(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第6687520号
(P6687520)
(45)発行日　令和2年4月22日(2020.4.22)　(24)登録日　令和2年4月6日(2020.4.6)

(51)Int.Cl.		F I		
C07K 16/46	(2006.01)	C07K	16/46	
C12N 15/13	(2006.01)	C12N	15/13	ZNA
C12N 1/15	(2006.01)	C12N	1/15	
C12N 1/19	(2006.01)	C12N	1/19	
C12N 1/21	(2006.01)	C12N	1/21	

請求項の数 20　(全 283 頁)　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2016-527148(P2016-527148)
(86)(22)出願日　平成26年7月18日(2014.7.18)
(65)公表番号　特表2016-527234(P2016-527234A)
(43)公表日　平成28年9月8日(2016.9.8)
(86)国際出願番号　PCT/US2014/047315
(87)国際公開番号　WO2015/010100
(87)国際公開日　平成27年1月22日(2015.1.22)
審査請求日　平成29年7月18日(2017.7.18)
(31)優先権主張番号　61/856,010
(32)優先日　平成25年7月18日(2013.7.18)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(73)特許権者　519120488
トーラス　バイオサイエンシズ　リミテッド　ライアビリティ　カンパニー
アメリカ合衆国　９２１２７　カリフォルニア州　サンディエゴ　テクノロジー　プレイス　１０９２９
(74)代理人　100102978
弁理士　清水　初志
(74)代理人　100102118
弁理士　春名　雅夫
(74)代理人　100160923
弁理士　山口　裕孝
(74)代理人　100119507
弁理士　刑部　俊

最終頁に続く

(54)【発明の名称】極めて長い相補性決定領域を有するヒト化抗体

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
(1) 式V1-X-V2の配列を含む重鎖可変領域、ならびに
(2) VL1-51生殖系列配列またはVL1-51生殖系列配列に由来する配列である軽鎖可変領域を含む、ヒト化抗体またはその抗原結合断片であって、
(a)V1が
(i)SEQ ID NO: 734またはSEQ ID NO: 735、
(ii)SEQ ID NO: 736またはSEQ ID NO: 737、
(iii)SEQ ID NO: 738またはSEQ ID NO: 739、
(iv)SEQ ID NO: 740またはSEQ ID NO: 741、
(v)SEQ ID NO: 742またはSEQ ID NO: 743、
(vi)SEQ ID NO: 744またはSEQ ID NO: 745、
(vii)SEQ ID NO: 746またはSEQ ID NO: 747、および
(viii)SEQ ID NO: 748またはSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み;かつ
(b)Xが極めて長いCDR3を含み、該極めて長いCDR3が、35アミノ酸長またはそれ以上であり、かつ、アミノ酸配列TSVHQETKKYQS (SEQ ID NO: 498)、非抗体配列、およびアミノ酸配列SYTYNYEWHVDV (SEQ ID NO: 499)という順でこれらの配列を含み、該非抗体配列が、サイトカイン配列、リンフォカイン配列、ケモカイン配列、増殖因子配列、ホルモン配列、または毒素配列であり；かつ

(c)V2が、WGHGTAVTVSS (SEQ ID NO: 570)、WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 571)、WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 572)、WGRGTLVTVSS (SEQ ID NO: 573)、WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 574)、およびWGQGLLVTVSS (SEQ ID NO: 500)からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、ヒト化抗体またはその抗原結合断片。

【請求項２】

極めて長いCDR3が、35アミノ酸長もしくはそれ以上、40アミノ酸長もしくはそれ以上、45アミノ酸長もしくはそれ以上、50アミノ酸長もしくはそれ以上、55アミノ酸長もしくはそれ以上、または60アミノ酸長もしくはそれ以上である、請求項1記載のヒト化抗体またはその抗原結合断片。

【請求項３】

極めて長いCDR3が、3個もしくはそれ以上のシステイン残基、4個もしくはそれ以上のシステイン残基、5個もしくはそれ以上のシステイン残基、6個もしくはそれ以上のシステイン残基、7個もしくはそれ以上のシステイン残基、8個もしくはそれ以上のシステイン残基、9個もしくはそれ以上のシステイン残基、10個もしくはそれ以上のシステイン残基、11個もしくはそれ以上のシステイン残基、または12個もしくはそれ以上のシステイン残基を含む、請求項1または2記載のヒト化抗体またはその抗原結合断片。

【請求項４】

非抗体配列が、IL-8配列、IL-21配列、SDF-1(α)配列、ソマトスタチン配列、クロロトキシン配列、Pro-TxII配列、ジコノチド配列、ADWX-1配列、HsTx1配列、OSK1配列、Pi2配列、ホンゴトキシン(Hongotoxin)(HgTX)配列、マルガトキシン(Margatoxin)配列、アギトキシン(Agitoxin)-2配列、Pi3配列、カリオトキシン(Kaliotoxin)配列、アニュロクトキシン(Anuroctoxin)配列、カリブドトキシン(Charybdotoxin)配列、チチウストキシン(Tityustoxin)-K-α配列、マウロトキシン配列、セラトトキシン1(CcoTx1)配列、CcoTx2配列、CcoTx3配列、フリクソトキシン3(PaurTx3)配列、ハナトキシン1配列、フリクソトキシン1配列、フエントキシン-IV配列、α-コノトキシンImI配列、α-コノトキシンEpI配列、α-コノトキシンPnIA配列、α-コノトキシンPnIB配列、α-コノトキシンMII配列、α-コノトキシンAuIA配列、α-コノトキシンAuIB配列、α-コノトキシンAuIC配列、コノトキシンκ-PVIIA配列、カリブドトキシン配列、ニューロトキシンB-IV配列、クロタミン配列、ω-GVIA(コノトキシン)配列、κ-ヘフトキシン1配列、Css4配列、Bj-xtrIT配列、BcIV配列、Hm-1配列、Hm-2配列、GsAF-I(β-テラホトキシン(theraphotoxin)-Gr1b)配列、プロトキシンI(ProTx-I配列、β-テラホトキシン-Tp1a)配列、プロトキシンII(ProTx II)配列、フエントキシンI配列、μ-コノトキシンPIIIA配列、ジンザオトキシン-III(β-TRTX-Cj1α)配列、GsAF-II(κ-テラホトキシン-Gr2c)配列、ShK(スチコダクチラ(Stichodactyla)毒素)配列、HsTx1配列、ガンギシトキシン(Guangxitoxin)1E(GxTx-1E)配列、マウロトキシン配列、カリブドトキシン(ChTX)配列、イベリオトキシン(Iberiotoxin)(IbTx)配列、レイウロトキシン(Leiurotoxin)1(シラトキシン)配列、タマピン(Tamapin)配列、カリオトキシン-1(KTX)配列、ピューロトキシン(Purotoxin)1(PT-1)配列、もしくはGpTx-1配列、MOKA毒素配列、またはHmK配列である、請求項1～3のいずれか一項記載のヒト化抗体またはその抗原結合断片。

【請求項５】

非抗体配列が、OSK1(P12、K16、D20)配列、OSK1(K16、D20)配列、ShK(K16、Y26、K29)配列、ShK(K16)配列、ShK-A(K16)配列、またはShK(K16、E30)配列である、請求項1～4のいずれか一項記載のヒト化抗体またはその抗原結合断片。

【請求項６】

非抗体配列が、SEQ ID NO: 475～481、599～655、666～698、727～733、および808～810のいずれか1つに記載される、請求項1～4のいずれか一項記載のヒト化抗体またはその抗原結合断片。

【請求項７】

非抗体配列が、IL-8配列、プロトキシンII(ProTxII)配列、ShK(スチコダクチラ毒素)配列、またはGpTx-1配列、またはMOKA毒素配列である、請求項1～4のいずれか一項記載のヒ

ト化抗体またはその抗原結合断片。
【請求項８】
非抗体配列がShK配列である、請求項1～4および7のいずれか一項記載のヒト化抗体またはその抗原結合断片。
【請求項９】
ShK配列が、SEQ ID NO: 646のアミノ酸配列である、請求項4、7、および8のいずれか一項記載のヒト化抗体またはその抗原結合断片。
【請求項１０】
V1が、SEQ ID NO: 741のアミノ酸配列を含む、請求項1～9のいずれか一項記載のヒト化抗体またはその抗原結合断片。
【請求項１１】
軽鎖可変領域が、Kabatの番号付与に基づくS2A置換、T5N置換、P8S置換、A12G置換、A13S置換、およびP14L置換を含むVL1-51生殖系列配列を含む、請求項1～10のいずれか一項記載のヒト化抗体またはその抗原結合断片。
【請求項１２】
軽鎖可変領域が、Kabatの番号付与に基づくS2A置換、T5N置換、P8S置換、A12G置換、A13S置換、およびP14L置換を含むVL1-51生殖系列配列と、DNNからGDTへの置換を含むCDR2とを含む、任意で、軽鎖領域がSEQ ID NO:792に記載される、請求項1～11のいずれか一項記載のヒト化抗体またはその抗原結合断片。
【請求項１３】
VL1-51生殖系列配列が、SEQ ID NO:805の配列を含む、請求項10～12のいずれか一項記載のヒト化抗体またはその抗原結合断片。
【請求項１４】
請求項1～13のいずれか一項記載のヒト化抗体またはその抗原結合断片の重鎖可変領域をコードする、ポリヌクレオチド。
【請求項１５】
請求項1～13のいずれか一項記載のヒト化抗体またはその抗原結合断片の軽鎖可変領域をコードする、ポリヌクレオチド。
【請求項１６】
請求項14または15記載のポリヌクレオチドを含む、ベクター。
【請求項１７】
請求項16記載のベクターを含む、宿主細胞。
【請求項１８】
ヒト化抗体またはその抗原結合断片をコードする配列を構成する複数のポリヌクレオチドを含む核酸ライブラリーであって、該抗体またはその抗原結合断片が（1）式V1-X-V2の配列を含む重鎖可変領域、ならびに（2）VL1-51生殖系列配列またはVL1-51生殖系列配列に由来する配列である軽鎖可変領域を含み、
(a) V1が
(i)SEQ ID NO: 734またはSEQ ID NO: 735、
(ii)SEQ ID NO: 736またはSEQ ID NO: 737、
(iii)SEQ ID NO: 738またはSEQ ID NO: 739、
(iv)SEQ ID NO: 740またはSEQ ID NO: 741、
(v)SEQ ID NO: 742またはSEQ ID NO: 743、
(vi)SEQ ID NO: 744またはSEQ ID NO: 745、
(vii)SEQ ID NO: 746またはSEQ ID NO: 747、および
(viii)SEQ ID NO: 748またはSEQ ID NO: 749
からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み;かつ
(b)Xが極めて長いCDR3を含み、該極めて長いCDR3が、35アミノ酸長またはそれ以上であり、かつ、アミノ酸配列TSVHQETKKYQS (SEQ ID NO: 498)、非抗体配列、およびアミノ酸配列SYTYNYEWHVDV (SEQ ID NO: 499)という順でこれらの配列を含み、該非抗体配列が、

サイトカイン配列、リンフォカイン配列、ケモカイン配列、増殖因子配列、ホルモン配列、または毒素配列であり；かつ
(c)V2が、WGHGTAVTVSS (SEQ ID NO: 570)、WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 571)、WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 572)、WGRGTLVTVSS (SEQ ID NO: 573)、WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 574)、およびWGQGLLVTVSS (SEQ ID NO: 500)からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、核酸ライブラリー。

【請求項１９】
ヒト化抗体またはその抗原結合断片のライブラリーであって、該抗体またはその抗原結合断片が（1）式V1-X-V2の配列を含む重鎖可変領域、ならびに（2）VL1-51生殖系列配列またはVL1-51生殖系列配列に由来する配列である軽鎖可変領域を含み、
(a) V1が
(i)SEQ ID NO: 734またはSEQ ID NO: 735、
(ii)SEQ ID NO: 736またはSEQ ID NO: 737、
(iii)SEQ ID NO: 738またはSEQ ID NO: 739、
(iv)SEQ ID NO: 740またはSEQ ID NO: 741、
(v)SEQ ID NO: 742またはSEQ ID NO: 743、
(vi)SEQ ID NO: 744またはSEQ ID NO: 745、
(vii)SEQ ID NO: 746またはSEQ ID NO: 747、および
(viii)SEQ ID NO: 748またはSEQ ID NO: 749
からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み;かつ
(b)Xが極めて長いCDR3を含み、該極めて長いCDR3が、35アミノ酸長またはそれ以上であり、かつ、アミノ酸配列TSVHQETKKYQS (SEQ ID NO: 498)、非抗体配列、およびアミノ酸配列SYTYNYEWHVDV (SEQ ID NO: 499)という順でこれらの配列を含み、該非抗体配列が、サイトカイン配列、リンフォカイン配列、ケモカイン配列、増殖因子配列、ホルモン配列、または毒素配列であり；かつ
(c)V2が、WGHGTAVTVSS (SEQ ID NO: 570)、WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 571)、WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 572)、WGRGTLVTVSS (SEQ ID NO: 573)、WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 574)、およびWGQGLLVTVSS (SEQ ID NO: 500)からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、ヒト化抗体またはその抗原結合断片のライブラリー。

【請求項２０】
極めて長いCDR3を含むヒト化抗体のライブラリーを生成する方法であって、該方法が、
a)
(I) 極めて長いCDR3をコードする核酸配列、
(II)
(i)SEQ ID NO: 734またはSEQ ID NO: 735、
(ii)SEQ ID NO: 736またはSEQ ID NO: 737、
(iii)SEQ ID NO: 738またはSEQ ID NO: 739、
(iv)SEQ ID NO: 740またはSEQ ID NO: 741、
(v)SEQ ID NO: 742またはSEQ ID NO: 743、
(vi)SEQ ID NO: 744またはSEQ ID NO: 745、
(vii)SEQ ID NO: 746またはSEQ ID NO: 747、および
(viii)SEQ ID NO: 748またはSEQ ID NO: 749
からなる群より選択される可変領域配列をコードする核酸配列、ならびに
(III) WGHGTAVTVSS (SEQ ID NO: 570)、WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 571)、WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 572)、WGRGTLVTVSS (SEQ ID NO: 573)、WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 574)、およびWGQGLLVTVSS (SEQ ID NO: 500)からなる群より選択される配列をコードする核酸配列を組み合わせて、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体をコードする核酸を作製する段階であって、該極めて長いCDR3が、35アミノ酸長またはそれ以上であり、かつ、アミノ酸配列TSVHQETKKYQS (SEQ ID NO: 498)、非抗体配列、およびアミノ酸配列SYTYNYEWHVDV (SEQ ID NO: 499)という順でこれらの配列を含み、該非抗体配列が、サイトカイン配列、リンフォ

カイン配列、ケモカイン配列、増殖因子配列、ホルモン配列、または毒素配列である段階;ならびに

b)極めて長いCDR3を含むヒト化抗体をコードする核酸を発現させて、VL1-51生殖系列配列またはVL1-51生殖系列配列に由来する配列である軽鎖可変領域を伴う極めて長いCDR3を含む重鎖可変領域を含むヒト化抗体のライブラリーを生成する段階

を含む、方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

分野

本開示は、極めて長いCDR3を含む抗体を含む、ヒト化抗体に関する。

【０００２】

相互参照

本出願は、その内容全体が参照により本明細書に組み入れられる、2013年7月18日に出願された米国仮出願第61/856,010号の優先権の恩典を主張する。

【０００３】

本件出願は、EFS-Webを介してASCII形式で提出されたものであり、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる配列表を含む。2014年7月18日に作成された前記ASCIIコピーは、13379-006-228_SequenceListing.txtと名付けられ、サイズは686,375バイトである。

【背景技術】

【０００４】

背景

抗体は、脊椎動物の免疫系が、主に感染防御のために異物(抗原)に応答して形成する、天然タンパク質である。一世紀以上にわたって、抗体は、人工的条件のもとで動物において誘導され、疾患状態の治療もしくは診断に使用するため、または生物学的研究のために採取されてきた。個々の抗体産生細胞はそれぞれ、組成が化学的に定められている1種類のタイプの抗体を産生するが、抗原接種に応答した動物血清から直接得られる抗体は、個々の抗体産生細胞の集団(ensemble)から作られる非同一分子の集団(例えばポリクローナル抗体)を実際には含む。

【０００５】

通常、一部のウシ抗体は、他の脊椎動物と比べて長いVH CDR3配列を有する。例えば、IgMの約10％は、最長で61アミノ酸長であり得る「極めて長い」CDR3配列を含む。多くの場合、これらの珍しいCDR3は、多数のシステインを有する。機能的なVH遺伝子は、V(D)J組換えと呼ばれるプロセスを通じて生じ、D領域がCDR3のかなりの比率をコードする。極めて長い配列をコードする独特なD領域が、ウシにおいて同定された。極めて長いCDR3は、ウシゲノムにおいて部分的にコードされており、ヒトと比較して独特な特徴の抗体レパートリーを提供する。Kaushik et al.(米国特許第6,740,747号（特許文献1）および同第7,196,185号（特許文献2）)は、プローブとして有用であると記載される、ウシに特有のいくつかのウシ生殖系列D遺伝子配列、およびワクチンベクターとして有用であると記載されるウシVDJカセットを開示している。

【先行技術文献】

【特許文献】

【０００６】

【特許文献１】米国特許第6,740,747号

【特許文献２】米国特許第7,196,185号

【発明の概要】

【０００７】

概要

本開示は、極めて長いCDR3を含む抗体を含むヒト化抗体、それを作製する方法、およびその使用を提供する。

【０００８】
本開示は、(a)(i)SEQ ID NO: 734またはSEQ ID NO: 735、(ii)SEQ ID NO: 736またはSEQ ID NO: 737、(iii)SEQ ID NO: 738またはSEQ ID NO: 739、(iv)SEQ ID NO: 740またはSEQ ID NO: 741、(v)SEQ ID NO: 742またはSEQ ID NO: 743、(vi)SEQ ID NO: 744またはSEQ ID NO: 745、(vii)SEQ ID NO: 746またはSEQ ID NO: 747、および(viii)SEQ ID NO: 748またはSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列;ならびに(b)極めて長いCDR3を含む重鎖可変領域を含む、ヒト化抗体またはその結合断片を提供する。
【０００９】
いくつかの態様において、ヒト化抗体またはその結合断片は、1つまたは複数のヒト可変領域フレームワーク配列を含む。
【００１０】
前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、35アミノ酸長もしくはそれ以上、40アミノ酸長もしくはそれ以上、45アミノ酸長もしくはそれ以上、50アミノ酸長もしくはそれ以上、55アミノ酸長もしくはそれ以上、または60アミノ酸長もしくはそれ以上である。
【００１１】
前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、35アミノ酸長またはそれ以上である。
【００１２】
前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、3個もしくはそれ以上のシステイン残基、4個もしくはそれ以上のシステイン残基、5個もしくはそれ以上のシステイン残基、6個もしくはそれ以上のシステイン残基、7個もしくはそれ以上のシステイン残基、8個もしくはそれ以上のシステイン残基、9個もしくはそれ以上のシステイン残基、10個もしくはそれ以上のシステイン残基、11個もしくはそれ以上のシステイン残基、または12個もしくはそれ以上のシステイン残基を含む。
【００１３】
前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、3個またはそれ以上のシステイン残基を含む。
【００１４】
前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体またはその結合断片は、システインモチーフを含む。
【００１５】
前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、システインモチーフは、

$CX_{10}CX_5CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 41), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{15}C$ (SEQ ID NO: 42), $CX_{11}CXCX_5C$ (SEQ ID NO: 43), $CX_{11}CX_5CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 44), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{13}C$ (SEQ ID NO: 45), $CX_{10}CX_5CXCX_4CX_8C$ (SEQ ID NO: 46), $CX_{10}CX_6CX_6CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 47), $CX_{10}CX_4CX_7CXCX_8C$ (SEQ ID NO: 48), $CX_{10}CX_4CX_7CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 49), $CX_{13}CX_8CX_8C$ (SEQ ID NO: 50), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 51), $CX_{10}CX_5CX_5C$ (SEQ ID NO: 52), $CX_{10}CX_5CX_6CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 53), $CX_{10}CX_6CX_5CX_7CX_9C$ (SEQ ID NO: 54), $CX_9CX_7CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 55), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_9C$ (SEQ ID NO: 56), $CX_{10}CXCX_4CX_5CX_{11}C$ (SEQ ID NO: 57), $CX_7CX_3CX_6CX_5CXCX_5CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 58), $CX_{10}CXCX_4CX_5CXCX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 59), $CX_{16}CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 60), $CX_6CX_4CXCX_4CX_5C$ (SEQ ID NO: 61), $CX_{11}CX_4CX_5CX_6CX_3C$ (SEQ ID NO: 62), $CX_8CX_2CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 63), $CX_{10}CX_5CX_5CXCX_{10}C$ (SEQ ID NO: 64), $CX_{10}CXCX_6CX_4CXC$ (SEQ ID NO: 65), $CX_{10}CX_5CX_5CXCX_2C$ (SEQ ID NO: 66), $CX_{14}CX_2CX_3CXCXC$ (SEQ ID NO: 67), $CX_{15}CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 68), $CX_4CX_6CX_9CX_2CX_{11}C$ (SEQ ID NO: 69), $CX_6CX_4CX_5CX_5CX_{12}C$ (SEQ ID NO: 70), $CX_7CX_3CXCXCX_4CX_5CX_9C$ (SEQ ID NO: 71), $CX_{10}CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 72), $CX_7CX_3CX_5CX_5CX_9C$ (SEQ ID NO: 73), $CX_7CX_5CXCX_2C$ (SEQ ID NO: 74), $CX_{10}CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 75), $CX_{10}CX_3CX_3CX_5CX_7CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 76), $CX_{10}CX_4CX_5CX_{12}CX_2C$ (SEQ ID NO: 77), $CX_{12}CX_4CX_5CXCXCX_9CX_3C$ (SEQ ID NO: 78), $CX_{12}CX_4CX_5CX_{12}CX_2C$ (SEQ ID NO: 79), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{11}C$ (SEQ ID NO: 80), $CX_{16}CX_5CXCXCX_{14}C$ (SEQ ID NO: 81), $CX_{10}CX_5CXCX_8CX_6C$ (SEQ ID NO: 82), $CX_{12}CX_4CX_5CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 83), $CX_{12}CX_5CX_5CXCX_8C$ (SEQ ID NO: 84), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_4CXCX_9C$ (SEQ ID NO: 85), $CX_{11}CX_4CX_5CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 86), $CX_{10}CX_6CX_5CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 87), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_8C$ (SEQ ID NO: 88), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_3CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 89), $CX_{10}CX_6CX_5CX_3CX_8C$ (SEQ ID NO: 90), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_2CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 91), $CX_7CX_6CX_3CX_3CX_9C$ (SEQ ID NO: 92), $CX_9CX_8CX_5CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 93), $CX_{10}CX_2CX_2CX_7CXCX_{11}CX_5C$ (SEQ ID NO: 94), および $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_2CX_8CX_4C$ (SEQ ID NO: 95)

からなる群より選択される。

【００１６】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、システインモチーフは、

$CCX_3CXCX_3CX_2CCXCX_5CX_9CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 96), $CX_6CX_2CX_5CX_4CCXCX_4CX_6CXC$ (SEQ ID NO: 97), $CX_7CXCX_5CX_4CCCX_4CX_6CXC$ (SEQ ID NO: 98), $CX_9CX_3CXCX_2CXCCCX_6CX_4C$ (SEQ ID NO: 99), $CX_5CX_3CXCX_4CX_4CCX_{10}CX_2CC$ (SEQ ID NO: 100), $CX_5CXCX_1CXCX_3CCX_3CX_4CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 101), $CX_9CCCX_3CX_4CCCX_5CX_6C$ (SEQ ID NO: 102), $CCX_8CX_5CX_4CX_3CX_4CCXCX_1C$ (SEQ ID NO: 103), $CCX_6CCX_5CCCX_4CX_4CX_{12}C$ (SEQ ID NO: 104), $CX_6CX_2CX_3CCCX_4CX_5CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 105), $CX_3CX_5CX_6CX_4CCXCX_5CX_4CXC$ (SEQ ID NO: 106), $CX_4CX_4CCX_4CX_4CXCX_{11}CX_2CXC$ (SEQ ID NO: 107), $CX_5CX_2CCX_5CX_4CCX_3CCX_7C$ (SEQ ID NO: 108), $CX_5CX_5CX_3CX_2CXCCX_4CX_7CXC$ (SEQ ID NO: 109), $CX_3CX_7CX_3CX_4CCXCX_2CX_5CX_2C$ (SEQ ID NO: 110), $CX_9CX_3CXCX_4CCX_5CCCX_6C$ (SEQ ID NO: 111), $CX_9CX_3CXCX_2CXCCX_6CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 112), $CX_8CCXCX_3CCX_3CXCX_3CX_4C$ (SEQ ID NO: 113), $CX_9CCX_4CX_2CXCCXCX_4CX_3C$ (SEQ ID NO: 114), $CX_{10}CXCX_3CX_2CXCCX_4CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 115), $CX_9CXCX_3CX_2CXCCX_4CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 116), $CX_6CCXCX_5CX_4CCXCX_5CX_2C$ (SEQ ID NO: 117), $CX_6CCXCX_3CXCCX_3CX_4CC$ (SEQ ID NO: 118), $CX_6CCXCX_3CXCX_2CXCX_4CX_8C$ (SEQ ID NO: 119), $CX_4CX_2CCX_3CXCX_4CCX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 120), $CX_3CX_5CX_3CCCX_4CX_9C$ (SEQ ID NO: 121), $CCX_9CX_3CXCCX_3CX_5C$ (SEQ ID NO: 122), $CX_9CX_2CX_3CX_4CCX_4CX_5C$ (SEQ ID NO: 123), $CX_9CX_7CX_4CCXCX_7CX_3C$ (SEQ ID NO: 124), $CX_9CX_3CCCX_{10}CX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 125), $CX_3CX_5CX_5CX_4CCX_{10}CX_6C$ (SEQ ID NO: 126), $CX_9CX_5CX_4CCXCX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 127), $CX_7CXCX_6CX_4CCCX_{10}C$ (SEQ ID NO: 128), $CX_8CX_2CX_4CCX_4CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 129), $CX_7CX_5CXCX_4CCX_7CX_4C$ (SEQ ID NO: 130), $CX_{11}CX_3CX_4CCCX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 131), $CX_2CX_3CX_4CCX_4CX_5CX_{15}C$ (SEQ ID NO: 132), $CX_9CX_5CX_4CCX_7C$ (SEQ ID NO: 133), $CX_9CX_7CX_3CX_2CX_6C$ (SEQ ID NO: 134), $CX_9CX_5CX_4CCX_{14}C$ (SEQ ID NO: 135), $CX_9CX_5CX_4CCX_8C$ (SEQ ID NO: 136), $CX_9CX_6CX_4CCXC$ (SEQ ID NO: 137), $CX_5CCX_7CX_4CX_{12}$ (SEQ ID NO: 138), $CX_{10}CX_3CX_4CCX_4C$ (SEQ ID NO: 139), $CX_9CX_4CCX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 140), $CX_{10}CX_3CX_4CX_7CXC$ (SEQ ID NO: 141), $CX_7CX_7CX_2CX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 142), $CX_9CX_4CX_4CCX_6C$ (SEQ ID NO: 143), $CX_7CXCX_3CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 144), $CX_7CXCX_4CXCX_4C$ (SEQ ID NO: 145), $CX_9CX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 146), $CX_3CX_6CX_8C$ (SEQ ID NO: 147), $CX_{10}CXCX_4C$ (SEQ ID NO: 148), $CX_{10}CCX_4C$ (SEQ ID NO: 149), $CX_{15}C$ (SEQ ID NO: 150), $CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 151), および CX_9C (SEQ ID NO: 152)

からなる群より選択される。

【００１７】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、2～6個のジスルフィド結合を含む。

【００１８】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、SEQ ID NO: 40またはその派生物を含む。

【００１９】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、SEQ ID NO: 1～4のいずれか1つのアミノ酸残基3～6を含む。

【００２０】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、非ヒトDHまたはその派生物を含む。

【００２１】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、非ヒトDHは、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11、またはSEQ ID NO: 12である。

【００２２】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、JH配列またはその派生物を含む。

【００２３】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、JH配列は、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 15、SEQ ID NO: 16、またはSEQ ID NO: 17の5～15位のアミノ酸を含む。

【００２４】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、非ヒトもしくはヒトのVH配列(例えば生殖系列VH)もしくはその派生物に由来する配列;非ヒトDH配列もしくはその派生物に由来する配列;および/またはJH配列もしくはその派生物に由来する配列を含む。

【００２５】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、VH配列とDH配列の間に位置する2～6個またはそれ以上のアミノ酸残基を含む付加的なアミノ酸配列を含む。

【００２６】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、付加的なアミノ酸配列は、IR、IF、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 19、SEQ ID NO: 20、またはSEQ ID NO: 21からなる群より選択される。

【００２７】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO: 23、SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 27、またはSEQ ID NO: 28に由来するかまたは基づく配列を含む。

【００２８】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、ウシ配列、非ウシ配列、抗体配列、または非抗体配列を含む。

【００２９】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、非抗体配列は、合成配列である。

【００３０】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、非抗体配列は、サイトカイン配列、リンフォカイン配列、ケモカイン配列、増殖因子配列、ホルモン配列、または毒素配列である。

【００３１】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、非抗体配列は、IL-8配列、IL-21配列、IL-1配列、IL-2配列、IL-4配列、IL-10配列、IL-17配列、GLP-1配列、SDF-1(α)配列、ソマトスタチン配列、クロロトキシン配列、Pro-TxII配列、ジコノチド配列、ADWX-1配列、HsTx1配列、OSK1配列、Pi2配列、ホンゴトキシン(Hongotoxin)(HgTX)配列、マルガトキシン(Margatoxin)配列、アギトキシン(Agitoxin)-2配列、Pi3配列、カリオトキシン(Kaliotoxin)配列、アニュロクトキシン(Anuroctoxin)配列、カリ

ブドトキシン(Charybdotoxin)配列、チチウストキシン(Tityustoxin)-K-α配列、マウロトキシン配列、セラトトキシン1(CcoTx1)配列、CcoTx2配列、CcoTx3配列、フリクソトキシン3(PaurTx3)配列、ハナトキシン1配列、フリクソトキシン1配列、フエントキシン-IV配列、α-コノトキシンImI配列、α-コノトキシンEpI配列、α-コノトキシンPnIA配列、α-コノトキシンPnIB配列、α-コノトキシンMII配列、α-コノトキシンAuIA配列、α-コノトキシンAuIB配列、α-コノトキシンAuIC配列、コノトキシンκ-PVIIA配列、カリブドトキシン配列、ニューロトキシンB-IV配列、クロタミン配列、ω-GVIA(コノトキシン)配列、κ-ヘフトキシン1配列、Css4配列、Bj-xtrIT配列、BcIV配列、Hm-1配列、Hm-2配列、GsAF-I(β-テラホトキシン(theraphotoxin)-Gr1b)配列、プロトキシンI(ProTx-I配列、β-テラホトキシン-Tp1a)配列、プロトキシンII(ProTx II)配列、フエントキシンI配列、μ-コノトキシンPIIIA配列、ジンザオトキシン-III(β-TRTX-Cj1α)配列、GsAF-II(κ-テラホトキシン-Gr2c)配列、ShK(スチコダクチラ(Stichodactyla)毒素)配列、HsTx1配列、ガンギシトキシン(Guangxitoxin)1E(GxTx-1E)配列、マウロトキシン配列、カリブドトキシン(ChTX)配列、イベリオトキシン(Iberiotoxin)(IbTx)配列、レイウロトキシン(Leiurotoxin)1(シラトキシン)配列、タマピン(Tamapin)配列、カリオトキシン-1(KTX)配列、ピューロトキシン(Purotoxin)1(PT-1)配列、もしくはGpTx-1配列、MOKA毒素配列、OSK1(P12、K16、D20)配列、OSK1(K16、D20)配列、HmK配列、ShK(K16、Y26、K29)配列、ShK(K16)配列、ShK-A(K16)配列、ShK(K16、E30)配列、ShK(Q21)配列、ShK(L21)配列、ShK(F21)配列、ShK(I21)配列、またはShK(A21)配列である。

【００３２】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、非抗体配列は、SEQ ID NO: 475～481、599～655、666～698、727～733、808～810、および831～835のいずれか1つである。

【００３３】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、ヒト化抗体またはその結合断片は、SEQ ID NO: 770～779、784～791、903～922、および925～955からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域を含む。

【００３４】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、ヒト化抗体またはその結合断片は、アミノ酸配列SEQ ID NO: 780または807を含む軽鎖可変領域を含む。

【００３５】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、ヒト化抗体またはその結合断片は、SEQ ID NO: 770～779、784～791、903～922、および925～955からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域を含む。

【００３６】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、ヒト化抗体またはその結合断片は、SEQ ID NO: 956または959のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【００３７】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、ヒト化抗体またはその結合断片は、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含み、その際、抗体重鎖可変領域は、SEQ ID NO: 770～779、784～791、903～922、および925～955からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、かつ軽鎖可変領域は、SEQ ID NO: 959のアミノ酸配列を含む。いくつかの局面において、抗体重鎖可変領域は、SEQ ID NO: 941のアミノ酸配列を含み、かつ軽鎖可変領域は、SEQ ID NO: 959のアミノ酸配列を含む。

【００３８】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、ヒト化抗体またはその結合断片は、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含み、その際、抗体重鎖可変領域は、SEQ ID NO: 770～779、784～791、903～922、および925～955からなる群より

選択されるアミノ酸配列を含み、かつ軽鎖可変領域は、SEQ ID NO: 956のアミノ酸配列を含む。

【００３９】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、非抗体配列は、極めて長いCDR3の少なくとも1つの部分を置換する。

【００４０】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、非抗体配列(例えば非抗体ヒト配列)は、CDR3中に挿入され、任意で、CDR3の1つの部分(例えば、CDR3の1つもしくは複数のアミノ酸)またはCDR3配列全体(例えば、CDR3のアミノ酸の全てもしくは実質的に全て)が除去される場合を含む。

【００４１】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、$X^1X^2X^3X^4X^5$モチーフ(式中、X^1は、トレオニン(T)、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、またはバリン(V)であり、X^2は、セリン(S)、トレオニン(T)、プロリン(P)、イソロイシン(I)、アラニン(A)、バリン(V)、またはアスパラギン(N)であり、X^3は、バリン(V)、アラニン(A)、トレオニン(T)、またはアスパラギン酸(D)であり、X^4は、ヒスチジン(H)、トレオニン(T)、アルギニン(R)、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、またはロイシン(L)であり、かつX^5は、グルタミン(Q)である)を含む。

【００４２】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、$X^1X^2X^3X^4X^5$モチーフは、

TTVHQ (SEQ ID NO: 153), TSVHQ (SEQ ID NO: 154), SSVTQ (SEQ ID NO: 155), STVHQ (SEQ ID NO: 156), ATVRQ (SEQ ID NO: 157), TTVYQ (SEQ ID NO: 158), SPVHQ (SEQ ID NO: 159), ATVYQ (SEQ ID NO: 160), TAVYQ (SEQ ID NO: 161), TNVHQ (SEQ ID NO: 162), ATVHQ (SEQ ID NO: 163), STVYQ (SEQ ID NO: 164), TIVHQ (SEQ ID NO: 165), AIVYQ (SEQ ID NO: 166), TTVFQ (SEQ ID NO: 167), AAVFQ (SEQ ID NO: 168), GTVHQ (SEQ ID NO: 169), ASVHQ (SEQ ID NO: 170), TAVFQ (SEQ ID NO: 171), ATVFQ (SEQ ID NO: 172), AAAHQ (SEQ ID NO: 173), VVVYQ (SEQ ID NO: 174), GTVFQ (SEQ ID NO: 175), TAVHQ (SEQ ID NO: 176), ITVHQ (SEQ ID NO: 177), ITAHQ (SEQ ID NO: 178), VTVHQ (SEQ ID NO: 179); AAVHQ (SEQ ID NO: 180), GTVYQ (SEQ ID NO: 181), TTVLQ (SEQ ID NO: 182), TTTHQ (SEQ ID NO: 183), またはTTDYQ (SEQ ID NO: 184)

である。

【００４３】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、$CX^1X^2X^3X^4X^5$モチーフを含む。

【００４４】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、$CX^1X^2X^3X^4X^5$モチーフは、

CTTVHQ (SEQ ID NO: 185), CTSVHQ (SEQ ID NO: 186), CSSVTQ (SEQ ID NO: 187), CSTVHQ (SEQ ID NO: 188), CATVRQ (SEQ ID NO: 189), CTTVYQ (SEQ ID NO: 190), CSPVHQ (SEQ ID NO: 191), CATVYQ (SEQ ID NO: 192), CTAVYQ (SEQ ID NO: 193), CTNVHQ (SEQ ID NO: 194), CATVHQ (SEQ ID NO: 195), CSTVYQ (SEQ ID NO: 196), CTIVHQ (SEQ ID NO: 197), CAIVYQ (SEQ ID NO: 198), CTTVFQ (SEQ ID NO: 199), CAAVFQ (SEQ ID NO: 200), CGTVHQ (SEQ ID NO: 201), CASVHQ (SEQ ID NO: 202), CTAVFQ (SEQ ID NO: 203), CATVFQ (SEQ ID NO: 204), CAAAHQ (SEQ ID NO: 205), CVVVYQ (SEQ ID NO: 206), CGTVFQ (SEQ ID NO: 207), CTAVHQ (SEQ ID NO: 208), CITVHQ (SEQ ID NO: 209), CITAHQ (SEQ ID NO: 210), CVTVHQ (SEQ ID NO: 211); CAAVHQ (SEQ ID NO: 212), CGTVYQ (SEQ ID NO: 213), CTTVLQ (SEQ ID NO: 214), CTTTHQ (SEQ ID NO: 215), または CTTDYQ (SEQ ID NO: 216)

である。

【００４５】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、$(X^aX^b)_z$モチーフ(式中、X^aは、任意のアミノ酸残基であり、X^bは、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、トリプトファン(W)、およびヒスチジン(H)からなる群より選択される芳香族アミノ酸であり、かつzは1～4である)を含む。

【００４６】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、$(X^aX^b)_z$モチーフは、

CYTYNYEF (SEQ ID NO: 217), HYTYTYDF (SEQ ID NO: 218), HYTYTYEW (SEQ ID NO: 219), KHRYTYEW (SEQ ID NO: 220), NYIYKYSF (SEQ ID NO: 221), PYIYTYQF (SEQ ID NO: 222), SFTYTYEW (SEQ ID NO: 223), SYIYIYQW (SEQ ID NO: 224), SYNYTYSW (SEQ ID NO: 225), SYSYSYEY (SEQ ID NO: 226), SYTYNYDF (SEQ ID NO: 227), SYTYNYEW (SEQ ID NO: 228), SYTYNYQF (SEQ ID NO: 229), SYVWTHNF (SEQ ID NO: 230), TYKYVYEW (SEQ ID NO: 231), TYTYTYEF (SEQ ID NO: 232), TYTYTYEW (SEQ ID NO: 233), VFTYTYEF (SEQ ID NO: 234), AYTYEW (SEQ ID NO: 235), DYIYTY (SEQ ID NO: 236), IHSYEF (SEQ ID NO: 237), SFTYEF (SEQ ID NO: 238), SHSYEF (SEQ ID NO: 239), THTYEF (SEQ ID NO: 240), TWTYEF (SEQ ID NO: 241), TYNYEW (SEQ ID NO: 242), TYSYEF (SEQ ID NO: 243), TYSYEH (SEQ ID NO: 244), TYTYDF (SEQ ID NO: 245), TYTYEF (SEQ ID NO: 246), TYTYEW (SEQ ID NO: 247), AYEF (SEQ ID NO: 248), AYSF (SEQ ID NO: 249), AYSY (SEQ ID NO: 250), CYSF (SEQ ID NO: 251), DYTY (SEQ ID NO: 252), KYEH (SEQ ID NO: 253), KYEW (SEQ ID NO: 254), MYEF (SEQ ID NO: 255), NWIY (SEQ ID NO: 256), NYDY (SEQ ID NO: 257), NYQW (SEQ ID NO: 258), NYSF (SEQ ID NO: 259), PYEW (SEQ ID NO: 260), RYNW (SEQ ID NO: 261), RYTY (SEQ ID NO: 262), SYEF (SEQ ID NO: 263), SYEH (SEQ ID NO: 264), SYEW (SEQ ID NO: 265), SYKW (SEQ ID NO: 266), SYTY (SEQ ID NO: 267), TYDF (SEQ ID NO: 268), TYEF (SEQ ID NO: 269), TYEW (SEQ ID NO: 270), TYQW (SEQ ID NO: 271), TYTY (SEQ ID NO: 272), またはVYEW (SEQ ID NO: 273)

である。

【００４７】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、$(X^aX^b)_z$モチーフは、YXYXYXである。

【００４８】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、$X^1X^2X^3X^4X^5X_n$モチーフ(式中、X_1は、トレオニン(T)、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、またはバリン(V)であり、X_2は、セリン(S)、トレオニン(T)、プロリン(P)、イソロイシン(I)、アラニン(A)、バリン(V)、またはアスパラギン(N)であり、X_3は、バリン(V)、アラニン(A)、トレオニン(T)、またはアスパラギン酸(D)であり、X_4は、ヒスチジン(H)、トレオニン(T)、アルギニン(R)、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、またはロイシン(L)であり、X_5は、グルタミン(Q)であり、かつnは27～54である)を含む。

【００４９】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、$X_n(X^aX^b)_z$モチーフ(式中、X^aは、任意のアミノ酸残基であり、X^bは、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、トリプトファン(W)、およびヒスチジン(H)からなる群より選択される芳香族アミノ酸であり、nは27～54であり、かつzは1～4である)を含む。

【００５０】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、$X^1X^2X^3X^4X^5X_n(X^aX^b)_z$モチーフ(式中、$X^1$は、トレオニン(T)、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、またはバリン(V)であり、X^2は、セリン(S)、トレオニン(T)、プロリン(P)、イソロイシン(I)、アラニン(A)、バリン(V)、またはアスパラギン(N)であり、X^3は、バリン(V)、アラニン(A)、トレオニン(T)、またはアスパラギン酸(D)であり、X^4は、ヒスチジン(H)、トレオニン(T)、アルギニン(R)、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F

)、またはロイシン(L)であり、かつX^5は、グルタミン(Q)であり、X^aは、任意のアミノ酸残基であり、X^bは、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、トリプトファン(W)、およびヒスチジン(H)からなる群より選択される芳香族アミノ酸であり、nは27～54であり、かつzは1～4である)を含む。

【００５１】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、$X^1X^2X^3X^4X^5$モチーフは、TTVHQ(SEQ ID NO: 153)またはTSVHQ(SEQ ID NO: 154)であり、かつ$(X^aX^b)_z$モチーフは、YXYXYXである。

【００５２】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、$CX^1X^2X^3X^4X^5$モチーフ(式中、X^1は、トレオニン(T)、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、またはバリン(V)であり、X^2は、セリン(S)、トレオニン(T)、プロリン(P)、イソロイシン(I)、アラニン(A)、バリン(V)、またはアスパラギン(N)であり、X^3は、バリン(V)、アラニン(A)、トレオニン(T)、またはアスパラギン酸(D)であり、X^4は、ヒスチジン(H)、トレオニン(T)、アルギニン(R)、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、またはロイシン(L)であり、かつX^5は、グルタミン(Q)である);

$CX_{10}CX_5CX_5CXCX_7C$
(SEQ ID NO: 41), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{15}C$ (SEQ ID NO: 42), $CX_{11}CXCX_5C$ (SEQ ID NO: 43), $CX_{11}CX_5CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 44), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{13}C$ (SEQ ID NO: 45), $CX_{10}CX_5CXCX_4CX_8C$ (SEQ ID NO: 46), $CX_{10}CX_6CX_6CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 47), $CX_{10}CX_4CX_7CXCX_8C$ (SEQ ID NO: 48), $CX_{10}CX_4CX_7CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 49), $CX_{13}CX_8CX_8C$ (SEQ ID NO: 50), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 51), $CX_{10}CX_5CX_5C$ (SEQ ID NO: 52), $CX_{10}CX_5CX_6CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 53), $CX_{10}CX_6CX_5CX_7CX_9C$ (SEQ ID NO: 54), $CX_9CX_7CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 55), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_9C$ (SEQ ID NO: 56), $CX_{10}CXCX_4CX_5CX_{11}C$ (SEQ ID NO: 57), $CX_7CX_3CX_6CX_5CXCX_5CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 58), $CX_{10}CXCX_4CX_5CXCX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 59), $CX_{16}CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 60), $CX_6CX_4CXCX_4CX_5C$ (SEQ ID NO: 61), $CX_{11}CX_4CX_5CX_6CX_3C$ (SEQ ID NO: 62), $CX_8CX_2CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 63), $CX_{10}CX_5CX_5CXCX_{10}C$ (SEQ ID NO: 64), $CX_{10}CXCX_6CX_4CXC$ (SEQ ID NO: 65), $CX_{10}CX_5CX_5CXCX_2C$ (SEQ ID NO: 66), $CX_{14}CX_2CX_3CXCXC$ (SEQ ID NO: 67), $CX_{15}CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 68), $CX_4CX_6CX_9CX_2CX_{11}C$ (SEQ ID NO: 69), $CX_6CX_4CX_5CX_5CX_{12}C$ (SEQ ID NO: 70), $CX_7CX_3CXCXCX_4CX_5CX_9C$ (SEQ ID NO: 71), $CX_{10}CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 72), $CX_7CX_3CX_5CX_5CX_9C$ (SEQ ID NO: 73), $CX_7CX_5CXCX_2C$ (SEQ ID NO: 74), $CX_{10}CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 75), $CX_{10}CX_3CX_3CX_5CX_7CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 76), $CX_{10}CX_4CX_5CX_{12}CX_2C$ (SEQ ID NO: 77), $CX_{12}CX_4CX_5CXCXCX_9CX_3C$ (SEQ ID NO: 78), $CX_{12}CX_4CX_5CX_{12}CX_2C$ (SEQ ID NO: 79), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{11}C$ (SEQ ID NO: 80), $CX_{16}CX_5CXCXCX_{14}C$ (SEQ ID NO: 81), $CX_{10}CX_5CXCX_8CX_6C$ (SEQ ID NO: 82), $CX_{12}CX_4CX_5CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 83), $CX_{12}CX_5CX_5CXCX_8C$ (SEQ ID NO: 84), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_4CXCX_9C$ (SEQ ID NO: 85), $CX_{11}CX_4CX_5CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 86), $CX_{10}CX_6CX_5CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 87), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_8C$ (SEQ ID NO: 88), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_3CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 89), $CX_{10}CX_6CX_5CX_3CX_8C$ (SEQ ID NO: 90), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_2CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 91), $CX_7CX_6CX_3CX_3CX_9C$ (SEQ ID NO: 92), $CX_9CX_8CX_5CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 93), $CX_{10}CX_2CX_2CX_7CXCX_{11}CX_5C$ (SEQ ID NO: 94), および $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_2CX_8CX_4C$ (SEQ ID NO: 95)

からなる群より選択されるシステインモチーフ;ならびに$(X^aX^b)_z$モチーフ(式中、X^aは、任意のアミノ酸残基であり、X^bは、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、トリプトファン(W)、およびヒスチジン(H)からなる群より選択される芳香族アミノ酸であり、かつzは1～4である)を含む。

【００５３】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、$CX^1X^2X^3X^4X^5$モチーフ(式中、X^1は、トレオニン(T)、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、またはバリン(V)であり、X^2は、セリン(S)、トレオニン(T)、プロリン(P)、イソロイシン(I)、アラニン(A)、バリン(V)、またはアスパラギン(N)であり、X^3は、バリン(V)、アラニン(A)、トレオニン(T)、またはアスパラギン酸(D)であり、X^4は、ヒスチジン(H)、トレオニン(T)、アルギニン(R)、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、またはロイシン(L)であり、かつX^5は、グルタミン(Q)である);

$CCX_3CXCX_3CX_2CCXCX_5CX_9CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 96), $CX_6CX_2CX_5CX_4CCXCX_4CX_6CXC$ (SEQ ID NO: 97), $CX_7CXCX_5CX_4CCCX_4CX_6CXC$ (SEQ ID NO: 98), $CX_9CX_3CXCX_2CXCCCX_6CX_4C$ (SEQ ID NO: 99), $CX_5CX_3CXCX_4CX_4CCX_{10}CX_2CC$ (SEQ ID NO: 100), $CX_5CXCX_1CXCX_3CCX_3CX_4CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 101), $CX_9CCCX_3CX_4CCCX_5CX_6C$ (SEQ ID NO: 102), $CCX_8CX_5CX_4CX_3CX_4CCXCX_1C$ (SEQ ID NO: 103), $CCX_6CCX_5CCCX_4CX_4CX_{12}C$ (SEQ ID NO: 104), $CX_6CX_2CX_3CCCX_4CX_5CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 105), $CX_3CX_5CX_6CX_4CCXCX_5CX_4CXC$ (SEQ ID NO: 106), $CX_4CX_4CCX_4CX_4CXCX_{11}CX_2CXC$ (SEQ ID NO: 107), $CX_5CX_2CCX_5CX_4CCX_3CCX_7C$ (SEQ ID NO: 108), $CX_5CX_5CX_3CX_2CXCCX_4CX_7CXC$ (SEQ ID NO: 109), $CX_3CX_7CX_3CX_4CCXCX_2CX_5CX_2C$ (SEQ ID NO: 110), $CX_9CX_3CXCX_4CCX_5CCCX_6C$ (SEQ ID NO: 111), $CX_9CX_3CXCX_2CXCCX_6CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 112), $CX_8CCXCX_3CCX_3CXCX_3CX_4C$ (SEQ ID NO: 113), $CX_9CCX_4CX_2CXCCXCX_4CX_3C$ (SEQ ID NO: 114), $CX_{10}CXCX_3CX_2CXCCX_4CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 115), $CX_9CXCX_3CX_2CXCCX_4CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 116), $CX_6CCXCX_5CX_4CCXCX_5CX_2C$ (SEQ ID NO: 117), $CX_6CCXCX_3CXCCX_3CX_4CC$ (SEQ ID NO: 118), $CX_6CCXCX_3CXCX_2CXCX_4CX_8C$ (SEQ ID NO: 119), $CX_4CX_2CCX_3CXCX_4CCX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 120), $CX_3CX_5CX_3CCCX_4CX_9C$ (SEQ ID NO: 121), $CCX_9CX_3CXCCX_3CX_5C$ (SEQ ID NO: 122), $CX_9CX_2CX_3CX_4CCX_4CX_5C$ (SEQ ID NO: 123), $CX_9CX_7CX_4CCXCX_7CX_3C$ (SEQ ID NO: 124), $CX_9CX_3CCCX_{10}CX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 125), $CX_3CX_5CX_5CX_4CCX_{10}CX_6C$ (SEQ ID NO: 126), $CX_9CX_5CX_4CCXCX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 127), $CX_7CXCX_6CX_4CCCX_{10}C$ (SEQ ID NO: 128), $CX_8CX_2CX_4CCX_4CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 129), $CX_7CX_5CXCX_4CCX_7CX_4C$ (SEQ ID NO: 130), $CX_{11}CX_3CX_4CCCX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 131), $CX_2CX_3CX_4CCX_4CX_5CX_{15}C$ (SEQ ID NO: 132), $CX_9CX_5CX_4CCX_7C$ (SEQ ID NO: 133), $CX_9CX_7CX_3CX_2CX_6C$ (SEQ ID NO: 134), $CX_9CX_5CX_4CCX_{14}C$ (SEQ ID NO: 135), $CX_9CX_5CX_4CCX_8C$ (SEQ ID NO: 136), $CX_9CX_6CX_4CCXC$ (SEQ ID NO: 137), $CX_5CCX_7CX_4CX_{12}$ (SEQ ID NO: 138), $CX_{10}CX_3CX_4CCX_4C$ (SEQ ID NO: 139), $CX_9CX_4CCX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 140), $CX_{10}CX_3CX_4CX_7CXC$ (SEQ ID NO: 141), $CX_7CX_7CX_2CX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 142), $CX_9CX_4CX_4CCX_6C$ (SEQ ID NO: 143), $CX_7CXCX_3CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 144), $CX_7CXCX_4CXCX_4C$ (SEQ ID NO: 145), $CX_9CX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 146), $CX_3CX_6CX_8C$ (SEQ ID NO: 147), $CX_{10}CXCX_4C$ (SEQ ID NO: 148), $CX_{10}CCX_4C$ (SEQ ID NO: 149), $CX_{15}C$ (SEQ ID NO: 150), $CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 151), および CX_9C (SEQ ID NO: 152)

からなる群より選択されるシステインモチーフ;ならびに$(X^aX^b)_z$モチーフ(式中、X^aは、任意のアミノ酸残基であり、X^bは、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、トリプトファン(W)、およびヒスチジン(H)からなる群より選択される芳香族アミノ酸であり、かつzは1～4である)を含む。

【００５４】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、リンカーである付加的な配列を含む。

【００５５】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、リンカーは、非抗体配列のC末端、N末端、またはC末端およびN末端の両方に連結されている。

【００５６】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、反芻動物のCDR3である。

【００５７】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、反芻動物は、ウシである。

【００５８】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、ヒト化抗体またはその結合断片は、ヒト重鎖可変領域フレームワーク配列を含む。

【００５９】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、ヒト化抗体またはその結合断片は、ヒト重鎖生殖系列配列を含むか、またはヒト重鎖生殖系列配列に由来する。

【００６０】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、重鎖可変領域は、SEQ ID NO: 735のアミノ酸配列を含む。

【００６１】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、重鎖可変領域は、SEQ ID NO: 737のアミノ酸配列を含む。

【００６２】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、重鎖可変領域は、SEQ ID NO: 739のアミノ酸配列を含む。

【００６３】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、重鎖可変領域は、SEQ ID NO: 741のアミノ酸配列を含む。

【００６４】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、重鎖可変領域は、SEQ ID NO: 743のアミノ酸配列を含む。

【００６５】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、重鎖可変領域は、SEQ ID NO: 745のアミノ酸配列を含む。

【００６６】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、重鎖可変領域は、SEQ ID NO: 747のアミノ酸配列を含む。

【００６７】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、重鎖可変領域は、SEQ ID NO: 749のアミノ酸配列を含む。

【００６８】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、

(i) GSKHRLRDYFLYNE (SEQ ID NO: 501), GSKHRLRDYFLYN (SEQ ID NO: 502), GSKHRLRDYFLY (SEQ ID NO: 503), GSKHRLRDYFL (SEQ ID NO: 504), GSKHRLRDYF (SEQ ID NO: 505), GSKHRLRDY (SEQ ID NO: 506),またはGSKHRLRD (SEQ ID NO: 507) のいずれか1つ; (ii) EAGGPDYRNGYNY (SEQ ID NO: 508), EAGGPDYRNGYN (SEQ ID NO: 509), EAGGPDYRNGY (SEQ ID NO: 510), EAGGPDYRNG (SEQ ID NO: 511), EAGGPDYRN (SEQ ID NO: 512), EAGGPDYR (SEQ ID NO: 513), EAGGPDY (SEQ ID NO: 514),またはEAGGPD (SEQ ID NO: 515) のいずれか1つ; (iii) EAGGPIWHDDVKY (SEQ ID NO: 516), EAGGPIWHDDVK (SEQ ID NO: 517), EAGGPIWHDDV (SEQ ID NO: 518), EAGGPIWHDD (SEQ ID NO: 519), EAGGPIWHD (SEQ ID NO: 520), EAGGPIWH (SEQ ID NO: 521), EAGGPIW (SEQ ID NO: 522),またはEAGGPI (SEQ ID NO: 523) のいずれか1つ; (iv) GTDYTIDDQGI (SEQ ID NO: 524), GTDYTIDDQG (SEQ ID NO: 525), GTDYTIDDQ (SEQ ID NO: 526), GTDYTIDD (SEQ ID NO: 527), GTDYTID (SEQ ID NO: 528),またはGTDYTI (SEQ ID NO: 529) のいずれか1つ; (v) DKGDSDYDYNL (SEQ ID NO: 530), DKGDSDYDYN (SEQ ID NO: 531), DKGDSDYDY (SEQ ID NO: 532), DKGDSDYD (SEQ ID NO: 533), DKGDSDY (SEQ ID NO: 534), DKGDSD (SEQ ID NO: 535) のいずれか1つ; (vi) TSVHQETKKYQS (SEQ ID NO: 498)

のアミノ酸配列を含む。

【００６９】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、

(i) YGPNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 536), GPNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 537), PNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 538), NYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 539), YEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 540),またはEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 541) のいずれか1つ;(ii) YDFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 542), DFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 543), FYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 544), YDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 545), DGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 546), GYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 547),またはYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 548) のいずれか1つ; (iii) YDFNDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 549), DFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 550), FYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 551), YDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 552), DGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 553), またはGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 554) のいずれか1つ; (iv) QGIRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 555), GIRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 556), IRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 557), RYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 558), YQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 559), QGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 560), GSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 561), SGTFWYFDV (SEQ ID NO: 562),またはGTFWYFDV (SEQ ID NO: 563) のいずれか1つ; (v) YNLGYSYFYYMDG(SEQ ID NO: 564), NLGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 565), LGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 566), GYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 567), YSYFYYMDG (SEQ ID NO: 568),またはSYFYYMDG (SEQ ID NO: 569) のいずれか1つ; あるいは (vi) SYTYNYEWHVDV (SEQ ID NO: 499)

のアミノ酸配列を含む。

【００７０】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長

いCDR3は、
(i) GSKHRLRDYFLYNE (SEQ ID NO: 501), GSKHRLRDYFLYN (SEQ ID NO: 502), GSKHRLRDYFLY (SEQ ID NO: 503), GSKHRLRDYFL (SEQ ID NO: 504), GSKHRLRDYF (SEQ ID NO: 505), GSKHRLRDY (SEQ ID NO: 506),またはGSKHRLRD (SEQ ID NO: 507), のいずれか1つ、およびYGPNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 536), GPNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 537), PNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 538), NYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 539), YEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 540),または EEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 541)のいずれか1つ; (ii) EAGGPDYRNGYNY (SEQ ID NO: 508), EAGGPDYRNGYN (SEQ ID NO: 509), EAGGPDYRNGY (SEQ ID NO: 510), EAGGPDYRNG (SEQ ID NO: 511), EAGGPDYRN (SEQ ID NO: 512), EAGGPDYR (SEQ ID NO: 513), EAGGPDY (SEQ ID NO:514),またはEAGGPD (SEQ ID NO: 515) のいずれか1つ、およびYDFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 542), DFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 543), FYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 544), YDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 545), DGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 546), GYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 547)またはYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 548) のいずれか1つ; (iii) EAGGPIWHDDVKY (SEQ ID NO: 516), EAGGPIWHDDVK (SEQ ID NO: 517), EAGGPIWHDDV (SEQ ID NO: 518), EAGGPIWHDD (SEQ ID NO: 519), EAGGPIWHD (SEQ ID NO: 520), EAGGPIWH (SEQ ID NO: 521), EAGGPIW (SEQ ID NO: 522),または EAGGPI (SEQ ID NO: 523)のいずれか1つ、およびYDFNDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 549), DFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 550), FYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 551), YDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 552), DGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 553), または GYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 554) のいずれか1つ; (iv) GTDYTIDDQGI (SEQ ID NO: 524), GTDYTIDDQG (SEQ ID NO: 525), GTDYTIDDQ (SEQ ID NO: 526), GTDYTIDD (SEQ ID NO: 527), GTDYTID (SEQ ID NO: 528),またはGTDYTI (SEQ ID NO: 529)のいずれか1つ、および QGIRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 555), GIRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 556), IRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 557), RYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 558), YQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 559), QGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 560), GSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 561), SGTFWYFDV (SEQ ID NO: 562),またはGTFWYFDV (SEQ ID NO: 563) のいずれか1つ; (v) YNLGYSYFYYMDG(SEQ ID NO: 564), NLGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 565), LGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 566), GYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 567), YSYFYYMDG (SEQ ID NO: 568),または SYFYYMDG (SEQ ID NO: 569) のいずれか1つ、および YNLGYSYFYYMDG(SEQ ID NO: 564), NLGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 565), LGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 566), GYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 567), YSYFYYMDG (SEQ ID NO: 568)またはSYFYYMDG (SEQ ID NO: 569)のいずれか1つ;あるいは (vi) TSVHQETKKYQS (SEQ ID NO: 498) および SYTYNYEWHVDV (SEQ ID NO: 499)

のアミノ酸配列を含む。

【００７１】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、ヒト化抗体またはその結合断片は、ヒト軽鎖可変領域フレームワーク配列を含む。

【００７２】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、ヒト化抗

体またはその結合断片は、(i)SEQ ID NO: 750、(ii)SEQ ID NO: 751、(iii)SEQ ID NO: 752、および(iv)SEQ ID NO: 753の群より選択される配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【００７３】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、軽鎖可変は、λ軽鎖可変領域配列を含むか、またはλ軽鎖可変領域配列に由来する。

【００７４】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、軽鎖可変領域配列は、ヒトλ軽鎖可変領域配列を含むか、またはヒトλ軽鎖可変領域配列に由来する。

【００７５】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、軽鎖可変領域は、VL1-51生殖系列配列を含む。

【００７６】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、軽鎖可変領域は、VL1-51生殖系列配列に由来する。

【００７７】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、VL1-51生殖系列配列は、Kabatの番号付与に基づくIle29Val置換およびAsn32Gly置換を含むCDR1を含む。

【００７８】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、VL1-51生殖系列配列は、DNNからGDTへの置換を含むCDR2を含む。

【００７９】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、VL1-51生殖系列配列は、DNNKRP(SEQ ID NO: 471)からGDTSRA(SEQ ID NO: 472)への置換を含むCDR2を含む。

【００８０】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、VL1-51生殖系列配列は、Kabatの番号付与に基づくS2A置換、T5N置換、P8S置換、A12G置換、A13S置換、およびP14L置換を含む。

【００８１】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、VL1-51生殖系列配列は、Kabatの番号付与に基づくS2A置換、T5N置換、P8S置換、A12G置換、A13S置換、およびP14L置換と、DNNからGDTへの置換を含むCDR2とを含む。

【００８２】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、(a)SEQ ID NO: 740、SEQ ID NO: 741、SEQ ID NO: 742、およびSEQ ID NO: 743からなる群より選択される配列を含む重鎖可変領域;ならびに(b)SEQ ID NO: 750を含む軽鎖可変領域を含む、ヒト化抗体またはその結合断片。

【００８３】

本開示はまた、本明細書において開示するヒト化抗体またはその結合断片の重鎖可変領域をコードするポリヌクレオチドも提供する。

【００８４】

本開示はまた、本明細書において開示するヒト化抗体またはその結合断片の軽鎖可変領域をコードするポリヌクレオチドも提供する。

【００８５】

本開示はまた、極めて長いCDR3を含む重鎖可変領域をコードするポリヌクレオチドであって、SEQ ID NO: 490、SEQ ID NO: 491、SEQ ID NO: 492、SEQ ID NO: 493、SEQ ID NO: 494、SEQ ID NO: 495、SEQ ID NO: 496、およびSEQ ID NO: 497からなる群より選択される配列を含む、ポリヌクレオチドも提供する。

【００８６】
本開示はまた、本明細書において開示するポリヌクレオチドを含むベクターも提供する。
【００８７】
本開示はまた、本明細書において開示するベクターを含む宿主細胞も提供する。
【００８８】
本開示はまた、ヒト化抗体またはその結合断片をコードする配列を構成する複数のポリヌクレオチドを含む核酸ライブラリーであって、抗体またはその結合断片が、(a)(i)SEQ ID NO: 734またはSEQ ID NO: 735、(ii)SEQ ID NO: 736またはSEQ ID NO: 737、(iii)SEQ ID NO: 738またはSEQ ID NO: 739、(iv)SEQ ID NO: 740またはSEQ ID NO: 741、(v)SEQ ID NO: 742またはSEQ ID NO: 743、(vi)SEQ ID NO: 744またはSEQ ID NO: 745、(vii)SEQ ID NO: 746またはSEQ ID NO: 747、および(viii)SEQ ID NO: 748またはSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列;ならびに(b)極めて長いCDR3を含む重鎖可変領域を含む、核酸ライブラリーも、提供する。
【００８９】
本開示はまた、ヒト化抗体またはその結合断片のライブラリーであって、抗体またはその結合断片が、 (i)SEQ ID NO: 734またはSEQ ID NO: 735、(ii)SEQ ID NO: 736またはSEQ ID NO: 737、(iii)SEQ ID NO: 738またはSEQ ID NO: 739、(iv)SEQ ID NO: 740またはSEQ ID NO: 741、(v)SEQ ID NO: 742またはSEQ ID NO: 743、(vi)SEQ ID NO: 744またはSEQ ID NO: 745、(vii)SEQ ID NO: 746またはSEQ ID NO: 747、および(viii)SEQ ID NO: 748またはSEQ ID NO: 749;ならびに(b)極めて長いCDR3を含む、ヒト化抗体またはその結合断片のライブラリーも、提供する。
【００９０】
前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、35アミノ酸長もしくはそれ以上、40アミノ酸長もしくはそれ以上、45アミノ酸長もしくはそれ以上、50アミノ酸長もしくはそれ以上、55アミノ酸長もしくはそれ以上、または60アミノ酸長もしくはそれ以上である。
【００９１】
前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、35アミノ酸長またはそれ以上である。
【００９２】
前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、3個もしくはそれ以上のシステイン残基、4個もしくはそれ以上のシステイン残基、5個もしくはそれ以上のシステイン残基、6個もしくはそれ以上のシステイン残基、7個もしくはそれ以上のシステイン残基、8個もしくはそれ以上のシステイン残基、9個もしくはそれ以上のシステイン残基、10個もしくはそれ以上のシステイン残基、11個もしくはそれ以上のシステイン残基、または12個もしくはそれ以上のシステイン残基を含む。
【００９３】
前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、3個またはそれ以上のシステイン残基を含む。
【００９４】
前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体またはその結合断片は、システインモチーフを含む。
【００９５】
前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、システインモチーフは、

$CX_{10}CX_5CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 41), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{15}C$ (SEQ ID NO: 42), $CX_{11}CXCX_5C$ (SEQ ID NO: 43), $CX_{11}CX_5CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 44), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{13}C$ (SEQ ID NO: 45), $CX_{10}CX_5CXCX_4CX_8C$ (SEQ ID NO: 46), $CX_{10}CX_6CX_6CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 47), $CX_{10}CX_4CX_7CXCX_8C$ (SEQ ID NO: 48), $CX_{10}CX_4CX_7CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 49), $CX_{13}CX_8CX_8C$ (SEQ ID NO: 50), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 51), $CX_{10}CX_5CX_5C$ (SEQ ID NO: 52), $CX_{10}CX_5CX_6CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 53), $CX_{10}CX_6CX_5CX_7CX_9C$ (SEQ ID NO: 54), $CX_9CX_7CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 55), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_9C$ (SEQ ID NO: 56), $CX_{10}CXCX_4CX_5CX_{11}C$ (SEQ ID NO: 57), $CX_7CX_3CX_6CX_5CXCX_5CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 58), $CX_{10}CXCX_4CX_5CXCX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 59), $CX_{16}CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 60), $CX_6CX_4CXCX_4CX_5C$ (SEQ ID NO: 61), $CX_{11}CX_4CX_5CX_6CX_3C$ (SEQ ID NO: 62), $CX_8CX_2CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 63), $CX_{10}CX_5CX_5CXCX_{10}C$ (SEQ ID NO: 64), $CX_{10}CXCX_6CX_4CXC$ (SEQ ID NO: 65), $CX_{10}CX_5CX_5CXCX_2C$ (SEQ ID NO: 66), $CX_{14}CX_2CX_3CXCXC$ (SEQ ID NO: 67), $CX_{15}CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 68), $CX_4CX_6CX_9CX_2CX_{11}C$ (SEQ ID NO: 69), $CX_6CX_4CX_5CX_5CX_{12}C$ (SEQ ID NO: 70), $CX_7CX_3CXCXCX_4CX_5CX_9C$ (SEQ ID NO: 71), $CX_{10}CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 72), $CX_7CX_3CX_5CX_5CX_9C$ (SEQ ID NO: 73), $CX_7CX_5CXCX_2C$ (SEQ ID NO: 74), $CX_{10}CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 75), $CX_{10}CX_3CX_3CX_5CX_7CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 76), $CX_{10}CX_4CX_5CX_{12}CX_2C$ (SEQ ID NO: 77), $CX_{12}CX_4CX_5CXCXCX_9CX_3C$ (SEQ ID NO: 78), $CX_{12}CX_4CX_5CX_{12}CX_2C$ (SEQ ID NO: 79), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{11}C$ (SEQ ID NO: 80), $CX_{16}CX_5CXCXCX_{14}C$ (SEQ ID NO: 81), $CX_{10}CX_5CXCX_8CX_6C$ (SEQ ID NO: 82), $CX_{12}CX_4CX_5CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 83), $CX_{12}CX_5CX_5CXCX_8C$ (SEQ ID NO: 84), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_4CXCX_9C$ (SEQ ID NO: 85), $CX_{11}CX_4CX_5CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 86), $CX_{10}CX_6CX_5CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 87), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_8C$ (SEQ ID NO: 88), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_3CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 89), $CX_{10}CX_6CX_5CX_3CX_8C$ (SEQ ID NO: 90), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_2CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 91), $CX_7CX_6CX_3CX_3CX_9C$ (SEQ ID NO: 92), $CX_9CX_8CX_5CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 93), $CX_{10}CX_2CX_2CX_7CXCX_{11}CX_5C$ (SEQ ID NO: 94),および$CX_{10}CX_6CX_5CXCX_2CX_8CX_4C$ (SEQ ID NO: 95)
からなる群より選択される。

【００９６】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、システインモチーフは、

$CCX_3CXCX_3CX_2CCXCX_5CX_9CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 96), $CX_6CX_2CX_5CX_4CCXCX_4CX_6CXC$ (SEQ ID NO: 97), $CX_7CXCX_5CX_4CCCX_4CX_6CXC$ (SEQ ID NO: 98), $CX_9CX_3CXCX_2CXCCCX_6CX_4C$ (SEQ ID NO: 99), $CX_5CX_3CXCX_4CX_4CCX_{10}CX_2CC$ (SEQ ID NO: 100), $CX_5CXCX_1CXCX_3CCX_3CX_4CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 101), $CX_9CCCX_3CX_4CCCX_5CX_6C$ (SEQ ID NO: 102), $CCX_8CX_5CX_4CX_3CX_4CCXCX_1C$ (SEQ ID NO: 103), $CCX_6CCX_5CCCX_4CX_4CX_{12}C$ (SEQ ID NO: 104), $CX_6CX_2CX_3CCCX_4CX_5CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 105), $CX_3CX_5CX_6CX_4CCXCX_5CX_4CXC$ (SEQ ID NO: 106), $CX_4CX_4CCX_4CX_4CXCX_{11}CX_2CXC$ (SEQ ID NO: 107), $CX_5CX_2CCX_5CX_4CCX_3CCX_7C$ (SEQ ID NO: 108), $CX_5CX_5CX_3CX_2CXCCX_4CX_7CXC$ (SEQ ID NO: 109), $CX_3CX_7CX_3CX_4CCXCX_2CX_5CX_2C$ (SEQ ID NO: 110), $CX_9CX_3CXCX_4CCX_5CCCX_6C$ (SEQ ID NO: 111), $CX_9CX_3CXCX_2CXCCX_6CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 112), $CX_8CCXCX_3CCX_3CXCX_3CX_4C$ (SEQ ID NO: 113), $CX_9CCX_4CX_2CXCCXCX_4CX_3C$ (SEQ ID NO: 114), $CX_{10}CXCX_3CX_2CXCCX_4CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 115), $CX_9CXCX_3CX_2CXCCX_4CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 116), $CX_6CCXCX_5CX_4CCXCX_5CX_2C$ (SEQ ID NO: 117), $CX_6CCXCX_3CXCCX_3CX_4CC$ (SEQ ID NO: 118), $CX_6CCXCX_3CXCX_2CXCX_4CX_8C$ (SEQ ID NO: 119), $CX_4CX_2CCX_3CXCX_4CCX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 120), $CX_3CX_5CX_3CCCX_4CX_9C$ (SEQ ID NO: 121), $CCX_9CX_3CXCCX_3CX_5C$ (SEQ ID NO: 122), $CX_9CX_2CX_3CX_4CCX_4CX_5C$ (SEQ ID NO: 123), $CX_9CX_7CX_4CCXCX_7CX_3C$ (SEQ ID NO: 124), $CX_9CX_3CCCX_{10}CX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 125), $CX_3CX_5CX_5CX_4CCX_{10}CX_6C$ (SEQ ID NO: 126), $CX_9CX_5CX_4CCXCX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 127), $CX_7CXCX_6CX_4CCCX_{10}C$ (SEQ ID NO: 128), $CX_8CX_2CX_4CCX_4CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 129), $CX_7CX_5CXCX_4CCX_7CX_4C$ (SEQ ID NO: 130), $CX_{11}CX_3CX_4CCCX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 131), $CX_2CX_3CX_4CCX_4CX_5CX_{15}C$ (SEQ ID NO: 132), $CX_9CX_5CX_4CCX_7C$ (SEQ ID NO: 133), $CX_9CX_7CX_3CX_2CX_6C$ (SEQ ID NO: 134), $CX_9CX_5CX_4CCX_{14}C$ (SEQ ID NO: 135), $CX_9CX_5CX_4CCX_8C$ (SEQ ID NO: 136), $CX_9CX_6CX_4CCXC$ (SEQ ID NO: 137), $CX_5CCX_7CX_4CX_{12}$ (SEQ ID NO: 138), $CX_{10}CX_3CX_4CCX_4C$ (SEQ ID NO: 139), $CX_9CX_4CCX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 140), $CX_{10}CX_3CX_4CX_7CXC$ (SEQ ID NO: 141), $CX_7CX_7CX_2CX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 142), $CX_9CX_4CX_4CCX_6C$ (SEQ ID NO: 143), $CX_7CXCX_3CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 144), $CX_7CXCX_4CXCX_4C$ (SEQ ID NO: 145), $CX_9CX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 146), $CX_3CX_6CX_8C$ (SEQ ID NO: 147), $CX_{10}CXCX_4C$ (SEQ ID NO: 148), $CX_{10}CCX_4C$ (SEQ ID NO: 149), $CX_{15}C$ (SEQ ID NO: 150), $CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 151), および CX_9C (SEQ ID NO: 152)

からなる群より選択される。

【００９７】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、2～6個のジスルフィド結合を含む。

【００９８】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、SEQ ID NO: 40またはその派生物を含む。

【００９９】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、SEQ ID NO: 1～4のいずれか1つのアミノ酸残基3～6を含む。

【０１００】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、非ヒトDHまたはその派生物を含む。

【０１０１】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、非ヒトDHは、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11、またはSEQ ID NO: 12である。

【０１０２】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、JH配列またはその派生物を含む。

【０１０３】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、JH配列は、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 15、SEQ ID NO: 16、またはSEQ ID NO: 17の5～15位のアミノ酸を含む。

【０１０４】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、非ヒトVH配列もしくはその派生物に由来する配列;非ヒトDH配列もしくはその派生物に由来する配列;および/またはJH配列もしくはその派生物に由来する配列を含む。

【０１０５】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、VH配列とDH配列の間に位置する2～6個またはそれ以上のアミノ酸残基を含む付加的なアミノ酸配列を含む。

【０１０６】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、付加的なアミノ酸配列は、IR、IF、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 19、SEQ ID NO: 20、またはSEQ ID NO: 21からなる群より選択される。

【０１０７】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO: 23、SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 27、またはSEQ ID NO: 28に由来するかまたは基づく配列を含む。

【０１０８】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、非ウシ配列または非抗体配列を含む。例えば、非抗体配列(例えば非抗体ヒト配列)は、CDR3中に挿入され、任意で、CDR3の1つの部分(例えば、CDR3の1つもしくは複数のアミノ酸)またはCDR3配列全体(例えば、CDR3のアミノ酸の全てもしくは実質的に全て)が除去される場合を含む。

【０１０９】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、非抗体配列は、合成配列である。

【０１１０】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、非抗体配列は、サイトカイン配列、リンフォカイン配列、ケモカイン配列、増殖因子配列、ホルモン配列、または毒素配列である。

【０１１１】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、非抗体配列は、IL-8配列、IL-21配列、SDF-1(α)配列、ソマトスタチン配列、クロロトキシン配列、Pro-TxII配列、ジコノチド配列、ADWX-1配列、HsTx1配列、OSK1配列、Pi2配列、ホンゴトキシン(HgTX)配列、マルガトキシン配列、アギトキシン-2配列、Pi3配列、カリオトキ

シン配列、アニュロクトキシン配列、カリブドトキシン配列、チチウストキシン-K-α配列、マウロトキシン配列、セラトトキシン1(CcoTx1)配列、CcoTx2配列、CcoTx3配列、フリクソトキシン3(PaurTx3)配列、ハナトキシン1配列、フリクソトキシン1配列、フエントキシン-IV配列、α-コノトキシンImI配列、α-コノトキシンEpI配列、α-コノトキシンPnIA配列、α-コノトキシンPnIB配列、α-コノトキシンMII配列、α-コノトキシンAuIA配列、α-コノトキシンAuIB配列、α-コノトキシンAuIC配列、コノトキシンκ-PVIIA配列、カリブドトキシン配列、ニューロトキシンB-IV配列、クロタミン配列、ω-GVIA(コノトキシン)配列、κ-ヘフトキシン1配列、Css4配列、Bj-xtrIT配列、BcIV配列、Hm-1配列、Hm-2配列、GsAF-I(β-テラホトキシン-Gr1b)配列、プロトキシンI(ProTx-I配列、β-テラホトキシン-Tp1a)配列、プロトキシンII(ProTx II)配列、フエントキシンI配列、μ-コノトキシンPIIIA配列、ジンザオトキシン-III(β-TRTX-Cj1α)配列、GsAF-II(κ-テラホトキシン-Gr2c)配列、ShK(スチコダクチラ毒素)配列、HsTx1配列、ガンギシトキシン1E(GxTx-1E)配列、マウロトキシン配列、カリブドトキシン(ChTX)配列、イベリオトキシン(IbTx)配列、レイウロトキシン1(シラトキシン)配列、タマピン配列、カリオトキシン-1(KTX)配列、ピューロトキシン1(PT-1)配列、もしくはGpTx-1配列、MOKA毒素配列、OSK1(P12、K16、D20)配列、OSK1(K16、D20)配列、HmK配列、ShK(K16、Y26、K29)配列、ShK(K16)配列、ShK-A(K16)配列、ShK(K16、E30)配列、ShK(Q21)配列、ShK(L21)配列、ShK(F21)配列、ShK(I21)配列、またはShK(A21)配列である。

【０１１２】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、非抗体配列は、SEQ ID NO: 475～481、599～655、666～698、727～733、808～810、および831～835のいずれか1つである。

【０１１３】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、$X^1X^2X^3X^4X^5$モチーフ(式中、X^1は、トレオニン(T)、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、またはバリン(V)であり、X^2は、セリン(S)、トレオニン(T)、プロリン(P)、イソロイシン(I)、アラニン(A)、バリン(V)、またはアスパラギン(N)であり、X^3は、バリン(V)、アラニン(A)、トレオニン(T)、またはアスパラギン酸(D)であり、X^4は、ヒスチジン(H)、トレオニン(T)、アルギニン(R)、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、またはロイシン(L)であり、かつX^5は、グルタミン(Q)である)を含む。

【０１１４】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、$X^1X^2X^3X^4X^5$モチーフは、

TTVHQ (SEQ ID NO: 153), TSVHQ (SEQ ID NO: 154), SSVTQ (SEQ ID NO: 155), STVHQ (SEQ ID NO: 156), ATVRQ (SEQ ID NO: 157), TTVYQ (SEQ ID NO: 158), SPVHQ (SEQ ID NO: 159), ATVYQ (SEQ ID NO: 160), TAVYQ (SEQ ID NO: 161), TNVHQ (SEQ ID NO: 162), ATVHQ (SEQ ID NO: 163), STVYQ (SEQ ID NO: 164), TIVHQ (SEQ ID NO: 165), AIVYQ (SEQ ID NO: 166), TTVFQ (SEQ ID NO: 167), AAVFQ (SEQ ID NO: 168), GTVHQ (SEQ ID NO: 169), ASVHQ (SEQ ID NO: 170), TAVFQ (SEQ ID NO: 171), ATVFQ (SEQ ID NO: 172), AAAHQ (SEQ ID NO: 173), VVVYQ (SEQ ID NO: 174), GTVFQ (SEQ ID NO: 175), TAVHQ (SEQ ID NO: 176), ITVHQ (SEQ ID NO: 177), ITAHQ (SEQ ID NO: 178), VTVHQ (SEQ ID NO: 179); AAVHQ (SEQ ID NO: 180), GTVYQ (SEQ ID NO: 181), TTVLQ (SEQ ID NO: 182), TTTHQ (SEQ ID NO: 183), またはTTDYQ (SEQ ID NO: 184)

である。

【０１１５】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、$CX^1X^2X^3X^4X^5$モチーフを含む。

【０１１６】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、$CX^1X^2X^3X^4X^5$モチーフは、
CTTVHQ (SEQ ID NO: 185), CTSVHQ
(SEQ ID NO: 186), CSSVTQ (SEQ ID NO: 187), CSTVHQ (SEQ ID NO: 188), CATVRQ
(SEQ ID NO: 189), CTTVYQ (SEQ ID NO: 190), CSPVHQ (SEQ ID NO: 191), CATVYQ
(SEQ ID NO: 192), CTAVYQ (SEQ ID NO: 193), CTNVHQ (SEQ ID NO: 194), CATVHQ
(SEQ ID NO: 195), CSTVYQ (SEQ ID NO: 196), CTIVHQ (SEQ ID NO: 197), CAIVYQ
(SEQ ID NO: 198), CTTVFQ (SEQ ID NO: 199), CAAVFQ (SEQ ID NO: 200), CGTVHQ
(SEQ ID NO: 201), CASVHQ (SEQ ID NO: 202), CTAVFQ (SEQ ID NO: 203), CATVFQ
(SEQ ID NO: 204), CAAAHQ (SEQ ID NO: 205), CVVVYQ (SEQ ID NO: 206), CGTVFQ
(SEQ ID NO: 207), CTAVHQ (SEQ ID NO: 208), CITVHQ (SEQ ID NO: 209), CITAHQ
(SEQ ID NO: 210), CVTVHQ (SEQ ID NO: 211); CAAVHQ (SEQ ID NO: 212), CGTVYQ
(SEQ ID NO: 213), CTTVLQ (SEQ ID NO: 214), CTTTHQ (SEQ ID NO: 215), または CTTDYQ
(SEQ ID NO: 216)

である。

【０１１７】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、$(X^aX^b)_z$モチーフ(式中、X^aは、任意のアミノ酸残基であり、X^bは、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、トリプトファン(W)、およびヒスチジン(H)からなる群より選択される芳香族アミノ酸であり、かつzは1～4である)を含む。

【０１１８】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、$(X^aX^b)_z$モチーフは、

CYTYNYEF (SEQ ID NO: 217), HYTYTYDF
(SEQ ID NO: 218), HYTYTYEW (SEQ ID NO: 219), KHRYTYEW (SEQ ID NO: 220), NYIYKYSF (SEQ ID NO: 221), PYIYTYQF (SEQ ID NO: 222), SFTYTYEW (SEQ ID NO: 223), SYIYIYQW (SEQ ID NO: 224), SYNYTYSW (SEQ ID NO: 225), SYSYSYEY (SEQ ID NO: 226), SYTYNYDF (SEQ ID NO: 227), SYTYNYEW (SEQ ID NO: 228), SYTYNYQF (SEQ ID NO: 229), SYVWTHNF (SEQ ID NO: 230), TYKYVYEW (SEQ ID NO: 231), TYTYTYEF (SEQ ID NO: 232), TYTYTYEW (SEQ ID NO: 233), VFTYTYEF (SEQ ID NO: 234), AYTYEW (SEQ ID NO: 235), DYIYTY (SEQ ID NO: 236), IHSYEF (SEQ ID NO: 237), SFTYEF (SEQ ID NO: 238), SHSYEF (SEQ ID NO: 239), THTYEF (SEQ ID NO: 240), TWTYEF (SEQ ID NO: 241), TYNYEW (SEQ ID NO: 242), TYSYEF (SEQ ID NO: 243), TYSYEH (SEQ ID NO: 244), TYTYDF (SEQ ID NO: 245), TYTYEF (SEQ ID NO: 246), TYTYEW (SEQ ID NO: 247), AYEF (SEQ ID NO: 248), AYSF (SEQ ID NO: 249), AYSY (SEQ ID NO: 250), CYSF (SEQ ID NO: 251), DYTY (SEQ ID NO: 252), KYEH (SEQ ID NO: 253), KYEW (SEQ ID NO: 254), MYEF (SEQ ID NO: 255), NWIY (SEQ ID NO: 256), NYDY (SEQ ID NO: 257), NYQW (SEQ ID NO: 258), NYSF (SEQ ID NO: 259), PYEW (SEQ ID NO: 260), RYNW (SEQ ID NO: 261), RYTY (SEQ ID NO: 262), SYEF (SEQ ID NO: 263), SYEH (SEQ ID NO: 264), SYEW (SEQ ID NO: 265), SYKW (SEQ ID NO: 266), SYTY (SEQ ID NO: 267), TYDF (SEQ ID NO: 268), TYEF (SEQ ID NO: 269), TYEW (SEQ ID NO: 270), TYQW (SEQ ID NO: 271), TYTY (SEQ ID NO: 272), または VYEW (SEQ ID NO: 273)
である。

【０１１９】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、$(X^aX^b)_z$モチーフは、YXYXYXである。

【０１２０】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、$X^1X^2X^3X^4X^5X_n$モチーフ(式中、X_1は、トレオニン(T)、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、またはバリン(V)であり、X_2は、セリン(S)、トレオニン(T)、プロリン(P)、イソロイシン(I)、アラニン(A)、バリン(V)、またはアスパラギン(N)であり、X_3は、バリン(V)、アラニン(A)、トレオニン(T)、またはアスパラギン酸(D)であり、X_4は、ヒスチジン(H)、トレオニン(T)、アルギニン(R)、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、またはロイシン(L)であり、かつX_5は、グルタミン(Q)であり、かつnは27～54である)を含む。

【０１２１】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、$X_n(X^aX^b)_z$モチーフ(式中、X^aは、任意のアミノ酸残基であり、X^bは、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、トリプトファン(W)、およびヒスチジン(H)からなる群より選択される芳香族アミノ酸であり、nは27～54であり、かつzは1～4である)を含む。

【０１２２】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、$X^1X^2X^3X^4X^5X_n(X^aX^b)_z$モチーフ(式中、$X_1$は、トレオニン(T)、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、またはバリン(V)であり、X_2は、セリン(S)、トレオニン(T)、プロリン(P)、イソロイシン(I)、アラニン(A)、バリン(V)、またはアスパラギン(N)であり、X_3は、バリン(V)、アラニン(A)、トレオニン(T)、またはアスパラギン酸(D)であり、X_4は、ヒスチジン(H)、トレオニン(T)、アルギニン(R)、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F

)、またはロイシン(L)であり、X_5は、グルタミン(Q)であり、X^aは、任意のアミノ酸残基であり、X^bは、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、トリプトファン(W)、およびヒスチジン(H)からなる群より選択される芳香族アミノ酸であり、nは27～54であり、かつzは1～4である)を含む。

【０１２３】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、$X^1X^2X^3X^4X^5$モチーフは、TTVHQ(SEQ ID NO: 153)またはTSVHQ(SEQ ID NO: 154)であり、かつ$(X^aX^b)_z$モチーフは、YXYXYXである。

【０１２４】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、$CX^1X^2X^3X^4X^5$モチーフ(式中、X^1は、トレオニン(T)、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、またはバリン(V)であり、X^2は、セリン(S)、トレオニン(T)、プロリン(P)、イソロイシン(I)、アラニン(A)、バリン(V)、またはアスパラギン(N)であり、X^3は、バリン(V)、アラニン(A)、トレオニン(T)、またはアスパラギン酸(D)であり、X^4は、ヒスチジン(H)、トレオニン(T)、アルギニン(R)、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、またはロイシン(L)であり、かつX^5は、グルタミン(Q)である);

$CX_{10}CX_5CX_5CXCX_7C$
(SEQ ID NO: 41), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{15}C$ (SEQ ID NO: 42), $CX_{11}CXCX_5C$ (SEQ ID NO: 43), $CX_{11}CX_5CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 44), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{13}C$ (SEQ ID NO: 45), $CX_{10}CX_5CXCX_4CX_8C$ (SEQ ID NO: 46), $CX_{10}CX_6CX_6CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 47), $CX_{10}CX_4CX_7CXCX_8C$ (SEQ ID NO: 48), $CX_{10}CX_4CX_7CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 49), $CX_{13}CX_8CX_8C$ (SEQ ID NO: 50), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 51), $CX_{10}CX_5CX_5C$ (SEQ ID NO: 52), $CX_{10}CX_5CX_6CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 53), $CX_{10}CX_6CX_5CX_7CX_9C$ (SEQ ID NO: 54), $CX_9CX_7CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 55), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_9C$ (SEQ ID NO: 56), $CX_{10}CXCX_4CX_5CX_{11}C$ (SEQ ID NO: 57), $CX_7CX_3CX_6CX_5CXCX_5CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 58), $CX_{10}CXCX_4CX_5CXCX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 59), $CX_{16}CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 60), $CX_6CX_4CXCX_4CX_5C$ (SEQ ID NO: 61), $CX_{11}CX_4CX_5CX_6CX_3C$ (SEQ ID NO: 62), $CX_8CX_2CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 63), $CX_{10}CX_5CX_5CXCX_{10}C$ (SEQ ID NO: 64), $CX_{10}CXCX_6CX_4CXC$ (SEQ ID NO: 65), $CX_{10}CX_5CX_5CXCX_2C$ (SEQ ID NO: 66), $CX_{14}CX_2CX_3CXCXC$ (SEQ ID NO: 67), $CX_{15}CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 68), $CX_4CX_6CX_9CX_2CX_{11}C$ (SEQ ID NO: 69), $CX_6CX_4CX_5CX_5CX_{12}C$ (SEQ ID NO: 70), $CX_7CX_3CXCXCX_4CX_5CX_9C$ (SEQ ID NO: 71), $CX_{10}CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 72), $CX_7CX_3CX_5CX_5CX_9C$ (SEQ ID NO: 73), $CX_7CX_5CXCX_2C$ (SEQ ID NO: 74), $CX_{10}CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 75), $CX_{10}CX_3CX_3CX_5CX_7CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 76), $CX_{10}CX_4CX_5CX_{12}CX_2C$ (SEQ ID NO: 77), $CX_{12}CX_4CX_5CXCXCX_9CX_3C$ (SEQ ID NO: 78), $CX_{12}CX_4CX_5CX_{12}CX_2C$ (SEQ ID NO: 79), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{11}C$ (SEQ ID NO: 80), $CX_{16}CX_5CXCXCX_{14}C$ (SEQ ID NO: 81), $CX_{10}CX_5CXCX_8CX_6C$ (SEQ ID NO: 82), $CX_{12}CX_4CX_5CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 83), $CX_{12}CX_5CX_5CXCX_8C$ (SEQ ID NO: 84), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_4CXCX_9C$ (SEQ ID NO: 85), $CX_{11}CX_4CX_5CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 86), $CX_{10}CX_6CX_5CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 87), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_8C$ (SEQ ID NO: 88), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_3CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 89), $CX_{10}CX_6CX_5CX_3CX_8C$ (SEQ ID NO: 90), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_2CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 91), $CX_7CX_6CX_3CX_3CX_9C$ (SEQ ID NO: 92), $CX_9CX_8CX_5CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 93), $CX_{10}CX_2CX_2CX_7CXCX_{11}CX_5C$ (SEQ ID NO: 94),および$CX_{10}CX_6CX_5CXCX_2CX_8CX_4C$ (SEQ ID NO: 95)

からなる群より選択されるシステインモチーフ;ならびに$(X^aX^b)_z$モチーフ(式中、X^aは、任意のアミノ酸残基であり、X^bは、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、トリプトファン(W)、およびヒスチジン(H)からなる群より選択される芳香族アミノ酸であり、かつzは1～4である)を含む。

【０１２５】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、$CX^1X^2X^3X^4X^5$モチーフ(式中、X^1は、トレオニン(T)、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、またはバリン(V)であり、X^2は、セリン(S)、トレオニン(T)、プロリン(P)、イソロイシン(I)、アラニン(A)、バリン(V)、またはアスパラギン(N)であり、X^3は、バリン(V)、アラニン(A)、トレオニン(T)、またはアスパラギン酸(D)であり、X^4は、ヒスチジン(H)、トレオニン(T)、アルギニン(R)、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、またはロイシン(L)であり、かつX^5は、グルタミン(Q)である);

$CCX_3CXCX_3CX_2CCXCX_5CX_9CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 96), $CX_6CX_2CX_5CX_4CCXCX_4CX_6CXC$ (SEQ ID NO: 97), $CX_7CXCX_5CX_4CCCX_4CX_6CXC$ (SEQ ID NO: 98), $CX_9CX_3CXCX_2CXCCCX_6CX_4C$ (SEQ ID NO: 99), $CX_5CX_3CXCX_4CX_4CCX_{10}CX_2CC$ (SEQ ID NO: 100), $CX_5CXCX_1CXCX_3CCX_3CX_4CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 101), $CX_9CCCX_3CX_4CCCX_5CX_6C$ (SEQ ID NO: 102), $CCX_8CX_5CX_4CX_3CX_4CCXCX_1C$ (SEQ ID NO: 103), $CCX_6CCX_5CCCX_4CX_4CX_{12}C$ (SEQ ID NO: 104), $CX_6CX_2CX_3CCCX_4CX_5CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 105), $CX_3CX_5CX_6CX_4CCXCX_5CX_4CXC$ (SEQ ID NO: 106), $CX_4CX_4CCX_4CX_4CXCX_{11}CX_2CXC$ (SEQ ID NO: 107), $CX_5CX_2CCX_5CX_4CCX_3CCX_7C$ (SEQ ID NO: 108), $CX_5CX_5CX_3CX_2CXCCX_4CX_7CXC$ (SEQ ID NO: 109), $CX_3CX_7CX_3CX_4CCXCX_2CX_5CX_2C$ (SEQ ID NO: 110), $CX_9CX_3CXCX_4CCX_5CCCX_6C$ (SEQ ID NO: 111), $CX_9CX_3CXCX_2CXCCX_6CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 112), $CX_8CCXCX_3CCX_3CXCX_3CX_4C$ (SEQ ID NO: 113), $CX_9CCX_4CX_2CXCCXCX_4CX_3C$ (SEQ ID NO: 114), $CX_{10}CXCX_3CX_2CXCCX_4CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 115), $CX_9CXCX_3CX_2CXCCX_4CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 116), $CX_6CCXCX_5CX_4CCXCX_5CX_2C$ (SEQ ID NO: 117), $CX_6CCXCX_3CXCCX_3CX_4CC$ (SEQ ID NO: 118), $CX_6CCXCX_3CXCX_2CXCX_4CX_8C$ (SEQ ID NO: 119), $CX_4CX_2CCX_3CXCX_4CCX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 120), $CX_3CX_5CX_3CCCX_4CX_9C$ (SEQ ID NO: 121), $CCX_9CX_3CXCCX_3CX_5C$ (SEQ ID NO: 122), $CX_9CX_2CX_3CX_4CCX_4CX_5C$ (SEQ ID NO: 123), $CX_9CX_7CX_4CCXCX_7CX_3C$ (SEQ ID NO: 124), $CX_9CX_3CCCX_{10}CX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 125), $CX_3CX_5CX_5CX_4CCX_{10}CX_6C$ (SEQ ID NO: 126), $CX_9CX_5CX_4CCXCX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 127), $CX_7CXCX_6CX_4CCCX_{10}C$ (SEQ ID NO: 128), $CX_8CX_2CX_4CCX_4CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 129), $CX_7CX_5CXCX_4CCX_7CX_4C$ (SEQ ID NO: 130), $CX_{11}CX_3CX_4CCCX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 131), $CX_2CX_3CX_4CCX_4CX_5CX_{15}C$ (SEQ ID NO: 132), $CX_9CX_5CX_4CCX_7C$ (SEQ ID NO: 133), $CX_9CX_7CX_3CX_2CX_6C$ (SEQ ID NO: 134), $CX_9CX_5CX_4CCX_{14}C$ (SEQ ID NO: 135), $CX_9CX_5CX_4CCX_8C$ (SEQ ID NO: 136), $CX_9CX_6CX_4CCXC$ (SEQ ID NO: 137), $CX_5CCX_7CX_4CX_{12}$ (SEQ ID NO: 138), $CX_{10}CX_3CX_4CCX_4C$ (SEQ ID NO: 139), $CX_9CX_4CCX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 140), $CX_{10}CX_3CX_4CX_7CXC$ (SEQ ID NO: 141), $CX_7CX_7CX_2CX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 142), $CX_9CX_4CX_4CCX_6C$ (SEQ ID NO: 143), $CX_7CXCX_3CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 144), $CX_7CXCX_4CXCX_4C$ (SEQ ID NO: 145), $CX_9CX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 146), $CX_3CX_6CX_8C$ (SEQ ID NO: 147), $CX_{10}CXCX_4C$ (SEQ ID NO: 148), $CX_{10}CCX_4C$ (SEQ ID NO: 149), $CX_{15}C$ (SEQ ID NO: 150), $CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 151), および CX_9C (SEQ ID NO: 152)

からなる群より選択されるシステインモチーフ;ならびに$(X^aX^b)_z$モチーフ(式中、X^aは、任意のアミノ酸残基であり、X^bは、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、トリプトファン(W)、およびヒスチジン(H)からなる群より選択される芳香族アミノ酸であり、かつzは1～4である)を含む。

【０１２６】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、リンカーである付加的な配列を含む。

【０１２７】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、リンカーは、非抗体配列のC末端、N末端、またはC末端およびN末端の両方に連結されている。

【０１２８】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、反芻動物のCDR3である。

【０１２９】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、反芻動物は、ウシである。

【０１３０】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、ヒト化抗体またはその結合断片は、ヒト重鎖可変領域フレームワーク配列を含む。

【０１３１】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、ヒト化抗体またはその結合断片は、ヒト重鎖生殖系列配列を含むか、またはヒト重鎖生殖系列配列に由来する。

【０１３２】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、重鎖可変領域は、SEQ ID NO: 735のアミノ酸配列を含む。

【０１３３】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、重鎖可変領域は、SEQ ID NO: 737のアミノ酸配列を含む。

【０１３４】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、重鎖可変領域は、SEQ ID NO: 739のアミノ酸配列を含む。

【０１３５】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、重鎖可変領域は、SEQ ID NO: 741のアミノ酸配列を含む。

【０１３６】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、重鎖可変領域は、SEQ ID NO: 743のアミノ酸配列を含む。

【０１３７】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、重鎖可変領域は、SEQ ID NO: 745のアミノ酸配列を含む。

【０１３８】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、重鎖可変領域は、SEQ ID NO: 747のアミノ酸配列を含む。

【０１３９】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、重鎖可変領域は、SEQ ID NO: 749のアミノ酸配列を含む。

【０１４０】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、

(i) GSKHRLRDYFLYNE (SEQ ID NO: 501), GSKHRLRDYFLYN (SEQ ID NO: 502), GSKHRLRDYFLY (SEQ ID NO: 503), GSKHRLRDYFL (SEQ ID NO: 504), GSKHRLRDYF (SEQ ID NO: 505), GSKHRLRDY (SEQ ID NO: 506), または GSKHRLRD (SEQ ID NO: 507) のいずれか1つ; (ii) EAGGPDYRNGYNY (SEQ ID NO: 508), EAGGPDYRNGYN (SEQ ID NO: 509), EAGGPDYRNGY (SEQ ID NO: 510), EAGGPDYRNG (SEQ ID NO: 511), EAGGPDYRN (SEQ ID NO: 512), EAGGPDYR (SEQ ID NO: 513), EAGGPDY (SEQ ID NO: 514), または EAGGPD (SEQ ID NO: 515) のいずれか1つ; (iii) EAGGPIWHDDVKY (SEQ ID NO: 516), EAGGPIWHDDVK (SEQ ID NO: 517), EAGGPIWHDDV (SEQ ID NO: 518), EAGGPIWHDD (SEQ ID NO: 519), EAGGPIWHD (SEQ ID NO: 520), EAGGPIWH (SEQ ID NO: 521), EAGGPIW (SEQ ID NO: 522), または EAGGPI (SEQ ID NO: 523) のいずれか1つ; (iv) GTDYTIDDQGI (SEQ ID NO: 524), GTDYTIDDQG (SEQ ID NO: 525), GTDYTIDDQ (SEQ ID NO: 526), GTDYTIDD (SEQ ID NO: 527), GTDYTID (SEQ ID NO: 528), または GTDYTI (SEQ ID NO: 529) のいずれか1つ; (v) DKGDSDYDYNL (SEQ ID NO: 530), DKGDSDYDYN (SEQ ID NO: 531), DKGDSDYDY (SEQ ID NO: 532), DKGDSDYD (SEQ ID NO: 533), DKGDSDY (SEQ ID NO: 534), DKGDSD (SEQ ID NO: 535) のいずれか1つ; あるいは (vi) TSVHQETKKYQS (SEQ ID NO: 498)
のアミノ酸配列を含む。

【０１４１】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、

(i) YGPNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 536), GPNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 537), PNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 538), NYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 539), YEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 540), または EEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 541) のいずれか1つ; (ii) YDFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 542), DFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 543), FYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 544), YDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 545), DGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 546), GYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 547), または YYNYHYMDV (SEQ ID NO: 548) のいずれか1つ; (iii) YDFNDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 549), DFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 550), FYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 551), YDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 552), DGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 553), または GYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 554) のいずれか1つ; (iv) QGIRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 555), GIRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 556), IRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 557), RYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 558), YQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 559), QGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 560), GSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 561), SGTFWYFDV (SEQ ID NO: 562), または GTFWYFDV (SEQ ID NO: 563) のいずれか1つ; (v) YNLGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 564), NLGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 565), LGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 566), GYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 567), YSYFYYMDG (SEQ ID NO: 568), または SYFYYMDG (SEQ ID NO: 569) のいずれか1つ; あるいは (vi) SYTYNYEWHVDV (SEQ ID NO: 499)
のアミノ酸配列を含む。

【０１４２】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、ヒト化抗

体またはその結合断片は、軽鎖可変領域配列を含む。

【０１４３】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、ヒト化抗体またはその結合断片は、(i)SEQ ID NO: 750、(ii)SEQ ID NO: 751、(iii)SEQ ID NO: 752、および(iv)SEQ ID NO: 753の群より選択される配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【０１４４】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、軽鎖可変領域配列は、λ軽鎖可変領域配列である。

【０１４５】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、軽鎖可変領域配列は、ヒトλ軽鎖可変領域配列である。

【０１４６】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、軽鎖可変領域配列は、VL1-51生殖系列配列を含む。

【０１４７】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、軽鎖可変領域は、VL1-51生殖系列配列に由来する。

【０１４８】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、VL1-51生殖系列配列は、Kabatの番号付与に基づくIle29Val置換およびAsn32Gly置換を含むCDR1を含む。

【０１４９】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、VL1-51生殖系列配列は、DNNからGDTへの置換を含むCDR2を含む。

【０１５０】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、VL1-51生殖系列配列は、DNNKRP(SEQ ID NO: 471)からGDTSRA(SEQ ID NO: 472)への置換を含むCDR2を含む。

【０１５１】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、VL1-51生殖系列配列は、Kabatの番号付与に基づくS2A置換、T5N置換、P8S置換、A12G置換、A13S置換、およびP14L置換を含む。

【０１５２】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、VL1-51生殖系列配列は、Kabatの番号付与に基づくS2A置換、T5N置換、P8S置換、A12G置換、A13S置換、およびP14L置換と、DNNからGDTへの置換を含むCDR2とを含む。

【０１５３】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、(a)SEQ ID NO: 740、SEQ ID NO: 741、SEQ ID NO: 742、およびSEQ ID NO: 743からなる群より選択される配列を含む重鎖可変領域;ならびに(b)SEQ ID NO: 750を含む軽鎖可変領域を含む、ヒト化抗体またはその結合断片。

【０１５４】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、ヒト化抗体またはその結合断片は、空間的にアドレス指定された(spatially addressed)形式で存在する。

【０１５５】

本開示はまた、極めて長いCDR3をコードする核酸配列を、(i)SEQ ID NO: 734またはSEQ ID NO: 735、(ii)SEQ ID NO: 736またはSEQ ID NO: 737、(iii)SEQ ID NO: 738またはSEQ ID NO: 739、(iv)SEQ ID NO: 740またはSEQ ID NO: 741、(v)SEQ ID NO: 742またはSEQ ID NO: 743、(vi)SEQ ID NO: 744またはSEQ ID NO: 745、(vii)SEQ ID NO: 746またはSE

Q ID NO: 747、および(viii)SEQ ID NO: 748またはSEQ ID NO: 749からなる群より選択される可変領域配列をコードする核酸配列と遺伝子的に組み合わせる段階を含む、抗体可変領域をヒト化する方法も、提供する。

【０１５６】

本開示はまた、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体のライブラリーを生成する方法も提供し、この方法は、極めて長いCDR3をコードする核酸配列を、(i)SEQ ID NO: 734またはSEQ ID NO: 735、(ii)SEQ ID NO: 736またはSEQ ID NO: 737、(iii)SEQ ID NO: 738またはSEQ ID NO: 739、(iv)SEQ ID NO: 740またはSEQ ID NO: 741、(v)SEQ ID NO: 742またはSEQ ID NO: 743、(vi)SEQ ID NO: 744またはSEQ ID NO: 745、(vii)SEQ ID NO: 746またはSEQ ID NO: 747、および(viii)SEQ ID NO: 748またはSEQ ID NO: 749からなる群より選択される可変領域配列をコードする核酸配列と組み合わせて、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体をコードする核酸を作製する段階;ならびに極めて長いCDR3を含むヒト化抗体をコードする核酸を発現させて、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体のライブラリーを生成する段階、を含む。

【０１５７】

本開示はまた、極めて長いCDR3を含み、かつ非抗体配列を含むヒト化抗体またはその結合断片のライブラリーを生成する方法も提供し、この方法は、極めて長いCDR3をコードする核酸配列と、(i)SEQ ID NO: 734またはSEQ ID NO: 735、(ii)SEQ ID NO: 736またはSEQ ID NO: 737、(iii)SEQ ID NO: 738またはSEQ ID NO: 739、(iv)SEQ ID NO: 740またはSEQ ID NO: 741、(v)SEQ ID NO: 742またはSEQ ID NO: 743、(vi)SEQ ID NO: 744またはSEQ ID NO: 745、(vii)SEQ ID NO: 746またはSEQ ID NO: 747、および(viii)SEQ ID NO: 748またはSEQ ID NO: 749からなる群より選択される可変領域配列をコードする核酸と、非抗体配列をコードする核酸配列とを組み合わせて、極めて長いCDR3および非抗体配列を含むヒト化抗体またはその結合断片をコードする核酸を作製する段階;ならびに極めて長いCDR3および非抗体配列を含むヒト化抗体またはその結合断片をコードする核酸を発現させて、極めて長いCDR3および非抗体配列を含むヒト化抗体またはその結合断片のライブラリーを生成する段階、を含む。いくつかの態様において、極めて長いCDR3は、ウシ配列、非ウシ配列、抗体配列、または非抗体配列を含む。

【０１５８】

本開示はまた、非ウシ配列または非抗体配列を含む極めて長いCDR3を含むヒト化抗体またはその結合断片のライブラリーも提供する。例えば、非抗体配列(例えば非抗体ヒト配列)は、CDR3中に挿入され、任意で、CDR3の1つの部分(例えば、CDR3の1つもしくは複数のアミノ酸)またはCDR3配列全体(例えば、CDR3のアミノ酸の全てもしくは実質的に全て)が除去される場合を含む。

【０１５９】

本開示はまた、システインモチーフを含む極めて長いCDR3を含むヒト化抗体またはその結合断片のライブラリーを生成する方法も提供し、この方法は、ヒト可変領域フレームワーク(FR)配列と極めて長いCDR3およびシステインモチーフをコードする核酸配列とを組み合わせる段階;システインモチーフ中の1つまたは複数のシステイン残基の間に位置する1つまたは複数のアミノ酸残基をコードする核酸配列に1つまたは複数のヌクレオチド変化を導入して、異なるアミノ酸残基をコードするヌクレオチドから、極めて長いCDR3と1つまたは複数のヌクレオチド変化がシステインドメイン中の1つまたは複数のシステイン残基の間に導入されたシステインモチーフとを含むヒト化抗体またはその結合断片をコードする核酸を作製する段階;ならびに極めて長いCDR3と1つまたは複数のヌクレオチド変化がシステインドメイン中の1つまたは複数のシステイン残基の間に導入されたシステインモチーフとを含むヒト化抗体またはその結合断片をコードする核酸を発現させて、極めて長いCDR3と1つまたは複数のアミノ酸変化がシステインドメイン中の1つまたは複数のシステイン残基の間に導入されたシステインモチーフとを含むヒト化抗体またはその結合断片のライブラリーを生成する段階、を含む。

【０１６０】

本開示はまた、システインモチーフを含む極めて長いCDR3を含むヒト化抗体またはその結合断片のライブラリーであって、抗体または結合断片が、システインモチーフ中のシステイン残基の間に位置するアミノ酸残基の1つまたは複数の置換を含む、ヒト化抗体またはその結合断片のライブラリーも提供する。

【０１６１】

本開示はまた、ウシ由来の極めて長いCDR3を含むヒト化抗体またはその結合断片のライブラリーを生成する方法も提供し、この方法は、ヒト可変領域フレームワーク(FR)配列をコードする核酸配列とウシ由来の極めて長いCDR3をコードする核酸とを組み合わせる段階、ならびにヒト可変領域フレームワーク(FR)配列をコードする核酸およびウシ由来の極めて長いCDR3をコードする核酸を発現させて、ウシ由来の極めて長いCDR3を含むヒト化抗体またはその結合断片のライブラリーを生成する段階、を含む。

【０１６２】

本開示はまた、(a)(i)SEQ ID NO: 734またはSEQ ID NO: 735、(ii)SEQ ID NO: 736またはSEQ ID NO: 737、(iii)SEQ ID NO: 738またはSEQ ID NO: 739、(iv)SEQ ID NO: 740またはSEQ ID NO: 741、(v)SEQ ID NO: 742またはSEQ ID NO: 743、(vi)SEQ ID NO: 744またはSEQ ID NO: 745、(vii)SEQ ID NO: 746またはSEQ ID NO: 747、および(viii)SEQ ID NO: 748またはSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列;ならびに(b)ウシ由来の極めて長いCDR3を含む重鎖可変領域を含むヒト化抗体またはその結合断片のライブラリーも提供する。

【０１６３】

本開示はまた、式V1-X-V2の配列を含む抗体重鎖可変領域も提供し、式中、V1は、
(i) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNY NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 735), (ii) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSDKYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNY NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 737), (iii) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGSINHSGSTNY NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 739), (iv) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSDKYWSWIRQPPGKGLEWIGSINHSGSTNY NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 741), (v) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCTASGFSLSDKAVGWIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYN PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 743), (vi) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGLGSIDTGGNTGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEW YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 745), (vii) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCTASGFSLSDKAVGWIRQPPGKGLEWIGSINHSGSTNYN PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 747), および (viii) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCTASGFSLSDKAVGWIRQPPGKGLEWLGSIDTGGNTGY NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 749)
からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み;Xは、極めて長いCDR3を含み、Xは、極めて長いCDR3を含み、この極めて長いCDR3は、任意でCDR3の1つの部分(例えば、CDR3の1つもしくは複数のアミノ酸)またはCDR3配列全体(例えば、CDR3のアミノ酸の全てもしくは実質的に全て)を除去する場合を含む、抗体のCDR3配列中に挿入された非ヒト配列または非抗体配列(例えば非抗体ヒト配列)を含んでよく;かつV2は、
(i) WGHGTAVTVSS (SEQ ID NO: 570), (ii) WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 571), (iii) WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 572), (iv) WGRGTLVTVSS (SEQ ID NO: 573), (v) WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 574), および (vi) WGQGLLVTVSS (SEQ ID NO: 500)

からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。

【０１６４】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、

(i) GSKHRLRDYFLYNE (SEQ ID NO: 501), GSKHRLRDYFLYN (SEQ ID NO: 502), GSKHRLRDYFLY (SEQ ID NO: 503), GSKHRLRDYFL (SEQ ID NO: 504), GSKHRLRDYF (SEQ ID NO: 505), GSKHRLRDY (SEQ ID NO: 506), またはGSKHRLRD (SEQ ID NO: 507) のいずれか1つ; (ii) EAGGPDYRNGYNY (SEQ ID NO: 508), EAGGPDYRNGYN (SEQ ID NO: 509), EAGGPDYRNGY (SEQ ID NO: 510), EAGGPDYRNG (SEQ ID NO: 511), EAGGPDYRN (SEQ ID NO: 512), EAGGPDYR (SEQ ID NO: 513), EAGGPDY (SEQ ID NO: 514), またはEAGGPD (SEQ ID NO: 515) のいずれか1つ; (iii) EAGGPIWHDDVKY (SEQ ID NO: 516), EAGGPIWHDDVK (SEQ ID NO: 517), EAGGPIWHDDV (SEQ ID NO: 518), EAGGPIWHDD (SEQ ID NO: 519), EAGGPIWHD (SEQ ID NO: 520), EAGGPIWH (SEQ ID NO: 521), EAGGPIW (SEQ ID NO: 522), またはEAGGPI (SEQ ID NO: 523) のいずれか1つ; (iv) GTDYTIDDQGI (SEQ ID NO: 524), GTDYTIDDQG (SEQ ID NO: 525), GTDYTIDDQ (SEQ ID NO: 526), GTDYTIDD (SEQ ID NO: 527), GTDYTID (SEQ ID NO: 528), またはGTDYTI (SEQ ID NO: 529) のいずれか1つ; (v) DKGDSDYDYNL (SEQ ID NO: 530), DKGDSDYDYN (SEQ ID NO: 531), DKGDSDYDY (SEQ ID NO: 532), DKGDSDYD (SEQ ID NO: 533), DKGDSDY (SEQ ID NO: 534), DKGDSD (SEQ ID NO: 535) のいずれか1つ;あるいは (vi) TSVHQETKKYQS (SEQ ID NO: 498)

のアミノ酸配列を含む。

【０１６５】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、

(i) YGPNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 536), GPNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 537), PNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 538), NYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 539), YEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 540), または EEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 541) のいずれか1つ; (ii) YDFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 542), DFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 543), FYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 544), YDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 545), DGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 546), GYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 547), または YYNYHYMDV (SEQ ID NO: 548) のいずれか1つ; (iii) YDFNDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 549), DFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 550), FYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 551), YDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 552), DGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 553), または GYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 554) のいずれか1つ; (iv) QGIRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 555), GIRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 556), IRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 557), RYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 558), YQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 559), QGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 560), GSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 561), SGTFWYFDV (SEQ ID NO: 562), または GTFWYFDV (SEQ ID NO: 563) のいずれか1つ; (v) YNLGYSYFYYMDG(SEQ ID NO: 564), NLGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 565), LGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 566), GYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 567), YSYFYYMDG (SEQ ID NO: 568), または SYFYYMDG (SEQ ID NO: 569) のいずれか1つ;あるいは (vi) SYTYNYEWHVDV (SEQ ID NO: 499)
のアミノ酸配列を含む。

【０１６６】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、極めて長いCDR3は、

(i) GSKHRLRDYFLYNE (SEQ ID NO: 501), GSKHRLRDYFLYN (SEQ ID NO: 502), GSKHRLRDYFLY (SEQ ID NO: 503), GSKHRLRDYFL (SEQ ID NO: 504), GSKHRLRDYF (SEQ ID NO: 505), GSKHRLRDY (SEQ ID NO: 506), またはGSKHRLRD (SEQ ID NO: 507) のいずれか1つ、および YGPNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 536), GPNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 537), PNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 538), NYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 539), YEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 540), またはEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 541) のいずれか1つ; (ii) EAGGPDYRNGYNY (SEQ ID NO: 508), EAGGPDYRNGYN (SEQ ID NO: 509), EAGGPDYRNGY (SEQ ID NO: 510), EAGGPDYRNG (SEQ ID NO: 511), EAGGPDYRN (SEQ ID NO: 512), EAGGPDYR (SEQ ID NO: 513), EAGGPDY (SEQ ID NO: 514), またはEAGGPD (SEQ ID NO: 515) のいずれか1つ、およびYDFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 542), DFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 543), FYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 544), YDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 545), DGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 546), GYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 547), またはYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 548) のいずれか1つ; (iii) EAGGPIWHDDVKY (SEQ ID NO: 516), EAGGPIWHDDVK (SEQ ID NO: 517), EAGGPIWHDDV (SEQ ID NO: 518), EAGGPIWHDD (SEQ ID NO: 519), EAGGPIWHD (SEQ ID NO: 520), EAGGPIWH (SEQ ID NO: 521), EAGGPIW (SEQ ID NO: 522), またはEAGGPI (SEQ ID NO: 523) のいずれか1つ、およびYDFNDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 549), DFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 550), FYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 551), YDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 552), DGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 553), またはGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 554) のいずれか1つ; (iv) GTDYTIDDQGI (SEQ ID NO: 524), GTDYTIDDQG (SEQ ID NO: 525), GTDYTIDDQ (SEQ ID NO: 526), GTDYTIDD (SEQ ID NO: 527), GTDYTID (SEQ ID NO: 528), またはGTDYTI (SEQ ID NO: 529) のいずれか1つ、およびQGIRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 555), GIRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 556), IRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 557), RYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 558), YQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 559), QGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 560), GSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 561), SGTFWYFDV (SEQ ID NO: 562), またはGTFWYFDV (SEQ ID NO: 563) のいずれか1つ; (v) YNLGYSYFYYMDG(SEQ ID NO: 564), NLGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 565), LGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 566), GYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 567), YSYFYYMDG (SEQ ID NO: 568), またはSYFYYMDG (SEQ ID NO: 569) のいずれか1つ、および YNLGYSYFYYMDG(SEQ ID NO: 564), NLGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 565), LGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 566), GYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 567), YSYFYYMDG (SEQ ID NO: 568), またはSYFYYMDG (SEQ ID NO: 569) のいずれか1つ; あるいは (vi) TSVHQETKKYQS (SEQ ID NO: 498) およびSYTYNYEWHVDV (SEQ ID NO: 499) のアミノ酸配列を含む。

【０１６７】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、V1が、SEQ ID NO: 735、SEQ ID NO: 737、SEQ ID NO: 739、SEQ ID NO: 741、SEQ ID NO: 743、SEQ ID NO: 745、SEQ ID NO: 747、およびSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、極めて長いCDR3が、

GSKHRLRDYFLYNE (SEQ ID NO: 501), GSKHRLRDYFLYN
(SEQ ID NO: 502), GSKHRLRDYFLY (SEQ ID NO: 503), GSKHRLRDYFL (SEQ ID NO: 504), GSKHRLRDYF (SEQ ID NO: 505), GSKHRLRDY (SEQ ID NO: 506), または GSKHRLRD (SEQ ID NO: 507)
のいずれか1つのアミノ酸配列、および
YGPNYEEWGDYLATLDV
(SEQ ID NO: 536), GPNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 537), PNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 538), NYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 539), YEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 540), または EEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 541)
のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、かつV2が、
WGQGLLVTVSS (SEQ ID NO: 500)
より選択される(selected of)アミノ酸配列を含む、場合を含む。

【０１６８】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、V1が、SEQ ID NO: 735、SEQ ID NO: 737、SEQ ID NO: 739、SEQ ID NO: 741、SEQ ID NO: 743、SEQ ID NO: 745、SEQ ID NO: 747、およびSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、極めて長いCDR3が、
EAGGPDYRNGYNY (SEQ ID NO: 508), EAGGPDYRNGYN
(SEQ ID NO: 509), EAGGPDYRNGY (SEQ ID NO: 510), EAGGPDYRNG (SEQ ID NO: 511), EAGGPDYRN (SEQ ID NO: 512), EAGGPDYR (SEQ ID NO: 513), EAGGPDY (SEQ ID NO: 514), または EAGGPD (SEQ ID NO: 515)
のいずれか1つのアミノ酸配列、および
YDFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 542), DFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 543), FYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 544), YDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 545), DGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 546), GYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 547), または YYNYHYMDV (SEQ ID NO: 548)
のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、かつV2が、
WGQGLLVTVSS (SEQ ID NO: 500)
より選択されるアミノ酸配列を含む、場合を含む。

【０１６９】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、V1が、SEQ ID NO: 735、SEQ ID NO: 737、SEQ ID NO: 739、SEQ ID NO: 741、SEQ ID NO: 743、SEQ ID NO: 745、SEQ ID NO: 747、およびSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、極めて長いCDR3が、
EAGGPIWHDDVKY (SEQ ID NO: 516), EAGGPIWHDDVK
(SEQ ID NO: 517), EAGGPIWHDDV (SEQ ID NO: 518), EAGGPIWHDD (SEQ ID NO: 519), EAGGPIWHD (SEQ ID NO: 520), EAGGPIWH (SEQ ID NO: 521), EAGGPIW (SEQ ID NO: 522), または EAGGPI (SEQ ID NO: 523)
のいずれか1つのアミノ酸配列、および
YDFNDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 549), DFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 550), FYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 551), YDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 552), DGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 553), または GYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 554)
のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、かつV2が、
WGQGLLVTVSS (SEQ ID NO: 500)

より選択されるアミノ酸配列を含む、場合を含む。

【０１７０】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、V1が、SEQ ID NO: 735、SEQ ID NO: 737、SEQ ID NO: 739、SEQ ID NO: 741、SEQ ID NO: 743、SEQ ID NO: 745、SEQ ID NO: 747、およびSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、極めて長いCDR3が、

GTDYTIDDQGI (SEQ ID NO: 524), GTDYTIDDQG (SEQ ID NO: 525), GTDYTIDDQ (SEQ ID NO: 526), GTDYTIDD (SEQ ID NO: 527), GTDYTID (SEQ ID NO: 528), または GTDYTI (SEQ ID NO: 529)

のいずれか1つのアミノ酸配列、および

QGIRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 555), GIRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 556), IRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 557), RYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 558), YQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 559), QGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 560), GSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 561), SGTFWYFDV (SEQ ID NO: 562),または GTFWYFDV (SEQ ID NO: 563)

のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、かつV2が、

WGQGLLVTVSS (SEQ ID NO: 500)

より選択されるアミノ酸配列を含む、場合を含む。

【０１７１】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、V1が、SEQ ID NO: 735、SEQ ID NO: 737、SEQ ID NO: 739、SEQ ID NO: 741、SEQ ID NO: 743、SEQ ID NO: 745、SEQ ID NO: 747、およびSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、極めて長いCDR3が、

YNLGYSYFYYMDG(SEQ ID NO: 564), NLGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 565), LGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 566), GYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 567), YSYFYYMDG (SEQ ID NO: 568), または SYFYYMDG (SEQ ID NO: 569)

のいずれか1つおよび

YNLGYSYFYYMDG(SEQ ID NO: 564), NLGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 565), LGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 566), GYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 567), YSYFYYMDG (SEQ ID NO: 568), または SYFYYMDG (SEQ ID NO: 569)

のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、かつV2が、

WGQGLLVTVSS (SEQ ID NO: 500)

より選択されるアミノ酸配列を含む、場合を含む。

【０１７２】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、極めて長いCDR3が、35アミノ酸長もしくはそれ以上、40アミノ酸長もしくはそれ以上、45アミノ酸長もしくはそれ以上、50アミノ酸長もしくはそれ以上、55アミノ酸長もしくはそれ以上、または60アミノ酸長もしくはそれ以上である場合を含む。

【０１７３】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、極めて長いCDR3が、35アミノ酸長またはそれ以上である場合を含む。

【０１７４】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、極めて長いCDR3がシステインモチーフを含む場合を含む。

【０１７５】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、V1が、SEQ ID NO: 735、SEQ ID NO: 737、SEQ ID NO: 739、SEQ ID NO: 741、SEQ ID NO: 743、SEQ ID NO: 745、SEQ ID NO: 747、およびSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、極めて長いCDR3が、
GSKHRLRDYFLYNE (SEQ ID NO: 501), GSKHRLRDYFLYN
(SEQ ID NO: 502), GSKHRLRDYFLY (SEQ ID NO: 503), GSKHRLRDYFL (SEQ ID NO: 504), GSKHRLRDYF (SEQ ID NO: 505), GSKHRLRDY (SEQ ID NO: 506), または GSKHRLRD (SEQ ID NO: 507)
のいずれか1つのアミノ酸配列、システインモチーフ、および
YGPNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 536), GPNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 537), PNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 538), NYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 539), YEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 540), または EEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 541)
のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、かつV2が、
WGQGLLVTVSS (SEQ ID NO: 500)
のアミノ酸配列を含む、場合を含む。

【０１７６】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、V1が、SEQ ID NO: 735、SEQ ID NO: 737、SEQ ID NO: 739、SEQ ID NO: 741、SEQ ID NO: 743、SEQ ID NO: 745、SEQ ID NO: 747、およびSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、極めて長いCDR3が、
EAGGPDYRNGYNY (SEQ ID NO: 508), EAGGPDYRNGYN
(SEQ ID NO: 509), EAGGPDYRNGY (SEQ ID NO: 510), EAGGPDYRNG (SEQ ID NO: 511), EAGGPDYRN (SEQ ID NO: 512), EAGGPDYR (SEQ ID NO: 513), EAGGPDY (SEQ ID NO: 514), または EAGGPD (SEQ ID NO: 515)
のいずれか1つのアミノ酸配列、システインモチーフ、および
YDFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 542), DFYDGYYNYHYMDV
(SEQ ID NO: 543), FYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 544), YDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 545), DGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 546), GYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 547), または YYNYHYMDV (SEQ ID NO: 548)
のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、かつV2が、
WGQGLLVTVSS (SEQ ID NO: 500)
より選択されるアミノ酸配列を含む、場合を含む。

【０１７７】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、V1が、SEQ ID NO: 735、SEQ ID NO: 737、SEQ ID NO: 739、SEQ ID NO: 741、SEQ ID NO: 743、SEQ ID NO: 745、SEQ ID NO: 747、およびSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、極めて長いCDR3が、
EAGGPIWHDDVKY (SEQ ID NO: 516), EAGGPIWHDDVK
(SEQ ID NO: 517), EAGGPIWHDDV (SEQ ID NO: 518), EAGGPIWHDD (SEQ ID NO: 519), EAGGPIWHD (SEQ ID NO: 520), EAGGPIWH (SEQ ID NO: 521), EAGGPIW (SEQ ID NO: 522), または EAGGPI (SEQ ID NO: 523)
のいずれか1つのアミノ酸配列、システインモチーフ、および

YDFNDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 549), DFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 550), FYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 551), YDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 552), DGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 553), または GYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 554)
のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、かつV2が、
WGQGLLVTVSS (SEQ ID NO: 500)
より選択されるアミノ酸配列を含む、場合を含む。

【０１７８】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、V1が、SEQ ID NO: 735、SEQ ID NO: 737、SEQ ID NO: 739、SEQ ID NO: 741、SEQ ID NO: 743、SEQ ID NO: 745、SEQ ID NO: 747、およびSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、極めて長いCDR3が、
GTDYTIDDQGI (SEQ ID NO: 524), GTDYTIDDQG (SEQ ID NO: 525), GTDYTIDDQ (SEQ ID NO: 526), GTDYTIDD (SEQ ID NO: 527), GTDYTID (SEQ ID NO: 528), または GTDYTI (SEQ ID NO: 529)
のいずれか1つのアミノ酸配列、システインモチーフ、および
QGIRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 555), GIRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 556), IRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 557), RYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 558), YQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 559), QGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 560), GSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 561), SGTFWYFDV (SEQ ID NO: 562), または GTFWYFDV (SEQ ID NO: 563)
のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、かつV2が、
WGQGLLVTVSS (SEQ ID NO: 500)
より選択されるアミノ酸配列を含む、場合を含む。

【０１７９】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、V1が、SEQ ID NO: 735、SEQ ID NO: 737、SEQ ID NO: 739、SEQ ID NO: 741、SEQ ID NO: 743、SEQ ID NO: 745、SEQ ID NO: 747、およびSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、極めて長いCDR3が、
YNLGYSYFYYMDG(SEQ ID NO: 564), NLGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 565), LGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 566), GYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 567), YSYFYYMDG (SEQ ID NO: 568), または SYFYYMDG (SEQ ID NO: 569)
のいずれか1つのアミノ酸配列、システインモチーフ、および
YNLGYSYFYYMDG(SEQ ID NO: 564), NLGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 565), LGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 566), GYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 567), YSYFYYMDG (SEQ ID NO: 568), または SYFYYMDG (SEQ ID NO: 569)
のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、かつV2が、
WGQGLLVTVSS (SEQ ID NO: 500)
より選択されるアミノ酸配列を含む、場合を含む。

【０１８０】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、VIが、SEQ ID NO: 735、SEQ ID NO: 737、SEQ ID NO: 739、SEQ ID NO: 741、SEQ ID NO: 743、SEQ ID NO: 745、SEQ ID NO: 747、およびSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、極めて長いCDR3が、SEQ ID NO: 498であるアミノ酸

配列およびSEQ ID NO: 499であるアミノ酸配列を含み、かつV2が、SEQ ID NO: 500であるアミノ酸配列を含む、場合を含む。

【０１８１】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、システインモチーフが、

$CX_{10}CX_5CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 41), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{15}C$ (SEQ ID NO: 42), $CX_{11}CXCX_5C$ (SEQ ID NO: 43), $CX_{11}CX_5CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 44), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{13}C$ (SEQ ID NO: 45), $CX_{10}CX_5CXCX_4CX_8C$ (SEQ ID NO: 46), $CX_{10}CX_6CX_6CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 47), $CX_{10}CX_4CX_7CXCX_8C$ (SEQ ID NO: 48), $CX_{10}CX_4CX_7CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 49), $CX_{13}CX_8CX_8C$ (SEQ ID NO: 50), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 51), $CX_{10}CX_5CX_5C$ (SEQ ID NO: 52), $CX_{10}CX_5CX_6CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 53), $CX_{10}CX_6CX_5CX_7CX_9C$ (SEQ ID NO: 54), $CX_9CX_7CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 55), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_9C$ (SEQ ID NO: 56), $CX_{10}CXCX_4CX_5CX_{11}C$ (SEQ ID NO: 57), $CX_7CX_3CX_6CX_5CXCX_5CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 58), $CX_{10}CXCX_4CX_5CXCX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 59), $CX_{16}CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 60), $CX_6CX_4CXCX_4CX_5C$ (SEQ ID NO: 61), $CX_{11}CX_4CX_5CX_6CX_3C$ (SEQ ID NO: 62), $CX_8CX_2CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 63), $CX_{10}CX_5CX_5CXCX_{10}C$ (SEQ ID NO: 64), $CX_{10}CXCX_6CX_4CXC$ (SEQ ID NO: 65), $CX_{10}CX_5CX_5CXCX_2C$ (SEQ ID NO: 66), $CX_{14}CX_2CX_3CXCXC$ (SEQ ID NO: 67), $CX_{15}CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 68), $CX_4CX_6CX_9CX_2CX_{11}C$ (SEQ ID NO: 69), $CX_6CX_4CX_5CX_5CX_{12}C$ (SEQ ID NO: 70), $CX_7CX_3CXCXCX_4CX_5CX_9C$ (SEQ ID NO: 71), $CX_{10}CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 72), $CX_7CX_3CX_5CX_5CX_9C$ (SEQ ID NO: 73), $CX_7CX_5CXCX_2C$ (SEQ ID NO: 74), $CX_{10}CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 75), $CX_{10}CX_3CX_3CX_5CX_7CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 76), $CX_{10}CX_4CX_5CX_{12}CX_2C$ (SEQ ID NO: 77), $CX_{12}CX_4CX_5CXCXCX_9CX_3C$ (SEQ ID NO: 78), $CX_{12}CX_4CX_5CX_{12}CX_2C$ (SEQ ID NO: 79), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{11}C$ (SEQ ID NO: 80), $CX_{16}CX_5CXCXCX_{14}C$ (SEQ ID NO: 81), $CX_{10}CX_5CXCX_8CX_6C$ (SEQ ID NO: 82), $CX_{12}CX_4CX_5CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 83), $CX_{12}CX_5CX_5CXCX_8C$ (SEQ ID NO: 84), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_4CXCX_9C$ (SEQ ID NO: 85), $CX_{11}CX_4CX_5CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 86), $CX_{10}CX_6CX_5CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 87), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_8C$ (SEQ ID NO: 88), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_3CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 89), $CX_{10}CX_6CX_5CX_3CX_8C$ (SEQ ID NO: 90), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_2CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 91), $CX_7CX_6CX_3CX_3CX_9C$ (SEQ ID NO: 92), $CX_9CX_8CX_5CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 93), $CX_{10}CX_2CX_2CX_7CXCX_{11}CX_5C$ (SEQ ID NO: 94),および$CX_{10}CX_6CX_5CXCX_2CX_8CX_4C$ (SEQ ID NO: 95)

からなる群より選択される場合を含む。

【０１８２】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、システインモチーフが、

$CCX_3CXCX_3CX_2CCXCX_5CX_9CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 96), $CX_6CX_2CX_5CX_4CCXCX_4CX_6CXC$ (SEQ ID NO: 97), $CX_7CXCX_5CX_4CCCX_4CX_6CXC$ (SEQ ID NO: 98), $CX_9CX_3CXCX_2CXCCCX_6CX_4C$ (SEQ ID NO: 99), $CX_5CX_3CXCX_4CX_4CCX_{10}CX_2CC$ (SEQ ID NO: 100), $CX_5CXCX_1CXCX_3CCX_3CX_4CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 101), $CX_9CCCX_3CX_4CCCX_5CX_6C$ (SEQ ID NO: 102), $CCX_8CX_5CX_4CX_3CX_4CCXCX_1C$ (SEQ ID NO: 103), $CCX_6CCX_5CCCX_4CX_4CX_{12}C$ (SEQ ID NO: 104), $CX_6CX_2CX_3CCCX_4CX_5CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 105), $CX_3CX_5CX_6CX_4CCXCX_5CX_4CXC$ (SEQ ID NO: 106), $CX_4CX_4CCX_4CX_4CXCX_{11}CX_2CXC$ (SEQ ID NO: 107), $CX_5CX_2CCX_5CX_4CCX_3CCX_7C$ (SEQ ID NO: 108), $CX_5CX_5CX_3CX_2CXCCX_4CX_7CXC$ (SEQ ID NO: 109), $CX_3CX_7CX_3CX_4CCXCX_2CX_5CX_2C$ (SEQ ID NO: 110), $CX_9CX_3CXCX_4CCX_5CCCX_6C$ (SEQ ID NO: 111), $CX_9CX_3CXCX_2CXCCX_6CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 112), $CX_8CCXCX_3CCX_3CXCX_3CX_4C$ (SEQ ID NO: 113), $CX_9CCX_4CX_2CXCCXCX_4CX_3C$ (SEQ ID NO: 114), $CX_{10}CXCX_3CX_2CXCCX_4CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 115), $CX_9CXCX_3CX_2CXCCX_4CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 116), $CX_6CCXCX_5CX_4CCXCX_5CX_2C$ (SEQ ID NO: 117), $CX_6CCXCX_3CXCCX_3CX_4CC$ (SEQ ID NO: 118), $CX_6CCXCX_3CXCX_2CXCX_4CX_8C$ (SEQ ID NO: 119), $CX_4CX_2CCX_3CXCX_4CCX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 120), $CX_3CX_5CX_3CCCX_4CX_9C$ (SEQ ID NO: 121), $CCX_9CX_3CXCCX_3CX_5C$ (SEQ ID NO: 122), $CX_9CX_2CX_3CX_4CCX_4CX_5C$ (SEQ ID NO: 123), $CX_9CX_7CX_4CCXCX_7CX_3C$ (SEQ ID NO: 124), $CX_9CX_3CCCX_{10}CX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 125), $CX_3CX_5CX_5CX_4CCX_{10}CX_6C$ (SEQ ID NO: 126), $CX_9CX_5CX_4CCXCX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 127), $CX_7CXCX_6CX_4CCCX_{10}C$ (SEQ ID NO: 128), $CX_8CX_2CX_4CCX_4CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 129), $CX_7CX_5CXCX_4CCX_7CX_4C$ (SEQ ID NO: 130), $CX_{11}CX_3CX_4CCCX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 131), $CX_2CX_3CX_4CCX_4CX_5CX_{15}C$ (SEQ ID NO: 132), $CX_9CX_5CX_4CCX_7C$ (SEQ ID NO: 133), $CX_9CX_7CX_3CX_2CX_6C$ (SEQ ID NO: 134), $CX_9CX_5CX_4CCX_{14}C$ (SEQ ID NO: 135), $CX_9CX_5CX_4CCX_8C$ (SEQ ID NO: 136), $CX_9CX_6CX_4CCXC$ (SEQ ID NO: 137), $CX_5CCX_7CX_4CX_{12}$ (SEQ ID NO: 138), $CX_{10}CX_3CX_4CCX_4C$ (SEQ ID NO: 139), $CX_9CX_4CCX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 140), $CX_{10}CX_3CX_4CX_7CXC$ (SEQ ID NO: 141), $CX_7CX_7CX_2CX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 142), $CX_9CX_4CX_4CCX_6C$ (SEQ ID NO: 143), $CX_7CXCX_3CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 144), $CX_7CXCX_4CXCX_4C$ (SEQ ID NO: 145), $CX_9CX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 146), $CX_3CX_6CX_8C$ (SEQ ID NO: 147), $CX_{10}CXCX_4C$ (SEQ ID NO: 148), $CX_{10}CCX_4C$ (SEQ ID NO: 149), $CX_{15}C$ (SEQ ID NO: 150), $CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 151), および CX_9C (SEQ ID NO: 152)

からなる群より選択される場合を含む。

【０１８３】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、極めて長いCDR3が2～6個のジスルフィド結合を含む場合を含む。

【０１８４】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、極めて長いCDR3が非抗体配列を含む場合を含む。

【０１８５】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、V1が、SEQ ID NO: 735、SEQ ID NO: 737、SEQ ID NO: 739、SEQ ID NO: 741、SEQ ID NO: 743、SEQ ID NO: 745、SEQ ID NO: 747、およびSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、極めて長いCDR3が、
GSKHRLRDYFLYNE (SEQ ID NO: 501), GSKHRLRDYFLYN
(SEQ ID NO: 502), GSKHRLRDYFLY (SEQ ID NO: 503), GSKHRLRDYFL (SEQ ID NO: 504), GSKHRLRDYF (SEQ ID NO: 505), GSKHRLRDY (SEQ ID NO: 506), またはGSKHRLRD (SEQ ID NO: 507)
のいずれか1つのアミノ酸配列、非抗体配列、および
YGPNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 536), GPNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 537), PNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 538), NYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 539), YEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 540), または EEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 541)
のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、かつV2が、
WGQGLLVTVSS (SEQ ID NO: 500)
のアミノ酸配列を含む、場合を含む。

【０１８６】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、V1が、SEQ ID NO: 735、SEQ ID NO: 737、SEQ ID NO: 739、SEQ ID NO: 741、SEQ ID NO: 743、SEQ ID NO: 745、SEQ ID NO: 747、およびSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、極めて長いCDR3が、
EAGGPDYRNGYNY (SEQ ID NO: 508), EAGGPDYRNGYN
(SEQ ID NO: 509), EAGGPDYRNGY (SEQ ID NO: 510), EAGGPDYRNG (SEQ ID NO: 511), EAGGPDYRN (SEQ ID NO: 512), EAGGPDYR (SEQ ID NO: 513), EAGGPDY (SEQ ID NO: 514), または EAGGPD (SEQ ID NO: 515)
のいずれか1つのアミノ酸配列、非抗体配列、および
YDFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 542), DFYDGYYNYHYMDV
(SEQ ID NO: 543), FYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 544), YDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 545), DGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 546), GYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 547), またはYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 548)
のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、かつV2が、
WGQGLLVTVSS (SEQ ID NO: 500)
より選択されるアミノ酸配列を含む、場合を含む。

【０１８７】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、V1が、SEQ ID NO: 735、SEQ ID NO: 737、SEQ ID NO: 739、SEQ ID NO: 741、SEQ ID NO: 743、SEQ ID NO: 745、SEQ ID NO: 747、およびSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、極めて長いCDR3が、
EAGGPIWHDDVKY (SEQ ID NO: 516), EAGGPIWHDDVK
(SEQ ID NO: 517), EAGGPIWHDDV (SEQ ID NO: 518), EAGGPIWHDD (SEQ ID NO: 519), EAGGPIWHD (SEQ ID NO: 520), EAGGPIWH (SEQ ID NO: 521), EAGGPIW (SEQ ID NO: 522), または EAGGPI (SEQ ID NO: 523)
のいずれか1つのアミノ酸配列、非抗体配列、および

YDFNDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 549), DFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 550), FYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 551), YDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 552), DGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 553),またはGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 554)
のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、かつV2が、
WGQGLLVTVSS (SEQ ID NO:500)
より選択されるアミノ酸配列を含む、場合を含む。

【０１８８】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、V1が、SEQ ID NO: 735、SEQ ID NO: 737、SEQ ID NO: 739、SEQ ID NO: 741、SEQ ID NO: 743、SEQ ID NO: 745、SEQ ID NO: 747、およびSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、極めて長いCDR3が、
GTDYTIDDQGI (SEQ ID NO: 524), GTDYTIDDQG (SEQ ID NO: 525), GTDYTIDDQ (SEQ ID NO: 526), GTDYTIDD (SEQ ID NO: 527), GTDYTID (SEQ ID NO: 528), または GTDYTI (SEQ ID NO: 529)
のいずれか1つのアミノ酸配列、非抗体配列、および
QGIRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 555), GIRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 556), IRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 557), RYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 558), YQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 559), QGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 560), GSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 561), SGTFWYFDV (SEQ ID NO: 562), または GTFWYFDV (SEQ ID NO: 563)
のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、かつV2が、
WGQGLLVTVSS (SEQ ID NO:500)
より選択されるアミノ酸配列を含む、場合を含む。

【０１８９】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、V1が、SEQ ID NO: 735、SEQ ID NO: 737、SEQ ID NO: 739、SEQ ID NO: 741、SEQ ID NO: 743、SEQ ID NO: 745、SEQ ID NO: 747、およびSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、極めて長いCDR3が、
YNLGYSYFYYMDG(SEQ ID NO: 564), NLGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 565), LGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 566), GYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 567), YSYFYYMDG (SEQ ID NO: 568), またはSYFYYMDG (SEQ ID NO: 569)
のいずれか1つのアミノ酸配列、非抗体配列、および
YNLGYSYFYYMDG(SEQ ID NO: 564), NLGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 565), LGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 566), GYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 567), YSYFYYMDG (SEQ ID NO: 568),またはSYFYYMDG (SEQ ID NO: 569)
のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、かつV2が、
WGQGLLVTVSS (SEQ ID NO:500)
より選択されるアミノ酸配列を含む、場合を含む。

【０１９０】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、VIが、SEQ ID NO: 735、SEQ ID NO: 737、SEQ ID NO: 739、SEQ ID NO: 741、SEQ ID NO: 743、SEQ ID NO: 745、SEQ ID NO: 747、およびSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、極めて長いCDR3が、SEQ ID NO: 498であるアミノ酸

配列およびSEQ ID NO: 499であるアミノ酸配列を含み、かつV2が、SEQ ID NO: 500であるアミノ酸配列を含む、場合を含む。

【０１９１】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、非抗体配列が合成配列である場合を含む。

【０１９２】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、非抗体配列が、サイトカイン配列、リンフォカイン配列、ケモカイン配列、増殖因子配列、ホルモン配列、または毒素配列である場合を含む。

【０１９３】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、非抗体配列が、IL-8配列、IL-21配列、SDF-1(α)配列、ソマトスタチン配列、クロロトキシン配列、Pro-TxII配列、ジコノチド配列、ADWX-1配列、HsTx1配列、OSK1配列、Pi2配列、ホンゴトキシン(HgTX)配列、マルガトキシン配列、アギトキシン-2配列、Pi3配列、カリオトキシン配列、アニュロクトキシン配列、カリブドトキシン配列、チチウストキシン-K-α配列、マウロトキシン配列、セラトトキシン1(CcoTx1)配列、CcoTx2配列、CcoTx3配列、フリクソトキシン3(PaurTx3)配列、ハナトキシン1配列、フリクソトキシン1配列、フエントキシン-IV配列、α-コノトキシンImI配列、α-コノトキシンEpI配列、α-コノトキシンPnIA配列、α-コノトキシンPnIB配列、α-コノトキシンMII配列、α-コノトキシンAuIA配列、α-コノトキシンAuIB配列、α-コノトキシンAuIC配列、コノトキシンκ-PVIIA配列、カリブドトキシン配列、ニューロトキシンB-IV配列、クロタミン配列、ω-GVIA(コノトキシン)配列、κ-ヘフトキシン1配列、Css4配列、Bj-xtrIT配列、BcIV配列、Hm-1配列、Hm-2配列、GsAF-I(β-テラホトキシン-Gr1b)配列、プロトキシンI(ProTx-I配列、β-テラホトキシン-Tp1a)配列、プロトキシンII(ProTx II)配列、フエントキシンI配列、μ-コノトキシンPIIIA配列、ジンザオトキシン-III(β-TRTX-Cj1α)配列、GsAF-II(κ-テラホトキシン-Gr2c)配列、ShK(スチコダクチラ毒素)配列、HsTx1配列、ガンギシトキシン1E(GxTx-1E)配列、マウロトキシン配列、カリブドトキシン(ChTX)配列、イベリオトキシン(IbTx)配列、レイウロトキシン1(シラトキシン)配列、タマピン配列、カリオトキシン-1(KTX)配列、ピューロトキシン1(PT-1)配列、もしくはGpTx-1配列、MOKA毒素配列、OSK1(P12、K16、D20)配列、OSK1(K16、D20)配列、HmK配列、ShK(K16、Y26、K29)配列、ShK(K16)配列、ShK-A(K16)配列、ShK(K16、E30)配列、ShK(Q21)配列、ShK(L21)配列、ShK(F21)配列、ShK(I21)配列、またはShK(A21)配列である場合を含む。

【０１９４】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、非抗体配列が、SEQ ID NO: 475～481、599～655、666～698、727～733、808～810、および831～835のいずれか1つである場合を含む。

【０１９５】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、抗体重鎖可変領域が、SEQ ID NO: 770～779、784～791、903～922、および925～955からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む場合を含む。従って、いくつかの局面において、抗体重鎖可変領域は、SEQ ID NO: 941のアミノ酸配列のアミノ酸配列を含む。

【０１９６】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、極めて長いCDR3がリンカー配列を含む場合を含む。

【０１９７】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、リンカーが、非抗体配列のN末端、C末端、またはN末端およびC末端の両方に連結されている場合を含む。

【０１９８】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、リンカーが、SEQ ID NO: 575～598、699～726、および813～830からなる群より選択される1つもしくは複数のアミノ酸配列またはそれらの任意の組み合わせを含む場合を含む。

【０１９９】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、N末端およびC末端の両方に連結されたリンカーが、同じまたは異なるアミノ酸配列を有する場合を含む。

【０２００】

本開示はまた、本明細書において開示する抗体重鎖可変領域を含む抗体またはその結合断片も提供する。

【０２０１】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、重鎖可変領域は、重鎖定常領域1(CH1)をさらに含む。

【０２０２】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、重鎖可変領域は、SEQ ID NO: 390のアミノ酸配列をさらに含む。

【０２０３】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体または結合断片は、軽鎖可変領域をさらに含む。

【０２０４】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、軽鎖定常領域(CL)をさらに含む、軽鎖可変領域。

【０２０５】

本開示はまた、本明細書において説明する抗体重鎖可変領域をコードする単離ポリヌクレオチドも提供する。

【０２０６】

本開示はまた、本明細書において説明するポリヌクレオチドを含むベクターも提供する。

【０２０７】

本開示はまた、本明細書において説明するベクターを含む宿主細胞も提供する。

【０２０８】

本開示はまた、式V1-X-V2の配列を含む抗体重鎖可変領域をコードする核酸配列を構成する複数のポリヌクレオチドを含む、核酸ライブラリーも提供し、式中、V1は、

(i) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPG
KGLEWIGEINHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 735), (ii) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSDKYWSWIRQPPGKGLEWIGE
INHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 737), (iii)
QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGSINHSGSTNY
NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 739), (iv)
QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSDKYWSWIRQPPGKGLEWIGSINHSGSTNY
NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 741), (v)
QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCTASGFSLSDKAVGWIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYN
PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 743), (vi)
QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGLGSIDTGGNTGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEW
YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 745), (vii)
QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCTASGFSLSDKAVGWIRQPPGKGLEWIGSINHSGSTNYN
PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 747), および (viii)
QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCTASGFSLSDKAVGWIRQPPGKGLEWLGSIDTGGNTGY
NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 749)

からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、Xは、極めて長いCDR3を含み、Xは、極めて長いCDR3を含み、この極めて長いCDR3は、任意でCDR3の1つの部分(例えば、CDR3の1つもしくは複数のアミノ酸)またはCDR3配列全体(例えば、CDR3のアミノ酸の全てもしくは実質的に全て)を除去する場合を含む、抗体のCDR3配列中に挿入された非ヒト配列または非抗体配列(例えば非抗体ヒト配列)を含んでよく;かつV2は、

(i) WGHGTAVTVSS (SEQ ID NO: 570), (ii) WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 571), (iii) WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 572), (iv) WGRGTLVTVSS (SEQ ID NO: 573), (v) WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 574), および (vi) WGQGLLVTVSS (SEQ ID NO: 500)

からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。

【０２０９】

本開示はまた、式V1-X-V2の配列を含む抗体重鎖可変領域を含む抗体のライブラリーも提供し、式中、V1は、

(i) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEINHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 735), (ii) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSDKYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSGST NYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 737), (iii) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGSINHSGSTNY NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 739), (iv) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSDKYWSWIRQPPGKGLEWIGSINHSGSTNY NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 741), (v) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCTASGFSLSDKAVGWIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYN PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 743), (vi) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGLGSIDTGGNTGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEW YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 745), (vii) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCTASGFSLSDKAVGWIRQPPGKGLEWIGSINHSGSTNYN PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 747), および (viii) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCTASGFSLSDKAVGWIRQPPGKGLEWLGSIDTGGNTGY NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 749)

からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、Xは、極めて長いCDR3を含み、Xは、極めて長いCDR3を含み、この極めて長いCDR3は、任意でCDR3の1つの部分(例えば、CDR3の1つもしくは複数のアミノ酸)またはCDR3配列全体(例えば、CDR3のアミノ酸の全てもしくは実質的に全て)を除去する場合を含む、抗体のCDR3配列中に挿入された非ヒト配列または非抗体配列(例えば非抗体ヒト配列)を含んでよく;かつV2は、

(i) WGHGTAVTVSS (SEQ ID NO: 570), (ii) WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 571), (iii) WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 572), (iv) WGRGTLVTVSS (SEQ ID NO: 573), (v) WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 574), および (vi) WGQGLLVTVSS (SEQ ID NO:500)

からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。

【０２１０】

極めて長いCDR3が、$X_1X_2X_3X_4X_5$モチーフ(式中、X_1は、トレオニン(T)、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、またはバリン(V)であり、X_2は、セリン(S)、トレオニン(T)、プロリン(P)、イソロイシン(I)、アラニン(A)、バリン(V)、またはアスパラギン(N)であり、X_3は、バリン(V)、アラニン(A)、トレオニン(T)、またはアスパラギン酸(D)であり、X_4は、ヒスチジン(H)、トレオニン(T)、アルギニン(R)、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、またはロイシン(L)であり、かつX_5は、グルタミン(Q)である)を含む、請求項142記載の抗体重鎖可変領域。

【０２１１】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、$X_1X_2X_3X_4X_5$モチーフが、

TTVHQ (SEQ ID NO: 153), TSVHQ (SEQ ID NO: 154), SSVTQ (SEQ ID NO: 155), STVHQ (SEQ ID NO: 156), ATVRQ (SEQ ID NO: 157), TTVYQ (SEQ ID NO: 158), SPVHQ (SEQ ID NO: 159), ATVYQ (SEQ ID NO: 160), TAVYQ (SEQ ID NO: 161), TNVHQ (SEQ ID NO: 162), ATVHQ (SEQ ID NO: 163), STVYQ (SEQ ID NO: 164), TIVHQ (SEQ ID NO: 165), AIVYQ (SEQ ID NO: 166), TTVFQ (SEQ ID NO: 167), AAVFQ (SEQ ID NO: 168), GTVHQ (SEQ ID NO: 169), ASVHQ (SEQ ID NO: 170), TAVFQ (SEQ ID NO: 171), ATVFQ (SEQ ID NO: 172), AAAHQ (SEQ ID NO: 173), VVVYQ (SEQ ID NO: 174), GTVFQ (SEQ ID NO: 175), TAVHQ (SEQ ID NO: 176), ITVHQ (SEQ ID NO: 177), ITAHQ (SEQ ID NO: 178), VTVHQ (SEQ ID NO: 179); AAVHQ (SEQ ID NO: 180), GTVYQ (SEQ ID NO: 181), TTVLQ (SEQ ID NO: 182), TTTHQ (SEQ ID NO: 183), またはTTDYQ (SEQ ID NO: 184)

である場合を含む。

【０２１２】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、極めて長いCDR3が、$(X^aX^b)_z$モチーフ(式中、X^aは、任意のアミノ酸残基であり、X^bは、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、トリプトファン(W)、およびヒスチジン(H)からなる群より選択される芳香族アミノ酸であり、かつzは1～4である)を含む場合を含む。

【０２１３】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、$(X^aX^b)_z$モチーフが、

CYTYNYEF (SEQ ID NO: 217), HYTYTYDF (SEQ ID NO: 218), HYTYTYEW (SEQ ID NO: 219), KHRYTYEW (SEQ ID NO: 220), NYIYKYSF (SEQ ID NO: 221), PYIYTYQF (SEQ ID NO: 222), SFTYTYEW (SEQ ID NO: 223), SYIYIYQW (SEQ ID NO: 224), SYNYTYSW (SEQ ID NO: 225), SYSYSYEY (SEQ ID NO: 226), SYTYNYDF (SEQ ID NO: 227), SYTYNYEW (SEQ ID NO: 228), SYTYNYQF (SEQ ID NO: 229), SYVWTHNF (SEQ ID NO: 230), TYKYVYEW (SEQ ID NO: 231), TYTYTYEF (SEQ ID NO: 232), TYTYTYEW (SEQ ID NO: 233), VFTYTYEF (SEQ ID NO: 234), AYTYEW (SEQ ID NO: 235), DYIYTY (SEQ ID NO: 236), IHSYEF (SEQ ID NO: 237), SFTYEF (SEQ ID NO: 238), SHSYEF (SEQ ID NO: 239), THTYEF (SEQ ID NO: 240), TWTYEF (SEQ ID NO: 241), TYNYEW (SEQ ID NO: 242), TYSYEF (SEQ ID NO: 243), TYSYEH (SEQ ID NO: 244), TYTYDF (SEQ ID NO: 245), TYTYEF (SEQ ID NO: 246), TYTYEW (SEQ ID NO: 247), AYEF (SEQ ID NO: 248), AYSF (SEQ ID NO: 249), AYSY (SEQ ID NO: 250), CYSF (SEQ ID NO: 251), DYTY (SEQ ID NO: 252), KYEH (SEQ ID NO: 253), KYEW (SEQ ID NO: 254), MYEF (SEQ ID NO: 255), NWIY (SEQ ID NO: 256), NYDY (SEQ ID NO: 257), NYQW (SEQ ID NO: 258), NYSF (SEQ ID NO: 259), PYEW (SEQ ID NO: 260), RYNW (SEQ ID NO: 261), RYTY (SEQ ID NO: 262), SYEF (SEQ ID NO: 263), SYEH (SEQ ID NO: 264), SYEW (SEQ ID NO: 265), SYKW (SEQ ID NO: 266), SYTY (SEQ ID NO: 267), TYDF (SEQ ID NO: 268), TYEF (SEQ ID NO: 269), TYEW (SEQ ID NO: 270), TYQW (SEQ ID NO: 271), TYTY (SEQ ID NO: 272), またはVYEW (SEQ ID NO: 273)

である場合を含む。

【０２１４】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、極めて長いCDR3が、$X^1X^2X^3X^4X^5X_n$モチーフ(式中、X_1は、トレオニン(T)、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、またはバリン(V)であり、X_2は、セリン(S)、トレオニン(T)、プロリン(P)、イソロイシン(I)、アラニン(A)、バリン(V)、またはアスパラギン(N)であり、X_3は、バリン(V)、アラニン(A)、トレオニン(T)、またはアスパラギン酸(D)であり、X_4は、ヒスチジン(H)、トレオニン(T)、アルギニン(R)、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、またはロイシン(L)であり、X_5は、グルタミン(Q)であり、かつnは27～54である)を含む場合を含む。

【０２１５】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、極めて長いCDR3が、$X_n(X^aX^b)_z$モチーフ(式中、X^aは、任意のアミノ酸残基であり、X^bは、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、トリプトファン(W)、およびヒスチジン(H)からなる群より選択される芳香族アミノ酸であり、nは27～54であり、かつzは1～4である)を含む場合を含む。

【０２１６】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、極めて長いCDR3が、$X^1X^2X^3X^4X^5X_n(X^aX^b)_z$モチーフ(式中、$X^1$は、トレオニン(T)、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、またはバリン(V)であり、X^2は、セリン(S)、トレオニン(T)、プロリン(P)、イソロイシン(I)、アラニン(A)、バリン(V)、またはアスパラギン(N)であり、X^3は、バリン(V)、アラニン(A)、トレオニン(T)、またはアスパラギン酸(D)であり、X^4は、ヒスチジン(H)、トレオニン(T)、アルギニン(R)、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、またはロイシン(L)であり、かつX^5は、グルタミン(Q)であり、X^aは、任意のアミノ酸残基であり、X^bは、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、トリプトファン(W)、およびヒスチジン(H)からなる群より選択される芳香族アミノ酸であり、nは27～54であり、かつzは1～4である)を含む場合を含む。

【０２１７】

本開示はまた、式V1-Xの配列を含む抗体重鎖可変領域も提供し、式中、V1は、(i)SEQ ID NO: 734またはSEQ ID NO: 735、(ii)SEQ ID NO: 736またはSEQ ID NO: 737、(iii)SEQ ID NO: 738またはSEQ ID NO: 739、(iv)SEQ ID NO: 740またはSEQ ID NO: 741、(v)SEQ ID NO: 742またはSEQ ID NO: 743、(vi)SEQ ID NO: 744またはSEQ ID NO: 745、(vii)SEQ ID NO: 746またはSEQ ID NO: 747、および(viii)SEQ ID NO: 748またはSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み;かつXは、極めて長いCDR3を含み、Xは、極めて長いCDR3を含み、この極めて長いCDR3は、任意でCDR3の1つの部分(例えば、CDR3の1つもしくは複数のアミノ酸)またはCDR3配列全体(例えば、CDR3のアミノ酸の全てもしくは実質的に全て)を除去する場合を含む、抗体のCDR3配列中に挿入された非ヒト配列または非抗体配列(例えば非抗体ヒト配列)を含んでよい。

【０２１８】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、極めて長いCDR3が、$X^1X^2X^3X^4X^5$モチーフ(式中、X1は、トレオニン(T)、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、またはバリン(V)であり、X2は、セリン(S)、トレオニン(T)、プロリン(P)、イソロイシン(I)、アラニン(A)、バリン(V)、またはアスパラギン(N)であり、X3は、バリン(V)、アラニン(A)、トレオニン(T)、またはアスパラギン酸(D)であり、X4は、ヒスチジン(H)、トレオニン(T)、アルギニン(R)、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、またはロイシン(L)であり、かつX5は、グルタミン(Q)である)を含む場合を含む。

【０２１９】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、X1X2X3X4X5モチーフが、

TTVHQ (SEQ ID NO: 153), TSVHQ (SEQ ID NO: 154), SSVTQ (SEQ ID NO: 155), STVHQ (SEQ ID NO: 156), ATVRQ (SEQ ID NO: 157), TTVYQ (SEQ ID NO: 158), SPVHQ (SEQ ID NO: 159), ATVYQ (SEQ ID NO: 160), TAVYQ (SEQ ID NO: 161), TNVHQ (SEQ ID NO: 162), ATVHQ (SEQ ID NO: 163), STVYQ (SEQ ID NO: 164), TIVHQ (SEQ ID NO: 165), AIVYQ (SEQ ID NO: 166), TTVFQ (SEQ ID NO: 167), AAVFQ (SEQ ID NO: 168), GTVHQ (SEQ ID NO: 169), ASVHQ (SEQ ID NO: 170), TAVFQ (SEQ ID NO: 171), ATVFQ (SEQ ID NO: 172), AAAHQ (SEQ ID NO: 173), VVVYQ (SEQ ID NO: 174), GTVFQ (SEQ ID NO: 175), TAVHQ (SEQ ID NO: 176), ITVHQ (SEQ ID NO: 177), ITAHQ (SEQ ID NO: 178), VTVHQ (SEQ ID NO: 179); AAVHQ (SEQ ID NO: 180), GTVYQ (SEQ ID NO: 181), TTVLQ (SEQ ID NO: 182), TTTHQ (SEQ ID NO: 183), またはTTDYQ (SEQ ID NO: 184)

である場合を含む。

【０２２０】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、極めて長いCDR3がCX1X2X3X4X5モチーフを含む場合を含む。

【０２２１】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、CX1X2X3X4X5モチーフが、

CTTVHQ (SEQ ID NO: 185), CTSVHQ (SEQ ID NO: 186), CSSVTQ (SEQ ID NO: 187), CSTVHQ (SEQ ID NO: 188), CATVRQ (SEQ ID NO: 189), CTTVYQ (SEQ ID NO: 190), CSPVHQ (SEQ ID NO: 191), CATVYQ (SEQ ID NO: 192), CTAVYQ (SEQ ID NO: 193), CTNVHQ (SEQ ID NO: 194), CATVHQ (SEQ ID NO: 195), CSTVYQ (SEQ ID NO: 196), CTIVHQ (SEQ ID NO: 197), CAIVYQ (SEQ ID NO: 198), CTTVFQ (SEQ ID NO: 199), CAAVFQ (SEQ ID NO: 200), CGTVHQ (SEQ ID NO: 201), CASVHQ (SEQ ID NO: 202), CTAVFQ (SEQ ID NO: 203), CATVFQ (SEQ ID NO: 204), CAAAHQ (SEQ ID NO: 205), CVVVYQ (SEQ ID NO: 206), CGTVFQ (SEQ ID NO: 207), CTAVHQ (SEQ ID NO: 208), CITVHQ (SEQ ID NO: 209), CITAHQ (SEQ ID NO: 210), CVTVHQ (SEQ ID NO: 211); CAAVHQ (SEQ ID NO: 212), CGTVYQ (SEQ ID NO: 213), CTTVLQ (SEQ ID NO: 214), CTTTHQ (SEQ ID NO: 215),またはCTTDYQ (SEQ ID NO: 216)

である場合を含む。

【０２２２】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、極めて長いCDR3が、(XaXb)zモチーフ(式中、Xaは、任意のアミノ酸残基であり、Xbは、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、トリプトファン(W)、およびヒスチジン(H)からなる群より選択される芳香族アミノ酸であり、かつzは1～4である)を含む場合を含む。

【０２２３】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、(XaXb)zモチーフが、

CYTYNYEF (SEQ ID NO: 217), HYTYTYDF (SEQ ID NO: 218), HYTYTYEW (SEQ ID NO: 219), KHRYTYEW (SEQ ID NO: 220), NYIYKYSF (SEQ ID NO: 221), PYIYTYQF (SEQ ID NO: 222), SFTYTYEW (SEQ ID NO: 223), SYIYIYQW (SEQ ID NO: 224), SYNYTYSW (SEQ ID NO: 225), SYSYSYEY (SEQ ID NO: 226), SYTYNYDF (SEQ ID NO: 227), SYTYNYEW (SEQ ID NO: 228), SYTYNYQF (SEQ ID NO: 229), SYVWTHNF (SEQ ID NO: 230), TYKYVYEW (SEQ ID NO: 231), TYTYTYEF (SEQ ID NO: 232), TYTYTYEW (SEQ ID NO: 233), VFTYTYEF (SEQ ID NO: 234), AYTYEW (SEQ ID NO: 235), DYIYTY (SEQ ID NO: 236), IHSYEF (SEQ ID NO: 237), SFTYEF (SEQ ID NO: 238), SHSYEF (SEQ ID NO: 239), THTYEF (SEQ ID NO: 240), TWTYEF (SEQ ID NO: 241), TYNYEW (SEQ ID NO: 242), TYSYEF (SEQ ID NO: 243), TYSYEH (SEQ ID NO: 244), TYTYDF (SEQ ID NO: 245), TYTYEF (SEQ ID NO: 246), TYTYEW (SEQ ID NO: 247), AYEF (SEQ ID NO: 248), AYSF (SEQ ID NO: 249), AYSY (SEQ ID NO: 250), CYSF (SEQ ID NO: 251), DYTY (SEQ ID NO: 252), KYEH (SEQ ID NO: 253), KYEW (SEQ ID NO: 254), MYEF (SEQ ID NO: 255), NWIY (SEQ ID NO: 256), NYDY (SEQ ID NO: 257), NYQW (SEQ ID NO: 258), NYSF (SEQ ID NO: 259), PYEW (SEQ ID NO: 260), RYNW (SEQ ID NO: 261), RYTY (SEQ ID NO: 262), SYEF (SEQ ID NO: 263), SYEH (SEQ ID NO: 264), SYEW (SEQ ID NO: 265), SYKW (SEQ ID NO: 266), SYTY (SEQ ID NO: 267), TYDF (SEQ ID NO: 268), TYEF (SEQ ID NO: 269), TYEW (SEQ ID NO: 270), TYQW (SEQ ID NO: 271), TYTY (SEQ ID NO: 272), またはVYEW (SEQ ID NO: 273)

である場合を含む。

【０２２４】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、(XaXb)zモチーフがYXYXYXである場合を含む。

【０２２５】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、極めて長いCDR3が、X1X2X3X4X5Xnモチーフ(式中、X1は、トレオニン(T)、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、またはバリン(V)であり、X2は、セリン(S)、トレオニン(T)、プロリン(P)、イソロイシン(I)、アラニン(A)、バリン(V)、またはアスパラギン(N)であり、X3は、バリン(V)、アラニン(A)、トレオニン(T)、またはアスパラギン酸(D)であり、X4は、ヒスチジン(H)、トレオニン(T)、アルギニン(R)、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、またはロイシン(L)であり、X5は、グルタミン(Q)であり、かつnは27～54である)を含む場合を含む。

【０２２６】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、極めて長いCDR3が、Xn(XaXb)zモチーフ(式中、Xaは、任意のアミノ酸残基であり、Xbは、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、トリプトファン(W)、およびヒスチジン(H)からなる群より選択される芳香族アミノ酸であり、nは27～54であり、かつzは1～4である)を含む場合を含む。

【０２２７】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、極めて長いCDR3が、$X^1X^2X^3X^4X^5X_n(X^aX^b)_z$モチーフ(式中、$X^1$は、トレオニン(T)、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、またはバリン(V)であり、X^2は、セリン(S)、トレオニン(T)、プロリン(P)、イソロイシン(I)、アラニン(A)、バリン(V)、またはアスパラギン(N)であり、X^3は、バリン(V)、アラニン(A)、トレオニン(T)、またはアスパラ

ギン酸(D)であり、X^4は、ヒスチジン(H)、トレオニン(T)、アルギニン(R)、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、またはロイシン(L)であり、かつX^5は、グルタミン(Q)であり、X^aは、任意のアミノ酸残基であり、X^bは、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、トリプトファン(W)、およびヒスチジン(H)からなる群より選択される芳香族アミノ酸であり、nは27～54であり、かつzは1～4である)を含む場合を含む。206。V1が、SEQ ID NO: 737のアミノ酸配列を含み、極めて長いCDR3が、SEQ ID NO: 498およびSEQ ID NO: 499のアミノ酸配列を含み、かつV2が、SEQ ID NO: 500のアミノ酸配列を含む、請求項142～145のいずれか一項記載の抗体重鎖可変領域。

【０２２８】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、抗体重鎖可変領域は、V1が、SEQ ID NO: 739のアミノ酸配列を含み、極めて長いCDR3が、SEQ ID NO: 498およびSEQ ID NO: 499のアミノ酸配列を含み、かつV2が、SEQ ID NO: 500のアミノ酸配列を含む、場合を含む。

【０２２９】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、ヒト化抗体またはその結合断片は、軽鎖可変領域が、SEQ ID NO: 750のアミノ酸配列、SEQ ID NO: 754のアミノ酸配列、およびSEQ ID NO: 755のアミノ酸配列を含む場合を含む。

【０２３０】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、ヒト化抗体またはその結合断片は、SEQ ID NO: 756のアミノ酸配列を含む。

【０２３１】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、ヒト化抗体またはその結合断片は、軽鎖可変領域が、SEQ ID NO: 751のアミノ酸配列、SEQ ID NO: 754のアミノ酸配列、およびSEQ ID NO: 755のアミノ酸配列を含む場合を含む。

【０２３２】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、ヒト化抗体またはその結合断片は、SEQ ID NO: 756のアミノ酸配列をさらに含む。

【０２３３】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、ヒト化抗体またはその結合断片は、軽鎖可変領域が、SEQ ID NO: 752のアミノ酸配列、SEQ ID NO: 754のアミノ酸配列、およびSEQ ID NO: 755のアミノ酸配列を含む場合を含む。

【０２３４】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、ヒト化抗体またはその結合断片は、SEQ ID NO: 756のアミノ酸配列をさらに含む。

【０２３５】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、ヒト化抗体またはその結合断片は、軽鎖可変領域が、SEQ ID NO: 753のアミノ酸配列、SEQ ID NO: 754のアミノ酸配列、およびSEQ ID NO: 755のアミノ酸配列を含む場合を含む。

【０２３６】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、ヒト化抗体またはその結合断片は、SEQ ID NO: 756のアミノ酸配列をさらに含む。

【０２３７】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、ヒト化抗体またはその結合断片は、重鎖可変領域が、SEQ ID NO: 737およびSEQ ID NO: 500のアミノ酸配列を含み、極めて長いCDR3が、SEQ ID NO: 498およびSEQ ID NO: 499のアミノ酸配列を含む、場合を含む。

【０２３８】

前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、ヒト化抗体またはその結合断片は、SEQ ID NO: 750のアミノ酸配列、SEQ ID NO: 754のアミノ酸配列、およびSEQ ID NO: 755のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域をさらに含む。

【０２３９】
前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、ヒト化抗体またはその結合断片は、重鎖可変領域が、SEQ ID NO: 739およびSEQ ID NO: 500のアミノ酸配列を含み、極めて長いCDR3が、SEQ ID NO: 498およびSEQ ID NO: 499のアミノ酸配列を含む、場合を含む。
【０２４０】
前述または後述の態様のそれぞれまたはいずれかのいくつかの態様において、ヒト化抗体またはその結合断片は、SEQ ID NO: 750のアミノ酸配列、SEQ ID NO: 754のアミノ酸配列、およびSEQ ID NO: 755のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域をさらに含む。
[本発明1001]
(a)(i)SEQ ID NO: 734またはSEQ ID NO: 735、
(ii)SEQ ID NO: 736またはSEQ ID NO: 737、
(iii)SEQ ID NO: 738またはSEQ ID NO: 739、
(iv)SEQ ID NO: 740またはSEQ ID NO: 741、
(v)SEQ ID NO: 742またはSEQ ID NO: 743、
(vi)SEQ ID NO: 744またはSEQ ID NO: 745、
(vii)SEQ ID NO: 746またはSEQ ID NO: 747、および
(viii)SEQ ID NO: 748またはSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列;ならびに
(b)極めて長いCDR3
を含む重鎖可変領域を含む、ヒト化抗体またはその結合断片。
[本発明1002]
極めて長いCDR3が、35アミノ酸長もしくはそれ以上、40アミノ酸長もしくはそれ以上、45アミノ酸長もしくはそれ以上、50アミノ酸長もしくはそれ以上、55アミノ酸長もしくはそれ以上、または60アミノ酸長もしくはそれ以上である、本発明1001のヒト化抗体またはその結合断片。
[本発明1003]
極めて長いCDR3が、35アミノ酸長またはそれ以上である、本発明1002のヒト化抗体またはその結合断片。
[本発明1004]
極めて長いCDR3が、3個もしくはそれ以上のシステイン残基、4個もしくはそれ以上のシステイン残基、5個もしくはそれ以上のシステイン残基、6個もしくはそれ以上のシステイン残基、7個もしくはそれ以上のシステイン残基、8個もしくはそれ以上のシステイン残基、9個もしくはそれ以上のシステイン残基、10個もしくはそれ以上のシステイン残基、11個もしくはそれ以上のシステイン残基、または12個もしくはそれ以上のシステイン残基を含む、本発明1001のヒト化抗体またはその結合断片。
[本発明1005]
極めて長いCDR3が、3個またはそれ以上のシステイン残基を含む、本発明1004のヒト化抗体またはその結合断片。
[本発明1006]
システインモチーフを含む、本発明1001のヒト化抗体またはその結合断片。
[本発明1007]
システインモチーフが、

$CX_{10}CX_5CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 41),
$CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{15}C$ (SEQ ID NO: 42), $CX_{11}CXCX_5C$ (SEQ ID NO: 43), $CX_{11}CX_5CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 44), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{13}C$ (SEQ ID NO: 45), $CX_{10}CX_5CXCX_4CX_8C$ (SEQ ID NO: 46), $CX_{10}CX_6CX_6CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 47), $CX_{10}CX_4CX_7CXCX_8C$ (SEQ ID NO: 48), $CX_{10}CX_4CX_7CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 49), $CX_{13}CX_8CX_8C$ (SEQ ID NO: 50), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 51), $CX_{10}CX_5CX_5C$ (SEQ ID NO: 52), $CX_{10}CX_5CX_6CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 53), $CX_{10}CX_6CX_5CX_7CX_9C$ (SEQ ID NO: 54), $CX_9CX_7CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 55), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_9C$ (SEQ ID NO: 56), $CX_{10}CXCX_4CX_5CX_{11}C$ (SEQ ID NO: 57), $CX_7CX_3CX_6CX_5CXCX_5CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 58), $CX_{10}CXCX_4CX_5CXCX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 59), $CX_{16}CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 60), $CX_6CX_4CXCX_4CX_5C$ (SEQ ID NO: 61), $CX_{11}CX_4CX_5CX_6CX_3C$ (SEQ ID NO: 62), $CX_8CX_2CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 63), $CX_{10}CX_5CX_5CXCX_{10}C$ (SEQ ID NO: 64), $CX_{10}CXCX_6CX_4CXC$ (SEQ ID NO: 65), $CX_{10}CX_5CX_5CXCX_2C$ (SEQ ID NO: 66), $CX_{14}CX_2CX_3CXCXC$ (SEQ ID NO: 67), $CX_{15}CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 68), $CX_4CX_6CX_9CX_2CX_{11}C$ (SEQ ID NO: 69), $CX_6CX_4CX_5CX_5CX_{12}C$ (SEQ ID NO: 70), $CX_7CX_3CXCXCX_4CX_5CX_9C$ (SEQ ID NO: 71), $CX_{10}CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 72), $CX_7CX_3CX_5CX_5CX_9C$ (SEQ ID NO: 73), $CX_7CX_5CXCX_2C$ (SEQ ID NO: 74), $CX_{10}CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 75), $CX_{10}CX_3CX_3CX_5CX_7CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 76), $CX_{10}CX_4CX_5CX_{12}CX_2C$ (SEQ ID NO: 77), $CX_{12}CX_4CX_5CXCXCX_9CX_3C$ (SEQ ID NO: 78), $CX_{12}CX_4CX_5CX_{12}CX_2C$ (SEQ ID NO: 79), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{11}C$ (SEQ ID NO: 80), $CX_{16}CX_5CXCXCX_{14}C$ (SEQ ID NO: 81), $CX_{10}CX_5CXCX_8CX_6C$ (SEQ ID NO: 82), $CX_{12}CX_4CX_5CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 83), $CX_{12}CX_5CX_5CXCX_8C$ (SEQ ID NO: 84), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_4CXCX_9C$ (SEQ ID NO: 85), $CX_{11}CX_4CX_5CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 86), $CX_{10}CX_6CX_5CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 87), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_8C$ (SEQ ID NO: 88), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_3CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 89), $CX_{10}CX_6CX_5CX_3CX_8C$ (SEQ ID NO: 90), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_2CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 91), $CX_7CX_6CX_3CX_3CX_9C$ (SEQ ID NO: 92), $CX_9CX_8CX_5CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 93), $CX_{10}CX_2CX_2CX_7CXCX_{11}CX_5C$ (SEQ ID NO: 94), および $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_2CX_8CX_4C$ (SEQ ID NO: 95)

からなる群より選択される、本発明1006のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1008]

システインモチーフが、

$CCX_3CXCX_3CX_2CCXCX_5CX_9CX_5CXC$
(SEQ ID NO: 96), $CX_6CX_2CX_5CX_4CCXCX_4CX_6CXC$ (SEQ ID NO: 97), $CX_7CXCX_5CX_4CCCX_4CX_6CXC$ (SEQ ID NO: 98), $CX_9CX_3CXCX_2CXCCCX_6CX_4C$ (SEQ ID NO: 99), $CX_5CX_3CXCX_4CX_4CCX_{10}CX_2CC$ (SEQ ID NO: 100), $CX_5CXCX_1CXCX_3CCX_3CX_4CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 101), $CX_9CCCX_3CX_4CCCX_5CX_6C$ (SEQ ID NO: 102), $CCX_8CX_5CX_4CX_3CX_4CCXCX_1C$ (SEQ ID NO: 103), $CCX_6CCX_5CCCX_4CX_4CX_{12}C$ (SEQ ID NO: 104), $CX_6CX_2CX_3CCCX_4CX_5CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 105), $CX_3CX_5CX_6CX_4CCXCX_5CX_4CXC$ (SEQ ID NO: 106), $CX_4CX_4CCX_4CX_4CXCX_{11}CX_2CXC$ (SEQ ID NO: 107), $CX_5CX_2CCX_5CX_4CCX_3CCX_7C$ (SEQ ID NO: 108), $CX_5CX_5CX_3CX_2CXCCX_4CX_7CXC$ (SEQ ID NO: 109), $CX_3CX_7CX_3CX_4CCXCX_2CX_5CX_2C$ (SEQ ID NO: 110), $CX_9CX_3CXCX_4CCX_5CCCX_6C$ (SEQ ID NO: 111), $CX_9CX_3CXCX_2CXCCX_6CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 112), $CX_8CCXCX_3CCX_3CXCX_3CX_4C$ (SEQ ID NO: 113), $CX_9CCX_4CX_2CXCCXCX_4CX_3C$ (SEQ ID NO: 114), $CX_{10}CXCX_3CX_2CXCCX_4CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 115), $CX_9CXCX_3CX_2CXCCX_4CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 116), $CX_6CCXCX_5CX_4CCXCX_5CX_2C$ (SEQ ID NO: 117), $CX_6CCXCX_3CXCCX_3CX_4CC$ (SEQ ID NO: 118), $CX_6CCXCX_3CXCX_2CXCX_4CX_8C$ (SEQ ID NO: 119), $CX_4CX_2CCX_3CXCX_4CCX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 120), $CX_3CX_5CX_3CCCX_4CX_9C$ (SEQ ID NO: 121), $CCX_9CX_3CXCCX_3CX_5C$ (SEQ ID NO: 122), $CX_9CX_2CX_3CX_4CCX_4CX_5C$ (SEQ ID NO: 123), $CX_9CX_7CX_4CCXCX_7CX_3C$ (SEQ ID NO: 124), $CX_9CX_3CCCX_{10}CX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 125), $CX_3CX_5CX_5CX_4CCX_{10}CX_6C$ (SEQ ID NO: 126), $CX_9CX_5CX_4CCXCX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 127), $CX_7CXCX_6CX_4CCCX_{10}C$ (SEQ ID NO: 128), $CX_8CX_2CX_4CCX_4CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 129), $CX_7CX_5CXCX_4CCX_7CX_4C$ (SEQ ID NO: 130), $CX_{11}CX_3CX_4CCCX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 131), $CX_2CX_3CX_4CCX_4CX_5CX_{15}C$ (SEQ ID NO: 132), $CX_9CX_5CX_4CCX_7C$ (SEQ ID NO: 133), $CX_9CX_7CX_3CX_2CX_6C$ (SEQ ID NO: 134), $CX_9CX_5CX_4CCX_{14}C$ (SEQ ID NO: 135), $CX_9CX_5CX_4CCX_8C$ (SEQ ID NO: 136), $CX_9CX_6CX_4CCXC$ (SEQ ID NO: 137), $CX_5CCX_7CX_4CX_{12}$ (SEQ ID NO: 138), $CX_{10}CX_3CX_4CCX_4C$ (SEQ ID NO: 139), $CX_9CX_4CCX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 140), $CX_{10}CX_3CX_4CX_7CXC$ (SEQ ID NO: 141), $CX_7CX_7CX_2CX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 142), $CX_9CX_4CX_4CCX_6C$ (SEQ ID NO: 143), $CX_7CXCX_3CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 144), $CX_7CXCX_4CXCX_4C$ (SEQ ID NO: 145), $CX_9CX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 146), $CX_3CX_6CX_8C$ (SEQ ID NO: 147), $CX_{10}CXCX_4C$ (SEQ ID NO: 148), $CX_{10}CCX_4C$ (SEQ ID NO: 149), $CX_{15}C$ (SEQ ID NO: 150), $CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 151), および CX_9C (SEQ ID NO: 152)

からなる群より選択される、本発明1006のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1009]

極めて長いCDR3が、2～6個のジスルフィド結合を含む、本発明1001のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1010]

極めて長いCDR3が、SEQ ID NO: 40またはその派生物を含む、本発明1001のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1011]

極めて長いCDR3が、SEQ ID NO: 1～4のいずれか1つのアミノ酸残基3～6を含む、本発明1001のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1012]

極めて長いCDR3が、非ヒトDHまたはその派生物を含む、本発明1001のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1013]

非ヒトDHが、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11、またはSEQ ID NO: 12である、本発明1012のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1014]

極めて長いCDR3が、JH配列またはその派生物を含む、本発明1001のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1015]

JH配列が、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 15、SEQ ID NO: 16、またはSEQ ID NO: 17の5～15位のアミノ酸を含む、本発明1014のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1016]

極めて長いCDR3が、

-非ヒトVH配列もしくはその派生物に由来する配列;
-非ヒトDH配列もしくはその派生物に由来する配列;および/または
-JH配列もしくはその派生物に由来する配列

を含む、本発明1001のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1017]

極めて長いCDR3が、VH配列とDH配列の間に位置する2～6個またはそれ以上のアミノ酸残基を含む付加的なアミノ酸配列を含む、本発明1016のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1018]

付加的なアミノ酸配列が、IR、IF、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 19、SEQ ID NO: 20、またはSEQ ID NO: 21からなる群より選択される、本発明1017のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1019]

極めて長いCDR3が、SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO: 23、SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 27、またはSEQ ID NO: 28に由来するかまたは基づく配列を含む、本発明1001のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1020]

極めて長いCDR3が、非ウシ配列または非抗体配列を含む、本発明1001のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1021]

非抗体配列が合成配列である、本発明1020のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1022]

非抗体配列が、サイトカイン配列、リンフォカイン配列、ケモカイン配列、増殖因子配列、ホルモン配列、または毒素配列である、本発明1020のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1023]

非抗体配列が、IL-8配列、IL-21配列、SDF-1(α)配列、ソマトスタチン配列、クロロトキシン配列、Pro-TxII配列、ジコノチド配列、ADWX-1配列、HsTx1配列、OSK1配列、Pi2配列、ホンゴトキシン(Hongotoxin)(HgTX)配列、マルガトキシン(Margatoxin)配列、アギトキシン(Agitoxin)-2配列、Pi3配列、カリオトキシン(Kaliotoxin)配列、アニュロクトキシン(Anuroctoxin)配列、カリブドトキシン(Charybdotoxin)配列、チチウストキシン(Tit

yustoxin)-K-α配列、マウロトキシン配列、セラトトキシン1(CcoTx1)配列、CcoTx2配列、CcoTx3配列、フリクソトキシン3(PaurTx3)配列、ハナトキシン1配列、フリクソトキシン1配列、フエントキシン-IV配列、α-コノトキシンImI配列、α-コノトキシンEpI配列、α-コノトキシンPnIA配列、α-コノトキシンPnIB配列、α-コノトキシンMII配列、α-コノトキシンAuIA配列、α-コノトキシンAuIB配列、α-コノトキシンAuIC配列、コノトキシンκ-PVIIA配列、カリブドトキシン配列、ニューロトキシンB-IV配列、クロタミン配列、ω-GVIA(コノトキシン)配列、κ-ヘフトキシン1配列、Css4配列、Bj-xtrIT配列、BcIV配列、Hm-1配列、Hm-2配列、GsAF-I(β-テラホトキシン(theraphotoxin)-Gr1b)配列、プロトキシンI(ProTx-I配列、β-テラホトキシン-Tp1a)配列、プロトキシンII(ProTx II)配列、フエントキシンI配列、μ-コノトキシンPIIIA配列、ジンザオトキシン-III(β-TRTX-Cj1α)配列、GsAF-II(κ-テラホトキシン-Gr2c)配列、ShK(スチコダクチラ(Stichodactyla)毒素)配列、HsTx1配列、ガンギシトキシン(Guangxitoxin)1E(GxTx-1E)配列、マウロトキシン配列、カリブドトキシン(ChTX)配列、イベリオトキシン(Iberiotoxin)(IbTx)配列、レイウロトキシン(Leiurotoxin)1(シラトキシン)配列、タマピン(Tamapin)配列、カリオトキシン-1(KTX)配列、ピューロトキシン(Purotoxin)1(PT-1)配列、もしくはGpTx-1配列、MOKA毒素配列、OSK1(P12、K16、D20)配列、OSK1(K16、D20)配列、HmK配列、ShK(K16、Y26、K29)配列、ShK(K16)配列、ShK-A(K16)配列、ShK(K16、E30)配列、ShK(Q21)配列、ShK(L21)配列、ShK(F21)配列、ShK(I21)配列、またはShK(A21)配列である、本発明1020のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1024]

非抗体配列が、SEQ ID NO: 475～481、599～655、666～698、727～733、808～810、および831～835のいずれか1つである、本発明1020のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1025]

抗体重鎖可変領域が、SEQ ID NO: 770～779、784～791、903～922、および925～955からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、本発明1020のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1026]

SEQ ID NO: 956または959のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、本発明1020のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1027]

抗体重鎖可変領域が、SEQ ID NO: 770～779、784～791、903～922、および925～955からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、かつヒト化抗体またはその結合断片が、SEQ ID NO: 959のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、本発明1020のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1028]

抗体重鎖可変領域が、SEQ ID NO: 941のアミノ酸配列を含み、かつヒト化抗体またはその結合断片が、SEQ ID NO: 959のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、本発明1020のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1029]

抗体重鎖可変領域が、SEQ ID NO: 770～779、784～791、903～922、および925～955からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、かつヒト化抗体またはその結合断片が、SEQ ID NO: 956のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、本発明1020のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1030]

非抗体配列が、極めて長いCDR3の少なくとも1つの部分を置換する、本発明1020のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1031]

極めて長いCDR3が、$X^1X^2X^3X^4X^5$モチーフを含み、

式中、X^1は、トレオニン(T)、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、またはバリン(V)であり、X^2は、セリン(S)、トレオニン(T)、プロリン(P)、イソロイシン(I)、アラニン(A

)、バリン(V)、またはアスパラギン(N)であり、X^3は、バリン(V)、アラニン(A)、トレオニン(T)、またはアスパラギン酸(D)であり、X^4は、ヒスチジン(H)、トレオニン(T)、アルギニン(R)、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、またはロイシン(L)であり、かつX^5は、グルタミン(Q)である、
本発明1001のヒト化抗体またはその結合断片。
[本発明1032]
$X^1X^2X^3X^4X^5$モチーフが、
TTVHQ (SEQ ID NO: 153), TSVHQ (SEQ ID NO: 154), SSVTQ (SEQ ID NO: 155), STVHQ (SEQ ID NO: 156), ATVRQ (SEQ ID NO: 157), TTVYQ (SEQ ID NO: 158), SPVHQ (SEQ ID NO: 159), ATVYQ (SEQ ID NO: 160), TAVYQ (SEQ ID NO: 161), TNVHQ (SEQ ID NO: 162), ATVHQ (SEQ ID NO: 163), STVYQ (SEQ ID NO: 164), TIVHQ (SEQ ID NO: 165), AIVYQ (SEQ ID NO: 166), TTVFQ (SEQ ID NO: 167), AAVFQ (SEQ ID NO: 168), GTVHQ (SEQ ID NO: 169), ASVHQ (SEQ ID NO: 170), TAVFQ (SEQ ID NO: 171), ATVFQ (SEQ ID NO: 172), AAAHQ (SEQ ID NO: 173), VVVYQ (SEQ ID NO: 174), GTVFQ (SEQ ID NO: 175), TAVHQ (SEQ ID NO: 176), ITVHQ (SEQ ID NO: 177), ITAHQ (SEQ ID NO: 178), VTVHQ (SEQ ID NO: 179); AAVHQ (SEQ ID NO: 180), GTVYQ (SEQ ID NO: 181), TTVLQ (SEQ ID NO: 182), TTTHQ (SEQ ID NO: 183), または TTDYQ (SEQ ID NO: 184)

である、本発明1031のヒト化抗体またはその結合断片。
[本発明1033]
極めて長いCDR3が$CX^1X^2X^3X^4X^5$モチーフを含む、本発明1001のヒト化抗体またはその結合断片。
[本発明1034]
$CX^1X^2X^3X^4X^5$モチーフが、
CTTVHQ (SEQ ID NO: 185), CTSVHQ (SEQ ID NO: 186), CSSVTQ (SEQ ID NO: 187), CSTVHQ (SEQ ID NO: 188), CATVRQ (SEQ ID NO: 189), CTTVYQ (SEQ ID NO: 190), CSPVHQ (SEQ ID NO: 191), CATVYQ (SEQ ID NO: 192), CTAVYQ (SEQ ID NO: 193), CTNVHQ (SEQ ID NO: 194), CATVHQ (SEQ ID NO: 195), CSTVYQ (SEQ ID NO: 196), CTIVHQ (SEQ ID NO: 197), CAIVYQ (SEQ ID NO: 198), CTTVFQ (SEQ ID NO: 199), CAAVFQ (SEQ ID NO: 200), CGTVHQ (SEQ ID NO: 201), CASVHQ (SEQ ID NO: 202), CTAVFQ (SEQ ID NO: 203), CATVFQ (SEQ ID NO: 204), CAAAHQ (SEQ ID NO: 205), CVVVYQ (SEQ ID NO: 206), CGTVFQ (SEQ ID NO: 207), CTAVHQ (SEQ ID NO: 208), CITVHQ (SEQ ID NO: 209), CITAHQ (SEQ ID NO: 210), CVTVHQ (SEQ ID NO: 211); CAAVHQ (SEQ ID NO: 212), CGTVYQ (SEQ ID NO: 213), CTTVLQ (SEQ ID NO: 214), CTTTHQ (SEQ ID NO: 215), または CTTDYQ (SEQ ID NO: 216)

である、本発明1033のヒト化抗体またはその結合断片。
[本発明1035]
極めて長いCDR3が、$(X^aX^b)_z$モチーフを含み、
式中、X^aは、任意のアミノ酸残基であり、X^bは、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、トリプトファン(W)、およびヒスチジン(H)からなる群より選択される芳香族アミノ酸であり、かつzは1～4である、

本発明1001のヒト化抗体またはその結合断片。
[本発明1036]
$(X^aX^b)_z$モチーフが、
CYTYNYEF (SEQ ID NO: 217), HYTYTYDF (SEQ ID NO: 218), HYTYTYEW (SEQ ID NO: 219), KHRYTYEW (SEQ ID NO: 220), NYIYKYSF (SEQ ID NO: 221), PYIYTYQF (SEQ ID NO: 222), SFTYTYEW (SEQ ID NO: 223), SYIYIYQW (SEQ ID NO: 224), SYNYTYSW (SEQ ID NO: 225), SYSYSYEY (SEQ ID NO: 226), SYTYNYDF (SEQ ID NO: 227), SYTYNYEW (SEQ ID NO: 228), SYTYNYQF (SEQ ID NO: 229), SYVWTHNF (SEQ ID NO: 230), TYKYVYEW (SEQ ID NO: 231), TYTYTYEF (SEQ ID NO: 232), TYTYTYEW (SEQ ID NO: 233), VFTYTYEF (SEQ ID NO: 234), AYTYEW (SEQ ID NO: 235), DYIYTY (SEQ ID NO: 236), IHSYEF (SEQ ID NO: 237), SFTYEF (SEQ ID NO: 238), SHSYEF (SEQ ID NO: 239), THTYEF (SEQ ID NO: 240), TWTYEF (SEQ ID NO: 241), TYNYEW (SEQ ID NO: 242), TYSYEF (SEQ ID NO: 243), TYSYEH (SEQ ID NO: 244), TYTYDF (SEQ ID NO: 245), TYTYEF (SEQ ID NO: 246), TYTYEW (SEQ ID NO: 247), AYEF (SEQ ID NO: 248), AYSF (SEQ ID NO: 249), AYSY (SEQ ID NO: 250), CYSF (SEQ ID NO: 251), DYTY (SEQ ID NO: 252), KYEH (SEQ ID NO: 253), KYEW (SEQ ID NO: 254), MYEF (SEQ ID NO: 255), NWIY (SEQ ID NO: 256), NYDY (SEQ ID NO: 257), NYQW (SEQ ID NO: 258), NYSF (SEQ ID NO: 259), PYEW (SEQ ID NO: 260), RYNW (SEQ ID NO: 261), RYTY (SEQ ID NO: 262), SYEF (SEQ ID NO: 263), SYEH (SEQ ID NO: 264), SYEW (SEQ ID NO: 265), SYKW (SEQ ID NO: 266), SYTY (SEQ ID NO: 267), TYDF (SEQ ID NO: 268), TYEF (SEQ ID NO: 269), TYEW (SEQ ID NO: 270), TYQW (SEQ ID NO: 271), TYTY (SEQ ID NO: 272), または VYEW (SEQ ID NO: 273)
である、本発明1035のヒト化抗体またはその結合断片。
[本発明1037]
$(X^aX^b)_z$モチーフが、YXYXYXである、本発明1035のヒト化抗体またはその結合断片。
[本発明1038]
極めて長いCDR3が、$X^1X^2X^3X^4X^5X_n$モチーフを含み、
式中、X_1は、トレオニン(T)、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、またはバリン(V)であり、X_2は、セリン(S)、トレオニン(T)、プロリン(P)、イソロイシン(I)、アラニン(A)、バリン(V)、またはアスパラギン(N)であり、X_3は、バリン(V)、アラニン(A)、トレオニン(T)、またはアスパラギン酸(D)であり、X_4は、ヒスチジン(H)、トレオニン(T)、アルギニン(R)、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、またはロイシン(L)であり、X_5は、グルタミン(Q)であり、かつnは27～54である、
本発明1001のヒト化抗体またはその結合断片。
[本発明1039]
極めて長いCDR3が、$X_n(X^aX^b)_z$モチーフを含み、
式中、X^aは、任意のアミノ酸残基であり、X^bは、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、トリプトファン(W)、およびヒスチジン(H)からなる群より選択される芳香族アミノ酸であり、nは27～54であり、かつzは1～4である、
本発明1001のヒト化抗体またはその結合断片。
[本発明1040]
極めて長いCDR3が、$X^1X^2X^3X^4X^5X_n(X^aX^b)_z$モチーフを含み、
式中、X^1は、トレオニン(T)、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、またはバリン(V)

であり、X^2は、セリン(S)、トレオニン(T)、プロリン(P)、イソロイシン(I)、アラニン(A)、バリン(V)、またはアスパラギン(N)であり、X^3は、バリン(V)、アラニン(A)、トレオニン(T)、またはアスパラギン酸(D)であり、X^4は、ヒスチジン(H)、トレオニン(T)、アルギニン(R)、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、またはロイシン(L)であり、かつX^5は、グルタミン(Q)であり、X^aは、任意のアミノ酸残基であり、X^bは、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、トリプトファン(W)、およびヒスチジン(H)からなる群より選択される芳香族アミノ酸であり、nは27～54であり、かつzは1～4である、
本発明1001のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1041]

$X^1X^2X^3X^4X^5$モチーフが、TTVHQ(SEQ ID NO: 153)またはTSVHQ(SEQ ID NO: 154)であり、かつ$(X^aX^b)_z$モチーフが、YXYXYXである、本発明1040のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1042]

極めて長いCDR3が、

$-CX^1X^2X^3X^4X^5$モチーフであって、式中、X^1は、トレオニン(T)、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、またはバリン(V)であり、X^2は、セリン(S)、トレオニン(T)、プロリン(P)、イソロイシン(I)、アラニン(A)、バリン(V)、またはアスパラギン(N)であり、X^3は、バリン(V)、アラニン(A)、トレオニン(T)、またはアスパラギン酸(D)であり、X^4は、ヒスチジン(H)、トレオニン(T)、アルギニン(R)、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、またはロイシン(L)であり、かつX^5は、グルタミン(Q)である、$CX^1X^2X^3X^4X^5$モチーフ;

-

$CX_{10}CX_5CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 41), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{15}C$ (SEQ ID NO: 42), $CX_{11}CXCX_5C$ (SEQ ID NO: 43), $CX_{11}CX_5CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 44), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{13}C$ (SEQ ID NO: 45), $CX_{10}CX_5CXCX_4CX_8C$ (SEQ ID NO: 46), $CX_{10}CX_6CX_6CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 47), $CX_{10}CX_4CX_7CXCX_8C$ (SEQ ID NO: 48), $CX_{10}CX_4CX_7CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 49), $CX_{13}CX_8CX_8C$ (SEQ ID NO: 50), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 51), $CX_{10}CX_5CX_5C$ (SEQ ID NO: 52), $CX_{10}CX_5CX_6CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 53), $CX_{10}CX_6CX_5CX_7CX_9C$ (SEQ ID NO: 54), $CX_9CX_7CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 55), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_9C$ (SEQ ID NO: 56), $CX_{10}CXCX_4CX_5CX_{11}C$ (SEQ ID NO: 57), $CX_7CX_3CX_6CX_5CXCX_5CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 58), $CX_{10}CXCX_4CX_5CXCX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 59), $CX_{16}CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 60), $CX_6CX_4CXCX_4CX_5C$ (SEQ ID NO: 61), $CX_{11}CX_4CX_5CX_6CX_3C$ (SEQ ID NO: 62), $CX_8CX_2CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 63), $CX_{10}CX_5CX_5CXCX_{10}C$ (SEQ ID NO: 64), $CX_{10}CXCX_6CX_4CXC$ (SEQ ID NO: 65), $CX_{10}CX_5CX_5CXCX_2C$ (SEQ ID NO: 66), $CX_{14}CX_2CX_3CXCXC$ (SEQ ID NO: 67), $CX_{15}CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 68), $CX_4CX_6CX_9CX_2CX_{11}C$ (SEQ ID NO: 69), $CX_6CX_4CX_5CX_5CX_{12}C$ (SEQ ID NO: 70), $CX_7CX_3CXCXCX_4CX_5CX_9C$ (SEQ ID NO: 71), $CX_{10}CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 72), $CX_7CX_3CX_5CX_5CX_9C$ (SEQ ID NO: 73), $CX_7CX_5CXCX_2C$ (SEQ ID NO: 74), $CX_{10}CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 75), $CX_{10}CX_3CX_3CX_5CX_7CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 76), $CX_{10}CX_4CX_5CX_{12}CX_2C$ (SEQ ID NO: 77), $CX_{12}CX_4CX_5CXCXCX_9CX_3C$ (SEQ ID NO: 78), $CX_{12}CX_4CX_5CX_{12}CX_2C$ (SEQ ID NO: 79), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{11}C$ (SEQ ID NO: 80), $CX_{16}CX_5CXCXCX_{14}C$ (SEQ ID NO: 81), $CX_{10}CX_5CXCX_8CX_6C$ (SEQ ID NO: 82), $CX_{12}CX_4CX_5CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 83), $CX_{12}CX_5CX_5CXCX_8C$ (SEQ ID NO: 84), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_4CXCX_9C$ (SEQ ID NO: 85), $CX_{11}CX_4CX_5CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 86), $CX_{10}CX_6CX_5CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 87), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_8C$ (SEQ ID NO: 88), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_3CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 89), $CX_{10}CX_6CX_5CX_3CX_8C$ (SEQ ID NO: 90), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_2CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 91), $CX_7CX_6CX_3CX_3CX_9C$ (SEQ ID NO: 92), $CX_9CX_8CX_5CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 93), $CX_{10}CX_2CX_2CX_7CXCX_{11}CX_5C$ (SEQ ID NO: 94), および $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_2CX_8CX_4C$ (SEQ ID NO: 95)

からなる群より選択されるシステインモチーフ;

$-(X^aX^b)_z$モチーフであって、式中、X^aは、任意のアミノ酸残基であり、X^bは、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、トリプトファン(W)、およびヒスチジン(H)からなる群より選択される芳香族アミノ酸であり、かつzは1～4である、$(X^aX^b)_z$モチーフ

を含む、本発明1001のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1043]

極めて長いCDR3が、

$-CX^1X^2X^3X^4X^5$モチーフであって、式中、X^1は、トレオニン(T)、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、またはバリン(V)であり、X^2は、セリン(S)、トレオニン(T)、プロリン(P)、イソロイシン(I)、アラニン(A)、バリン(V)、またはアスパラギン(N)であり、X^3は、バリン(V)、アラニン(A)、トレオニン(T)、またはアスパラギン酸(D)であり、X^4は、ヒスチジン(H)、トレオニン(T)、アルギニン(R)、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、またはロイシン(L)であり、かつX^5は、グルタミン(Q)である、$CX^1X^2X^3X^4X^5$モチーフ;

-
$CCX_3CXCX_3CX_2CCXCX_5CX_9CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 96), $CX_6CX_2CX_5CX_4CCXCX_4CX_6CXC$ (SEQ ID NO: 97), $CX_7CXCX_5CX_4CCCX_4CX_6CXC$ (SEQ ID NO: 98), $CX_9CX_3CXCX_2CXCCCX_6CX_4C$ (SEQ ID NO: 99), $CX_5CX_3CXCX_4CX_4CCX_{10}CX_2CC$ (SEQ ID NO: 100), $CX_5CXCX_1CXCX_3CCX_3CX_4CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 101), $CX_9CCCX_3CX_4CCCX_5CX_6C$ (SEQ ID NO: 102), $CCX_8CX_5CX_4CX_3CX_4CCXCX_1C$ (SEQ ID NO: 103), $CCX_6CCX_5CCCX_4CX_4CX_{12}C$ (SEQ ID NO: 104), $CX_6CX_2CX_3CCCX_4CX_5CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 105), $CX_3CX_5CX_6CX_4CCXCX_5CX_4CXC$ (SEQ ID NO: 106), $CX_4CX_4CCX_4CX_4CXCX_{11}CX_2CXC$ (SEQ ID NO: 107), $CX_5CX_2CCX_5CX_4CCX_3CCX_7C$ (SEQ ID NO: 108), $CX_5CX_5CX_3CX_2CXCCX_4CX_7CXC$ (SEQ ID NO: 109), $CX_3CX_7CX_3CX_4CCXCX_2CX_5CX_2C$ (SEQ ID NO: 110), $CX_9CX_3CXCX_4CCX_5CCCX_6C$ (SEQ ID NO: 111), $CX_9CX_3CXCX_2CXCCX_6CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 112), $CX_8CCXCX_3CCX_3CXCX_3CX_4C$ (SEQ ID NO: 113), $CX_9CCX_4CX_2CXCCXCX_4CX_3C$ (SEQ ID NO: 114), $CX_{10}CXCX_3CX_2CXCCX_4CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 115), $CX_9CXCX_3CX_2CXCCX_4CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 116), $CX_6CCXCX_5CX_4CCXCX_5CX_2C$ (SEQ ID NO: 117), $CX_6CCXCX_3CXCCX_3CX_4CC$ (SEQ ID NO: 118), $CX_6CCXCX_3CXCX_2CXCX_4CX_8C$ (SEQ ID NO: 119), $CX_4CX_2CCX_3CXCX_4CCX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 120), $CX_3CX_5CX_3CCCX_4CX_9C$ (SEQ ID NO: 121), $CCX_9CX_3CXCCX_3CX_5C$ (SEQ ID NO: 122), $CX_9CX_2CX_3CX_4CCX_4CX_5C$ (SEQ ID NO: 123), $CX_9CX_7CX_4CCXCX_7CX_3C$ (SEQ ID NO: 124), $CX_9CX_3CCCX_{10}CX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 125), $CX_3CX_5CX_5CX_4CCX_{10}CX_6C$ (SEQ ID NO: 126), $CX_9CX_5CX_4CCXCX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 127), $CX_7CXCX_6CX_4CCCX_{10}C$ (SEQ ID NO: 128), $CX_8CX_2CX_4CCX_4CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 129), $CX_7CX_5CXCX_4CCX_7CX_4C$ (SEQ ID NO: 130), $CX_{11}CX_3CX_4CCCX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 131), $CX_2CX_3CX_4CCX_4CX_5CX_{15}C$ (SEQ ID NO: 132), $CX_9CX_5CX_4CCX_7C$ (SEQ ID NO: 133), $CX_9CX_7CX_3CX_2CX_6C$ (SEQ ID NO: 134), $CX_9CX_5CX_4CCX_{14}C$ (SEQ ID NO: 135), $CX_9CX_5CX_4CCX_8C$ (SEQ ID NO: 136), $CX_9CX_6CX_4CCXC$ (SEQ ID NO: 137), $CX_5CCX_7CX_4CX_{12}$ (SEQ ID NO: 138), $CX_{10}CX_3CX_4CCX_4C$ (SEQ ID NO: 139), $CX_9CX_4CCX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 140), $CX_{10}CX_3CX_4CX_7CXC$ (SEQ ID NO: 141), $CX_7CX_7CX_2CX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 142), $CX_9CX_4CX_4CCX_6C$ (SEQ ID NO: 143), $CX_7CXCX_3CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 144), $CX_7CXCX_4CXCX_4C$ (SEQ ID NO: 145), $CX_9CX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 146), $CX_3CX_6CX_8C$ (SEQ ID NO: 147), $CX_{10}CXCX_4C$ (SEQ ID NO: 148), $CX_{10}CCX_4C$ (SEQ ID NO: 149), $CX_{15}C$ (SEQ ID NO: 150), $CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 151),およびCX_9C (SEQ ID NO: 152)
からなる群より選択されるシステインモチーフ;ならびに
$-(X^aX^b)_z$モチーフであって、式中、X^aは、任意のアミノ酸残基であり、X^bは、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、トリプトファン(W)、およびヒスチジン(H)からなる群より選択される芳香族アミノ酸であり、かつzは1～4である、$(X^aX^b)_z$モチーフ
を含む、本発明1001のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1044]
極めて長いCDR3が、リンカーである付加的な配列を含む、本発明1020のヒト化抗体またはその結合断片。
[本発明1045]
リンカーが、非抗体配列のC末端、N末端、またはC末端およびN末端の両方に連結されている、本発明1044のヒト化抗体またはその結合断片。
[本発明1046]
極めて長いCDR3が、反芻動物のCDR3である、本発明1001のヒト化抗体またはその結合断片。
[本発明1047]
反芻動物がウシである、本発明1046のヒト化抗体またはその結合断片。
[本発明1048]
重鎖可変領域が、SEQ ID NO: 735のアミノ酸配列を含む、本発明1001のヒト化抗体またはその結合断片。
[本発明1049]
重鎖可変領域が、SEQ ID NO: 737のアミノ酸配列を含む、本発明1001のヒト化抗体またはその結合断片。
[本発明1050]
重鎖可変領域が、SEQ ID NO: 739のアミノ酸配列を含む、本発明1001のヒト化抗体またはその結合断片。
[本発明1051]
重鎖可変領域が、SEQ ID NO: 741のアミノ酸配列を含む、本発明1001のヒト化抗体またはその結合断片。
[本発明1052]
重鎖可変領域が、SEQ ID NO: 743のアミノ酸配列を含む、本発明1001のヒト化抗体またはその結合断片。
[本発明1053]
重鎖可変領域が、SEQ ID NO: 745のアミノ酸配列を含む、本発明1001のヒト化抗体またはその結合断片。
[本発明1054]
重鎖可変領域が、SEQ ID NO: 747のアミノ酸配列を含む、本発明1001のヒト化抗体またはその結合断片。
[本発明1055]
重鎖可変領域が、SEQ ID NO: 749のアミノ酸配列を含む、本発明1001のヒト化抗体またはその結合断片。
[本発明1056]
極めて長いCDR3が、

(i) GSKHRLRDYFLYNE (SEQ ID NO: 501), GSKHRLRDYFLYN (SEQ ID NO: 502), GSKHRLRDYFLY (SEQ ID NO: 503), GSKHRLRDYFL (SEQ ID NO: 504), GSKHRLRDYF (SEQ ID NO: 505), GSKHRLRDY (SEQ ID NO: 506), またはGSKHRLRD (SEQ ID NO: 507)のいずれか1つ;

(ii) EAGGPDYRNGYNY (SEQ ID NO: 508), EAGGPDYRNGYN (SEQ ID NO: 509), EAGGPDYRNGY (SEQ ID NO: 510), EAGGPDYRNG (SEQ ID NO: 511), EAGGPDYRN (SEQ ID NO: 512), EAGGPDYR (SEQ ID NO: 513), EAGGPDY (SEQ ID NO: 514), または EAGGPD (SEQ ID NO: 515) のいずれか1つ;

(iii) EAGGPIWHDDVKY (SEQ ID NO: 516), EAGGPIWHDDVK (SEQ ID NO: 517), EAGGPIWHDDV (SEQ ID NO: 518), EAGGPIWHDD (SEQ ID NO: 519), EAGGPIWHD (SEQ ID NO: 520), EAGGPIWH (SEQ ID NO: 521), EAGGPIW (SEQ ID NO: 522), または EAGGPI (SEQ ID NO: 523) のいずれか1つ;

(iv) GTDYTIDDQGI (SEQ ID NO: 524), GTDYTIDDQG (SEQ ID NO: 525), GTDYTIDDQ (SEQ ID NO: 526), GTDYTIDD (SEQ ID NO: 527), GTDYTID (SEQ ID NO: 528), または GTDYTI (SEQ ID NO: 529) のいずれか1つ;

(v) DKGDSDYDYNL (SEQ ID NO: 530), DKGDSDYDYN (SEQ ID NO: 531), DKGDSDYDY (SEQ ID NO: 532), DKGDSDYD (SEQ ID NO: 533), DKGDSDY (SEQ ID NO: 534), DKGDSD (SEQ ID NO: 535) のいずれか1つ;

(vi) TSVHQETKKYQS (SEQ ID NO: 498)

のアミノ酸配列を含む、本発明1001のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1057]

極めて長いCDR3が、

(i) YGPNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 536), GPNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 537), PNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 538), NYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 539), YEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 540), またはEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 541) のいずれか1つ;
(ii) YDFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 542), DFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 543), FYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 544), YDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 545), DGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 546), GYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 547),または YYNYHYMDV (SEQ ID NO: 548) のいずれか1つ;
(iii) YDFNDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 549), DFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 550), FYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 551), YDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 552), DGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 553),またはGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 554) のいずれか1つ;
(iv) QGIRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 555), GIRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 556), IRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 557), RYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 558), YQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 559), QGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 560), GSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 561), SGTFWYFDV (SEQ ID NO: 562),または GTFWYFDV (SEQ ID NO: 563) のいずれか1つ;
(v) YNLGYSYFYYMDG(SEQ ID NO: 564), NLGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 565), LGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 566), GYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 567), YSYFYYMDG (SEQ ID NO: 568),またはSYFYYMDG (SEQ ID NO: 569) のいずれか1つ;あるいは
(vi) SYTYNYEWHVDV (SEQ ID NO: 499)

のアミノ酸配列を含む、本発明1001のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1058]

極めて長いCDR3が、

(i) GSKHRLRDYFLYNE (SEQ ID NO: 501), GSKHRLRDYFLYN (SEQ ID NO: 502), GSKHRLRDYFLY (SEQ ID NO: 503), GSKHRLRDYFL (SEQ ID NO: 504), GSKHRLRDYF (SEQ ID NO: 505), GSKHRLRDY (SEQ ID NO: 506), または GSKHRLRD (SEQ ID NO: 507) のいずれか1つ、および YGPNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 536), GPNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 537), PNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 538), NYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 539), YEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 540), または EEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 541) のいずれか1つ;
(ii) EAGGPDYRNGYNY (SEQ ID NO: 508), EAGGPDYRNGYN (SEQ ID NO: 509), EAGGPDYRNGY (SEQ ID NO: 510), EAGGPDYRNG (SEQ ID NO: 511), EAGGPDYRN (SEQ ID NO: 512), EAGGPDYR (SEQ ID NO: 513), EAGGPDY (SEQ ID NO: 514) または EAGGPD (SEQ ID NO: 515) のいずれか1つ、および YDFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 542), DFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 543), FYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 544), YDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 545), DGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 546), GYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 547), または YYNYHYMDV (SEQ ID NO: 548) のいずれか1つ;
(iii) EAGGPIWHDDVKY (SEQ ID NO: 516), EAGGPIWHDDVK (SEQ ID NO: 517), EAGGPIWHDDV (SEQ ID NO: 518), EAGGPIWHDD (SEQ ID NO: 519), EAGGPIWHD (SEQ ID NO: 520), EAGGPIWH (SEQ ID NO: 521), EAGGPIW (SEQ ID NO: 522), または EAGGPI (SEQ ID NO: 523) のいずれか1つ、および YDFNDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 549), DFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 550), FYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 551), YDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 552), DGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 553), または GYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 554) のいずれか1つ;
(iv) GTDYTIDDQGI (SEQ ID NO: 524), GTDYTIDDQG (SEQ ID NO: 525), GTDYTIDDQ (SEQ ID NO: 526), GTDYTIDD (SEQ ID NO: 527), GTDYTID (SEQ ID NO: 528), または GTDYTI (SEQ ID NO: 529) のいずれか1つ、および QGIRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 555), GIRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 556), IRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 557), RYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 558), YQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 559), QGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 560), GSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 561), SGTFWYFDV (SEQ ID NO: 562), または GTFWYFDV (SEQ ID NO: 563) のいずれか1つ;
(v) YNLGYSYFYYMDG(SEQ ID NO: 564), NLGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 565), LGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 566), GYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 567), YSYFYYMDG (SEQ ID NO: 568), または SYFYYMDG (SEQ ID NO: 569) のいずれか1つ、および YNLGYSYFYYMDG(SEQ ID NO: 564), NLGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 565), LGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 566), GYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 567), YSYFYYMDG (SEQ ID NO: 568), または SYFYYMDG (SEQ ID NO: 569) のいずれか1つ;あるいは
(vi) TSVHQETKKYQS (SEQ ID NO: 498) および SYTYNYEWHVDV (SEQ ID NO: 499)

のアミノ酸配列を含む、本発明1001のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1059]

(i)SEQ ID NO: 750、(ii)SEQ ID NO: 751、(iii)SEQ ID NO: 752、および(iv)SEQ ID NO: 753の群より選択される配列を含む軽鎖可変領域を含む、本発明1001のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1060]

軽鎖可変領域が、λ軽鎖可変領域配列を含む、本発明1059のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1061]

軽鎖可変領域が、ヒトλ軽鎖可変領域配列を含む、本発明1059のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1062]

軽鎖可変領域が、VL1-51生殖系列配列を含む、本発明1059のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1063]

軽鎖可変領域が、VL1-51生殖系列配列に由来する、本発明1059のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1064]

VL1-51生殖系列配列が、Kabatの番号付与に基づくIle29Val置換およびAsn32Gly置換を含むCDR1を含む、本発明1063のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1065]

VL1-51生殖系列配列が、DNNからGDTへの置換を含むCDR2を含む、本発明1063のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1066]

VL1-51生殖系列配列が、DNNKRP(SEQ ID NO: 471)からGDTSRA(SEQ ID NO: 472)への置換を含むCDR2を含む、本発明1063のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1067]

VL1-51生殖系列配列が、Kabatの番号付与に基づくS2A置換、T5N置換、P8S置換、A12G置換、A13S置換、およびP14L置換を含む、本発明1063のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1068]

VL1-51生殖系列配列が、Kabatの番号付与に基づくS2A置換、T5N置換、P8S置換、A12G置換、A13S置換、およびP14L置換と、DNNからGDTへの置換を含むCDR2とを含む、本発明1063のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1069]

(a)SEQ ID NO: 740、SEQ ID NO: 741、SEQ ID NO: 742、およびSEQ ID NO: 743からなる群より選択される配列を含む重鎖可変領域;ならびに(b)SEQ ID NO: 750を含む軽鎖可変領域を含む、本発明1001のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1070]

本発明1001～1069のいずれかのヒト化抗体またはその結合断片の重鎖可変領域をコードする、ポリヌクレオチド。

[本発明1071]

本発明1059～1069のいずれかのヒト化抗体またはその結合断片の軽鎖可変領域をコードする、ポリヌクレオチド。

[本発明1072]

極めて長いCDR3を含む重鎖可変領域をコードするポリヌクレオチドであって、SEQ ID NO: 490、SEQ ID NO: 491、SEQ ID NO: 492、SEQ ID NO: 493、SEQ ID NO: 494、SEQ ID NO: 495、SEQ ID NO: 496、およびSEQ ID NO: 497からなる群より選択される配列を含む、ポリヌクレオチド。

[本発明1073]

本発明1070～1072のいずれかのポリヌクレオチドを含む、ベクター。

[本発明1074]

本発明1073のベクターを含む、宿主細胞。

[本発明1075]

ヒト化抗体またはその結合断片をコードする配列を構成する複数のポリヌクレオチドを含む核酸ライブラリーであって、該抗体またはその結合断片が、

(a)(i)SEQ ID NO: 734またはSEQ ID NO: 735、

(ii)SEQ ID NO: 736またはSEQ ID NO: 737、
(iii)SEQ ID NO: 738またはSEQ ID NO: 739、
(iv)SEQ ID NO: 740またはSEQ ID NO: 741、
(v)SEQ ID NO: 742またはSEQ ID NO: 743、
(vi)SEQ ID NO: 744またはSEQ ID NO: 745、
(vii)SEQ ID NO: 746またはSEQ ID NO: 747、および
(viii)SEQ ID NO: 748またはSEQ ID NO: 749
からなる群より選択されるアミノ酸配列;ならびに
(b)極めて長いCDR3
を含む重鎖可変領域を含む、核酸ライブラリー。

[本発明1076]
ヒト化抗体またはその結合断片のライブラリーであって、該抗体またはその結合断片が、
(a)(i)SEQ ID NO: 734またはSEQ ID NO: 735、
(ii)SEQ ID NO: 736またはSEQ ID NO: 737、
(iii)SEQ ID NO: 738またはSEQ ID NO: 739、
(iv)SEQ ID NO: 740またはSEQ ID NO: 741、
(v)SEQ ID NO: 742またはSEQ ID NO: 743、
(vi)SEQ ID NO: 744またはSEQ ID NO: 745、
(vii)SEQ ID NO: 746またはSEQ ID NO: 747、および
(viii)SEQ ID NO: 748またはSEQ ID NO: 749
からなる群より選択されるアミノ酸配列;ならびに
(b)極めて長いCDR3
を含む重鎖可変領域を含む、ヒト化抗体またはその結合断片のライブラリー。

[本発明1077]
極めて長いCDR3が、35アミノ酸長もしくはそれ以上、40アミノ酸長もしくはそれ以上、45アミノ酸長もしくはそれ以上、50アミノ酸長もしくはそれ以上、55アミノ酸長もしくはそれ以上、または60アミノ酸長もしくはそれ以上である、本発明1075または1076のライブラリー。

[本発明1078]
極めて長いCDR3が、35アミノ酸長またはそれ以上である、本発明1077のライブラリー。

[本発明1079]
極めて長いCDR3が、3個もしくはそれ以上のシステイン残基、4個もしくはそれ以上のシステイン残基、5個もしくはそれ以上のシステイン残基、6個もしくはそれ以上のシステイン残基、7個もしくはそれ以上のシステイン残基、8個もしくはそれ以上のシステイン残基、9個もしくはそれ以上のシステイン残基、10個もしくはそれ以上のシステイン残基、11個もしくはそれ以上のシステイン残基、または12個もしくはそれ以上のシステイン残基を含む、本発明1075または1076のライブラリー。

[本発明1080]
極めて長いCDR3が、3個またはそれ以上のシステイン残基を含む、本発明1079のライブラリー。

[本発明1081]
抗体またはその結合断片が、システインモチーフを含む、本発明1076のライブラリー。

[本発明1082]
システインモチーフが、

$CX_{10}CX_5CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 41), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{15}C$ (SEQ ID NO: 42), $CX_{11}CXCX_5C$ (SEQ ID NO: 43), $CX_{11}CX_5CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 44), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{13}C$ (SEQ ID NO: 45), $CX_{10}CX_5CXCX_4CX_8C$ (SEQ ID NO: 46), $CX_{10}CX_6CX_6CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 47), $CX_{10}CX_4CX_7CXCX_8C$ (SEQ ID NO: 48), $CX_{10}CX_4CX_7CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 49), $CX_{13}CX_8CX_8C$ (SEQ ID NO: 50), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 51), $CX_{10}CX_5CX_5C$ (SEQ ID NO: 52), $CX_{10}CX_5CX_6CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 53), $CX_{10}CX_6CX_5CX_7CX_9C$ (SEQ ID NO: 54), $CX_9CX_7CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 55), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_9C$ (SEQ ID NO: 56), $CX_{10}CXCX_4CX_5CX_{11}C$ (SEQ ID NO: 57), $CX_7CX_3CX_6CX_5CXCX_5CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 58), $CX_{10}CXCX_4CX_5CXCX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 59), $CX_{16}CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 60), $CX_6CX_4CXCX_4CX_5C$ (SEQ ID NO: 61), $CX_{11}CX_4CX_5CX_6CX_3C$ (SEQ ID NO: 62), $CX_8CX_2CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 63), $CX_{10}CX_5CX_5CXCX_{10}C$ (SEQ ID NO: 64), $CX_{10}CXCX_6CX_4CXC$ (SEQ ID NO: 65), $CX_{10}CX_5CX_5CXCX_2C$ (SEQ ID NO: 66), $CX_{14}CX_2CX_3CXCXC$ (SEQ ID NO: 67), $CX_{15}CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 68), $CX_4CX_6CX_9CX_2CX_{11}C$ (SEQ ID NO: 69), $CX_6CX_4CX_5CX_5CX_{12}C$ (SEQ ID NO: 70), $CX_7CX_3CXCXCX_4CX_5CX_9C$ (SEQ ID NO: 71), $CX_{10}CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 72), $CX_7CX_3CX_5CX_5CX_9C$ (SEQ ID NO: 73), $CX_7CX_5CXCX_2C$ (SEQ ID NO: 74), $CX_{10}CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 75), $CX_{10}CX_3CX_3CX_5CX_7CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 76), $CX_{10}CX_4CX_5CX_{12}CX_2C$ (SEQ ID NO: 77), $CX_{12}CX_4CX_5CXCXCX_9CX_3C$ (SEQ ID NO: 78), $CX_{12}CX_4CX_5CX_{12}CX_2C$ (SEQ ID NO: 79), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{11}C$ (SEQ ID NO: 80), $CX_{16}CX_5CXCXCX_{14}C$ (SEQ ID NO: 81), $CX_{10}CX_5CXCX_8CX_6C$ (SEQ ID NO: 82), $CX_{12}CX_4CX_5CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 83), $CX_{12}CX_5CX_5CXCX_8C$ (SEQ ID NO: 84), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_4CXCX_9C$ (SEQ ID NO: 85), $CX_{11}CX_4CX_5CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 86), $CX_{10}CX_6CX_5CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 87), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_8C$ (SEQ ID NO: 88), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_3CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 89), $CX_{10}CX_6CX_5CX_3CX_8C$ (SEQ ID NO: 90), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_2CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 91), $CX_7CX_6CX_3CX_3CX_9C$ (SEQ ID NO: 92), $CX_9CX_8CX_5CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 93), $CX_{10}CX_2CX_2CX_7CXCX_{11}CX_5C$ (SEQ ID NO: 94), および $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_2CX_8CX_4C$ (SEQ ID NO: 95)

からなる群より選択される、本発明1076のライブラリー。

[本発明1083]

システインモチーフが、

$CCX_3CXCX_3CX_2CCXCX_5CX_9CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 96), $CX_6CX_2CX_5CX_4CCXCX_4CX_6CXC$ (SEQ ID NO: 97), $CX_7CXCX_5CX_4CCCX_4CX_6CXC$ (SEQ ID NO: 98), $CX_9CX_3CXCX_2CXCCCX_6CX_4C$ (SEQ ID NO: 99), $CX_5CX_3CXCX_4CX_4CCX_{10}CX_2CC$ (SEQ ID NO: 100), $CX_5CXCX_1CXCX_3CCX_3CX_4CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 101), $CX_9CCCX_3CX_4CCCX_5CX_6C$ (SEQ ID NO: 102), $CCX_8CX_5CX_4CX_3CX_4CCXCX_1C$ (SEQ ID NO: 103), $CCX_6CCX_5CCCX_4CX_4CX_{12}C$ (SEQ ID NO: 104), $CX_6CX_2CX_3CCCX_4CX_5CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 105), $CX_3CX_5CX_6CX_4CCXCX_5CX_4CXC$ (SEQ ID NO: 106), $CX_4CX_4CCX_4CX_4CXCX_{11}CX_2CXC$ (SEQ ID NO: 107), $CX_5CX_2CCX_5CX_4CCX_3CCX_7C$ (SEQ ID NO: 108), $CX_5CX_5CX_3CX_2CXCCX_4CX_7CXC$ (SEQ ID NO: 109), $CX_3CX_7CX_3CX_4CCXCX_2CX_5CX_2C$ (SEQ ID NO: 110), $CX_9CX_3CXCX_4CCX_5CCCX_6C$ (SEQ ID NO: 111), $CX_9CX_3CXCX_2CXCCX_6CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 112), $CX_8CCXCX_3CCX_3CXCX_3CX_4C$ (SEQ ID NO: 113), $CX_9CCX_4CX_2CXCCXCX_4CX_3C$ (SEQ ID NO: 114), $CX_{10}CXCX_3CX_2CXCCX_4CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 115), $CX_9CXCX_3CX_2CXCCX_4CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 116), $CX_6CCXCX_5CX_4CCXCX_5CX_2C$ (SEQ ID NO: 117), $CX_6CCXCX_3CXCCX_3CX_4CC$ (SEQ ID NO: 118), $CX_6CCXCX_3CXCX_2CXCX_4CX_8C$ (SEQ ID NO: 119), $CX_4CX_2CCX_3CXCX_4CCX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 120), $CX_3CX_5CX_3CCCX_4CX_9C$ (SEQ ID NO: 121), $CCX_9CX_3CXCCX_3CX_5C$ (SEQ ID NO: 122), $CX_9CX_2CX_3CX_4CCX_4CX_5C$ (SEQ ID NO: 123), $CX_9CX_7CX_4CCXCX_7CX_3C$ (SEQ ID NO: 124), $CX_9CX_3CCCX_{10}CX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 125), $CX_3CX_5CX_5CX_4CCX_{10}CX_6C$ (SEQ ID NO: 126), $CX_9CX_5CX_4CCXCX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 127), $CX_7CXCX_6CX_4CCCX_{10}C$ (SEQ ID NO: 128), $CX_8CX_2CX_4CCX_4CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 129), $CX_7CX_5CXCX_4CCX_7CX_4C$ (SEQ ID NO: 130), $CX_{11}CX_3CX_4CCCX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 131), $CX_2CX_3CX_4CCX_4CX_5CX_{15}C$ (SEQ ID NO: 132), $CX_9CX_5CX_4CCX_7C$ (SEQ ID NO: 133), $CX_9CX_7CX_3CX_2CX_6C$ (SEQ ID NO: 134), $CX_9CX_5CX_4CCX_{14}C$ (SEQ ID NO: 135), $CX_9CX_5CX_4CCX_8C$ (SEQ ID NO: 136), $CX_9CX_6CX_4CCXC$ (SEQ ID NO: 137), $CX_5CCX_7CX_4CX_{12}$ (SEQ ID NO: 138), $CX_{10}CX_3CX_4CCX_4C$ (SEQ ID NO: 139), $CX_9CX_4CCX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 140), $CX_{10}CX_3CX_4CX_7CXC$ (SEQ ID NO: 141), $CX_7CX_7CX_2CX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 142), $CX_9CX_4CX_4CCX_6C$ (SEQ ID NO: 143), $CX_7CXCX_3CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 144), $CX_7CXCX_4CXCX_4C$ (SEQ ID NO: 145), $CX_9CX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 146), $CX_3CX_6CX_8C$ (SEQ ID NO: 147), $CX_{10}CXCX_4C$ (SEQ ID NO: 148), $CX_{10}CCX_4C$ (SEQ ID NO: 149), $CX_{15}C$ (SEQ ID NO: 150), $CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 151), および CX_9C (SEQ ID NO: 152)
からなる群より選択される、本発明1081のライブラリー。

[本発明1084]

極めて長いCDR3が、2～6個のジスルフィド結合を含む、本発明1076のライブラリー。

[本発明1085]

極めて長いCDR3が、SEQ ID NO: 40またはその派生物を含む、本発明1076のライブラリー。

[本発明1086]
極めて長いCDR3が、SEQ ID NO: 1～4のいずれか1つのアミノ酸残基3～6を含む、本発明1076のライブラリー。
[本発明1087]
極めて長いCDR3が、非ヒトDHまたはその派生物を含む、本発明1076のライブラリー。
[本発明1088]
非ヒトDHが、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11、またはSEQ ID NO: 12である、本発明1087のライブラリー。
[本発明1089]
極めて長いCDR3が、JH配列またはその派生物を含む、本発明1076のライブラリー。
[本発明1090]
JH配列が、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 15、SEQ ID NO: 16、またはSEQ ID NO: 17の5～15位のアミノ酸を含む、本発明1089のライブラリー。
[本発明1091]
極めて長いCDR3が、
-非ヒトVH配列もしくはその派生物に由来する配列;
-非ヒトDH配列もしくはその派生物に由来する配列;および/または
-JH配列もしくはその派生物に由来する配列
を含む、本発明1076のライブラリー。
[本発明1092]
極めて長いCDR3が、VH配列とDH配列の間に位置する2～6個またはそれ以上のアミノ酸残基を含む付加的なアミノ酸配列を含む、本発明1091のライブラリー。
[本発明1093]
付加的なアミノ酸配列が、IR、IF、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 19、SEQ ID NO: 20、またはSEQ ID NO: 21からなる群より選択される、本発明1092のライブラリー。
[本発明1094]
極めて長いCDR3が、SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO: 23、SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 27、またはSEQ ID NO: 28に由来するかまたは基づく配列を含む、本発明1076のライブラリー。
[本発明1095]
極めて長いCDR3が、非ウシ配列または非抗体配列を含む、本発明1076のライブラリー。
[本発明1096]
非抗体配列が合成配列である、本発明1095のライブラリー。
[本発明1097]
非抗体配列が、サイトカイン配列、リンフォカイン配列、ケモカイン配列、増殖因子配列、ホルモン配列、または毒素配列である、本発明1095のライブラリー。
[本発明1098]
非抗体配列が、IL-8配列、IL-21配列、SDF-1(α)配列、ソマトスタチン配列、クロロトキシン配列、Pro-TxII配列、ジコノチド配列、ADWX-1配列、HsTx1配列、OSK1配列、Pi2配列、ホンゴトキシン(HgTX)配列、マルガトキシン配列、アギトキシン-2配列、Pi3配列、カリオトキシン配列、アニュロクトキシン配列、カリブドトキシン配列、チチウストキシン-K-α配列、マウロトキシン配列、セラトトキシン1(CcoTx1)配列、CcoTx2配列、CcoTx3配列、フリクソトキシン3(PaurTx3)配列、ハナトキシン1配列、フリクソトキシン1配列、フエントキシン-IV配列、α-コノトキシンImI配列、α-コノトキシンEpI配列、α-コノトキシンPnIA配列、α-コノトキシンPnIB配列、α-コノトキシンMII配列、α-コノトキシンAuIA配列、α-コノトキシンAuIB配列、α-コノトキシンAuIC配列、コノトキシンκ-PVIIA配列、カリブドトキシン配列、ニューロトキシンB-IV配列、クロタミン配列、ω-GVIA(コノトキシン)配列、κ-ヘフトキシン1配列、Css4配列、Bj-xtrIT配列、BcIV配列、Hm-1配列、Hm-2配列、GsAF-I(β-テラホトキシン-Gr1b)配列、プロトキシンI(ProTx-I配列、β-

テラホトキシン-Tp1a)配列、プロトキシンII(ProTx II)配列、フエントキシンI配列、μ-コノトキシンPIIIA配列、ジンザオトキシン-III(β-TRTX-Cj1α)配列、GsAF-II(κ-テラホトキシン-Gr2c)配列、ShK(スチコダクチラ毒素)配列、HsTx1配列、ガンギシトキシン1E(GxTx-1E)配列、マウロトキシン配列、カリブドトキシン(ChTX)配列、イベリオトキシン(IbTx)配列、レイウロトキシン1(シラトキシン)配列、タマピン配列、カリオトキシン-1(KTX)配列、ピューロトキシン1(PT-1)配列、もしくはGpTx-1配列、MOKA毒素配列、OSK1(P12、K16、D20)配列、OSK1(K16、D20)配列、HmK配列、ShK(K16、Y26、K29)配列、ShK(K16)配列、ShK-A(K16)配列、ShK(K16、E30)配列、ShK(Q21)配列、ShK(L21)配列、ShK(F21)配列、ShK(I21)配列、またはShK(A21)配列である、本発明1095のライブラリー。

[本発明1099]

非抗体配列が、SEQ ID NO: 475～481、599～655、666～698、727～733、808～810、および831～835のいずれか1つである、本発明1095のライブラリー。

[本発明1100]

極めて長いCDR3が、$X^1X^2X^3X^4X^5$モチーフを含み、

式中、X^1は、トレオニン(T)、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、またはバリン(V)であり、X^2は、セリン(S)、トレオニン(T)、プロリン(P)、イソロイシン(I)、アラニン(A)、バリン(V)、またはアスパラギン(N)であり、X^3は、バリン(V)、アラニン(A)、トレオニン(T)、またはアスパラギン酸(D)であり、X^4は、ヒスチジン(H)、トレオニン(T)、アルギニン(R)、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、またはロイシン(L)であり、かつX^5は、グルタミン(Q)である、

本発明1076のライブラリー。

[本発明1101]

$X^1X^2X^3X^4X^5$モチーフが、

TTVHQ (SEQ ID NO: 153),

TSVHQ (SEQ ID NO: 154), SSVTQ (SEQ ID NO: 155), STVHQ (SEQ ID NO: 156), ATVRQ (SEQ ID NO: 157), TTVYQ (SEQ ID NO: 158), SPVHQ (SEQ ID NO: 159), ATVYQ (SEQ ID NO: 160), TAVYQ (SEQ ID NO: 161), TNVHQ (SEQ ID NO: 162), ATVHQ (SEQ ID NO: 163), STVYQ (SEQ ID NO: 164), TIVHQ (SEQ ID NO: 165), AIVYQ (SEQ ID NO: 166), TTVFQ (SEQ ID NO: 167), AAVFQ (SEQ ID NO: 168), GTVHQ (SEQ ID NO: 169), ASVHQ (SEQ ID NO: 170), TAVFQ (SEQ ID NO: 171), ATVFQ (SEQ ID NO: 172), AAAHQ (SEQ ID NO: 173), VVVYQ (SEQ ID NO: 174), GTVFQ (SEQ ID NO: 175), TAVHQ (SEQ ID NO: 176), ITVHQ (SEQ ID NO: 177), ITAHQ (SEQ ID NO: 178), VTVHQ (SEQ ID NO: 179); AAVHQ (SEQ ID NO: 180), GTVYQ (SEQ ID NO: 181), TTVLQ (SEQ ID NO: 182), TTTHQ (SEQ ID NO: 183), または TTDYQ (SEQ ID NO: 184)

である、本発明1100のライブラリー。

[本発明1102]

極めて長いCDR3が、$CX^1X^2X^3X^4X^5$モチーフを含む、本発明1076のライブラリー。

[本発明1103]

$CX^1X^2X^3X^4X^5$モチーフが、

CTTVHQ (SEQ ID NO:
185), CTSVHQ (SEQ ID NO: 186), CSSVTQ (SEQ ID NO: 187), CSTVHQ (SEQ ID NO: 188), CATVRQ (SEQ ID NO: 189), CTTVYQ (SEQ ID NO: 190), CSPVHQ (SEQ ID NO: 191), CATVYQ (SEQ ID NO: 192), CTAVYQ (SEQ ID NO: 193), CTNVHQ (SEQ ID NO: 194), CATVHQ (SEQ ID NO: 195), CSTVYQ (SEQ ID NO: 196), CTIVHQ (SEQ ID NO: 197), CAIVYQ (SEQ ID NO: 198), CTTVFQ (SEQ ID NO: 199), CAAVFQ (SEQ ID NO: 200), CGTVHQ (SEQ ID NO: 201), CASVHQ (SEQ ID NO: 202), CTAVFQ (SEQ ID NO: 203), CATVFQ (SEQ ID NO: 204), CAAAHQ (SEQ ID NO: 205), CVVVYQ (SEQ ID NO: 206), CGTVFQ (SEQ ID NO: 207), CTAVHQ (SEQ ID NO: 208), CITVHQ (SEQ ID NO: 209), CITAHQ (SEQ ID NO: 210), CVTVHQ (SEQ ID NO: 211); CAAVHQ (SEQ ID NO: 212), CGTVYQ (SEQ ID NO: 213), CTTVLQ (SEQ ID NO: 214), CTTTHQ (SEQ ID NO: 215), またはCTTDYQ (SEQ ID NO: 216)

である、本発明1102のライブラリー。

[本発明1104]

極めて長いCDR3が、$(X^aX^b)_z$モチーフを含み、

式中、X^aは、任意のアミノ酸残基であり、X^bは、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、トリプトファン(W)、およびヒスチジン(H)からなる群より選択される芳香族アミノ酸であり、かつzは1～4である、

本発明1076のライブラリー。

[本発明1105]

$(X^aX^b)_z$モチーフが、

CYTYNYEF (SEQ ID NO: 217),
HYTYTYDF (SEQ ID NO: 218), HYTYTYEW (SEQ ID NO: 219), KHRYTYEW (SEQ ID NO: 220), NYIYKYSF (SEQ ID NO: 221), PYIYTYQF (SEQ ID NO: 222), SFTYTYEW (SEQ ID NO: 223), SYIYIYQW (SEQ ID NO: 224), SYNYTYSW (SEQ ID NO: 225), SYSYSYEY (SEQ ID NO: 226), SYTYNYDF (SEQ ID NO: 227), SYTYNYEW (SEQ ID NO: 228), SYTYNYQF (SEQ ID NO: 229), SYVWTHNF (SEQ ID NO: 230), TYKYVYEW (SEQ ID NO: 231), TYTYTYEF (SEQ ID NO: 232), TYTYTYEW (SEQ ID NO: 233), VFTYTYEF (SEQ ID NO: 234), AYTYEW (SEQ ID NO: 235), DYIYTY (SEQ ID NO: 236), IHSYEF (SEQ ID NO: 237), SFTYEF (SEQ ID NO: 238), SHSYEF (SEQ ID NO: 239), THTYEF (SEQ ID NO: 240), TWTYEF (SEQ ID NO: 241), TYNYEW (SEQ ID NO: 242), TYSYEF (SEQ ID NO: 243), TYSYEH (SEQ ID NO: 244), TYTYDF (SEQ ID NO: 245), TYTYEF (SEQ ID NO: 246), TYTYEW (SEQ ID NO: 247), AYEF (SEQ ID NO: 248), AYSF (SEQ ID NO: 249), AYSY (SEQ ID NO: 250), CYSF (SEQ ID NO: 251), DYTY (SEQ ID NO: 252), KYEH (SEQ ID NO: 253), KYEW (SEQ ID NO: 254), MYEF (SEQ ID NO: 255), NWIY (SEQ ID NO: 256), NYDY (SEQ ID NO: 257), NYQW (SEQ ID NO: 258), NYSF (SEQ ID NO: 259), PYEW (SEQ ID NO: 260), RYNW (SEQ ID NO: 261), RYTY (SEQ ID NO: 262), SYEF (SEQ ID NO: 263), SYEH (SEQ ID NO: 264), SYEW (SEQ ID NO: 265), SYKW (SEQ ID NO: 266), SYTY (SEQ ID NO: 267), TYDF (SEQ ID NO: 268), TYEF (SEQ ID NO: 269), TYEW (SEQ ID NO: 270), TYQW (SEQ ID NO: 271), TYTY (SEQ ID NO: 272), または VYEW (SEQ ID NO: 273)

である、本発明1104のライブラリー。

[本発明1106]

$(X^aX^b)_z$モチーフがYXYXYXである、本発明1104のライブラリー。

[本発明1107]

極めて長いCDR3が、$X^1X^2X^3X^4X^5X_n$モチーフを含み、
式中、X^1は、トレオニン(T)、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、またはバリン(V)であり、X^2は、セリン(S)、トレオニン(T)、プロリン(P)、イソロイシン(I)、アラニン(A)、バリン(V)、またはアスパラギン(N)であり、X^3は、バリン(V)、アラニン(A)、トレオニン(T)、またはアスパラギン酸(D)であり、X^4は、ヒスチジン(H)、トレオニン(T)、アルギニン(R)、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、またはロイシン(L)であり、かつX^5は、グルタミン(Q)であり、かつnは27～54である、
本発明1076のライブラリー。

[本発明1108]

極めて長いCDR3が、$X_n(X^aX^b)_z$モチーフを含み、
式中、X^aは、任意のアミノ酸残基であり、X^bは、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、トリプトファン(W)、およびヒスチジン(H)からなる群より選択される芳香族アミノ酸であり、nは27～54であり、かつzは1～4である、
本発明1076のライブラリー。

[本発明1109]

極めて長いCDR3が、$X^1X^2X^3X^4X^5X_n(X^aX^b)_z$モチーフを含み、
式中、X_1は、トレオニン(T)、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、またはバリン(V)であり、X_2は、セリン(S)、トレオニン(T)、プロリン(P)、イソロイシン(I)、アラニン(A

)、バリン(V)、またはアスパラギン(N)であり、X_3は、バリン(V)、アラニン(A)、トレオニン(T)、またはアスパラギン酸(D)であり、X_4は、ヒスチジン(H)、トレオニン(T)、アルギニン(R)、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、またはロイシン(L)であり、X_5は、グルタミン(Q)であり、X^aは、任意のアミノ酸残基であり、X^bは、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、トリプトファン(W)、およびヒスチジン(H)からなる群より選択される芳香族アミノ酸であり、nは27～54であり、かつzは1～4である、
本発明1076のライブラリー。
[本発明1110]
$X^1X^2X^3X^4X^5$モチーフが、TTVHQ(SEQ ID NO: 153)またはTSVHQ(SEQ ID NO: 154)であり、かつ$(X^aX^b)_z$モチーフが、YXYXYXである、本発明1109のライブラリー。
[本発明1111]
極めて長いCDR3が、
-$CX^1X^2X^3X^4X^5$モチーフであって、式中、X^1は、トレオニン(T)、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、またはバリン(V)であり、X^2は、セリン(S)、トレオニン(T)、プロリン(P)、イソロイシン(I)、アラニン(A)、バリン(V)、またはアスパラギン(N)であり、X^3は、バリン(V)、アラニン(A)、トレオニン(T)、またはアスパラギン酸(D)であり、X^4は、ヒスチジン(H)、トレオニン(T)、アルギニン(R)、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、またはロイシン(L)であり、かつX^5は、グルタミン(Q)である、$CX^1X^2X^3X^4X^5$モチーフ;
-

$CX_{10}CX_5CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 41), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{15}C$ (SEQ ID NO: 42), $CX_{11}CXCX_5C$ (SEQ ID NO: 43), $CX_{11}CX_5CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 44), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{13}C$ (SEQ ID NO: 45), $CX_{10}CX_5CXCX_4CX_8C$ (SEQ ID NO: 46), $CX_{10}CX_6CX_6CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 47), $CX_{10}CX_4CX_7CXCX_8C$ (SEQ ID NO: 48), $CX_{10}CX_4CX_7CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 49), $CX_{13}CX_8CX_8C$ (SEQ ID NO: 50), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 51), $CX_{10}CX_5CX_5C$ (SEQ ID NO: 52), $CX_{10}CX_5CX_6CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 53), $CX_{10}CX_6CX_5CX_7CX_9C$ (SEQ ID NO: 54), $CX_9CX_7CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 55), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_9C$ (SEQ ID NO: 56), $CX_{10}CXCX_4CX_5CX_{11}C$ (SEQ ID NO: 57), $CX_7CX_3CX_6CX_5CXCX_5CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 58), $CX_{10}CXCX_4CX_5CXCX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 59), $CX_{16}CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 60), $CX_6CX_4CXCX_4CX_5C$ (SEQ ID NO: 61), $CX_{11}CX_4CX_5CX_6CX_3C$ (SEQ ID NO: 62), $CX_8CX_2CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 63), $CX_{10}CX_5CX_5CXCX_{10}C$ (SEQ ID NO: 64), $CX_{10}CXCX_6CX_4CXC$ (SEQ ID NO: 65), $CX_{10}CX_5CX_5CXCX_2C$ (SEQ ID NO: 66), $CX_{14}CX_2CX_3CXCXC$ (SEQ ID NO: 67), $CX_{15}CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 68), $CX_4CX_6CX_9CX_2CX_{11}C$ (SEQ ID NO: 69), $CX_6CX_4CX_5CX_5CX_{12}C$ (SEQ ID NO: 70), $CX_7CX_3CXCXCX_4CX_5CX_9C$ (SEQ ID NO: 71), $CX_{10}CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 72), $CX_7CX_3CX_5CX_5CX_9C$ (SEQ ID NO: 73), $CX_7CX_5CXCX_2C$ (SEQ ID NO: 74), $CX_{10}CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 75), $CX_{10}CX_3CX_3CX_5CX_7CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 76), $CX_{10}CX_4CX_5CX_{12}CX_2C$ (SEQ ID NO: 77), $CX_{12}CX_4CX_5CXCXCX_9CX_3C$ (SEQ ID NO: 78), $CX_{12}CX_4CX_5CX_{12}CX_2C$ (SEQ ID NO: 79), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{11}C$ (SEQ ID NO: 80), $CX_{16}CX_5CXCXCX_{14}C$ (SEQ ID NO: 81), $CX_{10}CX_5CXCX_8CX_6C$ (SEQ ID NO: 82), $CX_{12}CX_4CX_5CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 83), $CX_{12}CX_5CX_5CXCX_8C$ (SEQ ID NO: 84), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_4CXCX_9C$ (SEQ ID NO: 85), $CX_{11}CX_4CX_5CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 86), $CX_{10}CX_6CX_5CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 87), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_8C$ (SEQ ID NO: 88), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_3CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 89), $CX_{10}CX_6CX_5CX_3CX_8C$ (SEQ ID NO: 90), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_2CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 91), $CX_7CX_6CX_3CX_3CX_9C$ (SEQ ID NO: 92), $CX_9CX_8CX_5CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 93), $CX_{10}CX_2CX_2CX_7CXCX_{11}CX_5C$ (SEQ ID NO: 94), および $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_2CX_8CX_4C$ (SEQ ID NO: 95)

からなる群より選択されるシステインモチーフ;ならびに

-$(X^aX^b)_z$モチーフであって、式中、X^aは、任意のアミノ酸残基であり、X^bは、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、トリプトファン(W)、およびヒスチジン(H)からなる群より選択される芳香族アミノ酸であり、かつzは1～4である、$(X^aX^b)_z$モチーフ

を含む、本発明1076のライブラリー。

[本発明1112]

極めて長いCDR3が、

-$CX^1X^2X^3X^4X^5$モチーフであって、式中、X^1は、トレオニン(T)、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、またはバリン(V)であり、X^2は、セリン(S)、トレオニン(T)、プロリン(P)、イソロイシン(I)、アラニン(A)、バリン(V)、またはアスパラギン(N)であり、X^3は、バリン(V)、アラニン(A)、トレオニン(T)、またはアスパラギン酸(D)であり、X^4は、ヒスチジン(H)、トレオニン(T)、アルギニン(R)、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、またはロイシン(L)であり、かつX^5は、グルタミン(Q)である、$CX^1X^2X^3X^4X^5$モチーフ;

$CCX_3CXCX_3CX_2CCXCX_5CX_9CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 96), $CX_6CX_2CX_5CX_4CCXCX_4CX_6CXC$ (SEQ ID NO: 97), $CX_7CXCX_5CX_4CCCX_4CX_6CXC$ (SEQ ID NO: 98), $CX_9CX_3CXCX_2CXCCCX_6CX_4C$ (SEQ ID NO: 99), $CX_5CX_3CXCX_4CX_4CCX_{10}CX_2CC$ (SEQ ID NO: 100), $CX_5CXCX_1CXCX_3CCX_3CX_4CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 101), $CX_9CCCX_3CX_4CCCX_5CX_6C$ (SEQ ID NO: 102), $CCX_8CX_5CX_4CX_3CX_4CCXCX_1C$ (SEQ ID NO: 103), $CCX_6CCX_5CCCX_4CX_4CX_{12}C$ (SEQ ID NO: 104), $CX_6CX_2CX_3CCCX_4CX_5CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 105), $CX_3CX_5CX_6CX_4CCXCX_5CX_4CXC$ (SEQ ID NO: 106), $CX_4CX_4CCX_4CX_4CXCX_{11}CX_2CXC$ (SEQ ID NO: 107), $CX_5CX_2CCX_5CX_4CCX_3CCX_7C$ (SEQ ID NO: 108), $CX_5CX_5CX_3CX_2CXCCX_4CX_7CXC$ (SEQ ID NO: 109), $CX_3CX_7CX_3CX_4CCXCX_2CX_5CX_2C$ (SEQ ID NO: 110), $CX_9CX_3CXCX_4CCX_5CCCX_6C$ (SEQ ID NO: 111), $CX_9CX_3CXCX_2CXCCX_6CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 112), $CX_8CCXCX_3CCX_3CXCX_3CX_4C$ (SEQ ID NO: 113), $CX_9CCX_4CX_2CXCCXCX_4CX_3C$ (SEQ ID NO: 114), $CX_{10}CXCX_3CX_2CXCCX_4CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 115), $CX_9CXCX_3CX_2CXCCX_4CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 116), $CX_6CCXCX_5CX_4CCXCX_5CX_2C$ (SEQ ID NO: 117), $CX_6CCXCX_3CXCCX_3CX_4CC$ (SEQ ID NO: 118), $CX_6CCXCX_3CXCX_2CXCX_4CX_8C$ (SEQ ID NO: 119), $CX_4CX_2CCX_3CXCX_4CCX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 120), $CX_3CX_5CX_3CCCX_4CX_9C$ (SEQ ID NO: 121), $CCX_9CX_3CXCCX_3CX_5C$ (SEQ ID NO: 122), $CX_9CX_2CX_3CX_4CCX_4CX_5C$ (SEQ ID NO: 123), $CX_9CX_7CX_4CCXCX_7CX_3C$ (SEQ ID NO: 124), $CX_9CX_3CCCX_{10}CX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 125), $CX_3CX_5CX_5CX_4CCX_{10}CX_6C$ (SEQ ID NO: 126), $CX_9CX_5CX_4CCXCX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 127), $CX_7CXCX_6CX_4CCCX_{10}C$ (SEQ ID NO: 128), $CX_8CX_2CX_4CCX_4CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 129), $CX_7CX_5CXCX_4CCX_7CX_4C$ (SEQ ID NO: 130), $CX_{11}CX_3CX_4CCCX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 131), $CX_2CX_3CX_4CCX_4CX_5CX_{15}C$ (SEQ ID NO: 132), $CX_9CX_5CX_4CCX_7C$ (SEQ ID NO: 133), $CX_9CX_7CX_3CX_2CX_6C$ (SEQ ID NO: 134), $CX_9CX_5CX_4CCX_{14}C$ (SEQ ID NO: 135), $CX_9CX_5CX_4CCX_8C$ (SEQ ID NO: 136), $CX_9CX_6CX_4CCXC$ (SEQ ID NO: 137), $CX_5CCX_7CX_4CX_{12}$ (SEQ ID NO: 138), $CX_{10}CX_3CX_4CCX_4C$ (SEQ ID NO: 139), $CX_9CX_4CCX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 140), $CX_{10}CX_3CX_4CX_7CXC$ (SEQ ID NO: 141), $CX_7CX_7CX_2CX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 142), $CX_9CX_4CX_4CCX_6C$ (SEQ ID NO: 143), $CX_7CXCX_3CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 144), $CX_7CXCX_4CXCX_4C$ (SEQ ID NO: 145), $CX_9CX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 146), $CX_3CX_6CX_8C$ (SEQ ID NO: 147), $CX_{10}CXCX_4C$ (SEQ ID NO: 148), $CX_{10}CCX_4C$ (SEQ ID NO: 149), $CX_{15}C$ (SEQ ID NO: 150), $CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 151), および CX_9C (SEQ ID NO: 152)

からなる群より選択されるシステインモチーフ;ならびに

$-(X^aX^b)_z$モチーフであって、式中、X^aは、任意のアミノ酸残基であり、X^bは、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、トリプトファン(W)、およびヒスチジン(H)からなる群より選択される芳香族アミノ酸であり、かつzは1～4である、$(X^aX^b)_z$モチーフ

を含む、本発明1076のライブラリー。

[本発明1113]
極めて長いCDR3が、リンカーである付加的な配列を含む、本発明1095のライブラリー。
[本発明1114]
リンカーが、非抗体配列のC末端、N末端、またはC末端およびN末端の両方に連結されている、本発明1113のライブラリー。
[本発明1115]
極めて長いCDR3が、反芻動物のCDR3である、本発明1076のライブラリー。
[本発明1116]
反芻動物がウシである、本発明1115のライブラリー。
[本発明1117]
重鎖可変領域が、SEQ ID NO: 735のアミノ酸配列を含む、本発明1076のライブラリー。
(113)重鎖可変領域が、SEQ ID NO: 737のアミノ酸配列を含む、本発明1071のライブラリー。
[本発明1118]
重鎖可変領域が、SEQ ID NO: 739のアミノ酸配列を含む、本発明1076のライブラリー。
[本発明1119]
重鎖可変領域が、SEQ ID NO: 741のアミノ酸配列を含む、本発明1076のライブラリー。
[本発明1120]
重鎖可変領域が、SEQ ID NO: 743のアミノ酸配列を含む、本発明1076のライブラリー。
[本発明1121]
重鎖可変領域が、SEQ ID NO: 745のアミノ酸配列を含む、本発明1076のライブラリー。
[本発明1122]
重鎖可変領域が、SEQ ID NO: 747のアミノ酸配列を含む、本発明1076のライブラリー。
[本発明1123]
重鎖可変領域が、SEQ ID NO: 749のアミノ酸配列を含む、本発明1076のライブラリー。
[本発明1124]
極めて長いCDR3が、

(i) GSKHRLRDYFLYNE (SEQ ID NO: 501), GSKHRLRDYFLYN (SEQ ID NO: 502), GSKHRLRDYFLY (SEQ ID NO: 503), GSKHRLRDYFL (SEQ ID NO: 504), GSKHRLRDYF (SEQ ID NO: 505), GSKHRLRDY (SEQ ID NO: 506), またはGSKHRLRD (SEQ ID NO: 507) のいずれか1つ;
(ii) EAGGPDYRNGYNY (SEQ ID NO: 508), EAGGPDYRNGYN (SEQ ID NO: 509), EAGGPDYRNGY (SEQ ID NO: 510), EAGGPDYRNG (SEQ ID NO: 511), EAGGPDYRN (SEQ ID NO: 512), EAGGPDYR (SEQ ID NO: 513), EAGGPDY (SEQ ID NO: 514), またはEAGGPD (SEQ ID NO: 515) のいずれか1つ;
(iii) EAGGPIWHDDVKY (SEQ ID NO: 516), EAGGPIWHDDVK (SEQ ID NO: 517), EAGGPIWHDDV (SEQ ID NO: 518), EAGGPIWHDD (SEQ ID NO: 519), EAGGPIWHD (SEQ ID NO: 520), EAGGPIWH (SEQ ID NO: 521), EAGGPIW (SEQ ID NO: 522), またはEAGGPI (SEQ ID NO: 523) のいずれか1つ;
(iv) GTDYTIDDQGI (SEQ ID NO: 524), GTDYTIDDQG (SEQ ID NO: 525), GTDYTIDDQ (SEQ ID NO: 526), GTDYTIDD (SEQ ID NO: 527), GTDYTID (SEQ ID NO: 528), またはGTDYTI (SEQ ID NO: 529) のいずれか1つ;
(v) DKGDSDYDYNL (SEQ ID NO: 530), DKGDSDYDYN (SEQ ID NO: 531), DKGDSDYDY (SEQ ID NO: 532), DKGDSDYD (SEQ ID NO: 533), DKGDSDY (SEQ ID NO: 534), DKGDSD (SEQ ID NO: 535) のいずれか1つ;あるいは
(vi) TSVHQETKKYQS (SEQ ID NO: 498)
のアミノ酸配列を含む、本発明1076のライブラリー。

[本発明1125]
極めて長いCDR3が、

(i) YGPNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 536), GPNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 537), PNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 538), NYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 539), YEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 540), または EEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 541) のいずれか1つ;
(ii) YDFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 542), DFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 543), FYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 544), YDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 545), DGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 546), GYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 547), または YYNYHYMDV (SEQ ID NO: 548) のいずれか1つ;
(iii) YDFNDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 549), DFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 550), FYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 551), YDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 552), DGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 553), または GYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 554) のいずれか1つ;
(iv) QGIRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 555), GIRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 556), IRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 557), RYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 558), YQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 559), QGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 560), GSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 561), SGTFWYFDV (SEQ ID NO: 562), または GTFWYFDV (SEQ ID NO: 563) のいずれか1つ;
(v) YNLGYSYFYYMDG(SEQ ID NO: 564), NLGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 565), LGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 566), GYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 567), YSYFYYMDG (SEQ ID NO: 568),またはSYFYYMDG (SEQ ID NO: 569)のいずれか1つ;あるいは
(vi) SYTYNYEWHVDV (SEQ ID NO: 499)

のアミノ酸配列を含む、本発明1076のライブラリー。

[本発明1126]
ヒト化抗体またはその結合断片が、(i)SEQ ID NO: 750、(ii)SEQ ID NO: 751、(iii)SEQ ID NO: 752、および(iv)SEQ ID NO: 753の群より選択される配列を含む軽鎖可変領域を含む、本発明1076のライブラリー。

[本発明1127]
軽鎖可変領域が、λ軽鎖可変領域配列を含む、本発明1126のライブラリー。

[本発明1128]
軽鎖可変領域配列が、ヒトλ軽鎖可変領域配列を含む、本発明1126のライブラリー。

[本発明1129]
軽鎖可変領域配列が、VL1-51生殖系列配列を含む、本発明1126のライブラリー。

[本発明1130]
軽鎖可変領域が、VL1-51生殖系列配列に由来する、本発明1126のライブラリー。

[本発明1131]
VL1-51生殖系列配列が、Kabatの番号付与に基づくIle29Val置換およびAsn32Gly置換を含むCDR1を含む、本発明1130のライブラリー。

[本発明1132]
VL1-51生殖系列配列が、DNNからGDTへの置換を含むCDR2を含む、本発明1130のライブラリー。

[本発明1133]
VL1-51生殖系列配列が、DNNKRP(SEQ ID NO: 471)からGDTSRA(SEQ ID NO: 472)への置換を含むCDR2を含む、本発明1130のライブラリー。

[本発明1134]
VL1-51生殖系列配列が、Kabatの番号付与に基づくS2A置換、T5N置換、P8S置換、A12G置換、A13S置換、およびP14L置換を含む、本発明1130のライブラリー。
[本発明1135]
VL1-51生殖系列配列が、Kabatの番号付与に基づくS2A置換、T5N置換、P8S置換、A12G置換、A13S置換、およびP14L置換と、DNNからGDTへの置換を含むCDR2とを含む、本発明1130のライブラリー。
[本発明1136]
ヒト化抗体またはその結合断片が、(a)SEQ ID NO: 740、SEQ ID NO: 741、SEQ ID NO: 742、およびSEQ ID NO: 743からなる群より選択される配列を含む重鎖可変領域;ならびに(b)SEQ ID NO: 750を含む軽鎖可変領域を含む、本発明1076のライブラリー。
[本発明1137]
ヒト化抗体またはその結合断片が、空間的にアドレス指定された（spatially addressed）形式で存在する、本発明1076～1136のいずれかのライブラリー。
[本発明1138]
極めて長いCDR3をコードする核酸配列を、
(i)SEQ ID NO: 734またはSEQ ID NO: 735、
(ii)SEQ ID NO: 736またはSEQ ID NO: 737、
(iii)SEQ ID NO: 738またはSEQ ID NO: 739、
(iv)SEQ ID NO: 740またはSEQ ID NO: 741、
(v)SEQ ID NO: 742またはSEQ ID NO: 743、
(vi)SEQ ID NO: 744またはSEQ ID NO: 745、
(vii)SEQ ID NO: 746またはSEQ ID NO: 747、および
(viii)SEQ ID NO: 748またはSEQ ID NO: 749
からなる群より選択される可変領域配列をコードする核酸配列と遺伝子的に組み合わせる段階
を含む、抗体可変領域をヒト化する方法。
[本発明1139]
a)極めて長いCDR3をコードする核酸配列を、
(i)SEQ ID NO: 734またはSEQ ID NO: 735、
(ii)SEQ ID NO: 736またはSEQ ID NO: 737、
(iii)SEQ ID NO: 738またはSEQ ID NO: 739、
(iv)SEQ ID NO: 740またはSEQ ID NO: 741、
(v)SEQ ID NO: 742またはSEQ ID NO: 743、
(vi)SEQ ID NO: 744またはSEQ ID NO: 745、
(vii)SEQ ID NO: 746またはSEQ ID NO: 747、および
(viii)SEQ ID NO: 748またはSEQ ID NO: 749
からなる群より選択される可変領域配列をコードする核酸配列と組み合わせて、
極めて長いCDR3を含むヒト化抗体をコードする核酸を作製する段階;ならびに
b)極めて長いCDR3を含むヒト化抗体をコードする核酸を発現させて、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体のライブラリーを生成する段階
を含む、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体のライブラリーを生成する方法。
[本発明1140]
a)極めて長いCDR3をコードする核酸配列と、
(i)SEQ ID NO: 734またはSEQ ID NO: 735、
(ii)SEQ ID NO: 736またはSEQ ID NO: 737、
(iii)SEQ ID NO: 738またはSEQ ID NO: 739、
(iv)SEQ ID NO: 740またはSEQ ID NO: 741、
(v)SEQ ID NO: 742またはSEQ ID NO: 743、
(vi)SEQ ID NO: 744またはSEQ ID NO: 745、

(vii)SEQ ID NO: 746またはSEQ ID NO: 747、および
(viii)SEQ ID NO: 748またはSEQ ID NO: 749
からなる群より選択される可変領域配列をコードする核酸と、
非抗体配列をコードする核酸配列とを組み合わせて、極めて長いCDR3および非抗体配列を含むヒト化抗体またはその結合断片をコードする核酸を作製する段階;ならびに
b)極めて長いCDR3および非抗体配列を含むヒト化抗体またはその結合断片をコードする核酸を発現させて、極めて長いCDR3および非抗体配列を含むヒト化抗体またはその結合断片のライブラリーを生成する段階
を含む、非抗体配列を含む極めて長いCDR3を含むヒト化抗体またはその結合断片のライブラリーを生成する方法。

[本発明1141]
非抗体配列を含む極めて長いCDR3を含むヒト化抗体またはその結合断片のライブラリー。

[本発明1142]
a)ヒト可変領域フレームワーク(FR)配列と極めて長いCDR3およびシステインモチーフをコードする核酸配列とを組み合わせる段階;
b)システインモチーフ中の1つまたは複数のシステイン残基の間に位置する1つまたは複数のアミノ酸残基をコードする核酸配列に1つまたは複数のヌクレオチド変化を導入して、異なるアミノ酸残基をコードするヌクレオチドから、極めて長いCDR3と1つまたは複数のヌクレオチド変化がシステインドメイン中の1つまたは複数のシステイン残基の間に導入されたシステインモチーフとを含むヒト化抗体またはその結合断片をコードする核酸を作製する段階;ならびに
c)極めて長いCDR3と1つまたは複数のヌクレオチド変化がシステインドメイン中の1つまたは複数のシステイン残基の間に導入されたシステインモチーフとを含むヒト化抗体またはその結合断片をコードする核酸を発現させて、極めて長いCDR3と1つまたは複数のアミノ酸変化がシステインドメイン中の1つまたは複数のシステイン残基の間に導入されたシステインモチーフとを含むヒト化抗体またはその結合断片のライブラリーを生成する段階
を含む、システインモチーフを含む極めて長いCDR3を含むヒト化抗体またはその結合断片のライブラリーを生成する方法。

[本発明1143]
システインモチーフを含む極めて長いCDR3を含むヒト化抗体またはその結合断片のライブラリーであって、抗体または結合断片が、システインモチーフ中のシステイン残基の間に位置するアミノ酸残基の1つまたは複数の置換を含む、ヒト化抗体またはその結合断片のライブラリー。

[本発明1144]
a)ヒト可変領域フレームワーク(FR)配列をコードする核酸配列とウシ由来の極めて長いCDR3をコードする核酸とを組み合わせる段階、ならびに
b)ヒト可変領域フレームワーク(FR)配列をコードする核酸およびウシ由来の極めて長いCDR3をコードする核酸を発現させて、ウシ由来の極めて長いCDR3を含むヒト化抗体またはその結合断片のライブラリーを生成する段階
を含む、ウシ由来の極めて長いCDR3を含むヒト化抗体またはその結合断片のライブラリーを生成する方法。

[本発明1145]
(a)(i)SEQ ID NO: 734またはSEQ ID NO: 735、
(ii)SEQ ID NO: 736またはSEQ ID NO: 737、
(iii)SEQ ID NO: 738またはSEQ ID NO: 739、
(iv)SEQ ID NO: 740またはSEQ ID NO: 741、
(v)SEQ ID NO: 742またはSEQ ID NO: 743、
(vi)SEQ ID NO: 744またはSEQ ID NO: 745、
(vii)SEQ ID NO: 746またはSEQ ID NO: 747、および

(viii)SEQ ID NO: 748またはSEQ ID NO: 749
からなる群より選択されるアミノ酸配列;ならびに
(b)ウシ由来の極めて長いCDR3
を含む重鎖可変領域を含むヒト化抗体またはその結合断片のライブラリー。
[本発明1146]
式V1-X-V2の配列を含む抗体重鎖可変領域であって、
式中、V1は、
(i) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHS
GSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 735),
(ii) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSDKYWSWIRQPPGKGLEWIGEINH
SGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 737),
(iii) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGSINH
SGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 739),
(iv) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSDKYWSWIRQPPGKGLEWIGSINH
SGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 741),
(v) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCTASGFSLSDKAVGWIRQPPGKGLEWIGEINHS
GSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 743),
(vi) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGLGSIDTGGNTGSFSGYYWSWIRQPPG
KGLEWYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 745),
(vii) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCTASGFSLSDKAVGWIRQPPGKGLEWIGSINH
SGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 747),
および
(viii) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCTASGFSLSDKAVGWIRQPPGKGLEWLGSIDT
GGNTGYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 749)
からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み;
Xは、極めて長いCDR3を含み;かつ
V2は、
(i) WGHGTAVTVSS (SEQ ID NO: 570),
(ii) WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 571),
(iii) WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 572),
(iv) WGRGTLVTVSS (SEQ ID NO: 573),
(v) WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 574), および
(vi) WGQGLLVTVSS (SEQ ID NO: 500)
からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、
抗体重鎖可変領域。
[本発明1147]
極めて長いCDR3が、

(i) GSKHRLRDYFLYNE (SEQ ID NO: 501), GSKHRLRDYFLYN (SEQ ID NO: 502), GSKHRLRDYFLY (SEQ ID NO: 503), GSKHRLRDYFL (SEQ ID NO: 504), GSKHRLRDYF (SEQ ID NO: 505), GSKHRLRDY (SEQ ID NO: 506), またはGSKHRLRD (SEQ ID NO: 507) のいずれか1つ;

(ii) EAGGPDYRNGYNY (SEQ ID NO: 508), EAGGPDYRNGYN (SEQ ID NO: 509), EAGGPDYRNGY (SEQ ID NO: 510), EAGGPDYRNG (SEQ ID NO: 511), EAGGPDYRN (SEQ ID NO: 512), EAGGPDYR (SEQ ID NO: 513), EAGGPDY (SEQ ID NO: 514), または EAGGPD (SEQ ID NO: 515) のいずれか1つ;

(iii) EAGGPIWHDDVKY (SEQ ID NO: 516), EAGGPIWHDDVK (SEQ ID NO: 517), EAGGPIWHDDV (SEQ ID NO: 518), EAGGPIWHDD (SEQ ID NO: 519), EAGGPIWHD (SEQ ID NO: 520), EAGGPIWH (SEQ ID NO: 521), EAGGPIW (SEQ ID NO: 522), または EAGGPI (SEQ ID NO: 523) のいずれか1つ;

(iv) GTDYTIDDQGI (SEQ ID NO: 524), GTDYTIDDQG (SEQ ID NO: 525), GTDYTIDDQ (SEQ ID NO: 526), GTDYTIDD (SEQ ID NO: 527), GTDYTID (SEQ ID NO: 528), または GTDYTI (SEQ ID NO: 529) のいずれか1つ;

(v) DKGDSDYDYNL (SEQ ID NO: 530), DKGDSDYDYN (SEQ ID NO: 531), DKGDSDYDY (SEQ ID NO: 532), DKGDSDYD (SEQ ID NO: 533), DKGDSDY (SEQ ID NO: 534), DKGDSD (SEQ ID NO: 535) のいずれか1つ;あるいは

(vi) TSVHQETKKYQS (SEQ ID NO: 498)

のアミノ酸配列を含む、本発明1146の抗体重鎖可変領域。

[本発明1148]

極めて長いCDR3が、

(i) YGPNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 536), GPNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 537), PNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 538), NYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 539), YEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 540), または EEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 541) のいずれか1つ;

(ii) YDFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 542), DFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 543), FYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 544), YDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 545), DGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 546), GYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 547), または YYNYHYMDV (SEQ ID NO: 548) のいずれか1つ;

(iii) YDFNDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 549), DFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 550), FYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 551), YDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 552), DGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 553), または GYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 554) のいずれか1つ;

(iv) QGIRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 555), GIRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 556), IRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 557), RYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 558), YQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 559), QGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 560), GSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 561), SGTFWYFDV (SEQ ID NO: 562), または GTFWYFDV (SEQ ID NO: 563) のいずれか1つ;

(v) YNLGYSYFYYMDG(SEQ ID NO: 564), NLGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 565), LGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 566), GYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 567), YSYFYYMDG (SEQ ID NO: 568), または SYFYYMDG (SEQ ID NO: 569) のいずれか1つ;あるいは

(vi) SYTYNYEWHVDV (SEQ ID NO: 499)

のアミノ酸配列を含む、本発明1146の抗体重鎖可変領域。

[本発明1149]

極めて長いCDR3が、

(i) GSKHRLRDYFLYNE (SEQ ID NO: 501), GSKHRLRDYFLYN (SEQ ID NO: 502), GSKHRLRDYFLY (SEQ ID NO: 503), GSKHRLRDYFL (SEQ ID NO:

504), GSKHRLRDYF (SEQ ID NO: 505), GSKHRLRDY (SEQ ID NO: 506), または GSKHRLRD (SEQ ID NO: 507) のいずれか1つ、および YGPNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 536), GPNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 537), PNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 538), NYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 539), YEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 540), または EEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 541) のいずれか1つ;

(ii) EAGGPDYRNGYNY (SEQ ID NO: 508), EAGGPDYRNGYN (SEQ ID NO: 509), EAGGPDYRNGY (SEQ ID NO: 510), EAGGPDYRNG (SEQ ID NO: 511), EAGGPDYRN (SEQ ID NO: 512), EAGGPDYR (SEQ ID NO: 513), EAGGPDY (SEQ ID NO: 514), または EAGGPD (SEQ ID NO: 515) のいずれか1つ、および YDFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 542), DFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 543), FYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 544), YDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 545), DGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 546), GYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 547), または YYNYHYMDV (SEQ ID NO: 548) のいずれか1つ;

(iii) EAGGPIWHDDVKY (SEQ ID NO: 516), EAGGPIWHDDVK (SEQ ID NO: 517), EAGGPIWHDDV (SEQ ID NO: 518), EAGGPIWHDD (SEQ ID NO: 519), EAGGPIWHD (SEQ ID NO: 520), EAGGPIWH (SEQ ID NO: 521), EAGGPIW (SEQ ID NO: 522), または EAGGPI (SEQ ID NO: 523) のいずれか1つ、および YDFNDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 549), DFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 550), FYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 551), YDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 552), DGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 553), または GYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 554) のいずれか1つ;

(iv) GTDYTIDDQGI (SEQ ID NO: 524), GTDYTIDDQG (SEQ ID NO: 525), GTDYTIDDQ (SEQ ID NO: 526), GTDYTIDD (SEQ ID NO: 527), GTDYTID (SEQ ID NO: 528), または GTDYTI (SEQ ID NO: 529) のいずれか1つ、および QGIRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 555), GIRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 556), IRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 557), RYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 558), YQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 559), QGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 560), GSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 561), SGTFWYFDV (SEQ ID NO: 562), または GTFWYFDV (SEQ ID NO: 563) のいずれか1つ;

(v) YNLGYSYFYYMDG(SEQ ID NO: 564), NLGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 565), LGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 566), GYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 567), YSYFYYMDG (SEQ ID NO: 568), または SYFYYMDG (SEQ ID NO: 569) のいずれか1つ、および of YNLGYSYFYYMDG(SEQ ID NO: 564), NLGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 565), LGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 566), GYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 567), YSYFYYMDG (SEQ ID NO: 568), または SYFYYMDG (SEQ ID NO: 569) のいずれか1つ;あるいは

(vi) TSVHQETKKYQS (SEQ ID NO: 498) および SYTYNYEWHVDV (SEQ ID NO: 499)

のアミノ酸配列を含む、本発明1146の抗体重鎖可変領域。

[本発明1150]

-V1が、SEQ ID NO: 735、SEQ ID NO: 737、SEQ ID NO: 739、SEQ ID NO: 741、SEQ ID NO: 743、SEQ ID NO: 745、SEQ ID NO: 747、およびSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、
-極めて長いCDR3が、
GSKHRLRDYFLYNE (SEQ ID NO: 501), GSKHRLRDYFLYN (SEQ ID NO: 502), GSKHRLRDYFLY (SEQ ID NO: 503), GSKHRLRDYFL (SEQ ID NO: 504), GSKHRLRDYF (SEQ ID NO: 505), GSKHRLRDY (SEQ ID NO: 506), または GSKHRLRD (SEQ ID NO: 507)
のいずれか1つのアミノ酸配列、および
YGPNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 536), GPNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 537), PNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 538), NYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 539), YEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 540), または EEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 541)
のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、
-V2が、
WGQGLLVTVSS (SEQ ID NO: 500)
より選択されるアミノ酸配列を含む、
本発明1146の抗体重鎖可変領域。

[本発明1151]
-V1が、SEQ ID NO: 735、SEQ ID NO: 737、SEQ ID NO: 739、SEQ ID NO: 741、SEQ ID NO: 743、SEQ ID NO: 745、SEQ ID NO: 747、およびSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、
-極めて長いCDR3が、
EAGGPDYRNGYNY (SEQ ID NO: 508), EAGGPDYRNGYN (SEQ ID NO: 509), EAGGPDYRNGY (SEQ ID NO: 510), EAGGPDYRNG (SEQ ID NO: 511), EAGGPDYRN (SEQ ID NO: 512), EAGGPDYR (SEQ ID NO: 513), EAGGPDY (SEQ ID NO: 514), または EAGGPD (SEQ ID NO: 515)
のいずれか1つのアミノ酸配列、および
YDFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 542), DFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 543), FYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 544), YDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 545), DGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 546), GYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 547), または YYNYHYMDV (SEQ ID NO: 548)
のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、
-V2が、
WGQGLLVTVSS (SEQ ID NO: 500)
より選択されるアミノ酸配列を含む、
本発明1146の抗体重鎖可変領域。

[本発明1152]
-V1が、SEQ ID NO: 735、SEQ ID NO: 737、SEQ ID NO: 739、SEQ ID NO: 741、SEQ ID NO: 743、SEQ ID NO: 745、SEQ ID NO: 747、およびSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、
-極めて長いCDR3が、

EAGGPIWHDDVKY (SEQ ID NO: 516), EAGGPIWHDDVK (SEQ ID NO: 517), EAGGPIWHDDV (SEQ ID NO: 518), EAGGPIWHDD (SEQ ID NO: 519), EAGGPIWHD (SEQ ID NO: 520), EAGGPIWH (SEQ ID NO: 521), EAGGPIW (SEQ ID NO: 522), またはEAGGPI (SEQ ID NO: 523)
のいずれか1つのアミノ酸配列、および
YDFNDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 549), DFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 550), FYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 551), YDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 552), DGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 553), またはGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 554)
のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、
-V2が、
WGQGLLVTVSS (SEQ ID NO: 500)
より選択されるアミノ酸配列を含む、
本発明1146の抗体重鎖可変領域。
[本発明1153]
-V1が、SEQ ID NO: 735、SEQ ID NO: 737、SEQ ID NO: 739、SEQ ID NO: 741、SEQ ID NO: 743、SEQ ID NO: 745、SEQ ID NO: 747、およびSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、
-極めて長いCDR3が、
GTDYTIDDQGI (SEQ ID NO: 524), GTDYTIDDQG (SEQ ID NO: 525), GTDYTIDDQ (SEQ ID NO: 526), GTDYTIDD (SEQ ID NO: 527), GTDYTID (SEQ ID NO: 528), またはGTDYTI (SEQ ID NO: 529)
のいずれか1つのアミノ酸配列、および
QGIRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 555), GIRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 556), IRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 557), RYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 558), YQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 559), QGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 560), GSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 561), SGTFWYFDV (SEQ ID NO: 562), またはGTFWYFDV (SEQ ID NO: 563)
のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、
-V2が、
WGQGLLVTVSS (SEQ ID NO: 500)
より選択されるアミノ酸配列を含む、
本発明1146の抗体重鎖可変領域。
[本発明1154]
-V1が、SEQ ID NO: 735、SEQ ID NO: 737、SEQ ID NO: 739、SEQ ID NO: 741、SEQ ID NO: 743、SEQ ID NO: 745、SEQ ID NO: 747、およびSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、
-極めて長いCDR3が、
YNLGYSYFYYMDG(SEQ ID NO: 564), NLGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 565), LGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 566), GYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 567), YSYFYYMDG (SEQ ID NO: 568), またはSYFYYMDG (SEQ ID NO: 569)
のいずれか1つ、および

YNLGYSYFYYMDG(SEQ ID NO: 564), NLGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 565),
LGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 566), GYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 567),
YSYFYYMDG (SEQ ID NO: 568), またはSYFYYMDG (SEQ ID NO: 569)
のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、
-V2が、
WGQGLLVTVSS (SEQ ID NO: 500)
より選択されるアミノ酸配列を含む、
本発明1146の抗体重鎖可変領域。
[本発明1155]
極めて長いCDR3が、35アミノ酸長もしくはそれ以上、40アミノ酸長もしくはそれ以上、45アミノ酸長もしくはそれ以上、50アミノ酸長もしくはそれ以上、55アミノ酸長もしくはそれ以上、または60アミノ酸長もしくはそれ以上である、本発明1146～1154のいずれかの抗体重鎖可変領域。
[本発明1156]
極めて長いCDR3が、35アミノ酸長またはそれ以上である、本発明1155の抗体重鎖可変領域。
[本発明1157]
極めて長いCDR3が、システインモチーフを含む、本発明1146～1156のいずれかの抗体重鎖可変領域。
[本発明1158]
-V1が、SEQ ID NO: 735、SEQ ID NO: 737、SEQ ID NO: 739、SEQ ID NO: 741、SEQ ID NO: 743、SEQ ID NO: 745、SEQ ID NO: 747、およびSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、
-極めて長いCDR3が、
GSKHRLRDYFLYNE (SEQ ID NO: 501), GSKHRLRDYFLYN (SEQ ID NO: 502),
GSKHRLRDYFLY (SEQ ID NO: 503), GSKHRLRDYFL (SEQ ID NO: 504),
GSKHRLRDYF (SEQ ID NO: 505), GSKHRLRDY (SEQ ID NO: 506), または
GSKHRLRD (SEQ ID NO: 507)
のいずれか1つのアミノ酸配列、システインモチーフ、および
YGPNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 536), GPNYEEWGDYLATLDV
(SEQ ID NO: 537), PNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 538),
NYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 539), YEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 540),
またはEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 541)
のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、かつ
-V2が、
WGQGLLVTVSS (SEQ ID NO: 500)
のアミノ酸配列を含む、
本発明1146の抗体重鎖可変領域。
[本発明1159]
-V1が、SEQ ID NO: 735、SEQ ID NO: 737、SEQ ID NO: 739、SEQ ID NO: 741、SEQ ID NO: 743、SEQ ID NO: 745、SEQ ID NO: 747、およびSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、
-極めて長いCDR3が、

EAGGPDYRNGYNY (SEQ ID NO: 508), EAGGPDYRNGYN (SEQ ID NO: 509), EAGGPDYRNGY (SEQ ID NO: 510), EAGGPDYRNG (SEQ ID NO: 511), EAGGPDYRN (SEQ ID NO: 512), EAGGPDYR (SEQ ID NO: 513), EAGGPDY (SEQ ID NO: 514), またはEAGGPD (SEQ ID NO: 515)
のいずれか1つのアミノ酸配列、システインモチーフ、および
YDFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 542),
DFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 543), FYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 544),
YDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 545), DGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 546),
GYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 547), またはYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 548)
のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、
-V2が、
WGQGLLVTVSS (SEQ ID NO: 500)
より選択されるアミノ酸配列を含む、
本発明1146の抗体重鎖可変領域。
[本発明1160]
-V1が、SEQ ID NO: 735、SEQ ID NO: 737、SEQ ID NO: 739、SEQ ID NO: 741、SEQ ID NO: 743、SEQ ID NO: 745、SEQ ID NO: 747、およびSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、
-極めて長いCDR3が、
EAGGPIWHDDVKY (SEQ ID NO: 516), EAGGPIWHDDVK (SEQ ID NO: 517),
EAGGPIWHDDV (SEQ ID NO: 518), EAGGPIWHDD (SEQ ID NO: 519),
EAGGPIWHD (SEQ ID NO: 520), EAGGPIWH (SEQ ID NO: 521), EAGGPIW (SEQ ID NO: 522), またはEAGGPI (SEQ ID NO: 523)
のいずれか1つのアミノ酸配列、システインモチーフ、および
YDFNDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 549),
DFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 550), FYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 551),
YDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 552), DGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 553), または
GYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 554)
のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、
-V2が、
WGQGLLVTVSS (SEQ ID NO: 500)
より選択されるアミノ酸配列を含む、
本発明1146の抗体重鎖可変領域。
[本発明1161]
-V1が、SEQ ID NO: 735、SEQ ID NO: 737、SEQ ID NO: 739、SEQ ID NO: 741、SEQ ID NO: 743、SEQ ID NO: 745、SEQ ID NO: 747、およびSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、
-極めて長いCDR3が、
GTDYTIDDQGI (SEQ ID NO: 524), GTDYTIDDQG (SEQ ID NO: 525),
GTDYTIDDQ (SEQ ID NO: 526), GTDYTIDD (SEQ ID NO: 527), GTDYTID (SEQ ID NO: 528), またはGTDYTI (SEQ ID NO: 529)
のいずれか1つのアミノ酸配列、システインモチーフ、および

QGIRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 555),
GIRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 556), IRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 557), RYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 558), YQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 559), QGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 560), GSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 561), SGTFWYFDV (SEQ ID NO: 562), または GTFWYFDV (SEQ ID NO: 563)

のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、
-V2が、
WGQGLLVTVSS (SEQ ID NO: 500)
より選択されるアミノ酸配列を含む、
本発明1146の抗体重鎖可変領域。
[本発明1162]
-V1が、SEQ ID NO: 735、SEQ ID NO: 737、SEQ ID NO: 739、SEQ ID NO: 741、SEQ ID NO: 743、SEQ ID NO: 745、SEQ ID NO: 747、およびSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、
-極めて長いCDR3が、
YNLGYSYFYYMDG(SEQ ID NO: 564), NLGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 565), LGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 566), GYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 567), YSYFYYMDG (SEQ ID NO: 568), または SYFYYMDG (SEQ ID NO: 569)

のいずれか1つのアミノ酸配列、システインモチーフ、および
YNLGYSYFYYMDG(SEQ ID NO: 564), NLGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 565), LGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 566), GYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 567), YSYFYYMDG (SEQ ID NO: 568), または SYFYYMDG (SEQ ID NO: 569)
のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、
-V2が、
WGQGLLVTVSS (SEQ ID NO: 500)
より選択されるアミノ酸配列を含む、
本発明1146の抗体重鎖可変領域。
[本発明1163]
-VIが、SEQ ID NO: 735、SEQ ID NO: 737、SEQ ID NO: 739、SEQ ID NO: 741、SEQ ID NO: 743、SEQ ID NO: 745、SEQ ID NO: 747、およびSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、
-極めて長いCDR3が、SEQ ID NO: 498であるアミノ酸配列およびSEQ ID NO: 499であるアミノ酸配列を含み、
-V2が、SEQ ID NO: 500であるアミノ酸配列を含む、
本発明1146の抗体重鎖可変領域。
[本発明1164]
システインモチーフが、

$CX_{10}CX_5CX_5CXCX_7C$ (SEQ
ID NO: 41), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{15}C$ (SEQ ID NO: 42), $CX_{11}CXCX_5C$ (SEQ ID NO:
43), $CX_{11}CX_5CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 44), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{13}C$ (SEQ ID NO:
45), $CX_{10}CX_5CXCX_4CX_8C$ (SEQ ID NO: 46), $CX_{10}CX_6CX_6CXCX_7C$ (SEQ ID NO:
47), $CX_{10}CX_4CX_7CXCX_8C$ (SEQ ID NO: 48), $CX_{10}CX_4CX_7CXCX_7C$ (SEQ ID NO:
49), $CX_{13}CX_8CX_8C$ (SEQ ID NO: 50), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 51),
$CX_{10}CX_5CX_5C$ (SEQ ID NO: 52), $CX_{10}CX_5CX_6CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 53),
$CX_{10}CX_6CX_5CX_7CX_9C$ (SEQ ID NO: 54), $CX_9CX_7CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 55),
$CX_{10}CX_6CX_5CXCX_9C$ (SEQ ID NO: 56), $CX_{10}CXCX_4CX_5CX_{11}C$ (SEQ ID NO: 57),
$CX_7CX_3CX_6CX_5CXCX_5CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 58), $CX_{10}CXCX_4CX_5CXCX_2CX_3C$ (SEQ
ID NO: 59), $CX_{16}CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 60), $CX_6CX_4CXCX_4CX_5C$ (SEQ ID NO: 61),
$CX_{11}CX_4CX_5CX_6CX_3C$ (SEQ ID NO: 62), $CX_8CX_2CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 63),
$CX_{10}CX_5CX_5CXCX_{10}C$ (SEQ ID NO: 64), $CX_{10}CXCX_6CX_4CXC$ (SEQ ID NO: 65),
$CX_{10}CX_5CX_5CXCX_2C$ (SEQ ID NO: 66), $CX_{14}CX_2CX_3CXCXC$ (SEQ ID NO: 67),
$CX_{15}CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 68), $CX_4CX_6CX_9CX_2CX_{11}C$ (SEQ ID NO: 69),
$CX_6CX_4CX_5CX_5CX_{12}C$ (SEQ ID NO: 70), $CX_7CX_3CXCXCX_4CX_5CX_9C$ (SEQ ID NO:
71), $CX_{10}CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 72), $CX_7CX_3CX_5CX_5CX_9C$ (SEQ ID NO: 73),
$CX_7CX_5CXCX_2C$ (SEQ ID NO: 74), $CX_{10}CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 75),
$CX_{10}CX_3CX_3CX_5CX_7CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 76), $CX_{10}CX_4CX_5CX_{12}CX_2C$ (SEQ ID
NO: 77), $CX_{12}CX_4CX_5CXCXCX_9CX_3C$ (SEQ ID NO: 78), $CX_{12}CX_4CX_5CX_{12}CX_2C$
(SEQ ID NO: 79), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{11}C$ (SEQ ID NO: 80), $CX_{16}CX_5CXCXCX_{14}C$
(SEQ ID NO: 81), $CX_{10}CX_5CXCX_8CX_6C$ (SEQ ID NO: 82), $CX_{12}CX_4CX_5CX_8CX_2C$
(SEQ ID NO: 83), $CX_{12}CX_5CX_5CXCX_8C$ (SEQ ID NO: 84),
$CX_{10}CX_6CX_5CXCX_4CXCX_9C$ (SEQ ID NO: 85), $CX_{11}CX_4CX_5CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO:
86), $CX_{10}CX_6CX_5CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 87), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_8C$ (SEQ ID NO:
88), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_3CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 89), $CX_{10}CX_6CX_5CX_3CX_8C$ (SEQ ID
NO: 90), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_2CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 91), $CX_7CX_6CX_3CX_3CX_9C$
(SEQ ID NO: 92), $CX_9CX_8CX_5CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 93),
$CX_{10}CX_2CX_2CX_7CXCX_{11}CX_5C$ (SEQ ID NO: 94), および $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_2CX_8CX_4C$
(SEQ ID NO: 95)
からなる群より選択される、本発明1157～1163のいずれかの抗体重鎖可変領域。

[本発明1165]

システインモチーフが、

$CCX_3CXCX_3CX_2CCXCX_5CX_9CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 96),
$CX_6CX_2CX_5CX_4CCXCX_4CX_6CXC$ (SEQ ID NO: 97), $CX_7CXCX_5CX_4CCCX_4CX_6CXC$ (SEQ ID NO: 98), $CX_9CX_3CXCX_2CXCCCX_6CX_4C$ (SEQ ID NO: 99), $CX_5CX_3CXCX_4CX_4CCX_{10}CX_2CC$ (SEQ ID NO: 100), $CX_5CXCX_1CXCX_3CCX_3CX_4CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 101), $CX_9CCCX_3CX_4CCCX_5CX_6C$ (SEQ ID NO: 102), $CCX_8CX_5CX_4CX_3CX_4CCXCX_1C$ (SEQ ID NO: 103), $CCX_6CCX_5CCCX_4CX_4CX_{12}C$ (SEQ ID NO: 104), $CX_6CX_2CX_3CCCX_4CX_5CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 105), $CX_3CX_5CX_6CX_4CCXCX_5CX_4CXC$ (SEQ ID NO: 106), $CX_4CX_4CCX_4CX_4CXCX_{11}CX_2CXC$ (SEQ ID NO: 107), $CX_5CX_2CCX_5CX_4CCX_3CCX_7C$ (SEQ ID NO: 108), $CX_5CX_5CX_3CX_2CXCCX_4CX_7CXC$ (SEQ ID NO: 109), $CX_3CX_7CX_3CX_4CCXCX_2CX_5CX_2C$ (SEQ ID NO: 110), $CX_9CX_3CXCX_4CCX_5CCCX_6C$ (SEQ ID NO: 111), $CX_9CX_3CXCX_2CXCCX_6CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 112), $CX_8CCXCX_3CCX_3CXCX_3CX_4C$ (SEQ ID NO: 113), $CX_9CCX_4CX_2CXCCXCX_4CX_3C$ (SEQ ID NO: 114), $CX_{10}CXCX_3CX_2CXCCX_4CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 115), $CX_9CXCX_3CX_2CXCCX_4CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 116), $CX_6CCXCX_5CX_4CCXCX_5CX_2C$ (SEQ ID NO: 117), $CX_6CCXCX_3CXCCX_3CX_4CC$ (SEQ ID NO: 118), $CX_6CCXCX_3CXCX_2CXCX_4CX_8C$ (SEQ ID NO: 119), $CX_4CX_2CCX_3CXCX_4CCX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 120), $CX_3CX_5CX_3CCCX_4CX_9C$ (SEQ ID NO: 121), $CCX_9CX_3CXCCX_3CX_5C$ (SEQ ID NO: 122), $CX_9CX_2CX_3CX_4CCX_4CX_5C$ (SEQ ID NO: 123), $CX_9CX_7CX_4CCXCX_7CX_3C$ (SEQ ID NO: 124), $CX_9CX_3CCCX_{10}CX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 125), $CX_3CX_5CX_5CX_4CCX_{10}CX_6C$ (SEQ ID NO: 126), $CX_9CX_5CX_4CCXCX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 127), $CX_7CXCX_6CX_4CCCX_{10}C$ (SEQ ID NO: 128), $CX_8CX_2CX_4CCX_4CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 129), $CX_7CX_5CXCX_4CCX_7CX_4C$ (SEQ ID NO: 130), $CX_{11}CX_3CX_4CCCX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 131), $CX_2CX_3CX_4CCX_4CX_5CX_{15}C$ (SEQ ID NO: 132), $CX_9CX_5CX_4CCX_7C$ (SEQ ID NO: 133), $CX_9CX_7CX_3CX_2CX_6C$ (SEQ ID NO: 134), $CX_9CX_5CX_4CCX_{14}C$ (SEQ ID NO: 135), $CX_9CX_5CX_4CCX_8C$ (SEQ ID NO: 136), $CX_9CX_6CX_4CCXC$ (SEQ ID NO: 137), $CX_5CCX_7CX_4CX_{12}$ (SEQ ID NO: 138), $CX_{10}CX_3CX_4CCX_4C$ (SEQ ID NO: 139), $CX_9CX_4CCX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 140), $CX_{10}CX_3CX_4CX_7CXC$ (SEQ ID NO: 141), $CX_7CX_7CX_2CX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 142), $CX_9CX_4CX_4CCX_6C$ (SEQ ID NO: 143), $CX_7CXCX_3CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 144), $CX_7CXCX_4CXCX_4C$ (SEQ ID NO: 145), $CX_9CX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 146), $CX_3CX_6CX_8C$ (SEQ ID NO: 147), $CX_{10}CXCX_4C$ (SEQ ID NO: 148), $CX_{10}CCX_4C$ (SEQ ID NO: 149), $CX_{15}C$ (SEQ ID NO: 150), $CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 151), および CX_9C (SEQ ID NO: 152)
からなる群より選択される、本発明1157～1163のいずれかの抗体重鎖可変領域。

[本発明1166]

極めて長いCDR3が、2～6個のジスルフィド結合を含む、本発明1146～1165のいずれかの

抗体重鎖可変領域。
[本発明1167]
極めて長いCDR3が非抗体配列を含む、本発明1146～1165のいずれかの抗体重鎖可変領域。
[本発明1168]
-V1が、SEQ ID NO: 735、SEQ ID NO: 737、SEQ ID NO: 739、SEQ ID NO: 741、SEQ ID NO: 743、SEQ ID NO: 745、SEQ ID NO: 747、およびSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、
-極めて長いCDR3が、
GSKHRLRDYFLYNE (SEQ ID NO: 501), GSKHRLRDYFLYN (SEQ ID NO: 502), GSKHRLRDYFLY (SEQ ID NO: 503), GSKHRLRDYFL (SEQ ID NO: 504), GSKHRLRDYF (SEQ ID NO: 505), GSKHRLRDY (SEQ ID NO: 506), または GSKHRLRD (SEQ ID NO: 507)
のいずれか1つのアミノ酸配列、非抗体配列、および
YGPNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 536), GPNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 537), PNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 538), NYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 539), YEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 540), または EEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 541)
のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、かつ
-V2が、
WGQGLLVTVSS (SEQ ID NO: 500)
のアミノ酸配列を含む、
本発明1146の抗体重鎖可変領域。
[本発明1169]
-V1が、SEQ ID NO: 735、SEQ ID NO: 737、SEQ ID NO: 739、SEQ ID NO: 741、SEQ ID NO: 743、SEQ ID NO: 745、SEQ ID NO: 747、およびSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、
-極めて長いCDR3が、
EAGGPDYRNGYNY (SEQ ID NO: 508), EAGGPDYRNGYN (SEQ ID NO: 509), EAGGPDYRNGY (SEQ ID NO: 510), EAGGPDYRNG (SEQ ID NO: 511), EAGGPDYRN (SEQ ID NO: 512), EAGGPDYR (SEQ ID NO: 513), EAGGPDY (SEQ ID NO: 514), または EAGGPD (SEQ ID NO: 515)
のいずれか1つのアミノ酸配列、非抗体配列、および
YDFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 542), DFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 543), FYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 544), YDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 545), DGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 546), GYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 547), または YYNYHYMDV (SEQ ID NO: 548)
のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、
-V2が、
WGQGLLVTVSS (SEQ ID NO: 500)
より選択されるアミノ酸配列を含む、
本発明1146の抗体重鎖可変領域。
[本発明1170]
-V1が、SEQ ID NO: 735、SEQ ID NO: 737、SEQ ID NO: 739、SEQ ID NO: 741、SEQ ID NO: 743、SEQ ID NO: 745、SEQ ID NO: 747、およびSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、

-極めて長いCDR3が、
EAGGPIWHDDVKY (SEQ ID NO: 516), EAGGPIWHDDVK (SEQ ID NO: 517), EAGGPIWHDDV (SEQ ID NO: 518), EAGGPIWHDD (SEQ ID NO: 519), EAGGPIWHD (SEQ ID NO: 520), EAGGPIWH (SEQ ID NO: 521), EAGGPIW (SEQ ID NO: 522), またはEAGGPI (SEQ ID NO: 523)
のいずれか1つのアミノ酸配列、非抗体配列、および
YDFNDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 549), DFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 550), FYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 551), YDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 552), DGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 553), またはGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 554)
のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、
-V2が、
WGQGLLVTVSS (SEQ ID NO: 500)
より選択されるアミノ酸配列を含む、
本発明1146の抗体重鎖可変領域。
[本発明1171]
-V1が、SEQ ID NO: 735、SEQ ID NO: 737、SEQ ID NO: 739、SEQ ID NO: 741、SEQ ID NO: 743、SEQ ID NO: 745、SEQ ID NO: 747、およびSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、
-極めて長いCDR3が、
GTDYTIDDQGI (SEQ ID NO: 524), GTDYTIDDQG (SEQ ID NO: 525), GTDYTIDDQ (SEQ ID NO: 526), GTDYTIDD (SEQ ID NO: 527), GTDYTID (SEQ ID NO: 528), またはGTDYTI (SEQ ID NO: 529)
のいずれか1つのアミノ酸配列、非抗体配列、および
QGIRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 555), GIRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 556), IRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 557), RYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 558), YQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 559), QGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 560), GSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 561), SGTFWYFDV (SEQ ID NO: 562), またはGTFWYFDV (SEQ ID NO: 563)
のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、
-V2が、
WGQGLLVTVSS (SEQ ID NO: 500)
より選択されるアミノ酸配列を含む、
本発明1146の抗体重鎖可変領域。
[本発明1172]
-V1が、SEQ ID NO: 735、SEQ ID NO: 737、SEQ ID NO: 739、SEQ ID NO: 741、SEQ ID NO: 743、SEQ ID NO: 745、SEQ ID NO: 747、およびSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、
-極めて長いCDR3が、
YNLGYSYFYYMDG(SEQ ID NO: 564), NLGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 565), LGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 566), GYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 567), YSYFYYMDG (SEQ ID NO: 568), またはSYFYYMDG (SEQ ID NO: 569)
のいずれか1つのアミノ酸配列、非抗体配列、および

YNLGYSYFYYMDG(SEQ ID NO: 564), NLGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 565),
LGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 566), GYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 567),
YSYFYYMDG (SEQ ID NO: 568), またはSYFYYMDG (SEQ ID NO: 569)
のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、
-V2が、
WGQGLLVTVSS (SEQ ID NO: 500)
より選択されるアミノ酸配列を含む、
本発明1146の抗体重鎖可変領域。

[本発明1173]
-VIが、SEQ ID NO: 735、SEQ ID NO: 737、SEQ ID NO: 739、SEQ ID NO: 741、SEQ ID NO: 743、SEQ ID NO: 745、SEQ ID NO: 747、およびSEQ ID NO: 749からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、
-極めて長いCDR3が、SEQ ID NO: 498であるアミノ酸配列およびSEQ ID NO: 499であるアミノ酸配列を含み、
-V2が、SEQ ID NO: 500であるアミノ酸配列を含む、
本発明1146の抗体重鎖可変領域。

[本発明1174]
非抗体配列が合成配列である、本発明1167の抗体重鎖可変領域。

[本発明1175]
非抗体配列が、サイトカイン配列、リンフォカイン配列、ケモカイン配列、増殖因子配列、ホルモン配列、または毒素配列である、本発明1167の抗体重鎖可変領域。

[本発明1176]
非抗体配列が、IL-8配列、IL-21配列、SDF-1(α)配列、ソマトスタチン配列、クロロトキシン配列、Pro-TxII配列、ジコノチド配列、ADWX-1配列、HsTx1配列、OSK1配列、Pi2配列、ホンゴトキシン(HgTX)配列、マルガトキシン配列、アギトキシン-2配列、Pi3配列、カリオトキシン配列、アニュロクトキシン配列、カリブドトキシン配列、チチウストキシン-K-α配列、マウロトキシン配列、セラトトキシン1(CcoTx1)配列、CcoTx2配列、CcoTx3配列、フリクソトキシン3(PaurTx3)配列、ハナトキシン1配列、フリクソトキシン1配列、フエントキシン-IV配列、α-コノトキシンImI配列、α-コノトキシンEpI配列、α-コノトキシンPnIA配列、α-コノトキシンPnIB配列、α-コノトキシンMII配列、α-コノトキシンAuIA配列、α-コノトキシンAuIB配列、α-コノトキシンAuIC配列、コノトキシンκ-PVIIA配列、カリブドトキシン配列、ニューロトキシンB-IV配列、クロタミン配列、ω-GVIA(コノトキシン)配列、κ-ヘフトキシン1配列、Css4配列、Bj-xtrIT配列、BcIV配列、Hm-1配列、Hm-2配列、GsAF-I(β-テラホトキシン-Gr1b)配列、プロトキシンI(ProTx-I配列、β-テラホトキシン-Tp1a)配列、プロトキシンII(ProTx II)配列、フエントキシンI配列、μ-コノトキシンPIIIA配列、ジンザオトキシン-III(β-TRTX-Cj1α)配列、GsAF-II(κ-テラホトキシン-Gr2c)配列、ShK(スチコダクチラ毒素)配列、HsTx1配列、ガンギシトキシン1E(GxTx-1E)配列、マウロトキシン配列、カリブドトキシン(ChTX)配列、イベリオトキシン(IbTx)配列、レイウロトキシン1(シラトキシン)配列、タマピン配列、カリオトキシン-1(KTX)配列、ピューロトキシン1(PT-1)配列、もしくはGpTx-1配列、MOKA毒素配列、OSK1(P12、K16、D20)配列、OSK1(K16、D20)配列、HmK配列、ShK(K16、Y26、K29)配列、ShK(K16)配列、ShK-A(K16)配列、ShK(K16、E30)配列、ShK(Q21)配列、ShK(L21)配列、ShK(F21)配列、ShK(I21)配列、またはShK(A21)配列である、本発明1167の抗体重鎖可変領域。

[本発明1177]
非抗体配列が、SEQ ID NO: 475～481、599～655、666～698、727～733、808～810、および831～835のいずれか1つである、本発明1172の抗体重鎖可変領域。

[本発明1178]
SEQ ID NO: 770～779、784～791、903～922、および925～955からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、本発明1177の抗体重鎖可変領域。

[本発明1179]
SEQ ID NO: 941のアミノ酸配列を含む、本発明1167の抗体重鎖可変領域。
[本発明1180]
極めて長いCDR3がリンカー配列を含む、本発明1142～1172のいずれかの抗体重鎖可変領域。
[本発明1181]
リンカーが、非抗体配列のN末端、C末端、またはN末端およびC末端の両方に連結されている、本発明1180の抗体重鎖可変領域。
[本発明1182]
リンカーが、SEQ ID NO: 575～598、699～726、および813～830からなる群より選択される1つもしくは複数のアミノ酸配列またはそれらの任意の組み合わせを含む、本発明1180または1181の抗体重鎖可変領域。
[本発明1183]
N末端およびC末端の両方に連結されたリンカーが、同じまたは異なるアミノ酸配列を有する、本発明1181の抗体重鎖可変領域。
[本発明1184]
本発明1146～1183のいずれかの抗体重鎖可変領域を含む、抗体またはその結合断片。
[本発明1185]
重鎖可変領域が、重鎖定常領域1(CH1)をさらに含む、本発明1184の抗体またはその結合断片。
[本発明1186]
重鎖可変領域が、SEQ ID NO: 390のアミノ酸配列をさらに含む、本発明1184の抗体またはその結合断片。
[本発明1187]
軽鎖可変領域をさらに含む、本発明1184の抗体またはその結合断片。
[本発明1188]
軽鎖可変領域が、軽鎖定常領域(CL)をさらに含む、本発明1187の抗体またはその結合断片。
[本発明1189]
本発明1146～1183のいずれかの抗体重鎖可変領域をコードする、単離ポリヌクレオチド。
[本発明1190]
本発明1189のポリヌクレオチドを含む、ベクター。
[本発明1191]
本発明1190のベクターを含む、宿主細胞。
[本発明1192]
式V1-X-V2の配列を含む抗体重鎖可変領域をコードする核酸配列を構成する複数のポリヌクレオチドを含む、核酸ライブラリーであって、
式中、V1は、

(i) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEIN HSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 735),
(ii) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSDKYWSWIRQPPGKGLEWIGEIN HSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 737),
(iii) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGSIN HSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 739),
(iv) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSDKYWSWIRQPPGKGLEWIGSIN HSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 741),
(v) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCTASGFSLSDKAVGWIRQPPGKGLEWIGEINH SGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 743),
(vi) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGLGSIDTGGNTGSFSGYYWSWIRQPP GKGLEWYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 745),
(vii) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCTASGFSLSDKAVGWIRQPPGKGLEWIGSIN HSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 747), および
(viii) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCTASGFSLSDKAVGWIRQPPGKGLEWLGSI DTGGNTGYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 749)

からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み;
Xは、極めて長いCDR3を含み;かつ
V2は、
(i) WGHGTAVTVSS (SEQ ID NO: 570),
(ii) WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 571),
(iii) WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 572),
(iv) WGRGTLVTVSS (SEQ ID NO: 573),
(v) WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 574), および
(vi) WGQGLLVTVSS (SEQ ID NO: 500)
からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、
核酸ライブラリー。

[本発明1193]
式V1-X-V2の配列を含む抗体重鎖可変領域を含む、抗体のライブラリーであって、
式中、V1は、

(i) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEIN HSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 735),
(ii) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSDKYWSWIRQPPGKGLEWIGEIN HSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 737),
(iii) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGSIN HSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 739),
(iv) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSDKYWSWIRQPPGKGLEWIGSIN HSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 741),
(v) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCTASGFSLSDKAVGWIRQPPGKGLEWIGEINH SGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 743),
(vi) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGLGSIDTGGNTGSFSGYYWSWIRQPP GKGLEWYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 745),
(vii) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCTASGFSLSDKAVGWIRQPPGKGLEWIGSIN HSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 747), および
(viii) QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCTASGFSLSDKAVGWIRQPPGKGLEWLGSI DTGGNTGYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 749)
からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み;
Xは、極めて長いCDR3を含み;かつ
V2は、
(i) WGHGTAVTVSS (SEQ ID NO: 570),
(ii) WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 571),
(iii) WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 572),
(iv) WGRGTLVTVSS (SEQ ID NO: 573),
(v) WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 574), および
(vi) WGQGLLVTVSS (SEQ ID NO:500)
からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、
抗体のライブラリー。
[本発明1194]
極めて長いCDR3が、$X^1X^2X^3X^4X^5$モチーフを含み、
式中、X^1は、トレオニン(T)、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、またはバリン(V)であり、X^2は、セリン(S)、トレオニン(T)、プロリン(P)、イソロイシン(I)、アラニン(A)、バリン(V)、またはアスパラギン(N)であり、X^3は、バリン(V)、アラニン(A)、トレオニン(T)、またはアスパラギン酸(D)であり、X^4は、ヒスチジン(H)、トレオニン(T)、アルギニン(R)、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、またはロイシン(L)であり、かつX^5は、グルタミン(Q)である、
本発明1146の抗体重鎖可変領域。
[本発明1195]

$X^1X^2X^3X^4X^5$モチーフが、
TTVHQ (SEQ ID NO: 153), TSVHQ (SEQ ID NO: 154), SSVTQ (SEQ ID NO: 155), STVHQ (SEQ ID NO: 156), ATVRQ (SEQ ID NO: 157), TTVYQ (SEQ ID NO: 158), SPVHQ (SEQ ID NO: 159), ATVYQ (SEQ ID NO: 160), TAVYQ (SEQ ID NO: 161), TNVHQ (SEQ ID NO: 162), ATVHQ (SEQ ID NO: 163), STVYQ (SEQ ID NO: 164), TIVHQ (SEQ ID NO: 165), AIVYQ (SEQ ID NO: 166), TTVFQ (SEQ ID NO: 167), AAVFQ (SEQ ID NO: 168), GTVHQ (SEQ ID NO: 169), ASVHQ (SEQ ID NO: 170), TAVFQ (SEQ ID NO: 171), ATVFQ (SEQ ID NO: 172), AAAHQ (SEQ ID NO: 173), VVVYQ (SEQ ID NO: 174), GTVFQ (SEQ ID NO: 175), TAVHQ (SEQ ID NO: 176), ITVHQ (SEQ ID NO: 177), ITAHQ (SEQ ID NO: 178), VTVHQ (SEQ ID NO: 179); AAVHQ (SEQ ID NO: 180), GTVYQ (SEQ ID NO: 181), TTVLQ (SEQ ID NO: 182), TTTHQ (SEQ ID NO: 183), またはTTDYQ (SEQ ID NO: 184)

である、本発明1194の抗体重鎖可変領域。
[本発明1196]
極めて長いCDR3が、$(X^aX^b)_z$モチーフを含み、
式中、X^aは、任意のアミノ酸残基であり、X^bは、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、トリプトファン(W)、およびヒスチジン(H)からなる群より選択される芳香族アミノ酸であり、かつzは1～4である、
本発明1146の抗体重鎖可変領域。
[本発明1197]
$(X^aX^b)_z$モチーフが、

CYTYNYEF (SEQ ID NO: 217), HYTYTYDF (SEQ ID NO: 218), HYTYTYEW (SEQ ID NO: 219), KHRYTYEW (SEQ ID NO: 220), NYIYKYSF (SEQ ID NO: 221), PYIYTYQF (SEQ ID NO: 222), SFTYTYEW (SEQ ID NO: 223), SYIYIYQW (SEQ ID NO: 224), SYNYTYSW (SEQ ID NO: 225), SYSYSYEY (SEQ ID NO: 226), SYTYNYDF (SEQ ID NO: 227), SYTYNYEW (SEQ ID NO: 228), SYTYNYQF (SEQ ID NO: 229), SYVWTHNF (SEQ ID NO: 230), TYKYVYEW (SEQ ID NO: 231), TYTYTYEF (SEQ ID NO: 232), TYTYTYEW (SEQ ID NO: 233), VFTYTYEF (SEQ ID NO: 234), AYTYEW (SEQ ID NO: 235), DYIYTY (SEQ ID NO: 236), IHSYEF (SEQ ID NO: 237), SFTYEF (SEQ ID NO: 238), SHSYEF (SEQ ID NO: 239), THTYEF (SEQ ID NO: 240), TWTYEF (SEQ ID NO: 241), TYNYEW (SEQ ID NO: 242), TYSYEF (SEQ ID NO: 243), TYSYEH (SEQ ID NO: 244), TYTYDF (SEQ ID NO: 245), TYTYEF (SEQ ID NO: 246), TYTYEW (SEQ ID NO: 247), AYEF (SEQ ID NO: 248), AYSF (SEQ ID NO: 249), AYSY (SEQ ID NO: 250), CYSF (SEQ ID NO: 251), DYTY (SEQ ID NO: 252), KYEH (SEQ ID NO: 253), KYEW (SEQ ID NO: 254), MYEF (SEQ ID NO: 255), NWIY (SEQ ID NO: 256), NYDY (SEQ ID NO: 257), NYQW (SEQ ID NO: 258), NYSF (SEQ ID NO: 259), PYEW (SEQ ID NO: 260), RYNW (SEQ ID NO: 261), RYTY (SEQ ID NO: 262), SYEF (SEQ ID NO: 263), SYEH (SEQ ID NO: 264), SYEW (SEQ ID NO: 265), SYKW (SEQ ID NO: 266), SYTY (SEQ ID NO: 267), TYDF (SEQ ID NO: 268), TYEF (SEQ ID NO: 269), TYEW (SEQ ID NO: 270), TYQW (SEQ ID NO: 271), TYTY (SEQ ID NO: 272), または VYEW (SEQ ID NO: 273)

である、本発明1196の抗体重鎖可変領域。

[本発明1198]

$(X^aX^b)_z$モチーフがYXYXYXである、本発明1197の抗体重鎖可変領域。

[本発明1199]

極めて長いCDR3が、$X^1X^2X^3X^4X^5X_n$モチーフを含み、

式中、X_1は、トレオニン(T)、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、またはバリン(V)であり、X_2は、セリン(S)、トレオニン(T)、プロリン(P)、イソロイシン(I)、アラニン(A)、バリン(V)、またはアスパラギン(N)であり、X_3は、バリン(V)、アラニン(A)、トレオニン(T)、またはアスパラギン酸(D)であり、X_4は、ヒスチジン(H)、トレオニン(T)、アルギニン(R)、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、またはロイシン(L)であり、X_5は、グルタミン(Q)であり、かつnは27～54である、

本発明1146の抗体重鎖可変領域。

[本発明1200]

極めて長いCDR3が、$X_n(X^aX^b)_z$モチーフを含み、

式中、X^aは、任意のアミノ酸残基であり、X^bは、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、トリプトファン(W)、およびヒスチジン(H)からなる群より選択される芳香族アミノ酸であり、nは27～54であり、かつzは1～4である、

本発明1146の抗体重鎖可変領域。

[本発明1201]

極めて長いCDR3が、$X^1X^2X^3X^4X^5X_n(X^aX^b)_z$モチーフを含み、式中、$X^1$は、トレオニン(T)、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、またはバリン(V)であり、X^2は、セリン(S)、トレオニン(T)、プロリン(P)、イソロイシン(I)、アラニン(A)、バリン(V)、またはアス

パラギン(N)であり、X^3は、バリン(V)、アラニン(A)、トレオニン(T)、またはアスパラギン酸(D)であり、X^4は、ヒスチジン(H)、トレオニン(T)、アルギニン(R)、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、またはロイシン(L)であり、かつX^5は、グルタミン(Q)であり、X^aは、任意のアミノ酸残基であり、X^bは、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、トリプトファン(W)、およびヒスチジン(H)からなる群より選択される芳香族アミノ酸であり、nは27～54であり、かつzは1～4である、
本発明1146の抗体重鎖可変領域。
[本発明1202]
式V1-Xの配列を含む抗体重鎖可変領域であって、
式中、V1は、
(i)SEQ ID NO: 734またはSEQ ID NO: 735、
(ii)SEQ ID NO: 736またはSEQ ID NO: 737、
(iii)SEQ ID NO: 738またはSEQ ID NO: 739、
(iv)SEQ ID NO: 740またはSEQ ID NO: 741、
(v)SEQ ID NO: 742またはSEQ ID NO: 743、
(vi)SEQ ID NO: 744またはSEQ ID NO: 745、
(vii)SEQ ID NO: 746またはSEQ ID NO: 747、および
(viii)SEQ ID NO: 748またはSEQ ID NO: 749
からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み;かつ
Xは、極めて長いCDR3を含む、
抗体重鎖可変領域。
[本発明1203]
極めて長いCDR3が、$X^1X^2X^3X^4X^5$モチーフを含み、
式中、X^1は、トレオニン(T)、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、またはバリン(V)であり、X^2は、セリン(S)、トレオニン(T)、プロリン(P)、イソロイシン(I)、アラニン(A)、バリン(V)、またはアスパラギン(N)であり、X^3は、バリン(V)、アラニン(A)、トレオニン(T)、またはアスパラギン酸(D)であり、X^4は、ヒスチジン(H)、トレオニン(T)、アルギニン(R)、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、またはロイシン(L)であり、かつX^5は、グルタミン(Q)である、
本発明1202の抗体重鎖可変領域。
[本発明1204]
$X^1X^2X^3X^4X^5$モチーフが、
TTVHQ (SEQ ID NO: 153), TSVHQ (SEQ ID NO: 154), SSVTQ (SEQ ID NO: 155), STVHQ (SEQ ID NO: 156), ATVRQ (SEQ ID NO: 157), TTVYQ (SEQ ID NO: 158), SPVHQ (SEQ ID NO: 159), ATVYQ (SEQ ID NO: 160), TAVYQ (SEQ ID NO: 161), TNVHQ (SEQ ID NO: 162), ATVHQ (SEQ ID NO: 163), STVYQ (SEQ ID NO: 164), TIVHQ (SEQ ID NO: 165), AIVYQ (SEQ ID NO: 166), TTVFQ (SEQ ID NO: 167), AAVFQ (SEQ ID NO: 168), GTVHQ (SEQ ID NO: 169), ASVHQ (SEQ ID NO: 170), TAVFQ (SEQ ID NO: 171), ATVFQ (SEQ ID NO: 172), AAAHQ (SEQ ID NO: 173), VVVYQ (SEQ ID NO: 174), GTVFQ (SEQ ID NO: 175), TAVHQ (SEQ ID NO: 176), ITVHQ (SEQ ID NO: 177), ITAHQ (SEQ ID NO: 178), VTVHQ (SEQ ID NO: 179); AAVHQ (SEQ ID NO: 180), GTVYQ (SEQ ID NO: 181), TTVLQ (SEQ ID NO: 182), TTTHQ (SEQ ID NO: 183), またはTTDYQ (SEQ ID NO: 184)

である、本発明1203の抗体重鎖可変領域。
[本発明1205]
極めて長いCDR3が、$CX^1X^2X^3X^4X^5$モチーフを含む、本発明1202の抗体重鎖可変領域。

[本発明1206]
$CX^1X^2X^3X^4X^5$モチーフが、
CTTVHQ (SEQ ID NO: 185), CTSVHQ (SEQ ID NO: 186), CSSVTQ (SEQ ID NO: 187), CSTVHQ (SEQ ID NO: 188), CATVRQ (SEQ ID NO: 189), CTTVYQ (SEQ ID NO: 190), CSPVHQ (SEQ ID NO: 191), CATVYQ (SEQ ID NO: 192), CTAVYQ (SEQ ID NO: 193), CTNVHQ (SEQ ID NO: 194), CATVHQ (SEQ ID NO: 195), CSTVYQ (SEQ ID NO: 196), CTIVHQ (SEQ ID NO: 197), CAIVYQ (SEQ ID NO: 198), CTTVFQ (SEQ ID NO: 199), CAAVFQ (SEQ ID NO: 200), CGTVHQ (SEQ ID NO: 201), CASVHQ (SEQ ID NO: 202), CTAVFQ (SEQ ID NO: 203), CATVFQ (SEQ ID NO: 204), CAAAHQ (SEQ ID NO: 205), CVVVYQ (SEQ ID NO: 206), CGTVFQ (SEQ ID NO: 207), CTAVHQ (SEQ ID NO: 208), CITVHQ (SEQ ID NO: 209), CITAHQ (SEQ ID NO: 210), CVTVHQ (SEQ ID NO: 211); CAAVHQ (SEQ ID NO: 212), CGTVYQ (SEQ ID NO: 213), CTTVLQ (SEQ ID NO: 214), CTTTHQ (SEQ ID NO: 215), またはCTTDYQ (SEQ ID NO: 216)
である、本発明1205の抗体重鎖可変領域。
[本発明1207]
極めて長いCDR3が、$(X^aX^b)_z$モチーフを含み、
式中、X^aは、任意のアミノ酸残基であり、X^bは、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、トリプトファン(W)、およびヒスチジン(H)からなる群より選択される芳香族アミノ酸であり、かつzは1～4である、
本発明1202の抗体重鎖可変領域。
[本発明1208]
$(X^aX^b)_z$モチーフが、

CYTYNYEF (SEQ ID NO: 217), HYTYTYDF (SEQ ID NO: 218), HYTYTYEW (SEQ ID NO: 219), KHRYTYEW (SEQ ID NO: 220), NYIYKYSF (SEQ ID NO: 221), PYIYTYQF (SEQ ID NO: 222), SFTYTYEW (SEQ ID NO: 223), SYIYIYQW (SEQ ID NO: 224), SYNYTYSW (SEQ ID NO: 225), SYSYSYEY (SEQ ID NO: 226), SYTYNYDF (SEQ ID NO: 227), SYTYNYEW (SEQ ID NO: 228), SYTYNYQF (SEQ ID NO: 229), SYVWTHNF (SEQ ID NO: 230), TYKYVYEW (SEQ ID NO: 231), TYTYTYEF (SEQ ID NO: 232), TYTYTYEW (SEQ ID NO: 233), VFTYTYEF (SEQ ID NO: 234), AYTYEW (SEQ ID NO: 235), DYIYTY (SEQ ID NO: 236), IHSYEF (SEQ ID NO: 237), SFTYEF (SEQ ID NO: 238), SHSYEF (SEQ ID NO: 239), THTYEF (SEQ ID NO: 240), TWTYEF (SEQ ID NO: 241), TYNYEW (SEQ ID NO: 242), TYSYEF (SEQ ID NO: 243), TYSYEH (SEQ ID NO: 244), TYTYDF (SEQ ID NO: 245), TYTYEF (SEQ ID NO: 246), TYTYEW (SEQ ID NO: 247), AYEF (SEQ ID NO: 248), AYSF (SEQ ID NO: 249), AYSY (SEQ ID NO: 250), CYSF (SEQ ID NO: 251), DYTY (SEQ ID NO: 252), KYEH (SEQ ID NO: 253), KYEW (SEQ ID NO: 254), MYEF (SEQ ID NO: 255), NWIY (SEQ ID NO: 256), NYDY (SEQ ID NO: 257), NYQW (SEQ ID NO: 258), NYSF (SEQ ID NO: 259), PYEW (SEQ ID NO: 260), RYNW (SEQ ID NO: 261), RYTY (SEQ ID NO: 262), SYEF (SEQ ID NO: 263), SYEH (SEQ ID NO: 264), SYEW (SEQ ID NO: 265), SYKW (SEQ ID NO: 266), SYTY (SEQ ID NO: 267), TYDF (SEQ ID NO: 268), TYEF (SEQ ID NO: 269), TYEW (SEQ ID NO: 270), TYQW (SEQ ID NO: 271), TYTY (SEQ ID NO: 272), または VYEW (SEQ ID NO: 273)

である、本発明1207の抗体重鎖可変領域。

[本発明1209]

$(X^aX^b)_z$モチーフがYXYXYXである、本発明1207の抗体重鎖可変領域。

[本発明1210]

極めて長いCDR3が、$X^1X^2X^3X^4X^5X_n$モチーフを含み、

式中、X_1は、トレオニン(T)、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、またはバリン(V)であり、X_2は、セリン(S)、トレオニン(T)、プロリン(P)、イソロイシン(I)、アラニン(A)、バリン(V)、またはアスパラギン(N)であり、X_3は、バリン(V)、アラニン(A)、トレオニン(T)、またはアスパラギン酸(D)であり、X_4は、ヒスチジン(H)、トレオニン(T)、アルギニン(R)、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、またはロイシン(L)であり、X_5は、グルタミン(Q)であり、かつnは27～54である、

本発明1202の抗体重鎖可変領域。

[本発明1211]

極めて長いCDR3が、$X_n(X^aX^b)_z$モチーフを含み、

式中、X^aは、任意のアミノ酸残基であり、X^bは、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、トリプトファン(W)、およびヒスチジン(H)からなる群より選択される芳香族アミノ酸であり、nは27～54であり、かつzは1～4である、

本発明1202の抗体重鎖可変領域。

[本発明1212]

極めて長いCDR3が、$X^1X^2X^3X^4X^5X_n(X^aX^b)_z$モチーフを含み、

式中、X^1は、トレオニン(T)、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、またはバリン(V)であり、X^2は、セリン(S)、トレオニン(T)、プロリン(P)、イソロイシン(I)、アラニン(A

)、バリン(V)、またはアスパラギン(N)であり、X^3は、バリン(V)、アラニン(A)、トレオニン(T)、またはアスパラギン酸(D)であり、X^4は、ヒスチジン(H)、トレオニン(T)、アルギニン(R)、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、またはロイシン(L)であり、かつX^5は、グルタミン(Q)であり、X^aは、任意のアミノ酸残基であり、X^bは、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、トリプトファン(W)、およびヒスチジン(H)からなる群より選択される芳香族アミノ酸であり、nは27～54であり、かつzは1～4である、本発明1211の抗体重鎖可変領域。(206)V1が、SEQ ID NO: 737のアミノ酸配列を含み、極めて長いCDR3が、SEQ ID NO: 498およびSEQ ID NO: 499のアミノ酸配列を含み、かつV2が、SEQ ID NO: 500のアミノ酸配列を含む、本発明1142～1145のいずれかの抗体重鎖可変領域。

[本発明1213]

V1が、SEQ ID NO: 739のアミノ酸配列を含み、極めて長いCDR3が、SEQ ID NO: 498およびSEQ ID NO: 499のアミノ酸配列を含み、かつV2が、SEQ ID NO: 500のアミノ酸配列を含む、本発明1146～1149のいずれかの抗体重鎖可変領域。

[本発明1214]

軽鎖可変領域が、SEQ ID NO: 750のアミノ酸配列、SEQ ID NO: 754のアミノ酸配列、およびSEQ ID NO: 755のアミノ酸配列を含む、本発明1059のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1215]

SEQ ID NO: 756のアミノ酸配列をさらに含む、本発明1214のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1216]

軽鎖可変領域が、SEQ ID NO: 751のアミノ酸配列、SEQ ID NO: 754のアミノ酸配列、およびSEQ ID NO: 755のアミノ酸配列を含む、本発明1059のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1217]

SEQ ID NO: 756のアミノ酸配列をさらに含む、本発明1216のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1218]

軽鎖可変領域が、SEQ ID NO: 752のアミノ酸配列、SEQ ID NO: 754のアミノ酸配列、およびSEQ ID NO: 755のアミノ酸配列を含む、本発明1059のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1219]

SEQ ID NO: 756のアミノ酸配列をさらに含む、本発明1218のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1220]

軽鎖可変領域が、SEQ ID NO: 753のアミノ酸配列、SEQ ID NO: 754のアミノ酸配列、およびSEQ ID NO: 755のアミノ酸配列を含む、本発明1059のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1221]

SEQ ID NO: 756のアミノ酸配列をさらに含む、本発明1220のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1222]

重鎖可変領域が、SEQ ID NO: 737およびSEQ ID NO: 500のアミノ酸配列を含み、極めて長いCDR3が、SEQ ID NO: 498およびSEQ ID NO: 499のアミノ酸配列を含む、本発明1001のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1223]

SEQ ID NO: 750のアミノ酸配列、SEQ ID NO: 754のアミノ酸配列、およびSEQ ID NO: 755のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域をさらに含む、本発明1222のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1224]

重鎖可変領域が、SEQ ID NO: 739およびSEQ ID NO: 500のアミノ酸配列を含み、極めて長いCDR3が、SEQ ID NO: 498およびSEQ ID NO: 499のアミノ酸配列を含む、本発明1001のヒト化抗体またはその結合断片。

[本発明1225]

SEQ ID NO: 750のアミノ酸配列、SEQ ID NO: 754のアミノ酸配列、およびSEQ ID NO: 755のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域をさらに含む、本発明1224のヒト化抗体またはその結合断片。

【０２４１】

本開示の上記の概要および以下の詳細な説明は、添付の図面と共に参照されたとき、よりよく理解されるであろう。本開示を例示する目的のため、現在好ましい態様が図面に示される。しかしながら、本開示は、示された正確な配置、例、および手段に限定されないことが、理解されるべきである。

【図面の簡単な説明】

【０２４２】

【図１】極めて長いCDR3配列を含むBLV1H12、BLV5B8、BLV5D3、BLV8C11、BF4E9、BF1H1、またはF18と命名された例示的なウシ由来の抗体可変領域配列の配列アライメントを示す。

【図２】図2A～2Cは極めて長いCDR3配列を示す。(上)生殖系列V_HBUL、D_H2、およびJ_Hからの翻訳。文献中に報告された5種の全長極めて長いCDR H3は、4～8個のシステインを含有しており、相互に高度に相同ではない；しかしながら、これらのCDR H3の最初のシステインをアライメント前に「固定」したとき、システイン残基のD_H2とのいくらかの保存を見出すことができる。7種の配列のうちの4種(BLV1H12、BLV5D3、BLV8C11、およびBF4E9)は、D_H2と同一の位置に4個のシステインを含有しているが、付加的なシステインも有する。BLV5B8は、生殖系列D_H2と共通の2個のシステインを有する。いくらかのシステイン保存を含むこの限定された相同性は、D_H2の変異によってこれらの配列が生成された可能性を示唆する。B-L1およびB-L2は、ウシ脾臓からの初期配列に由来し、残りのものはディープシーケンシングデータから選択された極めて長いCDR H3配列である。最初の群は、同定された最長のCDR H3を含有しており、クローン的に関連していると考えられる。*は、167回表された配列を示し、それが機能のために強く選択されたことを示唆する。8システイン配列のうちの数種は、括弧内に示された複数の回数表されたため、機能のために選択されたと考えられる。様々な長さの他の代表的な配列が、最後の群に示される。CDR H3の境界を定義するフレームワークのシステイン残基およびトリプトファン残基には、二重線が引かれている。表2A～Cに提示された配列BLV1H12～UL-77(最も左側のカラム)は、ある種の生殖系列配列およびV/D/J連結配列に由来するアミノ酸残基のセグメントを同定するため、4個のセグメントに分けて示されている。左から右に向かって、最初のセグメントはV_H生殖系列に由来し、$X^1X^2X^3X^4X^5$モチーフとして本開示において表される。2番目のセグメントは、V-D連結部に由来する配列を表し、X_nとして本開示において表される。3番目のセグメントは、D_H2生殖系列に由来する一連のアミノ酸残基であり、4番目のセグメントは、J_H1生殖系列領域に由来する一連のアミノ酸残基である。

【図３】BLV1H12、BLV5B8、BLV5D3、BLV8C11、BF4E9、BF1H1、またはF18と命名された例示的なウシ由来の極めて長いCDR3配列の配列アライメントを示す。

【図４】極めて長いCDR3配列によって修飾するため、または極めて長いCDR3配列と共に使用するために適当な、VH-ULと命名された例示的なウシ生殖系列重鎖可変領域(V_H)配列を示す。

【図５Ａ】極めて長いCDR3配列によって修飾するため、または極めて長いCDR3配列と共に使用するために適当な、4-39、4-59*03、4-34*09、および4-34*02と命名された例示的なヒト生殖系列重鎖可変領域配列を示す。

【図５Ｂ】極めて長いCDR3配列によって修飾するため、または極めて長いCDR3配列と共に使用するために適当な、4-39、4-59*03、4-34*09、および4-34*02と命名された例示的なヒト生殖系列重鎖可変領域配列のアライメントを示す。

【図６】極めて長いCDR3配列(例えば、極めて長いCDR3配列を含む重鎖可変領域配列)によって修飾するため、または極めて長いCDR3配列と共に使用するために適当な、BLV1H12と命名された例示的なウシ軽鎖可変領域配列を示す。
【図７Ａ】極めて長いCDR3配列によって修飾するため、または極めて長いCDR3配列と共に使用するために適当な、Vl1-47、Vl1-40*1、Vl1-51*01、およびVl2-18*02と命名された例示的な軽鎖可変領域配列を示す。
【図７Ｂ】極めて長いCDR3配列によって修飾するため、または極めて長いCDR3配列と共に使用するために適当な、Vl1-47、Vl1-40*1、Vl1-51*01、およびVl2-18*02と命名された例示的な軽鎖可変領域配列のアライメントを示す。
【図８】例示的な重鎖可変領域配列を示す。
【図９】例示的な軽鎖可変領域配列を示す。
【図１０】IL-8非抗体配列を有する例示的な重鎖可変領域配列を示す。
【図１１】例示的な軽鎖の可変領域配列および定常領域配列を示す。
【図１２】例示的なアミノ酸配列を示す。
【図１３】BLV1H12配列へ導入された例示的な核酸リンカー-BsaI-リンカー配列を示す。
【図１４】多様なリンカーによってCDR3に挿入された毒素配列を含む例示的なBLV1H12重鎖アミノ酸配列を示す。
【図１５】重鎖可変領域および軽鎖(VL-CL)の例示的なアミノ酸配列を示す。
【図１６】例示的なリンカーのアミノ酸配列を示す。
【図１７】毒素についての例示的なアミノ酸配列を示す。
【図１８】毒素についての例示的な核酸配列を示す。
【図１９】HIV-1中和抗体に由来する可変重鎖の例示的なA領域、D領域、およびV2領域を示す。
【図２０】CHO(例えば、CHO-S)細胞およびHEK(例えば、293F)細胞から精製された抗体試料(VH4-34 MutE 1xG4S ShK(BID番号56)およびVH4-34 MutEリンカーなしShK(BID番号59))の例示的なドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動(SDS-PAGE)を示す。
【図２１】BID番号、IgG名、および／または重鎖名によって本明細書に記載され参照された重鎖可変領域についての例示的なアミノ酸配列および核酸配列を示す。
【図２２】BID番号、IgG名、および／または軽鎖名によって本明細書に記載され参照された軽鎖可変領域についての例示的なアミノ酸配列および核酸配列を示す。
【発明を実施するための形態】
【０２４３】
詳細な説明

本開示は、(a)(i)SEQ ID NO:734またはSEQ ID NO:735、(ii)SEQ ID NO:736またはSEQ ID NO:737、(iii)SEQ ID NO:738またはSEQ ID NO:739、(iv)SEQ ID NO:740またはSEQ ID NO:741、(v)SEQ ID NO:742またはSEQ ID NO:743、(vi)SEQ ID NO:744またはSEQ ID NO:745、(vii)SEQ ID NO:746またはSEQ ID NO 747、および(viii)SEQ ID NO:748またはSEQ ID NO:749からなる群より選択されるアミノ酸配列;ならびに(b)極めて長いCDR3配列を含む重鎖可変領域を含むヒト化抗体と、前記抗体を作製するための材料(例えば、タンパク質配列、遺伝子配列、細胞、ライブラリー)および前記抗体を作製する方法(例えば、ヒト化方法、ライブラリー方法)を提供する。このようなヒト化抗体は、炎症性の疾患、障害、または状態、自己免疫性の疾患、障害、または状態、代謝性の疾患、障害、または状態、新生物性の疾患、障害、または状態、および癌を含む様々な疾患、障害、または状態の処置または予防に有用であり得る。
【０２４４】
本開示はまた、(a)(i)SEQ ID NO:734またはSEQ ID NO:735、(ii)SEQ ID NO:736またはSEQ ID NO:737、(iii)SEQ ID NO:738またはSEQ ID NO:739、(iv)SEQ ID NO:740またはSEQ ID NO:741、(v)SEQ ID NO:742またはSEQ ID NO:743、(vi)SEQ ID NO:744またはSEQ ID NO:745、(vii)SEQ ID NO:746またはSEQ ID NO:747、および(viii)SEQ ID NO:748またはSEQ ID NO:749からなる群より選択されるアミノ酸配列;ならびに(b)極めて長いCDR3配列を含

む重鎖可変領域を含むヒト化抗体であって、CDR3配列が、35アミノ酸長もしくはそれ以上(例えば、40もしくはそれ以上、45もしくはそれ以上、50もしくはそれ以上、55もしくはそれ以上、60もしくはそれ以上)である、および/またはCDR3配列が、少なくとも3個もしくはそれ以上のシステイン残基(例えば、3個もしくはそれ以上のシステイン残基、4個もしくはそれ以上のシステイン残基、5個もしくはそれ以上のシステイン残基、6個もしくはそれ以上のシステイン残基、7個もしくはそれ以上のシステイン残基、8個もしくはそれ以上のシステイン残基、9個もしくはそれ以上のシステイン残基、10個もしくはそれ以上のシステイン残基、11個もしくはそれ以上のシステイン残基、または12個もしくはそれ以上のシステイン残基)を有する、ヒト化抗体も提供する。このような抗体は、本明細書に記載のように、例えば、膜貫通タンパク質(例えば、GPCR、イオンチャンネル、輸送体、細胞表面受容体)などのタンパク質標的を含む様々な標的に結合する(例えば、特異的または選択的に結合する)。

【０２４５】

本開示はまた、(a)(i)SEQ ID NO:734またはSEQ ID NO:735、(ii)SEQ ID NO:736またはSEQ ID NO:737、(iii)SEQ ID NO:738またはSEQ ID NO:739、(iv)SEQ ID NO:740またはSEQ ID NO:741、(v)SEQ ID NO:742またはSEQ ID NO:743、(vi)SEQ ID NO:744またはSEQ ID NO:745、(vii)SEQ ID NO:746またはSEQ ID NO:747、および(viii)SEQ ID NO:748またはSEQ ID NO:749からなる群より選択されるアミノ酸配列;ならびに(b)極めて長いCDR3配列を含む重鎖可変領域を含むヒト化抗体を調製または作製するための方法および材料も提供する。このような材料には、タンパク質、遺伝子配列、細胞、およびライブラリーが含まれる。このような方法には、ヒト化方法ならびにライブラリーを作製およびスクリーニングする方法が含まれる。

【０２４６】

本開示は、(a)(i)SEQ ID NO:734またはSEQ ID NO:735、(ii)SEQ ID NO:736またはSEQ ID NO:737、(iii)SEQ ID NO:738またはSEQ ID NO:739、(iv)SEQ ID NO:740またはSEQ ID NO:741、(v)SEQ ID NO:742またはSEQ ID NO:743、(vi)SEQ ID NO:744またはSEQ ID NO:745、(vii)SEQ ID NO:746またはSEQ ID NO:747、および(viii)SEQ ID NO:748またはSEQ ID NO:749からなる群より選択されるアミノ酸配列;ならびに(b)極めて長いCDR3を含む重鎖可変領域を含むヒト化抗体またはその結合断片を提供する。一部の態様において、極めて長いCDR3は、35アミノ酸長もしくはそれ以上、40アミノ酸長もしくはそれ以上、45アミノ酸長もしくはそれ以上、50アミノ酸長もしくはそれ以上、または55アミノ酸長もしくはそれ以上、または60アミノ酸長もしくはそれ以上でもよい。一部の態様において、極めて長いCDR3は、3個もしくはそれ以上のシステイン残基、4個もしくはそれ以上のシステイン残基、5個もしくはそれ以上のシステイン残基、6個もしくはそれ以上のシステイン残基、7個もしくはそれ以上のシステイン残基、8個もしくはそれ以上のシステイン残基、9個もしくはそれ以上のシステイン残基、10個もしくはそれ以上のシステイン残基、11個もしくはそれ以上のシステイン残基、または12個もしくはそれ以上のシステイン残基を含んでもよい。極めて長いCDR3は、例えば、システインモチーフが、

$CX_{10}CX_5CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 41), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{15}C$ (SEQ ID NO: 42), $CX_{11}CXCX_5C$ (SEQ ID NO: 43), $CX_{11}CX_5CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 44), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{13}C$ (SEQ ID NO: 45), $CX_{10}CX_5CXCX_4CX_8C$ (SEQ ID NO: 46), $CX_{10}CX_6CX_6CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 47), $CX_{10}CX_4CX_7CXCX_8C$ (SEQ ID NO: 48), $CX_{10}CX_4CX_7CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 49), $CX_{13}CX_8CX_8C$ (SEQ ID NO: 50), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 51), $CX_{10}CX_5CX_5C$ (SEQ ID NO: 52), $CX_{10}CX_5CX_6CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 53), $CX_{10}CX_6CX_5CX_7CX_9C$ (SEQ ID NO: 54), $CX_9CX_7CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 55), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_9C$ (SEQ ID NO: 56), $CX_{10}CXCX_4CX_5CX_{11}C$ (SEQ ID NO: 57), $CX_7CX_3CX_6CX_5CXCX_5CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 58), $CX_{10}CXCX_4CX_5CXCX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 59), $CX_{16}CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 60), $CX_6CX_4CXCX_4CX_5C$ (SEQ ID NO: 61), $CX_{11}CX_4CX_5CX_6CX_3C$ (SEQ ID NO: 62), $CX_8CX_2CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 63), $CX_{10}CX_5CX_5CXCX_{10}C$ (SEQ ID NO: 64), $CX_{10}CXCX_6CX_4CXC$ (SEQ ID NO: 65), $CX_{10}CX_5CX_5CXCX_2C$ (SEQ ID NO: 66), $CX_{14}CX_2CX_3CXCXC$ (SEQ ID NO: 67), $CX_{15}CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 68), $CX_4CX_6CX_9CX_2CX_{11}C$ (SEQ ID NO: 69), $CX_6CX_4CX_5CX_5CX_{12}C$ (SEQ ID NO: 70), $CX_7CX_3CXCXCX_4CX_5CX_9C$ (SEQ ID NO: 71), $CX_{10}CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 72), $CX_7CX_3CX_5CX_5CX_9C$ (SEQ ID NO: 73), $CX_7CX_5CXCX_2C$ (SEQ ID NO: 74), $CX_{10}CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 75), $CX_{10}CX_3CX_3CX_5CX_7CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 76), $CX_{10}CX_4CX_5CX_{12}CX_2C$ (SEQ ID NO: 77), $CX_{12}CX_4CX_5CXCXCX_9CX_3C$ (SEQ ID NO: 78), $CX_{12}CX_4CX_5CX_{12}CX_2C$ (SEQ ID NO: 79), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{11}C$ (SEQ ID NO: 80), $CX_{16}CX_5CXCXCX_{14}C$ (SEQ ID NO: 81), $CX_{10}CX_5CXCX_8CX_6C$ (SEQ ID NO: 82), $CX_{12}CX_4CX_5CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 83), $CX_{12}CX_5CX_5CXCX_8C$ (SEQ ID NO: 84), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_4CXCX_9C$ (SEQ ID NO: 85), $CX_{11}CX_4CX_5CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 86), $CX_{10}CX_6CX_5CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 87), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_8C$ (SEQ ID NO: 88), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_3CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 89), $CX_{10}CX_6CX_5CX_3CX_8C$ (SEQ ID NO: 90), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_2CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 91), $CX_7CX_6CX_3CX_3CX_9C$ (SEQ ID NO: 92), $CX_9CX_8CX_5CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 93), $CX_{10}CX_2CX_2CX_7CXCX_{11}CX_5C$ (SEQ ID NO: 94),および$CX_{10}CX_6CX_5CXCX_2CX_8CX_4C$ (SEQ ID NO: 95)

からなる群より選択される場合を含めて、システインモチーフを含んでもよい。または、極めて長いCDR3は、例えば、システインモチーフが、
$CCX_3CXCX_3CX_2CCXCX_5CX_9CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 96), $CX_6CX_2CX_5CX_4CCXCX_4CX_6CXC$ (SEQ ID NO: 97), $CX_7CXCX_5CX_4CCCX_4CX_6CXC$ (SEQ ID NO: 98), $CX_9CX_3CXCX_2CXCCCX_6CX_4C$ (SEQ ID NO: 99), $CX_5CX_3CXCX_4CX_4CCX_{10}CX_2CC$ (SEQ ID NO: 100), $CX_5CXCX_1CXCX_3CCX_3CX_4CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 101), $CX_9CCCX_3CX_4CCCX_5CX_6C$ (SEQ ID NO: 102), $CCX_8CX_5CX_4CX_3CX_4CCXCX_1C$ (SEQ ID NO: 103), $CCX_6CCX_5CCCX_4CX_4CX_{12}C$ (SEQ ID NO: 104), $CX_6CX_2CX_3CCCX_4CX_5CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 105), $CX_3CX_5CX_6CX_4CCXCX_5CX_4CXC$ (SEQ ID NO: 106), $CX_4CX_4CCX_4CX_4CXCX_{11}CX_2CXC$ (SEQ ID NO: 107),

$CX_5CX_2CCX_5CX_4CCX_3CCX_7C$ (SEQ ID NO: 108), $CX_5CX_5CX_3CX_2CXCCX_4CX_7CXC$ (SEQ ID NO: 109), $CX_3CX_7CX_3CX_4CCXCX_2CX_5CX_2C$ (SEQ ID NO: 110), $CX_9CX_3CXCX_4CCX_5CCCX_6C$ (SEQ ID NO: 111), $CX_9CX_3CXCX_2CXCCX_6CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 112), $CX_8CCXCX_3CCX_3CXCX_3CX_4C$ (SEQ ID NO: 113), $CX_9CCX_4CX_2CXCCXCX_4CX_3C$ (SEQ ID NO: 114), $CX_{10}CXCX_3CX_2CXCCX_4CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 115), $CX_9CXCX_3CX_2CXCCX_4CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 116), $CX_6CCXCX_5CX_4CCXCX_5CX_2C$ (SEQ ID NO: 117), $CX_6CCXCX_3CXCCX_3CX_4CC$ (SEQ ID NO: 118), $CX_6CCXCX_3CXCX_2CXCX_4CX_8C$ (SEQ ID NO: 119), $CX_4CX_2CCX_3CXCX_4CCX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 120), $CX_3CX_5CX_3CCCX_4CX_9C$ (SEQ ID NO: 121), $CCX_9CX_3CXCCX_3CX_5C$ (SEQ ID NO: 122), $CX_9CX_2CX_3CX_4CCX_4CX_5C$ (SEQ ID NO: 123), $CX_9CX_7CX_4CCXCX_7CX_3C$ (SEQ ID NO: 124), $CX_9CX_3CCCX_{10}CX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 125), $CX_3CX_5CX_5CX_4CCX_{10}CX_6C$ (SEQ ID NO: 126), $CX_9CX_5CX_4CCXCX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 127), $CX_7CXCX_6CX_4CCCX_{10}C$ (SEQ ID NO: 128), $CX_8CX_2CX_4CCX_4CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 129), $CX_7CX_5CXCX_4CCX_7CX_4C$ (SEQ ID NO: 130), $CX_{11}CX_3CX_4CCCX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 131), $CX_2CX_3CX_4CCX_4CX_5CX_{15}C$ (SEQ ID NO: 132), $CX_9CX_5CX_4CCX_7C$ (SEQ ID NO: 133), $CX_9CX_7CX_3CX_2CX_6C$ (SEQ ID NO: 134), $CX_9CX_5CX_4CCX_{14}C$ (SEQ ID NO: 135), $CX_9CX_5CX_4CCX_8C$ (SEQ ID NO: 136), $CX_9CX_6CX_4CCXC$ (SEQ ID NO: 137), $CX_5CCX_7CX_4CX_{12}$ (SEQ ID NO: 138), $CX_{10}CX_3CX_4CCX_4C$ (SEQ ID NO: 139), $CX_9CX_4CCX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 140), $CX_{10}CX_3CX_4CX_7CXC$ (SEQ ID NO: 141), $CX_7CX_7CX_2CX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 142), $CX_9CX_4CX_4CCX_6C$ (SEQ ID NO: 143), $CX_7CXCX_3CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 144), $CX_7CXCX_4CXCX_4C$ (SEQ ID NO: 145), $CX_9CX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 146), $CX_3CX_6CX_8C$ (SEQ ID NO: 147), $CX_{10}CXCX_4C$ (SEQ ID NO: 148), $CX_{10}CCX_4C$ (SEQ ID NO: 149), $CX_{15}C$ (SEQ ID NO: 150), $CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 151), および CX_9C (SEQ ID NO: 152)

からなる群より選択される場合を含めて、システインモチーフを含んでもよい。

【０２４７】

本開示は、(a)(i)SEQ ID NO:734またはSEQ ID NO:735、(ii)SEQ ID NO:736またはSEQ ID NO:737、(iii)SEQ ID NO:738またはSEQ ID NO:739、(iv)SEQ ID NO:740またはSEQ ID NO:741、(v)SEQ ID NO:742またはSEQ ID NO:743、(vi)SEQ ID NO:744またはSEQ ID NO:745、(vii)SEQ ID NO:746またはSEQ ID NO:747、および(viii)SEQ ID NO:748またはSEQ ID NO:749からなる群より選択されるアミノ酸配列;ならびに(b)極めて長いCDR3を含む重鎖可変領域を含むヒト化抗体またはその結合断片であって、極めて長いCDR3が$X^1X^2X^3X^4X^5$モチーフを含み、式中、X^1がトレオニン(T)、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、またはバリン(V)であり、X^2がセリン(S)、トレオニン(T)、プロリン(P)、イソロイシン(I)、アラニン(A)、バリン(V)、またはアスパラギン(N)であり、X^3がバリン(V)、アラニン(A)、トレオニン(T)、またはアスパラギン酸(D)であり、X^4がヒスチジン(H)、トレオニン(T)、アルギニン(R)、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、またはロイシン(L)であり、X^5がグルタミン(Q)である、ヒト化抗体またはその結合断片を提供する。一部の態様において、$X^1X^2X^3X^4X^5$モチーフは、

TTVHQ (SEQ ID NO: 153), TSVHQ (SEQ ID NO: 154), SSVTQ (SEQ ID NO: 155), STVHQ (SEQ ID NO: 156), ATVRQ (SEQ ID NO: 157), TTVYQ (SEQ ID NO: 158), SPVHQ (SEQ ID NO: 159), ATVYQ (SEQ ID NO: 160), TAVYQ (SEQ ID NO: 161), TNVHQ (SEQ ID NO: 162), ATVHQ (SEQ ID NO: 163), STVYQ (SEQ ID NO: 164), TIVHQ (SEQ ID NO: 165), AIVYQ (SEQ ID NO: 166), TTVFQ (SEQ ID NO: 167), AAVFQ (SEQ ID NO: 168), GTVHQ (SEQ ID NO: 169), ASVHQ (SEQ ID NO: 170), TAVFQ (SEQ ID NO: 171), ATVFQ (SEQ ID NO: 172), AAAHQ (SEQ ID NO: 173), VVVYQ (SEQ ID NO: 174), GTVFQ (SEQ ID NO: 175), TAVHQ (SEQ ID NO: 176), ITVHQ (SEQ ID NO: 177), ITAHQ (SEQ ID NO: 178), VTVHQ (SEQ ID NO: 179); AAVHQ (SEQ ID NO: 180), GTVYQ (SEQ ID NO: 181), TTVLQ (SEQ ID NO: 182), TTTHQ (SEQ ID NO: 183), または TTDYQ (SEQ ID NO: 184)

でもよい。

【０２４８】

本開示は、(a)(i)SEQ ID NO:734またはSEQ ID NO:735、(ii)SEQ ID NO:736またはSEQ ID NO:737、(iii)SEQ ID NO:738またはSEQ ID NO:739、(iv)SEQ ID NO:740またはSEQ ID NO:741、(v)SEQ ID NO:742またはSEQ ID NO:743、(vi)SEQ ID NO:744またはSEQ ID NO:745、(vii)SEQ ID NO:746またはSEQ ID NO:747、および(viii)SEQ ID NO:748またはSEQ ID NO:749からなる群より選択されるアミノ酸配列;ならびに(b)極めて長いCDR3を含む重鎖可変領域を含むヒト化抗体またはその結合断片であって、極めて長いCDR3が$(X^aX^b)_z$モチーフを含み、X^aが任意のアミノ酸残基であり、X^bが、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、トリプトファン(W)、およびヒスチジン(H)からなる群より選択される芳香族アミノ酸であり、zが1～4である、ヒト化抗体またはその結合断片を提供する。一部の態様において、$(X^aX^b)_z$モチーフは、

CYTYNYEF
(SEQ ID NO: 217), HYTYTYDF (SEQ ID NO: 218), HYTYTYEW (SEQ ID NO: 219), KHRYTYEW (SEQ ID NO: 220), NYIYKYSF (SEQ ID NO: 221), PYIYTYQF (SEQ ID NO: 222), SFTYTYEW (SEQ ID NO: 223), SYIYIYQW (SEQ ID NO: 224), SYNYTYSW (SEQ ID NO: 225), SYSYSYEY (SEQ ID NO: 226), SYTYNYDF (SEQ ID NO: 227), SYTYNYEW (SEQ ID NO: 228), SYTYNYQF (SEQ ID NO: 229), SYVWTHNF (SEQ ID NO: 230), TYKYVYEW (SEQ ID NO: 231), TYTYTYEF (SEQ ID NO: 232), TYTYTYEW (SEQ ID NO: 233), VFTYTYEF (SEQ ID NO: 234), AYTYEW (SEQ ID NO: 235), DYIYTY (SEQ ID NO: 236), IHSYEF (SEQ ID NO: 237), SFTYEF (SEQ ID NO: 238), SHSYEF (SEQ ID NO: 239), THTYEF (SEQ ID NO: 240), TWTYEF (SEQ ID NO: 241), TYNYEW (SEQ ID NO: 242), TYSYEF (SEQ ID NO: 243), TYSYEH (SEQ ID NO: 244), TYTYDF (SEQ ID NO: 245), TYTYEF (SEQ ID NO: 246), TYTYEW (SEQ ID NO: 247), AYEF (SEQ ID NO: 248), AYSF (SEQ ID NO: 249), AYSY (SEQ ID NO: 250), CYSF (SEQ ID NO: 251), DYTY (SEQ ID NO: 252), KYEH (SEQ ID NO: 253), KYEW (SEQ ID NO: 254), MYEF (SEQ ID NO: 255), NWIY (SEQ ID NO: 256), NYDY (SEQ ID NO: 257), NYQW (SEQ ID NO: 258), NYSF (SEQ ID NO: 259), PYEW (SEQ ID NO: 260), RYNW (SEQ ID NO: 261), RYTY (SEQ ID NO: 262), SYEF (SEQ ID NO: 263), SYEH (SEQ ID NO: 264), SYEW (SEQ ID NO: 265), SYKW (SEQ ID NO: 266), SYTY (SEQ ID NO: 267), TYDF (SEQ ID NO: 268), TYEF (SEQ ID NO: 269), TYEW (SEQ ID NO: 270), TYQW (SEQ ID NO: 271), TYTY (SEQ ID NO: 272), またはVYEW (SEQ ID NO: 273)
でもよい。

【０２４９】

本開示は、(a)(i)SEQ ID NO:734またはSEQ ID NO:735、(ii)SEQ ID NO:736またはSEQ ID NO:737、(iii)SEQ ID NO:738またはSEQ ID NO:739、(iv)SEQ ID NO:740またはSEQ ID NO:741、(v)SEQ ID NO:742またはSEQ ID NO:743、(vi)SEQ ID NO:744またはSEQ ID NO:745、(vii)SEQ ID NO:746またはSEQ ID NO:747、および(viii)SEQ ID NO:748またはSEQ ID NO:749からなる群より選択されるアミノ酸配列;ならびに(b)極めて長いCDR3を含む重鎖可変領域を含むヒト化抗体またはその結合断片であって、極めて長いCDR3が$X^1X^2X^3X^4X^5X_n(X^aX^b)_z$モチーフを含み、$X^1$が、トレオニン(T)、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、またはバリン(V)であり、X^2が、セリン(S)、トレオニン(T)、プロリン(P)、イソロイシン(I)、アラニン(A)、バリン(V)、またはアスパラギン(N)であり、X^3が、バリン(V)、アラニン(A)、トレオニン(T)、またはアスパラギン酸(D)であり、X^4が、ヒスチジン(H)、トレオニン(T)、アルギニン(R)、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、またはロイシン(L)であり、X^5がグルタミン(Q)であり、X^aが任意のアミノ酸残基であり、X^bが、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、トリプトファン(W)、およびヒスチジン(H)からなる群より選択される芳香族アミノ酸であり、nが27～54であり、zが1～4である、ヒト化抗体またはその結合断片を提供する。

【０２５０】

本開示は、(a)(i)SEQ ID NO:734またはSEQ ID NO:735、(ii)SEQ ID NO:736またはSEQ ID NO:737、(iii)SEQ ID NO:738またはSEQ ID NO:739、(iv)SEQ ID NO:740またはSEQ ID NO:741、(v)SEQ ID NO:742またはSEQ ID NO:743、(vi)SEQ ID NO:744またはSEQ ID NO:745、(vii)SEQ ID NO:746またはSEQ ID NO:747、および(viii)SEQ ID NO:748またはSEQ ID NO:749からなる群より選択されるアミノ酸配列;ならびに(b)極めて長いCDR3を含む重鎖可変領域を含むヒト化抗体またはその結合断片であって、極めて長いCDR3が、X^1が、トレオ

ニン(T)、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、またはバリン(V)であり、X^2が、セリン(S)、トレオニン(T)、プロリン(P)、イソロイシン(I)、アラニン(A)、バリン(V)、またはアスパラギン(N)であり、X^3が、バリン(V)、アラニン(A)、トレオニン(T)、またはアスパラギン酸(D)であり、X^4が、ヒスチジン(H)、トレオニン(T)、アルギニン(R)、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、またはロイシン(L)であり、X^5がグルタミン(Q)である$CX^1X^2X^3X^4X^5$モチーフ、

$CX_{10}CX_5CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 41),

$CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{15}C$ (SEQ ID NO: 42), $CX_{11}CXCX_5C$ (SEQ ID NO: 43), $CX_{11}CX_5CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 44), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{13}C$ (SEQ ID NO: 45), $CX_{10}CX_5CXCX_4CX_8C$ (SEQ ID NO: 46), $CX_{10}CX_6CX_6CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 47), $CX_{10}CX_4CX_7CXCX_8C$ (SEQ ID NO: 48), $CX_{10}CX_4CX_7CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 49), $CX_{13}CX_8CX_8C$ (SEQ ID NO: 50), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 51), $CX_{10}CX_5CX_5C$ (SEQ ID NO: 52), $CX_{10}CX_5CX_6CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 53), $CX_{10}CX_6CX_5CX_7CX_9C$ (SEQ ID NO: 54), $CX_9CX_7CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 55), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_9C$ (SEQ ID NO: 56), $CX_{10}CXCX_4CX_5CX_{11}C$ (SEQ ID NO: 57), $CX_7CX_3CX_6CX_5CXCX_5CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 58), $CX_{10}CXCX_4CX_5CXCX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 59), $CX_{16}CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 60), $CX_6CX_4CXCX_4CX_5C$ (SEQ ID NO: 61), $CX_{11}CX_4CX_5CX_6CX_3C$ (SEQ ID NO: 62), $CX_8CX_2CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 63), $CX_{10}CX_5CX_5CXCX_{10}C$ (SEQ ID NO: 64), $CX_{10}CXCX_6CX_4CXC$ (SEQ ID NO: 65), $CX_{10}CX_5CX_5CXCX_2C$ (SEQ ID NO: 66), $CX_{14}CX_2CX_3CXCXC$ (SEQ ID NO: 67), $CX_{15}CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 68), $CX_4CX_6CX_9CX_2CX_{11}C$ (SEQ ID NO: 69), $CX_6CX_4CX_5CX_5CX_{12}C$ (SEQ ID NO: 70), $CX_7CX_3CXCXCX_4CX_5CX_9C$ (SEQ ID NO: 71), $CX_{10}CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 72), $CX_7CX_3CX_5CX_5CX_9C$ (SEQ ID NO: 73), $CX_7CX_5CXCX_2C$ (SEQ ID NO: 74), $CX_{10}CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 75), $CX_{10}CX_3CX_3CX_5CX_7CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 76), $CX_{10}CX_4CX_5CX_{12}CX_2C$ (SEQ ID NO: 77), $CX_{12}CX_4CX_5CXCXCX_9CX_3C$ (SEQ ID NO: 78), $CX_{12}CX_4CX_5CX_{12}CX_2C$ (SEQ ID NO: 79), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{11}C$ (SEQ ID NO: 80), $CX_{16}CX_5CXCXCX_{14}C$ (SEQ ID NO: 81), $CX_{10}CX_5CXCX_8CX_6C$ (SEQ ID NO: 82), $CX_{12}CX_4CX_5CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 83), $CX_{12}CX_5CX_5CXCX_8C$ (SEQ ID NO: 84), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_4CXCX_9C$ (SEQ ID NO: 85), $CX_{11}CX_4CX_5CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 86), $CX_{10}CX_6CX_5CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 87), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_8C$ (SEQ ID NO: 88), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_3CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 89), $CX_{10}CX_6CX_5CX_3CX_8C$ (SEQ ID NO: 90), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_2CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 91), $CX_7CX_6CX_3CX_3CX_9C$ (SEQ ID NO: 92), $CX_9CX_8CX_5CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 93), $CX_{10}CX_2CX_2CX_7CXCX_{11}CX_5C$ (SEQ ID NO: 94),および$CX_{10}CX_6CX_5CXCX_2CX_8CX_4C$ (SEQ ID NO: 95)

からなる群より選択されるシステインモチーフ、ならびにX^aが任意のアミノ酸残基であり、X^bが、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、トリプトファン(W)、およびヒスチジン(H)からなる群より選択される芳香族アミノ酸であり、zが1～4である$(X^aX^b)_z$モチーフを含む、ヒト化抗体またはその結合断片を提供する。

【０２５１】

本開示は、(a)(i)SEQ ID NO:734またはSEQ ID NO:735、(ii)SEQ ID NO:736またはSEQ ID NO:737、(iii)SEQ ID NO:738またはSEQ ID NO:739、(iv)SEQ ID NO:740またはSEQ ID N

O:741、(v)SEQ ID NO:742またはSEQ ID NO:743、(vi)SEQ ID NO:744またはSEQ ID NO:745、(vii)SEQ ID NO:746またはSEQ ID NO:747、および(viii)SEQ ID NO:748またはSEQ ID NO:749からなる群より選択されるアミノ酸配列;ならびに(b)極めて長いCDR3を含む重鎖可変領域を含むヒト化抗体またはその結合断片であって、極めて長いCDR3が、X^1が、トレオニン(T)、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、またはバリン(V)であり、X^2が、セリン(S)、トレオニン(T)、プロリン(P)、イソロイシン(I)、アラニン(A)、バリン(V)、またはアスパラギン(N)であり、X^3が、バリン(V)、アラニン(A)、トレオニン(T)、またはアスパラギン酸(D)であり、X^4が、ヒスチジン(H)、トレオニン(T)、アルギニン(R)、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、またはロイシン(L)であり、X^5がグルタミン(Q)である$CX^1X^2X^3X^4X^5$モチーフ;

$CCX_3CXCX_3CX_2CCXCX_5CX_9CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 96), $CX_6CX_2CX_5CX_4CCXCX_4CX_6CXC$ (SEQ ID NO: 97), $CX_7CXCX_5CX_4CCCX_4CX_6CXC$ (SEQ ID NO: 98), $CX_9CX_3CXCX_2CXCCCX_6CX_4C$ (SEQ ID NO: 99), $CX_5CX_3CXCX_4CX_4CCX_{10}CX_2CC$ (SEQ ID NO: 100), $CX_5CXCX_1CXCX_3CCX_3CX_4CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 101), $CX_9CCCX_3CX_4CCCX_5CX_6C$ (SEQ ID NO: 102), $CCX_8CX_5CX_4CX_3CX_4CCXCX_1C$ (SEQ ID NO: 103), $CCX_6CCX_5CCCX_4CX_4CX_{12}C$ (SEQ ID NO: 104), $CX_6CX_2CX_3CCCX_4CX_5CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 105), $CX_3CX_5CX_6CX_4CCXCX_5CX_4CXC$ (SEQ ID NO: 106), $CX_4CX_4CCX_4CX_4CXCX_{11}CX_2CXC$ (SEQ ID NO: 107), $CX_5CX_2CCX_5CX_4CCX_3CCX_7C$ (SEQ ID NO: 108), $CX_5CX_5CX_3CX_2CXCCX_4CX_7CXC$ (SEQ ID NO: 109), $CX_3CX_7CX_3CX_4CCXCX_2CX_5CX_2C$ (SEQ ID NO: 110), $CX_9CX_3CXCX_4CCX_5CCCX_6C$ (SEQ ID NO: 111), $CX_9CX_3CXCX_2CXCCX_6CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 112), $CX_8CCXCX_3CCX_3CXCX_3CX_4C$ (SEQ ID NO: 113), $CX_9CCX_4CX_2CXCCXCX_4CX_3C$ (SEQ ID NO: 114), $CX_{10}CXCX_3CX_2CXCCX_4CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 115), $CX_9CXCX_3CX_2CXCCX_4CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 116), $CX_6CCXCX_5CX_4CCXCX_5CX_2C$ (SEQ ID NO: 117), $CX_6CCXCX_3CXCCX_3CX_4CC$ (SEQ ID NO: 118), $CX_6CCXCX_3CXCX_2CXCX_4CX_8C$ (SEQ ID NO: 119), $CX_4CX_2CCX_3CXCX_4CCX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 120), $CX_3CX_5CX_3CCCX_4CX_9C$ (SEQ ID NO: 121), $CCX_9CX_3CXCCX_3CX_5C$ (SEQ ID NO: 122), $CX_9CX_2CX_3CX_4CCX_4CX_5C$ (SEQ ID NO: 123), $CX_9CX_7CX_4CCXCX_7CX_3C$ (SEQ ID NO: 124), $CX_9CX_3CCCX_{10}CX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 125), $CX_3CX_5CX_5CX_4CCX_{10}CX_6C$ (SEQ ID NO: 126), $CX_9CX_5CX_4CCXCX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 127), $CX_7CXCX_6CX_4CCCX_{10}C$ (SEQ ID NO: 128), $CX_8CX_2CX_4CCX_4CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 129), $CX_7CX_5CXCX_4CCX_7CX_4C$ (SEQ ID NO: 130), $CX_{11}CX_3CX_4CCCX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 131), $CX_2CX_3CX_4CCX_4CX_5CX_{15}C$ (SEQ ID NO: 132), $CX_9CX_5CX_4CCX_7C$ (SEQ ID NO: 133), $CX_9CX_7CX_3CX_2CX_6C$ (SEQ ID NO: 134), $CX_9CX_5CX_4CCX_{14}C$ (SEQ ID NO: 135), $CX_9CX_5CX_4CCX_8C$ (SEQ ID NO: 136), $CX_9CX_6CX_4CCXC$ (SEQ ID NO: 137), $CX_5CCX_7CX_4CX_{12}$ (SEQ ID NO: 138), $CX_{10}CX_3CX_4CCX_4C$ (SEQ ID NO: 139), $CX_9CX_4CCX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 140), $CX_{10}CX_3CX_4CX_7CXC$ (SEQ ID NO: 141), $CX_7CX_7CX_2CX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 142), $CX_9CX_4CX_4CCX_6C$ (SEQ ID NO: 143), $CX_7CXCX_3CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 144), $CX_7CXCX_4CXCX_4C$ (SEQ ID NO: 145), $CX_9CX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 146), $CX_3CX_6CX_8C$ (SEQ ID NO: 147), $CX_{10}CXCX_4C$ (SEQ ID NO: 148), $CX_{10}CCX_4C$ (SEQ ID NO: 149), $CX_{15}C$ (SEQ ID NO: 150), $CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 151), および CX_9C (SEQ ID NO: 152)

からなる群より選択されるシステインモチーフ;ならびにX^aが任意のアミノ酸残基であり、X^bが、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、トリプトファン(W)、およびヒスチジン(H)からなる群より選択される芳香族アミノ酸であり、zが1～4である$(X^aX^b)_z$モチーフを含む、ヒト化抗体またはその結合断片を提供する。

【０２５２】

本開示はまた、極めて長いCDR3をコードする核酸配列をヒト可変領域フレームワーク(FR)配列をコードする核酸配列と組み合わせて、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体をコードする核酸を作製する段階;および極めて長いCDR3を含むヒト化抗体をコードする核酸を発

現させて、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体のライブラリーを生成する段階を含む、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体のライブラリーを生成する方法も提供する。

【０２５３】

本開示はまた、極めて長いCDR3をコードする核酸配列、ヒト可変領域フレームワーク(FR)配列をコードする核酸配列、および非抗体配列をコードする核酸配列を組み合わせて、極めて長いCDR3および非抗体配列を含むヒト化抗体またはその結合断片をコードする核酸を作製する段階、ならびに極めて長いCDR3および非抗体配列を含むヒト化抗体またはその結合断片をコードする核酸を発現させて、極めて長いCDR3および非抗体配列を含むヒト化抗体またはその結合断片のライブラリーを生成する段階を含む、非抗体配列を含む極めて長いCDR3を含むヒト化抗体またはその結合断片のライブラリーを生成する方法も提供する。

【０２５４】

本開示はまた、非抗体配列を含む極めて長いCDR3を含むヒト化抗体またはその結合断片のライブラリーも提供する。

【０２５５】

本開示はまた、ヒト可変領域フレームワーク(FR)配列、ならびに極めて長いCDR3およびシステインモチーフをコードする核酸配列を組み合わせる段階;異なるアミノ酸残基をコードするヌクレオチドになるように、システインモチーフにある1つまたは複数のシステイン残基間に配置された1つまたは複数のアミノ酸残基をコードする核酸配列に対して1つまたは複数のヌクレオチド変化を導入して、極めて長いCDR3、およびシステインドメインにある1つまたは複数のシステイン残基間に導入された1つまたは複数のヌクレオチド変化を有するシステインモチーフを含むヒト化抗体またはその結合断片をコードする核酸を作製する段階;ならびに極めて長いCDR3、およびシステインドメインにある1つまたは複数のシステイン残基間に導入された1つまたは複数のヌクレオチド変化を有するシステインモチーフを含むヒト化抗体またはその結合断片をコードする核酸を発現させて、極めて長いCDR3、およびシステインドメインにある1つまたは複数のシステイン残基間に導入された1つまたは複数のヌクレオチド変化を有するシステインモチーフを含むヒト化抗体またはその結合断片のライブラリーを生成する段階を含む、システインモチーフを含む極めて長いCDR3を含むヒト化抗体またはその結合断片のライブラリーを生成する方法も提供する。

【０２５６】

本開示はまた、システインモチーフを含む極めて長いCDR3を含むヒト化抗体またはその結合断片のライブラリーであって、前記抗体または結合断片が、システインモチーフにあるシステイン残基間に配置されたアミノ酸残基の1つまたは複数の置換を含むライブラリーも提供する。

【０２５７】

本開示はまた、ヒト可変領域フレームワーク(FR)配列をコードする核酸配列およびウシの極めて長いCDR3をコードする核酸を組み合わせる段階、ならびにヒト可変領域フレームワーク(FR)配列をコードする核酸およびウシの極めて長いCDR3をコードする核酸を発現させて、ウシの極めて長いCDR3を含むヒト化抗体またはその結合断片のライブラリーを生成する段階を含む、ウシの極めて長いCDR3を含むヒト化抗体またはその結合断片のライブラリーを生成する方法も提供する。

【０２５８】

タンパク質

本開示は、(a)(i)SEQ ID NO:734またはSEQ ID NO:735、(ii)SEQ ID NO:736またはSEQ ID NO:737、(iii)SEQ ID NO:738またはSEQ ID NO:739、(iv)SEQ ID NO:740またはSEQ ID NO:741、(v)SEQ ID NO:742またはSEQ ID NO:743、(vi)SEQ ID NO:744またはSEQ ID NO:745、(vii)SEQ ID NO:746またはSEQ ID NO:747、および(viii)SEQ ID NO:748またはSEQ ID NO:749からなる群より選択されるアミノ酸配列;ならびに(b)極めて長いCDR3配列を含む重鎖可変領域を含むヒト化抗体を提供する。

【０２５９】

一態様において、本開示は、CDR3が35アミノ酸長もしくはそれ以上(例えば、40もしくはそれ以上、45もしくはそれ以上、50もしくはそれ以上、55もしくはそれ以上、60もしくはそれ以上)である、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体を提供する。このようなヒト化抗体は、極めて長いCDR3の中に少なくとも3個もしくはそれ以上のシステイン残基(例えば、4個もしくはそれ以上、6個もしくはそれ以上、8個もしくはそれ以上)を含んでもよい。

【０２６０】

別の態様において、本開示は、CDR3が35アミノ酸長もしくはそれ以上であり、かつ非ヒト配列に由来するかまたは基づく、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体を提供する。極めて長いCDR3配列は、ボース・タウルス(Bos taurus)などの反芻動物を含む、極めて長いCDR3抗体を天然に産生する任意の種に由来してもよい。

【０２６１】

別の態様において、本開示は、CDR3が35アミノ酸長もしくはそれ以上であり、CDR3が非抗体配列に由来する、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体を提供する。非抗体配列は、ケモカイン、増殖因子、ペプチド、サイトカイン、細胞表面タンパク質、血清タンパク質、毒素、細胞外マトリックスタンパク質、凝固因子、分泌タンパク質などを含むが、これに限定されない任意のタンパク質ファミリーに由来してもよい。非抗体配列はヒト由来でも非ヒト由来でもよく、ペプチドまたはドメインなどの非抗体タンパク質の一部を含んでもよい。極めて長いCDR3の非抗体配列は、アミノ酸変化(例えば、置換)、挿入、または欠失を含む、その天然配列からの変異を含有してもよい。ヒト化抗体内にある非抗体配列の正しい折り畳みが容易になるか、または強化されるように、非抗体配列間の接合部において、さらなるアミノ酸が操作されてもよい。

【０２６２】

別の態様において、本開示は、CDR3が35アミノ酸長もしくはそれ以上であり、CDR3が、例えば、4個もしくはそれ以上、6個もしくはそれ以上、および8個もしくはそれ以上を含む少なくとも3個もしくはそれ以上のシステイン残基を含む、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体を提供する。

【０２６３】

別の態様において、本開示は、CDR3が35アミノ酸長もしくはそれ以上であり、CDR3が少なくとも3個もしくはそれ以上のシステイン残基を含み、極めて長いCDR3が多重特異性抗体の一成分である、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体を提供する。多重特異性抗体は二重特異性でもよく、さらなる結合価を含んでもよい。

【０２６４】

別の態様において、本開示は、CDR3が35アミノ酸長もしくはそれ以上であり、CDR3が少なくとも3個もしくはそれ以上のシステイン残基を含み、部分的にヒトである極めて長いCDR3がイムノコンジュゲートの一成分である、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体を提供する。

【０２６５】

別の態様において、本開示は、CDR3が35アミノ酸長もしくはそれ以上であり、CDR3が少なくとも3個もしくはそれ以上のシステイン残基を含む、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体であって、膜貫通タンパク質標的に結合する、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体を提供する。このような膜貫通標的は、GPCR、イオンチャンネル、輸送体、および細胞表面受容体を含んでもよいが、これに限定されない。

【０２６６】

遺伝子配列

本開示は、(a)(i)SEQ ID NO:734またはSEQ ID NO:735、(ii)SEQ ID NO:736またはSEQ ID NO:737、(iii)SEQ ID NO:738またはSEQ ID NO:739、(iv)SEQ ID NO:740またはSEQ ID NO:741、(v)SEQ ID NO:742またはSEQ ID NO:743、(vi)SEQ ID NO:744またはSEQ ID NO:745、(vii)SEQ ID NO:746またはSEQ ID NO:747、および(viii)SEQ ID NO:748またはSEQ ID NO:749からなる群より選択されるアミノ酸配列;ならびに(b)極めて長いCDR3配列を含む重鎖可変領域を含むヒト化抗体をコードする遺伝子配列(例えば、遺伝子、核酸、ポリヌク

レオチド)を提供する。

【０２６７】

本開示はまた、極めて長いCDR3をコードする遺伝子配列(例えば、遺伝子、核酸、ポリヌクレオチド)も提供する。

【０２６８】

一態様において、本開示は、CDR3が35アミノ酸長もしくはそれ以上(例えば、40もしくはそれ以上、45もしくはそれ以上、50もしくはそれ以上、55もしくはそれ以上、60もしくはそれ以上)である、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体をコードする遺伝子配列を提供する。このようなヒト化抗体は、極めて長いCDR3の中に少なくとも3個もしくはそれ以上のシステイン残基(例えば、4個もしくはそれ以上、6個もしくはそれ以上、8個もしくはそれ以上)を含んでもよい。

【０２６９】

別の態様において、本開示は、CDR3が35アミノ酸長もしくはそれ以上であり、かつ非ヒト配列に由来するかまたは基づく、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体をコードする遺伝子配列を提供する。極めて長いCDR3をコードする遺伝子配列は、ボース・タウルスなどの反芻動物を含む、極めて長いCDR3抗体を天然に産生する任意の種に由来してもよい。

【０２７０】

別の態様において、本開示は、CDR3が35アミノ酸長もしくはそれ以上であり、CDR3が非抗体タンパク質配列に由来する、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体をコードする遺伝子配列を提供する。非抗体タンパク質配列をコードする遺伝子配列は、ケモカイン、増殖因子、ペプチド、サイトカイン、細胞表面タンパク質、血清タンパク質、毒素、細胞外マトリックスタンパク質、凝固因子、分泌タンパク質などを含むが、これに限定されない任意のタンパク質ファミリーに由来してもよい。非抗体タンパク質配列はヒト由来でも非ヒト由来でもよく、ペプチドまたはドメインなどの非抗体タンパク質の一部を含んでもよい。極めて長いCDR3の非抗体タンパク質配列は、アミノ酸変化(例えば、置換)、挿入、または欠失を含む、その天然配列からの変異を含有してもよい。ヒト化抗体内にある非抗体配列の正しい折り畳みが容易になるか、または強化されるように、非抗体配列間の接合部において、さらなるアミノ酸が操作されてもよい。

【０２７１】

別の態様において、本開示は、CDR3が35アミノ酸長もしくはそれ以上であり、CDR3が、例えば、4個もしくはそれ以上、6個もしくはそれ以上、8個もしくはそれ以上を含む少なくとも3個もしくはそれ以上のシステイン残基を含む、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体をコードする遺伝子配列を提供する。

【０２７２】

別の態様において、本開示は、CDR3が35アミノ酸長もしくはそれ以上であり、CDR3が少なくとも3個もしくはそれ以上のシステイン残基を含み、極めて長いCDR3が多重特異性抗体の一成分である、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体をコードする遺伝子配列を提供する。多重特異性抗体は二重特異性でもよく、さらなる価を含んでもよい。

【０２７３】

別の態様において、本開示は、CDR3が35アミノ酸長もしくはそれ以上であり、CDR3が少なくとも3個もしくはそれ以上のシステイン残基を含み、極めて長いCDR3がイムノコンジュゲートの一成分である、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体をコードする遺伝子配列を提供する。

【０２７４】

別の態様において、本開示は、CDR3が35アミノ酸長もしくはそれ以上であり、CDR3が少なくとも3個もしくはそれ以上のシステイン残基を含む、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体であって、膜貫通タンパク質標的に結合する、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体をコードする遺伝子配列を提供する。このような膜貫通標的は、GPCR、イオンチャンネル、輸送体、および細胞表面受容体を含んでもよいが、これに限定されない。

【０２７５】

ライブラリーおよびアレイ

本開示は、極めて長いCDR3配列を含むヒト化抗体のコレクション、ライブラリー、およびアレイを提供する。

【０２７６】

一態様において、本開示は、極めて長いCDR3配列を含むヒト化抗体のライブラリーまたはアレイであって、ライブラリーまたはアレイの少なくとも2つのメンバーが極めて長いCDR3配列にあるシステインの少なくとも1つの位置において異なる、ライブラリーまたはアレイを提供する。構造多様性は、極めて長いCDR3配列にある異なる数のシステイン(例えば、少なくとも3個もしくはそれ以上のシステイン残基、例えば、4個もしくはそれ以上、6個もしくはそれ以上、および8個もしくはそれ以上)によって、ならびに/または異なるジスルフィド結合形成によって、従って、異なるループ構造によって強化されてもよい。

【０２７７】

別の態様において、本開示は、極めて長いCDR3配列を含むヒト化抗体のライブラリーまたはアレイであって、ライブラリーまたはアレイの少なくとも2つのメンバーが、極めて長いCDR3にあるシステイン間に配置された少なくとも1つのアミノ酸の点で異なる、ライブラリーまたはアレイを提供する。この点に関して、ライブラリーまたはアレイのメンバーはCDR3の同じ位置にシステインを含有してもよく、その結果として全体的な構造上の折り畳みが似ているが、アミノ酸側鎖が異なることで微妙な差異が引き起こされる。このようなライブラリーまたはアレイは親和性成熟に有用であり得る。

【０２７８】

別の態様において、本開示は、極めて長いCDR3配列を含むヒト化抗体のライブラリーまたはアレイであって、（例えば、35アミノ酸長もしくはそれ以上、例えば、40もしくはそれ以上、45もしくはそれ以上、50もしくはそれ以上、55もしくはそれ以上、および60もしくはそれ以上の)極めて長いCDR3配列の少なくとも2つの長さが異なる、ライブラリーまたはアレイを提供する。アミノ酸およびシステインの含有量はライブラリーまたはアレイのメンバー間で変化してもよく、変化しなくてもよい。極めて長いCDR3配列の長さが異なるために、長さが変化した結果として、例えば、立体的な違いによるものを含めて独特の結合部位が生じ得る。

【０２７９】

別の態様において、本開示は、極めて長いCDR3配列を含むヒト化抗体のライブラリーまたはアレイであって、ライブラリーの少なくとも2つのメンバーが、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体を構築するのに用いられるヒトフレームワークの点で異なる、ライブラリーまたはアレイを提供する。

【０２８０】

別の態様において、本開示は、極めて長いCDR3配列を含むヒト化抗体のライブラリーまたはアレイであって、ライブラリーまたはアレイの少なくとも2つのメンバーが、極めて長いCDR3の一部を含む非抗体タンパク質配列を有する点で異なる、ライブラリーまたはアレイを提供する。このようなライブラリーまたはアレイは、ケモカイン、増殖因子、ペプチド、サイトカイン、細胞表面タンパク質、血清タンパク質、毒素、細胞外マトリックスタンパク質、凝固因子、分泌タンパク質、ウイルスタンパク質または細菌タンパク質などを含む複数の非抗体タンパク質配列を含有してもよい。非抗体タンパク質配列はヒト由来でも非ヒト由来でもよく、ペプチドまたはドメインなどの非抗体タンパク質の一部で構成されてもよい。極めて長いCDR3の非抗体タンパク質配列は、アミノ酸変化(例えば、置換)、挿入、または欠失を含む、その天然配列からの変異を含有してもよい。ヒト化抗体内にある非抗体配列の正しい折り畳みが容易になるか、または強化されるように、極めて長いCDR3内にある非抗体配列間の接合部において、さらなるアミノ酸が操作されてもよい。

【０２８１】

本開示のライブラリーまたはアレイは、当技術分野において周知のいくつかの形式をとってもよい。ライブラリーまたはアレイはアドレス指定可能な(addressable)ライブラリーでもよく、アドレス指定可能なアレイでもよい。ライブラリーまたはアレイはディスプ

レイ形式をとってもよく、例えば、抗体配列は、ファージ、リボソーム、mRNA、酵母、または哺乳動物細胞の表面に発現されてもよい。

【０２８２】

細胞

本開示は、(a)(i)SEQ ID NO:734またはSEQ ID NO:735、(ii)SEQ ID NO:736またはSEQ ID NO:737、(iii)SEQ ID NO:738またはSEQ ID NO:739、(iv)SEQ ID NO:740またはSEQ ID NO:741、(v)SEQ ID NO:742またはSEQ ID NO:743、(vi)SEQ ID NO:744またはSEQ ID NO:745、(vii)SEQ ID NO:746またはSEQ ID NO:747、および(viii)SEQ ID NO:748またはSEQ ID NO:749からなる群より選択されるアミノ酸配列;ならびに(b)極めて長いCDR3配列を含む重鎖可変領域を含むヒト化抗体をコードする遺伝子配列を含む細胞を提供する。

【０２８３】

一態様において、本開示は、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体を発現する細胞を提供する。細胞は原核生物でも真核生物でもよく、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体は細胞表面に発現されてもよく、培地に分泌されてもよい。細胞表面にディスプレイされた場合、ヒト化抗体は、プラスミド膜への挿入のためのモチーフ、例えば、C末端にある膜貫通ドメインまたは脂質結合部位を選択的に含有する。細菌細胞の場合、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体はペリプラズムに分泌されてもよい。細胞が真核生物である場合、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体をコードする遺伝子配列で一過的にトランスフェクトされてもよい。または、当業者に周知の方法によって、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体をコードする遺伝子配列をトランスフェクトするか、または導入することによって、安定細胞株または安定プールが作り出されてもよい。細胞は、蛍光標識細胞分取(FACS)によって、または薬物耐性をコードする遺伝子を選択することで選択することができる。極めて長いCDR3配列を含むヒト化抗体を産生するのに有用な細胞には、大腸菌(E.coli)のような原核細胞、酵母サッカロマイセス・セレビシエ(Saccharomyces cerevisiae)およびピキア・パストリス(Pichia pastoris)、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞のような真核細胞、COS-1のようなサル細胞、またはHEK-293、HeLa、SP-1のようなヒト細胞が含まれる。

【０２８４】

ヒト化方法

本開示は、非ヒトCDR3に由来する極めて長いCDR3配列を操作してヒトフレームワークに入れる段階を含む、極めて長いCDR3配列を含むヒト化抗体を作製するための方法を提供する。ヒトフレームワークは生殖系列由来でもよく、非生殖系列(例えば、変異した、または親和性成熟した)配列に由来してもよい。ヒトフレームワークおよび非ヒトの極めて長いCDR3を含有するハイブリッドDNA配列を生成するために、本明細書において開示された技法を含む当業者に周知の遺伝子工学技法が用いられ得る。7つのファミリーの1つに由来するV領域遺伝子によってコードされ得るヒト抗体と異なり、極めて長いCDR3配列を生じるウシ抗体は、ヒトVH4ファミリーと最も相同だと考えられ得る1つのV領域ファミリーを利用するように見える。ウシに由来する極めて長いCDR3配列がヒト化されて、極めて長いCDR3を含む抗体を産生する好ましい態様では、VH4ファミリーに由来するヒトV領域配列がウシ由来の極めて長いCDR3配列と遺伝子融合されてもよい。ヒト抗体遺伝子座にある例示的なVH4生殖系列遺伝子配列を図5A(例えば、SEQ ID NO:31～34;および368～371)に示した。

【０２８５】

本開示はまた、非ヒトの極めて長いCDR3(ULCDR3)をコードする核酸配列をヒト可変領域フレームワーク(FR)配列をコードする核酸配列と遺伝的に組み合わせる段階を含む、抗体可変領域をヒト化する方法も提供する。FR1、FR2、およびFR3を含むヒトフレームワーク配列を選択する段階;CDR1配列を選択する段階;CDR2配列を選択する段階;極めて長いCDR3配列を選択する段階;および配列をFR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-ULCDR3として組み合わせる段階を含む、ヒト化抗体可変領域配列を作製する方法も提供される。FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3をコードする配列を含むヒト抗体可変領域配列を選択する段階;非ヒトの極めて長いCDR3(ULCDR3)をコードする配列を選択する段階;および段階(a)のヒト配列を段階(b)の非ヒト

配列とインフレームに遺伝子融合して、FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-ULCDR3をコードする配列を生成する段階を含む、ヒト化抗体可変領域配列を作製する方法も提供される。

【０２８６】

一態様において、本開示は、例えば、以下の段階によって達成され得るような、ヒトVH4フレームワーク配列とウシ由来の極めて長いCDR3との融合を提供する。第1に、V領域遺伝子配列の2番目のシステインが、2番目のシステインをコードするヌクレオチド配列と一緒に同定される。一般的に、2番目のシステインは、CDR3の2残基上流(N末端側)において、フレームワークとCDR3との境界を示す。第2に、同じようにCDR3の2残基上流(N末端側)を示す、ウシ由来V領域配列中にある2番目のシステインが同定される。第3に、ヒトV領域をコードする遺伝物質が極めて長いCDR3をコードする遺伝子配列と組み合わされる。このように、極めて長いCDR3配列がヒトV領域配列とインフレームに配置されている遺伝子融合がなされてもよい。好ましくは、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体のアミノ酸組成は可能な限りヒトに近い。任意で、J領域配列がウシ由来配列からヒト配列に変異されてもよい。また任意で、ヒト化重鎖がヒト軽鎖と対形成されてもよい。

【０２８７】

別の態様において、本開示は、ヒトの極めて長いCDR3重鎖と非ヒト軽鎖との対形成を提供する。

【０２８８】

別の態様において、本開示は、極めて長いCDR3を含むヒト化重鎖とヒト軽鎖との対形成を提供する。好ましくは、軽鎖は、ウシの極めて長いCDR3重鎖と対形成することが知られているウシ軽鎖と相同である。例示的なウシ軽鎖を図7A(例えば、SEQ ID NO:36～39;および373～376)に示した。

【０２８９】

ライブラリー方法

本開示は、(a)(i)SEQ ID NO:734またはSEQ ID NO:735、(ii)SEQ ID NO:736またはSEQ ID NO:737、(iii)SEQ ID NO:738またはSEQ ID NO:739、(iv)SEQ ID NO:740またはSEQ ID NO:741、(v)SEQ ID NO:742またはSEQ ID NO:743、(vi)SEQ ID NO:744またはSEQ ID NO:745、(vii)SEQ ID NO:746またはSEQ ID NO:747、および(viii)SEQ ID NO:748またはSEQ ID NO:749からなる群より選択されるアミノ酸配列;ならびに(b)極めて長いCDR3配列を含む重鎖可変領域を含むヒト化抗体を含むライブラリーを作製するための方法を提供する。空間的にアドレス指定されたライブラリーのライブラリーを作製するための方法はWO2010/054007に記載されている。酵母、ファージ、大腸菌、または哺乳動物細胞においてライブラリーを作製する方法は当技術分野において周知である。

【０２９０】

本開示はまた、極めて長いCDR3配列を含むヒト化抗体のライブラリーをスクリーニングする方法も提供する。

【０２９１】

定義

「極めて長いCDR3」または「極めて長いCDR3配列」は本明細書において同義に用いられ、CDR3配列またはヒト抗体配列に由来しないCDR3配列を含む。極めて長いCDR3は、35アミノ酸長もしくはそれ以上、例えば、40アミノ酸長もしくはそれ以上、45アミノ酸長もしくはそれ以上、50アミノ酸長もしくはそれ以上、55アミノ酸長もしくはそれ以上、または60アミノ酸長もしくはそれ以上でもよい。極めて長いCDR3の長さは非抗体配列を含んでもよい。極めて長いCDR3は、例えば、インターロイキン配列、ホルモン配列、サイトカイン配列、毒素配列、リンフォカイン配列、増殖因子配列、ケモカイン配列、毒素配列、またはその組み合わせを含む非抗体配列を含んでもよい。好ましくは、極めて長いCDR3は重鎖CDR3(CDR-H3またはCDRH3)である。好ましくは、極めて長いCDR3は、反芻動物(例えば、ウシ)配列に由来するかまたは基づく配列である。好ましくは、極めて長いCDR3は、SEQ ID NO:498のアミノ酸配列、SEQ ID NO:499のアミノ酸配列、またはその両方を含む。または、もしくはさらに、極めて長いCDR3は、

(i) GSKHRLRDYFLYNE (SEQ ID NO: 501), GSKHRLRDYFLYN (SEQ ID NO: 502), GSKHRLRDYFLY (SEQ ID NO: 503), GSKHRLRDYFL (SEQ ID NO: 504), GSKHRLRDYF (SEQ ID NO: 505), GSKHRLRDY (SEQ ID NO: 506), またはGSKHRLRD (SEQ ID NO: 507) のいずれか1つ;(ii) EAGGPDYRNGYNY (SEQ ID NO: 508), EAGGPDYRNGYN (SEQ ID NO: 509), EAGGPDYRNGY (SEQ ID NO: 510), EAGGPDYRNG (SEQ ID NO: 511), EAGGPDYRN (SEQ ID NO: 512), EAGGPDYR (SEQ ID NO: 513), EAGGPDY (SEQ ID NO: 514), またはEAGGPD (SEQ ID NO: 515) のいずれか1つ; (iii) EAGGPIWHDDVKY (SEQ ID NO: 516), EAGGPIWHDDVK (SEQ ID NO: 517), EAGGPIWHDDV (SEQ ID NO: 518), EAGGPIWHDD (SEQ ID NO: 519), EAGGPIWHD (SEQ ID NO: 520), EAGGPIWH (SEQ ID NO: 521), EAGGPIW (SEQ ID NO: 522), またはEAGGPI (SEQ ID NO: 523) のいずれか1つ;(iv) GTDYTIDDQGI (SEQ ID NO: 524), GTDYTIDDQG (SEQ ID NO: 525), GTDYTIDDQ (SEQ ID NO: 526), GTDYTIDD (SEQ ID NO: 527), GTDYTID (SEQ ID NO: 528), またはGTDYTI (SEQ ID NO: 529) のいずれか1つ;あるいは(v) DKGDSDYDYNL (SEQ ID NO: 530), DKGDSDYDYN (SEQ ID NO: 531), DKGDSDYDY (SEQ ID NO: 532), DKGDSDYD (SEQ ID NO: 533), DKGDSDY (SEQ ID NO: 534), DKGDSD (SEQ ID NO: 535) のいずれか1つ

のアミノ酸配列を含む。または、もしくはさらに、極めて長いCDR3は、

(i) YGPNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 536), GPNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 537), PNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 538), NYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 539), YEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 540), またはEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 541) のいずれか1つ;(ii) YDFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 542), DFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 543), FYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 544), YDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 545), DGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 546), GYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 547), またはYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 548) のいずれか1つ; (iii) YDFNDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 549), DFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 550), FYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 551), YDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 552), DGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 553), またはGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 554) のいずれか1つ;(iv) QGIRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 555), GIRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 556), IRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 557), RYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 558), YQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 559), QGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 560), GSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 561), SGTFWYFDV (SEQ ID NO: 562), またはGTFWYFDV (SEQ ID NO: 563) のいずれか1つ;あるいは(v) YNLGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 564), NLGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 565), LGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 566), GYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 567), YSYFYYMDG (SEQ ID NO: 568), または SYFYYMDG (SEQ ID NO: 569) のいずれか1つ

のアミノ酸配列を含む。

または、もしくはさらに、極めて長いCDR3は、

(i) GSKHRLRDYFLYNE (SEQ ID NO: 501), GSKHRLRDYFLYN (SEQ ID NO: 502), GSKHRLRDYFLY (SEQ ID NO: 503), GSKHRLRDYFL (SEQ ID NO: 504), GSKHRLRDYF (SEQ ID NO: 505), GSKHRLRDY (SEQ ID NO: 506), またはGSKHRLRD (SEQ ID NO: 507) のいずれか1つ、および YGPNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 536), GPNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 537), PNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 538), NYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 539), YEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 540), またはEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 541) のいずれか1つ; (ii) EAGGPDYRNGYNY (SEQ ID NO: 508), EAGGPDYRNGYN (SEQ ID NO: 509), EAGGPDYRNGY (SEQ ID NO: 510), EAGGPDYRNG (SEQ ID NO: 511), EAGGPDYRN (SEQ ID NO: 512), EAGGPDYR (SEQ ID NO: 513), EAGGPDY (SEQ ID NO: 514), またはEAGGPD (SEQ ID NO: 515) のいずれか1つ、およびYDFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 542), DFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 543), FYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 544), YDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 545), DGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 546), GYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 547), またはYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 548) のいずれか1つ; (iii) EAGGPIWHDDVKY (SEQ ID NO: 516), EAGGPIWHDDVK (SEQ ID NO: 517), EAGGPIWHDDV (SEQ ID NO: 518), EAGGPIWHDD (SEQ ID NO: 519), EAGGPIWHD (SEQ ID NO: 520), EAGGPIWH (SEQ ID NO: 521), EAGGPIW (SEQ ID NO: 522), またはEAGGPI (SEQ ID NO: 523) のいずれか1つ、および YDFNDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 549), DFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 550), FYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 551), YDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 552), DGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 553), またはGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 554) のいずれか1つ; (iv) GTDYTIDDQGI (SEQ ID NO: 524), GTDYTIDDQG (SEQ ID NO: 525), GTDYTIDDQ (SEQ ID NO: 526), GTDYTIDD (SEQ ID NO: 527), GTDYTID (SEQ ID NO: 528), またはGTDYTI (SEQ ID NO: 529) のいずれか1つ、および QGIRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 555), GIRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 556), IRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 557), RYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 558), YQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 559), QGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 560), GSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 561), SGTFWYFDV (SEQ ID NO: 562), またはGTFWYFDV (SEQ ID NO: 563) のいずれか1つ; あるいは (v) YNLGYSYFYYMDG(SEQ ID NO: 564), NLGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 565), LGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 566), GYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 567), YSYFYYMDG (SEQ ID NO: 568), またはSYFYYMDG (SEQ ID NO: 569) のいずれか1つ、および YNLGYSYFYYMDG(SEQ ID NO: 564), NLGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 565), LGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 566), GYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 567), YSYFYYMDG (SEQ ID NO: 568), または SYFYYMDG (SEQ ID NO: 569) のいずれか1つ

のアミノ酸配列を含む。極めて長いCDR3は、少なくとも3個もしくはそれ以上のシステイン残基、例えば、4個もしくはそれ以上のシステイン残基、6個もしくはそれ以上のシステイン残基、8個もしくはそれ以上のシステイン残基、10個もしくはそれ以上のシステイン残基、または12個もしくはそれ以上のシステイン残基(例えば、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、またはそれ以上)を含んでもよい。極めて長いCDR3は、以下のモチーフ:システインモチーフ、$X^1X^2X^3X^4X^5$モチーフ、$CX^1X^2X^3X^4X^5$モチーフ、または$(X^aX^b)_z$モチーフの1つまたは複数を含んでもよい。「システインモチーフ」は、4個も

しくはそれ以上のシステイン残基、5個もしくはそれ以上のシステイン残基、6個もしくはそれ以上のシステイン残基、7個もしくはそれ以上のシステイン残基、8個もしくはそれ以上のシステイン残基、9個もしくはそれ以上のシステイン残基、10個もしくはそれ以上のシステイン残基、11個もしくはそれ以上のシステイン残基、または12個もしくはそれ以上のシステイン残基を含む3個もしくはそれ以上のシステイン残基を含む、極めて長いCDR3にあるアミノ酸残基のセグメントである。システインモチーフは、

$CX_{10}CX_5CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 41),
$CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{15}C$ (SEQ ID NO: 42), $CX_{11}CXCX_5C$ (SEQ ID NO: 43), $CX_{11}CX_5CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 44), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{13}C$ (SEQ ID NO: 45), $CX_{10}CX_5CXCX_4CX_8C$ (SEQ ID NO: 46), $CX_{10}CX_6CX_6CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 47), $CX_{10}CX_4CX_7CXCX_8C$ (SEQ ID NO: 48), $CX_{10}CX_4CX_7CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 49), $CX_{13}CX_8CX_8C$ (SEQ ID NO: 50), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 51), $CX_{10}CX_5CX_5C$ (SEQ ID NO: 52), $CX_{10}CX_5CX_6CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 53), $CX_{10}CX_6CX_5CX_7CX_9C$ (SEQ ID NO: 54), $CX_9CX_7CX_5CXCX_7C$ (SEQ ID NO: 55), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_9C$ (SEQ ID NO: 56), $CX_{10}CXCX_4CX_5CX_{11}C$ (SEQ ID NO: 57), $CX_7CX_3CX_6CX_5CXCX_5CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 58), $CX_{10}CXCX_4CX_5CXCX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 59), $CX_{16}CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 60), $CX_6CX_4CXCX_4CX_5C$ (SEQ ID NO: 61), $CX_{11}CX_4CX_5CX_6CX_3C$ (SEQ ID NO: 62), $CX_8CX_2CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 63), $CX_{10}CX_5CX_5CXCX_{10}C$ (SEQ ID NO: 64), $CX_{10}CXCX_6CX_4CXC$ (SEQ ID NO: 65), $CX_{10}CX_5CX_5CXCX_2C$ (SEQ ID NO: 66), $CX_{14}CX_2CX_3CXCXC$ (SEQ ID NO: 67), $CX_{15}CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 68), $CX_4CX_6CX_9CX_2CX_{11}C$ (SEQ ID NO: 69), $CX_6CX_4CX_5CX_5CX_{12}C$ (SEQ ID NO: 70), $CX_7CX_3CXCXCX_4CX_5CX_9C$ (SEQ ID NO: 71), $CX_{10}CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 72), $CX_7CX_3CX_5CX_5CX_9C$ (SEQ ID NO: 73), $CX_7CX_5CXCX_2C$ (SEQ ID NO: 74), $CX_{10}CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 75), $CX_{10}CX_3CX_3CX_5CX_7CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 76), $CX_{10}CX_4CX_5CX_{12}CX_2C$ (SEQ ID NO: 77), $CX_{12}CX_4CX_5CXCXCX_9CX_3C$ (SEQ ID NO: 78), $CX_{12}CX_4CX_5CX_{12}CX_2C$ (SEQ ID NO: 79), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{11}C$ (SEQ ID NO: 80), $CX_{16}CX_5CXCXCX_{14}C$ (SEQ ID NO: 81), $CX_{10}CX_5CXCX_8CX_6C$ (SEQ ID NO: 82), $CX_{12}CX_4CX_5CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 83), $CX_{12}CX_5CX_5CXCX_8C$ (SEQ ID NO: 84), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_4CXCX_9C$ (SEQ ID NO: 85), $CX_{11}CX_4CX_5CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 86), $CX_{10}CX_6CX_5CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 87), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_8C$ (SEQ ID NO: 88), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_3CX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 89), $CX_{10}CX_6CX_5CX_3CX_8C$ (SEQ ID NO: 90), $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_2CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 91), $CX_7CX_6CX_3CX_3CX_9C$ (SEQ ID NO: 92), $CX_9CX_8CX_5CX_6CX_5C$ (SEQ ID NO: 93), $CX_{10}CX_2CX_2CX_7CXCX_{11}CX_5C$ (SEQ ID NO: 94), および $CX_{10}CX_6CX_5CXCX_2CX_8CX_4C$ (SEQ ID NO: 95)

からなる群より選択されるアミノ酸配列を含んでもよい。または、システインモチーフは、

$CCX_3CXCX_3CX_2CCXCX_5CX_9CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 96), $CX_6CX_2CX_5CX_4CCXCX_4CX_6CXC$ (SEQ ID NO: 97), $CX_7CXCX_5CX_4CCCX_4CX_6CXC$ (SEQ ID NO: 98), $CX_9CX_3CXCX_2CXCCCX_6CX_4C$ (SEQ ID NO: 99), $CX_5CX_3CXCX_4CX_4CCX_{10}CX_2CC$ (SEQ ID NO: 100), $CX_5CXCX_1CXCX_3CCX_3CX_4CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 101), $CX_9CCCX_3CX_4CCCX_5CX_6C$ (SEQ ID NO: 102), $CCX_8CX_5CX_4CX_3CX_4CCXCX_1C$ (SEQ ID NO: 103), $CCX_6CCX_5CCCX_4CX_4CX_{12}C$ (SEQ ID NO: 104), $CX_6CX_2CX_3CCCX_4CX_5CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 105), $CX_3CX_5CX_6CX_4CCXCX_5CX_4CXC$ (SEQ ID NO: 106), $CX_4CX_4CCX_4CX_4CXCX_{11}CX_2CXC$ (SEQ ID NO: 107), $CX_5CX_2CCX_5CX_4CCX_3CCX_7C$ (SEQ ID NO: 108), $CX_5CX_5CX_3CX_2CXCCX_4CX_7CXC$ (SEQ ID NO: 109), $CX_3CX_7CX_3CX_4CCXCX_2CX_5CX_2C$ (SEQ ID NO: 110), $CX_9CX_3CXCX_4CCX_5CCCX_6C$ (SEQ ID NO: 111), $CX_9CX_3CXCX_2CXCCX_6CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 112), $CX_8CCXCX_3CCX_3CXCX_3CX_4C$ (SEQ ID NO: 113), $CX_9CCX_4CX_2CXCCXCX_4CX_3C$ (SEQ ID NO: 114), $CX_{10}CXCX_3CX_2CXCCX_4CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 115), $CX_9CXCX_3CX_2CXCCX_4CX_5CXC$ (SEQ ID NO: 116), $CX_6CCXCX_5CX_4CCXCX_5CX_2C$ (SEQ ID NO: 117), $CX_6CCXCX_3CXCCX_3CX_4CC$ (SEQ ID NO: 118), $CX_6CCXCX_3CXCX_2CXCX_4CX_8C$ (SEQ ID NO: 119), $CX_4CX_2CCX_3CXCX_4CCX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 120), $CX_3CX_5CX_3CCCX_4CX_9C$ (SEQ ID NO: 121), $CCX_9CX_3CXCCX_3CX_5C$ (SEQ ID NO: 122), $CX_9CX_2CX_3CX_4CCX_4CX_5C$ (SEQ ID NO: 123), $CX_9CX_7CX_4CCXCX_7CX_3C$ (SEQ ID NO: 124), $CX_9CX_3CCCX_{10}CX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 125), $CX_3CX_5CX_5CX_4CCX_{10}CX_6C$ (SEQ ID NO: 126), $CX_9CX_5CX_4CCXCX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 127), $CX_7CXCX_6CX_4CCCX_{10}C$ (SEQ ID NO: 128), $CX_8CX_2CX_4CCX_4CX_3CX_3C$ (SEQ ID NO: 129), $CX_7CX_5CXCX_4CCX_7CX_4C$ (SEQ ID NO: 130), $CX_{11}CX_3CX_4CCCX_8CX_2C$ (SEQ ID NO: 131), $CX_2CX_3CX_4CCX_4CX_5CX_{15}C$ (SEQ ID NO: 132), $CX_9CX_5CX_4CCX_7C$ (SEQ ID NO: 133), $CX_9CX_7CX_3CX_2CX_6C$ (SEQ ID NO: 134), $CX_9CX_5CX_4CCX_{14}C$ (SEQ ID NO: 135), $CX_9CX_5CX_4CCX_8C$ (SEQ ID NO: 136), $CX_9CX_6CX_4CCXC$ (SEQ ID NO: 137), $CX_5CCX_7CX_4CX_{12}$ (SEQ ID NO: 138), $CX_{10}CX_3CX_4CCX_4C$ (SEQ ID NO: 139), $CX_9CX_4CCX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 140), $CX_{10}CX_3CX_4CX_7CXC$ (SEQ ID NO: 141), $CX_7CX_7CX_2CX_2CX_3C$ (SEQ ID NO: 142), $CX_9CX_4CX_4CCX_6C$ (SEQ ID NO: 143), $CX_7CXCX_3CXCX_6C$ (SEQ ID NO: 144), $CX_7CXCX_4CXCX_4C$ (SEQ ID NO: 145), $CX_9CX_5CX_4C$ (SEQ ID NO: 146), $CX_3CX_6CX_8C$ (SEQ ID NO: 147), $CX_{10}CXCX_4C$ (SEQ ID NO: 148), $CX_{10}CCX_4C$ (SEQ ID NO: 149), $CX_{15}C$ (SEQ ID NO: 150), $CX_{10}C$ (SEQ ID NO: 151), および CX_9C (SEQ ID NO: 152)

からなる群より選択されるアミノ酸配列を含んでもよい。システインモチーフは、好ましくは、極めて長いCDR3の中に、$X^1X^2X^3X^4X^5$モチーフと$(X^aX^b)_z$モチーフの間に配置される。「$X^1X^2X^3X^4X^5$モチーフ」は極めて長いCDR3にある一続きの5個の連続したアミノ酸残基であり、X^1は、トレオニン(T)、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、またはバリン(V)であり、X^2は、セリン(S)、トレオニン(T)、プロリン(P)、イソロイシン(I)、アラニン(A)、バリン(V)、またはアスパラギン(N)であり、X^3は、バリン(V)、アラニン(A)、トレオニン(T)、またはアスパラギン酸(D)であり、X^4は、ヒスチジン(H)、トレオニン(T)、アルギニン(R)、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、またはロイシン(L)であり、X^5はグルタ

ミン(Q)である。一部の態様において、$X^1X^2X^3X^4X^5$モチーフは、
TTVHQ (SEQ ID NO: 153), TSVHQ (SEQ ID NO: 154),
SSVTQ (SEQ ID NO: 155), STVHQ (SEQ ID NO: 156), ATVRQ (SEQ ID NO: 157), TTVYQ (SEQ ID NO: 158), SPVHQ (SEQ ID NO: 159), ATVYQ (SEQ ID NO: 160), TAVYQ (SEQ ID NO: 161), TNVHQ (SEQ ID NO: 162), ATVHQ (SEQ ID NO: 163), STVYQ (SEQ ID NO: 164), TIVHQ (SEQ ID NO: 165), AIVYQ (SEQ ID NO: 166), TTVFQ (SEQ ID NO: 167), AAVFQ (SEQ ID NO: 168), GTVHQ (SEQ ID NO: 169), ASVHQ (SEQ ID NO: 170), TAVFQ (SEQ ID NO: 171), ATVFQ (SEQ ID NO: 172), AAAHQ (SEQ ID NO: 173), VVVYQ (SEQ ID NO: 174), GTVFQ (SEQ ID NO: 175), TAVHQ (SEQ ID NO: 176), ITVHQ (SEQ ID NO: 177), ITAHQ (SEQ ID NO: 178), VTVHQ (SEQ ID NO: 179); AAVHQ (SEQ ID NO: 180), GTVYQ (SEQ ID NO: 181), TTVLQ (SEQ ID NO: 182), TTTHQ (SEQ ID NO: 183),または
TTDYQ (SEQ ID NO: 184)

でもよい。「$CX^1X^2X^3X^4X^5$モチーフ」は極めて長いCDR3にある一続きの6個の連続したアミノ酸残基であり、1番目のアミノ酸残基はシステインであり、X^1は、トレオニン(T)、グリシン(G)、アラニン(A)、セリン(S)、またはバリン(V)であり、X^2は、セリン(S)、トレオニン(T)、プロリン(P)、イソロイシン(I)、アラニン(A)、バリン(V)、またはアスパラギン(N)であり、X^3は、バリン(V)、アラニン(A)、トレオニン(T)、またはアスパラギン酸(D)であり、X^4は、ヒスチジン(H)、トレオニン(T)、アルギニン(R)、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、またはロイシン(L)であり、X^5はグルタミン(Q)である。一部の態様において、$CX^1X^2X^3X^4X^5$モチーフは、
CTTVHQ
(SEQ ID NO: 185), CTSVHQ (SEQ ID NO: 186), CSSVTQ (SEQ ID NO: 187), CSTVHQ (SEQ ID NO: 188), CATVRQ (SEQ ID NO: 189), CTTVYQ (SEQ ID NO: 190), CSPVHQ (SEQ ID NO: 191), CATVYQ (SEQ ID NO: 192), CTAVYQ (SEQ ID NO: 193), CTNVHQ (SEQ ID NO: 194), CATVHQ (SEQ ID NO: 195), CSTVYQ (SEQ ID NO: 196), CTIVHQ (SEQ ID NO: 197), CAIVYQ (SEQ ID NO: 198), CTTVFQ (SEQ ID NO: 199), CAAVFQ (SEQ ID NO: 200), CGTVHQ (SEQ ID NO: 201), CASVHQ (SEQ ID NO: 202), CTAVFQ (SEQ ID NO: 203), CATVFQ (SEQ ID NO: 204), CAAAHQ (SEQ ID NO: 205), CVVVYQ (SEQ ID NO: 206), CGTVFQ (SEQ ID NO: 207), CTAVHQ (SEQ ID NO: 208), CITVHQ (SEQ ID NO: 209), CITAHQ (SEQ ID NO: 210), CVTVHQ (SEQ ID NO: 211); CAAVHQ (SEQ ID NO: 212), CGTVYQ (SEQ ID NO: 213), CTTVLQ (SEQ ID NO: 214), CTTTHQ (SEQ ID NO: 215), または CTTDYQ (SEQ ID NO: 216)

である。「$(X^aX^b)_z$」モチーフは、極めて長いCDR3にある2アミノ酸残基の反復シリーズであり、X^aは任意のアミノ酸残基であり、X^bは、チロシン(Y)、フェニルアラニン(F)、トリプトファン(W)、およびヒスチジン(H)からなる群より選択される芳香族アミノ酸であり、zは1～4である。一部の態様において、$(X^aX^b)_z$モチーフは、

CYTYNYEF (SEQ ID NO: 217), HYTYTYDF (SEQ ID NO: 218), HYTYTYEW (SEQ ID NO: 219), KHRYTYEW (SEQ ID NO: 220), NYIYKYSF (SEQ ID NO: 221), PYIYTYQF (SEQ ID NO: 222), SFTYTYEW (SEQ ID NO: 223), SYIYIYQW (SEQ ID NO: 224), SYNYTYSW (SEQ ID NO: 225), SYSYSYEY (SEQ ID NO: 226), SYTYNYDF (SEQ ID NO: 227), SYTYNYEW (SEQ ID NO: 228), SYTYNYQF (SEQ ID NO: 229), SYVWTHNF (SEQ ID NO: 230), TYKYVYEW (SEQ ID NO: 231), TYTYTYEF (SEQ ID NO: 232), TYTYTYEW (SEQ ID NO: 233), VFTYTYEF (SEQ ID NO: 234), AYTYEW (SEQ ID NO: 235), DYIYTY (SEQ ID NO: 236), IHSYEF (SEQ ID NO: 237), SFTYEF (SEQ ID NO: 238), SHSYEF (SEQ ID NO: 239), THTYEF (SEQ ID NO: 240), TWTYEF (SEQ ID NO: 241), TYNYEW (SEQ ID NO: 242), TYSYEF (SEQ ID NO: 243), TYSYEH (SEQ ID NO: 244), TYTYDF (SEQ ID NO: 245), TYTYEF (SEQ ID NO: 246), TYTYEW (SEQ ID NO: 247), AYEF (SEQ ID NO: 248), AYSF (SEQ ID NO: 249), AYSY (SEQ ID NO: 250), CYSF (SEQ ID NO: 251), DYTY (SEQ ID NO: 252), KYEH (SEQ ID NO: 253), KYEW (SEQ ID NO: 254), MYEF (SEQ ID NO: 255), NWIY (SEQ ID NO: 256), NYDY (SEQ ID NO: 257), NYQW (SEQ ID NO: 258), NYSF (SEQ ID NO: 259), PYEW (SEQ ID NO: 260), RYNW (SEQ ID NO: 261), RYTY (SEQ ID NO: 262), SYEF (SEQ ID NO: 263), SYEH (SEQ ID NO: 264), SYEW (SEQ ID NO: 265), SYKW (SEQ ID NO: 266), SYTY (SEQ ID NO: 267), TYDF (SEQ ID NO: 268), TYEF (SEQ ID NO: 269), TYEW (SEQ ID NO: 270), TYQW (SEQ ID NO: 271), TYTY (SEQ ID NO: 272), または VYEW (SEQ ID NO: 273)

を含んでもよい。一部の態様において、$(X^aX^b)_z$モチーフはYXYXYXである。極めて長いCDR3は、SEQ ID NO:40に由来するかまたは基づくアミノ酸配列を含んでもよい(例えば、SEQ ID NO:1～4のアミノ酸残基3～6を参照されたい;例えば、図2A～CにあるVH生殖系列配列も参照されたい)。極めて長いCDR3を含む可変領域は、SEQ ID NO:1(CTTVHQ)、SEQ ID NO:2(CTSVHQ)、SEQ ID NO:3(CSSVTQ)、またはSEQ ID NO:4(CTTVHP)であるアミノ酸配列を含んでもよい。このような配列はウシ生殖系列VH遺伝子配列(例えば、SEQ ID NO:1)に由来してもよく、ウシ生殖系列VH遺伝子配列(例えば、SEQ ID NO:1)に基づいてもよい。極めて長いCDR3は、非ヒトDH遺伝子配列、例えば、SEQ ID NO:5に由来するかまたは基づく配列を含んでもよく(例えば、Koti, et al. (2010) Mol. Immunol. 47: 2119-2128も参照されたい)、SEQ ID NO:6、7、8、9、10、11、または12などの代替配列を含んでもよい(例えば、図2A～CのDH2生殖系列配列も参照されたい)。極めて長いCDR3は、JH配列、例えば、SEQ ID NO:13に由来するかまたは基づく配列を含んでもよく(例えば、Hosseini, et al. (2004) Int. Immunol. 16: 843-852も参照されたい)、SEQ ID NO:14、15、16、または17などの代替配列を含んでもよい(例えば、図2A～CのJH1生殖系列配列も参照されたい)。一態様において、極めて長いCDR3は、非ヒトVH配列(例えば、SEQ ID NO:1、2、3、もしくは4;または図2A～CのVH配列)に由来するかまたは基づく配列、および/あるいは非ヒトDH配列(例えば、SEQ ID NO:5、6、7、8、9、10、11、もしくは12;または図2A～CのDH配列)に由来するかまたは基づく配列、および/あるいはJH配列(例えば、SEQ ID NO:13、14、15、16、もしくは17;または図2A～CのJH配列)に由来するかまたは基づく配列、任意で、例えば、VH由来配列とDH由来配列との間にある、2～6個もしくはそれ以上のアミノ酸を含むさらなる配列(例えば、IR、IF、SEQ ID NO:18、19、20、または21)を含んでもよい。別の態様において、極めて長いCDR3は、SEQ ID NO:22、23、24、25、26、27、もしくは28に由来するかまたは基づく配列を含んでもよい(例えば、図2A～CのSEQ ID NO:276～359も参照されたい)。

【０２９２】

本明細書において開示された「単離された」生物学的分子、例えば、様々なポリペプチド、ポリヌクレオチド、および抗体とは、同定および分離されている、ならびに/またはその天然環境の少なくとも1種類の成分から回収されている生物学的分子を指す。

【０２９３】

「アンタゴニスト」とは、ポリペプチドの活性(例えば、生物学的活性)を部分的または完全にブロックする、阻害する、または中和する任意の分子を指す。「アンタゴニスト」はまた、ポリペプチドをコードするmRNAの転写または翻訳を完全にまたは部分的に阻害する分子も包含する。適切なアンタゴニスト分子には、例えば、アンタゴニスト抗体または抗体断片;天然ポリペプチドの断片またはアミノ酸配列変種;ペプチド;アンチセンスオリゴヌクレオチド;有機低分子;およびポリペプチドアンタゴニストまたはアンタゴニスト抗体をコードする核酸が含まれる。「1つの(an)」アンタゴニストについての言及は、単一のアンタゴニストまたは2つもしくはそれ以上の異なるアンタゴニストの組み合わせを包含する。

【０２９４】

「アゴニスト」とは、ポリペプチドの生物学的活性を部分的または完全に模倣する任意の分子を指す。「アゴニスト」はまた、ポリペプチドをコードするmRNAの転写または翻訳を促進する分子も包含する。適切なアゴニスト分子には、例えば、アゴニスト抗体または抗体断片;天然ポリペプチド;天然ポリペプチドの断片またはアミノ酸配列変種;ペプチド;アンチセンスオリゴヌクレオチド;有機低分子;およびポリペプチドアゴニストまたは抗体をコードする核酸が含まれる。「1つの(an)」アゴニストについての言及は、単一のアゴニストまたは2つもしくはそれ以上の異なるアゴニストの組み合わせを包含する。

【０２９５】

「単離された」抗体とは、同定および分離されている、ならびに/またはその天然環境の成分から回収されている抗体を指す。その天然環境の混入成分は抗体の診断上または治療上の使用を妨げる材料であり、酵素、ホルモン、および他のタンパク質性の溶質または非タンパク質性の溶質を含んでもよい。好ましい態様において、抗体は、(1)(例えば、ローリー法によって求められたときに)95重量％超、好ましくは、99重量％超の抗体まで、(2)(例えば、スピニングカップシーケネーター(spinning cup sequenator)を用いることで)N末端アミノ酸配列もしくは内部アミノ酸配列の少なくとも15残基を得るのに十分な程度まで、または(3)(Coomassie(商標)blue、もしくは、好ましくは銀染色を用いた)還元条件下もしくは非還元条件下でのSDS-PAGEにより均一性を示すまで精製される。単離された抗体には、抗体の天然環境の少なくとも1種類の成分が存在しないので、組換え細胞内にあるインサイチューの抗体が含まれる。同様に、単離された抗体には、組換え細胞の周囲にある培地中の抗体が含まれる。単離された抗体は少なくとも1つの精製段階によって調製されてもよい。

【０２９６】

「単離された」核酸分子とは、同定され、かつ抗体核酸の天然供給源において通常付随している少なくとも1種類の混入核酸分子から分離された、核酸分子を指す。単離された核酸分子は、天然で見られる形態または状況にある核酸分子以外の、核酸分子である。従って、単離された核酸分子は、天然細胞中の核酸分子と区別される。しかしながら、単離された核酸分子は、例えば核酸分子が天然細胞とは異なった染色体位置にある抗体を発現する細胞に含まれる、核酸分子を含む。

【０２９７】

Kabatのような可変ドメイン残基番号付与またはKabatのようなアミノ酸位置番号付与およびそのバリエーションとは、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)において抗体編集の重鎖可変ドメインまたは軽鎖可変ドメインに用いられた番号付与システムを指す。この番号付与システムを用いると、可変ドメインのFRもしくはCDRの短縮または可変ドメインのFRもしくはCDRへの挿入に対応して、実際の直線状アミノ酸配列に含まれるアミノ酸を少なくすることができるか、または追加することができる

。例えば、重鎖可変ドメインは、H2の残基52の後に1個のアミノ酸挿入(例えば、Kabatにより残基52a)、重鎖FR残基82の後に挿入残基(例えば、Kabatにより残基82a、82b、および82cなど)を含み得る。残基のKabatの番号付与は、ある特定の抗体について、抗体配列の相同領域において「標準的な」Kabatにより番号付与された配列とアライメントすることによって決定することができる。

【０２９８】

「実質的に類似した」または「実質的に同じ」とは、当業者が、2つの値の間の違いには前記値(例えば、Kd値)によって測定された生物学的特徴という文脈で生物学的有意性および/または統計的有意性がほとんどないか、または全くないと考えるような、2つの数値(一般的に、一方が本明細書において開示された抗体に関連し、他方が参照/比較抗体に関連している)間の十分に高い程度の類似性を指す。前記2つの値の間の違いは、参照/比較抗体の値の関数として、好ましくは約50％未満、好ましくは約40％未満、好ましくは約30％未満、好ましくは約20％未満、好ましくは約10％未満である。

【０２９９】

「結合親和性」とは、一般的に、分子(例えば、抗体)の1つの結合部位とその結合パートナー(例えば、抗原)との間にある非共有結合相互作用の強さの合計を指す。特に定めのない限り、「結合親和性」とは、結合ペアのメンバー(例えば、抗体と抗原)の間にある1:1相互作用を反映する固有の結合親和性を指す。パートナーYに対する分子Xの親和性は一般的に解離定数で表すことができる。親和性は、本明細書に記載の方法を含む、当技術分野において公知の一般的な方法によって測定することができる。低親和性抗体は一般的に抗原にゆっくりと結合し、容易に解離する傾向があるのに対して、高親和性抗体は一般的に抗原に速く結合し、長期間結合したままになる傾向がある。結合親和性を測定する様々な方法が当技術分野において公知であり、これらはいずれも本開示の目的のために使用することができる。

【０３００】

「オンレート(on-rate)」または「会合速度(rate of association)」または「会合速度(association rate)」または「k_{on}」は、Biacore(例えば、BiacoreA100、Biacore(商標)-2000、Biacore(商標)-3000、Biacore, Inc., Piscataway, N.J.)カルボキシメチル化デキストランバイオセンサーチップ(CM5, Biacore Inc.)などの表面プラズモン共鳴法を用いて、供給業者の説明書に従って求めることができる。

【０３０１】

「ベクター」とは、連結されている別の核酸を輸送することができる核酸分子を指す。ベクターの1つのタイプが「プラスミド」である。「プラスミド」とは、さらなるDNAセグメントを連結することができる円形二本鎖DNAループを指す。ベクターの別のタイプがファージベクターである。ベクターの別のタイプが、さらなるDNAセグメントをウイルスゲノムに連結することができるウイルスベクターである。ある特定のベクターは、ベクターが導入される宿主細胞内で自律複製することができる(例えば、細菌複製起点を有する細菌ベクターおよびエピソーム哺乳動物ベクター)。他のベクター(例えば、非エピソーム哺乳動物ベクター)は宿主細胞に導入されると宿主細胞ゲノムに組み込まれることができ、それによって宿主ゲノムと共に複製される。さらに、ある特定のベクターは、ベクターと機能的に連結している遺伝子を発現させることができる。このようなベクターは本明細書では「組換え発現ベクター」(または単に「組換えベクター」)と呼ばれる。一般的に、組換えDNA法において有用な発現ベクターはプラスミドの形をしていることが多い。従って、プラスミドは一般的に用いられる形のベクターであるので、「プラスミド」および「ベクター」は同義に用いられることがある。

【０３０２】

「遺伝子」とは、ポリペプチド、前駆体、またはRNA(例えば、rRNA、tRNA)の産生に必要なコード配列を含む核酸(例えば、DNA)配列を指す。ポリペプチドは完全長コード配列によってコードされてもよく、完全長または断片の所望の活性または機能特性(例えば、酵素活性、リガンド結合、シグナル伝達、免疫原性など)が保持されている限り、コード

配列の任意の部分によってコードされてもよい。この用語はまた、構造遺伝子のコード領域、ならびに遺伝子が完全長mRNAの長さに対応するように、コード領域の5'末端および3'末端に隣接して位置し、両末端から約1kbもしくはそれ以上の距離にわたる配列も包含する。コード領域の5'側に位置し、mRNAに存在する配列は5'非翻訳配列と呼ばれる。コード領域の3'側または下流に位置し、mRNAに存在する配列は3'非翻訳配列と呼ばれる。「遺伝子」という用語は、遺伝子のcDNA形態およびゲノム形態の両方を包含する。遺伝子のゲノム形態またはクローンは、「イントロン」または「介在領域」または「介在配列」と呼ばれる非コード配列が間にあるコード領域を含有する。イントロンは、核RNA(hnRNA)に転写される遺伝子セグメントである。イントロンは、エンハンサーなどの調節エレメントを含有してもよい。イントロンは核転写物または一次転写物から除去される、すなわち「スプライシング」される。従って、イントロンはメッセンジャーRNA(mRNA)転写物に存在しない。mRNAは、翻訳中に、新生ポリペプチドにあるアミノ酸の配列または順序を指定するように機能する。遺伝子のゲノム形態はまた、イントロンを含有することに加えて、RNA転写物に存在する配列の5'末端と3'末端の両方に位置する配列も含むことがある。これらの配列は「隣接」配列または領域と呼ばれる(これらの隣接配列は、mRNA転写物に存在する非翻訳配列の5'側または3'側に位置する)。5'隣接領域は、プロモーターおよびエンハンサーなどの、遺伝子の転写を制御する、または遺伝子の転写に影響を及ぼす調節配列を含有してもよい。3'隣接領域は、転写終結、転写後切断、およびポリアデニル化を誘導する配列を含有してもよい。

【０３０３】

本明細書において同義に用いられる「ポリヌクレオチド」または「核酸」は任意の長さのヌクレオチドポリマーを指し、DNAおよびRNAを含む。ヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、修飾ヌクレオチドもしくは修飾塩基、および/またはその類似体、あるいはDNAポリメラーゼもしくはRNAポリメラーゼまたは合成反応によってポリマーに組み込むことができる任意の基質でもよい。ポリヌクレオチドは、修飾ヌクレオチド、例えば、メチル化ヌクレオチドおよびその類似体を含んでもよい。存在する場合、ヌクレオチド構造への修飾は、ポリマーが組み立てられる前でも後でも付与され得る。ヌクレオチド配列は非ヌクレオチド成分によって中断されてもよい。ポリヌクレオチドは、合成後に、例えば、標識とのコンジュゲートによってさらに修飾されてもよい。他のタイプの修飾には、例えば、「キャップ」、類似体による1つまたは複数の天然ヌクレオチドの置換、ヌクレオチド間修飾、例えば、非荷電結合(例えば、メチルホスホネート、ホスホトリエステル、ホスホアミデート、カルバメートなど)および荷電結合(例えば、ホスホロチオエート、ホスホロジチオエートなど)による修飾、ペンダント部分、例えば、タンパク質(例えば、ヌクレアーゼ、毒素、抗体、シグナルペプチド、ポリ-L-リジンなど)を含む修飾、インターカレーター(例えば、アクリジン、ソラレンなど)による修飾、キレート剤(例えば、金属、放射性金属、ホウ素、酸化金属など)を含む修飾、アルキル化剤を含む修飾、修飾結合による修飾(例えば、αアノマー核酸など)、ならびに非修飾型のポリヌクレオチドが含まれる。さらに、糖に通常存在する任意のヒドロキシル基を、例えば、ホスホン酸基、リン酸基と交換してもよく、標準的な保護基によって保護してもよく、さらなるヌクレオチドとのさらなる結合を調製するために活性化してもよく、固体支持体または半固体支持体とコンジュゲートしてもよい。5'末端OHおよび3'末端OHをリン酸化してもよく、アミンまたは1～20個の炭素原子の有機キャッピング基部分で置換してもよい。他のヒドロキシルも標準的な保護基に誘導体化することができる。ポリヌクレオチドはまた、例えば、2'-O-メチル-、2'-O-アリル、2'-フルオロ-、または2'-アジド-リボース、炭素環式糖類似体、αアノマー糖、エピマー糖、例えば、アラビノース、キシロース、またはリキソース、ピラノース糖、フラノース糖、セドヘプツロース、非環式類似体、および脱塩基ヌクレオシド類似体、例えば、メチルリボシドを含む、当技術分野において一般に知られている、リボース糖またはデオキシリボース糖の類似型を含有してもよい。1つまたは複数のホスホジエステル結合を別の結合基と交換することができる。これらの別の結合基には、リン酸が、P(O)S(「チオエート」)、P(S)S(「ジチオエート」)、「(O)NR_2(「

アミデート」)、P(O)R、P(O)OR'、CO、またはCH_2(「ホルマセタル」)と交換される態様が含まれるが、これに限定されない。式中、それぞれのRまたはR'は独立して、H、またはエーテル(-O-)結合を含有してもよい置換もしくは非置換アルキル(1～20C)、アリール、アルケニル、シクロアルキル、シクロアルケニル、あるいはアラルドイルである。ポリヌクレオチド内の結合は全て同一である必要はない。前記の説明は、RNAおよびDNAを含む、本明細書において言及される全てのポリヌクレオチドに適用される。

【０３０４】

「オリゴヌクレオチド」とは、短い、一般的に一本鎖の、一般的に約200ヌクレオチド長未満であるが、必ずしも約200ヌクレオチド未満であるとは限らない、一般的に合成のポリヌクレオチドを指す。「オリゴヌクレオチド」および「ポリヌクレオチド」という用語は互いに相反するものではない。ポリヌクレオチドの前記の説明は等しく、かつ完全にオリゴヌクレオチドに適用される。

【０３０５】

「ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件」とは、プローブが、その標的部分配列に、典型的には核酸の複合混合物中でハイブリダイズするが、他の配列にはハイブリダイズしない条件を指す。ストリンジェントな条件は配列依存性であり、様々な状況で異なる。配列が長くなるほど高い温度で特異的にハイブリダイズする。核酸ハイブリダイゼーションの広範囲にわたる手引きは、Tijssen, Techniques in Biochemistry and Molecular Biology--Hybridization with Nucleic Probes, 「Overview of principles of hybridization and the strategy of nucleic acid assays」(1993)に記載されている。一般的に、ストリンジェントな条件は、規定されたイオン強度pHで、特定の配列の熱融点(Tm)より約5～10℃低くなるように選択される。Tmは、(規定されたイオン強度、pH、および核酸濃度で)標的に相補的なプローブの50％が平衡状態で標的配列にハイブリダイズする温度である(標的配列が過剰に存在するとき、Tmでは、プローブの50％が平衡状態で占有される)。ストリンジェントな条件はまた、ホルムアミドなどの不安定化剤を添加することによって得ることができる。選択的または特異的なハイブリダイゼーションの場合、陽性シグナルは、バックグラウンドの少なくとも2倍、好ましくはバックグラウンドハイブリダイゼーションの10倍である。例示的なストリンジェントなハイブリダイゼーション条件は以下のようなものでもよい:50％ホルムアミド、5×SSC、および1％SDS、42℃でのインキュベーション、または5×SSC、1％SDS、65℃でのインキュベーションと、0.2×SSCおよび0.1％SDS、65℃での洗浄。

【０３０６】

「組換え」は、細胞、核酸、タンパク質、もしくはベクターに関して用いられる場合、細胞、核酸、タンパク質、もしくはベクターが異種核酸または異種タンパク質の導入、天然核酸もしくは天然タンパク質の変化によって改変されているか、または細胞が、このように改変された細胞に由来することを示す。例えば、組換え細胞とは、天然(非組換え)型の細胞の中には見出されない遺伝子を発現するか、または、過剰発現されるかそれ以外の様式で異常発現される天然遺伝子を、例えば、非天然断片もしくはスプライス変種として発現される天然遺伝子を、発現する。本明細書において「組換え核酸」という用語は、一般的に、例えばポリメラーゼおよびエンドヌクレアーゼを用いて、天然では通常見られない形の核酸を遺伝子操作で作製することによって初めからインビトロで形成された、核酸を意味する。この様式においては、異なる配列が機能的に連結される。従って、直線状の単離された核酸、または、通常つながっていないDNA分子を連結することによってインビトロで形成された発現ベクターは両方とも、本開示の目的では組換えとみなされる。一旦組換え核酸が作製されて宿主細胞または生物に導入されたら、これは、インビトロ操作ではなく例えば宿主細胞のインビボ細胞機構を用いて非組換え的に複製することが、理解されよう。しかしながら、一旦組換えにより作製されたそのような核酸は、後に非組換え的に複製するものの、本明細書において開示された目的に関しては、依然として組換えとみなされる。同様に、「組換えタンパク質」とは、組換え法を用いて、例えば、前記のように組換え核酸を発現させることで作製されたタンパク質である。

【０３０７】
ペプチド配列またはポリペプチド配列に関する「パーセント(％)アミノ酸配列同一性」とは、配列をアライメントし、配列同一性の部分としていかなる保存的置換も考慮に入れずに最大パーセント配列同一性を得るために必要に応じてギャップを導入した後に、特定のペプチド配列またはポリペプチド配列中のアミノ酸残基と同一な候補配列中アミノ酸残基のパーセントを指す。パーセントアミノ酸配列同一性の決定を目的としたアライメントは、当技術分野における技術の範囲内である様々なやり方で、例えば、公的に利用可能なコンピュータソフトウェア、例えば、BLAST、BLAST-2、ALIGN、またはMegAlign(DNASTAR)ソフトウェアを用いて実現することができる。当業者であれば、比較されている配列の完全長にわたって最大アライメントを得るのに必要な任意のアルゴリズムを含めて、アライメントを測定するのに適したパラメータを決定することができる。
【０３０８】
「ポリペプチド」、「ペプチド」、「タンパク質」、および「タンパク質断片」は、アミノ酸残基のポリマーを指すために同義に用いられることがある。これらの用語は、1つまたは複数のアミノ酸残基が対応天然アミノ酸の人工的な化学ミメティックであるアミノ酸ポリマー、ならびに、天然アミノ酸ポリマーおよび非天然アミノ酸ポリマーに当てはまる。
【０３０９】
「アミノ酸」とは、天然アミノ酸および合成アミノ酸、ならびに天然アミノ酸と同じように機能するアミノ酸類似体およびアミノ酸ミメティックを指す。天然アミノ酸は、遺伝暗号でコードされるアミノ酸、ならびに後で修飾されたアミノ酸、例えば、ヒドロキシプロリン、γ-カルボキシグルタミン酸、およびO-ホスホセリンである。「アミノ酸類似体」とは、天然アミノ酸と同じ基本化学構造、例えば、水素、カルボキシ基、アミノ基、およびR基と結合したα炭素を有する化合物、例えば、ホモセリン、ノルロイシン、メチオニンスルホキシド、メチオニンメチルスルホニウムを指す。このような類似体は、修飾R基(例えば、ノルロイシン)または修飾ペプチド骨格を有してもよいが、天然アミノ酸と同じ基本化学構造を保持している。アミノ酸ミメティックは、アミノ酸の一般的な化学構造とは異なる構造を有するが、天然アミノ酸と同じように機能する化合物を指す。
【０３１０】
「保存的に改変された変種」はアミノ酸配列および核酸配列の両方に適用される。「アミノ酸変種」とはアミノ酸配列を指す。特定の核酸配列に関して、保存的に改変された変種とは、同一のもしくは本質的に同一のアミノ酸配列をコードする核酸、または核酸がアミノ酸配列をコードしない場合、本質的に同一のもしくは関連する配列(例えば、天然に連続する配列)を指す。遺伝暗号の縮重のために、多数の機能的に同一な核酸が、大多数のタンパク質をコードする。例えば、コドンGCA、GCC、GCG、およびGCUは全てアミノ酸アラニンをコードする。従って、あるコドンによってアラニンが指定される全ての位置において、コードされるポリペプチドが変化することなく、そのコドンを、記載の対応するコドンのうちの別のコドンに変えることができる。このような核酸バリエーションは、保存的に改変されたバリエーションの一種である「サイレントバリエーション」である。ポリペプチドをコードする本明細書の全ての核酸配列が核酸のサイレントバリエーションも示す。当業者であれば、ある特定の状況において、機能的に同一の分子を生じるように、(メチオニンの通常は一つしかないコドンであるAUG、およびトリプトファンの通常は一つしかないコドンであるTGGを除く)核酸中のそれぞれのコドンを改変できることを認めるだろう。従って、あるポリペプチドをコードするある核酸のサイレントバリエーションは、該発現産物に関して記載される配列には含まれるが、実際のプローブ配列に関して記載される配列には含まれない。アミノ酸配列に関して、当業者であれば、コードされる配列において1個のアミノ酸またはごくわずかな割合のアミノ酸を変える、付加する、または欠失する、核酸配列、ペプチド配列、ポリペプチド配列、またはタンパク質配列への個々の置換、欠失、または付加は、変化によってアミノ酸が化学的に類似するアミノ酸に置換された場合を含めて、「保存的に改変された変種」だと認めるだろう。機能的に類似するア

ミノ酸を示す保存的置換表は当技術分野において周知である。このような保存的に改変された変種は本明細書において開示された多型変種、種間ホモログ、および対立遺伝子に加わるものであり、これらを排除しない。典型的には、保存的置換には、1)アラニン(A)、グリシン(G);2)アスパラギン酸(D)、グルタミン酸(E);3)アスパラギン(N)、グルタミン(Q);4)アルギニン(R)、リジン(K);5)イソロイシン(I)、ロイシン(L)、メチオニン(M)、バリン(V);6)フェニルアラニン(F)、チロシン(Y)、トリプトファン(W);7)セリン(S)、トレオニン(T);および8)システイン(C)、メチオニン(M)(例えば、Creighton, Protein (1984)を参照されたい)が含まれる。

【０３１１】

「抗体」(Ab)および「免疫グロブリン」(Ig)は、類似した構造特徴を有する糖タンパク質である。抗体は、ある特定の抗原に対して結合特異性を示し得るが、免疫グロブリンは、抗体と、一般的に、抗原特異性を欠いている他の抗体様分子の両方を含んでもよい。後者の種類のポリペプチドは、例えば、リンパ系によって低レベルで、およびミエローマによって高レベルで産生される。

【０３１２】

「抗体」および「免疫グロブリン」は最も広い意味で同義に用いられ、モノクローナル抗体(例えば、完全長またはインタクトなモノクローナル抗体)、ポリクローナル抗体、多価抗体、多重特異性抗体(例えば、望ましい生物学的活性を示す限り二重特異性抗体)を含み、(本明細書においてさらに詳細に説明されるように)ある特定の抗体断片を含んでもよい。抗体はヒトでもよく、ヒト化されてもよく、および/または親和性成熟されてもよい。抗体とは、天然であるか、部分的に合成されているか、または完全に合成されているかに関係なく免疫グロブリンおよび免疫グロブリン部分、例えば、抗原結合部位を形成するのに十分な、免疫グロブリン分子の可変領域の少なくとも一部を含有する免疫グロブリンの任意の部分を含む、組換えにより作製された免疫グロブリンおよび免疫グロブリン部分を指す場合がある。従って、抗体またはその一部は、免疫グロブリン抗原結合部位と相同な、または実質的に相同な結合ドメインを有する任意のタンパク質を含む。例えば、抗体は、2本の重鎖(HおよびH'と表示される場合がある)ならびに2本の軽鎖(LおよびL'と表示される場合がある)を含有する抗体であって、それぞれの重鎖が、抗原結合部位を形成するのに十分な完全長免疫グロブリン重鎖またはその一部でもよく(例えば、重鎖には、VH鎖、VH-CH1鎖、およびVH-CH1-CH2-CH3鎖が含まれるが、これに限定されない)、それぞれの軽鎖が、抗原結合部位を形成するのに十分な完全長軽鎖またはその一部でもよい(例えば、軽鎖にはVL鎖およびVL-CL鎖が含まれるが、これに限定されない)抗体を指す場合がある。それぞれの重鎖(HおよびH')が1本の軽鎖(それぞれ、LおよびL')と対になる。典型的には、抗体は、最小で、可変重(VH)鎖および/または可変軽(VL)鎖の全てまたは少なくとも一部を含む。抗体はまた定常領域の全てまたは一部も含んでもよい。例えば、完全長抗体は、2本の完全長重鎖(例えば、VH-CH1-CH2-CH3またはVH-CH1-CH2-CH3-CH4)と2本の完全長軽鎖(VL-CL)とヒンジ領域を有する抗体、例えば、抗体分泌B細胞によって産生された抗体、および同じドメインを有し、合成により作製された抗体である。さらに、「抗体」とは、免疫グロブリンファミリーのタンパク質、または対応する抗原に非共有結合的に、可逆的に、および特異的に結合することができる免疫グロブリン断片を含むポリペプチドを指す。例示的な抗体構造単位は四量体を含む。それぞれの四量体は2つの同じポリペプチド鎖対で構成される。各対は、ジスルフィド結合を介してつながった、1本の「軽」鎖(約25kD)および1本の「重」鎖(約50～70kD)を有する。認められている免疫グロブリン遺伝子には、κ、λ、α、γ、δ、ε、およびμ定常領域遺伝子、ならびに無数の免疫グロブリン可変領域遺伝子が含まれる。軽鎖はκまたはλとして分類される。重鎖はγ、μ、α、δ、またはεとして分類され、次に、これらは、それぞれ、免疫グロブリンクラスIgG、IgM、IgA、IgD、およびIgEを定義する。各鎖のN末端は、主に抗原認識を担う約100～110またはそれより多いアミノ酸の可変領域を規定する。可変軽鎖(VL)および可変重鎖(VH)という用語は、それぞれ、これらの軽鎖領域および重鎖領域をいう。

【０３１３】

「可変」とは、可変ドメイン(可変領域とも呼ばれる)のある特定の部分の配列が抗体間で大幅に異なり、これらが、特定の抗原に対する、それぞれの特定の抗体の結合および特異性において用いられるという事実を指す。しかしながら、可変性は抗体の可変ドメイン全体にわたって均一に分布していない。可変性は、軽鎖可変ドメインおよび重鎖可変ドメインの両方において相補性決定領域(CDR)または超可変領域(HVR)と呼ばれる3つのセグメントに集中している。CDRには、可変領域配列内にある、本明細書において示したようなKabat、Chothia、およびIMGTと指定されたCDRが含まれる。可変ドメインの高度に保存された部分はフレームワーク(FR)と呼ばれる。天然の重鎖および軽鎖の可変ドメインはそれぞれ、ループ接続を形成し、場合によってはβシート構造の一部を形成する3つのCDRによってつながった、主にβシート配置をとる4つのFR領域を含む。各鎖のCDRはFR領域によって近接して結び付けられ、他の鎖からのCDRと一緒になって抗体の抗原結合部位の形成に寄与する(Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, National Institute of Health, Bethesda, Md. (1991)を参照されたい)。定常ドメインは抗体と抗原との結合に直接関与しないが、抗体依存的細胞傷害性への抗体の関与などの様々なエフェクター機能を示す。

【０３１４】

抗体のパパイン消化によって、それぞれが1個の抗原結合部位を有する、「Fab」断片と呼ばれ2つの同一の抗原結合断片と、残る1つの「Fc」断片とが生じる。「Fc」の名前は容易に結晶化する能力を反映している。ペプシン処理によって、2個の抗原結合部位を有しかつ依然として抗原を架橋することができる、$F(ab')_2$断片が生じる。

【０３１５】

「Fv」とは、抗原認識部位および抗原結合部位を含有する抗体断片を指す。2鎖Fv種では、この領域は、非共有結合している1個の重鎖可変ドメインおよび1個の軽鎖可変ドメインの二量体からなる。単鎖Fv(scFv)種では、1個の重鎖可変ドメインおよび1個の軽鎖可変ドメインは、軽鎖および重鎖が2鎖Fv(scFv)種に似た「二量体」構造で会合できるように柔軟なペプチドリンカーによって共有結合的に連結することができる。この配置では、それぞれの可変ドメインの3個のCDRが相互作用してVH-VL二量体の表面にある抗原結合部位を規定する。合計で6個のCDRが抗体に抗原結合特異性を付与する。しかしながら、完全な結合部位より低い親和性であるものの、1個の可変ドメイン(または抗原に特異的な3個のCDRしか含まない、Fvの半分)でも抗原を認識および結合する能力がある。

【０３１６】

Fab断片は、軽鎖の定常ドメインおよび重鎖の第1の定常ドメイン(CH1)も含有する。Fab'断片は、抗体ヒンジ領域に由来する1個または複数個のシステインを含む、重鎖CH1ドメインのカルボキシ末端に数個の残基を付加することでFab断片と異なる。Fab'-SHは、定常ドメインのシステイン残基が遊離チオール基を有する、Fab'の本明細書における名称である。$F(ab')_2$抗体断片は、元々、ヒンジシステインが間にある一対のFab'断片として作製された。抗体断片の他の化学カップリングも公知である。

【０３１７】

あらゆる脊椎動物種に由来する抗体(免疫グロブリン)の「軽鎖」は、定常ドメインのアミノ酸配列に基づいてカッパ(κ)およびラムダ(λ)と呼ばれる明らかに異なる2つのタイプの1つに割り当てることができる。

【０３１８】

免疫グロブリンの重鎖の定常ドメインのアミノ酸配列に応じて、免疫グロブリンは異なるクラスに割り当てることができる。免疫グロブリンの5種類の主なクラス:IgA、IgD、IgE、IgG、およびIgMが存在し、これらのいくつかは、サブクラス(アイソタイプ)、例えば、IgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、IgA_1、およびIgA_2にさらに分けることができる。免疫グロブリンの異なるクラスに対応する重鎖定常ドメインは、それぞれ、α、δ、ε、γ、およびμと呼ばれる。免疫グロブリンの異なるクラスのサブユニット構造および三次元配置は周知である。

【０３１９】

「抗体断片」は、インタクトな抗体の一部しか含まず、該一部は、好ましくは、インタクトな抗体に存在するときに、その一部に通常付随する機能の少なくとも1つ、好ましくは、大部分または全てを保持する。抗体断片の例には、Fab、Fab'、F(ab')2、単鎖Fv(scFv)、Fv、dsFv、ダイアボディ(diabody)、FdおよびFd'断片、Fab断片、Fd断片、scFv断片、直鎖抗体(linear antibody)、単鎖抗体分子、ならびに抗体断片から形成された多重特異性抗体が含まれる(例えば、Methods in Molecular Biology, Vol 207: Recombinant Antibodies for Cancer Therapy Methods and Protocols (2003); Chapter 1; p 3-25, Kipriyanovを参照されたい)。他の公知の断片には、scFab断片(Hust et al., BMC Biotechnology (2007), 7: 14)が含まれるが、これに限定されない。一態様において、抗体断片はインタクトな抗体の抗原結合部位を含み、従って、抗原に結合する能力を保持する。別の態様において、抗体断片、例えば、Fc領域を含む抗体断片は、インタクトな抗体に存在するときにFc領域に通常付随する生物学的機能、例えば、FcRn結合、抗体半減期の調整、ADCC機能、および補体結合の少なくとも1つを保持する。一態様において、抗体断片は、インタクトな抗体に実質的に類似したインビボ半減期を有する一価抗体である。例えば、このような抗体断片は、インビボ安定性を断片に付与することができる、Fc配列に連結した抗原結合アームを含んでもよい。もう1つの例として、抗体断片または抗体部分は、完全長より短いが、抗原結合部位を形成するのに十分な、抗体の可変領域の少なくとも一部(例えば、1つまたは複数のCDR)を含有し、従って、完全長抗体の結合特異性および/または活性を保持している、完全長抗体の任意の部分を指す。抗体断片には、完全長抗体の酵素的処理によって作製された抗体誘導体、ならびに合成、例えば、組換えにより作製された誘導体が含まれる。

【０３２０】

「dsFv」とは、VH-VL対を安定化する、操作された分子間ジスルフィド結合を有するFvを指す。

【０３２１】

「Fd断片」とは、抗体重鎖の可変ドメイン(VH)と1個の定常領域ドメイン(CH1)を含有する抗体断片を指す。

【０３２２】

「Fab断片」とは、完全長免疫グロブリンをパパイン処理することによって生じた、完全長抗体の一部を含有する抗体断片、または合成、例えば、組換えにより作製された同じ構造を有する断片を指す。Fab断片は、軽鎖(VL部分およびCL部分を含有する)と、重鎖の可変ドメイン(VH)と重鎖の1個の定常領域ドメイン部分(CH1)を含有する別の鎖を含有する。「Fab断片」は組換えにより作製されてもよい。

【０３２３】

「F(ab')2断片」とは、免疫グロブリンをpH4.0～4.5でペプシン消化することによって生じた抗体断片、または合成、例えば、組換えにより作製された同じ構造を有する抗体を指す。F(ab')2断片は2個のFab断片を含有するが、それぞれの重鎖部分は、2つの断片をつなぐジスルフィド結合を形成するシステイン残基を含む、さらなる数個のアミノ酸を含有する。「F(ab')2断片」は組換えにより作製されてもよい。

【０３２４】

「Fab'断片」とは、F(ab')2断片の半分(1本の重鎖および1本の軽鎖)を含有する断片を指す。

【０３２５】

「Fd'断片」とは、F(ab')2断片の1個の重鎖部分を含有する抗体断片を指す。

【０３２６】

「Fv'断片」とは、抗体分子のVHドメインおよびVLドメインしか含有しない断片を指す。

【０３２７】

「scFv断片」とは、ポリペプチドリンカーによって任意の順序で共有結合的につながった、可変軽鎖(VL)および可変重鎖(VH)を含有する抗体断片を指す。リンカーは、実質的な

干渉なしに2個の可変ドメインが架橋するような長さである。例示的なリンカーは(Gly-Ser)n残基であり、溶解度を高めるために、いくつかのGlu残基またはLys残基が全体に分散されている。

【０３２８】

ダイアボディは二量体scFvである。ダイアボディは、典型的には、scFvより短いペプチドリンカーを有し、選択的に二量体化する。

【０３２９】

「HsFv」とは、通常Fab断片に存在する定常ドメインがヘテロ二量体コイルドコイルドメインによって置換されている抗体断片を指す(例えば、Arndt et al. (2001) J Mol Biol. 7:312:221-228を参照されたい)。

【０３３０】

「超可変領域」、「HVR」、または「HV」、ならびに「相補性決定領域(complementary determing region)」または「CDR」は、配列が超可変でありかつ/または構造的に規定されたループを形成する、抗体可変ドメイン領域を指していることがある。一般的に、抗体は6つの超可変領域またはCDR領域を含み、3つはVH(H1、H2、H3)にあり、3つはVL(L1、L2、L3)にある。多くの超可変領域またはCDRの図が使われており、本明細書に包含される。Kabat相補性決定領域(Kabat CDR)は配列可変性に基づいており、最も一般的に用いられる(Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991))。代わりに、Chothiaは構造ループの場所を指す(Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987))。AbM超可変領域は、Kabat CDRとChothia構造ループ(Chothia「CDR」)の両方をうまく満足させており、Oxford Molecular's AbM抗体モデリングソフトウェアによって用いられる。「接触(contact)」超可変領域は、利用可能な複雑な結晶構造の分析に基づいている。これらの超可変領域のそれぞれの残基を以下に示す。

ループ	Kabat	AbM	Chothia	接触
L1	L24-L34	L24-L34	L26-L32	L30-L36
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L52	L46-L55
L3	L89-L97	L89-L97	L91-L96	L89-L96
H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32	H30-H35B
		(Kabat 番号付与)		
H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35
		(Chothia 番号付与)		
H2	H50-H65	H50-H58	H53-H55	H47-H58
H3	H95-H102	H95-H102	H96-H101	H93-H101

IMGTは、例えば、抗体についてIMGTにより指定されたCDRを含む、Lefrace et al., Nucl. Acids, Res. 37; D1006-D1012 (2009)に記載のような国際免疫遺伝学情報システム(international ImMunoGeneTics Information System)を指す。

【０３３１】

超可変領域は、VLにおける24～36または24～34(L1)、46～56または50～56(L2)、および89～97(L3)、ならびにVHにおける26～35(H1)、50～65または49～65(H2)、および93～102、94～102または95～102(H3)のような「延長した超可変領域」を含んでもよい。可変ドメ

イン残基は、これらの定義のそれぞれについてKabat et al.,前記に従って番号付与される。

【０３３２】

「フレームワーク」または「FR」残基は、本明細書において定義されるような超可変領域残基以外の可変ドメイン残基である。「フレームワーク領域」(FR)は、βシート内に位置するフレームワーク残基を含む、抗体可変領域ドメイン内に位置するドメインである。FR領域はアミノ酸配列の点で超可変領域より比較的保存されている。

【０３３３】

「モノクローナル抗体」とは、実質的に均一な抗体からなる集団から得られた抗体を指す。すなわち、例えば、集団を構成する個々の抗体は、モノクローナル抗体の作製中に生じ得る起こり得る変種を除けば同一である、および/または同じエピトープに結合する。このような変種は一般的に微量に存在する。このようなモノクローナル抗体は、典型的には、複数のポリペプチド配列から1つの標的結合ポリペプチド配列を選択することを含むプロセスによって得られた標的結合ポリペプチド配列を含む抗体を含む。例えば、選択プロセスは、ハイブリドーマクローン、ファージクローン、または組換えDNAクローンのプールなどの複数のクローンから独特のクローンを選択することでもよい。選択された標的結合配列は、例えば、標的に対する親和性を改善するため、標的結合配列をヒト化するため、細胞培養における標的結合配列の産生を改善するため、インビボでの標的結合配列の免疫原性を低減するため、多重特異性抗体などを作り出すためなどさらに変更でき、変更された標的結合配列を含む抗体も本開示のモノクローナル抗体であることも理解されるはずである。典型的に、異なる決定基(例えば、エピトープ)に対して向けられる異なる抗体を含むポリクローナル抗体調製物とは対照的に、モノクローナル抗体調製物の各モノクローナル抗体は、抗原上にある単一の決定基に対して向けられている。モノクローナル抗体調製物は、その特異性に加えて、典型的に他の免疫グロブリンが混入していない点で有利である。「モノクローナル」という修飾語は、抗体が実質的に均一な抗体集団から得られているという特徴を示し、特定の方法による抗体の作製を必要とすると解釈してはならない。例えば、本開示に従って用いられるモノクローナル抗体は、例えば、ハイブリドーマ法(例えば、Kohler et al., Nature, 256:495 (1975); Harlow et al., Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988); Hammerling et al., in: Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas 563-681, (Elsevier, N.Y., 1981))、組換えDNA法(例えば、米国特許第4,816,567号を参照されたい)、ファージディスプレイ技術(例えば、Clackson et al., Nature, 352:624-628 (1991); Marks et al., J. Mol. Biol., 222:581-597 (1991); Sidhu et al., J. Mol. Biol. 338(2):299-310 (2004); Lee et al., J. Mol. Biol. 340(5):1073-1093 (2004); Fellouse, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 101(34):12467-12472 (2004); および Lee et al. J. Immunol. Methods 284(1-2):119-132 (2004)を参照されたい)、ならびにヒト免疫グロブリン遺伝子座の一部または全てならびにヒト免疫グロブリン配列をコードする遺伝子を有する動物においてヒト抗体またはヒト様抗体を産生するための技術を含む様々な技法(例えば、WO1998/24893; WO1996/34096; WO1996/33735; WO1991/10741; Jakobovits et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:2551 (1993); Jakobovits et al., Nature, 362:255-258 (1993); Bruggemann et al., Year in Immuno., 7:33 (1993); 米国特許第5,545,806号; 同第5,569,825号; 同第5,591,669号; 同第5,545,807号; WO1997/17852; 米国特許第5,545,807号; 同第5,545,806号; 同第5,569,825号; 同第5,625,126号; 同第5,633,425号;および同第5,661,016号; Marks et al., Bio/Technology, 10: 779-783 (1992); Lonberg et al., Nature, 368: 856-859 (1994); Morrison, Nature, 368: 812-813 (1994); Fishwild et al., Nature Biotechnology, 14: 845-851 (1996); Neuberger, Nature Biotechnology, 14: 826 (1996);およびLonberg and Huszar, Intern. Rev. Immunol., 13: 65-93 (1995)を参照されたい)によって作ることができる。

【０３３４】

「ヒト化」型または「操作されたヒト」型の非ヒト(例えば、マウス)抗体は、例えば、

最小配列が非ヒト免疫グロブリンに由来するキメラ抗体を含む、ヒト免疫グロブリン配列で表されるアミノ酸を含有するキメラ抗体である。例えば、ヒト化抗体は、一部の超可変領域残基、場合によっては一部のFR残基が非ヒト(例えば、げっ歯類)抗体の類似部位に由来する残基で置換されたヒト抗体でもよい。または、ヒト化抗体または操作されたヒト抗体は、一部の残基がヒト抗体の類似部位に由来する残基によって置換された非ヒト(例えば、げっ歯類)抗体でもよい(例えば、米国特許第5,766,886号を参照されたい)。ヒト化抗体には、レシピエントの超可変領域に由来する残基が、望ましい特異性、親和性、および能力を有する、マウス、ラット、ウサギ、または非ヒト霊長類などの非ヒト種(ドナー抗体)の超可変領域に由来する残基と交換されている、ヒト免疫グロブリン(レシピエント抗体)が含まれる。場合によっては、ヒト免疫グロブリンのフレームワーク領域(FR)残基は対応する非ヒト残基と交換されている。さらに、ヒト化抗体は、例えば、ケモカイン、増殖因子、ペプチド、サイトカイン、細胞表面タンパク質、血清タンパク質、毒素、細胞外マトリックスタンパク質、凝固因子、または分泌タンパク質配列などの非抗体配列を含む、レシピエント抗体またはドナー抗体に見られない残基を含んでもよい。このような改変は、抗体の性能をさらに精緻なものにするために加えられることがある。ヒト化抗体には、例えば、改変された抗体可変ドメインを調製するための方法を含む米国特許第5,766,886号に記載のような操作されたヒト抗体が含まれる。ヒト化抗体は、少なくとも1つの可変ドメイン、典型的には2つの可変ドメインの実質的に全てを含んでもよい。ここで、超可変ループの全てまたは実質的に全てが非ヒト免疫グロブリンの超可変ループに対応し、FRの全てまたは実質的に全てがヒト免疫グロブリン配列のFRである。ヒト化抗体はまた、任意で、免疫グロブリン定常領域(Fc)、典型的には、ヒト免疫グロブリンの免疫グロブリン定常領域(Fc)の少なくとも一部も含んでもよい。さらなる詳細については、Jones et al., Nature 321:522-525 (1986); Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988); および Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596 (1992)を参照されたい。以下の総説論文およびその中で引用された参考文献: Vaswani and Hamilton, Ann. Allergy, Asthma & Immunol. 1: 105-115 (1998); Harris, Biochem. Soc. Transactions 23:1035-1038 (1995); Hurle and Gross, Curr. Op. Biotech. 5:428-433 (1994)も参照されたい。

【０３３５】

「ハイブリッド抗体」とは、結果として生じた四量体が2つの異なるエピトープまたは2つの異なる抗原を認識および結合できるように、異なる抗原決定基領域を有する抗体に由来する重鎖および軽鎖の対が集合して一緒になった免疫グロブリン分子を指す。

【０３３６】

「キメラ」抗体(免疫グロブリン)は、望ましい生物学的活性を示す限り、ある特定の種に由来するかまたはある特定の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体内の対応する配列と同一または相同である重鎖および/または軽鎖の一部を有する一方で、該鎖の残りが、別の種に由来するかまたは別の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体内、ならびにこのような抗体の複数の断片内の対応する配列と同一もしくは相同である(例えば、Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855 (1984)を参照されたい)。ヒト化抗体はキメラ抗体のサブセットを指す。

【０３３７】

「単鎖Fv」または「scFv」抗体断片は抗体のVHドメインおよびVLドメインを含んでもよく、これらのドメインは1本のポリペプチド鎖に存在する。一般的に、scFvポリペプチドは、VHドメインとVLドメインとの間に、scFvが抗原結合に望ましい構造を形成するのを可能にするポリペプチドリンカーをさらに含む。scFvの総説については、例えば、Pluckthun, in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenburg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)を参照されたい。

【０３３８】

「抗原」とは、抗体が選択的に結合することができる、ある決まった抗原を指す。標的抗原は、ポリペプチド、糖質、核酸、脂質、ハプテン、または他の天然化合物もしくは合成化合物でもよい。好ましくは、標的抗原はポリペプチドである。

【０３３９】
本明細書において同義に用いられる「エピトープ」または「抗原決定基」とは、ある特定の抗体が認識し、かつ特異的に結合することができる抗原部分を指す。抗原がポリペプチドである場合、エピトープは、連続したアミノ酸、およびタンパク質の三次フォールディングによって隣接する連続しないアミノ酸の両方から形成することができる。連続したアミノ酸から形成されたエピトープは典型的にはタンパク質変性の際に保持されるのに対して、三次フォールディングによって形成されたエピトープは典型的にはタンパク質変性の際に失われる。エピトープは、独特の空間コンホメーションにおいて、典型的には少なくとも3個、より通常は少なくとも5個または8～10個のアミノ酸を含む。抗体は抗原上にある同じエピトープに結合してもよく、抗原上にある異なるエピトープに結合してもよい。抗体は異なるエピトープビン(epitope bin)を特徴としてもよい。抗体が別の抗体(例えば、参照抗体またはベンチマーク抗体)と同じエピトープまたは異なるエピトープに結合するかどうかは、アッセイ(例えば、競合的結合アッセイ)における抗体間の競合によって判定され得る。

【０３４０】
抗体間の競合は、試験される免疫グロブリンにより参照抗体と共通抗原との特異的結合を阻害するアッセイによって、決定され得る。非常に多くのタイプの競合的結合アッセイ、例えば:直接的もしくは間接的な固相ラジオイムノアッセイ(RIA)、直接的もしくは間接的な固相酵素イムノアッセイ、または酵素結合免疫測定法(EIAもしくはELISA)、ELISAアッセイを含むサンドイッチ競合アッセイ(Stahli et al., Methods in Enzymology 9:242-253 (1983)を参照されたい);直接的な固相ビオチン-アビジンEIA(Kirkland et al., J. Immunol. 137:3614-3619 (1986)を参照されたい);直接的な固相標識アッセイ、直接的な固相標識サンドイッチアッセイ(Harlow and Lane, 「Antibodies, A Laboratory Manual」, Cold Spring Harbor Press (1988)を参照されたい);I-125標識を用いた直接的な固相標識RIA(Morel et al., Molec. Immunol. 25(1):7-15 (1988)を参照されたい);直接的な固相ビオチン-アビジンEIA(Cheung et al., Virology 176:546-552 (1990));および直接的な標識RIA(Moldenhauer et al., Scand. J. Immunol.、32:77-82 (1990))が公知である。競合結合アッセイは、例えば、結合相互作用の反応速度解析用のBiacore(登録商標)機器を用いた表面プラズモン共鳴(SPR)を用いて行われ得る。このようなアッセイでは、エピトープ特異性が分からない極めて長いCDR3を含むヒト化抗体は、比較抗体(例えば、本明細書に記載のBA1抗体またはBA2抗体)に対する結合において競合する能力について評価され得る。アッセイは、固体表面に結合した精製抗原、またはこれらのいずれかを有する細胞、非標識試験免疫グロブリンおよび標識参照免疫グロブリンの使用を伴い得る。競合的阻害は、試験免疫グロブリンの存在下で、固体表面または細胞に結合した標識の量を決定することによって測定され得る。通常、試験免疫グロブリンは過剰に存在する。アッセイ(競合抗体)は、参照抗体と同じエピトープに結合する抗体、および立体障害が起こるほど十分に、参照抗体が結合するエピトープの近位にある隣接エピトープに結合する抗体を含み得る。通常、競合抗体が過剰に存在する場合、競合抗体は参照抗体と共通抗原との特異的結合を少なくとも50%、または少なくとも約70%、または少なくとも約80%、または少なくとも約90%、または少なくとも約95%、または少なくとも約99%、または約100%阻害する。

【０３４１】
抗体が「選択的に結合する」または「特異的に結合する」とは、抗体が、非関連タンパク質を含む別の物質より高頻度で、迅速に、長期間、大きな親和性で、または前記を組み合わせて抗原またはエピトープと反応または会合することを意味する。「選択的に結合する」または「特異的に結合する」とは、例えば、抗体が少なくとも約0.1mMのK_Dで、または少なくとも約1μMのK_Dで、または少なくとも約0.1μMもしくはそれより良好なK_Dで、または少なくとも約0.01μMもしくはそれより良好なK_Dでタンパク質に結合することを意味し得る。異なる種にある相同タンパク質の間には配列同一性があるので、特異的結合は、複数の種にある特定の抗原を認識する抗体を含んでもよい。

【０３４２】
「非特異的結合」および「バックグラウンド結合」は、抗体およびタンパク質またはペプチドの相互作用に関して用いられる場合、ある特定の構造の存在に依存しない相互作用を指す(例えば、抗体は、一般的に、エピトープなどのある特定の構造ではなくタンパク質に結合する)。
【０３４３】
「ダイアボディ」とは、2つの抗原結合部位を持ち、同じポリペプチド鎖中でつながっている(VH-VL)重鎖可変ドメイン(VH)と軽鎖可変ドメイン(VL)とを含む、小さな抗体断片を指す。短すぎて同じ鎖上の2つのドメイン間の対形成ができないリンカーを用いることによって、これらのドメインは強制的に別の鎖の補完的なドメインと対形成され、2つの抗原結合部位を作り出す。ダイアボディは、例えば、EP404,097;WO93/11161;およびHollinger et. al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)においてさらに詳細に説明されている。
【０３４４】
「ヒト抗体」とは、ヒトによって産生される抗体のアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を含むもの、および/または、本明細書において開示されたヒト抗体を作製するための任意の技法を用いて作製されたものを指す。特に、このヒト抗体の定義は、非ヒト抗原結合残基を含むヒト化抗体を除外する。
【０３４５】
「親和性成熟」抗体とは、抗体の1つまたは複数のCDRに1つまたは複数の変化があり、その結果として、これらの変化を有さない親抗体と比較して抗原に対する抗体の親和性が改善している抗体を指す。好ましい親和性成熟抗体は、標的抗原に対してナノモル親和性、さらにはピコモル親和性を有する。親和性成熟抗体は当技術分野において公知の手法によって産生される。Marks et al., Bio/Technology 10:779-783(1992)は、VHおよびVLドメインシャッフリングによる親和性成熟について述べている。CDR残基および/またはフレームワーク残基のランダム変異誘発が、Barbas et al., Proc Nat. Acad. Sci. USA 91:3809-3813 (1994); Schier et al., Gene 169:147-155 (1995); Yelton et al., J. Immunol. 155:1994-2004 (1995); Jackson et al., J. Immunol. 154(7):3310-9 (1995); および Hawkins et al., J. Mol. Biol. 226:889-896 (1992)によって述べられている。
【０３４６】
抗体「エフェクター機能」とは、抗体のFc領域(天然配列Fc領域またはアミノ酸配列変種Fc領域)に起因する生物学的活性を指し、抗体アイソタイプによって異なる。抗体エフェクター機能の例には、Clq結合および補体依存性細胞傷害;Fc受容体結合;抗体依存性細胞傷害(ADCC);食作用;細胞表面受容体(例えば、B細胞受容体)のダウンレギュレーション;ならびにB細胞活性化が含まれる。
【０３４７】
「抗体依存性細胞傷害」または「ADCC」とは、ある特定の細胞傷害性細胞(例えば、ナチュラルキラー(NK)細胞、好中球、およびマクロファージ)上に存在するFc受容体(FcR)と分泌Igが結合することで、これらの細胞傷害性エフェクター細胞が、抗原を有する標的細胞に特異的に結合し、その後に標的細胞を細胞毒で死滅させることができる細胞傷害の一種を指す。抗体は細胞傷害性細胞に「武器を持たせ(arm)」、このような死滅に絶対に必要である。ADCCを媒介するための主な細胞であるNK細胞はFcγRIIIしか発現しないのに対して、単球はFcγRI、FcγRII、およびFcγRIIIを発現する。造血細胞上でのFcR発現は、Ravetch and Kinet、Annu. Rev. Immunol 9:457-92 (1991)の464頁にある表3にまとめられている。関心対象の分子のADCC活性を評価するために、インビトロADCCアッセイが行われ得る。このようなアッセイに有用なエフェクター細胞には末梢血単核球(PBMC)およびナチュラルキラー(NK)細胞が含まれる。または、もしくはさらに、関心対象の分子のADCC活性は、インビボで、例えば、Clynes et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:652-656 (1998)に開示される動物モデルなどの動物モデルにおいて評価されてもよい。
【０３４８】

「ヒトエフェクター細胞」は、1つまたは複数のFcRを発現し、エフェクター機能を遂行する白血球である。好ましくは、前記細胞は少なくともFcγRIIIを発現し、ADCCエフェクター機能を遂行する。ADCCを媒介するヒト白血球の例には、末梢血単核球(PBMC)、ナチュラルキラー(NK)細胞、単球、細胞傷害性T細胞、および好中球が含まれ、PBMCおよびNK細胞が好ましい。エフェクター細胞は、天然供給源、例えば、血液から単離されてもよい。

【０３４９】

「Fc受容体」または「FcR」は、抗体のFc領域に結合する受容体を説明する。好ましいFcRは天然配列ヒトFcRである。さらに、好ましいFcRは、IgG抗体(γ受容体)に結合するFcRであり、これらの受容体の対立遺伝子変種およびオルタナティブスプライシング型を含む、FcγRI、FcγRII、およびFcγRIIIサブクラスの受容体を含む。FcγRII受容体には、主として細胞質ドメインが異なる、類似のアミノ酸配列を有するFcγRIIA(「活性化受容体」)およびFcγRIIB(「抑制受容体」)が含まれる。活性化受容体FcγRIIAは細胞質ドメインに免疫受容体チロシンベース活性化モチーフ(ITAM)を含有する。抑制受容体FcγRIIBは細胞質ドメインに免疫受容体チロシンベース抑制モチーフ(ITIM)を含有する(M. in Daeron, Annu. Rev. Immunol. 15:203-234 (1997)の総説を参照されたい)。FcRは、Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol 9:457-92 (1991); Capel et al., Immunomethods 4:25-34 (1994);およびde Haas et al., J. Lab. Clin. Med. 126:330-41 (1995)において概説されている。本明細書の「FcR」という用語には、将来、同定される予定のFcRを含む他のFcRが包含される。この用語はまた、胎児への母体IgGの移行を担い(Guyer et al., J. Immunol. 117:587 (1976) および Kim et al., J. Immunol. 24:249 (1994))、免疫グロブリンのホメオスタシスを調節する新生児型受容体FcRnも含む。例えば、FcRとの結合が改善されたか、またはFcRとの結合が減らされた抗体変種が説明されている(例えば、Shields et al. J. Biol. Chem. 9(2): 6591-6604 (2001)を参照されたい)。

【０３５０】

FcRnへの結合を測定する方法は公知である(例えば、Ghetie 1997, Hinton 2004を参照されたい)。インビボでのヒトFcRnとの結合およびヒトFcRn高親和性結合ポリペプチドの血清半減期は、例えば、ヒトFcRnを発現するトランスジェニックマウスもしくはトランスフェクトヒト細胞株において、またはFc変種ポリペプチドが投与された霊長類においてアッセイすることができる。

【０３５１】

「補体依存性細胞傷害」または「CDC」とは、補体の存在下で標的細胞が溶解されることを指す。古典的補体経路の活性化は、コグネイト抗原に結合している(適切なサブクラスの)抗体に補体系の第1の成分(Clq)が結合することによって始まる。補体活性化を評価するためには、例えば、Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202:163 (1996)に記載のようにCDCアッセイが行われてもよい。

【０３５２】

Fc領域アミノ酸配列が変えられており、Clq結合能力が増加または減少しているポリペプチド変種が説明されている(例えば、Idusogie et al. J. Immunol. 164: 4178-4184 (2000)も参照されたい)。

【０３５３】

「Fc領域を含むポリペプチド」とは、Fc領域を含む、抗体またはイムノアドヘシン(下記の定義を参照されたい)などのポリペプチドを指す。Fc領域のC末端リジン(EU番号付与システムによる残基447)は、例えば、ポリペプチド精製中に、またはポリペプチドをコードする核酸を操作する組換えによって取り除かれてもよい。

【０３５４】

「ブロッキング」抗体または「アンタゴニスト」抗体とは、「ブロッキング」抗体または「アンタゴニスト」抗体が結合する抗原の生物学的活性を阻害または低減する抗体を指す。好ましいブロッキング抗体またはアンタゴニスト抗体は抗原の生物学的活性を実質的にまたは完全に阻害する。

【０３５５】

「アゴニスト」抗体とは、関心対象のポリペプチドの機能活性の少なくとも1つを(例えば、部分的または完全に)模倣する抗体を指す。

【０３５６】

「アクセプターヒトフレームワーク」とは、ヒト免疫グロブリンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワークに由来するVLフレームワークもしくはVHフレームワークのアミノ酸配列を含むフレームワークを指す。ヒト免疫グロブリンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワーク「に由来する」アクセプターヒトフレームワークは、その同じアミノ酸配列を含んでもよく、既存のアミノ酸配列変化を含有してもよい。既存のアミノ酸配列変化が存在する場合、好ましくは5個以下、好ましくは4個以下、または3個以下の既存のアミノ酸変化が存在する。

【０３５７】

「ヒトコンセンサスフレームワーク」とは、ヒト免疫グロブリンVLフレームワーク配列またはVHフレームワーク配列の選択において最もよく現れるアミノ酸残基に相当するフレームワークを指す。一般的に、ヒト免疫グロブリンVL配列またはVH配列の選択は可変ドメイン配列のサブグループに由来する。一般的に、配列のサブグループは、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, NIH Publication 91-3242, Bethesda Md. (1991), vols. 1-3に記載のようなサブグループである。一態様において、VLの場合、サブグループは、Kabat et al., 前記に記載のようなサブグループκIである。一態様において、VHの場合、サブグループは、Kabat et al., 前記に記載のようなサブグループIIIである。

【０３５８】

「障害」または「疾患」とは、本明細書において開示された物質/分子(例えば、本明細書において開示された極めて長いCDR3を含むヒト化抗体)または本明細書において開示された方法を用いた処置から利益を得ると考えられる任意の状態を指す。これには、哺乳動物を、問題となっている障害にかかりやすくする病理学的状態を含む慢性および急性の障害または疾患が含まれる。

【０３５９】

「処置」とは、処置されている個体または細胞の自然経過を変えようと試みる臨床介入を指し、予防のために行われてもよく、臨床病理の間に行われてもよい。処置の望ましい効果には、疾患の発生または再発の阻止、症状の軽減、疾患の直接的または間接的な病理学的結果の減少、転移の阻止、疾患進行速度の低下、疾患状態の寛解または一時的軽減、および軽快または予後の改善が含まれる。一部の態様において、本明細書において開示された抗体は、疾患または障害の発症を遅らせるのに用いられる。

【０３６０】

「個体」(例えば、「対象」)とは、脊椎動物、好ましくは、哺乳動物、より好ましくは、ヒトを指す。哺乳動物には、家畜(例えば、ウシ)、スポーツ動物、ペット(例えば、ネコ、イヌ、およびウマ)、霊長類、マウス、ならびにラットが含まれるが、これに限定されない。

【０３６１】

処置するための「哺乳動物」とは、ヒト、げっ歯類(例えば、マウスおよびラット)、ならびにサル;家畜(domestic animal)および家畜(farm animal);ならびに動物園の動物、スポーツ動物、実験動物、またはペット動物、例えば、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ヒツジ、ブタ、ヤギ、ウサギなどを含む哺乳動物として分類された任意の動物を指す。一部の態様において、哺乳動物はヒト、げっ歯類、またはサルより選択される。

【０３６２】

「薬学的に許容される」とは、ヒトを含む動物における使用について、連邦政府もしくは州政府の規制当局により認可されていること、もしくは認可可能であること、または米国薬局方もしくは他の一般に認められている薬局方に列挙されていることを指す。

【０３６３】

「薬学的に許容される塩」とは、薬学的に許容され、かつ親化合物の望ましい薬理学的

活性を有する、化合物の塩を指す。

【０３６４】

「薬学的に許容される賦形剤、担体、またはアジュバント」とは、本開示の少なくとも1つの抗体と共に対象に投与することができ、かつその薬理活性を破壊せず、かつ治療量の化合物を送達するのに十分な用量で投与されたときに無毒である、賦形剤、担体またはアジュバントを指す。

【０３６５】

「薬学的に許容されるビヒクル」とは、一緒に本開示の少なくとも1つの抗体が投与される、希釈剤、アジュバント、賦形剤、または担体を指す。

【０３６６】

「予後予測を提供する」、「予後予測情報」、または「予測情報」とは、例えば、対象の将来の健康に及ぼす(例えば、本開示の診断方法によって判定されるような)癌の存在の影響に関する、対象の腫瘍における癌細胞の存在を含む情報(例えば、予想される罹患率または死亡率、癌になる可能性、および転移のリスク)を提供することを指す。

【０３６７】

「処置する」または「処置」または「処置しようとする」または「軽減する」または「軽減しようとする」などの用語は、1)診断された病的な状態もしくは障害を治癒する、遅らせる、診断された病的な状態もしくは障害の症状を和らげる、および/または診断された病的な状態もしくは障害の進行を止める治療措置、ならびに2)標的とされた病的な状態または障害の発症を阻止する、および/または遅らせる予防措置または防止措置を指す。従って、処置を必要とする人には、既に障害がある人;障害を起こしやすい人;および障害が阻止される人が含まれる。

【０３６８】

「診断を提供する」または「診断情報」とは、患者が疾患もしくは状態を有するかどうかの確認、および/あるいは疾患もしくは状態の予後または疾患もしくは状態の処置(処置全般もしくは任意の特定の処置のいずれか)に対する、ありそうな応答に関して意味を持つ表現型カテゴリーまたは任意のカテゴリーへの疾患または状態の分類において有用な、例えば、癌細胞の存在を含む任意の情報を指す。同様に、診断とは、対象に状態(例えば、腫瘍)がある可能性が高いかどうか、対象の腫瘍が癌幹細胞を含むかどうか、腫瘍がどういったものか、もしくは腫瘍の分類、例えば、ハイリスク腫瘍もしくは低リスク腫瘍に関する情報、予後に関する情報、および/または適切な処置の選択における有用な情報を含むが、これに限定されない任意のタイプの診断情報を提供することを指す。処置の選択には、ある特定の化学療法剤または外科手術もしくは放射線などの他の治療モダリティーの選択、あるいは療法を保留または送達するかどうかの選択が含まれ得る。

【０３６９】

「ヒトコンセンサスフレームワーク」とは、ヒト免疫グロブリンVLフレームワーク配列またはVHフレームワーク配列の選ばれたものにおいて最もよく現れるアミノ酸残基であるフレームワークを指す。一般的に、ヒト免疫グロブリンVL配列またはVH配列の選ばれたものは可変ドメイン配列のサブグループに由来する。一般的に、配列のサブグループは、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, NIH Publication 91-3242, Bethesda Md. (1991), vols. 1-3に記載のようなサブグループである。一態様において、VLの場合、サブグループは、Kabat et al., 前記に記載のようなサブグループκIである。一態様において、VHの場合、サブグループは、Kabat et al., 前記に記載のようなサブグループIIIである。

【０３７０】

本明細書における目的のための「アクセプターヒトフレームワーク」とは、以下で定義されるように、ヒト免疫グロブリンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワークに由来する軽鎖可変ドメイン(VL)フレームワークまたは重鎖可変ドメイン(VH)フレームワークのアミノ酸配列を含むフレームワークを指す。ヒト免疫グロブリンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワーク「に由来する」アクセプターヒトフレームワーク

はその同じアミノ酸配列を含んでもよく、アミノ酸配列変化を含有してもよい。一部の態様において、アミノ酸変化の数は、10個以下、9個以下、8個以下、7個以下、6個以下、5個以下、4個以下、3個以下、または2個以下である。一部の態様において、VLアクセプターヒトフレームワークは、VLヒト免疫グロブリンフレームワーク配列またはヒトコンセンサスフレームワーク配列と配列が同一である。

【０３７１】

「抗原結合部位」とは、1つまたは複数の相補性決定領域によって形成される境界面を指す。抗体分子は2つの抗原結合部位を有し、それぞれが、重鎖可変領域の部分および軽鎖可変領域の部分を含有する。抗原結合部位は、CDRに加えて可変領域ドメインの他の部分を含有する場合がある。

【０３７２】

「抗体軽鎖」または「抗体重鎖」とは、それぞれ、VLを構成するポリペプチドまたはVHを構成するポリペプチドを指す。VLはミニ遺伝子V(可変)およびJ(結合)によってコードされ、VHはミニ遺伝子V、D(多様性)、およびJによってコードされる。VLまたはVHはそれぞれCDRならびにフレームワーク領域を含む。本願において、抗体軽鎖および/または抗体重鎖は、時として、総称して「抗体鎖」と呼ばれることがある。これらの用語は、当業者が容易に認めるように、VLまたはVHの基本構造を破壊しない変異を含有する抗体鎖を包含する。

【０３７３】

「天然抗体」とは、異なる構造を有する天然免疫グロブリン分子を指す。例えば、天然IgG抗体は、ジスルフィド結合した2本の同一軽鎖および2本の同一重鎖で構成される約150,000ダルトンのヘテロ四量体糖タンパク質である。N末端からC末端にかけて、それぞれの重鎖には、可変重鎖ドメインまたは重鎖可変ドメインとも呼ばれる可変領域(VH)に続いて3つの定常ドメイン(CH1、CH2、およびCH3)がある。同様に、N末端からC末端にかけて、それぞれの軽鎖には、可変軽鎖ドメインまたは軽鎖可変ドメインとも呼ばれる可変領域(VL)に続いて定常軽鎖(CL)ドメインがある。抗体軽鎖は、その定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、カッパ(κ)およびラムダ(λ)と呼ばれる2つのタイプのうちの1つに割り当てられることがある。

【０３７４】

「コンビナトリアルライブラリー」とは、交換可能な化学的「基本要素」の異なる組み合わせを反応させて、基本要素の交換に基づいて化合物のコレクションを作製することによって形成した化合物のコレクションを指す。抗体コンビナトリアルライブラリーの場合、基本要素は、抗体が形成される成分V、D、およびJ領域(またはその改変型)である。本明細書における目的に関して、「ライブラリー」または「コレクション」という用語は同義に用いられる。

【０３７５】

「コンビナトリアル抗体ライブラリー」とは、抗体が、V、D、およびJ遺伝子セグメント、特にヒトV、D、およびJ生殖系列セグメントの組み合わせによって生じた核酸分子によってコードされる、抗体(またはその一部、例えば、Fab)のコレクションを指す。本明細書におけるコンビナトリアルライブラリーは、典型的には、少なくとも50の異なる抗体(または抗体部分もしくは断片)メンバーを含有し、典型的には、50、100、500、103、1x103、2x103、3x103、4x103、5x103、6x103、7x103、8x103、9x103、1x104、2x104、3x104、4x104、5x104、6x104、7x104、8x104、9x104、1x105、2x105、3x105、4x105、5x105、6x105、7x105、8x105、9x105、106、107、108、109、1010、もしくはそれより多い異なるメンバー、または約50、約100、約500、約103、約1x103、約2x103、約3x103、約4x103、約5x103、約6x103、約7x103、約8x103、約9x103、約1x104、約2x104、約3x104、約4x104、約5x104、約6x104、約7x104、約8x104、約9x104、約1x105、約2x105、約3x105、約4x105、約5x105、約6x105、約7x105、約8x105、約9x105、約106、約107、約108、約109、約1010、もしくはそれより多い異なるメンバーを含有する。結果として生じた、抗体またはその一部のライブラリーまたはコレクションは、標的タンパク質に結合するかどうか、また

は機能活性を調整するかどうかスクリーニングすることができる。

【０３７６】

「ヒトコンビナトリアル抗体ライブラリー」とは、それぞれのメンバーが、本明細書に記載のように作製されるヒト生殖系列セグメントを含有する核酸によってコードされる、VL鎖およびVH鎖または抗原結合部位を形成するのに十分なその一部を含有する、抗体またはその一部のコレクションを指す。

【０３７７】

「可変生殖系列セグメント」とは、V、D、およびJグループ、そのサブグループ、遺伝子、または対立遺伝子を指す。遺伝子セグメント配列は、公知のデータベース(例えば、米国立バイオテクノロジー情報センター(NCBI)、国際免疫遺伝学情報システム(登録商標)(IMGT)、Kabatデータベース、およびTomlinsonのVBaseデータベース(Lefranc (2003) Nucleic Acids Res., 31:307-310; Martin et al., Bioinformatics Tools for Antibody Engineering in Handbook of Therapeutic Antibodies, Wiley-VCH (2007), pp. 104-107から入手することができる。表3～5は、例示的なヒト可変生殖系列セグメントを列挙する。例示的なVH、DH、JH、Vκ、Jκ、Vλ、およびまたはJλ、生殖系列セグメントの配列をSEQ ID NO:10～451および868に示した。本明細書における目的に関して、生殖系列セグメントは、前記方法を実施できるように、本明細書において提供された配列編集の規則に従って改変された、その改変配列を含む。例えば、生殖系列遺伝子セグメントは、SEQ ID NO:10～451、868に示した任意のヌクレオチド配列と比較して5'末端または3'末端に1個のアミノ酸欠失または挿入を含有する生殖系列遺伝子セグメントを含む。

【０３７８】

「編集」、「編集する」、「組み合わせる」、「組み合わせ」、「再編成する」、「再編成」、もしくは他の類似の用語、またはその文法上の語尾変化は、生殖系列セグメントが順序よく並べられるか、または組み立てられて、遺伝子に相当する核酸配列になるプロセスを指す。例えば、可変重鎖生殖系列セグメントは、VHセグメントがDHセグメントの5'側になり、DHセグメントがJHセグメントの5'側になり、それによって、VH鎖をコードする核酸配列が生じるように組み立てられる。可変軽鎖生殖系列セグメントは、VLセグメントがJLセグメントの5'側になり、それによって、VL鎖をコードする核酸配列が生じるように組み立てられる。定常遺伝子セグメントも、VH鎖またはVL鎖をコードする核酸の3'末端に組み立てることができる。

【０３７９】

生殖系列セグメントに関して「連結された」または「連結」またはその他の文法上の語尾変化は、生殖系列セグメントがつなぎ合わされることを指す。連結は直接的でも間接的でもよい。生殖系列セグメントは、セグメント間にさらなるヌクレオチドなく直接連結されてもよく、セグメント全体がインフレームになるように、さらなるヌクレオチドが付加されてもよく、結果として生じたセグメントがインフレームになるように、ヌクレオチドが欠失されてもよい。結果として生じた核酸分子がインフレームになり、機能的かつ生産的な抗体をコードするようなリンカーヌクレオチドの選択がなされると理解される。

【０３８０】

ヒト生殖系列セグメントの連結に関して「インフレームの」または「インフレームに連結された」とは、結果として生じた核酸分子が5'開始コドン(ATG)とインフレームになり、それによって、「生産的な(productive)」または機能的な完全長ポリペプチドを産生するように、ヌクレオチド生殖系列セグメントのつなぎ合わされた接合部に挿入および/または欠失があることを意味する。生殖系列セグメント、特に、様々なVD、DJ、およびVJセグメントをつなぎ合わせた結合部から挿入または欠失されるヌクレオチドの選択は、V(D)J結合部を作製するための本明細書の方法において提供される規則に従う。例えば、VHセグメントがDHセグメントの5'側になり、DHセグメントがJHセグメントの5'側になるように生殖系列セグメントが組み立てられる。つなぎ合わされたVDJセグメントを含有する、結果として生じた核酸分子が5'開始コドン(ATG)とインフレームになるように、VHとDHをつなぎ合わせた接合部およびDHセグメントとJHセグメントをつなぎ合わせた接合部では個々

のVH、DH、またはJHセグメントからヌクレオチドを挿入または欠失することができる。
【０３８１】
抗体の一部には、抗原結合部位を形成するのに十分なアミノ酸が含まれる。
【０３８２】
「読み枠」とは、DNAまたはRNAにある連続した、かつ重複しない一組の3ヌクレオチドコドンを指す。3コドンが1つのアミノ酸をコードするので、ある特定のヌクレオチド配列には3通りの読み枠、読み枠1、2、または3が存在する。例えば、配列ACTGGTCAは、読み枠1の場合はACT GGT CA、読み枠2の場合はA CTG GTC A、読み枠3の場合はAC TGG TCAである。一般的に、本明細書に記載の方法を実施するために、V配列が読み枠1になるように核酸配列が組み合わされる。
【０３８３】
「停止コドン」とは、アンバー停止コドン(UAGまたはTAG))、オーカー停止コドン(UAAまたはTAA))、およびオパール停止コドン(UGAまたはTGA))を含む、翻訳中にタンパク質合成の停止を知らせる3ヌクレオチド配列、またはその配列をコードする任意の配列(例えば、RNA停止コドン配列をコードするDNA配列)を指す。停止コドンが、あらゆる細胞またはあらゆる生物において翻訳終結を知らせる必要はない。例えば、サプレッサー株宿主細胞、例えば、アンバーサプレッサー株および部分的アンバーサプレッサー株では、翻訳は、1つまたは複数の停止コドン(例えば、アンバーサプレッサー株の場合、アンバー停止コドン)を少なくともいくらかの期間にわたって進む。
【０３８４】
「可変重」(VH)鎖または「可変軽」(VL)鎖(VHドメインまたはVLドメインとも呼ばれる)とは、抗体の可変ドメインを構成するポリペプチド鎖を指す。本明細書における目的に関して、重鎖生殖系列セグメントはVH、DH、およびJHと名付けられており、これらが編集されると、VH鎖をコードする核酸が生じる。軽鎖生殖系列セグメントはVLまたはJLと名付けられており、カッパ軽鎖およびラムダ軽鎖(Vκ およびJκ;Vλ およびJλ)を含み、これらが編集されると、VL鎖をコードする核酸が生じる。軽鎖はカッパ軽鎖およびラムダ軽鎖のいずれかであり、Vκ およびJλの編集によってカッパ/ラムダの組み合わせを含まないことが理解される。
【０３８５】
「縮重コドン」とは、親ヌクレオチド配列のコドンと同じアミノ酸を指定する3ヌクレオチドコドンを指す。当業者は遺伝暗号の縮重に精通しており、縮重コドンを同定することができる。
【０３８６】
コレクション中のメンバーに関する「多様性」とは、コレクション中の独特のメンバーの数を指す。従って、多様性とは、そのコレクションの類似するポリペプチドメンバー中の、異なるアミノ酸配列の数または異なる核酸配列の数を指す。例えば、多様性104のポリヌクレオチドのコレクションは、類似するポリヌクレオチドメンバーの中に104個の異なる核酸配列を含有する。一例では、ポリヌクレオチドおよび/またはポリペプチドの提供されるコレクションの多様性は、少なくとも102、103、104、105、106、107、108、109、1010、もしくはそれより多いか、または約102、約103、約104、約105、約106、約107、約108、約109、約1010、もしくはそれより多い。
【０３８７】
「配列多様性」とは核酸配列類似性を表したものを指し、配列アライメント、多様性スコア、および/または配列クラスタリングを用いて決定される。いかなる2つの配列も、配列を隣り合わせに置き、これらの配列の長さに沿って位置ごとにヌクレオチドの差異を分析することによってアライメントすることができる。配列アライメントは、核酸配列および/またはタンパク質配列を比較するためのNCBIツールであるBLAST(Basic Local Alignment Search Tool)を用いてインシリコで評価することができる。配列アライメントのためのBLASTの使用は当業者に周知である。Blast検索アルゴリズムは2つの配列を比較し、それぞれのマッチの統計的有意性(Blastスコア)を計算する。互いに最も類似する配列は高

いBlastスコアを有するのに対して、最も異なる配列は低いBlastスコアを有する。

【０３８８】

「ポリペプチドドメイン」とは、構造的および/または機能的に区別または定義することができるポリペプチド部分(3個もしくはそれ以上、一般的に5個もしくは7個またはそれより多いアミノ酸からなる配列)を指す。例示的なポリペプチドドメインは、1つまたは複数の構造モチーフ(例えば、ループ領域によってつながっているαヘリックスおよび/もしくはβ鎖の組み合わせ)で構成される、ポリペプチド内で独立して折り畳まれた構造を形成することができるポリペプチド部分、ならびに/または酵素活性もしくは抗原結合などのある特定の機能的活性によって認識されるポリペプチド部分である。ポリペプチドは1つの、典型的には複数の別個のドメインを有することがある。例えば、ポリペプチドは1つまたは複数の構造ドメインと1つまたは複数の機能的ドメインを有することがある。1個のポリペプチドドメインは構造および機能に基づいて区別することができる。ドメインは、連続した直鎖状のアミノ酸配列を包含してもよい。または、ドメインは、ポリペプチドの直鎖状のアミノ酸配列に沿って連続しない複数の非連続アミノ酸部分を包含してもよい。典型的には、ポリペプチドは複数のドメインを含有する。例えば、抗体分子のそれぞれの重鎖およびそれぞれの軽鎖は複数の免疫グロブリン(Ig)ドメインを含有し、それぞれの免疫グロブリン(Ig)ドメインは約110アミノ酸長である。

【０３８９】

「Igドメイン」とは、そのようなものとして当業者に認められており、ループによってつながったアミノ酸逆平行β鎖をそれぞれが含有する2つのβプリーツシートを含有する、免疫グロブリン(Ig)フォールド(fold)と呼ばれる構造によって区別されるドメインを指す。Igフォールドにある2つのβシートは、疎水性相互作用および保存された鎖内ジスルフィド結合によって一緒に、サンドイッチにされる。さらに、抗体鎖の中にある個々の免疫グロブリンドメインは機能に基づいて区別することができる。例えば、軽鎖は1個の可変領域ドメイン(VL)と1個の定常領域ドメイン(CL)を含有するのに対して、重鎖は1個の可変領域ドメイン(VH)と3個または4個の定常領域ドメイン(CH)を含有する。それぞれのVL、CL、VH、およびCHドメインは免疫グロブリンドメインの一例である。

【０３９０】

抗体に関して「可変ドメイン」とは、異なる抗体間で変化するアミノ酸配列を含有する、抗体重鎖または軽鎖の特定のIgドメインを指す。各軽鎖および各重鎖には1つの可変領域ドメイン(VLおよびVH)がある。可変ドメインは抗原特異性をもたらし、従って、抗原認識を担っている。それぞれの可変領域は、抗原結合部位ドメインの一部であるCDRおよびフレームワーク領域(FR)を含有する。

【０３９１】

「定常領域ドメイン」とは、抗体間で可変領域ドメインより比較的保存されているアミノ酸配列を含有する、抗体重鎖または軽鎖のドメインを指す。各軽鎖には1つの軽鎖定常領域(CL)ドメインがあり、各重鎖には、CH1、CH2、CH3、およびCH4を含む1つまたは複数の重鎖定常領域(CH)ドメインがある。完全長IgA、IgD、およびIgGアイソタイプはCH1、CH2、CH3、およびヒンジ領域を含有するのに対して、IgEおよびIgMはCH1、CH2、CH3、およびCH4を含有する。CH1およびCLドメインは抗体分子のFabアームを拡張し、従って、抗原との相互作用および抗体アームの回転に寄与する。抗体定常領域は、例えば、様々な細胞、生体分子、および組織と相互作用することによって、抗体が特異的に結合する抗原、病原体、および毒素の排除などがあるが、これに限定されないエフェクター機能を果たすことができる。

【０３９２】

「抗原結合部位を形成するのに十分な、抗体または抗体の一部」とは、抗体またはその一部が、6個全てのCDRを含有する対応する完全長抗体の結合特異性の少なくとも一部を保持するのに十分な、VHおよびVLの少なくとも1個または2個、典型的には3個、4個、5個、または6個全てのCDRを含有していることを意味する。一般的に、十分な抗原結合部位は少なくとも重鎖のCDR3(CDRH3)を必要とする。典型的には、十分な抗原結合部位は軽鎖のCDR

3(CDRL3)をさらに必要とする。本明細書に記載のように、当業者はCDRを知っており、Kabatの番号付与またはChothiaの番号付与に基づいて同定することができる(例えば、Kabat, E.A. et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242、およびChothia, C. et al. (1987) J. Mol. Biol. 196:901-917を参照されたい)。例えば、Kabatの番号付与に基づいて、CDR-LIは残基L24～L34に対応し、CDR-L2は残基L50～L56に対応し、CDR-L3は残基L89～L97に対応し、CDR-H1は残基H31～H35、長さに応じて35aまたは35bに対応し、CDR-H2は残基H50～H65に対応し、CDR-H3は残基H95～H102に対応する。

【０３９３】

「ペプチドミメティック」とは、ポリペプチドの活性を模倣するペプチドを指す。例えば、エリスロポエチン(EPO)ペプチドミメティックは、EPO受容体への結合およびEPO受容体の活性化などのEpoの活性を模倣するペプチドである。

【０３９４】

「アドレス」とは、アドレス指定されたメンバー(例えば、抗体)を同定することができる、コレクション中の各位置の独特の識別子を指す。アドレス指定された部分は、その位置または場所によって同定することができる部分である。マイクロプレートウェルなどの表面にある位置によってアドレス指定することができる。例えば、マイクロウェルプレート中にあるF9というタンパク質アドレスは、タンパク質がマイクロウェルプレートの横列F、縦列9にあることを意味する。アドレス指定はまた、他の識別子、例えば、バーコードもしくは他のシンボル体系(symbology)でコード化されたタグ、化学タグ、電子タグ、このようなRFタグ、色分けされたタグ、または他のこのような識別子でも行うことができる。

【０３９５】

「アレイ」とは、3つもしくはそれ以上のメンバーを含有する、抗体などの要素のコレクションを指す。

【０３９６】

「空間アレイ」とは、メンバーが分離されているか、またはアレイにおいて別個の空間を占めるアレイを指す。従って、空間アレイはアドレス指定可能なアレイの一種である。空間アレイの例には、プレートの各ウェルがアレイ内のアドレスであるマイクロタイタープレートが含まれる。空間アレイは、複数の異なる分子、例えば、ポリペプチドが保持されている、提示されている、配置されている、置かれている、または支えられている任意の配置を含む。アレイは、マイクロタイタープレート、例えば、48ウェル、96ウェル、144ウェル、192ウェル、240ウェル、288ウェル、336ウェル、384ウェル、432ウェル、480ウェル、576ウェル、672ウェル、768ウェル、864ウェル、960ウェル、1056ウェル、1152ウェル、1248ウェル、1344ウェル、1440ウェル、または1536ウェルのプレート、チューブ、スライド、チップ、フラスコ、または他の任意の適切な実験器具を含んでもよい。さらに、アレイはまた複数のサブアレイも含んでもよい。複数のサブアレイは、ポリペプチドを配置するために複数の配置が用いられるアレイを包含する。例えば、複数の96ウェルプレートが複数のサブアレイおよび1個のアレイを構成することができる。

【０３９７】

「アドレス指定可能なライブラリー」または「空間的にアドレス指定されたライブラリー」とは、核酸分子または抗体などのタンパク質薬剤などの分子のコレクションを指す。コレクションの各メンバーはそのアドレスによって同定可能である。

【０３９８】

「アドレス指定可能なアレイ」とは、アドレスによって、マイクロタイタープレートウェルなどの空間アレイ内の位置もしくは固相支持体上の位置によって、または同定可能もしくは検出可能な標識、例えば、色、蛍光、電子信号(すなわち、RF、マイクロ波、もしくは関心対象の分子の相互作用を実質的に変えない他の周波数)、バーコードもしくは他のシンボル体系、化学標識もしくは他のこのような標識によって、アレイのメンバーが同定可能であるアレイを指す。従って、一般的に、アレイのメンバーは、固相表面にある同

定可能な位置に配置されるか、あるいは同定可能な標識に直接的もしくは間接的に連結されるか、または別の方法で結合される、例えば、マイクロスフェアもしくは他の粒子支持体(本明細書ではビーズと呼ぶ)に取り付けられ、溶解状態で懸濁されるか、もしくは表面に広げられる。

【０３９９】

「アドレス指定可能なコンビナトリアル抗体ライブラリー」とは、メンバー抗体が同定可能であり、同じ識別子、例えば、空間アレイ内もしくは固体支持体上の位置または化学タグもしくはRFタグを持つ抗体が、全て同じ抗原に結合し、かつ一般的に、アミノ酸配列の点で実質的に同じである、抗体コレクションを指す。本明細書における目的に関して、「アドレス指定可能なアレイコンビナトリアル抗体ライブラリー」についての言及は、抗体メンバーがアレイにおいてアドレス指定されていることを意味する。

【０４００】

「インシリコ」とは、コンピュータを用いて行われる研究および実験を指す。インシリコ法には、分子モデリング研究、生体分子ドッキング実験、ならびに分子構造および/または分子プロセス、例えば、分子相互作用のバーチャル表示が含まれるが、これに限定されない。本明細書における目的に関して、ライブラリーの抗体メンバーは、コンピュータに入力されたもののの中から成分V、D、およびJ生殖系列セグメントを選択し、これらをインフレームにつなぎ合わせて合成用の核酸分子のリストを出力するコンピュータプログラムを用いて設計することができる。従って、本明細書において提供されたコレクションまたはライブラリー中の抗体成分の組換えは、各基本要素のヌクレオチド配列を、それを行うための規則を含むソフトウェアに従って組み合わせることによって、インシリコで行うことができる。このプロセスはコンピュータなしで手作業で行うことができるかもしれないが、コンピュータは速度という利便性を提供する。

【０４０１】

「データベース」とはデータ項目のコレクションを指す。本明細書における目的に関して、データベースについての言及は、典型的には、抗体遺伝子および抗体配列の配列情報および構造情報のコレクションを提供する抗体データベースに関するものである。例示的な抗体データベースには、IMGT(登録商標)、国際免疫遺伝学情報システム(imgt.cines.fr;例えば、Lefranc et al. (2008) Briefings in Bioinformatics, 9:263-275を参照されたい)、米国立バイオテクノロジー情報センター(NCBI)、Kabatデータベース、およびTomlinsonのVBaseデータベース(Lefranc (2003) Nucleic Acids Res., 31:307-310; Martin et al., Bioinformatics Tools for Antibody Engineering in Handbook of Therapeutic Antibodies, Wiley-VCH (2007), pp. 104-107)が含まれるが、これに限定されない。ユーザは、任意の望ましい配列を含めるようにデータベースを作り出すこともできる。配列を望ましい形式(例えば、ある特定の読み枠にする;停止コドンをなくす;シグナル配列をなくす)で入力するようにデータベースを作り出すことができる。抗体配列の他に配列を含めるようにデータベースを作り出すこともできる。

【０４０２】

「スクリーニング」とは、抗体および/またはその一部のコレクションまたはライブラリーから、抗体またはその一部の活性または特性の測定に基づいて、抗体またはその一部を同定または選択することを指す。スクリーニングは、例えば、抗体と標的タンパク質との直接結合(例えば、結合親和性)を評価するアッセイによる手法または標的タンパク質の活性の調整を評価する機能的アッセイによる手法を含む様々な手法のいずれにおいても行うことができる。

【０４０３】

「標的タンパク質に対する活性」とは、標的タンパク質の結合特異性および/もしくは機能活性の調整、または標的タンパク質に対する抗体またはその一部の活性を反映する他の測定値を指す。

【０４０４】

「標的タンパク質」とは、抗体もしくはその一部によって特異的に認識される、および

/または抗体もしくはその一部によって活性が調整される候補タンパク質またはペプチドを指す。標的タンパク質には、抗体認識のためのエピトープを含有する任意のペプチドまたはタンパク質が含まれる。標的タンパク質には、発現または活性によって疾患または障害の原因に関与するタンパク質が含まれる。例示的な標的タンパク質は本明細書に記載されている。

【０４０５】

「ヒット」とは、スクリーニングアッセイにおいて活性を有すると同定、認識、または選択された抗体またはその一部を指す。

【０４０６】

スクリーニングに関する「反復」とは、前の反復と比較して最適化または改善された活性を持つ「ヒット」が同定されるまで、スクリーニングが複数回、例えば、2回、3回、4回、5回、またはそれより多く繰り返されることを意味する。

【０４０７】

「ハイスループット」とは、多数の分子または化合物、一般的に10個から数百～数千個の化合物を操作することができる大規模な方法またはプロセスを指す。例えば、精製およびスクリーニングの方法をハイスループットにすることができる。ハイスループット方法は手作業で行うことができる。しかしながら、一般的に、ハイスループット方法は自動化、ロボット工学、またはソフトウェアを伴う。

【０４０８】

BLAST(Basic Local Alignment Search Tool)は、タンパク質データベースまたはDNAデータベースを、例えば、配列同一性に基づいて別々に検索するためにAltschul et al. (1990)によって開発された検索アルゴリズムである。例えば、blastnは、ヌクレオチドクエリー配列をヌクレオチド配列データベース(例えば、GenBank)と比較するプログラムである。BlastPは、アミノ酸クエリー配列をタンパク質配列データベースと比較するプログラムである。

【０４０９】

BLASTビットスコアは、それぞれのアライメントされた配列に付随するギャップおよび置換の数から計算した値である。このスコアが高ければ高いほど、アライメントは重要な意味を持つ。

【０４１０】

「ヒトタンパク質」とは、全ての対立遺伝子変種およびその保存的バリエーションを含む、ヒトゲノムに存在する核酸分子、例えば、DNAによってコードされるタンパク質を指す。タンパク質の変種または変形は、その変形がヒトタンパク質の野生型配列またはよく知られた配列に基づいていればヒトタンパク質である。

【０４１１】

「天然アミノ酸」とは、ポリペプチド中に生じる20種類のL-アミノ酸を指す。これらの残基は、ヒトでは、荷電tRNA分子とそのコグネイトmRNAコドンとの特異的認識によってタンパク質に組み込まれる天然に見られる20種類のα-アミノ酸である。

【０４１２】

「非天然アミノ酸」とは、遺伝子にコードされていないアミノ酸を指す。例えば、非天然アミノ酸は、天然アミノ酸に似た構造を有するが、天然アミノ酸の構造および反応性を模倣するように構造が改変されている有機化合物である。従って、非天然アミノ酸には、例えば、20種類の天然アミノ酸以外のアミノ酸またはアミノ酸類似体が含まれ、アミノ酸のD-イソステレオマーが含まれるが、これに限定されない。例示的な非天然アミノ酸が当業者に公知である。

【０４１３】

「核酸」は、DNA、RNA、ならびにペプチド核酸(PNA)を含むその類似体およびその混合物を含む。核酸は一本鎖でもよく二本鎖でもよい。例えば蛍光標識または放射標識などの検出可能な標識で任意で標識されている、プローブまたはプライマーについて言及しているときには、一本鎖分子が意図される。このような分子は、典型的には、ライブラリーの

プロービングまたはプライミングのために、その標的が統計学的に珍しくなるような長さか、または低コピー数になるような(典型的に5未満、一般的に3未満)の分子である。一般的に、プローブまたはプライマーは、関心対象の遺伝子に相補的または同一な、少なくとも14個、16個、または30個の連続したヌクレオチドの配列を含有する。プローブおよびプライマーは長さが10、20、30、50、100、またはそれより多い核酸でもよい。

【０４１４】

「ペプチド」とは2～40アミノ酸長のポリペプチドを指す。

【０４１５】

本明細書において提供される様々なアミノ酸配列中に生じるアミノ酸は、公知の三文字略語または一文字略語に従って特定される(表1)。様々な核酸断片中に生じるヌクレオチドは、当技術分野において慣用的に用いられる標準的な一文字名を用いて指定される。

【０４１６】

「アミノ酸」は、アミノ基およびカルボン酸基を含有する有機化合物である。ポリペプチドは2個もしくはそれ以上のアミノ酸を含有する。本明細書における目的に関して、アミノ酸には、20種類の天然アミノ酸、非天然アミノ酸、およびアミノ酸類似体(すなわちα-炭素が側鎖を有するアミノ酸)が含まれる。

【０４１７】

「アミノ酸残基」とは、ポリペプチドのペプチド結合が化学的消化(加水分解)されたときに形成されるアミノ酸を指す。本明細書に記載のアミノ酸残基は「L」異性体型をとると推定される。「D」異性体型をとる残基は、そのように指定され、望ましい機能特性がポリペプチドによって保持されている限り任意のL-アミノ酸残基の代わりに用いることができる。NH2は、ポリペプチドのアミノ末端に存在する遊離アミノ基を指す。COOHは、ポリペプチドのカルボキシル末端に存在する遊離カルボキシ基を指す。J. Biol. Chem., 243: 3552-3559 (1969)、および採択された37C.F.R.§§1.821-1.822に記載されている標準的なポリペプチド命名法に準拠して、アミノ酸残基の略語を以下に示した。

記号		
一文字	三文字	アミノ酸
Y	Tyr	チロシン
G	Gly	グリシン
F	Phe	フェニルアラニン
M	Met	メチオニン
A	Ala	アラニン
S	Ser	セリン
I	Ile	イソロイシン
L	Leu	ロイシン
T	Thr	スレオニン
V	Val	バリン
P	Pro	プロリン
K	Lys	リジン
H	His	ヒスチジン
Q	Gln	グルタミン
E	Glu	グルタミン酸
Z	Glx	GluおよびまたはGln
W	Trp	トリプトファン
R	Arg	アルギニン
D	Asp	アスパラギン酸
N	Asn	アスパラギン
B	Asx	AsnおよびまたはAsp
C	Cys	システイン
X	Xaa	不明またはその他

【０４１８】

式によって本明細書において示されたアミノ酸残基配列は全て左から右の方向にかけて

アミノ末端からカルボキシル末端の従来の方向にあることに留意しなければならない。さらに、「アミノ酸残基」という句は、対応表(表1)に列挙したアミノ酸、ならびに修飾アミノ酸および珍しいアミノ酸、例えば、37C.F.R.§§1.821～1.822において言及され、参照により本明細書に組み入れられるアミノ酸を含むと広く定義される。さらに、アミノ酸残基配列の始まりまたは終わりにあるダッシュは、1個または複数個のアミノ酸残基からなるさらなる配列とのペプチド結合、NH2などのアミノ末端基、またはCOOHなどのカルボキシル末端基を示すことに留意しなければならない。任意の保護基、アミノ酸、および他の化合物の略語は、特に定めのない限り、一般的な使用法、認められた略語、またはIUPAC-IUB生化学命名委員会(Commission on Biochemical Nomenclature)((1972) Biochem. 11:1726を参照されたい)に従う。それぞれの天然L-アミノ酸は、標準的な三文字表記(もしくは一文字表記)または接頭辞「L-」の付いた標準的な三文字表記(もしくは一文字表記)によって特定される。接頭辞「D-」は、アミノ酸の立体異性体型がDであることを示す。

【０４１９】

「イムノコンジュゲート」とは、細胞傷害剤を含むが、これに限定されない1種または複数種の異種分子とコンジュゲートしている抗体を指す。イムノコンジュゲートは非抗体配列を含んでもよい。

【０４２０】

一般的な技法

本開示は組換え遺伝学の分野における慣用的な技法に頼る。この本開示における一般的な使用方法を開示する基本的な教科書には、Sambrook and Russell, Molecular Cloning: A Laboratory Manual 3d ed. (2001); Kriegler, Gene Transfer and Expression: A Laboratory Manual (1990);およびAusubel et al., Current Protocols in Molecular Biology (1994)が含まれる。

【０４２１】

核酸の場合、サイズはキロベース(Kb)もしくは塩基対(bp)のいずれかで示される。これらは、アガロースゲル電気泳動もしくはポリアクリルアミドゲル電気泳動、配列決定された核酸、または公開されたDNA配列から導き出された推定値である。タンパク質の場合、サイズはキロダルトン(kD)またはアミノ酸残基数で示される。タンパク質サイズは、ゲル電気泳動、配列決定されたタンパク質、導き出されたアミノ酸配列、または公開されたタンパク質配列から推定される。

【０４２２】

市販されていないオリゴヌクレオチドは、Beaucage and Caruthers, Tetrahedron Letters, 22:1859-1862 (1981)によって最初に述べられた固相ホスホルアミダイトトリエステル法に従って、Van Devanter et al., Nucleic Acids Res., 12:6159-6168 (1984)に記載のように自動合成装置を用いて化学合成することができる。オリゴヌクレオチドの精製は、Pearson & Reanier, J. Chrom., 255:137-149 (1983)に記載のように未変性ポリアクリルアミドゲル電気泳動または陰イオン交換クロマトグラフィーのいずれかによるものである。クローニングされた遺伝子および合成オリゴヌクレオチドの配列は、クローニング後に、例えば、Wallace et al., Gene, 16:21-26 (1981)の二本鎖鋳型配列決定用のチェーンターミネーション法を用いて確認することができる。

【０４２３】

本開示の組換えポリペプチドをコードする核酸は、複製および/または発現のために原核細胞または真核細胞に形質転換される前に中間ベクターにクローニングされてもよい。中間ベクターはプラスミドまたはシャトルベクターなどの原核生物ベクターでもよい。

【０４２４】

極めて長いCDR3配列を有するヒト化抗体

現在に至るまで、ウシは、極めて長いCDR3配列が同定されている唯一の種である。しかしながら、他の種、例えば他の反芻動物も、極めて長いCDR3配列を有する抗体を持っている可能性がある。

【０４２５】

ウシにおいて同定された、極めて長いCDR3配列を含む例示的な抗体可変領域配列には、BLV1H12(SEQ ID NO:22を参照されたい)、BLV5B8(SEQ ID NO:23)、BLV5D3(SEQ ID NO:24を参照されたい)、およびBLV8C11(SEQ ID NO:25を参照されたい)(例えば、Saini, et al. (1999) Eur.J.Immunol. 29: 2420-2426;およびSaini and Kaushik (2002) Scand. J. Immunol. 55: 140-148を参照されたい);BF4E9(SEQ ID NO:26を参照されたい)およびBF1H1(SEQ ID NO:27を参照されたい)(例えば、Saini and Kaushik (2002) Scand. J. Immunol. 55: 140-148を参照されたい);ならびにF18(SEQ ID NO:28を参照されたい)(例えば、Berens, et al. (1997) Int. Immunol. 9: 189-199を参照されたい)と名付けられたものが含まれる。

【０４２６】

一態様において、ウシ抗体は同定され、ヒト化される。抗体を同定するために複数の技法が存在する。

【０４２７】

本開示の抗体は、望ましい活性を有する抗体があるかどうかコンビナトリアルライブラリーをスクリーニングすることによって単離されてもよい。例えば、ファージディスプレイライブラリーを生成し、望ましい結合特性を有する抗体があるかどうか、このようなライブラリーをスクリーニングするための様々な方法が当技術分野において公知である。このような方法は、例えば、Hoogenboom et al. in Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, N.J., 2001)において概説され、例えば、McCafferty et al., Nature 348:552-554; Clackson et al., Nature 352: 624-628 (1991); Marks et al., J. Mol. Biol. 222: 581-597 (1992); Marks and Bradbury, in Methods in Molecular Biology 248:161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, N.J., 2003); Sidhu et al., J. Mol. Biol. 338(2): 299-310 (2004); Lee et al., J. Mol. Biol. 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101(34): 12467-12472 (2004);およびLee et al., J. Immunol. Methods 284(1-2): 119-132 (2004)においてさらに説明される。

【０４２８】

ある特定のファージディスプレイ方法では、VH遺伝子およびVL遺伝子のレパートリーはポリメラーゼ連鎖反応(PCR)によって別々にクローニングされ、ファージライブラリーにおいてランダムに組換えされ、次いで、Winter et al., Ann. Rev. Immunol., 12: 433-455 (1994)に記載のように抗原結合ファージがあるかどうかスクリーニングすることができる。ファージは、典型的には、単鎖Fv(scFv)断片またはFab断片として抗体断片をディスプレイする。免疫された供給源に由来するライブラリーは、ハイブリドーマを構築する必要はなく、免疫原に対する高親和性抗体を提供する。ウシ抗体のファージディスプレイライブラリーが、極めて長いCDR3配列を含むウシ抗体遺伝子配列の供給源でもよい。

【０４２９】

典型的に、非ヒト抗体は、親非ヒト抗体の特異性および親和性を保持しながらヒトに対する免疫原性を低減するためにヒト化される。一般的に、ヒト化抗体は、CDR(またはその一部)が非ヒト抗体に由来し、FR(またはその一部)がヒト抗体配列に由来する1つまたは複数の可変ドメインを含む。ヒト化抗体はまた任意でヒト定常領域の少なくとも一部も含む。一部の態様において、例えば、抗体特異性または親和性を回復または改善するために、ヒト化抗体にある一部のFR残基は、非ヒト抗体(例えば、CDR残基が得られた抗体)に由来する対応する残基で置換される。

【０４３０】

ヒト化抗体およびヒト化抗体を作製する方法は、例えば、Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008)において概説されており、さらに、例えば、Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988); Queen et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 86:10029-10033 (1989);米国特許第5,821,337号、同第7,527,791号、同第6,982,321号、および同第7,087,409号; Kashmiri et al., Methods 36:25-34 (2005)(SDR(a-CDR)グラフティングについて述べている); Padlan, Mol. Immunol. 28:489-498 (1991)(「リサーフェシ

ング(resurfacing)」について述べている); Dall'Acqua et al., Methods 36:43-60 (2005)(「FRシャッフリング」について述べている);およびOsbourn et al., Methods 36:61-68 (2005); Klimka et al., Br. J. Cancer, 83:252-260 (2000)(FRシャッフリングへの「ガイディッドセレクション(guided selection)」アプローチについて述べている);およびStudnicka et al., 米国特許第5,766,886号において説明されている。

【０４３１】

ヒト化に用いられる可能性のあるヒト可変領域フレームワーク配列には、「ベストフィット(best-fit)」法を用いて選択されたフレームワーク配列(例えば、Sims et al. J. Immunol. 151:2296 (1993)を参照されたい);軽鎖可変領域または重鎖可変領域のある特定のサブグループのヒト抗体のコンセンサス配列に由来するフレームワーク配列(例えば、Carter et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285 (1992);およびPresta et al. J. Immunol., 151:2623 (1993)を参照されたい);ヒトの成熟した(体細胞変異した)フレームワーク配列またはヒト生殖系列フレームワーク配列(例えば、Almagro and Fransson、Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008)を参照されたい);ならびにFRライブラリーのスクリーニングから得られたフレームワーク配列(例えば、Baca et al., Biol. Chem. 272:10678-10684 (1997)およびRosok et al., J. Biol. Chem. 271:22611-22618(1996)を参照されたい)が含まれるが、これに限定されない。

【０４３２】

極めて長いCDR3配列を有するヒト化抗体はまた、結果として生じたヒト化抗体が効果があるように、例えば、腫瘍転移の阻害において効果があるように、CDR3領域の中に、操作された非抗体配列、例えば、サイトカインまたは増殖因子も含んでもよい。非抗体配列には、インターロイキン配列、ホルモン配列、サイトカイン配列、毒素配列、リンフォカイン配列、増殖因子配列、ケモカイン配列、またはその組み合わせが含まれ得る。非抗体配列は、ヒト、非ヒト、または合成でもよい。一部の態様において、サイトカインまたは増殖因子は少なくとも1つの細胞集団に対して抗増殖性効果を有することが示されてもよい。このようなサイトカイン、リンフォカイン、増殖因子、または他の造血因子には、M-CSF、GM-CSF、TNF、IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、IL-13、IL-14、IL-15、IL-16、IL-17、IL-18、IFN、TNFo1、TNF1、TNF2、G-CSF、Meg-CSF、GM-CSF、トロンボポエチン、幹細胞因子、およびエリスロポエチンが含まれる。本開示のヒト化抗体および/または薬学的組成物において使用するためのさらなる増殖因子には、アンジオゲニン、骨形成タンパク質-1、骨形成タンパク質-2、骨形成タンパク質-3、骨形成タンパク質-4、骨形成タンパク質-5、骨形成タンパク質-6、骨形成タンパク質-7、骨形成タンパク質-8、骨形成タンパク質-9、骨形成タンパク質-10、骨形成タンパク質-11、骨形成タンパク質-12、骨形成タンパク質-13、骨形成タンパク質-14、骨形成タンパク質-15、骨形成タンパク質受容体IA、骨形成タンパク質受容体IB、脳由来神経栄養因子、毛様体神経栄養因子(neutrophic factor)、毛様体神経栄養因子受容体、サイトカイン誘導性好中球走化性因子1、サイトカイン誘導性好中球、走化性因子2、サイトカイン誘導性好中球走化性因子2、内皮細胞増殖因子、エンドセリン1、上皮細胞増殖因子、上皮由来好中球誘引物質、線維芽細胞増殖因子4、線維芽細胞増殖因子5、線維芽細胞増殖因子6、線維芽細胞増殖因子7、線維芽細胞増殖因子8、線維芽細胞増殖因子8b、線維芽細胞増殖因子8c、線維芽細胞増殖因子9、線維芽細胞増殖因子10、線維芽細胞増殖因子酸性、線維芽細胞増殖因子塩基性、グリア細胞株由来神経栄養因子受容体-1、グリア細胞株由来神経栄養因子受容体-2、増殖関連タンパク質、増殖関連タンパク質-1、増殖関連タンパク質-2、増殖関連タンパク質-3、ヘパリン結合上皮細胞増殖因子、肝細胞増殖因子、肝細胞増殖因子受容体、インシュリン様増殖因子I、インシュリン様増殖因子受容体、インシュリン様増殖因子II、インシュリン様増殖因子結合タンパク質、ケラチノサイト増殖因子、白血病抑制因子、白血病抑制因子受容体-1、神経成長因子神経成長因子受容体、ニューロトロフィン-3、ニューロトロフィン-4、胎盤増殖因子、胎盤増殖因子2、血小板由来内皮細胞増殖因子、血小板由来増殖因子、血小板由来増殖因子A鎖、血小板由来増殖因子AA、血小板由来増殖因子AB、血小板由来増殖因子B鎖、血小板由来増殖因子BB、血小板由来

増殖因子受容体-1、血小板由来増殖因子受容体-2、プレB細胞増殖刺激因子、幹細胞因子、幹細胞因子受容体、トランスフォーミング増殖因子-1、トランスフォーミング増殖因子-2、トランスフォーミング増殖因子-1、トランスフォーミング増殖因子-1.2、トランスフォーミング増殖因子-2、トランスフォーミング増殖因子-3、トランスフォーミング増殖因子-S、潜在型トランスフォーミング増殖因子-1、トランスフォーミング増殖因子-1結合タンパク質I、トランスフォーミング増殖因子-1結合タンパク質II、トランスフォーミング増殖因子-1結合タンパク質III、腫瘍壊死因子受容体I型、腫瘍壊死因子受容体II型、ウロキナーゼ型プラスミノゲンアクチベーター受容体、血管内皮増殖因子、ならびにそのキメラタンパク質および生物学的または免疫学的に活性な断片が含まれる。例示的なホルモン配列には、グルカゴン様ペプチド-1(GLP-1)、メラトニン(MT)、チロキシン(T4)、トリヨードチロニン(T3)、アドレナリン(EPI)、ノルアドレナリン(NRE)、ドーパミン(DA)、抗ミュラー管ホルモン、副腎皮質刺激(ACTH)、アンジオテンシン(AGT)、抗利尿ホルモン(ADH)、カルシトニン(CT)、コレシストキニン(CCK)、コルチコトロピン放出ホルモン(CRH)、エリスロポエチン(EPO)、卵胞刺激ホルモン(FSH)、ガストリン(GRP)、グレリン、グルカゴン(GCG)、性腺刺激ホルモン放出ホルモン(GnRH)、成長ホルモン放出ホルモン(GNRH)、ヒト絨毛性ゴナドトロピン(hCG)、成長ホルモン(GH)、インシュリン(INS)、インシュリン様増殖因子(またはソマトメジン)(IGF)、レプチン(LEP)、黄体ホルモン(LH)、メラニン細胞刺激ホルモン(MSH)、オキシトシン(OXT)、副甲状腺ホルモン(PTH)、プロラクチン(PRL)、セクレチン(SCT)、ソマトスタチン(SRIF)、トロンボポエチン(TPO)、甲状腺刺激ホルモン(TSH)、サイロトロピン放出ホルモン(TRH)、コルチゾール、アルドステロン、テストステロン、デヒドロエピアンドロステロン(DHEA)、エストラジオール(エストロゲン)、プロゲステロン、カルシトリオール(1,25-ジヒドロキシビタミンD3)、カルシジオール(25-ヒドロキシビタミンD3)、プロラクチン放出ホルモン(PRH)、リポトロピン(LRH)、脳ナトリウム利尿ペプチド(BNP)、ニューロペプチドY(NPY)、ヒスタミン、エンドセリン、レニン、またはエンケファリンが含まれる。例示的な毒素配列には、ADWX-1配列、HsTx1配列、OSK1配列、Pi2配列、ホンゴトキシン(Hongotoxin)(HgTX)配列、マルガトキシン(Margatoxin)配列、アンギトキシン(Agitoxin)-2配列、Pi3配列、カリオトキシン(Kaliotoxin)配列、アヌロクトキシン(Anuroctoxin)配列、カリブドトキシン配列、チチュストキシン(Tityustoxin)-K-α配列、マウロトキシン(Maurotoxin)配列、セラトキシン(Ceratotoxin)1(CcoTx1)配列、CcoTx2配列、CcoTx3配列、フリクソトキシン(Phrixotoxin)3(PaurTx3)配列、ハナトキシン(Hanatoxin)1配列、フリクソトキシン1配列、フエントキシン(Huwentoxin)-IV配列、α-コノトキシンImI配列、α-コノトキシンEpI配列、α-コノトキシンPnIA配列、α-コノトキシンPnIB配列、α-コノトキシンMII配列、α-コノトキシンAuIA配列、α-コノトキシンAuIB配列、α-コノトキシンAuIC配列、コノトキシンκ-PVIIA配列、カリブドトキシン配列、ニューロトキシン(neurotoxin)B-IV配列、クロタミン配列、ω-GVIA(コノトキシン)配列、κ-ヘフトキシ(hefutoxin)1配列、Css4配列、Bj-xtrIT配列、BcIV配列、Hm-1配列、Hm-2配列、GsAF-I(β-セラホトキシン(theraphotoxin)-Gr1b)配列、プロトキシンI(ProTx-I配列、β-セラホトキシン-Tp1a)配列、プロトキシンII(ProTxII)配列、フエントキシンI配列、μ-コノトキシンPIIIA配列、ジンザオトキシン(Jingzhaotoxin)-III(β-TRTX-Cj1α)配列、GsAF-II(κ-セラホトキシン-Gr2c)配列、ShK(スチコダクチラ(Stichodactyla)毒素)配列、HsTx1配列、グアンシトキシン(Guangxitoxin)1E(GxTx-1E)配列、マウロトキシン配列、カリブドトキシン(ChTX)配列、イベリオトキシン(IbTx)配列、レイウロトキシン(Leiurotoxin)1(シラトキシン(scyllatoxin))配列、タマピン(Tamapin)配列、カリオトキシン-1(KTX)配列、プロトキシン(Purotoxin)1(PT-1)配列、またはGpTx-1配列、MOKA毒素配列、OSK1(P12, K16, D20)配列、OSK1(K16, D20)配列、HmK配列、ShK(K16, Y26, K29)配列、ShK(K16)配列、ShK-A(K16)配列、ShK(K16,E30)配列、ShK(Q21)配列、ShK(L21)配列、ShK(F21)配列、ShK(I21)配列、またはShK(A21)配列が含まれる。例示的な毒素配列には、SEQ ID NO:475～481、599～655、666～698、727～733、808～810、および831～835(例えば、図17を参照されたい)が含まれる。例示的な非抗体配列には、インターロイキン8(IL-8、SEQ ID NO:475)、インターロイキン21(IL-21、SEQ ID NO:480)、CXCL12/S

DF-1α(SEQ ID NO:479)、ソマトスタイン(somatostain)(SEQ ID NO:477)、ProTx-II(SEQ ID NO:481)、クロロトキシン(SEQ ID NO:478)、およびジコノチド(SEQ ID NO:476)が含まれる。

【０４３３】

非ヒト抗体は、親非ヒト抗体の特異性および親和性を保持しながらヒトに対する免疫原性を低減するためにヒト化されてもよい。一般的に、ヒト化抗体は、HVR(またはその一部)、例えば、CDRが非ヒト抗体に由来し、FR(またはその一部)がヒト抗体配列に由来する1つまたは複数の可変ドメインを含む。ヒト化抗体はまた任意でヒト定常領域の少なくとも一部も含む。一部の態様において、例えば、抗体の特異性または親和性を回復または改善するために、ヒト化抗体にある一部のFR残基は、非ヒト抗体(例えば、HVR残基が得られた抗体)に由来する対応する残基で置換される。

【０４３４】

本明細書において開示された極めて長いCDR3を含むヒト化抗体は好ましくはモノクローナルである。本明細書において提供される極めて長いCDR3を含むヒト化抗体のFab、Fab'、Fab'-SHおよび$F(ab')_2$断片も本開示の範囲内に包含される。これらの抗体断片は、酵素消化などの従来手段によって作り出すことができ、組換え法によって生成されてもよい。このような抗体断片はキメラでもよく、ヒト化されてもよい。これらの断片は下記で示した診断目的および治療目的に有用である。

【０４３５】

モノクローナル抗体は、実質的に均一な抗体からなる集団から得られる。例えば、集団を構成する個々の抗体は、微量に存在し得る、起こり得る天然変異を除けば同一である。従って、「モノクローナル」という修飾語は、抗体が別個の抗体からなる混合物でないという特徴を示す。

【０４３６】

本明細書において開示された極めて長いCDR3を含むヒト化抗体は、Kohler et al., Nature, 256:495(1975)によって最初に述べられたハイブリドーマ細胞ベースの方法を用いて作ることができるか、または組換えDNA法によって作られてもよい。

【０４３７】

ハイブリドーマ細胞は、望ましい抗体を産生するB細胞を不死化細胞株、通常、ミエローマ細胞株と融合させることによって作製することができ、その結果、結果として生じた融合細胞は、ある特定の抗体を分泌する不死化細胞株になる。同じ原理によって、最初に、ミエローマ細胞を、生殖系列抗体V領域をコードする核酸でトランスフェクトし、生殖系列V領域の発現についてスクリーニングすることができる。その後に、最高レベルのタンパク質分解軽鎖発現を持つミエローマ細胞を、望ましい標的タンパク質特異性を持つ抗体を産生するB細胞と融合することができる。この融合細胞は2つのタイプの抗体を産生する。すなわち、一方は、組換え生殖系列V領域に機能的につながった内因性抗体鎖(重鎖または軽鎖のいずれか)を含有する異種抗体であり、他方は、親B細胞が分泌するものと同じ抗体(例えば、内因性重鎖および内因性軽鎖の両方)である。機能的につながった異種重鎖および異種軽鎖は、クロマトグラフィーなどの従来の方法によって単離することができ、標的タンパク質結合アッセイ、生殖系列ポリペプチドの独特のタグを同定するアッセイ、または本開示の他のセクションに記載のエンドペプチダーゼ活性アッセイによって識別情報(identification)を確認することができる。2つのタイプの抗体の中で異種抗体が量の点で多数を占めるタイプであるいくつかの場合では、このような単離は必要とされないことがある。

【０４３８】

ハイブリドーマ細胞は、好ましくは、融合していない親ミエローマ細胞の増殖または生存を阻害する1種類または複数種の物質を含有する適切な培養培地中で播種および増殖されてもよい。例えば、親ミエローマ細胞に酵素ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ(HGPRTまたはHPRT)がなければ、ハイブリドーマ用の培養培地は、典型的には、HGPRT欠損細胞の増殖を阻止する物質であるヒポキサンチン、アミノプテリン、

およびチミジン(HAT培地)を含む。

【０４３９】

好ましいミエローマ細胞は、効率的に融合し、選択された抗体産生細胞による安定した高レベルの抗体産生を支持し、HAT培地などの培地に感受性のあるミエローマ細胞である。これらのうち、ミエローマ細胞株は、マウスミエローマ株、例えば、Salk Institute Cell Distribution Center, San Diego, Calif. USAから入手可能なMOPC-21およびMPC-11マウス腫瘍、ならびにAmerican Type Culture Collection, Rockville, Md. USAから入手可能なSP-2またはX63-Ag8-653細胞に由来するマウスミエローマ株でもよい。ヒトモノクローナル抗体産生のためにヒトミエローマ細胞株およびマウス-ヒトヘテロミエローマ細胞株も説明されている(Kozbor, J. Immunol., 133:3001 (1984); Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987))。

【０４４０】

極めて長いCDR3を含むヒト化抗体の産生について、ハイブリドーマ細胞が増殖している培養培地がアッセイされる。例えば、ハイブリドーマ細胞によって産生されたモノクローナル抗体の結合特異性は、免疫沈降またはインビトロ結合アッセイ、例えば、酵素結合免疫測定法(ELISA)によって決定されてもよい。

【０４４１】

モノクローナル抗体の結合親和性は、例えば、Munson et al., Anal. Biochem., 107:220 (1980)のスキャッチャード分析によって決定することができる。

【０４４２】

望ましい特異性、親和性、および/または活性の抗体を産生するハイブリドーマ細胞が同定された後、クローンは限界希釈手法によってサブクローニングされ、標準的な方法(Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, pp. 59-103 (Academic Press, 1986))によって増殖されてもよい。この目的に適した培養培地には、例えば、D-MEMまたはRPMI-1640培地が含まれる。さらに、ハイブリドーマ細胞は、動物において腹水腫瘍としてインビボ増殖されてもよい。

【０４４３】

サブクローンによって分泌されたモノクローナル抗体は、適宜、例えば、プロテインA-セファロース、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析、またはアフィニティクロマトグラフィーなどの従来の免疫グロブリン精製手法によって培養培地、腹水、または血清から分離される。

【０４４４】

本明細書において開示された極めて長いCDR3を含むヒト化抗体は、コンビナトリアルライブラリーを用いて、望ましい活性を持つ合成抗体クローンをスクリーニングすることによって作製されてもよい。例えば、合成抗体クローンは、ファージコートタンパク質と融合した抗体可変領域の様々な断片(例えば、scFvまたはFab)をディスプレイするファージを含有するファージライブラリーをスクリーニングすることによって選択される。このようなファージライブラリーは、例えば、望ましい抗原に対するアフィニティクロマトグラフィーによってパンニングされてもよい。望ましい抗原に結合することができる抗体断片を発現するクローンは抗原に吸着され、従って、ライブラリー中の非結合クローンから分離され得る。次いで、結合クローンは抗原から溶出され、さらなる抗原吸着/溶出サイクルによってさらに濃縮することができる。本明細書において開示された極めて長いCDR3を含むヒト化抗体はいずれも、関心対象のファージクローンを選択する適切な抗原スクリーニング手法を設計した後に、関心対象のファージクローンに由来するVHおよびVL(例えば、scFvまたはFabに由来する)配列ならびにKabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, NIH Publication 91-3242, Bethesda Md. (1991), vols. 1-3に記載されている適切な定常領域(Fc)配列を用いて極めて長いCDR3クローンを含む完全長抗体を構築することによって入手することができる。

【０４４５】

抗体の抗原結合ドメインは、それぞれの可変(V)領域が軽鎖(VL)および重鎖(VH)に由来する2つの可変(V)領域から形成され、両可変(V)領域とも3つの超可変ループまたは相補性決定領域(CDR)を提示する。可変ドメインは、Winter et al., Ann. Rev. Immunol., 12: 433-455 (1994)に記載のように、VHおよびVLが短い柔軟なペプチドを介して共有結合的に連結された単鎖Fv(scFv。単鎖抗体(SCA))断片とも呼ばれる)断片としてファージ上に機能的にディスプレイされてもよく、それぞれが定常ドメインと融合し、非共有結合的に相互作用するFab断片としてファージ上に機能的にディスプレイされてもよい。scFvまたはSCAをコードするファージクローンおよびFabをコードするファージクローンは別々に言及されてもよく、総称して「Fvファージクローン」または「Fvクローン」と呼ばれてもよい。

【０４４６】

Winter et al., Ann. Rev. Immunol., 12: 433-455 (1994)に記載のように、VH遺伝子およびVL遺伝子のレパートリーはポリメラーゼ連鎖反応(PCR)によって別々にクローニングされ、ファージライブラリー内でランダムに組換えされてもよく、次いで、抗原結合クローンがあるかどうか探索することができる。ハイブリドーマを構築する必要なく、免疫された供給源に由来するライブラリーから、免疫原に対する高親和性抗体が得られる。または、Griffiths et al., EMBO J. 12: 725-734 (1993)に記載のように、広範囲の非自己抗原に対するヒト抗体の単一供給源、また自己抗原に対するヒト抗体の単一供給源も得るために、免疫することなく、ナイーブレパートリーがクローニングされる場合がある。最後に、Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227: 381-388 (1992)に記載のように、再編成されていないV遺伝子セグメントを幹細胞からクローニングし、高可変CDR3領域をコードするランダム配列を含有するPCRプライマーを用いて、インビトロで再編成することによって合成によりナイーブライブラリーを作製することもできる。

【０４４７】

マイナーコートタンパク質pIIIに融合することで抗体断片をディスプレイするために繊維状ファージが用いられる。タンパク質pIIIは切断型pIIIを含んでもよい。抗体断片は、(例えば、Marks et al., J. Mol. Biol., 222: 581-597 (1991)に記載のように)VHドメインおよびVLドメインが柔軟なポリペプチドスペーサーによって同じポリペプチド鎖上でつながっている単鎖Fv断片としてディスプレイされてもよく、(例えば、Hoogenboom et al., Nucl. Acids Res., 19: 4133-4137 (1991)に記載のように)一方の鎖がpIII(例えば、切断型pIII)と融合され、他方の鎖が細菌宿主細胞ペリプラズム内に分泌されるFab断片であって、Fabコートタンパク質構造の集合体が野生型コートタンパク質の一部に取って代わることでファージ表面にディスプレイされるFab断片としてディスプレイされてもよい。

【０４４８】

(VHセグメントおよびVLセグメントを含む)抗体可変遺伝子セグメントをコードする核酸は関心対象の細胞から回収され、増幅されてもよく、組換えDNA法(例えば、クンケル(Kunkel)変異誘発)によってコピーが作られてもよい。例えば、再編成されたVH遺伝子ライブラリーおよびVL遺伝子ライブラリーの場合、望ましいDNAは、リンパ球からゲノムDNAまたはmRNAを単離した後に、Orlandi et al., Proc. Natl. Acad. Sci. (USA), 86: 3833-3837 (1989)に記載のように、再編成されたVH遺伝子およびVL遺伝子の5'末端および3'末端とマッチするプライマーを用いてポリメラーゼ連鎖反応(PCR)を行い、それによって、発現のために多様なV遺伝子レパートリーを作製することによって得られてもよい。V遺伝子は、Orlandi et al. (1989) および Ward et al., Nature, 341: 544-546 (1989)に記載のように、成熟Vドメインをコードするエキソンの5'末端にバックプライマーおよびJセグメントをベースとするフォワードプライマーを用いてcDNAおよびゲノムDNAから増幅されてもよい。cDNAから増幅するために、バックプライマーはまた、Jones et al., Biotechnol., 9: 88-89 (1991)に記載のようにリーダーエキソンにも基づいてもよく、フォワードプライマーは、Sastry et al., Proc. Natl. Acad. Sci. (USA), 86: 5728-5732 (1989)に記載のように定常領域内に基づいてもよい。相補性を向上する、または最大にするために、Orlandi et al. (1989)またはSastry et al. (1989)に記載のように、プライマーに縮重が組み込まれてもよい。例えば、Marks et al., J. Mol. Biol., 222: 581-597 (1991)

の方法に記載のように、またはOrum et al., Nucleic Acids Res., 21: 4491-4498 (1993)の方法に記載のように、免疫細胞核酸試料に存在する利用可能なVH配置およびVL配置を増幅するために、それぞれのV遺伝子ファミリーに標的化されたPCRプライマーを用いることによってライブラリー多様性が向上されてもよく、最大にされてもよい。増幅されたDNAを発現ベクターにクローニングするために、Orlandi et al. (1989)に記載のように、PCRプライマー内の一方の末端にタグとして、またはClackson et al., Nature, 352: 624-628 (1991)に記載のようにタグ化プライマーを用いてさらにPCR増幅することによって稀な制限(restriction)を導入することができる。

【０４４９】

V遺伝子セグメントから、合成により再編成されたV遺伝子のレパートリーがインビトロで得られ得る。ヒトVH遺伝子セグメントの大部分はクローニングおよび配列決定され(例えば、Tomlinson et al., J. Mol. Biol., 227: 776-798 (1992)において報告されている)、マッピングされている(例えば、Matsuda et al., Nature Genet., 3: 88-94 (1993)において報告されている)。これらのクローニングされたセグメント(H1およびH2ループのマイナーコンホメーションを全て含む)は、Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227: 381-388 (1992)に記載のように、多様な配列および長さのH3ループをコードするPCRプライマーを用いて多様なVH遺伝子レパートリーを生成するのに使用することができる。Barbas et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89: 4457-4461 (1992)に記載のように、配列多様性が全て、単一の長さの長いH3ループの中に集中しているVHレパートリーも作製することができる。ヒトVκおよびVλセグメントはクローニングおよび配列決定されており(Williams and Winter, Eur. J. Immunol., 23: 1456-1461 (1993)において報告されている)、合成軽鎖レパートリーを作製するのに使用することができる。ある範囲のVHフォールドおよびVLフォールド、ならびにL3およびH3の長さに基づく合成V遺伝子レパートリーは、かなりの構造多様性を持つ抗体をコードする。V遺伝子をコードするDNAを増幅した後に、Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227: 381-388 (1992)の方法に従って生殖系列V遺伝子セグメントをインビトロで再編成することができる。

【０４５０】

抗体断片レパートリーは、いくつかのやり方でVH遺伝子レパートリーおよびVL遺伝子レパートリーを一緒に組み合わせることによって構築され得る。それぞれのレパートリーは異なるベクターの中に作り出されてもよく、そのベクターは、例えば、Hogrefe et al., Gene, 128: 119-126 (1993)に記載のようにインビトロで組換えされてもよく、コンビナトリアル感染、例えば、Waterhouse et al., Nucl. Acids Res., 21: 2265-2266 (1993)に記載のloxP系によってインビボで組換えされてもよい。大腸菌の形質転換効率に課せられたライブラリーサイズの制限を克服するために、インビボ組換えアプローチではFab断片の2鎖性が活用される。ナイーブなVHレパートリーおよびVLレパートリーを別々に、一方をファージミドに、他方をファージベクターにクローニングする。次いで、それぞれの細胞が異なる組み合わせを含有し、ライブラリーサイズが、存在する細胞の数(約10^{12}個のクローン)によってのみ限定されるように、ファージミドを含有する細菌にファージを感染させることによって2つのライブラリーを組み合わせる。VH遺伝子およびVL遺伝子が1つのレプリコン上で組換えされ、ファージビリオンに同時パッケージングされるように、両ベクターともインビボ組換えシグナルを含有する。これらの大きなライブラリーから、親和性が優れた(約10^{-8}MのK_d^{-1})多数の多様な抗体が得られることがある。

【０４５１】

または、レパートリーは、例えば、Barbas et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88: 7978-7982 (1991)に記載のように連続して同じベクターにクローニングされてもよく、例えば、Clackson et al., Nature, 352: 624-628 (1991)に記載のようにPCRによって一緒に集められ、次いで、クローニングされてもよい。VH DNAおよびVL DNAと柔軟なペプチドスペーサーをコードするDNAとをつなぎ合わせて単鎖Fv(scFv)レパートリーを形成するためにPCR構築も用いられてもよい。さらに別の技法では、Embleton et al., Nucl. Acids Res., 20: 3831-3837 (1992)に記載のように、PCRによってリンパ球内でVH遺伝子とVL

遺伝子を組み合わせ、次いで、連結された遺伝子のレパートリーをクローニングするために「インセルPCRアセンブリ(in cell PCR assembly)」が用いられてもよい。

【０４５２】

ナイーブライブラリー(天然または合成)によって産生された抗体は中程度の親和性(約10^6～10^7M^{-1}のK_d^{-1})を持つことができるが、Winter et al. (1994), 前記に記載のように二次ライブラリーから構築および再選択することによって親和性成熟もインビトロで模倣され得る。例えば、Hawkins et al., J. Mol. Biol., 226: 889-896 (1992)の方法またはGram et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89: 3576-3580 (1992)の方法では、エラープローンポリメラーゼを用いることによって変異をインビトロでランダムに導入することができる(Leung et al., Technique, 1: 11-15 (1989)において報告されている)。さらに、親和性成熟は、例えば、関心対象のCDRにまたがるランダム配列を有するプライマーを用いたPCRを用いて、選択された個々のFvクローン中の1つまたは複数のCDRをランダムに変異させ、高親和性クローンについてスクリーニングすることによって行われてもよい。WO9607754では、免疫グロブリン軽鎖の相補性決定領域において変異誘発を誘導して軽鎖遺伝子ライブラリーを作り出す方法が説明された。別の有効なアプローチは、Marks et al., Biotechnol., 10: 779-783 (1992)に記載のように、ファージディスプレイによって選択されたVHドメインまたはVLドメインを、未免疫ドナーから得られた天然Vドメイン変種レパートリーと組換え、数回の鎖リシャッフリング(chain reshuffling)において高親和性についてスクリーニングするアプローチである。この技法を用いると、10^{-9}M範囲の親和性を持つ抗体および抗体断片の産生が可能になる。

【０４５３】

ファージ粒子の少なくとも一部と吸着剤との結合に適した条件下でファージライブラリー試料が固定化タンパク質と接触される。通常、生理学的条件を模倣するように、pH、イオン強度、温度などを含む条件が選択される。固相に結合しているファージを洗浄し、次いで、例えば、Barbas et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88: 7978-7982 (1991)に記載のように酸によって、または(例えば、Marks et al., J. Mol. Biol., 222: 581-597 (1991)に記載のように)アルカリによって、または(例えば、Clackson et al., Nature, 352: 624-628 (1991)の抗原競合方法に似た手法で)抗原競合によって溶出させる。ファージは一回の選択で20～1,000倍に濃縮され得る。さらに、濃縮されたファージは細菌培養で増殖され、さらなる回の選択に供されてもよい。

【０４５４】

選択の効率は、洗浄中の解離反応速度、および1個のファージ上にある複数の抗体断片が抗原に同時に結合できるかどうかを含む多くの要因に依存する。解離反応速度が速い(かつ結合親和性が弱い)抗体は、短時間の洗浄、多価ファージディスプレイ、および固相における抗原の高コーティング密度を用いることによって保持され得る。高密度は多価相互作用によってファージを安定化するだけではなく、解離してしまったファージの再結合に有利である。解離反応速度が遅い(かつ結合親和性が優れた)抗体の選択は、Bass et al., Proteins, 8: 309-314 (1990)およびWO92/09690に記載のように長時間の洗浄および一価ファージディスプレイと、Marks et al., Biotechnol., 10: 779-783 (1992)に記載のように抗原の低コーティング密度を用いることによって促進され得る。

【０４５５】

本明細書において開示されたハイブリドーマ由来モノクローナル抗体またはファージディスプレイFvクローンをコードするDNAは、従来の手法を用いて(例えば、ハイブリドーマまたはファージDNA鋳型から、関心対象の重鎖コード領域および軽鎖コード領域を特異的に増幅するように設計されたオリゴヌクレオチドプライマーを用いることによって)容易に単離および配列決定される。単離されたら、組換え宿主細胞における望ましいモノクローナル抗体の合成を得るために、DNAを発現ベクターに配置し、次いで、導入されなければ免疫グロブリンタンパク質を産生しない宿主細胞、例えば、大腸菌細胞、サルCOS細胞、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞、またはミエローマ細胞に導入することができる。細菌における抗体をコードするDNAの組換え発現が、Betteral.,米国特許第6,204,023

号において説明されている(例えば、Skerra et al., Curr. Opinion in Immunol., 5: 256 (1993) および Pluckthun, Immunol. Revs, 130: 151 (1992)も参照されたい)。

【０４５６】

完全長または部分長の重鎖および/または軽鎖をコードするクローンを形成するために、本明細書において開示されたFvクローンをコードするDNAは、重鎖定常領域および/または軽鎖定常領域をコードする公知のDNA配列(例えば、適切なDNA配列はKabat et al.,前記から入手することができる)と組み合わされてもよい。この目的のために、IgG、IgM、IgA、IgD、およびIgE定常領域を含む任意のアイソタイプの定常領域を使用することができ、このような定常領域を任意のヒトまたは動物種から入手できることが認められるだろう。「ハイブリッド」完全長重鎖および/または軽鎖のコード配列を形成するために、ある動物(例えば、ヒト)種の可変ドメインDNAから入手し、次いで、別の動物種の定常領域DNAと融合したFvクローンが、本明細書で使用する「キメラ」および「ハイブリッド」抗体の定義に含まれる。好ましいFvクローン態様では、全てヒトの完全長または部分長の重鎖および/または軽鎖のコード配列を形成するために、ヒト可変DNAに由来するFvクローンはヒト定常領域DNAと融合される。

【０４５７】

本明細書において開示されたハイブリドーマに由来する極めて長いCDR3を含むヒト化抗体をコードするDNAはまた、例えば、(例えば、Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81: 6851-6855 (1984)の方法のように)ハイブリドーマクローンに由来する相同マウス配列の代わりに、ヒト重鎖定常ドメインおよび軽鎖定常ドメインのコード配列を用いることによって改変されてもよい。ハイブリドーマまたはFvクローンに由来する抗体もしくは断片をコードするDNAは、免疫グロブリンコード配列に、非免疫グロブリンポリペプチドのコード配列の全てまたは一部を共有結合的につなぎ合わせることによってさらに改変することができる。このように、本明細書において開示されたFvクローンまたはハイブリドーマクローンに由来する抗体の結合特異性を有する「キメラ」または「ハイブリッド」抗体が調製される。

【０４５８】

抗体の遺伝子およびタンパク質

本開示は、例えば、極めて長いCDR3配列および/またはCDR3スキャフォールドを含むヒト化抗体遺伝子またはタンパク質を含む、抗体の遺伝子およびタンパク質を提供する。さらに、本開示は、極めて長いCDR3配列の調製において有用なVH配列、DH配列、およびJH配列を提供する。このような配列は、本明細書において開示された多くの態様に記載の配列を含む、本明細書に記載のモチーフ(例えば、システインモチーフ)を含み得る。一部の態様において、本明細書において開示された抗体は、標的タンパク質のエピトープを選択的または特異的に結合し得る。一部の態様において、抗体はアンタゴニスト(例えば、ブロッキング)抗体でもよくアゴニスト抗体でもよい。

【０４５９】

重鎖および軽鎖の可変領域は、非コード領域すなわちイントロンによって分離された複数の生殖系列遺伝子セグメントによってコードされ、多くの場合、異なる染色体に存在する。例えば、ヒト免疫グロブリン重鎖領域の遺伝子は、約65個の可変(VH)遺伝子、27個の多様性(DH)遺伝子、および6個の結合(JH)遺伝子を含有する。ヒトカッパ(κ)およびラムダ(λ)軽鎖もそれぞれ、ほぼ同じ数のVL遺伝子セグメントおよびJL遺伝子セグメントによってコードされるが、D遺伝子セグメントを全く含まない。例示的なVH、DH、JH、ならびにVL(VκまたはVλ)およびJL(JκまたはJλ)生殖系列遺伝子セグメントをWO2010/054007に示した。

【０４６０】

B細胞が分化している間に生殖系列DNAは再編成される。これにより、重鎖遺伝子座の1つのDH遺伝子セグメントと1つのJH遺伝子セグメントが組換えされ、その後に、1つのVH遺伝子セグメントがつなぎ合わせられ、VH鎖をコードする再編成されたVDJ遺伝子が形成される。この再編成は、対立遺伝子排除というプロセスによって1つの重鎖対立遺伝子でし

か起こらない。対立遺伝子排除は、可変重鎖のVDJ組換えの約1/3でしか起こらない、VDJセグメントのインフレーム組換えまたは「機能的(productive)」組換えによって調節される。このような機能的組換え事象が最初に細胞内で起こったとき、これにより、プレB細胞の表面に発現し、さらなる重鎖組換えを止めて対立遺伝子重鎖遺伝子座の発現を阻止するようにシグナルを伝達するμ重鎖が産生される。表面に発現したμ重鎖はまた再編成のためにカッパ(κ)遺伝子座を活性化するようにも働く。ラムダ(λ)遺伝子座は、κ組換えが両遺伝子座で機能しなかった場合にしか再編成のために活性化されない。軽鎖再編成事象は、VLセグメントとJLセグメントしか組換えされないことを除けば重鎖と同様である。それぞれが一次転写される前に、対応する定常鎖遺伝子が付加される。その後に、転写およびRNAスプライシングが起こるとmRNAが生じ、インタクトな軽鎖または重鎖に翻訳される。

【０４６１】

抗体可変領域は、個々の生殖系列V、D、およびJセグメントの組換え事象により抗原結合および特異性を付与する。これによって、結果として生じた、可変領域ドメインをコードする組換え核酸配列は抗体間で異なり、ある特定の抗体に抗原特異性を付与する。しかしながら、変化は、重鎖(H)可変領域および(L)鎖可変領域のN末端ドメインに見られる3つの相補性決定領域(CDR1、CDR2、およびCDR3)に限定される。CDRには、「フレームワーク領域」(FR)と呼ばれる保存された領域が点在している。フレームワーク領域およびCDRの範囲は正確に規定されている(例えば、Kabat, E.A. et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242、およびChothia, C. et al. (1987) J. Mol. Biol. 196:901-917を参照されたい)。それぞれのVHおよびVLは典型的には3つのCDRおよび4つのFRで構成され、アミノ末端からカルボキシ末端に向かって、以下の順序FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、およびFR4で並べられている。VLドメインおよびVHドメイン間の配列可変性は、一般的に、抗原結合部位を形成する領域であるCDRに限定される。例えば、重鎖の場合、一般的に、VH遺伝子は、N末端側の3つのフレームワーク領域、最初の2つの完全なCDR、および3番目のCDRの第1の部分をコードし、DH遺伝子は3番目のCDRの中心部分をコードし、JH遺伝子は、3番目のCDRの最後の部分および4番目のフレームワーク領域をコードする。軽鎖の場合、VL遺伝子は1番目のCDRおよび2番目のCDRをコードする。3番目のCDR(CDRL3)は、VL遺伝子セグメントおよびJL遺伝子セグメントをつなぎ合わせることによって形成される。従って、CDR1およびCDR2は生殖系列V遺伝子セグメント配列だけでコードされる。VH鎖およびVL鎖のCDR3はAg結合部位の中心を形成し、CDR1およびCDR2は外側境界を形成する。FRは、HおよびLのCDRを方向付けることによってスキャフォールドを支える。平均して、抗原結合部位は、典型的には、CDRのうち少なくとも4つが抗原エピトープと接触していることを必要とし、重鎖および軽鎖の両方のCDR3が最も可変性が高く、抗原結合に対するほとんどの特異性を与える(例えば、Janis Kuby, Immunology, Third Edition, New York, W.H. Freeman and Company, 1998, pp. 115-118を参照されたい)。CDRH3はD遺伝子セグメントの全てを含み、Ab結合部位の最も多様な成分であり、典型的には、Ab特異性の規定において重要な役割を果たす。配列のバリエーションに加えて、重鎖と軽鎖との間ではCDRの長さにバリエーションがある。

【０４６２】

他方で、定常領域は、抗体間で保存されている配列によってコードされる。これらのドメインは機能特性、例えば、感染因子を排除するために免疫系細胞および血清タンパク質と反応する能力を抗体に付与する。異なるクラスの抗体、例えばIgM、IgD、IgG、IgE、およびIgAは異なる定常領域を有し、そのため、これらが別個のエフェクター機能を果たすことが可能になる。

【０４６３】

V、D、およびJのこれらの天然組換え事象によって、高い親和性と特異性の両方を持つ、おおよそ$2X10^7$個の異なる抗体を得ることができる。結合セグメントにおけるヌクレオチドの挿入および欠失によって、またV領域の体細胞超変異によって、さらなる多様性が

導入される。結果として、抗原特異性が異なる約10^{10}種類の抗体が個体に存在することになる。

【０４６４】

抗体には、ウシ抗体BLVH12(例えば、SEQ ID NO:482に示した重鎖可変領域およびSEQ ID NO:483に示した軽鎖可変領域);ならびにウシ抗体BLV5B8(例えば、SEQ ID NO:484に示した重鎖可変領域およびSEQ ID NO:485に示した軽鎖可変領域)が含まれる。

【０４６５】

抗体断片

本開示は抗体断片を包含する。ある特定の状況では、抗体全体ではなく抗体断片を使用する利点がある。小さなサイズの断片を用いると排除が迅速になり、固形腫瘍への接近が改善される可能性がある。抗体断片には、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')2、Fv、およびscFv断片、ならびに下記の他の断片が含まれるが、これに限定されない。ある特定の抗体断片の総説については、Hudson et al. Nat. Med. 9:129-134 (2003)を参照されたい。scFv断片の総説については、例えば、Pluckthun, The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenburg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York), pp. 269-315 (1994)を参照されたい。WO93/16185;および米国特許第5,571,894号および同第5,587,458号も参照されたい。サルベージ(salvage)受容体結合エピトープ残基を含み、長いインビボ半減期を有するFabおよびF(ab')2断片の考察については、米国特許第5,869,046号を参照されたい。

【０４６６】

ダイアボディは、二価でも二重特異性でもよい2つの抗原結合部位を持つ抗体断片である。例えば、EP404,097; WO1993/01161; Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003); および Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448 (1993)を参照されたい。トリアボディおよびテトラボディも、Hudson et al., Nat. Med. 9: 129134 (2003)に記載されている。

【０４６７】

シングルドメイン抗体は、抗体の重鎖可変ドメインの全てもしくは一部または軽鎖可変ドメインの全てもしくは一部を含む抗体断片である。ある特定の態様において、シングルドメイン抗体は、ヒトシングルドメイン抗体(Domantis, Inc., Waltham, Mass.;例えば、米国特許第6,248,516号を参照されたい)である。抗体断片は、本明細書に記載のようにインタクトな抗体のタンパク質分解消化ならびに組換え宿主細胞(例えば、大腸菌またはファージ)による産生を含むが、これに限定されない様々な技法によって作製することができる。

【０４６８】

抗体断片を作製するために様々な技法が開発されてきた。従来より、これらの断片はインタクトな抗体のタンパク質分解消化を介して得られた(例えば、Morimoto et al., Journal of Biochemical and Biophysical Methods 24:107-117 (1992);およびBrennan et al., Science, 229:81 (1985)を参照されたい)。しかしながら、今では、これらの断片は組換え宿主細胞によって直接産生することができる。Fab、Fv、およびScFv抗体断片は全て大腸菌内で発現させる、および大腸菌から分泌することができ、従って、多量のこれらの断片を容易に産生することができる(例えば、米国特許第6,204,023号を参照されたい)。抗体断片は、前述のように抗体ファージライブラリーから単離することができる。または、Fab'-SH断片を大腸菌から直接回収し、$F(ab')_2$断片を形成するように化学結合することができる(例えば、Carter et al., Bio/Technology 10: 163-167 (1992)を参照されたい)。別のアプローチによれば、$F(ab')_2$断片を組換え宿主細胞培養物から直接単離することができる。サルベージ受容体結合エピトープ残基を含む、インビボ半減期が延長したFabおよび$F(ab')_2$断片(例えば、米国特許第5,869,046号を参照されたい)。抗体断片を産生するための他の技法は当業者に明らかであろう。他の態様において、最適抗体は単鎖Fv断片(scFvまたは単鎖抗体(SCA))である。WO93/16185;米国特許第5,571,894号;および同第5,587,458号を参照されたい。FvおよびsFvは、定常領域がない、インタクトな結合部位を持つ

唯一の種である。従って、これらはインビボ使用中に非特異的結合を弱めることに適している。sFv融合タンパク質は、sFvのアミノ末端またはカルボキシ末端においてエフェクタータンパク質を融合するように構築されてもよい。Antibody Engineering, ed. Borrebaeck, 前記を参照されたい。抗体断片はまた、例えば、米国特許第5,641,870号に記載のように「直鎖抗体」でもよい。このような直鎖抗体断片は単一特異性でもよく、二重特異性でもよい。

【０４６９】

ヒト化抗体

本開示は、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体を提供する。ヒト化抗体は操作されたヒト抗体を含んでもよい(例えば、Studnicka et al. (1994) Protein Eng.. 7(6) 805-814;および米国特許第5,766,886号を参照されたい)。非ヒト抗体をヒト化するための様々な方法が当技術分野において公知である。例えば、ヒト化抗体は、ヒトまたは非ヒトの供給源に由来する1つまたは複数のアミノ酸残基が導入されてもよい。ヒト化は、改変された抗体可変ドメインの調製を含む、Studnicka(例えば、Studnicka et al. (1994) Protein Eng.. 7(6) 805-814;および米国特許第5,766,886号を参照されたい)の方法に従って行われてもよい。または、ヒト化は、ヒト抗体の対応する配列の代わりに超可変領域配列を置換することによって、Winterおよび共同研究者(Jones et al. (1986) Nature 321:522-525; Riechmann et al. (1988) Nature 332:323-327; Verhoeyen et al. (1988) Science 239:1534-1536)の方法に従って行われてもよい。従って、このような「ヒト化」抗体または「操作されたヒト」抗体は、インタクトなヒト可変ドメインより実質的に小さな配列が非ヒト種に由来する対応する配列で置換されているか、または非ヒト種に由来する対応する配列に組み込まれている場合を含めてキメラ抗体である。例えば、ヒト化抗体は、一部の超可変領域残基、場合によっては一部のFR残基がげっ歯類抗体の類似部位に由来する残基で置換されたヒト抗体でもよい。または、ヒト化抗体または操作されたヒト抗体は、一部の残基がヒト抗体の類似部位に由来する残基によって置換された非ヒト(例えば、げっ歯類)抗体でもよい(例えば、Studnicka et al. (1994) Protein Eng.. 7(6) 805-814;および米国特許第5,766,886号を参照されたい)。

【０４７０】

抗原性を低減するには、ヒト化抗体の作製において用いられる、軽鎖および重鎖のヒト可変ドメインの選択が重要である。例えば、いわゆる「ベストフィット」法によれば、げっ歯類抗体の可変ドメインの配列が、公知のヒト可変ドメイン配列のライブラリー全体に対してスクリーニングされる。次いで、げっ歯類の配列に最も近いヒト配列が、ヒト化抗体用のヒトフレームワークと認められる(Sims et al. (1993) J. Immunol. 151:2296; Chothia et al. (1987) J. Mol. Biol. 196:901)。別の方法では、軽鎖または重鎖のある特定のサブグループの全ヒト抗体のコンセンサス配列に由来する、ある特定のフレームワークが用いられる。いくつかの異なるヒト化抗体に同じフレームワークが用いられてもよい(Carter et al. (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285; Presta et al. (1993) J. Immunol., 151:2623)。

【０４７１】

抗原に対する高親和性および他の好ましい生物学的特性を保持して、抗体がヒト化されることがさらに重要である。この目標を達成するために、ある方法によれば、親配列およびヒト化配列の三次元モデルを用いた、親配列および様々な概念上のヒト化産物の分析プロセスによってヒト化抗体が調製される。三次元免疫グロブリンモデルが一般に利用可能であり、当業者によく知られている。選択された候補免疫グロブリン配列の考えられる三次元コンホメーション構造を図示および表示するコンピュータプログラムが利用可能である。これらの表示を検査することによって、候補免疫グロブリン配列の機能における残基の、ありそうな役割を分析することが可能になり、例えば、候補免疫グロブリンがその抗原に結合する能力に影響を及ぼす残基を分析することが可能になる。このように、標的抗原に対して高い親和性などの望ましい抗体特徴が実現するように、FR残基をレシピエント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。一般的に、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大きく関与する。

【０４７２】

一部の態様において、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体は脱免疫(deimmunize)されてもよい。抗体またはタンパク質を脱免疫する方法は当技術分野において周知である。抗体などの治療用タンパク質の免疫原性は、MHCクラスII分子に結合し、CD4+ヘルパーT細胞において増殖応答およびサイトカイン応答を発生させることができるT細胞エピトープが存在することに起因すると考えられている。次いで、これらのCD4+ヘルパー細胞はB細胞と協力して、治療用タンパク質に対する抗体応答を発生させる。T細胞エピトープの除去は組換えタンパク質の脱免疫において重要な工程だと考えられている。T細胞エピトープは、MHC結合に必要な残基を同定するインシリコアルゴリズムによって予測することができる。または、エピトープは、ヒトドナーパネルに由来する末梢血単核球を利用し、抗原提示細胞とインキュベートしたときに治療用タンパク質に対するその応答を測定することによって直接同定することができる。このようなインシリコ系およびインビトロ系は当技術分野において周知である[Jones TD, Crompton LJ, Carr FJ, Baker MP. Methods Mol Biol. 2009;525:405-23, Deimmunization of monoclonal antibodies;およびBaker M, and Jones TD. The identification and removal of immunogenicity in therapeutic proteins. Curr. Opin. Drug Discovery Dev. 2007; (2007); 10(2): 219-227]。MHC IIに結合するか、別の方法でCD4+細胞活性化を刺激するペプチドが同定されたら、そのペプチドの残基を1つずつ変異させ、MHCII結合およびT細胞活性化を破壊する変異が発見されるまでT細胞活性化について試験することができる。このような変異が個々のペプチドに発見されたら、組換え治療用タンパク質の中に直接コードすることができる。タンパク質全体を抗原提示細胞とインキュベートしても、大きなCD4+応答は誘導されない。このことは脱免疫が成功したことを示している。

【０４７３】

二重特異性抗体

二重特異性抗体は、少なくとも2つの異なる抗原に対する結合特異性を有する、モノクローナルの、好ましくは、ヒト抗体またはヒト化抗体である。例えば、結合特異性の一方は第1の抗原に対するものでもよく、他方は他の任意の抗原に対するものでもよい。例示的な二重特異性抗体は、同じタンパク質の2つの異なるエピトープに結合し得る。二重特異性抗体はまた、細胞傷害剤を、ある特定のタンパク質を発現する細胞に局在化させるのに用いられてもよい。これらの抗体は、特定のタンパク質に特異的な結合アームと、細胞傷害剤(例えば、サポリン、抗インターフェロン-α、ビンカアルカロイド、リシンA鎖、メトトレキセート、または放射性同位体ハプテン)に結合するアームを有する。二重特異性抗体は、完全長抗体または抗体断片(例えば、$F(ab')_2$二重特異性抗体)として調製されてもよい。

【０４７４】

二重特異性抗体を作製するための方法が当技術分野において公知である。従来より、二重特異性抗体の組換え産生は、2本の重鎖の特異性が異なる2つの免疫グロブリン重鎖-軽鎖対の同時発現に基づいている(Milstein and Cuello, Nature, 305: 537 (1983))。免疫グロブリン重鎖および軽鎖のランダムな仕分けのために、これらのハイブリドーマ(クアドローマ)は10個の異なる抗体分子からなる潜在的な混合物を産生し、10個の異なる抗体分子のうち1個しか正しい二重特異構造を有さない。正しい分子の精製は、通常、アフィニティクロマトグラフィー工程によって行われ、かなり煩雑であり、生成物の収率は低い。同様の手法がWO93/08829およびTraunecker et al., EMBO J., 10: 3655 (1991)に開示されている。

【０４７５】

異なるアプローチによれば、望ましい結合特異性を有する抗体可変ドメイン(抗体-抗原結合部位)は免疫グロブリン定常ドメイン配列と融合される。この融合は、好ましくは、ヒンジ、CH2、およびCH3領域の少なくとも一部を含む免疫グロブリン重鎖定常ドメインとの融合である。融合の少なくとも1つに存在する、軽鎖結合に必要な部位を含有する第1の

重鎖定常領域(CH1)を有することが好ましい。免疫グロブリン重鎖融合体をコードするDNA、および所望であれば免疫グロブリン軽鎖をコードするDNAが別々の発現ベクターに挿入され、適切な宿主生物にコトランスフェクトされる。これにより、構築において用いられる3種類のポリペプチド鎖の等しくない比が最適収率をもたらす態様において、3種類のポリペプチド断片の相互比率を調整する際の自由度が得られる。しかしながら、少なくとも2つのポリペプチド鎖を等しい比で発現させることで収率が高くなる場合、またはこの比が特に重要な意味を持たない場合、1つの発現ベクターに、2種類または3種類全てのポリペプチド鎖のコード配列を挿入することが可能である。

【０４７６】

このアプローチの好ましい態様では、二重特異性抗体は、一方のアームにおける第1の結合特異性を持つハイブリッド免疫グロブリン重鎖と、他方のアームにおける(第2の結合特異性を提供する)ハイブリッド免疫グロブリン重鎖-軽鎖対で構成される。二重特異性分子の半分にだけ免疫グロブリン軽鎖が存在することで手軽な分離手法が得られるので、この非対称構造によって、不要な免疫グロブリン鎖組み合わせから望ましい二重特異性化合物を分離することが容易になり得る。このアプローチはWO94/04690に開示されている。二重特異性抗体を生成する、さらなる詳細については、例えば、Suresh et al., Methods in Enzymology, 121:210 (1986)を参照されたい。

【０４７７】

別のアプローチによれば、組換え細胞培養物から回収されるヘテロ二量体のパーセントを最大にするために一対の抗体分子間の境界面が操作されてもよい。好ましい境界面は抗体定常ドメインのC_{H3}ドメインの少なくとも一部を含む。この方法では、第1の抗体分子の境界面に由来する1つまたは複数の小さなアミノ酸側鎖を大きな側鎖(例えば、チロシンまたはトリプトファン)と交換する。第2の抗体分子の境界面には、大きなアミノ酸側鎖を小さなアミノ酸側鎖(例えば、アラニンまたはトレオニン)と交換することによって、大きな側鎖に同一の、または類似するサイズの埋め合わせとなる「空洞」が作り出される。これは、ホモ二量体などの他の不要な最終生成物より多くヘテロ二量体の収率を高めるための機構となる。

【０４７８】

二重特異性抗体は、架橋した抗体または「ヘテロコンジュゲート(heteroconjugate)」抗体を含む。例えば、ヘテロコンジュゲート中の抗体の一方はアビジンと結合されてもよく、他方はビオチンと結合してもよい。このような抗体は、例えば、免疫系細胞を不必要な細胞に標的化するために(US4,676,980)、ならびにHIV感染を処置するために(WO91/00360、WO92/00373、およびEP03089)提唱されている。ヘテロコンジュゲート抗体は任意の便利な架橋法を用いて作ることができる。適切な架橋剤は当技術分野において周知であり、多数の架橋法と共に米国特許第4,676,980号において開示される。

【０４７９】

抗体断片から二重特異性抗体を生成するための技法も文献において説明されている。例えば、二重特異性抗体は化学連結を用いて調製されてもよい。Brennan et al., Science, 229: 81 (1985) は、$F(ab')_2$断片を生成するためにインタクトな抗体がタンパク分解により切断される手法について述べている。隣接するジチオールを安定化し、分子間ジスルフィド形成を阻止するために、これらの断片を、ジチオール複合体化剤である亜ヒ酸ナトリウムの存在下で還元させる。次いで、生成したFab'断片をチオニトロベンゾエート(thionitrobenzoate)(TNB)誘導体に変換する。次いで、メルカプトエチルアミンによる還元によって、Fab'-TNB誘導体の1つをFab'-チオールに再変換し、等モル量の他のFab'-TNB誘導体と混合して二重特異性抗体を形成する。作製された二重特異性抗体は、酵素を選択的に固定化するための薬剤として用いられてもよい。

【０４８０】

最近の進歩によって、化学結合して二重特異性抗体を形成することができるFab'-SH断片を大腸菌から直接回収することが容易になった。Shalaby et al., J. Exp. Med., 175: 217-225 (1992)は、完全ヒト化二重特異性抗体$F(ab')_2$分子の作製について述べている。

それぞれのFab'断片を別々に大腸菌から分泌させ、インビトロで特異的な化学結合に供して、二重特異性抗体を形成した。このように形成された二重特異性抗体は、HER2受容体を過剰発現する細胞と正常ヒトT細胞に結合し、ヒト乳腺腫瘍標的に対するヒト細胞傷害性リンパ球の溶解活性を誘発することができた。

【０４８１】

組換え細胞培養物から直接、二重特異性抗体断片を作製および単離するための様々な技法も説明されている。例えば、ロイシンジッパーを用いて二重特異性抗体が作製されている。例えば、Kostelny et al., J. Immunol., 148(5):1547-1553 (1992)を参照されたい。FosおよびJunタンパク質に由来するロイシンジッパーペプチドを遺伝子融合によって2つの異なる抗体のFab'部分に連結した。抗体ホモ二量体をヒンジ領域で還元して、単量体を形成し、次いで、再酸化して抗体ヘテロ二量体を形成した。この方法は抗体ホモ二量体の作製にも利用することができる。Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)に記載の「ダイアボディ」技術が、二重特異性抗体断片を作製するための代替の機構を提供した。この断片は、短すぎて、同じ鎖にある2つのドメインが対形成できないリンカーによって軽鎖可変ドメイン(VL)とつながっている重鎖可変ドメイン(VH)を含む。従って、ある断片のVHドメインおよびVLドメインは強制的に別の断片の相補的なVLドメインおよびVHドメインと対形成され、それによって、2つの抗原結合部位が形成される。単鎖Fv(sFv)二量体を用いることで二重特異性抗体断片を作製するための別の戦略も報告されている。Gruber et al., J. Immunol., 152:5368 (1994)を参照されたい。

【０４８２】

2を超える結合価を持つ抗体が意図される。例えば、三重特異性抗体を調製することができる。例えば、Tutt et al. J. Immunol. 147: 60 (1991)を参照されたい。

【０４８３】

多価抗体

多価抗体は、抗体が結合する抗原を発現する細胞によって二価抗体より速く内部移行(および/または異化)され得る。本開示の抗体は、3個もしくはそれ以上の抗原結合部位を持つ(IgMクラス以外の)多価抗体(例えば、四価抗体)でもよく、抗体のポリペプチド鎖をコードする核酸の組換え発現によって産生されてもよい。多価抗体は二量体化ドメインおよび3個もしくはそれ以上の抗原結合部位を含んでもよい。好ましい二量体化ドメインはFc領域もしくはヒンジ領域を含んでもよい(またはFc領域もしくはヒンジ領域からなってもよい)。このシナリオでは、抗体は、Fe領域のアミノ末端側にFc領域および3個もしくはそれ以上の抗原結合部位を含む。好ましい多価抗体は3個～約8個であるが、好ましくは4個の抗原結合部位を含んでもよい(または3個～約8個であるが、好ましくは4個の抗原結合部位からなってもよい)。多価抗体は少なくとも1個のポリペプチド鎖(好ましくは2個のポリペプチド鎖)を含み、ポリペプチド鎖は2個もしくはそれ以上の可変ドメインを含む。例えば、ポリペプチド鎖はVD1-(X1)n-VD2-(X2)n-Fcを含んでもよく、VD1は第1の可変ドメインであり、VD2は第2の可変ドメインであり、Fcは、Fc領域の1個のポリペプチド鎖であり、X1およびX2はアミノ酸またはポリペプチドを表し、nは0または1である。例えば、ポリペプチド鎖は、VH-CH1-柔軟なリンカー-VH-CH1-Fc領域鎖;またはVH-CH1-VH-CH1-Fc領域鎖を含んでもよい。多価抗体は、好ましくは、少なくとも2個の(好ましくは4個の)軽鎖可変ドメインポリペプチドをさらに含んでもよい。多価抗体は、例えば、約2個～約8個の軽鎖可変ドメインポリペプチドを含んでもよい。軽鎖可変ドメインポリペプチドは軽鎖可変ドメインを含んでもよく、任意で、CLドメインをさらに含んでもよい。

【０４８４】

抗体変種

一部の態様において、本明細書に記載の極めて長いCDR3を含むヒト化抗体のアミノ酸配列改変が意図される。例えば、抗体の結合親和性および/または他の生物学的特性を改善することが望ましい場合がある。抗体のアミノ酸配列変種は、適切なヌクレオチド変化を抗体核酸に導入することによって、またはペプチド合成によって調製される。このような改変には、例えば、抗体のアミノ酸配列からの残基の欠失および/または抗体のアミノ酸

配列への残基の挿入および/または抗体のアミノ酸配列内での残基の置換が含まれる。最終構築物が望ましい特徴を有するのであれば、最終構築物を得るように欠失、挿入、および置換の任意の組み合わせが作製される。アミノ酸変化は、対象の抗体アミノ酸配列に、その配列が作製されるときに導入されてもよい。

【０４８５】

抗体の、変異誘発に好ましい場所である特定の残基または領域を同定するための有用な方法は、Cunningham and Wells (1989) Science, 244:1081-1085に記載の「アラニンスキャニング変異誘発」と呼ばれる。この場合、残基または標的残基グループ(例えば、arg、asp、his、lys、およびgluなどの荷電残基)が同定され、アミノ酸と抗原との相互作用に影響を及ぼすように中性アミノ酸または負電荷アミノ酸(最も好ましくはアラニンまたはポリアラニン)と交換される。次いで、置換部位に、または置換部位の代わりに、さらなる変種または他の変種を導入することによって、置換に対して機能的感受性を示したアミノ酸場所は精緻なものにされる。従って、アミノ酸配列バリエーションを導入するための部位は予め決まっているが、変異そのものがどういったものであるかは予め決める必要がない。例えば、所定の部位における変異の性能を分析するために、標的コドンまたは領域においてalaスキャニングまたはランダム変異誘発が行われ、発現された免疫グロブリンが望ましい活性についてスクリーニングされる。

【０４８６】

アミノ酸配列の挿入には、長さ1残基から100残基もしくはそれ以上を含有するポリペプチドに及ぶアミノ末端融合および/またはカルボキシル末端融合ならびに1個または複数個のアミノ酸残基の配列内挿入が含まれる。末端挿入の例には、N末端メチオニル残基を有する抗体または細胞傷害性ポリペプチドと融合した抗体が含まれる。抗体分子の他の挿入変種には、抗体のN末端またはC末端と、酵素(例えば、ADEPTの場合)または抗体の血清半減期を延ばすポリペプチドとの融合が含まれる。

【０４８７】

ポリペプチドのグリコシル化は典型的にはN結合型またはO結合型のいずれかである。N結合型とは、糖質部分がアスパラギン残基の側鎖に取り付けられていることを指す。トリペプチド配列であるアスパラギン-X-セリンおよびアスパラギン-X-トレオニンは、酵素により糖質部分がアスパラギン側鎖に取り付けられるための認識配列である。式中、Xは、プロリン以外の任意のアミノ酸である。従って、ポリペプチドの中に、これらのトリペプチド配列のいずれかが存在すると潜在的なグリコシル化部位が作り出される。O結合型グリコシル化とは、糖であるN-アセチルガラクトサミン、ガラクトース、またはキシロースの1つがヒドロキシアミノ酸、最も一般的にはセリンまたはトレオニンに取り付けられていることを指すが、5-ヒドロキシプロリンまたは5-ヒドロキシリジンも用いられてもよい。

【０４８８】

抗体へのグリコシル化部位の付加は、(N結合型グリコシル化部位の場合)前記トリペプチド配列の1つまたは複数を含有するようにアミノ酸配列を変えることによって都合よく成し遂げられる。また、(O結合型グリコシル化部位の場合)元々の抗体の配列に1個もしくは複数個のセリン残基もしくはトレオニン残基の付加または1個もしくは複数個のセリン残基もしくはトレオニン残基による置換による変化も加えられてもよい。

【０４８９】

抗体がFc領域を含む場合、Fc領域に取り付けられる糖質は変更されてもよい。例えば、抗体のFc領域に取り付けられるフコースがない成熟糖質構造を持つ抗体が説明されている(例えば、US2003/0157108、US2004/0093621を参照されたい)。抗体のFc領域に取り付けられた糖質の中に分岐N-アセチルグルコサミン(GlcNAc)を持つ抗体が説明されている(例えば、WO2003/011878および米国特許第6,602,684号を参照されたい)。抗体のFc領域に取り付けられたオリゴ糖の中に少なくとも1個のガラクトース残基を持つ抗体(WO1997/30087;抗体のFc領域に取り付けられた糖質が変化している抗体についてはWO1998/58964およびWO1999/22764も参照されたい)。グリコシル化が改変された抗原結合分子が説明されている(

例えば、WO99/54342、米国特許第6,602,684号、および同第7,517,670号、ならびにUS2004/0072290を参照されたい;例えば、米国特許第7,214,775号および同第7,682,610号も参照されたい)。

【０４９０】

本明細書における好ましいグリコシル化変種は、Fc領域に取り付けられた糖質構造にフコースがないFc領域を含む。このような変種はADCC機能が改善されている。任意で、Fc領域は、ADCCをさらに改善する1個または複数個のアミノ酸置換、例えば、Fc領域の位置298、333、および/または334(残基のEu番号付与)における置換をさらに含む。「脱フコシル化(defucosylated)」抗体または「フコース欠損」抗体に関連する刊行物の例には、US2003/0157108;WO2000/61739;WO2001/29246;US2003/0115614(現在、米国特許第6,946,292号)、US2002/0164328(現在、米国特許第7,064,191号);US2004/0093621;US2004/0132140;US2004/0110704;US2004/0110282(現在、米国特許第7,749,753号);US2004/0109865;WO2003/085119;WO2003/084570;WO2005/035586;WO2005/035778;WO2005/053742; Okazaki et al. J. Mol. Biol. 336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004)が含まれる。脱フコシル抗体を産生する細胞株の例には、タンパク質フコシル化が欠損しているLec13 CHO細胞(Ripka et al. Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545 (1986);米国特許出願番号US2003/0157108A1, Presta, L;およびWO2004/056312A1, Adams et al., 特に、実施例11)、およびノックアウト細胞株、例えば、α-1,6-フコシルトランスフェラーゼ遺伝子、FUT8、ノックアウトCHO細胞(Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004))が含まれる。

【０４９１】

別のタイプの変種はアミノ酸置換変種である。これらの変種は、抗体分子中の少なくとも1個のアミノ酸残基が異なる残基と交換されている。置換変異誘発のために最も関心対象となる部位には超可変領域が含まれるが、FR変化も意図される。保存的置換を、「好ましい置換」という題のもとに表2に示した。このような置換によって生物学的活性が変化するのであれば、「例示的な置換」と表記した、またはアミノ酸クラスに関して下記でさらに示したような、さらに大幅な変化が導入され、生成物がスクリーニングされることがある。

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

【０４９２】

抗体の生物学的特性は、(a)置換領域にあるポリペプチド骨格構造、例えば、シートもしくはヘリックスコンホメーション、(b)標的部位にある分子の電荷もしくは疎水性、または(c)側鎖の容積の維持に及ぼす影響が有意に異なる置換を選択することによって、大幅に改変される。天然残基は、共通の側鎖特性:(1)疎水性:ノルロイシン、met、ala、val、leu、ile;(2)中性親水性:Cys、Ser、Thr、Asn、Gln;(3)酸性:asp、glu;(4)塩基性:his、lys、arg;(5)鎖方向に影響を及ぼす残基:gly、pro;および(6)芳香族:trp、tyr、pheに基づいてグループに分けられる。

【０４９３】

非保存的置換は、これらのクラスの1つのメンバーを別のクラスと交換することを伴う。

【０４９４】

あるタイプの置換変種は、親抗体(例えば、ヒト化抗体またはヒト抗体)の1個または複数個の超可変領域残基を置換することを伴う。一般的に、さらなる開発のために選択された、結果として生じた変種は、変種が得られた親抗体と比べて改善した生物学的特性を有する。このような置換変種を生成する便利なやり方は、ファージディスプレイを用いた親和性成熟を伴う。簡単に述べると、いくつかの超可変領域部位(例えば、6～7個の部位)が、それぞれの部位において、可能性のある全てのアミノ酸置換を生じるように変異される。このように生成された抗体は、繊維状ファージ粒子から、それぞれの粒子にパッケージングされたM13遺伝子III産物との融合としてディスプレイされる。次いで、ファージディスプレイ変種は、本明細書において開示されたように生物学的活性(例えば、結合親和性)についてスクリーニングされる。改変のための超可変領域部位の候補を同定するために、アラニンスキャニング変異誘発を行って、抗原結合に大きく寄与する超可変領域残基を同定することができる。または、もしくはさらに、抗原-抗体複合体の結晶構造を分析して抗体と抗原との接点を同定することが有益な場合がある。このような接触残基および隣接

残基は、本明細書において詳しく説明される技法に従って置換するための候補である。このような変種が生成されたら、変種の一団が本明細書に記載のようにスクリーニングに供され、さらに開発するために、1つまたは複数の関連アッセイにおいて優れた特性があった抗体が選択されることがある。

【０４９５】

抗体のアミノ酸配列変種をコードする核酸分子は当技術分野において公知の様々な方法によって調製される。これらの方法には、(天然のアミノ酸配列変種の場合)天然供給源からの単離、または以前に調製された変種バージョンもしくは非変種バージョンの抗体のオリゴヌクレオチドを介した(もしくは部位特異的な)変異誘発、PCR変異誘発、およびカセット変異誘発による調製が含まれるが、これに限定されない。

【０４９６】

本明細書において開示された免疫グロブリンポリペプチドのFc領域において1つまたは複数のアミノ酸修飾を導入し、それによって、Fc領域変種を生成することが望ましい場合がある。Fc領域変種は、ヒンジシステインの位置を含む1つまたは複数のアミノ酸位置にアミノ酸修飾(例えば、置換)を含むヒトFc領域配列(例えば、ヒトIgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4 Fc領域)を含んでもよい。

【０４９７】

この説明および当技術分野の開示によれば、一部の態様では、本明細書において開示された方法において用いられる抗体は、野生型対応抗体と比較して、例えば、Fc領域に、1つまたは複数の変化を含んでもよいことが意図される。それにもかかわらず、これらの抗体は、野生型対応物と比較して治療有用性に必要な実質的に同じ特徴を保持するだろう。例えば、WO99/51642に記載のように、例えば、Fc領域には、Clq結合および/または補体依存性細胞傷害(CDC)を変える(例えば、改善または低減する)ある特定の変化を加えることができると考えられている。Fc領域変種の他の例については、Duncan & Winter Nature 322:738-40 (1988);米国特許第5,648,260号;米国特許第5,624,821号;およびWO94/29351も参照されたい。WO00/42072およびWO2004/056312は、FcRとの結合が改善または低減した抗体変種について述べている。Shields et al. J. Biol. Chem. 9(2): 6591-6604 (2001)も参照されたい。半減期が長く、胎児への母体IgGの移行を担う胎児性Fc受容体(FcRn)(Guyer et al., J. Immunol. 117:587 (1976)およびKim et al., J. Immunol. 24:249 (1994))との結合が改善した抗体がUS2005/0014934(Hinton et al.)に記載されている。これらの抗体は、Fc領域とFcRnとの結合を改善する1つまたは複数の置換があるFc領域を含む。Fc領域アミノ酸配列が変化し、Clq結合能力が増加または減少したポリペプチド変種が米国特許第6,194,551号、WO99/51642に記載されている。Idusogie et al. J. Immunol. 164:4178-4184 (2000)も参照されたい。

【０４９８】

ある特定の態様において、本開示は、全てではないが一部のエフェクター機能を有し、このことによって、抗体のインビボ半減期は重要であるがある特定のエフェクター機能(例えば、補体およびADCC)は不必要もしくは有害である用途にとって望ましい候補となる、抗体変種を意図する。CDC活性および/またはADCC活性の低減/枯渇を判定するために、インビトロ細胞傷害アッセイおよび/またはインビボ細胞傷害アッセイを行うことができる。例えば、抗体がFcyR結合は有さない(従って、おそらくADCC活性を有さない)がFcRn結合能力は保持していることを確実なものにするために、Fc受容体(FcR)結合アッセイを行うことができる。ADCCを媒介するための主な細胞であるNK細胞はFcyRIIIしか発現しないのに対して、単球はFcyRI、FcyRII、およびFcyRIIIを発現する。造血細胞上でのFcR発現は、Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol 9:457-92 (1991)の464頁にある表3にまとめられている。関心対象の分子のADCC活性を評価するインビトロアッセイの非限定的な例は米国特許第5,500,362号(例えば、Hellstrom, I. et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83:7059-7063 (1986)を参照されたい) および Hellstrom, I et al., Proc. Nat'lAcad. Sci. USA 82:1499-1502 (1985);同第5,821,337号(Bruggemann, M. et al., Exp. Med. 166:1351-1361 (1987)を参照されたい)に記載されている。または、非放射性アッセイ法が

用いられてもよい(例えば、フローサイトメトリーのためのACTITM非放射性細胞傷害アッセイ(CellTecl1r1ology, Inc. Mountain View, Calif.;およびCytoTox96(登録商標)非放射性細胞傷害アッセイ(Promega, Madison, Wis.)を参照されたい)。このようなアッセイに有用なエフェクター細胞には末梢血単核球(PBMC)およびナチュラルキラー(NK)細胞が含まれる。または、もしくはさらに、関心対象の分子のADCC活性がインビボで、例えば、動物モデル、例えば、Clynes et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 95: 652-656 (1998)において開示される動物モデルにおいて評価されることがある。抗体がClqに結合できず、従って、CDC活性を欠くことを判定するために、C1q結合アッセイも行われることがある。例えば、WO2006/029879およびWO2005/100402のC1qおよびC3c結合ELISAを参照されたい。補体活性化を評価するために、CDCアッセイが行われることがある(例えば、Gazzano-Santoro et al., Immunol. Methods 202:163 (1996); Cragg, M. S. et al., Blood 101:1045-1052 (2003);およびCragg, M. S, and M. J. Glennie, Blood 103:27382743 (2004)を参照されたい)。FcRn結合およびインビボ排除/半減期はまた、当技術分野において公知の方法を用いて決定することもできる(例えば、Petkova, S. B. et al., Int 'l Immunol. 18(12):1759-1769 (2006)を参照されたい)。

【０４９９】

エフェクター機能が低減した抗体には、Fc領域残基238、265、269、270、297、327、および329の1つまたは複数の置換を伴う抗体(米国特許第6,737,056号)が含まれる。このようなFc変異体には、残基265および297がアラニンに置換されたいわゆる「DANA」Fc変異体(米国特許第7,332,581号)を含む、アミノ酸位置265、269、270、297、および327の2つもしくはそれ以上での置換を伴うFc変異体が含まれる。

【０５００】

FcRとの結合が改善または低減した、ある特定の抗体変種が説明されている(例えば、米国特許第6,737,056号;WO2004/056312、およびShields et al., Biol. Chem. 9(2): 6591-6604 (2001)を参照されたい)。

【０５０１】

ある特定の態様において、抗体変種は、ADCCを改善する1つまたは複数のアミノ酸置換、例えば、Fc領域の位置298、333、および/または334(残基のEU番号付与)における置換を有するFc領域を含む。

【０５０２】

一部の態様において、例えば、米国特許第6,194,551号、WO99/51642、およびIdusogie et al. Immunol. 164: 41784184 (2000)に記載のように、C1q結合および/または補体依存性細胞傷害(CDC)を変える(すなわち改善または低減する)変化がFc領域に加えられる。

【０５０３】

半減期が長く、かつ胎児への母体IgGの移行を担う胎児性Fc受容体 (FcRn)(Guyer et al., Immunol. 117:587 (1976) および Kim et al., Immunol. 24:249 (1994))との結合が改善した抗体がUS2005/0014934A1 (Hinton et al.)に記載されている。このような抗体は、Fc領域とFcRnとの結合を改善する1つまたは複数の置換があるFc領域を含む。このようなFc変種には、Fc領域残基:238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424、または434の1つまたは複数に置換があるFc変種、例えば、Fc領域残基434の置換があるFc変種(米国特許第7,371,826号)が含まれる。

【０５０４】

Fc領域変種の他の例については、Duncan & Winter, Nature 322:738-40 (1988);米国特許第5,648,260号;米国特許第5,624,821号;およびWO94/29351も参照されたい。

【０５０５】

抗体誘導体

本明細書において開示された極めて長いCDR3を含むヒト化抗体は、当技術分野において公知であり、かつ容易に入手可能な、さらなる非タンパク質部分を含有するようにさらに改変されてもよい。好ましくは、抗体誘導体化に適した部分は水溶性ポリマーである。水

溶性ポリマーの非限定的な例には、ポリエチレングリコール(PEG)、エチレングリコール/プロピレングリコールのコポリマー、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリ-1,3-ジオキソラン、ポリ-1,3,6-トリオキサン、エチレン/マレイン酸無水物コポリマー、ポリアミノ酸(ホモポリマーまたはランダムコポリマーのいずれか)、およびデキストランまたはポリ(n-ビニルピロリドン)ポリエチレングリコール、プロプロピレン(propropylene)グリコールホモポリマー、プロリプロピレンオキシド(prolypropylene oxide)/エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール(例えば、グリセロール)、ポリビニルアルコール、ならびにその混合物が含まれるが、これに限定されない。ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドは、水中で安定であるために製造において利点がある可能性がある。ポリマーは任意の分子量でもよく、分枝または非分枝でもよい。抗体に取り付けられたポリマーの数は異なってもよく、複数のポリマーが取り付けられる場合、同じ分子でもよく異なる分子でもよい。一般的に、誘導体化に用いられるポリマーの数および/またはタイプは、改善しようとする抗体の特定の特性または機能、規定された条件下で抗体誘導体が療法に用いられるかどうかなどを含むが、これに限定されない考慮すべき事項に基づいて決定することができる。

【０５０６】

ベクター、宿主細胞、および組換え方法

本明細書において開示された抗体またはその断片を組換え産生する際、それをコードする核酸が単離され、さらなるクローニング(DNA増幅)または発現のための複製可能なベクターに挿入される。抗体をコードするDNAは、従来の手法を用いて(例えば、抗体の重鎖および軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合することができるオリゴヌクレオチドプローブを用いることによって)容易に単離および配列決定される。例示的な態様では、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体、極めて長いCDR3を含む可変領域、または極めて長いCDR3をコードする核酸が単離され、さらにクローニング(DNA増幅)するか、または発現させるために複製可能なベクターに挿入される。多くのベクターが利用可能である。ベクターの選択は、一つには、使用しようとする宿主細胞に依存する。一般的に、好ましい宿主細胞は原核生物に由来するか、真核生物(一般的に哺乳動物)に由来する。この目的のために、IgG、IgM、IgA、IgD、およびIgE定常領域を含む任意のアイソタイプの定常領域を使用することができ、このような定常領域を任意のヒトまたは動物種から入手できることが認められるだろう。

【０５０７】

真核生物ウイルスに由来する調節エレメントを含有する発現ベクターは、典型的には、真核生物発現ベクター、例えば、SV40ベクター、パピローマウイルスベクター、およびエプスタイン-バーウイルスに由来するベクターにおいて用いられる。他の例示的な真核生物ベクターには、pMSG、pAV009/A+、pMTO10/A+、pMAMneo-5、バキュロウイルスpDSVE、およびCMVプロモーター、SV40初期プロモーター、SV40後期プロモーター、メタロチオネインプロモーター、マウス乳房腫瘍ウイルスプロモーター、ラウス肉腫ウイルスプロモーター、ポリヘドリンプロモーター、または真核細胞における発現に有効なことが示された他のプロモーターの指示下でタンパク質を発現させる他の任意のベクターが含まれる。

【０５０８】

一部の発現系は、チミジンキナーゼおよびジヒドロ葉酸レダクターゼなどの遺伝子を増幅するマーカーを有する。または、昆虫細胞におけるバキュロウイルスベクターを使用するなど、ポリヘドリンプロモーターまたは他の強力なバキュロウイルスプロモーターの指示下の、部分的にヒトである極めて長いCDR3抗体鎖をコードする核酸配列を用いる、遺伝子増幅が関与しない高収率発現系も適している。

【０５０９】

a.原核生物宿主細胞または真核生物宿主細胞を用いた抗体の生成:

i.ベクター構築

標準的な組換え法を用いて、本明細書において開示された抗体のポリペプチド成分をコードするポリヌクレオチド配列を入手することができる。望ましいポリヌクレオチド配列

はハイブリドーマ細胞などの抗体産生細胞から単離および配列決定されてもよい。または、ポリヌクレオチドはヌクレオチド合成機またはPCR法を用いて合成することができる。ポリペプチドをコードする配列が得られたら、原核生物宿主において異種ポリヌクレオチドを複製および発現することができる組換えベクターに挿入する。本開示の目的に関して、当技術分野において利用可能な、かつ公知の多くのベクターを使用することができる。適切なベクターの選択は、主に、ベクターに挿入される核酸のサイズおよびベクターで形質転換しようとする特定の宿主細胞に依存する。それぞれのベクターは、その機能(異種ポリヌクレオチドの増幅もしくは発現またはその両方)およびベクターが中にある特定の宿主細胞との適合性に応じて様々な成分を含有する。一般的に、ベクター成分には、複製起点、選択マーカー遺伝子、プロモーター、リボソーム結合部位(RBS)、シグナル配列、異種核酸インサート、および転写終結配列が含まれるが、これに限定されない。さらに、極めて長いCDR3を含むV領域は、任意で、定常領域を含む抗体を産生するようにC領域と融合されてもよい。

【０５１０】

一般的に、これらの宿主に関連して、宿主細胞と適合する種に由来するレプリコンおよび制御配列を含有するプラスミドベクターが用いられる。ベクターは、通常、複製部位、ならびに形質転換細胞において表現型選択を提供することができるマーキング配列を有する。例えば、大腸菌は、典型的には、大腸菌種に由来するプラスミドであるpBR322を用いて形質転換される。pBR322は、アンピシリン(Amp)およびテトラサイクリン(Tet)耐性をコードする遺伝子を含有し、従って、形質転換細胞を同定するための簡単な手段を提供する。pBR322、その誘導体、または他の微生物プラスミドもしくはバクテリオファージはまた、内因性タンパク質を発現させるために微生物体が使用することができるプロモーターも含有してもよく、このプロモーターも含有するように改変されてもよい。特定の抗体を発現させるのに用いられるpBR322誘導体の例が説明されている(例えば、米国特許第5,648,237号を参照されたい)。

【０５１１】

さらに、これらの宿主と関連して、形質転換ベクターとして、宿主微生物と適合するレプリコンおよび制御配列を含有するファージベクターを使用することができる。例えば、大腸菌LE392などの感受性のある宿主細胞を形質転換するのに使用することができる組換えベクターの作製において、λGEM(商標)-11などのバクテリオファージが用いられてもよい。

【０５１２】

本明細書において開示された発現ベクターは、それぞれのポリペプチド成分をコードする2つもしくはそれ以上のプロモーター-シストロン対を含んでもよい。プロモーターは、シストロン発現を調整する、シストロンの上流(5'側)に位置する非翻訳制御配列である。原核生物プロモーターは、典型的には、誘導性プロモーターおよび構成的プロモーターの2つのクラスに分類される。誘導性プロモーターは、培養条件の変化、例えば、栄養分の存在もしくは非存在または温度変化に応答して、その制御下にあるシストロンの高レベル転写を開始するプロモーターである。

【０５１３】

様々な潜在的な宿主細胞によって認識される多数のプロモーターは周知である。制限酵素消化を介して供給源DNAからプロモーターを取り出して、単離されたプロモーター配列を本明細書において開示されたベクターに挿入することによって、選択されたプロモーターを、軽鎖または重鎖をコードするシストロンDNAに機能的に連結することができる。天然プロモーター配列および多くの異種プロモーターはいずれも、標的遺伝子の増幅および/または発現を誘導するのに用いられてもよい。一部の態様では、概して、天然の標的ポリペプチドプロモーターよりも、発現された標的遺伝子の転写を増大させ、収量を増やすので、異種プロモーターが利用される。

【０５１４】

原核生物宿主との使用に適したプロモーターには、araBプロモーター、PhoAプロモータ

ー、β-ガラクタマーゼ(galactamase)プロモーターおよびラクトースプロモーター系、トリプトファン(trp)プロモーター系、ならびにハイブリッドプロモーター、例えば、tacプロモーターまたはtrcプロモーターが含まれる。しかしながら、細菌において機能する他のプロモーター(例えば、他の公知の細菌プロモーターまたはファージプロモーター)も適している。これらのヌクレオチド配列は公表されており、それによって、当業者はこれらのヌクレオチド配列を、任意の必要とされる制限部位を供給するためのリンカーまたはアダプターを用いて、標的の軽鎖および重鎖をコードするシストロンに機能的に連結することができる(例えば、Siebenlist et al. (1980) Cell 20: 269) 。

【０５１５】

適切な細菌プロモーターは当技術分野において周知であり、Sambrook and Russell, 前記、およびAusubel et al, 前記などの科学文献において十分に説明されている。組換え触媒ポリペプチドの抗体鎖を発現させるための細菌発現系は、例えば、大腸菌、バチルス属(Bacillus)の種、およびサルモネラ属(Salmonella)において利用することができる(Palva et al., Gene, 22:229-235 (1983); Mosbach et al., Nature, 302:543-545 (1983))。

【０５１６】

本明細書において開示された一局面において、組換えベクター中の各シストロンは、発現したポリペプチドが膜を横断して移動するよう指示する分泌シグナル配列成分を含む。一般的に、シグナル配列はベクター成分でもよく、ベクターに挿入される、標的ポリペプチドDNAの一部でもよい。シグナル配列は、宿主細胞によって認識および処理される(例えば、シグナルペプチダーゼによって切断される)配列でなければならない。異種ポリペプチドに固有のシグナル配列を認識および処理しない原核生物宿主細胞の場合、シグナル配列は、選択された原核生物シグナル配列、例えばPelB、OmpA、アルカリホスファターゼ、ペニシリナーゼ、Ipp、または熱安定性エンテロトキシンII(STII)リーダー、LamB、PhoE、およびMBPによって置換される。本明細書において開示された一態様において、発現系の両シストロンにおいて用いられるシグナル配列はSTIIシグナル配列またはその変種である。

【０５１７】

別の局面において、本開示に従う免疫グロブリンの産生は宿主細胞の細胞質で生じることができ、従って、それぞれのシストロンの中に分泌シグナル配列が存在することを必要としない。この点に関して、免疫グロブリン軽鎖および重鎖が発現され、折り畳まれ、組み立てられて細胞質内に機能的な免疫グロブリンを形成する。ある特定の宿主株(例えば、大腸菌trxB-株)は、ジスルフィド結合形成に好ましい細胞質条件をもたらし、それによって、発現されたタンパク質サブユニットの正しい折り畳みおよび構築を可能にする(例えば、Proba and Pluckthun Gene, 159:203 (1995)を参照されたい)。

【０５１８】

抗体をコードするベクターのクローニングまたは発現に適した宿主細胞には、本明細書に記載の原核生物または真核細胞が含まれる。一態様において、宿主細胞は、真核生物性の、例えば、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞、ヒト胚腎臓(HEK)細胞、またはリンパ系細胞(例えば、YO、NSO、Sp20細胞)である。例えば、抗体は、特に、グリコシル化およびFcエフェクター機能が必要とされない場合に細菌において産生されてもよい。細菌における抗体断片およびポリペプチドの発現については、例えば、米国特許第5,648,237号、同第5,789,199号、および同第5,840,523号を参照されたい(大腸菌における抗体断片発現について述べている、Charlton, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, N.J., 2003, pp. 245-254も参照されたい)。発現後、抗体は可溶性画分にある細菌細胞ペーストから単離されてもよく、さらに精製することができる。原核生物に加えて、グリコシル化経路が「ヒト化」されており、その結果、部分的または完全にヒトのグリコシル化パターンを持つ抗体が産生される菌類および酵母株を含めて、糸状菌または酵母などの真核生物微生物は、抗体をコードするベクターに適したクローニング宿主または発現宿主である。Gemgross, Nat. Biotech. 22: 1409-1414 (2004)

、および Li et al., Nat. Biotech. 24:210-215 (2006)を参照されたい。グリコシル化抗体の発現に適した宿主細胞は多細胞生物(無脊椎動物および脊椎動物)からも得られる。無脊椎動物細胞の例には植物細胞および昆虫細胞が含まれる。昆虫細胞と共に、特にヨトウガ(Spodoptera frugiperda)細胞をトランスフェクトするために用いられ得る、非常に多くのバキュロウイルス株が同定されている。これらの例は限定をするものではなく例示である。規定された遺伝子型を有する上述の任意の細菌の誘導体を構築するための方法は当技術分野において公知であり、例えば、Bass et al., Proteins, 8:309-314 (1990)に記載されている。一般的に、細菌細胞内でのレプリコンの複製性(replicability)を考慮して適切な細菌を選択することが必要である。例えば、pBR322、pBR325、pACYC177、またはpKN410などの周知のプラスミドを用いてレプリコンを供給する場合、大腸菌、セラチア属(Serratia)、またはサルモネラ属の種を宿主として適宜、使用することができる。典型的には、宿主細胞は最低限の量のタンパク質分解酵素を分泌しなければならず、望ましくは、さらなるプロテアーゼインヒビターが細胞培養物に取り入れられてもよい。

【０５１９】

植物細胞培養物も宿主として利用することもできる。例えば、米国特許第5,959,177号、同第6,040,498号、同第6,420,548号、同第7,125,978号、および同第6,417,429号(トランスジェニック植物において抗体を産生するためのPLANTIBODIESTM技術について説明している)を参照されたい。脊椎動物細胞も宿主として用いられてもよい。例えば、懸濁液中で増殖させるように適合させられた哺乳動物細胞株が有用であり得る。有用な哺乳動物宿主細胞株の他の例は、SV40によって形質転換されたサル腎臓CV1株(COS-7); ヒト胚腎臓株(例えば、293細胞またはGraham et al., Gen VlI'0l. 36:59 (1977)に記載の293細胞); ベビーハムスター腎臓細胞(BHK); マウスセルトリ細胞(例えば、Mather, Biol. Reprod. 23:243-251 (1980)に記載のTM4細胞); サル腎臓細胞(CV1); アフリカミドリザル腎臓細胞(VERO-76); ヒト子宮頸癌細胞(HELA); イヌ腎臓細胞(MDCK; バッファローラット(buffalo rat)肝臓細胞(BRL 3A); ヒト肺細胞(W138); ヒト肝臓細胞(Hep G2); マウス乳房腫瘍(MMT 060562); 例えば、Mather et al., Annals NI'.Acad. Sci. 383:44-68 (1982)に記載のTR1細胞;MRC5細胞;およびFS4細胞である。他の有用な哺乳動物宿主細胞株には、DHFR' CHO細胞(Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216 (1980))を含むチャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞;ならびにミエローマ細胞株、例えば、YO、NSO、およびSp2/0が含まれる。抗体産生に適したある特定の哺乳動物宿主細胞株の総説については、例えば、Yazaki and Wu, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, N.].), pp. 255-268 (2003)を参照されたい。

【０５２０】

このような一態様では、宿主細胞は、(1)抗体のVLを含むアミノ酸配列および抗体のVHを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含むベクター、または(2)抗体のVLを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第1のベクターおよび抗体のVHを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第2のベクターを含む(例えば、これらによって形質転換されている)。

【０５２１】

ii.抗体産生

部分的にヒトである極めて長いCDR3抗体を組換え産生する場合、宿主細胞において、さらにクローニングおよび/または発現するために、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体をコードする核酸が1つまたは複数の発現ベクターに挿入される。このような核酸は、従来の手法を用いて(例えば、抗体の重鎖および軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合することができるオリゴヌクレオチドプローブを用いることによって)容易に単離および配列決定され得る。宿主細胞は、このような発現ベクターで形質転換され、プロモーターを誘導するために、形質転換体を選択するために、または望ましい配列をコードする遺伝子を増幅するために適宜、改変される従来の栄養培地中で培養される。

【０５２２】

形質転換とは、DNAが染色体外エレメントまたは染色体組み込み体のいずれかとして複製できるように、DNAを原核生物宿主に導入することを意味する。使用される宿主細胞に

応じて、このような細胞に適した標準的な技法を用いて形質転換が行われる。かなりの細胞壁障壁を含有する細菌細胞の場合、塩化カルシウムを用いたカルシウム処理が一般的に用いられる。形質転換のための別の方法ではポリエチレングリコール/DMSOが用いられる。使用されるさらに別の技法はエレクトロポレーションである。

【０５２３】

本明細書において開示されたポリペプチドを産生するのに用いられる原核細胞は、当技術分野において公知であり、かつ選択された宿主細胞の培養に適した培地中で増殖される。適切な培地の例には、ルリア(luria)ブロス(LB)+必要な栄養補助剤が含まれる。一部の態様において、培地はまた、発現ベクターを含有する原核細胞を選択的に増殖させるために、発現ベクター構築に基づいて選択される選択薬剤も含有する。例えば、アンピシリン耐性遺伝子を発現する細胞を増殖させるためにアンピシリンが培地に添加される。

【０５２４】

炭素源、窒素源、および無機リン酸源の他に任意の必要な補助剤もまた、単独で、または別の補助剤もしくは培地、例えば、複合窒素源との混合物として適切な濃度で導入されてもよい。任意で、培養培地は、グルタチオン、システイン、シスタミン、チオグリコレート、ジチオエリスリトール、およびジチオスレイトールからなる群より選択される1種類または複数種の還元剤を含有してもよい。

【０５２５】

原核生物宿主細胞は適切な温度で培養される。大腸菌増殖の場合、例えば、好ましい温度は約20℃～約39℃、より好ましくは約25℃～約約37℃、さらにより好ましくは約30℃である。培地のpHは、主に宿主生物に応じて約5～約9の任意のpHでもよい。大腸菌の場合、pHは好ましくは約6.8～約7.4であり、より好ましくは約7.0である。

【０５２６】

誘導性プロモーターが、本明細書において開示された発現ベクターにおいて用いられるのであれば、プロモーター活性化に適した条件下でタンパク質発現が誘導される。例えば、ポリペプチド転写を制御するためにaraBまたはphoAプロモーターが用いられてもよい。当技術分野において公知のように、使用されるベクター構築物に応じて様々な誘導物質が用いられてもよい。

【０５２７】

本開示の発現ポリペプチドは宿主細胞のペリプラズムに分泌されるか、宿主細胞のペリプラズムから回収されるか、または培養培地に輸送される。ペリプラズムからのタンパク質回収は、典型的には、微生物を、一般的に浸透圧衝撃、超音波処理、または溶解などの手段によって破壊する工程を伴う。細胞が破壊されたら、細胞破片または全細胞は遠心分離または濾過によって除去してもよい。タンパク質は、例えば、アフィニティ樹脂クロマトグラフィーによって、さらに精製してもよい。または、培養培地に輸送されたタンパク質は培養培地中で単離してもよい。細胞が培養物から取り出され得、産生されたタンパク質をさらに精製するために、培養上清が濾過および濃縮され得る。発現ポリペプチドは、ポリアクリルアミドゲル電気泳動(PAGE)およびウエスタンブロットアッセイなどの一般に知られている方法を用いてさらに単離および同定することができる。

【０５２８】

抗体産生は発酵プロセスによって大量に行われてもよい。組換えタンパク質を産生するために様々な大規模流加発酵手法を利用することができる。大規模発酵は、少なくとも1000リットルの容量、好ましくは約1,000～100,000リットルの容量を有する。これらのファーメンターでは、酸素および栄養分、特に、グルコース(好ましい炭素/エネルギー源)を分散させるために撹拌インペラーが用いられる。小規模発酵とは、一般的に、容積が約100リットル以下であり、約1リットル～約100リットルの場合もあるファーメンターでの発酵を指す。

【０５２９】

発酵プロセスでは、タンパク質発現誘導は、典型的には、細胞が適切な条件下で望ましい密度、例えば、細胞が初期定常期の段階にある約180～220のOD550まで増殖した後に開

始する。当技術分野において公知のように、かつ前記のように、使用するベクター構築物に応じて様々な誘導物質が用いられてもよい。細胞は誘導前に短期間増殖されてもよい。細胞は、通常、約12～50時間誘導されるが、さらに長い誘導期間または短い誘導期間が用いられてもよい。

【０５３０】

本明細書において開示されたポリペプチドの産生収率および質を改善するために、様々な発酵条件を変更することができる。例えば、分泌型抗体ポリペプチドの正しい構築および折り畳みを改善するために、シャペロンタンパク質、例えば、Dsbタンパク質(DsbA、DsbB、DsbC、DsbD、および/もしくはDsbG)またはFkpA(シャペロン活性のあるペプチジルプロリルcis,trans-イソメラーゼ)を過剰発現する、さらなるベクターが、宿主原核細胞を同時形質転換するのに用いられてもよい。シャペロンタンパク質は、細菌宿主細胞内に産生された異種タンパク質の正しい折り畳みおよび溶解を容易にすることが証明されている(例えば、Chen et al. (1999) J Bio Chem 274:19601-19605; 米国特許第 6,083,715号; 米国特許第 6,027,888号; Bothmann and Pluckthun (2000) J. Biol. Chem. 275:17100-17105; Ramm and Pluckthun (2000) J. Biol. Chem. 275:17106-17113; Arie et al. (2001) Mol. Microbiol. 39:199-210を参照されたい)。

【０５３１】

発現された異種タンパク質(特に、タンパク分解に感受性のある異種タンパク質)のタンパク質分解を最小限にするために、タンパク質分解酵素に欠損のある、ある特定の宿主を本開示のために使用することができる。例えば、宿主細胞株は、公知の細菌プロテアーゼ、例えば、プロテアーゼIII、OmpT、DegP、Tsp、プロテアーゼI、プロテアーゼMi、プロテアーゼV、プロテアーゼVI、およびその組み合わせをコードする遺伝子に遺伝子変異を起こすように改変されてもよい。一部の大腸菌プロテアーゼ欠損株を利用することができる(例えば、Joly et al. (1998), 前記; 米国特許第5,264,365号; 米国特許第5,508,192号; Hara et al., Microbial Drug Resistance, 2:63-72 (1996)を参照されたい)。

【０５３２】

タンパク質分解酵素に欠損があり、かつ1種または複数種のシャペロンタンパク質を過剰発現するプラスミドで形質転換された大腸菌株が、本明細書において開示された発現系の宿主細胞として用いられてもよい。

【０５３３】

iii.抗体精製

当技術分野において公知の標準的なタンパク質精製法を使用することができる。以下の手法:イムノアフィニティーカラムまたはイオン交換カラムによる分画、エタノール沈殿、逆相HPLC、シリカまたは陽イオン交換樹脂、例えば、DEAEによるクロマトグラフィー、等電点電気泳動、SDS-PAGE、硫安沈殿、および例えば、Sephadex G-75を用いたゲル濾過は適切な精製手法の例示である。

【０５３４】

一局面において、本明細書において開示された完全長抗体産物をイムノアフィニティー精製するために、固相に固定化したプロテインAが用いられる。プロテインAは、高親和性で抗体Fc領域に結合する黄色ブドウ球菌(Staphylococcus aureas)に由来する41kD細胞壁タンパク質である(例えば、Lindmark et al (1983) J. Immunol. Meth. 62:1-13を参照されたい)。プロテインAが固定化された固相は、好ましくは、ガラスまたはシリカ表面を備えるカラム、より好ましくは、多孔性ガラスカラムまたはケイ酸カラムである。一部の用途では、カラムは、混入物質の非特異的付着を阻止するためにグリセロールなどの試薬でコーティングされている。

【０５３５】

精製の第1の工程として、関心対象の抗体をプロテインAに特異的に結合させるために、前記の細胞培養に由来する調製物を、固相に固定化したプロテインAに適用する。次いで、固相に非特異的に結合した混入物質を除去するために固相を洗浄する。最後に、溶出によって関心対象の抗体を固相から回収する。

【０５３６】
b.真核生物宿主細胞を用いた抗体の生成:
ベクター成分には、一般的に、シグナル配列、複製起点、1種または複数種のマーカー遺伝子、エンハンサーエレメント、プロモーター、および転写終結配列の1つまたは複数が含まれるが、これに限定されない。
【０５３７】
(i)シグナル配列成分
真核生物宿主細胞において使用するためのベクターはまた、シグナル配列、または関心対象の成熟したタンパク質またはポリペプチドのN末端に特定の切断部位を有する他のポリペプチドも含有してもよい。選択される異種シグナル配列は、好ましくは、宿主細胞によって認識および処理される(例えば、シグナルペプチダーゼによって切断される)異種シグナル配列である。哺乳動物細胞発現では、哺乳動物シグナル配列ならびにウイルス分泌リーダー、例えば、単純ヘルペスgDシグナルを利用することができる。
【０５３８】
このような前駆体領域のDNAは、抗体をコードするDNAと読み枠で連結される。
【０５３９】
(ii)複製起点
一般的に、哺乳動物発現ベクターに複製起点成分は必要でない。例えば、初期プロモーターを含有しているという理由だけで、SV40起点が用いられ得る。
【０５４０】
(iii)選択遺伝子成分
発現・クローニングベクターは、選択マーカーとも呼ばれる選択遺伝子を含有してもよい。典型的な選択遺伝子は、(a)抗生物質もしくは他の毒素、例えば、アンピシリン、ネオマイシン、メトトレキセート、もしくはテトラサイクリンに対する耐性を付与するタンパク質、(b)関連する場合、栄養要求欠損を補うタンパク質、または(c)複合培地から入手できない重要な栄養分を供給するタンパク質をコードする。
【０５４１】
選択スキームの一例では、宿主細胞の増殖を止めるために薬物が利用される。異種遺伝子で首尾良く形質転換された細胞は、薬物耐性を付与するタンパク質を産生し、従って、選択レジメンに生き残る。このような優性選択(dominant selection)の例では、薬物ネオマイシン、ミコフェノール酸、およびハイグロマイシンが用いられる。
【０５４２】
哺乳動物細胞に適した選択マーカーの別の例は、抗体核酸を吸収する能力のある細胞を同定することができる選択マーカー、例えば、DHFR、チミジンキナーゼ、メタロチオネイン-Iおよび-II、好ましくは霊長類メタロチオネイン遺伝子、アデノシンデアミナーゼ、オルニチンデカルボキシラーゼなどである。
【０５４３】
例えば、DHFR選択遺伝子で形質転換された細胞は、最初に、形質転換体の全てを、DHFRの競合的アンタゴニストであるメトトレキセート(Mtx)を含有する培養培地中で培養することによって同定される。野生型DHFRが用いられるときの適切な宿主細胞は、DHFR活性が欠損しているチャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞株(例えば、ATCC CRL-9096)である。
【０５４４】
または、抗体、野生型DHFRタンパク質、および別の選択マーカー、例えば、アミノグリコシド3'-ホスホトランスフェラーゼ(APH)をコードするDNA配列によって形質転換または同時形質転換された宿主細胞(特に、内因性DHFRを含有する野生型宿主)は、選択マーカーの選択薬剤、例えば、アミノグリコシド抗生物質、例えば、カナマイシン、ネオマイシン、またはG418を含有する培地中での細胞増殖によって選択することができる。米国特許第4,965,199号を参照されたい。
【０５４５】
(iv)プロモーター成分

発現・クローニングベクターは、通常、宿主生物が認識し、抗体ポリペプチド核酸に機能的に連結しているプロモーターを含有する。真核生物のプロモーター配列が公知である。実質的に全ての真核生物遺伝子が、転写開始部位から約25～30塩基上流に位置するATリッチ領域を有する。多くの遺伝子の転写開始から70～80塩基上流に見出される別の配列がCNCAAT領域であり、式中、Nは任意のヌクレオチドでよい。ほとんどの真核生物遺伝子の3'末端には、ポリAテールをコード配列3'末端に付加するためのシグナルであり得るAATAAA配列がある。これらの配列は全て、適宜、真核生物発現ベクターに挿入される。

【０５４６】

哺乳動物宿主細胞中のベクターからの抗体ポリペプチド転写は、例えば、ウイルス、例えば、ポリオーマウイルス、鶏痘ウイルス、アデノウイルス(例えば、アデノウイルス2)、ウシパピローマウイルス、トリ肉腫ウイルス、サイトメガロウイルス、レトロウイルス、B型肝炎ウイルス、およびシミアンウイルス40(SV40)のゲノムから得られたプロモーター、異種哺乳動物プロモーター、例えば、アクチンプロモーターまたは免疫グロブリンプロモーター、熱ショックプロモーターが宿主細胞系と適合するのであれば、このようなプロモーターによって制御される。

【０５４７】

SV40ウイルスの初期プロモーターおよび後期プロモーターは、SV40ウイルス複製起点も含有するSV40制限断片として好都合に得られる。ヒトサイトメガロウイルスの最初期プロモーターはHindIIIE制限断片として好都合に得られる。ベクターとしてウシパピローマウイルスを用いて哺乳動物宿主においてDNAを発現させるための系は米国特許第4,419,446号において開示されている。この系の改良版が米国特許第4,601,978号に記載されている。または、ラウス肉腫ウイルス末端反復配列をプロモーターとして使用することができる。

【０５４８】

(v)エンハンサーエレメント成分

高等真核生物による本開示の抗体ポリペプチドをコードするDNAの転写は、多くの場合、エンハンサー配列をベクターに挿入することによって増加する。哺乳動物遺伝子(グロビン、エラスターゼ、アルブミン、α-フェトプロテイン、およびインシュリン)に由来する多くのエンハンサー配列が現在知られている。真核細胞ウイルスに由来するエンハンサーも用いられてもよい。例には、複製起点の後期側にあるSV40エンハンサー(bp100-270)、サイトメガロウイルス初期プロモーターエンハンサー、複製起点の後期側にあるポリオーマエンハンサー、およびアデノウイルスエンハンサーが含まれる。真核生物プロモーター活性化のための強化エレメントについてはYaniv, Nature 297:17-18 (1982)も参照されたい。エンハンサーは、抗体ポリペプチドをコードする配列の5'側または3'側にある位置でベクターの中にスプライスされてもよいが、好ましくは、プロモーターから5'側の部位に配置される。

【０５４９】

(vi)転写終結成分

真核宿主細胞において用いられる発現ベクターはまた、典型的には、転写終結およびmRNA安定化に必要な配列も含有する。このような配列は、一般的に、真核生物またはウイルスのDNAまたはcDNAの5'非翻訳領域、時として3'非翻訳領域から入手することができる。これらの領域は、抗体をコードするmRNAの非翻訳部分にあるポリアデニル化断片として転写されるヌクレオチドセグメントを含有する。有用な転写終結成分の1つはウシ成長ホルモンポリアデニル化領域である。WO94/11026およびWO94/11026において開示された発現ベクターを参照されたい。

【０５５０】

(vii)宿主細胞の選択および形質転換

本明細書においてベクター中のDNAをクローニングまたは発現するのに適した宿主細胞には、脊椎動物宿主細胞を含む本明細書に記載の高等真核生物細胞が含まれる。培養(組織培養)で脊椎動物細胞を増殖することは慣用的な手法になっている。有用な哺乳動物宿主細胞株の例は、SV40によって形質転換されたサル腎臓CV1株(COS-7、ATCC CRL 1651);

ヒト胚腎臓株(293細胞または懸濁液培養で増殖させるためにサブクローニングされた293細胞、Graham et al., J. Gen Virol. 36:59 (1977)); ベビーハムスター腎臓細胞(BHK、ATCC CCL 10); チャイニーズハムスター卵巣細胞/-DHFR(CHO、Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216 (1980)); マウスセルトリ細胞(TM4、Mather, Biol. Reprod. 23:243-251 (1980); サル腎臓細胞(CV1 ATCC CCL 70); アフリカミドリザル腎臓細胞(VERO-76、ATCC CRL-1587); ヒト子宮頸癌細胞(HELA、ATCC CCL 2); イヌ腎臓細胞(MDCK、ATCC CCL 34); バッファローラット肝臓細胞(BRL 3A、ATCC CRL 1442); ヒト肺細胞(W138、ATCC CCL 75); ヒト肝臓細胞(Hep G2、HB 8065); マウス乳房腫瘍(MMT 060562、ATCC CCL 51); TRI細胞(Mather et al., Annals N.Y. Acad. Sci. 383:44-68 (1982)); MRC 5細胞; FS4細胞; およびヒトヘパトーム株(Hep G2)である。

【０５５１】

外来ヌクレオチド配列を宿主細胞に導入する周知の任意の手法を使用することができる。これらには、リン酸カルシウムトランスフェクション、ポリブレン、プロトプラスト融合、エレクトロポレーション、バイオリスティック、リポソーム、マイクロインジェクション、プラズマベクター(plasma vector)、ウイルスベクター、およびクローニングされたゲノムDNA、cDNA、合成DNA、または他の外来の遺伝物質を宿主細胞に導入する他の任意の周知の方法の使用が含まれる(例えば、Sambrook and Russell, 前記を参照されたい)。必要なのは、使用される特定の遺伝子工学手法が、生殖系列抗体ポリペプチドを発現することができる宿主細胞に、少なくとも両遺伝子を首尾良く導入できることだけである。

【０５５２】

宿主細胞は、抗体を産生するために前記の発現ベクターまたはクローニングベクターを用いて形質転換され、プロモーターを誘導するために、形質転換体を選択するために、または望ましい配列をコードする遺伝子を増幅するために適宜、改変された従来の栄養培地中で培養される。

【０５５３】

(viii)宿主細胞の培養

本開示の抗体を産生するのに用いられる宿主細胞は様々な培地中で培養されてもよい。宿主細胞を培養するには、Ham F10(Sigma)、最小必須培地((MEM)、(Sigma)、RPMI-1640(Sigma)、およびダルベッコ変法イーグル培地((DMEM), Sigma)などの市販の培地が適している。さらに、宿主細胞用の培養培地として、Ham et al., Meth. Enz. 58:44 (1979)、Barnes et al., Anal. Biochem. 102:255 (1980)、米国特許第4,767,704号;同第4,657,866号;同第4,927,762号;同第4,560,655号;もしくは同第5,122,469号; WO90/03430;WO87/00195; または米国再発行特許第30,985号に記載の任意の培地を使用することができる。これらの培地はいずれも、必要に応じて、ホルモンおよび/または他の増殖因子(例えば、インシュリン、トランスフェリン、もしくは上皮細胞増殖因子)、塩(例えば、塩化ナトリウム、カルシウム、マグネシウム、およびリン酸)、緩衝液(例えば、HEPES)、ヌクレオチド(例えば、アデノシンおよびチミジン)、抗生物質(例えば、GENTAMYCIN(商標)薬物)、微量元素(通常、マイクロモル範囲の最終濃度で存在する無機化合物と定義される)、ならびにグルコースまたは等価なエネルギー源を加えることができる。当業者に公知の他の任意の必要な補助剤も適切な濃度で含めることができる。培養条件、例えば、温度、pHなどは、発現があるかどうか選択された宿主細胞と共に以前に用いられたものであり、当業者に明らかになるだろう。

【０５５４】

(ix)抗体の精製

組換え法を用いた場合、抗体を細胞内で産生することができるか、または培地に直接分泌することができる。第1の工程として抗体を細胞内で産生するのであれば、宿主細胞または溶解断片のいずれかである粒子破片を、例えば、遠心分離または限外濾過によって除去する。抗体を培地に分泌させた場合、一般的に、このような発現系からの上清を、最初に、市販のタンパク質濃度フィルタ、例えば、AmiconまたはMillipore Pellicon(登録商標)限外濾過ユニットを用いて濃縮する。タンパク質分解を阻害するために前述の工程の

いずれにおいてもPMSFなどのプロテアーゼインヒビターを組み込んでもよく、外来混入物質の増殖を阻止するために抗生物質を組み込んでもよい。

【０５５５】

細胞から調製された抗体組成物は、例えば、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析、およびアフィニティクロマトグラフィーを用いて精製することができ、アフィニティクロマトグラフィーが好ましい精製法である。アフィニティリガンドとしてのプロテインAの適性は、種、および抗体に存在する任意の免疫グロブリンFcドメインのアイソタイプに依存する。プロテインAを用いて、ヒトγ1、γ2、またはγ4重鎖に基づく抗体を精製することができる(Lindmark et al., J. Immunol. Meth. 62:1-13 (1983))。全てのマウスアイソタイプおよびヒトγ3についてはプロテインGが推奨される(Guss et al., EMBO J. 5:15671575 (1986))。アフィニティリガンドが取り付けられるマトリックスはアガロースであることが最も多いが、他のマトリックスを利用することができる。機械的に安定なマトリックス、例えば、多孔性ガラス(商標)またはポリ(スチレンジビニル)ベンゼンを用いると、アガロースによって達成することができる流速より流速が速くなり、アガロースによって達成することができる処理時間より処理時間が短くなる。抗体がCH3ドメインを含む場合、Bakerbond ABX(商標)樹脂(J. T. Baker, Phillipsburg, N.J.)が精製に有用である。回収しようとする抗体に応じて、タンパク質精製のための他の技法、例えば、イオン交換カラムによる分画、エタノール沈殿、逆相HPLC、シリカによるクロマトグラフィー、陽イオン交換樹脂または陽イオン交換樹脂(例えば、ポリアスパラギン酸カラム)におけるヘパリンSEPHAROSE(商標)クロマトグラフィーによるクロマトグラフィー、等電点電気泳動、SDS-PAGE、ならびに硫安沈殿分画も利用することができる。

【０５５６】

細胞質に存在するか、または細胞周辺腔から放出された可溶型の抗体または断片は、当技術分野において公知の方法を用いてさらに精製され得る。例えば、Fab断片は浸透圧衝撃法によって細菌細胞周辺腔から放出される。

【０５５７】

抗体または断片を含む封入体が形成されている場合、これらは細胞内膜および/または細胞外膜に結合できることが多く、従って、遠心分離後に、主としてペレット材料の中に見出される。次いで、ペレット材料は、封入体を放出、バラバラにする、および可溶化するために、pH極値(extreme)で処理されてもよく、アルカリpHではジチオスレイトールなどの還元剤の存在下または酸pHではtrisカルボキシエチルホスフィンの存在下で、カオトロピック剤、例えば、界面活性剤、グアニジン、グアニジン誘導体、尿素、もしくは尿素誘導体を用いて処理されてもよい。次いで、可溶性の抗体または断片は、ゲル電気泳動、免疫沈降などを用いて分析することができる。可溶化された抗体または抗原結合断片を単離することが望ましければ、単離は、下記およびMarston et al. (Meth. Enz., 182:264-275 (1990))に示した方法などの標準的な方法を用いて達成されてもよい。

【０５５８】

任意の予備精製工程後に、関心対象の抗体および混入物質を含む混合物は、約2.5～4.5のpHの溶出緩衝液を用いた、好ましくは、低い塩濃度(例えば、約0～0.25M塩)で行われる低pH疎水性相互作用クロマトグラフィーに供されてもよい。

【０５５９】

場合によっては、抗体または断片は、単離されたときに生物学的に活性がなくてもよい。生物学的活性を回復させるために、「リフォールディング」するか、またはポリペプチドをその三次構造に変換し、ジスルフィド結合を生成するための様々な方法を使用することができる。このような方法には、可溶化ポリペプチドを、通常、7より高いpHに、ある特定の濃度のカオトロープの存在下で曝露する段階が含まれる。カオトロープの選択は封入体可溶化に用いられる選択によく似ているが、通常、カオトロープは低濃度で用いられ、可溶化に用いられるカオトロープと必ずしも同じとは限らない。多くの場合、リフォールディング/酸化溶液は、タンパク質のシステイン架橋を形成する際に、ある特定の酸化還元電位を生じさせてジスルフィドシャッフリングが起こるようにするために還元剤また

は特定の比の還元剤+その酸化型も含有する。一般的に用いられる酸化還元カップリングの一部には、システイン/シスタミン、グルタチオン(GSH)/ジチオビスGSH、塩化第二銅、ジチオスレイトール(DTT)/ジチアンDTT、および2-メルカプトエタノール(bME)/di-チオ-b(ME)が含まれる。多くの場合、リフォールディング効率を高めるために共溶媒が用いられ得、この目的に用いられる一般的な試薬には、グリセロール、様々な分子量のポリエチレングリコール、アルギニンなどが含まれる。

【０５６０】

イムノコンジュゲート

本開示はまた、細胞傷害剤、例えば、化学療法剤、薬物、増殖阻害剤、毒素(例えば、細菌由来、真菌由来、植物由来、もしくは動物由来の酵素活性のある毒素、またはその断片)、あるいは放射性同位体(例えば、放射性コンジュゲート(radioconjugate))とコンジュゲートしている本明細書に記載の任意の極めて長いCDR3を含むヒト化抗体を含む、イムノコンジュゲート(同義で「抗体-薬物コンジュゲート」または「ADC」と呼ばれる)を提供する。

【０５６１】

細胞傷害剤または細胞分裂阻害剤を局所送達するための抗体-薬物コンジュゲートの使用。例えば、癌処置において腫瘍細胞を死滅させる、または阻害する薬物(Syrigos and Epenetos (1999) Anticancer Research 19:605-614; Niculescu-Duvaz and Springer (1997) Adv. Drg Del. Rev. 26:151-172; 米国特許第4,975,278号)は腫瘍への薬物部分の標的化送達および腫瘍における細胞内蓄積を可能にし、これらの非コンジュゲート薬物薬剤を全身投与すると、排除することが求められている腫瘍細胞と同じくらい正常細胞に対して容認できないレベルの毒性が生じる可能性がある(Baldwin et al., (1986) Lancet pp. (Mar. 15, 1986):603-05; Thorpe, (1985)「Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review」, Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications, A. Pinchera et al. (ed.s), pp. 475-506)。そのため、最大の効力と最小の毒性が求められる。ポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体は両方とも、これらの戦略において有用だと報告されている(Rowland et al., (1986) Cancer Immunol. Immunother., 21:183-87)。これらの方法において用いられる薬物には、ダウノマイシン、ドキソルビシン、メトトレキセート、およびビンデシン(Rowland et al., (1986) 前記)が含まれる。抗体-毒素コンジュゲートにおいて用いられる毒素には、細菌毒素、例えば、ジフテリア毒素、植物毒素、例えば、リシン、低分子毒素、例えば、ゲルダナマイシン(Mandler et al (2000) Jour. of the Nat. Cancer Inst. 92(19):1573-1581; Mandler et al (2000) Bioorganic & Med. Chem. Letters 10: 1025-1028; Mandler et al (2002) Bioconjugate Chem. 13:786-791)、マイタンシノイド(EP 1391213; Liu et al., (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:8618-8623)、およびカリチアマイシン(Lode et al (1998) Cancer Res. 58:2928; Hinman et al (1993) Cancer Res. 53:3336-3342)が含まれる。毒素は、チューブリン結合、DNA結合、またはトポイソメラーゼ阻害を含む機構によって細胞傷害作用および細胞分裂阻害作用を生じ得る。一部の細胞傷害薬物は、大きな抗体またはタンパク質受容体リガンドとコンジュゲートしているときに不活性になるか、または活性が低くなる傾向がある。

【０５６２】

ZEVALIN(登録商標)(イブリツモマブチウキセタン、Biogen/Idec)は、チオ尿素リンカー-キレート剤によって結合した、正常Bリンパ球および悪性Bリンパ球の表面に見られるCD20抗原に対して向けられるマウスIgG1κモノクローナル抗体と^{111}Inまたは^{90}Y放射性同位体で構成された抗体-放射性同位体コンジュゲートである(Wiseman et al (2000) Eur. Jour. Nucl. Med. 27(7):766-77; Wiseman et al (2002) Blood 99(12):4336-42; Witzig et al (2002) J. Clin. Oncol. 20(10):2453-63; Witzig et al (2002) J. Clin. Oncol. 20(15):3262-69)。ZEVALINには、B細胞非ホジキンリンパ腫(NHL)に対する活性があるが、投与されると、ほとんどの患者において重篤かつ長期の血球減少が起こる。カリチアマイシンと連結したhuCD33抗体で構成される抗体薬物コンジュゲートであるMYLOTARG(商標)(

ゲムツズマブオゾガマイシン, Wyeth Pharmaceuticals)は、2000年に、注射による急性骨髄性白血病処置のために認可された(Drugs of the Future (2000) 25(7):686; 米国特許第4,970,198号;同第5,079,233号;同第5,585,089号;同第5,606,040号;同第5,693,762号;同第5,739,116号;同第5,767,285号;同第5,773,001号)。ジスルフィドリンカーSPPを介して連結された、huC242抗体とマイタンシノイド薬物部分、DM1で構成される抗体薬物コンジュゲートであるカンツズマブメルタンシン(Immunogen, Inc.)は、CanAgを発現する癌、例えば、結腸癌、膵臓癌、胃癌、およびその他の癌の処置のために第II相試験に進んでいる。マイタンシノイド薬物部分、DM1と連結した抗前立腺特異的膜抗原(PSMA)モノクローナル抗体で構成される抗体薬物コンジュゲートであるMLN-2704(Millennium Pharm., BZL Biologics, Immunogen Inc.)は、前立腺腫瘍を処置する可能性があるとして開発されている最中である。アウリスタチンペプチド、アウリスタチンE(AE)およびモノメチルアウリスタチン(MMAE)、ドラスタチン合成類似体は、(癌腫の表面にあるルイス(Lewis)Yに特異的な)キメラモノクローナル抗体cBR96および(血液悪性腫瘍の表面にあるCD30に特異的な)cAC10とコンジュゲートされ(Doronina et al (2003) Nature Biotechnology 21(7):778-784)、治療開発されている最中である。

【０５６３】

イムノコンジュゲートの生成において有用な化学療法剤は本明細書に記載されている。使用することができる酵素活性のある毒素およびその断片には、ジフテリアA鎖、ジフテリア毒素の非結合活性断片、エキソトキシンA鎖(緑膿菌(Pseudomonas aeruginosa)に由来する)、リシンA鎖、アブリンA鎖、モデシン(modeccin)A鎖、α-サルシン(sarcin)、シナアブラギリ(Aleurites fordii)タンパク質、ジアンチン(dianthin)タンパク質、アメリカヤマゴボウ(Phytolacca americana)タンパク質(PAPI、PAPII、およびPAP-S)、ニガウリ(momordica charantia)阻害剤、クルシン、クロチン、サボンソウ(sapaonaria officinalis)阻害剤、ゲロニン、ミトゲリン(mitogellin)、レストリクトシン(restrictocin)、フェノマイシン(phenomycin)、エノマイシン(enomycin)、ならびにトリコテセン(tricothecene)が含まれる。例えば、1993年10月28日に公開されたWO93/21232を参照されたい。放射性コンジュゲート抗体を作製するために様々な放射性核種を利用することができる。例には、^{212}Bi、^{131}I、^{131}In、^{90}Y、および^{186}Reが含まれる。抗体と細胞傷害剤のコンジュゲートは、様々な二官能性タンパク質カップリング剤、例えば、N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオール)プロピオネート(SPDP)、イミノチオラン(IT)、イミドエステルの二官能性誘導体(例えば、アジプイミド酸ジメチルHCl)、活性エステル(例えば、スベリン酸ジスクシンイミジル)、アルデヒド(例えば、グルタルアルデヒド)、bis-アジド化合物(例えば、bis(p-アジドベンゾイル)ヘキサンジアミン)、bis-ジアゾニウム誘導体(例えば、bis-(p-ジアゾニウムベンゾイル)-エチレンジアミン)、ジイソシアネート(例えば、トルエン2,6-ジイソシアネート)、およびbis-活性フッ素化合物(例えば、1,5-ジフルオロ-2,4-ジニトロベンゼン)を用いて作製される。例えば、リシン免疫毒素は、Vitetta et al (1987) Science, 238:1098 (1987)に記載のように調製され得る。炭素-14標識1-イソチオシアナトベンジル-3-メチルジエチレントリアミン五酢酸(MX-DTPA)は、放射性ヌクレオチド(radionucleotide)を抗体にコンジュゲートするための例示的なキレート剤である。WO94/11026を参照されたい。

【０５６４】

抗体と、1種類または複数種の低分子毒素、例えば、カリチアマイシン、マイタンシノイド、ドラスタチン、アウロスタチン(aurostatin)、トリコテセン、およびCC1065、ならびに毒素活性を有する、これらの毒素の誘導体とのコンジュゲートも本明細書において意図される。

【０５６５】

a.マイタンシンおよびマイタンシノイド

一部の態様において、イムノコンジュゲートは、1つまたは複数のマイタンシノイド分子とコンジュゲートしている、本明細書において開示された極めて長いCDR3を含むヒト化抗体(完全長または断片)を含む。

【０５６６】
マイタンシノイドは、チューブリン重合を阻害することによって働く有糸分裂(mitotic)阻害剤である。マイタンシンは、最初に、東アフリカの低木であるメイテナス・セラタ(Maytenus serrata)から単離された(米国特許第3,896,111号)。その後、ある特定の微生物もマイタンシノールおよびC-3マイタンシノールエステルなどのマイタンシノイドを産生することが発見された(米国特許第4,151,042号)。合成マイタンシノールならびにその誘導体および類似体が、例えば、米国特許第4,137,230号;同第4,248,870号;同第4,256,746号;同第4,260,608号;同第4,265,814号;同第4,294,757号;同第4,307,016号;同第4,308,268号;同第4,308,269号;同第4,309,428号;同第4,313,946号;同第4,315,929号;同第4,317,821号;同第4,322,348号;同第4,331,598号;同第4,361,650号;同第4,364,866号;同第4,424,219号;同第4,450,254号;同第4,362,663号;および同第4,371,533号において開示されている。

【０５６７】
マイタンシノイド薬物部分は、(i)発酵または化学修飾、発酵産物の誘導体化により調製するのに比較的入手しやすいため、(ii)非ジスルフィドリンカーを介した抗体とのコンジュゲートに適した官能基による誘導体化を受け入れることができるため、(iii)血漿中で安定なため、および(iv)様々な腫瘍細胞株に対して有効なために抗体薬物コンジュゲートの魅力的な薬物部分である。

【０５６８】
マイタンシノイドを含有するイムノコンジュゲート、マイタンシノイドを含有するイムノコンジュゲートを作製する方法、およびその治療的使用は、例えば、米国特許第5,208,020号、同第5,416,064号、およびEP0425235において開示されている。Liu et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:8618-8623 (1996)は、ヒト結腸直腸癌に対して向けられるモノクローナル抗体C242に連結した、DM1と名付けられたマイタンシノイドを含むイムノコンジュゲートについて述べた。このコンジュゲートは、結腸癌培養細胞に対して高い細胞傷害性を持つことが見出され、インビボ腫瘍成長アッセイにおいて抗腫瘍活性を示した。Chari et al., Cancer Research 52:127-131 (1992)は、マイタンシノイドがジスルフィドリンカーを介して、ヒト結腸癌細胞株の表面にある抗原に結合するマウス抗体A7、またはHER-2/neu癌遺伝子に結合する別のマウスモノクローナル抗体TA.1とコンジュゲートしているイムノコンジュゲートについて述べている。細胞1個につき$3x10^5$個のHER-2表面抗原を発現するヒト乳癌細胞株SK-BR-3に対して、TA.1-マイタンシノイドコンジュゲートの細胞傷害性がインビトロで試験された。この薬物コンジュゲートは、遊離マイタンシノイド薬物とほぼ同じ程度の細胞傷害性を実現した。細胞傷害性は、抗体分子1個当たりのマイタンシノイド分子の数を増やすことによって高めることができた。マウスにおけるA7-マイタンシノイドコンジュゲートの全身細胞傷害性は低かった。

【０５６９】
抗体-マイタンシノイドコンジュゲートは、抗体の生物学的活性もマイタンシノイド分子の生物学的活性も大きく減らすことなく、抗体をマイタンシノイド分子に化学的に連結することによって調製される。例えば、米国特許第5,208,020号を参照されたい。抗体分子1個につき平均3～4個のコンジュゲートしたマイタンシノイド分子が、抗体の機能にも溶解度にも悪影響を及ぼすことなく標的細胞の細胞傷害の増強において効力を示したが、1個の毒素/抗体分子でも裸の抗体の使用より細胞傷害を増強すると予想される。マイタンシノイドは当技術分野において周知であり、公知の技法によって合成することができるか、または天然供給源から単離することができる。適切なマイタンシノイドは、例えば、米国特許第5,208,020号ならびに前記で言及された他の特許および非特許刊行物に開示されている。好ましいマイタンシノイドは、マイタンシノール、および芳香環またはマイタンシノール分子の他の位置において修飾されたマイタンシノール類似体、例えば、様々なマイタンシノールエステルである。

【０５７０】
例えば、米国特許第5,208,020号、同第6,441,163号、またはEP特許0425235、Chari et

al., Cancer Research 52:127-131 (1992)に開示される連結基を含む、抗体-マイタンシノイドコンジュゲートを作製するための当技術分野において公知の多くの連結基がある。リンカー成分SMCCを含む抗体-マイタンシノイドコンジュゲートが調製されてもよい。連結基には、前記で特定された特許に開示されるジスルフィド基、チオエーテル基、酸不安定基、感光基、ペプチダーゼ不安定基、またはエステラーゼ不安定基が含まれ、ジスルフィド基およびチオエーテル基が好ましい。さらなる連結基が本明細書において説明および例示される。

【０５７１】

抗体およびマイタンシノイドのコンジュゲートは、様々な二官能性タンパク質カップリング剤、例えば、N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)プロピオネート(SPDP)、スクシンイミジル-4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシレート(SMCC)、イミノチオラン(IT)、イミドエステルの二官能性誘導体(例えば、アジプイミド酸ジメチルHCl)、活性エステル(例えば、スベリン酸ジスクシンイミジル)、アルデヒド(例えば、グルタルアルデヒド)、bis-アジド化合物(例えば、bis(p-アジドベンゾイル)ヘキサンジアミン)、bis-ジアゾニウム誘導体(例えば、bis-(p-ジアゾニウンベンゾイル)-エチレンジアミン)、ジイソシアネート(例えば、トルエン2,6-ジイソシアネート)、およびbis-活性フッ素化合物(例えば、1,5-ジフルオロ-2,4-ジニトロベンゼン)を用いて作製され得る。特に好ましいカップリング剤には、ジスルフィド結合を起こすN-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)プロピオネート(SPDP)(Carlsson et al., Biochem. J. 173:723-737 (1978))およびN-スクシンイミジル-4-(2-ピリジルチオ)ペンタノエート(SPP)が含まれる。

【０５７２】

リンカーは、連結のタイプに応じてマイタンシノイド分子の様々な位置に取り付けられてもよい。例えば、エステル結合は、従来のカップリング法を用いてヒドロキシル基と反応することで形成されてもよい。反応は、ヒドロキシル基を有するC-3位置、ヒドロキシメチルで修飾されたC-14位置、ヒドロキシル基で修飾されたC-15位置、およびヒドロキシル基を有するC-20位置で行われてもよい。好ましい態様では、連結は、マイタンシノールまたはマイタンシノール類似体のC-3位置で形成される。

【０５７３】

b.アウリスタチンおよびドラスタチン

一部の態様において、イムノコンジュゲートは、ドラスタチンまたはドロスタチンのペプチド類似体および誘導体であるアウリスタチン(米国特許第5,635,483号;同第5,780,588号)とコンジュゲートした本明細書において開示された抗体を含む。ドラスタチンおよびアウリスタチンは、微小管の動態、GTP加水分解、ならびに核分裂および細胞分裂を妨害し(Woyke et al (2001) Antimicrob. Agents and Chemother. 45(12):3580-3584)、抗癌活性(米国特許第5,663,149号)および抗真菌活性(Pettit et al (1998) Antimicrob. Agents Chemother.42:2961-2965)を有することが示されている。ドラスタチンまたはアウリスタチン薬物部分は、ペプチド薬物部分のN(アミノ)末端またはC(カルボキシル)末端を介して抗体に取り付けられてもよい(WO02/088172)。

【０５７４】

例示的なアウリスタチン態様には、N末端結合モノメチルアウリスタチン薬物部分DEおよびDFが含まれる(例えば、米国特許第7,498,298号を参照されたい)。

【０５７５】

典型的には、ペプチドをベースとする薬物部分は、2個もしくはそれ以上のアミノ酸および/またはペプチド断片の間でペプチド結合を形成することによって調製することができる。このようなペプチド結合は、例えば、ペプチド化学分野において周知の液相合成法(E. Schroder and K. Lubke, 「The Peptides」, volume 1, pp 76-136, 1965, Academic Pressを参照されたい)に従って調製することができる。アウリスタチン/ドラスタチン薬物部分は、米国特許第5,635,483号;米国特許第5,780,588号; Pettit et al (1989) J. Am. Chem. Soc. 111:5463-5465; Pettit et al. (1998) Anti-Cancer Drug Design 13:243-277; Pettit, G. R., et al. Synthesis, 1996, 719-725; および Pettit et al. (1996)

J. Chem. Soc. Perkin Trans. 15:859-863の方法に従って調製されてもよい。Doronina (2003) Nat Biotechnol 21(7):778-784;米国特許第7,498,289号(リンカーとコンジュゲートしたモノメチルバリン化合物、例えば、MMAEおよびMMAFを調製するリンカーおよび方法を開示する)も参照されたい。

【０５７６】

c.カリチアマイシン

他の態様において、イムノコンジュゲートは、1個または複数個のカリチアマイシン分子とコンジュゲートした本明細書において開示された抗体を含む。カリチアマイシン系抗生物質は、pM以下の濃度で二本鎖DNAを切断することができる。カリチアマイシン系のコンジュゲートの調製については、米国特許第5,712,374号、同第5,714,586号、同第5,739,116号、同第5,767,285号、同第5,770,701号、同第5,770,710号、同第5,773,001号、同第5,877,296号を参照されたい。使用され得るカリチアマイシン構造類似体には、γ_1^I、α_2^I、α_3^I、N-アセチル-γ_1^I、PSAG、およびθ^I_1が含まれるが、これに限定されない(例えば、Hinman et al., Cancer Research 53:3336-3342 (1993)、Lode et al., Cancer Research 58:2925-2928 (1998)、および前記の米国特許を参照されたい)。抗体をコンジュゲートすることができる別の抗腫瘍薬物は、葉酸代謝拮抗剤であるQFAである。カリチアマイシンおよびQFAはいずれも細胞内作用部位を有し、原形質膜を容易に通過しない。従って、抗体を介した内部移行によって、これらの薬剤が細胞に取り込まれると細胞傷害作用が大幅に高まる。

【０５７７】

d.他の細胞傷害剤

本明細書において開示された抗体とコンジュゲートすることができる他の抗癌剤には、BCNU、ストレプトゾイシン(streptozoicin)、ビンクリスチンおよび5-フルオロウラシル、米国特許第5,053,394号、同第5,770,710号に記載の、まとめてLL-E33288複合体と知られる薬剤のファミリー、ならびにエスペラミシン(米国特許第5,877,296号)が含まれる。

【０５７８】

使用することができる酵素活性のある毒素およびその断片には、ジフテリアA鎖、ジフテリア毒素の非結合活性断片、エキソトキシンA鎖(緑膿菌に由来する)、リシンA鎖、アブリンA鎖、モデシンA鎖、α-サルシン、シナアブラギリタンパク質、ジアンチンタンパク質、アメリカヤマゴボウタンパク質(PAPI、PAPII、およびPAP-S)、ニガウリ阻害剤、クルシン、クロチン、サボンソウ阻害剤、ゲロニン、ミトゲリン、レストリクトシン、フェノマイシン、エノマイシン、ならびにトリコテセンが含まれる。例えば、1993年10月28日に公開されたWO93/21232を参照されたい。

【０５７９】

さらに、本開示は、抗体と、核酸分解活性のある化合物(例えば、リボヌクレアーゼまたはDNAエンドヌクレアーゼ、例えば、デオキシリボヌクレアーゼ;DNアーゼ)との間に形成されたイムノコンジュゲートを意図する。

【０５８０】

腫瘍を選択的に破壊するために、抗体は高放射性原子を含んでもよい。放射性コンジュゲート抗体を作製するために様々な放射性同位体を利用することができる。例には、At^{211}、I^{131}、I^{125}、Y^{90}、Re^{186}、Re^{188}、Sm^{153}、Bi^{212}、P^{32}、Pb^{212}、およびLuの放射性同位体が含まれる。コンジュゲートが検出のために用いられる場合、シンチグラフィー研究用の放射性原子、例えば、tc^{99m}もしくはI^{123}、または核磁気共鳴(NMR)イメージング(核磁気共鳴イメージング、mriとも知られる)用のスピン標識、例えば、再度、ヨウ素-123、ヨウ素-131、インジウム-111、フッ素-19、炭素-13、窒素-15、酸素-17、ガドリニウム、マンガン、または鉄を含んでもよい。

【０５８１】

放射性標識または他の標識を公知のやり方でコンジュゲートに組み込むことができる。例えば、水素の代わりに、例えば、フッ素-19を含む適切なアミノ酸前駆体を用いて、ペプチドを生合成してもよく、アミノ酸化学合成によって合成してもよい。ペプチド内のシ

ステイン残基を介して、tc^{99m}またはI^{123}、Re^{186}、Re^{188}、およびIn^{111}などの標識を取り付けることができる。リジン残基を介してイットリウム-90を取り付けることができる。IODOGEN法(Fraker et al (1978) Biochem. Biophys. Res. Commun. 80: 49-57)を用いてヨウ素-123を組み込むことができる。「Monoclonal Antibodies in Immunoscintigraphy」(Chatal,CRC Press 1989)は他の方法について説明している。

【０５８２】

抗体および細胞傷害薬剤のコンジュゲートは、様々な二官能性タンパク質カップリング剤、例えば、N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)プロピオネート(SPDP)、スクシンイミジル-4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシレート(SMCC)、イミノチオラン(IT)、イミドエステルの二官能性誘導体(例えば、アジプイミド酸ジメチルHCl)、活性エステル(例えば、スベリン酸ジスクシンイミジル)、アルデヒド(例えば、グルタルアルデヒド)、bis-アジド化合物(例えば、bis(p-アジドベンゾイル)ヘキサンジアミン)、bis-ジアゾニウム誘導体(例えば、bis-(p-ジアゾニウムベンゾイル)-エチレンジアミン)、ジイソシアネート(例えば、トルエン2,6-ジイソシアネート)、およびbis-活性フッ素化合物(例えば、1,5-ジフルオロ-2,4-ジニトロベンゼン)を用いて作製されてもよい。例えば、リシン免疫毒素は、Vitetta et al., Science 238:1098 (1987)に記載のように調製することができる。炭素-14標識1-イソチオシアナトベンジル-3-メチルジエチレントリアミン五酢酸(MX-DTPA)は、放射性ヌクレオチドを抗体にコンジュゲートするための例示的なキレート剤である。WO94/11026を参照されたい。リンカーは、細胞に細胞傷害薬物を放出するのを容易にする「切断可能なリンカー」でもよい。例えば、酸不安定リンカー、ペプチダーゼ感受性リンカー、感光性リンカー、ジメチルリンカーまたはジスルフィド含有リンカー(Chari et al., Cancer Research 52:127-131 (1992); 米国特許第5,208,020号)が用いられてもよい。

【０５８３】

本明細書において開示された化合物は、市販されている(例えば、Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, III., U.S.Aから市販されている)架橋試薬: BMPS、EMCS、GMBS、HBVS、LC-SMCC、MBS、MPBH、SBAP、SIA、SIAB、SMCC、SMPB、SMPH、スルホ-EMCS、スルホ-GMBS、スルホ-KMUS、スルホ-MBS、スルホ-SIAB、スルホ-SMCC、およびスルホ-SMPB、およびSVSB(スクシンイミジル-(4-ビニルスルホン)ベンゾエート)を用いて調製されたADCをはっきりと意図するが、これに限定されない。2003-2004 Applications Handbook and Catalog, 467-498頁を参照されたい。

【０５８４】

e.抗体薬物コンジュゲートの調製物

本明細書において開示された抗体薬物コンジュゲート(ADC)において、抗体(Ab)は、リンカー(L)を介して、1つまたは複数の薬物部分(D)、例えば、抗体1つ当たり約1～約20個の薬物とコンジュゲートされる。式$I[Ab-(L-D)_p]$のADCは、(1)共有結合を介してAb-Lを形成する、抗体の求核基と二価リンカー試薬との反応と、それに続く薬物部分Dとの反応; ならびに(2)共有結合を介してD-Lを形成する、薬物部分の求核基と二価リンカー試薬との反応と、それに続く抗体の求核基との反応を含む、当業者に公知の有機化学反応、条件、および試薬を用いて、いくつかの経路によって調製されてもよい。ADCを調製するためのさらなる方法が本明細書に記載されている。

【０５８５】

リンカーは1つまたは複数のリンカー成分で構成されてもよい。例示的なリンカー成分には、6-マレイミドカプロイル(「MC」)、マレイミドプロパノイル(「MP」)、バリン-シトルリン(「val-cit」)、アラニン-フェニルアラニン(「ala-phe」)、p-アミノベンジルオキシカルボニル(「PAB」)、N-スクシンイミジル4-(2-ピリジルチオ)ペンタノエート(「SPP」)、N-スクシンイミジル4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1カルボキシレート(「SMCC」)、およびN-スクシンイミジル(4-ヨード-アセチル)アミノベンゾエート(「SIAB」)が含まれる。さらなるリンカー成分は当技術分野において公知であり、一部は本明細書において開示される(例えば、米国特許第7,498,298号を参照されたい)。

【０５８６】
一部の態様において、リンカーはアミノ酸残基を含んでもよい。例示的なアミノ酸リンカー成分には、ジペプチド、トリペプチド、テトラペプチド、またはペンタペプチドが含まれる。例示的なジペプチドには、バリン-シトルリン(vcまたはval-cit)、アラニン-フェニルアラニン(afまたはala-phe)が含まれる。例示的なトリペプチドには、グリシン-バリン-シトルリン(gly-val-cit)およびグリシン-グリシン-グリシン(gly-gly-gly)が含まれる。アミノ酸リンカー成分を構成するアミノ酸残基には、天然アミノ酸、ならびに微量アミノ酸および非天然アミノ酸類似体、例えば、シトルリンが含まれる。アミノ酸リンカー成分は、ある特定の酵素、例えば、腫瘍関連プロテアーゼ、カテプシンB、CおよびD、またはプラスミンプロテアーゼにより酵素切断されるように設計することができ、酵素切断の選択性の点で最適化することができる。

【０５８７】
抗体上にある求核基には、(i)N末端アミン基、(ii)側鎖アミン基、例えば、リジン、(iii)側鎖チオール基、例えば、システイン、および(iv)抗体がグリコシル化される場所である、糖ヒドロキシルまたはアミノ基が含まれるが、これに限定されない。アミン基、チオール基、およびヒドロキシル基は求核性であり、(i)活性エステル、例えば、NHSエステル、HOBtエステル、ハロホルメート、および酸ハロゲン化物;(ii)ハロゲン化アルキルおよびハロゲン化ベンジル、例えば、ハロアセトアミド;(iii)アルデヒド、ケトン、カルボキシル、およびマレイミド基を含む、リンカー部分およびリンカー試薬上にある求電子基と共有結合するように反応することができる。ある特定の抗体は、還元可能な鎖間ジスルフィド、例えば、システイン架橋を有する。抗体は、還元剤、例えば、DTT(ジチオスレイトール)で処理することによってリンカー試薬とのコンジュゲートに関して反応性にされてもよい。従って、それぞれのシステイン架橋は、理論上、2個の反応性チオール求核剤を形成する。リジンを2-イミノチオラン(トラウト(Traut)試薬)と反応させることによって、さらなる求核基を抗体に導入して、アミンをチオールに変換することができる。1個、2個、3個、4個、またはそれより多いシステイン残基を導入する(例えば、1個または複数個の非天然システインアミノ酸残基を含む変異抗体を調製する)ことによって、反応性チオール基が抗体(またはその断片)に導入されてもよい。

【０５８８】
本明細書において開示された抗体薬物コンジュゲートはまた、リンカー試薬または薬物にある求核性置換基と反応することができる求電子性部分を導入するように抗体を改変することによって作製されてもよい。グリコシル化抗体の糖は、リンカー試薬または薬物部分のアミン基と反応し得るアルデヒド基またはケトン基を形成するように、例えば、過ヨウ素酸酸化試薬によって酸化されてもよい。結果として生じたイミンシッフ塩基基は安定な連結を形成してもよく、安定なアミン連結を形成するように、例えば、ホウ化水素試薬によって還元されてもよい。一態様において、グリコシル化抗体の糖質部分とガラクトースオキシダーゼまたはメタ過ヨウ素酸ナトリウムが反応すると、タンパク質に、薬物にある適切な基と反応することができるカルボニル(アルデヒドおよびケトン)基が生じ得る(Hermanson, Bioconjugate Techniques)。別の態様において、N末端のセリン残基またはトレオニン残基を含有するタンパク質はメタ過ヨウ素酸ナトリウムと反応して、最初のアミノ酸の代わりにアルデヒドを生成することができる(Geoghegan & Stroh, (1992) Bioconjugate Chem. 3:138-146; 米国特許第5,362,852号)。このようなアルデヒドは薬物部分またはリンカー求核剤と反応することができる。

【０５８９】
同様に、薬物部分の求核基には、(i)活性エステル、例えば、NHSエステル、HOBtエステル、ハロホルメート、および酸ハロゲン化物;(ii)ハロゲン化アルキルおよびハロゲン化ベンジル、例えば、ハロアセトアミド;(iii)アルデヒド、ケトン、カルボキシル、およびマレイミド基を含む、リンカー部分およびリンカー試薬にある求電子基と共有結合を形成するように反応することができる、アミン、チオール、ヒドロキシル、ヒドラジド、オキシム、ヒドラジン、チオセミカルバゾン、ヒドラジンカルボキシレート、およびアリール

ヒドラジド基が含まれるが、これに限定されない。

【０５９０】

または、抗体および細胞傷害剤を含む融合タンパク質は、例えば、組換え法またはペプチド合成によって作製されてもよい。DNAの長さは、互いに隣接するか、またはコンジュゲートの望ましい特性を破壊しないリンカーペプチドをコードする領域によって分離された、コンジュゲートの2つの部分をコードする、それぞれの領域を含んでもよい。

【０５９１】

さらに別の態様において、抗体は、抗体-受容体コンジュゲートが患者に投与された後に、清澄剤(clearing agent)を用いて、結合しなかったコンジュゲートが循環から取り除かれ、次いで、細胞傷害剤(例えば、放射性ヌクレオチド)とコンジュゲートしている「リガンド」(例えば、アビジン)が投与される、腫瘍プレターゲディング(tumor pre-targeting)において利用するために「受容体」(例えば、ストレプトアビジン)とコンジュゲートされてもよい。

【０５９２】

操作されたハイブリドーマ

ハイブリドーマ細胞は、望ましい抗体を産生するB細胞を、不死化細胞株、通常、ミエローマ細胞株と融合させることによって生成することができ、その結果、結果として生じた融合細胞は、ある特定の抗体を分泌する不死化細胞になるようになる。同じ原理によって、ミエローマ細胞を、最初に、生殖系列抗体V領域をコードする核酸でトランスフェクトし、生殖系列V領域の発現についてスクリーニングすることができる。その後に、最も高いレベルのタンパク質分解性軽鎖発現を有するミエローマ細胞を、望ましい標的タンパク質特異性を持つ抗体を産生するB細胞と融合することができる。この融合細胞は2つのタイプの抗体を産生する。一方のタイプは、組換え生殖系列V領域(重鎖または軽鎖のいずれか)に機能的につながった内因性抗体鎖(重鎖または軽鎖のいずれか)を含有する異種抗体であり、他方は、親B細胞が分泌するものと同じ抗体(例えば、内因性重鎖および内因性軽鎖の両方)である。機能的につながった異種重鎖および異種軽鎖は、従来の方法、例えば、クロマトグラフィーによって単離することができ、標的タンパク質結合アッセイ、生殖系列ポリペプチドの独特のタグを同定するアッセイ、または本開示の他のセクションに記載のエンドペプチダーゼ活性アッセイによって識別情報を確認することができる。2つのタイプの抗体の中で異種抗体が量の点で多数を占めるタイプであるいくつかの場合では、このような単離は必要とされないことがある。ウシハイブリドーマを含むハイブリドーマは、極めて長いCDR3配列を含むウシ抗体遺伝子配列の供給源になり得る。

【０５９３】

トランスジェニック哺乳動物

本開示の生殖系列抗体ポリペプチドをコードする核酸配列を非ヒト哺乳動物に導入して、生殖系列抗体ポリペプチドを発現するトランスジェニック動物を作製することができる。一般的に見られるトランスジェニック動物モデルと異なり、本開示のトランスジェニック哺乳動物が発現するトランスジーンは、体細胞組換え後に、抗体鎖可変領域を担う内因性コード配列の少なくとも1つの対立遺伝子に取って代わる必要はない。対立遺伝子排除により、外因性の体細胞再編成後バージョンの生殖系列V領域DNAが存在すると、体細胞再編成前Vミニ遺伝子の内因性対立遺伝子が体細胞再編成を受けて、この哺乳動物が産生し得る抗体鎖の構成に寄与することが抑えられる。従って、ある特定の抗原に曝露されると、哺乳動物は、内因的に再編成された1種類の抗体鎖と、アプリオリに再編成された1種類のトランスジェニック遺伝子を含む異種抗体を生じる。このような異種抗体は、生きている対象において、ある特定の状態を研究および処置する上で非常に貴重である。他方で、トランスジーンを内因性対立遺伝子の遺伝子座に組み込む方法も、本開示を実施するという目的に十分にかなう。

【０５９４】

トランスジェニック動物を作製する一般的方法は十分に確立されており、頻繁に実施されている。トランスジェニック動物を作製するための総説およびプロトコルにならびに遺

伝子操作のための関連方法については、例えば、Mansour et al., Nature 336:348-352 (1988); Capecchi et al., Trends Genet. 5:70-76 (1989); Capecchi, Science 244:1288-1292 (1989); Capecchi et al., Current Communications in Molecular Biology, pp45-52, Capecchi, M.R. (ed.), Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989); Frohman et al., Cell 56: 145-147 (1989); Brinster et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:4438-4442 (1985); Evans et. al., Nature 292:154-156 (1981); Bradley et al., Nature 309:255-258 (1984); Gossler et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83:9065-9069 (1986); Robertson et al., Nature 322:445-448 (1986); Jaenisch Science 240:1468-1474 (1988);およびSiedel, G. E., Jr., 「Critical review of embryo transfer procedures with cattle」 in Fertilization and Embryonic Development in Vitro, 323頁, L. Mastroianni, Jr. and J. D. Biggers, ed., Plenum Press, New York, N.Y. (1981)を参照されたい。

【０５９５】

本開示の例示的なトランスジェニック動物はマウスであるが、同じ一般的方法を用いて他の多数のトランスジェニック動物も作製することができる。これらの動物には、ウサギ、ヒツジ、ウシ、およびブタが含まれるが、これに限定されない(Jaenisch Science 240:1468-1474 (1988); Hammer et al., J. Animal. Sci. 63:269 (1986); Hammer et al. Nature 315:680 (1985); Wagner et al., Theriogenology 21:29 (1984))。

【０５９６】

薬学的組成物

本明細書において開示された極めて長いCDR3を含むヒト化抗体、抗体断片、核酸、またはベクターは、組成物、特に、薬学的組成物に処方することができる。極めて長いCDR3を含むヒト化抗体を含む、このような組成物は、適切な担体、例えば、薬学的に許容される薬剤と混合して、治療的または予防的に有効な量の、本明細書において開示された極めて長いCDR3を含むヒト化抗体、抗体断片、核酸、またはベクターを含む。典型的に、本明細書において開示された極めて長いCDR3を含むヒト化抗体、抗体断片、核酸、またはベクターは、薬学的組成物に処方される前に、投与のために十分に精製される。

【０５９７】

本発明の薬学的組成物において使用するための薬学的に許容される薬剤には、担体、賦形剤、希釈剤、抗酸化物質、防腐剤、着色剤、芳香剤および希釈剤、乳化剤、懸濁剤、溶媒、充填剤、増量剤、緩衝液、送達ビヒクル、張性薬剤、共溶媒、湿潤剤、錯化剤、緩衝剤、抗菌剤、ならびに界面活性剤が含まれる。

【０５９８】

中性緩衝食塩水、または血清アルブミンと混合された食塩水が例示的な適切な担体である。薬学的組成物は、抗酸化物質、例えば、アスコルビン酸;低分子量ポリペプチド;タンパク質、例えば、血清アルブミン、ゼラチン、もしくは免疫グロブリン;親水性ポリマー、例えば、ポリビニルピロリドン;アミノ酸、例えば、グリシン、グルタミン、アスパラギン、アルギニン、もしくはリジン;単糖、二糖、およびグルコース、マンノース、もしくはデキストリンを含む他の糖質;キレート剤、例えば、EDTA;糖アルコール、例えば、マンニトールもしくはソルビトール;塩形成対イオン、例えば、ナトリウム;ならびに/または非イオン性界面活性剤、例えば、Tween、プルロニック(pluronic)、もしくはポリエチレングリコール(PEG)を含んでもよい。例として、適切な張性増強剤には、ハロゲン化アルカリ金属(好ましくは、塩化ナトリウムまたは塩化カリウム)、マンニトール、ソルビトールなども含まれる。適切な防腐剤には、塩化ベンザルコニウム、チメロサール、フェネチルアルコール、メチルパラベン、プロピルパラベン、クロルヘキシジン、ソルビン酸などが含まれる。過酸化水素も防腐剤として用いられる場合がある。適切な共溶媒には、グリセリン、プロピレングリコール、およびPEGが含まれる。適切な錯化剤には、カフェイン、ポリビニルピロリドン、β-シクロデキストリン、またはヒドロキシ-プロピル-β-シクロデキストリンが含まれる。適切な界面活性剤または湿潤剤には、ソルビタンエステル、ポリソルベート、例えば、ポリソルベート80、トロメタミン、レシチン、コレステロー

ル、チロキサパール(tyloxapal)などが含まれる。緩衝液は、酢酸緩衝液、ホウ酸緩衝液、クエン酸緩衝液、リン酸緩衝液、重炭酸緩衝液、またはTris-HClなどの従来の緩衝液でもよい。酢酸緩衝液は約pH4～5.5でもよく、Tris緩衝液は約pH7～8.5でもよい。さらなる薬学的薬剤は、Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, A. R. Gennaro, ed., Mack Publishing Company, 1990に示されている。

【０５９９】

前記組成物は液体の形をとってもよく、凍結乾燥またはフリーズドライされた形をとってもよく、1種類または複数種のリオプロテクタント(lyoprotectant)、賦形剤、界面活性剤、高分子量構造添加物、および/または増量剤を含んでもよい(例えば、米国特許第6,685,940号、同第6,566,329号、および同第6,372,716号を参照されたい)。一態様において、スクロース、ラクトース、またはトレハロースなどの非還元糖であるリオプロテクタントが含まれる。一般的に含まれるリオプロテクタントの量は、再構成されたときに、結果として生じた製剤が等張になるような量であるが、浸透圧が高いか、またはわずかに浸透圧が高い製剤も適している場合がある。さらに、リオプロテクタントの量は、凍結乾燥されたときに、容認できない量のタンパク質分解および/またはタンパク質凝集を阻止するのに十分な量でなければならない。予め凍結乾燥した製剤中にある糖(例えば、スクロース、ラクトース、トレハロース)の例示的なリオプロテクタント濃度は約10mM～約400mMである。別の態様において、例えば、非イオン性界面活性剤およびイオン性界面活性剤、例えば、ポリソルベート(例えば、ポリソルベート20、ポリソルベート80);ポロキサマー(例えば、ポロキサマー188);ポリ(エチレングリコール)フェニルエーテル(例えば、Triton);ドデシル硫酸ナトリウム(SDS);ラウレル硫酸ナトリウム(sodium laurel sulfate);ナトリウムオクチルグルコシド;ラウリル-、ミリスチル-、リノレイル-、またはステアリル-スルホベタイン;ラウリル-、ミリスチル-、リノレイル-、またはステアリル-サルコシン;リノレイル、ミリスチル-、またはセチル-ベタイン;ラウロアミドプロピル-、コカミドプロピル-、リノールアミドプロピル-、ミリストアミドプロピル-、パルミドプロピル-、またはイソステアラミドプロピル-ベタイン(例えば、ラウロアミドプロピル);ミリストアミドプロピル-、パルミドプロピル-、またはイソステアラミドプロピル-ジメチルアミン;ココイルメチルタウリンナトリウムまたはメチルオフエイルタウリン二ナトリウム(disodium methyl ofeyl-taurate);およびMONAQUAT(商標)シリーズ(Mona Industries、Inc., Paterson, N.J.)、ポリエチルグリコール、ポリプロピルグリコール、ならびにエチレングリコールおよびプロピレングリコールのコポリマー(例えば、Pluronics、PF68など)などの界面活性剤が含まれる。予め凍結乾燥した製剤に存在する可能性のある界面活性剤の例示的な量は約0.001～0.5%である。高分子量構造添加物(例えば、充填剤、結合剤)には、例えば、アラビアゴム、アルブミン、アルギン酸、リン酸カルシウム(二塩基性)、セルロース、カルボキシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、結晶セルロース、デキストラン、デキストリン、デキストレート(dextrate)、スクロース、チロース、アルファ化デンプン、硫酸カルシウム、アミロース、グリシン、ベントナイト、マルトース、ソルビトール、エチルセルロース、リン酸水素二ナトリウム、リン酸二ナトリウム、ピロ亜硫酸二ナトリウム、ポリビニルアルコール、ゼラチン、グルコース、グアーガム、液体グルコース、圧縮可能な糖(compressible sugar)、ケイ酸アルミニウムマグネシウム、マルトデキストリン、ポリエチレンオキシド、ポリメタクリレート、ポビドン、アルギン酸ナトリウム、トラガカント結晶セルロース、デンプン、およびゼインが含まれ得る。高分子量構造添加物の例示的な濃度は0.1%～10重量%である。他の態様では、増量剤(例えば、マンニトール、グリシン)が含まれてもよい。

【０６００】

組成物は非経口投与に適していてもよい。例示的な組成物は、当業者に利用可能な任意の経路、例えば、関節内経路、皮下経路、静脈内経路、筋肉内経路、腹腔内経路、脳内経路(実質内経路)、脳室内経路、筋肉内経路、眼内経路、動脈内経路、または病巣内経路による動物への注射または注入に適している。非経口製剤は、典型的には、任意で、薬学的

に許容される防腐剤を含有する、無菌の、発熱物質を含まない、等張性の水溶液である。

【０６０１】

非水性溶媒の例は、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、植物油、例えば、オリーブ油、および注射用有機エステル、例えば、オレイン酸エチルである。水性担体には、食塩水および緩衝培地を含む、水、アルコール溶液/水溶液、エマルジョン、または懸濁液が含まれる。非経口ビヒクルには、塩化ナトリウム溶液、リンゲルデキストロース、デキストロース、および塩化ナトリウム、乳酸加リンゲル、または不揮発性油が含まれる。静脈内ビヒクルには、流体および栄養補給液、電解質補給液、例えば、リンゲルデキストロースをベースとする電解質補給液などが含まれる。防腐剤および他の添加物、例えば、抗菌剤、酸化防止剤、キレート剤、希ガスなども存在してもよい。一般的には、Remington's Pharmaceutical Science, 16th Ed., Mack Eds., 1980を参照されたい。

【０６０２】

本明細書に記載の薬学的組成物は、局所濃度の生成物(例えば、ボーラス、デポー効果)および/またはある特定の局所環境において高い安定性もしくは半減期を提供するように制御送達用または持続送達用に処方されてもよい。前記組成物は、本明細書において開示された極めて長いCDR3を含むヒト化抗体、抗体断片、核酸、またはベクターと、ポリマー化合物、例えば、ポリ乳酸、ポリグリコール酸などの粒子調製物、ならびに薬剤、例えば、生分解性マトリックス、注射用マイクロスフェア、マイクロカプシュラー(microcapsular)粒子、マイクロカプセル、生体腐食性(bioerodible)粒子ビーズ、リポソーム、および活性薬剤の制御放出または持続放出をもたらし、次いで、デポー注射剤として送達することができる移植可能な送達装置との製剤を含んでもよい。このような持続送達手段または制御送達手段を処方するための技法は公知であり、薬物の制御放出および制御送達のために様々なポリマーが開発および使用されている。このようなポリマーは典型的には生分解性および生体適合性である。薬物デポー効果を提供するためには、エナンチオマーポリマーまたはポリペプチドセグメントと、温度感受性またはpH感受性を持つヒドロゲルとの複合体形成によって形成されるポリマーヒドロゲルを含むポリマーヒドロゲルが、生理活性タンパク質薬剤(例えば、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体)の閉じ込めに関与する穏やかな、かつ水性の条件のために望ましい場合がある。例えば、WO93/15722にある薬学的組成物を送達するための制御放出多孔性ポリマー微粒子の説明を参照されたい。

【０６０３】

この目的に適した材料には、ポリ乳酸(例えば、米国特許第3,773,919号を参照されたい)、ポリ-(a-ヒドロキシカルボン酸)のポリマー、例えば、ポリ-D-(-)-3-ヒドロキシ酪酸(EP133,988A)、L-グルタミン酸およびγエチル-L-グルタミン酸のコポリマー(Sidman et al., Biopolymers, 22: 547-556 (1983))、ポリ(2-ヒドロキシエチル-メタクリレート)(Langer et al., J. Biomed. Mater. Res., 15: 167-277 (1981)、およびLanger, Chem. Tech., 12: 98-105 (1982))、エチレン酢酸ビニル、またはポリ-D(-)-3-ヒドロキシ酪酸が含まれる。他の生分解性ポリマーには、ポリ(ラクトン)、ポリ(アセタール)、ポリ(オルトエステル)、およびポリ(オルトカーボネート)が含まれる。持続放出組成物はまた、当技術分野において公知のいくつかの方法のいずれでも調製することができるリポソームを含んでもよい(例えば、Eppstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82: 3688-92 (1985)を参照されたい)。担体そのもの、またはその分解産物は標的組織において無毒でなければならず、状態をさらに悪化させてはならない。これは、標的障害の動物モデルにおける慣用的なスクリーニングによって、またはこのようなモデルが入手できなければ正常動物において判定することができる。

【０６０４】

持続放出のための組換えタンパク質のマイクロカプセル化は、ヒト成長ホルモン(rhGH)、インターフェロン-(rhIFN-)、インターロイキン-2、およびMN rgp120を用いて首尾良く行われている。Johnson et al., Nat. Med., 2:795-799 (1996); Yasuda, Biomed. Ther., 27:1221-1223 (1993); Hora et al., Bio/Technology. 8:755-758 (1990); Cleland,「Design and Production of Single Immunization Vaccines Using Polylactide Polygl

ycolide Microsphere Systems」, in Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach, Powell and Newman, eds, (Plenum Press: New York, 1995), pp. 439-462; WO97/03692、WO96/40072、WO96/07399;および米国特許第5,654,010号。これらのタンパク質の持続放出製剤は、生体適合性と広範囲の生分解性があるためにポリ-乳酸-coグリコール酸(PLGA)ポリマーを用いて開発された。PLGA、乳酸、およびグリコール酸の分解産物はヒト体内で素早く除去することができる。さらに、このポリマーの分解性はその分子量と組成に応じたものになる場合がある。Lewis, 「Controlled release of bioactive agents from lactide/glycolide polymer」, in: M. Chasin and R. Langer (Eds.), Biodegradable Polymers as Drug Delivery Systems (Marcel Dekker: New York, 1990), pp. 1-41。持続放出組成物のさらなる例には、例えば、EP 58,481A、米国特許第3,887,699号、EP 158,277A、カナダ特許第1176565号、U. Sidman et al., Biopolymers 22, 547 [1983] 、R. Langer et al., Chem. Tech. 12, 98 [1982]、Sinha et al., J. Control. Release 90, 261 [2003] 、Zhu et al., Nat. Biotechnol. 18, 24 [2000] 、およびDai et al., Colloids Surf B Biointerfaces 41, 117 [2005]が含まれる。

【０６０５】

生体接着性ポリマーも、本開示の組成物において、または本開示の組成物と共に用いられることが意図される。生体接着剤は、生物学的基質に長期間、接着することができる合成材料および天然材料である。例えば、カルボポール(Carbopol)およびポリカルボフィルはいずれもポリ(アクリル酸)の合成架橋誘導体である。天然物質に基づく生体接着性送達系には、例えば、ヒアルロナンとも知られるヒアルロン酸が含まれる。ヒアルロン酸は、D-グルクロン酸およびN-アセチル-D-グルコサミンの残基からなる天然ムコ多糖である。ヒアルロン酸は、結合組織ならびに滑液ならびに眼の硝子体液および房水を含む脊椎動物の細胞外組織マトリックスの中で見出される。生体適合性および生分解性の送達において使用するためのマイクロスフェアを作製するためにヒアルロン酸のエステル化誘導体が用いられている(例えば、Cortivo et al., Biomaterials (1991) 12:727-730; EP 517,565; WO 96/29998; Illum et al., J. Controlled Rel. (1994) 29:133-141を参照されたい)。本開示の例示的なヒアルロン酸含有組成物は、約0.1％～約40％(w/w)の極めて長いCDR3を含むヒト化抗体:ヒアルロン酸ポリマーの量でヒアルロン酸エステルポリマーを含む。

【０６０６】

本開示の組成物を送達するために生分解性および非生分解性のポリマーマトリックスが用いられてもよい。このようなポリマーマトリックスは天然ポリマーまたは合成ポリマーを含んでもよい。生分解性マトリックスが好ましい。放出が起こる期間はポリマー選択に基づく。典型的には、数時間から3～12ヶ月の期間にわたる放出が最も望ましい。生分解性送達系を形成するのに用いられ得る例示的な合成ポリマーには、乳酸およびグリコール酸のポリマー、ポリアミド、ポリカーボネート、ポリアルキレン、ポリアルキレングリコール、ポリアルキレンオキシド、ポリアルキレンテレフタレート、ポリビニルアルコール、ポリビニルエーテル、ポリビニルエステル、ポリ-ビニルハライド、ポリビニルピロリドン、ポリグリコリド、ポリシロキサン、ポリ酸無水物、ポリウレタンおよびそのコポリマー、ポリ(酪酸(butic acid))、ポリ(吉草酸)、アルキルセルロース、ヒドロキシアルキルセルロース、セルロースエーテル、セルロースエステル、ニトロセルロース、アクリル酸エステルおよびメタクリル酸エステルのポリマー、メチルセルロース、エチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシブチルメチルセルロース、酢酸セルロース、プロピオン酸セルロース、酢酸酪酸セルロース、酢酸フタル酸セルロース、カルボキシエチルセルロース、三酢酸セルロース、硫酸セルロースナトリウム塩、ポリ(メチルメタクリレート)、ポリ(エチルメタクリレート)、ポリ(ブチルメタクリレート)、ポリ(イソブチルメタクリレート)、ポリ(ヘキシルメタクリレート)、ポリ(イソデシルメタクリレート)、ポリ(ラウリルメタクリレート)、ポリ(フェニルメタクリレート)、ポリ(メチルアクリレート)、ポリ(イソプロピルアクリレート)、ポリ(イソブチルアクリレート)、ポリ(オクタデシルアクリレート)、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリ(エチレングリコール)、ポリ(エチレンオキシド)、ポリ(エチレンテレ

フタレート)、ポリ(ビニルアルコール)、ポリ酢酸ビニル、ポリ塩化ビニル、ポリスチレン、およびポリビニルピロリドンが含まれる。例示的な天然ポリマーには、アルギン酸塩、ならびにデキストランおよびセルロース、コラーゲン、その化学誘導体を含む他の多糖(置換、化学基、例えば、アルキル、アルキレンの付加、ヒドロキシル化、酸化、および当業者によって慣用的になされる他の修飾)、アルブミンおよび他の親水性タンパク質、ゼインおよび他のプロラミン、ならびに疎水性タンパク質、コポリマーおよびその混合物が含まれる。一般的に、これらの材料は、酵素的加水分解またはインビボでの表面腐食もしくは大量腐食(bulk erosion)による水への曝露のいずれかによって分解する。ポリマーは、任意で、重量の約90%までの水を吸収することができ、さらに、任意で多価イオンまたは他のポリマーと架橋されるヒドロゲルの形をとる(例えば、WO04/009664、WO05/087201、Sawhney, et al., Macromolecules, 1993, 26, 581-587を参照されたい)。

【０６０７】

送達系はまた、ステロール、例えば、コレステロール、コレステロールエステル、および脂肪酸または中性脂肪、例えば、モノグリセリド、ジグリセリド、およびトリグリセリドを含む脂質である非ポリマー系;ヒドロゲル放出系;サイラスティック(silastic)系;ペプチドベースの系;ろうコーティング;従来の結合剤および賦形剤を用いた圧縮錠;部分的に融合した移植片なども含む。具体例には、(a)マトリックス内に生成物がある形で含まれる腐食系、例えば、米国特許第4,452,775号、同第4,675,189号、および同第5,736,152号に記載の系、ならびに(b)生成物が、制御された速度でポリマーから浸透する拡散系、例えば、米国特許第3,854,480号、同第5,133,974号、および同第5,407,686号に記載の系が含まれるが、これに限定されない。生成物を含有するリポソームは、公知の方法、例えば、(DE 3,218,121; Epstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82: 3688-3692 (1985); Hwang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77: 4030-4034 (1980); EP 52,322; EP 36,676; EP 88,046; EP 143,949; EP 142,641; JP 83-118008; 米国特許第4,485,045号および同第4,544,545号;ならびにEP102,324)によって調製されてもよい。

【０６０８】

または、もしくはさらに、前記組成物は、本明細書において開示された極めて長いCDR3を含むヒト化抗体、抗体断片、核酸、またはベクターが吸収またはカプセル化されている膜、スポンジ、または他の適切な材料を患部に移植することによって局所投与されてもよい。移植装置が用いられる場合、装置は任意の適切な組織または臓器に移植されてもよく、本明細書において開示された極めて長いCDR3を含むヒト化抗体、抗体断片、核酸、またはベクターの送達は、ボーラスを介して、または連続投与を介して、または連続注入を用いたカテーテルを介して、直接、装置を通して行われてもよい。

【０６０９】

本明細書において開示された極めて長いCDR3を含むヒト化抗体、抗体断片、核酸、またはベクターを含む薬学的組成物は、吸入用に、例えば、乾燥粉末として処方されてもよい。吸入溶液もエアロゾル送達用の液状噴霧剤として処方されてもよい。さらに別の製剤では、溶液が噴霧されてもよい。肺投与用のさらなる薬学的組成物には、例えば、化学的に改変されたタンパク質の肺送達を開示するWO94/20069に記載の薬学的組成物が含まれる。肺送達の場合、粒径は遠位肺に送達するのに適していなければならない。例えば、粒径は1μm～5μmでもよい。しかしながら、例えば、それぞれの粒子に孔がかなりたくさんあれば、これより大きな粒子が用いられてもよい。

【０６１０】

本明細書において開示された極めて長いCDR3を含むヒト化抗体、抗体断片、核酸、またはベクターを含有する、ある特定の製剤は経口投与されてもよい。このように投与される製剤は、固体剤形、例えば、錠剤およびカプセルの調合において従来より用いられる担体を用いて、または用いずに処方されてもよい。例えば、製剤の活性部分を、バイオアベイラビリティが最大になり、全身前分解が最小になるときに胃腸管内の部分で放出するようにカプセルを設計することができる。選択的結合物質の吸収を容易にするために、さらなる薬剤が含まれてもよい。希釈剤、香料、低融点ろう、植物油、潤滑剤、懸濁剤、錠剤崩

壊剤、および結合剤も使用することができる。

【０６１１】

別の調製物は、錠剤製造に適した無毒賦形剤との混合物中に、有効量の本明細書において開示された極めて長いCDR3を含むヒト化抗体、抗体断片、核酸、またはベクターを含んでもよい。錠剤を滅菌水または別の適切なビヒクルに溶解することによって、溶液が単位剤形で調製されてもよい。適切な賦形剤には、不活性な希釈剤、例えば、炭酸カルシウム、炭酸ナトリウムもしくは重炭酸ナトリウム、ラクトース、またはリン酸カルシウム;あるいは結合物質、例えば、デンプン、ゼラチン、またはアラビアゴム;あるいは潤滑剤、例えば、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、もしくはタルクが含まれるが、これに限定されない。

【０６１２】

適切な、かつ/または好ましい薬学的製剤は、意図された投与経路、送達形式、および望ましい投与量に応じて、本開示および製剤技術の一般的な知識を考慮して決定されてもよい。投与のやり方に関係なく、有効な用量は、患者の体重、体表面積、または臓器サイズに従って計算されてもよい。本明細書に記載の製剤それぞれが関与する処置に適した投与量を求めるための計算をさらに精緻なものにすることは当技術分野において慣用的に行われ、当技術分野において慣用的に行われるタスクの範囲内である。適切な投与量は、適切な用量反応データを用いることによって決定されてもよい。

【０６１３】

一部の態様では、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体またはその断片には、生物学的環境での抗体または断片の半減期、例えば、血清半減期またはインビトロアッセイによって測定される半減期を延ばすように天然Fc領域が改変された改変Fc領域が設けられる。IgGのFc領域の元々の形態を変えるための方法も米国特許第6,998,253号に記載されている。

【０６１４】

ある特定の態様において、血清半減期を延ばすために抗体または断片を改変する、例えば、半減期を延ばすために、PEGまたは多糖ポリマーを含む他の水溶性ポリマーなどの分子を抗体断片に付加することが望ましい場合がある。これはまた、例えば、サルベージ受容体結合エピトープを抗体断片に組み込むことによって(例えば、抗体断片にある適切な領域を変異させることによって、または例えば、DNA合成もしくはペプチド合成によって、エピトープをペプチドタグに組み込み、次いで、これを抗体断片の末端もしくは中央で融合させることによって)達成されてもよい(国際公開番号WO96/32478を参照されたい)。サルベージ受容体結合エピトープとは、IgG分子(例えば、IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4)のインビボ血清半減期の延長を担う、IgG分子のFc領域のエピトープを指す。

【０６１５】

サルベージ受容体結合エピトープは、Fcドメインの1つまたは2つのループに由来するいずれか1個または複数個のアミノ酸残基が抗体断片の類似する位置に移された領域を含んでもよい。さらにより好ましくは、Fcドメインの1つまたは2つのループに由来する3個もしくはそれ以上の残基が移される。さらにより好ましくは、エピトープはFc領域(例えば、IgG)のCH2ドメインから選ばれ、抗体のCH1、CH3、もしくはVH領域、または複数のこのような領域に移される。または、エピトープはFc領域のCH2ドメインから選ばれ、抗体断片のC_L領域もしくはV_L領域、またはその両方に移される。Fc変種およびFc変種とサルベージ受容体との相互作用について述べているWO97/34631およびWO96/32478も参照されたい。

【０６１６】

Fc受容体結合部位内にある残基を変異させると、ADCC活性もしくはCDC活性が変化するか、または半減期が変化するなどエフェクター機能が変化する場合がある。潜在的な変異には、アラニン置換、保存的置換、非保存的置換、または異なるIgGサブクラスに由来する同位置の対応するアミノ酸残基との交換(例えば、IgG1残基と、その位置にある対応するIgG2残基との交換)を含む、1個または複数個の残基の挿入、欠失、または置換が含まれる。例えば、IgG4のアミノ酸位置241にあるセリンを(IgG1およびIgG2では、その位置に見られる)プロリンに変異させると、元々のキメラIgG4と比較して均質な抗体が産生され、

血清半減期が延び、組織分布が改善したことが報告されている(Angal et al., Mol. Immunol. 30:105-8, 1993)。

【０６１７】

キット/製造物品

さらなる局面として、本開示は、本開示の方法を実施するために、1つまたは複数の化合物または組成物が使用しやすいように包装されたキットを含む。一態様において、このようなキットは、容器に包装された、本明細書に記載の化合物または組成物(例えば、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体を単独で、または第2の薬剤と組み合わせて含む組成物)を、容器に貼られたラベル、または前記方法の実施における化合物もしくは組成物の使用について説明している添付文書と一緒に備える。適切な容器には、例えば、瓶、バイアル、注射器などが含まれる。容器は、様々な材料、例えば、ガラスまたはプラスチックから形成されてもよい。容器は滅菌アクセスポートを有してもよい(例えば、容器は、静脈内溶液バックまたは皮下注射針で穴を開けることができるストッパーを有するバイアルでもよい)。製造物品は、(a)本明細書において開示された、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体を含む組成物が中に入れられている第1の容器;および(b)さらなる治療剤を含む組成物が中に入れられている第2の容器を備えてもよい。本明細書において開示された、この態様における製造物品は、ある特定の状態を処置するために第1の組成物および第2の組成物を使用することができることを示す添付文書をさらに備えてもよい。または、もしくはさらに、製造物品は、薬学的に許容される緩衝液、例えば、無菌注射用水(BWFI)、リン酸緩衝食塩水、リンガー溶液、およびデキストロース溶液を含む第2の(または第3の)容器をさらに備えてもよい。製造物品は、他の緩衝液、希釈剤、フィルタ、針、および注射器を含む、商業的観点および使用者の観点から望ましい他の材料をさらに備えてもよい。好ましくは、前記化合物または組成物は単位剤形で包装される。キットは、特定の投与経路に従って組成物を投与するのに適した、またはスクリーニングアッセイを実施するのに適した装置をさらに備えてもよい。好ましくは、キットは、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体組成物の使用について説明しているラベルを備える。

【０６１８】

以下は本開示の方法および組成物の例である。前記で提供された一般的な説明があれば、様々な他の態様が実施され得ることが理解される。

【実施例】

【０６１９】

実施例1

ウシ起源の極めて長いCDR3を含む少なくとも7種の抗体重鎖可変領域配列が、公に入手可能である。これらの配列は、図1のアライメントに示される。図1に示されるように、これらの可変領域配列内に存在する極めて長いCDR3の長さは、56～61アミノ酸の範囲である。際だったことに、配列アライメントは、CDR3のN末端に位置するアミノ酸残基が特に保存されていることを示す。これらの可変領域配列の各々において、最初のシステイン残基の後に、「TTVHQ」というアミノ酸配列パターンおよびその変種が見出された。大部分の種の大部分の重鎖可変領域が、アミノ酸配列「CAK」または「CAR」を末端に有するため、これは稀である。この稀な配列モチーフ(例えば、「TTVHQ」)は、極めて長いCDR3の構造の特徴であり得る。

【０６２０】

さらに、ボース・タウルスゲノムを探索し、「CTTVHQ」モチーフ(例えば、SEQ ID NO:1)をコードする、記載されていない重鎖可変領域DNA配列を、抗体遺伝子座に見出した。この可変領域配列は、本明細書においてVH-UL(SEQ ID NO:29)と命名される。ウシゲノムの探索において初めて発見されたこの配列モチーフは、極めて長いCDR3を含む抗体において重要である。

【０６２１】

極めて長いCDR3を含むヒト化抗体を作製するため、ウシ由来VH-UL配列(SEQ ID NO:29)に相同のアクセプターヒトフレームワークのためのヒト可変領域を同定した。ヒトVH4フ

ァミリーの数種のメンバーがVH-UL配列に相同であると同定されたが、VH4ファミリーメンバーはいずれも「CTTVHQ」モチーフを含有していなかった。配列VH4-34*02(SEQ ID NO:33)、VH4-39(SEQ ID NO:31)、およびVH4-59*03(SEQ ID NO:32)が、VH-UL配列に最も相同である(例えば、図4Bを参照すること)。

【０６２２】

極めて長いCDR3を含むヒト化抗体を作製する最初の例示的な方法において、VH4-39ヒトアクセプターフレームワーク(SEQ ID NO:31)を使用する。VH4-39の最後の2個のアミノ酸残基(例えば、「AR」)をコードするヌクレオチドを、VH4-39ヒトアクセプターフレームワークから除去し、VH4-39ヒトアクセプターフレームワークの2番目のシステイン残基をコードするヌクレオチドの後(例えば、SEQ ID NO:31の97位アミノ酸をコードするヌクレオチドの後)のVH4-39ヒトアクセプターフレームワークをコードするDNA配列の3'末端に、「TTVHQ」モチーフをコードするヌクレオチドを付加する。次に、BLV1H12に由来する極めて長いCDR3の一部(例えば、BLV1H12の最初のグルタミン酸残基(E)から開始する極めて長いCDR3の一部；

ETKKYQSCPDGYRERSDCSNRPACGTSDCCRVSVFGNCLTTLPVSYSYTYNYEWHVD

)をコードするDNAを、「TTVHQ」モチーフをコードするポリヌクレオチドの3'末端に融合させる。最後に、J領域配列に共通の保存されたトリプトファン残基から開始する、部分的なヒトJH4領域をコードするDNAを、BLV1H12に由来する極めて長いCDR3配列の一部の3'末端に付加する。極めて長いCDR3を含む部分的にヒトである抗体をコードする以下の抗体遺伝子が得られる：

cagctgcagctgcaggagtcgggcccaggactggtgaagccttcggagaccctgtccctcacctgca
ctgtctctggtggctccatcagcagtagtagttactactggggctggatccgccagcccccagggaa
ggggctggagtggattgggagtatctattatagtgggagcacctactacaacccgtccctcaagagt
cgagtcaccatatccgtagacacgtccaagaaccagttctccctgaagctgagctctgtgaccgccg
cagacacggctgtgtattactgt**actactgtgcaccag**GAAACAAAAAAATACCAAAGTTGTCCTGA
TGGGTATAGAGAACGTTCGGATTGTAGTAACAGACCTGCTTGTGGTACTAGTGATTGTTGTCGTGTT
AGTGTTTTTGGTAATTGTCTTACTACTCTTCCTGTGAGTTATAGTTATACTTACAATTACGAATGGC
ACGTCGATGTC*TGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAG* (SEQ ID NO: 377)

－普通フォント－ヒトVH4-39由来
－下線－VH-UL由来
－太字－ウシBLVH12由来の極めて長いCDR3
－イタリック体－ヒトJH4由来

【０６２３】

この部分的にヒトである可変領域遺伝子から翻訳されるアミノ酸配列は、以下の通りである：

```
cagctgcagctgcaggagtcgggcccaggactggtgaagccttcggagaccctgtccctc
 Q  L  Q  L  Q  E  S  G  P  G  L  V  K  P  S  E  T  L  S  L
acctgcactgtctctggtggctccatcagcagtagtagttactactggggctggatccgc
 T  C  T  V  S  G  G  S  I  S  S  S  S  Y  Y  W  G  W  I  R
cagcccccagggaaggggctggagtggattgggagtatctattatagtgggagcacctac
 Q  P  P  G  K  G  L  E  W  I  G  S  I  Y  Y  S  G  S  T  Y
tacaacccgtccctcaagagtcgagtcaccatatccgtagacacgtccaagaaccagttc
 Y  N  P  S  L  K  S  R  V  T  I  S  V  D  T  S  K  N  Q  F
tccctgaagctgagctctgtgaccgccgcagacacggctgtgtattactgtactactgtg
 S  L  K  L  S  S  V  T  A  A  D  T  A  V  Y  Y  C  T  T  V
caccaggaaacaaaaaaataccaaagttgtcctgatgggtatagagaacgttcggattgt
 H  Q  E  T  K  K  Y  Q  S  C  P  D  G  Y  R  E  R  S  D  C
agtaacagacctgcttgtggtactagtgattgttgtcgtgttagtgtttttggtaattgt
 S  N  R  P  A  C  G  T  S  D  C  C  R  V  S  V  F  G  N  C
cttactactcttcctgtgagttatagttatacttacaattacgaatggcacgtcgatgtc
 L  T  T  L  P  V  S  Y  S  Y  T  Y  N  Y  E  W  H  V  D  V
tggggccagggaaccctggtcaccgtctcctcag (SEQ ID NO: 377)
 W  G  Q  G  T  L  V  T  V  S  S   (SEQ ID NO: 378)
```

【０６２４】

一態様において、このヒト化VH配列を、組換え抗体作製のため、組換えによって、ヒト

重鎖定常領域とインフレームで融合させ、軽鎖と対形成させる。

【０６２５】

極めて長いCDR3を含むヒト化抗体を作製するもう一つの例示的な方法において、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体を作製するため、BLV5B8に由来する極めて長いCDR3(SEQ ID NO:7)を、ヒトJH2領域の一部と共に、VH4-34ヒトアクセプターフレームワーク、例えば、4-34*02(SEQ ID NO:33)または4-34*09(SEQ ID NO:34)へ組み入れる。次に、VH4-34ヒトアクセプターフレームワークの最後の2個のアミノ酸残基(例えば、「AR」)をコードするヌクレオチドを、VH4-34ヒトアクセプターフレームワークから除去し、VH4-34ヒトアクセプターフレームワークの2番目の保存されたシステイン残基をコードするヌクレオチドの後(例えば、SEQ ID NO:33または34の95位アミノ酸をコードするヌクレオチドの後)のVH4-34ヒトアクセプターフレームワークの3'末端に、「TTVHQ」モチーフをコードするヌクレオチドを付加する。最後に、J領域配列に共通の保存されたトリプトファン残基から開始する部分的なヒトJH2領域をコードするDNAを、BLV5B8に由来する極めて長いCDR3配列の一部の3'末端に付加する。このようにして、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体可変領域をコードする以下の配列が作製される：

caggtgcagctacaacagtggggcgcaggactgttgaagccttcggagaccctgtccctcacctgcg
ctgtctatggtgggtccttcagtggttactactggagctggatccgccagcccccagggaaggggct
ggagtggattggggaaatcaatcatagtggaagcaccaactacaacccgtccctcaagagtcgagtc
accatatcagtagacacgtccaagaaccagttctccctgaagctgagctctgtgaccgccgcggaca
cggctgtgtattactgt**Actactgtgcaccag**GAAACCAGAAAAACCTGTTCTGATGGTTATATGGC
TGTAGATAGTTGTGGTCGTGGTCAGAGTGATGGTTGTGTCAATGATTGCAATTGTTGTTATTATGGT
TGGCGGAACTGTCGCAGGCAGCCTGCAATTCAAAGTTACGAATTTCACGTCGATGCC*TGGGGCCGTG*
GCACCCTGGTCACTGTCTCCTCAG (SEQ ID NO: 379)

－普通フォント－ヒトVH4-39由来
－下線－VH-UL由来
－太字－ウシBLVH12由来の極めて長いCDR3
－イタリック体－ヒトJH2由来

【０６２６】

この部分的にヒトである可変領域遺伝子から翻訳されるアミノ酸配列は、以下の通りである：

caggtgcagctacaacagtggggcgcaggactgttgaagccttcggagaccctgtccctc
 Q V Q L Q Q W G A G L L K P S E T L S L
acctgcgctgtctatggtgggtccttcagtggttactactggagctggatccgccagccc
 T C A V Y G G S F S G Y Y W S W I R Q P
ccagggaaggggctggagtggattggggaaatcaatcatagtggaagcaccaactacaac
 P G K G L E W I G E I N H S G S T N Y N
ccgtccctcaagagtcgagtcaccatatcagtagacacgtccaagaaccagttctccctg
 P S L K S R V T I S V D T S K N Q F S L
aagctgagctctgtgaccgccgcggacacggctgtgtattactgtactactgtgcaccag
 K L S S V T A A D T A V Y Y **C** T T V H Q
gaaaccagaaaaacctgttctgatggttatatggctgtagatagttgtggtcgtggtcag
 E T R K T C S D G Y M A V D S C G R G Q
agtgatggttgtgtcaatgattgcaattgttgttattatggttggcggaactgtcgcagg
 S D G C V N D C N C C Y Y G W R N C R R
cagcctgcaattcaaagttacgaatttcacgtcgatgcctggggccgtggcaccctggtc
 Q P A I Q S Y E F H V D A **W** G R G T L V
Actgtctcctcag (SEQ ID NO: 379)
 T V S S (SEQ ID NO: 380)

【０６２７】

一態様において、このヒト化VH配列を、次いで、組換え抗体作製のため、組換えによって、ヒト重鎖定常領域とインフレームで融合させ、軽鎖と対形成させる。

【０６２８】

このように、重鎖可変領域は、組換え抗体を作製するため、軽鎖可変領域と対形成させられ得る。極めて長いVH CDR3を含有しているウシ抗体は、典型的には、λ軽鎖の制限さ

れたセットと対形成させる。ボース・タウルスに由来するλ領域に相同である、VL1-47、VL1-40、VL1-51、VL2-18を含むいくつかのヒトVL配列が、上記の配列と対形成させるために使用され得る。

【０６２９】

実施例2：

極めて長いCDR3を含む抗体をコードするポリヌクレオチドのライブラリーを、当技術分野において公知の方法によって構築することができる。そのようなポリヌクレオチドライブラリーは、複数のベクターに存在してもよく(例えば、ベクターのライブラリー)、例えば、複数の宿主細胞に存在するベクターに存在してもよい(例えば、宿主細胞のライブラリー)。ライブラリーは、空間的にアドレス指定された形式(例えば、WO 11/056997；およびMao et al.(2010)Nat Biotech 28:1195-1202を参照)を含む、公知の形式で存在し得る。

【０６３０】

例示的な方法において、ウシの脾臓およびリンパ節を、Animal Technologies(Tyler, TX)またはTexas A&M Universityから入手した。TRIzol試薬(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)を使用して、3頭の異なるウシ(MID1、MID10、およびMID 11)に由来するウシ組織から全RNAを単離した後、RNeasy Mini Kit(Qiagen, Valencia, CA, USA)を使用して、DNAのオンカラム消化を行った。あるいは、抗原(例えば、BVDV)によって免疫感作されたウシのリンパ節からcDNAを入手することもできる。次に、RNAの量および質を、製造業者のプロトコルに従って、Nanodrop(Thermal Scientific)、Qubit RNA、およびAgilent 2100 Bioanalyzer(Agilent, Santa Clara, CA, USA)によって査定した。全RNAを、Superscript II(Invitrogen)によって触媒されたcDNA合成のための鋳型として使用した。

【０６３１】

増幅された抗体可変領域のライブラリーを、次いで、ディープシーケンシングに供した。簡単に説明すると、3頭のウシ(MID1、MID10、およびMID11)の各々のためのバーコード付き(bar-coded)プライマー(表1)を、ウシ脾臓cDNAからV_Hを増幅するために使用した。

【０６３２】

（表１）ディープシーケンシング用のバーコード付きプライマー

プライマー番号	アイソタイプ	プライマー
MID1 FW	IgG	CCTATCCCCTGTGTGCCTTGGCAGTCTCAGACGAGTGCGTTTGAGCGACAAGGCTGTAGGCTG (SEQ ID NO: 381)
MID1 RV	IgG	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAGACGAGTGCGTCTTTCGGGGCTGTGGTGGAGGC (SEQ ID NO: 382)
MID10 FW	IgM	CCTATCCCCTGTGTGCCTTGGCAGTCTCAGTCTCTATGCGTTGAGCGACAAGGCTGTAGGCTG (SEQ ID NO: 383)
MID10 RV	IgM	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAGTCTCTATGCGAGTGAAGACTCTCGGGTGTGATTCAC (SEQ ID NO: 384)
MID11 FW	IgM	CCTATCCCCTGTGTGCCTTGGCAGTCTCAGTGATACGTCTTTGAGCGACAAGGCTGTAGGCTG (SEQ ID NO: 385)
MID11 RV	IgM	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAGTGATACGTCTAGTGAAGACTCTCGGGTGTGATTCAC (SEQ ID NO: 386)

【０６３３】

次に、V_Hのアンプリコンを、2%アガロースゲルから精製し、Roche 454 GS FLXの説明書に従ってディープシーケンシングを行った。マルチプルアライメントを、MUSCLEアルゴリズム(Edgar(2004)Nucleic Acids Research 32:1792-1797)によって実施した。配列に観察された大量の不均一性のため、比較的高いギャップ開始ペナルティ(-20.0)およびギャ

ップ伸長ペナルティ(-10.0)で、長いCDR H3ヌクレオチドのマルチプルアライメントを生成するためにMUSCLEを実行した。以下の設定、マッチスコア＝2.0、ミスマッチペナルティ＝-1.0、ギャップ開始ペナルティ＝-2.0、およびギャップ伸張ペナルティ＝-0.5で、スミスウォーターマン(Smith-Waterman)アルゴリズムを使用して、局所アライメントを実行した。CDR H3は、フレームワーク3の保存されたシステインの後の3番目の残基からフレームワーク4の保存されたトリプトファンの直前の残基までと定義された。ディープシーケンシングによって同定された複数の極めて長いV_H配列によってウシゲノム(アセンブリBtau_4.6.1)を探索するBLASTによって、V_HBULが同定された。ディープシーケンシングは、44～69アミノ酸残基の長さを有する全部で11,728種の極めて長いCDR3配列を同定した。ディープシーケンシングの結果は、下記表2に要約される。

【０６３４】

（表２）ウシ脾臓からのディープシーケンシング結果の概要

起源（バーコード）	ウシ番号1 (MID1)	ウシ番号1 (MID10)	ウシ番号2 (MID11)
Igクラス	IgG	IgM	IgM
CDR H3の長さの範囲	44-66	44-68	44-69
独特のシステインパターンの数	655	449	847
独特の長いCDR H3配列の総数	5633	1639	4456

【０６３５】

ディープシーケンシングの結果は、極めて長いCDR3が、3～12個のシステイン残基を含むシステインモチーフ(例えば、システイン残基のパターン)を含むことも明らかにした。3頭の異なるウシ(MID1、MID10、およびMID11)についてのディープシーケンシングランについて、システインパターンの代表的な例を、ランにおける存在量と共に示す(表3～5)。極めて長いCDR3領域内のシステインは「C」の記号で表される。2個のシステインの間のアミノ酸は「X_n」の記号で表される。ディープシーケンシングから同定されたシステインモチーフを含む例示的な配列は、図2A～Cに提示される。

【０６３６】

（表３）MID1に由来する極めて長いCDR3において同定されたシステインパターン

システインパターン（MID1）	存在量（%）
$CX_{10}CX_5CX_5CXCX_7C$	10.44%
$CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{15}C$	8.11%
$CX_{11}CXCX_5C$	5.22%
$CX_{11}CX_5CX_5CXCX_7C$	2.56%
$CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{13}C$	1.47%
$CX_{10}CX_5CXCX_4CX_8C$	1.19%
$CX_{10}CX_6CX_6CXCX_7C$	1.08%
$CX_{10}CX_4CX_7CXCX_8C$	1.05%
$CX_{10}CX_4CX_7CXCX_7C$	0.91%
$CX_{13}CX_8CX_8C$	0.91%
$CX_{10}CX_6CX_5CXCX_7C$	0.59%
$CX_{10}CX_5CX_5C$	0.57%
$CX_{10}CX_5CX_6CXCX_7C$	0.50%
$CX_{10}CX_6CX_5CX_7CX_9C$	0.43%
$CX_9CX_7CX_5CXCX_7C$	0.41%
$CX_{10}CX_6CX_5CXCX_9C$	0.36%
$CX_{10}CXCX_4CX_5CX_{11}C$	0.32%
$CX_7CX_3CX_6CX_5CXCX_5CX_{10}C$	0.32%
$CX_{10}CXCX_4CX_5CXCX_2CX_3C$	0.30%
$CX_{16}CX_5CXC$	0.23%

【０６３７】

（表４）MID10に由来する極めて長いCDR3において同定されたシステインパターン

システインパターン（MID10）	存在量（%）
$CX_{10}CXCX_4CX_5CXCX_2CX_3C$	2.87%
$CX_{10}CX_5CX_5C$	0.73%
$CX_{10}CXCX_4CX_5CX_{11}C$	0.67%
$CX_6CX_4CXCX_4CX_5C$	0.61%
$CX_{11}CX_4CX_5CX_6CX_3C$	0.55%
$CX_8CX_2CX_6CX_5C$	0.43%
$CX_{10}CX_5CX_5CXCX_{10}C$	0.37%
$CX_{10}CXCX_6CX_4CXC$	0.31%
$CX_{10}CX_5CX_5CXCX_2C$	0.31%
$CX_{14}CX_2CX_3CXCXC$	0.31%
$CX_{15}CX_5CXC$	0.31%
$CX_4CX_6CX_9CX_2CX_{11}C$	0.31%
$CX_6CX_4CX_5CX_5CX_{12}C$	0.31%
$CX_7CX_3CXCXCX_4CX_5CX_9C$	0.31%
$CX_{10}CX_6CX_5C$	0.24%
$CX_7CX_3CX_5CX_5CX_9C$	0.24%
$CX_7CX_5CXCX_2C$	0.24%
$CX_{10}CXCX_6C$	0.18%
$CX_{10}CX_3CX_3CX_5CX_7CXCX_6C$	0.18%
$CX_{10}CX_4CX_5CX_{12}CX_2C$	0.18%

【０６３８】

（表５）MID11に由来する極めて長いCDR3において同定されたシステインパターン

システインパターン（MID11）	存在量（%）
$CX_{12}CX_4CX_5CXCXCX_9CX_3C$	1.19%
$CX_{12}CX_4CX_5CX_{12}CX_2C$	0.96%
$CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{11}C$	0.92%
$CX_{16}CX_5CXCXCX_{14}C$	0.70%
$CX_{10}CX_5CXCX_8CX_6C$	0.52%
$CX_{12}CX_4CX_5CX_8CX_2C$	0.49%
$CX_{12}CX_5CX_5CXCX_8C$	0.47%
$CX_{10}CX_6CX_5CXCX_4CXCX_9C$	0.45%
$CX_{11}CX_4CX_5CX_8CX_2C$	0.45%
$CX_{10}CX_6CX_5CX_8CX_2C$	0.43%
$CX_{10}CX_6CX_5CXCX_8C$	0.36%
$CX_{10}CX_6CX_5C$	0.31%
$CX_{10}CX_6CX_5CXCX_3CX_8CX_2C$	0.29%
$CX_{10}CX_6CX_5CX_3CX_8C$	0.29%
$CX_{10}CX_6CX_5CXCX_2CX_6CX_5C$	0.25%
$CX_7CX_6CX_3CX_3CX_9C$	0.25%
$CX_9CX_8CX_5CX_6CX_5C$	0.22%
$CX_{10}CX_2CX_2CX_7CXCX_{11}CX_5C$	0.20%
$CX_{10}CX_6CX_5CXCX_{13}C$	0.20%
$CX_{10}CX_6CX_5CXCX_2CX_8CX_4C$	0.20%

【０６３９】

極めて長いCDRに偏った抗体可変領域cDNAのライブラリーを作製するプライマー 5'-TTGAGCGACAAGGCTGTAGGCTG-3' (SEQ ID NO: 387) および 5'-CTTTCGGGGCTGTGGTGG-AGGC-3' (SEQ ID NO: 388)

を使用して、実施例9において調製されたcDNAから、ウシV_H領域を増幅した。次に、V_H領域の混合物を、ウシC_H1およびヒトIgG Fcと共にオーバーラップPCRによって組み立てた。簡単に説明すると、全長重鎖ライブラリーを哺乳動物細胞における発現のために準備するため、pFUSE発現ベクターへのライゲーションのためのEcoRI部位およびNheI部位を組み入れた。ライゲーション産物を大腸菌へ形質転換し、500個の単一大腸菌形質転換体を選び取った。次いで、各形質転換体を、別々の容器において一晩増殖させ、Qiagen minprepキット(Qiagen, Inc.)を使用して各コロニーからDNAを抽出し、オリゴ 5'-AGATCCAAGCTGTGACCGGC-3' (SEQ ID NO: 389)

を使用してBATJ, Inc.(San Diego, CA)によって配列決定した。配列をVectorNTI(Invitrogen, Inc. Carlsbad, CA)を使用して分析した。重複している配列、インサートを有しない配列、および35残基より短いCDRをコードする配列を除外した。独特の長いCDR重鎖配列を含有している132個のクローンを選択した。次いで、132メンバーライブラリーの各重鎖を、不変ウシ軽鎖BLV1H12(SEQ ID NO:412)をコードするpFUSE発現ベクターと平行して293T細胞へコトランスフェクトして、空間的にアドレス指定された小さいライブラリー(Mao et al.(2010)Nat Biotech 28:1195-1202)を生成した。1ウェル当たり130,000個の293T細胞を、24穴プレートに播種し、10%FBS(Invitrogen)およびペニシリン／ストレプトマイシン／グルタミン(Invitrogen)を含む500ulのDMEM培地(Invitrogen)において37℃および5%CO_2で一晩増殖させた。Hcをコードするp Fuseベクター0.5μgおよびLcをコードするpFuseベクター0.5μgを、25μlのoptimem(Invitrogen)に添加した。1μlのリポフェクタミン2000または293Fectinトランスフェクション試薬(Invitrogen)を、25μlのoptimemに添加し、5分インキュベートした。次に、DNA-optimem混合物およびトランスフェクション試薬-optimem混合物を合わせ、15分インキュベートし、293T細胞に添加し、細胞上で4～6時間インキュベートした。次いで、培地をウェルから吸引し、新鮮な培地に交換し、細胞を4日間増殖させ培地中へIgGを分泌させた。IgGを含有している細胞培養上清を、さらなる試験のため、96穴フォーマットに採集した。キメラ抗体を、ヒトF_cを検出するサンドイッチELISAによって定量化し、ELISAによってBVDVとの結合についてスクリーニングした。

【０６４０】

次いで、ELISAによるBVDVとの結合についてのスクリーニングを含むさらなる試験のため、抗体を培養培地中へ分泌させ、96穴フォーマットに採集して、空間的にアドレス指定された小さいライブラリーを生成した。例えば、BVDVとの結合について抗体ライブラリーをスクリーニングするため、ELISAを実施した。簡単に説明すると、100μLのDPBS中の不活化されたBVDV(0.2μg)を、37℃で1時間、96穴MaxiSorp ELISAプレート(Nunc)にコーティングした。次に、プレートを、200μLのDPBST(ダルベッコリン酸緩衝生理食塩水、0.25%トゥイーン20)中の3%BSA溶液によって37℃で1時間ブロッキングした。次いで、試料をDPBST中の3%BSAと共に37℃で1時間インキュベートした。その後、ウェルを200μLのDPBSTで5回洗浄した。次に、ヤギ抗ヒトIgG(Fc)-HRPコンジュゲート抗体(KPL Inc.)を、ブロッキング溶液中1:1,000希釈で添加し、37℃で1時間インキュベートした。次いで、ウェルを、200μLのDPBSTで10回洗浄した。QuantaBlu(Pierce)のワーキング溶液100μLを各ウェルに添加し、室温で5分間インキュベートした後、プレートをex325/em420nmでSpectraMax M5プレートリーダで読み取った。数種の候補結合剤が同定された。クローンH12は、6個のシステイン残基を含む63残基CDR3を有しており、用量依存的にBVDVに強く結合することができた。

【０６４１】

さらに、以前に記載されたように(例えば、Njongmeta et al.(2012)Vaccine 30:1624-1635を参照すること)、キメラ組換え抗体のBVDV抗原との結合を、トランスフェクトされたヒト胎児由来腎臓(HEK)293A細胞(Invitrogen)のイムノサイトメトリー分析によって評価した。簡単に説明すると、6穴組織培養プレートにおいて増殖させたHEK 293A単層を、リポフェクタミン2000試薬(Invitrogen)を使用して、BVDV抗原(N^{pro}、E2、または非構造タンパク質NS2-3)をコードする2μg/ウェルのプラスミド(pCDNA3.3、Invitrogen)によってトランスフェクトし、5%CO_2と共に37℃で48時間インキュベートした。単層を氷冷100%メタノールによって10分間固定し、PBSで濯ぎ、5%ウシ胎仔血清を含有しているPBS(ブロッキング緩衝液)によって1時間ブロッキングした後、単層を、ブロッキング緩衝液中の10μg/mlのマウス抗FLAG M2-アルカリホスファターゼ(AP)コンジュゲート(Sigma)または10μg/mlのキメラ組換え抗体(H12またはB8)と共に室温で1時間インキュベートした。空ベクターによってトランスフェクトされた単層を、陰性対照として役立つよう同様に反応させ、ブロッキング緩衝液で洗浄した後、キメラ組換え抗体によってプローブされた単層を、ブロッキング緩衝液中のAPコンジュゲートヤギ抗ヒトIgG(Fc特異的)mAb(Sigma)の1/200希釈物と共に1時間インキュベートした。ブロッキング緩衝液での洗浄後、全てのウェルのA

P活性をFast Red AS-MX基質(Sigma)を使用して検出した。染色された細胞を、カメラが装備されたIS70倒立光学顕微鏡(Olympus, Japan)を使用して、可視化し、写真撮影した。H12は、BVDVのNS2-3非構造タンパク質によってトランスフェクトされたHEK293A細胞に強く結合したが、トランスフェクトされていない細胞には弱く結合し、B8は、BVDVのNS2-3非構造タンパク質によってトランスフェクトされたHEK293A細胞およびトランスフェクトされていない細胞の両方に弱く結合した。

【０６４２】

実施例3：

極めて長いCDR3を含む重鎖可変領域をコードするヌクレオチド配列のクローニングおよび／または発現のため、当技術分野において公知のベクターを使用するか、または使用するために修飾することができる。そのようなベクターは、任意で、極めて長いCDR3を含む重鎖可変領域をコードするヌクレオチド配列に連結されたヒト免疫グロブリン(例えば、IgG)のFc部分をコードするヌクレオチド配列を含むか、または含むよう修飾されてもよい。さらに、極めて長いCDR3が、例えば、制限酵素による一方向クローニングによって、非ウシ(非抗体またはヒト)配列をコードするヌクレオチド配列を受容することができるよう、極めて長いCDR3を含む重鎖可変領域をコードするヌクレオチド配列を、公知の方法に従って修飾することができる。軽鎖可変領域をコードするヌクレオチド配列のクローニングおよび／または発現のためにも、当技術分野において公知のベクターを使用するか、または使用するために修飾することができる。

【０６４３】

例示的な方法において、IgG Fcをコードするヌクレオチド配列に連結された、極めて長いCDR3を有する重鎖可変領域をコードするヌクレオチド配列を含むよう、ベクターを、組換え技術によって修飾することができる。簡単に説明すると、ヒトIgG1のCH1-CH2-CH3をコードするヌクレオチド配列(SEQ ID NO:390)を、PCRによって増幅し、鎖オーバーラップ伸長を介して組み立てた。次に、ベクターpFUSE-hIgG2-Fc2(SEQ ID NO:457、InVivogen, San Diego CA)にコードされたヒトFc配列を、ヒトIgG1のCH1-CH2-CH3に交換するため、適合性付着末端戦略を利用した。それによって、pFUSE-hIgG2-Fc2ベクターの既存の3'NheI部位が破壊され、SEQ ID NO:390の5'末端にNheI部位が生成された。修飾されたpFUSE-hIgG2-Fc2ベクター(「HC pFuse」、SEQ ID NO:458)は、既存のEcoRI部位および新しく導入されたNheI部位を使用した、シグナル配列とヒトIgG1のCH1-CH2-CH3をコードするヌクレオチド配列との間へのVH断片の挿入を可能にする。例えば、ウシ抗体BLV1H12に由来するVH領域(SEQ ID NO:392)を、PCRによって増幅し、制限酵素EcoRIおよびNheIを使用して、HC pFuseベクターのシグナル配列とヒトIgG1のCH1-CH2-CH3をコードするヌクレオチド配列との間にインフレームでサブクローニングし、SEQ ID NO:393を生成した。

【０６４４】

あるいは、非ウシ配列をコードするヌクレオチド配列を、BLV1H12重鎖のCDR3をコードするヌクレオチド配列へ挿入した。簡単に説明すると、1対のBsaI部位を、PCR鎖オーバーラップ伸張によって、BLV1H12のCDR3をコードするヌクレオチド配列へ導入した(SEQ ID NO:395)。BLV1H12のCDR3をコードする配列にBsaI部位が組み入れられた修飾されたヌクレオチド配列を、次いで、制限酵素EcoRIおよびNheIを使用して、上記のHC pFuseベクターのシグナル配列とヒトIgG1のCH1-CH2-CH3をコードするヌクレオチド配列との間にインフレームでサブクローニングした。次に、インターロイキン8(IL-8、SEQ ID NO:475)、インターロイキン21(IL-21、SEQ ID NO:480)、およびCXCL12/SDF-1α(SEQ ID NO:479)(Origene)をコードするcDNA、ならびにペプチドホルモンソマトスタチン(SEQ ID NO:477)、毒ペプチドProTxII(SEQ ID NO:481)およびクロロトキシン(SEQ ID NO:478)、および合成コノトキシンペプチドジコノチド(SEQ ID NO:476)(IDTDNA)をコードするオリゴプライマーを含む非抗体配列を、BLV1H12のCDR3への挿入のためのBsaIフランク(flank)を含む非ウシ配列を作製するため、BsaIフランクを含むオリゴプライマーを使用したPCR増幅によって、BsaIフランクを含むよう修飾した。次に、修飾された非抗体配列のBsaIフランクをBsaIによって切断し、BsaIによって消化されたBLV1H12ベクターとインフレームでライゲートし

、それによって、非抗体配列をコードするヌクレオチド配列をBLV1H12重鎖可変領域へ挿入し、BVL1H12可変領域およびCH1-CH2-CH3をコードする配列とインフレームで極めて長いCDR3の一部(例えば、システインリッチ部分)を交換した。

【０６４５】

同様に、軽鎖をコードするヌクレオチド配列を含むよう、ベクターを組換え技術によって修飾した。簡単に説明すると、BLV1H12軽鎖配列(SEQ ID NO:412)を、EcoRI末端およびNheI末端を導入するため、PCRによって増幅した。次いで、BLV1H12軽鎖可変領域配列を、EcoRIおよびNheIによって消化し、pFUSE-hIgG2-Fc2へサブクローニングして、FcをコードするpfUSE-hIgG2-Fc2の部分を欠失させ、それを軽鎖配列(SEQ ID NO:459)のみに交換した。

【０６４６】

さらに、BLV1H12軽鎖可変領域およびヒトλ軽鎖定常領域に由来する配列(SEQ ID NO:474)を増幅し接合するため、オーバーラップPCRを使用した。これを、EcoRI末端およびNheI末端を導入するため、PCRによって増幅した。次いで、ヒトλ配列を含むハイブリッドBLV1H12を、EcoRIおよびNheIによって消化し、pFUSE-hIgG2-Fc2へサブクローニングして、FcをコードするpFUSE-hIgG2-Fc2の部分を欠失させ、それを軽鎖配列のみに交換した。

【０６４７】

実施例4：

極めて長いCDR3を含む抗体をコードするポリヌクレオチドを、当技術分野において公知の方法によって、宿主細胞において発現、例えば、一過性発現させることができる。

【０６４８】

例示的な方法において、実施例2において生成された重鎖および軽鎖を含むベクターを、ヒト胎児由来腎臓(HEK)293細胞、例えば、293T細胞またはFreestyle(商標)293-F細胞へトランスフェクトすることができる。

【０６４９】

例えば、1ウェル当たり130,000個の293T細胞を、24穴プレートに播種し、10%FBS(Invitrogen)およびペニシリン／ストレプトマイシン／グルタミン(Invitrogen)を含む500μlのDMEM培地(Invitrogen)において、37℃および5%CO_2で一晩増殖させた。次に、(例えば、実施例2において生成された)重鎖をコードするpFuseベクター0.5μgおよび(例えば、実施例2において生成された)軽鎖をコードするpFuseベクター0.5μgを、25μlのOpti-MEM(Invitrogen)に添加した。その後、1μlのリポフェクタミン2000または293Fectinトランスフェクション試薬(Invitrogen)を、25μlのOpti-MEMに添加し、5分インキュベートした。次いで、dna-Opti-MEM溶液およびトランスフェクション試薬-Opti-MEM溶液を合わせ、15分間インキュベートし、293T細胞へ添加し、4～6時間細胞上でインキュベートした。次いで、培地をウェルから吸引し、新鮮な培地に交換し、2～6日間、細胞を増殖させ、培地中へIgGを分泌させた。

【０６５０】

さらに、例えば、1×10^6個の293Freestyle懸濁細胞/mlを、Freestyle(商標)293 Expression Medium(Invitrogen)およびペニシリン／ストレプトマイシン／グルタミン(Invitrogen)において、37℃および5%CO_2で一晩増殖させた。次に、細胞1ミリリットルについて、重鎖をコードするpFuse DNA 0.5μgおよびLcをコードするpFuse 0.5μgを含む30μlの溶液を、緩衝PBSで作成した。さらに、細胞1ミリリットルについて、1μlの293Fectinトランスフェクション試薬を含む溶液を、30μlのPBSに添加し、5分インキュベートした。その後、DNAおよびリポフェクタミンの溶液を合わせ、15分インキュベートした後、混合物を細胞へ添加した。次いで、細胞を、2～6日間、増殖させ、培地中へIgGを分泌させた。

【０６５１】

293T細胞またはFreestyle(商標)293-F懸濁細胞の増殖期の後、培地を採集し、上清中へ分泌されたIgGを、サンドイッチELISAによって評価した。簡単に説明すると、Fc特異的な抗ヒトIgG(Cat I2136、Sigma-Aldrich)をPBSで1:1000希釈し、maxisorpプレート(Nunc)へコーティングした。次に、プレートをTBST中の2%BSAによってブロッキングし、洗浄し、

IgGが分泌された上清を1時間インキュベートした。TBSTで洗浄した後、適切なHRPコンジュゲート抗軽鎖抗体をTBSTで1:1000希釈し、1時間インキュベートした(抗κ-HRP、カタログ番号A-7164、Sigma-Aldrich；抗λ-HRP、カタログ番号2070-05、Southern Biotech)。TBSTで洗浄した後、HRPをTMB(カタログ番号TMBS-1000-01、BioFX)によって検出し、0.6M H_2SO_4によって中和した。その後、吸光度(A450)を測定し、細胞培養上清中のヒト抗体の濃度を決定するため、既知IgG濃度の標準曲線と比較した。

【０６５２】

(実施例3において生成された)ヒトCH1-CH2-CH3およびCDR3の少なくとも一部の交換を含むBLV1H12をコードする重鎖構築物、ならびにBLV1H12 LV-ヒトλLCをコードする軽鎖構築物によってトランスフェクトされた細胞に由来する上清からの抗体の収量を、ELISAによって決定し、BLV1H12-IL8の収量に対して標準化した(表6)。ELISAは、BLV1H12-IL8(最高発現種)と比較して、CDR3の一部を交換するために使用されたいくつかの配列(例えば、ジコノチド)が、抗体の発現に対して軽微な影響を及ぼし、CDR3の一部を交換するために使用されたいくつかの配列(例えば、ソマトスタチン、クロロトキシン、SDF1(α)、IL21)が、抗体の発現に対して中程度の影響を及ぼし、他の配列(ProTxII)が、抗体の発現に対してさらに大きい影響を及ぼすことを示した(表6)。

【０６５３】

（表６）長いCDR3に対する交換を含むBLV1H12の発現収量

重鎖V領域	軽鎖	標準化された収量（最高発現種に対する%）
BLV1H12-IL8	BLV1H12-HuλC	100
BLV1H12-ジコノチド	BLV1H12-HuλC	94.7
BLV1H12-ソマトスタチン	BLV1H12-HuλC	46.5
BLV1H12-クロロトキシン	BLV1H12-HuλC	39.7
BLV1H12-SDF1(α)	BLV1H12-HuλC	38.9
BLV1H12-IL21	BLV1H12-HuλC	32.3
BLV1H12-ProTxII	BLV1H12-HuλC	2.1

【０６５４】

実施例5：

非ウシ配列を含む極めて長いCDR3の発現を可能にするヒト生殖系列配列を同定するため、極めて長いCDR3を含むヒト生殖系列配列を、当技術分野において公知の方法によって評価することができる。

【０６５５】

例示的な方法において、ヒト生殖系列可変領域VH1-24、VH1-46、VH1-69、VH3-23、VH4-4、およびVH4-34へBsaI部位を挿入するため、オーバーラップPCRを使用した。次に、実施例2において生成されたBLV1H12を含むHC pFuseベクターのシグナル配列とCH1-CH2-CH3領域との間へのサブクローニングのためのEcoRI部位およびNheI部位を導入するため、PCRを使用した。その後、IL-8-GSGカセット(SEQ ID NO:399)を、各ヒト生殖系列構築物のBsaI部位へ導入し、VH1-24+CDR3-IL8(SEQ ID NO:425)、VH1-46+CDR3-IL8(SEQ ID NO:426)、VH1-69+CDR3-IL8(SEQ ID NO:427)、VH3-23+CDR3-IL8(SEQ ID NO:428)、VH4-4+CDR3-IL8(SEQ ID NO:429)、およびVH4-34+CDR3-IL8(SEQ ID NO:430)を得た。次に、ヒト生殖系列重鎖およびCDR3-IL8構築物をコードする各pFuseベクターを、BLV1H12 LV(SEQ ID NO:474)をコードするpFuseベクターと共にコトランスフェクトし、実施例4に記載されたように、これらのIgGを発現させ、培地中へ分泌させた。次いで、実施例4に記載されたように、IgG収量を決定するため、ELISAを使用した。構築物の収量を決定し、最も高発現の構築物に対して標準化した。驚いたことに、ウシに由来するCDR3は、ヒト重鎖可変領域へ容易に転移可能ではない。VH4-34がBLV1H12配列との最も近い配列相同性を有するにも関わらず、VH4-4が最も高い収量を有していた(表7)。

【０６５６】

（表７）極めて長いCDR3を含むヒト化重鎖の発現収量(IgG(nM)による値の最後のカラムを除去し、標準化された値のみを示す)

重鎖可変領域：	標準化された収量（最高発現種に対する%）
BLV1H12+CDR3IL8	100
BLV1H12	58.4
VH1-24 BLVCDR3IL8	4.4
VH1-46 BLVCDR3IL8	2.4
VH1-69 BLVCDR3IL8	1.4
VH3-23 BLVCDR3IL8	14.7
VH4-4 BLVCDR3IL8	22.5
VH4-34 BLVCDR3IL8	5.4

【０６５７】

実施例6：

非ウシ配列を含む極めて長いCDR3(例えば、CDR3の少なくとも一部の非ウシ配列への交換)を含む抗体、例えば、ヒト化抗体を、非ウシ配列の結合パートナーとの結合について、当技術分野において公知の方法、例えば、フローサイトメトリーによって評価することができる。

【０６５８】

例示的な方法において、IL-8インサートを含むCDR3(例えば、CDR3の一部がIL-8配列に交換されたもの)を含むBLV1H12 IgGを、フローサイトメトリーによって、CXCR1発現細胞との結合について評価した。簡単に説明すると、U2OS細胞に由来する機能的に実証済みのCXCR1を発現する細胞株を、DiscoveRxから入手し、製造業者の説明書(カタログ番号93-0226C3、DiscoveRx Corporation, Freemont, CA)に従って培養した。親細胞株U2OSを、ATCCから入手し、CXCR1細胞と同一の条件の下で培養した。次いで、細胞培養上清を、フローサイトメトリーによって、細胞との結合について試験した。付着しているU2OS細胞またはCXCR1-U2OS細胞を、Accutase(Innovative Cell Technologies, Inc., San Diego, CA)によって解離させ、等しい体積の10％血清を含有している培地によって中和し、1000gで遠心分離し、2％BSAを含むPBSに再懸濁させた。次に、1ウェル当たり30,000～300,000細胞を達成するため、細胞をマイクロタイタープレートに分配し、再び遠心分離し、発現されたIgGを含有している細胞培養上清またはIgG含有細胞培養上清の希釈物へ再懸濁させた。蛍光コンジュゲート抗ヒトFc抗体を、発現された抗体の細胞との結合を検出するために使用した。その後、細胞蛍光をフローサイトメトリー(例えば、FACS)によって測定し、試験された抗体および細胞型の各組み合わせについて自由蛍光単位(AFU)中央値を計算し、IgGのそれらの細胞との結合の程度を明らかにした。CXCR1-U2OS細胞とU2OS親細胞との蛍光中央値(IgG結合)の比は、IL-8インサートを含むCDR3を含むBLV1H12 IgGが、CXCR1に対する特異性を有することを示している(表8)。

【０６５９】

（表８）BLV1H12フレームワークのCXCR1 U2OS細胞との結合

	ULcowV（自由蛍光単位(AFU)中央値）	ULcowV+IL8（自由蛍光単位(AFU)中央値）
親U2OS	4	76
CXCR1-U2OS	4	707

【０６６０】

さらに、実施例5に記載されたヒト生殖系列CDR3-IL8 IgGを、上記のようなフローサイトメトリーによって、CXCR1発現細胞との結合について評価した。IgGのCXCR1-U2OS細胞との結合は、より高い蛍光値によって示されるが、U2OS親細胞との非特異的な結合も検出可能である。CDR3-IL-8を含む所定のIgGについて、CXCR1との特異的な結合は、CXCR1-U2OS

細胞上の蛍光と親U2OS細胞上の蛍光との比によって明らかにされる(表9)。BLV1H12は、CXCR1との強力かつ特異的な結合を支持したが(表8)、ヒト生殖系列IgG内のIL-8は、CXCR1とのより弱い結合、またはCXCR1-U2OS細胞および親対照細胞の両方との強力な結合に見られるような非特異的な相互作用を示した。ヒト生殖系列IgG内のIL-8のCXCR1との最も特異的な相互作用は、VH4-34によって見られた。

【０６６１】

（表９）CDR3-IL8を含むIgGのCXCR1 U2OS細胞との結合

HC V領域を含むIgG:	親 U2OS	CXCR1-U2OS	CXCR1/親の比
BLV1H12	5	9	1.9
VH1-24 +CDR3-IL8	5	23	4.3
VH1-46 +CDR3-IL8	5	6	1.1
VH1-69 +CDR3-IL8	20	78	4.0
VH3-23 +CDR3-IL8	534	1443	2.7
VH4-4 +CDR3-IL8	1007	3079	3.1
VH4-34 +CDR3-IL8	70	648	9.3

【０６６２】

もう一つの例示的な方法において、CXCR1受容体のIL-8による活性化を、上記のCXCR1-U2OS DiscoveRx細胞(カタログ番号93-0226C3、DiscoveRx)を使用して試験した。リガンドによる活性化によって、結果としてのβアレスチンのGPCRへの動員が、細胞株に存在する発光レポーター酵素の活性化も引き起こすよう、DiscoveRx細胞を操作した。溶解試薬および発光基質は、製造業者の説明書に従って使用されたPathHunter Detection Kit(カタログ番号 93-001、DiscoveRx)に含まれている。U2OS-CXCR1細胞を、1ウェル当たり15,000細胞で播種し、血清を含まないEMEM培地において一晩血清飢餓培養した。次に、培地を除去し、細胞を、IL-8もしくはCDR3にIL-8挿入を含むIgGまたは対照抗体のいずれかの希釈物を含有している80μlの1:1 EMEMおよびPBSと共に37℃で1時間インキュベートした。1時間後、40μlのPathHunter Detection試薬ミックスを添加した。その後、室温での1時間の後、各ウェル内の発光を発光プレートリーダを使用して測定した。より高い発光シグナルは、IL-8またはIgGの試験された濃度におけるCXCR1受容体のより多くの活性化を明らかにする。IgGは、実施例4のトランスフェクション法をスケールアップし、製造業者の説明書(カタログ番号17-1279-03 GE Healthcare)に従ってプロテインAセファロースを使用して培地からIgGを精製し、溶出後、PBSに対して透析を行うことによって精製された。タンパク質収量をA280によって決定し、モル吸光係数を計算した。増加する濃度のBLV1H12-IL8 IgGは、IL-8によって観察された活性化とある程度同様にCXCR1を活性化したが、増加する濃度のBLV1H12 IgGは、CXCR1活性化に対して効果を及ぼさなかった(表10)。

【０６６３】

（表１０）可溶性サイトカインまたはCDR3交換としてのIL-8によるCXCR1の活性化

nM	IL-8 (平均RLU)	BLV1H12-IL8 IgG (平均RLU)	IgG_BVL1H12 IgG (平均RLU)
500.00	5720	6641	484
166.67	6770	6207	525
55.56	7365	5509	511
18.52	7295	5071	529
6.17	5869	4428	517
2.06	4110	3645	495
0.69	1939	2651	516
0.23	940	1515	455
0.08	504	822	461
0.01	440	435	460

【０６６４】

さらに、VH4-4ヒト生殖系列可変領域へIL-8がグラフトされた抗体を、CXCR1の活性化について試験した。VH4-4+CDR3-IL8(SEQ ID NO:429)を含むIgGを、BLV1H12+CDR3-IL8および(IL-8インサートを欠く)IgGVH4-4 CDR3 BsaI(SEQ ID NO:431)と比較した。31.5nMの単一濃度の可溶性IL-8を、アッセイ機能についての陽性対照として試験したところ、55525という平均RLUの活性化を与えた(表11)。ヒトVH4-4可変領域へのIL-8の挿入を含むIgGは、CXCR1を活性化したが、等しい用量で、BLV1H12配列を含むIgGほど強力ではなかった。

【０６６５】

（表１１）CDR3 IL-8を含むIgGによるCXCR1の活性化

IgG (nM)	BLV1H12 +CDR3-IL8 (平均 RLU)	VH4-4 +CDR3-IL8 (平均 RLU)	VH4-4 +CDR3-BsaI (平均 RLU)
261.500	56349	36481	7545
87.167	52128	29623	7139
29.056	47621	24889	7104
9.685	39280	15545	7174
3.228	34544	10233	7034
1.076	23700	8012	7184
0.359	13278	7338	6687
0.120	8867	7513	7331
0.040	7736	7323	6973
0.013	7329	6956	7048
0.004	7240	7067	7387
0.001	7437	7142	7500

【０６６６】

実施例7：

実施例5において生成されたヒト化抗体を、重鎖のCDR1および／またはCDR2に1個以上のアミノ酸置換を含むよう修飾することができる。そのようなアミノ酸置換は、CDR3と相互作用すると仮定されている位置において、ヒト生殖系列CDR1およびCDR2へ導入され得る。

【０６６７】

例示的な方法において、VH4-34 CDR1および／またはCDR2のある種の残基を、BLV1H12に由来する対応するCDR1および／またはCDR2の残基に置換した。簡単に説明すると、重鎖VH4-34 CDR3-IL8をコードするpFuseベクターを、CDR1の全部をBLV1H12に由来する配列に交換するか(VH4-34+CDR3-IL8_CDR1ウシ、SEQ ID NO:432)、またはCDR2の全部をBLV1H12に由

来する配列に交換するため(VH4-34+CDR3-IL8_CDR2ウシ、SEQ ID NO:433)、オーバーラップPCRによって修飾した。さらに、CDR1へ点変異体G31DおよびY32Kを導入するか(VH4-34+CDR3-IL8_CDR1 G31D,Y32K、SEQ ID NO:434)、またはCDR2へ点変異体E50Sを導入するため(VH4-34+CDR3-IL8_CDR2 E50S、SEQ ID NO:435)、オーバーラップPCRを使用した。これらの重鎖構築物を、実施例4に記載されたように、BLV1H12軽鎖と対形成させ、発現させた。実施例6に記載されたように、収量およびCXCR1結合を決定した(表12)。

【０６６８】

（表１２）VH4-34 CDR3-IL8 IgGのCDR1およびCDR2の修飾

重鎖	標準化されたIgG収量	FACS CXCR1/親の比
BLV1H12	100	1.9
VH4-34+CDR3-IL8	20	9.3
VH4-34+CDR3-IL8 + ウシCDR1	29	2.1
VH4-34+CDR3-IL8 + ウシCDR2	9	8.0
VH4-34+CDR3-IL8 + E31D,Y32K	19	8.1
VH4-34+CDR3-IL8 + E50S	27	4.0

【０６６９】

実施例8：

極めて長いCDR3を含む抗体、例えば、CDR3の少なくとも一部が非ウシ配列に交換されている極めて長いCDR3を含む抗体を、ヒト軽鎖と対形成させることができる。

【０６７０】

例示的な方法において、重鎖BLV1H12+CDR3-IL8をコードするpFuseベクターを、数種のヒト生殖系列軽鎖の各々(例えば、SEQ ID NO:445～456)またはBLV1H12軽鎖(SEQ ID NO:412)をコードするpFuseベクターと共にコトランスフェクトすることによって、ヒト生殖系列軽鎖と生産的に対形成するBLV1H12+CDR3-IL8の自由度を調査した。これらのヒト生殖系列軽鎖配列を合成し(Genscript,Inc)、EcoRIおよびNheIを介したpFUSE LCベクターへのサブクローニングのため、実施例3と同様に、PCRによって増幅した。BLV1H12+CDR3-IL8をコードするpFUSEベクターを、実施例3と同様に、軽鎖をコードするpFUSEベクターと共にコトランスフェクトした。次いで、分泌されたIgGを、実施例5と同様に、CXCR1細胞との特異的な結合についてFACSによって試験した(表13)。ヒト生殖系列軽鎖は、BLV1H12+CDR3として発現されたときのIL-8の機能を容易には支持しなかった。

【０６７１】

（表１３）生殖系列ヒト軽鎖と対形成されたときのBLV1H12+CDR3-IL8の評価

軽鎖	FACS CXCR1/親の比
A20J1	0.8
A27J3	0.9
L6J1	0.8
L25J1	1.3
V1-2J7	0.8
V1-7J1	0.6
V1-11J2	0.8
V1-13J5	2.9
V1-16J6	0.6
V2-13J2	0.9
V2-14J4	1.0
V2-15J7	1.1
V2-17J2	2.0
V3-4J1	1.2
V5-4J2	0.8
BLV1H12	5.0

【０６７２】

あるいは、BLV1H12軽鎖可変領域をガイドとして使用して、最も近い相同性を有すると同定されたヒト生殖系列配列は、V1-47およびV1-51であった。これらの軽鎖配列を、pFuseベクターへのサブクローニングのための所望のEcoRIおよびNheIの制限部位を含めて合成した(SEQ ID NO:455、456)(IDTDNA,Inc.)。その後、V1-47またはV1-51をコードするpFuseベクターを、VH4-34+CDR3-IL8、実施例6に記載されたCDR1またはCDR2の修飾を含むVH4-34+CDR3-IL8(SEQ ID NO:432～435)をコードするpFuseベクター、ならびにCDR1およびCDR2の両方の修飾の組み合わせ(例えば、VH4-34+CDR3-IL8_CDR1ウシ_CDR2ウシ、SEQ ID NO:436；VH4-34+CDR3-IL8_CDR1ウシ_CDR2 E50S、SEQ ID NO:437；VH4-34+CDR3-IL8_CDR1 G31D,Y32K_CDR2ウシ、SEQ ID NO:438；VH4-34+CDR3-IL8_CDR1 G31D,Y32K_CDR2 E50S、SEQ ID NO:439)をコードするベクターと対形成させた。これらのIgGを発現させ、収量をELISAによって決定し、CXCR1結合特異性を、上記のようなフローサイトメトリーによって測定した(表14)。

【０６７３】

（表１４）CDR1およびCDR2の修飾を有し、Lc V1-47またはV1-51と対形成させたVH4-34 CDR3-IL8 IgGについての発現収量およびCXCR1特異性

HC VH4-34 CDR3-IL8+		nM IgG		CXCR1/親の比	
Hc-CDR1	Hc-CDR2	V1-47	V1-51	V1-47	V1-51
G31D Y32K	VH4-34	1	2.5	3.6	3
ウシ	VH4-34	3	8.5	5.1	2.4
VH4-34	VH4-34	1.5	-0.4	2.6	2.9
G31D Y32K	E50S	2	4.6	1.4	3
ウシ	E50S	---	22.8	2.6	3.1
VH4-34	E50S	3.3	3.3	3.3	1.8
G31D Y32K	ウシ	-0.1	2.3	2	2.6
ウシ	ウシ	0.7	4.9	4.6	3.1
VH4-34	ウシ	0.6	0.6	2.5	3.9

【０６７４】

実施例9：

ヒト生殖系列軽鎖、例えば、極めて長いCDR3を含む重鎖と対形成され得る軽鎖を、当技術分野において公知の方法によって修飾することができる。そのような修飾には、ヒト軽鎖のある種のアミノ酸残基の、ウシ軽鎖配列の対応する位置にある残基への置換が含まれ得る。修飾された軽鎖は、極めて長いCDR3を含む抗体の収量を改善し、かつ／または結合特異性を増加させ得る。

【０６７５】

例示的な方法において、V1-51の変種をオーバーラップPCRによって作成し、実施例4に記載されたように、発現のためpFuseベクターへサブクローニングした。V1-51の操作された変種は：(i)CDR1に導入された置換I29VおよびN32G(SEQ ID NO:440)、(ii)GDTに変化したCDR2の残基DNN(アミノ酸51～53)(SEQ ID NO:441)、(iii)GDTSRA(SEQ ID NO:472)に変化したCDR2付近の残基DNNKRP(SEQ ID NO:471)、または(iv)点変異S2A、T5N、P8S、A12G、A13S、およびP14LによってBLV1H12軽鎖の最初の14残基と同一にされたN末端の14残基(SEQ ID NO:443)、または(v)(ii)および(iv)に示された変化の組み合わせ(SEQ ID NO:444)を有していた。これらのV1-51変種を、VH4-34+CDR3-IL8(SEQ ID NO:430)、VH4-34+CDR3-IL8_CDR1ウシ(SEQ ID NO:432)、VH4-34+CDR3-IL8_CDR2ウシ(SEQ ID NO:433)、またはVH4-34+CDR3-IL8_CDR1ウシ_CDR2ウシ(SEQ ID NO:436)をコードする重鎖と対形成させた。細胞をPBS中の2%BSA＋2ug/mlヘパラン硫酸に再懸濁させ、IgGを細胞上でのインキュベーションの間に10nMに対して標準化するという修飾を加えて、上記のように、トランスフェクションおよびELISAを実施し、既に記載されたように、CXCR1結合特異性を評価するため、フローサイトメトリーを使用した。重鎖および軽鎖のある種の組み合わせのみが、検出可能な発現を支持した(表15)。重鎖および軽鎖を発現したこれらの組み合わせを、CXCR1結合特異性について試験した(表16)。

【０６７６】

（表１５）VH4-34+CDR3-IL8変種およびV1-51変種についての発現収量(nM IgG)

		VH4-34 CDR3-IL8	VH4-34 CDR3-IL8 CDR1-Cow	VH4-34 CDR3-IL8 CDR2-Cow	VH4-34 CDR3-IL8 CDR1-Cow &CDR2-Cow
	Hc				
	CDR1:	ヒト	ウシ	ヒト	ウシ
	CDR2:	ヒト	ヒト	ウシ	ウシ
V1-51		1	5	0	13
V1-51 CDR1 I29V, N32G		-1	5	0	3
V1-51 CDR2 DNN → GDT		-1	23	-1	5
V1-51 CDR2 DNNKRP (SEQ ID NO: 471) → GDTSRA (SEQ ID NO: 472)		-1	4	1	23
V1-51 S2A,T5N,P8S,A12G,A13S,P14L		0	38	-1	22
V1-51 S2A,T5N,P8S,A12G,A13S,P14L & DNN → GDT		0	37	0	1

【０６７７】

（表１６）VH4-34+CDR3-IL8変種およびV1-51変種についてのCXCR1特異性

		VH4-34 CDR3-IL8	VH4-34 CDR3-IL8 CDR1-Cow	VH4-34 CDR3-IL8 CDR2-Cow	VH4-34 CDR3-IL8 CDR1-Cow &CDR2-Cow
	Hc				
	CDR1:	ヒト	ウシ	ヒト	ウシ
	CDR2:	ヒト	ヒト	ウシ	ウシ
V1-51		nt	7.2	nt	11.1
V1-51 CDR1 I29V, N32G		nt	8.9	nt	11.8
V1-51 CDR2 DNN → GDT		nt	5.6	nt	16.7
V1-51 CDR2 DNNKRP (SEQ ID NO: 471) → GDTSRA (SEQ ID NO: 472)		nt	8.0	nt	6.9
V1-51 S2A,T5N,P8S,A12G,A13S,P14L		nt	4.7	nt	12.2
V1-51 S2A,T5N,P8S,A12G,A13S,P14L & DNN → GDT		nt	6.8	nt	

【０６７８】

実施例10：

極めて長いCDR3を含むライブラリー、例えば、抗体フレームワーク(例えば、重鎖フレームワーク)内に極めて長いCDR3の少なくとも一部を含むライブラリーを、生成することができる。そのようなライブラリーは、極めて長いCDR3配列の多様性、極めて長いCDR3のシステインドメインの1個以上のシステイン残基の間に位置する1個以上の残基の多様性、または極めて長いCDR3に挿入され得る(例えば、その一部を交換する)非ウシペプチドの多様性を含み得る。抗体フレームワークは、VH-ULなどのウシ配列、ヒト生殖系列配列、または実施例7に記載されたような修飾されたヒト生殖系列配列に由来し得る。多様な極めて長いCDR3を含む抗体または抗体断片のライブラリーの発現のため、多様な極めて長いCDR3を含む重鎖を、ウシ、ヒト、または修飾された組成物(例えば、実施例9を参照すること

)の軽鎖と対形成させることができる。

【０６７９】

例示的な方法において、極めて長いCDR3配列の多様性を含む(例えば、ライブラリーの多様性が、ライブラリーが複数の多様な極めて長いCDR3配列を含有している点にある)ライブラリーを生成する。例えば、複数の多様な極めて長いCDR3配列を、免疫感作ウシまたは未免疫感作ウシのいずれかに由来する脾臓および／またはリンパ節から抽出されたcDNAから入手する。あるいは、複数の多様な極めて長いCDR3配列を、実施例2に記載されたような配列決定技術によって、cDNAからの情報として捕捉する。次いで、cDNAから導出されたウシ配列を、単離されたcDNAから増幅するか、またはcDNAの配列決定から合成し、多様なCDR3配列を、極めて長いCDR3配列を含むIgGの発現のため抗体フレームワークへ挿入し、ウシに由来するCDR3を含むIgGのライブラリーを作製する。IgGライブラリーは、任意の形式で、例えば、空間的にアドレス指定されたアレイとして存在することができる(例えば、WO 11/056997；およびMao et al.(2010)Nat Biotech 28:1195-1202を参照すること)。

【０６８０】

もう一つの例示的な方法において、ライブラリーのメンバーが、ある種のシステインドメインまたは複数のシステインドメインを有する極めて長いCDR3を含み、かつシステインドメインの1個以上のシステイン残基の間に位置する1個以上の残基において多様であるライブラリーを生成する。例えば、CDR3内に多様性を生ずるため、配列$CX_{10}CX_5CX_5CXCX_7C$(SEQ ID NO:41)において、X残基を変化させるかまたはX残基の組み合わせを変化させることによってライブラリーを生成する。そのような多様性は、縮重ヌクレオチド合成、エラープローンPCR、遺伝子合成、またはヌクレオチド配列を変化させるための当技術分野において公知のその他の方法によって導入される。次いで、これらの極めて長いCDR3ループを、抗体フレームワークをコードする配列と共に組み込む。次いで、ウシCDR3から操作された抗体ライブラリーを構成するため、コトランスフェクションおよび発現のため、重鎖配列を、ヒト軽鎖配列または修飾されたヒト軽鎖配列と対形成させる。

【０６８１】

もう一つの例示的な方法において、ライブラリーのメンバーが、極めて長いCDR3へ挿入された(例えば、その一部と交換された)非ウシ配列における多様性を有する極めて長いCDR3を含むライブラリーが生成される。極めて長いCDR3は、実施例4および実施例6において証明されたように、抗体フレームワークへの大きい非ウシ配列挿入(例えば、サイトカイン、ペプチドホルモン、シグナリングドメイン、および節足動物毒素または爬虫類毒の構成タンパク質)、例えば、システインリッチ挿入を許容し、非ウシ配列によってコードされたペプチドの独立の機能を支持する。非ウシ配列をコードする配列は、cDNAからPCRによって増幅されるか、または合成され、極めて長いCDR3の内部に、またはその代わりに、またはその少なくとも一部と交換されて発現されるよう、リンカー配列によって、またはリンカー配列なしで、抗体配列へ組み入れられる。発現のためのベクターへ非ウシ配列を挿入する例示的な方法は、上記実施例3に示される。次いで、重鎖配列を、コトランスフェクションおよび発現のため、ヒト軽鎖または修飾されたヒト軽鎖と対形成させる。例えば、非ウシ配列を、BLV1H12に由来するCDR1およびCDR3の修飾を有するVH4-34*02をコードするHC pFUSEへ挿入する。簡単に説明すると、極めて長いCDR3の一部(下記の下線が引かれた配列)が両側に隣接しているBsaIカセット(実施例3を参照すること；下記の配列において太字)を含むHC pFuseベクターの一部を、非ウシ配列と交換する。

caggtgcagctacagcagtggggcgcaggactgttgaagccttcggagacgctgtccctcacctgcac
agcaagcgggttttcactgagcgacaaggcagtgggatggattcgccagcccccagggaaggggctg
gagtggattggggaaatcaatcatagtggaagcaccaactacaacccgtccctcaagagtcgagtcac
catatcagtagacacgtccaagaaccagttctccctgaagctgagctctgtgaccgccgcggacacggc
tgtgtattactgtacctctgtgcaccaggaaactaagaaataccagagc**gagacctactatggttcggg**
tctctcttatacctacaattatgaatggcatgtggatgtctggggacagggcctgctggtgacagtctctagt
gctagc
(SEQ ID NO: 472)

【０６８２】

BsaIカセットの非ウシ配列への交換の後、(下記の配列において太字でインサートと記載)非ウシ配列を、極めて長いCDR3の一部が両側に隣接するよう位置付ける。

qvqlqqwgagllkpsetlsltctasgfslsdkavgwirqppgkglewigeinhsgstnynpslksrvtisvdt
sknqfslklssvtaadtavyyctsvhqetkkyqs-**インサート**–sytynyewhvdvwgqgtlvtvssas
(SEQ ID NO: 473)

【０６８３】

次いで、重鎖配列を、コトランスフェクションおよび発現のため、ヒト軽鎖または修飾されたヒト軽鎖と対形成させる。

【０６８４】

実施例11：

ヒト生殖系列軽鎖、例えば、極めて長いCDR3を含む重鎖とさせられ得る軽鎖を、当技術分野において公知の方法によって修飾することができる。そのような修飾には、ヒト軽鎖のある種のアミノ酸残基の置換が含まれ得る。

【０６８５】

実施例9に記載される軽鎖V1-51変種を、K46R変異およびL47T変異を導入するため、オーバーラップPCRによって修飾し、pFuseベクターへサブクローニングした。一例として、点変異S2A、T5N、P8S、A12G、A13S、P14L、D51G、N52D、およびN53Tを含むV1-51(SEQ ID NO:444；SEQ ID NO:792)を、変異K46RおよびL47Tも含み、点変異S2A、T5N、P8S、A12G、A13S、P14L、K46R、L47T、D51G、N52D、およびN53Tを含むV1-51(SEQ ID NO:486；SEQ ID NO:780)をコードするよう修飾した。さらなる例において、(i)VL1-51 S2A,T5N,P8S,A12G,A13S,P14L,K46R,L47T,D51G,N52D,N53T,K54S,P56A(SEQ ID NO:487；SEQ ID NO:781)、(ii)VL1-51 I29V,N32G,K47R,L47T,D51G,N52D,N53T(SEQ ID NO:488；SEQ ID NO:782)、(iii)VL1-51 I29V,N32G,K47R,L47T,D51G,N52D,N53T,K54S,P56A(SEQ ID NO:489；SEQ ID NO:783)を作成するため、以前のV1-51点変異群をK46RおよびL47Tの点変異と組み合わせるため、オーバーラップPCRを使用した。

【０６８６】

ヒト化抗体、例えば、実施例5に記載されたように生成されたものを、例えば、重鎖可変領域に1個以上のアミノ酸変化／置換を含むよう修飾することができる(例えば、実施例7を参照すること)。例示的な方法において、VH-34のある種の残基を、置換または修飾のために選択した。

【０６８７】

オーバーラップPCRを使用して、CDR1およびCDR2に様々な変異を含むVH4-34+CDR3-IL8構築物を、点変異Q5RおよびQ6Eをコードするようさらに修飾した。一例として、VH4-34+CDR3-IL8(SEQ ID NO:430；SEQ ID NO:793)をコードする実施例5の構築物を、点変異Q5RおよびQ6E(SEQ ID NO:490；SEQ ID NO:784)をコードするよう修飾した。実施例7に記載されたCDR1またはCDR2の修飾(SEQ ID NO:432～435；SEQ ID NO:794～797)を含む関連構築物も、Q5RおよびQ6Eをコードするよう変異させ、(i)VH4-34+CDR3-IL8_CDR1-G31DY32K_Q5RQ6E(SEQ ID NO:491；SEQ ID NO:785)、(ii)VH4-34+CDR3-IL8_CDR2-E50S_Q5RQ6E(SEQ ID NO:492

；SEQ ID NO:786)、(iii)VH4-34+CDR3-IL8_CDR1-ウシ_Q5RQ6E(SEQ ID NO:494；SEQ ID NO:788)、および(iv)VH4-34+CDR3-IL8_CDR2-ウシ_Q5RQ6E(SEQ ID NO:495；SEQ ID NO:789)を得た。CDR1-ウシとは、変異A23T、V24A、Y25S、G27F、F29L、G31D、Y32K、Y33A、W34V、およびS35Gの群を指す。CDR2-ウシとは、点変異I48L、E50S、N52D、H53T、S54G、S56N、およびN58Gの群を指す。

【０６８８】

CDR1およびCDR2の両方の修飾の組み合わせ(SEQ ID NO:436、437、および439；SEQ ID NO:798、799、801)をコードする、例えば、実施例8に記載されたようなベクターも、付加的な点変異Q5RおよびQ6Eを付加するため、PCRによって修飾し、(i)VH4-34+CDR3-IL8_CDR1-G31DY32K_CDR2-E50S_Q5RQ6E(SEQ ID NO:493；SEQ ID NO:787)、(ii)VH4-34+CDR3-IL8_CDR1-ウシ_CDR2-E50S_Q5RQ6E(SEQ ID NO:496；SEQ ID NO:790)、および(iii)VH4-34+CDR3-IL8_CDR1-ウシ_CDR2-ウシ_Q5RQ6E(SEQ ID NO:497；SEQ ID NO:791)を得た。変異Q5RおよびQ6Eを含有しているこれらの新しいVH4-34変種は、表17に要約される。

【０６８９】

（表１７）

	Q5R、Q6E、ならびにCDR1および／またはCDR2の変異を有するVH4-34+CDR3-IL8		
ヌクレオチドSEQ ID NO:	構築物名:	CDR1	CDR2
490	VH4-34+CDR3-IL8_Q5RQ6E	ヒト	ヒト
491	VH4-34+CDR3-IL8_CDR1-G31DY32K_Q5RQ6E	G31D,Y32K	ヒト
492	VH4-34+CDR3-IL8_CDR2-E50S_Q5RQ6E	ヒト	E50S
493	VH4-34+CDR3-IL8_CDR1-G31DY32K_CDR2-E50S_Q5RQ6E	G31D,Y32K	E50S
494	VH4-34+CDR3-IL8_CDR1-Cow_Q5RQ6E	ウシ	ヒト
495	VH4-34+CDR3-IL8_CDR2-Cow_Q5RQ6E	ヒト	ウシ
496	VH4-34+CDR3-IL8_CDR1-Cow_CDR2-E50S_Q5RQ6E	ウシ	E50S
497	VH4-34+CDR3-IL8_CDR1-Cow_CDR2-Cow_Q5RQ6E	ウシ	ウシ

【０６９０】

実施例12

極めて長いCDR3、例えば、非抗体配列を含む極めて長いCDRの発現を可能にする配列を同定し特徴決定するため、極めて長いCDR3を含む、ヒト化生殖系列配列、例えば、修飾されたヒト生殖系列配列を、当技術分野において公知の方法によって評価することができる。

【０６９１】

VH4-34+CDR3-IL8の変種(SEQ ID NO:430、432～437、439；SEQ ID NO:793、794～799、800)をコードする重鎖構築物を、V1-51の変種(SEQ ID NO:440、441、442、443、444、456、および486；SEQ ID NO:801、802、803、804、792、および780)をコードする軽鎖構築物と対形成させ、実施例4に記載されるように、293Freestyle細胞へトランスフェクトした。実施例4と同様に、結果としてのIgGの上清中の収量を決定し、表18に提示した。「ヒト」と命名されたCDR1またはCDR2に変異を有しない重鎖は、配列がVH4-34ヒト生殖系列から不変であったことを示す。CDR1-ウシとは、変異A23T、V24A、Y25S、G27F、F29L、G31D、Y32K、Y33A、W34V、およびS35Gの群を指す。CDR2-ウシとは、点変異I48L、E50S、N52D、H53T、S54G、S56N、およびN58Gの群を指す。CDR1またはCDR2の点変異も、同様に示される(例えば、G31D、Y32K；またはE50S)。各四角の色の濃さは、IgG発現のレベルによって決定され：より濃い四角は、より高い発現を示す。

【０６９２】

（表１８）

		VH4-34+CDR3-IL8ならびにCDR1および/またはCDR2の変異							
	重鎖 SEQ ID NO:	430	434	435	439	432	433	437	436
	CDR1:	ヒト	G31D,Y32K	ヒト	G31D,Y32K	ウシ	ヒト	ウシ	ウシ
軽鎖 SEQ ID NO:	CDR2:	ヒト	ヒト	E50S	E50S	ヒト	ウシ	E50S	ウシ
456	VL1-51	0	0	0	0	0	1	0	0
440	VL1-51 I29V, N32G	1	1	1	1	1	1	1	0
441	VL1-51 D51G, N52D, N53T	1	1	1	19	0	1	3	4
442	VL1-51 D51G, N52D, N53T, K54S, P56A	2	2	3	3	5	2	2	19
443	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L	4	7	7	22	20	3	47	25
444	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, D51G, N52D, N53T	13	29	22	54	56	3	47	90
486	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G ,A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	37	34	25	88	68	8	81	98
		抗体発現収量（nM IgG）							

【０６９３】

次いで、予想外に改善されたIgG発現を示す、選択されたIgGからの細胞培養上清を、5nM IgGに対して標準化し、実施例5に既に記載されたように、CXCR1結合特異性を評価するため、フローサイトメトリーを使用した。CXCR1を発現する細胞の蛍光中央値を、親細胞の蛍光中央値と比較することによって、これらの抗体のCDR3内のIL-8のCXCR1受容体に特異的に結合する能力を評価した。これらのAFU中央値の比を計算し、表19に示した。「ヒト」と命名されたCDR1またはCDR2に変異を含まない重鎖は、配列がVH4-34ヒト生殖系列から不変であったことを示す。CDR1-ウシとは、変異A23T、V24A、Y25S、G27F、F29L、G31D、Y32K、Y33A、W34V、およびS35Gの群を指す。CDR2-ウシとは、点変異I48L、E50S、N52D、H53T、S54G、S56N、およびN58Gの群を指す。CDR1またはCDR2の点変異も、同様に示される(例えば、G31D、Y32K；またはE50S)。各四角の色の濃さは、CXCR1細胞のAFU中央値と親細胞のAFU中央値との比によって決定された：より濃い四角は、より高い比、従って、より特異的な結合を示す。

【０６９４】

（表１９）

		VH4-34+CDR3-IL8ならびに CDR1および/またはCDR2の変異							
	重鎖 SEQ ID NO:	430	434	435	439	432	433	437	436
	CDR1:	ヒト	G31D,Y32K	ヒト	G31D,Y32K	ウシ	ヒト	ウシ	ウシ
軽鎖 SEQ ID NO:	CDR2:	ヒト	ヒト	E50S	E50S	ヒト	ウシ	E50S	ウシ
443	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L		4	4	5	4		5	11
444	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, D51G, N52D, N53T	3		2	17	4	4	6	10
486	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G ,A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	12	15	5	18	10	3	6	13
		特異的結合: (CXCR1細胞のAFU中央値/親細胞のAFU中央値)							

【０６９５】

実施例13

極めて長いCDR3、例えば、非抗体配列を含む極めて長いCDRの発現を可能にする配列を同定し特徴決定するため、極めて長いCDR3を含む、ヒト化生殖系列配列、例えば、修飾されたヒト生殖系列配列を、当技術分野において公知の方法によって評価することができる。

【０６９６】

軽鎖V1-51 S2A,T5N,P8S,A12G,A13S,P14L,D51G,N52D,N53T(SEQ ID NO:444)は、VL1-51 S2A,T5N,P8S,A12G,A13S,P14L,K46R,L47T,D51G,N52D,N53T(SEQ ID NO:486；SEQ ID NO:780)を作製するための変異K46RおよびL47Tの付加によって、実施例12において試験された数種の重鎖と対形成させたとき、IgG発現および特異的な抗体結合の両方の改善を予想外に示した。本発明者らは、実施例11に記載された他のV1-51変種軽鎖におけるK46RおよびL47Tの変異対を調査した(SEQ ID NO:487～489；SEQ ID NO:781～783)。本発明者らは、実施例11、表17に記載されたVH4-34+CDR3-IL-8変種重鎖へのQ5R、Q6Eの変異対の付加も調査した(SEQ ID NO:490～497；SEQ ID NO:784～791)。変異Q5RおよびQ6Eを含むVH4-34+CDR3-IL8の変種(SEQ ID NO:490～497；SEQ ID NO:784～791)をコードする重鎖構築物を、V1-51の変種をコードする軽鎖構築物と対形成させた。それらのうちのいくつかは変異K46RおよびL47Tを有していた(SEQ ID NO:444、486～489；SEQ ID NO:792、780～783)。これらの重鎖および軽鎖の対を、各々、実施例4に記載されたように293Freestyle細胞へトランスフェクトした。実施例4と同様に、結果としてのIgGの上清中の収量を決定し、表20に提示した。「ヒト」と命名されたCDR1またはCDR2に変異を有しない重鎖は、配列がVH4-34ヒト生殖系列から不変であったことを示す。CDR1-ウシとは、変異A23T、V24A、Y25S、G27F、F29L、G31D、Y32K、Y33A、W34V、およびS35Gの群を指す。CDR2-ウシとは、点変異I48L、E50S、N52D、H53T、S54G、S56N、およびN58Gの群を指す。CDR1またはCDR2の点変異も、同様に示される(例えば、Q5R、Q6E；G31D、Y32K；またはE50S)。各四角の色の濃さは、IgG発現のレベルによって決定され：より濃い四角は、より高い発現を示す。

【０６９７】

（表２０）

軽鎖SEQ ID NO:		VH4-34+CDR3-IL8、Q5R、Q6E、ならびにCDR1および/またはCDR2の変異							
	重鎖 SEQ ID NO:	490	491	492	493	494	495	496	497
	CDR1:	ヒト	G31D,Y32K	ヒト	G31D,Y32K	ウシ	ヒト	ウシ	ウシ
	CDR2:	ヒト	ヒト	E50S	E50S	ヒト	ウシ	E50S	ウシ
444	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, D51G, N52D, N53T	7	19	8	25	4	2	32	18
486	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	18	5	6	28	77	11	13	8
487	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T, K54S, P56A	18	13	20	31	52	12	38	23
488	VL1-51 I29V, N32G, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	2	0	3	12	30	1	19	11
489	VL1-51 I29V, N32G, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T, K54S, P56A	2	1	5	7	31	1	29	2
		発現収量（nM IgG）							

【０６９８】

次いで、予想外に改善されたIgG発現を示す、選択されたIgGからの細胞培養上清を、5nM IgGに対して標準化し、実施例5に既に記載されたように、CXCR1結合特異性を評価するため、フローサイトメトリーを使用した。CXCR1を発現する細胞の蛍光中央値を、親細胞の蛍光中央値と比較することによって、これらの抗体のCDR3内のIL-8の、CXCR1受容体に特異的に結合する能力を評価した。上記の表19と同様に、これらのAFU中央値の比を計算した。「ヒト」と命名されたCDR1またはCDR2に変異を含まない重鎖は、配列がVH4-34ヒト生殖系列から不変であったことを示す。CDR1-ウシとは、変異A23T、V24A、Y25S、G27F、F29L、G31D、Y32K、Y33A、W34V、およびS35Gの群を指す。CDR2-ウシとは、点変異I48L、E50S、N52D、H53T、S54G、S56N、およびN58Gの群を指す。CDR1またはCDR2の点変異も同様に示される(例えば、G31D、Y32K；またはE50S)。各四角の色の濃さは、CXCR1細胞のAFU中央値と親細胞のAFU中央値との比によって決定され：より濃い四角は、より高い比、従って、より特異的な結合を示す。

【０６９９】

（表２１）

		VH4-34+CDR3-IL8、Q5R、Q6E、ならびにCDR1および/またはCDR2の変異							
	重鎖 SEQ ID NO:	490	491	492	493	494	495	496	497
	CDR1:	ヒト	G31D,Y32K	ヒト	G31D,Y32K	ウシ	ヒト	ウシ	ウシ
軽鎖 SEQ ID NO:	CDR2:	ヒト	ヒト	E50S	E50S	ヒト	ウシ	E50S	ウシ
444	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, D51G, N52D, N53T		2		1			2	4
486	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	10			4	10	5	2	
487	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T, K54S, P56A	3	2	1	3	3	1	2	2
488	VL1-51 I29V, N32G, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T				1	1		1	1
489	VL1-51 I29V, N32G, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T, K54S, P56A					2		2	
		特異的結合：(CXCR1細胞のAFU中央値/親細胞のAFU中央値)							

【０７００】

実施例14

極めて長いCDR3、例えば、非抗体配列を含む極めて長いCDRを含む抗体を、(例えば、フローサイトメトリーを介して)非抗体配列の結合パートナーとの結合について、かつ／または(例えば、細胞ベースの発光アッセイを介して)活性化について、当技術分野において公知の方法によって評価することができる。

【０７０１】

例示的な方法において、CXCR1受容体のIL-8による活性化を、上記のCXCR1-U2OS DiscoveRx細胞(カタログ番号93-0226C3、DiscoveRx)を使用して試験した。リガンドによる活性化によって、結果としてのβアレスチンのGPCRへの動員が、細胞株に存在する発光レポーター酵素の活性化も引き起こすよう、DiscoveRx細胞を操作した。溶解試薬および発光基質は、製造業者の説明書に従って使用されたPathHunter Detection Kit(カタログ番号93-001、DiscoveRx)に含まれている。U2OS-CXCR1細胞を、1ウェル当たり15,000細胞で播種し、血清を含まないEMEM培地において一晩血清飢餓培養した。次に、培地を除去し、細胞を、IL-8もしくはCDR3へのIL-8挿入を含むIgGまたは対照抗体のいずれかの希釈物を含有している80μlの1:1 EMEMおよびPBSと共に37℃で1時間インキュベートした。1時間後、40μlのPathHunter Detection試薬ミックスを添加した。その後、室温での1時間の後、各ウェル内の発光を発光プレートリーダを使用して測定した。より高い発光シグナルは、IL-8またはIgGの試験された濃度におけるCXCR1受容体のより多くの活性化を明らかにする。IgGは、実施例4のトランスフェクション法をスケールアップし、製造業者の説明書に従ってプロテインAセファロース(カタログ番号17-1279-03 GE Healthcare)を使用して培地からIgGを精製し、溶出後、PBSに対して透析することによって精製された。タンパク質収量をA280によって決定し、モル吸光係数を計算した。表22のヒト化抗体を発現させ、CXCR1の活性化について試験した。

【０７０２】

（表２２）

BID番号	HC SEQ ID NO:	重鎖:	LC SEQ ID NO:	軽鎖
34	432	VH4-34+CDR3-IL8_CDR1-Cow	443	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L
35	436	VH4-34+CDR3-IL8_CDR1-Cow _CDR2-Cow	456	VL1-51
36	436	VH4-34+CDR3-IL8_CDR1-Cow _CDR2-Cow	443	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L
37	439	VH4-34+CDR3-IL8_CDR1-G31DY32K _CDR2-E50S	486	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G ,A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T
38	493	VH4-34+CDR3-IL8_CDR1-G31DY32K _CDR2-E50S_Q5RQ6E	486	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G ,A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T
39	436	VH4-34+CDR3-IL8_CDR1-Cow _CDR2-Cow	486	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G ,A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T
43	494	VH4-34+CDR3-IL8_CDR1-Cow _Q5RQ6E	486	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G ,A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T
42	393	BLV1H12 Hc	474	ウシ ULVL, ヒトλC

【０７０３】

表23および24に示されるように、細胞を、増加する濃度のIL-8(遊離のIL-8対照または上記の抗体のCDR3内のIL-8のいずれか)によって処理した。CDR3-IL8を含むIgGは、CDR3-IL8を含まないIgGより有意に多くCXCR1を活性化した。IL-8処理の濃度は、CDR3-IL-8を含むIgGが各々2個のIL-8ドメインを与えると理解して、プロットされている。

【０７０４】

（表２３）CDR3-IL-8を含むヒト化IgGによるCXCR1活性化

		BID番号				
		37	38	39	(IL-8)	42
	IgG nM	VH4-34 MutC IL-8 31D32K50S	VH4-34 MutE IL-8 5R6E31D32K50S	VH4-34 MutD IL-8 CDR1cow CDR2cow	IL-8	BLV1H12
nM IL-8ドメイン	100	15490 ± 7356	25920 ± 10105	21618 ± 5915	70182 ± 19176	5732
	25	11187 ± 2377	21049 ± 4878	15446 ± 2884	50500 ± 5922	5729
	6.25	7162 ± 1128	13509 ± 2708	10246 ± 252	28583 ± 3700	5776
	1.6	5712 ± 552	8161 ± 570	7398 ± 432	12230 ± 273	5820
	0.4	5419 ± 270	6188 ± 560	6307 ± 622	6527 ± 245	6485

【０７０５】

（表２４）CDR3-IL-8を含むヒト化IgGによるCXCR1活性化

		BID番号			
		36	43	42	(IL-8)
	IgG nM	VH4-34 MutB IL-8 CDR1cow CDR2cow	VH4-34 MutF IL-8 5R6E CD1cow	BLV1H12	IL-8
nM IL-8ドメイン	100	12253 ± 5812	18038 ± 9947	4347 ± 601	53969 ± 20263
	25	9552 ± 2569	14550 ± 4095	4747 ± 747	42188 ± 12385
	6.25	6166 ± 1377	10524 ± 1991	4546 ± 105	22259 ± 6430
	1.6	4991 ± 97	6407 ± 1086	4497 ± 437	8729 ± 1731
	0.4	4974 ± 398	5187 ± 468	4641 ± 698	4926 ± 760

【０７０６】

実施例15

極めて長いCDR3を含む、ヒト化生殖系列配列、例えば、修飾されたヒト生殖系列配列を、極めて長いCDR3、例えば、非抗体配列を含む極めて長いCDRの発現を可能にする配列を同定し特徴決定するため、当技術分野において公知の方法によって評価することができる。

【０７０７】

実施例3に記載されたように、PCR鎖オーバーラップ伸張によって、1対のBsaI部位(SEQ ID NO:768)を有するヌクレオチド配列を、BLV1H12のCDR3をコードするヌクレオチド配列へ導入した(SEQ ID NO:395)。次いで、この配列を、制限酵素EcoRIおよびNheIを使用して、HC pFuseベクター(SEQ ID NO:458)内のシグナル配列とヒトIgG1のCH1-CH2-CH3をコードするヌクレオチド配列との間にインフレームでサブクローニングした。BsaI部位を含有しているヌクレオチド配列を、CDR3の上流ストーク部分(SEQ ID NO:498)およびCDR3の下流ストーク部分(SEQ ID NO:499)を発現するコドンの間に位置付け、CDR3内の上流ストークおよび下流ストークとインフレームでのヌクレオチド配列のさらなる挿入を可能にした。

【０７０８】

例えば、様々なリンカーを、CDR3の上流ストーク部分および下流ストーク部分とインフレームでサブクローニングすることができ、そのようなリンカー配列は、それ自体、例えば、より精巧なリンカー、抗体ノブライブラリー(例えば、ウシノブライブラリー)、または非抗体配列のさらなる挿入のために再び使用され得るBsaI部位を有し得る。

【０７０９】

例示的な態様において、CDR3の上流ストーク部分および下流ストーク部分とインフレームでのBsaI部位への定方向クローニングによって、CDR3にBsaI部位を含むBLV1H12(SEQ ID NO:395)をコードする重鎖ベクターのBsaI部位間へ挿入するための配列を設計した。新しいリンカーの間へのその後の挿入のために有用な新しい内部BsaI部位対に隣接するリンカー配列をコードするヌクレオチドを合成した(IDTDNA,Inc.)。これらのリンカー-BsaI-リンカー配列を、CDR3にBsaI部位を有するBLV1H12(SEQ ID NO:395)へ導入して、CDR3へのさらなる挿入のためのBLV1H12-CDR3-リンカー-BsaIベクター(SEQ ID NO:757～767)を作製した。一例において、BsaI含有ヌクレオチド配列は、

GAGACCTACTATGGTTCGGGTCTC (SEQ ID NO: 768)

であった。もう一つの例において、BsaI含有ヌクレオチド配列は、

GAGACCTACTATGGTTCAGGGTCTC (SEQ ID NO: 769)

であった。BsaI部位の周囲のリンカーは、CDR3の上流ストーク部分(SEQ ID NO:498)とCDR3の下流ストーク部分(SEQ ID NO:499)との間に、表25にリストされるように作製された。

【０７１０】

（表２５）IgGのCDR3への機能ドメインの挿入のためのBsaI部位を含むBLV1H12 CDR3内のリンカー

BLV1H12-CDR3-リンカー-BsaIベクター		上流リンカー		BsaI対	下流リンカー	
SEQ ID NO:	リンカー名	SEQ ID NO:	アミノ酸配列	SEQ ID NO:	SEQ ID NO:	アミノ酸配列
757	GGS1:1	579	GGS	768	579	GGS
758	GGS1:2	579	GGS	768	580	GGS GGS
759	GGS2:1	580	GGS GGS	768	579	GGS
760	GGS2:2	580	GGS GGS	768	580	GGS GGS
761	GGS2:3	580	GGS GGS	768	581	GGS GGS GGS
762	GGS2:4	580	GGS GGS	768	582	GGS GGS GGS GGS
763	GGS3:2	581	GGS GGS GGS	768	580	GGS GGS
764	GGS3:3	581	GGS GGS GGS	768	581	GGS GGS GGS
765	GGS4:2	582	GGS GGS GGS GGS	768	580	GGS GGS
766	G4Sx1	723	GGGGS GG	769	575	GGGGS
767	G4Sx3	724	GGGGS GGGGS GGGGS GG	769	577	GGGGS GGGGS GGGGS

【０７１１】

MOKA毒素をコードする配列(SEQ ID NO:727；SEQ ID NO:806)を、BLV1H12-CDR3-リンカー-BsaIベクターのGGS1:1バージョン、GGS1:2バージョン、GGS2:1バージョン、GGS2:2バージョン、およびGGS3:3バージョン(SEQ ID NO:757～760、764)へ挿入して、多様なリンカーによってCDR3にMOKA毒素を発現するBLV1H12重鎖ベクターを作製した(SEQ ID NO:770～774)。BLV1H12のCDR3におけるこれらのMOKAおよびリンカーの組み合わせを、実施例4に記載されたように、IgGの発現のため、ウシULVL-ヒトλC(SEQ ID NO:474；SEQ ID NO:807)と対形成させた。全てのバージョンが、十分に発現することが見出され(例えば、表26および27のMoka構築物を参照すること)、GGS3:3リンカーバージョン(SEQ ID NO:774)を、実施例4に記載されたように、大規模トランスフェクションのため、ウシULVL-ヒトλC(SEQ ID NO:474；SEQ ID NO:807)と対形成させ、実施例6および14に記載されたように精製した(例えば、図20、BID番号33を参照すること)。

【０７１２】

（表２６）BLV1H12のCDR3に毒素ドメインを含む抗体の発現収量

BID番号	BLV1H12内のCDR3インサート:	nM
201	GGS1:1 ProTxII	1.0
202	GGS1:2 ProTxII	0.7
203	GGS2:1 ProTxII	-0.1
208	GGS1:1 GG-ProTxII-GG	1.0
209	GGS1:2 GG-ProTxII-GG	1.1
210	GGS2:1 GG-ProTxII-GG	3.4
204	GGS1:1 Moka	30.5
205	GGS1:2 Moka	47.9
206	GGS2:1 Moka	28.4

【０７１３】

（表２７）BLV1H12のCDR3に毒素ドメインおよびリンカーの組み合わせを含む抗体の発現収量

BID 番号	BLV1H12内のCDR3 インサート:	上流リンカー	毒素	下流リンカー	nM
201	GGS 1:1 ProTxII	GGS	ProTxII	GGS	-2
202	GGS 1:2 ProTxII	GGS	ProTxII	GGSGGS	-1
203	GGS 2:1 ProTxII	GGSGGS	ProTxII	GGS	-2
204	GGS 1:1 Moka	GGS	G-Moka	GGS	106
205	GGS 1:2 Moka	GGS	G-Moka	GGSGGS	74
206	GGS 2:1 Moka	GGSGGS	G-Moka	GGS	99
207	GGS 3:3 Moka	GGSGGSGGS	G-Moka	GGSGGSGGS	81
208	GGS 1:1 GG-ProTxII-GG	GGSGG	ProTxII	GGGGS	-1
209	GGS 1:2 GG-ProTxII-GG	GGSGG	ProTxII	GGGGSGGS	-2
210	GGS 2:1 GG-ProTxII-GG	GGSGGSGG	ProTxII	GGGGS	-1
211	GGS 2:2 ProTxII	GGSGGS	ProTxII	GGSGGS	-1
212	GGS 2:4 ProTxII	GGSGGS	ProTxII	GGSGGSGGSGGS	-1
213	GGS 4:2 ProTxII	GGSGGSGGSGGS	ProTxII	GGSGGS	3
214	GGS 2:2 GG-ProTxII-GG	GGSGGSGG	ProTxII	GGGGSGGS	0
215	GGS 2:3 GG-ProTxII-GG	GGSGGSGG	ProTxII	GGGGSGGSGGS	-1
216	GGS 2:4 GG-ProTxII-GG	GGSGGSGG	ProTxII	GGGGSGGSGGSGGS	0
217	GGS 3:2 GG-ProTxII-GG	GGSGGSGGSGG	ProTxII	GGGGSGGS	-1
218	GGS 3:3 GG-ProTxII-GG	GGSGGSGGSGG	ProTxII	GGGGSGGSGGS	0
219	GGS 4:2 GG-ProTxII-GG	GGSGGSGGSGGSGG	ProTxII	GGGGSGGS	4
42	BLV1H12	n/a	n/a	n/a	76

【０７１４】

ShK毒素(SEQ ID NO:648；SEQ ID NO:808)、ProTxII(SEQ ID NO:640；SEQ ID NO:809)、GPTX毒素(SEQ ID NO:655；SEQ ID NO:810)、変異P12、K16、D20を有するOSK1毒素(SEQ ID NO:728；SEQ ID NO:811)、ならびに変異K16およびD20を有するOSK1毒素(SEQ ID NO:729；SEQ ID NO:812)をコードする配列を、BLV1H12-CDR3-G4Sx3-BsaI(SEQ ID NO:767)のBsaI部位へ導入して、$(G_4S)_3$リンカーが隣接しているBLV1H12のCDR3内のこれらの毒素の各々(SEQ ID NO:775～779)を作製した。これらの重鎖を、ウシULVL-ヒトλC(SEQ ID NO:474；SEQ ID NO:807)と対形成させ、実施例4に記載されたようにトランスフェクトした。結果としてのIgGの上清中の収量を、実施例4と同様に決定し、表27に提示した。ウシに由来するJ領域を、最も類似したヒトJ領域(SEQ ID No 14および15と類似)に交換して、BLV1H12-CDR3-G4Sx3-BsaI(SEQ ID NO:767)を修飾するため、鎖オーバーラップ伸長を使用した。ShK毒素(SEQ ID NO:648；SEQ ID NO:808)、ProTxII(SEQ ID NO:640；SEQ ID NO:809)、GPTX毒素(SEQ ID NO:655；SEQ ID NO:810)、変異P12、K16、D20を有するOSK1毒素(SEQ ID NO:782；SEQ ID NO:811)、ならびに変異K16およびD20を有するOSK1毒素(SEQ ID NO:729；SEQ ID NO:812)をコードする配列を、BLV1H12-ヒトJ-CDR3-G4Sx3-BsaI

(caggtccagctgagagagagcggcccttcactggtcaagccatcccagacactgagcctgacatgcacagcaa
gcgggttttcactgagcgacaaggcagtgggatgggtccgacaggcaccaggaaaagccctggaatggctggg
cagcatcgataccggcgggaacacagggtacaatcccggactgaagagcagactgtccattaccaaggacaac
tctaaaagtcaggtgtcactgagcgtgagctccgtcaccacagaggatagtgcaacttactattgcacctctgtgcac
caggaaactaagaaataccagagcggtggaggaggttctggaggcggtggaagtggtggcggaggtagcgga
ggatgagacctactatggttcagggtctctggaggtggtggatctggtggaggaggcagtggaggtggtggcagct
cttatacctacaattatgaatggcatgtggatgtctggggccaaggaaccctggtcaccgtctcctcagctagc
(SEQ ID NO: 957))

のBsaI部位へ導入して、ヒトJを含み(G4S)3リンカーが隣接しているBLV1H12のCDR3内のこれらの毒素の各々(図21および22のBID番号220～224)を作製した。これらの重鎖を、ウシULVL-ヒトλC(SEQ ID NO:474；SEQ ID NO:807)と対形成させ、実施例4に記載されたようにトランスフェクトした。結果としてのIgGの上清中の収量を実施例4と同様に決定し、表28に提示した。ヒトJ修飾を含まないBLV1H12 CDR3毒素構築物(SEQ ID NO:775～779)を、実施例4に記載されたように、大規模トランスフェクションのため、ウシULVL-ヒトλC(SEQ ID NO:474；SEQ ID NO:807)と対形成させ、実施例6および14に記載されたように精製した。

【０７１５】

（表２８）BLV1H2のCDR3内に毒素、長いリンカー、およびJ領域を含む抗体の発現収量

BID 番号	BLV1H12内のCDR3インサート:	J領域	nM IgG
220	3xG4S ProTxII	ヒト	10.7
221	3xG4S ShK毒素	ヒト	18.1
222	3xG4S OSK1 (K16, D20)	ヒト	26.1
223	3xG4S OSK1 (P12,K16,D20)	ヒト	33.4
224	3xG4S GPTX	ヒト	34.2
227	1:2GGS G-Moka	ウシ	54.2
228	3xG4S ProTxII	ウシ	22.4
229	3xG4S ShK毒素	ウシ	32.7
230	3xG4S OSK1 (K16,D20)	ウシ	19.5
231	3xG4S OSK1 (P12,K16,D20)	ウシ	27.9
232	3xG4S GPTX	ウシ	36.9
42	BLV1H12	ウシ	50.9

【０７１６】

例えば、オーバーラップPCRを使用して、BLV1H12内の毒素インサートを、ヒト化抗体におけるこれらの毒素の発現および試験のため、VH4-34重鎖の記載された変種のいずれか、または他の所望のヒトVH領域もしくは修飾されたヒトVH領域へグラフトすることができる。

【０７１７】

実施例16

極めて長いCDR3、例えば、非抗体配列(例えば、毒素)を含む極めて長いCDRを含む抗体を、当技術分野において公知の方法によって(例えば、細胞ベースの阻害アッセイを介して)評価することができる。

【０７１８】

ShK毒素(SEQ ID NO:779)またはMOKA毒素(SEQ ID NO:774)を発現する抗体を、実施例4に記載された方法を使用して、実施例15において発現させ、実施例6および14に記載されたように精製した。これらの毒素は、両方とも、T細胞刺激のために必要とされる活性を有

するKV1.3を阻害することが報告されている。本発明者らは、IgGのCDR3内に発現されたときの、これらの毒素の、遊離の毒素と同様にT細胞の刺激を阻害する能力を評価しようと努力した。

【０７１９】

T細胞刺激をアッセイするため、T細胞を末梢血単核細胞から精製し培養した。ヒト血液を、ドナーから、凝固を防止するためEDTAによって前処理された無菌収集チューブへ収集した。各15mlの血液は、およそ10^7個の末梢血単核細胞(PBMC)および5×10^6個のT細胞を与えた。次いで、15mLの血液試料体積を、20mLのPBS中の2mM EDTAを含有している50mLチューブへ移した。14mLのLymphocyte Separation Media(Corning、カタログ番号：25-072-CI)を、各チューブの底へ静かにピペットで移して、希釈された血液試料の下にフィコールのクリーンな層を作出した。次に、試料を、室温で400×gのスイングバケットローターにおいて35分間遠心分離した。遠心分離機の減速中は、緩衝液-フィコール界面およびこの界面に濃縮されたPBMCの破壊を最小化するため、ブレーキをかけなかった。分離されたPBMCを、30mLのPBS中の2mM EDTAを含有している新しい50mLコニカルチューブへ注意深くピペットで移した。これらのチューブを、過剰の血小板を除去するため、室温で300×gで10分間遠心分離した。これ以降の遠心分離には、ブレーキを再適用した。上清を吸引し、ペレットを、30mLのPBS中の2mM EDTAに再懸濁させた。試料を、付加的な血小板除去のため、室温で200×gで10分間遠心分離した。上清を吸引し、ペレットを、5mLのT細胞培地(1%100×ペニシリン／ストレプトマイシン／グルタミン、10%熱不活化FBS、25mM HEPES 10uM 2-メルカプトエタノールを含むRPMI培地)に再懸濁させ、結果としてのPBMCが濃縮された画分において細胞を計数した。

【０７２０】

PBMCからT細胞を精製するため、磁気ビーズに基づく単離キットを使用した(Dynabeads Untouched Human T-cells、カタログ番号11344D、Invitrogen)。1×10^7個のPBMCを、臨床用の遠心分離機において5分間スピンすることによって15mLコニカルチューブにおいてペレット化した。細胞を4℃または氷上に維持するという修飾を加えて、上記の細胞数に調整して、製造業者の説明書に従った。単離された細胞を、2.5mLのT細胞培地に再懸濁させ、培養フラスコへ移した。

【０７２１】

T細胞を活性化するため、96穴プレートを、1ウェル当たり100ulのPBS中の1ug/ml抗CD3(Ebiosciences、カタログ番号160037-81)によって、4℃で一晩コーティングした。プレートを空にし、37℃で1時間、5%血清を含有しているT細胞培地によってブロッキングした。もう一つのプレートにおいて、T細胞を、活性化の前に1.5時間、CDR3にShK毒素またはMOKA毒素のいずれかを有しているIgGによって前処理した。10%血清を含むT細胞培地中の1ウェル当たり8×10^4個の細胞を、100ulの最終体積で、PBS中のIgGと1:1で合わせた。抗CD28抗体(クローンCD28.6、カタログ番号16-0288-81、Ebiosciences)をT細胞培地(5%血清)で10ug/mlに希釈した。10ulを、IgGと共に予めインキュベートされたT細胞の各ウェルへ移した。ウェルを混合し、100ulのT細胞、試験IgG、抗CD28の混合物を抗CD3によってコーティングされたプレートへ移し、37℃で20時間インキュベートした。インキュベーションの後、上清をT細胞活性化のマーカー：分泌されたTNFαおよびIL-2についてアッセイした。T細胞上清中のTNFαをアッセイするため、Human TNFα ELISA Read-SET-Go!(カタログ番号：88-7346-22、eBioscience)キットを製造業者の説明書に従って使用した。T細胞上清中のIL-2を、TMB基質(BioFX Laboratories、カタログ番号：TMBS-1000-01)を使用したシグナル検出のため、マウス抗hIL-2(カタログ番号MAB602、R&D Systems)捕捉抗体、ウサギ抗hIL-2(Abcam、カタログ番号ab9618)検出抗体、およびヤギ抗ウサギIgG-HRP(Jackson ImmunoResearch、カタログ番号111-035-144)を使用したサンドイッチELISAによってアッセイした。T細胞活性化を、細胞培養培地中へ分泌されたTNFαまたはIL-2のELISAによって測定した。CDR3にShK毒素(SEQ ID NO:779)またはMOKA毒素(SEQ ID NO 774)のいずれかを有するBLV1H12 IgGの変動する濃度の存在下でのT細胞活性化の結果をプロットし、EC_{50}濃度を決定するため、データを、KaleidaGraph(Synergy Software,Reading PA)を使用し

て、4パラメータシグモイド用量応答曲線に適合させた(表29)。実験を三連で行い、複数のT細胞ドナーによって繰り返した。未刺激T細胞を陰性対照として試験し、抗体によって処理されていない刺激されたT細胞を陽性対照として試験した。各毒素について、TNFαまたはIL-2の各々について、各ドナーについて、別々にEC_{50}濃度を計算した。

【０７２２】

（表２９）IgGのCDR3内の毒素についてのEC50

			EC_{50} (nM)
ShK 毒素 IgG	TNFα	ドナー１	6.5
		ドナー２	0.2
	IL-2	ドナー１	0.1
		ドナー２	0.03
MOKA 毒素 IgG	TNFα	ドナー１	19.3
		ドナー２	38.2
	IL-2	ドナー１	14.4
		ドナー２	40.2

【０７２３】

実施例17

極めて長いCDR3、例えば、非抗体配列を含む極めて長いCDRを含む抗体を、当技術分野において公知の方法によって評価することができる。例えば、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体をコードするポリヌクレオチドを、当技術分野において公知の方法によって、宿主細胞において、発現、例えば、一過性発現させることができる。極めて長いCDR3、例えば、非抗体配列を含む極めて長いCDRを含む例示的なヒト化抗体配列を、発現させ特徴決定した。

【０７２４】

MOKA毒素について実施例15に記載されたように、多様なリンカーによってCDR3にProTxII毒素を発現するBLV1H12重鎖ベクター(図21のBID 201～203、211～213)を作製するため、ProTxII(SEQ ID NO:640；SEQ ID NO:809)をコードする配列を、BLV1H12-CDR3-リンカー-BsaIベクターのバージョン(SEQ ID NO:757～760、762、765)へ挿入した。さらに、多様なリンカーによってCDR3にProTxII毒素を発現するBLV1H12重鎖ベクター(図21のBID 208～210、214～219)を作製するため、毒素のn末端側およびc末端側に2個のグリシン残基の付加を含むProTxIIをコードする配列を、BLV1H12-CDR3-リンカー-BsaIベクターのバージョン(SEQ ID NO:757～765)へ同様に挿入した。BLV1H12のCDR3内のこれらのProTxIIおよびリンカーの組み合わせを、ウシULVL-ヒトλC(SEQ ID NO:474；SEQ ID NO:807、図22を参照すること)と対形成させ、実施例4に記載されたようにトランスフェクトした。実施例4と同様に、結果としてのIgGの上清中の収量を決定し、表26および27に提示した。

【０７２５】

実施例18

極めて長いCDR3、例えば、非抗体配列を含む極めて長いCDRを含む抗体を、当技術分野において公知の方法によって評価することができる。例えば、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体をコードするポリヌクレオチドを、当技術分野において公知の方法によって、宿主細胞において、発現、例えば、一過性発現させることができる。極めて長いCDR3、例えば、非抗体配列を含む極めて長いCDRを含む例示的なヒト化抗体配列を、発現させ特徴決定した。

【０７２６】

CDR3内に3xG4Sリンカーまたは1xG4Sリンカーのいずれかが隣接しているIL8を含むBLV1H12を発現する重鎖(図21のBID 45および46)を作製するため、BLV1H12-CDR3-G4Sx3-BsaI(SEQ ID NO:767)およびBLV1H12-CDR3-G4Sx1-BsaI(SEQ ID NO:766)のBsaI部位へ、IL-8をコードする配列(SEQ ID NO:475)を導入した。これらを、BLV1H12重鎖(SEQ ID NO:395)のCDR3内のBsaI部位へのIL-8(SEQ ID NO:475)の挿入によって作成された、より短いリンカーを

有する最初のBLV1H12 IL-8と比較した。これらの3種のIL-8重鎖を、全て、実施例4に記載されたように、大規模トランスフェクションのため、ウシULVL-ヒトλC(SEQ ID NO:474；SEQ ID NO:807)と対形成させ、実施例6および14に記載されたように精製した。これらのタンパク質を、実施例14において発現され精製されBID番号34～39、42、および43として表22にリストされた全てのヒト化抗体、ならびに実施例16において使用されたMOKA抗体との比較のため、SDS-PAGEゲルにロードし、クーマシー染色した。表30は、精製後のIgG発現収量を示す。BLV1H12抗体(図21および22のBID 42)、BLV1H12-IL8(図21および22のBID 44)、およびヒト化IgG(表22にリストされたBID 38)の還元試料および非還元試料の両方によるSDS-PAGE後のクーマシー染色によって、発現が確認された。

【０７２７】

（表３０）CDR3に毒素を含む抗体の発現収量

BID	CDR3インサートを含むIgG	収量（nM）
46	BLV1H12 HC CowV, CDR3 IL-8, 3xG4S	235
45	BLV1H12 HC CowV, CDR3 IL-8, 1xG4S	313
42	BLV1H12	1100
44	BLV1H12 HC CowV, CDR3 IL-8,	796
38	VH4-34 MutE IL-8 5R6E31D32K50S	436
43	VH4-34 MutF IL-8 5R6E CD1cow	476
39	VH4-34 MutD IL-8 CDR1cow CDR2cow	335
36	VH4-34 IL-8 CDR1cow CDR2cow	281
37	VH4-34 MutE IL-8 31D32K50S	259
34	VH4-34 MutA IL-8 CD1Cow	258
35	VH4-34 IL-8 CDR1cow CDR2cow	208
33	Moka 3:3	483

【０７２８】

実施例19

極めて長いCDR3、例えば、非抗体配列を含む極めて長いCDRを含む抗体を、当技術分野において公知の方法によって(例えば、活性化アッセイ、細胞ベースの発光アッセイ、動的光散乱(DLS)を介して)評価することができる。

【０７２９】

実施例14に記載されたように、CDR3に埋め込まれたIL-8を有するIgGによるCXCR1活性化を、CXCR1-U2OS DiscoveRx細胞およびPathHunter Detection Kitを使用して実施した。ここでは、CDR3に埋め込まれたIL-8を有するヒト化VH4-34 IgG(図21および22のBID 38および43)を、可溶性IL-8を陽性対照、BLV1H12 IgG(図21および22のBID 42)を陰性対照として、最初のBLV1H12-IL8(図21および22のBID 44)と比較する。試験されたIgGまたはIL-8の各濃度での発光を、表31に提示する。ヒト化VH4-34抗体およびBLV1H12骨格の溶解度および単分散度を比較査定するため、本発明者らは、精製されたIgG試料に対して動的光散乱(DLS)を実施した。使い捨てキュベットを使用して、Wyatt Dyna Pro TitanにおいてDLSを実行した。レーザー出力を、毎秒100,000～1,000,000カウントの強度を与えるよう調整した。各試料を、各測定について10回測定し、10の測定を行った。表32は、DLS研究の結果を要約し、試料中の粒子の半径(nM)をリストしている。BID 43のみが、試料中に2つの異なる粒子サイズを有していたが、いずれも抗体について予想されるよりはるかに大きい半径を有していた。

【０７３０】

（表３１）ヒト化IgGによるCXCR1のCDR3-IL-8による活性化

			BID番号			
			38	43	44	42
	IgG nM	可溶性IL-8	VH4-34 MutE IL-8 5R6E31D32K50S	VH4-34 MutF IL-8 5R6E CD1cow	BLV1H12-IL8	BLV1H12
nM IL-8ドメイン	200	50410 ±5819	22309 ±4546	25033 ±1218	32163 ±331	3104 ±110
	44	54082 ±12683	23287 ±5576	24050 ±3024	32601 ±7899	3291 ±50
	9.9	50313 ±16599	17087 ±5177	21935 ±4874	25342 ±9111	3489 ±199
	2.2	25708 ±9802	10321 ±3172	13518 ±2311	17599 ±5140	3711 ±221
	0.5	9791 ±3223	5296 ±582	6615 ±736	9942 ±3804	3681 ±15
	0.1	4201 ±447	4063 ±121	4181 ±116	4520 ±457	3744 ±298

【０７３１】

（表３２）IgG IL-8についてのDLSデータ

IgG	BID番号	R(nm)	Pd%	量%
BLV1H12	42	8.3	9.6	84.9
BLV1H12 CDR3 IL-8	44	5.7	10.9	99.8
VH4-34 MutE IL-8 5R6E31D32K50S	38	6.4	10.9	99.9
VH4-34 MutF IL-8 5R6E CD1cowピーク1	43	36.3	6	36.8
VH4-34 MutF IL-8 5R6E CD1cowピーク2	43	3260	2.9	63.2

【０７３２】

実施例20

極めて長いCDR3、例えば、非抗体配列を含む極めて長いCDRを含む抗体を、当技術分野において公知の方法によって評価することができる。例えば、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体をコードするポリヌクレオチドを、当技術分野において公知の方法によって、宿主細胞において、発現、例えば、一過性発現させることができる。極めて長いCDR3、例えば、非抗体配列を含む極めて長いCDRを含む例示的なヒト化抗体配列を、発現させ特徴決定した。

【０７３３】

BLV1H12-CDR3において以前に発現させた数種のCDR3インサートを、PCRによって増幅し、VH4-34 Mut EのCDR3へ挿入するため、オーバーラップPCRアプローチを使用して接合して、重鎖VH4-34 MutE 3xG4S IL-8(図21のBID 47)、VH4-34 MutE 3xG4S ShK(図21のBID 48)、VH4-34 MutE 3xGGS MOKA(図21のBID 49)、VH4-34 MutE 3xG4S ProTxII(図21のBID 53)、VH4-34 MutE 3xG4S GPTX(図21のBID 54)、VH4-34 MutE 3xGGSノブなし(図21のBID 55)、VH4-34 MutE 1xG4S ShK(図21のBID 56)、VH4-34 MutE 1xG4S ShK 16K(図21のBID 57)、およびVH4-34 MutE 3xG4S ShK 16K(図21のBID 58)をコードする配列を作製した。重鎖をコードするこれらのベクターを、実施例4に記載されたように、大規模トランスフェクションのため、軽鎖VL1-51 S2A T5N P8S A12G A13S P14L K46R L47T D51G N52D N53LK(SEQ ID NO:486、図22を参照すること)と対形成させ、実施例6および14に記載されたように精製した。BID 53～58からの試料に対してSDS-PAGEおよびクーマシー染色を実施し、発現を確認した。

【０７３４】

実施例21

極めて長いCDR3、例えば、非抗体配列を含む極めて長いCDRを含む抗体を、当技術分野において公知の方法によって評価することができる。例えば、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体をコードするポリヌクレオチドを、当技術分野において公知の方法によって、宿主細胞において、発現、例えば、一過性発現させることができる。極めて長いCDR3、例えば、非抗体配列を含む極めて長いCDRを含む例示的なヒト化抗体配列を、発現させ(例えば、HPLC、DLS、およびDSFを介して)特徴決定した。

【０７３５】

オーバーラップPCRアプローチを使用して、BLV1H12(SEQ ID NO:395)のCDR3をコードするヌクレオチド配列内のBsaI部位対を、VH4-34 MutEのCDR3をコードするヌクレオチド配列

(caggtgcagctaagagagtggggcgcaggactgttgaagccttcggagacgctgtccctcacctgcgctgtctatggtgggtccttcagtgacaagtactggagctggattcgccagcccccagggaaggggctggagtggattgggagcatcaatcatagtggaagcaccaactacaacccgtccctcaagagtcgagtcaccatatcagtagacacgtccaagaaccagttctccctgaagctgagctctgtgaccgccgcggacacggctgtgtattactgtacctctgtgcaccaggaaactaagaaataccagagcgagacctactatggttcgggtctctcttatacctacaattatgaatggcatgtggatgtctggggacagggcctgctggtgacagtctctagtgctagc (SEQ ID NO: 957))

へ組み入れた。次いで、様々なリンカー配列をコードするオリゴヌクレオチドを使用して、ShK毒素配列(SEQ ID NO:648)を増幅し、ShK毒素(SEQ ID NO:648)および隣接リンカーをコードする得られた配列を、VH4-34MutE-CDR3-BsaIへ導入して、VH4-34 MutE CDR3(図21のBID 48、104、56 66、65、67、61、60、および59)内のShK毒素に隣接する一連の次第に短くなるリンカー、およびノブの代わりに3xGGSを含むストークのみをコードするVH4-34 MutE(図21のBID 55)を作製した。重鎖をコードするこれらのベクターを、以下の修飾を加えて、実施例4に記載されたように、大規模トランスフェクションのため、軽鎖VL1-51 S2A T5N P8S A12G A13S P14L K46R L47T D51G N52D N53LK(SEQ ID NO:486、図22を参照すること)と対形成させ、実施例6および14に記載されたように精製した。細胞培養上清を5000×gで10分間スピンすることによって細胞から分離した。Protein A sepharose Fast Flow(GE Healthcare、番号17-1279-03)を使い捨てカラムへ分配した。樹脂の量は増殖のサイズによって決定された。樹脂を、20カラム体積の1×PBS(137mM NaCl、2.7mM KCl、10mMリン酸水素ナトリウム、2mMリン酸水素カリウム)で洗浄した。洗浄の後、IgGを含有している上清を、樹脂の製造業者の規格を越えないよう流速をモニタリングしながら、樹脂へロードした。その後、20カラム体積の1×PBSでの洗浄を実施し、タンパク質を0.7Mアルギニン緩衝液(pH4.3)を使用して、カラムから溶出させた。タンパク質を含有している画分を合わせ、1×PBSへ透析した。透析の後、タンパク質溶液を0.2μm PES膜で濾過した。試料を4℃で保管した。

【０７３６】

これらの精製されたIgGに対して、非還元条件でSDS-PAGEおよびクーマシー染色を実施し、還元条件でSDS-PAGEおよび銀染色を実施した。これらのIgGを、HPLC分析、動的光散乱(DLS)分析、および示差走査蛍光測定(DSF)へも供した。25℃に維持された3μMビーズサイズカラムを含むSepax Zenix-C SEC-300(7.8×300mm)を含むAgilent 1100において、HPLCを実行した。ランニング緩衝液は、1mL/分の流速での0.28M KPiおよび0.3M KCl(pH6.9)であった。各試料について20μLの試料の注入を実施した。試料を280nmにおいてモニタリングし、Agilentソフトウェアを使用して積分を達成した。表33に、各IgGについての溶出時間および%モノマーが示される。

【０７３７】

実施例19に記載されたように、使い捨てキュベットを使用して、Wyatt Dyna Pro Titanにおいて、DLSを実行した。レーザー出力を、毎秒100,000～1,000,000カウントの強度を

与えるよう調整した。各試料を、各測定について10回測定し、10の測定を行った。粒子の半径(ナノメートル)、多分散(%)、および示された半径の粒子についての量(%)の推定値が、表33に示される。

【０７３８】

励起のためのFAM(485nm)フィルタおよび放射のためのROX(625nm)フィルタを用いて、BioRad iQ5において、示差走査蛍光測定(DSF)を行った。分析プログラムを、25℃から出発し、100℃で停止して実行した。ステップは1℃間隔であり、ステップ間の待機時間は30秒であり、ステップでの待機の後、読み取りを行った。試料調製前に、300×Sypro Orange(Life Technologies、番号S6650)のストック溶液を作成した。1μLのこれを19μLの試料へ添加した。各試料を二連で実行した。対照試料は1×PBSであった。融解曲線が入手された後、曲線の導関数を得、融解遷移を割り当てた。溶解遷移温度は表33に示される。いくつかの融解遷移は決定不能(--)であった。

【０７３９】

（表３３）CDR3内にShK毒素を含むVH4-34 IgGについての生物物理学的データ

		HPLC データ		DLS データ			DSF データ		
BID 番号	VH4-34 MutE ShK	モノマー%	溶出時間	R (nm)	Pd%	量%	Tm1	Tm2	Tm3
48	3xG4S	95	8.215	4.2	10	98.6	66.8	73.6	80.4
104	2xG4S	93	8.229	5.2	6.5	99.4	67.1	--	--
56	1xG4S	88	8.391	6.1	9.7	91.5	67.3	--	--
66	GGGG-ShK-GGGG	68	8.742	7.1	10	79.4	67.5	73.7	80.9
65	GSGG-ShK-GGGG	72	8.749	4.8	9.7	94.5	67.5	73.7	80.9
67	GGG-ShK-GGG	64	8.824	4	0	91.5	67.5	73.7	80.9
61	GG-ShK-GG	72	8.888	6.6	7	95.7	67.5	73.7	--
60	G-ShK-G	70	8.774	5.1	10.6	51.9	67.5	73.7	--
59	リンカーなし	75	9.106	5.2	8	96.5	67.5	--	--
55	ノブなし	99	8.116	5.2	7.4	99.8	67.7	--	--

【０７４０】

実施例22

極めて長いCDR3、例えば、非抗体配列を含む極めて長いCDRを含む抗体を、当技術分野において公知の方法によって評価することができる。例えば、極めて長いCDR3を含むヒト化抗体をコードするポリヌクレオチドを、当技術分野において公知の方法によって、宿主細胞において、発現、例えば、一過性発現させることができる。極めて長いCDR3、例えば、非抗体配列を含む極めて長いCDRを含む例示的なヒト化抗体配列を、発現させ(例えば、SDS-PAGEを介して)特徴決定した。

【０７４１】

VH4-34 MutE 1xG4S ShK(図21のBID 56)およびVH4-34 MutEリンカーなしShK(図21のBID59)を、軽鎖(SEQ ID NO:486、図22を参照すること)と共に、実施例21に記載されたように、Freestyle293細胞から発現させ精製した。さらに、CHO-S細胞およびMAXfectinトランスフェクション試薬を、CHO-S細胞からVH4-34 MutE 1xG4S ShK(図21および22のBID 56)およびVH4-34 MutEリンカーなしShK(図21および22のBID59)を作製するため、製造業者の説明書(Invitrogen,Carlsbad CA)に従って使用した。実施例21に記載されたように、CHO-S細胞からの上清を精製した。CHO-S細胞および293F細胞から精製された試料を、SDS-PAGEおよび銀染色(図20)へ供した。重鎖の細胞型特異的な切断が、1xG4Sリンカーの場合には見られるが、リンカーなしShKでは見られない。

【０７４２】

実施例23

極めて長いCDR、例えば、非抗体配列(例えば、毒素)を含む極めて長いCDR3を含む抗体を、当技術分野において公知の方法によって(例えば、細胞ベースの阻害アッセイおよびELISAアッセイを介して)評価することができる。

【０７４３】

BLV1H12のCDR3内のKv1.3毒素OSK1、ShK、およびMOKAを、T細胞阻害についてアッセイした。BLV1H12 GLLV 3xG4S OSK1(K16,D20)(図21のBID 26/230)、BLV1H12 GLLV 3xG4S OSK1(P12,K16,D20)(図21のBID 27/231)、BLV1H12 GLLV 3xG4S ShK(図21のBID 29/229)、BLV1H12 GGS1:2 Moka(図21のBID 30/205)、BLV1H12 GGS2:1 Moka(図21のBID 31/206)、BLV1H12 GGS1:1 Moka(図21のBID 32/204)、およびBLV1H12 GGS3:3 Moka(図21のBID 33/207)重鎖を、各々、実施例4に記載されたように、大規模トランスフェクションのため、ウシULVL-ヒトλC(SEQ ID NO:474；SEQ ID NO:807、図22を参照すること)と対形成させ、実施例6および14に記載されたように精製した。3人の血液ドナーおよびTNF-α分泌のELISA測定によって、実施例16に記載されたように、T細胞阻害アッセイを実施した。応答は、ドナー間で、そして異なる毒素について、大きさが変動するが、表34における傾向は、IgG-CDR3毒素処理の濃度の増加が、より少ないTNF-α分泌をもたらすことを示す。

【０７４４】

（表３４）CDR3内にKv1.3阻害性毒素を含むBLV1H12 IgGによるT細胞阻害(TNF-α分泌についてのELISA)

TNF-α ELISA (A450)		BID番号						
		26	27	29	30	31	32	33
	[IgG]	BLV1H12 GLLV 3xG4S OSK1 (K16,D20)	BLV1H12 GLLV 3xG4S OSK1 (P12,K16,D20)	BLV1H12 GLLV 3xG4S ShK	BLV1H12 GGS1:2 Moka	BLV1H12 GGS2:1 Moka	BLV1H12 GGS1:1 Moka	BLV1H12 GGS3:3 Moka
ドナー1	150 nM	0.253 ± 0.071	0.171 ± 0.079	0.057 ± 0.008	0.209 ± 0.067	0.174 ± 0.006	0.114 ± 0.004	0.164 ± 0.005
	50 nM	0.556 ± 0.011	0.58 ± 0.146	0.056 ± 0.016	0.488 ± 0.075	0.329 ± 0.004	0.324 ± 0.029	0.295 ± 0.046
	17 nM	0.698 ± 0.049	0.651 ± 0.038	0.106 ± 0.002	0.609 ± 0.056	0.447 ± 0.048	0.383 ± 0.018	0.398 ± 0.02
	6 nM	0.641 ± 0.031	0.666 ± 0.019	0.133 ± 0.002	0.667 ± 0.031	0.51 ± 0.008	0.493 ± 0.005	0.487 ± 0.017
ドナー2	150 nM	0.027 ± 0.008	0.037 ± 0	0.034 ± 0	0.018 ± 0.004	0.027 ± 0.009	0.028 ± 0.005	0.024 ± 0.005
	50 nM	0.075 ± 0.005	0.097 ± 0.005	0.053 ± 0.018	0.028 ± 0.006	0.031 ± 0.002	0.073 ± 0.001	0.024 ± 0.006
	17 nM	0.094 ± 0.002	0.108 ± 0.012	0.042 ± 0.01	0.032 ± 0.002	0.031 ± 0.004	0.094 ± 0.007	0.032 ± 0.01
	6 nM	0.096 ± 0.009	0.121 ± 0.012	0.06 ± 0.01	0.053 ± 0.006	0.035 ± 0.007	0.115 ± 0.003	0.032 ± 0
ドナー3	150 nM	0.029 ± 0.003	0.037 ± 0	0.029 ± 0.005	0.034 ± 0.004	0.014 ± 0.004	0.03 ± 0	0.018 ± 0.002
	50 nM	0.102 ± 0.002	0.122 ± 0.012	0.057 ± 0.014	0.056 ± 0	0.023 ± 0.01	0.093 ± 0.011	0.028 ± 0.006
	17 nM	0.144 ± 0.039	0.168 ± 0.01	0.066 ± 0.028	0.063 ± 0.004	0.028 ± 0.003	0.129 ± 0.016	0.044 ± 0.001
	6 nM	0.159 ± 0.003	0.191 ± 0.02	0.07 ± 0.012	0.075 ± 0.007	0.043 ± 0.008	0.175 ± 0.002	0.053 ± 0.006

【０７４５】

実施例24

極めて長いCDR3、例えば、非抗体配列を含む極めて長いCDRを含む抗体を、当技術分野において公知の方法によって(例えば、T細胞活性化アッセイまたは阻害アッセイを介して

)評価することができる。

【０７４６】

Kv1.3毒素ShKおよびMOKAを、T細胞阻害活性について試験し、BLV1H12、VH4-34 MutE(IgG 38の変異)、またはVH4-34 MutF(IgG 43の変異)における発現の効果を比較した。

【０７４７】

オーバーラップPCRアプローチを使用して、3xG4S ShKまたは3xGGS MOKAをコードする配列を、IL-8と交換して、VH4-34+CDR3-IL8_CDR1-ウシ_Q5RQ6E(SEQ ID NO：494)へ挿入し、それぞれ、VH4-34 MutF 3xG4S ShK(図21のBID50)およびVH4-34 MutF 3xGGS MOKA(図21のBID52)を作製した。これらの重鎖をコードする配列を、実施例4に記載されたように、大規模トランスフェクションのため、軽鎖VL1-51 S2A T5N P8S A12G A13S P14L K46R L47T D51G N52D N53LK(SEQ ID NO:486、図22を参照すること)と対形成させ、実施例6および14に記載されたように精製した。同一の軽鎖を使用して、実施例21に記載されたように、VH4-34 MutE 3xG4S ShK(図21および22のBID48)IgGを作製し、精製し、実施例20に記載されたように、VH4-34 MutE 3xGGS MOKA(図21および22のBID49)IgGを作製し、精製した。実施例23に記載されたように、BLV1H12 3xG4S ShK IgGおよびBLV1H12 GGS3:3 Moka IgGを作製した。実施例14に記載されたように、BLV1H12 IgGを作製した。これらのIgGを、表35に示されるように、T細胞の活性化または阻害の尺度として、分泌されたIL-2およびTNF-αのELISAを使用して、実施例16に記載されたようにT細胞阻害について試験した。この実験の反復が、表36に示される。

【０７４８】

（表３５）CDR3内にKv1.3阻害性毒素を含むVH4-34 IgGによるT細胞阻害(IL-2およびTNF-α分泌についてのELISA)

			BID番号						
			40	48	41	49	50	52	42
		[IgG]	BLV1H12 GLLV 3xG4S ShK	VH4-34 MutE 3xG4S ShK	BLV1H12 GGS3:3 Moka	VH4-34 MutE 3xGGS MOKA	VH4-34 MutF 3xG4S ShK	VH4-34 MutF 3xGGS MOKA	BLV1H12
TNF-α ELISA (A450)	ドナー1	150 nM	0.144 ± 0.017	0.134 ± 0.013	0.493 ± 0.069	0.125 ± 0.021	0.143 ± 0.013	0.158 ± 0.012	0.445 ± 0.034
		50 nM	0.163 ± 0.019	0.176 ± 0.017	0.707 ± 0.054	0.18 ± 0.03	--	--	--
		17 nM	0.204 ± 0.009	0.25 ± 0.024	0.75 ± 0.182	0.406 ± 0.052	--	--	--
		6 nM	0.325 ± 0.054	0.322 ± 0.029	0.759 ± 0.023	0.674 ± 0.084	--	--	--
	ドナー2	150 nM	0.196 ± 0.054	0.172 ± 0.004	0.965 ± 0.262	0.2 ± 0.029	0.186 ± 0.021	--	0.355 ± 0.004
		50 nM	0.337 ± 0.071	0.342 ± 0.032	1.004 ± 0.198	0.346 ± 0.01	--	--	--
		17 nM	0.439 ± 0.047	0.455 ± 0.076	0.834 ± 0.169	0.766 ± 0.226	--	--	--
		6 nM	0.574 ± 0.101	0.404 ± 0.049	0.747 ± 0.321	0.764 ± 0.099	--	--	--
IL-2 ELISA (A450)	ドナー1	150 nM	0.055 ± 0.005	0.077 ± 0.001	1.251 ± 0.015	0.086 ± 0.013	0.055 ± 0.009	0.109 ± 0.002	0.11 ± 0.008
		50 nM	0.08 ± 0.008	0.114 ± 0.017	1.418 ± 0.181	0.294 ± 0.041	--	--	--
		17 nM	0.207 ± 0.017	0.276 ± 0.079	1.443 ± 0.135	0.749 ± 0.044	--	--	--
		6 nM	0.559 ± 0.068	0.563 ± 0.105	1.45 ± 0.062	1.208 ± 0.062	--	--	--
	ドナー2	150 nM	0.043 ± 0.003	0.058 ± 0.003	0.271 ± 0.16	0.06 ± 0.005	0.036 ± 0.001	--	0.058 ± 0.001
		50 nM	0.049 ± 0.003	0.056 ± 0.005	0.278 ± 0.07	0.096 ± 0.006	--	--	--
		17 nM	0.055 ± 0.002	0.065 ± 0.003	0.2 ± 0.037	0.186 ± 0.085	--	--	--
		6 nM	0.09 ± 0.01	0.062 ± 0.001	0.204 ± 0.113	0.208 ± 0.064	--	--	--

【０７４９】

（表３６）IgG-CDR3-毒素によるT細胞阻害(ShKとMOKAとの比較、ウシとヒト化との比較

)

IL-2 ELISA (A450)		BID番号				
		40	48	33	49	55
	[IgG] nM	BLV1H12 GLLV 3xG4S ShK	VH4-34 MutE 3xG4S ShK	BLV1H12 GGS3:3 Moka	VH4-34 MutE 3xGGS MOKA	VH4-34 MutE ノブなし
テスト1	150	0.122 ± 0.015	0.144 ± 0.025	0.1 ± 0.008	0.13 ± 0.067	0.232 ± 0.054
	38	0.11 ± 0.003	0.124 ± 0.005	0.146 ± 0.051	0.205 ± 0.033	--
	9.4	0.173 ± 0.015	0.186 ± 0.031	0.282 ± 0.041	0.251 ± 0.033	0.371 ± 0.01
	2.3	0.171 ± 0.021	0.18 ± 0.016	0.272 ± 0.016	0.333 ± 0.039	--
	0.6	0.25 ± 0.035	0.254 ± 0.012	0.355 ± 0.006	0.376 ± 0.015	0.356 ± 0.005
	0.15	0.28 ± 0.072	0.256 ± 0.019	0.303 ± 0.023	0.373 ± 0.026	--
	0.04	0.5 ± 0.056	0.405 ± 0.06	0.311 ± 0.057	0.353 ± 0.054	0.333 ± 0.014
	0.01	0.414 ± 0.039	0.453 ± 0.059	0.307 ± 0.028	0.323 ± 0.076	--
テスト2	150	0.209 ± 0.008	0.17 ± 0.012	0.252 ± 0.038	0.176 ± 0.019	0.475 ± 0.001
	38	0.221 ± 0.01	0.217 ± 0.035	0.574 ± 0.03	0.465 ± 0.036	--
	9.4	0.353 ± 0.052	0.324 ± 0.039	0.831 ± 0.071	0.718 ± 0.064	0.808 ± 0.16
	2.3	0.391 ± 0.028	0.279 ± 0.029	0.667 ± 0.026	0.778 ± 0.044	--
	0.6	0.534 ± 0.028	0.559 ± 0.078	0.902 ± 0.088	0.754 ± 0.108	0.795 ± 0.059
	0.15	0.616 ± 0.034	0.498 ± 0.028	0.793 ± 0.041	0.734 ± 0.055	--
	0.04	0.854 ± 0.02	0.688 ± 0.059	0.864 ± 0.077	0.675 ± 0.01	0.976 ± 0.034
	0.01	0.892 ± 0.079	0.718 ± 0.085	0.928 ± 0.008	0.832 ± 0.06	--

TNF-α ELISA (A450)						
	150	0.032 ± 0.002	0.049 ± 0.018	0.189 ± 0.051	0.087 ± 0.011	0.599 ± 0.079
	38	0.108 ± 0.022	0.138 ± 0.019	0.506 ± 0.122	0.549 ± 0.012	--
	9.4	0.281 ± 0.03	0.249 ± 0.01	0.801 ± 0.035	0.773 ± 0.011	0.821 ± 0.074
	2.3	0.419 ± 0.051	0.362 ± 0.035	0.768 ± 0.057	0.954 ± 0.078	--
	0.6	0.615 ± 0.096	0.634 ± 0.041	0.952 ± 0.075	0.917 ± 0.033	0.813 ± 0.007
	0.15	0.746 ± 0.116	0.742 ± 0.033	0.829 ± 0.045	0.925 ± 0.082	--
	0.04	1.077 ± 0.051	0.952 ± 0.093	0.766 ± 0.087	0.889 ± 0.056	0.76 ± 0.016
	0.01	0.955 ± 0.012	1.017 ± 0.123	0.883 ± 0.236	0.776 ± 0.191	--
	150	0.039 ± 0.01	0.049 ± 0.008	0.174 ± 0.017	0.083 ± 0.007	0.366 ± 0.014
	38	0.06 ± 0.004	0.062 ± 0.003	0.526 ± 0.06	0.373 ± 0.01	--
	9.4	0.1 ± 0.021	0.104 ± 0.007	0.721 ± 0.111	0.564 ± 0.039	0.622 ± 0.102
	2.3	0.161 ± 0.02	0.14 ± 0.01	0.618 ± 0.09	0.575 ± 0.047	--
	0.6	0.314 ± 0.047	0.281 ± 0.019	0.742 ± 0.121	0.57 ± 0.039	0.631 ± 0.053
	0.15	0.385 ± 0.016	0.316 ± 0.014	0.717 ± 0.076	0.614 ± 0.072	--
	0.04	0.554 ± 0.051	0.403 ± 0.041	0.745 ± 0.067	0.573 ± 0.026	0.736 ± 0.122
	0.01	0.663 ± 0.058	0.487 ± 0.059	0.76 ± 0.058	0.627 ± 0.048	--

ドナー1	
ドナー2	

【０７５０】

実施例25

極めて長いCDR3、例えば、非抗体配列を含む極めて長いCDRを含む抗体を、当技術分野において公知の方法によって(例えば、T細胞阻害アッセイを介して)評価することができる。

【０７５１】

本発明者らは、VH4-34 MutE IgGのCDR3内のShK毒素によるT細胞阻害に対するリンカー長の効果を調査した。VH4-34 MutE 3xG4S ShK(図21および22のBID 48)、VH4-34 MutEリンカーなしShK(図21および22のBID59)、ならびに1グリシンリンカーバージョンVH4-34 MutE G-ShK-G(図21および22のBID 60)およびジグリシンリンカーバージョンVH4-34 MutE GG-ShK-GG(図21および22のBID 61)。さらに、VH4-34 MutE 3xGGSノブなしIgG(図21および22のBID55)ならびに無関係のヒトIgGを、陰性対照として使用した。この実施例において以下に説明されるように、T細胞アッセイならびにIL-2およびTNF-αについてのELISAを実施した。データは表37に示される。T細胞阻害に対するリンカー長の軽微な差が見られたため、本発明者らは、以前に精製した中間リンカー長VH4-34 MutE ShK IgGを調査した。精製されたIgG VH4-34 MutE 1xG4S ShK(図21および22のBID56)、VH4-34 MutE GSGG-Shk-GGGG(図21および22のBID65)、VH4-34 MutE GGGG-Shk-GGGG(図21および22のBID66)、VH4-34 MutE GGG-Shk-GGG(図21および22のBID67)、ならびにVH4-34 MutE GG-ShK-GG(図21および22のBID61)の試料を、実施例16に記載されたように、T細胞阻害について試験した。TNF-α分泌を上記のように調査した。T細胞上清へのIL-2分泌を、T細胞上清からIL-2を捕捉するため、maxisorpプレートにコーティングされたマウス抗hIL2(R&D Systems、カタログ番号MAB602)を使用して、ELISAによって調査した。ウサギ抗hIL2(Abcam、カタログ番号ab9618)を、結合したIL-2を検出するために使用し、ELISAを発色させるため、TMB基質(BioFX Laboratories、カタログ番号：TMBS-1000-01)と共にヤギ抗ウサギIgG-HRP(Sigma、カタログ番号A 6154)を使用した。A450吸光度をTECAN Genios Plateリーダによって測定し、表38に示した。

【０７５２】

（表３７）IgG-CDR3-毒素によるT細胞阻害(長いリンカーと短いリンカーとの比較)

BID:

IL-2 ELISA (A450)		BID番号							BID番号				
		48	59	60	55				48	61	55		
	[IgG] nM	VH4-34 MutE 3xG4S ShK	VH4-34 MutE Shk-リンカーなし	VH4-34 MutE G-ShK-G	VH4-34 MutE ノブなし	陰性対照IgG			VH4-34 MutE 3xG4S ShK	VH4-34 MutE GG-ShK-GG	VH4-34 MutE ノブなし	陰性対照IgG	
ドナー1	68	0.424 ± 0.026	0.472 ± 0.031	0.494 ± 0.105	1.418 ± 0.151	1.475 ± 0.043			0.432 ± 0.01	0.46 ± 0.041	1.306	1.549 ± 0	
	15	0.6 ± 0.02	0.759 ± 0.069	0.709 ± 0.048	--	--			0.626 ± 0.011	0.697 ± 0.029	--	--	
	3.4	0.858 ± 0.046	1.078 ± 0.101	1.015 ± 0.016	--	--			0.752 ± 0.049	0.899 ± 0.003	--	--	
	0.75	0.944 ± 0.104	1.389 ± 0.024	1.407 ± 0.124	2.185 ± 0.239	2.112 ± 0.073			0.864 ± 0.032	1.246 ± 0.054	2.169	2.044	
	0.17	1.46 ± 0.092	1.874 ± 0.03	1.793 ± 0.004	--	--			1.332 ± 0.02	1.663 ± 0.122	--	--	
	0.04	1.751 ± 0.001	2.049 ± 0.101	1.953 ± 0.087	--	--			1.585 ± 0.038	1.906 ± 0.041	--	--	
	0.01	2.163 ± 0.057	2.251 ± 0.07	2.185 ± 0.089	2.182 ± 0.026	1.997 ± 0.105			1.931 ± 0.15	2.006 ± 0.063	2.228	2.154	
	0.00	2.001 ± 0.031	1.988 ± 0.034	1.937 ± 0.091	--	--			1.822 ± 0.007	1.81 ± 0.074	--	--	
ドナー2	68	0.343 ± 0.017	0.369 ± 0.027	0.373 ± 0.038	1.317 ± 0.277	1.501 ± 0.159			0.378 ± 0.037	0.336 ± 0.027	0.934	1.367	
	15	0.407 ± 0.029	0.436 ± 0.022	0.402 ± 0.031	--	--			0.375 ± 0.007	0.4 ± 0.024	--	--	
	3.4	0.484 ± 0.047	0.506 ± 0.016	0.496 ± 0.02	--	--			0.454 ± 0.055	0.474 ± 0.017	--	--	
	0.75	0.479 ± 0.037	0.682 ± 0.045	0.674 ± 0.029	1.613 ± 0.063	1.563 ± 0.068			0.442 ± 0.035	0.612 ± 0.02	1.421	1.524	
	0.17	0.695 ± 0.087	0.936 ± 0.063	1.06 ± 0.072	--	--			0.615 ± 0.021	0.94 ± 0.069	--	--	
	0.04	1.039 ± 0.119	1.389 ± 0.042	1.484 ± 0.068	--	--			0.897 ± 0.021	1.338 ± 0.059	--	--	
	0.01	1.549 ± 0.019	1.643 ± 0.071	1.638 ± 0.087	1.75 ± 0.072	1.608 ± 0.077			1.306 ± 0.075	1.533 ± 0.09	1.752	1.482	
	0.00	1.616 ± 0.021	1.64 ± 0.063	1.62 ± 0.061	--	--			1.382 ± 0.018	1.431 ± 0.05	--	--	

TNF-α ELISA (A450)												
	68	0.151 ± 0.003	0.211 ± 0.027	0.186 ± 0.006	1.117 ± 0.153	1.022 ± 0.043	0.131 ± 0.029	0.179 ± 0.016	1.076	1.133
	15	0.378 ± 0.022	0.526 ± 0.021	0.46 ± 0.04	--	--	0.309 ± 0.017	0.466 ± 0.03	--	--
	3.4	0.668 ± 0.01	0.868 ± 0.026	0.917 ± 0.008	--	--	0.538 ± 0.047	0.766 ± 0.035	--	--
	0.75	0.756 ± 0.003	1.135 ± 0.029	1.136 ± 0.128	1.757 ± 0.168	1.693 ± 0.101	0.661 ± 0.025	1.011 ± 0.037	1.672	1.647
	0.17	1.347 ± 0.1	1.522 ± 0.022	1.56 ± 0.003	--	--	1.131 ± 0.055	1.371 ± 0.096	--	--
	0.04	1.383 ± 0.015	1.641 ± 0.055	1.495 ± 0.063	--	--	1.25 ± 0.023	1.496 ± 0.034	--	--
	0.01	1.877 ± 0.095	1.961 ± 0.056	1.844 ± 0.027	1.911 ± 0.019	1.623 ± 0.063	1.699 ± 0.037	1.766 ± 0.039	1.878	1.662
	0.00	1.634 ± 0.072	1.652 ± 0.071	1.495 ± 0.014	--	--	1.537 ± 0	1.475 ± 0.026	--	--
	68	0.231 ± 0.011	0.295 ± 0.03	0.34 ± 0.036	1.803 ± 0.209	1.881 ± 0.054	0.19 ± 0.022	0.228 ± 0.009	1.32	1.537
	15	0.365 ± 0.063	0.511 ± 0.02	0.491 ± 0.018	--	--	0.336 ± 0.017	0.44 ± 0.013	--	--
	3.4	0.628 ± 0.043	0.858 ± 0.004	0.848 ± 0.009	--	--	0.524 ± 0.093	0.615 ± 0.018	--	--
	0.75	0.731 ± 0.056	1.18 ± 0.022	1.248 ± 0.018	2.098 ± 0.038	2.036 ± 0.034	0.615 ± 0.032	0.907 ± 0.043	1.875	1.855
	0.17	1.264 ± 0.093	1.646 ± 0.052	1.776 ± 0.006	--	--	1.023 ± 0.063	1.45 ± 0.043	--	--
	0.04	1.587 ± 0.012	1.878 ± 0.041	1.975 ± 0.056	--	--	1.324 ± 0.053	1.758 ± 0.021	--	--
	0.01	1.973 ± 0.061	2.113 ± 0.035	2.117 ± 0.086	2.228 ± 0.023	2.066 ± 0.036	1.872 ± 0.04	1.971 ± 0.017	2.103	1.766
	0.00	1.911 ± 0.017	1.867 ± 0.06	1.968 ± 0.069	--	--	1.667 ± 0.064	1.724 ± 0.043	--	--
					同一プレート上でのT細胞の増殖および活性化					

IL-2 ELISA (A450)	[IgG] nM	BID番号				
		56	65	66	67	61
		VH4-34 MutE 1xG4S ShK	VH4-34 MutE GSGG-Shk-GGGG	VH4-34 MutE GGGG-Shk-GGGG	VH4-34 MutE GGG-Shk-GGG	VH4-34 MutE GG-ShK-GG
ドナー1	100	--	0.009 ± 0.002	0.019 ± 0.013	0.019 ± 0.001	0.032 ± 0.005
	22	0.025 ± 0.012	0.011 ± 0.001	0.03 ± 0.01	0.034 ± 0.007	0.04 ± 0.004
	4.9	0.018 ± 0.002	0.019 ± 0.009	0.032 ± 0.018	0.03 ± 0.018	0.038 ± 0.001
	1.10	0.04 ± 0.006	0.019 ± 0.009	0.05 ± 0.014	0.051 ± 0.012	0.044 ± 0.011
	0.24	0.068 ± 0	0.083 ± 0.035	0.099 ± 0.007	0.075 ± 0.014	0.06 ± 0.001
	0.05	0.121 ± 0.027	0.12 ± 0.027	0.142 ± 0.013	0.106 ± 0.03	0.105 ± 0.003
	0.01	0.171 ± 0.017	0.179 ± 0.01	0.174 ± 0.033	0.155 ± 0.019	0.136 ± 0.037
	0.00	0.158 ± 0.013	0.119 ± 0.031	0.146 ± 0.024	0.18 ± 0.021	--
ドナー2	100	--	0.038 ± 0.04	0.011 ± 0.013	0.018 ± 0.002	0.016 ± 0.003
	22	0.038 ± 0.016	0.028 ± 0.019	0.035 ± 0.018	0.044 ± 0.009	0.048 ± 0.017
	4.9	0.061 ± 0.007	0.045 ± 0.01	0.051 ± 0.01	0.053 ± 0	0.059 ± 0.022
	1.10	0.07 ± 0.001	0.056 ± 0.001	0.077 ± 0.022	0.072 ± 0.001	0.074 ± 0.012
	0.24	0.108 ± 0.014	0.116 ± 0.003	0.131 ± 0.018	0.113 ± 0.006	0.123 ± 0.02
	0.05	0.159 ± 0.016	0.163 ± 0.014	0.193 ± 0.001	0.155 ± 0.026	0.165 ± 0.017
	0.01	0.21 ± 0.023	0.22 ± 0.001	0.224 ± 0.019	0.213 ± 0.023	0.22 ± 0.019

	TNF-α ELISA (A450)					
	0.00	0.188 ± 0.032	0.185 ± 0.008	0.183 ± 0.005	0.189 ± 0.001	--
ドナー1	100	--	0.059 ± 0.015	0.069 ± 0.023	0.073 ± 0	0.091 ± 0.005
	22	0.214 ± 0.006	0.169 ± 0.039	0.191 ± 0.028	0.151 ± 0.013	0.216 ± 0.006
	4.9	0.245 ± 0.083	0.361 ± 0.138	0.315 ± 0.017	0.23 ± 0.026	0.298 ± 0.042
	1.10	0.481 ± 0.003	0.462 ± 0.018	0.566 ± 0.011	0.487 ± 0.019	0.509 ± 0.051
	0.24	0.786 ± 0.049	0.958 ± 0.169	0.96 ± 0.01	0.755 ± 0.116	0.819 ± 0.143
	0.05	1.231 ± 0.032	1.248 ± 0.128	1.309 ± 0.025	1.093 ± 0.019	1.266 ± 0.014
	0.01	1.433 ± 0.079	1.497 ± 0.014	1.489 ± 0.07	1.402 ± 0.064	1.448 ± 0.031
	0.00	1.322 ± 0.035	1.22 ± 0.071	1.339 ± 0.079	1.414 ± 0.009	--
ドナー2	100	--	0.031 ± 0.005	0.045 ± 0.006	0.062 ± 0.002	0.036 ± 0.003
	22	0.315 ± 0.026	0.273 ± 0.022	0.315 ± 0.01	0.303 ± 0.001	0.258 ± 0.026
	4.9	0.545 ± 0.056	0.58 ± 0.032	0.616 ± 0.094	0.515 ± 0.046	0.512 ± 0.042
	1.10	0.845 ± 0.021	0.812 ± 0.001	0.902 ± 0.06	0.785 ± 0.028	0.791 ± 0.031
	0.24	1.049 ± 0.027	1.181 ± 0.08	1.084 ± 0.052	0.985 ± 0.067	0.996 ± 0.023
	0.05	1.198 ± 0.048	1.192 ± 0.022	1.305 ± 0.029	1.237 ± 0.053	1.201 ± 0.083
	0.01	1.336 ± 0.087	1.378 ± 0.051	1.38 ± 0.009	1.327 ± 0.078	1.318 ± 0.017
	0.00	1.212 ± 0.094	1.193 ± 0.015	1.192 ± 0.018	1.198 ± 0.097	--

【０７５４】

実施例26

極めて長いCDR3、例えば、非抗体配列を含む極めて長いCDRを含む抗体を、当技術分野において公知の方法によって(例えば、Kv1.3阻害アッセイを介して)評価することができる。

【０７５５】

IgGのCDR3内の毒素によるKv1.3阻害を、T細胞を精製することなく、PBMCから直接査定した。PBMCを実施例16に記載されたように濃縮したが、T細胞精製には供さなかった。1ウェル当たり1×10^5個のPBMCを分配するという修飾を加えて、実施例16において精製されたT細胞について実施されたように、PBMCを使用したT細胞阻害についてのアッセイを実施した。細胞を、実施例16に記載されたように、毒素CDR3 IgG、VH4-34 MutE 3xG4S ShK(図21および22のBID48)、VH4-34 MutE GGG-Shk-GGG(図21および22のBID067)、ならびにVH4-34 MutE G-ShK-G(図21および22のBID 60)によって処理した。PBMC上清をELISAによってグランザイムBおよびIL-17について評価した。IL-17をHuman IL-17 ELISA Ready-SET-Go!(eBioscience、カタログ番号：88-7176-22)を使用して検出した。グランザイムBを、384穴フォーマットのために修飾を加えて、製造業者の指示に従って、捕捉抗体：BD NA/LE Purified Anti-Human Granzyme B(カタログ番号：51-9005687)、検出抗体：BD Biotinylated Anti-Human Granzyme B(カタログ番号：51-9000060)、およびアビジン-HRP：BD Streptavidin-HRP(カタログ番号：51-9000209)を使用して検出した。これらの阻害アッセイの結果は表39に示される。

【０７５６】

（表３９）グランザイムBおよびIL-17を介してアッセイされたIgG-CDR3-毒素によるT細胞阻害

			BID番号			
			75	76	77	61
		[IgG] nM	VH4-34 MutE 3xG4S ShK	VH4-34 MutE G-ShK-G	VH4-34 MutE GGG-Shk-GGG	VH4-34 MutE GG-ShK-GG
グランザイムB ELISA (A450)	ドナー1	68	0.023 ± 0.004	0.03 ± 0.004	0.03 ± 0.007	0.837 ± 0.217
		17	0.059 ± 0.041	0.105 ± 0.012	0.166 ± 0.026	--
		4.2	0.94 ± 0.155	0.756 ± 0.14	1.057 ± 0.128	1.579 ± 0.01
		1.06	1.435 ± 0.068	1.448 ± 0.069	1.481 ± 0.059	--
		0.26	1.61 ± 0.079	1.615 ± 0.043	1.657 ± 0.013	1.602 ± 0.06
		0.07	1.642 ± 0.03	1.635 ± 0.058	1.644 ± 0.003	--
		0.02	1.665 ± 0.044	1.646 ± 0.037	1.644 ± 0.024	1.563 ± 0.065
		0.00	1.652 ± 0.054	1.61 ± 0.034	1.557 ± 0.06	--
	ドナー2	68	0.02 ± 0.009	0.026 ± 0.005	0.028 ± 0.006	0.445 ± 0.041
		17	0.014 ± 0.001	0.034 ± 0.015	0.038 ± 0.011	--
		4.2	0.429 ± 0.059	0.308 ± 0.023	0.721 ± 0.091	1.478 ± 0.022
		1.1	1.286 ± 0.015	1.269 ± 0.039	1.366 ± 0.042	--
		0.26	1.43 ± 0.082	1.464 ± 0.02	1.42 ± 0.061	1.495 ± 0.076
		0.07	1.454 ± 0.034	1.507 ± 0.035	1.494 ± 0.005	--
		0.02	1.545 ± 0.036	1.541 ± 0.05	1.492 ± 0.027	1.488 ± 0.069
		0.00	1.553 ± 0.075	1.507 ± 0.042	1.494 ± 0.024	--
IL-17 ELISA (A450)	ドナー1	68	0.019 ± 0.002	0.02 ± 0.005	0.023 ± 0.007	0.131 ± 0.024
		17	0.008 ± 0.003	0.028 ± 0.011	0.034 ± 0.012	--
		4.2	0.115 ± 0.023	0.088 ± 0.005	0.122 ± 0.05	0.456 ± 0.045
		1.1	0.263 ± 0.046	0.324 ± 0.058	0.388 ± 0.024	--
		0.26	0.361 ± 0.058	0.474 ± 0.052	0.53 ± 0.075	0.474 ± 0.055
		0.07	0.348 ± 0.064	0.514 ± 0.077	0.451 ± 0.031	--
		0.02	0.505 ± 0.057	0.545 ± 0.028	0.492 ± 0.142	0.474 ± 0.101
		0.00	0.45 ± 0.04	0.466 ± 0.053	0.375 ± 0.079	--
	ドナー2	68	0.017 ± 0.007	0.024 ± 0.001	0.02 ± 0.004	0.236 ± 0.012
		17	0.013 ± 0.003	0.034 ± 0.006	0.035 ± 0.013	--
		4.2	0.17 ± 0.042	0.122 ± 0.012	0.247 ± 0.02	0.854 ± 0.061
		1.1	0.532 ± 0.013	0.572 ± 0.077	0.558 ± 0.023	--
		0.26	0.608 ± 0.087	0.716 ± 0.046	0.673 ± 0.041	0.783 ± 0.033
		0.07	0.679 ± 0.053	0.755 ± 0.066	0.692 ± 0.058	--
		0.02	0.912 ± 0.102	0.908 ± 0.094	0.833 ± 0.037	0.825 ± 0.052
		0.00	0.8 ± 0.01	0.809 ± 0.047	0.75 ± 0.009	--

【０７５７】

実施例27

極めて長いCDR3、例えば、非抗体配列を含む極めて長いCDRを含む抗体を、当技術分野において公知の方法によって(例えば、T細胞活性化アッセイまたは阻害アッセイを介して)評価することができる。

【０７５８】

T細胞活性化を阻害する能力を、ShK(SEQ ID NO:648)の21位にShK毒素配列の点変異を有するIgG VH4-34 ShKの数種のバージョンの間で比較した。VH4-34 MutE 3xG4S ShK(図21のBID48)内のShK配列を修飾するオーバーラップPCR法を使用して、点変異を生成し、VH4-34 MutE 3xG4S ShK(M21Q)(図21のBID105)、VH4-34 MutE 3xG4S ShK(M21L)(図21のBID106)、VH4-34 MutE 3xG4S ShK(M21F)(図21のBID107)、VH4-34 MutE 3xG4S ShK(M21I)(図21のBID108)、およびVH4-34 MutE 3xG4S ShK(M21A)(図21のBID109)を得た。ShK変異をコードするこれらの重鎖を、実施例4に記載されたように、大規模トランスフェクションのため、軽鎖VL1-51 S2A T5N P8S A12G A13S P14L K46R L47T D51G N52D N53LK(SEQ ID NO:486、図22を参照すること)と対形成させ、実施例6および14に記載されたように精製した。結果としてのIgGを、VH4-34 MutE 3xG4S(図21および22のBID 48)を陽性対照、VH4-34 MutE 3xGGSノブなしIgG(図21および22のBID55)を陰性対照として、試験した。細胞を上清の収穫前に24時間ではなく48時間インキュベートするという修飾を加えて、実施例26に記載されたように、PBMCを使用してT細胞阻害を調査した。TNF-αおよびIL-17を検出するELISAを、384穴アッセイのための修飾を加えて、製造業者の説明書に従って、Human IL-17 ELISA Ready-SET-Go!(eBioscience、カタログ番号：88-7176-22)およびHuman TNFα ELISA Ready-SET-Go!(eBioscience、カタログ番号：88-7346-22)を使用して実施した。これらの結果は、表40に示される。

【０７５９】

（表４０）VH4-34 MutE CDR3のShK残基M21に対する変異

IL-17 ELISA (A450)	[IgG] nM	BID番号						
		102	80	105	106	107	108	109
		VH4-34 MutE ノブなし	VH4-34 MutE 3xG4S ShK	VH4-34 MutE 3xG4S ShK (M21Q)	VH4-34 MutE 3xG4S ShK (M21L)	VH4-34 MutE 3xG4S ShK (M21F)	VH4-34 MutE 3xG4S ShK (M21I)	VH4-34 MutE 3xG4S ShK (M21A)
ドナー1	140	0.247 ± 0.128	0.02 ± 0.002	0.058 ± 0.002	0.123 ± 0.02	0.53 ± 0.01	0.078 ± 0.012	0.068 ± 0.003
	31	0.453 ± 0.088	0.022 ± 0	0.541 ± 0.184	0.621 ± 0.167	1.114 ± 0.15	0.843 ± 0.068	0.665 ± 0.04
	6.9	0.828 ± 0.024	0.641 ± 0.014	0.835 ± 0.024	0.786 ± 0.074	1.279 ± 0.215	1.28 ± 0.024	1.13 ± 0.031
	1.54	1.183 ± 0.05	1.063 ± 0.045	1.216 ± 0.108	1.242 ± 0.071	1.294 ± 0.012	1.303 ± 0.049	1.326 ± 0.061
	0.34	1.271 ± 0.015	1.417 ± 0.058	1.078 ± 0.322	1.257 ± 0.004	1.06 ± 0.397	1.237 ± 0.018	1.295 ± 0.078
	0.08	1.338 ± 0.14	1.335 ± 0.051	1.369 ± 0.09	1.141 ± 0.406	1.054 ± 0.285	1.237 ± 0.042	1.194 ± 0.093
	0.02	1.348 ± 0.071	1.261 ± 0.075	1.375 ± 0.02	1.161 ± 0.33	1.039 ± 0.091	0.96 ± 0.016	0.944 ± 0.07
	0.00	0 ± 0.192	1.079 ± 0.077	1.069 ± 0.089	1.261 ± 0.208	0.993 ± 0.011	1.09 ± 0.007	1.05 ± 0.014
ドナー2	140	0.096 ± 0.07	0.032 ± 0.005	0.048 ± 0.008	0.052 ± 0.005	0.278 ± 0.029	0.047 ± 0.004	0.043 ± 0.014
	31	0.364 ± 0.054	0.033 ± 0.012	0.27 ± 0.015	0.278 ± 0.044	0.602 ± 0.224	0.335 ± 0.005	0.219 ± 0.019
	6.9	0.641 ± 0.01	0.281 ± 0.038	0.707 ± 0.092	0.595 ± 0.028	0.647 ± 0.229	0.614 ± 0.061	0.592 ± 0.092
	1.54	0.785 ± 0.024	0.785 ± 0.013	0.924 ± 0.022	0.795 ± 0.267	0.597 ± 0.22	0.733 ± 0.052	0.711 ± 0.009
	0.34	0.82 ± 0.018	0.757 ± 0.058	0.859 ± 0.089	0.861 ± 0.066	0.765 ± 0.241	0.744 ± 0.241	0.897 ± 0.044
	0.08	0.777 ± 0.137	0.772 ± 0.069	0.778 ± 0.012	0.654 ± 0.221	0.879 ± 0.013	0.91 ± 0.044	0.918 ± 0.054
	0.02	0.959 ± 0.105	0.977 ± 0.052	1.022 ± 0.022	0.937 ± 0.259	0.831 ± 0.181	0.896 ± 0.061	0.984 ± 0.013
	0.00	0 ± 0.002	1.03 ± 0.053	1.099 ± 0.003	1.107 ± 0.092	0.797 ± 0.11	0.836 ± 0.036	0.923 ± 0.063

TNF-α ELISA (A450)								
		140	0.402 ± 0.152	0.024 ± 0.003	0.053 ± 0.008	0.164 ± 0.036	1.079 ± 0.277	0.074 ± 0.012	0.056 ± 0.008
		31	0.808 ± 0.127	0.036 ± 0.007	1.48 ± 0.007	1.515 ± 0.089	1.494 ± 0.16	1.506 ± 0.006	1.473 ± 0.053
		6.9	1.096 ± 0.075	1.624 ± 0.105	1.799 ± 0.041	1.762 ± 0.024	1.616 ± 0.155	1.854 ± 0.019	1.957 ± 0.062
		1.54	1.334 ± 0.12	1.734 ± 0.082	1.69 ± 0.171	1.575 ± 0.087	1.466 ± 0.046	1.604 ± 0.009	1.696 ± 0.086
		0.34	1.416 ± 0.074	1.542 ± 0.01	1.473 ± 0.013	1.495 ± 0.033	1.448 ± 0.008	1.591 ± 0.076	1.581 ± 0.004
		0.08	1.451 ± 0.001	1.059 ± 0.281	1.26 ± 0.179	1.462 ± 0.045	1.389 ± 0.041	1.399 ± 0.019	1.397 ± 0.131
		0.02	1.518 ± 0.123	1.188 ± 0.067	1.396 ± 0.11	1.493 ± 0.05	1.1 ± 0.036	1.384 ± 0.04	1.371 ± 0.06
		0.00	0 ± 0.012	1.306 ± 0.082	1.408 ± 0.059	1.337 ± 0.079	1.241 ± 0.082	1.388 ± 0.065	1.379 ± 0.052
		140	0.167 ± 0.064	0.035 ± 0.013	0.036 ± 0.01	0.046 ± 0.001	0.942 ± 0.038	0.056 ± 0.007	0.042 ± 0.005
		31	0.438 ± 0	0.035 ± 0.001	0.733 ± 0.016	0.726 ± 0.062	1.504 ± 0.102	1.028 ± 0.046	0.63 ± 0.044
		6.9	0.916 ± 0.004	0.953 ± 0.063	1.667 ± 0.052	1.623 ± 0.001	1.512 ± 0.219	1.777 ± 0	1.764 ± 0.014
		1.54	1.293 ± 0.029	1.655 ± 0.023	1.749 ± 0.06	1.768 ± 0.038	1.423 ± 0.004	1.579 ± 0.065	1.715 ± 0.009
		0.34	1.55 ± 0.13	1.586 ± 0.05	1.662 ± 0.041	1.661 ± 0.029	1.567 ± 0.009	1.597 ± 0.021	1.683 ± 0.003
		0.08	1.424 ± 0.092	1.36 ± 0.049	1.433 ± 0.064	1.501 ± 0.01	1.523 ± 0.097	1.56 ± 0.045	1.599 ± 0.015
		0.02	1.562 ± 0.109	1.483 ± 0.045	1.578 ± 0.018	1.57 ± 0.05	1.616 ± 0.05	1.623 ± 0.001	1.67 ± 0.022
		0.00	0 ± 0.003	1.427 ± 0.009	1.626 ± 0.006	1.667 ± 0.053	1.49 ± 0.035	1.518 ± 0.059	1.576 ± 0.027

【０７６０】

本明細書中の開示について、少なくとも、特許請求の範囲の範囲への均等論の適用を制

限する試みとしてではなく、各数的パラメータは、少なくとも、報告された有効数字の数を考慮して、通常の丸め技術の適用によって解釈されるべきである。開示の広い範囲を示す数的な範囲およびパラメータは近似値であるが、具体例において示された数値は、可能な限り正確に報告されている。しかしながら、数値は、それぞれの試験測定において見出される標準偏差に必然的に起因するある程度の誤差を本質的に含有している。

【０７６１】

(特に以下の特許請求の範囲に関して)例示的な態様の記載に関して使用される「1つの(a)」、「1つの(an)」、「その(the)」という用語、および類似した指示対象は、そうでないことが本明細書中に示されるかまたは前後関係によって明白に否定されない限り、単数および複数の両方をカバーするものと解釈されるべきである。本明細書における値の範囲の記述は、範囲内に含まれる1つ1つの値への個々の言及の略式の方法として役立つためのものに過ぎない。そうでないことが本明細書中に示されない限り、個々の各値が、個々に本明細書に記述されたかのごとく、本明細書へ組み入れられる。本明細書に記載された全ての方法が、そうでないことが本明細書中に示されるかまたは前後関係によって明白に否定されない限り、任意の適当な順序で実施され得る。本明細書に提供された全ての任意の例の使用、または例示的な語(例えば、「のような」)は、例示的な態様をよりよく明らかにするためのものに過ぎず、特許請求の範囲に記載された例示的な態様の範囲を限定するものではない。本明細書中の語は、何ら、例示的な態様の実施にとって不可欠な特許請求の範囲に記載されていない要素を示すものとして解釈されるべきでない。

【０７６２】

本明細書に開示された代替的な要素または態様の群は、限定として解釈されてはならない。各群メンバーは、個々に、または本明細書に見出される群の他のメンバーもしくは他の要素と組み合わせられて、言及され、特許請求の範囲に記載され得る。群の一つ以上のメンバーが、便宜および／または特許資格の理由のため、群に含まれるかまたは群から除外され得ることが予想される。そのような内含または除外がなされるとき、本明細書は、そのように修飾される群を含有し、添付の特許請求の範囲において使用される全てのマーカッシュ群の記述された説明を満たすとみなされる。

【０７６３】

例示的な態様を実施するための本発明者らに公知の最良のモードを含む、ある種の態様が、本明細書に記載される。当然、これらの記載された態様の変動が、上記の説明を参照することによって当業者に明白になるであろう。本発明者らは、当業者がそのような変動を適宜利用することを期待し、本明細書に具体的に記載されたもの以外の態様が実施されることを意図している。従って、本開示は、適用可能な法によって許容されるように、本明細書に添付される特許請求の範囲に記述された主題の修飾および等価物を全て含む。さらに、そうでないことが本明細書中に示されるかまたは前後関係によって明白に否定されない限り、上記の要素の任意の組み合わせのあらゆる可能な変動が、本開示に包含される。

【０７６４】

さらに、多数の特許および出版物が参照されている。上記引用の参照の各々は、参照によってその全体が個々に本明細書に組み入れられる。

【０７６５】

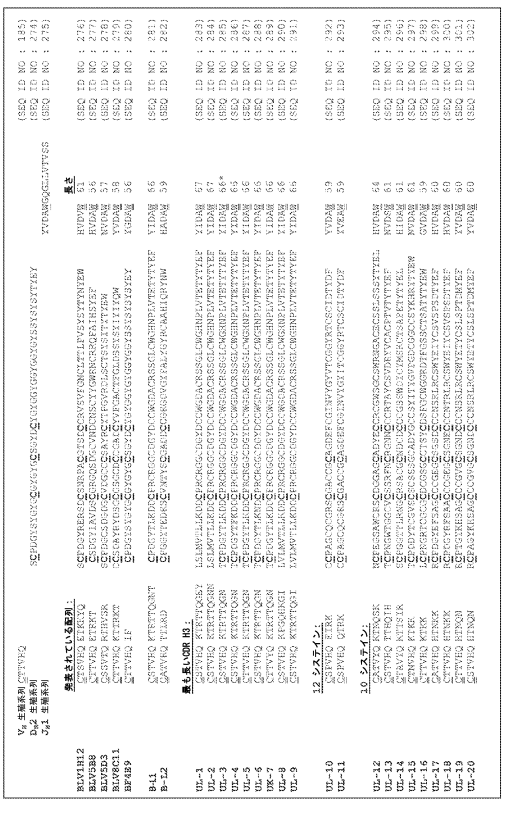
本明細書に開示された具体的な態様は、「からなる」またはおよび「から本質的になる」という語を使用して、特許請求の範囲においてさらに限定され得る。特許請求の範囲において使用されるとき、出願される場合であっても補正によって追加される場合であっても、「からなる」という連結用語は、特許請求の範囲に明記されない要素、工程、または成分を除外する。「から本質的になる」という連結用語は、明記された材料または工程、および基本的な新規の特徴に実質的に影響を与えないものに、特許請求の範囲の範囲を限定する。そのように特許請求の範囲に記載される例示的な態様は、本明細書において本質的にまたは明示的に記載され、可能にされる。

【０７６６】

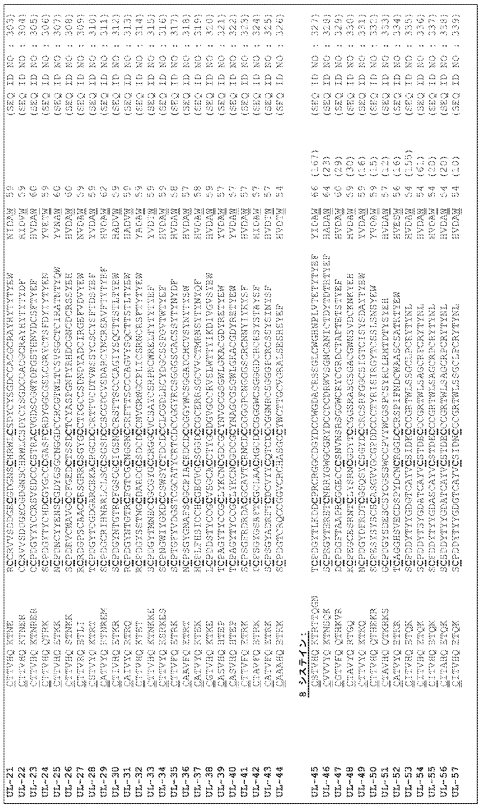
最後に、本明細書に開示された例示的な態様は、本開示の原理を例示するものであることが理解されなければならない。利用され得る他の改変は、本開示の範囲内である。従って、限定ではなく例示のため、本発明の例示的な態様の代替的な形態が、本明細書中の教示に従って利用され得る。従って、本発明の例示的な態様は、厳密に示され記載されたものに限定されない。

【図１】

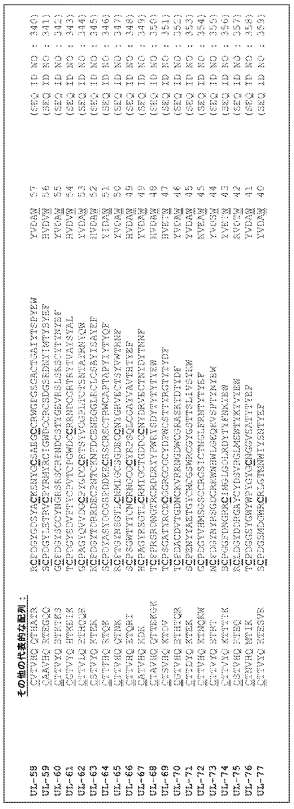
【図２Ａ】



【図２Ｂ】



【図２Ｃ】



【図３】

BLV1H12

SVHQETKKYQSCPDGYRERSDCSNRPACGTSDCCRVSVFGNCLTTLPVSYSYTYNYEWHVD
(SEQ ID NO : 22)

BLV5B8

TVHQETRKTCSDGYIAVDSCGRGQSDGCVNDCNSCYYGWRNCRRQPAIHSYEFHVD
(SEQ ID NO : 23)

BLV5D3

SVTQRTHVSRSCPDGCSDGDGCVDGCCCSAYRCYTPGVRDLSCTSYSITYTYEWNVD
(SEQ ID NO : 24)

BLV8C11

TVHQKTTRKTCCSDAYRYDSGCGSGCDCCGADCYVFGACTFGLDSSYSYIYIYQWYVD
(SEQ ID NO : 25)

BF4E9

TVHQIFCPDGYSYGYGCGYGYGCSGYDCYGYGGYGYGGYGGYSSYSYSYSYEYYGD
(SEQ ID NO : 26)

BF1H1

TVHPSPDGYSYGYGCGYGYGCSGYDCYGYGGYGYGGYGGYSSYSYSYS
(SEQ ID NO : 27)

F18

TVHQIRCPDGYGYGYGCGYGSYGYSGYDCYGYGGYGGYGGYGGYSSYS
(SEQ ID NO : 28)

【図４】

ウシVH-UL:

```
caggtgcagctgcgggagtccgggcccaggcctggtgaagccctcacagaccctctcgctc
 Q  V  Q  L  R  E  S  G  P  S  L  V  K  P  S  Q  T  L  S  L
acctgcacggcctctggattctcattgagcgacaaggctgtaggctggtccgccaggct
 T  C  T  A  S  G  F  S  L  S  D  K  A  V  G  W  V  P  Q  A
ccagggaaggcgctggagtggctcggtggtatagacactggtggaagcacaggctataac
 P  G  K  A  L  E  W  L  G  G  I  D  T  G  G  S  T  G  Y  N
ccaggccctgaaatcccggctcagcatcaccaaggacaactccaagagccaagtctctctg
 P  G  L  K  S  R  L  S  I  T  K  D  N  S  K  S  Q  V  S  L
tcagtgagcagcgtgacaactgaggactcggccacatactactgtactactgtgcaccag (SEQ ID NO: 367)
 S  V  S  S  V  T  T  E  D  S  A  T  Y  Y  C  T  T  V  H  Q  (SEQ ID NO: 29)


QVQLRESGPSLVKPSQTLSLTCTASGFSLSDKAVGWVPQAPGKALEWLGGIDTGGSTGYN
PGLKSRLSITKDNSKSQVSLSVSSVTTEDSATYYCTTVHQ  (SEQ ID NO: 29)
```

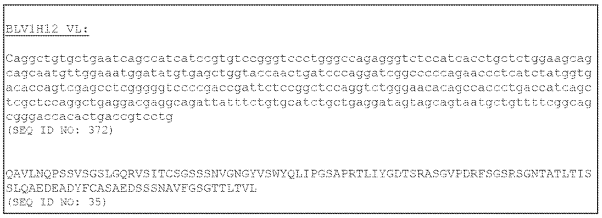
【図５Ａ】

```
4-39:
Caggctgcagctgcaggagtcgggcccaggactggtgaagccttcggagaccctgtccctcacctgcactgtctctgg
tggctccatcagcagtagtagttactactggggctggatccgccagccccagggaagggggctggagtgggattggga
gtatctattatagtgggagcacctactacaacccgtccctcaagagtcgagtcaccatatccgtagacacgtccaag
aaccagttctccctgaagctgagctctgtgaccgccgcagacacggctgtgtattactgtgcgagacacacagtgag
ggg
(SEQ ID NO: 368)

QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSK
NQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR
(SEQ ID NO: 31)


4-59*03:
Caggtgcagctgcaggagtcgggcccaggactggtgaagccttcggagaccctgtccctcacctgcactgtctctgg
tggctccatcagtagttactactggagctggatccggccagccccagggaagggactggagtggattgggtatatct
attacagtgggagcaccaactacaacccctccctcaagagtcgagtcaccatatcagtagacacgtccaagaaccaa
ttctccctgaagctgagctctgtgaccgctgcggacacggccgtgtattactgtgcg
(SEQ ID NO: 369)


QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQ
FSLKLSSVTAADTAVYYCA
(SEQ ID NO: 32)

4-34*09:
Caggtgcagctgcaggagtcgggcccaggactggtgaagcctcacagaccctgtccctcacctgcgctgtctatgg
tgggtccttcagtggttactactggagctggatccggccagccccagggaagggactggagtggattgggaaatca
atcatagtggaagcaccaactacaacccgtccctcaagagtcgagtcaccatatcagtagacacgtctaagaaccag
ttctccctgaagctgagctctgtgaccgccgcggacacggccgtgtattactgtgcgaga
(SEQ ID NO: 370)


QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQ
FSLKLSSVTAADTAVYYCAR
(SEQ ID NO: 33)

4-34*02:
Caggtgcagctacaacagtggggcgcaggactgttgaagccttcggagaccctgtccctcacctgcgctgtctatgg
tgggtccttcagtggttactactggagctggatccgccagccccagggaagggctggagtggattgggaaatca
atcatagtggaagcaccaactacaacccgtccctcaagagtcgagtcaccatatcagtagacacgtccaagaaccag
ttctccctgaagctgagctctgtgaccgccgcggacacggccgtgtattactgtgcgagag
(SEQ ID NO: 371)


QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQ
FSLKLSSVTAADTAVYYCAR
(SEQ ID NO: 34)
```

【図５Ｂ】

```
4-39              QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGSTY 60
4-59*03           QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISS--YYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTN 58
4-34*02           QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSG--YYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTN 58
4-34*09           QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCAVYGGSFSG--YYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTN 58
VH-UL             QVQLRESGPSLVKPSQTLSLTCTASGFSLSD--KAVGWVRQAPGKALEWLGGIDTGGSTG 58
                  *:**:: *..*:***:******:. * *:*.    .*:**.***.***:* *  .***

4-39              YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR----- 99 (SEQ ID NO: 31)
4-59*03           YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCA------ 96 (SEQ ID NO: 32)
4-34*02           YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR----- 97 (SEQ ID NO: 33)
4-34*09           YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR----- 97 (SEQ ID NO: 34)
VH-UL             YNPGLKSRLSITKDNSKSQVSLSVSSVTTEDSATYYCTTVHQTQ 102 (SEQ ID NO: 29)
                  ***.***.::*: *.**.*.**.:*****:
```

【図６】

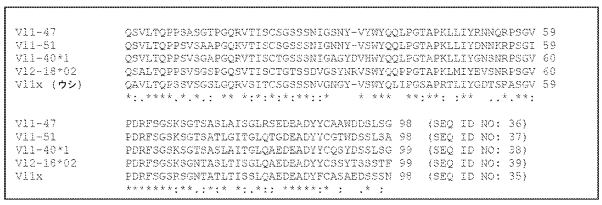


BLV1HI2 VL:

Caggctgtgctgaatcagccatcatccgtgtccgggtccctgggccagagggtctccatcacctgctctggaagcag
cagcaatgttggaaatggatatgtgagctggtaccaactgatcccaggatcggcccccagaaccctcatctatggtg
acaccagtcgagcctcgggggtcccccgaccgattctccggctccaggtctgggaacacagccaccctgaccatcagc
tcgctccaggctgaggacgaggcagattatttctgtgcatctgctgaggatagtagcagtaatgctgttttcggcag
cgggaccacactgaccgtcctg
(SEQ ID NO: 372)

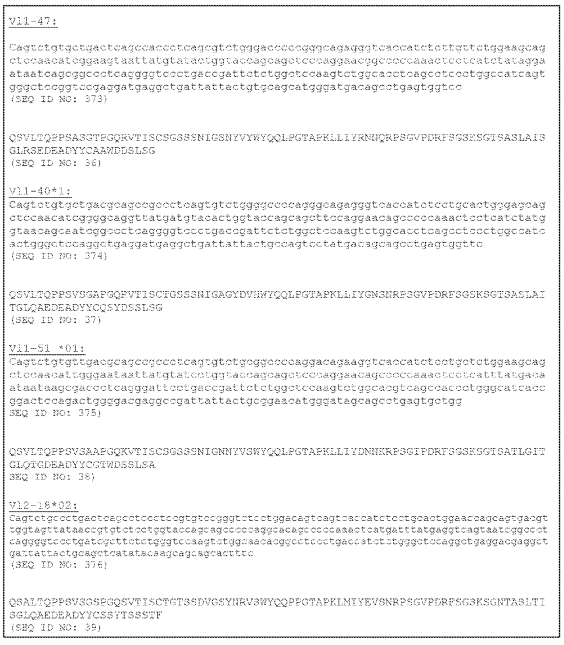
QAVLNQPSSVSGSLGQRVSITCSGSSSNVGNGYVSWYQLIPGSAPRTLIYGDTSRASGVPDRFSGSRSGNTATLTIS
GLQAEDEADYFCASAEDSSSNAVFGSGTTLTVL
(SEQ ID NO: 35)

【図７Ｂ】



```
V11-47          QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNY-VYWYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSGV 59
V11-51          QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNY-VSWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGI 59
V11-40*1        QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGV 60
V12-18*02       QSALTQPPSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGSYNRVSWYQQPPGTAPKLMIYEVSNRPSGV 60
V11x (ウシ)      QAVLTQPSSVSGSLGQRVSITCSGSSSNVGNGY-VSWYQLIPGSAPRTLIYGDTSPASGV 59
                 *:.****.*.*.: ** *:*:*:*:**::*    * ***  **:**: :**  .:*.**:

V11-47          PDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSG 98  (SEQ ID NO: 36)
V11-51          PDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSSLSA 98  (SEQ ID NO: 37)
V11-40*1        PDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSG 99  (SEQ ID NO: 38)
V12-18*02       PDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTF 99  (SEQ ID NO: 39)
V11x            PDRFSGSRSGNTATLTISSLQAEDEADYFCASAEDSSSN 98  (SEQ ID NO: 35)
                ********:**.:*:* *:.*:: *****:* :  .* :
```

【図７Ａ】



V11-47:

Cagtctgtgctgactcagccacccctcagcgtctgggaccccgggcagagggtcaccatctctgttgtctggaagcag
ctccaacatcggaagtaattatgtatactggtaccagcagctcccaggaacggcccccaaactcctcatctatagga
ataatcagcggccctcagggtccctgaccgattctctggctccaagtctggcacctcagcctccctggccatcagt
gggctccggtccgaggatgaggctgattattactgtgcagcatgggatgacagcctgagtggttcc
(SEQ ID NO: 373)

QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNZVYWYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSGVPDRFSGSZSGTSASLAIS
GLRSEDEADYYCAAWDDSLSG
(SEQ ID NO: 36)

V11-40*1:
Cagtctgtgctgacgcagccgcctcagtgtctggggccccagggcagagggtcacccatctcctgcactgggagcag
ctccaacatcggggcaggttatgatgtacactggtaccagcagttccaggaacagccccccaaactcctcatctatg
gtaacagcaatcgggcctcagggtccctgaccgattctctggctccaagtctggcacctcagcctccctggccatc
actgggctccaggctgaggatgaggctgattattactgccagtcctatgacagccagcctgagtggttc
(SEQ ID NO: 374)

QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAI
TGLQAEDEADYYCQSYDSSLSG
(SEQ ID NO: 37)

V11-51 *01:
Cagtctgtgttgacgcagccgcccctcagtgtctgcggcccaggacagaaggtcaccatctcctgtgctctggaagcag
ctccaacattcgggaataattatgtatcctggtaccagcagctcccaggaacagccccccaaactcctcatttatgaaa
ataataagcgaccctcagggattcctgaccgattctctggctccaagtctggcacgtcagcctcaccctggccatcactc
ggactccagactgaggacgaggccgattattactgcggaacatgggatagcagcctgagtgctgg
SEQ ID NO: 375)

QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGIT
GLQTGDEADYYCGTWDSSLSA
SEQ ID NO: 38)

V12-18*02:
Cagtctgccctgactcagcctccctccgtgtccgggtctcctggacagtcagtcaccatctcctgcactggaacccagcagtgacgt
tggtagttataaccgtgtctcctggtaccagcagccccaggcacagcccccaaactcatgatttatgaggtcagtaatcggccct
caggggtcctgatcgcttctctgggtccaagtctggcaacacggcctcccgaccatctctgggctccaggctgaggacgaggct
gattattactgcagctcatatacaagcagcagcacttcc
(SEQ ID NO: 376)

QSALTQPPSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGSYNRVSWYQQPPGTAPKLMIYEVSNRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTI
SGLQAEDEADYYCSSYTSSSTF
(SEQ ID NO: 39)

【図８】

名称	V1選択肢 A	V1選択肢 B
VH4-34_Q5RQ6E	QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWS WIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYY (SEQ ID NO: 734)	QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWS WIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 735)
VH4-34_CDR1-G31DY32K_Q5RQ6E	QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSDKYWS WIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYY (SEQ ID NO: 736)	QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSDKYWS WIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 737)
VH4-34_CDR2-E50S_Q5RQ6E	QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWS WIRQPPGKGLEWIGSINHSGSTNYNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYY (SEQ ID NO: 738)	QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWS WIRQPPGKGLEWIGSINHSGSTNYNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 739)
VH4-34_CDR1-G31DY32K_CDR2-E50S_Q5RQ6E	QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSDKYWS WIRQPPGKGLEWIGSINHSGSTNYNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYY (SEQ ID NO: 740)	QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSDKYWS WIRQPPGKGLEWIGSINHSGSTNYNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 741)
VH4-34_CDR1-Cow_Q5RQ6E	QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCTASGFSLSDKAVG WIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYY (SEQ ID NO: 742)	QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCTASGFSLSDKAVG WIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 743)
VH4-34_CDR2-Cow_Q5RQ6E	QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGLGSIDTGG NTGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWYNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYY (SEQ ID NO: 744)	QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGLGSIDTGG NTGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWYNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 745)
VH4-34_CDR1-Cow_CDR2-E50S_Q5RQ6E	QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCTASGFSLSDKAVG WIRQPPGKGLEWIGSINHSGSTNYNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYY (SEQ ID NO: 746)	QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCTASGFSLSDKAVG WIRQPPGKGLEWIGSINHSGSTNYNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 747)
VH4-34_CDR1-Cow_CDR2-Cow_Q5RQ6E	QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCTASGFSLSDKAVG WIRQPPGKGLEWLGSIDTGGNTGYNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYY (SEQ ID NO: 748)	QVQLREWGAGLLKPSETLSLTCTASGFSLSDKAVG WIRQPPGKGLEWLGSIDTGGNTGYNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 749)

【図９】

名称	VLアミノ酸配列
VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPRTLIYGDTKRPSGIP DRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYC (SEQ ID NO: 750)
VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T, K54S, P56A	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPRTLIYGDTSRASGIP DRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYC (SEQ ID NO: 751)
VL1-51 I29V, N32G, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNVGNGYVSWYQQLPGTAPRTLIYGDTKRPSGI PDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYC (SEQ ID NO: 752)
VL1-51 I29V, N32G, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T, K54S, P56A	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNVGNGYVSWYQQLPGTAPRTLIYGDTSRASGI PDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYC (SEQ ID NO: 753)
BLV1HI2種類内のCDR3および BLV1HI2種類内のCDR3のほぼ全ての J領域を含む、VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPRTLIYGDTKRPSGIP DRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCASAEDSSSNAVFGSGTTLTVL(SEQ ID NO: 959)

【図１０－１】

名称	VH核酸配列	VHアミノ酸配列
VH4-34+CDR3-IL8_CDR1-Cow_Q5RQ6E	CAGGTGCAGCTAAGAGAGTGGGGCGCAGGACTGTTGAAGCCTTCGGAGACGCTGT CCCTCACCTGCACAGCAAGCGGTTTTCACTGAGCGACAAGGCAGTGGGATGGATT CGCCAGCCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGGAAATCAATCATAGTGGAA GCACCAACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGACACGTCC AAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCGGACACGGCTGTGTA TTACTGTACCTCTGTGCACCAGGAAACTAAGAAATACCAGAGCCCAAGGAGTGCTAA AGAACTTAGATGTCAGTGCATAAAGACATACTCCAAACCTTTCCACCCCAAGTTCAT CAAGGAGCTGAGAGTGATTGAGAGTGGACCACACTGCGCCAACACAGAGATTATTG TAAAGCTTTCTGATGGGAGAGAGCTCTGCCTGGACCCCAAGGAAAACTGGGTGCAG AGGGTCGTGGAGAAGTTCTTGAAGAGGGCTGAGAACTCAGGCAGCGGTTCTTATAC CTACAATTATGAATGGCATGTGGATGTCTGGGGACACGGGCCTGCTGGTGACAGTCT CTAGT (SEQ ID NO: 494)	QVQLREWGAGLLKPSETLSLTC TASGFSLSDKAVGWIRQPPGK GLEWIGEINHSGSTNYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAA DTAVYYCTSVHQETKKYQSPRS AKELRCQCIKTYSKPFHPKFIKE LRVIESGPHCANTEIIVKLSDGR ELCLDPKENWVQRVVEKFLKRA ENSGSGSYTYNYEWHVDVWG QGLLVTVSS (SEQ ID NO: 784)
VH4-34+CDR3-IL8_CDR2-Cow_Q5RQ6E	CAGGTGCAGCTAAGAGAGTGGGGCGCAGGACTGTTGAAGCCTTCGGAGACGCTGT CCCTCACCTGCGCTGTCTATGGTGGGTCCTTCAGTGACAAGTACTGGAGCTGGATT CGCCAGCCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAAATCAATCATAGTGGAAAC GCACCAACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGACACGTCC AAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCGGACACGGCTGTGTA TTACTGTACCTCTGTGCACCAGGAAACTAAGAAATACCAGAGCCCAAGGAGTGCTAA AGAACTTAGATGTCAGTGCATAAAGACATACTCCAAACCTTTCCACCCCAAGTTCAT CAAGGAGCTGAGAGTGATTGAGAGTGGACCACACTGCGCCAACACAGAGATTATTG TAAAGCTTTCTGATGGGAGAAGCTTCTGCCTGGACCCCAAGGAAACTCAGGCAGCGGTTCTTATAC CTACAATTATGAATGGCATGTGGATGTCTGGGGACACGGGCCTGCTGGTGACAGTCT CTAGT (SEQ ID NO: 491)	QVQLREWGAGLLKPSETLSLTC AVYGGSFSGYYWSWIRQPPGK GLEWIGEINHSGSTNYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAA DTAVYYCTSVHQETKKYQSPRS AKELRCQCIKTYSKPFHPKFIKE LRVIESGPHCANTEIIVKLSDGR ELCLDPKENWVQRVVEKFLKRA ENSGSGSYTYNYEWHVDVWG QGLLVTVSS (SEQ ID NO: 785)
VH4-34+CDR3-IL8_CDR1-G31DY32K_Q5RQ6E	CAGGTGCAGCTAAGAGAGTGGGGCGCAGGACTGTTGAAGCCTTCGGAGACGCTGT CCCTCACCTGCGCTGTCTATGGTGGGTCCTTCAGTGACAAGTACTGGAGCTGGATT CGCCAGCCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAAATCAATCATAGTGGAAAC GCACCAACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGACACGTCC AAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCGGACACGGCTGTGTA TTACTGTACCTCTGTGCACCAGGAAACTAAGAAATACCAGAGCCCAAGGAGTGCTAA AGAACTTAGATGTCAGTGCATAAAGACATACTCCAAACCTTTCCACCCCAAGTTCAT CAAGGAGCTGAGAGTGATTGAGAGTGGACCACACTGCGCCAACACAGAGATTATTG TAAAGCTTTCTGATGGGAGAAGCTTCTGCCTGGACCCCAAGGAAACTCAGGCAGCGGTTCTTATAC CTACAATTATGAATGGCATGTGGATGTCTGGGGACACGGGCCTGCTGGTGACAGTCT CTAGT (SEQ ID NO: 491)	QVQLREWGAGLLKPSETLSLTC AVYGGSFSDKYWSWIRQPPGK GLEWIGEINHSGSTNYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAA DTAVYYCTSVHQETKKYQSPRS AKELRCQCIKTYSKPFHPKFIKE LRVIESGPHCANTEIIVKLSDGR ELCLDPKENWVQRVVEKFLKRA ENSGSGSYTYNYEWHVDVWG QGLLVTVSS (SEQ ID NO: 785)

【図１０－２】

名称	VH核酸配列	VHアミノ酸配列
VH4-34+CDR3-IL8_CDR2-E50S_Q5RQ6E	CAGGTGCAGCTAAGAGAGTGGGGCGCAGGACTGTTGAAGCCTTCGGAGACGCTGT CCCTCACCTGCGCTGTCTATGGTGGGTCCTTCAGTGGTTACTACTGGAGCTGGATT CGCCAGCCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGCATCAATCATAGTGGAA GCACCAACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGACACGTCC AAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCGGACACGGCTGTGTA TTACTGTACCTCTGTGCACCAGGAAACTAAGAAATACCAGAGCCCAAGGAGTGCTAA AGAACTTAGATGTCAGTGCATAAAGACATACTCCAAACCTTTCCACCCCAAGTTCAT CAAGGAGCTGAGAGTGATTGAGAGTGGACCACACTGCGCCAACACAGAGATTATTG TAAAGCTTTCTGATGGGAGAAGCTTCTGCCTGGACCCCAAGGAAACTCAGGCAGCGGTTCTTATAC CTACAATTATGAATGGCATGTGGATGTCTGGGGACACGGGCCTGCTGGTGACAGTCT CTAGT (SEQ ID NO: 492)	QVQLREWGAGLLKPSETLSLTC AVYGGSFSGYYWSWIRQPPGK GLEWIGSINHSGSTNYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAA DTAVYYCTSVHQETKKYQSPRS AKELRCQCIKTYSKPFHPKFIKE LRVIESGPHCANTEIIVKLSDGR ELCLDPKENWVQRVVEKFLKRA ENSGSGSYTYNYEWHVDVWG QGLLVTVSS (SEQ ID NO: 786)
VH4-34+CDR3-IL8_CDR1-G31DY32K_CDR2-E50S_Q5RQ6E	CAGGTGCAGCTAAGAGAGTGGGGCGCAGGACTGTTGAAGCCTTCGGAGACGCTGT CCCTCACCTGCGCTGTCTATGGTGGGTCCTTCAGTGACAAGTACTGGAGCTGGATT CGCCAGCCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAAATCAATCATAGTGGAAAC GCACCAACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGACACGTCC AAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCGGACACGGCTGTGTA TTACTGTACCTCTGTGCACCAGGAAACTAAGAAATACCAGAGCCCAAGGAGTGCTAA AGAACTTAGATGTCAGTGCATAAAGACATACTCCAAACCTTTCCACCCCAAGTTCAT CAAGGAGCTGAGAGTGATTGAGAGTGGACCACACTGCGCCAACACAGAGATTATTG TAAAGCTTTCTGATGGGAGAAGCTTCTGCCTGGACCCCAAGGAAACTCAGGCAGCGGTTCTTATAC CTACAATTATGAATGGCATGTGGATGTCTGGGGACACGGGCCTGCTGGTGACAGTCT CTAGT (SEQ ID NO: 483)	QVQLREWGAGLLKPSETLSLTC AVYGGSFSDKYWSWIRQPPGK GLEWIGSINHSGSTNYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAA DTAVYYCTSVHQETKKYQSPRS AKELRCQCIKTYSKPFHPKFIKE LRVIESGPHCANTEIIVKLSDGR ELCLDPKENWVQRVVEKFLKRA ENSGSGSYTYNYEWHVDVWG QGLLVTVSS (SEQ ID NO: 787)

【図１０－３】

名称	VH核酸配列	VHアミノ酸配列
VH4-34+CDR3-IL8_CDR1-Cow_CDR2-E50S_Q5RQ6E	CAGGTGCAGCTAAGAGAGTGGGGCGCAGGACTGTTGAAGCCTTCGGAGACGCTGT CCCTCACCTGCACAGCAAGCGGTTTTCACTGAGCGACAAGGCAGTGGGATGGATT CGCCAGCCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGGAAATCAATCATAGTGGAA GCACCAACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGACACGTCC AAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCGGACACGGCTGTGTA TTACTGTACCTCTGTGCACCAGGAAACTAAGAAATACCAGAGCCCAAGGAGTGCTAA AGAACTTAGATGTCAGTGCATAAAGACATACTCCAAACCTTTCCACCCCAAGTTCAT CAAGGAGCTGAGAGTGATTGAGAGTGGACCACACTGCGCCAACACAGAGATTATTG TAAAGCTTTCTGATGGGAGAGAGCTCTGCCTGGACCCCAAGGAAACTCAGGCAGCGGTTCTTATAC CTACAATTATGAATGGCATGTGGATGTCTGGGGACACGGGCCTGCTGGTGACAGTCT TCTAGT (SEQ ID NO: 495)	QVQLREWGAGLLKPSETLSLTC TASGFSLSDKAVGWIRQPPGK GLEWIGEINHSGSTNYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAA DTAVYYCTSVHQETKKYQSPRS AKELRCQCIKTYSKPFHPKFIKE LRVIESGPHCANTEIIVKLSDGR ELCLDPKENWVQRVVEKFLKRA ENSGSGSYTYNYEWHVDVWG QGLLVTVSS (SEQ ID NO: 789)
VH4-34+CDR3-IL8_CDR2-Cow_Q5RQ6E	CAGGTGCAGCTAAGAGAGTGGGGCGCAGGACTGTTGAAGCCTTCGGAGACGCTGT CCCTCACCTGCGCTGTCTATGGTGGGTCCTTCAGTGACAAGTACTGGAGCTGGATT CGCCAGCCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAAATCAATCATAGTGGAAAC GCACCAACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGACACGTCC AAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCGGACACGGCTGTGTA TTACTGTACCTCTGTGCACCAGGAAACTAAGAAATACCAGAGCCCAAGGAGTGCTAA AGAACTTAGATGTCAGTGCATAAAGACATACTCCAAACCTTTCCACCCCAAGTTCAT CAAGGAGCTGAGAGTGATTGAGAGTGGACCACACTGCGCCAACACAGAGATTATTG TAAAGCTTTCTGATGGGAGAAGCTTCTGCCTGGACCCCAAGGAAACTCAGGCAGCGGTTCTTATAC CTACAATTATGAATGGCATGTGGATGTCTGGGGACACGGGCCTGCTGGTGACAGTCT TCTAGT (SEQ ID NO: 497)	QVQLREWGAGLLKPSETLSLTC TASGFSLSDKYWSWIRQPPGK GLEWLGSIDTGGNTGYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAA DTAVYYCTSVHQETKKYQSPRS AKELRCQCIKTYSKPFHPKFIKE LRVIESGPHCANTEIIVKLSDGR ELCLDPKENWVQRVVEKFLKRA ENSGSGSYTYNYEWHVDVWG QGLLVTVSS (SEQ ID NO: 791)

【図１０－４】

名称	VH核酸配列	VHアミノ酸配列
VH4-34+CDR3-IL8_CDR1-Cow_CDR2-Cow_Q5RQ6E	CAGGTGCAGCTAAGAGAGTGGGGCGCAGGACTGTTGAAGCCTTCGGAGACGCTGT CCCTCACCTGCACAGCAAGCGGTTTTCACTGAGCGACAAGGCAGTGGGATGGATT CGCCAGCCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGGAAATCAATCATAGTGGAA GCACCAACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGACACGTCC AAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCGGACACGGCTGTGTA TTACTGTACCTCTGTGCACCAGGAAACTAAGAAATACCAGAGCCCAAGGAGTGCTAA AGAACTTAGATGTCAGTGCATAAAGACATACTCCAAACCTTTCCACCCCAAGTTCAT CAAGGAGCTGAGAGTGATTGAGAGTGGACCACACTGCGCCAACACAGAGATTATTG TAAAGCTTTCTGATGGGAGAGAGCTCTGCCTGGACCCCAAGGAAACTCAGGCAGCGGTTCTTATAC CTACAATTATGAATGGCATGTGGATGTCTGGGGACACGGGCCTGCTGGTGACAGTCT TCTAGT (SEQ ID NO: 496)	QVQLREWGAGLLKPSETLSLTC TASGFSLSDKAVGWIRQPPGK GLEWIGSINHSGSTNYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAA DTAVYYCTSVHQETKKYQSPRS AKELRCQCIKTYSKPFHPKFIKE LRVIESGPHCANTEIIVKLSDGR ELCLDPKENWVQRVVEKFLKRA ENSGSGSYTYNYEWHVDVWG QGLLVTVSS (SEQ ID NO: 790)
VH4-34+CDR3-IL8_CDR1-Cow_CDR2-Cow_Q5RQ6E	CAGGTGCAGCTAAGAGAGTGGGGCGCAGGACTGTTGAAGCCTTCGGAGACGCTGT CCCTCACCTGCACAGCAAGCGGTTTTCACTGAGCGACAAGGCAGTGGGATGGATT CGCCAGCCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCGGCATCGATACCGGCGGGAACAC AACACAGGGTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGACACGTC CAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCGGACACGGCTGTGT ATTACTGTACCTCTGTGCACCAGGAAACTAAGAAATACCAGAGCCCAAGGAGTGCTA AAGAACTTAGATGTCAGTGCATAAAGACATACTCCAAACCTTTCCACCCCAAGTTCA TCAAGGAGCTGAGAGTGATTGAGAGTGGACCACACTGCGCCAACACAGAGATTATT GTAAAGCTTTCTGATGGGAGAAGCTCTGCCTGGACCCCAAGGAAACTCAGGCAGCG GAGGGTCGTGGAGAAGTTCTTGAAGAGGGCTGAGAACTCAGGCAGCGGTTCTTATA TCTAGT (SEQ ID NO: 497)	QVQLREWGAGLLKPSETLSLTC TASGFSLSDKAVGWIRQPPGK GLEWLGSIDTGGNTGYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAA DTAVYYCTSVHQETKKYQSPRS AKELRCQCIKTYSKPFHPKFIKE LRVIESGPHCANTEIIVKLSDGR ELCLDPKENWVQRVVEKFLKRA ENSGSGSYTYNYEWHVDVWG QGLLVTVSS (SEQ ID NO: 791)

【図１１－１】

名称	VL-CL核酸配列	VL-CLアミノ酸配列
VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	CAGGCCGTCCTGAACCAGCCAAGCAGCGTCTCCGGGTCTCTGGGGCAGAAGGTGA CTATCAGCTGCTCTGGCTCATCAAGCAACATCGGGAATAATTACGTCAGCTGGTACC AGCAGCTGCCTGGAACAGCTCCTACATTTATGGCGACAAAGCCGCCCA TCCGGAATCCCTGACCGATTCAGCGGAAGCAAATCAGGGACCTCTGCAACTCTGGG AATCACTGGGCTTCAGACAGGAGATGAGGCAGATTACTATTGCGCCTCTGCAGAGG ACAGCTCCAGCAATGCCGTGTTCGGGTCTGGTACCACTCTTACAGTCCTAGGTCAG CCCAAGGCTGCCCCTCGGTCACTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTCAAGC CAACAAGGCCACACTGGTGTGTCTCATAAGTGACTTCTACCCGGGAGCCGTGACAG TGGCCTGGAAGGCAGATAGCAGCCCCGTCAAGGCGGGAGTGGAAACAACCACACC CTCCAAACAAAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGCAGCTATCTGAGCCTGACGCCTG AGCAGTGGAAGTCCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTCACGCATGAAGGGAGCAC CGTGGAGAAGACAGTGGCCCCTACAGAATGTTCA (SEQ ID NO: 486)	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTISC SGSSSNIGNNYVSWYQQLPGT APRTLIYGDTKRPSGIPDRFSGS KSGTSATLGITGLQTGDEADYY CASAEDSSSNAVFGSGTTLTVL GQPKAAPSVTLFPPSSEELQAN KATLVCLISDFYPGAVTVAWKA AASSYLSLTPEQWKSHRSYSC QVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO: 780)
VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T, K54S, P56A	CAGGCCGTCCTGAACCAGCCAAGCAGCGTCTCCGGGTCTCTGGGGCAGAAGGTGA CTATCAGCTGCTCTGGCTCATCAAGCAACATCGGGAATAATTACGTCAGCTGGTACC AGCAGCTGCCTGGAACAGCTCCTACATTTATGGCGACAAAGCCGCCCA TCCGGAATCCCTGACCGATTCAGCGGAAGCAAATCAGGGACCTCTGCAACTCTGGG AATCACTGGGCTTCAGACAGGAGATGAGGCAGATTACTATTGCGCCTCTGCAGAGG ACAGCTCCAGCAATGCCGTGTTCGGGTCTGGTACCACTCTTACAGTCCTAGGTCAG CCCAAGGCTGCCCCTCGGTCACTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTCAAGC CAACAAGGCCACACTGGTGTGTCTCATAAGTGACTTCTACCCGGGAGCCGTGACAG TGGCCTGGAAGGCAGATAGCAGCCCCGTCAAGGCGGGAGTGGAAACAACCACACC CTCCAAACAAAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGCAGCTATCTGAGCCTGACGCCTG AGCAGTGGAAGTCCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTCACGCATGAAGGGAGCAC CGTGGAGAAGACAGTGGCCCCTACAGAATGTTCA (SEQ ID NO: 487)	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTISC SGSSSNIGNNYVSWYQQLPGT APRTLIYGDTSRASGIPDRFSGS KSGTSATLGITGLQTGDEADYY CASAEDSSSNAVFGSGTTLTVL GQPKAAPSVTLFPPSSEELQAN KATLVCLISDFYPGAVTVAWKA AASSYLSLTPEQWKSHRSYSC QVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO: 781)

【図１２】

名称	アミノ酸配列
重鎖CDR3上流ストーク	TSVHQETKKYQS (SEQ ID NO: 498)
重鎖CDR3下流ストーク	SYTYNYEWHVDV(SEQ ID NO: 499)
CDR3外のBLV1H12重鎖J領域	WGQGLLVTVSS(SEQ ID NO: 500)
BLV1H12軽鎖内のCDR3	ASAEDSSSNAV(SEQ ID NO: 754)
BLV1H12軽鎖内のCDR3の後のJ領域	FGSGTTLTVL(SEQ ID NO: 755)
ヒト軽鎖λ定常領域	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSK QSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS(SEQ ID NO: 756)
ヒト軽鎖λ可変領域	QAVLNQPSSVSGSLGQRVSITCSGSSSNVGNGYVSWYQLIPGSAPRTLIYGDTSRASGV PDRFSGSRSGNTATLTISSLQAEDEADYFCASAEDSSSNAVFGSGTTLTVL(SEQ ID NO: 956)

【図１３－１】

名称	核酸配列
BLV1H12-CDR3-GGS1:1-BsaI	CAGGTCCAGCTGAGAGAGAGCGGCCCTTCACTGGTCAAGCCATCCCAGACACTG AGCCTGACATGCACAGCAAGCGGGTTTTCACTGAGCGACAAGGCAGTGGGATGG GTCCGACAGGCACCAGGAAAAGCCCTGGAATGGCTGGGCAGCATCGATACCGG CGGGAACACAGGGTACAATCCCGGACTGAAGAGCAGACTGTCCATTACCAAGGA CAACTCTAAAAGTCAGGTGTCACTGAGCGTGAGCTCCGTCACCACAGAGGATAGT GCAACTTACTATTGCACCAGGAAACTAAGAAATACCAGAGCGGAG GAAGCGAGACCTACTATGGTTCGGGTCTCGGAGGAAGCTCTTATACCTACAATTA TGAATGGCATGTGGATGTCTGGGGACAGGGCCTGCTGGTGACAGTCTCTAGTGC TAGC (SEQ ID NO: 757)
BLV1H12-CDR3-GGS1:2-BsaI	CAGGTCCAGCTGAGAGAGAGCGGCCCTTCACTGGTCAAGCCATCCCAGACACTG AGCCTGACATGCACAGCAAGCGGGTTTTCACTGAGCGACAAGGCAGTGGGATGG GTCCGACAGGCACCAGGAAAAGCCCTGGAATGGCTGGGCAGCATCGATACCGG CGGGAACACAGGGTACAATCCCGGACTGAAGAGCAGACTGTCCATTACCAAGGA CAACTCTAAAAGTCAGGTGTCACTGAGCGTGAGCTCCGTCACCACAGAGGATAGT GCAACTTACTATTGCACCAGGAAACTAAGAAATACCAGAGCGGAG GAAGCGAGACCTACTATGGTTCGGGTCTCGGAGGAAGCTCTTATA CCTACAATTATGAATGGCATGTGGATGTCTGGGGACAGGGCCTGCTGGTGACAG TCTCTAGTGCTAGC (SEQ ID NO: 758)
BLV1H12-CDR3-GGS2:1-BsaI	CAGGTCCAGCTGAGAGAGAGCGGCCCTTCACTGGTCAAGCCATCCCAGACACTG AGCCTGACATGCACAGCAAGCGGGTTTTCACTGAGCGACAAGGCAGTGGGATGG GTCCGACAGGCACCAGGAAAAGCCCTGGAATGGCTGGGCAGCATCGATACCGG CGGGAACACAGGGTACAATCCCGGACTGAAGAGCAGACTGTCCATTACCAAGGA CAACTCTAAAAGTCAGGTGTCACTGAGCGTGAGCTCCGTCACCACAGAGGATAGT GCAACTTACTATTGCACCAGGAAACTAAGAAATACCAGAGCGGAG GAAGCGGAGGAAGCGACCTACTATGGTTCGGGTCTCGGAGGAAGCTCTTATA CCTACAATTATGAATGGCATGTGGATGTCTGGGGACAGGGCCTGCTGGTGACAG TCTCTAGTGCTAGC (SEQ ID NO: 759)

【図１１－２】

名称	VL-CL核酸配列	VL-CLアミノ酸配列
VL1-51 I29V, N32G, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	CAGTCCGTGCTGACCCAACCCCCGTCAGTGTCTGCTGCCCCCGGGCAGAAGGTGA CTATCAGCTGCTCTGGCTCATCCTCCAATGTCGGCAAGGGCTACGTCAGCTGGTAC CAGCAGCTGCCTGGAACAGCTCCTACATTTATGGCGACAAAGCGCCCC ATCCGGAATCCCTGACCGATTCAGCGGAAGCAATCAGGGACCTCTGCAACTCTGG GAATCACTGGGCTTCAGACAGGAGATGAGGCAGATTACTATTGCGCCTCTGCAGAG GACAGCTCCAGCAATGCCGTGTTCGGGTCTGGTACCACTCTTACAGTCCTAGGTCA GCCCAAGGCTGCCCCTCGGTCACTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTCAAG CCAACAAGGCCACACTGGTGTGTCTCATAAGTGACTTCTACCCGGGAGCCGTGACA CCTCCAAACAAAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGCAGCTATCTGAGCCTGACGCCT GAGCAGTGGAAGTCCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTCACGCATGAAGGGAGCA CCGTGGAGAAGACAGTGGCCCCTACAGAATGTTCA (SEQ ID NO: 488)	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISC SGSSSNVGNGYVSWYQQLPGT APRTLIYGDTKRPSGIPDRFSGS KSGTSATLGITGLQTGDEADYY CASAEDSSSNAVFGSGTTLTVL GQPKAAPSVTLFPPSSEELQAN KATLVCLISDFYPGAVTVAWKA DSSPVKAGVETTTPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSYSC QVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO: 782)
VL1-51 I29V, N32G, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T, K54S, P56A	CAGTCCGTGCTGACCCAACCCCCGTCAGTGTCTGCTGCCCCCGGGCAGAAGGTGA CTATCAGCTGCTCTGGCTCATCCTCCAATGTCGGCAAGGGCTACGTCAGCTGGTAC CAGCAGCTGCCTGGAACAGCTCCTACATTTATGGCGACAAAGCGCCCC ATCCGGAATCCCTGACCGATTCAGCGGAAGCAATCAGGGACCTCTGCAACTCTGG GAATCACTGGGCTTCAGACAGGAGATGAGGCAGATTACTATTGCGCCTCTGCAGAG GACAGCTCCAGCAATGCCGTGTTCGGGTCTGGTACCACTCTTACAGTCCTAGGTCA GCCCAAGGCTGCCCCTCGGTCACTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTCAAG CCAACAAGGCCACACTGGTGTGTCTCATAAGTGACTTCTACCCGGGAGCCGTGACA CCTCCAAACAAAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGCAGCTATCTGAGCCTGACGCCT GAGCAGTGGAAGTCCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTCACGCATGAAGGGAGCA CCGTGGAGAAGACAGTGGCCCCTACAGAATGTTCA (SEQ ID NO: 489)	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISC SGSSSNVGNGYVSWYQQLPGT APRTLIYGDTSRASGIPDRFSGS KSGTSATLGITGLQTGDEADYY CASAEDSSSNAVFGSGTTLTVL GQPKAAPSVTLFPPSSEELQAN KATLVCLISDFYPGAVTVAWKA DSSPVKAGVETTTPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSYSC QVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO: 783)

【図１３－２】

名称	核酸配列
BLV1H12-CDR3-GGS2:2-BsaI	CAGGTCCAGCTGAGAGAGAGCGGCCCTTCACTGGTCAAGCCATCCCAGACACTG AGCCTGACATGCACAGCAAGCGGGTTTTCACTGAGCGACAAGGCAGTGGGATGG GTCCGACAGGCACCAGGAAAAGCCCTGGAATGGCTGGGCAGCATCGATACCGG CGGGAACACAGGGTACAATCCCGGACTGAAGAGCAGACTGTCCATTACCAAGGA CAACTCTAAAAGTCAGGTGTCACTGAGCGTGAGCTCCGTCACCACAGAGGATAGT GCAACTTACTATTGCACCTCTGTGCACCAGGAAACTAAGAAATACCAGAGCGGAG GAAGCGGAGGAAGCGAGACCTACTATGGTTCGGGTCTCGGAGGAAGCGGAGGA AGCTCTTATACCTACAATTATGAATGGCATGTGGATGTCTGGGGACAGGGCCTGC TGGTGACAGTCTCTAGTGCTAGC (SEQ ID NO: 760)
BLV1H12-CDR3-GGS2:3-BsaI	CAGGTCCAGCTGAGAGAGAGCGGCCCTTCACTGGTCAAGCCATCCCAGACACTG AGCCTGACATGCACAGCAAGCGGGTTTTCACTGAGCGACAAGGCAGTGGGATGG GTCCGACAGGCACCAGGAAAAGCCCTGGAATGGCTGGGCAGCATCGATACCGG CGGGAACACAGGGTACAATCCCGGACTGAAGAGCAGACTGTCCATTACCAAGGA CAACTCTAAAAGTCAGGTGTCACTGAGCGTGAAGAGCAGACTGTCCATTACCAAGGA GCAACTTACTATTGCACCTCTGTGCACCAGGAAACTAAGAAATACCAGAGCGGAG GAAGCGGAGGAAGCGAGACCTACTATGGTTCGGGTCTCGGAGGAAGCGGAGGA AGGGCCTGCTGGTGACAGTCTCTAGTGCTAGC (SEQ ID NO: 761)
BLV1H12-CDR3-GGS2:4-BsaI	CAGGTCCAGCTGAGAGAGAGCGGCCCTTCACTGGTCAAGCCATCCCAGACACTG AGCCTGACATGCACAGCAAGCGGGTTTTCACTGAGCGACAAGGCAGTGGGATGG GTCCGACAGGCACCAGGAAAAGCCCTGGAATGGCTGGGCAGCATCGATACCGG CGGGAACACAGGGTACAATCCCGGACTGAAGAGCAGACTGTCCATTACCAAGGA CAACTCTAAAAGTCAGGTGTCACTGAGCGTGAAGAGCAGACTGTCCATTACCAAGGA GCAACTTACTATTGCACCTCTGTGCACCAGGAAACTAAGAAATACCAGAGCGGAG GAAGCGGAGGAAGCGAGACCTACTATGGTTCGGGTCTCGGAGGAAGCGGAGGA AGGGCCTGCTGGTGACAGTCTCTAGTGCTAGC (SEQ ID NO: 762)

【図１３－３】

名称	核酸配列
BLV1H12-CDR3-GGS3:2-BsaI	CAGGTCCAGCTGAGAGAGAGCGGCCCTTCACTGGTCAAGCCATCCCAGACACTG AGCCTGACATGCACAGCAAGCGGGTTTTCACTGAGCGACAAGGCAGTGGGATGG GTCCGACAGGCACCAGGAAAAGCCCTGGAATGGCTGGGCAGCATCGATACCGG CGGGAACACAGGGTACAATCCCGGACTGAAGAGCAGACTGTCCATTACCAAGGA CAACTCTAAAAGTCAGGTGTCACTGAGCGTGAAGAGCAGACTGTCCATTACCAAGGA GCAACTTACTATTGCACCTCTGTGCACCAGGAAACTAAGAAATACCAGAGCGGAG GAAGCGGAGGAAGCGAGACCTACTATGGTTCGGGTCTCGGAGGAAGCGGAGGA AGGGCCTGCTGGTGACAGTCTCTAGTGCTAGC (SEQ ID NO: 763)
BLV1H12-CDR3-GGS3:3-BsaI	CAGGTCCAGCTGAGAGAGAGCGGCCCTTCACTGGTCAAGCCATCCCAGACACTG AGCCTGACATGCACAGCAAGCGGGTTTTCACTGAGCGACAAGGCAGTGGGATGG GTCCGACAGGCACCAGGAAAAGCCCTGGAATGGCTGGGCAGCATCGATACCGG CGGGAACACAGGGTACAATCCCGGACTGAAGAGCAGACTGTCCATTACCAAGGA CAACTCTAAAAGTCAGGTGTCACTGAGCGTGAAGAGCAGACTGTCCATTACCAAGGA GCAACTTACTATTGCACCTCTGTGCACCAGGAAACTAAGAAATACCAGAGCGGAG AGCGGAGGAAGCGAGACCTACTATGGTTCGGGTCTCGGAGGAAGCGGAGGA TCTGGGGACAGGGCCTGCTGGTGACAGTCTCTAGTGCTAGC (SEQ ID NO: 764)
BLV1H12-CDR3-GGS4:2-BsaI	CAGGTCCAGCTGAGAGAGAGCGGCCCTTCACTGGTCAAGCCATCCCAGACACTG AGCCTGACATGCACAGCAAGCGGGTTTTCACTGAGCGACAAGGCAGTGGGATGG GTCCGACAGGCACCAGGAAAAGCCCTGGAATGGCTGGGCAGCATCGATACCGG CGGGAACACAGGGTACAATCCCGGACTGAAGAGCAGACTGTCCATTACCAAGGA CAACTCTAAAAGTCAGGTGTCACTGAGCGTGAAGAGCAGACTGTCCATTACCAAGGA GCAACTTACTATTGCACCTCTGTGCACCAGGAAACTAAGAAATACCAGAGCGGAG AGCGGAGGAAGCGAGACCTACTATGGTTCGGGTCTCGGAGGAAGCGGAGGA TCTGGGGACAGGGCCTGCTGGTGACAGTCTCTAGTGCTAGC (SEQ ID NO: 765)

【図１３－４】

名称	核酸配列
BLV1H12-CDR3-G4Sx1-BsaI	CAGGTCCAGCTGAGAGAGAGCGGCCCTTCACTGGTCAAGCCATCCCAGACACTG AGCCTGACATGCACAGCAAGCGGGTTTTCACTGAGCGACAAGGCAGTGGGATGG GTCCGACAGGCACCAGGAAAAGCCCTGGAATGGCTGGGCAGCATCGATACCGG CGGGAACACAGGGTACAATCCCGGACTGAAGAGCAGACTGTCCATTACCAAGGA CAACTCTAAAAGTCAGGTGTCACTGAGCGTGAGCTCCGTCACCACAGAGGATAGT GCAACTTACTATTGCACCTCTGTGCACCAGGAAACTAAGAAATACCAGAGCGGTG GAGGAGGTTCTGGAGGATGAAGACCTACTATGGTTCAGGGTCTCTGGAGGTGGTG GATCTTCTTATACCTACAATTATGAATGGCATGTGGATGTCTGGGGACAGGGCCT GCTGGTGACAGTCTCTAGTGCTAGC (SEQ ID NO: 766)
BLV1H12-CDR3-G4Sx3-BsaI	CAGGTCCAGCTGAGAGAGAGCGGCCCTTCACTGGTCAAGCCATCCCAGACACTG AGCCTGACATGCACAGCAAGCGGGTTTTCACTGAGCGACAAGGCAGTGGGATGG GTCCGACAGGCACCAGGAAAAGCCCTGGAATGGCTGGGCAGCATCGATACCGG CGGGAACACAGGGTACAATCCCGGACTGAAGAGCAGACTGTCCATTACCAAGGA CAACTCTAAAAGTCAGGTGTCACTGAGCGTGAGCTCCGTCACCACAGAGGATAGT GCAACTTACTATTGCACCTCTGTGCACCAGGAAACTAAGAAATACCAGAGCGGTG GAGGAGGTTCTGGAGGGTGGTGGCGGAGGTAGCGGAGGATGAGAC CTACTATGGTTCAGGGTCTCTGGAGGTGGTGGATCTGGTGGAGGAGGCAGTGGA GGTGGTGGCAGCTCTTATACCTACAATTATGAATGGCATGTGGATGTCTGGGGAC AGGGCCTGCTGGTGACAGTCTCTAGTGCTAGC (SEQ ID NO: 767)
BsaI含有スクレオチド配列I	GAGACCTACTATGGTTCGGGTCTC (SEQ ID NO: 768)
BsaI含有スクレオチド配列II	GAGACCTACTATGGTTCAGGGTCTC (SEQ ID NO: 769)

【図１４－１】

名称	アミノ酸配列
BLV1H12-CDR3-GGS1:1-Moka	QVQLRESGPSLVKPSQTLSLTCTASGFSLSDKAVGWVRQAPGKALEWLGSIDTGGN TGYNPGLKSRLSITKDNSKSQVSLSVSSVTTEDSATYYCTSVHQETKKYQSGGSGSGINV KCSLPQQCIKPCKDAGMRFGKCMNKKCRCYSGGSSYTYNYEWHVDVWGQGLLVTV SSAS (SEQ ID NO: 770)
BLV1H12-CDR3-GGS1:2-Moka	QVQLRESGPSLVKPSQTLSLTCTASGFSLSDKAVGWVRQAPGKALEWLGSIDTGGN TGYNPGLKSRLSITKDNSKSQVSLSVSSVTTEDSATYYCTSVHQETKKYQSGGSGSGINV KCSLPQQCIKPCKDAGMRFGKCMNKKCRCYSGGSGGSSYTYNYEWHVDVWGQGL LVTVSSAS (SEQ ID NO: 771)
BLV1H12-CDR3-GGS2:1-Moka	QVQLRESGPSLVKPSQTLSLTCTASGFSLSDKAVGWVRQAPGKALEWLGSIDTGGN TGYNPGLKSRLSITKDNSKSQVSLSVSSVTTEDSATYYCTSVHQETKKYQSGGSGGS GINVKCSLPQQCIKPCKDAGMRFGKCMNKKCRCYSGGSSYTYNYEWHVDVWGQGL LVTVSSAS (SEQ ID NO: 772)
BLV1H12-CDR3-GGS2:2-Moka	QVQLRESGPSLVKPSQTLSLTCTASGFSLSDKAVGWVRQAPGKALEWLGSIDTGGN TGYNPGLKSRLSITKDNSKSQVSLSVSSVTTEDSATYYCTSVHQETKKYQSGGSGGS GINVKCSLPQQCIKPCKDAGMRFGKCMNKKCRCYSGGSGGSGGSSYTYNYEWHVDVWG QGLLVTVSSAS (SEQ ID NO: 773)
BLV1H12-CDR3-GGS3:3-Moka	QVQLRESGPSLVKPSQTLSLTCTASGFSLSDKAVGWVRQAPGKALEWLGSIDTGGN TGYNPGLKSRLSITKDNSKSQVSLSVSSVTTEDSATYYCTSVHQETKKYQSGGSGGS GGSGINVKCSLPQQCIKPCKDAGMRFGKCMNKKCRCYSGGSGGSGGSSYTYNYEW HVDVWGQGLLVTVSSAS (SEQ ID NO: 774)
BLV1H12-CDR3-G4Sx3-ProTxII	QVQLRESGPSLVKPSQTLSLTCTASGFSLSDKAVGWVRQAPGKALEWLGSIDTGGN TGYNPGLKSRLSITKDNSKSQVSLSVSSVTTEDSATYYCTSVHQETKKYQSGGSGSG GGGSGGGGSGGSGGYCQKWMWTCDSERKCCEGMVCRLWCKKKLWGGGSGGGGS GGGGSSYTYNYEWHVDVWGQGLLVTVSSAS (SEQ ID NO: 775)
BLV1H12-CDR3-G4Sx3-GPTX 毒素	QVQLRESGPSLVKPSQTLSLTCTASGFSLSDKAVGWVRQAPGKALEWLGSIDTGGN TGYNPGLKSRLSITKDNSKSQVSLSVSSVTTEDSATYYCTSVHQETKKYQSGGSGSG GGGSGGGGSGGSGGDCLGFMRKCIPDNDKCCRPNLVCSRTHKWCKYVFGGGSGSGGG SGGGGSSYTYNYEWHVDVWGQGLLVTVSSAS (SEQ ID NO: 776)

【図１４－２】

名称	アミノ酸配列
BLV1H12-CDR3-G4Sx3-OSK1 P12, K16, D20 毒素	QVQLRESGPSLVKPSQTLSLTCTASGFSLSDKAVGWVRQAPGKALEWLGSIDTGGN TGYNPGLKSRLSITKDNSKSQVSLSVSSVTTEDSATYYCTSVHQETKKYQSGGGSSG GGGSGGGGSGGGGVIINVKCKISRQCLKPCKDAGMRFGKCMNGKCHCTPKGGGSSG
BLV1H12-CDR3-G4Sx3-OSK1 K16, D20 毒素	QVQLRESGPSLVKPSQTLSLTCTASGFSLSDKAVGWVRQAPGKALEWLGSIDTGGN TGYNPGLKSRLSITKDNSKSQVSLSVSSVTTEDSATYYCTSVHQETKKYQSGGGSSG GGGSGGGGSGGGGVIINVKCKISRQCLKPCKDAGMRFGKCMNGKCHCTPKGGGSSG
BLV1H12-CDR3-G4Sx3-ShK 毒素	QVQLRESGPSLVKPSQTLSLTCTASGFSLSDKAVGWVRQAPGKALEWLGSIDTGGN TGYNPGLKSRLSITKDNSKSQVSLSVSSVTTEDSATYYCTSVHQETKKYQSGGGSSG GGGSGGGGSGGGSRSCIDTIPKSRCTAFQCKHSMKYRLSFCRKTCGTCGGGSGGGG SGGGGSSYTYNYEWHVDVWGQGLLVTVSSAS (SEQ ID NO: 779)

【図１５－１】

名称	アミノ酸配列	相互参照核酸配列
VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G ,A13S, P14L, D51G, N52D, N53T	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYG DTKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCASAEDSSSNAVFG SGTTLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKA DSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGS TVEKTVAPTECS (SEQ ID NO: 792)	(SEQ ID NO: 444)
VH4-34+CDR3-IL8	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGE INHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCTSVHQET KKYQSPRSAKELRCQCIKTYSKPFHPKFIKELRVIESGPHCANTEIIVKLSDGR ELCLDPKENWVQRVVEKFLKRAENSGSGSYTYNYEWHVDVWGQGLLVTV SSAS (SEQ ID NO: 793)	(SEQ ID NO: 430)
VH4-34+CDR3-IL8_CDR1 Cow	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCTASGFSLSDKAVGWIRQPPGKGLEWIGEI NHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCTSVHQETK KYQSPRSAKELRCQCIKTYSKPFHPKFIKELRVIESGPHCANTEIIVKLSDGRE LCLDPKENWVQRVVEKFLKRAENSGSGSYTYNYEWHVDVWGQGLLVTVS SAS (SEQ ID NO: 794)	(SEQ ID NO: 432)
VH4-34+CDR3-IL8_CDR2 Cow	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWLG SIDTGGNTGYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCTSVHQE TKKYQSPRSAKELRCQCIKTYSKPFHPKFIKELRVIESGPHCANTEIIVKLSDG RELCLDPKENWVQRVVEKFLKRAENSGSGSYTYNYEWHVDVWGQGLLVT VSSAS (SEQ ID NO: 795)	(SEQ ID NO: 433)
VH4-34+CDR3-IL8_CDR1 G31D, Y32K	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSDKYWSWIRQPPGKGLEWIGE INHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCTSVHQET KKYQSPRSAKELRCQCIKTYSKPFHPKFIKELRVIESGPHCANTEIIVKLSDGR ELCLDPKENWVQRVVEKFLKRAENSGSGSYTYNYEWHVDVWGQGLLVTV SSAS (SEQ ID NO: 796)	(SEQ ID NO: 434)
VH4-34+CDR3-IL8_CDR2 E50S	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGS INHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCTSVHQET KKYQSPRSAKELRCQCIKTYSKPFHPKFIKELRVIESGPHCANTEIIVKLSDGR ELCLDPKENWVQRVVEKFLKRAENSGSGSYTYNYEWHVDVWGQGLLVTV SSAS (SEQ ID NO: 797)	(SEQ ID NO: 435)

【図１５－２】

名称	アミノ酸配列	相互参照核酸配列
VH4-34+CDR3-IL8_CDR1 Cow_CDR2 Cow	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCTASGFSLSDKAVGWIRQPPGKGLEWLGSI DTGGNTGYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCTSVHQETK KYQSPRSAKELRCQCIKTYSKPFHPKFIKELRVIESGPHCANTEIIVKLSDGRE LCLDPKENWVQRVVEKFLKRAENSGSGSYTYNYEWHVDVWGQGLLVTVS SAS (SEQ ID NO: 798)	(SEQ ID NO: 436)
VH4-34+CDR3-IL8_CDR1 Cow_CDR2 E50S	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCTASGFSLSDKAVGWIRQPPGKGLEWIGSI NHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCTSVHQETK KYQSPRSAKELRCQCIKTYSKPFHPKFIKELRVIESGPHCANTEIIVKLSDGRE LCLDPKENWVQRVVEKFLKRAENSGSGSYTYNYEWHVDVWGQGLLVTVS SAS (SEQ ID NO: 799)	(SEQ ID NO: 437)
VH4-34+CDR3-IL8_CDR1 G31D,Y32K_CDR2 E50S	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSDKYWSWIRQPPGKGLEWIGS INHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCTSVHQET KKYQSPRSAKELRCQCIKTYSKPFHPKFIKELRVIESGPHCANTEIIVKLSDGR ELCLDPKENWVQRVVEKFLKRAENSGSGSYTYNYEWHVDVWGQGLLVTV SSAS (SEQ ID NO: 800)	(SEQ ID NO: 439)
VL1-51 I29Y, N32G	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNVGNGYVSWYQQLPGTAPKLLIYD NNKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCASAEDSSSNAVFG SGTTLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKA DSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGS TVEKTVAPTECS (SEQ ID NO: 801)	(SEQ ID NO: 440)
VL1-51 D51G, N52D, N53T	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYGD TKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCASAEDSSSNAVFGS GTTLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKAD SSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST VEKTVAPTECS (SEQ ID NO: 802)	(SEQ ID NO: 441)
VL1-51 D51G, N52D, N53T, K54S, P56A	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYGD TSRASGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCASAEDSSSNAVFGS GTTLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKAD SSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST VEKTVAPTECS (SEQ ID NO: 803)	(SEQ ID NO: 442)

【図１５－３】

名称	アミノ酸配列	相互参照核酸配列
VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYD NNKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCASAEDSSSNAVFG SGTTLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKA DSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGS TVEKTVAPTECS (SEQ ID NO: 804)	(SEQ ID NO: 443)
VL1-51	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDN NKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCASAEDSSSNAVFGS GTTLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKAD SSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST VEKTVAPTECS (SEQ ID NO: 805)	(SEQ ID NO: 456)
λLC翻訳	QAVLNQPSSVSGSLGQRVSITCSGSSSNVGNGYVSWYQLIPGSAPRTLIYG DTSRASGVPDRFSGSRSGNTATLTISSLQAEDEADYFCASAEDSSSNAVFG SGTTLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKA DSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGS TVEKTVAPTECS (SEQ ID NO: 807)	(SEQ ID NO: 474)

【図１６－１】

SEQ ID NO:	アミノ酸配列
575	GGGGS
576	GGGGS GGGGS
577	GGGGS GGGGS GGGGS
578	GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS
579	GGS
580	GGS GGS
581	GGS GGS GGS
582	GGS GGS GGS GGS
583	ASG
584	ASG ASG
585	ASG ASG ASG
586	ASG ASG ASG ASG
587	GCGGGGS
588	GCGGGGS GGGGS
589	GCGGGGS GGGGS GGGGS
590	GCGGGGS GGGGS GGGGS GGGGS
591	GCGGS
592	GCGGS GGS
593	GCGGS GGS GGS
594	GCGGS GGS GGS GGS
595	GCASG
596	GCGCASG ASG
597	GCASG ASG ASG
598	GCASG ASG ASG ASG
699	SGGGG
700	SGGGG SGGGG
701	SGGGG SGGGG SGGGG
702	SGGGG SGGGG SGGGG SGGGG
703	SGG
704	SGG SGG
705	SGG SGG SGG

【図１６－２】

SEQ ID NO:	アミノ酸配列
706	SGG SGG SGG SGG
707	GSA
708	GSA GSA
709	GSA GSA GSA
710	GSA GSA GSA GSA
711	SGGGGCG
712	SGGGG SGGGGCG
713	SGGGG SGGGG SGGGGCG
714	SGGGG SGGGG SGGGG SGGGGCG
715	SGGCG
716	SGG SGGCG
717	SGG SGG SGGCG
718	SGG SGG SGG SGGCG
719	GSACG
720	GSA GSACGCG
721	GSA GSA GSACG
722	GSA GSA GSA GSACG
723	GGGGS GG
724	GGGGS GGGGS GGGGS GG
725	GG SGGGG
726	GG SGGGG SGGGG GGGGS
813	G
814	GG
815	GGG
816	GGGG
817	GGGGGSGGS
818	GGGGSGGGGSGG
819	GGGGSGGS
820	GGGGSGGSGGS
821	GGGGSGGSGGSGGS
822	GGSG
823	GGSGG

【図１６－３】

SEQ ID NO:	アミノ酸配列
824	GGSGGSG
825	GGSGGSGG
826	GGSGGSGGSG
827	GGSGGSGGSGG
828	GGSGGSGGSGGSGG
829	GSG
830	GSGG

【図１７－１】

ペプチド名	アミノ酸配列	標的
ADWX-1	VGINVKCKHSRQCLKPCKDAGMRFGKCTNGKCHCTPK (SEQ ID NO: 599)	Kv1.3
HsTx1	ASCRTPKDCADPCRKETGCPYGKCMNRKCKCNRC (SEQ ID NO: 600)	Kv1.3
OSK1	GVIINVKCKISRQCLEPCKKAGMRFGKCMNGKCHCTPK (SEQ ID NO: 601)	Kv1.3
PI2	TISCTNPKQCYPHCKKETGYPNAKCMNRKCKCFGR (SEQ ID NO: 602)	Kv1.3
ホンゴトキシン (HgTX)	TVIDVKCTSPKQCLPPCKAQFGIRAGAKCMNGKCKCYPH (SEQ ID NO: 603)	Kv1.3
マルガトキシン	TIINVKCTSPKQCLPPCKAQFGQSAGAKCMNGKCKCYPH (SEQ ID NO: 604)	Kv1.3
アギトキシン-2	GVPINVSCTGSPQCIKPCKDAGMRFGKCMNRKCHCTPK (SEQ ID NO: 605)	Kv1.3
PI3	TISCTNEKQCYPHCKKETGYPNAKCMNRKCKCFGR (SEQ ID NO: 606)	Kv1.3
カリオトキシン	GVEINVKCSGSPQCLKPCKDAGMRFGKCMNRKCHCTPK (SEQ ID NO: 607)	Kv1.3
アニュロクトキシン	ZKECTGPQHCTNFCRKNKCTHGKCMNRKCKCFNGK (SEQ ID NO: 608)	Kv1.3
カリブドトキシン	ZFTNVSCTTSKECWSVCQRLHNTSRGKCMNKKCRCYS (SEQ ID NO: 609)	Kv1.3
チチウストキシン -K- α	VFINAKCRGSPECLPKCKEAIGKAAGKCMNGKCKCYP (SEQ ID NO: 610)	Kv1.3
マウロトキシン	VSCTGSKDCYAPCRKQTGCPNAKCINKSCKCYGC (SEQ ID NO: 611)	Kv1.3
セラトトキシン 1 (CcoTx1)	DCLGWFKSCDPKNDKCCKNYTCSRRDRWCKYDL (SEQ ID NO: 612)	
CcoTx2	DCLGWFKSCDPKNDKCCKNYTCSRRDRWCKYYL (SEQ ID NO: 613)	
CcoTx3	GVDKEGCRKLLGGCTIDDDCCPHLGCNKKYWHCGWDGTF (SEQ ID NO: 614)	
フリクソトキシン3(PaurTx3)	DCLGFLWKCNPSNDKCCRPNLVCSRKDKWCKYQI (SEQ ID NO: 615)	

【図１７－２】

ペプチド名	アミノ酸配列	標的
ハナトキシン1	ECRYLFGGCKTTSDCCKHLGCKFRDKYCAWDFTFS (SEQ ID NO: 616)	
フリクソトキシン1	YCQKWMWTCDSARKCCEGLVCRLWCKKII (SEQ ID NO: 617)	
フエントキシン -IV	ECLEIFKACNPSNDQCCKSSKLVCSRKTRWCKYQI (SEQ ID NO: 618)	
α-コノトキシン Iml	GCCSDPRCAWRC (SEQ ID NO: 619)	
α-コノトキシン EpI	GCCSDPRCNMNPDYC (SEQ ID NO: 620)	
α-コノトキシン PnIA	GCCSLPPCAANNPDYC (SEQ ID NO: 621)	
α-コノトキシン PnIB	GCCSLPPCALSNPDYC (SEQ ID NO: 622)	
α-コノトキシン MII	GCCSNPVCHLEHSNLC (SEQ ID NO: 623)	
α-コノトキシン AuIA	GCCSYPPCFATNSDYC (SEQ ID NO: 624)	
α-コノトキシン AuIB	GCCSYPPCFATNPDC (SEQ ID NO: 625)	
α-コノトキシン AuIC	GCCSYPPCFATNSGYC (SEQ ID NO: 626)	
コノトキシン κ-PVIIA	CRIPNQKCFQHLDDCCSRKCNRFNKCV (SEQ ID NO: 627)	
カリブドトキシン	ZFTNVSCTTSKECWSVCQRLHNTSRGKCMNKKCRCYS (SEQ ID NO: 628)	
ニューロトキシンδ-IW	ASATWGAAYPACENNCRKKYDLCIRCQGKWAGKRGKCAAHCIICQKNNCKG KCKKE (SEQ ID NO: 629)	
クロタミン	YKQCHKKGGHCFPKEKICLPPSSDFGKMDCCRWRWKCCKKGSG (SEQ ID NO: 630)	
ω-GVIA (コノトキシン)	CKSPGSSCSPTSYNCCRSCNPYTKRCY (SEQ ID NO: 631)	
κ-ヘフトキシン1	GHACYRNCWREGNDEETCKERC (SEQ ID NO: 632)	

【図１７－３】

ペプチド名	アミノ酸配列	標的
Css4	KEGYLVNSYTGCKFECFKLGDNDYCLRECRQQYGKGSGGYCYAFGCWCT HLYEQAVVWPLPNKTCN (SEQ ID NO: 633)	
Bj-xtrlT	KKNGYPLDRNGKTTECSGVNAIAPHYCNSECTKVYVAESGYCCWGACYCF GLEDDKPIGPMKDITKKYCDVQIIPS (SEQ ID NO: 634)	
BclV	GLPCDCHGHTGTYWLNYYSKCPKGYGYTGRCRYLVGSCCYK (SEQ ID NO: 635)	
Hm-1	GCIPYGKTCEFWSGPWCCAGKCKLNVWSMTLSCTRNF (SEQ ID NO: 636)	
Hm-2	GCIPSFGECAWFSGESCCTGICKWVFFTSKFMCRRVWGKD (SEQ ID NO: 637)	
GsAF-I (β-テラホトキシン (theraphotoxin) - Gr1b)	YCQKWLWTCDSERKCCEDMVCRLWCKKRL (SEQ ID NO: 638)	
プロトキシン I (ProTx-I, β-テラホトキシン-Tp1a)	ECRYWLGGCSAGQTCCKHLVCSRRHGWCVWDGTFS (SEQ ID NO: 639)	
プロトキシン II (ProTx II)	YCQKWMWTCDSERKCCEGMVCRLWCKKKLW (SEQ ID NO: 640)	
フエントキシン I	ACKGVFDACTPGKNECCPNRVCSDKHKWCKWKL (SEQ ID NO: 641)	
μ-コノトキシン PIIIA	ERLCCGFPKSCRSRQCKPHRCC (SEQ ID NO: 642)	
ジンザオトキシン-III (ß-TRTX-Cj1α)	DGECGGFWWKCGRGKPPCCKGYACSKTWGWCAVEAP (SEQ ID NO: 643)	
GsAF-II (κ- テラホトキシン -Gr2c)	YCQKWMWTCDEERKCCEGLVCRLWCKKKIEW (SEQ ID NO: 644)	
ShK, K16,E30	RSCIDTIPKSRCTAFKCKHSMKYRLSFCRETCGTC (SEQ ID NO: 645)	
ShK (ステコダクチラ (Stichodactyla) 毒素)	RSCIDTIPKSRCTAFQCKHSMKYRLSFCRKTCGTC (SEQ ID NO: 646)	Kv1.3
HsTx1	ASCRTPKDCADPCRKETGCPYGKCMNRKCKCNRC (SEQ ID NO: 647)	
ガンギシトキシン 1E, GxTx-1E	EGECGGFWWKCGSGKPACCPKYVCSPKWGLCNFPMP (SEQ ID NO: 648)	
カリブドトキシン, ChTX	EFTNVSCTTSKECWSVCQRLHNTSRGKCMNKKCRCYS (SEQ ID NO: 649)	

【図１７－４】

ペプチド名	アミノ酸配列	標的
イベリオトキシン, IbTx	EFTDVDCSVSKECWSVCKDLFGVDRGKCMGKKCRCYQ (SEQ ID NO: 650)	
レイウロトキシン1, シラトキシン	AFCNLRMCQLSCRSLGLLGKCIGDKCECVKH (SEQ ID NO: 651)	
タマピン	AFCNLRRCELSCRSLGLLGKCIGEECKCVPY (SEQ ID NO: 652)	
カリオトキシン-1, KTX	GVEINVKCSGSPQCLKPCKDAGMRFGKCMNRKCHCTPK (SEQ ID NO: 653)	
ビューロトキシン1, PT-1	GYCAEKGIRCDDIHCCTGLKCKCNASGYNCVCRKK (SEQ ID NO: 654)	
GpTx-1	DCLGFMRKCIPDNDKCCRPNLVCSRTHKWCKYVF (SEQ ID NO: 655)	Nav1.7
MOKA 毒素	INVKCSLPQQCIKPCKDAGMRFGKCMNKKCRCYS (SEQ ID NO: 727)	
OSK1, P12, K16, D20	GVIINVKCKISPQCLKPCKDAGMRFGKCMNGKCHCTPK (SEQ ID NO: 728)	Kv1.3
OSK1 K16, D20	GVIINVKCKISRQCLKPCKDAGMRFGKCMNGKCHCTPK (SEQ ID NO: 729)	Kv1.3
HmK	RTCKDLIPVSECTDIRCRTSMKYRLNLCRKTCGSC (SEQ ID NO: 730)	Kv1.3
ShK, K16,Y26, K29	RSCIDTIPKSRCTAFKCKHSMKYRLYFCKKTCGTC (SEQ ID NO: 731)	Kv1.3
ShK, K16	RSCIDTIPKSRCTAFKCKHSMKYRLSFCRKTCGTC (SEQ ID NO: 732)	Kv1.3
ShK-A, K16	RSCIDTIPKSRCTAFKCKHSMKYRLSFCRKTCGTCA (SEQ ID NO: 733)	Kv1.3
Shk 毒素	GVPDRFSGSRSGNTATLTISSLQAEDEADYFCASAEDSSSNAVFGSGTTLT VLGQPKAAP (SEQ ID NO: 808)	
ProTxII 毒素	SVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPS KQSNNKYA (SEQ ID NO: 809)	
GPTX 毒素	ASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO: 810)	
ShK, Q21	RSCIDTIPKSRCTAFQCKHSQKYRLSFCRKTCGTC (SEQ ID NO: 831)	Kv1.3

【図１７－５】

ペプチド名	アミノ酸配列	標的
ShK, L21	RSCIDTIPKSRCTAFQCKHSLKYRLSFCRKTCGTC (SEQ ID NO: 832)	Kv1.3
ShK, F21	RSCIDTIPKSRCTAFQCKHSFKYRLSFCRKTCGTC (SEQ ID NO: 833)	Kv1.3
ShK, I21	RSCIDTIPKSRCTAFQCKHSIKYRLSFCRKTCGTC (SEQ ID NO: 834)	Kv1.3
ShK, A21	RSCIDTIPKSRCTAFQCKHSAKYRLSFCRKTCGTC (SEQ ID NO: 835)	Kv1.3

【図１７－６】

毒素	ブロック1配列	リンカーA 配列	ブロック2配列	リンカーB 配列	ブロック3配列
ADWX-1	VGINVKCKHSR (SEQ ID NO: 666)	QC	LKPCKDAGMRFG (SEQ ID NO: 677)	KCM	NGKCHCTPK (SEQ ID NO: 688)
HsTx1	ASCRTPK (SEQ ID NO: 667)	QC	ADPCRKETGCPYG (SEQ ID NO: 678)	KCM	NRKCKCNRC (SEQ ID NO: 689)
OSK1	GVIINVKCKISR (SEQ ID NO: 668)	QC	LEPCKKAGMRFG (SEQ ID NO: 679)	KCM	NGKCHCTPK (SEQ ID NO: 690)
Pi2	TISCTNPK (SEQ ID NO: 669)	QC	YPHCKKETGYPNA (SEQ ID NO: 680)	KCM	NRKCKCFGR (SEQ ID NO: 691)
ホンゴトキシン(HgTX)	TVIDVKCTSPK (SEQ ID NO: 670)	QC	LPPCKAQFGIRAGA (SEQ ID NO: 681)	KCM	NGKCKCYPH (SEQ ID NO: 692)
マルガトキシン	TIINVKCTSPK (SEQ ID NO: 671)	QC	LPPCKAQFGQSAGA (SEQ ID NO: 682)	KCM	NGKCKCYPH (SEQ ID NO: 693)
アギトキシン-2	GVPINVSCTGSP (SEQ ID NO: 672)	QC	IKPCKDAGMRFG (SEQ ID NO: 683)	KCM	NRKCHCTPK (SEQ ID NO: 694)
Pi3	TISCTNEK (SEQ ID NO: 673)	QC	YPHCKKETGYPNA (SEQ ID NO: 684)	KCM	NRKCKCFGR (SEQ ID NO: 695)
カリオトキシン	GVEINVKCSGSP (SEQ ID NO: 674)	QC	LKPCKDAGMRFG (SEQ ID NO: 685)	KCM	NRKCHCTPK (SEQ ID NO: 696)
アニュロクトキシン	ZKECTGPQ (SEQ ID NO: 675)	QC	TNFCRKNKCTHG (SEQ ID NO: 686)	KCM	NRKCKCFNCK (SEQ ID NO: 697)
カリブドトキシン	ZFTNVSCTTSK (SEQ ID NO: 676)	QC	WSVCQRLHNTSRG (SEQ ID NO: 687)	KCM	NKKCRCYS (SEQ ID NO: 698)

【図１８】

名称	核酸配列
MOKA 毒素	GGCATCAACGTGAAGTGCAGCCTGCCCCAGCAGTGCATCAAGCCCTGCAAGGACGCCGGCATGAAGATTCGGCAA GTGCATGAACAAAGAAGTGCAGATGCTACAGC (SEQ ID NO: 806)
OSK1 毒素 (P12, K16, D20)	GGCGTGATCATCAACGTGAAATGCAAGATCAGCCCCCAGTGCCTGAAGCCCTGCAAGGACGCCGGCATGAGGTT CGGGAAGTGCATGAACGGCAAGTGCCACTGCACCCCCAAG (SEQ ID NO: 811)
OSK1 毒素 (K16 および D20)	GGCGTGATCATCAACGTGAAGTGCAAGATCAGCAGGCAGTGCCTGAAGCCCTGCAAGGACGCCGGCATGAGGTT CGGTAAGTGCATGAACGGCAAGTGCCACTGCACCCCCAAG (SEQ ID NO: 812)

【図１９－１】

	極めて長いCDR3			
Ab名	A領域	インサート	D領域	V2領域
PGT145	GSKHRLRDYFLYNE (SEQ ID NO: 501)		YGPNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 536)	WGHGTAVTVSS (SEQ ID NO: 570)
	GSKHRLRDYFLYN (SEQ ID NO: 502)		GPNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 537)	
	GSKHRLRDYFLY (SEQ ID NO: 503)		PNYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 538)	
	GSKHRLRDYFL (SEQ ID NO: 504)		NYEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 539)	
	GSKHRLRDYF (SEQ ID NO: 505)		YEEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 540)	
	GSKHRLRDY (SEQ ID NO: 506)		EEWGDYLATLDV (SEQ ID NO: 541)	
	GSKHRLRD (SEQ ID NO: 507)			
PG9	EAGGPDYRNGYNY (SEQ ID NO: 508)		YDFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 542)	WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 571)
	EAGGPDYRNGYN (SEQ ID NO: 509)		DFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 543)	
	EAGGPDYRNGY (SEQ ID NO: 510)		FYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 544)	
	EAGGPDYRNG (SEQ ID NO: 511)		YDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 545)	
	EAGGPDYRN (SEQ ID NO: 512)		DGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 546)	
	EAGGPDYR (SEQ ID NO: 513)		GYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 547)	

【図１９－２】

	極めて長いCDR3			
Ab名	A領域	インサート	D領域	V2領域
	EAGGPDY (SEQ ID NO: 514)		YYNYHYMDV (SEQ ID NO: 548)	
	EAGGPD (SEQ ID NO: 515)			
PG16	EAGGPIWHDDVKY (SEQ ID NO: 516)		YDFNDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 549)	WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 572)
	EAGGPIWHDDVK (SEQ ID NO: 517)		DFYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 550)	
	EAGGPIWHDDV (SEQ ID NO: 518)		FYDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 551)	
	EAGGPIWHDD (SEQ ID NO: 519)		YDGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 552)	
	EAGGPIWHD (SEQ ID NO: 520)		DGYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 553)	
	EAGGPIWH (SEQ ID NO: 521)		GYYNYHYMDV (SEQ ID NO: 554)	
	EAGGPIW (SEQ ID NO: 522)			
	EAGGPI (SEQ ID NO: 523)			
CHO4	GTDYTIDDQGI (SEQ ID NO: 524)		QGIRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 555)	WGRGTLVTVSS (SEQ ID NO: 573)
	GTDYTIDDQG (SEQ ID NO: 525)		GIRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 556)	
	GTDYTIDDQ (SEQ ID NO: 526)		IRYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 557)	
	GTDYTIDD (SEQ ID NO: 527)		RYQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 558)	

【図１９－３】

	極めて長いCDR3			
Ab名	A領域	インサート	D領域	V2領域
	GTDYTID (SEQ ID NO: 528)		YQGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 559)	
	GTDYTI (SEQ ID NO: 529)		QGSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 560)	
			GSGTFWYFDV (SEQ ID NO: 561)	
			SGTFWYFDV (SEQ ID NO: 562)	
			GTFWYFDV (SEQ ID NO: 563)	
2909	DKGDSDYDYNL (SEQ ID NO: 530)		YNLGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 564)	WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 574)
	DKGDSDYDYN (SEQ ID NO: 531)		NLGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 565)	
	DKGDSDYDY (SEQ ID NO: 532)		LGYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 566)	
	DKGDSDYD (SEQ ID NO: 533)		GYSYFYYMDG (SEQ ID NO: 567)	
	DKGDSDY (SEQ ID NO: 534)		YSYFYYMDG (SEQ ID NO: 568)	
	DKGDSD (SEQ ID NO: 535)		SYFYYMDG (SEQ ID NO: 569)	

【図２０】

【図２１－１】

BID	IgG名	重鎖プラスミド番号	重鎖名	VH DNA配列	SEQ ID NO: (VH DNA)	VH アミノ酸配列	SEQ ID NO: (VH aa)
201	BLV1H12 GGS1:1 ProTxII	131-34	BLV1H12 HC GGS1:1 ProTxII	caggtccagctgagagaagagcggccctcactggtcaagccatccc agacactgagcctgacatgcacagcaagcgggtttcactgagcga caagggcagtcgggatgggtccagcaggcaccaggaaaagccctgg aatggctggtgcatgatcggcggaacacagggtacaatc ccggactgaagagcagacatgtccattacaaggacaacaagtaaaa gtcaggtgtcatgagcgtgagctcctgtcaccacagaggatagtgc aacttactattgcacctctgtgcaccaggaaactaagaaatacaga gcggaggaagcggagagagcggccctcactgtcaaggccatccc agacactgagcctgacatgcacagcaagcgggtttcactgagcga caagggcagtcgggatgggtccagcaggcaccaggaaaagccctg aatggctggtgcatgatcggcggaacacagggtacaatc ccggactgaagagcagacatgtccattacaaggacaacaagtaaaa gtcaggtgtcatgagcgtgagctcctgtcaccacagaggatagtgc aacttactattgcacctctgtgcaccaggaaactaagaaatacaga tgcatcaagcccctgcaaggagcgctgcccagcag atgaacaagaatgtgcagatgctacagcggaggaagcggaggaa gctcttactacacaattatgaatggcatgtggatgtctgggacagg gcctgctggtgacaagtctctagtgctagc	836	QVQLRESGPSLVKPSQTLS LTCTASGFSLSDKAVGWVR QAPGKALEWLGSIDTGGNT GYNPGLKSRLSITKDNSKSQ VSLSVSSVTTEDSATYYCTS VHQETKKYQSGGSYCQKW MWTCDSERKCCEGMVCRL WCKKKLWGGSGGSSYTYN YEWHVDVWGQGLLVTVSS AS	903
202	BLV1H12 GGS1:2 ProTxII	131-35	BLV1H12 HC GGS1:2 ProTxII	caggtccagctgagagaagagcggccctcactggtcaagccatccc agacactgagcctgacatgcacagcaagcgggtttcactgagcga caagggcagtcgggatgggtccagcaggcaccaggaaaagccctgg aatggctggtgcatgatcggcggaacacagggtacaatc ccggactgaagagcagacatgtccattacaaggacaacaagtaaaa gtcaggtgtcatgagcgtgagctcctgtcaccacagaggatagtgc aacttactattgcacctctgtgcaccaggaaactaagaaatacaga gcggaggaagcgatttgccagaagtggatgtggacctgcgatagcg aacggaaatgtgcgaaggcgatggtgtgccgctgtggcgaagaa gaaactctgggggaggaagccgaggaagtcttactacacaattat gaatggcatgtggatgtctgggacaggccctgctggtgacagtctc tagtgctagc	837	QVQLRESGPSLVKPSQTLS LTCTASGFSLSDKAVGWVR QAPGKALEWLGSIDTGGNT GYNPGLKSRLSITKDNSKSQ VSLSVSSVTTEDSATYYCTS VHQETKKYQSGGSYCQKW MWTCDSERKCCEGMVCRL WCKKKLWGGSGGSSYTYN YEWHVDVWGQGLLVTVSS AS	904

【図２１－２】

BID	IgG名	重鎖プラスミド番号	重鎖名	VH DNA配列	SEQ ID NO: (VH DNA)	VH アミノ酸配列	SEQ ID NO: (VH aa)
203	BLV1H12 GGS2:1 ProTxII	131-36	BLV1H12 HC GGS2:1 ProTxII	caggtccagctgagagaagagcggccctcactggtcaagccatccc agacactgagcctgacatgcacagcaagcgggtttcactgagcga caagggcagtcgggatgggtccagcaggcaccaggaaaagccctgg aatggctggtgcatgatcggcggaacacagggtacaatc ccggactgaagagcagacatgtccattacaaggacaacaagtaaaa gtcaggtgtcatgagcgtgagctcctgtcaccacagaggatagtgc aacttactattgcacctctgtgcaccaggaaactaagaaatacaga gcggaggaagcgagaaatgttgcgaagccatggtgtgccgcctgtg gtgcaagaagaaactctgggggaggaagccgaggaagtcttactacacaattatg aatggcatgtggatgtctgggacagggcctgctggtgacagtctct agtgctagc	838	QVQLRESGPSLVKPSQTLS LTCTASGFSLSDKAVGWVR QAPGKALEWLGSIDTGGNT GYNPGLKSRLSITKDNSKSQ VSLSVSSVTTEDSATYYCTS VHQETKKYQSGGSYCQKW CRLWCKKKLWGGSGSYTYN YEWHVDVWGQGLLVTVSS AS	905
32, 204	BLV1H12 GGS1:1 Moka	131-40	BLV1H12 Hc CowV,HuC 1:1GGS G-Moka	caggtccagctgagagaagagcggccctcactgtcaagccatccc agacactgagcctgacatgcacagcaagcgggtttcactgagcga caagggcagtcgggatgggtccagcaggcaccaggaaaagccctgg aatggctggcagcatcgatacccggcgggaacacagggtacaatc ccggactgaagagcagacatgtccattacaaggacaacaagtaaaa gtcaggtgtcatgagcgtgagctcctgtcaccacagaggatagtgc aacttactattgcacctctgtgcaccaggaaactaagaaatacaga tgcggaggaagcggcatcaacgtgaagtgcgtcccagcag tgcatcaagcccctgcaaggagcgctgcccagcag atgaacaagaatgtgcagatgctacagcggaggaagcggaggaa gctcttactacacaattatgaatggcatgtggatgtctgggacagg gcctgctggtgacaagtctctagtgctagc	839	QVQLRESGPSLVKPSQTLS LTCTASGFSLSDKAVGWVR QAPGKALEWLGSIDTGGNT GYNPGLKSRLSITKDNSKSQ VSLSVSSVTTEDSATYYCTS VHQETKKYQSGGSGINVKC SLPQQCIKPCKDAGMRFGK CMNKKCRCYSGGGSSYTYN YEWHVDVWGQGLLVTVSS AS	770

【図２１－３】

BID	IgG名	重鎖プラスミド番号	重鎖名	VH DNA配列	SEQ ID NO: (VH DNA)	VH アミノ酸配列	SEQ ID NO: (VH aa)
30, 205, 227	BLV1H12 GGS1:2 Moka	131-41	BLV1H12 Hc CowV,HuC 1:2GGS G-Moka	caggtccagctgagagaagagcggccctcactggtcaagccatccc agacactgagcctgacatgcacagcaagcgggtttcactgagcga caagggcagtcgggatgggtccagcaggcaccaggaaaagccctgg aatggctggcagcatcgatacccggcgggaacacagggtacaatc ccggactgaagagcagacatgtccattacaaggacaacaagtaaaa gtcaggtgtcatgagcgtgagctcctgtcaccacagaggatagtgc aacttactattgcacctctgtgcaccaggaaactaagaaatacaga tgcggaggaagcggcatcaacgtgaagtgcgtcccagcag tgcatcaagcccctgcaaggagcgctgcccagcag atgaacaagaatgtgcagatgctacagcggaggaagcggaggaa gctcttactacacaattatgaatggcatgtggatgtctgggacagg gcctgctggtgacaagtctctagtgctagc	840	QVQLRESGPSLVKPSQTLS LTCTASGFSLSDKAVGWVR QAPGKALEWLGSIDTGGNT GYNPGLKSRLSITKDNSKSQ VSLSVSSVTTEDSATYYCTS VHQETKKYQSGGSGINVKC SLPQQCIKPCKDAGMRFGK CMNKKCRCYSGGGSSYTYN YEWHVDVWGQGLLVTV VSSAS	771
31, 206	BLV1H12 GGS2:1 Moka	131-42	BLV1H12 Hc CowV,HuC 2:1GGS G-Moka	caggtccagctgagagaagagcggccctcactgtcaagccatccc agacactgagcctgacatgcacagcaagcgggtttcactgagcga caagggcagtcgggatgggtccagcaggcaccaggaaaagccctgg aatggctggcagcatcgatacccggcgggaacacagggtacaatc ccggactgaagagcagacatgtccattacaaggacaacaagtaaaa gtcaggtgtcatgagcgtgagctcctgtcaccacagaggatagtgc aacttactattgcacctctgtgcaccaggaaactaagaaatacaga tgccccagcagtgcatcaagcccctgcaaggagcgctgcccagcag gtctctactacacaattatgaatggcatgtggatgtctgggacagg gcctgctggtgacaagtctctagtgctagc	841	QVQLRESGPSLVKPSQTLS LTCTASGFSLSDKAVGWVR QAPGKALEWLGSIDTGGNT GYNPGLKSRLSITKDNSKSQ VSLSVSSVTTEDSATYYCTS VHQETKKYQSGGSGGSGIN VKCSLPQQCIKPCKDAGMR FGKCMNKKCRCYSGGGSSYT YNYEWHVDVWGQGLLVTV SSAS	772

【図２１－４】

BID	Ig6名	重鎖名	重鎖プラスミド番号	VH DNA 配列	SEQ ID NO: (VH DNA)	VH アミノ酸配列	SEQ ID NO: (VH aa)
211	BLV1H12 GGS2:2 ProTxII	BLV1H12 HC GGS2:2 ProTxII	131-44	caggtccagctggagagagcggccctcactggtgcaagccatccc agacactgagcctgacatgcacagcaagcgggtttcactgagcga caaggcagtgggatgggtccgacaggcaccaggaaaagccctgg aatggctgggcagcatcgatacccggcgggaacacagggtacaatc cggaactgaagagcagactgtccattacaaggacaacctctaaaa gtcaggtgttcactgagcgtcagctccgtcaccacagaggatagtgc aacttactattgcacctctgtgcaccaggaaactaagaaatacaga gcggaggaagcggagtgaattgtccagaagtgcatcaagcgtga gtggaagagcagtggaatgttgcgaagcgatgggtgcgccgtgtg gtgcaagcagaatgcgcaagtgtgatgtctgggacagcgtcgtgt cacacattatgaatggcatgtgtgggacagcgccgtcgtggtacagt	846	QVQLRESGPSLVKPSQTLS LTCTASGFSLSDKAVGWVR QAPGKALEWLGSIDTGGNT GYNPGLKSRLSITKDNSKSQ VSLSVSSVTTEDSATYYCTS VHQETKKYQSGSGSGSGSYC QKWMWTCDSERKCCEGMV CRLWCKKKLWGGSGSGSSY TYNYEWHVDVWGQGLLVT VSSAS	909
212	BLV1H12 GGS2:4 ProTxII	BLV1H12 HC GGS2:4 ProTxII	131-45	caggtccagctggagagagcggccctcactggtgcaagccatccc agacactgagcctgacatgcacagcaagcgggtttcactgagcga caaggcagtgggatgggtccgacaggcaccaggaaaagccctgg aatggctgggcagcatcgatacccggcgggaacacagggtacaatc cggaactgaagagcagactgtccattacaaggacaacctctaaaa gtcaggtgttcactgagcgtcagctccgtcaccacagaggatagtgc aacttactattgcacctctgtgcaccaggaaactaagaaatacaga gcggaggaagcggagtgaattgtccagaagtgcatcaagcgtga gtggaagagcagtggaatgttgcgaagcgatgggtgcgccgtgtg gtgcaagcagaatgcgcaagtgtgatgtctgggacagcgtcgtgt cacacattatgaatggcatgtgtgggacagcgccgtcgtggtacagt	847	QVQLRESGPSLVKPSQTLS LTCTASGFSLSDKAVGWVR QAPGKALEWLGSIDTGGNT GYNPGLKSRLSITKDNSKSQ VSLSVSSVTTEDSATYYCTS QKWMWTCDSERKCCEGMV CRLWCKKKLWGGSGSGSSY TYNYEWHVDVWGQGLLVT VSSAS	910

【図２１－５】

BID	Ig6名	重鎖名	重鎖プラスミド番号	VH DNA 配列	SEQ ID NO: (VH DNA)	VH アミノ酸配列	SEQ ID NO: (VH aa)
33, 41, 267	BLV1H12 GGS3:3 Moka	BLV1H12 Hc CowV.HuC 3.3GGS G-Moka	131-43	caggtccagctggagagagcggccctcactggtgcaagccatccc agacactgagcctgacatgcacagcaagcgggtttcactgagcga caaggcagtgggatgggtccgacaggcaccaggaaaagccctgg aatggctgggcagcatcgatacccggcgggaacacagggtacaatc cggaactgaagagcagactgtccattacaaggacaacctctaaaa gtcaggtgttcactgagcgtcagctccgtcaccacagaggatagtgc aacttactattgcacctctgtgcaccaggaaactaagaaatacaga gcggaggaagcggagtgaattgtccagaagtgcatcaagcgtga gtggaagagcagtggaatgttgcgaagcgatgggtgcgccgtgtg gtgcaagcagaatgcgcaagtgtgatgtctgggacagcgtcgtgt cacacattatgaatggcatgtgtgggacagcgccgtcgtggtacagt	842	QVQLRESGPSLVKPSQTLS LTCTASGFSLSDKAVGWVR QAPGKALEWLGSIDTGGNT GYNPGLKSRLSITKDNSKSQ VSLSVSSVTTEDSATYYCTS VHQETKKYQSGSGSGSGSG SGINVKCSLPQQCIKPCKDA GMRFGKCMNKKCRCYSGG SGGSGGSSYTYNYEWHVD VWGQGLLVTVSSAS	774
208	BLV1H12 GGS1:1 GG-ProTxII-GG	BLV1H12 HC GGS1:1 GG-ProTxII-GG	131-37	caggtccagctggagagagcggccctcactggtgcaagccatccc agacactgagcctgacatgcacagcaagcgggtttcactgagcga caaggcagtgggatgggtccgacaggcaccaggaaaagccctgg aatggctgggcagcatcgatacccggcgggaacacagggtacaatc cggaactgaagagcagactgtccattacaaggacaacctctaaaa gtcaggtgttcactgagcgtcagctccgtcaccacagaggatagtgc aacttactattgcacctctgtgcaccaggaaactaagaaatacaga gcggaggaagcggagtgaattgtccagaagtgcatcaagcgtga gtggaagagcagtggaatgttgcgaagcgatgggtgcgccgtgtg gtgcaagcagaatgcgcaagtgtgatgtctgggacagcgtcgtgt cacacattatgaatggcatgtgtgggacagcgccgtcgtggtacagt ttatgaatggcatgtgtgatgtctgggacagcgtcgtgtcacacattatgaatggcatgtgtgggacagcgccgtcgtggtacagt ctctagtgctagc	843	QVQLRESGPSLVKPSQTLS LTCTASGFSLSDKAVGWVR QAPGKALEWLGSIDTGGNT GYNPGLKSRLSITKDNSKSQ VSLSVSSVTTEDSATYYCTS VHQETKKYQSGSGSGSGSG KWMWTCDSERKCCEGMVC RLWCKKKLWGGSGSGSSY TYNYEWHVDVWGQGLLVTVS SAS	906

【図２１－６】

BID	Ig6名	重鎖名	重鎖プラスミド番号	VH DNA 配列	SEQ ID NO: (VH DNA)	VH アミノ酸配列	SEQ ID NO: (VH aa)
209	BLV1H12 GGS1:2 GG-ProTxII-GG	BLV1H12 HC GGS1:2 GG-ProTxII-GG	131-38	caggtccagctggagagagcggccctcactggtgcaagccatccc agacactgagcctgacatgcacagcaagcgggtttcactgagcga caaggcagtgggatgggtccgacaggcaccaggaaaagccctgg aatggctgggcagcatcgatacccggcgggaacacagggtacaatc cggaactgaagagcagactgtccattacaaggacaacctctaaaa gtcaggtgttcactgagcgtcagctccgtcaccacagaggatagtgc aacttactattgcacctctgtgcaccaggaaactaagaaatacaga gcggaggaagcggagtgaattgtccagaagtgcatcaagcgtga gtggaagagcagtggaatgttgcgaagcgatgggtgcgccgtgtg gtgcaagcagaatgcgcaagtgtgatgtctgggacagcgtcgtgt cacacattatgaatggcatgtgtgggacagcgccgtcgtggtacagt ctctagtgctagc	844	QVQLRESGPSLVKPSQTLS LTCTASGFSLSDKAVGWVR QAPGKALEWLGSIDTGGNT GYNPGLKSRLSITKDNSKSQ VSLSVSSVTTEDSATYYCTS VHQETKKYQSGSGSGSGSG KWMWTCDSERKCCEGMVC RLWCKKKLWGGSGSGSSY TYNYEWHVDVWGQGLLV TVSSAS	907
210	BLV1H12 GGS2:1 GG-ProTxII-GG	BLV1H12 HC GGS2:1 GG-ProTxII-GG	131-39	caggtccagctggagagagcggccctcactggtgcaagccatccc agacactgagcctgacatgcacagcaagcgggtttcactgagcga caaggcagtgggatgggtccgacaggcaccaggaaaagccctgg aatggctgggcagcatcgatacccggcgggaacacagggtacaatc cggaactgaagagcagactgtccattacaaggacaacctctaaaa gtcaggtgttcactgagcgtcagctccgtcaccacagaggatagtgc aacttactattgcacctctgtgcaccaggaaactaagaaatacaga gcggaggaagcggagtgaattgtccagaagtgcatcaagcgtga gtggaagagcagtggaatgttgcgaagcgatgggtgcgccgtgtg gtgcaagcagaatgcgcaagtgtgatgtctgggacagcgtcgtgt cacacattatgaatggcatgtgtgggacagcgccgtcgtggtacagt ctctagtgctagc	845	QVQLRESGPSLVKPSQTLS LTCTASGFSLSDKAVGWVR QAPGKALEWLGSIDTGGNT GYNPGLKSRLSITKDNSKSQ VSLSVSSVTTEDSATYYCTS VHQETKKYQSGSGSGSGSG YCQKWMWTCDSERKCCEG MVCRLWCKKKLWGGSGSS YTYNYEWHVDVWGQGLLV TVSSAS	908

【図２１－７】

BID	Ig6名	重鎖名	重鎖プラスミド番号	VH DNA 配列	SEQ ID NO: (VH DNA)	VH アミノ酸配列	SEQ ID NO: (VH aa)
213	BLV1H12 GGS4-2 ProTxII	BLV1H12 HC GGS4:2 ProTxII	131-46	caggtccagctggagagagcggccctcactggtgcaagccatccc agacactgagcctgacatgcacagcaagcgggtttcactgagcga caaggcagtgggatgggtccgacaggcaccaggaaaagccctgg aatggctgggcagcatcgatacccggcgggaacacagggtacaatc cggaactgaagagcagactgtccattacaaggacaacctctaaaa gtcaggtgttcactgagcgtcagctccgtcaccacagaggatagtgc aacttactattgcacctctgtgcaccaggaaactaagaaatacaga gcggaggaagcggagtgaattgtccagaagtgcatcaagcgtga gtggaagagcagtggaatgttgcgaagcgatgggtgcgccgtgtg gtgcaagcagaatgcgcaagtgtgatgtctgggacagcgtcgtgt cacacattatgaatggcatgtgtgggacagcgccgtcgtggtacagt ctctagtgctagc	911	QVQLRESGPSLVKPSQTLS LTCTASGFSLSDKAVGWVR QAPGKALEWLGSIDTGGNT GYNPGLKSRLSITKDNSKSQ VSLSVSSVTTEDSATYYCTS YHQETKKYQSGSGSGSGSG SGGSTCQKWMWTCDSERTK CCEGMVCRLWCKKKLWGGS SGSGSSYTYNYEWHVDVWG QGLLVTVSSAS	909
214	BLV1H12 GGS2:2 GG-ProTxII-GG	BLV1H12 HC GGS2:2 GG-ProTxII-GG	131-47	caggtccagctggagagagcggccctcactggtgcaagccatccc agacactgagcctgacatgcacagcaagcgggtttcactgagcga caaggcagtgggatgggtccgacaggcaccaggaaaagccctgg aatggctgggcagcatcgatacccggcgggaacacagggtacaatc cggaactgaagagcagactgtccattacaaggacaacctctaaaa gtcaggtgttcactgagcgtcagctccgtcaccacagaggatagtgc aacttactattgcacctctgtgcaccaggaaactaagaaatacaga gcggaggaagcggagtgaattgtccagaagtgcatcaagcgtga gtggaagagcagtggaatgttgcgaagcgatgggtgcgccgtgtg gtgcaagcagaatgcgcaagtgtgatgtctgggacagcgtcgtgt cacacattatgaatggcatgtgtgggacagcgccgtcgtggtacagt ctctagtgctagc	912	QVQLRESGPSLVKPSQTLS LTCTASGFSLSDKAVGWVR QAPGKALEWLGSIDTGGNT GYNPGLKSRLSITKDNSKSQ VSLSVSSVTTEDSATYYCTS VHQETKKYQSGSGSGSGSG YCQKWMWTCDSERKCCEG MVCRLWCKKKLWGGSGSG GSSYTYNYEWHVDVWGQG LLVTVSSAS	910

【図２１－８】

BID	Ig6名	重鎖名	重鎖プラスミド番号	VH DNA 配列	SEQ ID NO: (VH DNA)	VH アミノ酸配列	SEQ ID NO: (VH aa)
215	BLV1H12 GGS 2:3 GG- ProTxII-GG	BLV1H12 HC GGS 2:3 GG- ProTxII-GG	131-48	caggtccagctgagagaggagcggccctcactggtcaagccatccc agacactgaqcctgacatgcacagcaaggcgggtttcactgagcga caaggcagtgggatgggtccgacaggcaccaggaaaagccctgg aatggctgggcagcatcgatacggcgggaacacagggtacaatc ccgactgaaggagcagactgtccattacaaggacaactctaaaa gtcaggtgttcactgagcgtgagctccgtaccagaggatagtgc aacttactattgcacctctgtgcaccaggaaactaagaaatacaga gcggaggaagcggagctgaagcgtgcgtcattgccaagaggtggatg tggacctgcgatacggcgaaatgttgcgaagcatggtgtgcc gccgtggtggaagaagcctatactacacaattatggcatggtgga tgtctgtggcgaacgggccttgtggtgacagctctagtgctagc	850	QVQLRESGPSLVKPSQTLS LTCTASGFSLSDKAVGWVR QAPGKALEWLGSIDTGGNT GYNPGLKSRLSITKDNSKSQ VSLSVSSVTTEDSATYYCTS VHQETKKYQSGSGSGSGSGG YCQKWMWTCDSERKCCEG MVCRLWCKKKLWGGSGSG GSGGSSYTYNYEWHVDVW GQGSLLVTVSSAS	913
216	BLV1H12 GGS 2:4 GG- ProTxII-GG	BLV1H12 HC GGS 2:4 GG- ProTxII-GG	131-49	caggtccagctgagagaggagcggccctcactggtcaagccatccc agacactgaqcctgacatgcacagcaaggcgggtttcactgagcga caaggcagtgggatgggtccgacaggcaccaggaaaagccctgg aatggctgggcagcatcgatacggcgggaacacagggtacaatc ccgactgaaggagcagactgtccattacaaggacaactctaaaa gtcaggtgttcactgagcgtgagctccgtaccagaggatagtgc aacttactattgcacctctgtgcaccaggaaactaagaaatacaga gcggaggaagcggagctgaagcgtgcgtcattgccaagaggtggatg tggacctgcgatacggcgaaatgttgcgaagcatggtgtgcc gccgtggtggaagaagcctatactacacaattatggcatggtgga tgtctgtggcgaacgggccttgtggtgacagctctagtgctagc	851	QVQLRESGPSLVKPSQTLS LTCTASGFSLSDKAVGWVR QAPGKALEWLGSIDTGGNT GYNPGLKSRLSITKDNSKSQ VSLSVSSVTTEDSATYYCTS VHQETKKYQSGSGSGSGSGG YCQKWMWTCDSERKCCEG MVCRLWCKKKLWGGSGSG GSGGSSYTYNYEWHVDVW GQGSLLVTVSSAS	914

【図２１－９】

BID	Ig6名	重鎖名	重鎖プラスミド番号	VH DNA 配列	SEQ ID NO: (VH DNA)	VH アミノ酸配列	SEQ ID NO: (VH aa)
217	BLV1H12 GGS 3:2 GG- ProTxII-GG	BLV1H12 HC GGS 3:2 GG- ProTxII-GG	131-50	caggtccagctgagagaggagcggccctcactggtcaagccatccc agacactgaqcctgacatgcacagcaaggcgggtttcactgagcga caaggcagtgggatgggtccgacaggcaccaggaaaagccctgg aatggctgggcagcatcgatacggcgggaacacagggtacaatc ccgactgaaggagcagactgtccattacaaggacaactctaaaa gtcaggtgttcactgagcgtgagctccgtaccagaggatagtgc aacttactattgcacctctgtgcaccaggaaactaagaaatacaga gcggaggaagcggagctgaagcgtgcgtcattgccaagaggtggatg tggacctgcgatacggcgaaatgttgcgaagcatggtgtgcc gccgtggtggaagaagcctatactacacaattatggcatggtgga tgtctgtggcgaacgggccttgtggtgacagctctagtgctagc	852	QVQLRESGPSLVKPSQTLS LTCTASGFSLSDKAVGWVR QAPGKALEWLGSIDTGGNT GYNPGLKSRLSITKDNSKSQ VSLSVSSVTTEDSATYYCTS VHQETKKYQSGSGSGSGSGG SCGYCQKWMWTCDSERKCC CEGMVCRLWCKKKLWGGSG GSGGSSYTYNYEWHVDVW GQGSLLVTVSSAS	915
218	BLV1H12 GGS 3:3 GG- ProTxII-GG	BLV1H12 HC GGS 3:3 GG- ProTxII-GG	131-51	caggtccagctgagagaggagcggccctcactggtcaagccatccc agacactgaqcctgacatgcacagcaaggcgggtttcactgagcga caaggcagtgggatgggtccgacaggcaccaggaaaagccctgg aatggctgggcagcatcgatacggcgggaacacagggtacaatc ccgactgaaggagcagactgtccattacaaggacaactctaaaa gtcaggtgttcactgagcgtgagctccgtaccagaggatagtgc aacttactattgcacctctgtgcaccaggaaactaagaaatacaga gcggaggaagcggagctgaagcgtgcgtcattgccaagaggtggatg tggacctgcgatacggcgaaatgttgcgaagcatggtgtgcc gccgtggtggaagaagcctatactacacaattatggcatggtgga tgtctgtggcgaacgggccttgtggtgacagctctagtgctagc	853	QVQLRESGPSLVKPSQTLS LTCTASGFSLSDKAVGWVR QAPGKALEWLGSIDTGGNT GYNPGLKSRLSITKDNSKSQ VSLSVSSVTTEDSATYYCTS VHQETKKYQSGSGSGSGSGG SGGYCQKWMWTCDSERKCC CEGMVCRLWCKKKLWGGG GSGGSGGSSYTYNYEWHV DVWGQGLLVTVSSAS	916

【図２１－１０】

BID	Ig6名	重鎖名	重鎖プラスミド番号	VH DNA 配列	SEQ ID NO: (VH DNA)	VH アミノ酸配列	SEQ ID NO: (VH aa)
219	BLV1H12 GGS 4:2 GG- ProTxII-GG	BLV1H12 HC GGS 4:2 GG- ProTxII-GG	131-52	caggtccagctgagagaggagcggccctcactggtcaagccatccc agacactgaqcctgacatgcacagcaaggcgggtttcactgagcga caaggcagtgggatgggtccgacaggcaccaggaaaagccctgg aatggctgggcagcatcgatacggcgggaacacagggtacaatc ccgactgaaggagcagactgtccattacaaggacaactctaaaa gtcaggtgttcactgagcgtgagctccgtaccagaggatagtgc aacttactattgcacctctgtgcaccaggaaactaagaaatacaga gcggaggaagcggagctgaagcgtgcgtcattgccaagaggtggatg tggacctgcgatacggcgaaatgttgcgaagcatggtgtgcc gccgtggtggaagaagcctatactacacaattatggcatggtgga tgtctgtggcgaacgggccttgtggtgacagctctagtgctagc	854	QVQLRESGPSLVKPSQTLS LTCTASGFSLSDKAVGWVR QAPGKALEWLGSIDTGGNT GYNPGLKSRLSITKDNSKSQ VSLSVSSVTTEDSATYYCTS VHQETKKYQSGSGSGSGSGG SGGSGGYCQKWMWTCDS ERKCCEGMVCRLWCKKKL WGGSGSGGSSYTYNYEWH VDVWGQGLLVTVSSAS	917
220	BLV1H12 GTLV 3xG4S ProTxII	BLV1H12 GTLV 3xG4S ProTxII	131-56	caggtccagctgagagaggagcggccctcactggtcaagccatccc agacactgaqcctgacatgcacagcaaggcgggtttcactgagcga caaggcagtgggatgggtccgacaggcaccaggaaaagccctgg aatggctgggcagcatcgatacggcgggaacacagggtacaatc ccgactgaaggagcagactgtccattacaaggacaactctaaaa gtcaggtgttcactgagcgtgagctccgtaccagaggatagtgc aacttactattgcacctctgtgcaccaggaaactaagaaatacaga gcggaggaagcggagctgaagcgtgcgtcattgccaagaggtggatg tggacctgcgatacggcgaaatgttgcgaagcatggtgtgcc gccgtggtggaagaagcctatactacacaattatggcatggtgga tgtctgtggcgaacgggccttgtggtgacagctctagtgctagc	855	QVQLRESGPSLVKPSQTLS LTCTASGFSLSDKAVGWVR QAPGKALEWLGSIDTGGNT GYNPGLKSRLSITKDNSKSQ VSLSVSSVTTEDSATYYCTS VHQETKKYQSGSGSGSGSGG SGGSGGSGGSGGYCQKWMWT CDSERKCCEGMVCRLWCK KKLWGGSGSGGSGGSGGS TLVTVSSAS	918

【図２１－１１】

BID	Ig6名	重鎖名	重鎖プラスミド番号	VH DNA 配列	SEQ ID NO: (VH DNA)	VH アミノ酸配列	SEQ ID NO: (VH aa)
221	BLV1H12 GTLV 3xG4S ShK	BLV1H12 GTLV 3xG4S ShK	131-59	caggtccagctgagagaggagcggccctcactggtcaagccatccc agacactgaqcctgacatgcacagcaaggcgggtttcactgagcga caaggcagtgggatgggtccgacaggcaccaggaaaagccctgg aatggctgggcagcatcgatacggcgggaacacagggtacaatc ccgactgaaggagcagactgtccattacaaggacaactctaaaa gtcaggtgttcactgagcgtgagctccgtaccagaggatagtgc aacttactattgcacctctgtgcaccaggaaactaagaaatacaga gcggaggaagcggagctgaagcgtgcgtcattgccaagaggtggatg tggacctgcgatacggcgaaatgttgcgaagcatggtgtgcc gccgtggtggaagaagcctatactacacaattatggcatggtgga tgtctgtggcgaacgggccttgtggtgacagctctagtgctagc tagc	856	QVQLRESGPSLVKPSQTLS LTCTASGFSLSDKAVGWVR QAPGKALEWLGSIDTGGNT GYNPGLKSRLSITKDNSKSQ VSLSVSSVTTEDSATYYCTS VHQETKKYQSGSGSGSGSGG SGGSGGYCQKWMWTCDS ERKCCEGMVCRLWCKKKL WGGSGSGGSGGSGGSGGS WGQGTLVTVSSAS	919
222	BLV1H12 GTLV 3xG4S OSK1 (K16, D20)	BLV1H12 GTLV 3xG4S OSK1 (K16, D20)	131-60	caggtccagctgagagaggagcggccctcactggtcaagccatccc agacactgaqcctgacatgcacagcaaggcgggtttcactgagcga caaggcagtgggatgggtccgacaggcaccaggaaaagccctgg aatggctgggcagcatcgatacggcgggaacacagggtacaatc ccgactgaaggagcagactgtccattacaaggacaactctaaaa gtcaggtgttcactgagcgtgagctccgtaccagaggatagtgc aacttactattgcacctctgtgcaccaggaaactaagaaatacaga gcggaggaagcggagctgaagcgtgcgtcattgccaagaggtggatg tggacctgcgatacggcgaaatgttgcgaagcatggtgtgcc gccgtggtggaagaagcctatactacacaattatggcatggtgga tgtctgtggcgaacgggccttgtggtgacagctctagtgctagc	857	QVQLRESGPSLVKPSQTLS LTCTASGFSLSDKAVGWVR QAPGKALEWLGSIDTGGNT GYNPGLKSRLSITKDNSKSQ VSLSVSSVTTEDSATYYCTS VHQETKKYQSGSGSGSGSGG SGGSGGSGGSGGSGVIINVKCKIS RCCLKPCKDAGMRFGKCIM NGKCHCTPKGGGGSGSGGSGG SGGGGSSYTYNYEWHVDV WGQGTLVTVSSAS	920

【図２１－１２】

BID	Ig6名	重鎖名	重鎖プラスミド番号	VH DNA 配列	SEQ ID NO: (VH DNA)	VH アミノ酸配列	SEQ ID NO: (VH aa)
223	BLV1H12 GTLV 3xG4S OSK1 (P12,K16,D20)	BLV1H12 GTLV 3xG4S OSK1 (P12,K16,D20)	131-61	caggtccagctgagagaagagcggccctcactggtacaagccatccc agacactgaqcctgacatgcacagcaaggcgggtttcactgagcga caaggcagtgggatgggtccgacaggcacaggaaaagccctgg aatggctgggcagcatcgatacaggcgggaaacacagggtacaatc ccgactgaaggagcagatgtccattacaagacacactaaaa gtcagggtgtcactgagcgtgagctcgtcaccacagaggatagtgc aacttactattgcacctctgtgcaccaggaaactaagaaatacaga gcggtgggagggtttctggagcggtggaagtgtggtgcggaggta ggggaggagggcgtgatcatcaagtgaaatgcaagatcagcccc agtgcctgaagccctgcaaggatcgccggcatgaggttcgggaagt gcatgaaccggcaagtgccacctgccaaggagagtggtggatt ctggtgcagcttataccacaattatgaatggcgtcagtgatgtgtgt ctcctcagctagc	858	QVQLRESGPSLVKPSQTLS LTCTASGFSLSDKAVGWVR QAPGKALEWLGSIDTGGNT GYNPGLKSRLSITKDNSKSQ VSLSVSSVTTEDSATYYCTS VHQETKKYQSGGGSGGGG GSGGGGSGGGGVINVKCKIS PQCLKPCKDAGMRFGKCM NGKCHCTPKGGGSGGGGG SGGGGSSYTYNYEWHVDV WGQGTLVTVSSAS	921
224	BLV1H12 cowV HumanC 3xG4S GPTX	BLV1H12 cowV HumanC 3xG4S GPTX	131-62	caggtccagctgagagaagagcggccctcactggtacaagccatccc agacactgaqcctgacatgcacagcaaggcgggtttcactgagcga caaggcagtgggatgggtccgacaggcacaggaaaagccctgg aatggctgggcagcatcgatacaggcgggaaacacagggtacaatc ccgactgaaggagcagatgtccattacaagacacactaaaa gtcagggtgtcactgagcgtgagctcgtcaccacagaggatagtgc aacttactattgcacctctgtgcaccaggaaactaagaaatacaga gcggtgggagggtttctggagcggtggaagtgtggtgcggaggta ggggaggagggcgtgatcatcaagtgaaatgcaagatcagcccc agtgcctgaagccctgcaaggatcgccggcatgaggttcgggaagt gcatgaaccggcaagtgccacctgccaaggagagtggtggatt ctggtgcagcttataccacaattatgaatggcgtcagtgatgtgtgt ctcctcagctagc	859	QVQLRESGPSLVKPSQTLS LTCTASGFSLSDKAVGWVR QAPGKALEWLGSIDTGGNT GYNPGLKSRLSITKDNSKSQ VSLSVSSVTTEDSATYYCTS VHQETKKYQSGGGSGGGG GSGGGGSGGGGVINVKCKIS IPDNDKCCRPNLVCSRTHK WCKYVFGGGSGGGGSGG GGGSSYTYNYEWHVDVWG QGTLVTVSSAS	922

【図２１－１３】

BID	Ig6名	重鎖名	重鎖プラスミド番号	VH DNA 配列	SEQ ID NO: (VH DNA)	VH アミノ酸配列	SEQ ID NO: (VH aa)
225	BLV1H12 GTLV 6xG4S	BLV1H12 GTLV 6xG4S	131-64	caggtccagctgagagaagagcggccctcactggtacaagccatccc agacactgaqcctgacatgcacagcaaggcgggtttcactgagcga caaggcagtgggatgggtccgacaggcacaggaaaagccctgg aatggctgggcagcatcgatacaggcgggaaacacagggtacaatc ccgactgaaggagcagatgtccattacaagacacactaaaa gtcagggtgtcactgagcgtgagctcgtcaccacagaggatagtgc aacttactattgcacctctgtgcaccaggaaactaagaaatacaga gcggtgggagggtttctggagcggtggaagtgtggtgcggaggta ggggaggagggcgtgatcatcaagtgaaatgcaagatcagcccc agtgcctgaagccctgcaaggatcgccggcatgaggttcgggaagt gcatgaaccggcaagtgccacctgccaaggagagtggtggatt ctggtgcagcttataccacaattatgaatggcgtcagtgatgtgtgt ctcctcagctagc	860	QVQLRESGPSLVKPSQTLS LTCTASGFSLSDKAVGWVR QAPGKALEWLGSIDTGGNT GYNPGLKSRLSITKDNSKSQ VSLSVSSVTTEDSATYYCTS VHQETKKYQSGGGSGGGG GSGGGGSGGGGVINVKCKIS PQCLKPCKDAGMRFGKCM NGKCHCTPKGGGSGGGGG SGGGGSSYTYNYEWHVDV WGQGTLVTVSSAS	923
226	BLV1H12 GTLV 1xG4S Bsals (wStop)	BLV1H12 GTLV 1xG4S Bsals (wStop)	131-65	caggtccagctgagagaagagcggccctcactggtcaagccatccc agacactgaqcctgacatgcacagcaaggcgggtttcactgagcga caaggcagtgggatgggtccgacaggcacaggaaaagccctgg aatggctgggcagcatcgatacaggcgggaaacacagggtacaatc ccgactgaaggagcagatgtccattacaagacacactaaaa gtcagggtgtcactgagcgtgagctcgtcaccacagaggatagtgc aacttactattgcacctctgtgcaccaggaaactaagaaatacaga gcggtgggagggtttctggagcggtggaagtgtggtgcggaggta ggggaggagggcgtgatcatcaagtgaaatgcaagatcagcccc agtgcctgaagccctgcaaggatcgccggcatgaggttcgggaagt gcatgaaccggcaagtgccacctgccaaggagagtggtggatt ctggtgcagcttataccacaattatgaatggcgtcagtgatgtgtgt ctcctcagctagc	861	QVQLRESGPSLVKPSQTLS LTCTASGFSLSDKAVGWVR QAPGKALEWLGSIDTGGNT GYNPGLKSRLSITKDNSKSQ VSLSVSSVTTEDSATYYCTS VHQETKKYQSGGGSGGGG DLLWFRVSGGGGSSYTYNY EWHVDVWGQGTLVTVSSA S	924

【図２１－１４】

BID	Ig6名	重鎖名	重鎖プラスミド番号	VH DNA 配列	SEQ ID NO: (VH DNA)	VH アミノ酸配列	SEQ ID NO: (VH aa)
25, 228	BLV1H12 GLLV 3xG4S ProTxII	BLV1H12 GLLV 3xG4S ProTxII	131-66	caggtccagctgagagaagagcggccctcactggtacaagccatccc agacactgaqcctgacatgcacagcaaggcgggtttcactgagcga caaggcagtgggatgggtccgacaggcacaggaaaagccctgg aatggctgggcagcatcgatacaggcgggaaacacagggtacaatc ccgactgaaggagcagatgtccattacaagacacactaaaa gtcagggtgtcactgagcgtgagctcgtcaccacagaggatagtgc aacttactattgcacctctgtgcaccaggaaactaagaaatacaga gcggtgggagggtttctggagcggtggaagtgtggtgcggaggta ggggaggagggcgtgatcatcaagtgaaatgcaagatcagcccc agtgcctgaagccctgcaaggatcgccggcatgaggttcgggaagt gcatgaaccggcaagtgccacctgccaaggagagtggtggatt ctggtgcagcttataccacaattatgaatggcgtcagtgatgtgtgt ctcctcagctagc	862	QVQLRESGPSLVKPSQTLS LTCTASGFSLSDKAVGWVR QAPGKALEWLGSIDTGGNT GYNPGLKSRLSITKDNSKSQ VSLSVSSVTTEDSATYYCTS VHQETKKYQSGGGSGGGG GSGGGGSGGGGVINVKCKIS CDSERKCCEGMVCRLWCK KKLWGGGSGGGGSGGG GSSYTYNYEWHVDVWGQG LLVTVSSAS	775
29, 40, 229	BLV1H12 GLLV 3xG4S ShK	BLV1H12 Hc CowV,HuC GLLV 3xG4S ShK毒素	131-67	caggtccagctgagagaagagcggccctcactggtacaagccatccc agacactgaqcctgacatgcacagcaaggcgggtttcactgagcga caaggcagtgggatgggtccgacaggcacaggaaaagccctgg aatggctgggcagcatcgatacaggcgggaaacacagggtacaatc ccgactgaaggagcagatgtccattacaagacacactaaaa gtcagggtgtcactgagcgtgagctcgtcaccacagaggatagtgc aacttactattgcacctctgtgcaccaggaaactaagaaatacaga gcggtgggagggtttctggagcggtggaagtgtggtgcggaggta ggggaggagggcgtgatcatcaagtgaaatgcaagatcagcccc agtgcctgaagccctgcaaggatcgccggcatgaggttcgggaagt gcatgaaccggcaagtgccacctgccaaggagagtggtggatt ctggtgcagcttataccacaattatgaatggcgtcagtgatgtgtgt ctcctcagctagc	863	QVQLRESGPSLVKPSQTLS LTCTASGFSLSDKAVGWVR QAPGKALEWLGSIDTGGNT GYNPGLKSRLSITKDNSKSQ VSLSVSSVTTEDSATYYCTS VHQETKKYQSGGGSGGGG GSGGGGSGGGGRSCIDTIPKS RCTAFQCKHSMKYRLSFCR KTCGTCGGGSGGGSGGSG GSSSYTYNYEWHVDVWGQ GLLVTVSSAS	776

【図２１－１５】

BID	Ig6名	重鎖名	重鎖プラスミド番号	VH DNA 配列	SEQ ID NO: (VH DNA)	VH アミノ酸配列	SEQ ID NO: (VH aa)
26, 230	BLV1H12 GLLV 3xG4S OSK1 (K16,D20)	BLV1H12 GLLV 3xG4S OSK1 (K16,D20)	131-68	caggtccagctgagagaagagcggccctcactggtacaagccatccc agacactgaqcctgacatgcacagcaaggcgggtttcactgagcga caaggcagtgggatgggtccgacaggcacaggaaaagccctgg aatggctgggcagcatcgatacaggcgggaaacacagggtacaatc ccgactgaaggagcagatgtccattacaagacacactaaaa gtcagggtgtcactgagcgtgagctcgtcaccacagaggatagtgc aacttactattgcacctctgtgcaccaggaaactaagaaatacaga gcggtgggagggtttctggagcggtggaagtgtggtgcggaggta ggggaggagggcgtgatcatcaagtgaaatgcaagatcagcccc agtgcctgaagccctgcaaggatcgccggcatgaggttcgggaagt gcatgaaccggcaagtgccacctgccaaggagagtggtggatt ctggtgcagcttataccacaattatgaatggcgtcagtgatgtgtgt ctcctagtgctagc	864	QVQLRESGPSLVKPSQTLS LTCTASGFSLSDKAVGWVR QAPGKALEWLGSIDTGGNT GYNPGLKSRLSITKDNSKSQ VSLSVSSVTTEDSATYYCTS VHQETKKYQSGGGSGGGG GSGGGGSGGGGVINVKCKIS PQCLKPCKDAGMRFGKCM NGKCHCTPKGGGSGGGGG SGGGGSSYTYNYEWHVDV WGQGLLVTVSSAS	778
27, 231	BLV1H12 GLLV 3xG4S OSK1 (P12,K16,D20)	BLV1H12 GLLV 3xG4S OSK1 (P12,K16,D20)	131-69	caggtccagctgagagaagagcggccctcactggtacaagccatccc agacactgaqcctgacatgcacagcaaggcgggtttcactgagcga caaggcagtgggatgggtccgacaggcacaggaaaagccctgg aatggctgggcagcatcgatacaggcgggaaacacagggtacaatc ccgactgaaggagcagatgtccattacaagacacactaaaa gtcagggtgtcactgagcgtgagctcgtcaccacagaggatagtgc aacttactattgcacctctgtgcaccaggaaactaagaaatacaga gcggtgggagggtttctggagcggtggaagtgtggtgcggaggta ggggaggagggcgtgatcatcaagtgaaatgcaagatcagcccc agtgcctgaagccctgcaaggatcgccggcatgaggttcgggaagt gcatgaaccggcaagtgccacctgccaaggagagtggtggatt ctggtgcagcttataccacaattatgaatggcgtcagtgatgtgtgt ctcctagtgctagc	865	QVQLRESGPSLVKPSQTLS LTCTASGFSLSDKAVGWVR QAPGKALEWLGSIDTGGNT GYNPGLKSRLSITKDNSKSQ VSLSVSSVTTEDSATYYCTS VHQETKKYQSGGGSGGGG GSGGGGSGGGGVINVKCKIS PQCLKPCKDAGMRFGKCM NGKCHCTPKGGGSGGGGG SGGGGSSYTYNYEWHVDV WGQGLLVTVSSAS	777

【図２１－１６】

BID	Ig6名	重鎖名	重鎖プラスミド番号	VH DNA 配列	SEQ ID NO: (VH DNA)	VH アミノ酸配列	SEQ ID NO: (VH aa)
28, 232	BLV1H12 GLLV 3xG4S GpTx-1	BLV1H12 GLLV 3xG4S GpTx-1	131-70	caggtccagctgtagagagagcggccgccctcactgtcaagccatccc agacactgaccctgacatgcacagcaaggcggtttcactgagcga caaggcagtgggatggctccgacaggcacaggaaaagccctgg aatggctgggacgcatcgatacaggcggaaacacaggtacaatc ccgactgaaggagcgatctccattacaaggacaactctaaaa gtcaggttcatgagcgtgacctcgtcaccaacagagatagtgc aactacattgccactgtgcaccagaaactacgaagatatgcgga gcggtggcgagtcgtcggtggcggctcgcagtcaccaac aagtggtgcaagtacgtgtcgagcgtgtggacgtcgaggag tggaatgtctgggacacagcggccgtcgtgacgtctctagtcgtagc	866	QVQLRESGPSLVKPSQTLS LTCTASGFSLSDKAVGWVR QAPGKALEWLGSIDTGGNT GYNPGLKSRLSITKDNSKSQ VSLSVSSVTTEDSATYYCTS VHQETKKYQSGSGSGGG GSGGGSGSGGDCLGFMRKC IPDNDKCCRPNLVCSRTHK WCKYVFGGGGSGGGSGS GGGSSTTTNYEWHVDVWG QGLLVTVSSAS	776
34	VH4-34 MutA IL-8 CD1Cow	VH4-34 CD3 IL8_CDR1-Cow_CDR 2-Human	132-07	caggtgcagctacagcagtggggcgcaggactgttgaagcctcgg agacgctgtccctcacctgcacagcaaggcggtttcactgagcgac gtgcctcagcagtggaatggattggcagcatcgatacaggcgga aatgcctgggacgcatcgatacaggcggaaacacaggtacaatc ccgactgaaggagcgatctccattacaaggacaactctaaaa gtcaggttcatgagcgtgacctcgtcaccaacagagatagtgc aactacattgccactgtgcaccagaaactacgaagatatgcgga gcggtggcgagtcgtcggtggcggctcgcagtcaccaac aagtggtgcaagtacgtgtcgagcgtgtggacgtcgaggag tggaatgtctgggacacagcggccgtcgtgacgtctctagtcgtagc	867	QVQLQQWGAGLLKPSETLS LTCTASGFSLSDKAVGWIR QPPGKGLEWIGEINHSGST NYNPSLKSRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTS VHQETKKYQSPRSAKELRC QCIKTYSKPFHPKFIKELRVI ESGPHCANTEIIVKLSDGRE LCLDPKENWVQRVVEKFLK RAENSGSGSYTYNYEWHV DVWGQGLLVTVSSAS	794

【図２１－１７】

BID	Ig6名	重鎖名	重鎖プラスミド番号	VH DNA 配列	SEQ ID NO: (VH DNA)	VH アミノ酸配列	SEQ ID NO: (VH aa)
35	VH4-34 IL-8 CDR1cow CDR2cow	VH4-34 CD3 IL8_CDR1-Cow_CDR 2-Cow	132-09	caggtgcagctacagcagtggggcgcaggactgttgaagcctcgg agacgctgtccctcacctgcacagcaagcggtttcactgagcgac aaggcagtgggatggctccgacaggcacaggaaaagccctgg aatggctgggacgcatcgatacaggcggaaacacaggtacaatc ccgactgaaggagcgatctccattacaaggacaactctaaaa gtcaggttcatgagcgtgacctcgtcaccaacagagatagtgc aactacattgccactgtgcaccagaaactacgaagatatgcgga gcggtggcgagtcgtcggtggcggctcgcagtcaccaac aagtggtgcaagtacgtgtcgagcgtgtggacgtcgaggag tggaatgtctgggacacagcggccgtcgtgacgtctctagtcgtagc	868	QVQLQQWGAGLLKPSETLS LTCTASGFSLSDKAVGWIR QPPGKGLEWLGSIDTGGNT GYNPSLKSRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTS VHQETKKYQSPRSAKELRC QCIKTYSKPFHPKFIKELRVI ESGPHCANTEIIVKLSDGRE LCLDPKENWVQRVVEKFLK RAENSGSGSYTYNYEWHV DVWGQGLLVTVSSAS	793
36	VH4-34 MutB IL-8 CDR1cow CDR2cow	VH4-34 CD3 IL8_CDR1-Cow_CDR 2-Cow	132-09	caggtgcagctacagcagtggggcgcaggactgttgaagcctcgg agacgctgtccctcacctgcacagcaagcggtttcactgagcgac aaggcagtgggatggctccgacaggcacaggaaaagccctgg aatggctgggatggattcgccagccccaggggaaaggggctgga gtggctgggcagcatcgatacaggcggaaacacaggtacaacc cgtccctcaagagtcgagtcaccatattcagtagacgcggtccaa gcaagtgctcccgtagaacgtccgaggcacaggctgttacgac tgtattactgtacctctgtgcaccagaaactacgaagatatgcgga gcggtggcgagtcgtcggtggcggctcgcagtcaccaac aagtggtgcaagtacgtgtcgagcgtgtggacgtcgaggag tggaatgtctgggacacagcggccgtcgtgacgtctctagtcgtagc	869	QVQLQQWGAGLLKPSETLS LTCTASGFSLSDKAVGWIR QPPGKGLEWLGSIDTGGNT GYNPSLKSRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTS VHQETKKYQSPRSAKELRC QCIKTYSKPFHPKFIKELRVI ESGPHCANTEIIVKLSDGRE LCLDPKENWVQRVVEKFLK RAENSGSGSYTYNYEWHV DVWGQGLLVTVSSAS	798

【図２１－１８】

BID	Ig6名	重鎖名	重鎖プラスミド番号	VH DNA 配列	SEQ ID NO: (VH DNA)	VH アミノ酸配列	SEQ ID NO: (VH aa)
37	VH4-34 MutC IL-8 31D32K50S	VH4-34 CD3 IL8_CDR1-G31DY32K_CDR2-E50S	132-05	caggtgcagctacagcagtggggcgcaggactgttgaagccttcgg agacgctgtccctcacctgcggtctatggtgggtccttcaatgaca agtactggagctggattcgccagcccccagggaaggggctggagt ggattggggagcatcaatcatagtggaagcaccaacctacaaccgtc cctcaagagtcgagtcaccatattcagtagacgcggtccaa gcttctcctgaagctgagctctgtgaccgccgcggacacgctgtgt attactgtacctctgtgcaccagaaactacgaagatatgcgga gcggtggcgagtcgtcggtggcggctcgcagtcaccaac aagtggtgcaagtacgtgtcgagcgtgtggacgtcgaggag tggaatgtctgggacacagcggccgtcgtgacgtctctagtcgtagc	870	QVQLQQWGAGLLKPSETLS LTCAVYGGSFSDKYWSWIR QPPGKGLEWIGSINHSGST NYNPSLKSRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTS VHQETKKYQSPRSAKELRC QCIKTYSKPFHPKFIKELRVI ESGPHCANTEIIVKLSDGRE LCLDPKENWVQRVVEKFLK RAENSGSGSYTYNYEWHV DVWGQGLLVTVSSAS	800
38	VH4-34 MutE IL-8 5R8E31D32K50S	VH4-34 CD3 IL8 Q5RQ6E_CDR1-G31DY32K_CDR2-E50S	132-13	caggtgcagctacagagagtggggcgcaggactgttgaagccttcg gagacgctgtccctcacctgcacggtctatgggtccttcagtgac aagtactggagctggattcgccagcccccagggaaggggctgga tggattgggagcatcaatcatagtggaagcaccaactacaaccgt ccctcaagagtcgagtcaccatattcagtagacgcggtccaa agttctcctgaagctgagctctgtgaccgccgcggacacgctgtg tattactgtacctctgtgcaccagaaactacgaagatatgcgga agggagtgctacaagaactacgatactcc aaacctttcacccaagttcatcaaggagctgattgagag tggaccacacatgcgccacgcccaacagagatattgcaagctttcgatgg gagagagctctgcctggaccccaagaaaatctggtgcagagg tcgtggagaagttcttgaagaggcgtgaacactcagcgcagcggttct tatacctacaaattatgaatggcatgtggatgtctgggggacaggggtcg ctggtgacagtctctagtgctagc	787	QVGLREWGAGLLKPSETLS LTCAVYGGSFSDKYWSWIR QPPGKGLEWIGSINHSGST NYNPSLKSRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTS VHQETKKYQSPRSAKELRC QCIKTYSKPFHPKFIKELRVI ESGPHCANTEIIVKLSDGRE LCLDPKENWVQRVVEKFLK RAENSGSGSYTYNYEWHV DVWGQGLLVTVSS	787

【図２１－１９】

BID	Ig6名	重鎖名	重鎖プラスミド番号	VH DNA 配列	SEQ ID NO: (VH DNA)	VH アミノ酸配列	SEQ ID NO: (VH aa)
39	VH4-34 MutD IL-8 CDR1cow CDR2cow	VH4-34 CD3 IL8_CDR1-Cow_CDR 2-Cow	132-09	caggtgcagctacagcagtggggcgcaggactgttgaagccttcgg agacgctgtccctcacctgcacagcaagcggtttcactgagcgac aaggcagtgggatggattcgccagccccaggggaaaggggctgga gtggctgggcagcatcgatacaggcggaaacacaggtacaacc cgtccctcaagagtcgagtcaccatattcagtagacgcggtccaa gcaagtgctcccgtagaacgtccgaggcacaggctgttacgac tgtattactgtacctctgtgcaccagaaactacgaagatatgcgga gcggtggcgagtcgtcggtggcggctcgcagtcaccaac aagtggtgcaagtacgtgtcgagcgtgtggacgtcgaggag tggaatgtctgggacacagcggccgtcgtgacgtctctagtcgtagc ctgctggtgacagtctctagtgctagc	871	QVQLQQWGAGLLKPSETLS LTCTASGFSLSDKAVGWIR QPPGKGLEWLGSIDTGGNT GYNPSLKSRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTS VHQETKKYQSPRSAKELRC QCIKTYSKPFHPKFIKELRVI ESGPHCANTEIIVKLSDGRE LCLDPKENWVQRVVEKFLK RAENSGSGSYTYNYEWHV DVWGQGLLVTVSSAS	798
42	BLV1H12	BLV1H12 HC CowV, Human CH1-2-3 (107)	131-74	caggtccagctgtagagagagcggccgccctcactgtcaagccatccc agacactgaccctgacatgcacagcaaggcggtttcactgagcga caaggcagtgggatggctccgacaggcacaggaaaagccctgg aatggctgggacgcatcgatacaggcggaaacacaggtacaatc cgtccctcaagagtcgagtcaccatattcagtagacgcggtccaa gcaagtgctcccgtagaacgtccgaggcacaggctgttacgac tgtattactgtacctctgtgcaccagaaactacgaagatatgcgga gcggtggcgagtcgtcggtggcggctcgcagtcaccaac aagtggtgcaagtacgtgtcgagcgtgtggacgtcgaggag tggaatgtctgggacacagcggccgtcgtgacgtctctagtcgtagc ctgctggtgacagtctctagtgctagc	872	QVQLRESGPSLVKPSQTLS LTCTASGFSLSDKAVGWVR QAPGKALEWLGSIDTGGNT GYNPGLKSRLSITKDNSKSQ VSLSVSSVTTEDSATYYCTS VHQETKKYQSPRSAKELRC QCIKTYSKPFHPKFIKELRVI ESGPHCANTEIIVKLSDGRE LCLDPKENWVQRVVEKFLK RAENSGSGSYTYNYEWHV DVWGQGLLVTVSSAS	925

【図２１－２０】

BID	Ig6名	重鎖名	重鎖プラスミド番号	VH DNA 配列	SEQ ID NO: (VH DNA)	VH アミノ酸配列	SEQ ID NO: (VH aa)
47	VH4-34 MutE 3xG4S IL-8	VH4-34 Q5RQ6E, G31DY32K, E50S, 3xG4S, IL-8	132-37	caggtgcagctaagaagagtgggcgcaggactgttgaagccttcg gagacgctgtccctcacctgcgctgtctatggtgggtccttcaatgac aagtactggagctggattcgccagccccagggaaggggctggag tggattgggaycatcaatcatagtggaagcaccactacaaccct ccctcaagagtcgagtcaccatatcagtagacacgtccaagaac agttctccctgaagctgagctctgtgaccgccgcggacacgctgtg tattactgtacctctgtgacccagggaaacatagaatacctgag ggagaggggtcagggtcactgtctcgagcgccgcctcaccaagg aggaccaagtgagtggaaagtactagatgtctagtgcataaagac atactccaaacctttccacccaagttcatcaagagattgtaaagctt tctgatgggagaagctcctgctgcacccaaggaaaactgggtgc agaggtctgtgggagaagttcttgaagaggctgagaactcaggag gtggtggatctggtgagaagctcttgaagaggctgagaactcttat acctacaattatgaatggcatgtggatgtctggggacagggcctgct ggtgacagtctctagtgctagc	876	QVQLREWGAGLLKPSETLS LTCAVYGGSFSDKYWSWIR QPPGKGLEWIGSINHSGST NYNPSLKSRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTS VHQETKKYQSGSKGSGGG QCIKTYSKPFHPKFIKELRVI ESGPHCANTEIIVKLSDGRE LCLDPKENWVQRVVEKFLK RAENSGSGGSGGSGSSGG GLLVTVSSAS	928
48, 68, 72, 75, 80, 94, 100, 101, 111, 115,1 20, 123, 135	VH4-34 MutE 3xG4S ShK	VH4-34 Q5RQ6E, G31DY32K, E50S, 3xG4S, ShK	132-35	caggtgcagctaagaagagtgggcgcaggactgttgaagccttcg gagacgctgtccctcacctgcgctgtctatggtgggtccttcaatgac aagtactggagctggattcgccagccccagggaaggggctggag tggattgggaycatcaatcatagtggaagcaccactacaaccct ccctcaagagtcgagtcaccatatcagtagacacgtccaagaac agttctccctgaagctgagctctgtgaccgccgcggacacgctgtg tattactgtacctctgtgacccagggaaacatagaatacctgag ggagaggggtcagggtcactgtctcgagcgccgcctcaccaagg aggaccaagtgagtggaaagtactagatgtctagtgcataaagac atactccaaacctttccacccaagttcatcaagagattgtaaagctt tctgatgggagaagctcctgctgcacccaaggaaaactgggtgc agaggtctgtgggagaagttcttgaagaggctgagaactcaggag gtggtggatctggtgagaagctcttgaagaggctgagaactcttat acctacaattatgaatggcatgtggatgtctggggacagggcctgct ggtgacagtctctagtgctagc	877	QVQLREWGAGLLKPSETLS LTCAVYGGSFSDKYWSWIR QPPGKGLEWIGSINHSGST NYNPSLKSRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTS VHQETKKYQSGSKGSGGG QCIKTYSKPFHPKFIKELRVI ESGPHCANTEIIVKLSDGRE LCLDPKENWVQRVVEKFLK RAENSGSGGSGGSGSSGG GLLVTVSSAS	930
49	VH4-34 MutE 3xGGS MOKA	VH4-34 Q5RQ6E, G31DY32K, E50S, 3.3GGS, MOKA	132-36	caggtgcagctaagaagagtgggcgcaggactgttgaagccttcg gagacgctgtccctcacctgcgctgtctatggtgggtccttcaatgac aagtactggagctggattcgccagccccagggaaggggctggag tggattgggaycatcaatcatagtggaagcaccactacaaccct ccctcaagagtcgagtcaccatatcagtagacacgtccaagaac agttctccctgaagctgagctctgtgaccgccgcggacacgctgtg tattactgtacctctgtgacccagggaaacatagaatacctgag ggagaggggtcagggtcactgtctcgagcgccgcctcaccaagg aggaccaagtgagtggaaagtactagatgtctagtgcataaagac agctcctgcccagtgagtcgagtcaccatatcagtagacgcgcgatg gaatgaccttgcggcaccgtgggaggtggtggatctggtgaggagg tggtggatctggtgcagctctaccacaattatgaatggcatgtggat gtctgtggggacagggccctgctggtgacagtctctagtgctagc	878	QVQLREWGAGLLKPSETLS LTCAVYGGSFSDKYWSWIR QPPGKGLEWIGSINHSGST NYNPSLKSRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTS VHQETKKYQSGSKGSGGG SGINVKCSLPQQCIKPFCKDA GMRFGKCMNMKKCRCYSGG SGGSGGSGSSYTYNYEWHVD VWGQGLLVTVSSAS	931
50	VH4-34 MutF 3xG4S ShK	VH4-34 Q5RQ6E, CDR1 Cow, 3xG4S, ShK	132-38	caggtgcagctaagaagagtgggcgcaggactgttgaagccttcg gagacgctgtccctcacctgcacagtctccggattcgacttcagtgcc aacgacctgtcctgctgctgggtccgccgccaggcaaggggctg gagtggatcgcctgcatcaacagcggcggcagcacctactacgcc acgtgggcgaagggccgcttcaccatctccaagaccagctcgacc accgttcacctgcaagatgacagccgtgaccaacgccgacacc gtgtattacctgaacggcctgtggttcaacatctgggggcaggg cggtggcggaggttctggcggaggtggctctggcggtggcgga tcgcagactgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtagg agacagagtcaccatcacttgccgtgccagtcaggacattagca attatttaaactggtatcagcagaaaccagggaaagcccctaag ctcctgatctactatacatcaagattacactcaggagtcccatca aggttcagtggcagtggatctgggacagattatactctcaccatc agcagcctgcagcctgaagatattgcaacttattactgtcaacag tatgatgatctcccgtacacgttcggacaggggaccaaggtggaa atcaaacgtacggtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccat ctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgc tgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtg gataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagag caggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctga cgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgc gaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagctt caacaggggagagtgttag	932

【図２１－２１】

BID	Ig6名	重鎖名	重鎖プラスミド番号	VH DNA 配列	SEQ ID NO: (VH DNA)	VH アミノ酸配列	SEQ ID NO: (VH aa)
45	BLV1H12 HC CowV, CDR3 IL-8, 1xG4S	BLV1H12 CowV 1xGGGGS リンカー– IL-8 - HumanCH 123	131-71	caggtccagctgaagagagcggccccttcactggtcaagccatccc agacacctgagcctcatgcacaggaaggggtttcactgagcga caaggcagtggatggtcccgacaggcacagcaaggacccctgg aatggctgggcagcatcgatacccgtcggaaacacagggtacaatc ccggactgaagagcgatctgtccattacccaggacaaactctaaaa gtcaggtgttcactgagcgtgagcgtccgtcaccacagaggatagtgc gcccaagagtgtcaatgagcgtcgtacaccacagaggatagtgc aactactattgcactctgtgcaccaggaaactaagaaatacccaga gcggtggaggaggttctggcggaggtggctctggcggtggcgga tcgcagactgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtagg agacagagtcaccatcacttgccgtgccagtcaggacattagca attatttaaactggtatcagcagaaaccagggaaagcccctaag ctcctgatctactatacatcaagattacactcaggagtcccatca aggttcagtggcagtggatctgggacagattatactctcaccatc agcagcctgcagcctgaagatattgcaacttattactgtcaacag tatgatgatctcccgtacacgttcggacaggggaccaaggtggaa atcaaacgtacggtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccat ctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgc tgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtg gataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagag caggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctga cgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgc gaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagctt caacaggggagagtgttag	873	QVQLRESGPSLVKPSQTLS LTCTASGFSLSDKAVGWVR QAPGKALEWLGSIDTGGNT GYNPGLKSRLSITKDNSKSQ VSLSVSSVTTEDSATYYCTS VHQETKKYQSGSKGSGGP RSAKELRCQCIKTYSKPFHP KFKELRVIESGPHCANTEIIV KLSDGRELCLDPKENWVQR VVEKFLKRAENSGSGGSGSSY TYNYEWHVDVWGQGLLVT VSSAS	926
46	BLV1H12 HC CowV, CDR3 IL-8, 3xG4S	BLV1H12 CowV 3xGGGGS リンカー– IL-8 - HumanCH 123	131-72	caggtccagctgaagagagcggccccttcactggtcaagccatccc agacacctgagcctcatgcacaggaaggggtttcactgagcga caaggcagtggatggtcccgacaggcacagcaaggacccctgg aatggctgggcagcatcgatacccgtcggaaacacagggtacaatc ccggactgaagagcgatctgtccattacccaggacaaactctaaaa gtcaggtgttcactgagcgtgagcgtccgtcaccacagaggatagtgc gcccaagagtgtcaatgagcgtcgtacaccacagaggatagtgc aactactattgcactctgtgcaccaggaaactaagaaatacccaga gcggtggaggaggttctggcggaggtggctctggcggtggcgga tcgcagactgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtagg agacagagtcaccatcacttgccgtgccagtcaggacattagca attatttaaactggtatcagcagaaaccagggaaagcccctaag ctcctgatctactatacatcaagattacactcaggagtcccatca aggttcagtggcagtggatctgggacagattatactctcaccatc agcagcctgcagcctgaagatattgcaacttattactgtcaacag tatgatgatctcccgtacacgttcggacaggggaccaaggtggaa atcaaacgtacggtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccat ctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgc tgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtg gataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagag caggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctga cgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgc gaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagctt caacaggggagagtgttag	875	QVQLRESGPSLVKPSQTLS LTCTASGFSLSDKAVGWVR QAPGKALEWLGSIDTGGNT GYNPGLKSRLSITKDNSKSQ VSLSVSSVTTEDSATYYCTS VHQETKKYQSGSGGSGGSGG GSGGGGSGGGPRSAKELRC QCIKTYSKPFHPKFIKELRVI ESGPHCANTEIIVKLSDGRE LCLDPKENWVQRVVEKFLK RAENSGSGGSGGSGSSGG GLLVTVSSAS	927

【図２１－２２】

BID	Ig6名	重鎖名	重鎖プラスミド番号	VH DNA 配列	SEQ ID NO: (VH DNA)	VH アミノ酸配列	SEQ ID NO: (VH aa)
44	BLV1H12-IL8	BLV1H12 HC CowV, CDR3 IL-8, Human CH1-2-3 (105)	131-76	caggtccagctgaagagagcggccccttcactggtcaagccatccc agacacctgagcctcatgcacaggaaggggtttcactgagcga caaggcagtggatggtcccgacaggcacagcaaggacccctgg aatggctgggcagcatcgatacccgtcggaaacacagggtacaatc ccggactgaagagcgatctgtccattacccaggacaaactctaaaa gtcaggtgttcactgagcgtgagcgtccgtcaccacagaggatagtgc gcccaagagtgtcaatgagcgtcgtacaccacagaggatagtgc aactactattgcactctgtgcaccaggaaactaagaaatacccaga gcggtggaggaggttctggcggaggtggctctggcggtggcgga tcgcagactgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtagg agacagagtcaccatcacttgccgtgccagtcaggacattagca attatttaaactggtatcagcagaaaccagggaaagcccctaag ctcctgatctactatacatcaagattacactcaggagtcccatca aggttcagtggcagtggatctgggacagattatactctcaccatc agcagcctgcagcctgaagatattgcaacttattactgtcaacag tatgatgatctcccgtacacgttcggacaggggaccaaggtggaa atcaaacgtacggtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccat ctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgc tgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtg gataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagag caggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctga cgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgc gaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagctt caacaggggagagtgttag	874	QVQLRESGPSLVKPSQTLS LTCTASGFSLSDKAVGWVR QAPGKALEWLGSIDTGGNT GYNPGLKSRLSITKDNSKSQ VSLSVSSVTTEDSATYYCTS VHQETKKYQSGSKGSGGP RSAKELRCQCIKTYSKPFHP KFKELRVIESGPHCANTEIIV KLSDGRELCLDPKENWVQR VVEKFLKRAENSGSGGSGSSY TYNYEWHVDVWGQGLLVT VSSAS	928

【図２１－２３】

BID	Ig6名	重鎖名	重鎖プラスミド番号	VH DNA 配列	SEQ ID NO: (VH DNA)	VH アミノ酸配列	SEQ ID NO: (VH aa)
49	VH4-34 MutE 3xGGS MOKA	VH4-34 Q5RQ6E, G31DY32K, E50S, 3.3GGS, MOKA	132-36	caggtgcagctaagaagagtgggcgcaggactgttgaagccttcg gagacgctgtccctcacctgcgctgtctatggtgggtccttcaatgac aagtactggagctggattcgccagccccagggaaggggctggag tggattgggaycatcaatcatagtggaagcaccactacaaccct ccctcaagagtcgagtcaccatatcagtagacacgtccaagaac agttctccctgaagctgagctctgtgaccgccgcggacacgctgtg tattactgtacctctgtgacccagggaaacatagaatacctgag ggagaggggtcagggtcactgtctcgagcgccgcctcaccaagg aggaccaagtgagtggaaagtactagatgtctagtgcataaagac agctcctgcccagtgagtcgagtcaccatatcagtagacgcgcgatg gaatgaccttgcggcaccgtgggaggtggtggatctggtgaggagg tggtggatctggtgcagctctaccacaattatgaatggcatgtggat gtctgtggggacagggccctgctggtgacagtctctagtgctagc	878	QVQLREWGAGLLKPSETLS LTCAVYGGSFSDKYWSWIR QPPGKGLEWIGSINHSGST NYNPSLKSRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTS VHQETKKYQSGSKGSGGG SGINVKCSLPQQCIKPFCKDA GMRFGKCMNMKKCRCYSGG SGGSGGSGSSYTYNYEWHVD VWGQGLLVTVSSAS	931
50	VH4-34 MutF 3xG4S ShK	VH4-34 Q5RQ6E, CDR1 Cow, 3xG4S, ShK	132-38	caggtgcagctaagaagagtgggcgcaggactgttgaagccttcg gagacgctgtccctcacctgcacagtctccggattcgacttcagtgcc aacgacctgtcctgctgctgggtccgccgccaggcaaggggctg gagtggatcgcctgcatcaacagcggcggcagcacctactacgcc acgtgggcgaagggccgcttcaccatctccaagaccagctcgacc accgttcacctgcaagatgacagccgtgaccaacgccgacacc gtgtattacctgaacggcctgtggttcaacatctgggggcaggg cggtggcggaggttctggcggaggtggctctggcggtggcgga tcgcagactgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtagg agacagagtcaccatcacttgccgtgccagtcaggacattagca attatttaaactggtatcagcagaaaccagggaaagcccctaag ctcctgatctactatacatcaagattacactcaggagtcccatca aggttcagtggcagtggatctgggacagattatactctcaccatc agcagcctgcagcctgaagatattgcaacttattactgtcaacag tatgatgatctcccgtacacgttcggacaggggaccaaggtggaa atcaaacgtacggtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccat ctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgc tgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtg gataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagag caggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctga cgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgc gaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagctt caacaggggagagtgttag	932	QVQLREWGAGLLKPSETLS LTCTASGFSLSDKAVGWVR QPPGKGLEWIGSINHSGST NYNPSLKSRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTS VHQETKKYQSGSKGSGGG GSGGGGSGGGPRSAKELRC QCIKTYSKPFHPKFIKELRVI ESGPHCANTEIIVKLSDGRE LCLDPKENWVQRVVEKFLK RAENSGSGGSGGSGSSGG GLLVTVSSAS	927

【図２１－２４】

BID	Ig6名	重鎖名	重鎖プラスミド番号	VH DNA 配列	SEQ ID NO: (VH DNA)	VH アミノ酸配列	SEQ ID NO: (VH aa)
55, 64, 102, 110, 112, 121, 125, 160, 163, 166, 169	VH4-34 MutE ノブなし	VH4-34 Q5RQ6E, G31DY32K ,E50S, CDR3 ウシストーク- 3xGGS	132-49	caggtgcagctaaggagtgtggggcgcaggactgttgaagccttcg gagaccgtgtccctcacctgcgctgtctggtccttcactgtgac aagtactgggctggattcgcccagccccagggaagggctggag tggattgggagcatcaatcatagtggaagccacactacaaccgt ccctcaagagtcgagtcaccatatcagtagacaagtccaagaac agttctccctgaagctgagctctgtgaccgccgcggacacggctgtg tattactgtacctctgtgcacgagaaactacgagagtgg aggaagcggaggaggtcgaggaagcggtggtcgtgatggaagtcttca gtggctagc	884	QVQLREWGAGLLKPSETLS LTCAVYGGSFSDKYWSWIR QPPGKGLEWIGSINHSGST NYNPSLKSRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTS VHQETKKYQSGGGGSGGG SSYTYNYEWHVDVWGQGL LVTVSSAS	937
56, 124, 145, 146, 147, 148	VH4-34 MutE 1xG4S ShK	VH4-34 Q5RQ6E, G31DY32K ,E50S, CDR3 ウシストーク- 1xG4S ShK	132-53	caggtgcagctaaggagtgtggggcgcaggactgttgaagccttcg gagaccgtgtccctcacctgcgctgtctggtccttcactgtgac aagtactgggctggattcgcccagccccagggaagggctggag tggattgggagcatcaatcatagtggaagccacactacaaccgt ccctcaagagtcgagtcaccatatcagtagacaagtccaagaac agttctccctgaagctgagctctgtgaccgccgcggacacggctgtg tattactgtacctctgtgcacgagaaactacgagagtgg gaggaggtctggaggaggtggtcgtgatggaagtcttcagtggc tctcttataccacaaattatgaatggcattgtggtgtgcaagg gcctgctggtgacaggtctctagtgctagc	885	QVQLREWGAGLLKPSETLS LTCAVYGGSFSDKYWSWIR QPPGKGLEWIGSINHSGST NYNPSLKSRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTS VHQETKKYQSGGGGSGGR SCIDTIPKSRCTAFKCKHSM KYRLSFCRKTCGTCGGGGS SYTYNYEWHVDVWGQGLL VTVSSAS	938

【図２１－２５】

BID	Ig6名	重鎖名	重鎖プラスミド番号	VH DNA 配列	SEQ ID NO: (VH DNA)	VH アミノ酸配列	SEQ ID NO: (VH aa)
51	VH4-34 MutF 3xG4S IL-8	VH4-34 Q5RQ6E, CDR1 Cow, 3xG4S, IL-8	132-40	caggtgcagctaaggagtgtggggcgcaggactgttgaagccttcg gagaccgtgtccctcacctgcgctgtctggtccttcactgtgac acaaggcagtgggatgattcgccagccccagggaagggctg gagtggattgggagcatcaatcatagtggaagccaccaactacaac ccgtccctcaagagtcgagtcaccatatcagtagacaagtccaagaa accagttctccctgaagctgagctctgtgaccgccgcggacacggct gtgtattactgtacctctgtgcacgagaaactacgagagtgg cggtggaggaggttctggaggcggtggatcgggaggtgtag cggaggaccaaggagtgtcatgaagaattgtgtgcgtgtatgaa gacatatctccaaaccttccaccccaagttcatcaagtgctgaga gtgtgcagagtggtcgtggatgcctggggaccaagagatattgaa agcttcgatgatggagaagcctctgcgtcgaacccaaggaaaactca gtgtgcagagtggtcgtggatgcctggggaccaagagatattgaa tcttataccacaaattatgaatggcattgtggtgtgcaagg gcctgctggtgacaggtctctagtgctagc	880	QVQLREWGAGLLKPSETLS LTCTASGFSLSDKAVGWIR QPPGKGLEWIGEINHSGST NYNPSLKSRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTS VHQETKKYQSGGGGSGGG GSGGGGSGGGSGPRSAKELRC QCIKTYSKPFHPKFIKELRVI ESGPHCANTEIIVKLSDGRE LQLDPKENWVQRVVEKFLK RAENSGGGSGGGGSGSG GGSSYTYNYEWHVDVWGQ GLLVTVSSAS	933
52	VH4-34 MutF 3xGGS MOKA	VH4-34 Q5RQ6E, CDR1 Cow, 3.3xGGS, MOKA	132-39	caggtgcagctaaggagtgtggggcgcaggactgttgaagccttcg gagaccgtgtccctcacctgcgctgtctggtccttcactgtgac acaaggcagtgggatgattcgccagccccagggaagggctg gagtggattgggagcatcaatcatagtggaagccacactacaac ccgtccctcaagagtcgagtcaccatatcagtagacaagtccaaga agttctccctgaagctgagctctgtgaccgccgcggacacggct gtgtattactgtacctctgtgcacgagaaactacgagagtgg tgggaggaggttctggaggcggtggatcgggaggtgtag cggaggaggttctggaggcggtggatcgggaggtgtag aggagacgtcgtggatgcctggggaccaagagatattgaa agcttcgatgatggagaagcctctgcgtcgaacccaaggaaaactca gtgtgcagagtggtcgtggatgcctggggaccaagagatattgaa tcttataccacaaattatgaatggcattgtggtgtgcaagg gcctgctggtgacaggtctctagtgctagc	881	QVQLREWGAGLLKPSETLS LTCTASGFSLSDKAVGWIR QPPGKGLEWIGEINHSGST NYNPSLKSRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTS VHQETKKYQSGGGGSGGG GSGGGGSGGGSGYCQKWMWT CDSERKCCQEGMVCPKLVCK KKLWGGGSGGGGSGGG GSSYTYNYEWHVDVWGQG LLVTVSSAS	934

【図２１－２６】

BID	Ig6名	重鎖名	重鎖プラスミド番号	VH DNA 配列	SEQ ID NO: (VH DNA)	VH アミノ酸配列	SEQ ID NO: (VH aa)
53, 155	VH4-34 MutE 3xG4S ProTxII	VH4-34 Q5RQ6E, G31DY32K ,E50S, 3xG4S, ProTxII	132-31	caggtgcagctaaggagtgtggggcgcaggactgttgaagccttcg gagaccgtgtccctcacctgcgctgtctggtccttcactgtgac aagtactgggctggattcgcccagccccagggaagggctggag tggattgggagcatcaatcatagtggaagccacactacaaccgt ccctcaagagtcgagtcaccatatcagtagacaagtccaagaac agttctccctgaagctgagctctgtgaccgccgcggacacggct gtgtattactgtacctctgtgcacgagaaactacgagagtgg tggaggaggttctggaggcggtggatcgggaggtgtag aggatactgccgaagatggatgtgatggtcgtgatggaagtgtag atgctgcgaggggcatggtgtgcaagaagaaagct gtgggaaggtggtgtgatcgtggtgaggaggcagt ggaggtggtggcaagtcttataccacaattatgaatggcattgtggat gtctgggaacagggcctgctggtgacaggtctctagtgctagc	882	QVQLREWGAGLLKPSETLS LTCAVYGGSFSDKYWSWIR QPPGKGLEWIGSINHSGST NYNPSLKSRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTS VHQETKKYQSGGGGSGGG GSGGGGSGGGDCLGFMRKC IPDNDKCCRPNLVCSRTHK WCKYVFGGGSGGGGSGSG GGGSSYTYNYEWHVDVWG QGLLVTVSSAS	935
54, 78, 156	VH4-34 MutE 3xG4S GPTX1	VH4-34 Q5RQ6E, G31DY32K ,E50S, 3xG4S, GPTX1	132-34	caggtgcagctaaggagtgtggggcgcaggactgttgaagccttcg gagaccgtgtccctcacctgcgctgtctggtccttcactgtgac aagtactgggctggattcgcccagccccagggaagggctggag tggattgggagcatcaatcatagtggaagccacactacaaccgt ccctcaagagtcgagtcaccatatcagtagacaagtccaagaac agttctccctgaagctgagctctgtgaccgccgcggacacggct gtgtattactgtacctctgtgcacgagaaactacgagagtgg tggaggaggttctggaggcggtggatcgggaggtgtag aggagacgtcgtggatgcctggggaccaagagatattgaa agcttcgatgatggagaagcctctgcgtcgaacccaaggaaaactca gtgtgcagagtggtcgtggatgcctggggaccaagagatattgaa tcttataccacaaattatgaatggcattgtggtgtgcaagg gcctgctggtgacaggtctctagtgctagc	883	QVQLREWGAGLLKPSETLS LTCAVYGGSFSDKYWSWIR QPPGKGLEWIGSINHSGST NYNPSLKSRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTS VHQETKKYQSGGGGSGGG GSGGGGSGGGDCLGFMRKC IPDNDKCCRPNLVCSRTHK WCKYVFGGGSGGGGSGSG GGGSSYTYNYEWHVDVWG QGLLVTVSSAS	936

【図２１－２７】

BID	Ig6名	重鎖名	重鎖プラスミド番号	VH DNA 配列	SEQ ID NO: (VH DNA)	VH アミノ酸配列	SEQ ID NO: (VH aa)
57	VH4-34 MutE ShK-16K 1xG4S	VH4-34 Q5RQ6E, G31DY32K ,E50S, CDR3 ウシストーク- 1xG4S ShK-16K	132-52	caggtgcagctaaggagtgtggggcgcaggactgttgaagccttcg gagaccgtgtccctcacctgcgctgtctggtccttcactgtgac aagtactgggctggattcgcccagccccagggaagggctggag tggattgggagcatcaatcatagtggaagccacactacaaccgt ccctcaagagtcgagtcaccatatcagtagacaagtccaagaac agttctccctgaagctgagctctgtgaccgccgcggacacggct gtgtattactgtacctctgtgcacgagaaactacgagagtgg tggaggaggttctggaggcggtggatcgggaggtgtag gcctgctggtgacaggtctctagtgctagc	886	QVQLREWGAGLLKPSETLS LTCAVYGGSFSDKYWSWIR QPPGKGLEWIGSINHSGST NYNPSLKSRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTS VHQETKKYQSGGGGSGGR SCIDTIPKSRCTAFKCKHSM KYRLSFCRKTCGTCGGGGS SYTYNYEWHVDVWGQGLL VTVSSAS	939
58	MutE ShK-16K 3xG4S	VH4-34 Q5RQ6E, G31DY32K ,E50S, CDR3 ウシストーク- 3xG4S ShK-16K	132-56	caggtgcagctaaggagtgtggggcgcaggactgttgaagccttcg gagaccgtgtccctcacctgcgctgtctggtccttcactgtgac aagtactgggctggattcgcccagccccagggaagggctggag tggattgggagcatcaatcatagtggaagccacactacaaccgt ccctcaagagtcgagtcaccatatcagtagacaagtccaagaac agttctccctgaagctgagctctgtgaccgccgcggacacggct gtgtattactgtacctctgtgcacgagaaactacgagagtgg aggaaggagctgcatcgacaccatccccaagagcgcatgtgcaag gaagacctgcggcaacctggtgtgcatgtgcaggagtgg cagtggtggtggtggcggctctaccatcaattatgaatggcattgt ggatgtctgggaatacagggcctgctggtgacaggtctctagtgctagc	887	QVQLREWGAGLLKPSETLS LTCAVYGGSFSDKYWSWIR QPPGKGLEWIGSINHSGST NYNPSLKSRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTS VHQETKKYQSGGGGSGGG GSGGGGSGGRSCIDTIPKS RCTAFKCKHSMKYRLSFCR KTCGTCGGGGSGGGGSGG GGSSYTYNYEWHVDVWGQ GLLVTVSSAS	940

【図２１－２８】

BID	Ig6名	重鎖名	重鎖プラスミド番号	VH DNA 配列	SEQ ID NO: (VH DNA)	VH アミノ酸配列	SEQ ID NO: (VH aa)
59, 137, 144, 149, 153, 159, 161, 162, 164, 165, 167, 168, 170, 171, 172, 173, 175, 176, 177, 178, 179	VH4-34 MutE Shk-リンカーなし	VH4-34 Q5RQ6E, G31DY32K, E50S, CDR3 Shk-リンカーなし	132-61	caggtgcagctaagagagtgggcgcaggactgttgaagccttcg gagacgctgtccctcacctgcgctgtctatggtgggtccttcagtgac aagtactggagctggattcgccagcccccagggaagggctggag tggattgggagcatcaatcatagtggaagcaccaactacaacccgt ccctcaagagtcgagtcaccatatcagtagacacgtccaagaacc agttctcctgaagctgagctctgtgaccgccgcggacacgggctgtg tattactgtacctctgtgcaccaggaaactacgagcgg	888	QVQLREWGAGLLKPSETLS LTCAVYGGSFSDKYWSWIR QPPGKGLEWIGSINHSGST NYNPSLKSRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTS VHQETKKYQSGSGGRSCIDTIPKS RCTAFQCKHSMKYRLSFCR KTCGTCSYTYNYEWHVDV WGQGSLLVTVSSAS
65,140	VH4-34 MutE GSGG-Shk-GGGG	VH4-34 Q5RQ6E, G31DY32K, E50S, CDR3 GSGG-Shk-GGGG	132-75	caggtgcagctaagagagtgggcgcaggactgttgaagccttcg gagacgctgtccctcacctgcgctgtctatggtgggtccttcagtgac aagtactggagctggattcgccagcccccagggaagggctggag tggattgggagcatcaatcatagtggaagcaccaactacaacccgt ccctcaagagtcgagtcaccatatcagtagacacgtccaagaacc agttctcctgaagctgagctctgtgaccgccgcggacacgggctgtg tattactgtacctctgtgcaccaggaaactacgagcgg ttcttggaggaagggtcgtcaagtcacaagtgaagtacaggtgtgagctc tgtcaggaagcaccgtcgcgtgcggaggttgtgatcttatacta caattatgaatggcatgtggatgtctgggaacaggccctgctggtga cagtctctagtgctagc	891	QVQLREWGAGLLKPSETLS LTCAVYGGSFSDKYWSWIR QPPGKGLEWIGSINHSGST NYNPSLKSRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTS VHQETKKYQSGSGGRSCID TIPKSRCTAFQCKHSMKYRL SFCRKTCGTCSYTYN YEWHVDVWGQGLLVTVSS AS	944
66,141	VH4-34 MutE GGGG-Shk-GGGG	VH4-34 Q5RQ6E, G31DY32K, E50S, CDR3 GGGG-Shk-GGGG	132-76	caggtgcagctaagagagtgggcgcaggactgttgaagccttcg gagacgctgtccctcacctgcgctgtctatggtgggtccttcagtgac aagtactggagctggattcgccagcccccagggaagggctggag tggattgggagcatcaatcatagtggaagcaccaactacaacccgt ccctcaagagtcgagtcaccatatcagtagacacgtccaagaacc agttctcctgaagctgagctctgtgaccgccgcggacacgggctgtg tattactgtacctctgtgcaccaggaaactacgagcgg tgcaggaagacctgcggcacctgcgtgggtggtgatcttatacta caattgaatggcagtgtggatgtctgggaacaggccctgctggtga cagtctctagtgctagc	892	QVQLREWGAGLLKPSETLS LTCAVYGGSFSDKYWSWIR QPPGKGLEWIGSINHSGST NYNPSLKSRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTS VHQETKKYQSGSGGRSCIDTI PKSRCTAFQCKHSMKYRL SFCRKTCGTCSGSYTYNYE WHVDVWGQGLLVTVSS AS	945

【図２１－２９】

BID	Ig6名	重鎖名	重鎖プラスミド番号	VH DNA 配列	SEQ ID NO: (VH DNA)	VH アミノ酸配列	SEQ ID NO: (VH aa)
60, 69, 73, 76, 138	VH4-34 MutE G-ShK-G	VH4-34 Q5RQ6E, G31DY32K, E50S, CDR3 G-ShK-G	132-62	caggtgcagctaagagagtgggcgcaggactgttgaagccttcg gagacgctgtccctcacctgcgctgtctatggtgggtccttcagtgac aagtactggagctggattcgccagcccccagggaagggctggag tggattgggagcatcaatcatagtggaagcaccaactacaacccgt ccctcaagagtcgagtcaccatatcagtagacacgtccaagaacc agttctcctgaagctgagctctgtgaccgccgcggacacgggctgtg tattactgtacctctgtgcaccaggaaactacgagcgg caggaggtgcagctaacgcagtcatgaagtacaggtgtgagctctgcagaa gaccctgcgggacctgcgtgggtggtgatcttatacta caattatgaatggcatgtggatgtctgggaacaggccctgctggtga cgctagc	889	QVQLREWGAGLLKPSETLS LTCAVYGGSFSDKYWSWIR QPPGKGLEWIGSINHSGST NYNPSLKSRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTS VHQETKKYQSGSGGRSCIDTIPK SRCTAFQCKHSMKYRLSFC RKTCGTCSGSYTYNYEWHVD VWGQGLLVTVSSAS	942
61, 139	VH4-34 MutE GG-ShK-GG	VH4-34 MutE GG-ShK-GG	132-63	caggtgcagctaagagagtgggcgcaggactgttgaagccttcg gagacgctgtccctcacctgcgctgtctatggtgggtccttcagtgac aagtactggagctggattcgccagcccccagggaagggctggag tggattgggagcatcaatcatagtggaagcaccaactacaacccgt ccctcaagagtcgagtcaccatatcagtagacacgtccaagaacc agttctcctgaagctgagctctgtgaccgccgcggacacgggctgtg tattactgtacctctgtgcaccaggaaactacgagcgg cggaggtgcagctaacgcagtcatgaagtacaggtgtgagctctgcag aagaccctgcgggacctgcgtgggtggtgatcttatacta caattatgaatggcatgtggatgtctgggaacaggccctgctggtga cgctagc	890	QVQLREWGAGLLKPSETLS LTCAVYGGSFSDKYWSWIR QPPGKGLEWIGSINHSGST NYNPSLKSRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTS VHQETKKYQSGSGGRSCIDTIP KSRCTAFQCKHSMKYRLSF CRKTCGTCSGSYTYNYEW HVDVWGQGLLVTVSSAS	943

【図２１－３０】

BID	Ig6名	重鎖名	重鎖プラスミド番号	VH DNA 配列	SEQ ID NO: (VH DNA)	VH アミノ酸配列	SEQ ID NO: (VH aa)
67, 70, 74, 77, 142	VH4-34 MutE GGG-Shk-GGG	VH4-34 Q5RQ6E, G31DY32K, E50S, CDR3 GGG-Shk-GGG	132-77	caggtgcagctaagagagtgggcgcaggactgttgaagccttcg gagacgctgtccctcacctgcgctgtctatggtgggtccttcagtgac aagtactggagctggattcgccagcccccagggaagggctggag tggattgggagcatcaatcatagtggaagcaccaactacaacccgt ccctcaagagtcgagtcaccatatcagtagacacgtccaagaacc agttctcctgaagctgagctctgtgaccgccgcggacacgggctgtg tattactgtacctctgtgcaccaggaaactacgagcgg aggaggtagcgtcatgcaccatccccaagagccgatgcaca ccgcctccagtgcaagcacagcatgaagtacaggtgtgagcttctg caggaagacctgcggcacctgcgtgggtggtgatcttatacta caattgaatggcagtgtggatgtctgggaacaggccctgctggtgacagtc tctagtgctagc	893	QVQLREWGAGLLKPSETLS LTCAVYGGSFSDKYWSWIR QPPGKGLEWIGSINHSGST NYNPSLKSRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTS VHQETKKYQSGSGGRSCIDTI PKSRCTAFQCKHSMKYRLS FCRKTCGTCSGSYTYNYE WHVDVWGQGLLVTVSSAS	946
92, 95, 103	VH4-34 MutE 3xG4S ShK S62G	VH4-34 Q5RQ6E S62G MutE, CD1_G31D Y32K_CD2 _E50S_CD 3_3XG4S_ Shk	133-76	caggtgcagctaagagagtgggcgcaggactgttgaagccttcg gagacgctgtccctcacctgcgctgtctatggtgggtccttcagtgac aagtactggagctggattcgccagcccccagggaagggctggag tggattgggagcatcaatcatagtggaagcaccaactacaacccgg gcctcaagagtcgagtcaccatatcagtagacacgtccaagaacc agttctcctgaagctgagctctgtgaccgccgcggacacgggctg tattactgtacctctgtgcaccaggaaactacgagcgg aggaggtctgaagctgcgtcagcgcggaggaggttcgggaggtgg cggtggaggcgctcgaggtgcaggtgcagctgcaggagtctggag gaggcttggtacagcctggggggtccctgagactctcctgtgcagc	894	QVQLREWGAGLLKPSETLS LTCAVYGGSFSDKYWSWIR QPPGKGLEWIGSINHSGST NYNPGLKSRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTS VHQETKKYQSGSGGSGGG GSGGGGSGGRSCIDTIPKS RCTAFQCKHSMKYRLSFCR KTCGTCGGGGSGGGGSGG GGSSYTYNYEWHVDVWGQ GLLVTVSSAS	947

【図２１－３１】

【図２１－３２】

BID	Ig6名	重鎖名	重鎖プラスミド番号	VH DNA 配列	SEQ ID NO: (VH DNA)	VH アミノ酸配列	SEQ ID NO: (VH aa)
104, 113, 119, 122	VH4-34 MutE 2xG4S ShK	VH4-34 Q5R06E MutE_CD1 _G31DY32K _CD2_E50 S_CDR3_2 xG4S ShK	134-12	caggtgcagctaagaagtggtgggcgcaggactgttgaagccttcg gagacgctgtccctcacctgcgctgtctatggtgggtccttcagtgac aagtactggagctggattcgccagcccccagggaagggctggag tggattgggagcatcaatcatagtggaagcaccaactacaacccgt ccctcaagagtcgagtcaccatatcagtagacacgtccaagaacc agttctccctgaagctgagctctgtgaccgccgcggacacgcgctgtg tattactgtacctctgtgcacacggaaacttaccgagcgg aggcggtgtggaagtgtggtcggaggattacgcggaggaagcggagtgc atcgacatcatccacaagcgccgattcacgcttccgtctcaag gtgatgtctgggacgaccgtcgagcgtcgtcgaggaagacctgcgcgc accgcgctggtgaaggaggtgtgtggtgcgtcgtgcgcgc acaattatgaatggtgcattgtggacgtcgtgcgcgtcgtgtg acaattctcgtagtgctagc	895	QVQLREWGAGLLKPSETLS LTCAVYGGSFSDKYWSWIR QPPGKGLEWIGSINHSGST NYNPSLKSRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTS VHQETKKYQSGGGGSGGG GSGGGRSCIDTIPKSRCTAFQ CKHSMKYRLSFCRKTCGTC GGGGSGGGGSSYTYNYEW HVDVWGQGLLVTVSSAS	948
105	VH4-34 MutE 3xG4S ShK (M21Q)	VH4-34 Q5R06E MutE_CD1 _G31DY32K _CD2_E50 S_CDR3_3 xG4S ShK (M21Q)	134-13	caggtgcagctaagaagtggtgggcgcaggactgttgaagccttcg gagacgctgtccctcacctgcgctgtctatggtgggtccttcagtgac aagtactggagctggattcgccagcccccagggaagggctggag tggattgggagcatcaatcatagtggaagcaccaactacaacccgt ccctcaagagtcgagtcaccatatcagtagacacgtccaagaacc agttctccctgaagctgagctctgtgaccgccgcggacacgcgctgtg tattactgtacctctgtgcacacggaaacttaccgagcgg aggcggtgtggaagtgtggtcggaggattacgcggaggaagcggagtgc atcgacatcatccacaagcgccgattcacgcttccgtctcaag gtgatgtctgggacgaccgtcgagcgtcgtcgaggaagacctgcgcgc accgcgctggtgaaggaggtgtgtggtgcgtcgtgcgcgc acaattatgaatggtgcattgtggacgtcgtgcgcgtcgtgtg acaattctcgtagtgctagc	896	QVQLREWGAGLLKPSETLS LTCAVYGGSFSDKYWSWIR QPPGKGLEWIGSINHSGST NYNPSLKSRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTS VHQETKKYQSGGGGSGGG GSGGGGSGGRSCIDTIPKS RCTAFQCKHSQKYRLSFCR KTCGTCGGGGSGGGGSGGG GLLVTVSSAS	949

【図２１－３３】

BID	Ig6名	重鎖名	重鎖プラスミド番号	VH DNA 配列	SEQ ID NO: (VH DNA)	VH アミノ酸配列	SEQ ID NO: (VH aa)
106	VH4-34 MutE 3xG4S ShK (M21L)	VH4-34 Q5R06E MutE_CD1 _G31DY32K _CD2_E50 S_CDR3_3 xG4S ShK (M21L)	134-14	caggtgcagctaagaagtggtgggcgcaggactgttgaagccttcg gagacgctgtccctcacctgcgctgtctatggtgggtccttcagtgac aagtactggagctggattcgccagcccccagggaagggctggag tggattgggagcatcaatcatagtggaagcaccaactacaacccgt ccctcaagagtcgagtcaccatatcagtagacacgtccaagaacc agttctccctgaagctgagctctgtgaccgccgcggacacgcgctgtg tattactgtacctctgtgcacacggaaacttaccgagcgg aggcggtgtggaagtgtggtcggaggattacgcggaggaagcggagtgc atcgacatcatccacaagcgccgattcacgcttccgtctcaag gtgatgtctgggacgaccgtcgagcgtcgtcgaggaagacctgcgcgc accgcgctggtgaaggaggtgtgtggtgcgtcgtgcgcgc acaattatgaatggtgcattgtggacgtcgtgcgcgtcgtgtg acaattctcgtagtgctagc	897	QVQLREWGAGLLKPSETLS LTCAVYGGSFSDKYWSWIR QPPGKGLEWIGSINHSGST NYNPSLKSRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTS VHQETKKYQSGGGGSGGG GSGGGGSGGRSCIDTIPKS RCTAFQCKHSLKYRLSFCR KTCGTCGGGGSGGGGSGGG GGSSYTYNYEWHVDVWGQ GLLVTVSSAS	950
107, 114	VH4-34 MutE 3xG4S ShK (M21F)	VH4-34 Q5R06E MutE_CD1 _G31DY32K _CD2_E50 S_CDR3_3 xG4S ShK (M21F)	134-15	caggtgcagctaagaagtggtgggcgcaggactgttgaagccttcg gagacgctgtccctcacctgcgctgtctatggtgggtccttcagtgac aagtactggagctggattcgccagcccccagggaagggctggag tggattgggagcatcaatcatagtggaagcaccaactacaacccgt ccctcaagagtcgagtcaccatatcagtagacacgtccaagaacc agttctccctgaagctgagctctgtgaccgccgcggacacgcgctgtg tattactgtacctctgtgcacacggaaacttaccgagcgg aggcggtgtggaagtgtggtcggaggattacgcggaggaagcggagtgc atcgacatcatccacaagcgccgattcacgcttccgtctcaag gtgatgtctgggacgaccgtcgagcgtcgtcgaggaagacctgcgcgc accgcgctggtgaaggaggtgtgtggtgcgtcgtgcgcgc acaattatgaatggtgcattgtggacgtcgtgcgcgtcgtgtg acaattctcgtagtgctagc	898	QVQLREWGAGLLKPSETLS LTCAVYGGSFSDKYWSWIR QPPGKGLEWIGSINHSGST NYNPSLKSRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTS VHQETKKYQSGGGGSGGG GSGGGGSGGRSCIDTIPKS RCTAFQCKHSFKYRLSFCR KTCGTCGGGGSGGGGSGGG GSGSSYTYNYEWHVDVWGQ GLLVTVSSAS	951

【図２１－３４】

BID	Ig6名	重鎖名	重鎖プラスミド番号	VH DNA 配列	SEQ ID NO: (VH DNA)	VH アミノ酸配列	SEQ ID NO: (VH aa)
108	VH4-34 MutE 3xG4S ShK (M21I)	VH4-34 Q5R06E MutE_CD1 _G31DY32K _CD2_E50 S_CDR3_3 xG4S ShK (M21I)	134-16	caggtgcagctaagaagtggtgggcgcaggactgttgaagccttcg gagacgctgtccctcacctgcgctgtctatggtgggtccttcagtgac aagtactggagctggattcgccagcccccagggaagggctggag tggattgggagcatcaatcatagtggaagcaccaactacaacccgt ccctcaagagtcgagtcaccatatcagtagacacgtccaagaacc agttctccctgaagctgagctctgtgaccgccgcggacacgcgctgtg tattactgtacctctgtgcacacggaaacttaccgagcgg aggcggtgtggaagtgtggtcggaggattacgcggaggaagcggagtgc atcgacatcatccacaagcgccgattcacgcttccgtctcaag gtgatgtctgggacgaccgtcgagcgtcgtcgaggaagacctgcgcgc accgcgctggtgaaggaggtgtgtggtgcgtcgtgcgcgc acaattatgaatggtgcattgtggacgtcgtgcgcgtcgtgtg acaattctcgtagtgctagc	899	QVQLREWGAGLLKPSETLS LTCAVYGGSFSDKYWSWIR QPPGKGLEWIGSINHSGST NYNPSLKSRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTS VHQETKKYQSGGGGSGGG GSGGGRSCIDTIPKSRCTAFQ CKHSMKYRLSFCRKTCGTC GGGGSGGGGSSYTYNYEW HVDVWGQGLLVTVSSAS	948
109	VH4-34 MutE 3xG4S ShK (M21A)	VH4-34 Q5R06E MutE_CD1 _G31DY32K _CD2_E50 S_CDR3_3 xG4S ShK (M21A)	134-17	caggtgcagctaagaagtggtgggcgcaggactgttgaagccttcg gagacgctgtccctcacctgcgctgtctatggtgggtccttcagtgac aagtactggagctggattcgccagcccccagggaagggctggag tggattgggagcatcaatcatagtggaagcaccaactacaacccgt ccctcaagagtcgagtcaccatatcagtagacacgtccaagaacc agttctccctgaagctgagctctgtgaccgccgcggacacgcgctgtg tattactgtacctctgtgcacacggaaacttaccgagcgg aggcggtgtggaagtgtggtcggaggattacgcggaggaagcggagtgc atcgacatcatccacaagcgccgattcacgcttccgtctcaag gtgatgtctgggacgaccgtcgagcgtcgtcgaggaagacctgcgcgc accgcgctggtgaaggaggtgtgtggtgcgtcgtgcgcgc acaattatgaatggtgcattgtggacgtcgtgcgcgtcgtgtg acaattctcgtagtgctagc	900	QVQLREWGAGLLKPSETLS LTCAVYGGSFSDKYWSWIR QPPGKGLEWIGSINHSGST NYNPSLKSRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTS VHQETKKYQSGGGGSGGG GSGGGGSGGRSCIDTIPKS RCTAFQCKHSAKYRLSFCR KTCGTCGGGGSGGGGSGGG GLLVTVSSAS	953

【図２１－３５】

BID	Ig6名	重鎖名	重鎖プラスミド番号	VH DNA 配列	SEQ ID NO: (VH DNA)	VH アミノ酸配列	SEQ ID NO: (VH aa)
157	VH4-34MutE 1xG4S ProTxII	VH4-34 Q5R06E, G31DY32K _E50S, CDR3 ウシストーク- 1xG4S ProTxII	132-54	caggtgcagctaagaagtggtgggcgcaggactgttgaagccttcg gagacgctgtccctcacctgcgctgtctatggtgggtccttcagtgac aagtactggagctggattcgccagcccccagggaagggctggag tggattgggagcatcaatcatagtggaagcaccaactacaacccgt ccctcaagagtcgagtcaccatatcagtagacacgtccaagaacc agttctccctgaagctgagctctgtgaccgccgcggacacgcgctgtg tattactgtacctctgtgcacacggaaacttaccgagcgg aggcggtgtggaagtgtggtcggaggattacgcggaggaagcggagtgc atcgacatcatccacaagcgccgattcacgcttccgtctcaag gtgatgtctgggacgaccgtcgagcgtcgtcgaggaagacctgcgcgc accgcgctggtgaaggaggtgtgtggtgcgtcgtgcgcgc acaattatgaatggtgcattgtggacgtcgtgcgcgtcgtgtg acaattctcgtagtgctagc	901	QVQLREWGAGLLKPSETLS LTCAVYGGSFSDKYWSWIR QPPGKGLEWIGSINHSGST NYNPSLKSRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTS VHQETKKYQSGGGGSGGY CQKWMWTCDSERKCCEG WVCRLWCKKFKLWGGGGSS YTYNYEWHVDVWGQGLLV TVSSAS	954
158	VH4-34MutE 1xG4S GPTX1	VH4-34 Q5R06E, G31DY32K _E50S, CDR3 ウシストーク- 1xG4S GPTX1	132-55	caggtgcagctaagaagtggtgggcgcaggactgttgaagccttcg gagacgctgtccctcacctgcgctgtctatggtgggtccttcagtgac aagtactggagctggattcgccagcccccagggaagggctggag tggattgggagcatcaatcatagtggaagcaccaactacaacccgt ccctcaagagtcgagtcaccatatcagtagacacgtccaagaacc agttctccctgaagctgagctctgtgaccgccgcggacacgcgctgtg tattactgtacctctgtgcacacggaaacttaccgagcgg aggcggtgtggaagtgtggtcggaggattacgcggaggaagcggagtgc atcgacatcatccacaagcgccgattcacgcttccgtctcaag gtgatgtctgggacgaccgtcgagcgtcgtcgaggaagacctgcgcgc accgcgctggtgaaggaggtgtgtggtgcgtcgtgcgcgc acaattatgaatggtgcattgtggacgtcgtgcgcgtcgtgtg acaattctcgtagtgctagc	902	QVQLREWGAGLLKPSETLS LTCAVYGGSFSDKYWSWIR QPPGKGLEWIGSINHSGST NYNPSLKSRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTS VHQETKKYQSGGGGSGGD CLGFMRKCQIPDNDKCCRPN LVCSRTHKWCKYVFGGGG SSYTYNYEWHVDVWGQGL LVTVSSAS	955

【図２２－１】

BID	Ig6名	軽鎖	軽鎖 プラスミド番号	VL-CL DNA 配列	SEQ ID NO: (VL DNA)	VL-CL アミノ酸配列	Seq ID NO: (VL aa)
201	BLV1H12 GGS1:1 ProTxII	BLV1H12 LC CowV HuLamC	131-73	caggccgtcctgaaccagccaagcagcgtctccgggtctctgggggc agcgggtctcaatcacctgtagcgggtctctccaatgtcggcaac ggctacgtgttcttggtatcagctgatccctggcagtgcccacgaacc ctgatctacggcgacaacatccagagcttctgggggtccccgatcggttc tcaggagcgcagatccggaaacacagctactctgaccatcagctccc tgcaggctgaggacgaagcgattattttctgcgcatctgccgaggac tcagttcaaatgccgtgttggaagcggcacacagtgaagtgg gtgcagccccaaggtgctccctcggtcactctgttcccgccctctct gaggagctcaagcaaaaggccacactctgtgtgtctcataagtg gcccccgtcaaggcgggagtggagaccaccacacccctccaaacaa agcaacaacaagtacgcggccagcagctatctgagcctgacgcct gagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtcacgcat gaagggagcaccgtggaagaagcagtggccctacagaatgttc a	474	QAVLNQPSSVSGSLGQRVS ITCSGSSSNVGNGYVSWYQ LIPGSAPRTLIYGDTSRASG VPDRFSGSRSGNTATLTISS LQAEDEADYFCASAEDSSS NAVFGSGTTLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRS YSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS	807
202	BLV1H12 GGS1:2 ProTxII	BLV1H12 LC CowV HuLamC	131-73	caggccgtcctgaaccagccaagcagcgtctccgggtctctgggggc agcgggtctcaatcacctgtagcgggtctctccaatgtcggcaac ggctacgtgttcttggtatcagctgatccctggcagtgcccacgaacc ctgatctacggcgacaacatccagagcttctgggggtccccgatcggttc tcaggagcgcagatccggaaacacagctactctgaccatcagctccc tgcaggctgaggacgaagcgattattttctgcgcatctgccgaggac tcagttcaaatgccgtgttggaagcggcacacagtgaagtgg gtgcagccccaaggtgctccctcggtcactctgttcccgccctctct gaggagctcaagcaaaaggccacactctgtgtgtctcataagtg gcccccgtcaaggcgggagtggagaccaccacacccctccaaacaa agcaacaacaagtacgcggccagcagctatctgagcctgacgcct gagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtcacgcat gaagggagcaccgtggaagaagcagtggccctacagaatgttc a	474	QAVLNQPSSVSGSLGQRVS ITCSGSSSNVGNGYVSWYQ LIPGSAPRTLIYGDTSRASG VPDRFSGSRSGNTATLTISS LQAEDEADYFCASAEDSSS NAVFGSGTTLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRS YSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS	807

【図２２－２】

BID	Ig6名	軽鎖	軽鎖 プラスミド番号	VL-CL DNA 配列	SEQ ID NO: (VL DNA)	VL-CL アミノ酸配列	Seq ID NO: (VL aa)
203	BLV1H12 GGS2:1 ProTxII	BLV1H12 LC CowV HuLamC	131-73	caggccgtcctgaaccagccaagcagcgtctccgggtctctgggggc agcgggtctcaatcacctgtagcgggtctctccaatgtcggcaac ggctacgtgttcttggtatcagctgatccctggcagtgcccacgaacc ctgatctacggcgacaacatccagagcttctgggggtccccgatcggttc tcaggagcgcagatccggaaacacagctactctgaccatcagctccc tgcaggctgaggacgaagcgattattttctgcgcatctgccgaggac tcagttcaaatgccgtgttggaagcggcacacagtgaagtgg gtgcagccccaaggtgctccctcggtcactctgttcccgccctctct gaggagctcaagcaaaaggccacactctgtgtgtctcataagtg gcccccgtcaaggcgggagtggagaccaccacacccctccaaacaa agcaacaacaagtacgcggccagcagctatctgagcctgacgcct gagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtcacgcat gaagggagcaccgtggaagaagcagtggccctacagaatgttc a	474	QAVLNQPSSVSGSLGQRVS ITCSGSSSNVGNGYVSWYQ LIPGSAPRTLIYGDTSRASG VPDRFSGSRSGNTATLTISS LQAEDEADYFCASAEDSSS NAVFGSGTTLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRS YSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS	807
32, 204	BLV1H12 GGS1:1 Moka	BLV1H12 LC CowV HuLamC	131-73	caggccgtcctgaaccagccaagcagcgtctccgggtctctgggggc agcgggtctcaatcacctgtagcgggtctctccaatgtcggcaac ggctacgtgttcttggtatcagctgatccctggcagtgcccacgaacc ctgatctacggcgacaacatccagagcttctgggggtccccgatcggttc tcaggagcgcagatccggaaacacagctactctgaccatcagctccc tgcaggctgaggacgaagcgattattttctgcgcatctgccgaggac tcagttcaaatgccgtgttggaagcggcacacagtgaagtgg gtgcagccccaaggtgctccctcggtcactctgttcccgccctctct gaggagctcaagcaaaaggccacactctgtgtgtctcataagtg gcccccgtcaaggcgggagtggagaccaccacacccctccaaacaa agcaacaacaagtacgcggccagcagctatctgagcctgacgcct gagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtcacgcat gaagggagcaccgtggaagaagcagtggccctacagaatgttc a	474	QAVLNQPSSVSGSLGQRVS ITCSGSSSNVGNGYVSWYQ LIPGSAPRTLIYGDTSRASG VPDRFSGSRSGNTATLTISS LQAEDEADYFCASAEDSSS NAVFGSGTTLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRS YSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS	807

【図２２－３】

BID	Ig6名	軽鎖	軽鎖 プラスミド番号	VL-CL DNA 配列	SEQ ID NO: (VL DNA)	VL-CL アミノ酸配列	Seq ID NO: (VL aa)
30, 205, 227	BLV1H12 GGS1:2 Moka	BLV1H12 LC CowV HuLamC	131-73	caggccgtcctgaaccagccaagcagcgtctccgggtctctgggggc agcgggtctcaatcacctgtagcgggtctctccaatgtcggcaac ggctacgtgttcttggtatcagctgatccctggcagtgcccacgaacc ctgatctacggcgacaacatccagagcttctgggggtccccgatcggttc tcaggagcgcagatccggaaacacagctactctgaccatcagctccc tgcaggctgaggacgaagcgattattttctgcgcatctgccgaggac tcagttcaaatgccgtgttggaagcggcacacagtgaagtgg gtgcagccccaaggtgctccctcggtcactctgttcccgccctctct gaggagctcaagcaaaaggccacactctgtgtgtctcataagtg gcccccgtcaaggcgggagtggagaccaccacacccctccaaacaa agcaacaacaagtacgcggccagcagctatctgagcctgacgcct gagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtcacgcat gaagggagcaccgtggaagaagcagtggccctacagaatgttc a	474	QAVLNQPSSVSGSLGQRVS ITCSGSSSNVGNGYVSWYQ LIPGSAPRTLIYGDTSRASG VPDRFSGSRSGNTATLTISS LQAEDEADYFCASAEDSSS NAVFGSGTTLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRS YSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS	807
31, 206	BLV1H12 GGS2:1 Moka	BLV1H12 LC CowV HuLamC	131-73	caggccgtcctgaaccagccaagcagcgtctccgggtctctgggggc agcgggtctcaatcacctgtagcgggtctctccaatgtcggcaac ggctacgtgttcttggtatcagctgatccctggcagtgcccacgaacc ctgatctacggcgacaacatccagagcttctgggggtccccgatcggttc tcaggagcgcagatccggaaacacagctactctgaccatcagctccc tgcaggctgaggacgaagcgattattttctgcgcatctgccgaggac tcagttcaaatgccgtgttggaagcggcacacagtgaagtgg gtgcagccccaaggtgctccctcggtcactctgttcccgccctctct gaggagctcaagcaaaaggccacactctgtgtgtctcataagtg gcccccgtcaaggcgggagtggagaccaccacacccctccaaacaa agcaacaacaagtacgcggccagcagctatctgagcctgacgcct gagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtcacgcat gaagggagcaccgtggaagaagcagtggccctacagaatgttc a	474	QAVLNQPSSVSGSLGQRVS ITCSGSSSNVGNGYVSWYQ LIPGSAPRTLIYGDTSRASG VPDRFSGSRSGNTATLTISS LQAEDEADYFCASAEDSSS NAVFGSGTTLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRS YSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS	807

【図２２－４】

BID	Ig6名	軽鎖	軽鎖 プラスミド番号	VL-CL DNA 配列	SEQ ID NO: (VL DNA)	VL-CL アミノ酸配列	Seq ID NO: (VL aa)
33, 41, 207	BLV1H12 GGS3:3 Moka	BLV1H12 LC CowV HuLamC	131-73	caggccgtcctgaaccagccaagcagcgtctccgggtctctgggggc agcgggtctcaatcacctgtagcgggtctctccaatgtcggcaac ggctacgtgttcttggtatcagctgatccctggcagtgcccacgaacc ctgatctacggcgacaacatccagagcttctgggggtccccgatcggttc tcaggagcgcagatccggaaacacagctactctgaccatcagctccc tgcaggctgaggacgaagcgattattttctgcgcatctgccgaggac tcagttcaaatgccgtgttggaagcggcacacagtgaagtgg gtgcagccccaaggtgctccctcggtcactctgttcccgccctctct gaggagctcaagcaaaaggccacactctgtgtgtctcataagtg gcccccgtcaaggcgggagtggagaccaccacacccctccaaacaa agcaacaacaagtacgcggccagcagctatctgagcctgacgcct gagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtcacgcat gaagggagcaccgtggaagaagcagtggccctacagaatgttc a	474	QAVLNQPSSVSGSLGQRVS ITCSGSSSNVGNGYVSWYQ LIPGSAPRTLIYGDTSRASG VPDRFSGSRSGNTATLTISS LQAEDEADYFCASAEDSSS NAVFGSGTTLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRS YSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS	807
208	BLV1H12 GGS1:1 GG-ProTxII-GG	BLV1H12 LC CowV HuLamC	131-73	caggccgtcctgaaccagccaagcagcgtctccgggtctctgggggc agcgggtctcaatcacctgtagcgggtctctccaatgtcggcaac ggctacgtgttcttggtatcagctgatccctggcagtgcccacgaacc ctgatctacggcgacaacatccagagcttctgggggtccccgatcggttc tcaggagcgcagatccggaaacacagctactctgaccatcagctccc tgcaggctgaggacgaagcgattattttctgcgcatctgccgaggac tcagttcaaatgccgtgttggaagcggcacacagtgaagtgg gtgcagccccaaggtgctccctcggtcactctgttcccgccctctct gaggagctcaagcaaaaggccacactctgtgtgtctcataagtg gcccccgtcaaggcgggagtggagaccaccacacccctccaaacaa agcaacaacaagtacgcggccagcagctatctgagcctgacgcct gagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtcacgcat gaagggagcaccgtggaagaagcagtggccctacagaatgttc a	474	QAVLNQPSSVSGSLGQRVS ITCSGSSSNVGNGYVSWYQ LIPGSAPRTLIYGDTSRASG VPDRFSGSRSGNTATLTISS LQAEDEADYFCASAEDSSS NAVFGSGTTLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRS YSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS	807

【図２２－５】

BID	Ig6名	軽鎖	軽鎖プラスミド番号	VL-CL DNA 配列	SEQ ID NO: (VL DNA)	VL-CL アミノ酸配列	Seq ID NO: (VL aa)
209	BLV1H12 GGS1:2 GG-ProTxII-GG	BLV1H12 LC CowV HuLamC	131-73	caggccgtcctgaaccagccaagcagcggtctccgggtctctgggggc agcgggtctctaatcacctgtagcgggtctctccaatgtcggcaac ggctacgtgtcttggtatcagctgatccctggcagtgcccccagaacc ctgatctacggcgacacatccagagcttctgggtccccgatcggttc tcaggagcgcagatccggaaacacagctactctgaccatcagtccc tgcaggctgaggacgaggcagattattactgcggatctgccgaggac tctagttcaaatgtcggtgttggaaggcggacacactgaaagtctca gtctacgcccaaggtgccctcctggtcactctgttccgccctcctct gaggagtctcaagccaacaaggccacactggtgtgtctcataagtg acttctaccgggagccgtgacagtggctggaaggcagatagca gccccgtcaaggcgggagtggagaccacacacctccaaacaa agcaacaacaagtacgcggccagcagctatctgagcctgacgcct gagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtcacgcat gaagggagcaccgtggagaagacagtggccctacagaatgttc a	474	QAVLNQPSSVSGSLGQRVS ITCSGSSSNVGNGYVSWYQ LIPGSAPRTLIYGDTSRASG VPDRFSGSRSGNTATLTISS LQAEDEADYFCASAEDSSS NAVFGSGTTLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRS YSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS	807
210	BLV1H12 GGS2:1 GG-ProTxII-GG	BLV1H12 LC CowV HuLamC	131-73	caggccgtcctgaaccagccaagcagcggtctccgggtctctgggggc agcgggtctctaatcacctgtagcgggtctctccaatgtcggcaac ggctacgtgtcttggtatcagctgatccctggcagtgcccccagaacc ctgatctacggcgacacatccagagcttctgggtccccgatcggttc tcaggagcgcagatccggaaacacagctactctgaccatcagtccc tgcaggctgaggacgaggcagattattactgcggatctgccgaggac tctagttcaaatgtcggtgttggaaggcggacacactgaaagtctca gtctacgcccaaggtgccctcctggtcactctgttccgccctcctct gaggagtctcaagccaacaaggccacactggtgtgtctcataagtg acttctaccgggagccgtgacagtggctggaaggcagatagca gccccgtcaaggcgggagtggagaccacacacctccaaacaa agcaacaacaagtacgcggccagcagctatctgagcctgacgcct gagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtcacgcat gaagggagcaccgtggagaagacagtggccctacagaatgttc a	474	QAVLNQPSSVSGSLGQRVS ITCSGSSSNVGNGYVSWYQ LIPGSAPRTLIYGDTSRASG VPDRFSGSRSGNTATLTISS LQAEDEADYFCASAEDSSS NAVFGSGTTLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRS YSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS	807

【図２２－６】

BID	Ig6名	軽鎖	軽鎖プラスミド番号	VL-CL DNA 配列	SEQ ID NO: (VL DNA)	VL-CL アミノ酸配列	Seq ID NO: (VL aa)
211	BLV1H12 GGS2:2 ProTxII	BLV1H12 LC CowV HuLamC	131-73	caggccgtcctgaaccagccaagcagcggtctccgggtctctgggggc agcgggtctctaatcacctgtagcgggtctctccaatgtcggcaac ggctacgtgtcttggtatcagctgatccctggcagtgcccccagaacc ctgatctacggcgacacatccagagcttctgggtccccgatcggttc tcaggagcgcagatccggaaacacagctactctgaccatcagtccc tgcaggctgaggacgaggcagattattactgcggatctgccgaggac tctagttcaaatgtcggtgttggaaggcggacacactgaaagtctca gtctacgcccaaggtgccctcctggtcactctgttccgccctcctct gaggagtctcaagccaacaaggccacactggtgtgtctcataagtg acttctaccgggagccgtgacagtggctggaaggcagatagca gccccgtcaaggcgggagtggagaccacacacctccaaacaa agcaacaacaagtacgcggccagcagctatctgagcctgacgcct gagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtcacgcat gaagggagcaccgtggagaagacagtggccctacagaatgttc a	474	QAVLNQPSSVSGSLGQRVS ITCSGSSSNVGNGYVSWYQ LIPGSAPRTLIYGDTSRASG VPDRFSGSRSGNTATLTISS LQAEDEADYFCASAEDSSS NAVFGSGTTLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRS YSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS	807
212	BLV1H12 GGS2:4 ProTxII	BLV1H12 LC CowV HuLamC	131-73	caggccgtcctgaaccagccaagcagcggtctccgggtctctgggggc agcgggtctctaatcacctgtagcgggtctctccaatgtcggcaac ggctacgtgtcttggtatcagctgatccctggcagtgcccccagaacc ctgatctacggcgacacatccagagcttctgggtccccgatcggttc tcaggagcgcagatccggaaacacagctactctgaccatcagtccc tgcaggctgaggacgaggcagattattactgcggatctgccgaggac tctagttcaaatgtcggtgttggaaggcggacacactgaaagtctca gtctacgcccaaggtgccctcctggtcactctgttccgccctcctct gaggagtctcaagccaacaaggccacactggtgtgtctcataagtg acttctaccgggagccgtgacagtggctggaaggcagatagca gccccgtcaaggcgggagtggagaccacacacctccaaacaa agcaacaacaagtacgcggccagcagctatctgagcctgacgcct gagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtcacgcat gaagggagcaccgtggagaagacagtggccctacagaatgttc a	474	QAVLNQPSSVSGSLGQRVS ITCSGSSSNVGNGYVSWYQ LIPGSAPRTLIYGDTSRASG VPDRFSGSRSGNTATLTISS LQAEDEADYFCASAEDSSS NAVFGSGTTLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRS YSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS	807

【図２２－７】

BID	Ig6名	軽鎖	軽鎖プラスミド番号	VL-CL DNA 配列	SEQ ID NO: (VL DNA)	VL-CL アミノ酸配列	Seq ID NO: (VL aa)
213	BLV1H12 GGS4:2 ProTxII	BLV1H12 LC CowV HuLamC	131-73	caggccgtcctgaaccagccaagcagcggtctccgggtctctgggggc agcgggtctctaatcacctgtagcgggtctctccaatgtcggcaac ggctacgtgtcttggtatcagctgatccctggcagtgcccccagaacc ctgatctacggcgacacatccagagcttctgggtccccgatcggttc tcaggagcgcagatccggaaacacagctactctgaccatcagtccc tgcaggctgaggacgaggcagattattactgcggatctgccgaggac tctagttcaaatgtcggtgttggaaggcggacacactgaaagtctca gtctacgcccaaggtgccctcctggtcactctgttccgccctcctct gaggagtctcaagccaacaaggccacactggtgtgtctcataagtg acttctaccgggagccgtgacagtggctggaaggcagatagca gccccgtcaaggcgggagtggagaccacacacctccaaacaa agcaacaacaagtacgcggccagcagctatctgagcctgacgcct gagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtcacgcat gaagggagcaccgtggagaagacagtggccctacagaatgttc a	474	QAVLNQPSSVSGSLGQRVS ITCSGSSSNVGNGYVSWYQ LIPGSAPRTLIYGDTSRASG VPDRFSGSRSGNTATLTISS LQAEDEADYFCASAEDSSS NAVFGSGTTLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRS YSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS	807
214	BLV1H12 GGS2:2 GG-ProTxII-GG	BLV1H12 LC CowV HuLamC	131-73	caggccgtcctgaaccagccaagcagcggtctccgggtctctgggggc agcgggtctctaatcacctgtagcgggtctctccaatgtcggcaac ggctacgtgtcttggtatcagctgatccctggcagtgcccccagaacc ctgatctacggcgacacatccagagcttctgggtccccgatcggttc tcaggagcgcagatccggaaacacagctactctgaccatcagtccc tgcaggctgaggacgaggcagattattactgcggatctgccgaggac tctagttcaaatgtcggtgttggaaggcggacacactgaaagtctca gtctacgcccaaggtgccctcctggtcactctgttccgccctcctct gaggagtctcaagccaacaaggccacactggtgtgtctcataagtg acttctaccgggagccgtgacagtggctggaaggcagatagca gccccgtcaaggcgggagtggagaccacacacctccaaacaa agcaacaacaagtacgcggccagcagctatctgagcctgacgcct gagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtcacgcat gaagggagcaccgtggagaagacagtggccctacagaatgttc a	474	QAVLNQPSSVSGSLGQRVS ITCSGSSSNVGNGYVSWYQ LIPGSAPRTLIYGDTSRASG VPDRFSGSRSGNTATLTISS LQAEDEADYFCASAEDSSS NAVFGSGTTLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRS YSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS	807

【図２２－８】

BID	Ig6名	軽鎖	軽鎖プラスミド番号	VL-CL DNA 配列	SEQ ID NO: (VL DNA)	VL-CL アミノ酸配列	Seq ID NO: (VL aa)
215	BLV1H12 GGS 2:3 GG-ProTxII-GG	BLV1H12 LC CowV HuLamC	131-73	caggccgtcctgaaccagccaagcagcggtctccgggtctctgggggc agcgggtctctaatcacctgtagcgggtctctccaatgtcggcaac ggctacgtgtcttggtatcagctgatccctggcagtgcccccagaacc ctgatctacggcgacacatccagagcttctgggtccccgatcggttc tcaggagcgcagatccggaaacacagctactctgaccatcagtccc tgcaggctgaggacgaggcagattattactgcggatctgccgaggac tctagttcaaatgtcggtgttggaaggcggacacactgaaagtctca gtctacgcccaaggtgccctcctggtcactctgttccgccctcctct gaggagtctcaagccaacaaggccacactggtgtgtctcataagtg acttctaccgggagccgtgacagtggctggaaggcagatagca gccccgtcaaggcgggagtggagaccacacacctccaaacaa agcaacaacaagtacgcggccagcagctatctgagcctgacgcct gagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtcacgcat gaagggagcaccgtggagaagacagtggccctacagaatgttc a	474	QAVLNQPSSVSGSLGQRVS ITCSGSSSNVGNGYVSWYQ LIPGSAPRTLIYGDTSRASG VPDRFSGSRSGNTATLTISS LQAEDEADYFCASAEDSSS NAVFGSGTTLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRS YSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS	807
216	BLV1H12 GGS 2:4 GG-ProTxII-GG	BLV1H12 LC CowV HuLamC	131-73	caggccgtcctgaaccagccaagcagcggtctccgggtctctgggggc agcgggtctctaatcacctgtagcgggtctctccaatgtcggcaac ggctacgtgtcttggtatcagctgatccctggcagtgcccccagaacc ctgatctacggcgacacatccagagcttctgggtccccgatcggttc tcaggagcgcagatccggaaacacagctactctgaccatcagtccc tgcaggctgaggacgaggcagattattactgcggatctgccgaggac tctagttcaaatgtcggtgttggaaggcggacacactgaaagtctca gtctacgcccaaggtgccctcctggtcactctgttccgccctcctct gaggagtctcaagccaacaaggccacactggtgtgtctcataagtg acttctaccgggagccgtgacagtggctggaaggcagatagca gccccgtcaaggcgggagtggagaccacacacctccaaacaa agcaacaacaagtacgcggccagcagctatctgagcctgacgcct gagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtcacgcat gaagggagcaccgtggagaagacagtggccctacagaatgttc a	474	QAVLNQPSSVSGSLGQRVS ITCSGSSSNVGNGYVSWYQ LIPGSAPRTLIYGDTSRASG VPDRFSGSRSGNTATLTISS LQAEDEADYFCASAEDSSS NAVFGSGTTLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRS YSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS	807

【図２２－９】

BID	Ig6名	軽鎖名	軽鎖プラスミド番号	VL-CL DNA 配列	SEQ ID NO: (VL DNA)	VL-CL アミノ酸配列	Seq ID NO: (VL aa)
221	BLV1H12 GTLV 3xG4S ShK	BLV1H12 LC CowV HuLamC	131-73	caggccgtcctgaaccagccaagcagcgtctccgggtctctgggggc agcgggtctcaatcacctgtaqcgggtctcctccaatgtcggcaac ggctacgtgtctggtatcaqctqatccctggcagtgcccccagaacc ctgatctacggcgacaratccagagcttctgggtccccgatcggttc tcaggagcagatccggaaaracagctactctgaccatcagtccc tgcaggctgaggacgaagcagattatttctgccgatctgccgaggac tctagttcaaatgccgttgtaaggcgccacaactgtggtgtctataagtg ggtcagccaaaggtgtccctctggttcatctgttccgccctcctct gaggagtctaagccaacaaggccacactgtggtgtctataagtg actttaccggcgagccgtgatcagtggccctggaaggcagatagca gccccgtcaaggcgggagtggagaccaccacacccctccaaacaa agcaacaacaagtatgcggccagcagctatctgagcctgacgcct gagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccagatcatgcat gaaggggagcaccgtggagaagcacagtggccctacagaatgttc a	474	QAVLNQPSSVSGSLGQRVS ITCSGSSSNVGNGYVSWYQ LIPGSAPRTLIYGDTSRASG VPDRFSGSRSGNTATLTISS LQAEDEADYFCASAEDSSS NAVFGSGTTLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRS YSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS	807
222	BLV1H12 GTLV 3xG4S OSK1 (K16, D20)	BLV1H12 LC CowV HuLamC	131-73	caggccgtcctgaaccagccaagcagcgtctccgggtctctgggggc agcgggtctcaatcacctgtaqcgggtctcctccaatgtcggcaac ggctacgtgtctggtatcaqctqatccctggcagtgcccccagaacc ctgatctacggcgacaratccagagcttctgggtccccgatcggttc tcaggagcagatccggaaaracagctactctgaccatcagtccc tgcaggctgaggacgaagcagattatttctgccgatctgccgaggac tctagttcaaatgccgttgtaaggcgccacaactgtggtgtctataagtg ggtcagccaaaggtgtccctctggttcatctgttccgccctcctct gaggagtctaagccaacaaggccacactgtggtgtctataagtg actttaccggcgagccgtgatcagtggccctggaaggcagatagca gccccgtcaaggcgggagtggagaccaccacacccctccaaacaa agcaacaacaagtatgcggccagcagctatctgagcctgacgcct gagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccagatcatgcat gaaggggagcaccgtggagaagcacagtggccctacagaatgttc a	474	QAVLNQPSSVSGSLGQRVS ITCSGSSSNVGNGYVSWYQ LIPGSAPRTLIYGDTSRASG VPDRFSGSRSGNTATLTISS LQAEDEADYFCASAEDSSS NAVFGSGTTLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRS YSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS	807

【図２２－１０】

BID	Ig6名	軽鎖名	軽鎖プラスミド番号	VL-CL DNA 配列	SEQ ID NO: (VL DNA)	VL-CL アミノ酸配列	Seq ID NO: (VL aa)
219	BLV1H12 GGS 4:2 GG-ProTxII-GG	BLV1H12 LC CowV HuLamC	131-73	caggccgtcctgaaccagccaagcagcgtctccgggtctctgggggc agcgggtctcaatcacctgtaqcgggtctcctccaatgtcggcaac ggctacgtgtctggtatcaqctqatccctggcagtgcccccagaacc ctgatctacggcgacaratccagagcttctgggtccccgatcggttc tcaggagcagatccggaaaracagctactctgaccatcagtccc tgcaggctgaggacgaagcagattatttctgccgatctgccgaggac tctagttcaaatgccgttgtaaggcgccacaactgtggtgtctataagtg ggtcagccaaaggtgtccctctggttcatctgttccgccctcctct gaggagtctaagccaacaaggccacactgtggtgtctataagtg actttaccggcgagccgtgatcagtggccctggaaggcagatagca gccccgtcaaggcgggagtggagaccaccacacccctccaaacaa agcaacaacaagtatgcggccagcagctatctgagcctgacgcct gagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccagatcatgcat gaaggggagcaccgtggagaagcacagtggccctacagaatgttc a	474	QAVLNQPSSVSGSLGQRVS ITCSGSSSNVGNGYVSWYQ LIPGSAPRTLIYGDTSRASG VPDRFSGSRSGNTATLTISS LQAEDEADYFCASAEDSSS NAVFGSGTTLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRS YSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS	807
220	BLV1H12 GTLV 3xG4S ProTxII	BLV1H12 LC CowV HuLamC	131-73	caggccgtcctgaaccagccaagcagcgtctccgggtctctgggggc agcgggtctcaatcacctgtaqcgggtctcctccaatgtcggcaac ggctacgtgtctggtatcaqctqatccctggcagtgcccccagaacc ctgatctacggcgacaratccagagcttctgggtccccgatcggttc tcaggagcagatccggaaaracagctactctgaccatcagtccc tgcaggctgaggacgaagcagattatttctgccgatctgccgaggac tctagttcaaatgccgttgtaaggcgccacaactgtggtgtctataagtg ggtcagccaaaggtgtccctctggttcatctgttccgccctcctct gaggagtctaagccaacaaggccacactgtggtgtctataagtg actttaccggcgagccgtgatcagtggccctggaaggcagatagca gccccgtcaaggcgggagtggagaccaccacacccctccaaacaa agcaacaacaagtatgcggccagcagctatctgagcctgacgcct gagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccagatcatgcat gaaggggagcaccgtggagaagcacagtggccctacagaatgttc a	474	QAVLNQPSSVSGSLGQRVS ITCSGSSSNVGNGYVSWYQ LIPGSAPRTLIYGDTSRASG VPDRFSGSRSGNTATLTISS LQAEDEADYFCASAEDSSS NAVFGSGTTLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRS YSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS	807

【図２２－１１】

BID	Ig6名	軽鎖名	軽鎖プラスミド番号	VL-CL DNA 配列	SEQ ID NO: (VL DNA)	VL-CL アミノ酸配列	Seq ID NO: (VL aa)
223	BLV1H12 GTLV 3xG4S OSK1 (P12,K16,D 20)	BLV1H12 LC CowV HuLamC	131-73	caggccgtcctgaaccagccaagcagcgtctccgggtctctgggggc agcgggtctcaatcacctgtaqcgggtctcctccaatgtcggcaac ggctacgtgtctggtatcaqctqatccctggcagtgcccccagaacc ctgatctacggcgacaratccagagcttctgggtccccgatcggttc tcaggagcagatccggaaaracagctactctgaccatcagtccc tgcaggctgaggacgaagcagattatttctgccgatctgccgaggac tctagttcaaatgccgttgtaaggcgccacaactgtggtgtctataagtg ggtcagccaaaggtgtccctctggttcatctgttccgccctcctct gaggagtctaagccaacaaggccacactgtggtgtctataagtg actttaccggcgagccgtgatcagtggccctggaaggcagatagca gccccgtcaaggcgggagtggagaccaccacacccctccaaacaa agcaacaacaagtatgcggccagcagctatctgagcctgacgcct gagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccagatcatgcat gaaggggagcaccgtggagaagcacagtggccctacagaatgttc a	474	QAVLNQPSSVSGSLGQRVS ITCSGSSSNVGNGYVSWYQ LIPGSAPRTLIYGDTSRASG VPDRFSGSRSGNTATLTISS LQAEDEADYFCASAEDSSS NAVFGSGTTLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRS YSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS	807
79, 224	BLV1H12 GTLV 3xG4S GpTx-1	BLV1H12 LC CowV HuLamC	131-73	caggccgtcctgaaccagccaagcagcgtctccgggtctctgggggc agcgggtctcaatcacctgtaqcgggtctcctccaatgtcggcaac ggctacgtgtctggtatcaqctqatccctggcagtgcccccagaacc ctgatctacggcgacaratccagagcttctgggtccccgatcggttc tcaggagcagatccggaaaracagctactctgaccatcagtccc tgcaggctgaggacgaagcagattatttctgccgatctgccgaggac tctagttcaaatgccgttgtaaggcgccacaactgtggtgtctataagtg ggtcagccaaaggtgtccctctggttcatctgttccgccctcctct gaggagtctaagccaacaaggccacactgtggtgtctataagtg actttaccggcgagccgtgatcagtggccctggaaggcagatagca gccccgtcaaggcgggagtggagaccaccacacccctccaaacaa agcaacaacaagtatgcggccagcagctatctgagcctgacgcct gagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccagatcatgcat gaaggggagcaccgtggagaagcacagtggccctacagaatgttc a	474	QAVLNQPSSVSGSLGQRVS ITCSGSSSNVGNGYVSWYQ LIPGSAPRTLIYGDTSRASG VPDRFSGSRSGNTATLTISS LQAEDEADYFCASAEDSSS NAVFGSGTTLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRS YSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS	807

【図２２－１２】

【図２２－１３】

BID	Ig6名	軽鎖名	軽鎖プラスミド番号	VL-CL DNA 配列	SEQ ID NO: (VL DNA)	VL-CL アミノ酸配列	Seq ID NO: (VL aa)
225	BLV1H12 GTLV 6xG4S	BLV1H12 LC CowV HuLamC	131-73	caggccgtcctgaaccagccaagcaggcgtctccgggtctctgggggc agcgggtctctaatcacctgtagcgggtcttcctccaatgtcggcaac ggctacgttcttggtatcagctgatccctggcagtgcccacgaacc ctgatctacggtgcgacacatccagagcttctgggtccccgatcggttc tcaggggagcgatccggaaacacagctatctgaccatcagctccc tgcaggctgaggacgaagcagattatttctgcgcatctgccgaggac tctagttcaaatgccgttgttggaagcggcacacactgacgtccta ggtcagccaaggtcgccctcctggtcactctgttccgccctctct gaggagtctcaagccaacaaggccacactgtgtgtctcataagtg actttcaccggggagccgtgacatggtcctgaagtgcata gcccccgtcaaggcgggagtggagaccacacacctccaaacaa agcaacaacaatacgcggccagcagctatctgagcctgacgcct gaagggagcaccgtggaagaagcagtggccctacagaatgttc a	474	QAVLNQPSSVSGSLGQRVS ITCSGSSNVGNGYVSWYQ LIPGSAPRTLIYGDTSRASG VPDRFSGSRSGNTATLTISS LQAEDEADYFCASAEDSSS NAVFGSGTTLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRS YSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS	807
226	BLV1H12 GTLV 1xG4S BsaIs (wStop)	BLV1H12 LC CowV HuLamC	131-73	caggccgtcctgaaccagccaagcaggcgtctccgggtctctgggggc agcgggtctctaatcacctgtagcgggtcttcctccaatgtcggcaac ggctacgttcttggtatcagctgatccctggcagtgcccacgaacc ctgatctacggtgcgacacatccagagcttctgggtccccgatcggttc tcaggggagcgatccggaaacacagctatctgaccatcagctccc tgcaggctgaggacgaagcagattatttctgcgcatctgccgaggac tctagttcaaatgccgttgttggaagcggcacacactgacgtccta ggtcagccaaggtcgccctcctggtcactctgttccgccctctct gaggagtctcaagccaacaaggccacactgtgtgtctcataagtg actttcaccggggagccgtgacatggtcctgaagtgcata gcccccgtcaaggcgggagtggagaccacacacctccaaacaa agcaacaacaatacgcggccagcagctatctgagcctgacgcct gaagggagcaccgtggaagaagcagtggccctacagaatgttc a	474	QAVLNQPSSVSGSLGQRVS ITCSGSSNVGNGYVSWYQ LIPGSAPRTLIYGDTSRASG VPDRFSGSRSGNTATLTISS LQAEDEADYFCASAEDSSS NAVFGSGTTLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRS YSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS	807

【図２２－１４】

BID	Ig6名	軽鎖名	軽鎖プラスミド番号	VL-CL DNA 配列	SEQ ID NO: (VL DNA)	VL-CL アミノ酸配列	Seq ID NO: (VL aa)
25, 228	BLV1H12 GLLV 3xG4S ProTxII	BLV1H12 LC CowV HuLamC	131-73	caggccgtcctgaaccagccaagcaggcgtctccgggtctctgggggc agcgggtctctaatcacctgtagcgggtcttcctccaatgtcggcaac ggctacgttcttggtatcagctgatccctggcagtgcccacgaacc ctgatctacggtgcgacacatccagagcttctgggtccccgatcggttc tcaggggagcgatccggaaacacagctatctgaccatcagctccc tgcaggctgaggacgaagcagattatttctgcgcatctgccgaggac tctagttcaaatgccgttgttggaagcggcacacactgacgtccta ggtcagccaaggtcgccctcctggtcactctgttccgccctctct gaggagtctcaagccaacaaggccacactgtgtgtctcataagtg actttcaccggggagccgtgacatggtcctgaagtgcata gcccccgtcaaggcgggagtggagaccacacacctccaaacaa agcaacaacaatacgcggccagcagctatctgagcctgacgcct gaagggagcaccgtggaagaagcagtggccctacagaatgttc a	474	QAVLNQPSSVSGSLGQRVS ITCSGSSNVGNGYVSWYQ LIPGSAPRTLIYGDTSRASG VPDRFSGSRSGNTATLTISS LQAEDEADYFCASAEDSSS NAVFGSGTTLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRS YSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS	807
29, 40, 229	BLV1H12 GLLV 3xG4S ShK	BLV1H12 LC CowV HuLamC	131-73	caggccgtcctgaaccagccaagcaggcgtctccgggtctctgggggc agcgggtctctaatcacctgtagcgggtcttcctccaatgtcggcaac ggctacgttcttggtatcagctgatccctggcagtgcccacgaacc ctgatctacggtgcgacacatccagagcttctgggtccccgatcggttc tcaggggagcgatccggaaacacagctatctgaccatcagctccc tgcaggctgaggacgaagcagattatttctgcgcatctgccgaggac tctagttcaaatgccgttgttggaagcggcacacactgacgtccta ggtcagccaaggtcgccctcctggtcactctgttccgccctctct gaggagtctcaagccaacaaggccacactgtgtgtctcataagtg actttcaccggggagccgtgacatggtcctgaagtgcata gcccccgtcaaggcgggagtggagaccacacacctccaaacaa agcaacaacaatacgcggccagcagctatctgagcctgacgcct gaagggagcaccgtggaagaagcagtggccctacagaatgttc a	474	QAVLNQPSSVSGSLGQRVS ITCSGSSNVGNGYVSWYQ LIPGSAPRTLIYGDTSRASG VPDRFSGSRSGNTATLTISS LQAEDEADYFCASAEDSSS NAVFGSGTTLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRS YSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS	807

【図２２－１５】

BID	Ig6名	軽鎖名	軽鎖プラスミド番号	VL-CL DNA 配列	SEQ ID NO: (VL DNA)	VL-CL アミノ酸配列	Seq ID NO: (VL aa)
26, 230	BLV1H12 GLLV 3xG4S OSK1 (K16,D20)	BLV1H12 LC CowV HuLamC	131-73	caggccgtcctgaaccagccaagcaggcgtctccgggtctctgggggc agcgggtctctaatcacctgtagcgggtcttcctccaatgtcggcaac ggctacgttcttggtatcagctgatccctggcagtgcccacgaacc ctgatctacggtgcgacacatccagagcttctgggtccccgatcggttc tcaggggagcgatccggaaacacagctatctgaccatcagctccc tgcaggctgaggacgaagcagattatttctgcgcatctgccgaggac tctagttcaaatgccgttgttggaagcggcacacactgacgtccta ggtcagccaaggtcgccctcctggtcactctgttccgccctctct gaggagtctcaagccaacaaggccacactgtgtgtctcataagtg actttcaccggggagccgtgacatggtcctgaagtgcata gcccccgtcaaggcgggagtggagaccacacacctccaaacaa agcaacaacaatacgcggccagcagctatctgagcctgacgcct gaagggagcaccgtggaagaagcagtggccctacagaatgttc a	474	QAVLNQPSSVSGSLGQRVS ITCSGSSNVGNGYVSWYQ LIPGSAPRTLIYGDTSRASG VPDRFSGSRSGNTATLTISS LQAEDEADYFCASAEDSSS NAVFGSGTTLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRS YSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS	807
27, 231	BLV1H12 GLLV 3xG4S OSK1 (P12,K16,D20)	BLV1H12 LC CowV HuLamC	131-73	caggccgtcctgaaccagccaagcaggcgtctccgggtctctgggggc agcgggtctctaatcacctgtagcgggtcttcctccaatgtcggcaac ggctacgttcttggtatcagctgatccctggcagtgcccacgaacc ctgatctacggtgcgacacatccagagcttctgggtccccgatcggttc tcaggggagcgatccggaaacacagctatctgaccatcagctccc tgcaggctgaggacgaagcagattatttctgcgcatctgccgaggac tctagttcaaatgccgttgttggaagcggcacacactgacgtccta ggtcagccaaggtcgccctcctggtcactctgttccgccctctct gaggagtctcaagccaacaaggccacactgtgtgtctcataagtg actttcaccggggagccgtgacatggtcctgaagtgcata gcccccgtcaaggcgggagtggagaccacacacctccaaacaa agcaacaacaatacgcggccagcagctatctgagcctgacgcct gaagggagcaccgtggaagaagcagtggccctacagaatgttc a	474	QAVLNQPSSVSGSLGQRVS ITCSGSSNVGNGYVSWYQ LIPGSAPRTLIYGDTSRASG VPDRFSGSRSGNTATLTISS LQAEDEADYFCASAEDSSS NAVFGSGTTLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRS YSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS	807

【図２２－１６】

BID	Ig6名	軽鎖名	軽鎖プラスミド番号	VL-CL DNA 配列	SEQ ID NO: (VL DNA)	VL-CL アミノ酸配列	Seq ID NO: (VL aa)
28, 232	BLV1H12 GLLV 3xG4S GpTx-1	BLV1H12 LC CowV HuLamC	131-73	caggccgtcctgaaccagccaagcaggcgtctccgggtctctgggggc agcgggtctctaatcacctgtagcgggtcttcctccaatgtcggcaac ggctacgttcttggtatcagctgatccctggcagtgcccacgaacc ctgatctacggtgcgacacatccagagcttctgggtccccgatcggttc tcaggggagcgatccggaaacacagctatctgaccatcagctccc tgcaggctgaggacgaagcagattatttctgcgcatctgccgaggac tctagttcaaatgccgttgttggaagcggcacacactgacgtccta ggtcagccaaggtcgccctcctggtcactctgttccgccctctct gaggagtctcaagccaacaaggccacactgtgtgtctcataagtg actttcaccggggagccgtgacatggtcctgaagtgcata gcccccgtcaaggcgggagtggagaccacacacctccaaacaa agcaacaacaatacgcggccagcagctatctgagcctgacgcct gaagggagcaccgtggaagaagcagtggccctacagaatgttc a	474	QAVLNQPSSVSGSLGQRVS ITCSGSSNVGNGYVSWYQ LIPGSAPRTLIYGDTSRASG VPDRFSGSRSGNTATLTISS LQAEDEADYFCASAEDSSS NAVFGSGTTLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRS YSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS	807
34	VH4-34 MutA IL-8 CD1Cow	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L	132-25	caggccgtcctgaaccagccaagcagcgtctccgggtctctgggggc agaaggtgactatcagctgctcgtcatcaagcaatcgggaat aattacgtcagctggtgatcagcagctgccgtgaaracgtctcaaact gctcatttatgacaatacaaagcgccgaccatccgattcagcgat tcagcggaagcaaatcaggacctctgccaatctgaccgat gctcaggatgaggcgattgatgaatatcattgcgtcctcgcaggg gatcagctccagcaaggctgccccctcggtcactctgttccgccctc tctgaggagtctcaagccaacaaggccacactgtgtgtctcataag tgactttcaccggggagccgtgacagtggcctgaaggcagatagc agcccccgtcaaggcgggagtggagaccacacacctccaaaca aagcaacaacaatacgcggccagcagctatctgagcctgacgc gtgagcagtggaagtcccacagaagctacagctgcaggtcacgcat atgaaggtgacccgtggaagaagcagtggccctacagaatgttc ca	443	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTI SCSGSSSNIGNNYVSWYQQ LPGTAPKLLIYDNNKRPSGIP DRFSGSKSGTSATLGITGLQ TGDEADYYCASAEDSSSNA VFGSGTTLTVLGQPKAAPS VTLFPPSSEELQANKATLVC LISDFYPGAVTVAWKADSSP VKAGVETTTPSKQSNNKYA ASSYLSLTPEQWKSHRSYS CQVTHEGSTVEKTVAPTEC S	804

【図２２－１７】

BID	Ig6名	軽鎖	軽鎖名	軽鎖 プラスミド 番号	VL-CL DNA 配列	SEQ ID NO: (VL DNA)	VL-CL アミノ酸配列	Seq ID NO: (VL aa)
35	VH4-34 IL-8 CDR1cow CDR2cow	132-21	VL1-51 Lc	132-21	caggccgtcctgaaccagccaagcagcggtctccgggtctctgggggc agaaggtgactatcagctgtctctgcctctaagcaacatcgggaat aattacgtcagctggtaccagcagctgccaggaacagtctagaa ccctcatttatgggcgacaaaagcgccaatcgggaatccctgacg attcagcggaagcaaatcaggacctctgcaactctgggaatcact gggcttcagacaggagatgacgcagattactattgcgccctcgcag aggacagctccagcaattgtcggttctgtgtacacctttaca gtcctagctcagccaaggtgccccctcgtcactctgttccgccc tcctctgaggagcttcaagccaacaaggccacactgtgtgtctcat aagtgactcttcaccgggagccgtgacagtggccttggaagcagat agcagcccctgcaaggcgggagtggaaacaccacacctccaa acaaagcaacaacaagtacgcggccagcagctatctgagcctga cgcctgagcagtggaagtcccacagaagtacagctgccaggtca tgttca	456	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTI SCSGSSSNIGNNYVSWYQQ LPGTAPKLLIYDNNKRPSGIP DRFSGSKSGTSATLGITGLQ TGDEADYYCASAEDSSSNA VFGSGTTLTVLGQPKAAPS VTLFPPSSEELQANKATLVC LISDFYPGAVTVAWKADSSP VKAGVETTTPSKQSNNKYA ASSYLSLTPEQWKSHRSYS CQVTHEGSTVEKTVAPTEC S	805
36	VH4-34 MutB IL-8 CDR1cow CDR2cow	132-25	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L	132-25	caggccgtcctgaaccagccaagcagcggtctccgggtctctgggggc agaaggtgactatcagctgtctctgcctctaagcaacatcgggaat aattacgtcagctggtaccagcagctgccaggaacagtctagaa ccctcatttatgggcgacaaaagcgccaatcgggaatccctgacg attcagcggaagcaaatcaggacctctgcaactctgggaatcact gggcttcagacaggagatgacgcagattactattgcgccctcgcag aggacagctccagcaattgtcggttctgtgtacacctttaca gtcctagctcagccaaggtgccccctcgtcactctgttccgccc tcctctgaggagcttcaagccaacaaggccacactgtgtgtctcat aagtgactcttcaccgggagccgtgacagtggccttggaagcagat agcagcccctgcaaggcgggagtggaaacaccacacctccaa acaaagcaacaacaagtacgcggccagcagctatctgagcctga cgcctgagcagtggaagtcccacagaagtacagctgccaggtca tgttca	443	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTI SCSGSSSNIGNNYVSWYQQ LPGTAPKLLIYDNNKRPSGIP DRFSGSKSGTSATLGITGLQ TGDEADYYCASAEDSSSNA VFGSGTTLTVLGQPKAAPS VTLFPPSSEELQANKATLVC LISDFYPGAVTVAWKADSSP VKAGVETTTPSKQSNNKYA ASSYLSLTPEQWKSHRSYS CQVTHEGSTVEKTVAPTEC S	804

【図２２－１８】

BID	Ig6名	軽鎖	軽鎖名	軽鎖 プラスミド 番号	VL-CL DNA 配列	SEQ ID NO: (VL DNA)	VL-CL アミノ酸配列	Seq ID NO: (VL aa)
37	VH4-34 MutC IL-8 31D32K50 S	132-27	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	132-27	caggccgtcctgaaccagccaagcagcggtctccgggtctctgggggc agaaggtgactatcagctgtctctgcctctaagcaacatcgggaat aattacgtcagctggtaccagcagctgccaggaacagtctagaa ccctcatttatgggcgacaaaagcgccaatcgggaatccctgacg attcagcggaagcaaatcaggacctctgcaactctgggaatcact gggcttcagacaggagatgacgcagattactattgcgccctcgcag aggacagctccagcaattgtcggttctgtgtacacctttaca gtcctagctcagccaaggtgccccctcgtcactctgttccgccc tcctctgaggagcttcaagccaacaaggccacactgtgtgtctcat aagtgactcttcaccgggagccgtgacagtggccttggaagcagat agcagcccctgcaaggcgggagtggaaacaccacacctccaa acaaagcaacaacaagtacgcggccagcagctatctgagcctga cgcctgagcagtggaagtcccacagaagtacagctgccaggtca tgttca	486	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTI SCSGSSSNIGNNYVSWYQQ LPGTAPRTLIYGDTKRPSGI PDRFSGSKSGTSATLGITGLQ QTGDEADYYCASAEDSSSN AVFGSGTTLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSS PVKAGVETTTPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTE CS	780
38	VH4-34 MutE IL-8 5R6E31D3 2K50S	132-27	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	132-27	caggccgtcctgaaccagccaagcagcggtctccgggtctctgggggc agaaggtgactatcagctgtctctgcctctaagcaacatcgggaat aattacgtcagctggtaccagcagctgccaggaacagtctagaa ccctcatttatgggcgacaaaagcgccaatcgggaatccctgacg attcagcggaagcaaatcaggacctctgcaactctgggaatcact gggcttcagacaggagatgacgcagattactattgcgccctcgcag aggacagctccagcaattgtcggttctgtgtacacctttaca gtcctagctcagccaaggtgccccctcgtcactctgttccgccc tcctctgaggagcttcaagccaacaaggccacactgtgtgtctcat aagtgactcttcaccgggagccgtgacagtggccttggaagcagat agcagcccctgcaaggcgggagtggaaacaccacacctccaa acaaagcaacaacaagtacgcggccagcagctatctgagcctga cgcctgagcagtggaagtcccacagaagtacagctgccaggtca tgttca	486	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTI SCSGSSSNIGNNYVSWYQQ LPGTAPRTLIYGDTKRPSGI PDRFSGSKSGTSATLGITGLQ QTGDEADYYCASAEDSSSN AVFGSGTTLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSS PVKAGVETTTPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTE CS	780

【図２２－１９】

BID	Ig6名	軽鎖	軽鎖名	軽鎖 プラスミド 番号	VL-CL DNA 配列	SEQ ID NO: (VL DNA)	VL-CL アミノ酸配列	Seq ID NO: (VL aa)
39	VH4-34 MutD IL-8 CDR1cow CDR2cow	132-27	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	132-27	caggccgtcctgaaccagccaagcagcggtctccgggtctctgggggc agaaggtgactatcagctgtctctgcctctaagcaacatcgggaat aattacgtcagctggtaccagcagctgccaggaacagtctagaa ccctcatttatgggcgacaaaagcgccaatcgggaatccctgacg attcagcggaagcaaatcaggacctctgcaactctgggaatcact gggcttcagacaggagatgacgcagattactattgcgccctcgcag aggacagctccagcaattgtcggttctgtgtacacctttaca gtcctagctcagccaaggtgccccctcgtcactctgttccgccc tcctctgaggagcttcaagccaacaaggccacactgtgtgtctcat aagtgactcttcaccgggagccgtgacagtggccttggaagcagat agcagcccctgcaaggcgggagtggaaacaccacacctccaa acaaagcaacaacaagtacgcggccagcagctatctgagcctga cgcctgagcagtggaagtcccacagaagtacagctgccaggtca tgttca	486	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTI SCSGSSSNIGNNYVSWYQQ LPGTAPRTLIYGDTKRPSGI PDRFSGSKSGTSATLGITGLQ QTGDEADYYCASAEDSSSN AVFGSGTTLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSS PVKAGVETTTPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTE CS	780
42	BLV1H12	131-73	BLV1H12 LC CowV HuLamC	131-73	caggccgtcctgaaccagccaagcagcggtctccgggtctctgggggc agcggtctcaatcacctgtagcgggtctttcctcaatgtcggcaac ggctacgttgttgtatcagctgatccctggcagtgccccacgaacc ctgatctacggcgacacatccagagctttgggggtccccgattcggttc tcagggagcagatccgagcagctacttctgacaccatctccc tgcaggctgaggacgaagcagattattactgcgcatcctacgac ctcagttcaaatgcggttgtttggaagcggacacaagctgacc gtcctaggtcagccaaagctgcttcccatcggtctctctgttcccg ccgtctgaagagcttcaagccaacaaggccacactggtgtgcctg ataagtgacttcaccgggagccgtgacagtgccgtcgcagcttg gagcagttggaagtccacagaagctacagctgccaggtcacgcat gaagggagcaccgtggaagaagcagtggcccctacagaagtgttc a	807	QAVLNQPSSVSGSLGQRVS ITCSGSSSNVGNGYVSWYQ LIPGSAPRTLIYGDTSRASG VPDRFSGSRSGNTATLTISS LQAEDEADYFCASAEDSSS NAVFGSGTTLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRS YSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS	807

【図２２－２０】

BID	Ig6名	軽鎖	軽鎖名	軽鎖 プラスミド 番号	VL-CL DNA 配列	SEQ ID NO: (VL DNA)	VL-CL アミノ酸配列	Seq ID NO: (VL aa)
43	VH4-34 MutF IL-8 5R6E CD1cow	132-27	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	132-27	caggccgtcctgaaccagccaagcagcggtctccgggtctctgggggc agaaggtgactatcagctgtctctgcctctaagcaacatcgggaat aattacgtcagctggtaccagcagctgccaggaacagtctagaa ccctcatttatgggcgacaaaagcgccaatcgggaatccctgacg attcagcggaagcaaatcaggacctctgcaactctgggaatcact gggcttcagacaggagatgacgcagattactattgcgccctcgcag aggacagctccagcaattgtcggttctgtgtacacctttaca gtcctagctcagccaaggtgccccctcgtcactctgttccgccc tcctctgaggagcttcaagccaacaaggccacactgtgtgtctcat aagtgactcttcaccgggagccgtgacagtggccttggaagcagat agcagcccctgcaaggcgggagtggaaacaccacacctccaa acaaagcaacaacaagtacgcggccagcagctatctgagcctga cgcctgaagtggaagtcccacagaagtacagctgccaggtca tgttca	486	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTI SCSGSSSNIGNNYVSWYQQ LPGTAPRTLIYGDTKRPSGI PDRFSGSKSGTSATLGITGLQ QTGDEADYYCASAEDSSSN AVFGSGTTLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSS PVKAGVETTTPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTE CS	780
44	BLV1H12-IL8	131-73	BLV1H12 LC CowV HuLamC	131-73	caggccgtcctgaaccagccaagcagcggtctccgggtctctgggggc agcggtctcaatcacctgtagcgggtctttcctcaatgtcggcaac ggctacgttgttgtatcagctgatccctggcagtgccccacgaacc ctgatctacggcgacacatccagagctttgggggtccccgattcggttc tcagggagcagatccgagcagctacttctgacaccatctccc tgcaggctgaggacgaagcagattattactgcgcatcctacgac ctcagttcaaatgcggttgtttggaagcggacacaagctgacc gtcctaggtcagccaaagctgcttcccatcggtctctctgttcccg ccgtctgaagagcttcaagccaacaaggccacactggtgtgcctg ataagtgacttcaccgggagccgtgacagtgccgtcgcagcttg gagcagttggaagtccacagaagctacagctgccaggtcacgcat gaagggagcaccgtggaagaagcagtggcccctacagaagtgttc a	807	QAVLNQPSSVSGSLGQRVS ITCSGSSSNVGNGYVSWYQ LIPGSAPRTLIYGDTSRASG VPDRFSGSRSGNTATLTISS LQAEDEADYFCASAEDSSS NAVFGSGTTLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRS YSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS	807

【図２２－２１】

BID	Ig6名	軽鎖	軽鎖名	軽鎖 プラスミド 番号	VL-CL DNA 配列	SEQ ID NO: (VL DNA)	VL-CL アミノ酸配列	Seq ID NO: (VL aa)
45	BLV1H12 HC CowV, CDR3 IL-8, 1xG4S	131-73	BLV1H12 LC CowV HuLamC	131-73	caggccgtcctgaaccagccaagcagcggtctccgggtctctgggggc agcgggtctctaatcacctgtagcgggtcttcctccaatgtcggcaac ggctacgttgttggtatcagctgatccctggcagtgccccagaaac ctgatctacggtgcgacaccagagcttctgggtccccgatcggttc tcaggggacgatccggaaacacagctatctgaccatcagctccc tgcaggctgaggacgaagcagattattctgcgcatctgccgaggac tctagttcaaatgtccgtgttggaagcggcacacagtgatcgcta ggtcagccaagtcctccaccgtgtctatcttcccgccatctct gaggagtctaaggcaaccaaggtcacaatgtgtgtgtctataagtg actttaccggggagcgtgacagtggtggaaggtagatagca gccccgtcaaggcgggagtggacgaccacacccttccaaacaa agcaacaacaagtatgcgcgcagcgatctatctgagcctgacgcct gagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtcacgcat gaagggagcacgtgtggaagaagcagtggccctacagaaatgttc a	474	QAVLNQPSSVSGSLGQRVS ITCSGSSSNVGNGYVSWYQ LIPGSAPRTLIYGDTSRASG VPDRFSGSKSGSTATLTISS LQAEDEADYFCASAEDSSS NAVFGSGTTLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRS YSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS	807
46	BLV1H12 HC CowV, CDR3 IL-8, 3xG4S	131-73	BLV1H12 LC CowV HuLamC	131-73	caggccgtcctgaaccagccaagcagcggtctccgggtctctgggggc agcgggtctctaatcacctgtagcgggtcttcctccaatgtcggcaac ggctacgttgttggtatcagctgatccctggcagtgccccagaaac ctgatctacggtgcgacaccagagcttctgggtccccgatcggttc tcaggagcgatccgcgaaacacagctatctgaccatcagctccc tgcaggctgaggacgaagcagattattctgcgcatctgccgaggac tctagttcaaatgtccgtgttggaagcggcacacagtgatcgcta ggtcagccaagtcctccaccgtgtctatcttcccgccatctct gaggagtctaaggcaaccaaggtcacaatgtgtgtgtctataagtg actttaccggggagcgtgacagtggtggaaggtagatagca gccccgtcaaggcgggagtggacgaccacacccttccaaacaa agcaacaacaagtatgcgcgcagcgatctatctgagcctgacgcct gagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtcacgcat gaagggagcacgtgtggaagaagcagtggccctacagaaatgttc a	474	QAVLNQPSSVSGSLGQRVS ITCSGSSSNVGNGYVSWYQ LIPGSAPRTLIYGDTSRASG VPDRFSGSKSGSTATLTISS LQAEDEADYFCASAEDSSS NAVFGSGTTLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRS YSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS	807

【図２２－２２】

BID	Ig6名	軽鎖	軽鎖名	軽鎖 プラスミド 番号	VL-CL DNA 配列	SEQ ID NO: (VL DNA)	VL-CL アミノ酸配列	Seq ID NO: (VL aa)
47	VH4-34 MutE 3xG4S IL-8	132-27	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	132-27	caggccgtcctgaaccagccaagcagcggtctccgggtctctgggggc agaaggtgactatcagctgctcctgcttcatcaagcaatcctgggaat aattacgtcagctggtaccagcagctgcctggaacagctcctagaa ccctcatttatggcgacaaaagcgccctcagcgatcctcgagcg attcagcggatccaagtcaggcaacacagctatctgaccatcagctcc tgcaggctgaggacgaagcagattattctgcgcatctgccgaggac tctagttcaaatgtccgtgttggaagcggcacacagtgatcgcta ggtcagccaagtcctccaccgtgtctatcttcccgccatctct gaggagtctaaggcaaccaaggtcacaatgtgtgtgtctataagtg actttaccggggagcgtgacagtggtggaaggtagatagca gccccgtcaaggcgggagtggacgaccacacccttccaaacaa agcaacaacaagtatgcgcgcagcgatctatctgagcctgacgcct gagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtcacgcat gaagggagcacgtgtggaagaagcagtggccctacagaaatgttc a	486	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTI SCSGSSSNIGNNYVSWYQQ LPGTAPRTLIYGDTKRPSGI PDRFSGSKSGSTSATLGITGL QTGDEADYYCASAEDSSSN AVFGSGTTLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSS PVKAGVETTTPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTE CS	780
48, 68, 72, 75, 80, 94, 100, 101, 111, 115.1 20, 123, 135	VH4-34 MutE 3xG4S ShK	132-27	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	132-27	caggccgtcctgaaccagccaagcagcggtctccgggtctctgggggc agaaggtgactatcagctgctcctgcttcatcaagcaatcctgggaat aattacgtcagctggtaccagcagctgcctggaacagctcctagaa ccctcatttatggcgacaaaagcgccctcagcgatcctcgagcg attcagcggatccaagtcaggcaacacagctatctgaccatcagctcc tgcaggctgaggacgaagcagattattctgcgcatctgccgaggac tctagttcaaatgtccgtgttggaagcggcacacagtgatcgcta ggtcagccaagtcctccaccgtgtctatcttcccgccatctct gaggagtctaaggcaaccaaggtcacaatgtgtgtgtctataagtg actttaccggggagcgtgacagtggtggaaggtagatagca gccccgtcaaggcgggagtggacgaccacacccttccaaacaa agcaacaacaagtatgcgcgcagcgatctatctgagcctgacgcct gagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtcacgcat gaagggagcacgtgtggaagaagcagtggccctacagaaatgttc a	486	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTI SCSGSSSNIGNNYVSWYQQ LPGTAPRTLIYGDTKRPSGI PDRFSGSKSGSTSATLGITGL QTGDEADYYCASAEDSSSN AVFGSGTTLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSS PVKAGVETTTPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTE CS	780

【図２２－２３】

BID	Ig6名	軽鎖	軽鎖名	軽鎖 プラスミド 番号	VL-CL DNA 配列	SEQ ID NO: (VL DNA)	VL-CL アミノ酸配列	Seq ID NO: (VL aa)
49	VH4-34 MutE 3xGGS MOKA	132-27	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	132-27	caggccgtcctgaaccagccaagcagcggtctccgggtctctgggggc agaaggtgactatcagctgctcctgcttcatcaagcaatcctgggaat aattacgtcagctggtaccagcagctgcctggaacagctcctagaa ccctcatttatggcgacaaaagcgccctcagcgatcctcgagcg attcagcggatccaagtcaggcaacacagctatctgaccatcagctcc tgcaggctgaggacgaagcagattattctgcgcatctgccgaggac tctagttcaaatgtccgtgttggaagcggcacacagtgatcgcta ggtcagccaagtcctccaccgtgtctatcttcccgccatctct gaggagtctaaggcaaccaaggtcacaatgtgtgtgtctataagtg actttaccggggagcgtgacagtggtggaaggtagatagca gccccgtcaaggcgggagtggacgaccacacccttccaaacaa agcaacaacaagtatgcgcgcagcgatctatctgagcctgacgcct gagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtcacgcat gaagggagcacgtgtggaagaagcagtggccctacagaaatgttc a	486	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTI SCSGSSSNIGNNYVSWYQQ LPGTAPRTLIYGDTKRPSGI PDRFSGSKSGSTSATLGITGL QTGDEADYYCASAEDSSSN AVFGSGTTLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSS PVKAGVETTTPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTE CS	780
50	VH4-34 MutF 3xG4S ShK	132-27	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	132-27	caggccgtcctgaaccagccaagcagcggtctccgggtctctgggggc agaaggtgactatcagctgctcctgcttcatcaagcaatcctgggaat aattacgtcagctggtaccagcagctgcctggaacagctcctagaa ccctcatttatggcgacaaaagcgccctcagcgatcctcgagcg attcagcggatccaagtcaggcaacacagctatctgaccatcagctcc tgcaggctgaggacgaagcagattattctgcgcatctgccgaggac tctagttcaaatgtccgtgttggaagcggcacacagtgatcgcta ggtcagccaagtcctccaccgtgtctatcttcccgccatctct gaggagtctaaggcaaccaaggtcacaatgtgtgtgtctataagtg actttaccggggagcgtgacagtggtggaaggtagatagca gccccgtcaaggcgggagtggacgaccacacccttccaaacaa agcaacaacaagtatgcgcgcagcgatctatctgagcctgacgcct gagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtcacgcat gaagggagcacgtgtggaagaagcagtggccctacagaaatgttc a	486	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTI SCSGSSSNIGNNYVSWYQQ LPGTAPRTLIYGDTKRPSGI PDRFSGSKSGSTSATLGITGL QTGDEADYYCASAEDSSSN AVFGSGTTLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSS PVKAGVETTTPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTE CS	780

【図２２－２４】

BID	Ig6名	軽鎖	軽鎖名	軽鎖 プラスミド 番号	VL-CL DNA 配列	SEQ ID NO: (VL DNA)	VL-CL アミノ酸配列	Seq ID NO: (VL aa)
51	VH4-34 MutF 3xG4S IL-8	132-27	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	132-27	caggccgtcctgaaccagccaagcagcggtctccgggtctctgggggc agaaggtgactatcagctgctcctgcttcatcaagcaatcctgggaat aattacgtcagctggtaccagcagctgcctggaacagctcctagaa ccctcatttatggcgacaaaagcgccctcagcgatcctcgagcg attcagcggatccaagtcaggcaacacagctatctgaccatcagctcc tgcaggctgaggacgaagcagattattctgcgcatctgccgaggac tctagttcaaatgtccgtgttggaagcggcacacagtgatcgcta ggtcagccaagtcctccaccgtgtctatcttcccgccatctct gaggagtctaaggcaaccaaggtcacaatgtgtgtgtctataagtg actttaccggggagcgtgacagtggtggaaggtagatagca gccccgtcaaggcgggagtggacgaccacacccttccaaacaa agcaacaacaagtatgcgcgcagcgatctatctgagcctgacgcct gagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtcacgcat gaagggagcacgtgtggaagaagcagtggccctacagaaatgttc a	486	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTI SCSGSSSNIGNNYVSWYQQ LPGTAPRTLIYGDTKRPSGI PDRFSGSKSGSTSATLGITGL QTGDEADYYCASAEDSSSN AVFGSGTTLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSS PVKAGVETTTPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTE CS	780
52	VH4-34 MutF 3xGGS MOKA	132-27	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	132-27	caggccgtcctgaaccagccaagcagcggtctccgggtctctgggggc agaaggtgactatcagctgctcctgcttcatcaagcaatcctgggaat aattacgtcagctggtaccagcagctgcctggaacagctcctagaa ccctcatttatggcgacaaaagcgccctcagcgatcctcgagcg attcagcggatccaagtcaggcaacacagctatctgaccatcagctcc tgcaggctgaggacgaagcagattattctgcgcatctgccgaggac tctagttcaaatgtccgtgttggaagcggcacacagtgatcgcta ggtcagccaagtcctccaccgtgtctatcttcccgccatctct gaggagtctaaggcaaccaaggtcacaatgtgtgtgtctataagtg actttaccggggagcgtgacagtggtggaaggtagatagca gccccgtcaaggcgggagtggacgaccacacccttccaaacaa agcaacaacaagtatgcgcgcagcgatctatctgagcctgacgcct gagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtcacgcat gaagggagcacgtgtggaagaagcagtggccctacagaaatgttc a	486	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTI SCSGSSSNIGNNYVSWYQQ LPGTAPRTLIYGDTKRPSGI PDRFSGSKSGSTSATLGITGL QTGDEADYYCASAEDSSSN AVFGSGTTLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSS PVKAGVETTTPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTE CS	780

【図２２－２５】

BID	Ig6名	軽鎖	VL-CL DNA 配列	SEQ ID NO: (VL DNA)	VL-CL アミノ酸配列	Seq ID NO: (VL aa)
53, 155	VH4-34 MutE 3xG4S ProTxII	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	132-27	caggccgtcctgaaccagccaagcagcgtctccgggtctctgggggc agaaggtgactatcagctgctctgctcatcaagcaacatcgggaat aattacgtcagctggtaccagcagctgcctggaacagctctagaa ccctcatttatgggcgacacaaaggcgcccatccggaatccctgacg attcagcggaagcaaatcagggacctctgcaactctgggaatcact gggcttcagacaggagatgacgcagatttactattgcggcctgcag aggacagctccagcaatgtcggtttcgggtctgttacactcttaca gtcctagtcagccaagctcaagccacacagtcgtgtctctat aagtgactctaccccgggaacgtgacagtggcctggaagcagaat agcagcccctcaaggcgggagtggaaacaccaacaccctccaa acaaagcaacaacaagtatgcgcgcagcagtatctgagcctga cgcctgagcagtggaagtccacagaagtatcagtgccaggtca cgcatgaagggagcacctgtggagaagacagtggcccctacagaa tgttca	486	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTI SCSGSSSNIGNNYVSWYQQ LPGTAPRTLIYGDTKRPSGI PDRFSGSKSGTSATLGITGL QTGDEADYYCASAEDSSSN AVFGSGTTLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSS PVKAGVETTTPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTE CS	780
54, 78, 156	VH4-34 MutE 3xG4S GPTX1	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	132-27	caggccgtcctgaaccagccaagcagcgtctccgggtctctgggggc agaaggtgactatcagctgctctgctcatcaagcaacatcgggaat aattacgtcagctggtaccagcagctgcctggaacagctctagaa ccctcatttatgggcgacacaaaggcgcccatccggaatccctgacg attcagcggaagcaaatcagggacctctgcaactctgggaatcact gggcttcagacaggagatgacgcagatttactattgcggcctgcag aggacagctccagcaatgtcggtttcgggtctgttacactcttaca gtcctagtcagccaagctcaagccacacagtcgtgtctctat aagtgactctaccccgggaacgtgacagtggcctggaagcagaat agcagcccctcaaggcgggagtggaaacaccaacaccctccaa acaaagcaacaacaagtatgcgcgcagcagtatctgagcctga cgcctgagcagtggaagtccacagaagtatcagtgccaggtca cgcatgaagggagcacctgtggagaagacagtggcccctacagaa tgttca	486	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTI SCSGSSSNIGNNYVSWYQQ LPGTAPRTLIYGDTKRPSGI PDRFSGSKSGTSATLGITGL QTGDEADYYCASAEDSSSN AVFGSGTTLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSS PVKAGVETTTPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTE CS	780

【図２２－２６】

BID	Ig6名	軽鎖	VL-CL DNA 配列	SEQ ID NO: (VL DNA)	VL-CL アミノ酸配列	Seq ID NO: (VL aa)
55, 64, 102, 110, 112, 121, 125, 160, 163, 166, 169	VH4-34 MutE ノブなし	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	132-27	caggccgtcctgaaccagccaagcagcgtctccgggtctctgggggc agaaggtgactatcagctgctctgctcatcaagcaacatcgggaat aattacgtcagctggtaccagcagctgcctggaacagctctagaa ccctcatttatgggcgacacaaaggcgcccatccggaatccctgacg attcagcggaagcaaatcaggacctctgcaactctgggaatcact gggcttcagacaggagatgacgcagatttactattgcggcctgcag aggacagctccagcaatgtcggtttcgggtctgttacactcttaca gtcctagtcagccaagctcaagccacacagtcgtgtctctat aagtgactctaccccgggaacgtgacagtggcctggaagcagaat agcagcccctcaaggcgggagtggaaacaccaacaccctccaa acaaagcaacaacaagtatgcgcgcagcagtatctgagcctga cgcctgagcagtggaagtccacagaagtatcagtgccaggtca cgcatgaagggagcacctgtggagaagacagtggcccctacagaa tgttca	486	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTI SCSGSSSNIGNNYVSWYQQ LPGTAPRTLIYGDTKRPSGI PDRFSGSKSGTSATLGITGL QTGDEADYYCASAEDSSSN AVFGSGTTLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSS PVKAGVETTTPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTE CS	780
56, 124, 145, 146, 147, 148	VH4-34 MutE 1xG4S ShK	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	132-27	caggccgtcctgaaccagccaagcagcgtctccgggtctctgggggc agaaggtgactatcagctgctctgctcatcaagcaacatcgggaat aattacgtcagctggtaccagcagctgcctggaacagctctagaa ccctcatttatgggcgacacaaaggcgcccatccggaatccctgacg attcagcggaagcaaatcaggacctctgcaactctgggaatcact gggcttcagacaggagatgacgcagatttactattgcggcctgcag aggacagctccagcaatgtcggtttcgggtctgttacactcttaca gtcctagtcagccaagctcaagccacacagtcgtgtctctat aagtgactctaccccgggaacgtgacagtggcctggaagcagaat agcagcccctcaaggcgggagtggaaacaccaacaccctccaa acaaagcaacaacaagtatgcgcgcagcagtatctgagcctga cgcctgagcagtggaagtccacagaagtatcagtgccaggtca cgcatgaagggagcacctgtggagaagacagtggcccctacagaa tgttca	486	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTI SCSGSSSNIGNNYVSWYQQ LPGTAPRTLIYGDTKRPSGI PDRFSGSKSGTSATLGITGL QTGDEADYYCASAEDSSSN AVFGSGTTLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSS PVKAGVETTTPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTE CS	780

【図２２－２７】

BID	Ig6名	軽鎖	VL-CL DNA 配列	SEQ ID NO: (VL DNA)	VL-CL アミノ酸配列	Seq ID NO: (VL aa)
57	VH4-34 MutE ShK-16K 1xG4S	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	132-27	caggccgtcctgaaccagccaagcagcgtctccgggtctctgggggc agaaggtgactatcagctgctctgctcatcaagcaacatcgggaat aattacgtcagctggtaccagcagctgcctggaacagctctagaa ccctcatttatgggcgacacaaaggcgcccatccggaatccctgacg attcagcggaagcaaatcaggacctctgcaactctgggaatcact gggcttcagacaggagatgacgcagatttactattgcggcctgcag aggacagctccagcaatgtcggtttcgggtctgttacactcttaca gtcctagtcagccaagctcaagccacacagtcgtgtctctat aagtgactctaccccgggaacgtgacagtggcctggaagcagaat agcagcccctcaaggcgggagtggaaacaccaacaccctccaa acaaagcaacaacaagtatgcgcgcagcagtatctgagcctga cgcctgagcagtggaagtccacagaagtatcagtgccaggtca cgcatgaagggagcacctgtggagaagacagtggcccctacagaa tgttca	486	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTI SCSGSSSNIGNNYVSWYQQ LPGTAPRTLIYGDTKRPSGI PDRFSGSKSGTSATLGITGL QTGDEADYYCASAEDSSSN AVFGSGTTLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSS PVKAGVETTTPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTE CS	780
58	MutE ShK-16K 3xG4S	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	132-27	caggccgtcctgaaccagccaagcagcgtctccgggtctctgggggc agaaggtgactatcagctgctctgctcatcaagcaacatcgggaat aattacgtcagctggtaccagcagctgcctggaacagctctagaa ccctcatttatgggcgacacaaaggcgcccatccggaatccctgacg attcagcggaagcaaatcaggacctctgcaactctgggaatcact gggcttcagacaggagatgacgcagatttactattgcggcctgcag aggacagctccagcaatgtcggtttcgggtctgttacactcttaca gtcctagtcagccaagctcaagccacacagtcgtgtctctat aagtgactctaccccgggaacgtgacagtggcctggaagcagaat agcagcccctcaaggcgggagtggaaacaccaacaccctccaa acaaagcaacaacaagtatgcgcgcagcagtatctgagcctga cgcctgagcagtggaagtccacagaagtatcagtgccaggtca cgcatgaagggagcacctgtggagaagacagtggcccctacagaa tgttca	486	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTI SCSGSSSNIGNNYVSWYQQ LPGTAPRTLIYGDTKRPSGI PDRFSGSKSGTSATLGITGL QTGDEADYYCASAEDSSSN AVFGSGTTLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSS PVKAGVETTTPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTE CS	780

【図２２－２８】

BID	Ig6名	軽鎖	VL-CL DNA 配列	SEQ ID NO: (VL DNA)	VL-CL アミノ酸配列	Seq ID NO: (VL aa)
59, 137, 144, 149, 153, 159, 161, 162, 164, 165, 167, 168, 170, 171, 172, 173, 175, 176, 177, 178, 179	VH4-34 MutE ShK-リンカーなし	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	caggccgtcctgaaccagccaagcagcgtctccgggtctctgggggc agaaggtgactatcagctgctctgctcatcaagcaacatcgggaat aattacgtcagctggtaccagcagctgcctggaacagctctagaa ccctcatttatgggcgacacaaaggcgcccatccggaatccctgacg attcagcggaagcaaatcaggacctctgcaactctgggaatcact gggcttcagacaggagatgacgcagatttactattgcggcctgcag aggacagctccagcaatgtcggtttcgggtctgttacactcttaca gtcctagtcagccaagctcaagccacacagtcgtgtctctat aagtgactctaccccgggaacgtgacagtggcctggaagcagaat agcagcccctcaaggcgggagtggaaacaccaacaccctccaa acaaagcaacaacaagtatgcgcgcagcagtatctgagcctga cgcctgagcagtggaagtccacagaagtatcagtgccaggtca cgcatgaagggagcacctgtggagaagacagtggcccctacagaa tgttca	486	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTI SCSGSSSNIGNNYVSWYQQ LPGTAPRTLIYGDTKRPSGI PDRFSGSKSGTSATLGITGL QTGDEADYYCASAEDSSSN AVFGSGTTLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSS PVKAGVETTTPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTE CS	780

【図２２－２９】

BID	Ig6名	軽鎖	軽鎖プラスミド番号	VL-CL DNA 配列	SEQ ID NO: (VL DNA)	VL-CL アミノ酸配列	Seq ID NO: (VL aa)
60, 69, 73, 76, 138	VH4-34 MutE G-ShK-G	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	132-27	caggcgctcctgaaccagccaagcagcgtctccgggtctctgggggc agaaggtgactatcagctgctctgtgctctgcatcaagcaacatcgggaat aattacgtcagctggtaccagcagctgccaggaacagctcctagaa cctcatttatgtgcgacacaaagcgccccatccggaatcctcgaccg attcagcggaagcaaatcaggcctctgcaactctgggaatctact gggcttcagacaggagatgaggcagattactattgcgcctctgcag aggacagctccgacaattgtcggtttcggtactgtaccacctttaca gtcctaggtcagccaagctgccccctcggtcactctgttccgccc tcctctgaggagcttcaagccaacaaggccacactgtgtctgtgtc aagtgactctaccccgggagccgtgacagtggctggaagcagatg agcagcccccgtcaaggcgggagtggaaaccacccacccaaa acaaagcaacaacaagtacgcggccagcaactatctgagcctga cgcctgagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtca cgcatgaagggagcacccgtggagaagacagtggcccctacagaa tgttca	486	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTI SCSGSSSNIGNNYVSWYQQ LPGTAPRTLIYGDTKRPSGI PDRFSGSKSGTSATLGITGL QTGDEADYYCASAEDSSSN AVFGSGTTLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSS PVKAGVETTTPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTE CS	780
61, 139	VH4-34 MutE GG-ShK-GG	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	132-27	caggcgctcctgaaccagccaagcagcgtctccgggtctctgggggc agaaggtgactatcagctgctctgtgctctgcatcaagcaacatcgggaat aattacgtcagctggtaccagcagctgccaggaacagctcctagaa cctcatttatgtgcgacacaaagcgccccatccggaatcctcgaccg attcagcggaagcaaatcaggcctctgcaactctgggaatctact gggcttcagacaggagatgaggcagattactattgcgcctctgcag aggacagctccgacaattgtcggtttcggtactgtaccacctttaca gtcctaggtcagccaagctgccccctcggtcactctgttccgccc tcctctgaggagcttcaagccaacaaggccacactgtgtctgtgtc aagtgactctaccccgggagccgtgacagtggctggaagcagatg agcagcccccgtcaaggcgggagtggaaaccacccacccaaa acaaagcaacaacaagtacgcggccagcaactatctgagcctga cgcctgagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtca cgcatgaagggagcacccgtggagaagacagtggcccctacagaa tgttca	486	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTI SCSGSSSNIGNNYVSWYQQ LPGTAPRTLIYGDTKRPSGI PDRFSGSKSGTSATLGITGL QTGDEADYYCASAEDSSSN AVFGSGTTLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSS PVKAGVETTTPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTE CS	780

【図２２－３０】

BID	Ig6名	軽鎖	軽鎖プラスミド番号	VL-CL DNA 配列	SEQ ID NO: (VL DNA)	VL-CL アミノ酸配列	Seq ID NO: (VL aa)
65,140	VH4-34 MutE GSGG-ShK-GSGG	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	132-27	caggcgctcctgaaccagccaagcagcgtctccgggtctctgggggc agaaggtgactatcagctgctctgtgctctgcatcaagcaacatcgggaat aattacgtcagctggtaccagcagctgccaggaacagctcctagaa cctcatttatgtgcgacacaaagcgccccatccggaatcctcgaccg attcagcggaagcaaatcaggcctctgcaactctgggaatctact gggcttcagacaggagatgaggcagattactattgcgcctctgcag aggacagctccgacaattgtcggtttcggtactgtaccacctttaca gtcctaggtcagccaagctgccccctcggtcactctgttccgccc tcctctgaggagcttcaagccaacaaggccacactgtgtctgtgtc aagtgactctaccccgggagccgtgacagtggctggaagcagatg agcagcccccgtcaaggcgggagtggaaaccacccacccaaa acaaagcaacaacaagtacgcggccagcaactatctgagcctga cgcctgagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtca cgcatgaagggagcacccgtggagaagacagtggcccctacagaa tgttca	486	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTI SCSGSSSNIGNNYVSWYQQ LPGTAPRTLIYGDTKRPSGI PDRFSGSKSGTSATLGITGL QTGDEADYYCASAEDSSSN AVFGSGTTLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSS PVKAGVETTTPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTE CS	780
66, 141	VH4-34 MutE GGGG-ShK-GGGG	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	132-27	caggcgctcctgaaccagccaagcagcgtctccgggtctctgggggc agaaggtgactatcagctgctctgtgctctgcatcaagcaacatcgggaat aattacgtcagctggtaccagcagctgccaggaacagctcctagaa cctcatttatgtgcgacacaaagcgccccatccggaatcctcgaccg attcagcggaagcaaatcaggcctctgcaactctgggaatctact gggcttcagacaggagatgaggcagattactattgcgcctctgcag aggacagctccgacaattgtcggtttcggtactgtaccacctttaca gtcctaggtcagccaagctgccccctcggtcactctgttccgccc tcctctgaggagcttcaagccaacaaggccacactgtgtctgtgtc aagtgactctaccccgggagccgtgacagtggctggaagcagatg agcagcccccgtcaaggcgggagtggaaaccacccacccaaa acaaagcaacaacaagtacgcggccagcaactatctgagcctga cgcctgagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtca cgcatgaagggagcacccgtggagaagacagtggcccctacagaa tgttca	486	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTI SCSGSSSNIGNNYVSWYQQ LPGTAPRTLIYGDTKRPSGI PDRFSGSKSGTSATLGITGL QTGDEADYYCASAEDSSSN AVFGSGTTLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSS PVKAGVETTTPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTE CS	780

【図２２－３１】

BID	Ig6名	軽鎖	軽鎖プラスミド番号	VL-CL DNA 配列	SEQ ID NO: (VL DNA)	VL-CL アミノ酸配列	Seq ID NO: (VL aa)
67, 70, 74, 77, 142	VH4-34 MutE GGG-ShK-GGG	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	132-27	caggcgctcctgaaccagccaagcagcgtctccgggtctctgggggc agaaggtgactatcagctgctctgtgctctgcatcaagcaacatcgggaat aattacgtcagctggtaccagcagctgccaggaacagctcctagaa cctcatttatgtgcgacacaaagcgccccatccggaatcctcgaccg attcagcggaagcaaatcaggcctctgcaactctgggaatctact gggcttcagacaggagatgaggcagattactattgcgcctctgcag aggacagctccgacaattgtcggtttcggtactgtaccacctttaca gtcctaggtcagccaagctgccccctcggtcactctgttccgccc tcctctgaggagcttcaagccaacaaggccacactgtgtctgtgtc aagtgactctaccccgggagccgtgacagtggctggaagcagatg agcagcccccgtcaaggcgggagtggaaaccacccacccaaa acaaagcaacaacaagtacgcggccagcaactatctgagcctga cgcctgagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtca cgcatgaagggagcacccgtggagaagacagtggcccctacagaa tgttca	486	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTI SCSGSSSNIGNNYVSWYQQ LPGTAPRTLIYGDTKRPSGI PDRFSGSKSGTSATLGITGL QTGDEADYYCASAEDSSSN AVFGSGTTLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSS PVKAGVETTTPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTE CS	780
92, 95, 103	VH4-34 MutE 3xG4S ShK S62G	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	132-27	caggcgctcctgaaccagccaagcagcgtctccgggtctctgggggc agaaggtgactatcagctgctctgtgctctgcatcaagcaacatcgggaat aattacgtcagctggtaccagcagctgccaggaacagctcctagaa cctcatttatgtgcgacacaaagcgccccatccggaatcctcgaccg attcagcggaagcaaatcaggcctctgcaactctgggaatctact gggcttcagacaggagatgaggcagattactattgcgcctctgcag aggacagctccgacaattgtcggtttcggtactgtaccacctttaca gtcctaggtcagccaagctgccccctcggtcactctgttccgccc tcctctgaggagcttcaagccaacaaggccacactgtgtctgtgtc aagtgactctaccccgggagccgtgacagtggctggaagcagatg agcagcccccgtcaaggcgggagtggaaaccacccacccaaa acaaagcaacaacaagtacgcggccagcaactatctgagcctga cgcctgagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtca cgcatgaagggagcacccgtggagaagacagtggcccctacagaa tgttca	486	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTI SCSGSSSNIGNNYVSWYQQ LPGTAPRTLIYGDTKRPSGI PDRFSGSKSGTSATLGITGL QTGDEADYYCASAEDSSSN AVFGSGTTLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSS PVKAGVETTTPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTE CS	780

【図２２－３２】

BID	Ig6名	軽鎖	軽鎖プラスミド番号	VL-CL DNA 配列	SEQ ID NO: (VL DNA)	VL-CL アミノ酸配列	Seq ID NO: (VL aa)
104, 113, 119, 122	VH4-34 MutE 2xG4S ShK	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	132-27	caggcgctcctgaaccagccaagcagcgtctccgggtctctgggggc agaaggtgactatcagctgctctgtgctctgcatcaagcaacatcgggaat aattacgtcagctggtaccagcagctgccaggaacagctcctagaa cctcatttatgtgcgacacaaagcgccccatccggaatcctcgaccg attcagcggaagcaaatcaggcctctgcaactctgggaatctact gggcttcagacaggagatgaggcagattactattgcgcctctgcag aggacagctccgacaattgtcggtttcggtactgtaccacctttaca gtcctaggtcagccaagctgccccctcggtcactctgttccgccc tcctctgaggagcttcaagccaacaaggccacactgtgtctgtgtc aagtgactctaccccgggagccgtgacagtggctggaagcagatg agcagcccccgtcaaggcgggagtggaaaccacccacccaaa acaaagcaacaacaagtacgcggccagcaactatctgagcctga cgcctgagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtca cgcatgaagggagcacccgtggagaagacagtggcccctacagaa tgttca	486	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTI SCSGSSSNIGNNYVSWYQQ LPGTAPRTLIYGDTKRPSGI PDRFSGSKSGTSATLGITGL QTGDEADYYCASAEDSSSN AVFGSGTTLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSS PVKAGVETTTPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTE CS	780
105	VH4-34 MutE 3xG4S ShK (M21Q)	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	132-27	caggcgctcctgaaccagccaagcagcgtctccgggtctctgggggc agaaggtgactatcagctgctctgtgctctgcatcaagcaacatcgggaat aattacgtcagctggtaccagcagctgccaggaacagctcctagaa cctcatttatgtgcgacacaaagcgccccatccggaatcctcgaccg attcagcggaagcaaatcaggcctctgcaactctgggaatctact gggcttcagacaggagatgaggcagattactattgcgcctctgcag aggacagctccgacaattgtcggtttcggtactgtaccacctttaca gtcctaggtcagccaagctgccccctcggtcactctgttccgccc tcctctgaggagcttcaagccaacaaggccacactgtgtctgtgtc aagtgactctaccccgggagccgtgacagtggctggaagcagatg agcagcccccgtcaaggcgggagtggaaaccacccacccaaa acaaagcaacaacaagtacgcggccagcaactatctgagcctga cgcctgagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtca cgcatgaagggagcacccgtggagaagacagtggcccctacagaa tgttca	486	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTI SCSGSSSNIGNNYVSWYQQ LPGTAPRTLIYGDTKRPSGI PDRFSGSKSGTSATLGITGL QTGDEADYYCASAEDSSSN AVFGSGTTLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSS PVKAGVETTTPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTE CS	780

【図２２－３３】

BID	Ig6名	軽鎖名	軽鎖プラスミド番号	VL-CL DNA 配列	SEQ ID NO: (VL DNA)	VL-CL アミノ酸配列	Seq ID NO: (VL aa)
106	VH4-34 MutE 3xG4S ShK (M21L)	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	132-27	caggccgtcctgaaccagccaagcagcgtctccgggtctctgggggc agaaggtgactatcagctgtctgctgcctcatcaagcaaacatcgggaat aattacgtcagctggtaccagcagctgcctggaaacagctctagaa ccctcatttatggcgacaaaaggcgccaatcgggaatccctgaccg attcagcggaagcaaatcaggacctctgcaactctgggaatcact gggcttcagacaggagatgaggcagattactattgcgcctctgcag aggacagctccagcaattgcgtgtttggcactgttccgcgcc tcctctgaggagcttcaagccaacaaggccacactggtgtgtctcat aagtgacttctaccgggagccgtgacagtggccgtggaaggcagat agcagcccgtcaaggtgggaggtggaaacaccacaccctccaa acaaagcaacaacaagtacgcggccagcagctatctgagcctga cgcctgagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtca cgcatgaagggagcaccgtggagaagacagtggcccctacagaa tgttca	486	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTI SCSGSSSNIGNNYVSWYQQ LPGTAPRTLIYGDTKRPSGI PDRFSGSKSGTSATLGITGL QTGDEADYYCASAEDSSSN AVFGSGTTLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSS PVKAGVETTTPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTE CS	780
107, 114	VH4-34 MutE 3xG4S ShK (M21F)	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	132-27	caggccgtcctgaaccagccaagcagcgtctccgggtctctgggggc agaaggtgactatcagctgtctgctgcctcatcaagcaaacatcgggaat aattacgtcagctggtaccagcagctgcctggaaacagctctagaa ccctcatttatggcgacaaaaggcgccaatcgggaatccctgaccg attcagcggaagcaaatcaggacctctgcaactctgggaatcact gggcttcagacaggagatgaggcagattactattgcgcctctgcag aggacagctccagcaattgcgtgtttggcactgttccgcgcc tcctctgaggagcttcaagccaacaaggccacactggtgtgtctcat aagtgacttctaccgggagccgtgacagtggccgtggaaggcagat agcagcccgtcaaggtgggaggtggaaacaccacaccctccaa acaaagcaacaacaagtacgcggccagcagctatctgagcctga cgcctgagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtca cgcatgaagggagcaccgtggagaagacagtggcccctacagaa tgttca	486	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTI SCSGSSSNIGNNYVSWYQQ LPGTAPRTLIYGDTKRPSGI PDRFSGSKSGTSATLGITGL QTGDEADYYCASAEDSSSN AVFGSGTTLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSS PVKAGVETTTPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTE CS	780

【図２２－３４】

BID	Ig6名	軽鎖名	軽鎖プラスミド番号	VL-CL DNA 配列	SEQ ID NO: (VL DNA)	VL-CL アミノ酸配列	Seq ID NO: (VL aa)
108	VH4-34 MutE 3xG4S ShK (M21I)	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	132-27	caggccgtcctgaaccagccaagcagcgtctccgggtctctgggggc agaaggtgactatcagctgtctgctgcctcatcaagcaaacatcgggaat aattacgtcagctggtaccagcagctgcctggaaacagctctagaa ccctcatttatggcgacaaaaggcgccaatcgggaatccctgaccg attcagcggaagcaaatcaggacctctgcaactctgggaatcact gggcttcagacaggagatgaggcagattactattgcgcctctgcag aggacagctccagcaattgcgtgtttggcactgttccgcgcc tcctctgaggagcttcaagccaacaaggccacactggtgtgtctcat aagtgacttctaccgggagccgtgacagtggccgtggaaggcagat agcagcccgtcaaggtgggaggtggaaacaccacaccctccaa acaaagcaacaacaagtacgcggccagcagctatctgagcctga cgcctgagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtca cgcatgaagggagcaccgtggagaagacagtggcccctacagaa tgttca	486	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTI SCSGSSSNIGNNYVSWYQQ LPGTAPRTLIYGDTKRPSGI PDRFSGSKSGTSATLGITGL QTGDEADYYCASAEDSSSN AVFGSGTTLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSS PVKAGVETTTPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTE CS	780
109	VH4-34 MutE 3xG4S ShK (M21A)	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	132-27	caggccgtcctgaaccagccaagcagcgtctccgggtctctgggggc agaaggtgactatcagctgtctgctgcctcatcaagcaaacatcgggaat aattacgtcagctggtaccagcagctgcctggaaacagctctagaa ccctcatttatggcgacaaaaggcgccaatcgggaatccctgaccg attcagcggaagcaaatcaggacctctgcaactctgggaatcact gggcttcagacaggagatgaggcagattactattgcgcctctgcag aggacagctccagcaattgcgtgtttggcactgttccgcgcc tcctctgaggagcttcaagccaacaaggccacactggtgtgtctcat aagtgacttctaccgggagccgtgacagtggccgtggaaggcagat agcagcccgtcaaggtgggaggtggaaacaccacaccctccaa acaaagcaacaacaagtacgcggccagcagctatctgagcctga cgcctgagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtca cgcatgaagggagcaccgtggagaagacagtggcccctacagaa tgttca	486	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTI SCSGSSSNIGNNYVSWYQQ LPGTAPRTLIYGDTKRPSGI PDRFSGSKSGTSATLGITGL QTGDEADYYCASAEDSSSN AVFGSGTTLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSS PVKAGVETTTPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTE CS	780

【図２２－３５】

BID	Ig6名	軽鎖名	軽鎖プラスミド番号	VL-CL DNA 配列	SEQ ID NO: (VL DNA)	VL-CL アミノ酸配列	Seq ID NO: (VL aa)
157	VH4-34MutE 1xG4S ProTxII	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	132-27	caggccgtcctgaaccagccaagcagcgtctccgggtctctgggggc agaaggtgactatcagctgtctgctgcctcatcaagcaaacatcgggaat aattacgtcagctggtaccagcagctgcctggaaacagctctagaa ccctcatttatggcgacaaaaggcgccaatcgggaatccctgaccg attcagcggaagcaaatcaggacctctgcaactctgggaatcact gggcttcagacaggagatgaggcagattactattgcgcctctgcag aggacagctccagcaattgcgtgtttggcactgttccgcgcc tcctctgaggagcttcaagccaacaaggccacactggtgtgtctcat aagtgacttctaccgggagccgtgacagtggccgtggaaggcagat agcagcccgtcaaggtgggaggtggaaacaccacaccctccaa acaaagcaacaacaagtacgcggccagcagctatctgagcctga cgcctgagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtca cgcatgaagggagcaccgtggagaagacagtggcccctacagaa tgttca	486	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTI SCSGSSSNIGNNYVSWYQQ LPGTAPRTLIYGDTKRPSGI PDRFSGSKSGTSATLGITGL QTGDEADYYCASAEDSSSN AVFGSGTTLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSS PVKAGVETTTPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTE CS	780
158	VH4-34MutE 1xG4S GPTX1	VL1-51 S2A, T5N, P8S, A12G, A13S, P14L, K46R, L47T, D51G, N52D, N53T	132-27	caggccgtcctgaaccagccaagcagcgtctccgggtctctgggggc agaaggtgactatcagctgtctgctgcctcatcaagcaaacatcgggaat aattacgtcagctggtaccagcagctgcctggaaacagctctagaa ccctcatttatggcgacaaaaggcgccaatcgggaatccctgaccg attcagcggaagcaaatcaggacctctgcaactctgggaatcact gggcttcagacaggagatgaggcagattactattgcgcctctgcag aggacagctccagcaattgcgtgtttggcactgttccgcgcc tcctctgaggagcttcaagccaacaaggccacactggtgtgtctcat aagtgacttctaccgggagccgtgacagtggccgtggaaggcagat agcagcccgtcaaggtgggaggtggaaacaccacaccctccaa acaaagcaacaacaagtacgcggccagcagctatctgagcctga cgcctgagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtca cgcatgaagggagcaccgtggagaagacagtggcccctacagaa tgttca	486	QAVLNQPSSVSGSLGQKVTI SCSGSSSNIGNNYVSWYQQ LPGTAPRTLIYGDTKRPSGI PDRFSGSKSGTSATLGITGL QTGDEADYYCASAEDSSSN AVFGSGTTLTVLGQPKAAP SVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSS PVKAGVETTTPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTE CS	780

【配列表】
0006687520000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI	
C12N	*5/10*	*(2006.01)*	C12N	5/10
C40B	*40/06*	*(2006.01)*	C40B	40/06
C40B	*40/10*	*(2006.01)*	C40B	40/10
C12P	*21/08*	*(2006.01)*	C12P	21/08

(74)代理人 100142929
弁理士 井上 隆一
(74)代理人 100148699
弁理士 佐藤 利光
(74)代理人 100128048
弁理士 新見 浩一
(74)代理人 100129506
弁理士 小林 智彦
(74)代理人 100205707
弁理士 小寺 秀紀
(74)代理人 100114340
弁理士 大関 雅人
(74)代理人 100114889
弁理士 五十嵐 義弘
(74)代理人 100121072
弁理士 川本 和弥
(72)発明者 バジルガン オマー
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 ラ ホヤ ノース トーリー パインズ ロード １１０９ ９ スイート ２３０
(72)発明者 デ ロス リオス ミゲル
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 ラ ホヤ ノース トーリー パインズ ロード １１０９ ９ スイート ２３０

審査官 松原 寛子

(56)参考文献 米国特許第０６７４０７４７（ＵＳ，Ｂ１）
特表２００５－５２２１９７（ＪＰ，Ａ）
Cell，２０１３年 ６月 １日，Vol.153，p.1379-1393

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
Ｃ０７Ｋ １６／４６
Ｃ１２Ｎ １５／１３
ＪＳＴＰｌｕｓ／ＪＭＥＤＰｌｕｓ／ＪＳＴ７５８０（ＪＤｒｅａｍＩＩＩ）
ＣＡｐｌｕｓ／ＲＥＧＩＳＴＲＹ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＥＭＢＡＳＥ／ＢＩＯＳＩＳ（ＳＴＮ）