

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6824245号
(P6824245)

(45) 発行日 令和3年2月3日 (2021. 2. 3)

(24) 登録日 令和3年1月14日 (2021. 1. 14)

(51) Int. Cl.	F I
C O 7 K 16/46 (2006. 01)	C O 7 K 16/46 Z N A
C 1 2 N 1/15 (2006. 01)	C 1 2 N 1/15
C 1 2 N 1/19 (2006. 01)	C 1 2 N 1/19
C 1 2 N 1/21 (2006. 01)	C 1 2 N 1/21
C 1 2 N 5/10 (2006. 01)	C 1 2 N 5/10

請求項の数 13 (全 186 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2018-504921 (P2018-504921)	(73) 特許権者	512244819
(86) (22) 出願日	平成28年8月1日 (2016. 8. 1)		アムゲン リサーチ (ミュンヘン) ゲー ーエムペーハー
(65) 公表番号	特表2018-527908 (P2018-527908A)		AMGEN Research (Munich) GmbH
(43) 公表日	平成30年9月27日 (2018. 9. 27)		ドイツ 81477 ミュンヘン シュタ ッフエルゼー シュトラッセ 2
(86) 国際出願番号	PCT/EP2016/068285	(74) 代理人	100102978
(87) 国際公開番号	W02017/021349		弁理士 清水 初志
(87) 国際公開日	平成29年2月9日 (2017. 2. 9)	(74) 代理人	100102118
審査請求日	令和1年7月30日 (2019. 7. 30)		弁理士 春名 雅夫
(31) 優先権主張番号	62/199, 930	(74) 代理人	100160923
(32) 優先日	平成27年7月31日 (2015. 7. 31)		弁理士 山口 裕孝
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)	(74) 代理人	100119507
(31) 優先権主張番号	62/290, 896		弁理士 刑部 俊
(32) 優先日	平成28年2月3日 (2016. 2. 3)		
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 D L L 3 及び C D 3 に結合する二重特異性抗体構築物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

標的細胞表面にあるヒト *d e l t a - l i k e 3* (D L L 3) に結合する第 1 の結合ドメインと、T 細胞表面にあるヒトおよびマカク C D 3 に結合する第 2 の結合ドメインとを含み、前記第 1 の結合ドメインが、配列番号 2 5 8 のアミノ酸配列内の D L L 3 のエピートに結合する、二重特異性抗体構築物。

【請求項 2】

前記第 1 の結合ドメインがさらに、マカク D L L 3 に結合する、請求項 1 に記載の抗体構築物。

【請求項 3】

マカク D L L 3 がカニクイザル (*M a c a c a f a s c i c u l a r i s*) D L L 3 である、請求項 2 に記載の抗体構築物。

【請求項 4】

前記第 2 の結合ドメインが、ヒト C D 3 イブシロン、及びコモンマーモセット (*C a l l i t h r i x j a c c h u s*)、ワタボウシタマリン (*S a g u i n u s O e d i p u s*)、またはコモンリスザル (*S a i m i r i s c i u r e u s*) の C D 3 イブシロンに結合する、請求項 1 に記載の抗体構築物。

【請求項 5】

(*s c F v*)₂、ダイアボディ、及び前記形式のオリゴマーからなる群から選択される形態である、請求項 1 に記載の抗体構築物。

【請求項 6】

前記第 1 の結合ドメインが、以下からなる群から選択される、CDR - H 1、CDR - H 2 及び CDR - H 3 を含む V H 領域と、CDR - L 1、CDR - L 2 及び CDR - L 3 を含む V L 領域とを含む、請求項 1 に記載の抗体構築物：

a) 配列番号 3 1 のアミノ酸配列からなる CDR - H 1、配列番号 3 2 のアミノ酸配列からなる CDR - H 2、配列番号 3 3 のアミノ酸配列からなる CDR - H 3、配列番号 3 4 のアミノ酸配列からなる CDR - L 1、配列番号 3 5 のアミノ酸配列からなる CDR - L 2、及び配列番号 3 6 のアミノ酸配列からなる CDR - L 3；

b) 配列番号 4 1 のアミノ酸配列からなる CDR - H 1、配列番号 4 2 のアミノ酸配列からなる CDR - H 2、配列番号 4 3 のアミノ酸配列からなる CDR - H 3、配列番号 4 4 のアミノ酸配列からなる CDR - L 1、配列番号 4 5 のアミノ酸配列からなる CDR - L 2、及び配列番号 4 6 のアミノ酸配列からなる CDR - L 3；

c) 配列番号 5 1 のアミノ酸配列からなる CDR - H 1、配列番号 5 2 のアミノ酸配列からなる CDR - H 2、配列番号 5 3 のアミノ酸配列からなる CDR - H 3、配列番号 5 4 のアミノ酸配列からなる CDR - L 1、配列番号 5 5 のアミノ酸配列からなる CDR - L 2、及び配列番号 5 6 のアミノ酸配列からなる CDR - L 3；

d) 配列番号 6 1 のアミノ酸配列からなる CDR - H 1、配列番号 6 2 のアミノ酸配列からなる CDR - H 2、配列番号 6 3 のアミノ酸配列からなる CDR - H 3、配列番号 6 4 のアミノ酸配列からなる CDR - L 1、配列番号 6 5 のアミノ酸配列からなる CDR - L 2、及び配列番号 6 6 のアミノ酸配列からなる CDR - L 3；

e) 配列番号 7 1 のアミノ酸配列からなる CDR - H 1、配列番号 7 2 のアミノ酸配列からなる CDR - H 2、配列番号 7 3 のアミノ酸配列からなる CDR - H 3、配列番号 7 4 のアミノ酸配列からなる CDR - L 1、配列番号 7 5 のアミノ酸配列からなる CDR - L 2、及び配列番号 7 6 のアミノ酸配列からなる CDR - L 3；

f) 配列番号 8 1 のアミノ酸配列からなる CDR - H 1、配列番号 8 2 のアミノ酸配列からなる CDR - H 2、配列番号 8 3 のアミノ酸配列からなる CDR - H 3、配列番号 8 4 のアミノ酸配列からなる CDR - L 1、配列番号 8 5 のアミノ酸配列からなる CDR - L 2、及び配列番号 8 6 のアミノ酸配列からなる CDR - L 3；

g) 配列番号 9 1 のアミノ酸配列からなる CDR - H 1、配列番号 9 2 のアミノ酸配列からなる CDR - H 2、配列番号 9 3 のアミノ酸配列からなる CDR - H 3、配列番号 9 4 のアミノ酸配列からなる CDR - L 1、配列番号 9 5 のアミノ酸配列からなる CDR - L 2、及び配列番号 9 6 のアミノ酸配列からなる CDR - L 3；

h) 配列番号 1 0 1 のアミノ酸配列からなる CDR - H 1、配列番号 1 0 2 のアミノ酸配列からなる CDR - H 2、配列番号 1 0 3 のアミノ酸配列からなる CDR - H 3、配列番号 1 0 4 のアミノ酸配列からなる CDR - L 1、配列番号 1 0 5 のアミノ酸配列からなる CDR - L 2、及び配列番号 1 0 6 のアミノ酸配列からなる CDR - L 3；

i) 配列番号 1 1 1 のアミノ酸配列からなる CDR - H 1、配列番号 1 1 2 のアミノ酸配列からなる CDR - H 2、配列番号 1 1 3 のアミノ酸配列からなる CDR - H 3、配列番号 1 1 4 のアミノ酸配列からなる CDR - L 1、配列番号 1 1 5 のアミノ酸配列からなる CDR - L 2、及び配列番号 1 1 6 のアミノ酸配列からなる CDR - L 3。

【請求項 7】

前記第 1 の結合ドメインが、配列番号 3 7 + 3 8、配列番号 4 7 + 4 8、配列番号 5 7 + 5 8、配列番号 6 7 + 6 8、配列番号 7 7 + 7 8、配列番号 8 7 + 8 8、配列番号 9 7 + 9 8、配列番号 1 0 7 + 1 0 8、配列番号 1 1 7 + 1 1 8、配列番号 4 3 5 + 4 3 6、及び配列番号 5 2 9 + 5 3 0 からなる群から選択されるアミノ酸配列の対を含む V H 領域及び V L 領域をそれぞれ含む、請求項 1 に記載の抗体構築物。

【請求項 8】

前記第 1 の結合ドメインが、配列番号 3 9、配列番号 4 9、配列番号 5 9、配列番号 6 9、配列番号 7 9、配列番号 8 9、配列番号 9 9、配列番号 1 0 9、配列番号 1 1 9、配列番号 4 3 7、及び配列番号 5 3 1 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むポリペ

10

20

30

40

50

プチドを含む、請求項 1 に記載の抗体構築物。

【請求項 9】

配列番号 4 0、配列番号 5 0、配列番号 6 0、配列番号 7 0、配列番号 8 0、配列番号 9 0、配列番号 1 0 0、配列番号 1 1 0、配列番号 1 2 0、配列番号 2 1 1、配列番号 2 1 2、配列番号 2 1 3、配列番号 2 1 4、配列番号 2 1 5、配列番号 2 1 6、配列番号 2 1 7、配列番号 4 3 8、及び配列番号 5 3 2 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチドを含む、請求項 5 ~ 8 のいずれか一項に記載の抗体構築物。

【請求項 1 0】

配列番号 5 1 7、配列番号 5 1 8、配列番号 5 1 9、配列番号 5 2 0、配列番号 5 2 1、配列番号 5 2 2、配列番号 5 2 3、および配列番号 5 2 4 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチドを含む、請求項 1 に記載の抗体構築物。

10

【請求項 1 1】

請求項 1 に記載の抗体構築物、および担体、安定剤、賦形剤、希釈剤、可溶化剤、界面活性剤、乳化剤、防腐剤、またはアジュバントを含む、医薬組成物。

【請求項 1 2】

請求項 1 に記載の抗体構築物、および容器、および任意で使用説明書を含むキット。

【請求項 1 3】

腫瘍もしくは癌疾患、または転移性癌疾患の治療のための方法における使用のための、請求項 1 ~ 1 0 のいずれか一項に記載の抗体構築物であって、ここで、前記腫瘍または癌疾患が小細胞肺癌 (S C L C) または黒色腫であり、前記転移性癌疾患が前記いずれかに由来する、前記抗体構築物。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【 0 0 0 1 】

本発明は、標的細胞表面にあるヒト D L L 3 に結合する第 1 の結合ドメインと、T 細胞表面にあるヒト C D 3 に結合する第 2 の結合ドメインとを含む二重特異性抗体構築物に関する。さらに、本発明は、抗体構築物をコードするポリヌクレオチド、前記ポリヌクレオチドを含むベクター、及び前記ポリヌクレオチドまたはベクターで形質転換された、またはトランスフェクトされた宿主細胞を提供する。さらに、本発明は、本発明の抗体構築物の作製方法、前記抗体構築物の医学的使用、及び前記抗体構築物を含むキットを提供する。

30

【背景技術】

【 0 0 0 2 】

小細胞肺癌 (S C L C) は、予後不良な、治療選択肢の限られた進行性肺癌であり、肺癌の新規診断数全体の約 1 5 % を占め、これは年間にして米国で約 2 5 , 0 0 0 件の新規症例、全世界で 1 8 0 , 0 0 0 件の新規症例に相当する。生存率は数十年間、低いままであり、S C L C 患者の 5 年生存数はわずか 5 % である。その理由の大部分は、この形態の肺癌に対抗する新療法が不十分であることによる。大部分の患者は進行期疾患を示すが、患者の約 3 分の 1 は、胸部の片側だけに腫瘍が存在し、それが単一の照射野に収まることによって定義される限局期疾患を示す。このような疾患の段階は利用可能な治療計画に影響を与え、限局期疾患は化学療法及び放射線で治療され、進行期疾患は化学療法単独で治療される。リンパ腫様の特徴を有する播種性転移腫瘍が S C L C の顕著な特徴である。最初に発見された S C L C 患者の診断ではリンパ系の疾患として説明され、1 9 2 6 年まで肺癌であると認識されなかった。このことは、他の固形腫瘍と比べて S C L C 腫瘍に特有な性質の一端を明らかにするものである。

40

【 0 0 0 3 】

患者は通常、エトポシド及びシスプラチンを含む現行の最先端療法に対して良好に応答するが、現状では治療選択肢が提供されていない化学療法抵抗性疾患を示し、決まってすぐに再発する。再発後の難治性状況での予後は極めて悪く、疾患が急速に進行し、生存期間中央値は 6 か月未満と短い。さらに、S C L C 患者は、高血圧、心臓病、糖尿病、及び

50

腫瘍随伴症候群を含む、併存疾患の割合が高い。このことは、SCLC患者が一般に高齢であることと相まって、患者が過酷な化学療法計画に耐える能力に影響し、さらに治療の選択肢を制限する。

【0004】

T細胞上に発現するCD3を認識するscFvと、腫瘍関連抗原を認識する別のscFvとを含む二重特異性抗体様式は、難治性B-A LLなどの血液悪性腫瘍における応答率の高さによって有望な臨床有効性を示し(Topp, M. S. et al. Blood, 2012. 120(26): p. 5185-5187(非特許文献1))、結果、Blincytoが承認を得ている。固形腫瘍適応症ではT細胞誘導療法による有効性はまだ示されていないが、SCLCはこの疾患の播種性を考慮すると、CD3×腫瘍を標的とする二重特異性抗体様式の有望な固形腫瘍適応症である可能性がある。したがって、特異的腫瘍抗原にT細胞を誘導する二重特異性T細胞誘導療法は、SCLC治療における新たな治療選択肢としての新たな可能性を示すものである。

10

【0005】

原発性患者腫瘍のパネルと大規模な正常組織集団でのDLL3 mRNAの有病率を比較した次世代シーケンシングによって、現在、DLL3はSCLC特異的腫瘍抗原として同定された。SCLC腫瘍におけるDLL3の発現レベルは中等度であるものの極めてよく見られ、分析された腫瘍の約90%がRNA-seqによりDLL3発現の証拠を示した。SCLC腫瘍とは対照的に、正常組織では、DLL3転写物の発現は極めて低く、精巢、視神経、及び小脳においてわずかに検出されるに留まった。RNA-seqによるSCLC細胞株及び腫瘍の比較は同様の発現レベルを示したが、SCLC細胞株でのDLL3発現の細胞表面定量では、一般的な発現レベルが2000 DLL3/細胞未満であるのに対して、DLL3の発現レベルが細胞あたり5000未満を示した。DLL3タンパク質の発現をIHCによって確認したところ、SCLC腫瘍の86%がDLL3に対して、均一の膜染色パターンを有する陽性染色を示した。小脳の微弱な染色を除いて、他のすべての正常組織がDLL3染色陰性であった。

20

【0006】

DLL3は非古典的Notchリガンドであり、細胞自律的に機能して、Notchシグナル伝達を阻害し、Notchにシス配置で結合し、それによって古典的Notchシグナル伝達の顕著な特徴である標的細胞内でのNotchの細胞間相互作用及び内在化を阻止する。DLL3の主要な役割は、胚発生中の体節形成にある。DLL3がロックアウトされたマウスは、軸骨格ならびに頭蓋及び神経の発生において区域性欠損を示す。体節パターン形成の欠損はまた、ある種の生殖細胞系列のDLL3変異をもつヒトにおいても見られ、脊椎肋骨異骨症と呼ばれる病態を生じさせる。

30

【0007】

DLL3は、SCLCに加えて神経膠腫の、抗体-薬物コンジュゲート(ADC)を使用した診断及び治療方法に既に提案されている(WO2013/126746(特許文献1))。DLL3は細胞表面上のタンパク質の発現レベルが低く、また、低発現の標的に対してはADCの性能が低下することを考慮すると、ADCによる方法をDLL3に用いることには限界がある可能性がある。さらに、ADC分子は、多くはリンカーの分解で生じる、遊離した弾頭薬物に付随して毒性を示すことが多く、そのため最大耐性用量に限界があり、抗体に対して選択された標的とは無関係な効力に影響する可能性がある。1細胞あたり数百個の標的タンパク質を発現する細胞株で、必要とされる標的に対するT細胞の感受性、及び非常に強力なin vitro細胞傷害性が実証されていることから、DLL3及びCD3を同時に誘導するように設計されたT細胞誘導二重特異性分子にとって、この点が問題となる可能性は低い。さらに、正常抗体(全長IgG)と比べ、通常はサイズの小さい二重特異性T細胞誘導抗体構築物は、DLL3及びCD3標的をより効率的に誘導するため、組織浸透を促して効力を高めることができ、それによりT細胞と標的腫瘍細胞との間のシナプス形成を強化することができる。

40

【先行技術文献】

50

【特許文献】

【0008】

【特許文献1】WO2013/126746

【非特許文献】

【0009】

【非特許文献1】Topp, M. S. et al. Blood, 2012, 120(26): p. 5185 - 5187

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0010】

10

SCLCには未充足の医療ニーズが未だ残されており、この相当数の患者集団の予後を改善する新たな治療選択肢が必要とされている。上記で述べた二重特異性抗体様式は臨床的に立証されており、そのようなDLL3及びCD3を標的とする抗体構築物は、SCLCの治療にとって有望である新たな可能性を示し、この適応症に罹患する患者の生存率を高める可能性を示すものである。DLL3の過剰発現に関連する腫瘍または癌疾患を治療するための利用可能なさらなる選択肢が未だ必要とされているが、本明細書では、DLL3に誘導される第1の結合ドメインと、T細胞上のCD3に誘導される第2の結合ドメインとを有する二重特異性抗体構築物の形態によりこの問題を解決する手段及び方法を提供する。

【課題を解決するための手段】

20

【0011】

したがって、第1の態様では、本発明は、標的細胞表面にあるヒトDLL3に結合する第1の結合ドメインと、T細胞表面にあるヒトCD3に結合する第2の結合ドメインとを含み、当該第1の結合ドメインが、配列番号260に示される領域内に含まれるDLL3のエピトープに結合する、二重特異性抗体構築物を提供する。

[本発明1001]

標的細胞表面にあるヒトDLL3に結合する第1の結合ドメインと、T細胞表面にあるヒトCD3及び少なくともマカクCD3に結合する第2の結合ドメインとを含み、前記第1の結合ドメインが、配列番号260に示される領域内に含まれるDLL3のエピトープに結合する、二重特異性抗体構築物。

30

[本発明1002]

前記第1の結合ドメインがさらに、マカクDLL3、好ましくはカニクイザル(Macaca fascicularis)DLL3に結合する、本発明1001の抗体構築物。

[本発明1003]

前記第2の結合ドメインが、ヒトCD3イプシロン、及びコモンマーモセット(Callithrix jacchus)、ワタボウシタマリン(Saguinus Oedipus)、またはコモンリスザル(Saimiri sciureus)のCD3イプシロンに結合する、本発明1001または1002の抗体構築物。

[本発明1004]

(scFv)₂、scFv単一ドメインmAb、ダイアボディ、及び前記形式のオリゴマーからなる群から選択される形態である、先行本発明のいずれかの抗体構築物。

40

[本発明1005]

前記第1の結合ドメインが、配列番号258に示される領域内に含まれるDLL3のエピトープに結合する、先行本発明のいずれかの抗体構築物。

[本発明1006]

前記第1の結合ドメインが、以下からなる群から選択される、CDR-H1、CDR-H2及びCDR-H3を含むVH領域と、CDR-L1、CDR-L2及びCDR-L3を含むVL領域とを含む、本発明1005の抗体構築物：

a) 配列番号31に示されるCDR-H1、配列番号32に示されるCDR-H2、配列番号33に示されるCDR-H3、配列番号34に示されるCDR-L1、配列番号35に示されるCD

50

R - L2、及び配列番号36に示されるC D R - L3；

b) 配列番号41に示されるC D R - H1、配列番号42に示されるC D R - H2、配列番号43に示されるC D R - H3、配列番号44に示されるC D R - L1、配列番号45に示されるC D R - L2、及び配列番号46に示されるC D R - L3；

c) 配列番号51に示されるC D R - H1、配列番号52に示されるC D R - H2、配列番号53に示されるC D R - H3、配列番号54に示されるC D R - L1、配列番号55に示されるC D R - L2、及び配列番号56に示されるC D R - L3；

d) 配列番号61に示されるC D R - H1、配列番号62に示されるC D R - H2、配列番号63に示されるC D R - H3、配列番号64に示されるC D R - L1、配列番号65に示されるC D R - L2、及び配列番号66に示されるC D R - L3；

e) 配列番号71に示されるC D R - H1、配列番号72に示されるC D R - H2、配列番号73に示されるC D R - H3、配列番号74に示されるC D R - L1、配列番号75に示されるC D R - L2、及び配列番号76に示されるC D R - L3；

f) 配列番号81に示されるC D R - H1、配列番号82に示されるC D R - H2、配列番号83に示されるC D R - H3、配列番号84に示されるC D R - L1、配列番号85に示されるC D R - L2、及び配列番号86に示されるC D R - L3；

g) 配列番号91に示されるC D R - H1、配列番号92に示されるC D R - H2、配列番号93に示されるC D R - H3、配列番号94に示されるC D R - L1、配列番号95に示されるC D R - L2、及び配列番号96に示されるC D R - L3；

h) 配列番号101に示されるC D R - H1、配列番号102に示されるC D R - H2、配列番号103に示されるC D R - H3、配列番号104に示されるC D R - L1、配列番号105に示されるC D R - L2、及び配列番号106に示されるC D R - L3；ならびに

i) 配列番号111に示されるC D R - H1、配列番号112に示されるC D R - H2、配列番号113に示されるC D R - H3、配列番号114に示されるC D R - L1、配列番号115に示されるC D R - L2、及び配列番号116に示されるC D R - L3。

[本発明1007]

前記第1の結合ドメインが、配列番号37、配列番号47、配列番号57、配列番号67、配列番号77、配列番号87、配列番号97、配列番号107、配列番号117、配列番号435、及び配列番号529に示されたものからなる群から選択されるV H領域を含む、本発明1005または1006の抗体構築物。

[本発明1008]

前記第1の結合ドメインが、配列番号38、配列番号48、配列番号58、配列番号68、配列番号78、配列番号88、配列番号98、配列番号108、配列番号118、配列番号436、及び配列番号530に示されたものからなる群から選択されるV L領域を含む、本発明1005～1007のいずれかの抗体構築物。

[本発明1009]

前記第1の結合ドメインが、配列番号37+38、配列番号47+48、配列番号57+58、配列番号67+68、配列番号77+78、配列番号87+88、配列番号97+98、配列番号107+108、配列番号117+118、配列番号435+436、及び配列番号529+530に示されたV H領域とV L領域の対からなる群から選択されるV H領域及びV L領域を含む、本発明1005～1008のいずれかの抗体構築物。

[本発明1010]

前記第1の結合ドメインが、配列番号39、配列番号49、配列番号59、配列番号69、配列番号79、配列番号89、配列番号99、配列番号109、配列番号119、配列番号437、及び配列番号531に示されたものからなる群から選択されるポリペプチドを含む、本発明1005～1009のいずれかの抗体構築物。

[本発明1011]

配列番号40、配列番号50、配列番号60、配列番号70、配列番号80、配列番号90、配列番号100、配列番号110、配列番号120、配列番号211、配列番号212、配列番号213、配列番号214、配列番号215、配列番号216、配列番号217、配列番号438、及び配列番号532に示され

10

20

30

40

50

るものからなる群から選択されるポリペプチドを含む、本発明1005～1010のいずれかの抗体構築物。

[本発明1012]

前記第1の結合ドメインが、配列番号259に示される領域内に含まれるD L L 3のエピトープに結合する、本発明1001～1004のいずれかの抗体構築物。

[本発明1013]

前記第1の結合ドメインが、以下からなる群から選択される、C D R - H1、C D R - H2及びC D R - H3を含むV H領域と、C D R - L1、C D R - L2及びC D R - L3を含むV L領域とを含む、本発明1012の抗体構築物：

a) 配列番号121に示されるC D R - H1、配列番号122に示されるC D R - H2、配列番号123に示されるC D R - H3、配列番号124に示されるC D R - L1、配列番号125に示されるC D R - L2、及び配列番号126に示されるC D R - L3；

b) 配列番号131に示されるC D R - H1、配列番号132に示されるC D R - H2、配列番号133に示されるC D R - H3、配列番号134に示されるC D R - L1、配列番号135に示されるC D R - L2、及び配列番号136に示されるC D R - L3；

c) 配列番号141に示されるC D R - H1、配列番号142に示されるC D R - H2、配列番号143に示されるC D R - H3、配列番号144に示されるC D R - L1、配列番号145に示されるC D R - L2、及び配列番号146に示されるC D R - L3；

d) 配列番号151に示されるC D R - H1、配列番号152に示されるC D R - H2、配列番号153に示されるC D R - H3、配列番号154に示されるC D R - L1、配列番号155に示されるC D R - L2、及び配列番号156に示されるC D R - L3；

e) 配列番号161に示されるC D R - H1、配列番号162に示されるC D R - H2、配列番号163に示されるC D R - H3、配列番号164に示されるC D R - L1、配列番号165に示されるC D R - L2、及び配列番号166に示されるC D R - L3；

f) 配列番号131に示されるC D R - H1、配列番号439に示されるC D R - H2、配列番号133に示されるC D R - H3、配列番号134に示されるC D R - L1、配列番号135に示されるC D R - L2、及び配列番号136に示されるC D R - L3；

g) 配列番号131に示されるC D R - H1、配列番号440に示されるC D R - H2、配列番号133に示されるC D R - H3、配列番号134に示されるC D R - L1、配列番号135に示されるC D R - L2、及び配列番号136に示されるC D R - L3；

h) 配列番号131に示されるC D R - H1、配列番号132に示されるC D R - H2、配列番号133に示されるC D R - H3、配列番号441に示されるC D R - L1、配列番号135に示されるC D R - L2、及び配列番号136に示されるC D R - L3；

i) 配列番号131に示されるC D R - H1、配列番号132に示されるC D R - H2、配列番号133に示されるC D R - H3、配列番号442に示されるC D R - L1、配列番号135に示されるC D R - L2、及び配列番号136に示されるC D R - L3；

j) 配列番号131に示されるC D R - H1、配列番号132に示されるC D R - H2、配列番号133に示されるC D R - H3、配列番号443に示されるC D R - L1、配列番号135に示されるC D R - L2、及び配列番号136に示されるC D R - L3；

k) 配列番号131に示されるC D R - H1、配列番号132に示されるC D R - H2、配列番号133に示されるC D R - H3、配列番号444に示されるC D R - L1、配列番号135に示されるC D R - L2、及び配列番号136に示されるC D R - L3；

l) 配列番号131に示されるC D R - H1、配列番号439に示されるC D R - H2、配列番号133に示されるC D R - H3、配列番号441に示されるC D R - L1、配列番号135に示されるC D R - L2、及び配列番号136に示されるC D R - L3；ならびに

m) 配列番号131に示されるC D R - H1、配列番号440に示されるC D R - H2、配列番号133に示されるC D R - H3、配列番号442に示されるC D R - L1、配列番号135に示されるC D R - L2、及び配列番号136に示されるC D R - L3。

[本発明1014]

前記第1の結合ドメインが、配列番号127、配列番号137、配列番号147、配列番号157、

10

20

30

40

50

配列番号167、配列番号445、配列番号446、配列番号447、配列番号448、配列番号449、配列番号450、配列番号451、配列番号452、配列番号453、配列番号454、及び配列番号455に示されたものからなる群から選択されるV H領域を含む、本発明1012または1013の抗体構築物。

[本発明1015]

前記第1の結合ドメインが、配列番号128、配列番号138、配列番号148、配列番号158、配列番号168、配列番号456、配列番号457、配列番号458、配列番号459、配列番号460、配列番号461、配列番号462、配列番号463、配列番号464、配列番号465、配列番号466、配列番号467、配列番号468、配列番号469、及び配列番号470に示されたものからなる群から選択されるV L領域を含む、本発明1012～1014のいずれかの抗体構築物。

10

[本発明1016]

前記第1の結合ドメインが、配列番号127 + 128、配列番号137 + 138、配列番号147 + 148、配列番号157 + 158、配列番号167 + 168、配列番号137 + 456、配列番号137 + 457、配列番号137 + 458、配列番号137 + 459、配列番号137 + 460、配列番号445 + 138、配列番号446 + 138、配列番号447 + 138、配列番号445 + 460、配列番号448 + 461、配列番号449 + 462、配列番号450 + 463、配列番号450 + 464、配列番号450 + 465、配列番号450 + 466、配列番号450 + 467、配列番号450 + 468、配列番号451 + 463、配列番号452 + 463、配列番号453 + 463、配列番号451 + 468、配列番号454 + 469、及び配列番号455 + 470に示されたV H領域とV L領域の対からなる群から選択されるV H領域及びV L領域を含む、本発明1012～1015のいずれかの抗体構築物。

20

[本発明1017]

前記第1の結合ドメインが、配列番号129、配列番号139、配列番号149、配列番号159、配列番号169、配列番号471、配列番号472、配列番号473、配列番号474、配列番号475、配列番号476、配列番号477、配列番号478、配列番号479、配列番号480、配列番号481、配列番号482、配列番号483、配列番号484、配列番号485、配列番号486、配列番号487、配列番号488、配列番号489、配列番号490、配列番号491、配列番号492、及び配列番号493に示されたものからなる群から選択されるポリペプチドを含む、本発明1012～1016のいずれかの抗体構築物。

[本発明1018]

配列番号130、配列番号140、配列番号150、配列番号160、配列番号170；配列番号218、配列番号219、配列番号220、配列番号494、配列番号495、配列番号496、配列番号497、配列番号498、配列番号499、配列番号500、配列番号501、配列番号502、配列番号503、配列番号504、配列番号505、配列番号506、配列番号507、配列番号508、配列番号509、配列番号510、配列番号511、配列番号512、配列番号513、配列番号514、配列番号515、及び配列番号516に示されたものからなる群から選択されるポリペプチドを含む、本発明1012～1017のいずれかの抗体構築物。

30

[本発明1019]

配列番号517、配列番号518、配列番号519、配列番号520、配列番号521、配列番号522、配列番号523、配列番号524に示されたものからなる群から選択されるポリペプチドを含むかまたはそれからなる、本発明1005～1011のいずれかの抗体構築物。

40

[本発明1020]

先行本発明のいずれかの抗体構築物をコードするポリヌクレオチド。

[本発明1021]

本発明1020のポリヌクレオチドを含むベクター。

[本発明1022]

本発明1020のポリヌクレオチドまたは本発明1021のベクターで形質転換またはトランスフェクトされた宿主細胞。

[本発明1023]

本発明1001～1019のいずれかの抗体構築物の作製方法であって、前記抗体構築物の発現を可能にする条件下で本発明1022の宿主細胞を培養することと、前記作製された抗体構築

50

物を前記培養物から回収することを含む、前記方法。

[本発明1024]

本発明1001～1018のいずれかの抗体構築物、または本発明1023の方法に従って作製された抗体構築物を含む、医薬組成物。

[本発明1025]

腫瘍もしくは癌疾患、または転移性癌疾患の予防、治療、または改善に使用される、本発明1001～1019のいずれかの抗体構築物または本発明1023の方法に従って作製された抗体構築物。

[本発明1026]

腫瘍もしくは癌疾患、または転移性癌疾患の治療または改善のための方法であって、本発明1001～1019のいずれかの抗体構築物または本発明1023の方法に従って作製された抗体構築物をそれを必要とする対象に投与するステップを含む、前記方法。

10

[本発明1027]

前記腫瘍または癌疾患が、肺癌、好ましくはSCLC、乳房、子宮頸部、結腸、結腸直腸、子宮内膜、頭頸部、肝臓、卵巣、膵臓、前立腺、皮膚、胃、精巣、甲状腺、副腎、腎臓、膀胱、子宮、食道、尿路上皮、及び脳の腫瘍または癌、リンパ腫、癌腫、及び肉腫、ならびに前記のいずれかに由来する転移性癌疾患からなる群から選択される、本発明1026の方法または本発明1024の抗体構築物。

[本発明1028]

本発明1001～1019のいずれかの抗体構築物、本発明1023の方法に従って作製された抗体構築物、本発明1020のポリヌクレオチド、本発明1021のベクター、及び/または本発明1022の宿主細胞が含まれるキット。

20

【図面の簡単な説明】

【0012】

【図1】エピトープマッピングでCHO細胞に発現したDLL3 ECD/短縮型DLL3構築物の模式図。膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインはEPCAMに由来する。実施例1を参照のこと。

【図2】抗DLL3抗体構築物のエピトープマッピング。エピトープマッピングによって検出された、それぞれEGF-3ドメイン及びEGF-4ドメインを認識する二重特異性抗体構築物の例。x軸はPE-A (PE=フィコエリトリン、A=シグナル領域)を示し、y軸は計数を示す。実施例2を参照のこと。

30

【図3】フローサイトメトリーによって検出された抗DLL3抗体構築物の交差反応性：ヒト及びマカクのDLL3及びCD3への結合性。x軸はFL2-Hを示し、y軸は計数を示す。実施例5を参照のこと。

【図4】フローサイトメトリーによる抗DLL3抗体構築物の分析：ヒトパラログDLL1及びDLL4への非結合性。x軸はFL1-Hを示し、y軸は計数を示す。実施例6を参照のこと。

【図5】ヒト血漿中で96時間インキュベートした後の抗DLL3抗体構築物の安定性。実施例11を参照のこと。

【図6】抗DLL3抗体構築物の単量体アイソフォームと二量体アイソフォームとの効力差。実施例15を参照のこと。

40

【図7】実施例16に記載した通りに実施したin vitro内在化アッセイ。T細胞を欠く標的細胞(SHP-77)で抗体構築物をブレインキュベートし、内在化に起因する抗体構築物の損失を測定した。結果は有意な内在化が起こらないことを示唆している。内在化が周知である対照標的で得た結果を右側に比較として示す。

【図8】SHP-77モデル(図8A)及びWM266-4モデル(図8B)のマウス異種移植片有効性試験の結果。腫瘍容積を時間に対してプロットしている。実施例18を参照のこと。

【図9】実施例20で測定された、種々のHLE抗体構築物(図9Aのアルブミン融合体及び図9BのFc融合体)の薬物動態。

50

【発明を実施するための形態】

【0013】

本明細書で使用される場合、単数形「a」、「an」、及び「the」は、その内容について別段の明確な指示がない限り、複数の指示対象物を包むことに留意すべきである。したがって、例えば「試薬(reagent)」に関する言及は、1つ以上のそのような異なる試薬を含み、「方法(method)」に関する言及は、本明細書に記載される方法を変更または置き換えることができる、当業者に既知である同等のステップ及び方法に関する言及を含む。

【0014】

別段の指示がない限り、一連の要素に先行する「少なくとも」という用語は、一連の要素のすべてを指すと理解されるべきである。当業者は、本明細書に記載された本発明の特定の実施形態に対する多くの等価物を理解するか、または日常的な実験のみを用いて確認することができる。このような等価物は、本発明に包含されるものとする。

【0015】

本明細書で使用される「及び/または」という用語は、「及び」、「または」、及び「前記用語によって接続された要素のすべてまたは任意の他の組み合わせ」の意味を含む。

【0016】

本明細書で使用される場合、用語「約(aboutまたはapproximately)」は、所与の値または範囲の $\pm 20\%$ 以内、好ましくは $\pm 15\%$ 以内、より好ましくは $\pm 10\%$ 以内、及び最も好ましくは $\pm 5\%$ 以内を意味する。

【0017】

本明細書及び添付の特許請求の範囲を通じて、文脈上、特に必要がない限り、単語「含む(comprise)」、及び「含む(comprises)」もしくは「含む(comprising)」などの変形は、指定された整数もしくはステップ、または整数群もしくはステップ群を包含するが、いかなる他の整数もしくはステップ、または整数群もしくはステップ群をも排除することを意味しないことが理解されるであろう。本明細書で使用される場合、用語「含む(comprising)」は、用語「含有する(containing)」または「含む(including)」と置き換え可能であり、あるいは本明細書で使用される場合、場合によって用語「有する(having)」と置き換え可能である。

【0018】

本明細書で使用される場合、「からなる(consisting of)」は、請求項要素に指定されていない、いかなる要素、ステップ、または成分をも除外する。本明細書で使用される場合、「から本質的になる(consisting essentially of)」は、請求項の基本的かつ新規な特徴に実質的に影響を与えない材料またはステップを除外しない。

【0019】

本明細書の各例において、用語「含む」、「から本質的になる」、及び「からなる」は、他の2つの用語のいずれとも置き換え可能である。

【0020】

用語「抗体構築物」は、構造及び/または機能が、抗体、例えば全長または全免疫グロブリン分子の構造及び/または機能に基づいている分子を指す。したがって、抗体構築物は、その特異的標的または抗原に結合することができる。さらに、本発明による抗体構築物は、標的結合を可能にする抗体の最小構造要件を含む。この最小要件は、例えば、少なくとも3つの軽鎖CDR(すなわち、VL領域のCDR1、CDR2、及びCDR3)及び/または3つの重鎖CDR(すなわち、VH領域のCDR1、CDR2、及びCDR3)、好ましくは6つすべてのCDRの存在によって特定することができる。本発明による構築物を基にした抗体は、例えば、モノクローナル抗体、組換え抗体、キメラ抗体、脱免疫(deimmunized)抗体、ヒト化抗体、及びヒト抗体を含む。

【0021】

本発明による「抗体構築物」の定義内には、バイオテクノロジーまたはタンパク質工学の方法またはプロセスによって作製されるラクダ抗体及び他の免疫グロブリン抗体も含む全長抗体または全抗体である。これらの全長抗体は、例えば、モノクローナル抗体、組換え抗体、キメラ抗体、脱免疫抗体、ヒト化抗体、及びヒト抗体であり得る。VH、VHH、VL、(s)dAb、Fv、Fd、Fab、Fab'、F(ab')₂、または「rIgG」(「半抗体」)などの、全長抗体の断片もまた「抗体構築物」の定義内である。本発明による抗体構築物はまた、抗体変種とも称される改変された抗体断片、例えば、scFv、di-scFvもしくはbi(s)-scFv、scFv-Fc、scFvジッパー、scFab、Fab₂、Fab₃、ダイアボディ、一本鎖ダイアボディ、タンデムダイアボディ(Tandab's)、タンデムdi-scFv、タンデムtri-scFv、以下の構造によって例示される「ミニボディ」:(VH-VL-CH₃)₂、(scFv-CH₃)₂、((scFv)₂-CH₃)+CH₃、((scFv)₂-CH₃)、もしくは(scFv-CH₃-scFv)₂、マルチボディ、例えばトリアボディもしくはテトラボディ、及び単ドメイン抗体、例えばナノボディ、または他のV領域もしくはドメインの抗原もしくはエピトープに独立して特異的に結合するVHH、VH、もしくはVLであり得る可変ドメインを1つだけ含む単一可変ドメイン抗体であり得る。本発明による抗体構築物のさらに好ましい形態は、クロスボディ、マキシボディ、ヘテロFc構築物、及びモノFc構築物である。これらの形態の例を以下に説明する。

【0022】

結合ドメインは一般に、抗体軽鎖可変領域(VL)及び抗体重鎖可変領域(VH)を含み得るが、その両方を含む必要はない。Fd断片は、例えば、2つのVH領域を有し、多くの場合、無傷の抗原結合ドメインの抗原結合機能を一部保持している。抗体断片、抗体変種、または結合ドメインの形態の追加例としては、(1)VL、VH、CL、及びCH1ドメインを有する一価断片であるFab断片；(2)ヒンジ領域でジスルフィド架橋によって連結された2つのFab断片を有する二価断片であるF(ab')₂断片；(3)2つのVH及びCH1ドメインを有するFd断片；(4)抗体の単一アームのVL及びVHドメインを有するFv断片、(5)VHドメインを有するdAb断片(Ward et al., (1989) Nature 341:544-546)；(6)単離された相補性決定領域(CDR)、ならびに(7)一本鎖Fv(scFv)が挙げられ、最後のものが好ましい(例えば、scFvライブラリ由来)。本発明による抗体構築物の実施形態の例は、例えば、WO00/006605、WO2005/040220、WO2008/119567、WO2010/037838、WO2013/026837、WO2013/026833、US2014/0308285、US2014/0302037、WO2014/144722、WO2014/151910、及びWO2015/048272に記載されている。

【0023】

さらに、用語「抗体構築物」の定義には、一価、二価、及び多価(polyvalent/multivalent)構築物が含まれ、したがって1つの抗原性構造にのみ特異的に結合する単一特異性構築物、ならびに異なった結合ドメインを通じて2つ以上の抗原性構造、例えば2つ、3つまたはそれ以上と特異的に結合する二重特異性及び多特異性(polyspecific/multispecific)構築物を含む。さらに、用語「抗体構築物」の定義には、1つのポリペプチド鎖のみからなる分子、ならびに同一鎖(ホモ二量体、ホモ三量体、またはホモオリゴマー)でも異なる鎖(ヘテロ二量体、ヘテロ三量体、またはヘテロオリゴマー)でもあり得る2つ以上のポリペプチド鎖からなる分子を含む。上記で特定した抗体及びその変種または誘導体の例は、特に、Harlow and Lane, Antibodies a laboratory manual, CSHL Press (1988) and Using Antibodies: a laboratory manual, CSHL Press (1999), Kontermann and Dubel, Antibody Engineering, Springer, 2nd ed. 2010 and Little, Recombinant A

10

20

30

40

50

ntibodies for Immunotherapy, Cambridge University Press 2009に記載されている。

【0024】

本発明の抗体構築物は、好ましくは、「*in vitro*で作製された抗体構築物」である。本用語は、可変領域の全部または一部（例えば、少なくとも1つのCDR）が非免疫細胞の選択、例えば*in vitro*ファージディスプレイ、タンパク質チップ、または候補配列の抗原結合能を試験することができる任意の他の方法により作製される、上記定義による抗体構築物を指す。したがって、この用語は、好ましくは、動物の免疫細胞でのゲノム再編成によってのみ作製される配列を除外する。「組換え抗体」は、組換えDNA技術または遺伝子工学を用いて作製された抗体である。

10

【0025】

本明細書で使用される場合、用語「モノクローナル抗体」(mAb)またはモノクローナル抗体構築物は、実質的に均一な抗体の集団から得られた抗体、すなわち、少量存在する可能性がある天然の変異及び/または翻訳後修飾（例えば、異性化、アミド化）を除き同一である集団を含む個々の抗体を意味する。モノクローナル抗体は高度に特異的であり、異なる決定基（またはエピトープ）に対する異なる抗体を一般的に含む従来の（ポリクローナル）抗体調製物とは対照的に、抗原上の単一の抗原部位または決定基に対して誘導される。その特異性に加えて、モノクローナル抗体は、ハイブリドーマ培養によって合成されるため、他の免疫グロブリンが混入しない点で有利である。修飾語「モノクローナル」は、実質的に均一な抗体集団から得られるという抗体の特徴を示し、任意の特定の方法による抗体の産生を必要とすると解釈されるべきではない。

20

【0026】

モノクローナル抗体の調製には、連続細胞株培養により抗体の産生をもたらす任意の技術を用いることができる。例えば、使用されるモノクローナル抗体は、Koehler et al., Nature 256:495 (1975)によって最初に記載されたハイブリドーマ法によって作製することも、または組換えDNA法（例えば、米国特許第4,816,567号を参照のこと）によって作製することもできる。ヒトモノクローナル抗体を産生するさらなる技術の例としては、トリオーマ技術、ヒトB細胞ハイブリドーマ技術(Kozbor, Immunology Today 4(1983), 72)、及びEBV-ハイブリドーマ技術(Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc. (1985), 77-96)が挙げられる。

30

【0027】

次いでハイブリドーマを、酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)及び表面プラズモン共鳴(BIACORE(商標))分析などの標準的な方法を使用してスクリーニングし、指定された抗原に特異的に結合する抗体を産生する1つ以上のハイブリドーマを同定することができる。例えば、組換え抗原、天然に存在する形態、そのいずれもの変種または断片、ならびにその抗原性ペプチドなど、どの形態の関連抗原でも免疫原として使用することができる。BIACOREシステムで採用されている表面プラズモン共鳴を使用すると、DLL3またはCD3イプシロンなどの、標的抗原のエピトープにファージ抗体が結合する効率を高めることができる(Schier, Human Antibodies Hybridomas 7(1996), 97-105; Malmberg, J. Immunol. Methods 183(1995), 7-13)。

40

【0028】

モノクローナル抗体を作製する別の例示的な方法としては、タンパク質発現ライブラリ、例えばファージディスプレイまたはリボソームディスプレイライブラリのスクリーニングが挙げられる。ファージディスプレイは、例えば、米国特許第5,223,409号; Smith(1985) Science 228:1315-1317、Clackson et al., Nature, 352:624-628(1991)、及びMarks et al., J. Mol. Biol., 222:581-597(1991)に記

50

載されている。

【0029】

ディスプレイライブラリの使用に加えて、関連抗原を、ヒト以外の動物、例えば齧歯類（マウス、ハムスター、ウサギ、またはラットなど）の免疫化に使用することができる。一実施形態では、ヒト以外の動物は、ヒト免疫グロブリン遺伝子の少なくとも一部を含む。例えば、マウス抗体産生の欠損するマウス系統を、ヒトIg（免疫グロブリン）遺伝子座の大きな断片を用いて改変することが可能である。ハイブリドーマ技術を用いて、望ましい特異性を有する遺伝子由来の抗原特異的モノクローナル抗体を作製し、選択することができる。例えば、XENOMOUSE（商標）、Green et al. (1994) Nature Genetics 7:13-21、US2003-0070185、WO96/34096、及びWO96/33735を参照のこと。

10

【0030】

モノクローナル抗体はまた、ヒト以外の動物から得た後、当技術分野で既知の組換えDNA技術を用いて、例えば、ヒト化、脱免疫、キメラ化などの改変を行うことができる。改変抗体構築物の例には、ヒト以外の抗体のヒト化変種、「親和性成熟」抗体（例えば、Hawkins et al., J. Mol. Biol. 254, 889-896 (1992) 及びLowman et al., Biochemistry 30, 10832-10837 (1991)を参照のこと）、及びエフェクター機能（複数可）が改変された抗体変異体（例えば、米国特許第5,648,260号、前掲のKontermann and Dubel (2010)、及び前掲のLittle (2009)を参照のこと）を含む。

20

【0031】

免疫学において親和性成熟とは、免疫反応の過程で抗原に対する親和性の増加した抗体をB細胞が産生する過程である。同一抗原への反復暴露により、宿主は親和性が連続的に増加する抗体を産生する。天然のプロトタイプと同様に、in vitro親和性成熟は、変異と選択の原理に基づいている。in vitro親和性成熟は、抗体、抗体構築物、及び抗体断片の最適化に使用され、成功を収めている。CDR内部のランダム変異は、放射線、化学的変異原、またはエラープローンPCR法を用いて導入される。また、遺伝的多様性は、鎖シャッフリングによって増加させることができる。ファージディスプレイなどの提示方法を用いた、2または3ラウンドの変異と選択により、通常は低ナノモル範囲の親和性を有する抗体断片が得られる。

30

【0032】

抗体構築物の好ましいアミノ酸置換変種型は、親抗体（例えば、ヒト化抗体またはヒト抗体）の1つ以上の超可変領域残基の置換を含むものである。一般に、さらなる開発を目的とする選択の結果、得られる変種（複数可）は、元となる親抗体と比べて改善された生物学的特性を有する。そのような置換変種を作製する簡便な方法には、ファージディスプレイを用いる親和性成熟を伴う。簡潔に説明すると、いくつかの超可変領域部位（例えば、6~7部位）が、それぞれの部位で可能なアミノ酸置換がすべて生じるように変異される。そのようにして生成された抗体変種は、各粒子内にパッケージされたM13の遺伝子III産物との融合体として、繊維状ファージ粒子から一価形態で提示される。次いでファージディスプレイされた変種を、本明細書に開示されるそれらの生物学的活性（例えば、結合親和性）についてスクリーニングする。改変される超可変領域部位候補を同定するには、アラニンスキャン変異導入法を実行して、抗原結合に有意に寄与する超可変領域残基を同定することができる。あるいはまたは加えて、結合ドメインと例えばヒトD_LL₃との接触点を同定するために、抗原-抗体複合体の結晶構造を分析することが有益な場合がある。そのような接触残基及び隣接残基が、本明細書で詳述する技術による置換の候補である。そのような変種を作製した後、変種のパネルに対して、本明細書に記載されるスクリーニングを施し、1つ以上の関連するアッセイにおいて優れた特性を示す抗体を以降の開発のために選択することができる。

40

【0033】

50

本発明のモノクローナル抗体及び抗体構築物は、具体的には、重鎖及び／または軽鎖の一部が、ある特定の種に由来するかまたはある特定の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体の対応する配列と同一または相同であるが、その鎖（複数可）の残りの部分は別の種に由来するかまたは別の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体の対応する配列と同一または相同である、「キメラ」抗体（免疫グロブリン）、ならびに望ましい生物学的活性を示す限り、そのような抗体の断片を含む（米国特許第4,816,567号；Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984)）。本明細書で目的とするキメラ抗体には、ヒト以外の霊長類（例えば、旧世界ザル、類人猿など）由来の可変ドメイン抗原結合配列及びヒト定常領域配列を含む「霊長類化」抗体を含む。キメラ抗体を作製する様々な手法が記載されている。例えば、Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 81:6851, 1985; Takeda et al., Nature 314:452, 1985; Cabilly et al., 米国特許第4,816,567号; Boss et al., 米国特許第4,816,397号; Tanaguchi et al., EP0171496; EP0173494; 及びGB 2177096を参照のこと。

【0034】

抗体、抗体構築物、抗体断片、または抗体変種はまた、WO98/52976またはWO00/34317に開示される方法によるヒトT細胞エピトープの特異的欠失（「脱免疫化」と呼ばれる方法）によって改変することもできる。簡潔に説明すると、MHCクラスIIに結合するペプチドについて、抗体の重鎖及び軽鎖可変ドメインを分析することができる。このペプチドが、潜在性T細胞エピトープ（WO98/52976及びWO00/34317に定義）となる。潜在性T細胞エピトープの検出には、WO98/52976及びWO00/34317に記載されるように、「ペプチドスレッディング（peptide threading）」と呼ばれるコンピューターモデリング手法を使用することができ、加えて、ヒトMHCクラスII結合ペプチドのデータベースで、VH及びVL配列に存在するモチーフを検索することができる。これらのモチーフは、18個の主要MHCクラスII DRアロタイプのいずれかに結合するため、潜在性T細胞エピトープとなる。検出された潜在性T細胞エピトープは、可変ドメイン内の少数のアミノ酸残基を置換することによって、または好ましくは単一のアミノ酸置換によって除去することができる。通常は保存的置換を行う。すべてではないが多くの場合、ヒト生殖細胞系列の抗体配列内の位置に共通するアミノ酸を使用することができる。ヒト生殖細胞系列配列については、例えば、Tomlinson, et al. (1992) J. Mol. Biol. 227:776-798; Cook, G. P. et al. (1995) Immunol. Today Vol. 16(5):237-242; 及びTomlinson et al. (1995) EMBO J. 14:14:4628-4638に開示されている。VBASEディレクトリは、ヒト免疫グロブリン可変領域配列の総合的なディレクトリを提供する（Tomlinson, L.A. et al. MRC Centre for Protein Engineering, Cambridge, UKによる編集）。これらの配列をヒト配列の供給源として、例えばフレームワーク領域及びCDRに使用することができる。例えば米国特許第6,300,064号に記載されるコンセンサスヒトフレームワーク領域を使用することもできる。

【0035】

「ヒト化」抗体、抗体構築物、またはそれらの変種もしくは断片（Fv、Fab、Fab'、F(ab')₂、または抗体の他の抗原結合部分配列）とは、ヒト以外の免疫グロブリン由来の配列（複数可）を最小限に含む、大部分がヒト配列である抗体または免疫グロブリンである。主としてヒト化抗体は、レシピエントの超可変領域（またはCDR）由来の残基が、望ましい特異性、親和性、及び能力を有するヒト以外（例えば齧歯類）の種（ドナー抗体）、例えばマウス、ラット、ハムスター、またはウサギの超可変領域由来の残基で置換されているヒト免疫グロブリン（レシピエント抗体）である。場合によって、

ヒト免疫グロブリンのFvフレームワーク領域(FR)残基は、対応するヒト以外の残基で置換される。さらに、本明細書で使用される場合、「ヒト化抗体」はまた、レシピエント抗体にもドナー抗体にも見られない残基を含み得る。このような改変は、抗体の性能をさらに改良し、最適化するためになされる。ヒト化抗体はまた、免疫グロブリン定常領域(Fc)、通常はヒト免疫グロブリンの定常領域の少なくとも一部分を含み得る。詳細については、Jones et al., Nature, 321: 522-525 (1986); Reichmann et al., Nature, 332: 323-329 (1988); 及び Presta, Curr. Op. Struct. Biol., 2: 593-596 (1992) を参照のこと。

【0036】

ヒト化抗体またはその断片は、抗原結合に直接関与しないFv可変ドメインの配列をヒトFv可変ドメイン由来の等価な配列で置換することによって作製することができる。ヒト化抗体またはその断片を作製するための例示的な方法は、Morrison (1985) Science 229: 1202-1207、Oiet al. (1986) Bio Techniques 4: 214、ならびにUS5,585,089、US5,693,761、US5,693,762、US5,859,205、及びUS6,407,213に示されている。この方法には、重鎖または軽鎖の少なくとも1つに由来する免疫グロブリンFv可変ドメインのすべてまたは一部分をコードする核酸配列を単離、操作、及び発現することを含む。そのような核酸は、上記のような、所定の標的に対する抗体を産生するハイブリドーマのほか、他の供給源から得ることができる。次いでヒト化抗体分子をコードする組換えDNAを、適切な発現ベクターにクローニングすることができる。

【0037】

ヒト化抗体はまた、ヒト重鎖及び軽鎖遺伝子を発現するが、内在性のマウス免疫グロブリン重鎖及び軽鎖遺伝子を発現することができないトランスジェニック動物、例えばマウスを用いて産生することもできる。Winterは、本明細書に記載されるヒト化抗体の調製に使用することができる例示的なCDR移植法を記載している(米国特許第5,225,539号)。特定のヒト抗体のCDRのすべてが、ヒト以外のCDRの少なくとも一部分で置換されていても、またはCDRの一部のみがヒト以外のCDRで置換されていてもよい。所定の抗原に対するヒト化抗体の結合に必要とされる数のCDRのみを置換する必要がある。

【0038】

ヒト化抗体は、保存的置換、コンセンサス配列置換、生殖細胞系列置換、及び/または復帰変異の導入によって最適化することができる。そのような改変された免疫グロブリン分子は、当技術分野で既知である複数の技術のいずれによっても作製することができる(例えば、Teng et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 80: 7308-7312, 1983、Kozbor et al., Immunology Today, 4: 7279, 1983、Olsson et al., Meth. Enzymol., 92: 3-16, 1982、及びEP239400を参照)。

【0039】

用語「ヒト抗体」、「ヒト抗体構築物」、及び「ヒト結合ドメイン」は、例えば、Kabate et al. (1991) (前掲) によって記載されたものを含む、当技術分野で既知のヒト生殖細胞系列免疫グロブリン配列に実質的に対応する抗体領域、例えば可変及び定常領域またはドメインを有する抗体、抗体構築物、及び結合ドメインを含む。本発明のヒト抗体、抗体構築物、または結合ドメインは、ヒト生殖細胞系列の免疫グロブリン配列によってコードされないアミノ酸残基(例えば、in vitroでのランダム変異誘発もしくは部位特異的変異誘発によって、またはin vivoでの体細胞変異によって導入される変異)を、例えばCDR、特にCDR3に含み得る。このヒト抗体、抗体構築物、または結合ドメインは、ヒト生殖細胞系列の免疫グロブリン配列によってコードされないアミノ酸残基で置換された、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、またはそれ以上の位置を有し得る。本明細書で使用される場合、ヒト抗体、抗体構築物、及び結合

ドメインの定義はまた、Xenomouseなどの技術またはシステムを使用することによって得ることができる、非人為的及び/または遺伝的に改変された抗体のヒト配列のみを含む完全ヒト抗体を想定している。

【0040】

いくつかの実施形態では、本発明の抗体構築物は、「単離された」または「実質的に純粋な」抗体構築物である。本明細書に開示される抗体構築物を記載するために使用される場合、「単離された」または「実質的に純粋な」は、その産生環境の成分から同定、分離、及び/または回収された抗体構築物を意味する。好ましくは、抗体構築物は、その産生環境由来のすべての他の成分を付随しないか、または実質的に付随しない。組換えトランスフェクト細胞から生じる成分などの、その産生環境の混入成分は、通常はポリペプチドの診断または治療用途を妨げる物質であり、これには酵素、ホルモン、及び他のタンパク質性または非タンパク質性溶質を含み得る。抗体構築物は、例えば、所与のサンプル中の全タンパク質の少なくとも約5重量%または少なくとも約50重量%を構成し得る。単離されたタンパク質は、環境に応じて総タンパク質含量の5重量%~99.9重量%を構成し得ると理解される。ポリペプチドが高い濃度レベルで生成されるように、誘導性プロモーターまたは高発現プロモーターの使用によって有意に高濃度でポリペプチドを生成することができる。この定義には、当技術分野で既知の多種多様な生物体及び/または宿主細胞での抗体構築物の産生を含む。好ましい実施形態では、抗体構築物は、(1)スピニングカップシークエネーター(spinning cup sequenator)を使用して、N末端もしくは内部アミノ酸配列の少なくとも15残基を得るのに十分な程度まで、または(2)クマシーブルーもしくは好ましくは銀染色を用いた非還元もしくは還元条件下でのSDS-PAGEによる均一性まで精製される。ただし、通常、単離された抗体構築物は、少なくとも1つの精製工程によって調製される。

【0041】

用語「結合ドメイン」は、本発明に関連して、標的分子(抗原)上の所与の標的エピートプまたは所与の標的部位、すなわち本明細書ではそれぞれDLL3及びCD3と(特異的に)結合する/それらと相互作用する/それらを認識するドメインとみなす。第1の結合ドメイン(DLL3を認識する)の構造及び機能、好ましくは第2の結合ドメイン(CD3を認識する)の構造及び/または機能も、抗体の、例えば全長免疫グロブリン分子または全免疫グロブリン分子の構造及び/または機能に基づく。本発明によれば、第1の結合ドメインは、3つの軽鎖CDR(すなわち、VL領域のCDR1、CDR2、及びCDR3)及び/または3つの重鎖CDR(すなわち、VH領域のCDR1、CDR2、及びCDR3)の存在を特徴とする。第2の結合ドメインはまた、好ましくは、標的結合を可能にする抗体の最小構造要件を含む。より好ましくは、第2の結合ドメインは、少なくとも3つの軽鎖CDR(すなわち、VL領域のCDR1、CDR2、及びCDR3)及び/または3つの重鎖CDR(すなわち、VH領域のCDR1、CDR2、及びCDR3)を含む。第1及び/または第2の結合ドメインは、既存の(モノクローナル)抗体由来のCDR配列を足場に移植する以外に、ファージディスプレイまたはライブラリスクリーニング法によって作製されるか、または入手されることを想定している。

【0042】

本発明によれば、結合ドメインは1つ以上のポリペプチドの形態である。そのようなポリペプチドは、タンパク質性部分及び非タンパク質性部分(例えば、化学的リンカーまたはグルタルアルデヒドなどの化学的架橋剤)を含んでもよい。タンパク質(その断片、好ましくは生物学的に活性な断片、及び通常30未満のアミノ酸を有するペプチドを含む)は、共有ペプチド結合を通じて相互に連結された(結合によってアミノ酸の鎖を形成する)2つ以上のアミノ酸を含む。本明細書で使用される場合、用語「ポリペプチド」は、通常30超のアミノ酸からなる分子群を表す。ポリペプチドはさらに、二量体、三量体、及びより高次のオリゴマーなどの多量体を形成する、すなわち複数のポリペプチド分子からなる場合もある。そのような二量体、三量体などを形成するポリペプチド分子は、同一であっても、同一でなくてもよい。そのような多量体の対応する高次構造は、したがってホ

モまたはヘテロ二量体、ホモまたはヘテロ三量体などと称される。ヘテロ多量体の例は、その天然形態において、2つの同一のポリペプチド軽鎖及び2つの同一のポリペプチド重鎖からなる抗体分子である。用語「ペプチド」、「ポリペプチド」、及び「タンパク質」はまた、例えばグリコシル化、アセチル化、リン酸化などのような翻訳後修飾による修飾がなされた天然修飾ペプチド/ポリペプチド/タンパク質を指す。本明細書で言及される場合、「ペプチド」、「ポリペプチド」、または「タンパク質」はまた、PEG化などの化学修飾されたものであり得る。そのような修飾は、当技術分野で周知であり、本明細書で以下に記載されている。

【0043】

好ましくは、D L L 3に結合する結合ドメイン及び/またはC D 3に結合する結合ドメインは、ヒト結合ドメインである。少なくとも1つのヒト結合ドメインを含む抗体及び抗体構築物は、齧歯類（例えばマウス、ラット、ハムスター、またはウサギ）などのヒト以外の可変及び/または定常領域を有する抗体または抗体構築物に伴う問題の一部を回避する。そのような齧歯類由来タンパク質が存在すると、抗体または抗体構築物の迅速なクリアランスをもたらす可能性、あるいは患者による抗体または抗体構築物に対する免疫反応を発生させる可能性がある。齧歯類由来抗体または抗体構築物の使用を避けるには、齧歯類が完全ヒト抗体を産生するようにヒト抗体機能を齧歯類に導入することにより、ヒトまたは完全ヒト抗体/抗体構築物を作製することができる。

【0044】

Y A Cにおいてメガ塩基サイズのヒト遺伝子座をクローニング及び再構築する機能、及びそれらをマウス生殖細胞系列に導入する機能は、非常に大きいまたは粗くマッピングされた遺伝子座の機能的要素の解明、ならびにヒト疾患の有用なモデルの作製にとって強力な手法となる。さらに、マウス遺伝子座をそれらのヒト等価物で置換するそのような技術を利用すると、発生期のヒト遺伝子産物の発現及び調節、それらと他の系との伝達、ならびに疾患の誘発及び進行への関与について独特の見解を得ることができる。

【0045】

そのような戦略の重要な実用例が、マウス液性免疫系の「ヒト化」である。内在性免疫グロブリン（I g）遺伝子が不活性化されたマウスへのヒトI g遺伝子座の導入により、抗体のプログラムされた発現及び組み立て、ならびにB細胞の発生における役割の基礎となる機構を研究する機会が得られる。さらに、そのような戦略によって、ヒト疾患における抗体療法の可能性を実現する上で重要なマイルストーンとなる完全ヒトモノクローナル抗体（m A b）の作製にとって理想的な供給源を得ることができる。完全ヒト抗体または抗体構築物は、マウスm A bまたはマウス由来m A bに固有の免疫原性及びアレルギー反応を最小化し、それによって投与される抗体/抗体構築物の有効性及び安全性を向上させることが期待される。完全ヒト抗体または抗体構築物の使用により、化合物の反復投与を必要とする慢性及び再発性のヒト疾患、例えば炎症、自己免疫、及び癌の治療に大幅な利点が見られるものと期待され得る。

【0046】

この目標に向けた手法の一つが、マウス抗体の産生に欠損があり、ヒトI g遺伝子座の大きな断片を有するマウス系統を、組換え操作によって作製することであり、これは、このようなマウスが、マウス抗体を生じずに広範なレパートリーのヒト抗体を産生するであろうとの予測に立つものであった。大きなヒトI g断片は、可変遺伝子の広範な多様性に加えて、抗体の産生および発現の適切な調節も保持すると考えられる。このマウス機構を抗体の多様化及び選択のため、ならびにヒトタンパク質に対する免疫寛容を失わせるために利用することにより、このマウス系統において再現されるヒト抗体レパートリーが、ヒト抗原を含む目的の任意の抗原に対して高親和性の抗体を産生するはずである。ハイブリドーマ技術を用いることで、望ましい特異性を有する抗原特異的ヒトm A bを容易に作製及び選択することができると考えられる。この一般的な戦略は、最初のX e n o M o u s eマウス系統の作製に関連して示された（G r e e n e t a l . N a t u r e G e n e t i c s 7 : 1 3 - 2 1 (1 9 9 4) を参照のこと）。このX e n o M o u s e系

10

20

30

40

50

統は、可変領域及び定常領域のコア配列を含むヒト重鎖及びカッパ軽鎖遺伝子座のそれぞれ245 kb及び190 kbサイズの生殖細胞系列構成断片を含む酵母人工染色体(YAC)を用いて操作された。このヒトIgを含むYACは、抗体の再構成及び発現の両方に関してマウス系への適合性があることが実証されており、不活性化されたマウスIg遺伝子を置換することが可能であった。このことは、それらがB細胞の発生を誘導し、完全ヒト抗体の成体様ヒトレパートリーを産生し、抗原特異的ヒトmAbを産生する能力によって実証された。これらの結果はまた、多数のV遺伝子、追加の調節エレメント、及びヒトIg定常領域を含むヒトIg遺伝子座の大部分の導入が、感染及び免疫刺激に対するヒト液性応答を特徴とする実質的に完全なレパートリーを再現できることを示唆した。先頃、Green et al.の研究を発展させ、ヒト重鎖遺伝子座及びカッパ軽鎖遺伝子座それぞれのメガ塩基サイズの生殖細胞系列構成YAC断片の導入によって、ヒト抗体レパートリーの約80%超が導入された。Mendez et al. Nature Genetics 15:146-156 (1997)及び米国特許出願第08/759,620号を参照のこと。

10

【0047】

XenoMouseマウスの作製はさらに、米国特許出願第07/466,008号、同第07/610,515号、同第07/919,297号、同第07/922,649号、同第08/031,801号、同第08/112,848号、同第08/234,145号、同第08/376,279号、同第08/430,938号、同第08/464,584号、同第08/464,582号、同第08/463,191号、同第08/462,837号、同第08/486,853号、同第08/486,857号、同第08/486,859号、同第08/462,513号、同第08/724,752号、及び同第08/759,620号、ならびに米国特許第6,162,963号、同第6,150,584号、同第6,114,598号、同第6,075,181号、及び同第5,939,598号、ならびに日本特許第3068180B2号、同第3068506B2号、及び同第3068507B2号で議論され概説されている。Mendez et al. Nature Genetics 15:146-156 (1997)及びGreen and Jakobovits J. Exp. Med. 188:483-495 (1998)、EP0463151B1、WO94/02602、WO96/34096、WO98/24893、WO00/76310、及びWO03/47336も参照のこと。

20

30

【0048】

別の手法では、GenPharm International, Inc.,を含む他社が「ミニ遺伝子座」の手法を利用している。このミニ遺伝子座の手法では、外来性Ig遺伝子座を、このIg遺伝子座からの一部分(個々の遺伝子)を含めることにより模倣する。したがって、1つ以上のVH遺伝子、1つ以上のDH遺伝子、1つ以上のJH遺伝子、ミュー定常領域、及び第2の定常領域(好ましくは、ガンマ定常領域)が、動物に挿入される構築物を形成する。この手法は、Surani et al.に対する米国特許第5,545,807号、ならびにLonberg及びKayそれぞれに対する米国特許第5,545,806号、同第5,625,825号、同第5,625,126号、同第5,633,425号、同第5,661,016号、同第5,770,429号、同第5,789,650号、同第5,814,318号、同第5,877,397号、同第5,874,299号、及び同第6,255,458号、Krimpenfort及びBernsに対する米国特許第5,591,669号及び同第6,023,010号、Berns et al.,に対する米国特許第5,612,205号、同第5,721,367号、及び同第5,789,215号、ならびにChoi及びDunnに対する米国特許第5,643,763号、ならびにGenPharm Internationalの米国特許出願第07/574,748号、同第07/575,962号、同第07/810,279号、同第07/853,408号、同第07/904,068号、同第07/990,860号、同第08/053,131号、同第08/096,762号、同第08/155,301号、同第08/161,739号、同第08/165,699号、同第08

40

50

/ 209, 741号に記載されている。EP0546073B1、WO92/03918、WO92/22645、WO92/22647、WO92/22670、WO93/12227、WO94/00569、WO94/25585、WO96/14436、WO97/13852、及びWO98/24884、ならびに米国特許第5,981,175号も参照のこと。さらに、Taylor et al. (1992)、Chen et al. (1993)、Tuailon et al. (1993)、Choi et al. (1993)、Lonberg et al. (1994)、Taylor et al. (1994)、及びTuailon et al. (1995)、Fishwild et al. (1996)を参照のこと。

【0049】

10

Kirinもまた、マイクロセル融合によって大きな染色体片または染色体全体が導入された、マウスからのヒト抗体の産生を実証した。欧州特許出願第773288号及び同第843961号を参照のこと。Xenerex Biosciencesは、有望なヒト抗体産生技術を開発中である。この技術では、SCIDマウスを、ヒトリンパ細胞、例えばB細胞及び/またはT細胞で再構成する。その後、マウスを抗原で免疫刺激して、その抗原に対する免疫反応を生じさせることができる。米国特許第5,476,996号、同第5,698,767号、及び同第5,958,765号を参照のこと。

【0050】

ヒト抗マウス抗体(HAMA)反応をきっかけとして、産業界ではキメラ抗体またはそれ以外のヒト化抗体が作製されている。しかし、ある種のヒト抗キメラ抗体(HACA)反応が、特に慢性または多用量でのこの抗体の利用において今後観察されるものと予想される。したがって、HAMAまたはHACA反応の懸念及び/または影響をなくすために、DLL3に対するヒト結合ドメイン及び/またはCD3に対するヒト結合ドメインを含む抗体構築物を提供することが望ましいと考えられる。

20

【0051】

用語「(特異的に)結合する」、「(特異的に)認識する」、「(特異的に)誘導される」、及び「(特異的に)反応する」は、本発明によれば、結合ドメインが、標的分子(抗原)上の所与の標的エピトープまたは所与の標的部位、すなわち本明細書ではそれぞれDLL3及びCD3と相互作用する、または特異的に相互作用することを意味する。

【0052】

30

用語「エピトープ」は、結合ドメイン、抗体もしくは免疫グロブリン、または抗体もしくは免疫グロブリンの誘導體、断片、もしくは変種が特異的に結合する抗原上の部位を指す。「エピトープ」は抗原性であり、したがって用語「エピトープ」は、本明細書において「抗原構造」または「抗原決定基」と称する場合もある。したがって、結合ドメインは「抗原相互作用部位」である。前記結合/相互作用はまた、「特異的認識」を定義すると理解される。

【0053】

「エピトープ」は、連続アミノ酸、またはタンパク質の三次元折り畳みによって近接する非連続アミノ酸の両方によって形成され得る。「線状エピトープ」は、アミノ酸の一次配列が、認識されるエピトープを含んでいるエピトープである。線状エピトープは通常、固有の配列内に、少なくとも3つまたは少なくとも4つ、及びより一般的には、少なくとも5つまたは少なくとも6つまたは少なくとも7つ、例えば約8~約10のアミノ酸を含む。

40

【0054】

「立体構造エピトープ」は、線状エピトープとは対照的に、エピトープを含むアミノ酸の一次配列が、認識されるエピトープを定義する唯一の要素ではないエピトープ(例えば、アミノ酸の一次配列が必ずしも結合ドメインによって認識されないエピトープ)である。一般的に、立体構造エピトープは、線状エピトープよりも多数のアミノ酸を含む。立体構造エピトープの認識に関して、結合ドメインは、抗原、好ましくはペプチドもしくはタンパク質またはそれらの断片の三次元構造を認識する(本発明の場合、第1の結合ドメイ

50

ンに対する抗原構造が、D L L 3 タンパク質内に含まれている)。例えば、タンパク質分子が折り畳まれて三次元構造が形成されている場合、立体構造エピトープを形成する特定のアミノ酸及び/またはポリペプチド骨格は近接した状態になり、それによって抗体がそのエピトープを認識できるようになる。エピトープの立体構造を決定する方法としては、x線結晶解析、二次元核磁気共鳴(2D-NMR)分光分析、及び部位特異的スピンラベル法、及び電子常磁性共鳴(EPR)分光法が挙げられるが、これらに限定されない。

【0055】

エピトープマッピングの方法を以下に記載する。ヒトD L L 3 タンパク質の領域(隣接するアミノ酸鎖)が、ヒト以外及び霊長類以外のD L L 3 抗原(例えばマウスD L L 3 であるが、他にニワトリ、ラット、ハムスター、ウサギなどのものも考えられる)の対応する領域で置換される場合、使用されているヒト以外、霊長類以外のD L L 3 に対して結合ドメインが交差反応性でない限り、結合ドメインの結合性の減少が起こると予想される。前記減少は、ヒトD L L 3 タンパク質の対応する領域への結合を100%とした場合に、ヒトD L L 3 タンパク質内の対応する領域への結合と比較して、好ましくは少なくとも10%、20%、30%、40%、または50%、より好ましくは少なくとも60%、70%、または80%、最も好ましくは90%、95%、またはさらには100%である。上記のヒトD L L 3 とヒト以外のD L L 3 のキメラはC H O 細胞に発現させることを想定している。また、ヒトD L L 3 とヒト以外のD L L 3 のキメラを、E p C A Mなどの異なる膜結合タンパク質の膜貫通ドメイン及び/または細胞質ドメインと融合させることも想定している。

【0056】

エピトープマッピングの代替的または付加的方法では、ヒトD L L 3 細胞外ドメインの短縮型をいくつか作製し、結合ドメインによって認識される特定の領域を決定することができる。これらの短縮型では、異なる細胞外D L L 3 ドメイン/サブドメインまたは領域が、N末端から開始して段階的に欠失される。本発明に関連して作製され、使用された短縮型D L L 3 を図1に示す。短縮型D L L 3 はC H O 細胞で発現されることを想定している。また、短縮型D L L 3 を、E p C A Mなどの異なる膜結合タンパク質の膜貫通ドメイン及び/または細胞質ドメインと融合させることも想定している。また、短縮型D L L 3 が、それらのN末端にシグナルペプチドドメイン、例えばマウスI g G 重鎖シグナルペプチドに由来するシグナルペプチドを含むことも想定している。さらに短縮型D L L 3 は、細胞表面上での正確な発現を確認できるようにN末端(シグナルペプチドの後ろ)にv5ドメインを含むことも想定している。結合ドメインによって認識されるD L L 3 領域をそれ以上含まない短縮型D L L 3 では、結合性の減少または欠失が起こると予想される。結合の減少は、ヒトD L L 3 タンパク質全体(またはその細胞外領域もしくはドメイン)への結合を100%とした場合、好ましくは少なくとも10%、20%、30%、40%、または50%、より好ましくは少なくとも60%、70%、80%、及び最も好ましくは90%、95%、またはさらには100%である。この結合の欠失を試験する方法については実施例2に記載する。

【0057】

抗体構築物または結合ドメインによる認識に対する標的抗原の特定の残基の寄与を決定するためのさらなる方法は、分析しようとする各残基を例えば部位特異的変異誘発によってアラニンで置換するアラニンスキャン(例えば、M o r r i s o n K L & W e i s s G A . C u r O p i n C h e m B i o l . 2 0 0 1 J u n ; 5 (3) : 3 0 2 - 7 を参照のこと)である。アラニンが使用される理由は、多くの他のアミノ酸が有している標準的二次構造を模倣するにもかかわらず、嵩高くなく、化学的に不活性であり、メチル官能基を有しているためである。変異させる残基のサイズを保存することが望ましい場合には、時としてバリンまたはロイシンなどの嵩高いアミノ酸を使用することができる。アラニンスキャンは、長期にわたり使用されてきた成熟した技術である。

【0058】

結合ドメインとエピトープまたはエピトープを含む領域との間の相互作用とは、結合ド

メインが特定のタンパク質または抗原（本明細書では、それぞれD L L 3及びC D 3）上のエピトープ／エピトープを含む領域に対しては、測定可能な親和性を示し、かつ、一般にD L L 3またはC D 3以外のタンパク質または抗原に対しては有意な反応性を示さないことを意味する。「測定可能な親和性」には、約 10^{-6} M（K D）またはそれより強い親和性をもつ結合を含む。好ましくは、結合親和性が約 $10^{-12} \sim 10^{-8}$ M、 $10^{-12} \sim 10^{-9}$ M、 $10^{-12} \sim 10^{-10}$ M、 $10^{-11} \sim 10^{-8}$ M、好ましくは約 $10^{-11} \sim 10^{-9}$ Mである場合に、結合を特異的と見なす。結合ドメインが標的に特異的に反応または結合するかどうかは、特に、標的タンパク質または抗原に対する前記結合ドメインの反応を、D L L 3またはC D 3以外のタンパク質または抗原に対する前記結合ドメインの反応と比較することによって、容易に試験することができる。好ましくは、本発明の結合ドメインは、D L L 3またはC D 3以外のタンパク質または抗原に本質的にまたは実質的に結合しない（すなわち、第1の結合ドメインは、D L L 3以外のタンパク質に結合することができず、第2の結合ドメインは、C D 3以外のタンパク質に結合することができない）。

10

【0059】

用語「本質的／実質的に結合しない」または「結合することができない」とは、本発明の結合ドメインが、D L L 3またはC D 3以外のタンパク質または抗原に結合しない、すなわち、D L L 3またはC D 3のそれぞれに対する結合を100%とした場合に、D L L 3またはC D 3以外のタンパク質または抗原に対して30%超、好ましくは20%を超えない、より好ましくは10%超、特に好ましくは9%、8%、7%、6%、または5%超の反応性を示さないことを意味する。

20

【0060】

また、本発明の抗体構築物は、F 1 7 2 C及びL 2 1 8 PのD L L 3点突然変異のうち一方または両方を有するヒトD L L 3アイソフォームに結合することも想定している。実施例5を参照のこと。

【0061】

特異的結合は、結合ドメイン及び抗原のアミノ酸配列内の特異的モチーフによってもたらされると考えられる。したがって、結合は、それらモチーフの一次、二次及び／または三次構造の結果として、ならびに前記各構造の二次的修飾の結果として生じる。抗原相互作用部位とその特異的抗原との特異的相互作用により、抗原に対する前記部位の単純結合が生じ得る。さらに、抗原相互作用部位とその特異的抗原との特異的相互作用により、例えば抗原の立体構造変化の誘導、抗原のオリゴマー化などによって、代替的にまたは付加的に、シグナルを開始させることができる。

30

【0062】

本発明による抗体構築物は、E G F - 3及びE G F - 4領域を含むアミノ酸鎖に対応する、配列番号260に示される領域内に含まれるD L L 3のエピトープに結合する。それ以外の抗D L L 3結合物質群も作製し、そのD L L 3結合特異性をエピトープマッピング時に同定した（実施例2を参照）。

【0063】

作製された結合物質のうち最も大きい群は、D S Lドメイン内のエピトープを認識した。しかしながら、これらの抗体構築物のいずれも、刺激されたヒトC D 8 + T細胞をエフェクター細胞とし、ヒトD L L 3トランスフェクトC H O細胞を標的細胞とした、最初の18時間の 51 Crによる細胞傷害性アッセイにおいて、十分な細胞傷害活性の基準を満たさなかった。

40

【0064】

さらに、最初の48時間のF A C Sによる細胞傷害性アッセイ（非刺激のヒトP B M Cをエフェクター細胞として、ヒトD L L 3トランスフェクトC H O細胞を標的細胞として使用）において、タンパク質のN末端内のD L L 3エピトープを認識した結合物質は、1455～1580 p MのE C 5 0値を示した。現在の状況では、患者の免疫系、より具体的にはT細胞の細胞傷害活性を癌細胞に対して誘導する治療用途に提供される二重特異性

50

抗体にとって、この E C 5 0 値は適切でないと考えられる。

【 0 0 6 5 】

最後に、別の結合物質群を作製し、さまざまなアッセイにおいてその細胞傷害活性を特性決定した。これらの結合物質のエピトープマッピングから、E G F - 5 領域内に含まれる D L L 3 エピトープに対する特異性が明らかとなり、また E G F - 6 領域内でもある程度の特異性が明らかになった（詳細については実施例 2 を参照）。D L L 3 - 1 8、D L L 3 - 1 9、D L L 3 - 2 0、及び D L L 3 - 2 1 と命名したこれらの結合物質に対する異なる細胞傷害性アッセイ（実施例 8 . 3、8 . 5、8 . 6、及び 8 . 7 を参照）で生成されたデータの概要図から、E C 5 0 値の有効性に関しては全アッセイにおいて結合物質すべてが不適当ではないものの、本発明による抗体構築物と比較した場合、群全体が明らかに下回っていることが明らかになった。この観察結果は、表 6 ~ 9 に示す結果のうち網掛けにより強調表示されている。

10

【 0 0 6 6 】

要約すると、本発明による抗体構築物（配列番号 2 6 0 に示す領域内に含まれる D L L 3 のエピトープに結合する）は、異なるエピトープ特異性を有する、種々の他の D L L 3 結合物質群と比較して、格段に良好な活性を示していると確信できる。言い換えれば、本発明による抗体構築物は、有利なエピトープ活性関係を示すことで、強力な二重特異性抗体構築物媒介性の細胞傷害活性を裏付けている。

【 0 0 6 7 】

別の態様では、本発明は、標的細胞表面にあるヒト D L L 3 に結合する第 1 の結合ドメインと、T 細胞表面にあるヒト C D 3 に結合する第 2 の結合ドメインとを含み、当該第 1 の結合ドメインが、配列番号 2 5 8 に示される領域内に含まれる D L L 3 のエピトープに結合する、二重特異性抗体構築物を提供する。

20

【 0 0 6 8 】

好ましくは、本発明の二重特異性抗体構築物の第 1 の結合ドメインは、以下からなる群から選択される、C D R - H 1、C D R - H 2 及び C D R - H 3 を含む V H 領域と、C D R - L 1、C D R - L 2 及び C D R - L 3 を含む V L 領域とを含む：

a) 配列番号 3 1 に示される C D R - H 1、配列番号 3 2 に示される C D R - H 2、配列番号 3 3 に示される C D R - H 3、配列番号 3 4 に示される C D R - L 1、配列番号 3 5 に示される C D R - L 2、及び配列番号 3 6 に示される C D R - L 3 ；

30

b) 配列番号 4 1 に示される C D R - H 1、配列番号 4 2 に示される C D R - H 2、配列番号 4 3 に示される C D R - H 3、配列番号 4 4 に示される C D R - L 1、配列番号 4 5 に示される C D R - L 2、及び配列番号 4 6 に示される C D R - L 3 ；

c) 配列番号 5 1 に示される C D R - H 1、配列番号 5 2 に示される C D R - H 2、配列番号 5 3 に示される C D R - H 3、配列番号 5 4 に示される C D R - L 1、配列番号 5 5 に示される C D R - L 2、及び配列番号 5 6 に示される C D R - L 3 ；

d) 配列番号 6 1 に示される C D R - H 1、配列番号 6 2 に示される C D R - H 2、配列番号 6 3 に示される C D R - H 3、配列番号 6 4 に示される C D R - L 1、配列番号 6 5 に示される C D R - L 2、及び配列番号 6 6 に示される C D R - L 3 ；

e) 配列番号 7 1 に示される C D R - H 1、配列番号 7 2 に示される C D R - H 2、配列番号 7 3 に示される C D R - H 3、配列番号 7 4 に示される C D R - L 1、配列番号 7 5 に示される C D R - L 2、及び配列番号 7 6 に示される C D R - L 3 ；

40

f) 配列番号 8 1 に示される C D R - H 1、配列番号 8 2 に示される C D R - H 2、配列番号 8 3 に示される C D R - H 3、配列番号 8 4 に示される C D R - L 1、配列番号 8 5 に示される C D R - L 2、及び配列番号 8 6 に示される C D R - L 3 ；

g) 配列番号 9 1 に示される C D R - H 1、配列番号 9 2 に示される C D R - H 2、配列番号 9 3 に示される C D R - H 3、配列番号 9 4 に示される C D R - L 1、配列番号 9 5 に示される C D R - L 2、及び配列番号 9 6 に示される C D R - L 3 ；

h) 配列番号 1 0 1 に示される C D R - H 1、配列番号 1 0 2 に示される C D R - H 2、配列番号 1 0 3 に示される C D R - H 3、配列番号 1 0 4 に示される C D R - L 1、配列

50

番号 105 に示される CDR - L2、及び配列番号 106 に示される CDR - L3；ならびに

i) 配列番号 111 に示される CDR - H1、配列番号 112 に示される CDR - H2、配列番号 113 に示される CDR - H3、配列番号 114 に示される CDR - L1、配列番号 115 に示される CDR - L2、及び配列番号 116 に示される CDR - L3。

【0069】

用語「可変」とは、配列内で可変性を示し、特定の抗体の特異性及び結合親和性の決定に関与する、抗体または免疫グロブリンドメインの一部（すなわち、「可変ドメイン（複数可）」）を指す。可変重鎖（VH）と可変軽鎖（VL）の対は、一体となって単一の抗原結合部位を形成する。

10

【0070】

可変性は、抗体の可変ドメイン全体に均一に分布しているのではなく、重鎖及び軽鎖それぞれの変領域のサブドメインに集中している。このサブドメインは、「超可変領域」または「相補性決定領域」（CDR）と呼ばれる。可変ドメインのより保存的な（すなわち、非超可変）部分は、「フレームワーク」領域（FRMまたはFR）と呼ばれ、6つのCDRが三次元空間内で抗原結合表面を形成する際に足場となる。天然に存在する重鎖及び軽鎖の可変ドメインはそれぞれ、大部分がシート配置をとる4つのFRM領域（FR1、FR2、FR3、及びFR4）を含み、これらが、ループ接続を形成し、場合によってはシート構造の一部を形成する3つの超可変領域によって連結される。各鎖の超可変領域は、FRMによって近接した一団として保持されており、他の鎖の超可変領域と共に、抗原結合部位の形成に寄与している（前掲のKabat et al., を参照）。

20

【0071】

用語「CDR」及びその複数形である「CDRs」は、相補性決定領域を指し、そのうちの3つが軽鎖可変領域の結合特性を構成し（CDR - L1、CDR - L2、及びCDR - L3）、3つが重鎖可変領域の結合特性を構成する（CDR - H1、CDR - H2、及びCDR - H3）。CDRは、抗体と抗原との特異的相互作用を担う残基の大部分を含み、それによって抗体分子の機能的活性に寄与する。すなわちこれは抗原特異性の主たる決定基である。

【0072】

CDRの境界及び長さの厳密な定義は、分類及び付番方式に従う。したがってCDRは、本明細書に記載される付番方式を含む、Kabat、Chothia、contactまたは任意のその他の境界の定義によって表わすことができる。境界が異なっても、これらの方式の各々は、可変配列内のいわゆる「超可変領域」を構成する部分において、ある程度の重複を有する。したがって、この各方式によるCDRの定義は、長さ、及び隣接するフレームワーク領域との境界領域が相違する場合がある。例えば、Kabat（種間配列可変性に基づく手法）、Chothia（抗原 - 抗体複合体の結晶学的研究に基づく手法）、及び/またはMacCallumを参照のこと（Kabat et al., 前掲；Chothia et al., J. Mol. Biol., 1987, 196: 901 - 917；及びMacCallum et al., J. Mol. Biol., 1996, 262: 732）。抗原結合部位の特徴を決定するさらに別の標準が、Oxford MolecularのAbM抗体モデリングソフトウェアによって使用されるAbM定義である。例えば、Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains. In: Antibody Engineering Lab Manual (Ed.: Duebel, S. and Kontermann, R., Springer-Verlag, Heidelberg) を参照のこと。2つの残基同定技術が同一の領域ではなく重複する領域を定義する場合に限り、両方を組み合わせて、ハイブリッドCDRを定義することができる。しかしながら、いわゆるKabat方式に従う付番が好ましい。

30

40

【0073】

通常、CDRは、カノニカル構造に分類することができるループ構造を形成する。用語

50

「カノニカル構造」とは、抗原結合（CDR）ループが取る主鎖の立体構造を指す。比較構造研究から、6つの抗原結合ループのうちの5つは、利用可能な立体構造のうち限られたレパートリーしか有さないことが見出された。各カノニカル構造は、ポリペプチド骨格のねじれ角を特徴とし得る。したがって抗体間の対応するループは、各ループの大部分に、高いアミノ酸配列可変性が見られるにもかかわらず、非常に類似した三次元構造を有し得る（Chothia and Lesk, J. Mol. Biol., 1987, 196: 901; Chothia et al., Nature, 1989, 342: 877; Martin and Thornton, J. Mol. Biol., 1996, 263: 800）。さらに、選択されるループ構造とその周辺のアミノ酸配列との間には関連性が存在する。特定のカノニカルクラスの立体構造は、ループの長さによって、及びそのループ内ならびに保存的フレームワーク内（すなわち、ループ外）の重要な位置に存在するアミノ酸残基によって決定される。したがって、特定のカノニカルクラスへの割り当ては、この重要なアミノ酸残基の存在に基づいて成され得る。

【0074】

用語「カノニカル構造」はまた、例えばKabat（Kabat et al., 前掲）により分類されているような、抗体の線状配列に関する考慮も含む場合がある。Kabatの付番スキーム（方式）は、抗体可変ドメインのアミノ酸残基を一貫した様式で付番するために広く採用されている標準であり、本明細書の他の箇所でも述べているように本発明での適用に好ましいスキームである。さらに別の構造的な考慮事項も、抗体のカノニカル構造を決定するために使用することができる。例えば、Kabatの付番法では十分に反映されない相違を、Chothiaらの付番方式によって記載することができ、及び/またはその他の技術、例えば結晶学及び二次元もしくは三次元コンピューターモデリングによって明らかにすることができる。したがって、所与の抗体配列を、特に、（例えば、さまざまなカノニカル構造をライブラリに含めたいという要望に応じて）適切なシャーシ（chassis）配列の同定が可能であるカノニカルクラスに分類することができる。抗体のアミノ酸配列のKabat付番法、及びChothia et al.,（前掲）に記載される構造的な考慮事項、ならびに抗体構造のカノニカルな外観の構築へのそれらの関与については、文献に記載されている。さまざまなクラスの免疫グロブリンのサブユニット構造及び三次元構成は、当技術分野で周知である。抗体構造の概説については、Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, eds. Harlow et al., 1988を参照のこと。

【0075】

軽鎖のCDR3及び特に重鎖のCDR3は、軽鎖及び重鎖可変領域内での抗原結合において最も重要な決定要因となる場合がある。いくつかの抗体構築物では、重鎖CDR3が、抗原と抗体間の主要な接触領域になると思われる。CDR3のみを変化させるin vitro選択スキームを使用して、抗体の結合特性を変化させること、及びどの残基が抗原の結合に寄与するかを決定することができる。したがって、CDR3は通常、抗体結合部位範囲での分子的多様性の最大の根源である。例えば、H3は、2つのアミノ酸残基程度の短いもの、または26個超のアミノ酸であり得る。

【0076】

古典的な全長抗体または免疫グロブリンでは、各軽（L）鎖は1つの共有ジスルフィド結合によって重（H）鎖に連結され、同時に2つのH鎖はH鎖アイソタイプに応じて1つ以上のジスルフィド結合によって互いに連結される。VHに最も近接するCHドメインは通常CH1と称される。定常（「C」）ドメインは、抗原結合に直接関与しないが、抗体依存性、細胞媒介性の細胞傷害性、及び補体活性化などのさまざまなエフェクター機能を示す。抗体のFc領域は、重鎖定常ドメイン内に含まれ、例えばFc受容体に位置する細胞表面と相互作用することができる。

【0077】

組立て及び体細胞変異後の抗体遺伝子の配列は極めて多様であり、これらの多様化した

10

20

30

40

50

遺伝子は 10^{10} の異なる抗体分子をコードすると推定されている (Immunoglobulin Genes, 2nd ed., eds. Jonio et al., Academic Press, San Diego, CA, 1995)。免疫系はそうにして免疫グロブリンのレパートリーを提供する。用語「レパートリー」とは、少なくとも1つの免疫グロブリンをコードする少なくとも1つの配列に全体または一部が由来する少なくとも1つのヌクレオチド配列を指す。この配列(複数可)は、重鎖のV、D、及びJセグメント、ならびに軽鎖のV及びJセグメントの *in vivo* での再配置によって生成され得る。あるいは、この配列(複数可)は、再配置を生じさせるもの、例えば *in vitro* 刺激に応答して細胞から生成され得る。あるいは、この配列(複数可)の一部またはすべては、DNAスプライシング、ヌクレオチド合成、変異誘発、及びその他の方法によって得られる場合がある。(例えば、米国特許第5,565,332号を参照)レパートリーは、1つの配列のみを含んでも、遺伝的に多様なコレクション内のものを含む、複数の配列を含んでもよい。

10

【0078】

本発明による好ましい抗体構築物はまた、標的細胞表面にあるヒトDLL3に結合する第1の(好ましくはヒトの)結合ドメインと、T細胞表面にあるヒトCD3に結合する第2の結合ドメインとを含み、当該第1の結合ドメインがDLL3-4、DLL3-5、DLL3-6、DLL3-7、DLL3-8、DLL3-9、及びDLL3-10からなる群から選択される抗体と同じDLL3のエピトープに結合する二重特異性抗体構築物、すなわち、以下からなる群から選択される、CDR-H1、CDR-H2、及びCDR-H3を含むVH領域と、CDR-L1、CDR-L2、及びCDR-L3を含むVL領域とを含む抗体であると定義することもできる：

20

a) 配列番号31に示されるCDR-H1、配列番号32に示されるCDR-H2、配列番号33に示されるCDR-H3、配列番号34に示されるCDR-L1、配列番号35に示されるCDR-L2、及び配列番号36に示されるCDR-L3；

b) 配列番号41に示されるCDR-H1、配列番号42に示されるCDR-H2、配列番号43に示されるCDR-H3、配列番号44に示されるCDR-L1、配列番号45に示されるCDR-L2、及び配列番号46に示されるCDR-L3；

c) 配列番号51に示されるCDR-H1、配列番号52に示されるCDR-H2、配列番号53に示されるCDR-H3、配列番号54に示されるCDR-L1、配列番号55に示されるCDR-L2、及び配列番号56に示されるCDR-L3；

30

d) 配列番号61に示されるCDR-H1、配列番号62に示されるCDR-H2、配列番号63に示されるCDR-H3、配列番号64に示されるCDR-L1、配列番号65に示されるCDR-L2、及び配列番号66に示されるCDR-L3；

e) 配列番号71に示されるCDR-H1、配列番号72に示されるCDR-H2、配列番号73に示されるCDR-H3、配列番号74に示されるCDR-L1、配列番号75に示されるCDR-L2、及び配列番号76に示されるCDR-L3；

f) 配列番号81に示されるCDR-H1、配列番号82に示されるCDR-H2、配列番号83に示されるCDR-H3、配列番号84に示されるCDR-L1、配列番号85に示されるCDR-L2、及び配列番号86に示されるCDR-L3；ならびに

40

g) 配列番号91に示されるCDR-H1、配列番号92に示されるCDR-H2、配列番号93に示されるCDR-H3、配列番号94に示されるCDR-L1、配列番号95に示されるCDR-L2、及び配列番号96に示されるCDR-L3。

【0079】

抗体構築物が、別の所与の抗体構築物と同じDLL3のエピトープに結合するかどうかは、例えば、本明細書の上記及び実施例2に記載するように、キメラまたは短縮型標的分子とのエピトープマッピングなどにより測定することができる。

【0080】

本発明による好ましい抗体構築物はまた、標的細胞表面にあるヒトDLL3に結合する第1の(好ましくはヒトの)結合ドメインと、T細胞表面にあるヒトCD3に結合する第

50

2の結合ドメインとを含み、当該第1の結合ドメインがD L L 3 - 4、D L L 3 - 5、D L L 3 - 6、D L L 3 - 7、D L L 3 - 8、D L L 3 - 9、及びD L L 3 - 10からなる群から選択される抗体と結合を競合する二重特異性抗体構築物、すなわち、上記からなる群から選択される、C D R - H 1、C D R - H 2、及びC D R - H 3を含むV H領域と、C D R - L 1、C D R - L 2、及びC D R - L 3を含むV L領域とを含む抗体であると定義することもできる。

【0081】

抗体構築物が、別の所与の抗体構築物と結合を競合するかどうかは、競合E L I S Aまたは細胞を用いた競合アッセイなどの競合アッセイで測定することができる。またアビジンを結合したマイクロ粒子（ビーズ）を使用することもできる。アビジンでコーティングしたE L I S Aプレートと同様に、ビオチン化タンパク質と反応させる際、このビーズのそれぞれを基材として使用することができ、そこでアッセイを実施することができる。抗原をビーズ上にコーティングし、次いで一次抗体でプレコーティングする。二次抗体を添加して、さらに何らかの結合が生じるかを確認する。フローサイトメトリーによって測定値を読み取る。

10

【0082】

本発明の一実施形態では、本発明の抗体構築物の第1の結合ドメインは、配列番号37、配列番号47、配列番号57、配列番号67、配列番号77、配列番号87、配列番号97、配列番号107、配列番号117、配列番号435、及び配列番号529に示されたものからなる群から選択されるV H領域を含む。

20

【0083】

本発明のさらなる実施形態では、本発明の抗体構築物の第1の結合ドメインは、配列番号38、配列番号48、配列番号58、配列番号68、配列番号78、配列番号88、配列番号98、配列番号108、配列番号118、配列番号436、及び配列番号530に示されたものからなる群から選択されるV L領域を含む。

【0084】

別の実施形態では、本発明の抗体構築物の第1の結合ドメインは、配列番号37 + 38、配列番号47 + 48、配列番号57 + 58、配列番号67 + 68、配列番号77 + 78、配列番号87 + 88、配列番号97 + 98、配列番号107 + 108、配列番号117 + 118、配列番号435 + 436、及び配列番号529 + 530に示されたV H領域とV L領域の対からなる群から選択されるV H領域及びV L領域を含む。

30

【0085】

本発明のさらに別の実施形態では、本発明の抗体構築物の第1の結合ドメインは、配列番号39、配列番号49、配列番号59、配列番号69、配列番号79、配列番号89、配列番号99、配列番号109、配列番号119、配列番号437、及び配列番号531に示されたものからなる群から選択されるポリペプチドを含む。

【0086】

上記第1の結合ドメイン（そのC D R、V H領域、及びV L領域、ならびにそれらの組み合わせによって特定される）は、配列番号258に示される領域内に含まれたD L L 3のエピトープに結合することを特徴とする結合ドメインである。

40

【0087】

本明細書で使用される場合、用語「二重特異性」は、「少なくとも二重特異性」である抗体構築物、すなわち、少なくとも第1の結合ドメインと第2の結合ドメインとを含み、第1の結合ドメインが1つの抗原または標的（本明細書ではD L L 3）に結合し、第2の結合ドメインが別の抗原または標的（本明細書ではC D 3）に結合する抗体構築物を指す。したがって、本発明による抗体構築物は、少なくとも2種類の抗原または標的に対する特異性を備える。本発明の「二重特異性抗体構築物」という用語はまた、多重特異性抗体構築物、例えば、3つの結合ドメインを含む三重特異性抗体構築物、または3種を上回る（例えば、4種、5種などの）特異性を有する構築物を包含する。

【0088】

50

本発明による抗体構築物が（少なくとも）二重特異性である場合、自然界では発生せず、天然に存在する産物とは顕著に異なる。したがって「二重特異性」抗体構築物または免疫グロブリンは、異なる特異性を有する少なくとも2つの異なった結合部位を有する人工ハイブリッド抗体または免疫グロブリンである。二重特異性抗体は、ハイブリドーマの融合またはFab'断片の連結を含む、さまざまな方法によって作製することができる。例えば、Song sivilai & Lachmann, Clin. Exp. Immunol. 79: 315 - 321 (1990)を参照のこと。

【0089】

本発明の抗体構築物の少なくとも2つの結合ドメイン及び可変ドメインは、ペプチドリンカー（スペーサーペプチド）を含んでも含まなくてもよい。用語「ペプチドリンカー」は、本発明によれば、本発明の抗体構築物の一方の（可変及び／または結合）ドメインと他方の（可変及び／または結合）ドメインのアミノ酸配列を相互に連結するアミノ酸配列を含む。そのようなペプチドリンカーの本質的な技術的特徴は、そのペプチドリンカーがいかなる重合活性も有さない点である。特に好適なペプチドリンカーは、米国特許第4,751,180号及び同第4,935,233号またはWO88/09344に記載されているものである。ペプチドリンカーはまた、本発明の抗体構築物に他のドメインまたはモジュールまたは領域（半減期延長ドメインなど）を結合するために使用することもできる。

【0090】

リンカーを使用する場合、このリンカーは、第1及び第2のドメインそれぞれが互いから独立して他と異なる結合特異性を確実に維持できるように十分な長さ及び配列であることが好ましい。本発明の抗体構築物中の少なくとも2つの結合ドメイン（または2つの可変ドメイン）を連結するペプチドリンカーには、ごく少数のアミノ酸残基、例えば12アミノ酸残基以下しか含まないペプチドリンカーが好ましい。したがって、12、11、10、9、8、7、6、または5アミノ酸残基のペプチドリンカーが好ましい。5アミノ酸未満の想定されるペプチドリンカーは、4、3、2、または1アミノ酸を含み、Glyリッチリンカーが好ましい。前記「ペプチドリンカー」に関連して、特に好ましい「単一」アミノ酸はGlyである。したがって、前記ペプチドリンカーは単一アミノ酸Glyからなるものであってよい。ペプチドリンカーの別の好ましい実施形態は、アミノ酸配列Gly-Gly-Gly-Gly-Ser、すなわちGly₄Ser（配列番号286）、またはそのポリマー、すなわち（Gly₄Ser）_xにおいて、_xが1またはそれより大きい整数（例えば2または3）であることを特徴とする。好ましいリンカーを配列番号285～293に示す。二次構造の促進を伴わない前記ペプチドリンカーの特徴は当技術分野で既知であり、例えばDall'Acqua et al. (Biochem. (1998) 37, 9266-9273)、Cheadle et al. (Mol Immunol (1992) 29, 21-30)、及びRaag and Whitlow (FASEB (1995) 9(1), 73-80)に記載されている。さらにいかなる二次構造も促進しないペプチドリンカーが好ましい。前記ドメイン相互の連結は、例えば、実施例に記載される遺伝子工学によって得ることができる。融合され機能的に連結された二重特異性一本鎖構築物を調製し、哺乳動物細胞または細菌中に発現させる方法は、当技術分野で周知である（例えば、WO99/54440、またはSambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 2001）。

【0091】

本明細書の上記に記載するように、本発明は、抗体構築物が（scFv）₂、scFv単一ドメインmAb、ダイアボディ、及び前述の形式のいずれかのオリゴマーからなる群から選択される形態である好ましい実施形態を提供する。用語「形態である」は、本明細書に記載されるように、構築物を、例えば他の部分との連結または融合などによりさらに修飾できることを除外するものではない。

10

20

30

40

50

【0092】

特定の好ましい実施形態によれば、添付の実施例に記載されているように、本発明の抗体構築物は「二重特異性一本鎖抗体構築物」、より好ましくは二重特異性「一本鎖Fv」(scFv)である。Fv断片の2つのドメインであるVL及びVHは、別々の遺伝子によってコードされるが、上記に記載するように、組換え法を用いて合成リンカーによって両者を連結し、VL及びVH領域を対として一価分子を形成する単一のタンパク質鎖にすることができる(例えば、Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883を参照)。この抗体断片は当業者に既知の従来技術を使用して得られ、断片の機能は全抗体または全長抗体と同様に評価される。したがって一本鎖可変断片(scFv)は、通常約10~約25アミノ酸、好ましくは約15~20アミノ酸の短いリンカーペプチドによって連結される、免疫グロブリンの重鎖の可変領域(VH)及び軽鎖の可変領域(VL)の融合タンパク質である。リンカーは通常、柔軟性を得るためにはグリシンに富み、ならびに溶解性を得るためにはセリンまたはスレオニンに富み、VHのN末端をVLのC末端と、またはVHのC末端をVLのN末端と連結することができる。このタンパク質は、定常領域を除去してリンカーを導入しているにもかかわらず、元の免疫グロブリンの特異性を維持する。

10

【0093】

二重特異性一本鎖分子は、当技術分野で既知であり、WO99/54440、Mack, J. Immunol. (1997), 158, 3965-3970、Mack, PNAS, (1995), 92, 7021-7025、Kufner, Cancer Immunol. Immunother., (1997), 45, 193-197、Loffler, Blood, (2000), 95, 6, 2098-2103、Bruhl, Immunol., (2001), 166, 2420-2426、Kipriyanov, J. Mol. Biol., (1999), 293, 41-56に記載されている。一本鎖抗体の作製について記載された技術(特に、米国特許第4,946,778号、Kontermann and Dubel (2010), 前掲、及びLittle (2009), 前掲を参照)は、選択された標的(単数複数可)を特異的に認識する一本鎖抗体構築物の作製に適合させることができる。

20

【0094】

二価(bivalent)(divalentとも呼ばれる)または二重特異性一本鎖可変断片(形態(scFv)₂を有するbi-scFvまたはdi-scFv)は、2つのscFv分子を(例えば、上記に記載するリンカーを用いて)連結することにより設計することができる。これらの2つのscFv分子が同じ結合特異性を有する場合、得られる(scFv)₂分子を二価と呼ぶことが好ましい(すなわち、同じ標的エピトープに対して価数2を有する)。これらの2つのscFv分子が異なる結合特異性を有する場合、得られる(scFv)₂分子を二重特異性と呼ぶことが好ましい。連結は、2つのVH領域と2つのVL領域とを有する単一のペプチド鎖を作製して、タンデムscFvを生成することによって行うことができる(例えば、Kufner P. et al., (2004) Trends in Biotechnology 22(5):238-244)。別の可能性は、2つの可変領域を一体に折り畳むには短すぎる(例えば、約5アミノ酸の)リンカーペプチドを用いてscFv分子を作製し、scFvを二量化させることである。この型はダイアボディとして知られている(例えば、Hollinger, Philipp et al., (July 1993) Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 90(14):6444-8.を参照)。

30

40

【0095】

本発明の抗体構築物のさらなる好ましい実施形態によれば、(標的抗原DLL3またはCD3のいずれかに結合する)結合ドメインの重鎖(VH)及び軽鎖(VL)を、上記のようなペプチドリinkerによって直接連結せずに、ダイアボディに関する記載のように結

50

合ドメインを形成する。したがって、CD3結合ドメインのVHを、ペプチドリinkerによってDLL3結合ドメインのVLと融合することができ、DLL3結合ドメインのVHは、そのようなペプチドリinkerによってCD3結合ドメインのVLに融合される。

【0096】

単ドメイン抗体は、他のV領域またはドメインと独立して、特異的抗原に選択的に結合できる抗体可変ドメインを1つのみ(単量体)含む。最初の単ドメイン抗体は、ラクダに見られる重鎖抗体から設計され、これはV_HH断片と呼ばれている。軟骨魚類もまた、重鎖抗体(IgNAR)を有し、そこからV_{NAR}断片と呼ばれる単ドメイン抗体を得ることができる。代替的手法は、例えばヒトまたは齧歯類由来の一般的な免疫グロブリンの二量体可変ドメインを単量体に分割し、それによって単ドメインAbとしてVHまたはVLを得ることである。単ドメイン抗体に関する大半の研究は現時点で重鎖可変ドメインに基づくものであるが、軽鎖由来のナノボディもまた、標的エピトープに特異的に結合することが示されている。単ドメイン抗体の例は、sdAb、ナノボディ、または単一可変ドメイン抗体と呼ばれる。

【0097】

したがって、(単ドメインmAb)₂は、VH、VL、V_HH、及びV_{NAR}を含む群から独立して選択される(少なくとも)2つの単ドメインモノクローナル抗体から構成されるモノクローナル抗体構築物である。リンカーは、好ましくはペプチドリinkerの形態である。同様に、「scFv-単ドメインmAb」は、少なくとも1つの上記の単ドメイン抗体及び1つの上記のscFv分子から構成されるモノクローナル抗体構築物である。この場合もリンカーは、好ましくはペプチドリinkerの形態である。

【0098】

さらに、本発明は、標的細胞表面にあるヒトDLL3に結合する第1の結合ドメインと、T細胞表面にあるヒトCD3に結合する第2の結合ドメインとを含み、当該第1の結合ドメインが、配列番号259に示される領域内に含まれるDLL3のエピトープに結合する、二重特異性抗体構築物を提供することを想定している。

【0099】

したがって、本発明のさらなる態様では、二重特異性抗体構築物の第1の結合ドメインは、以下からなる群から選択される、CDR-H1、CDR-H2、及びCDR-H3を含むVH領域と、CDR-L1、CDR-L2、及びCDR-L3を含むVL領域とを含む：

- a) 配列番号121に示されるCDR-H1、配列番号122に示されるCDR-H2、配列番号123に示されるCDR-H3、配列番号124に示されるCDR-L1、配列番号125に示されるCDR-L2、及び配列番号126に示されるCDR-L3；
- b) 配列番号131に示されるCDR-H1、配列番号132に示されるCDR-H2、配列番号133に示されるCDR-H3、配列番号134に示されるCDR-L1、配列番号135に示されるCDR-L2、及び配列番号136に示されるCDR-L3；
- c) 配列番号141に示されるCDR-H1、配列番号142に示されるCDR-H2、配列番号143に示されるCDR-H3、配列番号144に示されるCDR-L1、配列番号145に示されるCDR-L2、及び配列番号146に示されるCDR-L3；
- d) 配列番号151に示されるCDR-H1、配列番号152に示されるCDR-H2、配列番号153に示されるCDR-H3、配列番号154に示されるCDR-L1、配列番号155に示されるCDR-L2、及び配列番号156に示されるCDR-L3；ならびに
- e) 配列番号161に示されるCDR-H1、配列番号162に示されるCDR-H2、配列番号163に示されるCDR-H3、配列番号164に示されるCDR-L1、配列番号165に示されるCDR-L2、及び配列番号166に示されるCDR-L3；
- f) 配列番号131に示されるCDR-H1、配列番号439に示されるCDR-H2、配列番号133に示されるCDR-H3、配列番号134に示されるCDR-L1、配列番号135に示されるCDR-L2、及び配列番号136に示されるCDR-L3；

g) 配列番号 1 3 1 に示される C D R - H 1、配列番号 4 4 0 に示される C D R - H 2、配列番号 1 3 3 に示される C D R - H 3、配列番号 1 3 4 に示される C D R - L 1、配列番号 1 3 5 に示される C D R - L 2、及び配列番号 1 3 6 に示される C D R - L 3；

h) 配列番号 1 3 1 に示される C D R - H 1、配列番号 1 3 2 に示される C D R - H 2、配列番号 1 3 3 に示される C D R - H 3、配列番号 4 4 1 に示される C D R - L 1、配列番号 1 3 5 に示される C D R - L 2、及び配列番号 1 3 6 に示される C D R - L 3；

i) 配列番号 1 3 1 に示される C D R - H 1、配列番号 1 3 2 に示される C D R - H 2、配列番号 1 3 3 に示される C D R - H 3、配列番号 4 4 2 に示される C D R - L 1、配列番号 1 3 5 に示される C D R - L 2、及び配列番号 1 3 6 に示される C D R - L 3；

j) 配列番号 1 3 1 に示される C D R - H 1、配列番号 1 3 2 に示される C D R - H 2、配列番号 1 3 3 に示される C D R - H 3、配列番号 4 4 3 に示される C D R - L 1、配列番号 1 3 5 に示される C D R - L 2、及び配列番号 1 3 6 に示される C D R - L 3；

k) 配列番号 1 3 1 に示される C D R - H 1、配列番号 1 3 2 に示される C D R - H 2、配列番号 1 3 3 に示される C D R - H 3、配列番号 4 4 4 に示される C D R - L 1、配列番号 1 3 5 に示される C D R - L 2、及び配列番号 1 3 6 に示される C D R - L 3；

l) 配列番号 1 3 1 に示される C D R - H 1、配列番号 4 3 9 に示される C D R - H 2、配列番号 1 3 3 に示される C D R - H 3、配列番号 4 4 1 に示される C D R - L 1、配列番号 1 3 5 に示される C D R - L 2、及び配列番号 1 3 6 に示される C D R - L 3；ならびに

m) 配列番号 1 3 1 に示される C D R - H 1、配列番号 4 4 0 に示される C D R - H 2、配列番号 1 3 3 に示される C D R - H 3、配列番号 4 4 2 に示される C D R - L 1、配列番号 1 3 5 に示される C D R - L 2、及び配列番号 1 3 6 に示される C D R - L 3。

【 0 1 0 0 】

一実施形態では、本発明の抗体構築物の第 1 の結合ドメインは、配列番号 1 2 7、配列番号 1 3 7、配列番号 1 4 7、配列番号 1 5 7、配列番号 1 6 7、配列番号 4 4 5、配列番号 4 4 6、配列番号 4 4 7、配列番号 4 4 8、配列番号 4 4 9、配列番号 4 5 0、配列番号 4 5 1、配列番号 4 5 2、配列番号 4 5 3、配列番号 4 5 4、及び配列番号 4 5 5 に示されたものからなる群から選択される V H 領域を含む。

【 0 1 0 1 】

さらに別の実施形態では、本発明の抗体構築物の第 1 の結合ドメインは、配列番号 1 2 8、配列番号 1 3 8、配列番号 1 4 8、配列番号 1 5 8、配列番号 1 6 8、配列番号 4 5 6、配列番号 4 5 7、配列番号 4 5 8、配列番号 4 5 9、配列番号 4 6 0、配列番号 4 6 1、配列番号 4 6 2、配列番号 4 6 3、配列番号 4 6 4、配列番号 4 6 5、配列番号 4 6 6、配列番号 4 6 7、配列番号 4 6 8、配列番号 4 6 9、及び配列番号 4 7 0 に示されたものからなる群から選択される V L 領域を含む。

【 0 1 0 2 】

別の実施形態では、本発明の抗体構築物の第 1 の結合ドメインは、配列番号 1 2 7 + 1 2 8、配列番号 1 3 7 + 1 3 8、配列番号 1 4 7 + 1 4 8、配列番号 1 5 7 + 1 5 8、配列番号 1 6 7 + 1 6 8、配列番号 1 3 7 + 4 5 6、配列番号 1 3 7 + 4 5 7、配列番号 1 3 7 + 4 5 8、配列番号 1 3 7 + 4 5 9、配列番号 1 3 7 + 4 6 0、配列番号 4 4 5 + 1 3 8、配列番号 4 4 6 + 1 3 8、配列番号 4 4 7 + 1 3 8、配列番号 4 4 5 + 4 6 0、配列番号 4 4 8 + 4 6 1、配列番号 4 4 9 + 4 6 2、配列番号 4 5 0 + 4 6 3、配列番号 4 5 0 + 4 6 4、配列番号 4 5 0 + 4 6 5、配列番号 4 5 0 + 4 6 6、配列番号 4 5 0 + 4 6 7、配列番号 4 5 0 + 4 6 8、配列番号 4 5 1 + 4 6 3、配列番号 4 5 2 + 4 6 3、配列番号 4 5 3 + 4 6 3、配列番号 4 5 1 + 4 6 8、配列番号 4 5 4 + 4 6 9、及び配列番号 4 5 5 + 4 7 0 に示された V H 領域と V L 領域の対からなる群から選択される V H 領域及び V L 領域を含む。

【 0 1 0 3 】

さらに別の実施形態では、本発明の抗体構築物の第 1 の結合ドメインは、配列番号 1 2 9、配列番号 1 3 9、配列番号 1 4 9、配列番号 1 5 9、配列番号 1 6 9、配列番号 4 7

10

20

30

40

50

1、配列番号472、配列番号473、配列番号474、配列番号475、配列番号476、配列番号477、配列番号478、配列番号479、配列番号480、配列番号481、配列番号482、配列番号483、配列番号484、配列番号485、配列番号486、配列番号487、配列番号488、配列番号489、配列番号490、配列番号491、配列番号492、及び配列番号493に示されたものからなる群から選択されるポリペプチドを含む。

【0104】

上記第1の結合ドメイン（そのCDR、VH領域、及びVL領域、ならびにそれらの組み合わせによって特定される）は、配列番号259に示される領域内に含まれたDLL3のエピトープに結合することを特徴とする結合ドメインである。

10

【0105】

本発明による別の好ましい抗体構築物はまた、標的細胞表面にあるヒトDLL3に結合する第1の（好ましくはヒトの）結合ドメインと、T細胞表面にあるヒトCD3に結合する第2の結合ドメインとを含み、当該第1の結合ドメインがDLL3-13、DLL3-14、及びDLL3-15からなる群から選択される抗体と同じDLL3のエピトープに結合する二重特異性抗体構築物、すなわち、以下からなる群から選択される、CDR-H1、CDR-H2、及びCDR-H3を含むVH領域と、CDR-L1、CDR-L2、及びCDR-L3を含むVL領域とを含む抗体であると定義することもできる：

a) 配列番号121に示されるCDR-H1、配列番号122に示されるCDR-H2、配列番号123に示されるCDR-H3、配列番号124に示されるCDR-L1、配列番号125に示されるCDR-L2、及び配列番号126に示されるCDR-L3；

20

b) 配列番号131に示されるCDR-H1、配列番号132に示されるCDR-H2、配列番号133に示されるCDR-H3、配列番号134に示されるCDR-L1、配列番号135に示されるCDR-L2、及び配列番号136に示されるCDR-L3；ならびに

c) 配列番号141に示されるCDR-H1、配列番号142に示されるCDR-H2、配列番号143に示されるCDR-H3、配列番号144に示されるCDR-L1、配列番号145に示されるCDR-L2、及び配列番号146に示されるCDR-L3。

【0106】

本発明による別の好ましい抗体構築物はまた、標的細胞表面にあるヒトDLL3に結合する第1の（好ましくはヒトの）結合ドメインと、T細胞表面にあるヒトCD3に結合する第2の結合ドメインとを含み、当該第1の結合ドメインがDLL3-13、DLL3-14、及びDLL3-15からなる群から選択される抗体と結合を競合する二重特異性抗体構築物、すなわち、上記からなる群から選択される、CDR-H1、CDR-H2、及びCDR-H3を含むVH領域と、CDR-L1、CDR-L2、及びCDR-L3を含むVL領域とを含む抗体であると定義することもできる。

30

【0107】

本発明の抗体構築物は、標的分子であるDLL3及びCD3に結合する機能に加えて、さらなる機能を有することも想定されている。この形態での抗体構築物は、DLL3への結合によって標的細胞を標的化し、CD3への結合によって細胞傷害性T細胞の活性を媒介し、さらなる機能、例えば、NK細胞などのエフェクター細胞の動員により抗体依存性細胞傷害性を媒介する完全機能性Fc定常ドメイン、標識（蛍光など）、毒素もしくは放射性核種などの治療薬、及び/または血清半減期を延長する手段などを提供することによる、三機能性または多機能性抗体構築物である。

40

【0108】

本発明の抗体構築物の血清半減期を延長する手段の例には、抗体構築物に融合されたまたはそれ以外の方法で結合されたペプチド、タンパク質、またはタンパク質のドメインを含む。ペプチド、タンパク質、またはタンパク質ドメインの群には、血清アルブミンなどの人体内で好ましい薬物動態特性を示す他のタンパク質と結合するペプチドを含む（WO 2009/127691を参照）。そのような半減期を延長するペプチドに代わる概念と

50

して、胎児性Fc受容体(FcRn、WO2007/098420を参照)に結合するペプチドが挙げられ、これも本発明の構築物に使用することができる。タンパク質の大きなドメインまたは完全なタンパク質を結合する概念としては、例えば、ヒト血清アルブミンの融合、ヒト血清アルブミンの変種もしくは変異体(WO2011/051489、WO2012/059486、WO2012/150319、WO2013/135896、WO2014/072481、WO2013/075066を参照)またはそれらのドメインの融合、ならびに免疫グロブリンの定常領域(Fcドメイン)及びその変種の融合が挙げられる。そのようなFcドメインの変種を最適化/修飾して、Fc受容体結合性(例えば、Fc受容体)を除去するためまたはその他の理由で望ましい二量体または多量体の対合を可能にすることができる。当技術分野で既知である、人体内での小タンパク質化合物の半減期を延長するためのさらなる概念は、本発明の抗体構築物などの小タンパク質化合物のPEG化である。

10

【0109】

好ましい実施形態では、本発明による二重特異性抗体構築物を、例えば、構築物の血清半減期の延長を目的として、(例えばペプチド結合によって)融合パートナー(タンパク質またはポリペプチドまたはペプチドなど)と連結することができる。この融合パートナーは、ヒト血清アルブミン(「HSA」または「HALB」)、ならびにその配列変種、HSAに結合するペプチド、FcRnに結合するペプチド(「FcRn BP」)、または(抗体由来)Fc領域を含む構築物から選択することができる。この融合パートナーの例示的な配列を配列番号295~341に示す。一般的には、融合パートナーは、直接(例えば、ペプチド結合によって)、または(GGGGS)_n(式中、「n」は2以上の整数、例えば2または3または4)などのペプチドリンカーを介して、本発明による二重特異性抗体構築物のN末端またはC末端に連結することができる。好適なペプチドリンカーを配列番号285~293に示す。

20

【0110】

したがって、本発明による好ましい抗体構築物は以下を含む。

【0111】

(a)以下をN末端から以下の順に含むポリペプチド:

- ・配列番号39、配列番号49、配列番号59、配列番号69、配列番号79、配列番号89、配列番号99、配列番号109、配列番号119、配列番号129、配列番号139、配列番号149、配列番号159、配列番号169、配列番号437、配列番号471、配列番号472、配列番号473、配列番号474、配列番号475、配列番号476、配列番号477、配列番号478、配列番号479、配列番号480、配列番号481、配列番号482、配列番号483、配列番号484、配列番号485、配列番号486、配列番号487、配列番号488、配列番号489、配列番号490、配列番号491、配列番号492、配列番号493、及び配列番号531からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチド;
- ・配列番号285~293からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドリンカー;及び
- ・配列番号350、配列番号359、配列番号368、配列番号377、配列番号386、配列番号395、配列番号404、配列番号413、配列番号422、配列番号431、及び配列番号434からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチド;ならびに
- ・場合により、配列番号294に記載されるものなどのHisタグ;

30

40

【0112】

(b)以下をN末端から以下の順に含むポリペプチド:

- ・配列番号39、配列番号49、配列番号59、配列番号69、配列番号79、配列番号89、配列番号99、配列番号109、配列番号119、配列番号129、配列番号139、配列番号149、配列番号159、配列番号169、配列番号437、配列番号471、配列番号472、配列番号473、配列番号474、配列番号475、配列番号47

50

6、配列番号 4 7 7、配列番号 4 7 8、配列番号 4 7 9、配列番号 4 8 0、配列番号 4 8 1、配列番号 4 8 2、配列番号 4 8 3、配列番号 4 8 4、配列番号 4 8 5、配列番号 4 8 6、配列番号 4 8 7、配列番号 4 8 8、配列番号 4 8 9、配列番号 4 9 0、配列番号 4 9 1、配列番号 4 9 2、配列番号 4 9 3、及び配列番号 5 3 1 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；

・配列番号 2 8 5 ~ 2 9 3 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドリンカー；

・配列番号 3 5 0、配列番号 3 5 9、配列番号 3 6 8、配列番号 3 7 7、配列番号 3 8 6、配列番号 3 9 5、配列番号 4 0 4、配列番号 4 1 3、配列番号 4 2 2、配列番号 4 3 1、及び配列番号 4 3 4 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；

・場合により、配列番号 2 8 5 ~ 2 9 3 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドリンカー；

・配列番号 2 9 5 及び 3 0 1 ~ 3 3 0 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；ならびに

・場合により、配列番号 2 9 4 に記載されるものなどの H i s タグ；

【 0 1 1 3 】

(c) 以下を N 末端から以下の順に含むポリペプチド：

・ X₁ が Y または H であるアミノ酸配列

QRFVTGHFGGLX₁PANG (配列番号 296)

を有するポリペプチド；及び

・配列番号 3 9、配列番号 4 9、配列番号 5 9、配列番号 6 9、配列番号 7 9、配列番号 8 9、配列番号 9 9、配列番号 1 0 9、配列番号 1 1 9、配列番号 1 2 9、配列番号 1 3 9、配列番号 1 4 9、配列番号 1 5 9、配列番号 1 6 9、配列番号 4 3 7、配列番号 4 7 1、配列番号 4 7 2、配列番号 4 7 3、配列番号 4 7 4、配列番号 4 7 5、配列番号 4 7 6、配列番号 4 7 7、配列番号 4 7 8、配列番号 4 7 9、配列番号 4 8 0、配列番号 4 8 1、配列番号 4 8 2、配列番号 4 8 3、配列番号 4 8 4、配列番号 4 8 5、配列番号 4 8 6、配列番号 4 8 7、配列番号 4 8 8、配列番号 4 8 9、配列番号 4 9 0、配列番号 4 9 1、配列番号 4 9 2、配列番号 4 9 3、及び配列番号 5 3 1 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；

・配列番号 2 8 5 ~ 2 9 3 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドリンカー；

・配列番号 3 5 0、配列番号 3 5 9、配列番号 3 6 8、配列番号 3 7 7、配列番号 3 8 6、配列番号 3 9 5、配列番号 4 0 4、配列番号 4 1 3、配列番号 4 2 2、配列番号 4 3 1、及び配列番号 4 3 4 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；

・アミノ酸配列

QRFVTGHFGGLHPANG (配列番号 298) または QRFCTGHFGGLHPCNG (配列番号 300)

を有するポリペプチド；ならびに

・場合により、配列番号 2 9 4 に記載されるものなどの H i s タグ；

【 0 1 1 4 】

(d) 以下を N 末端から以下の順に含むポリペプチド

・配列番号 3 4 8、配列番号 3 5 7、配列番号 3 6 6、配列番号 3 7 5、配列番号 3 8 4、配列番号 3 9 3、配列番号 4 0 2、配列番号 4 1 1、配列番号 4 2 0、配列番号 4 2 9、及び配列番号 4 3 2 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；

・配列番号 2 9 2 に記載されるアミノ酸配列を有するペプチドリンカー；

・C 末端側にセリン残基が続く、配列番号 3 8、配列番号 4 8、配列番号 5 8、配列番号 6 8、配列番号 7 8、配列番号 8 8、配列番号 9 8、配列番号 1 0 8、配列番号 1 1 8、配列番号 1 2 8、配列番号 1 3 8、配列番号 1 4 8、配列番号 1 5 8、配列番号 1 6 8、配列番号 4 3 6、配列番号 4 5 6、配列番号 4 5 7、配列番号 4 5 8、配列番号 4 5 9、配列番号 4 6 0、配列番号 4 6 1、配列番号 4 6 2、配列番号 4 6 3、配列番号 4 6 4、配列番号 4 6 5、配列番号 4 6 6、配列番号 4 6 7、配列番号 4 6 8、配列番号 4 6 9、

10

20

30

40

50

配列番号 470、及び配列番号 530 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；

・配列番号 331 に記載されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；ならびに

以下を N 末端から以下の順に含むポリペプチド；

・配列番号 37、配列番号 47、配列番号 57、配列番号 67、配列番号 77、配列番号 87、配列番号 97、配列番号 107、配列番号 117、配列番号 127、配列番号 137、配列番号 147、配列番号 157、配列番号 167、配列番号 435、配列番号 445、配列番号 446、配列番号 447、配列番号 448、配列番号 449、配列番号 450、配列番号 451、配列番号 452、配列番号 453、配列番号 454、及び配列番号 455、及び配列番号 529 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；

10

・配列番号 292 に記載されるアミノ酸配列を有するペプチドリンカー；

・C 末端側にセリン残基が続く、配列番号 349、配列番号 358、配列番号 367、配列番号 376、配列番号 385、配列番号 394、配列番号 403、配列番号 412、配列番号 421、配列番号 430、及び配列番号 433 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；及び

・配列番号 332 に記載されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；

【0115】

(e) 以下を N 末端から以下の順に含むポリペプチド；

・配列番号 348、配列番号 357、配列番号 366、配列番号 375、配列番号 384、配列番号 393、配列番号 402、配列番号 411、配列番号 420、配列番号 429、及び配列番号 432 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；

20

・配列番号 292 に記載されるアミノ酸配列を有するペプチドリンカー；

・配列番号 38、配列番号 48、配列番号 58、配列番号 68、配列番号 78、配列番号 88、配列番号 98、配列番号 108、配列番号 118、配列番号 128、配列番号 138、配列番号 148、配列番号 158、配列番号 168、配列番号 436、配列番号 456、配列番号 457、配列番号 458、配列番号 459、配列番号 460、配列番号 461、配列番号 462、配列番号 463、配列番号 464、配列番号 465、配列番号 466、配列番号 467、配列番号 468、配列番号 469、配列番号 470、及び配列番号 530 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；及び

30

・配列番号 333 に記載されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；ならびに

以下を N 末端から以下の順に含むポリペプチド；

・配列番号 37、配列番号 47、配列番号 57、配列番号 67、配列番号 77、配列番号 87、配列番号 97、配列番号 107、配列番号 117、配列番号 127、配列番号 137、配列番号 147、配列番号 157、及び配列番号 167、配列番号 435、配列番号 445、配列番号 446、配列番号 447、配列番号 448、配列番号 449、配列番号 450、配列番号 451、配列番号 452、配列番号 453、配列番号 454、配列番号 455、及び配列番号 529 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；

・配列番号 292 に記載されるアミノ酸配列を有するペプチドリンカー；

40

・C 末端側にセリン残基が続く、配列番号 349、配列番号 358、配列番号 367、配列番号 376、配列番号 385、配列番号 394、配列番号 403、配列番号 412、配列番号 421、配列番号 430、及び配列番号 433 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；及び

・配列番号 334 に記載されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；

【0116】

(f) 以下を N 末端から以下の順に含むポリペプチド；

・配列番号 39、配列番号 49、配列番号 59、配列番号 69、配列番号 79、配列番号 89、配列番号 99、配列番号 109、配列番号 119、配列番号 129、配列番号 139、配列番号 149、配列番号 159、配列番号 169、配列番号 437、配列番号 47

50

1、配列番号 4 7 2、配列番号 4 7 3、配列番号 4 7 4、配列番号 4 7 5、配列番号 4 7 6、配列番号 4 7 7、配列番号 4 7 8、配列番号 4 7 9、配列番号 4 8 0、配列番号 4 8 1、配列番号 4 8 2、配列番号 4 8 3、配列番号 4 8 4、配列番号 4 8 5、配列番号 4 8 6、配列番号 4 8 7、配列番号 4 8 8、配列番号 4 8 9、配列番号 4 9 0、配列番号 4 9 1、配列番号 4 9 2、配列番号 4 9 3、及び配列番号 5 3 1 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；

・配列番号 2 8 5 ~ 2 9 3 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドリンカー；

・配列番号 3 5 0、配列番号 3 5 9、配列番号 3 6 8、配列番号 3 7 7、配列番号 3 8 6、配列番号 3 9 5、配列番号 4 0 4、配列番号 4 1 3、配列番号 4 2 2、配列番号 4 3 1、及び配列番号 4 3 4 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；

・配列番号 3 3 5 に記載されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；ならびに配列番号 3 3 6 に記載されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；

【 0 1 1 7 】

(g) 以下を N 末端から以下の順に含むポリペプチド：

・配列番号 3 9、配列番号 4 9、配列番号 5 9、配列番号 6 9、配列番号 7 9、配列番号 8 9、配列番号 9 9、配列番号 1 0 9、配列番号 1 1 9、配列番号 1 2 9、配列番号 1 3 9、配列番号 1 4 9、配列番号 1 5 9、配列番号 1 6 9、配列番号 4 3 7、配列番号 4 7 1、配列番号 4 7 2、配列番号 4 7 3、配列番号 4 7 4、配列番号 4 7 5、配列番号 4 7 6、配列番号 4 7 7、配列番号 4 7 8、配列番号 4 7 9、配列番号 4 8 0、配列番号 4 8 1、配列番号 4 8 2、配列番号 4 8 3、配列番号 4 8 4、配列番号 4 8 5、配列番号 4 8 6、配列番号 4 8 7、配列番号 4 8 8、配列番号 4 8 9、配列番号 4 9 0、配列番号 4 9 1、配列番号 4 9 2、配列番号 4 9 3、及び配列番号 5 3 1 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；及び

・配列番号 3 3 7 に記載されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；ならびに

以下を N 末端から以下の順に含むポリペプチド：

・配列番号 3 5 0、配列番号 3 5 9、配列番号 3 6 8、配列番号 3 7 7、配列番号 3 8 6、配列番号 3 9 5、配列番号 4 0 4、配列番号 4 1 3、配列番号 4 2 2、配列番号 4 3 1、及び配列番号 4 3 4 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；及び

・配列番号 3 3 8 に記載されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；

【 0 1 1 8 】

(h) 以下を N 末端から以下の順に含むポリペプチド：

・配列番号 3 9、配列番号 4 9、配列番号 5 9、配列番号 6 9、配列番号 7 9、配列番号 8 9、配列番号 9 9、配列番号 1 0 9、配列番号 1 1 9、配列番号 1 2 9、配列番号 1 3 9、配列番号 1 4 9、配列番号 1 5 9、配列番号 1 6 9、配列番号 4 3 7、配列番号 4 7 1、配列番号 4 7 2、配列番号 4 7 3、配列番号 4 7 4、配列番号 4 7 5、配列番号 4 7 6、配列番号 4 7 7、配列番号 4 7 8、配列番号 4 7 9、配列番号 4 8 0、配列番号 4 8 1、配列番号 4 8 2、配列番号 4 8 3、配列番号 4 8 4、配列番号 4 8 5、配列番号 4 8 6、配列番号 4 8 7、配列番号 4 8 8、配列番号 4 8 9、配列番号 4 9 0、配列番号 4 9 1、配列番号 4 9 2、配列番号 4 9 3、及び配列番号 5 3 1 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；及び

・配列番号 3 3 9 に記載されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；ならびに

以下を N 末端から以下の順に含むポリペプチド：

・配列番号 3 5 0、配列番号 3 5 9、配列番号 3 6 8、配列番号 3 7 7、配列番号 3 8 6、配列番号 3 9 5、配列番号 4 0 4、配列番号 4 1 3、配列番号 4 2 2、配列番号 4 3 1、及び配列番号 4 3 4 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；及び

・配列番号 3 4 0 に記載されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；または

【 0 1 1 9 】

(i) 以下をN末端から以下の順に含むポリペプチド：

- ・ 配列番号 3 9、配列番号 4 9、配列番号 5 9、配列番号 6 9、配列番号 7 9、配列番号 8 9、配列番号 9 9、配列番号 1 0 9、配列番号 1 1 9、配列番号 1 2 9、配列番号 1 3 9、配列番号 1 4 9、配列番号 1 5 9、配列番号 1 6 9、配列番号 4 3 7、配列番号 4 7 1、配列番号 4 7 2、配列番号 4 7 3、配列番号 4 7 4、配列番号 4 7 5、配列番号 4 7 6、配列番号 4 7 7、配列番号 4 7 8、配列番号 4 7 9、配列番号 4 8 0、配列番号 4 8 1、配列番号 4 8 2、配列番号 4 8 3、配列番号 4 8 4、配列番号 4 8 5、配列番号 4 8 6、配列番号 4 8 7、配列番号 4 8 8、配列番号 4 8 9、配列番号 4 9 0、配列番号 4 9 1、配列番号 4 9 2、配列番号 4 9 3、及び配列番号 5 3 1 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；
- ・ 配列番号 2 8 5 ~ 2 9 3 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドリinker；
- ・ 配列番号 3 5 0、配列番号 3 5 9、配列番号 3 6 8、配列番号 3 7 7、配列番号 3 8 6、配列番号 3 9 5、配列番号 4 0 4、配列番号 4 1 3、配列番号 4 2 2、配列番号 4 3 1、及び配列番号 4 3 4 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；ならびに
- ・ 配列番号 3 4 1 に記載されるアミノ酸配列を有するポリペプチド。

【 0 1 2 0 】

例えば、本発明の好ましい二重特異性抗体構築物は、以下に示すものからなる群から選択されるポリペプチドを含むかまたはそれからなる：

配列番号 2 2 4、配列番号 2 2 5、配列番号 2 2 6、配列番号 2 2 7、配列番号 2 2 8、配列番号 2 2 9、配列番号 2 3 0、配列番号 2 3 1、配列番号 2 3 2、配列番号 2 3 3、配列番号 2 3 4、配列番号 2 3 5、配列番号 2 3 6、配列番号 2 3 7、配列番号 2 4 2、配列番号 2 4 3、配列番号 2 4 4、配列番号 2 4 5、配列番号 2 4 6、配列番号 2 4 7、配列番号 2 4 8、配列番号 2 4 9、配列番号 2 5 0、及び配列番号 2 5 1。

【 0 1 2 1 】

上記のように、本発明のいくつかの好ましい抗体構築物は、アルブミンまたはアルブミン変種などの別の部分との融合によって修飾される。こうした融合構築物の特性、例えば標的親和性または細胞傷害活性などについて特性決定すれば、類似する融合構築物または非修飾二重特異性抗体構築物が、類似した（またはおそらくさらに良好な）特性を有するものと予測できることを当業者は理解されよう。例えば、アルブミンと融合された二重特異性抗体構築物が、測定可能なまたは望ましい細胞傷害活性または標的親和性を有する場合、アルブミンを含まない同様の構築物にも、同じもしくは類似した、またはさらに高い細胞傷害活性／標的親和性が観察されると予測できる。

【 0 1 2 2 】

別の好ましい実施形態によれば、本発明の二重特異性抗体構築物は、（ 2 つの結合ドメインに加えて）第 3 のドメインを含み、このドメインは、ヒンジ、C H 2、及び C H 3 ドメインをそれぞれが含む 2 つのポリペプチド単量体を含み、前記 2 つのポリペプチド（またはポリペプチド単量体）はペプチドリinkerを介して互いに融合される。好ましくは、前記第 3 のドメインは、N末端からC末端の順に、ヒンジ - C H 2 - C H 3 - リンカー - ヒンジ - C H 2 - C H 3 を含む。前記第 3 のドメインの好ましいアミノ酸配列を配列番号 5 4 1 ~ 5 4 8 に示す。前記ポリペプチド単量体のそれぞれは、好ましくは、配列番号 5 3 3 ~ 5 4 0 からなる群から選択されるアミノ酸配列か、またはそれらの配列と少なくとも 9 0 % 同一であるアミノ酸配列を有する。別の好ましい実施形態では、本発明の二重特異性抗体構築物の第 1 及び第 2 の結合ドメインは、例えば配列番号 2 8 5、2 8 6、2 8 8、2 8 9、2 9 0、2 9 2、及び 2 9 3 からなる群から選択されるペプチドリinkerを介して第 3 のドメインと融合される。

【 0 1 2 3 】

本発明によれば、「ヒンジ」は I g G ヒンジ領域である。この領域は、K a b a t 付番法を使用した類推により特定することができる（K a b a t 位置 2 2 3 ~ 2 4 3 を参照）

10

20

30

40

50

。上記によれば、「ヒンジ」の最小要件は、K a b a t 付番法による D 2 3 1 ~ P 2 4 3 の I g G₁ 配列鎖に対応するアミノ酸残基である。C H 2 及び C H 3 という用語は、免疫グロブリン重鎖定常領域 2 及び 3 を意味する。これらの領域は、K a b a t 付番法を使用した類推により特定することができる (C H 2 については K a b a t 位置 2 4 4 ~ 3 6 0、及び C H 3 については K a b a t 位置 3 6 1 ~ 4 7 8 を参照)。免疫グロブリン間には、それらの I g G₁ F c 領域、I g G₂ F c 領域、I g G₃ F c 領域、I g G₄ F c 領域、I g M F c 領域、I g A F c 領域、I g D F c 領域、及び I g E F c 領域に関して、多少の変動があることがわかっている (例えば、P a d l a n, M o l e c u l a r I m m u n o l o g y, 3 1 (3), 1 6 9 - 2 1 7 (1 9 9 3) を参照)。F c 単量体という用語は、I g A、I g D、及び I g G の最後の 2 つの重鎖定常領域、及び I g E 及び I g M の最後の 3 つの重鎖定常領域を指す。F c 単量体はまた、これらのドメインの N 末端に柔軟なヒンジを含むことができる。I g A 及び I g M の場合、F c 単量体は J 鎖を含み得る。I g G の場合、F c 部分は免疫グロブリンドメイン C H 2 及び C H 3 を含み、最初の 2 つのドメインと C H 2 間にヒンジを含む。免疫グロブリンの F c 部分の境界は変動する場合があるが、機能的ヒンジ、C H 2 及び C H 3 ドメインを含むヒト I g G 重鎖 F c 部分の例では、例えば、I g G₄ の場合、それぞれ (ヒンジドメインの) 残基 D 2 3 1 ~ (C H 3 ドメインの C 末端の) P 4 7 6、または D 2 3 1 ~ L 4 7 6 を含むと定義することができる (付番は K a b a t による)。

【 0 1 2 4 】

したがって、本発明の抗体構築物は、N 末端から C 末端の順に以下を含み得る：

- (a) 第 1 の結合ドメイン；
- (b) 配列番号 2 8 6、2 9 2、及び 2 9 3 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドリinker；
- (c) 第 2 の結合ドメイン；
- (d) 配列番号 2 8 5、2 8 6、2 8 8、2 8 9、2 9 0、2 9 2、及び 2 9 3 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドリinker；
- (e) 第 3 のドメインの第 1 のポリペプチド単量体 (ヒンジ、C H 2 及び C H 3 ドメインを含む) ；
- (f) 配列番号 5 5 0、5 5 1、5 5 2、及び 5 5 3 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドリinker；ならびに
- (g) 第 3 ドメインの第 2 のポリペプチド単量体 (ヒンジ、C H 2 及び C H 3 ドメインを含む) 。

【 0 1 2 5 】

本発明の抗体構築物はまた、N 末端から C 末端の順に以下を含むことが好ましい：

- ・ 配列番号 3 9、配列番号 4 9、配列番号 5 9、配列番号 6 9、配列番号 7 9、配列番号 8 9、配列番号 9 9、配列番号 1 0 9、配列番号 1 1 9、配列番号 1 2 9、配列番号 1 3 9、配列番号 1 4 9、配列番号 1 5 9、配列番号 1 6 9、配列番号 4 3 7、配列番号 4 7 1、配列番号 4 7 2、配列番号 4 7 3、配列番号 4 7 4、配列番号 4 7 5、配列番号 4 7 6、配列番号 4 7 7、配列番号 4 7 8、配列番号 4 7 9、配列番号 4 8 0、配列番号 4 8 1、配列番号 4 8 2、配列番号 4 8 3、配列番号 4 8 4、配列番号 4 8 5、配列番号 4 8 6、配列番号 4 8 7、配列番号 4 8 8、配列番号 4 8 9、配列番号 4 9 0、配列番号 4 9 1、配列番号 4 9 2、配列番号 4 9 3、及び配列番号 5 3 1 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する第 1 の結合ドメイン；
- ・ 配列番号 2 8 6、2 9 2、及び 2 9 3 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドリinker；
- ・ 配列番号 3 5 0、配列番号 3 5 9、配列番号 3 6 8、配列番号 3 7 7、配列番号 3 8 6、配列番号 3 9 5、配列番号 4 0 4、配列番号 4 1 3、配列番号 4 2 2、配列番号 4 3 1、及び配列番号 4 3 4 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する第 2 の結合ドメイン；
- ・ 配列番号 2 8 5、2 8 6、2 8 8、2 8 9、2 9 0、2 9 2、及び 2 9 3 からなる群か

ら選択されるアミノ酸配列を有するペプチドリンカー；

・配列番号541～548からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する第3のドメイン。

【0126】

したがって、好ましい実施形態では、本発明の抗体構築物は、配列番号517、配列番号518、配列番号519、配列番号520、配列番号521、配列番号522、配列番号523、配列番号524、配列番号525、配列番号526、配列番号527、及び配列番号528に示されたものからなる群から選択されるポリペプチドを含むかまたはそれからなる。

【0127】

配列表(表18)には、DLL3-4及びDLL3-14と命名した結合物質の配列変種も示す。これらの配列変種に挿入された点変異は、対応するscFv分子内にあるこの変異の位置に従って識別される。あるいは、CDR領域またはVH/VL領域でもあり得る、基準となるポリペプチドに応じて、この位置を識別する方法も可能であると理解される。例えば、DLL3-4-001と命名された変種は、そのscFv分子(配列番号437)内にG44C-G243Cの二重変異を有する。これは、対応するVH鎖のG44C変異(配列番号435)及び対応するVL鎖のG101C変異(配列番号436)に相当する。

【0128】

抗体構築物の共有結合修飾もまた、本発明の範囲内に含まれ、これは常にではないものの一般に翻訳後に行われる。例えば、抗体構築物のいくつかの種類の共有結合修飾は、抗体構築物の特定のアミノ酸残基を、選択された側鎖またはN末端もしくはC末端残基と反応することができる有機誘導体化剤と反応させることによって、分子内に導入される。

【0129】

システイニル残基は、最も一般的には、-ハロアセテート(及び対応するアミン)、例えばクロロ酢酸またはクロロアセトアミドと反応し、カルボキシメチルまたはカルボキシアミドメチル誘導体を生じる。システイニル残基はまた、プロモトリフルオロアセトン、-プロモ-(5-イミドゾイル)プロピオン酸、リン酸クロロアセチル、N-アルキルマレイミド、3-ニトロ-2-ピリジルジスルフィド、メチル2-ピリジルジスルフィド、p-クロロメルクリ安息香酸、2-クロロメルクリ-4-ニトロフェノール、またはクロロ-7-ニトロベンゾ-2-オキサ-1,3-ジアゾールとの反応により誘導体化される。

【0130】

ヒスチジル残基は、pH5.5～7.0でジエチルピロカーボネートと反応させて誘導体化されるが、それはこの薬剤がヒスチジル側鎖に対して比較的特異的であるという理由による。パラ-プロモフェナシルブロミドもまた有用であり、この反応は、好ましくは、pH6.0の0.1Mカコジル酸ナトリウム中で行われる。リシニル及びアミノ末端残基は、コハク酸または他のカルボン酸無水物と反応する。これらの薬剤による誘導体化は、リシニル残基の電荷を反転させる効果を有する。アルファ-アミノ含有残基を誘導体化する他の好適な試薬には、ピコリンイミド酸メチルなどのイミドエステル；ピリドキサルリン酸；ピリドキサル；クロロボロヒドリド；トリニトロベンゼンスルホン酸；O-メチルイソウレア；2,4-ペンタンジオン；及びグリオキシレートとのトランスアミナーゼ触媒反応を含む。

【0131】

アルギニル残基は、1つまたは複数の従来の試薬、特にフェニルグリオキサル、2,3-ブタンジオン、1,2-シクロヘキサジオン、及びニンヒドリンとの反応により修飾される。アルギニン残基の誘導体化は、グアニジン官能基のpKaが高いため、この反応をアルカリ条件下で実施する必要がある。さらに、これらの試薬は、リジンの基ならびにアルギニンイプシロン-アミノ基と反応することができる。

【0132】

10

20

30

40

50

チロシル残基の特異的修飾は、特に芳香族ジアゾニウム化合物またはテトラニトロメタンとの反応によるチロシル残基へのスペクトル標識の導入を目的として行われる場合がある。最も一般的には、N - アセチルイミジゾール (N - a c e t y l i m i d i z o l e) 及びテトラニトロメタンを使用して、それぞれO - アセチルチロシル種及び3 - ニトロ誘導体を形成することができる。^{1 2 5} Iまたは^{1 3 1} Iを用いてチロシル残基をヨウ素化して、ラジオイムノアッセイに使用される標識タンパク質を調製する上記のクロラミンT法が適している。

【0133】

カルボキシル側基(アスパルチルまたはグルタミル)は、カルボジイミド($R' - N = C = N - R'$)との反応によって選択的に修飾され、ここで、R及びR'は場合により異なるアルキル基、例えば1 - シクロヘキシル - 3 - (2 - モルホリニル - 4 - エチル)カルボジイミドまたは1 - エチル - 3 - (4 - アゾニア - 4, 4 - ジメチルペンチル)カルボジイミドである。さらに、アスパルチル残基及びグルタミル残基は、アンモニウムイオンとの反応によってアスパラギニル残基及びグルタミニル残基に変換される。

【0134】

二官能性剤を用いた誘導体化は、本発明の抗体構築物を非水溶性の支持マトリックスまたは支持表面に架橋して、さまざまな方法に使用する際に有用である。一般的に使用される架橋剤として、例えば、1, 1 - ビス(ジアゾアセチル) - 2 - フェニルエタン、グルタルアルデヒド、例えば4 - アジドサリチル酸とのエステルなどのN - ヒドロキシスクシンイミドエステル、3, 3' - ジチオビス(スクシンイミジルプロピオネート)などのジスクシンイミジルエステルを含むホモ二官能性イミドエステル、及びビス - N - マレイミド - 1, 8 - オクタンなどの二官能性マレイミドが挙げられる。メチル - 3 - [(p - アジドフェニル)ジチオ]プロピオイミデートなどの誘導体化剤は、光の存在下で架橋を形成することができる光活性化中間体を生成する。あるいは、臭化シアン活性化炭水化物などの反応性非水溶性マトリックス、ならびに米国特許第3, 969, 287号;同第3, 691, 016号;同第4, 195, 128号;同第4, 247, 642号;同第4, 229, 537号;及び同第4, 330, 440号に記載されている反応性基材がタンパク質の固定化に使用される。

【0135】

グルタミニル及びアスパラギニル残基は、しばしば脱アミド化され、それぞれ対応するグルタミル残基及びアスパルチル残基になる。あるいは、これらの残基は、穏やかな酸性条件下で脱アミド化される。これらの残基のいずれの形態も、本発明の範囲に含まれる。

【0136】

他の修飾として、プロリン及びリジンのヒドロキシル化、セリルまたはスレオニル残基のヒドロキシル基のリン酸化、リジン、アルギニン及びヒスチジン側鎖の - アミノ基のメチル化(T. E. Creighton, Proteins: Structure and Molecular Properties, W. H. Freeman & Co., San Francisco, 1983, pp. 79 - 86)、N末端アミンのアセチル化、ならびに任意のC末端カルボキシル基のアミド化が挙げられる。

【0137】

本発明の範囲内に含まれる抗体構築物の別の種類の共有結合修飾には、タンパク質のグリコシル化パターンの変更を含む。当技術分野で既知のように、グリコシル化パターンは、タンパク質の配列(例えば、以下で述べる特定のグリコシル化アミノ酸残基の存在または不在)、またはそのタンパク質を産生する宿主細胞もしくは生物体の両方に依存し得る。個別の発現系について以下で述べる。

【0138】

ポリペプチドのグリコシル化は通常、N結合型またはO結合型のいずれかである。N結合型とは、アスパラギン残基の側鎖への糖鎖部分の付加を指す。トリペプチド配列であるアスパラギン - X - セリン及びアスパラギン - X - スレオニン(ただし、Xはプロリン以外の任意のアミノ酸である)は、アスパラギン側鎖への糖鎖部分の酵素付加の際に認識配

10

20

30

40

50

列となる。したがって、ポリペプチド中にこのいずれかのトリペプチド配列が存在すると、グリコシル化可能な部位となる。O結合型グリコシル化とは、N - アセチルガラクトサミン、ガラクトース、またはキシロースのうち1つの糖の、ヒドロキシアミノ酸への付加を指し、最も一般的にはセリンまたはスレオニンであるが、5 - ヒドロキシプロリンまたは5 - ヒドロキシリジンが使用される場合もある。

【0139】

抗体構築物へのグリコシル化部位の付加は、(N結合型グリコシル化部位の場合)上記のトリペプチド配列の1つ以上を含むようにアミノ酸配列を改変することにより行うと好都合である。改変はまた、(O結合型グリコシル化部位の場合)開始配列への1つ以上のセリンまたはスレオニン残基の付加または置換によって行うこともできる。簡潔には、抗体構築物のアミノ酸配列を、DNAレベルでの変更、特に目的のアミノ酸に翻訳されるコドンが生じるようにポリペプチドをコードするDNAを、予め選択された塩基で変異させることによって改変することが好ましい。

【0140】

抗体構築物上の糖鎖部分の数を増加させる別の手段は、そのタンパク質へのグリコシドの化学的または酵素的結合による。このような手順は、N結合型及びO結合型グリコシル化の際に、グリコシル化が可能なタンパク質を宿主細胞に産生する必要がない点で有利である。使用される結合様式に応じて、糖(複数可)を(a)アルギニン及びヒスチジン、(b)遊離カルボキシル基、(c)システインのものなどの遊離スルフヒドリル基、(d)セリン、スレオニンもしくはヒドロキシプロリンのものなどの遊離ヒドロキシル基、(e)フェニルアラニン、チロシン、もしくはトリプトファンのものなどの芳香族残基、または(f)グルタミンのアミド基に付加することができる。このような方法は、WO 87/05330及びAppl. in and Wriston, 1981, CRC Crit. Rev. Biochem., pp. 259 - 306に記載されている。

【0141】

出発抗体構築物上に存在する糖鎖部分の除去は、化学的または酵素的に行うことができる。化学的脱グリコシル化には、化合物トリフルオロメタンスルホン酸または等価化合物へのタンパク質の曝露を必要とする。この処理により、ポリペプチドは無傷な状態のままで、結合する糖(N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミン)を除くほとんどまたはすべての糖が切断される。化学的脱グリコシル化については、Hakimuddin et al., 1987, Arch. Biochem. Biophys. 259: 52によって、及びEdge et al., 1981, Anal. Biochem. 118: 131により記載されている。ポリペプチド上の糖鎖部分の酵素的切断は、Thotakura et al., 1987, Meth. Enzymol. 138: 350に記載されている、さまざまなエンドグリコシダーゼ及びエキソグリコシダーゼの使用によって行うことができる。グリコシル化可能な部位でのグリコシル化は、Duskin et al., 1982, J. Biol. Chem. 257: 3105によって記載されている化合物ツニカマイシンの使用により防止することができる。ツニカマイシンは、タンパク質 - N - グリコシド連結の形成を妨げる。

【0142】

本明細書では抗体構築物の他の修飾も想定されている。例えば、抗体構築物の別の種類の共有結合修飾には、さまざまな非タンパク質性ポリマーへの抗体構築物の架橋を含み、このポリマーには、米国特許第4,640,835号;同第4,496,689号;同第4,301,144号;同第4,670,417号;同第4,791,192号または同第4,179,337号に示される様式の種々のポリオール、例えばポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、ポリオキシアルキレン、またはポリエチレングリコールとポリプロピレングリコールとのコポリマーを含むがこれらに限定されない。加えて、当技術分野で既知のように、例えば、PEGなどのポリマーの付加を容易にするために抗体構築物内のさまざまな位置でアミノ酸置換を行うことができる。

【0143】

いくつかの実施形態では、本発明の抗体構築物の共有結合修飾は、1つ以上の標識の付加を含む。立体障害の可能性を低減するために、さまざまな長さのスペーサーアームによって標識基を抗体構築物に結合することができる。タンパク質を標識するさまざまな方法が当技術分野で既知であり、本発明を実施する際に使用することができる。用語「標識」または「標識基」とは、任意の検出可能な標識を指す。一般に標識は、標識を検出しようとするアッセイに応じて、さまざまなクラスに分類され、以下の例が挙げられるが、これらに限定されない：

- a) 放射性同位体または放射性核種（例えば、 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{35}S 、 ^{89}Zr 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I ）などの放射性同位体または重同位体であり得る、同位体標識
- b) 磁気標識（例えば、磁気粒子）
- c) 酸化還元活性部分
- d) 蛍光基（例えば、FITC、ローダミン、ランタニド蛍光体）、化学発光基、及び「低分子」蛍光体またはタンパク質性蛍光体のいずれかであり得るフルオロフォアなどの光学色素（発色団、蛍光体、及びフルオロフォアを含むがこれらに限定されない）
- e) 酵素群（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、 α -ガラクトシダーゼ、ルシフェラーゼ、アルカリホスファターゼ）
- f) ビオチン化基
- g) 二次レポーターによって認識される所定のポリペプチドエピトープ（例えば、ロイシンジッパー対配列、二次抗体の結合部位、金属結合ドメイン、エピトープタグなど）。

【0144】

「蛍光標識」は、その固有の蛍光特性によって検出することができる任意の分子を意味する。好適な蛍光標識としては、フルオレセイン、ローダミン、テトラメチルローダミン、エオシン、エリスロシン、クマリン、メチル-クマリン、ピレン、マラカイトグリーン、スチルベン、ルシファーイエロー、カスケードブルーJ、テキサスレッド、IAEDANS、EDANS、BODIPY FL、LC Red 640、Cy 5、Cy 5.5、LC Red 705、オレゴングリーン、Alexa-Fluor色素（Alexa Fluor 350、Alexa Fluor 430、Alexa Fluor 488、Alexa Fluor 546、Alexa Fluor 568、Alexa Fluor 594、Alexa Fluor 633、Alexa Fluor 660、Alexa Fluor 680）、カスケードブルー、カスケードイエロー、及びR-フィコエリトリン（PE）（Molecular Probes、Eugene, OR）、FITC、ローダミン、及びテキサスレッド（Pierce、Rockford, IL）、Cy5、Cy5.5、Cy7（Amersham Life Science、Pittsburgh, PA）が挙げられるが、これらに限定されない。フルオロフォアを含む好適な光学色素は、Molecular Probes Handbook by Richard P. Hauglandに記載されている。

【0145】

また好適なタンパク質性蛍光標識としては、Renilla、Ptilosarcus、またはAequorea種のGFP（Chalfie et al., 1994, Science 263: 802-805）、EGFP（Clontech Laboratories, Inc., Genbankアクセッション番号U55762）を含む緑色蛍光タンパク質、青色蛍光タンパク質（BFP, Quantum Biotechnologies, Inc. 1801 de Maisonneuve Blvd. West, 8th Floor, Montreal, Quebec, Canada H3H 1J9; Stauber, 1998, Biotechniques 24: 462-471; Heim et al., 1996, Curr. Biol. 6: 178-182）、強化型黄色蛍光タンパク質（EYFP, Clontech Laboratories, Inc.）、ルシフェラーゼ（Ichiki et al., 1993, J. Immunol. 150: 5408-5417）、ガラクトシダーゼ（Nolan et al., 1

10

20

30

40

50

988, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 85: 2603 - 2607)、及びRenilla(WO92/15673、WO95/07463、WO98/14605、WO98/26277、WO99/49019、米国特許第5,292,658号、同第5,418,155号、同第5,683,888号、同第5,741,668号、同第5,777,079号、同第5,804,387号、同第5,874,304号、同第5,876,995号、同第5,925,558号)が挙げられるが、これらに限定されない。

【0146】

ロイシンジッパードメインは、それが見られるタンパク質のオリゴマー化を促進するペプチドである。ロイシンジッパーは当初、いくつかのDNA結合タンパク質において同定され(Landschulz et al., 1988, Science 240: 1759)、それ以降、さまざまな異なるタンパク質に見出されている。特に知られているロイシンジッパーは、二量体化または三量体化する、天然に存在するペプチド及びその誘導体である。可溶性オリゴマータンパク質の作製に適したロイシンジッパードメインの例は、PCT出願WO94/10308に記載されており、肺サーファクタントタンパク質D(SPD)由来のロイシンジッパーはHoppe et al., 1994, FEBS Letters 344: 191に記載されている。そこに融合される異種タンパク質の安定的な三量体化を可能にする修飾ロイシンジッパーの使用については、Fanslow et al., 1994, Semin. Immunol. 6: 267 - 78に記載されている。ある手法では、ロイシンジッパーペプチドに融合されたDLL3抗体断片または誘導体を含む組換え融合タンパク質を、好適な宿主細胞に発現させ、得られる可溶性オリゴマーDLL3抗体断片または誘導体を培養上清から回収する。

【0147】

本発明の抗体構築物はまた、例えばその分子の単離に役立つ、またはその分子の薬物動態プロファイルの適合に関連する追加ドメインを含んでもよい。抗体構築物の単離に役立つドメインは、単離方法、例えば単離用カラムで捕捉できるペプチドモチーフまたは二次的に導入される部分から選択することができる。そのような追加ドメインの非限定的な実施形態には、Mycタグ、HATタグ、HAタグ、TAPタグ、GSTタグ、キチン結合ドメイン(CBDタグ)、マルトース結合タンパク質(MBPタグ)、Flagタグ、Streptタグ及びその変種(例えば、StreptIIタグ)、ならびにHisタグとして知られるペプチドモチーフを含む。CDRの同定によって特徴付けられる本明細書に開示する抗体構築物はすべて、分子のアミノ酸配列中の連続するHis残基、好ましくは5つ、より好ましくは6つのHis残基(ヘキサヒスチジン)のリピートとして一般に知られているHisタグドメインを含むことが好ましい。Hisタグは、例えば、抗体構築物のN末端にもC末端にも位置することができるが、C末端に位置することが好ましい。最も好ましくは、ヘキサヒスチジントグ(HHHHHH)を、ペプチド結合を介して本発明による抗体構築物のC末端に連結する。

【0148】

本発明の抗体構築物の第1の結合ドメインは、標的細胞表面にあるヒトDLL3に結合する。ヒトDLL3の好ましいアミノ酸配列は、配列番号252によって表される。用語「表面に」は、本発明に関連して、結合ドメインがDLL3細胞外ドメイン(DLL3ECD)内に含まれるエピトープに特異的に結合することを意味するものと理解される。したがって、本発明による第1の結合ドメインは、好ましくは、天然に発現する細胞もしくは細胞株によって、及び/またはDLL3で形質転換されたもしくは(安定的に/一過性に)トランスフェクトされた細胞もしくは細胞株によって発現される場合に、DLL3に結合する。好ましい実施形態では、第1の結合ドメインはまた、BIACoreまたはScatchardなどのin vitro結合アッセイにおいて、DLL3を「標的」または「リガンド」分子として使用する場合に、DLL3に結合する。「標的細胞」は、その表面にDLL3を発現するいずれの原核細胞または真核細胞でもあり得るが、好ましくは標的細胞は、ヒトまたは動物の身体の一部である細胞、例えばDLL3を特異的発現

する癌細胞または腫瘍細胞である。

【0149】

用語「DLL3 ECD」とは、DLL3の膜貫通ドメイン及び細胞質ドメインを本質的に含まないDLL3の一形態を指す。本発明のDLL3ポリペプチドでの膜貫通ドメインの同定は、当技術分野でその種の疎水性ドメインの同定に慣用的に用いられている基準に従って同定されることを当業者は理解されよう。膜貫通ドメインの厳密な境界は変動し得るが、本明細書で具体的に述べるドメインのいずれかの末端の約5アミノ酸以下までである可能性が高い。好ましいヒトDLL3 ECDを配列番号253に示す。

【0150】

ヒトDLL3に対する第1の結合ドメインの親和性は、好ましくは20 nM、より好ましくは10 nM、さらにより好ましくは5 nM、さらにより好ましくは2 nM、さらにより好ましくは1 nM、さらにより好ましくは0.6 nM、さらにより好ましくは0.5 nM、最も好ましくは0.4 nMである。例えば、親和性は、例えば実施例に記載されるBIACoreアッセイまたはScatchardアッセイにおいて測定することができる。それ以外の親和性の測定方法も当業者に周知である。

【0151】

T細胞またはTリンパ球は、細胞媒介免疫において中心的な役割を果たすリンパ球（それ自体、白血球の一種）の一種である。T細胞には、それぞれ異なる機能を有するいくつかのサブセットが存在する。T細胞は、その細胞表面にT細胞受容体（TCR）が存在する点で他のリンパ球、例えばB細胞及びNK細胞と区別することができる。TCRは、主要組織適合遺伝子複合体（MHC）分子に結合した抗原の認識を担い、2種類のタンパク質鎖から構成される。95%のT細胞で、TCRはアルファ（ ）鎖及びベータ（ ）鎖からなる。TCRが抗原ペプチド及びMHC（ペプチド/MHC複合体）と接触すると、Tリンパ球が、関連酵素、共受容体、特化したアダプター分子、及び活性化または放出された転写因子によって媒介される一連の生化学的事象を通じて活性化される。

【0152】

CD3受容体複合体は、タンパク質複合体であり、4つの鎖から構成される。哺乳動物では、この複合体にCD3（ガンマ）鎖、CD3（デルタ）鎖、及び2つのCD3（イプシロン）鎖が含まれる。これらの鎖は、T細胞受容体（TCR）及びいわゆる（ゼータ）鎖と会合してT細胞受容体CD3複合体を形成し、Tリンパ球において活性化シグナルを生成する。CD3（ガンマ）、CD3（デルタ）、及びCD3（イプシロン）鎖は、単一の細胞外免疫グロブリンドメインを含む、関連性の高い免疫グロブリンスーパーファミリーの細胞表面タンパク質である。CD3分子の細胞内尾部は、TCRのシグナル伝達能に必須である免疫受容体チロシン活性化モチーフまたは略称ITAMとして知られる単一の保存的モチーフを含む。CD3イプシロン分子は、ヒトの第11染色体に存在するCD3E遺伝子によってコードされるポリペプチドである。最も好ましいCD3イプシロンのエピトープは、ヒトCD3イプシロン細胞外ドメインのアミノ酸残基1~27の範囲に含まれる。

【0153】

多特異性、少なくとも二重特異性抗体構築物によるT細胞の動員を通じてリダイレクトされる標的細胞の溶解には、細胞溶解シナプスの形成ならびにパーフォリン及びグランザイムの送達を伴う。関与するT細胞は、連続的な標的細胞の溶解が可能であり、ペプチド抗原のプロセッシング及び提示、またはクローン性T細胞の分化を妨げる免疫回避機構による影響を受けない（例えば、WO2007/042261を参照）。

【0154】

DLL3 x CD3二重特異性抗体構築物によって媒介される細胞傷害性は、さまざまな方法で測定することができる。実施例8.1~8.7を参照のこと。エフェクター細胞は、例えば、刺激された濃縮（ヒト）CD8陽性T細胞または未刺激の（ヒト）末梢血単核細胞（PBMC）であり得る。標的細胞がマカク起源である場合、またはマカクDLL3を発現するもしくはマカクDLL3でトランスフェクトされている場合、エフェクター細

胞もまた、マカクT細胞株、例えば4119LnPxなどのマカク起源であるべきである。標的細胞は、DLL3、例えばヒトまたはマカクDLL3（の少なくとも細胞外ドメイン）を発現するはずである。標的細胞は、DLL3、例えばヒトまたはマカクDLL3で安定的にまたは一過性にトランスフェクトされた細胞株（例えば、CHO）であり得る。あるいは、標的細胞は、ヒト肺癌細胞株SHP-77などの天然DLL3陽性発現細胞株であり得る。通常、EC50値は、細胞表面に高レベルのDLL3を発現する標的細胞株では低くなると予測される。エフェクター対標的細胞（E:T）比は通常、約10:1であるが、これは変更することもできる。DLL3xCD3二重特異性抗体構築物の細胞傷害活性は、51クロム放出アッセイ（インキュベーション時間約18時間）において、またはFACSを用いた細胞傷害性アッセイ（インキュベーション時間約48時間）において測定することができる。アッセイのインキュベーション時間（細胞傷害性反応）の変更も可能である。細胞傷害性を測定する他の方法は、当業者に周知であり、MTTまたはMTSアッセイ、生物発光アッセイを含むATPに基づくアッセイ、スルホローダミンB（SRB）アッセイ、WSTアッセイ、クローン原性アッセイ、及びECIS技術を含む。

【0155】

本発明のDLL3xCD3二重特異性抗体構築物によって媒介される細胞傷害活性は、好ましくは、細胞を用いた細胞傷害性アッセイで測定される。また、51クロム放出アッセイでも測定することができる。細胞傷害活性はEC50値によって表され、これは最大半量有効濃度（ベースラインと最大値の中間の細胞傷害性反応を誘導する抗体構築物の濃度）に相当する。好ましくは、DLL3xCD3二重特異性抗体構築物のEC50値は、5000pMまたは4000pM、より好ましくは3000pMまたは2000pM、さらにより好ましくは1000pMまたは500pM、さらにより好ましくは400pMまたは300pM、さらにより好ましくは200pM、さらにより好ましくは100pM、さらにより好ましくは50pM、さらにより好ましくは20pMまたは10pM、最も好ましくは5pMである。

【0156】

さまざまなアッセイにおいて、上記に定めたEC50値を測定することができる。刺激された/濃縮CD8+T細胞をエフェクター細胞として使用した場合、未刺激のPBMCと比較して、EC50値が低くなると予想できることを当業者は認識している。さらにEC50値は、標的細胞が多数の標的抗原を発現する場合、標的発現の少ないラットと比べ低くなると予測することができる。例えば、刺激された/濃縮ヒトCD8+T細胞をエフェクター細胞として使用する（及びCHO細胞などのDLL3トランスフェクト細胞またはDLL3陽性ヒト肺癌細胞株SHP-77のいずれかを標的細胞として使用する）とき、DLL3xCD3二重特異性抗体構築物のEC50値は、好ましくは1000pM、より好ましくは500pM、さらにより好ましくは250pM、さらにより好ましくは100pM、さらにより好ましくは50pM、さらにより好ましくは10pM、最も好ましくは5pMである。ヒトPBMCをエフェクター細胞として使用するとき、DLL3xCD3二重特異性抗体構築物のEC50値は、好ましくは5000pMまたは4000pM（特に、標的細胞がDLL3陽性ヒト肺癌細胞株SHP-77である場合）、より好ましくは2000pM（特に標的細胞がCHO細胞などのDLL3トランスフェクト細胞である場合）、より好ましくは1000pMまたは500pM、さらにより好ましくは200pM、さらにより好ましくは150pM、さらにより好ましくは100pM、最も好ましくは50pM、またはそれ以下である。LnPx4119などのマカクT細胞株をエフェクター細胞として使用し、CHO細胞などのマカクDLL3トランスフェクト細胞株を標的細胞株として使用するとき、DLL3xCD3二重特異性抗体構築物のEC50値は、好ましくは2000pMまたは1500pM、より好ましくは1000pMまたは500pM、さらにより好ましくは300pMまたは250pM、さらにより好ましくは100pM、最も好ましくは50pMである。

【0157】

好ましくは、本発明のD L L 3 x C D 3二重特異性抗体構築物は、C H O細胞などのD L L 3陰性細胞の溶解を誘導／媒介しないか、または溶解を本質的に誘導／媒介しない。用語「溶解を誘導しない」、「溶解を本質的に誘導しない」、「溶解を媒介しない」、または「溶解を本質的に媒介しない」とは、D L L 3陽性ヒト肺癌細胞株S H P - 77（上記参照）を100%とした場合に、本発明の抗体構築物がD L L 3陰性細胞の30%超、好ましくは20%超、より好ましくは10%超、特に好ましくは9%、8%、7%、6%、または5%超の溶解を誘導または媒介しないことを意味する。これは通常、500nMまでの抗体構築物の濃度で当てはまる。当業者であれば、特に労力を要せずに細胞溶解を測定する方法を理解している。さらに、本明細書では細胞溶解の測定方法の具体的な指示を教示する。

10

【0158】

個々のD L L 3 x C D 3二重特異性抗体構築物の単量体アイソフォームと二量体アイソフォームとの細胞傷害活性の差を「効力差（potency gap）」と称する。この効力差は、例えば、その分子の単量体形態のE C₅₀値と二量体形態のE C₅₀値との比率で算出することができる（実施例15を参照）。本発明のD L L 3 x C D 3二重特異性抗体構築物の効力差は、好ましくは5、より好ましくは4、さらにより好ましくは3、さらにより好ましくは2、最も好ましくは1である。

【0159】

本発明の抗体構築物の第1及び／または第2の（または任意のさらなる）結合ドメイン（複数可）は、好ましくは、霊長類の哺乳動物目のメンバーにおいて種間特異的である。種間特異的C D 3結合ドメインについては、例えばW O 2 0 0 8 / 1 1 9 5 6 7に記載されている。一実施形態によれば、第1及び／または第2の結合ドメインは、それぞれ、ヒトD L L 3及びヒトC D 3への結合に加えて、新世界霊長類（コモンマーモセット（*Callithrix jacchus*）、ワタボウシタマリン（*Saguinus Oedipus*）、またはコモンリスザル（*Saimiri sciureus*）など）、旧世界霊長類（ヒヒ及びマカクなど）、テナガザル、オランウータン、及びヒト以外のヒト亜科物を含む（がこれらに限定されない）霊長類のD L L 3 / C D 3にも結合する。標的細胞の表面にあるヒトD L L 3に結合する本発明の抗体構築物の第1の結合ドメインはまた、少なくともマカクD L L 3にも結合し、及び／またはT細胞の表面にあるヒトC D 3に結合する第2の結合ドメインはまた、少なくともマカクのC D 3にも結合することが想定される。好ましいマカクは、カニクイザル（*Macaca fascicularis*）である。アカゲザル（*Macaca mulatta*）もまた想定される。

20

30

【0160】

本発明の好ましい二重特異性抗体構築物は、標的細胞表面にあるヒトD L L 3に結合する第1の結合ドメインと、T細胞表面にあるヒトC D 3及び少なくともマカクC D 3に結合する第2の結合ドメインとを含む。本実施形態の一態様では、第1の結合ドメインは、配列番号260に示される領域内に含まれるD L L 3のエピトープに結合する。

【0161】

本発明の一態様では、第1の結合ドメインは、ヒトD L L 3に結合し、さらにカニクイザルのD L L 3などのマカクD L L 3、より好ましくはマカクD L L 3 E C Dに結合する。好ましいカニクイザルD L L 3を配列番号271に示す。好ましいマカクD L L 3 E C Dを配列番号272に示す。マカクD L L 3に対する第1の結合ドメインの親和性は、好ましくは15nM、より好ましくは10nM、さらにより好ましくは5nM、さらにより好ましくは1nM、さらにより好ましくは0.5nM、さらにより好ましくは0.1nM、最も好ましくは0.05nM、またはさらには0.01nMである。

40

【0162】

好ましくは、本発明による抗体構築物の、マカクD L L 3対ヒトD L L 3 [ma D L L 3 : hu D L L 3]の結合親和性の差は（例えば、B i a C o r eまたはS c a t c h a r d分析により測定したとき）、0.1~10、より好ましくは0.2~5、さらに

50

より好ましくは 0.3 ~ 4、さらにより好ましくは 0.5 ~ 3 または 0.5 ~ 2.5、最も好ましくは 0.5 ~ 2 または 0.6 ~ 2 である。実施例 3 及び 4 を参照のこと。

【0163】

本発明の抗体構築物の一実施形態では、第 2 の結合ドメインは、ヒト CD3 イプシロン、及びコモンマーモセット、ワタボウシタマリン、またはコモンリスザルの CD3 イプシロンに結合する。好ましくは、第 2 の結合ドメインはこれらの CD3 イプシロン鎖の細胞外エピトープに結合する。また、第 2 の結合ドメインは、ヒト及びマカク属 CD3 イプシロン鎖の細胞外エピトープに結合することも想定されている。最も好ましい CD3 イプシロンのエピトープは、ヒト CD3 イプシロン細胞外ドメインのアミノ酸残基 1 ~ 27 の範囲に含まれる。さらに具体的には、エピトープは少なくともアミノ酸配列 Gln - Asp - Gly - Asn - Glu を含む。コモンマーモセット及びワタボウシタマリンはいずれもマーモセット科に属する新世界霊長類であり、一方、コモンリスザルはオマキザル科に属する新世界霊長類である。

【0164】

本発明の抗体構築物にとって、T 細胞表面にあるヒト CD3 に結合する第 2 の結合ドメインが、以下から選択される CDR - L1、CDR - L2、及び CDR - L3 を含む VL 領域を含むことが特に好ましい：

(a) WO2008/119567 の配列番号 27 に示される CDR - L1、WO2008/119567 の配列番号 28 に示される CDR - L2、及び WO2008/119567 の配列番号 29 に示される CDR - L3；

(b) WO2008/119567 の配列番号 117 に示される CDR - L1、WO2008/119567 の配列番号 118 に示される CDR - L2、及び WO2008/119567 の配列番号 119 に示される CDR - L3；ならびに

(c) WO2008/119567 の配列番号 153 に示される CDR - L1、WO2008/119567 の配列番号 154 に示される CDR - L2、及び WO2008/119567 の配列番号 155 に示される CDR - L3。

【0165】

本発明の抗体構築物の好ましい代替実施形態では、T 細胞表面にあるヒト CD3 に結合する第 2 の結合ドメインは、以下から選択される CDR - H1、CDR - H2、及び CDR - H3 を含む VH 領域を含む：

(a) WO2008/119567 の配列番号 12 に示される CDR - H1、WO2008/119567 の配列番号 13 に示される CDR - H2、及び WO2008/119567 の配列番号 14 に示される CDR - H3；

(b) WO2008/119567 の配列番号 30 に示される CDR - H1、WO2008/119567 の配列番号 31 に示される CDR - H2、及び WO2008/119567 の配列番号 32 に示される CDR - H3；

(c) WO2008/119567 の配列番号 48 に示される CDR - H1、WO2008/119567 の配列番号 49 に示される CDR - H2、及び WO2008/119567 の配列番号 50 に示される CDR - H3；

(d) WO2008/119567 の配列番号 66 に示される CDR - H1、WO2008/119567 の配列番号 67 に示される CDR - H2、及び WO2008/119567 の配列番号 68 に示される CDR - H3；

(e) WO2008/119567 の配列番号 84 に示される CDR - H1、WO2008/119567 の配列番号 85 に示される CDR - H2、及び WO2008/119567 の配列番号 86 に示される CDR - H3；

(f) WO2008/119567 の配列番号 102 に示される CDR - H1、WO2008/119567 の配列番号 103 に示される CDR - H2、及び WO2008/119567 の配列番号 104 に示される CDR - H3；

(g) WO2008/119567 の配列番号 120 に示される CDR - H1、WO2008/119567 の配列番号 121 に示される CDR - H2、及び WO2008/119567 の配列番号 122 に示される CDR - H3。

9567の配列番号122に示されるCDR-H3；
 (h) WO2008/119567の配列番号138に示されるCDR-H1、WO2008/119567の配列番号139に示されるCDR-H2、及びWO2008/119567の配列番号140に示されるCDR-H3；
 (i) WO2008/119567の配列番号156に示されるCDR-H1、WO2008/119567の配列番号157に示されるCDR-H2、及びWO2008/119567の配列番号158に示されるCDR-H3；
 (j) WO2008/119567の配列番号174に示されるCDR-H1、WO2008/119567の配列番号175に示されるCDR-H2、及びWO2008/119567の配列番号176に示されるCDR-H3。

10

【0166】

本発明の抗体構築物にとって、T細胞表面にあるヒトCD3に結合する第2の結合ドメインが、WO2008/119567の配列番号35、39、125、129、161、または165に示されるVL領域からなる群から選択されるVL領域を含むことがさらに好ましい。

【0167】

あるいは、T細胞表面にあるヒトCD3に結合する第2の結合ドメインが、WO2008/119567の配列番号15、19、33、37、51、55、69、73、87、91、105、109、123、127、141、145、159、163、177、または181に示されるVH領域からなる群から選択されるVH領域を含むことが好ましい。

20

【0168】

より好ましくは、本発明の抗体構築物は、以下からなる群から選択されるVL領域及びVH領域を含む、T細胞表面にあるヒトCD3に結合する第2の結合ドメインを特徴とする：

- (a) WO2008/119567の配列番号17または21に示されるVL領域及びWO2008/119567の配列番号15または19に示されるVH領域；
- (b) WO2008/119567の配列番号35または39に示されるVL領域及びWO2008/119567の配列番号33または37に示されるVH領域；
- (c) WO2008/119567の配列番号53または57に示されるVL領域及びWO2008/119567の配列番号51または55に示されるVH領域；
- (d) WO2008/119567の配列番号71または75に示されるVL領域及びWO2008/119567の配列番号69または73に示されるVH領域；
- (e) WO2008/119567の配列番号89または93に示されるVL領域及びWO2008/119567の配列番号87または91に示されるVH領域；
- (f) WO2008/119567の配列番号107または111に示されるVL領域及びWO2008/119567の配列番号105または109に示されるVH領域；
- (g) WO2008/119567の配列番号125または129に示されるVL領域及びWO2008/119567の配列番号123または127に示されるVH領域；
- (h) WO2008/119567の配列番号143または147に示されるVL領域及びWO2008/119567の配列番号141または145に示されるVH領域；
- (i) WO2008/119567の配列番号161または165に示されるVL領域及びWO2008/119567の配列番号159または163に示されるVH領域；ならびに
- (j) WO2008/119567の配列番号179または183に示されるVL領域及びWO2008/119567の配列番号177または181に示されるVH領域。

30

40

【0169】

本発明の抗体構築物の好ましい実施形態によれば、結合ドメイン、及び特に(T細胞表面にあるヒトCD3に結合する)第2の結合ドメインは、VH領域及びVL領域の対が、一本鎖抗体の形態(scFv)である形態を有する。VH及びVL領域は、VH-VLま

50

たはV L - V Hの順に配置される。V H領域はリンカー配列のN末端側に位置し、V L領域はリンカー配列のC末端側に位置することが好ましい。

【0170】

本発明の上記抗体構築物の好ましい実施形態は、WO 2008 / 119567の配列番号23、25、41、43、59、61、77、79、95、97、113、115、131、133、149、151、167、169、185、または187からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、T細胞表面にあるヒトCD3に結合する第2の結合ドメインを特徴とする。

【0171】

したがって、一実施形態では、本発明の抗体構築物は、配列番号40、配列番号50、配列番号60、配列番号70、配列番号80、配列番号90、配列番号100、配列番号110、配列番号120、配列番号211、配列番号212、配列番号213、配列番号214、配列番号215、配列番号216、配列番号217、配列番号438、及び配列番号532に示されるものからなる群から選択されるポリペプチドを含む。この抗体構築物は、配列番号258に示される領域内に含まれるDLL3のエピトープに結合する第1の結合ドメインを有する。

【0172】

代替的实施形態では、本発明の抗体構築物は、配列番号130、配列番号140、配列番号150、配列番号160、配列番号170、配列番号218、配列番号219、配列番号220、配列番号494、配列番号495、配列番号496、配列番号497、配列番号498、配列番号499、配列番号500、配列番号501、配列番号502、配列番号503、配列番号504、配列番号505、配列番号506、配列番号507、配列番号508、配列番号509、配列番号510、配列番号511、配列番号512、配列番号513、配列番号514、配列番号515、及び配列番号516に示されたものからなる群から選択されるポリペプチドを含む。この抗体構築物は、配列番号259に示される領域内に含まれるDLL3のエピトープに結合する第1の結合ドメインを有する。

【0173】

本明細書に記載される抗体構築物のアミノ酸配列修飾もまた企図される。例えば、抗体構築物の結合親和性及び/または他の生物学的特性の改善が望ましい場合である。抗体構築物のアミノ酸配列変種は、抗体構築物の核酸に適切なヌクレオチド変化を導入することによって、またはペプチド合成によって調製される。以下に記載されるアミノ酸配列修飾はすべて、未修飾の親分子の目的とする生物学的活性(DLL3及びCD3への結合)を引き続き保持している抗体構築物を生成するはずである。

【0174】

用語「アミノ酸」または「アミノ酸残基」は通常、その技術分野で認められている定義を有するアミノ酸、例えば、アラニン(AlaまたはA)；アルギニン(ArgまたはR)；アスパラギン(AsnまたはN)；アスパラギン酸(AspまたはD)；システイン(CysまたはC)；グルタミン(GlnまたはQ)；グルタミン酸(GluまたはE)；グリシン(GlyまたはG)；ヒスチジン(HisまたはH)；イソロイシン(HeまたはI)；ロイシン(LeuまたはL)；リジン(LysまたはK)；メチオニン(MetまたはM)；フェニルアラニン(PheまたはF)；プロリン(ProまたはP)；セリン(SerまたはS)；スレオニン(ThrまたはT)；トリプトファン(TrpまたはW)；チロシン(TyrまたはY)；及びバリン(ValまたはV)からなる群から選択されるアミノ酸を指すが、望ましい場合は修飾アミノ酸、合成アミノ酸、または希少アミノ酸を使用してもよい。一般に、アミノ酸は、非極性側鎖(例えば、Ala、Cys、He、Leu、Met、Phe、Pro、Val)；負電荷側鎖(例えば、Asp、Glu)；正電荷側鎖(例えば、Arg、His、Lys)；または無電荷極性側鎖(例えば、Asn、Cys、Gln、Gly、His、Met、Phe、Ser、Thr、Trp、及びTyr)の存在によって分類することができる。

【0175】

アミノ酸修飾は、例えば、抗体構築物のアミノ酸配列内の残基からの欠失、及び／または残基への挿入、及び／または残基の置換を含む。最終構築物が望ましい特徴を保持する限り、最終構築物に到達するように欠失、挿入、及び置換の任意の組み合わせを行う。アミノ酸の変化はまた、グリコシル化部位の数または位置の変化などの抗体構築物の翻訳後過程も変化させ得る。

【0176】

例えば、CDRそれぞれにおいて1、2、3、4、5、または6個のアミノ酸（無論、CDRの長さ次第）が挿入または欠失される場合があり、対するFRそれぞれにおいて1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、または25個のアミノ酸が挿入または欠失される場合がある。好ましくは、アミノ酸配列の挿入には、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10残基から、100以上の残基を含むポリペプチドまでの長さの範囲のアミノ末端融合体及び／またはカルボキシル末端融合体、ならびに単一または複数のアミノ酸残基の配列内挿入を含む。本発明の抗体構築物の挿入変種は、抗体構築物のN末端もしくはC末端への酵素の融合体、または抗体構築物の血清半減期を増加させるポリペプチドへの融合体を含む。

【0177】

置換変異誘発にとって最も重要な目的部位は、重鎖及び／または軽鎖のCDR、特に超可変領域を含むが、重鎖及び／または軽鎖におけるFRの変更もまた想定される。置換は好ましくは、本明細書に記載される保存的置換である。好ましくは、CDRまたはFRの長さに応じて、CDRでは1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個のアミノ酸が置換される場合があり、対するフレームワーク領域（FR）では1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、または25個のアミノ酸が置換される場合がある。例えば、CDR配列が6個のアミノ酸を含む場合、これらのアミノ酸のうちの1、2、または3個が置換されることが想定される。同様に、CDR配列が15個のアミノ酸を含む場合、これらのアミノ酸のうちの1、2、3、4、5、または6個が置換されることが想定される。

【0178】

変異誘発にとって好ましい位置である抗体構築物の特定の残基または領域を同定する有用な方法は、Cunningham and Wells in Science, 244: 1081-1085 (1989)に記載されている「アラニンスキャン変異誘発」と呼ばれるものである。この方法では、抗体構築物内の残基または標的残基群を同定し（例えば、arg、asp、his、lys、及びgluなどの荷電残基）、アミノ酸とエピトープとの相互作用に影響を与える中性または負電荷アミノ酸（最も好ましくは、アラニンまたはポリアラニン）で置換する。

【0179】

次いで、さらなる変種または他の変種を置換部位にまたは置換部位の代わりに導入することによって、置換に対して機能的感受性を示すアミノ酸位置を厳選する。このように、アミノ酸配列変種を導入する部位または領域は予め決定されるが、変異の性質自体を予め決定する必要はない。例えば、所与の部位での変異の働きを分析または最適化するため、アラニンスキャンまたはランダム変異誘発を標的コドンまたは標的領域に実施することができ、発現される抗体構築物の変種を目的の活性に最適な組み合わせについてスクリーニングする。既知の配列を有するDNA内の所定部位に置換変異を行う技術は周知であり、例えば、M13プライマー変異誘発及びPCR変異誘発がある。変異体のスクリーニングは、DLL3またはCD3結合などの抗原結合活性のアッセイを使用して行われる。

【0180】

一般に、重鎖及び／または軽鎖のCDRの1つ以上またはすべてにおいてアミノ酸が置換される場合、それによって得られる「置換された」配列は「当初」CDR配列と少なくとも60%または65%、より好ましくは70%または75%、さらにより好ましくは80%または85%、特に好ましくは90%または95%同一であることが好ましい。これは、CDRが「置換された」配列とどの程度同一であるかはCDRの長さに依存すること

を意味する。例えば、５個のアミノ酸を有するＣＤＲが、少なくとも１個の置換されたアミノ酸を有するには、その置換されたアミノ酸配列と８０％同一であることが好ましい。したがって、抗体構築物のＣＤＲは、その置換配列に対して、程度の異なる同一性を有する場合があり、例えば、ＣＤＲＬ１が８０％を有し、ＣＤＲＬ３が９０％を有する場合がある。

【０１８１】

好ましい置換（*substitutions*または*replacements*）は、保存的置換である。ただし、抗体構築物が第１の結合ドメインを介してＤＬＬ３に結合し、第２の結合ドメインを介してＣＤ３またはＣＤ３イプシロンに結合する能力を保持する限り、及び／または抗体構築物のＣＤＲが置換後の配列に対して同一性を有している（「当初」ＣＤＲ配列に対して少なくとも６０％または６５％、より好ましくは７０％または７５％、さらにより好ましくは８０％または８５％、特に好ましくは９０％または９５％同一である）限り、（非保存的置換または以下の表１に列挙される「例示的な置換」の１つ以上を含む）いずれの置換をも想定される。

【０１８２】

保存的置換を、表１の「好ましい置換」の見出し下に示す。そのような置換が生物学的活性を変化させる場合、表１で「例示的な置換」と称される、またはアミノ酸クラスに関連して以下でさらに記載する、より実質的な変更を導入し、望ましい特性について産物をスクリーニングすることができる。

【０１８３】

（表１）アミノ酸置換

当初	例示的な置換	好ましい置換
Ala (A)	val, leu, ile	val
Arg (R)	lys, gln, asn	lys
Asn (N)	gln, his, asp, lys, arg	gln
Asp (D)	glu, asn	glu
Cys (C)	ser, ala	ser
Gln (Q)	asn, glu	asn
Glu (E)	asp, gln	asp
Gly (G)	Ala	ala
His (H)	asn, gln, lys, arg	arg
Ile (I)	leu, val, met, ala, phe	leu
Leu (L)	ノルロイシン, ile, val, met, ala	ile
Lys (K)	arg, gln, asn	arg
Met (M)	leu, phe, ile	leu
Phe (F)	leu, val, ile, ala, tyr	tyr
Pro (P)	Ala	ala
Ser (S)	Thr	thr
Thr (T)	Ser	ser
Trp (W)	tyr, phe	tyr
Tyr (Y)	trp, phe, thr, ser	phe
Val (V)	ile, leu, met, phe, ala	leu

【０１８４】

本発明の抗体構築物の生物学的特性における実質的な変更は、（a）例えばシート状も

しくはらせん状の立体構造である、置換領域のポリペプチド骨格の構造、(b)標的部位での分子の電荷もしくは疎水性、または(c)側鎖の嵩高さの維持に与える効果が有意に異なる置換を選択することによって達成される。天然に存在する残基は、共通の側鎖特性に基づいて、以下の群に分類される：(1)疎水性：ノルロイシン、met、ala、val、leu、ile；(2)中性親水性；cys、ser、thr；(3)酸性：asp、glu；(4)塩基性：asn、gin、his、lys、arg；(5)鎖の配向性に影響する残基：gly、pro；及び(6)芳香族：trp、tyr、phe。

【0185】

非保存的置換は、この各クラスのいずれか1つのメンバーの別のクラスとの交換を伴うことになる。抗体構築物の適切な立体構造の維持に関与しない任意のシステイン残基を、一般的にはセリンで置換すると、分子の酸化安定性が改善され、異常な架橋を回避することができる。逆に、抗体にシステイン結合(複数可)を付加すると、(特に抗体がFv断片などの抗体断片である場合)安定性を改善することができる。

【0186】

アミノ酸配列に関して、配列同一性及び/または類似性は、当技術分野で既知の技術、例えば、限定されないが、Smith and Waterman, 1981, Adv. Appl. Math. 2: 482の部分配列同一性アルゴリズム、Needleman and Wunsch, 1970, J. Mol. Biol. 48: 443の配列同一性アラインメントアルゴリズム、Pearson and Lipman, 1988, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 85: 2444の類似性検索法、これらのアルゴリズムのコンピューター実装(Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WisのGAP、BESTFIT、FASTA、及びTFASTA)、Devereux et al., 1984, Nucl. Acid Res. 12: 387-395により記載されている、好ましくはデフォルト設定を用いたBest Fit配列プログラムを使用することにより、または目視により決定される。好ましくは、パーセント同一性は、以下のパラメーターに基づきFastDBによって算出される：ミスマッチペナルティが1；ギャップペナルティが1；ギャップサイズペナルティが0.33；及び結合ペナルティが30、"Current Methods in Sequence Comparison and Analysis," Macromolecule Sequencing and Synthesis, Selected Methods and Applications, pp 127-149 (1988), Alan R. Liss, Inc。

【0187】

有用なアルゴリズムの一例はPILEUPである。PILEUPは、プログレッシブ法によるペアワイズアラインメントを使用して関連配列群から複数の配列アラインメントを生成する。これはまた、アラインメントの生成に使用されたクラスター化関係を示すツリーをプロットすることができる。PILEUPは、Feng & Doolittle, 1987, J. Mol. Evol. 35: 351-360のプログレッシブアラインメント法の簡易版を使用する。この方法はHiggins and Sharp, 1989, CABIOS 5: 151-153により記載されたものと類似する。有用なPILEUPパラメーターは、デフォルトのギャップ重みが3.00、デフォルトのギャップ長重みが0.10であり、重み付けエンドギャップ(weighted end gap)を含む。

【0188】

有用なアルゴリズムの別の例は、Altschul et al., 1990, J. Mol. Biol. 215: 403-410; Altschul et al., 1997, Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402; 及びKarlin et al., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90: 5873-5877に記載されているBLASTアルゴリズムである。特に有用なBLA

10

20

30

40

50

STプログラムは、Altschul et al., 1996, Methods in Enzymology 266: 460-480から得たWU-BLAST-2プログラムである。WU-BLAST-2は、いくつかの検索パラメーターを使用しており、その大部分がデフォルト値に設定される。調整可能なパラメーターは、以下の値に設定する：オーバーラップスパン＝1、オーバーラップフラクション＝0.125、ワード閾値(T)＝11。HSP S及びHSP S2パラメーターは動的な値であり、個々の配列の組成、及び目的配列を検索する特定のデータベースの組成に応じてプログラム側で決定されるが、この値を調整して感度を上げることができる。

【0189】

その他の有用なアルゴリズムは、Altschul et al., 1993, Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402によって報告されたgapped BLASTである。gapped BLASTはBLOSUM-62置換スコアを使用し、閾値Tパラメーターは9に設定され、ギャップなし伸長を実行するtwo-hit法は、ギャップ長kのコストを $10 + k$ とし、Xuは16に設定され、Xgはデータベース検索段階では40に、アルゴリズムの出力段階では67に設定される。ギャップありアラインメントは、約22ビットに相当するスコアによって実行される。

【0190】

一般に、個々の変種CDR間のアミノ酸相同性、類似性、または同一性は、本明細書に示される配列に対して少なくとも60%であり、より一般的には相同性または同一性が少なくとも65%または70%、より好ましくは少なくとも75%または80%、さらにより好ましくは少なくとも85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、及びほぼ100%に増加することが好ましい。同様に、本明細書で特定される結合タンパク質の核酸配列に関する「核酸配列同一性パーセント(%)」は、抗体構築物のコード配列内のヌクレオチド残基と同一である候補配列内のヌクレオチド残基の百分率と定義される。具体的方法では、オーバーラップスパン及びオーバーラップフラクションをそれぞれ1及び0.125とするデフォルトパラメーターに設定されたWU-BLAST-2のBLASTNモジュールを利用する。

【0191】

一般に、個々の変種CDRをコードするヌクレオチド配列と本明細書に示されるヌクレオチド配列間の核酸配列相同性、類似性、または同一性は、少なくとも60%であり、より一般的には相同性または同一性が少なくとも65%、70%、75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%、及びほぼ100%に増加することが好ましい。したがって、「変種CDR」は、本発明の親CDRに対して指定された相同性、類似性、または同一性を有するものであり、かつ親CDRの特異性及び/または活性の少なくとも60%、65%、70%、75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%を含むがこれらに限定されない生物学的機能を共有している。

【0192】

一実施形態では、本発明による抗体構築物のヒト生殖細胞系列に対する同一性パーセントは、70%または75%、より好ましくは80%または85%、さらにより好ましくは90%、最も好ましくは91%、92%、93%、94%、95%、またはさらには96%である。実施例7を参照のこと。ヒト抗体生殖細胞系列遺伝子産物に対する同一性は、治療用タンパク質が、治療中の患者の薬物に対する免疫反応を誘発するリスクを低減する上で重要な機能であると考えられる。Hwang & Footes ("Immunogenicity of engineered antibodies"; Methods 36(2005)3-10)は、薬物抗体構築物のヒト以外の部分を減らすことが、治療中の患者における抗薬物抗体の誘発リスクの減少につながることを示している。膨大な数の臨床評価済み抗体薬物及び対応する免疫原性データを比較す

ることにより、抗体のV領域のヒト化は、未改変のヒト以外のV領域を保有する抗体（患者の平均23.59%）よりもタンパク質の免疫原性が少ない（患者の平均5.1%）という傾向を示している。したがって、V領域を用いた抗体構築物の形態でのタンパク質治療薬にとって、ヒト配列に対する同一性が高度であることが望ましい。この生殖細胞系列同一性の決定を目的として、Vector NTIソフトウェアを用いて、VLのV領域をヒト生殖細胞系列Vセグメント及びJセグメントのアミノ酸配列（<http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/>）とアラインメントし、同一アミノ酸残基数をVLの総アミノ酸残基数で割って百分率を求めることによりアミノ酸配列を算出することができる。VHセグメント（<http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/>）についても同様の方法が可能であるが、VH CDR3は多様性が高く、既存のヒト生殖細胞系列VH CDR3のアラインメントパートナーに乏しいため、除外される。その後、組換え技術を用いて、ヒト抗体生殖細胞系列遺伝子に対する配列同一性を増加させることができる。

10

【0193】

さらなる実施形態では、本発明の二重特異性抗体構築物は、標準的な研究規模の条件下で、例えば、標準的な二段階精製方法において、高い単量体収量を示す。好ましくは、本発明による抗体構築物の単量体収量は、0.25 mg/L上清、より好ましくは0.5 mg/L、さらにより好ましくは1 mg/L、最も好ましくは3 mg/L上清である。

【0194】

同様に、この抗体構築物の二量体抗体構築物アイソフォームの収量、及びそれによる単量体率（すなわち、単量体：（単量体＋二量体））を決定することができる。単量体及び二量体抗体構築物の生産性、ならびに算出される単量体率は、例えば、ローラーボトル中での、標準化された研究規模の製造から得られる培養上清のSEC精製工程で取得することができる。一実施形態では、抗体構築物の単量体率は、80%、より好ましくは85%、さらにより好ましくは90%、最も好ましくは95%である。

20

【0195】

一実施形態では、抗体構築物は、好ましくは5または4、より好ましくは3.5または3、さらにより好ましくは2.5または2、最も好ましくは1.5または1の血漿安定性（血漿不在下でのEC50に対する血漿存在下でのEC50の比率）を有する。抗体構築物の血漿安定性は、構築物をヒト血漿中、37℃で24時間インキュベートし、続いて51クロム放出細胞傷害性アッセイにおいてEC50を決定することにより試験することができる。細胞傷害性アッセイでは濃縮ヒトCD8陽性T細胞でエフェクター細胞を刺激することができる。標的細胞は、例えば、ヒトDLL3でトランスフェクトされたCHO細胞であり得る。エフェクター対標的細胞（E:T）比は、10:1を選択することができる。この目的で使用されるヒト血漿プールは、EDTAコーティングされたシリンジによって回収された健常ドナーの血液から得る。細胞成分を遠心分離により除去して、上部血漿相を回収し、その後プールする。対照として、抗体構築物を、細胞傷害性アッセイの直前にRPMI-1640培地で希釈する。血漿安定性は、EC50（対照）に対するEC50（血漿インキュベーション後）の比率で算出する。実施例11を参照のこと。

30

40

【0196】

さらに、本発明の抗体構築物の単量体から二量体への変換率は、低いことが好ましい。変換率は、異なる条件下で測定し、高速サイズ排除クロマトグラフィーによって分析することができる。実施例9を参照のこと。例えば、抗体構築物の単量体アイソフォームのインキュベーションは、インキュベーター内で、例えば100 µg/mlまたは250 µg/mlの濃度にて、37℃で7日間、行うことができる。これらの条件下で、本発明の抗体構築物は、5%、より好ましくは4%、さらにより好ましくは3%、さらにより好ましくは2.5%、さらにより好ましくは2%、さらにより好ましくは1.5%、最も好ましくは1%または0.5%、またはさらには0%の二量体率を示すことが好ましい。

50

【0197】

本発明の二重特異性抗体構築物が数回の凍結／解凍サイクル後に、ごく低い二量体変換率を示すことも好ましい。例えば、抗体構築物の単量体を、例えば一般処方緩衝液中、 $250\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度に調整し、3回の凍結／解凍サイクル（ -80°C で30分間の凍結、その後に室温で30分間の解凍）を施し、続いて高速SECにかけ、二量体抗体構築物に変換された初期単量体抗体構築物の割合を決定する。好ましくは、二重特異性抗体構築物の二量体率は、例えば3回の凍結／解凍サイクル後に5%、より好ましくは4%、さらにより好ましくは3%、さらにより好ましくは2.5%、さらにより好ましくは2%、さらにより好ましくは1.5%、最も好ましくは1%、またはさらには0.5%である。

10

【0198】

本発明の二重特異性抗体構築物は、好ましくは、45または50、より好ましくは52または54、さらにより好ましくは56または57、最も好ましくは58または59の凝集温度で良好な熱安定性を示す。抗体の凝集温度の観点から熱安定性パラメーターを以下のように決定することができる。濃度 $250\mu\text{g}/\text{ml}$ の抗体溶液を単回使用のキュベットに移し、動的光散乱(DLS)装置に置く。0.5/分の加熱速度で40から70までサンプルを加熱し、測定された半径を常時取得する。タンパク質の融解及び凝集を示す半径の増加を利用して、抗体の凝集温度を算出する。実施例10を参照のこと。

【0199】

20

あるいは、抗体構築物の固有の生物物理学的タンパク質安定性を決定するために、融解温度曲線を示差走査熱量測定法(DSC)により決定することができる。この実験は、MicroCal LLC (Northampton, MA, U.S.A) VP-DSC装置を使用して行う。抗体構築物を含むサンプルのエネルギー取り込みを20から90まで記録して、処方緩衝液のみを含むサンプルと比較する。抗体構築物を、例えばSECランニングバッファー中、最終濃度 $250\mu\text{g}/\text{ml}$ に調整する。それぞれの融解曲線を記録するため、サンプルの全体温度を段階的に上昇させる。各温度Tでのサンプル及び処方緩衝液標準物質のエネルギー取り込みを記録する。サンプルから標準物質を差し引いたエネルギー取り込み C_p (kcal/mole)の差を、それぞれの温度に対してプロットする。融解温度は、エネルギー取り込みが最初に最大となる温度と定義される。

30

【0200】

さらに、本発明のDLL3xCD3二重特異性抗体構築物は、ヒトDLL3パラログDLL1及び/またはDLL4と交差反応しない(すなわち、本質的に結合しない)ことが想定される。さらに、本発明のDLL3xCD3二重特異性抗体構築物は、マカク/カンクイザルDLL3パラログDLL1及び/またはDLL4と交差反応しない(すなわち、本質的に結合しない)ことが想定される。実施例6を参照のこと。

【0201】

本発明のDLL3xCD3二重特異性抗体構築物はまた、0.2、好ましくは0.15、より好ましくは0.12、さらにより好ましくは0.1、最も好ましくは0.08の濁度(精製された単量体抗体構築物を2.5mg/mlまで濃縮し、一晚インキュベートした後、OD340により測定)を有する。実施例12を参照のこと。

40

【0202】

本発明のDLL3xCD3二重特異性抗体構築物はまた、内在化しないか、または標的細胞による有意な内在化を受けないことも想定される。例えば、実施例16に記載するように内在化の速度を分析することができる。好ましくは、抗体構築物を標的細胞と2時間(プレ)インキュベートした後の内在化速度(例えば、細胞傷害性の減少として測定)は、20%、より好ましくは15%、さらにより好ましくは10%、最も好ましくは5%である。

【0203】

さらに、排出されたまたは可溶性のDLL3は本発明のDLL3xCD3二重特異性抗

50

体構築物の有効性または生物学的活性を有意に損なうことはない想定される。これは、例えば細胞傷害性アッセイにおいて、可溶性DLL3を例えば濃度0 nM - 0.3 nM - 0.7 nM - 1 nM - 3 nM - 7 nM - 12 nMへと増加させながらアッセイに添加して、測定することができる。試験した抗体構築物のEC50値は、可溶性DLL3の存在下で有意に増加しないはずである。実施例17を参照のこと。

【0204】

さらなる実施形態では、本発明による抗体構築物は、酸性pH下で安定である。非生理学的pH、例えばpH5.5（例えば、カチオン交換クロマトグラフィーの実行に必要とされるpH）下で抗体構築物が示す耐性が高いほど、充填されたタンパク質の総量に対するイオン交換カラムから溶出する抗体構築物の回収率が高くなる。pH5.5下でのイオン（例えば、カチオン）交換カラムからの抗体構築物の回収率は、好ましくは30%、より好ましくは40%、より好ましくは50%、さらにより好ましくは60%、さらにより好ましくは70%、さらにより好ましくは80%、さらにより好ましくは90%、さらにより好ましくは95%、最も好ましくは99%である。実施例13を参照のこと。

【0205】

本発明の二重特異性抗体構築物は、治療有効性または抗腫瘍活性を示すことがさらに想定される。これは、例えば、以下の進行段階のヒト腫瘍異種移植モデルの実施例に開示される試験において評価することができる。

【0206】

研究第1日目に、 5×10^6 細胞のヒトDLL3陽性癌細胞株（例えば、SHP-77）を、雌NOD/SCIDマウスの右背側面に皮下注射する。平均腫瘍容積が約100 mm³に達したとき、*in vitro*で増殖させたヒトCD3陽性T細胞を、動物の腹腔への約 2×10^7 細胞の注射によりマウスに移植する。ビヒクル対照群1のマウスにはエフェクター細胞を与えず、ビヒクル対照群2（エフェクター細胞を与える）と比較するための未移植対照として使用し、腫瘍成長に対するT細胞単独の影響をモニタリングする。抗体治療は、平均腫瘍容積が約200 mm³に達したときに開始する。治療開始日における各治療群の平均腫瘍サイズは、他のいずれの群とも統計差がない必要がある（分散分析）。マウスを、0.5 mg/kg/日のDLL3xCD3二重特異性抗体構築物を用いて、約15～20日間の静脈内ボラス注射により処置する。試験中、腫瘍をカリパスによって測定し、進行を腫瘍容積（TV）の群間比較によって評価する。腫瘍成長阻害T/C [%]は、 $T/C \% = 100 \times (\text{分析群のTV中央値}) / (\text{対照群2のTV中央値})$ でTVを算出することにより決定する。

【0207】

当業者は、この試験の特定のパラメーター、例えば、注射する腫瘍細胞の数、注射部位、移植するヒトT細胞の数、投与する二重特異性抗体構築物の量及びタイムラインを、変更または適合しても、有意性と再現性のある結果を得る方法を理解している。好ましくは、腫瘍成長阻害T/C [%]は、70もしくは60、より好ましくは50もしくは40、さらにより好ましくは30もしくは20、最も好ましくは10もしくは5、またはさらには2.5である。

【0208】

本発明はさらに、本発明の抗体構築物をコードするポリヌクレオチド/核酸分子を提供する。

【0209】

ポリヌクレオチドは、鎖内で共有結合された13個以上のヌクレオチド単量体から構成される生体高分子である。DNA（例えば、cDNA）及びRNA（例えば、mRNA）は、異なる生物学的機能を有するポリヌクレオチドの例である。ヌクレオチドは、DNAまたはRNAのような核酸分子の単量体またはサブユニットとして機能する有機分子である。核酸分子またはポリヌクレオチドは、二本鎖及び一本鎖、線状及び環状であり得る。好ましくは宿主細胞内に含まれるベクター内に、それが含まれることが好ましい。前記宿

10

20

30

40

50

主細胞は、例えば、本発明のベクターまたはポリヌクレオチドを用いた形質転換またはトランスフェクション後に、抗体構築物を発現することができる。それを目的として、ポリヌクレオチドまたは核酸分子は制御配列に機能的に連結される。

【0210】

遺伝コードは、遺伝物質（核酸）内のコードされた情報をタンパク質に翻訳する一連のルールである。生細胞内での生物学的解釈は、アミノ酸を運搬し、mRNA中の3つのヌクレオチドを一度に読み取るtRNA分子を利用して、mRNAによって指定された順にアミノ酸を結合させるリボソームによって行われる。このコードは、コドンと呼ばれる3つ1組のヌクレオチド配列が、タンパク質の合成時に次に付加されるアミノ酸をどのように指定するかを定義する。いくつかの例外はあるが、核酸配列内の3ヌクレオチドのコドンは、1つのアミノ酸を指定する。大部分の遺伝子は厳密に同じコードで暗号化されているため、この特定のコードを基準遺伝コードまたは標準遺伝コードと称する場合が多い。遺伝コードは特定の暗号化領域のタンパク質配列を決定するが、いつどこでこれらのタンパク質を産生するかは他のゲノム領域に作用される可能性がある。

【0211】

さらに、本発明は本発明のポリヌクレオチド/核酸分子を含むベクターを提供する。

【0212】

ベクターは、（外来）遺伝物質を細胞内に運搬するための伝達手段として使用される核酸分子である。用語「ベクター」には、プラスミド、ウイルス、コスミド、及び人工染色体を包含するがこれらに限定されない。一般に、遺伝子操作されたベクターは、複製起点、マルチクローニング部位、及び選択マーカを含む。ベクター自体は一般に、インサート（導入遺伝子）及びベクターの「骨格」の役割をする、より大きな配列を含むヌクレオチド配列、通常DNA配列である。最近のベクターは、導入遺伝子インサート及び骨格に加えて、プロモーター、遺伝子マーカ、抗生物質耐性、レポーター遺伝子、標的化配列、タンパク質精製タグといった追加機能を含む場合がある。発現ベクター（発現構築物）と呼ばれるベクターは特に、標的細胞に導入遺伝子を発現させるためのものであり、一般に制御配列を有する。

【0213】

用語「制御配列」とは、機能的に連結されたコード配列を特定の宿主生物に発現させるのに必要なDNA配列を指す。原核生物に適した制御配列は、例えば、プロモーター、場合によりオペレーター配列及びリボソーム結合部位を含む。真核細胞は、プロモーター、ポリアデニル化シグナル、及びエンハンサーを利用することが知られている。

【0214】

核酸は、それが別の核酸配列と機能的関係にある場合、「機能的に連結」されている。例えば、プレ配列もしくは分泌リーダーのDNAがポリペプチドの分泌に関与するプレタンパク質として発現する場合、そのDNAはポリペプチドのDNAに機能的に連結されており、プロモーターもしくはエンハンサーがコード配列の転写に影響する場合、それらはコード配列に機能的に連結されており、またはリボソーム結合部位が翻訳を促進するように配置されている場合、それはコード配列に機能的に連結されている。一般に、「機能的に連結」は、連結されるDNA配列が連続していること、及び分泌リーダーの場合は、連続し、かつ読み取り枠内にあることを意味する。しかし、エンハンサーは連続している必要はない。連結は、好都合な制限部位でのライゲーションによって成される。そのような部位が存在しない場合、従来の慣例に従い、合成オリゴヌクレオチドアダプターまたはリンカーを使用する。

【0215】

「トランスフェクション」は、核酸分子またはポリヌクレオチド（ベクターを含む）を意図的に標的細胞に導入する方法である。この用語は、ほとんどの場合、真核細胞における非ウイルス的方法に使用される。形質導入は、しばしば、核酸分子またはポリヌクレオチドのウイルス媒介移入を表す際に使用される。動物細胞のトランスフェクションは通常、細胞膜に一過性の細孔（pore）すなわち「穴（hole）」を開け、物質の取り込

みを可能にすることを伴う。トランスフェクションは、リン酸カルシウムを用いて、エレクトロポレーションによって、細胞圧縮 (cell squeezing) によって、またはカチオン性脂質とリポソームを産生する物質とを混合し、細胞膜と融合させ、内部の運搬物を蓄積することによって行うことができる。

【0216】

用語「形質転換」は、細菌への、また植物細胞を含む動物以外の真核細胞への核酸分子またはポリヌクレオチド（ベクターを含む）の非ウイルス的移入を表す際に使用される。したがって形質転換は、細胞膜（複数可）を通じたその周辺からの直接的取り込み及びそれに続く外来性遺伝物質（核酸分子）の組み込みから生じる、細菌または動物以外の真核細胞の遺伝的改変である。形質転換は、人為的手段によって行うことができる。形質転換を生じさせるには、細胞または細菌は、飢餓及び細胞密度などの環境条件に対する時限応答として形質転換が起こり得るコンピテントな状態でなければならない。

【0217】

さらに本発明は、本発明のポリヌクレオチド／核酸分子またはベクターで形質転換またはトランスフェクトされた宿主細胞を提供する。

【0218】

本明細書で使用される場合、用語「宿主細胞」または「レシピエント細胞」は、本発明の抗体構築物をコードするベクター、外来性核酸分子、及びポリヌクレオチドのレシピエントであり得る、もしくは既にレシピエントである任意の個々の細胞もしくは細胞培養物、ならびに／またはその抗体構築物のレシピエントを含むことを意図する。細胞へのそれぞれの物質の導入は、形質転換、トランスフェクションなどによって実施される。用語「宿主細胞」はまた、単一細胞の子孫または潜在的子孫を含むことも意図する。後継世代で、自然発生的、偶発的、もしくは意図的な変異のいずれかに起因して、または環境の影響に起因して、一定の変化が生じ得るため、そのような子孫は、実際には、（形態学的に、またはゲノムもしくは全DNA相補体に関して）親細胞と完全に同一ではない場合もあるが、その場合でも本明細書で使用されるこの用語の範囲内に含まれる。好適な宿主細胞には、原核生物または真核細胞を含み、また細菌、酵母細胞、真菌細胞、植物細胞及び動物細胞、例えば昆虫細胞及び哺乳動物細胞、例えばマウス、ラット、マカク、またはヒトを含むが、これらに限定されない。

【0219】

本発明の抗体構築物は、細菌内で産生することができる。発現後、本発明の抗体構築物を、可溶性画分中の大腸菌 (*E. coli*) 細胞ペーストから単離し、例えば親和性クロマトグラフィー及び／またはサイズ排除によって精製することができる。最終精製は、例えばCHO細胞に発現させた抗体の精製方法と同様に実施することができる。

【0220】

原核生物に加えて、糸状菌または酵母などの真核微生物が、本発明の抗体構築物に適したクローニングまたは発現宿主である。サッカロミセス・セレビジエ (*Saccharomyces cerevisiae*)、すなわち一般的なパン酵母は、下等真核宿主微生物のうち最も一般的に使用されている。しかしながら、多くの他の属、種、及び系統が一般に利用可能であり、かつ本発明において有用であり、例えば、シゾサッカロミセス・ポンベ (*Schizosaccharomyces pombe*)、*K. ラクチス* (*K. lactis*)、*K. フラジリス* (*K. fragilis*) (ATCC 12424)、*K. ブルガリクス* (*K. bulgaricus*) (ATCC 16045)、*K. ウィッカラムイ* (*K. wickerhamii*) (ATCC 24178)、*K. ワルチイ* (*K. waltii*) (ATCC 56500)、*K. ドロソフィラルム* (*K. drosophilalum*) (ATCC 36906)、*K. サーモトレランス* (*K. thermotolerans*)、及び *K. マルキサヌス* (*K. marxianus*) などのクリベロマイセス属 (*Kluyveromyces*) 宿主；ヤロウイア属 (*yarrowia*) (EP 402 226)；*ピキア・パストリス* (*Pichia pastoris*) (EP 183 070)；*カンジダ*属 (*Candida*)；*トリコデルマ・レシア* (*Trich*

oderma reesia) (EP 244 234); ニューロスポラ・クラッサ (Neurospora crassa); シュワニオミセス・オクシデンタリス (Schwanniomycetes occidentalis) などのシュワニオミセス属 (Schwanniomycetes); ならびに糸状菌、例えばニューロスポラ属 (Neurospora)、ペニシリウム属 (Penicillium)、トリボクラジウム属 (Tolypocladium)、及びアスペルギルス属 (Aspergillus) 宿主、例えば A. ニデュランス (A. nidulans) 及び A. ニガー (A. niger) が挙げられる。

【0221】

本発明のグリコシル化抗体構築物の発現に適した宿主細胞は、多細胞生物から得られる。無脊椎動物細胞の例は、植物細胞及び昆虫細胞を含む。多くのバキュロウイルス株及び変種、ならびにヨトウガ (Spodoptera frugiperda) (毛虫)、ネッタイシマカ (Aedes aegypti) (蚊)、ヒトスジシマカ (Aedes albopictus) (蚊)、キイロショウジョウバエ (Drosophila melanogaster) (ショウジョウバエ)、及びカイコ (Bombyx mori) などの宿主由来の対応する許容される昆虫宿主細胞が同定されている。トランスフェクションのためのさまざまなウイルス株、例えばオートグラフィア・カリフォルニカ (Autographa californica) NPV の L-1 変種、及びカイコ NPV の Bm-5 株が公的に入手可能であり、そのようなウイルスを、本発明による本明細書のウイルスとして、特にヨトウガ細胞のトランスフェクションに使用することができる。

【0222】

綿、トウモロコシ、ジャガイモ、ダイズ、ペチュニア、トマト、シロイヌナズナ、及びタバコの植物細胞培養物もまた、宿主として使用することができる。植物細胞培養物におけるタンパク質の産生に有用なクローニング及び発現ベクターは、当業者に既知である。例えば、Hiatt et al., Nature (1989) 342: 76-78、Owen et al. (1992) Bio/Technology 10: 790-794、Artsaenko et al. (1995) The Plant J 8: 745-750、及び Fecker et al. (1996) Plant Mol Biol 32: 979-986 を参照のこと。

【0223】

しかしながら、脊椎動物細胞に対する関心が最も高く、培養（組織培養）下での脊椎動物細胞の増殖は慣用的な手順となっている。有用な哺乳動物宿主細胞株の例は、SV40 によって形質転換されたサル腎臓 CV1 株 (COS-7、ATCC CRL 1651); ヒト胎児腎臓株 (293 細胞または懸濁培養による増殖用にサブクローニングした 293 細胞、Graham et al., J. Gen Virol. 36: 59 (1977)); 仔ハムスター腎臓細胞 (BHK、ATCC CCL 10); チャイニーズハムスター卵巣細胞 / - DHFR (CHO、Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 4216 (1980)); マウスセルトリ細胞 (TM4、Mather, Biol. Reprod. 23: 243-251 (1980)); サル腎臓細胞 (CV1 ATCC CCL 70); アフリカミドリザル腎臓細胞 (VERO-76、ATCC CRL 1587); ヒト子宮頸癌細胞 (HELA、ATCC CCL 2); イヌ腎臓細胞 (MDCK、ATCC CCL 34); バッファローラット肝臓細胞 (BRL 3A、ATCC CRL 1442); ヒト肺細胞 (W138、ATCC CCL 75); ヒト肝臓細胞 (Hep G2、1413 8065); マウス乳腺腫瘍 (MMT 060562、ATCC CCL 51); TRI 細胞 (Mather et al., Annals N.Y. Acad. Sci. (1982) 383: 44-68); MRC 5 細胞; FS4 細胞; 及びヒトヘパトーマ株 (Hep G2) である。

【0224】

さらなる実施形態では、本発明は、本発明の抗体構築物の作製方法であって、本発明の

抗体構築物の発現を可能にする条件下で本発明の宿主細胞を培養することと、産生された抗体構築物を培養物から回収することと、を含む前記方法を提供する。

【0225】

本明細書で使用される場合、用語「培養」とは、培地中の好適な条件下における *in vitro* での細胞の維持、分化、成長、増殖、及び/または繁殖を指す。用語「発現」には、転写、転写後修飾、翻訳、翻訳後修飾、及び分泌を含むがこれらに限定されない、本発明の抗体構築物の作製に関与するいずれの工程をも含む。

【0226】

組換え技術を使用する場合、抗体構築物は、細胞内、すなわち細胞周辺腔内で作製することも、または培地中に直接分泌させることもできる。抗体構築物を細胞内で作製する場合、第1段階として、例えば、遠心分離または限外濾過により、宿主細胞または溶解した断片の粒子残骸を除去する。Carter et al., Bio/Technology 10:163-167 (1992) は、E. coli の細胞周辺腔に分泌された抗体を単離する手順を記載している。簡潔には、細胞ペーストを、酢酸ナトリウム (pH 3.5)、EDTA、及びフェニルメチルスルホニルフルオリド (PMSF) の存在下で約30分間かけて解凍する。細胞の残骸は遠心分離により除去することができる。抗体を培地に分泌させる場合、一般にそのような発現系からの上清を、最初に市販のタンパク質濃縮フィルター、例えば Amicon または Millipore Pellicon 限外濾過ユニットを使用して濃縮する。タンパク質分解を阻害するため、前述の段階のいずれかで PMSF などのプロテアーゼ阻害剤を追加してもよく、また外来不純物の増殖を防止するため、抗生物質を追加してもよい。

【0227】

宿主細胞から調製された本発明の抗体構築物は、例えば、ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析、及び親和性クロマトグラフィーを用いて回収または精製することができる。回収される抗体に応じて、他のタンパク質精製技術、例えばイオン交換カラム上での分画、エタノール沈降、逆相 HPLC、シリカ上でのクロマトグラフィー、ヘパリン SEPHAROSE (商標) 上でのクロマトグラフィー、アニオンまたはカチオン交換樹脂 (例えば、ポリアスパラギン酸カラム) 上でのクロマトグラフィー、クロマトフォーカシング、SDS-PAGE、及び硫酸アンモニウム沈降もまた利用可能である。本発明の抗体構築物が CH3 ドメインを含む場合、Bakerbond ABX 樹脂 (J. T. Baker, Phillipsburg, NJ) が精製に有用である。

【0228】

親和性クロマトグラフィーが、好ましい精製技術である。親和性リガンドを付加するマトリックスは、アガロースであることが最も多いが、他のマトリックスも利用可能である。機械的に安定なマトリックス、例えばコントロールドポアガラスまたはポリ(スチレンジビニル)ベンゼンは、アガロースを用いて達成できるものよりも高速な流速及び短い処理時間を可能にする。

【0229】

さらに、本発明は、本発明の抗体構築物または本発明の方法に従って作製された抗体構築物を含む、医薬組成物を提供する。

【0230】

本明細書で使用される場合、用語「医薬組成物」は、患者、好ましくはヒト患者への投与に適した組成物に関する。本発明の特に好ましい医薬組成物は、1つまたは複数の本発明の抗体構築物(複数可)を、好ましくは治療有効量で含む。好ましくは、医薬組成物はさらに、1つ以上の(薬学的に有効な)担体、安定剤、賦形剤、希釈剤、可溶化剤、界面活性剤、乳化剤、防腐剤、及び/またはアジュバントの好適な製剤を含む。許容される組成物の成分は、用いる投薬量及び濃度でレシピエントに対して非毒性であることが好ましい。本発明の医薬組成物は、液体、凍結、及び凍結乾燥組成物を含むがこれらに限定されない。

【0231】

本発明の組成物は、薬学的に許容される担体を含んでもよい。一般に、本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される担体」は、薬学的投与、特に非経口投与に適合するあらゆる水性及び非水性溶液、滅菌溶液、溶媒、緩衝液、例えばリン酸緩衝生理食塩水（PBS）溶液、水、懸濁液、油／水エマルジョンなどのエマルジョン、さまざまな種類の湿潤剤、リボソーム、分散媒、及びコーティングを意味する。医薬組成物におけるそのような媒体及び薬剤の使用は当技術分野で周知であり、そのような担体を含む組成物は周知の従来法によって製剤化することができる。

【0232】

特定の実施形態は、本発明の抗体構築物及びさらには1つ以上の賦形剤、例えばこのセクション及び本明細書の他の箇所に例示的に記載されているものを含む医薬組成物を提供

10

【0233】

ある特定の実施形態では、医薬組成物は、例えば、組成物のpH、モル浸透圧濃度、粘度、透明度、色、等張性、臭気、滅菌性、安定性、溶解もしくは放出速度、吸収性、または浸透性を変更、持続、または保護することを目的とする製剤材料を含有してもよい（RE

20

EMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 18" Edition, (A.R. Genrmo, ed.), 1990, Mack Publishing Companyを参照）。そのような実施形態では、好適な製剤材料に以下を含み得るが、これらに限定されない：

- ・荷電アミノ酸、好ましくはリジン、酢酸リジン、アルギニン、グルタメート、及び／またはヒスチジンを含むアミノ酸、例えば、グリシン、アラニン、グルタミン、アスパラギン、スレオニン、プロリン、2-フェニルアラニン；
- ・抗菌剤及び抗真菌剤などの抗微生物剤；
- ・アスコルビン酸、メチオニン、亜硫酸ナトリウム、または亜硫酸水素ナトリウムなどの抗酸化剤；

- ・生理学的pH、またはそれより多少低いpH、通常は約5～約8または9のpH範囲内に組成物を維持するために使用される緩衝液、緩衝系、及び緩衝化剤；緩衝液の例は、ホウ酸塩、重炭酸塩、Tris-HCl、クエン酸塩、リン酸塩、またはその他の有機酸、コハク酸塩、リン酸塩、ヒスチジン、及び酢酸塩；例えば、約pH7.0～8.5のTris緩衝液、または約pH4.0～5.5の酢酸緩衝液；

30

- ・非水性溶媒、例えばプロピレングリコール、ポリエチレングリコール、オリーブ油などの植物油、及びオレイン酸エチルなどの注射可能な有機エステル；

- ・生理食塩水及び緩衝媒を含む、水、アルコール／水溶液、エマルジョンまたは懸濁液を含む水性担体；

- ・ポリエステルなどの生分解性ポリマー；

- ・マンニトールまたはグリシンなどの充填剤；

40

- ・エチレンジアミン四酢酸（EDTA）などのキレート剤；

- ・等張剤及び吸収遅延剤；

- ・錯化剤、例えばカフェイン、ポリビニルピロリドン、ベータ-シクロデキストリン、またはヒドロキシプロピル-ベータ-シクロデキストリン；

- ・増量剤；

- ・単糖；二糖；及び他の炭水化物（グルコース、マンノース、またはデキストリンなど）；炭水化物は非還元糖、好ましくはトレハロース、スクロース、オクタスルファート、ソルビトールまたはキシリトールであり得る；

- ・（低分子量）タンパク質、ポリペプチド、またはタンパク質性担体、例えばヒトもしくはウシ血清アルブミン、ゼラチン、または好ましくはヒト起源の免疫グロブリン；

50

- ・着色及び着香剤；
- ・硫黄含有還元剤、例えばグルタチオン、チオクト酸、チオグリコール酸ナトリウム、チオグリセロール、[アルファ] - モノチオグリセロール、及びチオ硫酸ナトリウム
- ・希釈剤；
- ・乳化剤；
- ・ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー；
- ・ナトリウムなどの塩形成対イオン；
- ・抗微生物剤、抗酸化剤、キレート化剤、不活性ガスなどの防腐剤（例は、塩化ベンザルコニウム、安息香酸、サリチル酸、チメロサル、フェネチルアルコール、メチルパラベン、プロピルパラベン、クロルヘキシジン、ソルビン酸、または過酸化水素である）；
- ・Zn - タンパク質錯体などの金属錯体；
- ・溶媒及び共溶媒（グリセリン、プロピレングリコール、またはポリエチレングリコールなど）；
- ・糖及び糖アルコール、例えばトレハロース、スクロース、オクタスルファート、マンニトール、ソルビトールまたはキシリトール、スタキオース、マンノース、ソルボース、キシロース、リボース、myoイニシトース（myoinisitolose）、ガラクトース、ラクチトール、リビトール、myoイニシトール、ガラクトール、グリセロール、シクリトール（例えば、イノシトール）、ポリエチレングリコール；及び多価糖アルコール；
- ・懸濁化剤；
- ・界面活性剤または湿潤剤、例えばプルロニック、PEG、ソルビタンエステル、ポリソルベート、例えばポリソルベート20、ポリソルベート、トリトン、トロメタミン、レシチン、コレステロール、チロキサポール（tyloxapol）；界面活性剤は、好ましくは > 1.2 KDの分子量を有する洗浄液、及び/または好ましくは > 3 KDの分子量を有するポリエーテルであり得る；好ましい洗浄液の非限定的な例は、Tween 20、Tween 40、Tween 60、Tween 80、及びTween 85である；好ましいポリエーテルの非限定的な例は、PEG 3000、PEG 3350、PEG 4000、及びPEG 5000である；
- ・スクロースまたはソルビトールなどの安定増強剤；
- ・等張性増強剤、例えばアルカリ金属ハロゲン化物、好ましくは塩化ナトリウムまたは塩化カリウム、マンニトール、ソルビトール；
- ・塩化ナトリウム溶液、リンゲルデキストロース、デキストロース及び塩化ナトリウム、乳酸加リンゲル液、または不揮発性油を含む非経口送達ビヒクル；
- ・体液及び栄養補給液、電解質補給液（リンゲルデキストロースを基剤にしたものなど）を含む静脈内送達ビヒクル。

【0234】

医薬組成物の異なる成分（例えば、上記に列挙したもの）が異なる効果を有し得ることは当業者に明らかであり、例えば、アミノ酸は緩衝液、安定化剤、及び/または抗酸化剤として作用することができ、マンニトールは充填剤及び/または等張性増強剤として作用することができ、塩化ナトリウムは送達ビヒクル及び/または等張性増強剤として作用することができるなどである。

【0235】

本発明の組成物は、組成物の使用目的に応じて、本明細書で定義される本発明のポリペプチドに加えて、さらなる生物学的に活性な薬剤を含み得ることが想定される。そのような薬剤は、胃腸系に対して作用する薬物、細胞増殖抑制剤として作用する薬物、高尿酸血症（hyperurikemia）を防ぐ薬物、免疫反応を阻害する薬物（例えばコルチコステロイド）、炎症応答を調節する薬物、循環系に対して作用する薬物、及び/または当技術分野で既知のサイトカインなどの薬剤であり得る。また、本発明の抗体構築物が、併用療法で、すなわち別の抗癌薬と併用して適用されることも想定される。

【0236】

ある特定の実施形態では、最適な医薬組成物は、例えば、意図される投与経路、送達形式、及び望ましい投薬量に応じて、当業者が決定する。例えば、REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES（前掲）を参照のこと。ある特定の実施形態では、そのような組成物は、本発明の抗体構築物の物理的状态、安定性、in vivo放出速度、及びin vivoクリアランス速度に影響し得る。ある特定の実施形態では、医薬組成物中の主なビヒクルまたは担体は、本質的に水性であっても非水性であってもよい。例えば、好適なビヒクルまたは担体は、注射用水、生理食塩水溶液、または人工脳脊髄液であり得、場合により非経口投与用組成物で一般的な他の物質が補充される。中性の緩衝生理食塩水または血清アルブミンと混合された生理食塩水は、さらなる例示的なビヒクルである。ある特定の実施形態では、本発明の組成物の抗体構築物は、凍結乾燥ケーキまたは水性溶液の形態で、望ましい度合いの純度を有する選択された組成物を任意の配合剤（前掲のRemington's Pharmaceutical Sciences）と混合することによって保存用に調製することができる。さらに、ある特定の実施形態では、本発明の抗体構築物は、スクロースなどの適切な賦形剤を用いて凍結乾燥物として製剤化することができる。

10

【0237】

非経口投与が企図される場合、本発明で使用する治療組成物は、薬学的に許容されるビヒクル中に、本発明の目的の抗体構築物を含む、パイロジェンフリーの非経口的に許容される水性溶液の形態で提供することができる。非経口注射に特に適したビヒクルは滅菌蒸留水であり、本発明の抗体構築物はその中で適切に保存された滅菌等張溶液として製剤化される。ある特定の実施形態では、調製物は、デポ注射を介して送達できる産物の制御放出または持続放出を提供できる薬剤、例えば注射可能なミクロスフェア、生体内分解性粒子、ポリマー性化合物（ポリ乳酸またはポリグリコール酸）、ビーズ、またはリポソームと、目的分子との製剤を含み得る。ある特定の実施形態では、血中での持続時間を向上させる効果を有するヒアルロン酸も使用される場合がある。ある特定の実施形態では、移植可能な薬物送達デバイスを使用して、目的の抗体構築物を導入することができる。

20

【0238】

さらなる医薬組成物は当業者に明らかであり、これには、持続または制御系の送達/放出製剤中に本発明の抗体構築物を含む製剤が含まれる。さまざまな他の持続送達または制御送達手段、例えばリポソーム担体、生体内分解性マイクロ粒子、または多孔ビーズ及び蓄積注射を製剤化する技術もまた、当業者に知られている。例えば、医薬組成物の送達のための多孔性ポリマーマイクロ粒子の制御放出について記載する国際特許出願第PCT/US93/00829号を参照のこと。持続放出調製物には、成形物品、例えば、フィルムまたはマイクロカプセルの形態の半透過性ポリマーマトリックスを含み得る。持続放出マトリックスには、ポリエステル、ヒドロゲル、ポリラクチド（米国特許第3,773,919号、欧州特許出願公開第EP058481号に記載）、L-グルタミン酸とガンマエチル-L-グルタメートのコポリマー（Sidman et al., 1983, Biopolymers, 2:547-556）、ポリ（2-ヒドロキシエチル-メタクリレート）（Langer et al., 1981, J. Biomed. Mater. Res., 15:167-277及びLanger, 1982, Chem. Tech., 12:98-105）、エチレン酢酸ビニル（Langer et al., 1981、前掲）、またはポリ-D（-）-3-ヒドロキシ酪酸（欧州特許出願公開第EP133,988号）を含み得る。持続放出組成物にはまた、当技術分野で既知のいくつかの方法のいずれかによって調製可能なリポソームも含み得る。例えば、Eppstein et al., 1985, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 82:3688-3692; 欧州特許出願公開第EP036,676号; 同第EP088,046号及び同第EP143,949号を参照のこと。

30

40

【0239】

抗体構築物はまた、例えば、コアセルベーション技術によってまたは界面重合によって調製されたマイクロカプセル（例えば、それぞれ、ヒドロキシメチルセルロースまたはゼ

50

ラチンマイクロカプセル、及びポリ（メチルメタクリレート）マイクロカプセル）に、コロイド薬物送達系（例えば、リボソーム、アルブミンマイクロスフィア、マイクロエマルジョン、ナノ粒子、及びナノカプセル）に、またはマクロエマルジョンに封入されていてもよい。そのような技術は、Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th edition, Oslo, A. Ed. (1980)に開示されている。

【0240】

in vivo 投与に用いられる医薬組成物は通常、滅菌調製物として提供される。滅菌は、滅菌濾過膜を通した濾過によって行うことができる。組成物を凍結乾燥する場合、この方法を使用した滅菌は、凍結乾燥及び再構成の前後いずれに実施されてもよい。非経口投与用組成物は、凍結乾燥形態で、または溶液中に保存することができる。非経口組成物は一般に、滅菌したアクセスポートを有する容器、例えば皮下注射針によって穿孔可能な栓を有する静注液バッグまたはバイアル中に入れられる。

【0241】

本発明の別の態様は、国際特許出願WO06138181A2（PCT/US2006/022599）に記載される、医薬組成物として使用することができる、本発明の製剤の自己緩衝性抗体構築物を含む。タンパク質の安定化ならびにこれに関して有用な製剤材料及び方法に関して、さまざまな説明が利用可能であり、例えば、Arakawa et al., "Solvent interactions in pharmaceutical formulations," Pharm Res. 8(3):285-91(1991); Kendrick et al., "Physical stabilization of proteins in aqueous solution" in: RATIONAL DESIGN OF STABLE PROTEIN FORMULATIONS: THEORY AND PRACTICE, Carpenter and Manning, eds. Pharmaceutical Biotechnology. 13:61-84(2002)、及びRandolph et al., "Surfactant-protein interactions", Pharm Biotechnol. 13:159-75(2002)、特に獣医学的及び/またはヒト医療用途のタンパク質医薬品及びプロセスに関しては、特に本発明による自己緩衝性タンパク質製剤と同じ賦形剤及びプロセスに関する部分を参照のこと。

【0242】

塩は、本発明の特定の実施形態に従って、例えば製剤のイオン強度及び/もしくは等張性を調整するため、ならびに/または本発明による組成物のタンパク質もしくは他の成分の溶解度及び/もしくは物理的安定性を改善するために使用することができる。周知のように、イオンは、タンパク質の表面上の荷電残基に結合することによって、ならびにタンパク質中の荷電基及び極性基を遮蔽し、その静電気相互作用、引力及び反発相互作用の強度を減少させることによってネイティブ状態のタンパク質を安定化させることができる。イオンはまた、特にタンパク質の変性ペプチド結合（-CONH）に結合することによって変性状態のタンパク質を安定化させることができる。さらにタンパク質中の荷電基及び極性基とのイオン相互作用はまた、分子間静電相互作用を減少させ、それによってタンパク質の凝集及び不溶化を防止または減少させることができる。

【0243】

イオン種は、タンパク質に対する効果が大幅に異なる。イオンとタンパク質に対するその効果のカテゴリー別の順位付けが多数解明されており、これを本発明による医薬組成物の製剤化に利用することができる。一例は、イオン性溶質及び極性非イオン性溶質を、溶液中のタンパク質の立体構造安定性に対する効果によって順位付けするホフマイスター系列である。安定化させる溶質は、「コスモトロピック」と称される。不安定化させる溶質は、「カオトロピック」と称される。コスモトロプは一般に、溶液からタンパク質を沈殿（「塩析」）させるために高濃度（例えば、>1モル硫酸アンモニウム）で使用される。カオトロプは一般に、タンパク質を変性及び/または可溶化（「塩溶」）させるため

に使用される。「塩溶」及び「塩析」に対するイオンの相対的な効果によって、ホフマイスター系列でのイオンの位置が定義される。

【 0 2 4 4 】

遊離アミノ酸は、充填剤、安定化剤、及び抗酸化剤として、ならびにその他の標準的用途で、本発明のさまざまな実施形態による本発明の製剤の抗体構築物に使用することができる。リジン、プロリン、セリン、及びアラニンは、製剤中のタンパク質を安定化させるために使用することができる。グリシンは、凍結乾燥においてケーキの適切な構造及び特性を確保する際に有用である。アルギニンは、液体及び凍結乾燥いずれの製剤においてもタンパク質の凝集を防止する際に有用であり得る。メチオニンは、抗酸化剤として有用である。

10

【 0 2 4 5 】

ポリオールは、糖、例えばマンニトール、スクロース、及びソルビトール、ならびに多価アルコール、例えばグリセロール及びプロピレングリコール、ならびに本明細書での議論を目的としてポリエチレングリコール (P E G) 及び関連物質を含む。ポリオールはコスモトロピックである。ポリオールは、液体及び凍結乾燥いずれの製剤においても、タンパク質を物理的及び化学的劣化作用から保護する際に有用な安定化剤である。ポリオールはまた、製剤の等張性を調整する際に有用である。本発明の選ばれた実施形態において特に有用なポリオールはマンニトールであり、これは凍結乾燥製剤においてケーキの構造安定性を確保するために広く使用される。マンニトールはケーキの構造安定性を確保する。一般にこれは、凍結乾燥保護剤、例えばスクロースと共に使用される。ソルビトール及びスクロースは、等張性を調整するための薬剤、及び輸送中または製造工程でのバルク調製時の凍結解凍負荷から保護するための安定化剤として特に好ましい。還元糖 (遊離アルデヒド基またはケトン基を含有する)、例えばグルコース及びラクトースは、表面のリジン及びアルギニン残基を糖化することができる。したがって、一般にそれは、本発明による使用にとって特に好ましいポリオールではない。加えて、そのような反応種を形成する糖、例えばスクロースもまた、酸性条件下でフルクトース及びグルコースに加水分解され、その結果糖化を生じさせる点で、本発明の特に好ましいポリオールではない。 P E G は、タンパク質を安定化させる際、及び凍結保護剤として有用であり、この観点から本発明に使用することができる。

20

【 0 2 4 6 】

本発明の製剤の抗体構築物の実施形態はさらに、界面活性剤を含む。タンパク質分子は、表面への吸着、ならびに気体 - 液体界面、固体 - 液体界面、及び液体 - 液体界面での変性及びその結果としての凝集を引き起こしやすい場合がある。これらの効果は一般にタンパク質濃度に反比例する。これらの有害な相互作用は一般に、タンパク質濃度と反比例し、主として例えば製品の輸送及び取り扱い時に生じる物理的攪拌によって悪化する。界面活性剤は慣例的に、表面吸着の防止、最小化、または低減に使用される。この点で本発明において有用な界面活性剤として、ポリソルベート 2 0、ポリソルベート 8 0、ソルビタンポリエトキシレートのその他の脂肪酸エステル、及びポロキサマー 1 8 8 が挙げられる。界面活性剤はまた、タンパク質の立体構造安定性を制御するために広く使用されている。任意の所与の界面活性剤は通常、一部のタンパク質を安定化させ、他を不安定化させるので、この点で界面活性剤の使用はタンパク質特異的である。

30

40

【 0 2 4 7 】

ポリソルベートは、酸化劣化を起こしやすく、供給されるときには、タンパク質残基の側鎖、特にメチオニンの酸化を引き起こすほど十分な過酸化物質量を含んでいる。したがって、ポリソルベートは注意して使用すべきであり、使用の際は、最低有効濃度で用いる必要がある。この点で、ポリソルベートは、賦形剤を最低有効濃度で用いるべきとする一般通則の一例である。

【 0 2 4 8 】

本発明の製剤の抗体構築物の実施形態はさらに、1つ以上の抗酸化剤を含む。適切なレベルの周囲酸素及び周囲温度を維持することによって、ならびに光に当てないようにする

50

ことによって、医薬製剤中でのタンパク質の有害な酸化をある程度まで防止することができる。抗酸化性賦形剤は、タンパク質の酸化劣化を防止するためにも同様に使用することができる。この点で特に有用な抗酸化剤は、還元剤、酸素/フリーラジカル捕捉剤、及びキレート剤である。本発明による治療用タンパク質製剤に使用される抗酸化剤は、好ましくは、水溶性であり、製品の有効期間にわたって活性を維持する。この点で、EDTAが本発明による好ましい抗酸化剤である。抗酸化剤はタンパク質を損傷する可能性がある。例えば、還元剤、例えばグルタチオンは特に、分子内ジスルフィド連結を破壊する恐れがある。したがって、本発明に使用される抗酸化剤は、特に、それ自体が製剤中のタンパク質に損傷を与える可能性がないかまたは可能性が十分に低いものを選択する。

【0249】

本発明による製剤は、タンパク質の補因子でありタンパク質配位錯体を形成するのに必要とされる金属イオン、例えば、特定のインスリン懸濁物を形成するのに必要とされる亜鉛を含み得る。金属イオンはまた、タンパク質を分解するいくつかの過程を阻害し得る。しかし、金属イオンはまた、タンパク質を分解する物理的及び化学的過程を触媒する。マグネシウムイオン(10~120 mM)は、アスパラギン酸からイソアスパラギン酸への異性化を阻害するために使用することができる。Ca²⁺イオン(最大100 mM)は、ヒトデオキシリボヌクレアーゼの安定性を向上させ得る。しかし、Mg²⁺、Mn²⁺、及びZn²⁺は、rhDNaseを不安定化させ得る。同様にCa²⁺及びSr²⁺は、第VII因子を安定化させることができ、これはMg²⁺、Mn²⁺、及びZn²⁺、Cu²⁺及びFe²⁺によって不安定化されることがあり、その凝集はAl³⁺イオンによって増大し得る。

【0250】

本発明の製剤の抗体構築物の実施形態はさらに、1つ以上の防腐剤を含む。防腐剤は、同じ容器からの複数回の採取を伴う複数回用量の非経口製剤を開発する際に必要となる。その主たる機能は、医薬品の有効期間または使用期間にわたって微生物の成長を阻害し、製品の滅菌性を確保することである。広く使用されている防腐剤としては、ベンジルアルコール、フェノール、及びm-クレゾールが挙げられる。防腐剤は低分子の非経口薬での使用においては長い歴史をもつが、防腐剤を含むタンパク質製剤の開発は困難であり得る。防腐剤は、ほぼ常に、タンパク質に対して不安定化効果(凝集)を有しており、これが複数回用量のタンパク質製剤における使用を制限する大きな要因となっている。現在に至るまで、ほとんどのタンパク質薬は、単回使用用としてのみ製剤化されている。しかし、複数回用量製剤が可能であれば、患者の利便性及び高い市場性を実現するという利点が加わる。保存処理された製剤の開発により、利便性の高い複数回使用の注射ペンの提案が製品化に至ったヒト成長ホルモン(hGH)は、その良い例である。hGHの保存処理された製剤を含有するそのようなペンデバイスは、少なくとも4つが現在市場で入手可能である。Norditropin(液体、Novo Nordisk)、Nutropin AQ(液体、Genentech)、及びGenotropin(凍結乾燥-デュアルチャンパーカートリッジ、Pharmacia & Upjohn)はフェノールを含み、Somatropo(Eli Lilly)にはm-クレゾールが配合されている。保存処理された剤形の製剤化及び開発の期間に、いくつかの態様を考慮する必要がある。医薬品中の効果的な防腐剤濃度を最適化しなければならない。それには、タンパク質の安定性を損なわずに抗微生物効果を付与する濃度範囲で、剤形中の所与の防腐剤を試験する必要がある。

【0251】

予想できるように、防腐剤を含む液体製剤の開発は、凍結乾燥製剤よりも困難である。凍結乾燥製品は、防腐剤なしで凍結乾燥され、使用時に防腐剤を含む希釈剤で再構成することができる。これにより防腐剤がタンパク質と接触する時間が短縮され、付随する安定性のリスクが大幅に極小化される。液体製剤の場合、防腐剤の有効性及び安定性は、製品有効期間全体(約18~24か月)にわたって維持されるべきである。注意すべき重要な点として、防腐剤の有効性は活性薬物及びすべての賦形剤成分を含む最終製剤において実

10

20

30

40

50

証される必要がある。

【0252】

本明細書に開示される抗体構築物はまた、免疫リボソームとして製剤化することができる。「リボソーム」は、哺乳動物への薬物送達に有用であるさまざまな種類の脂質、リン脂質、及び/または界面活性物質から構成される小さな小胞である。リボソームの成分は一般に、生体膜の脂質の配置と同様、二層形式で配置される。抗体構築物を含むリボソームは、例えば、Epstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82:3688 (1985); Hwang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:4030 (1980); 米国特許第4,485,045号及び同第4,544,545号; ならびにWO97/38731に記載されるような当技術分野で既知の方法によって調製される。血中に長時間滞留するリボソームは、米国特許第5,013,556号に開示されている。特に有用なリボソームは、ホスファチジルコリン、コレステロール、及びPEG誘導体化ホスファチジルエタノールアミン(PEG-PE)を含む脂質組成物を用いて逆相蒸発法によって作製することができる。望ましい直径のリボソームを得るには、リボソームを所定の孔径のフィルターを通して押し出す。本発明の抗体構築物のFab'断片は、ジスルフィド交換反応によって、Martin et al. J. Biol. Chem. 257:286-288 (1982)に記載されるように、リボソームとコンジュゲートすることができる。場合により、化学療剤がリボソーム内に封入される。Gabizon et al. J. National Cancer Inst. 81 (19)1484 (1989)を参照のこと。

【0253】

医薬組成物を製剤化した後、溶液、懸濁液、ゲル、エマルジョン、固体、結晶として、または脱水粉末もしくは凍結乾燥粉末として、滅菌バイアル中に保存することができる。そのような製剤は、即時使用形態でも、投与前に再構成される(例えば、凍結乾燥)形態でも保存することができる。

【0254】

本明細書で定義される医薬組成物の生物学的活性は、例えば、以下の実施例に、WO99/54440に、またはSchlerethら(Cancer Immunol. Immunother. 20(2005), 1-12)によって記載されている細胞傷害性アッセイによって決定することができる。本明細書で使用される場合、用語「有効性」または「in vivo有効性」は、例えば標準化されたNCIの反応性基準を用いた、本発明の医薬組成物による治療に対する反応性を指す。本発明の医薬組成物を用いる療法の成功またはin vivo有効性は、その意図された目的、すなわち組成物がその望ましい効果、すなわち病的細胞、例えば腫瘍細胞の減少を引き起こす能力に対する組成物の有効性を指す。in vivo有効性は、白血球の計数、差異、蛍光活性化細胞選別、骨髓吸引を含むがこれらに限定されない、それぞれの疾患実体についての確立された標準方法によってモニタリングすることができる。加えて、さまざまな疾患特異的臨床化学パラメーター及びその他の確立された標準方法を使用することができる。さらに、コンピューター断層撮影法、X線、核磁気共鳴断層撮影法(例えば、米国立がん研究所基準に基づく反応評価[Cheson BD, Horning SJ, Coiffier B, Shipp MA, Fisher RI, Connors JM, Lister TA, Vose J, Grillo-Lopez A, Hagenbeek A, Cabanillas F, Klippenstein D, Hiddemann W, Castellino R, Harris NL, Armitage JO, Carter W, Hoppe R, Canellos GP. Report of an international workshop to standardize response criteria for non-Hodgkin's lymphomas. NCI Sponsored International Working Group. J Clin Oncol. 1999 Apr; 17(4):1244]), ポジترون放出断層走査、白血球の計数、差異、蛍光活性化細胞選別、骨髓吸引、リンパ節生検/組織学、及びさまざま

なリンパ腫に特異的な臨床化学パラメーター（例えば、乳酸デヒドロゲナーゼ）、ならびにその他の確立された標準方法を使用することができる。

【0255】

本発明の医薬組成物などの薬物の開発におけるもう一つの主な課題は、薬物動態特性の予測可能な調節である。それを目的として、候補薬物の薬物動態プロファイル、すなわち、特定の薬物が所与の病態を治療する能力に影響する薬物動態パラメーターのプロファイルを立証することができる。薬物が特定の疾患を治療する能力に影響する薬物の薬物動態パラメーターとしては、半減期、分布容積、肝臓の初回通過代謝、及び血液血清結合度が挙げられるがこれらに限定されない。所与の薬物の有効性は、上記のパラメーターそれぞれによって影響を受ける可能性がある。

10

【0256】

「半減期」とは、投与された薬物の50%が生物学的過程、例えば代謝、排泄などを通じて排出される時間を意味する。「肝臓の初回通過代謝」とは、肝臓との初回接触時、すなわち肝臓を最初に通過する間に代謝される薬物の傾向を意味する。「分布容積」とは、例えば細胞内及び細胞外空間、組織及び臓器などのような、身体のさまざまな区画にわたる薬物の保持度、ならびにこれらの区画内での薬物の分布度を意味する。「血液血清結合度」とは、薬物がアルブミンなどの血液血清タンパク質と相互作用して結合し、薬物の生物学的活性が減少または喪失する傾向を意味する。

【0257】

薬物動態パラメーターにはまた、投与される所与量の薬物についてのバイオアベイラビリティ、ラグタイム（*Tlag*）、*Tmax*、吸収速度、即効性（*more onset*）及び/または*Cmax*を含む。「バイオアベイラビリティ」とは、血液区画中の薬物量を意味する。「ラグタイム」とは、薬物の投与から、血液または血漿中での薬物の検出及び測定可能段階までの遅延時間を意味する。「*Tmax*」とは、それ以降に薬物の最大血中濃度が達成される時間であり、「*Cmax*」とは、所与の薬物によって得られる最大の血中濃度である。薬物が生物学的効果に必要とされる血中濃度または組織濃度に達するまでの時間は、すべてのパラメーターに影響される。先に概説したチンパンジー以外の霊長類における前臨床動物試験において決定することができる種間特異性を示す二重特異性抗体構築物の薬物動態パラメーターは、例えばSchlerethら（*Cancer Immunol. Immunother.* 20（2005），1-12）による刊行物にも定められている。

20

30

【0258】

一実施形態では、腫瘍もしくは癌疾患、または転移性癌疾患の予防、治療、または改善に使用される本発明の抗体構築物または本発明の方法に従って作製された抗体構築物を提供する。

【0259】

本明細書に記載される製剤は、それを必要とする患者において、本明細書に記載される病的な医学的病態を治療、改善、及び/または予防する医薬組成物として有用である。用語「治療」は、治療的処置及び予防的または抑止的手段の両方を指す。治療には、疾患、疾患の症状、または疾患素因の治癒（*cure*、*heal*）、緩和/軽減（*alleviate*、*relieve*）、変化、回復、改善（*ameliorate*、*improve*）、またはそれに対する作用を目的とした、疾患/障害、疾患/障害の症状、または疾患/障害の素因を有する患者の身体、単離された組織または細胞に対する製剤の適用または投与を含む。

40

【0260】

本明細書で使用される場合、用語「改善（*amelioration*）」は、本発明による抗体構築物のそれを必要とする対象への投与によって、本明細書の以下に示す腫瘍もしくは癌、または転移性癌を有する患者の疾患状態を改善（*improvement*）することを指す。そのような改善はまた、患者の腫瘍もしくは癌、または転移性癌の進行の鈍化または停止として見られる場合もある。本明細書で使用される場合、用語「予防」は

50

、本発明による抗体構築物のそれを必要とする対象への投与によって、本明細書の以下に示す腫瘍もしくは癌、または転移性癌を有する患者の発症または再発を回避することを意味する。

【0261】

用語「疾患」とは、本明細書に記載される抗体構築物または医薬組成物を用いた治療から利益が得られるであろういずれの病態をも指す。これには、哺乳動物を当該疾患に罹患させやすくする病理学的病態を含む、慢性及び急性の障害または疾患を含む。

【0262】

「新生物」とは、組織の異常な増殖であり、必ずしもそうではないが通常は腫瘤を形成する。また腫瘤を形成するとき、それは一般に「腫瘍」と呼ばれる。新生物または腫瘍は、良性、潜在性悪性（前癌性）、または悪性であり得る。悪性新生物は一般に癌と呼ばれる。悪性新生物は通常、周囲の組織に侵入してそれを破壊し、転移を形成し得る、すなわち身体の他の部分、組織、または臓器に広がる。したがって、用語「転移性癌」は、原発腫瘍のもの以外の他の組織または臓器への転移を包含する。リンパ腫及び白血病はリンパ系新生物である。本発明の目的では、これらはまた、用語「腫瘍」または「癌」に包含される。

10

【0263】

本発明の好ましい実施形態では、腫瘍または癌疾患は、肺癌、好ましくはSCLC、乳房、子宮頸部、結腸、結腸直腸、子宮内膜、頭頸部、肝臓、卵巣、脾臓、前立腺、皮膚、胃、精巣、甲状腺、副腎、腎臓、膀胱、子宮、食道、尿路上皮、及び脳の腫瘍または癌、リンパ腫、癌腫、及び肉腫、ならびに前述のいずれかに由来する転移性癌疾患を含む（または、それらからなる）が、これらに限定されない群から選択される。

20

【0264】

より具体的には、腫瘍または癌疾患は、小細胞肺癌（SCLC）、非小細胞肺癌（NSCLC）、神経膠腫、神経膠芽腫、黒色腫、神経内分泌前立腺癌、神経内分泌脾癌、肝芽細胞腫、及び肝細胞癌腫からなる群から選択することができる。転移性癌疾患は、前述のいずれかに由来する可能性がある。

【0265】

本発明はまた、腫瘍もしくは癌疾患、または転移性癌疾患の治療または改善のための方法であって、本発明の抗体構築物または本発明の方法に従って作製された抗体構築物をそれを必要とする対象に投与するステップを含む方法を提供する。

30

【0266】

用語「必要とする対象」または「治療を必要とする」ものは、既にその障害のある対象に加え、その障害を予防しようとする対象を含む。必要とする対象または「患者」は、予防的または治療的いずれかの治療を受けるヒト及び他の哺乳動物対象を含む。

【0267】

本発明の抗体構築物は一般に、特にバイオアベイラビリティ及び持続性の範囲で、特定の投与経路及び投与方法、特定の投薬量及び投与頻度、特定の疾患の特定の治療に合わせて設計される。組成物の成分は、好ましくは、投与部位に許容される濃度で製剤化される。

40

【0268】

したがって製剤及び組成物は、本発明に従って、任意の好適な投与経路による送達に合わせて設計することができる。本発明に関連して、投与経路は、

- ・局所経路（例えば、皮膚、吸入、鼻、眼、耳（auricular / aural）、腔、粘膜）；
- ・腸経路（例えば、経口、胃腸、舌下、唇下、頬側、直腸）；及び
- ・非経口経路（例えば、静脈内、動脈内、骨髄内、筋内、脳内、脳室内、硬膜外、くも膜下、皮下、腹腔内、羊膜外、関節内、心臓内、皮内、病巣内、子宮内、膀胱内、硝子体内、経皮、鼻腔内、経粘膜、滑液嚢内、管腔内）を含むが、これらに限定されない。

【0269】

50

本発明の医薬組成物及び抗体構築物は、例えばボーラス注射などの注射による、または連続注入などの注入による、非経口投与、例えば皮下または静脈内送達に特に有用である。医薬組成物は、医療デバイスを用いて投与することができる。医薬組成物を投与するための医療デバイスの例は、米国特許第4,475,196号；同第4,439,196号；同第4,447,224号；同第4,447,233号；同第4,486,194号；同第4,487,603号；同第4,596,556号；同第4,790,824号；同第4,941,880号；同第5,064,413号；同第5,312,335号；同第5,312,335号；同第5,383,851号；及び同第5,399,163号に記載されている。

【0270】

特に、本発明は、好適な組成物の中断のない投与を実現する。非限定的な例として、中断のないまたは実質的に中断のない、すなわち連続的な投与は、患者体内への治療薬の流入を計量する、患者が装着した小型ポンプシステムによって実現することができる。本発明の抗体構築物を含む医薬組成物は、前記ポンプシステムを使用することによって投与することができる。そのようなポンプシステムは一般に当技術分野で既知であり、通常は注入する治療薬を収容するカートリッジの定期交換が必要である。そのようなポンプシステムでは、カートリッジを交換する際、交換時以外には中断しない患者体内への治療薬の流入に一時的な中断が生じる場合がある。そのような場合であっても、カートリッジ交換前の投与段階とカートリッジ交換後の投与段階の両方で、そのような治療薬の1つの「中断のない投与」を構成するという意味で、本発明の薬学的手段及び方法の範囲内と見なされる。

【0271】

本発明の抗体構築物の連続投与または中断のない投与は、流体をリザーバーから送り出すための流体送出機構、及び送出機構を作動させるための作動機構を含む、流体送達デバイスまたは小型ポンプシステムによる静脈内または皮下投与であり得る。皮下投与用のポンプシステムは、患者の皮膚に穿刺し、好適な組成物を患者体内に送達するための針またはカニューレを含み得る。前記ポンプシステムは、静脈、動脈、または血管を問わず、患者の皮膚に直接固定または装着することで、ポンプシステムと患者の皮膚とを直接接触させることができる。このポンプシステムは、患者の皮膚に24時間から数日間装着することができる。リザーバーの容積が小さい小型のポンプシステムの場合もある。非限定的な例として、投与される好適な医薬組成物に適したリザーバーの容積は、0.1～50mlであり得る。

【0272】

連続投与はまた、皮膚に装着され一定間隔で交換されるパッチによる経皮投与であってもよい。当業者は、この目的に適した、薬物送達用のパッチシステムを熟知している。経皮投与の注目すべき点は、例えば第1の使用済みパッチのすぐ隣の皮膚表面に、第1の使用済みパッチを除去する直前に、新しい第2のパッチを装着すると同時に第1の使用済みパッチの交換を完了できる有利さがあることから、中断のない投与に特に適していることである。流入の中断または電池切れの問題は生じない。

【0273】

医薬組成物が凍結乾燥されている場合、凍結乾燥された材料を投与前に適切な液体で最初に再構成する。凍結乾燥された材料は、例えば注射用静菌水(BWF I)、生理食塩水、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)、または凍結乾燥前にタンパク質が存在した同じ製剤で再構成することができる。

【0274】

本発明の組成物は、例えば、本明細書に記載される種間特異性を示す、漸増用量の本発明の抗体構築物をチンパンジー以外の霊長類、例えばマカクに投与することによる用量漸増試験によって決定できる好適な用量で対象に投与することができる。上述のように、本明細書に記載される種間特異性を示す本発明の抗体構築物は、同一の形態で、チンパンジー以外の霊長類における前臨床試験に、及びヒトにおける薬物として使用できるという利

点がある。投薬計画は、主治医が臨床的要因に応じて決定することになる。医学分野で周知のように、ある1人の患者に対する投薬量は、その患者の体格、体表面積、年齢、投与される個々の化合物、性別、投与時間及び投与経路、全身健康状態、ならびに同時に投与される他の薬物を含む、多くの要因によって異なる。

【0275】

用語「有効用量」または「有効投薬量」は、望ましい効果を達成するまたは少なくとも部分的に達成するのに十分な量と定義される。用語「治療有効用量」は、疾患に既に罹患している患者の疾患及びその合併症を治療する、または少なくとも部分的に抑止するのに十分な量と定義される。この用途に効果的な量または用量は、治療される病態（適応症）、送達する抗体構築物、治療の内容及び目的、疾患の重度、治療歴、患者の病歴及び治療薬に対する反応性、投与経路、体格（体重、体表面積、または臓器サイズ）、及び/または患者の状態（年齢及び全身健康状態）、ならびに患者自身の免疫系の全身状態によって異なる。適当な用量は、1回の投与または複数回にわたる投与で患者に投与できるように、また最適な治療効果を得るために、主治医の判断に従って調整することができる。

10

【0276】

通常の投薬量は、上記の要因に応じて、約0.1 µg/kg ~ 最大約30 mg/kg以上の範囲であり得る。特定の実施形態では、投薬量は、1.0 µg/kg ~ 約20 mg/kg、場合により10 µg/kg ~ 約10 mg/kg、または100 µg/kg ~ 約5 mg/kgの範囲であり得る。

【0277】

20

治療有効量の本発明の抗体構築物は、好ましくは、疾患症状の重度を低下させ、無疾患症状期の頻度もしくは期間を増加させ、または疾患の苦痛に起因する機能障害もしくは能力障害を防止する。DLL3発現腫瘍の治療の場合、治療有効量の本発明の抗体構築物、例えば抗DLL3/抗CD3抗体構築物は、好ましくは、細胞成長または腫瘍成長を未処置患者と比較して少なくとも約20%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、または少なくとも約90%阻害する。腫瘍成長を阻害する化合物の能力は、ヒト腫瘍における有効性を予測する動物モデルにおいて評価することができる。

【0278】

医薬組成物は、1回の治療で投与することも、または必要に応じて抗癌療法などの追加治療、例えば他のタンパク質性及び非タンパク質性薬物と併用して投与することができる。これらの薬物は、本明細書で定義される本発明の抗体構築物を含む組成物と同時に投与しても、または前記抗体構築物の投与前もしくは投与後に既定の時間間隔及び用量で別々に投与してもよい。

30

【0279】

本明細書で使用される場合、用語「有効かつ非毒性用量」は、重大な毒性作用を生じさせずまたは本質的に生じさせずに、病的細胞の減少、腫瘍の除去、腫瘍の縮退、または疾患の安定化をもたらすに足る、本発明の抗体構築物の許容用量を指す。そのような有効かつ非毒性用量は、例えば当技術分野で記載されている用量漸増試験によって決定することができ、その用量は重篤な有害副事象（adverse side event）を誘因する用量を下回るべきである（用量制限毒性、DLT）。

40

【0280】

本明細書で使用される場合、用語「毒性」とは、有害事象または重篤な有害事象として現れる薬物の毒性作用を指す。これらの副事象は、全身的な薬物忍容性の欠如、及び/または投与後の局所的な忍容性の欠如を指す場合がある。毒性はまた、その薬物によって引き起こされる催奇性作用または発癌性作用を含み得る。

【0281】

本明細書で使用される場合、用語「安全性」、「in vivo安全性」、または「忍容性」は、投与直後に（局所忍容性）及びより長期の薬物適用期間の間に、重篤な有害事象を誘導しない薬物の投与と定義される。「安全性」、「in vivo安全性」または

50

「忍容性」は、例えば、治療中及びフォローアップ期間中に定期的に評価することができる。測定値には、臨床評価、例えば臓器の兆候、及び検査値異常のスクリーニングを含む。臨床評価を実施し、NCI-CTC及び/またはMedDRA標準に従って、正常所見からの逸脱を記録/コード化することができる。臓器の兆候には、例えばCommon Terminology Criteria for adverse events v3.0 (CTCAE) に示される、アレルギー/免疫学、血液/骨髄、心不整脈、凝固などの基準を含み得る。試験することができる検査パラメーターは、例えば、血液学、臨床化学、凝固プロファイル、及び尿検査、ならびにその他の体液、例えば血清、血漿、リンパ液、または髄液などの検査を含む。したがって安全性は、例えば身体検査、画像化技術(すなわち、超音波、x線、CTスキャン、磁気共鳴画像化(MRI)、工業装置を用いたその他の計測(すなわち、心電図)、バイタルサインによって、検査パラメーターを測定し有害事象を記録することにより評価することができる。例えば、本発明による使用及び方法において、チンパンジー以外の霊長類における有害事象を組織病理学的方法及び/または組織化学法により試験することができる。

10

【0282】

上記の用語はまた、例えば、Preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals S6; ICH Harmonised Tripartite Guideline; ICH Steering Committee meeting on July 16, 1997にも参照されている。

20

【0283】

さらなる実施形態では、本発明は、本発明の抗体構築物、本発明の方法に従って作製された抗体構築物、本発明のポリペプチド、本発明のベクター、及び/または本発明の宿主細胞が含まれるキットを提供する。

【0284】

本発明に関連して、用語「キット」とは、2つ以上の構成要素がコンテナ、容器、またはその他にまとめて梱包されており、構成要素の1つが本発明の抗体構築物、医薬組成物、ベクター、または宿主細胞に相当するものを意味する。したがってキットは、単品として販売することができる特定の目的を達成するに足る製品及び/または器具の一式であると説明することができる。

30

【0285】

キットは、投与に適した投薬量(上記参照)の本発明の抗体構築物または医薬組成物を含む任意の適切な形状、サイズ、及び材質(好ましくは防水性、例えばプラスチックまたはガラス)の1つ以上の容器(例えば、バイアル、アンプル、コンテナ、シリンジ、ボトル、バッグ)を含み得る。キットはさらに、(例えば、リーフレットまたは指示マニュアルの形態の)使用説明書、本発明の抗体構築物を投与するための手段、例えば、シリンジ、ポンプ、インフューザーなど、本発明の抗体構築物を再構成するための手段、及び/または本発明の抗体構築物を希釈するための手段を含み得る。

【0286】

本発明はまた、単回用量投与単位のためのキットを提供する。本発明のキットはまた、乾燥/凍結乾燥された抗体構築物を含む第1の容器、及び水性製剤を含む第2の容器を含み得る。本発明の特定の実施形態では、単チャンバー及び多チャンバー式充填済みシリンジ(例えば、液体シリンジ及び分散シリンジ(lyosyringe))が含まれるキットが提供される。

40

【実施例】

【0287】

以下の実施例により本発明を例示的に説明する。各実施例は、本発明の範囲を限定するものとみなされるべきではない。本発明は特許請求の範囲によってのみ限定される。

【0288】

実施例 1

50

野生型及び短縮型 D L L 3 を発現する C H O 細胞の作製

D L L 3 抗原の細胞外ドメインは、実施例 1 及び 2 を目的として、以下のアミノ酸位置により画定される個々のサブドメインまたは領域に細分化することができる。

【 0 2 8 9 】

シグナルペプチド： 1 ~ 2 6

N 末端： 2 7 ~ 1 7 5

D S L： 1 7 6 ~ 2 1 5

E G F - 1： 2 1 6 ~ 2 4 9

E G F - 2： 2 7 4 ~ 3 1 0

E G F - 3： 3 1 2 ~ 3 5 1

E G F - 4： 3 5 3 ~ 3 8 9

E G F - 5： 3 9 1 ~ 4 2 7

E G F - 6： 4 2 9 ~ 4 6 5

【 0 2 9 0 】

エピトープマッピングに使用する短縮型 D L L 3 分子を構築するため、ヒト D L L 3 の 8 個の細胞外ドメイン（シグナルペプチド + N 末端、D S L、E G F 1、E G F 2、E G F 3、E G F 4、E G F 5、及び E G F 6）の対応する配列を、N 末端から開始して抗原から段階的に欠失させた。以下の分子を作製した。図 1 も参照のこと。

- ・ H u D L L 3 E C D / 全 E C D 配列番号 2 6 3
- ・ H u D L L 3 E C D / D S L まで配列番号 2 6 4
- ・ H u D L L 3 E C D / E G F - 1 まで配列番号 2 6 5
- ・ H u D L L 3 E C D / E G F - 2 まで配列番号 2 6 6
- ・ H u D L L 3 E C D / E G F - 3 まで配列番号 2 6 7
- ・ H u D L L 3 E C D / E G F - 4 まで配列番号 2 6 8
- ・ H u D L L 3 E C D / E G F - 5 まで配列番号 2 6 9
- ・ H u D L L 3 E C D / E G F - 6 のみ配列番号 2 7 0

【 0 2 9 1 】

ヒト D L L 3、カニクイザル（「 c y n o」）D L L 3、及び短縮型ヒト N 末端 V 5 タグ D L L 3 を発現する C H O 細胞を作製するため、ヒト D L L 3 - E C D（配列番号 2 5 3、Gene Bank アクセッション番号 NM__0 1 6 9 4 1 も参照）、カニクイザル D L L 3 - E C D（配列番号 2 7 2）、及び 7 つの短縮型ヒト N 末端 V 5 タグ D L L 3 - E C D 型（上記参照）を、p E F - D H F R と命名したプラスミドにクローニングした（p E F - D H F R については、Raum et al. Cancer Immunol Immunother 50（2001）141 - 150 に記載されている）。ヒト及びカニクイザル D L L 3 の細胞表面発現の場合、本来のシグナルペプチドを使用し、短縮型ヒト N 末端 D L L 3 の細胞表面発現の場合は、マウス I g G 重鎖シグナルペプチドを使用し、その後ろに V 5 タグを置いた。記載したすべての D L L 3 - E C D 配列の後ろにインフレーションで、人工 Ser / Gly リンカーと、それに続くヒト E p C A M の膜貫通 / 細胞内ドメインに由来するドメイン（Gen Bank アクセッション番号 NM__0 0 2 3 5 4 に公開されている配列のアミノ酸 2 6 6 ~ 3 1 4）のコード配列が位置する。クローニング手順はすべて標準プロトコールに従って実施した（Sambrook, Molecular Cloning; A Laboratory Manual, 3rd edition, Cold Spring Harbour Laboratory Press, Cold Spring Harbour, New York（2001））。Kaufman R. J.（1990）Methods Enzymol. 185, 537 - 566 に記載のように、対応するプラスミドを D H F R 欠損 C H O 細胞にトランスフェクトして真核発現させ、各構築物を得た。

【 0 2 9 2 】

C H O 細胞でのヒト及びカニクイザル D L L 3 の発現は、モノクローナルマウス I g G 2 b 抗ヒト D L L 3 抗体を用いた F A C S アッセイで確認した。7 つの短縮型ヒト D L L

10

20

30

40

50

3 - E C D の発現は、モノクローナルマウス I g G 2 a 抗 v 5 タグ抗体を用いて確認した。結合したモノクローナル抗体は、抗マウス I g G の F c ガンマ - P E を用いて検出した。陰性対照として、細胞を一次抗体の代わりにアイソタイプ対照抗体とインキュベートした。各サンプルをフローサイトメトリーで測定した。

【 0 2 9 3 】

実施例 2

抗 D L L 3 抗体構築物のエピトープマッピング

ヒト D L L 3 及び短縮型ヒト D L L 3 分子（実施例 1 を参照）でトランスフェクトした細胞を、P B S / 1 . 5 % F C S 中で、ヒトアルブミン（変種 1）と融合された二重特異性 D L L 3 x C D 3 抗体構築物（I 2 C と命名された C D 3 結合ドメインをもつ）を含む、未加工、未希釈のペリプラズム抽出物で染色した。結合した分子を、内製したマウスモノクローナル抗 C D 3 結合ドメイン抗体（50 μ l）、続いて抗マウス I g G の F c ガンマ - P E（1 : 100、50 μ l；J a c k s o n I m m u n o r e s e a r c h # 115 - 116 - 071）で検出した。抗体はすべて P B S / 1 . 5 % F C S で希釈した。陰性対照として、細胞をペリプラズム抽出物の代わりに P B S / 2 % F C S とインキュベートした。各サンプルをフローサイトメトリーで測定した。

【 0 2 9 4 】

それぞれの D L L 3 結合ドメインが認識した領域を配列表（表 18）に示す。結合物質は、D L L 3 の N 末端内、D S L ドメイン内、及び個々の E G F ドメイン内に位置するエピトープに特異的にマッピングされた。

【 0 2 9 5 】

図 2 は、E G F - 3 領域内に含まれた D L L 3 エピトープに結合する 2 個の例示的な結合物質を示す（E G F - 3 を含まない、対応する短縮型 D L L 3 構築物では F A C S シグナルがない）。図 2 はまた、E G F - 3 領域内に含まれた D L L 3 エピトープに結合する例示的な結合物質を示す（E G F - 4 を含まない、対応する短縮型 D L L 3 構築物では F A C S シグナルがない）。

【 0 2 9 6 】

結合物質のいくつかは、E G F - 5 / [6] と命名された領域に位置するエピトープに特異的であることを示している。角括弧は、E G F - 6 ドメインのみが残っている短縮型 D L L 3 構築物（図 1 の最後の構築物）では、結合物質の F A C S シグナルの減少を示す（すなわち、完全に存在することも、完全に失われることもない）ことを意味する。

【 0 2 9 7 】

以下の実施例で使用される二重特異性 D L L 3 x C D 3 構築物は、C D 3 結合ドメインとして「I 2 C」を有する構築物、及び野生型ヒト血清アルブミンへの C 末端融合を有する構築物から選択される（例えば、配列番号 224 ~ 230、233 ~ 235、238 ~ 241）。

【 0 2 9 8 】

実施例 3

ヒト及びカニクイザル D L L 3 に対する抗体親和性の B i a c o r e による測定

ニワトリアルブミンとの組換えヒト / カニクイザル D L L 3 - E C D 融合タンパク質を用いて B i a c o r e 分析実験を実施し、本発明の抗体構築物の標的結合性を測定した。

【 0 2 9 9 】

詳細には、製造業者の説明書に従い、C M 5 センサーチップ（G E H e a l t h c a r e）に、酢酸緩衝液 p H 4 . 5 を用いて約 600 ~ 800 R U でそれぞれの組換え抗原を固定した。H B S - E P ランニングバッファー（G E H e a l t h c a r e）で 50 n M、25 n M、12 . 5 n M、6 . 25 n M、及び 3 . 13 n M の濃度に希釈した希釈系列に D L L 3 x C D 3 二重特異性抗体構築物のサンプルをロードした。3 分間は流速を 30 μ l / 分にし、その後 H B S - E P ランニングバッファーを再び流速 30 μ l / m l で 8 分間 ~ 20 分間使用した。チップの再生は、10 m M グリシンと 10 m M N a C l（p H 1 . 5）の溶液を用いて行った。データセットは B i a E v a l ソフトウェアを使

用して分析した。全体を通して2回の独立実験を行った。

【0300】

本発明によるDLL3×CD3二重特異性抗体構築物は、ヒトDLL3に対してナノモル以下の極めて高い親和性を示した（例外としてDLL3-13のKD値は非常に低く、1桁ナノモル範囲であった）。マカクDLL3に対する結合性を対照したところ、これもまた同様の範囲の親和性を示した。親和性値ならびに算出した親和性の差を表2に示す。

【0301】

（表2）Biacore分析、ならびに算出した種間の親和性の差によって決定した、ヒト及びマカクDLL3に対するDLL3×CD3二重特異性抗体構築物の親和性

DLL3×CD3 二重特異性抗体構築物	hu DLL3のKD [nM]	cyno DLL3のKD [nM]	親和性差 KD mac/KD hu
DLL3-4	0.41	0.55	1.34
DLL3-5	0.82	1.03	1.26
DLL3-6	0.55	0.75	1.36
DLL3-7	0.19	0.29	1.52
DLL3-8	0.69	0.96	1.39
DLL3-9	0.35	0.54	1.54
DLL3-10	0.24	0.33	1.38
DLL3-13	1.74	5.55	3.19
DLL3-14	0.47	0.86	1.83
DLL3-15	0.45	0.69	1.53

【0302】

さらに、ヒトCD3及びマカクCD3の両方に対する二重特異性抗体構築物の結合性をBiacoreアッセイで確認したところ、2桁ナノモル範囲と低かった（データは示さず）。

【0303】

実施例4

標的抗原陽性細胞でのヒト及びマカクDLL3に対するDLL3×CD3二重特異性抗体構築物の親和性のスクッチャード分析、ならびに種間親和性の差の測定

またヒトまたはマカクDLL3でトランスフェクトしたCHO細胞に対するDLL3×CD3二重特異性抗体構築物の親和性を、ヒトとマカクDLL3との間に起こり得る親和性の差を測定する方法として最も信頼性が高いスクッチャード分析により測定した。スクッチャード分析に備え、それぞれの細胞株に対するDLL3×CD3二重特異性抗体構築物の一価の結合を正確に測定するため、一価検出系を用いて飽和結合実験を実施する。

【0304】

それぞれの細胞株（組換えヒトDLL3発現CHO細胞株、組換えマカクDLL3発現CHO細胞株） 2×10^4 細胞を、対応するDLL3×CD3二重特異性抗体構築物の3連の希釈系列（1：2で12回希釈）50μl（開始濃度10～20nM）とそれぞれ（飽和状態に到達するまで）インキュベートし、続いて攪拌下での4、16時間のインキュベーション、及び1回の残渣洗浄工程を行った。次に細胞を、30μlのCD3×ALEXA488コンジュゲート溶液とさらに1時間インキュベートした。1回の洗浄工程後、3.5%ホルムアルデヒドを含むFACS緩衝液150μlに細胞を再懸濁し、さらに15分間インキュベートして遠心分離し、FACS緩衝液に再懸濁して、FACS Canto II装置及びFACS Divaソフトウェアを使用して分析した。データは、それぞれ3連による2回の独立実験から生成した。それぞれのスクッチャード分析を算出し、最大結合性（Bmax）を推定した。最大半数結合時のDLL3×CD3二重特異性

抗体構築物の濃度を、それぞれのKDを基に決定した。3連の測定値をプロットして、最小から最大の結合まで適切な濃度範囲を示す双曲線及びS字曲線を得た。

【0305】

表3に示した値は、DLL3×CD3二重特異性抗体構築物ごとに2回の独立実験から得たものである。細胞に基づくスキャッチャード分析により、本発明のDLL3×CD3二重特異性抗体構築物は、ヒトDLL3及びマカクDLL3に対してナノモル以下の親和性があり、カニクイザル/ヒト種間に約1のわずかな親和性の差が存在することが確認された。

【0306】

(表3)細胞に基づくスキャッチャード分析によって決定した、DLL3×CD3二重特異性抗体構築物の親和性(KD)と、マカクDLL3のKD/ヒトDLL3のKDで算出した親和性の差。抗体構築物は、それぞれ3連による2回の独立実験で測定した。

DLL3×CD3 二重特異性 抗体構築物	細胞に基づく親和性 hu DLL3 [nM]	細胞に基づく親和性 mac DLL3 [nM]	親和性差 KD mac/KD hu
DLL3-4	0.39	0.24	0.6
DLL3-5	0.33	0.22	0.7
DLL3-6	0.33	0.23	0.7
DLL3-7	0.21	0.33	1.6
DLL3-8	0.18	0.34	1.9
DLL3-9	0.30	0.49	1.6
DLL3-10	0.37	0.32	0.8
DLL3-13	0.24	0.29	1.2
DLL3-14	0.53	0.51	1.0
DLL3-15	0.25	0.50	2.0

【0307】

実施例5

二重特異性結合及び種間交差反応性

ヒトDLL3及びCD3、ならびにカニクイザルDLL3及びCD3に対する結合を確認するため、本発明の二重特異性抗体構築物を、以下を用いてフローサイトメトリーにより試験した。

- ・ヒトDLL3、人工ヒトDLL3アイソフォーム(点突然変異F172C及びL218Pを特徴とする)、及びマカクDLL3でそれぞれトランスフェクトしたCHO細胞、
- ・ヒトDLL3陽性ヒト肺癌細胞株SHP-77、
- ・CD3を発現するヒトT細胞白血病細胞株HPB-all(DSMZ、Braunschweig、ACC483)、及び
- ・カニクイザルCD3を発現するT細胞株LnPx 4119

【0308】

フローサイトメトリーのため、それぞれの細胞株200,000細胞を、濃度5µg/mlの精製した二重特異性抗体構築物50µlと4で60分間インキュベートした。細胞をPBS/2%FCSで2回洗浄し、次いで4で30分間、二重特異性抗体構築物のCD3結合部分に特異的な内製マウス抗体(2µg/ml)とインキュベートした。洗浄後、結合したマウス抗体を、ヤギ抗マウスFc-PE(1:100)を用いて4で30分間検出した。各サンプルをフローサイトメトリーで測定した。非トランスフェクトCHO細胞を陰性対照として使用した。

【0309】

結果を図3に示す。本発明のDLL3×CD3二重特異性抗体構築物は、ヒトDLL3

、人工DLL3アイソフォーム、及びカニクイザルDLL3でトランスフェクトしたCHO細胞を染色し、またヒトDLL3陽性ヒト肺癌細胞株SHP-77（自然発現体）を染色した。CD3を発現するヒト及びカニクイザルT細胞株はまた、二重特異性抗体構築物によって認識された。また、陰性対照細胞（非トランスフェクトCHO、実施例6にデータを示す）の染色は見られなかった。

【0310】

実施例6

ヒトパラログへの非結合性の確認

ヒトDLL3パラログDLL1及びDLL4を、CHO細胞に安定的にトランスフェクトした。本実施例で使用したパラログの配列は、配列表に示されている（配列番号283及び284）。それぞれのパラログに特異的な抗体を用いてFACS分析でタンパク質の発現を確認した。抗体は、抗ヒトDLL1 MAB1818（R&D；5 µg/ml）、及びDLL4に対する抗ヒトDLL4 MAB1506（R&D、5 µg/ml）であった。

【0311】

フローサイトメトリーアッセイは、結合したマウス抗体をヤギ抗マウスFITC（1：100）を用いて検出した以外は実施例5に記載した通りに実施した。結果を図4に示す。この分析から、本発明のDLL3×CD3二重特異性抗体構築物はいずれも、ヒトDLL3パラログDLL1及びDLL4と交差反応しないことが確認された。

【0312】

実施例7

ヒト生殖細胞系列との同一性

ヒト抗体生殖細胞系列遺伝子に対する抗体構築物の配列の同一性／類似性を分析するため、本発明のDLL3結合ドメインを次のようにアラインメントした。CDRをすべて含む完全なVLと、CDR1及び2を含むが、CDR3を除いた完全なVHを、ヒト抗体生殖細胞系列遺伝子（Vbase）に対してアラインメントした。詳細は本出願の明細書で参照することができる。結果を以下の表4に示す。

【0313】

（表4）VH及びVLのヒト生殖細胞系列との同一性

DLL3×CD3 二重特異性 抗体構築物	ヒト生殖細胞系列との同一性% [VH/VL]
DLL3-4	96.9 / 93.3
DLL3-5	96.9 / 96.6
DLL3-6	96.9 / 96.6
DLL3-7	93.9 / 96.6
DLL3-8	94.8 / 96.6
DLL3-9	96.9 / 95.5
DLL3-10	91.9 / 95.5
DLL3-13	95.9 / 95.7
DLL3-14	94.9 / 94.6
DLL3-15	93.9 / 94.6

【0314】

実施例8

細胞傷害活性

本発明のDLL3×CD3二重特異性抗体構築物がエフェクターT細胞をDLL3発現標的細胞にリダイレクトする能力を、以下の5種類のin vitro細胞傷害性アッセ

イで分析した。

・ D L L 3 x C D 3 二重特異性抗体構築物が、刺激されたヒト C D 8 + エフェクター T 細胞をヒト D L L 3 トランスフェクト C H O 細胞にリダイレクトする能力を、18時間の 51 - クロム放出アッセイで測定した。

・ D L L 3 x C D 3 二重特異性抗体構築物が、刺激されたヒト C D 8 + エフェクター T 細胞を D L L 3 陽性ヒト肺癌細胞株 S H P - 77 にリダイレクトする能力を、18時間の 51 - クロム放出アッセイで測定した。

・ D L L 3 x C D 3 二重特異性抗体構築物が、未刺激のヒト P B M C 中の T 細胞をヒト D L L 3 トランスフェクト C H O 細胞にリダイレクトする能力を、48時間の F A C S による細胞傷害性アッセイで測定した。

・ D L L 3 x C D 3 二重特異性抗体構築物が、未刺激のヒト P B M C 中の T 細胞を D L L 3 陽性ヒト細胞株 S H P - 77 にリダイレクトする能力を、48時間の F A C S による細胞傷害性アッセイで測定した。

・ 交差反応性 D L L 3 x C D 3 二重特異性抗体構築物が、マカク T 細胞をマカク D L L 3 トランスフェクト C H O 細胞にリダイレクトできることを確認するため、エフェクター T 細胞としてマカク T 細胞株を用いて 48 時間の F A C S による細胞傷害性アッセイを実施した。

【0315】

実施例 8 . 1

未刺激のヒト T 細胞を用いたクロム放出アッセイ

C D 8 + T 細胞を濃縮した刺激 T 細胞を以下の記載のように得た。ペトリ皿（直径 145 mm、Greiner bio-one GmbH、Kremsmünster）を 37 で 1 時間、最終濃度 1 μ g / ml の市販の抗 C D 3 特異的抗体（O K T 3、Orthoclone）でコーティングした。結合していないタンパク質を P B S による 1 回の洗浄工程で除去した。3 ~ 5 x 10⁷ のヒト P B M C を、安定化グルタミン / 10 % F C S / I L - 2 20 U / ml（Proleukin（登録商標）、Chiron）を含む 120 ml の R P M I 1640 を入れたプレコーティングされたペトリ皿に加え、2 日間刺激した。3 日目に細胞を回収し、R P M I 1640 で 1 回洗浄した。I L - 2 を加えて最終濃度 20 U / ml にし、細胞を上記と同じ細胞培養培地中で 1 日間再び培養した。製造業者のプロトコールに従い、Dyna1 ビーズを使用して C D 4 + T 細胞及び C D 56 + N K 細胞を除去し、C D 8 + 細胞傷害性 T リンパ球（C T L）を濃縮した。

【0316】

カニクイザル D L L 3 またはヒト D L L 3 トランスフェクト C H O 標的細胞を P B S で 2 回洗浄し、50 % F C S を加えた最終容積 100 μ l の R P M I 中にて、11.1 MBq の ⁵¹Cr を用いて 37 で 60 分間、標識した。その後、標識した標的細胞を 5 ml の R P M I で 3 回洗浄した後、細胞傷害性アッセイに使用した。このアッセイは、10 : 1 の E : T 比で総容積 200 μ l の R P M I を補充した 96 ウェルプレート中で実施した。開始濃度 0.01 ~ 1 μ g / ml の精製された二重特異性抗体構築物と、その 3 倍希釈物を使用した。アッセイ時のインキュベーション時間は 18 時間であった。細胞傷害性は、最大溶解（Triton - X の添加）と自発的溶解（エフェクター細胞なし）との差に対する、上清中に放出されるクロムの相対値から求めた。すべての測定は 4 連で実施した。上清中のクロム活性の測定は、Wizard 3'' ガンマカウンター（Perkin Elmer Life Sciences GmbH、Köln, Germany）で実施した。結果の解析は、Prism 5 for Windows（バージョン 5.0、GraphPad Software Inc.、San Diego, California, USA）を用いて実施した。シグモイド用量反応曲線から、解析プログラムによって算出した E C 50 値を、細胞傷害活性の比較に使用した。

【0317】

実施例 8 . 2

刺激されたヒトエフェクター T 細胞をヒト D L L 3 トランスフェクト C H O 細胞にリダ

イレクトする能力

本発明によるDLL3×CD3二重特異性抗体構築物の細胞傷害活性を、ヒトDLL3でトランスフェクトしたCHO細胞を標的細胞として用い、刺激されたヒトCD8⁺ T細胞をエフェクター細胞として用いて、⁵¹クロム(⁵¹Cr)放出細胞傷害性アッセイで分析した。この実験は実施例8.1に記載した通りに実施した。

【0318】

結果を表5に示す。DLL3×CD3二重特異性抗体構築物は、ヒトDLL3でトランスフェクトしたCHO細胞に対して、1桁ピコモル範囲の極めて強力な細胞傷害活性を示した。

【0319】

(表5)ヒトDLL3でトランスフェクトしたCHO細胞を標的細胞として用い、刺激されたヒトCD8⁺ T細胞をエフェクター細胞として用いて、⁵¹クロム(⁵¹Cr)放出細胞傷害性アッセイで分析した、DLL3×CD3二重特異性抗体構築物のEC50値[pM]

DLL3xCD3 二重特異性 抗体構築物	EC50 [pM]
DLL3-4	3.8
DLL3-5	4.2
DLL3-6	2.1
DLL3-7	2.2
DLL3-8	1.2
DLL3-9	1.2
DLL3-10	1.4
DLL3-13	1.8
DLL3-14	5.4
DLL3-15	9.8

【0320】

実施例8.3

刺激されたヒトエフェクターT細胞をDLL3陽性ヒト肺癌細胞株SHP-77にリダイレクトする能力

DLL3陽性ヒト肺癌細胞株SHP-77を標的細胞源として用い、刺激されたヒトCD8⁺ T細胞をエフェクター細胞として用いて、⁵¹クロム(⁵¹Cr)放出細胞傷害性アッセイでDLL3×CD3二重特異性抗体構築物の細胞傷害活性を分析した。このアッセイは実施例8.1に記載した通りに実施した。

【0321】

刺激された濃縮ヒトCD8⁺ Tリンパ球をエフェクター細胞として、ヒトDLL3トランスフェクトCHO細胞を標的細胞として用いた、⁵¹クロム放出アッセイの結果によれば、本発明のDLL3×CD3二重特異性抗体構築物はまた、自然発現体の標的細胞に対する細胞傷害活性も強力である(表6を参照)。

【0322】

(表6)DLL3陽性ヒト肺癌細胞株SHP-77を標的細胞源として、刺激された濃縮ヒトCD8⁺ T細胞をエフェクター細胞として用いた、18時間の⁵¹クロム(⁵¹Cr)放出細胞傷害性アッセイで分析した、DLL3×CD3二重特異性抗体構築物のEC50値[pM]

行1~10:配列番号260に示した領域内に含まれるDLL3エピトープに結合する、本発明による抗体構築物。(行1~7:EGF-3領域内に含まれるDLL3エピトー

10

20

30

40

50

プに結合する抗体構築物。行 8 ~ 10 : EGF - 4 領域内に含まれる DLL3 エピトープに結合する抗体構築物。) 行 11 ~ 14 : EGF - 5 / [EGF - 6] 領域内に含まれる DLL3 エピトープに結合する抗体構築物。

行	DLL3xCD3 二重特異性 抗体構築物	EC50 [pM]
1	DLL3-4	27
2	DLL3-5	26
3	DLL3-6	18
4	DLL3-7	23
5	DLL3-8	39
6	DLL3-9	18
7	DLL3-10	31
8	DLL3-13	22
9	DLL3-14	31
10	DLL3-15	36
11	DLL3-18	38
12	DLL3-19	142
13	DLL3-20	171
14	DLL3-21	324

10

20

【 0 3 2 3 】

実施例 8 . 4

未刺激のヒト P B M C を用いた F A C S による細胞傷害性アッセイ
エフェクター細胞の単離

ヒト末梢血単核細胞 (P B M C) は、濃縮されたリンパ球調製物 (バフィーコート) 、輸血用血液を採取した血液バンクの副生成物から、 F i c o l l 密度勾配遠心分離により調製した。バフィーコートは地域の血液バンクによって供給され、 P B M C は採血と同日に調製した。 F i c o l l 密度遠心分離、及びダルベッコの P B S (G i b c o) での徹底した洗浄後、残存する赤血球を、赤血球溶解緩衝液 (1 5 5 m M N H ₄ C l 、 1 0 m M K H C O ₃ 、 1 0 0 μ M E D T A) とのインキュベーションにより P B M C から除去した。 1 0 0 × g で P B M C を遠心分離し、血小板を上清から除去した。残存するリンパ球には、主に B リンパ球及び T リンパ球、 N K 細胞、ならびに単球が含まれる。 P B M C は培養中、 1 0 % F C S (G i b c o) を含む R P M I 培地 (G i b c o) にて 3 7 / 5 % C O ₂ に維持した。

30

【 0 3 2 4 】

C D 1 4 ⁺ 細胞及び C D 5 6 ⁺ 細胞の除去

C D 1 4 ⁺ 細胞の除去には、ヒト C D 1 4 マイクロビーズ (M i l t e n y B i o t e c 、 M A C S 、 # 1 3 0 - 0 5 0 - 2 0 1) を、 N K 細胞の除去にはヒト C D 5 6 マイクロビーズ (M A C S 、 # 1 3 0 - 0 5 0 - 4 0 1) を使用した。 P B M C を計数し、 3 0 0 × g で室温にて 1 0 分間遠心分離した。上清を廃棄し、細胞ペレットを M A C S 分離緩衝液 [8 0 μ l / 1 0 ⁷ 細胞 ; P B S (I n v i t r o g e n 、 # 2 0 0 1 2 - 0 4 3) 、 0 . 5 % (v / v) F B S (G i b c o 、 # 1 0 2 7 0 - 1 0 6) 、 2 m M E D T A (S i g m a - A l d r i c h 、 # E - 6 5 1 1)] に再懸濁した。 C D 1 4 マイクロビーズ及び C D 5 6 マイクロビーズ (2 0 μ l / 1 0 ⁷ 細胞) を添加し、 4 ~ 8 で 1 5 分間インキュベートした。細胞を M A C S 分離緩衝液 (1 ~ 2 m l / 1 0 ⁷ 細胞) で洗浄した。遠心分離後 (上記参照) 、上清を廃棄し、細胞を M A C S 分離緩衝液 (5 0 0 μ l / 1 0 ⁸ 細胞) に再懸濁した。次に、 C D 1 4 / C D 5 6 陰性細胞を、 L S カラム (M i

40

50

l t e n y i B i o t e c、# 1 3 0 - 0 4 2 - 4 0 1) を使用して単離した。C D 1 4 + / C D 5 6 + 細胞を含まない P B M C を、R P M I 完全培地、すなわち 1 0 % F B S (B i o c h r o m A G、# S 0 1 1 5)、1 x 非必須アミノ酸 (B i o c h r o m A G、# K 0 2 9 3)、1 0 m M の H e p e s 緩衝液 (B i o c h r o m A G、# L 1 6 1 3)、1 m M のピルビン酸ナトリウム (B i o c h r o m A G、# L 0 4 7 3)、及び 1 0 0 U / m L のペニシリン / ストレプトマイシン (B i o c h r o m A G、# A 2 2 1 3) を補充した R P M I 1 6 4 0 (B i o c h r o m A G、# F G 1 2 1 5) 中で、必要になるまでインキュベーターにて 3 7 ° で培養した。

【 0 3 2 5 】

標的細胞の標識

フローサイトメトリーアッセイで細胞溶解を分析するため、蛍光膜色素 D i O C ₁₈ (D i O) (M o l e c u l a r P r o b e s、# V 2 2 8 8 6) を使用して、ヒト D L L 3 またはマカク D L L 3 トランスフェクト C H O 細胞を標的細胞として標識し、エフェクター細胞と区別した。簡単に述べると、細胞を採取して、P B S で 1 回洗浄し、2 % (v / v) F B S 及び膜色素 D i O (5 μ l / 1 0 ⁶ 細胞) を含有する P B S で 1 0 ⁶ 細胞 / m L に調整した。3 7 ° で 3 分間のインキュベーション後、細胞を完全 R P M I 培地で 2 回洗浄し、細胞数を 1 . 2 5 × 1 0 ⁵ 細胞 / m L に調整した。0 . 5 % (v / v) の等張エオシン G 溶液 (R o t h、# 4 5 3 8 0) を使用して細胞の活力を判定した。

【 0 3 2 6 】

フローサイトメトリーによる分析

このアッセイでは、D L L 3 二重特異性抗体構築物の系列希釈物の存在下で、カニクイザルまたはヒト D L L 3 トランスフェクト C H O 細胞の溶解を定量することを目的とした。D i O 標識した標的細胞とエフェクター細胞 (すなわち、C D 1 4 + 細胞を含まない P B M C) を等容積で混合し、E : T 細胞比を 1 0 : 1 にした。この懸濁液のうち 1 6 0 μ l を 9 6 ウェルプレートの各ウェルに移した。4 0 μ l の D L L 3 × C D 3 二重特異性抗体構築物の系列希釈物、及び陰性対照の二重特異性 (無関係な標的抗原を認識する C D 3 ベースの二重特異性抗体構築物) または R P M I 完全培地を追加の陰性対照として加えた。二重特異性抗体媒介性の細胞傷害反応を 7 % C O ₂ 加湿インキュベーター内で 4 8 時間続行した。次いで、細胞を新しい 9 6 ウェルプレートに移し、標的細胞膜の完全性の喪失を、最終濃度 1 μ g / m l のヨウ化プロピジウム (P I) を添加することによりモニタリングした。P I は、生細胞からは通常排除されるが、死細胞はそれを捕捉し、蛍光発光により識別可能になる膜不透過性色素である。

【 0 3 2 7 】

サンプルを F A C S C a n t o I I 装置でフローサイトメトリーにより測定し、F A C S D i v a ソフトウェアで解析した (いずれも B e c t o n D i c k i n s o n 製) 。D i O 陽性細胞を標的細胞と判定した。P I 陰性標的細胞を生標的細胞に分類した。細胞傷害性の百分率を、以下の式に従って算出した。

$$\text{細胞傷害性} [\%] = \frac{n_{\text{死んだ標的細胞}}}{n_{\text{標的細胞}}} \times 100$$

n = 事象数

【 0 3 2 8 】

G r a p h P a d P r i s m 5 ソフトウェア (G r a p h P a d S o f t w a r e、S a n D i e g o) を使用して、細胞傷害性の百分率を対応する二重特異性抗体構築物の濃度に対してプロットした。用量反応曲線を 4 パラメーターロジスティック回帰モデルを用いて解析し、一定ヒル勾配をもつシグモイド用量反応曲線を導出し、E C 5 0 値を算出した。

【 0 3 2 9 】

実施例 8 . 5

未刺激のヒト P B M C をヒト D L L 3 トランスフェクト C H O 細胞にリダイレクトする

能力

ヒトDLL3でトランスフェクトしたCHO細胞を標的細胞として用い、未刺激のヒトPBMCをエフェクター細胞として用いて、FACSによる細胞傷害性アッセイでDLL3×CD3二重特異性抗体構築物の細胞傷害活性を分析した。このアッセイは上記実施例8.4に記載した通りに実施した。

【0330】

未刺激のヒトPBMCをエフェクター細胞として、ヒトDLL3トランスフェクトCHO細胞を標的として用いた、FACSによる細胞傷害性アッセイの結果を表7に示す。

【0331】

(表7) 未刺激のヒトPBMCをエフェクター細胞として、ヒトDLL3でトランスフェクトしたCHO細胞を標的として用いた、48時間のFACSによる細胞傷害性アッセイで測定した、DLL3×CD3二重特異性抗体構築物のEC50値[pM]

行1～10：配列番号260に示した領域内に含まれるDLL3エピトープに結合する、本発明による抗体構築物。(行1～7：EGF-3領域内に含まれるDLL3エピトープに結合する抗体構築物。行8～10：EGF-4領域内に含まれるDLL3エピトープに結合する抗体構築物。)行11～14：EGF-5/[EGF-6]領域内に含まれるDLL3エピトープに結合する抗体構築物。

行	DLL3xCD3 二重特異性 抗体構築物	EC50 [pM]
1	DLL3-4	53
2	DLL3-5	36
3	DLL3-6	44
4	DLL3-7	40
5	DLL3-8	43
6	DLL3-9	43
7	DLL3-10	40
8	DLL3-13	116
9	DLL3-14	66
10	DLL3-15	57
11	DLL3-18	169
12	DLL3-19	107
13	DLL3-20	171
14	DLL3-21	85

【0332】

予測した通り、EC50値は一般に、刺激されたヒトCD8+ T細胞(実施例8.2を参照)を用いた細胞傷害性アッセイと比べ、未刺激のPBMCをエフェクター細胞として用いた細胞傷害性アッセイの方が高かった。

【0333】

実施例8.6

未刺激のヒトPBMCをDLL3陽性肺癌細胞株SHP-77にリダイレクトする能力
DLL3陽性ヒト肺癌細胞株SHP-77を標的細胞源として用い、未刺激のヒトPBMCをエフェクター細胞として用いて、FACSによる細胞傷害性アッセイでDLL3×CD3二重特異性抗体構築物の細胞傷害活性をさらに分析した。このアッセイは上記実施例8.4に記載した通りに実施した。結果を表8に示す。

【0334】

(表8) 未刺激のヒトPBMCをエフェクター細胞として、ヒト細胞株SHP-77を

標的細胞源として用いて、48時間のFACSによる細胞傷害性アッセイで測定した、DLL3×CD3二重特異性抗体構築物のEC50値[pM]

行1～10：配列番号260に示した領域内に含まれるDLL3エピトープに結合する、本発明による抗体構築物。(行1～7：EGF-3領域内に含まれるDLL3エピトープに結合する抗体構築物。行8～10：EGF-4領域内に含まれるDLL3エピトープに結合する抗体構築物。)行11～14：EGF-5/[EGF-6]領域内に含まれるDLL3エピトープに結合する抗体構築物。

行	DLL3xCD3 二重特異性 抗体構築物	EC50 [pM]
1	DLL3-4	44
2	DLL3-5	65
3	DLL3-6	31
4	DLL3-7	30
5	DLL3-8	24
6	DLL3-9	33
7	DLL3-10	32
8	DLL3-13	49
9	DLL3-14	65
10	DLL3-15	66
11	DLL3-18	76
12	DLL3-19	180
13	DLL3-20	1540
14	DLL3-21	770

【0335】

実施例8.7

マカクT細胞をマカクDLL3を発現するCHO細胞にリダイレクトする能力

最後に、マカク(カニクイザル)DLL3でトランスフェクトしたCHO細胞を標的細胞として用い、マカクT細胞株4119LnPx(Knappe et al. Blood 95:3256-61(2000))をエフェクター細胞源として用いて、FACSによる細胞傷害性アッセイでDLL3×CD3二重特異性抗体構築物の細胞傷害活性を分析した。マカクDLL3トランスフェクトCHO細胞の標的細胞標識と、フローサイトメトリーによる細胞傷害活性の分析を上記のように実施した。

【0336】

結果を表9に示す。本発明によるDLL3×CD3二重特異性抗体構築物は、細胞株4119LnPx由来のマカクT細胞を誘導し、マカクDLL3トランスフェクトCHO細胞を効率的に殺傷した。このアッセイで抗体構築物は、2桁ピコモルの強力なEC50値を示し、マカク系で極めて活性であることが確認された。

【0337】

(表9)マカクT細胞株4119LnPxをエフェクター細胞として用い、マカクDLL3でトランスフェクトしたCHO細胞を標的細胞として用いて、48時間のFACSによる細胞傷害性アッセイで測定した、DLL3×CD3二重特異性抗体構築物のEC50値[pM]

行1～10：配列番号260に示した領域内に含まれるDLL3エピトープに結合する、本発明による抗体構築物。(行1～7：EGF-3領域内に含まれるDLL3エピトープに結合する抗体構築物。行8～10：EGF-4領域内に含まれるDLL3エピトープに結合する抗体構築物。)行11～14：EGF-5/[EGF-6]領域内に含まれる

10

20

30

40

50

DLL3エピトープに結合する抗体構築物。

行	DLL3xCD3 二重特異性 抗体構築物	EC50 [pM]
1	DLL3-4	36
2	DLL3-5	42
3	DLL3-6	40
4	DLL3-7	101
5	DLL3-8	44
6	DLL3-9	58
7	DLL3-10	42
8	DLL3-13	65
9	DLL3-14	28
10	DLL3-15	32
11	DLL3-18	134
12	DLL3-19	66
13	DLL3-20	231
14	DLL3-21	86

10

20

【0338】

実施例9

250 µg / mlでの、(i) 3回の凍結 / 解凍サイクル後及び(ii) 7日間のインキュベーション後の単量体から二量体への変換

二重特異性DLL3 x CD3抗体の単量体構築物に、さまざまな負荷条件を施した後、高速SECにかけ、二量体抗体構築物に変換された初期単量体抗体構築物の割合を測定した。

【0339】

(i) 25 µgの単量体抗体構築物を、一般処方緩衝液で250 µg / mlの濃度に調整し、次いで-80 で30分間凍結後、室温で30分間解凍した。3回の凍結 / 解凍サイクル後、二量体含有量をHP-SECにより測定した。

30

【0340】

(ii) 25 µgの単量体抗体構築物を、一般処方緩衝液で250 µg / mlの濃度に調整し、続いて37 で7日間インキュベートした。二量体含有量をHP-SECにより測定した。

【0341】

高分解能SECカラムTSK Gel G3000 SWXL (Tosoh, Tokyo - Japan)を、A905オートサンプラーを装備したAkta Purifier 10 FPLC (GE Lifesciences)に接続した。カラム平衡化バッファ及びランニングバッファの組成は100 mM KH₂PO₄ - 200 mM Na₂SO₄にし、pH 6.6に調整した。抗体溶液(25 µgのタンパク質)を平衡化したカラムに加え、流速0.75 ml / 分、最大圧力7 MPaで溶出を行った。280、254、及び210 nmの吸光度で実行全体をモニタリングした。解析は、Akta Unicornソフトウェアの実行評価シートに記録された210 nmのシグナルのピーク積分によって行った。二量体含有量は、単量体と二量体合計のピーク総面積で二量体のピーク面積を除算して算出した。

40

【0342】

結果を以下の表10に示す。本発明のDLL3 x CD3二重特異性抗体構築物は、3回の凍結 / 解凍サイクル後に0.0%の二量体率を示し、37 で7日間のインキュベシ

50

ョン後に 2 % の二量体率を示した。

【 0 3 4 3 】

(表 1 0) 高速サイズ排除クロマトグラフィー (H P - S E C) によって測定した D L L 3 × C D 3 二重特異性抗体構築物の単量体対二量体のパーセンテージ

DLL3xCD3 二重特異性 抗体構築物	3回の凍結/解凍サイクル後の 二量体率 (%)	37°Cで7日間のインキュベーション 後の二量体率 (%)
DLL3-4	0.7	0.0
DLL3-5	1.5	0.0
DLL3-6	1.3	0.0
DLL3-7	1.2	0.0
DLL3-8	1.5	0.0
DLL3-9	1.8	0.0
DLL3-10	0.6	0.0
DLL3-13	1.6	0.0
DLL3-14	0.4	0.0
DLL3-15	1.2	0.0

10

20

【 0 3 4 4 】

実施例 1 0

熱安定性

抗体の凝集温度を以下のように測定した。250 μg / ml の抗体構築物溶液 40 μl を単回使用のキュベットに移し、Wyatt の動的光散乱装置 DynaPro Nano star (Wyatt) に入れた。0.5 / 分の加熱速度で 40 から 70 までサンプルを加熱し、測定した半径を常時取得した。タンパク質の融解及び凝集を示す半径の増加を DLS 装置に付属のソフトウェアパッケージで利用して、抗体構築物の凝集温度を算出した。

30

【 0 3 4 5 】

以下の表 1 1 に示すように、試験した本発明の D L L 3 × C D 3 二重特異性抗体構築物はすべて、凝集温度 45 の熱的安定性を示した。(配列番号 2 5 9 に示す) E G F - 4 領域内に含まれる D L L 3 のエピトープに結合する抗体構築物群はさらに、50、正確には 54 の熱安定性を有していた。

【 0 3 4 6 】

(表 1 1) D L S (動的光散乱法) によって測定された二重特異性抗体構築物の熱安定性

DLL3xCD3 二重特異性 抗体構築物	熱安定性 (DLS 凝集温度℃)
DLL3-4	59.3
DLL3-5	45.4
DLL3-6	58.8
DLL3-7	58.2
DLL3-8	49.8
DLL3-9	49.6
DLL3-10	52.9
DLL3-13	54.0
DLL3-14	57.0
DLL3-15	56.3

10

【 0 3 4 7 】

20

実施例 1 1

ヒト血漿中での 2 4 時間インキュベーション後の安定性

精製した二重特異性抗体構築物を 1 : 5 の比でヒト血漿プール中にて、3 7℃、最終濃度 2 ~ 2 0 μ g / m l で 9 6 時間インキュベートした。血漿とのインキュベーション後、開始濃度 0 . 0 1 ~ 0 . 1 μ g / m l の、刺激された濃縮ヒト C D 8 + T 細胞とヒト D L L 3 トランスフェクト C H O 細胞をエフェクター細胞対標的細胞 (E : T) 比 1 0 : 1 で用いて、5 1 クロム放出アッセイで抗体構築物を比較した (実施例 8 . 1 に記載のアッセイ) 。インキュベートしていない新たに解凍した二重特異性抗体構築物を対照として含めた。

【 0 3 4 8 】

30

結果を以下の表 1 2 に示す。また、2 つの抗体構築物 D L L - 4 及び D L L - 1 4 の例示的な結果を図 5 に示す。試験した抗体構築物はすべて、2 . 5 の極めて良好な血漿安定性 (E C 5 0 血漿 / E C 5 0 対照) を有した。 (配列番号 2 5 9 に示す) E G F - 4 領域内に含まれる D L L 3 のエピトープに結合する抗体構築物群はさらに、1 . 5、正確には 1 . 1 の血漿安定性を有していた。

【 0 3 4 9 】

(表 1 2) 血漿とのインキュベーションの有無による抗体構築物 E C 5 0 値、及び算出した血漿 / 対照値

DLL3xCD3 二重特異性 抗体構築物	EC ₅₀ [pM]		対照に対する血漿の比率 (EC ₅₀ 血漿/EC ₅₀ 対照)
	血漿あり	血漿なし	
DLL3-4	3.6	3.8	0.9
DLL3-5	5.4	4.2	1.3
DLL3-6	4.8	2.1	2.3
DLL3-7	2.7	2.2	1.2
DLL3-8	1.0	1.2	0.8
DLL3-9	1.2	1.2	1.0
DLL3-10	2.5	1.4	1.8
DLL3-13	2.0	1.8	1.1
DLL3-14	4.8	5.4	0.9
DLL3-15	7.8	9.8	0.8

【 0 3 5 0 】

実施例 1 2

抗体濃度 2 5 0 0 μ g / m l の濁度

濃度 2 5 0 μ g / m l の精製した抗体構築物溶液 1 m l を回転濃縮ユニットによって 2 5 0 0 μ g / m l まで濃縮した。5 で 1 6 時間保存した後、抗体溶液の濁度を、一般処方緩衝液に対する OD 3 4 0 n m の光吸収測定により判定した。

【 0 3 5 1 】

結果を以下の表 1 3 に示す。試験した抗体構築物はすべて、1 つの構築物の濁度が 0 . 1 をわずかに上回った以外は、0 . 1 の極めて良好な濁度を有している。(配列番号 2 5 9 に示す) E G F - 4 領域内に含まれる D L L 3 のエピトープに結合する抗体構築物群はさらに、0 . 0 8 の濁度を有する。

【 0 3 5 2 】

(表 1 3) 一晩で 2 . 5 m g / m l まで濃縮後の抗体構築物の濁度

DLL3xCD3 二重特異性 抗体構築物	2500 μg/ml での濁度 [OD340]
DLL3-4	0.073
DLL3-5	0.106
DLL3-6	0.080
DLL3-7	0.089
DLL3-8	0.069
DLL3-9	0.085
DLL3-10	0.091
DLL3-13	0.075
DLL3-14	0.073
DLL3-15	0.078

【 0 3 5 3 】

実施例 1 3

高分解能陽イオン交換クロマトグラフィーによるタンパク質の均一性

本発明の抗体構築物のタンパク質均一性を、高分解能陽イオン交換クロマトグラフィー C I E X で分析した。

【 0 3 5 4 】

5 0 μ g の抗体構築物単量体を 5 0 m l の結合緩衝液 A (2 0 m M リン酸二水素ナトリウム、3 0 m M N a c l 、0 . 0 1 % ナトリウムオクタン酸、p H 5 . 5) で希釈し、この溶液 4 0 m l を、A k t a M i c r o F P L C 装置 (G E H e a l t h c a r e 、 G e r m a n y) に接続した 1 m l の B i o P r o S P - F カラム (Y M C 、 G e r m a n y) に加えた。サンプルの結合後、さらに結合緩衝液で洗浄工程を行った。タンパク質を溶出するため、緩衝液 B (2 0 m M リン酸二水素ナトリウム、1 0 0 0 m M N a c l 、0 . 0 1 % ナトリウムオクタン酸、p H 5 . 5) を用いて、緩衝液 B が 5 0 % まで、線形増加する塩勾配を 1 0 カラム容積超で適用した。2 8 0 、2 5 4 、及び 2 1 0 n m の光吸光度でラン全体をモニタリングした。解析は、A k t a U n i c o r n ソフトウェアのラン評価シートに記録された 2 8 0 n m シグナルのピーク積分によって行った。

【 0 3 5 5 】

結果を以下の表 1 4 に示す。試験した抗体構築物はすべて、8 0 % (メインピークの曲線下面積 (= A U C)) という極めて良好な均一性を有している。(配列番号 2 5 8 に示す) E G F - 3 領域内に含まれる D L L 3 のエピトープに結合する抗体構築物群はさらに、9 0 % の均一性を有する。

【 0 3 5 6 】

(表 1 4) 抗体構築物のタンパク質均一性 (メインピークの A U C %)

DLL3xCD3 二重特異性 抗体構築物	タンパク質均一性 メインピークのAUC%
DLL3-4	96
DLL3-5	100
DLL3-6	95
DLL3-7	93
DLL3-8	100
DLL3-9	93
DLL3-10	90
DLL3-13	100
DLL3-14	100
DLL3-15	83

【 0 3 5 7 】

実施例 1 4

H I C ブチルによって測定した表面疎水性

本発明の二重特異性抗体構築物の表面疎水性を、フロースルーモードの疎水性相互作用クロマトグラフィー H I C で試験した。

【 0 3 5 8 】

5 0 μ g の抗体構築物単量体を一般処方緩衝液で最終容積 5 0 0 μ l まで希釈し (1 0 m M クエン酸、7 5 m M リジン H C l 、4 % トレハロース、p H 7 . 0) 、A k t a P

urifier FPLC装置(GE Healthcare、Germany)に接続した1mlのブチルセファロースFFカラム(GE Healthcare、Germany)に加えた。280、254、及び210nmの光吸光度でラン全体をモニタリングした。解析は、Akta Unicornソフトウェアのラン評価シートに記録された280nmシグナルのピーク積分によって行った。タンパク質シグナルの面積及び速度の上下を比較し、それによってBiTEアルブミンとマトリックスとが融合する相互作用強度を示すことにより溶出挙動を評価した。

【0359】

抗体構築物は、良好な溶出挙動を有し、それはほぼ迅速かつ完全であった。

【0360】

実施例15

二重特異性抗体構築物の単量体アイソフォームと二量体アイソフォームとの効力差
個々のDLL3×CD3二重特異性抗体構築物の単量体アイソフォームと二量体アイソフォームとの細胞傷害活性の差(効力差と称する)を測定するため、本明細書で上述したように(実施例8.1)、精製した二重特異性抗体構築物の単量体と二量体を用いて18時間の51クロム放出細胞傷害性アッセイを実施した。エフェクター細胞は刺激した濃縮ヒトCD8+T細胞であった。標的細胞は、ヒトDLL3トランスフェクトCHO細胞であった。エフェクター細胞対標的細胞(E:T)比は、10:1であった。効力差は、EC50値の比率で算出した。

【0361】

結果を以下の表15に示す。また、2つの抗体構築物DLL-4及びDLL-14の例示的な結果を図6に示す。試験したDLL3×CD3二重特異性抗体構築物の効力差は0.2~1.0の間であった。したがって、対応する単量体と比べて活性の高い二量体は実質的に存在しない。

【0362】

(表15) 単量体アイソフォームと二量体アイソフォームとの効力差

DLL3xCD3 二重特異性 抗体構築物	EC ₅₀ [pM] 単量体	EC ₅₀ [pM] 二量体	比率 EC ₅₀ 単量体 / EC ₅₀ 二量体
DLL3-4	3.8	5.7	0.7
DLL3-5	4.2	11	0.4
DLL3-6	2.1	13	0.2
DLL3-7	2.2	4.2	0.5
DLL3-8	1.2	3.4	0.4
DLL3-9	1.2	3.8	0.3
DLL3-10	1.4	1.4	1.0
DLL3-13	1.8	3.0	0.6
DLL3-14	5.4	8.7	0.6
DLL3-15	9.8	25	0.4

【0363】

実施例16

in vitro 内在化アッセイ

T細胞を欠く標的細胞での構築物のプレインキュベーションの関数としてDLL3×CD3二重特異性抗体構築物の効力の変化を測定した。抗体構築物が内在化される場合、リソソーム分解を受けるはずである。時間と共に有効濃度は減少するはずであり、よって見

かけの効力もまた減少するはずである。この効果は既知の現象であるため、他の標的で観察されるが、D L L 3 x C D 3 二重特異性抗体構築物では影響は観察されなかった。このアッセイは以下の通り実施した。

【 0 3 6 4 】

T細胞を計数し、アッセイ培地中で濃度 $1 \times 10^5 / \text{ml}$ に希釈した。S H P - 7 7 細胞を計数し、2 5 0 0 細胞 / ウェル (c p w) で播種した。開始濃度 1 0 0 n M で、抗体構築物を (B r a v o で) 1 : 2 に系列希釈した。抗体構築物を培養アッセイプレートに加え、0 時間、1 時間、または 2 時間のインキュベーション後に T 細胞を添加した。次いで、T細胞を 2 5 0 0 0 c p w で播種し、アッセイを 3 7 ° で 4 8 時間インキュベートした。S H P - 7 7 の細胞生存率を、S t e a d y - G l o (登録商標) システムによって分析した (2 5 μ l / ウェル) 。結果を図 7 に示しており、これは抗体構築物 D L L 3 - 4 x C D 3 (I 2 C) の有意な内在化が存在しないことを示唆している。

10

【 0 3 6 5 】

実施例 1 7

排出試験

排出された D L L の存在によって、本発明の D L L 3 x C D 3 二重特異性抗体構築物の細胞傷害活性が有意に損なわれるかどうかを分析するため、以下のアッセイを実施した。T細胞を計数し、アッセイ培地中で濃度 $1 \times 10^5 / \text{ml}$ に希釈した。S H P - 7 7 細胞を計数し、アッセイ培地中で濃度 $1.25 \times 10^5 / \text{ml}$ に希釈し、可溶性 D L L 3 の濃度を 0 . 3 n M ~ 1 2 n M に増加させた。S H P - 7 7 細胞を 2 5 0 0 細胞 / ウェル (c p w) で播種し、T細胞を 2 5 0 0 0 c p w で加えた。抗体構築物を (B r a v o で) 1 : 2 に系列希釈し、(B r a v o を用いた) 培養アッセイに加えた。インキュベーションを 3 7 ° で 4 8 時間行った。S H P - 7 7 の細胞生存率を、S t e a d y - G l o (登録商標) システム (2 5 μ l / ウェル) によって分析した。

20

【 0 3 6 6 】

実施例 1 8

マウス異種移植片有効性試験

H L E D L L 3 x C D 3 二重特異性抗体構築物 (配列番号 5 1 7) の抗腫瘍活性を、試験 1 日目に 5×10^6 ヒト D L L 3 陽性 S C L C (S H P - 7 7 l u c) 細胞または 5×10^6 ヒト D L L 3 陽性黒色腫 (W M 2 6 6 - 4) 細胞を皮下注射した雌 N O D / S C I D マウスモデルにおいて試験した。エフェクター細胞 (i n v i t r o で増殖及び活性化させた生存するヒト C D 3 + T 細胞 2×10^7) を 1 2 日目に腹腔内注射した。処置の開始は 1 6 日目 (W M 2 6 6 - 4) または 1 8 日目 (S H P - 7 7 l u c) であった。抗体構築物を 5 日ごとに 4 回 (q 5 d x 4) 、静脈内ボラス注射で投与した。処置群は以下の通りである：

30

- S C L C モデル (S H P - 7 7 l u c) / 各群マウス 7 匹
- ・ T 細胞ありビヒクル処置群
- ・ D L L 3 x C D 3 二重特異性抗体構築物：投与あたり 1 0 m g / k g
- 黒色腫モデル (W M 2 6 6 - 4) / 各群マウス 9 匹
- ・ T 細胞ありビヒクル処置群
- ・ D L L 3 x C D 3 二重特異性抗体構築物：投与あたり 1 0 m g / k g
- ・ D L L 3 x C D 3 二重特異性抗体構築物：投与あたり 2 m g / k g

40

【 0 3 6 7 】

試験中、腫瘍をカリパスによって測定し、進行を腫瘍容積 (T V) の群間比較によって評価した。日別の腫瘍成長阻害 T / C [%] を、 $T / C \% = 100 \times (\text{分析群の T V 中央値}) / (\text{対照群の T V 中央値})$ として腫瘍容積を算出することにより測定し、算出した値を以下の表 1 6 に記載する。

【 0 3 6 8 】

(表 1 6) S H P - 7 7 l u c 細胞及び W M 2 6 6 - 4 細胞を用いたマウス異種移植試験の T / C 値

50

試験日	T/C (%) SHP-77 モデル 10 mg/kg	T/C (%) WM266-4 モデル 10 mg/kg	T/C (%) WM266-4 モデル 2 mg/kg
15	103	101	101
17	92	76	77
20	64	42	47
23	50	36	38
26	52	31	35
29	34	46	40
31	33	56	55
33	30	64	75
36	24	<i>n.a</i>	<i>n.a</i>
38	19	<i>n.a</i>	<i>n.a</i>

10

【 0 3 6 9 】

結果をさらに図 8 A 及び 8 B に示す。両方の腫瘍モデルにおいて、試験した 2 及び 1 0 m g / k g 両方の用量レベルで有意な腫瘍成長阻害が見られた。

20

【 0 3 7 0 】

実施例 1 9

カニクイザル探索毒性試験

半減期を延長しない D L L 3 x C D 3 二重特異性抗体構築物（配列番号 5 5 4 ）を用いて、探索毒性試験を実施した。3 匹の雌カニクイザルに 1 6 日間（それぞれ 5、1 5、及び 4 5 μ g / k g / 日を 3 日間、続いて 1 0 0 μ g / k g / 日を 7 日間）連続静脈内注入により投与した。試験物品に関連した臨床観察と、体温、食餌消費量または体重の変化は見られなかった。

【 0 3 7 1 】

D L L 3 x C D 3 二重特異性抗体構築物の薬理学に関する予測と一貫し、血中 T リンパ球集団（総 T リンパ球、T ヘルパー及び T 細胞傷害性リンパ球、N K 細胞、B リンパ球、及び C D 2 5 + 活性化 T リンパ球）は投与初日に減少し、全動物において試験期間を通じ低いままであった。活性化マーカー（活性化 T 細胞の C D 6 9 及び C D 2 5 ）は初日に増加したが、試験中のそれ以降の時点では増加しなかった。

30

【 0 3 7 2 】

要約すると、D L L 3 x C D 3 二重特異性抗体構築物は、最大の試験用量（1 0 0 μ g / k g / 日、> 3 0 0 x E C ₅₀ ）であっても極めて優れた忍容性を示した。

【 0 3 7 3 】

実施例 2 0

カニクイザル P K 試験

カニクイザル P K 試験をナীব雄カニクイザルを用いて実施した。3 種類のアルブミン融合 D L L 3 x C D 3 （I 2 C ）二重特異性抗体構築物（D L L 3 - 4、D L L 3 - 6、及び D L L 3 - 1 4 ）を濃度 1 2 μ g / k g で静脈内単回ボラスとして投与した。分子ごとに 2 匹の動物群を使用した。

40

【 0 3 7 4 】

個々のカニクイザル P K 試験は、異なる F c 融合型の D L L 3 - 4 を除いて、同じ条件下で実施した。

【 0 3 7 5 】

血液サンプルは、投与前と、投与後 0 . 0 5、0 . 5、1、4、8、2 4、4 8、7 2、1 2 0、1 6 8、2 4 0、及び 3 3 6 時間に採取した。イムノアッセイにおいて分子の

50

血清濃度を測定するため血清を調製した。抗体構築物をその標的部分を介して捕捉することによりアッセイを実施すると同時に、構築物のCD3結合部分に対する抗体を検出に使用した。血清濃度 - 時間プロファイルをPKパラメーターの決定に使用した。薬物動態パラメーターは、標準的なノンコンパートメント解析(NCA)法を用いて決定した。次のPKパラメーターを評価した： AUC_{inf} (血清濃度 - 時間曲線下面積)、 V_{ss} (定常状態での分布容積)、 CL (全身クリアランス)、及び終末相 $t_{1/2}$ (終末相半減期)。全抗体構築物について、投与後に全動物の全時点で血清レベルを定量化可能であった。処置動物のいずれにおいても臨床観察は行わなかった。

【0376】

試験した抗体構築物の薬物動態を図9に示し、PKパラメーターを $n = 2$ の平均値で以下の表17にまとめている。

【0377】

アルブミン融合構築物は、ヒト患者における週1回または2回の投与スケジュールで、一貫して良好なPKプロファイルを示した。Fc融合構築物(scFc)では、週1回の投与の維持、または隔週投与の維持でも、さらに良好なPKプロファイルが観察された。

【0378】

(表17) DLL3 x CD3 二重特異性抗体構築物のHLE変種のカニクイザルにおける薬物動態パラメーター

抗体構築物	AUC_{inf} [ng * h / mL]	V_{ss} [mL / kg]	CL [mL / h / kg]	$t_{1/2}$ [h]
DLL3-4 x I2C HALB	20,669	70	0.58	98
DLL3-6 x I2C HALB	20,228	67	0.59	103
DLL3-14 x I2C HALB	21,597	107	0.55	154
DLL3-4 x I2C scFc	29,746	118	0.40	213
DLL3-4 (cc) x I2C scFc	24,769	144	0.48	234
DLL3-4 x I2C ヘテロ Fc	14,639	166	0.82	173

【0379】

(表18) 配列表

配列 番号	DLL3 エピー トープ	名称	形態/ 起源	アミノ酸配列
1		DLL3- 1	VH CDR1	DYGIH
2		DLL3- 1	VH CDR2	VISYHGSNKYYARSVKG
3		DLL3- 1	VH CDR3	EIPFGMDV
4		DLL3- 1	VL CDR1	RSSQSLHSDGYNLYD
5		DLL3- 1	VL CDR2	LGSNRAS
6		DLL3- 1	VL CDR3	MQALQTPLT
7		DLL3- 1	VH	QVQLVESGGGVQSGRSLRLSCAASGFTFSFDYGIHWVRQAPGKGLEWVAVISYHGSNKYYARS VKGRFTVSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREIPFGMDVWGQGTITVTVSS
8		DLL3- 1	VL	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHSDGYNLYDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGV PDRFSGSGGTDFLTISRVEAEDVGVYYCMQALQTLTFFGGGKVDIK
9	N末端	DLL3- 1	scFv	QVQLVESGGGVQSGRSLRLSCAASGFTFSFDYGIHWVRQAPGKGLEWVAVISYHGSNKYYARS VKGRFTVSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREIPFGMDVWGQGTITVTVSSGGGGGGGG SGGGSDIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHSDGYNLYDWYLQKPGQSPQLLIYLG NRASGVPDRFSGSGGTDFLTISRVEAEDVGVYYCMQALQTLTFFGGGKVDIK

10

20

30

40

10		DLL3- 1 x12C	一重 特异性 分子	QVQLVESGGGVQSGRSLRLSCAASGFTFSDYGIHWVRQAPGKGLEWVAVISYHGSKNKYYARS VKGRFTVSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREIPFGMDVWGQGTITVTVSSGGGGGGGG SGGGSDIVMTQTPLSLPVTPEPASISCRSSQSLHSDGYNLDWYLDKPGQSPQLLIYLG NRASGVPDFRSGSGGTDFTLTISRVEAEDVGVYCMQALQTPITFGGKTKVDIKSGGGGSEV QLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADS VKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTITVTVSSGGG GSGGGSGGGGQTAVTQEPSTVSPGGTTLTCGSSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIG GTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
11		DLL3- 2	VH CDR1	GYMH
12		DLL3- 2	VH CDR2	WINPNSGDTNYAQKFQG
13		DLL3- 2	VH CDR3	DANIAALDAFEI
14		DLL3- 2	VL CDR1	RASQSISSYLN
15		DLL3- 2	VL CDR2	AASSLQS
16		DLL3- 2	VL CDR3	QQSYSTPLT
17		DLL3- 2	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYMHVVRQAPGQGLEWMGWINPNSGDTNYAQK FQGRVTMTTRDTSISTAYMELSRITSDDTAVYYCARDANIAALDAFEIWGQGTMTVTVSS
18		DLL3- 2	VL	DIQMTQSPSSLASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGGTDFTLTITSSLPEDFATYYCQQSYSTPLTFTGGGKVEIK
19	N末端	DLL3- 2	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYMHVVRQAPGQGLEWMGWINPNSGDTNYAQK FQGRVTMTTRDTSISTAYMELSRITSDDTAVYYCARDANIAALDAFEIWGQGTMTVTVSSGGGGS GGGGGGGSDIQMTQSPSSLASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASS LQSGVPSRFSGSGGTDFTLTITSSLPEDFATYYCQQSYSTPLTFTGGGKVEIK

10

20

30

40

20		DLL3- 2 xI2C	一重 特异性 分子	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYMHVVRQAPGQGLEWMGWINPNSGDTNYAQK FQGRVTMTRDTSISITAYMELSRLTSDDTAVYYCARDANIAALDAFEIWGQGTMTVTSSGGGGS GGGGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASS LQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQSYSTPLTFGGGTKVEIKSGGGGSEVQ LVESSGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYCVRHGNGNSYISYWAYWGQGTTLTVSSGGGG SGGGSGGGGQTAVVTQEPSTLTVSPGGTTLTCGSSGTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIG TKFLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
21		DLL3- 3	VH CDR1	SYGMH
22		DLL3- 3	VH CDR2	VISYHGRDITYYARSVKG
23		DLL3- 3	VH CDR3	DGATVTSYYYS GMDV
24		DLL3- 3	VL CDR1	RASQGISNYLA
25		DLL3- 3	VL CDR2	IASLQS
26		DLL3- 3	VL CDR3	QQYNFYPT
27		DLL3- 3	VH	QVQLVESGGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKLEWVAVISYHGRDITYARS VKGRFTISRDNKNTLYLHMNSLRAEDTAVYYCARDGATVTSYYSGMDVWGQGTITVTVSSK
28		DLL3- 3	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQGISNYLAWFQQKPGKAPKSLIYLASSLQSGVPSKFS GSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQYNFYPTTFPGTKVDIK
29	EGF- 1	DLL3- 3	scFv	QVQLVESGGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKLEWVAVISYHGRDITYARS VKGRFTISRDNKNTLYLHMNSLRAEDTAVYYCARDGATVTSYYSGMDVWGQGTITVTVSSGG GGGGGGGGGGDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQGISNYLAWFQQKPGKAPKSLIYL ASSLQSGVPSKFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQYNFYPTTFPGTKVDIK
30		DLL3- 3	二重特異 性分子	QVQLVESGGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKLEWVAVISYHGRDITYARS VKGRFTISRDNKNTLYLHMNSLRAEDTAVYYCARDGATVTSYYSGMDVWGQGTITVTVSSGG

10

20

30

40

		3 xI2C		GGSGGGGGGGSDIQMTQSPSSLASVGDRTITCRASQGISNYLAWFQQKPGKAPKSLIYL ASSLQSGVPSPKFSGSGSGTDFTLTITSSLPEDFATYQCQYNFYPTFGPGTKVDIKSGGGGS EVQLVESGGGLVQPGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYA DSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSG GGSGGGGGGGGQTAVTQEPSTLTVSPGGTFTLTTCGSSGTAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGL IGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
31		DLL3- 4	VH CDR1	SYYS
32		DLL3- 4	VH CDR2	YVYYSGTNNPNSLKS
33		DLL3- 4	VH CDR3	IAVTGFYFDY
34		DLL3- 4	VL CDR1	RASQRVNNNYLA
35		DLL3- 4	VL CDR2	GASSRAT
36		DLL3- 4	VL CDR3	QQYDRSPLT
37		DLL3- 4	VH	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGVYYSGTTNNPSSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSTAAADTAVYYCASIAVTGFYFDYWGQGLTVTVSS
38		DLL3- 4	VL	EIVLTQSPGTLSTLSPGERVTLSCRASQRVNNNYLAWYQQRPQAPRLLIYGASSRATGIPDRF SGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGKLEIK
39	EGF- 3	DLL3- 4	scFv	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGVYYSGTTNNPSSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSTAAADTAVYYCASIAVTGFYFDYWGQGLTVTVSSGGGGGGG GSGGGGSEIVLTQSPGTLSTLSPGERVTLSCRASQRVNNNYLAWYQQRPQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGKLEIK
40		DLL3- 4 xI2C	一重 特异性 分子	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGVYYSGTTNNPSSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSTAAADTAVYYCASIAVTGFYFDYWGQGLTVTVSSGGGGGGG GSGGGGSEIVLTQSPGTLSTLSPGERVTLSCRASQRVNNNYLAWYQQRPQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGKLEIKSGGGGGSEVQLV

10

20

30

40

				ESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKD RFTISRDDSKNTAYLQMNCLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGGSG GGSGGGGSQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLGGKAAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGLTKLTVL
41		DLL3- 5	VH CDR1	SYYS
42		DLL3- 5	VH CDR2	YIYSGRTNYPSLKS
43		DLL3- 5	VH CDR3	IAVAGFFFDY
44		DLL3- 5	VL CDR1	RASQSVNKNYLA
45		DLL3- 5	VL CDR2	GASSRAT
46		DLL3- 5	VL CDR3	QQYDRSPLT
47		DLL3- 5	VH	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGIYIYSGRTNYPSL KSRVTISIDTSKNQFSLKLSSTAAATAVYYCARIAGFFFDYWGQGLTVTVSS
48		DLL3- 5	VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRF SGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGKLEIK
49	EGF- 3	DLL3- 5	scFv	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGIYIYSGRTNYPSL KSRVTISIDTSKNQFSLKLSSTAAATAVYYCARIAGFFFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGG GSGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGKLEIK
50		DLL3- 5 xI2C	二重 特異 性分子	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGIYIYSGRTNYPSL KSRVTISIDTSKNQFSLKLSSTAAATAVYYCARIAGFFFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGG GSGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGKLEIKSGGGGSEVQLV ESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKD RFTISRDDSKNTAYLQMNCLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGGSG

10

20

30

40

				GGSGGGGSGQTVVTQEPSTLTVSPGGTTLTTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLGGKAAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
51		DLL3- 6	VH CDR1	SFYWS
52		DLL3- 6	VH CDR2	YIYSGTTNYPNPSLKS
53		DLL3- 6	VH CDR3	IAVAGFFFDY
54		DLL3- 6	VL CDR1	RASQSVNKNYLA
55		DLL3- 6	VL CDR2	GASSRAT
56		DLL3- 6	VL CDR3	QQYDRSPLT
57		DLL3- 6	VH	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRPPGKGLEWIGIYIYSGTTNYPNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSTAAATAVYVCARIAVAGFFFDYWGQGLTVTVSS
58		DLL3- 6	VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRF SGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYQCQYDRSPLTFGGGKVEIK
59	EGF- 3	DLL3- 6	scFv	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRPPGKGLEWIGIYIYSGTTNYPNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSTAAATAVYVCARIAVAGFFFDYWGQGLTVTVSSGGGSGGG GSGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYQCQYDRSPLTFGGGKVEIK
60		DLL3- 6 x12C	二重 特异性 分子	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRPPGKGLEWIGIYIYSGTTNYPNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSTAAATAVYVCARIAVAGFFFDYWGQGLTVTVSSGGGSGGG GSGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYQCQYDRSPLTFGGGKVEIKSGGGSEVQLV ESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYADSVKD RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGFNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGSGG GGSGGGGSGQTVVTQEPSTLTVSPGGTTLTTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTK

10

20

30

40

				FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGKLTIVL
61		DLL3- 7	VH CDR1	SFYWS
62		DLL3- 7	VH CDR2	YIYSGTTNYPNPSLKS
63		DLL3- 7	VH CDR3	IAVAGFFFDY
64		DLL3- 7	VL CDR1	RASQSVNKNYLA
65		DLL3- 7	VL CDR2	GASSRAT
66		DLL3- 7	VL CDR3	QQYDRSPLT
67		DLL3- 7	VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIGIYIYSGTTNYPNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYVCARIAVAGFFFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGG KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYVCARIAVAGFFFDYWGQGLTVTVSS
68		DLL3- 7	VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRF SGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYQCQYDRSPLTFGGGKVEIK
69	EGF- 3	DLL3- 7	scFv	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIGIYIYSGTTNYPNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYVCARIAVAGFFFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGG GSGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYQCQYDRSPLTFGGGKVEIK
70		DLL3- 7 x12C	二重 特异性 分子	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIGIYIYSGTTNYPNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYVCARIAVAGFFFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGG GSGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYQCQYDRSPLTFGGGKVEIKSGGGSEVQLV ESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKD RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNGFNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGGSG GGSGGGGSQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWWQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGKLTIVL

10

20

30

40

71		DLL3-8	VH CDR1	SFYWS	
72		DLL3-8	VH CDR2	YIYYSGTTNYPNPSLKS	
73		DLL3-8	VH CDR3	IAVAGFFFDY	
74		DLL3-8	VL CDR1	RASQSVNKNYLA	
75		DLL3-8	VL CDR2	GASSRAT	
76		DLL3-8	VL CDR3	QQYDRSPLT	
77		DLL3-8	VH	QVQLQEWGPGLVKPSSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIGIYIYSGTTNYPNPSL KSRVTISVDTSKNQLSLKLSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQGLTVTVSSK	
78		DLL3-8	VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRF SGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTKVDIK	
79	EGF-3	DLL3-8	scFv	QVQLQEWGPGLVKPSSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIGIYIYSGTTNYPNPSL KSRVTISVDTSKNQLSLKLSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQGLTVTVSSGGGGGG GSGGGSEIIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTKVDIK	
80		DLL3-8 xI2C	二重 特异性 分子	QVQLQEWGPGLVKPSSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIGIYIYSGTTNYPNPSL KSRVTISVDTSKNQLSLKLSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQGLTVTVSSGGGGGG GSGGGSEIIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTKVDIKSGGGSEVQLV ESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKNNYATYYADSVKD RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGFNGNSYISWAYWGQGLTVTVSSGGGGSG GGSGGGGSQTIVTQEPSTLTVSPGGTTLTCSGSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYCYLWYSNRWVFGGGTKLTVL	

10

20

30

40

81		DLL3- 9	VH CDR1	SFYWS	
82		DLL3- 9	VH CDR2	YIYSGTTNYPNPSLKS	
83		DLL3- 9	VH CDR3	IAVAGFFFDY	
84		DLL3- 9	VL CDR1	RASQSVNKNYLA	
85		DLL3- 9	VL CDR2	GASSRAT	
86		DLL3- 9	VL CDR3	QQYDRSPLT	
87		DLL3- 9	VH	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIGIYIYSGTTNYPNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQGLVTVSS	
88		DLL3- 9	VL	EIVLTQSPGTLSSLSPGESATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRF SGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTRLEIK	
89	EGF- 3	DLL3- 9	scFv	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIGIYIYSGTTNYPNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQGLVTVSSGGGGGGG GSGGGSEIIVLTQSPGTLSSLSPGESATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTRLEIK	
90		DLL3- 9 x12C	二重 特异性 分子	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIGIYIYSGTTNYPNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFFDYWGQGLVTVSSGGGGGGG GSGGGSEIIVLTQSPGTLSSLSPGESATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTRLEIKSGGGGSEVQLV ESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKNNYATYYADSVKD RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGFNGNSYISWAYWGQGLVTVSSGGGGGGG GGSGGGGSQTAVTQEPSTLTVSPGGTTLTCSGSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYCYVLWYSNRWVFGGGTKLTVL	

10

20

30

40

91		DLL3-10	VH CDR1	SYYS	
92		DLL3-10	VH CDR2	YIFYNGITNYPNPSLKS	
93		DLL3-10	VH CDR3	IHSGSFSDY	
94		DLL3-10	VL CDR1	RASQSVSRGYLA	
95		DLL3-10	VL CDR2	GASSRAT	
96		DLL3-10	VL CDR3	QQYDTSPIT	
97		DLL3-10	VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIFYNGITNYPNPSL KSRVTISLDTSKNQFSLKLSVTAADTAKYYCARIHSGSFSDYWDQGTSLTVTVSS	
98		DLL3-10	VL	EIVMTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSRGYLAQQKPGQAPRLLIYGASSRATDIPDRF SGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYDTSPTFGQGTKVEIK	
99	EGF-3	DLL3-10	scFv	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIFYNGITNYPNPSL KSRVTISLDTSKNQFSLKLSVTAADTAKYYCARIHSGSFSDYWDQGTSLTVTVSSGGGGGG GSGGGSEIVMTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSRGYLAQQKPGQAPRLLIYGASSRA TDIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYDTSPTFGQGTKVEIK	
100		DLL3-10 x12C	二重 特异性 分子	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIFYNGITNYPNPSL KSRVTISLDTSKNQFSLKLSVTAADTAKYYCARIHSGSFSDYWDQGTSLTVTVSSGGGGGG GSGGGSEIVMTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSRGYLAQQKPGQAPRLLIYGASSRA TDIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYDTSPTFGQGTKVEIKSGGGSEVQLV ESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWNVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKD RFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGFNGNSYISYWAYWGQGTSLTVTVSSGGGGSG GGSGGGGQTVVTVQEPSLTVSPGGTTLTCSGSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL	

10

20

30

40

101		DLL3-11	VH CDR1	NAGMS	
102		DLL3-11	VH CDR2	RIKNKIDGGTTDFAAPVKG	
103		DLL3-11	VH CDR3	RGWYGDFDY	
104		DLL3-11	VL CDR1	RSSQSLHSHNGYNYLD	
105		DLL3-11	VL CDR2	LGSNRAS	
106		DLL3-11	VL CDR3	MQALQTPFT	
107		DLL3-11	VH	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFI FNNAGMSWVRQAPGKGLEWVGRIKNKIDGGTTDFA APVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKAEDTAVYYCTARGWYGDYFDYWGQGLVTVSS	
108		DLL3-11	VL	DIVMTQTPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLHSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGV PDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCMQALQTPFTFGPGTKVEIK	
109	EGF-3	DLL3-11	scFv	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFI FNNAGMSWVRQAPGKGLEWVGRIKNKIDGGTTDFA APVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKAEDTAVYYCTARGWYGDYFDYWGQGLVTVSSGGGGS GGGSGGGGSDIVMTQTPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLHSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLI YLGSNRASGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCMQALQTPFTFGPGTKVEIK	
110		DLL3-11 x12C	二重 特异性 分子	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFI FNNAGMSWVRQAPGKGLEWVGRIKNKIDGGTTDFA APVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKAEDTAVYYCTARGWYGDYFDYWGQGLVTVSSGGGGS GGGSGGGGSDIVMTQTPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLHSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLI YLGSNRASGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCMQALQTPFTFGPGTKVEIKSGGG GSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATY YADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNGFNYSIYWAYWGQGLVTVS SGGGSGGGGSGGTQVTVTQEPSTVSPGGTTLTCGSSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPR GLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLGGKAAALTLGVPQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL	

10

20

30

40

111		DLL3-12	VH CDR1	SYDIH
112		DLL3-12	VH CDR2	VISSHGSNKNYARSVKG
113		DLL3-12	VH CDR3	DGYSGNDPFYYYYHGM DV
114		DLL3-12	VL CDR1	RASQSISSYL N
115		DLL3-12	VL CDR2	AASSLQS
116		DLL3-12	VL CDR3	QQSFTTPLT
117		DLL3-12	VH	QVQLVESGGGVVQPG RSLRLSCAASGFSFSSYDIHWVRQAPGKGLEWVAVISSHGSNKNYARS VKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLKAEDTAVYYCARDGYS GNDPFYYYYHGM DVWGQGT TTVTVS S
118		DLL3-12	VL	DIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQSISSYL N WYQQKPKAPKLLIYAASSLQSGVP SRFS GSGGTD FSLTISSLQPEDFATYYCQQSFTTPLTFGGG TKVEIK
119	EGF-3/[4]	DLL3-12	scFv	QVQLVESGGGVVQPG RSLRLSCAASGFSFSSYDIHWVRQAPGKGLEWVAVISSHGSNKNYARS VKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLKAEDTAVYYCARDGYS GNDPFYYYYHGM DVWGQGT TTVTVS SGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQSISSYL N WYQQKPKAPKLL IYAASSLQSGVP SRFSGSGGTD FSLTISSLQPEDFATYYCQQSFTTPLTFGGG TKVEIK
120		DLL3-12 x12C	二重 特异性 分子	QVQLVESGGGVVQPG RSLRLSCAASGFSFSSYDIHWVRQAPGKGLEWVAVISSHGSNKNYARS VKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLKAEDTAVYYCARDGYS GNDPFYYYYHGM DVWGQGT TTVTVS SGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQSISSYL N WYQQKPKAPKLL IYAASSLQSGVP SRFSGSGGTD FSLTISSLQPEDFATYYCQQSFTTPLTFGGG TKVEIKSGG GGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT YYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LTVTV SSGGSGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQSISSYL N WYQQKPKAPKLL RGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGKKAALTL SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG TKLTVL

10

20

30

40

121		DLL3-13	VH CDR1	SYMH	
122		DLL3-13	VH CDR2	I INPSDGSTNYAQNFQG	
123		DLL3-13	VH CDR3	GGNSAFYSYYDMDV	
124		DLL3-13	VL CDR1	RSSQSLVYRDGNTYLS	
125		DLL3-13	VL CDR2	KVSNWQS	
126		DLL3-13	VL CDR3	MQGTHWPPT	
127		DLL3-13	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGI INPSDGSTNYAQN FQGRVTMTTRDTSTNTVMELSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTITVTVSS	
128		DLL3-13	VL	DVVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRRLLIYKVSNNWQSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCMQGTHWPPTFGQGTKVEIK	
129	EGF-4	DLL3-13	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGI INPSDGSTNYAQN FQGRVTMTTRDTSTNTVMELSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTITVTVSSGGG GSGGGSGGGGSDVVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNNWQSGVDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCMQGTHWPPTFGQGTKVEIK	
130		DLL3-13 x12C	二重 特异性 分子	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGI INPSDGSTNYAQN FQGRVTMTTRDTSTNTVMELSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTITVTVSSGGG GSGGGSGGGGSDVVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNNWQSGVDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCMQGTHWPPTFGQGTKVEIKSG GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYA TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYCVRHGNGNSYISYWAYWGQGTITV VSSGGGSGGGGSGGQTVVTVQEPSTLVSPGGTITLTCSGSTGAVTSGNYPNWWVQKPGQA PRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLGSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGTKLTV L	

10

20

30

40

141		DLL3-15	VH CDR1	GYIH	
142		DLL3-15	VH CDR2	IINPSDGSYSYGQNFQG	
143		DLL3-15	VH CDR3	GGNSAFYSYYDMDV	
144		DLL3-15	VL CDR1	RSSQSLAYRDGNTYLS	
145		DLL3-15	VL CDR2	KVSNWQS	
146		DLL3-15	VL CDR3	MQGTHWPPT	
147		DLL3-15	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFGTYYIHWRQAPGQGLEWMGIINPSDGSYSYGQNFQGRVTMTTRDTSTNTVMELSSLRSEDYAVYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTITVTVSS	
148		DLL3-15	VL	DVVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLAYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRRLIYKVSNNWQSGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGYYFCMQGTHWPPTFGQGTKVEIK	
149	EGF-4	DLL3-15	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFGTYYIHWRQAPGQGLEWMGIINPSDGSYSYGQNFQGRVTMTTRDTSTNTVMELSSLRSEDYAVYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTITVTVSSGGGSGGGSGGGSDVVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLAYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRRLIYKVSNNWQSGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGYYFCMQGTHWPPTFGQGTKVEIK	
150		DLL3-15 x12C	二重特異性分子	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFGTYYIHWRQAPGQGLEWMGIINPSDGSYSYGQNFQGRVTMTTRDTSTNTVMELSSLRSEDYAVYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTITVTVSSGGGSGGGSGGGSDVVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLAYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRRLIYKVSNNWQSGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGYYFCMQGTHWPPTFGQGTKVEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTITVTVSSGGGSGGGSGGGGQTVVTVQEPSTVSPGGTITLTGSGSTGAVTSGNYPNWWVQKPGQA PRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLGSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGTKLTV	

10

20

30

40

161		DLL3-17	VH CDR1	NYFMH	
162		DLL3-17	VH CDR2	I INPSDGSTSYAQNFQG	
163		DLL3-17	VH CDR3	GGNSAFYSYYDMDV	
164		DLL3-17	VL CDR1	RSSQSLVYRDGNTYLS	
165		DLL3-17	VL CDR2	RVSNWQS	
166		DLL3-17	VL CDR3	MQGTYPPT	
167		DLL3-17	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNTYFMHWVRQAPGLGLEWMGI INPSDGSTSYAQN FQGRVTMTTRDTSTNTVMELSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQTTVTVSS	
168		DLL3-17	VL	DVVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRRLIYRVSNWQSGV PDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGVFYFCMQGTYPPTFGQGTKVDIK	
169	EGF-4	DLL3-17	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNTYFMHWVRQAPGLGLEWMGI INPSDGSTSYAQN FQGRVTMTTRDTSTNTVMELSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQTTVTVSSGGG GSGGGSGGGSDVVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYRVSNWQSGVDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGVFYFCMQGTYPPTFGQGTKVDIK	
170		DLL3-17 x12C	二重 特异性 分子	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNTYFMHWVRQAPGLGLEWMGI INPSDGSTSYAQN FQGRVTMTTRDTSTNTVMELSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQTTVTVSSGGG GSGGGSGGGSDVVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYRVSNWQSGVDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGVFYFCMQGTYPPTFGQGTKVDIKSG GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYA TYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDTAVYCVRHGNGNSYISYWAYWGQGTTLVT VSSGGGSGGGSGGGGTIVTQEPSTLTVSPGGTTLTLCGSSSTGAVTSGNYPNWWVQKPGQA PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLGSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGTKLTV L	

10

20

30

40

171		DLL3-18	VH CDR1	NYGMH	
172		DLL3-18	VH CDR2	VISHHGSSKYYARSVKG	
173		DLL3-18	VH CDR3	DWWELVFDY	
174		DLL3-18	VL CDR1	KSSQSLHSDGKTFLY	
175		DLL3-18	VL CDR2	EVSNRFS	
176		DLL3-18	VL CDR3	LQGIHLFFT	
177		DLL3-18	VH	QVQLVESGGGAVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPKGLEWVAVISHHGSSKYYARS VKGRFTISRDNKNTLYLEMNSLRAEDTAVYYCARDWWELVFDYWGQGLTVTVSS	
178		DLL3-18	VL	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLHSDGKTFLYWYLQKPGQPPQQLLIYEVSNRFSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCLQGIHLPTFTFGPGTKVEIK	
179	EGF-5/[6]	DLL3-18	scFv	QVQLVESGGGAVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPKGLEWVAVISHHGSSKYYARS VKGRFTISRDNKNTLYLEMNSLRAEDTAVYYCARDWWELVFDYWGQGLTVTVSSGGSGGG GSGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLHSDGKTFLYWYLQKPGQPPQQLLIYEV SNRFSGVPDFRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCLQGIHLPTFTFGPGTKVEIK	
180		DLL3-18 x12C	二重 特异性 分子	QVQLVESGGGAVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPKGLEWVAVISHHGSSKYYARS VKGRFTISRDNKNTLYLEMNSLRAEDTAVYYCARDWWELVFDYWGQGLTVTVSSGGSGGG GSGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLHSDGKTFLYWYLQKPGQPPQQLLIYEV SNRFSGVPDFRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCLQGIHLPTFTFGPGTKVEIKSGGGSE VQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPKGLEWVARIRSKYNNYATYYAD SVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNGFNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGG GSGGGSGGGGSGTAVTQEPSTVSPGGTFTLTGGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLI GGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL	

10

20

30

40

181		DLL3-19	VH CDR1	NSRMGVS	
182		DLL3-19	VH CDR2	HIFSNDGKSYSTSLKS	
183		DLL3-19	VH CDR3	YNYDSSGYYYSFFDY	
184		DLL3-19	VL CDR1	RASQSISSYLN	
185		DLL3-19	VL CDR2	AASSLQS	
186		DLL3-19	VL CDR3	QQGYSSPFT	
187		DLL3-19	VH	QVTLKESGPMVLVKPTETLTCTVSGFSLNSRMGVSWIRQPPGRALEWLAHIFSNDGKSYSTSLKSRLTISKDTSKSQVVLMTNMDPVDATYYCARYNYDSSGYYYSFFDYWGQGLVTVSS	
188		DLL3-19	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGTDTLTISLQPEDFATYYCQQGYSSPFTFGGKVEIK	
189	EGF-5/[6]	DLL3-19	scFv	QVTLKESGPMVLVKPTETLTCTVSGFSLNSRMGVSWIRQPPGRALEWLAHIFSNDGKSYSTSLKSRLTISKDTSKSQVVLMTNMDPVDATYYCARYNYDSSGYYYSFFDYWGQGLVTVSSGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGTDTLTISLQPEDFATYYCQQGYSSPFTFGGKVEIK	
190		DLL3-19 x12C	二重 特異性 分子	QVTLKESGPMVLVKPTETLTCTVSGFSLNSRMGVSWIRQPPGRALEWLAHIFSNDGKSYSTSLKSRLTISKDTSKSQVVLMTNMDPVDATYYCARYNYDSSGYYYSFFDYWGQGLVTVSSGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGTDTLTISLQPEDFATYYCQQGYSSPFTFGGKVEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGFNSYISYWAYWGQGLVTVSSGGSGGGSGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRG LIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL	

10

20

30

40

191		DLL3- 20	VH CDR1	NARMGVS	
192		DLL3- 20	VH CDR2	HIFSTDEKSYSTSLKS	
193		DLL3- 20	VH CDR3	YYDSSGYYYSFFDY	
194		DLL3- 20	VL CDR1	RASQSIRSYLN	
195		DLL3- 20	VL CDR2	GASNLQS	
196		DLL3- 20	VL CDR3	QQSYSSPFT	
197		DLL3- 20	VH	QVTLKESGPVLVKPTETLTCTVSGFSLNARMGVSWLRQPPGKALEWLAHIFSTDEKSYST SLKSRLTISKDTSKSQVVLMTNMDPVDATYYCARYYDSSGYYYSFFDYWGQGLVTVSS	
198		DLL3- 20	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIRSYLNWYQQKPKAPKLLIYGASNLQSGVPSRFS GSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSSPFTFGGKVEIK	
199	EGF- 5/[6]	DLL3- 20	scFv	QVTLKESGPVLVKPTETLTCTVSGFSLNARMGVSWLRQPPGKALEWLAHIFSTDEKSYST SLKSRLTISKDTSKSQVVLMTNMDPVDATYYCARYYDSSGYYYSFFDYWGQGLVTVSSG GGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIRSYLNWYQQKPKAPKLLIY GASNLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSSPFTFGGKVEIK	
200		DLL3- 20 x12C	二重 特异性 分子	QVTLKESGPVLVKPTETLTCTVSGFSLNARMGVSWLRQPPGKALEWLAHIFSTDEKSYST SLKSRLTISKDTSKSQVVLMTNMDPVDATYYCARYYDSSGYYYSFFDYWGQGLVTVSSG GGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIRSYLNWYQQKPKAPKLLIY GASNLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSSPFTFGGKVEIKSGGGG SEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYY ADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGFNGSYISYWAYWGQGLVTVSS GGSGGGSGGGGQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSNYPNWVQQKPGQAPRG LIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTLTVL	

10

20

30

40

201		DLL3-21	VH CDR1	SYIHH
202		DLL3-21	VH CDR2	IINPSGGSKSYAQKFRG
203		DLL3-21	VH CDR3	SMSTVTSDAFDI
204		DLL3-21	VL CDR1	RASQSI SNYLN
205		DLL3-21	VL CDR2	AASSLQS
206		DLL3-21	VL CDR3	QQSYSAPILT
207		DLL3-21	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYAFTSYIHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSKSYAQK FRGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLTSEDTA VYCARSMSTVTSDAFDIWGQGTMTVTSS
208		DLL3-21	VL	DIQMTQSPSSLASVGDRTITCRASQSI SNYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGGTEFTLTISSLQPEDFATYCYCQQSYSAPILTFGGGTKVDIK
209	EGF-5/[6]	DLL3-21	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYAFTSYIHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSKSYAQK FRGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLTSEDTA VYCARSMSTVTSDAFDIWGQGTMTVTSSGGGS GGGSGGGGSDIQMTQSPSSLASVGDRTITCRASQSI SNYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASS LQSGVPSRFSGSGGTEFTLTISSLQPEDFATYCYCQQSYSAPILTFGGGTKVDIK
210		DLL3-21 x12C	二重 特異性 分子	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYAFTSYIHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSKSYAQK FRGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLTSEDTA VYCARSMSTVTSDAFDIWGQGTMTVTSSGGGS GGGSGGGGSDIQMTQSPSSLASVGDRTITCRASQSI SNYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASS LQSGVPSRFSGSGGTEFTLTISSLQPEDFATYCYCQQSYSAPILTFGGGTKVDIKSGGGGSEVQ LVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTA VYCVRHGNGNSYISYWAYWGQGTMTVTSSGGGG SGGGSGGGGQT VVTQEPSTVSPGGT VTLTCGSSGTGAVTSNGYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGKKAALTL SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL

10

20

30

40

211	EGF- 3	DLL3- 4 x F12Q	二重 特異性 分子	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGYVYYSGTTNYPNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCASIATGTFYFDYWGQGLTVTVSSGGGGGGG GSGGGSEIVLTQSPGTLSPGERVTLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYCCQYDRSPLTFGGGKLEIKSGGGGSEVQLV ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKG RFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGFNSYVSWWAYWGQGLTVTVSSGGGGSG GGSGGGGQTVVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
212	EGF- 3	DLL3- 5 x F12Q	二重 特異性 分子	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGYVYYSGRTNYPNPSL KSRVTISIDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARIAGFFFDYWGQGLTVTVSSGGGGGGG GSGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYCCQYDRSPLTFGGGKLEIKSGGGGSEVQLV ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKG RFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGFNSYVSWWAYWGQGLTVTVSSGGGGSG GGSGGGGQTVVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
213	EGF- 3	DLL3- 6 x F12Q	二重 特異性 分子	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGASISFYWSWIRQPPGKLEWIGYVYYSGTTNYPNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARIAGFFFDYWGQGLTVTVSSGGGGGGG GSGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYCCQYDRSPLTFGGGKVEIKSGGGGSEVQLV ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKG RFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGFNSYVSWWAYWGQGLTVTVSSGGGGSG GGSGGGGQTVVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
214	EGF- 3	DLL3- 7 x F12Q	二重 特異性 分子	QVQLQESGPGLVKPSQTLTLCTVSGASISFYWSWIRQPPGKLEWIGYVYYSGTTNYPNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARIAGFFFDYWGQGLTVTVSSGGGGGGG GSGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYCCQYDRSPLTFGGGKVEIKSGGGGSEVQLV ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKG RFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGFNSYVSWWAYWGQGLTVTVSSGGGGSG GGSGGGGQTVVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
215	EGF- 3	DLL3-	二重特異 性分子	QVQLQEWGPGLVKPSSETLSLTCTVSGASISFYWSWIRQPPGKLEWIGYVYYSGTTNYPNPSL KSRVTISVDTSKNQSLKLSVTAADTAVYYCARIAGFFFDYWGQGLTVTVSSGGGGGGG

10

20

30

40

216	EGF- 3	DLL3- 9 x12Q	二重 特異性 分子	<p>GSGGGSEIVLTQSPGTTLSLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYCCQYDRSPLTFGGGTVKDIKSGGGSEVQLV ESGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNIATYADSVKG RFTISRDDSKNTAYLQMNLSLKTEDTAVYYCVRHGFNSYVSWWAYWGQGTTLTVSSGGGSG GGSGGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGGTTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL</p> <p>QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRPPGKGLEWIGYIYSGTTNYPNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARIAGVAFYDYGQGTTLTVSSGGGGGGG GSGGGSEIVLTQSPGTTLSLSPGESATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYCCQYDRSPLTFGGGTRLEIKSGGGSEVQLV ESGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNIATYADSVKG RFTISRDDSKNTAYLQMNLSLKTEDTAVYYCVRHGFNSYVSWWAYWGQGTTLTVSSGGGSG GGSGGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGGTTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL</p>
217	EGF- 3	DLL3- 10 x12Q	二重 特異性 分子	<p>QVQLQESGPGLVKPSQTTLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRPPGKGLEWIGYIFYNGITNYPNPSL KSRVTISLDTSKNQFSLKLSSVTAADTAKYCARIHSGSFDYWDQGTTLTVSSGGGGGGG GSGGGSEIVMTQSPGTTLSLSPGERATLSCRASQSVSRGYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TDIPDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYCCQYDTSPTTFGQGTKEIKSGGGSEVQLV ESGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNIATYADSVKG RFTISRDDSKNTAYLQMNLSLKTEDTAVYYCVRHGFNSYVSWWAYWGQGTTLTVSSGGGSG GGSGGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGGTTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL</p>
218	EGF- 4	DLL3- 13 x12Q	二重 特異性 分子	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSDGSNTYAQN FQGRVTMTTRDTSNTVMELSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYDMDVWGQGTTLTVSSGGG GSGGGGGGGSDVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVPDFRSGSGGTDFTLKISRVEADVGVFCMQGTHWPTTFGQGTKEIKSG GGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYA TYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNLSLKTEDTAVYYCVRHGFNSYVSWWAYWGQGTTLV VSSGGGGGGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGGTTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQA PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTV L</p>
219	EGF- 4	DLL3- 14	二重 特異性 分子	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYMHWVRQAPGLGLEWMGIINPSDGSNTYAQK FQGRVTMTTRDTSNTVMYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYDMDVWGQGTTLTVSSGGG GSGGGGGGGSDVMTQTPLSLPVTILGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRR</p>

10

20

30

40

		xF12Q	LIYKVSNWQSGVPDRFSGGGSGTDFTLLKISRVEAEDGVYYCMQGTHWPPTFGQGKVEIKSG GGSEVQLVESGGGLVQPGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYA TYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNGFNSYVSWWAYWGQGTIVT VSSGGGGGGGGSGQTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWWVQKPGQA PRGLIGGKFLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTV L
220	EGF- 4	DLL3- 15 xF12Q 二重 特異性 分子	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYIHWRVQAPGQGLEWMGIINPSDGSTSYGQN FQGRVTMTTRDTSTNTVMELSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQTTVTIVSSGGG GSGGGGGGGSDVMTQSPSLSPVTLGQPASISCRSSQSLAYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVPDRFSGSGSDTFTLLKISRVEAEDGVYFCMQGTHWPPTFGQGKVEIKSG GGSEVQLVESGGGLVQPGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYA TYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNGFNSYVSWWAYWGQGTIVT VSSGGGGGGGGSGQTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWWVQKPGQA PRGLIGGKFLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTV L
221	N末端	DLL3- 1 xI2C -HALB 変種1 二重 特異性 分子 -HALB 変種1	QVQLVESGGGVQSGRSLRLSCAASGFTFSDYGIHWVRQAPGKGLEWVAISYHGSKYIARS VKGRFTVSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREIPFGMDVWGQTTVTIVSSGGGGGGG SGGGSDIVMTQTPSLPVTTPGEPASISCRSSQSLHSDGYNLYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG NRASGVPDRFSGSGSDTFTLLKISRVEAEDGVYYCMQALQPLTFFGGGKVDIKSGGGGSEV QLVESGGGLVQPGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADS VKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNGFNSYISWAYWGQGTIVTVSSGGG GSGGGGGGGSGQTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWWVQKPGQAPRGLIG GTKFLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLPGGG SDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENC DKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPRLVRPEVDVMCT AFHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELFFAKRYKAAFTCCQAADKAACLLPKLDEL RDE GKASSAKQRLKASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLT KVHTCCCHGDL L ECADDRADLAKY ICENQDSISSKLEKCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKD VCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLR LAKTYETTL EKCCAAADPHECYAKVDFEF KPLVEEPQNL IKQNC ELFQ LGEYKFQNAL LVRYTKKVPQVSTP TLVEVSRNLGKVGSKCKKH PEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFN AGTFTFHADICTLSEKERQIKKQ TALVELVKHKPKATKEQLKAAMDDFAAFVEKCKCADDKET CFAEEGKKLVAAASQAALGLHHHHH

10

20

30

40

222	N末端	DLL3- 2 xI2C -HALB 変種1	二重 特異性 分子 -HALB 変種1	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHVVRQAPGQGLEWMGWINPNPNSGDTNYAQK FQGRVTMTRDTSISITAYMELSRLTSDDTAVYYCARDANIAALDAFEIWGQGMVTIVSSGGGGS GGGGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQSISSYLNWYQKPKAPKLLIYAASS LQSGVPSRFSGSGGTDFTLTITISLQPEDFATYQCQSYSTPLTFGGGKVEIKSGGGSEVQ LVESSGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGG SGGGGGGGSQTVVTTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPKGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLISGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTLTVLPGGGGS DAHKSEVAHRFKDLEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPRLVLRPEVDVMCTA FHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPELFFAKRYKAAFTCECCQAADKAACLLPKLDELDEG KASSAKQRLKASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLE CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDV CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLRLLAKTYETTTLEKCCAAADPHECYAKVDFEFK PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHP EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTCKCTESLVNRRPCFSALEVEDETYVPKEFNA GTFTFHADICTLSEKERQIKKQALVELVVKHKPKATKEQLKAAMDDFAAFVEKCKCKADDDKTC FAEEGKKLVAAASQAALGLHHHHH</p>
223	EGF- 1	DLL3- 3 xI2C -HALB	二重 特異性 分子 -HALB	<p>QVQLVESGGGVQPGRSLRLSCAASGTFSSYGMHVRQAPGKGLEWVAVISYHGRDITYARS VKGRFTISRDNKNTLYLHMNSLRAEDTAVYYCARDGATVTSYYSGMDVWGQGTTVTVSSGG GGGGGGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQGISNYLAWFQKPKGKAPKSLIYL ASSLQSGVPSKFSGSGGTDFTLTITISLQPEDFATYQCQYNYFPFTFGPGTKVDIKSGGGGS EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYA DSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSG GGGGGGGGGGSQTVVTTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPKGQAPRGL IGGTFKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLISGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTLTVLPGG GGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAE NCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPRLVLRPEVDVM CTAFHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPELFFAKRYKAAFTCECCQAADKAACLLPKLDELRL DEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGD LLECAADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVES KDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLRLLAKTYETTTLEKCCAAADPHECYAKVFD EFKPLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCC KHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTCKCTESLVNRRPCFSALEVEDETYVPKE</p>

10

20

30

40

224	EGF- 3	DLL3- 4 xI2C -HALB	二重 特異性 分子 -HALB	<p>FNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCCKADDDK ETCFAEEGKKLVAASQAALGLHHHHH</p> <p>QVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGYVYSGTNTYNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCASIAVTGFYFDYWGQGTlVTVSSGGGGGGG SGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERVTLSCRASQVNNNNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYCYQQYDRSPLTFGGGTkLEIKSGGGGSEVQLV ESGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKD RFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGFNGNSYISYWAYWGQGTlVTVSSGGGGSG GGSGGGGSQTIVTQEPsITVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYCYVWYNSRWVFGGgTKLTlVLPGGGSDA HKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCdKS LHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPnLPRLVRPEVDVMCTAFH DNEETFLLKKYLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAFTTECCQAADKAACLLPKLDELRLDEGKA SSAKQRLKCAQLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTkVHTECCCHGDLLECA DDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCK NYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVDFEFKPL VEEPQNLIKQNCeLFEQlGEYKFQNALLVRYTKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEA KRMPCAE DYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAET FTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCCKADDDKTCFA EEGKKLVAASQAALGLHHHHH</p>
225	EGF- 3	DLL3- 5 xI2C -HALB	二重 特異性 分子 -HALB	<p>QVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYSGRTNYYPSL KSRVTISIDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARIAGFFFDYWGQGTlVTVSSGGGGGGG SGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYCYQQYDRSPLTFGGGTkLEIKSGGGGSEVQLV ESGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKD RFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGFNGNSYISYWAYWGQGTlVTVSSGGGGSG GGSGGGGSQTIVTQEPsITVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYCYVWYNSRWVFGGgTKLTlVLPGGGSDA HKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCdKS LHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPnLPRLVRPEVDVMCTAFH DNEETFLLKKYLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAFTTECCQAADKAACLLPKLDELRLDEGKA SSAKQRLKCAQLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTkVHTECCCHGDLLECA DDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCK NYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVDFEFKPL</p>

10

20

30

40

228	EGF- 3	DLL3- 8 xI2C -HALB	二重 特異性 分子 -HALB	<p>DDRADLAKYICENQDSISSKLKECEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCK NYAEAKDVFLGMFLYEARHPDYVVLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVDFEFKPL VEEPQNLIKQNCSELFQNGEYKFQNALLVRYTKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEA KRMPCAEEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAET FTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCCKADDKETCFA EEGKKLVAAASQAALGLHHHHH</p> <p>QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGTTNYPNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARIAGFFFDYWGQGLTVTVSSGGGGGGG GSGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYCCQYDRSPLTFGGGTVKVDIKSGGGGSEVQVLV ESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKVD RFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNEFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGGSG GGSGGGGSQTVVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYICVLWYSNRWVFGGGLTVLPGGGGSDA HKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKS LHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLRLVLRPEVDVMCTAFH DNEETFLLKKYLYEIAARRHPYFYAPELFFAKRYKAAFTCECCQAADKAACLLPKLDELREDEGKA SSAKQRLKCAASLQKGFGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVDLTGVHTECCCHDLECA DDRADLAKYICENQDSISSKLKECEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCK NYAEAKDVFLGMFLYEARHPDYVVLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVDFEFKPL VEEPQNLIKQNCSELFQNGEYKFQNALLVRYTKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEA KRMPCAEEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAET FTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCCKADDKETCFA EEGKKLVAAASQAALGLHHHHH</p>
229	EGF- 3	DLL3- 9 xI2C -HALB	二重 特異性 分子 -HALB	<p>QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGTTNYPNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARIAGFFFDYWGQGLTVTVSSGGGGGGG GSGGGSEIVLTQSPGTLSPGESATLSCRASQSVNKNYLAWYQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYCCQYDRSPLTFGGGTVKVDIKSGGGGSEVQVLV ESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKVD RFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNEFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGGSG GGSGGGGSQTVVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYICVLWYSNRWVFGGGLTVLPGGGGSDA HKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKS LHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLRLVLRPEVDVMCTAFH</p>

10

20

30

40

230	EGF-3	DLL3-10 x12C-HALB	二重 特異性 分子 -HALB	<p>DNEETFLKKYIEIARRHPYFYAPELFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACLLPKLDELDEGKA SSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRPFAEFAEVSCLVTDLTQVHTECCHGDLLECA DDRADLAKYICENQDSISSKKECEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCK NYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLRLAKTYETTELEKCCAAADPHECYAKVDFEFKPL VEEPQNLIKQNCLEFEQGEYKFQNALLVRYTKVPQVSTPTLVEVSRNLKVGSKCKHPEA KRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAET FTFHADICTLSEKERQIKKQATALVELVKKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKCKADDDKTCFA EEGKKLVAASQAALGLHHHHH</p> <p>QVQLQESGPGGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIFYNGITNYPNPSL KSRVTISLDTSKNQFSLKLSVTAADTAKYICARIHSGSFSDYWDQGLTVTVSSGGGGGGG GSGGGSEIVMTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSRGYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TDIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYDTSPTITFGQGTKVEIKSGGGSEVQLV ESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKD RFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGGSG GGSGGGGQTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGQTKLTVLPGGGSDA HKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCPEDFHVKLNVETEFAKTCVADESAENCDKS LHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFQHKDDNPNLRLVRPEVDVMCTAFH DNEETFLKKYIEIARRHPYFYAPELFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACLLPKLDELDEGKA SSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRPFAEFAEVSCLVTDLTQVHTECCHGDLLECA DDRADLAKYICENQDSISSKKECEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCK NYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLRLAKTYETTELEKCCAAADPHECYAKVDFEFKPL VEEPQNLIKQNCLEFEQGEYKFQNALLVRYTKVPQVSTPTLVEVSRNLKVGSKCKHPEA KRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAET FTFHADICTLSEKERQIKKQATALVELVKKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKCKADDDKTCFA EEGKKLVAASQAALGLHHHHH</p>
231	EGF-3	DLL3-11 x12C-HALB	二重 特異性 分子 -HALB	<p>EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFI FNNAGMSWVRQAPGKGLEWVGRIKNKIDGGTTDFA APVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKAEDTAVYYCTARGWYGDYDWGQGLTVTVSSGGGGG GGGGGGGSDIVMTQTPLSLPVTPEPASISCRSSQSLHSGNYLDWYLVKQPGQSPQLLI YLGSNRASGVDRFSGSGGTDFTLTKISRVEAEDVGIYYCMQALQTPFTFGPGTKVEIKSGGG GSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATY YADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNGNSYISYWAYWGQGLTVTVS SGGGGGGGGGGQTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPR GLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGQTKLTVLP</p>

10

20

30

40

				GGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADES AENCDSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPRLPRLVRPEVD VMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACLLPKLDE LRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSCLVTDLTKVHTECCH GDLLCADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFV ESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKV FDEFKPLVEEPQNLIKQNCLELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSK CCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVP KEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQATALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCCKAD DKETCFAEEGKKLVAAASQAALGLHHHHH
232	EGF- 3/[4]	DLL3- 12 xI2C - HALB	二重 特異性 分子 -HALB	QVQLVESGGGVQPGRSLRLSCAASGFSFSSYDIHWVRQAPGKGLEWVAV ISSHGSNKNYARS VKGRFTISRDN SKNTLYLQMNLSLKAEDTAVYYCARDGYSGNDPFYYHYHGMDVWGQGTITVTVS SGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPKAPKLL IYAASSLQSGVPSRFSGSGGTDLSLTISLQPEDFATYYCQSFSTPLTFGGGKVEIKSGG GGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAAGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT YYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLSLKAEDTAVYYCVRHGNGNSYISYWAYWGQGTITVTV SSGGSGGGSGGGGSGQTVVTPQPSLTVSPGGTTLTTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPKQAP RGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLGKKAALTLISGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTLTVL PGGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADE SAENCDSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPRLPRLVRPEV DVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACLLPKLD ELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSCLVTDLTKVHTECC HGDLLCADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADF VESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAK VFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVG KCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYV PKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQATALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCCKA DDKETCFAEEGKKLVAAASQAALGLHHHHH
233	EGF- 4	DLL3- 13 xI2C - HALB	二重 特異性 分子 -HALB	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKCKASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGI INPSDGSSTNYAQN FQGRVTMTTRDTSNTVTYMEISLSRSEDVAVYYCARGNSAFYSYDMDVWGQGTITVTVSSGGG GSGGGSGGGSGGSDVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVPSRFSGSGGTDFTLKI SRVEAEDVGVIYFCMQGTHWPPFTFGGKVEIKSG GGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAAGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYA TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLSLKAEDTAVYYCVRHGNGNSYISYWAYWGQGTITVTV

10

20

30

40

234	EGF-4	DLL3-14 xI2C - HALB	二重 特異性 分子 -HALB	<p>VSSGGSGGGGGGSGQT VVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWWQQKPGQA PRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLGGAALTLGSGVQPEDEAEYCYLVWYSNRWVFGGGTKLTV LPGGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVAD ESAEKCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLRLVRPE VDMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELFFAKRYKAAFTCCQAADKAACLPLKL DELDEGKASSAKQRLKASLQKGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTKVHTEC CHGDLLCADRADLAKYICENQDSISSKKECEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYFYARRHPDYSVLLRLAKTYETTLKCCAAAADPHECYA KVDFEFKPLVEEPQNLIKQNCLELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRLNGKVG SKCKHPEAKRMPCAEDYLSVLNQLCVLHEKTPVSDRVTCKCTESLVNRRPCFSALEVDETY VPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQ TALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKK ADDKETCFAEEGKKLVAAASQAALGLHHHHH</p> <p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFNYYMHWVRQAPGLGLEWMGIINPSDGSTSYAQK FQGRVTMTTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYDMDVWGQTTVTVSSGGG SGGGSGGGGSDVVMQTQPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYCMQGTHTWPTTFGQGTKEIKSG GGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYA TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNGFNYSYISWAYWGQGTLLVT VSSGGSGGGGSGGSGQT VVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWWQQKPGQA PRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLGGAALTLGSGVQPEDEAEYCYLVWYSNRWVFGGGTKLTV LPGGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVAD ESAEKCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLRLVRPE VDMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELFFAKRYKAAFTCCQAADKAACLPLKL DELDEGKASSAKQRLKASLQKGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTKVHTEC CHGDLLCADRADLAKYICENQDSISSKKECEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYFYARRHPDYSVLLRLAKTYETTLKCCAAAADPHECYA KVDFEFKPLVEEPQNLIKQNCLELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRLNGKVG SKCKHPEAKRMPCAEDYLSVLNQLCVLHEKTPVSDRVTCKCTESLVNRRPCFSALEVDETY VPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQ TALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKK ADDKETCFAEEGKKLVAAASQAALGLHHHHH</p>
235	EGF-4	DLL3-15 xI2C - HALB	二重 特異性 分子	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTGYYIHWVRQAPGQGLEWMGIINPSDGSTSYGQN FQGRVTMTTRDTSTNTVYMEISSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYDMDVWGQTTVTVSSGGG SGGGSGGGGSDVVMQTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLAYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYCMQGTHTWPTTFGQGTKEIKSG</p>

10

20

30

40

236	EGF-4	DLL3-16 xI2C - HALB	二重 特異性 分子 -HALB	-HALB	GGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYA TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLT VSSGGGSGGGSGGGSGGTAVTQEPSTVSPGGTTLTCGSSTGAVTSGNYPNWWVQKPGQA PRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTV LPGGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVAD ESAENCDSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNLRLVRPE VDMCTAFHDNEETFLLKYLIEIARRHPYFYAPELFFAKRYKAAATECCQAAADKAAACLLPKL DELDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTEC CHGDLLECADRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP FVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLRLLAKTYETTLEKCCAAADPHECYA KVDFEFPKPLVEEPQNLKQNCLEFQELGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVG SKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTCKCTESLVNRRPCFSALEVDETY VPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQ TALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCCK ADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLHHHHH
237	EGF-4	DLL3-17	二重特異性	二重特異性	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKKASGYTFTGHYMHVVRQAPGQGLEWMGI INPSDGSTNYAQK FQGRVTMTTRDTSTSTVYMEILRSRSED TAVYYCTRGTTVHYSYDMDVWGQGT TTVTVSSGGG GSGGGSGGGSGGGSDVMTQTPLSLPTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLTWFFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGYYCMQGTHTWPPTFGGGKTVEIKSG GGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYA TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLT VSSGGGSGGGSGGGSGGTAVTQEPSTVSPGGTTLTCGSSTGAVTSGNYPNWWVQKPGQA PRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTV LPGGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVAD ESAENCDSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNLRLVRPE VDMCTAFHDNEETFLLKYLIEIARRHPYFYAPELFFAKRYKAAATECCQAAADKAAACLLPKL DELDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTEC CHGDLLECADRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP FVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLRLLAKTYETTLEKCCAAADPHECYA KVDFEFPKPLVEEPQNLKQNCLEFQELGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVG SKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTCKCTESLVNRRPCFSALEVDETY VPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQ TALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCCK ADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLHHHHH
237	EGF-4	DLL3-17	二重特異性	二重特異性	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKKASGYTFTGHYMHVVRQAPGLGLEWMGI INPSDGSTSYAQN FQGRVTMTTRDTSTNTVYMEILSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYDMDVWGQGT TTVTVSSGGG

10

20

30

40

		x12C - HALB	分子 -HALB	<p>GSGGGSGGGSDVMTQSPLSLPTLQGPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYRVSNWQSGVPDRFSGSGGTDTLKI SRVEAEDVG YFCMQGTYPPTFGQGTVDIKSG GGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYA TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLVT VSSGGSGGGSGGGGQT VVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQA PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGLTV LPGGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVAD ESAENCDSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECF LQHKDDNPNLRLVRPE VDVMCTAFHDNEETFLKKYL YEIARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTCCQAADKAACL PKL DELDEGKASSAKQRLKASLQKGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTEC CHGDLLECADRADLAKY ICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAAD FVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYA KVDFEFKPLVEEPQNL IKQNC ELFQ LGEYKFFQNAL LVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVG SKCKHPEAKRMPCAEDYLSVNLQ LCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVD ETY VPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCCK ADKETCF AE EGKKLVAASQAALGLHHHHH</p>
238	EGF- 5/[6]	DLL3- 18 x12C - HALB	二重 特异性 分子 -HALB	<p>QVQLVESGGGAVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISHHGSSKYYARS VKGRFTISRDN SKNTLYLEMN SLRAEDTAVYYCARDWELVFDYWGQGLTVTVSSGGSGGGG GSGGGSDIVMTQTPLSL SVTPGQPASISCKSSQSL LSHDGTFLYWLQKPGQPPQLLIYEV SNRFGVPDRFSGSGGTDTLKI SRVEAEDVG YVYCLQGIHL PFTFGPGTKVEIKSGGGGSE VQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAITYAD SVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGG GSGGGSGGGGQT VVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLI GGTKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGLTVLPGGG GSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAEN CDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECF LQHKDDNPNLRLVRPEVDVVC TAFHDNEETFLKKYL YEIARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTCCQAADKAACL PKLDEL RD EGKASSAKQRLKASLQKGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDL LECADD RADLAKY ICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESK DVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKV FDE FKPLVEEPQNL IKQNC ELFQ LGEYKFFQNAL LVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCCK HPEAKRMPCAEDYLSVNLQ LCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVD ETYVPKEF NAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCCKAD DKE TCFAEEGKKLVAASQAALGLHHHHH</p>

10

20

30

40

239	EGF-5/[6]	DLL3-19 xI2C - HALB	二重 特異性 分子 -HALB	<p>QVTLKESGPMVLVKPTETLTITCTVSGFSLNSRMGVSWIRQPPGRALEWLAHIFSNDEKSYST SLKSRLTISKDTSKSQVVLMTMTNMDPVDATYYCARYNDDSSGYYSFFDYWGQGTLVTVSSG GGSGGGGGGGSDIQTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQSISSYLNWYQKPGKAPKLLIY AASSLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISLQPEDFATYYCQGYSSPFTFGGKTVEIKSGGGG SEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYY ADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDTAVYCVRHGNGNSYISYWAYWGQGTLVTVSS GGSGGGGGGGGQTVVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWWVQKPGQAPRG LIGGTFKFLAPGTPARFSGSLGKKAALTLSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGKTCLTVLP GGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCPFDHVKLVNEVTEFAKTCVADESA ENCCKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLRLVRPEVDV MCTAFHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPELFFAKRYKAAFTGCCAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLKCSLQKFGERAFAKAWAVARLSQRPFAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHG DLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVE SKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVF DEFKPLVEEPQNLIKONCELFELGEYKFNALLVRYTKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKC CKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTCKCTESLVNRRRPFCSALEVDETYVPK EFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQFALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDDFAAFVEKCKKADD KETCFAEEGKKLVAASQAALGLHHHHH</p>
240	EGF-5/[6]	DLL3-20 xI2C - HALB	二重 特異性 分子 -HALB	<p>QVTLKESGPMVLVKPTETLTITCTVSGFSLNSRMGVSWLRQPPGKALEWLAHIFSTDEKSYST SLKSRLTISKDTSKSQVVLMTMTNMDPVDATYYCARYYDSSGYYSFFDYWGQGTLVTVSSG GGSGGGGGGGSDIQTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQSISSYLNWYQKPGKAPKLLIY GASNLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISLQPEDFATYYCQGYSSPFTFGGKTVEIKSGGGG SEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYY ADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDTAVYCVRHGNGNSYISYWAYWGQGTLVTVSS GGSGGGGGGGGQTVVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWWVQKPGQAPRG LIGGTFKFLAPGTPARFSGSLGKKAALTLSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGKTCLTVLP GGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCPFDHVKLVNEVTEFAKTCVADESA ENCCKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLRLVRPEVDV MCTAFHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPELFFAKRYKAAFTGCCAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLKCSLQKFGERAFAKAWAVARLSQRPFAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHG DLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVE SKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVF DEFKPLVEEPQNLIKONCELFELGEYKFNALLVRYTKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKC CKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTCKCTESLVNRRRPFCSALEVDETYVPK</p>

10

20

30

40

241	EGF-5/[6]	DLL3-21 x12C -HALB	二重 特異性 分子 -HALB	EFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADD KETCFAEEGKKLVAASQAALGLHHHHH QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSYIHWVRQAPGQGLEWMGI INPSGGSKSYAQK FRGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLTSEDTAVYCARSMSTVTSDAFDIWGGQTMVTVSSGGGGS GGGGGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASS LQSGVPSRFSGSGGTFTLTISLQPEDFATYCCQSYSAPLTFGGGTVDIKSGGGGSEVQ LVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLSLKTEDTAVYCVRHGNGFSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGG SGGGGGGGGQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLPGGGGS DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVPRPEVDVMCTA FHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELFFAKRYKAAFTCECCQAADKAACLLPKLDELDEG KASSAKQRLKCSLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLE CADDRADLAKY ICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDV CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLRLLAKTYETTTLEKCCAAADPHECYAKVDFEFK PLVEEPQNLIKQNCLEFQGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHP EAKRMPCAEDYLSVNLQCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNA ETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETC FAEEGKKLVAASQAALGLHHHHH
242	EGF-3	DLL3-4 xF12Q -HALB	二重 特異性 分子 -HALB	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRPPGKGLEWIGYVYSGTTNYPNSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYCASIAVTGFYFDYWGQGLTVTVSSGGGGGGG SGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERVTLSCRASQRVNNNLYAWYQRPQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYCCQYDRSPLTFGGGTGLEIKSGGGGSEVQLV ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKG RFTISRDDSKNTAYLQMNLSLKTEDTAVYCVRHGNGFSYVSWWAYWGQGLTVTVSSGGGGSG GGGGGGGQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLPGGGGSDA HKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKS LHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVPRPEVDVMCTAFH DNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELFFAKRYKAAFTCECCQAADKAACLLPKLDELDEGKA SSAKQRLKCSLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECA DDRADLAKY ICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCK NYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLRLLAKTYETTTLEKCCAAADPHECYAKVDFEFKPL

10

20

30

40

243	EGF-3	DLL3-5 xF12Q -HALB	二重 特異性 分子 -HALB	VEEPQNLIKQNCLEFQQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLKVGSKCKHPEA KRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAET FTFHADICTLSEKERQIKKQKTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKCKADDDKETCFA EEGKKLVAAASQAALGLHHHHH QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGIYIYSGRTNYYPSL KSRVTISIDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYVCARIAVAGFFFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGG SGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQKPKGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYQCQYDRSPLTFGGGKLEIKSGGGGSEVQLV ESGGGLVQPGGSLRSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKG RFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYCVRHGNGNSYVSWWAYWGQGTLVTVSSGGGGSG GGGGGGGQTAVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLGKQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGKTLTVLPGGGSDA HKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCPEDFHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCDS LHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECF LQHKDDNP NLPRLVRPEVDVMCTAFH DNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFT ECCCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKA SSAKQRLKCA SLQKFGERA FKA WAVARLSQ RFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECC HGDLL ECA DDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCK NYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLRLAKTYETTL EKCCAAADPHECYAKV FDEFKPL VEEPQNLIKQNCLEFQQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLKVGSKCKHPEA KRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAET FTFHADICTLSEKERQIKKQKTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKCKADDDKETCFA EEGKKLVAAASQAALGLHHHHH
244	EGF-3	DLL3-6 xF12Q -HALB	二重 特異性 分子 -HALB	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIGIYIYSGTTNYPNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYVCARIAVAGFFFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGG SGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQKPKGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYQCQYDRSPLTFGGGKVEIKSGGGGSEVQLV ESGGGLVQPGGSLRSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKG RFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYCVRHGNGNSYVSWWAYWGQGTLVTVSSGGGGSG GGGGGGGQTAVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLGKQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGKTLTVLPGGGSDA HKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCPEDFHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCDS LHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECF LQHKDDNP NLPRLVRPEVDVMCTAFH DNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFT ECCCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKA SSAKQRLKCA SLQKFGERA FKA WAVARLSQ RFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECC HGDLL ECA

10

20

30

40

245	EGF-3	DLL3-7 xF12Q -HALB	二重 特異性 分子 -HALB	<p>DDRADLAKYICENQDSISSKLKECEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCK NYAEAKDVFLGMFLYEARHPDYVVLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVDFEFKPL VEEPQNLIKQNCSELFQNGEYKFQNALLVRYTKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEA KRMPCAEEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTCKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAET FTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCCKADDKETCFA EEGKKLVAAASQAALGLHHHHH</p> <p>QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGTTNYPNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARIAGFFFDYWGQGLTVTVSSGGGGGGG GSGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYCCQYDRSPLTFGGGTKEIKSGGGGSEVQLV ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKG RFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNEFNSYVSWWAYWGQGLTVTVSSGGGGSG GGSGGGGSQTVVTTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYICVLWYSNRWVFGGGLTVLPGGGGSDA HKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKS LHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPRLRVLVRPEVDVMCTAFH DNEETFLLKKYLYEIAARRHPYFYAPELFFAKRYKAAFTCECCQAADKAACLLPKLDELREDEKA SSAKQRLKCSLQKGFGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEVSCLVTLTKVHTECCCHDLECA DDRADLAKYICENQDSISSKLKECEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCK NYAEAKDVFLGMFLYEARHPDYVVLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVDFEFKPL VEEPQNLIKQNCSELFQNGEYKFQNALLVRYTKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEA KRMPCAEEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTCKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAET FTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCCKADDKETCFA EEGKKLVAAASQAALGLHHHHH</p>
246	EGF-3	DLL3-8 xF12Q -HALB	二重 特異性 分子 -HALB	<p>QVQLQEWGPGLVKPSQTLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGTTNYPNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARIAGFFFDYWGQGLTVTVSSGGGGGGG GSGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYCCQYDRSPLTFGGGTKEIKSGGGGSEVQLV ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKG RFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNEFNSYVSWWAYWGQGLTVTVSSGGGGSG GGSGGGGSQTVVTTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYICVLWYSNRWVFGGGLTVLPGGGGSDA HKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKS LHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPRLRVLVRPEVDVMCTAFH</p>

10

20

30

40

247	EGF-3	DLL3-9 xF12Q -HALB	二重 特異性 分子 -HALB	<p>DNEETFLKKYIEIARRHPYFYAPELFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACLPLKLDLDELDEGKA SSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRPFAEFAEVSCLVTDLTQVHTECCHGDLLECA DDRADLAKYICENQDSISSKLECECEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCK NYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTELEKCCAAADPHECYAKVDFEFKPL VEEPQNLIKQNCLEFEQGEYKFQNALLVRYTKVPQVSTPTLVEVSRNLKVGSKCKHPEA KRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAET FTFHADICTLSEKERQIKKQATALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKCKADDDKTCFA EEGKKLVAASQAALGLHHHHH</p> <p>QVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKGLEWIGIYIYSGTTNYPNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARIAGVAGFFDYWGQGLVTVSSGGGGGGG GSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGESATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTRLEIKSGGGGSEVQLV ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNYSAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKG RFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGFGNSYVSWWAWGQGLTVTVSSGGGGSG GGSGGGGSQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYICVLWYSNRWVFGGKTLTLVLPGGGSDA HKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCPEDFHVKLNVNEVTEFAKTCVADESAENCDKS LHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPRLVLRPEVDVMCTAFH DNEETFLKKYIEIARRHPYFYAPELFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACLPLKLDLDELDEGKA SSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRPFAEFAEVSCLVTDLTQVHTECCHGDLLECA DDRADLAKYICENQDSISSKLECECEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCK NYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTELEKCCAAADPHECYAKVDFEFKPL VEEPQNLIKQNCLEFEQGEYKFQNALLVRYTKVPQVSTPTLVEVSRNLKVGSKCKHPEA KRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAET FTFHADICTLSEKERQIKKQATALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKCKADDDKTCFA EEGKKLVAASQAALGLHHHHH</p>
248	EGF-3	DLL3-10 xF12Q -HALB	二重 特異性 分子 -HALB	<p>QVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGIYIFYNGITNYPNPSL KSRVTISLDTSKNQFSLKLSVTAADTAKYYCARIHSGSFSFDYWDQGLVTVSSGGGGGGG GSGGGGSEIVMTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSRGYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TDIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDTSPTITFGQGTKEIKSGGGGSEVQLV ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNYSAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKG RFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGFGNSYVSWWAWGQGLTVTVSSGGGGSG GGSGGGGSQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYICVLWYSNRWVFGGKTLTLVLPGGGSDA</p>

10

20

30

40

249	EGF-4	DLL3-13 xF12Q -HALB	二重 特異性 分子 -HALB	<p>HKSEVAHREFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEHDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENC DKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECF LQHKDDNPNL PRLVRPEVDMCTAFH DNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTCECCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKA SAKQRLK CASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVS KLVTDLTKVHTECCCHGDLLECA DDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCK NYAEAKDVFLGMFLYEARHPDYSVLLLR LAKTYETTL EKCCAAADPHECYAKVFDEFKPL VEEPQNLIKQNCLELFEQLGEYKFNQALLVRYTKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEA KRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVT KCCTESLVNRRRPFCSALEVDETYVPKEFNAET FTFHADICTLSEKERQIKKQ TALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKCKADDKETCFA EEGKKLVAAASQAALGLHHHHH</p> <p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGI INPSDGSTNYAQN FQGRVTMTTRDTSTNTVMELSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTITVTVSSGGG GSGGGSGGGSDVVMQTSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVFCMQGTHWPPTFGQGTKEIKSG GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYA TYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNGFNSYVSWWAYWGQGTITVT VSSGGSGGGSGGGSGGTQVTPQSLTVPSTVSPGGTITLTCSGSTGAVTSGNYPNWVQKPGQA PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLGGAALTL SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGLTKLTV LPGGGGDAHKSEVAHREFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEHDHVKL VNEVTEFAKTCVAD ESAENC DKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECF LQHKDDNPNL PRLVRPE VDMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTCECCQAADKAACLLPKL DELRDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVS KLVTDLTKVHTEC CHGDLLECADRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEARHPDYSVLLLR LAKTYETTL EKCCAAADPHECYA KVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLELFEQLGEYKFNQALLVRYTKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVG SKCKKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVT KCCTESLVNRRRPFCSALEVDETY VPKEFNAETFTTFHADICTLSEKERQIKKQ TALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKCK ADDKETCF AE EGKKLVAAASQAALGLHHHHH</p>
250	EGF-4	DLL3-14 xF12Q -HALB	二重 特異性 分子 -HALB	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTSYMHVVRQAPGLGLEWMGI INPSDGSTSYAQK FQGRVTMTTRDTSTNTVMYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTITVTVSSGGG GSGGGSGGGSDVVMQTSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYCMQGTHWPPTFGQGTKEIKSG GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYA TYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNGFNSYVSWWAYWGQGTITVT</p>

10

20

30

40

251	EGF-4	DLL3-15 xF12Q -HALB	二重 特異性 分子 -HALB	<p>VSSGGSGGGGGGQTVVTQEPSTVSPGGTTLTTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQA PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTV LPGGGSDAHKSEVAHFRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQCCPFEDHVKLNVNEVTEFAKTCVAD ESAENCDSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFHQHKDDNPNLPRLVRPE VDMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPELFFAKRYKAAFTCCQAAADKAACLPLKL DELDEGKASSAKQRLKASLQKGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTEC CHGDLLECADRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYA KVDFEFKPLVEEPQNLIKQNCLELFEQLGEYKFFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVG SKCKHPEAKRMPCAEDYLSVNLQCLVLHEKTPVSDRVTCKCTESLVNRRPCFSALEVDETY VPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKK ADKETCFAEEGKKLVAASQAALGLHHHHH</p> <p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYIHWVRQAPGQGLEWMGIINPSDGSYSYGQN FQGRVTMTTRDTSTNTVMELSSLRSEDTAVYYCARGNSAFYSYYDMVDWGQGTITVTVSSGGG GSGGGSGGGSDVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLAYRDGNTYLSWFQQRPQGSPRR LIYKVSNWQSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGYFCMQGTHWPPPTFGQGTKEIKSG GGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNYSAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYA TYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNGFNSYVSWWAYWGQGTITVT VSSGGSGGGGGGQTVVTQEPSTVSPGGTTLTTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQA PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTV LPGGGSDAHKSEVAHFRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQCCPFEDHVKLNVNEVTEFAKTCVAD ESAENCDSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFHQHKDDNPNLPRLVRPE VDMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPELFFAKRYKAAFTCCQAAADKAACLPLKL DELDEGKASSAKQRLKASLQKGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTEC CHGDLLECADRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYA KVDFEFKPLVEEPQNLIKQNCLELFEQLGEYKFFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVG SKCKHPEAKRMPCAEDYLSVNLQCLVLHEKTPVSDRVTCKCTESLVNRRPCFSALEVDETY VPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKK ADKETCFAEEGKKLVAASQAALGLHHHHH</p>
252	-	ヒト DLL3	ヒト	<p>MVSPRMSGLLSQTVILALIFLPQTRPAGVFELQIHSFGPGPGGAPRSPCSARLPCRLLFFRVC LKPGLSEEAASPCALGAALSARGPVYTEQPGAPADLPDGLLQVFFRDWPGTFSFIET WREELGDQIGGPAWSLLARVAGRRRLAAGGPWARDIORAGAWELRFSYRARCPEPPAVGTACTR LCRPRSAPSRGCGGLRCPAPLEDECEAPLVCRAAGCSPEHGFCEQPGECRCLEGTGTLCTVPV</p>

10

20

30

40

253	-	ヒト DLL3 ECD	ヒト	STSSCLSPRGSSATTGCLVPGPGCDGNPCANGGSCSETPRSFECTCPRGFYGLRCEVSGVT CADGFCFNGGLCVGGADPDSAYICHCPFGQGSNCEKRVDRCSLQPCRNGGLCLDLGHALRCR CRAGFAGPRCEHDLDDCAGRACANGGTCVEGGAHRCSCALGFGGRDCRERADPCAARPCAAG GRCYAHFSGLVACAPGYMGARCEFPVHPDASALPAAPPGLRPGDPQRYLLPPALGILLVAAG VAGAAALLVHVRRRHSQDAGSRLLAGTPEPSVHALPDALNNLRTQEGSGDGPSSSSVDWNRPE DVDPQGIYVISAPSIYAREVATPLFPPLHTGRAGQRQHLLFPYPSSILSVK MVSPRMSGLLSQTVILALIFLPQTRPAGVFELQIHSFGPGPGAPRSPCSARLPCRLLFFRVC LKPGLSEEAESPCALGAALSARGPVYTEQPGAPAPDLPLPDGLLQVPPFRDAWPGTFSFIET WREELGDQIGGPAWSLLARVAGRRRLAAGGPWARDIORAGAWELRFSYRARCEPPAVGTACTR LCRPRSAPSRCGGLRPCAPLEDECEAPLVCRAGCSPEHGFCEQPGECRCLEGTGTLCTVPV STSSCLSPRGSSATTGCLVPGPGCDGNPCANGGSCSETPRSFECTCPRGFYGLRCEVSGVT CADGFCFNGGLCVGGADPDSAYICHCPFGQGSNCEKRVDRCSLQPCRNGGLCLDLGHALRCR CRAGFAGPRCEHDLDDCAGRACANGGTCVEGGAHRCSCALGFGGRDCRERADPCAARPCAAG GRCYAHFSGLVACAPGYMGARCEFPVHPDASALPAAPPGLRPGDPQRYL
254	-	Hu DLL3 N末端	ヒト	MVSPRMSGLLSQTVILALIFLPQTRPAGVFELQIHSFGPGPGAPRSPCSARLPCRLLFFRVC LKPGLSEEAESPCALGAALSARGPVYTEQPGAPAPDLPLPDGLLQVPPFRDAWPGTFSFIET WREELGDQIGGPAWSLLARVAGRRRLAAGGPWARDIORAGAWELRFSYR
255	-	Hu DLL3 DSL ドメイン	ヒト	ARCEPPAVGTACTRLCRPRSAFSPRCGGLRPCAPLEDECE
256	-	Hu DLL3 EGF-1	ヒト	APLVCRAGCSPEHGFCEQPGECRCLEGTGTLCT
257	-	Hu DLL3 EGF-2	ヒト	GGPGCDGNPCANGGSCSETPRSFECTCPRGFYGLRCE
258	-	Hu DLL3 EGF-3	ヒト	SGVTCADGPGCFNGGLCVGGADPDSAYICHCPFGQGSNCE
259	-	Hu DLL3	ヒト	RVDRCSLQPCRNGGLCLDLGHALRCRCRAGFAGPRCE

10

20

30

40

		EGF-4		
260	-	Hu DLL3 EGF- 3+4	ㄷ ㅏ	SGVTCADGPCFNGGLCVGGADPDSAYICHCPPGFQGSNCEKRVDRCSLQPCRNNGGLCLDLGHALRCRCRAGFAGPRCE
261	-	Hu DLL3 EGF-5	ㄷ ㅏ	DLDDCAGRACANGGTCVEGGGAHRCSCALGFGGRDCR
262	-	Hu DLL3 EGF-6	ㄷ ㅏ	RADPCAARPCAHHGRCYAHFSLVCACAPGYMGARCE
263	-	ㄷ ㅏ DLL3 ECD x EpCA M	ㄷ ㅏ 人 工	MVSPRMSGLLSQTVILALIFLPQTRPAGVFFELQIHSFGPGPGAPRSPCSARLPCRLLFFRVCLKPGLSEEAESPICALGAALSARGPVYTEQPGAPAPDLPLPDGLLQVFRDAWPGETFSFIETWREELGDQIGGPAWLLARVAGRRRLAAGPWARDIQRAGAWELRFSYRARCEPPAVGTACTRLCRPSAPSRGCGPLRCPAPLEDECEAPLVCRAAGSCPEHGFCEQPGECRCLEGTGTLCTVPVSTSSCLSPRGPSATGCLVPGPGCDGNPCANGGSCSETPRSFECTCPRGFYGLRCEVSGVTCADGPCFNGGLCVGGADPDSAYICHCPPGFQGSNCEKRVDRCSLQPCRNNGGLCLDLGHALRCRCRAGFAGPRCEHDLDDCAGRACANGGTCVEGGGAHRCSCALGFGGRDCRERADPCAARPCAHRGCRYAHFSGLVACAPGYMGARCEFPVHPDGSALPAAPGLRPGDPQRYLSGGGGSGAGVIAVIVVVVIAIVAGIVVLVISRKKRMAKYEKAEIKEMGEMHRELNA
264	-	V5 x hu DLL3- DSL x EpCA M	人 工	MGWSCIIILFLVATATGVHSGKPIPNPPLLGLDSTSGARCEPPAVGTACTRLCRPSAPSRGCGPLRPCAPLEDECEAPLVCRAAGSCPEHGFCEQPGECRCLEGTGTLCTVPVSTSSCLSPRGPSATTGCLVPGPGCDGNPCANGGSCSETPRSFECTCPRGFYGLRCEVSGVTCADGPCFNGGLCVGGADPDSAYICHCPPGFQGSNCEKRVDRCSLQPCRNNGGLCLDLGHALRCRCRAGFAGPRCEHDLDDCAGRACANGGTCVEGGGAHRCSCALGFGGRDCRERADPCAARPCAHRGCRYAHFSGLVACAPGYMGARCEFPVHPDGSALPAAPGLRPGDPQRYLSGGGGSGAGVIAVIVVVVIAIVAGIVVLVISRKKRMAKYEKAEIKEMGEMHRELNA
265	-	V5 x hu DLL3- EGF1 x EpCA	人 工	MGWSCIIILFLVATATGVHSGKPIPNPPLLGLDSTSGAPLVCRAAGSCPEHGFCEQPGECRCLEGTGTLCTVPVSTSSCLSPRGPSATTGCLVPGPGCDGNPCANGGSCSETPRSFECTCPRGFYGLRCEVSGVTCADGPCFNGGLCVGGADPDSAYICHCPPGFQGSNCEKRVDRCSLQPCRNNGGLCLDLGHALRCRCRAGFAGPRCEHDLDDCAGRACANGGTCVEGGGAHRCSCALGFGGRDCRERADPCAARPCAHRGCRYAHFSGLVACAPGYMGARCEFPVHPDGSALPAAPGLRPGDPQRYLSGGGGSGAGVIAVIVVVVIAIVAGIVVLVISRKKRMAKYEKAEIKEMGEMHRELNA

10

20

30

40

		M		
266	-	V5 x hu DLL3- EGF2 x EpCA M	人工	<p>MGWSCIIILFLVATATGVHSGKPIPNPLILGLDSTSGGPGCDGNPCANGGSCSETPRSFECTCP RGFYGLRCEVSGVTCADGPCFNGGLCVGGADPDSAYICHPPGFQGSNCEKRVDRCSLQPCRN GGLCLDLGHALRCRAGFAGPRCEHDLDDCAGRACANGGTCVEGGGAHRCSCALGFGGRDCR ERADPCAARPCAHHGRCYAHFSGLVACAPGYMGARCEFPVHPDGSALPAAPPGLRPGDPQR YLSGGGGSGAGVIAIVVVVIAIVAGIVVLVISRKKRMAKYEKAEIKEMGEMHREINA</p>
267	-	V5 x hu DLL3- EGF3 x EpCA M	人工	<p>MGWSCIIILFLVATATGVHSGKPIPNPLILGLDSTSGSGVTCADGPCFNGGLCVGGADPDSAYIC HCPFGFQGSNCEKRVDRCSLQPCRNNGGLCLDLGHALRCRRCRAGFAGPRCEHDLDDCAGRACAN GGTCVEGGGAHRCSCALGFGGRDCRERADPCAARPCAHHGRCYAHFSGLVACAPGYMGARCE FPVHPDGSALPAAPPGLRPGDPQRYLSGGGGSGAGVIAIVVVVIAIVAGIVVLVISRKKRM AKYEKAEIKEMGEMHREINA</p>
268	-	V5 x hu DLL3- EGF4 x EpCA M	人工	<p>MGWSCIIILFLVATATGVHSGKPIPNPLILGLDSTSGRVDRCSLQPCRNNGGLCLDLGHALRCRCR AGFAGPRCEHDLDDCAGRACANGGTCVEGGGAHRCSCALGFGGRDCRERADPCAARPCAHHGR CYAHFSGLVACAPGYMGARCEFPVHPDGSALPAAPPGLRPGDPQRYLSGGGGSGAGVIAVI VVVVIAIVAGIVVLVISRKKRMAKYEKAEIKEMGEMHREINA</p>
269	-	V5 x hu DLL3- EGF5 x EpCA M	人工	<p>MGWSCIIILFLVATATGVHSGKPIPNPLILGLDSTSGDLDDCAGRACANGGTCVEGGGAHRCSCA LGFGGRDCRERADPCAARPCAHHGRCYAHFSGLVACAPGYMGARCEFPVHPDGSALPAAPP GLRPGDPQRYLSGGGGSGAGVIAIVVVVIAIVAGIVVLVISRKKRMAKYEKAEIKEMGEMHR ELNA</p>
270	-	V5 x hu DLL3- EGF6	人工	<p>MGWSCIIILFLVATATGVHSGKPIPNPLILGLDSTSGRADPCAARPCAHHGRCYAHFSGLVACAC PGYMGARCEFPVHPDGSALPAAPPGLRPGDPQRYLSGGGGSGAGVIAIVVVVIAIVAGIVV LVISRKKRMAKYEKAEIKEMGEMHREINA</p>

10

20

30

40

271	-	x EpCA M	マカク DLL3 カニクイザル	MVSPRMSRLLSQTVILALIFIPQARPAGVFELQIHSFGPGPGAPRSPCSARGPCRLFFRVC LKPGLSEEAESPICALGAALSARGPVYTEQPEAPAPDLPLPGLLQVFFRDWPGTFSLIET WREELGDQIGGPAWSLLARVTRRRRLAAGGPWARDIQRAGAWELRFSYRARCCELPAVGTACTR LCRPRSAPSRCGPGGLRPCAPLEDECEAPPVCRAGCSLEHGFCEQPGECRCLEGTGPLCMVPA STSSCLGLRGPSSATTGCLVPGPGCDGNPCANGGSCSETPGSFECTCPRGFYGLRCEVSGVT CADGPCFNGLCVGGADPD SAYICHCPPGFQGSNCEKRVDRCSLQPCRNGGLCLDLGHALRCR CRAGFAGPRCEHNLD CAGRACANGGTCVEGGAHRCSCALGFGRDCRERADPCAARPCAAG GRCYAHFSGLVACACAPGYMGRCEFPVHPDGVSAALPAAPGLRPGDPQRYLLPPLGALLVAAG VAGAALLLVHVRRRRGAQDAGSRLLAGTPEPSVHALPDALNNQRTQEGPGDVPSSSSVDWNRPE DVDSRGIYVISAPSIYAREA
272	-	マカク DLL3 ECD	カニクイザル	MVSPRMSRLLSQTVILALIFIPQARPAGVFELQIHSFGPGPGAPRSPCSARGPCRLFFRVC LKPGLSEEAESPICALGAALSARGPVYTEQPEAPAPDLPLPGLLQVFFRDWPGTFSLIET WREELGDQIGGPAWSLLARVTRRRRLAAGGPWARDIQRAGAWELRFSYRARCCELPAVGTACTR LCRPRSAPSRCGPGGLRPCAPLEDECEAPPVCRAGCSLEHGFCEQPGECRCLEGTGPLCMVPA STSSCLGLRGPSSATTGCLVPGPGCDGNPCANGGSCSETPGSFECTCPRGFYGLRCEVSGVT CADGPCFNGLCVGGADPD SAYICHCPPGFQGSNCEKRVDRCSLQPCRNGGLCLDLGHALRCR CRAGFAGPRCEHNLD CAGRACANGGTCVEGGAHRCSCALGFGRDCRERADPCAARPCAAG GRCYAHFSGLVACACAPGYMGRCEFPVHPDGVSAALPAAPGLRPGDPQRYLLPPLGALLVAAG VAGAALLLVHVRRRRGAQDAGSRLLAGTPEPSVHALPDALNNQRTQEGPGDVPSSSSVDWNRPE DVDSRGIYVISAPSIYAREA
273	-	Ma DLL3 N末端	カニクイザル	MVSPRMSRLLSQTVILALIFIPQARPAGVFELQIHSFGPGPGAPRSPCSARGPCRLFFRVC LKPGLSEEAESPICALGAALSARGPVYTEQPEAPAPDLPLPGLLQVFFRDWPGTFSLIET WREELGDQIGGPAWSLLARVTRRRRLAAGGPWARDIQRAGAWELRFSYRARCCELPAVGTACTR
274	-	Ma DLL3 DSL ドメイン	カニクイザル	ARCELPAVGTACTR LCRPRSAPSRCGPGGLRPCAPLEDECE
275	-	Ma DLL3 EGF-1	カニクイザル	APPVCRAGCSLEHGFCEQPGECRCLEGTGPLCM
276	-	Ma	カニクイザル	GPGPCDGNPCANGGSCSETPGSFECTCPRGFYGLRCE

10

20

30

40

		DLL3 EGF-2			
277	-	Ma DLL3 EGF-3	カニクイザル	SGVTCADGPGCFNGGLCVGGADPDSAYICHCPFGQGSNCE	
278	-	Ma DLL3 EGF-4	カニクイザル	RVDRCSLQPCRNNGGLCLDLGHALRCRCRAGFAGPRCE	
279	-	Ma DLL3 EGF- 3+4	カニクイザル	SGVTCADGPGCFNGGLCVGGADPDSAYICHCPFGQGSNCEKRVDRCSLQPCRNNGGLCLDLGHALRCRCRAGFAGPRCE	
280	-	Ma DLL3 EGF-5	カニクイザル	NLDDCAGRACANGGTCVEGGGAHRCSCALGFGGRDCR	
281	-	Ma DLL3 EGF-6	カニクイザル	RADPCAARPCAHGGRCYAHFSGLVCAACAPGYMGSRC	
282	-	Ma DLL3 ECD x EpCA M	人工	MVSPRMSRLLSQTIVILALIFIPQARPAGVFELQIHSFGPGPGAPRSPCSARGPCRLFFRVC LKPGLSSEEAESPICALGAALSARGPVYTEQPEAPADLPLPGLNGLQVFPFRDAWPGTFSLI IET WREELGDQIGGPAWSLLARVTRRRRLAAGPWARDIQRAGAWELRFSYRARCCELPAVGTACTR LCRPRSAFRCGGLRPCAPLEDECEAPVCRAGCSLEHGFCEQPGCECRLCGTGLCMVPA STSSCLGLRGPSSATTGCLVPGPGCDGNPCANGGSCSETPGSFECTCPRGFYGLRCEVSGVT CADGPGCFNGGLCVGGADPDSAYICHCPFGQGSNCEKRVDRCSLQPCRNNGGLCLDLGHALRCR CRAGFAGPRCEHNLDDCAGRACANGGTCVEGGGAHRCSCALGFGGRDCRERADPCAARPCAHG GRCYAHFSGLVCAACAPGYMGSRCFEPVHPDGVSAALPAAPPGLRPGDPQRYLSGGGGSGAGVIA VIVVVVIAIVAGIVLVLSRKRRMAKYEKAEIKEMGEMHRELNA	
283	-	ヒト DLL1	ヒト	MGRCALALAVLSALICQVWSSGVFELKLQEFVNKKGLIGNRNCRCGGAGPPPCACRTFFRVC LKHYQASVSPEPPCTYGSAVTPVLGVDSFSLPDGGGADSAFSPNIRFPFGFTWPGTFSLI IEA LHTDSPDDLATENPERLISRLATQRLHTVGEESQDLHSSGRTDLKYSYRFVVCDEHYEGGCS VFECRRDDAFGHFTCGERGEKVCNPNWKGYPCTEPICLPGCDEQHGFCDKPGECKCRVWQGR YCDECIRYPGCLHGTCQQPWQCNCQEGWGLFCNQLDNLNYCTHHKPKNGATCTNTGQGSYTCS CRPGYTGATCELGIDECDPSPCKNGGSCDTLENSYSCTCPPGFYKICELSAMTCADGPGCFNG	

10

20

30

40

284	-	ヒト DLL4	ヒト	GRCSDPDGGYSCRCVPVYSGFNCEKKIDYCSSSPCSNGAKCVDLGLDAYLCRCQAGFSGRHCD DNVDDCASSPCANGGTCRDGVNDFSCTCPGYTGRNCSAPVSRCEHAPCHNGATCCHERGHRYV CECARGYGGPNCQFLPELPPGPAVVDLLEKLEGGQGGPFPWAVCAGVILVLMLLGCAAVVV CVRLRLQKHRPPADPCRGETEETMNNLANCQREKDISVSIIGATQIKNTNKKADFHGDHSDKN GFKARYPAVDYNLVQDLKGDDTAVRDAHskRDTKCQPQSGSSGEEKGTPTTLRGGEASERKRPD SGCSTSKDTKYQSVYVISEEKDECVIATEV MAAASRSASGWAALLLVALWQQRAGSGVFQLQLQEFINERGVLASGRPCEPGCRTFFRVCLK HFQAVVSPGPCTFGTVSTPVLGTNSFAVRDDSSGGGRNPLQLPFNFTWPGTFSLIIEAWHAPG DDLPEALPPDALISKIAIQGSLAVGQNWLLDEQSTLRLRYSYRVICSDNYGDNCSRICK KRNDHFHYVCQPDGNLSCLPGWTGEYCQQPICLSGCHEQNGYCSKPAECLCRPGWQGRLCNE CIPHNGCRHGTCTSTPWQCTCDEGWGGLFCQDQDLNYCTHHSCKNGATCSNSGQRSYTCCTCRPG YTGVDCELELSECDNPCRNGGSKDQEDGYHCLCPPGYGLHCEHSTLSCADSPCFNNGGSCR ERNQGANAYACECPNFTGSNCEKKVDRC'TSNPCANGGQCLNRGPPSRMCRCPGFTGTYCELHV SDCARNPCAHHGTCHDLENGLMCTCPAGFSRRCEVRTSIDACASSPCFNRAATCYTDLSTDTF VCNCPYFVGSRCFPPVGLPPSPFWAVSLGVGLAVLLVLLGMVAVAVRQLRLRRPDDGSREA MNNLSDFQKDNLIIPAAQLKNTNQKKELEVDGCLDKSNCGKQQNHHTLDYNLAPGLGRGTMPGK FPHSDKSLGEKAPLRLHSEKPECRISAI CSPRDSMYQSVCLISEERNECVIATEV
285	-	ヒト 1	人工	GGGG
286	-	ヒト 2	人工	GGGGS
287	-	ヒト 3	人工	GGGGQ
288	-	ヒト 4	人工	SGGGGS
289	-	ヒト 5	人工	PGGGGS
290	-	ヒト 6	人工	PGGDGS
291	-	ヒト 7	人工	GGGSGGGGS
292	-	ヒト 8	人工	GGGSGGGGS

10

20

30

40

293		リンカー 9	人工	GGGGGGGGGGGGGS	
294	-	ヘキサ- his	人工	HHHHHH	
295	-	Ab156	人工	RDWDFVFGGGTPVGG	
296	-	線状 FcRn BP	人工	QRFVTGHFGGLXPANG	
297	-	線状 FcRn BP-Y	人工	QRFVTGHFGGLYPANG	
298	-	線状 FcRn BP-H	人工	QRFVTGHFGGLHPANG	
299		コア FcRn BP-H	人工	TGHFGGLHP	
300		環状 FcRn BP-H	人工	QRFCTGHFGGLHPCNG	
301	-	HALB	ヒト	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCPFFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNP NL PRLVRPEVDVMCTA FHDNEETFLKKYL YEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTCCQAAADKAACL L PKLDEL RDEG KASSAQRLK CASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCCHGDLLE CADDRADLAKYI CENQDSI SSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDV CKNYAEAKDVF LGMFLYEYARRHPDYSVVL LRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVDFEFK PLVEEPQNL IKQNC ELFQGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHP EAKRMPCAEDYLSVVLNQ LCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNA ETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKCKADDKETC FAEEGKKLVAA SQAAALGL	
302	-	HALB 変種 I	人工	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCPFFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNP NL PRLVRPEVDVMCTA FHDNEETFLKKYL YEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTCCQAAADKAACL L PKLDEL RDEG	

10

20

30

40

303	-	HALB 変種 2	人工	KASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLE CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDV CKNYAEAKDVFGLMFLYEYARRHPDYVSVLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVDFEFK PLVEEPQNLIKQNCSELFQGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCCKHP EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNA GTFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAAMDDFAAFVEKCCCKADDDKETC FAEEGPKLVAASQAALGL DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNLRLVRPEVDMCTA FHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTCECCQAADKAACLLPKLDELREDEG KASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLE CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDV CKNYAEAKDVFGLMFLYEYARRHPDYVSVLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVDFEFK PLVEEPQNLIKQNCSELFQGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCCKHP EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNA GTFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAAMDDFAAFVEKCCCKADDDKETC FAEEGPKLVAASQAALGL
304	-	HALB 変種 3	人工	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNLRLVRPEVDMCTA FHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTCECCQAADKAACLLPKLDELREDEG KASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLE CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDV CKNYAEAKDVFGLMFLYEYARRHPDYVSVLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVDFEFK PLVEEPQNLIKQNCSELFQGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCCKHP EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNA GTFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAAMDDFAAFVEKCCCKADDDKETC FAEEGPKLVAASQAALGL
305	-	HALB 変種 4	人工	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNLRLVRPEVDMCTA FHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTCECCQAADKAACLLPKLDELREDEG KASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLE CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDV CKNYAEAKDVFGLMFLYEYARRHPDYVSVLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVDFEFK PLVEEPQNLIKQNCSELFQGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCCKHP

10

20

30

40

306	-	HALB 変種 5	人工	EAKRMPCAEYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALGVDETYVPKEFNA ETFTFHADICTLSEKERQIKKQ TALVELVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAFVEKCKCKADDKETC FAEEGPKLVAASQAALGL DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLOQCPFFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNLRLVRPEVDVMCTA FHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELFFAKRYKAAFTCECCQAADKAACILPKLDELDRDEG KASSAKQRLKASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCCHGDLLE CADDRADLAKYICENQDSISSKKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDV CKNYAEAKDVFLGMFLYFYARRHPDYSVVLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVDFEFK PLVEEPQNLIKQNCLELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGVGSKCKKHP EAKRMPCAEYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALGVDETYVPKEFNA ETFTFHADICTLSEKERQIKKQ TALVELVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAFVEKCKCKADDKETC FAEEGPKLVAASQAALGL
307	-	HALB 変種 6	人工	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLOQCPFFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNLRLVRPEVDVMCTA FHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELFFAKRYKAAFTCECCQAADKAACILPKLDELDRDEG KASSAKQRLKASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCCHGDLLE CADDRADLAKYICENQDSISSKKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDV CKNYAEAKDVFLGMFLYFYARRHPDYSVVLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVDFEFK PLVEEPQNLIKQNCLELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGVGSKCKKHP EAKRMPCAEYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALGVDETYVPKEFNA ETFTFHADICTLSEKERQIKKQ TALVELVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAFVEKCKCKADDKETC FAEEGPKLVAASQAALGL
308	-	HALB 変種 7	人工	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLOQCPFFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNLRLVRPEVDVMCTA FHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELFFAKRYKAAFTCECCQAADKAACILPKLDELDRDEG KASSAKQRLKASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCCHGDLLE CADDRADLAKYICENQDSISSKKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDV CKNYAEAKDVFLGMFLYFYARRHPDYSVVLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVDFEFK PLVEEPQNLIKQNCLELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGVGSKCKKHP EAKRMPCAEYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALGVDETYVPKEFNA ETFTFHADICTLSEKERQIKKQ TALVELVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAFVEKCKCKADDKETC FAEEGPKLVAASQAALGL

10

20

30

40

309	-	HALB 変種 8	人工	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQOCPFFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNLRLVRPEVDVMCTA FHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACLPLKLDELDEG KASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDILLE CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDV CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLRLAKTYETTTLEKCCAAADPHECYAKVDFEFK PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCCKHP EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNA ETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALELVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAFVEKCKCKADDDKTC FAEEGPKLVAASKAALGL
310	-	HALB 変種 9	人工	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQOCPFFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNLRLVRPEVDVMCTA FHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACLPLKLDELDEG KASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDILLE CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDV CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLRLAKTYETTTLEKCCAAADPHECYAKVDFEFK PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCCKHP EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNA ETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALELVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAFVEKCKCKADDDKTC FAEEGPKLVAASKAALGL
311	-	HALB 変種 10	人工	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQOCPFFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNLRLVRPEVDVMCTA FHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACLPLKLDELDEG KASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDILLE CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDV CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLRLAKTYETTTLEKCCAAADPHECYAKVDFEFK PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCCKHP EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNA ETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALELVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAFVEKCKCKADDDKTC FAEEGPKLVAASKAALGL
312	-	HALB 変種 11	人工	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQOCPFFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNLRLVRPEVDVMCTA FHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACLPLKLDELDEG KASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDILLE

10

20

30

40

316	-	HALB 変種15	人工	ETTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVHKPKATKEQLKAVMDKFAAFVEKCKCKADDDKETC FAEEGPKLVAAASQAALGL DAHKSEVAHRFKDGLGEENFKALVLI AFAQYLQQSPFFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNP NL PRLVRPEVDMCTA FHDNEETFLKKYL YEIARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFT ECCCQAADKAAACLLPKLDEL RDEG KASSAKQRLK CASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT KVHTECC HGDLLLE CADDRADLAKY ICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDV CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSV VLLRLAKTYETTL EKCCAAADPHECYAKV FDEFK PLVEEPQNL IKQNCELFEQLGEYKFQNAL LVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHP EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVT KCCTESLVNRRPCFSALD VDETYVPKEFNA ETTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVHKPKATKEQLKAVMDKFAAFVEKCKCKADDDKETC FAEEGPKLVAAASQAALGL
317	-	HALB 変種16	人工	DAHKSEVAHRFKDGLGEENFKALVLI AFAQYLQQSPFFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNP NL PRLVRPEVDMCTA FHDNEETFLKKYL YEIARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFT ECCCQAADKAAACLLPKLDEL RDEG KASSAKQRLK CASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT KVHTECC HGDLLLE CADDRADLAKY ICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDV CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSV VLLRLAKTYETTL EKCCAAADPHECYAKV FDEFK PLVEEPQNL IKQNCELFEQLGEYKFQNAL LVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHP EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVT KCCTESLVNRRPCFSALD VDETYVPKEFNA ETTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVHKPKATKEQLKAVMDKFAAFVEKCKCKADDDKETC FAEEGPKLVAAASQAALGL
318	-	HALB 変種17	人工	DAHKSEVAHRFKDGLGEENFKALVLI AFAQYLQQSPFFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNP NL PRLVRPEVDMCTA FHDNEETFLKKYL YEIARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFT ECCCQAADKAAACLLPKLDEL RDEG KASSAKQRLK CASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT KVHTECC HGDLLLE CADDRADLAKY ICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDV CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSV VLLRLAKTYETTL EKCCAAADPHECYAKV FDEFK PLVEEPQNL IKQNCELFEQLGEYKFQNAL LVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHP EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVT KCCTESLVNRRPCFSALD VDETYVPKEFNA ETTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVHKPKATKEQLKAVMDKFAAFVEKCKCKADDDKETC FAEEGPKLVAAASQAALGL
319	-	HALB 変種18	人工	DAHKSEVAHRFKDGLGEENFKALVLI AFAQYLQQSPFFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNP NL PRLVRPEVDMCTA

320	-	HALB 変種 19	人工	FHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELFFFAKRYKAAFTCECCQAADKAAACLLPKLDELREDEG KASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLE CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDV CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVVFDEFK PLVEEPQNLIKQNCLELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLKVGSKCCCKHP EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNA ETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAFVEKCCCKADDDKETC FAEEGPKLVAASKAALGL
321	-	HALB 変種 20	人工	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQAPFEDHVKLNVNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNLPRLVRPEVDMCTA FHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELFFFAKRYKAAFTCECCQAADKAAACLLPKLDELREDEG KASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLE CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDV CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVVFDEFK PLVEEPQNLIKQNCLELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLKVGSKCCCKHP EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNA ETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAFVEKCCCKADDDKETC FAEEGPKLVAASKAALGL
322	-	HALB 変種 21	人工	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQAPFEDHVKLNVNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNLPRLVRPEVDMCTA FHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELFFFAKRYKAAFTCECCQAADKAAACLLPKLDELREDEG KASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLE CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDV CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVVFDEFK ETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAFVEKCCCKADDDKETC FAEEGPKLVAASKAALGL

10

20

30

40

323	-	HALB 変種 22	人工	<p>PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLKVGSKCCCKHP EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNA GTFTHADICTLSEKERQIKKQKTALVELVHKPKATKEQLKAAAMDDFAAFVEKCKKADDDKETC FAEEGPKLVAASQAALGL</p> <p>DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQAFFEDHVKLNVNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNLRLVRPEVDVMCTA FHDNEETFLLKKYLYEIAARRHPYFYAPELFFAKRYKAAFTCECCQAADKAAACLLPKLDELDRDEG KASSAQRLKCSLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDILLE CADDRADLAKYICENQDSISSKLECECEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDV CKNYAEAKDVLGMFLYEYARRHPDYSVLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVDFEFK PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLKVGSKCCCKHP EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNA ETFTFHADICTLSEKERQIKKQKTALVELVHKPKATKEQLKAAVMDDDFAAFVEKCKKADDDKETC FAEEGPKLVAASQAALGL</p>
324	-	HALB 変種 23	人工	<p>DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQAFFEDHVKLNVNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNLRLVRPEVDVMCTA FHDNEETFLLKKYLYEIAARRHPYFYAPELFFAKRYKAAFTCECCQAADKAAACLLPKLDELDRDEG KASSAQRLKCSLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDILLE CADDRADLAKYICENQDSISSKLECECEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDV CKNYAEAKDVLGMFLYEYARRHPDYSVLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVDFEFK PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLKVGSKCCCKHP EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNA ETFTFHADICTLSEKERQIKKQKTALVELVHKPKATKEQLKAAVMDDDFAAFVEKCKKADDDKETC FAEEGPKLVAASQAALGL</p>
325	-	HALB 変種 24	人工	<p>DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQAFFEDHVKLNVNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNLRLVRPEVDVMCTA FHDNEETFLLKKYLYEIAARRHPYFYAPELFFAKRYKAAFTCECCQAADKAAACLLPKLDELDRDEG KASSAQRLKCSLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDILLE CADDRADLAKYICENQDSISSKLECECEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDV CKNYAEAKDVLGMFLYEYARRHPDYSVLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVDFEFK PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLKVGSKCCCKHP EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNA ETFTFHADICTLSEKERQIKKQKTALVELVHKPKATKEQLKAAVMDKFAAFVEKCKKADDDKETC FAEEGPKLVAASQAALGL</p>

10

20

30

40

326	-	HALB 変種 25	人工	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQAFFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNLRLVRPEVDVMCTA FHDNEETFLLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACLLPKLDELDEG KASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDILLE CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDV CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLRLAKTYETTTLEKCCAAADPHECYAKVDFEFK PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCCKHP EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALDVEDETYVPKEFNA ETFTFHADICTLSEKERQIKKQTAALVELVVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAFVEKCCCKADDDKTC FAEEGPKLVAAASQAALGL
327	-	HALB 変種 26	人工	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQAFFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNLRLVRPEVDVMCTA FHDNEETFLLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACLLPKLDELDEG KASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDILLE CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDV CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLRLAKTYETTTLEKCCAAADPHECYAKVDFEFK PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCCKHP EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALDVEDETYVPKEFNA ETFTFHADICTLSEKERQIKKQTAALVELVVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAFVEKCCCKADDDKTC FAEEGPKLVAAASQAALGL
328	-	HALB 変種 27	人工	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQAFFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNLRLVRPEVDVMCTA FHDNEETFLLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACLLPKLDELDEG KASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDILLE CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDV CKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLRLAKTYETTTLEKCCAAADPHECYAKVDFEFK PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCCKHP EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALDVEDETYVPKEFNA ETFTFHADICTLSEKERQIKKQTAALVELVVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAFVEKCCCKADDDKTC FAEEGPKLVAAASQAALGL
329	-	HALB 変種 28	人工	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQAFFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNLRLVRPEVDVMCTA FHDNEETFLLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACLLPKLDELDEG KASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDILLE

10

20

30

40

330	-	HALB 変種29	人工	CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDV CKNYAEAKDVFLGMFLYAYARRHPDYSVLLRLAKTYETTTLEKCCAAADPHECYAKVDFEFK PLVEEPQNLIKQNCLEFGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLKVGSKCKKHP EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTCCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNA ETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVHKPKATKEQLKAVMDKFAAFVEKCKCKADDKETC FAEEGPKLVAASKAALGL
331	-	クロス ボディ1 HC	人工	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQOAPFFEDHVKLNVNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLRLVRPEVDVMCTA FHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTCECCQAADKAACLLPKLDELDEG KASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQFPKAEFAEVSCLVTDLT KVHTECCHGDILLE CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDV CKNYAEAKDVFLGMFLYAYARRHPDYSVLLRLAKTYETTTLEKCCAAADPHECYAKVDFEFK PLVEEPQNLIKQNCLEFGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLKVGSKCKKHP EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTCCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNA ETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVHKPKATKEQLKAVMDKFAAFVEKCKCKADDKETC FAEEGPKLVAASKAALGL
332	-	クロス ボディ1 LC	人工	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTTFFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPCPAPPELLGGPSVFLF PPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGYSTYRCV TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDTTPPVLDSDGSFFLYSLDITVDKSRWQQGNVFCSCVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK
333	-	クロス ボディ2 HC	人工	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSN NKYAASSYLSTLTPQWKSHRSYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSDKHTCPCPAPPELLGGPSV FLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGYSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSLDITVDKSRWQQGNVFCSCVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
				ASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTTFFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVEPKSSDKHTCPCPAPAEAGGPSVFLF PPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDTTPPVLDSDGSFFLYSLDITVDKSRWQQGNVFCSCVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

334	-	クロス ボディ2 LC	人工	GQKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSN NKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSEPKSSDKTHTCPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN SYRVSFVLTVLHQQDLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
335	-	ヘテロ -Fc 結合物質 Fc	人工	DKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLKSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
336	-	ヘテロ -Fc パートナー Fc	人工	DKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLKSDGSFFLYSD LTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
337	-	マキシ ボディ1 標的 Fc	人工	EPKSSDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLKSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
338	-	マキシ ボディ1 CD3 Fc	人工	EPKSSDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLKSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
339	-	マキシ ボディ2 標的 Fc	人工	EPKSSDKTHTCPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLKSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
340	-	マキシ ボディ2 CD3 Fc	人工	EPKSSDKTHTCPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLKSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
341	-	単量体 Fc	人工	APELLGGPSVFLFPPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ

10

20

30

40

				GNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
342	-	F6Aの CDR- L1	人	GSSTGAVTSGYYPN	
343		F6Aの CDR- L2	人	GTKFLAP	
344		F6Aの CDR- L3	人	ALWYSNRWV	
345		F6Aの CDR- H1	人	IYAMN	
346		F6Aの CDR- H2	人	RIRSKYNNYATYYADSVKS	
347		F6Aの CDR- H3	人	HGNFGNSYVSFFAY	
348		F6Aの VH	人	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNIYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYA DSVKSRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSFFAYWGQGLVTVSS	
349		F6Aの VL	人	QTVVTQEPSTLVSPGGTVTTLTCCSSSTGAVTSGYYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPAR FSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL	
350		F6Aの VH-VL	人	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNIYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYA DSVKSRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSFFAYWGQGLVTVSSG GGSGGGGGGGSQTVVTQEPSTLVSPGGTVTTLTCCSSSTGAVTSGYYPNWVQQKPGQAPRGL IGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL	
351		H2Cの CDR- L1	人	GSSTGAVTSGYYPN	
352		H2Cの CDR- L2	人	GTKFLAP	

10

20

30

40

353		H2C の CDR- L3	人I	ALWYSNRWV
354		H2C の CDR- H1	人I	KYAMN
355		H2C の CDR- H2	人I	RIRSKYNNYATYYADSVKD
356		H2C の CDR- H3	人I	HGNFGNSYISYWAY
357		H2C の VH	人I	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYA DSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLVTVSS
358		H2C の VL	人I	QTVVTOEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPAR FSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGLTLTVL
359		H2C の VH-VL	人I	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYA DSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLVTVSSG GGSGGGSGGGGSQTVVTOEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQQKPGQAPRGL IGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGLTLTVL
360		H1E の CDR- L1	人I	GSSTGAVTSGYYPN
361		H1E の CDR- L2	人I	GTKFLAP
362		H1E の CDR- L3	人I	ALWYSNRWV
363		H1E の CDR- H1	人I	SYAMN

10

20

30

40

364		H1E の CDR- H2	人	RIRSKYNNYATYYADSVKG
365		H1E の CDR- H3	人	HGNFGNSYLSFWAY
366		H1E の VH	人	EVQLVESGGGLEQPGGSLKLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYA DSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYLSFWAYWGQGLVTVSS
367		H1E の VL	人	QTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPAR FSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL
368		H1E の VH-VL	人	EVQLVESGGGLEQPGGSLKLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYA DSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYLSFWAYWGQGLVTVSSG GGSGGGGGGGSTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQQKPGQAPRGL IGGTFKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL
369		G4H の CDR- L1	人	GSSTGAVTSGYYPN
370		G4H の CDR- L2	人	GTKFLAP
371		G4H の CDR- L3	人	ALWYSNRWV
372		G4H の CDR- H1	人	RYAMN
373		G4H の CDR- H2	人	RIRSKYNNYATYYADSVKG
374		G4H の CDR- H3	人	HGNFGNSYLSYFAY

10

20

30

40

375		G4H の VH	人	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNRYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYA DSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYLSYFAYWGQGLTVTVSS
376		G4H の VL	人	QTVVTQEPSTLVSPGGTIVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQPKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPAR FSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL
377		G4H の VH-VL	人	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNRYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYA DSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYLSYFAYWGQGLTVTVSSG GGSGGGGGGGGQTIVVTQEPSTLVSPGGTIVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQPKPGQAPRGL IGGTFKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL
378		A2J の CDR- L1	人	RSSTGAVTSGYYPN
379		A2J の CDR- L2	人	ATDMRPS
380		A2J の CDR- L3	人	ALWYSNRWV
381		A2J の CDR- H1	人	VYAMN
382		A2J の CDR- H2	人	RIRSKYNNYATYYADSVKK
383		A2J の CDR- H3	人	HGNFGNSYLSWWAY
384		A2J の VH	人	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNRYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYA DSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYLSWWAYWGQGLTVTVSS
385		A2J の VL	人	QTVVTQEPSTLVSPGGTIVTLTCRSSTGAVTSGYYPNWVQPKPGQAPRGLIGATDMRPSGTPAR FSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL
386		A2J の VH-VL	人	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNRYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYA DSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYLSWWAYWGQGLTVTVSSG GGSGGGGGGGGQTIVVTQEPSTLVSPGGTIVTLTCRSSTGAVTSGYYPNWVQPKPGQAPRGL

10

20

30

40

				IGATDMRPSGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL
387		E1L の CDR- L1	人	GSSTGAVTSGYYPN
388		E1L の CDR- L2	人	GTKFLAP
389		E1L の CDR- L3	人	ALWYSNRWV
390		E1L の CDR- H1	人	KYAMN
391		E1L の CDR- H2	人	RIRSKYNNYATYYADSVKS
392		E1L の CDR- H3	人	HGNFGNSYTSYYAY
393		E1L の VH	人	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYA DSVKSRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYTSYYAYWGQGLTVTVSS
394		E1L の VL	人	QTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPAR FSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL
395		E1L の VH-VL	人	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYA DSVKSRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYTSYYAYWGQGLTVTVSSG GGSGGGGGGSGQTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQQKPGQAPRGL IGGTFKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL
396		E2M の CDR- L1	人	RSSTGAVTSGYYPN
397		E2M の CDR- L2	人	ATDMRPS

10

20

30

40

398	E2M の CDR- L3	人	人	ALWYSNRWV
399	E2M の CDR- H1	人	人	GYAMN
400	E2M の CDR- H2	人	人	RIRSKYNNYATYYADSVKE
401	E2M の CDR- H3	人	人	HRNFGNSYLSWFAY
402	E2M の VH	人	人	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNGYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYA DSVKERFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHRNFGNSYLSWFAYWGQGLVTVSS
403	E2M の VL	人	人	QTVVTOEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTSGYYPNWVQQKPGQAPRGLIGATDMRPSGTPAR FSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGLTLTVL
404	E2M の VH-VL	人	人	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNGYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYA DSVKERFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHRNFGNSYLSWFAYWGQGLVTVSSG GGSGGGSGGGGSQTVVTOEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTSGYYPNWVQQKPGQAPRGL IGATDMRPSGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGLTLTVL
405	F7O の CDR- L1	人	人	GSSTGAVTSGYYPN
406	F7O の CDR- L2	人	人	GTKFLAP
407	F7O の CDR- L3	人	人	ALWYSNRWV
408	F7O の CDR- H1	人	人	VYAMN

10

20

30

40

409		F70の CDR- H2	人I	RIRSKYNNYATYYADSVKK
410		F70の CDR- H3	人I	HGNFGNSYISWWAY
411		F70の VH	人I	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAAGFTFNVYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYA DSVKKRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISWWAYWGQGLVTVSS
412		F70の VL	人I	QTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSSTGAVTSGYYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPAR FSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL
413		F70の VH-VL	人I	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAAGFTFNVYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYA DSVKKRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISWWAYWGQGLVTVSSG GGSGGGGGGGSTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSSTGAVTSGYYPNWVQQKPGQAPRGL IGGTFKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL
414		F12Qの CDR- L1	人I	GSSTGAVTSGNYPN
415		F12Qの CDR- L2	人I	GTKFLAP
416		F12Qの CDR- L3	人I	VLWYSNRWV
417		F12Qの CDR- H1	人I	SYAMN
418		F12Qの CDR- H2	人I	RIRSKYNNYATYYADSVKG
419		F12Qの CDR- H3	人I	HGNFGNSYVSWWAY

10

20

30

40

420		F12Qの VH	人I	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN SYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYA DSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWWAYWGQGTLLVTVSS
421		F12Qの VL	人I	QTVVTQEP SLTVSPGGT VTLTTCGS STGAVTSG NYPNWWV QKPGQAP RGLIGG TKFLAPG TPAR FSGSL LGGKAAL TL SGVQPE DEAEY YCVLWY SNRWV FGGGT KLT VL
422		F12Qの VH-VL	人I	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN SYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYA DSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWWAYWGQGTLLVTVSSG GGSGGGGGGGGQT VVTQEP SLTVSP GGT VTLT TCGS STGAVT SGNY PNWV QKPGQ APRGL IGG TKFLAP GTPAR FSGSL LGGKAAL TL SGVQPE DEAEY YCVLWY SNRWV FGGGT KLT VL
423		I2Cの CDR- L1	人I	GSSTGAVTSGNYPN
424		I2Cの CDR- L2	人I	GTKFLAP
425		I2Cの CDR- L3	人I	VLWYSNRWV
426		I2Cの CDR- H1	人I	KYAMN
427		I2Cの CDR- H2	人I	RIRSKYNNYATYYADSVKD
428		I2Cの CDR- H3	人I	HGNFGNSYISYWAY
429		I2Cの VH	人I	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN KYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYA DSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLLVTVSS
430		I2Cの VL	人I	QTVVTQEP SLTVSPGGT VTLTTCGS STGAVTSG NYPNWWV QKPGQAP RGLIGG TKFLAPG TPAR FSGSL LGGKAAL TL SGVQPE DEAEY YCVLWY SNRWV FGGGT KLT VL
431		I2Cの VH-VL	人I	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN KYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYA DSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLLVTVSSG GGSGGGGGGGGQT VVTQEP SLTVSP GGT VTLT TCGS STGAVT SGNY PNWV QKPGQ APRGL

10

20

30

40

				IGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGGKAAALTLSGVQPEDEAEYCYVLWYSNRWVFGGGTKLTLVL
432		F12qの VH	人Ⅰ	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYA DSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGFGNSYVSWWAYWGQGLTVTVSS
433		F12qの VL	人Ⅰ	QTAVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPAR FSGSLLGGKAAALTLGVQPEDEAEYCYVLWYSNRWVFGGGTKLTLVL
434		F12qの VH-VL	人Ⅰ	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYA DSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGFGNSYVSWWAYWGQGLTVTVSSG GGSGGGGSGGGGQTAVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGL IGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGGKAAALTLSGVQPEDEAEYCYVLWYSNRWVFGGGTKLTLVL
435		DLL3- 4-001 (G44C)	VH	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKCLEWIGYVYYSGTTNYPNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCASIAVTGFYFDYWGGGLTVTVSS
436		DLL3- 4-001 (G234 C)	VL	EIVLTQSPGTLSPGERVTLSCRASQRVNNNYLAWYQQRPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRF SGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYCYQQYDRSPLTFGCGTKLEIK
437		DLL3- 4-001 (G44C- G243C)	scFv	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKCLEWIGYVYYSGTTNYPNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCASIAVTGFYFDYWGGGLTVTVSSGGGSGGG SGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERVTLSCRASQRVNNNYLAWYQQRPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYCYQQYDRSPLTFGCGTKLEIK
438		DLL3- 4-001 (CC) x12C	一重 特異性 分子	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKCLEWIGYVYYSGTTNYPNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCASIAVTGFYFDYWGGGLTVTVSSGGGSGGG SGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERVTLSCRASQRVNNNYLAWYQQRPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYCYQQYDRSPLTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLV ESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKD RFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGFGNSYISWAYWGQGLTVTVSSGGGSGG GGSGGGGSGQTAVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLLGGKAAALTLSGVQPEDEAEYCYVLWYSNRWVFGGGTKLTLVL

10

20

30

40

439	DLL3-14-D55E	VH-CDR2	IINPSEGSTSYAQKFQG
440	DLL3-14-G56A	VH-CDR2	IINPSDASTSYAQKFQG
441	DLL3-14-D171E	VL-CDR1	RSSQSLVYREGNTYLS
442	DLL3-14-G172A	VL-CDR1	RSSQSLVYRDANTYLS
443	DLL3-14-N173Q	VL-CDR1	RSSQSLVYRDGQTYLS
444	DLL3-14-T174A	VL-CDR1	RSSQSLVYRDGNAYLS
445	DLL3-14-L43Q	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSDGSTSYAQK FQGRVTMTTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTITVTVSS
446	DLL3-14-D55E	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSEGSTSYAQK FQGRVTMTTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTITVTVSS
447	DLL3-14-G56A	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSDASTSYAQK FQGRVTMTTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTITVTVSS
448	DLL3-14-L43Q-D55E	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSEGSTSYAQK FQGRVTMTTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTITVTVSS

10

20

30

40

449	DLL3-14-L43Q-G56A	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSDASTSYAQK FQGRVTMTTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYVCARGGNSAFYSYDMDVDVWGQGTITVTVSS
450	DLL3-14-G44C	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNYYMHWVRQAPGLCLEWMGIINPSDGSSTSYAQK FQGRVTMTTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYVCARGGNSAFYSYDMDVDVWGQGTITVTVSS
451	DLL3-14-L43Q-G44C	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNYYMHWVRQAPGQCLEWMGIINPSDGSSTSYAQK FQGRVTMTTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYVCARGGNSAFYSYDMDVDVWGQGTITVTVSS
452	DLL3-14-G44C-D55E	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNYYMHWVRQAPGLCLEWMGIINPSEGSTSYAQK FQGRVTMTTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYVCARGGNSAFYSYDMDVDVWGQGTITVTVSS
453	DLL3-14-G44C-G56A	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNYYMHWVRQAPGLCLEWMGIINPSDASTSYAQK FQGRVTMTTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYVCARGGNSAFYSYDMDVDVWGQGTITVTVSS
454	DLL3-14-L43Q-G44C-D55E	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNYYMHWVRQAPGQCLEWMGIINPSEGSTSYAQK FQGRVTMTTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYVCARGGNSAFYSYDMDVDVWGQGTITVTVSS
455	DLL3-14-L43Q-G44C-G56A	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNYYMHWVRQAPGQCLEWMGIINPSDASTSYAQK FQGRVTMTTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYVCARGGNSAFYSYDMDVDVWGQGTITVTVSS
456	DLL3-14-	VL	DVVMQTQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYREGNTYLSWFQQRPQGQSPRRLIYKVSNWQSGV PDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVIYCMQGTHTWPPPTFGQGTKVEIK

466	DLL3-14-N173Q-Q243C	VL	DVVMQTPTLSLPTLGLQPASISCRSSQSLVYRDGQTYLSWFQQRPQGQSPRRLLIYKVSNWQSGV PDRFSGGGSGTDFTLKI SRVEAEDGVYYCMQGTHWPPPTFGCGTKVEIK
467	DLL3-14-T174A-Q243C	VL	DVVMQTPTLSLPTLGLQPASISCRSSQSLVYRDGNAYLSWFQQRPQGQSPRRLLIYKVSNWQSGV PDRFSGGGSGTDFTLKI SRVEAEDGVYYCMQGTHWPPPTFGCGTKVEIK
468	DLL3-14-G208S-Q243C	VL	DVVMQTPTLSLPTLGLQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQQRPQGQSPRRLLIYKVSNWQSGV PDRFSGGGSGTDFTLKI SRVEAEDGVYYCMQGTHWPPPTFGCGTKVEIK
469	DLL3-14-D171E-G208S-Q243C	VL	DVVMQTPTLSLPTLGLQPASISCRSSQSLVYREGNTYLSWFQQRPQGQSPRRLLIYKVSNWQSGV PDRFSGGGSGTDFTLKI SRVEAEDGVYYCMQGTHWPPPTFGCGTKVEIK
470	DLL3-14-G172A-G208S-Q243C	VL	DVVMQTPTLSLPTLGLQPASISCRSSQSLVYRDANTYLSWFQQRPQGQSPRRLLIYKVSNWQSGV PDRFSGGGSGTDFTLKI SRVEAEDGVYYCMQGTHWPPPTFGCGTKVEIK
471	DLL3-14-001	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTNYYMHWVRQAPGLGLEWMGI INPSDGSTSYAQK FQGRVTMTTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTTVTVSSGGG GSGGGSGGGSDVMTQTPLSLPTLGLQPASISCRSSQSLVYREGNTYLSWFQQRPQGQSPRR LIYKVSNWQSGVPDRFSGGGSGTDFTLKI SRVEAEDGVYYCMQGTHWPPPTFGQGTKEIK
472	DLL3-14-002	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTNYYMHWVRQAPGLGLEWMGI INPSDGSTSYAQK FQGRVTMTTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTTVTVSSGGG GSGGGSGGGSDVMTQTPLSLPTLGLQPASISCRSSQSLVYRDANTYLSWFQQRPQGQSPRR LIYKVSNWQSGVPDRFSGGGSGTDFTLKI SRVEAEDGVYYCMQGTHWPPPTFGQGTKEIK

10

20

30

40

473	DLL3-14 -003	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYMHVVRQAPGLGLEWMGIINPSDGSSTSYAQK FQGRVTMTTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDATVYVCARGGNSAFYSYYMDVDVWGQGTITVTVSSGGG GSGGGSGGGSDVVMQTQTPSLPVTILGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVDPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCMQGTHTWPPPTFGQGTKEIK
474	DLL3-14 -004	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYMHVVRQAPGLGLEWMGIINPSDGSSTSYAQK FQGRVTMTTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDATVYVCARGGNSAFYSYYMDVDVWGQGTITVTVSSGGG GSGGGSGGGSDVVMQTQTPSLPVTILGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVDPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCMQGTHTWPPPTFGQGTKEIK
475	DLL3-14 -005	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYMHVVRQAPGLGLEWMGIINPSDGSSTSYAQK FQGRVTMTTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDATVYVCARGGNSAFYSYYMDVDVWGQGTITVTVSSGGG GSGGGSGGGSDVVMQTQTPSLPVTILGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVDPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCMQGTHTWPPPTFGQGTKEIK
476	DLL3-14 -006	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYMHVVRQAPGLGLEWMGIINPSDGSSTSYAQK FQGRVTMTTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDATVYVCARGGNSAFYSYYMDVDVWGQGTITVTVSSGGG GSGGGSGGGSDVVMQTQTPSLPVTILGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVDPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCMQGTHTWPPPTFGQGTKEIK
477	DLL3-14 -007	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYMHVVRQAPGLGLEWMGIINPSEGSTSYAQK FQGRVTMTTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDATVYVCARGGNSAFYSYYMDVDVWGQGTITVTVSSGGG GSGGGSGGGSDVVMQTQTPSLPVTILGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVDPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCMQGTHTWPPPTFGQGTKEIK
478	DLL3-14 -008	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYMHVVRQAPGLGLEWMGIINPSDASTSYAQK FQGRVTMTTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDATVYVCARGGNSAFYSYYMDVDVWGQGTITVTVSSGGG GSGGGSGGGSDVVMQTQTPSLPVTILGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVDPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCMQGTHTWPPPTFGQGTKEIK
479	DLL3-14 -009	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYMHVVRQAPGLGLEWMGIINPSDGSSTSYAQK FQGRVTMTTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDATVYVCARGGNSAFYSYYMDVDVWGQGTITVTVSSGGG GSGGGSGGGSDVVMQTQTPSLPVTILGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVDPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCMQGTHTWPPPTFGQGTKEIK
480	DLL3-14 -010	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYMHVVRQAPGLGLEWMGIINPSEGSTSYAQK FQGRVTMTTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDATVYVCARGGNSAFYSYYMDVDVWGQGTITVTVSSGGG GSGGGSGGGSDVVMQTQTPSLPVTILGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVDPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCMQGTHTWPPPTFGQGTKEIK
481	DLL3-14 -011	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYMHVVRQAPGLGLEWMGIINPSDASTSYAQK FQGRVTMTTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDATVYVCARGGNSAFYSYYMDVDVWGQGTITVTVSSGGG

10

20

30

40

				GSGGGSGGGSDVVMQTQTPLSLPVTILGQPASISCRSSQSLVYRDANTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCMQGTHWPPFTFGCGTKVEIK
482	DLL3-14 -012 (CC)	scFv		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNYYMHWVRQAPGLCLEWMGIINPSDGSSTSYAQK FQGRVTMTTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYVCARGGNSAFYSYYMDMDVWGQTTVTVSSGGG GSGGGSGGGSDVVMQTQTPLSLPVTILGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCMQGTHWPPFTFGCGTKVEIK
483	DLL3-14 -013	scFv		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNYYMHWVRQAPGLCLEWMGIINPSDGSSTSYAQK FQGRVTMTTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYVCARGGNSAFYSYYMDMDVWGQTTVTVSSGGG GSGGGSGGGSDVVMQTQTPLSLPVTILGQPASISCRSSQSLVYREGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCMQGTHWPPFTFGCGTKVEIK
484	DLL3-14 -014	scFv		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNYYMHWVRQAPGLCLEWMGIINPSDGSSTSYAQK FQGRVTMTTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYVCARGGNSAFYSYYMDMDVWGQTTVTVSSGGG GSGGGSGGGSDVVMQTQTPLSLPVTILGQPASISCRSSQSLVYRDANTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCMQGTHWPPFTFGCGTKVEIK
485	DLL3-14 -015	scFv		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNYYMHWVRQAPGLCLEWMGIINPSDGSSTSYAQK FQGRVTMTTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYVCARGGNSAFYSYYMDMDVWGQTTVTVSSGGG GSGGGSGGGSDVVMQTQTPLSLPVTILGQPASISCRSSQSLVYRDGQTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCMQGTHWPPFTFGCGTKVEIK
486	DLL3-14 -016	scFv		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNYYMHWVRQAPGLCLEWMGIINPSDGSSTSYAQK FQGRVTMTTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYVCARGGNSAFYSYYMDMDVWGQTTVTVSSGGG GSGGGSGGGSDVVMQTQTPLSLPVTILGQPASISCRSSQSLVYRDGNAYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCMQGTHWPPFTFGCGTKVEIK
487	DLL3-14 -017	scFv		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNYYMHWVRQAPGLCLEWMGIINPSDGSSTSYAQK FQGRVTMTTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYVCARGGNSAFYSYYMDMDVWGQTTVTVSSGGG GSGGGSGGGSDVVMQTQTPLSLPVTILGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCMQGTHWPPFTFGCGTKVEIK
488	DLL3-14 -018	scFv		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNYYMHWVRQAPGLCLEWMGIINPSDGSSTSYAQK FQGRVTMTTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYVCARGGNSAFYSYYMDMDVWGQTTVTVSSGGG GSGGGSGGGSDVVMQTQTPLSLPVTILGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCMQGTHWPPFTFGCGTKVEIK
489	DLL3-14 -019	scFv		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNYYMHWVRQAPGLCLEWMGIINPSEGSTSYAQK FQGRVTMTTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYVCARGGNSAFYSYYMDMDVWGQTTVTVSSGGG GSGGGSGGGSDVVMQTQTPLSLPVTILGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCMQGTHWPPFTFGCGTKVEIK

10

20

30

40

490	DLL3-14 -020	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHVVRQAPGLGLEWMGIINPSDASTSYAQK FQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTtTtVSSGGG SGGGSGGGGSDVVMtQTPLSLPvtLGQpASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDGVYYCMQgTHWpPTFGCGTKVEIK
491	DLL3-14 -021	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHVVRQAPGQCLEWMGIINPSDGSTSYAQK FQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTtTtVSSGGG SGGGSGGGGSDVVMtQTPLSLPvtLGQpASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDGVYYCMQgTHWpPTFGCGTKVEIK
492	DLL3-14 -022	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHVVRQAPGQCLEWMGIINPSEGSTSYAQK FQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTtTtVSSGGG SGGGSGGGGSDVVMtQTPLSLPvtLGQpASISCRSSQSLVYREGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDGVYYCMQgTHWpPTFGCGTKVEIK
493	DLL3-14 -023	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHVVRQAPGQCLEWMGIINPSDASTSYAQK FQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTtTtVSSGGG SGGGSGGGGSDVVMtQTPLSLPvtLGQpASISCRSSQSLVYRDANTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDGVYYCMQgTHWpPTFGCGTKVEIK
494	DLL3-14 -001 x12C	二重 特異性 分子	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHVVRQAPGLGLEWMGIINPSDGSTSYAQK FQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTtTtVSSGGG SGGGSGGGGSDVVMtQTPLSLPvtLGQpASISCRSSQSLVYREGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDGVYYCMQgTHWpPTFGQGTKEIKSG GGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYA TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNGNSYISYWAYWGQGTlVT VSSGGSGGGGSGGGGStVVTQEPsLTvSPGGTvtLTcGSStGAVTSgNYPNWVQKPGQA PRGLIGGtKfLAPGtPARfSGSLLGgKAALtLSGvQPEDEAEYyCVLWYSNRWVfGGGtKLtV L
495	DLL3-14 -002 x12C	二重 特異性 分子	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHVVRQAPGLGLEWMGIINPSDGSTSYAQK FQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTtTtVSSGGG SGGGSGGGGSDVVMtQTPLSLPvtLGQpASISCRSSQSLVYRDANTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDGVYYCMQgTHWpPTFGQGTKEIKSG GGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYA TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNGNSYISYWAYWGQGTlVT VSSGGSGGGGSGGGGStVVTQEPsLTvSPGGTvtLTcGSStGAVTSgNYPNWVQKPGQA

10

20

30

40

500				<p> TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYCVRHGFGNSYISYWAYWGQGTILVT VSSGGGGGGGGGGGQTVVTQEPSTLTVSPGGTTLTTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQA PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLGKGKAAALTLGSGVQPEDEAEYCYLWYSNRWVFGGGTKLTV L </p> <p> QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYMHMWVRQAPGLGLEWMGIINPSEGSTSYAQK FQGRVTMTTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDYAVYCARGGNSAFYSYYDMVDVWGQGTITVTVSSGGG GSGGGGGGGGSDVMTQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVDPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDGVYYCMQGTHTWPPPTFGQGTKEIKSG GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYA TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYCVRHGFGNSYISYWAYWGQGTILVT VSSGGGGGGGGGGGQTVVTQEPSTLTVSPGGTTLTTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQA PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLGKGKAAALTLGSGVQPEDEAEYCYLWYSNRWVFGGGTKLTV L </p>
501		DLL3-14-007 x12C	二重 特异性 分子	<p> QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYMHMWVRQAPGLGLEWMGIINPSDASTSYAQK FQGRVTMTTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDYAVYCARGGNSAFYSYYDMVDVWGQGTITVTVSSGGG GSGGGGGGGGSDVMTQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVDPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDGVYYCMQGTHTWPPPTFGQGTKEIKSG GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYA TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYCVRHGFGNSYISYWAYWGQGTILVT VSSGGGGGGGGGGGQTVVTQEPSTLTVSPGGTTLTTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQA PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLGKGKAAALTLGSGVQPEDEAEYCYLWYSNRWVFGGGTKLTV L </p>
502		DLL3-14-009 x12C	二重 特异性 分子	<p> QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYMHMWVRQAPGQGLEWMGIINPDSGSTSYAQK FQGRVTMTTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDYAVYCARGGNSAFYSYYDMVDVWGQGTITVTVSSGGG GSGGGGGGGGSDVMTQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVDPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDGVYYCMQGTHTWPPPTFGQGTKEIKSG GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYA TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYCVRHGFGNSYISYWAYWGQGTILVT VSSGGGGGGGGGGGQTVVTQEPSTLTVSPGGTTLTTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQA PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLGKGKAAALTLGSGVQPEDEAEYCYLWYSNRWVFGGGTKLTV L </p>
503		DLL3-14-010 x12C	二重 特异性 分子	<p> QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYMHMWVRQAPGQGLEWMGIINPSEGSTSYAQK FQGRVTMTTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDYAVYCARGGNSAFYSYYDMVDVWGQGTITVTVSSGGG GSGGGGGGGGSDVMTQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYREGNTYLSWFQQRPGQSPRR </p>

10

20

30

40

504	DLL3-14 -011 x12C	二重 特異性 分子	<p>LIYKVSNWQSGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDGVYYCMQGTHWPPTFGQGTKEIKSG GGSEVQLVESGGGLVQPGSLKLSKAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYA TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLLVT VSSGGSGGGGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGGTTLTTCGSSGTGAVTSGNYPNWWVQKPGQA PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTV L</p> <p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSDASTSYAQK FQGRVTMTTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMVWGQGTITVTVSSGGG GSGGGSGGGSDVMTQTPLSLPTLGLQPASISCRSSQSLVYRDANTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDGVYYCMQGTHWPPTFGQGTKEIKSG GGSEVQLVESGGGLVQPGSLKLSKAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYA TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLLVT VSSGGSGGGGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGGTTLTTCGSSGTGAVTSGNYPNWWVQKPGQA PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTV L</p>
505	DLL3-14 -012 (CC) x12C	二重 特異性 分子	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYYMHWVRQAPGLCLEWMGIINPSDGSTSYAQK FQGRVTMTTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMVWGQGTITVTVSSGGG GSGGGSGGGSDVMTQTPLSLPTLGLQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDGVYYCMQGTHWPPTFGCGTKVEIKSG GGSEVQLVESGGGLVQPGSLKLSKAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYA TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLLVT VSSGGSGGGGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGGTTLTTCGSSGTGAVTSGNYPNWWVQKPGQA PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTV L</p> <p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYYMHWVRQAPGLCLEWMGIINPSDGSTSYAQK FQGRVTMTTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMVWGQGTITVTVSSGGG GSGGGSGGGSDVMTQTPLSLPTLGLQPASISCRSSQSLVYREGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDGVYYCMQGTHWPPTFGCGTKVEIKSG GGSEVQLVESGGGLVQPGSLKLSKAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYA TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLLVT VSSGGSGGGGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGGTTLTTCGSSGTGAVTSGNYPNWWVQKPGQA PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTV L</p>
506	DLL3-14 -013 x12C	二重 特異性 分子	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYYMHWVRQAPGLCLEWMGIINPSDGSTSYAQK FQGRVTMTTRDTSTNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMVWGQGTITVTVSSGGG GSGGGSGGGSDVMTQTPLSLPTLGLQPASISCRSSQSLVYREGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDGVYYCMQGTHWPPTFGCGTKVEIKSG GGSEVQLVESGGGLVQPGSLKLSKAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYA TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLLVT VSSGGSGGGGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGGTTLTTCGSSGTGAVTSGNYPNWWVQKPGQA PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTV L</p>

10

20

30

40

515	DLL3-14 -022 x12C	二重 特性性 分子	<p>TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTILVT VSSGGSGGGSGGGSTVVTQEPSLTVSPGGTTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQA PRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLGKGKAAITLGSVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTV L</p> <p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYFTFTNYYMHVWRQAPGQCLEWMGIINPSEGSTSYAQK FQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMVWGQGTITVTVSSGGG GSGGGSGGGSDVVMQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVREGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDGVVYCMQGTTHWPTFGCGTKVEIKSG GGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYA TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTILVT VSSGGSGGGSGGGSTVVTQEPSLTVSPGGTTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQA PRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLGKGKAAITLGSVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTV L</p>
516	DLL3-14 -023 x12C	二重 特性性 分子	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYFTFTNYYMHVWRQAPGQCLEWMGIINPDSASTSYAQK FQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMVWGQGTITVTVSSGGG GSGGGSGGGSDVVMQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDANTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDGVVYCMQGTTHWPTFGCGTKVEIKSG GGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYA TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTILVT VSSGGSGGGSGGGSTVVTQEPSLTVSPGGTTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQA PRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLGKGKAAITLGSVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTV L</p>
517	DLL3-4 x12C -scFc	二重特性性 HLE 分子	<p>QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGYVYSGTTNYPNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSTAAADTAVYYCASIAVTGFYFDYWGQGTILTVTVSSGGSGGGG GSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERVTLSCRASQVRNNNYLAWYQQRPQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYDRSPPLTFGGGTGLEIKSGGGGSEVQLV ESGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKD RFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTILTVTVSSGGSGG GGSGGGSGGTVVTQEPSLTVSPGGTTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLGKGKAAITLGSVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPGPCAPELLGGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYIT</p>

10

20

30

40

518	DLL3- 4 xI2C - scFc_d elGK	二重特異性 HLE 分子	<p>LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGG SDKTHTCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p> <p>QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGYVYSGTTNYPNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSTAAADTAVYYCASIATGTFYFDYWGQGLTVTVSSGGSGGGG GSGGGSEIVLTQSPGTLSPGERVTLSCRASQVRNNNYLAWYQRPQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQYDRSPLTFGGGTGLEIKSGGGSEVQLV ESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKD RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGSGG GGSGGGSGQTVVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGTK FLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYICVLWYSNRWVFGGGLTVLGGGGDKTH TCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSD KTHTCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
519	DLL3- 4-001 (CC) xI2C - scFc	二重特異性 HLE 分子	<p>QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKCLEWIGYVYSGTTNYPNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSTAAADTAVYYCASIATGTFYFDYWGQGLTVTVSSGGSGGGG GSGGGSEIVLTQSPGTLSPGERVTLSCRASQVRNNNYLAWYQRPQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQYDRSPLTFGGGTGLEIKSGGGSEVQLV ESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKD RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGSGG GGSGGGSGQTVVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGTK FLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYICVLWYSNRWVFGGGLTVLGGGGDKTH TCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGG</p>

10

20

30

40

520	DLL3-4-001 (CC) x12C -scFc_{-delG}-K	二重特異性 HLE 分子	<p>SDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTTLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p> <p>QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKCLEWIGVYYSGTTNYPNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCASIAVTGFYFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERVTLSCRASQVRNNNYLAWYQQRPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYDRSPLTFGCCTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNGFNSYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGGGGSTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTLTVLGGGGDKTHTCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTTLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
521	DLL3-6 x12C -scFc	二重特異性 HLE 分子	<p>QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGASISSFYWSWIRQPPGKCLEWIGIYYISGTTNYPNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARIAGVFFFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYDRSPLTFGGGTKEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNGFNSYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGGGGSTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTLTVLGGGGDKTHTCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTTLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSGDSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>

10

20

30

40

522	DLL3- 6 xI2C - scFe_d elGK	二重特異性 HLE 分子	<p>PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p> <p>QVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGASISFFYWSWIRQPPGKGLEWIGIYIYSGTTNYPNSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSTAAATAVYICARIAVAGFFFDYWGQGTTLTVSSGGGGGGGG SGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYCYQQYDRSPLTFGGGTKEIKSGGGSEVQLV ESGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKD RFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDTAVYICVRHGFNGNSIYIWAYWGQGTTLTVSSGGGGSG GGSGGGGSQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYICVLWYSNRWVFGGKTLTVLGGGGDKTH TCPAPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGSD KTHTCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
523	DLL3- 6-001 (CC) xI2C - scFe	二重特異性 HLE 分子	<p>QVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGASISFFYWSWIRQPPGKCLEWIGIYIYSGTTNYPNSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSTAAATAVYICARIAVAGFFFDYWGQGTTLTVSSGGGGGGGG SGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYCYQQYDRSPLTFGGGTKEIKSGGGSEVQLV ESGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKD RFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDTAVYICVRHGFNGNSIYIWAYWGQGTTLTVSSGGGGSG GGSGGGGSQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYICVLWYSNRWVFGGKTLTVLGGGGDKTH TCPAPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG SDKTHTCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG EVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>

10

20

30

40

524	DLL3-6-001 (CC) x12C - scFe_d elGK	二重特異性 HLE 分子	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGASISSFFYWSWIRQPPGKCLEWIGIYIYSGTTNYPNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAAYYCARIAGFFFDYWGQGLTVTVSSGGGGGGG SGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQKQPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGGTDFTLTIISRLEPEDFAVYCYQYDRSPLTFGCCTKVEIKSGGGSEVQVLV ESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKD RFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDTAAYYCVRHGFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGGSG GGGGGGGQTVVTQEPSTLTVSPGGTTLTTCGSSSTGAVTSGNYPNWRVQKQPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLGGAALTLGSGVQPEDEAEYCYVLWYSNRWVFGGGLTVLGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPDSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGSD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
525	DLL3-14 x12C - scFe	二重特異性 HLE 分子	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYMHVWRQAPGLGLEWMGI INPSDGSTSYAQK FQGRVTMTTRDTSTNTVMYDLSLRSSEDTAVYYCARGGNSAFYSYDMDVWGQGTITVTVSSGGG SGGGGGGGGGSDVVMQTPLSLPTLQGPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVPDRFSGGGSGTDFTLKI SRVEAEDVGYCMQGTHTWPTFGQGTKEIKSG GGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYA TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDTAAYYCVRHGFGNSYISYWAYWGQGLTVT VSSGGGGGGGGGGGGQTVVTQEPSTLTVSPGGTTLTTCGSSSTGAVTSGNYPNWRVQKQPGQA PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLGGAALTLGSGVQPEDEAEYCYVLWYSNRWVFGGGLTV LGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGGGGGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT I SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
526	DLL3-14	二重特異性 HLE分子	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYMHVWRQAPGLGLEWMGI INPSDGSTSYAQK FQGRVTMTTRDTSTNTVMYDLSLRSSEDTAVYYCARGGNSAFYSYDMDVWGQGTITVTVSSGGG

10

20

30

40

	xI2C - scFc_d elGK	<p>GS GGGGGGGSDVVMTQTPLSLPVTGLGQPASISCRSSQSLSVYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPPFTFGQGTKEIKSG GGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYA TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDTAVYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLLVT VSSGGGGGGGGGSGQTIVVTQEPSTLTVSPGGTIVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWWVQKPGQA PRGLIGGTFKLAPGTPARFSGSLGGAALTLGSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGTKLTV LGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPCEEQYGYSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGGGGGGGGGGGGGG GGSGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKE NWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGYSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
527	DLL3- 14 -012 (CC) xI2C - scFc 二重特異性 HLE 分子	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYMHVWRQAPGLCLEWMGIINPSDGSTSYAQK FQGRVTMTTRDTSNTNVYMDLSLRSEDTAVYVCARGGNSAFYSYDMDVWGQGTITVTVSSGGG GGSGGGGGGGSDVVMTQTPLSLPVTGLGQPASISCRSSQSLSVYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPPFTFGCGTKVEIKSG GGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYA TYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDTAVYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLLVT VSSGGGGGGGGGGSGQTIVVTQEPSTLTVSPGGTIVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWWVQKPGQA PRGLIGGTFKLAPGTPARFSGSLGGAALTLGSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGTKLTV LGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPCEEQYGYSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGGGGGGG GGGGGGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGYSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
528	DLL3- 14 -012 (CC) xI2C - 二重特異性 HLE 分子	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYMHVWRQAPGLCLEWMGIINPSDGSTSYAQK FQGRVTMTTRDTSNTNVYMDLSLRSEDTAVYVCARGGNSAFYSYDMDVWGQGTITVTVSSGGG GGSGGGGGGGSDVVMTQTPLSLPVTGLGQPASISCRSSQSLSVYRDGNTYLSWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWQSGVPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPPFTFGCGTKVEIKSG</p>

				GGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAAGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYA TYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDTAVYCVRHGNGNSYISYWAYWGQGTLLVT VSSGGSGGGGGSGGGSQTAVTQEPSTLTVSPGGTTLTTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQA PRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLGGKAAALTLGSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGKTLTV LGGGDKTHTCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
529	DLL3- 6-001 (CC)	VH		QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGASISFFYFSWIRQPPGKCLEWIGIYIYSGTTNPNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSTAAADTAVYCARIAVAGFFFDYWGQGTLLTVTSS
530	DLL3- 6-001 (CC)	VL		EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRF SGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYQCQYDRSPLTFGCGTKVEIK
531	DLL3- 6-001 (CC)	scFv		QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGASISFFYFSWIRQPPGKCLEWIGIYIYSGTTNPNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSTAAADTAVYCARIAVAGFFFDYWGQGTLLTVTSSGGSGGGG GSGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYQCQYDRSPLTFGCGTKVEIK
532	DLL3- 6-001 (CC) x12C	二重 特异性 分子		QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGASISFFYFSWIRQPPGKCLEWIGIYIYSGTTNPNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSTAAADTAVYCARIAVAGFFFDYWGQGTLLTVTSSGGSGGGG GSGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYQCQYDRSPLTFGCGTKVEIKSGGGSEVQLV ESGGGLVQPGGSLKLSCAAAGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKD RFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDTAVYCVRHGNGNSYISYWAYWGQGTLLTVTSSGGSGG GGSGGGSGQTAVTQEPSTLTVSPGGTTLTTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLGGKAAALTLGSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGKTLTVL

10

20

30

40

533	Fc 単量体1 +c/-g	DKHTCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKD ¹ TLMI ² SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYGSTYRCVSVLT ³ VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK ⁴ TTTPVLDSDGSFFFLYSK LTVDKSRWQ ⁵ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQ ⁶ KSLSLSPGK
534	Fc 単量体2 +c/-g/ delGK	DKHTCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKD ¹ TLMI ² SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYGSTYRCVSVLT ³ VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK ⁴ TTTPVLDSDGSFFFLYSK LTVDKSRWQ ⁵ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQ ⁶ KSLSLSP
535	Fc 単量体3 -c/+g	DKHTCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKD ¹ TLMI ² SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT ³ VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK ⁴ TTTPVLDSDGSFFFLYSK LTVDKSRWQ ⁵ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQ ⁶ KSLSLSPGK
536	Fc 単量体4 -c/+g/ delGK	DKHTCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKD ¹ TLMI ² SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT ³ VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK ⁴ TTTPVLDSDGSFFFLYSK LTVDKSRWQ ⁵ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQ ⁶ KSLSLSP
537	Fc 単量体5 -c/-g	DKHTCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKD ¹ TLMI ² SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLT ³ VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK ⁴ TTTPVLDSDGSFFFLYSK LTVDKSRWQ ⁵ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQ ⁶ KSLSLSPGK
538	Fc 単量体6 -c/-g/ delGK	DKHTCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKD ¹ TLMI ² SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLT ³ VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK ⁴ TTTPVLDSDGSFFFLYSK LTVDKSRWQ ⁵ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQ ⁶ KSLSLSP
539	Fc 単量体7 +c/+g	DKHTCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKD ¹ TLMI ² SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRCVSVLT ³ VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK ⁴ TTTPVLDSDGSFFFLYSK LTVDKSRWQ ⁵ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQ ⁶ KSLSLSPGK
540	Fc 単量体8	DKHTCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKD ¹ TLMI ² SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRCVSVLT ³ VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP

				QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
541	scFc-1			DKHTCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPCEEQYGYSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSG GGGSDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPCEEQYGYSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
542	scFc-2			DKHTCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPCEEQYGYSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSG GGSDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPCEEQYGYSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
543	scFc-3			DKHTCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSG GGGSDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
544	scFc-4			DKHTCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSG GGSDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFL

10

20

30

40

545	scFc-5		YSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSP DKHTCPCPAPPELLGGPSVFLFPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGGSDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
546	scFc-6		DKHTCPCPAPPELLGGPSVFLFPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGSDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSP
547	scFc-7		DKHTCPCPAPPELLGGPSVFLFPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPCEEQYNSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGGSDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPCEEQYNSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
548	scFc-8		DKHTCPCPAPPELLGGPSVFLFPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPCEEQYNSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGSDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPCEEQYNSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSP

10

20

30

40

549		(G ₄ S) ₄ リンカー			GGGSGGGSGGGSGGGGS
550		(G ₄ S) ₅ リンカー			GGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS
551		(G ₄ S) ₆ リンカー			GGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS
552		(G ₄ S) ₇ リンカー			GGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS
553		(G ₄ S) ₈ リンカー			GGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS
554		DLL3- 22	二重 特異性 分子		QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGDSISSYYWTWIRQPPGKGLEWIGIYIYSGTTNYPNPSLKSRTISVDTSKS QFSLKLSVTAADTAVYYCASIAVRGFFDYWGQGTLLVTVSSGGGGSGGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERA TILSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGT PLTFGGGTKEIKRSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYN NYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNGNSYISYWAYWGQGTLLVTVSSGGGGSGG GSGGGGSQTVVTQEPSTVSPGGTIVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSL LGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGTKLTVLHHHHH

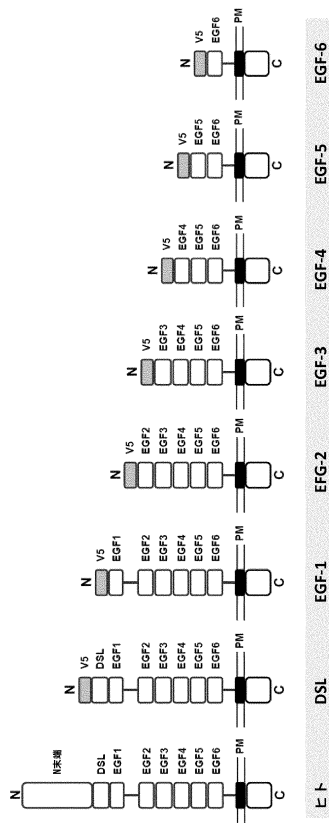
10

20

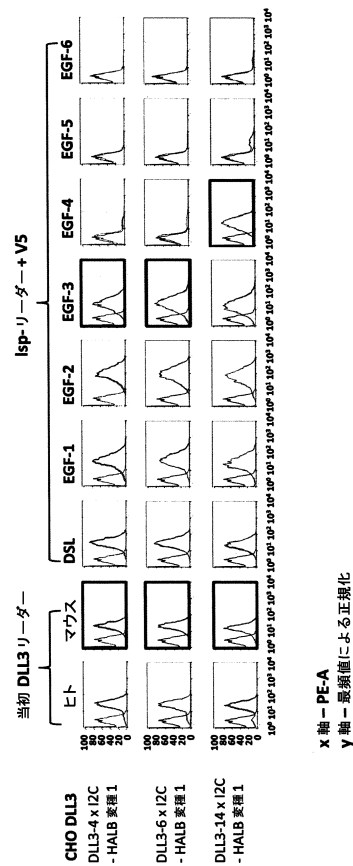
30

40

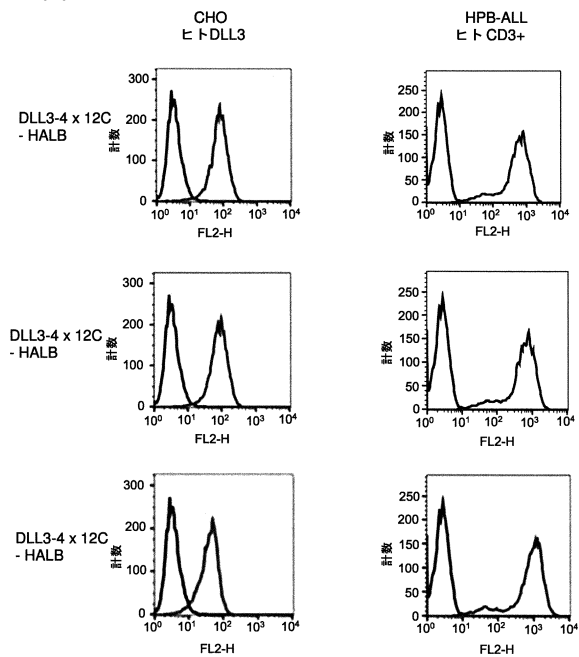
【図 1】



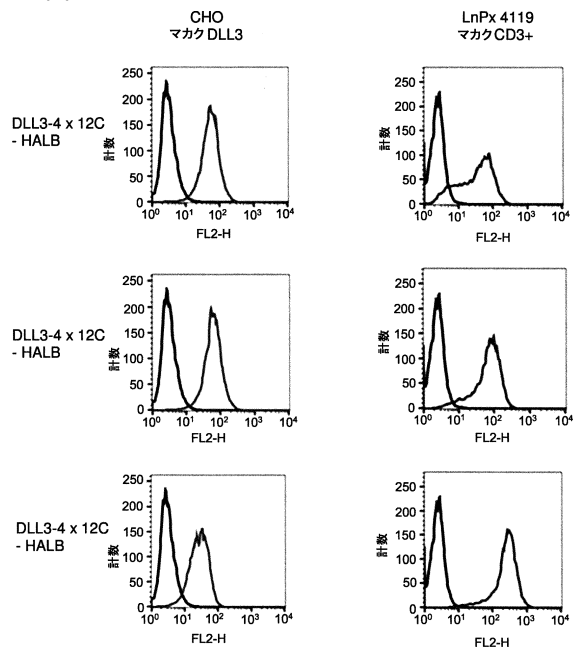
【図 2】



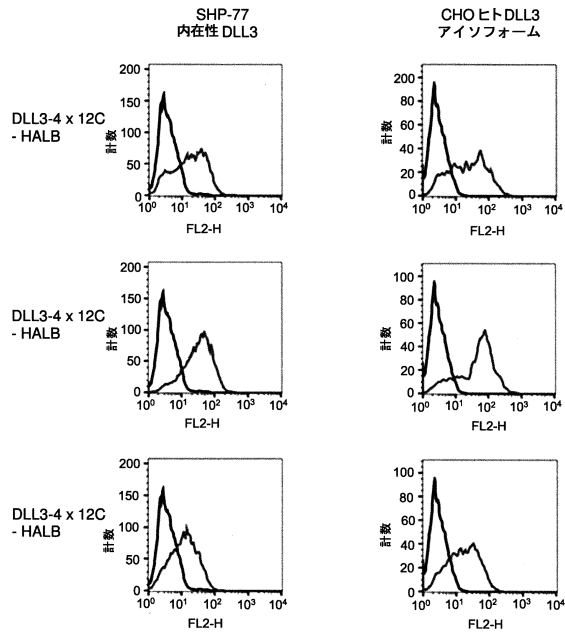
【図 3 A】



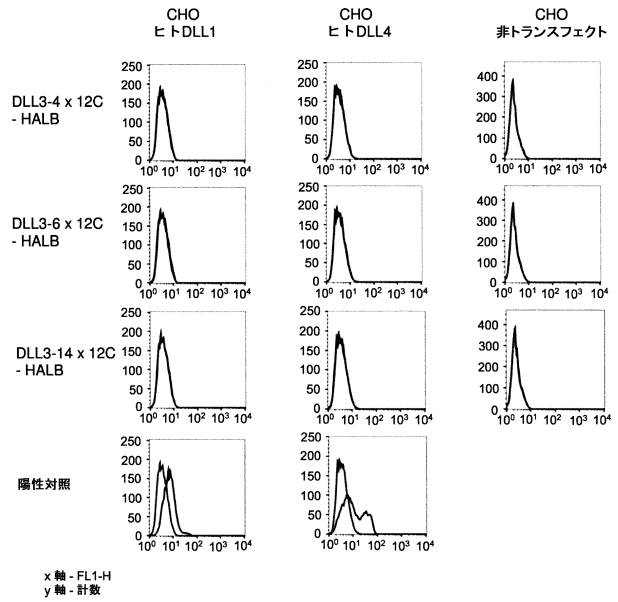
【図 3 B】



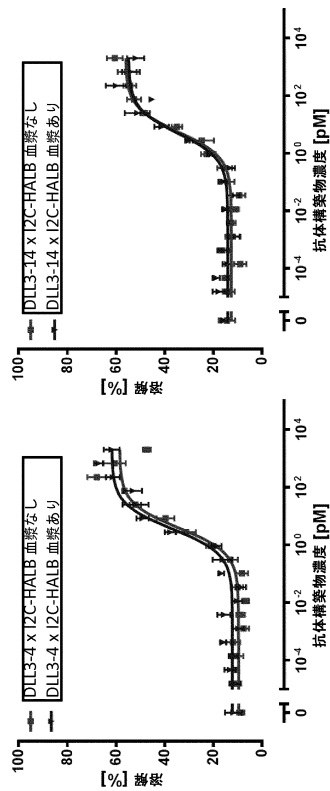
【図 3 C】



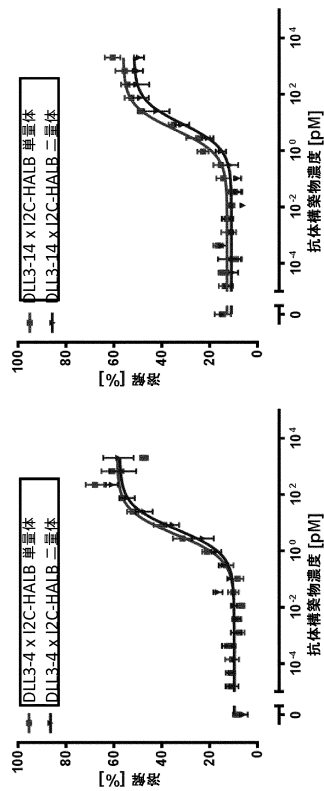
【図 4】



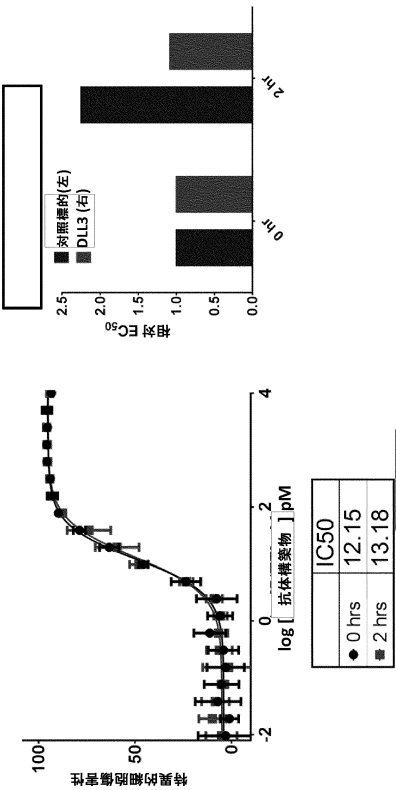
【図 5】



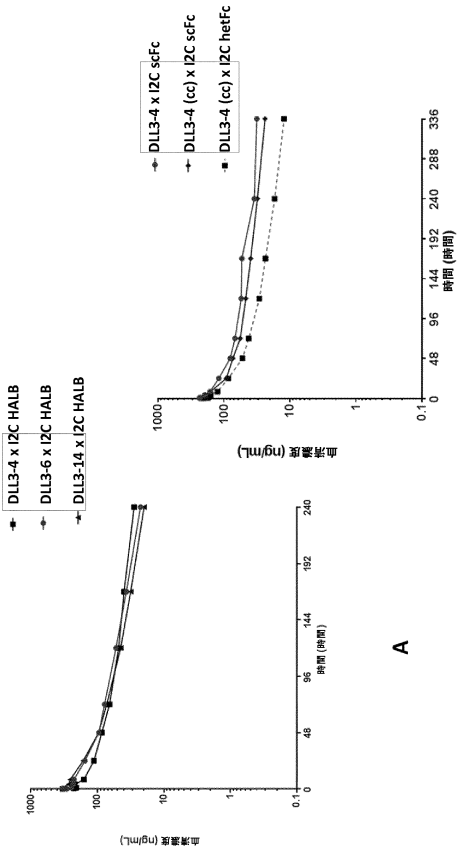
【図 6】



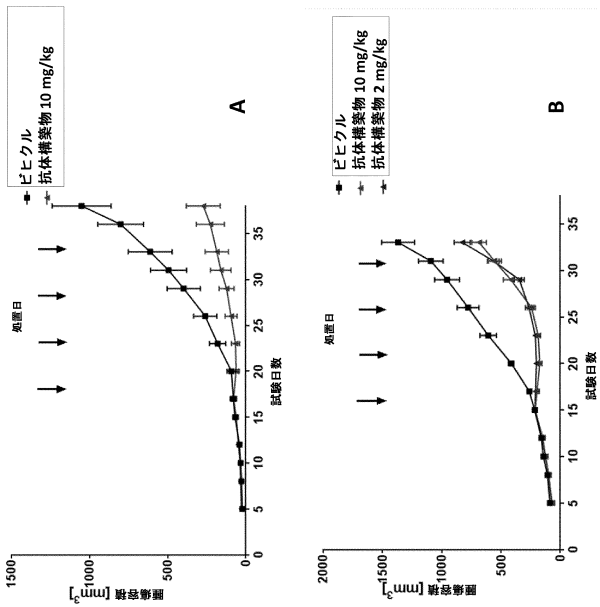
【図 7】



【図 9】



【図 8】



【配列表】

0006824245000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		
A 6 1 K	39/395	(2006.01)	A 6 1 K	39/395 N
A 6 1 P	35/00	(2006.01)	A 6 1 K	39/395 T
C 0 7 K	16/28	(2006.01)	A 6 1 P	35/00
C 1 2 P	21/08	(2006.01)	C 0 7 K	16/28
C 1 2 N	15/13	(2006.01)	C 1 2 P	21/08
C 1 2 N	15/62	(2006.01)	C 1 2 N	15/13
			C 1 2 N	15/62 Z

早期審査対象出願

- (74)代理人 100142929
弁理士 井上 隆一
- (74)代理人 100148699
弁理士 佐藤 利光
- (74)代理人 100128048
弁理士 新見 浩一
- (74)代理人 100129506
弁理士 小林 智彦
- (74)代理人 100205707
弁理士 小寺 秀紀
- (74)代理人 100114340
弁理士 大関 雅人
- (74)代理人 100114889
弁理士 五十嵐 義弘
- (74)代理人 100121072
弁理士 川本 和弥
- (72)発明者 ラウム トビアス
ドイツ連邦共和国 8 1 4 7 7 ミュンヘン シュタッフエルゼーシュトラッセ 2 アムゲン
リサーチ (ミュンヘン) ゲーエムベーハー内
- (72)発明者 クファー ビーター
ドイツ連邦共和国 8 1 4 7 7 ミュンヘン シュタッフエルゼーシュトラッセ 2 アムゲン
リサーチ (ミュンヘン) ゲーエムベーハー内
- (72)発明者 ペントツィアレク ヨッヒェン
ドイツ連邦共和国 8 1 4 7 7 ミュンヘン シュタッフエルゼーシュトラッセ 2 アムゲン
リサーチ (ミュンヘン) ゲーエムベーハー内
- (72)発明者 ブルーメル クラウディア
ドイツ連邦共和国 8 1 4 7 7 ミュンヘン シュタッフエルゼーシュトラッセ 2 アムゲン
リサーチ (ミュンヘン) ゲーエムベーハー内
- (72)発明者 ダールホフ クリストフ
ドイツ連邦共和国 8 1 4 7 7 ミュンヘン シュタッフエルゼーシュトラッセ 2 アムゲン
リサーチ (ミュンヘン) ゲーエムベーハー内
- (72)発明者 ホフマン パトリック
ドイツ連邦共和国 8 1 4 7 7 ミュンヘン シュタッフエルゼーシュトラッセ 2 アムゲン
リサーチ (ミュンヘン) ゲーエムベーハー内
- (72)発明者 ルッタービューゼ ラルフ
ドイツ連邦共和国 8 1 4 7 7 ミュンヘン シュタッフエルゼーシュトラッセ 2 アムゲン
リサーチ (ミュンヘン) ゲーエムベーハー内

(72)発明者 ナールヴォルト エリーザベト
ドイツ連邦共和国 81477 ミュンヘン シュタッフエルゼーシュトラッセ 2 アムゲン
リサーチ (ミュンヘン) ゲーエムベーハー内

審査官 松原 寛子

(56)参考文献 国際公開第2013/126746 (WO, A1)
国際公開第2014/125273 (WO, A1)
Nature, 1989年, 341:544-546
J. Immunol., 1987年, 139:4135-4144
J. Biol. Chem., 2000年, 275:35129-35136
Biochem Biophys Res Comm, 2000年, 268:390-394

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
C12N 15/13
C07K 16/28
C07K 16/46
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)
CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)
GenBank/EMBL/DDBJ/GenSeq
UniProt/GenSeq