

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 1 部門第 1 区分

【発行日】平成25年5月16日 (2013.5.16)

【公表番号】特表2013-502209(P2013-502209A)

【公表日】平成25年1月24日 (2013.1.24)

【年通号数】公開・登録公報2013-004

【出願番号】特願2012-525147(P2012-525147)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 0 7 K 19/00 (2006.01)

C 0 7 K 14/52 (2006.01)

C 0 7 K 16/00 (2006.01)

A 6 1 K 47/48 (2006.01)

A 6 1 K 47/42 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 P 37/04 (2006.01)

A 6 1 P 31/12 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

A 6 1 K 38/00 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 0 7 K 19/00

C 0 7 K 14/52

C 0 7 K 16/00

A 6 1 K 47/48

A 6 1 K 47/42

A 6 1 P 43/00 1 0 7

A 6 1 P 37/04

A 6 1 P 31/12

A 6 1 P 35/00

A 6 1 K 39/395 Y

A 6 1 K 37/02

【誤訳訂正書】

【提出日】平成25年3月28日 (2013.3.28)

【誤訳訂正 1】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】全文

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【発明の詳細な説明】

【発明の名称】標的化イムノコンジュゲート

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は、概して、細胞活性に影響するエフェクタ部分を選択的に運搬するための抗原特異性イムノコンジュゲートに関する。加えて、本発明は、このようなイムノコンジュゲートをコードする核酸分子及び、該核酸分子を含むベクターおよび宿主細胞に関する。本発明は、さらに、本発明のイムノコンジュゲートを製造するための方法、そして、疾患の

治療におけるこれらイムノコンジュゲートを使用する方法に関する。

【背景技術】

【0002】

個々の細胞又は特定の細胞種の選択的な破壊は、様々な臨床状況で望ましいことが多い。例えば、健康な細胞および組織を完全かつ損傷を与えないで、腫瘍細胞を特異的に破壊することは、癌治療の主要な目的である。細胞での多くのシグナル伝達経路は、細胞の生存および／または死に関連している。したがって、細胞生存又は死に伴う経路因子を直接運搬することによって、細胞の維持又は破壊に寄与しうる。

サイトカインは、免疫系の調節に関与する細胞シグナル伝達分子である。癌療法で用いられる場合、サイトカインは、抗腫瘍効果を有し、ある種の腫瘍の免疫原性を増やしうる免疫調節性薬剤として作用することができる。しかしながら、免疫応答を活性化したり抗腫瘍効果を示すのに十分な濃度のサイトカインを腫瘍部位に到達させるためには、迅速な血中クリアランスや腫瘍特異性を欠いているため、高用量のサイトカインの全身投与が必要となる。高レベルの全身サイトカインは、激しい毒性と有害な反応を引き起こしうる。

【0003】

インビボで特定の部位（例えば腫瘍又は腫瘍微小環境）にサイトカインなどのシグナル伝達経路因子を運搬する一つの方法は、その部位に特異的な免疫グロブリンに因子をコンジュゲートすることである。サイトカインなどのシグナル伝達経路因子をインビボの特定の部位に運搬するための早期戦略は、リンホトキシン、腫瘍壊死因子- α (TNF- α)、インターロイキン2 (IL-2) および顆粒球マクロファージ-コロニー刺激因子 (GM-CSF) を含む様々なサイトカインに免疫グロブリン重鎖をコンジュゲートさせたものを含んでいた。免疫グロブリン重鎖は、化学的にサイトカインにコンジュゲートさせたり、免疫グロブリン-サイトカインコンジュゲートを融合タンパク質として発現させたりしていた。Nakamura K. and Kubo, A. Cancer Supplement 80:2650-2655 (1997); Jun, L. et al., Chin. Med. J. 113:151-153 (2000); 及び、Becker J.C., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:7826-7831 (1996)を参照。研究者等は、インビボで特定の部位にサイトカインを標的化させることができることだけでなく、モノクローナル抗体は他の多くのタンパク質よりも血中半減期が長いという点において利点があったことを観察した。ある非コンジュゲートサイトカイン、すなわち IL-2 の高用量には全身性の毒性があるので、低用量で全身性の副作用を最小限に抑えつつ、腫瘍部位で免疫賦活性を最大に発揮する免疫グロブリン-サイトカイン融合タンパク質の能力は、研究者に、免疫グロブリン-サイトカインイムノコンジュゲートが適切な治療剤であることを確信させるものとなった。しかしながら、運搬薬剤としての免疫グロブリンの臨床的有用性を制限する主な理由の一つは、場合によって免疫グロブリン分子のサイズが大きいために、取り込みが不十分であり、腫瘍での破壊が不十分であることである。Xiang, J. et al., Immunol. Cell Biol. 72:275-285 (1994)を参照。加えて、免疫グロブリン-サイトカインイムノコンジュゲートが補体を活性化し、Fcレセプターと相互作用しうることが示唆された。治療的イムノコンジュゲートが好適な抗原保持細胞よりむしろFcレセプターを発現する細胞に標的化されるので、この固有の免疫グロブリン特性は不利と見られていた。

【0004】

これらの問題を克服するための一つの試みは、操作された免疫グロブリンフラグメントの使用である。多くの研究は、免疫グロブリンフラグメント-サイトカインイムノコンジュゲートの特徴を詳述している。Savage, P. et al., Br. J. Cancer 67:304-310 (1993); Harvill, E.T. and Morrison S.L., Immunotechnol. 1:95-105 (1995); 及び、Yang J. et al., Mol. Immunol. 32:873-881 (1995)を参照。通常は、2の一般的な免疫グロブリンフラグメント-サイトカイン融合タンパク質コンストラクトがあり、それは哺乳動物細胞で発現される $F(a b')_2$ -サイトカインと、大腸菌で発現される s c F v-サイトカインである。Xiang, J. Hum. Antibodies 9:23-36 (1999)を参照。免疫グロブリン親分子の腫瘍結合反応性およびサイトカインの機能的活性は、これら多くのタイプのイムノコンジュゲートに維持されている。近年の臨床前試験では、これら融合タンパク質は、インビボ

で腫瘍関連抗原を発現する腫瘍にサイトカインを標的化すること、及び免疫十分な動物モデルにおいて原発性及び転移性両方の腫瘍を阻害することが示された。

【0005】

免疫グロブリンフラグメントーサイトカインイムノコンジュゲートの例には、PCT公報WO2001/062298A2に記載されるscFv-IL-2イムノコンジュゲート；米国特許第5650150号に記載される免疫グロブリン重鎖フラグメントーGM-CSFイムノコンジュゲート；PCT公報WO2006/119897A2に記載されるイムノコンジュゲート（ここではscFv-IL-12第一サブユニットはIL-12第二サブユニット-scFvとジスルフィド結合（一又は複数）のみを共有している）、PCT公報WO99/29732A2に記載されるイムノコンジュゲート（ここではIg重鎖フラグメントーIL-12第一サブユニットはIg重鎖フラグメント-IL-12第二サブユニットとジスルフィド結合（一又は複数）のみを共有している）が含まれる。これら第二世代のイムノコンジュゲートが第一世代の免疫グロブリンーサイトカインコンジュゲートと比較して、いくらか向上する性質を有するが、腫瘍細胞に対してより有効性が高い、また、これら生成物の副作用（例えば毒性、非腫瘍細胞の破壊など）の数及び重症度が少ない、より多くかつさらにより安全な特異的治療薬の発達が望まれている。加えて、許容できる治療的活性レベルを維持しつつ、さらにイムノコンジュゲートを安定させる方法を同定することが望ましい。

本発明は、知られているイムノコンジュゲートと比較して、向上した有効性、作用の高い特異性、毒性の低減、及び向上した安定性を表すイムノコンジュゲートを提供する。

【発明の概要】

【0006】

（発明の簡単な概要）

本発明の一態様は、知られているイムノコンジュゲートと比較して、向上した有効性、作用の高い特異性、毒性の低減、及び向上した安定性を表すイムノコンジュゲートに関する。本発明のイムノコンジュゲートは、インビボでエフェクタ部分を標的部位に選択的に運搬するために用いることができる。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、サイトカインを標的部位に運搬するものであり、このとき、サイトカインは、局在する生体学的効果、例えば局所の炎症反応、T細胞増殖および活性化の刺激および／またはBおよび／またはNK細胞の活性化を発揮することができる。

【0007】

本発明の一態様は、少なくとも一の第一エフェクタ部分と、Fv及びFabからなる群から独立して選択される少なくとも一の第一および一の第二の抗原結合部分とを含むイムノコンジュゲートであって、このとき第一エフェクタ部分は、第一抗原結合部分とアミノー又はカルボキシー末端ペプチド結合を共有しており、第二抗原結合部分は、i)第一エフェクタ部分又はii)第一抗原結合部分の何れかとアミノー又はカルボキシー末端ペプチド結合を共有している、イムノコンジュゲートに関する。

【0008】

本発明の別の態様は、そのアミノ末端アミノ酸で一又は複数のscFv分子に接合した少なくとも一の第一単鎖エフェクタ部分を含むイムノコンジュゲートであって、このときこの第一単鎖エフェクタ部分はそのカルボキシル末端アミノ酸で一又は複数のscFv分子に接合している、イムノコンジュゲートである。

【0009】

本発明の別の態様は、少なくとも一の第一単鎖エフェクタ部分と第一および第二の抗原結合部分を含んでなるイムノコンジュゲートであって、このとき第一および第二各々の抗原結合部分は、そのカルボキシル末端アミノ酸で、IgGCH1、IgGCKおよびIgECH4からなる群からそれぞれ選択される免疫グロブリン定常ドメインを含む定常領域に接合したscFv分子を含み、このとき第一抗原結合部分はエフェクタ部分のうちの一のアミノ末端アミノ酸にその定常領域カルボキシル末端アミノ酸で接合しており、そしてこのとき、第一および第二の抗原結合部分は少なくとも一のジスルフィド結合により共

有結合されている、イムノコンジュゲートである。

【0010】

本発明の別の態様は、少なくとも一の第一単鎖エフェクタ部分と第一および第二の抗原結合部分とを含んでなるイムノコンジュゲートであって、このとき第一および第二各々の抗原結合部分は I g G 1 C H 3 ドメインにそのカルボキシ末端アミノ酸で接合した s c F v 分子を含んでなり、このとき第一抗原結合部分はエフェクタ部分のうちの一のアミノ末端アミノ酸にそのカルボキシ末端アミノ酸で接合しており、そして、第一および第二の抗原結合部分は少なくとも一のジスルフィド結合により共有結合されている、イムノコンジュゲートである。

【0011】

本発明の別の態様は、第一および第二の単鎖エフェクタ部分と第一および第二の抗原結合部分を含んでなるイムノコンジュゲートであって、このとき各々の抗原結合部分は、I g G 1 C H 3 ドメインにその重鎖又は軽鎖のカルボキシ末端アミノ酸で接合した F a b 分子を含み、そしてこのとき各々の I g G 1 C H 3 ドメインは、エフェクタ部分のうちの一のアミノ末端アミノ酸にそのカルボキシ末端アミノ酸で接合しており、そして、第一および第二の抗原結合部分は少なくとも一のジスルフィド結合により共有結合されている、イムノコンジュゲートに関する。

【0012】

一実施態様では、イムノコンジュゲートは配列番号：95のポリペプチド配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは配列番号：104のポリペプチド配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは配列番号：105のポリペプチド配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは配列番号：106のポリペプチド配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは配列番号：107のポリペプチド配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは配列番号：96のポリペプチド配列を含む。さらなる態様において、イムノコンジュゲートは、配列番号：96のポリペプチド配列と、配列番号：95および104－107からなる群から選択されるポリペプチド配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：95、96および104－107からなる群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一である配列を有するポリペプチドを含む。

【0013】

一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：108と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：108のポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：117と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：117のポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：118と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：118のポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：119と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：119のポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：120と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるポリヌクレオチド配列によ

てコードされるポリペプチド配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：120のポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：109と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：109のポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。

【0014】

一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：13又は配列番号：15の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である重鎖可変領域を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：9又は配列番号：11の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である軽鎖可変領域を含む。さらなる実施態様において、イムノコンジュゲートは、配列番号：13又は配列番号：15の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である重鎖可変領域と、配列番号：9又は配列番号：11の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である軽鎖可変領域とを含む。

【0015】

一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：14又は配列番号：16と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる重鎖可変領域配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：14又は配列番号：16のポリヌクレオチド配列によってコードされる重鎖可変領域配列を含む。一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：10又は配列番号：12と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる軽鎖可変領域配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：10又は配列番号：12のポリヌクレオチド配列によってコードされる軽鎖可変領域配列を含む。

【0016】

一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：99の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリヌクレオチド配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：100又は配列番号：215の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：101又は配列番号：235の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列を含む。さらなる実施態様において、イムノコンジュゲートは、配列番号：100の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列と、配列番号：101の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列とを含む。さらなる実施態様において、イムノコンジュゲートは、配列番号：215の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列と、配列番号：235の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列とを含む。

【0017】

一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：112と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるポリヌクレ

オチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：112のポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：113又は配列番号：216と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：113又は配列番号：216のポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：114又は配列番号：236と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：114又は配列番号：236のポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。

【0018】

一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：7、配列番号：179、配列番号：183、配列番号：187、配列番号：191、配列番号：195、配列番号：199、配列番号：203および配列番号：207の群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である重鎖可変領域配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：177、配列番号：181、配列番号：185、配列番号：189、配列番号：193、配列番号：197、配列番号：201および配列番号：205の群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である軽鎖可変領域配列を含む。さらなる実施態様において、イムノコンジュゲートは、配列番号：7、配列番号：179、配列番号：183、配列番号：187、配列番号：191、配列番号：195、配列番号：199、配列番号：203および配列番号：207の群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である重鎖可変領域配列と、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：177、配列番号：181、配列番号：185、配列番号：189、配列番号：193、配列番号：197、配列番号：201および配列番号：205の群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である軽鎖可変領域配列とを含む。

【0019】

一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：8、配列番号：180、配列番号：184、配列番号：188、配列番号：192、配列番号：196、配列番号：200、配列番号：204および配列番号：208の群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる重鎖可変領域配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：8、配列番号：180、配列番号：184、配列番号：188、配列番号：192、配列番号：196、配列番号：200、配列番号：204および配列番号：208の群から選択されるポリヌクレオチド配列によってコードされる重鎖可変領域配列を含む。一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：4、配列番号：6、配列番号：178、配列番号：182、配列番号：186、配列番号：190、配列番号：194、配列番号：198、配列番号：202および配列番号：206の群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる軽鎖可変領域配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：4、配列番号：6、配列番号：178、配列番号：182、配列番号：186、配列番号：190、配列番号：194、配列番号：198、配列番号：202および配列番号：206の群から選択されるポリヌクレオチド配列によってコードされる軽鎖可変領域配列を含む。

【0020】

一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：239、配列番号：241および配列番号：243の群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列を含む。他の実施態様では、コンジュゲートは、配列番号：245、配列番号：247および配列番号：249の群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列を含む。さらなる実施態様において、イムノコンジュゲートは、配列番号：239、配列番号：241および配列番号：243の群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列と、配列番号：245、配列番号：247および配列番号：249の群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列とを含む。

【0021】

一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：240、配列番号：242および配列番号：244の群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：240、配列番号：242および配列番号：244の群から選択されるポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：246、配列番号：248および配列番号：250の群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：246、配列番号：248および配列番号：250の群から選択されるポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。

【0022】

一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：21、配列番号：25、配列番号：27、配列番号：31、配列番号：35、配列番号：39、配列番号：43、配列番号：47、配列番号：51、配列番号：69、配列番号：73、配列番号：77、配列番号：81、配列番号：85、配列番号：89、配列番号：93、配列番号：123、配列番号：127、配列番号：131、配列番号：135、配列番号：139、配列番号：143、配列番号：147、配列番号：151、配列番号：155、配列番号：159、配列番号：163、配列番号：167、配列番号：171および配列番号：175からなる群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である重鎖可変領域配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：17、配列番号：19、配列番号：23、配列番号：29、配列番号：33、配列番号：37、配列番号：41、配列番号：45、配列番号：49、配列番号：67、配列番号：71、配列番号：75、配列番号：79、配列番号：83、配列番号：87、配列番号：91、配列番号：121、配列番号：125、配列番号：129、配列番号：133、配列番号：137、配列番号：141、配列番号：145、配列番号：149、配列番号：153、配列番号：157、配列番号：161、配列番号：165、配列番号：169および配列番号：173からなる群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である軽鎖可変領域配列を含む。さらなる実施態様において、イムノコンジュゲートは、配列番号：21、配列番号：25、配列番号：27、配列番号：31、配列番号：35、配列番号：39、配列番号：43、配列番号：47、配列番号：51、配列番号：69、配列番号：73、配列番号：77、配列番号：81、配列番号：85、配列番号：89、配列番号：93、配列番号：123、配列番号：127、配列番号：131、配列番号：135、配列番号：139、配列番号：143、配列番号：147、配列番号：151、配列番号：155、配列番号：159、配列番号：163、配列

番号：１６７、配列番号：１７１および配列番号：１７５からなる群から選択される配列と少なくともおよそ８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％同一である重鎖可変領域配列と、配列番号：１７、配列番号：１９、配列番号：２３、配列番号：２９、配列番号：３３、配列番号：３７、配列番号：４１、配列番号：４５、配列番号：４９、配列番号：６７、配列番号：７１、配列番号：７５、配列番号：７９、配列番号：８３、配列番号：８７、配列番号：９１、配列番号：１２１、配列番号：１２５、配列番号：１２９、配列番号：１３３、配列番号：１３７、配列番号：１４１、配列番号：１４５、配列番号：１４９、配列番号：１５３、配列番号：１５７、配列番号：１６１、配列番号：１６５、配列番号：１６９および配列番号：１７３からなる群から選択される配列と少なくともおよそ８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％同一である軽鎖可変領域配列とを含む。

【００２３】

一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：２２、配列番号：２６、配列番号：２８、配列番号：３２、配列番号：３６、配列番号：４０、配列番号：４４、配列番号：４８、配列番号：５２、配列番号：７０、配列番号：７４、配列番号：７８、配列番号：８２、配列番号：８６、配列番号：９０、配列番号：９４、配列番号：１２４、配列番号：１２８、配列番号：１３２、配列番号：１３６、配列番号：１４０、配列番号：１４４、配列番号：１４８、配列番号：１５２、配列番号：１５６、配列番号：１６０、配列番号：１６４、配列番号：１６８、配列番号：１７２および配列番号：１７６からなる群から選択される配列と少なくともおよそ８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％又は９９％同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる重鎖可変領域配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：２２、配列番号：２６、配列番号：２８、配列番号：３２、配列番号：３６、配列番号：４０、配列番号：４４、配列番号：４８、配列番号：５２、配列番号：７０、配列番号：７４、配列番号：７８、配列番号：８２、配列番号：８６、配列番号：９０、配列番号：９４、配列番号：１２４、配列番号：１２８、配列番号：１３２、配列番号：１３６、配列番号：１４０、配列番号：１４４、配列番号：１４８、配列番号：１５２、配列番号：１５６、配列番号：１６０、配列番号：１６４、配列番号：１６８、配列番号：１７２および配列番号：１７６からなる群から選択されるポリヌクレオチドによってコードされる重鎖可変領域配列を含む。一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：１８、配列番号：２０、配列番号：２４、配列番号：３０、配列番号：３４、配列番号：３８、配列番号：４２、配列番号：４６、配列番号：５０、配列番号：６８、配列番号：７２、配列番号：７６、配列番号：８０、配列番号：８４、配列番号：８８、配列番号：９２、配列番号：１２２、配列番号：１２６、配列番号：１３０、配列番号：１３４、配列番号：１３８、配列番号：１４２、配列番号：１４６、配列番号：１５０、配列番号：１５４、配列番号：１５８、配列番号：１６２、配列番号：１６６、配列番号：１７０および配列番号：１７４からなる群から選択される配列と少なくともおよそ８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％又は９９％同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる軽鎖可変領域配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：１８、配列番号：２０、配列番号：２４、配列番号：３０、配列番号：３４、配列番号：３８、配列番号：４２、配列番号：４６、配列番号：５０、配列番号：６８、配列番号：７２、配列番号：７６、配列番号：８０、配列番号：８４、配列番号：８８、配列番号：９２、配列番号：１２２、配列番号：１２６、配列番号：１３０、配列番号：１３４、配列番号：１３８、配列番号：１４２、配列番号：１４６、配列番号：１５０、配列番号：１５４、配列番号：１５８、配列番号：１６２、配列番号：１６６、配列番号：１７０および配列番号：１７４からなる群から選択されるポリヌクレオチドによってコードされる軽鎖可変領域配列を含む。

【００２４】

一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：２０９、配列番号：２１１、配列番号：２１３、配列番号：２１７、配列番号：２１９、配列番号：２２１、配列番号：

2 2 3、配列番号：2 2 5および配列番号：2 2 7の群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：2 2 9、配列番号：2 3 1、配列番号：2 3 3および配列番号：2 3 7の群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列を含む。さらなる実施態様において、イムノコンジュゲートは、配列番号：2 1 1、配列番号：2 1 9および配列番号：2 2 1の群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列と、配列番号：2 3 1の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列とを含む。さらなる実施態様において、イムノコンジュゲートは、配列番号：2 0 9、配列番号：2 2 3、配列番号：2 2 5および配列番号：2 2 7の群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列と、配列番号：2 2 9の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列とを含む。さらなる実施態様において、イムノコンジュゲートは、配列番号：2 1 3の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列と、配列番号：2 3 3の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列とを含む。さらなる実施態様において、イムノコンジュゲートは、配列番号：2 1 7の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列と、配列番号：2 3 7の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列とを含む。

【0025】

一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：2 1 0、配列番号：2 1 2、配列番号：2 1 4、配列番号：2 1 8、配列番号：2 2 0、配列番号：2 2 2、配列番号：2 2 4、配列番号：2 2 6および配列番号：2 2 8の群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：2 1 0、配列番号：2 1 2、配列番号：2 1 4、配列番号：2 1 8、配列番号：2 2 0、配列番号：2 2 2、配列番号：2 2 4、配列番号：2 2 6および配列番号：2 2 8の群から選択されるポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：2 3 0、配列番号：2 3 2、配列番号：2 3 4および配列番号：2 3 8の群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：2 3 0、配列番号：2 3 2、配列番号：2 3 4および配列番号：2 3 8の群から選択されるポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。

【0026】

一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：2 5 7又は配列番号：2 6 1の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である重鎖可変領域配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：2 5 9又は配列番号：2 7 1の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である軽鎖可変領域配列を含む。さらなる実施態様において、イムノコンジュゲートは、配列番号：2 5 7又は配列番号：2 6 1の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である重鎖可変領域配列と、配列番

号：259又は配列番号：271の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である軽鎖可変領域配列とを含む。

【0027】

一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：258又は配列番号：262の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる重鎖可変領域配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：258又は配列番号：262のポリヌクレオチド配列によってコードされる重鎖可変領域配列を含む。一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：260又は配列番号：272の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる軽鎖可変領域配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：260又は配列番号：272のポリヌクレオチド配列によってコードされる軽鎖可変領域配列を含む。

【0028】

一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：251又は配列番号：255の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：253又は配列番号：265の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列を含む。さらなる実施態様において、イムノコンジュゲートは、配列番号：251又は配列番号：255の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列と、配列番号：253又は配列番号：265の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列とを含む。

【0029】

一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：252又は配列番号：256の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：252又は配列番号：256のポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：254又は配列番号：266と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：254又は配列番号：266のポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。

【0030】

他の実施態様では、イムノコンジュゲートは少なくとも一のエフェクタ部分を含み、このエフェクタ部分はサイトカインである。特定の実施態様において、エフェクタ部分は、インターロイキン2(IL-2)、顆粒球マクロファージ-コロニー刺激因子(GM-CSF)、インターフェロン- α (INF- α)、インターロイキン-12(IL-12)、インターロイキン-8(IL-8)、マクロファージ炎症性タンパク質-1 α (MIP-1 α)、マクロファージ炎症性タンパク質-1 β (MIP-1 β)およびトランスフォーミング増殖因子- β (TGF- β)からなる群から選択されるサイトカインである。他の実施態様では、少なくとも一の抗原結合部分は、フィブロネクチンの外ドメインB(EDB)、テネイシンのA1ドメイン(TNC-A1)、テネイシンのA2ドメイン(TNC-A2)、線維芽細胞活性化タンパク質(FAP)；及び、メラノーマコンドロイチン硫酸プロテオグリカン(MCSP)といった抗原決定基の何れかに特異的である。

【0031】

他の実施態様では、本発明のイムノコンジュゲートは、コントロールエフェクタ部分に対するよりも、少なくともおよそ1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5又は10倍大きい解離定数(KD)で、エフェクタ部分レセプターと結合する。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、投与期間の終わりに、インビボでの腫瘍体積の増加を少なくともおよそ10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%阻害する。他の実施態様では、コントロールエフェクタ部分又は「ダイアボディ」イムノコンジュゲート分子のエフェクタ部分と比較して、必要とする哺乳動物に投与されたとき、イムノコンジュゲートは悪性腫瘍を有する哺乳動物の生存を少なくともおよそ10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%延長する。

【0032】

本発明の別の態様は、本発明のイムノコンジュゲート又はその断片をコードする単離されたポリヌクレオチドに関する。本発明の別の態様は、本発明のポリヌクレオチド配列を含む発現カセットを含む発現ベクターに関する。

本発明の別の態様は、本発明のイムノコンジュゲート又はその断片を発現する宿主細胞に関する。

本発明の別の態様は、本発明のイムノコンジュゲート又はその断片の製造方法に関し、この方法は、本発明のイムノコンジュゲート又はその断片をコードする発現ベクターにて形質転換した宿主細胞を、同発現に適切な条件下で培養することを含む。

【0033】

本発明の別の態様は、活性化されたTリンパ球細胞の増殖および分化を促進する方法に関し、活性化されたTリンパ球細胞を本発明のイムノコンジュゲートの有効量と接触させることを含む。

本発明の別の態様は、活性化されたBリンパ球細胞の増殖および分化を促進する方法に関し、活性化されたBリンパ球細胞を本発明のイムノコンジュゲートの有効量と接触させることを含む。

本発明の別の態様は、ナチュラルキラー(NK)細胞の増殖および分化を促進する方法に関し、NK細胞を本発明のイムノコンジュゲートの有効量と接触させることを含む。

本発明の別の態様は、顆粒球、単球又は樹状細胞の増殖および分化を促進する方法に関し、顆粒球、単球又は樹状細胞を本発明のイムノコンジュゲートの有効量と接触させることを含む。

本発明の別の態様は、細胞障害性Tリンパ球(CTL)の分化を促進する方法に関し、Tリンパ球細胞を本発明のイムノコンジュゲートの有効量と接触させることを含む。

本発明の別の態様は、ウイルス複製を阻害する方法に関し、ウイルス感染している細胞を本発明のイムノコンジュゲートの有効量と接触させることを含む。

本発明の他の態様は、主要組織適合性複合体I(MHC I)の発現を上方制御する方法に関し、標的細胞を本発明のイムノコンジュゲートの有効量と接触させることを含む。

本発明の別の態様は、細胞死を誘導する方法に関し、標的細胞を本発明のイムノコンジュゲートの有効量を投与することを含む。

本発明の別の態様は、標的細胞の走化性を誘導する方法に関し、標的細胞に本発明のイムノコンジュゲートの有効量を投与することを含む。

本発明の別の態様は、個体の疾患を治療する方法に関し、個体に本発明のイムノコンジュゲートと薬学的担体とを含む組成物の治療上有効量を投与する工程を含む。

【図面の簡単な説明】

【0034】

【図1】様々なイムノコンジュゲート融合形態の概略図。図1のすべてのコンストラクトは、(抗原結合部分において)2つの抗体scFv断片と、(エフェクタ部分として)それに連結される1つ又は2つのサイトカイン分子とを含む。パネルAからEは、抗原結合部分およびエフェクタ部分の異なる結合性およびストイキオメトリを示す。パネルAは「ダイアボディ」-IL-2融合を表す。この「ダイアボディ」は2つの同一ポリペプチド

鎖から非共有結合的に集積する。パネルBは、サイトカインにそのカルボキシ末端で融合するF a b分子の重鎖を含み、そのサイトカインが次に第二F a b重鎖にそのカルボキシ末端で融合しているイムノコンジュゲートを示す。軽鎖は重鎖F a b－サイトカイン－重鎖F a bポリペプチドと同時に発現され、イムノコンジュゲートを形成する。あるいは、2つの軽鎖がサイトカインに融合してもよく、重鎖が同時に発現される。パネルCにおいて、2つのF a b重鎖は互いに直接融合する。サイトカインは、アミノ末端ペプチド結合を第二抗原結合部分重鎖と共有する。パネルDおよびEに示すように、パネルBおよびCの2つの分子形態が変化して、F a b鎖がs c F v断片に置換される。

【図2】2つの抗原結合部分と少なくとも一又は複数のエフェクタ部分を含む更なるイムノコンジュゲートの概略図。パネルAは、I g G C H 3ドメインにそのカルボキシ末端で融合したF a b分子を示す。共有結合性抗原結合部分ホモ二量体化を達成するために、人工的なジスルフィド結合を、I g G C H 3ドメインのカルボキシ末端に導入してよい（パネルA内の右のイムノコンジュゲート）。パネルAに示すI g G 1 C H 3ドメインは、免疫グロブリンE C H 4ドメインと置換されうる。パネルAのF a b部分は、パネルBのs c F v断片に置換される。パネルCのイムノコンジュゲートでは、天然のI g G ヒンジは、F a b分子に対してC末端融合した。ヒンジのカルボキシ末端領域がI g G ヒンジ領域に対してC末端融合する定常ドメインの集積に際していくつかの幾何学的な制約を課し得たので、人工的なリンカーはヒンジのカルボキシ終末領域とI g G C H 3ドメインのアミノ末端との間に導入されてよい。パネルDに示すように、ヒンジ領域は、また、s c F v断片と免疫グロブリン定常ドメインとの間に導入されてよい。パネルAからDでは、I g G 1 C H 3又はI g E C H 4ドメインを用いて、コンストラクトをホモ二量体化する。パネルEは、C H 1 / C κヘテロ二量体化相互作用により二量体化が達成されるイムノコンジュゲートを表す。パネルDのイムノコンジュゲートは、イムノコンジュゲートにつき1又は2のサイトカインを有してよい。

【図3】腫瘍間質に特異的な2つの異なるインターロイキン-2イムノコンジュゲート分子形態を用いた有効性実験の結果を示す。F 9奇形癌腫を、1 2 9 S v E vマウスに皮下注入し、カリパスを用いて腫瘍サイズを測定した。2つの異なる濃度の「ダイアボディ」－I L - 2分子を、F a b－インターロイキン-2－F a b（F a b－I L 2－F a b）イムノコンジュゲートと比較した。この濃度はおよその数のイムノコンジュゲート分子を表す。図3において、F a b－I L 2－F a bイムノコンジュゲートは「F a b－L 1 9」と表示し、コンジュゲートしていないインターロイキン2コントロールは「U n c o n j r I L - 2」と表示し、「ダイアボディ」－I L - 2分子は「ダイアボディ」と表示する。フィブロネクチンの外ドメインB（E D B）に対するL 1 9抗体を用いて、ダイアボディおよびF a b－L 1 9イムノコンジュゲートに抗原結合部分を生成した。マウスに注入したイムノコンジュゲートの量（μ g）は図の説明に示す。

【図4】腫瘍間質に特異的な2つの異なるインターロイキン-2イムノコンジュゲート分子形態を用いた生存実験の結果を示す。ヒト胃腫瘍細胞株L S 1 7 4 Tを、S C I D－ベージュマウスの脾臓内に注入した。図4において、F a b－I L 2－F a bイムノコンジュゲートは「F a b－L 1 9」と表示し、コンジュゲートしていないインターロイキン2コントロールは「U n c o n j r I L - 2」と表示し、「ダイアボディ」－I L - 2分子は「ダイアボディ」と表示する。抗E D B抗体であるL 1 9を用いて、ダイアボディおよびF a b－L 1 9イムノコンジュゲートに抗原結合部分を生成した。マウスに注入したイムノコンジュゲートの量（μ g）は図の説明に示し、この量は同じ数のイムノコンジュゲート分子を表す。

【図5】1 0 0×および4 0 0×拡大率のヒト子宮組織の免疫組織化学画像を示す。実施例3に記述される方法によって生成される2 B 1 0可変領域は、ヒトのテネイシンのA 2ドメイン（T N C－A 2）と結合する。F a b断片の2 B 1 0可変領域はF L A G断片に融合させた（S H D 2 B 1 0－F L A G）。健康及び癌性のヒト子宮組織試料を、免疫組織化学的染色のために調製した。その後、試料をS H D 2 B 1 0－F L A G F a b断片と共にインキュベートした。次いで、試料を洗浄し、F L A Gエピトープに特異的な蛍光

抗体と共にインキュベートした。癌性組織試料は、健康な組織試料と比較して、TNC-A2のより高い発現レベルを表した。

【図6】免疫蛍光表面積の%として、様々なヒト組織試料におけるTNC-A2の発現レベルを示す。健康な個体および癌患者からの様々なヒト組織試料を、図5にて説明したように、SHD2B10-FLAG Fab断片と共にインキュベートした。

【図7】免疫蛍光表面積の%として、様々なヒト組織試料における線維芽細胞活性化タンパク質（FAP）の発現レベルを示す。健康な個体および癌患者からの様々なヒト組織試料を、FAP（Abcam）に対する市販の抗体と共にインキュベートした。グラフ上の各々の棒の下部分はFAPの腫瘍発現を表すのに対して、グラフ上の各々の棒の上部分は正常なFAP発現を表す。

【図8】公知のIgG抗体であるL19のEDBに対する親和性を示すBIACOREデータを示す。

【図9】EDBに特異的なFab-IL-2-Fabイムノコンジュゲートの親和性を示すBIACOREデータを示す。イムノコンジュゲートのFab断片はL19抗体から得た。

【図10】EDBに特異的な「ダイアボディ」-IL2融合タンパク質の親和性を示すBIACOREデータを示す。ダイアボディscFv断片はL19抗体から得た。「ダイアボディ」-IL2融合タンパク質は、scFv断片とIL-2分子との間に位置する8アミノ酸リンカーを含む。

【図11】EDBに特異的な「ダイアボディ」-IL2融合タンパク質の親和性を示すBIACOREデータを示す。ダイアボディscFv断片はL19抗体から得た。「ダイアボディ」-IL2融合タンパク質は、scFv断片とIL-2分子との間に12アミノ酸リンカーを含む。

【図12】固定したテネシンのドメインA1（TNC-A1）に対する公知のIgG抗体であるF16の親和性を示すBIACOREデータを示す。また図12は、TNC-A1に対するF16抗体のFab断片の親和性を示すBIACOREデータを示す。F16 IgGおよびFab分子について算出した解離定数（KD）を図に示す。

【図13】固定したIL-2レセプターに対するIL-2の親和性を示すBIACOREデータを示す。IL-2Rのβおよびγ鎖のヘテロ二量体化は、Merchant, A.M. et al., Nat. Biotech. 16:677-681 (1998)に記載されるように、ヒトIgG1のFc部分の「ノブ-イントゥーホール」変異体にそれぞれの鎖を融合させることによって達成した。BIACOREデータから算出したKD値を図に示す。

【図14】TNC-A1およびIL-2レセプターに対する「ダイアボディ」-IL-2融合タンパク質の親和性を示すBIACOREデータを示す。ダイアボディのscFv分子はF16抗体から得られる。BIACOREデータから算出したKD値を図に示す。

【図15】TNC-A1およびIL-2レセプターに対するFab-IL-2-Fabイムノコンジュゲートの親和性を示すBIACOREデータを示す。イムノコンジュゲートのFab分子はF16抗体から得た。BIACOREデータから算出したKD値を図に示す。

【図16】TNC-A1およびIL-2レセプターに対するscFv-IL-2-scFvイムノコンジュゲートの親和性を示すBIACOREデータを示す。イムノコンジュゲートのscFv分子はF16抗体から得た。BIACOREデータから算出したKD値を図に示す。

【図17】図12-16に示されるBIACORE研究から得られるKD値の概要表である。

【図18】フィブロネクチンのEDBDドメインを標的とする「ダイアボディ」-IL-2分子を、テネシンCのA2ドメインを標的とするFab-インターロイキン-2-Fabイムノコンジュゲート（配列番号：3及び7それぞれの重鎖および軽鎖の可変領域を含む「Fab-SH2B10」と表示する）と比較する有効性実験の結果を示す。図18では、コンジュゲートしていないインターロイキン-2コントロールを「Unconj r

IL-2」と表示し、「ダイアボディ」-IL-2分子を「L19ダイアボディ」と表示する。抗EDB抗体であるL19を用いて、ダイアボディイムノコンジュゲートの抗原結合部分を生成した。奇形癌腫細胞株F9を、L29系統の免疫適格マウスの皮下に注入した。マウスに注入したイムノコンジュゲートの量(μg)を図の説明文に示す。6日目に治療を始め、実験11日目までに合計5回の注入を行った。

【図19】抗FAP又は抗テネイシンC、Fab-IL2-Fabイムノコンジュゲート(3F2、3D9、4B3(抗FAP)、2F11および2B10コンストラクト(抗テネイシンC)のVHおよびVL配列を使用して生成した)によるNK-92細胞の増殖の誘導を、コンジュゲートしていないヒトIL-2と比較して示す。2日間インキュベートした後、Cell Titer Gloシステムを使用して細胞増殖を測定した。

【図20】様々なインターロイキン-12含有イムノコンジュゲートによるIFN-γ産生の誘導を、コンジュゲートしていないサイトカイン、又はIL-12のp35およびp40ドメインを別々の分子に含有するイムノコンジュゲートと比較して測定しているELISAアッセイの結果を示す。パネルAは、フィブロネクチンコートプレート上での結果を示す。パネルBは、溶液での結果を示す。

【図21】親和性成熟抗FAP Fab断片の、表面プラズモン共鳴(SPR)ベースの動態解析を示す。処理した動態学的データセットは、ヒト(hu) FAP(A)およびネズミ科(mu) FAP(B)に結合するクローン19G1、huFAP(C)及びmuFAP(D)に結合するクローン20G8、そしてhuFAP(E)およびmuFAP(F)に結合するクローン4B9について示す。なめらかな線は、1:1相互作用モデルへのデータの広範囲フィッティングを表す。

【図22】親和性成熟抗FAP Fab断片のSPRベースの動態解析を示す。処理した動態学的データセットは、huFAP(A)およびmuFAP(B)に結合するクローン5B8、huFAP(C)及びmuFAP(D)に結合するクローン5F1、そしてhuFAP(E)およびmuFAP(F)に結合するクローン14B3について示す。なめらかな線は、1:1相互作用モデルへのデータの広範囲フィッティングを表す。

【図23】親和性成熟抗FAP Fab断片のSPRベースの動態解析を示す。処理した動態学的データセットは、huFAP(A)およびmuFAP(B)に結合するクローン16F1、huFAP(C)及びmuFAP(D)に結合するクローン16F8、そしてhuFAP(E)およびmuFAP(F)に結合するクローンO3C9について示す。なめらかな線は、1:1相互作用モデルへのデータの広範囲フィッティングを表す。

【図24】親和性成熟抗FAP Fab断片のSPRベースの動態解析を示す。処理した動態学的データセットは、huFAP(A)およびmuFAP(B)に結合するクローンO2D7、huFAP(C)、muFAP(D)及びcynoFAP(E)に結合するクローン28H1、そしてhuFAP(F)、muFAP(G)及びcynoFAP(H)に結合するクローン22A3について示す。なめらかな線は、1:1相互作用モデルへのデータの広範囲フィッティングを表す。

【図25】親和性成熟抗FAP Fab断片のSPRベースの動態解析を示す。処理した動態学的データセットは、huFAP(A)、muFAP(B)及びcynoFAP(C)に結合するクローン29B11、及びhuFAP(D)、muFAP(E)及びcynoFAP(F)に結合するクローン23C10について示す。なめらかな線は、1:1相互作用モデルへのデータの広範囲フィッティングを表す。

【図26】ヒト(hu) TNC A2に結合する、親和性成熟抗TNC A2 Fab断片のSPRベースの動態解析を示す。処理した動態学的データセットは、クローン2B10__C3B6(A)、クローン2B10__6A12(B)、クローン2B10__C3A6(C)、クローン2B10__O7D8(D)、クローン2B10__O1F7(E)、及びクローン2B10__6H10(F)について示す。なめらかな線は、1:1相互作用モデルへのデータの広範囲フィッティングを表す。

【図27】3F2ベースのFab-IL2-Fabの精製のために行われる3つの精製工程の概要を示す。

【図28】3F2ベースのFab-IL2-Fab（AおよびB）の精製の結果、4G8ベースのFab-IL2-Fab（CおよびD）の精製の結果を示す。（A、C） 精製手順中の分画及び最終産物を含む4-12%ビス-トリスおよび3-8%トリス アセテートSDS-PAGE。（B、D） 3つの精製工程後の分析用サイズ排除クロマトグラフィ。

【図29】2B10 Fab-IL2-Fabイムノコンジュゲートの精製の結果を示す。（A） 精製手順中の分画および最終産物を含む4-12%ビス-トリスSDS-PAGE。（B） 3つの精製工程後の分析用サイズ排除クロマトグラフィ。

【図30】抗フィブロネクチンEDB L19ベースのFab-IL2-Fabの安定性評価を示す。L19 Fab-IL2-Fabは、20mM ヒスチジンHCl、140mM NaCl、pH6.0に6.3mg/mlの濃度で調製し、室温及び4℃で4週間貯蔵した。試料は、(ペレット前沈殿物質に遠心分離した後)UV分光測定により濃度(A)を、分析的サイズ排除クロマトグラフィにより凝集(B)を毎週分析した。

【図31】ヒト、ネズミ科およびカニクイザル(cyno)のFAPおよびヒトIL-2レセプター- β/γ (IL2R bg)に対する、FAP標的化3F2 Fab-IL2-Fabイムノコンジュゲートの、表面プラズモン共鳴によって測定した、SPRベースの動態解析を示す。なめらかな線は、1:1相互作用モデルへのデータの広範囲フィッティングを表す。

【図32】ヒト、ネズミ科およびカニクイザル(cyno)のFAPに対する、FAP標的化4G8 Fab-IL2-Fabイムノコンジュゲートの、表面プラズモン共鳴によって測定した、SPRベースの動態解析を示す。なめらかな線は、1:1相互作用モデルへのデータの広範囲フィッティングを表す。

【図33】ヒト及びネズミ科のIL-2レセプター- β/γ 及び α 鎖に対する、FAP標的化4G8 Fab-IL2-Fabコンストラクトの、表面プラズモン共鳴によって測定した、SPRベースの動態解析を示す。なめらかな線は、二状態反応モデル(two-state-reaction model)へのデータの広範囲フィッティングを表す。

【図34】ヒト、ネズミ科およびカニクイザル(cyno)のFAPおよびヒトIL-2レセプター- β/γ (IL2R bg)に対する、FAP標的化3D9 Fab-IL2-Fabコンストラクトの、表面プラズモン共鳴によって測定した、SPRベースの動態解析を示す。なめらかな線は、1:1相互作用モデルへのデータの広範囲フィッティングを表す。

【図35】ヒト、ネズミ科およびカニクイザル(cyno)のキメラTNC A2融合タンパク質およびヒトIL-2レセプター- β/γ (IL2R bg)に対する、TNC A2標的化2B10 Fab-IL2-Fabコンストラクトの、表面プラズモン共鳴によって測定した、SPRベースの動態解析を示す。なめらかな線は、1:1相互作用モデルへのデータの広範囲フィッティングを表す。

【図36】NK92細胞の増殖を誘導する際の、TNC A2を認識する(2B10)又はFAPを認識する(3F2および4G8)標的化IL-2 Fab-IL2-Fabイムノコンジュゲートの有効性を、IL-2 (プロリユウキン) およびフィブロネクチン-EDBを認識するL19ダイアボディと比較して示す。ダイアボディは2つのIL-2エフェクタ部分を有するのに対して、Fab-IL2-Fabコンストラクトはただ1つのIL-2エフェクタ部分を有するので、x軸はIL-2分子の数に規準化した。2日間インキュベートした後、細胞増殖をCell Titer Gloシステムを使用して測定した。

【図37】溶液中での、ヒトPBMCからの(A)CD56+NK細胞、(B)CD4+CD25-CD127+ヘルパーT細胞、(C)CD3+、CD8+細胞障害性T細胞および(D)CD4+CD25+FOX P3+調節T細胞(Tregs)を含む異なるエフェクタ細胞群上のFAPを認識するFAP標的化4G8ベースのIL-2 Fab-IL2-Fabイムノコンジュゲートとインキュベートした後の、IL-2媒介性IL-2レセプターシグナル伝達の結果としての、STAT5リン酸化の誘導を示す。

【図38】イムノコンジュゲートが溶液中に存在する場合又はマイクロタイタープレート

上にコートしたFAP又はTNC A2により固定されている場合の、NK92細胞のIFN- γ 放出および増殖を誘導する際の、TNC A1 (2F11)、TNC A2 (2B10)又はFAP (3F2、4B3および3D9)を認識する標的化IL-2 Fab-IL2-Fabイムノコンジュゲートの有効性を、IL-2と比較して示す。

【図39】腫瘍間質に特異的な2つの異なるIL-2イムノコンジュゲート分子形態を用いた生存実験の結果を示す。ヒト大腸腫瘍細胞株LS174Tを、SCIDマウスの脾臓内に注入した。TNC A2標的化2B10 Fab-IL2-Fabイムノコンジュゲートを「SH2B10」と表示し、コンジュゲートしていないIL-2コントロールを「プロリウキン」と表示し、フィブロネクチンEDB標的化ダイアボディーIL-2分子を「ダイアボディ」と表示する。マウスに注入したイムノコンジュゲートの量 (μ g) は図の説明文に示し、同じ数のイムノコンジュゲート分子を表す。

【図40】腫瘍間質に特異的な2つの異なるIL-2イムノコンジュゲート分子形態を用いた生存実験の結果を示す。ヒト腎臓細胞株ACHNをSCIDマウスの腎臓内に注入した。FAP標的化3F2又は4G8 Fab-IL2-Fabイムノコンジュゲートを「FAP3F2」および「FAP4G8」と表示し、コンジュゲートしていないIL-2コントロールを「プロリウキン」と表示し、フィブロネクチンEDB標的化ダイアボディーIL-2を「ダイアボディ」と表示する。マウスに注入したイムノコンジュゲートの量 (μ g) は図の説明文に示し、同じ数のイムノコンジュゲート分子を表す。

【図41】腫瘍間質に特異的な2つの異なるIL-2イムノコンジュゲート分子形態を用いた生存実験の結果を示す。ヒトNSCLC細胞株A549をSCIDマウスの静脈内に注入した。TNC A2標的化2B10 Fab-IL2-Fabイムノコンジュゲートを「2B10」と表示し、フィブロネクチンEDB標的化ダイアボディーIL-2分子を「ダイアボディ」と表示する。マウスに注入したイムノコンジュゲートの量 (μ g) は図の説明文に示し、同じ数のイムノコンジュゲート分子を表す。

【図42】FabとしてL19 (フィブロネクチン外部ドメイン-B結合体)を有するFab-GM-CSF-Fabイムノコンジュゲートの精製手順の概略(A)と、精製したFab-GM-CSF-FabイムノコンジュゲートのSDS-PAGE (還元、非還元) (B)を示す。

【図43】TF-1細胞上のGM-CSFおよびFabとしてL19 (フィブロネクチン外部ドメイン-B結合体)を有する精製したFab-GM-CSF-Fabイムノコンジュゲートの作用を比較した、GM-CSF依存性増殖アッセイの結果を示す。

【図44】Fabとして4G8 (FAP結合体)を有するFab-IL12-Fabイムノコンジュゲートの精製手順の概略(A)と、精製したFab-IL12-FabイムノコンジュゲートのSDS-PAGE (還元、非還元) (B)を示す。

【図45】健康なドナーの新鮮ヒト血液から単離したPBMCを用いて、IL-12およびFabとして4G8 (FAP結合体)を有する精製したFab-IL12-Fabイムノコンジュゲートの作用を比較して、IL-12誘導IFN- γ 放出を試験するアッセイの結果を示す。

【図46】FabとしてL19 (フィブロネクチン外部ドメイン-B結合体)を有するFab-IFN α 2-Fabイムノコンジュゲートの精製手順の概略(A)と、精製したFab-IFN α 2-FabイムノコンジュゲートのSDS-PAGE (還元、非還元) (B)を示す。

【図47】IFN- α (Roferon A, Roche) およびFabとしてL19 (フィブロネクチン外部ドメイン-B結合体)を有する精製したFab-IFN α 2-Fabイムノコンジュゲートの作用を比較して、(A)ジャーカットT細胞及び(B)A549腫瘍細胞のIFN α 誘導性増殖阻害を試験するアッセイの結果を示す。

【図48】MCSP標的化MH1GベースのFab-IL2-Fab精製の溶出プロフィール(A)と、SDS-PAGE (NuPAGE Novex ビス-トリス ミニゲル, Invitrogen、MOPスランニングバッファ、還元及び非還元)による同じFab-IL2-Fabの分析的特徴付けの結果(B)を示す。

【図 49】MCSP 標的化MHLG1 ベースのFab-IL2-Fab 精製の溶出プロフィール (A) と、SDS-PAGE (NuPAGE Novex ビス-トリス ミニゲル, Invitrogen、MOPスランニングバッファ、還元及び非還元) による同じFab-IL2-Fab の分析的特徴付けの結果 (B) を示す。

【図 50】IL-2 飢餓NK92 細胞を用いた、Fabとして4G8 (FAP結合体) を有する精製したFab-IL2-Fabイムノコンジュゲートと、FabとしてMHLG KV9 (MCSP結合体) を有する精製したFab-IL2-Fabイムノコンジュゲートの作用を比較して、IL-2 誘導性IFN- γ 放出を試験するアッセイの結果を示す。

【図 51】IL-2 飢餓NK92 細胞を用いた、Fabとして4G8 (FAP結合体) を有する精製したFab-IL2-Fabイムノコンジュゲートと、FabとしてMHLG KV9 (MCSP結合体) を有する精製したFab-IL2-Fabイムノコンジュゲートの作用を比較して、IL-2 誘導性IFN- γ 放出を試験するアッセイの結果を示す。

【図 52】フローサイトメトリによって定まる、Colo38 細胞へのMCSP 標的化MHLG KV9 Fab-IL2-Fabイムノコンジュゲートの結合を示す。二次抗体のみ又は細胞のみをネガティブコントロールとした。

【図 53】Fabとして2B10 (TNC A2 結合体) を有する2B10 Fab-IL2-Fabイムノコンジュゲートの精製手順の概要 (A) と、精製した2B10 Fab-IL2-FabイムノコンジュゲートのSDS-PAGE (還元、非還元) (B) を示す。

【発明を実施するための形態】

【0035】

(発明の詳細な説明)

定義

特に定めのない限り、本明細書中で使用するすべての技術的及び科学的な用語は、概して、当業者が共通して理解するものと同じ意味を有する。一般に、本明細書中で用いられる命名法や、後述する細胞培養、分子遺伝学、核酸化学およびハイブリダイゼーションの実験手順は、よく知られているものであり、当分野で共通して用いられるものである。標準的な技術および手順は、概して、本文全体にわたって示される当分野及び様々な一般的参考書の従来の方法に従って実施される(一般に、出典明記によってここに援用されるSambrook et al. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd ed. (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.を参照)。

【0036】

ここで使用しているように、用語「イムノコンジュゲート」は、少なくとも一つのエフェクタ部分および少なくとも一つの抗原結合部分を含むポリペプチド分子を指す。一実施態様では、イムノコンジュゲートは、少なくとも一つの単鎖エフェクタ部分および少なくとも2の抗原結合部分を含む。本願明細書において記述されるように、抗原結合分子は相互作用の、そして、様々な配位の多様によってエフェクタ部分に取り付けられてもよい。

【0037】

ここで使用しているように、用語「エフェクタ部分」はポリペプチド、例えばタンパク質又は糖タンパク質を指す。そして、それはシグナル伝達又は他の細胞経路で細胞活性に、例えば、影響する。したがって、本発明のエフェクタ部分は、エフェクタ部分のための一つ以上のレセプターをもつ細胞の応答を調整するために細胞膜の外側からシグナルを伝えるレセプター媒介性シグナル伝達と関係していてもよい。一実施態様では、エフェクタ部分は、エフェクタ部分のための一つ以上のレセプターをもつ細胞の細胞障害反応を誘発してもよい。他の実施態様では、エフェクタ部分は、エフェクタ部分のための一つ以上のレセプターをもつ細胞の増殖反応を誘発してもよい。他の実施態様では、エフェクタ部分は、エフェクタ部分のためのレセプターをもつ細胞の分化を誘発してもよい。他の実施態様では、エフェクタ部分は、エフェクタ部分のためのレセプターをもつ細胞の内在性細胞

胞性タンパク質の発現(すなわち上方制御又はダウンレギュレート)を変えてもよい。エフェクタ部分の非限定的な例には、サイトカイン、増殖因子、ホルモン類、酵素、基質、補助因子を含む。エフェクタ部分は、イムノコンジュゲートを形成するために、様々な配位の抗原結合部分と関係していてもよい。

【0038】

ここで使用しているように、用語「サイトカイン」は、生物学的であるか細胞性機能又は方法(例えば免疫、炎症および造血)を媒介および／または制御する分子を指す。本願明細書において使用する用語「サイトカイン」には、「リンホカイン」、「ケモカイン」、「モノカイン」及び「インターロイキン」が含まれる。有用なサイトカインの例には、GM-CSF、IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-10、IL-12、IFN- α 、IFN- β 、IFN- γ 、MIP-1 α 、MIP-1 β 、TGF- β 、TNF- α およびTNF- β が含まれるが、これに限定されるものではない。

【0039】

ここで使用しているように、用語「単鎖」は、ペプチド結合によって線形に結合されるアミノ酸モノマを含んでなっている分子を指す。一実施態様では、エフェクタ部分は、単鎖エフェクタ部分である。単鎖エフェクタ部分の非限定的な例には、サイトカイン、増殖因子、ホルモン類、酵素、基質、補助因子が含まれる。エフェクタ部分がサイトカインであり、興味があるサイトカインが天然で多量体として通常提供されるときに、多量体のサイトカインの各サブユニットはエフェクタ部分の単鎖によって順次コードされる。したがって、有用な単鎖エフェクタ部分の非限定的な例には、GM-CSF、IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-10、IL-12、IFN- α 、IFN- β 、IFN- γ 、MIP-1 α 、MIP-1 β 、TGF- β 、TNF- α およびTNF- β が含まれる。

【0040】

ここで使用しているように、用語「コントロールエフェクタ部分」は、コンジュゲートしていないエフェクタ部分を指す。例えば、本発明のIL-2イムノコンジュゲートをコントロールエフェクタ部分と比較した場合、コントロールエフェクタ部分はフリーな、コンジュゲートしていないIL-2である。同様に、例えば、本発明のIL-12イムノコンジュゲートをコントロールエフェクタ部分と比較した場合、コントロールエフェクタ部分はフリーな、コンジュゲートしていないIL-12 (例えば、p40およびp35サブユニットがジスルフィド結合(一又は複数)だけを共有するヘテロダイマタンパク質として存在する)である。

【0041】

ここで使用しているように、用語「エフェクタ部分レセプター」は、エフェクタ部分に特異的に結合が可能なポリペプチド分子を指す。例えば、IL-2がエフェクタ部分であるとき、IL-2(例えばイムノコンジュゲートを含んでなっているIL-2)と結合するエフェクタ部分レセプターはIL-2レセプターである。同様に、例えば、IL-12がイムノコンジュゲートのエフェクタ部分であるとき、エフェクタ部分レセプターはIL-12レセプターである。エフェクタ部分が特異的に複数のレセプターと結合するとき、エフェクタ部分と特異的に結合するすべてのレセプターはそのエフェクタ部分のための「エフェクタ部分レセプター」である。

【0042】

ここで使用しているように、用語「抗原結合部分」は、抗原決定基に特異的に結合するポリペプチド分子を指す。一実施態様では、抗原結合部分は、標的部位、例えば特定のタイプの腫瘍細胞又は抗原決定基をもつ腫瘍間質に付着される実体(例えばエフェクタ部分又は第二抗原結合部分)に向かうことが可能である。さらに本願明細書において定められるように、抗原結合部分には抗体およびその断片が含まれる。「特異的に結合する」とは、結合が抗原について選択的であり、不必要な又は非特異的相互作用と区別されうることを意味する。一実施態様では、さらに本願明細書において定められ、従来技術において知

られているように、イムノコンジュゲートは定常領域を有する少なくとも1、一般的に2又はより多くの抗原結合部分を含む。有用な重鎖定常領域は、5のアイソタイプ： α 、 δ 、 ε 、 γ 又は μ を含む。有用な軽鎖定常領域は、2のアイソタイプ： κ および λ を含む。

【0043】

ここで使用しているように、用語「抗原決定基」は「抗原」および「エピトープ」と同義で、抗原結合部分が結合するポリペプチド高分子上の部位(例えばアミノ酸の隣接する範囲又は非連続アミノ酸の異なる領域から成り立つ立体配置的配位)を指し、抗原結合部分-抗原複合体を形成する。

【0044】

ここで使用しているように、他の抗原結合部分およびエフェクタ部分が存在しない場合、用語「コントロール抗原結合部分」は抗原結合部分を指す。例えば、本発明のF a b - I L 2 - F a b イムノコンジュゲートをコントロール抗原結合部分と比較した場合、コントロール抗原結合部分は遊離したF a b である。そのとき、F a b - I L 2 - F a b イムノコンジュゲートおよび遊離したF a b 分子両方は同じ抗原決定基と特異的に結合しうる。

ここで使用しているように、抗原結合部分、エフェクタ部分などに関して用語「第一」及び「第二」は、一より多くのタイプの部分がある場合に、便宜上区別するために用いる。これらの用語の使用は、特記しない限り、イムノコンジュゲートの特別な順番又は方向を指すためのものではない。

【0045】

当分野において使用され、および／または許容される1つの用語の2つ以上の定義が存在する場合には、本明細書で使用される用語の定義は、明白に反対のことが言及されない限り、全てのこのような意味を含むことが意図される。特定の例は、重鎖と軽鎖の両方のポリペプチドの可変領域中に見いだされる不連続抗原組み合わせ部位を説明するための用語「相補性決定領域」(「C D R」)の使用である。この特定の領域は、Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequences of Proteins of Immunological Interest" (1983)およびChothia et al., J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)によって記載されており、これらは参照により本明細書に援用され、ここでこの定義は、互いに対して比較した場合に、アミノ酸残基の重複またはサブセットを含む。それにも関わらず、抗体またはその改変体のC D Rをいうためのいずれの定義の適用も、本明細書で定義され、および使用される用語の範囲内にあることが意図される。上記に引用した参考文献の各々によって定義されたC D Rを含む適切なアミノ酸残基は、比較として表1において以下に記載される。特定のC D Rを含む正確な残基の番号は、C D Rの配列およびサイズに依存して変化する。当業者は、抗体の可変領域のアミノ酸配列が与えられると、どの残基が特定のC D Rを含むかを慣用的に決定することができる。

【0046】

【表1】

表1 C D R定義¹

CDR	Kabat	Chothia	AbM ²
V _H CDR1	31-35	26-32	26-35
V _H CDR2	50-65	52-58	50-58
V _H CDR3	95-102	95-102	95-102
V _L CDR1	24-34	26-32	24-34
V _L CDR2	50-56	50-52	50-56
V _L CDR3	89-97	91-96	89-97

¹ 表1のすべてのC D R定義の番号付けは Kabat et al.(以下参照)に示される番号付け慣習に従う。

² 表1で用いた小文字「b」を含む「A b M」は、Oxford Molecular の「A b M」抗体モデリングソフトウェアによって定義されるC D Rを指す。

【0047】

K a b a tらはまた、任意の抗体に適用可能である可変ドメイン配列についての番号付けを定義した。当業者は、配列それ自体を超えたいかなる実験データにも頼ることなく、任意の可変ドメインに「K a b a t 番号付け」のこのシステムを明白に割り当てることができる。本明細書で使用される場合、「K a b a t 番号付け」とは、Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequence of Proteins of Immunological Interest" (1983)によって示される番号付けシステムをいう。他に特定されない限り、本発明の抗原結合部分中の特定のアミノ酸残基の位置の番号付けはK a b a t 番号付けシステムに従う。配列表の配列(すなわち、配列番号: 3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、96、97、など)は、K a b a t 番号付けシステムに従って番号付けされていない。しかしながら、配列表の配列の番号付けをカバット番号付けに置き換えることは当分野の通常の技術の範囲内である。

【0048】

イムノコンジュゲート

イムノコンジュゲートは、少なくとも1つのエフェクタ部分と少なくとも1つの抗原結合部分を含んでなるポリペプチド分子である。一実施態様では、エフェクタ部分は単鎖エフェクタ部分である。一実施態様では、イムノコンジュゲートは少なくとも2つの抗原結合部分を含む。イムノコンジュゲートの抗原結合部分およびエフェクタ部分には、本明細書中上記および下記ならびに添付の図面において詳述するものが含まれる。イムノコンジュゲートの抗原結合部分は、様々な標的分子(例えば、腫瘍細胞または腫瘍間質上で発現されるタンパク質分子上の抗原決定基)に対するものであってよい。抗原結合部分の非限定的な例を本明細書で述べる。一実施態様では、少なくとも1つの抗原結合部分は、本明細書中以下の表5に示す1つまたは複数のポリペプチドの1つの抗原決定基に対するものである。本発明のイムノコンジュゲートは、典型的には以下の特性の1つまたは複数を示す: 特に同じ抗原決定基を標的とし、同じエフェクタ部分を担持する、異なる立体配置の公知のイムノコンジュゲートと比較して、作用の高い特異性、低い毒性および/または改善された安定性。

【0049】

一実施態様では、イムノコンジュゲートは、少なくとも1つの第一エフェクタ部分と少なくとも1つの第一および第二抗原結合部分を含む。好ましい実施態様では、第一エフェクタ部分は単鎖エフェクタ部分である。好ましい実施態様では、第一および第二抗原結合部分は、FvおよびFabからなる群より独立して選択される。特定の実施態様では、第一エフェクタ部分は、第一抗原結合部分とアミノ末端またはカルボキシ末端ペプチド結合を共有しており、第二抗原結合部分は、i) 第一エフェクタ部分またはii) 第一抗原結合部分のいずれかとアミノ末端またはカルボキシ末端ペプチド結合を共有している。別の実施態様では、イムノコンジュゲートは、基本的に第一単鎖エフェクタ部分と第一および第二抗原結合部分からなる。

【0050】

一実施態様では、第一エフェクタ部分は、第一抗原結合部分とカルボキシ末端ペプチド結合を共有しており、さらに第二抗原結合部分とアミノ末端ペプチド結合を共有している。別の実施態様では、第一抗原結合部分は、第一エフェクタ部分、好ましくは単鎖エフェクタ部分とカルボキシ末端ペプチド結合を共有しており、さらに第二抗原結合部分とアミノ末端ペプチド結合を共有している。別の実施態様では、第一抗原結合部分は、第一エフェクタ部分、好ましくは単鎖エフェクタ部分とアミノ末端ペプチド結合を共有しており、さらに第二抗原結合部分とカルボキシ末端ペプチド結合を共有している。

【0051】

一実施態様では、エフェクタ部分、好ましくは単鎖エフェクタ部分は、第一重鎖可変領域とカルボキシ末端ペプチド結合を共有しており、さらに第二重鎖可変領域とアミノ末端

ペプチド結合を共有している。別の実施態様では、エフェクタ部分、好ましくは単鎖エフェクタ部分は、第一軽鎖可変領域とカルボキシ末端ペプチド結合を共有しており、さらに第二軽鎖可変領域とアミノ末端ペプチド結合を共有している。別の実施態様では、第一重鎖または軽鎖可変領域は、カルボキシ末端ペプチド結合によって第一エフェクタ部分、好ましくは単鎖エフェクタ部分に連結されており、さらにアミノ末端ペプチド結合によって第二重鎖または軽鎖可変領域に連結されている。別の実施態様では、第一重鎖または軽鎖可変領域は、アミノ末端ペプチド結合によって第一エフェクタ部分、好ましくは単鎖エフェクタ部分に連結されており、さらにカルボキシ末端ペプチド結合によって第二重鎖または軽鎖可変領域に連結されている。

【0052】

一実施態様では、エフェクタ部分、好ましくは単鎖エフェクタ部分は、第一Fab重鎖または軽鎖とカルボキシ末端ペプチド結合を共有しており、さらに第二Fab重鎖または軽鎖とアミノ末端ペプチド結合を共有している。別の実施態様では、第一Fab重鎖または軽鎖は、第一単鎖エフェクタ部分とカルボキシ末端ペプチド結合を共有しており、さらに第二Fab重鎖または軽鎖とアミノ末端ペプチド結合を共有している。他の実施態様では、第一Fab重鎖または軽鎖は、第一単鎖エフェクタ部分とアミノ末端ペプチド結合を共有しており、さらに第二Fab重鎖または軽鎖とカルボキシ末端ペプチド結合を共有している。

【0053】

一実施態様では、イムノコンジュゲートは、1つまたは複数のscFv分子へのアミノ末端ペプチド結合を共有している少なくとも1つの第一エフェクタ部分を含み、そしてこのとき第一エフェクタ部分は、1つまたは複数のscFv分子とカルボキシ末端ペプチド結合をさらに共有している。好ましい実施態様では、エフェクタ部分は単鎖エフェクタ部分である。

【0054】

別の実施態様では、イムノコンジュゲートは、少なくとも1つの第一エフェクタ部分、好ましくは単鎖エフェクタ部分と、第一および第二抗原結合部分を含んでなり、このとき各々の抗原結合部分は、scFv分子を含み、そのカルボキシ末端アミノ酸が免疫グロブリン定常ドメインを含む定常領域に連結されており、そしてこのとき第一抗原結合部分は、その定常領域カルボキシ末端アミノ酸で第一エフェクタ部分のアミノ末端アミノ酸に連結されており、そしてこのとき第一および第二抗原結合部分は少なくとも1つのジスルフィド結合により共有結合されている。好ましい実施態様では、定常領域は、IgG₁ CH1、IgG₂ CH2、IgG₃ CH3、IgG_κ C_κ、IgG_λ C_λ および IgE CH₄ ドメインからなる群より独立して選択される。一実施態様では、第一抗原結合部分の免疫グロブリン定常ドメインは、ジスルフィド結合により第二抗原結合部分の免疫グロブリン定常ドメインに共有結合されている。一実施態様では、少なくとも1つのジスルフィド結合は、第一および第二抗原結合部分の免疫グロブリン定常ドメインのカルボキシ末端に位置する。別の実施態様では、少なくとも1つのジスルフィド結合は、第一および第二抗原結合部分の免疫グロブリン定常ドメインのアミノ末端に位置する。別の実施態様では、少なくとも2つのジスルフィド結合は、第一および第二抗原結合部分の免疫グロブリン定常ドメインのアミノ末端に位置する。

【0055】

特定の実施態様では、イムノコンジュゲートは、第一および第二抗原結合部分を含み、その各々がそのカルボキシ末端アミノ酸でIgG₁ CH1 ドメインを含む定常領域に連結されたscFv分子を含んでおり、このとき第一抗原結合部分は、その定常領域カルボキシ末端アミノ酸で第一エフェクタ部分、好ましくは単鎖エフェクタ部分のアミノ末端アミノ酸に連結されており、そしてこのとき第一および第二抗原結合部分は少なくとも1つのジスルフィド結合により共有結合されている。イムノコンジュゲートの第二抗原結合部分は、そのカルボキシ末端アミノ酸で第二エフェクタ部分のアミノ末端アミノ酸にさらに連結されていてもよい。一実施態様では、第二エフェクタ部分は単鎖エフェクタ部分である。

。

【0056】

特定の実施態様では、イムノコンジュゲートは第一および第二抗原結合部分を含み、その各々がそのカルボキシ末端アミノ酸で I g G C_K ドメインを含む定常領域に連結された s c F v 分子を含んでおり、このとき第一抗原結合部分は、その定常領域カルボキシ末端アミノ酸で第一エフェクタ部分、好ましくは単鎖エフェクタ部分のアミノ末端アミノ酸に連結されており、そしてこのとき第一および第二抗原結合部分は少なくとも1つのジスルフィド結合により共有結合されている。イムノコンジュゲートの第二抗原結合部分は、そのカルボキシ末端アミノ酸で第二エフェクタ部分のアミノ末端アミノ酸にさらに連結されていてもよい。一実施態様では、第二エフェクタ部分は単鎖エフェクタ部分である。

【0057】

別の特実の実施態様では、イムノコンジュゲートは第一および第二抗原結合部分を含み、その各々がそのカルボキシ末端アミノ酸で I g E C H 4 ドメインを含む定常領域に連結された s c F v 分子を含んでおり、このとき第一抗原結合部分は、その定常領域カルボキシ末端アミノ酸で第一エフェクタ部分、好ましくは単鎖エフェクタ部分のアミノ末端アミノ酸に連結されており、そしてこのとき第一および第二抗原結合部分は少なくとも1つのジスルフィド結合により共有結合されている。イムノコンジュゲートの第二抗原結合部分は、そのカルボキシ末端アミノ酸で第二エフェクタ部分のアミノ末端アミノ酸にさらに連結されていてもよい。一実施態様では、第二エフェクタ部分は単鎖エフェクタ部分である。

【0058】

別の特実の実施態様では、イムノコンジュゲートは第一および第二抗原結合部分を含み、その各々がそのカルボキシ末端アミノ酸で I g E C H 3 ドメインに連結された s c F v 分子を含んでおり、このとき第一抗原結合部分は、そのカルボキシ末端アミノ酸で第一エフェクタ部分、好ましくは単鎖エフェクタ部分のアミノ末端アミノ酸に連結されており、そしてこのとき第一および第二抗原結合部分は少なくとも1つのジスルフィド結合により共有結合されている。イムノコンジュゲートの第二抗原結合部分は、そのカルボキシ末端アミノ酸で第二エフェクタ部分のアミノ末端アミノ酸にさらに連結されていてもよい。一実施態様では、第二エフェクタ部分は単鎖エフェクタ部分である。

【0059】

別の実施態様では、イムノコンジュゲートは、第一および第二エフェクタ部分ならびに第一および第二抗原結合部分を含んでなり、このとき抗原結合部分の各々は、その重鎖または軽鎖カルボキシ末端アミノ酸で I g G 1 C H 3 ドメインに連結された F a b 分子を含み、そしてこのとき I g G 1 C H 3 ドメインの各々は、そのそれぞれのカルボキシ末端アミノ酸でエフェクタ部分の1つに含まれるアミノ末端アミノ酸に連結されており、そしてこのとき第一および第二抗原結合部分は少なくとも1つのジスルフィド結合により共有結合されている。好ましい実施態様では、第一および／または第二エフェクタ部分は単鎖エフェクタ部分である。さらなる実施態様では、抗原結合部分の I g G 1 C H 3 ドメインはジスルフィド結合によって連結されていてもよい。別の実施態様では、少なくとも1つのジスルフィド結合は、第一および第二抗原結合部分の I g G 1 C H 3 ドメインのカルボキシ末端に位置する。別の実施態様では、少なくとも1つのジスルフィド結合は、第一および第二抗原結合部分の I g G 1 C H 3 ドメインのアミノ末端に位置する。別の実施態様では、少なくとも2つのジスルフィド結合は、第一および第二抗原結合部分の I g G 1 C H 3 ドメインのアミノ末端に位置する。

【0060】

別の実施態様では、イムノコンジュゲートは、エフェクタ部分と抗原結合部分との間に位置する1つまたは複数のタンパク質分解切断部位を含む。イムノコンジュゲートの成分（例えば抗原結合部分および／またはエフェクタ部分）は、直接連結されていてもよくまたは本明細書で述べるもしくは当分野で公知の様々なリンカー（例えば、1つもしくは複数のアミノ酸、典型的にはおよそ2～10個のアミノ酸を含むペプチドリンカー）を介し

て連結されていてもよい。

【0061】

特定の実施態様では、イムノコンジュゲートは、特に公知のイムノコンジュゲート製剤と比較して、溶液中で改善された安定性を有する。一実施態様では、イムノコンジュゲートは、対照抗原結合部分に対するよりも少なくともおよそ2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24または25倍低い解離定数 (K_D) で抗原決定基に結合する。より特定の実施態様では、イムノコンジュゲートは、対照抗原結合部分に対するよりもおよそ10倍低い K_D で抗原決定基に結合する。一実施態様では、イムノコンジュゲートは、およそ10 nMより低い、およそ1 nMより低い、またはおよそ0.1 nMより低い K_D で抗原決定基に結合する。

【0062】

別の実施態様では、イムノコンジュゲートは、公知のイムノコンジュゲート製剤と比較して優れた安全性プロファイルを有する。イムノコンジュゲートは、好ましくはより少なくかつより軽度の副作用、例えば毒性、非腫瘍細胞の破壊等を誘発する。副作用の低減は、エフェクタ部分レセプターに対する本発明のイムノコンジュゲートの低い結合親和性に起因すると考えられる。一実施態様では、イムノコンジュゲートは、対照エフェクタ部分に対するよりも少なくともおよそ2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24または25倍大きい K_D でエフェクタ部分レセプターに結合する。より特定の実施態様では、イムノコンジュゲートは、対照エフェクタ部分に対するよりもおよそ2倍大きい K_D でエフェクタ部分レセプターに結合する。別の実施態様では、イムノコンジュゲートは、対照エフェクタ部分に対するよりもおよそ10倍大きい K_D でエフェクタ部分レセプターに結合する。別の実施態様では、イムノコンジュゲートは、「ダイアボディ」イムノコンジュゲート分子の対応するエフェクタ部分に対するよりも少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9または10倍大きい K_D でエフェクタ部分レセプターに結合する。別の実施態様では、イムノコンジュゲートは、「ダイアボディ」イムノコンジュゲートの対応するエフェクタ部分に対するよりもおよそ10倍大きい解離定数 K_D でエフェクタ部分レセプターに結合する。

【0063】

別の実施態様では、イムノコンジュゲートは、特に公知のイムノコンジュゲート製剤と比較して、優れた効果を有する。一実施態様では、イムノコンジュゲートは、インビボで腫瘍体積の増加をより一層阻害することができおよび／または悪性腫瘍を有する哺乳動物の生存をより一層延長することができる。一実施態様では、イムノコンジュゲートは、およそ少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29または30日の投与期間の終わりまでに、インビボでの腫瘍体積の増加を少なくともおよそ10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%阻害する。一実施態様では、イムノコンジュゲートは、13日の投与期間の終わりまでに、インビボでの腫瘍体積の増加を少なくとも50%、55%、60%、65%、70%または75%阻害する。別の実施態様では、イムノコンジュゲートは、対照エフェクタ部分と比較して、必要とする哺乳動物に投与されたとき、悪性腫瘍を有する哺乳動物の生存を少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%または95%延長する。別の実施態様では、イムノコンジュゲートは、対照エフェクタ部分と比較して、必要とする哺乳動物に投与されたとき、悪性腫瘍を有する哺乳動物の生存を少なくとも30%、32%または35%延長する。別の実施態様では、イムノコンジュゲートは、対照エフェクタ部分と比較して、必要とする哺乳動物に投与されたとき、悪性腫瘍を有する哺乳動物の生存をおよそ30%延長する。別の実施態様では、イムノコンジュゲ

ートは、「ダイアボディ」イムノコンジュゲート分子のエフェクタ部分と比較して、必要とする哺乳動物に投与されたとき、悪性腫瘍を有する哺乳動物の生存を少なくとも10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%または95%延長する。別の実施態様では、イムノコンジュゲートは、「ダイアボディ」イムノコンジュゲート分子のエフェクタ部分と比較して、必要とする哺乳動物に投与されたとき、悪性腫瘍を有する哺乳動物の生存を少なくとも30%、32%または35%延長する。別の実施態様では、イムノコンジュゲートは、「ダイアボディ」イムノコンジュゲート分子のエフェクタ部分と比較して、必要とする哺乳動物に投与されたとき、悪性腫瘍を有する哺乳動物の生存をおよそ30%延長する。別の実施態様では、イムノコンジュゲートは、対照エフェクタ部分または「ダイアボディ」イムノコンジュゲート分子のエフェクタ部分と比較して、悪性腫瘍を有する哺乳動物の生存をおよそ5%、10%または15%延長する。

【0064】

抗原結合部分

本発明のイムノコンジュゲートの抗原結合部分は、一般に、特定の抗原決定基に結合するポリペプチド分子であり、それが付着している実体（例えばエフェクタ部分または第二抗原結合部分）を標的部位、例えば抗原決定基を担持する特定のタイプの腫瘍細胞または腫瘍間質に向かわせることができる。イムノコンジュゲートは、例えば、腫瘍細胞の表面上で、ウイルス感染細胞の表面上で、他の疾患細胞の表面上で、血清中に遊離して、および／または細胞外マトリックス（ECM）中で認められる抗原決定基に結合することができる。

【0065】

腫瘍抗原の非限定的な例には、MAGE、MART-1/Melan-A、gp100、ジペプチジルペプチダーゼIV（DPP-IV）、アデノシンデアミナーゼ結合タンパク質（ADAbp）、シクロフィリンb、結腸直腸関連抗原（CRC）-C017-1A/GA733、癌胎児性抗原（CEA）およびその免疫原性エピトープCAP-1およびCAP-2、etv6、aml1、前立腺特異抗原（PSA）およびその免疫原性エピトープPSA-1、PSA-2およびPSA-3、前立腺特異的膜抗原（PSMA）、T細胞レセプター/CD3-ζ鎖、腫瘍抗原のMAGEファミリー（例えばMAGE-A1、MAGE-A2、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-A5、MAGE-A6、MAGE-A7、MAGE-A8、MAGE-A9、MAGE-A10、MAGE-A11、MAGE-A12、MAGE-Xp2（MAGE-B2）、MAGE-Xp3（MAGE-B3）、MAGE-Xp4（MAGE-B4）、MAGE-C1、MAGE-C2、MAGE-C3、MAGE-C4、MAGE-C5）、腫瘍抗原のGAGEファミリー（例えばGAGE-1、GAGE-2、GAGE-3、GAGE-4、GAGE-5、GAGE-6、GAGE-7、GAGE-8、GAGE-9）、BAGE、RAGE、LAGE-1、NAG、GnT-V、MUM-1、CDK4、チロシナーゼ、p53、MUCファミリー、HER2/neu、p21ras、RCAS1、α-フェトプロテイン、Eカドヘリン、αカテニン、βカテニンおよびγカテニン、p120ctn、gp100、Pmel117、PRAME、NY-ESO-1、cdc27、大腸腺腫症タンパク質（APC）、フォドリン、コネキシン37、Igイディオタイプ、p15、gp75、GM2およびGD2ガングリオシド、ヒトパピローマウイルスタンパクなどのウイルス産物、腫瘍抗原のSmadファミリー、Imp-1、P1A、EBVコード核抗原（EBNA）-1、脳グリコーゲンホスホリラーゼ、SSX-1、SSX-2（HOM-MEL40）、SSX-1、SSX-4、SSX-5、SCP-1およびCT-7、ならびにc-erbB-2が含まれる。

【0066】

ウイルス抗原の非限定的な例には、インフルエンザウイルス血球凝集素、エプスタイン-バーウイルスLMP-1、C型肝炎ウイルスE2糖タンパク質、HIV gp160およびHIV gp120が含まれる。

ECM抗原の非限定的な例には、シンデカン、ヘパラナーゼ、インテグリン、オステオポンチン、リンク、カドヘリン、ラミニン、ラミニン型EGF、レクチン、フィブロネクチン、ノッチ、テナシンおよびマトリキシンが含まれる。

【0067】

本発明のイムノコンジュゲートは、細胞表面抗原の以下の特定の非限定的な例に結合することができる：FAP、Her2、EGFR、CD2（T細胞表面抗原）、CD3（TCRに関連するヘテロ多量体）、CD22（B細胞レセプター）、CD23（低親和性IgEレセプター）、CD25（IL-2レセプターの α 鎖）、CD30（サイトカインレセプター）、CD33（骨髄性細胞表面抗原）、CD40（腫瘍壊死因子レセプター）、IL-6R（IL6レセプター）、CD20、MCSFおよびPDGF β R（ β 血小板由来増殖因子レセプター）。

【0068】

一実施態様では、本発明のイムノコンジュゲートは2つ以上の抗原結合部分を含み、このときこれらの抗原結合部分の各々は同じ抗原決定基に特異的に結合する。別の実施態様では、本発明のイムノコンジュゲートは2つ以上の抗原結合部分を含み、このときこれらの抗原結合部分の各々は異なる抗原決定基に特異的に結合する。

【0069】

抗原結合部分は、抗原決定基への特異的結合を保持する任意のタイプの抗体またはそのフラグメントであってよい。抗体フラグメントには、V_Hフラグメント、V_Lフラグメント、Fabフラグメント、F(ab')₂フラグメント、scFvフラグメント、Fvフラグメント、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディおよびテトラボディが含まれるが、これらに限定されない（例えば、Hudson and Souriau, Nature Med. 9:129-134 (2003)を参照）。

【0070】

一実施態様では、イムノコンジュゲートは、フィブロネクチンのエクストラドメインB（EDB）に特異的な少なくとも1つ、典型的には2つ以上の抗原結合部分を含む。別の実施態様では、イムノコンジュゲートは、EDBのエピトープへの結合についてモノクローナル抗体L19と競合することができる少なくとも1つ、典型的には2つ以上の抗原結合部分を含む。例えば、PCT公報WO2007/128563 A1号（その全体が参照により本明細書に組み込まれる）を参照。さらに別の実施態様では、イムノコンジュゲートはポリペプチド配列を含み、このときL19モノクローナル抗体に由来する第一Fab重鎖がIL-2分子とカルボキシ末端ペプチド結合を共有しており、このIL-2分子は、順番にL19モノクローナル抗体に由来する第二Fab重鎖とカルボキシ末端ペプチド結合を共有する。さらに別の実施態様では、イムノコンジュゲートはポリペプチド配列を含み、このときL19モノクローナル抗体に由来する第一Fab重鎖がIL-12分子とカルボキシ末端ペプチド結合を共有しており、このIL-12分子は、順番にL19モノクローナル抗体に由来する第二Fab重鎖とカルボキシ末端ペプチド結合を共有する。さらに別の実施態様では、イムノコンジュゲートはポリペプチド配列を含み、このときL19モノクローナル抗体に由来する第一Fab重鎖がIFN α 分子とカルボキシ末端ペプチド結合を共有しており、このIFN α 分子が、順番にL19モノクローナル抗体に由来する第二Fab重鎖とカルボキシ末端ペプチド結合を共有する。さらに別の実施態様では、イムノコンジュゲートはポリペプチド配列を含み、このときL19モノクローナル抗体に由来する第一scFvがIL-2分子とカルボキシ末端ペプチド結合を共有しており、このIL-2分子が、順番にL19モノクローナル抗体に由来する第二scFvとカルボキシ末端ペプチド結合を共有する。より特定の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：95のポリペプチド配列または機能性を保持するその変異体を含む。別の実施態様では、イムノ

コンジュゲートは、L19モノクローナル抗体に由来するFab軽鎖を含む。より特定の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：96または機能性を保持するその変異体と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%同一であるポリペプチド配列を含む。さらに別の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：95および配列番号：96または機能性を保持するその変異体と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%同一である2つのポリペプチド配列を含む。より特定の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：104または機能性を保持するその変異体と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%同一であるポリペプチド配列を含む。さらに別の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：104および配列番号：96または機能性を保持するその変異体と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%同一である2つのポリペプチド配列を含む。より特定の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：105または機能性を保持するその変異体と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%同一であるポリペプチド配列を含む。さらに別の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：105および配列番号：96または機能性を保持するその変異体と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%同一である2つのポリペプチド配列を含む。より特定の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：106または機能性を保持するその変異体と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%同一であるポリペプチド配列を含む。さらに別の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：106および配列番号：96または機能性を保持するその変異体と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%同一である2つのポリペプチド配列を含む。より特定の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：107または機能性を保持するその変異体と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%同一であるポリペプチド配列を含む。さらに別の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：107および配列番号：96または機能性を保持するその変異体と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%同一であるポリペプチド配列を含む。別の特定の実施態様では、ポリペプチドは、例えばジスルフィド結合により、共有結合されている。

【0071】

一実施態様では、本発明のイムノコンジュゲートは、テネイシン(TNC-A1)のA1ドメインに特異的である少なくとも1、一般的に2以上の抗原結合部分を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、TNC-A1のエピトープへの結合についてモノクローナル抗体F16と競合しうる、少なくとも1、一般的に2以上の抗原結合部分を含む。国際出願公報2007/128563A1（本願明細書全体に引用したものとする）参照。一実施態様では、イムノコンジュゲートは、テネイシン（TNC-A1又はTNC-A4又はTNC-A1/A4）のA1及び／又はA4ドメインに特異的である少なくとも1、一般的に2以上の抗原結合部分を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、テネイシンのA1ドメインに特異的な第一Fab重鎖がカルボキシ終末ペプチド結合をIL-2分子、IL-12分子、IFN α 分子又はGM-CSF分子と共有し、次にカルボキシ終末ペプチド結合をテネイシンのA1ドメインに特異的な第二Fab重鎖と共有する、ポリペプチド配列を含む。さらに他の実施態様において、イムノコンジュゲートは、テネイシンのA1ドメインに特異的な第一Fab重鎖がカルボキシ終末ペプチド結合をIL-12分子と共有し、次にカルボキシ終末ペプチド結合をテネイシンのA1ドメインに特異的な第二Fab重鎖と共有する、ポリペプチド配列を含む。さらなる実施態様において、イムノコンジュゲートは、テネイシンのA1ドメインに特異的な第一scFvがカルボキシ終末ペプチド結合をIL-2分子と共有し、次にカルボキシ終末ペプチド結合を

テネインシンのA1ドメインに特異的な第二s c F vと共有する、ポリペプチド配列を含む。特定の実施態様では、イムノコンジュゲートの抗原結合部分は、配列番号：13又は配列番号：15と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である重鎖可変領域、又は機能性を保持するその改変体を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートの抗原結合部分は、配列番号：9又は配列番号：11と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である軽鎖可変領域、又は機能性を保持するその改変体を含む。さらなる実施態様において、イムノコンジュゲートの抗原結合部分は、配列番号：13又は配列番号：15と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である重鎖可変領域、又は機能性を保持するその改変体と、配列番号：9又は配列番号：11と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である軽鎖可変領域、又は機能性を保持するその改変体とを含む。一実施態様では、イムノコンジュゲートの抗原結合部分の重鎖可変領域配列は、配列番号：14又は配列番号：16と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる。他の実施態様では、イムノコンジュゲートの抗原結合部分重鎖可変領域配列は、配列番号：14又は配列番号：16のポリヌクレオチド配列によってコードされる。一実施態様では、イムノコンジュゲートの抗原結合部分の軽鎖可変領域配列は、配列番号：10又は配列番号：12と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる。他の実施態様では、イムノコンジュゲートの抗原結合部分軽鎖可変領域配列は、配列番号：10又は配列番号：12のポリヌクレオチド配列によってコードされる。一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：99と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリヌクレオチド配列、又は機能性を保持するその改変体を含む。他の実施態様では、本発明のイムノコンジュゲートは、配列番号：100又は配列番号：215と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列、又は機能性を保持するその改変体を含む。他の実施態様では、本発明のイムノコンジュゲートは、配列番号：101又は配列番号：235と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列、又は機能性を保持するその改変体を含む。さらなる実施態様において、本発明のイムノコンジュゲートは、配列番号：100及び配列番号：101と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である2つのポリペプチド配列、又は機能性を保持するそれら改変体を含む。他の実施態様において、本願発明のイムノコンジュゲートは、配列番号：215及び配列番号：235と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である2つのポリペプチド配列、又は機能性を保持するその改変体を含む。一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：112と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：112のポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：113又は配列番号：216と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：113又は配列番号：216のポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：114又は配列番号：236と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：114又は配列

番号：236のポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。

【0072】

一実施態様では、イムノコンジュゲートは、テネインのA2ドメイン(TNC-A2)に特異的な少なくとも1、一般的に2以上の抗原結合部分を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートはテネインのA2ドメインに特異的な第一Fab重鎖がカルボキシ終末ペプチド結合をIL-2分子、IL-12分子、IFN α 分子又はGM-CSF分子と共有し、次にカルボキシ終末ペプチド結合をテネインのA2ドメインに特異的な第二Fab重鎖と共有する、ポリペプチド配列を含む。さらに他の実施態様において、イムノコンジュゲートは、テネインのA2ドメインに特異的な第一Fab重鎖がカルボキシ終末ペプチド結合をIL-2分子と共有し、次にカルボキシ終末ペプチド結合をテネインのA2ドメインに特異的な第二Fab重鎖と共有する、ポリペプチド配列を含む。一実施態様では、イムノコンジュゲートの抗原結合部分は、配列番号：7、配列番号：179、配列番号：183、配列番号：187、配列番号：191、配列番号：195、配列番号：199、配列番号：203および配列番号：207の群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である重鎖可変領域配列、又は機能性を保持するその改変体を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートの抗原結合部分は、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：177、配列番号：181、配列番号：185、配列番号：189、配列番号：193、配列番号：197、配列番号：201および配列番号：205の群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である軽鎖可変領域配列、又は機能性を保持するその改変体を含む。さらなる実施態様において、イムノコンジュゲートの抗原結合部分は、配列番号：7、配列番号：179、配列番号：183、配列番号：187、配列番号：191、配列番号：195、配列番号：199、配列番号：203および配列番号：207の群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である重鎖可変領域配列、又は機能性を保持するその改変体と、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：177、配列番号：181、配列番号：185、配列番号：189、配列番号：193、配列番号：197、配列番号：201および配列番号：205の群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である軽鎖可変領域配列、又は機能性を保持するその改変体とを含む。一実施態様では、イムノコンジュゲートの抗原結合部分の重鎖可変領域配列は、配列番号：8、配列番号：180、配列番号：184、配列番号：188、配列番号：192、配列番号：196、配列番号：200、配列番号：204および配列番号：208の群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる。他の実施態様では、イムノコンジュゲートの抗原結合部分重鎖可変領域配列は、配列番号：8、配列番号：180、配列番号：184、配列番号：188、配列番号：192、配列番号：196、配列番号：200、配列番号：204および配列番号：208の群から選択されるポリヌクレオチド配列によってコードされる。一実施態様では、イムノコンジュゲートの抗原結合部分の軽鎖可変領域配列は、配列番号：4、配列番号：6、配列番号：178、配列番号：182、配列番号：186、配列番号：190、配列番号：194、配列番号：198、配列番号：202および配列番号：206の群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる。他の実施態様では、イムノコンジュゲートの抗原結合部分の軽鎖可変領域配列は、配列番号：4、配列番号：6、配列番号：178、配列番号：182、配列番号：186、配列番号：190、配列番号：194、配列番号：198、配列番号：202および配列番号：206の群から選択されるポリヌクレオチド配列によってコードされる。一実施態様では、本願発明のイムノコンジュゲートは、配列番号：239、配列番号：241および配列番号：243の群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、9

6 %、97 %、98 %、99 %又は100 %同一であるポリペプチド配列、又は機能性を保持するその改変体を含む。他の実施態様では、本願発明のコンジュゲートは、配列番号：245、配列番号：247および配列番号：249の群から選択される配列と少なくともおよそ80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %又は100 %同一であるポリペプチド配列、又は機能性を保持するその改変体を含む。さらなる実施態様において、本願発明のイムノコンジュゲートは、配列番号：239、配列番号：241および配列番号：243の群から選択される配列と少なくともおよそ80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %又は100 %同一であるポリペプチド配列、又は機能性を保持するその改変体と、配列番号：245、配列番号：247および配列番号：249の群から選択される配列と少なくともおよそ80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %又は100 %同一であるポリペプチド配列、又は機能性を保持するその改変体とを含む。他の実施態様では、本発明のイムノコンジュゲートは、配列番号：241と配列番号：245又は配列番号：247と少なくともおよそ80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %又は100 %同一である2つのポリペプチド配列、又は機能性を保持するその改変体を含む。他の実施態様では、本発明のイムノコンジュゲートは、配列番号：243と配列番号：245と少なくともおよそ80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %又は100 %同一である2つのポリペプチド配列、又は機能性を保持するその改変体を含む。一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：240、配列番号：242および配列番号：244の群から選択される配列と少なくともおよそ80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %又は99 %同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：240、配列番号：242および配列番号：244の群から選択されるポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：246、配列番号：248および配列番号：250の群から選択される配列と少なくともおよそ80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %又は99 %同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：246、配列番号：248および配列番号：250の群から選択されるポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。

【0073】

一実施態様では、イムノコンジュゲートは、線維芽細胞活性化タンパク質(FAP)に特異的な少なくとも1、一般的に2以上の抗原結合部分を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、FAPに特異的な第一Fab重鎖がカルボキシ終末ペプチド結合をIL-2分子、IL-12分子、IFN α 分子又はGM-CSF分子と共有し、次にカルボキシ終末ペプチド結合をFAPに特異的な第二Fab重鎖と共有する、ポリペプチド配列を含む。さらに他の実施態様において、イムノコンジュゲートは、FAPに特異的な第一Fab重鎖がカルボキシ終末ペプチド結合をIL-2分子と共有し、次にカルボキシ終末ペプチド結合をFAPに特異的な第二Fab重鎖と共有する、ポリペプチド配列を含む。一実施態様では、イムノコンジュゲートの抗原結合部分は、配列番号：21、配列番号：25、配列番号：27、配列番号：31、配列番号：35、配列番号：39、配列番号：43、配列番号：47、配列番号：51、配列番号：69、配列番号：73、配列番号：77、配列番号：81、配列番号：85、配列番号：89、配列番号：93、配列番号：123、配列番号：127、配列番号：131、配列番号：135、配列番号：139、配列番号：143、配列番号：147、配列番号：151、配列番号：155、配列番号：159、配列番号：163、配列番号：167、配列番号：171および配列番号：175からなる群から選択される配列と少なくともおよそ80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %又は100 %同一である重鎖可変領域配列、又は機能性を保持するその改変体を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートの抗原結合部分は、配列番号：17、配列番号：19、配列番号：23、配列番号：29、配列番号：

3 3、配列番号：3 7、配列番号：4 1、配列番号：4 5、配列番号：4 9、配列番号：6 7、配列番号：7 1、配列番号：7 5、配列番号：7 9、配列番号：8 3、配列番号：8 7、配列番号：9 1、配列番号：1 2 1、配列番号：1 2 5、配列番号：1 2 9、配列番号：1 3 3、配列番号：1 3 7、配列番号：1 4 1、配列番号：1 4 5、配列番号：1 4 9、配列番号：1 5 3、配列番号：1 5 7、配列番号：1 6 1、配列番号：1 6 5、配列番号：1 6 9および配列番号：1 7 3からなる群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である軽鎖可変領域配列、又は機能性を保持するその改変体を含む。さらなる実施態様において、イムノコンジュゲートの抗原結合部分は、配列番号：2 1、配列番号：2 5、配列番号：2 7、配列番号：3 1、配列番号：3 5、配列番号：3 9、配列番号：4 3、配列番号：4 7、配列番号：5 1、配列番号：6 9、配列番号：7 3、配列番号：7 7、配列番号：8 1、配列番号：8 5、配列番号：8 9、配列番号：9 3、配列番号：1 2 3、配列番号：1 2 7、配列番号：1 3 1、配列番号：1 3 5、配列番号：1 3 9、配列番号：1 4 3、配列番号：1 4 7、配列番号：1 5 1、配列番号：1 5 5、配列番号：1 5 9、配列番号：1 6 3、配列番号：1 6 7、配列番号：1 7 1および配列番号：1 7 5からなる群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である重鎖可変領域配列、又は機能性を保持するその改変体と、配列番号：1 7、配列番号：1 9、配列番号：2 3、配列番号：2 9、配列番号：3 3、配列番号：3 7、配列番号：4 1、配列番号：4 5、配列番号：4 9、配列番号：6 7、配列番号：7 1、配列番号：7 5、配列番号：7 9、配列番号：8 3、配列番号：8 7、配列番号：9 1、配列番号：1 2 1、配列番号：1 2 5、配列番号：1 2 9、配列番号：1 3 3、配列番号：1 3 7、配列番号：1 4 1、配列番号：1 4 5、配列番号：1 4 9、配列番号：1 5 3、配列番号：1 5 7、配列番号：1 6 1、配列番号：1 6 5、配列番号：1 6 9および配列番号：1 7 3からなる群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である軽鎖可変領域配列、又は機能性を保持するその改変体とを含む。一実施態様では、イムノコンジュゲートの抗原結合部分の重鎖可変領域配列は、配列番号：2 2、配列番号：2 6、配列番号：2 8、配列番号：3 2、配列番号：3 6、配列番号：4 0、配列番号：4 4、配列番号：4 8、配列番号：5 2、配列番号：7 0、配列番号：7 4、配列番号：7 8、配列番号：8 2、配列番号：8 6、配列番号：9 0、配列番号：9 4、配列番号：1 2 4、配列番号：1 2 8、配列番号：1 3 2、配列番号：1 3 6、配列番号：1 4 0、配列番号：1 4 4、配列番号：1 4 8、配列番号：1 5 2、配列番号：1 5 6、配列番号：1 6 0、配列番号：1 6 4、配列番号：1 6 8、配列番号：1 7 2および配列番号：1 7 6からなる群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる。他の実施態様では、イムノコンジュゲートの抗原結合部分の重鎖可変領域配列は、配列番号：2 2、配列番号：2 6、配列番号：2 8、配列番号：3 2、配列番号：3 6、配列番号：4 0、配列番号：4 4、配列番号：4 8、配列番号：5 2、配列番号：7 0、配列番号：7 4、配列番号：7 8、配列番号：8 2、配列番号：8 6、配列番号：9 0、配列番号：9 4、配列番号：1 2 4、配列番号：1 2 8、配列番号：1 3 2、配列番号：1 3 6、配列番号：1 4 0、配列番号：1 4 4、配列番号：1 4 8、配列番号：1 5 2、配列番号：1 5 6、配列番号：1 6 0、配列番号：1 6 4、配列番号：1 6 8、配列番号：1 7 2および配列番号：1 7 6からなる群から選択されるポリヌクレオチドによってコードされる。一実施態様では、イムノコンジュゲートの抗原結合部分の軽鎖可変領域配列は、配列番号：1 8、配列番号：2 0、配列番号：2 4、配列番号：3 0、配列番号：3 4、配列番号：3 8、配列番号：4 2、配列番号：4 6、配列番号：5 0、配列番号：6 8、配列番号：7 2、配列番号：7 6、配列番号：8 0、配列番号：8 4、配列番号：8 8、配列番号：9 2、配列番号：1 2 2、配列番号：1 2 6、配列番号：1 3 0、配列番号：1 3 4、配列番号：1 3 8、配列番号：1 4 2、配列番号：1 4 6、配列番号：1 5 0、配列番号：1 5 4、配列番号：1 5 8、配列番号：1 6 2、配列番号

：166、配列番号：170および配列番号：174からなる群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる。他の実施態様では、イムノコンジュゲートの抗原結合部分の軽鎖可変領域配列は、配列番号：18、配列番号：20、配列番号：24、配列番号：30、配列番号：34、配列番号：38、配列番号：42、配列番号：46、配列番号：50、配列番号：68、配列番号：72、配列番号：76、配列番号：80、配列番号：84、配列番号：88、配列番号：92、配列番号：122、配列番号：126、配列番号：130、配列番号：134、配列番号：138、配列番号：142、配列番号：146、配列番号：150、配列番号：154、配列番号：158、配列番号：162、配列番号：166、配列番号：170および配列番号：174からなる群から選択されるポリヌクレオチド配列によってコードされる。一実施態様では、本発明のイムノコンジュゲートは、配列番号：209、配列番号：211、配列番号：213、配列番号：217、配列番号：219、配列番号：221、配列番号：223、配列番号：225および配列番号：227の群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列、又は機能性を保持するその改変体を含む。他の実施態様では、本発明のイムノコンジュゲートは、配列番号：229、配列番号：231、配列番号：233および配列番号：237の群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列、又は機能性を保持するその改変体を含む。さらなる実施態様において、本発明のイムノコンジュゲートは、配列番号：211、配列番号：219および配列番号：221の群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列、又は機能性を保持するその改変体と、配列番号：231の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列、又は機能性を保持するその改変体とを含む。さらなる実施態様において、本発明のイムノコンジュゲートは、配列番号：209、配列番号：223、配列番号：225および配列番号：227の群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列、又は機能性を保持するその改変体と、配列番号：229の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列、又は機能性を保持するその改変体とを含む。さらなる実施態様において、本発明のイムノコンジュゲートは、配列番号：213及び配列番号：233と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である2つのポリペプチド配列、又は機能性を保持するそれら改変体を含む。さらなる実施態様において、本発明のイムノコンジュゲートは、配列番号：217及び配列番号：237と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である2つのポリペプチド配列、又は機能性を保持するそれら改変体を含む。他の実施態様では、本発明のイムノコンジュゲートは、配列番号：221及び配列番号：231と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である2つのポリペプチド配列、又は機能性を保持するそれら改変体を含む。他の実施態様では、本発明のイムノコンジュゲートは、配列番号：223及び配列番号：229と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である2つのポリペプチド配列、又は機能性を保持するそれら改変体を含む。他の実施態様では、本発明のイムノコンジュゲートは、配列番号：225及び配列番号：229と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である2つのポリペプチド配列、又は機能性を保持するそれら改変体を含む。他の実施態様では、本発明のイムノコンジュゲートは、配列番号：227及び配列番号：229と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である2つのポリペプチド

配列、又は機能性を保持するそれら改変体を含む。一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：210、配列番号：212、配列番号：214、配列番号：218、配列番号：220、配列番号：222、配列番号：224、配列番号：226および配列番号：228の群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：210、配列番号：212、配列番号：214、配列番号：218、配列番号：220、配列番号：222、配列番号：224、配列番号：226および配列番号：228の群から選択されるポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：230、配列番号：232、配列番号：234および配列番号：238の群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：230、配列番号：232、配列番号：234および配列番号：238の群から選択されるポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。

【0074】

一実施態様では、イムノコンジュゲートは、メラノーマコンドロイチン硫酸プロテオグリカン(MCSP)に特異的な少なくとも1、一般的に2以上の抗原結合部分を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、MCSPに特異的な第一Fab重鎖がカルボキシ終末ペプチド結合をIL-2分子、IL-12分子、IFN α 分子又はGM-CSF分子と共有し、次にカルボキシ終末ペプチド結合をMCSPに特異的な第二Fab重鎖と共有する、ポリペプチド配列を含む。さらに他の実施態様において、イムノコンジュゲートは、MCSPに特異的な第一Fab重鎖がカルボキシ終末ペプチド結合をIL-2分子と共有し、次にカルボキシ終末ペプチド結合をMCSPに特異的な第二Fab重鎖と共有する、ポリペプチド配列を含む。一実施態様では、イムノコンジュゲートの抗原結合部分は、配列番号：257又は配列番号：261の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である重鎖可変領域配列、又は機能性を保持するその改変体を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートの抗原結合部分は、配列番号：259又は配列番号：271の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である軽鎖可変領域配列、又は機能性を保持するその改変体を含む。さらなる実施態様において、イムノコンジュゲートの抗原結合部分は、配列番号：257又は配列番号：261の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である重鎖可変領域配列、又は機能性を保持するその改変体と、配列番号：259又は配列番号：271の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である軽鎖可変領域配列、又は機能性を保持するその改変体とを含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートの抗原結合部分は、配列番号：257の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である重鎖可変領域配列と、配列番号：259の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である軽鎖可変領域配列とを含む。一実施態様では、イムノコンジュゲートの抗原結合部分の重鎖可変領域配列は、配列番号：258又は配列番号：262の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：

258又は配列番号：262のポリヌクレオチド配列によってコードされる。一実施態様では、イムノコンジュゲートの抗原結合部分の軽鎖可変領域配列は、配列番号：260又は配列番号：272の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる。他の実施態様では、イムノコンジュゲートの抗原結合部分の軽鎖可変領域配列は、配列番号：260又は配列番号：272のポリヌクレオチド配列によってコードされる。一実施態様では、本発明のイムノコンジュゲートは、配列番号：251又は配列番号：255と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列、又は機能性を保持するその改変体を含む。他の実施態様では、本発明のイムノコンジュゲートは、配列番号：253又は配列番号：265と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列、又は機能性を保持するその改変体を含む。さらなる実施態様において、本発明のイムノコンジュゲートは、配列番号：251又は配列番号：255と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列、又は機能性を保持するその改変体と、配列番号：253又は配列番号：265と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列、又は機能性を保持するその改変体とを含む。他の実施態様では、本発明のイムノコンジュゲートは、配列番号：251と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列、又は機能性を保持するその改変体と、配列番号：253と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列、又は機能性を保持するその改変体とを含む。他の実施態様では、本発明のイムノコンジュゲートは、配列番号：255と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列、又は機能性を保持するその改変体と、配列番号：253と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列、又は機能性を保持するその改変体とを含む。一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：252又は配列番号：256の配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：252又は配列番号：256のポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。一実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：254又は配列番号：266と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、配列番号：254又は配列番号：266のポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列を含む。

【0075】

一実施態様では、抗原結合部分は、抗原決定基に結合することができる少なくとも1つの可変領域を含む。本発明において有用な非限定的可変領域は、マウス、霊長類またはヒト起源のものであってよい。ヒト可変領域は、ハイブリドーマ法によって作製されたヒトモノクローナル抗体に由来してよい。ヒトモノクローナル抗体の作製のためのヒト骨髓腫およびマウスーヒトヘテロ骨髓腫細胞株は、例えば、Kozbor et al., J Immunol. 133:3001-3005 (1984) および Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987) によって記述されている。ヒト可変領域はまた、免疫化後、内因性免疫グロブリン産生の不在下でヒト抗体のレパートリーを生産することができるトランスジェニック動物（例えばマウス）によって作製してもよい。例えば、キメラおよび生殖細胞系突然変異体マウスにおける抗体重鎖連結領域（J

H) 遺伝子のホモ接合性欠失は、内因性抗体産生の完全な阻害をもたらすことが記述されている。そのような生殖細胞系突然変異体マウスへのヒト生殖細胞系免疫グロブリン遺伝子アレイの移入は、抗原投与後ヒト抗体の産生を生じさせる。例えば、J a k o b o v i t s e t a l . , N a t u r e 362:255-258 (1993) を参照。

【0076】

あるいは、ファージディスプレイを用いて、例えば免疫化していないドナーからの、免疫グロブリン可変(V)ドメイン遺伝子レパートリーからインビトロでヒト抗体およびヒト可変領域を作製することができる(McCafferty et al., Nature 348:552-554 (1990))。この技術の一例では、抗体Vドメイン遺伝子をM13またはfdなどの糸状バクテリオファージの主要なまたは重要でないコートタンパク質遺伝子のいずれかにインフレームでクローニングし、機能的抗体フラグメントとしてファージ粒子の表面に提示させる。

糸状粒子はファージゲノムの一本鎖DNAコピーを含有するので、抗体/抗体フラグメントの機能的特性に基づく選択も、それらの特性を示す抗体/抗体フラグメントをコードする遺伝子の選択をもたらす。したがって、ファージはB細胞の特性の一部を模倣する。ファージディスプレイは様々な形式で実施することができる。ファージディスプレイ形式の総説については、Hoogenboom et al., Nucleic Acids

Res. 19:4133-4137 (1991) を参照。V遺伝子セグメントのいくつかの供給源をファージディスプレイのために使用することができる。Clacksonらは、免疫化マウスの脾臓に由来するV遺伝子の小さなランダムコンビナトリアルライブラリから抗オキサゾロン抗体の多様なアレイを単離した。Clackson et al., Nature 352:624-628 (1991) を参照。免疫化していないヒトドナーからのV遺伝子のレパートリーを構築することができ、抗原(自己抗原を含む)の多様なアレイに対する抗体を、Marks et al., J. Mol. Bio. 222:581-597 (1991) に記述された技術に基本的に従って単離することができる。天然の免疫応答では、抗体遺伝子は高い割合で突然変異を蓄積する(体細胞超突然変異)。

導入された変化の一部はより高い親和性を与え、高親和性の表面免疫グロブリンを提示するB細胞が、その後の抗原投与の間に選択的に複製され、分化される。この天然の過程は、「チェーンシャッフリング」として知られる技術を用いることによって模倣することができる。Marks et al., Biotech. 10:779-783 (1992) を参照。この方法では、ファージディスプレイによって得られる「一次」ヒト抗体または可変領域の親和性を、重鎖および軽鎖V領域遺伝子を免疫化していないドナーから得られたVドメイン遺伝子の天然に生じる変異体のレパートリー(レパートリー)で連続的に置き換えることによって改善することができる。この技術は、nM範囲の親和性を有する抗体および可変領域の作製を可能にする。非常に大きなファージ抗体レパートリーを作製するための方法は、Waterhouse et al., Nucl. Acids Res. 21:2265-2266 (1993) に記述されており、そのような大きなファージライブラリからの高親和性ヒト抗体の直接の単離は、Griffith et al., J. Cell. Bio. 120:885-896 (1993) に報告されている。遺伝子シャッフリングはまた、げっ歯動物抗体からヒト抗体および可変領域を誘導するために使用することもでき、この場合ヒト抗体または可変領域は、出発げっ歯動物抗体または可変領域と類似の親和性および特異性を有する。「エピトープインプリンティング」とも称されるこの方法によれば、ファージディスプレイ技術によって得られたげっ歯動物抗体の重鎖または軽鎖Vドメイン遺伝子をヒトVドメイン遺伝子のレパートリーで置き換えて、げっ歯動物-ヒトのキメラを創製する。抗原での選択により、機能的抗原結合部位を回復することができるヒト可変領域の単離がもたらされる、すなわちエピトープがパートナーの選択を支配(インプリント)する。この工程を反復して残りのげっ歯動物Vドメインを置き換えたとき、ヒト抗体が得られる(PC T公報WO93/06213号を参照)。げっ歯動物抗体の伝統的なヒト化とは異なり、エピトープインプリンティング技術は、げっ歯動物起源のフレームワークまたはCDR残基を全く有さない完全なヒト抗体または可

変領域を提供する。

使用できる可変領域はまた、霊長類化もしくはヒト化されているマウス可変領域配列またはヒト化されている霊長類可変領域配列を含む。本明細書で使用する「ヒト化」という用語は非ヒト抗体、例えばマウス抗体に由来する抗原結合部分可変領域を指し、その非ヒト抗体は親分子の抗原結合特性を保持するまたは実質的に保持するが、ヒトにおいてより低い免疫原性を示す。これは、(a) 重要なフレームワーク残基（例えば、良好な抗原結合親和性または抗体機能を保持するために重要なもの）を保持しつつまたは保持せずに、非ヒトCDRだけをヒトフレームワーク領域に移植することおよび(b) 非ヒト可変領域を表面残基の置換によってヒト様部分で「覆うこと(cloaking)」を含む様々な方法によって達成しうる。そのような方法は、Jones et al., Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 81:6851-6855 (1984); Morrison and Oi, Adv. Immunol., 44:65-92 (1988); Verhoeyen et al., Science, 239:1534-1536 (1988); Padlan, Molec. Immun., 28:489-498 (1991); Padlan, Molec. Immun., 31(3):169-217 (1994) によって開示されており、これらはすべて、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。抗体の重鎖および軽鎖可変領域の各々には、一般に3つの相補性決定領域またはCDR(CDR1、CDR2およびCDR3)が存在し、これらは、抗体の重鎖および軽鎖可変ドメインの各々において4つのフレームワークサブ領域（すなわちFR1、FR2、FR3およびFR4）によって隣接されている：FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4。ヒト化可変領域を有する抗体の考察は、中でも特に、米国特許第6,632,927号および米国特許出願公開第2003/0175269号に見出すことができ、これらはどちらも、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0077】

同様に、本明細書で使用する「霊長類化」という用語は非霊長類抗体、例えばマウス抗体に由来する抗原結合部分可変領域を指し、その非霊長類抗体は親分子の抗原結合特性を保持するまたは実質的に保持するが、霊長類においてより低い免疫原性を示す。

ヒト化抗原結合部分を作製する際に、重鎖および軽鎖の両方のヒト可変ドメインの選択は、抗原性を低減するために非常に重要である。いわゆる「ベストフィット」法によれば、げっ歯動物抗原結合部分の可変領域の配列を公知のヒト可変領域配列のライブラリ全体に対してスクリーニングする。次に、げっ歯動物の配列に最も近いヒト配列をヒト化抗原結合部分のためのヒトフレームワーク領域(FR)として受け入れる(Sims et al., J. Immunol., 151:2296 (1993); Chothia et al., J. Mol. Biol., 196:901 (1987))。ヒトフレームワーク配列を選択する別の方法は、完全なげっ歯動物フレームワークの各個々のサブ領域（すなわちFR1、FR2、FR3およびFR4）または個々のサブ領域の何らかの組合せ（例えばFR1とFR2）の配列を、そのフレームワークサブ領域に対応する公知のヒト可変領域配列のライブラリ（例えばKabats番号付けによって決定される）に対して比較し、げっ歯動物の配列と最も近い各々のサブ領域または組合せについてのヒト配列を選択することである（米国特許出願公開第2003/0040606A1号）。別の方法は、軽鎖または重鎖の特定のサブグループのすべてのヒト抗体のコンセンサス配列に由来する特定のフレームワーク領域を使用する。同じフレームワークをいくつかの異なるヒト化抗原結合部分のために使用してもよい(Carter et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285 (1992); Presta et al., J. Immunol., 151:2623 (1993))。

一般に、本発明のイムノコンジュゲートの抗原結合部分は、特定の抗原決定基に対する高い親和性および他の有益な生物学的特性を保持する。したがって、ヒト化可変領域は、親配列およびヒト化配列の三次元モデルを使用して親配列および様々な概念上のヒト化生成物を解析することによって調製される。三次元免疫グロブリンモデルは市販されており

、当業者にはよく知られている。選択された候補免疫グロブリン可変領域配列の推定三次元立体配座構造を例示し、表示するコンピュータプログラムが利用可能である。これらの表示の精査により、候補免疫グロブリン可変領域配列の機能における残基の考えられる役割の分析、すなわち候補可変領域配列がその抗原に結合する能力に影響を及ぼす残基の分析が可能となる。このようにして、標的抗原に対する親和性増大などの所望抗原結合部分特性が達成されるように、FR残基をレシピエント配列およびインポート配列から選択し、組み合わせることができる。一般に、超可変領域残基は、抗原結合に影響を及ぼすことに直接かつ最も実質的に関与する。

別の実施態様では、本発明の抗原結合分子を、例えば、その内容全体が参照により本明細書に組み込まれる、米国特許出願公開第2004/0132066号に開示されている方法に従って増強された結合親和性を有するように操作する。エフェクタ部分レセプターまたは特定の抗原決定基のいずれかに結合する本発明のイムノコンジュゲートの能力は、固相酵素免疫検定法(ELISA)または当業者によく知られている他の技術、例えば表面プラズモン共鳴技術(BIACORE T100システムで解析される)(Liljeblad, et al., Glyco. J. 17:323-329(2000))および伝統的な結合アッセイ(Heeley, R. P., Endocr. Res. 28:217-229(2002))のいずれかによって測定することができる。

【0078】

エフェクタ部分

本発明において使用するためのエフェクタ部分は、一般に、例えばシグナル伝達経路を介して、細胞活性に影響を及ぼすポリペプチドである。したがって、本発明のイムノコンジュゲートのエフェクタ部分は、細胞膜の外側からの応答を調節するシグナルを細胞内に伝達するレセプター媒介性シグナル伝達に関連してもよい。例えば、イムノコンジュゲートのエフェクタ部分はサイトカインであってよい。特定の実施態様では、エフェクタ部分は本明細書で定義される単鎖エフェクタ部分である。一実施態様では、本発明のイムノコンジュゲートの1つまたは複数のエフェクタ部分、典型的には単鎖エフェクタ部分は、IL-2、GM-CSF、IFN- α およびIL-12からなる群より選択されるサイトカインである。別の実施態様では、イムノコンジュゲートの1つまたは複数の単鎖エフェクタ部分は、IL-8、MIP-1 α 、MIP-1 β およびTGF- β からなる群より選択されるサイトカインである。

一実施態様では、イムノコンジュゲートのエフェクタ部分、好ましくは単鎖エフェクタ部分はIL-2である。特定の実施態様では、IL-2エフェクタ部分は、以下からなる群より選択される細胞応答の1つまたは複数を誘発することができる：活性化Tリンパ球の増殖、活性化Tリンパ球の分化、細胞傷害性T細胞(CTL)活性、活性化B細胞の増殖、活性化B細胞の分化、ナチュラルキラー(NK)細胞の増殖、NK細胞の分化、およびNK/リンパ球活性化キラー(LAK)抗腫瘍細胞毒性。一実施態様では、イムノコンジュゲートのエフェクタ部分、好ましくは単鎖エフェクタ部分はGM-CSFである。特定の実施態様では、GM-CSFエフェクタ部分は、顆粒球、単球または樹状細胞の増殖および/または分化を誘発することができる。一実施態様では、イムノコンジュゲートのエフェクタ部分、好ましくは単鎖エフェクタ部分はIFN- α である。特定の実施態様では、IFN- α エフェクタ部分は、以下からなる群より選択される細胞応答の1つまたは複数を誘発することができる：ウイルス感染細胞におけるウイルス複製の阻害および主要組織適合遺伝子複合体I(MHC I)の発現の上方調節。別の特定の実施態様では、IFN- α エフェクタ部分は腫瘍細胞の増殖を阻害することができる。一実施態様では、イムノコンジュゲートのエフェクタ部分、好ましくは単鎖エフェクタ部分はIL-12である。特定の実施態様では、IL-12エフェクタ部分は、以下からなる群より選択される細胞応答の1つまたは複数を誘発することができる：NK細胞の増殖、NK細胞の分化、T細胞の増殖およびT細胞の分化。一実施態様では、イムノコンジュゲートのエフェクタ部分、好ましくは単鎖エフェクタ部分はIL-8である。特定の実施態様では、IL-8エフェクタ部分は、好中球の走化性を誘発することができる。一実施態様では、イムノコ

ンジュゲートのエフェクタ部分、好ましくは単鎖エフェクタ部分はM I P-1 αである。特定の実施態様では、M I P-1 αエフェクタ部分は、単球およびTリンパ球の走化性を誘発することができる。一実施態様では、イムノコンジュゲートのエフェクタ部分、好ましくは単鎖エフェクタ部分はM I P-1 βである。特定の実施態様では、M I P-1 βエフェクタ部分は、単球およびTリンパ球の走化性を誘発することができる。一実施態様では、イムノコンジュゲートのエフェクタ部分、好ましくは単鎖エフェクタ部分はT G F-βである。特定の実施態様では、T G F-βエフェクタ部分は、以下からなる群より選択される細胞応答の1つまたは複数を誘発することができる：単球の走化性、マクロファージの走化性、活性化マクロファージにおけるI L-1の発現の上方調節および活性化B細胞におけるI g Aの発現の上方調節。

【0079】

イムノコンジュゲートポリペプチドおよびポリヌクレオチド

本発明のイムノコンジュゲートは、ポリペプチドおよびそのフラグメントを含んでなる。本明細書で使用される、「ポリペプチド」という用語は、単一の「ポリペプチド」ならびに複数の「ポリペプチド」を包含することが意図されており、アミド結合（ペプチド結合としても知られる）によって直鎖状に連結された単量体（アミノ酸）からなる分子を指す。「ポリペプチド」という用語は、2つ以上のアミノ酸の任意の1つまたは複数の鎖を指し、生成物の特定の長さを意味しない。したがって、ペプチド、ジペプチド、トリペプチド、オリゴペプチド、「タンパク質」、「アミノ酸鎖」、または2以上のアミノ酸の1つもしくは複数の鎖を指すために使用される任意の他の用語は「ポリペプチド」の定義に含まれ、「ポリペプチド」という用語は、これらの用語のいずれかの代わりにまたはこれらの用語のいずれかと交換可能に使用されてよい。「ポリペプチド」という用語はまた、限定されることなく、グリコシル化、アセチル化、リン酸化、アミド化、公知の保護基／ブロッキング基による誘導体化、タンパク質分解切断、または非天然に生じるアミノ酸による修飾を含む、ポリペプチドの発現後修飾の産物を指すことも意図されている。ポリペプチドは、天然の生物学的供給源に由来してもよくまたは組換え技術によって生産されてもよいが、必ずしも指定された核酸配列から翻訳されるとは限らない。ポリペプチドは、化学合成による方法を含む、任意の方法で生成されてよい。

本発明のポリペプチドは、およそ3つ以上、5つ以上、10個以上、20個以上、25個以上、50個以上、75個以上、100個以上、200個以上、500個以上、1,000個以上、または2,000個以上のアミノ酸の大きさであってよい。ポリペプチドは、定義された三次元構造を有しうるが、必ずしもそのような構造を有するとは限らない。定義された三次元構造を有するポリペプチドは、折りたたまれていると称され、定義された三次元構造を有さないが、むしろ多くの異なる立体配座を取ることができるポリペプチドは、ほどけていると称される。

「単離された」ポリペプチドもしくは変異体またはその誘導体により、その天然環境にないポリペプチドが意図される。特定のレベルの精製は必要ではない。例えば、単離されたポリペプチドはその天然または自然環境から取り出されていてよい。組換えによって生産されるポリペプチドおよび宿主細胞において発現されるタンパク質は、任意の適切な技術によって分離されている、分画されている、または部分的もしくは実質的に精製されている天然または組換えポリペプチドと同様に、本発明の目的のために単離されているとみなされる。

また、前記ポリペプチドの誘導体、類似体または変異体およびそれらの任意の組合せも本発明のポリペプチドとして含まれる。本発明のポリペプチドに言及するときの「変異体」、「誘導体」および「類似体」という用語には、対応する天然ポリペプチドの生物学的特性、抗原性特性および免疫原性特性の少なくとも一部を保持する任意のポリペプチドが含まれる。本発明のポリペプチドの変異体には、アミノ酸置換、欠失または挿入による変化したアミノ酸配列を有するポリペプチドが含まれる。変異体は、天然に生じてもよくまたは非天然に生じてもよい。非天然に生じる変異体は、当分野で公知の突然変異誘発技術を用いて生成されうる。変異体ポリペプチドは、保存的もしくは非保存的アミノ酸置換、

欠失または付加を含んでもよい。本発明のポリペプチドの誘導体は、天然ポリペプチドでは認められない付加的な特徴を示すように変化しているポリペプチドである。その例には融合タンパク質が含まれる。変異体ポリペプチドはまた、本明細書では「ポリペプチド類似体」とも称されうる。本明細書で使用される、ポリペプチドの「誘導体」は、機能的側鎖基の反応によって化学的に誘導体化された1つまたは複数の残基を有する対象ポリペプチドを指す。20種の標準的なアミノ酸の1または複数の天然に生じるアミノ酸誘導体を含むペプチドも、「誘導体」として含まれる。例えば、プロリンを4-ヒドロキシプロリンで置換してもよく；リシンを5-ヒドロキシリシンで置換してもよく；ヒスチジンを3-メチルヒスチジンで置換してもよく；セリンをホモセリンで置換してもよく；およびリシンをオルニチンで置換してもよい。

あるいは、遺伝暗号の「重複性 (redundancy)」を利用することによってこれらの同じまたは類似ポリペプチドをコードする組換え変異体を合成または選択することができる。プラスミドもしくはウイルスベクターへのクローニングまたは特定の原核生物系もしくは真核生物系における発現を最適化するために、様々な制限部位を生じさせるサイレント変化などの、様々なコドン置換を導入してもよい。ポリヌクレオチド配列における突然変異は、ポリペプチドまたはポリペプチドの任意の部分の特性を改変するためにポリペプチドに付加された他のペプチドのドメインに反映されて、リガンド結合親和性、鎖間親和性または分解／代謝回転速度などの特徴を変化させる。

好ましくは、アミノ酸「置換」は、1つのアミノ酸を類似の構造および／または化学特性を有する別のアミノ酸で置換すること、すなわち保存的アミノ酸置換の結果である。「保存的」アミノ酸置換は、関与する残基の極性、電荷、溶解度、疎水性、親水性および／または両親媒性の類似性に基づいて実施しうる。例えば、非極性（疎水性）アミノ酸には、アラニン、ロイシン、イソロイシン、バリン、プロリン、フェニルアラニン、トリプトファンおよびメチオニンが含まれる；極性の中性アミノ酸には、グリシン、セリン、トレオニン、システイン、チロシン、アスパラギンおよびグルタミンが含まれる；正に荷電した（塩基性）アミノ酸には、アルギニン、リシンおよびヒスチジンが含まれる；そして負に荷電した（酸性）アミノ酸には、アスパラギン酸およびグルタミン酸が含まれる。「挿入」または「欠失」は、好ましくはおよそ1～およそ20個のアミノ酸、より好ましくは1～10個のアミノ酸の範囲内である。許容される変異は、組換えDNA技術を用いてポリペプチド分子中にアミノ酸の挿入、欠失または置換を体系的に作製し、生じた組換え変異体を活性に関して検定することによって実験的に決定されうる。

【0080】

本発明の問い合わせアミノ酸配列と少なくとも、例えば95%「同一」のアミノ酸配列を有するポリペプチドにより、対象ポリペプチドのアミノ酸配列が、対象ポリペプチド配列が問い合わせアミノ酸配列の各100個のアミノ酸につき5つまでのアミノ酸の変化を含んでもよいことを除き、問い合わせ配列と同一であることが意図される。言い換えると、問い合わせアミノ酸配列と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドを得るためには、対象配列中の5%までのアミノ酸残基が挿入、欠失されるかまたは別のアミノ酸で置換されてもよい。参照配列のこれらの変化は、参照アミノ酸配列のアミノ末端もしくはカルボキシ末端の位置で、または参照配列中の残基の間に個別にもしくは参照配列中の1もしくは複数の連続する基において散在して、これらの末端位置の間の任意の位置で生じてもよい。

実際に、任意の特定のポリペプチドが参照ポリペプチドと少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるか否かは、公知のコンピュータプログラムを用いて慣例的に決定することができる。グローバル配列アラインメントとも称される、問い合わせ配列（本発明の配列）と対象配列との間の最良の全体的一致を決定するための好ましい方法は、Brutlag et al., Comp. Appl. Biosci. 6:237-245 (1990) のアルゴリズムに基づくFASTDBコンピュータプログラムを用いて決定することができる。配列アラインメントにおいては、問い合わせ配列および対象配列はどちらもヌクレオチド配列であるかまたはどちらも

アミノ酸配列であるかのいずれかである。前記グローバル配列アラインメントの結果は同一性パーセントである。F A S T D B アミノ酸アラインメントにおいて使用される好ましいパラメータは以下のとおりである：マトリックス＝P A M 0、k-タプル＝2、ミスマッチペナルティ＝1、結合ペナルティ＝20、ランダム化グループ長＝0、カットオフスコア＝1、ウィンドウサイズ＝配列長、ギャップペナルティ＝5、ギャップサイズペナルティ＝0.05、ウィンドウサイズ＝500または対象アミノ酸配列の長さのどちらか短い方。

対象配列が、内部欠失のためではなく、N末端欠失またはC末端欠失のために問い合わせ配列よりも短い場合、結果に対して手作業で補正を行わねばならない。これは、F A S T D B プログラムが全体的同一性パーセントを計算するときに対象配列のN末端およびC末端の切断を考慮しないためである。問い合わせ配列と比較して、N末端またはC末端で切断されている対象配列については、対応する対象残基と一致／整列しない、対象配列のN末端およびC末端にある問い合わせ配列の残基の数を問い合わせ配列の全塩基のパーセントとして計算することによって同一性パーセントを補正する。残基が一致／整列しているか否かは、F A S T D B 配列アラインメントの結果によって決定される。次いで、このパーセンテージを、特定のパラメータを用いて上記F A S T D B プログラムによって計算された同一性パーセントから差し引いて、最終的な同一性パーセントスコアを導く。この最終的な同一性パーセントスコアが、本発明の目的のために使用されるものである。問い合わせ配列と一致／整列しない対象配列のN末端およびC末端側の残基のみを、同一性パーセントスコアを手作業で調整する目的のために考慮する。すなわち、対象配列の最も遠いN末端およびC末端残基の外側の問い合わせ残基位置のみである。

例えば、90アミノ酸残基の対象配列を、同一性パーセントを決定するために100残基の問い合わせ配列と整列する。欠失が対象配列のN末端に生じており、それゆえ、F A S T D B アラインメントはN末端の最初の10残基の一致／整列を示さない。10の対合しない残基は配列の10%を占め（一致しないN末端およびC末端の残基数／問い合わせ配列中の残基の総数）、したがってF A S T D B プログラムによって計算された同一性パーセントスコアから10%を差し引く。残りの90残基が完全に一致している場合、最終的な同一性パーセントは90%である。別の例では、90残基の対象配列を100残基の問い合わせ配列と比較する。今回は欠失が内部欠失であるので、問い合わせ配列と一致／整列しない対象配列のN末端またはC末端の残基は存在しない。この場合は、F A S T D B によって計算された同一性パーセントは手作業で補正しない。再び、F A S T D B アラインメントにおいて示された、問い合わせ配列と一致／整列しない対象配列のN末端およびC末端の外側の残基位置のみを手作業で補正する。他の手作業での補正は、本発明の目的のためには行わない。

本発明のポリペプチドには、その機能的フラグメントまたは変異体を包含する、表3および4に示す配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%同一であるものが含まれる。本発明はまた、保存的アミノ酸置換を有する表3または4の配列を含むポリペプチドも包含する。

本発明のポリペプチドは単一ポリヌクレオチドによってコードされてよい。あるいは、本発明のポリペプチドは複数の（例えば2つ以上の）ポリヌクレオチドによってコードされてもよく、そのためポリペプチドは共発現される。複数のポリヌクレオチドから共発現されるポリペプチドは、例えばジスルフィド結合または他の手段によって結合して機能的イムノコンジュゲートを形成してもよい。例えば、抗原結合部分の重鎖部分は、抗原結合部分の軽鎖部分とエフェクタ部分を含むイムノコンジュゲートの部分とは別個のポリヌクレオチドによってコードされてもよい。共発現されたとき、重鎖ポリペプチドは軽鎖ポリペプチドと結合して抗原結合部分を形成する。あるいは、別の例では、抗原結合部分の軽鎖部分は、抗原結合部分の重鎖部分とエフェクタ部分を含むイムノコンジュゲートの部分とは別個のポリヌクレオチドによってコードされてもよい。

本発明のイムノコンジュゲートおよびそのフラグメントは、一般にポリヌクレオチドによってコードされる。「ポリヌクレオチド」という用語は、単一の核酸ならびに複数の核

酸を包含することが意図されており、単離された核酸分子または構築物、例えばメッセンジャーRNA（mRNA）、ウイルス由来のRNAまたはプラスミドDNA（pDNA）を指す。ポリヌクレオチドは、従来のホスホジエステル結合または非従来型結合（例えば、ペプチド核酸（PNA）において認められるようなアミド結合）を含んでよい。「核酸」という用語は、ポリヌクレオチド中に存在する任意の1つまたは複数の核酸セグメント、例えばDNAまたはRNAフラグメントを指す。「単離された」核酸またはポリヌクレオチドにより、その天然環境から取り出されている核酸分子、DNAまたはRNAが意図される。例えば、ベクター中に含有される治療用ポリペプチドをコードする組換えポリヌクレオチドは、本発明の目的のためには単離されているとみなされる。単離されたポリヌクレオチドのさらなる例には、異種宿主細胞中に維持される組換えポリヌクレオチドまたは溶液中の（部分的または実質的に）精製されたポリヌクレオチドが含まれる。単離されたRNA分子には、本発明のインビボまたはインビトロRNA転写産物、ならびに本明細書で開示されるベスチウイルスベクターのプラス鎖およびマイナス鎖形態ならびに二本鎖形態が含まれる。

【0081】

本発明による単離されたポリヌクレオチドまたは核酸には、合成によって生産されるそのような分子がさらに含まれる。加えて、ポリヌクレオチドまたは核酸は、プロモーター、リボソーム結合部位または転写ターミネーターなどの調節エレメントであってもよく、または前記調節エレメントを含んでもよい。

本明細書で使用される、「コード領域」は、アミノ酸に翻訳されるコドンからなる核酸の部分である。「終結コドン」（TAG、TGAまたはTAA）はアミノ酸に翻訳されないが、存在する場合は、コード領域の一部とみなしてもよく、しかし、いかなる隣接配列も、例えばプロモーター、リボソーム結合部位、転写ターミネーター、イントロン、5'および3'非翻訳領域等はコード領域の一部ではない。本発明の2以上のコード領域が単一ポリヌクレオチド構築物中に、例えば単一ベクター上に存在してもよく、または別々のポリヌクレオチド構築物中に、例えば別々の（異なる）ベクター上に存在してもよい。さらに、いかなるベクターも、単一コード領域を含んでもよく、または2つ以上のコード領域を含んでもよい、例えば、本発明のベクターは1つまたは複数のポリタンパク質をコードしてもよく、これらは、翻訳後にまたは翻訳と同時にタンパク質分解切断によって最終的なタンパク質に分離される。加えて、本発明のベクター、ポリヌクレオチドまたは核酸は、本発明のイムノコンジュゲートまたはその変異体もしくは誘導体をコードする第一または第二核酸に融合したまたは融合していない、異種コード領域をコードしてもよい。異種コード領域には、限定されることなく、分泌シグナルペプチドまたは異種機能性ドメインなどの特殊なエレメントまたはモチーフが含まれる。

特定の実施態様では、ポリヌクレオチドまたは核酸はDNAである。DNAの場合、ポリペプチドをコードする核酸を含むポリヌクレオチドは、通常、1つまたは複数のコード領域と作動可能に連結されたプロモーターおよび／または他の転写もしくは翻訳制御エレメントを含んでよい。作動可能な連結とは、遺伝子産物、例えばポリペプチドについてのコード領域が、遺伝子産物の発現を調節配列の影響下または制御下に置くように1つまたは複数の調節配列と連結されている場合である。2つのDNAフラグメント（例えばポリペプチドコード領域およびそれに連結されたプロモーター）は、プロモーター機能の誘導が所望の遺伝子産物をコードするmRNAの転写をもたらす場合、および2つのDNAフラグメントの間の連結の性質が遺伝子産物の発現を指令する発現調節配列の能力を妨げないまたはDNA鋳型が転写される能力を妨げない場合、「作動可能に連結されて」いる。したがって、プロモーター領域は、プロモーターがポリペプチドをコードする核酸の転写を生じさせることができる場合、その核酸に作動可能に連結されている。プロモーターは、あらかじめ定められた細胞においてのみDNAの実質的な転写を指令する細胞特異的プロモーターであってよい。プロモーター以外の他の転写制御エレメント、例えばエンハンサー、オペレーター、リプレッサーおよび転写終結シグナルは、細胞特異的転写を指令するポリヌクレオチドと作動可能に連結されてよい。適切なプロモーターおよび他の転

写制御領域は本明細書で開示される。

様々な転写制御領域が当業者に公知である。これらには、限定されることなく、脊椎動物細胞において機能する転写制御領域、例えば、限定されないが、サイトメガロウイルス（例えばイントロンAと連結した前初期プロモーター）、シミアンウイルス40（例えば初期プロモーター）およびレトロウイルス（例えばラウス肉腫ウイルス）由来のプロモーターおよびエンハンサーセグメントが含まれる。他の転写制御領域には、アクチン、熱ショックタンパク質、ウシ成長ホルモンおよびウサギβ-グロビンなどの脊椎動物遺伝子に由来するもの、ならびに真核細胞における遺伝子発現を制御することができる他の配列が含まれる。さらなる適切な転写制御領域には、組織特異的プロモーターおよびエンハンサーならびにリンホカイン誘導性プロモーター（例えばインターフェロンまたはインターロイキンによって誘導されるプロモーター）が含まれる。

同様に、様々な翻訳制御エレメントが当業者に公知である。これらには、リボソーム結合部位、翻訳開始および終止コドン、ならびにウイルス系に由来するエレメント（特にCITE配列とも称される、内部リボソーム進入部位またはIRES）が含まれるが、これらに限定されない。

他の実施態様では、本発明のポリヌクレオチドは、例えばメッセンジャーRNA（mRNA）の形態の、RNAである。本発明のRNAは一本鎖または二本鎖であってよい。

【0082】

本発明のポリヌクレオチドおよび核酸コード領域は、本発明のポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドの分泌を指令する、分泌またはシグナルペプチドをコードする付加的なコード領域と連結されていてもよい。シグナル仮説によれば、哺乳動物細胞によって分泌されるタンパク質は、粗面小胞体を横切る成長中のタンパク質鎖のエクスポートが開始されるとすぐに成熟タンパク質から切断されるシグナルペプチドまたは分泌リーダー配列を有する。当業者は、脊椎動物細胞によって分泌されるポリペプチドが、一般に、完全なまたは「完全長」のポリペプチドから切断されて分泌されたまたは「成熟」形態のポリペプチドを生成する、ポリペプチドのN末端に融合したシグナルペプチドを有することを認識する。特定の実施態様では、天然のシグナルペプチド、例えば免疫グロブリン重鎖もしくは軽鎖のシグナルペプチド、または自身と作動可能に連結されたポリペプチドの分泌を指令する能力を保持する配列の機能的誘導体を使用する。あるいは、異種哺乳動物シグナルペプチドまたはその機能的誘導体を使用してもよい。例えば、野生型リーダー配列をヒト組織プラスミノゲンアクチベーター（TPA）またはマウスβ-グルクロニダーゼのリーダー配列で置き換えてもよい。

「発現カセット」という用語は、標的細胞における特定の核酸の転写を可能にする一連の特殊な核酸エレメントを用いて、組換えまたは合成によって生成されるポリヌクレオチドを指す。組換え発現カセットは、プラスミド、染色体、ミトコンドリアDNA、プラスチドDNA、ウイルスまたは核酸フラグメントに組み込むことができる。典型的には、発現ベクターの組換え発現カセット部分は、配列の中でも特に、転写される核酸配列およびプロモーターを含む。一実施態様では、本発明の発現カセットは、本発明のイムノコンジュゲートまたはそのフラグメントをコードするポリヌクレオチド配列を含む。

「発現ベクター」という用語は「発現構築物」と同義であり、それが作動可能に連結されている特定の遺伝子を標的細胞に導入し、標的細胞におけるその発現を指令するために使用されるDNA分子を指す。本発明の発現ベクターは発現カセットを含む。発現ベクターは、大量の安定なmRNAの転写を可能にする。発現ベクターが標的細胞の内部に入るとすぐに、遺伝子によってコードされるリボ核酸分子またはタンパク質が細胞の転写および／または翻訳機構によって生成される。一実施態様では、本発明の発現ベクターは、本発明のイムノコンジュゲートまたはそのフラグメントをコードするポリヌクレオチド配列を含む発現カセットを含んでなる。

「人工」という用語は、合成または非宿主細胞由来の組成物、例えば化学合成されたオリゴヌクレオチドを指す。

本発明の参照ヌクレオチド配列と少なくとも、例えば95%「同一」のヌクレオチド配

列を有する核酸またはポリヌクレオチドにより、ポリヌクレオチドのヌクレオチド配列が、ポリヌクレオチド配列が参照ヌクレオチド配列の各100ヌクレオチドにつき5までの点突然変異を含んでもよいことを除き、参照配列と同一であることが意図される。言い換えると、参照ヌクレオチド配列と少なくとも95%同一のヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドを得るためには、参照配列中の5%までのヌクレオチドが欠失されるかもしくは別のヌクレオチドで置換されてもよく、または参照配列中の全ヌクレオチドの5%までの数のヌクレオチドが参照配列に挿入されてもよい。

実際に、任意の特定の核酸分子またはポリペプチドが、本発明のヌクレオチド配列またはポリペプチド配列と少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるか否かは、公知のコンピュータプログラムを用いて慣例的に決定することができる。グローバル配列アラインメントとも称される、問い合わせ配列（本発明の配列）と対象配列との間の最良の全体的な一致を決定するための好ましい方法は、Brutlag et al., Comp. Appl. Biosci. 6:237-245 (1990)のアルゴリズムに基づくFASTDBコンピュータプログラムを用いて決定することができる。配列アラインメントにおいては、問い合わせ配列および対象配列はどちらもDNA配列である。RNA配列は、UをTに変換することによって比較できる。前記グローバル配列アラインメントの結果は同一性パーセントである。同一性パーセントを計算するためにDNA配列のFASTDBアラインメントにおいて使用される好ましいパラメータは以下のとおりである：マトリックス＝ユニタリー、k-タプル＝4、ミスマッチペナルティ＝1、結合ペナルティ＝30、ランダム化グループ長＝0、カットオフスコア＝1、ギャップペナルティ＝5、ギャップサイズペナルティ＝0.05、ウィンドウサイズ＝500または対象ヌクレオチド配列の長さのどちらか短い方。

対象配列が、内部欠失のためではなく、5'または3'欠失のために問い合わせ配列よりも短い場合、結果に対して手作業で補正を行わねばならない。これは、FASTDBプログラムが同一性パーセントを計算するときに対象配列の5'および3'切断を考慮しないためである。問い合わせ配列と比較して、5'または3'末端で切断されている対象配列については、一致／整列しない、対象配列の5'および3'にある問い合わせ配列の塩基の数を、問い合わせ配列の全塩基のパーセントとして計算することによって同一性パーセントを補正する。ヌクレオチドが一致／整列しているか否かは、FASTDB配列アラインメントの結果によって決定される。次いで、このパーセンテージを、特定のパラメータを用いて上記FASTDBプログラムによって計算された同一性パーセントから差し引いて、最終的な同一性パーセントスコアを導く。この補正されたスコアが、本発明の目的のために使用されるものである。問い合わせ配列と一致／整列しない、FASTDBアラインメントによって示される、対象配列の5'および3'塩基の外側の塩基のみを、同一性パーセントスコアを手作業で調整する目的のために計算する。

例えば、90塩基の対象配列を、同一性パーセントを決定するために100塩基の問い合わせ配列と整列する。欠失が対象配列の5'末端に生じており、それゆえ、FASTDBアラインメントは5'末端の最初の10塩基の一致／整列を示さない。10の対合しない塩基は配列の10%を占め（一致しない5'および3'末端の塩基数／問い合わせ配列中の塩基の総数）、したがってFASTDBプログラムによって計算された同一性パーセントスコアから10%を差し引く。残りの90塩基が完全に一致している場合、最終的な同一性パーセントは90%である。別の例では、90塩基の対象配列を100塩基の問い合わせ配列と比較する。今回は欠失が内部欠失であるので、問い合わせ配列と一致／整列しない対象配列の5'または3'の塩基は存在しない。この場合は、FASTDBによって計算された同一性パーセントは手作業で補正しない。再び、問い合わせ配列と一致／整列しない対象配列の5'および3'の塩基のみを手作業で補正する。他の手作業での補正は、本発明の目的のためには行わない。

本発明のポリヌクレオチドには、その機能的フラグメントまたは変異体を包含する、以下の表6および8に示す配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%同一であるものが含まれる。ポリヌクレオチ

ドは、イムノコンジュゲート全体をコードする単一ポリヌクレオチドとしてまたは共発現される複数の（例えば2つ以上の）ポリヌクレオチドとして発現されてもよい。共発現されるポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドは、例えばジスルフィド結合または他の手段によって結合して機能的イムノコンジュゲートを形成してもよい。例えば、抗原結合部分の重鎖部分は、抗原結合部分の軽鎖部分とエフェクタ部分を含むイムノコンジュゲートの部分とは別個のポリヌクレオチドによってコードされてもよい。共発現されたとき、重鎖ポリペプチドは軽鎖ポリペプチドと結合して抗原結合部分を形成する。あるいは、別の例では、抗原結合部分の軽鎖部分は、抗原結合部分の重鎖部分とエフェクタ部分を含むイムノコンジュゲートの部分とは別個のポリヌクレオチドによってコードされてもよい。

【0083】

特定の実施態様では、本発明の単離されたポリヌクレオチドは、少なくとも1つのエフェクタ部分、好ましくは単鎖エフェクタ部分と、少なくとも1つ、好ましくは2つ以上の抗原結合部分を含むイムノコンジュゲートのフラグメントをコードし、このとき第一エフェクタ部分は、第一抗原結合部分とアミノ末端またはカルボキシ末端ペプチド結合を共有しており、第二抗原結合部分は、第一エフェクタ部分または第一抗原結合部分のいずれかとアミノ末端またはカルボキシ末端ペプチド結合を共有している。好ましい実施態様では、抗原結合部分は、FvおよびFabからなる群より独立して選択される。別の特定の実施態様では、ポリヌクレオチドは、抗原結合部分の2つに含まれる重鎖とエフェクタ部分の1つをコードする。別の特定の実施態様では、ポリヌクレオチドは、抗原結合部分の2つに含まれる軽鎖とエフェクタ部分の1つをコードする。別の特定の実施態様では、ポリヌクレオチドは、抗原結合部分の1つからの1本の軽鎖、第二抗原結合部分からの1本の重鎖およびエフェクタ部分の1つをコードする。

別の特定の実施態様では、本発明の単離されたポリヌクレオチドはイムノコンジュゲートのフラグメントをコードし、このときポリヌクレオチドは、2つのFab分子の重鎖とエフェクタ部分、好ましくは単鎖エフェクタ部分をコードする。別の特定の実施態様では、本発明の単離されたポリヌクレオチドはイムノコンジュゲートのフラグメントをコードし、このときポリヌクレオチドは、2つのFab分子の軽鎖とエフェクタ部分、好ましくは単鎖エフェクタ部分をコードする。別の特定の実施態様では、本発明の単離されたポリヌクレオチドはイムノコンジュゲートのフラグメントをコードし、このときポリヌクレオチドは、1つのFab分子の重鎖、第二Fab分子の軽鎖およびエフェクタ部分、好ましくは単鎖エフェクタ部分をコードする。

一実施態様では、本発明の単離されたポリヌクレオチドは、そのアミノ末端およびカルボキシ末端アミノ酸で1つまたは複数のscFv分子に連結された、少なくとも1つのエフェクタ部分、好ましくは単鎖エフェクタ部分を含むイムノコンジュゲートをコードする。

一実施態様では、本発明の単離されたポリヌクレオチドは、少なくとも1つのエフェクタ部分、好ましくは単鎖エフェクタ部分と、少なくとも第一および第二抗原結合部分を含むイムノコンジュゲートフラグメントをコードし、このとき抗原結合部分の各々はscFv分子を含み、そのカルボキシ末端アミノ酸がIgG1_{CH1}、IgG_κおよびIgE_{CH4}からなる群より独立して選択される免疫グロブリン定常ドメインを含む定常領域に連結されており、そしてこのとき抗原結合部分の1つは、その定常領域カルボキシ末端アミノ酸でエフェクタ部分の1つに含まれるアミノ末端アミノ酸に連結されており、そしてこのとき第一および第二抗原結合部分はジスルフィド結合により共有結合されている。さらなる実施態様では、本発明のポリヌクレオチドは、抗原結合部分の1つとエフェクタ部分、好ましくは単鎖エフェクタ部分をコードする。

一実施態様では、本発明の単離されたポリヌクレオチドは、第一および第二エフェクタ部分と2つの抗原結合部分を含むイムノコンジュゲートフラグメントをコードし、このとき抗原結合部分の各々はscFv分子を含み、そのカルボキシ末端アミノ酸が免疫グロブリン定常ドメインを含む定常領域に連結されており、そしてこのとき抗原結合部分の1つ

は、その定常領域カルボキシ末端アミノ酸でエフェクタ部分の1つに含まれるアミノ末端アミノ酸に連結されており、そしてこのとき第二抗原結合部分は、その定常領域カルボキシ末端アミノ酸で第二エフェクタ部分のアミノ末端アミノ酸に連結されており、そしてこのとき第一および第二抗原結合部分はジスルフィド結合により共有結合されている。好ましい実施態様では、第一および／または第二エフェクタ部分は単鎖エフェクタ部分である。好ましい実施態様では、定常ドメインは、I g G 1 C H 1、I g G C_κ および I g E C H 4 からなる群より独立して選択される。さらなる実施態様では、本発明のポリヌクレオチドは、抗原結合部分の1つとエフェクタ部分の1つをコードする。

一実施態様では、本発明の単離されたポリヌクレオチドは、少なくとも1のエフェクタ部分、好ましくは単鎖エフェクタ部分と、少なくとも第一および第二抗原結合部分を含むイムノコンジュゲートフラグメントをコードし、このとき抗原結合部分の各々は s c F v 分子を含み、そのカルボキシ末端アミノ酸が I g G C H 3 ドメインに連結されており、そしてこのとき抗原結合部分の1つは、そのカルボキシ末端アミノ酸でエフェクタ部分の1つに含まれるアミノ末端アミノ酸に連結されており、そしてこのとき第一および第二抗原結合部分はジスルフィド結合により共有結合されている。さらなる実施態様では、本発明のポリヌクレオチドは、抗原結合部分の1つとエフェクタ部分、好ましくは単鎖エフェクタ部分をコードする。

一実施態様では、本発明の単離されたポリヌクレオチドは、2つのエフェクタ部分と2つの抗原結合部分を含むイムノコンジュゲートフラグメントをコードし、このとき抗原結合部分の各々は s c F v 分子を含み、そのカルボキシ末端アミノ酸が I g G C H 3 ドメインに連結されており、そしてこのとき抗原結合部分の1つは、そのカルボキシ末端アミノ酸でエフェクタ部分の1つに含まれるアミノ末端アミノ酸に連結されており、そしてこのとき第二抗原結合部分は、そのカルボキシ末端アミノ酸で第二エフェクタ部分のアミノ末端アミノ酸に連結されており、そしてこのとき第一および第二抗原結合部分はジスルフィド結合により共有結合されている。好ましい実施態様では、第一および／または第二エフェクタ部分は単鎖エフェクタ部分である。さらなる実施態様では、本発明のポリヌクレオチドは、抗原結合部分の1つとエフェクタ部分の1つ、好ましくは単鎖エフェクタ部分をコードする。

一実施態様では、本発明の単離されたポリヌクレオチドは、2つのエフェクタ部分と2つの抗原結合部分を含むイムノコンジュゲートフラグメントをコードし、このとき抗原結合部分の各々は F a b 分子を含み、その重鎖または軽鎖カルボキシ末端アミノ酸が I g G 1 C H 3 ドメインに連結されており、そしてこのとき I g G 1 C H 3 ドメインの各々は、そのカルボキシ末端アミノ酸でエフェクタ部分の1つに含まれるアミノ末端アミノ酸に連結されており、そしてこのとき第一および第二抗原結合部分はジスルフィド結合により共有結合されている。好ましい実施態様では、第一および／または第二エフェクタ部分は単鎖エフェクタ部分である。さらなる実施態様では、本発明のポリヌクレオチドは、抗原結合部分の1つに含まれる重鎖可変領域と前記エフェクタ部分の1つ、好ましくは単鎖エフェクタ部分をコードする配列を含む。さらに別の実施態様では、本発明のポリヌクレオチドは、抗原結合部分の1つに含まれる軽鎖可変領域とエフェクタ部分の1つ、好ましくは単鎖エフェクタ部分をコードする配列を含む。

別の実施態様では、本発明は、イムノコンジュゲートまたはそのフラグメントをコードする単離されたポリヌクレオチドに関し、このときポリヌクレオチドは、以下の表3に示す可変領域配列をコードする配列を含む。別の実施態様では、本発明は、イムノコンジュゲートまたはそのフラグメントをコードする単離されたポリヌクレオチドに関し、このときポリヌクレオチドは、表4に示すポリペプチド配列をコードする配列を含む。別の実施態様では、本発明はさらに、イムノコンジュゲートまたはそのフラグメントをコードする単離された核酸に関し、このとき核酸は、以下の表6および8に示すヌクレオチド配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%または99%同一である配列を含む。別の実施態様では、本発明は、イムノコンジュゲートまたはそのフラグメントをコードする単離された核酸に関し、このとき核酸は、表6および8に示

す核酸配列を含む。別の実施態様では、本発明は、イムノコンジュゲートまたはそのフラグメントをコードする単離された核酸に関し、このとき核酸は、表3のアミノ酸配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%または99%同一である可変領域配列をコードする配列を含む。別の実施態様では、本発明は、イムノコンジュゲートまたはそのフラグメントをコードする単離された核酸に関し、このとき核酸は、表4のアミノ酸配列と少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるポリペプチド配列をコードする配列を含む。本発明は、イムノコンジュゲートまたはそのフラグメントをコードする単離された核酸を包含し、このとき核酸は、保存的アミノ酸置換を有する表3の可変領域配列をコードする配列を含む。本発明はまた、本発明のイムノコンジュゲートまたはそのフラグメントをコードする単離された核酸を包含し、このとき核酸は、保存的アミノ酸置換を有する表4のポリペプチド配列をコードする配列を含む。

【0084】

【表 2 - 0 1】

表 2

コンストラクト	ヌクレオチド配列	配列番号
DP47-3ライブラリのライブラリテンプレート; 軽鎖のためのPelBリーダー配列+Vk3_20κV-ドメイン+CL定常ドメイン、および重鎖のためのPelB+VH3_23 V-ドメイン+CH1定常ドメインを含む完全なFabコード領域;pMS25opt	ATGAAATACCTATTGCCTACGGCAGCCGCTGGATTGTTAT TACTCGCGGCCCAGCCGGCCATGGCCGAAATCGTGTTAAC GCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGA GCCACCCCTCTCTTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCA GCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCC CAGGCTCCTCATCTATGGAGCATCCAGCAGGGCCACTGGC ATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCCGGGACAGAC TTCACCTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTG CAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCGCTGAC GTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGGAATCAAACGTACGGT GGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAG CAGTTGAAATCTGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGA ATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGG TGGATAACGCCCCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTG TCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCA GCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAAC ACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGA GCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTG GAGCCGCAGAAACAAAACTCATCTCAGAAGAGGATCTGA ATGGAGCCGCAGACTACAAGGACGACGACGACAAGGGTG CCGCATAATAAGGCGCGCCAATTCTATTTCAAGGAGACA GTCATATGAAATACCTGCTGCCGACCGCTGCTGCTGGTCT GCTGCTCCTCGCTGCCAGCCGGCGATGGCCGAGGTGCA ATTGCTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGG GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTT AGCAGTTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGG AAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGT GGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTC ACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGC AGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATT ACTGTGCGAAACCGTTTCCGTATTTTGACTACTGGGGCCA AGGAACCCCTGGTCACCGTCTCGAGTGTAGCACCAAAGG CCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCTCCAAAGAGCACC TCTGGGGGACACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGAC TACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCG CCCTGACCAGCGCGGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTTACA GTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTG CCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACG TGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAAGTGGAACAAGAAAG TTGAGCCCAAATCTTGTGACGCGGCCGCAAGCACTAGTGC CCATCACCATCACCATCAGCCGCGGCATAG	1
DP88-3ライブラリのライブラリテンプレート; 軽鎖のためのPelBリーダー配列+Vk1_17κV-ドメイン+CL定常ドメイン、および重鎖のためのPelB+VH1_69 V-ドメイン+CH1定常ドメインを含む完全なFabコード領域;pRJH32	ATGAAATACCTATTGCCTACGGCAGCCGCTGGATTGTTAT TACTCGCGGCCCAGCCGGCCATGGCCGATATCCAGATGA CCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTCCGAGACCG GGTCACCATCACCTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGAAA TGATTTAGGCTGGTACCAGCAGAAGCCAGGGAAAGCCCC TAAGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAGAGTGGC GTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCCGGGACAGAG TTCACCTCTCACCATCAGCAGCTTGCAGCCTGAAGATTTTG CCACCTATTACTGCTTGCAGCATAATAGTTACCCACGTT TGGCCAGGGCACCAAAGTCGAGATCAAGCGTACGGTGGC TGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAG TTGAAATCTGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATA ACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGG ATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCA	2

【表 2 - 0 2】

コンストラクト	ヌクレオチド配列	配列番号
	CAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCA GCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACA AAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTC GCCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTGGAGC CGCAGAACAAAACTCATCTCAGAAGAGGATCTGAATGG AGCCGCAGACTACAAGGACGACGACGACAAGGGTGCCGC ATAATAAGGCGCGCCAATTCTATTTCAGGAGACAGTCAT ATGAAATACCTGCTGCCGACCGCTGCTGCTGGTCTGCTGC TCCTCGCTGCCCAGCCGGCGATGGCCCAGGTGCAATTGGT GCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCTCGGT GAAGGTCTCCTGCAAGGCCTCCGGAGGCACATTCAGCAG CTACGCTATAAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGG GCTCGAGTGGATGGGAGGGATCATCCCTATCTTTGGTACA GCAAACCTACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGGGTCACCATT ACTGCAGACAAATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTG AGCAGCCTGAGATCTGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTG CGAGACTATCCCCAGGCGGTTACTATGTTATGGATGCCTG GGGCAAGGGACCAACCGTGACCGTCTCCTCAGCTAGCAC CAAAGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAG AGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTC AAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAAC TCAGGCGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCGGCTG TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGT GACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATC TGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAAGTGGAC AAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACGCGGCCGCAAGC ACTAGTGCCCATCACCATCACCATCACGCCGCGGCATAG	

【 0 0 8 5】

【表 3 - 0 1】

表 3

コンストラクト	ポリペプチド配列	配列番号
2B10; V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPG KAPKRLIYAASSLQSGVPSRFSGGSGTEFTLTISLQPEDFA TYYCLQNGLQPATFGQGTKVEIK	3
2B10(GS); V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPG KAPKRLIYAASSLQSGVPSRFSGGSGTEFTLTISLQPEDFAT YYCLQNGLQPATFGQGTKVEIK	5
2B10; V _H	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAIWVRQAP GQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADKSTSTAYME LSSLRSEDYAVYYCARLYGYAYYGAFDYWGQGTTVTVSS	7
2F11; V _L	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYGASSRATGVPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFA VYYCQQGQYTPPTFGQGTKVEIK	9
2F11(VI); V _L	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQQGQYTPPTFGQGTKVEIK	11
2F11; V _H	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRAEDMAVYYCAKWRWMMFDYWGQGTILVTVSS	13
2F11(MT); V _H	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKWRWMMFDYWGQGTILVTVSS	15
3F2; V _L	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVTSSSYLAWYQQKPG QAPRLLINVGSRRTATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFA VYYCQQGIMLPPTFGQGTKVEIK	17
3F2(YS); V _L	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVTSSSYLAWYQQKPG QAPRLLINVGSRRTATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFA VYYCQQGIMLPPTFGQGTKVEIK	19
3F2; V _H	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKWLGFDFYWGQGTILVTVSS	21
3D9; V _L	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQQGQLIPPTFGQGTKVEIK	23
3D9; V _H	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQTP GKGLEWVSAIGVSTGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKWLGFDFYWGQGTILVTVSS	25
3D9(TA); V _H	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAIGVSTGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKWLGFDFYWGQGTILVTVSS	27
4G8; V _L	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSRSYLAWYQQKPG QAPRLLIIGASTRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQQGVIPPTFGQGTKVEIK	29
4G8; V _H	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKWLGNFDYWGQGTILVTVSS	31
4B3; V _L	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSNYLAWYQQKPG QAPRLLIYGAYIRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQQGVIPPTFGQGTKVEIK	33
4B3; V _H	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKWLGNFDYWGQGTILVTVSS	35
4D6; V _L	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSNYLAWYQQKPG QAPRLLIQGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQQGVIPPTFGQGTKVEIK	37
4D6; V _H	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAP	39

【表 3 - 0 2】

コンストラクト	ポリペプチド配列	配列番号
	GKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKGWLG NFDYWGQGT LTVSS	
2C6; V _L	EIVLTQSPGTL SLSPGERATL SCRASQSVSSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQQGQQIPPTFGQGTKVEIK	41
2C6; V _H	EVQLES GGGVLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKGWLG NFDYWGQGT LTVSS	43
5H5; V _L	EIVLTQSPGTL SLSPGERATL SCRASQSVSSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQQGNQIPPTFGQGTKVEIK	45
5H5; V _H	EVQLES GGGVLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYTMSWVRRSP GKGLEWVSAISGGGRTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQM NLSLRAEDTAVYYCAKGWFT PFDYWGQGT LTVSS	47
2C4; V _L	EIVLTQSPGTL SLSPGERATL SCRASQSVSSNYLAWYQQKPG QAPRLLIYGASIRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQQGNQIPPTFGQGTKVEIK	49
2C4; V _H	EVQLES GGGVLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKGWFT PFDYWGQGT LTVSS	51
2D9; V _L	EIVLTQSPGTL SLSPGERATL SCRASQSVSSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQQGNQIPPTFGQGTKVEIK	67
2D9; V _H	EVQLES GGGVLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKGWFT PFDYWGQGT LTVSS	69
4B8; V _L	EIVLTQSPGTL SLSPGERATL SCRASQSVSSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQQGVIPPTFGQGTKVEIK	71
4B8; V _H	EVQLES GGGVLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKGWLG NFDYWGQGT LTVSS	73
7A1; V _L	EIVLTQSPGTL SLSPGERATL SCRASQSVSSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQQGQQIPPTFGQGTKVEIK	75
7A1; V _H	EVQLES GGGVLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKGWLG NFDYWGQGT LTVSS	77
13C2; V _L	EIVLTQSPGTL SLSPGERATL SCRASQSVSSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQQGLIPPTFGQGTKVEIK	79
13C2; V _H	EVQLES GGGVLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKGWLG PFDYWGQGT LTVSS	81
13E8; V _L	EIVLTQSPGTL SLSPGERATL SCRASQSVSSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQQGLNIPSTFGQGTKVEIK	83
13E8; V _H	EVQLES GGGVLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKGWLG PFDYWGQGT LTVSS	85
14C10; V _L	EIVLTQSPGTL SLSPGERATL SCRASQSVSSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQQGHIIPPTFGQGTKVEIK	87
14C10; V _H	EVQLES GGGVLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKAWMGPFDYWGQGT LTVSS	89
17A11; V _L	EIVLTQSPGTL SLSPGERATL SCRASQSVSSSYLAWYQQKPG	91

【表 3 - 0 3】

コンストラクト	ポリペプチド配列	配列番号
	QAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFLTISRLEPEDFAV YYCQQGLNIPSTFGQGTKVEIK	
17A11; V _H	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKGWLGPFYWGQGTLVTVSS	93
19G1; V _L	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVTSSYLAWYQQKPG QAPRLINVGSRRTATGIPDRFSGSGSGTDFLTISRLEPEDFA VYYCQQGIMLPPTFGQGTKVEIK	121
19G1; V _H	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAIISGGLTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKGWFGGFNYWGQGTLVTVSS	123
20G8; V _L	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVTSSYLAWYQQKPG QAPRLINVGSRRTATGIPDRFSGSGSGTDFLTISRLEPEDFA VYYCQQGIMLPPTFGQGTKVEIK	125
20G8; V _H	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAIIGSGSRTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKGWFGGFNYWGQGTLVTVSS	127
4B9; V _L	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVTSSYLAWYQQKPG QAPRLINVGSRRTATGIPDRFSGSGSGTDFLTISRLEPEDFA VYYCQQGIMLPPTFGQGTKVEIK	129
4B9; V _H	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAIIGSGASTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKGWFGGFNYWGQGTLVTVSS	131
5B8; V _L	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVTSSYLAWYQQKPG QAPRLINVGSRRTATGIPDRFSGSGSGTDFLTISRLEPEDFA VYYCQQGIMLPPTFGQGTKVEIK	133
5B8; V _H	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAIWGGGRSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKGWFGGFNYWGQGTLVTVSS	135
5F1; V _L	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVTSSYLAWYQQKPG QAPRLINVGSRRTATGIPDRFSGSGSGTDFLTISRLEPEDFA VYYCQQGIMLPPTFGQGTKVEIK	137
5F1; V _H	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAIISGASTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCAKGWFGGFNYWGQGTLVTVSS	139
14B3; V _L	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVTSSYLAWYQQKPG QAPRLINVGSRRTATGIPDRFSGSGSGTDFLTISRLEPEDFA VYYCQQGIMLPPTFGQGTKVEIK	141
14B3; V _H	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAILASGAITYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKGWFGGFNYWGQGTLVTVSS	143
16F1; V _L	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVTSSYLAWYQQKPG QAPRLINVGSRRTATGIPDRFSGSGSGTDFLTISRLEPEDFA VYYCQQGIMLPPTFGQGTKVEIK	145
16F1; V _H	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSGIISGGITYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCAKGWFGGFNYWGQGTLVTVSS	147
16F8; V _L	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVTSSYLAWYQQKPG QAPRLINVGSRRTATGIPDRFSGSGSGTDFLTISRLEPEDFA VYYCQQGIMLPPTFGQGTKVEIK	149
16F8; V _H	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAILGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKGWFGGFNYWGQGTLVTVSS	151
O3C9; V _L	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVTSSYLAWYQQKPG QAPRLINVGSRRTATGIPDRFSGSGSGTDFLTISRLEPEDFA VYYCQQGIMLPPTFGQGTKVEIK	153
O3C9; V _H	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFAMSWVRQSP	155

【表 3 - 0 4】

コンストラクト	ポリペプチド配列	配列番号
	GKGLEWVSAIIGSGSNTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKGWFGGFNYWGQGT LVTVSS	
O2D7; V _L	EIVLTQSPGTL SLSPGERATL SCRASQSVTSSYLAWYQQKPG QAPRLLINVGSRRA TGTPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFA VYYCQQQAIMLPPTFGQGTKVEIK	157
O2D7; V _H	EVQLES GGGVLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSGS TYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKGWFGGFNYWGQGT LVTVSS	159
28H1; V _L	EIVLTQSPGTL SLSPGERATL SCRASQSVSR SYLAWYQQKPG QAPRLLIIGASTRA TGTPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQQGQVIPPTFGQGTKVEIK	161
28H1; V _H	EVQLES GGGVLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSHAMSWVRQAP GKGLEWVSAIWASGE QYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKGWLG NFDYWGQGT LVTVSS	163
22A3; V _L	EIVLTQSPGTL SLSPGERATL SCRASQSVTSSYLAWYQQKPG QAPRLLINVGSRRA TGTPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFA VYYCQQGIMLPPTFGQGTKVEIK	165
22A3; V _H	EVQLES GGGVLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAIIGSGS ITYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKGWFGGFNYWGQGT LVTVSS	167
29B11; V _L	EIVLTQSPGTL SLSPGERATL SCRASQSVTSSYLAWYQQKPG QAPRLLINVGSRRA TGTPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFA VYYCQQGIMLPPTFGQGTKVEIK	169
29B11; V _H	EVQLES GGGVLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAIIGSGG ITYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKGWFGGFNYWGQGT LVTVSS	171
23C10; V _L	EIVLTQSPGTL SLSPGERATL SCRASQSVSR SYLAWYQQKPG QAPRLLIIGASTRA TGTPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQQGQVIPPTFGQGTKVEIK	173
23C10; V _H	EVQLES GGGVLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSSAMS WVRQAP GKGLEWVSAISTNGN YTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKGWLG NFDYWGQGT LVTVSS	175
2B10_C3B6; V _L	DIQMTQSPSSL SASVGDRTITCRASQGIRNDLGWYQQKPG KAPKRLIYAASSLQ SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFAT YYCLQNGLQPATFGQGTKVEIK	177
2B10_C3B6; V _H	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSY AISWVRQAP GQGLEWMGAIPILG IANYAQKFQGRVTITADKSTSTAYMEL SSLRSEDTAVYYCARLYGY AYYGAFDYWGQGTTVTVSS	179
2B10_6A12; V _L	DIQMTQSPSSL SASVGDRTITCRASQGIRNDLGWYQQKPG KAPKRLIYAASSLQ SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFAT YYCLQNGLQPATFGQGTKVEIK	181
2B10_6A12; V _H	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSY AISWVRQAP GQGLEWMGVIIPI LGTANYAQKFQGRVTITADKSTSTAYME LSSLRSEDTAVYYCARLYGY AYYGAFDYWGQGTTVTVSS	183
2B10_C3A6; V _L	DIQMTQSPSSL SASVGDRTITCRASQGIRNV LGWYQQKPG KAPKRLIYDSSSLQ SGVPSRFSGGSGTEFTLTISSLQPEDFAT YYCLQNGLQPATFGQGTKVEIK	185
2B10_C3A6; V _H	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSY AISWVRQAP GQGLEWMGGIPIFGT ANYAQKFQGRVTITADKSTSTAYME LSSLRSEDTAVYYCARLYGY AYYGAFDYWGQGTTVTVSS	187
2B10_D1A2_wt; V _L	DIQMTQSPSSL SASVGDRTITCRASQGIRNV LGWYQQKPG KAPKRLIYDAYSLQ SGVPSRFSGGSGTEFTLTISSLQPEDFA TYCYLQNGLQPATFGQGTKVEIK	189
2B10_D1A2_wt; V _H	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSY AISWVRQAP GQGLEWMGGIPIFGT ANYAQKFQGRVTITADKSTSTAYME LSSLRSEDTAVYYCARLYGY AYYGAFDYWGQGTTVTVSS	191
2B10_D1A2_VD;	DIQMTQSPSSL SASVGDRTITCRASQGIRNDLGWYQQKPG	193

【表 3 - 0 5】

コンストラクト	ポリペプチド配列	配列番号
V _L	KAPKRLIYDAYSLQSGVPSRFSGGSGTEFTLTISLQPEDFA TYYCLQNGLQPATFGQGTKVEIK	
2B10_D1A2_VD; V _H	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYAISWVRQAP GQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADKSTSTAYME LSSLRSEDTAVYYCARLYGYAAYGAFDYWGQGTITVTVSS	195
2B10_O7D8; V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSIRNVLGWYQQKPGK APKRLIYDVSSLQSGVPSRFSGGSGTEFTLTISLQPEDFAT YYCLQNGLQPATFGQGTKVEIK	197
2B10_O7D8; V _H	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYAISWVRQAP GQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADKSTSTAYME LSSLRSEDTAVYYCARLYGYAAYGAFDYWGQGTITVTVSS	199
2B10_O1F7; V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGIRNVLGWYQQKPG KAPKRLIYDASSLQSGVPSRFSGGSGTEFTLTISLQPEDFA TYYCLQNGLQPATFGQGTKVEIK	201
2B10_O1F7; V _H	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYAISWVRQAP GQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADKSTSTAYME LSSLRSEDTAVYYCARLYGYAAYGAFDYWGQGTITVTVSS	203
2B10_6H10; V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGIRNVLGWYQQKPG KAPKRLIQAATSLQSGVPSRFSGGSGTEFTLTISLQPEDFA TYYCLQNGLQPATFGQGTKVEIK	205
2B10_6H10; V _H	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYAISWVRQAP GQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADKSTSTAYME LSSLRSEDTAVYYCARLYGYAAYGAFDYWGQGTITVTVSS	207
MHLG1; V _H	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMNWVRQA PGKGLEWVAEIRLKSNNFGRYYAASVKGRFTISRDDSKNTL YLQMNSLKTEDTAVYYCTTYGNYVGHYFDHWGQGTITVTV SS	257
KV9; V _L	DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPG QAPRPLIYSASYRYTGVPSPRFSGGSGTEFTLTISLQPEDFAT YYCQYNSYPLTFGGGTKVEIKRT	259
MHLG; V _H	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMNWVRQA PGKGLEWVAEIRLKSNNFGRYYAASVKGRFTISRDDSKNTL YLQMNSLKTEDTAVYYCTTYGNYVGHYFDHWGQGTITVTV SS	261
KV1; V _L	DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRASQNVDTNLAWYQQKPGKA PKLLIYSASYRYTGVPSPRFSGGSGTEFTLTISLQPEDFATYYC QYNSYPLTFGGGTKVEIKRT	269
KV7; V _L	DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGKA PKPLIYSASYRYTGVPSPRFSGGSGTEFTLTISLQPEDFATYYC QYNSYPLTFGGGTKVEIKRT	271

【 0 0 8 6 】

【表 4 - 0 1】

表 4

コンストラクト	ポリペプチド配列	配列番号
L19 モノクローナル 抗体由来 Fab 重 鎖—IL2 の C125A 変異体—L19 モノ クローナル抗体由 来 Fab 重鎖	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFSMSWVRQAP GKGLEWVSSISGSSGTTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKPPPYFDYWGQGTILVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDSGGGGSGGGSGGGGAPTSSSTKKTQ LQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATE LKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLE LKGETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLTSGGGG SGGGSGGGGGEVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSF SMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSSGTTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKPPPYFDYWGQGTILVTV VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD	95
L19 モノクローナル 抗体由来 Fab 軽 鎖	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLA WYQQKPG QAPRLLIYYASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQQTGRIPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC	96
L19 モノクローナル 抗体由来 scFv—8 アミノ酸リンカー— IL2 の C125A 変異 体	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFSMSWVRQAP GKGLEWVSSISGSSGTTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKPPPYFDYWGQGTILVTVSSGGSGG ASEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLA WYQQK PGQAPRLLIYYASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDF AVYYCQQTGRIPPTFGQGTKVEISVLSSSSGSSSSSGSSSGAP TSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIIS TLT	97
F16—ダイアボデー IL2 タンパク質	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYGMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKAHNAFDYWGQGTILVTVSSASGGSS ELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAP VLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADY YCNSSVYTMPPVVFGGGTKLTVLGSSSSSGSSSSSGSAPT SSTKKTQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFY MPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLIS NINVIVLELKGETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIIST LT	98
scFv—IL2—scFv (F16, タンパク質)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYGMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKAHNAFDYWGQGTILVTVSRGGGGS GGGGSGGGGSSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYA SWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLT ITGAQAEDEADYYCNSSVYTMPPVVFGGGTKLTVLGSSSSGS SSSGSSSGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNP KLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQS KNFHLRPRDLISNINVIVLELKGETTFMCEYADETATIVEFL NRWITFAQSIISTLTSGGGSGGGSGGGSGGGGSSELTQDPAVS VALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLVIYGKNN RPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSSVYTM PPVVFGGGTKLTVLGSGGGSGGGSGGGSGSEVQLLES GGGL VQPGGSLRLSCAASGFTFSRYGMSWVRQAPGKGLEWVSAIS GSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAV	99

【表 4 - 0 2】

コンストラクト	ポリペプチド配列	配列番号
	YYCAKAHNAFDYWGGTGLTVTS	
Fab-IL2-Fab (F16, 重鎖サイトカ イン融合コンストラ クト, タンパク質)	EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSAAAGFTFSRYGMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKAHNAFDYWGGTGLTVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDSSSSSGSSSSSGSGAPTSSSTKKTQLQ LEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELK HLQCLEELKPLEEVNLAAQSKNFHLRPRDLISNINVTLELK GSETTFMCEYADETATIVFELNRWITFAQSIISTLTSGGGGSG GGSGGGGGEVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSAAAGFTFSRYG MSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNLSLRAEDTAVYYCAKAHNAFDYWGGTGLTVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD	100
F16, 軽鎖, タンパ ク質	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDLSRYYASWYQQKPGQ APVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEAD YYCNSSVYTMPPVVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEE LQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPPS KQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTV APTECS	101
IL2R- β -Fc(ホル ル) 融合タンパク 質, タンパク質	MDMRVPAQLGLLLLWFGARCAVNGTSQFTCFYNSRANIS CVWSQDQALQDTSQVHAWPDRRRWNQTCLELPVSQASW ACNLILGAPDSQKLTTVDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFK PFENLRMLAPISLQVHVHVEHRCNISWEISQASHYFERHLEFE ARTLSPGHTWEEAPLLTLKQKQEWICLETLPDTQYEFQVR VKPLQGEFTTWSPWSQPLAFRTKPAALGKDTGAQDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSH DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVCT LPPSRDELTKNQVSLTSCAVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNY KTPPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK	102
IL2R- γ -Fc(ノブ), タンパク質	MLKPSLPFTSLFLQLPLLVGLNTTILTPNGNEDTTADFFLT TMPIDSLSVSTLPLPEVQCFVFNVEYMNCTWNSSEPQPTNL TLHYWYKNSDNDKVQKCSHYLFSEETSGCQLQKKEIHLQY TFVVQLQDPREPRRQATQMLKLQNLVIPWAPENLTLHLKLE SQLELNWNRNRLNHCLEHLVQYRTDWDHSWTEQSVQDYRH KFSPLPSVDGQKRYTFRVRSRFPNLCGSAQHWSEWSHPHGW SNTSKENPFLFALEAGAQDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWC LVKGFYPYSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	103
Fab-IL12-Fab L19 抗体, ネズミ科 scIL12, タンパク質	EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSAAAGFTFSFSMSWVRQAP GKGLEWVSSISGSGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKPFYFDYWGGTGLTVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDSGGGGSGGGGSGGGGAMWELEKDVY VVEVDWTPDAPGETVNLTCDTPEEDDITWTSQDRHGVIGSG KTLTITVKEFLDAGQYTKHGGETLSHSHLLHKKENGWIS TEILKNFNKTFKCEAPNYSGRFTCSWLQQRNMDLKFNK SSSSPPDSRAVTCGMASLSAEKVTLDRDYEKYSVSCQEDV TCPTAEETLPIELALEARQNKYENYSTSFIRDIKPDPPKNL QMKPLKNSQVEVSWEYPDWSWTPRSYFSLKFFVRIQRKKEK	104

【表 4 - 0 3】

コンストラクト	ポリペプチド配列	配列番号
	MKETEEGCNQKGAFVVEKTSDEVQCKGGNVCVQAQDRYY NSSCSKWACVPCRVRSGGDGSGGGGSGGGGSRVIPVSGPAR CLSQSRNLLKTTDDMVKTAREKLKHYSCTAEDIDHEDITRD QTSTLKTCLPLELHKNESCLATRETSSTTRGSCLPPQKTSML MITLCLGSIYEDLKMYQTEFQAINAALQNNHQQIILDKGML VAIDELMQSLNHNGETLRQKPPVGEADPYRVKMKLCILLHA FSTRVVTINRVMGYLSSAGGGGSGGGGSGGGGEVQLLESGG GLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFSMSWVRQAPGKGLEWVSS ISGSSGTTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCAKPFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCD	
Fab-IL12-Fab L19 抗体, ヒト scIL12, タンパク質	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFSMSWVRQAP GKGLEWVSSIRGSSGTTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKPFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDSGGGGSGGGGSGGGGIWELKKDVYV VELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDSSEVLGSGK TLTIQVKEFGDAGQYTCCHKGGEVLSHSLLLHKKEDGIWST DILKDKQKEPKNTFLRCEAKNYSGRFTCWWTITISDTLTFV KSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQCEDS ACPAAEESLPVEMVDAVHKLKYENYTSFFIRDIKPDPPKN LQLKPLKNSRQVEVSWEYPTDWTSPHSYFSLTFCVQVQGKS KREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYSWSEW ASVPCSGGGGSGGGGSGGGGSRNLPVATPDPMFPCLLHHSQ NLLRAVSNMLQKARQTLFYPCTSEEDHEDITDKTSTVEA CLPLELTKNESCLNSRETSTFTNGSCLASRKTSFMMALCLSSI YEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELM QALNFNSETVPQKSSLEEDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTID RVMSYLNASGGGGSGGGGSGGGGEVQLLESGGGLVQPGGS LRLSCAASGFTFSSFSMSWVRQAPGKGLEWVSSIRGSSGTTY YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKPF PYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD	105
Fab-GMCSF- Fab L19 抗体, ヒト GM-CSF, タンパク 質	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFSMSWVRQAP GKGLEWVSSIRGSSGTTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKPFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDSGGGGSGGGGSGGGGAPARSPSPSTQP WEHVNAIQEARLLNLSRDTAEMNETVEVISEMFDLQEP CLQTRLELYKQGLRGSCLKLKGPLTMMASHYKQHCPTPET SCATQITTFESFKENLKDFFLVIPFDCWEPVQESGGGGSGGGG SGGGGEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFSMSW VRQAPGKGLEWVSSIRGSSGTTYADSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKPFYFDYWGQGTLVTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCD	106
Fab-IFN α 2- Fab, L19 抗体, タ ンパク質	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFSMSWVRQAP GKGLEWVSSIRGSSGTTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKPFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDSGGGGSGGGGSGGGGCDLPQTHSLGN	107

【表 4 - 0 4】

コンストラクト	ポリペプチド配列	配列番号
	RRALILLAQMRRISPFSCDKDRHDFGFPQEEFDGNQFQKAQA ISVLHEMIQQTFLNLFSTKDSSAAWDESLLEKFYTELYQQLND LEACVIEVGVEETPLMNVDSILAVKKYFQRITLYLTKKYS PCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQERLRRKESGGGGSGGGSGG GGGEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFSMSWVR QAPGKGLEWVSSIRGSSGTTYADSVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCAKPFYFDYWGQGT LVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCD	
3F2 Fab-IL2- Fab (重鎖サイトカ イン融合コンストラ クト)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKGWFGGFNYWGQGT LVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDSGGGGSGGGSGGGGAPTSSSTKKT QLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVL ELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLTSGGG GSGGGSGGGGEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS SYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGWFGGFNYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD	209
4G8 Fab-IL2- Fab (重鎖サイトカ イン融合コンストラ クト)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKGWLGNFYWGQGT LVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDSGGGGSGGGSGGGGAPTSSSTKKT QLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVL ELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLTSGGG GSGGGSGGGGEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS SYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGWLGNFYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD	211
3D9 Fab-IL2- Fab (重鎖サイトカ イン融合コンストラ クト)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQTP GKGLEWVSAIGVSTGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKGWLGPFYWGQGT LVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDSGGGGSGGGSGGGGAPTSSSTKKT QLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVL ELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLTSGGG GSGGGSGGGGEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS SYAMSWVRQTPGKGLEWVSAIGVSTGSTYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGWLGPFYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD	213
2F11 Fab-IL2- Fab (重鎖サイトカ イン融合コンストラ クト)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKWRWMMFDYWGQGT LVTVSSAST	215

【表 4 - 0 5】

コンストラクト	ポリペプチド配列	配列番号
クト)	KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSG ALTSVGHTFPVAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVVDKKEPKSCDSGGGGSGGGSGGGGAPTSSSTK KTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKK ATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLELKGSETTFMCEYADETATVEFLNRWITFAQSIISTLTSG GGGGSGGGSGGGGEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT FSSYAMSWVRQAPGKGLEWWSAISGSGGSTYYADSVKGRF TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKWRWMMFDYW GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTWNSGALTSVGHTFPVAVLQSSGLYSLSVVTVPSS SLGTQTYICNVN HKPSNTKVVDKKEPKSCD	
4B3 Fab-IL2- Fab (重鎖サイトカ イン融合コンストラ クト)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWWSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKWLGNFDYWGGGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGAL TSVGHTFPVAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HK PSNTKVVDKKEPKSCDSGGGGSGGGSGGGGAPTSSSTKKT QLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLELKGSETTFMCEYADETATVEFLNRWITFAQSIISTLTSGG GGGGSGGGSGGGGEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF SSYAMSWVRQAPGKGLEWWSAISGSGGSTYYADSVKGRFTIS RDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKWLGNFDYWGGG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTWNSGALTSVGHTFPVAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLG TQTYICNVN HKPSNTKVVDKKEPKSCD	217
4G8 Fab-IL12- Fab (ネズミ科 IL-12; 重鎖サイト カイン融合コンスト ラクト)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWWSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKWLGNFDYWGGGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGAL TSVGHTFPVAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HK PSNTKVVDKKEPKSCDSGGGGSGGGSGGGGAMWELEKD VYVVEVDWTPDAPGETVNLTCDTPEEDDITWTSQDRHGVIG SGKTLTITVKEFLDAGQYTCHKGGETLSHSHLLJLHKENG WSTEILKNFKNKTFKCEAPNYSGRFTCSWLVRQNMMDLKF N IKSSSPDSDRAVTCGMASLSAEKVTLDRDYEKYSVSCQED VTCPTAEETLPIELALEARQNKYENYSTSFIRDIIPDPK N LQMPLKNSQVEVSWEYPDSWSTPRSYFLKFFVRIQRKKE KMKETE EGCNQKGAFVVEKTSTEVQCKGGNVCVQAQDRY YNSSCSKWACVPCRVRSGDGSGGGGSGGGGSRVIPVSGPA RCLSQSRNLLKTIDDMVKTAREKLKHYSTAEIDHEDITR DQTSTLKTCLPLELHKNESCLATRETSTSTRGSLPPQKTS L MMTLCGLSIYEDLKMYQTEFQAINAALQNHNHQQIILDKGM LVAIDELMQSLNHNGETLRQKPPVGEADPYRVKMKLCILH AFSTRVVTINRVMGYLSSAGGGSGGGSGGGGEVQLLESG GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWV SAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKWLGNFDYWGGGTLVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSVGHTFP AVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKV DKKEPKSCD	219
28H1 Fab-IL2- Fab (重鎖サイトカ イン融合コンストラ クト)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSHAMSWVRQAP GKGLEWWSAIWASGEQYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKWLGNFDYWGGGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGAL TSVGHTFPVAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HK PSNTKVVDKKEPKSCDSGGGGSGGGSGGGGAPTSSSTKKT	221

【表 4 - 0 6】

コンストラクト	ポリペプチド配列	配列番号
	QLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT ELKHLQCLEEEELKPLEEVNLQAQSKNFHLRPRDLISNINVIVL ELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLTSGGG GSGGGGSGGGGEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS SHAMSWVRQAPGKGLEWVSAIWASGEQYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGWLGNFYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD	
29B11 Fab-IL2 -Fab (重鎖サイト カイン融合コンス トラクト)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAIIGSGGITYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCAKGWFGGFNYWGQGTTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDSGGGGSGGGGSGGGGAPTSSSTKKTQ LQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATE LKHLQCLEEEELKPLEEVNLQAQSKNFHLRPRDLISNINVIVL LKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLTSGGG SGGGGSGGGGEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS YAMSWVRQAPGKGLEWVSAIIGSGGITYYADSVKGRFTISR DNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGWFGGFNYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD	223
19G1 Fab-IL2- Fab (重鎖サイトカ イン融合コンストラ クト)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAIISGGGLTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKGWFGGFNYWGQGTTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDSGGGGSGGGGSGGGGAPTSSSTKKT QLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT ELKHLQCLEEEELKPLEEVNLQAQSKNFHLRPRDLISNINVIVL ELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLTSGGG GSGGGGSGGGGEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS SYAMSWVRQAPGKGLEWVSAIISGGGLTYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGWFGGFNYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD	225
20G8 Fab-IL2- Fab (重鎖サイトカ イン融合コンストラ クト)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAIIGSGSRTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKGWFGGFNYWGQGTTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDSGGGGSGGGGSGGGGAPTSSSTKKT QLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT ELKHLQCLEEEELKPLEEVNLQAQSKNFHLRPRDLISNINVIVL ELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLTSGGG GSGGGGSGGGGEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS SYAMSWVRQAPGKGLEWVSAIIGSGSRTYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGWFGGFNYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD	227
3F2 軽鎖	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVTSSYLAWYQQKPG QAPRLINVGSRRTGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFA VYYCQQGIMLPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD	229

【表 4 - 0 7】

コンストラクト	ポリペプチド配列	配列番号
	SKDSTYSLSSLTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC	
4G8 軽鎖	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSRSYLAWYQQKPG QAPRLLIIGASTRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQQGQVIPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDYSTYSLSSLTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC	231
3D9 軽鎖	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQQGQLIPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDYSTYSLSSLTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC	233
2F11 軽鎖	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQQGQYTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDYSTYSLSSLTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC	235
4B3 軽鎖	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSNYLAWYQQKPG QAPRLLIYGAYIRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQQGQVIPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDYSTYSLSSLTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC	237
2B10 Fab-IL2- Fab (重鎖サイトカ イン融合コンストラ クト)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYAISWVRQAP GQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADKSTSTAYME LSSLRSEDTAVYYCARLYGYAAYGAFDYWGQGTITVTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDSGGGGSGGGSGGGGAPTSSST KKTQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPK KATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNIN VIVLELKGSETTFMCEYADETATVEFLNRWITFAQSIISTLTS GGGGSGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASG GTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGR VTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLYGYAAYGAF DYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD	239
C3B6 Fab-IL2- Fab (重鎖サイトカ イン融合コンストラ クト)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYAISWVRQAP GQGLEWMGAIPILGIANYAQKFQGRVTITADKSTSTAYMEL SSLRSEDTAVYYCARLYGYAAYGAFDYWGQGTITVTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDSGGGGSGGGSGGGGAPTSSSTK KTQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKK ATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLELKGSETTFMCEYADETATVEFLNRWITFAQSIISTLTS GGGGSGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASG GTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGAIPILGIANYAQKFQGRVT ITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLYGYAAYGAFDY WGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD	241
6A12 Fab-IL2- Fab (重鎖サイトカ イン融合コンストラ クト)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYAISWVRQAP GQGLEWMGVIIPIGLTANYAQKFQGRVTITADKSTSTAYME	243

【表 4 - 0 8】

コンストラクト	ポリペプチド配列	配列番号
イン融合コンストラクト)	LSSLRSEDТАVYYCARYGYAAYGAFDYWGQTTTVTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDSGGGSGGGGSGGGGAPTSSST KKTQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPK KATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPDLISNIN VIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLTS GGGGSGGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKKASG GTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGVIIPIGTANYAQKFQGR VTITADKSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARYGYAAYGAF DYWGQTTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD	
2B10 軽鎖	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQGIRNDLGWYQQKPG KAPKRLIYAASSLQSGVPSRFSGGSGGTEFTLTISLQPEDFAT YYCLQNGLQPATFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC	245
D1A2 軽鎖	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQGIRNDLGWYQQKPG KAPKRLIYDAYSLQSGVPSRFSGGSGGTEFTLTISLQPEDFA TYYCLQNGLQPATFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC	247
O7D8 軽鎖	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQSIRNVLGWYQQKPGK APKRLIYDVSSLQSGVPSRFSGGSGGTEFTLTISLQPEDFAT YYCLQNGLQPATFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC	249
MHLG1 Fab-IL2 -Fab (重鎖サイト カイン融合コンス トラクト)	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMNWVRQA PGKGLEWVAEIRLKSNNFGRYYAASVKGRFTISRDDSKNTL YLQMNSLKTEDTAVYYCTTYGNYVGHYFDHWGQTTTVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDSGGGSGGGGSGGGGAPT SSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFY MPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPDLIS NINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIIST LTSGGGGSGGGGSGGGGEVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCA ASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNFGRYY AASVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTTYGN YVGHYFDHWGQTTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD	251
KV9 軽鎖	DIQLTQSPSFLSASVGDRVITTCRASQNVDTNVAWYQQKPG QAPRPLIYSASYRYTGVPSPRFSGGSGGTEFTLTISLQPEDFAT YYCQQYNSYPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC	253
MHLG Fab-IL2- Fab (重鎖サイトカ イン融合コンス トラクト)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMNWVRQA PGKGLEWVAEIRLKSNNFGRYYAASVKGRFTISRDDSKNTL YLQMNSLKTEDTAVYYCTTYGNYVGHYFDHWGQTTTVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDSGGGSGGGGSGGGGAPT	255

【表 4 - 0 9】

コンストラクト	ポリペプチド配列	配列番号
	SSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFY MPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLIS NINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIIST LTSGGGGSGGGGSGGGGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGLEWVAEIRLKSNNGFRYY AASVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTTYGN YVGHYFDHWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD	
KV1 軽鎖	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTTTCRASQNVDTNLAWYQQKPGKA PKLLIYSASYRYTGVPSPRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYC QQYNSYPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKIDSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	263
KV7 軽鎖	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTTTCRASQNVDTNVAWYQQKPGKA PKPLIYSASYRYTGVPSPRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYC QQYNSYPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKIDSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	265

【 0 0 8 7】

【表 5】

表 5

コンストラクト	ポリペプチド配列	配列番号
ヒト FAP 外部ドメイン+ポリ-lys-タグ +his ₆ -タグ	RPSRVHNSSEENTMRALTLKDILNGTFSYKTFPPNWISGQEYL HQSADNNIVLYNIETGQSYTILSNRTMKSVNASNYGLSPDRQ FVYLESDYSKLRYSYTATYYIYDLNNGEFVRGNELPRPIQY LCWSPVGSKLAYVYQNNIYLKQRPDPPFQITFNGRENKIFN GIPDWVYEEEMLATKYALWWSPNGKFLAYAEFNDDIPVIA YSYYGDEQYPRITINIPYPKAGAKNPVVRIFIIDTTYPAYVGPQ EVPVPAMIASSDYYFSWLTWVTDERVCLQWLKRVQNVSVL SICDFREDWQTWDCPKTQEHIEESRTGWAGGFFVSTPVFSY DAISYYKIFSDKDGKYKHHIYKDTVENAIQITSGKWEAINFR VTQDSLIFYSSNEFEEYPGRRNIRISIGSYPPSKKCVTCHLRK ERCQYYTASFSDYAKYYALVCYGPPISTLHDGRTDQEIKI LEENKELENALKNIQLPKKEIKKLEVDITLWYKMILPPQFD RSKKYPLLIQVYGGPCSQSRSVFAVNWISYLASKEGMVIAL VDGRGTAFQGDKLLYAVYRKLGVYEVEDQITAVRKFIEMG FIDEKRIAIWGWSYGGYVSSLALASGTGLFKCGIAPVSSW EYYASVYTERFMGLPTKDDNLEHYKNSTVMARAEYFRNVD YLLIHGTADDNVHFNQSAQIAKALVNAQVDFQAMWYSDQ NHGLSGLSTNHLTYHMTHTFLKQCFSLSDGKKKKKKKGHHHH HH	53
ネズミ科 FAP 外部 ドメイン+ポリ-lys-タ グ+his ₆ -タグ	RPSRVYKPEGNTKRALTLKDILNGTFSYKTYFPNWISEQEYL HQSEDDNIVFYNIETRESYIILSNSTMKSVNATDYGLSPDRQF VYLESDYSKLRYSYTATYYIYDLQNGEFVRGYELPRPIQY LCWSPVGSKLAYVYQNNIYLKQRPDPPFQITYTGRENKIFN GIPDWVYEEEMLATKYALWWSPDGKFLAYVEFNDSIPILA YSYYGDEQYPRITINIPYPKAGAKNPVVRVFIIDTTYPHHVG PMEVPVPEMIASSDYYFSWLTWVSSERVCLQWLKRVQNVSVL SICDFREDWHAWCEPKNQEHVEESRTGWAGGFFVSTPAF SQDATSYKIFSDKDGKYKHHIYKDTVENAIQITSGKWEAIYI FRVTQDSLIFYSSNEFEGYPGRRNIRISIGNSPSKKCVTCHL RKERCQYYTASFYKAKYYALVCYGPGLPISTLHDGRTDQE IQVLEENKELENSLRNIQLPKVEIKKLDGGLTFWYKMILPP QFDRSKKYPLLIQVYGGPCSQSVKSVFAVNWITYLASKEGIV IALVDGRGTAFQGDKFLHAVYRKLGVYEVEDQITAVRKFIEM MGFIDEERIAIWGWSYGGYVSSLALASGTGLFKCGIAPVSV SWEYYASISERFMGLPTKDDNLEHYKNSTVMARAEYFRN VDYLLIHGTADDNVHFNQSAQIAKALVNAQVDFQAMWYS DQNHGILSGRSQNHLTYHMTHTFLKQCFSLSDGKKKKKKKGH HHHHH	55
ヒト TNC-A2+avi- タグ +his ₆ -タグ	ASTGETPNLGEVVVAEVGWDALKLNWTAPEGAYEYFFIQV QEADTVEAAQNLTVPGLRSTDLPLGLKAATHYTTIRGVTQ DFSTTPLSVEVLTASGLNDIFEAQKIEWHEGTHHHHHH	57
ヒト TNC-A1+avi- タグ +his ₆ -タグ	EQAPELENLTVTEVGWDGLRLNWTAAADQAYEHFIQVQEA NKVEAARNLTVPGSLRAVDIPGLKAATPYTVSIYGVQGYRT PVLSAEASTASGLNDIFEAQKIEWHEGTHHHHHH	59
ネズミ科 TNC-A1+avi-タグ +his ₆ -タグ	ISEFGSSTEEVPSLENLTVTEAGWDGLRLNWTADDLAYEYF VIQVQEANNVETAHNFVPGNLRAADIPGLKVATSYRVSİY GVARGYRTPVLSAETSTASGLNDIFEAQKIEWHEGTHHHHH H	61
ヒト TNC-A4+ avi-タグ +his ₆ -タグ	EDLPQLGDLAVSEVGWDGLRLNWTAAADNAYEHFVIQVQEV NKVEAAQNLTLPGLSLRAVDIPGLEAATPYRVSİYGVIRGYRT PVLSAEASTASGLNDIFEAQKIEWHEGTHHHHHH	63
ネズミ科 TNC-A4 +avi-タグ +his ₆ -タ グ	ISEFGSLTEDLPQLGGLSVTEVSWDGLTLNWTDDLAYKHF VVQVQEANNVEAAQNLTVPGLSLRAVDIPGLKADTPYRVSİY GVQGYRTPMLSTDVSTASGLNDIFEAQKIEWHEGTHHHHH H	65

【表 6 - 0 1】

表6

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
2B10; V _L	GATATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAT CTGTCCGAGACCGGGTCACCATCACCTGCCGGGCAAGTC AGGGCATTAGAAATGATTTAGGCTGGTACCAGCAGAAGC CAGGGAAAGCCCCTAAGCGCCTGATCTATGCTGCATCCA GTTTGCAGAGTGGCGTCCCATCAAGGTTACGCGGCGGTG GATCCGGGACAGAGTTCACTCTCACCATCAGCAGCTTGCA GCCTGAAGATTTTGCCACCTATTACTGCTTGCAAGATGGT CTGCAGCCCGCGACGTTTGCCAGGGCACCAAAGTCGAG ATCAAG	4
2B10(GS); V _L	GATATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAT CTGTCCGAGACCGGGTCACCATCACCTGCCGGGCAAGTC AGGGCATTAGAAATGATTTAGGCTGGTACCAGCAGAAGC CAGGGAAAGCCCCTAAGCGCCTGATCTATGCTGCATCCA GTTTGCAGAGTGGCGTCCCATCAAGGTTACGCGGCGAGTG GATCCGGGACAGAGTTCACTCTCACCATCAGCAGCTTGCA GCCTGAAGATTTTGCCACCTATTACTGCTTGCAAGATGGT CTGCAGCCCGCGACGTTTGCCAGGGCACCAAAGTCGAG ATCAAG	6
2B10; V _H	CAGGTGCAATTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAG CCTGGGTCCCTCGGTGAAGGTCTCTGCAAGGCCTCCGGAG GCACATTCAGCAGCTACGCTATAAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTCGAGTGGATGGGAGGGATCATCC CTATCTTTGGTACAGCAAACTACGCACAGAAGTTCCAGGG CAGGGTCACCATTACTGCAGACAAATCCACGAGCACAGC CTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACCGC CGTGATTACTGTGCGAGACTGTACGGTTACGCTTACTAC GGTGCTTTTGACTACTGGGGCCAAGGGACCACCGTGACC GTCTCCTCA	8
2F11; V _L	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGT CTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAAGGGCCAGTC AGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGA AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGAGCATC CAGCAGGGCCACTGGCGTCCCAGACAGGTTCACTGGCAG TGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAGCCTGAAGATTTTGCAAGTGTATTACTGTCAGCAGGGTC AGTATACTCCCCCACGTTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGG AAATCAAA	10
2F11(VI); V _L	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGT CTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAAGGGCCAGTC AGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGA AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGAGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCACTGGCAG TGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAGCCTGAAGATTTTGCAAGTGTATTACTGTCAGCAGGGTC AGTATACTCCCCCACGTTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGG AAATCAAA	12
2F11; V _H	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT TCACCTTTAGCAGTTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGG TAGTGTTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGG CCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACATGGCC GTATATTACTGTGCGAAATGGAGATGGATGATGTTTGA CTGGGGGCAAGGAACCCTGGTCAACGTCTCGAGT	14
2F11(MT); V _H	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT	16

【表 6 - 0 2】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
	TCACCTTTAGCAGTTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGG TAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGG CCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCC GTATATTACTGTGCGAAATGGAGATGGATGATGTTTGA ACTGGGGCCAAGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGT	
3F2; V _L	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGT ATCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTC AGAGTGTTACCACTAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGA AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCAATGTGGGCTC CCGTAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCACTGGCAG TGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGGGTA TTATGCTTCCCCGACGTTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGGA AATCAAA	18
3F2(YS); V _L	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGT CTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTC AGAGTGTTACCACTAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGA AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCAATGTGGGCTC CCGTAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCACTGGCAG TGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGGGTA TTATGCTTCCCCGACGTTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGGA AATCAAA	20
3F2; V _H	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT TCACCTTTAGCAGTTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGG TAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGG CCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCC GTATATTACTGTGCGAAAGGGTGGTTTGGTGGTTTAACT ACTGGGGCCAAGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGT	22
3D9, V _L	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGT CTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTC AGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGA AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGAGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCACTGGCAG TGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGGGTC AGCTTATCCCCCTACGTTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGGA AATCAAA	24
3D9, V _H	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT TCACCTTTAGCAGTTATGCTATGAGCTGGGTCCGCCAGAC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTGGTGT AGTACTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGC CGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGT ATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCG TATATTACTGTGCGAAAGGTTGGCTGGGTCTTTTGA CTGGGGCCAAGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGT	26
3D9(TA); V _H	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT TCACCTTTAGCAGTTATGCTATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTGGTGT AGTACTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGC CGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGT ATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCG TATATTACTGTGCGAAAGGTTGGCTGGGTCTTTTGA CTGGGGCCAAGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGT	28

【表 6 - 0 3】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
	ATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCG TATATTACTGTGCGAAAGGTTGGCTGGGTCTTTGACTA CTGGGGCCAAGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGT	
4G8; V _L	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGT CTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTC AGAGTGTTAGCCGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGA AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCAITGGGGCCTC CACCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCACTGGCAG TGGATCCGGGACGGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGGGTC AGGTTATTCCCCCTACGTTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGG AAATCAAA	30
4G8; V _H	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT TCACCTTTAGCAGTTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGG TAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGG CCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCC GTATATTACTGTGCGAAAGGGTGGCTGGGTAATTTGACT ACTGGGGCCAAGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGT	32
4B3; V _L	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGT CTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTC AGAGTGTTAGCAGCAATTACTTAGCCTGGTACCAGCAGA AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGCGCCTA CATCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCACTGGCAG TGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGGGTC AGGTTATTCCCCCTACGTTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGG AAATCAAA	34
4B3; V _H	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT TCACCTTTAGCAGTTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGG TAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGG CCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCC GTATATTACTGTGCGAAAGGGTGGCTGGGTAATTTGACT ACTGGGGCCAAGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGT	36
4D6; V _L	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGT CTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTC AGAGTGTTAGCAGCAACTACTTAGCCTGGTACCAGCAGA AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCCAGGGCGCCTC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCACTGGCAG TGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGGGTC AGGTTATTCCCCCTACGTTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGG AAATCAAA	38
4D6; V _H	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT TCACCTTTAGCAGTTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGG TAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGG CCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCC GTATATTACTGTGCGAAAGGGTGGCTGGGTAATTTGACT ACTGGGGCCAAGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGT	40
2C6; V _L	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGT	42

【表 6 - 0 4】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
	CTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTC AGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGA AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGAGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAG TGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGGCTG GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGGGTC AGCAGATTCCCCCTACGTTCCGGCCAGGGGACCAAAGTGG AAATCAAAA	
2C6; V _H	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT CCACCTTTAGCAGTTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGG GAGCTGCTGGTTATACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGG CCGGTTTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCC GTATATTACTGTGCGAAAGGTTGGTTTGGGAATTTGACT ACTGGGGCCAAGGAACCCTGGTCAACCGTCTCGAGT	44
5H5; V _L	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGT CTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTC AGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGA AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGAGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAG TGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGGGTA ATCAGATTCCCCCTACGTTCCGGTCAGGGGACCAAAGTGG AAATCAAAA	46
5H5; V _H	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT TCACCTTTAGCAGTTATACCATGAGCTGGGTCCGCCGGTC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGG TGGTGGTAGGACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCG GTTTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTAT CTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTA TATTACTGTGCGAAAGGTTGGTTTACGCCTTTTGACTACT GGGGCCAAGGAACCCTGGTCAACCGTCTCGAGT	48
2C4; V _L	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGT CTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTC AGAGTGTTAGCAGTAACCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGA AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCCTC CATTAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAG TGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGGGTA ATCAGATTCCCCCTACGTTCCGGTCAGGGGACCAAAGTGG AAATCAAAA	50
2C4; V _H	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT TCACCTTTAGCAGTTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGCGG TAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGG CCGGTTTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCC GTATATTACTGTGCGAAAGGTTGGTTTACGCCTTTTGACT ACTGGGGCCAAGGAACCCTGGTCAACCGTCTCGAGT	52
2D9; V _L	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGT CTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTC AGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGA AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGAGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAG	68

【表 6 - 0 5】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
	TGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGGGTA ATCAGATTCCCCCTACGTTTCGGTCAGGGGACCAAAGTGG AAATCAAA	
2D9; V _H	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT TCACCTTTAGCAGTTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGCGG TAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGG CCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCC GTATATTACTGTGCGAAAGGTTGGTTTACGCCTTTTGA CTGCGGGCCAAGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGT	70
4B8; V _L	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGT CTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTC AGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGA AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGAGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCACTGGCAG TGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGGGTC AGGTTATTCCCCCTACGTTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGG AAATCAAA	72
4B8; V _H	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT TCACCTTTAGCAGTTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGG TAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGG CCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCC GTATATTACTGTGCGAAAGGTTGGTGGGTAATTTTGA CTGCGGGCCAAGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGT	74
7A1; V _L	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGT CTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTC AGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGA AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGAGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCACTGGCAG TGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGGGTC AGCAGATTCCCCCTACGTTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGG AAATCAAA	76
7A1; V _H	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT TCACCTTTAGCAGTTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGG TAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGG CCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCC GTATATTACTGTGCGAAAGGTTGGTTTGGGAATTTTGA CTGCGGGCCAAGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGT	78
13C2; V _L	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGT CTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTC AGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGA AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGAGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCACTGGCAG TGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGGGTC AGCTTATTCCCCCTACGTTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGGA AATCAAA	80

【表 6 - 0 6】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
13C2; V _H	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT TCACCTTTAGCAGTTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGG TAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGG CCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCC GTATATTACTGTGCGAAAGGTTGGCTGGGTCCTTTGACT ACTGGGGCCAAGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGT	82
13E8; V _L	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGT CTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTC AGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGA AACCTGGCCAGGCTCCAGGCTCCTCATCTATGGAGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAG TGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGGGTC TGAATATTCCCTCGACGTTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGG AAATCAAA	84
13E8; V _H	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT TCACCTTTAGCAGTTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGG TAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGG CCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCC GTATATTACTGTGCGAAAGGTTGGTTGGGTCCGTTTGACT ACTGGGGCCAAGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGT	86
14C10; V _L	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGT CTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTC AGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGA AACCTGGCCAGGCTCCAGGCTCCTCATCTATGGAGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAG TGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGGGTC ATATTATTCCCCGACGTTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGG AAATCAAA	88
14C10; V _H	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT TCACCTTTAGCAGTTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGG TAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGG CCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCC GTATATTACTGTGCGAAAGCTTGGATGGGGCCTTTTGACT ACTGGGGCCAAGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGT	90
17A11; V _L	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGT CTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTC AGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGA AACCTGGCCAGGCTCCAGGCTCCTCATCTATGGAGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAG TGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGGGTC TGAATATTCCCTCGACGTTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGG AAATCAAA	92
17A11; V _H	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT TCACCTTTAGCAGTTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGG	94

【表 6 - 0 7】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
	TAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGG CCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCC GTATATTACTGTGCGAAAGGTTGGTTGGGTCCGTTTGA ACTGGGGCCAAGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGT	
19G1; V _L	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGT CTCCAGGGGAAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTC AGAGTGTACCAGTAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGA AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCAATGTGGGCTC CCGTAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAAGTGGCAG TGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGGGTA TTATGCTTCCCCCGACGTTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGGA AATCAAA	122
19G1; V _H	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT TCACCTTTAGCAGTTATGCGATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCGATTATTAG TAGTGGTGGTCTCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGC CGGTTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGT ATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCG TATATTACTGTGCGAAAGGGTGGTTTGGTGGTTTAACTA CTGGGGCCAAGGAACCCTGGTCACCGTCTCGTCC	124
20G8; V _L	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGT CTCCAGGGGAAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTC AGAGTGTACCAGTAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGA AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCAATGTGGGCTC CCGTAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAAGTGGCAG TGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGGGTA TTATGCTTCCCCCGACGTTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGGA AATCAAA	126
20G8; V _H	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT TCACCTTTAGCAGTTATGCAATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTATTGG GAGTGGTAGTCGTACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGG CCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCC GTATATTACTGTGCGAAAGGGTGGTTTGGTGGTTTAACT ACTGGGGCCAAGGAACCCTGGTCACCGTCTCGTCC	128
4B9; V _L	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGT CTCCAGGGGAAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTC AGAGTGTACCAGTAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGA AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCAATGTGGGCTC CCGTAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAAGTGGCAG TGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGGGTA TTATGCTTCCCCCGACGTTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGGA AATCAAA	130
4B9; V _H	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT TCACCTTTAGCAGTTATGCTATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTATTGGT AGTGGTGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGC CGGTTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGT ATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCG TATATTACTGTGCGAAAGGGTGGTTTGGTGGTTTAACTA	132

【表 6 - 0 8】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
	CTGGGGCCCAAGGAACCCTGGTCAACCGTCTCGTCC	
5B8; V _L	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGT CTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTC AGAGTGTTACCACTAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGA AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCAATGTGGGCTC CCGTAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCACTGGCAG TGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGGGTA TTATGCTTCCCCCGACGTTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGGA AATCAAA	134
5B8; V _H	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT TCACCTTTAGCAGTTATGCTATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTTGGGG TGGTGGTTCGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGG CCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCC GTATATTACTGTGCGAAAGGGTGGTTTGGTGGTTTAACT ACTGGGGCCAAGGAACCCTGGTCAACCGTCTCGTCC	136
5F1; V _L	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGT CTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTC AGAGTGTTACCACTAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGA AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCAATGTGGGCTC CCGTAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCACTGGCAG TGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGGGTA TTATGCTTCCCCCGACGTTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGGA AATCAAA	138
5F1; V _H	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT TCACCTTTAGCAGTTATGCTATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTATTAGT AGTGGGGCTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGC CGGTTCAACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGT ATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCG TATATTACTGTGCGAAAGGGTGGTTTGGTGGTTTAACTA CTGGGGCCAAGGAACCCTGGTCAACCGTCTCGTCC	140
14B3; V _L	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGT CTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTC AGAGTGTTACCACTAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGA AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCAATGTGGGCTC CCGTAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCACTGGCAG TGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGGGTA TTATGCTTCCCCCGACGTTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGGA AATCAAA	142
14B3; V _H	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT TCACCTTTAGCAGTTATGCTATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTTGGCT AGTGGTGCATCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGC CGGTTCAACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGT ATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCG TATATTACTGTGCGAAAGGGTGGTTTGGTGGTTTAACTA CTGGGGCCAAGGAACCCTGGTCAACCGTCTCGTCC	144
16F1; V _L	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGT CTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTC AGAGTGTTACCACTAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGA	146

【表 6 - 0 9】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
	AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCAATGTGGGCTC CCGTAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAG TGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGGGTA TTATGCTTCCCCGACGTTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGGA AATCAAA	
16F1; V _H	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT TCACCTTTAGCAGTTATGCTATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTATTGG TAGTGGTGGTATCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGG CCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCC GTATATTACTGTGCGAAAGGGTGGTTTGGTGGTTTAACT ACTGGGGCCAAGGAACCCTGGTCACCGTCTCGTCC	148
16F8; V _L	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGT CTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTC AGAGTGTTACCAGTAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGA AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCAATGTGGGCTC CCGTAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAG TGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGGGTA TTATGCTTCCCCGACGTTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGGA AATCAAA	150
16F8; V _H	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT TCACCTTTAGCAGTTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTCTTGGT AGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGC CGGTTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGT ATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCG TATATTACTGTGCGAAAGGGTGGTTTGGTGGTTTAACTA CTGGGGCCAAGGAACCCTGGTCACCGTCTCGTCC	152
03C9; V _L	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGT CTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTC AGAGTGTTACCAGTAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGA AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCAATGTGGGCTC CCGTAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAG TGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGGGTA TTATGCTTCCCCGACGTTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGGA AATCAAA	154
03C9; V _H	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT TCACCTTTAGCAGTTTGGCATGAGCTGGGTCCGTCAGTC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTATTGGT AGTGGTAGTAACACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGC CGGTTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGT ATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCG TATATTACTGTGCGAAAGGGTGGTTTGGTGGTTTAACTA CTGGGGCCAAGGAACCCTGGTCACCGTCTCGTCC	156
02D7; V _L	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGT CTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTC AGAGTGTTACCAGTAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGA AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCAATGTGGGCTC CCGTAGGGCCACTGGCACCCAGACAGGTTTCAGTGGCAG TGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGGCTA	158

【表 6 - 1 0】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
	TTATGCTTCCTCCGACGTTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGGA AATCAAA	
02D7; V _H	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT TCACCTTTAGCAGTTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGG TAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGG CCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCC GTATATTACTGTGCGAAAGGGTGGTTTGGTGGTTTAACT ACTGGGGCCAAGGAACCCCTGGTCACCGTCTCGTCC	160
28H1; V _L	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGT CTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTC AGAGTGTTAGCCGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGA AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCATTGGGGCCTC CACCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCACTGGCAG TGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGGGTC AGGTTATTCCCCCTACGTTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGG AAATCAAA	162
28H1; V _H	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT TCACCTTTAGCAGTCATGCTATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTTGGGC TAGTGGGGAGCAATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCG GTTTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTAT CTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTA TATTACTGTGCGAAAGGGTGGCTGGGTAATTTTGACTION GGGGCCAAGGAACCCCTGGTCACCGTCTCGAGT	164
22A3; V _L	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGT CTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTC AGAGTGTTACCAGTAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGA AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCAATGTGGGCTC CCGTAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCACTGGCAG TGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGGGTA TTATGCTTCCCCCGACGTTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGGA AATCAAA	166
22A3; V _H	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT TCACCTTTAGCAGTTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTATTGGT AGTGGTAGTATCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGC CGGTTTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGT ATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCG TATATTACTGTGCGAAAGGGTGGTTTGGTGGTTTAACTA CTGGGGCCAAGGAACCCCTGGTCACCGTCTCGAGT	168
29B11; V _L	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGT CTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTC AGAGTGTTACCAGTAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGA AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCAATGTGGGCTC CCGTAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCACTGGCAG TGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGGGTA TTATGCTTCCCCCGACGTTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGGA AATCAAA	170
29B11; V _H	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT	172

【表 6 - 1 1】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
	TCACCTTTAGCAGTTATGCTATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTATTGGT AGTGGTGGTATCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGC CGGTTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGT ATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCG TATATTACTGTGCGAAAGGGTGGTTTGGTGGTTTAACTA CTGGGGCCAAGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGT	
23C10; V _L	GAAATCGTGTAAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGT CTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTC AGAGTGTTAGCCGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGA AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCATTGGGGCCTC CACCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCACTGGCAG TGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGGGTC AGGTTATTTCCCTACGTTCCGGCCAGGGGACCAAAGTGG AAATCAAA	174
23C10; V _H	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT TCACCTTTAGCAGTTCTGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTAC TAATGGTAATTATACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGC CGGTTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGT ATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCG TATATTACTGTGCGAAAGGGTGGCTGGGTAATTTTGA CTGGGGCCAAGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGT	176
2B10_C3B6; V _L	GATATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAT CTGTCCGAGACCGGGTCACCATCACCTGCCGGGCAAGTC AGGGCATTAGAAATGATTTAGGCTGGTACCAGCAGAAGC CAGGGAAAGCCCCTAAGCGCCTGATCTATGCTGCATCCA GTTTGCAGAGTGGCGTCCCATCAAGGTTACAGCGGCAGTG GATCCGGGACAGAGTTCACTCTCACCATCAGCAGCTTGCA GCCTGAAGATTTTGCCACCTATTACTGCTTGCAGAATGGT CTGCAGCCCGGACGTTTGGCCAGGGCACCAAAGTCGAG ATCAAG	178
2B10_C3B6; V _H	CAGGTGCAATTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAG CCTGGGTCCCTCGGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCCTCCGGAG GCACATTACAGCAGTACGCTATAAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTCGAGTGGATGGGAGCTATCATCC CGATCCTTGGTATCGCAAACCTACGCACAGAAGTTCCAGG GCAGGGTCACCATTAAGTGCAGACAAATCCACGAGCACAG CCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACCG CCGTGTATTACTGTGCGAGACTGTACGGTTACGCTTACTA CGGTGCTTTTGAATACTGGGGCCAAGGGACACCGTGACC GTCTCCTCA	180
2B10_6A12; V _L	GATATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAT CTGTCCGAGACCGGGTCACCATCACCTGCCGGGCAAGTC AGGGCATTAGAAATGATTTAGGCTGGTACCAGCAGAAGC CAGGGAAAGCCCCTAAGCGCCTGATCTATGCTGCATCCA GTTTGCAGAGTGGCGTCCCATCAAGGTTACAGCGGCAGTG GATCCGGGACAGAGTTCACTCTCACCATCAGCAGCTTGCA GCCTGAAGATTTTGCCACCTATTACTGCTTGCAGAATGGT CTGCAGCCCGGACGTTTGGCCAGGGCACCAAAGTCGAG ATCAAG	182
2B10_6A12; V _H	CAGGTGCAATTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAG CCTGGGTCCCTCGGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCCTCCGGAG GCACATTACAGCAGTATGCTATAAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTCGAGTGGATGGGAGTGATCATCC CTATCCTTGGTACCGCAAACCTACGCACAGAAGTTCCAGGG	184

【表 6 - 1 2】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
	CAGGGTCACCATTACTGCAGACAAATCCACGAGCACAGC CTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACCGC CGTGTATTACTGTGCGAGACTGTACGGTTACGCTTACTAC GGTGCTTTTGACTACTGGGGCCAAGGGACCACCGTGACC GTCTCCTCA	
2B10_C3A6; V _L	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCCTGCTGTCAT CTGTCCGAGACCGGGTCACCATCACCTGCCGGGCAAGTC AGGGCATTTCGTAATGTTTATAGGCTGGTACCAGCAGAAGCC AGGGAAAGCCCCCTAAGCGCCTGATCTATGATTTCGTCCAGT TTGCAGAGTGGCGTCCCATCAAGGTTACGCGGCGGTGGA TCCGGGACAGAGTTCACTCTCACCATCAGCAGCTTGACAGC CTGAAGATTTTGCCACCTATTACTGCTTGACAGAATGGTCT GCAGCCCGCGACGTTTGGCCAGGGCACCAAAGTCGAGAT CAAG	186
2B10_C3A6; V _H	CAGGTGCAATTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAG CCTGGGTCCCTCGGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCCTCCGGAG GCACATTCAGCAGCTACGCTATAAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTCGAGTGGATGGGAGGGATCATCC CTATCTTTGGTACAGCAAACTACGCACAGAAGTTCCAGGG CAGGGTCACCATTACTGCAGACAAATCCACGAGCACAGC CTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACCGC CGTGTATTACTGTGCGAGACTGTACGGTTACGCTTACTAC GGTGCTTTTGACTACTGGGGCCAAGGGACCACCGTGACC GTCTCCTCA	188
2B10_D1A2_wt; V _L	GATATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAT CTGTCCGAGACCGGGTCACCATCACCTGCCGGGCAAGTC AGGGGATTTCGTAATGTTTATAGGCTGGTACCAGCAGAAGC CAGGGAAAGCCCCCTAAGCGCCTGATCTATGATGCTTACA GCTTGACAGAGTGGCGTCCCATCAAGGTTACGCGGCGGTG GATCCGGGACAGAGTTCACTCTCACCATCAGCAGCTTGCA GCCTGAAGATTTTGCCACCTATTACTGCTTGACAGAATGGT CTGCAGCCCGCGACGTTTGGCCAGGGCACCAAAGTCGAG ATCAAG	190
2B10_D1A2_wt; V _H	CAGGTGCAATTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAG CCTGGGTCCCTCGGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCCTCCGGAG GCACATTCAGCAGCTACGCTATAAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTCGAGTGGATGGGAGGGATCATCC CTATCTTTGGTACAGCAAACTACGCACAGAAGTTCCAGGG CAGGGTCACCATTACTGCAGACAAATCCACGAGCACAGC CTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACCGC CGTGTATTACTGTGCGAGACTGTACGGTTACGCTTACTAC GGTGCTTTTGACTACTGGGGCCAAGGGACCACCGTGACC GTCTCCTCA	192
2B10_D1A2_VD; V _L	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAT CTGTCCGAGACCGGGTCACCATCACCTGCCGGGCAAGTC AGGGGATTTCGTAATGATTATAGGCTGGTACCAGCAGAAGC CAGGGAAAGCCCCCTAAGCGCCTGATCTATGATGCTTACA GCTTGACAGAGTGGCGTCCCATCAAGGTTACGCGGCGGTG GATCCGGGACAGAGTTCACTCTCACCATCAGCAGCTTGCA GCCTGAAGATTTTGCCACCTATTACTGCTTGACAGAATGGT CTGCAGCCCGCGACGTTTGGCCAGGGCACCAAAGTCGAG ATCAAG	194
2B10_D1A2_VD; V _H	CAGGTGCAATTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAG CCTGGGTCCCTCGGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCCTCCGGAG GCACATTCAGCAGCTACGCTATAAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTCGAGTGGATGGGAGGGATCATCC CTATCTTTGGTACAGCAAACTACGCACAGAAGTTCCAGGG CAGGGTCACCATTACTGCAGACAAATCCACGAGCACAGC	196

【表 6 - 1 3】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
	CTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACCGC CGTGTTACTGTGCGAGACTGTACGGTTACGCTTACTAC GGTGCTTTTGACTACTGGGGCCAAGGGACCACCGTGACC GTCTCCTCA	
2B10_07D8; V _L	GATATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAT CTGTCGGAGACCGGGTCACCATCACCTGCCGGGCAAGTC AGAGCATTTCGTAATGTTTATAGGCTGGTACCAGCAGAAGCC AGGGAAAGCCCCCTAAGCGCCTGATCTATGATGTGTCCAGT TTGCAGAGTGGCGTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCGGTGG TCCGGGACAGAGTTCACTCTCACCATCAGCAGCTTGCAGC CTGAAGATTTTGCCACCTATTACTGCTTGCAGAATGGTCT GCAGCCCGCGACGTTTGGCCAGGGCACCAAAGTCGAGAT CAAG	198
2B10_07D8; V _H	CAGGTGCAATTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAG CCTGGGTCCTCGGTGAAGGTCTCTGCAAGGCCTCCGGAG GCACATTCAGCAGCTACGCTATAAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTCGAGTGGATGGGAGGGATCATCC CTATCTTTGGTACAGCAAACTACGCACAGAAGTTCCAGGG CAGGGTCACCATTACTGCAGACAAATCCACGAGCACAGC CTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACCGC CGTGTTACTGTGCGAGACTGTACGGTTACGCTTACTAC GGTGCTTTTGACTACTGGGGCCAAGGGACCACCGTGACC GTCTCCTCA	200
2B10_01F7; V _L	GATATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAT CTGTCGGAGACCGGGTCACCATCACCTGCCGGGCAAGTC AGGGCATTTCGTAATGTTTATAGGCTGGTACCAGCAGAAGCC AGGGAAAGCCCCCTAAGCGCCTGATCTATGATGCGTCCAG TTTGCAGAGTGGCGTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCGGTGG ATCCGGGACAGAGTTCACTCTCACCATCAGCAGCTTGCAG CCTGAAGATTTTGCCACCTATTACTGCCTGCAGAATGGTC TGCAGCCCGCGACGTTTGGCCAGGGCACCAAAGTCGAGA TCAAG	202
2B10_01F7; V _H	CAGGTGCAATTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAG CCTGGGTCCTCGGTGAAGGTCTCTGCAAGGCCTCCGGAG GCACATTCAGCAGCTACGCTATAAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTCGAGTGGATGGGAGGGATCATCC CTATCTTTGGTACAGCAAACTACGCACAGAAGTTCCAGGG CAGGGTCACCATTACTGCAGACAAATCCACGAGCACAGC CTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACCGC CGTGTTACTGTGCGAGACTGTACGGTTACGCTTACTAC GGTGCTTTTGACTACTGGGGCCAAGGGACCACCGTGACC GTCTCCTCA	204
2B10_6H10; V _L	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAT CTGTCGGAGACCGGGTCACCATCACCTGCCGGGCAAGTC AGGGCATTTCGTAATGTTTATAGGCTGGTACCAGCAGAAGCC AGGGAAAGCCCCCTAAGCGCCTGATCCAGGCTGCTACCAG TTTGCAGAGTGGCGTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCGGTGG ATCCGGGACAGAGTTCACTCTCACCATCAGCAGCTTGCAG CCTGAAGATTTTGCCACCTATTACTGCTTGCAGAATGGTC TGCAGCCCGCGACGTTTGGCCAGGGCACCAAAGTCGAGA TCAAG	206
2B10_6H10; V _H	CAGGTGCAATTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAG CCTGGGTCCTCGGTGAAGGTCTCTGCAAGGCCTCCGGAG GCACATTCAGCAGCTACGCTATAAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTCGAGTGGATGGGAGGGATCATCC CTATCTTTGGTACAGCAAACTACGCACAGAAGTTCCAGGG CAGGGTCACCATTACTGCAGACAAATCCACGAGCACAGC CTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACCGC CGTGTTACTGTGCGAGACTGTACGGTTACGCTTACTAC GGTGCTTTTGACTACTGGGGCCAAGGGACCACCGTGACC GTCTCCTCA	208

【表 6 - 1 4】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
	CGTGTATTACTGTGCGAGACTGTACGGTTACGCTTACTAC GGTGCTTTTGACTACTGGGGCCAAGGGACCACCGTGACC GTCTCCTCA	
MHLG1; V _H	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGAGGAGGCTTGGTCAAG CCTGGCGGGTCCCTGCGGCTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT TCACATTTAGCAACTATTGGATGAACTGGGTGCGGCAGGC TCCTGGAAAGGGCCTCGAGTGGGTGGCCGAGATCAGATT GAAATCCAATAACTTCGGAAGATATTACGCTGCAAGCGT GAAGGGCCGGTTCACCATCAGCAGAGATGATTCCAAGAA CACGCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAAGACCGAGGA TACGGCCGTGTATTACTGTACCACATACGGCAACTACGTT GGGCACTACTTCGACCACTGGGGCCAAGGGACCACCGTC ACCGTCTCCAGT	258
KV9; V _L	GATATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTTCCTGTCTGCATC TGTGGGCGACCGGGTCACCATCACCTGCAAGGCCAGTCA GAATGTGGATACTAACGTGGCTTGGTACCAGCAGAAGCC AGGGCAGGCACCTAGGCCTCTGATCTATTTCGGCATCCTAC CGGTACACTGGCGTCCCATCAAGGTTACGCGGCAGTGGA TCCGGGACAGAGTTCACCTCTCACAATCTCAAGCCTGCAAC CTGAAGATTTCGCAACTTACTACTGTCAACAGTACAATAG TTACCTCTGACGTTTCGGCGGAGGTACCAAGGTGGAGATC AAGCGTACG	260
MHLG; V _H	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGAGGAGGCTTGGTCCAG CCTGGCGGGTCCCTGCGGCTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT TCACATTTAGCAACTATTGGATGAACTGGGTGCGGCAGGC TCCTGGAAAGGGCCTCGAGTGGGTGGCCGAGATCAGATT GAAATCCAATAACTTCGGAAGATATTACGCTGCAAGCGT GAAGGGCCGGTTCACCATCAGCAGAGATGATTCCAAGAA CACGCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAAGACCGAGGA TACGGCCGTGTATTACTGTACCACATACGGCAACTACGTT GGGCACTACTTCGACCACTGGGGCCAAGGGACCACCGTC ACCGTCTCCAGT	262
KV1; V _L	GATATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTTCCTGTCTGCATCT GTGGGCGACCGGGTCACCATCACCTGCAGGGCCAGTCAGAA TGTGGATACTAACTTAGCTTGGTACCAGCAGAAGCCAGGGA AAGCACCTAAGCTCCTGATCTATTTCGGCATCCTACCGTTACA CTGGCGTCCCATCAAGGTTACGCGGCAGTGATCCGGGACA GAGTTCACCTCTCACAATCTCAAGCCTGCAACCTGAAGATTTC GCAACTTACTACTGTCAACAGTACAATAGTTACCTCTGACG TTCGGCGGAGGTACCAAGGTGGAGATCAAGCGTACGGTG	270
KV7; V _L	GATATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTTCCTGTCTGCATC TGTGGGCGACCGGGTCACCATCACCTGCAAGGCCAGTCA GAATGTGGATACTAACGTGGCTTGGTACCAGCAGAAGCC AGGGAAAGCACCTAAGCCTCTGATCTATTTCGGCATCCTAC CGGTACACTGGCGTCCCATCAAGGTTACGCGGCAGTGGA TCCGGGACAGAGTTCACCTCTCACAATCTCAAGCCTGCAAC CTGAAGATTTCGCAACTTACTACTGTCAACAGTACAATAG TTACCTCTGACGTTTCGGCGGAGGTACCAAGGTGGAGATC AAGCGTACGGTG	272

【 0 0 8 9 】

【表 7 - 0 1】

表 7

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
ヒト FAP 外部ドメイン+ポリ-lys-タグ +his ₆ -タグ	CGCCCTTCAAGAGTTTCATAACTCTGAAGAAAATACAATG AGAGCACTCACACTGAAGGATATTTTAAATGGAACATTTT CTTATAAAACATTTTTCCAAACTGGATTTTCAGGACAAGA ATATCTTCATCAATCTGCAGATAACAATATAGTACTTTAT AATATTGAAACAGGACAATCATATACCATTTTGAGTAATA GAACCATGAAAAGTGTGAATGCTTCAAATTACGGCTTATC ACCTGATCGGCAATTTGTATATCTAGAAAAGTGATTATTCA AAGCTTTGGAGATACTCTTACACAGCAACATATTACATCT ATGACCTTAGCAATGGAGAATTTGTAAGAGGAAATGAGC TTCTCGTCCAATTCAGTATTTATGCTGGTCGCCTGTTGGG AGTAAATTAGCATATGTCTATCAAAACAATATCTATTTGA AACAAAGACCAGGAGATCCACCTTTTCAAATAACATTTA ATGGAAGAGAAAATAAAAATATTTAATGGAATCCAGACT GGGTTTATGAAGAGGAAATGCTTGCTACAAAATATGCTCT CTGGTGGTCTCCTAATGGAAAATTTTGGCATATGCGGAA TTTAATGATACGGATATAACAGTTATTCCTATTCCTATTA TGGCGATGAACAATATCCTAGAACAAATAAATATTCCATAC CCAAAGGCTGGAGCTAAGAAATCCCGTTGTCGGATATTTA TTATCGATACCACTTACCCTGCGTATGTAGGTCCCCAGGA AGTGCCTGTTCCAGCAATGATAGCCTCAAGTGATTATTAT TTCAGTTGGCTCACGTGGGTTACTGATGAACGAGTATGTT TGCAGTGGCTAAAAAGAGTCCAGAATGTTTCGGTCCTGTC TATATGTGACTTCAGGGAAGACTGGCAGACATGGGATTG TCCAAAGACCCAGGAGCATATAGAAGAAAGCAGAACTGG ATGGGCTGGTGGATTCTTTGTTTCAACACCAGTTTTCAGC TATGATGCCATTTCTGTAATAAAAAATATTTAGTGACAAGG ATGGCTACAAACATATTCATCTATATCAAAGACACTGTGGA AAATGCTATTCAAATTACAAGTGGCAAGTGGGAGGCCAT AAATATATTTCAGAGTAACACAGGATTCACTGTTTTATTCT AGCAATGAATTTGAAGAATACCCTGGAAGAAGAAACATC TACAGAATTAGCATTGGAAGCTATCCTCCAAGCAAGAAG TGTGTTACTTGCCATCTAAGGAAAAGAAAGGTGCCAATATT ACACAGCAAGTTTCAGCGACTACGCCAAGTACTATGCACT TGTCTGCTACGGCCCAGGCATCCCCATTCCACCCTTCAT GATGGACGCACTGATCAAGAAATTAATACTCTGGAAGAA AACAAGGAATTGGAATAATGCTTTGAAAAATATCCAGCTG CCTAAAGAGGAAATTAAGAACTTGAAGTAGATGAAATT ACTTTATGGTACAAGATGATTCTTCCTCCTCAATTTGACA GATCAAAGAAGTATCCCTTGCTAATTCAAGTGTATGGTGG TCCCTGCAGTCAGAGTGTAAAGGTCTGTATTTGCTGTTAAT TGGATATCTTATCTTGCAAGTAAGGAAGGGATGGTCATTG CCTTGGTGGATGGTCGAGGAACAGCTTTCCAAGGTGACA AACTCCTCTATGCAGTGTATCGAAAGCTGGGTGTTTATGA AGTTGAAGACCAGATTACAGCTGTCAGAAAATTCATAGA AATGGGTTTCATTGATGAAAAAAGAATAGCCATATGGGG CTGGTCCTATGGAGGATACGTTTCATCACTGGCCCTTGCA TCTGGAAGTGGTCTTTTCAAATGTGGTATAGCAGTGGCTC CAGTCTCCAGCTGGGAATATTACGCGTCTGTCTACACAGA GAGATTCATGGGTCTCCCAACAAAGGATGATAATCTTGA GCACTATAAGAATTCAACTGTGATGGCAAGAGCAGAATA TTTCAGAAATGTAGACTATCTTCTCATCCACGGAACAGCA GATGATAATGTGCACTTTCAAACTCAGCACAGATTGCTA AAGCTCTGGTTAATGCACAAGTGGATTTCCAGGCAATGTG GTAATCTGACCAGAACACGGCTTATCCGGCCTGTCCACG AACCCTTATACACCCACATGACCCACTTCCTAAAGCAGT GTTTCTCTTTGTGTCAGACGGCAAAAAGAAAAAGAAAAAGG GCCACCACCATCACCATCAC	54

【表 7 - 0 2】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
ネズミ科 FAP 外 部ドメイン+ポリ -lys-タグ+his ₆ -タグ	CGTCCCTCAAGAGTTTACAAACCTGAAGGAAACACAAAG AGAGCTCTTACCTTGAAGGATATTTTAAATGGAACATTCT CATATAAAACATATTTTCCCAACTGGATTTCAGAAACAAGA ATATCTTCATCAATCTGAGGATGATAACATAGTATTTTAT AATATTGAAACAAGAGAATCATATATCATTGAGTAATA GCACCATGAAAAGTGTGAATGCTACAGATTATGGTTTGTC ACCTGATCGGCAATTGTGTATCTAGAAAGTGATTATTCA AAGCTCTGGCGATATTCATACACAGCGACATACTACATCT ACGACCTTCAGAATGGGGAATTTGTAAGAGGATACGAGC TCCCTCGTCCAATTCAGTATCTATGCTGGTCGCTGTTGG GAGTAAATTAGCATATGTATATCAAAACAATATTTATTTG AAACAAAGACCAGGAGATCCACCTTTTCAAATAACTTAT ACTGGAAGAGAAAATAGAATATTTAATGGAATACCAGAC TGGGTTTATGAAGAGGAAATGCTTGCCACAAAATATGCTC TTTGGTGGTCTCCAGATGGAAAATTTTGGCATATGTAGA ATTTAATGATTTCAGATATACCAATTATTGCCTATTCTTATT ATGGTGATGGACAGTATCCTAGAACTATAAATATTCATA TCCAAAGGCTGGGGCTAAGAATCCGGTTGTTCTGTTT ATTGTTGACACCACCTACCCTCACCACGTGGGCCCAATGG AAGTGCCAGTTCCAGAAATGATAGCCTCAAGTGACTATTA TTTCAGCTGGCTCACATGGGTGTCAGTGAACGAGTATGC TTGCAGTGGCTAAAAAGAGTGCAGAATGTCTCAGTCCTGT CTATATGTGATTTTCAGGGAAGACTGGCATGCATGGGAAT GTCCAAAGAACCAGGAGCATGTAGAAGAAAGCAGAACA GGATGGGCTGGTGGATTCTTTGTTTCGACACCAGCTTTTA GCCAGGATGCCACTTCTTACTACAAAATATTTAGCGACAA GGATGGTTACAAACATATTCACTACATCAAAGACACTGTG GAAAATGCTATTCAAATTACAAGTGGCAAGTGGGAGGCC ATATATATATTCGCGTAACACAGGATTCACTGTTTIATT CTAGCAATGAATTTGAAGGTTACCCTGGAAGAAGAAACA TCTACAGAAATTAGCATTGGAAACTCTCCTCCGAGCAAGAA GTGTGTTACTTGCCATCTAAGGAAAGAAAGGTGCCAATAT TACACAGCAAGTTTCAGCTACAAAGCCAAGTACTATGCA CTCGTCTGCTATGGCCCTGGCCTCCCCATTTCCACCCTCCA TGATGGCCGCACAGACCAAGAAATACAAGTATTAGAAGA AAACAAAGAACTGGAATAATCTCTGAGAAATATCCAGCT GCCTAAAGTGGAGATTAAGAAGCTCAAAGACGGGGGACT GACTTTCTGGTACAAGATGATTCTGCTCCTCAGTTTGAC AGATCAAAGAAGTACCCTTTGCTAATTCAAGTGTATGGTG GTCTTGTAGCCAGAGTGTTAAGTCTGTGTTTGCTGTAA TTGGATAACTTATCTCGCAAGTAAGGAGGGGATAGTCATT GCCCTGGTAGATGGTCGGGGCACTGCTTTCCAAGGTGACA AATTCCTGCATGCCGTGTATCGAAACTGGGTGTATATGA AGTTGAGGACCAGCTCACAGCTGTCAGAAAATTCATAGA AATGGGTTTCATTGATGAAGAAAGAATAGCCATATGGGG CTGGTCTACGGAGGTTATGTTTCATCCCTGGCCCTTGCA TCTGGAAGTGGTCTTTTCAAATGTGGCATAGCAGTGGCTC CAGTCTCCAGCTGGGAATATTACGCATCTATCTACTCAGA GAGATTCATGGGCCTCCCAACAAAGGACGACAATCTCGA ACACTATAAAAATTCAAATGTGATGGCAAGAGCAGAATA TTTCAGAAAATGTAGACTATCTTCTCATCCACGGAACAGCA GATGATAATGTGCACTTTTCAGAACTCAGCACAGATTGCTA AAGCTTTGGTTAATGCACAAGTGGATTTCCAGGCGATGTG GTACTCTGACCAGAACCATGGTATATTATCTGGGCGCTCC CAGAATCATTATATACCCACATGACGCACTTCTCAAGC AATGCTTTTCTTTATCAGACGGCAAAAAGAAAAGAAAA AGGGCCACCACCATCAC	56
ヒト TNC-A2+avi-	GCGTCCACCGGGGAAACCCGAACCTGGGCGAAGTGGTG	58

【表 7 - 0 3】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
タグ +his ₆ -タグ	GTGGCGGAAGTGGGTGGGATGCGCTGAAACTGAACTGG ACCGCGCCGGAAGGCGCGTATGAATATTTTTTCATCCAGG TGCAGGAAGCGGATACCGTTGAAGCGGCGCAGAACCTGA CCGTTCCGGGCGGTCTGCGTAGCACCGATCTGCCGGGCCT GAAAGCGGCGACCCATTATACCATTACCATCCGTGGGGT GACCCAGGATTTTAGCACCAACCCCGCTGTCTGTGGAAGTG CTGACCGCTAGCGGCCTGAACGACATCTTCGAGGCTCAG AAAATCGAATGGCACGAAGGTACCCATCACCATCACCAC CAC	
ヒト TNC-A1+avi- タグ +his ₆ -タグ	GAACAAGCCCCTGAGCTGGAAAACTCACCGTGACTGAG GTTGGCTGGGATGGCCTCAGACTCAACTGGACCGCGGCT GACCAGGCCTATGAGCACTTTATCATTAGGTGCAGGAG GCCAACAAAGGTGGAGGCAGCTCGGAACCTCACCGTGCCT GGCAGCCTTCGGGCTGTGGACATACCGGGCCTCAAGGCT GCTACGCCCTTATACAGTCTCCATCTATGGGGTGATCCAGG GCTATAGAACACCAGTGCTCTCTGCTGAGGCCTCCACAGC TAGCGGCCCTGAACGACATCTTCGAGGCTCAGAAAATCGA ATGGCACGAAGGTACCCATCACCATCACCACCAC	60
ネズミ科 TNC-A1+avi-タグ +his ₆ -タグ	ATTTCAGAATTCGGATCCAGCACCGAAGAAGTGCCGAGC CTGGAAAACCTGACCGTGACCGAAGCGGGCTGGGATGGC CTGCGTCTGAACTGGACCGCGGATGATCTGGCCTATGAAT ATTTTGTGATCCAGGTGCAGGAAGCGAACAACGTTGAAA CCGCGCATAACTTTACCGTGCCGGGCAATCTGCGTGCGGC GGATATTCCGGGCGCTGAAAGTGGCGACCAAGCTATCGTGT GAGCATTATGGCGTGGCGCGTGGCTATCGTACCCCGGTT CTGAGCGCGGAAACCAGCACCGCTAGCGGCCTGAACGAC ATCTTCGAGGCTCAGAAAATCGAATGGCACGAAGGTACC CATCACCATCACCACCAC	62
ヒト TNC-A4+ avi-タグ +his ₆ -タグ	GAAGATCTGCCGCAGCTGGGCGATCTGGCCGTGAGCGAA GTGGGCTGGGATGGCCTGCGTCTGAACTGGACCGCGGCG GATAACGCGTATGAACATTTTGTGATTAGGTGCAGGAA GTGAACAAAGTTGAAGCGGCGCAGAACCTGACCCTGCCG GGCAGCCTGCGTGCGGTGGATATTCCGGGCGCTGGAAGCG GCGACCCCGTATCGTGTGAGCATCTATGGCGTGATTCTGT GCTATCGTACCCCGGTTCTGAGCGCGGAAGCGAGCACCG CTAGCGGCCTGAACGACATCTTCGAGGCTCAGAAAATCG AATGGCACGAAGGTACCCATCACCATCACCACCAC	64
ネズミ科 TNC-A4 +avi-タグ +his ₆ -タ グ	ATTTCAGAATTCGGATCCCTGACCGAAGATCTGCCGCAGC TGGGCGGTCTGAGCGTGACCGAAGTGAGCTGGGATGGCC TGACCTGAACTGGACCAACCGATGATCTGGCCTATAAACA TTTTGTGGTGCAGGTGCAGGAAGCGAACAACGTTGAAGC GGCGCAGAACCTGACCGTTCCGGGTAGCCTGCGTGCGGT GGATATTCCGGGCGCTGAAAGCGGATACCCCGTATCGTGTG AGCATTTATGGCGTGATTAGGGCTATCGTACCCCGATGC TGTCTACCGATGTGAGCACCGCTAGCGGCCTGAACGACAT CTTCGAGGCTCAGAAAATCGAATGGCACGAAGGTACCCA TCACCATCACCACCAC	66

【 0 0 9 0】

【表 8 - 0 1】

表 8

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
L19 モノクローナル 抗体由来 Fab 重 鎖—IL2 の C125A 変異体—L19 モノ クローナル抗体由 来 Fab 重鎖	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGAT TCACCTTTAGCAGTTTTTCGATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCATCTATTTCCGGT AGTTCGGGTACCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGC CGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGT ATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCG TATATTACTGTGCGAAACCGTTTCCGTATTTTGACTACTG GGGCCAGGGAACCCTGGTACCGTCTCGAGTGCTAGCAC CAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAG AGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTC AAGGACTACTTCCCGAACCCTGACGGTGTCTCGTGAAC TCAGGCGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCGGCTG TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGT GACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATC TGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGAT AAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACTCCGGCGGAGGA GGGAGCGGCGGAGGTGGCTCCGGAGGTGGCGGAGCACCT ACTTCAAGTTCTTACAAAGAAAACACAGCTACAACCTGGAG CATTTACTGCTGGATTTACAGATGATTTTGAATGGAATTA ATAATTACAAGAATCCCAAACCTCACCAGGATGCTCACATT TAAGTTTTACATGCCCAAGAAGGCCACAGAACTGAAACA TCTTCAGTGCTAGAGAAGAAGTCAAACCTCTGGAGGA AGTGCTAAATTTAGCTCAAAGCAAAAACCTTCACTTAAGA CCCGGAGCTTAATCAGCAATATCAACGTAAATAGTTCTGG AACTAAAGGGATCTGAAACAACATTCATGTGTGAATATG CTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCTGAACAGAT GGATTACCTTTGCCCAAAGCATCATCTCAACACTGACTTC CGGCGGAGGAGGATCCGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGG CGGAGAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCT GGATTACCTTTAGCAGTTTTTCGATGAGCTGGGTCCGCC AGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCATCTATTTT CGGTAGTTCGGGTACCACATACTACGCAGACTCCGTGAA GGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACAC GCTGTATCTGCAAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACAC GGCCGTATATTACTGTGCGAAACCGTTTCCGTATTTGAC TACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTACCGTCTCGAGTGCTA GCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTC CAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCT GGTCAAGGACTACTTCCCGAACCCTGACGGTGTCTGTG GAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCC GGCTGTCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGC GTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCT ACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGG TGGATAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACTGA	108
L19 モノクローナル 抗体由来 Fab 軽 鎖	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGT CTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTC AGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGA AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATTATGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCAGACAGGTTCAGTGGCAG TGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGACGG GTCGTATTCTCCGACGTTCCGCCAAGGGACCAAGGTGG AAATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTT CCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCCTCT GTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCA	109

【表 8 - 0 2】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
	AAGTACAGTGGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTA ACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACA GCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAG CAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCA CCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCA ACAGGGGAGAGTGTTAG	
L19 モノクローナル 抗体由来 scFv-8 アミノ酸リンカー IL2 の C125A 変異 体	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGAT TCACCTTTAGCAGTTTTTCGATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCATCTATTTCCGGT AGTTCGGGTACCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGC CGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGT ATCTGCAAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCG TATATTACTGTGCGAAACCGTTTCCGTATTTTGACTACTG GGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCGAGTAGCGGCGG GAGCGGCGGGGCTAGCGAAATTGTGTTGACGCAGTCTCC AGGCACCCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCCTC TCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAGCAGCTACTTAG CCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCT CATCTATTATGCATCCAGCAGGGGCCACTGGCATCCCAGAC AGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCA CCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTA CTGTCAGCAGACGGGTCTGATTCCTCCGACGTTCCGGCCAA GGGACCAAGGTGGAATCTCCGTGCTGTCTTCTCATCGG GTAGTAGCTCTTCCGGCTCATCGTCTCCGGAGCACCTAC TTCAAGTTCTACAAAGAAAACACAGCTACAAGTGGAGCA TTTACTGCTGGATTTACAGATGATTTTGAATGGAATTAAT AATTACAAGAATCCCAAACCTACCAGGATGCTCACATTTA AGTTTTACATGCCCAAGAAGGCCACAGAAGTGAACATC TTCAGTGTCTAGAAGAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAG TGCTAAATTTAGCTCAAAGCAAAAACCTTCACTTAAGACC CAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTAATAGTTCTGGA ACTAAAGGGATCTGAAACAACATTCATGTGTGAATATGCT GATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCTGAACAGATGG ATTACCTTTGCCCAAGCATCATCTCAACACTGACTTGA	110
F16-ダイアボデー IL2 DNA	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGAT TCACCTTTAGCCGGTATGGTATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGG TAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGG CCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCC GTATATTACTGTGCGAAAGCGCATAATGCTTTTGAAGTACT GGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTGTGAGTGTAGCG GCGGATCGTCTGAGCTGACTCAGGACCCTGCTGTGTCTGT GGCCTTGGGACAGACAGTCAGGATCACATGCCAAGGAGA CAGCCTCAGAAGCTATTATGCAAGCTGGTACCAGCAGAA GCCAGGACAGGCCCCTGTACTTGTCTATCTATGGTAAAAAC AACC GGCCCTCAGGGATCCCAGACCGATTCTCTGGCTCCA GCTCAGGAAACACAGCTTCCCTGACCATCACTGGGGCTCA GGCGGAAGATGAGGCTGACTATTACTGTAACCTCCTCTGTT TATACTATGCCGCCCGTGGTATTCGGCGGAGGGACCAAG CTGACCGTCTTAGGCTCTTCTCATCGGGTAGTAGCTCTT CCGGCTCATCGTCTCCGGAGCACCTACTTCAAGTTCTAC AAAGAAAACACAGCTACAAGTGGAGCATTTACTGCTGGA TTTACAGATGATTTTGAATGGAATTAATAATTACAAGAAT CCCAAACCTACCAGGATGCTCACATTTAAGTTTACATGC CCAAGAAGGCCACAGAAGTGAACATCTTCAGTGTCTAG	111

【表 8 - 0 3】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
	AAGAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTTAGCTCAAAGCAAAACTTTCACTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTAATAGTTCTGGAACTAAAGGGATCTGAAACAACATTCATGTGTGAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTTGTAGAATTTCTGAACAGATGGATTACCTTTGCCCAAAGCATCATCTCAACACTGACTTGA	
scFv—IL2—scFv (F16, DNA)	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTAGCCGGTATGGTATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAAGCGCATAATGCTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTGTGAGAGGTGGAGGCGGTTCAGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGATCGTCTGAGCTGACTCAGGACCCCTGCTGTGTCTGTGGCCCTTGGGACAGACAGTCAGGATCACATGCCAAGGAGACAGCCTCAGAAGCTATTATGCAAGCTGGTACCAGCAGAAGCCAGGACAGGCCCTGTACTTGTCACTATATGGTAAAAACAACCGGCCCTCAGGGATCCCAGACCGATTCTCTGGCTCCAGCTCAGGAAACACAGCTTCCTTGACCATCACTGGGGCTCAGGCGGAAGATGAGGGCTGACTATTACTGTAACCTCCTCTGTTTATACTATGCCGCCGTGGTATTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCTAGGCTCTTCTCATCGGGTAGTAGCTCTTCCGGCTCATCTCCTCCGGAGCACCTACTTCAAGTTCTACAAAGAAAAACACAGCTACAACCTGGAGCATTTACTGCTGGATTTACAGATGATTTTGAATGGAATTAATAATTACAAGAATCCCAAACCTCACCAGGATGCTCACATTTAAGTTTACATGCCCAAGAAGGCCACAGAACTGAAACATCTTCAGTGTCTAGAAGAAGAAC TCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTTAGCTCAAAGCAAAAACCTTCACTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTAATAGTTCTGGAACCTAAAGGGATCTGAAACAACATTCATGTGTGAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTTGTAGAATTTCTGAACAGATGGATTACCTTTGCCCAAAGCATCATCTCAACACTGACTTCCGGCGGAGGAGGGAGCGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGATCGTCTGAGCTCACTCAGGACCTGTGTCTGTGGCCCTTGGGACAGACAGTCAGGATCACATGCCAAGGAGACAGCCTCAGAAGCTATTATGCAAGCTGGTACCAGCAGAAGCCAGGACAGGCCCTGTACTTGTATCTATGGTAAAAACAACCGGCCCTCAGGGATCCCAGACCGATCTCTGGCTCCAGCTCAGGAAACACAGCTTCCTTGACCATCACTGGGGCTCAGGCGGAAGATGAGGCTGACTATTACTGTAACCTCTGTTTATACTATGCCGCCGTGGTATTCCGGGAGGGACCAAGCTTACCGTACTAGGCTCAGGAGGCGGTTCAGGCGGAGGTCTGGCGGCGGTAGCGGATCGGAGGTGCAGCTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACTTTAGCCGGTATGGTATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAAGCGCATAATGCTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTGTCTGTGA	112
Fab—IL2—Fab (F16, 重鎖サイトカイン融合コンストラ	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTAGCCGGTATGGTATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAAGCGCATAATGCTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTGTCTGTGA	113

【表 8 - 0 4】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
クト, DNA)	TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGG TAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGG CCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCC GTATATTACTGTGCGAAAGCGCATAATGCTTTTACTACT GGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTGTGAGTGCTAGCA CCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAA GAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTGCTGGAA CTCAGGCGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCGGCT GTCCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGG TGACCGTGGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACAT CTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGA TAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACTCTTCCTCATCG GGTAGTAGCTCTTCCGGCTCATCGTCTCCGGAGCACCTA CTTCAAGTTCTACAAAGAAAACACAGCTACAACCTGGAGC ATTTACTGCTGGATTTACAGATGATTTTGAATGGAATTAA TAATTACAAGAATCCCAAACCTCACCAGGATGCTCACATTT AAGTTTACATGCCCCAAGAAGGCCACAGAAGTGAACAT CTTCAGTGTCTAGAAGAAGAAGTCAAACCTCTGGAGGAA GTGCTAAATTTAGCTCAAAGCAAAAACCTTCACTTAAGAC CCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTAATAGTTCTGGA ACTAAAGGGATCTGAAACAACATTCATGTGTGAATATGCT GATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCTGAACAGATGG ATTACCTTTGCCCCAAGCATCATCTCAACACTGACTTCCG GCGGAGGAGGGAGCGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCG GAGAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTAC AGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGG ATTACCTTTAGCCGGTATGGTATGAGCTGGGTCCGCCAG GCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGT GGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAG GGCCGGTTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACG CTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACG GCCGTATATTACTGTGCGAAAGCGCATAATGCTTTTACT ACTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTGTGAGTGCTA GCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTC CAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCT GGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTGCTG GAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCC GGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGC GTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCT ACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGG TGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACTGA	
F16, 軽鎖, DNA	TCTTCTGAGCTGACTCAGGACCCCTGCTGTGTCTGTGGCCT TGGGACAGACAGTCAGGATCACATGCCAAGGAGACAGCC TCAGAAGCTATTATGCAAGCTGGTACCAGCAGAAGCCAG GACAGGCCCTGTACTTGTCTATCTATGGTAAAAACAACCG GCCCTCAGGGATCCCAGACCGATTCTCTGGCTCCAGCTCA GGAAACACAGCTTCCTTGACCATCACTGGGGCTCAGGCG GAAGATGAGGCTGACTATTACTGTAACCTCTGTATTATA CTATGCCCGCCGTGGTATTCGGCGGAGGGACCAAGCTGA CCGTCTAGGTCAACCCAAGGCTGCCCCCAGCGTGACCCCT GTTCCCCCCCAGCAGCGAGGAAGTGCAGGCCAACAAAGGC CACCTTGGTCTGCCTGATCAGCGACTTCTACCCAGGCGCC GTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGACAGCAGCCCCGTGAAG GCCGGCGTGGAGACCACACCCCCAGCAAGCAGAGCAAC ACAAGTACGCCGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCCCC GAGCAGTGGAAGAGCCACAGGTCCTACAGCTGCCAGGTG	114

【表 8 - 0 5】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
	ACCCACGAGGGCAGCACCCGTGGAGAAAACCGTGGCCCCC ACCGAGTGCAGCTGA	
IL2R- β -Fc(ホー ル) 融合タンパク 質, DNA	ATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGCCTCCTGC TGCTCTGGITCCCAGGTGCCAGGTGTGCGGTGAATGGCAC TTCCCAGTTCACATGCTTCTACAACCTCGAGAGCCAACATC TCCTGTGTCTGGAGCCAAGATGGGGCTCTGCAGGACACTT CCTGCCAAGTCCATGCCTGGCCGGACAGACGGCGGTGGA ACCAAACCTGTGAGCTGCTCCCCGTGAGTCAAGCATCCTG GGCCTGCAACCTGATCCTCGGAGCCCCAGATTCTCAGAAA CTGACCACAGTTGACATCGTCACCCTGAGGGTGCTGTGCC GTGAGGGGGTGCGATGGAGGGTGATGGCCATCCAGGACT TCAAGCCCTTTGAGAACCTTCGCCTGATGGCCCCCATCTC CTCCAAAGTTGTCCACGTGGAGACCCACAGATGCAACAT AAGCTGGGAAATCTCCCAAGCCTCCCACTACTTTGAAAGA CACCTGGAGTTCGAGGCCCCGGACGCTGTCCCCAGGCCAC ACCTGGGAGGAGGCCCCCTGCTGACTCTCAAGCAGAAG CAGGAATGGATCTGCCTGGAGACGCTCACCCAGACACC CAGTATGAGTTTCAGGTGCGGGTCAAGCCTCTGCAAGGC GAGTTACGACCTGGAGCCCCCTGGAGCCAGCCCCCTGGCCT TCAGAACAAAGCCTGCAGCCCCCTGGGAAGGACACCCGGAG CTCAGGACAAAACCTCACACATGCCCACCGTGCCAGCAC CTGAATCCTGGGGGGACCGTCACTCTCCTCTCCCCC AAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGA GGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCC TGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGAGGT GCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAA CAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCCTCCTGCAC CAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTC TCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCT CCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTGCA CCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGG TCAGCCTCTCGTGCGCAGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGA CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAA CAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGG CTCCTTCTTCTCGTGAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGC AGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGC ATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCT CCCTGTCTCCGGGTAAATGA	115
IL2R-ガンマ-Fc(ノ ブ), DNA	ATGTTGAAGCCATCATTAACATTCACATCCCTCTTATTCCT GCAGCTGCCCCGTGCTGGGAGTGGGGCTGAACACGACAAT TCTGACGCCCAATGGGAATGAAGACACCACAGCTGATTT CTTCTGACCACTATGCCCACTGACTCCCTCAGTGTTCCTCA CTCTGCCCCCTCCCAGAGGTTTCAGTGTTCCTGTTCAATGTC GAGTACATGAATTGCACTTGGAACAGCAGCTCTGAGCCC CAGCCTACCAACCTCACTCTGCATTATTGGTACAAGAACT CGGATAATGATAAAGTCCAGAAGTGCAGCCACTATCTATT CTCTGAAGAAATCACTTCTGGCTGTCAGTTGCAAAAAAAG GAGATCCACCTCTACCAAAACATTTGTTGTTCACTCCAGG ACCCACGGGAACCCAGGAGACAGGCCACACAGATGCTAA AACTGCAGAATCTGGTGTATCCCTGGGCTCCAGAGAACCT AACACTTCACAAACTGAGTGAATCCCAGCTAGAAGTGAA CTGGAACAACAGATTCTTGAACCACTGTTTGGAGCACTTG GTGCAGTACCGGACTGACTGGGACCACAGCTGGACTGAA CAATCAGTGGATTATAGACATAAGTTCTCCTTGCCTAGTG TGGATGGGCAGAAACGCTACACGTTTCGTGTTCCGGAGCC GCTTTAACCCACTCTGTGGAAGTGCTCAGCATTGGAGTGA ATGGAGCCACCAATCCACTGGGGGAGCAATACTTCAA AGAGAATCCTTTCCTGTTTGCATTGGAAGCCGGAGCTCAG	116

【表 8 - 0 6】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
	GACAAAACTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAA CTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCAAAC CCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTCAC ATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAA TGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCAC GTACCGTGTGGTCAGCGTCCCTACCGTCCCTGCACCAGGAC TGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAAC AAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAA GCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTG CCCCCATGCCGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGC CTGTGGTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAAC ACAAGACCACGCCTCCCGTGTCTGGACTCCGACGGCTCCTT CTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTG GCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAG GCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGT CTCCGGGTAAATGA	
Fab—IL12—Fab L19 抗体, ネズミ科 scIL12, DNA	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGAT TCACCTTTAGCAGTTTTTCGATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCATCTATTTCCGGT AGTTCGGGTACCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGC CGGTTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGT ATCTGCAAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCG TATATTACTGTGCGAAACCGTTCCGTATTTTGACTACTG GGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGTGTAGCAC CAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCTCCAAG AGCACCTCTGGGGGACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTC AAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAAC TCAGGCGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCGGCTG TCCTACAGTCCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGT GACCGTGGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATC TGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGAT AAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACTCCGGCGGAGGA GGGAGCGGCGGAGGTGGCTCCGGAGGGGGCGGAGCCAT GTGGGAGCTGGAAAAGGACGTGTACGTGGTGGAGGTGGA CTGGACCCCGACGCCCCCTGGCGAGACAGTGAACCTGAC CTGCGACACCCCCGAAGAGGACGACATCACCTGGACCAG CGACCAGCGGCACGGCGTGATCGGCAGCGCAAGACCCT GACCATCACCGTGAAAGAGTTTCTGGACGCCGGCCAGTA CACCTGCCACAAGGGCGGCGAGACACTGAGCCACAGCCA CCTGCTGTGCACAAGAAAGAGAACGGCATCTGGTCCAC CGAGATCCTGAAGAACTTCAAGAACAAAGACCTTCTTGAA GTGCGAGGCCCCCAACTACAGCGGCCGGTTACCTGCAG CTGGCTGGTGCAGCGGAACATGGACCTGAAGTTCAACAT CAAGAGCAGCAGCAGCCCCCTGACAGCAGGGCCGTGAC CTGCGGCATGGCCAGCCTGAGCGCCGAGAAGGTGACCCT GGACCAGAGGGAACGAGAAGTACAGCGTGAGCTGCCA GGAAGATGTACCTGCCCCACCGCCGAGGAAACCTGCC CATCGAGCTGGCCCTGGAAGCCCGGCAGCAGAACAAGTA CGAGAACTACTCTACCAGCTTCTTCATCCGGGACATCATC AAGCCCGACCCCCCAAGAACCTGCAGATGAAGCCCTG AAGAACAGCCAGGTGGAGGTGTCTGGGAGTACCCTGAC AGCTGGTCCACCCCCAGAAGCTACTTCAGCCTGAAGTTCT TCGTGAGAATCCAGCGGAAGAAAGAAAAGATGAAAGAG ACAGAGGAAGGCTGCAACCAGAAGGGCGCCTTCTTCGTC GAGAAAACCAGCACCGAGGTGCAAGTGCAGGGCGGCAA	117

【表 8 - 0 7】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
	CGTGTGCGTGCAGGCCAGGACCGGTACTACAACAGCAG CTGCAGCAAGTGGGCCTGCGTGCCCTGCAGAGTGCGGTCT GGCGGCGACGGCTCTGGCGGCGGAGGAAGCGGCGGAGG GGGCAGCAGAGTGATCCCCGTGAGCGGCCCTGCCCCGTG CCTGAGCCAGAGCCGGAACCTGCTGAAAACACCGACGA CATGGTGAAAACCGCCAGAGAGAAGCTGAAGCACTACAG CTGCACAGCCGAGGACATCGACCACGAGGACATCACCCG GGACCAGACCAGCACCCCTGAAAACCTGCCTGCCCCTGGA ACTGCACAAAAACGAGAGCTGCCTGGCCACCCGGGAGAC AAGCAGCACCACCCGGGGCAGCTGCCTGCCTCCCCAGAA AACCTCCCTGATGATGACCCTGTGCCTGGGCAGCATCTAC GAGGACCTGAAGATGTACCAGACCGAGTTCCAGGCCATC AACGCCGCCCTGCAGAACCACAATCACCAGCAGATCATC CTGGACAAGGGCATGCTGGTCGCCATCGACGAGCTGATG CAGAGCCTGAACCACAACGGCGAAACCCCTGCGGCAGAAA CCCCCCGTGGGCGAGGCCGACCCCTACCGGGTGAAGATG AAGCTGTGCATCCTGCTGCACGCCCTTCAGCACCCGGGTGG TGACCATCAACCGGGTGATGGGCTACCTGTCTCTGCGCG GGGAGGGGGATCCGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGG AGAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACA GCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGA TTCACCTTTAGCAGTTTTTCGATGAGCTGGGTCCGCCAGG CTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCATCTATTTCCGG TAGTTCCGGTACCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGG CCGGTTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCC GTATATTACTGTGCGAAACCGTTTCCGTATTTGACTACT GGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCGAGTGCTAGCA CCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAA GAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAA CTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCT GTCCTACAGTCCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGG TGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACAT CTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGA TAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACTGA	
Fab-IL12-Fab L19 抗体, ヒト scIL12, DNA	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGAT TCACCTTTAGCAGTTTTTCGATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCATCTATTAGAGG TAGTTCCGGTACCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGG CCGGTTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCC GTATATTACTGTGCGAAACCGTTTCCGTATTTGACTACT GGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCGAGTGCTAGCA CCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAA GAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAA CTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCT GTCCTACAGTCCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGG TGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACAT CTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGA TAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACTCCGGCGGAGG AGGGAGCGGCGGAGGTGGCTCCGGAGGGGGCGGAATCTG GGAGCTGAAGAAAGACGTGTACGTGGTGGAGCTGGACTG GTATCCCGACGCCCTGGCGAGATGGTGGTGTGCTGACCTGC GACACCCCGAAGAGGACGGCATCCTTGACCCCTGGAC CAGAGCAGCGAGGTGCTGGGCAGCGGCAAGACCCTGACC	118

【表 8 - 0 8】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
	ATCCAGGTGAAAGAGTTCGGCGACGCCGGCCAGTACACC TGCCACAAGGGCGGCCGAAGTGCTGTCCACAGCCTGCTG CTGCTGCACAAGAAAGAGGATGGCATCTGGTCCACCGAC ATCCTGAAGGACCAGAAAGAGCCCAAGAACAAAGACCTTC CTGCGGTGCGAGGCCAAGAACTACAGCGGCCGGTTCACC TGTTGGTGGCTGACCACCATCAGCACCGACCTGACCTTCA GCGTGAAAGAGCAGCCGGGGCAGCAGCGACCCCTCAGGGCG TGACCTGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCCGAGAGAGTGC GGGGCGACAACAAAGAGTACGAGTACAGCGTCGAGTGCC AGGAAGATAGCGCCTGCCCTGCCGCCGAGGAAAGCCTGC CCATCGAGGTGATGGTGGACGCCGTGCACAAGCTGAAGT ACGAGAATAACACAGCAGCTTTTTCATCCGGGACATCAT CAAGCCCGACCCCCCAAGAACCTGCAGCTGAAGCCCT GAAGAACAGCCGGCAGGTGGAGGTGTCTTGGGAGTACCC TGACACCTGGTCCACCCCCACAGCTACTTCAGCCTGACA TTCTGTGTGCAGGTGCAGGGCAAGAGCAAGCGGGAGAAG AAAGACCGGGTGTTCACCGACAAGACCAGCGCCACCGTG ATCTGCCGGAAGAACGCCAGCATCAGCGTGCGGGCCCAG GACCGGTACTACAGCAGCTCCTGGTCCGAGTGGGCCAGC GTGCCTTGACGCGCGGAGGGGGCTCTGGCGCGGAGGA TCTGGGGGAGGGGGCAGCCGGAACCTGCCCGTGCCACC CCGGACCCCGGCATGTTCCCTGCCTGCACCACAGCCAGA ACCTGCTGCGGGCCGTGAGCAACATGCTGCAGAAGGCC GGCAGACCTTGAATTCTACCCCTGCACCAGCGAGGAAA TCGACCACGAGGACATCACCAGGATAAGACCAGCACCG TGGAGGCCGTGCCCTGCCCTGGAAGTACCAAGAACGAGA GCTGCCTGAACAGCCGGGAGACAAGCTTCATCACCACG GCAGCTGCCTGGCCAGCAGAAAGACCAGCTTCATGATGG CCTGTGCCTGAGCAGCATCTACGAGGACCTGAAGATGT ACCAGGTGGAGTTCAAGACCATGAACGCCAAGCTGCTGA TGGACCCCAAGCGGCAGATCTTCTGGATCAGAACATGCT GGCGGTGATCGACGAGCTGATGCAGGCCCTGAACCTCAA CAGCGAGACAGTGCCCCAGAAGTCCAGCCTGGAAGAGCC CGACTTCTACAAGACCAAGATCAAGCTGTGCATCCTGCTG CACGCCCTCAGAAATCCGGGCCGTGACCATCGACCGGGTG ATGAGCTACCTGAACGCCAGCGGAGGGGGGGGATCCGGC GGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGAGAGGTGCAGCTGTTG GAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTG AGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGTT TTTTCGATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGG TGGAGTGGGTCTCATCTATTAGAGGTAGTTCCGGTACCAC TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCC AGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAAC AGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCG AAACCGTTTCCGTATTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCC TGGTACCGTCTCGAGTGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCTCCCTGGCACCTCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG ACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCG AACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCAAGGCCCTGACCA GCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCTCAGG ACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGC AGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCAC AAGCCCAGCAACACCAAGGTGGATAAGAAAGTTGAGCCC AAATCTTGTGACTGA	
Fab—GMCSF— Fab L19 抗体, ヒト GM-CSF, DNA	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGAT TCACCTTTAGCAGTTTTTCGATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCATCTATTAGAGG	119

【表 8 - 0 9】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
	TAGTTCGGGTACACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGG CCGGTTCAACATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCC GTATATTACTGTGCGAAACCGTTTCCGTATTTTACTACT GGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCGAGTGCTAGCA CCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAA GAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAA CTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCT GTCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGG TGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACAT CTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGA TAAGAAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACTCCGGCGGAGG AGGGAGCGGCGGAGGTGGCTCCGGAGGTGGCGGAGCACC CGCCCGCTCGCCCAGCCCCAGCACGCAGCCCTGGGAGCA TGTGAATGCCATCCAGGAGGCCCGGCGTCTCCTGAACCTG AGTAGAGACACTGCTGCTGAGATGAATGAAACAGTAGAA GTCATCTCAGAAATGTTTGACCTCCAGGAGCCGACCTGCC TACAGACCCGCTGGAGCTGTACAAGCAGGGCCTGCGGG GCAGCCTCACCAAGCTCAAGGGCCCCCTTGACCATGATGG CCAGCCACTACAAGCAGCACTGCCCTCCAACCCCGGAAA CTTCCTGTGCAACCCAGATTATCACCTTTGAAAGTTTCAA AGAGAACCTGAAGGACTTTCTGCTTGTCTATCCCTTTGAC TGCTGGGAGCCAGTCCAGGAGTCCGGCGGAGGAGGATCC GGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGAGAGGTGCAGCTG TTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCA GTTTTTCGATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGG GGCTGGAGTGGGTCTCATCTATTAGAGGTAGTTCGGGTAC CACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATC TCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAAATG AACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGT GCGAAACCGTTTCCGTATTTTGACTACTGGGGCCAGGGAA CCCTGGTCAACCGTCTCGAGTGCTAGCACCAAGGGCCCATC GGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGG GGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCC CCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAATCAGGCGCCCTGA CCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTCTC AGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAT CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGATAAGAAAGTTGAG CCCAAATCTTGTGACTGA	
Fab-IFN α 2- Fab, L19 抗体, DNA	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGAT TCACCTTTAGCAGTTTTTCGATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCATCTATTAGAGG TAGTTCGGGTACACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGG CCGGTTCAACATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCC GTATATTACTGTGCGAAACCGTTTCCGTATTTTACTACT GGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCGAGTGCTAGCA CCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAA GAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAA CTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCT GTCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGG TGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACAT CTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGA	120

【表 8 - 1 0】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
	TAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACTCCGGCGGAGG AGGGAGCGGCGGAGGTGGCTCCGGAGGGGGCGGATGCG ACCTGCCCCAGACCCACAGCCTGGGCAACAGACGGGCC TGATCCTGCTGGCCAGATGCGGCGGATCAGCCCCCTCAG CTGCCTGAAGGACCGGCACGACTTCGGCTTCCCCAGGA AGAGTTGACGGCAACCAGTTCCAGAAGGCCAGGCCAT CAGCGTGTGCACGAGATGATCCAGCAGACCTTCAACCT GTTTCAGCACCAAGGACAGCAGCGCCGCTGGGACGAGAG CCTGCTGGAAAAGTTCTACACCGAGCTGTACCAGCAGCTG AACGACCTGGAAGCCTGCGTGATCCAGGAAGTGGGCGTC GAGGAAACCCCCCTGATGAACGTGGACAGCATCCTGGCC GTGAAGAAGTACTTCCAGCGGATCACCCTGTACCTGACCG AGAAGAAGTATAGCCCCTGCGCCTGGGAGGTGGTGCGGG CCGAGATCATGCGGAGCTTCAGCCTGAGCACCAACCTGC AGGAACGGCTGCGGCGGAAAGAGAGCGGCGGAGGGGGA TCCGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGAGAGGTGCAG CTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGG TCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTA GCAGTTTTTCGATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGGTCTCATCTATTAGAGGTAGTTCGGGT ACCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACC ATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAA ATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTAC TGTGCGAAACCGTTTCCGTATTTTGACTACTGGGGCCAGG GAACCTGGTCAACGTCTCGAGTGCTAGCACCAAGGGCC CATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCTCCAAGAGCACCTC TGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTA CTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCC CTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCTACAGT CCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCC CTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTG AATCAAGCCAGCAACACCAAGGTGGATAAGAAAGTT GAGCCCAAATCTTGTGACTGA	
3F2 Fab-IL2- Fab (重鎖サイトカ イン融合コンストラ クト)	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT TCACCTTTAGCAGTTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGG TAGTGGTTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGG CCGGTTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCC GTATATTACTGTGCGAAAGGGTGGTTTGGTGGTTTTAACT ACTGGGGCCAAGGAACCCCTGGTCACCGTCTCGAGTGCTA GCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCTC CAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCT GGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTG GAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCC GGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGC GTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCT ACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGG TGGATAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACTCCGGCG GAGGAGGGAGCGGCGGAGGTGGCTCCGGAGGTGGCGGA GCACCTACTTCAAGTTCTACAAAGAAAACACAGCTACAA CTGGAGCATTACTGCTGGATTTACAGATGATTTTGAATG GAATTAATAATTACAAGAATCCCAAACCTACCAGGATGC TCACATTTAAGTTTTACATGCCCAAGAAGGCCACAGAACT GAAACATCTTCAGTGTCTAGAAGAAGAACTCAAACCTCT GGAGGAAGTGCTAAATTTAGCTCAAAGCAAAAACCTTCA CTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTAAT	210

【表 8 - 1 1】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
	AGTTCTGGAACATAAGGGATCTGAAACAACATTCATGTGT GAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCTGA ACAGATGGATTACCTTTGCCCCAAAGCATCATCTCAACACT GACTTCCGGCGGAGGAGGATCCGGCGGAGGTGGCTCTGG CGGTGGCGGAGAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGG CTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCA GCCTCCGGATTACCTTTAGCAGTTATGCCATGAGCTGGG TCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAG CTATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTC CGTGAAGGGCCGGTTACCATCTCCAGAGACAATTCCAA GAACACGCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGA GGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAAGGGTGGTTTGGT GGTTTAACTACTGGGGCCAAGGAACCCTGGTCAACCGTCT CGAGTGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGC ACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCT GGGTGCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGAC GGTGTCTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCA CACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGGCCCTCCAGCAGCTTGGGCA CCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCA ACACCAAGGTGGATAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTG ACTGA	
4G8 Fab-IL2- Fab (重鎖サイトカ イン融合コンストラ クト)	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT TCACCTTTAGCAGTTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGG TAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGG CCGGTTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCC GTATATTACTGTGCGAAAGGGTGGCTGGGTAATTTTGA ACTGGGGCCAAGGAACCCTGGTCAACCGTCTCGAGTGCTA GCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCT CAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCT GGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTG GAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCC GGCTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGC GTGGTGACCGTGGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCT ACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGG TGGATAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACTCCGGCG GAGGAGGGAGCGGCGGAGGTGGCTCCGGAGGTGGCGGA GCACCTACTTCAAGTTCTACAAAGAAAACACAGCTACAA CTGGAGCATTTACTGCTGGATTACAGATGATTTTGAATG GAATTAATAATTACAAGAATCCCAAACCTCACCAGGATGC TCACATTTAAGTTTACATGCCCCAAGAAGGCCACAGA AAACATCTTCAGTGTCTAGAAGAAGAAGTCAAAACCTCT GGAGGAAGTGCTAAATTTAGCTCAAAGCAAAAACTTTCA CTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTAAT AGTTCTGGAACATAAGGGATCTGAAACAACATTCATGTGT GAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCTGA ACAGATGGATTACCTTTGCCCCAAAGCATCATCTCAACACT GACTTCCGGCGGAGGAGGATCCGGCGGAGGTGGCTCTGG CGGTGGCGGAGAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGG CTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCA GCCTCCGGATTACCTTTAGCAGTTATGCCATGAGCTGGG TCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAG CTATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTC CGTGAAGGGCCGGTTACCATCTCCAGAGACAATTCCAA GAACACGCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGA	212

【表 8 - 1 2】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
	GGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAAGGGTGGCTGGG TAATTTTGACTACTGGGGCCAAGGAACCCCTGGTCACCGTC TCGAGTGCTAGCACCAAGGGGCCATCGGTCTTCCCCCTGG CACCTCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGACACAGCGGCCCT GGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGAC GGTGTGCTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCA CACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCA CCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCA ACACCAAGGTGGATAAGAAAGTTGAGCCCCAAATCTTGTG ACTGA	
3D9 Fab-IL2- Fab (重鎖サイトカ イン融合コンストラ クト)	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT TCACCTTTAGCAGTTATGCTATGAGCTGGGTCCGCCAGAC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTGGTGT AGTACTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGC CGGTTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGT ATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCG TATATTACTGTGCGAAAGGTTGGCTGGGTCTTTTGACTA CTGGGGCCAAGGAACCCCTGGTCACCGTCTCGAGTGCTAG CACCAAGGGGCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCC AAGAGCACCTCTGGGGGACAGCGGCCCTGGGCTGCCTG GTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGG AACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCG GCTGTCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCG TGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTA CATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGT GGATAAGAAAGTTGAGCCCCAAATCTTGTGACTCCGGCGG AGGAGGGAGCGGCGGAGGTGGCTCCGGAGGTGGCGGAG CACCTACTTCAAGTTCTACAAAGAAAACACAGCTACAAC GGAGCATTTACTGCTGGATTACAGATGATTTTGAATGGA ATTAATAATTACAAGAATCCCAAACCTACCAGGATGCTCA CATTTAAGTTTTACATGCCCAAGAAGGCCACAGAACTGA AACATCTTCAGTGTCTAGAAGAAGAACTCAAACCTCTGG AGGAAGTGCTAAATTTAGCTCAAAGCAAAAACCTTCACTT AAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTAATAGT TCTGGAACATAAGGGATCTGAAACAACATTCATGTGTGA ATATGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCTGAAC AGATGGATTACCTTTGCCCAAAGCATCATCTCAACACTGA CTTCCGGCGGAGGAGGATCCGGCGGAGGTGGCTCTGGCG GTGGCGGAGAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCT TGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCCGGATTACCTTTAGCAGTTATGCTATGAGCTGGGTCT CGCCAGACTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTGGTGTAGTACTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCG TGAAGGGCCGGTTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGA ACACGCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG ACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAAGGTTGGCTGGGTCC TTTTGACTACTGGGGCCAAGGAACCCCTGGTCACCGTCTCG AGTGCTAGCACCAAGGGGCCATCGGTCTTCCCCCTGGCAC CTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGACAGCGGCCCTGG GCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGT GTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACAC CTTCCCGGCTGTCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTC AGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAAC ACCAAGGTGGATAAGAAAGTTGAGCCCCAAATCTTGTGAC TGA	214

【表 8 - 1 3】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
2F11 Fab-IL2- Fab (重鎖サイトカ イン融合コンストラ クト)	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT TCACCTTTAGCAGTTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGG TAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGG CCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCC GTATATTACTGTGCGAAATGGAGATGGATGATGTTTGA ACTGGGGCCAAGGAACCCCTGGTCACCGTCTCGAGTGCTA GCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTC CAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCT GGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTG GAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCC GGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGC GTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCT ACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGG TGGATAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACTCCGGCG GAGGAGGGAGCGGCGGAGGTGGCTCCGGAGGTGGCGGA GCACCTACTTCAAGTTCTACAAAGAAAACACAGCTACAA CTGGAGCATTACTGCTGGATTTACAGATGATTTTGAATG GAATTAATAATTACAAGAATCCCAAACCTCACCAGGATGC TCACATTTAAGTTTACATGCCCAAGAAGGCCACAGA GAAACATCTTCAGTGTCTAGAAGAAGAACTCAAACCTCT GGAGGAAGTGCTAAATTTAGCTCAAAGCAAAAACCTTCA CTTAAGACCCAGGACTTAATCAGCAATATCAACGTAAT AGTCTTGGAATAAGGGATCTGAAACAACATTCATGTGT GAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCTGA ACAGATGGATTACCTTTGCCCAAAGCATCATCTCAACACT GACTTCCGGCGGAGGAGGATCCGGCGGAGGTGGCTCTGG CGGTGGCGGAGAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGG CTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCA GCCTCCGGATTACCTTTAGCAGTTATGCCATGAGCTGGG TCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAG CTATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTC CGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAA GAACACGCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGA GGACACCGCCGTATATTACTGTGCGAAATGGAGATGGAT GATGTTTGACTACTGGGGCCAAGGAACCCCTGGTCACCGTC TCGAGTGCTAGCACCAAGGGGCCATCGGTCTTCCCCCTGG CACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCT GGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGAC GGTGTCTGTGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCA CACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCA CCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCA ACACCAAGGTGGATAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTG ACTGA	216
4B3 Fab-IL2- Fab (重鎖サイトカ イン融合コンストラ クト)	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT TCACCTTTAGCAGTTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGG TAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGG CCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCC GTATATTACTGTGCGAAAGGGTGGCTGGGTAATTTTGA ACTGGGGCCAAGGAACCCCTGGTCACCGTCTCGAGTGCTA GCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTC CAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCT	218

【表 8 - 1 4】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
	GGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTG GAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCC GGCTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGC GTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCT ACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGG TGGATAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACTCCGGCG GAGGAGGGAGCGGCGGAGGTGGCTCCGGAGGTGGCGGA GCACCTACTTCAAGTTCTACAAAGAAAACACAGCTACAA CTGGAGCATTACTGCTGGATTACAGATGATTTTGAATG GAATTAATAATTACAAGAATCCCAAACCTACCAGGATGC TCACATTTAAGTTTTACATGCCCAAGAAGGCCACAGAACT GAAACATCTTCAGTGTCTAGAAGAAGAACTCAAACCTCT GGAGGAAGTGCTAAATTTAGCTCAAAGCAAAAACCTTCA CTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTAAT AGTTCTGGAACATAAGGGATCTGAAACAACATTCATGTGT GAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCTGA ACAGATGGATTACCTTTGCCCAAAGCATCATCTCAACACT GACTTCCGGCGGAGGAGGATCCGGCGGAGGTGGCTCTGG CGGTGGCGGAGAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGG CTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCA GCCTCCGGATTACCTTTAGCAGTTATGCCATGAGCTGGG TCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAG CTATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTC CGTGAAGGGCCGGTTACCATCTCCAGAGACAATTCCAA GAACACGCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGA GGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAAGGGTGGCTGGG TAATTTTACTACTGGGGCCAAGGAACCCTGGTCACCGTC TCGAGTGCTAGCACCAAGGGGCCATCGGTCTTCCCCCTGG CACCTCTCTCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCT GGGTGCTGTGCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGAC GGTGTCTGTGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCA CACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCA CCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCA ACACCAAGGTGGATAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTG ACTGA	
4G8 Fab-IL12- Fab (ネズミ科 IL-12; 重鎖サイト カイン融合コンス トラクト)	GAGGTGCAATTGCTGGAAAGCGGCGGAGGACTGGTGCAG CCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCGCCAGCGGC TTACCTTCAGCAGCTACGCCATGTCTTGGGTCCGCCAGG CCCTTGAAAGGGCCTGGAATGGGTGTCCGCCATCAGCG GCAGCGGCGGCAGCACCTACTACGCCGACAGCGTGAAGG GCCGGTTACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCG CCGTGTACTACTGCGCCAAGGGCTGGCTGGGCAACTTCGA CTACTGGGGCCAGGGCACTCTGGTACAGTGTCTAGCGCT AGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCT CCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCC TGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTG GAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCC GGCTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGC GTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCT ACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGG TGGATAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACTCCGGCG GAGGAGGGAGCGGCGGAGGTGGCTCCGGAGGGGGCGGA GCCATGTGGGAGCTGGAAAAGGACGTGTACGTGGTGGAG GTGGACTGGACCCCCGACGCCCCCTGGCGAGACAGTGAAC CTGACCTGCGACACCCCCGAAGAGGACGACATCACCTGG ACCAGCGACACGCGGCACGGCGTGATCGGCAGCGGCAAG	220

【表 8 - 1 5】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
	ACCCTGACCATCACCGTGAAAGAGTTTCTGGACGCCGGCC AGTACACCTGCCACAAGGGCGGCGAGACACTGAGCCACA GCCACCTGCTGCTGCACAAGAAAGAGAACGGCATCTGGT CCACCGAGATCCTGAAGAACTTCAAGAACAAGACCTTCC TGAAGTGCAGAGGCCCCAACTACAGCGGCCGGTTCACCT GCAGCTGGCTGGTGCAGCGGAACATGGACCTGAAGTTCA ACATCAAGAGCAGCAGCAGCCCCCTGACAGCAGGGCCG TGACCTGCGGCATGGCCAGCCTGAGCGCCGAGAAGGTGA CCCTGGACCAGAGGGACTACGAGAAGTACAGCGTGAGCT GCCAGGAAGATGTCACCTGCCCCACCGCCGAGGAAACCC TGCCCATCGAGCTGGCCCTGGAAGCCCGGCAGCAGAACA AGTACGAGAACTACTCTACCAGCTTCTTCATCCGGGACAT CATCAAGCCCGACCCCCCAAGAACCTGCAGATGAAGCC CCTGAAGAACAGCCAGGTGGAGGTGTCCTGGGAGTACCC TGACAGCTGGTCCACCCCCAGAAAGCTACTTCAGCCTGAAG TTCTTCGTGAGAATCCAGCGGAAGAAAGAAAAGATGAAA GAGACAGAGGAAGGCTGCAACCAGAAGGGCGCCTTCTTC GTCGAGAAAACCAGCACCGAGGTGCAGTGCAAGGGCGGC AACGTGTGCGTGCAGGCCAGGACCGGTACTACAACAGC AGCTGCAGCAAGTGGGCCTGCGTGCCCTGCAGAGTGC GG TCTGGCGGCGACGGCTCTGGCGGCGGAGGAAGCGGCGGA GGGGGCAGCAGAGTGATCCCCGTGAGCGGCCCTGCCCGG TGCTGAGCCAGAGCCGGAACCTGCTGAAAACACCGAC GACATGGTGAAAACCGCCAGAGAGAAGCTGAAGCACTAC AGCTGCACAGCCGAGGACATCGACCACGAGGACATCACC CGGGACCAGACCAGCACCTGAAAACCTGCCTGCCCCTG GAACTGCACAAAAACGAGAGCTGCCTGGCCACCCGGGAG ACAAGCAGCACACCCGGGGCAGCTGCCTGCCTCCCCAG AAAACCTCCCTGATGATGACCCTGTGCCTGGGCAGCATCT ACGAGGACCTGAAGATGTACCAGACCGAGTTCAGGCCA TCAACGCCGCCCTGCAGAACCACAATCACCAGCAGATCA TCCTGGACAAGGGCATGCTGGTGCCTCGACGAGCTGA TGCAGAGCCTGAACCACAACGGCGAAACCTGCGGCAGA AACCCCCCTGGGCGAGGCCGACCCCTACCGGGTGAAGA TGAAGCTGTGCATCCTGCTGCACGCCTCAGCACCCGGGT GGTGACCATCAACCGGTGATGGGCTACCTGTCTCTGCC GGGGGAGGGGATCCGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGC GGAGAGGTGCAATTGCTGGAAAGCGGCGAGGACTGGTG CAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCGCCAGC GGCTTACCTTCAGCAGCTACGCCATGTCTTGGGTCCGCC AGGCCCCCTGGAAGGGCCTGGAATGGGTGTCCGCCATCA GCGGCAGCGGCGGCAGCACCTACTACGCCGACAGCGTGA AGGGCCGGTTACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACA CCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACA CCGCCGTGTACTACTGCGCCAAGGGCTGGCTGGGCAACT CGACTACTGGGGCCAGGGCACTCTGGTCAAGTGTCTAGC GCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCT CCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCT GCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGT GTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTT CCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGC AGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAG ACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACC AAGGTGGATAAGAAAGTTGAGCCCAATCTTGTGACTGA	
28H1 Fab-IL2- Fab (重鎖サイトカ イン融合コンストラ クト)	GAAGTGCAGCTGCTGGAATCCGGCGGAGGCCTGGTGCAG CCTGGCGGATCTCTGAGACTGTCTGCGCCGCTCCGGCT TCACCTTCTCCTCCACGCCATGTCTGGGTCCGACAGGC TCCTGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGTCCGCCATCTGGGCC	222

【表 8 - 1 6】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
	TCCGGCGAGCAGTACTACGCCGACTCTGTGAAGGGCCGG TTCACCATCTCCCGGGACAACTCCAAGAACACCCTGTACC TGCAGATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGT ACTACTGTGCCAAGGGCTGGCTGGGCAACTTCGACTACTG GGGACAGGGCACCTGGTCACCGTGTCCAGCGCTAGCAC CAAGGGACCCTCCGTGTTCCCCCTGGCCCCCTCCAGCAAG TCTACCTCTGGCGGCACCGCCGCTCTGGGCTGCCGTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTTGGAACTC TGGCGCCCTGACCAGCGGCGTCCACACCTTTCAGCCGTG CTGCAGTCCTCCGGCTGTACTCCCTGTCTCCGTCTGTGA CCGTGCCCTCCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATCTG CAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACAA GAAGGTGGAACCCAAGTCTGCGACAGTGGTGGGGGAGG ATCTGGTGGCGGAGGTTCTGGCGGAGGTGGCGCTCCTAC ATCTCCAGCACCAAGAAAACCCAGCTCCAGCTGGAACA TCTCCTGCTGGATCTGCAGATGATCCTGAACGGCATCAAC AACTACAAGAACCCCAAGCTGACCCGGATGCTGACCTTC AAGTTCTACATGCCCAAGAAGGCCACCGAGCTGAAACAT CTGCAGTGCCTGGAAGAGGAAGTGAAGCCTCTGGAAGAG GTGCTGAACCTGGCCAGTCCAAGAAGTTCACCTGAGGC CTCGGGACCTGATCTCCAACATCAACGTGATCGTGCTGGA ACTGAAGGGCTCCGAGACAACCTTCATGTGCGAGTACGC CGACGAGACAGCTACCATCGTGGAATTTCTGAACCGGTG GATCACCTTCGCCCAGTCCATCATCTCCACCCTGACCTCC GGTGGTGGCGGATCCGGGGGAGGGGTTCTGGCGGAGGC GGAGAAGTGCAGCTGCTGGAATCCGGCGGAGGCCTGGTG CAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGTCTGCGCCGCTCCG GCTTCACCTTCTCCTCCCACGCCATGTCTGGGTCCGACA GGCTCCAGGCAAGGGCCTGGAATGGGTGTCCGCCATCTG GGCCTCCGGCGAGCAGTACTACGCCGACTCTGTGAAGGG CCGGTTCACCATCTCCCGGGACAACTCCAAGAACACCCTG TACCTGCAGATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGACACCGCC GTGTACTACTGTGCCAAGGGCTGGCTGGGCAACTTCGACT ACTGGGGCCAGGGCACCTGGTCACCGTGTCTCCGCCTC TACCAAGGGCCCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCCCCCTCCAGC AAGTCTACCTCTGGCGGCACCGCCGCTCTGGGCTGCCTGG TCAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTTGGAA CTCTGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTTCAGCC GTGCTGCAGTCTCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCTCCGTCTG GACCGTGCCTTCCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATC TGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGAC AAGAAGGTGGAACCCAAGTCTGCGACTGA	
29B11 Fab-IL2 -Fab (重鎖サイト カイン融合コンス トラクト)	GAAGTGCAGCTGCTGGAATCCGGCGGAGGCCTGGTGCAG CCTGGCGGATCTCTGAGACTGTCTGCGCCGCTCCGGCT TCACCTTCTCCTCCTACGCCATGTCTGGGTCCGACAGGC TCCTGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGTCCGCCATCATCGGC TCCGGCGGCATCACCTACTACGCCGACTCTGTGAAGGGCC GGTTCACCATCTCCCGGGACAACTCCAAGAACACCCTGTA CCTGCAGATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGT GTACTACTGTGCCAAGGGCTGGTTCGGAGGCTTCAACTAC TGGGGACAGGGCACCTGGTCACCGTGTCCAGCGCTAGC ACCAAGGGACCCTCCGTGTTCCCCCTGGCCCCCTCCAGCA AGTCTACCTCTGGCGGCACCGCCGCTCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTTGGAA TCTGGCGCCCTGACCAGCGGCGTCCACACCTTTCAGCCG TGCTGCAGTCTCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCTCCGTCTG ACCGTGCCTTCCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATCT GCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACA	224

【表 8 - 1 7】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
	AGAAGGTGGAACCCAAGTCCTGCGACAGTGGTGGGGGAG GATCTGGTGGCGGAGGTTCTGGCGGAGGTGGCGCTCCTA CATCCTCCAGCACCAAGAAAACCCAGCTCCAGCTGGAAC ATCTCCTGCTGGATCTGCAGATGATCCTGAACGGCATCAA CAACTACAAGAACCCCAAGCTGACCCGGATGCTGACCTT CAAGTTCTACATGCCCAAGAAGGCCACCGAGCTGAAACA TCTGCAGTGCCTGGAAGAGGAACTGAAGCCTCTGGAAGA GGTGCTGAACCTGGCCCAGTCCAAGAATTCCACCTGAG GCCTCGGGACCTGATCTCCAACATCAACGTGATCGTGCTG GAACTGAAGGGCTCCGAGACAACCTTCATGTGCGAGTAC GCCGACGAGACAGCTACCATCGTGGAATTTCTGAACCGG TGGATCACCTTCGCCCAGTCCATCATCTCCACCCTGACCT CCGGTGGTGGCGGATCCGGGGGAGGGGGTTCTGGCGGAG GCGGAGAAGTGCAGCTGCTGGAATCCGGCGGAGGCCTGG TGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGTCCTGCGCCGCCTC CGGCTTCACCTTCTCCTCCTATGCCATGTCCTGGGTCCGAC AGGCTCCAGGCAAGGGCCTGGAATGGGTGTCCGCCATCA TCGGCTCCGGCGGCATCACCTACTACGCCGACTCTGTGAA GGGCCGGTTTCAACCATCTCCCGGGACAACCTCCAAGAACAC CCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGACAC CGCCGTGTACTACTGTGCCAAGGGCTGGTTCCGAGGCTTC AACTACTGGGGCCAGGGCACCTGGTCAACCGTGTCTCCG CCTCTACCAAGGGCCCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCCCCCTC CAGCAAGTCTACCTCTGGCGGCACCGCCGCTCTGGGCTGC CTGGTCAAGGACTACTTCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTC GGAACCTCTGGCGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTTCC AGCCGTGCTGCAGTCCCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCTCC GTCGTGACCGTGCCCTCCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCT ACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAGG TGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGTCCTGCGACTGA	
19G1 Fab-IL2- Fab (重鎖サイトカ イン融合コンストラ クト)	GAGGTGCAGCTGCTCGAAAGCGGCGGAGGACTGGTGCAG CCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGCGGCT TCACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGC CCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGCCATCATCAG CTCTGGCGGCCTGACCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGG CCGGTTCAACATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCCT GTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGC CGTGTACTACTGCGCCAAGGGATGGTTGCGCGGCTTCAAC TACTGGGGACAGGGCACCCCTGGTACAGTGTCCAGCGCT AGCACCAAGGGACCCAGCGTGTCCCCCTGGCCCCCAGC AGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGCCCTGGGCTGC CTGGTCAAAGACTACTTCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTC GGAACAGCGGAGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTTC CAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCTGTACAGCCTGAGCA GCGTGGTCAACCGTGCCTAGCTCTAGCCTGGGCACCCAGAC CTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAA GGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACTCCGG CGGAGGCGGATCTGGCGGTGGAGGCTCCGGAGGCGGAGG CGCTCCTACTAGCAGCTCCACCAAGAAAACCCAGCTCCA GCTGGAACATCTGCTGCTGGATCTGCAGATGATCCTGAAC GGCATCAACAACACTACAAGAACCCCAAGCTGACCCGGATG CTGACCTTCAAGTTCTACATGCCCAAGAAGGCCACCGAAC TGAACATCTGCAGTGCCTGGAAGAGGAACTGAAGCCTC TGGAAGAGGTGCTGAACCTGGCCCAGAGCAAGAACTCC ACCTGAGGCCCAGGGACCTGATCAGCAACATCAACGTGA TCGTGTGGAAGTGAAGGGCAGCGAGACAACCTTCATGT GCGAGTACGCCGACGAGACAGCCACCATCGTGGAATTC TGAACCGGTGGATCACCTTCGCCCAGAGCATCATCAGCAC	226

【表 8 - 1 8】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
	CCTGACAAGCGGAGGCGGCGGATCCGGCGGAGGCGGATC TGGCGGAGGAGGCGAGGTCCAGCTGCTCGAAAGCGGCGG AGGACTGGTGCAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTG CGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGC TGGGTCCGCCAGGCCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTG TCCGCCATCATCAGCTCTGGCGGCCTGACCTACTACGCCG ACAGCGTGAAGGGCCGGTTACCATCAGCCGGGACAACA GCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGG CCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAAGGGATGGT TCGGCGGCTTCAACTACTGGGGACAGGGCACCCCTGGTCA CAGTGTCCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTC CCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAG CCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAAGACTACTTCCCCGAGCC CGTGACCGTGTCTTGAACAGCGGAGCCCTGACCAGCGG CGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTG TACAGCCTGAGCAGCGTGGTCACCGTGCCTAGCTCTAGCC TGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGC CCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAG AGCTGCGACTGA	
20G8 Fab-IL2- Fab (重鎖サイトカ イン融合コンストラ クト)	GAGGTGCAGCTGCTCGAAAGCGGCGGAGGACTGGTGCAG CCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGGCGCCGAGCGGCT TCACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGC CCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGCCATCATCGG CTCTGGCAGCCGGACCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGG CCGGTTACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCT GTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGC CGTGTACTACTGCGCCAAGGGATGGTTCGGCGGCTTCAAC TACTGGGGACAGGGCACCCCTGGTCACAGTGTCCAGCGCT AGCACCAAGGGACCCAGCGTGTCCCCCTGGCCCCCAGC AGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGCCCTGGGCTGC CTGGTCAAAGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCT GGAACAGCGGAGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTTC CAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCA GCGTGGTACCCGTGCCTAGCTCTAGCCTGGGCACCCAGAC CTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAA GGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACTCCGG CGGAGGCGGATCTGGCGGTGGAGGCTCCGGAGGCGGAGG CGCTCCTACTAGCAGCTCCACCAAGAAAACCCAGCTCCA GCTGGAACATCTGCTGCTGGATCTGCAGATGATCCTGAAC GGCATCAACAACACTACAAGAACCCCAAGCTGACCCGGATG CTGACCTTCAAGTTCTACATGCCCAAGAAGGCCACCGAAC TGAAACATCTGCAGTGCCTGGAAGAGGAACTGAAGCCTC TGGAAGAGGTGCTGAACCTGGCCCAGAGCAAGAACCTCC ACCTGAGGCCCAGGGACCTGATCAGCAACATCAACGTGA TCGTGCTGGAACCTGAAGGGCAGCGAGACAACCTTCATGT GCGAGTACGCCGACGAGACAGCCACCATCGTGGAATTTC TGAACCGGTGGATCACCTTCGCCCAGAGCATCATCAGCAC CCTGACAAGCGGAGGCGGCGGATCCGGCGGAGGCGGATC TGGCGGAGGAGGCGAGGTCCAGCTGCTCGAAAGCGGCGG AGGACTGGTGCAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTG CGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGC TGGGTCCGCCAGGCCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTG TCCGCCATCATCGGCTCTGGCAGCCGGACCTACTACGCCG ACAGCGTGAAGGGCCGGTTACCATCAGCCGGGACAACA GCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGG CCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAAGGGATGGT TCGGCGGCTTCAACTACTGGGGACAGGGCACCCCTGGTCA CAGTGTCCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTC	228

【表 8 - 1 9】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
	CCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAG CCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAAGACTACTTCCCCGAGCC CGTGACCGTGTCTTGGAACAGCGGAGCCCTGACCAGCGG CGTGACACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTG TACAGCCTGAGCAGCGTGGTCACCGTGCCTAGCTCTAGCC TGGGACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGC CCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAG AGCTGCGACTGA	
3F2 軽鎖	GAGATCGTGCTGACCCAGTCCCCCGGCACCCTGTCTCTGA GCCCTGGCGAGAGAGCCACCCTGTCTGCAGAGCCTCCC AGTCCGTGACCTCCTCCTACCTCGCCTGGTATCAGCAGAA GCCCCGCCAGGCCCTCGGCTGCTGATCAACGTGGGCAG TCCGAGAGCCACCGGCATCCCTGACCGGTTCTCCGGCTCT GGCTCCGGCACCGACTTCACCCCTGACCATCTCCCGGCTGG AACCCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGGGCA TCATGTGCCCCCACCTTTGGCCAGGGCACCAAGGTGGA AATCAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTCATCTTC CCACCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCC GTCTGTGCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGCGAGGCCA AGGTGCAGTGGAAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCA ACTCCAGGAATCCGTCACCGAGCAGGACTCCAAGGACA GCACCTACTCCCTGTCTTCCACCTGACCCTGTCCAAGGC CGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAGTGAC CCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTTCAAC CGGGGCGAGTGCTGATGA	230
4G8 軽鎖	GAGATCGTGCTGACCCAGTCCCCCGGCACCCTGTCTCTGA GCCCTGGCGAGAGAGCCACCCTGTCTGCAGAGCCTCCC AGTCCGTGTCCCGTCTCCTACCTCGCCTGGTATCAGCAGAA GCCCCGCCAGGCCCTCGGCTGCTGATCATCGGCGCCTCT ACCAGAGCCACCGGCATCCCTGACCGGTTCTCCGGCTCTG GCTCCGGCACCGACTTCACCCCTGACCATCTCCCGGCTGGA ACCCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGGGCCA GGTCATCCCTCCACCTTTGGCCAGGGCACCAAGGTGGAA ATCAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTCATCTTCC CACCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGT CGTGTGCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGCGAGGCCAAG GTGCAGTGGAAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAAC TCCAGGAATCCGTCACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGC ACCTACTCCCTGTCTTCCACCTGACCCTGTCCAAGGCCG ACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAGTGACCC ACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTTCAACCG GGGCGAGTGCTGATGA	232
3D9 軽鎖	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGT CTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTC AGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGA AACCTGGCCAGGCTCCAGGCTCCTCATCTATGGAGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAG TGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGGGTC AGCTTATTCCTTACGTTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGGA AATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTC CCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCCTCTG TTGTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAA AGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAA CTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAG CACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGC AGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCAC CCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAA	234

【表 8 - 2 0】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
	CAGGGGAGAGTGTTAG	
2F11 軽鎖	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGT CTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTC AGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGA AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGAGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCACTGGCAG TGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGGGTC AGTATACTCCCCCACGTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGG AAATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTT CCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCT GTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCA AAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTA ACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACA GCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAG CAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCA CCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCA ACAGGGGAGAGTGTTAG	236
4B3 軽鎖	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGT CTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTC AGAGTGTTAGCAGCAATTACTTAGCCTGGTACCAGCAGA AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGCGCCTA CATCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCACTGGCAG TGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGGGTC AGGTTATTCCCCCTACGTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGG AAATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTT CCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCT GTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCA AAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTA ACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACA GCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAG CAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCA CCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCA ACAGGGGAGAGTGTTAG	238
2B10 Fab-IL2- Fab (重鎖サイトカ イン融合コンストラ クト)	CAGGTGCAATTGGTGAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAG CCTGGGTCTCGGTGAAGGTCTCTGCAAGGCCTCCGGAG GCACATTCAGCAGCTACGCTATAAGCTGGGTGCGACAGG CCCCCTGGACAAGGGCTCGAGTGGATGGGAGGGATCATCC CTATCTTTGGTACAGCAAACTACGCACAGAAGTTCCAGGG CAGGGTCACCATTACTGCAGACAAATCCACGAGCACAGC CTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACCGC CGTGTATTACTGTGCGAGACTGTACGGTTACGCTTACTAC GGTGCTTTTGACTACTGGGGCCAAGGGACCACCGTGACC GTCTCCTCAGCTAGCACCAGGGGCCATCGGTCTTCCCCC TGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGG CCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGT GACGGTGTCTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGT GCACACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTAC TCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGG GCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGATAAGAAAAGTTGAGCCCAAATCTT GTGACTCCGGCGGAGGAGGGAGCGGCGGAGGTGGCTCCG GAGGTGGCGGAGCACCTACTTCAAGTTCTACAAAGAAAA CACAGCTACAACTGGAGCATTTACTGCTGGATTTACAGAT GATTTTGAATGGAATTAATAATTACAAGAATCCCAAATC ACCAGGATGCTCACATTTAAGTTTACATGCCCAAGAAGG CCACAGAACTGAAACATCTTCAGTGTCTAGAAGAAGAAC	240

【表 8 - 2 1】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
	TCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTTAGCTCAAAGCA AAAACTTTCACTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATAT CAACGTAATAGTTCTGGAACATAAGGGATCTGAAACAAC ATTCATGTGTGAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTGTA GAATTTCTGAACAGATGGATTACCTTTGCCCAAAGCATCA TCTCAACACTGACTTCCGGCGGAGGAGGATCCGGCGGAG GTGGCTCTGGCGGTGGCGGACAGGTGCAATTGGTGCAGT CTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCTCGGTGAAGG TCTCCTGCAAGGCCTCCGGAGGCACATTCAGCAGCTACGC TATAAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTCGA GTGGATGGGAGGGATCATCCCTATCTTTGGTACAGCAAAC TACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGGGTCACCATTACTGCA GACAAATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGC CTGAGATCTGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTGCGAGAC TGTACGGTTACGCTTACTACGGTGCTTTTGACTACTGGGG CCAAGGGACCACCGTGACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAA GGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGC ACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAG GACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAG GCGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCT ACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACC GTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCA ACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGATAAGA AAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACTGA	
C3B6 Fab-IL2- Fab (重鎖サイトカ イン融合コンストラ クト)	CAGGTGCAATTGGTGCACTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAG CCTGGGTCTCGGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCCTCCGGAG GCACATTCAGCAGCTACGCTATAAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTCGAGTGGATGGGAGCTATCATCC CGATCCTTGGTATCGCAAACTACGCACAGAAGTTCCAGG GCAGGGTCACCATTACTGCAGACAAATCCACGAGCACAG CCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACCG CCGTGTATTACTGTGCGAGACTGTACGGTTACGCTTACTA CGGTGCTTTTGACTACTGGGGCCAAGGGACCACCGTGACC GTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCC TGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGG CCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGT GACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGT GCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTAC TCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGG GCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGATAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTT GTGACTCCGGCGGAGGAGGGAGCGGCGGAGGTGGCTCCG GAGGTGGCGGAGCACCTACTTCAAGTTCTACAAAGAAAA CACAGCTACAACCTGGAGCATTTACTGCTGGATTTACAGAT GATTTTGAATGGAATTAATAATTACAAGAATCCCAAACCTC ACCAGGATGCTCACATTTAAGTTTACATGCCCAAGAAGG CCACAGAACTGAAACATCTTCAGTGTCTAGAAGAAGAAC TCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTTAGCTCAAAGCA AAAACTTTCACTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATAT CAACGTAATAGTTCTGGAACATAAGGGATCTGAAACAAC ATTCATGTGTGAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTGTA GAATTTCTGAACAGATGGATTACCTTTGCCCAAAGCATCA TCTCAACACTGACTTCCGGCGGAGGAGGATCCGGCGGAG GTGGCTCTGGCGGTGGCGGACAGGTGCAATTGGTGCAGT CTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCTCGGTGAAGG TCTCCTGCAAGGCCTCCGGAGGCACATTCAGCAGCTACGC TATAAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTCGA GTGGATGGGAGCTATCATCCCGATCCTTGGTATCGCAAAC	242

【表 8 - 2 2】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
	TACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGGGTCACCATTAAGTCA GACAAATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGC CTGAGATCTGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTGCGAGAC TGTACGGTTACGCTTACTACGGTGTCTTTGACTACTGGGG CCAAGGGACCACCGTGACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAA GGGCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGC ACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAG GACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAG GCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTT ACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACC GTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAACCCAGACCTACATCTGCA ACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGATAAGA AAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACTGA	
6A12 Fab-IL2- Fab (重鎖サイトカ イン融合コンストラ クト)	CAGGTGCAATTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAG CCTGGGTCTCGGTGAAGGTCTCTTGCAAGGCCTCCGGAG GCACATTACGACAGCTATGCTATAAGCTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTCGAGTGGATGGGAGTGATCATCC CTATCCTTGGTACCGCAAACTACGCACAGAAGTTCCAGGG CAGGGTCACCATTACTGCAGACAAATCCACGAGCACAGC CTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACCGC CGTGTATTACTGTGCGAGACTGTACGGTTACGCTTACTAC GGTGCTTTTGACTACTGGGGCCAAGGGACCACCGTGACC GTCTCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCC TGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGG CCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGT GACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGT GCACACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTAC TCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGG GCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGATAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTT GTGACTCCGGCGGAGGAGGGAGCGGCGGAGGTGGCTCCG GAGGTGGCGGAGCACCTACTTCAAGTTCTACAAAGAAAA CACAGCTACAACCTGGAGCATTTACTGCTGGATTTACAGAT GATTTTGAATGGAATTAATAATTACAAGAATCCCAAACCTC ACCAGGATGTCTACATTTAAGTTTACATGCCCAAGAAGG CCACAGAAGTGAACATCTTACAGTGTCTAGAAGAAGAAC TCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTTAGCTCAAAGCA AAAACCTTCACTTAAGACCCAGGGACTTAATCAACAATAT CAACGTAATAGTTCTGGAACCTAAAGGGATCTGAAACAAC ATTATGTGTGAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTTGTA GAATTTCTGAACAGATGGATTACCTTTGCCCAAAGCATCA TCTCAACACTGACTTCCGGCGGAGGAGGATCCGGCGGAG GTGGCTCTGGCGGTGGCGGACAGGTGCAATTGGTGCAGT CTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCTCGGTGAAGG TCTCCTGCAAGGCCTCCGGAGGCACATTCAGCAGCTATGC TATAAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTCGA GTGGATGGGAGTGATCATCCCTATCCTTGGTACCGCAAAC TACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGGGTCACCATTAAGTCA GACAAATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGC CTGAGATCTGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTGCGAGAC TGTACGGTTACGCTTACTACGGTGTCTTTGACTACTGGGG CCAAGGGACCACCGTGACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAA GGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGC ACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAG GACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAG GCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTT ACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACC GTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAACCCAGACCTACATCTGCA	244

【表 8 - 2 3】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
	ACGTGAATCACAAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGATAAGA AAGTTGAGCCCCAAATCTTGTGACTGA	
2B10 軽鎖	GATATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAT CTGTCCGAGACCGGGTCACCATCACCTGCCGGGCAAGTC AGGGCATTAGAAATGATTTAGGCTGGTACCAGCAGAAGC CAGGGAAAGCCCCTAAGCGCCTGATCTATGCTGCATCCA GTTTGCAGAGTGGCGTCCCATCAAGGTTACAGCGGCAGTG GATCCGGGACAGAGTTCACTCTCACCATCAGCAGCTTGCA GCCTGAAGATTTTGCCACCTATTACTGCTTGCAAGATGGT CTGCAGCCCGCGACGTTTGCCAGGGCACCAAGTCGAG ATCAAGCGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCC CGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGT TGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAA GTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAAC TCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGC ACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCA GACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACC CATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAAC AGGGGAGAGTGTTAG	246
D1A2 軽鎖	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAT CTGTCCGAGACCGGGTCACCATCACCTGCCGGGCAAGTC AGGGGATTTCGTAATGATTTAGGCTGGTACCAGCAGAAGC CAGGGAAAGCCCCTAAGCGCCTGATCTATGATGCTTACA GCTTGCAGAGTGGCGTCCCATCAAGGTTACAGCGCGGTG GATCCGGGACAGAGTTCACTCTCACCATCAGCAGCTTGCA GCCTGAAGATTTTGCCACCTATTACTGCTTGCAAGATGGT CTGCAGCCCGCGACGTTTGCCAGGGCACCAAGTCGAG ATCAAGCGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCC CGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGT TGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAA GTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAAC TCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGC ACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCA GACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACC CATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAAC AGGGGAGAGTGTTAG	248
O7D8 軽鎖	GATATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAT CTGTCCGAGACCGGGTCACCATCACCTGCCGGGCAAGTC AGAGCATTTCGTAATGTTTATAGGCTGGTACCAGCAGAAGCC AGGGAAAGCCCCTAAGCGCCTGATCTATGATGTGTCCAGT TTGCAGAGTGGCGTCCCATCAAGGTTACAGCGCGGTGGA TCCGGGACAGAGTTCACTCTCACCATCAGCAGCTTGCAAGC CTGAAGATTTTGCCACCTATTACTGCTTGCAAGATGGTCT GCAGCCCGCGACGTTTGCCAGGGCACCAAGTCGAGAT CAAGCGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCG CCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTG TGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGT ACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAATC CCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCA CCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAG ACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCC ATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACA GGGGAGAGTGTTAG	250
MHLG1 Fab-IL2 -Fab (重鎖サイト カイン融合コンス トラクト)	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGAGGAGGCTTGGTCAAG CCTGGCGGGTCCCTGCGGCTCTCTGTGCAGCCTCCGGAT TCACATTTAGCAACTATTGGATGAACTGGGTGCGGCAGGC TCCTGGAAAGGGCCTCGAGTGGGTGGCCGAGATCAGATT GAAATCCAATAACTTCGGAAGATATTACGCTGCAAGCGT	252

【表 8 - 2 4】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
	GAAGGGCCGGTTCACCATCAGCAGAGATGATTCCAAGAA CACGCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAAGACCGAGGA TACGGCCGTGTATTACTGTACCACATACGGCAACTACGTT GGGCACTACTTCGACCACTGGGGCCAAGGGACCACCGTC ACCGTCTCCAGTGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCC CCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGGCACAGC GGCCCTGGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCG GTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGC GTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCTCAGGACTCT ACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTT GGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCC CAGCAACACCAAGGTGGATAAGAAAGTTGAGCCCAAATC TTGTGACTCCGGCGGAGGAGGGAGCGGCGGAGGTGGCTC CGGAGGTGGCGGAGCACCTACTTCAAGTTCTACAAAGAA AACACAGCTACAACCTGGAGCATTACTGCTGGATTTACAG ATGATTTTGAATGGAATTAATAATTACAAGAATCCCAAAC TCACCAGGATGCTCACATTTAAGTTTACATGCCCAAGAA GGCCACAGAAGTGAACATCTTCAGTGTCTAGAAGAAGA ACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTTAGCTCAAAG CAAAAACTTTCACTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAAT ATCAACGTAATAGTTCTGGAACCTAAAGGGATCTGAAACA ACATTCATGTGTGAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTG TAGAATTTCTGAACAGATGGATTACCTTTGCCCAAAGCAT CATCTCAACACTGACTTCCGGCGGAGGAGGATCCGGCGG AGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGAGAAGTGCAGCTGGTGA GTCTGGAGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGCGGGTCCCTGCG GCTCTCTGTGCAGCCTCCGGATTCACATTTAGCAACTAT TGGATGAACTGGGTGCGGCAGGCTCCTGGAAGGGCCTC GAGTGGGTGGCCGAGATCAGATTGAAATCCAATAACTTC GGAAGATATTACGCTGCAAGCGTGAAGGGCCGGTTCACC ATCAGCAGAGATGATTCCAAGAACACGCTGTACCTGCAG ATGAACAGCCTGAAGACCGAGGATACGGCCGTGTATTAC TGTACCACATACGGCAACTACGTTGGGCACTACTTCGACC ACTGGGGCCAAGGGACCACCGTCACCGTCTCCAGTGCTA GCACCAAGGGGCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTC CAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCT GGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTG GAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCC GGCTGTCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGC GTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCT ACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGG TGGATAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACTGA	
KV9 軽鎖	GATATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTTCCTGTCTGCATC TGTGGGCGACCGGGTCACCATCACCTGCAAGGCCAGTCA GAATGTGGATACTAACGTGGCTTGGTACCAGCAGAAGCC AGGGCAGGCACCTAGGCCTCTGATCTATTTCGGCATCCTAC CGGTACACTGGCGTCCCATCAAGGTTACAGCGGCAGTGGA TCCGGGACAGAGTTCACTCTCACAATCTCAAGCCTGCAAC CTGAAGATTTTCGCAACTTACTACTGTCAACAGTACAATAG TTACCCTCTGACGTTTCGGCGGAGGTACCAAGGTGGAGATC AAGCGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCCG CATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGT GTGCCTGTGTAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTA CAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCC CAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCAC CTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGA CTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCA TCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAG	254

【表 8 - 2 5】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
	GGGAGAGTGTAG	
MHLG Fab-IL2-Fab (重鎖サイトカイン融合コンストラクト)	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGAGGAGGCTTGGTCCAG CCTGGCGGGTCCCTGCCGGCTCTCCTGTGCAGCCTCCGGAT TCACATTTAGCAACTATTGGATGAACTGGGTGCGGCAGGC TCCTGGAAAGGGCCTCGAGTGGGTGGCCGAGATCAGATT GAAATCCAATAACTTCGGAAGATATTACGTGCAAGCGT GAAAGGGCCGGTTCACCATCAGCAGAGATGATTCCAAGAA CACGCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAAGACCGAGGA TACGGCCGTGTATTACTGTACCACATACGGCAACTACGTT GGGCACTACTTCGACCACTGGGGCCAAGGGACCAACGTC ACCGTCTCCAGTGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCC CCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGC GGCCCTGGGCTGCCGTGCAAGGACTACTTCCCCGAACCG GTGACGGTGTCTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGC GTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCT ACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTT GGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCC CAGCAACACCAAGGTGGATAAGAAAGTTGAGCCCAAATC TTGTGACTCCGGCGGAGGAGGGAGCGGCGGAGGTGGCTC CGGAGGTGGCGGAGCACCTACTTCAAGTTCTACAAAGAA AACACAGCTACAACCTGGAGCATTTACTGCTGGATTTACAG ATGATTTTGAATGGAATTAATAATTACAAGAATCCCAAAC TCACCAGGATGCTCACATTTAAGTTTACATGCCCAAGAA GGCCACAGAACTGAAACATCTTCAGTGTCTAGAAGAAGA ACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTTAGCTCAAAG CAAAAACTTTCACCTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAAT ATCAACGTAATAGTTCTGGAACCTAAAGGGATCTGAAACA ACATTCATGTGTGAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTG TAGAATTTCTGAACAGATGGATTACCTTTGCCCAAAGCAT CATCTCAACACTGACTTCCGGCGGAGGAGGATCCGGCGG AGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGAGAAGTGCAGCTGGTGGA GTCTGGAGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGCGGGTCCCTGCG GCTCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACATTTAGCAACTAT TGGATGAACTGGGTGCGGCAGGCTCCTGGAAAGGGCCTC GAGTGGGTGGCCGAGATCAGATTGAAATCCAATAACTTC GGAAGATATTACGCTGCAAGCGTGAAGGGCCGGTTACC ATCAGCAGAGATGATTCCAAGAACACGCTGTACCTGCAG ATGAACAGCCTGAAGACCGAGGATACGGCCGTGTATTAC TGTACCACATACGGCAACTACGTTGGGCACTACTTCGACC ACTGGGGCCAAGGGACCAACCGTCACCGTCTCCAGTGCTA GCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTC CAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCT GGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTG GAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCC GGCTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGC GTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCT ACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGG TGGATAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACTGA	256
KV1 軽鎖	GATATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTTCTGTCTGCATCT GTGGGCGACCGGGTCACCATCACCTGCAGGGCCAGTCAGAA TGTGGATACTAACTTAGCTTGGTACCAGCAGAAGCCAGGGA AAGCACCTAAGCTCCTGATCTATTCCGCATCCTACCGTTACA CTGGCGTCCCATCAAGGTTACGCGGCAGTGGATCCGGGACA GAGTTCACTCTCACAATCTCAAGCCTGCAACCTGAAGATTTC GCAACTTACTACTGTCAACAGTACAATAGTTACCTCTGACG TTCGGCGGAGGTACCAAGGTGGAGATCAAGCGTACGGTGGC TGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTT GAAATCTGGAAGTGCCTCTGTGTGTGCCTGCTGAATAACTT	264

【表 8 - 2 6】

コンストラクト	ポリヌクレオチド配列	配列番号
	CTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACG CCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAG GACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGAC GCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCT GCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAG AGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG	
KV7 軽鎖	GATATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTTCCTGTCTGCATCT GTGGGCGACCGGGTCACCATCACCTGCAAGGCCAGTCAGAA TGTGGATACTAACGTGGCTTGGTACCAGCAGAAGCCAGGGA AAGCACCTAAGCCTCTGATCTATTTCGGCATCCTACCGGTACA CTGGCGTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCCGGGACA GAGTTCACCTCTACAATCTCAAGCCTGCAACCTGAAGATTTC GCAACTTACTACTGTCAACAGTACAATAGTTACCCCTCTGACG TTCGGCGGAGGTACCAAGGTGGAGATCAAGCGTACGGTGGC TGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTT GAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTT CTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACG CCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAG GACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGAC GCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCT GCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAG AGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG	266

【0091】

宿主細胞

本明細書で使用する、「宿主細胞」なる用語は、本発明のイムノコンジュゲートないしはその断片を生成するために操作され得る任意の種の細胞系を指す。一実施態様では、宿主細胞は、イムノコンジュゲートフラグメントを産生させるように操作される。宿主細胞は、数例を挙げれば、CHO細胞、HEK、BHK細胞、NSO細胞、Sp2/0細胞、YO骨髓腫細胞、P3X63マウス骨髓腫細胞、PER細胞、PER.C6細胞ないしハイブリドーマ細胞、酵母菌、昆虫細胞、細菌細胞および植物細胞などの培養細胞、例えば哺乳類の培養細胞などがあるが、トランスジェニック動物、トランスジェニック植物又は培養された植物又は動物組織も含まれる。一実施態様では、本発明の宿主細胞は、本発明のイムノコンジュゲートないしはそのフラグメントをコードするポリヌクレオチド配列を含む発現ベクターを含む。本発明の宿主細胞は真核生物でも原核生物でもよい。

【0092】

イムノコンジュゲートポリペプチド及びそのフラグメントの精製

本発明のイムノコンジュゲートないしそのフラグメントは、当分野で公知の技術、例えば高性能液体クロマトグラフィ、イオン交換クロマトグラフィ、ゲル電気泳動、親和性クロマトグラフィ、サイズ排除クロマトグラフィなどによって精製されてよい。特定のタンパク質を精製するために使用する実際の条件は、総電荷、疎水性、親水性などのような因子にある程度依存しており、当分野の技術者にとって明らかである。

親和性クロマトグラフィ精製のために、プロテインA又はプロテインGを有するマトリクスが使われてよい。あるいは、親和性クロマトグラフィ精製のために、イムノコンジュゲートの単鎖エフェクタ部分を特異的に結合する任意の抗体が用いられてもよい。抗体の産生のために、ウサギ、マウス、ラットなどに限らず様々な宿主動物が、本発明のイムノコンジュゲートないしその断片による注射によって免疫化されてよい。イムノコンジュゲートは、側鎖官能基に付着した側鎖官能基又はリンカーによって、ウシ血清アルブミン(BSA)などの適切な担体に付着されてよい。様々なアジュバントは、宿主種に応じて免疫応答を増やすために用いてよく、フロイント(完全及び不完全)、水酸化アルミニウムなどのミネラルゲル、リゾレシチンなどの界面活性物質、プルロニックポリオール、ポリアニオン、ペプチド、油乳濁液、キーホールリンペットヘモシアニン、ジニトロフェノール、およびBCG(カルメット-ゲラン桿菌)およびコリネバクテリウム・パルバムなどの潜在的に有用なヒトアジュバントが含まれる。したがって、一実施態様は、本発明のイムノ

コンジュゲートの製造方法であって、本発明のイムノコンジュゲートないしそのフラグメントをコードするポリヌクレオチド配列を含む発現ベクターを含む宿主細胞を、同発現に適切な条件下で培養することを含む方法を含む。

【0093】

イムノコンジュゲートの使用方法

本発明のイムノコンジュゲートは、特定の抗原決定基を標的化し、標的及び感作した細胞での様々な細胞性応答を誘発するために有用である。本発明のイムノコンジュゲートは診断試薬としても有用である。抗原決定基へのイムノコンジュゲートの結合は、エフェクタ部分に特異的な二次抗体を用いて容易に検出されうる。一実施態様では、二次抗体およびイムノコンジュゲートにより、細胞又は組織表面に位置する抗原決定基へのイムノコンジュゲートの結合の検出が容易になる。

いくつかの実施態様において、本発明のイムノコンジュゲートの有効量が細胞に投与される。他の実施態様では、本発明のイムノコンジュゲートの治療上有効量が疾患の治療のために個体に投与される。本明細書中で用いる「有効量」なる用語は、投与される細胞又は組織での生理学的変化を生じさせるために必要である本発明のイムノコンジュゲートの量として定める。本明細書中で用いる「治療上有効量」なる用語は、疾患の副作用を除去、低減、遅延、最小化又は予防する本発明のイムノコンジュゲートの量として定める。

【0094】

本発明のイムノコンジュゲートは、そのまま又は医薬組成物の形で被検体に投与されてよい。一実施態様では、疾患は増殖性疾患、例えば癌である。癌などの増殖性疾患の非限定的な例には、膀胱癌、脳癌、頭頸部癌、膵癌、肺癌、乳癌、卵巢癌、子宮癌、子宮頸癌、子宮内膜癌、食道癌、大腸癌、結腸直腸癌、直腸癌、胃癌、前立腺癌、血液癌、皮膚癌、扁平上皮癌、骨癌、及び腎臓癌が含まれる。本発明のイムノコンジュゲートを使用して治療される他の細胞増殖性疾患には、腹部、骨、胸部、消化系、肝臓、脾臓、腹膜、内分泌腺（副腎、副甲状腺、下垂体、睾丸、卵巢、胸腺、甲状腺）、眼、頭頸部、神経系（中枢及び末梢）、リンパ系、骨盤、皮膚、軟組織、脾臓、胸領域および泌尿生殖系に位置する新生物が含まれるがこれらに限定されるものではない。また、前癌状態ないし病変および癌の転移も含まれる。同様に、他の細胞増殖性疾患もまた、本発明のイムノコンジュゲートによって治療されてよい。このような細胞増殖性疾患の例には、上記の器官系に位置する腫瘍形成のほかに、高ガンマグロブリン血症、リンパ増殖性疾患、パラプロテイン血症、紫斑病、サルコイドーシス、セザリー症候群、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症、ゴーシェ病、組織球増殖症、および他の任意の細胞増殖性疾患が含まれるがこれらに限定されない。他の実施態様では、疾患は、自己免疫状態、移植拒絶反応、外傷後免疫応答および感染症（例えばHIV）に関連がある。より具体的には、イムノコンジュゲートは、リンパ腫、自己免疫状態、移植拒絶反応、移植片対宿主病、乏血および脳卒中を含む免疫細胞媒介性疾患に関与する細胞を除去する際に使われてよい。当業者は、多くの場合、イムノコンジュゲートは治療ではなく、部分的な利益を示すものであることを理解する。いくつかの実施態様において、いくつかの利点を有する生理学的変化も治療上の利益であると考えられる。ゆえに、いくつかの実施態様では、生理学的変化を提供するイムノコンジュゲートの量は、「有効量」又は「治療上有効量」とみなされる。治療を必要とする被検体、患者又は個体は一般的に哺乳動物、より具体的にはヒトである。

【0095】

投与の組成物、製剤、用量および手段

本発明の薬学的組成物は、薬学的に許容可能な担体に溶解又は分散した一又は複数のイムノコンジュゲートの有効量を含む。「薬学的又は薬理学的に許容可能」なる表現は、必要に応じて例えばヒトなどの動物に投与したときに、有害な、アレルギー的な又は他の予期しない反応を生じない分子及び組成物を指す。出典明記によってここに援用される Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. Mack Printing Company, 1990によって例示されるように、少なくとも一のイムノコンジュゲートおよび場合によって更なる活性成分を含有する薬学的組成物の調製は、本開示内容を考慮して当業者に知られるであろう。

さらに、動物(例えばヒト)の投与のためには、調製物が、F D Aの生物学的基準又は他国の関係当局の要請に応じて、無菌性、発熱原性、一般的な安全性および純度基準を満たさなければならないと理解されるであろう。

本明細書中で使用する「薬学的に許容可能な担体」には、当分野の技術者に知られるように(例えば、出典明記によってここに援用されるRemington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. Mack Printing Company, 1990, pp. 1289-1329を参照)、任意及びすべての、溶媒、バッファ、分散培地、コーティング、界面活性剤、抗酸化剤、防腐剤(例えば抗菌剤、抗真菌剤)、等張剤、吸収遅延剤、塩類、防腐剤、薬剤、薬剤安定剤、ゲル、結合剤、賦形剤、分解剤、潤滑剤、甘味料、香料、色素、このような材料およびこれらの組合せが含まれる。従来 of いずれかの担体が活性成分に適合しない場合を除き、治療的又は薬学的な組成物の使用が考慮される。

【0096】

イムノコンジュゲートは、固形、液体又はエアゾール形態で投与されるか否か、注入としての投与経路のために無菌である必要があるか否かに応じて、異なる種類の担体を含んでよい。本発明は、静脈内に、皮内に、動脈内に、腹膜内に、病巣内に、頭蓋内に、関節内に、前立腺内に、脾臓内に、腎臓内に、胸膜内に、気管内に、鼻腔内に、硝子体内に、腔内に、直腸内に、局所的に、腫瘍内に、筋内に、腹膜内に、皮下に、結膜下に、小胞内に、粘膜に、心膜内に、臍内に、眼内に、口腔内に、局所的に、局所性に、吸入(例えば噴霧吸入)によって、注射によって、注入によって、持続性点滴によって、標的細胞を直接浸す局所性灌流によって、カテーテルによって、洗浄によって、クリームで、または、脂質組成物(例えばリポソーム)で、あるいは、当分野の技術者に知られる他の方法又は任意の組合せによって(例えば、出典明記によってここに援用されるRemington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. Mack Printing Company, 1990を参照)投与されうる。非経口投与、特に静脈内注射は、本発明のイムノコンジュゲートなどのポリペプチド分子を投与するために最も一般的に使われる。

被検体に投与される本発明の組成物の実際の用量は、体重、状態の重症度、治療する疾患の種類、以前の又は同時の治療的介入、患者の特異性及び投与の手段などの物理的及び生理学的要因によって測定されてよい。投与に対して責任がある実務者は、いずれにしても、組成物中の活性成分(一又は複数)の濃度、及び個々の被検体に適した用量(一又は複数)を決定する。

【0097】

ある実施態様では、薬学的組成物は、例えば、少なくともおよそ0.1%の本発明のイムノコンジュゲートを含んでよい。他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、ユニットの重量のおよそ2%~75%、又はおよそ25%~およそ60%、例えばそこから導き出せる任意の範囲を含んでよい。他の非限定的な例では、また、用量は、およそ1マイクログラム/kg/体重、およそ5マイクログラム/kg/体重、およそ10マイクログラム/kg/体重、およそ50マイクログラム/kg/体重、およそ100マイクログラム/kg/体重、およそ200マイクログラム/kg/体重、およそ350マイクログラム/kg/体重、およそ500マイクログラム/kg/体重、およそ1ミリグラム/kg/体重、およそ5ミリグラム/kg/体重、およそ10ミリグラム/kg/体重、およそ50ミリグラム/kg/体重、およそ100ミリグラム/kg/体重、およそ200ミリグラム/kg/体重、およそ350ミリグラム/kg/体重、およそ500ミリグラム/kg/体重から、およそ1000mg/kg/体重、又はそれ以上、及びそこから導き出せる任意の範囲を含んでよい。ここで列举した数から導き出せる範囲の非限定的な例では、およそ5mg/kg/体重からおよそ100mg/kg/体重、およそ5マイクログラム/kg/体重からおよそ500ミリグラム/kg/体重などの範囲が、上記の数に基づいて投与されうる。

【0098】

いずれにせよ、組成物は、一又は複数の構成成分の酸化を遅延させるために、様々な抗酸化剤を含んでよい。さらに、微生物の作用の防止は、様々な抗菌剤および抗真菌剤の

ような防腐剤によってもたらされ得、限定するものではないが、パラベン(例えばメチルパラベン、プロピルパラベン)、クロロブタノール、フェノール、ソルビン酸、チメロサル又はその組合せが含まれる。

イムノコンジュゲートは、遊離塩基、中和又は塩の形態の組成物に調製されてよい。薬学的に許容可能な塩類には、酸添加塩類、例えばタンパク質組成物の遊離アミノ基にて形成されるもの、又は、例えば塩酸又はリン酸などの無機酸、又は酢酸、シュウ酸、酒石酸又はマンデル酸などの有機酸にて形成されるものが含まれる。また、遊離カルボキシ基にて形成された塩類は、例えばナトリウム、カリウム、アンモニウム、カルシウム又は水酸化第二鉄などの無機塩基、または、イソプロピルアミン、トリメチルアミン、ヒスチジン又はプロカインなどの有機塩基から得られうる。

組成物が液体状態である実施態様において、担体は、水、エタノール、ポリオール(例えばグリセロール、プロピレングリコール、液体ポリエチレングリコールなど)、脂質(例えばトリグリセライド、植物油、リポソーム)およびこれらの組合せを含むがこれらに限定しない、溶媒又は分散培地であってよい。例えば、レシチンなどのコーティングの使用によって、例えば液体ポリオール又は脂質などの担体中での分散による必要粒子径の維持によって、例えばヒドロキシプロピルセルロースなどの界面活性剤の使用によって、又はこれらの方法の組合せによって、適切な流動性が維持されうる。多くの場合、生理的に許容可能なpH値を維持するために、例えば糖質、塩化ナトリウム又はこれらの組合せなどの等張剤、および／または緩衝剤を含めることが好ましい。

【0099】

他の実施態様では、本発明において点眼、鼻溶液又は噴霧、エアゾール又は吸入器を使用してもよい。このような組成物は、標的組織の種類と適合するように一般に設計される。非限定的な例において、鼻溶液は通常、点滴又は噴霧で鼻通路に投与されるように設計された水溶液である。多くの点で鼻分泌物と類似するように鼻溶液が調製されているので、正常な線毛作用が維持される。ゆえに、いくつかの実施態様では、水溶性の鼻溶液は、通常、等張又はわずかに緩衝し、およそ5.5からおよそ6.5のpHを維持する。さらに、必要であれば、眼科用薬剤、薬剤又は適切な薬剤安定剤に使用されるものと類似する抗菌性防腐剤が、製剤に含まれてよい。例えば、様々な市販の鼻調製物が知られており、抗生物質又は抗ヒスタミン剤などの薬剤を含む。

ある実施態様では、イムノコンジュゲートは、経口摂取などの経路により投与されるように調製される。これらの実施態様では、固形組成物は、例えば、溶液、懸濁液、エマルジョン類、錠剤、ピル、カプセル(例えば硬質又は軟質な殻で覆われたゼラチンカプセル)、徐放性製剤、頬側組成物、トローチ、エリキシル、懸濁液、シロップ、ウェーハ又はその組合せを含んでよい。口腔用組成物は、食物摂取により直接取り込まれてよい。経口投与のための好適な担体は、不活性希釈剤、吸収可能な食用の担体又はこれらの組合せを含む。本発明の他の態様において、口腔組成物はシロップ又はエリキシル剤として調製されてよい。シロップ又はエリキシル剤は、例えば、少なくとも一の活性剤、甘味料、防腐剤、香料、色素、防腐剤又はこれらの組合せを含んでよい。

【0100】

ある実施態様では、口腔組成物は、一又は複数の結合剤、賦形剤、崩壊剤、潤滑剤、香料およびこれらの組合せを含んでよい。ある実施態様では、組成物は、結合剤、例えばトラガカント、アカシア、コーンスターチ、ゼラチン又はこれらの組合せ；賦形剤、例えば二リン酸カルシウム、マンニトール、ラクトース、澱粉、ステアリン酸マグネシウム、ナトリウムサッカリン、セルロース、炭酸マグネシウム又はこれらの組合せ；崩壊剤、例えばトウモロコシ澱粉、ジャガイモ澱粉、アルギン酸又はこれらの組合せ；潤滑剤、例えばステアリン酸マグネシウム；甘味料、例えばスクロース、ラクトース、サッカリン又はこれらの組合せ；香料、例えばセイヨウハッカ、ウィンターグリーン油、サクランボ香料、オレンジ香料など；又は前記のこれらの組合せの、一又は複数を含んでよい。投薬単位の形態がカプセルである場合、上記のタイプの材料に加えて、液体担体などの担体を含んでよい。様々な他の材料は、コーティングとして、あるいは投薬単位の物理的な形態を変更

するために用いてよい。例えば、錠剤、ピル剤又はカプセル剤はシェラック、糖もしくはその両方でコーティングされてよい。

他の投与様式に適切である他の製剤には坐薬が含まれる。坐薬は、直腸、膣又は尿道への挿入のために、通常投薬用の、様々な重量および形状の固形投薬形態である。挿入の後、坐薬は、軟化、融解又は腔体液に溶解する。一般に、坐薬のための従来の担体には、例えば、ポリアルキレングリコール、トリグリセライド又はこれらの組合せが含まれる。ある実施態様では、坐薬は、例えばおよそ0.5%～およそ10%、好ましくはおよそ1%～およそ2%の範囲の活性成分を含有する混合物から形成されてよい。

【0101】

無菌の注射用溶液は、必要であれば先に列挙した様々な他の成分と共に、適切な溶媒中に必要な量の本発明のイムノコンジュゲートを含めて、その後フィルター滅菌することによって調製される。一般に、分散物は、基本的な分散培地及び／又は他の成分を含む滅菌ベヒクル中に様々な滅菌した活性成分を含ませることによって調製される。無菌の注射用溶液、懸濁液又はエマルジョンの調製のための無菌粉末の場合、調製の好適な方法は、予めフィルター滅菌した液体培地から活性成分と任意の他の所望の成分の粉末を得る、真空乾燥又は凍結乾燥技術である。液体培地は、必要に応じて最適に緩衝し、液体希釈液をまず十分な食塩又はグルコースにて注射の前に等張にする。DMSOを溶媒として使用して、極めて迅速に浸透させ、小さい領域に高濃度の活性剤を運搬させる場合、直接注射のための高濃度組成物の調製も考慮される。

組成物は、製造および貯蔵の条件下で安定でなければならず、細菌および真菌などの微生物の混入作用を防がなくてはならない。周知のことだが、エンドトキシン汚染は最小限安全なレベル、例えば0.5 ng/mg未満のタンパク質に保たれなければならない。

特定の実施態様において、注射可能な組成物の長期にわたる吸収は、吸収を遅らせる薬剤、例えばモノステアリン酸アルミニウム、ゼラチン又はこれらの組合せを組成物に使用することによって達成されうる。

本発明のイムノコンジュゲートを含む医薬組成物は、従来の混合、溶解、顆粒化、糖衣錠生成、水簸、乳化、カプセル化、封入または凍結乾燥工程によって製造しうる。医薬組成物は、タンパク質を医薬的に使用できる製剤に加工することを容易にする1つまたは複数の生理的に許容される担体、希釈剤、賦形剤または助剤を用いて従来の方法で製剤化しうる。適切な製剤は、選択される投与の経路に依存する。

局所投与用には、本発明のイムノコンジュゲートを、当分野で周知のように溶液、ゲル、軟膏、クリーム、懸濁液等として製剤化しうる。

全身投与用製剤には、注射、例えば皮下、静脈内、筋肉内、髄腔内または腹腔内注射による投与のために設計されたもの、ならびに経皮、経粘膜、吸入、経口または肺内投与のために設計されたものが含まれる。

注射用には、本発明のイムノコンジュゲートを水溶液、好ましくはハンクス液、リンガー液または生理食塩水緩衝液などの生理学的に適合性の緩衝液中で製剤化しうる。溶液は、懸濁化剤、安定剤および／または分散剤などの製剤化剤を含んでもよい。

あるいは、イムノコンジュゲートは、使用前に適切なベヒクル、例えば滅菌発熱性物質除去蒸留水で構成するための粉末形態であってもよい。

経粘膜投与のためには、透過すべき関門に適した浸透剤を製剤中で使用する。そのような浸透剤は一般に当分野において公知である。

経口投与用には、イムノコンジュゲートを当分野で周知の医薬的に許容される担体と組み合わせることによって容易に製剤化することができる。そのような担体により、本発明のイムノコンジュゲートを、治療される患者の経口摂取のために錠剤、丸剤、糖衣錠、カプセル、液体、ゲル、シロップ、スラリー、懸濁剤等に製剤化することが可能となる。例えば粉末、カプセルおよび錠剤などの経口固体製剤に関して、適切な賦形剤には、充填剤、例えば糖類、例えばラクトース、スクロース、マンニトールおよびソルビトール；セルロース調製物、例えばトウモロコシデンプン、小麦デンプン、米デンプン、ジャガイモデンプン、ゼラチン、トラガカントゴム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセ

ルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウムおよび／またはポリビニルピロリドン（PVP）；造粒剤；ならびに結合剤が含まれる。所望する場合は、崩壊剤、例えば架橋ポリビニルピロリドン、寒天またはアルギン酸もしくはアルギン酸ナトリウムなどのその塩を添加してもよい。

所望する場合は、固体投与形態は、標準的な技術を用いて糖被覆または腸溶性被覆してもよい。

例えば懸濁液、エリキシルおよび溶液などの経口液体製剤については、適切な担体、賦形剤または希釈剤には、水、グリコール、油、アルコール等が含まれる。加えて、着香剤、防腐剤、着色剤等を添加してもよい。

口腔投与用には、イムノコンジュゲートは、従来の方法で製剤化される錠剤、トローチ剤等の形態を取りうる。

吸入による投与のためには、本発明による使用のためのイムノコンジュゲートは、適切な噴射剤、例えばジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、二酸化炭素または他の適切なガスを使用して、加圧バックまたはネプライザーからのエアゾールスプレーの形態で好都合に送達される。加圧エアゾールの場合、投薬単位は、所定量を送達するバルブを設けることによって決定されうる。吸入器またはインサフレーターで使用するためのゼラチンのカプセルおよびカートリッジは、イムノコンジュゲートとラクトースまたはデンプンなどの適切な粉末基剤との粉末混合物を含有して製剤化されうる。

イムノコンジュゲートはまた、例えばカカオバターまたは他のグリセリドなどの従来の坐剤用基剤を含有する、坐剤または停留浣腸剤などの直腸または腔用組成物に製剤化してもよい。

先に述べた製剤に加えて、イムノコンジュゲートはまた、デポー剤として製剤化してもよい。そのような長時間作用性製剤は、埋め込み（例えば皮下もしくは筋肉内）によってまたは筋肉内注射によって投与されうる。したがって、例えば、イムノコンジュゲートは、適切なポリマーもしくは疎水性材料（例えば許容される油中の乳剤として）またはイオン交換樹脂を用いて、あるいは難溶性の誘導体として、例えば難溶性の塩として製剤化してもよい。

あるいは、他の医薬送達システムを用いてもよい。リボソームおよびエマルジョンは、本発明のイムノコンジュゲートを送達するために使用しうる送達媒体の周知の例である。ジメチルスルホキシドなどの特定の有機溶媒も使用しうるが、通常は毒性がより大きいという難点がある。加えて、持続放出システム、例えば治療薬を含有する固体ポリマーの半透性マトリックスを使用してイムノコンジュゲートを送達してもよい。様々な持続放出性材料が確立されており、当業者に周知である。持続放出性カプセルは、その化学的性質に依存して、数週間から100日間にわたってイムノコンジュゲートを放出しうる。イムノコンジュゲートの化学的性質および生物学的安定性に依存して、イムノコンジュゲートの安定化のために付加的な方策を用いてもよい。

本発明のイムノコンジュゲートは荷電した側鎖または末端を含んでもよいので、それらは、上述した製剤のいずれかに遊離酸もしくは塩基としてまたは医薬的に許容される塩として含まれてもよい。医薬的に許容される塩は、遊離塩基の生物学的活性を実質的に保持し、無機酸との反応によって調製される塩である。医薬的な塩は、水性および他のプロトン性溶媒中で対応する遊離塩基形態よりも可溶性である傾向がある。

本発明のイムノコンジュゲートは、意図される目的を達成するのに有効な量で一般に使用される。疾患状態を治療または予防する用途のために、本発明のイムノコンジュゲートまたはその医薬組成物は、治療有効量で投与または適用される。治療有効量は、症状を改善もしくは予防するため、または治療されている患者の生存を延長させるために有効な量である。治療有効量の決定は、特に本明細書で提供される詳細な開示に照らして、十分に当業者の能力の範囲内である。

全身投与に関しては、治療有効用量は最初にインビトロアッセイから推定することができる。例えば、用量は、細胞培養物において測定されたIC₅₀を含む循環濃度範囲を達

成するように動物モデルにおいて策定されうる。そのような情報を用いて、ヒトにおける有用な用量をより正確に決定することができる。

初期投薬量も、当分野で周知の技術を用いてインビボデータ、例えば動物モデルから推定することができる。当業者は、動物データに基づいてヒトへの投与を容易に最適化することができる。

投薬量および間隔は、治療効果を維持するのに十分なイムノコンジュゲートの血漿レベルを与えるように個別に調整されうる。注射による投与のための通常の患者投薬量は、およそ $0.1 \sim 50 \text{ mg/kg/day}$ 、典型的にはおよそ $0.5 \sim 1 \text{ mg/kg/day}$ の範囲である。治療上有効な血清レベルは、複数回用量を毎日投与することによって達成されうる。

局所投与または選択的摂取の場合は、イムノコンジュゲートの有効局所濃度は血漿濃度に関連しないことがある。当業者は、過度の実験を必要とせずに治療上有効な局所投薬量を最適化することができる。

投与されるイムノコンジュゲートの量は、言うまでもなく、治療される被験者、被験者の体重、疾患の重症度、投与の方法および処方する医師の判断に依存する。

治療は、症状が検出可能な間または症状が検出不能である場合でも、間欠的に反復してよい。治療は、単独でまたは他の薬剤と組み合わせて提供されうる。自己免疫疾患の場合には、本発明のイムノコンジュゲートと組み合わせて使用しうる薬剤には、ステロイド系および非ステロイド系抗炎症薬が含まれるが、これらに限定されない。

毒性

本明細書で述べるイムノコンジュゲートの治療有効用量は、一般に実質的な毒性を引き起こすことなく治療上の利益を提供する。イムノコンジュゲートの毒性は、細胞培養物または実験動物における標準的な医薬的手順によって、例えば、 LD_{50} （母集団の50%に対して致死的な用量）または LD_{100} （母集団の100%に対して致死的な用量）を測定することによって決定できる。毒性と治療効果との間の用量比が治療指数である。一実施態様では、イムノコンジュゲートは高い治療指数を示す。これらの細胞培養アッセイおよび動物試験から得られたデータは、例えばヒトにおける使用のために、毒性ではない用量範囲を策定するのに使用できる。本明細書で述べるイムノコンジュゲートの投薬量は、好ましくは、ほとんどまたは全く毒性を有さない有効用量を含む循環濃度の範囲内にある。投薬量は、使用される剤形および利用される投与経路に依存してこの範囲内で変化せうる。正確な製剤、投与経路および用量は、患者の状態を考慮して個々の医師によって選択されうる（例えば、Finglet al., 1975, In: The Pharmacological Basis of Therapeutics, Ch. 1, p. 1を参照）（その全体が参照により本明細書に組み込まれる）。

他の薬剤および治療

処置の治療上の効果を改善するために他の薬剤を本発明と組み合わせて使用しうるものが企図される。これらの付加的な薬剤には、免疫調節剤、細胞表面レセプターおよびGAP結合の上方調節に影響を及ぼす薬剤、細胞増殖抑制剤および分化剤、細胞接着の阻害剤、またはアポトーシス誘導物質に対する過剰増殖性細胞の感受性を増大させる薬剤が含まれる。免疫調節剤には、腫瘍壊死因子、インターフェロン α 、 β および γ ；IL-2および他のサイトカイン；F42Kおよび他のサイトカイン類似体；またはMIP-1、MIP-1 β 、MCP-1、RANTESおよび他のケモカインが含まれる。Fas/Fasリガンド、DR4またはDR5/TRAILなどの細胞表面レセプターまたはそのリガンドの上方調節は、過剰増殖性細胞に対するオートクラインまたはパラクライン作用を確立することによって本発明のアポトーシス誘導能を増強することがさらに企図される。GAP結合の数を増加させることによる細胞内シグナル伝達の増大は、隣接する過剰増殖性細胞集団への抗過剰増殖作用を増大させる。他の実施態様では、治療の抗過剰増殖効果を改善するために細胞増殖抑制剤または分化剤を本発明と組み合わせて使用することができる。細胞接着の阻害剤は本発明の効果を改善すると企図される。細胞接着阻害剤の例は、局所接着キナーゼ（FAK）阻害剤およびロバスタチンである。抗体C225などの、アポ

トーシスに対する過剰増殖性細胞の感受性を増大させる他の物質を、治療効果を改善するために本発明と組み合わせて使用できることがさらに企図される。

ホルモン療法も、本発明と併用してまたは先に述べた任意の他の癌療法と組み合わせて使用しうる。ホルモンの使用は、乳癌、前立腺癌、卵巣癌または子宮頸癌などの特定の癌の治療において、テストステロンまたはエストロゲンなどの特定のホルモンのレベルを低下させるまたは作用をブロックするために利用しうる。この治療はしばしば、治療の選択肢としてまたは転移の危険性を低減するために、少なくとも1つの他の癌療法と組み合わせて使用される。

本発明のイムノコンジュゲートはまた、化学療法、放射線療法または他の免疫療法と併用して投与されうる。そのような併用療法のための抗癌薬は、例えば、微小管破壊剤（例えばビンブラスチンまたはビンクリスチンなどのビンカルカロイド類、ドセタキセルまたはパクリタキセルなどのタキサン類、イクサベピロンなどのエポチロン類）、代謝拮抗薬（例えばメトトレキサートまたはアミノプテリンなどの葉酸代謝拮抗薬、フルダラビン、6-メルカプトプリンまたは6-チオグアニンなどの抗プリン薬、5-フルオロウラシル、カペシタビンまたはゲムシタビンなどの抗ピリミジン薬、ヒドロキシ尿素）、トポイソメラーゼ阻害薬（例えばカンプトテシン、イリノテカン、トポテカン、またはエトポシドなどのポドフィロトキシン）、DNAインターカレーター（例えばドキソルビシン、ダウノルビシン、アクチノマイシン、ブレオマイシン）、アルキル化薬（例えばシクロホスファミド、クロラムブシルと、カルムスチンまたはニムスチンなどのニトロソ尿素、ストレプトゾシン、ブスルファン、シスプラチン、オキサリプラチン、トリエチレンメラミン、デカルバジン）、ホルモン療法（例えば糖質コルチコイド、タモキシフェンなどのアロマターゼ阻害薬、フルタミドなどの抗アンドロゲン薬、ロイプロリドなどの性腺刺激ホルモン放出ホルモン（GnRH）類似体）、抗生物質、キナーゼ阻害薬（例えばエルロチニブ、ゲフィチニブ、イマチニブ）、受容体拮抗薬（例えば発癌および腫瘍増殖を促進することが公知の細胞表面レセプターを標的とする抗体）、酵素阻害薬（例えばサイクリン依存性キナーゼ（CDK）阻害薬）、アミノ酸除去酵素（例えばアスパラギナーゼ）、ロイコボリン、レチノイド、腫瘍細胞アポトーシスの活性化薬、および抗血管新生薬の群から選択されうる。

【実施例】

【0102】

実施例1

まずサイトカインの抗体媒介性運搬がHarvill E.T., and Morrison S.L. Immunotech. 1(2): 95-105 (1995)により行う場合、コンストラクトは腫瘍抗原ターゲッティングのための2つの抗原結合部分と、リンパ球活性化を誘導するための2つのサイトカイン部分を有するものとした（IL-2分子はIgG3の各重鎖C末端に融合する）。サイトカインの親和性は一般的にそのレセプターに対して高い。2つのサイトカインユニットを保持する分子は、結合活性（または多結合価）効果のために、サイトカインレセプターに対してさらに高い親和性を有しうる。ゆえに、このような分子は、腫瘍へのターゲッティングが起こる前でさえも、血流のリンパ球を容易に活性化することができる。この効果は患者には望ましくない。対照的に、ただ1つのサイトカイン部分と2以上のターゲッティングドメインを保持するイムノコンジュゲート分子は、循環中のリンパ球を活性化する可能性が低く、腫瘍に全イムノコンジュゲート分子を方向付けすることができ、この腫瘍でリンパ球活性化が低速度で起こりうる。ゆえに、図1および2に示す分子をインターロイキン2（IL-2）を用いてモデルサイトカインとして構築した。図に示すように、生成したすべての分子は、腫瘍抗原に対して二価であって、IL-2サイトカインに対して二価又は一価である。抗原に対する親和性を、例としてL19抗体を用いて2つの異なるイムノコンジュゲート形態について比較した。対照として、この抗体を、ヒトIgG1形態、ダイアボディ形態（図1A）およびFab-IL2-Fab融合（図1B）にクローニングした。VHとVLとの間のリンカーペプチドを8又は12のアミノ酸長となるように、ダイアボディ内で1つの可変性を試験した。フィブロネクチンの精製した抗原外ドメインB（E

DB)をB I A C O R Eチップ上に固定し、抗体融合コンストラクトを親和性測定のために可溶性分析物として用いた。図8から11にこの実験の結果を示す。I g Gは、二価の結合事象の理想的な例であった。ここで、260 pMの親和定数を観察した。F a b - I L 2 - F a b融合コンストラクトは310 pMの親和性となった。これはI g Gと本質的に同一である。ダイアボディの2つの変異体(図10および11に示す)はそれぞれ270 pMおよび360 pMの親和性を測定した。ゆえに、これらコンストラクトのすべては抗原に対して類似の親和性を有する。抗原およびI L - 2レセプターに対する親和性は、F 16抗体配列に基づいた類似のコンストラクトを用いて行った(Brack, S.S. et al., Clin. Canc. Res. 12(10): 3200-3208 (2006))。図12は、T N C - A 1ドメインがB I A C O R Eチップに固定されている場合の、F 16 I g Gおよびその対応する一価性F a b断片のB I A C O R Eセンサグラムを示す。これら特定の実験条件下で、I g G分子は2.6 nMの親和定数を示し、F a b分子は50 nMの親和定数を示した。ここで、二価性に起因する親和性の増加は20倍である。ダイアボディ、F a b - I L 2 - F a bおよびs c F v - I L 2 - s c F vイムノコンジュゲートは、それぞれ5 nM、4.8 nMおよび12 nMの抗原に対する親和性を示した。ゆえに、これらコンストラクトのすべては、F a b断片の一価のものよりもI g G分子の二価の特性に非常に類似する、対抗原親和性を有する。

【0103】

I L - 2レセプターに対する親和性に注目した場合、違いはより顕著であった。I L - 2レセプター結合能を調べるために、ヘテロダイマーI L - 2レセプターの発現を可能にするツールを作製した。I L - 2レセプターのβ鎖は、「ノブ-イントゥーホール」技術を用いてヘテロ二量体化(F c (ノブ))するように操作したF c分子に融合した(Merchant, A.M. et al., Nat. Biotech. 16:677-681 (1998))。次いで、I L - 2レセプターのγ鎖をF c (ホール)変異体に融合し、F c (ノブ)と二量体化させた。その後このヘテロ二量体F c - 融合タンパク質を、I L - 2 / I L - 2レセプター相互作用を分析するための基質として用いた。図13は、固定したI L - 2レセプターを用いた、分析物として市販のI L - 2 (プロリユウキン)のB I A C O R Eセンサグラムを示す。およそ0.5 nMの測定された親和性は既に公になっている値の通りである。I L - 2レセプターに対する様々なコンストラクトの親和性を図17にまとめる。観察された重要な結果は、サイトカインに関して二価であるダイアボディ(F 16 d i a I L 2)と、ただ1つのI L - 2部分を保持するF a b - I L 2 - F a b分子との間に違いがあった。ダイアボディは二価であり、I L - 2は一価であるが、ダイアボディのI L - 2レセプター結合親和性(0.8 nM)は、コンジュゲートしていないI L - 2 (プロリユウキン)の親和性(0.5 nM)と同等であった。F a b - I L 2 - F a b融合はダイアボディと比較しておよそ10分の1のI L - 2レセプター結合親和性を有しており、それは図19に示すようにN K 9 2細胞の増殖を誘導する能力が低減していたことに現れていた。

【0104】

実施例2

一般的なF a bライブラリの構築

F a b形態の一般的な抗体ライブラリを、以下のVドメイン組合せを用いてヒト生殖細胞系遺伝子に基づいて構築した。D P 4 7 - 3ライブラリのためにV H 3 __ 2 3重鎖とV k 3 __ 2 0 κ軽鎖、D P 8 8 - 3ライブラリのためにV H 1 __ 6 9重鎖とV k 1 __ 1 7 κ軽鎖。表2を参照。両ライブラリは、軽鎖(L 3)のC D R 3および重鎖(H 3)のC D R 3においてランダム化し、スプライシング バイ オーバーラッピング エクステンション(S O E) P C Rによって1ライブラリにつき3つのフラグメントから集めた。フラグメント1は、ランダム化したL 3を含む抗体遺伝子の5'末端を含み、フラグメント2は、L 3からH 3に拡がる中央の定常フラグメントであるのに対し、フラグメント3はランダム化したH 3と抗体遺伝子の3'部位を含む。

以下のプライマーの組合せを用いて、D P 4 7 - 3ライブラリのためのライブラリフラグメントを生成した。フラグメント1(L M B 3 - L i b L 1 b __ n e w)、フラグメン

ト 2 (MS63-MS64)、フラグメント 3 (Lib2H-fdseqlong)。表 9 を参照。以下のプライマーの組合せを用いて、DP88-3 ライブラリのためのライブラリフラグメントを生成した。フラグメント 1 (LMB3-RJH_LIB3)、フラグメント 2 (RJH31-RJH32) 及びフラグメント 3 (LIB88_2-fdseqlong)。表 10 を参照。

【0105】

【表 9】

表 9

DP47-3 ライブラリで用いたプライマー	
LMB3	CAGGAAACAGCTATGACCATGATTAC
LibL1b_new	CACTTTGGTCCCCTGGCCGAACGTMNNGGGMNNMNNMNNACCCTGCTGAC AGTAATACACTGC
MS63	TTTCGCACAGTAATATACGGCCGTGTCC
MS64	ACGTTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGG
Lib2H	GGCCGTATATTACTGTGCGAAANNKNNKNNKNNKNNKTTTGACTACTGGGG CCAAGGAAC
fdseqlong	GACGTTAGTAAATGAATTTTCTGTATGAGG

【表 10】

表 10

DP88-3 ライブラリで用いたプライマー	
LMB3	CAGGAAACAGCTATGACCATGATTAC
RJH_LIB3	GACTTTGGTGGCCCTGGCCAAACGTMNN GGG MNN MNN ACC MNN CTGCAAGCAGTAATAGGTGGCAAAATC
RJH31	ACGTTTGGCCAGGGCACCAAAGTCGAG
RJH32	TCTCGCACAGTAATACACGGCGGTGTCC
LIB88_2	GGACACCGCCGTGTATTACTGTGCGAGA -[(33% GAC Asp; 26% GGT Gly; 10% GAA Glu; 9% CGT Arg; 7% Lys; 6% GTT Val; 5% TCT Ser; 4% CTG Leu)1 - (23% GGT Gly; 17% TAC Tyr; 16% TCT Ser; 11% GCT Ala; 9% CGT Arg; 7% AAC Asn; 6% ACT Thr; 6% GTT Val; 5% CCG Pro)8]- TTTGACTACTGGGGCCAAGGGACCAACCGTGACCGTCTCC
fdseqlong	GACGTTAGTAAATGAATTTTCTGTATGAGG

【0106】

ライブラリフラグメント生成のための PCR プロトコールは以下の通りとした。94℃で5分の初期変性と、94℃で1分、58℃で1分および72℃で1分を25サイクルと、72℃で10分間の最終伸長。アセンブリ PCR のために、等モル比率の3フラグメントを鋳型として用いた。アセンブリ PCR プロトコールは以下の通りとした。94℃で3分の初期変性と、94℃で30秒、58℃で1分および72℃で2分を5サイクル。この段階で、フラグメント 1-3 の外側の配列に相補的プライマーを加え、72℃で10分間の最終伸長の前に、さらに20サイクル行った。十分な量の完全長ランダム化 Fab コンストラクトをアセンブリした後、Fab コンストラクトを、同じように処理したアクセプタファジミドベクターと共に、DP47-3 ライブラリのために NcoI / NotI にて、そして、DP88-3 ライブラリのために NcoI / NheI にて消化した。DP47-3 ライブラリのために、22.8 μg の Fab ライブラリを 16.2 μg のファジミドベクターにてライゲートした。DP88-3 ライブラリのために、30.6 μg の Fab ライブラリを 30.6 μg のファジミドベクターにてライゲートした。

精製したライゲーションは、それぞれ DP47-3 ライブラリに 68 の形質転換体、D

P 8 8 - 3 ライブラリに 6 4 の形質転換体を用いて、D P 4 7 - 3 に 4 . 2 の 10^{10} 、D P 8 8 - 3 に 3 . 3 $\times 10^9$ のサイズの最終ライブラリを得た。

F a b ライブラリを表出するファジミド粒子をレスキューし、P E G / N a C l 精製によって精製して選別に用いた。

【0107】

実施例 3

抗 T N C A 2 クローン 2 B 1 0 の選別

a v i - タグおよび 6 $\times$ h i s - タグの 5' サブクローニングを行ったヒト T N C - A 2 を発現する大腸菌に対して選別を行った。表 5 の配列番号：57 を参照。抗原は、発現の際にインビボでビオチン化された。選別は、以下のプロトコールに従って溶液で行った。(i) 全量 1 m l 中で 0 . 5 時間のおよそ 10^{12} ファジミド粒子のライブラリ D P 8 8 - 3 と 1 0 0 n M のビオチン化ヒト T N C A 2 との結合、(i i) 5.4×10^7 ストレプトアビジンコート磁気ビーズを 1 0 分間添加することによるビオチン化ヒト T N C - A 2 と付着したファージの捕捉、(i i i) 1 m l の P B S / T w e e n 2 0 にて 5 回および 1 m l の P B S にて 5 回によるビーズの洗浄、(i v) 1 m l の 1 0 0 m M T E A (トリエチルアミン) を 1 0 分間添加することによるファージ粒子の溶出と、5 0 0 μ l の 1 M トリス / H C l p H 7 . 4 の添加による中和、及び (v) 対数期大腸菌 T G 1 細胞の再感染、ヘルパーファージ V C S M 1 3 による感染、およびその後の選別ラウンドに用いるためのファジミド粒子のその後の P E G / N a C l 沈殿。

1 0 0 n M の一定の抗原濃度を用いて 3 ラウンド以上選別を行った。ラウンド 2 では、ストレプトアビジンビーズの代わりにニュートラアビジンプレート上で抗原：ファージ複合体の捕捉を行った。以下のような E L I S A によって特定の結合体を識別した。1 0 0 μ l の 1 0 0 n M ビオチン化ヒト T N C - A 2 をニュートラアビジンプレートの各ウェルにコートした。

F a b 含有細菌上清物を添加し、抗 F l a g / H R P 二次抗体を用いてそれらの F l a g - タグにより結合 F a b を検出した。識別したら、クローン 2 B 1 0 を 0 . 5 リットルの培養体積で細菌を用いて発現させ、親和性精製し、B I A C O R E T 1 0 0 を用いた S P R - 分析によってさらに特徴付けした。表 3 の配列番号：3 および 7 を参照。

【0108】

実施例 4

抗 T N C A 1 / A 4 クローン 2 F 1 1 の選別

a v i - タグおよび 6 $\times$ h i s - タグの 5' サブクローニングを行ったヒト T N C - A 1 を発現する大腸菌に対して選別を行った。表 5 の配列番号：59 を参照。抗原は、発現の際にインビボでビオチン化された。選別は、以下のプロトコールに従って溶液で行った。(i) 全量 1 m l 中で 0 . 5 時間のおよそ 10^{12} ファジミド粒子のライブラリ D P 4 7 - 3 と 1 0 0 n M のビオチン化ヒト T N C A 1 との結合、(i i) 5.4×10^7 ストレプトアビジンコート磁気ビーズを 1 0 分間添加することによるビオチン化ヒト T N C - A 1 と付着したファージの捕捉、(i i i) 1 m l の P B S / T w e e n 2 0 にて 5 回および 1 m l の P B S にて 5 回によるビーズの洗浄、(i v) 1 m l の 1 0 0 m M T E A (トリエチルアミン) を 1 0 分間添加することによるファージ粒子の溶出と、5 0 0 μ l の 1 M トリス / H C l p H 7 . 4 の添加による中和、及び (v) 対数期大腸菌 T G 1 細胞の再感染、ヘルパーファージ V C S M 1 3 による感染、およびその後の選別ラウンドに用いるためのファジミド粒子のその後の P E G / N a C l 沈殿。

1 0 0 n M の一定の抗原濃度を用いて 3 ラウンド以上選別を行った。ラウンド 2 では、ストレプトアビジンビーズの代わりにニュートラアビジンプレート上で抗原：ファージ複合体の捕捉を行った。

抗原のタグを認識する望ましくないクローンと競合させるために、すべての結合反応物に、カルボキシ終末 a v i - タグおよび 6 $\times$ h i s - タグを含む 1 0 0 n M 非ビオチン化ヒト I g G C H 3 定常ドメインを添加した。

【0109】

第一スクリーニング工程では、以下のE L I S Aによって特定の結合体を識別した。100 μ lの100 nM ビオチン化ヒトTNC-A1をニュートラアビジンプレートの各ウェルにコートした。Fab含有細菌上清物を添加し、ヒトTNC-A1に特異的に結合したFabを、抗Flag/HRP二次抗体を用いてそれらのFlag-タグにより検出した。

第二スクリーニング工程では、交差反応性を決定するために、抗原としてネズミ科TNC-A1、ヒトTNC-A4およびmuTNC-A4を用いて上記のE L I S Aを繰り返した。すべての抗原は、そのC末端に同じavi-タグおよび6 $\times$ his-タグを含み、インビポでビオチン化された。表5の配列番号：50および61を参照。

識別したら、クローン2F11を0.5リットルの培養体積で細菌を用いて発現させ、親和性精製し、BIACORE T100を用いたSPR-分析によってさらに特徴付けした。表3の配列番号：9および13を参照。

【0110】

実施例5

抗FAPクロンの選別（一次選別）

ポリ-リジン及び6 $\times$ his-タグの上流にクローニングしたヒト又はネズミ科の線維芽細胞活性化タンパク質(FAP)の外部ドメインに対して選別を行った。表5の配列番号：53および55を参照。選別の前に、選別のラウンドに応じて、10 μ g/ml又は5 μ g/mlの濃度の抗原をイムノチューブにコートした。選別は、以下のプロトコールに従って行った。(i) およそ10¹² ファジミド粒子のライブラリDP47-3の、固定したヒト又はネズミ科FAPへの2時間の結合、(ii) 5mlのPBS/Tween20にて5回及び5mlのPBSにて5回によるイムノチューブの洗浄、(iii) 1mlの100 mM TEA(トリエチルアミン)を10分間添加することによるファージ粒子の溶出と、500 μ lの1M トリス/HCl pH7.4の添加による中和、及び(iv) 対数期大腸菌TG1細胞の再感染、ヘルパーファージVCSM13による感染、およびその後の選別ラウンドに用いるためのファジミド粒子のその後のPEG/NaCl沈殿。

選別は、ヒトFAPの抗原濃度減少しながら、最終選別ラウンドでは場合によっては5 μ g/mlのネズミ科FAPを使用して、3又は4ラウンド以上行った。特異的な結合体を、バックグラウンドの5倍の高さのシグナルと定義し、E L I S Aによって識別した。NUNCマキシソーププレートを10 μ g/mlのヒト又はネズミ科FAPにてコートし、その後Fab含有細菌上清物の添加、抗Flag/HRP二次抗体を用いたそれらのFlag-タグによる特異的結合Fabの検出を行った。

E L I S Aポジティブクローンを、96ウェルフォーマット中で1mlの培養物として細菌を用いて発現させ、上清物をBIACORE T100を用いた動態学的スクリーニング実験に用いた。

【0111】

実施例6

抗FAP親和性成熟ライブラリの構築

3つの親和性成熟ライブラリは、一次抗FAP選別から予め選択した抗体に基づいて構築した。より正確に言うと、それらは、(i) 抗ヒトFAPクローン2D9（ライブラリア.m. FAP2D9）（表3の配列番号：67および69を参照）、(ii) 抗ネズミ科FAPクローン4B8（ライブラリア.m. FAP4B8）（表3の配列番号：71および73を参照）、および(iii) 交差反応性クローン7A1、13B2、13C2、13E8、14C10および17A11（ライブラリア.m. FAPプール）（7A1の可変領域配列に対応する表3の配列番号：75および77；13C2の可変領域配列に対応する表3の配列番号：79および81；13E8の可変領域配列に対応する配列番号：83および85；14C10の可変領域配列に対応する配列番号：87および89；そして、17A11の可変領域配列に対応する配列番号：91および93）に基づいている。

これら各ライブラリは、軽鎖(L1/L2)のCDR1およびCDR2又は重鎖(H1/H2)のCDR1およびCDR2の何れかをランダム化している2つのサブライブラリ

からなる。これらサブライブラリは形質転換でプールした。これら各サブライブラリは、増幅およびアセンブリの4つの連続した工程により構築した。

L1/L2ライブラリでは、増幅およびアセンブリプロトコールには、(i)フラグメント1(LMB3-DPK22_CDR1_rand_ba_opt)およびフラグメント2(DPK22_CDR1_fo-DPK22_Ck_BsiWI_ba)の増幅；(ii)外側のプライマーLMB3とDPK22_Ck_BsiWI_baを用いてフラグメント1及び2をアセンブリし、フラグメント3のための鋳型の作製；(iii)フラグメント3(LMB3-DPK22_CDR2_rand_ba)およびフラグメント4(DPK22_CDR2_fo-DPK22_Ck_BsiWI_ba)の増幅；及び、(iv)上記と同じ外側のプライマーを用いたフラグメント3および4の最終アセンブリが含まれる。プライマー配列については表11を参照のこと。

【0112】

【表11】

表11

抗FAP親和性成熟のためのL1/L2親和性成熟ライブラリで用いたプライマー	
LMB3	CAGGAAACAGCTATGACCATGATTAC
DPK22_CDR1_rand_ba_opt	CAGGTTTCTGCTGGTACCAGGCTAAGT <u>AGCTGCTGCT</u> AACTAACA CTCTGACTGGCCCTGCAAG
DPK22_CDR1_fo	TTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTG
DPK22_Ck_BsiWI_ba	GGTGCAGCCACCGTACGTTTGATTTC
DPK22_CDR2_rand_ba	CTGTCTGGGATGCCAGTGGCCCTGCTGGAGGCGCCATAGAT GAGGAGCCTGGGAGCCTG
DPK22_CDR2_fo	AGGGCCACTGGCATCCCAGACAG

太字:60%元の残基、40%Mとしてランダム化

下線:60%元の残基、40%Nとしてランダム化

【0113】

H1/H2ライブラリでは、増幅およびアセンブリプロトコールには、(i)フラグメント1(RJH53-DP47_CDR1_rand_ba_opt)とフラグメント2(DP47_CDR1_fo-MS52)の増幅；(ii)外側のプライマーRJH53とMS52を用いてフラグメント1及び2をアセンブリし、フラグメント3のための鋳型の作製；(iii)フラグメント3(RJH53-DP47_CDR2_rand_ba)およびフラグメント4(DP47_CDR2_fo-MS52)の増幅；及び、(iv)上記と同じ外側のプライマーを用いたフラグメント3および4の最終アセンブリが含まれる。プライマー配列については表12を参照。

【表12】

表12

抗FAP親和性成熟のためのH1/H2親和性成熟ライブラリで用いたプライマー	
RJH53	CATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCAC
DP47_CDR1_rand_ba_opt	GAGCCTGGCGGACCCAGCTCATGGCATAACTGCTAAAGGTG AATCCGGAGGC
DP47_CDR1_fo	ATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTC
MS52	GAAGACCGATGGGCTTTGGTGCTAG
DP47_CDR2_rand_ba	CCTTCACGGAGTCTGCGTAGTATGTGCTACCACCACTACCA CTAATAGCTGAGACCCACTCCAGCCCCCTCCC
DP47_CDR2_fo	ACATACTACGCAGACTCCGTGAAGG

太字:60%元の残基、40%Mとしてランダム化

下線:60%元の残基、40%Nとしてランダム化

【0114】

最終アセンブリ生成物は、クローン 2 D 9、4 B 8 又はクローン 7 A 1、1 3 B 2、1 3 C 2、1 3 E 8、1 4 C 1 0 および 1 7 A 1 1 の等モル混合物のプラスミド調製に基づく同様に処理したアクセプタベクターと共に、a.m.F A P 2 D 9 および a.m.F A P 4 B 8 の L 1 / L 2 サブライブラリでは N c o I / B s i W I にて、a.m.F A P 2 D 9 及び a.m.F A P 4 B 8 の H 1 / H 2 サブライブラリでは M u n I および N h e I にて、並びに、a.m.F A P プールの L 1 / L 2 ライブラリでは N c o I / B a m H I にて、そして a.m.F A P プールの H 1 / H 2 ライブラリでは B s p E I / P s t I にてそれぞれ消化した。以下の量の消化したランダム化(部分的)V-ドメインおよび消化したアクセプタベクター(一又は複数)を、それぞれのライブラリのためにライゲートした。(μg の V-ドメイン / μg のベクター) : a.m.F A P 2 D 9 L 1 / L 2 サブライブラリ (5. 7 / 2 1. 5)、a.m.F A P 2 D 9 H 1 / H 2 サブライブラリ (4. 1 / 1 5. 5)、a.m.F A P 4 B 8 L 1 / L 2 サブライブラリ (6. 5 / 2 4. 5)、a.m.F A P 4 B 8 H 1 / H 2 サブライブラリ (5. 7 / 2 1. 5)、a.m.F A P プール L 1 / L 2 サブライブラリ (4. 4 / 2 0)、a.m.F A P プール H 1 / H 2 サブライブラリ (3. 4 / 1 5. 5)。

L 1 / L 2 および H 1 / H 2 サブライブラリの精製したライゲートをプールし、3 つ各々の親和性成熟ライブラリのために 6 0 の形質転換体に用い、a.m.F A P 2 D 9 には 6×10^9 、a.m.F A P 4 B 8 には 9×10^9 および a.m.F A P プールには 2×10^9 のサイズの最終ライブラリを得た。

これら F a b ライブラリを表出するファジミド粒子をレスキューし、P E G / N a C l 精製にて精製し、二次選別に用いた。

【0 1 1 5】

実施例 7

親和性成熟抗 F A P クローンの選別

ポリ-リジン及び $6 \times h i s$ -タグの 5' にクローニングしたヒト又はネズミ科の線維芽細胞活性化タンパク質 (F A P) の外部ドメインに対して選別を行った。表 5 の配列番号 : 5 3 および 5 5 を参照。選別の前に、選別のラウンドに応じて、 $10 \mu g / m l$ 、 $5 \mu g / m l$ 又は $0.2 \mu g / m l$ の濃度の抗原をイムノチューブにコートした。選別は、以下のプロトコルに従って行った。(i) およそ 10^{12} ファジミド粒子のライブラリ a.m.F A P 2 D 9、a.m.F A P 4 B 8 又は a.m.F A P プールの、固定したヒト又はネズミ科 F A P への 2 時間の結合、(ii) (ライブラリと選別ラウンドに応じて) 5 m l の P B S / T w e e n 2 0 にて 5 回及び 5 m l の P B S にて 5 回によるイムノチューブの洗浄、(iii) 1 m l の 1 0 0 m M T E A (トリエチルアミン) を 1 0 分間添加することによるファージ粒子の溶出と、5 0 0 μ l の 1 M トリス / H C l p H 7. 4 の添加による中和、及び (v) 対数期大腸菌 T G 1 細胞の再感染、ヘルパーファージ V C S M 1 3 による感染、およびその後の選別ラウンドに用いるためのファジミド粒子のその後の P E G / N a C l 沈殿。

選別は 2 ラウンド以上行い、3 つのライブラリ各々について個々に条件を調整した。具体的には、選別パラメータは、a.m.F A P 2 D 9 (ラウンド 1 では $5 \mu g / m l$ のヒト F A P と合計 2 0 回の洗浄、ラウンド 2 では $1 \mu g / m l$ のヒト F A P と合計 3 0 回の洗浄)、a.m.F A P 4 B 8 (ラウンド 1 では $1 \mu g / m l$ のネズミ科 F A P と合計 3 0 回の洗浄、ラウンド 2 では $0.2 \mu g / m l$ のヒト F A P と合計 4 0 回の洗浄)、および a.m.F A P プール (ラウンド 1 では $5 \mu g / m l$ のヒト F A P と合計 3 0 回の洗浄、ラウンド 2 では $5 \mu g / m l$ のネズミ科 F A P と合計 3 0 回の洗浄) とした。特異的な結合体を、バックグラウンドの 5 倍の高さのシグナルと定義し、E L I S A によって識別した。N U N C マキシソーププレートに $1 \mu g / m l$ 又は $0.2 \mu g / m l$ のヒト又はネズミ科 F A P にてコートし、その後 F a b 含有細菌上清物の添加、抗 F l a g / H R P 二次抗体を用いたそれらの F l a g -タグによる特異的結合 F a b の検出を行った。

E L I S A ポジティブクローンを、9 6 ウェルフォーマット中で 1 m l の培養物として細菌を用いて発現させ、上清物を B I A C O R E T 1 0 0 を用いた動態学的スクリーニング実験に用いた。

【0116】

実施例 8

異なる形態の標的化 I L - 2 の有効性研究

有効性実験は、腫瘍間質に特異的な 2 つの異なるインターロイキン-2 イムノコンジュゲート分子形態を使用して実施した。F 9 奇形癌腫を、1 2 9 S v E v マウスに皮下注入し、カリパスを用いて腫瘍サイズを測定した。2 つの異なる濃度の「ダイアボディ」- I L - 2 分子を、F a b - インターロイキン-2 - F a b (F a b - I L 2 - F a b) イムノコンジュゲートと比較した。この濃度はおよその数のイムノコンジュゲート分子を表す。結果を図 3 に示す。F a b - I L 2 - F a b イムノコンジュゲートは、有意な腫瘍成長阻害を示し、2 つの異なる濃度のダイアボディ形態及びコントロールよりも良好である。

また、腫瘍間質に特異的な 2 つの異なるインターロイキン-2 イムノコンジュゲート分子形態にて処理したマウスの生存を試験した。ヒト胃腫瘍細胞株 L S 1 7 4 T を、S C I D - ベージュマウスの脾臓内に注入した。2 つの異なる濃度の「ダイアボディ」- I L - 2 分子を、F a b - I L - 2 - F a b イムノコンジュゲートと比較した。この濃度はおよその数のイムノコンジュゲート分子を表す。結果を図 4 に示す。F a b - I L - 2 - a b 形態は、ダイアボディ形態およびコントロールと比較して高い割合の生存を示した。

【0117】

実施例 9

組換え D N A 技術

Sambrook, J. et al., Molecular cloning: A laboratory manual; Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1989 に記載されるように、標準的な方法を用いて D N A を操作した。分子生物学的試薬は製造業者の指示に従って用いた。

ヒト免疫グロブリン軽鎖および重鎖のヌクレオチド配列に関する一般的な情報は、Kabat, E.A. et al., (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Ed., NIH Publication No 91-3242 に示されている。

【0118】

D N A 配列決定

D N A 配列は二本鎖配列決定法にて測定した。

【0119】

遺伝子合成

所望の遺伝子セグメントは、自動化した遺伝子合成により合成オリゴヌクレオチドと P C R 生成物から G e n e a r t A G 社 (Regensburg, Germany) により調製した。単一の制限エンドヌクレアーゼ切断部位が隣接している遺伝子セグメントを、p G A 18 (a m p R) プラスミドにクローニングした。プラスミド D N A を形質転換細菌から精製し、U V 分光法にて濃度を測定した。サブクローニングした遺伝子フラグメントの D N A 配列は、D N A 配列決定によって確認した。遺伝子セグメントを適切な制限部位にて消化し、各発現ベクターにサブクローニングした。すべてのコンストラクトは、真核細胞内の分泌のためにタンパク質を標的とするリーダーペプチドをコードする 5' 末端 D N A 配列にて消化した。表 1 3 および 1 4 はそれぞれ、それらをコードする例示的なリーダーペプチドとポリヌクレオチド配列を示す。

【0120】

【表 1 3】

表 1 3

分泌のためのリーダー配列: ポリペプチド配列

ポリペプチド配列	配列番号
MDWTWRILFLVAAATGAHS	273
MDMRVPAQLLGLLLWFPGARC	276
MGWSCILFLVATATGVHS	278

【表 1 4】

表 1 4
分泌のためのリーダー配列: ポリヌクレオチド配列

ポリヌクレオチド配列	配列番号
ATGGACTGGACCTGGAGAATCCTCTTCTTGGTGGCAGCAGCC ACAGGAGCCCACTCC	274
ATGGACTGGACCTGGAGGATCCTCTTCTTGGTGGCAGCAGCC ACAGGAGCCCACTCC	275
ATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGCCTCCTGCTGC TCTGGTTCCCAGGTGCCAGGTGT	277
ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTA CCGGTGTGCATGCC	279
ATGGGCTGGTCTCGCATCATCCTGTTTCTGGTGGCTACCGCCA CTGGAGTGCATGCC	280
ATGGGCTGGTCTCGCATCATCCTGTTTCTGGTCGCCACAGCCA CCGGCGTGCATCT	281

【0 1 2 1】

イムノコンジュゲートの調製

結果として生じたDNA配列を、哺乳動物発現ベクター（軽鎖のために1つ、重鎖／融合タンパク質のために1つ）内の、MPSVプロモーターの制御下かつ合成ポリA部位の上流にサブクローニングした。各ベクターはEBV OriP配列を持っている。

下記の実施例に適したイムノコンジュゲートは、リン酸カルシウム-形質移入を使用し、哺乳動物発現ベクターにて指数関数的に増殖するHEK293-EBNA細胞を同時形質移入して生産した。あるいは、懸濁液中で増殖するHEK293細胞にポリエチレンイミン(PEI)によって発現ベクターを形質移入するか、又は安定して形質移入されたCHO細胞プールを用いた。3F2および4G8ベースのFAP標的化Fab-IL2-Fabコンストラクトは、プロテインAマトリクスを用いた親和性クロマトグラフィーによって精製されるのに対して、2B10ベースのTNC A2標的化Fab-IL2-FabコンストラクトはプロテインGマトリクスの親和性クロマトグラフィーによって精製しなければならない。

【0 1 2 2】

簡単に言うと、TNC A2標的化2B10 Fab-IL2-Fabは、一アフィニティ工程(プロテインG)の後にサイズ排除クロマトグラフィー(Superdex 200, GE Healthcare)を行って上清から精製した。プロテインGカラムは20mM リン酸ナトリウム、20mM クエン酸ナトリウム pH7.5に平衡化し、上清をロードし、カラムを20mM リン酸ナトリウム、20mM クエン酸ナトリウム、pH7.5にて洗浄した。Fab-IL2-Fabは8.8mM 蟻酸pH3にて溶出した。溶出した分画をプールし、最終製剤バッファ: 25mM リン酸カリウム、125mM 塩化ナトリウム、100mM グリシンpH6.7にサイズ排除クロマトグラフィーによって精製した。図53は、精製および分析の例示的な結果を示す。

FAP標的化3F2 Fab-IL2-Fab又は4G8 Fab-IL2-Fabは、一アフィニティ工程(プロテインA)の後にサイズ排除クロマトグラフィー(Superdex 200, GE Healthcare)からなる同様の方法によって精製した。プロテインAカラムは20mM リン酸ナトリウム、20mM クエン酸ナトリウムpH7.5に平衡化し、上清をロードし、カラムを20mM リン酸ナトリウム、20mM クエン酸ナトリウム、500mM 塩化ナトリウム、pH7.5にて洗浄した後に、13.3mM リン酸ナトリウム、20mM クエン酸ナトリウム、500mM 塩化ナトリウム、pH5.45にて洗浄した。場合によって3度目に10mM MES、50mM 塩化ナトリウムpH5にて洗浄した。Fab-IL2-Fabは、20mM クエン酸ナトリウム、100mM 塩化ナトリウム、100mM

M グリシン、pH 3 にて溶出した。溶出した分画をプールし、最終製剤バッファ：25 mM リン酸カリウム、125 mM 塩化ナトリウム、100 mM グリシン pH 6.7 にサイズ排除クロマトグラフィによって精製した。

【0123】

実施例 10

更なる抗 F A P 親和性成熟ライブラリ(クローン 3 F 2、3 D 9、4 G 8、4 B 3 および 2 C 6 に基づく)の構築

抗 F A P 抗体の第一親和性成熟キャンペーンから予め選択した交差反応性の抗体、すなわち、クローン 3 F 2、3 D 9、4 G 8、4 B 3 及び 2 C 6 を基礎として、さらに 4 つの親和性成熟ライブラリを構築した(3 F 2 の可変領域配列に対応する表 3 の配列番号：17 および 21；3 D 9 の可変領域配列に対応する表 3 の配列番号：23 および 25；4 B 3 の可変領域配列に対応する表 3 の配列番号：33 および 35；2 C 6 の可変領域配列に対応する表 3 の配列番号：41 および 43)。より正確に言うと、4 つのライブラリは、1) 抗 F A P クローン 3 F 2、4 G 8 および 4 B 3 (可変重鎖の C D R 1 および 2 においてランダム化した V H ライブラリ、すなわち H 1 / H 2 ライブラリ)、2) 抗 F A P クローン 3 D 9 および 2 C 6 (可変軽鎖の C D R 1 および 2 においてランダム化した V L ライブラリ、すなわち L 1 / L 2 ライブラリ)、3) 抗 F A P クローン 3 F 2 (軽鎖の C D R 3 にソフトランダム化を持つ L 3 ライブラリ、すなわち L 3 ライブラリ) および 4) 抗 F A P クローン 3 F 2 (重鎖の C D R 3 にソフトランダム化を持つ H 3 ライブラリ、すなわち H 3 ライブラリ) に基づく。それぞれ L 1 / L 2 および H 1 / H 2 ライブラリには、抗 F A P 抗体の第一親和性成熟キャンペーンで概説したのと全く同じように、最初の 2 つのライブラリを構築した。これに対して、クローン 3 F 2 に基づく L 3 および H 3 親和性成熟ライブラリには、2 つの新規なプライマーを用いて、親のクローンの L 3 (A M _ 3 F 2 _ D P K 2 2 _ L 3 _ b a : CACTTTGGTCCCTCGGCCGAACGT CGGGGAAGCA TAATACCCTGCTGACAGTAATACACTGC、下線を付した塩基は 60 % が所定の塩基で 40 % が混合物 N (4 つのヌクレオチド A、C、G および T の混合物)である)、及び H 3 (A M _ 3 F 2 _ D P 4 7 _ H 3 _ f o : GGCCGTATATTACTGTGCG AAA GGG TGG TTT GGT GGT TTT AAC TACTGGGGCCAAGGAAC、下線を付した塩基は 60 % が所定の塩基で 40 % が混合物 N であり、イタリック体の塩基は 60 % が所定の塩基で 40 % が G、並びにイタリック体の下線を付した塩基は 60 % が所定の塩基で 40 % が混合物 K (2 つのヌクレオチド G および T の混合物)である)にソフトランダム化を導入した。ライブラリサイズは以下になった。H 1 / H 2 ライブラリ (1.3×10^{10})、L 1 / L 2 ライブラリ (5.6×10^9)、L 3 ライブラリ (2.3×10^{10}) および H 3 ライブラリ (2.64×10^{10})。

【0124】

実施例 11

親和性成熟抗 F A P クローンの選別

6 × リジンおよび 6 × h i s タグの上流にクローニングしたヒト及びネズミ科の線維芽細胞活性化タンパク質 (F A P) の外部ドメインに対して選別を行った(表 5 の配列番号：53 および 55 を参照)。ライブラリ及び選別のラウンドに応じて、 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.2 \mu\text{g}/\text{ml}$ 又は $0.02 \mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度の抗原をイムノチューブにコートした。抗 F A P 抗体の第一親和性成熟キャンペーンについて記述したように、選別および E L I S A ベースのスクリーニングを行った。二次スクリーニングは P r o t e O n X P R 3 6 バイオセンサ (Biorad) を使用して行い、動態学的速度定数および親和性を同じ計測器上で親和性精製した F a b 調製物を分析して決定した。以下の親和性成熟クローンを識別した。19 G 1 (表 3 の配列番号：121 および 123 を参照)、20 G 8 (表 3 の配列番号：125 および 127 を参照)、4 B 9 (表 3 の配列番号：129 および 131 を参照)、5 B 8 (表 3 の配列番号：133 および 135 を参照)、5 F 1 (表 3 の配列番号：137 および 139 を参照)、14 B 3 (表 3 の配列番号：141 および 143 を参照)、16 F 1 (表 3 の配列番号：145 および 147 を参照)、16 F 8 (表 3 の配列番号：149 および 151 を参照)、O 3 C 9 (表 3 の配列番号：153 および 155 を参照)、22 A 3 (表 3 の

配列番号：１６５および１６７を参照)、及び２９Ｂ１１(表３の配列番号：１６９および１７１を参照)(これらすべてのクローンはＨ１／Ｈ２ライブラリから選択し、親のクローン３Ｆ２から得た)、Ｏ２Ｄ７(表３の配列番号：１５７および１５９を参照)(親のクローン３Ｆ２に基づいてＬ３ライブラリから選択した)、及び２８Ｈ１(表３の配列番号：１６１および１６３を参照)および２３Ｃ１０(表３の配列番号：１７３および１７５を参照)(これら２つのクローンはＨ１／Ｈ２ライブラリから選択し、親のクローン４Ｇ８から得た)。

図２１－２５は、ＦＡＰに対する選択した親和性成熟Ｆａｂの表面プラズモン共鳴を示し、表１５は各々の親和性を示す。選択したＦａｂは、ｐＭからｎＭの高親和性範囲を持ち、選択したクローンについて測定したように、ヒト(ｈｕ)及びネズミ科(ｍｕ)ＦＡＰ並びにカニクイザル(ｃｙｎｏ)ＦＡＰについて交差反応性である。親和性成熟した抗ＦＡＰＦａｂをＦａｂ－ＩＬ２－Ｆａｂ形態に変換した。結合の特異性は、ＨＥＫ２９３又はＣＨＯ細胞に発現される、ＦＡＰに非常にホモログなＤＰＰＩＶへ結合しないことから示される。

【０１２５】

【表１５】

表１５
Fab断片(一価性結合としての親和性成熟抗FAP抗体の
動態学的平衡定数(K_D)の概要

抗体	hu FAP に対する 親和性(K_D) [pM]	mu FAP に対する 親和性(K_D) [pM]	cyno FAP に対する 親和性(K_D) [pM]
19G1	76	2600	n.d.
20G8	69	2800	n.d.
4B9	157	3300	n.d.
5B8	690	3200	n.d.
5F1	243	4100	n.d.
14B3	377	3800	n.d.
16F1	193	3400	n.d.
16F8	301	3800	n.d.
O3C9	160	3700	n.d.
O2D7	619	8300	n.d.
28H1	200	9	3600
22A3	34	655	522
29B11	35	436	23
23C10	1600	125	990

【０１２６】

実施例１２

抗ＴＮＣ Ａ２親和性成熟ライブラリの構築(クローン２Ｂ１０に基づく)

親和性成熟ライブラリは、一次ＴＮＣ Ａ２選別から予め選択した抗体に基づいて構築した。より正確に言うと、それは、親のクローン２Ｂ１０に基づいており、２つのサブライブラリからなる。１) 軽鎖(Ｌ１／Ｌ２)のＣＤＲ１およびＣＤＲ２をランダム化したＶＬサブライブラリ、及び２) 重鎖(Ｈ１／Ｈ２)のＣＤＲ１およびＣＤＲ２をランダム化したＶＨサブライブラリ。これらのサブライブラリは形質転換によりプールした。これら各サブライブラリは、増幅およびアセンブリの４つの連続した工程により構築した。Ｌ１／Ｌ２ライブラリでは、１)フラグメント１(ＬＭＢ３－ＡＭ__Ｖｋ１Ａ３０__Ｌ１__ｂａ)およびフラグメント２(ＲＪＨ５０(Ｖｋ１Ａ３０__Ｌ１／Ｌ２__ｆｏ)－ＲＪＨ５１(Ｖｋ１Ａ３０__ＢｓｉＷＩ__ｂａ))の増幅、２) 外側のプライマーＬＭＢ３およびＲＪＨ５１(Ｖｋ１Ａ３０__ＢｓｉＷＩ__ｂａ)を用いてフラグメント１および２をアセンブリし、鋳型を作製、３)フラグメント３(ＬＭＢ３－ＡＭ__Ｖｋ１Ａ３０__Ｌ２__ｂａ及びフラグメント４(ＲＪＨ５２(Ｖｋ１Ａ３０__Ｌ２／Ｌ３)－ＲＪＨ５１(Ｖｋ１Ａ３０__ＢｓｉＷＩ__ｂａ))の増幅、そして、４) 上記と同じ外側のプライマーを用いてフラグメント３および４の最終アセンブリ。Ｈ１／Ｈ２ライブラリでは、１)フラグメント１(ＲＪＨ５３－Ａ

M_{DP88}_H1_ba_opt)およびフラグメント2(RJH54(DP88_H1/H2_fo)-MS52)の増殖、2)外側のプライマーRJH53およびMS52を用いてフラグメント1および2のをアセンブリし、鋳型を作製、3)フラグメント3(RJH53-AM_{DP88}_H2_ba)およびフラグメント4(RJH55(DP88_H2/H3_fo)-MS52)の増幅、そして、4)上記と同じ外側のプライマーを用いてフラグメント3および4の最終アセンブリ。最終アセンブリ生成物は、VLサブライブラリについてはNcoI/BsiWI、そしてVHサブライブラリについてはMunI及びNheI消化し、同様に消化したアクセプタベクターにクローニングした。ライブラリサイズは 1.16×10^{10} の独立したクローンとなった。

【0127】

【表16】

表16

抗-TNC A2結合体2B10のためのL1/L2親和性成熟ライブラリで用いたプライマー	
LMB3	CAGGAAACAGCTATGACCATGATTAC
AM_Vk1A30_L1_ba	CCTGGCTTCTGCTGGTACCAGCCTAAATCATTACGAATGCC CTGACTTGCCCCGGCAGGTGATG
RJH50(Vk1A30_L1/L2_fo)	GCTGGTACCAGCAGAAGCCAGGGAAAG
RJH51(Vk1A30_BsiWI_ba)	GGTGCAGCCACCGTACGCTTGATCTC
AM_Vk1A30_L2_ba	CTTGATGGGACGCCACTCTGCAA <u>ACTGGACGCAGCATAGA</u> TCAGGCGCTTAGGGGCTTTCC
RJH52(Vk1A30_L2/L3)	TTGCAGAGTGGCGTCCCATCAAGGTTC

下線:60%元の残基、40%Vとしてランダム化

太字:60%元の残基、40%Nとしてランダム化

【表17】

表17

抗-TNC A2結合体2B10のためのH1/H2親和性成熟ライブラリで用いたプライマー	
RJH53	CATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCAC
AM_DP88_H1_ba_opt	GTCCAGGGGCCTGTCGCACCCAGCTTATAGCGTAGCTGCTG AATGTGCCTCCGGAGGCCTTG
RJH54(DP88_H1/H2_fo)	ATAAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGAC
MS52	GAAGACCGATGGGCCTTTGGTGCTAG
AM_DP88_H2_ba	GACCCTGCCCTGGAACCTCTGTGCGTAGTTTGCGGTACC <u>AA</u> <u>AGATAGGGATGATCCCTCCCATCCACTCGAGCCCTGTCCA</u> G
RJH55(DP88_H2H3_fo)	TACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGGGTCAC

下線:60%元の残基、40%Vとしてランダム化

太字:60%元の残基、40%Nとしてランダム化

【0128】

実施例13

親和性成熟した抗TNC A2クロンの選別

a v i -タグおよび6×h i s -タグの上流にクローニングしたヒトTNC A2を発現する大腸菌に対して選別を行った(表5の配列番号:57を参照)。抗原は、発現の際にインビボでビオチン化された。100から2nMのヒトTNC A2の漸減濃度を用いて、一次TNC A2選別について記述したように、溶液中で選別を行った。ELISAによる親和性成熟クロンの識別の後、Protein XPR36バイオセンサ(Biorad)を用いて二次スクリーニングを行い、動態学的速度定数および親和性を同じ計測器上で親和性精製したFab調製物を分析して決定した。以下の親和性成熟クロンが識別された。2B10_O1F7(表3の配列番号:201および203を参照)、2B10_6H10

(表3の配列番号：205および207を参照)、2B10__C3A6(表3の配列番号：185および187を参照)、2B10__D1A2(表3の配列番号：189および191を参照)、及び2B10__O7D8(表3の配列番号：197および199を参照)(これらすべてはVLサブライブラリから得た)、並びに2B10__C3B6(表3の配列番号：177および179を参照)および2B10__6A12(表3の配列番号：181および183を参照)(これら2つのクローンはVHサブライブラリから得た)。さらに、クローン2B10__D1A2では、V32D変異体を生成した(カバット番号付けに従う)(表3の配列番号：193および195を参照)。

図26は、TNC A2に対する選択した親和性成熟Fabの表面プラズモン共鳴を示し、表18は各々の親和性を示す。選択したFabはpMの高親和性範囲を持つ。

【表18】

表18

*Fab断片(一価性結合)としての親和性成熟抗TNC A2抗体の
動態学的平衡定数(K_D)の概要*

抗体	hu TNC A2に対する 親和性(KD) [pM]
2B10_C3B6	191
2B10_6A12	290
2B10_C3A6	497
2B10_O7D8	147
2B10_O1F7	56
2B10_6H10	810

【0129】

実施例14

2B10、3F2および4G8ベースのFab-IL2-Fabコンストラクトの精製

2B10、3F2および4G8ベースのFab-IL2-Fabコンストラクトのために他の精製法(実施例9に記載のものに加えて)を開発した。3F2および4G8ベースのFab-IL2-Fabコンストラクトは、プロテインAマトリクスを使用した親和性クロマトグラフィ(例えばMabSelect Sure)にて精製されうるが、2B10ベースのFab-IL2-FabコンストラクトはプロテインGマトリクス上での親和性クロマトグラフィによって精製しなければいけない。精製手順は以下の4つの工程に基づく。

1. MabSelect Sure又はプロテインGによる親和性クロマトグラフィ
2. レトロウイルス不活性を維持する低pH
3. DNAを除去するための、陰イオン交換クロマトグラフィ-Capt o Qクロマトグラフィ
4. 凝集物を除去するための、陽イオン交換クロマトグラフィ-SPセファロースFFクロマトグラフィ

あるいは、小規模で凝集物を除去するために、Superdex 200カラムのサイズ排除クロマトグラフィ(GE Healthcare)を用いることもできる。

【0130】

精製手順の例は以降、3F2ベースのFab-IL2-Fabについて示す。第一工程では、FreeStyle培地(Invitrogen)中の一過性PEI-形質移入HEK293細胞の上清をpH7に調整し、MabSelectプロテインAカラム(GE Healthcare)に加え、100mM NaPO₄、250mM NaCl、pH7にて洗浄し、そして、8.8mM ナトリウムギ酸塩、pH3にて溶出した。選択した分画は、洗浄バッファに交換し、Capt o Qカラム(GE Healthcare)に加え、10mM NaPO₄、40mM NaCl、pH6.5にて洗浄し、2M NaClにて溶出した。フロースルーをpH5に調整

し、S Pセファロース F F カラム (GE Healthcare) に加え、25 mM 酢酸ナトリウム、25 mM NaCl、pH 5 にて洗浄し、25 mM 酢酸ナトリウム、300 mM NaCl、pH 5 にて溶出した。分画は最終製剤バッファに交換した。図 27 は精製手順の概要を示す。

精製した 3 F 2 ベースの Fab-IL2-Fab は精製後純粋であり (図 28 A)、凝集物を含んでいなかった (図 28 B)。記述した精製手順は 4 G 8 ベースの Fab-IL2-Fab にも応用した。4 G 8 ベースの Fab-IL2-Fab は 3 F 2 ベースの Fab-IL2-Fab と同様な動態であった。精製した材料は精製の後純粋であり、凝集物を含んでいなかった (図 28 C-D)。

【0131】

Fab フラグメントとして 2 B 1 0 (TNC A2 結合体) を有する Fab-IL2-Fab 形態についても精製を行った。第一工程では、FreeStyle 培地 (Invitrogen) 中の一過性 PEI-形質移入 HEK 293 細胞の上清を pH 7 に調整し、プロテイン G カラム (GE Healthcare) に加え、100 mM NaPO₄、250 mM NaCl、pH 7 にて洗浄し、そして、8.8 mM ナトリウムギ酸塩、pH 3 にて溶出した。選択した分画は、洗浄バッファに交換し、Capt o Q カラム (GE Healthcare) に加え、10 mM NaPO₄、40 mM NaCl、pH 6.5 にて洗浄し、2 M NaCl にて溶出した。フロースルーを pH 5 に調整し、S Pセファロース F F カラム (GE Healthcare) に加え、25 mM 酢酸ナトリウム、25 mM NaCl、pH 5 にて洗浄し、25 mM 酢酸ナトリウム、300 mM NaCl、pH 5 にて溶出した。分画は最終製剤バッファに交換した。

図 29 は、SDS-PAGE (NuPAGE Novex ビス-トリス ミニゲル, Invitrogen, MOP S ランニングバッファ, 還元及び非還元) による生成物の分析的特徴付け (A)、及び 3 つ各々の精製工程後の生成物の分析的サイズ排除クロマトグラフィ (B) を示す。最終生成物中に 2.3 % の凝集物が検出された。

【0132】

実施例 15 安定性試験

Fab フラグメントとして フィブロネクチン外ドメイン B 結合体 L 19 を有する Fab-IL2-Fab 形態について安定性試験を行った。安定性試験のために、Fab-IL2-Fab コンストラクトをプロテイン A 親和性クロマトグラフィによって精製し、pH 3 で溶出した後、記載した Superdex 200 カラム (GE Healthcare) によるサイズ排除クロマトグラフィを行った。3 つの異なるバッファを試験し、20 mM ヒスチジン HCl、140 mM NaCl、pH 6.0 を適切なバッファとした。その後、L19 Fab-IL2-Fab は、6.3 mg/ml の濃度で 20 mM ヒスチジン HCl、140 mM NaCl、pH 6.0 中に調製し、室温及び 4 °C で 4 週間保存した。図 30 は例示的な安定性データを示す。プローブは、UV 分光法により濃度を (図 30 A) (ペレット前の沈殿物質に遠心分離した後)、そして、Superdex 200 カラムによる分析的サイズ排除クロマトグラフィにより凝集内容を (図 30 B) 毎週分析した。結果は、コンストラクトが 6 mg/ml の濃度で 4 °C 又は室温で 28 日間保存されたとき、並びに凍結/解凍を繰り返した後にも、凝集も分解も起こらなかったことを示す。これらのデータは、Fab-IL2-Fab 形態が非常に安定であり、IgG 抗体に値する動態であることを示す。

【0133】

実施例 16 表面プラスモン共鳴 (Biacore) による FAP 標的化 Fab-IL2-Fab 結合親和性

3 つの FAP 標的化 Fab-IL2-Fab コンストラクト、3 F 2 Fab-IL2-Fab、4 G 8 Fab-IL2-Fab および 3 D 9 Fab-IL2-Fab の結合親和性を、表面プラズモン共鳴にて測定した。

FAP 結合を測定するため、FAP を固定した抗 His 抗体 (ペンタ His、Qiagen # 34660) にて捕捉し、コンストラクトを分析物として用いた。分析の温度は 25 °C とし、Fab-IL2-Fab コンストラクトを 10 nM から 3.2 pM まで 1:5 に希釈した。以下の測定値パラメータを用いた。会合時間 180 秒、解離 900 秒、流速

90 μ l/分。チップは、60秒間、10mM グリシン pH 2 にて再生した。曲線を 1 : 1 モデルにフィッティングし、KD 値(Rmax 局所、RI = 0)を求めた。

IL-2 レセプター(IL-2R)鎖の親和性を決定するために、IL-2R の β および γ 鎖(b/g ; ノブ-イントゥ-ホール コンストラクト)又は α 鎖(a)をチップに固定し、Fab-IL2-Fab コンストラクトを分析物として用いた。分析の温度は 25℃とした。Fab-IL2-Fab コンストラクト 3F2 及び 3D9 を 25 nM から 0.78 nM まで 1:2 に希釈し、以下の測定値パラメータを用いた。会合時間 100 秒、解離 180 秒、流速 90 μ l/分。20 秒間、10mM グリシン pH 1.5 にて再生した。Fab-IL2-Fab コンストラクト 4G8 は、100 nM から 3.125 nM に希釈し、以下の測定値パラメータを用いた。会合時間 180 秒、解離 180 秒、流速 40 μ l/分。30 秒間、3M MgCl₂ による再生。

表 19 は、3F2 Fab-IL2-Fab、4G8 Fab-IL2-Fab および 3D9 Fab-IL2-Fab イムノコンジュゲートの結合親和性の概要を示す。親和性のピコモル値は Biacore の検出限界に達する。図 31-34 は、それぞれ Biacore センサグラムおよび親和性を示す。

【表 19】

表 19

異なる種由来の FAP および IL-2 レセプターのための FAP-標的化 Fab-IL2-Fab コンストラクトの、表面プラズモン共鳴によって定まる動態学的平衡定数(KD)の概要

コンストラクト	ヒト FAP	ネズミ科 FAP	カニクイザル FAP	IL-2 レセプター(b/g) に対する親和性 レセプター固定	IL-2 レセプター(a) に対する親和性 レセプター固定
Fab-IL2-Fab 3F2	結合力: 25 pM	結合力: 49 pM	結合力: 24 pM	2.7 nM hu IL-2R bg	ND
Fab-IL2-Fab 4G8	結合力: 83 pM	結合力: 2.3 pM	結合力: 74 pM	3.8 nM hu IL-2R bg 45.6 nM mu IL-2R bg	4.5 nM hu IL-2R a 29 nM mu IL-2R a
Fab-IL2-Fab 3D9	結合力: 96 pM	結合力: 63 pM	結合力: 105 pM	2.7 nM hu IL-2R bg	ND

【0134】

実施例 17

表面プラズモン共鳴(Biacore)による TNC A2 標的化 Fab-IL2-Fab 結合親和性

TNC A2 結合を決定するために、ビオチン化抗原(TNC fn5-A1-A2-A3 ドメイン、融合、大腸菌で発現、fn5 および A3 ドメインは常にヒト起源であるのに対して、A1 および A2 ドメインはヒト、ネズミ科又はカニクイザルである)をストレプトアビジンチップ上に固定し、イムノコンジュゲートコンストラクトを分析物として用いた。分析の温度は 25℃とした。Fab-IL2-Fab は 25 nM から 0.39 nM の 1:2 希釈し、以下の測定値パラメータを用いた。会合時間 180 秒、解離 180 秒、流速 50 μ l/分。60 秒間、10mM グリシン pH 1.5 による再生。曲線を 1:1 モデルにフィッティングし、KD 値を求めた。ネガティブコントロールとして、HEK 細胞で生産される TNC ドメイン 1 から 8 を用いた(TNC 1-8 HEK)。

IL-2 レセプター(IL-2R) β 及び γ 鎖(b/g ; ノブ-イントゥ-ホール コンストラクト)の親和性を測定するために、IL-2R コンストラクトをチップに固定し、Fab-IL2-Fab イムノコンジュゲートを分析物として用いた。分析の温度は 25℃とした。Fab-IL2-Fab イムノコンジュゲートは 25 nM から 0.78 nM の 1:2 希釈し、以下の測定値パラメータを用いた。会合時間 100 秒、解離 180 秒、流速 90 μ l/分。20 秒間、10mM グリシン pH 1.5 にて再生を行った。Fab-IL2-Fab コンストラクトは、100 nM から 3.125 nM に希釈し、以下の測定値パラメータを用いた。会合時間 180 秒、解離 180 秒、流速 40 μ l/分。30 秒間、3M

MgCl₂による再生。表20は2B10 Fab-IL2-Fabイムノコンジュゲートの結合親和性の概要を示し、図35は各々のBiacoreセンサグラムおよび親和性を示す。

【0135】

【表20】

表20

異なる種由来のTNC A2およびIL-2レセプター-β/γのためのTNC A2-標的化Fab-IL2-Fab
コンストラクトの、表面プラズモン共鳴によって定まる動態学的平衡定数(KD)の概要

コンストラクト	ヒト TNC	ネズミ科 TNC	カキイザル TNC	hu IL-2レセプター (β/γ)に対する 親和性 レセプター固定
Fab-IL2-Fab 2B10 固定化大腸菌 抗原	結合力: 0.12 nM	結合力: 0.77 nM	結合力: 0.12 nM	2.7 nM
TNC 1-8 HEK (neg. cont)	no binding			

【0136】

実施例18

標的化IL-2 Fab-IL2-Fabイムノコンジュゲートによる生物学的活性アッセイ

標的化IL-2 Fab-IL2-Fabイムノコンジュゲートの生物活性は、IL-2 (プロリユウキン)と比較して、いくつかの細胞アッセイにおいて調査した。

【0137】

NK92細胞の増殖の誘導

TNC A2 (2B10)又はFAP (3F2および4G8)を認識する標的化IL-2 Fab-IL2-Fab分子は、フィブロネクチン-EDBを認識するIL-2 (プロリユウキン)およびIL-2 L19 ダイアボディと比較して、NK92細胞の増殖を誘導する能力について調べた。

2 μg/mlのヒトテネイシン、FAP又はフィブロネクチンを96ウェル平底ELISAプレートに4℃で終夜かけてコートした。プレートをブロックした後、Fab-IL2-Fabコンストラクト又はダイアボディをプレートに滴定し、結合のために室温(RT)で90分間インキュベートした。結合していないコンストラクトを取り除くために集中的に洗浄した後、IL-2 飢餓NK92細胞(10000細胞/ウェル)を加えた。ポジティブコントロールとして、プロリユウキンをいくつかのウェルの溶液中加入した。細胞は、加湿インキュベーター(5%CO₂)中で37℃で2日間インキュベートし、細胞を溶解して、Cell Titer Gloキット(Promega)を用いてATP測定値によって増殖を決定した。

図36の結果は、すべてのFab-IL2-FabコンストラクトがNK92細胞上のIL-2 Rシグナル伝達を活性化し、それらの増殖を刺激することが可能であったことを示す。シグナル伝達に必要なIL-2 Rβ/γヘテロ二量体の結合親和性が低減しているため、細胞成長を誘導する作用は、IL-2 (プロリユウキン)と比較しておよそ10分の1以下に低減した。しかしながら、高用量での全体の有効性は維持され、IL-2 (プロリユウキン)と同等であった。

【0138】

STAT5リン酸化の誘導

更なる試験において、発明者等は、溶液中で、ヒトPBMCからの、A) CD56+NK細胞、B) CD4+CD25-CD127+ヘルパーT細胞、C) CD3+, CD8+細胞障害性T細胞およびD) CD4+CD25+FOXP3+調節T細胞(Treg)を含

む異なるエフェクター細胞群上の、FAPを認識するIL-2 Fab-IL2-Fab分子(4G8に基づく)と共にインキュベートした後のIL-2媒介性IL-2Rシグナル伝達の結果としてのSTAT5リン酸化の誘導を試験した。

提供者の指示に従って、健康なドナーの血液から単離したPBMCを、固定／透過、及び抗ホスホSTAT5抗体(Becton Dickinson)にて染色する前に、異なる濃度のプロリユウキン又はFab-IL2-Fabにて20分間処理した。リン酸化したSTAT5並びにFOXP3の細胞内染色の後、フローサイトメトリ(FACS Canto II)によって異なるサブ集団を決定するために、表面マーカー(CD3、CD4、CD8、CD56およびCD127)を染色した。

図37の結果は図36の所見を裏付けるものであり、4G8 Fab-IL2-Fabコンストラクトが様々なIL-2Rポジティブエフェクター細胞上のIL-2Rシグナル伝達を活性化し、IL-2R下流のシグナル伝達およびSTAT5リン酸化を誘導することが可能であったことを示す。シグナル伝達に必要なIL-2R β / γ ヘテロ二量体に対する結合親和性が低減していたので、STAT5リン酸化を誘導する作用は、IL-2(プロリユウキン)と比較しておよそ10分の1以下に低減していた。しかしながら、高用量での全体の有効性は維持され、IL-2(プロリユウキン)と同等であった。

【0139】

溶液中及び固定によるIFN- γ 放出および増殖誘導

更なる試験では、発明者等は、標的化IL-2イムノコンジュゲートが結合し、腫瘍細胞又は腫瘍間質上に固定され、そして、エフェクター細胞を活性化しうる腫瘍で生じる状況を再現することを目的とした。このために、発明者等は、溶液中で、NK92細胞によるIFN- γ 放出アッセイ並びにイムノコンジュゲートによる増殖アッセイを行うか、あるいは、発明者等は、TNC又はFAP抗原にてマイクロタイタープレートをコートして、標的化IL-2イムノコンジュゲートをTNC又はFAPへの結合によって固定した。

2 μ g/mlのヒトテネイシン又はFAPを96ウェル平底ELISAプレートに4℃で終夜かけてコートした。プレートをブロックした後に、Fab-IL2-Fabコンストラクトをプレートに滴定し、結合のためにRTで90分間インキュベートした。結合していないコンストラクトを除去するために集中的に洗浄した後、IL-2飢餓NK92細胞(10000細胞/ウェル)を加えた。ポジティブコントロールとして、プロリユウキンをいくつかのウェルの溶液に加えた。増殖を測定するために、細胞は、加湿インキュベーター(5%CO₂)中で37℃で2日間インキュベートし、細胞を溶解して、Cell Titer Gloキット(Promega)を用いてATP測定値によって増殖を決定した。IFN- γ の放出は、Becton DickinsonのヒトIFN- γ ELISAキットにて細胞の上清中でFab-IL2-Fabと共に24時間インキュベートした後に、異なる手法で測定した。

この結果は、FAP、TNC A1又はTNC A2を標的とするすべてのFab-IL2-Fabコンストラクトが、NK92細胞上のIL-2Rシグナル伝達を活性化し、その細胞の増殖(図38A)並びに溶液中に存在する場合にはIFN- γ 分泌(図38C)を誘導したことを裏付けるものであった。シグナル伝達に必要なIL-2R β / γ ヘテロ二量体の結合親和性が低減しているので、IFN- γ 放出を誘導する作用は、IL-2(プロリユウキン)と比較しておよそ10分の1以下に低減した。しかしながら、高用量での全体の有効性は維持され、IL-2(プロリユウキン)と同等であった。マイクロタイタープレートをFAP又はTNCにてコートし、コンストラクトをプレートに固定した場合、FAP、TNC A1又はTNC A2を標的とするすべてのFab-IL2-Fabコンストラクトは、NK92細胞上のIL-2Rシグナル伝達を活性化して、細胞成長(図38B)およびIFN- γ 放出(図38D)を誘導することが依然として可能であった。溶液で行ったアッセイと比較して、コーティングしてないIL-2(プロリユウキン)と固定したFab-IL2-Fabコンストラクトとの間の有効性の相違は一桁大きかったが、高用量での有効性は維持されており、IL-2(プロリユウキン)と同等であった。

これらのデータは、全身の曝露は低い、機能を媒介する疾患の部位に集積する標的化

イムノコンジュゲートを生成するというコンセプトを強く支持する。

以下の実施例では、発明者等は、これらのインビトロ特性が異種移植片モデルにおいてインビボで優れた有効性を示すか否かを調べた。

【0140】

実施例19 ヒト腫瘍細胞株の異種移植片におけるFAP及びTNCA2に対する標的化Fab-IL2-Fabイムノコンジュゲートのインビボ有効性

いくつかの異種移植片モデルにおいて、FAPおよびTNCA2に対する標的化Fab-IL2-Fabイムノコンジュゲートをそれらの抗腫瘍有効性について試験した。

【0141】

LS174T異種移植片モデル

TNCA2標的化2B10 Fab-IL2-Fabイムノコンジュゲートは、SCIDマウスの脾臓内に注入したヒト結腸直腸LS174T細胞株において試験した。

元々はECCC(細胞培養物の欧州保存機関)から入手したLS174T細胞(ヒト大腸カルシノーマ細胞)を増殖させた後Glycart内部細胞貯蔵所に寄託した。LS174Tは、10%FCS(PAA Laboratories, Austria)、1%Glutamaxおよび1%MEM非必須アミノ酸(Sigma)を含有するMEMイーグルズ培地中で培養した。細胞は、5%CO₂下、水飽和した空气中、37℃で培養した。脾臓内注入には、92.8%の生存度のインビトロ15継代物を用いた。麻酔したSCID/ベージュマウスの左腹部に小さな切り傷を付けた。50マイクロリットル(AimV培地中 3×10^6 のLS174T細胞)の細胞懸濁液を、腹壁を貫いて脾臓の莢膜直下に注入した。鉗子を用いて創傷を閉じた。

雌SCIDマウス(実験開始時8-9週齢、Taconics, Denmarkから購入)は、預託ガイドライン(GV-Solas; Felasa; TierschG)に従って、12時間明所/12時間暗所の1日周期の特定病原体除去条件下で維持した。実験研究プロトコルは審査を受け、地方自治(P2008016)に承認された。到着後、新しい環境に慣れさせるため、また観察のために動物を1週間維持した。継続的な健康管理を定期的に行った。

試験0日目にマウスの脾臓内に、 3×10^6 のLS174T細胞を注入し、ランダム化し、計量した。腫瘍細胞注入の1週間後に、マウスに、TNCA2標的化2B10 Fab-IL2-Fab(Fab-IL2-Fab-SH2B10)、フィブロネクチン-EDB標的化L19 IL-2-ダイアボディ又はプロリウキンを、週2回、3週間静脈注射した。

すべてのマウスに、200μlの適切な溶液を静脈注射した。ベヒクル群のマウスにはPBSを注射し、治療群にはFab-IL2-Fabコンストラクト、ダイアボディ又はプロリウキンを注射した。200μlにつき適切な量のイムノコンジュゲートを得るために、必要に応じて原液をPBSにて希釈した。

図39は、TNCA2標的化2B10 Fab-IL2-Fabイムノコンジュゲートが、フィブロネクチン-EDBを標的とするネイキッドIL-2(プロリウキン)およびIL-2ダイアボディ分子と比較して、生存中位値の向上において優れた有効性を示したことを示す。

【0142】

【表 2 1】

表 2 1

化合物	用量	製剤バッファ	濃度 (mg/mL)
L19 IL-2 ダイアボディ	12 μ g	20 mM クエン酸ナトリウム, 190 mM ショ糖, 20 mM アルギニン, pH 6.5	2.00 (= 保存液)
プロリユウキン (IL-2)	4 μ g	マンニトール ラウリル硫酸ナトリウム リン酸ナトリウム	1.0 (= 保存液)
huTNC A2 2B10 (G65S) Fab-IL2- Fab = SH2B10	16 μ g	25 mM リン酸カリウム, 125 mM NaCl, 100 mM グリシン, pH 6.7	1.86 (= 保存液)

【0143】

A C H N 異種移植片モデル

F A P 標的化 3 F 2 又は 4 G 8 F a b - I L 2 - F a b イムノコンジュゲートは、S C I D マウスの腎臓内に注入したヒト腎臓細胞株 A C H N において試験した。

元々は A T C C (米国培養細胞系統保存機関) から入手した A C H N 細胞 (ヒト腎臓腺癌細胞) を増殖させた後 G l y c a r t 内部細胞貯蔵所に寄託した。A C H N は 1 0 % F C S を含む D M E M 中で培養した。細胞は、5 % C O 2 下、水飽和した空气中、3 7 °C で培養した。腎臓内注入には、9 7 . 7 % の生存度のインビトロ 9 継代物を用いた。麻酔した S C I D マウスの右腹部かつ腹膜壁に小さい切り傷 (2 c m) を付けた。5 0 μ l (A i m V 培地中 1×10^6 の A C H N 細胞) の細胞懸濁液を腎臓内の 2 m m の莢膜に注入した。鉗子を用いて創傷を閉じた。

雌 S C I D マウス (実験開始時 8 - 9 週齢、Charles River, Sulzfeld, Germany から購入) は、預託ガイドライン (GV-Solas; Felasa; TierschG) に従って、1 2 時間明所 / 1 2 時間暗所の 1 日周期の特定病原体除去条件下で維持した。実験研究プロトコールは審査を受け、地方自治 (P 2 0 0 8 0 1 6) に承認された。到着後、新しい環境に慣れさせるため、また観察のために動物を 1 週間維持した。継続的な健康管理を定期的に行った。

試験 0 日目にマウスの腎臓内に、 1×10^6 の A C H N 細胞を注入し、ランダム化し、計量した。腫瘍細胞注入の 1 週間後に、マウスに、プロリユウキン、L 1 9 I L - 2 ダイアボディ又は F A P 標的化 4 G 8 又は 3 F 2 F a b - I L 2 - F a b イムノコンジュゲートを、週 2 回、3 週間静脈注射した。

すべてのマウスに、2 0 0 μ l の適切な溶液を静脈注射した。ベヒクル群のマウスには P B S を注射し、治療群にはプロリユウキン、L 1 9 I L - 2 ダイアボディ又は F A P 標的化 4 G 8 又は 3 F 2 F a b - I L 2 - F a b イムノコンジュゲートを注射した。2 0 0 μ l につき適切な量のイムノコンジュゲートを得るために、必要に応じて原液を P B S にて希釈した。

図 4 0 は、F A P 標的化 3 F 2 及び 4 G 8 F a b - I L 2 - F a b イムノコンジュゲートが、フィブロネクチン - E D B を標的とするネイキッド I L - 2 (プロリユウキン) および I L - 2 ダイアボディ分子と比較して、生存中位値の向上において優れた有効性を示したことを示す。ネズミ科 F A P に高い親和性を有する 4 G 8 ベースの F a b - I L 2 - F a b が、3 F 2 ベースの F a b - I L 2 - F a b より優れた有効性を示した。

【0144】

【表 2 2】

表 2 2

化合物	用量	製剤バッファ	濃度 (mg/mL)
L19 IL-2 ダイアボディ	12 μ g	20 mM クエン酸ナトリウム, 190 mM ショ糖, 20 mM アルギニン, pH 6.5	2.00 (= 保存液)
プロリウキン (IL2)	4 μ g	マンニトール ラウリル硫酸ナトリウム リン酸ナトリウム	1.0 (= 保存液)
FAP 3F2 Fab-IL2- Fab = FAP 3F2	16 μ g	25 mM リン酸カリウム, 125 mM NaCl, 100 mM グリシン, pH 6.7	2.46 (= 保存液)
FAP 4G8 Fab-IL2- Fab = FAP 4G8	16 μ g	25 mM リン酸カリウム, 125 mM NaCl, 100 mM グリシン, pH 6.7	11.8 (= 保存液)

【0145】

A 5 4 9 異種移植片モデル

TNC A 2 標的化 2 B 1 0 F a b - I L 2 - F a b イムノコンジュゲートは、SCID-ヒトFc γ RIIIトランスジェニックマウスに静脈注射したヒトNSCLC細胞株A 5 4 9において試験した。

元々はATCC(CCL-185)から入手したA 5 4 9非小細胞肺カルシノーマ細胞を増殖させた後Glycart内部細胞貯蔵所に寄託した。腫瘍細胞株は通常通り、10% FCS(Gibco)を含むDMEM中、5%CO₂下、水飽和した空气中、37℃で培養した。98%の生存度の2継代物を移植に用いた。1動物につき 2×10^6 細胞を、200 μ lのAimV細胞培養培地(Gibco)に含め尾静脈へ注入した。

雌SCID-Fc γ RIIIマウス(GLYCART-RCC)(実験開始時8-9週齢、RCC, Switzerlandで交配)は、預託ガイドライン(GV-Solas; Felasa; TierschG)に従って、12時間明所/12時間暗所の1日周期の特定病原体除去条件下で維持した。実験研究プロトコルは審査を受け、地方自治(P2008016)に承認された。到着後、新しい環境に慣れさせるため、また観察のために動物を1週間維持した。継続的な健康管理を定期的に行った。

試験0日目にマウスの静脈内に 5×10^6 のA 5 4 9細胞を注入し、ランダム化し、計量した。腫瘍細胞注射の1週後に、マウスに、2 B 1 0 F a b - I L 2 - F a b又はL 1 9 I L - 2 ダイアボディを、週2回、3週間静脈注射した。

すべてのマウスに、200 μ lの適切な溶液を静脈注射した。ベヒクル群のマウスにはPBSを注射し、治療群には2 B 1 0 F a b - I L 2 - F a bコンストラクト又はL 1 9 I L - 2 ダイアボディを注射した。200 μ lにつき適切な量のイムノコンジュゲートを得るために、必要に応じて原液をPBSにて希釈した。

図41は、TNC A 2 標的化 2 B 1 0 F a b - I L 2 - F a b イムノコンジュゲートが、フィブロネクチン-EDBを標的とするIL-2ダイアボディ分子と比較して、生存中位値の向上において優れた有効性を示したことを示す。

【0146】

【表 2 3】

表 2 3

化合物	用量	製剤バッファ	濃度 (mg/mL)
L19 IL-2 ダイアボディ	12 μ g	20 mM クエン酸ナトリウム, 190 mM シュ糖, 20 mM アルギニン, pH 6.5	2.00 (= 保存液)
huTNC A2 2B10 (G65S) Fab-IL2- Fab = 2B10	16 μ g	25 mM リン酸カリウム, 125 mM NaCl, 100 mM グリシン, pH 6.7	1.86 (= 保存液)

【0147】

実施例 20 標的化 GM-CSF Fab-GM-CSF-Fab イムノコンジュゲートの精製

Fab フラグメントとして L19 (フィブロネクチン外ドメイン-B 結合体) を有する Fab-GM-CSF-Fab イムノコンジュゲートの最初の精製は、一過性形質移入 HEK293EBNA 細胞の上清から行った。簡単に言うと、Fab-GM-CSF-Fab は、プロテイン A の後にサイズ排除クロマトグラフィによって精製した。プロテイン A カラムは、20 mM リン酸ナトリウム、20 mM クエン酸ナトリウム pH 7.5 に平衡化した。上清をロードし、カラムを、始め 20 mM リン酸ナトリウム、20 mM クエン酸ナトリウム、pH 7.5 にて、その後、20 mM リン酸ナトリウム、20 mM クエン酸ナトリウム、100 mM 塩化ナトリウム、pH 7.5 にて洗浄した。標的化 GM-CSF を、20 mM クエン酸ナトリウム、100 mM 塩化ナトリウム、100 mM グリシン pH 3 にて溶出し、その後中和した。製剤化のために、以下のバッファを用いた。25 mM リン酸カリウム、125 mM 塩化ナトリウム、100 mM グリシン pH 6.7。

図 42 は、精製の溶出特性及び、SDS-PAGE (NuPAGE Novex ビストリス ミニゲル, Invitrogen, MOPS ランニングバッファ、還元及び非還元) による生成物の分析的特徴付けの結果を示す。収率は 4.8 mg/L であった。

【0148】

実施例 21

標的化 GM-CSF Fab-GM-CSF-Fab イムノコンジュゲートによる生物学的活性アッセイ

続いて、Fab として L19 (フィブロネクチン外ドメイン-B 結合体) を有する精製した Fab-GM-CSF-Fab イムノコンジュゲートを、GM-CSF 依存性増殖アッセイにおいて分析した。簡単に言うと、GM-CSF 依存的に増殖する TF-1 細胞を、終夜をかけて飢餓状態にした後、96 ウェル平底プレート中 10000 細胞/ウェルで播いた。ヒト組換え GM-CSF (Miltenyi #130-093-862) 又は Fab-GM-CSF-Fab イムノコンジュゲートは、溶液中の細胞へ滴定した。5% CO₂ の加湿インキュベーター中で 37°C で 2 日間増殖させた後、細胞を溶解し、ATP 内容物を Promega の Cell Titer Glo アッセイにて測定した。GM-CSF 未処置の細胞を計算のために 0% の成長とした。図 43 の結果は、Fab-GM-CSF-Fab イムノコンジュゲートが TF-1 細胞の増殖を強力に誘導したことを示す。

【0149】

実施例 22 標的化 IL-12 Fab-IL12-Fab イムノコンジュゲートの精製

Fab フラグメントとして 4G8 (FAP 結合体) を有する Fab-IL12-Fab イムノコンジュゲートの最初の精製は、一過性形質移入 HEK293EBNA 細胞の上清から行った。簡単に言うと、Fab-IL12-Fab は、プロテイン A の後にサイズ排除クロマトグラフィによって精製した。プロテイン A カラムは、20 mM リン酸ナトリウ

ム、20 mM クエン酸ナトリウム pH 7.5 に平衡化した。上清をロードし、カラムを、始め 20 mM リン酸ナトリウム、20 mM クエン酸ナトリウム、500 mM 塩化ナトリウム、pH 7.5 にて洗浄した。2 回目の洗浄は、13.3 mM リン酸ナトリウム、20 mM クエン酸ナトリウム、500 mM 塩化ナトリウム、pH 5.45 にて行った。10 mM MES、50 mM 塩化ナトリウム pH 5 による 3 回目の洗浄の後、標的化 IL-12 は、20 mM クエン酸ナトリウム、100 mM 塩化ナトリウム、100 mM グリシン、pH 3 にて溶出し、その後中和した。製剤化のために、以下のバッファを用いた。25 mM リン酸カリウム、125 mM 塩化ナトリウム、100 mM グリシン pH 6.7。

図 44 は、精製の溶出特性及び、SDS-PAGE (NuPAGE Novex ビストリス ミニゲル, Invitrogen, MOPS ランニングバッファ、還元及び非還元) による生成物の分析的特徴付けの結果を示す。収率は 43 mg/L であった。

【0150】

実施例 23

標的化 IL-12 Fab-IL12-Fab イムノコンジュゲートによる生物学的活性アッセイ

続いて、Fab として 4G8 (FAP 結合体) を有する精製した Fab-IL12-Fab イムノコンジュゲートを、健康なドナーのヒト新鮮血液から単離した PBMC を用いて、IL-12 および精製した 4G8 Fab-IL12-Fab イムノコンジュゲートの効果と比較して、IL-12 誘導性 IFN- γ 放出について分析した。

簡単に言うと、PBMC を、健康なドナーのヒト新鮮血液から単離し、AIM V 培地の 96 ウェル U 底プレート (1.5×10^5 細胞/ウェル) に播いた。一定濃度の 10 ng/ml の hu IL-2 (Peprotech) をすべてのウェルに加えた。Fab-IL12-Fab コンストラクトは培地で希釈し、PBMC へ滴定した。Becton Dickinson の hu IFN- γ ELISA キット II (#550612) を用いて、およそ 20 時間後に上清を採集し、IFN- γ 濃度を決定した。

図 45 の結果は、選択した量のヒト (hu) IL-2 単独並びに IL-12 単独は、ヒト PBMC による IFN- γ 放出を有意に誘導できなかったのに対して、両サイトカインの組合せは PBMC による IFN- γ 放出を有意に引き起こした (A)。Fab-IL12-Fab コンストラクトは、10 ng/ml のヒト IL-2 の存在下で、濃度依存的な様式でヒト PBMC による IFN- γ 放出を誘導した (B)。

【0151】

実施例 24

標的化 IFN- α Fab-IFN α 2-Fab イムノコンジュゲートの精製

Fab フラグメントとして L19 (フィブロネクチン外ドメイン-B 結合体) を有する Fab-IFN α 2-Fab イムノコンジュゲートの最初の精製は、一過性形質移入 HEK 293 EBNA 細胞の上清から行った。簡単に言うと、Fab-IFN α 2-Fab は、プロテイン A の後にサイズ排除クロマトグラフィによって精製した。プロテイン A カラムは、20 mM リン酸ナトリウム、20 mM クエン酸ナトリウム pH 7.5 に平衡化した。上清をロードし、カラムを、始め 20 mM リン酸ナトリウム、20 mM クエン酸ナトリウム、pH 7.5 にて、その後、20 mM リン酸ナトリウム、20 mM クエン酸ナトリウム、100 mM 塩化ナトリウム、pH 7.5 にて洗浄した。Fab-IFN α 2-Fab を、20 mM クエン酸ナトリウム、100 mM 塩化ナトリウム、100 mM グリシン pH 3 にて溶出し、その後中和した。製剤化のために、以下のバッファを用いた。25 mM リン酸カリウム、125 mM 塩化ナトリウム、100 mM グリシン pH 6.7。

図 46 は、精製の溶出特性及び、SDS-PAGE (NuPAGE Novex ビストリス ミニゲル, Invitrogen, MOPS ランニングバッファ、還元及び非還元) による生成物の分析的特徴付けの結果を示す。収量は 8.4 mg/L であった。

【0152】

実施例 25

I F N - α F a b - I F N α 2 - F a b イムノコンジュゲートによる生物学的活性アッセイ
 続いて、F a b として L 1 9 (フィブロネクチン外ドメイン-B 結合体) を有する精製した F a b - I F N α 2 - F a b イムノコンジュゲートを、I F N - α (R o f e r o n A、R o c h e) 及び精製した L 1 9 F a b - I F N α 2 - F a b イムノコンジュゲートの作用と比較して、ジャーカット T 細胞及び A 5 4 9 腫瘍細胞の I F N α 誘導性増殖阻害について分析した。簡単に言うと、I F N - α 誘導性増殖阻害を受けやすい A 5 4 9 およびジャーカット T 細胞を、9 6 ウェル平底プレートに 5 0 0 0 細胞/ウェル (A 5 4 9) 又は 1 0 0 0 0 細胞/ウェル (ジャーカット) となるように播いた。適切な細胞培養培地での R o f e r o n A (R o c h e) 又は F a b - I F N α 2 - F a b の希釈物を溶液中の細胞へ滴定した。5 % C O 2 の加湿インキュベーター中で 3 7 °C で 2 日間増殖させた後、細胞を溶解し、A T P 内容物を Promega の C e l l T i t e r G l o アッセイにて測定した。I F N - α 未処置の細胞を計算のために 0 % の成長とした。

図 4 7 の結果は、F a b - I F N α 2 - F a b コンストラクトが、I F N - α (R o f e r o n A) に相当する濃度依存的な様式で、A) ジャーカット T 細胞及び B) A 5 4 9 細胞の増殖を阻害したことを示す。

【0153】

実施例 26 M C S P 標的化 F a b - I L 2 - F a b イムノコンジュゲートの調製

ヒト化抗 M C S P M H L G 抗体は、出典明記によって全体の内容がここに援用される国際公開 20 0 6 / 1 0 0 5 8 2 (特に実施例 1 を参照) に記載されるように生成し、F a b - I L 2 - F a b 形態 (配列番号: 2 5 5、2 5 6、2 6 1、2 6 2 を参照) に変換した。

ヒト化抗 M C S P M H L G 1 抗体は以下の通りに生成した。抗 M C S P 抗体 2 2 5 . 2 8 のネズミ科アミノ酸配列 (軽鎖および重鎖は下記を参照) は、一まとまりのヒト生殖細胞系抗体 V 遺伝子と整列配置し、配列同一性および相同性に従って分類した。

225.28 軽鎖; G e n B a n k 寄託番号 C A A 65007 (配列番号 2 6 7):

D I E L T Q S P K F M S T S V G D R V S V T C K A S Q N V D T N V A W Y Q Q K P G Q S P E P L L F S A S Y R Y T G V P D R F T G S G S G T D F T L T I S N V Q S
 E D L A E Y F C Q Q Y N S Y P L T F G G G T K L E I K

225.28 重鎖; 利用可能な G e n B a n k 寄託番号なし (配列番号 2 6 8):

Q V K L Q Q S G G L V Q P G G S M K L S C V V S G F T F S N Y W M N W R Q S P E K G L E W I A E I R L K S N N F G R Y Y A E S V K G R F T I S R D D S K S S
 A Y L Q M I N L R A E D T G I Y Y C T S Y G N Y V G H Y F D H W G Q G T T V T V S S

【0154】

潜在的アクセプター配列は、全体的に高い相同性と、すでにあるアクセプター配列の正しい標準的な残基の存在に基づいて選択した。ヒト生殖細胞系配列 I G H V 3 - 1 5 (I M G T 寄託番号 X 9 2 2 1 6) を重鎖のアクセプターとし、配列 I G K V 1 - 9 (I M G T 寄託番号 Z 0 0 0 1 3) を軽鎖に選択した。ヒト化コンストラクトは、軽鎖では M - K V 1 (配列番号: 2 6 3、2 6 4、2 6 9、2 7 0 参照)、7 (配列番号: 2 6 5、2 6 6、2 7 1、2 7 2) および 9 (配列番号: 2 5 3、2 5 4、2 5 9、2 6 0) と記し、重鎖では M H L G 1 (配列番号: 2 5 1、2 5 2、2 5 7、2 5 8 参照) と記した。

それらの設計した抗体配列の遺伝子は、従来の P C R 技術によって生成し、発現プラスミドの構築のためにヒト I g G 1 および κ 定常ドメインに融合させた。

抗体は、H E K 又は C H O のような哺乳類の細胞培養系において I g G として又は F a b - I L 2 - F a b 融合タンパク質として発現させ、プロテイン A およびサイズ排除クロマトグラフィを経て精製した。軽鎖変異体 M - K V 1 および M - K V 7 の結合データを比較すると、カバット位置 4 6 のプロリン残基は抗原への機能的結合に必須であることが明らかとなった。2 つの異なる手法を用いて以下のアミノ酸の存在を確認した。A) いわゆる復帰突然変異が I G K V 1 - 9 のヒトフレームワークに導入された。そして、B) 復帰突然変異の存在を避けるために、全フレームワーク 2 領域 (カバット位置 3 5 - 4 9) が、

GenBank登録事項AAA17574のヒト抗体の対応する領域によって交換された。この抗体は位置46のプロリン残基を天然に有する。

【0155】

MCSP標的化MHLG又はMHLG1 KV9 Fab-IL2-Fabは、一アフィニティ工程(プロテインA)の後にサイズ排除クロマトグラフィ(Superdex 200, GE Healthcare)からなる前記(実施例9)の方法によって精製した。プロテインAカラムは20mM リン酸ナトリウム、20mM クエン酸ナトリウム pH7.5に平衡化し、上清をロードし、カラムを20mM リン酸ナトリウム、20mM クエン酸ナトリウム、500mM 塩化ナトリウム、pH7.5にて洗浄した後に、13.3mM リン酸ナトリウム、20mM クエン酸ナトリウム、500mM 塩化ナトリウム、pH5.45にて洗浄した。場合によって3度目に10mM MES、50mM 塩化ナトリウム pH5にて洗浄した。Fab-IL2-Fabは、20mM クエン酸ナトリウム、100mM 塩化ナトリウム、100mM グリシン、pH3にて溶出した。溶出した分画をプールし、最終製剤バッファ: 25mM リン酸カリウム、125mM 塩化ナトリウム、100mM グリシン pH6.7にサイズ排除クロマトグラフィによって精製した。

図48(MHLG Fab-IL2-Fabについて)及び図49(MHLG1 Fab-IL2-Fabについて)は、精製の溶出特性(A)と、SDS-PAGE(NuPAGE Novex ビス-トリスマニゲル、Invitrogen、MOPSLランニングバッファ、還元及び非還元)によるMCSP標的化MHLG又はMHLG1 Fab-IL2-Fabの分析的特徴付けの結果(B)を示す。

【0156】

実施例27

MCSP標的化Fab-IL2-Fabイムノコンジュゲートによる生物学的活性アッセイ

続いて、FabとしてMHLG KV9又はMHLG1 KV9(MCSP結合体)を有する精製したFab-IL2-Fabイムノコンジュゲートを、NK92細胞上で、精製した4G8 Fab-IL2-Fab(FAP結合体)およびMHLG又はMHLG1 Fab-IL2-Fabの作用と比較して、IL-2誘導性IFN- γ 放出について分析した。

IL-2飢餓NK92細胞(予めIL-2抜きで2時間インキュベートしたもの)を、NK細胞培地(MEMa+10%FCS+10%ウマ血清+0.1mM 2-メルカプトエタノール+0.2mM イノシトール+0.02mM 葉酸)の96ウェルU底プレート(105細胞/ウェル)に播いた。MCSP標的化Fab-IL2-FabイムノコンジュゲートはNK細胞培地に希釈し、FAP標的化4G8ベースのFab-IL2-Fabイムノコンジュゲートと直接比較して、NK92細胞へ滴定した。22から24時間後に上清を採集し、Becton DickinsonのヒトIFN- γ ELISAキットII(#550612)を用いてIFN- γ 濃度を決定した。

図50(MHLG KV9 Fab-IL2-Fabについて)および図51(MHLG1 KV9 Fab-IL2-Fabについて)の結果は、MCSP又はFAPに標的化したすべてのFab-IL2-Fabイムノコンジュゲートが、濃度依存するが用いた抗原結合部分には依存しないで、NK92細胞内のIFN- γ 分泌を同程度に誘導したことを示す。

【0157】

実施例28

MCSP標的化MHLG1 KV9 Fab-IL2-Fabイムノコンジュゲートによる細胞結合アッセイ

精製したMCSP標的化MHLG1-KV9 Fab-IL2-Fabイムノコンジュゲートは、ヒトMCSP発現Colo38メラノーマ細胞への結合についてフローサイトメトリによって試した。簡単に言うと、細胞を採取し、計数して、生存度について調べた。細胞は、PBS/0.1%BSA中に 1.112×10^6 (生存)細胞/mlに調整し、丸底96ウェルプレートに180 μ l/ウェル(200000細胞/ウェル)に等分した。20 μ lの(異なる希釈物の)MHLG1 KV9 Fab-IL2-Fab免疫サイトカインを

細胞含有ウェルに添加し、4℃で30分間インキュベートした。その後細胞を遠心分離(4分、400×g)にて回収し、150μl/ウェルのPBS/0.1%BSAにて洗浄し、再懸濁し、12μl/ウェルの二次抗体(FITC-コンジュゲートAffiniPure F(ab')₂フラグメントヤギ抗ヒトF(ab')₂(Jackson Immuno Research Lab #109-096-097)と共に4℃で30分間インキュベートし、1.5mlの水およびグリセロール=原液の1:1混合物に溶解し、PBS/0.1%BSAに1:20で希釈した。続いて細胞を150μl/ウェルのPBS/0.1%BSAにて洗浄した後、PBSの洗浄工程を行い、遠心分離(4分、400×g)にて回収し、プロピジウムヨウ素(PI)を含む200μl/ウェルのPBS/0.1%BSAに再懸濁した。FACSCantoII機器(Software FACS Diva)を使用して測定を行った。結果を図52に示す。ここでは、MCSP標的化MHLG1KV9Fab-IL2-FabイムノコンジュゲートがColo38細胞に用量依存的に非常に良く結合したことが示される。

【0158】

概要及び要約の項ではなく詳細な説明の項は特許請求の範囲を理解するために用いられるものと解する。発明者(一又は複数)によって意図されるように、概要および要約の項はすべてではないが一又は複数の本発明の例示的实施態様を記載するものであり、ゆえに、いかなる形であれ本発明および添付の請求の範囲を制限するものではない。

本発明は、その特定の機能および関連性の実施を例示する機能的な構成要素と共に先に記載されている。これらの機能的構成要素の境界は、記載の便宜上、本明細書中で任意に定めている。その特定の機能および関連性が適切に実行される限りにおいて、境界の定義は変わりうる。

特定の実施態様の先の記載は、本発明の全体的な本質を十分に明らかにしているので、他者は当分野の技術内の知識を用いて、過度な実験を要することなく、また本発明の全体的な概念から逸脱することなく、その特定の実施態様を多様な用途に、容易に変更及び/又は応用することができる。したがって、本明細書に提示される教示および手引きに基づいた、このような応用および変更は、意図する範囲内であり、開示した実施態様と均等な範囲内のものである。本明細書中の表現又は用語は説明のためのものであって限定するものではなく、本明細書中の用語又は表現は教示及び手引きを考慮して当業者に解釈されるものであることは理解できるであろう。

本発明の幅および範囲は、上記いずれかの例示的な実施態様によって限定されるものではなく、以降の特許請求の範囲及びその同等な記載に従ってのみ定義されるものである。

【誤訳訂正2】

【訂正対象書類名】特許請求の範囲

【訂正対象項目名】全文

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

(a) 少なくとも一の第一単鎖エフェクタ部分と、

(b) Fv及びFabからなる群から独立して選択される第一および第二の抗原結合部分を含むイムノコンジュゲートであって、
このとき該第一エフェクタ部分は、該第一抗原結合部分とアミノー又はカルボキシー末端ペプチド結合を共有しており、
該第二抗原結合部分は、i)該第一エフェクタ部分又はii)該第一抗原結合部分のいずれかとアミノー又はカルボキシー末端ペプチド結合を共有している、イムノコンジュゲート。

【請求項2】

前記イムノコンジュゲートが、第一エフェクタ部分と、一又は複数のリンカー配列によって連結された第一および第二の抗原結合部分とから基本的になる、請求項1に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項 3】

前記第一および第二の抗原結合部分の各々が F a b 分子である、請求項 1 又は 2 に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項 4】

前記第一 F a b 分子が、その重鎖又は軽鎖のカルボキシ終末アミノ酸で、第二 F a b 分子の重鎖又は軽鎖のアミノ末端アミノ酸に連結しており、このとき、

(i) 前記第二 F a b 分子が、その重鎖又は軽鎖のカルボキシ終末アミノ酸で、前記エフェクタ部分のアミノ末端アミノ酸に連結しているか、又は、

(ii) 前記エフェクタ部分が、そのカルボキシ終末アミノ酸で、前記第一 F a b 分子の重鎖又は軽鎖のアミノ末端アミノ酸に連結している、

請求項 3 に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項 5】

前記第一 F a b 分子が、その重鎖又は軽鎖のカルボキシ末端で、前記エフェクタ部分のアミノ末端アミノ酸に連結しており、前記エフェクタ部分が、そのカルボキシ終末アミノ酸で、第二 F a b 分子の重鎖又は軽鎖の末端アミノ酸に連結している、請求項 3 に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項 6】

一又は複数の s c F v 分子にそのアミノ末端アミノ酸で連結した第一単鎖エフェクタ部分を含むイムノコンジュゲートであって、このとき前記第一単鎖エフェクタ部分が一又は複数の s c F v 分子にそのカルボキシ末端アミノ酸で連結している、イムノコンジュゲート。

【請求項 7】

タンパク質分解性切断部位が、前記抗原結合部分と前記エフェクタ部分との間に位置する、請求項 1 から 6 のいずれかに記載のイムノコンジュゲート。

【請求項 8】

前記第一および第二の抗原結合部分の可変領域が同じ抗原に特異的である、請求項 1 から 6 のいずれかに記載のイムノコンジュゲート。

【請求項 9】

前記第一および第二の抗原結合部分の可変領域が異なる抗原に特異的である、請求項 1 から 6 のいずれかに記載のイムノコンジュゲート。

【請求項 10】

前記第一および／または第二の抗原結合部分が、線維芽細胞活性化タンパク質 (F A P)、メラノーマコンドロイチン硫酸プロテオグリカン (M C S P)、テネイシン-C の A 2 ドメイン (T N C - A 2)、テネイシン-C の A 1 ドメイン (T N C - A 1) およびフィブロネクチンの外ドメイン B (E D B) からなる群から選択される抗原に特異的である、請求項 8 又は 9 に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項 11】

前記第一および／または第二の抗原結合部分が線維芽細胞活性化タンパク質 (F A P) に特異的である、請求項 8 又は 9 に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項 12】

前記イムノコンジュゲートが、配列番号：21、配列番号：25、配列番号：27、配列番号：31、配列番号：35、配列番号：39、配列番号：43、配列番号：47、配列番号：51、配列番号：69、配列番号：73、配列番号：77、配列番号：81、配列番号：85、配列番号：89、配列番号：93、配列番号：123、配列番号：127、配列番号：131、配列番号：135、配列番号：139、配列番号：143、配列番号：147、配列番号：151、配列番号：155、配列番号：159、配列番号：163、配列番号：167、配列番号：171 および配列番号：175 からなる群から選択される重鎖可変領域配列を含む、請求項 11 に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項 13】

前記イムノコンジュゲートが、配列番号：17、配列番号：19、配列番号：23、配

列番号：29、配列番号：33、配列番号：37、配列番号：41、配列番号：45、配列番号：49、配列番号：67、配列番号：71、配列番号：75、配列番号：79、配列番号：83、配列番号：87、配列番号：91、配列番号：121、配列番号：125、配列番号：129、配列番号：133、配列番号：137、配列番号：141、配列番号：145、配列番号：149、配列番号：153、配列番号：157、配列番号：161、配列番号：165、配列番号：169および配列番号：173からなる群から選択される軽鎖可変領域配列を含む、請求項11又は12に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項14】

前記イムノコンジュゲートが、(i) 配列番号：131の重鎖可変領域配列と配列番号：129の軽鎖可変領域配列、(ii) 配列番号：163の重鎖可変領域配列と配列番号：161の軽鎖可変領域配列、(iii) 配列番号：31の重鎖可変領域配列と配列番号：29の軽鎖可変領域配列、(iv) 配列番号：21の重鎖可変領域配列と配列番号：19の軽鎖可変領域配列、(v) 配列番号：25の重鎖可変領域配列と配列番号：23の軽鎖可変領域配列、(vi) 配列番号：35の重鎖可変領域配列と配列番号：33の軽鎖可変領域配列、(vii) 配列番号：39の重鎖可変領域配列と配列番号：37の軽鎖可変領域配列、(viii) 配列番号：43の重鎖可変領域配列と配列番号：41の軽鎖可変領域配列、(ix) 配列番号：47の重鎖可変領域配列と配列番号：45の軽鎖可変領域配列、(x) 配列番号：51の重鎖可変領域配列と配列番号：49の軽鎖可変領域配列、(xi) 配列番号：69の重鎖可変領域配列と配列番号：67の軽鎖可変領域配列、(xii) 配列番号：73の重鎖可変領域配列と配列番号：71の軽鎖可変領域配列、(xiii) 配列番号：77の重鎖可変領域配列と配列番号：75の軽鎖可変領域配列、(xiv) 配列番号：81の重鎖可変領域配列と配列番号：79の軽鎖可変領域配列、(xv) 配列番号：85の重鎖可変領域配列と配列番号：83の軽鎖可変領域配列、(xvi) 配列番号：89の重鎖可変領域配列と配列番号：87の軽鎖可変領域配列、(xvii) 配列番号：93の重鎖可変領域配列と配列番号：91の軽鎖可変領域配列、(xviii) 配列番号：123の重鎖可変領域配列と配列番号：121の軽鎖可変領域配列、(xix) 配列番号：127の重鎖可変領域配列と配列番号：125の軽鎖可変領域配列、(xx) 配列番号：135の重鎖可変領域配列と配列番号：133の軽鎖可変領域配列、(xxi) 配列番号：139の重鎖可変領域配列と配列番号：137の軽鎖可変領域配列、(xxii) 配列番号：143の重鎖可変領域配列と配列番号：141の軽鎖可変領域配列、(xxiii) 配列番号：147の重鎖可変領域配列と配列番号：145の軽鎖可変領域配列、(xxiv) 配列番号：151の重鎖可変領域配列と配列番号：149の軽鎖可変領域配列、(xxv) 配列番号：155の重鎖可変領域配列と配列番号：153の軽鎖可変領域配列、(xxvi) 配列番号：159の重鎖可変領域配列と配列番号：157の軽鎖可変領域配列、(xxvii) 配列番号：167の重鎖可変領域配列と配列番号：165の軽鎖可変領域配列、(xxviii) 配列番号：171の重鎖可変領域配列と配列番号：169の軽鎖可変領域配列、又は、(xxix) 配列番号：175の重鎖可変領域配列と配列番号：173の軽鎖可変領域配列、を含む、請求項11から13のいずれかに記載のイムノコンジュゲート。

【請求項15】

前記イムノコンジュゲートが、配列番号：209、配列番号：211、配列番号：213、配列番号：217、配列番号：219、配列番号：221、配列番号：223、配列番号：225および配列番号：227の群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列を含む、請求項11に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項16】

前記イムノコンジュゲートが、配列番号：229、配列番号：231、配列番号：233および配列番号：237の群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列を含む、請求項11に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項17】

前記イムノコンジュゲートが、

(i) 配列番号：2 1 1、配列番号：2 1 9および配列番号：2 2 1の群から選択されるポリペプチド配列と配列番号：2 3 1のポリペプチド配列、または、

(ii) 配列番号：2 0 9、配列番号：2 2 3、配列番号：2 2 5および配列番号：2 2 7の群から選択されるポリペプチド配列と、配列番号：2 2 9のポリペプチド配列、または、

(iii) 配列番号：2 1 3のポリペプチド配列と配列番号：2 3 3のポリペプチド配列、または、

(iv) 配列番号：2 1 7のポリペプチド配列と配列番号：2 3 7のポリペプチド配列、を含む、請求項1 1に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項1 8】

前記第一および／または第二の抗原結合部分がメラノーマコンドロイチン硫酸プロテオグリカン(M C S P)に特異的である、請求項8又は9に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項1 9】

前記イムノコンジュゲートが、配列番号：2 5 7又は配列番号：2 6 1の重鎖可変領域配列を含む、請求項1 8に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項2 0】

前記イムノコンジュゲートが、配列番号：2 5 9又は配列番号：2 7 1の軽鎖可変領域配列を含む、請求項1 8又は1 9に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項2 1】

前記イムノコンジュゲートが、配列番号：2 5 1又は配列番号：2 5 5の配列と少なくともおよそ8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %又は1 0 0 %同一であるポリペプチド配列を含む、請求項1 8に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項2 2】

前記イムノコンジュゲートが、配列番号：2 5 3又は配列番号：2 6 5の配列と少なくともおよそ8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %又は1 0 0 %同一であるポリペプチド配列を含む、請求項1 8又は2 1に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項2 3】

前記第一および／または第二の抗原結合部分がテネイシンのA 2ドメイン(T N C - A 2)に特異的である、請求項8又は9に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項2 4】

前記イムノコンジュゲートが、配列番号：7、配列番号：1 7 9、配列番号：1 8 3、配列番号：1 8 7、配列番号：1 9 1、配列番号：1 9 5、配列番号：1 9 9、配列番号：2 0 3および配列番号：2 0 7の群から選択される重鎖可変領域配列を含む、請求項2 3に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項2 5】

前記イムノコンジュゲートが、配列番号：3、配列番号：5；配列番号：1 7 7、配列番号：1 8 1、配列番号：1 8 5、配列番号：1 8 9、配列番号：1 9 3、配列番号：1 9 7、配列番号：2 0 1および配列番号：2 0 5の群から選択される軽鎖可変領域配列を含む、請求項2 3又は2 4に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項2 6】

前記イムノコンジュゲートが、(i) 配列番号：7の重鎖可変領域配列と配列番号：5の軽鎖可変領域配列、(ii) 配列番号：1 7 9の重鎖可変領域配列と配列番号：1 7 7の軽鎖可変領域配列、(iii) 配列番号：1 8 3の重鎖可変領域配列と配列番号：1 8 1の軽鎖可変領域配列、(iv) 配列番号：1 8 7の重鎖可変領域配列と配列番号：1 8 5の軽鎖可変領域配列、(v) 配列番号：1 9 1の重鎖可変領域配列と配列番号：1 8 9の軽鎖可変領域配列、(vi) 配列番号：1 9 5の重鎖可変領域配列と配列番号：1 9 3の軽鎖可変領域配列、(vii) 配列番号：1 9 9の重鎖可変領域配列と配列番号：1 9 7の軽鎖可変領域配列、(viii) 配列番号：2 0 3の重鎖可変領域配列と配列番号：2 0 1の軽鎖可変領域配列、

列、または、(ix) 配列番号：207の重鎖可変領域配列と配列番号：205の軽鎖可変領域配列、を含む、請求項23から25のいずれかに記載のイムノコンジュゲート。

【請求項27】

前記イムノコンジュゲートが、配列番号：239、配列番号：241および配列番号：243の群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列を含む、請求項23に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項28】

前記イムノコンジュゲートが、配列番号：245、配列番号：247および配列番号：249の群から選択される配列と少なくともおよそ80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一であるポリペプチド配列を含む、請求項23又は27に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項29】

前記第一および第二の抗原結合部分の可変領域が、癌細胞又はウイルスに感染している細胞の細胞表面抗原に、または、腫瘍に発現される細胞外マトリクス (ECM) 分子に特異的である、請求項1から8のいずれかに記載のイムノコンジュゲート。

【請求項30】

前記イムノコンジュゲートがただ1つのエフェクタ部分を持ち、該エフェクタ部分がサイトカインである、請求項1から10のいずれかに記載のイムノコンジュゲート。

【請求項31】

前記サイトカインが、インターロイキン2 (IL-2)、顆粒球マクロファージ-コロニー刺激因子 (GM-CSF)、インターフェロン- α (INF- α) およびインターロイキン12 (IL-12) からなる群から選択される、請求項30に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項32】

前記サイトカインがIL-2である、請求項31に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項33】

請求項1から5のいずれかに記載のイムノコンジュゲートのフラグメントをコードする単離されたポリヌクレオチドであって、該ポリヌクレオチドが、
(i) 前記第一および第二の抗原結合部分の重鎖と前記第一エフェクタ部分、または、
(ii) 前記第一および第二の抗原結合部分の軽鎖と前記第一エフェクタ部分、または、
(iii) 前記第一抗原結合部分の一軽鎖と、前記第二抗原結合部分の一重鎖と、前記第一エフェクタ部分
をコードするものである、単離されたポリヌクレオチド。

【請求項34】

請求項6に記載のイムノコンジュゲートをコードする単離されたポリヌクレオチド。

【請求項35】

請求項33又は34に記載のポリヌクレオチド配列を含んでなる発現カセット。

【請求項36】

請求項35に記載の発現カセットを含んでなる発現ベクター。

【請求項37】

請求項36に記載の発現ベクターを含んでなる宿主細胞。

【請求項38】

請求項1から32のいずれかに記載のイムノコンジュゲートの製造方法であって、請求項37に記載の宿主細胞を、イムノコンジュゲートの発現に適切な条件下で培養することを含む方法。

【請求項39】

請求項1から32のいずれかに記載のイムノコンジュゲートと薬学的担体とを含む組成物。

【請求項40】

必要とする患者の疾患を治療するための医薬の製造のための、請求項1から32のい

れかーに記載のイムノコンジュゲート又は請求項3 9に記載の組成物の使用。

【請求項 4 1】

前記疾患が癌である、請求項4 0に記載の使用。

【請求項 4 2】

必要とする患者の疾患の治療のための、請求項 1 から3 2のいずれかーに記載のイムノコンジュゲート。

【請求項 4 3】

前記疾患が癌である、請求項4 2に記載のイムノコンジュゲート。