

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】平成25年4月11日(2013.4.11)

【公表番号】特表2011-518565(P2011-518565A)

【公表日】平成23年6月30日(2011.6.30)

【年通号数】公開・登録公報2011-026

【出願番号】特願2011-506483(P2011-506483)

【国際特許分類】

C 12 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 12 N 15/00 Z N A A

【手続補正書】

【提出日】平成24年3月14日(2012.3.14)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【発明の詳細な説明】

【発明の名称】新規のH C C D R 1、C D R 2、およびC D R 3設計、ならびに新規のL C C D R 1、C D R 2、およびC D R 3設計を含む、遺伝子パッケージのライブラリ

【技術分野】

【0001】

(関連出願への相互参照)

本願は、2008年4月24日に出願された米国仮特許出願第61/047,529号の優先権を主張する。この米国仮特許出願の開示は、本願の開示の一部と考えられる(かつ、本願の開示に参考として援用される)。

【背景技術】

【0002】

(背景)

ペプチド、ポリペプチドまたはタンパク質の多様なファミリーのメンバーを個別に提示し、提示および発現し、または含み、ファミリーのアミノ酸の多様性の少なくとも一部を集合的に提示し、提示および発現し、または含む遺伝子パッケージのライブラリの調製は、現在当分野において一般的に行われている。多くの一般的なライブラリにおいて、ペプチド、ポリペプチドまたはタンパク質は、抗体(例えば、一本鎖Fv(scfv)、Fv、Fab、全抗体またはミニボディ(すなわち、V<sub>L</sub>に連結したV<sub>H</sub>からなる二量体))に関連する。多くの場合、それらはヒト抗体の重鎖および軽鎖の、1種または複数種のCDRおよびフレームワーク領域を含む。

【0003】

ペプチド、ポリペプチドまたはタンパク質のライブラリは、いくつかの方法で作製されている。例えば、参照により本明細書に組み込まれる非特許文献1を参照されたい。一方では、ナイーブなまたは免疫化されたかどちらかの、ネイティブなドナーの多様性を獲得することである。別の方法は、合成多様性を有するライブラリを生成することである。第3の方法は、最初の2つの方法の組合せである。通常、これらの方法により作製された多様性は、配列多様性に限定される、すなわち、ライブラリの個々のメンバーは同じ長さを有するが、ペプチド、ポリペプチドまたはタンパク質鎖の所与の位置に異なるアミノ酸または多彩性を有することがファミリーの他のメンバーとは異なる。しかし、天然に多様なペプチド、ポリペプチドまたはタンパク質は、それらのアミノ酸配列だけに多様性が限定

されるわけではない。例えば、ヒト抗体は、それらのアミノ酸の配列多様性は限定されず、ヒト抗体は、それらのアミノ酸鎖の長さにおいてもまた多様である。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0004】

【非特許文献1】Knappikら、J. Mol. Biol.、296巻、57~86頁(2000年)

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0005】

(要旨)

抗体では、例えば、可変領域の再構成の間に重鎖の長さの多様性が発生する。例えば、Corbettら、J. Mol. Biol.、270巻、587~97頁(1997年)を参照されたい。V遺伝子とJ遺伝子との接合は、例えば重鎖抗体配列の約半分のCDR3中の認識可能なDセグメントの包含をもたらし、したがって、さまざまな長さのアミノ酸をコードする領域を創製する。Dセグメントは、長いHC CDR3を有する抗体においてより一般的である。以下もまた、抗体の遺伝子セグメントの接合の間に発生し得る:(i)V遺伝子の末端が、欠失または変化した0から数個の塩基を有し得る;(ii)Dセグメントの末端が、除去されたまたは変化した0から多くの塩基を有し得る;(iii)多数のほぼランダムな塩基が、VおよびDの間またはDおよびJの間に挿入され得る;ならびに(iv)Jの5'末端が、いくつかの塩基を除去または変化させるように編集され得る。これらの再構成は、アミノ酸配列および長さの双方において多様な抗体をもたらす。異なる長さのHC CDR3は、異なる形状に折り畳まれ、抗原と結合する新規な形状を抗体にもたらすことができる。立体配座は、CDR3の長さおよび配列の双方に依存する。例えば長さ8で任意の配列のHC CDR3は、例えば長さ22のCDR3の挙動を、適切に模倣できないことを記憶に留めるべきである。

本発明は、例えば以下の項目を提供する。

(項目1)

ヒト抗体関連ペプチド、ポリペプチドおよびタンパク質の多様なファミリーのメンバーを提示し、提示および発現し、または含み、抗体ファミリーの多様性の少なくとも一部を集合的に提示し、提示および発現し、または含むベクターまたは遺伝子パッケージのライプラリであって、該ベクターまたは遺伝子パッケージが、重鎖(HC)CDR3をコードする多彩化されたDNA配列を含み、該ファミリーの該HC CDR3において、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34または35の位置が、Tyr、Gly、Asp、SerおよびArg残基の間で変化するライプラリ。

(項目2)

前記HC CDR3の全位置の約50%がTyr、Gly、Asp、SerまたはArgである、項目1に記載のライプラリ。

(項目3)

Arg残基が、VおよびDの間、DおよびJの間またはVおよびJの間のフィラー領域に存在する、項目1に記載のライプラリ。

(項目4)

ヒト抗体関連ペプチド、ポリペプチドおよびタンパク質の多様なファミリーのメンバーを提示し、提示および発現し、または含み、抗体ファミリーの多様性の少なくとも一部を集合的に提示し、提示および発現し、または含むベクターまたは遺伝子パッケージのライプラリであって、該ベクターまたは遺伝子パッケージが、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34または35の

残基からなる重鎖 ( H C ) C D R 3 をコードする多彩化された D N A 配列を含み、個々の残基は独立して T y r 、 A s n 、 A s p 、 S e r および A r g 残基の間で変化し、フレームワーク領域 ( F R ) 3 が該 C D R 3 のアミノ末端に位置し、 J H 領域の F R 4 部分が該 C D R 3 のカルボキシ末端に位置するライプラリ。

( 項目 5 )

前記 F R 3 が 3 - 2 3 V H F R 3 である、項目 4 に記載のライプラリ。

( 項目 6 )

ヒト抗体関連ペプチド、ポリペプチドおよびタンパク質の多様なファミリーのメンバーを提示し、提示および発現し、または含み、抗体ファミリーの多様性の少なくとも一部を集合的に提示し、提示および発現し、または含むベクターまたは遺伝子パッケージのライプラリであって、該ベクターまたは遺伝子パッケージが、重鎖 ( H C ) C D R 3 をコードする多彩化された D N A 配列を含み、該 H C C D R 3 配列の約 20 % 超が T y r 残基からなるライプラリ。

( 項目 7 )

前記 H C C D R 3 の D 領域および J s t u m p が、約 20 % 超の T y r 残基からなる、項目 6 に記載のライプラリ。

( 項目 8 )

ヒト抗体関連ペプチド、ポリペプチドおよびタンパク質の多様なファミリーのメンバーを提示し、提示および発現し、または含み、抗体ファミリーの多様性の少なくとも一部を集合的に提示し、提示および発現し、または含むベクターまたは遺伝子パッケージのライプラリであって、該ベクターまたは遺伝子パッケージが、重鎖 ( H C ) C D R 3 をコードする多彩化された D N A 配列を含み、該 H C C D R 3 配列の約 20 % 未満が T y r 残基からなるライプラリ。

( 項目 9 )

前記 H C C D R 3 のリードインまたは D J フィラー位置が、約 20 % 未満の T y r 残基からなる、項目 8 に記載のライプラリ。

( 項目 10 )

ヒト抗体関連ペプチド、ポリペプチドおよびタンパク質の多様なファミリーのメンバーを提示し、提示および発現し、または含み、抗体ファミリーの多様性の少なくとも一部を集合的に提示し、提示および発現し、または含むベクターまたは遺伝子パッケージのライプラリであって、該ベクターまたは遺伝子パッケージが、重鎖 ( H C ) C D R 3 をコードする多彩化された D N A 配列を含み、該 H C C D R 3 が 3 アミノ酸長であり、

該 H C C D R 3 の第 1 の残基が、 F 、 S 、 Y 、 D および R の間で、 3 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化し、

該 H C C D R 3 の第 2 の残基が、 Q 、 E 、 R 、 S 、 Y および L の間で 3 : 1 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化し、

該 H C C D R 3 の第 3 の残基が、 H 、 D 、 R 、 S 、 Y および L の間で 3 : 1 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化するライプラリ。

( 項目 11 )

F R 3 が前記 C D R 3 のアミノ末端に位置し、該 F R 3 の最後の残基が、 K および R の間で、 3 : 1 の比率で変化する、項目 10 に記載のライプラリ。

( 項目 12 )

ヒト抗体関連ペプチド、ポリペプチドおよびタンパク質の多様なファミリーのメンバーを提示し、提示および発現し、または含み、抗体ファミリーの多様性の少なくとも一部を集合的に提示し、提示および発現し、または含むベクターまたは遺伝子パッケージのライプラリであって、該ベクターまたは遺伝子パッケージが、重鎖 ( H C ) C D R 3 をコードする多彩化された D N A 配列を含み、該 H C C D R 3 が 3 アミノ酸長であり、

該 H C C D R 3 の第 1 の残基が、 T 、 Y 、 R 、 D および L の間で、 5 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化し、

該 H C C D R 3 の第 2 の残基が、 T 、 Y 、 R 、 D および L の間で、 5 : 1 : 1 : 1 :

1の比率で変化し、

該 H C C D R 3 の第 3 の残基が、G、S、Y、R、D および L の間で 5 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化するライプラリ。

(項目 13)

ヒト抗体関連ペプチド、ポリペプチドおよびタンパク質の多様なファミリーのメンバーを提示し、提示および発現し、または含み、抗体ファミリーの多様性の少なくとも一部を集合的に提示し、提示および発現し、または含むベクターまたは遺伝子パッケージのライプラリであって、該ベクターまたは遺伝子パッケージが、重鎖 (H C ) C D R 3 をコードする多彩化された D N A 配列を含み、該 H C C D R 3 が 4 アミノ酸長であり、

該 H C C D R 3 の第 1 の残基が、Y、S、D、R および L の間で、4 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化し、

該 H C C D R 3 の第 2 の残基が、F、S、Y、D、R および L の間で、4 : 1 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化し、

該 H C C D R 3 の第 3 の残基が、D、R、S、Y および L の間で、4 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化し、

該 H C C D R 3 の第 4 の残基が、L、S、Y、D および R の間で、4 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化するライプラリ。

(項目 14)

ヒト抗体関連ペプチド、ポリペプチドおよびタンパク質の多様なファミリーのメンバーを提示し、提示および発現し、または含み、抗体ファミリーの多様性の少なくとも一部を集合的に提示し、提示および発現し、または含むベクターまたは遺伝子パッケージのライプラリであって、該ベクターまたは遺伝子パッケージが、重鎖 (H C ) C D R 3 をコードする多彩化された D N A 配列を含み、該 H C C D R 3 が 4 アミノ酸長であり、

該 H C C D R 3 の第 1 の残基が、L、S、Y、D および R の間で、4 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化し、

該 H C C D R 3 の第 2 の残基が、L、S、Y、D および R の間で、4 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化し、

該 H C C D R 3 の第 3 の残基が、W、S、Y、D および R の間で、4 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化し、

該 H C C D R 3 の第 4 の残基が、F、S、Y、D および R の間で、4 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化するライプラリ。

(項目 15)

F R 3 が前記 C D R 3 のアミノ末端に位置し、該 F R 3 の最後の残基が、K および R の間で、4 : 1 の比率で変化する、項目 14 に記載のライプラリ。

(項目 16)

ヒト抗体関連ペプチド、ポリペプチドおよびタンパク質の多様なファミリーのメンバーを提示し、提示および発現し、または含み、抗体ファミリーの多様性の少なくとも一部を集合的に提示し、提示および発現し、または含むベクターまたは遺伝子パッケージのライプラリであって、該ベクターまたは遺伝子パッケージが、重鎖 (H C ) C D R 3 をコードする多彩化された D N A 配列を含み、該 H C C D R 3 が 16 アミノ酸長であり、

該 H C C D R 3 の第 1 の残基が、Y、S、R、D および L の間で、3 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化し、

該 H C C D R 3 の第 2 の残基が、Y、S、R、D および L の間で、3 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化し、

該 H C C D R 3 の第 3 の残基が、Y、S、R、D および L の間で、3 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化し、

該 H C C D R 3 の第 4 の残基が、D、Y、S、R および L の間で、3 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化し、

該 H C C D R 3 の第 5 の残基が、S、Y、R、D および L の間で、3 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化し、

該 H C C D R 3 の第 6 の残基が、 S 、 Y 、 R 、 D および L の間で、 3 : 1 : 1 : 1 の比率で変化し、

該 H C C D R 3 の第 7 の残基が、 G 、 A 、 S 、 Y 、 R 、 D および L の間で、 3 : 1 : 1 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化し、

該 H C C D R 3 の第 8 の残基が、 Y 、 S 、 R 、 D および L の間で、 3 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化し、

該 H C C D R 3 の第 9 の残基が、 Y 、 S 、 R 、 D および L の間で、 3 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化し、

該 H C C D R 3 の第 10 の残基が、 Y 、 S 、 R 、 D および L の間で、 3 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化し、

該 H C C D R 3 の第 11 の残基が、 A 、 S 、 Y 、 R および D の間で、 3 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化し、

該 H C C D R 3 の第 12 の残基が、 E 、 R 、 S 、 Y および L の間で、 3 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化し、

該 H C C D R 3 の第 13 の残基が、 Y 、 S 、 R 、 D および L の間で、 3 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化し、

該 H C C D R 3 の第 14 の残基が、 F 、 Y 、 S 、 R および D の間で、 3 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化し、

該 H C C D R 3 の第 15 の残基が、 Q 、 E 、 R 、 S および Y の間で、 3 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化し、

該 H C C D R 3 の第 16 の残基が、 H 、 E 、 R 、 S 、 Y および L の間で、 3 : 1 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化するライブラリ。

(項目 17)

F R 3 が前記 C D R 3 のアミノ末端に位置し、該 F R 3 の最後の残基が、 K および R の間で、 3 : 1 の比率で変化する、項目 16 に記載のライブラリ。

(項目 18)

ヒト抗体関連ペプチド、ポリペプチドおよびタンパク質の多様なファミリーのメンバーを提示し、提示および発現し、または含み、抗体ファミリーの多様性の少なくとも一部を集合的に提示し、提示および発現し、または含むベクターまたは遺伝子パッケージのライブラリであって、該ベクターまたは遺伝子パッケージが、重鎖 ( H C ) C D R 3 をコードする多彩化された D N A 配列を含み、該 H C C D R 3 が 16 アミノ酸長であり、

該 H C C D R 3 の第 1 の残基が、 G 、 S 、 Y 、 D 、 R および L の間で、 3 : 1 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化し、

該 H C C D R 3 の第 2 の残基が、 Y 、 S 、 D 、 R 、 および L の間で、 3 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化し、

該 H C C D R 3 の第 3 の残基が C であり、

該 H C C D R 3 の第 4 の残基が、 S 、 Y 、 R 、 D および L の間で、 3 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化し、

該 H C C D R 3 の第 5 の残基が、 S 、 Y 、 R 、 D および L の間で、 3 : 1 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化し、

該 H C C D R 3 の第 6 の残基が、 T 、 Y 、 R 、 D および L の間で、 3 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化し、

該 H C C D R 3 の第 7 の残基が、 S 、 Y 、 R 、 D および L の間で、 3 : 1 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化し、

該 H C C D R 3 の第 8 の残基が、 C であり、

該 H C C D R 3 の第 9 の残基が、 Y 、 S 、 D 、 R および L の間で、 3 : 1 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化し、

該 H C C D R 3 の第 10 の残基が、 T 、 Y 、 R 、 D および L の間で、 3 : 1 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化し、

該 H C C D R 3 の第 11 の残基が、 A 、 S 、 Y 、 D 、 R 、 および L の間で、 3 : 1 :

1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化し、

該 H C C D R 3 の第 1 2 の残基が、 E 、 R 、 S 、 Y および L の間で、 3 : 1 : 1 : 1 の比率で変化し、

該 H C C D R 3 の第 1 3 の残基が、 Y 、 S 、 D 、 R および L の間で、 3 : 1 : 1 : 1 の比率で変化し、

該 H C C D R 3 の第 1 4 の残基が、 F 、 Y 、 S 、 R 、 D 、 および L の間で、 3 : 1 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化し、

該 H C C D R 3 の第 1 5 の残基が、 Q 、 E 、 R 、 S 、 Y 、 および L の間で、 3 : 1 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化し、

該 H C C D R 3 の第 1 6 の残基が、 H 、 D 、 R 、 S 、 Y および L の間で、 3 : 1 : 1 : 1 : 1 : 1 の比率で変化するライプラリ。

(項目 19)

F R 3 が前記 C D R 3 のアミノ末端に位置し、該 F R 3 の最後の残基が、 K および R の間で、 3 : 1 の比率で変化する、項目 19 に記載のライプラリ。

(項目 20)

ヒト抗体関連ペプチド、ポリペプチドおよびタンパク質の多様なファミリーのメンバーを提示し、提示および発現し、または含み、抗体ファミリーの多様性の少なくとも一部を集合的に提示し、提示および発現し、または含むベクターまたは遺伝子パッケージのライプラリであって、該ベクターまたは遺伝子パッケージが、 A 2 7 軽鎖 ( L C ) をコードする多彩化された D N A 配列を含み、該 L C の C D R 1 が多様化され、

2 7 位は、約 5 5 % が Q 、それぞれ約 9 % が E 、 R 、 Y 、 S および L であり、

2 8 位は、約 4 6 % が S 、それぞれ約 9 % が N 、 T 、 Y 、 E 、 R 、 および L であり、

3 0 位は、約 5 5 % が S 、それぞれ約 9 % が D 、 N 、 R 、 T 、 および Y であり、

3 0 a 位は、約 4 6 % が S 、それぞれ約 9 % が G 、 N 、 R 、 T 、 Y 、 および D であり、約 8 % はアミノ酸を含まず、

3 1 位は、約 4 4 % が S 、それぞれ約 8 % が D 、 F 、 G 、 N 、 R 、 T 、 および Y であり、

3 2 位は、約 4 4 % が Y 、それぞれ約 7 % が F 、 D 、 L 、 N 、 Q 、 R 、 S 、 および Y であり、

3 4 位は、約 7 0 % が A 、それぞれ約 1 5 % が S および Y であるライプラリ。

(項目 21)

ヒト抗体関連ペプチド、ポリペプチドおよびタンパク質の多様なファミリーのメンバーを提示し、提示および発現し、または含み、抗体ファミリーの多様性の少なくとも一部を集合的に提示し、提示および発現し、または含むベクターまたは遺伝子パッケージのライプラリであって、該ベクターまたは遺伝子パッケージが、 A 2 7 軽鎖 ( L C ) をコードする多彩化された D N A 配列を含み、該 L C の C D R 2 が多様化され、

5 0 位は、約 5 5 % が G 、それぞれ約 9 % が D 、 R 、 S 、 Y および L であり、

5 3 位は、約 5 2 % が S 、それぞれ約 8 % が N 、 T 、 S 、 Y 、 E および R であり、

5 6 位は、約 6 4 % が T 、それぞれ約 9 % が E 、 R 、 S および Y であるライプラリ。

(項目 22)

ヒト抗体関連ペプチド、ポリペプチドおよびタンパク質の多様なファミリーのメンバーを提示し、提示および発現し、または含み、抗体ファミリーの多様性の少なくとも一部を集合的に提示し、提示および発現し、または含むベクターまたは遺伝子パッケージのライプラリであって、該ベクターまたは遺伝子パッケージが、 A 2 7 軽鎖 ( L C ) をコードする多彩化された D N A 配列を含み、該 L C の C D R 3 が多様化され、

9 1 位は、約 6 4 % が Y 、それぞれ約 9 % が F 、 E 、 R および S であり、

9 2 位は、約 5 2 % が G 、それぞれ約 8 % が A 、 D 、 R 、 S 、 T および Y であり、

9 3 位は、約 5 2 % が S 、それぞれ約 8 % が D 、 F 、 N 、 R 、 T および Y であり、

9 4 位は、約 5 5 % が S 、それぞれ約 9 % が W 、 E 、 R 、 Y および S であり、

9 5 位は、約 6 4 % が P 、それぞれ約 9 % が E 、 R 、 Y および S であり、約 8 % はアミ

ノ酸を含ます、

9 6 位は、約 5 5 % が L 、それぞれ約 9 % が E 、 R 、 P 、 Y および S であるライプラリ。

(項目 2 3 )

項目 2 1 に記載の L C C D R 2 の多様性をさらに含む、項目 2 0 に記載のライプラリ。

(項目 2 4 )

項目 2 2 に記載の L C C D R 3 の多様性をさらに含む、項目 2 0 に記載のライプラリ。

(項目 2 5 )

項目 2 2 に記載の L C C D R 3 の多様性をさらに含む、項目 2 1 に記載のライプラリ。

(項目 2 6 )

L C C D R 1 、 L C C D R 2 および L C C D R 3 の 1 つまたは複数において多様性を有する軽鎖をさらに含む、項目 1 ~ 1 9 のいずれかに記載のライプラリ。

(項目 2 7 )

項目 2 0 、 2 1 または 2 2 に記載の L C C D R 1 、 L C C D R 2 または L C C D R 3 をそれぞれ、またはそれらの組合せを含む、項目 2 6 に記載のライプラリ。

(項目 2 8 )

d o b b l i n g を含む、項目 1 から 2 7 のいずれか一項に記載のライプラリを調製する方法。

【0 0 0 6】

したがって、アミノ酸の配列多様性のみを含有するライプラリは、それらが、ライプラリが模倣しようとするペプチド、ポリペプチドまたはタンパク質の天然の多様性を反映しないという点で不利である。さらに、長さの多様性は、タンパク質、ペプチドまたはポリペプチドの最終的な機能性にとって重要であり得る。例えば、抗体領域を含むライプラリに関して、ライプラリの遺伝子パッケージにより提示される、提示および発現される、または含まれるペプチド、ポリペプチド、タンパク質の多くは、配列および長さ双方における多様性がライプラリに示されない場合、適切に折り畳むことができない、または抗原とのそれらの結合が不利であり得る。

【0 0 0 7】

ペプチド、ポリペプチドおよびタンパク質を提示する、提示および発現するまたは含む遺伝子パッケージのこのようなライプラリのさらなる不利な点は、天然発生の多様性に基づくそれらのメンバー、したがって、機能的である可能性が最も高く、免疫原性である可能性が最も低いメンバーに集中していないことである。どちらかと言えば、通常ライプラリは個々の C D R 位置に可能な限りすべての多様性または多彩性を含むように試みる。このことは、ライプラリ構築の時間を消費し、効率を必要より下げる。完全な多様性を獲得しようとする試みにより作製された多数のメンバーもまた、スクリーニングを必要以上に手間のかかるものにする。このことは、ライプラリの多くのメンバーが機能的でなくなり、または非特異的に付着性になる場合に特にあてはまる。

【0 0 0 8】

さらに、合成ライプラリの構築の苦労は免疫原性の問題である。例えば、すべての C D R 残基が T y r ( Y ) または S e r ( S ) のどちらかであるライプラリがある。これらのライプラリから選択された抗体 ( A b ) は、高い親和性および特異性を示すが、それらの非常にまれな組成はそれらを免疫原性にすることができる。本発明は、ヒト免疫系に十分由来することができ、したがって免疫原性である可能性の低い A b の作製を対象とする。本発明のライプラリは、 V - D - J または V - J の融合に由来する残基を可能な限り多く保有する。免疫原性の危険性を減少するために、フレームワークおよび C D R の双方の中の個々の非生殖系列アミノ酸の変化を、生殖系列アミノ酸に戻し、結合親和性を保有するために生殖系列からの変化が必要かどうかを決定することが賢明であり得る。したがって

、生殖系列に対する個々の変異位置にバイアスのかかったライプラリは、必要のない非生殖系列アミノ酸を有する A b の単離の可能性を減少させる。

【 0 0 0 9 】

A b は高分子タンパク質であり、さまざまな分解形態に供される。分解の一形態は、A s n および G l n 残基（特に A s n - G l y または G l n - G l y ）の脱アミドおよび A s p 残基の異性化である。分解の別の形態は、メチオニン、トリプトファンおよびシスティンの酸化である。分解の別の形態は、A s p - P r o ジペプチドの切断である。分解の別の形態は、N 末端の G l u または G l n からのピログルタミン酸の形成である。問題のある配列の発生を最小にしたライプラリを提供することが有利である。

【 0 0 1 0 】

約 3 アミノ酸長から約 3 5 アミノ酸長の間の重鎖（H C ） C D R 3 を含むヒト抗体の多様なファミリーのメンバーをコードするベクターまたはパッケージのライプラリを提供する。特定の実施形態において、H C C D R 3 もまた、T y r ( Y ) と S e r ( S ) とに富み、かつ / または多様化された D 領域を含み、かつ / または伸長された J H 領域を含むことができる。例えば、H C C D R 3 は、例えば本明細書中の実施例において提供するように、約 4 0 % を超える（例えば、約 4 3 % および約 8 0 % の間；例えば、約 4 0 % を超えるが約 1 0 0 % 未満）Y および / または S 残基を含有することができる。さらに、このような H C C D R 3 を含む集中的なライプラリも提供する。さらに、H C C D R 1 、H C C D R 2 の設計および C D R に多様性のある V K I I I A 2 7 のライプラリも提供する。本明細書に記載の H C C D R 3 を含むヒト抗体の多様なファミリーのメンバーをコードするベクターまたはパッケージのライプラリは、さらに H C C D R 1 、H C C D R 2 、L C C D R 1 、L C C D R 2 および L C C D R 3 の 1 つまたは複数（例えば、1 つ、2 つまたは 3 つにおいて）に多様性を有することができる。例えば、ライプラリは、本明細書に記載のように、H C C D R 1 、H C C D R 2 、L C C D R 1 、L C C D R 2 および L C C D R 3 の 1 つまたは複数（例えば、1 つ、2 つまたは 3 つにおいて）に多様性を有することができる。

【 0 0 1 1 】

多様化された D 領域は、1 つまたは複数のアミノ酸の変化が導入されている D 領域である（例えば、天然発生の D 領域の配列と比較して、例えば、終止コドンを T y r 残基に変化できる）。

【 0 0 1 2 】

伸長された J H 領域は、J H 領域のフレームワーク配列のアミノ末端に存在する、1 つまたは複数のアミノ酸残基を有する J H 領域である（例えば、F R 4 配列のアミノ末端、例えば、W G Q で始まる）。例えば、J H 1 は伸長された J H 領域である。他の例としては、J H 2 、J H 3 、J H 4 、J H 5 、および J H 6 が伸長された J H 領域である。

【 0 0 1 3 】

さらに、上記のライプラリを作製し、スクリーニングする方法およびこのようなスクリーニングにおいて得られた H C C D R 3 および抗体を提供する。これらの方針を実践する組成物およびキットもまた、本明細書に記載する。

【 0 0 1 4 】

一部の態様において、本開示は、ヒト抗体関連ペプチド、ポリペプチドおよびタンパク質の多様なファミリー（例えば、抗体の多様なファミリー）のメンバーを提示し、提示および発現し、または含み、ファミリーの多様性の少なくとも一部を集合的に提示し、提示および発現し、または含むベクターまたは遺伝子パッケージの集中的ライプラリを特徴とし、ベクターまたは遺伝子パッケージは、

- ( a ) 約 3 または約 4 または約 5 アミノ酸長である H C C D R 3 ；
- ( b ) 約 2 3 、約 2 4 、約 2 5 、約 2 6 、約 2 7 、約 2 8 、約 2 9 、約 3 0 、約 3 1 、約 3 2 、約 3 3 、約 3 4 または約 3 5 アミノ酸長の H C C D R 3 （例えば、約 2 3 から約 3 5 アミノ酸長）；および
- c ) 約 6 から約 2 0 アミノ酸長である H C C D R 3 （例えば、約 6 、約 7 、約 8 、約

9、約10、約11、約12、約13、約14、約15、約16、約17、約18、約19または約20アミノ酸長)

からなる群から選択される重鎖(HC)CDR3をコードする多彩化されたDNA配列を含み、HC CDR3は、D領域(例えば、多様化されたD領域)(またはそれらの断片(例えば、3アミノ酸以上のD領域、例えば多様化されたD領域))あるいはJH領域(例えば、伸長されたJH領域)由来のアミノ酸を含む。

#### 【0015】

一部の実施形態において、HC CDR3は、Tyr(Y)およびSer(S)に富んでいる(例えば、HC CDR3の残基の40%超がYおよび/またはSである)。

#### 【0016】

一部の実施形態において、ライブラリ(例えば、それらのベクターまたは遺伝子パッケージ)は、D領域またはD領域の断片(例えば、JH領域に隣接するD領域)を含む。

#### 【0017】

一部の実施形態において、ライブラリは、JH領域、例えば伸長されたJH領域を含む。

#### 【0018】

一部の実施形態において、HC CDR3は、D領域またはD領域の断片(例えば、JH領域に隣接するD領域)由来のアミノ酸を含む。

#### 【0019】

一部の実施形態において、D領域は、D2-2(RF2)、D2-8(RF2)、D2-15(RF2)、D2-21(RF2)、D3-16(RF2)、D3-22(RF2)、D3-3(RF-2)、D3-9(RF2)、D3-10(RF2)、D1-26(RF3)、D4-11(RF2)、D4-4(RF2)、D5-5(RF3)、D5-12(RF3)、D5-18(RF3)、D6-6(RF1)、D6-13(RF1)およびD6-19(RF1)からなる群から選択される。

#### 【0020】

一部の実施形態において、HC CDR3は、JH領域由来のアミノ酸を含む。JH領域は、伸長されたJH領域であってよい。一部の実施形態において、伸長されたJH領域は、JH1、JH2、JH3、JH4、JH5およびJH6からなる群から選択される。一部の実施形態において、JH領域は、Yおよび/またはS残基に富んでいてよく、例えば、約40%を超える(例えば、約43%および約80%の間;例えば、約40%を超えるが約100%未満)Yおよび/またはS残基を含有することができる。

#### 【0021】

一部の実施形態において、D領域は1つまたは複数のシステイン(Cys)残基を含み、一部の実施形態において、1つまたは複数のCys残基は一定に保たれている(例えば変化しない)。

#### 【0022】

一部の実施形態において、HC CDR3(例えば、HC CDR3をコードするDNA)は、FR3とD領域との間の、1つまたは複数のフィラー(filler)コドンを含み、個々のフィラーコドンは、個別にNNK、TMY、TMTまたはTMC(TMY、TMTまたはTMCはSまたはYをコードする)である。

#### 【0023】

一部の実施形態において、HC CDR3(例えば、HC CDR3をコードするDNA)は、D領域とJHとの間の、1つまたは複数のフィラーコドンを含み、個々のフィラーコドンは、個別にNNK、TMY、TMTまたはTMCである。

#### 【0024】

一部の実施形態において、ライブラリ(例えば、ライブラリのベクターまたは遺伝子パッケージ)は、HC CDR1、HC CDR2、および/または軽鎖をさらに含み、HC CDR1、HC CDR2に多様性もまた含み、あるいは軽鎖はHC CDR1および/またはHC CDR2および/または軽鎖(例えば、または軽鎖)において多様

性（それぞれ）を含む。例えば、H C C D R 3 の多様性は、H C C D R 1、H C C D R 2 および／または軽鎖中の多様性のバックグラウンドに構築できる。例えば、軽鎖の多様性は、H C の多様性と同じDNA分子中にコードでき、あるいはL C およびH C の多様性は、別々のDNA分子中にコードできる。

#### 【0025】

一部の態様において、本開示は、3、4または5アミノ酸長であるH C C D R 3 を含むライプラリを特徴とし、C D R 3 は、J H 領域（例えば、伸長されたJ H 領域）由来、またはJ H 領域のF R 4 部分に接合したD 領域（例えば、多様化されたD 領域）（またはそれらの断片（例えば3アミノ酸以上のD 領域、例えば多様化されたD 領域））由来のアミノ酸を含む。

#### 【0026】

一部の実施形態において、H C C D R 3 は、J H 領域のF R 4 部分に接合したD 領域に由来し、三量体、四量体または五量体を含み、この三量体、四量体または五量体はシステイン残基を含まない。

#### 【0027】

一部の実施形態において、H C C D R 3 は、J H 領域のF R 4 部分に接合したD 領域に由来し、三量体、四量体または五量体を含み、この三量体、四量体または五量体は終止コドンを含まない。

#### 【0028】

一部の実施形態において、D 領域（例えば、D 領域をコードするDNA）は、T A G コドンを含み、T A G コドンはT C G、T T G、T G G、C A G、A A G、T A T およびG A G からなる群から選択されるコドンによって置き換えられる。

#### 【0029】

一部の実施形態において、D 領域（例えば、D 領域をコードするDNA）は、T A A コドンを含み、T A A コドンはT C A、T T A、C A A、A A A、T A T およびG A A からなる群から選択されるコドンによって置き換えられる。

#### 【0030】

一部の実施形態において、D 領域（例えば、D 領域をコードするDNA）は、T G A コドンを含み、T G A コドンはT G G、T C A、T T A、A G A、およびG G A からなる群から選択されるコドンによって置き換えられる。

#### 【0031】

一部の実施形態において、ライプラリは、H C C D R 1 および／またはH C C D R 2 および／または軽鎖（例えば、または軽鎖）において多様性をさらに含む。例えば、H C C D R 3 の多様性は、H C C D R 1、H C C D R 2 および／または軽鎖中の多様性のバックグラウンドに構築できる。例えば、軽鎖の多様性は、H C の多様性と同じDNA分子中にコードでき、あるいはL C およびH C の多様性は、別々のDNA分子中にコードできる。

#### 【0032】

一部の態様において、本開示は、ライプラリを多様化する方法を提供し、この方法は本明細書に記載のライプラリを突然変異化するステップを含む。

#### 【0033】

一部の実施形態において、突然変異化はエラープローンP C R を含む。

#### 【0034】

一部の実施形態において、突然変異化はw o b b l i n g を含む。

#### 【0035】

一部の実施形態において、突然変異化はd o b b l i n g を含む。

#### 【0036】

一部の実施形態において、突然変異化は、平均約1から約10の突然変異（例えば、約1、約2、約3、約4、約5、約6、約7、約8、約9、約10の突然変異、例えば塩基変化）／H C C D R 3 を導入する。

## 【0037】

「w o b b l i n g」は、元の配列が好ましいように、多彩化されたDNAを作製する方法である。例えば元の配列が、G C Tによりコードされ得るA l aを有する場合、混合物(0.7G、0.1A、0.1T、0.1C)を1番目の位置に、(0.7C、0.1A、0.1T、0.1G)を2番目の位置に、(0.7T、0.1A、0.1G、0.1C)を3番目の位置に使用できる。「d o p i n g」の他の比率も使用できる。このことは、A l aを約50%の確率で出現させることができ、一方V、D、G、T、PおよびSは約7%の確率で生じる。他のA A型はさらに低い頻度で生じる。

## 【0038】

一部の態様において、本開示は、例えば、(精製された)H C C D R 1 ~ 2のレパートリーを維持し、合成H C C D R 3およびL Cの多様性を構築するために描かれる。

## 【0039】

一部の実施形態において、本開示は、w o b b l i n gされた重鎖(H C)C D R 3を提示するためのカセットを提供し、例えばこのカセットは、表400に示すカセットを含む。

## 【0040】

一部の態様において、本開示は、H C C D R 3においてT y rのレベルが調節されたライブラリを特徴とする。一部の実施形態において、H C C D R 3領域は、約15%またはそれを超える(例えば、約16%、約18%、約20%またはそれを超える)T y r残基を含有する。一部の実施形態において、高レベル(例えば、約20%より多い)のT y rが、例えば、T y rを含有するD領域およびJ s t u m p(またはそれらに相当する合成配列)において、ライブラリメンバーのH C C D R 3に挿入される。一部の実施形態において、リードイン位置またはD J フィラー位置(またはそれらに相当する合成配列)において、T y rが許容されるが、20%以下である。一部の実施形態において、H C C D R 3領域は、約15%未満(例えば、約14%、約12%、約10%、約8%、約6%またはそれより少ない)のT y r残基を含有する。一部の実施形態において、H Cリードイン位置またはD J フィラー位置(またはそれらに相当する合成配列)は、約15%未満(例えば、約14%、約12%、約10%、約8%、約6%またはそれより少ない)のT y r残基を含有する。

## 【0041】

一部の態様において、本開示は、ヒト抗体重鎖をコードする遺伝子パッケージのライブラリを特徴とし、このライブラリにおいて、親アミノ酸配列は、V H配列、続いて(Y、S、D、L、R)からなる群から選択される0から10個のアミノ酸、続いてヒトD領域またはD領域の断片、続いて(Y、S、R、D、L)からなる群から選択される0から10個のアミノ酸、続いて少なくともW103を前方に含むJ Hセグメントを含み、この配列をコードする可変DNAが、親アミノ酸配列が最も可能性の高い配列となるように(例えばw o b b l i n gにより)合成される。

## 【0042】

一部の態様において、本開示は、生殖系列フレームワーク領域を有する軽鎖のライブラリを特徴とし、C D Rは、残基が結合部位から離れるように、または一定に保たれる埋もれた側基を有するように変化する。一部の実施形態において、可変DNA合成の方法は、生殖系列配列が最も可能性のある配列となるように(例えばw o b b l i n gにより)使用される。

## 【0043】

一部の態様において、本開示は、本明細書に開示されるような抗原結合可変領域をコードする多様なメンバーのライブラリを特徴とする。

## 【0044】

一部の態様において、本開示は、本明細書に開示されるようなH C C D R 3領域をコードする多様なメンバーのライブラリを特徴とする。一部の実施形態において、このライブラリは表1097のライブラリである。

## 【0045】

一部の態様において、本開示は多様なメンバーのライブラリを特徴とし、個々のメンバーは H C C D R 3 をコードし、

H D C R 3 中の少なくとも 1、2、3、4、5、6、7、または 8 位は、ライブラリにおいて、それぞれ G、S、R、D、L、および Y によって、[ 1 . 0 G、. 5 7 S、. 4 6 R、. 4 2 D、. 3 6 L、. 3 5 Y ] の割合で占められ、場合によって、

H C C D R 3 の最後の 4 位は以下のように示される：

親アミノ酸は、他のアミノ酸型より 3、4、5、6、7、8、10 倍の確率で存在し、他のアミノ酸型は Y、S、D、R、G を含む。

## 【0046】

一部の態様において、本開示は多様なメンバーのライブラリを特徴とし、個々のメンバーは H C C D R 3 をコードし、

H C C D R 3 の最初の 1、2、3、4、5、6、7 または 8 位の少なくとも 1 つ、好ましくはすべてが、ライブラリにおいて、[ 1 . 0 G、. 5 7 S、. 4 6 R、. 4 2 D、. 3 6 L、. 3 5 Y ] の割合で G、S、R、D、L および Y に占められ、場合によって

H C D R 3 の最後の 4 位は、以下のように示される：

親アミノ酸は、他のアミノ酸型より 3、4、5、6、7、8、10 倍の確率で存在し、他のアミノ酸型は Y、S、D、R、G を含む。

## 【0047】

一部の態様において、本開示は多様なメンバーのライブラリを特徴とし、個々のメンバーは H C C D R 3 をコードし、

H C C D R 3 の長さは 10、11 または 12 位であり、

H C C D R 3 の最初の 6、7 または 8 位はそれぞれ、ライブラリにおいて、[ 1 . 0 G、. 5 7 S、. 4 6 R、. 4 2 D、. 3 6 L、. 3 5 Y ] の割合で、G、S、R、D、L および Y で占められ、

H C D R 3 の最後の 4 位は以下のように示される：

親アミノ酸は、他のアミノ酸型より 3、4、5、6、7、8、10 倍の確率で存在し、他のアミノ酸型は Y、S、D、R、G を含む。

## 【0048】

一部の実施形態において、H C C D R 3 の最後の 4 位は個々に、ライブラリにおいて、7 / 12 が親、ならびに Y、S、D、R および G が個々に 1 / 12 で示される。

## 【0049】

一部の実施形態において、H C C D R 3 の最後の 4 位は個々に、ライブラリにおいて、A 6 = 7 / 12 A ならびに Y、S、D、R および G が個々に 1 / 12；F 7 = 7 / 12 F ならびに Y、S、D、R および G が個々に 1 / 12；D 8 = 7 / 11 D ならびに Y、S、R および G が個々に 1 / 11；I 9 = 7 / 12 I ならびに Y、S、R、D および G が個々に 1 / 12 で示される。

## 【0050】

一部の実施形態において、メンバーは H C C D R 1、H C C D R 2 をさらにコードする。

## 【0051】

一部の実施形態において、メンバーは、F フレームワーク (F R) 領域 1 ~ 4 をさらにコードする。

## 【0052】

一部の実施形態において、メンバーは、H C C D R 1、H C C D R 2 および F R 領域 1 ~ 4 をコードする。

## 【0053】

一部の実施形態において、メンバーは、3 - 2 3 の H C フレームワークを含む。

## 【0054】

一部の実施形態において、ライブラリは、L C 可変領域をさらに含む。

**【 0 0 5 5 】**

一部の実施形態において、ライプラリは、多様な L C 可変領域をコードするメンバーを含む。

**【 0 0 5 6 】**

一部の実施形態において、 L C 可変領域を含むメンバーは、 A 2 7 L C フレームワークを含む。

**【 0 0 5 7 】**

一部の実施形態において、ライプラリは、ディスプレイライプラリ、例えば、ファージディスプレイライプラリである。

**【 0 0 5 8 】**

一部の実施形態において、ライプラリは、少なくとも  $10^4$  、  $10^5$  、  $10^6$  、  $10^7$  、  $10^8$  、  $10^9$  、  $10^{10}$  、  $10^{11}$  の多様なメンバーを有する。

**【 0 0 5 9 】**

一部の態様において、本開示は、本明細書に記載のライプラリと標的を接触させるステップ、メンバーと前記標的とを結合させるステップ、および標的を結合したメンバーを回収するステップを含む、ライプラリメンバーを選択する方法を特徴とする。

**【 0 0 6 0 】**

本発明のこれらの実施形態、他の実施形態およびそれらの特徴および特性は、以下の説明、図面および特許請求の範囲から明らかになるであろう。

**【 発明を実施するための形態】****【 0 0 6 1 】****( 詳細な説明 )**

抗体（「 A b 」）は、それらの多様性を、特定の標的に対する A b の親和性および特異性の決定に関する領域に集中する。これらの領域は、配列および長さにおいて多様であってよい。一般的に、それらは双方の点において多様である。しかし、ヒト抗体のファミリーにおいて、配列および長さ双方における多様性は、真にランダムではない。むしろ、一部のアミノ酸残基は、 C D R の特定の位置において好ましく、一部の C D R の長さが好ましい。これらの好ましい多様性は、抗体ファミリーの天然の多様性に相当する。

**【 0 0 6 2 】**

本発明によれば、また以下でさらに十分に説明するように、約 3 から約 3 5 の間のアミノ酸長である重鎖（ H C ） C D R 3 を含むヒト抗体の多様なファミリーのメンバーをコードする、ベクターおよび遺伝子パッケージのライプラリを調製し使用できる。特定の実施形態において、 H C C D R 3 はさらに、 Y と S とに富んでいてよく、かつ / または多様化された D 領域を含んでよい。このような H C C D R 3 を含む集中的ライプラリをさらに提供する。

**【 0 0 6 3 】**

免疫細胞が抗体重鎖を構築する場合、免疫細胞は、 V セグメントを D セグメントに接続し、それを J セグメントに接続する。 D セグメントは任意選択であり、ヒト A b の約 5 0 % は認識可能な D を有する。この細胞は、ジャンクション部位（ V と D 、 D と J または V と J ）において、塩基の除去および付加双方の多数の編集を実施できるが、必ずしもランダムではない。最初に再構成された抗体は、細胞の表面に提示され、抗原（ A g ）と結合する場合、細胞は刺激され、親和性を改善するために体細胞突然変異を実施する。免疫グロブリン生殖系列遺伝子中にコードされるホットスポットがあり、その結果 A b 遺伝子の特定の場所が、持続性 A g に対する優れたバインダーを探し求めて特定のセットの突然変異を起こす可能性が非常に高い。実際には、突然変異の一部はフレームワーク位置にあるが、大部分は相補性決定領域（ C D R ）にある。高度な配列多様性を占めすだけでなく、長さの多様性も示すので、重鎖（ H C ）の C D R 3 が特に興味がある。 C D R がランダムな D N A で置き換えられた抗体（ A b ）ライプラリが構築されており、有用な A b が得られている。しかし、一部の治療用 A b は有意な程度の抗原性を示す。ヒト生殖系列に近い A b が低抗原性であり得る。

## 【0064】

## 定義

便宜上、本発明のさらなる説明の前に、本明細書、実施例および添付の特許請求の範囲に用いた特定の用語をここで定義する。

## 【0065】

単数形の「a」、「an」および「the」は、文脈が明らかにそうでないと指示しない限り、複数に対する言及を含む。

## 【0066】

「親和性」または「結合親和性」という用語は、見かけ上の結合定数すなわち  $K_a$  を指す。 $K_a$  は、解離定数 ( $K_d$ ) の逆数である。結合タンパク質は、例えば、特定の標的分子に対して、少なくとも  $10^5$ 、 $10^6$ 、 $10^7$ 、 $10^8$ 、 $10^9$ 、 $10^{10}$  および  $10^{11} \text{ M}^{-1}$  の結合親和性を有することができる。第2の標的と比較して第1の標的に対する結合タンパク質の結合親和性がより高いことは、第2の標的への結合に関する  $K_A$  (または数値  $K_D$ ) より第1の標的への結合に関する  $K_A$  (または数値  $K_D$  がより小さい) がより高いことにより示すことができる。このような場合、結合タンパク質は、第2の標的 (例えば、第2の立体配座中の同じタンパク質またはそれらの模倣体あるいは第2のタンパク質) と比較して、第1の標的 (例えば、第1の立体配座のタンパク質またはそれらの模倣体) に関して特異性を有する。結合親和性の差 (例えば、特異性または他の比較に関して) は、少なくとも 1.5、2、3、4、5、10、15、20、37.5、50、70、80、91、100、500、1000 または  $10^5$  倍であり得る。

## 【0067】

結合親和性は、平衡透析、平衡結合、ゲルろ過、ELISA、表面プラズモン共鳴または分光法 (例えば、蛍光測定を使用して) を含むさまざまな方法により決定できる。結合親和性を評価するための例示的な条件は、TRIS緩液 (50 mMのTRIS、150 mMのNaCl、5 mMのCaCl<sub>2</sub>、pH 7.5) 中である。これらの技術は、結合タンパク質 (または標的) の濃度の関数として、結合しているタンパク質および遊離の結合タンパク質の濃度を測定するために使用できる。結合された結合タンパク質 ([Bound]) の濃度は、遊離の結合タンパク質 ([Free]) の濃度および標的上の結合タンパク質の結合部位の濃度に関連し、以下の方程式：

$$[Bound] = N \cdot [Free] / ((1/K_A) + [Free])$$

において、(N) は結合部位の数 / 標的分子である。

## 【0068】

必ずしも  $K_A$  を正確に決定する必要はないが、これは、時として、ELISA または FACS 分析などの方法を使用して決定される、親和性の定量的測定値を得ることで十分であるからであり、その測定値は  $K_A$  に比例し、したがって比較、例えば、より高い親和性が例えば 2 倍高いかどうかの決定に使用して、例えば、機能アッセイ、例えばインピトロまたはインピボアッセイにおける活性により、親和性の定性的測定値を得、または親和性の推定値を得ることができる。

## 【0069】

「抗体」という用語は、少なくとも 1 つの免疫グロブリン可変ドメインまたは免疫グロブリン可変ドメイン配列を含むタンパク質を指す。例えば、抗体は、重 (H) 鎖可変領域 (本明細書において VH と略記する) および軽 (L) 鎖可変領域 (本明細書において VL と略記する) を含むことができる。別の実施例において、抗体は、2 つの重 (H) 鎖可変領域および 2 つの軽 (L) 鎖可変領域を含む。重鎖および軽鎖は、それぞれさらに HC および LC と略記してもよい。「抗体」という用語は、抗体の抗原結合断片 (例えば、一本鎖抗体、Fab および sFab 断片、F(ab')<sub>2</sub>、Fd 断片、Fv 断片、scFv およびドメイン抗体 (dAb) 断片 (de Wildt ら、Eur J Immunol. 1996 年; 26 卷 (3 号) : 629 ~ 39 頁)) および完全抗体を包含する。抗体は、IgA、IgG、IgE、IgD、IgM (およびそれらのサブタイプ) の構造的特徴を有することができる。抗体は任意の供給源由来でよいが、靈長類 (ヒトおよび非ヒト

靈長類) および靈長類化されたものが好ましい。

【0070】

VH および VL 領域は、「フレームワーク領域」(「FR」)と呼ばれる、より保存された領域に散在する、「相補性決定領域」(「CDR」)と呼ばれる超可変性の領域にさらに細かく分けることができる。フレームワーク領域および CDR の範囲は、厳密に定義されている(Kabat, E. A., ら、(1991年) Sequences of Proteins of Immunological Interest、第5版、U.S. Department of Health and Human Services、NIH Publication 91巻3242頁および Chothia, C. ら、(1987年) J. Mol. Biol. 196巻: 901~917頁を、さらに www.hgmp.mrc.ac.uk を参照されたい)。Kabat の定義を本明細書において使用する。VH および VL は個々に、3つの CDR および 4 つの FR により通常構成され、以下の順でアミノ末端からカルボキシ末端に配置されている: FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。

【0071】

抗体の VH または VL 鎖は、重鎖または軽鎖の定常領域のすべてまたは一部をさらに含むことができ、その結果免疫グロブリンの重鎖または軽鎖をそれぞれ形成する。一実施形態において、抗体は、2つの免疫グロブリン重鎖および2つの免疫グロブリン軽鎖の四量体であり、免疫グロブリンの重鎖および軽鎖は、例えばジスルフィド結合により相互接続している。IgGにおいて、重鎖定常領域は3つの免疫グロブリンドメイン、CH1、CH2 および CH3 を含む。軽鎖定常領域は、CL ドメインを含む。重鎖および軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含有する。抗体の定常領域は、通常抗体と、宿主組織または免疫系のさまざまな細胞(例えば、エフェクター細胞)および古典的補体系の第1成分(C1q)を含む因子との結合を媒介する。免疫グロブリンの軽鎖は、または型であり得る。一実施形態において、抗体はグリコシリ化される。抗体は、抗体依存性細胞障害作用および/または補体媒介性細胞障害作用に対して機能性であり得る。

【0072】

抗体の1つまたは複数の領域は、ヒトまたは有効にヒトであり得る。例えば、可変領域の1つまたは複数は、ヒトまたは有効にヒトであり得る。例えば、CDR、例えば HC CDR1、HC CDR2、HC CDR3、LC CDR1、LC CDR2 および LC CDR3 の1つまたは複数は、ヒトであり得る。個々の軽鎖 CDR は、ヒトであり得る。HC CDR3 はヒトであり得る。フレームワーク領域、例えば HC または LC の FR1、FR2、FR3 および FR4 の1つまたは複数は、ヒトであり得る。例えば、Fc 領域はヒトであり得る。一実施形態において、すべてのフレームワーク領域は、ヒト、例えばヒト細胞、例えば、免疫グロブリンを産生する造血細胞または非造血細胞に由来する。一実施形態において、ヒト配列は、例えば生殖系列核酸によりコードされる生殖系列配列である。一実施形態において、選択された Fab のフレームワーク(FR) 残基は、最も類似した靈長類生殖系列遺伝子、特にヒト生殖系列遺伝子中の対応する残基のアミノ酸型に変換され得る。定常領域の1つまたは複数は、ヒトまたは有効にヒトであり得る。例えば、免疫グロブリン可変ドメイン、定常領域、定常ドメイン(CH1、CH2、CH3、CL)あるいは完全抗体の少なくとも 70、75、80、85、90、92、95、98 または 100%、は、ヒトまたは有効にヒトであり得る。

【0073】

抗体のすべてまたは一部は、免疫グロブリン遺伝子またはそれらのセグメントによりコードされ得る。例示的なヒト免疫グロブリン遺伝子は、<sup>1</sup> および (IgA1 および IgA2)、<sup>2</sup> (IgG1、IgG2、IgG3、IgG4)、<sup>3</sup> および  $\mu$  の定常領域遺伝子ならびに多くの免疫グロブリン可変領域遺伝子を含む。完全長免疫グロブリンの「軽鎖」(約 25 KDa または約 214 アミノ酸)は、NH2 末端において可変領域遺伝子(約 110 アミノ酸)により、COOH 末端において または 定常領域遺伝子によりコードされる。完全長免疫グロブリンの「重鎖」(約 50 KDa または約 446 アミノ酸

)は、可変領域遺伝子(約116アミノ酸)および他の前述の定常領域遺伝子の1つ、例えば(約330アミノ酸をコードする)により、同様にコードされる。ヒトHCの長さは、H C C D R 3が約3アミノ酸残基から35アミノ酸残基超にわたって変化するので、大幅に変化する。

#### 【0074】

本明細書において、「Dセグメント」および「D領域」という用語は、交換可能に用いられ、同一である。これらの要素は、DNAおよびアミノ酸の双方の表現を有し、その意味するところは文脈から明らかであることは理解されるべきである。

#### 【0075】

「ライプラリ」または「ディスプレイライプラリ」は、ヌクレオチド、例えばDNA、クローン内の配列のコレクション、または個別のポリペプチドまたはポリペプチドの混合集団を提供するために選択またはスクリーニングできる、複製可能なディスプレイパッケージに提示されたポリペプチドの遺伝子的に多様なコレクションを指す。

#### 【0076】

本明細書において使用する「パッケージ」という用語は、粒子がその表面にポリペプチドを提示している、複製可能な遺伝子ディスプレイパッケージを指す。このパッケージは、その表面に抗原結合ドメインを提示するバクテリオファージであってよい。この型のパッケージは、ファージ抗体(pAb)と呼ばれている。

#### 【0077】

「所定の標的」は、任意の開示された方法において、その使用に先だって同一性が既に公知である標的分子を指す。

#### 【0078】

本明細書において使用する「複製可能なディスプレイパッケージ」という用語は、複製能力を有する粒子を提供する遺伝子情報を有する生物学的粒子を指す。この粒子はその表面にポリペプチドの少なくとも一部を提示できる。このポリペプチドは、この粒子にネイティブな遺伝子情報および/または粒子内に人工的に配置された遺伝子情報あるいはその原型によりコードされ得る。提示されたポリペプチドは、特異的結合対、例えば、免疫グロブリン分子、酵素または受容体などに基づく重鎖または軽鎖ドメインの任意のメンバーであってよい。この粒子は、例えば、ウィルス、例えば、fdまたはM13などのバクテリオファージであってよい。

#### 【0079】

「ベクター」という用語は、遺伝子が挿入され、組み換えDNA分子を構築する、宿主生命体中で複製可能なDNA分子を指す。「ファージベクター」は、バクテリオファージに関する複製起点を含有するが、プラスミドに関する複製起点を含有しない、ファージゲノムの改変に由来するベクターである。「ファージミドベクター」は、バクテリオファージに関する複製起点およびプラスミドの複製起点を含有する、プラスミドゲノムの改変に由来するベクターである。

#### 【0080】

オリゴヌクレオチドの議論において、「[RC]」の表記は、示したオリゴヌクレオチドの逆相補体が、使用したオリゴヌクレオチドであることを示す。

#### 【0081】

##### ヒト抗体重鎖CDR3

重鎖(「HC」)生殖系列遺伝子(GLG)3-23(VP-47としても公知)は、全ヒトAbの約12%を占め、本発明の好ましい実施形態においてフレームワークとして好ましい。しかし、他の周知のフレームワーク、例えば4-34、3-30、3-30.3および4-30.1も、本発明の集中的多様性の原理から逸脱することなく使用できることを理解するべきである。

#### 【0082】

加えて、

#### 【0083】

【化1】

JH4 (YEDYW<sub>103</sub>**GQGTLTVSS** (配列番号1))

は、ネイティブ抗体中のJH3より頻繁に現れる。したがって、JH4は本発明の集中的ライブラリにとって好ましい。しかし、

【0084】

【化2】

JH3 (AFDIW<sub>103</sub>**GQGTMVTVSS** (配列番号2)), JH6

(YYYYYGM<sub>103</sub>**DYW**<sub>103</sub>**GQGTTVTVSS** (配列番号3)),

、JH1、JH2またはJH5も同様に使用できる。JH2は、すべての他のヒトJHにおいてQGの代わりに105-106にRGを有する有利性を有する。JH3は、M<sub>108</sub>の不利を有する。少なくとも1つの標的に対してELISA陽性であった1419のAbのコレクションにおいて、本発明者らは、17のJH1、31のJH2、452のJH3、636のJH4、32のJH5および251のJH6を見出した。存在するのであれば、JHの二重下線部分は、CDR3の一部であると考えられる。表3において、JHのFR4部分は、下線を引いてある。

【0085】

これらの1419のAbのHC CDR3に出現する個々のアミノ酸の頻度を、表75に一覧にし、記録した。最も一般的なアミノ酸は、順番に Tyr と Gly 、 Asp 、 Ser および Arg であったことに留意されたい。 Rel . Up は、最もまれな Cys と比較した個々の型の相対存在量である。 Rel . Down は、最も一般的な Tyr と比較した個々の型の存在量である。したがって、HC CDR3内に置換する好ましいアミノ酸型は、Y 、 G 、 D 、 S およびRである。

【0086】

必然的に、HC CDR3は長さが変わる。ヒトHCの約半分は、成分：V : : n z : : D : : n y : : JHn からなり、VはV遺伝子であり、n zは、本質的にランダムな一連の塩基であり、Dは、多くの場合双方の末端で大量の編集があるDセグメントであり、n yは、本質的にランダムな一連の塩基であり、JHnは、多くの場合、5'末端で大量の編集がある6つのJHセグメントの1つである。Dセグメントは、IgGを折り畳ませるスペーサーセグメントを提供するために出現する。最も大きい多様性は、VとDおよびDとJHのジャンクションにおいてある。

【0087】

Corbettら、(Corbett SJ, Tomlinson IM, Sonnhammer EL, Buck D, Winter G, J Mol Biol. 1997年V270巻: 587~97頁)は、ヒト免疫系は、複数のDセグメントおよび組み換えられたDセグメントを挿入しないことを示した。それにもかかわらず、Dセグメントは、HC CDR3の優れた成分として選択されており、本発明は、複数のDセグメントを含有するHC CDR3を含む。

【0088】

ヒトDセグメントは、いくつかの非常に強いバイアスを有する。ヒトDセグメントにおける522のアミノ酸の集計は、Yが70(13.4%)、Lが63(12.1%)、Vが52(10%)、Gが49(9.4%)、Iが41(7.9%)、Tが40(7.7%)、Sが33(6.3%)、Wが27(5.2%)、Dが21(4%)、Aが19(3.6%)、Rが16(3.1%)、TAGが15(2.9%)、Nが14(2.7%)、Qが11(2.1%)、Cが9(1.7%)、Eが9(1.7%)、Fが8(1.5%)、Mが8(1.5%)、TGAが8(1.5%)、TAAが7(1.3%)、Pが1(0.2%)、Hが1(0.2%)、およびKが0(0%)である。不対のCysを有し、さらにTGA終止コドンを有する、1つのD(2-8 RF1)があり、あまり使用されない。したがって、Dセグメントは、主に疎水性である。ヒトHC CDR3におけるアミノ

酸の頻度を、表75に示す。頻度には、類似点および相違点の双方がある。H C C D R 3全体において、T y r は最も一般的であり、G l y だけがそれに近い(T y r の96%一般的)。A s p (T y r の75%一般的)、S e r (T y r の53%一般的)、L e u 、V a l およびI l e は、すべてのDセグメントが等しいとして数えた場合、Dセグメントにおいて比較的一般的である。免疫系は、Dセグメントと同じ頻度で使用しない。表77は、Dセグメントの利用頻度を示す。しばしば使用されるDセグメントは、T y r 、G l y 、S e r およびA s p に非常に富んでいる。A r g は、最も多く使用されるDセグメントには見出されず、A r g は、J Hセグメントの任意のC D R部分にもコードされない。A r g は、V 、D およびJ の突然変異により、またはV およびD 、D およびJ またはV およびJ の間のフィラー領域においてのどちらかで優勢になる。このサンプルにおいて、全アミノ酸の50%は、T y r 、G l y 、A s p 、S e r またはA r g である。本発明の一実施形態において、「親」H C C D R 3配列の置換は、T y r 、G l y 、S e r 、A s p およびA r g からなるアミノ酸のセットに限定される。本発明の一実施形態において、A r g は、V およびD の間、D およびJ の間またはV およびJ の間のフィラー領域において一般的である。

#### 【0089】

本発明の好ましいライブリにおいて、両方の型のH C C D R 3を使用する。特定可能なDセグメントを有さないH C C D R 3において、構造は、V : : n z : : J H n (n = 1, 6)であり、J Hは5'末端において通常編集されている。特定可能なDセグメントを有するH C C D R 3において、構造はV : : n z : : D : : n y : : J H n である。

#### 【0090】

本明細書において、約3から約35アミノ酸長の間のH C C D R 3を提供する。特定の実施形態において、H C C D R 3は、YとSとに富んでいる、および/またはD領域が存在する場合、多様化されたD領域を含むことができる。例えば、H C C D R 3は約43%および約80%間の、例えば、約43%、約48%、約69%、約63%、約71%、約62%、約58%、約68%、約80%、約77%のYおよび/またはS残基を含むことができ、あるいは残基の約40%より多く、または約40%から約100%未満はYおよび/またはSである。例えば、C D R 3中のすべての残基がYおよび/またはSではない。特定の実施形態において、H C C D R 3は、伸長されたJ H領域を含むことができる。本発明の好ましいライブリの例示的なH C C D R 3成分設計を、実施例1、2および3に示し、説明する。

#### 【0091】

一部の実施形態において、(例えばC D R 例えはH C C D R 3またはフレームワーク領域(例えばC D R 、例えばC D R 3、例えばH C C D R 3に近いまたは隣接するフレームワーク領域)における)多様性は、平均して約1、約2、約3、約4、約5、約6、約7、約8、約9、約10、または約1から約10の突然変異(例えば塩基の変化)/例えばC D R (例えばH C C D R 3)またはフレームワーク領域(C D R 、例えばC D R 3、例えばH C C D R 3に近いまたは隣接するフレームワーク領域)を創製するために生成される。いくつかの実践形態において、突然変異誘発は、公知の領域または結合界面において可能性の高い領域を標的にする。さらに、突然変異誘発は、C D R に近いまたは隣接するフレームワーク領域を対象とできる。抗体の場合、突然変異誘発は、例えば、精密な段階的な改善を起こすためにC D R の1つまたはいくつかにも限定され得る。同様に、特定されたリガンドが酵素である場合、突然変異誘発は、活性部位および周辺に結合できる抗体を提供できる。特定の実施形態において、C D R またはフレームワーク領域(例えば、本明細書に記載のH C C D R 3)を、エラーブローンP C Rに供し、多様性を生成することができる。この手法は、「スロッピー(s l o p p y)」型のP C Rを使用し、「スロッピー(s l o p p y)」型のP C Rにおいて、ポリメラーゼは非常に高いエラー率(最大2%)を有し、野生型配列を增幅し、P r i t c h a r d l a 、(2005年)J. Theor. Biol. 234巻: 497~509頁およびLeungら、

(1989年) *Technique* 1巻: 11~15頁に一般的に記載されている。他の例示的な突然変異誘発技術は、ランダムな切断を使用するDNAシャッフリング(Stepper(1994年) *Nature* 389~391頁; 「核酸シャッフリング」と呼ばれる)、RACHITT(商標)(Cocoら、(2001年) *Nature Biotech.* 19巻: 354頁)、部位特異性突然変異誘発(Zollerら、(1987年) *Nucleic Acids Res.* 10巻: 6487~6504頁)、カセット突然変異誘発(Reidhaar-Olson(1991年) *Methods Enzymol.* 208巻: 564~586頁)および縮重オリゴスクレオチドの組み込み(Griffithsら、(1994年) *EMBO J.* 13巻: 3245頁)を含む。

## 【0092】

本発明の一部の実施形態において、残基の大部分がSerまたはThrのどちらかであるDセグメントを選択する。一部の実施形態において、D領域をコードするDNAを合成する場合、個々のSerまたはThr残基は、コードされたアミノ酸がSerまたはThrのどちらかであるように、TMT、TMCまたはTMYにより、コードされる。

## 【0093】

一部の実施形態において、本明細書に記載のHC CDR3配列を、対象となるHC CDR3をインフレームでコードする配列と、抗生物質耐性遺伝子、例えばKan<sup>R</sup>遺伝子とを融合するステップおよびカナマイシン耐性に関して選択するステップにより、オープンリーディングフレームに関する選択に供することができる。CDR3が終止コドンまたはフレームシフトを有する可能性のある細胞は、抗生物質耐性を有さず、その配列は除去される。

## 【0094】

ヒト抗体重鎖CDR3を含むライブラリの構築方法およびヒト抗体重鎖CDR3を含むライブラリ。

## 【0095】

抗体ライブラリは、少なくとも1つの免疫グロブリン可変ドメイン配列を有するタンパク質を含む、タンパク質のコレクションである。例えば、ラクダ化(camelize)可変ドメイン(例えば、VHドメイン)は、唯一の免疫グロブリン可変ドメイン配列を含むタンパク質のライブラリのための足場として使用できる。別の実施例において、タンパク質は、対になり得る2つの可変ドメイン配列、例えばVHおよびVLドメインを含む。抗体ライブラリは、抗体コーディング配列を含む、例えば、本明細書において提供されるHC CDR3をコードする配列を含む核酸ライブラリから調製できる(抗体コーディングライブラリ)。

## 【0096】

ディスプレイライブラリを使用する場合、抗体コーディングライブラリの個々のメンバーは、コードする抗体を伴うことができる。ファージディスプレイの場合、抗体タンパク質は、ファージでコートされたタンパク質を(直接的または間接的に)物理的に伴う。代表的な抗体ディスプレイライブラリのメンバーは、VHドメインおよびVLドメインを含むポリペプチドを提示する。ディスプレイライブラリのメンバーは、Fab断片(例えば、2つのポリペプチド鎖を使用する)または一本鎖Fv(例えば、一本鎖ポリペプチドを使用する)として抗体を提示できる。他のフォーマットもまた使用できる。

## 【0097】

Fabおよび他のフォーマットの場合のように、提示された抗体は、1つまたは複数の定常領域を、軽鎖および/または重鎖の一部として含むことができる。一実施形態において、個々の鎖は、例えばFabの場合のように1つの定常領域を含む。他の実施形態において、さらなる定常領域が含まれる。有用な抗原結合部位を有すると特定された後で、1つまたは複数の定常領域を分子に加えることもまた可能である。例えば米国特許出願第2003-0224408号を参照されたい。

## 【0098】

抗体ライブラリは多くの方法により構築できる(例えば、de Haardら、(19

99年) J. Biol. Chem 274巻: 18218~30頁; Hogenboomら、(1998年) Immunotechnology 4巻: 1~20頁、Hogenboomら、(2000年) Immunol Today 21巻: 371~8頁およびHoeftら、(2005年) Nat Biotechnol. 23巻(3号): 344~8頁を参照されたい。

#### 【0099】

ライプラリの構築のための特定の実施形態において、本明細書に記載のCDR3を含む重鎖ならびに および 軽鎖が、個別のベクターにおいて最も良く構築される。第1に、合成遺伝子を設計し、個々の合成可変ドメインを統合する。軽鎖は、ApalI(シグナル配列の最末端に位置する)およびAscI(終止コドンの後ろに位置する)のための制限部位に結合できる。重鎖は、SfiI(Pe1Bシグナル配列内に位置する)およびNotI(CH1およびアンカータンパク質の間のリンカーに位置する)に結合できる。Pe1B以外のシグナル配列、例えばM13pIIシグナル配列もまた使用できる。

#### 【0100】

最初の遺伝子は、所望のCDRの代わりに「スタッファー」配列を用いて作製できる。「スタッファー」は切り取られ、多様なDNAに置き換えられるが、機能性の抗体遺伝子を発現できない配列である。例えば、スタッファーは、いくつかの終止コドンおよび正確な完成ライプラリベクターには発生しないであろう制限部位を含有し得る。スタッファーは、高度に示されたCDR配列の任意の1つを有することを避けるために使用される。

#### 【0101】

本発明の別の実施形態において、重鎖および または 軽鎖は、これらの鎖のクローニングを可能にする適切な制限部位を有する、(例えば、提示する、または提示および発現するための) 単一のベクターまたは遺伝子パッケージにおいて構築される。このようなベクターを構築するための方法は周知であり、当分野において広く使用される。好ましくは、重鎖および 軽鎖ライプラリならびに重鎖および 軽鎖ライプラリは別々に調製されるであろう。

#### 【0102】

最も好ましくは、提示は、M13ファージの誘導体の表面上である。最も好ましいベクターは、M13の全遺伝子、抗生物質耐性遺伝子およびディスプレイカセットを含有する。カセットとして、遺伝子の多様なファミリーのメンバーの導入および除去を可能にする制限部位を有する好ましいベクターが提供される。好ましいベクターは、ファージの増幅に使用される成長条件下で、再構成に対して安定である。

#### 【0103】

本発明の別の実施形態において、本発明の方法により獲得された多様性は、ペプチド、ポリペプチドまたはタンパク質を提示および / または発現するファージミドベクター(例えば、pMID21(表35に示したDNA配列))において提示および / または発現され得る。このようなベクターを使用し、他のベクターまたはファージを使用する、その後の提示および / または発現のために多様性を保存することもできる。

#### 【0104】

さらに他の実施形態において、2008年2月13日出願のU.S.S.N61/028, 265、2008年4月10日出願のU.S.S.N.61/043, 938および2009年2月13日出願のU.S.S.N.12/371, 000に記載の、軽鎖の高速最適化または「ROLIC」と呼ばれる方法では、LCの大型の集団が、それらをファージ上に提示するファージベクター中に配置される。HCの小型の集団(例えば、3、10または25)は、HC、例えば本明細書に記載のCDR3を有するHCがペリプラズム中に分泌されるように、E. coli中にクローン化される。次いで、E. coliを、LCの大型の集団をコードするファージベクターに感染させ、ファージ上にHC/LCタンパク質の対合を作製する。ファージ粒子は、LC遺伝子のみを担持する。

#### 【0105】

別の態様において、2008年2月13日出願のU.S.S.N61/028, 265

、2008年4月10日出願のU.S.S.N.61/043,938および2009年2月13日出願のU.S.S.N.12/371,000にさらに記載の、重鎖の経済的選択または「ESCH」と呼ばれる方法において、LCの小型の集団が、それらの分泌を起こすべクター中に配置され得る。CDR3を含む本明細書において提供されるHCのライブラリのような、HCの新しいライブラリがファージ中に構築される。次いでLCおよびHCは、感染のさらにもっと有効な方法により組み合わせることができる。有効なHCの小型のセットが選択されたら、これらを使用して、ROLICに供し、最適なHC/LCの対合を得る、または古典的選択のためのLCのFabライブラリにクローン化するように使用できる。

#### 【0106】

本発明の別の実施形態において、本発明の方法により獲得される多様性は、真核細胞、例えば酵母ベクターにおける発現、例えば酵母細胞における発現に適したベクターを使用して提示および/または発現され得る。

#### 【0107】

タンパク質ディスプレイの他の型は、細胞ベースの提示（例えばWO03/029,456を参照されたい）；リボソームディスプレイ（例えば、Matthewsら、（1994年）Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91巻：9022頁およびHanesら、（2000年）Nat. Biotechnol. 18巻：1287～92頁を参照されたい）；タンパク質-核酸融合（例えば、米国特許第6,207,446号を参照されたい）；および非生物学的タグの固定（米国特許第5,874,214号を参照されたい）を含む。

#### 【0108】

本開示のライブラリから単離された抗体を分析し、LCの型および最も近い生殖系列遺伝子を決定できる。好ましい実施形態において、非生殖系列フレームワーク残基は、結合親和性および特異性が許容不可能な程度に悪影響を与えない限り、生殖系列アミノ酸に戻される。置換は、群として、または1つずつ実施され得る。ヒト生殖系列配列は、Tomlinson, I.A.ら、1992年、J. Mol. Biol. 227巻：776～798頁；Cook, G.P.ら、1995年、Immunol. Today 16巻（5号）：237～242頁；Chothia, D.ら、1992年、J. Mol. Bio. 227巻：799～817頁に開示されている。V BASEの要覧は、ヒト免疫グロブリン可変領域配列の包括的な総覧を提供する（Tomlinson, I.A.らにより編纂、MRC Centre for Protein Engineering、Cambridge、UK）。抗体は、結合特性が実質的に保有される限り、フレームワーク領域中の1つまたは複数の非生殖系列アミノ酸を抗体の対応する生殖系列アミノ酸に戻すことによって「生殖系列化」される。類似の方法は、定常領域、例えば免疫グロブリン定常ドメインにおいてもまた使用できる。

#### 【0109】

例えば、抗体は、例えばフレームワーク、CDRまたは定常領域において、1つ、2つ、3つまたはそれ以上のアミノ酸置換を含み、より参照生殖系列配列に近づけることができる。1つの例示的な生殖系列化の方法は、単離抗体の配列に類似する（例えば、特定のデータベースにおいて最も類似の）、1つまたは複数の生殖系列配列を特定するステップを含む。次いで、（アミノ酸レベルにおいて）突然変異を、增加的に、または他の突然変異と組み合わせて、単離抗体中に作製する。例えば、一部またはすべての生殖系列の突然変異候補をコードする配列を含む核酸ライブラリを作製する。次いで、突然変異を起こした抗体を評価し、例えば、単離抗体に対して1つまたは複数のさらなる生殖系列残基を有し、未だ有用である（例えば、機能活性を有する）抗体を特定する。一実施形態において、可能な限り多くの生殖系列残基を単離抗体に導入する。

#### 【0110】

一実施形態において、突然変異誘発を使用し、1つまたは複数の生殖系列残基を、フレームワークおよび/または定常領域に置換または挿入する。例えば、生殖系列のフレーム

ワークおよび／または定常領域残基は、改変された非可変領域と類似（例えば、最も類似）の生殖系列配列に由来することができる。突然変異誘発後、生殖系列残基または残基が許容される（すなわち、活性を無効にしない）場合、抗体の活性（例えば、結合活性または他の機能活性）を評価し、決定できる。類似の突然変異誘発は、フレームワーク領域において実施できる。

#### 【0111】

生殖系列配列の選択は、さまざまな方法で実施できる。例えば、選択性または類似性に関する所定の基準、例えば、少なくとも特定のパーセントの同一性、例えば、少なくとも75、80、85、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99または99.5%の同一性を満たす場合、生殖系列配列は選択され得る。この選択は、少なくとも2、3、5または10種の生殖系列配列を使用して実施できる。CDR1およびCDR2の場合、類似の生殖系列配列の特定は、1つのこのような配列の選択を含むことができる。CDR3の場合、類似の生殖系列配列の特定は、1つのこのような配列の選択を含むことができるが、アミノ末端部分およびカルボキシ末端部分に別々に寄与する2つの生殖系列配列の使用を含んでもよい。他の実践形態において、1つを超えるまたは2つの生殖系列配列を使用し、例えば、コンセンサス配列を形成する。

#### 【0112】

##### CDR1、CDR2および軽鎖多様性

HC CDR3のライブラリは、HC CDR1、HC CDR2および軽鎖における多様性のバックグラウンドに構築されると理解するべきである。軽鎖の多様性は、HCの多様性として同じDNA分子中にコードされ得、またはLCおよびHCの多様性は、別々のDNA分子にコードされ得る。表22において、シグナル配列の融合は、：：VH：：CH1：：His6：：Myo：：IIIstumpである（His6は、配列番号934として開示される）。CDR1は残基31～35を含み、残基31、33および35に多様性がある。一実施形態において、残基31、33および35は、システインを除く任意のアミノ酸型であってよい。CDR2は、残基50から65を含む。50、52、52a、56および58の位置に多様性がある。一実施形態において、残基50および52は、Ser、Gly、Val、Trp、Arg、Tyrの任意の型であってよく、残基52aはProまたはSerであってよく、残基56および58は、Cysを除く任意のアミノ酸型であってよい。HC CDR3の多様性は、少なくとも1.E4、1.E5、1.E6、1.E7、5.E7または1.E8であるHC CDR1および2の多様性にクローン化される。

#### 【0113】

一実施形態において、残基31、33、35、50、52、56および58は、CysまたはMetを除く任意のアミノ酸型であってよく、残基52aは、Gly、Ser、ProまたはTyrであってよい。HC CDR3の多様性は、少なくとも1.E4、1.E5、1.E6、1.E7、5.E7または1.E8であるHC CDR1および2の多様性にクローン化される。

#### 【0114】

一実施形態において、HCの多様性は、軽鎖の多様性を含有するベクター（ファージまたはファージミド）にクローン化される。この多様性は、少なくとも25、50、100、500、1.E3、1.E4、1.E5、1.E6、または1.E7である。HC CDR3の多様性は、少なくとも221、272、500、1000、1.E4、1.E5、1.E6、1.E7、1.E8または1.E9である。

#### 【0115】

一実施形態において、HCの多様性は、ファージタンパク質、例えばIII、VIII、VII、VIもしくはIXまたは提示を起こすために十分なこれらの1つの断片上にHCを提示するファージベクターにクローン化され、軽鎖は、個々の細胞が軽鎖を分泌する細胞コレクションに感染することによってHCに組み込まれる。細胞中の軽鎖の多様性は、少なくとも5、10、15、20、25、30、35、40、50、75または100

である。H C C D R 3 の多様性は、少なくとも 2 2 1、2 7 2、5 0 0、1 0 0 0、1 . E 4、1 . E 5、1 . E 6、1 . E 7、1 . E 8 または 1 . E 9 である。

#### 【0 1 1 6】

表 3 0 は、P<sub>1 a c</sub> プロモーターの調節下で重鎖に関するディスプレイカセットである、b<sub>1 a</sub> 遺伝子を担持するファージベクター D Y 3 F H C 8 7 (配列番号：8 9 4) の配列を示す。D Y 3 F H C 8 7 は、同様に M 1 3 の全遺伝子を含有する。ベクター、例えば p L C S K 2 3 (表 4 0 の配列) (配列番号：8 9 6) における軽鎖の多様性を持つ F + E . c o l i 細胞を感染させる。ベクター p L C S K 2 3 は K a n<sup>R</sup> 遺伝子を担持する。P<sub>1 a c</sub> プロモーターの調節下で、シグナル配列を有する、塩基 2 2 1 5 で始まる遺伝子 (塩基 2 2 1 5 ~ 2 2 7 7) 、V L (この配列において、V L は塩基 2 2 7 8 から塩基 2 5 9 8 の (配列番号：8 9 7) に示される配列をコードする) 、塩基 2 5 9 9 から 2 9 2 2 の C 、2 9 2 3 から 2 9 3 1 の N o t I 部位を許容するリンカーおよび V 5 タグ (塩基 2 9 3 2 ~ 2 9 7 3) がある。2 2 5 9 ~ 2 2 7 1 に S f i I 部位および 2 6 0 2 ~ 2 6 0 5 に K p n I 部位があり、V の置き換えを容易にさせる。(配列番号：8 9 7) は、分泌されるタンパク質の例である。C および V 5 タグは一定であることを理解すべきである。表 1 9 に示されるすべてのタンパク質 (V K 1 O 2 g 1 - J K 3、V K 1 O 2 v a r 1、V K 1 O 2 v a r 2、V K 1 O 2 v a r 3、V K 1 O 2 v a r 4、V K 1 O 2 v a r 5、V K 3 L 6 g 1 - J K 4、V K 3 L 6 v a r 1、V K 3 L 6 v a r 2、V K 3 L 6 v a r 3、V K 3 L 6 v a r 4、V K 3 L 6 v a r 5、V K 3 L 6 v a r 6、V K 3 L 6 v a r 7、V K 3 L 6 v a r 8、V K 3 A 2 7 g 1 - J K 3、V K 3 A 2 7 v a r 1、V K 3 A 2 7 v a r 2、V K 3 A 2 7 v a r 3、V K 3 A 2 7 v a r 4、V K 3 A 2 7 v a r 5、V K 3 A 2 7 v a r 6、V K 3 A 2 7 v a r 7、V K 3 L 2 g 1 - J K 3、および V K 1 g 1 L 8 - J K 5) は、カルボキシ末端に結合したこれらの配列を有するであろう。

#### 【0 1 1 7】

##### 軽鎖の多様性

表 8 0 0 は、3 - 2 3 と十分に対応することが公知であり、5 つの C D R の突然変異を有し、3 - 2 3 に基づく 1 つの H C を有する L C (軽鎖) を示し、L C K 1 (O 1 2) : : J K 1 は、タンパク質標的に対して高親和性の A b を作製する。O 1 2 は、頻繁に使用される V K I である。個々の C D R を変化した集団と置き換えることができるよう、この遺伝子は、シグナル配列の (A p a L I) 、F R 1 (X h o I、S g f I) 、F R 2 (K p n I) 、F R 3 (X b a I) および F r 4 : : C (B s i W I) において、有用で、異なる制限部位を有するように設計されている。

#### 【0 1 1 8】

ヒト L C において、C D R 3 は最も重要であり、C D R 1 が次に重要である。C D R 2 は、ほとんど A g と接触しない。多様性を、表 9 0 0 および表 1 0 0 0 (C D R 1) 、表 1 1 0 0 および表 1 2 0 0 (C D R 2) 、表 1 3 0 0 、1 4 0 0 および 1 5 0 0 (C D R 3) に示すように C D R に導入する。重鎖の経済的選択 (E S H C) のために、少数の、例えば表 1 2 0 0 のように C D R 3 に多様性を有する 5 0 の L C を、ペリプラズムへの分泌のために p L C S K 2 4 における発現に関して選別した。個々の細胞系が、例えば 5 0 またはそれより少ない L C を含有するように、いくつかの細胞系を維持する場合、より多くの L C を使用できる。

#### 【0 1 1 9】

表 9 0 0 は、L C C D R 1 に関する多様性を示す。このライプラリは、「許容」として示される A A 型の追加の多様性を有する、O 1 2 残基を含有することができ、表 9 0 0 、1 0 0 0 、1 1 0 0 、1 2 0 0 、1 3 0 0 、1 4 0 0 において、「許容」は「さらなる許容型」と解釈する。O 1 2 は、R<sub>2 4</sub> A S Q S I S S Y L N<sub>3 4</sub> (配列番号 9 3 5) を有する。他の V K 1 遺伝子座は、2 4 に Q を有する。他の遺伝子座は、2 5 に M を有する。S<sub>2 6</sub> および Q<sub>2 7</sub> は、V K I において不变である。他の V K I 遺伝子座は、2 8 に D または G を有する。I<sub>2 9</sub> および L<sub>3 3</sub> は、V K I において不变であり、側基は内側を向

いている。他のV K I 遺伝子座は、30、31、32、および34において、表900に示す多様性を許容する。表900において、11の位置のうち7つだけが変化し、総多様性は576である。

#### 【0120】

表1000は、L C C D R 1に関する高レベルの多様性を示す。ここでは11の位置のうち8位が変化している。一定であるものは組み込み部位から離れているか、または埋もれた側基を有する。

#### 【0121】

表1100は、C D R 2に関する低レベルの多彩性を示す。C D R 2は、抗原結合部位から離れており、ここでは多様性はあまり有用ではないと思われる。実際に、G Lの多様性は非常に限定される。表1100は、G Lの多様性を含む。表1200は、高レベルの多様性を含有し、1920の配列を許容する。

#### 【0122】

表1300は、L C C D R 3に関する低レベルの多様性、2160の配列を示す。表1400は、105, 840配列を許容する高レベルを示す。

#### 【0123】

R O L I Cのために、表900、1100および1300に示した多様性を有する、約 $3 \times 10^7$ のL Cを作製した。

#### 【0124】

##### 重鎖の多様性

A b H C（重鎖）は、C D R 1、C D R 2およびC D R 3において多様性を有する。配列および長さ双方の多様性があるので、C D R 3における多様性は特に複雑である。配列多様性はランダムではない。A b 遺伝子を作る細胞は、VセグメントとDセグメントとJ Hセグメントを接合する。Dセグメントは任意選択であり、認識可能なDを有する、天然のヒトA bの約半分である。0から多数の塩基が付加または除去される、V - D、D - JまたはV - Jの境界において広範囲に編集され得る。生殖系列V : : D : : J Hを有するA bは、生殖系列A bと見なすことができる。

#### 【0125】

ヒトDセグメントを、表21に示す。個々の生殖系列（G L）Dセグメントは、3つのフォワードリーディングフレームのいずれかにおいて、A b 遺伝子中に出現する。いくつかのリーディングフレームにおいて、いくつかのDセグメントは終止コドンをコードする。これらのDセグメントは、改変された終止コドンをほとんど生じない。表600は、個々のDセグメントの頻度を、観察された全Dセグメントのパーセントとして示す。Dセグメントを含有する、本明細書の例の大部分は、非常に一般的なD（観察された全Dセグメントの2%より大きい）を使用する。

#### 【0126】

一態様において、本発明は、3 - 23（または別のV H、例えば4 - 34）と、a）（S、Y、D、R、N）を含むセットから選別された多数のアミノ酸、b）D領域、c）J H領域およびd）J H領域のF R 4部分、の1つとの融合による、A b H C 遺伝子の構成に関する。これらの融合は、G L 3 - 23あるいはC D R 1および/またはC D R 2に合成多様性を有する3 - 23であってよい。H C C D R 3の長さは約3から約24までの任意の数であってよい。好ましくは、ライブラリは、6、8、10、12、14、16、18および20の長さのH C C D R 3を有するメンバーを含有するであろう。あるいは、長さは5、8、11、14、17および20または任意の他の組合せであってよい。

#### 【0127】

表21は、長さ6から20の適切なC D R 3の設計の多くの例を示す。2列に大文字で明記したコドンは、w o b b l i n gを用いて合成される。3列は、d o p i n gのレベルを示す。表100は、さまざまな長さのH C C D R 3を組み合わせ、ほぼすべてのタンパク質標的と結合するA bを含有することが期待されるライブラリの形成が可能である比率を示す。

【0128】

【表1】

| 表100 |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |
|------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| 長さ   | 6                | 8                | 10               | 12               | 14               | 16               | 20               |
| 多様性  | $1. \times 10^5$ | $2. \times 10^5$ | $4. \times 10^5$ | $8. \times 10^5$ | $8. \times 10^5$ | $8. \times 10^5$ | $4. \times 10^5$ |

長さ6に関して、表21は4つの例を示す。例えば、6aは、w o b b l i n gされた最初の6つのAAを有するJH1と直接接合されたVH(3-23)を有し、6bは、JH1のFR4AAと接合された、第2のリーディングフレーム中のD4-17と接合されたTyrを有し、および6cは、JH1のFR残基に接合されたD5-5(3)を有する。これらは異なる種類の多様性をもたらすので、すべてを含むことが好ましいが、これらの1つだけを含有するライプラリも有用なAbをもたらすはずである。

【0129】

長さ8に関して、表21は3つの例を示す。8aはJH1のすべてに融合されたYYを有し、一方、8bは、JH1のFR領域に融合されたD6-13(1)に融合された1つのYを有する。長さ10、12、14、16および20もまた、表21に示す。HC-CDR3の多様性は、生殖系列3-23または合成多様性を含有する3-23において構築できる。あるいは、異なるVH、例えば4-34を使用できる。

【0130】

ROLICは、HCの小型の集団が、F<sup>+</sup>E.coliにおいて可溶性タンパク質として発現される方法である。この集団を、LC: : I I I<sub>s t u m p</sub>の融合を担持するファージに感染させる。作製されたファージは、それらを作製する細胞のペリプラズムに由来するHCを得る。これらのファージは固定された標的に結合でき、バインダーは、非バインダーから分離される。回収されたファージが増殖した場合、ファージはLCおよびHCの間の関連性を継続するためにもたらされるので回収されたファージは同じ型の細胞を探すはずであり、したがって集団のサイズは重要である。したがって、個々の細胞系におけるHCの数は小さいことが望ましい。したがって、個々の細胞系において、最大10、20、30、または40の異なるHCを有する、多数の細胞系を維持することが望ましいと思われる。したがって、1、2、4、6、8、10、24、48または96の細胞系を有することができ、同じ数の平行したファージの産生、選択および増幅を実施する。1または2ラウンド後、ELISAアッセイにより、標的に結合したファージの産生に関してコロニーを試験する。個々のELISA<sup>+</sup>コロニーは、有用なLCおよび有用なHCを含有するが、それらはDNAの同じ破片ではない。にもかかわらず、本発明者は、個々のLCおよび個々のHCの始まりおよび末端を知っており、したがって、コロニーにPCRを使用し、ディスプレイファージもしくはファージミドまたはFab産生プラスミドに送り込むことができるFabディスプレイまたはFab分泌力セットを作製できる。

【0131】

HCの効率的選択(ESHC)において、ROLICにおけるLCおよびHCの役割を逆転させ、それらがF<sup>+</sup>E.coliのペリプラズム中に可溶性タンパク質として作製されるように、プラスミド中にLCを有する。LC遺伝子を全く有さないファージベクターにおいてHCの多様性を作製する。LC作製F<sup>+</sup>E.coliを、HC担持ファージに感染させる。HC遺伝子ならびにHCおよびLCタンパク質の双方を担持するファージを得る。これらのファージを標的への結合のために選択する。多くのAbにおいて、LCは許容状態であり、結合親和性に対してあまり寄与していない。最も優れたLCの選別は、親和性を非常に増加できるが、LCの非常に限定されたレパートリーを有するFabの選択が通常可能である。したがって、LC作製F<sup>+</sup>E.coli中のフレームワーク領域にLC、好ましい生殖系列の小さいセットを配置する。例えば、LC細胞系に25のLCが存在する場合、作製する必要のある形質転換細胞の数を25倍減少させる。

【0132】

記載したライプラリは、さまざまな長さの H C C D R 3 を有する。適切な折り畳みを指示するために、H C C D R 3 は、J H セグメントの大部分、すべて、もしくはフレームワーク部分と接合される D セグメントを有するか、または有さない。この配列は、w o b b l i n g した D N A 合成を使用して多様化される。このことは、任意の位置の任意のアミノ酸型を理論上許容するが、実践において、実際の配列は、親配列および遺伝子コード表において近い A A 型に対して強くバイアスがかかっている。

#### 【 0 1 3 3 】

E S H C を使用することによって、合成 H C C D R 3 の多様性の新規な設計をサンプリングすることができる。所与の実施例において、例えば 5 0 L C のプールを使用する。 $5 \times 10^8$  の H C のライプラリは、 $2.5 \times 10^{10}$  の旧式のライプラリと同様に機能し、必要な労力は非常に少ないはずである。

#### 【 0 1 3 4 】

配列を w o b b l i n g する場合、最初のコドンの選別は、ライプラリ中に見られる A A の実際の混合物に影響を与える。表 3 0 0 は、アミノ酸置換が、個々の開始親コドンから 1、2 または 3 つの塩基変化を要求することを示す。例えば、本発明者らが、A 1 a のために g c t または g c c で開始した場合、3 種すべての終止コドンは 3 つの塩基変化を要求し、それはまれである。7 6 : 8 : 8 : 8 混合物を使用する場合、A 1 a は、事例の 5 7 % ( $0.76 \times 0.76$ ) で出現するであろう。V、G、T、P、S は、個々に約 6 % で出現し、D は約 3 % で出現する。E、I、L、F、Y、H、N、C および R は、約 1 0 倍下がるであろう。M、W、Q、K、A m、O c および O p は、さらによりまれである。本発明者らが g c a で開始した場合、その後一塩基変化だけを必要として E は D に置き換えられるが、オパールおよびオーカーの終止は二塩基変化だけを要求し、このことは望ましくない。好ましいコドンに、星印 (\*) で印をつけてある。セリンの選択は、高い頻度で Y を S に置換するという本発明者らの要望を困難にする。このことは、たった 2 つの塩基が親と異なる群に O p および O c をもたらす。この問題は、H C C D R 3 レパートリーを、抗生物質耐性遺伝子、例えば K a n R または A m p R の前にクローン化し、耐性を選択すること、したがって終止コドンを含有するメンバーを除去することによって克服することができる。さらに、このライプラリは、終止の代わりに Q を挿入する s u p E . c o l i において作製できる。

#### 【 0 1 3 5 】

【表2】  
表300

| アミノ酸 | 親コドン     | 1塩基変化                | 2塩基変化                                    | 3塩基変化                    |
|------|----------|----------------------|------------------------------------------|--------------------------|
| A *  | gct, gcc | V, D, G, T, P, S     | E, I, L, F, Y, H, N, C, R                | M, W, Q, K, Am, Oc, Op   |
| A    | gca      | V, E, G, T, P, S     | D, I, L, Oc, Q, K, Op, R                 | M, W, H, N, C, Am, F, Y  |
| A    | gcg      | V, E, G, T, P, S     | D, M, L, Am, Q, K, R, W                  | I, F, Y, Oc, Op, H, N, C |
| C    | tgt, tgc | Y, S, F, W, Op, R, G | L, H, N, D, P, T, A, V, I                | Am, Oc, Q, K, E, M       |
| D    | gat, gac | E, G, A, V, N, H, Y  | F, S, C, L, P, Q, K, R, Oc, Am, I, T     | M, W, Op                 |
| E    | gaa      | D, G, A, V, K, Q, Oc | Am, L, I, S, P, T, R, Op, Y, H, N        | M, F, C, W               |
| E *  | gag      | D, G, A, V, K, Q, Am | M, L, S, P, T, Y, H, N, Oc, R, W         | F, C, I, Op              |
| F    | ttt, ttc | L, I, V, S, Y, C     | M, Am, Op, Oc, W, P, T, A, H, N, D, R, G | Q, K, E                  |
| G *  | ggt, ggc | D, A, V, S, R, C     | E, W, F, L, I, T, P, Y, H, N             | Am, Oc, Op, M, Q, K      |
| G    | gga      | E, A, V, R, Oc       | D, W, L, I, S, P, T, Op, Q, K            | Am, Oc, M, F, Y, H, N    |
| G    | ggg      | E, A, V, R, W        | D, Oc, L, M, S, P, T, Am, Op, Q, K       | Oc, I, F, Y, H, N        |
| H    | cat, cac | Q, Y, N, D, L, P, R  | F, S, C, I, T, V, A, D, G, Am, Oc        | Op, W, M, E              |
| I *  | att, atc | M, L, F, V, T, N, S  | Y, C, P, H, R, A, D, G                   | Am, Op, Oc, W, Q, K, E   |
| I    | ata      | M, L, V, T, K, R     | Op, Oc, S, P, Q, A, E, G, F, N           | Am, C, D, H, W, Y        |
| K    | aaa      | N, Q, Oc, E, P, I, R | H, Y, D, M, L, V, S, T, A, Am, Op, G     | C, F, W                  |
| K *  | aag      | N, Q, Am, E, P, M, R | H, Y, D, I, L, V, S, T, A, Oc, G, W      | C, F, Op                 |

【0 1 3 6】

【表3】

| アミノ酸 | 親コドン     | 1塩基変化                              | 2塩基変化                                                         | 3塩基変化                                          |
|------|----------|------------------------------------|---------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| L    | tta      | F, S, <b>Oc</b> , <b>Op</b> , I, V | Y, C, W, M, P, T, A, Q, K, E, R, G, <b>Am</b>                 | D, H, N                                        |
| L    | ttg      | F, S, <b>Am</b> , W, M, V          | Y, C, <b>Oc</b> , <b>Op</b> , P, T, A, Q, K, E, R, G, I       | D, H, N                                        |
| L*   | ctt, ctc | F, I, V, P, H, R                   | M, S, Y, C, T, N, A, D, G                                     | <b>Am</b> , <b>Oc</b> , <b>Op</b> , W, E, K, Q |
| L    | cta      | I, V, P, Q, R                      | F, M, S, <b>Oc</b> , <b>Op</b> , T, K, A, E, G, H             | <b>Am</b> , W, D, N, C, Y                      |
| L    | ctg      | M, V, P, Q, R                      | F, I, S, <b>Am</b> , T, K, A, E, G, H, W                      | <b>Oc</b> , <b>Op</b> , D, N, C, Y             |
| M    | atg      | L, V, T, K, R, I                   | F, N, S, P, A, <b>Am</b> , Q, E, W, G                         | <b>Oc</b> , <b>Op</b> , Y, C, H, D             |
| N    | aat, aac | K, Y, H, D, I, T, S                | F, C, L, P, R, V, A, G, M, Q, E, <b>Am</b> , <b>Oc</b>        | <b>Op</b> , W                                  |
| P*   | cct, ccc | S, T, A, L, H, R                   | F, Y, C, I, N, V, D, G, Q                                     | <b>Am</b> , <b>Oc</b> , <b>Op</b> , W, M, E, K |
| P    | cca      | S, T, A, L, Q, R                   | <b>Oc</b> , <b>Op</b> , I, K, V, E, G, H                      | <b>Am</b> , W, M, D, N, C, F, Y                |
| P    | ccg      | S, T, A, L, Q, R                   | <b>Am</b> , M, K, V, E, G, H                                  | C, D, F, I, N, W, Y, <b>Oc</b> , <b>Op</b>     |
| Q    | caa      | <b>Oc</b> , K, E, R, P, L, H       | Y, <b>Am</b> , N, D, S, T, A, I, V, <b>G</b> , <b>Op</b>      | F, C, W, M                                     |
| Q*   | cag      | H, <b>Am</b> , K, E, R, P, L       | N, D, Y, M, T, V, A, G, W, <b>Oc</b> , S                      | C, F, <b>Op</b> , I                            |
| R*   | cgt, cgc | C, S, G, H, P, L                   | <b>Op</b> , W, Q, F, Y, I, T, N, V, A, D                      | <b>Am</b> , <b>Oc</b> , M, E, K                |
| R    | cga      | G, <b>Op</b> , Q, P, L             | <b>Oc</b> , S, C, W, H, I, V, T, A, E, K                      | <b>Am</b> , M, C, D, N, F, Y                   |
| R    | cgg      | G, W, Q, P, L                      | <b>Am</b> , <b>Op</b> , S, M, V, T, A, K, E, H, C             | F, Y, I, <b>Oc</b> , D, N                      |
| R    | aga      | G, <b>Op</b> , S, K, T, I          | C, W, N, M, L, V, P, A, <b>Oc</b> , Q, E                      | F, Y, H, D, <b>Am</b>                          |
| R    | agg      | G, W, S, K, T, M                   | C, <b>Op</b> , <b>Am</b> , L, I, V, A, Q, P, E, N             | F, Y, H, D, <b>Oc</b>                          |
| S*   | tct, tcc | F, Y, C, P, T, A                   | L, <b>Oc</b> , <b>Op</b> , <b>Am</b> , W, I, V, N, D, R, G, H | E, K, M, Q                                     |
| S    | tca      | L, <b>Oc</b> , <b>Op</b> , P, T, A | F, Y, C, W, Q, R, I, K, V, E, <b>G</b> , <b>Am</b>            | M, W, D, N, H                                  |
| S    | tcg      | L, <b>Am</b> , W, P, T, A          | F, Y, C, <b>Op</b> , <b>Oc</b> , Q, R, M, K, V, E, G          | I, D, N, H                                     |
| S    | agt, agc | C, R, G, N, T, I                   | F, Y, L, P, H, V, A, D, K, W, <b>Op</b>                       | <b>Am</b> , <b>Oc</b> , M, E, Q                |
| T*   | act, acc | S, P, A, I, N                      | F, Y, C, L, H, R, M, K, V, D, G                               | <b>Am</b> , <b>Oc</b> , <b>Op</b> , W, E, Q    |

【0 1 3 7】

【表4】

| アミノ酸 | 親コドン     | 1塩基変化                                   | 2塩基変化                                             | 3塩基変化                                       |
|------|----------|-----------------------------------------|---------------------------------------------------|---------------------------------------------|
| T    | aca      | S, P, A, I, K, R                        | L, <b>Oc</b> , <b>Op</b> , Q, M, E, G, V, N       | F, Y, C, <b>Am</b> , W, D, H                |
| T    | acg      | S, P, A, M, K, R                        | I, N, L, <b>Am</b> , W, Q, V, E, G                | C, F, Y, <b>Oc</b> , <b>Op</b> , D, H       |
| V*   | gtt, gtc | F, L, I, A, D, G                        | S, P, T, Y, H, N, E, C, R, M                      | <b>Am</b> , <b>Oc</b> , <b>Op</b> , W, Q, K |
| V    | gta      | L, I, A, E, G                           | F, M, D, S, P, T, <b>Oc</b> , <b>Op</b> , Q, R, K | <b>Am</b> , W, C, Y, H, N                   |
| V    | gtg      | L, M, A, E, G                           | F, I, D, S, P, T, <b>Am</b> , Q, R, K, W          | <b>Oc</b> , <b>Op</b> , C, Y, H, N          |
| W    | tgg      | C, R, G, <b>Am</b> , S, L, <b>Op</b>    | P, Q, F, M, T, K, V, A, E, <b>Oc</b> , Y          | D, N, H, I                                  |
| Y    | tat, tac | C, S, F, N, H, D, <b>Oc</b> , <b>Am</b> | L, W, Q, K, E, P, I, T, V, A, G, <b>Op</b> , R    | M                                           |

**Am** はTAG終止であり、**Op** はTGAであり、**Oc** はTAAである。

#### ライブラリの使用方法

オフレート選択 (Off - Rate Selection)。解離速度が遅いことは、特にポリペプチドとそれらの標的との間の相互作用に対して高親和性の予測であり得るので、本明細書に記載の方法は、標的に対する結合相互作用に関する、所望の（すなわち低下した）動力学的解離速度を有するリガンドの単離に使用できる。

#### 【0138】

ディスプレイライブラリ由来の、ゆっくり解離する抗体を選択するために、ライブラリを、固定された標的に接触させる。固定された標的を、次いで非特異的に結合された抗体または弱く結合された抗体を取り除く第1の溶液を用いて洗浄する。次いで、結合された抗体を、飽和量の遊離の標的を含む第2の溶液を用いて溶出する、すなわち、粒子に結合していない標的の再現。遊離の標的は、標的から解離する抗体に結合する。溶出された抗体の再結合は、かなり低い濃度の固定された標的に対して、飽和量の遊離の標的により有效地に阻止される。

#### 【0139】

第2の溶液は、実質的に生理学的な溶液条件、またはストリンジエントである溶液条件（例えば、低pH、高pHまたは高塩濃度）を有することができる。通常、第2の溶液の溶液条件は、第1の溶液条件と同一である。第2の溶液の分画を時間的順序で収集し、早期から後期の分画に識別する。後期分画は、早期分画中の生体分子より、遅い速度で標的から解離する抗体を含む。さらに、延長してインキュベートした後もまだ標的に結合されたままの抗体を回収することも可能である。これらは、カオトロピック条件を使用して解離する、または標的に結合したまま增幅することのどちらかが可能である。例えば、標的に結合したファージを、細菌細胞に接触させることができる。

#### 【0140】

特異性に関する選択またはスクリーニング。本明細書に記載のディスプレイライブラリのスクリーニング方法は、非標的分子に結合する抗体を廃棄する、選択またはスクリーニング方法を含むことができる。非標的分子の例は、例えば、標的分子と構造的に異なる炭水化物分子、例えば、標的分子と異なる生物学的特性を有する炭水化物分子を含む。硫酸化炭水化物の場合は、非標的は、硫酸塩を有さない、または異なる位置に硫酸塩を有する同じ炭水化物であり得る。リン酸化ペプチドの場合は、非標的は、リン酸塩を有さない同じペプチド、または異なるリン酸化ペプチドであり得る。

#### 【0141】

一実践形態において、所謂「陰性選択」ステップを使用し、標的と、関連する非標的分子および関連するが異なる非標的分子とを区別する。ディスプレイライブラリまたはそれらのプールを、非標的分子に接触させる。非標的分子に結合しないメンバーを収集し、続く、標的分子に対する結合に関する選択または続く陰性選択にも使用する。陰性選択ステ

ップは、標的分子に結合するライプラリメンバーを選択する前または後であってよい。

#### 【0142】

別の実践形態において、スクリーニングステップを使用する。ディスプレイライプラリメンバーを標的分子に対する結合に関して単離した後で、個々の単離ライプラリメンバーを、非標的分子（例えば、上記の非標的）に結合するその能力に関して試験する。例えば、ハイスループット E L I S A スクリーニングを使用してこのデータを得ることができる。E L I S A スクリーニングを使用して、標的に対する個々のライプラリメンバーの結合に関する定量的データを得ることもできる。非標的および標的の結合データを（例えば、コンピュータおよびソフトウェアを使用して）比較し、標的に特異的に結合するライプラリメンバーを特定する。

#### 【0143】

特定の実施形態において、本発明の C D R 3 を含む抗体は、炭水化物に結合できる。炭水化物の結合に関して抗体を評価する方法は、E L I S A、免疫組織化学、免疫プロッティングおよび蛍光活性化細胞分類を含む。これらの方針を使用して、閾値を超える、例えば、1 0 0 n M、5 0 n M、1 0 n M、5 n M、1 n M、5 0 0 p M、1 0 0 p M および 1 0 p M を超える  $K_D$  を有する抗体を特定できる。

#### 【0144】

E L I S A。ディスプレイライプラリによりコードされるタンパク質は、E L I S A アッセイを使用して結合特性に関してスクリーニングすることもできる。例えば、個々のタンパク質を、底表面を標的、例えば限定量の標的でコーティングしてあるマイクロタイタープレートに接触させる。プレートを緩衝液で洗浄し、非特異的に結合されたポリペプチドを取り除く。次いで、プレートに結合されたタンパク質の量を、プレートをポリペプチド、例えば、ポリペプチドのタグまたは一定部分を認識できる抗体を用いてプローブすることによって決定する。抗体を酵素、例えばアルカリフェオスファターゼに連結すると、適切な基質が提供された場合、熱量が発生する。タンパク質は、細胞から精製でき、または例えば纖維状バクテリオファージコートとの融合として、ディスプレイライプラリのフォーマットにおいて分析できる。あるいは、標的分子、例えば炭水化物部分を含有する標的を発現する細胞（生細胞または固定細胞）を、マイクロタイタープレートに播種し、ディスプレイライプラリに存在する、またはディスプレイライプラリからの選択により得られるペプチド／抗体の親和性を試験するために使用できる。

#### 【0145】

E L I S A アッセイの別の型において、多様性ストランドライプラリの個々のポリペプチドを使用して、マイクロタイタープレートの異なるウェルをコートできる。その後、一定の標的分子を使用して E L I S A を進行し、個々のウェルを照会する。

#### 【0146】

細胞結合アッセイ。抗体を、1つまたは複数の細胞型、例えば造血細胞と相互作用するそれらの能力に関して評価することができる。蛍光活性化細胞分類（F A C S）は、タンパク質と細胞との相互作用を試験するための、例示的な方法の1つである。抗体を、細胞に結合する前または後に、蛍光色素分子を用いて直接または間接的に標識し、その後細胞を、F A C S 分類装置において数える。

#### 【0147】

他の細胞型は、当分野において公知の方法により F A C S 用に調製できる。

#### 【0148】

均一結合アッセイ。候補ポリペプチドと標的との結合相互作用を、均一アッセイを使用して分析できる、すなわち、例えばアッセイの全成分を加えた後に追加の液体操作を必要としない。例えば蛍光共鳴エネルギー転位（F R E T）を、均一アッセイとして使用できる（例えば、L a k o w i c z ら、米国特許第5,631,169号；S t a v r i a n o p o u l o s ら、米国特許第4,868,103号を参照されたい）。第1の分子の蛍光色素分子標識（例えば、分画中の特定された分子）は、第2の分子が第1の分子に近接している場合、その放出蛍光エネルギーが第2の分子（例えば標的）上の蛍光標識によ

り吸収され得るように選択される。第2の分子上の蛍光標識は、それが転移エネルギーを吸収する場合、蛍光を発する。標識間のエネルギー転位の効率は、分子を分離する距離に関係するので、分子間の空間的関係が評価され得る。分子間において結合が起こる状況において、アッセイにおいて「受容体」分子の標識の蛍光発光は、最大であるはずである。FRETによるモニター用に構成される結合事象は、当分野において周知の標準的蛍光検出手段（例えば、蛍光光度計を使用して）を介して簡便に測定できる。第1または第2の結合分子の量を滴定することによって、結合曲線を作製し、平衡結合定数を推定することができる。

#### 【0149】

均一アッセイの別の例は、アルファスクリーン（Alpha Screen）（Packard Bioscience, Meriden Conn.）である。アルファスクリーンは、2種の標識されたビーズを使用する。一方のビーズは、レーザーで励起された場合、一重項酸素を発生する。他方のビーズは、第1のビーズから一重項酸素が拡散された場合、光のシグナルを発生し、一重項酸素と衝突する。シグナルは、2種のビーズが近接する場合にだけ発生する。一方のビーズは、ディスプレイライブラリのメンバーに結合させることができ、他方のビーズを標的に結合させることができる。シグナルを測定し、結合の程度を決定する。

#### 【0150】

均一アッセイは、候補ポリペプチドを、ディスプレイライブラリのビヒクル、例えばバクテリオファージに結合させたまま実施できる。

#### 【0151】

表面プラズモン共鳴（SPR）。ディスプレイライブラリから単離された分子と標的との結合相互作用は、SPRを使用して分析できる。SPRまたは生体分子相互作用分析（Biomolecular Interaction Analysis）（BIA）は、反応体のいずれも標識せずに、生体特異性相互作用をリアルタイムで検出する。BIAチップの結合表面の質量の変化（結合事象の表示）は、表面近くの光の屈折率の変更（表面プラズモン共鳴（SPR）の光学現象）をもたらす。屈折度の変化は検出可能なシグナルを発生し、これを生体分子間のリアルタイム反応の指標として測定する。SPRを使用するための方法は、例えば、米国特許第5,641,640号；Raether（1988年）Surface Plasmons Springer Verlag；SjolanderおよびUrbaniczky（1991年）Anal. Chem. 63巻：2338～2345頁；Szaboら、（1995年）Curr. Opin. Struct. Biol. 5巻：699～705頁ならびにBIAcore International AB（Uppsala, Sweden）により提供されるオンライン供給源に記載されている。

#### 【0152】

SPRからの情報を使用し、生体分子と標的との結合に関する平衡解離定数（ $K_D$ ）ならびに $k_{on}$ および $k_{off}$ を含む動力学的パラメーターの正確かつ定量的測定を提供できる。このようなデータを使用し、さまざまな生体分子を比較できる。例えば、多様性ストランドのライブラリから選択された核酸によりコードされるタンパク質を比較し、標的に関する高い親和性を有する、または遅い $k_{off}$ を有する個体を特定できる。さらに、この情報を使用し、構造活性相関（SAR）を明らかにすることも可能である。例えば、親タンパク質の成熟型の動力学的パラメーターおよび平衡結合パラメーターを、親タンパク質のパラメーターと比較することもできる。所与の位置の変異体アミノ酸が、特定の結合パラメーター、例えば、高親和性および遅い $k_{off}$ と関連することを特定できる。この情報は、（例えば、ホモロジーモデリング、エネルギー最小化または結晶学もしくはNMRによる構造決定を使用する）構造モデリングと組み合わせることができる。結果として、タンパク質とその標的との物理的相互作用の理解を系統立てて説明でき、他の設計方法を導くために使用できる。

#### 【0153】

タンパク質アレイ。ディスプレイライブラリから特定されたタンパク質は、固体支持体、例えば、ビーズまたはアレイに固定できる。タンパク質アレイでは、個々のポリペプチドを、支持体の唯一のアドレスに固定する。通常、アドレスは、2次元のアドレスである。ポリペプチドアレイを作製する方法は、例えば、De Wildtら、(2000年) *Nat. Biotechnol.* 18巻: 989~994頁; Luekingら、(1999年) *Anal. Biochem.* 270巻: 103~111頁; Ge (2000年) *Nucleic Acids Res.* 28巻、e3、I~VII; Mac Beath および Schreiber (2000年) *Science* 289巻: 1760~1763頁; WO 01/40803ならびにWO 99/51773A1に記載されている。アレイのためのポリペプチドは、例えば、Genetic MicroSystems または BioRobotics による市販のロボット装置を使用して高速でスポットできる。アレイの基板は、例えばニトロセルロース、プラスチック、ガラス、例えば表面改質ガラスであってよい。アレイは、多孔質のマトリックス、例えばアクリルアミド、アガロースまたは別のポリマーを含むこともできる。

#### 【0154】

##### キット

本発明の任意の態様に従った方法の実践に使用するキットをさらに提供する。このキットは、必要なベクターを含むことができる。このようなベクターの1つは、通常一本鎖バクテリオファージの複製起点を有し、sbpメンバーの核酸を含有するか、またはファージカプシドタンパク質の成熟コード配列5'末端領域に、その挿入のための制限部位を有するかのどちらかであり、カプシドタンパク質外来性ポリペプチドと細胞膜周辺腔との融合を対象とする、前記部位の上流の分泌リーダーコード配列を有する。

#### 【0155】

上記のH C C D R 3をコードするパッケージならびに上記の方法のいずれかの使用により得ることができる、H C C D R 3およびそれらの断片および誘導体を含むポリペプチドを、さらに提供する。この誘導体は、別の分子、例えば酵素またはFc尾部に融合したポリペプチドを含んでいてもよい。

#### 【0156】

このキットは、遊離の形態のコードされたポリペプチドの発現のために、H C C D R 3の挿入用部位を有するファージベクター(例えば、DY3F87HC)を含むことができる。このキットは、可溶性軽鎖、例えばpLCSK23の発現用プラスミドベクターもまた含むことができる。このキットは、適切な細胞系(例えばTG1)もまた含むことができる。pLCSK23によりコードされる軽鎖の多様性は、10、15、20、25、30または50であってよい。多様性においてLCは、フレームワーク領域中の生殖系列であること、およびCDR3および/またはCDR1に多様性を有することなど特定の望ましい特性を有するように構築または選別され得る。生殖系列は、高度に利用される生殖系列、例えば、にはVK1\_2-O2、VK3\_I-A27、VK3\_5-L6、VK3\_3-L2およびにはVL2\_2a2、VL1\_1c、VL1\_1g、VL3\_3rであってよい。

#### 【0157】

例えば、生殖系列は、

V K 1 O 2 g 1 - J K 3、V K 1 O 2 v a r 1、V K 1 O 2 v a r 2、V K 1 O 2 v a r 3、V K 1 O 2 v a r 4、V K 1 O 2 v a r 5、V K 3 L 6 g 1 - J K 4、V K 3 L 6 v a r 1、V K 3 L 6 v a r 2、V K 3 L 6 v a r 3、V K 3 L 6 v a r 4、V K 3 L 6 v a r 5、V K 3 L 6 v a r 6、V K 3 L 6 v a r 7、V K 3 L 6 v a r 8、V K 3 A 2 7 g 1 - J K 3、V K 3 A 2 7 v a r 1、V K 3 A 2 7 v a r 2、V K 3 A 2 7 v a r 3、V K 3 A 2 7 v a r 4、V K 3 A 2 7 v a r 5、V K 3 A 2 7 v a r 6、V K 3 A 2 7 v a r 7、V K 3 L 2 g 1 - J K 3、V K 1 g 1 L 8 - J K 5 およびV K 1 G L O 1 2 - J K 3(表19に示すアミノ酸配列)に関する遺伝子をpLCSK23にクローン化できる。

【 0 1 5 8 】

【表 5】

表19:pLCSK23に使用される26種のVL

|                                                                     |                     |  |
|---------------------------------------------------------------------|---------------------|--|
| VK1O2g1-JK3                                                         | (配列番号 4)            |  |
| DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS SYLNWYQQKP GKAPKLLIYA ASSLQSGVPS   | 60                  |  |
| RFSGSGSGTD FTLTISLQP EDFATYYCQQ SYSTPFTFGP GTKVDIK                  | 107                 |  |
| VK1O2var1                                                           | (配列番号 5) S28D       |  |
| DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS SYLNWYQQKP GKAPKLLIYA ASSLQSGVPS   | 60                  |  |
| RFSGSGSGTD FTLTISLQP EDFATYYCQQ SYSTPFTFGP GTKVDIK                  | 107                 |  |
| VK1O2var2                                                           | (配列番号 6) S91R       |  |
| DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS SYLNWYQQKP GKAPKLLIYA ASSLQSGVPS   | 60                  |  |
| RFSGSGSGTD FTLTISLQP EDFATYYCQQ RYSTPFTFGP GTKVDIK                  | 107                 |  |
| VK1O2var3                                                           | (配列番号 7) S91E       |  |
| DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS SYLNWYQQKP GKAPKLLIYA ASSLQSGVPS   | 60                  |  |
| RFSGSGSGTD FTLTISLQP EDFATYYCQQ EYSTPFTFGP GTKVDIK                  | 107                 |  |
| VK1O2var4                                                           | (配列番号 8) S31R       |  |
| DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS RYLNWYQQKP GKAPKLLIYA ASSLQSGVPS   | 60                  |  |
| RFSGSGSGTD FTLTISLQP EDFATYYCQQ SYSTPFTFGP GTKVDIK                  | 107                 |  |
| VK1O2var5                                                           | (配列番号 9) S31E, S93R |  |
| DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS EYLNWYQQKP GKAPKLLIYA ASSLQSGVPS   | 60                  |  |
| RFSGSGSGTD FTLTISLQP EDFATYYCQQ SYRTPFTFGP GTKVDIK                  | 107                 |  |
| VK3L6g1-JK4                                                         | (配列番号 10)           |  |
| EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASQSVS SYLAWYQQKP GQAPRLLIYD ASN RATGIPA  | 60                  |  |
| RFSGSGSGTD FTLTISLEP EDFAVYYCQQ RSNWPLTFGG GTKVEIK                  | 107                 |  |
| VK3L6var1                                                           | (配列番号 11) S31R      |  |
| EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASQSVS RYLA WYQQKP GQAPRLLIYD ASN RATGIPA | 60                  |  |
| RFSGSGSGTD FTLTISLEP EDFAVYYCQQ RSNWPLTFGG GTKVEIK                  | 107                 |  |
| VK3L6var2                                                           | (配列番号 12) S92R      |  |

【 0 1 5 9 】

## 【表6】

|              |            |            |             |                        |     |
|--------------|------------|------------|-------------|------------------------|-----|
| EIVLTQSPAT   | LSLSPGERAT | LSCRASQSVS | SYLAWYQQKP  | GQAPRLLIYD ASN RATGIPA | 60  |
| RFSGSGSGTD   | FTLTISLEP  | EDFAVYYCQQ | RRNWPLTFGG  | GTKVEIK                | 107 |
| VK3L6var3    | (配列番号13)   | S92G       |             |                        |     |
| EIVLTQSPAT   | LSLSPGERAT | LSCRASQSVS | SYLAWYQQKP  | GQAPRLLIYD ASN RATGIPA | 60  |
| RFSGSGSGTD   | FTLTISLEP  | EDFAVYYCQQ | RGNWPLTFGG  | GTKVEIK                | 107 |
| VK3L6var4    | (配列番号14)   | S92Y       |             |                        |     |
| EIVLTQSPAT   | LSLSPGERAT | LSCRASQSVS | SYLAWYQQKP  | GQAPRLLIYD ASN RATGIPA | 60  |
| RFSGSGSGTD   | FTLTISLEP  | EDFAVYYCQQ | RYNWPLTFGG  | GTKVEIK                | 107 |
| VK3L6var5    | (配列番号15)   | S92E       |             |                        |     |
| EIVLTQSPAT   | LSLSPGERAT | LSCRASQSVS | SYLAWYQQKP  | GQAPRLLIYD ASN RATGIPA | 60  |
| RFSGSGSGTD   | FTLTISLEP  | EDFAVYYCQQ | RENWPLTFGG  | GTKVEIK                | 107 |
| VK3L6var6    | (配列番号16)   | Y32F       |             |                        |     |
| EIVLTQSPAT   | LSLSPGERAT | LSCRASQSVS | SFLAWYQQKP  | GQAPRLLIYD ASN RATGIPA | 60  |
| RFSGSGSGTD   | FTLTISLEP  | EDFAVYYCQQ | RSNWPLTFGG  | GTKVEIK                | 107 |
| VK3L6var7    | (配列番号17)   | Y32D       |             |                        |     |
| EIVLTQSPAT   | LSLSPGERAT | LSCRASQSVS | SDLAWYQQKP  | GQAPRLLIYD ASN RATGIPA | 60  |
| RFSGSGSGTD   | FTLTISLEP  | EDFAVYYCQQ | RSNWPLTFGG  | GTKVEIK                | 107 |
| VK3L6var8    | (配列番号18)   | N93G       |             |                        |     |
| EIVLTQSPAT   | LSLSPGERAT | LSCRASQSVS | SYLAWYQQKP  | GQAPRLLIYD ASN RATGIPA | 60  |
| RFSGSGSGTD   | FTLTISLEP  | EDFAVYYCQQ | RSGWPLTFGG  | GTKVEIK                | 107 |
| VK3A27g1-JK3 | (配列番号19)   |            |             |                        |     |
| EIVLTQSPGT   | LSLSPGERAT | LSCRASQSVS | SSYLAWYQQK  | PGQAPRLLIY GASSRATGIP  | 60  |
| DRFSGSGSGT   | DFTLTISRLE | PEDFAVYYCQ | QYGSSPFTFG  | PGTKVDIK               | 108 |
| VK3A27var1   | (配列番号20)   | S31R       |             |                        |     |
| EIVLTQSPGT   | LSLSPGERAT | LSCRASQSVS | R SYLAWYQQK | PGQAPRLLIY GASSRATGIP  | 60  |
| DRFSGSGSGT   | DFTLTISRLE | PEDFAVYYCQ | QYGSSPFTFG  | PGTKVDIK               | 108 |
| VK3A27var2   | (配列番号21)   | S32R       |             |                        |     |
| EIVLTQSPGT   | LSLSPGERAT | LSCRASQSVS | S RYLAWYQQK | PGQAPRLLIY GASSRATGIP  | 60  |
| DRFSGSGSGT   | DFTLTISRLE | PEDFAVYYCQ | QYGSSPFTFG  | PGTKVDIK               | 108 |
| VK3A27var3   | (配列番号22)   | S32D       |             |                        |     |
| EIVLTQSPGT   | LSLSPGERAT | LSCRASQSVS | SDYLAWYQQK  | PGQAPRLLIY GASSRATGIP  | 60  |
| DRFSGSGSGT   | DFTLTISRLE | PEDFAVYYCQ | QYGSSPFTFG  | PGTKVDIK               | 108 |
| VK3A27var4   | (配列番号23)   | G93E       |             |                        |     |
| EIVLTQSPGT   | LSLSPGERAT | LSCRASQSVS | SSYLAWYQQK  | PGQAPRLLIY GASSRATGIP  | 60  |
| DRFSGSGSGT   | DFTLTISRLE | PEDFAVYYCQ | QYESSPFTFG  | PGTKVDIK               | 108 |
| VK3A27var5   | (配列番号24)   | G93R       |             |                        |     |
| EIVLTQSPGT   | LSLSPGERAT | LSCRASQSVS | SSYLAWYQQK  | PGQAPRLLIY GASSRATGIP  | 60  |
| DRFSGSGSGT   | DFTLTISRLE | PEDFAVYYCQ | QYRSSPFTFG  | PGTKVDIK               | 108 |
| VK3A27var6   | (配列番号25)   | S30D, G93E |             |                        |     |
| EIVLTQSPGT   | LSLSPGERAT | LSCRASQSVD | SSYLAWYQQK  | PGQAPRLLIY GASSRATGIP  | 60  |
| DRFSGSGSGT   | DFTLTISRLE | PEDFAVYYCQ | QYESSPFTFG  | PGTKVDIK               | 108 |

【0160】

## 【表7】

|                                                                   |               |
|-------------------------------------------------------------------|---------------|
| VK3A27var7                                                        | (配列番号26) S94R |
| EIVLTQSPGT LSLSPGERAT LSCRASQSVS SSYLAWYQQK PGQAPRLLIY GASSRATGIP | 60            |
| DRFSGSGSGT DFTLTISRLE PEDFAVYYCQ QYGRSPFTFG PGTKVDIK              | 108           |
|                                                                   |               |
| VK3L2g1-JK3                                                       | (配列番号27)      |
| EIVMTQSPAT LSVSPGERAT LSCRASQSVS SNLAWYQQKP GQAPRLLIYG ASTRATGIPA | 60            |
| RFSGSGSGTE FTLLTISLQS EDFAVYYCQQ YNNWPFTFGP GTKVDIK               | 107           |
|                                                                   |               |
| VK1g1L8-JK5                                                       | (配列番号28)      |
| DIQLTQSPSF LSASVGDRVT ITCRASQGIS SYLAWYQQKP GKAPKLLIYA ASTLQSGVPS | 60            |
| RFSGSGSGTE FTLLTISLQP EDFATYYCQQ LNSYPITFGQ GTRLEIK               | 107           |
|                                                                   |               |
| VK1GL012-JK3                                                      | (配列番号897)     |
| DIQMTQSPSS LSASVGDRV TITCRASQSI SSYLNWYQQK PGKAPKLLIY AASSLQSGVP  | 60            |
| RFSGSGSGT DFTLTISL QPEDFATYYC QQSYSTPFTF GPGTKVDIKR GTVAAPSIFI    | 120           |
| FPPSDEQLKS GTASVVCLL NNFYPREAKV QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSL   | 180           |
| STLTLSKADY EKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNNGECA AAGKPIPNPL LGLDST      | 236           |

このキットは、本方法の実施に必要な補助成分を含むことができ、このような成分の特質は、当然ながら用いる具体的な方法に依存する。有用な補助成分は、ヘルパーファージ、PCRプライマー、緩衝液および／またはさまざまな種類の酵素を含むことができる。緩衝液および酵素は、本明細書に記載の戦略に従った、再構成された、または再構成されない免疫グロブリン遺伝子に由来する、Fv、scFvまたはFab断片をコードするヌクレオチド配列の調製を可能にするために、通常使用される。

## 【0161】

## 多様性を導入する方法

可変であるDNAを作製する多くの方法がある。1つの方法は、混合ヌクレオチド合成(MNS)の使用である。MNSの1つの型は、表5に示すようなヌクレオチドの等モル混合物を使用する。例えば、NNKコドンの使用により、20種すべてのアミノ酸および1種のTAG終止コドンがもたらされる。分布は、3(R/S/L):2(A/G/V/T/P):1(C/D/E/F/H/I/K/M/N/Q/W/Y)(例えば、Arg、SerおよびLeu各々3など)である。本明細書において「wobbling」と呼ばれる代替方法は混合ヌクレオチドを使用するが、等モル量ではない。例えば、親コドンがTTC(Phenylalanineをコードする)であった場合、本発明者らは、Tの場所に(0.082T、0.06C、0.06Aおよび0.06G)の混合物およびCの場所に(0.082C、0.06T、0.06Aおよび0.06G)の混合物を使用することができた。これにより、59%の確率でTTCまたはTTT(Phenylalanineをコードする)、13%のLeu、約5%のS/V/I/C/Yおよびさらに低い頻度で他のアミノ酸型がもたらされるであろう。

## 【0162】

Van den Brulleら、(Biotechniques 45巻:340~3頁(2008年))は、II型制限酵素を使用して、所謂「splinker」に固定されているヘアピンオリゴヌクレオチド(PHON)からトリヌクレオチドに変換する、可変DNAの合成方法を記載している。さらに、欧州特許EP第1181395号、EP第14111122号、EP第1314783号および欧州特許出願EP第01127864.5号、EP第04001462.3号、EP第08006472.8号を参照されたい。固定されたPHONおよびsplinkerの混合物を使用することによって、所望のアミノ酸型が設計者の決定した比率を許容するライブラリを構築できる。したがって、1つのアミノ酸型が例えば82%の確率で存在し、18の他のアミノ酸型(Cysを除く、すべての非親アミノ酸型)は、それぞれ2%で存在することを対象とできる。本明細書において、本発明者らは、このような合成を「wobbling」(digital wobbling)と称することにする。一部の態様において、wobblingがwobblingより好ましいが、部分的には、遺伝子コード表の構造はwobblingを起こし、大部分が保存的置換を起こすので、wobblingは、有用な実施形態を提供する。wobblingは、望まれないアミノ酸型を排除する可能性を提供する。CDRにお

いて、不対システインは、治療用として承認された A b においてさえ公知であるが、一部の実施形態では、それらを避けようとする。一部の実施形態において、ジスルフィドに近いループは重要な構造要素であり、不対システインは望ましくないため、システインの対を含有する D 領域を多様化する場合、システインは変化させられない。

【 0 1 6 3 】

加えて、親アミノ酸配列をコードする D N A 分子を合成でき、フレームワーク領域において突然変異を避けるように、フレームワーク領域を含むプライマーを使用して、D N A をエラープローン P C R に供することができる。

【 0 1 6 4 】

【 表 8 】

表5:混合ヌクレオチドの標準的コード

NはA、C、G、Tが等モルである

BはC、G、Tが等モルである (Aは等モルではない)

DはA、G、Tが等モルである (Cは等モルではない)

HはA、C、Tが等モルである (Gは等モルではない)

VはA、C、Gが等モルである (Tは等モルではない)

KはG、Tが等モルである (ケト)

MはA、Cが等モルである (アミノ)

RはA、Gが等モルである (ブリン)

SはC、Gが等モルである (強い)

WはA、Tが等モルである (弱い)

YはC、Tが等モルである (ピリミジン)

表6:wobblingのための混合ヌクレオチドの例

$e = 0.82 A + 0.06 C + 0.06 G + 0.06 T$

$q = 0.06 A + 0.82 C + 0.06 G + 0.06 T$

$j = 0.06 A + 0.06 C + 0.82 G + 0.06 T$

$z = 0.06 A + 0.06 C + 0.06 G + 0.82 T$

【 実施例 】

【 0 1 6 5 】

本発明を、以下の実施例によりさらに例示するが、以下の実施例は決して限定として解釈されるべきではない。本出願を通して引用されたすべての参考文献、係属中の特許出願および公開された特許の内容は、参照により明確に本明細書に組み込まれる。

【 0 1 6 6 】

( 机上の実施例 1 )

非常に短い H C C D R 3 を有するライブラリ

非常に短い H C C D R 3 が当分野において記載されている。K a d i r v e l r a j ら、( 2 0 0 6 年 ) P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A 1 0 3 卷 : 8 1 4 9 ~ 5 4 頁は S t r e p t o c o c c u s B I I I 型 A g ( G B S - A g ) に結合するが、S t r e p t o c o c c u s p n e u m o n i a e の夾膜 A g には結合しない抗体中の 4 個のアミノ酸の H C C D R 3 配列を記載している。G B S - A g は、定期的にシアル化される。S . p n e u m o n i a e の夾膜 A g ( S P C - A g ) は非常に似ているが、シアル酸基を欠いている。このような短い H C C D R 3 は、その中に炭水化物が結合できる広い溝を創製し、このような A b は、既存の抗体ライブラリにおいて、非常にとてもまれである。したがって、現行ライブラリは、炭水化物に対する多種多様な潜在的バインダーをもたらさない。

【 0 1 6 7 】

A b 1 B 1 は、G B S - A g に結合するネズミ m A b である； A b 1 Q F U は、公知の 3 D 構造および最も近い配列を有する m A b である； 1 N S N は、長さ 4 の H C C

D R 3 を有する、公知の 3 D 構造の抗体である。3 - 2 3 H C 構造の検査により、R<sub>9</sub> - R<sub>4</sub> (F R 3 の終了) の C から W<sub>10</sub> - R<sub>4</sub> (F R 4 の開始) の C までの、約 10 の距離が得られた。1 B 1 (N W D Y (配列番号: 29)) の C D R 3 は、A A は、小型の側基だけを有する必要はなく、またはグリシンの大部分である必要もないことを示す。3 個のアミノ酸 (A A) は、P P P は機能しないが 10 を架橋できる。実際に、本発明者らは、3 個の A A と同じくらい短い C D R 3 を有するいくつかの F a b を得ているが、非常にまれである。

#### 【0168】

短いおよび非常に短い H C C D R 3 が記載されているが、短い H C C D R 3 (例えば、3 から 5 個のアミノ酸の H C C D R 3 ) を有する、多くの (例えば、メンバーの約 50%、約 60%、約 70%、約 80%、約 90% または約 95% を超える) メンバーを有する A b ライブリの作製を提案した人はいない。有効なライブリを構築するための 1 つの手法は、V - J または V - D - J のカップリングから生じ得るアミノ酸配列を最初に設計することである。長さ 3、4 または 5 の C D R 3 のために、本発明者らは、表 7 に示すアミノ酸配列から出発する。例えば、配列 V - 3 J H 1 は、3 - 2 3 の F R 3 (T A V Y Y C A K (配列番号: 30)) の C 末端、続く N 末端から、F R 4 を開始する T r p - G 1 y のアミノ酸 3 個前までを切り取った J H 1 を示す。V - 3 J H 2 は、F R 3 の末端、続く切り取られた J H 2 を示す。V - 3 J H 6 の後ろの配列は、F R 4 を、ヒト D セグメントから採取した三量体、続くヒト J H セグメントの F R 4 領域に接合することによって構築される。3 D 3 - 3 . 3 . 2 は、セグメント D 3 - 3 由来の三量体、第 2 のアミノ酸から出発する第 3 のリーディングフレームである。5 D 5 - 1 2 . 2 . 3 は、アミノ酸 3 から出発するリーディングフレーム 2 中の D 5 - 1 2 由来の五量体である。生殖系列 D セグメントのいくつかは終止コドンを含有し、終止コドンが編集され離れる場合、それにもかかわらず終止コドンは天然抗体中に出現する。ここで本発明者らは T A A および T A G コドンの T y r (Y) への変化の可能性が最も高く、T G A 終止は T r p (W) に突然変異する可能性が最も高いと仮定する。表 20 は、ヒト D セグメントのアミノ酸配列を示し、終止コドンの型は、T A G に関しては\*、T A A に関しては@、T G A に関しては\$ の使用により示される。表 11 にあるのは、ヒト D セグメントから構築できる 2 6 6 の異なる三量体である。T A A および T A G 終止は、「y」(すなわち小文字) として示された T y r に変化している。これらは、単一の塩基変化により、さらに S e r 、C y s 、P h e 、G l n 、L y s 、または G l u に変化し得る。T A G は、単一の塩基変化により、T r p ならびに T y r 、G l n 、L y s 、G l u 、S e r および L e u に変化し得る。表 12 は、ヒト D セグメントを切り取ることによって得ることができる、2 6 6 の異なる四量体である。表 13 は、ヒト D セグメントを切り取ることから得ることができる、2 1 5 の異なる五量体を示す。表 14 は、ヒト D セグメントを切り取ることにより得ることができる、1 5 5 の異なる六量体を示す。構築されるライブリは、H C C D R 1 および H C C D R 2 に実質的な多様性を有する。H C C D R 3 の配列多様性は、短いが許容できる配列を有することほど重要ではない可能性がある。J H セグメントまたは D セグメントの断片 (例えば、3 個またはそれ以上のアミノ酸) の多様性は、ヒト免疫系により構築でき、免疫原性である可能性が低い配列を提供する。

#### 【0169】

一実施形態において、C y s を含有する三量体、四量体および五量体は除外する。

#### 【0170】

一実施形態において、C y s を含有する、または終止を含有する D 断片に由来する三量体、四量体および五量体は除外する。

#### 【0171】

表 11 の三量体、表 12 の四量体、表 13 の五量体を使用して構築される短いライブリは、実質的多様性をそれぞれ 2 6 6 、2 6 6 および 2 1 5 有する。このことを、これらの長さをペプチドの数と比較すると、それぞれ 8 0 0 0 、1 6 0 0 0 0 および 3 2 0 0 0 0 である。

## 【0172】

V-3D1-1.1.1-JH1は、FR3の最終部分、続くD1-1(RF1)からの3個のアミノ酸、すなわちGTT(配列番号:257)を含有する。V-3D1-1.2-JH1は、D1-1(RF1)のアミノ酸2~4個を親CDR3として使用する。V-3D3-3.3.3-JH2は、FR3の末端、続くD3-3(RF3)のアミノ酸3~5個を示す。本発明は、FR3::(ヒトDセグメントの3、4、5個の終止を含まないAA)::(ヒトJH由来のFR4を含む、任意のアミノ酸配列を含む。不対Cys残基を含有するD領域の断片は、不対Cys残基を含まないD領域の断片ほど好ましくない。V-5JH3において、JH3は、FR4の開始を規定するTrp-Glyに対するコドンの前に4個だけコドンを有するため、「y」で示されるTyrが存在する。V-5JH4は、同じ理由で「s」で示されるSerを有する。wobblingを使用する場合、純度の好ましいレベルは、0.75と0.90との間である。本発明は、配列V-3JH1からV-3JH6、V-4JH1からV-4JH6およびV-5JH1からV-5JH6およびそれらを含有するライプラリを含む。本発明は、CDR領域がヒトD領域由来の3、4または5個のアミノ酸セグメントにより置き換えられた配列およびそれらを含有するライプラリもまた含む。本発明は、親配列がCDR3領域において突然変異を起こしているDNAおよびそれらを含有するライプラリを、さらに含む。好ましい実施形態は、CDR3当たり塩基変化の平均数が1,2または3である実施形態である。突然変異誘発の方法は、エラープローンPCR、wobblingおよびdubblingである。

## 【0173】

## 【表9】

表7:長さ3、4、5の親CDR3のアミノ酸配列

長さ3

|                 | ...FR3----- | CDR3- | FR4-----    |          |
|-----------------|-------------|-------|-------------|----------|
| V-3JH1          | TAVYYCAK    | FQH   | WGQGTLVTVSS | (配列番号31) |
| V-3JH2          | TAVYYCAK    | FDL   | WGRGTLVTVSS | (配列番号32) |
| V-3JH3          | TAVYYCAK    | FDI   | WGQGTMVTVSS | (配列番号33) |
| V-3JH4          | TAVYYCAK    | FDY   | WGQGTLVTVSS | (配列番号34) |
| V-3JH5          | TAVYYCAK    | FDP   | WGQGTLVTVSS | (配列番号35) |
| V-3JH6          | TAVYYCAK    | MDV   | WGQGTTVTVSS | (配列番号36) |
| V-3D1-1.1.1-JH1 | TAVYYCAK    | GTT   | WGQGTLVTVSS | (配列番号37) |
| V-3D1-1.1.2-JH1 | TAVYYCAK    | TTG   | WGQGTLVTVSS | (配列番号38) |
| V-3D3-3.3.3-JH2 | TAVYYCAK    | IFG   | WGRGTLVTVSS | (配列番号39) |

長さ4

|        |          |      |             |          |
|--------|----------|------|-------------|----------|
| V-4JH1 | TAVYYCAK | YFQH | WGQGTLVTVSS | (配列番号40) |
| V-4JH2 | TAVYYCAK | YFDL | WGRGTLVTVSS | (配列番号41) |
| V-4JH3 | TAVYYCAK | AFDI | WGQGTMVTVSS | (配列番号42) |
| V-4JH4 | TAVYYCAK | YFDY | WGQGTLVTVSS | (配列番号43) |
| V-4JH5 | TAVYYCAK | WFDP | WGQGTLVTVSS | (配列番号44) |

## 【0174】

## 【表10】

|                 |                                  |            |
|-----------------|----------------------------------|------------|
| V-4JH6          | TAVYYCAK GMDV <b>WGQGTTVTVSS</b> | ( 配列番号 45) |
| V-4D3-10.1a-JH2 | TAVYYCAK LLWF <b>WGRGTLVTVSS</b> | ( 配列番号 46) |

長さ5

|                |                                   |            |
|----------------|-----------------------------------|------------|
| V-5JH1         | TAVYYCAK EYFQH <b>WGQGTLVTVSS</b> | ( 配列番号 47) |
| V-5JH2         | TAVYYCAK WYFDL <b>WGRGTLVTVSS</b> | ( 配列番号 48) |
| V-5JH3         | TAVYYCAK yAFDI <b>WGQGTMVTVSS</b> | ( 配列番号 49) |
| V-5JH4         | TAVYYCAK SYFDY <b>WGQGTLVTVSS</b> | ( 配列番号 50) |
| V-5JH5         | TAVYYCAK NWFDP <b>WGQGTLVTVSS</b> | ( 配列番号 51) |
| V-5JH6         | TAVYYCAK YGMDV <b>WGQGTTVTVSS</b> | ( 配列番号 52) |
| V-5D2-8.2a-JH2 | TAVYYCAK DIVLM <b>WGRGTLVTVSS</b> | ( 配列番号 53) |

## 表8:wobblingのためのV-5D2-8.2a-JH2をコードするDNA

|   |                                                                 |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |            |   |   |   |   |  |  |
|---|-----------------------------------------------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|------------|---|---|---|---|--|--|
| ! | CDR3.....                                                       |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |            |   |   |   |   |  |  |
| ! | A                                                               | E | D | T | A | V | Y | Y | C | A | K | D          | I | V | L | M |  |  |
| ! | gct gag gaT aCT GCA GtT taT taC tgc gct aag jez ezz jzz qzz ezz |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |            |   |   |   |   |  |  |
| ! | W                                                               | G | Q | G | T | T | V | T | V | S | S | ( 配列番号 54) |   |   |   |   |  |  |
| ! | tgg ggc cag ggt act acG GTC ACC gtc tcc agt-3' ( 配列番号 55)       |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |            |   |   |   |   |  |  |
| ! | BstEII...                                                       |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |            |   |   |   |   |  |  |

あるいは、領域 X b a I から B s t E I I までに対応し、K または R である残基 9 4 、 続いて 3 、 4 または 5 つの N N K コドン、 続いて F R 4 の W G . . . を有する D N A の 3 つの断片を合成できる。許容される変形は、  $20^3 + 20^4 + 20^5 = 3,368,000$  である。增幅後、これらの D N A 分子を ( より短い配列が、相対的にオーバーサンプリングされるように ) 1 : 1 0 : 1 0 0 の比率で混合し、 H C C D R 1 / 2 の多様性を有する ライブライリをコードするファージミド内にクローニングする。  $1 \times 10^9$  のライブライリは、有意な多様性をもたらし、小型から中程度の突出を有する標的に結合する抗体の単離を可能にするであろう。例えば、さまざまな炭水化物、さほど秩序だっていないタンパク質のループ ( 例えば、 G P C R ) は、非常に短い H C C D R 3 を有することにより創造される抗体中の溝から利益を得ることができる。 ライブライリもまた構築できる。 A A 配列の比率は 1 : 2 0 : 4 0 0 であり、この比率は、より短い配列をより高密度にサンプリングするためには重要である可能性がある。 A b 中に大きくて広い溝を得ることは、厳密に 1 つの 3 A A C D R 3 を要求するが、 4 A A C D R 3 ではおそらくもう少し自由な余地があり、 5 A A では、さらにもっと自由な余地がある。この実施例において、前方の W G モチーフから F R 4 の J H 6 型を使用する。

## 【0175】

本発明者らの現行の ライブライリから、例えば、 a ) フレームワーク領域中の生殖系列、 b ) C D R において適切な多様性を示す、および c ) 十分作製され、 3 - 2 3 と良く対合する型である、 2 5 の 軽鎖のコレクションを選択できる。これらの L C は、 K a n R を担持するベクターおよびファージをパッケージングしないシグナルから、 E . c o l i 内に作製される。次いで、 L C を有さないファージベクター中に本発明者らの H C ライブライリを構築した。 H C および L C は、 L C 作製細胞を H C ファージに感染させることにより交雑される。選択された H C ファージは、 E L I S A + ファージを作製する細胞の L C を組み合わせることができ、または H C は、全 L C の多様性を有する p M I D 2 1 内にクローニングできる。あるいは、選択された H C は p H C S K 8 5 に移動でき、 R O L I C に使用して本発明者らのコレクションの全 L C と組み合わせることができる。 L C もまた使用できた。したがって、ファージ中の  $1 \times 10^9$  H C のライブライリは、  $1.2 \times 10^1$   $( 1. \times 10^9 \times 117 )$  の F a b ライブライリに拡大できる。  $1 \times 10^7$  の C D R 1 ~

2と10<sup>6</sup>のH C C D R 3とを組み合わせた場合、個々のC D R 3が50のC D R 1～2と結びついた、5×10<sup>7</sup>のライプラリを作ることができる。ファージ中の5×10<sup>7</sup>のH Cのライプラリは、6×10<sup>9</sup>の旧式のライプラリと同様の結果ともたらすことができた。

【0176】

【表11】

表1:非常に短い例示的なHC CDR3の設計

```
C3XXX
! scab DNA      S  R  D  N  S  K  N  T  L  Y  L  Q  M  N  S
5'-ttc|act|atc|TCT|AGA|gac|aac|tct|aag|aat|act|ctc|tac|ttg|cag|atg|aac|agC-
!           XbaI...
!
!           CDR3.....
!   L  R  A  E  D  T  A  V  Y  Y  C  A  K|R any any any any W  G
|TTA|AGg|gct|gag|gaT|aCT|GCA|GtT|taT|taC|tgc|gct aRg nnk nnk nnk tgg ggc-
!
!   Q  G  T  T  V  T  V  S  S  (  配列番号 56)
cag ggt act acG GTC ACC gtc tcc agt-3' (  配列番号 57)
!           BstEII...
!
(C3XXX) 5'-T|GCA|GtT|taT|taC|tgc|gct aRg nnk nnk nnk tgg ggc cag ggt act ac-3'
(  配列番号 58)
(ON_5) 5'-AcTggAgAcggTgAccgTAgTAccTggccccA-3' ! 33塩基 (  配列番号 256)
(ON_5は、5'-tgg ggc cag ggt act acG GTC ACC gtc tcc agt-3' (  配列番号 59)
の逆相補体である)
! 以下に示すON-1およびON-3を使用
!-----
!
```

【0177】

【表12】

```
C3X4
! scab DNA      S  R  D  N  S  K  N  T  L  Y  L  Q  M  N  S
5'-ttc|act|atc|TCT|AGA|gac|aac|tct|aag|aat|act|ctc|tac|ttg|cag|atg|aac|agC-
!           XbaI...
!
!           CDR3.....
!   L  R  A  E  D  T  A  V  Y  Y  C  A  K|R any any any any W
|TTA|AGg|gct|gag|gaT|aCT|GCA|GtT|taT|taC|tgc|gct aRg nnk nnk nnk nnk tgg-
!
!   G  Q  G  T  T  V  T  V  S  S  (  配列番号 60)
ggc cag ggt act acG GTC ACC gtc tcc agt-3' (  配列番号 61)
!           BstEII...
!
(C3X4) 5'-GCA|GtT|taT|taC|tgc|gct aRg nnk nnk nnk nnk tgg-
ggc cag ggt act ac-3' (  配列番号 62)
! ON-1、ON-3およびON-5を使用
!-----

```

```
C3X5
! scab DNA      S  R  D  N  S  K  N  T  L  Y  L  Q  M  N  S
5'-ttc|act|atc|TCT|AGA|gac|aac|tct|aag|aat|act|ctc|tac|ttg|cag|atg|aac|agC-
!           XbaI...
!
!           CDR3.....
!   L  R  A  E  D  T  A  V  Y  Y  C  A  K|R any any any any any
|TTA|AGg|gct|gag|gaT|aCT|GCA|GtT|taT|taC|tgc|gct aRg nnk nnk nnk nnk nnk-
!
!   W  G  Q  G  T  T  V  T  V  S  S  (  配列番号 63)
tgg ggc cag ggt act acG GTC ACC gtc tcc agt-3' (  配列番号 64)
!           BstEII...
(C3X5) 5'-GCA|GtT|taT|taC|tgc|gct aRg nnk nnk nnk nnk nnk tgg-
ggc cag ggt act ac-3' (  配列番号 65)
!-----
```

aRgはKまたはRをコードする

または、現行のH Cの多様性を、D Y 3 F 8 7 H C内にクローニングでき、上記のC D R 3の多様性を、X b a I - B s t E I I断片としてその多様性内にクローニングする。例えば、25のL Cのライプラリをp L C S K 2 3内にクローニングし、T G 1 E . c o l i中に細胞系を創製するために使用する。これらの細胞を、新規なH C C D R 3（およびC D R 1～2）の多様性を持つD Y 3 F 8 7 H Cファージに感染させる。この感染から得

られたファージを、所望の標的に対する結合に関して選択する。2から4ラウンドの選択の後で、選択されたH Cをp H C S K 2 2に移し、R O L I Cに使用して、選択されたH CとR O L I C L Cライブラリ中の全L Cと組み合わせができる細胞系を創造する。この方法において、1.E 9のライブラリは、通常なら1.E 16の(1.E 7のL Cの多様性を推測する)ライブラリの構築が必要と思われるA bを得ることができる。

#### 【0178】

(机上の実施例2)：非常に長いH C C D R 3を有するライブラリ  
S i d h u ら、(J M o l B i o l . 2 0 0 4 年 3 3 8 巻 : 2 9 9 ~ 3 1 0 頁 および米国特許出願第2 0 0 5 0 1 1 9 4 5 5 A 1号)は、長さが20アミノ酸までに制限されたC D Rにおいて、YおよびSだけが許容されるライブラリから選択される、高親和性A bを報告している。a) YまたはSを許容されるいくつかの(しかしすべてではない)部位、b) 4~6のN N Kコドンを含む、c) (Dにおいて多様化を有するまたは有さない)Dセグメントを導入する、および/またはd) エラーブローンP C Rを使用する、のうち1つまたは複数の多様性の形態を有するH C C D R 3を有するライブラリから、高親和性A bを作製することができる。本発明者らは、H C C D R 3が約8から約22の範囲で、長さの中央値が13であるA bの空間を既にサンプリングしている。したがって、H C C D R 3が約23AAまたは約35AAのどちらかであるライブラリが可能であり、標的の特定の型に対して有利性を有することができる。例えば、G P C Rは、多重状態を有すると思われる細胞の脂質二分子層を横断する、7つのらせん形セグメントを有する内在性膜タンパク質である。非常に長いH C C D R 3を有する抗体は、7つのストランドにより形成されるチャネルに適合する隆起を形成できる。G P C Rに結合するA bを見つけることは困難であり、すべてのメンバーが非常に長いH C C D R 3を有するライブラリを意図的に構築することにより、この問題は改善され得る。長さは、いくらか可変にでき、1つのライブラリにおいて、約23、24、または25、第2のライブラリにおいて33、34または35である。

#### 【0179】

下記は、多くの代表的な設計である。C D R 3は分解され、さまざまな部分が、Xの値に依存して異なる関係を有するようにされた多様性を作製した。完全長J H 1を使用して、いくつかの設計において、多様性は、J H 1のC D R 3における多様性を許容した。他のJ Hも使用できる。設計において、Dセグメントは、Yに富むか、またはSに富んだジスルフィドループを有するかのどちらかである。ヒトDセグメントのアミノ酸配列を表3に示す。D領域がSもしくはYのどちらかを有する、または他の組合せが許容される場所は、特に変化している。表4は、ヒトJ領域のアミノ酸配列を示す。

#### 【0180】

個々のライブラリは、少なくとも4つの方法で構築できる：1) 特定のアミノ酸配列をコードするD N Aをまず合成し、エラーブローンP C Rに供する、2) ライブラリは、w o b b l i n gによって、またはヌクレオチドの混合物を用いて合成され得る、3) ライブラリは、d o b b l i n gを使用して構築され得る、4) (2)または(3)の手段に続いてエラーブローンP C Rを行うことができる。(1)の手段の例として、設計12において、配列番号908をコードする、配列番号：911に示すようなD N Aが合成できる。このD N Aを、配列番号：909および配列番号：910に示すプライマーを使用して、エラーブローンP C Rに供することができる。これらのプライマーは、フレームワーク領域を含むので、エラーはC D R 3だけで発生する。

#### 【0181】

例えば $2 \times 10^9$ のメンバーの、長さ23のC D R 3を有するH Cのライブラリおよび同様に $2 \times 10^9$ のメンバーの、長さ約35のH C C D R 3を有する第2のライブラリが構築できる。あるいはD N Aを混合し、 $4 \times 10^9$ の1つのライブラリを構築できる。

#### 【0182】

## 【表13】

表4:ヒトJHアミノ酸配列

|     | H3                    |                    |            |
|-----|-----------------------|--------------------|------------|
|     | -----                 |                    |            |
|     | CDR3                  |                    |            |
|     | 100                   | 110                |            |
| JH1 | ---                   | AEYFQHWGQGTLVTVSS  | ( 配列番号 66) |
| JH2 | ---                   | YWFDLWGRGTLVTVSS   | ( 配列番号 67) |
| JH3 | ----                  | AFDIWQGQGTMVTVSS   | ( 配列番号 2)  |
| JH4 | ----                  | YFDYWQGQGTLVTVSS   | ( 配列番号 1)  |
| JH5 | ----                  | NWFDPWGQGQGTLVTVSS | ( 配列番号 68) |
| JH6 | YYYYYYGMDVWGQGTTVTVSS |                    | ( 配列番号 3)  |

以下の個々の設計において、アミノ酸配列はFR3の末端であるYYCA(K/R)(配列番号936)で始まる。FR4はWGで出発し、太字で示してある。

## 【0183】

## 設計1

配列番号：898は、FR3の末端と、それに接合された、免疫系がVとDとの間に位置するフィラー配列に頻繁に見出される型の2つの残基(DY)を含む。D2-2.2はジスルフィドループを有し、SerおよびThr残基に富んでいるので、後にはD2-2.2が続くことが好ましい。この後に、ThrおよびSer残基に富んだYGYSY(配列番号937)が続き、その後に完全長JH1が続く。

## 【0184】

## 【表14】

|                                                   |        |           |           |    |
|---------------------------------------------------|--------|-----------|-----------|----|
| XX::D2-2.2::XX::JH1                               | 1      | 1         | 2         | 2  |
| FR3 1 5 0 5 0 3FR4                                |        |           |           |    |
| YYCAK <u>DYGYSSTSCYTYGYSY</u> AEYFQHWGQGTLVTVSS   | (      | 配列番号 898) |           |    |
| YYCAK <u>XXGYCSSTSCYTXXXYSY</u> AEYFQHWGQGTLVTVSS | (      | 配列番号 69)  |           |    |
| R GYCSSTSCYTY AEYFQHWGQGTLVTVSS (JH1)             |        |           |           |    |
| ( 配列番号 70)                                        | (      | 配列番号 66)  |           |    |
| 1 1                                               | 1      | 1         |           |    |
| 9 9                                               | 0 0    | 0         | 1         |    |
| 4 5                                               | 0 2    | abcde     | fghijklmn | p3 |
| amino acid diversity                              | = 1.28 | E 8       |           |    |
| DNA diversity                                     | = 2.15 | E 9       |           |    |
| Termination                                       | = 83%  |           |           |    |
| Non-cysteine Cys                                  | = 83%  |           |           |    |
| Termination or Cys                                | = 68%  |           |           |    |

設計1(C23D222)は、RまたはKである94、その後2X、ループ中に2つのXを有する第2のリーディングフレーム中にD2-2、続いて2つのXおよびJH1を有する。D2-2の第2のリーディングフレームは、2つの場所で多様性を導入されている。ジスルフィドに近いループを有する。このCDR3は23の長さである。YYCA(配列番号938)まで、およびWGQQ(配列番号939)から

のDNAを含むプライマーを使用して、XbaIおよびBstEIIの外側に増幅する前に、kLCおよびHC CDR1/2のライプラリ内にクローニングするためCDR3に対してエラーブローンPCRを実施できる。したがって、固定として示されるAAはいくらかの変化が可能であろう。PCRオーバーラップ領域の一部であるAAは、最終的な非エラーブローンPCRにより強化されるであろう。エラーブローンPCRは、設計の必要な部分ではない。

## 【0185】

## 【表15】

```

C23D222JH1
! scab DNA      S   R   D   N   S   K   N   T   L   Y   L   Q   M   N   S
S'-ttc|act|atc|TCT|AGA|gac|aac|tct|aag|aat|act|ctc|tac|ttg|cag|atg|aac|agC-
!           XbaI...
!
!   L   R   A   E   D   T   A   V   Y   Y   C   A   K|R
! ITTA|AGg|gct|gag|gaT|aCT|GCA|GtT|taT|taC|tgc|gct aRg -
!
! CDR3-----
!   X   X   D2-2 RF2..... X   X   JH1..
! any any G   Y   C   S any any S   C   Y   T any any Y   S   Y   A
nnk nnk ggt tat tgt tcc nnk nnk tct tgc tat act nnk nnk tat tcc tac gct-
!
! CDR3-----
!   E   Y   F   Q   H
gaa tat ttc cag cac-
!
!   W   G   Q   G   T   L   V   T   V   S   S   (      配列番号 71)
tgg ggc cag ggt act ctG GTC ACC gtc tcc agt-3' (      配列番号 72)
!           BstEII...

```

【0186】

## 【表16】

(ON\_C23D222) 5'-GCA|GtT|taT|taC|tgc|gct aRg nnk nnk ggt tat tgt tcc nnk-  
nnk tct tgc tat act nnk nnk tat tcc tac gct gaa tat ttc cag cac-  
tgg ggc cag ggt act ct-3' ! 107 塩基 ( 配列番号 73)  
(ON\_1) 5'-GCA|GtT|taT|taC|tgc|gct-3' ( 配列番号 74)  
(ON\_2) 5'-AgAgTAcccTggccccAgAcgTccATAccgTAATAgT-3' ! 37 塩基 ( 配列番号  
75)  
(ON\_2 は、5'-ac tat tac ggt atg gac gtc tgg ggc cag ggt act ct-3'  
( 配列番号 76) の逆相補体である)  
(ON\_3) 5'-ttc|act|atc|TCT|AGA|gac|aac|tct|aag|aat|act|ctc|tac|ttg|cag|atg|-  
aac|agC|TTA|AGg|gct|gag|gat|aCT|GCA|GtT|taT|taC|tgc|gct-3' ( 配列  
番号 77)  
(ON\_4) 5'-AcTggAgAcgAgTggccccA-3' ! 33 塩基 ( 配列番号 78)  
(5'-tgg ggc cag ggt act ctG GTC ACC gtc tcc agt-3' [RC] ( 配列番号 79))

## 設計2

|       |                    |            |        |        |       |
|-------|--------------------|------------|--------|--------|-------|
|       | 1                  | 1          | 2      | 2      |       |
| 1     | 5                  | 0          | 5      | 0      |       |
| YYCAK | GSYYYGSGSYNNVDSYYA | EYFQOH     | WGQGTL | TVSS   |       |
| YYCAK | XXYYYYGXGSXYNXXSYY | A          | EYFQOH | WGQGTL | TVSS  |
| R     | YYYGSGSYNN         | AEYFQOH    | WGQGTL | TVSS   | (JH1) |
|       | ( 配列番号 81)         | ( 配列番号 66) |        |        |       |

アミノ酸多様性 = 1.28 E 8  
DNA多様性 = 2.15 E 9  
終止なし = 83%  
無償性Cysなし = 83%  
終止およびCysなし = 68%

設計2(C23D310)は、RまたはKとしての94、2つのX、5番目および8番目の残基がXに変化したD3-10(RF2)、2つのX、SYYおよびJH1を有する。CDR3は23AA長  
であり、エラーブローンPCRの使用によりさらに多様化され得る。

```
C23D310JH1
! scab DNA      S   R   D   N   S   K   N   T   L   Y   L   Q   M   N   S
!      -ttc|act|atc|TCT|AGA|gac|aac|tct|aag|aat|act|ctc|tac|ttg|cag|atg|aac|agC-
!      XbaI...
!
!      L   R   A   E   D   T   A   V   Y   Y   C   A   K|R
!      TTA|AGg|gct|gag|gat|aCT|GCA|GtT|taT|taC|tgc|gct aRg -
!
! CDR3-----
!
!      any any Y   Y   Y   G   any G   S   any Y   N   any any S   Y   Y
!      nnk nnk tac tac tat ggt nnk ggc tct nnk tac aat nnk nnk tct tat tac
!
!      A   E   Y   F   Q   H
!      gct gag tac ttt caa cat
!
!      JH1.....
!      W   G   Q   G   T   L   V   T   V   S   S   S   ( 配列番号 82)
!      tgg ggc cag ggt act ctG GTC ACC gtc tcc agt-3' ( 配列番号 83)
!      BstEII...
```

## 【0187】

## 【表17】

(C23D310) 5'-GCA|GtT|taT|taC|tgc|gct aRg nnk nnk tac tac tat ggt nnk ggc-tct nnk tac aat nnk nnk tct tat tac gct gag tac ttt caa cat tgg ggc cag-  
ggt act ct-3' (配列番号 84)

ON\_1, ON\_2, ON\_3, および ON\_4 は上記の通り。

## 設計3

|   |   |   |   |   |   |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5 | 1 | 1 | 2 | 2 |
|   |   | 0 | 5 | 0 | 3 |

YYCAK DYYYYGSGSYYNNSDSYSAEYFQHVGQGTLVTVSS (配列番号 900)  
YYCAK XZYZZGZGZXYNZXZYAZXZFQHVGQGTLVTVSS (配列番号 940)  
R YYYGSGSYYN AEYFQHVGQGTLVTVSS (JH1)  
(配列番号 81) (配列番号 66)  
アミノ酸多様性 = 1.64 E 8  
DNA多様性 = 1.07 E 9  
終止なし = 88%  
無償性Cysなし = 88%  
終止およびCysなし = 77%

設計3(C23D310B)は、RまたはKとしての94、XZ、2番目、3番目、5番目および7番目がZ(Y|S)に、8番目の残基がXに変化したD3-10(RF2)、ZXXYZおよび(EがXに変化した)JH1を有する。ZはYまたはSのどちらかである。CDR3は23AA長であり、エラープローンPCRの使用によりさらに多様化され得る。

A V Y Y C A RIK any Y|S Y Y|S Y|S G Y|S G  
(C23D310b) 5'-GCA|GtT|taT|taC|tgc|gct aRg nnk tmc tac tmc tmt ggt tmc ggc-  
Y|S any Y N Y|S any Y|S Y Y|S A any Y|S F Q H W G Q  
tmt nnk tac aat tmt nnk tmc tat tmc gct nnk tmc ttt caa cat tgg ggc cag-  
G T L (配列番号 85)  
ggt act ct-3' (配列番号 86)

ON\_1, ON\_2, ON\_3, および ON\_4 は上記の通り。

## 設計4

|   |   |   |   |   |   |   |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1 | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 |
| 1 | 5 | 0 | 5 | 0 | 3 | 5 |

YYCAK YYSFSYYPYYDSSGYYYGYYSDYSYSSYYAEYFQHVGQGTLVTVSS (配列番号 901)  
YYCAK YYSXSYXXZYDSZGXYZXYYSXZYZZAZZFQHVGQGTLVTVSS (配列番号 87)  
R YYYDSSGYYY AEYFQHVGQGTLVTVSS (JH1)  
(配列番号 88) (配列番号 66)  
1 1 1 1  
9 9 0 0 0 1  
4 5 0 2abcdefgijklmnopqrstuvwxyz 0  
アミノ酸多様性 = 1.64 E 8  
DNA多様性 = 1.07 E 9  
終止なし = 88%  
無償性Cysなし = 88%  
終止およびCysなし = 77%

## 【0188】

## 【表18】

設計4は、長さ35のCDR3を有する。残基94はKまたはRであってよく、その後はYYSS:  
 :X::SYY::X::D3-22(Xとして1つのSおよび3つのZを有する2番目のRF)::X::YY  
 S::X::YZZZ::JH1(2つのZを有する)であってよい。エラープローランPCRは、より多くの多様性を加えるために使用できる。

```
C35D322JH1
! scab DNA      S   R   D   N   S   K   N   T   L   Y   L   Q   M   N   S
5'-ttc|act|atc|TCT|AGA|gac|aac|tct|aag|aat|act|ctc|tac|ttg|cag|atg|aac|agC-
!           XbaI...
!
!   L   R   A   E   D   T   A   V   Y   Y   C   A   K|R
! ITTA|AGg|gct|gag|gat|aCT|GCA|GtT|taT|taC|tgc|gct aRg -
!
! CDR3-----
!
!   Y   Y   S   any   S   Y   Y   any   Y   Y|S   Y   D   S   Y|S   G   Y   Y|S   Y
  tac tat tcc nnk tct tac tat nnk tat tmt tac gat agt tmt ggt tac tmc tat
!
  any   Y   Y   S   any   Y   Y|S   Y   Y|S   Y|S   Y|S   A   Y|S   Y|S   F   Q   H
  nnk tac tat agc nnk tat tmc tac tmc tmt tmc gct tmt tmc ttc caa cac
!
!   W   G   Q   G   T   L   V   T   V   S   S   (   配列番号 89)
  tgg ggc cag ggt act ctG GTC ACC gtc tcc agt-3'   (   配列番号 90)
!           BstEII...
(c35d322B) 5'-GCA|GtT|taT|taC|tgc|gct aRg tac tat tcc nnk tct tac tat nnk-
  tat tmt tac gat agt tmt ggt tac tmc tat nnk tac tat agc nnk tat tmc tac-
  tmc tmt tmc gct tmt tmc ttc caa cac tgg ggc cag ggt act ct-3'   (   配列番号 91)
ON_1, ON_2, ON_3, および ON_4 は上記の通り。
```

## 設計5

|            |                                           |                   |           |
|------------|-------------------------------------------|-------------------|-----------|
| 1          | 1                                         | 2                 | 2         |
| 1          | 5                                         | 0                 | 3         |
| YYCAK      | SSGYCSSTSCYTGVYYYYAEYFQHWGQGTLVTVSS       | (                 | 配列番号 902) |
| YYCAK      | <u>ZZGZCZZXZCZTXXYZYXZYFQHWGQGTLVTVSS</u> | (                 | 配列番号 92)  |
| R          | GYCSSTSCYT                                | AEYFQHWGQGTLVTVSS | (JH1)     |
| (          | 配列番号 70)                                  | (                 | 配列番号 66)  |
| アミノ酸多様性    | = 1.64                                    | E 8               |           |
| DNA多様性     | = 1.07                                    | E 9               |           |
| 終止なし       | = 88%                                     |                   |           |
| 無側鎖Cysなし   | = 88%                                     |                   |           |
| 終止およびCysなし | = 77%                                     |                   |           |

設計5(C23D222b)は、設計1と同様であるが、多くのZ(YまたはS)の可変コドンを使用する。このCDR3は23長である。

```
C23D222JH1b
! scab DNA      S   R   D   N   S   K   N   T   L   Y   L   Q   M   N   S
5'-ttc|act|atc|TCT|AGA|gac|aac|tct|aag|aat|act|ctc|tac|ttg|cag|atg|aac|agC-
!           XbaI...
```

## 【0189】

## 【表19】

```

! L R A E D T A V Y Y C A KIR
! TTA|AGg|gct|gag|gaT|aCT|GCA|GtT|taT|taC|tgc|gct aRg -
! CDR3-----
! Y|S Y|S G Y|S C Y|S Y|S any Y|S C Y|S T any any Y Y|S Y any
! tmc tmt ggt tmt tgc tmc tmt nnk tmt tgt tmc acc nnk nnk tat tmt tac nnk
! Y|S Y F Q H
! tmt tat ttc cag cac
! W G Q G T L V T V S S ( 配列番号 93)
! tgg ggc cag ggt act ctG GTC ACC gtc tcc agt-3' ( 配列番号 94)
! BstEII...
(C23D222JH1b) 5'-GCA|GtT|taT|taC|tgc|gct aRg tmc tmt ggt tmt tgc tmc tmt-
nnk tmt tgt tmc acc nnk nnk tat tmt tac nnk tmt tat ttc cag cac tgg ggc-
cag ggt act ct-3' ( 配列番号 95)

```

## 設計6

|       |                                              |                         |           |   |   |   |   |   |
|-------|----------------------------------------------|-------------------------|-----------|---|---|---|---|---|
| 1     | 5                                            | 0                       | 5         | 0 | 3 | 5 | 0 | 5 |
| YYCAK | SYDYYGCSSTSCYTYYSYVSYSYSSYYAEYFQHWGQGTLVTVSS | (                       | 配列番号 903) |   |   |   |   |   |
| YYCAK | ZYXZYGZCZZXSCZTYZSZZYAEZFOHWGQGTLVTVSS       | (                       | 配列番号 96)  |   |   |   |   |   |
| R     | GYCSSTSCYT D2-2.2                            | AEYFQHWGQGTLVTVSS (JH1) |           |   |   |   |   |   |
| (     | 配列番号 70)                                     | (                       | 配列番号 66)  |   |   |   |   |   |

|            |            |
|------------|------------|
| アミノ酸多様性    | = 2.00 E 8 |
| DNA多様性     | = 5.37 E 8 |
| 終止なし       | = 91%      |
| 無償性Cysなし   | = 91%      |
| 終止およびCysなし | = 83%      |

## C35D222JH1

```

! scab DNA S R D N S K N T L Y L Q M N S
5'-ttc|act|atc|TCT|AGA|gac|aac|tct|aag|aat|act|ctc|tac|ttg|cag|atg|aac|agC-
! XbaI...
! L R A E D T A V Y Y C A KIR
! TTA|AGg|gct|gag|gag|aCT|GCA|GtT|taT|taC|tgc|gct aRg -
! CDR3-----
! Y|S Y any Y|S Y G Y|S C Y|S Y|S any S C Y|S T Y Y|S S
! tmt tac nnk tmc tac ggc tMt tgc tmt tmc nnk tCt tgt tmc acc tat tmt tcc
! Y|S any Y|S Y S any Y Y|S S Y|S Y A E Y F Q H
! tmt nnk tmc tat tct nnk tac tmc agt tmt tat gct gag tat ttc cag cac
! W G Q G T L V T V S S ( 配列番号 97)
! tgg ggc cag ggt act ctG GTC ACC gtc tcc agt-3' ( 配列番号 98)
! BstEII...
(C35D222JH1) 5'-GCA|GtT|taT|taC|tgc|gct aRg tmt tac nnk tmc tac ggc tat- tgc tmt tmc
nnk tmt tgt tmc acc tat tmt tcc tmt nnk tmc tat tct nnk tac-
tmc agt tmt tat gct gag tat ttc cag cac tgg ggc cag ggt act ct-3' ( 配列番号 99)

```

## 【0190】

## 【表20】

## 設計7

|   |   |   |   |   |   |   |   |   |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5 | 1 | 1 | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 |
| 0 | 5 | 0 | 3 | 5 | 0 | 5 |   |   |

YYCAK YYSYGYCSSTSCYTYSSVSYSYSSYYAEYFQHWCQGTLVTVSS (配列番号 904)  
 YYCAK ZYZZYGZCZZXZCZTYZSZZYSSZYA~~Z~~QBWGCQGTLVTVSS (配列番号 100)  
 R GYCSSTSCYT D2-2.2 AEYFQHWCQGTLVTVSS (JH1)  
 (配列番号 70) (配列番号 66)  
 (J=FSY, B=YHND,  $\psi$ =EKQ)

アミノ酸多様性 = 9.44 E 8  
 DNA多様性 = 2.42 E 9  
 終止なし = 93%  
 無價性Cysなし = 93%  
 終止およびCysなし = 88%

C35D222JH1B  
 !  
 ! scab DNA S R D N S K N T L Y L Q M N S  
 5'-ttc|act|atc|TCT|AGA|gac|aac|tct|aag|aat|act|ctc|tac|ttg|cag|atg|aac|agC-  
 ! XbaI...  
 !  
 ! L R A E D T A V Y Y C A K|R  
 |TTA|AGg|gct|gag|gaaT|aCT|GCA|GtT|taT|taC|tgc|gct aRg -  
 !  
 ! CDR3-----  
 ! Y|S Y Y|S Y|S Y G Y|S C Y|S Y|S any Y|S C Y|S T Y Y|S S  
 ! tmt tac tmc tac ggc tMt tgc tmt tmc nnk tmt tgt tmc acc tat tmt tcc  
 !  
 ! Q Y N|D  
 ! Y|S any Y|S Y S Y|S Y Y|S S Y|S Y A E|K Y|S F|S Q H|Y  
 ! tmt nnk tmc tat tct tmt tac tmc agt tmt tat gct Vag tmt tHc cag Nac  
 !  
 ! W G Q G T L V T V S S ( 配列番号 101)  
 tgg ggc cag ggt act ctG GTC ACC gtc tcc agt-3' ( 配列番号 102)  
 ! BstEII...

## 設計8

|   |   |   |   |   |   |   |   |   |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5 | 1 | 1 | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 |
| 0 | 5 | 0 | 3 | 5 | 0 | 5 |   |   |

YYCAK SRSYYDYVWGSYRYTSSSYSSYSSYYAEYFQHWCQGTLVTVSS (配列番号 905)  
 YYCAK ZXZYZBZWGZZRZTZS2XZYZZYSSZA~~Z~~FQHWCQGTLVTVSS (配列番号 103)  
 R YYDYVWGSYRYT D3-16.2 AEYFQHWCQGTLVTVSS (JH1)  
 (配列番号 104) (配列番号 66)  
 (J=FSY, B=YHND,  $\psi$ =EKQ)

アミノ酸多様性 = 9.44 E 8  
 DNA多様性 = 1.61 E 9  
 終止なし = 93%  
 無價性Cysなし = 93%  
 終止およびCysなし = 88%

## 【0191】

## 【表21】

C34D316JH1A

! scab DNA S R D N S K N T L Y L Q M N S  
 5'-ttclactlactc|**TCT|AGA**|gac|aac|tct|aag|aat|act|ctc|tac|ttg|cag|atg|aac|agC-  
 ! **XbaI...**

! L R A E D T A V Y Y C A K|R  
 |TTA|AGg|gct|gag|gaT|aCT|**GCA|GtT|taT|taC|tgc|gct** **aRg** -

! CDR3-----  
 ! N|D  
 ! Y|S any Y|S Y Y|S Y|H Y|S V W G Y|S Y|S R Y|S T Y|S  
 tmt nnk tmc tac tmt Nat tmt gtt tgg ggt tmt tmc cgt tmt act tmt  
 ! S Y|S any Y|S Y Y|S Y|S Y|S Y|S S Y|S  
 agt tmc nnk tmt tac tmc tmt tmc tat tmc agt tmt

! Q  
 ! A, E|K Y|S F Q H  
 GCT **vag** tmc ttc cag cat

! W G Q G T L V T V S S ( 配列番号105)  
 tgg ggc cag ggt act ct**G GTC ACC** gtc tcc agt-3' ( 配列番号106)  
 ! **BstEII...**

(C34D316JH1A) 5'-GCA|GtT|taT|taC|tgc|gct aRg tmt nnk tmc tac tmt Nat tmt-  
 gtt tgg ggt tmt tmc cgt tmt act tmt agt tmc nnk tmt tac tmc tmt tmc tat-  
 tmc agt tmt GCT **vag** tmc ttc cag cat tgg ggc cag ggt act ct -3' ( 配列番号107)

## 設計9

設計9は、Dセグメントが右に移動することを除き設計8と同様である。

|   |   |   |   |   |   |   |   |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5 | 0 | 5 | 0 | 3 | 5 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|

YYCAK YGYSSDSYYSSYYDYVWGSYRTYSSYYAEYFQHWGQGTLVTVSS ( 配列番号906)  
 YYCAK **ZXZZZXZZYZZYZBZVWGZZRZTYZSYAψZ** FQHWGQGTLVTVSS ( 配列番号108)  
 R D3-16.2 YYDYVWGSYRT AEYFQHWGQGTLVTVSS (JH1)  
 ( 配列番号104) ( 配列番号66)  
 (J=FSY, B=YHND, ψ=EKQ)

|            |        |     |
|------------|--------|-----|
| アミノ酸多様性    | = 1.31 | E 8 |
| DNA多様性     | = 5.37 | E 8 |
| 終止なし       | = 91%  |     |
| 無側性Cysなし   | = 91%  |     |
| 終止およびCysなし | = 83%  |     |

## 【0 1 9 2】

## 【表22】

C34D316JH1B

```

! scab DNA      S   R   D   N   S   K   N   T   L   Y   L   Q   M   N   S
5'-ttc|act|atc|TCT|AGA|gac|aac|tct|aag|aat|act|ctc|taC|ttg|cag|atg|aaC|aCg-
!           XbaI...
!
!   L   R   A   E   D   T   A   V   Y   Y   C   A   K|R
!   TTA|AGg|gct|gag|gaaT|aCT|GCA|GtT|taT|taC|tgC|gct aRg -
!
! CDR3-----
! Y|S any Y|S Y|S Y|S any Y|S Y   Y|S Y|S Y|S
! tmt nnk tmc tmt tmc nnk tmt tac tmc tmt tmc
!
!   N|D
!   Y   Y|S Y|H Y|S   V   W   G   Y|S Y|S   R   Y|S   T
!   tac tmt Nat tmt gtt tgg ggt tmt tmc cgt tmt act
!
!   Y   Y|S   S   Y|S   Y
!   tat tmc agt tmt tac
!
!   Q
!   A   E|K Y|S   F   Q   H
!   GCT vag tmc ttc cag cat
!
!   W   G   Q   G   T   L   V   T   V   S   S   (   配列番号109)
!   tgg ggc cag ggt act ctG GTC ACC gtc tcc agt-3'   (   配列番号110)
!   BstEII...

```

(C35D316JH1B)

5'-GCA|GtT|taT|taC|tgC|gct aRg tmt nnk tmc tmt tmc nnk tmt tac tmc tmt tmc  
 tac tmt Nat tmt gtt tgg ggt tmt tmc cgt tmt act tat tmc agt tmt tac GCT vag  
 tmc ttc cag cat tgg ggc cag ggt act ct-3' ( 配列番号111)

## 設計10

|   |   |   |   |   |   |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5 | 0 | 5 | 0 | 4 |
|---|---|---|---|---|---|

YYCAK GSSYYYGSGSYNNSDYYSAEYFQHWGQGTLVTVSS ( 配列番号 907)  
 YYCAK XZZYZZGZGZXYNZXZYZAXZFQHWGQGTLVTVSS ( 配列番号 112)  
 R YYYGSGSYNN AEYFQHWGQGTLVTVSS (JH1)  
 ( 配列番号 81) ( 配列番号 66)

設計10(C24D310B)は設計3と同様であるが、CDR3は長さが24である。設計10  
 は、RまたはKとしての94、XZZ、2番目、3番目、5番目および7番目がZ(Y|S)に、8  
 番目の残基がXに変化したD3-10(RF2)、ZXXYZおよび(EがXに変化した)JH1を  
 有する。ZはYまたはSのどちらかである。CDR3は24AA長であり、エラープローンPCR  
 の使用によりさらに多様化され得る。

(C24D310b) 5'-GCA|GtT|taT|taC|tgC|gct aRg nnk tmc tmc tac tmc tmt ggt tmc-  
ggc tmt nnk tac aat tmt nnk tmc tat tmc gct nnk tmc ttt caa cat tgg ggc-  
cag ggt act ct-3' ( 配列番号 113)  
 ON\_1, ON\_2, ON\_3, および ON\_4 は上記の通り。

## 設計11

|   |   |   |   |   |   |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5 | 0 | 5 | 0 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|

## 【0 1 9 3】

## 【表23】

YYCAR SSRSGYCTNGVCYRGSYWFDLWGRGTLVTVSS (配列番号991)  
 YYCAR ZZXZGZC32GVCZ3ZXZ4Z12LWGRGTLVTVSS (配列番号114)  
 K GYCTNGVCYT YWYFDLWGRGTLVTVSS D2-8.2 JH2  
 (配列番号115) (配列番号67)  
 (1=FYS(THT), 2=YHND(NAT), 3=ITKR(ANA), 4=LSW(TBG))

(C24D282) 5'-GCA|GtT|taT|taC|tgc|gct aRg tmc tmt nnk tmt ggt tmc tgt ana-  
 nat ggt gtc tgc tmt ana tmc nnk tmt tmt tbg tmt tmt tmt nat ctg tgg ggc-  
cag ggt act ct-3' (配列番号116)

(C24D282.1) 5'-GCA|GtT|taT|taC|tgc|gct aRg tmc tmt nnk tmc ggt tmc tgc ana-  
 nat ggc gtc tgc tmt ana tmc nnk tmt tmt tbg tmt tmt tmt nat ctg tgg ggc-  
cag ggt act ct-3' (配列番号117)

(C24D282.1) 5'-GCA|GtT|taT|taC|tgc|gct aRg tmc tmt nnk tmc ggt tmc tgc ana-  
 nat ggc gtc tgc tmt (配列番号118) (R, M, N, Kが必要)  
 (C24D282.2) 5'-Ag Agt Acc cTg gcc ccA cAg ATN ADA cVA AKA AKA MNN gKA TNT AKA gca  
 gAc gcc ATN TNT gCA gKA Acc g-3' (配列番号119) ! 75塩基  
 (5'-c ggt tmc tgc ana-  
nat ggc gtc tgc tmt ana tmc nnk tmt tmt tbg tmt tmt tmt nat ctg tgg ggc-  
cag ggt act ct-3' [RC] (配列番号120) (N, M, K, B, Hが必要)

## 設計12

|   |   |   |   |   |   |   |
|---|---|---|---|---|---|---|
|   | 1 | 1 | 2 | 2 | 3 | 3 |
| 1 | 5 | 0 | 5 | 0 | 5 | 5 |

YYCAR SSYSYGYCTNGVCYTYSYSSYSSYWFDLWGRGTLVTVSS (配列番号908)  
 YYCAR ZZZZZZGZC32GVCZ3ZZZZYZYZZZ4Z12LWGRGTLVTVSS (配列番号121)  
 K GYCTNGVCYT YWYFDLWGRGTLVTVSS D2-8.2 JH2  
 (配列番号115) (配列番号67)  
 (1=FYS, 2=YHND, 3=ITKR, 4=LSW, 2=YS)

(C33D282TP) 5'-GCA|GtT|taT|taC|tgc|gct-3' (配列番号909)  
 (C33D282BP) 5'-ag agt acc ctg gcc cca-3' (配列番号910)  
 (C33D282) 5'-GCA|GtT|taT|taC|tgc|gct aRg tmt tmc tmc tmt tmc tmc ggt-  
 tmt tgt ana nat ggc gtc tmt ana tmc tmc tmc tmt tat tmt tmc tat tmt-  
 tac tmt tmc tbg tmc tmt nat ctg tgg ggc cag ggt act ct-3' (配列番号122)  
 (C33D282F) 5'-GCA|GtT|taT|taC|tgc|gct agg tct tcc tac tat tcc tac ggt-  
 tat tgt aca aat ggc gtc tat aca tac tcc tac tct tat tat tcc tat tct-  
 tac tct tac tgg tac ttt gat ctg tgg ggc cag ggt act ct-3' (配列番号911)

## 設計13

設計13は、定常領域を通してオーバーラップしているDNAの2つの小片を作製できるように、多数のZの中央に生殖系列Dセグメントを配置している。HC CD R3は34長であり、多様性は $2^{23} \sim 8 \times 10^6$ である。

|   |   |   |   |   |   |   |
|---|---|---|---|---|---|---|
|   | 1 | 1 | 2 | 2 | 3 | 3 |
| 1 | 5 | 0 | 5 | 0 | 5 | 5 |

YYCAR SSSYYSSYSSGYCTNGVCYTYSYSSYSSYWFDLWGRGTLVTVSS (配列番号912)  
 YYCAR ZZZZZZZZZZGZC32GVCZ3ZZZZZZZZWZC32LWGRGTLVTVSS (配列番号123)  
 K GYCTNGVCYT YWYFDLWGRGTLVTVSS D2-8.2 JH2  
 (配列番号115) (配列番号67)

## 【0194】

## 【表24】

(2=YHND)

(C34D282.2A) 5'-GCA|GtT|taT|taC|tgc|gct aRg tmt tmc tmc tmt tmc tmc tmt-  
tmc tmc ggt tat tgt act aac ggc gtt tgc tat act-3' (配列番号124)  
(C34D282.2B) 5'-Ag AgT Acc cTg gcc ccA cAg gAA AKA ccA AKA AKA gKA-  
gKA gKA AKA AKA AgT ATA gcA AAc gcc gTT AgT AcA ATA-3' (配列番号125) ! 86  
塩基  
(5'- tat tgt act aac ggc gtt tgc tat act tmt tmt tmc tmc-  
tmt tmt tgg tmt ttc Nac ctg tgg ggc cag ggt act ct-3' (配列  
番号126) [RC])

## 設計14

設計14は、Dセグメントが大部分生殖系列であることを除いて、9と同様である。

|   |   |   |     |   |   |
|---|---|---|-----|---|---|
| 1 | 1 | 2 | 2 2 | 3 | 3 |
| 1 | 5 | 0 | 5   | 0 | 5 |

YYCAK YSYYSGSYYYSDYVWGSYRRTSYDSYYYAEYFQHWGQGTLVTVSS (配列番号 913)  
YYCAK ZZZZZZZZZZZDYVWGSYRZTZBBBBBZAEZFQHWGQGTLVTVSS (配列番号 127)  
R D3-16.2 YYDYVWGSYRT AEYFQHWGQGTLVTVSS (JH1)  
(配列番号 104) (配列番号 66)

(C34D316.2A) 5'-GCA|GtT|taT|taC|tgc|gct aRg tmt tmc tmc tmt tmc tmc tmt-  
tmc tmc gat tat gtc tgg ggt act tat cgt-3' (配列  
番号128)  
(C34D316.2B) 5'-Ag AgT Acc cTg gcc ccA ATg cTg gAA AKA cTc Agc gKA gKA gKA-  
gKA gKA AKA AgT gKA Agc ATA AgT Acc ccA gAc ATA ATc-3' (配列  
番号129) ! 86塩基  
(5'-gat tat gtc tgg ggt act tat cgt tmc act tmt tmc tmc tmc-  
tmc tmc gct gag tmt ttc cag cat tgg ggc cag ggt act ct-3'  
(配列番号130) [RC])

## 設計15

設計15は、オーバーラップにおいていくらかの多様性、5つの双方向フリップフロップが  
許容される。わずか32のオーバーラップ配列があり、一致しなくとも、それらは許容され  
る多様性を変化させはしないであろう。

|   |   |   |     |   |   |
|---|---|---|-----|---|---|
| 1 | 1 | 2 | 2 2 | 3 | 3 |
| 1 | 5 | 0 | 5   | 0 | 5 |

YYCAK SYDYSSSYYYYSDYVWGSYRRTSYSGDSYYYAEYFQHWGQGTLVTVSS (配列番号 914)  
YYCAK ZZZZZZZZZZZDZVWGSYRZTZBBBBBZAEZFQHWGQGTLVTVSS (配列番号 131)  
YYDYVWGSYRT AEYFQHWGQGTLVTVSS  
(配列番号 104) (配列番号 66)

(C35D316.2A) 5'-GCA|GtT|taT|taC|tgc|gct aRg tmt tmc tmc tmt tmc tmc tmt-  
tmc tmc gac tmt gtc tgg ggt tmc cgt tmc acc t-3' (配列番号  
132)  
(C35D316.2B) 5'-Ag AgT Acc cTg gcc ccA ATg cTg gAA AKA cTc Agc gKA gKA-  
gKA gKA gKA gKA AKA ggT gKA Agc gKA gKA Acc ccA gAc AKA gTc gKA g-3'  
(配列番号133)  
(5'-c tmc gac tmt gtc tgg ggt tmc cgt tmc acc tmt tmc tmc-  
tmc tmc tmc tmc gct gag tmt ttc cag cat tgg ggc cag ggt act ct-3' (配列  
番号134) [RC])

## 【0 1 9 5】

## 【表25】

## 設計16

設計16は、35のCDR3を提供する。オーバーラップにおいて4つの双方方向フリップフロップ、したがって16配列が存在する。

|     |   |   |   |     |   |   |
|-----|---|---|---|-----|---|---|
| 1 5 | 1 | 1 | 2 | 2 2 | 3 | 3 |
|     | 0 | 5 | 0 | 3 5 | 0 | 5 |

YYCAK SSSYYSSYSSGYCSGGSCYSSYYSSYYSAEYFQGWGQGTLVTVSS ( 配列番号 915)  
 YYCAK ZZZZZZZZZZGZCZGGCZSZZZZZZZZAEZFOHKGQGTLVTVSS ( 配列番号 135)  
 R GYCSGGSCYS 2-25.2 AEYFQHWGQGTLVTVSSJH1  
 ( 配列番号 136) ( 配列番号 66)

(C35D225.2A) 5'-GCA|GtT|taT|taC|tg|gct aRg tmt tmt-  
 tmc tmc ggc tmc tgc tgc ggt ggc tmc tgc tmc tcc t-3' ( 配列番号 137)  
 (C35D225.2B) 5'-Ag AgT Acc cTg gcc ccA ATg TTg gAA AKA TTc Agc gKA gKA-  
 gKA gKA gKA gKA gKA gKA gKA g-3'  
 ( 配列番号 138) ! 96塩基

C34D225.2AおよびC34D225.2Bを混合物に加えた場合、33、34、および35の長さのCDR3を得る。

(C34D225.2A) 5'-GCA|GtT|taT|taC|tg|gct aRg tmt tmt tmt tmt tmt tmt tmt tmt tmt tmt-  
 tmc tmc ggc tmc tgc tgc ggt ggc tmc tgc tmc tcc t-3' ( 配列番号 139)  
 (C34D225.2B) 5'-Ag AgT Acc cTg gcc ccA ATg TTg gAA AKA TTc Agc gKA gKA-  
 gKA gKA gKA gKA gKA gKA gKA g-3'  
 ( 配列番号 140) ! 93塩基

## 設計17

|     |   |   |   |     |   |   |
|-----|---|---|---|-----|---|---|
| 1 5 | 1 | 1 | 2 | 2 2 | 3 | 3 |
|     | 0 | 5 | 0 | 3 5 | 0 | 5 |

YYCAK YSSYYDDYVWGSYRYTSSSSYSSYYSAEYFQGWGQGTLVTVSS ( 配列番号 916)  
 YYCAK ZZZZZZZDZVWGZTZTZZZZZZZZAEZFOHKGQGTLVTVSS ( 配列番号 141)  
 R YYDYVWGSYRYT D3-16.2 AEYFQHWGQGTLVTVSS (JH1)  
 ( 配列番号 104) ( 配列番号 66)

(C35D3162A) 5'- GCA|GtT|taT|taC|tg|gct aRg tmt tmt tmt tmt tmt tmc gac-  
 tmc gtc tgg ggt tmt tmc cgt tmt acc t-3' ( 配列番号 142)  
 (C35D3162B) 5'-Ag AgT Acc cTg gcc ccA gTg cTg gAA gKA cTc Agc gKA gKA gKA-  
 gKA gKA gKA gKA gKA gKA gKA gKA gKA g-3' ( 配列番号 143)

## 設計18

|     |   |   |   |     |   |   |
|-----|---|---|---|-----|---|---|
| 1 5 | 1 | 1 | 2 | 2 2 | 3 | 3 |
|     | 0 | 5 | 0 | 3 5 | 0 | 5 |

YYCAK SSYYSSYYDDYVWGSYRYTSSSSYSSYYSAEYFQGWGQGTLVTVSS ( 配列番号 917)  
 YYCAK ZZZZZZZZZDZVWGZTZTZZZZZZZZAEZFOHKGQGTLVTVSS ( 配列番号 144)  
 R YYDYVWGSYRYT D3-16.2AEYFQHWGQGTLVTVSS (JH1)  
 ( 配列番号 104) ( 配列番号 66)

(C35D3162C) 5'- GCA|GtT|taT|taC|tg|gct aRg tmt tmt tmt tmt tmt tmc-  
 tmc tmc gac tmc gtc tgg ggt tmc cgt tmc acc t-3' ( 配列番号 145)  
 82塩基  
 (C35D3162B) 5'-Ag AgT Acc cTg gcc ccA gTg cTg gAA gKA cTc Agc gKA gKA-

## 【表26】

gKA gKA gKA gKA gKA gKA gKA gKA ggT gKA Acg gKA gKA Acc ccA gAc gKA-  
gTc g-3' (配列番号146)

## 設計19

|                   |                                                  |                         |   |   |    |    |    |    |
|-------------------|--------------------------------------------------|-------------------------|---|---|----|----|----|----|
| 1                 | 5                                                | 0                       | 5 | 0 | 3  | 5  | 0  | 5  |
| YYCAK             | YSGDSYSSYYDSSGYYYYSSYYSSYYSSYYAEYFQCGWGOGLTVTVSS | (配列番号918)               |   |   |    |    |    |    |
| YYCAK             | ZZZZZZZZZZZDSSGZZZZZZZZZZZZZZAEZFQHNGQGTLVTVSS   | (配列番号147)               |   |   |    |    |    |    |
| R                 | YYDSSGGYYY                                       | AEYFQHNGQGTLVTVSS (JH1) |   |   |    |    |    |    |
| (配列番号88) (配列番号66) |                                                  |                         |   |   |    |    |    |    |
| 9 9               | 0 0                                              | 1 1                     | 1 | 1 | 0  | 1  | 1  | 1  |
| 4 5               | 0 2abcdefgijklmnopqrstuvwxyzab3                  | ..                      | 0 | 0 | .. | .. | .. | .. |

|            |           |
|------------|-----------|
| アミノ酸多様性    | = 6.7 E 7 |
| DNA多様性     | = 6.7 E 7 |
| 終止なし       | = 100     |
| 無償性Cysなし   | = 100     |
| 終止およびCysなし | = 100%    |

設計19は、長さ35のCDR3を有する。残基94は、KまたはR、ZZZZZZZZZZ:D3-22(Zとして6つのYを有する第2のRF)::ZZZZZZZZZZ::JH1(1つのZを有する)であってよい。エラーブローンPCRは、より多くの多様性を加えるために使用できる。

C35D322AJH1

```
! scab DNA      S  R  D  N  S  K  N  T  L  Y  L  Q  M  N  S
5'-ttc|act|atc|TCT|AGA|gac|aac|tct|aag|aat|act|ctc|tac|ttg|cag|atg|aac|agC-
!           XbaI...
!
!      L  R  A  E  D  T  A  V  Y  Y  C  A  K|R
!TTA|AGg|gct|gag|gaT|aCT|GCA|GtT|taT|taC|tgC|gct  aRg -
!
! CDR3-----
!
! Y|S D  S  S  G  Y|S Y|S Y|S
!tmc tmt tmc tmt tmc tmt tmc tmt
!
! Y|S A  E  Y|S F  Q  H
!tmc tmt tmc tmt tmc tmt tmc tmc tmc tmc tmc tmc tmc tmc tmc tmt
!
! W  G  Q  G  T  L  V  T  V  S  S  (  配列番号148)
!tgg ggc cag ggt act ctG GTC ACC gtc tcc agt-3' (  配列番号149)
!           BstEII...
```

## 【0197】

## 【表27】

(C35D322AJH1\_T) 5'-GCA|GtTitaTitaC|tgc|gct aRg tmc tmt tmc tmc tmc tmt-  
 tmt tmc tmt tmc tmc\_gac\_agc\_tcc\_ggc\_tmc\_tmc t-3' ( 配列番号150)  
 (C35D322AJH1\_B) 5'-cAg AgT Acc cTg gcc ccA gTg gAA gKA TTc Agc gKA-  
 gKA gKA AKA gKA AKA gKA AKA gKA AKA gKA gKA gKA\_gKA\_gcc\_ggA\_gcT\_gTc-  
gKA\_gKA\_g-3' ( 配列番号151)

ON\_1, ON\_2, ON\_3, および ON\_4 は上記の通り。

## 設計20

|       |                                                                           |                    |                       |             |           |           |    |   |
|-------|---------------------------------------------------------------------------|--------------------|-----------------------|-------------|-----------|-----------|----|---|
| 1     | 5                                                                         | 1                  | 1                     | 2           | 2         | 2         | 3  | 3 |
|       |                                                                           | 0                  | 5                     | 0           | 3         | 5         | 0  | 5 |
| YYCAK | YSSYSS                                                                    | YYYYDSSGGYYYYSSYSS | YYYYAEYFQGWGQGTIVTVSS | (           | 配列番号 919) |           |    |   |
| YYCAK | <u>ZZZZZZ</u> (Z) <u>ZZZZDSSGZZZZZZZZ</u> (Z) <u>ZZZAEZFQHWGQGTIVTVSS</u> | (                  | AEYFQHWGQGTIVTVSS     | (           | 配列番号 152) |           |    |   |
| R     | YYYYDSSGGYYY                                                              | (                  | (                     | JH1)        |           |           |    |   |
|       | ( 配列番号 88)                                                                | (                  | 配列番号 66)              |             |           |           |    |   |
| 9     | 9                                                                         | 1                  | 1                     |             | 1         | 1         |    |   |
| 4     | 5                                                                         | 0                  | 0                     |             | 0         | 1         |    |   |
|       |                                                                           | 3                  | abcde                 | fghijklmnop | q         | rstuvwxyz | a4 | 0 |

|            |           |
|------------|-----------|
| アミノ酸多様性    | = 6.7 E 7 |
| DNA多様性     | = 6.7 E 7 |
| 終止なし       | = 100     |
| 無償性Cysなし   | = 100     |
| 終止およびCysなし | = 100%    |

設計20は長さ33、34または35のCDR3を有する。残基94は、KまたはR、ZZZZZZ  
 (Z)ZZ::D3-22(Zとして6つのYを有する第2のRF)::ZZZZZZ(Z)ZZZ::JH1(1  
 つのZを有する)であってよい。(C35D322AJH1\_T)、(C34D322AJH1\_T)、(C3  
 5D322AJH1\_B)および(C34D322AJH1\_B)を組み合わせるPCRは、長さおよび  
 配列の多様性が許容される。

(C35D322AJH1\_T) 5'-GCA|GtTitaTitaC|tgc|gct aRg tmc tmt tmc tmc tmt-  
 tmt tmc tmt tmc tmc\_gac\_agc\_tcc\_ggc\_tmc\_tmc t-3' ( 配列番号153)  
 (C34D322AJH1\_T) 5'-GCA|GtTitaTitaC|tgc|gct aRg tmc tmt tmc tmt-  
 tmc tmt tmc tmc\_gac\_agc\_tcc\_ggc\_tmc\_tmc t-3' ( 配列番号154)  
 (C35D322AJH1\_B) 5'-cAg AgT Acc cTg gcc ccA gTg gAA gKA TTc Agc gKA-  
 gKA gKA AKA gKA AKA gKA AKA gKA AKA gKA gKA gKA gKA gKA ggc ggA gct gTc-  
 gKA gKA g-3' ( 配列番号 920)  
 (C34D322AJH1\_B) 5'-cAg AgT Acc cTg gcc ccA gTg gAA gKA TTc Agc gKA-  
 gKA gKA AKA gKA AKA gKA AKA gKA gKA gKA gKA ggc ggA gct gTc-  
 gKA gKA g-3' ( 配列番号155)

## 終止コドンに対する選択：

これらのライブラリのいくつかはNNKコドンを有するので、それらはいくつかのTA  
 G終止コドンを有するであろう。b1a遺伝子に対するシグナル配列と、実際のb1aタ  
 ンパク質との間のXbaI-BstEII部位内に増幅されたDNAをクローニングし、Sup<sup>0</sup>細胞  
 において発現させることによって、TAGを有するクローニングを取り除くことができる。  
 B1a<sup>R</sup>のコロニーはTAG終止を含有しない。あるいは、カナマイシン耐性遺  
 伝子の前方のXbaI-BstEII断片をクローニングし、Kan<sup>R</sup>に関して選択する  
 ことができる。次いで、XbaI-BstEIIカセットをファージライブラリに移動する  
 。

## 【0198】

さらに、wobbblingは、いくつかの終止コドンを許容するので、b1a遺伝子に  
 対するシグナル配列と、実際のb1aタンパク質との間のXbaI-BstEII部位内  
 に増幅されたDNAをクローニングし、Sup<sup>0</sup>細胞において発現させることによって、終  
 止を有するクローニングを取り除くことにより、ライブラリを改善することができる。B1a  
<sup>R</sup>コロニーは終止を含有しない。あるいは、カナマイシン耐性遺伝子の前方のXbaI -

BstEII断片をクローン化し、Kan<sup>R</sup>に関して選択することができる。次いでXbaI-BstEIIカセットをファージライブリに移動することができる。

【0199】

【表28】

表20:ヒトD領域

! TAGに対しては\*、TAAに対しては@、TGAに対しては\$

Dアミノ酸配列アライメント(RF:リーディングフレーム)

|    |      |                 | RF 1          | RF 2         | RF 3        | 設計に使用した              |
|----|------|-----------------|---------------|--------------|-------------|----------------------|
|    |      |                 | (配列番号156)     | (配列番号157)    | (配列番号158)   |                      |
| D1 | 1-1  |                 | GTTGT         | VQLER        | YNWND       |                      |
|    | 1-7  |                 | GITGT         | V*LEL        | YNWNY       |                      |
|    | 1-20 |                 | GITGT         | V*LER        | YNWND       |                      |
|    | 1-26 |                 | GIVGAT        | V*WELL       | YSGSYY      |                      |
| D2 | 2-2  | (配列番号171および167) | RIL**YQLLY    | GYCSSTSCYT   | DIVVVPAAI   | 1, 5, 6, 7,          |
|    | 2-8  | (配列番号169および392) | RILY@WCMLY    | GYCTNGVCYT   | DIVLMVYAI   | 20, 21, 22,          |
|    | 2-15 | (配列番号171)       | RIL*WW*LLL    | GYCSGGSCYS   | DIVVVVAAT   | 25,                  |
|    | 2-21 | (配列番号173)       | SILWW\$LLF    | AYCGGDCYS    | HIVVVTAI    |                      |
| D3 | 3-3  | (配列番号176)       | VLRFLEWLLY    | YYDFWSGYYT   | ITIFGVVII   |                      |
|    | 3-9  | (配列番号179)       | VLRYFDWLL@    | YYDILTGYYN   | ITIF*LVII   |                      |
|    | 3-10 | (配列番号182)       | VLLWFGELL@    | YYYGSGSYYN   | ITMVRGVII   |                      |
|    | 3-16 | (配列番号184)       | VL\$LRLGELSly | YYDYVWGSYRYT | IMITFGGVIVI | 8, 9, 14, 15, 17, 18 |
|    | 3-22 | (配列番号186)       | VLL***WLLL    | YYDSSSGYYY   | ITMIVVVIT   | 4, 19, 20            |
| D4 | 4-4  | (配列番号189)       | \$LQ@L        | DYSNY        | TTVT        |                      |
|    | 4-11 | (配列番号191)       | \$LQ@L        | DYSNY        | TTVT        |                      |
|    | 4-17 | (配列番号194)       | \$LR@L        | DYGDY        | TTVT        |                      |
|    | 4-23 | (配列番号197)       | \$LRW@L       | DYGGNS       | TTVVT       |                      |

【0200】

## 【表29】

|    |      |                |            |                |
|----|------|----------------|------------|----------------|
| D5 | 5-5  | (配列番号 200)     | (配列番号 201) | (配列番号 202)     |
|    |      | VDTAMV         | WIQLWL     | <b>GYSYGY</b>  |
|    | 5-12 | (配列番号 203)     | (配列番号 204) | (配列番号 205)     |
|    |      | VDIVATI        | WI*WRL     | <b>GYSGYDY</b> |
|    | 5-18 | (配列番号 206)     | (配列番号 207) | (配列番号 208)     |
|    |      | VDTAMV         | WIQLWL     | <b>GYSYGY</b>  |
|    | 5-24 | (配列番号 209)     | (配列番号 210) | (配列番号 211)     |
|    |      | VEMATI         | *RWLQL     | <b>RDGNY</b>   |
| D6 | 6-6  | (配列番号 212)     | (配列番号 213) | (配列番号 214)     |
|    |      | <b>EYSSSS</b>  | SIAAR      | V*QLV          |
|    | 6-13 | (配列番号 215)     | (配列番号 216) | (配列番号 217)     |
|    |      | <b>GYSSSWY</b> | GIAAAG     | V*QQLV         |
|    | 6-19 | (配列番号 218)     | (配列番号 219) | (配列番号 220)     |
|    |      | <b>GYSSGKY</b> | GIAVAG     | V*QWLV         |
| D7 | 7-27 | (配列番号 221)     | (配列番号 222) | (配列番号 223)     |
|    |      | LTG            | @LG        | NWG            |

## 表3ヒトJHセグメント

## JH - アミノ酸配列アライメント

|     |                       |      |           |
|-----|-----------------------|------|-----------|
|     | H3                    |      |           |
|     | -----                 |      |           |
|     | CDR3                  |      |           |
|     | -----                 |      |           |
|     | 100                   | 110  |           |
|     | FR4-----              |      | 設計に使用した   |
| JH1 | ---AEYFQHWGQGTLVTVSS  | 1-8, | (配列番号 66) |
| JH2 | ---YWYFDLWGRGTLVTVSS  |      | (配列番号 67) |
| JH3 | ---AFDINGQGTMVTVSS    |      | (配列番号 2)  |
| JH4 | ---YFDYWGQGTLVTVSS    |      | (配列番号 1)  |
| JH5 | ---NWFDPWGQGTLVTVSS   |      | (配列番号 68) |
| JH6 | YYYYYYGMDVWGQGTTVTVSS |      | (配列番号 3)  |
|     | 123456789             |      |           |

## 表10:wobblingのためのV-5D2-8.2a-JH2をコードするDNA

```

!          CDR3.....
!  A   E   D   T   A   V   Y   Y   C   A   K   D   I   V   L   M
!  |gct|gag|gat|aCT|GCA|GtT|taT|taC|tgC|gct aag jez ezz jzz qzz ejz
!
!  W   G   Q   G   T   T   V   T   V   S   S   (配列番号 224)
!  tgg ggc cag ggt act acG GTC ACC gtc tcc agt-3' (配列番号 225)
!          BstEII...

```

## 【0201】

## 【表30】

表11:ヒトDセグメントから抽出可能な三量体

表11~14において、アミノ酸配列における小文字の使用は、終止コドンが小文字で記載された残基に変化されたことを示す。例えば、アミノ酸配列「yLE」では、Tyr残基が終止コドンの場所に導入された。

|               |              |
|---------------|--------------|
| GTT D1-1.1.1  | 1            |
| VQL D1-1.2.1  | 2            |
| YNW D1-1.3.1  | 3            |
| TTG D1-1.1.2  | 4            |
| QLE D1-1.2.2  | 5            |
| NWN D1-1.3.2  | 6            |
| TGT D1-1.1.3  | 7            |
| LER D1-1.2.3  | 8 (配列番号162)  |
| WND D1-1.3.3  | 9            |
| G1T D1-7.1.1  | 10           |
| VyL D1-7.2.1  | 11 *         |
| ITG D1-7.1.2  | 12           |
| yLE D1-7.2.2  | 13 *         |
| LEL D1-7.2.3  | 14 (配列番号160) |
| WNY D1-7.3.3  | 15           |
| GIV D1-26.1.1 | 16           |
| VyW D1-26.2.1 | 17 *         |
| YSG D1-26.3.1 | 18           |
| IVG D1-26.1.2 | 19           |
| yWE D1-26.2.2 | 20 *         |
| SGS D1-26.3.2 | 21           |
| VGA D1-26.1.3 | 22           |
| WEL D1-26.2.3 | 23           |
| GSY D1-26.3.3 | 24           |
| GAT D1-26.1.4 | 25           |
| ELL D1-26.2.4 | 26           |
| SYy D1-26.3.4 | 27           |
| RIL D2-2.1.1  | 28 (配列番号171) |
| GYC D2-2.2.1  | 29 #         |
| DIV D2-2.3.1  | 30           |
| ILy D2-2.1.2  | 31 *         |
| YCS D2-2.2.2  | 32 #         |
| IVV D2-2.3.2  | 33           |
| Lyy D2-2.1.3  | 34 *         |
| CSS D2-2.2.3  | 35 #         |
| VVV D2-2.3.3  | 36           |
| yyY D2-2.1.4  | 37 *         |
| SST D2-2.2.4  | 38           |
| VVP D2-2.3.4  | 39           |
| yYQ D2-2.1.5  | 40 *         |
| STS D2-2.2.5  | 41           |
| VPA D2-2.3.5  | 42           |
| YQL D2-2.1.6  | 43           |
| TSC D2-2.2.6  | 44 #         |
| PAA D2-2.3.6  | 45           |
| QLL D2-2.1.7  | 46           |
| SCY D2-2.2.7  | 47 #         |
| AAI D2-2.3.7  | 48           |
| LLY D2-2.1.8  | 49           |

## 【0202】

## 【表 3 1】

|               |     |    |
|---------------|-----|----|
| CYT D2-2.2.8  | 50  | #  |
| ILY D2-8.1.2  | 51  |    |
| YCT D2-8.2.2  | 52  | #  |
| IVL D2-8.3.2  | 53  |    |
| LYy D2-8.1.3  | 54  | *  |
| CTN D2-8.2.3  | 55  | #  |
| VLM D2-8.3.3  | 56  |    |
| YyW D2-8.1.4  | 57  | *  |
| TNG D2-8.2.4  | 58  |    |
| LMV D2-8.3.4  | 59  |    |
| yWC D2-8.1.5  | 60  | *# |
| NGV D2-8.2.5  | 61  |    |
| MVY D2-8.3.5  | 62  |    |
| WCM D2-8.1.6  | 63  | #  |
| GVC D2-8.2.6  | 64  | #  |
| VYA D2-8.3.6  | 65  |    |
| CML D2-8.1.7  | 66  | #  |
| VCY D2-8.2.7  | 67  | #  |
| YAI D2-8.3.7  | 68  |    |
| MLY D2-8.1.8  | 69  |    |
| LyW D2-15.1.3 | 70  | *  |
| CSG D2-15.2.3 | 71  | #  |
| yWW D2-15.1.4 | 72  | *  |
| SGG D2-15.2.4 | 73  |    |
| WWy D2-15.1.5 | 74  | *  |
| GGS D2-15.2.5 | 75  |    |
| VVA D2-15.3.5 | 76  |    |
| WyL D2-15.1.6 | 77  | *  |
| GSC D2-15.2.6 | 78  | #  |
| VAA D2-15.3.6 | 79  |    |
| yLL D2-15.1.7 | 80  | *  |
| AAT D2-15.3.7 | 81  |    |
| LLL D2-15.1.8 | 82  |    |
| CYS D2-15.2.8 | 83  | #  |
| SIL D2-21.1.1 | 84  |    |
| AYC D2-21.2.1 | 85  | #  |
| HIV D2-21.3.1 | 86  |    |
| ILW D2-21.1.2 | 87  |    |
| YCG D2-21.2.2 | 88  | #  |
| LWW D2-21.1.3 | 89  |    |
| CGG D2-21.2.3 | 90  | #  |
| WWw D2-21.1.4 | 91  | *  |
| GGD D2-21.2.4 | 92  |    |
| VVT D2-21.3.4 | 93  |    |
| WwL D2-21.1.5 | 94  | *  |
| GDC D2-21.2.5 | 95  | #  |
| VTA D2-21.3.5 | 96  |    |
| wLL D2-21.1.6 | 97  | *  |
| DCY D2-21.2.6 | 98  | #  |
| TAI D2-21.3.6 | 99  |    |
| LLF D2-21.1.7 | 100 |    |
| VLR D3-3.1.1  | 101 |    |
| YYD D3-3.2.1  | 102 |    |
| ITI D3-3.3.1  | 103 |    |
| LRF D3-3.1.2  | 104 |    |
| YDF D3-3.2.2  | 105 |    |
| TIF D3-3.3.2  | 106 |    |

【0 2 0 3】

## 【表 3 2】

|               |               |
|---------------|---------------|
| RFL D3-3.1.3  | 107           |
| DFW D3-3.2.3  | 108           |
| IFG D3-3.3.3  | 109           |
| FLE D3-3.1.4  | 110           |
| FWS D3-3.2.4  | 111           |
| FGV D3-3.3.4  | 112           |
| LEW D3-3.1.5  | 113           |
| WSG D3-3.2.5  | 114           |
| GVV D3-3.3.5  | 115           |
| EWL D3-3.1.6  | 116           |
| SGY D3-3.2.6  | 117           |
| VVI D3-3.3.6  | 118           |
| WLL D3-3.1.7  | 119           |
| GYY D3-3.2.7  | 120           |
| VII D3-3.3.7  | 121           |
| YYT D3-3.2.8  | 122           |
| LRY D3-9.1.2  | 123           |
| YDI D3-9.2.2  | 124           |
| RYF D3-9.1.3  | 125           |
| DIL D3-9.2.3  | 126           |
| IFy D3-9.3.3  | 127 *         |
| YFD D3-9.1.4  | 128           |
| ILT D3-9.2.4  | 129           |
| FyL D3-9.3.4  | 130 *         |
| FDW D3-9.1.5  | 131           |
| LTG D3-9.2.5  | 132 (配列番号221) |
| yLV D3-9.3.5  | 133 *         |
| DWL D3-9.1.6  | 134           |
| TGY D3-9.2.6  | 135           |
| LVI D3-9.3.6  | 136           |
| LLy D3-9.1.8  | 137 *         |
| YYN D3-9.2.8  | 138           |
| VLL D3-10.1.1 | 139           |
| YYY D3-10.2.1 | 140           |
| ITM D3-10.3.1 | 141           |
| LLW D3-10.1.2 | 142           |
| YYG D3-10.2.2 | 143           |
| TMV D3-10.3.2 | 144           |
| LWF D3-10.1.3 | 145           |
| YGS D3-10.2.3 | 146           |
| MVR D3-10.3.3 | 147           |
| WFG D3-10.1.4 | 148           |
| GSG D3-10.2.4 | 149           |
| VRG D3-10.3.4 | 150           |
| FGE D3-10.1.5 | 151           |
| RGV D3-10.3.5 | 152           |
| GEL D3-10.1.6 | 153           |
| GVI D3-10.3.6 | 154           |
| VLW D3-16.1.1 | 155 *         |
| IMI D3-16.3.1 | 156           |
| LWL D3-16.1.2 | 157 *         |
| YDY D3-16.2.2 | 158           |
| MIT D3-16.3.2 | 159           |
| wLR D3-16.1.3 | 160 *         |
| DYV D3-16.2.3 | 161           |
| ITF D3-16.3.3 | 162           |
| LRL D3-16.1.4 | 163           |

## 【0 2 0 4】

## 【表 3 3】

|                |                 |
|----------------|-----------------|
| YVW D3-16.2.4  | 164             |
| TFG D3-16.3.4  | 165             |
| RLG D3-16.1.5  | 166             |
| VWG D3-16.2.5  | 167             |
| FGG D3-16.3.5  | 168             |
| LGE D3-16.1.6  | 169             |
| WGS D3-16.2.6  | 170             |
| GGV D3-16.3.6  | 171             |
| ELS D3-16.1.8  | 172             |
| SYR D3-16.2.8  | 173             |
| VIV D3-16.3.8  | 174             |
| LSL D3-16.1.9  | 175             |
| YRY D3-16.2.9  | 176             |
| IVI D3-16.3.9  | 177             |
| SLY D3-16.1.10 | 178             |
| RYT D3-16.2.10 | 179             |
| LLW D3-22.1.2  | 180 *           |
| TMI D3-22.3.2  | 181             |
| Lwy D3-22.1.3  | 182 *           |
| YDS D3-22.2.3  | 183             |
| MIV D3-22.3.3  | 184             |
| WYY D3-22.1.4  | 185 *           |
| DSS D3-22.2.4  | 186             |
| yyW D3-22.1.5  | 187 *           |
| SSG D3-22.2.5  | 188             |
| yWL D3-22.1.6  | 189 *           |
| VIT D3-22.3.7  | 190             |
| wLQ D4-4.1.1   | 191 *           |
| DYS D4-4.2.1   | 192             |
| TTV D4-4.3.1   | 193             |
| LQy D4-4.1.2   | 194 *           |
| YSN D4-4.2.2   | 195             |
| TVT D4-4.3.2   | 196             |
| QyL D4-4.1.3   | 197 *           |
| SNY D4-4.2.3   | 198             |
| DYG D4-17.2.1  | 199             |
| LRW D4-17.1.2  | 200 * (配列番号197) |
| YGD D4-17.2.2  | 201             |
| RwL D4-17.1.3  | 202 *           |
| GDY D4-17.2.3  | 203             |
| LRW D4-23.1.2  | 204 (配列番号197)   |
| YGG D4-23.2.2  | 205             |
| TVV D4-23.3.2  | 206             |
| RWY D4-23.1.3  | 207 *           |
| GGN D4-23.2.3  | 208             |
| GNS D4-23.2.4  | 209             |
| VDT D5-5.1.1   | 210             |
| WIQ D5-5.2.1   | 211             |
| GYS D5-5.3.1   | 212             |
| DTA D5-5.1.2   | 213             |
| IQL D5-5.2.2   | 214             |
| YSY D5-5.3.2   | 215             |
| TAM D5-5.1.3   | 216             |
| QLW D5-5.2.3   | 217             |
| SYG D5-5.3.3   | 218             |
| AMV D5-5.1.4   | 219             |
| LWL D5-5.2.4   | 220             |

## 【0 2 0 5】

## 【表34】

|               |               |
|---------------|---------------|
| YGY D5-5.3.4  | 221           |
| VDI D5-12.1.1 | 222           |
| WIy D5-12.2.1 | 223 *         |
| IyW D5-12.2.2 | 224 *         |
| IVA D5-12.1.3 | 225           |
| VAT D5-12.1.4 | 226           |
| WLR D5-12.2.4 | 227           |
| GYD D5-12.3.4 | 228           |
| ATI D5-12.1.5 | 229           |
| VEM D5-24.1.1 | 230           |
| yRW D5-24.2.1 | 231 *         |
| RDG D5-24.3.1 | 232           |
| EMA D5-24.1.2 | 233           |
| RWL D5-24.2.2 | 234           |
| DGY D5-24.3.2 | 235           |
| MAT D5-24.1.3 | 236           |
| WLQ D5-24.2.3 | 237           |
| GYN D5-24.3.3 | 238           |
| LQL D5-24.2.4 | 239           |
| YNY D5-24.3.4 | 240           |
| EYS D6-6.1.1  | 241           |
| SIA D6-6.2.1  | 242           |
| VyQ D6-6.3.1  | 243 *         |
| YSS D6-6.1.2  | 244           |
| IAA D6-6.2.2  | 245           |
| yQL D6-6.3.2  | 246 *         |
| SSS D6-6.1.3  | 247           |
| AAR D6-6.2.3  | 248           |
| QLV D6-6.3.3  | 249 (配列番号214) |
| GIA D6-13.2.1 | 250           |
| yQQ D6-13.3.2 | 251 *         |
| AAA D6-13.2.3 | 252           |
| QQL D6-13.3.3 | 253           |
| SSW D6-13.1.4 | 254           |
| AAG D6-13.2.4 | 255           |
| SWY D6-13.1.5 | 256           |
| IAV D6-19.2.2 | 257           |
| yQW D6-19.3.2 | 258 *         |
| AVA D6-19.2.3 | 259           |
| QWL D6-19.3.3 | 260           |
| SGW D6-19.1.4 | 261           |
| VAG D6-19.2.4 | 262           |
| WLV D6-19.3.4 | 263           |
| GWY D6-19.1.5 | 264           |
| yLG D7-27.2.1 | 265 *         |
| NWG D7-27.3.1 | 266 (配列番号223) |

表12:ヒトDセグメントから抽出可能な、異なる四量体

|               |             |   |
|---------------|-------------|---|
| GTTG D1-1.1.1 | ( 配列番号 257) | 1 |
| VQLE D1-1.2.1 | ( 配列番号 258) | 2 |
| YNWN D1-1.3.1 | ( 配列番号 259) | 3 |
| TTGT D1-1.1.2 | ( 配列番号 263) | 4 |
| QLER D1-1.2.2 | ( 配列番号 264) | 5 |
| NWND D1-1.3.2 | ( 配列番号 265) | 6 |
| GITG D1-7.1.1 | ( 配列番号 266) | 7 |
| VyLE D1-7.2.1 | ( 配列番号 267) | 8 |

## 【0206】

## 【表35】

|                |           |    |
|----------------|-----------|----|
| ITGT D1-7.1.2  | (配列番号271) | 9  |
| yLEL D1-7.2.2  | (配列番号272) | 10 |
| NWNY D1-7.3.2  | (配列番号273) | 11 |
| yLER D1-20.2.2 | (配列番号275) | 12 |
| GIVG D1-26.1.1 | (配列番号276) | 13 |
| VyWE D1-26.2.1 | (配列番号277) | 14 |
| YSGS D1-26.3.1 | (配列番号278) | 15 |
| IVGA D1-26.1.2 | (配列番号285) | 16 |
| yWEL D1-26.2.2 | (配列番号286) | 17 |
| SGSY D1-26.3.2 | (配列番号287) | 18 |
| VGAT D1-26.1.3 | (配列番号291) | 19 |
| WELL D1-26.2.3 | (配列番号292) | 20 |
| GSYY D1-26.3.3 | (配列番号293) | 21 |
| RILY D2-2.1.1  | (配列番号294) | 22 |
| GYCS D2-2.2.1  | (配列番号295) | 23 |
| DIVV D2-2.3.1  | (配列番号296) | 24 |
| ILyy D2-2.1.2  | (配列番号303) | 25 |
| YCSS D2-2.2.2  | (配列番号304) | 26 |
| IVVV D2-2.3.2  | (配列番号305) | 27 |
| LyyY D2-2.1.3  | (配列番号312) | 28 |
| CSST D2-2.2.3  | (配列番号313) | 29 |
| VVVP D2-2.3.3  | (配列番号314) | 30 |
| yyYQ D2-2.1.4  | (配列番号321) | 31 |
| SSTS D2-2.2.4  | (配列番号322) | 32 |
| VVPA D2-2.3.4  | (配列番号323) | 33 |
| yYQL D2-2.1.5  | (配列番号330) | 34 |
| STSC D2-2.2.5  | (配列番号331) | 35 |
| VPAA D2-2.3.5  | (配列番号332) | 36 |
| YQLL D2-2.1.6  | (配列番号338) | 37 |
| TSCY D2-2.2.6  | (配列番号339) | 38 |
| PAAI D2-2.3.6  | (配列番号340) | 39 |
| QLLY D2-2.1.7  | (配列番号343) | 40 |
| SCYT D2-2.2.7  | (配列番号344) | 41 |
| RILY D2-8.1.1  | (配列番号345) | 42 |
| GYCT D2-8.2.1  | (配列番号346) | 43 |
| DIVL D2-8.3.1  | (配列番号347) | 44 |
| ILyy D2-8.1.2  | (配列番号354) | 45 |
| YCTN D2-8.2.2  | (配列番号355) | 46 |
| IVLM D2-8.3.2  | (配列番号356) | 47 |
| LYyW D2-8.1.3  | (配列番号363) | 48 |
| CTNG D2-8.2.3  | (配列番号364) | 49 |
| VLMV D2-8.3.3  | (配列番号365) | 50 |
| YyWC D2-8.1.4  | (配列番号372) | 51 |
| TNGV D2-8.2.4  | (配列番号373) | 52 |
| LMVY D2-8.3.4  | (配列番号374) | 53 |
| yWCM D2-8.1.5  | (配列番号381) | 54 |
| NGVC D2-8.2.5  | (配列番号382) | 55 |
| MVYA D2-8.3.5  | (配列番号383) | 56 |
| WCML D2-8.1.6  | (配列番号389) | 57 |
| GVCY D2-8.2.6  | (配列番号390) | 58 |
| VYAI D2-8.3.6  | (配列番号391) | 59 |
| CMLY D2-8.1.7  | (配列番号394) | 60 |
| VCYT D2-8.2.7  | (配列番号395) | 61 |
| ILyW D2-15.1.2 | (配列番号401) | 62 |
| YCSG D2-15.2.2 | (配列番号402) | 63 |
| LyWW D2-15.1.3 | (配列番号409) | 64 |
| CSGG D2-15.2.3 | (配列番号410) | 65 |

## 【0207】

## 【表 3 6】

|                |   |           |     |
|----------------|---|-----------|-----|
| VVVV D2-15.3.3 | ( | 配列番号 411) | 66  |
| yWWy D2-15.1.4 | ( | 配列番号 418) | 67  |
| SGGS D2-15.2.4 | ( | 配列番号 419) | 68  |
| VVVA D2-15.3.4 | ( | 配列番号 420) | 69  |
| WWyL D2-15.1.5 | ( | 配列番号 427) | 70  |
| GGSC D2-15.2.5 | ( | 配列番号 428) | 71  |
| VVAA D2-15.3.5 | ( | 配列番号 429) | 72  |
| WyLL D2-15.1.6 | ( | 配列番号 435) | 73  |
| GSCY D2-15.2.6 | ( | 配列番号 436) | 74  |
| VAAT D2-15.3.6 | ( | 配列番号 437) | 75  |
| yLLL D2-15.1.7 | ( | 配列番号 440) | 76  |
| SCYS D2-15.2.7 | ( | 配列番号 441) | 77  |
| SILW D2-21.1.1 | ( | 配列番号 442) | 78  |
| AYCG D2-21.2.1 | ( | 配列番号 443) | 79  |
| HIVV D2-21.3.1 | ( | 配列番号 444) | 80  |
| ILWW D2-21.1.2 | ( | 配列番号 451) | 81  |
| YCGG D2-21.2.2 | ( | 配列番号 452) | 82  |
| LWWw D2-21.1.3 | ( | 配列番号 459) | 83  |
| CGGD D2-21.2.3 | ( | 配列番号 460) | 84  |
| VVVT D2-21.3.3 | ( | 配列番号 461) | 85  |
| WWwL D2-21.1.4 | ( | 配列番号 468) | 86  |
| GGDC D2-21.2.4 | ( | 配列番号 469) | 87  |
| VVTA D2-21.3.4 | ( | 配列番号 470) | 88  |
| WwLL D2-21.1.5 | ( | 配列番号 476) | 89  |
| GDCY D2-21.2.5 | ( | 配列番号 477) | 90  |
| VTAI D2-21.3.5 | ( | 配列番号 478) | 91  |
| WLLF D2-21.1.6 | ( | 配列番号 481) | 92  |
| DCYS D2-21.2.6 | ( | 配列番号 482) | 93  |
| VLRF D3-3.1.1  | ( | 配列番号 483) | 94  |
| YYDF D3-3.2.1  | ( | 配列番号 484) | 95  |
| ITIF D3-3.3.1  | ( | 配列番号 485) | 96  |
| LRFL D3-3.1.2  | ( | 配列番号 492) | 97  |
| YDFW D3-3.2.2  | ( | 配列番号 493) | 98  |
| TIFG D3-3.3.2  | ( | 配列番号 494) | 99  |
| RFLE D3-3.1.3  | ( | 配列番号 501) | 100 |
| DFWS D3-3.2.3  | ( | 配列番号 502) | 101 |
| IFGV D3-3.3.3  | ( | 配列番号 503) | 102 |
| FLEW D3-3.1.4  | ( | 配列番号 510) | 103 |
| FWSG D3-3.2.4  | ( | 配列番号 511) | 104 |
| FGVV D3-3.3.4  | ( | 配列番号 512) | 105 |
| LEWL D3-3.1.5  | ( | 配列番号 519) | 106 |
| WSGY D3-3.2.5  | ( | 配列番号 520) | 107 |
| GVVI D3-3.3.5  | ( | 配列番号 521) | 108 |
| EWLL D3-3.1.6  | ( | 配列番号 527) | 109 |
| SGYY D3-3.2.6  | ( | 配列番号 528) | 110 |
| VVII D3-3.3.6  | ( | 配列番号 529) | 111 |
| WLLY D3-3.1.7  | ( | 配列番号 532) | 112 |
| GYYT D3-3.2.7  | ( | 配列番号 533) | 113 |
| VLRY D3-9.1.1  | ( | 配列番号 534) | 114 |
| YYDI D3-9.2.1  | ( | 配列番号 535) | 115 |
| LRYF D3-9.1.2  | ( | 配列番号 542) | 116 |
| YDIL D3-9.2.2  | ( | 配列番号 543) | 117 |
| TIFy D3-9.3.2  | ( | 配列番号 544) | 118 |
| RYFD D3-9.1.3  | ( | 配列番号 551) | 119 |
| DILT D3-9.2.3  | ( | 配列番号 552) | 120 |
| IFyL D3-9.3.3  | ( | 配列番号 553) | 121 |
| YFDW D3-9.1.4  | ( | 配列番号 560) | 122 |

【0 2 0 8】

## 【表37】

|                |            |     |
|----------------|------------|-----|
| ILTG D3-9.2.4  | (配列番号 561) | 123 |
| FyLV D3-9.3.4  | (配列番号 562) | 124 |
| FDWL D3-9.1.5  | (配列番号 569) | 125 |
| LTGY D3-9.2.5  | (配列番号 570) | 126 |
| yLVI D3-9.3.5  | (配列番号 571) | 127 |
| DWLL D3-9.1.6  | (配列番号 577) | 128 |
| TGYY D3-9.2.6  | (配列番号 578) | 129 |
| LVII D3-9.3.6  | (配列番号 579) | 130 |
| WLLy D3-9.1.7  | (配列番号 582) | 131 |
| GYYN D3-9.2.7  | (配列番号 583) | 132 |
| VLLW D3-10.1.1 | (配列番号 584) | 133 |
| YYYG D3-10.2.1 | (配列番号 585) | 134 |
| ITMV D3-10.3.1 | (配列番号 586) | 135 |
| LLWF D3-10.1.2 | (配列番号 593) | 136 |
| YYGS D3-10.2.2 | (配列番号 594) | 137 |
| TMVR D3-10.3.2 | (配列番号 595) | 138 |
| LWFG D3-10.1.3 | (配列番号 602) | 139 |
| YGSG D3-10.2.3 | (配列番号 603) | 140 |
| MVRG D3-10.3.3 | (配列番号 604) | 141 |
| WFGE D3-10.1.4 | (配列番号 611) | 142 |
| GSGS D3-10.2.4 | (配列番号 612) | 143 |
| VRGV D3-10.3.4 | (配列番号 613) | 144 |
| FGEL D3-10.1.5 | (配列番号 620) | 145 |
| RGVI D3-10.3.5 | (配列番号 621) | 146 |
| GELL D3-10.1.6 | (配列番号 626) | 147 |
| GVII D3-10.3.6 | (配列番号 627) | 148 |
| ELLy D3-10.1.7 | (配列番号 630) | 149 |
| SYYN D3-10.2.7 | (配列番号 631) | 150 |
| VLwL D3-16.1.1 | (配列番号 632) | 151 |
| YYDY D3-16.2.1 | (配列番号 633) | 152 |
| IMIT D3-16.3.1 | (配列番号 634) | 153 |
| LwLR D3-16.1.2 | (配列番号 641) | 154 |
| YDYV D3-16.2.2 | (配列番号 642) | 155 |
| MITF D3-16.3.2 | (配列番号 643) | 156 |
| wLRL D3-16.1.3 | (配列番号 650) | 157 |
| DYVW D3-16.2.3 | (配列番号 651) | 158 |
| ITFG D3-16.3.3 | (配列番号 652) | 159 |
| LRLG D3-16.1.4 | (配列番号 659) | 160 |
| YVWG D3-16.2.4 | (配列番号 660) | 161 |
| TFGG D3-16.3.4 | (配列番号 661) | 162 |
| RLGE D3-16.1.5 | (配列番号 668) | 163 |
| VWGS D3-16.2.5 | (配列番号 669) | 164 |
| FGGV D3-16.3.5 | (配列番号 670) | 165 |
| LGEL D3-16.1.6 | (配列番号 677) | 166 |
| WGSY D3-16.2.6 | (配列番号 678) | 167 |
| GGVI D3-16.3.6 | (配列番号 679) | 168 |
| GELS D3-16.1.7 | (配列番号 686) | 169 |
| GSYR D3-16.2.7 | (配列番号 687) | 170 |
| GVIV D3-16.3.7 | (配列番号 688) | 171 |
| ELSL D3-16.1.8 | (配列番号 694) | 172 |
| SYRY D3-16.2.8 | (配列番号 695) | 173 |
| VIVI D3-16.3.8 | (配列番号 696) | 174 |
| LSLY D3-16.1.9 | (配列番号 699) | 175 |
| YRYT D3-16.2.9 | (配列番号 700) | 176 |
| VLLw D3-22.1.1 | (配列番号 701) | 177 |
| YYYD D3-22.2.1 | (配列番号 702) | 178 |
| ITMI D3-22.3.1 | (配列番号 703) | 179 |

## 【0209】

## 【表38】

|                |   |          |     |
|----------------|---|----------|-----|
| LLwy D3-22.1.2 | ( | 配列番号710) | 180 |
| YYDS D3-22.2.2 | ( | 配列番号711) | 181 |
| TMIV D3-22.3.2 | ( | 配列番号712) | 182 |
| Lwy D3-22.1.3  | ( | 配列番号719) | 183 |
| YDSS D3-22.2.3 | ( | 配列番号720) | 184 |
| MIVV D3-22.3.3 | ( | 配列番号721) | 185 |
| wyyW D3-22.1.4 | ( | 配列番号728) | 186 |
| DSSG D3-22.2.4 | ( | 配列番号729) | 187 |
| yyWL D3-22.1.5 | ( | 配列番号736) | 188 |
| SSGY D3-22.2.5 | ( | 配列番号737) | 189 |
| VVVI D3-22.3.5 | ( | 配列番号738) | 190 |
| yWLL D3-22.1.6 | ( | 配列番号744) | 191 |
| VVIT D3-22.3.6 | ( | 配列番号745) | 192 |
| WLLL D3-22.1.7 | ( | 配列番号748) | 193 |
| GYYY D3-22.2.7 | ( | 配列番号749) | 194 |
| wLQy D4-4.1.1  | ( | 配列番号750) | 195 |
| DYSN D4-4.2.1  | ( | 配列番号751) | 196 |
| TTVT D4-4.3.1  | ( | 配列番号752) | 197 |
| LQyL D4-4.1.2  | ( | 配列番号755) | 198 |
| YSNY D4-4.2.2  | ( | 配列番号756) | 199 |
| wLRw D4-17.1.1 | ( | 配列番号757) | 200 |
| DYGD D4-17.2.1 | ( | 配列番号758) | 201 |
| LRwL D4-17.1.2 | ( | 配列番号761) | 202 |
| YGDY D4-17.2.2 | ( | 配列番号762) | 203 |
| wLRW D4-23.1.1 | ( | 配列番号763) | 204 |
| DYGG D4-23.2.1 | ( | 配列番号764) | 205 |
| TTVV D4-23.3.1 | ( | 配列番号765) | 206 |
| LRWY D4-23.1.2 | ( | 配列番号771) | 207 |
| YGGN D4-23.2.2 | ( | 配列番号772) | 208 |
| TVVT D4-23.3.2 | ( | 配列番号773) | 209 |
| RWyL D4-23.1.3 | ( | 配列番号776) | 210 |
| GGNS D4-23.2.3 | ( | 配列番号777) | 211 |
| VDTA D5-5.1.1  | ( | 配列番号778) | 212 |
| WIQL D5-5.2.1  | ( | 配列番号779) | 213 |
| GYSY D5-5.3.1  | ( | 配列番号780) | 214 |
| DTAM D5-5.1.2  | ( | 配列番号787) | 215 |
| IQLW D5-5.2.2  | ( | 配列番号788) | 216 |
| YSYG D5-5.3.2  | ( | 配列番号789) | 217 |
| TAMV D5-5.1.3  | ( | 配列番号793) | 218 |
| QLWL D5-5.2.3  | ( | 配列番号794) | 219 |
| SYGY D5-5.3.3  | ( | 配列番号795) | 220 |
| VDIV D5-12.1.1 | ( | 配列番号796) | 221 |
| WIyW D5-12.2.1 | ( | 配列番号797) | 222 |
| GYSG D5-12.3.1 | ( | 配列番号798) | 223 |
| DIVA D5-12.1.2 | ( | 配列番号805) | 224 |
| IyWL D5-12.2.2 | ( | 配列番号806) | 225 |
| YSGY D5-12.3.2 | ( | 配列番号807) | 226 |
| IVAT D5-12.1.3 | ( | 配列番号814) | 227 |
| yWLR D5-12.2.3 | ( | 配列番号815) | 228 |
| SGYD D5-12.3.3 | ( | 配列番号816) | 229 |
| VATI D5-12.1.4 | ( | 配列番号820) | 230 |
| WLRL D5-12.2.4 | ( | 配列番号821) | 231 |
| GYDY D5-12.3.4 | ( | 配列番号822) | 232 |
| VEMA D5-24.1.1 | ( | 配列番号823) | 233 |
| yRWL D5-24.2.1 | ( | 配列番号824) | 234 |
| RDGY D5-24.3.1 | ( | 配列番号825) | 235 |
| EMAT D5-24.1.2 | ( | 配列番号832) | 236 |

【0210】

## 【表39】

|                |   |            |     |
|----------------|---|------------|-----|
| RWLQ D5-24.2.2 | ( | 配列番号 833)  | 237 |
| DGYN D5-24.3.2 | ( | 配列番号 834)  | 238 |
| MATI D5-24.1.3 | ( | 配列番号 838)  | 239 |
| WLQL D5-24.2.3 | ( | 配列番号 839)  | 240 |
| GYNY D5-24.3.3 | ( | 配列番号 840)  | 241 |
| EYSS D6-6.1.1  | ( | 配列番号 841)  | 242 |
| SIAA D6-6.2.1  | ( | 配列番号 842)  | 243 |
| VyQL D6-6.3.1  | ( | 配列番号 843)  | 244 |
| YSSS D6-6.1.2  | ( | 配列番号 848)  | 245 |
| IAAR D6-6.2.2  | ( | 配列番号 849)  | 246 |
| yQLV D6-6.3.2  | ( | 配列番号 850)  | 247 |
| SSSS D6-6.1.3  | ( | 配列番号 852)  | 248 |
| GYSS D6-13.1.1 | ( | 配列番号 853)  | 249 |
| GIAA D6-13.2.1 | ( | 配列番号 854)  | 250 |
| VyQQ D6-13.3.1 | ( | 配列番号 855)  | 251 |
| IAAA D6-13.2.2 | ( | 配列番号 862)  | 252 |
| yQQL D6-13.3.2 | ( | 配列番号 863)  | 253 |
| SSSW D6-13.1.3 | ( | 配列番号 868)  | 254 |
| AAAG D6-13.2.3 | ( | 配列番号 869)  | 255 |
| QQLV D6-13.3.3 | ( | 配列番号 870)  | 256 |
| SSWY D6-13.1.4 | ( | 配列番号 872)  | 257 |
| GIAV D6-19.2.1 | ( | 配列番号 873)  | 258 |
| VyQW D6-19.3.1 | ( | 配列番号 874)  | 259 |
| YSSG D6-19.1.2 | ( | 配列番号 881)  | 260 |
| IAVA D6-19.2.2 | ( | 配列番号 882)  | 261 |
| yQWL D6-19.3.2 | ( | 配列番号 883)  | 262 |
| SSGW D6-19.1.3 | ( | 配列番号 888)  | 263 |
| AVAG D6-19.2.3 | ( | 配列番号 889)  | 264 |
| QWLV D6-19.3.3 | ( | 配列番号 890)  | 265 |
| SGWY D6-19.1.4 | ( | 配列番号 941 ) | 266 |

表13:ヒトDセグメントから抽出可能な五量体

|                 |   |           |    |
|-----------------|---|-----------|----|
| GTTGT D1-1.1.1  | ( | 配列番号 260) | 1  |
| VQLER D1-1.2.1  | ( | 配列番号 261) | 2  |
| YNWND D1-1.3.1  | ( | 配列番号 262) | 3  |
| GITGT D1-7.1.1  | ( | 配列番号 268) | 4  |
| VyLEL D1-7.2.1  | ( | 配列番号 269) | 5  |
| YNWNY D1-7.3.1  | ( | 配列番号 270) | 6  |
| VyLER D1-20.2.1 | ( | 配列番号 274) | 7  |
| GIVGA D1-26.1.1 | ( | 配列番号 279) | 8  |
| VyWEL D1-26.2.1 | ( | 配列番号 280) | 9  |
| YSGSY D1-26.3.1 | ( | 配列番号 281) | 10 |
| IVGAT D1-26.1.2 | ( | 配列番号 288) | 11 |
| yWELL D1-26.2.2 | ( | 配列番号 289) | 12 |
| SGSYY D1-26.3.2 | ( | 配列番号 290) | 13 |
| RILyy D2-2.1.1  | ( | 配列番号 297) | 14 |
| GYCSS D2-2.2.1  | ( | 配列番号 298) | 15 |
| DIVVV D2-2.3.1  | ( | 配列番号 299) | 16 |
| ILyyY D2-2.1.2  | ( | 配列番号 306) | 17 |
| YCSST D2-2.2.2  | ( | 配列番号 307) | 18 |
| IVVVP D2-2.3.2  | ( | 配列番号 308) | 19 |
| LyyYQ D2-2.1.3  | ( | 配列番号 315) | 20 |
| CSSTS D2-2.2.3  | ( | 配列番号 316) | 21 |
| VVVPA D2-2.3.3  | ( | 配列番号 317) | 22 |
| yyYQL D2-2.1.4  | ( | 配列番号 324) | 23 |
| SSTSC D2-2.2.4  | ( | 配列番号 325) | 24 |

【0 2 1 1】

## 【表40】

|                  |            |    |
|------------------|------------|----|
| VVPAA D2-2.3.4   | (配列番号 326) | 25 |
| yYQLL D2-2.1.5   | (配列番号 333) | 26 |
| STSCY D2-2.2.5   | (配列番号 334) | 27 |
| VPAAI D2-2.3.5   | (配列番号 335) | 28 |
| YQLLY D2-2.1.6   | (配列番号 341) | 29 |
| TSCYT D2-2.2.6   | (配列番号 342) | 30 |
| RILYy D2-8.1.1   | (配列番号 348) | 31 |
| GYCTN D2-8.2.1   | (配列番号 349) | 32 |
| DIVLM D2-8.3.1   | (配列番号 350) | 33 |
| ILYyW D2-8.1.2   | (配列番号 357) | 34 |
| YCTNG D2-8.2.2   | (配列番号 358) | 35 |
| IVLMV D2-8.3.2   | (配列番号 359) | 36 |
| LYyWC D2-8.1.3   | (配列番号 366) | 37 |
| CTNGV D2-8.2.3   | (配列番号 367) | 38 |
| VLMVY D2-8.3.3   | (配列番号 368) | 39 |
| YyWCM D2-8.1.4   | (配列番号 375) | 40 |
| TNGVC D2-8.2.4   | (配列番号 376) | 41 |
| LMVYA D2-8.3.4   | (配列番号 377) | 42 |
| yWCML D2-8.1.5   | (配列番号 384) | 43 |
| NGVCY D2-8.2.5   | (配列番号 385) | 44 |
| MVYAI D2-8.3.5   | (配列番号 386) | 45 |
| WCMLY D2-8.1.6   | (配列番号 392) | 46 |
| GVCYT D2-8.2.6   | (配列番号 393) | 47 |
| RILyW D2-15.1.1  | (配列番号 396) | 48 |
| GYCSG D2-15.2.1  | (配列番号 397) | 49 |
| ILyWW D2-15.1.2  | (配列番号 403) | 50 |
| YCSGG D2-15.2.2  | (配列番号 404) | 51 |
| IVVVV D2-15.3.2  | (配列番号 405) | 52 |
| LyWWy D2-15.1.3  | (配列番号 412) | 53 |
| CSGGGS D2-15.2.3 | (配列番号 413) | 54 |
| VVVVA D2-15.3.3  | (配列番号 414) | 55 |
| yWWyL D2-15.1.4  | (配列番号 421) | 56 |
| SGGSC D2-15.2.4  | (配列番号 422) | 57 |
| VVVA A D2-15.3.4 | (配列番号 423) | 58 |
| WWyLL D2-15.1.5  | (配列番号 430) | 59 |
| GGSCY D2-15.2.5  | (配列番号 431) | 60 |
| VVAAT D2-15.3.5  | (配列番号 432) | 61 |
| WyLLL D2-15.1.6  | (配列番号 438) | 62 |
| GSCYS D2-15.2.6  | (配列番号 439) | 63 |
| SILWW D2-21.1.1  | (配列番号 445) | 64 |
| AYCGG D2-21.2.1  | (配列番号 446) | 65 |
| HIVVV D2-21.3.1  | (配列番号 447) | 66 |
| ILWWW D2-21.1.2  | (配列番号 453) | 67 |
| YCGGD D2-21.2.2  | (配列番号 454) | 68 |
| IVVVV D2-21.3.2  | (配列番号 455) | 69 |
| LWWWL D2-21.1.3  | (配列番号 462) | 70 |
| CGGDC D2-21.2.3  | (配列番号 463) | 71 |
| VVVTA D2-21.3.3  | (配列番号 464) | 72 |
| WWwLL D2-21.1.4  | (配列番号 471) | 73 |
| GGDCY D2-21.2.4  | (配列番号 472) | 74 |
| VVTAI D2-21.3.4  | (配列番号 473) | 75 |
| WwLLF D2-21.1.5  | (配列番号 479) | 76 |
| GDCYS D2-21.2.5  | (配列番号 480) | 77 |
| VLRFL D3-3.1.1   | (配列番号 486) | 78 |
| YYDFW D3-3.2.1   | (配列番号 487) | 79 |
| ITIFG D3-3.3.1   | (配列番号 488) | 80 |
| LRFLE D3-3.1.2   | (配列番号 495) | 81 |

## 【0 2 1 2】

## 【表 4 1】

|                 |   |           |     |
|-----------------|---|-----------|-----|
| YDFWS D3-3.2.2  | ( | 配列番号 496) | 82  |
| TIFGV D3-3.3.2  | ( | 配列番号 497) | 83  |
| RFLEW D3-3.1.3  | ( | 配列番号 504) | 84  |
| DFWSG D3-3.2.3  | ( | 配列番号 505) | 85  |
| IFGVVV D3-3.3.3 | ( | 配列番号 506) | 86  |
| FLEWL D3-3.1.4  | ( | 配列番号 513) | 87  |
| FWSGY D3-3.2.4  | ( | 配列番号 514) | 88  |
| FGVVI D3-3.3.4  | ( | 配列番号 515) | 89  |
| LEWLL D3-3.1.5  | ( | 配列番号 522) | 90  |
| WSGYY D3-3.2.5  | ( | 配列番号 523) | 91  |
| GVVII D3-3.3.5  | ( | 配列番号 524) | 92  |
| EWLLY D3-3.1.6  | ( | 配列番号 530) | 93  |
| SGYYT D3-3.2.6  | ( | 配列番号 531) | 94  |
| VLRYF D3-9.1.1  | ( | 配列番号 536) | 95  |
| YYDIL D3-9.2.1  | ( | 配列番号 537) | 96  |
| ITIFY D3-9.3.1  | ( | 配列番号 538) | 97  |
| LRYFD D3-9.1.2  | ( | 配列番号 545) | 98  |
| YDILT D3-9.2.2  | ( | 配列番号 546) | 99  |
| TIFyL D3-9.3.2  | ( | 配列番号 547) | 100 |
| RYFDW D3-9.1.3  | ( | 配列番号 554) | 101 |
| DILTG D3-9.2.3  | ( | 配列番号 555) | 102 |
| IFyLV D3-9.3.3  | ( | 配列番号 556) | 103 |
| YFDWL D3-9.1.4  | ( | 配列番号 563) | 104 |
| ILTGY D3-9.2.4  | ( | 配列番号 564) | 105 |
| FyLVI D3-9.3.4  | ( | 配列番号 565) | 106 |
| FDWLL D3-9.1.5  | ( | 配列番号 572) | 107 |
| LTGYY D3-9.2.5  | ( | 配列番号 573) | 108 |
| yLVII D3-9.3.5  | ( | 配列番号 574) | 109 |
| DWLLY D3-9.1.6  | ( | 配列番号 580) | 110 |
| TGYYN D3-9.2.6  | ( | 配列番号 581) | 111 |
| VLLWF D3-10.1.1 | ( | 配列番号 587) | 112 |
| YYYGS D3-10.2.1 | ( | 配列番号 588) | 113 |
| ITMVR D3-10.3.1 | ( | 配列番号 589) | 114 |
| LLWFG D3-10.1.2 | ( | 配列番号 596) | 115 |
| YYGSG D3-10.2.2 | ( | 配列番号 597) | 116 |
| TMVRG D3-10.3.2 | ( | 配列番号 598) | 117 |
| LWFGE D3-10.1.3 | ( | 配列番号 605) | 118 |
| YGSGS D3-10.2.3 | ( | 配列番号 606) | 119 |
| MVRGV D3-10.3.3 | ( | 配列番号 607) | 120 |
| WFGEL D3-10.1.4 | ( | 配列番号 614) | 121 |
| GSGSY D3-10.2.4 | ( | 配列番号 615) | 122 |
| VRGVI D3-10.3.4 | ( | 配列番号 616) | 123 |
| FGELL D3-10.1.5 | ( | 配列番号 622) | 124 |
| RGVII D3-10.3.5 | ( | 配列番号 623) | 125 |
| GELLY D3-10.1.6 | ( | 配列番号 628) | 126 |
| GSYYN D3-10.2.6 | ( | 配列番号 629) | 127 |
| VLwLR D3-16.1.1 | ( | 配列番号 635) | 128 |
| YYDYV D3-16.2.1 | ( | 配列番号 636) | 129 |
| IMITE D3-16.3.1 | ( | 配列番号 637) | 130 |
| LwLRL D3-16.1.2 | ( | 配列番号 644) | 131 |
| YDYVW D3-16.2.2 | ( | 配列番号 645) | 132 |
| MITFG D3-16.3.2 | ( | 配列番号 646) | 133 |
| wLRLG D3-16.1.3 | ( | 配列番号 653) | 134 |
| DYVWG D3-16.2.3 | ( | 配列番号 654) | 135 |
| ITFGG D3-16.3.3 | ( | 配列番号 655) | 136 |
| LRLGE D3-16.1.4 | ( | 配列番号 662) | 137 |
| YVWGS D3-16.2.4 | ( | 配列番号 663) | 138 |

## 【0 2 1 3】

## 【表42】

|                  |   |           |     |
|------------------|---|-----------|-----|
| TFGGV D3-16.3.4  | ( | 配列番号 664) | 139 |
| RLGEL D3-16.1.5  | ( | 配列番号 671) | 140 |
| VWGSY D3-16.2.5  | ( | 配列番号 672) | 141 |
| FGGVI D3-16.3.5  | ( | 配列番号 673) | 142 |
| LGEELS D3-16.1.6 | ( | 配列番号 680) | 143 |
| WGSYR D3-16.2.6  | ( | 配列番号 681) | 144 |
| GGVIV D3-16.3.6  | ( | 配列番号 682) | 145 |
| GELSL D3-16.1.7  | ( | 配列番号 689) | 146 |
| GSYRY D3-16.2.7  | ( | 配列番号 690) | 147 |
| GVIVI D3-16.3.7  | ( | 配列番号 691) | 148 |
| ELSLY D3-16.1.8  | ( | 配列番号 697) | 149 |
| SYRYT D3-16.2.8  | ( | 配列番号 698) | 150 |
| VLLwy D3-22.1.1  | ( | 配列番号 704) | 151 |
| YYDDS D3-22.2.1  | ( | 配列番号 705) | 152 |
| ITMIV D3-22.3.1  | ( | 配列番号 706) | 153 |
| LLwy D3-22.1.2   | ( | 配列番号 713) | 154 |
| YYDSS D3-22.2.2  | ( | 配列番号 714) | 155 |
| TMIVV D3-22.3.2  | ( | 配列番号 715) | 156 |
| LwyyW D3-22.1.3  | ( | 配列番号 722) | 157 |
| YDSSG D3-22.2.3  | ( | 配列番号 723) | 158 |
| MIVVV D3-22.3.3  | ( | 配列番号 724) | 159 |
| wyyWL D3-22.1.4  | ( | 配列番号 730) | 160 |
| DSSGY D3-22.2.4  | ( | 配列番号 731) | 161 |
| IVVVI D3-22.3.4  | ( | 配列番号 732) | 162 |
| yyWLL D3-22.1.5  | ( | 配列番号 739) | 163 |
| SSGYY D3-22.2.5  | ( | 配列番号 740) | 164 |
| VVVIT D3-22.3.5  | ( | 配列番号 741) | 165 |
| yWLLL D3-22.1.6  | ( | 配列番号 746) | 166 |
| SGYYY D3-22.2.6  | ( | 配列番号 747) | 167 |
| wLQyL D4-4.1.1   | ( | 配列番号 753) | 168 |
| DYSNY D4-4.2.1   | ( | 配列番号 754) | 169 |
| wLRwL D4-17.1.1  | ( | 配列番号 759) | 170 |
| DYGDY D4-17.2.1  | ( | 配列番号 760) | 171 |
| wLRWY D4-23.1.1  | ( | 配列番号 766) | 172 |
| DYGGN D4-23.2.1  | ( | 配列番号 767) | 173 |
| TTVVT D4-23.3.1  | ( | 配列番号 768) | 174 |
| LRWY D4-23.1.2   | ( | 配列番号 774) | 175 |
| YGGNS D4-23.2.2  | ( | 配列番号 775) | 176 |
| VDTAM D5-5.1.1   | ( | 配列番号 781) | 177 |
| WIQLW D5-5.2.1   | ( | 配列番号 782) | 178 |
| GYSYG D5-5.3.1   | ( | 配列番号 783) | 179 |
| DTAMV D5-5.1.2   | ( | 配列番号 790) | 180 |
| IQLWL D5-5.2.2   | ( | 配列番号 791) | 181 |
| YSYGY D5-5.3.2   | ( | 配列番号 792) | 182 |
| VDIVA D5-12.1.1  | ( | 配列番号 799) | 183 |
| WIyWL D5-12.2.1  | ( | 配列番号 800) | 184 |
| GYSGY D5-12.3.1  | ( | 配列番号 801) | 185 |
| DIVAT D5-12.1.2  | ( | 配列番号 808) | 186 |
| IyWLR D5-12.2.2  | ( | 配列番号 809) | 187 |
| YSGYD D5-12.3.2  | ( | 配列番号 810) | 188 |
| IVATI D5-12.1.3  | ( | 配列番号 817) | 189 |
| yWLRL D5-12.2.3  | ( | 配列番号 818) | 190 |
| SGYDY D5-12.3.3  | ( | 配列番号 819) | 191 |
| VEMAT D5-24.1.1  | ( | 配列番号 826) | 192 |
| yRWLQ D5-24.2.1  | ( | 配列番号 827) | 193 |
| RDGYN D5-24.3.1  | ( | 配列番号 828) | 194 |
| EMATT D5-24.1.2  | ( | 配列番号 835) | 195 |

## 【0214】

## 【表43】

|                 |   |           |     |
|-----------------|---|-----------|-----|
| RWLQL D5-24.2.2 | ( | 配列番号 836) | 196 |
| DGYNY D5-24.3.2 | ( | 配列番号 837) | 197 |
| EYSSS D6-6.1.1  | ( | 配列番号 844) | 198 |
| SIAAR D6-6.2.1  | ( | 配列番号 845) | 199 |
| VyQLV D6-6.3.1  | ( | 配列番号 846) | 200 |
| YSSSS D6-6.1.2  | ( | 配列番号 851) | 201 |
| GYSSS D6-13.1.1 | ( | 配列番号 856) | 202 |
| GIAAA D6-13.2.1 | ( | 配列番号 857) | 203 |
| VyQQL D6-13.3.1 | ( | 配列番号 858) | 204 |
| YSSSW D6-13.1.2 | ( | 配列番号 864) | 205 |
| IAAAG D6-13.2.2 | ( | 配列番号 865) | 206 |
| yQQLV D6-13.3.2 | ( | 配列番号 866) | 207 |
| SSSWY D6-13.1.3 | ( | 配列番号 871) | 208 |
| GYSSG D6-19.1.1 | ( | 配列番号 875) | 209 |
| GIAVA D6-19.2.1 | ( | 配列番号 876) | 210 |
| VyQWL D6-19.3.1 | ( | 配列番号 877) | 211 |
| YSSGW D6-19.1.2 | ( | 配列番号 884) | 212 |
| IAVAG D6-19.2.2 | ( | 配列番号 885) | 213 |
| yQWLW D6-19.3.2 | ( | 配列番号 886) | 214 |
| SSGWW D6-19.1.3 | ( | 配列番号 891) | 215 |

## 表14ヒトDセグメントから抽出可能な全六量体

|                  |   |           |    |
|------------------|---|-----------|----|
| GIVGAT D1-26.1.1 | ( | 配列番号 282) | 1  |
| VyWELL D1-26.2.1 | ( | 配列番号 283) | 2  |
| YSGSYY D1-26.3.1 | ( | 配列番号 284) | 3  |
| RILyyY D2-2.1.1  | ( | 配列番号 300) | 4  |
| GYCSST D2-2.2.1  | ( | 配列番号 301) | 5  |
| DIVVVP D2-2.3.1  | ( | 配列番号 302) | 6  |
| ILyyYQ D2-2.1.2  | ( | 配列番号 309) | 7  |
| YCSSTS D2-2.2.2  | ( | 配列番号 310) | 8  |
| IVVVPA D2-2.3.2  | ( | 配列番号 311) | 9  |
| LyyYQL D2-2.1.3  | ( | 配列番号 318) | 10 |
| CSSTSC D2-2.2.3  | ( | 配列番号 319) | 11 |
| VVVPAAC D2-2.3.3 | ( | 配列番号 320) | 12 |
| yyYQLL D2-2.1.4  | ( | 配列番号 327) | 13 |
| SSTSCY D2-2.2.4  | ( | 配列番号 328) | 14 |
| VVPAAI D2-2.3.4  | ( | 配列番号 329) | 15 |
| yYQLLY D2-2.1.5  | ( | 配列番号 336) | 16 |
| STSCYT D2-2.2.5  | ( | 配列番号 337) | 17 |
| RILyyW D2-8.1.1  | ( | 配列番号 351) | 18 |
| GYCTNG D2-8.2.1  | ( | 配列番号 352) | 19 |
| DIVLMV D2-8.3.1  | ( | 配列番号 353) | 20 |
| ILYyWC D2-8.1.2  | ( | 配列番号 360) | 21 |
| YCTNGV D2-8.2.2  | ( | 配列番号 361) | 22 |
| IVLMVY D2-8.3.2  | ( | 配列番号 362) | 23 |
| LYyWCM D2-8.1.3  | ( | 配列番号 369) | 24 |
| CTNGVC D2-8.2.3  | ( | 配列番号 370) | 25 |
| VLMVYA D2-8.3.3  | ( | 配列番号 371) | 26 |
| YyWCML D2-8.1.4  | ( | 配列番号 378) | 27 |
| TNGVCY D2-8.2.4  | ( | 配列番号 379) | 28 |
| LMVYAI D2-8.3.4  | ( | 配列番号 380) | 29 |
| yWCMLY D2-8.1.5  | ( | 配列番号 387) | 30 |
| NGVCYT D2-8.2.5  | ( | 配列番号 388) | 31 |
| RILyWW D2-15.1.1 | ( | 配列番号 398) | 32 |
| GYCSGG D2-15.2.1 | ( | 配列番号 399) | 33 |
| DIVVVV D2-15.3.1 | ( | 配列番号 400) | 34 |

## 【0 2 1 5】

## 【表44】

|                    |   |           |    |
|--------------------|---|-----------|----|
| ILyWwY D2-15.1.2   | ( | 配列番号 406) | 35 |
| YCSGGS D2-15.2.2   | ( | 配列番号 407) | 36 |
| IVVVVA D2-15.3.2   | ( | 配列番号 408) | 37 |
| LyWwY L D2-15.1.3  | ( | 配列番号 415) | 38 |
| CSGGSC D2-15.2.3   | ( | 配列番号 416) | 39 |
| VVVVA A D2-15.3.3  | ( | 配列番号 417) | 40 |
| yWwYLL D2-15.1.4   | ( | 配列番号 424) | 41 |
| SGGSC Y D2-15.2.4  | ( | 配列番号 425) | 42 |
| VVV AAT D2-15.3.4  | ( | 配列番号 426) | 43 |
| WwY LLL D2-15.1.5  | ( | 配列番号 433) | 44 |
| GGSC Y S D2-15.2.5 | ( | 配列番号 434) | 45 |
| SILWWw D2-21.1.1   | ( | 配列番号 448) | 46 |
| AYCGGD D2-21.2.1   | ( | 配列番号 449) | 47 |
| HIVV VT D2-21.3.1  | ( | 配列番号 450) | 48 |
| ILWW WL D2-21.1.2  | ( | 配列番号 456) | 49 |
| YCGG DC D2-21.2.2  | ( | 配列番号 457) | 50 |
| IVVV TA D2-21.3.2  | ( | 配列番号 458) | 51 |
| LWW wLL D2-21.1.3  | ( | 配列番号 465) | 52 |
| CGGDC Y D2-21.2.3  | ( | 配列番号 466) | 53 |
| VVV TAI D2-21.3.3  | ( | 配列番号 467) | 54 |
| WWwLL F D2-21.1.4  | ( | 配列番号 474) | 55 |
| GGDC Y S D2-21.2.4 | ( | 配列番号 475) | 56 |
| VLRF LE D3-3.1.1   | ( | 配列番号 489) | 57 |
| YYDF WS D3-3.2.1   | ( | 配列番号 490) | 58 |
| ITIF GV D3-3.3.1   | ( | 配列番号 491) | 59 |
| LRF LEW D3-3.1.2   | ( | 配列番号 498) | 60 |
| YDF WSG D3-3.2.2   | ( | 配列番号 499) | 61 |
| TIF GVV D3-3.3.2   | ( | 配列番号 500) | 62 |
| RF LEWL D3-3.1.3   | ( | 配列番号 507) | 63 |
| DFW SGY D3-3.2.3   | ( | 配列番号 508) | 64 |
| IFGV VI D3-3.3.3   | ( | 配列番号 509) | 65 |
| FLEWL L D3-3.1.4   | ( | 配列番号 516) | 66 |
| FW SGY Y D3-3.2.4  | ( | 配列番号 517) | 67 |
| FGVV VII D3-3.3.4  | ( | 配列番号 518) | 68 |
| LEWL LY D3-3.1.5   | ( | 配列番号 525) | 69 |
| WSGY YT D3-3.2.5   | ( | 配列番号 526) | 70 |
| VLRY FD D3-9.1.1   | ( | 配列番号 539) | 71 |
| YYDILT D3-9.2.1    | ( | 配列番号 540) | 72 |
| ITIF yL D3-9.3.1   | ( | 配列番号 541) | 73 |
| LRYFDW D3-9.1.2    | ( | 配列番号 548) | 74 |
| YDILT G D3-9.2.2   | ( | 配列番号 549) | 75 |
| TIF yL V D3-9.3.2  | ( | 配列番号 550) | 76 |
| RYFD WL D3-9.1.3   | ( | 配列番号 557) | 77 |
| DILT GY D3-9.2.3   | ( | 配列番号 558) | 78 |
| IFy LVI D3-9.3.3   | ( | 配列番号 559) | 79 |
| YFDW LL D3-9.1.4   | ( | 配列番号 566) | 80 |
| ILT GYY D3-9.2.4   | ( | 配列番号 567) | 81 |
| Fy LVII D3-9.3.4   | ( | 配列番号 568) | 82 |
| FDW LLy D3-9.1.5   | ( | 配列番号 575) | 83 |
| LTG YYN D3-9.2.5   | ( | 配列番号 576) | 84 |
| VLLW FG D3-10.1.1  | ( | 配列番号 590) | 85 |
| YYGSG D3-10.2.1    | ( | 配列番号 591) | 86 |
| ITMVRG D3-10.3.1   | ( | 配列番号 592) | 87 |
| LLWF GE D3-10.1.2  | ( | 配列番号 599) | 88 |
| YYGS GS D3-10.2.2  | ( | 配列番号 600) | 89 |
| TMVR G V D3-10.3.2 | ( | 配列番号 601) | 90 |
| LWF GEL D3-10.1.3  | ( | 配列番号 608) | 91 |

【0 2 1 6】

## 【表45】

|                  |   |           |     |
|------------------|---|-----------|-----|
| YGSGSY D3-10.2.3 | ( | 配列番号 609) | 92  |
| MVRGVI D3-10.3.3 | ( | 配列番号 610) | 93  |
| WFGELL D3-10.1.4 | ( | 配列番号 617) | 94  |
| GSGSYY D3-10.2.4 | ( | 配列番号 618) | 95  |
| VRGVII D3-10.3.4 | ( | 配列番号 619) | 96  |
| FGELLY D3-10.1.5 | ( | 配列番号 624) | 97  |
| SGSYYN D3-10.2.5 | ( | 配列番号 625) | 98  |
| VLwLRL D3-16.1.1 | ( | 配列番号 638) | 99  |
| YYDYVW D3-16.2.1 | ( | 配列番号 639) | 100 |
| IMITFG D3-16.3.1 | ( | 配列番号 640) | 101 |
| LwLRLG D3-16.1.2 | ( | 配列番号 647) | 102 |
| YDYVWG D3-16.2.2 | ( | 配列番号 648) | 103 |
| MITFGG D3-16.3.2 | ( | 配列番号 649) | 104 |
| wLRLGE D3-16.1.3 | ( | 配列番号 656) | 105 |
| DYVWGS D3-16.2.3 | ( | 配列番号 657) | 106 |
| ITFGGV D3-16.3.3 | ( | 配列番号 658) | 107 |
| LRLGEL D3-16.1.4 | ( | 配列番号 665) | 108 |
| YVWGSY D3-16.2.4 | ( | 配列番号 666) | 109 |
| TFGGVI D3-16.3.4 | ( | 配列番号 667) | 110 |
| RLGELS D3-16.1.5 | ( | 配列番号 674) | 111 |
| VWGSYR D3-16.2.5 | ( | 配列番号 675) | 112 |
| FGGVIV D3-16.3.5 | ( | 配列番号 676) | 113 |
| LGEGLS D3-16.1.6 | ( | 配列番号 683) | 114 |
| WGSYRY D3-16.2.6 | ( | 配列番号 684) | 115 |
| GGVIVI D3-16.3.6 | ( | 配列番号 685) | 116 |
| GELSLY D3-16.1.7 | ( | 配列番号 692) | 117 |
| GSYRYT D3-16.2.7 | ( | 配列番号 693) | 118 |
| VLLwyw D3-22.1.1 | ( | 配列番号 707) | 119 |
| YYDSS D3-22.2.1  | ( | 配列番号 708) | 120 |
| ITMIVV D3-22.3.1 | ( | 配列番号 709) | 121 |
| LLwyw D3-22.1.2  | ( | 配列番号 716) | 122 |
| YYDSSG D3-22.2.2 | ( | 配列番号 717) | 123 |
| TMIVVV D3-22.3.2 | ( | 配列番号 718) | 124 |
| LwywWL D3-22.1.3 | ( | 配列番号 725) | 125 |
| YDSSGY D3-22.2.3 | ( | 配列番号 726) | 126 |
| MIVVVI D3-22.3.3 | ( | 配列番号 727) | 127 |
| wyyWLL D3-22.1.4 | ( | 配列番号 733) | 128 |
| DSSGYY D3-22.2.4 | ( | 配列番号 734) | 129 |
| IVVVIT D3-22.3.4 | ( | 配列番号 735) | 130 |
| yyWLLL D3-22.1.5 | ( | 配列番号 742) | 131 |
| SSGYYY D3-22.2.5 | ( | 配列番号 743) | 132 |
| wLRWwL D4-23.1.1 | ( | 配列番号 769) | 133 |
| DYGGNS D4-23.2.1 | ( | 配列番号 770) | 134 |
| VDTAMV D5-5.1.1  | ( | 配列番号 784) | 135 |
| WIQLWL D5-5.2.1  | ( | 配列番号 785) | 136 |
| GYSYGY D5-5.3.1  | ( | 配列番号 786) | 137 |
| VDIVAT D5-12.1.1 | ( | 配列番号 802) | 138 |
| WIyWLR D5-12.2.1 | ( | 配列番号 803) | 139 |
| GYSGYD D5-12.3.1 | ( | 配列番号 804) | 140 |
| DIVATI D5-12.1.2 | ( | 配列番号 811) | 141 |
| IyWLRL D5-12.2.2 | ( | 配列番号 812) | 142 |
| YSGYDY D5-12.3.2 | ( | 配列番号 813) | 143 |
| VEMATI D5-24.1.1 | ( | 配列番号 829) | 144 |
| yRWLQL D5-24.2.1 | ( | 配列番号 830) | 145 |
| RDGYNY D5-24.3.1 | ( | 配列番号 831) | 146 |
| EYSSSS D6-6.1.1  | ( | 配列番号 847) | 147 |
| GYSSSW D6-13.1.1 | ( | 配列番号 859) | 148 |

## 【0217】

## 【表46】

|                  |   |           |     |
|------------------|---|-----------|-----|
| GIAAG D6-13.2.1  | ( | 配列番号 860) | 149 |
| VyQQLV D6-13.3.1 | ( | 配列番号 861) | 150 |
| YSSSWY D6-13.1.2 | ( | 配列番号 867) | 151 |
| GYSSGW D6-19.1.1 | ( | 配列番号 878) | 152 |
| GIAVAG D6-19.2.1 | ( | 配列番号 879) | 153 |
| VyQWLV D6-19.3.1 | ( | 配列番号 880) | 154 |
| YSSGWY D6-19.1.2 | ( | 配列番号 887) | 155 |

(実施例3)

長さ 6 ~ 20 の C D R 3

Dセグメントの合成 H C C D R 3への挿入は、より高い安定性およびより低い免疫原性をもたらし得る。ライプラリは、V Hを、Dセグメントに接合された、ある長さの任意選択のフィラー、任意選択の第2のフィラーおよびJ Hに接合することによって、アミノ酸レベルで設計される。長さ6または8のライプラリのために、完全長J Hが、V Hおよび短いフィラーに続いてもよい。表77は、F A B - 3 1 0またはF A B - 4 1 0から、1つの標的または別の標的への結合に関して選択された、1 4 1 9のA bのサンプリングにおけるDセグメントの頻度を示す。サンプルにおいて、1 0 9 9のA bは、検出可能なDセグメントを有さなかつた（すなわち、70%未満の一一致）。Dセグメントを使用する場合、DセグメントのD 1 - 1 . 3、D 1 - 2 6 . 3、D 2 - 2 . 2、D 2 - 8 . 2、D 2 - 1 5 . 2、D 2 - 2 1 . 2、D 3 - 1 6 . 2、D 3 - 2 2 . 2、D 3 - 3 . 2、D 3 - 9 . 1、D 3 - 9 . 2、D 3 - 1 0 . 2、D 3 - 1 6 . 2、D 4 - 4 . 2、D 4 - 4 . 3、D 4 - 1 1 . 2、D 4 - 4 . 2、D 4 - 1 7 . 2、D 4 - 2 3 . 2、D 5 - 5 . 3、D 5 - 1 2 . 3、D 5 - 1 8 . 3、D 6 - 6 . 1、D 6 - 6 . 2、D 6 - 1 3 . 1、D 6 - 1 3 . 2、D 6 - 1 9 . 1、D 6 - 1 9 . 2およびD 7 - 2 7 . 1が好ましい。

## 【0218】

親アミノ酸配列が設計されたら、それを、いくつかの方法：エラープローンP C R、w o b b l i n gおよびd o b b l i n gで多様化できる。表14は、ヒトD領域に由来できる多数の六量体を示す。一実施形態において、システイン残基を含有する六量体は除外する。一実施形態において、終止を含有するD領域の断片は除外する。一実施形態において、D領域に見出される任意のT A Gコドンを、T C G、T T G、T G G、C A G、A A G、T A TおよびG A Gを含むセットから選別されたコドンで置き換える。一実施形態において、D領域に見出される任意のT A Aコドンを、T C A、T T A、C A A、A A A、T A TおよびG A Aを含むセットから選別されたコドンで置き換える。一実施形態において、D領域の任意のT G Aを、T G G、T C A、T T A、A G AおよびG G Aを含むセットから選別されたコドンで置き換える。

## 【0219】

表21は、6から20アミノ酸のC D R 3に対する、例示的な親アミノ酸配列を示す。これらの親配列は、H C C D R 1およびC D R 2における多様性と組み合わせ、ライプラリを形成することができる。C D R 3領域が、例えば、C D R 3のw o b b l i n g、d o b b l i n gまたはエラープローンP C Rにより多様化された場合、有用性が改善される可能性が高い。表21において、配列6aは、全J H 1と接合する3 - 2 3由来のV H末端を含む。配列6bは、3 - 2 3の末端と接合し、Yと接合し、D 4 - 1 7 (R F 2)と接合するJ H 1のF R 4領域を含有する。配列6cは、3 - 2 3の末端、続いてD 5 - 5 (R F 3)、続いてJ H 1のF R 4部分を含有する。配列6dは、3 - 2 3の末端と接合し、S Yと接合する全J H 4を含有する。表21は、C D R 3のw o b b l i n gに適切と思われるd o p i n gのレベルを示し、他のレベルも同様に許容される。他のD領域またはD領域の断片も許容される。他のJ H配列も許容される。

## 【0220】

【表47】

表21: 6~20AAのHC CDR3に対する親アミノ酸配列

| 長さ  | 親配列                               | doping のレベル | 解説                                     | 配列番号 |
|-----|-----------------------------------|-------------|----------------------------------------|------|
| 6a  | yycakAEYFQHwgqgtlvtvss            | 70:10:1:10  | JH1(全体)                                | 226  |
| 6b  | yycakYDYGDFYwgqgtlvtvss           | 70:10:1:10  | JH1 の Y:D4-17(2)::Fr4                  | 227  |
| 6c  | yycakGYSYGYwgqgtlvtvss            | 70:10:1:10  | JH1 の D5-5(3)::Fr4                     | 228  |
| 6d  | yycakSYYFDYwgqgtlvtvss            | 70:10:1:10  | SY::JH4(全体)                            | 229  |
| 8a  | yycakYYAEYFQHwgqgtlvtvss          | 73:9:9:9    | YY:JH1(全体)                             | 230  |
| 8b  | yycakGYSSSSWYwgqgtlvtvss          | 73:9:9:9    | JH1 の Y:D6-13(1)::Fr4                  | 231  |
| 8c  | yycakYGDYYFDYwgqgtlvtvss          | 73:9:9:9    | D4-17(2)[2-5]::JH4(全体)                 | 232  |
| 10a | yycakYYDSSSGYYYwgqgtlvtvss        | 73:9:9:9    | JH1 の D3-22(2)::Fr4                    | 233  |
| 10b | yycakGYcSSTSScYTwgqgtlvtvss       | 73:9:9:9    | JH1 の D2-2(2)::Fr4                     | 234  |
| 10c | yycakYYSSAEEYFQHwgqgtlvtvss       | 73:9:9:9    | YYSS::JH1(全体)<br>(配列番号 942)            | 235  |
| 10d | yycakGYSSGYYYFDYwgqgtlvtvss       | 73:9:9:9    | D5-5(3)::JH4(全体)                       | 236  |
| 12a | yycakYYDSSSGYYYQHwgqgtlvtvss      | 85:5:5:5    | JH1 の D3-22(2)::QH::Fr4                | 237  |
| 12b | yycakGYcSSTSScYTQHwgqgtlvtvss     | 85:5:5:5    | JH1 の D2-2(2)::QH::Fr4                 | 238  |
| 12c | yycakYDGSSAEEYFQHwgqgtlvtvss      | 85:5:5:5    | YDGSS::JH1(全体)<br>(配列番号 943)           | 239  |
| 12d | yycakYYDYWGYSYRTwgqgtlvtvss       | 85:5:5:5    | JH1 の D3-16(2)::Fr                     | 240  |
| 12e | yycakGYSYGYWYFDLwgqgtlvtvss       | 85:5:5:5    | D5-5(3)::JH2(全体)                       | 241  |
| 14a | yycakYYDSSSGYYYYFQHwgqgtlvtvss    | 73:9:9:9    | JH1 の D3-22(2)::YFQH::Fr<br>(配列番号 944) | 242  |
| 14b | yycakGYcSSTSScYTQHwgqgtlvtvss     | 73:9:9:9    | JH1 の D2-2(2)::YFQH::Fr<br>(配列番号 944)  | 243  |
| 14c | yycakSYGYcSSTSScYTQHwgqgtlvtvss   | 73:9:9:9    | JH1 の SY::D2-2(2)::QH::Fr              | 244  |
| 14d | yycakSYRYSGYSAEYFQHwgqgtlvtvss    | 73:9:9:9    | SYRSGYS::JH1(全体)<br>(配列番号 945)         | 245  |
| 14e | yycakAYcGGDcYSNWFDPwgqgtlvtvss    | 73:9:9:9    | D2-2(1(2)::JH5(全体)                     | 246  |
| 15a | yycakSDGYYYDSSGGYYYDwgqgtlvtvss   | 73:9:9:9    | SD::D3-22(2)::JH4(10ff)                | 930  |
| 15b | yycakGSGYCSGSGSCYSFDDYwgqgtlvtvss | 73:9:9:9    | GS::D2-16(2)::JH4(10ff)                | 931  |
| 15c | yycakGGRGYSSGWWYRAFDIwgqgtmvtvss  | 73:9:9:9    | GGR::D6-19(1::R)::JH3(all)             | 932  |

【0 2 2 1】

【表 4 8】

|     |                                     |          |                                         |     |
|-----|-------------------------------------|----------|-----------------------------------------|-----|
| 16a | yycaKYDSSGYYYYAEYFQHwgqgtlvtss      | 73:9:9:9 | D3-22(2)::JH1(全体)                       | 247 |
| 16b | yycaKGcSSTSctTAEYFQHwgqgtlvtss      | 73:9:9:9 | D2-2(2)::JH1(全体)                        | 248 |
| 16c | yycaKSYSRSYGSYQSAEYFQHwgqgtlvtss    | 73:9:9:9 | SYDSYRSYGS::JH1(全体)<br>(配列番号 946)       | 249 |
| 16d | yycaKSYSYGYcSSTSctYQHwgqgtlvtss     | 73:9:9:9 | SYSY::D2-2(2)::QH::Fr JH1<br>(配列番号 947) | 250 |
| 17a | yycaKSRPGYSSWYYYYGMDVwgqgtlvtss     | 73:9:9:9 | SRP::6-13.1::JH6(-1Y)                   | 933 |
| 18a | yycaKGcSGGSCSYYYYGMDVwgqgtlvtss     | 73:9:9:9 | 2-15.2::JH6(-1Y)                        | 221 |
| 18b | yycaKGcDGYYYDSSGYYRGYYFDYwgqgtlvtss | 73:9:9:9 | D::2-15.2::JH6(-2Ys)                    | 222 |
| 19a | yycaKGcDGYYYDSSGYYAEYFQHwgqgtlvtss  | 73:9:9:9 | D::D3-22.2::RGY::JH4(all)               | 223 |
| 20a | yycaKSYYYYDSSGYYAEYFQHwgqgtlvtss    | 73:9:9:9 | YSSY::D3-22(2)::JH1(全体)<br>(配列番号 948)   | 251 |
| 20b | yycaKSYSGYcSSTSctYAEYFQHwgqgtlvtss  | 73:9:9:9 | SYYs::D2-2(2)::JH1(全体)<br>(配列番号 949)    | 252 |
| 20c | yycaKGcSSTSctYYYSAEYFQHwgqgtlvtss   | 73:9:9:9 | S::D2-2(2)::YYS::JH1(全体)                | 253 |
| 20d | yycaKYYDDY\WGSYRYSNWFDPwgqgtlvtss   | 73:9:9:9 | Y::D3-16(2)::S::JH5(全体)                 | 254 |
| 20e | yycaKYYDDY\WGSYRYSYFDYwgqgtlvtss    | 73:9:9:9 | Y::D3-16(2)::SS::JH4(全体)                | 255 |

【 0 2 2 2 】

【表 4 9】

表22:HCディスプレイカセット

表22に示すアミノ酸配列は配列番号892である。  
表22に示すDNA配列は配列番号893である。

VH-CH1-IIIスタンプに対するシグナル

|   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
| M | K | Y | L | L | P | T | A | A | A  | G  | L  | L  | L  | L  |

946 atg aaa tac cta ttg cct acg gca gcc gct gga ttg tta tta ctc

|    |    |    |    |    |    |    |
|----|----|----|----|----|----|----|
| 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 |
| A  | A  | Q  | P  | A  | M  | A  |

991 gcG GCC cag ccG GCC atg gcc

SfiI.....

NgoMI...(1/2)

NcoI....

VH

FR1 (DP47/V3-23) -----

|   |   |   |   |   |   |   |   |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| E | V | Q | L | L | E | S | G |

1012 gaa|gtt|CAA|TTG|tta|gag|tct|gg|

| MfeI |

-----FR1-----

|   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 |
| G | G  | L  | V  | Q  | P  | G  | G  | S  | L  | R  | L  | S  | C  | A  |

1036 |ggc|gg|gtt|ctt|gtt|cag|cct|gg|gtt|tct|tta|cgt|ctt|tct|tg|g|ct|

-----FR1----->|...CDR1.....|---FR2---

|    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 | 38 |
| A  | S  | G  | F  | T  | F  | S  | S  | Y  | A  | M  | S  | W  | V  | R  |

1081 |gct|TCC|GGA|ttc|act|ttc|tct|tCG|TAC|Gct|atg|tct|tg|g|gtt|cgC|

| BspEI | | BsiWI | | BstXI |

-----FR2----->|...CDR2.....

|    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |
|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|
| 39 | 40 | 41 | 42 | 43 | 44 | 45 | 46 | 47 | 48 | 49 | 50 | 51 | 52 | 52a |
| Q  | A  | P  | G  | K  | G  | L  | E  | W  | V  | S  | A  | I  | S  | G   |

1126 |CA|gct|ccT|GG|aaa|gg|ttg|gag|tg|g|gtt|tct|gct|atc|tct|gg|

...BstXI |

....CDR2.....|---FR3---

|    |    |    |           |    |           |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
|----|----|----|-----------|----|-----------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 53 | 54 | 55 | <b>56</b> | 57 | <b>58</b> | 59 | 60 | 61 | 62 | 63 | 64 | 65 | 66 | 67 |
| S  | G  | G  | <b>S</b>  | T  | <b>Y</b>  | Y  | A  | D  | S  | V  | K  | G  | R  | F  |

1171 |tct|gg|gg|act|act|tac|tat|gct|gac|tcc|gtt|aaa|gg|cg|ttc|

-----FR3-----

|    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 68 | 69 | 70 | 71 | 72 | 73 | 74 | 75 | 76 | 77 | 78 | 79 | 80 | 81 | 82 |
| T  | I  | S  | R  | D  | N  | S  | K  | N  | T  | L  | Y  | L  | Q  | M  |

1216 |act|atc|ICT|AGA|gac|aac|tct|aag|aat|act|ctc|tac|ttg|cag|atg|

| XbaI |

-----FR3----->|

|     |     |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
|-----|-----|-----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 82a | 82b | 82c | 83 | 84 | 85 | 86 | 87 | 88 | 89 | 90 | 91 | 92 | 93 | 94 |
|-----|-----|-----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|

[ 0 2 2 3 ]

## 【表 5 0】

```

!      N   S   L   R   A   E   D   T   A   V   Y   Y   C   A   K
1261  |aac|agC|TTA|AGg|gct|gag|gac|aCT|GCA|Gtc|tac|tat|tgc|gct|aaa|
!      |AflII  |                                | PstI |(2/2)

!      .....CDR3.....|---FR4---|
!      95  96  97  98  98a 98b 98c 99  100 101 102 103 104 105 106
!      D   Y   E   G   T   G   Y   A   F   D   I   W   G   Q   G
1306  |gac|tat|gaalgg|act|ggt|tat|gct|ttc|gaC|ATA|TGg|ggg|caalgg|
!      | NdeI |

!      -----FR4----->|
!      107 108 109 110 111 112 113
!      T   M   V   T   V   S   S
1351  |act|atG|GTC|ACC|gtc|tct|agt
!      | BstEII |  c tcg ag = XhoI.

! CH1

!      A   S   T   K   G   P   S   V   F   P   L   A   P   S   S
1372  gcc tcc acc aag ggc cca tcg gtc ttc ccG CTA GCa ccc tcc tcc
!      NheI.....
!      151 152 153 154 155 156 157 158 159 160 161 162 163 164 165
!      K   S   T   S   G   G   T   A   A   L   G   C   L   V   K
1417  aag agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag
!      166 167 168 169 170 171 172 173 174 175 176 177 178 179 180
!      D   Y   F   P   E   P   V   T   V   S   W   N   S   G   A
1462  gac tac ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tcg tgg aac tca ggc gcc
!      181 182 183 184 185 186 187 188 189 190 191 192 193 194 195
!      L   T   S   G   V   H   T   F   P   A   V   L   Q   S   S
1507  ctg acc agc ggc gtc cac acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca
!      196 197 198 199 200 201 202 203 204 205 206 207 208 209 210
!      G   L   Y   S   L   S   S   V   V   T   V   P   S   S   S
1552  gga ctc tac tcc ctc agc agc gta gtg acc gtg ccc tCC Agc agc
!      BstXI.....
!      211 212 213 214 215 216 217 218 219 220 221 222 223 224 225
!      L   G   T   Q   T   Y   I   C   N   V   N   H   K   P   S
1597  tTG Ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc agc
!      BstXI.....
!      226 227 228 229 230 231 232 233 234 235 236 237 238
!      N   T   K   V   D   K   K   V   E   P   K   S   C
1642  aac acc aag gtg gac aaG AAA GTT GAG CCC AAA TCT TGT

!      139 140 141  His tag..... cMyc tag.....
!      A   A   A   H   H   H   H   H   G   A   A   E   Q   K   L   I
1681  GCG GCC GCa cat cat cat cac cat cac ggg gcc gca gaa caa aaa ctc atc
!      NotI.....
!      EagI.....
!      .....
!      S   E   E   D   L   N   G   A   A   E   A   S   S   A   S   N   A   S
1732  tca gaa gag gat ctg aat ggg GCC gca gaG GCT agt tct gct agt aAC GCG Tct

```

## 【0 2 2 4】

## 【表51】

```

! BglI.....(3/4) MluI...
! ドメイン3(IIIスタンプ)
!   S   G   D   F   D   Y   E   K   M   A   N   A   N   K   G   A
! 1786 tcc ggt gat ttt gat tat gaa aag atg gca aac gct aat aag ggg gct
!   M   T   E   N   A   D   E   N   A   L   Q   S   D   A   K   G
! 1834 atg acc gaa aat gcc gat gaa aac gcg cta cag tct gac gct aaa ggc
!   K   L   D   S   V   A   T   D   Y   G   A   A   I   D   G   F
! 1882 aaa ctt gat tct gtc gct act gat tac ggt gct gct atc gat ggt ttc
!   I   G   D   V   S   G   L   A   N   G   N   G   A   T   G   D
! 1930 att ggt gac gtt tcc ggc ctt gct aat ggt aat ggt gct act ggt gat
!   F   A   G   S   N   S   Q   M   A   Q   V   G   D   G   D   N
! 1978 ttt gct ggc tct aat tcc caa atg gct caa gtc ggt gac ggt gat aat
!   S   P   L   M   N   N   F   R   Q   Y   L   P   S   L   P   Q
! 2026 tca cct tta atg aat aat ttc cgt caa tat tta cct tcc ctc cct caa
!   S   V   E   C   R   P   F   V   F   G   A   G   K   P   Y   E
! 2074 tcg gtt gaa tgt cgc cct ttt gtc ttt ggc gct ggt aaa cca tat gaa
!   F   S   I   D   C   D   K   I   N   L   F   R
! 2122 ttt tct att gat tgt gac aaa ata aac tta ttc cgt
!                               ドメイン3末端
!   G   V   F   A   F   L   L   Y   V   A   T   F   M   Y   V   F140
! 2158 ggt gtc ttt gcg ttt ctt tta tat gtt gcc acc ttt atg tat gta ttt
! 膜貫通セグメント開始
!   S   T   F   A   N   I   L
! 2206 tct acg ttt gct aac ata ctg
!   R   N   K   E   S   (   配列番号892)
! 2227 cgt aat aag gag tct TAA   tga aAC GCG Tga tga GAATT (   配列番号893)
!   細胞内アンカー。 MluI... EcoRI.

```

表25:サンプル生殖細胞系列のO12 $\kappa$ 軽鎖を含有するDY3F85LCのDNA配列。

示した抗体配列は、実際の抗体の形態の配列であるが、特定の抗原に結合するものとして特定されてはいない。

それぞれの系において、エクスクラメーションマーク(!)の後ろは、すべて注釈である。

DY3F85LCのDNAは配列番号 950である。

```

!-----1----- AATGCTACTA CTATTAGTAG AATIGATGCC ACCTTTTCAG CTCGGCCCCC AAATGAAAAT
!-----61----- ATAGCTAAC AGGTTATTGA CCATTGCGA AATGTATCTA ATGGTCAAAC TAAATCTACT
!-----121----- CGTTCGCAGA ATTGGAATC AACTGTTATA TGGAAATGAAA CTTCCAGACA CCGTACTTTA
!-----181----- GTTGATATT TAAACATGT TGAGCTACAG CATTATATTC AGCAATTAAAG CTCTAAGCCA
!-----241----- TCCGCAAAA TGACCTCTTA TCAAAAGGAG CAATTAAAGG TACTCTCAA TCCTGACCTG
!-----301----- TTGGAGTTG CTTCCGGTCT GGTTCGCTTT GAAGCTCGAA TTAAAACGCG ATATTGAAAG
!-----361----- TCTTTCGGGC TTCTCTTAA TCTTTTGAT GCAATCCGCT TTGCTCTGA CTATAATAGT
!-----421----- CAGGGTAAAG ACCTGATTT TGATTTATGG TCATTCTCGT TTTCTGAACG GTTAAAGCA

```

## 【0225】

## 【表52】

481 TTTGAGGGGG ATTCAATGAA TATTTATGAC GATTCCGCAG TATTGGACGC TATCCAGTCT  
 541 AAACATTTA CTATTACCC CTCTGGCAA ACTTCTTTG CAAAAGCCTC TCGCTATTT  
 601 GGTTTTATC GTCGCTGTT AAACGAGGT TATGATG TGTTGCTTAC TATGCCCTGT  
 661 AATTCCCTT GGCCTATGGT ATCTGCATTA GTTGAATG TGTTTCTAA ATCTCAACTG  
 721 ATGAATCTT CTACCTGTAA TAATGTTGTT CCGTTAGTTG GTTTTATTA CGTAGATTT  
 781 TCTCCCAAC GTCTGACTG GTATAATGAG CCAGTTCTTA AAATCGCATA AGGTAATTCA  
 841 CAATGATTAA AGTTGAAATT AAACCATCTC AAGCCCAATT TACTACTCGT TCTGGTGT  
 901 CTCGTCAGGG CAAGCCTTAT TCACIGAATG AGCAGCTTG TTACGTTGAT TTGGGTAATG  
 961 AATATCCGGT TCTTGTCAAG ATTACCTTG ATGAAGGTCA GCCAGCCTAT GCGCCTGGTC  
 1021 TGTACACCGT TCATCTGTCC TCTTCAAAG TTGGTCAGTT CGGTTCCCTT ATGATTGACC  
 1081 GTCTGCGCT CGTTCGGCT AAGTAACATG GAGCAGGTG CGGATTTGCA CACAATTAT  
 1141 CAGGGCATGA TACAAATCTC CGTTGACTT TGTTTCGCGC TTGGTATAAT CGCTGGGGGT  
 1201 CAAAGATGAG .TGTTTAGTG TATTCTTTG CCTCTTCGT TTAGGTTGG TGCCTTCGTA  
 1261 GTGGCATTAC GTATTTAATGG AAACCTTCCTC ATGAAAAAGT CTTAGTCCT  
 1321 CAAAGCCTCT GTAGCCGTG CTACCCCTCGT TCCGATGCTG TCTTCGCTG CTGAGGGTGA  
 1381 CGATCCCGCA AAAGCGGCCT TAACTCCCT GCAAGCCTCA GCGACCGAAT ATATCGGTTA  
 1441 TGGTGGGGCG ATGGTTGTTG TCATTGTCGG CGCAACTATC GGTATCAAGC TGTTTAAGAA  
 1501 ATTACACCTCG AAAGCAAGCT GATAAACCGA TACAATTAAA GGCTCCTTT GGAGCCTTT  
 1561 TTTGGAGAT TTCAACGTG AAAAAATTAT TATTCGCAAT TCCTTAGTT GTICCTTCT  
 1621 ATTCTCACTC CGCTGAAACT GTGAAAGTT GTTAGCAAA ATCCCATA AAAAAATCAT  
 1681 TTACTAACGT CTGGAAAGAC GACAAACTT TAGATCGTTA CGCTAACTAT GAGGGCTGTC  
 1741 TGTGAATGC TACAGCGTT GTAGTTGTA CTGGTGACGA AACTCAGTGT TAAGGTACAT  
 1801 GGGTTCTAT TGGGCTTGT ATCCCTGAAA ATGAGGGTGG TGGCTCTGAG GGTGGCGGT  
 1861 CTGAGGGTGG CGGTTCTGAG GGTGGCGTA CTAACCTCC TGAGTACGGT GATACACCTA  
 1921 TTCCGGGCTA TACTTATATC AACCCCTCTCG ACGGCACTTA TCCGCTGGT ACTGAGCAAA  
 1981 ACCCCGCTAA TCTTAATCTC TCTCTGAGG AGTCTCAGCC TCTTAATACT TTCAI GTTTC  
 2041 AGATAATAG GTTCCGAAT AGGCAGGGGG CATTAACTGT TTATACGGC ACTGTTACTC  
 2101 AAGGCACTGA CCCCGTTAAA ACTTATTACC AGTACACTCC TGATCATCA AAAGCCATGT  
 2161 ATGACGCTTA CTGGAACGGT AAATTCAAGAG ACTGCGCTT CCATTCTGGC TTAAATGAGG  
 2221 ATTATTTGT TTGTGAATAT CAAGGCCAAT CGTCTGACCT GCCTCAACCT CCTGCAATG  
 2281 CTGGCGGCGG CTCTGGTGG GTTCTGGTG GCGGCTCTGA GGGTGGTGGC TCTGAGGGTG  
 2341 GCGGTTCTGA GGGTGGCGGC TCTGAGGGAG GCGGTTCCGG TGGTGGCTCT GGTTCCGGTG  
 2401 ATTTGATTA TGAAAGATG GCAACCGCTA ATAAGGGGGC TATGACCGAA AATGCCGATG  
 2461 AAAACGCGCT ACAGTCTGAC GCTAAAGGC AACTTGATTG TGTCGCTACT GATTACGGTG  
 2521 CTGCTATCGA TGGTTTCATT GGTGACGTTT CCGGCCTTCG TAATGGTAAT GGTGCTACTG  
 2581 GTGATTTGC TGGCTCTAA TCCCAATGG CTCAAGTCGG TGACGGTGAT AATTACCTT  
 2641 TAATGAATAA TTCCCGTCAA TATTTACCTT CCGTCCCTCA ATCGGTTGAA TGTGCCCTT  
 2701 TTGCTTTGG CGCTGGTAAAC CCATATGAAT TTCTATTGA TTGTGACAAA ATAAACTTAT  
 2761 TCCGTGGTGT CTTTGCCTT CTTTATATG TTGCCACCTT TATGTATGTA TTCTACGT  
 2821 TTGCTAACAT ACTGCGTAAT AAGGAGTCTT AATCATGCCA GTTCTTTGG GTATTCCGTT  
 2881 ATTATTCGCT TTCCCTCGTT TCCTCTGGT AACTTGTTG GGCTATCTGC TTACTTTCT  
 2941 TAAAAAGGGC TTGCGTAAGA TAGCTATTGC TATTCATTG TTCTTGCTC TTATTATTGG  
 3001 GCTTAACCTA ATTCTTGTTG GTTATCTCTC TGATATTAGC GCTCAATTAC CCTCTGACTT  
 3061 TGTTCAGGGT GTTCAGTTAA TTCTCCCGTC TAATGCGCTT CCCTGTTTT ATGTTATTCT  
 3121 CTCGTAAAG GCTGCTATT TCATTGAA CGTTAAACAA AAAATGTTT CTATTGGAA  
 3181 TTGGGATAAA TAATATGGCT GTTATTTTG TAATGGCAA ATTAGGCTCT GGAAGACGC  
 3241 TCGTAGCGT TGGTAAGATT CAGGATAAAA TTGAGCTGG GTGAAATAA GCAACTAATC  
 3301 TTGATTTAAG GCTTCAAACCT CTCGGCGAAG TCGGGAGGTT CGCTAAACG CCTCCGTT  
 3361 TTAGAATACC GGATAAGCCT TCTATATCTG ATTGCTTGC TATTGGCGC GGTAATGATT  
 3421 CCTACGATGA AAATAAAAAC GGCTTGCTTG TTCTCGATGA GTGCGTACT TGGTTAATA  
 3481 CCCGTTCTTG GAATGATAAG GAAAGACAGC CGATTATG TGTTGCTTA CATGTCGTA  
 3541 AATTAGGATG GGATATTATT TTCTTGTTG AGGACTTATC TATTGTTGAT AACACGGCG  
 3601 GTCTGCATT AGCTGAACAT GTTGTATTG TGCGCTGCT GGACAGAATT ACTTACCTT  
 3661 TTGTCGGTAC TTATATTCT CTTATGTTG GCTGAAAAT GCCTCTGCCT AAATTACATG  
 3721 TTGGCGTTGT TAAATATGGC GATTCTCAAT TAAGCCCTAC TGTTGAGCGT TGGCTTTATA  
 3781 CTGGTAAGAA TTGTTAAAC GCATATGATA CTAACACAGGC TTTTCTAGT AATTATGATT  
 3841 CGGGTGTAA TTCTTATTAA ACGCCTTATT TATCACACGG TCGGTATTTC AAACCATTAA

## 【0226】

## 【表53】

3901 ATTTAGGTCA GAAGATGAAA TTAACCTAAA TATATTTGAA AAAGTTTCT CGCGTTCTT  
 3961 GTCTTGCAT TGGATTTGCA TCAGCATTAT CATATAGTTA TATAACCCAA CCTAAGCCGG  
 4021 AGGTTAAAAA GGTAGTCTCT CAGACCTATG ATTTGATAA ATTCACTATT GACTCTTCTC  
 4081 AGCGTCTTAA TCTAAGCTAT CGCTATGTT TCAAGGATTC TAAGGGAAA TTAATTAATA  
 4141 GCGACGATT ACAGAACCA GGTATTACAC TCACATATAT TGATTTATGT ACTGTTCCA  
 4201 TTAAAAAAGG TAATTCAAAT GAAATTGTT AATGTAATT AATTTGTTT CTTGATGTTT  
 4261 GTTTCATCAT CTTCTTTGC TCAGGTAATT GAATGAATA ATTCGCCTCT GCGCGATTTT  
 4321 GTAACCTGGT ATTCAAAGCA ATCAGGCAGA TCCGTATGTT TTTCTCCGA TGTAAGG  
 4381 ACTGTTACTG TATATTACATC TGACGTTAAA CCTGAAAATC TAGCAATT TTTTATTCT  
 4441 GTTTTACGTG CAAATAATT TGATATGTT GGTCTAACCT CTICCAATAAT TCAGAAGTAT  
 4501 AATCCAAACA ATCAGGATTA TATTGATGAA TTGCCCCATCT CGATAATCA GGAATATGAT  
 4561 GATAATTCCG CTCCCTCTGG TGGTTCTTT GTCCCGAAA ATGATAATGT TACTCAAAC  
 4621 TTAAAATTA ATAACGTTCG GGCAAGGAT TTAATACGAG TTGTCGATT GTTTGTAAG  
 4681 TCTAATACTT CTAAATCCTC AAATGTATTA TCTATTGACG GCTCTAATCT ATTAGTTGTT  
 4741 AGTGCTCCTA AAGATATT AGATAACCTT CCTCAATTCC TTTCAACTGT TGATTGCCA  
 4801 ACTGACCAGA TATTGATGA GGGTTGATA TTGAGGTT AGCAAGGTGA TGCTTITAGAT  
 4861 TTTTCATTTG CTGCTGGCTC TCAGCGTGGC ACTGTTGCAG GCGGTGTTAA TACTGACC  
 4921 CTCACCTCTG TTATCTTC TGCTGGTGGT CGTCTCGGTA TTTTAATGG CGATGTTTTA  
 4981 GGGCTATCAG TTGCGCATT AAAGACTAAT AGCCATTCAA AAATATTGTC TGTGCCACGT  
 5041 ATTCTTACGC TTTCAGGTCA GAAGGGTCT ATCTCTGTTG GCCAGAAATGT CCCTTTATT  
 5101 ACTGGTCGTG TGAATGGTGA ATCTGCCAT GTAAATAATC CATTTCAGAC GATTGAGCGT  
 5161 CAAAATGTAG GTATTTCCAT GAGCCTTTT CCTGTTGCAA TGGCTGCCGG TAATATTGTT  
 5221 CTGGATATTA CCAGCAAGGG CGATAGTTG AGTCTCTA CTCAGGCAAG TGATTTATT  
 5281 ACTAATCAA AAGATTGTC TCAACCGTT AATTTGCGT ATGGACAGAC TCTTTACTC  
 5341 GGTGGCCTCA CTGATTATAA AAACACTTCT CAGGATTCTG GCGTACCGTT CCTGCTAAA  
 5401 ATCCCTTTAA TCGGCCCTCT GTTTAGCTCC CGCTCTGATT CTAACGAGGA AAGCACGTTA  
 5461 TACGTGCTCG TCAAAGCAAC CATACTACGC GCCCTGTAGC GGCGCATTAAG GCGCGGCGGG  
 5521 TGTGGTGGT ACAGCGCAGCG TGACCGCTAC ACTTGCAGC GCGCTAGCGC CCGCTCCTT  
 5581 CGCTTCTTC CTTCTCTTC TCGCCACGTT CGCCGGCTT CCGCGTCAAG CTCTAAATCG  
 5641 GGGGCTCCCT TTAGGGTTC GATTAGTGC TTACGGCAC CTGACCCCCA AAAAACTTGA  
 5701 TTGGGTGAT GGTCACCGTA GTGGGCCATC GCCCTGATAG ACGGTTTTG GCCCTTTGAC  
 5761 GTTGGAGTCC ACCTTCTTA ATAGTGGACT CTGTTCCAA ACTGGAACAA CACTCAACCC  
 5821 TATCTCGGGC TATTCTTTG ATTTATAAGG GATTTGCGG ATTCGGAAC CACCATCAA  
 5881 CAGGATTTC GCCTGCTGG GCAAAACAGC GTGGACCGCT TGCTGCAACT CTCTCAGGGC  
 5941 CAGGCGGTGA AGGGCAATCA GCTGTTGCC CTTCTACTGG TGAAAAGAAA AACCAACCTG  
 6001 GATCCAAGCT TGCAGGTGGC ACTTTCTGGG GAAATGTGCG CGGAACCCCT ATTGTTTAT  
 6061 TTTCTAAAT ACATTCAAAT ATGTATCCGC TCATGAGACA ATAACCCCTGA TAAATGCTC  
 6121 AATAATATTG AAAAAGGAAG AGTATGAGTA TTCAACATT CCGTGTGCC CTTATCCCT  
 6181 TTTTGCGGC ATTTGCTT CCGTTTTTG CTCACCCAGA AACGCTGGT AAAGTAAAAG  
 6241 ATGCTGAAGA TCAGTTGGC GCACTAGTGG GTACATCGA ACTGGATCTC AACAGCGGT  
 6301 AGATCCCTGA GAGTTTCCG CCGGAAGAAC GTTTCCTAAT GATGAGCACT TTTAAAGTTC  
 6361 TGCTATGTT CGCCGTATTA TCCCGTATTG ACGCCGGGCA AGAGCAACTC GGTGCCCGCA  
 6421 TACACTATTC TCAGAATGAC TTGGTTGAGT ACTCACCAGT CACAGAAAAG CATCTTACGG  
 6481 ATGGCATGAC AGTAAGAGAA TTATGCTGAGT CTGCCATAAC CATGAGTGAT AACACTGCGG  
 6541 CCAACTTACT TCTGACAACG ATCGGAGGAC CGAAGGAGCT AACCGCTTT TTGACAAACA  
 6601 TGCGGGATCA TGTAACTCGC CTTGATCGT GGGAACCGGA GCTGAATGAA GCCATACCAA  
 6661 ACGACGAGCG TGACACCAAG ATGCCGTAG CAATGGCAAC AACGTTGCCA AAACATTAA  
 6721 CTGGCGAACT ACTTACTCTA GCTTCCCGGC AACAAATTAT AGACTGGATG GAGGGGGATA  
 6781 AAGTTGCAAGG ACCACCTCTG CGCTCGGGCC TTCCGGCTGG CTGTTTATT GCTGATAAAT  
 6841 CTGGAGCCG TGAGCGTGGG TCTCGGGTA TCATTGCGC ACTGGGGCCA GATGGTAAGC  
 6901 CCTCCCGTAT CGTAGTTATC TACACGACGG GGAGTCAGGC AACTATGGAT GAACGAAATA  
 6961 GACAGATCGC TGAGATAGGT GCCTCACTGA TTAGCATTG GTAACGTCA GACCAAGTTT  
 7021 ACTCATATAT ACTTTAGATT GATTTAAAC TTCAATTATA ATTAAAAGG ATCTAGGTGA  
 7081 AGATCCCTTT TGATAATCTC ATGACCAAAA TCCCTTAACG TGAGTTTICG TTCCACTGTA  
 7141 CGTAAGACCC CCAAGCTGT CGACTGAATG GCGAATGGCG CTTGCGCTGG TTCCGGCAC  
 7201 CAGAAGCGGT GCCGGAAAGC TGGCTGGAGT GCGATCTTCC TGACGCTCGA GCGCAACGCA

XhoI...

【0227】

## 【表54】

7261 ATTAATGTGA GTTAGCTCAC TCATTAGGCA CCCCAGGCTT TACACTTAT GCTTCCGGCT  
 7321 CGTATGTTGT GTGGAATTGT GAGCGGATAA CAATTTCACA CAGGAAACAG CTATGACCAT  
 7381 GATTACGCCA AGCTTGGAG CCTTTTTTT GGAGATTTTC AAC

表30:DY3FHC87のDNA配列(配列番号894)

1 aatgctacta ctattagtag aattgatgcc acctttcag ctgcgcggcc aatgaaaaat  
 61 atagctaaac aggttattga ccattgcga aatgtatcta atggtaaac taaatctact  
 121 cgttcgcaga atgggaatc aactgttata tggaatggaa ctgcgcgaca cggacttta  
 181 gtgcgcatt taaaacatgt tgaggtacag cattatatto agcaattaa ctctaaagcc  
 241 tccgcggaaa tgaccttta tcaaaaggag caattaaagg tactcttaa tcctgacctg  
 301 ttggagtttgc ctccggctt ggttcgcgtt gaagtcgaa taaaacgcg atatttgaag  
 361 tcttcgggc ttccctttaa tcttttgcgat gcaatccgc ttgcttcga ctataatagt  
 421 cagggtaaag acctgattt tgatttatgg tcaattctgtt tttctgaact gtttaagca  
 481 ttgggggggg attcaatgaa tatttatgac gattccgcag tattggacgc tattcagtt  
 541 aaacatttttta ctattaccc ctctggcaaa acttcttttgc caaaagcctc tcgcattttt  
 601 gttttttatc gtcgtctgtt aaacgagggt tatgatagtg ttgccttac tatgccttgt  
 661 aatttcctttt ggcgttatgt atctgcattt gtttttttttgcgtt gtttttttttgcgtt  
 721 atgaatctttt ctacctgtttaa taatgttgcgtt ccgttagttt gtttttttttgcgtt  
 781 tctcccaac gtcctgtact gtataatgag ccaggctttaa aaatcgccata aggttaattca  
 841 caatgattaa agtttggaaattt aaaccatctc aaccccaattt tactacttgt tctgggttt  
 901 ctcgtcaggg caagcctttaa tcaactgttgc agcgttttgc ttacgttgc ttgggttaatg  
 961 aatatccggg tcttgcgttgc ttttttttttgcgtt gtttttttttgcgtt  
 1021 ttttttttttgcgtt ttttttttttgcgtt gtttttttttgcgtt  
 1081 gtcctgcctt cgttccggctt aagtttttttgcgtt gtttttttttgcgtt  
 1141 caggcgatgtt ttttttttttgcgtt gtttttttttgcgtt  
 1201 caaagatgag ttttttttttgcgtt ttttttttttgcgtt gtttttttttgcgtt  
 1261 gtggcatttttgcgtt ttttttttttgcgtt gtttttttttgcgtt  
 1321 caaaggccctt ttttttttttgcgtt gtttttttttgcgtt  
 1381 ctttttttttgcgtt ttttttttttgcgtt  
 1441 ttttttttttgcgtt ttttttttttgcgtt  
 1501 attcacccctt ttttttttttgcgtt  
 1561 ttttttttttgcgtt ttttttttttgcgtt  
 1621 ttttttttttgcgtt ttttttttttgcgtt  
 1681 ttttttttttgcgtt ttttttttttgcgtt  
 1741 ctgtggatgtt ttttttttttgcgtt  
 1801 ttttttttttgcgtt ttttttttttgcgtt  
 1861 ttttttttttgcgtt ttttttttttgcgtt  
 1921 ttttttttttgcgtt ttttttttttgcgtt  
 1981 aaccccgctt ttttttttttgcgtt  
 2041 cagaataataa ttttttttttgcgtt  
 2101 caaggcactt ttttttttttgcgtt  
 2161 tatgacgttt ttttttttttgcgtt  
 2221 gatttttttgcgtt ttttttttttgcgtt  
 2281 gctggccggcg ttttttttttgcgtt  
 2341 gggggccgtt ttttttttttgcgtt  
 2401 gatttttttgcgtt ttttttttttgcgtt  
 2461 gaaaacgcgtt ttttttttttgcgtt  
 2521 gctgtatgtt ttttttttttgcgtt  
 2581 ggtgatgtt ttttttttttgcgtt  
 2641 ttttttttttgcgtt ttttttttttgcgtt  
 2701 ttttttttttgcgtt ttttttttttgcgtt  
 2761 ttttttttttgcgtt ttttttttttgcgtt  
 2821 ttttttttttgcgtt ttttttttttgcgtt  
 2881 ttttttttttgcgtt ttttttttttgcgtt  
 2941 ttttttttttgcgtt ttttttttttgcgtt

【0228】

## 【表55】

3001 ggcttaactc aattcttgcg gtttatctct ctgatattag cgctcaatta ccctctgact  
 3061 ttgttcaggg tggttgcgtt attctcccgta ctaatgcgt tccctgttt tatgttattc  
 3121 tctctgtaaa ggctgttattttt ttcatttttgc acgttaaaca aaaaatcggt tcttattttgg  
 3181 attgggataa ataataatggc tggttattttt gtaactggca aattaggctc tggaaagacg  
 3241 ctgcgttagcg ttggtaagat tcaggataaaat ttgttagtgc ggtgcaaaat agcaactaat  
 3301 ctgttgcgtt ggctcaaaa cctcccgca gtcgggaggt tcgtctaaac gcctcgcggt  
 3361 cttagaatac cggataagcc ttctatatct gatttgcgtt ctattggcg cggtaatgat  
 3421 tcctacgtg aaaataaaaaa cggcttgcgtt gttctcgat agtgcgtac ttggtttaat  
 3481 acccggttctt ggaatgataa gaaaaagacag ccgattattt attgggttctt acatgctcg  
 3541 aaatttaggtt gggatattat ttttcttgcgtt caggacttat ctattgtga taaacaggcg  
 3601 cggttgcgtt tagctgaaca tggttgcgtt tggtcgtcg tggacagaat tactttac  
 3661 ttgtcgtgtt ctatatttgc tcttattact ggctcgaaaaa tgccctcgcc taaattacat  
 3721 gttggcgttgc tttaatatgg cgattctca ttaagcccta ctgttgagcg ttggctttat  
 3781 actggtaaga attttgtataa cgcataatgtt actaaacagg cttttcttag taattatgat  
 3841 tccgggtttt attttttttt aacgccttattt ttatcacacg gtcgggtttt caaaccattt  
 3901 aatttttaggtt agaaatgaa attaaatcaa atatatttgc aaaaatgggg tccgttctt  
 3961 tgcgttgcgtt ttggatttgc atcagcattt acatataatgat atataaaccctt acctaagccg  
 4021 gagggtttttt aggtgttgcgtt tcagacctt gattttgtt aatttactat tgactttctt  
 4081 cagcgttca atctaaatgtt tcgcgtatgtt ttcaaggattt ctaaggaaa attaattat  
 4141 agcgacgatt tacagaagca aggttattca ctcacatata ttgattttt tactgtttcc  
 4201 attaaaaaaag gtaattcaaa taaaatttttgc aatatttttgc aatttttttgc ttttgcatt  
 4261 tgggttcatca tcttcttttgc ttcaggtaat taaaatttttgc aatttcgttgc tgcgttgcatt  
 4321 tgcgttgcgtt tatttttttgc aatcaggcgat atccgttattt gtttctcccg atgttttttgc  
 4381 tactgttactt gatatattcat ctgcgtttaa acctgttttgc ctacgcattt tcttttttgc  
 4441 tgcgttgcgtt gcaatataattt ttgtatgttgc aggttcttgc cttccatata ttgcgttgc  
 4501 taatccaaac aatcaggattt atatttttttgc atttccatata tctgtataatc aggaatatgc  
 4561 tgcgttgcgtt gtcgttgcgtt tgcgttgcgtt tgcgttgcgtt aatgcgttgc atgttttttgc  
 4621 ttttttttttt aataacgttgc gggcaaaatggg ttttataatgc gtttgcgttgc ttttttttgc  
 4681 gtcgttgcgtt tcttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc  
 4741 tagtgcgttgc ttgttttttgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc  
 4801 aactgaccatg atatttttttgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc  
 4861 ttttttttttgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc  
 4921 ctttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc  
 4981 agggctatca gtttgcgttgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc  
 5041 ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc  
 5101 tactgggttgcgtt gtttgcgttgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc  
 5161 ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc  
 5221 ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc  
 5281 tactttatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc  
 5341 cgggtggcgttgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc  
 5401 aatcccttca atccgttgcgttgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc  
 5461 atacgtgttgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc  
 5521 gtttgcgttgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc  
 5581 ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc  
 5641 gggggcttttttgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc  
 5701 attttttttttgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc  
 5761 ctttgcgttgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc  
 5821 ctttgcgttgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc  
 5881 acaggatgttgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc  
 5941 ccaggcggttgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc  
 6001 ggatccaaatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc  
 6061 ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc  
 6121 caataatatttgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc  
 6181 ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc  
 6241 gatgtgttgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc  
 6301 aagatcccttgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc  
 6361 ctgtatgttgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc ttttataatgc

## 【0229】

## 【表56】

6421 atacactatt ctcagaatga cttgggttag tactcaccag tcacagaaaa gcatcttacg  
 6481 gatggcatga cagtaagaga attatgcagt gctggataa ccatgagtgta taacactgcg  
 6541 gccaacttac ttctgacaac gatcgagga cccaaaggagc taaccgcctt ttgcacaac  
 6601 atgggggatc atgttaactcg ccttgcgtg tggaaaccgg agctgaatga agccatacca  
 6661 aacgacgagc gtgacaccac gatgcgtgt acaatggcaa caacgttgcg caaactatta  
 6721 actggcgaac tacttactct agctttccgg caacaattaa tagactgat ggaggcggat  
 6781 aaagttcgag gaccacttgc gctgcggcc cttccggctg gctggttat tgctgataaaa  
 6841 tctggagccg gtgagcgtgg gtctcgccgt atcattgcag cactggggcc agatggtaag  
 6901 ccctccccgtt tcgttagttat ctacacgacg gggagtcagg caactatggta tgaacgaaat  
 6961 agacagatcg ctgagatagg tgcctactg attaaggattt ggttaactgtc agaccaagtt  
 7021 tactcatata tacttttagt tgattaaaaa cttcattttt aattttaaag gatcttaggtg  
 7081 aagatccctt ttgataatct catgacccaa atcccttaac gtgagtttc gttccactgt  
 7141 acgtaaagacc cccaaaggtc tgcactgaat ggcaatggc gctttgcctg gttccggca  
 7201 ccagaagcggt tgcggaaag ctggctggag tgcgtatccctc ctgacgtcg aycgcaacgc  
 7261 aattaatgtg agttagctca ctcatggc acccccaggct ttacacttta tgctccggc  
 7321 tcgtatgtt tggtggattt tgagccgata acaatttcac acagggaaaca gctatgacca  
 7381 tgattacgcc aagcttttggaa gcctttttt tgagatttt caacatggaa tacattattgc  
 7441 ctacggcagc cgctggattt ttattactcg cGGCCcagcc GGCCatggcc gaagttcaat  
 7501 tggtaggtc tgggtggcggt ctgttcagc ctgggtggtc ttacgtctt tcttgcgtat  
 7561 ctccggatt cacttctct tcgtacgcta tgcgttgggt tcgccaagct cctgttaaaag  
 7621 gtttggagtg gtttctgtc atctctgggt ctgggtggcag tacttactat gctgactccg  
 7681 taaaagggtcg cttaactatc tctagagaca actctaagaa tactctctac ttgcagatga  
 7741 acagcttaag ggctgaggac actgcgtct actattgcg taaaggctat cgtcttctt  
 7801 atcatgacat atggggteaa ggtactatgg tcaaccgttc tagtgcctcc accaaggggcc  
 7861 catcggtctt cccgttaga ccctctccaa agagcacctc tggggccaca gcccggctgg  
 7921 gctgcgtgtt caaggactac ttccccggaa cggtgacgggt gtcgtggaa tcaggcggcc  
 7981 tgaccagcggt cgccccacacc ttccccggctg tctacagtc ctcaggactc tactccctca  
 8041 gcaagctagt gaccgtcccc tccagcagct tgggcaccca gacctacatc tgcaacgtga  
 8101 atcacaagcc cagcaacacc aagggtggaca agaaagggtga gcccaatct tgcggcccg  
 8161 cacatcatca tcaccatcac gggggcccgag aacaaaaact catctcagaa gaggatctga  
 8221 atggggccgc agaggctac tctgttagtgc gcaacttcga ctacgagaaa atggctaatg  
 8281 ccaacaaaagg cgccatgact gagaacgctg acgagaatgc ttgcggaaac gatgccaagg  
 8341 gtaagttaga cagcgtcgcc accgactatg gcccggccat cgacggctt atcggcgatg  
 8401 tcagttgttt ggcacacggc aacggagccca cccggagactt cgcagggtcg aatttctcaga  
 8461 tggcccggtt tggagatggg gacaacagtc cgtttagtgc caactttaga cagtaccc  
 8521 cgtcttcccgat cagactgtc gactggcgctc cattcggtt cggtyccggc aagcttacg  
 8581 agttcagcat cgcgtcgat aagatcaatc tttccggg cgtttcgct ttcttgcgtat  
 8641 acgtcgctac ttcatgtac gtttcagca ctttcgcctt tttttacgc aacaaagaaa  
 8701 gctagtgtatc tccttaggaag cccgcctaat gagcggggtt tttttctg gtatgcattcc  
 8761 tgaggccgtat actgtcgctg tccccctcaaa ctggcagatg cacgggtacg atgcggccat  
 8821 ctacaccaac gtgacctatc ccattacggt caatccggc tttgttccca cggagaatcc  
 8881 gacgggttgt tactcgctca catttaatgt tgatgaaagc tggctacagg aaggccagac  
 8941 gcaattatt ttgtatggcg ttccctattgg taaaaaaatg agctgattta aaaaaaattt  
 9001 aatgcgaatt ttaacaaaaat attaacgttt acaattttaa tatttgctta tacaatctt  
 9061 ctgtttttgg ggcttttctg attatcaacc ggggtacata tgattgacat gctagttt  
 9121 cgattaccgt tcatcgatc tttttgtgc tccagactt caggcaatga cctgatagcc  
 9181 ttgttagatc tctccaaaaat agctaccctc tccggcattt attatcgc tagaacgggtt  
 9241 gaatcataatc ttgtatggta ttgtactgtc tccggccttt ctcacccttt tgaatctt  
 9301 cctacacatt actcaggcat tgcattttaa atatatgagg gttctaaaaa tttttatctt  
 9361 tgcgttgaaa taaaggcttc tcccgcaaaa gtattacagg gtcataatgt tttttgtaca  
 9421 accgatttag ctttatgtc tgggttttta ttgcttaatt ttgcttaattc ttgccttgc  
 9481 ctgtatgatt tattggatgt t

表35:pMID21のDNA配列:5957bp(配列番号895)

1 gacgaaaggg cctcgatata cgcctatattt tataaggtaa tgcgtatata ataatggttt

## 【0 2 3 0】

## 【表57】

61 ctttagacgctc aggtggcact tttcggggaa atgtgcgcgg aacccttatt tgtttatttt  
 121 tctaaataca ttcaaataatg tatccgctca tgagacaata accctgataa atgcttcaat  
 181 aatattgaaa aaggaagagt atgagtttcc aacattccg tgctgcctt attcccttt  
 241 ttgcggcatt ttgccttcct gttttgtctc acccagaaac gctggtaaa gtaaaagatg  
 301 ctqaagatca gttgggtgcc cgagtgggtt acatcgact ggatctcaac agcggtaaga  
 361 tccttgagag ttttcgcccc gaagaacgtt ttccatgtat gggactttt aaagttctgc  
 421 tatgtggcgc ggtattatcc cgtattgacg cggggcaaga gcaactcggt cgccgcatac  
 481 actattctca gaatgacttg gttgagttact caccagtcac agaaaagcat cttacggatg  
 541 gcatgacagt aagagaatta tgcagtgtct ccataaccat gggacttac actgcggcca  
 601 acttacttct gacaacgatc ggaggaccga aggagctaac cgctttttt cacaacatgg  
 661 gggatcatgt aactcgccctt gatcggtggg aaccggagct gaatgaagcc ataccaaacg  
 721 acgagcgtga caccacgtg cctgtacaa tggcaacaac gttgcgcaaa ctattaactg  
 781 gcgactact tacttagtcc tcccgcaac aattaaataga ctgatggag gggataaag  
 841 ttgcaggacc acttctgcgc tggcccttc cggctggctg gtttattgtct gataaatctg  
 901 gagccgtga gctgggtct cgcgtatca ttgcagactt gggccagat ggttaaggcct  
 961 cccgtatctg agttaatctac acgacggggaa gtcaggcaac tattggatgaa cgaaatagac  
 1021 agatcgctga gataggtgcc tcaactgatc agcattgttactt actgtcagac caagttact  
 1081 catatataact ttagattgtat taaaacttc atttttattt taaaaggatc taggtgaaga  
 1141 tctttttaa taatctcatg accaaaatcc cttaacgtga gttttcggtt cactgagct  
 1201 cagaccctgt agaaaagatc aaaggatctt cttgagatcc ttttttctg cgcgtaatct  
 1261 gctgcttgc aacaaaaaaa ccaccgtac cagcggttgtt ttgttgcgc gatcaagagc  
 1321 taccactt ttttccgaag gtaactggct tcagcagatc gcaatccca aataactgttc  
 1381 ttcttagtgc ggcgtatgtt ggcggaccat tcaagaactc ttttttttttccatatacc  
 1441 tcgtctgtt aatctgttgc ccaatgttgc cttccatgttgc ctttttttttccatatacc  
 1501 ggttggactc aagacgtatc ttaccggata aggccgacgc gtcgggtctg acgggggggtt  
 1561 cgtqcatatac gcccacgtt gggccggggaa gtcaggcaac gtttttttttccatatacc  
 1621 agctatgaga aagccggccacg tttcccgaaag ggagaaggc ggacaggat ttttttttttccatatacc  
 1681 gcagggtcgg aacaggagag cgcacgggg agcttccagg gggaaacgc tggtatctt  
 1741 atagtcctgt cgggttgcg caccctgtac ttgagcgtcg atttttgttgc ttttttttttccatatacc  
 1801 gggggcggag cctatggaaa aacggccagca acggccgtt ttttttttttccatatacc  
 1861 gctggccctt tgcacatgt ttttttttttccatatacc ttttttttttccatatacc  
 1921 ttaccgcctt tggttgcgtt gataccgtc gcccggccgg aacggccggc cgcacggcgt  
 1981 cagtggcga ggaagcggaa gggccggccaa tacggccaaacc gccttccccc ggcggcgttgc  
 2041 cgattcatta atgcgttgc caccatgttgc cttccatgttgc gaaagcgggc agtggcgc  
 2101 acgcaattaa ttttttttttccatatacc ttttttttttccatatacc  
 2161 cggctcgat ttttttttttccatatacc ttttttttttccatatacc  
 2221 accatgatca cggccaaatgtt ttttttttttccatatacc  
 2281 ttatccgcaaa ttcccttttgc ttttttttttccatatacc  
 2341 gagctcgaga tcaaaacgtgg aactgtggct gcaccatgttgc ttttttttttccatatacc  
 2401 gatggcgttgc ttttttttttccatatacc  
 2461 agagaggcca aagtacatgtt gggccgttgc ttttttttttccatatacc  
 2521 agtgtcacatgtt gggccgttgc ttttttttttccatatacc  
 2581 agcaaaacgttgc ttttttttttccatatacc  
 2641 agttccatgttgc ttttttttttccatatacc  
 2701 ctatccatgttgc ttttttttttccatatacc  
 2761 ttcgtggccctt gggccgttgc ttttttttttccatatacc  
 2821 cggccgttgc ttttttttttccatatacc  
 2881 ttttttttttccatatacc  
 2941 cggccgttgc ttttttttttccatatacc  
 3001 ctggggccctt ttttttttttccatatacc  
 3061 cggccgttgc ttttttttttccatatacc  
 3121 ggttttttttccatatacc  
 3181 aaggccgttgc ttttttttttccatatacc  
 3241 tacggaaacaa cccaggacgg cccaaactgttgc ttttttttttccatatacc  
 3301 ttgtatgggg cgggtggcc ttttttttttccatatacc  
 3361 gggaaaccac agcggggatgttgc ttttttttttccatatacc  
 3421 aacccgttgc ttttttttttccatatacc

## 【0231】

## 【表58】

3481 gcaaataatt tctttgggtt accgcaggcc gcagcggaaag aaacgcgtca tcaggcggag  
 3541 tatcaaaaacc gtggAACAGA aaacgatatg atgtttctt cacaacgac aacgcgtcg  
 3601 cctgtcttg cctggatgt ggtcgaccc ggtcagatgt gtttatgc tcccgatgga  
 3661 acagttata aacactatga agatcagatg aaaaatgtacg aaaaatttgg ccgttaagtgc  
 3721 ctctggtaa cgaaggcagg tggaggcg cataaggagt tctagagaca actctaagaa  
 3781 tactctctac ttgcagatga acagcttaag tctgaggcatt cggtccggc aacattctcc  
 3841 aaactgacca gacgacacaa acggcttacg ctaaatcccg cgcattggat ggtaaagagg  
 3901 tggcgctt cgtggcttgg actcatcaga tgaaggccaa aatttgcg ggtggacac  
 3961 agcaggcagc gaaacaagca ctgaccatca actgttacta tgctgtatgt aacgcata  
 4021 ttggttatgt tcatactgtt gcttataccat atcgttacat aacccatgtt cgcgattac  
 4081 ccgttcctgg tacggaaaaa tggactgaa aagggttatt gcttttggaa atgaaacccta  
 4141 aggtgtataa cccccagcag ctggccat tctcteggtc accgtctcaa gcgcctccac  
 4201 caaggccccca tggcttcc cgttgcacc ctcttccaag aacccatctg ggggcacagc  
 4261 ggcctgggc tgcgtgtca aggactactt ccccgaaaccg gtgacgggtt cgtgaactc  
 4321 aggcccttg accagcgccg tccacaccc cccggctgtc ctacagtcta gcggactcta  
 4381 ctccctcagc agcgtatgtc cgcgtccctt ttctagttt ggcacccaga cctacatctg  
 4441 caacgtgaat cacaagccca gcaacaccaa gttggacaag aaagttgagc ccaaatttgc  
 4501 tgoggccgca catcatcatc accatcacgg gggcgcagaa caaaactca tctcagaaga  
 4561 ggatctgaat gggccgcag aggcttgc tgcgtatgtt gcttcccg gtgattttga  
 4621 ttatgaaaag atggcaaacg ctaataaaggg ggtatgtacc gaaaatggc atgaaaacgc  
 4681 gctacagtct gacgctttaa gcaacttga ttctgtcgat actgattacg gtgtgttat  
 4741 cgtatgtttc attgggtacg tttccggcct tgcgtatgtt aatgggtgtt ctgggtattt  
 4801 tgcgtgtctt aattttccat tggctcaagt cgggtacggt gataatttac cttttaatgaa  
 4861 taattttccat ctttttttttcc tcaatcggtt gaatgtcgcc cttttgttctt  
 4921 tggcgctggg aaaccatatg aattttctat tggatgtgac aaaataact tattccgtgg  
 4981 tgcgtttgcg tttttttt atgttgcac ctttatgtat gtatttctt cgtttgttcaa  
 5041 catactgcgt aataaggat cttatgaaa cgcgtgtatgtt gaatttactg ggcgtcggtt  
 5101 tacaacgtcg tgcgttttttcc aaccctggcg ttttttttact taatcgccgc gacacatc  
 5161 ccccttcgc cagctggcgtaatagcgaag agggccgcac cgcgcgcctt tcccaacagt  
 5221 tgcgcagctt gaaatggcgaa tggcgctgtc tgcgttattt ttttttttact ctttgcgtcg  
 5281 gtatattcaca cgcatacgt caaaagcaacc atagtgacgog ccctgtacgc ggcattaaag  
 5341 cgggggggtt gtgggttta cgcgcagcgat gacggctaca cttggccacg ctttagcgcc  
 5401 cgccttttc gtttttttcc ctttttttcc cggccacgttc gccggcttcc cccgtcaagc  
 5461 tctaaatccgg gggcccttcc tgggtttccg atttatgtt ttttttttact ttttttttcc  
 5521 aaaacttgcg tgggtgtatgtt gttcaatgtt gtttttttact ttttttttact  
 5581 ccctttgcg tgggtgttta ctttttttact ttttttttact ttttttttact  
 5641 actcaactct atctcggtt atcttttgc ttttttttact ttttttttact ttttttttact  
 5701 ttggtaaaaa aatgagctga ttttttttact ttttttttact ttttttttact ttttttttact  
 5761 gtttacaatt ttttttttact ttttttttact ttttttttact ttttttttact ttttttttact  
 5821 gccccgacac cgcacacccgc gcccgtacgg gcccgtacgg gcccgtacgg ttttttttact  
 5881 cgcgttacaga caagctgtt gtttttttact ttttttttact ttttttttact ttttttttact  
 5941 atcaccgaaa cgcgcga

表36:IIIss:A27::C κを含有するpM21J

| 塩基数        | 配列番号                                                    | 塩基数 |
|------------|---------------------------------------------------------|-----|
| 5225       | ( 921)                                                  |     |
| GACGAAAGGG | CCTCGTGATA CGCCTATTTT TATAGGTAA TGTCATGATA ATAATGGTTT   | 60  |
| CTTAGACGTC | AGGTGGCACT TTTCGGGAA ATGTGCGCGG AACCCCTATT TGTTTATTTT   | 120 |
| TCTAAATACA | TTCAAATAIG TATCCGCTCA TGAGACAATA ACCCTGATAA ATGCTTCAAT  | 180 |
| AATATTGAAA | AAGGAAGAGT ATGAGTATTC AACATTCCG TGTCGCCCTT ATTCCCTTTT   | 240 |
| TTGCGGCATT | TTGCCTTCCT GTTTTGCTC ACCCAGAAAC GCTGGTGAAA GTAAAAGATG   | 300 |
| CTGAAGATCA | GTGGGGTGCC CGAGTGGGTT ACATCGAACT GGATCTCAAC AGCGGTAAAGA | 360 |
| TCCTTGAGAG | TTTCGCCCC GAAGAACGTT TTCCAAATGAT GAGCACTTTT AAAGTTCTGC  | 420 |
| TATGTGGCGC | GGTATTATCC CGTATTGACG CCGGGCAAGA GCAACTCGGT CGCCGCATAC  | 480 |
| ACTATTCTCA | GAATGACTTG GTTGAGTACT CACCACTCAC AGAAAAGCAT CTTACGGATG  | 540 |
| GCATGACAGT | AAGAGAATTA TGCAGTGCTG CCATAACCAC GAGTGATAAC ACTGCGGCCA  | 600 |

【0 2 3 2】

## 【表 5 9】

|                                                                       |      |
|-----------------------------------------------------------------------|------|
| ACTTACTTCT GACAACGATC GGAGGGACCGA AGGAGCTAAC CGCTTTTTTG CACAACATGG    | 660  |
| GGGATCATGT AACTCGCCTT GATCGTTGGG AACCGGAGCT GAATGAAGGCC ATACCAAACG    | 720  |
| ACGAGCGTGA CACCAACGATG CCTGTAGCAA TGGCAACAAAC GTTGCAGCAAA CTATTAACGT  | 780  |
| GCGAACTACT TACTCTAGCT TCCCAGCAAC AATTAATAGA CTGGATGGAG GCGGATAAAAG    | 840  |
| TTGCAGGACC ACTTCTGCGC TCGGCCCTTC CGGCTGGCTG GTTATATGCT GATAAACTG      | 900  |
| GAGCCGGTGA GCGTGGGTCT CGCGGTATCA TTGCAAGCACT GGGGCCAGAT GGTAAGCCCT    | 960  |
| CCCGTATCGT AGTTATCTAC ACGACGGGGA GTCAGGCAAC TATGGATGAA CGAAATAGAC     | 1020 |
| AGATCGCTGA GATAGGTGCC TCACTGATTA AGCATTGGTA ACTGTCAGAC CAAGTTACT      | 1080 |
| CATATATACT TTAGATTGAT TTAAAACCTTC ATTTTAATT TAAAAGGATC TAGGTGAAGA     | 1140 |
| TCCTTTTGA TAATCTCATG ACCAAAATCC CTTAACGTGA GTTTCTGTTT CACTGAGCGT      | 1200 |
| CAGACCCCGT AGAAAAGATC AAAGGATCTT CTTGAGATCC TTTTTCTG CGCGTAATCT       | 1260 |
| GCTGTTGCA AACAAAAAAA CCACCGTAC CAGCGGTGGT TTGTTTGCCG GATCAAGAGC       | 1320 |
| TACCAACTCT TTTTCCGAAG GTAACTCGCT TCAGCAGAGC GCAGATACCA AATACTGTT      | 1380 |
| TTCTAGTGTAGCTA GCGTAGTTA GGCACCAACT TCAAGAACCTC TGTAGCACCC CCTACATACC | 1440 |
| TCGCTCTGCT ATACCTGTTA CCAGTGGCTG CTGCGAGTGG CGATAAGTCG TGTCTTACCG     | 1500 |
| GGTTGGACTC AAGACGATAG TTACCGATA AGGGCAGCG GTCGGGCTGA ACGGGGGGTT       | 1560 |
| CGTGACATACA GCCCAGCTTG GAGCGAACGA CCTACACCGA ACTGAGATAC CTACAGCGT     | 1620 |
| AGCTATGAGA AAGCGCCACG CTTCCCGAACG GGAGAAAGGC GGACAGGTAT CCGGTAAGCG    | 1680 |
| GCAGGGTCGG AACAGGAGAG CGCACGAGGG AGCTCCAGG GGGAAACGCC TGGTATCTT       | 1740 |
| ATAGTCCTGT CGGGTTTCGC CACCTCTGAC TTGAGCGTCG ATTTTGTGA TGCTCGTCAG      | 1800 |
| GGGGGGCGGAG CCTATGGAAA AACGCCAGCA ACGCCGCCTT TTACGGGTC CTGGCCTTT      | 1860 |
| GCTGCCCTT TGCTCACATG TTCTTCTGT CGTTATCCCC TGATTCTGTG GATAACCGTA       | 1920 |
| TTACCGCCTT TGAGTGAGCT GATAACCCCTC GCCCGAGCCG AACGACCGAG CGCAGCGAGT    | 1980 |
| CAGTGAGCGA GGAAGCGGAA GAGCGCCCAA TACGCAAAACG GCCTCTCCCC GCGCGTTGGC    | 2040 |
| CGATTCAATTA ATGCAGCTGG CACGACAGGT TTCCCGACTG GAAAGCGGGC AGTGAGCGA     | 2100 |
| ACGCAATTAA TGTGAGTTAG CTCACTCATT AGGCACCCCA GGCTTTACAC TTTATGCTTC     | 2160 |
| CGGCTCGTAT GTTGTGTGGA ATTGTGAGCG GATAACAAATT TCACACAGGA AACAGCTATG    | 2220 |
| ACCATGATTA CGCCAAGCTT TGGAGCTTT TTTTGGAGA TTTTCAACAT GAAGAAACTG       | 2280 |
| CTGCTCTGTA TCCCCACTAGT TGTCCCTTTC TATTCTCATG TGAAATCGT TCTGACCCAG     | 2340 |
| TCCCCGGGGA CCCTGTCTCT GTCTCCGGGT GAACGTGCTA CGCTGAGCTG TCGTGTCT       | 2400 |
| CAATCCGTTA GCTCCTCTTA TTTAGCTGG TATCAGCAAA AGCCGGGTCA AGCTCCGGG       | 2460 |
| CTGTTGATCT ATGGTGCCCT TAGTCGTGCT ACTGGCATCC CTGATCGTTT CTCTGGCTCT     | 2520 |
| GGCTCCGGAA CCGATTTCAC TCTGACCATI TCTCGTCTCG AGCCCGAAGA TTTCGCTGTC     | 2580 |
| TACTATTGTC AACAGTATGG TTCTAGTCCG CTGACTTTCG GTGGCGGTAC CAAAGTCGAA     | 2640 |
| ATCAAGCGTG GAACTGTGGC TGCACCATCT GTCTCATCT TCCCAGCCATC TGATGAGCAG     | 2700 |
| TTGAATCTG GAACTGCTC TGTGTGTGCG CTGCTGAATA ACTTCTATCC CAGAGAGGCC       | 2760 |
| AAAGTACAGT GGAAGGGTGA TAACGCCCTC CAATCGGTAA CTCAGGAGA GAGTGTACACA     | 2820 |
| GAGCAGGACA GCAAGGACAG CACCTACAGC CTACAGCAGCA CCCTGACTCT GTCCAAGCA     | 2880 |
| GAATACGAGA AACACAAAGT CTACGCTCTC GAAGTCACCC ATCAGGGCCT GAGTTCACCG     | 2940 |
| GTGACAAAGA GCTTCAACAG GGGAGAGTGT TAATAAGGCG CGCCAATTAA ACCATCTATT     | 3000 |
| TCAAGGAACA GTCTTAATGA AGAAGCTCCI CTTTGTATC CCGCTCGTCG TTCTTTTGT       | 3060 |
| GGCCCAAGCCG GCCATGGCCG AAGTTCAATT GTTAGAGTCT GTTGGCGGTIC TTGTTCAGCC   | 3120 |
| TGGTGGTTCT TTACGTCTT CTTGCCTGTC TTCCGGATTTC ACTTTCTCTC GTTACAAGAT     | 3180 |
| GAAGTGGGTT CGCCAAGCTC CTGGTAAAGG TTGGAGTGG GTTCTGTTA TCTATCTTC        | 3240 |
| TGGTGGCGGT ACTGGTTATG CTGACTCCGT TAAAGGTGCG TTCACTATCT CTAGAGACAA     | 3300 |
| CTCTAAGAAT ACTCTCTACT TGCAGATGAA CAGCTTAAGG GCTGAGGACCA CTGCAGTCTA    | 3360 |
| CTATTGTGCG AGAGTCATT ACTATGATAG TAGTGGTTAC GTTGCCTATAG CTCCCTGGACT    | 3420 |
| TGACTACTGG GGCCAGGGAA CCTCTGGCAC CGTCTCAAGC GCCTCCACCA AGGGTCCGTC     | 3480 |
| GGTCTTCCCG CTAGCACCC CTCACAGAG CACCTCTGGG GGCACAGCGG CCCTGGCTG        | 3540 |
| CCTGGTCAAG GACTACTTCC CCGAACCGGT GACGGTGTGCG TGGAACTCAG GCGCCCTGAC    | 3600 |
| CAGCGCGTC CACACCTTCC CGGCTGTCTC ACAGTCTAGC GGACTCTACT CCCTCAGCAG      | 3660 |
| CGTAGTGTGACC GTGCCCTCTT CTAGCTTGGG CACCCAGACC TACATCTGCA ACAGTGAATCA  | 3720 |
| CAAGCCCCAGC AACACCAAGG TGGACAAGAA AGTTGAGCCC AAATCTTGT CGGCCGCACA     | 3780 |
| TCATCATCAC CATCACGGGG CGCGAGAACAA AAAACTCATC TCAGAAGAGG ATCTGAATGG    | 3840 |
| GGCCCGAGAG GCTAGTTCTG CTAGTAACGC GTCTCCGGT GATTITGATT ATGAAAAGAT      | 3900 |
| GGCAAAACGCT AATAAGGGGG CTATGACCGA AAATGCCGAT GAAAACGCGC TACAGTCTGA    | 3960 |
| CGCTAAAGGC AAACTTGATT CTGTCGCTAC TGATTACGGT GCTGCTATCG ATGGTTCAT      | 4020 |

## 【0 2 3 3】

【表 6 0】

|            |            |            |             |             |             |      |
|------------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|------|
| TGGTGACGTT | TCCGGCCTTG | CTAATGGTAA | TGGTGCTACT  | GGTGATTTTG  | CTGGCTCTAA  | 4080 |
| TTCCCAAATG | GCTCAAGTCG | GTGACGGTGA | TAATTCACTT  | TTAATGAATA  | ATTTCCGTCA  | 4140 |
| ATATTACCT  | CCCTCCCTC  | AATCGGGTGA | ATGTCGCCCT  | TTTGTCTT    | GCGCTGGTAA  | 4200 |
| ACCATATGAA | TTTCTATTG  | ATTGTGACAA | AATAAACTTA  | TTCCGTGGT   | TCTTTCGCGT  | 4260 |
| TCTTATAT   | GTTGCCACCT | TTATGTATGT | ATTTCCTACG  | TTTGCTAACAA | TACTGGCTAA  | 4320 |
| TAAGGAGTCT | TAATGAAACG | CGTGATGAGA | ATTCACTGGC  | CGTGTITTA   | CAACGTGCG   | 4380 |
| ACTGGGAAA  | CCCTGGCGTT | ACCCAACTTA | ATGCCCTTG   | AGCACATCCC  | CCTTCGCCA   | 4440 |
| GCTGGCGTAA | TAGCGAAGAG | GCCCGCACCG | ATGCCCTTC   | CCAACAGTTG  | CGCAGCCTGA  | 4500 |
| ATGGCGAATG | GCGCCTGATG | CGGTATTTT  | TCCTTACGCA  | TCTGTGCGT   | ATTTCACACC  | 4560 |
| GCATACGTCA | AAGCAACCAT | AGTACCGGCC | CTGTAGCGGC  | GCATTAAGCG  | CGGCAGGGTGT | 4620 |
| GGTGGTTACG | CCGAGCGTGA | CCGCTACACT | TGCCAGCGCC  | TTAGCGCCCG  | CTCCTTCGCG  | 4680 |
| TTTCTCCCT  | CCCTTTCTCG | CCACGTTCGC | CGGCTTCCC   | CGTCAAGCTC  | TAAATCGGGG  | 4740 |
| GCTCCCTTTA | GGGTTCGAT  | TTAGTGCCTT | ACGGCACCTC  | GACCCCCAAA  | AACTTGATTT  | 4800 |
| GGGTGATGGT | TCACGTAGTG | GGCCATCGCC | CTGATAGACG  | GTTTTTCGCC  | CTTIGACGTT  | 4860 |
| GGAGTCCACG | TCTTTAATA  | GTGGAACCTT | GTTCAAACACT | GGAAACAAAC  | TCAACICTAT  | 4920 |
| CTCGGCTAT  | TCTTTGATT  | TATAAGGGAT | TTTGCCTATT  | TCGGTCTATT  | GGTTAAAAAA  | 4980 |
| TGACGTGATT | TAACAAAAAT | TTAACGCGAA | TTTAACAAA   | ATATTAACGT  | TTACAATT    | 5040 |
| ATGGTGCAGT | CTCAGTACAA | TCTGCTCTGA | TGCCGCATAG  | TTAACGCCAG  | CCCGACACCC  | 5100 |
| GCCAACACCC | GCTGACGCGC | CCTGACGGGC | TTGTCTGCTC  | CCGGCATCCG  | CTTACAGACAA | 5160 |
| AGCTGTGACC | GTCTCCGGGA | GCTGCATGTG | TCAGAGGTTT  | TCACCGTCAT  | CACCGAAACG  | 5220 |
| CGCGA      |            |            |             |             |             | 5225 |

表40:pLCSK23(配列番号896)

|      |            |             |             |             |             |             |
|------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 1    | GACGAAAGGG | CCTGCTCTGC  | CAGTGTAC    | ACCAATTAAAC | CAATTCTGAT  | TAGAAAAACT  |
| 61   | CATCGAGCAT | CAAATGAAAC  | TGCAATTAT   | TCATATCAGG  | ATTATCAATA  | CCATATTTTT  |
| 121  | GAAAAGCCG  | TTTCTGTAAT  | GAAGGGAGAAA | ACTCACCGAG  | GCAGTTCCAT  | AGGATGGCAA  |
| 181  | GATCCTGGTA | TCGGTCTGCG  | ATTCGACTC   | GTCCAACATC  | AATACAACCT  | ATTAATTCC   |
| 241  | CCTCGTCAA  | AATAAGGTTA  | TCAAGTGAGA  | AATCACCATG  | AGTGACGACT  | GAATCCGGTG  |
| 301  | AGAATGGCAA | AAGCTTATGC  | ATTCTTTCC   | AGACTTGTTC  | AACAGGCCAG  | CCATTACGCT  |
| 361  | CGTCATCAA  | ATCACTCGCA  | TCAACCAAAC  | CGTTATTCA   | TCGTGATTGC  | GCCTGAGCGA  |
| 421  | GACGAAATAC | GCGATCGCTG  | TTAAAAGGAC  | AATTACAAAC  | AGGAATTGAA  | TGCAACCGGC  |
| 481  | GCAGGAACAC | TGCCAGCGCA  | TCAACAAAT   | TTTCACCTGA  | ATCAGGATAT  | TCTCTAATA   |
| 541  | CCTGGAATGC | TGTTTCCCG   | GGGATCGCA   | TGGTGAATTA  | CCATGATCA   | TCAGGAGTAC  |
| 601  | GGATAAAATG | CTTGATGGTC  | GGAAAGAGGCA | TAAATTCCGT  | CAGCCAGTTT  | AGCTGACCA   |
| 661  | TCTCATCTGT | AAACATCATTG | GCAACGCTAC  | CTTTGCCATG  | TTTCAGAAAC  | AACTCTGGCG  |
| 721  | CATCGGGCTT | CCCATAACAT  | CGATAGATTG  | TCGCACCTGA  | ITGCCCGACA  | TTATCGCGAG  |
| 781  | CCCATTATA  | CCCATAAA    | TCAGCATCCA  | TGTTGAAATT  | TAATCCGGC   | CTCGAGCAAG  |
| 841  | ACGTTCCCG  | TTGAATATGG  | CTCATAACAC  | CCCTTGTATT  | ACTGTTATG   | TAAGCAGACA  |
| 901  | GTTTTATTGT | TCATGATGAT  | ATATTTTTAT  | CTTGTGAAAT  | GTAAACATCAG | AGATTTGAG   |
| 961  | ACACAACGTG | GCTTTCCCCC  | CCCCCCCCCTG | CAGGTCTCGG  | GCTATTCTG   | TCAGACCAAG  |
| 1021 | TTTACTCATA | TATACTTATG  | ATTGATTTAA  | AACTTCATT   | TTAATTAAA   | AGGATCTAGG  |
| 1081 | TGAAGATCCT | TTTGATAAT   | CTCATGACCA  | AAATCCTTA   | ACGTGAGTTT  | TCGTTCCACT  |
| 1141 | GAGCGTCAGA | CCCCGTAGAA  | AAAGTCAAAC  | GATCTCTT    | AGATCCTTT   | TTTCTGGCGC  |
| 1201 | TAATCTGCTG | CTTGCAACAA  | AAAAAAACAC  | CGCTTACAGC  | GGTGGTTTGT  | TTGCCGGATC  |
| 1261 | AAGAGCTACC | AACTCTTTT   | CCGAAGGTTA  | CTGGCTTCAG  | CAGAGGCAG   | ATACCAAATA  |
| 1321 | CTGTTCTCT  | AGTGTAGCCG  | TAGTTAGGCC  | ACCACTCAA   | GAACCTCTA   | GCACCGCCTA  |
| 1381 | CATACCTCGC | TCTGCTAATC  | CTGTTACCA   | TGGCTGCTGC  | CACTGGCGAT  | AACTCGTGT   |
| 1441 | TTACCGGGTT | GGACTCAAGA  | CGATAGTTAC  | CGGATAAGGC  | GCAGCGGTG   | GGCTGAACGG  |
| 1501 | GGGGTTCTG  | CATACAGCCC  | AGCTTGGAGC  | GAACGACCTA  | CACCGAACTG  | AGATACCTAC  |
| 1561 | AGCGTGAGCT | ATGAGAAAGC  | GCCACGCTTC  | CCGAAGGGAG  | AAAGGGGAC   | AGGTATCCGG  |
| 1621 | TAAGCGGCAG | GGTCGGAACAA | GGAGAGCGCA  | CGAGGGAGCT  | TCCAGGGGA   | AACGCCCTGGT |
| 1681 | ATCTTTATAG | TCCTGTCGGG  | TTTCGCCACC  | TCTGACTTGA  | GGCTCGATT   | TTGTGATGCT  |
| 1741 | CGTCAGGGGG | GGCGAGCCTA  | TGGAAAAACG  | CCAGCAACCG  | GGCCTTTTIA  | CGGTTCTGG   |
| 1801 | CCTTTGCTG  | GCCTTTGCT   | CACATGTTCT  | TTCCCTGCGTT | ATCCCCGTAT  | TCTGTGGATA  |
| 1861 | ACCGTATTAC | CGCCTTGAG   | TGAGCTGATA  | CCGCTGCCG   | CAGCCGAACG  | ACCGAGCGCA  |

【0 2 3 4】

## 【表61】

1921 GCGAGTCAGT GAGCGAGGAA GCGGAAGAGC GCCCAATACG CAAACCGCCT CTCGGCGCC  
 1981 GTTGGCCGAT TCATTAATGC AGCTGGCAGC ACAGGTTTCC CGACTGGAAA CGGGGCAGTG  
 2041 AGCGCAACGC AATTAATGTG AGTTAGCTCA CTCATTAGGC ACCCCAGGCT TTACACTTTA  
 2101 TGCTTCCGGC TCGTATGTTG TGAGGAAITG TGAGCGGATA ACAATTTCAC ACAGGAAACA  
 2161 GCTATGACCA TGATTACGCC AAGCTTGGA GCCTTTTTT TGGAGATTT CAACATGAAG  
 2221 AAGCTCTCT TTGCTATCCC GCTCGTCGTT CCTTTGTGG CCCAGCCGGC CATGGCCGAC  
 2281 ATCCAGATGA CCCAGTCTCC ATCCTCCCTG TCTGCATCTG TAGGAGACAG AGTCACCAC  
 2341 ACTTGCCGGG CAAGTCAGAG CATTAGCAGC TATTTAAATT GGTATCAGCA GAAACCAGGG  
 2401 AAAGCCCCTA AGCTCCTGAT CTATGCTGCA TCCAGTTGC AAAGTGGGGT CCCATCAAGG  
 2461 TTCAGTGGCA GTGGATCTGG GACAGATTTC ACTCTCACCA TCAGCAGTC GCAACCTGAA  
 2521 GATTTGCAA CTTACTACTG TCAACAGAGT TACAGTACCC CTTTCACCTT CGGCCCTGGG  
 2581 ACCAAAGTGG ATATCAAACG TGGTACCGTG GCTGCAACCAT CTGCTTCAT CTTCCCGCCA  
 2641 TCTGATGAGC AGTTGAAATC TGGAAACTGCC TCTGTTGTGT GCCTGCTGAA TAACTTCTAT  
 2701 CCCAGAGAGG CCAAAGTACA GTGGAAGGTG GATAACGCC TCCAATCGGG TAACTCCCAG  
 2761 GAGAGTGTCA CAGAGCAGGA CAGCAAGGAC AGCACCTACA GCCTCAGCAG CACCCCTGACG  
 2821 CTGAGCAAG CAGACTACGA GAAACACAAA GTCTACGCC GCGAAGTCAC CCATCAGGGC  
 2881 CTGAGTTCAC CGGTGACAAA GAGCTCAAC AGGGGAGAGT GTGCGGCCGC TGGTAAGCCT  
 2941 ATCCCTAAC CTCCTCTCGG TCTCGATTCT ACGTGATAAC TTCACCGTC AACCGGTGAT  
 3001 GAGAATTCA C TGGCCGTCGT TTTACAAACGT CGTGAUTGGG AAAACCCCTGG CGTTACCCAA  
 3061 CTTAACGCC TTGCAAGACA TCCCCCTTTC GCCAGCTGGC GTAATAGCGA AGAGGCCCGC  
 3121 ACCGATGCC CTTCCCAACA GTTGCAGCAGC CTGAATGGCG AATGGCGCCT GATGCGGTAT  
 3181 TTTCTCTTA CGCATCTGTG CGGTATTTCA CACCGCATAC GTCAAAGCAA CCATAGTCTC  
 3241 AGTACAATCT GCTCTGATGC CGCATAGTTA AGCCAGCCCC GACACCCGCC AACACCCGCT  
 3301 GACGCGCCCT GACAGGCTTG TCTGCTCCCG GCATCCGCTT ACAGACAAGC TGTGACCGTC  
 3361 TCCGGGAGCT GCATGTGTCA GAGGTTTCA CCGTCATCAC CGAAACGCCG CA

## (実施例4)

## C D R の D o b b l i n g

以下の実施例は、合成ライブラリの構築における d o b b l i n g の使用を例示する。親 3 - 2 3 重鎖 ( H C ) は、 C D R 1 、 2 および 3 において多様化される。この多様性は、合成的に多様化された A 2 7 軽鎖 ( L C ) と組み合わされる。この多様性は下記の通りである：

## (実施例4.1)

## H C C D R 1

以下の d o b b l i n g の多様性は、 5 , 8 3 2 の変異体を許容する。表 5 0 を参照されたい。 3 1 位において、 S e r は生殖系列 ( G L ) アミノ酸型である。したがって、本発明者らは、他の型より 3 倍可能性が高い S e r を作製した。 1 8 の型が許容されるので、 S e r は、 1 5 % の確率で使用可能となり、他は 5 % で使用可能であろう。したがって、 3 1 位において A A 型の選択がない場合、 S e r を有する A b を単離する確率がより高い。同様に、 3 3 位において G L A A 型は A l a であり、本発明者らは、他のすべて ( 5 % ) より 3 倍可能性が高い A l a ( 1 5 % ) を作製した。 3 5 位において、 S e r は G L A A 型であり、本発明者らは、それを他の 3 倍可能性が高く作製した。 3 つすべての位置において、本発明者らは C y s および M e t を除外した。本発明者らは、無償性ジスルフィドまたは A b の溶解度および反応性に悪影響を与える、露出された不対システィンを望まないので、 C y s を除外する。露出されたメチオニンの側基は、結合特性および保存期間を変更し得る酸化に供されるので、 M e t を除外する。他の A A 型より 2 、 3 、 4 、 5 、 6 、 8 または 1 0 倍可能性が高い生殖系列アミノ酸型を作製できる。

## 【0235】

## 【表62】

## 表50:3-23におけるCDR1に関する多様性

| 位置 | 親AA               | 許容                                |
|----|-------------------|-----------------------------------|
| 31 | S (他のよりも可能性は3倍高い) | A D E F G H K L N P Q R S T V W Y |
| 33 | A (可能性は3倍高い)      | A D E F G H K L N P Q R S T V W Y |
| 35 | S (可能性は3倍高い)      | A D E F G H K L N P Q R S T V W Y |

この開示を通して、示された「許容される」アミノ酸は、所与の位置で使用できるアミ

ノ酸である。例えば、表 50において、31位において、許容されるアミノ酸「A D E F G H K L N P Q R S T V W Y」を示す。このことは、アミノ酸A、D、E、F、G、H、K、L、N、P、Q、R、S、T、V、WおよびYのすべてが、31位において許容されることを示している。

## 【0236】

(実施例4.2)

H C C D R 2

CDR2において、本発明者らは、50、52、52a、56および58位において多様性を許容する。50、52、56、および58位において、本発明者らはCysおよびMetを除くすべてのアミノ酸型を許容し、本発明者らはGLAA型を3倍高い可能性で作製する。本発明者らは、GLAA型を、他のAA型より2、3、4、5、6、8または10倍高い可能性で作製できる。

## 【0237】

## 【表63】

表51:HC CDR2:多様性 = 419,904

| 位置  | 親AA         | 許容                |
|-----|-------------|-------------------|
| 50  | A(可能性は3倍高い) | ADEFGHKLNPQRSTVWY |
| 52  | S(可能性は3倍高い) | ADEFGHKLNPQRSTVWY |
| 52a | G(可能性は3倍高い) | GPSY              |
| 56  | S(可能性は3倍高い) | ADEFGHKLNPQRSTVWY |
| 58  | Y(可能性は3倍高い) | ADEFGHKLNPQRSTVWY |

組み合わせたCDR1およびCDR2の多様性 = 2.45E9

(実施例4.3)

H C C D R 3、長さ3、4、5

非常に短いCDR3は、d o b b l i n gにより作製できる。表7は、長さ3のCDR3に対するいくつかの親配列を示す。94位において、多くのVH3はArgを有し、本発明者らはこの変化を許容したが、Lysは3倍可能性がある。95位において、FはJH1中のこの位置において見出される。本発明者らはSer、Tyr、AspおよびArgもまた許容して、小型、大型、正の電荷および負の電荷を許容する。96位において、JH1はQを有する。QはGluに非常に似ているので、本発明者らは、Arg、Ser、Tyr、およびLeuに加えて、Gluを酸性代替物として許容する。97位において、HisはJH1に由来する生殖系列AAである。本発明者らは、負の電荷(D)、正の電荷(R)、低極性(S)、高疎水性(Y)および脂肪族化合物(L)を許容する。親配列は、ライブラリの最大4.5%をなすが、これは、CDR1およびCDR2における大きい多様性を組み合わせている。d o b b l i n gは、全部で360の配列を許容する。最も可能性の低い配列は、1792分の1で生じる。最も可能性の高い(親)配列は、約22分の1で生じる。

## 【0238】

## 【表64】

表60:doubletされた長さ3のHC CDR3(表7のV-3JH1) (配列番号951として開示された'KFQH')

| 位置  | 親アミノ酸(供給源)  | 許容                   |
|-----|-------------|----------------------|
| 94  | K (VH 3-23) | KR (3:1)             |
| 95  | F (JH1)     | FSYDR (3:1:1:1:1)    |
| 96  | Q (JH1)     | QERSY (3:1:1:1:1:1)  |
| 97  | H (JH1)     | HDRSYL (3:1:1:1:1:1) |
| 103 | W (JH1)     | W                    |

表61は、doubletされた長さ3のHC CDR3を示す。ここで、94はW103のように固定されている。本発明者らは、「親」Dセグメントアミノ酸を、他の許容されたAA型より5倍の可能性で作製した。

## 【0239】

## 【表65】

表61:D断片由来の長さ3のdoubletされたHC CDR3(表7のV-3D1-1.1.2-JH1)。

(配列番号952として開示された'KTTG')

| 位置  | 親            | 許容                   |
|-----|--------------|----------------------|
| 94  | K (V 3-23)   | K                    |
| 95  | T (D1-1.1.2) | TYRDL (5:1:1:1:1)    |
| 96  | T (D1-1.1.2) | TYRDL (5:1:1:1:1)    |
| 97  | G (D1-1.1.2) | GSYRDL (5:1:1:1:1:1) |
| 103 | W (JH1)      | W                    |

この実施例において(表62、表8のV-4JH2を使用する)、94はLysとして固定されている。95位において、JH2はTyrを有し、本発明者らは、許容されるSer、Asp、ArgおよびLeuを有し、その結果、抗原に適合するためにサイズ、電荷および疎水性を変更できる。JH2は96位にPheを有し、本発明者らは、Ser、Tyr、Asp、Arg、およびLeuを許容した。97位において、JH2はAspを有し、本発明者らは、Arg、Ser、Tyr、およびLeuを許容した。98位において、JH2はLeuを有し、本発明者らは、Ser、Tyr、AspおよびArgを許容した。このパターンは、750の異なる配列を許容し、親が最も可能性(1/18)が高い。最も可能性が低い配列は、4608分の1で生じ、または最も可能性が高い配列より可能性が256倍低い。

## 【0240】

## 【表66】

表62:JH2由来の長さ4のHC CDR3(表7のV-4JH2) (配列番号953として開示された'KYFDL')

| 位置  | 親AA(供給源)    | 許容                 |
|-----|-------------|--------------------|
| 94  | K (VH 3-23) | K                  |
| 95  | Y (JH2)     | YSDRL (4:1:1:1:1)  |
| 96  | F (JH2)     | FSYDRL (4:1:1:1:1) |
| 97  | D (JH2)     | DRSYL (4:1:1:1:1)  |
| 98  | L (JH2)     | LSYDR (4:1:1:1:1)  |
| 103 | W (JH2)     | W                  |

表63において、表8のV-4D3-10.1a-JH2のdoubletがあった

。94位において、本発明者らは L y s および A r g を許容し、L y s (親) は A r g の4倍の可能性があった。95位において、D 3 - 1 0 . 1 a (すなわち、第1のリーディングフレーム中のD 3 - 1 0 であり、A A 1 から出発する) は L e u を有し、本発明者らは、同様に S Y D R を許容した。L e u は他のA A型個々の4倍の可能性である。96位において、D 3 - 1 0 . 1 a は同様に L e u を有し、本発明者らは、同じメニューを許容した。97位において、D 3 - 1 0 . 1 a は T r p を有し、本発明者らは、S e r 、T y r 、A s p および A r g を許容する。T r p は4倍の可能性である。98位において、D 3 - 1 0 . 1 a は P h e を有し、本発明者らは、同様に S e r 、T y r 、A s p および A r g を許容とする。

【0241】

【表67】

表63:表8のV-4D3-10.1aに由来する長さ4のHC CDR3 (配列番号954として開示された'KLLWF')

| 位置  | 親AA(供給源)     | 許容                |
|-----|--------------|-------------------|
| 94  | K (VH 3-23)  | KR (4:1)          |
| 95  | L (D3-10.1a) | LSYDR (4:1:1:1:1) |
| 96  | L (D3-10.1a) | LSYDR (4:1:1:1:1) |
| 97  | W (D3-10.1a) | WSYDR (4:1:1:1:1) |
| 98  | F (D3-10.1a) | FSYDR (4:1:1:1:1) |
| 103 | W            | W                 |

(実施例4.4)

長さ10から20のH C C D R 3

H C C D R 3

2つのサプライブリ、双方とも長さ16のC D R 3を有する。

【0242】

## 【表68】

表52:ライブラリ1:多様性=5E11、「親」配列は1/1.5E6で生じる。

(配列番号955として開示された 'KYYYDSSGYYYAEYFQHW')

| 位置   | 「親」JAA(供給源)           | 許容                    |
|------|-----------------------|-----------------------|
| 94   | K(可能性は3倍高い)(3-23)     | KR (3:1)              |
| 95   | Y(可能性は3倍高い)(D2-21(2)) | YSRDL (3:1:1:1:1)     |
| 96   | Y(可能性は3倍高い)(D2-21(2)) | YSRDL (3:1:1:1:1)     |
| 97   | Y(可能性は3倍高い)(D2-21(2)) | YSRDL (3:1:1:1:1)     |
| 98   | D(可能性は3倍高い)(D2-21(2)) | DYSRL (3:1:1:1:1)     |
| 99   | S(可能性は3倍高い)(D2-21(2)) | SYRDL (3:1:1:1:1)     |
| 100  | S(可能性は3倍高い)(D2-21(2)) | SYRDL (3:1:1:1:1)     |
| 101  | G(可能性は3倍高い)(D2-21(2)) | GASYRDL (3:1:1:1:1:1) |
| 102  | Y(可能性は3倍高い)(D2-21(2)) | YSRDL (3:1:1:1:1)     |
| 102a | Y(可能性は3倍高い)(D2-21(2)) | YSRDL (3:1:1:1:1)     |
| 102b | Y(可能性は3倍高い)(D2-21(2)) | YSRDL (3:1:1:1:1)     |
| 102c | A(可能性は3倍高い)(JH1)      | ASYRD (3:1:1:1:1)     |
| 102d | E(可能性は3倍高い)(JH1)      | ERSYL (3:1:1:1:1)     |
| 102e | Y(可能性は3倍高い)(JH1)      | YSRDL (3:1:1:1:1)     |
| 102f | F(可能性は3倍高い)(JH1)      | FYSRD (3:1:1:1:1)     |
| 102g | Q(可能性は3倍高い)(JH1)      | QERSY (3:1:1:1:1)     |
| 102h | H(可能性は3倍高い)(JH1)      | HERSYL (3:1:1:1:1:1)  |
| 103  | W(JH1, 固定)            | W                     |

表53:ライブラリ2:長さ16のCDR3;多様性は、3.0E10であり、親配列は

1/3.7E5で生じる。(配列番号956として開示された 'KGYCSSTSCYTAEYFQHW')

| 位置 | 「親」JAA(供給源)          | 許容                   |
|----|----------------------|----------------------|
| 94 | K(可能性は3倍高い)(3-23)    | KR (3:1)             |
| 95 | G(可能性は3倍高い)(D2-2(2)) | GSYDRL (3:1:1:1:1:1) |
| 96 | Y(可能性は3倍高い)(D2-2(2)) | YSDRL (3:1:1:1:1:1)  |
| 97 | C(固定)(D2-2(2))       | C                    |

## 【0 2 4 3】

【表 6 9】

|      |                      |                       |
|------|----------------------|-----------------------|
| 98   | S(可能性は3倍高い)(D2-2(2)) | SYRDL (3:1:1:1:1)     |
| 99   | S(可能性は3倍高い)(D2-2(2)) | SYRDL (3:1:1:1:1)     |
| 100  | T(可能性は3倍高い)(D2-2(2)) | TYRDL (3:1:1:1:1)     |
| 101  | S(可能性は3倍高い)(D2-2(2)) | SYRDL (3:1:1:1:1)     |
| 102  | C(固定)(D2-2(2))       | C                     |
| 102a | Y(可能性は3倍高い)(D2-2(2)) | YSDRL (3:1:1:1:1)     |
| 102b | T(可能性は3倍高い)(D2-2(2)) | TYRDL (3:1:1:1:1)     |
| 102c | A(可能性は3倍高い)(JH1)     | ASYDRL (3:1:1:1:1:1)  |
| 102d | E(可能性は3倍高い)(JH1)     | ERSYLL (3:1:1:1:1)    |
| 102e | Y(可能性は3倍高い)(JH1)     | YSDRL (3:1:1:1:1)     |
| 102f | F(可能性は3倍高い)(JH1)     | FYSRDL (3:1:1:1:1:1)  |
| 102g | Q(可能性は3倍高い)(JH1)     | QERSYLL (3:1:1:1:1:1) |
| 102h | H(可能性は3倍高い)(JH1)     | HDRSYLL (3:1:1:1:1:1) |
| 103  | W(JH1)               | W                     |

表 6 5 は、配列番号：898 の d o b b l i n g による多彩化を示す。許容されたすべての多様性は 2 . 1 E 1 3 である。1 . E 8 、 3 . E 8 、 5 . E 8 、 1 . E 9 または 5 . E 9 を作製する合成は、多様性を適切にサンプリングするであろう。配列番号：898 の設計は上で述べた。配列番号：898 の d o b b l i n g において、d o b b l i n g は、大部分の位置で他の A A 型を 3 倍上回る親 A A 型を許容することである。親が T y r である位置で、その場合、本発明者らは、T y r および S e r を等量で使用し、L e u はその頻度の 1 / 2 で使用する。C y s 残基は固定されている。個々の親 A A 型は許容され、A r g 、 A s p 、 S e r 、 T y r または L e u (親が疎水性、例えば P h e である場合、L e u は除かれことがある) の 1 つに進む。親配列は、1 / 1 . E 8 のメンバーで生じる。最も可能性が低い配列は、1 / 9 . 5 E 1 6 で生じる。ライブラリが実際に親配列を含有することは重要ではなく、親に似た配列を多数含有することだけが重要である。したがって、H C C D R 1 、 H C C D R 2 、 L C C D R 1 、 L C C D R 2 および L C C D R 3 の多様性を組み合わせる場合、1 . E 7 、 5 . E 7 、 1 . E 8 、 3 . E 8 、 1 . E 9 または 5 . E 9 を含有するライブラリは、多くの可変 A b を含有するライブラリを提供する。

【0244】

## 【表70】

表65:配列番号898を親として有する設計1のdoubling  
(配列番号957として開示された 'KDYGYCSSTSCYTYGYSYAEYFQHW')

| 位置   | 親(供給源)       | 許容                   |
|------|--------------|----------------------|
| 94   | K (VH 3-23)  | K                    |
| 95   | D (供給源なし)    | DSYL (3:1:1:1)       |
| 96   | Y (供給源なし)    | YSL (2:2:1)          |
| 97   | G (D2-2.2)   | GSYDRL (3:1:1:1:1:1) |
| 98   | Y (D2-2.2)   | YSL (2:2:1)          |
| 99   | C (D2-2.2)   | C                    |
| 100  | S (D2-2.2)   | SYDRL (3:1:1:1:1)    |
| 101  | S (D2-2.2)   | SYDRL (3:1:1:1:1)    |
| 102  | T (D2-2.2)   | TYDRL (3:1:1:1:1)    |
| 102a | S (D2-2.2)   | SYDRL (3:1:1:1:1)    |
| 102b | C (D2-2.2)   | C                    |
| 102c | Y (D2-2.2)   | YSL (2:2:1)          |
| 102d | T (D2-2.2)   | TYDRL (3:1:1:1:1)    |
| 102e | Y (供給源なし)    | YDSL (3:1:1:1)       |
| 102f | G (供給源なし)    | GSYRD (3:1:1:1:1)    |
| 102g | Y (供給源なし)    | YSL (2:2:1)          |
| 102h | S (供給源なし)    | SYDRL (3:1:1:1)      |
| 102i | Y (供給源なし)    | YSL (2:2:1)          |
| 102j | A (JH1)      | ASYDR (3:1:1:1:1)    |
| 102k | E (JH1)      | ERSYL (3:1:1:1:1)    |
| 102l | Y (JH1)      | YSL (2:2:1)          |
| 102m | F (JH1)      | FSYDR (3:1:1:1:1)    |
| 102n | Q (JH1)      | QYSDRL (3:1:1:1:1:1) |
| 102p | H (JH1)      | HSYDRL (3:1:1:1:1:1) |
| 103  | W (JH1, FR4) | W                    |

(実施例4.5)

y y c a k G S G Y C S G G S C Y S F D Y w g q g t l v t v s s (配列番号: 931 の d o b b l i n g ) の d o b b l i n g

表80は、長さ15のH C C D R 3の例である、配列番号: 931のd o b b l i n gを示す。94位はF R 3の一部であり、一定に保たれる。95位および96位は高度に使用される(Y G D R S)のセットから選別される「親」アミノ酸型を有し、G 95およびS 96である。次の10の位置は、D 2 - 1 5 . 2 (ジスルフィド閉ループを含有する、中程度に良く使用されるDセグメント)から選別される。最後の3つの位置は、表3に示すように、J H 4の1 0 0位、1 0 1位および1 0 2位に由来する。個々の位置において、本発明者らは、親アミノ酸型を他の許容される型より3倍多く作製する。C y s 残基は固定されている。1 0 2 eにおいて、P h eはY G S R Dより3倍可能性が高い(すなわち、P h eは、アミノ酸Y、G、S、RまたはDのいずれより3倍可能性が高い)。許容される多様性は、1 . 4 6 E 9である。親配列は、1 / 6 . 9 E 4で期待される。個々の1つずつ置換された配列はおそらく約1 / 3であり、二重に置換された配列は、おそらく1 / 9でありそのように続く。完全に他のA A型で構成された配列は、わずか1 / 1 . 1 E 1 1で発生する。

## 【0245】

表21の個々の他の配列は、同じ方法でd o b b l i n gできる。

## 【0246】

## 【表71】

表80: yycakGSGYCSGGSCYSFDYwgqgtlvss(配列番号931)のdabbling

(配列番号958として開示された 'KGSGYCSGGSCYSFDYW')

| 位置   | 親(供給源)       | 許容                   |
|------|--------------|----------------------|
| 94   | K (VH 3-23)  | K                    |
| 95   | G(供給源なし)     | GYSRD (3:1:1:1:1)    |
| 96   | S(供給源なし)     | SGYRD (3:1:1:1:1)    |
| 97   | G (D2-15.2)  | GYSRD (3:1:1:1:1)    |
| 98   | Y (D2-15.2)  | YGSRD (3:1:1:1:1)    |
| 99   | C (D2-15.2)  | C                    |
| 100  | S (D2-15.2)  | SGYRD (3:1:1:1:1)    |
| 101  | G (D2-15.2)  | GYSRD (3:1:1:1:1)    |
| 102  | G (D2-15.2)  | GYSRD (3:1:1:1:1)    |
| 102a | S (D2-15.2)  | SGYRD (3:1:1:1:1)    |
| 102b | C (D2-15.2)  | C                    |
| 102c | Y (D2-15.2)  | YGSRD (3:1:1:1:1)    |
| 102d | S (D2-15.2)  | SGYRD (3:1:1:1:1)    |
| 102e | F (JH4)      | FYGSRD (3:1:1:1:1:1) |
| 102f | D (JH4)      | DGSRY (3:1:1:1:1)    |
| 102g | Y (JH4)      | YGSRD (3:1:1:1:1)    |
| 103  | W (JH4, FR4) | W                    |

## (実施例5)

## 合成軽鎖の多様性

全抗体を作るために、重鎖のライブラリと軽鎖 (LC) のライブラリとを組み合わせる必要がある。天然Abにおいて、HCが結合の大部分を行っており、多くのライブラリはLCにほとんど注目していない、またはLCの多様性をヒトドナーから得ていることは、しばしば観察されることである。十分な多様性を有し、ほとんどすべての標的に対する優れたバインダーを得るために、本発明者らは、ヒト免疫系が通常に提供する多様化プログラムを超える多様化プログラムを設計した。にもかかわらず、このプログラムは、天然Abに見られるのと同様の変化を有する、完全に機能性のLCを若干多く得るために設計された。V I I I A 2 7を、LCとして選別した。

## 【0247】

提供された および LCを含むライブラリから、1266のAbのコレクションを打ち込んだ。VKIIIの中で、A27は最も多くみられ(表66)、HC 3-23と良く対応する。

## 【0248】

A27のCDRは12、7、および9個のアミノ酸を含有する。これらの位置すべてに多様性を加えることは、うまく機能しない恐れがあり、:a)多くの不安定または非機能性のメンバーが存在する恐れがある、およびb)いくつかの位置において、多様性が結合を改善する助けにならない恐れがある。本発明者らは、可変位置の数を28から16に減らした。

## 【0249】

本発明者らは、A27 LCを有する1QLRの3D構造を研究した。1QLRの構造は、RCDBタンパク質データベースにおいて公的に利用可能である。このことから、表68に示された残基は、変化させるのに有効と思われる。T56は、HC CDR3においてHisから約10である。56での変化は有用であり得る。G24は、HC CDR3において原子からわずか約7である。生殖系列はR24であり、したがって24での変化は有用であり得る。

## 【0250】

表69は、本発明者らがpMID21において使用するために設計したディスプレイカセットを示す。したがって、選別された制限酵素はpMID21に他の部位を有さない。SpeIはiiiシグナル配列中にあり、全LCの挿入および除去を可能にする。Xma

I、P p u M I、E c o O 1 0 9 I および B l p I は、C D R 1 の前方にある。S a c I I は F R 2 中にあり、C D R 1 と C D R 2 とを隔てている。あるいは、A v r I I 部位は同じ位置に挿入可能である。B s p E I および X h o I 部位は F R 3 中にあり、K p n I 部位は F R 4 中にある。

【 0 2 5 1 】

本発明者らは 1 5 5 の A 2 7 配列を収集し、C D R において起こっていることを分析した。表 7 0 は分析結果を示す。表 7 0 において、本発明者らのライブラリ由来の A b 中に発見されたもの、および本発明者らが個々の位置に置いたと思われるものを示す。

【 0 2 5 2 】

【 表 7 2 】

表68: A27の変異場所

|       |              |       |   |         |           |       |   |       |
|-------|--------------|-------|---|---------|-----------|-------|---|-------|
| !     | 22           | 3     | 3 | 5       | 5         | 89    | . | 9     |
| !     | 45           | 0a    | 4 | 0       | 5         | 90    |   | 5     |
| !1QLR | GASQSVS_NYLA |       |   | DASSRAT | QQYGSSPLT |       |   |       |
| !A27  | RASQSVSSSYLA |       |   | GASSRAT | QQYGSSPLT |       |   |       |
|       | ***          | ***** | * | *       | *         | ***** |   | ***** |

GASQSVS は、(配列番号 922) NYLA(配列番号959) である

DASSRAT は、(配列番号 923) である

QQYGSSPLY は、(配列番号 924) QQYGSSPLT(配列番号966) である

RASQSVSSSYLA は、(配列番号 925) である GASSRAT は、(配列番号 926) である

表68は、A27のCDRが多彩化される場所を示す。

【 0 2 5 3 】

【表 7 3】

表67:VKIII AA配列の比較

VK3 [は(配列番号927)]である  
A27 [は(配列番号960)]である  
A11 [は(配列番号961)]である  
L2 [は(配列番号962)]である  
L16 [は(配列番号962)]である  
L6 [は(配列番号963)]である  
L20 [は(配列番号964)]である  
L25 [は(配列番号965)]である

C D R 1

R 2 4 、 A 2 5 および S 2 6 は結合部位から遠すぎて役に立たず、一定に保たれた。V 2 9 の側基は埋もれており、この位置は V a 1 として一定に保たれていた。他の位置において、 Y または S および帯電したフリップフロップ ( R E または R D 、問題の位置においてサンプルがより多くの E または D を有する場所に依存する ) ならびに頻繁に見られた他の型を許容した。 E x c e l のスプレッドシートを使用して、多彩化のこのパターンは、「他の」 A A が 5 % 置換された場合、親配列は 0 . 8 % 、「他の」 A A が 6 . 5 % 置換された場合、親配列は 0 . 1 % 、「他の」 A A が 9 % 置換された場合、親配列は 0 . 0 2 % 得られることを決定した。 1 5 5 のサンプルのうち、 1 7 が、欠失された A A ( 1 Q L R を含む ) を 1 つ有し、したがって、メンバーの約 8 % において S 3 0 a が欠失されるよう

VK3[は]、A27[と]E1D、G9A、I58V、D60A、R77Sが異なる。

A27とL6とは、G9a(FRT)、Δ31a(CDR1中)、G50D(CDR2)、S53(NCDR2)、G92S(CDR3)、S93N(CDR3)、S94W(CDR3)が異なる。

に構成できる。

【0254】

C D R 2

1 Q L R の調査により、 C D R 2 が結合部位から若干離れていることが分かった。それでも、この C D R 中の残基を一定に保つという提案がなされてきた。3 D 構造の研究により、 G 5 0 、 S 5 3 および T 5 6 における多彩化が有用であり得ることが示唆される。 S 5 3 は、 1 5 5 のサンプルの中で最も可変であるが、このことは、これらの変化が有用であるとの証明にはならない、 1 Q L R において、 G 5 0 は R 5 0 に突然変異している。 T 5 6 のこの側基は、 H C C D R 3 の方を向いており、 H C C D R 3 中の原子から約 1 1 である。

【0255】

C D R 3

Q 8 9 および Q 9 0 は埋もれており、それらの性質はあまり変化せず、これらの残基は変化しない。 Y 9 1 は、 H C C D R 3 に対して包まれており、この場所の変化は結合部位を変更することになり、実際結合部位は変更される。 G 9 2 において、 = - 8 0 および = - 1 5 であり、それ故 G 1 y 以外への配置が実行可能であり、 4 7 / 1 5 5 例で自然に起こる。 S 9 3 は非常に頻繁に変化し、欠失する。 S 9 4 は高度に露出されており、高度に変化する。 P 9 5 は露出されており、変化する。 L 9 6 は、 H C C D R 3 に対して包まれており、この場所の変化は結合部位に影響を与えることになり、実際に影響が起こる。 T 9 7 は埋もれており、一定に保たれておりアミノ酸は変化しない。

【0256】

親配列は、 0 . 0 0 0 2 4 6 または 1 / 4 . 0 6 E 3 で出現する。許容される多様性は、約 2 . 1 E 1 2 である。2つに関しては 8 % が欠失しており、メンバーの 8 4 . 6 % が完全長であり、 7 . 4 % が短い C D R 1 および完全長 C D R 3 を有し、 7 . 4 % が完全長 C D R 1 および短い C D R 3 を有し、 0 . 6 % が双方を欠失しているであろう。

【0257】

他の生殖系列はサンプル中に存在しなかった。

【0258】

## 【表74】

| 表66:1266の選択されたLCにおけるVLの分布。 |       |     |             |              |      |        |
|----------------------------|-------|-----|-------------|--------------|------|--------|
| $\kappa$                   |       |     | $\lambda$   |              |      |        |
| O12                        | VKI   | 313 |             | 1a           | VL1  | 9      |
| O18                        | VKI   | 1   |             | 1e           | VL1  | 7      |
| A20                        | VKI   | 26  |             | 1c           | VL1  | 55     |
| A30                        | VKI   | 26  |             | 1g           | VL1  | 46     |
| L14                        | VKI   | 2   |             | 1b           | VL1  | 1 118  |
| L1                         | VKI   | 5   |             | 2c           | VL2  | 18     |
| L15                        | VKI   | 1   |             | 2e           | VL2  | 23     |
| L5                         | VKI   | 83  |             | 2a2          | VL2  | 79     |
| L8                         | VKI   | 10  |             | 2d           | VL2  | 1 121  |
| L12                        | VKI   | 77  | 544         | 3r           | VL3  | 56     |
| O11                        | VKII  | 4   |             | 3j           | VL3  | 4      |
| A17                        | VKII  | 17  |             | 3l           | VL3  | 31     |
| A19                        | VKII  | 31  | 52          | 3h           | VL3  | 22 113 |
| A27                        | VKIII | 155 |             | 4a           | VL4  | 1 1    |
| L2                         | VKIII | 31  |             | 5c           | VL5  | 1 1    |
| L6                         | VKIII | 88  |             | 6a           | VL6  | 8 8    |
| L25                        | VKIII | 16  | 290         | 10a          | VL10 | 6 6    |
| B3                         | VKIV  | 12  | 12          | $\lambda$ の数 |      | 368    |
| $\lambda$ の数               |       | 898 | サンプル中のAbの総数 |              |      | 1266   |

表69:pM21JのA27に関するディスプレイ遺伝子  
IIIシグナル:A27::G $\kappa$

表69のアミノ酸配列は(配列番号928)である。  
表69のDNA配列は(配列番号929)である。

```

シグナル配列 -----
 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15
 M K K L L S A I P L V V P F Y
 1  |atg|aaG|aaA|ctg|ctg|tct|gct|atc|ccA|CTA|GTt|gtc|cct|ttc|tat|
                           SpeI.....

シグナル-----FR1-----
 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30
 S H S E1 I V3 L T5 Q S7 P G9 T L S12
 46  |tct|cat|agt|gaa|atc|gtt|ctg|acc|cag|tcC|CCG|GGG|aCC|Ctg|tct|
                           XmaI.....
                           PpuMI.....
                           EcoO109I.(1/2)

```

## 【0259】

## 【表75】

FR1----- CDR1-----  
 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45  
 L13 S P G E R A T L S C23 R24 A S Q  
 91 |ctg|tct|ccg|ggg|gaa|cgt|gct|acG|CTg|AGC|tgt|cgt|gct|tct|caa|  
 BlpI... .

CDR1----- FR2-----  
 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60  
 S28 V S S S30a Y L A34 W Y Q Q K P G  
 136 |tcc|gtt|agc|TCC|TCt|tat|tta|gct|tgg|tat|cag|caa|aag|ccg|ggg|  
 BseRI... .

FR2----- CDR2-----  
 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75  
 Q A P R45 L L I Y G50 A S S R A T56  
 181 |caa|gct|CCG|CGG|ctg|ttg|atc|tat|ggg|gc|tct|agt|cgt|gct|act|  
 SacII... .

FR3-----  
 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90  
 G I P D60 R F S G S65 G S G T D F  
 226 |ggc|atc|cct|gat|cgt|ttc|tct|ggc|tct|ggc|TCC|GGA|acc|gat|ttc|  
 BspEI... .

FR3-----  
 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100 101 102 103 104 105  
 T L T I S R L E P E D F A V Y  
 271 |act|ctg|acc|att|tct|CGT|CTC|GAG|ccg|gaa|gat|ttc|gct|gtc|tac|  
 BsmBI... .  
 XhoI... .

FR3---- CDR3----- FR4-----  
 106 107 108 109 110 111 112 113 114 115 116 117 118 119 120  
 Y C Q89 Q Y G S S P95 L T F G G G  
 316 |tat|tgt|caa|cag|tat|ggg|tct|agt|ccg|ctg|act|ttc|ggg|GGT|  
 KpnI... .

FR4-----  
 121 122 123 124 125 126  
 T K V E I K  
 361 |ACC|aaa|gtc|gaa|atc|aaag  
 KpnI... .

OK-----  
 R G T V A A P S V F I F P P S  
 379 cgt gga act gtg gCT GCA Cca tct GTC TTC atc ttc ccg cca tct  
 BsgI... .  
 BbsI... .

D E Q L K S G T A S V V C L L  
 424 gat gag cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg .

N N F Y P R E A K V Q W K V D  
 469 aat aac ttc tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat

N A L Q S G N S Q E S V T E Q  
 514 aac gcc ctc caa tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag

## 【0260】

## 【表76】

```

!      D   S   K   D   S   T   Y   S   L   S   S   T   L   T   L
559    gac  agc  aag  gac  agc  acc  tac  agc  ctc  agc  agc  acc  ctg  act  ctg

!
!
!      S   K   A   D   Y   E   K   H   K   V   Y   A   C   E   V
604    tcc  aaa  gca  gac  tac  gag  aaa  cac  aaa  GTC  TAC  gcc  tgc  gaa  gtc

!
!
!      T   H   Q   G   L   S   S   P   V   T   K   S   F   N   R
649    acc  cat  cAG  GGC  CTg  agt  tCA  CCG  GTG  aca  aag  agc  ttc  aac  agg
!          AlwNI.....  SgrAI.....
!          EcoO109I.(2/2)  AgeI.....
!
!
!      G   E   C   .   .
694    gga  gag  tgt  taa  taa

!
709          GG  CGCGCCaatt
!          AscI.....
!          BssHII.

```

表70:A27 AbのCDR1における突然変異の集計

| CDR1 (配列番号925として開示された'RASQSVSSSYLA') |                                                                                                     |             |
|--------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| R24                                  | 1, 3G, 1T, 151-,                                                                                    | 固定          |
| A25                                  | 2, 3T, 152-,                                                                                        | 固定          |
| S26                                  | 3, 1R, 154-,                                                                                        | 固定          |
| Q27                                  | 4, 3E, 1H, 1L, 1P, 4R, 145-,                                                                        | 9% ERYSL    |
| S28                                  | 5, 1A, 2F, 2G, 1I, 2L, 5N, 1P, 1R, 10T, 1V, 1Y, 128-,                                               | 9% NTYERL   |
| V29                                  | 6, 1F, 19I, 6L, 129-,                                                                               | 固定          |
| S30                                  | 7, 2A, 2D, 8G, 2H, 1I, 11N, 9R, 6T, 4V, 2Y, 108-,                                                   | 9% DNRTY    |
| S30a                                 | 8, 1A, 2F, 6G, 1H, 6N, 1P, 10R, 6T, 3Y, 119-,<br>(8%は30aを欠失)                                        | 9% GNRTYD   |
| S31                                  | 9, 1A, 5D, 3F, 4G, 1H, 2I, 4K, 1L, 31N, 19R, 7T, 7Y, 70-,                                           | 9% DFGNRTY  |
| Y32                                  | 10, 5F, 1K, 14L, 4N, 4Q, 2R, 8S, 3V, 1W, 113-,                                                      | 9% FDLNQRSY |
| L33                                  | 11, 16A, 1F, 4I, 1N, 1S, 8V, 1Y, 123-,                                                              | 固定          |
| A34                                  | 12, 2G, 2L, 1N, 1S, 4V, 128-,<br>13, 2A, 1G,<br>14, 1S,<br>15, 1S,<br>16, 1Y,<br>17, 1L,<br>18, 1A, | 9% SY       |

注:CDR1に6個のAAが挿入された抗体は1つであった!他の2つのAbは挿入が1つであった。

17のAbは、CDR1において1個のAAが欠失した。

| CDR2 (配列番号926として開示された'GASSRAT') |                                            |           |
|---------------------------------|--------------------------------------------|-----------|
| G50                             | 1, 10A, 11D, 1H, 2R, 2S, 1V, 7Y, 121-,     | 9% DRSYL  |
| A51                             | 2, 7G, 2I, 6S, 7T, 2V, 131-,               | 固定        |
| S52                             | 3, 6A, 3F, 1G, 1T, 144-,                   | 固定        |
| S53                             | 4, 1A, 1G, 1H, 5I, 2K, 16N, 7R, 16T, 106-, | 9% NTSYER |
| R54                             | 5, 1A, 1I, 1N, 1S, 3T, 1Y, 147-, .         | 固定        |
| A55                             | 6, 2P, 7R, 4S, 2V, 140-,                   | 固定        |

## 【0261】

## 【表77】

T56 7, 10A<sup>1</sup>, 1G, 1H, 2P, 4S, 137-,  
 8, 1A, 6T,

9% ERSY

注:AAが1個挿入された抗体は7つである。

CDR3 ('-'の表現は、AbがCDR3において欠失を有することを意味する。)

(配列番号966として開示された'QQYGSSPLT')

|     |                                                                                                        |           |
|-----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Q89 | 1, 5H, 1L, 2M, 147-,                                                                                   | 固定        |
| Q90 | 2, 1E, 1F, 13H, 2K, 2L, 4R, 1S, 1Y, 130-,                                                              | 固定        |
| Y91 | 3, 2A, 8F, 2G, 2H, 1L, 1P, 13R, 4S, 122-,                                                              | 9% FERS   |
| G92 | 4, 10A, 3D, 2H, 1I, 1L, 2N, 6R, 12S, 2V, 3Y, 108-, 5-,                                                 | 9% ADRSTY |
| S93 | 5, 1A, 2D, 2F, 6G, 2H, 3I, 2K, 2M, 14N, 1P, 1Q, 8R, 17T, 2Y, 86-, 6-,<br>(8%は93を欠失)                    | 9% DFNRTY |
| S94 | 6, 3A, 6F, 1I, 3L, 3P, 2R, 2T, 11W, 117-, 7-,                                                          | 9% WERYS  |
| P95 | 7, 2A, 1E, 1G, 1K, 3L, 1M, 7R, 3S, 3T, 1V, 108-, 24-,                                                  | 9% ERYS   |
| L96 | 8, 2A, 2E, 3F, 3G, 1H, 1I, 3K, 7L, 2M, 24P <sup>2</sup> , 6Q, 28R, 3S, 3T, 7V, 2Y, 58-,                | 9% ERPYS  |
| T97 | 9, 2A, 1F, 2G, 3I, 1K, 2L, 3M, 1N, 1R, 6S, 3V, 2Y, 128-,<br>10, 1A, 1S, 34-,<br>11, 1S, 7-,<br>12, 1A, | 固定        |

3個のAAが挿入されたAbは1つである。

5つは4個のAAが欠失しており、1つは3個のAAが欠失しており、1つは2個のAAが欠失しており、17は1個のAAが欠失している。

## 表71:A27:JK4のCDR1、2および3の許容される多様性。

(配列番号925として開示された'RASQSVSSSYLA'; 配列番号926として開示された'GASSRAT'; 配列番号966として開示された'QQYGSSPLT')

| 位置        | 親 | 許容       |              |
|-----------|---|----------|--------------|
| CDR1      |   |          |              |
| 42(24)    | R | 固定       |              |
| 43(25)    | A | 固定       |              |
| 44(26)    | S | 固定       |              |
| 45(27)    | Q | ERYSL    | 55%Q 9% 他の型  |
| 46(28)    | S | NTYERL   | 46%S 9% 他の型  |
| 47(29)    | V | 固定       |              |
| 48(30)    | S | DNRTY    | 55%S 9% 他の型  |
| 49(30a)   | S | GNRTYD   | 46%S 9% 他の型  |
| 8%は30aを欠失 |   |          |              |
| 50(31)    | S | DFGNRTY  | 44%S 8% 他の型  |
| 51(32)    | Y | FDLNQRSY | 44%Y 7% 他の型  |
| 52(33)    | L | 固定       |              |
| 53(34)    | A | SY       | 70%A 15% 他の型 |
| CDR2      |   |          |              |
| 69(50)    | G | DRSYL    | 55%G 9% 他の型  |
| 70(51)    | A | 固定       |              |
| 71(52)    | S | 固定       |              |
| 72(53)    | S | NTSYER   | 52%S 8% 他の型  |
| 73(54)    | R | 固定       |              |
| 74(55)    | A | 固定       |              |
| 75(56)    | T | ERSY     | 64%T 9% 他の型  |
| CDR3      |   |          |              |
| 108(89)   | Q | 固定       |              |
| 109(90)   | Q | 固定       |              |
| 110(91)   | Y | FERS     | 64%Y 9% 他の型  |
| 111(92)   | G | ADRSTY   | 52%G 8% 他の型  |

<sup>1</sup>これらのうち7つは挿入によってもたらされる<sup>2</sup>これらのうちいくつかは、挿入により出現する。

## 【0262】

## 【表78】

|           |   |        |             |
|-----------|---|--------|-------------|
| 112(93)   | S | DFNRTY | 52%S 8% 他の型 |
| 113(94)   | S | WERYS  | 55%S 9% 他の型 |
| 114(95)   | P | ERYS   | 64%P 9% 他の型 |
| 8%はP95を欠失 |   |        |             |
| 115(96)   | L | ERPYS  | 55%L 9% 他の型 |
| 116(97)   | T | 固定     |             |

親配列は、5.32E-5または1/1.88E4で出現する。

## 【0263】

单一置換の配列は、1 . 1 E - 5 から 7 . 5 E - 6 の確率である。

【0 2 6 4】

親 A A を 1 つも有さない配列は、1 / 6 . 7 E 1 6 で起こる。

【0 2 6 5】

許容される多様性は、約 2 . 3 5 E 1 2 である。

【0 2 6 6】

【表 7 9】

表75:HC CDR3におけるアミノ酸の頻度

| AA | 数     | %     | Rel up | Rel down |
|----|-------|-------|--------|----------|
| Y  | 3428  | 15.64 | 50.41  | 1.00     |
| G  | 3244  | 14.80 | 47.71  | 0.95     |
| D  | 2622  | 11.96 | 38.56  | 0.76     |
| S  | 1777  | 8.11  | 26.13  | 0.52     |
| R  | 1337  | 6.10  | 19.66  | 0.39     |
| F  | 1328  | 6.06  | 19.53  | 0.39     |
| A  | 1213  | 5.53  | 17.84  | 0.35     |
| V  | 1141  | 5.20  | 16.78  | 0.33     |
| L  | 816   | 3.72  | 12.00  | 0.24     |
| I  | 745   | 3.40  | 10.96  | 0.22     |
| P  | 726   | 3.31  | 10.68  | 0.21     |
| T  | 586   | 2.67  | 8.62   | 0.17     |
| W  | 566   | 2.58  | 8.32   | 0.17     |
| M  | 560   | 2.55  | 8.24   | 0.16     |
| N  | 462   | 2.11  | 6.79   | 0.13     |
| E  | 363   | 1.66  | 5.34   | 0.11     |
| K  | 355   | 1.62  | 5.22   | 0.10     |
| H  | 327   | 1.49  | 4.81   | 0.10     |
| Q  | 259   | 1.18  | 3.81   | 0.08     |
| C  | 68    | 0.31  | 1.00   | 0.02     |
| 総数 | 21923 |       |        |          |

【0 2 6 7】

【表80】

表76:HC CDR3の長さの分布

| 長さ | 抗体数  | 合計    | 中央値   |
|----|------|-------|-------|
| 1  | 0    |       |       |
| 2  | 0    |       |       |
| 3  | 2    | 2     |       |
| 4  | 21   | 23    |       |
| 5  | 16   | 39    |       |
| 6  | 100  | 139   |       |
| 7  | 36   | 175   |       |
| 8  | 78   | 253   |       |
| 9  | 155  | 408   |       |
| 10 | 153  | 561   |       |
| 11 | 134  | 695   | 11.12 |
| 12 | 123  | 818   |       |
| 13 | 133  | 951   |       |
| 14 | 92   | 1043  |       |
| 15 | 87   | 1130  |       |
| 16 | 71   | 1201  |       |
| 17 | 59   | 1260  |       |
| 18 | 41   | 1301  |       |
| 19 | 40   | 1341  |       |
| 20 | 22   | 1363  |       |
| 21 | 21   | 1384  |       |
| 22 | 15   | 1399  |       |
| 23 | 7    | 1406  |       |
| 24 | 7    | 1413  |       |
| 25 | 1    | 1414  |       |
| 26 | 1    | 1415  |       |
| 27 | 3    | 1418  |       |
| 28 | 0    | 1418  |       |
| 29 | 0    | 1418  |       |
| 30 | 1    | 1419  |       |
|    | 1419 | 709.5 |       |

表77:Dセグメントの利用(カットオフは0.70の一致)

|        |    |            |         |
|--------|----|------------|---------|
| 3-22.2 | 38 | YYYDSSGYYY | 配列番号 88 |
| 4-17.2 | 27 | DYGDY      | 195     |
| 3-3.2  | 25 | YYDFWSGYYT | 177     |
| 6-19.1 | 25 | GYSSGWY    | 218     |
| 7-27.1 | 19 | LTG        | 221     |

【0 2 6 8】

【表 8 1】

|        |    |              |     |
|--------|----|--------------|-----|
| 5-5.3  | 18 | GYSYGY       | 786 |
| 6-13.1 | 18 | GYSSSWY      | 215 |
| 5-12.3 | 13 | GYSGYDY      | 205 |
| 6-13.2 | 10 | GIAAAG       | 216 |
| 1-26.3 | 9  | YSGSYY       | 284 |
| 2-15.2 | 9  | GYCSGGSCYS   | 136 |
| 4-4.3  | 9  | TTVT         | 190 |
| 3-10.2 | 8  | YYYYGSGSYNN  | 81  |
| 1-1.3  | 7  | YNWND        | 262 |
| 4-4.2  | 7  | DYSNY        | 754 |
| 2-2.2  | 6  | GYCSSTSCYT   | 70  |
| 3-16.2 | 6  | YYDYVWGSYRYT | 104 |
| 6-6.1  | 6  | EYSSSS       | 212 |
| 6-19.2 | 6  | GIAVAG       | 219 |
| 3-9.1  | 5  | VLRYFDWLL@   | 179 |
| 4-23.2 | 5  | DYGGNS       | 198 |
| 6-6.2  | 5  | SIAAR        | 213 |
| 1-7.3  | 4  | YNWNY        | 270 |
| 2-2.3  | 4  | DIVVVPAAI    | 168 |
| 4-23.3 | 4  | TTVVT        | 199 |
| 1-7.1  | 3  | GITGT        | 268 |
| 1-26.1 | 3  | GIVGAT       | 282 |
| 7-27.3 | 3  | NWG          | 223 |
| 3-10.1 | 2  | VLLWFGELL@   | 182 |
| 3-10.2 | 2  | ITMVRGVII    | 183 |
| 5-5.1  | 2  | VDTAMV       | 200 |
| 5-5.2  | 2  | WIQLWL       | 201 |
| 5-12.1 | 2  | VDIVATI      | 203 |
| 5-24.3 | 2  | RDGYNY       | 211 |
| 1-1.1  | 1  | GTTGT        | 260 |
| 2-21.3 | 1  | HIVVVTAI     | 175 |
| 3-3.3  | 1  | ITIFGVVII    | 178 |
| 5-24.2 | 1  | *RWLQL       | 210 |
| 6-6.3  | 1  | V*QLV        | 214 |
| 6-19.3 | 1  | V*QWLV       | 220 |

表 78: D セグメントの利用 (カットオフは 0.667 の一致)

| 名前 | 番号  | 配列 | 配列番号 | %     |
|----|-----|----|------|-------|
| なし | 935 |    |      | 0.517 |

【0 2 6 9】

【表 8 2 - 1】

|        |     |              |     |       |
|--------|-----|--------------|-----|-------|
| 7-27.1 | 158 | LTG          | 221 | 0.087 |
| 7-27.3 | 98  | NWG          | 223 | 0.054 |
| 5-5.3  | 72  | GYSYGY       | 786 | 0.040 |
| 1-26.3 | 67  | YSGSYY       | 166 | 0.037 |
| 3-22.2 | 46  | YYDSSGYYY    | 187 | 0.025 |
| 4-17.2 | 38  | DYGDY        | 195 | 0.021 |
| 3-3.2  | 37  | YYDFWSGYYT   | 177 | 0.020 |
| 7-27.2 | 37  | @LG          | 222 | 0.020 |
| 6-19.1 | 33  | GYSSGWY      | 218 | 0.018 |
| 6-13.2 | 31  | GIAAG        | 860 | 0.017 |
| 6-13.1 | 22  | GYSSSWY      | 215 | 0.012 |
| 6-6.1  | 18  | EYSSSS       | 847 | 0.010 |
| 6-19.2 | 18  | GIAVAG       | 879 | 0.010 |
| 4-23.2 | 17  | DYGGNS       | 198 | 0.009 |
| 5-12.3 | 17  | GYSGYDY      | 205 | 0.009 |
| 5-24.3 | 14  | RDGYNY       | 211 | 0.008 |
| 2-15.2 | 13  | GYCSGGSCYS   | 136 | 0.007 |
| 1-26.1 | 11  | GIVGAT       | 164 | 0.006 |
| 4-4.3  | 11  | TTVT         | 190 | 0.006 |
| 1-1.3  | 9   | YNWND        | 262 | 0.005 |
| 2-2.2  | 9   | GYCSSTSCYT   | 70  | 0.005 |
| 3-16.2 | 9   | YYDYVWGSYRYT | 104 | 0.005 |
| 2-2.3  | 8   | DIVVVPAAI    | 168 | 0.004 |
| 3-10.2 | 8   | YYYGSGSYNN   | 81  | 0.004 |
| 4-4.2  | 8   | DYSNY        | 192 | 0.004 |
| 1-7.3  | 7   | YNWNY        | 270 | 0.004 |
| 3-3.3  | 6   | ITIFGVVII    | 178 | 0.003 |
| 6-6.2  | 6   | SIAAR        | 213 | 0.003 |
| 3-9.1  | 5   | VLRYFDWLL@   | 179 | 0.003 |
| 3-10.2 | 5   | ITMVRGVII    | 183 | 0.003 |
| 6-19.3 | 5   | V*QWLV       | 220 | 0.003 |
| 1-7.1  | 4   | GITGT        | 268 | 0.002 |
| 4-23.3 | 4   | TTVVT        | 768 | 0.002 |
| 1-1.1  | 3   | GTTGT        | 156 | 0.002 |
| 5-5.1  | 3   | VDTAMV       | 200 | 0.002 |
| 5-24.2 | 3   | *RWLQL       | 210 | 0.002 |
| 3-10.1 | 2   | VLLWFGELL@   | 182 | 0.001 |
| 5-5.2  | 2   | WIQLWL       | 201 | 0.001 |
| 5-12.1 | 2   | VDIVATI      | 203 | 0.001 |

## 【表 8 2 - 2】

|        |   |             |     |       |
|--------|---|-------------|-----|-------|
| 1-26.2 | 1 | V*WELL      | 165 | 0.001 |
| 2-21.2 | 1 | AYCGGDCYS   | 174 | 0.001 |
| 2-21.3 | 1 | HIVVVTAI    | 175 | 0.001 |
| 3-3.1  | 1 | VLRFLEWLLY  | 176 | 0.001 |
| 3-16.2 | 1 | IMITFGGVIVI | 185 | 0.001 |
| 6-6.3  | 1 | V*QLV       | 214 | 0.001 |
| 6-13.3 | 1 | V*QQLV      | 217 | 0.001 |

表 78: JH セグメントの利用

|     |     |
|-----|-----|
| JH1 | 17  |
| JH2 | 31  |
| JH3 | 452 |
| JH4 | 636 |
| JH5 | 32  |
| JH6 | 251 |

## (実施例 6)

H C C D R 3 16 d のための W o b b l i n g された D N A

表 400 は、 F R 3 中の X b a I 部位から F R 4 中の B s t E I I 部位までの D N A のセグメントを示す。 H C C D R 3 は、 S Y S Y : : D 2 - 2 ( 2 ) : : Q H ( 配列番号 947 として開示された ' S Y S Y ' ) 、続いて J H 1 の F R 4 領域からなる。 Q H は、 J H 1 の生殖系列において見出される。 V - D - J 接合において、免疫細胞は V 、 D および J の末端を頻繁に編集する。したがって、構成は、実際の免疫グロブリン遺伝子の構成および成熟において非常に可能性が高いものに対応する。 w o b b l i n g による合成により、本発明者らは、 3 - 2 3 と、 D 領域またはほとんど編集されていない J H 1 との接合、続くいくつかの突然変異に由来するものに似ている、遺伝子の大きなコレクションを得る。ライプラリ 16 d において、推定上ジスルフィドを形成する 2 つのシステインが存在し、これらは w o b b l i n g されない。

## 【0270】

表 500 は、 16 d ライプラリにおける、個々の位置でのアミノ酸型の期待分布を示す。 w o b b l i n g の d o p i n g は 73 : 9 : 9 : 9 に設定された。最も可能性のある配列は表 21 に示す配列であり、頻度が 4 . 8 E - 5 で存在するはずである。 55 % の配列だけが終止を含まず、 74 % がオーカーまたはオペルを含まない。ライプラリが s u p E 細胞において発現する場合、これは重要な数である。終止コドンを有する配列を取り除くことは、本明細書の他の場所で述べたように、価値のあることである。 S で始まるそれらの位置が、 54 % の確率で S を、 5 . 4 % の確率で Y を有すると予測され、一方、 Y で始まるものは、 44 % の確率で Y を、 7 . 2 % の確率で S を有することが見て取れる。個々の位置において、 1 % を超えて出現する 7 ~ 9 の A A 型が存在する。 14 の多彩化された位置が存在する。最も有効であると思われる配列は、約  $8^{14} = 4 . 3 E 12$  の数をサンプリングした。

## 【0271】

## 【表83】

表400:wobblingされたHC CDR3 16dのディスプレイのためのカセット

```

! -----FR3-----
! 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82
! T I S R D N S K N T L Y L Q M
1216 |act|atc|TCT|AGA|gac|aac|tct|aag|aat|act|ctc|tac|ttg|cag|atg|
! | XbaI |
!
! -----FR3----->|
82a 82b 82c 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94
N S L R A E D T A V Y Y C A K
1261 |aac|agC|TTA|AGg|gct|gag|gac|act|gca|gtc|tac|tat|tgc|gct|aaa|
! |AflII |

```

## 【0272】

## 【表84】

```

! e = 0.73 A + 0.09 C + 0.09 G + 0.09 T
! q = 0.09 A + 0.73 C + 0.09 G + 0.09 T
! j = 0.09 A + 0.09 C + 0.73 G + 0.09 T
! z = 0.09 A + 0.09 C + 0.09 G + 0.73 T
! 0.73+3×0.09=1.0のように、0.73および0.09の値が選別される。
! 他の比率も使用できる。
!
```

```

! 102 102 102 102 102 102 102 102 102 102
! 95 96 97 98 99 100 101 102 a b c d e f g h
! S Y S Y G Y c S S T S c Y T Q H
! zqz zez zqz zez jjz zez TGT zqz zqz eqz zqz TGT zez eqz qej qez
!
! -----FR4----->|
103 104 105 106 107 108 109 110 111 112 113
W G Q G T L V T V S S (配列番号968)
|TGg|ggg|caa|ggg|act|ttG|GTC|ACC|gtc|tct|agt (配列番号967)
! BstEII |
!
```

表500:wobblingされたHC CDR3 16dにおけるAA型の期待分布

".." = TGAまたはTAA; "b" = TAG

配列番号970として開示されたアミノ酸

配列番号969として開示されたDNA配列

```

S Y S Y G Y c S S T S c Y T Q H
zqz zez zqz zez jjz zez tgt zqz zqz eqz zqz tgt zez eqz qej qez

```

名目塩基純度 = 0.7300 他 = 0.0900

|             |          |          |          |          |          |         |          |          |          |
|-------------|----------|----------|----------|----------|----------|---------|----------|----------|----------|
| s(zqz)      | y(zez)   | s(zqz)   | y(zez)   | g(jjz)   | y(zez)   | C(TGT)  | s(zqz)   | s(zqz)   | t(eqz)   |
| 1 s 5.4-01  | y 4.4-01 | s 5.4-01 | y 4.4-01 | g 5.3-01 | y 4.4-01 | c 1.000 | s 5.4-01 | s 5.4-01 | t 5.3-01 |
| 2 p 6.6-02  | s 7.2-02 | p 6.6-02 | s 7.2-02 | r 7.8-02 | s 7.2-02 |         | p 6.6-02 | p 6.6-02 | s 1.2-01 |
| 3 a 6.6-02  | f 5.4-02 | a 6.6-02 | f 5.4-02 | a 6.6-02 | f 5.4-02 |         | a 6.6-02 | a 6.6-02 | a 6.6-02 |
| 4 t 6.6-02  | h 5.4-02 | t 6.6-02 | h 5.4-02 | v 6.6-02 | h 5.4-02 |         | t 6.6-02 | t 6.6-02 | p 6.6-02 |
| 5 f 5.4-02  | n 5.4-02 | f 5.4-02 | n 5.4-02 | s 6.2-02 | n 5.4-02 |         | f 5.4-02 | f 5.4-02 | i 6.0-02 |
| 6 c 5.4-02  | c 5.4-02 | c 5.4-02 | c 5.4-02 | c 5.4-02 | c 5.4-02 |         | c 5.4-02 | c 5.4-02 | n 5.4-02 |
| 7 y 5.4-02  | d 5.4-02 | y 5.4-02 | d 5.4-02 | d 5.4-02 | d 5.4-02 |         | y 5.4-02 | y 5.4-02 | r 2.0-02 |
| 8 l 2.0-02  | . 5.4-02 | l 2.0-02 | . 5.4-02 | e 1.2-02 | . 5.4-02 |         | l 2.0-02 | l 2.0-02 | k 1.2-02 |
| 9 . 1.2-02  | b 4.8-02 | . 1.2-02 | b 4.8-02 | l 9.6-03 | b 4.8-02 |         | . 1.2-02 | . 1.2-02 | l 9.6-03 |
| 10 r 9.6-03 | l 2.0-02 | r 9.6-03 | l 2.0-02 | t 8.1-03 | l 2.0-02 |         | r 9.6-03 | r 9.6-03 | g 8.1-03 |
| 11 g 8.1-03 | k 1.2-02 | g 8.1-03 | k 1.2-02 | p 8.1-03 | k 1.2-02 |         | g 8.1-03 | g 8.1-03 | v 8.1-03 |
| 12 v 8.1-03 | q 1.2-02 | v 8.1-03 | q 1.2-02 | i 7.4-03 | q 1.2-02 |         | v 8.1-03 | v 8.1-03 | f 6.6-03 |
| 13 i 7.4-03 | e 1.2-02 | i 7.4-03 | e 1.2-02 | . 6.6-03 | e 1.2-02 |         | i 7.4-03 | i 7.4-03 | c 6.6-03 |
| 14 h 6.6-03 | r 9.6-03 | h 6.6-03 | r 9.6-03 | f 6.6-03 | r 9.6-03 |         | h 6.6-03 | h 6.6-03 | h 6.6-03 |
| 15 n 6.6-03 | t 8.1-03 | n 6.6-03 | t 8.1-03 | h 6.6-03 | t 8.1-03 |         | n 6.6-03 | n 6.6-03 | a 6.6-03 |
| 16 d 6.6-03 | v 8.1-03 | d 6.6-03 | v 8.1-03 | y 6.6-03 | v 8.1-03 |         | d 6.6-03 | d 6.6-03 | y 6.6-03 |
| 17 w 5.9-03 | a 8.1-03 | w 5.9-03 | a 8.1-03 | n 6.6-03 | a 8.1-03 |         | w 5.9-03 | w 5.9-03 | m 5.9-03 |
| 18 b 5.9-03 | g 8.1-03 | b 5.9-03 | g 8.1-03 | w 5.9-03 | g 8.1-03 |         | b 5.9-03 | b 5.9-03 | q 1.5-03 |
| 19 q 1.5-03 | p 8.1-03 | q 1.5-03 | p 8.1-03 | q 1.5-03 | p 8.1-03 |         | q 1.5-03 | q 1.5-03 | e 1.5-03 |
| 20 k 1.5-03 | i 7.4-03 | k 1.5-03 | i 7.4-03 | k 1.5-03 | i 7.4-03 |         | k 1.5-03 | k 1.5-03 | . 1.5-03 |
| 21 e 1.5-03 | w 5.9-03 | e 1.5-03 | w 5.9-03 | m 7.3-04 | w 5.9-03 |         | e 1.5-03 | e 1.5-03 | w 7.3-04 |
| 22 m 7.3-04 | m 7.3-04 | m 7.3-04 | m 7.3-04 | b 7.3-04 | m 7.3-04 |         | m 7.3-04 | m 7.3-04 | b 7.3-04 |

【 0 2 7 3 】

【 表 8 5 】

| s(zqz)      | C(TGT)  | y(zez)   | t(eqz)   | q(qej)   | h(qez)   |
|-------------|---------|----------|----------|----------|----------|
| 1 s 5.4-01  | c 1.000 | y 4.4-01 | t 5.3-01 | q 4.4-01 | h 4.4-01 |
| 2 p 6.6-02  |         | s 7.2-02 | s 1.2-01 | h 9.6-02 | q 9.6-02 |
| 3 a 6.6-02  |         | f 5.4-02 | a 6.6-02 | l 7.2-02 | l 6.7-02 |
| 4 t 6.6-02  |         | h 5.4-02 | p 6.6-02 | r 7.2-02 | r 6.7-02 |
| 5 f 5.4-02  |         | n 5.4-02 | i 6.0-02 | p 6.6-02 | p 6.6-02 |
| 6 c 5.4-02  |         | c 5.4-02 | n 5.4-02 | e 5.4-02 | n 5.4-02 |
| 7 y 5.4-02  |         | d 5.4-02 | r 2.0-02 | k 5.4-02 | d 5.4-02 |
| 8 l 2.0-02  |         | . 5.4-02 | k 1.2-02 | b 4.8-02 | y 5.4-02 |
| 9 . 1.2-02  |         | b 4.8-02 | l 9.6-03 | d 1.2-02 | s 1.5-02 |
| 10 r 9.6-03 |         | l 2.0-02 | q 8.1-03 | y 1.2-02 | k 1.2-02 |
| 11 g 8.1-03 |         | k 1.2-02 | v 8.1-03 | n 1.2-02 | e 1.2-02 |
| 12 v 8.1-03 |         | q 1.2-02 | f 6.6-03 | s 9.6-03 | g 8.1-03 |
| 13 i 7.4-03 |         | e 1.2-02 | c 6.6-03 | t 8.1-03 | t 8.1-03 |
| 14 h 6.6-03 |         | r 9.6-03 | h 6.6-03 | v 8.1-03 | v 8.1-03 |
| 15 n 6.6-03 |         | t 8.1-03 | d 6.6-03 | a 8.1-03 | a 8.1-03 |
| 16 d 6.6-03 |         | v 8.1-03 | y 6.6-03 | g 8.1-03 | i 7.4-03 |
| 17 w 5.9-03 |         | a 8.1-03 | m 5.9-03 | . 6.6-03 | . 6.6-03 |
| 18 b 5.9-03 |         | g 8.1-03 | q 1.5-03 | w 5.9-03 | c 6.6-03 |
| 19 q 1.5-03 |         | p 8.1-03 | e 1.5-03 | m 5.9-03 | f 6.6-03 |
| 20 k 1.5-03 |         | i 7.4-03 | . 1.5-03 | i 2.2-03 | b 5.9-03 |
| 21 e 1.5-03 |         | w 5.9-03 | w 7.3-04 | f 1.5-03 | w 7.3-04 |
| 22 m 7.3-04 |         | m 7.3-04 | b 7.3-04 | c 1.5-03 | m 7.3-04 |

最も可能性の高い配列の有する頻度 = 4.8E-05

終止コドンを含まない分画 = 5.5E-01

(TAAおよびTGA)を含まない分画 = 7.4E-01

【 0 2 7 4 】

【表 8 6】

|    |      | F%          | F%          | F%          |
|----|------|-------------|-------------|-------------|
| D1 | 1-1  | 0.42        | 0.14        | <b>2.90</b> |
|    | 1-7  | 0.42        | 0.28        | 1.24        |
|    | 1-20 | 0.00        | 0.00        | 0.00        |
|    | 1-26 | 0.00        | 0.97        | 1.80        |
| D2 | 2-2  | 0.55        | <b>4.30</b> | 1.21        |
|    | 2-8  | 0.00        | 0.67        | 0.41        |
|    | 2-15 | 0.28        | <b>4.03</b> | 0.94        |
|    | 2-21 | 0.00        | <b>2.22</b> | 0.94        |
| D3 | 3-3  | 0.94        | 4.44        | <b>3.70</b> |
|    | 3-9  | 0.67        | 1.82        | 0.00        |
|    | 3-10 | 0.67        | <b>5.78</b> | 1.55        |
|    | 3-16 | 1.08        | <b>2.49</b> | 0.67        |
|    | 3-22 | 0.14        | <b>7.87</b> | 0.81        |
| D4 | 4-4  | 0.28        | 0.69        | 0.28        |
|    | 4-11 | 0.00        | 0.00        | 0.00        |
|    | 4-17 | 0.00        | <b>4.03</b> | <b>2.76</b> |
|    | 4-23 | 0.14        | 1.41        | 0.54        |
| D5 | 5-5  | 1.34        | 0.40        | <b>4.30</b> |
|    | 5-12 | 1.08        | 0.00        | 1.95        |
|    | 5-18 | 0.00        | 0.00        | 0.00        |
|    | 5-24 | 0.67        | 1.55        | 1.82        |
| D6 | 6-6  | 1.21        | 1.55        | 0.13        |
|    | 6-13 | <b>4.84</b> | <b>2.62</b> | 0.27        |
|    | 6-19 | <b>6.66</b> | 1.95        | 0.54        |
| D7 | 7-27 | 0.27        | 0.13        | 0.27        |

分画%の総計 21.65 49.34 29.01

表800: LC K1(O12)::JK1

配列番号972として開示されたアミノ酸

配列番号971として開示されたDNA配列

..リーダー配列. -> |----- FR1 ----->

|   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| G | V | H | S | A | Q | D | I | Q | M | T | Q | S | P | S | S | L |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|

1 |ggT|GTA|CAC|aGT|GCT|Cag|gat|att|cag|atg|act|caa|tct|ccC|TCG|AGt|ctg|  
BsrGI... ApaLI... XhoI....

----- FR1 ----->|--- CDR1 ->

|    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 |
|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|

46 |tct|gct|tct|gtc|gGC|GAT|CGC|gtt|act|att|act|tgt|cgt|gct|tcc|  
SgfI.....

----- CDR1 ----->|--- FR2 ----->

|    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 27 | 28 | 29 | 30 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 | 38 | 39 | 40 | 41 |
|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|

91 |cag|tcc|att|tct|agc|tat|ctg|aat|tGG|TAC|Cag|caa|aag|ccg|gg|  
KpnI....

----- FR2 ----->|--- CDR2 ----->|

|    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 42 | 43 | 44 | 45 | 46 | 47 | 48 | 49 | 50 | 51 | 52 | 53 | 54 | 55 | 56 |
|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|

【 0 2 7 5 】

## 【表 8 7】

136 K A P K L L I Y A A S S L Q S  
 |aag|gct|ccg|aaa|ctg|tta|atc|tat|gcc|gct|tct|agt|ctg|cag|tct|  
 |----- FR3 ----->  
 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71  
 G V P S R F S G S G S G T D F  
 181 |ggg|gtt|ccg|TCI|AGA|ttc|tct|ggc|tct|ggg|tct|ggg|act|atc|ttt|  
 XbaI...

226 |----- FR3 ----->  
 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86  
 T L T I S S L Q P E D F A T Y  
 |act|ctg|act|att|tcc|tct|ctg|caa|ccg|gag|gac|ttt|gct|acc|tat|  
 - FR3->|---- CDR3 ----->|--- FR4 ----->  
 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100 101  
 Y C Q Q S Y S T P W T F G Q G  
 271 |tac|tgc|caa|cag|tct|tat|agt|act|ccg|tgg|act|ttc|ggg|caa|ggc|  
 ----- FR4 ----->|---- C $\kappa$  ----->  
 102 103 104 105 106 107 108 109 110 111 112 113 114, 115 116  
 T K V E I K R T V A A P S V F  
 316 |act|aaa|gtt|gag|att|aag|CGT|ACG|gtg|gct|gct|ccg|tct|gtc|ttc|  
 BsiWI...

表900:CDR1の多様性 (配列番号973)

|     | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 | 31 | 32 | 33 | 34 | 多様性 |
|-----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|
| O12 | R  | A  | S  | Q  | S  | I  | S  | S  | Y  | L  | N  |     |
| 多様性 | 2  | 2  | 1  | 1  | 3  | 1  | 2  | 2  | 4  | 1  | 3  | 576 |
| 許容  | Q  | M  |    |    | D  |    | R  | N  | D  |    | A  |     |
|     |    |    |    |    | G  |    |    |    | W  |    | G  |     |
|     |    |    |    |    |    |    |    |    | A  |    |    |     |

表1000:大型のCDR1の多様性

|     | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 | 31 | 32 | 33 | 34 | 多様性   |
|-----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-------|
| O12 | R  | A  | S  | Q  | S  | I  | S  | S  | Y  | L  | N  |       |
| 多様性 | 3  | 2  | 4  | 1  | 5  | 1  | 4  | 5  | 5  | 1  | 6  | 72000 |
| 許容  | Q  | M  | E  |    | D  |    | R  | N  | D  |    | A  |       |
|     | E  |    | R  |    | G  |    | E  | E  | W  |    | G  |       |
|     |    |    | Y  |    | R  |    | Y  | R  | A  |    | D  |       |
|     |    |    |    |    | Y  |    |    | Y  | R  |    | R  |       |
|     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | Y  |       |

【 0 2 7 6 】

【表 8 8】

| 表1100:CDR2の多様性 |    |    |    |    |    |    |    |     |
|----------------|----|----|----|----|----|----|----|-----|
| 位置             | 50 | 51 | 52 | 53 | 54 | 55 | 56 | 多様性 |
| O12            | A  | A  | S  | S  | L  | Q  | S  |     |
| 多様性            | 2  | 1  | 1  | 3  | 1  | 2  | 2  | 24  |
| 許容             | D  |    |    | N  |    | E  | T  |     |
|                |    |    |    | T  |    |    |    |     |

| 表1200:大型のCDR2の多様性 |    |    |    |    |    |    |    |      |
|-------------------|----|----|----|----|----|----|----|------|
| 位置                | 50 | 51 | 52 | 53 | 54 | 55 | 56 | 多様性  |
| O12               | A  | A  | S  | S  | L  | Q  | S  |      |
| 多様性               | 4  | 1  | 4  | 6  | 1  | 4  | 5  | 1920 |
| 許容                | D  |    | E  | N  |    | E  | T  |      |
|                   | R  |    | R  | T  |    | R  | Y  |      |
|                   | Y  |    | Y  | E  |    | Y  | R  |      |
|                   |    |    | R  |    |    | E  |    |      |
|                   |    |    | Y  |    |    |    |    |      |

| 表1300:CDR3の多様性 |    |    |    |    |    |    |    |     |     |           |
|----------------|----|----|----|----|----|----|----|-----|-----|-----------|
| 位置             | 93 | 94 | 95 | 96 | 97 | 98 | 99 | 100 | 101 | div. tot. |
| O12            | Q  | Q  | S  | Y  | S  | S  | P  | W   | T   |           |
| 多様性            | 2  | 2  | 6  | 3  | 3  | 5  | 2  | 1   | 1   | 2160      |
| 許容             | L  | K  | Y  | D  | N  | T  | S  |     |     |           |
|                |    |    | H  | N  | Y  | L  |    |     |     |           |
|                |    |    | F  |    |    | Y  |    |     |     |           |
|                |    |    | A  |    |    | F  |    |     |     |           |
|                |    |    | D  |    |    |    |    |     |     |           |

| 表1400:大型のCDR3の多様性 |    |    |    |    |    |    |    |     |     |           |
|-------------------|----|----|----|----|----|----|----|-----|-----|-----------|
| 位置                | 93 | 94 | 95 | 96 | 97 | 98 | 99 | 100 | 101 | div. tot. |
| O12               | Q  | Q  | S  | Y  | S  | S  | P  | W   | T   |           |
| 多様性               | 6  | 1  | 7  | 7  | 6  | 5  | 2  | 6   | 1   | 105840    |
| 許容                | L  |    | Y  | D  | N  | T  | S  | F   |     |           |
|                   | E  |    | H  | N  | Y  | L  |    | Y   |     |           |
|                   | R  |    | F  | R  | D  | Y  |    | H   |     |           |
|                   | Y  |    | A  | A  | R  | F  |    | L   |     |           |
|                   | A  |    | D  | L  | A  | E  |    | I   |     |           |
|                   |    |    | R  | S  |    | R  |    |     |     |           |

(実施例 7)

合成 H C C D R 3 のさらなる例

F A B - 3 1 0 または F A B - 4 1 0 のライプラリから選択された異なる C D R 3 を有し、少なくとも 1 種の抗原に対して E L I S A であった、2 2 , 0 6 3 の F a b のコレクションを検査した。J H 鎮の利用を、表 1 0 0 1 に示す；個々の J H の F R 4 部分を太字で示す。表 1 0 1 0 は、H C C D R 3 におけるアミノ酸の利用を示す。表 1 0 2 0 は、C D R 3 の長さの分布を示す。長さの中央値は 1 1 . 5 である。

【0277】

表1030は、CDR3におけるDセグメントの利用を示す。特定されたDセグメントは、一致したアミノ酸の70%であった。; 5, 654例(25.6%)が存在した。最も使用されたDは、3-3.2(743、配列: YYDFWSGYYT(配列番号177))、3-22.2(617、配列: YYYDSSGYYY(配列番号88))、6-19.1(441、配列: GYSSGWWY(配列番号218))、6-13.1(399、配列: GYSSSWY(配列番号215))および4-17.2(392、配列: DYGDY(配列番号760))であった。対合したCys残基を含有するDのうち、2-15.2(配列: GYC SGGSCYS(配列番号136))が最も使用された；コレクションの0.6%である139の例が存在した。

#### 【0278】

VまたはV: : DがJに接合される場合、VまたはV: : Dの3'末端およびJの5'末端が多くの場合編集されている。多数のCDR3-FR4配列の調査により、多くの場合、CDR3の一部を構成するJHの一部が存在することが示される。多くの場合、JH残基1~9に対応するCDR3残基において、突然変異が存在する。本明細書において、JHに由来すると思われるCDR3の一部は、「Jstump」と呼ばれる。重鎖に使用されるJHは、6から20位の6つのJH鎖の個々の残基と、CDR3の最後の4個のアミノ酸とFR4との融合を比較することによって決定される。不一致が最も少ないJHを選択する。CDR3配列を、Jstumpに関して、9位からCDR3と比較した選択されたJHの第1の位置へ、検索が、a) JHの末端、b) CDR3の末端またはc) 2つの連続する不一致により終了するまで、選択されたJHにおいて逆に働くことによって検査した。鎖の末端の1つと、最後の比較位置が一致する場合、その場合Jstumpに含まれる。一致しない場合は、Jstumpに含まれない。表1070は、いくつかの例を示す。CDRは上に記載し、JHは下であり、Jstumpは下線を引いてある。1070Aにおいて、本発明者らは、9位から始め、VはVに一致し、本発明者らは、一致する6位へと続けた。検索は、二重の不一致のため、4位で停止する。GMDV(配列番号974)はJstumpの蓄積内となり、GLは「リードイン」の蓄積内となる。1070Bにおいて、検索はJH6の末端で停止する。下線の残基は、Jstumpの蓄積内となり、EPIWG(配列番号975)はリードインの蓄積内となる。1070Eにおいて、検索はJH4の末端のため終了するが、被験最終残基(CDR中のD対JH4中のY)は不一致であり、それ故、JstumpはFDSであり、DSGVVAAAD(配列番号976)はリードインの蓄積内となる。

#### 【0279】

表1015は、Jstumpを取り除いてあるDセグメントを有さないCDR3のアミノ酸分布を示す。Tyrの頻度は、全CDR3がコンパイルされた場合よりさらに低いことに留意されたい。このことは、DセグメントおよびJstumpの組み込みを介して、TyrがCDR3に大量に入ってくることを示す。これらのTyrはランダムには挿入されないが、哺乳類の進化を通して選択されてきた配列において生じる。高レベル(20%を超える)のTyrが、DおよびTyrを含有するJstumpの組み込みを介してライブラリに挿入されるはずであることが、本発明の特徴である。リードイン位置またはDJフィラー位置において、Tyrは許容されるが、20%以下である。

#### 【0280】

## 【表89】

表1070:Jスタンプの割当ての例

|     |    |                                                         |           |
|-----|----|---------------------------------------------------------|-----------|
| A)  | 6  | GLGMDV                                                  | (配列番号977) |
| JH6 |    | YYYYYGM <b>D</b> VW <b>G</b> Q <b>G</b> T <b>T</b> TVSS | (配列番号3)   |
|     |    | 123456789                                               |           |
| B)  | 13 | EPIIW <b>G</b> YYYYGMDV                                 | (配列番号978) |
| JH6 |    | YYYYYGM <b>D</b> VW <b>G</b> Q <b>G</b> T <b>T</b> TVSS | (配列番号3)   |
| C)  | 9  | DFFTSYFDY                                               | (配列番号979) |
| JH4 |    | -----YFDYWG <b>Q</b> G <b>T</b> L <b>V</b> TVSS         | (配列番号1)   |
| D)  | 12 | DRGVSLLGAFDI                                            | (配列番号980) |
| JH3 |    | -----AFDIWG <b>Q</b> G <b>T</b> M <b>V</b> TVSS         | (配列番号2)   |
| E)  | 12 | DSGVVAAADFD\$                                           | (配列番号981) |
| JH4 |    | -----YFDYWG <b>Q</b> G <b>T</b> L <b>V</b> TVSS         | (配列番号1)   |
|     |    | 6789                                                    |           |

表1082は、個々のJ HのJ s t u m pにおけるアミノ酸の使用分布を示す。最も一般的なJ HはJ H 3、J H 4およびJ H 6である。これらはライプラリ構築にとって好ましいJ Hである。表1082は、CDR3においてテトラペプチド配列A F D I (配列番号986)を保有するJ H 3の例が最も多いことを示す。J H 4では、多数がD Yを保有し、大型の分画がCDR3において配列F D Yを保有する。J H 6では、大多数が配列D Vを保有し、多数が配列M D Vを保有し、かなりの分画が配列G M D V (配列番号974)を保有する。配列Y G M D V (配列番号982)、Y Y G M D V (配列番号983)またはY Y Y G M D V (配列番号984)を保有する分画も少なくない。

## 【0281】

5.001(表1097)などのライプラリが、本発明のライプラリに含まれる。ライプラリ5.001は、本出願の他所に記載のように、LCおよびHC CDR1~2を含有する。このライプラリは、HC VH(例えば、3-23)、続いて表1097に示される割合で[ G S R D L Y ]を許容する6、7または8個のアミノ酸を含有する。J s t u m pにおいて、親アミノ酸は、「他の」アミノ酸型の3、4、5、6、7、8、10倍で存在する。「他の」アミノ酸型は、Y、S、D、R、Gを含む。したがって、A 6において、本発明者らは、7/12のAならびに個々に1/12のY、S、D、R、およびGを許容する。F 7において、本発明者らは、7/12のFならびに個々に1/12のY、S、D、RおよびGを許容する。D 8において、本発明者らは、7/11のDならびに1/11のY、S、R、およびGを許容する。I 9において、本発明者らは、7/12のIならびに1/12のY、S、R、D、Gを許容する。親アミノ酸は、他のアミノ酸型より5、6、7、8、10倍可能性が高い。

## 【0282】

表1097のライプラリ5.002が、本発明のライプラリに含まれる。このライプラリは、長さ13、14および15のCDR3を含み、Dセグメントは含まない。G、S、R、D、L、またはYを1:0.57:0.46:0.42:0.36:0.35の比率で、またはそれらに対して合理的な近似で許容する6、7、8個のリードイン残基が存在する。CDR3は、J H 6の一部分: Y Y Y G M D V (配列番号984)で完了する。親配列Y Y Y G M D V (配列番号984)をコードするDNAは、親アミノ酸を用いて他より5、6、7、8または10倍高い可能性で合成される。

## 【0283】

表1097のライプラリ5.003は、本発明のライプラリに含まれる。F R 3の後に、G、S、R、D、L、Yを1.0:0.57:0.46:0.42:0.36:0.35の比率で許容する4、5、または6個のリードイン残基が続く。次に来るのは、Dセグ

メント 3 - 3 . 2 ; 親アミノ酸を 5 倍好み、他のアミノ酸として Y、G、D、R、S を許容するこの領域をコードする DNA である。DJ フィラーは存在せず、最終の 4 個のアミノ酸は、JH3 の Jstump に由来する。Jstump をコードする DNA は、他より可能性が 5 倍高い親アミノ酸 : YSGRD を用いて合成される。

## 【 0 2 8 4 】

表 1097 のライブラリ 5 . 004 は本発明の一部である。示した比率で G S R D L Y を許容する 2、3 または 4 個のリードイン残基が存在する。配列 G Y S S G W Y ( 配列番号 218 ) をコードする DNA は、親アミノ酸が他より 6 倍であるように合成され、2 つの DJ - フィラー残基は、1 . 0 : 0 . 57 : 0 . 46 : 0 . 42 : 0 . 36 : 0 . 35 の比率で許容される G S R D L Y により許容される。AFDI ( 配列番号 986 ) をコードする DNA は、他より 6 倍の親アミノ酸を用いて合成される。

## 【 0 2 8 5 】

ライブラリ 5 . 005 は本発明の一部である。ライブラリ 5 . 005 は、長さ 11 ~ 14 の CDR3 を有するメンバーを含む。FR3 の後に、示した比率で G S R D L Y を許容する 0、1、または 2 個のリードイン残基が存在し、親アミノ酸が、他の許容された型より 6 倍であるように Y G S R D を許容する変動性のある親配列 G Y S S G W Y ( 配列番号 218 ) をコードする DNA が後に続く。D 領域の後に、G S R D L Y を示した比率で許容する 0 または 1 個の DJ フィラー残基がある。最後に、他の許容された型より 6 倍可能性が高い親アミノ酸により Y G S R D を許容する、Jstump ( 配列 : Y F D Y ( 配列番号 985 ) ) に変動性を有する JH3 がある。

## 【 0 2 8 6 】

表 1097 のライブラリ 5 . 006 は、本発明の一部である。CDR3 は長さ 19 ~ 25 であってよい。示した比率で G S R D L Y を許容する 0 から 3 個のリードイン残基がある。リードインの後に D 領域 2 - 2 . 2 がある。2 - 2 . 2 をコードする DNA は、2 つの CyS 残基が固定されていることを除いて、親アミノ酸が、他 ( つまり Y G S R D ) より 6 倍可能性が高いように合成される。2 - 2 . 2 の後に、G S R D L Y を示した比率で許容する 0 から 3 個の DJ フィラー残基がある。JH6 の最初の 9 個の残基をコードする DNA は、親アミノ酸ならびに YSGDR を許容し、親の型は他より 6 倍可能性が高い。

## 【 0 2 8 7 】

## 【 表 90 】

表1001:JHの利用

| JH  | 数     | %     | 1111111112<br>12345678901234567890 | 配列番号 |
|-----|-------|-------|------------------------------------|------|
| JH1 | 1356  | 6.15  | ---AEYFQH <b>WGQGTLVTVSS</b>       | 66   |
| JH2 | 1720  | 7.80  | ---YWYFDL <b>WGQGTLVTVSS</b>       | 67   |
| JH3 | 5601  | 25.39 | ----AFDI <b>WGQGTMVTVSS</b>        | 2    |
| JH4 | 7658  | 34.71 | ----YFDY <b>WGQGTLVTVSS</b>        | 1    |
| JH5 | 1062  | 4.81  | ----NWFDP <b>WGQGTLVTVSS</b>       | 68   |
| JH6 | 4666  | 21.15 | YYYYYGMDV <b>WGQGTTVTVSS</b>       | 3    |
| 総計  | 22063 |       |                                    |      |

## 【 0 2 8 8 】

【表91】

表1010:HC CDR3におけるアミノ酸の利用

| AA | 数      | %     | Rel up | Rel dwn |
|----|--------|-------|--------|---------|
| Y  | 42863  | 15.47 | 35.87  | 1.00    |
| G  | 37512  | 13.54 | 31.39  | 0.88    |
| D  | 34051  | 12.29 | 28.49  | 0.79    |
| S  | 23068  | 8.33  | 19.30  | 0.54    |
| F  | 17813  | 6.43  | 14.91  | 0.42    |
| A  | 15150  | 5.47  | 12.68  | 0.35    |
| R  | 14090  | 5.09  | 11.79  | 0.33    |
| V  | 13834  | 4.99  | 11.58  | 0.32    |
| L  | 12351  | 4.46  | 10.34  | 0.29    |
| I  | 10014  | 3.61  | 8.38   | 0.23    |
| P  | 9514   | 3.43  | 7.96   | 0.22    |
| W  | 9340   | 3.37  | 7.82   | 0.22    |
| T  | 7544   | 2.72  | 6.31   | 0.18    |
| M  | 6093   | 2.20  | 5.10   | 0.14    |
| E  | 6042   | 2.18  | 5.06   | 0.14    |
| N  | 5901   | 2.13  | 4.94   | 0.14    |
| H  | 4403   | 1.59  | 3.68   | 0.10    |
| K  | 3147   | 1.14  | 2.63   | 0.07    |
| O  | 3097   | 1.12  | 2.59   | 0.07    |
| C  | 1195   | 0.43  | 1.00   | 0.03    |
|    | 277022 |       |        |         |

【0289】

## 【表 9 2】

| 表 1015: D領域を欠いた CDR3 のリードインにおけるアミノ酸の頻度 |        |       |        |        |
|----------------------------------------|--------|-------|--------|--------|
| AA                                     | 数      | パーセント | rel up | rel dn |
| G                                      | 23134  | 18.24 | 46.45  | 1.000  |
| S                                      | 13555  | 10.69 | 27.22  | 0.586  |
| R                                      | 10562  | 8.33  | 21.21  | 0.457  |
| D                                      | 9704   | 7.65  | 19.49  | 0.419  |
| L                                      | 8255   | 6.51  | 16.58  | 0.357  |
| Y                                      | 8099   | 6.39  | 16.26  | 0.350  |
| A                                      | 7188   | 5.67  | 14.43  | 0.311  |
| V                                      | 6599   | 5.20  | 13.25  | 0.285  |
| P                                      | 5768   | 4.55  | 11.58  | 0.249  |
| W                                      | 4804   | 3.79  | 9.65   | 0.208  |
| T                                      | 4769   | 3.76  | 9.58   | 0.206  |
| E                                      | 4497   | 3.55  | 9.03   | 0.194  |
| N                                      | 3733   | 2.94  | 7.50   | 0.161  |
| F                                      | 3616   | 2.85  | 7.26   | 0.156  |
| I                                      | 3464   | 2.73  | 6.96   | 0.150  |
| H                                      | 2787   | 2.20  | 5.60   | 0.120  |
| K                                      | 2460   | 1.94  | 4.94   | 0.106  |
| Q                                      | 2124   | 1.67  | 4.27   | 0.092  |
| M                                      | 1225   | 0.97  | 2.46   | 0.053  |
| C                                      | 498    | 0.39  | 1.00   | 0.022  |
|                                        | 126841 |       |        |        |

| 表 1020: HC CDR3 の長さ |      |       |
|---------------------|------|-------|
| 長さ                  | 数    | %     |
| 1                   | 0    | 0.00  |
| 2                   | 6    | 0.03  |
| 3                   | 36   | 0.16  |
| 4                   | 153  | 0.69  |
| 5                   | 121  | 0.55  |
| 6                   | 669  | 3.03  |
| 7                   | 756  | 3.43  |
| 8                   | 1066 | 4.83  |
| 9                   | 2227 | 10.09 |
| 10                  | 2701 | 12.24 |
| 11                  | 2240 | 10.15 |
| 12                  | 2071 | 9.39  |
| 13                  | 2006 | 9.09  |
| 14                  | 1594 | 7.22  |
| 15                  | 1396 | 6.33  |
| 16                  | 1254 | 5.68  |

## 【 0 2 9 0 】

## 【表 9 3】

| 表 1020: HC CDR3 の長さ |       |      |
|---------------------|-------|------|
| 長さ                  | 数     | %    |
| 17                  | 1102  | 4.99 |
| 18                  | 783   | 3.55 |
| 19                  | 588   | 2.67 |
| 20                  | 474   | 2.15 |
| 21                  | 285   | 1.29 |
| 22                  | 237   | 1.07 |
| 23                  | 133   | 0.60 |
| 24                  | 81    | 0.37 |
| 25                  | 32    | 0.15 |
| 26                  | 25    | 0.11 |
| 27                  | 11    | 0.05 |
| 28                  | 6     | 0.03 |
| 29                  | 2     | 0.01 |
| 30                  | 3     | 0.01 |
| 31                  | 2     | 0.01 |
| 32                  | 1     | 0.00 |
| 33                  | 1     | 0.00 |
| 34                  | 0     | 0.00 |
| 35                  | 0     | 0.00 |
| 36                  | 1     | 0.00 |
|                     | 22063 |      |

| 表 1030: D セグメントの利用 |     | 配列番号       |
|--------------------|-----|------------|
| Id                 | 数   | 配列         |
| 1-1.1              | 29  | GTTGT      |
| 1-1.2              | 6   | VQLER      |
| 1-1.3              | 151 | YNWND      |
| 1-7.1              | 34  | GITGT      |
| 1-7.2              | 0   | V*LEL      |
| 1-7.3              | 65  | YNWNY      |
| 1-20.1             | 0   | GITGT      |
| 1-20.2             | 0   | V*LER      |
| 1-20.3             | 0   | YNWND      |
| 1-26.1             | 48  | GIVGAT     |
| 1-26.2             | 3   | V*WELL     |
| 1-26.3             | 220 | YSGSYY     |
| 2-2.1              | 0   | RIL**YQLLY |
| 2-2.2              | 102 | GYCSSTSCYT |
| 2-2.3              | 37  | DIVVVPAAI  |
| 2-8.1              | 0   | RILY@WCMLY |
| 2-8.2              | 23  | GYCTNGVCYT |
| 2-8.3              | 1   | DIVLMVYAI  |
| 2-15.1             | 0   | RIL*WW*LLL |
| 2-15.2             | 139 | GYCSGGSCYS |
|                    |     | 136        |

## 【 0 2 9 1 】

【表 9 4】

| 表 1030: D セグメントの利用 |     |               | 配列番号      |
|--------------------|-----|---------------|-----------|
| Id                 | 数   | 配列            |           |
| 2-15.3             | 12  | DIVVVVAAT     | 172       |
| 2-21.1             | 0   | SILWW\$LLF    | 173       |
| 2-21.2             | 24  | AYCGGDCYS     | 174       |
| 2-21.3             | 6   | HIVVVTAI      | 175       |
| 3-3.1              | 28  | VLRFLEWLLY    | 176       |
| 3-3.2              | 743 | YYDFWSQYYT    | 177       |
| 3-3.3              | 15  | ITIFGVVII     | 178       |
| 3-9.1              | 41  | VLRYFDWLL@    | 179       |
| 3-9.2              | 8   | YYDILTGYYN    | 180       |
| 3-9.3              | 0   | ITIF*LVII     | 181 & 579 |
| 3-10.1             | 26  | VLLWFGELL@    | 182       |
| 3-10.2             | 136 | YYYGSGSYYN    | 81        |
| 3-10.2             | 32  | ITMVRGVII     | 183       |
| 3-16.1             | 0   | VL\$LRLGELSLY | 184       |
| 3-16.2             | 109 | YYDYYWGSYRYT  | 104       |
| 3-16.2             | 8   | IMITFGGVIVI   | 185       |
| 3-22.1             | 0   | VLL***WLLL    | 186       |
| 3-22.2             | 617 | YYDSSGYYY     | 187       |
| 3-22.3             | 2   | ITMIVVVIT     | 188       |
| 4-4.1              | 0   | \$LQ@L        | 189       |
| 4-4.2              | 75  | DYSNY         | 192       |
| 4-4.3              | 165 | TTVT          | 190       |
| 4-11.1             | 0   | \$LQ@L        | 191       |
| 4-11.2             | 0   | DYSNY         | 192       |
| 4-11.3             | 0   | TTVT          | 193       |
| 4-17.1             | 0   | \$LR@L        | 194       |
| 4-17.2             | 392 | DYGDY         | 195       |
| 4-17.3             | 0   | TTVT          | 196       |
| 4-23.1             | 0   | \$LRW@L       | 197       |
| 4-23.2             | 60  | DYGGNS        | 198       |
| 4-23.3             | 16  | TTVVT         | 199       |
| 5-5.1              | 25  | VDTAMV        | 200       |
| 5-5.2              | 29  | WIQLWL        | 201       |
| 5-5.3              | 292 | GYSYGY        | 202       |
| 5-12.1             | 13  | VDIVATI       | 203       |
| 5-12.2             | 0   | WI*WLRL       | 204       |
| 5-12.3             | 200 | GYSGYDY       | 205       |
| 5-18.1             | 0   | VDTAMV        | 206       |
| 5-18.2             | 0   | WIQLWL        | 207       |
| 5-18.3             | 0   | GYSYGY        | 208       |
| 5-24.1             | 9   | VEMATI        | 209       |
| 5-24.2             | 21  | *RWLQL        | 210       |
| 5-24.3             | 44  | RDGYNY        | 211       |
| 6-6.1              | 87  | EYSSSS        | 212       |

【0 2 9 2】

## 【表95】

| 表 1030: D セグメントの利用 |       |         | 配列番号 |
|--------------------|-------|---------|------|
| Id                 | 数     | 配列      |      |
| 6-6.2              | 122   | SIAAR   | 213  |
| 6-6.3              | 1     | V*QLV   | 214  |
| 6-13.1             | 399   | GYSSSWY | 215  |
| 6-13.2             | 170   | GIAAAG  | 216  |
| 6-13.3             | 0     | V*QQLV  | 217  |
| 6-19.1             | 441   | GYSSGWY | 218  |
| 6-19.2             | 104   | GIAVAG  | 219  |
| 6-19.3             | 3     | V*QWLV  | 220  |
| 7-27.1             | 257   | LTG     | 221  |
| 7-27.2             | 0     | @LG     | 222  |
| 7-27.3             | 64    | NWG     | 223  |
| なし                 | 16409 |         |      |

| 表 1040: JH 対 長さ |     |     |     |      |     |     |
|-----------------|-----|-----|-----|------|-----|-----|
| 長さ              | JH1 | JH2 | JH3 | JH4  | JH5 | JH6 |
| 1               | 0   | 0   | 0   | 0    | 0   | 0   |
| 2               | 1   | 4   | 0   | 1    | 0   | 0   |
| 3               | 20  | 2   | 3   | 9    | 0   | 2   |
| 4               | 75  | 3   | 10  | 45   | 8   | 12  |
| 5               | 47  | 6   | 10  | 38   | 8   | 12  |
| 6               | 273 | 14  | 43  | 280  | 26  | 33  |
| 7               | 88  | 27  | 194 | 337  | 30  | 80  |
| 8               | 134 | 43  | 243 | 503  | 41  | 102 |
| 9               | 121 | 70  | 855 | 886  | 61  | 234 |
| 10              | 116 | 693 | 623 | 979  | 68  | 222 |
| 11              | 105 | 81  | 675 | 1003 | 84  | 292 |
| 12              | 107 | 84  | 552 | 905  | 121 | 302 |
| 13              | 87  | 274 | 538 | 672  | 113 | 322 |
| 14              | 48  | 81  | 480 | 532  | 105 | 348 |
| 15              | 50  | 83  | 372 | 421  | 80  | 390 |
| 16              | 28  | 54  | 316 | 322  | 87  | 447 |
| 17              | 27  | 49  | 239 | 334  | 69  | 384 |
| 18              | 11  | 64  | 174 | 140  | 49  | 345 |
| 19              | 8   | 28  | 104 | 99   | 41  | 308 |
| 20              | 4   | 23  | 59  | 56   | 20  | 312 |
| 21              | 0   | 13  | 40  | 30   | 24  | 178 |
| 22              | 3   | 14  | 31  | 30   | 13  | 146 |
| 23              | 1   | 3   | 22  | 12   | 7   | 88  |
| 24              | 0   | 5   | 9   | 12   | 4   | 51  |
| 25              | 1   | 0   | 1   | 3    | 1   | 26  |
| 26              | 0   | 0   | 5   | 5    | 0   | 15  |
| 27              | 0   | 1   | 2   | 1    | 1   | 6   |
| 28              | 1   | 0   | 0   | 2    | 0   | 3   |
| 29              | 0   | 0   | 0   | 0    | 0   | 2   |

## 【0293】

## 【表 9 6】

| 長さ | JH1 | JH2 | JH3 | JH4 | JH5 | JH6 |
|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 30 | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 3   |
| 31 | 0   | 0   | 1   | 0   | 0   | 1   |
| 32 | 0   | 1   | 0   | 0   | 0   | 0   |
| 33 | 0   | 0   | 0   | 1   | 0   | 0   |
| 34 | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   |
| 35 | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   |
| 36 | 0   | 0   | 0   | 0   | 1   | 0   |

表 1050: Dセグメントを含まないリードインにおけるアミノ酸の利用

| AA | 番号     | %     | Rel up | Rel dn |
|----|--------|-------|--------|--------|
| G  | 23134  | 18.24 | 46.45  | 1.00   |
| S  | 13555  | 10.69 | 27.22  | 0.59   |
| R  | 10562  | 8.33  | 21.21  | 0.46   |
| D  | 9704   | 7.65  | 19.49  | 0.42   |
| L  | 8255   | 6.51  | 16.58  | 0.36   |
| Y  | 8099   | 6.39  | 16.26  | 0.35   |
| A  | 7188   | 5.67  | 14.43  | 0.31   |
| V  | 6599   | 5.20  | 13.25  | 0.29   |
| P  | 5768   | 4.55  | 11.58  | 0.25   |
| W  | 4804   | 3.79  | 9.65   | 0.21   |
| T  | 4769   | 3.76  | 9.58   | 0.21   |
| E  | 4497   | 3.55  | 9.03   | 0.19   |
| N  | 3733   | 2.94  | 7.50   | 0.16   |
| F  | 3616   | 2.85  | 7.26   | 0.16   |
| I  | 3464   | 2.73  | 6.96   | 0.15   |
| H  | 2787   | 2.20  | 5.60   | 0.12   |
| K  | 2460   | 1.94  | 4.94   | 0.11   |
| Q  | 2124   | 1.67  | 4.27   | 0.09   |
| M  | 1225   | 0.97  | 2.46   | 0.05   |
| C  | 498    | 0.39  | 1.00   | 0.02   |
|    | 126841 |       |        |        |

| 表 1080: HC CDR3 におけるジペプチド、パート 1 |       |    |      |    |     |    |     |
|---------------------------------|-------|----|------|----|-----|----|-----|
| YY                              | 13565 | FG | 1073 | PL | 591 | TV | 397 |
| FD                              | 11637 | RS | 1072 | TT | 589 | TP | 390 |
| DY                              | 8337  | SW | 1014 | ID | 588 | NA | 389 |
| SG                              | 5979  | DW | 1003 | DD | 583 | NS | 388 |
| GY                              | 5805  | LR | 990  | AS | 570 | ER | 387 |
| YG                              | 5461  | DG | 989  | KG | 566 | HG | 386 |
| DI                              | 5448  | PG | 976  | VD | 556 | VW | 381 |
| AF                              | 4975  | LL | 974  | VP | 551 | QL | 378 |

## 【0 2 9 4】

【表 9 7】

|    |      |    |     |    |     |    |     |
|----|------|----|-----|----|-----|----|-----|
| DV | 4968 | AY | 962 | LT | 540 | RI | 374 |
| GG | 4575 | DR | 923 | LF | 539 | WN | 365 |
| SS | 4491 | VR | 882 | VL | 539 | YT | 365 |
| MD | 4436 | YM | 877 | FY | 534 | CS | 360 |
| GS | 4047 | AR | 872 | PD | 533 | DH | 359 |
| GM | 3501 | VV | 869 | RV | 531 | EA | 359 |
| YF | 3438 | YR | 865 | RF | 525 | WD | 353 |
| YD | 3430 | VA | 857 | AL | 521 | ES | 350 |
| RG | 3118 | RA | 844 | PS | 510 | FR | 349 |
| SY | 2770 | SP | 820 | EY | 508 | YC | 343 |
| GA | 2611 | GN | 812 | LW | 508 | PT | 337 |
| YS | 2576 | HY | 809 | PA | 505 | TL | 326 |
| DA | 2285 | SD | 805 | LP | 500 | KR | 325 |
| DS | 2087 | GI | 804 | VS | 497 | VF | 324 |
| WY | 2079 | NW | 785 | IR | 493 | MG | 314 |
| GD | 2017 | LS | 760 | YY | 493 | PN | 313 |
| GR | 1985 | LY | 757 | VY | 478 | RE | 312 |
| GL | 1800 | TY | 749 | IG | 476 | IV | 311 |
| DL | 1777 | PR | 742 | VT | 475 | KS | 310 |
| DF | 1763 | GE | 737 | TR | 472 | SC | 310 |
| GW | 1725 | SA | 736 | DN | 471 | FL | 309 |
| WS | 1675 | SF | 728 | SI | 469 | FF | 306 |
| AA | 1671 | PF | 725 | AD | 462 | CY | 303 |
| LD | 1651 | ND | 693 | LA | 459 | SH | 302 |
| EG | 1610 | ST | 684 | PP | 451 | LK | 300 |
| AG | 1606 | GH | 683 | RT | 451 | IT | 298 |
| RY | 1558 | YP | 676 | DT | 448 | LE | 298 |
| DP | 1547 | WL | 675 | RW | 447 | FS | 296 |
| GV | 1500 | SN | 667 | GQ | 446 | ED | 294 |
| RR | 1498 | TS | 652 | QG | 446 | RK | 294 |
| LG | 1387 | RD | 648 | TD | 446 | HF | 292 |
| GF | 1386 | YA | 648 | TA | 437 | VI | 290 |
| VG | 1366 | SL | 644 | TF | 426 | RH | 287 |
| GP | 1339 | RP | 643 | GK | 422 | MV | 285 |
| WF | 1282 | YL | 638 | YW | 421 | KY | 284 |
| FW | 1277 | IA | 634 | HD | 420 | AI | 282 |
| NY | 1271 | RL | 627 | IL | 417 | HS | 281 |
| PY | 1209 | EL | 622 | LV | 406 | YH | 281 |
| GT | 1194 | YN | 607 | IS | 402 | LN | 278 |
| WG | 1177 | AV | 605 | NG | 398 | PV | 276 |
| SR | 1162 | AP | 600 | RN | 398 | QY | 276 |

【0 2 9 5】

## 【表 9 8】

|    |      |    |     |    |     |    |     |
|----|------|----|-----|----|-----|----|-----|
| TG | 1142 | AT | 592 | SV | 397 | WA | 271 |
|----|------|----|-----|----|-----|----|-----|

| 表 1080: HC CDR3 におけるジペプチド、パート 2 |     |    |     |    |     |    |    |
|---------------------------------|-----|----|-----|----|-----|----|----|
| QH                              | 267 | KD | 176 | II | 102 | NQ | 53 |
| FQ                              | 264 | SK | 176 | HI | 101 | CF | 51 |
| LI                              | 257 | YK | 176 | KP | 101 | MP | 50 |
| EV                              | 255 | EF | 174 | MY | 100 | CP | 49 |
| AM                              | 253 | FN | 174 | RM | 99  | RC | 47 |
| DQ                              | 250 | HN | 171 | AQ | 98  | HE | 46 |
| HR                              | 250 | FH | 165 | EQ | 96  | VC | 46 |
| PH                              | 248 | YQ | 165 | QT | 96  | QI | 45 |
| AN                              | 242 | KN | 164 | LM | 95  | MN | 44 |
| WR                              | 242 | MA | 163 | HV | 94  | MF | 43 |
| NF                              | 240 | NN | 160 | IK | 93  | HQ | 41 |
| PI                              | 239 | KA | 159 | PM | 93  | CD | 38 |
| TN                              | 239 | SQ | 157 | QN | 93  | CL | 38 |
| TI                              | 238 | PE | 156 | CG | 91  | NC | 38 |
| PW                              | 229 | WV | 154 | QF | 91  | HM | 37 |
| IP                              | 228 | EI | 153 | FI | 90  | FM | 36 |
| QR                              | 227 | TH | 153 | HW | 90  | ME | 36 |
| EW                              | 225 | FV | 152 | WH | 90  | MK | 35 |
| YI                              | 221 | AK | 151 | QV | 89  | QM | 35 |
| FE                              | 220 | TK | 151 | WI | 89  | NM | 34 |
| IY                              | 220 | WT | 151 | KH | 88  | KM | 32 |
| EP                              | 219 | PK | 150 | MI | 88  | TC | 31 |
| NR                              | 217 | KK | 148 | MS | 87  | CR | 29 |
| DM                              | 214 | IW | 145 | TQ | 86  | CV | 25 |
| FA                              | 212 | VH | 145 | NV | 85  | HC | 25 |
| AE                              | 210 | VE | 141 | EM | 84  | WM | 25 |
| IF                              | 210 | EE | 138 | HK | 84  | AC | 24 |
| QW                              | 208 | DE | 136 | IN | 83  | FC | 24 |
| YE                              | 208 | KL | 136 | NH | 82  | CA | 23 |
| FP                              | 201 | PQ | 136 | NI | 82  | CH | 21 |
| TM                              | 201 | QP | 135 | HT | 81  | CN | 21 |
| WE                              | 201 | SM | 134 | WK | 79  | MW | 21 |
| WP                              | 201 | QD | 133 | KF | 77  | PC | 19 |
| AH                              | 199 | QS | 131 | VM | 73  | LC | 17 |
| NP                              | 198 | VQ | 130 | MT | 71  | IC | 16 |
| VN                              | 198 | QQ | 129 | IH | 69  | MM | 16 |
| HA                              | 196 | WW | 129 | EH | 68  | MH | 15 |
| LH                              | 196 | NT | 128 | IE | 67  | WC | 15 |

## 【0 2 9 6】

## 【表 9 9】

| 表 1080: HC CDR3 におけるジペプチド、パート 2 |     |    |     |    |    |    |    |
|---------------------------------|-----|----|-----|----|----|----|----|
| AW                              | 193 | DC | 118 | QK | 65 | EC | 12 |
| HP                              | 192 | KT | 118 | WQ | 65 | CK | 10 |
| HL                              | 191 | QA | 118 | GC | 64 | CW | 10 |
| RQ                              | 191 | NK | 113 | KE | 61 | MQ | 10 |
| TW                              | 186 | KW | 112 | KI | 61 | CI | 9  |
| EN                              | 185 | EK | 109 | CT | 58 | CC | 8  |
| LQ                              | 182 | FT | 108 | FK | 58 | CM | 8  |
| SE                              | 180 | KV | 108 | IM | 57 | CQ | 6  |
| VK                              | 180 | MR | 105 | KQ | 57 | QC | 6  |
| ET                              | 178 | TE | 104 | ML | 55 | CE | 5  |
| DK                              | 177 | HH | 103 | QE | 55 | KC | 5  |
| NL                              | 177 | IQ | 103 | NE | 53 | MC | 3  |

## 【0 2 9 7】

【表100】

| 名前     | 配列           | 配列番号 | 長さ | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15  | 16  | 17 |
|--------|--------------|------|----|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|-----|-----|----|
| 1-1.1  | GTTGT        | 156  | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2  | 2  | 3  | 6  | 2  | 3   | 3   | 4  |
| 1-1.2  | VQLER        | 157  | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 1  | 0  | 1  | 0  | 1   | 2   | 1  |
| 1-1.3  | YNWND        | 158  | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2  | 6  | 14 | 16 | 19 | 16  | 14  | 17 |
| 1-7.1  | GITGT        | 159  | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 1  | 2  | 7  | 6  | 4   | 4   | 0  |
| 1-7.3  | YNWNY        | 161  | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2  | 5  | 7  | 8  | 8  | 6   | 5   | 9  |
| 1-26.1 | GIVGAT       | 164  | 0  | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2  | 4  | 10 | 4  | 6  | 9   | 3   | 2  |
| 1-26.2 | V*WELL       | 165  | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 1  | 0  | 1  | 0   | 0   | 1  |
| 1-26.3 | YSGSYY       | 166  | 0  | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 10 | 14 | 24 | 24 | 27 | 21  | 26  | 13 |
| 2-2.2  | GYCSSTSCT    | 70   | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 2  | 9  | 15  | 15  | 11 |
| 2-2.3  | DIVVVPAAI    | 168  | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 3   | 2   | 5  |
| 2-8.2  | GYCTNGVCYT   | 115  | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0   | 2   | 4  |
| 2-8.3  | DIVIMVYAI    | 170  | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0   | 0   | 0  |
| 2-15.2 | GYCSGGSCYS   | 136  | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 1  | 3  | 5   | 12  | 10 |
| 2-15.3 | DIVVVVVAAT   | 172  | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 1   | 2   | 3  |
| 2-21.2 | AYCGGGDCYS   | 174  | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 1   | 3   | 5  |
| 2-21.3 | HIVVVTAI     | 175  | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 1  | 2  | 0   | 2   | 0  |
| 3-3.1  | VLRFLEWLLY   | 176  | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 2   | 2   | 3  |
| 3-3.2  | YYDFWSGYYT   | 177  | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 1  | 5  | 8  | 22 | 38  | 44  | 72 |
| 3-3.3  | ITIFGVVII    | 178  | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0   | 2   | 5  |
| 3-9.1  | VLRYFDWILL@  | 179  | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  | 4   | 5   | 5  |
| 3-9.2  | YYDILTGYYN   | 180  | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0   | 0   | 1  |
| 3-10.1 | VLLWFGEILL@  | 182  | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 2  | 1  | 2  | 4   | 2   | 3  |
| 3-10.2 | YYYGSGSYNN   | 81   | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2  | 4  | 7  | 10 | 13 | 15  | 18  | 14 |
| 3-10.2 | ITMVRGVII    | 183  | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 3  | 1  | 2  | 7   | 5   | 2  |
| 3-16.2 | YYDYYWGSYRYT | 104  | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 1  | 7  | 7   | 7   | 7  |
| 3-16.2 | IMITFGGVVI   | 185  | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0   | 2   | 2  |
| 3-22.2 | YYDSSGYYY    | 187  | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6  | 30 | 45 | 56 | 59 | 108 | 101 |    |
| 3-22.3 | ITMIVVVVIT   | 188  | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0   | 0   | 0  |

【0298】

【表 101】

| 表 1060a IHC CDR3 の長さ 対 長さ |         | 長さ   |     |     |     |     |      |      |      |      |      |      |      |     |     |     |    |   |
|---------------------------|---------|------|-----|-----|-----|-----|------|------|------|------|------|------|------|-----|-----|-----|----|---|
| 名前                        | 配列      | 配列番号 | 3   | 4   | 5   | 6   | 7    | 8    | 9    | 10   | 11   | 12   | 13   | 14  | 15  | 16  | 17 |   |
| 4-4.2                     | DYSNY   | 192  | 0   | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 3    | 3    | 4    | 6    | 14   | 4   | 7   | 4   | 10 | 6 |
| 4-4.3                     | TTVT    | 190  | 0   | 0   | 0   | 0   | 2    | 4    | 11   | 19   | 23   | 19   | 25   | 19  | 10  | 11  | 9  |   |
| 4-17.2                    | DYGDY   | 195  | 0   | 0   | 2   | 6   | 12   | 8    | 38   | 40   | 48   | 47   | 50   | 40  | 29  | 21  | 10 |   |
| 4-23.2                    | DYGGNS  | 198  | 0   | 0   | 0   | 0   | 0    | 2    | 7    | 4    | 5    | 17   | 4    | 8   | 5   | 1   | 1  |   |
| 4-23.3                    | TTVVT   | 199  | 0   | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 2    | 0    | 1    | 1    | 2   | 1   | 2   | 0  | 0 |
| 5-5.1                     | VDTAMV  | 200  | 0   | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 0    | 1    | 4    | 8    | 1   | 3   | 2   | 0  | 1 |
| 5-5.2                     | WIQLWL  | 201  | 0   | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 3    | 2    | 0    | 3    | 1   | 4   | 3   | 3  |   |
| 5-5.3                     | GYSYGY  | 202  | 0   | 0   | 0   | 0   | 1    | 6    | 9    | 20   | 43   | 29   | 27   | 22  | 32  | 26  | 27 |   |
| 5-12.1                    | VDIVATI | 203  | 0   | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 2    | 0    | 1    | 2    | 4   | 0   | 2   | 1  |   |
| 5-12.3                    | GYSGYDY | 205  | 0   | 0   | 0   | 0   | 4    | 10   | 13   | 15   | 19   | 15   | 22   | 27  | 16  | 15  | 9  |   |
| 5-24.1                    | VEMATI  | 209  | 0   | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 1    | 1    | 0    | 0    | 6    | 0   | 0   | 0   | 0  |   |
| 5-24.2                    | *RWLQL  | 210  | 0   | 0   | 0   | 0   | 1    | 0    | 3    | 1    | 3    | 2    | 2    | 1   | 2   | 2   | 2  |   |
| 5-24.3                    | RDGYNY  | 211  | 0   | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 1    | 8    | 12   | 6    | 7   | 3   | 2   | 1  |   |
| 6-6.1                     | EYSSSS  | 212  | 0   | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 9    | 7    | 16   | 19   | 13  | 2   | 4   | 2  |   |
| 6-6.2                     | SIAAR   | 213  | 0   | 0   | 0   | 1   | 1    | 0    | 17   | 8    | 7    | 13   | 17   | 6   | 16  | 7   |    |   |
| 6-6.3                     | V*QLV   | 214  | 0   | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 1   | 0   | 0   | 0  |   |
| 6-13.1                    | GYSSSWY | 215  | 0   | 0   | 0   | 0   | 0    | 1    | 6    | 11   | 35   | 40   | 56   | 44  | 50  | 42  | 35 |   |
| 6-13.2                    | GIAAAG  | 216  | 0   | 0   | 0   | 0   | 1    | 2    | 18   | 14   | 15   | 20   | 20   | 15  | 16  | 14  | 11 |   |
| 6-19.1                    | GYSSGKY | 218  | 0   | 0   | 0   | 0   | 1    | 1    | 4    | 27   | 57   | 58   | 48   | 52  | 45  | 35  | 30 |   |
| 6-19.2                    | GIAVAG  | 219  | 0   | 0   | 0   | 0   | 1    | 1    | 0    | 7    | 8    | 20   | 8    | 13  | 16  | 8   | 10 |   |
| 6-19.3                    | V*QWLV  | 220  | 0   | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 0    | 1    | 1    | 0    | 0   | 0   | 0   | 0  |   |
| 7-27.1                    | LTG     | 221  | 0   | 0   | 1   | 0   | 2    | 8    | 12   | 7    | 14   | 11   | 17   | 17  | 24  | 24  | 31 |   |
| 7-27.3                    | NWG     | 223  | 0   | 0   | 0   | 1   | 2    | 11   | 6    | 5    | 10   | 6    | 7    | 5   | 7   | 1   | 0  |   |
| なし                        |         | 36   | 153 | 118 | 660 | 726 | 1007 | 2063 | 2463 | 1851 | 1596 | 1502 | 1075 | 874 | 681 | 609 |    |   |

表 1060b IHC CDR3 の長さ 対 長さ18～32に關してどの(もしもあれば)Dセグメントが発生するか

| 表 1060b IHC CDR3 の長さ 対 長さ |       | 長さ   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
|---------------------------|-------|------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 名前                        | 配列    | 配列番号 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 | 31 | 32 |
| 1-1.1                     | GTGTG | 156  | 0  | 1  | 0  | 0  | 1  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |    |
| 1-1.2                     | VQLER | 157  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |    |

【0299】

【表 102】

| 名前     | 配列           | 配列番号 | 長さ | 18 | 19  | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 | 31 | 32 |
|--------|--------------|------|----|----|-----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 1-1.3  | YNWNND       | 158  | 6  | 5  | 3   | 4  | 1  | 1  | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |    |
| 1-7.1  | GITGT        | 159  | 2  | 2  | 1   | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |    |
| 1-7.3  | YNWNWY       | 161  | 5  | 2  | 1   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  |    |
| 1-26.1 | GIVGAT       | 164  | 0  | 0  | 3   | 0  | 1  | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |    |
| 1-26.2 | V*WELL       | 165  | 0  | 0  | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |    |
| 1-26.3 | YSGSYV       | 166  | 14 | 11 | 9   | 8  | 6  | 3  | 3  | 0  | 3  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |    |
| 2-22   | GYCSSTSCT    | 70   | 11 | 7  | 2   | 10 | 11 | 4  | 2  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  |    |
| 2-23   | DIVVVPAAL    | 168  | 2  | 6  | 3   | 4  | 3  | 2  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |    |
| 2-8.2  | GYCTNGVCYT   | 115  | 3  | 0  | 1   | 1  | 3  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |    |
| 2-8.3  | DIVLMVYAL    | 170  | 0  | 0  | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |    |
| 2-15.2 | GYCGGGSCYS   | 136  | 20 | 10 | 7   | 4  | 8  | 9  | 3  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |    |
| 2-15.3 | DIVVVVAAT    | 172  | 0  | 1  | 1   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |    |
| 2-21.2 | AYCGGGDCYS   | 174  | 1  | 3  | 1   | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |    |
| 2-21.3 | HIVVVVTAI    | 175  | 0  | 0  | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |    |
| 3-3.1  | VLRFLEWLLY   | 176  | 6  | 2  | 4   | 3  | 2  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |    |
| 3-3.2  | YYDFFWSGYYT  | 177  | 82 | 97 | 104 | 67 | 61 | 32 | 23 | 7  | 3  | 4  | 0  | 0  | 2  | 1  | 0  |    |
| 3-3.3  | ITIFGVVII    | 178  | 3  | 2  | 0   | 0  | 2  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |    |
| 3-9.1  | VLRYFDWILL@  | 179  | 7  | 2  | 2   | 6  | 1  | 2  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |    |
| 3-9.2  | YYDILITGYN   | 180  | 3  | 2  | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |    |
| 3-10.1 | VLLWFGEILL@  | 182  | 3  | 4  | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |    |
| 3-10.2 | YYYGSGGSYYN  | 81   | 15 | 10 | 8   | 7  | 6  | 3  | 2  | 1  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |    |
| 3-10.2 | ITMVRGVII    | 183  | 3  | 3  | 6   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |    |
| 3-16.2 | YYDYYWGSYRYT | 104  | 11 | 14 | 10  | 18 | 13 | 5  | 2  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  |    |
| 3-16.2 | IMITFGGVIVI  | 185  | 1  | 3  | 1   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |    |
| 3-22.2 | YYDSSGGYY    | 187  | 77 | 54 | 28  | 22 | 18 | 8  | 1  | 2  | 1  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |    |
| 3-22.3 | ITMIVVVIT    | 188  | 1  | 1  | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |    |
| 4-4.2  | DYSNY        | 192  | 7  | 2  | 2   | 1  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |    |
| 4-4.3  | TTVT         | 190  | 4  | 2  | 2   | 1  | 3  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |    |
| 4-17.2 | DYGDY        | 195  | 17 | 7  | 8   | 3  | 2  | 1  | 0  | 1  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |    |
| 4-23.2 | DYGGNS       | 198  | 3  | 1  | 0   | 2  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |    |

【0300】

【表103】

| 名前     | 配列      | 配列番号 | 長さ  |     |    |    |    |    |    |    |    |    | 31 | 32 |   |
|--------|---------|------|-----|-----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|---|
|        |         |      | 18  | 19  | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 |    |   |
| 4-23.3 | TTVVT   | 199  | 2   | 2   | 1  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0 |
| 5-5.1  | VDTAMV  | 200  | 0   | 1   | 1  | 2  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0 |
| 5-5.2  | WIQLWL  | 201  | 3   | 3   | 1  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 1  | 0 |
| 5-5.3  | GYSYGY  | 202  | 13  | 18  | 7  | 2  | 2  | 6  | 0  | 0  | 2  | 0  | 0  | 0  | 0 |
| 5-12.1 | VDIVATI | 203  | 0   | 0   | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0 |
| 5-12.3 | GYSGYDY | 205  | 11  | 10  | 6  | 6  | 0  | 2  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0 |
| 5-24.1 | VEMATI  | 209  | 0   | 1   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0 |
| 5-24.2 | *RWLQL  | 210  | 2   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0 |
| 5-24.3 | RDGYNY  | 211  | 2   | 2   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0 |
| 6-6.1  | EYSSSS  | 212  | 9   | 3   | 1  | 1  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0 |
| 6-6.2  | SIAAR   | 213  | 2   | 3   | 2  | 6  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0 |
| 6-6.3  | V*QLV   | 214  | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0 |
| 6-13.1 | GYSSSWY | 215  | 24  | 22  | 17 | 4  | 5  | 1  | 3  | 2  | 0  | 0  | 1  | 0  | 0 |
| 6-13.2 | GlAAAG  | 216  | 10  | 4   | 2  | 5  | 2  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0 |
| 6-19.1 | GYSSGWY | 218  | 23  | 25  | 13 | 7  | 7  | 3  | 0  | 2  | 1  | 0  | 1  | 0  | 0 |
| 6-19.2 | GlAVAG  | 219  | 6   | 2   | 2  | 0  | 0  | 0  | 2  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0 |
| 6-19.3 | V*QWLV  | 220  | 0   | 1   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0 |
| 7-27.1 | LTG     | 221  | 29  | 23  | 12 | 9  | 7  | 4  | 3  | 1  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0 |
| 7-27.3 | NWG     | 223  | 1   | 0   | 0  | 0  | 2  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0 |
| なL     |         | 339  | 217 | 198 | 85 | 60 | 36 | 27 | 13 | 9  | 2  | 1  | 0  | 0  | 1 |

【0301】

【表 104】

| JH1 ---AEVFQHWWGGTLYTVSS 6.15% |             |   |             |    |             |    |            |             |   |             |    |    |    |            |
|--------------------------------|-------------|---|-------------|----|-------------|----|------------|-------------|---|-------------|----|----|----|------------|
| (配列番号 66)                      |             |   |             |    |             |    |            |             |   |             |    |    |    |            |
| A                              | C           | D | E           | F  | G           | H  | I          | K           | L | M           | N  | P  | Q  | R          |
| 4                              | 41          | 0 | 0           | 0  | 0           | 0  | 0          | 0           | 0 | 0           | 0  | 0  | 0  | 0          |
| 5                              | 1           | 0 | 1           | 64 | 0           | 6  | 0          | 1           | 0 | 0           | 0  | 1  | 2  | 1          |
| 6                              | 0           | 0 | 0           | 0  | 1           | 1  | 0          | 0           | 0 | 3           | 0  | 2  | 1  | 1          |
| 7                              | 1           | 0 | 1           | 0  | <b>363</b>  | 3  | 1          | 0           | 0 | 8           | 0  | 0  | 1  | 6          |
| 8                              | 8           | 0 | 59          | 23 | 4           | 17 | 11         | 3           | 5 | 19          | 0  | 8  | 3  | <b>221</b> |
| 9                              | 2           | 1 | 13          | 2  | 13          | 3  | <b>447</b> | 19          | 2 | 6           | 3  | 20 | 1  | 2          |
| JH2 ---YYWFDLWGRGTLYTVSS 7.80% |             |   |             |    |             |    |            |             |   |             |    |    |    |            |
| (配列番号 67)                      |             |   |             |    |             |    |            |             |   |             |    |    |    |            |
| A                              | C           | D | E           | F  | G           | H  | I          | K           | L | M           | N  | P  | Q  | R          |
| 4                              | 0           | 0 | 0           | 0  | 0           | 0  | 0          | 0           | 0 | 0           | 0  | 0  | 0  | 0          |
| 5                              | 0           | 0 | 2           | 0  | 2           | 11 | 0          | 0           | 0 | 1           | 0  | 0  | 7  | 1          |
| 6                              | 3           | 2 | 9           | 0  | 40          | 5  | 7          | 4           | 1 | 9           | 0  | 7  | 1  | 0          |
| 7                              | 1           | 6 | 1           | 0  | <b>1209</b> | 2  | 6          | 23          | 0 | 89          | 30 | 1  | 2  | 1          |
| 8                              | 31          | 2 | <b>1241</b> | 90 | 4           | 38 | 30         | 3           | 1 | 0           | 1  | 29 | 3  | 2          |
| 9                              | 3           | 1 | 9           | 3  | 34          | 2  | 26         | 17          | 5 | <b>1064</b> | 36 | 17 | 30 | 33         |
| JH3 ---AFDIWGQGTMVTVSS 25.4%   |             |   |             |    |             |    |            |             |   |             |    |    |    |            |
| (配列番号 2)                       |             |   |             |    |             |    |            |             |   |             |    |    |    |            |
| A                              | C           | D | E           | F  | G           | H  | I          | K           | L | M           | N  | P  | Q  | R          |
| 6                              | <b>4374</b> | 0 | 0           | 0  | 0           | 0  | 0          | 0           | 0 | 0           | 0  | 0  | 0  | 0          |
| 7                              | 1           | 4 | 0           | 1  | <b>4612</b> | 2  | 0          | 8           | 0 | 56          | 3  | 2  | 1  | 0          |
| 8                              | 23          | 0 | <b>4765</b> | 51 | 0           | 28 | 14         | 0           | 3 | 0           | 0  | 15 | 2  | 1          |
| 9                              | 7           | 5 | 5           | 0  | 73          | 2  | 1          | <b>4439</b> | 4 | 64          | 64 | 43 | 2  | 1          |

【0302】

【表105】

| JH4 ---YFDYWGQQGTLVTVSS 34.7%  |    |    |             |    |             |             |    |    |    |            |             |
|--------------------------------|----|----|-------------|----|-------------|-------------|----|----|----|------------|-------------|
| (配列番号 1)                       |    |    |             |    |             |             |    |    |    |            |             |
| A                              | C  | D  | E           | F  | G           | H           | I  | K  | L  | M          | N           |
| 6                              | 0  | 0  | 0           | 0  | 0           | 0           | 0  | 0  | 0  | 0          | 0           |
| 7                              | 9  | 1  | 10          | 7  | <b>3950</b> | 31          | 6  | 26 | 0  | 109        | 4           |
| 8                              | 26 | 0  | <b>5991</b> | 32 | 5           | 91          | 19 | 2  | 1  | 6          | 1           |
| 9                              | 5  | 18 | 17          | 0  | 119         | 2           | 0  | 0  | 14 | 0          | 2           |
| JH5 ---NWFDPWGQQGTLVTVSS 4.8%  |    |    |             |    |             |             |    |    |    |            |             |
| (配列番号 68)                      |    |    |             |    |             |             |    |    |    |            |             |
| A                              | C  | D  | E           | F  | G           | H           | I  | K  | L  | M          | N           |
| 5                              | 0  | 0  | 0           | 0  | 0           | 0           | 0  | 0  | 0  | 274        | 0           |
| 6                              | 2  | 1  | 0           | 0  | 0           | 1           | 0  | 0  | 0  | 0          | 0           |
| 7                              | 1  | 1  | 0           | 0  | <b>768</b>  | 2           | 1  | 0  | 13 | 0          | 0           |
| 8                              | 2  | 0  | <b>810</b>  | 3  | 0           | 1           | 0  | 0  | 0  | 1          | 0           |
| 9                              | 3  | 0  | 3           | 0  | 3           | 0           | 0  | 4  | 0  | <b>814</b> | 1           |
| JH6 YYYYGGMDWGGQGTTVTVSS 21.1% |    |    |             |    |             |             |    |    |    |            |             |
| (配列番号 3)                       |    |    |             |    |             |             |    |    |    |            |             |
| A                              | C  | D  | E           | F  | G           | H           | I  | K  | L  | M          | N           |
| 1                              | 0  | 0  | 0           | 0  | 0           | 0           | 0  | 0  | 0  | 0          | 0           |
| 2                              | 4  | 0  | 15          | 0  | 16          | 31          | 12 | 2  | 1  | 4          | 0           |
| 3                              | 3  | 0  | 19          | 3  | 14          | 23          | 16 | 1  | 5  | 9          | 0           |
| 4                              | 4  | 0  | 14          | 2  | 31          | 16          | 25 | 3  | 2  | 10         | 0           |
| 5                              | 2  | 1  | 9           | 1  | 23          | 19          | 21 | 1  | 1  | 3          | 1           |
| 6                              | 69 | 5  | 14          | 1  | 4           | <b>3057</b> | 8  | 1  | 0  | 0          | 8           |
| 7                              | 3  | 0  | 1           | 0  | 4           | 5           | 0  | 18 | 2  | 108        | <b>3866</b> |
| 8                              | 7  | 0  | <b>4064</b> | 5  | 1           | 17          | 4  | 1  | 0  | 2          | 0           |
| 9                              | 9  | 0  | 1           | 0  | 6           | 1           | 1  | 19 | 0  | 7          | 2           |

【0303】

【表106】

| 表1097:HC CDR3のライブライ |            |                                                                            |                                                      |                                                                       |                           |                      |
|---------------------|------------|----------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|---------------------------|----------------------|
| ライブライ               | CDR3<br>長さ | リードイン                                                                      | D領域配列                                                | DJフィラー<br>配列                                                          | Jスタンプ<br>配列               | FR4 配列               |
| 5.001               | 10, 11, 12 | 6, 7, または8<br>X<br>X = (1.0G,<br>.57S,<br>.46R,<br>.42D,<br>.36L,<br>.35Y) | なし                                                   | なし                                                                    | AFDI<br>(テキストにおける多様性)     | WGQGTMVTVSS<br>(JH4) |
| 5.002               | 13, 14, 15 | 6, 7, 8 X<br>X = (1.0G,<br>.57S,<br>.46R,<br>.42D,<br>.36L,<br>.35Y)       | なし                                                   | なし                                                                    | YYYYGMDV<br>(テキストにおける多様性) | WGQGTTVTVSS<br>(jh6) |
| 5.003               | 18, 19, 20 | 4, 5, 6 X =<br>(1.0G,<br>.57S,<br>.46R,<br>.42D,<br>.36L,<br>.35Y)         | YYDFWSGYYT<br>(3-3.2)<br>(配列番号<br>177)               | なし                                                                    | YFDY                      | WGQGTLVTVSS<br>(JH3) |
| 5.004               | 15, 16, 17 | 2, 3, 4 X =<br>(1.0G,<br>.57S,<br>.46R,<br>.42D,<br>.36L,<br>.35Y)         | GYSSGWY<br>(6-19.1)<br>(配列番号<br>218)                 | 2X, X =<br>(1.0G,<br>.57S,<br>.46R,<br>.42D,<br>.36L,<br>.35Y)        | AFDI                      | WGQGTMVTVSS<br>(JH4) |
| 5.005               | 11-14      | 0, 1, 2 X =<br>(1.0G,<br>.57S,<br>.46R,<br>.42D,<br>.36L,<br>.35Y)         | GYSSGWY<br>(6-19.1)<br>(配列番号218)                     | 0, 1 X =<br>(1.0G,<br>.57S,<br>.46R,<br>.42D,<br>.36L,<br>.35Y)       | YFDY                      | WGQGTLVTVSS<br>(JH3) |
| 5.006               | 19-25      | 0, 1, 2, 3 X<br>= (1.0G,<br>.57S,<br>.46R,<br>.42D,<br>.36L,<br>.35Y)      | GYCSGGSCYS<br>(2-2.2)<br>(Cys残基が一定)<br>(配列番号<br>136) | 0, 1, 2, 3 X<br>= (1.0G,<br>.57S,<br>.46R,<br>.42D,<br>.36L,<br>.35Y) | YYYYYYGMDV<br>(親AAは他の8倍)  | WGQGTTVTVSS<br>(jh6) |

## 参照文献

本出願を通して引用された、参考文献、発行された特許、公開または非公開の特許出願を含むすべての参考文献の内容ならびに以下に載せた参考文献は、参考によりその全体が明確に本明細書に組み込まれる。抵触の場合、本出願が、本明細書における任意の定義を含めて、支配するものとする。

【0304】

【数1】

U.S. Published Application 2005-0119455A1

Sidhu et al., *J Mol Biol.* 2004 **338**:299-310.

## 同等物

本発明の多数の実施形態を記載した。にもかかわらず、さまざまな変形が、本発明の趣旨および範囲から逸脱することなく可能であることは理解されるべきであろう。したがって、他の実施形態も、以下の特許請求の範囲内である。