTACT
GGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAGCGGACCGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTATCTTC
CCACCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGGCACCGCCTCCGTGGTCTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCC
CCGCGAGGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTGA
CCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCTCTACCTTGACCCTGTCCAAGGCCGACTAC
GAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTT
CAACCGGGGCGAGTGCTGATGAGGCGCGCCTTCGCGTCGAGCATGCATCTAGGGCGGCCAATTCGCGC
CCTCTCCCCCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGGAATAAGGCCGGTGTGCGTTTGTCT
ATATGTTATTTTCCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCCGAAACCTGGCCCTGTCTTC
TTGACGAGCATTCCTAGGGGTCTTTCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAA
GGAAGCAGTTCCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGTCTGTAGCGACCCCTTTCAGGCGAGCGGA
ACCCCCACCTGGCGACAGGTGCCCTCTCGGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAAGGCC
GCACAACCCCAAGTGGCACGTGTGAGTTGGATAGTTGTGGAAGAGTCAAATGGCTCTCTTCAAGCGT
ATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCCAGAAGGTACCCCATTTGTATGGGATCTGATCTGGGGCCTCGGT
GCAGATGCTTTACATGTCTTACTCGAGGTTAAAAAACGTCTAGGCCCCCGAACCCAGGGGACGTG
GTTTTCTTTGAAAAACACGATGATAATATGGCCACAACCATGGGATGGTCTGCATCATCCTGTTTC
TGGTGGCCACAGCCACAGGCGCTCACTCCGAGGTGCAATTGCTGGAATCCGGCGGAGGACTGGTGCAG
CCTGGCGGCTCCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCTCCGGCTTCACCTTCTCCCACTACATCATGATGTG
GGTGCAGACAGGCTCCTGGCAAGGGGCTGGAATGGGTGTCCGGCATCTACTCCTCCGGCGGCATCACCG
TGTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCTCGGGACAACCTCCAAGAACACCTGTACCTG
CAGATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCTACCGGCGGATCGGCGTGCC
CAGACGGGACGAGTTCGACATCTGGGGGACAGGACCATGGTGACAGTGTCTCCTCCGCTCCACCAAGG
GCCCCCTCTGTGTTCCCGCTAGCACCTCCAGCAAGTCCACCTCCGGCGGCACCGCTGCTCTGGGCTGC
CTCGTCAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACCTCTGGCGCCCTGACCAGCGGAGT
GCATACCTTCCCTGCCGTGCTCCAGTCCCTCCGGCCTGTACAGCCTGTCTCTGTGCTGACCGTGCCCT
CCAGCTCCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAAGTGGAC
AAGCGGGTGAACCCAAGTCTGCGACACCCACACCTGTCCCTTGGCTGCCCCCTGAACCTGCTGGG
CGGACCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCCTGATGATCTCCCGGACCCCGAAG
TGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCCTGAAGTGAAGTTTAATTGGTACGTGGACGGC
GTGGAAGTGCATAACGCCAAGACCAAGCCAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCTACCGGGTGGTGTG
CGTGCTGACCGTGTGTCACAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGG
CCCTGCCTGCCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAGCCCCAGGTGTAC
ACCTGCCCCCTAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGCTT
CTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGCCCGAGAACAACATAAGACCACCC
CCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCTGTACTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGG
CAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTC
CCTGTCCCTGTCTCCCGGCAAGTCTGGCGGAGGATCCGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCCTGAGCC
TGCCCGTGACACCTGGCGAGCCTGCCAGCATCAGCTGCAGAAGCAGCCAGAGCCTGCTGCACAGCAAC
GGCTACAACCTACCTGGACTGGTATCTGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCCCAGCTGCTGATCTACCTGGG
CAGCAACAGAGCCAGCGGCGTGCCGACAGATTACAGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCTGA
AGATCAGCCGGGTGCAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGCATGCAGGCCCTGCAGACCCGGACC
TTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAGCGGACAGGCGGCGGAGGCTCTGGCGGAGGTGGAAGCGG
AGGCGGAGGAAGTGGCGGAGGCGGCTCTGAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGC
CTGGCGGACAGCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGCGGCTTACCTTACAGCGGTACATCATGGCCTGG
GTCCGACAGGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGGTGTCTACATCTACCCAGCGGCGGCATCACCGT
GTACCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACCCCTGTACCTGC
AGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCACCCGGCAGCGGTACAGAGGCCCC
AAGTACTACTACTACATGGACGTGTGGGGCAAGGGCACCAACCGTGACCGTGTCCAGCTGAATCTAGA

10

20

30

40

ATGGGATGGTCCTGCATCATCCTGTTTCTGGTGGCTACAGCCACAGGCGTGCCTCCGACATCCAGAT
GACCCAGTCCCCCTCCACCCTGTCCGCCTCTGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTCCGGCCCTCCC
AGTCCATCTCCAGCTGGCTGGCCTGGTATCAGCAGAAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTAC
AAGGCCAGCACCCCTGGAATCCGGCGTGCCCTCCAGATTCTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCAGATTAC
CCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCGACGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAACACCTACT
GGACCTTCGGCCAGGGCACCAGGTGGAAATCAAGCGGACCGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTCATCTTC
CCACCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCAGCTCCGTGGTCTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCC
CCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCAGGAATCCGTGA
CCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCTCTACCCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTAC
GAGAAGCACAAGGTGTACGCTTGCAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTT
CAACCGGGGCGAGTGCTGATGAGGCGCGCTTCGCGTGCAGCATGCATCTAGGGCGGCCAATTCCGCC
CCTCTCCCCCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGGAAATAAGGCCGCTGTGCGTTTGTCT
ATATGTTATTTTCCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCCGAAACCTGGCCCTGTCTTC
TTGACGAGCATTCTAGGGGTCTTTCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAA
GGAAGCAGTTCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGTCGTAGCGACCCCTTGCAGGCAGCGGA
ACCCCCCACCTGGCGACAGGTGCCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAAGGCG
GCACAACCCACGTGCCACGTTGTGAGTTGCATAGTTCTGGAAAGAGTCAAATGGCTCTCTTCAAGCGT
ATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCCAGAAGGTACCCCATTTGTATGGGATCTGATCTGGGGCCTCGGT
GCAGATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAAACGTCCTAGGCCCCCGAACCAGGGGACGTG
GTTTTCTTTGAAAAACACGATGATAATATGGCCACAACCATGGGATGGTCCTGCATCATCCTGTTTC
TGGTGGCCACAGCCACAGGCGCTCACTCCGAGGTGCAATTGCTGGAATCCGGCGGAGGACTGGTGCAG
CCTGGCGGCTCCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCTCCGGCTTACCTTCTCCCACTACATCATGATGTG
GGTGGCAGAGGCTCCTGGCAAGGGGCTGGAATGGGTGTCCGGCATCTACTCCTCCGGCGGCATCACCG
TGTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTACCATCTCTCGGGACAACCTCCAAGAACACCCGTGTACCTG
CAGATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCTACCGGCGGATCGGCGTGCC
CAGACGGGACGAGTTCGACATCTGGGGGCAGGGCACCATGGTGACAGTGTCTCCGCCTCCACCAAGG

10

20

GCCCCCTGTGTTCCTCGCTAGCACCTCCAGCAAGTCCACCTCCGGCGGCACCGCTGCTCTGGGCTGC
CTCGTCAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTTGAAGTCTGGCGCCCTGACCAGCGGAGT
GCATACCTTCCCTGCCGTGCTCCAGTCTCCGGCCTGTACAGCCTGTCTCTGTCTGIGACCGTGCCCT
CCAGCTCCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAAGTGGAC
AAGCGGGTGAACCCCAAGTCCTGCGACACCCACACCTGTCCCCCTTGCCCTGCCCCCTGAAGTGTGGG
CGGACCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCCGAAG
TGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTAATTGGTACGTGGACGGC
GTGGAAGTGCATAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCTACCGGGTGGTGTG
CGTGTGACCGTGTGTCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGG
CCCTGCCTGCCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCCGCGAGCCCCAGGTGTAC
ACCCTGCCCCCTAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGCTT
CTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGCCCGAGAACAACCTACAAGACCACCC
CCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCTGTACTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGG
CAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTC
CCTGTCCCTGTCTCCCGGCAAGTCTGGCGGAGGATCCGAAGTGCAGCTGCTGGAAGCGGCGGAGGAC
TGGTGCAGCCTGGAGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGCGGCTTACCTTCAGCGGTACATC
ATGGCCTGGGTCCGACAGGCTCCAGGCAAGGGCCTGGAATGGGTGTCTTACATCTACCCCAGCGGGCG
CATCACCGTGTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTACCATCAGCCGGGACAAACAGCAAGAACACCC
TGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCACCCGGCAGCGGTAC
AGAGGCCCCCAAGTACTACTACTACATGGACGTGTGGGGCAAGGGCACCAACCGTGACCGTGTCTAGCGG
AGGCGGAGGATCTGGCGGAGGTGGAAGTGGTGGTGGCGGAAGTGGCGGCGGAGGCAGCGACATCCAGA
TGACCCAGAGCCCCCTGAGCCTGCCCGTGACACCTGGCGAGCCTGCCAGCATCAGCTGCAGAAGCAGC
CAGAGCCTGCTGCACAGCAACGGCTACAACCTGGACTGGTATCTGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCC
CCAGATCATGATCTACCTGGGCAGCAACAGAGCCAGCGGCGTGGCCGACAGATTACAGCGGCAGCGGCT
CCGGCACCGACTTCAACCTGAAGATCAGCCGGGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTATTGCATG
CAGGCCCTGCAGACCCCCAGAACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAATCAAGAGATGAATCTAGA

30

40

ATGGGATGGTCTTCATCATCCTGTTTCTGGTGGCTACAGCCACAGGCGTGCACTCCGACATCCAGAT
GACCCAGTCCCCCTCCACCCCTGTCCGCCTCTGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTGGGGCCTCCC
AGTCCATCTCCAGCTGGCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTAC
AAGGCCAGCACCCCTGGAATCCGGCGTGCCCTCCAGATTCTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCGAGTTCAC
CCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGACGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAACACCTACT
GGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAGCGGACCGTGCCCGCTCCCTCCGTGTTTATCTTC
CCACCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTGGTCTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCC
CCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTGA
CCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCTCTACCCCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTAC
GAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTT
CAACCGGGGCGAGTGCTGATGAGGCGCGCCTTCGCGTCCGACATGCATCTAGGGCGGCCAATTCGGCC
CCTCTCCCCCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGGAAATAAGGCCGGTGTGCGTTTGTCT
ATATGTTATTTTCCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCCGAAACCTGGCCCTGTCTTC
TTGACGAGCATTCCTAGGGGTCTTTCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAA
GGAAGCAGTTCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGTCTGTAGCGACCCTTTGCAGGCAGCGGA
ACCCCCACCTGGCGACAGGTGCCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATAACCTGCAAAGGCG
GCACAACCCCCAGTGCCACGTTGTGAGTTGGATAGTTGTGGAAAGAGTCAAATGGCTCTCTTCAAGCGT
ATTCAACAAGGGGTGAAGGATGCCCAGAAAGGTACCCCATTTGTATGGGATCTGATCTGGGGCCTCGGT
GCAGATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAAACGTCTAGGCCCCCCGAACCACGGGGACGTG
GTTTTCTTTTGA AAAACACGATGATAATATGGCCACAACCATGGGATGGTCTGCATCATCCTGTTTC
TGGTGGCCACAGCCACAGGCGCTCACTCCGAGGTGCAATTGCTGGAATCCGGCGGAGGACTGGTGCAG
CCTGGCGGCTCCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCCTCCGGCTTACCTTCTCCCACTACATCATGATGTG
GGTGGCACAGGCTCCTGCGAAGGGCCTGGAATGGGTGTCCGGCATCTACTCCTCCGGCGGCATCACCG
TGTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTTACCATCTCTCGGGACAACCTCCAAGAACACCCTGTACCTG
CAGATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCTACCGGCGGATCGGCGTGCC
CAGACGGGACGAGTTCGACATCTGGGGGCAGGGCACCATGGTGACAGTGTCTCTCCGCTCCACCAAGG
GCCCCCTCTGTGTTCCCGCTAGCACCCCTCCAGCAAGTCCACCTCCGGCGGCACCGCTGCTCTGGGCTGC
CTCGTCAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTCTGGAATCTGGCGCCCTGACCAGCGGAGT
GCATACCTTCCCTGCCGTGCTCCAGTCCCTCCGGCCTGTACAGCCTGTCTCTGTCTGACCGTGCCCT
CCAGCTCCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAGTGGAC
AAGCGGGTGGAAACCAAGTCTGCGACACCCACACCTGTCCCCCTTGCCCTGCCCTGAACTGCTGGG
CGGACCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCCGAAG
TGACCTGCGTGCTGGTGGACGTGTCCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTTAATTGCTACGTGGACGGC
GTGGAAGTGCATAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCTACCGGGTGGTGTC
CGTGCTGACCGTGCTGCACAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGG
CCCTGCCTGCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAGCCCCAGGTGTAC
ACCCTGCCCCCTAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGCTT
CTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGCCCGAGAACAACCTACAAGACCACCC
CCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCTGTACTCCAAGCTGACCGTGGAACAAGTCCCGGTGG
CAGCAGGGCAACGTGTTCTCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTC
CCTGTCCCTGTCTCCCGGCAAGTCTGGCGGAGGATCCGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCCTGAGCC
TGCCCGTGACACCTGGCGAGCCTGCCAGCATCAGCTGCAGAAGCAGCCAGAGCCTGCTGCACAGCAAC
GGCTACAACCTACCTGGACTGGTATCTGCAGAAGCCCCGGCCAGTCCCCCAGATCATGATCTACCTGGG
CAGCAACAGAGCCAGCGGCTGCCCCGACAGATTACGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCCTGA
AGATCAGCCGGGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGCATGCAGGCCCTGCAGACCCCCAGA
ACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAGCGGACAGGCCGCGGAGGCTCTGGCGGAGGTGGAAG
CGGAGGCGGAGGAAGTGGCGGAGGCGGCTCTGAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGC
AGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGCGGCTTACCTTCAGCGGCTACATCATGCCC
TGGGTCCGACAGGCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGGTGTCTTACATCTACCCAGCGGCGGCATCAC
CGTGTACGCCGACAGCCTGAAGGGCCGTTTACCATCAGCCGGGACAACAGCAACAACACCTGTACC
TGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCACCCGGCAGCGGTACAGAGGC
CCCAAGTACTACTACTACATGGACGTGTGGGGCAAGGGCACCAACCGTGACCGTGTCCAGCTGAATCTA
GA

10

20

30

40

ATGGGATGGTCCTGCATCATCTGTTTCTGGTGGCTACAGCCACAGGCGTGCACCTCCGACATCCAGAT
GACCCAGTCCCCCTCCACCCTGTCCGCCTCTGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTGCGGCCCTCCC
AGTCCATCTCCAGCTGGCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTAC
AAGGCCAGCACCCCTGGAATCCGGCGTGGCCTCCAGATTCTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCAGATTAC
CCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCGACGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAACACCTACT
GGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAATCAAGCGGACCGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTCATCTTC
CCACCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTGGTCTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCC
CCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTGA
CCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCTCTACCCCTGACCCCTGTCCAAGGCCGACTAC
GAGAAGCACAAAGGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTT
CAACCGGGGCGAGTGCTGATGAGGCGCGCCTTCGCGTCGAGCATGCATCTAGGGCGGCCAATTCGCC
CCTCTCCCCCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGGAATAAGGCCGGTGTGCGTTTGTCT
ATATGTTATTTTCCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCCGAAACCTGGCCCTGTCTTC
TTGACGAGCATTCCTAGGGGTCTTTCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAA
GGAAGCAGTTCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGCTCTGTAGCGACCCCTTTCAGGCAGCGGA
ACCCCCACCTGGCGACAGGTGCCCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAAGGCG
GCACAACCCAGTGCCACGTTGTGAGTTGGATAGTTGTGGAAGAGTCAAATGGCTCTCTTCAAGCGT
ATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCCAGAAGGTACCCCATTTGTATGGGATCTGATCTGGGGCCTCGGT
GCAGATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAAACGCTCTAGGCCCCCCGAACCACGGGGACGTG
GTTTTCTTTGAAAAACACGATGATAATATGGCCACAACCATGGGATGGTCTGCATCATCTGTTTC
TGGTGGCCACAGCCACAGGCGCTCACTCCGAGGTGCAATTGCTGGAATCCGGCGGAGGACTGGTGCAG

10

CCTGGCGGCTCCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCTCCGGCTTACCTTCTCCCACTACATCATGATGTG
GGTGCAGACAGGCTCCTGGCAAGGGGCTGGAATGGGTGTCCGGCATCTACTCTCCGGCGGCATCACCG
TGTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGTTTACCATCTCTCGGGACAACTCCAAGAACACCCTGTACCTG
CAGATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCTACCGGCGGATCGGGCTGCC
CAGACGGGACGAGTTTGACATCTGGGGGCAGGGCACCATGGTGACAGTGTCTCCGCCTCCACCAAGG
GCCCCCTGTGTGTTCCCGCTAGCACCTCCAGCAAGTCCACCTCCGGCGGCACCGCTGCTCTGGGCTGC
CTCGTCAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTTGGAACTCTGGCGCCCTGACCAGCGGAGT
GCATACCTTCCCTGCCGTGCTCCAGTCTTCCGGCCTGTACAGCCTGTCTCTGTGCTGACCGTGCCCT
CCAGCTCCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAAAGTGGAC
AAGCCGGTGAACCCAAGTCTGCGACACCCACACCTGTCCCCCTTGCCCTGCCCTGAACTGCTGGG
CGGACCCAGCGTGTTCTGTTCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCCGAAG
TGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCACGAGGACCTGAAGTGAAGTTTAATTGGTACGTGGACGGC
GTGGAAGTGCATAACGCCAAGACCAAGCCAGAGAGGAACAGTACAACCTACCCGGGTGGTGTG
CGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGAAGGTGTCCAACAAGG
CCCTGCCTGCCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAGCCCCAGGTGTAC
ACCCTGCCCCCTAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAACAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGCTT
CTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGCCCCGAGAACAACCTACAAGACCACC
CCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCTGTACTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGG
CAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTC
CCTGTCCCTGTCTCCCGGCAAGTCTGGCGGAGGATCCGAAGTGCAGCTGCTGGAAGCGGGCGGAGGAC
TGGTGCAGCCTGGAGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGCGGCTTACCTTCAGCGGCTACATC
ATGGCCTGGGTCCGACAGGCTCCAGGCAAGGGCCTGGAATGGGTGTCTTACATCTACCCAGCGGCGG
CATCACCGTGTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC
TGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCACCCGGCAGCGGTAC
AGAGGCCCAAGTACTACTACTACATGGACGTGTGGGGCAAGGGCACACCGTACCGTGTCTAGCGG
AGGCGGAGGATCTGGCGGAGGTGGAAGTGGTGGTGGCGGAAGTGGCGGCGGAGGCAGCGACATCCAGA
TGACCCAGAGCCCCCTGAGCCTGCCCCGTGACACCTGGCGAGCCTGCCAGCATCAGCTGCAGAAGCAGC
CAGAGCCTGCTGCACAGCAACGGCTACAACCTACCTGGACTGGTATCTGCAGAAGCCCCGGCCAGTCCCC
CCAGCTGCTGATCTACCTGGGCAGCAACAGAGCCAGCGGCGTGCCCCGACAGATTACGCGGCAGCGGCT
CCGGCACCGACTTACCCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTATTGCATG
CAGGCCCTGCAGACCCCTGGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAATCAAGAGATGAATCTAGA

20

30

40

ATGGGATGGTCCTGCATCATCCTGTTTCTGGTGGCTACAGCCACAGGCGTGCCTCCGACATCCAGAT
 GACCCAGTCCCCCTCCACCCTGTCCGCCTCTGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTGCGGCCTCCC
 AGTCCATCTCCAGCTGGCTGGCTGGTATCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTAC
 AAGGCCAGCACCCCTGGAATCCGGCGTGCCCTCCAGATTCTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCAGATTAC
 CCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGACGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAACACCTACT
 GGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAGCGGACCGTGCCGCTCCCTCCGTGTTTCATCTTC
 CCACCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCCTCCGTGGTCTGCCTGCTGAACAACCTTACCC
 CCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCAGGAATCCGTGA
 CCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCTCTACCCCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTAC
 GAGAAGCACAAGGTGTACGCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTT
 CAACCGGGGCGAGTGCTGATGAGGCGCGCCTTCGCGTGCAGCATGCATCTAGGGCGGCCAATTCCGCC
 CCTCTCCCCCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGGAATAAGGCCGGTGTGCGTTTGTCT
 ATATGTTATTTTCCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCCGAAACCTGGCCCTGTCTTC
 TTGACGAGCATTTCTAGGGGTCTTTCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAA
 GGAAGCAGTTCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGTCTGTAGCGACCCTTTGCAGGCAGCGGA
 ACCCCCCACCTGGCGACAGGTGCCCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAAGGCG
 GCACAACCCAGTGCCACGTTGTGAGTTGGATAGTTGTGGAAAGAGTCAAATGGCTCTCTTCAAGCGT
 ATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCCAGAAGGTACCCCATTTGTATGGGATCTGATCTGGGGCCTCCGT
 GCAGATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAAACGTCTAGGCCCCCCGAACCACGGGGACGTG

10

GTTTTCTTTGAAAAACACGATGATAATATGGCCACAACCATGGGATGGTCCTGCATCATCCTGTTTC
 TGGTGGCCACAGCCACAGGCGCTCACTCCGAGGTGCAATTGCTGGAATCCGGCGGAGGACTGGTGACG
 CCTGGCGGCTCCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCTCCGGCTTACCTTCTCCCACTACATCATGATGTG
 GGTGCGACAGGCTCCTGGCAAGGGGCTGGAATGGGTGTCCGGCATCTACTCCTCCGGCGGCATCACCG
 TGTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCTCGGGACAACTCCAAGAACACCCTGTACCTG
 CAGATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCTACCGGCGGATCGGGCTGCC
 CAGACGGGACGAGTTCGACATCTGGGGGCGAGGACACCATGGTGACAGTGTCTCCTCCGCCTCCACCAAGG
 GCCCCCTCTGTGTTCCCGCTAGCACCTTCCAGCAAGTCCACCTCCGGCGGCACCGCTGCTCTGGGCTGC
 CTCGTCAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTTGGAACTCTGGCGCCCTGACCAGCGGAGT
 GCATACCTTCCCTGCGGTGCTCCAGTCTCCTCGGCCTGTACAGCCTGTCTCTGTGCTGACCGTGCCCT
 CCAGCTCCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAAGTGGAC
 AAGCGGGTGGAAACCAAGTCTTGGACACCCACACCTGTCCCCCTTGGCCTGCCCCCTGAACTGCTGGG
 CGGACCCAGCGTGTCTCTGTTCCTGTTCCCCCAAAGGCCAAGGACACCTGATGATCTCCCGGACCCCCGAAG
 TGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCTGAAAGTGAAGTTTAATTGGTACGTGGACGGC
 GTGGAAGTGCATAACGCCAAGACCAAGCCCCAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCTACCGGGTGGTGTG
 CGTGCTGACCGTGTGACACAGGACTGGCTGAACGGCAAGAGTACAAGTGAAGGTGTCCAACAAGG
 CCCTGCGTCCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAGCCCCAGGTGTAC
 ACCCTGCCCCCTAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGCTT
 CTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACCGCCAGCCCGAGAACAACCTACAAGACCACCC
 CCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCTGTACTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGG
 CAGCAGGGCAACGTGTCTCTCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTC
 CCTGTCCCTGTCTCCCGCAAGTCTGGCGGAGGATCCGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCCTGAGCC
 TGCCCGTGACACCTGGCGAGCCTGCCAGCATCAGCTGCAGAAAGCAGCCAGAGCCTGTGACACAGCAAC
 GGCTACAACCTACCTGGACTGCTATCTGCAGAAGCCCCGCCAGTCCCCCAGCTGTGATCTACCTGGG
 CAGCAACAGAGCCAGCGGCTGCCCCGACAGATTACGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCTGA
 AGATCAGCCGGGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGCATGCAGGCCCTGCAGACCCCTGG
 ACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAATCAAGCGGACAGGCGGCGGAGGCTCTGGCGGAGGTGGAAG
 CGGAGGCGGAGGAAGTGGCGGAGGCGGCTCTGAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGC
 AGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCGGCTACATCATGGCC
 TGGGTCCGACAGGCCCTTGCAAGGGCCTGGAATGGGTGTCTACATCTACCCAGCGGCGGCATCAC
 CGTGTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCCTGTACC
 TGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCACCCGGCAGCGGTACAGAGGC
 CCAAGTACTACTACTACATGGACGTGTGGGGCAAGGGCACACCGTGACCGTGTCCAGCTGAATCTA
 GA

20

30

40

【 0 1 4 4 】

上記の二重特異性抗体をコードする p R h 1 発現プラスミドを作製した。0.2 μm 滅菌濾過の後、Life Tech のプロトコル (Life Technologies (商標), Carlsbad, CA) で説明されているように、トランスフェクション試薬として Expi Fectamine (商標) を用いて、Expi 293 (商標) 発現培地中

50

で培養した E x p i 2 9 3 F (商 標) 細胞の d 1 培養物 6 0 m L にプラスミドをトランスフェクトした。L i f e T e c h のプロトコルで説明されているように、2 日目の培養物に E x p i f e c t a m i n e (商 標) トランスフェクションエンハンサー 1 および 2 を添加した。培養物を 3 7 、 8 % C O ₂ 、 1 4 0 r p m にて 7 日目までインキュベートした。遠心分離により培養物を回収した後、0 . 2 μ m 滅菌濾過を行い、4 で保存した。プロテイン A カラムを用いてクローンをバッチ精製した。

【 0 1 4 5 】

様々な濃度の二重特異性抗体を F X I I a サンプルおよび p K a l サンプルのそれぞれと共にインキュベートし、ペプチド基質に共有結合された化学的部分の蛍光の変化を測定することにより、これらのプロテアーゼがペプチド基質を切断する能力を経時的にモニタリングした。この速度論的データの勾配は、酵素によるタンパク質分解の速度と同等であり、次に、阻害剤の濃度に対してプロットされる。次いで、得られたプロットを非線形回帰によって強結合阻害剤の式 (式 1) にフィットさせて見かけの阻害定数 (K _i^{a p p}) を得る。

【 数 1 】

$$v = V_0 \cdot \frac{([E] - [I] - K_i^{app}) + \sqrt{([E] - [I] - K_i^{app})^2 - 4[E] \cdot K_i^{app}}}{2} \quad [式 1]$$

【 0 1 4 6 】

図 1 および図 2 は、試験された二重特異性抗体の各々についての p K a l 阻害活性および F X I I a 阻害活性のプロットを示す。試験されたクローンは全て、p K a l および F X I I a の両方を阻害できた。各二重特異性抗体の K _i^{a p p} p K a l および K _i^{a p p} F X I I a を以下の表 3 に列挙する。

【 0 1 4 7 】

【 表 3 】

表 3 : 二重特異性抗体の見かけの阻害定数

二重特異性抗体	K _i ^{app} pKal (nM)	K _i ^{app} FXIIa (nM)
X120-A01	0.1376 +/- 0.0206	0.0515 +/- 0.0186
X121-E01	0.1593 +/- 0.0245	0.6114 +/- 0.0714
X122-A01	0.1693 +/- 0.0242	6.0467 +/- 0.6497
X122-C01	0.1610 +/- 0.0221	5.6900 +/- 0.6512
対照 M71-F06 IgG	N/A	0.8758 +/- 0.0579

【 0 1 4 8 】

実施例 2 : p K a l および第 X I I a 因子に結合する例示的な二重特異性抗体の構築および特徴付け

抗 p K a l / 抗 F X I I a 二重特異性抗体の別の例示的なセットを以下のように構築した。分子の I g G 部分は、実施例 1 で使用されたものと同じ (すなわち、D X - 2 9 3 0) であった。抗 F X I I a 成分については、3 6 種の単離物を選択し、軽鎖 / 重鎖の方向および重鎖 / 軽鎖の方向の両方で s c F v に変換した。S G G G S (配列番号 2 2) リンカーを用いて s c F v を D X - 2 9 3 0 I g G に融合した。s c F v を構築する際、(G ₄ S) ₄ リンカーを用いて抗 F X I I a の可変重鎖ドメインおよび可変軽鎖ドメインを互いに融合した。二重特異性抗体の配列を以下に提示する。

【 0 1 4 9 】

構築された二重特異性分子は、D X - 2 9 3 0 について以前に決定された値と概して一致する抗 p K a l 活性を示した (表 4) 。一部の値は、おそらく濃度計算における誤差に起因して、または、おそらく凝集に起因して、より低い p K a l に対する効力を示した。

s c F v 成分の抗 F X I I a 活性は、典型的には、おそらく s c F v に付随する固有の不安定性に起因して、以前に決定された値よりも低かった（表 4）。血漿アッセイにおける二重特異性分子の活性は、D X - 2 9 3 0 および抗 F X I I a I g G と比較して顕著な改善を示した。このアッセイにおいて D X - 2 9 3 0 が 7 0 ~ 1 0 0 n M の範囲を示した一方で、抗 F X I I a 親抗体は約 1 0 0 n M の範囲で阻害を示した。試験された二重特異性分子のパネルは、1 ~ 1 0 n M の範囲で阻害を示す（表 5）。

【 0 1 5 0 】

【表 4】

表 4：72 種の二重特異性抗 p K a l + 抗 F X I I a 抗体の、それぞれの標的に対する見かけの K i。D X - 2 9 3 0、および F X I I a の有力候補（559C-M0292-D07）を対照として使用した。

	ScFv の方向	二重特異性 単離物	FXII-名称	抗 pKal 補正 Ki, app (pM)	抗 FXIIa 補正 Ki, app (pM)
1	H→L	620I-X136-C07	559C-M0177-B11	182	699
	L→H	620I-X138-A08	559C-M0177-B11	920	357
2	H→L	620I-X136-B02	559C-M0177-C12	210	2857
	L→H	620I-X139-A12	559C-M0177-C12	2053	4084
3	H→L	620I-X137-B08	559C-M0178-A08	312	409
	L→H	620I-X142-A04	559C-M0178-A08	162	1233
4	H→L	620I-X142-B11	559C-M0179-A03	622	7719
	L→H	620I-X138-B01	559C-M0179-A03	169	6628
5	H→L	620I-X136-C01	559C-M0182-B04	173	957
	L→H	620I-X138-A12	559C-M0182-B04	405	1925
6	H→L	620I-X136-A12	559C-M0182-D04	234	304
	L→H	620I-X138-A02	559C-M0182-D04	206	288
7	H→L	620I-X136-A05	559C-M0182-H01	179	111
	L→H	620I-X138-C07	559C-M0182-H01	196	314
8	H→L	620I-X136-E07	559C-M0182-H04	190	312
	L→H	620I-X142-B02	559C-M0182-H04	156	955
9	H→L	620I-X136-F11	559C-M0183-B12	201	235
	L→H	620I-X142-A05	559C-M0183-B12	160	2140
10	H→L	620I-X136-C09	559C-M0183-C03	173	90

10

20

30

40

	L→H	620I-X138-B10	559C-M0183-C03	75	58
11	H→L	620I-X136-C08	559C-M0183-D08	216	1231
	L→H	620I-X139-A11	559C-M0183-D08	235	3835
12	H→L	620I-X136-D05	559C-M0183-H08	55	13
	L→H	620I-X138-D04	559C-M0183-H08	215	79
13	H→L	620I-X136-G08	559C-M0184-B04	176	28
	L→H	620I-X142-B07	559C-M0184-B04	224	775
14	H→L	620I-X142-A11	559C-M0184-D01	158	195
	L→H	620I-X138-G12	559C-M0184-D01	186	766
15	H→L	620I-X142-A10	559C-M0184-E06	175	389
	L→H	620I-X138-D03	559C-M0184-E06	79	344
16	H→L	620I-X137-C08	559C-M0184-F12	153	34
	L→H	620I-X142-E02	559C-M0184-F12	162	186
17	H→L	620I-X136-E05	559C-M0191-A03	158	172
	L→H	620I-X138-B06	559C-M0191-A03	330	405
18	H→L	620I-X136-A09	559C-M0191-B11	190	X
	L→H	620I-X138-A06	559C-M0191-B11	145	X
19	H→L	620I-X137-A10	559C-M0191-C09	195	205
	L→H	620I-X139-B10	559C-M0191-C09	247	189
20	H→L	620I-X136-A04	559C-M0191-E04	171	230
	L→H	620I-X138-D06	559C-M0191-E04	199	132
21	H→L	620I-X136-C11	559C-M0191-E09	154	38
	L→H	620I-X138-B07	559C-M0191-E09	246	135
22	H→L	620I-X136-A02	559C-M0191-H09	176	136
	L→H	620I-X139-G02	559C-M0191-H09	171	161
23	H→L	620I-X136-B07	559C-M0191-H10	168	99
	L→H	620I-X138-E03	559C-M0191-H10	178	122
24	H→L	620I-X136-G05	559C-M0192-A01	179	100
	L→H	620I-X139-D12	559C-M0192-A01	428	383
25	H→L	620I-X136-A01	559C-M0192-A03	135	224
	L→H	620I-X138-C12	559C-M0192-A03	267	697

10

20

30

40

26	H→L	620I-X136-G10	559C-M0192-D02	171	28
	L→H	620I-X138-D05	559C-M0192-D02	519	139
27	H→L	620I-X136-F07	559C-M0192-D12	183	167
	L→H	620I-X138-A01	559C-M0192-D12	154	465
28	H→L	620I-X142-E09	559C-M0192-F01	174	163
	L→H	620I-X138-D11	559C-M0192-F01	178	443
29	H→L	620I-X136-C05	559C-M0192-F06	150	58
	L→H	620I-X142-A02	559C-M0192-F06	152	63
30	H→L	620I-X136-C04	559C-M0192-F07	205	189
	L→H	620I-X138-F02	559C-M0192-F07	464	794
31	H→L	620I-X136-G04	559C-M0192-G03	179	107
	L→H	620I-X139-G12	559C-M0192-G03	276	252
32	H→L	620I-X136-B11	559C-M0192-G05	172	184
	L→H	620I-X142-D04	559C-M0192-G05	170	414
33	H→L	620I-X136-D06	559C-M0192-H04	176	84
	L→H	620I-X139-A01	559C-M0192-H04	146	53
34	H→L	620I-X136-D12	559C-M0192-H11	179	63
	L→H	620I-X138-F05	559C-M0192-H11	214	147
35	H→L	620I-X136-A11	559C-M0292-D07	199	193
	L→H	620I-X139-E05	559C-M0292-D07	196	172
36	H→L	620I-X136-C12	559C-M0177-A06	217	1567
	L→H	620I-X138-E05	559C-M0177-A06	186	245
37	プレート 1		DX-2930	160	X
	プレート 2		DX-2930	138	X
38	プレート 1		559C-M292-D07	X	36
	プレート 2		559C-M292-D07	X	38

【 0 1 5 1 】

【 表 5 】

表 5：血漿活性化アッセイにおける親抗 F X I I a 単離物と抗 p K a l / 抗 F X I I a 二重特異性分子の比較。血漿を 1：40 に希釈した。阻害剤を希釈血漿に添加した。2.5% エラグ酸を血漿に添加した。2 分後に、トウモロコシトリプシン阻害剤の添加によって活性化をクエンチした。プロ蛍光基質 (profluorescent substrate) の添加によって p K a

10

20

30

40

1 活性を測定した。

		血漿阻害	
		IgG	二重特異性
FXII IgG 単離物名	二重特異性単離物名	IC50 (nM)	IC50/Ki (nM)
559C-M0192-A03	620I-X0136-A01	514	52
559C-M0192-F06	620I-X0136-C05	304	2.6
559C-M0191-E09	620I-X0136-C11	31	1.8
559C-M0192-H11	620I-X0136-D12	101	3
559C-M0192-A01	620I-X0136-G05	198	8

10

【0152】

さらなる解析のために、5種の例示的な候補(620I-X0136-D12、620I-X0136-C05、620I-X0136-C11、620I-X0136-G05および620I-X0136-A01)を選択した。これらの5種の有力候補のうち、620I-X0136-A01については、発現値が低く、サイズ排除クロマトグラフィー(SEC)のトレースにおいて複数種が存在したため、除外した。残りの4種の有力候補については、各単離物が、様々な程度の高分子量凝集体(16~35%)を含んだ(図3)。この凝集体は、濃度依存的であると決定され、scFvドメインを介して相互作用する二量体構造であると仮定された。

【0153】

20

血漿阻害アッセイによって、例示的な二重特異性抗体620I-X0136-D12(D12)を、それが血漿pKa1活性を阻害する能力について評価した。簡潔に説明すると、HMWKの存在下または非存在下で一定量のプレpKa1およびFXIIを含む再構成血漿をアッセイバッファ(20mM Tris-HCl pH7.5、150mM NaCl、1mM EDTA、0.1% PEG-8000および0.1% Triton X-100)で1:40に希釈した。プレpKa1、FXIIおよびHMWKの濃度は、血漿中におけるそれらの正常濃度と同等である。室温で96ウェルマイクロプレートにおいて、阻害剤を様々な濃度で再構成血漿に添加した。次に、25%(終濃度2.5%)の希エラグ酸溶液の添加によって接触活性化を開始させ、マイクロプレートを穏やかに振盪して混合し、室温で2分間進行させ、それにより100nMのCTIを添加した。次に、この混合物10μlを、30で予め平衡化したアッセイバッファ80μlを含む複製的マイクロプレートに移した。次に、この希釈プレートを30でさらに5分インキュベートし、上記のようにPFR-AMCのタンパク質分解を評価したが、ただし、強結合阻害剤のための改変されたMorrissonの式にカーブフィッティングするために、逆算した阻害剤濃度をX軸に用いた(最終的なアッセイ読み取りでは血漿を1:400に希釈した)。この試験の結果を図5(一本鎖HMWK存在下)および図6(HMWK非存在下)に示す。二重特異性抗体は、親IgGの合計よりも良好に振る舞った(特にHMWK存在下)。強結合阻害剤の式を用いて、D12の見かけのKi値がHMWK存在下では8.8nMであり、HMWK非存在下では2.6nMであると決定した。

30

【0154】

40

また、二重特異性抗体候補620I-X0136-D12(D12)を、それがAPTTアッセイにおいて活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)を抗FXIIa抗体(D06)および抗pKa1抗体(H03)と比較して遅延させる能力についても評価した(図7)。簡潔に説明すると、純粋な血漿に1:1混合物となるように阻害剤分子(または対照となる希釈バッファ=25mM HEPES、pH7.5、125mM NaCl)を3種の濃度(25、50、100)で添加し、37で5分間、前平衡化した。この混合物を2×50μlで2つの別個のKC4 Deltaアッセイキュベット(金属ボール有り)に分注した。60秒後に、回転しているキュベットに50μlのaPTT試薬(活性化因子、Pacifific Hemostasis APTT-XL)を添加し、(t=0秒での)APTTの添加から180秒後に50μlのCaCl₂を添加した。KC

50

4 D e l t a 装置は数秒で凝固時間を記録した。

【 0 1 5 5 】

また、二重特異性抗体候補 6 2 0 I - X 0 1 3 6 - D 1 2 (D 1 2) を、それがフィブリン形成を阻害する能力についても評価した (図 8) 。

【 0 1 5 6 】

抗体の配列：この実施例に記載される二重特異性分子は全て、D X - 2 9 3 0 の重鎖と、S G G G S リンカーと、重鎖 / 軽鎖または軽鎖 / 重鎖のいずれかの方向の抗 F X I I a s c F v と、を含む第 1 のポリペプチドを含んだ。また、同じベクターを用いて D X - 2 9 3 0 の軽鎖も発現させた。重鎖 + s c F v の配列のみ、各単離物について列挙する。

【 0 1 5 7 】

【 化 7 】

>DX-2930 軽鎖 (シグナル配列は除く)

DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASTLESGVPSRFSGSGSG
TEFTLTISLQPDFFATYYCQQYNTYWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLN
NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV
TKSFNRGEC (SEQ ID NO: 46)

【 0 1 5 8 】

3 6 種の例示的な抗 F X I I a I g G に由来する二重特異性体

【 化 8 】

>620I-X0136-C07=DX2930 重鎖 + 559C-M0177-B11 L4H scFv

EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESQGGGLVQPGGSLR
LSCAASGFTFSRYIMVWVRQAPGKGLEWVSRIYPSGGYTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR
AEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 51)

>620I-X0138-A08=DX2930 重鎖 + 559C-M0177-B11 H4L scFv

EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGS

FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPGEPA
SISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAED
VGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESQGGGLVQPGGSLRLS
CAASGFTFSRYIMVWVRQAPGKGLEWVSRIYPSGGYTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAE
DTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 52)

>620I-X0136-B02=DX2930 重鎖 + 559C-M0177-C12 L4H scFv

10

20

30

40

EVQLLES GGGGLVQP GGSRLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLES GGGGLVQP GGSRLR
LSCAASGFTFSFYHMHVVRQAPGKGLEWVSRIVPSGGMTRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR
AEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVGYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 53)

10

> 620I-X0139-A12=DX2930 重鎖 + 559C-M0177-C12 H4L scFv

EVQLLES GGGGLVQP GGSRLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPGEP
SISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED
VGYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLES GGGGLVQP GGSRLR
CAASGFTFSFYHMHVVRQAPGKGLEWVSRIVPSGGMTRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE
DTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 54)

20

> 620I-X0137-B08=DX2930 重鎖 + 559C-M0178-A08 L4H scFv

EVQLLES GGGGLVQP GGSRLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLES GGGGLVQP GGSRLR
LSCAASGFTFSFYIMGWVRQAPGKGLEWVSRIVPSGGATQYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR
AEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVGYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 55)

30

> 620I-X0142-A04=DX2930 重鎖 + 559C-M0178-A08 H4L scFv

EVQLLES GGGGLVQP GGSRLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPGEP
SISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED
VGYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLES GGGGLVQP GGSRLR
CAASGFTFSFYIMGWVRQAPGKGLEWVSRIVPSGGATQYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE
DTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 56)

40

> 620I-X0142-B11=DX2930 重鎖 + 559C-M0179-A03 L4H scFv

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
 TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
 SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
 CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS
 HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
 ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
 FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLES GGGGLVQPGGSLR
 LSCAASGFTFSGYIMAWVRQAPGKGLEWVSYIYPSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR
 AEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLP
 VTPGEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
 SRVEAEDIGVYYCMQGRHRPYTFGQGTREIKR (SEQ ID NO: 57)

10

> 620I-X0138-B01=DX2930 重鎖 + 559C-M0179-A03 H4L scFv

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
 TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
 SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
 CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS
 HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
 ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
 FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPGEPA
 SISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED
 IGVYYCMQGRHRPYTFGQGTREIKRTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLES GGGGLVQPGGSLRLS
 CAASGFTFSGYIMAWVRQAPGKGLEWVSYIYPSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE
 DTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 58)

20

> 620I-X0136-C01=DX2930 重鎖 + 559C-M0182-B04 L4H scFv

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
 TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
 SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
 CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS
 HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
 ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
 FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLES GGGGLVQPGGSLR
 LSCAASGFTFSWYVMQWVRQAPGKGLEWVSYIYPSGGHTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR
 AEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLP
 VTPGEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
 SRVEAEDVGYYCMQALQTPWTFGQGTKEIKR (SEQ ID NO: 59)

30

> 620I-X0138-A12=DX2930 重鎖 + 559C-M0182-B04 H4L scFv

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
 TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
 SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
 CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS
 HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
 ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
 FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPGEPA
 SISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED
 VGVYYCMQALQTPWTFGQGTKEIKRTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLES GGGGLVQPGGSLRLS
 CAASGFTFSWYVMQWVRQAPGKGLEWVSYIYPSGGHTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE
 DTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 60)

40

> 620I-X0136-A12=DX2930 重鎖 + 559C-M0182-D04 L4H scFv

EVQLLES G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S H Y I M M W V R Q A P G K G L E W V S G I Y S S G G I T V Y A D S V K G R F
T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A Y R R I G V P R R D E F D I W G Q G T M V T V S S A S T K G P S V F P L A P S
S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I
C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V D V S
H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T
I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S
F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K S G G G S E V Q L L E S G G G L V Q P G G S L R
L S C A A S G F T F S M Y T M N W V R Q A P G K G L E W V S R I Y P S G G K T L Y A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R
A E D T A V Y Y C T R Q R Y R G P K Y Y Y Y M D V W G K G T T V T V S S G G G S G G G S G G G S G G G S D I Q M T Q S P L S L P
V T P G E P A S I S C R S S Q S L L H S N G Y N Y L D W Y L Q K P G Q S P Q L L I Y L G S N R A S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I
S R V E A E D V G V Y Y C M Q A L Q T P W T F G Q G T K V E I K R (SEQ ID NO: 61)

10

> 620I-X0138-A02=DX2930 重鎖 + 559C-M0182-D04 H4L scFv

EVQLLES G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S H Y I M M W V R Q A P G K G L E W V S G I Y S S G G I T V Y A D S V K G R F
T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A Y R R I G V P R R D E F D I W G Q G T M V T V S S A S T K G P S V F P L A P S
S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I
C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V D V S
H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T
I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S
F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K S G G G S D I Q M T Q S P L S L P V T P G E P A
S I S C R S S Q S L L H S N G Y N Y L D W Y L Q K P G Q S P Q L L I Y L G S N R A S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I S R V E A E D
V G V Y Y C M Q A L Q T P W T F G Q G T K V E I K R T G G G S G G G S G G G S G G G S E V Q L L E S G G G L V Q P G G S L R L S
C A A S G F T F S M Y T M N W V R Q A P G K G L E W V S R I Y P S G G K T L Y A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E
D T A V Y Y C T R Q R Y R G P K Y Y Y Y M D V W G K G T T V T V S S (SEQ ID NO: 62)

20

> 620I-X0136-A05=DX2930 重鎖 + 559C-M0182-H01 L4H scFv

EVQLLES G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S H Y I M M W V R Q A P G K G L E W V S G I Y S S G G I T V Y A D S V K G R F
T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A Y R R I G V P R R D E F D I W G Q G T M V T V S S A S T K G P S V F P L A P S
S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I
C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V D V S
H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T
I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S
F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K S G G G S E V Q L L E S G G G L V Q P G G S L R
L S C A A S G F T F S R Y V M H W V R Q A P G K G L E W V S S I W P S G G M T K Y A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R
A E D T A V Y Y C T R Q R Y R G P K Y Y Y Y M D V W G K G T T V T V S S G G G S G G G S G G G S G G G S D I Q M T Q S P L S L P
V T P G E P A S I S C R S S Q S L L H S N G Y N Y L D W Y L Q K P G Q S P Q L L I Y L G S N R A S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I
S R V E A E D V G V Y Y C M Q A L Q T P W T F G Q G T K V E I K R (SEQ ID NO: 63)

30

> 620I-X0138-C07=DX2930 重鎖 + 559C-M0182-H01 H4L scFv

EVQLLES G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S H Y I M M W V R Q A P G K G L E W V S G I Y S S G G I T V Y A D S V K G R F
T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A Y R R I G V P R R D E F D I W G Q G T M V T V S S A S T K G P S V F P L A P S
S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I
C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V D V S
H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T
I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S
F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K S G G G S D I Q M T Q S P L S L P V T P G E P A
S I S C R S S Q S L L H S N G Y N Y L D W Y L Q K P G Q S P Q L L I Y L G S N R A S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I S R V E A E D
V G V Y Y C M Q A L Q T P W T F G Q G T K V E I K R T G G G S G G G S G G G S G G G S E V Q L L E S G G G L V Q P G G S L R L S
C A A S G F T F S R Y V M H W V R Q A P G K G L E W V S S I W P S G G M T K Y A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E
D T A V Y Y C T R Q R Y R G P K Y Y Y Y M D V W G K G T T V T V S S (SEQ ID NO: 64)

40

> 620I-X0136-E07=DX2930 重鎖 + 559C-M0182-H04 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLR
LSCAASGFTFSWYIMGWVRQAPGKGLEWVSRIYPSGGITFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLR
AEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKTTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 65)

10

> 620I-X0142-B02=DX2930 重鎖 + 559C-M0182-H04 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTGEP
SISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAED
VGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLS
CAASGFTFSWYIMGWVRQAPGKGLEWVSRIYPSGGITFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAE
DTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKTTVTVSS (SEQ ID NO: 66)

20

> 620I-X0136-F11=DX2930 重鎖 + 559C-M0183-B12 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLR
LSCAASGFTFSWYVMYWRQAPGKGLEWVSRIYPSGGITHYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLR
AEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKTTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 67)

30

> 620I-X0142-A05=DX2930 重鎖 + 559C-M0183-B12 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTGEP
SISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAED
VGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLS
CAASGFTFSWYVMYWRQAPGKGLEWVSRIYPSGGITHYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAE
DTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKTTVTVSS (SEQ ID NO: 68)

40

> 620I-X0136-C09=DX2930 重鎖 + 559C-M0183-C03 L4H scFv

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLES GGGGLVQPGGSLR
LSCAASGFTFSWYNMHVVRQAPGKGLEWVSYISPSGGKTKYTDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR
AEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 69)

10

> 620I-X0138-B10=DX2930 重鎖 + 559C-M0183-C03 H4L scFv

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPGEPA
SISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED
VGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLES GGGGLVQPGGSLRLS
CAASGFTFSWYNMHVVRQAPGKGLEWVSYISPSGGKTKYTDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE
DTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 70)

20

> 620I-X0136-C08=DX2930 重鎖 + 559C-M0183-D08 L4H scFv

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLES GGGGLVQPGGSLR
LSCAASGFTFSRYIMGWVRQAPGKGLEWVSSIYPSGGVTRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR
AEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 71)

30

> 620I-X0139-A11=DX2930 重鎖 + 559C-M0183-D08 H4L scFv

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPGEPA
SISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED
VGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLES GGGGLVQPGGSLRLS
CAASGFTFSRYIMGWVRQAPGKGLEWVSSIYPSGGVTRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE
DTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 72)

40

> 620I-X0136-D05=DX2930 重鎖 + 559C-M0183-H08 L4H scFv

EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSCALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESQGGGLVQPGGSLR
LSCAASGFTFSRYIMHWVRQAPGKGLEWVSSIYPSGGVTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR
AEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVGVIYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 73)

> 620I-X0138-D04=DX2930 重鎖 + 559C-M0183-H08 H4L scFv

10

EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSCALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPGEPA
SISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAED
VGVIYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGCGSCGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLESQGGGLVQPGGSLRLS
CAASGFTFSRYIMHWVRQAPGKGLEWVSSIYPSGGVTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE
DTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 74)

> 620I-X0136-G08=DX2930 重鎖 + 559C-M0184-B04 L4H scFv

20

EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESQGGGLVQPGGSLR
LSCAASGFTFSFYSMHWVRQAPGKGLEWVSRIYPSGGVTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR
AEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVGVIYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 75)

> 620I-X0142-B07=DX2930 重鎖 + 559C-M0184-B04 H4L scFv

30

EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPGEPA
SISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAED
VGVIYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLESQGGGLVQPGGSLRLS
CAASGFTFSFYSMHWVRQAPGKGLEWVSRIYPSGGVTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE
DTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 76)

> 620I-X0142-A11=DX2930 重鎖 + 559C-M0184-D01 L4H scFv

40

EVQLLES GGGGLVQP GGSRLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLES GGGGLVQP GGSRLR
LSCAASGFTFSFYVMGWVRQAPGKGLEWVSRIYPSGGLTQYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE
AEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVGYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 77)

10

> 620I-X0138-G12=DX2930 重鎖 + 559C-M0184-D01 H4L scFv

EVQLLES GGGGLVQP GGSRLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPGEPAS
SISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED
VGYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLES GGGGLVQP GGSRLRLS
CAASGFTFSFYVMGWVRQAPGKGLEWVSRIYPSGGLTQYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE
DTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 78)

20

> 620I-X0142-A10=DX2930 重鎖 + 559C-M0184-E06 L4H scFv

EVQLLES GGGGLVQP GGSRLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLES GGGGLVQP GGSRLR
LSCAASGFTFSWYVMQWVRQAPGKGLEWVSSIWPSGGKTVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE
AEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVGYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 79)

30

> 620I-X0138-D03=DX2930 重鎖 + 559C-M0184-E06 H4L scFv

EVQLLES GGGGLVQP GGSRLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPGEPAS
SISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED
VGYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLES GGGGLVQP GGSRLRLS
CAASGFTFSWYVMQWVRQAPGKGLEWVSSIWPSGGKTVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE
DTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 80)

40

> 620I-X0137-C08=DX2930 重鎖 + 559C-M0184-F12 L4H scFv

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLES GGGGLVQPGGSLR
LSCAASGFTFSWYVMHWVRQAPGKGLEWVSGIWPSSGGRTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR
AEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVGYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 81)

10

> 620I-X0142-E02=DX2930 重鎖 + 559C-M0184-F12 H4L scFv

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPGEPA
SISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAED
VGYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLES GGGGLVQPGGSLRLS
CAASGFTFSWYVMHWVRQAPGKGLEWVSGIWPSSGGRTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE
DTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 82)

20

> 620I-X0136-E05=DX2930 重鎖 + 559C-M0191-A03 L4H scFv

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLES GGGGLVQPGGSLR
LSCAASGFTFSQYIMHWVRQAPGKGLEWVSSIYPSSGGNTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR
AEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVGYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 83)

30

> 620I-X0138-B06=DX2930 重鎖 + 559C-M0191-A03 H4L scFv

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPGEPA
SISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAED
VGYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLES GGGGLVQPGGSLRLS
CAASGFTFSQYIMHWVRQAPGKGLEWVSSIYPSSGGNTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE
DTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 84)

40

> 620I-X0136-A09=DX2930 重鎖 + 559C-M0191-B11 H4L scFv

EVQLLES G GGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLES G GGLVQPGGSLR
LSCAASGFTFS (SEQ ID NO: 85)

> 620I-X0138-A06=DX2930 重鎖 + 559C-M0191-B11 H4L scFv

10

EVQLLES G GGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPA
SISCRSSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED
VGYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLES G GGLVQPGGSLRLS
CAASGFTFS (SEQ ID NO: 86)

> 620I-X0137-A10=DX2930 重鎖 + 559C-M0191-C09 L4H scFv

20

EVQLLES G GGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLES G GGLVQPGGSLR
LSCAASGFTFSPIYIMHWVRQAPGKGLEWVSRIYPSGGATVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR
AEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED
VGYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 87)

30

> 620I-X0139-B10=DX2930 重鎖 + 559C-M0191-C09 H4L scFv

EVQLLES G GGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPA
SISCRSSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED
VGYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLES G GGLVQPGGSLRLS
CAASGFTFSPIYIMHWVRQAPGKGLEWVSRIYPSGGATVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE
DTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 88)

40

> 620I-X0136-A04=DX2930 重鎖 + 559C-M0191-E04 L4H scFv

EVQLLES G GGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLES G GGLVQPGGSLR
LSCAASGFTFSMYIMHWVRQAPGKGLEWVSSIYPSSGMTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR
AEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVGYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 89)

10

> 620I-X0138-D06=DX2930 重鎖 + 559C-M0191-E04 H4L scFv

EVQLLES G GGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPGEP
SISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED
VGYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLES G GGLVQPGGSLRLS
CAASGFTFSMYIMHWVRQAPGKGLEWVSSIYPSSGMTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE
DTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 90)

20

> 620I-X0136-C11=DX2930 重鎖 + 559C-M0191-E09 L4H scFv

EVQLLES G GGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS

FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLES G GGLVQPGGSLR
LSCAASGFTFSWYSMHWRQAPGKGLEWVSVIYPSSGKTRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR
AEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVGYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 91)

30

> 620I-X0138-B07=DX2930 重鎖 + 559C-M0191-E09 H4L scFv

EVQLLES G GGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPGEP
SISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED
VGYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLES G GGLVQPGGSLRLS
CAASGFTFSWYSMHWRQAPGKGLEWVSVIYPSSGKTRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE
DTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 92)

40

> 620I-X0136-A02=DX2930 重鎖 + 559C-M0191-H09 L4H scFv

EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESQGGGLVQPGGSLR
LSCAASGFTFSMYVMHWVRQAPGKGLEWVSSIYPSSGGLTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR
AEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSSSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 93)

10

> 620I-X0139-G02=DX2930 重鎖 + 559C-M0191-H09 H4L scFv

EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPGEP
SISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED
VGYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGCGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLESQGGGLVQPGGSLRLS
CAASGFTFSMYVMHWVRQAPGKGLEWVSSIYPSSGGLTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE
DTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 94)

20

> 620I-X0136-B07=DX2930 重鎖 + 559C-M0191-H10 L4H scFv

EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESQGGGLVQPGGSLR
LSCAASGFTFSWYTMHWVRQAPGKGLEWVSSIYPSSGGLTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR
AEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSSSGCGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 95)

30

> 620I-X0138-E03=DX2930 重鎖 + 559C-M0191-H10 H4L scFv

EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPGEP
SISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED
VGYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLESQGGGLVQPGGSLRLS
CAASGFTFSWYTMHWVRQAPGKGLEWVSSIYPSSGGLTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE
DTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 96)

40

> 620I-X0136-G05=DX2930 重鎖 + 559C-M0192-A01 L4H scFv

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLES GGGGLVQPGGSLR
LSCAASGFTFSHYVMHWVRQAPGKGLEWVSSIYPSSGGLTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR
AEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVGYYCMQALQTPWTFGQGTKEIKR (SEQ ID NO: 97)

10

> 620I-X0139-D12=DX2930 重鎖 + 559C-M0192-A01 H4L scFv

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTGEPAS
SISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED
VGYYCMQALQTPWTFGQGTKEIKRTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLES GGGGLVQPGGSLRLS
CAASGFTFSHYVMHWVRQAPGKGLEWVSSIYPSSGGLTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE
DTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 98)

20

> 620I-X0136-A01=DX2930 重鎖 + 559C-M0192-A03 L4H scFv

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS

HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLES GGGGLVQPGGSLR
LSCAASGFTFSWYVMQWVRQAPGKGLEWVSSIYPSSGGMTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR
AEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVGYYCMQALQTPWTFGQGTKEIKR (SEQ ID NO: 99)

30

> 620I-X0138-C12=DX2930 重鎖 + 559C-M0192-A03 H4L scFv

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTGEPAS
SISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED
VGYYCMQALQTPWTFGQGTKEIKRTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLES GGGGLVQPGGSLRLS
CAASGFTFSWYVMQWVRQAPGKGLEWVSSIYPSSGGMTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE
DTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 100)

40

> 620I-X0136-G10=DX2930 重鎖 + 559C-M0192-D02 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
 TISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
 SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI
 CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVS
 HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
 ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
 FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLR
 LSCAASGFTFSQYVMHWVRQAPGKGLEWVSSIWPSSGGFTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLR
 AEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLP
 VTPGEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
 SRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 101)

10

> 620I-X0138-D05=DX2930 重鎖 + 559C-M0192-D02 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
 TISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
 SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI
 CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVS
 HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
 ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
 FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPGEPA
 SISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED
 VGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLS
 CAASGFTFSQYVMHWVRQAPGKGLEWVSSIWPSSGGFTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAE
 DTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 102)

20

> 620I-X0136-F07=DX2930 重鎖 + 559C-M0192-D12 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
 TISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
 SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI
 CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVS
 HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
 ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
 FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLR
 LSCAASGFTFSWYIMQWVRQAPGKGLEWVSSIYPSSGGRTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLR
 AEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLP
 VTPGEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
 SRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 103)

30

> 620I-X0138-A01=DX2930 重鎖 + 559C-M0192-D12 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
 TISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
 SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI
 CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVS
 HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
 ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
 FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPGEPA
 SISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED
 VGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLS
 CAASGFTFSWYIMQWVRQAPGKGLEWVSSIYPSSGGRTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAE
 DTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 104)

40

> 620I-X0142-E09=DX2930 重鎖 + 559C-M0192-F01 L4H scFv

EVQLLES GGGGLVQP GGSRLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLES GGGGLVQP GGSRLR
LSCAASGFTFSWYNMAWVRQAPGKGLEWVSRIYPSGGMTQYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLR
AEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGT TTVTVSSGGCGSGCGGSGCGGSDIQMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSQSL LHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG SNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVG VYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 105)

10

> 620I-X0138-D11=DX2930 重鎖 + 559C-M0192-F01 H4L scFv

EVQLLES GGGGLVQP GGSRLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTGEP
SISCRSSQSL LHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG SNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAED
VG VYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGGSGGGGSEVQLLES GGGGLVQP GGSRLR
CAASGFTFSWYNMAWVRQAPGKGLEWVSRIYPSGGMTQYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAE
DTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGT TTVTVSS (SEQ ID NO: 106)

20

> 620I-X0136-C05=DX2930 重鎖 + 559C-M0192-F06 L4H scFv

EVQLLES GGGGLVQP GGSRLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLES GGGGLVQP GGSRLR
LSCAASGFTFSWYVMHWVRQAPGKGLEWVSRIYPSGGKTSYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLR
AEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGT TTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGGSDIQMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSQSL LHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG SNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVG VYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 107)

30

> 620I-X0142-A02=DX2930 重鎖 + 559C-M0192-F06 H4L scFv

EVQLLES GGGGLVQP GGSRLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTGEP
SISCRSSQSL LHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG SNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAED
VG VYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGGSGGGGSEVQLLES GGGGLVQP GGSRLR
CAASGFTFSWYVMHWVRQAPGKGLEWVSRIYPSGGKTSYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAE
DTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGT TTVTVSS (SEQ ID NO: 108)

40

> 620I-X0136-C04=DX2930 重鎖 + 559C-M0192-F07 L4H scFv

EVQLLES G GGLVQP G GSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
 TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
 SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
 CNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVS
 HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDNLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
 ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
 FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLES G GGLVQP G GSLR
 LSCAASGFTFSQYVMSWVRQAPGKGLEWVSRIYPSGGVTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR
 AEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLP
 VTPGEPASISCRSSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
 SRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 109)

10

> 620I-X0138-F02=DX2930 重鎖 + 559C-M0192-F07 H4L scFv

EVQLLES G GGLVQP G GSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
 TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
 SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
 CNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVS
 HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDNLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
 ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
 FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTGEP
 ASISCRSSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED
 VGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLES G GGLVQP G GSLRLS
 CAASGFTFSQYVMSWVRQAPGKGLEWVSRIYPSGGVTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE
 DTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 110)

20

> 620I-X0136-G04=DX2930 重鎖 + 559C-M0192-G03 L4H scFv

EVQLLES G GGLVQP G GSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
 TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
 SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
 CNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVS
 HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDNLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
 ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
 FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLES G GGLVQP G GSLR
 LSCAASGFTFSQYNMVWRQAPGKGLEWVSRIWPSGGKTTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR
 AEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLP
 VTPGEPASISCRSSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
 SRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 111)

30

> 620I-X0139-G12=DX2930 重鎖 + 559C-M0192-G03 H4L scFv

EVQLLES G GGLVQP G GSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
 TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
 SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
 CNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVS
 HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDNLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
 ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
 FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTGEP
 ASISCRSSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED
 VGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLES G GGLVQP G GSLRLS
 CAASGFTFSQYNMVWRQAPGKGLEWVSRIWPSGGKTTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE
 DTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 112)

40

> 620I-X0136-B11=DX2930 重鎖 + 559C-M0192-G05 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLR
LSCAASGFTFSQYTMVWVRQAPGKGLEWVSRIYPSGGVTQYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLR
AEDTAVYYCTRQRYRGPKY YYYMDVWGKGTTTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSQSL LHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG SNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVGVIYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 113)

10

> 620I-X0142-D04=DX2930 重鎖 + 559C-M0192-G05 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLP VTPGEPA
SISCRSSQSL LHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG SNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED
VGVIYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLP VTPGEPA
CAASGFTFSQYTMVWVRQAPGKGLEWVSRIYPSGGVTQYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAE
DTAVYYCTRQRYRGPKY YYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO: 114)

20

> 620I-X0136-D06=DX2930 重鎖 + 559C-M0192-H04 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLR
LSCAASGFTFSQYVMHWVRQAPGKGLEWVSRIYPSGGLTNYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLR
AEDTAVYYCTRQRYRGPKY YYYMDVWGKGTTTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSQSL LHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG SNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVGVIYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 115)

30

> 620I-X0139-A01=DX2930 重鎖 + 559C-M0192-H04 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLP VTPGEPA
SISCRSSQSL LHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG SNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED
VGVIYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLS
CAASGFTFSQYVMHWVRQAPGKGLEWVSRIYPSGGLTNYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAE
DTAVYYCTRQRYRGPKY YYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO: 116)

40

> 620I-X0136-D12=DX2930 重鎖 + 559C-M0192-H11 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLR
LSCAASGFTFSQYVMHWVRQAPGKGLEWVSSIWPSSGGHTRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR
AEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 117)

10

> 620I-X0138-F05=DX2930 重鎖 + 559C-M0192-H11 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPGEP
SISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED
VGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLS
CAASGFTFSQYVMHWVRQAPGKGLEWVSSIWPSSGGHTRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE
DTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 118)

20

> 620I-X0136-A11=DX2930 重鎖 + 559C-M0292-D07 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLR
LSCAASGFTFSNYVMHWVRQAPGKGLEWVSSIWPSSGKTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR
AEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDAWGQGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 119)

30

> 620I-X0139-E05=DX2930 重鎖 + 559C-M0292-D07 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPGEP
SISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED
VGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLS
CAASGFTFSNYVMHWVRQAPGKGLEWVSSIWPSSGKTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE
DTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDAWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO: 120)

40

> 620I-X0136-C12=DX2930 重鎖 + 559C-M0177-A06 L4H scFv

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLES GGGGLVQPGGSLR
LSCAASGFTFSFYSMHWVRQAPGKGLEWVSRIYPSGGITSYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR
AEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 121)

10

>620I-X0138-E05=DX2930 重鎖 + 559C-M0177-A06 H4L scFv

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPGEP
ASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED
VGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLES GGGGLVQPGGSLRLS
CAASGFTFSFYSMHWVRQAPGKGLEWVSRIYPSGGITSYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE
DTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 122)

20

【0159】

実施例3：ジスルフィド結合を含む例示的な二重特異性抗体の構築および特徴付け

これらの凝集体に対抗するために、VHの残基44 (C₄₄)とVLの残基100 (C₁₀₀)との間のジスルフィド結合を4種のクローン620I-X0177-A01 (620I-X0173-A11)、620I-X0177-C01 (620I-X0173-C07)、620I-X0177-E01 (620I-X0173-E07)および620I-X0177-G01 (620I-X0173-G11)のscFv領域内に設計した。ジスルフィドを有するscFvを含む二重特異性体のSEC分析は、高分子量のピークの劇的な減少を示し、その範囲は1~2%に低下した(図4)。この凝集の減少は、試験された全ての濃度にわたって当てはまった。これらの二重特異性クローンのピアコアは、pKa1およびFXIIaに対する強い特異的結合を示した(図9)。これらの単離物の血漿阻害は0.5~8nMの範囲にわたっていた(図10)。

30

【0160】

本明細書に記載されるような血漿阻害アッセイを実施して二重特異性抗体620I-X0177-A01の阻害活性を決定した。血漿を1:40に希釈し、希釈した血漿に阻害剤を添加した。2.5%(終濃度)の希エラグ酸溶液を血漿に添加した。約2分後、CTIの添加によって血漿の活性化をクエンチした。本明細書に記載されるようなプロ蛍光基質の添加によって血漿中のpKa1活性を測定した。このようにして得られた結果を図11に示した。

40

【0161】

クローン620I-X0177-A01の阻害活性を、単独の親抗体または組み合わせた親抗体のいずれかの阻害活性と比較した。親IgGと二重特異性抗体との間で親和性の低下が観察された(図12)。

【0162】

さらに、本明細書に記載される方法に従って、APT Tに対する様々な二重特異性抗体の能力を評価した。試験された抗体は全て、APT Tの用量依存的遅延を示した(図13)。

50

【0163】

抗体クローン1A01(抗FXIIa)および7A01(pKa1およびFXIIの両方に対して二重特異性)の、フィブリン析出を阻害する能力も調べた。結果を図14に示す。フィブリン析出の用量依存的阻害が観察された。

【0164】

全般的に見れば、酵素阻害アッセイにより、例示的な二重特異性抗体620I-X0177-A01の抗pKa1成分および抗FXIIa成分のそれぞれの見かけのKi値は、親分子と類似しており、それぞれ389pMおよび73pMという見かけのKi値である、ということが決定された。驚くべきことに、接触活性化希釈血漿におけるさらなる実験は、この二重特異性抗体がpKa1生成の阻止において、親抗体の1:1の組み合わせよりも5倍超有効であり、親抗体のいずれか単独よりも20倍超有効であるということを明らかにする。これらのデータは、二重特異性抗体が、接触系活性化の正のフィードバックループを遮断する能力に関して比類なく強力であるということを示唆する。

10

【0165】

ジスルフィド拘束scFvを有する二重特異性抗体の配列を以下に提示する。

【0166】

【化9】

>620I-X0173-A11(620I-X0177-A01) = 620I-X0136-D12 生殖系列 + 遺伝子最適化 scFv + ジスルフィド安定化

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSQYVMHWVRQAPGKCLEWVSSIWPSGGHTRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGCGTKVEIKR (SEQ ID NO: 47)

20

>620I-X0173-C07(620I-X0177-C01) = 620I-X0136-C05 生殖系列 + 遺伝子最適化 scFv + ジスルフィド安定化

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSWYVMHWVRQAPGKCLEWVSSIYPSGGKTSYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGCGTKVEIKR (SEQ ID NO: 48)

30

40

>620I-X0173-E07(620I-X0177-E01) = 620I-X0136-C11 生殖系列 + 遺伝子最適化 scFv + ジスルフィド安定化

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSWYVMHWVRQAPGKCLEWVSSIYPSGGKTSYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGCGTKVEIKR (SEQ ID NO: 49)

HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGLVQPGGSLR
LSCAASGFTFSWYSMHWVRQAPGKCLEWVSIVPSGGKTRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR
AEDTAVYYCARQRYRGPKYYYMDVWGQGTITVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGCGTKVEIKR (SEQ ID NO: 49)

> 620I-X0173-G11 (620I-X0177-G01) = 620I-X0136-G05 生殖系列 + 遺伝子最適化 scFv +
ジスルフィド安定化

EVQLLESGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLCGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGLVQPGGSLR
LSCAASGFTFSHYVMHWVRQAPGKCLEWVSSIYPSGGLTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR
AEDTAVYYCARQRYRGPKYYYMDVWGQGTITVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGCGTKVEIKR (SEQ ID NO: 50)

【 0 1 6 7 】

実施例 4 : C 末端の変異および / または欠失を有する例示的な二重特異性抗体の構築お
よび特徴付け

例示的な二重特異性抗体 (6 2 0 I - X 0 1 7 7 - A 0 1、6 2 0 I - X 0 1 7 7 - C
0 1、6 2 0 I - X 0 1 7 7 - E 0 1、6 2 0 I - X 0 1 7 7 - G 0 1) を、生産および
製造可能性について評価した。分析の前に様々な pH にて 4 8 時間、室温で二重特異性抗
体のサンプルをインキュベートした。次に、サンプルを、例えば図 1 5 で二重特異性抗体
6 2 0 I - X 0 1 7 7 - A 0 1 について示されるように、S D S - P A G E タンパク質ゲ
ル上で分離するか、またはサイズ排除クロマトグラフィーによって分析した (図 1 6 A ~
図 1 6 C)。還元条件下では、3 0 k D a および 5 0 k D a のバンドの pH 依存的増加な
らびに 8 0 k D a のバンドの減少が観察された (図 1 5、レーン 2 ~ 6)。これらの予想
外のバンドの出現は、二重特異性抗体が、予期せぬタンパク質分解的切断を受けていると
いうことを示した。非還元条件下における同じ 3 0 k D a の種の出現は、切断された種が
単量体であるということを示した (図 1 5、レーン 6 ~ 8)。S E C 分析によって、正し
く形成された二重特異性抗体を表すピークが 1 5 . 7 ~ 1 6 . 1 分に、D X - 2 9 3 0 を
表すピークが 1 7 分に、切断された単鎖抗体を表すピークが 2 2 分に観察された (図 1 6
)。

【 0 1 6 8 】

I g G 1 重鎖 C 末端リジン残基を除去するか当該リジンをグリシン残基に変異させるよ
うに、例示的な二重特異性抗体を設計した。

【 0 1 6 9 】

第 1 の抗体の重鎖の C 末端リジン残基の欠失または C 末端リジンのグリシン残基への変
異を含む二重特異性抗体の第 1 のポリペプチドのアミノ酸配列を以下に提示する。これら
の第 1 のポリペプチドは、D X - 2 9 3 0 の軽鎖と対を成してよい。

【 0 1 7 0 】

【 化 1 0 】

> 620I-X0179-A09 (I g G - C 末端 L y s の欠失を有する 620I-X0177-A01)

10

20

30

40

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRL
SCAASGFTFSQYVMHWVRQAPGKCLEWVSSIWPSGGHTRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRA
EDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPLSLPV
TPGEPASISCRSSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS
RVEAEDVGVIYCMQALQTPWTFGCGTKVEIKR (SEQ ID NO: 141)

10

> 620I-X0179-C01 (I g G - C末端L y s のG l y への変異を有する 620I-X0177-A01)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLR
LSCAASGFTFSQYVMHWVRQAPGKCLEWVSSIWPSGGHTRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR
AEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVGVIYCMQALQTPWTFGCGTKVEIKR (SEQ ID NO: 142)

20

> 620I-X0179-E05 (I g G - C末端L y s の欠失を有する 620I-X0177-C01)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRL
SCAASGFTFSWYVMHWVRQAPGKCLEWVSSIYPSGGKTSYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRA
EDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPLSLP
TPGEPASISCRSSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS
RVEAEDVGVIYCMQALQTPWTFGCGTKVEIKR (SEQ ID NO: 143)

30

> 620I-X0179-G05 (I g G - C末端L y s のG l y への変異を有する 620I-X0177-C01)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLR
LSCAASGFTFSWYVMHWVRQAPGKCLEWVSSIYPSGGKTSYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR
AEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVGVIYCMQALQTPWTFGCGTKVEIKR (SEQ ID NO: 144)

40

> 620I-X0180-A05 (I g G - C末端L y s の欠失を有する 620I-X0177-G01)

EVQLLES GGGGLVQP GGSRLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGSEVQLLES GGGGLVQP GGSRLRL
SCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKCLEWVSSIYP SGGLTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRA
EDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGT TTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPLSLPV
TPGEPASISCRSSQSLH SNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG SNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS
RVEAEDVG VYYCMQALQTPWTFGCGTKVEIKR (SEQ ID NO: 145)

10

> 620I-X0180-C11 (I g G - C 末端 L y s の G l y への変異を有する 620I-X0177-G01)

EVQLLES GGGGLVQP GGSRLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGSEVQLLES GGGGLVQP GGSRLR
LSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKCLEWVSSIYP SGGLTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLR
AEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGT TTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSQSLH SNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG SNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVG VYYCMQALQTPWTFGCGTKVEIKR (SEQ ID NO: 146)

20

> 620I-X0180-E07 (I g G - C 末端 L y s の欠失を有する 620I-X0177-E01)

EVQLLES GGGGLVQP GGSRLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGSEVQLLES GGGGLVQP GGSRLRL
SCAASGFTFSWYS MHWRQAPGKCLEWVSVIYP SGGKTRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLR
AEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGT TTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPLSLP
TPGEPASISCRSSQSLH SNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG SNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS
RVEAEDVG VYYCMQALQTPWTFGCGTKVEIKR (SEQ ID NO: 147)

30

> 620I-X0180-G03 (I g G - C 末端 L y s のグリシンへの変異を有する 620I-X0177-E01)

EVQLLES GGGGLVQP GGSRLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGSEVQLLES GGGGLVQP GGSRLR
LSCAASGFTFSWYS MHWRQAPGKCLEWVSVIYP SGGKTRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLR
AEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGT TTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSQSLH SNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG SNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVG VYYCMQALQTPWTFGCGTKVEIKR (SEQ ID NO: 148)

40

【 0 1 7 1 】

第 1 の抗体の重鎖の C 末端リジン残基の欠失または C 末端リジンのグリシン残基への変異を含む例示的な二重特異性抗体の各々を、 t = 0 において SDS - PAGE ゲル上で二重特異性抗体を分離することによって評価した (図 1 7) 。 また、 Amicon 10 kDa 分子量カットオフスピフィルター (10 kDa molecular weight cut-off spin filte

50

r)を用いて例示的な二重特異性抗体の各々のサンプルを50 mM HEPES (pH 7.5)中で約10 mg/mLまで濃縮し、室温で48時間インキュベートした。次いで、サンプルをSDS-PAGEゲルによって評価した(図18)。それぞれの場合において、C末端リジンの欠失または変異は、二重特異性抗体からのscFvの切断を低減または排除した。

【0172】

また、分析用サイズ排除クロマトグラフィーによっても二重特異性体のサンプルを評価し、C末端リジンの欠失または変異が二重特異性抗体の切断を低減するということを実証した(図19~図20)。また、抗体をEndoLys Cと共に37℃で1時間インキュベートした後、SDS-PAGEゲル上で分離することによっても、二重特異性抗体の切断を評価した(図21)。50 kDaにあるタンパク質のバンドはDX-2930のFab部分に相当し、100 kDaにあるバンドはFc-scFvのホモ二量体に相当し、これは、重鎖C末端リジンの欠失または変異が二重特異性抗体の切断を低減するということをさらに示した。

【0173】

また、C末端リジンの欠失または変異を含む例示的な二重特異性抗体を、DX2930およびDX-4012対照と比較して、pKa1、FXIIaおよび活性化血漿を阻害する能力について特徴付けした(表1、図22~図24)。例示的な二重特異性抗体の各々は、親の二重特異性抗体(IgG1重鎖C末端リジンの欠失または変異を含まない二重特異性抗体)と機能的に同等であることが見出された。変異は、二重特異性抗体の電荷不均一性を低減する可能性がある。

【0174】

【表6】

表6：生化学アッセイで使用された二重特異性抗体ならびにDX-2930およびDX-4012対照IgGの概要。pKa1の阻害、FXIIaの阻害および活性化血漿の阻害を測定するためにアッセイを実施した。

R-名	X-名 (またはDX-)	親二重特異性体	IgG-C末端 Lys 変異	FXII scFv	pKa1 阻害 Ki,app (pM)	FXIIa 阻害 Ki,app (pM)	活性化血漿 阻害 IC50/Ki,app (nM)
620I-R0052-A01	620I-X0179-A09	620I-X0177-A01	Lys 欠失	559C-M0192-H11 GL/GO/ジスルフィド H4L scFv	225	90	7.6 (Ki)
620I-R0052-C01	620I-X0179-C01	620I-X0177-A01	Lys-Gly	559C-M0192-H11 GL/GO/ジスルフィド H4L scFv	243	108	7.8 (Ki)
620I-R0052-E01	620I-X0179-E05	620I-X0177-C01	Lys 欠失	559C-M0192-F06 GL/GO/ジスルフィド H4L scFv	203	99	7.4 (Ki)
620I-R0052-G01	620I-X0179-G05	620I-X0177-C01	Lys-Gly	559C-M0192-F06	226	52	8.1 (Ki)

				GL/GO/ジスル フィド H4L scFv			
620I-R0052- E03	620I-X0180- E07	620I-X0177- E01	Lys 欠失	559C-M0191-E 09 GL/GO/ジスル フィド H4L scFv	243	92	3.0 (Ki)
620I-R0052- G03	620I-X0180- G03	620I-X0177- E01	Lys-Gly	559C-M0191-E 09 GL/GO/ジスル フィド H4L scFv	208	71	2.8 (Ki)
620I-R0052- A03	620I-X0180- A05	620I-X0177- G01	Lys 欠失	559C-M0192-A 01 GL/GO/ジスル フィド H4L scFv	254	116	7.3 (Ki)
620I-R0052- C03	620I-X0180- C11	620I-X0177- G01	Lys-Gly	559C-M0192-A 01 GL/GO/ジスル フィド H4L scFv	232	140	9.2 (Ki)
	DX-2930				127, 131, 151	n/a	90, 68, 74, 74, 66 (IC50)
	DX-4012				n/a	8, 2, 9	279, 291 (IC50)

10

20

【 0 1 7 5 】

代替的に、または追加的に、上記の抗 F X I I a s c F v の C 末端の L y s - A r g (K R) モチーフを除去できる。第 1 の抗体の重鎖の C 末端リジン残基の欠失または C 末端リジンのグリシン残基への変異と s c F v の C 末端のリジン - アルギニン残基の欠失とを含む例示的な二重特異性抗体のポリペプチドのアミノ酸配列を以下に提示する。

30

【 0 1 7 6 】

【 化 1 1 】

> 620I-X0186-C05 (I g G - C 末端 L y s 欠失および C 末端 K R 除去を伴う 620I-X0177-A01)

EVQLLES G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S H Y I M M W V R Q A P G K G L E W V S G I Y S S G G I T V Y A D S V K G R F
T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A Y R R I G V P R R D E F D I W G Q G T M V T V S S A S T K G P S V F P L A P S
S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I
C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S
H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T
I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N C Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S
F F L Y S K L T V D K S R W Q Q C N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L P G S G G G S E V Q L L E S G G C L V Q P G G S L R L
S C A A S G F T F S Q Y V M H W V R Q A P G K C L E W V S S I W P S G G H T R Y A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A
E D T A V Y Y C A R Q R Y R G P K Y Y Y M D V W G Q G T T V T V S S G G G S G G G S G G G S G G G S D I V M T Q S P L S L P V
T P G E P A S I S C R S S Q S L L H S N G Y N Y L D W Y L Q K P G Q S P Q L L I Y L G S N R A S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I S
R V E A E D V G V Y Y C M Q A L Q T P W T F G C G T K V E I (SEQ ID NO: 151)

40

> 620I-X0185-C01 (I g G - C 末端 L y s のグリシンへの変異およびC末端KR除去を伴う620I-X0177-A01)

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF

TISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLR
LSCAASGFTFSQYVMHWVRQAPGKCLEWVSSIWPSGGHTRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLR
AEDTAVYYCARQRYRGPKY YYYMDVWGQGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVG VYYCMQALQTPWTFGCGTKVEI (SEQ ID NO: 152)

10

> 620I-X0186-E05 (I g G - C 末端 L y s 欠失およびC末端KR除去を伴う620I-X0177-C01)

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRL
SCAASGFTFSWYVMHWVRQAPGKCLEWVSSIYPSGGKTSYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLR
AEDTAVYYCARQRYRGPKY YYYMDVWGQGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKIS
RVEAEDVG VYYCMQALQTPWTFGCGTKVEI (SEQ ID NO: 153)

20

> 620I-X0185-E01 (I g G - C 末端 L y s のグリシンへの変異およびC末端KR除去を伴う620I-X0177-C01)

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLR
LSCAASGFTFSWYVMHWVRQAPGKCLEWVSSIYPSGGKTSYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLR
AEDTAVYYCARQRYRGPKY YYYMDVWGQGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVG VYYCMQALQTPWTFGCGTKVEI (SEQ ID NO: 154)

30

> 620I-X0186-A05 (I g G - C 末端 L y s 欠失およびC末端KR除去を伴う620I-X0177-G01)

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS

40

FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRL
SCAASGFTF SHYVMHWVRQAPGKCLEWVSSIYP SGGLTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRA
EDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGT TTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPLSLPV
TPGEPASISCRSSQSL LHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG SNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS
RVEAEDVG VYYCMQALQTPWTFGCGTKVEI (SEQ ID NO: 155)

> 620I-X0185-A03 (I g G - C 末端 L y s のグリシンへの変異および C 末端 K R 除去を伴う 620I-X0177-G01)

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF SHYIMMWVRQAPGKLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLR
LSCAASGFTF SHYVMHWVRQAPGKCLEWVSSIYP SGGLTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLR
AEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGT TTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSQSL LHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG SNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS
SRVEAEDVG VYYCMQALQTPWTFGCGTKVEI (SEQ ID NO: 156)

10

> 620I-X0186-G07 (I g G - C 末端 L y s 欠失および C 末端 K R 除去を伴う 620I-X0177-E01)

20

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF SHYIMMWVRQAPGKLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRL
SCAASGFTF SWYSMHVVRQAPGKCLEWVSVIYP SGGKTRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRA
EDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGT TTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPLSLPV
TPGEPASISCRSSQSL LHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG SNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS
RVEAEDVG VYYCMQALQTPWTFGCGTKVEI (SEQ ID NO: 157)

30

> 620I-X0185-G01 (I g G - C 末端 L y s のグリシンへの変異および C 末端 K R 除去を伴う 620I-X0177-E01)

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF SHYIMMWVRQAPGKLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLR
LSCAASGFTF SWYSMHVVRQAPGKCLEWVSVIYP SGGKTRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLR
AEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGT TTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSQSL LHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG SNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS
SRVEAEDVG VYYCMQALQTPWTFGCGTKVEI (SEQ ID NO: 158)

40

【 0 1 7 7 】

上記のポリペプチドは D X 2 9 3 0 の軽鎖と対を成して、やはり本開示の範囲内に属する二重特異性抗体を形成できる。

【 0 1 7 8 】

他の実施形態

本明細書で開示される特徴は全て、任意の組み合わせで組み合わせられてよい。本明細書で開示される特徴はそれぞれ、同じ目的、同等の目的または類似の目的を果たす代替的特徴で置き換えられてよい。従って、特に明記しない限り、開示される特徴はそれぞれ、同

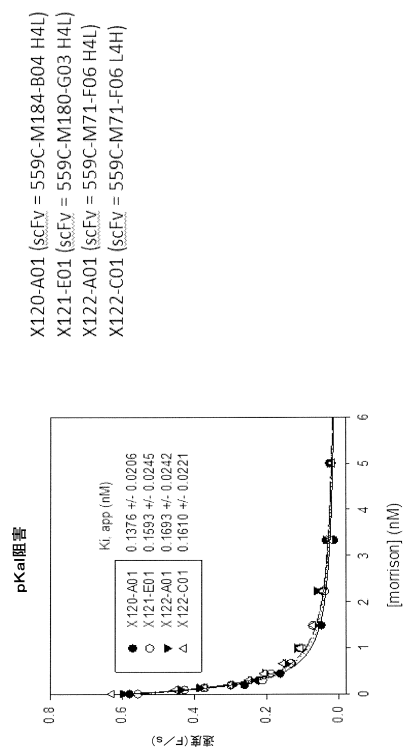
50

等または類似の特徴の一般的な連なりの一例に過ぎない。

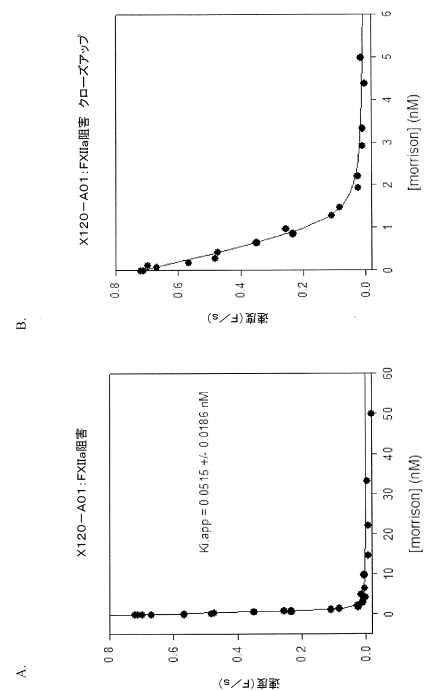
【 0 1 7 9 】

以上の説明から、当業者は、本発明の本質的な特徴を容易に確認でき、それらの趣旨および範囲から逸脱することなく、様々な用途および条件に適合させるために本発明の様々な変更および改変を行うことができる。従って、他の実施形態も特許請求の範囲内に属する。

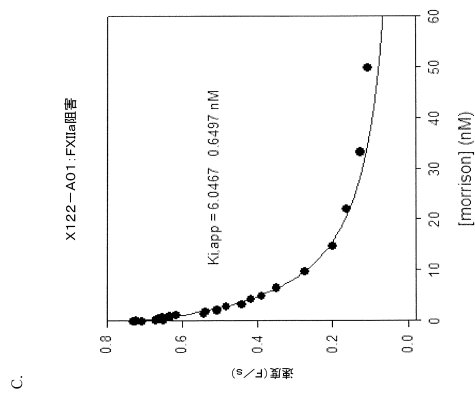
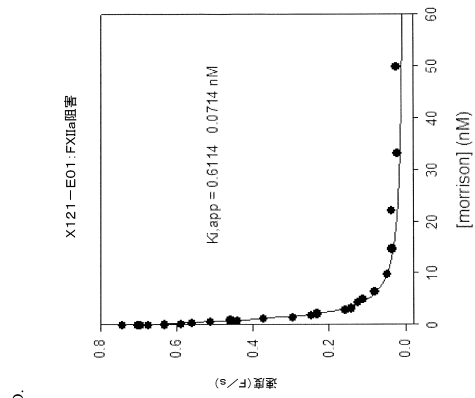
【 図 1 】



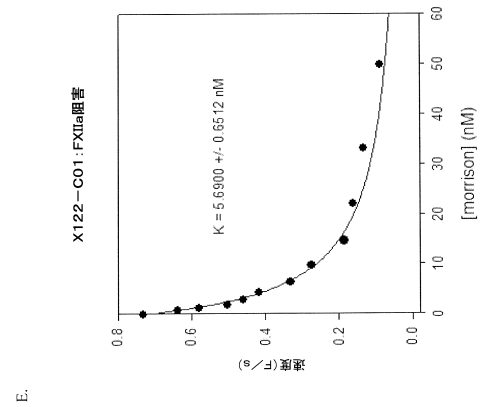
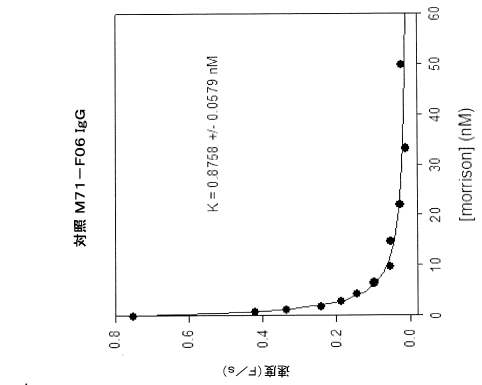
【 図 2 - 1 】



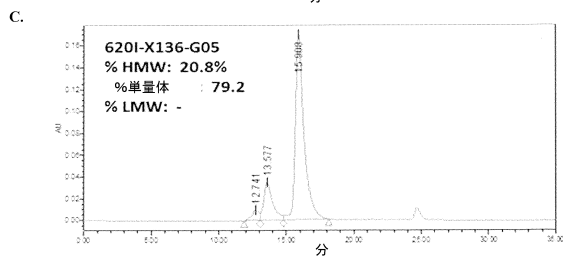
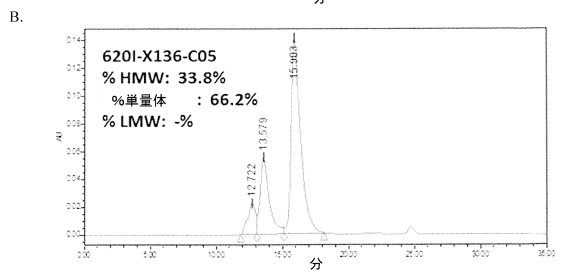
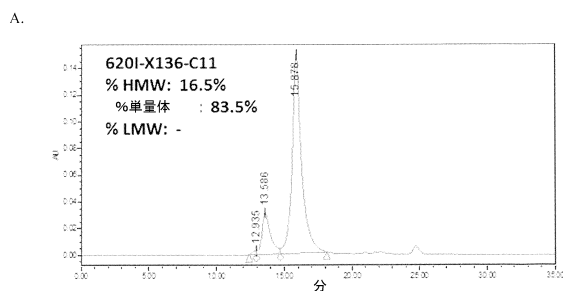
【図 2 - 2】



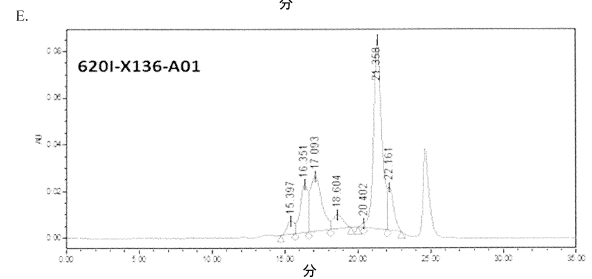
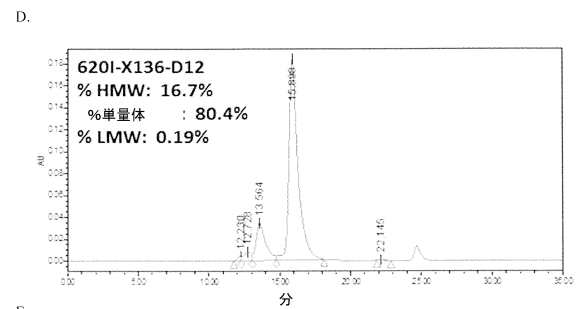
【図 2 - 3】



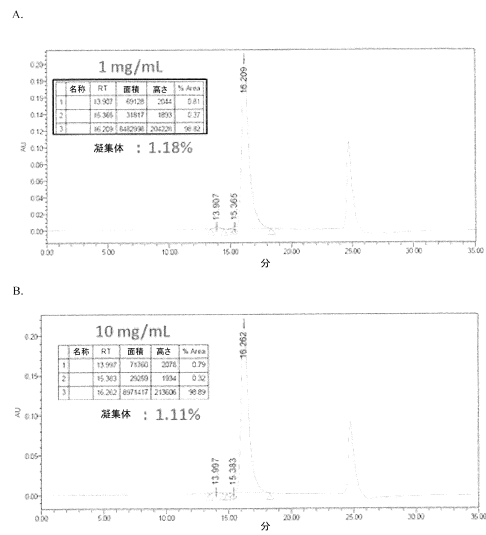
【図 3 - 1】



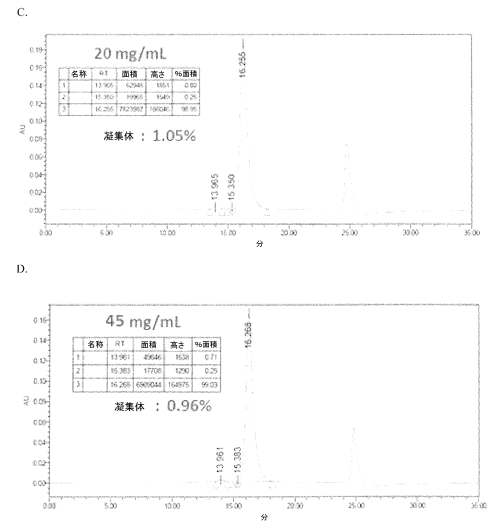
【図 3 - 2】



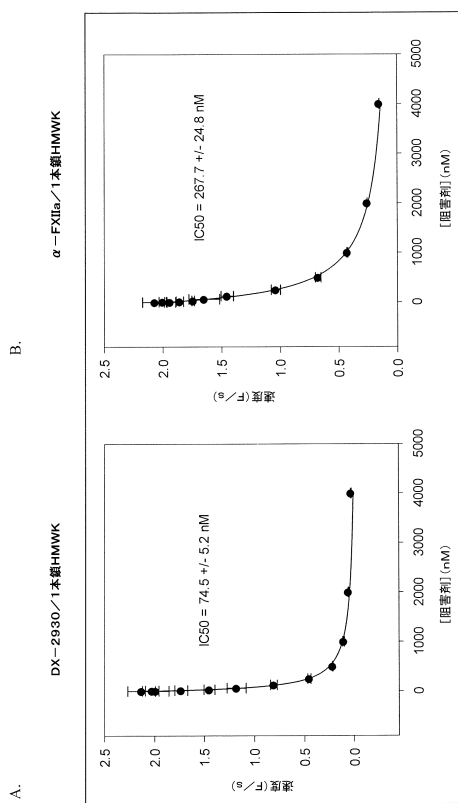
【図 4 - 1】



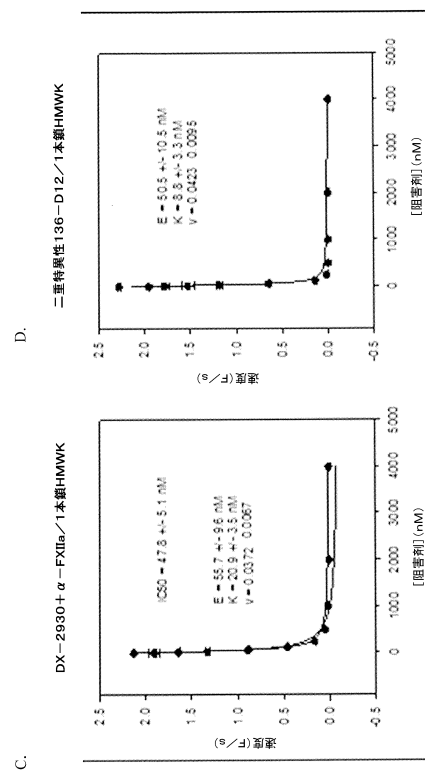
【図 4 - 2】



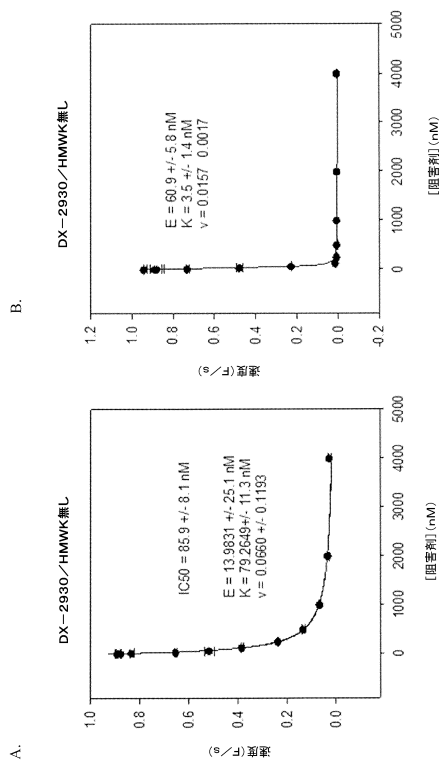
【図 5 - 1】



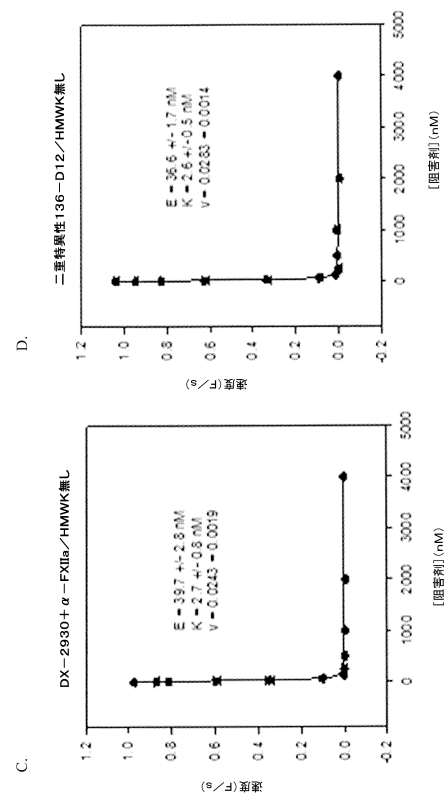
【図 5 - 2】



【図 6 - 1】



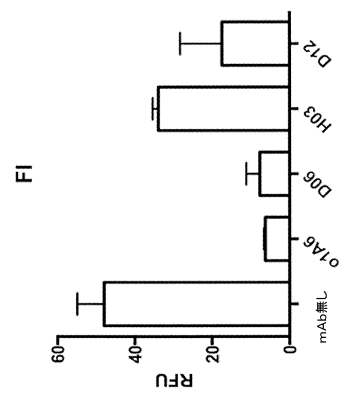
【図 6 - 2】



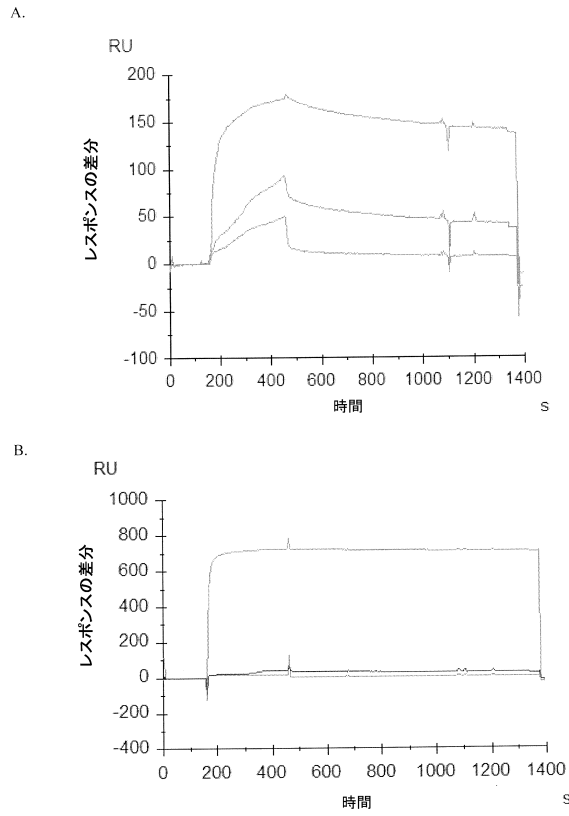
【図 7】



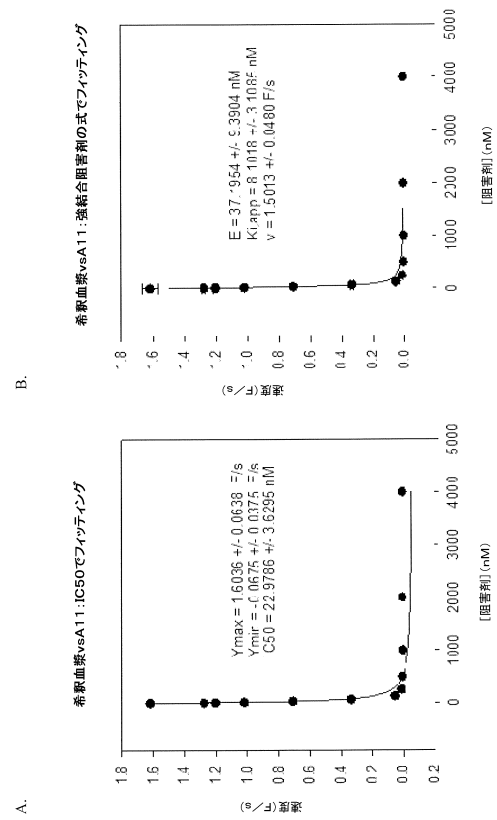
【図 8】



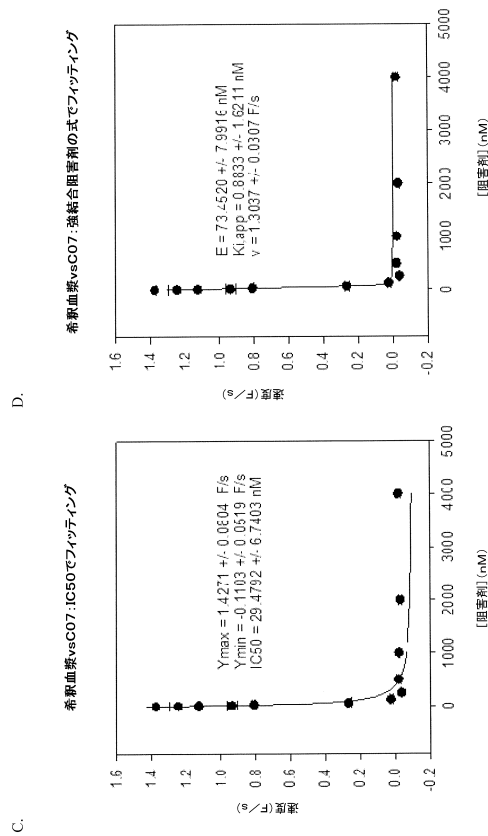
【図 9】



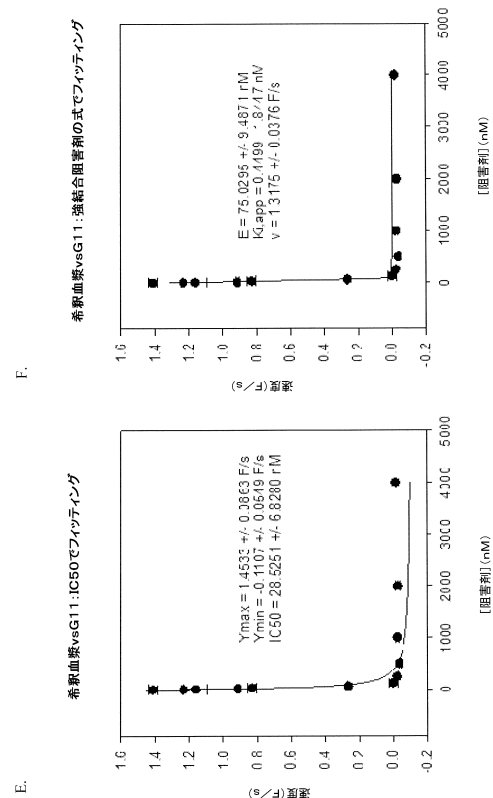
【図 10 - 1】



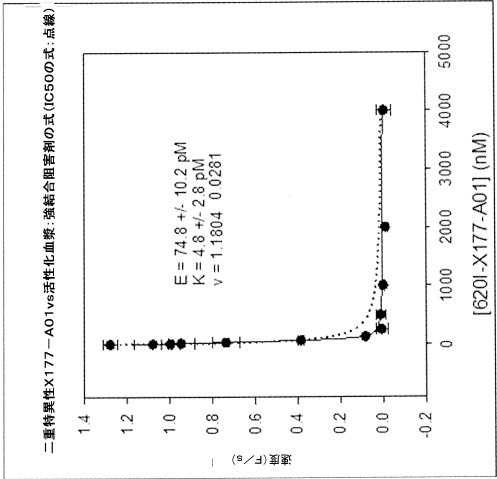
【図 10 - 2】



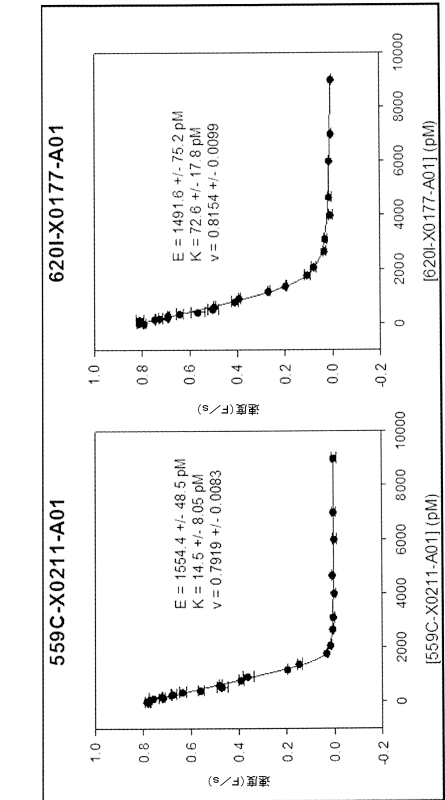
【図 10 - 3】



【図 1 1】

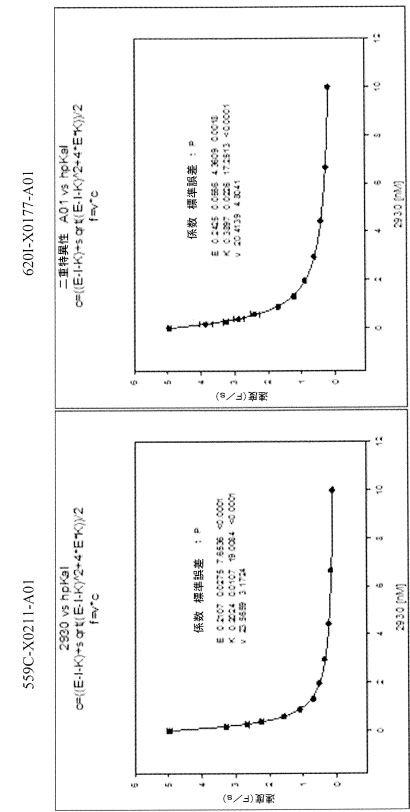


【図 1 2 - 1】



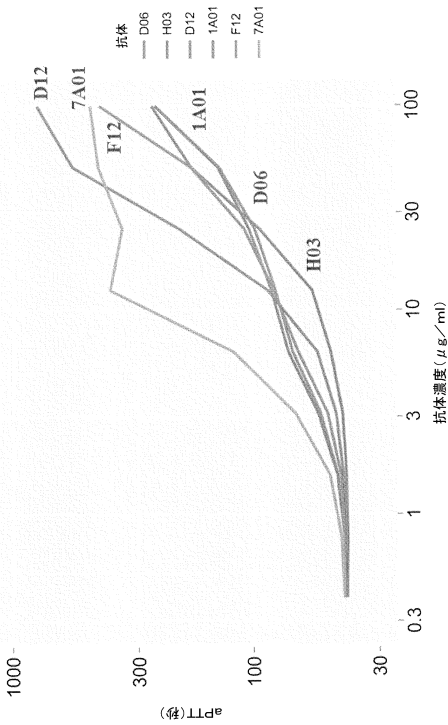
A.

【図 1 2 - 2】

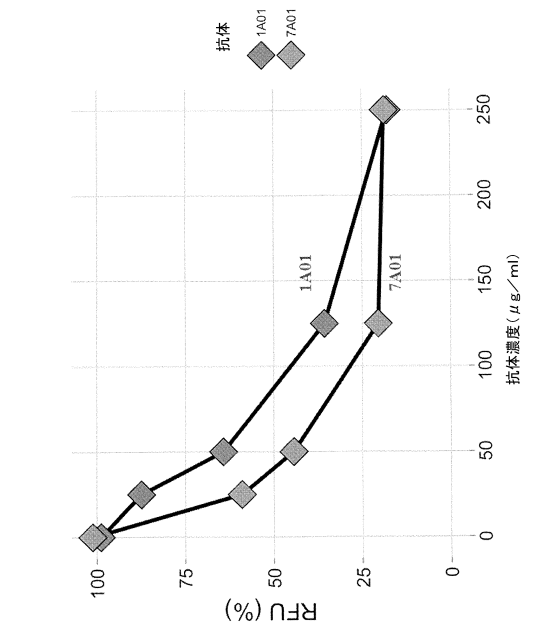


B.

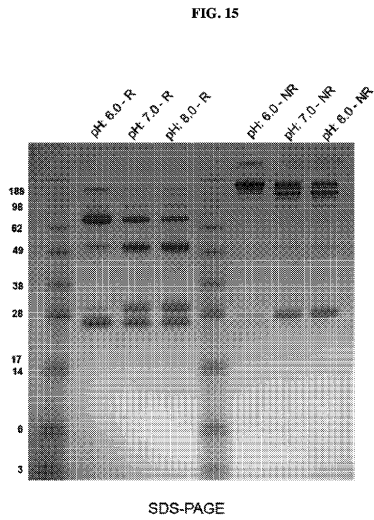
【図 1 3】



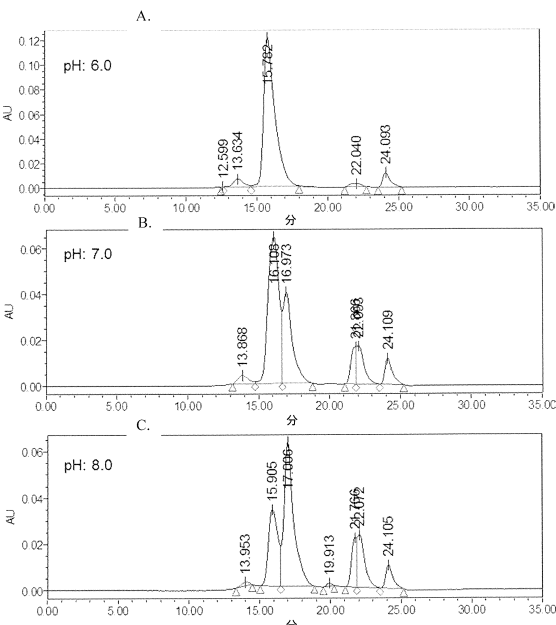
【図 14】



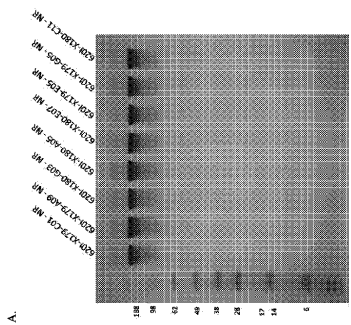
【図 15】



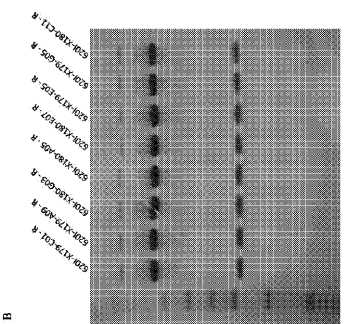
【図 16】



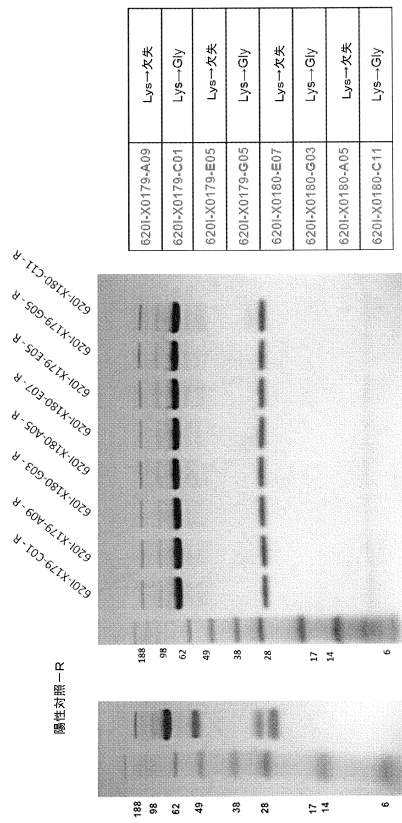
【図 17 A】



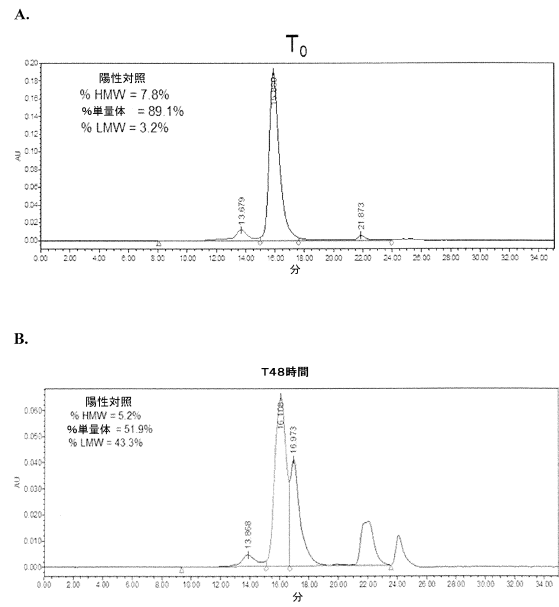
【図 17 B】



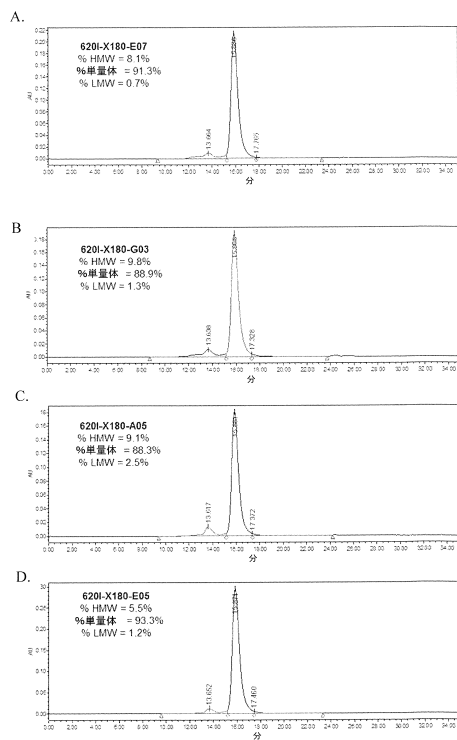
【図 18】



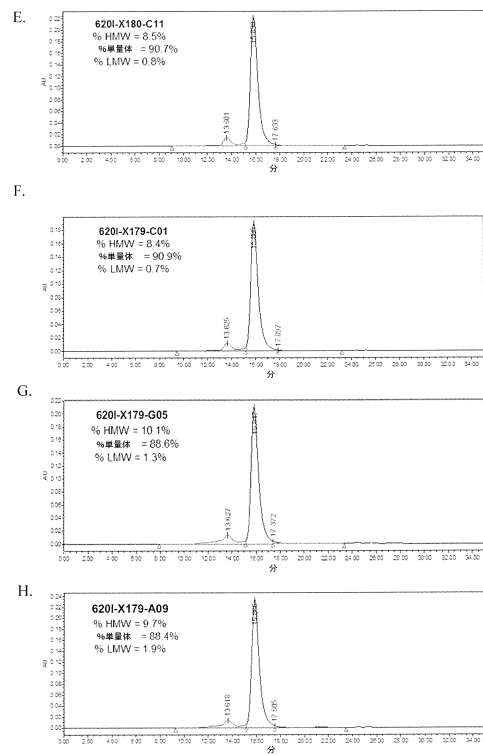
【図 19】



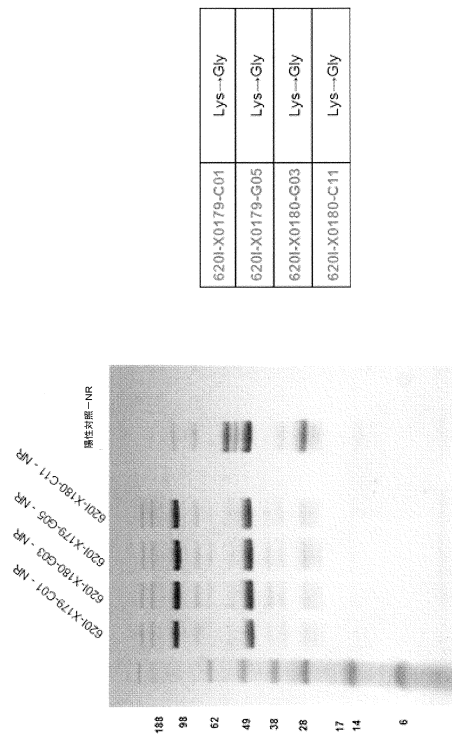
【図 20 - 1】



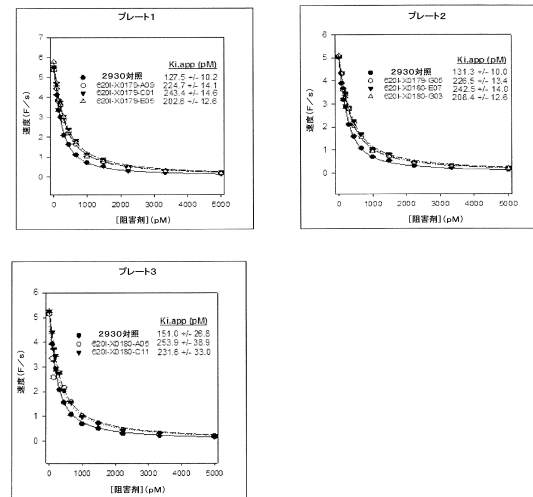
【図 20 - 2】



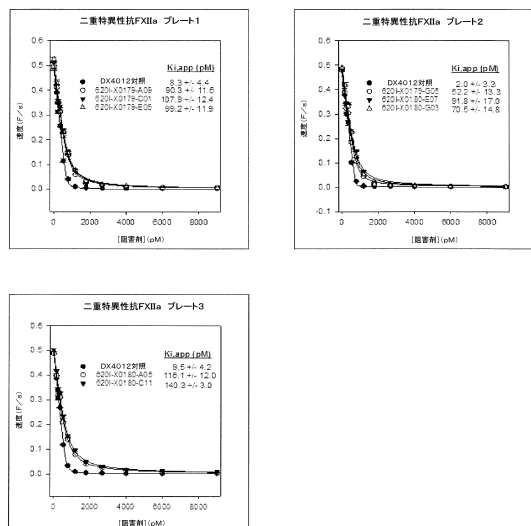
【図 2 1】



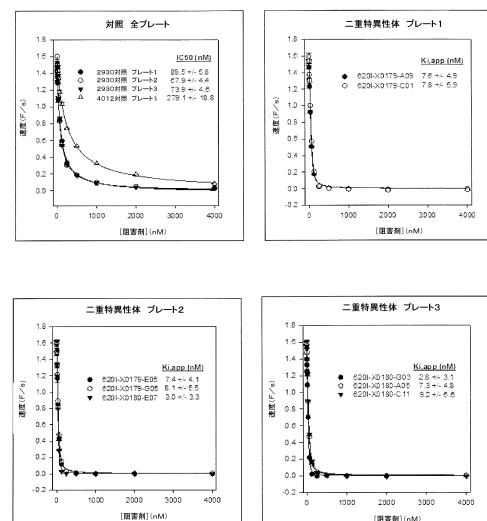
【図 2 2】



【図 2 3】



【図 2 4】



【配列表】

0006744313000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
C 1 2 N	5/10	(2006.01)	C 1 2 N 5/10
C 1 2 P	21/08	(2006.01)	C 1 2 P 21/08
C 0 7 K	16/36	(2006.01)	C 0 7 K 16/36
A 6 1 K	39/395	(2006.01)	A 6 1 K 39/395 D
A 6 1 P	7/10	(2006.01)	A 6 1 P 7/10
A 6 1 P	7/04	(2006.01)	A 6 1 P 7/04

(31)優先権主張番号 62/261,609

(32)優先日 平成27年12月1日(2015.12.1)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

- (72)発明者 カマウ, ステファン, アール.
アメリカ合衆国, マサチューセッツ州 0 1 8 2 4, チェルムズフォード, 1 0 シカモア ストリート
- (72)発明者 ニクソン, アンドリュー
アメリカ合衆国, マサチューセッツ州 0 2 3 3 9, ハノーバー, 4 1 エバーグリーン レーン
- (72)発明者 カストラベリ, ニクサ
アメリカ合衆国, マサチューセッツ州 0 2 4 8 1, ウェルズリー, 1 2 ウェアランド ロード
- (72)発明者 ケニストン, ジョン, エー.
アメリカ合衆国, マサチューセッツ州 0 2 0 4 3, ヒングラム, 8 ロングメドウ ロード
- (72)発明者 コンレー, グレゴリー, ピー.
アメリカ合衆国, マサチューセッツ州 0 2 4 7 4, アーリントン, 7 3 フレモント ストリート
- (72)発明者 マソン, シャウナ
アメリカ合衆国, マサチューセッツ州 0 2 4 7 4, アーリントン, 7 3 フレモント ストリート
- (72)発明者 リンドバーグ, アリソン, ピー.
アメリカ合衆国, マサチューセッツ州 0 2 4 7 4, アーリントン, シャープ1エー, 1 4 マグノリア ストリート
- (72)発明者 コパチ, クリストファー
アメリカ合衆国, ロードアイランド州 0 2 8 6 4, カンバーランド, 4 1 ロッキー クレストロード
- (72)発明者 アデルマン, ブルト
アメリカ合衆国, マサチューセッツ州 0 1 7 4 2, コンコルド, 2 1 0 オールド ピカードロード

審査官 松本 淳

- (56)参考文献 特表2014-506257(JP, A)
特表2014-523253(JP, A)
特表2016-525551(JP, A)
国際公開第2014/019644(WO, A1)
国際公開第2013/051294(WO, A1)
特表2017-501968(JP, A)
特表2016-513682(JP, A)
KONTERMANN, R., Dual targeting strategies with bispecific antibodies, mAbs, 2012年

, Vol.4, pp.182-197

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12N 15/00 - 15/90

C07K 1/00 - 19/00

C12N 1/00 - 7/08

C12P 1/00 - 41/00

A61K

A61P

C A p l u s / M E D L I N E / B I O S I S / E M B A S E / W P I D S (S T N)

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)