

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2024-500839
(P2024-500839A)

(43)公表日 令和6年1月10日(2024.1.10)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 0 7 K	16/46 (2006.01)	C 0 7 K	16/46	Z N A	4 B 0 6 5
C 1 2 N	5/071(2010.01)	C 1 2 N	5/071		4 C 0 8 5
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10		4 H 0 4 5
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 0 5	
A 6 1 P	25/28 (2006.01)	A 6 1 P	25/28		
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全219頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2023-537540(P2023-537540)	(71)出願人	523227007
(86)(22)出願日	令和3年12月17日(2021.12.17)		アントラーエイ セラピューティクス インコーポレイテッド
(85)翻訳文提出日	令和5年8月7日(2023.8.7)		カナダ エム5エイチ 2ティール6 オンタリオ、トロント、アイコ ファスケン
(86)国際出願番号	PCT/IB2021/061971		マルティノー、ベイ ストリート 240
(87)国際公開番号	WO2022/130341		0-333、ピー. オー. ボックス 20
(87)国際公開日	令和4年6月23日(2022.6.23)		110000855
(31)優先権主張番号	63/127,408	(74)代理人	弁理士法人浅村特許事務所
(32)優先日	令和2年12月18日(2020.12.18)		アンガース、ステファヌ
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(72)発明者	カナダ エル5エム 0エイ1 オンタリオ、ミシサガ、カリスト コート エイチ : 29
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,	(72)発明者	シドウ、サチデブ
	最終頁に続く		カナダ エム5エス2エム3 オンタリオ
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 四価 F Z D 及び W N T コレセプター (c o - r e c e p t o r) 結合抗体分子並びにその使用

(57)【要約】

W n t β - カテニンシグナル伝達経路を活性化する、F c ドメインの反対末端に F Z D 受容体結合ドメイン及び L R P 5 / 6 コレセプター結合ドメインを含む四価結合抗体分子及びその使用方法が本明細書に記載される。

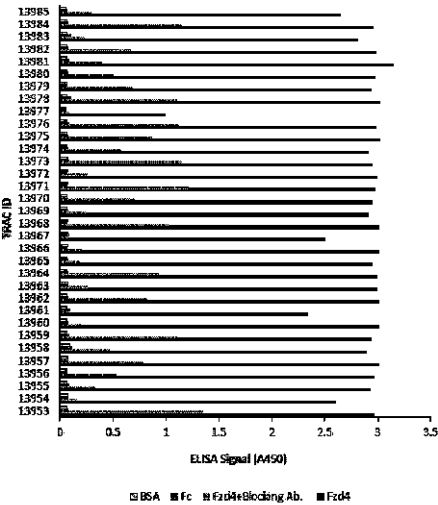


FIG 1A

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

- (a) 定常重鎖ドメイン 3 (CH3) を含む Fc ドメイン又はその断片、
(b) 二価低密度リボタンパク質受容体関連タンパク質 (LRP) 結合ドメイン、及び
(c) 二価 Frizzled (FZD) 結合ドメイン

を含む四価結合抗体分子であって、

前記 LRP 結合ドメインが前記 Fc ドメインの一方の末端に結合しており、前記 FZD 結合ドメインが前記 Fc ドメインの他方の末端に結合しており、

前記 LRP 結合ドメインが、LRP5 に結合するダイアボディ、LRP6 に結合するダイアボディ、LRP5 に結合する 2 つの scFv、LRP6 に結合する 2 つの scFv、LRP5 に結合する 2 つの Fab、及び LRP6 に結合する 2 つの Fab、並びにそれらの組み合わせからなる群から選択され；

前記 FZD 結合ドメインが、1 つ又は複数の FZD に結合するダイアボディ、1 つ又は複数の FZD に結合する 2 つの scFv、1 つ又は複数の FZD に結合する 2 つの Fab からなる群から選択され、

前記 FZD が、Frizzled クラス受容体 1 (FZD1)、Frizzled クラス受容体 2 (FZD2)、Frizzled クラス受容体 3 (FZD3)、Frizzled クラス受容体 5 (FZD4)、Frizzled クラス受容体 5 (FZD5)、Frizzled クラス受容体 6 (FZD6)、Frizzled クラス受容体 7 (FZD7)、Frizzled クラス受容体 8 (FZD8)、Frizzled クラス受容体 9 (FZD9)、又は Frizzled クラス受容体 10 (FZD10) であり、

前記 LRP 結合ドメインが LRP5 のみに結合する場合、前記 FZD 結合ドメインが、FZD1、FZD2、FZD3、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される FZD に結合する、

四価結合抗体分子。

【請求項 2】

(a) 前記 LRP 結合ドメインダイアボディが前記 Fc ドメインの N 末端に結合しており、

(b) 前記 FZD 結合ドメインが前記 Fc ドメインの C 末端に結合している、

請求項 1 に記載の四価結合抗体分子。

【請求項 3】

(a) 前記 LRP 結合ドメインダイアボディが、前記ダイアボディの VL 又は VH を介して前記 Fc ドメインの N 末端に結合しており、

(b) 前記 FZD 結合ドメインが、前記 Fc の C 末端に融合された 2 つの FZD 結合 Fab を含み、各 Fab が、前記 Fc ドメインの前記 CH3 ドメインに連結された前記 Fab の重鎖又は軽鎖可変ドメイン (VH 又は VL) を介して前記 Fc ドメインに結合している、

請求項 2 に記載の四価結合抗体分子。

【請求項 4】

前記 FZD 結合ドメインが前記 Fc ドメインの N 末端に結合しており、前記 LRP 結合ドメインが前記 Fc ドメインの C 末端に結合している、請求項 1 に記載の四価結合抗体分子。

【請求項 5】

(a) 前記 FZD 結合ドメインが、前記 FZD に結合する 2 つの Fab を含み、各 Fab が、前記 Fc ドメインの前記 CH2 ドメインに連結された前記 Fab の重鎖又は軽鎖可変ドメイン (VH 又は VL) を介して前記 Fc ドメインの N 末端に結合しており、

(b) 前記 LRP 結合ドメインが、LRP5 及び／又は LRP6 に結合するダイアボディ又は 2 つの scFv を含み、前記ダイアボディ又は 2 つの scFv が、前記 Fc ドメインの前記 CH3 に連結された前記ダイアボディ又は scFv の VL 又は VH を介して前記 Fc ドメインの C 末端に結合している、

請求項 4 に記載の四価結合抗体分子。

【請求項 6】

前記 L R P 結合ドメイン及び／又は前記 F Z D 結合ドメインが二重特異性である、請求項 1 に記載の四価結合抗体分子。

【請求項 7】

前記 L P R 結合ドメインが L R P 5 及び L R P 6 に結合する、請求項 6 に記載の四価結合抗体分子。

【請求項 8】

前記 L P R 結合ドメインが、L R P 5 の W n t 3 A 部位（E 3 E 4 ドメイン）及び L R P 6 の W n t 3 A 部位（E 3 E 4 ドメイン）に結合する、請求項 7 に記載の四価結合抗体分子。

【請求項 9】

（a）前記 L R P 結合ドメインの前記ダイアボディが L R P 5 に結合し、表 3 又は表 6 の抗体の重鎖相補性決定領域 C D R - H 1、C D R - H 2 及び C D R - H 3 並びに軽鎖相補性決定領域 C D R - L 1、C D R - L 2 及び C D R - L 3 を含むか、又は

（b）前記 L R P 結合ドメインの前記ダイアボディが L R P 6 に結合し、表 4 又は表 6 の抗体の重鎖相補性決定領域 C D R - H 1、C D R - H 2 及び C D R - H 3 並びに軽鎖相補性決定領域 C D R - L 1、C D R - L 2 及び C D R - L 3 を含むか、又は

（c）前記 L R P 結合ドメインの前記ダイアボディが L R P 5 及び L R P 6 に結合し、前記ダイアボディが、表 3 又は表 6 の抗体の C D R - H 1、C D R - H 2 及び C D R - H 3 並びに C D R - L 1、C D R - L 2 及び C D R - L 3、並びに表 4 の抗体の C D R - H 1、C D R - H 2 及び C D R - H 3 並びに C D R - L 1、C D R - L 2 及び C D R - L 3 を含む、

請求項 1 に記載の四価結合抗体分子。

【請求項 10】

前記 F c ドメイン又はその断片がノブ・イン・ホール構造である、請求項 1 に記載の四価結合抗体分子。

【請求項 11】

前記 F c ドメインが 1 つ又は複数のエフェクター機能を欠く、請求項 1 に記載の四価結合抗体分子。

【請求項 12】

前記 L R P 結合ドメイン及び F Z D 結合ドメインが各々、リンカーによって前記 F c ドメインに結合している、請求項 1 に記載の四価結合抗体分子。

【請求項 13】

前記リンカーが、1～100個、1～50個、1～30個、1～25個、1～10個、1～6個のアミノ酸、1～5個のアミノ酸、又は2～4個のアミノ酸を含む、請求項 12 に記載の四価結合抗体分子。

【請求項 14】

前記 L R P 結合ドメインが L R P 6 に結合するか、又は L R P 5 及び L R P 6 に結合し、前記 F Z D 結合ドメインが、F Z D 1、F Z D 2、F Z D 3、F Z D 4、F Z D 5、F Z D 6、F Z D 7、F Z D 8、F Z D 9、及び F Z D 10 からなる群から選択される F Z D に結合する、請求項 1 に記載の四価結合抗体分子。

【請求項 15】

前記 F Z D 結合ドメインが F Z D 4 又は F Z D 5 に結合する、請求項 14 に記載の四価結合抗体分子。

【請求項 16】

前記 F Z D 結合ドメインが、F Z D 4 又は F Z D 5 又は複数の F Z D に結合する 2 つの F a b を含む、請求項 15 に記載の四価結合抗体分子。

【請求項 17】

前記 F Z D 結合 F a b が、表 1、表 2 又は表 6 の抗体の軽鎖相補性決定領域 C D R - L

10

20

30

40

50

1、CDR-L2及びCDR-L3並びに重鎖CDR、CDR-H1、CDR-H2及びCDR-H3を含む、請求項16に記載の四価結合抗体分子。

【請求項18】

前記LRP結合ダイアボディが、LRP5のWnt3A部位及びLRP6のWnt3A部位に結合する、請求項15に記載の四価結合抗体分子。

【請求項19】

(a) 前記LRP結合ドメインの前記ダイアボディがLRP5に結合し、表3又は表6の抗体の重鎖相補性決定領域CDR-H1、CDR-H2及びCDR-H3並びに軽鎖相補性決定領域CDR-L1、CDR-L2及びCDR-L3を含むか、又は

(b) 前記LRP結合ドメインの前記ダイアボディがLRP6に結合し、表4又は表6の抗体の重鎖相補性決定領域CDR-H1、CDR-H2及びCDR-H3並びに軽鎖相補性決定領域CDR-L1、CDR-L2及びCDR-L3を含むか、又は

(c) 前記LRP結合ドメインの前記ダイアボディがLRP5及びLRP6に結合し、前記ダイアボディが、

(i) 表3又は表6の抗体のCDR-H1、CDR-H2及びCDR-H3並びにCDR-L1、CDR-L2及びCDR-L3、並びに

(ii) 表4又は表6の抗体のCDR-H1、CDR-H2及びCDR-H3並びにCDR-L1、CDR-L2及びCDR-L3

を含む、

請求項1に記載の四価結合抗体分子。

【請求項20】

(a) 第1及び第2の重鎖モノマーの二量体であって、各モノマーが、N末端からC末端に向かって、

(1) LRP5及び／又はLRP6に結合する重鎖可変ドメイン(VH)と、LRP5及び／又はLRP6に結合する軽鎖可変ドメイン(VL)とを含むペプチド

(2) 前記CH3を含むFc領域、又はその断片、

(3) FZD4、FZD5、又はFZD4及び／若しくはFZD5並びに1つ又は複数の他のFZDと結合するVH、並びに

(4) 定常重鎖ドメイン1(CH1)

を含む一本鎖ポリペプチドを含み、

ここで、

(5) LRP5に結合する前記VHが、表3又は表6の抗体の重鎖CDR(CDR-H1、CDR-H2及びCDR-H3)を含むか、又は

LRP6に結合する前記VHが、表4又は表6の抗体のCDR-H1、CDR-H2及びCDR-H3を含む、

第1及び第2の重鎖モノマーの二量体

(b) LRP5に結合する前記VLが、表3又は表6の抗体の軽鎖CDR(CDR-L1、CDR-L2及びCDR-L3)を含むか、又は

LRP6に結合する前記VLが、表4又は表6の抗体のCDR-L1、CDR-L2及びCDR-L3を含む、

(c) FZD4、FZD5又はFZD4及び／若しくはFZD5並びに1つ又は複数の他のFZDに結合する前記VHが、表1、表2又は表6の抗体の重鎖CDR(CDR-H1、CDR-H2及びCDR-H3)を含む、

並びに

(d) 第3及び第4の軽鎖モノマーであって、各々が、N末端からC末端に向かって、FZD4、FZD5、又はFZD4及び／若しくはFZD5並びに1つ又は複数の他のFZDに結合するVL、定常軽鎖ドメイン1(CL1)を含み、FZD4、FZD5、又はFZD4及び／若しくはFZD5並びに1つ又は複数の他のFZDに結合する前記VLが、表1、表2又は表6の抗体の軽鎖CDR(CDR-L1、CDR-L2及びCDR-L3)を含む、第3及び第4の軽鎖モノマー

を含み、

前記第 1 及び第 2 の重鎖モノマーが、それらの F c 領域を介して二量体化し、前記第 1 のモノマーの L R P 5 又は L R P 6 に結合する前記 V L 及び V H が、前記第 2 のモノマーの L R P 5 又は L R P 6 に結合する前記 V H 及び V L と対になって、L R P 5 又は L R P 6 に結合する二価ダイアボディを形成し、

前記第 3 及び第 4 の軽鎖モノマーの F Z D 4、F Z D 5、又は F Z D 4 及び／若しくは F Z D 5 並びに 1 つ又は複数の他の F Z D と結合する前記 C L 1 及び V L が、前記第 1 及び第 2 の重鎖モノマーの F Z D 4、F Z D 5、又は F Z D 4 及び／若しくは F Z D 5 並びに 1 つ又は複数の他の F Z D に結合する前記 C H 1 及び V H と対になって、F Z D 4、F Z D 5、又は F Z D 4 及び／若しくは F Z D 5 並びに 1 つ又は複数の他の F Z D に結合する 2 つの F a b を形成し、前記ダイアボディが、N 末端二価 L R P 5 又は L R P 6 結合ドメインを形成し、前記 2 つの F a b が、C 末端二価 F Z D 4、F Z D 5、又は F Z D 4 及び／若しくは F Z D 5 並びに 1 つ又は複数の他の F Z D 結合ドメインを形成する、

10

請求項 3 に記載の四価結合抗体分子。

【請求項 2 1】

前記 L R P 結合ダイアボディが二重特異性であり、

前記第 1 の重鎖モノマーの L R P 5 又は L R P 6 に結合する前記 V H の前記 C D R、並びに前記第 2 の重鎖モノマーの L R P 5 又は L R P 6 に結合する前記 V H の前記 C D R が同一ではなく、

20

前記第 1 の重鎖モノマーの L R P 5 及び L R P 6 に結合する前記 V L の前記 C D R、並びに第 2 の重鎖モノマーの L R P 5 及び L R P 6 に結合する前記 V L の前記 C D R が同一ではない、

請求項 2 0 に記載の四価結合抗体分子。

【請求項 2 2】

前記第 1 及び第 2 のモノマーが、前記 F c 領域又はその断片のノブ・イン・ホール構造を介して二量体化する、請求項 2 0 に記載の四価結合抗体分子。

【請求項 2 3】

前記 F c ドメインが 1 つ又は複数のエフェクター機能を欠く、請求項 2 0 に記載の四価結合抗体分子。

【請求項 2 4】

30

(a) (1) の前記ペプチドが、第 1 のペプチドリンカーによって前記 F c 領域に連結されており、前記 F c 領域が、第 2 のペプチドリンカーによって F Z D 4 又は F Z D 5 又は複数の F Z D (汎 F Z D) に結合する前記 V H に連結されており、F Z D 4 又は F Z D 5 又は複数の F Z D (汎 F Z D) に結合する前記 V H が、第 3 のペプチドリンカーによって前記 C H 1 に連結されており、F Z D 4 又は F Z D 5 又は複数の F Z D (汎 F Z D) に結合する前記 V L が、ペプチドリンカーによって前記 C L 1 ドメインに連結されている、請求項 2 0 に記載の四価結合抗体分子。

【請求項 2 5】

前記第 2、第 3 又は第 4 のペプチドリンカーのうちの 1 つ又は複数が、1 ~ 1 0 0 個、1 ~ 5 0 個、1 ~ 3 0 個、1 ~ 2 5 個、1 ~ 1 0 個又は 1 ~ 5 個のアミノ酸を含む、請求項 2 4 に記載の四価結合抗体分子。

40

【請求項 2 6】

各第 1 及び第 2 の重鎖モノマーにおいて、L R P 5 又は L R P 6 に結合する前記 V H が、ペプチドリンカーによって、L R P 5 又は L R P 6 に結合する前記 V L に連結されている、請求項 2 0 に記載の四価結合抗体分子。

【請求項 2 7】

前記ペプチドリンカーが、1 ~ 6 個のアミノ酸、1 ~ 5 個のアミノ酸、又は 2 ~ 4 個のアミノ酸を含む、請求項 2 6 に記載の四価結合抗体分子。

【請求項 2 8】

L R P 6 結合抗体 2 5 4 2 及び／又は抗体 2 5 3 9 の C D R を含む W n t 共受容体結合

50

ドメインと組み合わせて、F Z D 結合抗体 5 0 4 4 の C D R を含む F Z D 結合ドメインを含まない、請求項 2 0 に記載の四価結合抗体分子。

【請求項 2 9】

(a) 表 1 1 の F Z D 5 - L R P 6 のホール重鎖構築物のアミノ酸配列を含む第 1 の重鎖、表 1 1 の F Z D 5 - L R P 6 のノブ重鎖構築物のアミノ酸配列を含む第 2 の重鎖、及び表 1 1 の L R P 6 の軽鎖構築物のアミノ酸配列を含む軽鎖（ここで、前記 C D R のアミノ酸配列は A N T 5 9 の C D R のアミノ酸配列である）又は

(b) 表 1 1 の p F Z D - L R P 6 のホール重鎖構築物のアミノ酸配列を含む第 1 の重鎖、表 1 1 の p F Z D - L R P 6 のアミノ酸ノブ重鎖構築物を含む第 2 の重鎖、及び表 1 1 の p F Z D - L R P 6 の軽鎖構築物のアミノ酸配列を含む軽鎖（ここで、前記 C D R のアミノ酸配列は A N T 9 の C D R のアミノ酸配列である）

を含む、請求項 2 0 に記載の四価結合抗体分子。

【請求項 3 0】

2 つの F Z D 4 結合又は 2 つの F Z D 5 結合 F a b を含む N 末端 F Z D 4 又は F Z D 5 結合ドメインと、2 つの L R P 結合 s c F v を含む C 末端 L R P 結合ドメインとを有する四価結合抗体分子であって、

(a) 第 1 及び第 2 の重鎖モノマーの二量体であって、各モノマーが、N 末端から C 末端に向かって、

(i) F Z D 4 又は 5 に結合する第 1 の重鎖可変ドメイン (V H)

(i i) 重鎖定常領域ドメイン 1 (C H 1 ドメイン)

(i i) 定常重鎖ドメイン 3 (C H 3 ドメイン) を含む F c 領域又はその断片

(i v) L R P 5 又は L R P 6 に結合する V H、及び L R P 5 又は L R P 6 に結合する第 1 の軽鎖可変ドメイン (V L) を含むペプチド

を含む一本鎖ポリペプチドを含む、第 1 及び第 2 の重鎖モノマーの二量体、並びに

(b) 第 3 及び第 4 の軽鎖モノマーであって、各モノマーが、N 末端から C 末端に向かって、前記 F Z D に結合する第 2 の V L 及び定常軽鎖ドメイン 1 (C L 1 ドメイン) を含む、第 3 及び第 4 の軽鎖モノマー

を含み、

前記第 1 及び第 2 の重鎖モノマーが、前記 F c 領域又はその断片を介して二量体化し、

前記第 1 及び第 2 のモノマーの F Z D 4 又は F Z D 5 及び C H 1 ドメインに結合する前記第 1 の V H が、前記第 3 及び第 4 のモノマーの前記第 2 の V L 及び C L 1 ドメインと対になって、F Z D 4 又は F Z D 5 に結合する 2 つの F a b を形成し、

各重鎖モノマーの前記第 2 の V H 及び第 1 の V L が対になって、L R P 5 又は L R P 6 に結合する s c F v を形成し、

前記 L R P 結合 s c F v が、前記四価結合抗体分子の C 末端 L R P 結合ドメインを形成し、前記 F Z D 4 又は F Z D 5 結合 F a b が、前記四価結合抗体分子の N 末端 F Z D 4 又は F Z D 5 結合ドメインを形成し、

前記 L R P 結合ドメインが L R P 5 のみに結合する場合、前記 F Z D 結合ドメインが F Z D 5 に結合する、

四価結合抗体分子。

【請求項 3 1】

F Z D 4 又は F Z D 5 に結合する前記 V H が、表 1、表 2 又は表 6 の抗体の重鎖 C D R (C D R - H 1、C D R - H 2 及び C D R - H 3) を含み、

L R P 5 に結合する前記 V H が、表 3 又は表 6 の抗体の重鎖 C D R (C D R - H 1、C D R - H 2 及び C D R - H 3) を含むか、又は L R P 6 に結合する前記 V H が、表 4 の抗体の C D R - H 1、C D R - H 2 及び C D R - H 3 を含み、

L R P 5 に結合する前記 V L が、表 3 又は表 6 の抗体の軽鎖 C D R (C D R - L 1、C D R - L 2 及び C D R - L 3) を含むか、又は L R P 6 に結合する前記 V L が、表 4 の抗体の C D R - L 1、C D R - L 2 及び C D R - L 3 を含む、

請求項 3 0 に記載の四価結合抗体分子。

10

20

30

40

50

【請求項 3 2】

N 末端 L R P 結合ダイアボディと、2つの F Z D 4 結合又は F Z D 5 結合 s c F v を含む C 末端ドメインとを含む四価結合抗体分子であって、

第 1 及び第 2 のモノマーの二量体であって、各モノマーが、N 末端から C 末端に向かって、

(a) L R P 5 又は L R P 6 に結合する、第 1 の重鎖可変ドメイン (V H) 及び第 1 の軽鎖可変 (V L) ドメインを含む第 1 のペプチド、

(b) 定常重鎖ドメイン 3 (C H 3) を含む F c 領域又はその断片、並びに

(c) F Z D 4 又は F Z D 5 に結合する、第 2 の V L 及び第 2 の V H を含む第 2 のペプチド

10

を含む一本鎖ポリペプチドを含む、第 1 及び第 2 のモノマーの二量体を含み、

前記第 1 及び第 2 のモノマーが、前記 F c 領域又はその断片を介して二量体化し、各モノマーの前記第 1 の V H 及び V L が、他方のモノマーの前記第 1 の V H 及び V L と対になって、L R P 5 又は L R P 6 に結合するダイアボディを形成し、各モノマーの前記第 2 の V L 及び V H が対になって、F Z D 4 又は F Z D 5 に結合する s c F v を形成し、

前記 L R P 結合ダイアボディが、前記四価結合抗体分子の前記 N 末端 L R P 結合ドメインを形成し、前記 2 つの F Z D 4 結合又は F Z D 5 結合 s c F v が、前記四価結合抗体分子の前記 C 末端 F Z D 結合ドメインを形成し、

前記 L R P 結合ドメインが L R P 5 のみに結合する場合、前記 F Z D 結合ドメインが F Z D 5 に結合する、

20

四価結合抗体分子。

【請求項 3 3】

L R P 5 に結合する前記 V H が、表 3 又は表 6 の抗体の重鎖 C D R (C D R - H 1、C D R - H 2 及び C D R - H 3) を含むか、又は L R P 6 に結合する前記 V H が、表 4 の抗体の C D R - H 1、C D R - H 2 及び C D R - H 3 を含む、

L R P 5 に結合する前記 V L が、表 3 又は表 6 の抗体の軽鎖 C D R (C D R - L 1、C D R - L 2 及び C D R - L 3) を含むか、又は L R P 6 に結合する前記 V L が、表 4 の抗体の C D R - L 1、C D R - L 2 及び C D R - L 3 を含む、

F Z D に結合する前記 V H が、表 1、表 2 又は表 6 の抗体の重鎖 C D R (C D R - H 1、C D R - H 2 及び C D R - H 3) を含む、

30

請求項 3 2 に記載の四価結合抗体分子。

【請求項 3 4】

F c ドメイン、共受容体の少なくとも 2 つの部位に結合する二重特異性ダイアボディを含む L R P 5 / 6 共受容体結合ドメインを含むダイアボディー F c - s c F v 形式の四価結合抗体分子であって、

前記ダイアボディが、前記 F c ドメインのアミノ末端に結合しており、F Z D 結合ドメインが、F Z D に各々結合する 2 つの s c F v 断片を含む前記 F c ドメインのカルボキシ末端に結合しており、前記 s c F v が、F Z D 5 に特異的であるか、又は F Z D 5 及び 1 つ若しくは複数の他の F Z D に汎特異的に結合する、四価結合抗体分子。

40

【請求項 3 5】

F c ドメイン、前記 F c ドメインの N 末端に結合している 2 つの F a b 断片を含み、各 F a b が F Z D 5 又は F Z D 4 及び F Z D 5 に結合する F Z D 結合ドメイン、並びに共受容体 L R P 5 / 6 の少なくとも 2 つの部位に結合するダイアボディを含む前記 F c ドメインの C 末端に結合している L R P 5 / 6 共受容体結合ドメインを有する I g G ダイアボディ形式の四価結合抗体分子であって、前記 F a b が、F Z D 5 に特異的であるか、又は F Z D 5 及び 1 つ若しくは複数の F Z D に汎特異的に結合する、四価結合抗体分子。

【請求項 3 6】

F c ドメイン、F Z D のための N 末端結合ドメインを含む、I g G - ダイアボディ形式の四価結合抗体分子であって、前記 F Z D 結合 F a b が、F Z D 5 又は F Z D 5 及び少な

50

くとも1つの他のF Z Dに結合し、L R P 5 / 6 共受容体のためのC末端結合ドメインが、L R P 5 / 6 共受容体結合ダイアボディを含む、四価結合抗体分子。

【請求項37】

第1及び第2の重鎖モノマーであって、各重鎖モノマーが、N末端からC末端に向かって、一本鎖ポリペプチドを含む、第1及び第2の重鎖モノマー：

(a) 以下に連結された、F Z D 5又はF Z D 4及びF Z D 5に結合する重鎖可変ドメイン(V H)

(b) 以下に連結された、重鎖定常領域ドメイン1(C H 1ドメイン)

(c) 以下に連結された、F c領域(又は定常重鎖ドメイン3(C H 3ドメイン))を含むその断片)

(d) L R P 5 / 6 共受容体に結合する軽鎖可変ドメイン(V L)に連結された、L R P 5 / 6 共受容体に結合するV Hを含むペプチド、及び

第1及び第2の軽鎖モノマーであって、各軽鎖モノマーが、N末端からC末端に向かって、定常軽鎖ドメイン1(C L 1ドメイン)に連結された、F Z Dに結合するV Lを含む、第1及び第2の軽鎖モノマー

を含む、請求項36に記載の四価結合抗体分子。

【請求項38】

(a) 配列番号986のホール重鎖構築物のアミノ酸配列を含む第1の重鎖、配列番号987のアミノ酸ノブ重鎖構築物を含む第2の重鎖、及び配列番号992の軽鎖構築物のアミノ酸配列を含む軽鎖、ここで、前記C D Rの前記アミノ酸配列は、A N T 8 0のC D Rのアミノ酸配列である；又は

(b) 配列番号988のホール重鎖構築物のアミノ酸配列を含む第1の重鎖、配列番号989のアミノ酸ノブ重鎖構築物を含む第2の重鎖、及び配列番号992の軽鎖構築物のアミノ酸配列を含む軽鎖、ここで、前記C D Rの前記アミノ酸配列は、A N T 9 8のC D Rのアミノ酸配列である；又は

(c) 配列番号990のホール重鎖構築物のアミノ酸配列を含む第1の重鎖、配列番号991のアミノ酸ノブ重鎖構築物を含む第2の重鎖、及び配列番号992の軽鎖構築物のアミノ酸配列を含む軽鎖、ここで、前記C D Rの前記アミノ酸配列は、A N T 9 9のC D Rのアミノ酸配列である；又は

(d) 配列番号986、配列番号988、及び配列番号990からなる群から選択されるホール重鎖構築物のアミノ酸配列を含む第1の重鎖；配列番号987、配列番号989、及び配列番号991からなる群から選択されるノブ重鎖構築物のアミノ酸を含む第2の重鎖；及び配列番号992の軽鎖構築物のアミノ酸配列を含む軽鎖

を含む、請求項1から37のいずれか一項に記載の四価結合抗体分子。

【請求項39】

請求項1から38のいずれか一項に記載の四価結合抗体分子及び薬学的に許容される担体を含む医薬組成物。

【請求項40】

有効量の請求項1から38のいずれか一項に記載の四価結合抗体分子を組織に投与することを含む、組織における内皮細胞バリア機能を促進する方法。

【請求項41】

前記組織が脳、腎臓又は眼組織である、請求項40に記載の方法。

【請求項42】

前記四価結合抗体分子が硝子体内注射によって眼組織に投与される、請求項41に記載の方法。

【請求項43】

炎症性腸疾患の処置を必要とする対象において炎症性腸疾患を処置する方法であって、有効量の請求項1から38のいずれか一項に記載の四価結合分子を前記対象に投与することを含む、方法。

【請求項44】

10

20

30

40

50

網膜又は脳内皮細胞バリア機能を増加させ、内皮細胞透過性を低下させ、血液網膜及び血液脳バリア維持を増強又は回復させることを必要とする対象において、網膜又は脳内皮細胞バリア機能を増加させ、内皮細胞透過性を低下させ、血液網膜及び血液脳バリア維持を増強又は回復させる方法であって、F Z D 4 受容体並びにL R P 5 及び／又はL R P 6 を含む内皮細胞を、有効量の請求項1から38のいずれか一項に記載の四価結合抗体分子と接触させることを必要とする対象において、F Z D 4 受容体並びにL R P 5 及び／又はL R P 6 を含む内皮細胞を、有効量の請求項1から38のいずれか一項に記載の四価結合抗体分子と接触させること含む、方法。

【請求項45】

前記四価結合抗体分子が、注射によって、局所的に、又は経口的に、それを必要とする対象に投与される、請求項43又は44に記載の方法。

【請求項46】

前記四価結合抗体分子が、皮下、静脈内、腹腔内、髄腔内、硝子体内又は眼内に投与される、請求項43又は44に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

配列表

本出願は、A S C I I 形式で電子的に提出された配列表を含み、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。2021年12月16日に作成された該A S C I I コピーの名称は117946__PD606WO1__FINAL.txtであり、サイズは989,433バイトである。

【背景技術】

【0002】

W n t シグナル伝達経路は、成体における胚発生及び組織恒常性にとって重要である。W n t シグナル伝達は、細胞表面膜上のF r i z z l e d (F Z D) 受容体がW n t リガンドと結合すると開始される。W n t リガンドは、増殖、分化、生存及び遊走などの様々な細胞プロセスを調節する分泌増殖因子である。

【0003】

10個のF r i z z l e d 細胞表面受容体 (F Z D) のネットワーク及び異なる細胞内シグナル伝達分岐の選択的関与をガイドするいくつかのコレセプターのうちの1つと相互作用する19個のW n t リガンドがヒトに存在する (W o d a r z , A . a n d N u s s e , R . A n n u . R e v . C e l l D e v . B i o l . 14 , 59-88 (1998) ; A n g e r s , S a n d M o o n , R . T . , t r a n s d u c t i o n . N a t . R e v . M o l . C e l l B i o l . 10 , 468-477 (2009)) 。 F Z D は、7つの疎水性膜貫通ドメイン及びシステインリッチなリガンド結合ドメインを含む保存された構造的特徴を有する。F Z D は、W n t 平面細胞極性 (P C P) 経路、標準W n t / β -カテニン経路、及びW n t / カルシウム経路として知られる3つの異なるシグナル伝達経路で機能することが知られている。W n t コレセプターの存在はまた、上に列挙した細胞内シグナル伝達カスケードの差次的関与を指示するためにも必要である。例えば、W n t リガンドは、F r i z z l e d 受容体及び低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質5及び6 (L R P 5 / 6) コレセプターファミリーのメンバーに結合してW n t / β -カテニン経路を活性化するか、又は受容体チロシンキナーゼ (R Y K) 若しくはタンパク質チロシンキナーゼ7 (P T K 7) コレセプターに関連する受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体1及び2 (R O R 1 / 2) と共に結合して代替の β -カテニン非依存性シグナル伝達経路を活性化する。

【0004】

W n t リガンドは、組織幹細胞の自己再生の制御及び多くの前駆細胞集団の調節に普遍的に重要であるが、W n t タンパク質の疎水性及び感受性の高い三次構造は、それらの生化学的精製を困難にし、インビトロ及びインビボでのそれらの使用を非効率的にする。W

10

20

30

40

50

n t シグナル伝達経路を活性化する四価結合抗体分子及びその使用方法が本明細書に記載される。

【発明の概要】

【0005】

W n t シグナル伝達経路を活性化する四価結合抗体分子及びその使用方法が本明細書に記載される。四価結合抗体分子は、F Z D 受容体、例えば、F r i z z l e d クラス受容体 1 (F Z D 1)、F r i z z l e d クラス受容体 2 (F Z D 2)、F r i z z l e d クラス受容体 3 (F Z D 3)、F r i z z l e d クラス受容体 4 (F Z D 4)、F r i z z l e d クラス受容体 5 (F Z D 5)、F r i z z l e d クラス受容体 6 (F Z D 6)、F r i z z l e d クラス受容体 7 (F Z D 7)、F r i z z l e d クラス受容体 8 (F Z D 8)、F r i z z l e d クラス受容体 9 (F Z D 9)、又は F r i z z l e d クラス受容体 10 (F Z D 10) と、W n t コレセプター、例えば、L R P 5 又は L R P 6 (L R P 5 / 6) の両方に結合し、それによって W n t シグナル伝達経路を活性化する。一実施形態では、四価結合抗体分子は、F Z D 4 受容体と、L R P 5 及び / 又は L R P 6 の両方に結合し、W n t / β -カテニンシグナル伝達経路を活性化する。本発明の四価結合抗体分子は、本明細書では「F Z D アゴニスト」、F r i z z l e d 及び L R P 5 / 6 アゴニスト (F L A g)、いくつかの実施形態では「A N T s」とも呼ばれる。

10

【0006】

四価結合抗体分子は、C H 2 ドメイン及び C H 3 ドメインから構成される F c ドメイン又は C H 3 ドメインを含むその断片と、1 つ又は複数の F Z D 受容体、例えば、F Z D 1、F Z D 2、F Z D 3、F Z D 4、F Z D 5、F Z D 6、F Z D 7、F Z D 8、F Z D 9 及び F Z D 10 のうちの 1 つ又は複数と相互作用する第 1 の二価結合ドメインと、W N T コレセプター、例えば、L R P 5 又は L R P 6 に結合する第 2 の二価結合ドメインとを含み、F Z D 結合ドメインは F c ドメインの一方の末端に結合し、コレセプター結合ドメインは F c ドメインの他方の末端に結合している。したがって、F Z D 受容体に対する結合ドメイン及び W N T コレセプターに対する結合ドメインは直接連結されておらず、むしろ、それらは、F c ドメイン又は C H 3 ドメインを含むその断片によって分離されている。

20

【0007】

F Z D アゴニストの F c ドメインは、エフェクター機能の有無にかかわらず、免疫グロブリンの F c ドメインであり得る。免疫グロブリンは、I g G、例えば I g G₁ であり得る。本発明の一実施形態では、四価結合抗体分子は、各ポリペプチド中の F c 領域が二量体化する固有の能力を介して、又は F c 内のノブ-イン-ホール (k n o b - i n - h o l e) 配置を介して二量体化する F c 領域を含む 2 つのポリペプチドを含む。したがって、F c 二量体は、ヘテロ二量体又はホモ二量体であり得る。ノブ-イン-ホール配置を介してペプチドを二量体化する方法は、国際公開第 2018 / 026942 号、発明者 V a n D y k e t a l . , C a r t e r P . (2001) J . I m m u n o l . M e t h o d s 248, 7-15; R i d g w a y e t a l . (1996) P r o t e i n E n g . 9, 617-621; M e r c h a n t , e t a l . (1998) N a t . B i o t e c h n o l . 16, 677-681、及び; A t w e l l e t a l . , (1997) J . M o l . B i o l . 270, 26-35 に記載されており、すべて参照により本明細書に組み込まれる。

30

40

【0008】

一実施形態では、本明細書に記載の F Z D アゴニストの各結合ドメインは二価であり、それぞれ単一特異性であってもよく、F Z D 受容体、例えば F Z D 4、又は W n t コレセプター、例えば L R P 5 / 6 の同じエピトープに対する 2 つの結合部位を有するか、又は F Z D 又は W n t コレセプター上の異なるエピトープに各部位が結合する 2 つの結合部位、例えば L R P 5 / 6 の細胞外ドメイン内の W n t 1 結合 (ドメイン E 1 ~ E 2) 部位及び L R P 5 / 6 コレセプター内の W n t 3 結合部位 (L R P 5 / 6 の細胞外ドメイン内のドメイン E 3 ~ E 4) を有する二重特異性であってもよい。一実施形態では、L R P 5 / 6 結合ドメインは、L R P 5 上の W n t 3 A 部位 (ドメイン E 3 ~ E 4) に結合し、L R

50

P 6 上の W n t 3 A 部位（ドメイン E 3 ～ E 4）に結合する。

【0009】

本発明の実施形態では、F Z D アゴニストの F c ドメインに連結された F Z D 結合ドメインは、F Z D、例えば F Z D 4 に結合する1つ又は複数の免疫グロブリン重鎖可変ドメイン（V H）断片及び／又は1つ又は複数の免疫グロブリン軽鎖可変ドメイン（V L）断片を含む。本発明の一実施形態では、F Z D 結合ドメインは、F Z D 上の同じ又は異なるエピトープに結合する F a b、ダイアボディ又は一本鎖可変断片（s c F v）単ドメイン抗体断片、例えば V_HH、又はそれらの組み合わせを含んでもよい。

【0010】

本発明の一実施形態において、F Z D 結合ドメインの V H 及び／又は V L は、F Z D 4 又は F Z D 5 に結合し、表 1、表 2 又は表 6 の F Z D 4 又は F Z D 5 結合抗体の軽鎖 C D R 及び重鎖 C D R を含み、並びに／あるいは、表 1、表 2 又は表 6 の F Z D 4 抗体の C D R と 50 %、55 %、60 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 % 又は 99 % 同一であり、依然として F Z D 4 又は F Z D 5 受容体への結合を保持する軽鎖 C D R 及び重鎖 C D R を含む。例えば、本発明の一実施形態では、F Z D 結合ドメインは、第 1 の重鎖（C D R - H 1）、第 2 の重鎖（C D R - H 2）及び／又は第 3 の重鎖（C D R - H 3）（F Z D に結合する V H は、配列番号 2 4、配列番号 3 6 5 若しくは配列番号 8 9 3 の C D R - H 1、配列番号 5 1、配列番号 6 1、配列番号 4 6 2 若しくは配列番号 8 9 4 の C D R - H 2 及び／又は配列番号 7 9、配列番号 9 0、配列番号 4 8 4 若しくは配列番号 8 9 5 の C D R - H 3 を含んでもよい）と、第 1 の軽鎖（C D R - L 1）、第 2 の軽鎖（C D R - L 2）及び／又は第 3 の軽鎖（C D R - L 3）（F Z D に結合する V L は、配列番号 1、配列番号 3 若しくは配列番号 1 2 の C D R - L 1、配列番号 2、配列番号 3 若しくは配列番号 1 2 の C D R - L 2 及び／又は配列番号 3、配列番号 1 2、配列番号 2 8 5 若しくは配列番号 8 9 6 の C D R - L 3 を含んでもよい）とを含んでもよい。

【0011】

本発明の実施形態では、F Z D アゴニストの F c ドメインに連結されたコレセプター（L R P 5 / 6）結合ドメインは、W n t コレセプター、例えば L R P 5 及び／又は L R P 6 に結合する1つ又は複数の免疫グロブリン重鎖可変ドメイン（V H）断片及び／又は1つ又は複数の免疫グロブリン軽鎖可変ドメイン（V L）断片を含む。例えば、本発明の一実施形態では、L R P 結合ドメインは、第 1 の重鎖（C D R - H 1）、第 2 の重鎖（C D R - H 2）及び／又は第 3 の重鎖（C D R - H 3）（L R P に結合する V H は、配列番号 5 2 7、配列番号 5 2 8、配列番号 5 3 6、配列番号 7 1 6、若しくは配列番号 7 2 0 の C D R - H 1、配列番号 5 5 2、配列番号 5 5 3、若しくは配列番号 5 6 6、配列番号 7 8 5、若しくは配列番号 7 9 1 の C D R - H 2 及び／又は配列番号 5 8 4、配列番号 5 8 5、配列番号 5 8 6 若しくは配列番号 6 0 3、配列番号 8 5 6 若しくは配列番号 8 6 2 C D R - H 3 の C D R - H 3 を含んでもよい）と、第 1 の軽鎖（C D R - L 1）、第 2 の軽鎖（C D R - L 2）及び／又は第 3 の軽鎖（C D R - L 3）（L R P に結合する V L は、配列番号 1 の C D R - L 1、配列番号 2、若しくは配列番号 4 9 1 の C D R - L 2 及び／又は配列番号 1 3 0、配列番号 4 9 2、配列番号 4 9 3、配列番号 5 1 0、配列番号 6 2 3 若しくは配列番号 6 6 5 の C D R - L 3 を含んでもよい）とを含んでもよい。

【0012】

本発明の一実施形態では、W n t コレセプター結合ドメインは二価であり、ダイアボディを含んでもよく、又は、コレセプター上の同じ若しくは異なるエピトープに結合するための F a b、一本鎖可変断片（s c F v）若しくは単ドメイン抗体断片（V_HH）若しくはそれらの組み合わせを含んでもよい。本発明の実施形態では、W n t コレセプター結合ドメインの V H 及び V L は、表 3、表 4 又は表 6 の L R P 5 及び／又は L R P 6 結合抗体の軽鎖 C D R 及び／又は重鎖 C D R を含むか、又は、表 3、表 4 又は表 6 の L R P 5 及び／又は L R P 6 抗体の C D R と 50 %、55 %、60 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 % 又は 99 % 同一であり、依然として L R P 5 及び

／又はLRP6コレセプターへの結合を保持する軽鎖CDR及び／又は重鎖CDRを含む。

【0013】

本発明の一実施形態では、本明細書に記載のFZDアゴニストのFcドメインに連結されたWntコレセプター結合ドメインは、軽鎖可変ドメイン（VL又はVLドメイン）に連結された重鎖可変ドメイン（VH又はVHドメイン）をそれぞれが含む2つのペプチドによって形成されたダイアボディを含み、一方のペプチド由来のVH及びVLが他方のペプチドのVL及びVHと対になってダイアボディを形成する。この構成では、結合ドメインは、Wntコレセプター、例えばLRP5又はLRP6に結合する2つの結合部位を有する。ダイアボディは、コレセプター上の同じ部位に単一特異性に結合していてもよく、又はコレセプター上の2つの異なる部位に二重特異性（bs）に結合していてもよい。ノブ-イン-ホールFc配置を使用することによって、Fc領域に連結されたVH及びVLを含むペプチドは、同一でなくてもよいが、依然として対合し、Wntコレセプター（例えば、LRP5又はLRP6）上の2つの異なる部位に結合することができる二重特異性結合ドメインを形成する。

10

【0014】

結合ドメインを形成するダイアボディ、V_HH、scFv、及びFabを形成するペプチドは、所望の標的への結合のために選択される抗体、「ソース抗体」に由来し得る。FZD結合ドメインの場合、「FZDソース抗体」は、FZD受容体の1つ又は複数、例えばFZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9及びFZD10の1つ又は複数に結合し、Wntシグナル伝達に拮抗するか、又は所与のFZD受容体（複数可）へのWnt結合を阻害する抗体であり得る。あるいは、FZDソース抗体は、Wntシグナル伝達に拮抗することなく、又はFZD受容体へのWnt結合を阻害することなく、FZD受容体（複数可）に結合する抗体であり得る。同様に、コレセプター結合ドメインの場合、「コレセプターソース抗体」は、Wntコレセプター、例えばLRP5／6に結合し、Wntシグナル伝達に拮抗するか、又はWntコレセプターへのWnt結合を阻害する抗体であり得る。あるいは、コレセプターソース抗体は、Wntシグナル伝達に拮抗することなく、又はコレセプターへのWnt結合を阻害することなく、コレセプター、例えばLRP5／6に結合する抗体であり得る。

20

【0015】

本発明の一実施形態では、FZDアゴニストのFZD結合ドメインは、特異的FZD、例えばFZD4に対して、他のFZD、すなわちFZD1、FZD2、FZD3、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9及びFZD10よりも高い親和性で特異的に結合し得るか、又はFZD受容体ファミリーの1つ又は複数の他のメンバーに結合する汎特異的であり得る。一実施形態では、FZD結合ドメインは、任意の他のFrizzledファミリーメンバーへの結合の10倍を超える親和性で、あるFZDに特異的に結合する。

30

【0016】

本発明の一実施形態では、FZDアゴニストはFZD4に結合する（「FZD4アゴニスト」）。FZD4アゴニストのFZD4結合ドメインは、FZD4に特異的に結合して、他のFZDよりも高い親和性でFZD4に結合し得るか、又はFZD4及びFZD受容体ファミリーの1つ又は複数の他のメンバー、例えば、Frizzledクラス受容体1（FZD1）、Frizzledクラス受容体2（FZD2）、Frizzledクラス受容体3（FZD3）、Frizzledクラス受容体5（FZD5）、Frizzledクラス受容体6（FZD6）、Frizzledクラス受容体7（FZD7）、Frizzledクラス受容体8（FZD8）、Frizzledクラス受容体9（FZD9）又はFrizzledクラス受容体10（FZD10）に汎特異的に結合し得る。一実施形態では、FZD結合ドメインは、上に列挙した任意の他のFrizzledファミリーメンバーの10倍を超える親和性で、FZD4に特異的に結合する。

40

【0017】

50

本発明の一実施形態では、F Z D アゴニストはF Z D 5に結合する（「F Z D 5 アゴニスト」）。F Z D 5 アゴニストのF Z D 5 結合ドメインは、F Z D 5 に特異的に結合し、他のF Z D よりも高い親和性でF Z D 5 に結合してもよく、又はF Z D 5 及びF Z D 受容体ファミリーの1つ又は複数の他のメンバー、例えばF Z D 1、F Z D 2、F Z D 3、F Z D 4、F Z D 6、F Z D 7、F Z D 8、F Z D 9若しくはF Z D 10に結合する汎特異性であってもよい。一実施形態では、F Z D 結合ドメインは、上に列挙した任意の他のF r i z z l e dファミリーメンバーの10倍を超える親和性で、F Z D 5 に特異的に結合する。

【0018】

本発明のF Z D アゴニストの一実施形態では、W n t コレセプター結合ドメインは、単一特異性二価L R P 5 / 6 コレセプター結合ドメインであり、L R P 5 及び／又はL R P 6 コレセプター上の単一エピトープ、例えば、W n t 1 に結合する（L R P 5 又はL R P 6 のE 1 ~ E 2 ドメイン）又はW n t 3 a に結合する（L R P 5 又はL R P 6 のE 3 ~ E 4 ドメイン）L R P 5 及び／又はL R P 6 コレセプターのエピトープに結合する。本発明の一実施形態では、コレセプター結合ドメインは、L R P 5 及び／又はL R P 6 コレセプター細胞外ドメイン内の2つのエピトープに結合する二重特異性二価L R P 5 / 6 結合ドメインであり、例えば、コレセプター結合ドメインは、L R P 5 及び／又はL R P 6 コレセプターのW n t 1（E 1 ~ E 2）及びW n t 3（E 3 ~ E 4）エピトープと相互作用する。本発明の一実施形態では、コレセプター結合ドメインは、L R P 5 及びL R P 6 の細胞外ドメインに結合する二重特異性二価結合ドメインであり、例えば、ドメインは、L R P 5 コレセプターのW n t 1（E 1 ~ E 2）エピトープ及びL R P 6 コレセプターL R P 5 のW n t 1（E 1 ~ E 2）エピトープと相互作用するか、又はドメインは、L R P 5 コレセプターのW n t 3 a（E 3 ~ E 4）エピトープ及びL R P 6 コレセプターのW n t 3 a（E 3 ~ E 4）エピトープと相互作用するか、あるいはドメインは、L R P 5 コレセプターW n t 1（E 1 ~ E 2）エピトープ及びL R P 6 コレセプターのW n t 3 a（E 3 ~ E 4）エピトープと相互作用するか、又はその逆である。

【0019】

本明細書に記載の四価結合抗体分子の様々なフォーマットを図6に示す。特定のフォーマットでは、ダイアボディーF c - F a b、L R P 5 / 6 結合ダイアボディがF c ドメインのN末端に連結されており、2つのF a bがF c ドメインのC末端に連結されており、F a bはF a b 重鎖（V H）可変ドメインを介してF c ドメインのC H 3 に連結されている。あるいは、F a bは、軽鎖の可変領域（V L）を介してF c ドメインのC H 3 に連結されている。

【0020】

本発明者らは以前に、F c ドメイン、F Z D 結合ドメイン及びW n t コレセプター（L R P 5 / 6）結合ドメインをF c ドメインの反対末端に含む多価結合分子、例えば、F c ドメインの一方の末端に連結されたF Z D 4 ダイアボディ及びF c ドメインの他方の末端に連結されたL R P 5 / 6 結合ダイアボディを有する分子を報告した（いずれも参照によりその全体が組み込まれるP C T / I B 2 0 1 9 / 0 5 1 1 7 4 発明者A n g e r s ら及びP C T / I B 2 0 2 0 / 0 5 5 4 6 3 発明者A n g e r s らを参照のこと）。

【0021】

特にF Z D 4 の活性化を介したW n t - β カテニンシグナル伝達が、脈管構造の発達及び成体脈管構造の恒常性にとって重要であることが報告されている。より具体的には、血液網膜関門及び血液脳関門（B R B 及びB B B）のバリア機能にとって重要である。F Z D 4 シグナル伝達の欠陥は内皮細胞透過性の欠陥をもたらし得、この経路内の遺伝子変異は血管欠陥をもたらすことが知られている（例えば、ノーリー病、F E V R）。血液網膜関門において、細胞外リガンドであるN o r r i n は、F Z D 4 - T S P A N 1 2 - L R P 5 複合体を主に活性化して、内皮細胞間相互作用、バリア機能及び透過性を調節する（W a n g e t a l .（2012）N o r r i n / F r i z z l e d 4 s i g n a l i n g i n r e t i n a l v a s c u l a r d e v e l o p m e n t a n d

10

20

30

40

50

blood brain barrier plasticity. Cell. 151: 1332-1344)。血液脳関門において、分泌されたWnt7a/b成長因子は、主にFZD4-GPR124-LRP6受容体複合体を活性化する(Changら、(2017)。GPR124は、中枢神経系疾患における血液脳関門の完全性に不可欠である。(Nat. Med. 23: 450-460)。本明細書に記載のFZD4アゴニスト、例えば、LRP5/6に対するダイアボディ結合ドメインと、FZD4に結合する2つのFab断片から構成されるFZD4結合ドメインとを有し、各結合ドメインがFcドメインの反対末端にある構成は、バリア機能の増加及び血管透過性の低下につながる内皮細胞におけるWnt-βカテニンシグナル伝達経路活性化が予想外に高レベルである、特に安定で均質な分子を産生する(図11)。本質的に、本明細書に記載のFZD4アゴニストは、Norrin及びWnt7a/b模倣分子として機能する。

10

【0022】

本発明はまた、本明細書中に記載されるFZDアゴニストを使用するための方法を含む。FZD受容体及びWntコレセプター、例えば、細胞上のFZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9及びFZD10受容体並びにLRP5及び/又はLRP6コレセプターの1つ又は複数の近接を促進することが企図される本発明の四価結合抗体分子を使用して、Wntシグナル伝達経路、例えばWnt/β-カテニンシグナル伝達経路を活性化する方法であって、FZDアゴニストによるFZD受容体(複数可)並びにLRP5及び/又はLRP6コレセプター(複数可)の両方への結合がWntシグナル伝達経路を活性化する方法が本明細書に記載される。

20

【0023】

血液網膜関門(BRB)形成及び網膜血管新生には、リガンドノルリン(NDP[ノーリー病タンパク質])、受容体FZD4、コレセプターLRP5、及びTSPAN12(テトラスパニン12)によって誘導されるβカテニンシグナル伝達が必要である。したがって、本発明の一態様は、眼組織、例えば網膜組織を有効量の本発明の四価FZD4アゴニストで処理することによって、網膜血管系バリア機能及び血管形成を促進及び/又は維持する方法である。

【0024】

また、本発明の一態様は、本明細書に記載の四価FZD4アゴニストの有効量でBRB又はBBB脈管構造を処理することによって、BRB及びBBB機能を促進、回復及び/又は維持する方法である。本発明のさらなる態様は、血管漏出をもたらす内皮細胞バリア機能の低下を特徴とする網膜血管新生又は脳血管新生の欠陥を特徴とする障害又は状態を有する対象を、そのような対象に有効量の本発明のFZD4アゴニストを投与することによって処置する方法である。本発明のさらなる態様は、網膜若しくは脳の血管新生の欠陥を特徴とする、並びに/又は内皮細胞バリア機能の低下及び/若しくは血管漏出を特徴とする障害又は状態の処置又は予防に使用するための、FZD4/LRP5四価結合抗体分子又は医薬組成物である。本発明のさらなる態様は、網膜若しくは脳の血管新生の欠陥並びに/又は内皮細胞バリア機能の低下及び/若しくは血管漏出を特徴とする障害又は状態を処置又は予防する方法であって、治療有効量の本明細書に記載のFZD4/LRP5四価結合抗体分子を、それを必要とする者に投与することを含む方法。本発明のさらなる態様は、網膜若しくは脳の血管新生の欠陥並びに/又は内皮細胞バリア機能の低下及び/若しくは血管漏出を特徴とする障害又は状態を処置又は予防するための医薬を製造するためのFZD4/LRP5四価結合抗体分子の使用である。そのような障害又は状態には、それだけに限らないが、網膜又は黄斑の障害を含む眼の障害が含まれる。網膜又は黄斑のそのような障害には、糖尿病性網膜症、未熟児網膜症、コーツ病、FEVR、ノーリー病、黄斑変性、糖尿病性黄斑浮腫、及び小児硝子体網膜症が含まれるが、これらに限定されない。本発明の実施形態に含まれるさらなる障害又は状態には、アルツハイマー病、てんかん、多発性硬化症、虚血及び脳卒中が含まれるが、これらに限定されない。

30

40

【0025】

本発明の一実施形態は、オルガノイド全体にわたって血管系ネットワークのバリア機能

50

を促進し、それによって、有効量の本明細書に記載の四価 F Z D 4 アゴニストを使用して血液脳関門機能を模倣することによって血管新生脳オルガノイドを産生する方法を含む。

【0026】

また、本発明の実施形態は、炎症性腸疾患としても知られる腸の全部又は一部の炎症を有する対象を含む胃腸障害に罹患している対象を、このような対象に有効量の本発明の医薬組成物、例えば F Z D 5 アゴニストを含む組成物を投与することによって処置する方法である。炎症性腸疾患の例としては、クローン病及び潰瘍性大腸炎が挙げられるが、これらに限定されない。

【0027】

また、本発明の一実施形態は、有効量の本発明の四価結合抗体分子の存在下で i P S 細胞又は他の多能性幹細胞 (P S C) を培養することによってこれらの細胞を様々な系統に分化させるための方法である。

【0028】

本発明の四価結合抗体分子を作製するための方法も本明細書に記載される。

【0029】

本発明のモジュール態様は、F c ドメインの反対末端にある F Z D 結合抗体及び L R P 5 / 6 結合抗体に由来する結合ドメインを混合及び適合させて、F Z D - L R P 5 / 6 コレセプター複合体と係合して W n t シグナル伝達を選択的に活性化することができる四価結合抗体分子を生成することを可能にする。本明細書に記載の W n t シグナル伝達経路を活性化するための四価結合抗体分子のモジュール性及び有効性は、一価 F Z D 及び W n t コレセプター結合リガンド、又は結合リガンドが F c ドメインの両端に結合していない F Z D 及び W n t コレセプター結合リガンドからなる先行技術に記載の W n t 代用物とは対照的である。

【図面の簡単な説明】

【0030】

【図1A】単一点 E L I S A。

【図1B】単一点 E L I S A。既知の F Z D 4 結合抗体 5 0 4 4 (図1A) 及び 5 0 2 7 (図1B) の親和性成熟ライブラリから単離された F Z D 4 結合抗体は、それらの親抗体と競合する F Z D 4 部位に結合する。1 M H₃ P O₄ を添加することによって反応を停止させ、マイクロタイタープレートリーダーで 4 5 0 n m で吸光度を分光光度計で測定した。白色 = B S A ; 黒と白のストライプ = F c ; 灰色 = F Z D 4 + ブロッキング抗体 ; 黒 = F Z D 4 である。

【図2】F Z D 4 抗体のエピトープマッピング。F Z D 4 並びに 5 0 2 7 及び 5 0 4 4 は、重複するエピトープを有する。p a n - F Z D 結合剤 5 0 1 6 は、「F Z D 4 _ S w a p 1 0」を除いて、抗原が機能的であることを示す陽性対照である。F Z D 4 特異的抗体 5 0 2 7 及び 5 0 4 4 は両方とも「F Z D 4 _ S w a p 7」に結合することができず、これらの分子が F Z D _ E C D のこの領域に結合することを示唆している。

【図3A】サイズ排除クロマトグラフィ (S E C)。トラスツズマブと比較した F Z D 4 抗体の分析。タンパク質溶出を、2 8 0 n M の吸光度を用いてモニターした。

【図3B】E L I S A 特異性。F Z D 4 に対する、並びに F Z D 4 に最も密接に関連する F Z D ファミリーの2つのメンバーである F Z D 1 及び F Z D 1 0 に対する F Z D 4 抗体の測定。1 M H₃ P O₄ を添加することによって反応を停止させ、マイクロタイタープレートリーダーで 4 5 0 n m で吸光度を分光光度計で測定した。

【図4】L R P 5 を標的とする合成抗体のファージクローン E L I S A。結果は、合成抗体が L R P 5 に結合したことを実証している。吸光度を、マイクロタイタープレートリーダーにおいて 4 5 0 n m で分光光度計で測定した。灰色 = B S A ; 淡い灰色 = h i s - F c ; 濃い灰色 = L R P 5

【図5A】L R P 6 を標的とする合成抗体のファージクローン E L I S A。

【図5B】L R P 6 を標的とする合成抗体のファージクローン E L I S A。結果は、合成抗体が L R P 6 に結合したことを実証している。吸光度を、マイクロタイタープレートリ

10

20

30

40

50

ーダーにおいて450nmで分光光度計で測定した。黒色＝BSA；灰色＝Fc；淡い灰色＝LRP6-Fc。

【図6】四価結合抗体分子のモダリティ。例示されるのは、FcドメインのN末端にFZD結合単一特異的ダイアボディを有し、FcドメインのC末端にLRP5／6結合二重特異的ダイアボディを有するダイアボディーFc-ダイアボディフォーマット；N末端LRP5／6結合二重特異性ダイアボディと、2つのC末端FZD結合scFvとを有するダイアボディーFc-scFvフォーマット；N末端結合ドメインを形成する2つのFZD結合Fabと、C末端結合ドメインを形成する二重特異性LRP5／6結合ダイアボディとを有するIgG-ダイアボディフォーマット；N末端結合ドメインを形成する2つのFZD結合Fabと、C末端結合ドメインを形成する2つのLRP5／6結合scFvとを有するIgG-scFvフォーマット、及び；N末端結合ドメインを形成する二重特異性LRP5／6結合ダイアボディと、C末端結合ドメインを形成する2つのFZD結合Fabとを有するダイアボディーFc-Fabフォーマットであって、FabがFab可変重鎖領域を介してFcドメインのCH3に連結されている、ダイアボディーFc-Fabフォーマットである。別のダイアボディーFc-Fabフォーマットでは、FabがFab可変軽鎖領域を介してFcドメインのCH3に連結されることが特に企図される。四価分子の様々なドメイン、VL、VH、CH1、CH2、CH3、CL1及びFcは、リンカー、例えばペプチドリッカーを介して連結される。Fcドメインは、ホール構築物Fc領域及びノブ構築物Fc領域のCH2及びCH3ドメインの二量体化によって形成される。四価分子の様々なドメイン、VL、VH、CH1、CH2、CH3、CL1及びFcは、リンカー、例えばペプチドリッカーを介して連結される。

【図7】ダイアボディーFc-Fabフォーマットを有するFZD4アゴニスト。二価二重特異性N末端LRP5結合ドメインを形成するLRP5結合二重特異性ダイアボディと、二価単一特異性C末端FZD4結合ドメインを形成する2つのFZD4結合Fabと、アミノ酸変異（例えばN297G（NG）及びD265A（DANG）バリエーション）に起因する減弱されたエフェクター機能を有するFc領域とを有する、ダイアボディーFc-Fabフォーマット。四価分子の様々なドメイン、VL、VH、CH1、CH2、CH3、CL1及びFcは、リンカー、例えばペプチドリッカーを介して連結される。

【図8】ダイアボディーFc-Fabフォーマット（ANT）を有するFZD4アゴニストは、FZD4に高い選択性で結合する。図8Aは、バイオレイヤー干渉法（BLI）によって決定された場合の、10個のFZDのうちの9個の組換え細胞外ドメイン（ECD）に対するFZD4アゴニストの見かけの選択性を示す。図8Bは、FZDアゴニストが一般的な非特異的抗原を認識しないことを実証する。Mouquetらに記載されているように、FZDアゴニストを抗原のパネルへの結合について100nMで試験した。多反応性は、ヘテロオリゴマー化によって抗HIV抗体の見かけの親和性を増加させる。Nature. 2010 Sep; 467 (7315): 591-595. DOI: 10.1038/nature09385, PMC3699875、及びJain T. et al. Biophysical properties of the clinical-stage antibody landscape. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2017 Jan; 114 (5): 944-949. DOI: 10.1073/pnas.1616408114, PMC5293111.

【図9】ダイアボディーFc-Fabフォーマット（LRP結合二重特異性ダイアボディ及び2つのFZD4結合Fabを有する）を有するFZD4アゴニスト（ANT）は、溶液中で安定であり、単量体である。図9Aは、トラスツズマブIgGと比較したFZDアゴニストの分析SEC分析の結果を示す。図9Bは、ダイアボディーFc-FabフォーマットのFZD4アゴニストがトラスツズマブと同様の熱変性プロファイルを有するが、第一世代ダイアボディーFc-ダイアボディFZD4モダリティ（CM0199）は最適性が低いことを実証する示差走査蛍光定量法の結果を示す。

【図10】ダイアボディーFc-Fabフォーマット(ANT)を有するFZD4-LRP5特異的FZD4アゴニスト。このフォーマットのFZD4-LRP5特異的FZD4アゴニストは、マウス内皮細胞株(bEND3.1)においてFZD4を刺激し、濃度依存的にAxin2(ベータカテニン標的遺伝子)遺伝子転写の増加をもたらす。

【図11A】ダイアボディーfc-ダイアボディフォーマットを有するFZD4-LRP5特異的アゴニストが、VEGF誘導性透過性に対抗する機構において内皮細胞バリア機能を促進することを示す。

【図11B】ダイアボディーfc-ダイアボディフォーマットを有するFZD4-LRP5特異的アゴニストが、VEGF誘導性透過性に対抗する機構において内皮細胞バリア機能を促進することを示す。図11Aは、bEnd.3細胞接合部上のZO-1/CLDN3及びZO-1/CLDN5局在化の免疫蛍光を示す。bEnd.3細胞を、VEGF(100ng/ml)の存在下又は非存在下、30nMのF4L5.13(別名CM0199)及びNorrin(NDP)で1時間処理し、又は処理しなかった。一番上の列から始まって下に向かう:NT(未処理)は透過性の変化を示さない;bEND3.1細胞のVEGF処理は、CLDN3、CLDN5及びZO-1の原形質膜染色の喪失によって見られる接合部解離をもたらす;VEGF及びFZD4アゴニストCM0199(F4L5.13)による細胞の同時処理は、VEGF単独の効果のほぼ完全な救済をもたらす;図11Aの最後の列は、VEGF及びNDPによる細胞の同時処理を示し、同様にVEGF単独の効果のほぼ完全な救済をもたらす、本明細書に記載のFZD4アゴニストがNorrin及びWnt7a/b模倣分子として機能することを示唆している。図11Bは、bEnd.3細胞の単層を通るFITC-デキストランの通過を定量する経内皮透過性アッセイを示す。FITC-デキストランの通過を、bEnd.3細胞を100ng/mlのVEGF、30nMのF4L5.13、若しくはその両方に曝露した後、又はVEGFで1時間前処理した後、F4L5.13で1時間処理した後に測定した。データは平均±SDとして提示し、n=5の独立した実験である。有意性は、ボンフェローニの多重比較検定による一元配置分散分析によって計算した(VEGF処理と比較して*P<0.05)。

【図12】単一点ELISA。親和性成熟ライブラリから同定された2919と重複する部位でFZD5の細胞外ドメインに結合するFZD5抗体。新規FZD5抗体は、親和性成熟ライブラリから同定された2919と重複する部位でFZD5に結合する。単一点ELISAを、飽和濃度の2919 IgGの存在下又は非存在下で、ヒトFZD5タンパク質のECDでコーティングした96ウェルMaxisorpプレートで実施した。吸光度を、マイクロタイタープレートリーダーにおいて450nmで分光光度計で測定した。白に黒のストライプ=BSA;黒に白のストライプ=Fc;灰色=FZD5+ブロッキング抗体;黒色=FZD5。

【図13】単一点ELISAは、2928個の親和性成熟ライブラリからの新規FZD5抗体は、FZD5に選択的に結合することを実証する。2928個の親和性成熟ライブラリからの新規FZD5抗体は、FZD5に選択的に結合する。ヒトFZD2、FZD5又はFZD8タンパク質のECDでコーティングした96ウェルMaxisorpプレート上で、単一点ELISAを実施した。吸光度を、マイクロタイタープレートリーダーにおいて450nmで分光光度計で測定した。黒に白のストライプ=Fc;白に黒のストライプ=FZD2;灰色=FZD8;黒色=FZD5。

【図14】ルシフェラーゼアッセイ。Pan-FZD/LRP6 ANT9及びFZD5特異的/LRP6 ANT59は、細胞内のWntシグナル伝達を活性化する。TOPFLASH細胞を様々な濃度のFZDアゴニスト又は非標的化対照分子(CM0156)で一晩処理し、TCF/LEF駆動ルシフェラーゼ発現を、標準的なルシフェラーゼアッセイを使用して測定した。両方の分子は、FZD媒介ルシフェラーゼ発現を濃度応答性様式で活性化することができる。ANT9は、10個のFZD受容体サブタイプのうちの7個に結合することができ、FZD5特異的ANT59よりも高い最大活性化シグナルを生じる。

10

20

30

40

50

【図15】元のフォーマットANT39及び反転フォーマットANT39i。ダイアボディーFc-Fabフォーマットを有するFZD4アゴニストANT39、並びに、IgG-ダイアボディフォーマット（N末端結合ドメインを形成する2つのFZD結合Fab及びC末端結合ドメインを形成する二重特異性LRP5/6結合ダイアボディを有する）及びFcドメインを有するFZD4アゴニストANT39i。ANT39iのFZD結合ドメインは、FcドメインのN末端に結合した2つのFab断片を含み、各FabはFZDに結合する。LRP5/6コレセプター結合ドメインは、FcドメインのC末端に結合しており、コレセプター上の2つの異なる部位、例えばLRP5/6上のWnt1部位（E1-E2）及びWnt3部位（E3-E4）に結合するダイアボディから構成される。Fabは、特定のFZD、例えばFZD4に特異的であってもよく、又は汎特異的であってもよく、1つよりも多くのFZD、例えばFZD4及び1つ又は複数の他のFZDに結合してもよい。Fc領域は、アミノ酸変異、例えばN297G（NG）及びD265A（DANG）バリエーションにより、弱められたエフェクター機能を有し得る。四価分子の様々なドメイン、VL、VH、CH1、CH2、CH3、CL1及びFcは、リンカー、例えばペプチドリリンカーを介して連結される。

10

【図16A】ダイアボディーFc-Fabフォーマットを有するFZD4アゴニストANT39（二価二重特異性N末端LRP5結合ドメインを形成するLRP5結合二重特異性ダイアボディ及び二価単一特異性C末端FZD4結合ドメインを形成する2つのFZD4結合Fabを有する）を示し、Fc領域は、N297G及びD265A（DANG）バリエーション又はL234A、L235A、P331S（LALAPS）バリエーションに対するアミノ酸変異に起因するエフェクター機能が弱まっており、Fc領域は、ノブ-イン-ホールのヘテロ二量体化バリエーションMerrimack、Merchant又はMerchant S:S（WO2018/026942A1に記載のMerrimack CH3変異、Merchant A.M. et al Nature Biotechnology 1998 vol 16 p677-681に記載のMerchant CH3変異）をさらに含む。図16Aは、出現順にそれぞれ配列番号886、892、891、886、892、891、886、892、891、886、892、及び891を開示する。

20

【図16B】IgG-Fc-ダイアボディフォーマット（FcドメインのN末端に結合した2つのFab断片（各FabはFZDに結合する）及びFcドメインのC末端に結合したLRP5/6コレセプター結合ドメイン（コレセプター上の2つの異なる部位に結合するダイアボディから構成される）を有する）及びDANG又はLALAPSバリエーション及びMerrimack、Merchant又はMerchant S:Sヘテロ二量体化バリエーションによるエフェクター機能が減弱したFc領域を有するFZD4アゴニストANT39iを示す。図16Bは、出現順にそれぞれ配列番号891、886、891、886、891、886、891、及び886を開示する。

30

【図17】ANT39バリエーションの熱安定性。図17は、FZD4アゴニストANT39のLALAバリエーション（ANT39 LALA）が、親ANT39（Fc中にDANG変異を含む）と比較して改善された熱安定性を有することを示す。差走査蛍光定量法実験の結果を示す。具体的には、LALAバリエーションは、ANTと同じノブ/ホールFc変異を含むトラスツズマブのバリエーションのプロファイルにより近い改善された熱安定性を示した。

40

【図18】ダイアボディーFc-Fabフォーマットを有するFZD4アゴニストANT42。二価二重特異性N末端LRP5結合ドメインを形成するLRP5結合二重特異性ダイアボディ及び二価単一特異性C末端FZD4結合ドメインを形成する2つのFZD4結合Fabを有するFZD4アゴニストは、ANT42、Fc領域は、N297G及びD265A（DANG）バリエーション又はL234A、L235A、P331S（LALAPS）バリエーションに対するアミノ酸変異に起因するエフェクター機能が弱まっており、Fc領域は、ノブ-イン-ホールのヘテロ二量体化バリエーションMerrimack、Merchant又はMerchant S:S（WO2018/026942A1に記載のMer

50

rimack CH3変異、Merchant A. M. et al Nature Biotechnology 1998 vol 16 p677-681に記載のMerchant CH3変異)をさらに含む。FZD4アゴニストANT42iは、IgG-Fc-ダイアボディフォーマット(FcドメインのN末端に結合した2つのFab断片(各FabはFZDに結合する)及びFcドメインのC末端に結合したLRP5/6コレセプター結合ドメイン(コレセプター上の2つの異なる部位に結合するダイアボディから構成される)を有する)及びDANG又はLALAPSバリエーション及びMerrimack、Merchant又はMerchant S:Sヘテロ二量体化バリエーションによるエフェクター機能が減弱したFc領域を有する。図18は、出現順にそれぞれ配列番号886、892、891、891、886、886、892、891、891、886、886、892、891、891、及び886を開示する。

10

【図19】FZDアゴニズムについて試験した抗体モダリティ。A)ダイアボディ-Fc-ダイアボディ、VH及びVLを、FZD結合可変ドメイン又はLRP結合可変ドメインの両方で試験した。B)ダイアボディ-Fc-scFv; C)scFv-Fc-ダイアボディ; D)scFv-Fc-scFv; E)IgG-ダイアボディ; F)IgG-scFv; G)ダイアボディ-Fc-Fab; H)ダイアボディ-CH3-ダイアボディ; I)Fab-ダイアボディ。図19において、分子B~F、H~Iは、LRPに結合するN末端可変ドメイン及びFZDに結合するC末端可変ドメインを含む。図19では、分子Gは、FZDに結合するN末端の可変ドメインと、LRPに結合するC末端の可変ドメインとを含む。*でマークされたこれらの抗体フォーマットは、ノブ-イン-ホールFcを使用して試験された。

20

【図20】複数の抗体構造は、強力なFZDアゴニズムを誘発することができる。pan-FZD及びLRP6を標的とするパラトープを、表14に記載のように様々な配置で構成した。各抗体によるカノニカルWnt経路刺激を、TOPFLASHレポーターを発現する野生型HEK細胞について、2人の異なる科学者によって盲検様式で測定した。データは平均±SDとして提示されており、4つの異なる実験の代表である。

【図21】様々なFZDアゴニストモダリティの発現力価。様々なFZDアゴニストモダリティをHEK細胞で発現させ、プロテインAクロマトグラフィーを介して精製し、発現力価を280nmでの吸光度に基づいて決定した。FZD活性化についてのEC50を、TOPFLASHレポーターを発現する野生型HEK細胞について、2人の異なる科学者によって盲検様式で測定した。

30

【図22】オルガノイド生存率アッセイ。マウス小腸オルガノイドを1µMのLGK-974の存在下で成長させて内因性Wnt分泌を遮断し、示されるようにPBS、Wnt3a馴化培地又はFLAG分子で処理した。左、n=3の独立した実験からの代表的な画像。右、CellTiter-Gloルミネセンスアッセイによるオルガノイド生存率の定量化。バーは、3つの独立した実験からの平均+/-標準誤差を表す。

【図23】マウスの結腸組織学。4及び7日目の対照IgG又はANT59(10mg/kg)のいずれかの腹腔内注射によるDSS処置サイクル(7日間の2% DSS、3日間の0.5% DSS)後のマウス結腸の組織学的外観。(A)全体的な構造を示す20倍の倍率で捕捉された画像。(B)ANT59処置による粘膜完全性の救済を示す100倍で捕捉された画像。

40

【図24】(A)4及び7日目に対照CM0156、PanFZDアゴニスト又はANT59(10mg/kg)のいずれかを腹腔内注射することによる、DSS処置サイクル(7日間の2% DSS、3日間の0.5% DSS)全体にわたるマウスの体重変化。(B)左:比較のためのセンチメートルスケールでの、処置群あたり6~8匹のマウスからの切除された結腸の代表的な画像。右:各処置群からの結腸長、バーは平均結腸長+/-S.D.を表し、個々のデータポイントが表示されている。***は一元配置分散分析でp<0.0001を示し、H2Oは通常の水(DSSなし)を示す。

【図25】FZD5/LRP6 ANTの特徴付け。ANTをHEK細胞で発現させ、プ

50

ロテインAクロマトグラフィを介して精製し、発現力価を280nmでの吸光度に基づいて決定した。生体層干渉法を使用して、組換えFc融合ヒトFZD5に対する各分子の見かけの親和性（結合活性）を決定し、他のヒトFZDに対する選択性を測定した。FZD5を過剰発現するFZDノックアウト（1, 2, 4, 5, 7）HEK293細胞におけるLEF/TCFレポーター遺伝子の活性化についての用量応答曲線。細胞を96ウェルディッシュに24時間播種し、次いで、示されるように17時間処理した。Dual-Luciferase Reporter Assay System（Promega）を使用して、レポーター活性化を評価した。データは、技術的重複及びn=3の独立した実験の代表について平均±SDとして提示されている。

【発明を実施するための形態】

【0031】

エフェクター機能を有する又は有さないFcドメイン、二価FZD結合ドメイン及び二価LRP結合ドメインを含む四価結合抗体分子が本明細書に記載され、各結合ドメインはFcドメインの反対末端に結合している。一実施形態では、FZD結合ドメインはFc領域のカルボキシ末端に結合しており、LRPコレセプター結合ドメインはFcドメインのアミノ末端に結合している。あるいは、FZD結合ドメインはFc領域のアミノ末端に結合しており、コレセプター結合ドメインはFcドメインのカルボキシ末端に結合している。結合ドメインは、Fcドメインに直接結合していてもよく、又はリンカーを介してFcドメインに結合していてもよい。FZD結合ドメインは、1つ又は複数のFZD受容体、すなわち、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9及びFZD10のうちの1つ又は複数のFZDに結合し得る。

【0032】

本発明の一実施形態では、FZD結合ドメインは二価であり、ダイアボディを含むか、又はFZDに結合するscfv、V_HH断片、若しくはFab断片、又はそれらの組み合わせを含み、コレセプター結合ドメインは二価であり、LRP5/6コレセプターに結合するダイアボディ又はV_HH断片、Fab、若しくはscfv、又はそれらの組み合わせを含む。本発明の一実施形態では、FZD結合ドメインは、Fcドメインのカルボキシ末端に結合し、2つのscfv、2つのV_HH断片、2つのFab断片又はFZDに結合するダイアボディを含み、Fcドメインのアミノ末端に結合したコレセプター結合ドメインは、LRP5/6コレセプターに結合するダイアボディ、2つのV_HH断片又は2つのscfvを含む。Fcドメインのカルボキシ末端に結合すると、FZD結合Fabは、Fab可変重鎖領域又は可変軽鎖領域を介してFcドメインのCH3に連結される。他の実施形態では、FZD結合ドメインは、Fcドメインのアミノ末端に結合し、2つのFabからなり、LRP5/6コレセプター結合ドメインは、Fcドメインのカルボキシ末端に結合し、コレセプターに結合するダイアボディ又は2つのscfvからなる。

【0033】

図6は、LRP5/6コレセプター結合ドメイン、Fcドメイン及びFZD結合ドメインを有するダイアボディ-Fc-scfvフォーマットの本発明の四価結合抗体分子を示す。ダイアボディ-Fc-scfvは、(i) Fcドメイン、(ii) コレセプター上の2つの異なる部位、例えばLRP5/6上のWnt1（E1～E2）部位及びLRP5/6上のWnt3部位（E3～E4）に結合するFcドメインのN末端に結合した二重特異性ダイアボディ、並びに(iii) Fcドメインのカルボキシ末端に結合した2つのFZD結合scfv断片を含むFZD結合ドメインを含む。scfvは、特定のFZD、例えばFZD4に特異的であってもよく、又は汎特異的であってもよく、1つよりも多くのFZD、例えばFZD4及び1つ又は複数の他のFZDに結合してもよい。

【0034】

本発明の一実施形態は、(i) Fcドメインと、(ii) コレセプター上の2つの異なる部位、例えばLRP5/6上のWnt1（E1～E2）部位及びLRP5/6上のWnt3部位（E3～E4）に結合する二重特異性ダイアボディを含むLRP5/6コレセプター結合ドメイン（ダイアボディはFcドメインのアミノ末端に結合している）と、(i

i i) それぞれが F Z D に結合する 2 つの s c F v 断片を含む F c ドメインのカルボキシ末端に結合した F Z D 結合ドメインとを有する、ダイアボディー F c - s c F v フォーマットの四価結合抗体分子である。s c F v は、F Z D に特異的であり得るか、又は F Z D 及び 1 つ若しくは複数の他の F Z D に結合する汎特異的であり得る。

【0035】

図 6 はまた、(i) F c ドメイン、(i i) F c ドメインの N 末端に結合した 2 つの F a b 断片を含む F Z D 結合ドメイン (各 F a b が F Z D に結合する)、及び (i i i) コレセプター上の 2 つの異なる部位、例えば L R P 5 / 6 上の W n t 1 部位 (E 1 ~ E 2) 及び W n t 3 部位 (E 3 ~ E 4) に結合するダイアボディーから構成される F c ドメインの C 末端に結合した L R P 5 / 6 コレセプター結合ドメインを有する I g G - ダイアボディーフォーマットの本発明の四価結合抗体分子を示す。F a b は、特定の F Z D、例えば F Z D 4 に特異的であってもよく、又は汎特異的であってもよく、1 つよりも多くの F Z D、例えば F Z D 4 及び 1 つ又は複数の他の F Z D に結合してもよい。

【0036】

本発明の一実施形態は、(i) F c ドメインと、(i i) 2 つの F Z D 結合 F a b を含む、F Z D のための N 末端結合ドメインと、(i i) L R P 5 / 6 コレセプター結合ダイアボディーを含む、L R P 5 及び / 又は L R P 6 コレセプターのための C 末端結合ドメインとを含む、I g G - ダイアボディーフォーマットの四価結合抗体分子である。I g G - ダイアボディーフォーマットにおける、この F Z D アゴニストは、

(1) 各重鎖モノマーが N 末端から C 末端に以下を含む一本鎖ポリペプチドを含む、第 1 及び第 2 の重鎖モノマー：

(a) F Z D に結合する重鎖可変ドメイン (V H)、

(b) 重鎖定常領域ドメイン 1 (C H 1 ドメイン)、

(c) 定常重鎖ドメイン 3 (C H 3 ドメイン) を含む F c 領域 (又はその断片)、

(d) L R P 5 / 6 コレセプターに結合する V H、L R P 5 / 6 コレセプターに結合する軽鎖可変ドメイン (V L)、を含むペプチド、及び

(2) 各軽鎖モノマーが N 末端から C 末端に、F Z D に結合する V L、定常軽鎖ドメイン 1 (C L 1 ドメイン) を含む、第 1 及び第 2 の軽鎖モノマー、を含む。

【0037】

第 1 及び第 2 の重鎖モノマーは、それらの F c 領域又はその断片を介して二量体化する。L R P 5 / 6 に結合する V H と V L との間のリンカーは、第 1 の重鎖モノマーの V H 及び V L と第 2 の重鎖モノマーの V L 及び V H との対合を促進し、それによって L R P 5 / 6 コレセプター結合ダイアボディーを形成する長さである。F Z D 結合 F a b は、F Z D 4 に結合する V H 及び各重鎖モノマーの C H 1 が、F Z D 4 に結合する V L 及び軽鎖モノマーの C L 1 と対合するように、各重鎖モノマーと軽鎖モノマーとの対合によって形成される。この I g G - ダイアボディーフォーマットでは、F a b は F c ドメインの N 末端に F Z D 4 結合ドメインを形成し、ダイアボディーは F c ドメインの C 末端にコレセプター結合ドメインを形成する。F a b は、1 つの F Z D、例えば F Z D 4 又は F Z D 5 に特異的であってもよく、又は 1 つよりも多くの F Z D、例えば F Z D 4 及び / 又は F Z D 5、場合によってはより多くの F Z D に結合する汎特異的であってもよい。F c 領域は、ノブ-イン-ホール構成を介して二量体化し得る。ノブ-イン-ホール配置を介してペプチドを二量体化する方法は、国際公開第 2018 / 026942 号、発明者 V a n D y k e t a l . , C a r t e r P . (2001) J . I m m u n o l . M e t h o d s 248, 7-15; R i d g w a y e t a l . (1996) P r o t e i n E n g . 9, 617-621; M e r c h a n t, e t a l . (1998) N a t . B i o t e c h n o l . 16, 677-681、及び; A t w e l l e t a l . , (1997) J . M o l . B i o l . 270, 26-35 に記載されている。F c 領域は、M e r r i m a c k (ノブ鎖: Q347M、Y349F、T350D、T366W 及び L368M; ホール鎖: S354I、E357L、T366S、L368A 及び Y407V)、M e r c h a n t (ノブ鎖: T366W; ホール鎖: T336S、L368A 及び Y407V) 又は

Merchant S : S (ノブ鎖に追加の S 3 5 4 C バリエーション及びホール鎖に Y 3 4 9 C を有する Merchant 変異) であってもよい。Fc 領域はまた、それらのエフェクター機能を変化させる変異を含有してもよく、例えば、Fc 領域は、アミノ酸変異、例えば D A N G バリエーション及び L A L A P S バリエーションにより弱められたエフェクター機能を有してもよい。

【0038】

図 6 では、Ig G-ダイアボディフォーマットでダイアボディを形成するペプチドは、VH-VL 配向 (N 末端から C 末端) で VH ドメインを介して Fc ドメインの C 末端に連結されているが、いくつかの実施形態では、ダイアボディを形成するペプチドは、VL-VH 配向 (N 末端から C 末端) で VL ドメインを介して Fc ドメインの C 末端に連結されている。また、重鎖は、Fc ドメインの N 末端に連結された VH ドメイン及び CH1 ドメインを含むものとして示され、軽鎖は、VL ドメイン及び CL1 ドメインを含むものとして示されており、Fab を形成するが、いくつかの実施形態 (図 6 及び図 7 A のダイアボディ-Fc-Fab) では、ダイアボディは Fc の N 末端に融合され、Fab は Fc の C 末端に融合される。これを行うために、Fc の CH3 ドメインは、その VH ドメインを介して Fab の重鎖に直接融合されるか (VH-CH1)、又は VL ドメインを介して軽鎖に直接融合され (VL-CL)、軽鎖と重鎖は依然として会合して Fab を形成する。

【0039】

図 6 は、N 末端結合ドメインを形成する LRP5 / 6 結合二重特異性二価ダイアボディと、C 末端結合ドメインを形成する 2 つの FZD 結合 Fab とを有するダイアボディ-Fc-Fab 配置の四価結合抗体分子を示す。Fab は、特定の FZD、例えば FZD4 に特異的であってもよく、又は汎特異的であってもよく、1 つよりも多くの FZD、例えば FZD4 及び 1 つ又は複数の他の FZD に結合してもよい。N 末端結合ドメインを形成するノブ-イン-ホール (kiH) 配置の Fc 及び LRP5 結合二重特異性二価ダイアボディ、並びに C 末端結合ドメインを形成する 2 つの FZD4 結合 Fab を有するダイアボディ-Fc-Fab フォーマットの四価結合抗体分子を示す図 7 A も参照のこと。図 6 及び図 7 A は、Fab 可変重鎖ドメイン (VH) を介して (C 末端で) Fc ドメインの CH3 に連結された Fab を示しているが、別のダイアボディ-Fc-Fab フォーマットでは、Fab は Fab 可変軽鎖ドメイン (VL) を介して Fc ドメインの CH3 に連結されることが特に企図される。四価分子の様々なドメイン、VL、VH、CH1、CH2、CH3、CL1 及び Fc は、リンカー、例えばペプチドリリンカーを介して連結される。

【0040】

また、本発明の一実施形態は、(i) Fc ドメイン、(ii) コレセプター、例えば LRP5 及び / 又は LRP6 コレセプターに結合するダイアボディを含む N 末端結合ドメイン、並びに (iii) 1 つ又は複数の FZD、例えば FZD4 又は FZD5 に結合する 2 つの Fab を含む C 末端結合ドメインを含む、ダイアボディ-Fc-Fab フォーマットの四価結合抗体分子である。ダイアボディ-Fc-Fab フォーマットにおける、この FZD アゴニストは、

(1) 各重鎖モノマーが N 末端から C 末端に以下を含む一本鎖ポリペプチドを含む、第 1 及び第 2 の重鎖モノマー :

- (a) LRP5 / 6 コレセプターに結合する重鎖可変 (VH) ドメイン及び LRP5 / 6 コレセプターに結合する軽鎖可変 (VL) ドメインを含むペプチド、
- (b) Fc 領域 (又は定常重鎖ドメイン 3 (CH3 ドメイン) を含むその断片)、
- (c) FZD に結合する VH ドメイン、
- (d) CH1 ドメイン、及び

(2) 各軽鎖が N 末端から C 末端に、FZD に結合する VL ドメイン及び定常軽鎖ドメイン 1 (CL1) を含む、第 1 及び第 2 の軽鎖モノマー、を含む。

【0041】

第 1 及び第 2 の重鎖モノマーは Fc 領域又はその断片を介して二量体化し、二価 LRP5 / 6 結合ダイアボディは、第 1 の重鎖モノマーの LRP5 / 6 に結合する VH ドメイン

及びV Lドメインと、第2の重鎖モノマーのL R P 5 / 6に結合するV Lドメイン及びV Hドメインとの対合によって形成される。2つのF Z D結合F a bは、F Z Dに結合するV L及び軽鎖モノマーのC L 1が、F Z Dに結合するV H及び各重鎖モノマーのC H 1と対をなすように、各重鎖モノマーと軽鎖モノマーとの対合によって形成される。このダイアボディーF c - F a bフォーマットでは、ダイアボディは四価分子のアミノ末端にL R P 5 / 6コレセプター結合ドメインを形成し、2つのF a bは四価結合抗体分子のC末端にF Z D結合ドメインを形成する。F c領域は、ノブ-イン-ホール構成を介して二量体化し得る。

【0042】

ノブ-イン-ホール配置を介してペプチドを二量体化する方法は、国際公開第2018 / 026942号、発明者Van Dyk et al., Carter P. (2001) J. Immunol. Methods 248, 7-15; Ridgway et al. (1996) Protein Eng. 9, 617-621; Merchant, et al. (1998) Nat. Biotechnol. 16, 677-681、及び; Atwell et al., (1997) J. Mol. Biol. 270, 26-35に記載されている。F c領域は、Merrimack (ノブ鎖: Q347M、Y349F、T350D、T366W及びL368M; ホール鎖: S354I、E357L、T366S、L368A及びY407V)、Merchant (ノブ鎖: T366W; ホール鎖: T336S、L368A及びY407V) 又はMerchant S: S (ノブ鎖に追加のS354Cバリエーション及びホール鎖にY349Cを有するMerchant変異) であってもよい。F c領域はまた、それらのエフェクター機能を変化させる変異を含有してもよく、例えば、F c領域は、アミノ酸変異、例えばDANGバリエーション及びLALA PSバリエーションにより弱められたエフェクター機能を有してもよい。

【0043】

図6及び図7Aでは、ダイアボディーF c - F a bフォーマットのダイアボディを形成するペプチドは、そのV Lドメインを介してF cドメインに連結されており、したがってV H - V L配向 (N末端からC末端) であり、いくつかの実施形態では、ダイアボディを形成するペプチドがそれらのV Hドメインを介してF cドメインのN末端に連結され、したがってV L - V H配向 (N末端からC末端) であるように、配向を切り替えることができる。また、ダイアボディーF c - F a bフォーマットの重鎖は、V Hドメイン及びC H 1ドメインを含むものとして示されており、これは、V Lドメイン及びC L 1ドメインを含む軽鎖と対合してF a bを形成するが、いくつかの実施形態では、重鎖がV Lドメイン及びC L 1ドメインを含み、軽鎖がV Hドメイン及びC H 1ドメインを含み、重鎖と軽鎖が依然として対合してF a bを形成するように、可変ドメイン及び定常ドメインが切り替えられることも企図される。

【0044】

本発明の一実施形態では、F Z D結合ドメインの結合部分は、1つのF Z D、例えばF Z D 4若しくはF Z D 5に特異的に結合するか、又は特定のF Z D、例えばF Z D 4若しくはF Z D 5、及び1つ又は複数の追加のF Z D受容体 (F Z Dソース抗体) と汎特異的に相互作用する抗体又は抗体断片に由来し、コレセプター結合ドメインは、L P R 5及び / 又はL R P 6 (L R P 5 / 6コレセプターソース抗体) に結合する抗体又は抗体断片に由来する結合部分を含む。本発明の一実施形態では、F Z D結合抗体は、F Z D受容体の細胞外システインリッチドメイン (C R D) に結合する。F Z Dに結合する抗体は、F Z D受容体に結合し、W n tシグナル伝達に拮抗するか、又はF Z D受容体へのW n tリガンドの結合を阻害する抗体であり得る。F Z Dに結合する抗体は、F Z D受容体へのW n tリガンドの結合に拮抗又は阻害することなくF Z D受容体に結合する抗体であり得る。F Z Dに結合する抗体は、F Z Dに結合し、W n tシグナル伝達を増強する抗体であり得る。L R P 5 / 6コレセプターに結合する抗体は、L R P 5 / 6コレセプターに結合し、W n tシグナル伝達に拮抗し、又はコレセプターへのW n tリガンドの結合を阻害する抗体であり得るか、又は、L R P 5 / 6コレセプターに結合する抗体は、W n t若しくはN

o r r i n シグナル伝達に拮抗せず、又はコレセプターへの W n t 若しくは N o r r i n リガンドの結合を阻害せずにコレセプターに結合する抗体であり得る。

【0045】

本発明の一実施形態では、LRP5／6コレセプター結合ドメインは、コレセプター上の単一エピトープ、例えばLRP5／6のWnt1（E1～E2）又はWnt3（E3～E4）相互作用ドメインに結合するエピトープに結合する。本発明の一実施形態では、LRP5／6コレセプター結合ドメインは、コレセプター内の2つのエピトープ、例えば、LRP5／6のWnt1（E1～E2）相互作用エピトープに結合するパラトープ及びWnt3（E3～E4）エピトープに結合するパラトープに結合する。本発明の一実施形態において、多価結合分子は、Fcドメインを含み、Fcドメインは、免疫グロブリンのFcドメイン又はCH3ドメインを含むその断片である。本発明の一実施形態では、免疫グロブリンはIgGである。本発明の一実施形態では、IgGはIgG₁である。

10

【0046】

本発明の一実施形態では、LRP5／6結合ドメインは、LRP5／6に結合する軽鎖可変ドメイン（VL）に連結されたLRP5／6に結合する重鎖可変ドメイン（VH）をそれぞれ含む2つのペプチドを含むダイアボディを含み、結合ドメインは、一方のペプチドからのVH及びVLが他方のペプチドのVL及びVHに対合し、それによってLRP5／6結合ドメインを形成することによって形成される。

【0047】

本発明の四価結合抗体分子において、結合ドメインの両方は二価であり、二価結合ドメインの一方又は両方は、それぞれのFZD受容体、例えばFZD4若しくはFZD5又はLRP5／6コレセプターについて二重特異性であり得る。例えば、結合分子は、二価かつ単一特異性であるFZD結合ドメインを含んでもよく（各結合部位が同じエピトープに結合する）、LRP5／6結合ドメインは、二価かつ二重特異性であり、2つの異なるエピトープ（LRP5／6外部ドメイン上のWnt1（E1～E2）及びWnt3（E3～E4）部位）に結合する。本発明の一実施形態では、両方の結合ドメインは二価及び二重特異性であり、各結合ドメインは、それぞれの標的FZD受容体又はLRP5／6コレセプター上の2つの異なるエピトープに結合する。

20

【0048】

本発明の四価分子のFZD結合ドメインのVHドメイン及びVLドメインは、FZDソース抗体、例えばFZD4若しくはFZD5、表1、表2若しくは表6の結合抗体の3つの軽鎖CDR及び3つの重鎖CDR、又はFZDソース抗体、例えば表1、表2又は表6のFZD4抗体のCDRと少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%又は少なくとも99%同一である3つの軽鎖CDR及び3つの重鎖CDRを含み得、依然として、ソース抗体によって結合されるFZD又はFZD5受容体への結合を保持する。

30

【0049】

本発明の四価分子のLRP5／6コレセプター結合ドメインのVHドメイン及びVLドメインは、LRP5／6コレセプターソース抗体、例えば表3、表4又は表6のLRP5／6結合抗体の3つの軽鎖CDR及び3つの重鎖CDR、又は、Wntコレセプターソース抗体のVH及びVL、例えば表3、表4又は表6のLRP5／6結合抗体と少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%又は少なくとも99%同一である3つの軽鎖CDR及び3つの重鎖CDRを含み得、依然としてLRP5／6コレセプターに結合する。

40

【0050】

本発明の一実施形態では、本発明の四価結合分子のFZD結合ドメインは、FZD4（FZD4アゴニスト）、又はFZD5（FZD5アゴニスト）、又はFZD4及び／若しくはFZD5及び1つ若しくは複数の他のFZD（pan-FZDアゴニスト）に結合し

50

、

表 1、表 2 又は表 6 の抗体の C D R - H 1、C D R - H 2 及び C D R - H 3 並びに C D R - L 1、C D R - L 2 及び C D R - L 3、又は表 1、表 2 又は表 6 の抗体の C D R - H 1、C D R - H 2 及び C D R - H 3 並びに C D R - L 1、C D R - L 2 及び C D R - L 3 と少なくとも 5 0 %、少なくとも 5 5 %、少なくとも 6 0 %、少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 又は少なくとも 9 9 % 同一であり、依然として F Z D 4 又は F Z D 5 に結合する C D R を含み、

F Z D 4 アゴニスト又は F Z D 5 アゴニスト又は p a n - F Z D アゴニストの L R P 5 / 6 結合ドメインは、

表 3、表 4 又は表 6 の抗体の C D R - H 1、C D R - H 2 及び C D R - H 3 並びに C D R - L 1、C D R - L 2 及び C D R - L 3 を含むか、又は C D R は、表 3、表 4 又は表 6 の抗体の C D R - H 1、C D R - H 2 及び C D R - H 3 並びに C D R - L 1、C D R - L 2 及び C D R - L 3 と少なくとも 5 0 %、少なくとも 5 5 %、少なくとも 6 0 %、少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 又は少なくとも 9 9 % 同一であり、依然として L R P 5 又は L R P 6 に結合する。

【 0 0 5 1 】

一実施形態では、四価結合抗体分子の F Z D 結合ドメインは、F Z D 4 結合抗体 5 0 4 4 の 3 つの重鎖 C D R 又は 3 つの軽鎖 C D R を含むダイアボディ、s c F v 又は F a b を、L R P 6 結合抗体 2 5 4 2 及び / 又は抗体 2 5 3 9 の 3 つの重鎖 C D R 及び 3 つの軽鎖 C D R を含むダイアボディ、s c F v 又は F a b を含む W n t コレセプター結合ドメインと組み合わせて含まない。一実施形態では、四価結合分子は、F Z D 4 結合抗体 5 0 2 7 の 3 つの重鎖 C D R 及び 3 つの軽鎖 C D R を含むダイアボディ、s c F v 又は F a b を、L R P 6 結合抗体 2 5 4 2 及び / 又は抗体 2 5 3 9 の 3 つの重鎖 C D R 及び 3 つの軽鎖 C D R を含むダイアボディ、s c F v 又は F a b を含む W n t コレセプター結合ドメインと組み合わせて含まない。

【 0 0 5 2 】

また、本発明の一実施形態は、本明細書に記載の四価結合分子をコードする核酸分子である。本発明の一実施形態は、表 1、2、3、4、6 に記載の重鎖及び軽鎖 C D R を含む本明細書に記載の四価結合分子のポリペプチドをコードする核酸分子である。また、本発明の一実施形態は、表 6 の C D R を含む図 7 A 及び図 7 B の四価結合分子、例えば F Z D 5 アゴニスト又は F Z D 4 アゴニストのポリペプチドをコードする核酸分子である。また、本発明の一実施形態は、表 1、2、3、4 及び 6 に記載の重鎖及び軽鎖 C D R をそれぞれ含む V H 及び V L ドメインをコードする核酸分子である。核酸分子をベクターに挿入し、適切な宿主細胞で発現させ、次いで、当技術分野で周知の方法を使用して四価結合抗体分子を細胞から単離してもよい。したがって、本発明の一態様はまた、本明細書に記載の四価結合分子、例えば F Z D 4 又は F Z D 5 アゴニストのポリペプチドをコードする核酸分子、V L ドメイン及び V H ドメイン、表 1、2、3、4 及び 6 に記載の C D R を含む F a b ドメイン及びダイアボディ、並びに本明細書に記載の F c ドメインを含む発現カセット及びベクターである。本発明の一態様は、これらの発現カセット及びベクターを発現する宿主細胞である。

【 0 0 5 3 】

本発明で使用される場合、「ベクター」という用語は、核酸分子、例えば本明細書に記載の四価結合抗体分子をコードする核酸配列を含有するように操作することができる核酸送達ビヒクル又はプラスミドを指す。ポリヌクレオチドが挿入されるとタンパク質を発現することができるベクターは、発現ベクターと呼ばれる。ベクターは、形質転換、形質導入又はトランスフェクションによって宿主細胞に挿入することができ、その結果、運ばれた遺伝物質を宿主細胞で発現させることができる。ベクターは当業者に周知であり、限定されないが、プラスミド；ファージミド；コスミド；酵母人工染色体（Y A C）、細菌人

10

20

30

40

50

工染色体（BAC）、P1由来人工染色体（PAC）等の人工染色体；λファージ又はM13ファージなどのファージ及び動物ウイルスなどを含む。動物ウイルスには、逆転写酵素ウイルス（レンチウイルスを含む）、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、ヘルペスウイルス（例えば、単純ヘルペスウイルス）、水痘ウイルス、バキュロウイルス、パピローマウイルス、及びパポバウイルス（SV40など）が含まれ得るが、これらに限定されない。ベクターは、本明細書に記載の四価結合抗体分子の発現を制御する複数の成分を含むことができ、それには、プロモーター、例えばウイルス又は真核生物プロモーター、例えばCMVプロモーター、シグナルペプチド、例えばTRYP2シグナルペプチド、転写開始因子、エンハンサー、選択エレメント及びレポーター遺伝子が含まれるが、これらに限定されない。さらに、ベクターは、複製開始部位（複数可）も含み得る。

10

【0054】

本発明で使用される場合、「宿主細胞」という用語は、大腸菌及び枯草菌などの原核細胞、酵母及びアスペルギルスなどの真菌細胞、S2ショウジョウバエ細胞及びSf9などの昆虫細胞、又はヒト細胞を含む動物細胞、例えば線維芽細胞、CHO細胞、COS細胞、NSO細胞、HeLa細胞、BHK細胞、又はHEK293細胞を含むがこれらに限定されない、発現カセット及びベクターを導入することができる細胞を指す。

【0055】

本発明の一実施形態は、本明細書に記載のFZDアゴニスト又はFZDアゴニストをコードする核酸分子、発現カセット及びベクターと、薬学的に許容され得る担体、希釈剤又は賦形剤とを含む医薬組成物である。医薬組成物は、さらなる薬剤、例えば第2の治療用抗体、例えば抗VEGF抗体（アフリベルセプト、ラニズマブ及びベバシズマブ）、成長因子、例えばVEGF、又はWnt経路を活性化する薬剤、例えば小分子CHIR99021、Norrin若しくはR-Spondin、又は薬剤をコードする核酸分子、発現カセット、及びベクターをさらに含む得る。医薬組成物は、本明細書に記載のFZDアゴニスト、又はFZDアゴニストをコードする核酸分子、発現カセット又はベクター、及び薬学的に許容され得る希釈剤、担体又は賦形剤からなるか、又は本質的になり得る。適切な担体、希釈剤及び賦形剤、並びにそれらの製剤は、Remington: The Science and Practice of Pharmacy (19th ed.) ed. A. R. Gennaro, Mack Publishing Company, Easton, Pa. 1995に記載されている。典型的には、製剤を等張性にするために、適切な量の薬学的に許容され得る塩が製剤に使用される。薬学的に許容され得る担体としては、生理食塩水、リンゲル液、デキストロース液が挙げられるが、これらに限定されない。溶液のpHは、例えば、約5～約8、約5～7.5又は約6～7であり得る。さらなる担体には、アゴニストを含有する固体疎水性ポリマーの半透性マトリックスなどの持続放出調製物が含まれ、このマトリックスは、成形物品、例えばフィルム、リポソーム又は微粒子の形態である。例えば、投与経路及び投与されるFZDアゴニストの濃度に応じて、特定の担体がより好ましくあり得ることが当業者には明らかであろう。

20

30

【0056】

本発明はまた、本明細書中に記載されるFZDアゴニストを使用するための方法を含む。本発明の一実施形態は、細胞におけるWntシグナル伝達経路を活性化する方法であって、FZD受容体及びLRP5/6コレセプターを有する細胞を、Wntシグナル伝達を活性化するのに有効な量でFZD、例えばFZD4及びLRP5/6に結合する本発明の四価結合抗体分子と接触させることを含む方法である。Norrin-FZD4経路が網膜血管新生において役割を果たすことが報告されている（Wang et al. Cell. 2012; 151(6): 1332-1344.; Braunger BM, Tamm ER. Adv Exp Med Biol. 2012; 723: 679-683; Ohlmann A, Tamm ER. Prog Retin Eye Res. 2012; 31(3): 243-257及び; Ye et al. Trends Mol Med. 2010; 16(9): 417-425を参照のこと）。Norrin-FZD4経路を介したシグナル伝達は、網膜血管系の発達及び維持に必要である。この経路の遺伝子に

40

50

影響を及ぼす変異は、ノーリー病、家族性滲出性硝子体網膜症（F E V R）、並びに偽神経膠腫及び骨粗鬆症症候群などのいくつかの硝子体網膜症をもたらし得る。さらに、未熟児網膜症（R O P）は、このN o r r i n - F Z D 4経路における変異と関連しており、W n t経路変異は、コーツ病及び持続性胎児血管系（P F V）において報告されている。N o r r i n及び／又はW N T 7 A / B経路によって活性化されるF Z D 4シグナル伝達
はまた、C N S血液脳関門の発達及び恒常性にも関連する。N o r r i n、F Z D 4、L R P 5、L R P 6及びコレセプターテトラスパニン-12（T s p a n - 1 2）の遺伝的
除去は、網膜及び／又は小脳血管における不完全な血管形成及びバリア破壊をもたらす（
C h o e t a l . , (2 0 1 7) N e u r o n 9 5 , 1 0 5 6 - 1 0 7 3 ; Z h o u
e t a l . , (2 0 1 4) J C l i n I n v e s t 1 2 4 : 3 8 2 5 - 3 8 4 6
）。したがって、機能的W n tシグナル伝達系は、視覚をサポートするための眼及び網膜
における、並びにB B Bの発達及び恒常性をサポートするためのC N Sにおける十分な血管
及び神経ネットワークの発達において重要な基本的役割を果たす。

10

【0057】

本発明の一態様は、眼組織、例えば網膜組織を、本発明の四価抗体分子、例えばF Z D 4及びL R P 5 / 6に結合する四価抗体分子、F Z D 4アゴニストを含み、図6に示される構造を有する医薬組成物の有効量で、局所投与又は全身投与によって処置することによって、網膜血管系を促進及び／又は維持する方法である。また、本発明の一態様は、有効量の
本発明の医薬組成物、例えば図6に示される構造を有するF Z D 4アゴニストを含む組成物を用いて、それを必要とする対象を処置することによる、B B B脈管構造の促進及び／又は維持する方法である。B B Bは発達中に開始され、その完全性は、生涯を通して恒常性及び神経保護に不可欠なままである。それを必要とする対象には、B B B機能障害に関連する神経学的状態、例えばアルツハイマー病などの神経変性疾患、並びにてんかん、多発性硬化症、及び脳卒中を有する対象が含まれる。

20

【0058】

本発明のさらなる態様は、血管漏出、特に網膜血管漏出及び／又は内皮細胞漏出を特徴とする障害、並びに網膜若しくは脳内皮細胞バリア機能の低下又はB B B若しくはB R Bの障害、例えば糖尿病性網膜症、未熟児網膜症、コーツ病、F E V R、ノーリー病、黄斑変性、糖尿病性黄斑浮腫、及び小児硝子体網膜症を特徴とする障害を有する対象に、有効量の
本発明の医薬組成物、例えば図6に示す構造を有するF Z D 4アゴニストを含む組成物を投与することによって処置する方法である。そのような組成物の有効量は、例えば、内皮細胞バリア機能を増加又は回復させ、それによってそのような対象における血管漏出を減少させるのに十分な量である。対象は胎児であり得る。本発明のF Z D 4アゴニスト、特に、F c受容体のカルボキシ末端にF Z D 4結合ドメインを形成する2つのF a b断片と、F cドメインのアミノ末端にダイアボディから構成されるL R P 5及び／又はL R P 6の結合ドメインとを含むダイアボディーF c - F a bフォーマットのF Z D 4アゴニストは、例えば、図6に示されるように、内皮細胞においてF Z D 4及びβ-カテニンシグナル伝達を活性化し、バリア機能を促進し、それによって内皮細胞透過性を低下させ、それによって血管新生を有意に増強する。特に、これらのF Z D 4アゴニスト、好ましくはダイアボディーF c - F a bフォーマットを有するものによる内皮細胞のインビボ、エクスピボ又はインビトロでの処理は、網膜血管系並びに／又はB R B及びB B Bの発生及び維持を、この構造を有さない他の分子よりもはるかに効果的に増強する。

30

40

【0059】

本発明のさらなる態様は、炎症性腸疾患としても知られる腸の全部又は一部の炎症を有する対象を、このような対象に有効量の本発明の医薬組成物、例えばF Z D 5アゴニストを含む組成物を投与することによって処置するための方法である。炎症性腸疾患の例としては、クローン病及び潰瘍性大腸炎が挙げられるが、これらに限定されない。そのような組成物の有効量は、炎症を軽減、改善、排除、又は処置するのに十分な量である。それを必要とする対象には、消化管の粘膜の炎症を有する対象が含まれる。本明細書中に開示される方法は、炎症（例えば、I B Dに関連する炎症、又はI B Dに冒された組織（例えば

50

、胃腸管組織（例えば、小腸、大腸又は結腸））における炎症）を軽減するため、WNTシグナル伝達を活性化するため、又はIBDの組織学的症状（例えば、本明細書に開示されるもの）のいずれかを軽減するために実施され得る。

【0060】

本発明のFZDアゴニストは、全身的又は局所的に、例えば、注射（例えば、皮下、静脈内、腹腔内、髄腔内、眼内、硝子体内など）、埋め込み、局所的又は経口的に投与され得る。投与経路に応じて、FZDアゴニストは、アゴニストを不活性化し得る状態からアゴニストを保護するための材料でコーティングされ得る。本明細書に記載の四価結合抗体分子は、薬学的に許容され得る、好ましくは水性担体に溶解又は懸濁され得る。さらに、FZDアゴニストを含む組成物は、緩衝剤、結合剤、プラスト剤、希釈剤、香味料、潤滑剤などの賦形剤を含有することができる。そのような組成物で使用する事ができる賦形剤の広範なリストは、例えば、A. Kibbe, Handbook of Pharmaceutical Excipients (Kibbe, 2000) から得ることができる。四価結合抗体分子は、サイトカインなどの免疫刺激物質と共に投与することもできる。

10

【0061】

本発明の一実施形態は、本明細書に記載の四価抗体分子を使用することによって、バリア機能を示す血管網を有する脳オルガノイドを誘導する方法を含む。FZD4シグナル伝達を活性化する本明細書に記載の四価結合抗体分子は、脳オルガノイドと共に培養された内皮細胞内のバリア機能を促進し、それによって血管新生を促進することが想定される。

20

【0062】

本発明の一実施形態は、多分化能若しくは多能性幹細胞（PSC）又は人工多能性幹細胞（iPS）の指向性分化のための方法であって、細胞を、指向性分化に適した条件下で培養することを含み、該培養条件は、有効量の本明細書中に記載される四価結合抗体分子をさらに含む方法を含む。マウス及びヒトPSCにおける研究により、異なる系統へのPSC分化を誘導することができる、Wntを含む成長因子の添加に対する特異的アプローチが特定されている。Wntシグナル伝達の活性化を含むPSCの指向性分化のための方法は当技術分野で公知である（例えば、Lam et al. (2014) Semin Nephrol 34 (4): 445-461; Yucer et al. (September 6, 2017) Scientific Reports 7, Article number 10741を参照のこと）。本明細書に記載されるFZDアゴニスト、例えばFZD4アゴニストは、心筋細胞などの特定の中胚葉系統へのPSCの分化を指示するためのWntシグナル伝達経路の活性化をもたらすのに十分な量で使用する事ができると考えられる（Yoon et al. FZD4 Marks Lateral Plate Mesoderm and Signals with NORRIN to Increase Cardiomyocyte Induction from Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiac Progenitors. Stem Cell Reports. 2018 Jan; 10 (1): 87-100. DOI: 10.1016/j.stemcr.2017.11.008. PMID: 29249665を引用）。

30

40

【0063】

本発明の一実施形態は、有効量の本明細書に記載のFZDアゴニストをそれを必要とする対象に投与することによって、そのような対象においてWntシグナル伝達を活性化することによって、それを必要とする対象において組織再生を増強するための方法である。

【0064】

本発明の一実施形態は、有効量のFZD4及びLPR5／6に結合する本発明の四価結合分子、FZD4アゴニストを投与することによって、それを必要とする対象の眼組織、例えば網膜組織における内皮細胞バリア機能を促進するための方法を含む。特定の実施形態では、FZD4に結合する本発明のFZD4アゴニスト、並びにLRP5又は／及びLRP6に結合する結合ドメインは、図6及び図7に示されるダイアボディーFc-Fab

50

構造を有する。本発明の一実施形態では、網膜血管形成を増強するためのFZD4アゴニストは、表1、2及び6に示されるFZD4結合抗体の軽鎖CDR、すなわちCDR-L1、CDR-L2及びCDR-L3並びに重鎖CDR、すなわちCDR-H1、CDR-H2及びCDR-H3並びに表3、4及び6に示されるLRP5/6結合抗体を含む。

【0065】

本明細書で使用される対象は、ヒト、非ヒト霊長類、ウマ、ウシ、イヌ、ネコ、げっ歯類などを含むがこれらに限定されない任意の動物（例えば、哺乳動物）であり得る。対象は胎児であり得る。典型的には、対象はヒトである。

【0066】

本明細書に記載されるFZDアゴニスト及びそれらをコードする核酸を投与するための有効な投与量及びスケジュールは、経験的に決定され得、そのような決定を行うことは、当業者の技術の範囲内である。当業者は、投与されなければならないそのようなFZDアゴニストの投与量が、例えば、抗体を投与される対象、投与経路、使用されるFZDアゴニストの特定のタイプ及び投与される他の薬物に応じて変化することを理解するであろう。FZDアゴニストのための適切な用量を選択する際の指針は、抗体の治療的使用に関する文献、例えば、Handbook of Monoclonal Antibodies, Ferrone, eds., Nokes Publications, Park Ridge, N. J., (1985) ch. 22及びpp. 303-357; Smith, Antibodies in Human Diagnosis and Therapy, Haber, eds., Raven Press, New York (1977) pp. 365-389に見出される。組成物の投与のための投与量範囲は、所望の効果をもたらす、例えば、内皮細胞バリア機能、血管ホメオスタシスを促進する、又はWntシグナル伝達を増強するのに十分な範囲である。投与量は、望ましくない交差反応、アナフィラキシー反応などの有害な副作用を引き起こすほど大きくすべきではない。一般に、投与量は、患者の年齢、状態、性別及び疾患又は障害の程度によって異なり、当業者によって決定することができる。投与量は、任意の禁忌の場合に個々の医師によって調整することができる。投与量は様々であり得、1日1回又は複数回の用量投与で1日間又は数日間投与され得る。個々の必要性は様々であるが、ベクターの有効量の最適範囲の決定は当業者の技術の範囲内である。

【0067】

また、本発明の一態様は、本明細書に記載の四価結合抗体分子を作製する方法である。FZD受容体、例えばFZD4及びWntコレセプターLRP5/6のアミノ酸配列、並びにFZD受容体及びWntコレセプターLRP5/6をコードするヌクレオチド配列、並びにFZD、例えばFZD4又はWntコレセプターLRP5/6に結合する抗体及び抗体のライブラリは、容易に入手可能であるか、当技術分野で周知の方法を使用して生成することができる（例えば、米国特許出願公開第2015/0232554号、発明者Gurneyら、及び米国特許出願公開第2016/0194394号、発明者Sidhuら、及び米国特許第20190040144号、発明者Panら；米国特許出願公開第2017/0166636号、発明者Wuら；米国特許出願公開第2016/0208018号、発明者Chenら；米国特許出願公開第2016/0053022号、発明者ら、Machedaら；米国特許出願公開第2015/031293号、発明者Damelinらを参照のこと）。また、抗体、並びに所望の結合特性を有する抗体断片、scFv、Fab、VL及びVHのためのそのようなファージディスプレイライブラリを作製及びスクリーニングするための様々な方法が当技術分野で公知である。そのような方法は、例えばHoogenboom et al. in Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Humana Press, Totowa, N. J., 2001)に概説されており、さらに例えばMcCafferty et al., Nature 348:552-554; Clackson et al., Nature 352:624-628 (1991); Marks et al., J. Mol. Biol. 222:581-597 (1992)

; Marks and Bradbury, in Methods in Molecular Biology 248:161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, N. J., 2003); Sidhu et al., J. Mol. Biol. 338 (2):299-310 (2004); Lee et al., J. Mol. Biol. 340 (5):1073-1093 (2004); Fellouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101 (34):12467-12472 (2004); and Lee et al., J. Immunol. Methods 284 (1-2):119-132 (2004)に記載されており、すべて参照により本明細書に組み込まれる。特定のファージディスプレイ法では、VH及びVL遺伝子のレパートリをポリメラーゼ連鎖反応(PCR)によって別々にクローニングし、ファージライブラリにおいてランダムに組換え、次いで、これを抗原結合ファージについてスクリーニングできる(Winter et al., Ann. Rev. Immunol., 12:433-455 (1994)に記載)。ファージは、典型的には、抗体断片を一本鎖Fv(scFv)断片又はFab断片のいずれかとして提示する。免疫化されたソースからのライブラリは、ハイブリドーマを構築する必要なしに免疫原に対する高親和性抗体を提供する。あるいは、Griffiths et al., EMBO J, 12:725-734 (1993)に記載されているように、免疫化することなく、ナイーブレパートリをクローニングして(例えば、ヒト由来)、広範囲の非自己抗原及び自己抗原に対する単一の抗体ソースを提供することができる。最後に、Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227:381-388 (1992)に記載されているように、幹細胞から再編成されていないV遺伝子セグメントをクローニングし、ランダム配列を含有するPCRプライマーを使用して高可変CDR3領域をコードし、インビトロで再編成を達成することによって、ナイーブラライブラリを合成的に作製することもできる。ヒト抗体ファージライブラリを記載する特許公報としては、例えば、米国特許第5,750,373号、並びに米国特許出願公開第2005/0079574号、同第2005/0119455号、同第2005/0266000号、同第2007/0117126号、同第2007/0160598号、同第2007/0237764号、同第2007/0292936号、及び同第2009/0002360号が挙げられ、すべて参照により本明細書に組み込まれる。ヒト抗体ライブラリから単離された抗体又は抗体断片は、本明細書ではヒト抗体又はヒト抗体断片と見なされる。

10

20

30

【0068】

本発明の一実施形態では、LRP5/6結合ダイアボディを含むLRP5/6コレセプター結合ドメインと、2つのFZD結合scFvを含むFZD結合ドメインとを含むダイアボディーFc-scFvフォーマットの四価結合抗体分子は、

- (a) C末端及びN末端を有するFcドメインを選択すること、
- (b) FZD受容体に結合する抗体(「FZDソース抗体」)を同定すること、及び
- (c) LRP5/6コレセプターに結合する抗体(「コレセプターソース抗体」又は「LRP5/6ソース抗体」)を同定すること、
- (d) 以下を含むポリペプチドモノマーをコードするヌクレオチド配列を含む核酸分子を生成すること：

40

(i) VHドメインに連結されたVLドメインを含むペプチドであって、ドメインがFZD受容体に結合する工程bの抗体の重鎖及び／若しくは軽鎖CDRを含むか、又はFZDに依然として結合する工程bの抗体に由来する重鎖及び／若しくは軽鎖CDRを含む、ペプチドが、

(i i) 工程aのFcドメインに連結され、

(i i i) 工程cの抗体の軽鎖及び／若しくは重鎖CDRを含むVHドメインに連結されたVLドメインを含むか、又は工程cの抗体に由来し、依然としてLRP5/6コレセプターに結合するCDRを含む、ペプチドに連結されている、

(e) 工程dの核酸分子を発現させてポリペプチドモノマーを生成し、次いでポリペプチドを二量体化すること、によって生成され、

50

各モノマーのFZDに結合するVH及びVLは、FZDに結合するscFvを形成し、一方のモノマーのLRP5/6コレセプターに結合するVH及びVLドメインは、LRP5/6コレセプター結合ダイアボディを形成する別のモノマーのWntコレセプターに結合するVL及びVHに結合し、

ポリペプチドモノマーは、Fc領域を介して二量体化して、Fcドメイン、2つのFZD結合scFvから構成されるFZD結合ドメイン、及びダイアボディから構成されるLRP5/6コレセプター結合ドメインを含む四価結合抗体分子を形成し、

FZD結合ドメイン及びLRP5/6コレセプター結合ドメインは、Fcドメインの反対末端にある。FZD結合ドメイン及びLRP結合ドメインがFcドメインの反対末端にあるならば、FZD又はLRPに結合するVLドメイン及びVHドメインを含むペプチドは、VLドメイン又はVHドメインを介してFcドメインのN末端又はC末端のいずれかに連結され得ることが企図される。FZDは、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9及びFZD10のうちの1つ又は複数であり得る。

【0069】

本発明の一実施形態において、四価結合抗体分子は、Fcドメインの一方の末端に連結された2つのFZD結合Fab、例えばFZD4結合Fab、及びFcドメインの他方の末端に連結された2つのLRP5/6結合scFv又はLRP5/6結合ダイアボディを有しており、以下によって生成される：

(a) FZD、例えばFZD4又はFZD5に結合する抗体（「FZDソース抗体」）の軽鎖相補性決定領域（CDR-L1、CDR-L2、及びCDR-L3）及び／又は重鎖相補性決定領域（CDR-H1、CDR-H2、及びCDR-H3）を同定すること、及び

(b) LRP5又はLRP6に結合する1つ又は複数の抗体（「LRP5/6ソース抗体」）のCDR-L1、CDR-L2及びCDR-L3及び／又はCDR-H1、CDR-H2及びCDR-H3を同定すること、

(c) 以下を含む「重鎖」ポリペプチドをコードする核酸分子を生成すること：

(i) 工程a)の抗体のCDR-H1、H2及びH3を含むVHドメインに連結された免疫グロブリン定常重鎖領域1（CH1ドメイン）を含むペプチド、又は工程a)の抗体由来のCDR-H1、CDR-H2及びCDR-H3を含むペプチドであって依然としてFZD4に結合するペプチドが、

(ii) Fc領域に連結され、

(iii) 工程b)の抗体のCDR-H1、CDR-H2及びCDR-H3を含むVHドメインに連結された工程b)の抗体のCDR-L1、CDR-L2及びCDR-L3を含むVLドメイン、又はLRP5若しくはLRP6に結合する工程b)の抗体由来のCDR-H1、CDR-H2及びCDR-H3を含むペプチド、

(d) 工程a)において、VLドメインに連結された免疫グロブリン定常軽鎖領域1（CL1）を含む「軽鎖」ポリペプチドをコードする核酸配列を含む核酸分子を生成することであって、VLドメインが抗体のFZD軽鎖CDR-L1、CDR-L2及びCDR-L3を含む、核酸分子を生成すること、

(e) (c)及び(d)の核酸分子を発現させて、重鎖ポリペプチド及び軽鎖ポリペプチドを産生すること、

ここで、2つの重鎖ポリペプチドが、それらのFc領域を介して二量体化し、FZDに結合するVH及び重鎖ポリペプチドのCH1ドメインが、FZDに結合するVL及び軽鎖ポリペプチドのCL1ドメインと対合して、2つのFZD Fabを形成し、

各重鎖ポリペプチド対のLRP5/6に結合してLRP5/6に結合するscFvを形成するVH及びVL、又は二量体対の一方の重鎖ポリペプチドのLRP5/6に結合するVH及びVLと二量体の他方の重鎖ポリペプチドのLRP5/6に結合するVL及びVHとがダイアボディを形成し、それにより、Fcドメイン、FcドメインのN末端又はC末端のいずれかに連結された2つのFZD Fab、及びFcドメインの他方の末端に連結

10

20

30

40

50

された2つのLRP5／6結合scFv又はLRP5／6結合ダイアボディを含む四価結合抗体分子を形成する。

【0070】

FZDソース抗体は、1つのFZD、例えばFZD4に特異的に結合する抗体であり得るか、又は、FZD、例えばFZD4若しくはFZD5、及び1つ又は複数の他のFZD受容体に結合する汎特異的抗体であり、Wntシグナル伝達に拮抗し、又は受容体へのWnt結合を阻害する。あるいは、FZDソース抗体は、1つのFZD、例えばFZD4若しくはFZD5に特異的に結合する抗体であり得るか、又は、1つのFZD、例えばFZD4若しくはFZD5、及び1つ又は複数の他のFZD受容体に結合する汎特異的抗体であり、Wntシグナル伝達に拮抗せず、受容体へのWnt結合を阻害しない。LRPソース抗体は、LRP5／6に特異的に結合する、又はLRP5／6及び1つ若しくは複数のWntコレセプターに汎特異的に結合し、Wntシグナル伝達に拮抗するか、又はコレセプターへのWnt結合を阻害する抗体であり得る。あるいは、LRP5／6ソース抗体は、LRP5／6コレセプターに結合するか、又は、LRP5／6及び1つ若しくは複数のWntコレセプターに汎特異的に結合する抗体であってもよく、Wntシグナル伝達に拮抗せず、又はLRP5／6コレセプターへのWnt結合を阻害しない。

10

【0071】

FZDソース抗体は、FZD受容体に結合する抗体断片、例えばFab、VL又はVHであり得る。FZDアゴニストのFZD結合ドメイン中の軽鎖及び重鎖CDR、VH及び／又はVLは、FZDソース抗体のCDR、VH及び／又はVLと同一であってもよく、又はソース抗体のCDR、VH又はVLと少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%又は少なくとも99%同一であってもよく、依然としてFZD受容体への結合を保持する。FZDアゴニストのFZD結合ドメイン中のCDR、VH及び／又はVLは、表1、表2若しくは表6のFZD4結合抗体若しくはFZD5結合抗体のCDR、VH及び／又はVLと同一であってもよく、又は表1、表2若しくは表6のFZD4結合抗体若しくはFZD5結合抗体のCDR、VH又はVLと少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%又は少なくとも99%同一であってもよく、依然としてFZD受容体への結合を保持する。

20

30

【0072】

同様に、Wntコレセプターソース抗体は、LRPコレセプター、例えばLRP5／6に結合する抗体断片、例えばFab、VL又はVHであり得る。FZD4アゴニストのWntコレセプター結合ドメイン中の軽鎖CDR及び重鎖CDR、VH及び／又はVLは、Wntコレセプターソース抗体のCDR、VH及び／又はVLと同一であってもよく、又はソース抗体のCDR、VH又はVLと少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%又は少なくとも99%同一であってもよく、依然としてLRPコレセプターへの結合を保持する。FZDアゴニストのLRP5／6結合ドメイン中の軽鎖CDR及び重鎖CDR、VH及び／又はVLは、表3、表4又は表6のLRP結合抗体の軽鎖CDR及び重鎖CDR、VH及び／又はVLと同一であってもよく、又は、表3、表4又は表6のLRP結合抗体の軽鎖CDR及び重鎖CDR、VH及び／又はVLと少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%又は少なくとも99%同一であってもよく、依然としてLRPコレセプターへの結合を保持する。

40

【0073】

本発明の一実施形態では、四価結合抗体分子の2つのポリペプチドは、それらのFc配

50

列のノブ-イン-ホール配置を介して二量体化する。本発明の四価結合抗体分子は、2つのポリペプチドを「ノブ-イン-ホール」配置で二量体化することによって生成され得る。ノブ-イン-ホール配置は、FZD受容体若しくはLRP5/6コレセプター上の異なるエピトープ又はFZD受容体若しくはコレセプターファミリーの異なるメンバー上のエピトープに結合する結合部分を含むペプチドの会合を促進することによって本発明のモジュール性を高める（例えば、図6を参照のこと）。ノブ-イントゥ-ホール設計を介してFc分子を操作する方法は、当技術分野で周知であり、例えば、国際公開第2018/026942号、発明者Van Dyk et al., Carter P. (2001) J. Immunol. Methods 248, 7-15; Ridgway et al. (1996) Protein Eng. 9, 617-621; Merchant, et al. (1998) Nat. Biotechnol. 16, 677-681, and; Attwell et al., (1997) J. Mol. Biol. 270, 26-35を参照のこと。

10

【0074】

理論に拘束されることを望むものではないが、本発明の四価結合抗体分子は、Wntシグナル伝達経路を活性化するのに有利な受容体タンパク質の近接及び安定化立体配座を促進することによって、細胞上のFZD受容体とLRP5/6コレセプターとの相互作用を促進することが企図される。本発明の別の実施形態は、細胞上のFZD受容体とLRP5/6コレセプターとの相互作用を促進し、それによって細胞内のWntシグナル伝達経路を活性化する方法であって、a) C末端及びN末端を有するCH3ドメインを含むFcドメイン又はその断片を選択することと、b) FZD受容体に結合する第1の二価結合ドメインをFcドメインの一方の末端に連結し、Wntコレセプターに結合する第2の二価結合ドメインをFcドメインの他方の末端に連結し、それによって四価結合抗体分子を形成することと、c) FZD受容体及びコレセプターの両方が四価結合抗体分子に結合することによってWntシグナル伝達経路を活性化する条件下で、上記四価結合抗体分子を上記FZD受容体及びWntコレセプターを発現する細胞と接触させることと、を含む。Wntコレセプター結合ドメイン及びFZD結合ドメインは二価であり、それぞれVLドメイン及び/又はVHドメイン又はVHHドメインを含み、結合ドメインの一方又は両方は単一特異性であり得る。本発明の一実施形態では、Wntコレセプター結合ドメイン及びFZD結合ドメインの一方又は両方が二重特異性である。本発明の一実施形態では、Wntコレセプター結合ドメインは二価かつ二重特異性である。FZD結合ドメインは、FZDに結合するscFv、FZDに結合するVHH、又はFZDに結合するFab、又はそれらの組み合わせ、又はFZDに結合するダイアボディを含み得る。Wntコレセプター結合ドメインは、LRP5/6コレセプターに結合するscFv、LRP5/6に結合するVHH、LRP5/6コレセプターに結合するFab、又はそれらの組み合わせ、又はLRP5/6コレセプターに結合するダイアボディを含み得る。本発明の一実施形態では、FZD結合ドメインは2つのFZD結合Fabを含み、Wntコレセプター結合ドメインは2つの異なるエピトープ上のLRP5/6に結合する二重特異性二価ダイアボディを含む。

20

30

【0075】

本発明の四価結合抗体分子は、FZD-コレセプター複合体によって刺激されるWntシグナル伝達経路、例えばFZD-LRP5/6複合体によって刺激されるβ-カテニン経路を開始する。Wntリガンドは、コレセプターとFZD受容体のクラスター形成を促進することによって機能する。理論に拘束されることを望むものではないが、本明細書に記載されるFZDアゴニストは、FZD受容体及びそのLRP5/6コレセプターの両方に結合し、それによってWnt分子のFZD受容体及びLRP5/6コレセプターへの結合を模倣する複合体を形成し、これがWntシグナル伝達経路、すなわちWntβ-カテニン経路を活性化することが企図される。

40

【0076】

本発明の実施形態は、FZD受容体及びそのLRP5/6コレセプターを発現する細胞

50

を、F Z D 結合ドメイン及び L R P 5 / 6 コレセプター結合ドメインを含む有効量の本発明の F Z D アゴニストと接触させることを含む、W n t シグナル伝達経路を活性化する方法である。

【0077】

本発明の F Z D アゴニストは、例えば、G i b s o n アセンブリ (G i b s o n e t a l . (2 0 0 9) N a t u r e M e t h o d s 6 (5) : 3 4 3 - 3 4 5 a n d G i b s o n D G . (2 0 1 1) M e t h o d s i n E n z y m o l o g y 4 9 8 : 3 4 9 - 3 6 1 を参照) によって組換え的に作製されてもよく、又は分子は、例えば、市販の合成装置、例えば、A p p l i e d B i o s y s t e m s , I n c . , B e c k m a n などによる自動合成機を使用して合成的に作製されてもよい。合成機を使用することによって、天然に存在するアミノ酸が非天然アミノ酸で置換されてもよい。特定の調製の順序及び様式は、便利性、経済性、必要とされる純度などによって決定される。所望であれば、合成中又は発現中に様々な基をペプチドに導入することができ、他の分子又は表面への結合を可能にする。

【0078】

F Z D アゴニストの結合ドメインは、リンカーを介して F c ドメインに連結され得る。いくつかの実施形態では、隣接する V H 及び V L ドメインは、ペプチドリンカーを介して互いに結合していてもよい。いくつかの実施形態では、隣接する定常ドメイン及び可変ドメインは、ペプチドリンカーを介して結合している。リンカーは、例えば、ポリペプチドリンカー、又は非ペプチドリンカーであり得る。いくつかの実施形態では、F Z D アゴニストの定常ドメイン及び可変ドメインは、ペプチドリンカーを介して F c ドメインに結合している。適切なリンカー、例えば X T E N リンカー (国際公開第 2 0 1 3 1 2 0 6 8 3 号、発明者 S c h e l l e n b e r g e r らを参照) は当技術分野で周知である。いくつかの実施形態では、ペプチドリンカーは、少なくとも 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99 又は少なくとも 100 アミノ酸を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドリンカーは、1~100、5~75、1~50、5~50、1~30、1~25、5~25、5~20、5~15、5~10、1~10 又は 1~5 アミノ酸長である。本発明のモジュール態様は、F c ドメインの反対末端にある F Z D 受容体に結合する抗体又は L R P 5 / 6 コレセプターに結合する抗体に由来する結合ドメインの混合及びマッチングを可能にして、F Z D 受容体-L R P 5 / 6 コレセプター複合体と係合して W n t シグナル伝達を活性化することができる四価結合抗体分子を生成する。

【0079】

F Z D アゴニストの F c ドメインは、リンカーの有無にかかわらず、本発明の四価結合抗体分子が F Z D 受容体及びその L R P 5 / 6 コレセプターの両方に結合し、それによって下流の W n t シグナル伝達経路の活性化に適合する受容体コンフォメーションを安定化することを可能にする長さ及び柔軟性を有する。本発明の一実施形態では、リンカーの有無にかかわらず、C H 3 ドメインを含む F c ドメイン又はその断片は、300 Å までの 100 アミノ酸超、375 Å までの 125 アミノ酸超、450 Å までの 150 アミノ酸超、525 Å までの 175 アミノ酸超、又は 900 Å までの 300 アミノ酸超である。好ましくは、F c ドメインは、約 200 アミノ酸~約 300 アミノ酸長さである。

【0080】

本明細書及び添付の特許請求の範囲で使用される場合、単数形「a」、「an」、及び「the」は、文脈上他に明確に指示されない限り、複数の指示対象を含む。したがって

、例えば、「細胞 (a cell)」への言及は、複数のそのような細胞 (cells) を含み、「ペプチド (the peptide)」への言及は、1つ又は複数のペプチド及びその均等物、例えば当業者に公知のポリペプチドなどへの言及を含む。

【0081】

「親和性成熟」抗体又は「抗体の成熟」とは、そのような変化を有しない親又はソース抗体と比較して、1つ又は複数の超可変領域 (HVR) に1つ又は複数の変化を有する抗体を指し、そのような変化は、抗原に対する抗体の親和性又は分子の他の所望の特性の改善をもたらす。

【0082】

「含む (comprising)」とは、列挙された要素が組成物／方法／キットに必要とされるが、特許請求の範囲内で、組成物／方法／キットなどを形成するために他の要素が含まれ得ることを意味する。例えば、四価結合抗体分子を含む組成物は、四価結合抗体分子に加えて他の要素、例えば、四価結合抗体分子に結合した、例えば共有結合したポリペプチド、小分子又は核酸などの機能性部分；四価結合抗体分子組成物の安定性を促進する薬剤、四価結合抗体分子組成物の溶解性を促進する薬剤、アジュバントなど（ただし、当技術分野で容易に理解されるように、任意の否定的な条件によって包含される要素は除く）を含み得る組成物である。

【0083】

「から本質的になる (consisting essentially of)」とは、本発明の基本的かつ新規な特徴（複数可）に実質的に影響を及ぼさない特定の材料又は工程に記載された組成物又は方法の範囲の限定を意味する。例えば、開示される配列「から本質的になる」四価結合抗体分子は、開示される配列のアミノ酸配列プラス又はマイナス約5アミノ酸残基を、それが由来する配列に基づく配列の境界に有し、例えば、列挙された境界アミノ酸残基よりも約5残基、4残基、3残基、2残基若しくは約1残基少ないか、又は列挙された境界アミノ酸残基よりも約1残基、2残基、3残基、4残基若しくは5残基多い。

【0084】

「からなる (consisting of)」とは、組成物、方法又はキットから、特許請求の範囲に明記されていない任意の要素、工程又は成分を除外することを意味する。例えば、開示される配列「からなる」四価結合抗体分子は、開示されるアミノ酸配列のみからなる。

【0085】

値の範囲が提供される場合、その範囲の上限と下限との間の、文脈上明確に指示されない限り、下限の単位の10分の1までの各介在値も具体的に開示されることが理解される。記載された範囲内の任意の記載された値又は介在する値と、その記載された範囲内の任意の他の記載された値又は介在する値との間のより小さい各範囲は、本発明に包含される。これらのより小さい範囲の上限及び下限は、独立して範囲に含まれてもよく、又は除外されてもよく、限界のいずれか又は両方がより小さい範囲に含まれるか、又はいずれも含まれない各範囲もまた、記載された範囲内の任意の具体的に除外された限界を条件として、本発明に包含される。記載された範囲が限界の一方又は両方を含む場合、それらの含まれる限界の一方又は両方を除外した範囲も本発明に含まれる。

【0086】

塩基性抗体構造単位は四量体を含むことが知られている。各四量体は、ポリペプチド鎖の2つの同一の対から構成され、各対は、1つの「軽」鎖（約25kDa）及び1つの「重」鎖（約50～70kDa）を有する。各鎖のアミノ末端部分は、主に抗原認識を担う約100～110個以上のアミノ酸の可変領域を含む。各鎖のカルボキシ末端部分は、エフェクター機能、例えばFc受容体の結合並びに抗体依存性細胞傷害性 (ADCC) 及び補体依存性細胞傷害性 (CDC) の活性化を主に担う定常領域を定義する。ノブーインーホール配置を介してペプチドを二量体化する方法は、国際公開第2018/026942号、発明者 Van Dyk et al., Carter P. (2001) J. Imm

10

20

30

40

50

unol. Methods 248, 7-15; Ridgway et al. (1996) Protein Eng. 9, 617-621; Merchant, et al. (1998) Nat. Biotechnol. 16, 677-681、及び; Atwell et al., (1997) J. Mol. Biol. 270, 26-35に記載されている。Fc領域は、Merrimack (ノブ鎖: Q347M、Y349F、T350D、T366W及びL368M; ホール鎖: S354I、E357L、T366S、L368A及びY407V)、Merchant (ノブ鎖: T366W; ホール鎖: T336S、L368A及びY407V) 又はMerchant S:S (ノブ鎖に追加のS354Cバリエーション及びホール鎖にY349Cを有するMerchant変異) であってもよい。Fc領域はまた、それらのエフェクター機能を変化させる変異を含有してもよく、例えば、Fc領域は、アミノ酸変異、例えばDANGバリエーション及びLALAPSバリエーションにより弱められたエフェクター機能を有してもよい。例えば、Fc領域におけるアミノ酸置換、例えば、N297G及びD265A、N297G (DANG) バリエーション、L234A、L235A、P331S (LALAPS)、LALAPS Merchant、LALAPS Merchant S-S (Merchant A. M. et al Nature Biotechnol 1998 vol 16 p677-681) バリエーション、又はL234A、L235A、P329G (LALA-PG) 置換を含む、抗体エフェクター機能を軽減するための方法は当技術分野で周知である。例えば、Lo et al. 「Effector Attenuating Substitutions that Maintain Antibody Stability and Reduce Toxicity in Mice. The Journal of Biological Chemistry Vol. 292, No. 9, pp. 3900-3908, March 3, 2017を参照されたい (参照により本明細書に組み込まれる)。一般に、ヒトから得られる抗体分子は、分子中に存在する重鎖の性質によって互いに異なるIgG、IgM、IgA、IgE及びIgDのクラスのいずれかに関連する。特定のクラスは、IgG₁、IgG₂などのサブクラスも有する。さらに、ヒトでは、軽鎖はカッパ鎖又はラムダ鎖であり得る。

10

20

30

40

50

【0087】

相補性決定領域 (CDR) と呼ばれる、重鎖可変ドメイン (VH又はVHドメイン) 及び軽鎖可変ドメイン (VL又はVLドメイン) のそれぞれ内の3つの高度に異なるストレッチは、「フレームワーク領域」又は「FR」として知られるより保存された隣接ストレッチの間に挟まれている。したがって、「FR」という用語は、免疫グロブリン中のCDRの間及びCDRに隣接して天然に見られるアミノ酸配列を指す。VHドメインは、典型的には、本明細書においてVHフレームワーク領域1 (FR1)、VHフレームワーク領域2 (FR2)、VHフレームワーク領域3 (FR3)、及びVHフレームワーク領域4 (FR4) と呼ばれる4つのFRを有する。同様に、VLドメインは、典型的には、本明細書においてVLフレームワーク領域1 (FR1)、VLフレームワーク領域2 (FR2)、VLフレームワーク領域3 (FR3)、及びVLフレームワーク領域4 (FR4) と呼ばれる4つのFRを有する。抗体分子において、VLドメインの3つのCDR (CDR-L1、CDR-L2及びCDR-L3) 及びVHドメインの3つのCDR (CDR-H1、CDR-H2及びCDR-H3) は、抗体可変領域内に抗原結合部位を形成するように三次元空間において互いに対して配置される。抗原結合部位の表面は、結合した抗原の三次元表面に相補的である。VL及びVHドメインのアミノ酸配列は、両方とも参照により本明細書に組み込まれるKabatナンバリングシステム (Kabat et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md.) 又はINTERNATIONAL IMMUNOGENETICS INFORMATION SYSTEM (IMGT numbering system; Lefranc et al., 2003, Development and Compar

active Immunology 27:55-77) に従ってナンバリングされ、その中のCDR及びFRが同定／定義され得る。当業者は、IMGTナンバリングシステム、Kabatナンバリングシステムなどの日常的に使用されるナンバリングシステムに従って、VLドメイン及びVHドメインのアミノ酸残基をナンバリングし、その中のCDR及びFRを同定するための知識を有するであろう。

【0088】

本明細書で言及される「抗体」という用語は、全抗体及び任意の抗原結合断片（すなわち、「抗原結合部分」）又はその一本鎖を含む。「全抗体」又は全長は、ジスルフィド結合によって相互に連結された少なくとも2本の重（H）鎖及び2本の軽（L）鎖を含む糖タンパク質、又はその抗原結合部分を指す。各重鎖は、重鎖可変領域又はドメイン（本明細書ではVHと略す）及び重鎖定常領域からなる。重鎖定常領域は、CH1、CH2及びCH3の3つのドメインから構成される。各軽鎖は、軽鎖可変領域又はドメイン（本明細書ではVLと略す）及び軽鎖定常領域からなる。軽鎖定常領域は、1つのドメイン、CL又はCL1で構成される。VH及びVL領域は、フレームワーク領域（FR）と呼ばれるより保存された領域が散在する、相補性決定領域（CDR）と呼ばれる超可変領域にさらに細分することができる。各VH及びVLは、アミノ末端からカルボキシ末端に向かって以下の順序で配置された3つのCDR及び4つのFRで構成される：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重鎖及び軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含む。抗体の定常領域は、免疫系の様々な細胞（例えば、エフェクター細胞）及び古典的補体系の第1の成分（C1q）を含む宿主組織又は因子への免疫グロブリンの結合を媒介し得る。

【0089】

本明細書で使用される場合、抗体の「抗原結合部分」又は「抗原結合断片」（又は単に「抗体部分」又は「抗体断片」）という用語は、抗原に特異的に結合する能力を保持する抗体の1つ又は複数の断片、部分又はドメインを指す。全長抗体の断片が抗体の抗原結合機能を果たすことができることが示されている。抗体の「抗原結合部分」という用語に包含される結合フラグメントの例としては、(i) Fab断片（VL、VH、CL1及びCH1ドメインからなる一価断片）；(ii) F(ab')₂断片（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F(ab)'断片を含む二価断片）；(iii) VHドメイン及びCH1ドメインからなるFd断片；(iv) 抗体の単一アームのVLドメイン及びVHドメインからなるFv断片；(v) VHドメインからなるdAb断片（Ward et al. (1989) Nature 241:544-546）；(vi) 単離された相補性決定領域（CDR）が挙げられる。さらに、Fv断片の2つのドメイン、VL及びVHは別個の遺伝子によってコードされるが、それらは、組換え法を使用して、VL及びVH領域が対合して一価分子を形成する単一の連続鎖として作製することを可能にする合成リンカーによって連結され得る（一本鎖Fv（scFv）として知られている；例えば、Bird et al. (1988) Science 242:423-426；及びHuston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883を参照のこと）。そのような一本鎖抗体はまた、抗体の「抗原結合部分」という用語に包含されることが意図される。ダイアボディなどの他の形態の一本鎖抗体も包含される（例えば、Holliger et al. (1993) PNAS. USA 90:6444-6448を参照のこと）。

【0090】

本明細書で使用される「ダイアボディ」、又は本明細書で「Dia」と呼ばれることもあるものは、二量体抗体断片である。ダイアボディの各ポリペプチドにおいて、重鎖可変ドメイン（VH）は軽鎖可変ドメイン（VL）に連結されているが、一本鎖Fv断片とは異なり、VLとVHとの間のリンカーは分子内対合には短すぎ、したがって各抗原結合部位は、一方のポリペプチドのVH及びVLと他方のポリペプチドのVH及びVLとの対合によって形成される。したがって、ダイアボディは2つの抗原結合部位を有し、単一特異性又は二重特異性であり得る。（例えば、Holliger, P., et al. (19

93) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448; Poljak, R. J., et al. (1994) Structure 2:1121-1123; Kontermann and Dubel eds., Antibody Engineering (2001) Springer-Verlag, New York. 790 pp. (ISBN 3-540-41354-5) を参照されたい (参照により本明細書に組み込まれる)。

【0091】

本明細書で使用される場合、薬剤、例えば四価結合抗体分子又は分子を含む医薬組成物の「有効量」は、所望の結果を達成するために必要な投与量及び期間で有効な量を指す。いくつかの実施形態では、治療有効量は、疾患、障害、及び／又は状態の1つ又は複数の症状の発生率及び／又は重症度を低下させる、その1つ又は複数の特徴を安定化させる、及び／又はその発症を遅延させる量である。いくつかの実施形態では、対象に投与されるFZDアゴニストの量は、対象の体重の約0.001mg/kg～10mg/kg、0.5mg/kg～約10mg/kg又は約0.5mg/kg～約1mg/kgの範囲である。例えば、いくつかの実施形態では、FZD4アゴニストは、例えば、眼あたり約0.02～1.5mg、約0.05～1.0mg、又は約0.1～0.5mgの量で眼に適用され得る。

【0092】

本明細書で使用される場合、「エピトープ」という用語は、免疫グロブリン若しくはその断片、又はT細胞受容体への特異的結合能を有する任意のタンパク質決定基を含む。「エピトープ」という用語は、免疫グロブリン又はT細胞受容体への特異的結合能を有する任意のタンパク質決定基を含む。エピトープ決定基は、通常、アミノ酸又は糖側鎖などの分子の化学的に活性な表面基からなり、通常、特定の三次元構造特性及び特定の電荷特性を有する。抗体は、解離定数が $\leq 10 \mu\text{M}$ ；例えば、 $\leq 100 \text{nM}$ 、好ましくは $\leq 10 \text{nM}$ 、より好ましくは $\leq 1 \text{nM}$ である場合、抗原に特異的に結合すると言われる。

【0093】

免疫グロブリン分子の定常領域は、フラグメント結晶化可能領域、「Fc領域」又は「Fcドメイン」とも呼ばれる。Fcドメインは、抗体の2つの重鎖の第2及び第3の定常ドメインに由来する2つの同一のタンパク質断片から構成され、IgGのFcドメインは、高度に保存されたN-グリコシル化部位を有する。Fc断片のグリコシル化は、Fc受容体媒介活性に必須である。本発明の一実施形態では、四価結合抗体分子のFcドメインは、ADCC又はCDC依存性の死滅について四価結合抗体分子に結合する細胞を標的としないように操作される。本発明の一実施形態では、四価結合抗体分子のFcドメインは、ノブーイン-ホール配置のペプチド二量体である。ペプチド二量体は、ヘテロ二量体であってもよい。

【0094】

「個体」、「対象」、「宿主」及び「患者」という用語は、本明細書では互換的に使用され、診断、処置又は治療が望まれる任意の哺乳動物対象、特にヒトを指す。

【0095】

「LRP」、「LRPタンパク質」及び「LRP受容体」は、本明細書では、低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質ファミリーのメンバーを指すために使用される。これらの受容体は、受容体媒介エンドサイトーシスの過程でリガンドに結合して内在化するシングルパス膜貫通タンパク質である。LRPタンパク質LRP5 (例えば、LRP5: NP_002326.2) 及びLRP6 (例えば、LRP6: NP_002327.2) は、Wnt- β カテニンシグナル伝達経路上の活性化に必要なWnt受容体複合体に含まれる。ヒト/マウスLRP5及びLRP6については、<https://www.uniprot.org/uniprot/O75197>、<https://www.uniprot.org/uniprot/Q91VN0>、<https://www.uniprot.org/uniprot/O75581>、<https://www.uniprot.org/uniprot/O88572>を参照されたい。

【0096】

本明細書で使用される「ポリペプチド断片」という用語は、アミノ末端及び／又はカルボキシ末端の欠失を有するが、残りのアミノ酸配列が、例えば全長cDNA配列から推定される天然に存在する配列の対応する位置と同一であるポリペプチドを指す。

【0097】

本明細書で使用される場合、「パラトープ」という用語は、エピトープに結合する抗体の可変領域内の抗原結合部位を含む。

【0098】

「一本鎖Fv」又は「scFv」抗体断片は、抗体のVH及びVLドメインを含み、これらのドメインは単一のポリペプチド鎖に存在する。一般に、Fvポリペプチドは、scFvが抗原結合のための所望の構造を形成することを可能にする、VHドメインとVLドメインとの間のポリペプチドリンカーをさらに含む。scFv及び他の抗体断片の総説については、James D. Marks, Antibody Engineering, Chapter 2, Oxford University Press (1995) (Carl K. Borrebaeck, Ed.) を参照されたい。

【0099】

「単ドメイン抗体」(sdAb)又は「ナノボディ」は、単一の単量体可変抗体ドメインからなる抗体断片である。本明細書で使用される「VHH」又は「VHH断片」は、軽鎖から独立するように操作されたヒトVHを指す(Nilvebrant et al., Curr Pharm Des. (2016) 22(43):6527-6537; Barthelémy et al., Journal of Biological Chemistry (2007) 283:3639-3654)。

【0100】

「処置(treatment)」、「処置すること(treating)」などの用語は、所望の薬理的及び／又は生理学的効果を得ることを一般に意味するために本明細書で使用される。効果は、疾患又はその症状を完全に又は部分的に予防するという点で予防的であり得、及び／又は疾患及び／又は疾患に起因する有害作用の部分的又は完全な治療という点で治療的であり得る。本明細書で使用される「処置」は、哺乳動物における疾患の任意の処置を包含し、(a)疾患の素因を有し得るが、それを有するとまだ診断されていない対象において疾患が発生するのを予防すること；(b)疾患を阻害すること、すなわち、その発症を遅らせるか又は停止させること；又は(c)疾患を軽減すること、すなわち疾患の退縮を引き起こすことを含む。治療剤は、疾患又は傷害の発症前、発症中又は発症後に投与され得る。進行中の疾患の処置は、処置が患者の望ましくない臨床症状を安定化又は軽減する場合、特に興味深い。そのような処置は、望ましくは、罹患組織における機能の完全な喪失の前に行われる。対象療法は、疾患の症候期の間、場合によっては疾患の症候期の後に投与され得る。

【0101】

本発明の四価結合抗体分子がWntシグナル伝達を活性化する能力は、いくつかのアッセイによって確認することができる。本発明の四価結合抗体分子は、典型的には、FZD受容体の天然リガンドによって開始されるものと類似又は同一の反応又は活性を開始する。本発明の四価結合抗体分子は、Wntシグナル伝達経路、例えば標準Wnt-βカテニンシグナル伝達経路を活性化する。本明細書で使用される場合、「活性化」という用語は、本発明のFZDアゴニストの非存在下でのレベルと比較して、Wntシグナル伝達経路、例えばWnt-βカテニンシグナル伝達経路の細胞内レベルの測定可能な増加を指す。

【0102】

Wnt-βカテニン活性化のレベルを測定するための様々な方法が当技術分野で公知である。これらには、Wnt-βカテニン標的遺伝子発現；LEF/TCFレポーター遺伝子発現(例えば、TopFLASH、superTopFLASH、pBAR)；βカテニン安定化；LRP5/6リン酸化；乱れた(Dishvelled)リン酸化；細胞質から細胞膜へのアキシン転座及びLRP5/6への結合を測定するアッセイが含まれる

が、これらに限定されない。標準的なWnt-βカテニンシグナル伝達経路は、最終的に、転写因子TCF1、TCF7L1、TCF7L2及びLEF1を介して遺伝子発現の変化をもたらす。Wnt活性化に対する転写応答は、いくつかの細胞及び組織において特徴付けられている。したがって、当技術分野で周知の方法による包括的転写プロファイリングを使用して、Wnt-βカテニンシグナル伝達活性化を評価することができる。

【0103】

Wnt応答性遺伝子発現の変化は、一般に、TCF及びLEF転写因子によって媒介される。TCFレポーターアッセイは、TCF/LEF制御遺伝子の転写の変化を評価して、Wnt-βカテニンシグナル伝達のレベルを決定する。TCFレポーターアッセイは、Korinek, V. et al., 1997によって最初に記載された。TOP/FOPとしても知られているこの方法は、内因性βカテニン/TCFのトランス活性化活性を決定するために、ルシフェラーゼ発現を駆動する最小c-Fosプロモーター（pTOPFLASH、pFOPFLASH）の上流に最適なTCFモチーフCCTTTGATCの3コピー、又は変異モチーフCCTTTGGCCの3コピーを使用することを含む。これらの2つのレポーター活性のより高い比（TOP/FOP）は、より高いβカテニン/TCF活性を示す。このレポーターのより新しく、より感受性の高いバージョンはpBARと呼ばれ、TCFモチーフの12回のリピートを含む（Biechele and Moon, Methods Mol Biol. 2008; 468: 99-110, PMID: 19099249）。

【0104】

分子及び細胞生化学における一般的な方法は、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd Ed. (Sambrook et al., CSH Laboratory Press 2001); Short Protocols in Molecular Biology, 4th Ed. (Ausubel et al. eds., John Wiley & Sons 1999); Protein Methods (Bollag et al., John Wiley & Sons 1996); Nonviral Vectors for Gene Therapy (Wagner et al. eds., Academic Press 1999); Viral Vectors (Kaplift & Loewy eds., Academic Press 1995); Immunology Methods Manual (I. Lefkovits ed., Academic Press 1997); 及びCell and Tissue Culture: Laboratory Procedures in Biotechnology (Doyle & Griffiths, John Wiley & Sons 1998)などの標準的な教科書に見出すことができる。

【0105】

特に定義されない限り、本発明に関連して使用される科学用語及び技術用語は、当業者によって一般的に理解される意味を有するものとする。さらに、文脈上別段の要求がない限り、単数形用語は複数形を含み、複数形用語は単数形を含むものとする。一般に、本明細書に記載の細胞及び組織の培養、分子生物学、並びにタンパク質及びオリゴ又はポリヌクレオチドの化学及びハイブリダイゼーションに関連して利用される命名法、並びにそれらの技術は、当技術分野で周知であり、一般的に使用されるものである。組換えDNA、オリゴヌクレオチド合成、並びに組織培養及び形質転換（例えば、エレクトロポレーション、リポフェクション）には、標準的な技術が使用される。酵素反応及び精製技術は、製造業者の仕様に従って、又は当技術分野で一般的に達成されるように、又は本明細書に記載されるように行われる。前述の技術及び手順は、一般に、当技術分野で周知の従来方法に従って、本明細書を通して引用及び議論される様々な一般的及びより具体的な参考文献に記載されているように実行される。例えば、Sambrook et al. Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2d ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press,

Cold Spring Harbor, N. Y. (1989)) を参照されたい。本明細書に記載される分析化学、合成有機化学、並びに医薬品及び医薬化学に関連して利用される命名法、並びにその実験手順及び技術は、当技術分野で周知であり、一般的に使用されるものである。標準的な技術は、化学合成、化学分析、医薬調製、製剤化及び送達、並びに患者の処置に使用される。

【0106】

例

例 1 F Z D 4 結合又は F Z D 5 結合 F a b ファージの同定及び特徴づけ。

A. F Z D 4 結合抗体 5027 及び 5044 の親和性成熟ライブラリからの F Z D 4 抗体； F Z D 5 結合抗体 2919 及び 2928 の親和性成熟ライブラリからの F Z D 5 抗体

10

。公知の F Z D 4 結合抗体 5027 及び 5044 並びに公知の F Z D 5 結合抗体 2919 及び 2928 の親和性成熟ライブラリを、本質的に米国公開番号 2016 / 0194394、発明者 Sidhu et al. (Persson et al. J. Mol. Biol., 2013 Feb 22; 425 (4): 803-11 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23219464/> も参照のこと。どちらも参照によりその全体が本明細書に組み込まれる) に記載されているように、日常的方法を使用して調製した。

【0107】

親和性成熟ライブラリから単離された抗体 5044、5027、2919 及び 2928 の重鎖 (CDR-H1、CDR-H2 及び CDR-H3) 及び軽鎖 (CDR-L1、CDR-L2 及び CDR-L3) の 6 つの CDR を表 1 及び表 2 に示す。

20

【0108】

単一点 E L I S A を、飽和濃度の 5027 ダイアボディー F c (F c ドメインに連結された 5027 の V L 及び V H を含むダイアボディ) の存在下又は非存在下で、ヒト F Z D 4 タンパク質の細胞外ドメイン (E C D) でコーティングした 96 ウェル M a x i s o r p プレートで実施した。プレートをモノクローナル F a b ファージと共にインキュベートし、続いてホースラディッシュペルオキシダーゼ (H R P) コンジュゲート抗 M 13 抗体と共にインキュベートした。続いて、ウェルを 8 回洗浄した後、3, 3, ' 5, 5 ' - テトラメチルベニジン / H₂O₂ ペルオキシダーゼ (T M B) 基質と 5 ~ 10 分間インキュベートした。1 M H₃P O₄ を添加することによって反応を停止させ、マイクロタイタープレートリーダーにおいて 450 nm で吸光度を分光光度計で測定した。アッセイの結果を図 1 及び図 2 に示し、新たに同定された F Z D 4 抗体が、抗体 5027 によって認識される部位と重複する部位で F Z D 4 に結合することを実証する。F Z D 4 結合抗体 5027 及び 5044 は、参照により本明細書に組み込まれる米国仮特許出願第 62 / 885, 781 号に記載されている。

30

【0109】

B. リード F Z D 4 抗体のエピトープマッピング。

E L I S A アッセイを、F Z D 4 E C D 野生型 (F Z D 4) 又は F Z D 4 E C D のセグメントを F Z D 5 由来の対応する領域で置換する変異 F Z D 4 タンパク質 (F Z D _ s w a p 1 - 18) でコーティングした 384 ウェル M a x i s o r p プレートで実施した。それらのプレートを、F Z D 4 に特異的に結合することが知られている、すなわち、5044 及び 5027、又は、汎特異的であることが知られている、すなわち 5016 (F Z D 4、F Z D 5 及び他の F Z D 受容体に結合する)、10 nM の I g G とインキュベーションし、その後、西洋ワサビペルオキシダーゼ (H R P) コンジュゲート抗カップ軽鎖抗体とインキュベーションした。リン酸緩衝生理食塩水 (P B S) 及び F Z D 4 又は F Z D 5 に結合しない I g G 4275 を対照として使用した。ウェルを 6 回洗浄した後、3, 3, ' 5, 5 ' - テトラメチルベニジン / H₂O₂ ペルオキシダーゼ (T M B) 基質と 3 ~ 5 分間インキュベートした。1 M H₃P O₄ を添加することによって反応を停止させ、マイクロタイタープレートリーダーにおいて 450 nm で吸光度を分光光度計で測定

40

50

した（図2を参照）。pan-FZD結合剤5016は、「FZD4_Swap10」を除いて、抗原が機能的であることを示す陽性対照である。FZD4特異的抗体5027及び5044は両方とも「FZD4_Swap7」に結合することができず、これらの分子がFZD ECDのこの領域に結合することを示唆している。

【0110】

C. FZD4 IgGの特徴付け。

FZD4結合全長IgGを、Expi293細胞培養系において一過性トランスフェクションによって発現し（本質的に、Tao et al., Tailored tetra-
valent antibodies potentially and specifically activate Wnt/Frizzled pathways in cells, organoids and mice. Elife. 2019 Aug 27; 8:e46134. doi:10.7554/eLife.46134; PMID: 31452509. に記載される）、プロテインAアフィニティクロマトグラフィを介して精製した。手短に言えば、バッフル付き細胞培養フラスコ中のExpi293発現培地（Gibco）中で約 2.5×10^6 細胞/mlの密度まで細胞を増殖させ、標準的な製造プロトコル（ThermoFisher）を使用してFectoPROトランスフェクション試薬（Polypplus-トランスフェクション）を使用して適切なベクターでトランスフェクトした。125rpmで振盪しながら、37℃及び8% CO₂で5日間発現を進行させた。発現後、細胞を遠心分離によって除去し、タンパク質を、rProtein A Sepharose（GE Healthcare）を使用して馴化培地から精製した。精製されたタンパク質を、保存のためにPBS又は製剤化された安定化緩衝液（36.8mMクエン酸、63.2mM Na₂HPO₄、10%トレハロース、0.2M L-アルギニン、0.01% Tween-80、pH6.0）のいずれかに緩衝液交換した。タンパク質濃度を280nmでの吸光度によって決定し、純度をSDS-PAGE分析によって確認した。

【0111】

発現力価を、哺乳動物細胞培養物1リットル当たりの精製タンパク質のmgとして決定した。下記の表Aにおけるサイズ排除クロマトグラフィ（SEC）結果は、「-」：SECトレース上の複数のピークの証拠、<50%のモノマー種；「+」：>50%モノマー種、遅延保持時間（>14分）；「++」：モノマーIgGの予想保持時間／ほぼ予想保持時間での主要ピークの>90%として定義される。標準保持時間をトラスツズマブとの比較によって決定した。

10

20

30

40

50

【表 1】

表 A

TRAC ID	発現力価 (mg/l)	SEC 結果
13980	58	-
13981	40	-
13982	43	-
13983	65	++
13984	52	-
13985	61	++
13956	47	+
13957	52	+
13958	58	-
13959	46	+
13962	38	-
13963	56	-
13964	47	-
13965	74	++
13966	86	-
13967	87	-
13968	89	+
13969	72	-
13970	36	-
13971	46	++
13972	27	+
13973	41	+
13974	41	+
13975	41	++
13979	49	-

【0112】

Trac IDは、表1及び表2の抗体番号に対応する。

【0113】

D.FZD4 IgGのサイズ排除クロマトグラフィ分析及びELISA特異性測定。

Agilent Bio-Inert HPLCを使用して、PBSの移動相中のAdvanceBio SEC、300 Å、2.7 μm、4.6×300mmカラムで20マイクログラムのFZD4結合IgGを分離した。タンパク質溶出を、280nmでの吸光度を用いてモニターした。結果を図3Aに示す。

【0114】

FZD4抗体のELISA特異性測定を、FZD4に最も密接に関連する2つのFZDファミリーメンバーであるFZD1及びFZD10に対して決定した。ELISAアッセイを、1 μg/mlの濃度のFZD ECD野生型又は変異型タンパク質でコーティングした384ウェルMaxisorpプレートで実施し、過剰な結合部位を0.5% BSAでブロックした。プレートを10 nMのFZD4結合IgGと共にインキュベートし、続いてホースラディッシュペルオキシダーゼ（HRP）コンジュゲート抗カップ軽鎖抗体と共にインキュベートした。ウェルを6回洗浄した後、3, 3', 5, 5'-テトラメチル

ペニジン／ H_2O_2 ペルオキシダーゼ（TMB）基質と3～5分間インキュベートした。
1M H_3PO_4 を添加することによって反応を停止させ、マイクロタイタープレート
リーダーにおいて450nmで吸光度を分光光度計で測定した。結果を図3Bに示す。

【0115】

E. FZD4結合抗体又はFZD5結合抗体のCDRの同定。

FZD4結合免疫グロブリン及びFZD5結合免疫グロブリンのCDRのアミノ酸配列
を表1及び2に示す。CDRは、INTERNATIONAL IMMUNOGENETICS
INFORMATION SYSTEM（IMGTナンバリングシステム；Le
franc et al.，2003，Development and Comparative Immunology 27：55－77）に従って同定し、Persso
n et al. J Mol Biol. 2013 Feb 22；425（4）：80
3－11に記載のように注釈を付けた。これらは両方とも参照により本明細書に組み込ま
れる。

10

20

30

40

50

【表 2 - 1】

表 1		F Z D 4 結合抗体 C D R												
抗体 I D	ライブ ラリ	L1	配列 番号 L2	配列 番号 L3	配列 番号 H1	配列 番号 H2	配列 番号 H3	配列 番号						
5044	F	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYYAPI	3	LSSYSM	24	YISSYYGYTY	51	PAPGHWGF	79	
13953	5044AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	GNYGPI	4	IAFYSI	25	YISPFSGITH	52	PAVGHLAM	80	
13954	5044AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	GYAPI	5	IYYSI	26	YISSYYGYTY	51	STVGHGGM	81	
13955	5044AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYYAPI	3	ISSYSI	27	YISPYYSYTY	53	PAPAHWGF	82	
13956	5044AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	GYALI	6	LSSYSM	24	YISSYAGYTS	54	PALGHAGM	83	
13957	5044AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYFAPI	7	ISAYSI	28	YISPYFGLTG	55	PAPGHWGM	84	
13958	5044AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYYAPI	3	LSSYSI	29	YISSYYGYTY	51	PVAGHGGM	85	
13959	5044AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	GYNAPI	8	LYSYSM	30	FISSFYGYTD	56	PAVGHMAL	86	
13960	5044AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYYAPI	3	LTSYSM	31	YISSYYGSTY	57	PAPGHWGM	84	
13961	5044AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYYAPI	3	ISSYSM	32	YISSYYSYTY	58	PAPYGAL	87	
13962	5044AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	GYFAPI	9	LFSYPM	33	YISPYYGVTN	59	QTAGHAGM	88	
13963	5044AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WFNAPI	10	LSAYSM	34	YISSYYGYTY	51	PAPGHWGF	79	
13964	5044AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	SNYAPI	11	ISSHSM	35	YISPFFSFTH	60	QAPGVSGI	89	
13965	5044AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYNAPI	12	LSSYSM	24	YISSYDSITD	61	PAVGHMAF	90	
13966	5044AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	GFYAPI	13	LSSYSM	24	YISSYYSYTA	62	PTPGHGGL	91	
13967	5044AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYYAPI	3	ISAYAM	36	YISPYYGVTF	63	PAPGHGGM	92	
13968	5044AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	GYSAPI	14	ISTYSM	37	YISPHYGFTS	64	PAVHGLGM	93	
13969	5044AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYFAPI	7	LHAFSM	38	YISPYYGTY	65	PAPGHWGL	94	
13970	5044AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	GFYAPI	13	ISGYSI	39	YISSYYGYTF	66	TAPGHGAF	95	
13971	5044AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	GFYAPI	13	ISNYSI	40	IISNFGYTS	67	PALGHLAM	96	
13972	5044AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	GYAGLI	15	ISAYSM	41	SISSYYGFTS	68	LAPGPAL	97	
13973	5044AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	GFSSPI	16	LTSYAM	42	YISPYYGTY	65	PAAGHLAL	98	
13974	5044AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	GYAPI	5	LYSYSI	43	YISPSYGSTY	69	PIPGHLAF	99	
13975	5044AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	GHYAPI	17	LSSFMS	44	YISSFNGSTF	70	PTWAHGAF	100	
13976	5044AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	SFYAPI	18	IASYSI	45	YISSYYGSTY	57	PVLAHSAF	101	
13977	5044AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	GYRAPI	19	IHSNSM	46	YISPYYSFTS	71	QTPGHSGM	102	
13978	5044AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WHRAPI	20	LSTNSM	47	YISPYYSFTY	72	QAPGPWGM	103	
13979	5044AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	SFYAPI	18	LHSFSM	48	FISSYYGYTY	73	PAPGHGAF	104	

10

20

30

40

50

【表 2 - 2】

(46)

JP 2024-500839 A 2024.1.10

表 1 続き		F Z D 4 結合抗体 C D R												
抗体 I D	ライブ ラリ	L1	配列 番号	L2	配列 番号	L3	配列 番号	H1	配列 番号	H2	配列 番号	H3	配列 番号	
I3980		5044AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	GYAPI	5	LTSYSM	31	SISPYYSYTN	74	PTAHMAL	105
I3981		5044AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYYAPI	3	ISSFSI	49	FINPYYSYTY	75	PAPGHWGM	84
I3982		5044AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	GYAPI	5	ISSYSM	32	YISSYYDYTY	76	PTPGHSGF	106
I3983		5044AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	GDFAPF	21	LPYYSM	50	ISSYFGFTY	77	PAVGHGAL	107
I3984		5044AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	GYSSPI	22	ISSHSM	35	YISPYYSYTY	53	TAPGHPAM	108
I3985		5044AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WFYAPI	23	ISSYSI	27	YISSNFGSTY	78	PVPAHGAF	109

10

20

30

40

50

【表 3 - 1】

表 2 A		F Z D 4 結合抗体 C D R											
抗体 I D	ライブ ラリ	L1	配列 番号	L2	配列 番号	L3	配列 番号	H1	配列 番号	H2	配列 番号	H3	配列 番号
5027	F	SVSSA	1	SASSLYS2		SSVSLI	130	SSFYFM	148	TVVPPYLDYTY Y		AFPGSYHPM	199
13986	5027AM	SVSSA	1	SASSLYS2		ASYYLJI	110	STYFFI	139	ITVPPYLNSTY		AYPGSYHPL	198
13987	5027AM	SVSSA	1	SASSLYS2		SNYALJI	111	TSFYFM	140	SVVPPYLDNTY		AFPGSYHPM	199
13988	5027AM	SVSSA	1	SASSLYS2		SSSFLI	112	SSFYFI	141	TVVSYIDITY		AFPGSYHPM	200
13989	5027AM	SVSSA	1	SASSLYS2		SSDSL	113	SAYYFI	142	TVVPPYRGYTY		GYPLAYTPL	201
13990	5027AM	SVSSA	1	SASSLYS2		STHFLI	114	SYFYFM	143	SVVPPYLSYTY		AFPGSYHPM	199
13991	5027AM	SVSSA	1	SASSLYS2		ASYSLI	115	SSFYFI	141	SVVPPYLDFTY		ALQGHYHPM	202
13992	5027AM	SVSSA	1	SASSLYS2		SAYTLI	116	TSFYFM	144	AIYPYLDYTY		AFPGSYLPM	203
13993	5027AM	SVSSA	1	SASSLYS2		SSVSLI	117	FTFYFM	145	SIYPYLNYYTF		AFPGSYHPM	199
13994	5027AM	SVSSA	1	SASSLYS2		SYVSLI	118	SSYFYI	146	ITVPPYSDNTY		GFPGRYHPL	204
13995	5027AM	SVSSA	1	SASSLYS2		SSYYLI	119	SSFYVM	147	SIYSYGNITY		AFPLSYHPM	205
13996	5027AM	SVSSA	1	SASSLYS2		ASYYLJI	110	SSFYFM	148	AIYPYLSYTY		AFPGRYHGM	206
13997	5027AM	SVSSA	1	SASSLYS2		AYYFLI	120	SSFYYI	149	TVFPYLGRTY		AFPGSYTPL	207

10

20

30

40

50

【表 3 - 2】

表 2 A - 続 き		F Z D 4 結 合 抗 体 C D R											
抗 体 I D	ラ イ ブ ラ リ	L1	配 列 番 号	L2	配 列 番 号	L3	配 列 番 号	H1	配 列 番 号	H2	配 列 番 号	H3	配 列 番 号
13998	5027AM	SVSSA	1	SASSLYS2		SSFSLI	121	STFYFM	150	SVYPYLNITY	178	AFPGAYSPM	208
13999	5027AM	SVSSA	1	SASSLYS2		SAYS LI	122	SAFYFM	151	TVYPYLSITY	179	AFPGAYHPM	209
14000	5027AM	SVSSA	1	SASSLYS2		SSYALI	123	ASFYFM	152	TVYPYLNHTY	180	AFPGAYHPF	210
14001	5027AM	SVSSA	1	SASSLYS2		SYFS LI	124	SAFYFI	153	SIYPYLSITY	181	AFPGAYHPM	209
14002	5027AM	SVSSA	1	SASSLYS2		SRFTLI	125	FPFYFM	154	SVYPYLNHTY	182	AYPGFYHPI	211
14003	5027AM	SVSSA	1	SASSLYS2		SSNTLI	126	SAFYFM	155	SVYSSLSHTY	183	AYPLSYHPM	212
14004	5027AM	SVSSA	1	SASSLYS2		SSFSLI	121	ASYYFM	156	SVYPYLDFTY	171	ALPGFYHPF	213
14005	5027AM	SVSSA	1	SASSLYS2		SSEALI	127	SVFYFM	157	SVYPYNDITY	184	GFGTYHPL	214
14006	5027AM	SVSSA	1	SASSLYS2		ANYALI	128	SSLYYM	158	SVYPYLDNTH	185	AIPGFYHPI	215
14008	5027AM	SVSSA	1	SASSLYS2		ASYS LI	115	SNFYLM	159	SIYSYLNITY	186	AFPGSYHPM	199
14009	5027AM	SVSSA	1	SASSLYS2		SSAS LI	129	FSFYFI	160	SIYPYLDFTH	187	AFPGSYHPL	216
14010	5027AM	SVSSA	1	SASSLYS2		SSYS LI	130	SAFYFM	155	AIYPYIGITY	188	PPASVYHPL	217
14011	5027AM	SVSSA	1	SASSLYS2		SSYS LI	130	SSLYFM	161	TIYPFRGTTY	189	AYPGRYHPL	218
14012	5027AM	SVSSA	1	SASSLYS2		SAFY LI	131	YYFYYM	162	AIYPYLGITY	190	AFPGSYHPL	216
14013	5027AM	SVSSA	1	SASSLYS2		SAYFLI	132	SSFYFI	141	SVYPYLGDTY	191	AFPGFYHPF	219
14015	5027AM	SVSSA	1	SASSLYS2		ASSSLI	133	TSYYFI	163	SVYSYLGITY	192	AFPGSYHPL	216
14016	5027AM	SVSSA	1	SASSLYS2		SIYS LI	134	SYFYFM	143	AIYPYLSITY	176	AFPGSYHPM	199
14018	5027AM	SVSSA	1	SASSLYS2		ASY LI	110	FSFYFI	160	TVYPYLSHTY	193	AFPGSYHPM	199
14019	5027AM	SVSSA	1	SASSLYS2		STGSLI	135	SDFYFI	164	TIYPFIGNTY	194	AFPGSYHPF	220
14020	5027AM	SVSSA	1	SASSLYS2		SSHSLI	136	SSFYFM	148	SVYPYVDITY	195	AFPGFYHPM	221
14021	5027AM	SVSSA	1	SASSLYS2		SSYT LI	137	SSFYFM	165	TVYPYLSFTY	196	ALPGSYHPF	222
14022	5027AM	SVSSA	1	SASSLYS2		SYHY LI	138	STFYFM	150	SVYPYLDITY	197	AYPGSYHPL	198

10

20

30

40

50

【表 4 - 1】

F Z D 5 結合抗体 C D R														
表 2 B	抗体 I D	抗原名	選択 I D	L1	配列番号	L2	配列番号	L3	配列番号	H1	配列番号	H2	配列番号	配列番号
	14023	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYSGVHGHI	223	LIITYI	308	TIYPASSSTS	381	GAM
	14024	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WFSSAHVPF	224	ITYPGM	309	TIYSSHGSTS	382	FGM
	14025	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYSYGHHLI	225	ISYSYM	310	SIYSSSSTS	383	GAL
	14026	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYTSGHVLI	226	ISFFYM	311	TIDSSTGSTT	384	GAL
	14027	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYASDHGLI	227	IPYFYM	312	SIYSSSGSTS	385	GAM
	14028	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WFSPGNVLI	228	ISYYI	313	SIYSSSSTT	386	AAF
	14029	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYSTRNILI	229	ISVAYM	314	SIYSSSSTA	387	YAF
	14030	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYFSDHDLF	230	ITYFYM	315	SIYPSFGSTS	388	GGM
	14031	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYSSGDVLI	231	IYYSYI	316	SIYSSNGGTS	389	GAM
	14032	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYSSADVLF	232	ILNTYM	317	SIYSSSSTA	387	GGL
	14033	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYSSGHGLI	233	ISFYI	318	SIYPASSSTS	390	GGI
	14034	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYSSGHALI	234	LAYSYM	319	SIYPSGDTs	391	GAM
	14035	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYSSNHPII	235	IRYSYI	320	AIYSSSSTS	392	GAM
	14036	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYSSSNVLI	236	ITYSYM	321	TIYPSGGSTA	393	FAM
	14037	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYFSDRVLI	237	IINTYM	322	SIYAPSSSTA	394	GAI
	14038	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYPSSHVLI	238	ISYSYM	310	TIYPSGGSTA	393	GGM
	14039	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYSSRHHLI	239	LANSYM	323	TIYSSSGSTS	395	GAM
	14040	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYSTGRVLF	240	LSYTYM	324	SIDPSSSGTs	396	FGM
	14041	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WFPTGHVLF	241	ISYSYI	325	TIYPSGGTG	397	FGM
	14042	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYAPRHVLI	242	ISYSYI	325	SIYSSSSTS	383	GAM
	14043	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WFTSGLVLF	243	LSYLYI	326	SIYPSSTTs	398	GGM
	14044	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYSSGHVLF	244	ISYAYI	327	SIYSPSTTs	399	GAM
	14045	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYPGAPVLI	245	IAYSYM	328	SIYPSSTTs	398	GAM
	14046	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYSSSNVLI	236	FIWESLLVS	329	TIYPSGSTA	393	FAM
	14047	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYSSANALF	246	ISHSYM	330	SIDSSSGTs	400	GAL
	14048	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYSSGDVLI	231	LRYSYI	331	TIYASGSTT	401	GAL

10

20

30

40

50

【表 4 - 2】

F Z D 5 結合抗体 C D R																
表 2 B	抗体 I D		抗原名	選択 I D	L1	配列番号	L2	配列番号	L3	配列番号	H1	配列番号	H2	配列番号	H3	配列番号
14049	FZD5	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYSSNHVLI	247	ISYAYM	314	SISPSDSTS	402	GAL		
14050	FZD5	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYSAAHILF	248	ISYSYM	310	SIDPSSGLTS	403	GAL		
14051	FZD5	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WFASGHVLI	249	IRYAYM	332	TIDSFGSTS	404	YAM		
14052	FZD5	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WFSSGDSL	250	ITHLYM	333	SIYPSGSTS	405	AAL		
14053	FZD5	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYASGNVLI	251	LSIFYM	334	TIYPSSTS	406	GAF		
14054	FZD5	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WFSPGHLI	252	LSYSYI	335	AIYPSSTS	407	GAM		
14055	FZD5	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYPSGHVLF	253	ISYSFM	336	SIYSTSGSTS	408	GGL		
14056	FZD5	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WFAAGHVLI	254	IAYVGI	337	AITPSSNTS	409	FGF		
14057	FZD5	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WFRSAHVLI	255	LSYSYM	338	SIDPSSSTA	410	FGF		
14058	FZD5	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WFASGHILI	256	ISYSFM	336	SIYRSGSTA	411	GAM		
14059	FZD5	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WFSGGHALI	257	IAYFYI	339	TIDPSSGSTS	412	GGL		
14060	FZD5	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WFASAHVLF	258	LSSSYM	340	SIGPSSGSTS	413	FGF		
14061	FZD5	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYSPGHVLI	259	LSYSYM	338	SIYPSSTS	398	GGI		
14062	FZD5	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYASGLVLI	260	IYYSYM	341	SIDPSSSTS	414	GGM		
14063	FZD5	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYTSGHVLF	261	ITYSYM	321	SIYPSSTS	415	GGM		
14064	FZD5	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WFSFPHALI	262	LHYGGI	342	SISSFSSTS	416	FGF		
14066	FZD5	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYASGTDLI	263	ISYSYM	310	TIYSSSSTA	417	GGM		
14067	FZD5	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYSSGRLLI	264	IGYAYM	343	SIYSPGSTA	418	GAL		
14068	FZD5	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WFSSPHVLF	265	LSYSSI	344	SICPFCSTS	419	FGF		
14069	FZD5	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WFASASSLF	266	LSYDGI	345	TIYSSGSTS	395	FGL		
14070	FZD5	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYPSSHVLF	267	LSYAYM	346	SIHPFDGSTS	420	GAL		
14071	FZD5	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WFPAHHVLF	268	ISYSGI	347	SISSSGSTA	421	FGM		
14072	FZD5	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WFPSGNVLF	269	ISSSYM	348	TIDPYAGSTS	422	FAM		
14073	FZD5	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYSSNNVLI	270	LSYSYM	338	SIYPSGSTA	423	GGM		
14074	FZD5	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WFSSRHVLF	271	LSYSGM	349	TIYPSSTS	406	FGM		
14075	FZD5	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYFSDHDLI	272	GFTISYFFM	350	SIYPSDSTS	424	GAM		

10

20

30

40

50

【表 4 - 3】

F Z D 5 結合抗体 C D R															
表 2 B	抗体 I D		抗原名	選択 I D	L1	配列番号	L2	配列番号	L3	配列番号	H1	配列番号	H2	配列番号	配列番号
	14076	FZD5	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYSSGGVLI	273	ISYSFI	351	SIYSSGHTS	425	GAL
	14077	FZD5	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WFPSGHVLF	274	ISYSYM	310	SIDPSSGSTS	396	FGM
	14078	FZD5	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYSSTHVLF	275	LSYTYM	324	SIYSPGSTS	426	GGM
	14079	FZD5	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYSSGSALI	276	ISHAYM	352	SIYSPGSTA	418	FAL
	14080	FZD5	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WFSPGSVLI	277	LLFFYM	353	SIDPSSGFTS	427	GAM
	14081	FZD5	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYPSAHILF	278	IAYSYM	328	SIYPASSSTS	390	GGM
	14082	FZD5	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYSGGGILI	279	LSYFYM	354	SIFSSSSSTS	428	GAM
	14083	FZD5	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WFTSGRDLF	280	GFTLISSSI	355	SIYPAPSSTP	429	GGM
	14084	FZD5	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WYLSRNILI	281	LSYSYI	335	SIYSSSSSTS	383	GAM
	14085	FZD5	FZD5	2919AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	WFSGRDLF	282	ITNSYM	356	SIYSSPSTS	399	GGL
	14369	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFYFPI	283	ISFSSI	357	SIYPSYGSSF	430	YYAF
	14370	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFYFPI	284	ISYSSM	358	TIYPPYSSTL	431	YYAF
	14371	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AHYFPI	285	ISYSSM	358	SIYSSYSSTY	432	YYAM
	14372	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFYFPI	284	ISYSSM	358	SIYPSYSVTY	433	YYGM
	14373	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	SHYYPI	286	LSFSSM	359	SIYPPYGSTF	434	YYAM
	14374	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFYFPI	284	ISYSSM	358	SIYSSYSSTY	432	YYGF
	14375	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	GFYYPI	287	ISFGSI	360	SIYPSYSSTF	435	YYAM
	14376	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFYYPI	288	ITYSSI	361	SIYPAYSSTY	436	YYAF
	14377	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	SFYFPI	289	ISYSAI	362	SIYSSYSSTF	437	YYAM
	14378	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFYFPI	284	ISYSSM	358	SIYSSYGSTY	438	YYAM
	14379	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	ADYFPI	290	ISYSSM	358	SIYPSYSSTY	439	YYGM
	14380	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFYYPI	288	ISYSSI	363	SIYSYVGSTY	440	YYAM
	14381	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFYFPI	284	ISFSSI	357	TIYSLFGATF	441	YYGF
	14382	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	SFYFPI	289	ISYSSM	358	SIYPSYSSTY	439	YYAF
	14383	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFHYPI	291	ISFSSI	357	SIYPSYSSTY	439	YYAM
	14384	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFYYPI	288	ISFSSI	357	SIYPAYGATF	442	YYGM

10

20

30

40

50

【表 4 - 4】

F Z D 5 結合抗体 C D R																
表 2 B	抗体 I D		抗原名	選択 I D	L1	配列 番号	L2	配列 番号	L3	配列 番号	H1	配列 番号	H2	配列 番号	配列 番号	
	14385	FZD5		2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AYYPI	292	ISYSSI	363	SIYSSYSTF	437	YYAF	483
	14386	FZD5		2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	VFYPI	293	ISYSSM	358	SIYSSYSTY	432	YYAF	483
	14387	FZD5		2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	SFYPI	289	ISYSSM	358	SIYPYSSY	443	YYAM	484
	14388	FZD5		2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFYPI	284	LSYSSM	364	SIYPAYSSY	436	YYGM	485
	14389	FZD5		2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	ANYFPI	294	ISFGSI	360	SIYSSYSTY	432	YYAM	484
	14390	FZD5		2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	GFYPI	295	ISYSSI	363	SIYPSFGSTY	444	YYAM	484
	14391	FZD5		2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFYFPI	284	ISYSSM	358	SIYPSFSPTY	445	YYGM	485
	14392	FZD5		2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFYFPI	284	IAYSSM	365	SIYSSYGSTF	446	YYAF	483
	14393	FZD5		2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AYYFPI	296	ISYSSI	363	SIYPAYSPY	447	YYAF	483
	14394	FZD5		2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFIFPI	297	ISYSAM	366	SIYPSYSTY	439	YYAL	487
	14395	FZD5		2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AYYPI	292	ISYGV	367	SIYSAYSSTF	448	YYAF	483
	14396	FZD5		2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	SFYPI	289	ISYSSI	363	TIYPPYDPTY	449	YYAF	483
	14397	FZD5		2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFYFPI	284	LSYSSM	364	SIYSSYGSTY	438	YYAM	484
	14398	FZD5		2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFYPI	288	ISYSSI	363	SIYPSYGSTY	450	YYGM	485
	14399	FZD5		2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFYFPI	284	ISYSSM	358	SIYPHYGATF	451	YYGM	485
	14400	FZD5		2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFYPI	288	ISYSSI	363	SIYPSYGSTF	452	YYAM	484
	14401	FZD5		2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFFPI	298	ISYSSI	363	SIYSSYSATY	453	YYAM	484
	14402	FZD5		2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	SFYPI	299	ISYSSM	358	SIYPSYSTY	439	YYAF	483
	14403	FZD5		2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFYFPI	284	IPYGS	368	SIYPSYGSTF	452	YYAM	484
	14404	FZD5		2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	ALYPI	300	ISYSSM	358	SIYPSYSTF	435	YYAM	484
	14405	FZD5		2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFYFPI	284	ISYSAM	366	SIYPYGPTY	454	YYAF	483
	14406	FZD5		2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	VFYPI	293	ISYSSI	363	SIYFYGSTF	455	FYAF	488
	14407	FZD5		2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	RFYFPI	301	ISYSSI	363	AIYPSYSTN	456	YYAM	484
	14408	FZD5		2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFYPI	288	ISYSSI	363	SIYPYSSTH	457	YYAM	484
	14409	FZD5		2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	LYFPI	302	IAYSAM	369	SIYPSYSTY	458	YYAM	484
	14410	FZD5		2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFYFPI	284	LSFSSI	370	SIYPSYSTF	435	YYAF	483

10

20

30

40

50

【表 4 - 5】

F Z D 5 結合抗体 C D R																
表 2 B	抗体 I D		抗原名	選択 I D	L1	配列 番号	L2	配列 番号	L3	配列 番号	H1	配列 番号	H2	配列 番号	配列 番号	
	14411	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AYYFPI	296	ISYSSM	358	SIYSSYGSTY	438	YYGM	485
	14412	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	SSYFPI	303	ISYSSM	358	SIYSNYSSSY	459	YYAM	484
	14413	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFYFPI	284	LTYSSI	371	TIYPSYGSTY	460	YYAM	484
	14414	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFYFPI	284	ISYSSM	358	SIYPSFGSTF	461	YYAI	489
	14415	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AHYFPI	285	LSYGSI	372	SIYPSYGSTY	450	YYGM	485
	14416	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	ASYFPI	304	ISYSSM	358	TIYPSYSSY	462	YYAM	484
	14417	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFYFPI	284	IAYSSM	365	TIYSSYGATS	463	YYAF	483
	14418	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AHYYPPI	305	ISYSSI	363	SIYPSVSSTI	464	YYAM	484
	14419	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AGFFPI	306	ISYSSI	363	TIYPPYGGATY	465	YYGF	486
	14420	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	SSYYPPI	307	ISYSSI	363	SIYSGYSATY	466	YYAM	484
	14421	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFYFPI	284	ITYSSM	373	SIYPSYGSTY	450	YYGF	486
	14422	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFYFPI	284	ISYSSI	363	TIYPSYSSY	462	YYAM	484
	14423	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFYFPI	284	LGYGSM	374	SIYPSYGSTY	450	YYAM	484
	14424	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFYFPI	284	ISYSSM	358	SIYPSYSATF	467	YFAL	490
	14425	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFYYPPI	288	IGYSSI	375	TIYPSYSSTF	468	YYAF	483
	14426	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFYYPPI	288	ITYGSI	376	AIYSSYGSTY	469	YYAF	483
	14427	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFYYPPI	288	ISYSSM	358	SIFPYYGSTY	470	YYGF	486
	14428	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFYFPI	284	ISYSSM	358	SIYPFYSTTF	471	YYAM	484
	14429	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	SSYYPPI	307	ISYGSM	377	SIYPSYSATF	467	YYGM	485
	14430	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFYYPPI	288	ISYSSM	358	SIYPSYGSTS	472	YYGM	485
	14431	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFYFPI	284	IYYSSM	378	SIYPTYGSTV	473	YYGM	485
	14432	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFYFPI	284	ISYSSI	363	TIYPNYSSY	474	YYAM	484
	14433	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFYFPI	284	IFYSSM	379	SIYPSYSATY	475	YYAM	484
	14434	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFYYPPI	288	ISYSSM	358	SIYPGYSSY	476	YYAM	484
	14435	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AHYFPI	285	IAYSSM	365	TIYPSYSSY	462	YYAM	484
	14436	FZD5	FZD5	2928AM	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFYYPPI	288	ISYSSI	363	SIYPSYSSTS	477	YYGM	485

10

20

30

40

50

B) 基質と5～10分間インキュベートした。1M H_3PO_4 を添加することによって反応を停止させ、マイクロタイタープレートリーダーにおいて450nmで吸光度を分光光度計で測定した。結果を図4に示す。結果は、合成抗体がLRP5に結合したことを実証している。LRP5結合抗体2459、2460及び8716は、参照により本明細書に組み込まれる米国仮特許出願第62/886,913号に記載されている。

【0117】

ヒトLRP6-Fcタンパク質キメラのECDでコーティングした96ウェルMaxisorpプレート上で、単一点ELISAを実施した。プレートをモノクローナルFabファージ、又はVH-ファージ及び力価 $>10^9$ ファージ/mlと共にインキュベートし、続いてホースラディッシュペルオキシダーゼ(HRP)コンジュゲート抗M13抗体と共にインキュベートした。ウェルを8回洗浄した後、3,3',5,5'-テトラメチルベニジン/ H_2O_2 ペルオキシダーゼ(TMB)基質と5～10分間インキュベートした。1M H_3PO_4 を添加することによって反応を停止させ、マイクロタイタープレートリーダーにおいて450nmで吸光度を分光光度計で測定した。結果を図5A及び図5Bに示す。結果は、合成抗体がLRP6に結合したことを実証している。LRP6結合抗体2539、2540、及び2542は、参照により本明細書に組み込まれる米国仮特許出願第62/886,918号に記載されている。

【0118】

B. LRP5及びLRP6を標的とする合成抗体のCDRの同定。

表3及び4に記載のLRP5結合免疫グロブリン及びLRP6結合免疫グロブリンのCDRは、INTERNATIONAL IMMUNOGENETICS INFORMATION SYSTEM (IMGTナンバリングシステム; Lefranc et al., 2003, Development and Comparative Immunology 27:55-77)に従って同定し、Persson et al. J Mol Biol. 2013 Feb 22; 425(4):803-11に記載のように注釈を付けた。これらは両方とも参照により本明細書に組み込まれる。

10

20

30

40

50

【表 5 - 1】

抗体 I D	ライプ ラリ	抗原	LRP 5 結合抗体 CDR										配列 番号	H1	配列 番号	H2	配列 番号	H3	配列 番号
			L1	配列 番号	L2	配列 番号	L3	配列 番号	L4	配列 番号	L5	配列 番号							
2459	F	mLRP5-his	SVSSA	1	SASSLYS	2	ASYAPI	492	LSYYYM	527	SISSSYGYTY	552	WSHVS	584	WSHVS	584	WSHVS	584	WSHVS
2460	F	mLRP5-his	SVSSA	1	SASSLYS	2	SSYSLI	130	FSSSSI	528	SISSSYGYTY	553	GGSGV	585	GGSGV	585	GGSGV	585	GGSGV
8716	F	mLRP5-his	SVSSA	1	SASSLYS	2	YWYYSP	493	FSSSSI	528	SISSSYGYTY	553	SWAM	586	SWAM	586	SWAM	586	SWAM
9931	F	mLRP5-his	SVSSA	1	SASSLYS	2	SSSGHLI	494	LYYYSM	529	YISSYYSYTS	554	WSHVV	587	WSHVV	587	WSHVV	587	WSHVV
9932	F	mLRP5-his	SVSSA	1	SASSLYS	2	PYGYPI	495	IYYYSM	530	SISSSYGYTS	555	SWWV	588	SWWV	588	SWWV	588	SWWV
9933	F	mLRP5-his	SVSSA	1	SASSLYS	2	FHGLI	496	ISSSYM	531	SISSSYGYTS	556	GYSYV	589	GYSYV	589	GYSYV	589	GYSYV
9934	F	mLRP5-his	SVSSA	1	SASSLYS	2	YWFLI	497	LYYYVI	531	SISSSYGYTS	557	SGYGW	590	SGYGW	590	SGYGW	590	SGYGW
9935	F	mLRP5-his	SVSSA	1	SASSLYS	2	HSYGYPI	498	ISYSYM	531	SISSSYGYTY	558	SYWGW	591	SYWGW	591	SYWGW	591	SYWGW
9936	F	mLRP5-his	SVSSA	1	SASSLYS	2	YYAWYLI	499	ISYSYM	532	SISSSYGYTY	559	GGVYY	592	GGVYY	592	GGVYY	592	GGVYY
9937	F	mLRP5-his	SVSSA	1	SASSLYS	2	AAYSPI	500	ISSSYM	533	SISSSYGYTY	560	HYAWV	593	HYAWV	593	HYAWV	593	HYAWV
9938	F	mLRP5-his	SVSSA	1	SASSLYS	2	YYSWYPP	501	ISYSYM	534	SISSSYGYTS	561	GGAHG	594	GGAHG	594	GGAHG	594	GGAHG
9939	F	mLRP5-his	SVSSA	1	SASSLYS	2	SFYPI	502	LSSYSI	535	SISSSYGYTS	562	SGPVY	595	SGPVY	595	SGPVY	595	SGPVY
9940	F	mLRP5-his	SVSSA	1	SASSLYS	2	YVWYPI	503	LYYYVI	536	SISSSYGYTS	563	YVWYPI	596	YVWYPI	596	YVWYPI	596	YVWYPI
9941	F	mLRP5-his	SVSSA	1	SASSLYS	2	WGSPI	504	FSSSSI	537	SISSSYGYTS	564	YVWYPI	597	YVWYPI	597	YVWYPI	597	YVWYPI
9942	F	mLRP5-his	SVSSA	1	SASSLYS	2	YSSWYLI	505	LYYYSM	538	SISSSYGYTS	565	SPYYG	598	SPYYG	598	SPYYG	598	SPYYG
9943	F	mLRP5-his	SVSSA	1	SASSLYS	2	GAYLI	506	LYYYSM	539	SISSSYGYTY	566	AAWGW	599	AAWGW	599	AAWGW	599	AAWGW
9944	F	mLRP5-his	SVSSA	1	SASSLYS	2	HFYYPI	507	IYSSVI	540	SISSSYGYTY	567	GGFFY	600	GGFFY	600	GGFFY	600	GGFFY
9945	F	mLRP5-his	SVSSA	1	SASSLYS	2	AFHSPI	508	LYYYSM	541	SISSSYGYTS	568	AWYSY	601	AWYSY	601	AWYSY	601	AWYSY
9946	F	mLRP5-his	SVSSA	1	SASSLYS	2	AWYPI	509	ISYSYM	542	SISSSYGYTS	569	GVYYG	602	GVYYG	602	GVYYG	602	GVYYG
12600	H	mLRP5-his	SVSSA	1	SASDLYS	491	YAGAGLI	510	FTAYAM	536	SISSSYGYTA	566	RSYFAL	603	RSYFAL	603	RSYFAL	603	RSYFAL
12601	H	mLRP5-his	SVSSA	1	SASDLYS	491	SYSPYI	511	LGYYGI	537	SISSSYGYTA	567	SSTYS	604	SSTYS	604	SSTYS	604	SSTYS
12602	H	mLRP5-his	SVSSA	1	SASDLYS	491	YYSRLI	512	FASAWM	538	SISSSYGYTA	568	STRWS	605	STRWS	605	STRWS	605	STRWS
12603	H	mLRP5-his	SVSSA	1	SASDLYS	491	SYFYPI	513	IGGAAM	539	SISSSYGYTA	569	SRPSW	606	SRPSW	606	SRPSW	606	SRPSW
12604	H	mLRP5-his	SVSSA	1	SASDLYS	491	GFFPI	514	FSSSSI	540	SISSSYGYTA	570	SYGYS	607	SYGYS	607	SYGYS	607	SYGYS
12605	H	mLRP5-his	SVSSA	1	SASDLYS	491	SHSYPI	515	FASYGM	541	SISSSYGYTA	571	SYSHY	608	SYSHY	608	SYSHY	608	SYSHY

10

20

30

40

50

【表 5 - 2】

表 3			LRP 5 結合抗体 CDR											
抗体 I D	ライプ ラリ	抗原	L1	配列 番号	L2	配列 番号	L3	配列 番号	H1	配列 番号	H2	配列 番号	H3	配列 番号
12606	H	mLRP5-his	SVSSA I		SASDLYS	491	SHYYPI	286	IAGSSI	541	GISASGGYTA	571	YDSGYAWYYHDRAM	609
12607	H	mLRP5-his	SVSSA I		SASDLYS	491	RGSGPI	516	LTGDW					
12608	H	mLRP5-his	SVSSA I		SASDLYS	491	RYSGGLI	517	FTSYSM	543	GIYPSGGATA	572	FGSPHYGM	610
12609	H	mLRP5-his	SVSSA I		SASDLYS	491	SARYYYLI	518	LNAAM	544	GISASRGATA	574	SHSSGSRSRGL	611
12610	H	mLRP5-his	SVSSA I		SASDLYS	491	SSYSLI	130	LAGAGM	545	RISTSGGYTA	575	YSFRYPYAM	612
12611	H	mLRP5-his	SVSSA I		SASDLYS	491	SYRGYYLI	519	IGGAAM	539	GIYASGGATA	576	GSRYSGF	613
13218	2539AM	mLRP5-his	SVSSA I		SASSLYS	2	FSWGLI	520	ISYYPM	546	YISPYSGYTF	577	HYVFRWSRGM	614
13219	2539AM	mLRP5-his	SVSSA I		SASSLYS	2	YSWLPI	521	IVFGSI	547	HIAPYYGFTY	578	VNFRFRGM	615
13378	2542AM	mLRP5-his	SVSSA I		SASSLYS	2	FFRPI	522	ISSNYI	548	SINPSYSYTF	579	AVRRSQGI	616
13379	2539AM	mLRP5-his	SVSSA I		SASSLYS	2	YSRRLF	523	LTYTSM	549	SISPFHGHTF	580	FPYFAWVGGM	617
13380	2539AM	mLRP5-his	SVSSA I		SASSLYS	2	FIRVPI	524	ITYYSM	550	SITSYYGNTD	581	SHYFPWTVAL	618
13558	2540AM	mLRP5-his	SVSSA I		SASSLYS	2	FYVPF	525	N/D		SIYPYTGFTD	582	ASYHASFDGL	619
13559	2540AM	mLRP5-his	SVSSA I		SASSLYS	2	GYSEFGQ	526	IADSSI	551	SISPYFSYTR	583	TSIFKRFAGM	620

10

20

30

40

50

【表 6 - 1】

表4 LRP6-抗体		LRP6結合抗体CDR											配列 番号
抗体 ID	ライブラリ	抗原	L1	L2	配列 番号	L3	配列 番号	H1	配列 番号	H2	配列 番号	H3	配列 番号
2539	F	LRP6-Fc	SVSSA I	SASSLYS 2	YSWGPF 2	YSWGPF 622	ISYSSI 363	YISSYGYTY 51	AHYFPWAGAM				813
2542	F	LRP6-Fc	SVSSA I	SASSLYS 2	YYWPI 2	YYWPI 623	ISSYYI 683	SIYSSYGYTS 741	TVRGSKKPYFSGWAM				814
2540	F	LRP6-Fc	SVSSA I	SASSLYS 2	YYFLI 2	YYFLI 624	ISYSSI 363	SIYSSYGYTY 742	SSYFPWFSAM				815
12612	H	LRP6-Fc	SVSSA I	SASDLYS 491	YRYWWRPI 491	YRYWWRPI 625	FSGDAM 684	RISSGGGYTA 743	ASYYSNYYYGPAM				816
12613	H	LRP6-Fc	SVSSA I	SASDLYS 491	GPWGLI 491	GPWGLI 626	ISGAWM 685	RIYPSGGTTD 744	GWFSFRSYRYSYYYSAL				817

10

20

30

40

50

【表 6 - 2】

表4 LRP6-抗体		LRP6 結合抗体CDR												
抗体 ID	ライブ ラリ	抗原	L1	配列 番号	L2	配列 番号	L3	配列 番号	H1	配列 番号	H2	配列 番号	H3	配列 番号
12614	H	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASDLYS	491	RYSSPI	627	FTTYSI	686	GISTSGGYTD	745	SGHPRYYRRHSYGM	818
12615	H	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASDLYS	491	YRYWYGPI	628	FAASGI	687	YISPSGGYTD	746	SYYSNYYYYDAM	819
12979	2539AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	YSWALF	629	IFESSM	688	GISSYYGYFTY	747	AHYFPWAGAL	820
12980	2539AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	ISWGLI	630	IRYSSI	689	GIFSNGYPTT	748	AHYFRRARGL	821
12981	2539AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	YFSYPI	631	LSYSSI	344	FISYYYSFTH	749	SHYFPWAGAM	822
12982	2539AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	YRWALF	632	LAYSSI	690	SISYYGYFTY	750	AHYFPWAGGM	823
12983	2539AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	YSRLF	633	LRYASM	691	YIASFYGDTY	751	SYYYPRSRGM	824
12984	2539AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	YSLRPI	634	LSFSSI	370	HISPPYGYTH	752	SHYFPWAVAM	825
12985	2539AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	YSRGLI	635	IFYSSI	692	YISSYYSYTY	753	SHYFPWAVAM	825
12986	2539AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	YFWGLI	636	LSYSSM	364	NITPPYGYTS	754	SHYFPWFAAM	826
12987	2539AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	YSWGLI	637	INYSSI	693	GISSYYSYTY	754	ANYFPWAYAM	827
12988	2539AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	DSWGLF	638	ISYSSM	358	LITSYYGYTT	755	AHYFPWVVGGM	828
12989	2539AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	YVWGLI	639	LSYSSI	344	FISYYGYTY	753	SHYFPWAGAL	829
13002	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	YYILI	640	IAFSSI	694	SISYYGYTS	555	SSYFPWFSAL	830
13003	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	YYILI	641	LFYSSM	695	FISPPYSFTN	756	SSYFPWLSDM	831
13004	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	HSPII	642	ISYSSM	358	NITSYYGYTT	757	SSYFPWVSGM	832
13005	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	YHHLI	643	ISFASM	696	SISPPYSYTS	758	SSYFPWFSAM	815
13006	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	YYSPI	644	IFYSSI	692	SISPPYGYTD	759	SSYLPWFSAL	833
13007	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	YYYP	645	ISFYSI	697	SISYYSYTD	760	SSYFPWFTAL	834
13008	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	YHFLI	646	ISYSSI	363	AIYSYYSYTI	761	SSYFPWVGGF	835
13009	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	YYFPI	647	LSYSSI	344	SISPPYSYTS	758	SSRFPWFYGL	836
13010	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	YDFLI	648	ISYSSM	358	SISYYGYTS	555	SSYFPWFSAL	830
13394	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	YYILI	641	LFYASM	698	SISYYGYTS	555	SSYFPWFSAM	815
13395	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	YYILI	640	IFYSSI	363	SISPPYGFTL	762	SSYFPWFSAM	815
13396	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	YYFPI	647	IAYASI	699	SISPPYSYTY	763	SSYFPWFSAM	815
13397	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	YYFPI	647	ITYSSI	361	SISPPYGYTA	764	SSYFPWSSAM	837
13398	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	NSFLI	649	ISRSSI	700	GISSYYGYTR	765	SHYFPWLSAL	838

10

20

30

40

50

【表 6 - 3】

表4 L R P 6 - 抗体		L R P 6 結合抗体 C D R												
抗体 I D	ライプ ラリ	抗原	L1	配列 番号	L2	配列 番号	L3	配列 番号	H1	配列 番号	H2	配列 番号	H3	配列 番号
13399	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA 1	SASSLYS 2	YYNPI	650	ISYASI	701	SISPYGYTR	766	ASYYPWFSAM	839		
13400	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA 1	SASSLYS 2	YGFLI	651	LDYSSI	702	SISPYYSYTT	767	SSYIPWRYAI	840		
13401	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA 1	SASSLYS 2	YYFLI	624	ISYSSI	363	SISPYYSYTN	74	SSYFPWISAM	841		
13402	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA 1	SASSLYS 2	YYFPI	647	IYYYSM	530	GISSYYSYTS	768	SSYFPWISAL	842		
13403	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA 1	SASSLYS 2	YYFPI	647	ISYSSM	358	SISPYYSFTS	769	SSRFPWISGM	843		
13404	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA 1	SASSLYS 2	YNFLI	652	ISYSSI	363	SISSYYGFTS	68	SSYFPWFESAL	830		
13405	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA 1	SASSLYS 2	YYFPI	647	ISYSSI	363	SISSYYGFTS	68	SPYFPWSSAL	844		
13406	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA 1	SASSLYS 2	YYFPI	647	LSYSAI	703	YISPYYGYTY	65	ASYLPWFSAM	845		
13407	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA 1	SASSLYS 2	SSFLI	653	LSGFGI	704	FISSYYGYTA	770	SSYLPWITAM	846		
13408	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA 1	SASSLYS 2	YVFLI	654	LSFASM	705	SISSYYGYTP	771	SAYFPWFAAL	847		
13409	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA 1	SASSLYS 2	YYFPI	647	LAYNSI	706	SIFSYYSYTN	772	SSYFPWFSAM	815		
13410	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA 1	SASSLYS 2	FYGPI	655	ISFSSI	357	SISSYYGYTL	773	SSYFPWFFAM	848		
13411	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA 1	SASSLYS 2	YFFLI	656	LYYSNI	707	YISSYYGYTS	774	SSYFPWFESAL	830		
13412	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA 1	SASSLYS 2	YYGPI	657	IHYYSI	708	SISPYYSFTD	775	SSYFPWFSAM	815		
13413	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA 1	SASSLYS 2	YDFLI	648	ISFASI	709	SIYSYYSFTN	776	SSHFPWVSAL	849		
13414	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA 1	SASSLYS 2	YYSPI	644	IYYSSM	378	SISPYYGYS	557	SSYFPWVSAM	850		
13415	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA 1	SASSLYS 2	YYFLI	624	LSYFSM	710	SIYSYYGFTN	777	SSHFPWFSAM	851		
13422	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA 1	SASSLYS 2	FYGPI	655	LFYSSM	695	TISSPYGYTS	778	SSYFPWFSAL	830		
13428	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA 1	SASSLYS 2	YTLPI	658	ISFSSM	380	HISSYYGFTS	779	SSYFPWFSAL	830		
13430	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA 1	SASSLYS 2	YRFPPI	659	ISYFSI	711	SISPYYSYTN	74	SSYFPWFSAI	852		
13431	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA 1	SASSLYS 2	YHLI	660	LYYNSI	712	AIHPLYGYTS	780	SSRFPWFPAM	853		
13432	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA 1	SASSLYS 2	YSFPI	661	LSYASI	713	SISSYYGYTG	781	SSYFPWFSAM	815		
13435	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA 1	SASSLYS 2	YFLPI	662	LSYSSM	364	SISPYYGFTY	782	SSYFPWFSAL	830		
13436	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA 1	SASSLYS 2	YYFPI	647	ISYASM	714	SISSYYGYTD	783	SSYVPWFYAL	854		
13437	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA 1	SASSLYS 2	YDNL I	663	ITYSSI	361	SISSYYGFTS	68	SSYFPWFSAM	815		

10

20

30

40

50

【表 6 - 4】

表4 LRP6-抗体		LRP6 結合抗体CDR															
抗体 ID	ライブ ラリ	抗原	L1	配列 番号	L2	配列 番号	L3	配列 番号	H1	配列 番号	H2	配列 番号	H3	配列 番号			
13438	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	YLFPI	664	ISYSL	715	SIYSYGYTT	784	ASYFPWFPAM	855			
13439	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	YFFPI	665	LSHSL	716	SISSHYGYTH	785	SSYFPWFFAL	856			
13440	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	YYTPI	666	IAYNSM	717	SISSYYSYTD	760	SSYFPWFSL	830			
13441	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	FNFLI	667	LSYSL	344	YISSYGYTA	786	SSYYPWFSL	857			
13442	2540AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	YNYLI	668	LAYSL	690	SISSYGYTY	787	SSYLPWVSAL	858			
12990	2542AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	YYWPI	623	ISLFFM	718	SIYSYSYTS	788	SFNGAKKPYFSGWAM	859			
12991	2542AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	YYWPI	623	IPSYFM	719	SIYSYSYTA	789	NVVVSRRKPYFFRSAM	860			
12992	2542AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	YYWPI	623	ISSSYM	348	SIYSYSYTG	790	TVPGSKRPYFASLAI	861			
12993	2542AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	YYWPI	623	ISSYFI	720	SIYPSYTS	791	NVRGFRKPYFSRWAM	862			
12994	2542AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	YYWPI	623	LSSYIM	721	SIYSRFSYA	792	NVPGIKRPYFTAWAM	863			
12995	2542AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	SYWPI	669	LHSYI	722	NIYSYGYTS	793	TIRGSKRPYFAASGL	864			
12996	2542AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	YYWPI	623	LSSYIM	721	SIYSYSYTS	788	TARENKKPYFSGWAM	865			
12997	2542AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	YYRPI	670	IGSYIM	723	AIYSPYGYTS	794	TLPLSKKPYFSLWAF	866			
12998	2542AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	YYWPI	623	LGSYI	724	TIYSYSYTS	795	TFHGSKKPYFSGRAM	867			
12999	2542AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	YYWPI	623	LTSYI	725	SIYPSYTS	791	SIRGSKKPYFSRLAL	868			
13000	2542AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	YYWPI	623	ISTYIM	726	SIYPSYTS	791	SVRGSKKPYFSHWAM	869			
13001	2542AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	YYWPI	623	ISSNYI	548	SIYSFGYTS	796	NVRTSKKPYFPPLWAM	870			
13011	2460AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	ASNLI	671	IPLYTI	727	SISPSYTY	797	GVSGGSNYISIFRNSSGM	871			
13012	2460AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	SSYSLI	130	IFSTSI	728	SITSAYSITY	798	GGLSVSHYNYVHSFKWG	872			
13013	2460AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	SAITPI	672	ISYSTM	729	SIVSSYSRTY	799	SCSSFCNYVSNYNARRA	873			
13014	2460AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	FSYSPF	673	LSSSGM	730	AIYPFDGYTY	800	GNARVSNYISSYYAWRA	874			
13015	2460AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	SSYNI	674	FSSSSI	528	GIFSFSYTY	801	GGYGFYSYNSVTFYRWA	875			

10

20

30

40

50

【表 6 - 5】

表 4 LRP 6 ー抗体			LRP 6 結合抗体CDR											
抗体 ID	ライブ ラリ	抗原	L1	配列 番号	L2	配列 番号	L3		H1	配列 番号	H2	配列 番号	H3	配列 番号
13016	2460AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	SYNPPF	675	IRGPSI	731	SISPFCCGFTY	802	VGSGVCNSLHNYFYKRG	876
13017	2460AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	SSTVPF	676	FSSTYM	732	SITPSYGYTN	803	SSSDISIDNSIRYTWGAM	877
13018	2460AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	SSYSLI	130	INSSFM	733	SISPSYGYTY	804	GHSGVTFNFSFYRRRA	878
13019	2460AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	SNYSLF	677	IFGYSM	734	SIFPCCSNTY	805	GVSGLDNNRTASYSRMG	879
13020	2460AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	STYSLI	678	FSSSTI	735	SIAPSFHITY	806	GAASVNHIGSLYVSWRG	880
13021	2460AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	SAFSLI	679	LSSSTM	736	SISPYYSYTR	807	HGSGLSHNATTSYYRSAI	881
13022	2460AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	SSYSLI	130	ISYTSI	737	SIFSTYSYTY	808	SSSAVSRNSIVVYSRTAM	882
13023	2460AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	SSYTPI	680	FSSSVM	738	SIAPSYSFTY	809	GVCRVSNYSYFYSRGA	883
13024	2460AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	YNSSLI	681	ISYSTM	729	SITPYYSTTS	810	AISHVAHYDNVYISKWGI	884
13025	2460AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	SSYSLI	130	IASYSM	739	FISPYHSYTD	811	GHSVLSNYSVSIHYWAG	885
13026	8716AM	LRP6-Fc	SVSSA	1	SASSLYS	2	YWAYFSP	682	FSYSSM	740	SISSRYGYTY	812	SWAM	586

【0119】

例 3：四価結合抗体分子フォーマット

A. 本発明者らは、Fcドメインの両端に pan-FZD 及び LRP 5 / 6 抗体断片、例えば scFv、ダイアボディ及び Fab を含む四価結合抗体分子の様々なフォーマットを作成し（表 5 及び図 6 を参照のこと）、それらの Wnt アゴニスト活性をアッセイした。抗体可変ドメインをコードする DNA 断片をファージミド DNA 鋳型から PCR によって増幅するか、又は化学合成（Twist Biosciences）によって構築した。DNA 断片を哺乳動物発現ベクター（pSCSTa）にクローニングした。二重特異性ダイアボディ及び IgG は、最適化されたバージョンの「ノブーインーホール」ヘテロニ

量体Fc (Ridgway et al. Protein Eng. 9, 617-621 (1996)) を含有した。ダイアボディドメインはVH-VL配向で配置され、可変ドメインは短いGGGGSリンカー (配列番号886) によって分離されており、これはVHドメインとVLドメインとの間の分子間会合を促進し、したがってダイアボディ形成を促進する。ダイアボディ融合構築物を作製するために、ダイアボディ鎖をヒトIgG1 Fcに融合した。ダイアボディーfc-ダイアボディタンパク質は、VH-x-VL-y-[ヒトIgG1 Fc]-z-VH-x-VLとして構築され、ここで、リンカーは、x=GGGGS (配列番号886)、y=LEDKTHTKVEPKSS (配列番号887)、及びz=SGSETPGTSESATPESGGG (配列番号888) である。このフォーマットでは、ヒトIgG1 Fc又はノブ-イン-ホールIgG1 Fc断片は、234位~478位 (Kabatatナンバリング) に及んでいた。scFv-Fc融合物の場合、可変ドメインはVL-VH配向で配置され、長いGTTAASGSSGGSSSGAリンカー (配列番号889) によって連結され、これはVHドメインとVLドメインとの間の分子内会合を促進し、したがってscFv形成を促進する。化学合成 (Twist Biosciences) を介して、FcのC末端に融合したFabドメインを有するバリエーションを作製した。すべての構築物について、コード領域全体を分泌シグナルペプチドとインフレームで哺乳動物発現ベクターにクローニングした。

【0120】

汎特異的FZD及びLRP5/6抗体断片を含むこれらの様々な四価結合抗体分子を、βカテニン媒介遺伝子レポーター活性をモニターするためにTOPFLASHアッセイで試験した。タンパク質を天然リガンドWnt3aと比較した。96ウェル組織培養処理プレート中でTOPFLASH細胞を約70%コンフルエンスにプレーティングすることによってアッセイを行った。アゴニストをDMEMで希釈して、最終アッセイ濃度を0.046nM~100nMにし、細胞を5% CO₂下、37℃で一晩処理した。ルシフェラーゼ発現を、Dual-Luciferase Reporter Assay System (Promega) を使用して96ウェルブラックプレートにおいて製造者の説明書に従って定量した。簡単に記載すると、HEK293T細胞に、pBARLSレポーターをコードするレンチウイルス (Biechele and Moon in Wnt Signaling: Pathway Methods and Mammalian Models, E. Vincan, Ed. (Humana Press, Totowa, NJ, 2008), pp. 99-110) を形質導入し、コントロールとしてウミシイタケルシフェラーゼを形質導入して、Wnt-βカテニンシグナル伝達レポーター細胞株を作製した。トランスフェクション又は刺激の前に、120μl中1~2x10³個の細胞を96ウェルプレートの各ウェルに24時間播種した。翌日、FZDアゴニスト又はAbタンパク質を添加し、15~20時間の刺激後、細胞を溶解し、Envisionプレートリーダー (PerkinElmer) を使用して二重ルシフェラーゼプロトコル (Promega) に従って発光を測定した。FZD4アゴニストのアッセイのために、FZD4 cDNAを6時間トランスフェクトした後、FZDアゴニストを加えた。Wnt阻害アッセイのために、cDNAトランスフェクションによってWnt1を導入するか、又はAbタンパク質の添加前にWNT3Aタンパク質を6時間適用した。全てのアッセイを少なくとも3回繰り返した。結果を表5に示す。表5に示すように、各四価フォーマットは、FZD4及びLRP5をクラスタリングするときにFZDシグナリングを異なる程度に活性化する。これらのフォーマットはまた、Exp1293からの安定性、均一性及び収量生産についても評価した (図3及び図9)。これらの分析から、ダイアボディーFc-Fabフォーマットは、活性、発現、安定性の最良のバランスを提供する。最後に、本発明者らは、FZD5及びLRP6に同じモダリティ配置を適用し、強力なアゴニスト活性を観察した。表5の結果は、様々な四価モダリティがWNTアゴニズムを誘発すること、及び2つのLRP5/6エピトープの関与が、1つのLRP5/6エピトープの場合よりも高いWNTシグナル伝達活性 (最大値) をもたらすことを示す。

10

20

30

40

50

【表 7 - 1】

表 5

分子	モダリティ	パラトープ	結合特性 (パラトープ化学量論)	Topflash EC50 (nM)		% Wnt Maxima	
				Avg Stdev	3	Avg Stdev	ND
Wnt3a	組換え産生リガンド	NA	FZD/LRP	6	3	100%	ND
CM0011	FZDダイアボディン-Fc-LRPダイアボディン	5019 (FZDダイアボディン) ; 2539, 2542 (LRPダイアボディン)	FZD1/2/4/5/7/8, LRP6 ¹ , LRP6 ³ (2:1:1)	0.3	0.1	63%	10%
ANT-4	FZDダイアボディン-Fc-LRP Fab	5016 (FZDダイアボディン) ; 2540, 2542 (LRP Fab)	FZD1/2/4/5/7/8, LRP6 ¹ , LRP6 ³ (2:1:1)	0.5	0.1	63%	6%
ANT-5	FZDダイアボディン-Fc-LRP Fab	5016 (FZDダイアボディン) ; 2540, 2542 (LRP Fab)	FZD1/2/4/5/7/8, LRP6 ¹ , LRP6 ³ (2:1:1)	0.5	0.1	59%	8%
CT0001	FZD IgG-LRPダイアボディン	5016 (FZD IgG) ; 2539, 2542 (LRPダイアボディン)	FZD1/2/4/5/7/8, LRP6 ¹ , LRP6 ³ (2:1:1)	0.3	0.1	57%	17%
CT0002	LRPダイアボディン-Fc-FZD scFv (VL-VH)	2539, 2542 (LRPダイアボディン) ; 5016 (FZD scFv)	FZD1/2/4/5/7/8, LRP6 ¹ , LRP6 ³ (2:1:1)	0.5	0.1	55%	22%
CM0126	FZDダイアボディン-Fc-LRPダイアボディン	5016 (FZDダイアボディン) ; 2539, 2542 (LRPダイアボディン)	FZD1/2/4/5/7/8, LRP6 ¹ , LRP6 ³ (2:1:1)	0.3	0.2	52%	1%
ANT-1	LRPダイアボディン-Fc-FZD Fab	2540, 2542 (LRPダイアボディン) ; 5016 (FZD Fab)	FZD1/2/4/5/7/8, LRP6 ¹ , LRP6 ³ (2:1:1)	0.7	0.5	49%	22%
CT0003	FZDダイアボディン-Fc-LRP scFv	5016 (FZDダイアボディン) ; 2539, 2542 (LRP scFv)	FZD1/2/4/5/7/8, LRP6 ¹ , LRP6 ³ (2:1:1)	0.4	0.1	42%	16%
ANT-2	LRPダイアボディン-Fc-FZD Fab	2540, 2542 (LRPダイアボディン) ; 5016 (FZD Fab)	FZD1/2/4/5/7/8, LRP6 ¹ , LRP6 ³ (2:1:1)	0.3	0.1	38%	25%
CM0042	FZDダイアボディン-Fc-LRPダイアボディン	5019 (FZDダイアボディン) ; 2539 (LRPダイアボディン)	FZD1/2/4/5/7/8, LRP6 ³ (2:2)	0.9	0.8	33%	22%
CM0302	FZD IgG-LRPダイアボディン	5056 (FZD IgG) - 2539 (LRPダイアボディン)	FZD1/2/4/5/7/8/10, LRP6 ³ (2:2)	0.3	0.2	18%	8%
CM0303	FZD IgG-LRP scFv	5056 (FZD IgG) ; 2539 (LRP scFv)	FZD1/2/4/5/7/8/10, LRP6 ³ (2:2)	3.7	2.1	17%	13%
CM0299	FZD IgG-LRPダイアボディン	5016 (FZD IgG) - 2539 (LRPダイアボディン)	FZD1/2/4/5/7/8, LRP6 ³ (2:2)	0.1	0.1	14%	5%

10

20

30

40

50

【表 7 - 2】

表 5 続き

分子	モダリティ	パラトープ	結合特異性 (パラトープ化学量論)	Topflash EC50 (nM)		% Wnt Maxima	
				Avg	Stdev	Avg	Stdev
Wnt3a	組換え産生リガンド	NA	FZD/LRP	6	3	100%	ND
CM0300	FZD IgG-LRP scFv	5016(FZD IgG)-, 2539(LRP scFv)	FZD1/2/4/5/7/8, LRP6 ³ (2:2)	0.3	0.2	5%	2%
CM0301	FZD IgG-LRP scFv	5016(FZD IgG)-, 2542(LRP scFv)	FZD1/2/4/5/7/8, LRP6 ¹ (2:2)	0.2	0.2	1%	1%
CM0156	ダイアボディ-Fc-ダイアボディ	4275	FZD/LRP結合なし	NA	NA	NA	NA
4275	IgG	4275	FZD/LRP結合なし	NA	NA	NA	NA

【0121】

B. ダイアボディ-Fc-FabフォーマットFZD4アゴニスト

二重特異性LRP5結合ダイアボディとFZD4結合Fabを含むFZD4結合ドメイン(FZD4アゴニスト)、FZD5結合Fabを含むFZD5結合ドメイン(FZD5アゴニスト)、又は複数のFZDに結合するFZD結合ドメイン(pan-FZDアゴニスト)を有するFZDアゴニストを、ノブ-イン-ホールシステムを用いて作成した。簡単に記載すると、構築物を、化学合成(Twist Biosciences)によって、又は哺乳動物発現ベクター(pSCSTa)における標準的な分子生物学技術によって作製した。ダイアボディ構築物を、VH及びVLを連結して分子間対合を促進する短い(

10

20

30

40

50

G G G G S（配列番号 886））リンカーを有する V H - V L 様式で配置した。二重特異性ダイアボディ配置のために、適切なパルトープ形成を容易にするために、それぞれパルトープ A 及び B の可変ドメインをホール F c 鎖上に V H（A）- V L（B）として配置し、ノブ F c 鎖上に V H（B）- V L（A）として配置した。ダイアボディを、G G G G S G G G S E P K S S リンカー（配列番号 890）を介して、最適化されたノブ-イン-ホールヘテロ二量体 F c（R i d g w a y e t a l. P r o t e i n E n g. 9, 617-621（1996）の N 末端に融合した。F c 領域はまた、D 6 5 5 A / N 2 9 7 G（E U ナンバリング）に対応するエフェクターヌル変異 D 2 7 8 A 及び N 3 1 4 G（K a b a t ナンバリング）を含有する。F a b ドメインを、G G G S G G G S G G G S G G S G S T G リンカー（配列番号 891）を介してヘテロ二量体 F c の C 末端に融合した。このリンカーに直接、F a b V H ドメインの N 末端、続いて C H 1 を融合し、T 2 3 8 で終結させた（K a b a t ナンバリング）。この F a b は、上記のようにクローニングされた標準的なカップ軽鎖と対合する。すべての構築物について、コード領域全体を分泌シグナルペプチドとインフレームで哺乳動物発現ベクターにクローニングした。

10

20

30

40

50

【0122】

さらに、ダイアボディ- f c - F a b フォーマットは、V H - x - V L - y - [ヒト I g G 1 F c] - z - V H として構築され、リンカーは、x = G G G G S（配列番号 886）、y = G G G G S G G G S E P K S S D K T H T（配列番号 892）、及び z = G G G S G G G S G G G S G G G S G S T G（配列番号 891）である。ダイアボディドメインは V H - V L 配向で配置され、可変ドメインは短い G G G G S リンカー（配列番号 886）によって分離されており、これは V H ドメインと V L ドメインとの間の分子間会合を促進し、したがってダイアボディ形成を促進する。さらに、F c 領域は、N 2 9 7 G 及び D 2 6 5 A（D A N G）バリエーション又は L 2 3 4 A、L 2 3 5 A、P 3 3 1 S（L A L A P S）バリエーションに対するアミノ酸変異により減衰したエフェクター機能を示すことができ、F c 領域は、ノブ-イン-ホールヘテロ二量体化バリエーション M e r r i m a c k、M e r c h a n t 又は M e r c h a n t S : S をさらに含む。

【0123】

図 7 は、L R P 5 に対して二価かつ二重特異性であるダイアボディから構成される L R P 5 結合ドメインと、重鎖ホール及び重鎖ノブ構築物のそれぞれの V H 及び C H 1 と対をなす軽鎖構築物の V L 及び C L 1 によって形成される 2 つの F Z D 4 結合 F a b 断片から構成される F Z D 4 結合ドメインとを有するダイアボディ- F c - F a b フォーマット F Z D 4 アゴニストの図である。表 12 は、F Z D 4 アゴニスト A N T の重鎖及び軽鎖のアミノ酸配列（ダイアボディ- F c - F a b フォーマット）：重鎖ノブ構築物（A N T 16 ノブ）、重鎖ホール構築物（A N T ホール）及び軽鎖構築物を示す。軽鎖及び重鎖可変 C D R は、太字の下線付き斜体である。

【0124】

図 16 A は、アミノ酸変異、例えば N 2 9 7 G（N G）及び D 2 6 5 A、（D A N G）バリエーション、並びに / 又は L A L A P S バリエーションによりエフェクター機能が減衰した F c 領域を有し、ノブ-イン-ホールヘテロ二量体化バリエーション M e r r i m a c k、M e r c h a n t 又は M e r c h a n t S : S をさらに含む F c 領域を有するダイアボディ- F c - F a b フォーマット F Z D 4 アゴニストを示す図である。

【0125】

B. I g G - ダイアボディフォーマット F Z D 4 アゴニスト

N 末端結合ドメインを形成する 2 つの F Z D 結合 F a b 及び C 末端結合ドメインを形成する二重特異性 L R P 5 / 6 結合ダイアボディ及び F c ドメインを有する F Z D アゴニストを、ノブ-イン-ホールを用いて生成した。I g G - ダイアボディタンパク質を V H - [ヒト I g G 1 F c] - y - V H - x - V L として構築した（リンカーは、x = G G G G S（配列番号 886）及び y = G G G S G G G S G G G S G G G S G S T G（配列番号 891）である）。

【0126】

図 15 は、FcドメインのN末端に結合した2つのFab断片（各FabがFZDに結合する）を含むFZD結合ドメインを有するIgG-ダイアボディフォーマットFZD4アゴニストの図を示す。LRP5／6コレセプター結合ドメインは、FcドメインのC末端に結合しており、コレセプター上の2つの異なる部位、例えばLRP5／6上のWnt1部位（E1－E2）及びWnt3部位（E3－E4）に結合するダイアボディから構成される。Fabは、特定のFZD、例えばFZD4に特異的であってもよく、又は汎特異的であってもよく、1つよりも多くのFZD、例えばFZD4及び1つ又は複数の他のFZDに結合してもよい。

【0127】

図 16 B は、アミノ酸変異、例えばN297G（NG）及びD265A、（DANG）バリエーション、及び／又はLALAPSバリエーションによりエフェクター機能が減衰したFc領域を有し、ノブ-イン-ホールヘテロ二量体化バリエーションMerrimack、Merchant又はMerchant Sをさらに含むFc領域を有するIgG-ダイアボディFZD4アゴニストを示す。表 13 は、FZD4アゴニスト、ANT39（ダイアボディ-Fc-Fabフォーマット）及びANT39wi（IgG-ダイアボディフォーマット）の重鎖及び軽鎖のアミノ酸配列を示す：重鎖ノブ構築体（ANT39及びANT39iノブ）、重鎖ホール構築体（ANT39及びANT39iホール）及び軽鎖構築体。表 13 には、FZD4アゴニスト、ANT39及びANT39iバリエーションDANG、LALAPS、LALAPS Merchant及びLALAPS Merchant Sの重鎖及び軽鎖のアミノ酸配列も含まれる。軽鎖及び重鎖可変CDRは、太字の下線付き斜体である。

10

20

30

40

50

【表 8】

表 6 A		L R P 5 ダイアボディ部位					L R P 5 ダイアボディ部位 2				
分子	[1]	[2]	配列 番号	[3]	配列 番号	[4]	配列 番号	[5]	配列 番号	[6]	配列 番号
		CDR-H1		CDR-H2		CDR-H3		CDR-L2		CDR-L3	
ANT16 - ホール	D	FSSSSI	528	SISSSYGYTY	553	SWAM	586	SASDLYS	491	YAGAGLI	510
ANT16 - ノブ	D	FTAYAM	536	SIYPSGGYTA	566	RSYYFAL	603	SASSLYS	2	YWAYYSPI	493
ANT18 - ホール	N	LSYYM	527	SIYSSYGYTY	552	WSHVSGHYSGM	584	SASSLYS	2	SSYSLI	130
ANT18 - ノブ	N	FSSSSI	528	SISSSYGYTY	553	GGSGVSHYGSVYYSWWAL	585	SASSLYS	2	ASYAPI	492
ANT20 - ホール	N	LSYYM	527	SIYSSYGYTY	552	WSHVSGHYSGM	584	SASDLYS	491	YAGAGLI	510
ANT20 - ノブ	D	FTAYAM	536	SIYPSGGYTA	566	RSYYFAL	603	SASSLYS	2	ASYAPI	492
ANT21 - ホール	N	FSSSSI	528	SISSSYGYTY	553	SWAM	586	SASSLYS	2	SSYSLI	130
ANT21 - ノブ	N	FSSSSI	528	SISSSYGYTY	553	GGSGVSHYGSVYYSWWAL	585	SASSLYS	2	YWAYYSPI	493
ANT36 - ホール	N	LSYYM	527	SIYSSYGYTY	552	WSHVSGHYSGM	584	SASSLYS	2	SSYSLI	130
ANT36 - ノブ	N	FSSSSI	528	SISSSYGYTY	553	GGSGVSHYGSVYYSWWAL	585	SASSLYS	2	ASYAPI	492
ANT39 - ホール	D	FSSSSI	528	SISSSYGYTY	553	SWAM	586	SASDLYS	491	YAGAGLI	510
ANT39 - ノブ	D	FTAYAM	536	SIYPSGGYTA	566	RSYYFAL	603	SASSLYS	2	YWAYYSPI	493
ANT42 - ホール	D	FSSSSI	528	SISSSYGYTY	553	SWAM	586	SASDLYS	491	YAGAGLI	510
ANT42 - ノブ	D	FTAYAM	536	SIYPSGGYTA	566	RSYYFAL	603	SASSLYS	2	YWAYYSPI	493

全ての分子において、L R P 5 ダイアボディ部位 2 CDR - L 1 は S V S S A である (配列番号 1)

10

20

30

40

50

【表 9】

表 6 B		FZD4 Fab							
分子	[7]	[8]	配列 番号	[9]	配列 番号	[10]	配列 番号	[11]	配列 番号
		CDR-H1		CDR-H2		CDR-H3		CDR-L3	
ANT16－ホール	T	LSSYSM	24	YISSYYGYTY	51	PAPGHWGF	79	WYYAPI	3
ANT16－ノブ	T	LSSYSM	24	YISSYYGYTY	51	PAPGHWGF	79	WYYAPI	3
ANT18－ホール	T	LSSYSM	24	YISSYYGYTY	51	PAPGHWGF	79	WYYAPI	3
ANT18－ノブ	T	LSSYSM	24	YISSYYGYTY	51	PAPGHWGF	79	WYYAPI	3
ANT20－ホール	T	LSSYSM	24	YISSYYGYTY	51	PAPGHWGF	79	WYYAPI	3
ANT20－ノブ	T	LSSYSM	24	YISSYYGYTY	51	PAPGHWGF	79	WYYAPI	3
ANT21－ホール	T	LSSYSM	24	YISSYYGYTY	51	PAPGHWGF	79	WYYAPI	3
ANT21－ノブ	T	LSSYSM	24	YISSYYGYTY	51	PAPGHWGF	79	WYYAPI	3
ANT36－ホール	T	LSSYSM	24	YISSYDSITD	61	PAVGHMAF	90	WYNAPI	12
ANT36－ノブ	T	LSSYSM	24	YISSYDSITD	61	PAVGHMAF	90	WYNAPI	12
ANT39－ホール	T	LSSYSM	24	YISSYDSITD	61	PAVGHMAF	90	WYNAPI	12
ANT39－ノブ	T	LSSYSM	24	YISSYDSITD	61	PAVGHMAF	90	WYNAPI	12
ANT42－ホール	T	SDFYFI	164	TIYFIGNTY	194	AFPGSYHPF	220	STGSLI	135
ANT42－ノブ	T	SDFYFI	164	TIYFIGNTY	194	AFPGSYHPF	220	STGSLI	135

すべての分子において、FZD FAB CDR－L1及びCDR－L2は、それぞれSVSSA（配列番号1）及びSASSLYS（配列番号2）である。

10

20

30

40

50

【表 1 0】

表 6 C	L R P 6 ダイアボディ部位 1					L R P 6 ダイアボディ部位 2					
	[1]	[2]	[3]	配列 番号	[4]	配列 番号	[5]	配列 番号	[6]	配列 番号	
		CDR- H1			CDR-H3		CDR-L2		CDR- L3		
ANT59-ホール	D	ISSYFI	720	SIYPSYSYTS	791	NVRGFRKKPYFSRWAM	862	SASSLYS	2	YFFPI	665
ANT59-ノブ	D	LSHSSI	716	SISSHYGYTH	785	SSYFPWFFAL	856	SASSLYS	2	YYWPI	623
ANT9-ホール	D	ISSYFI	720	SIYPSYSYTS	791	NVRGFRKKPYFSRWAM	862	SASSLYS	2	YFFPI	665
ANT9-ノブ	D	LSHSSI	716	SISSHYGYTH	785	SSYFPWFFAL	856	SASSLYS	2	YYWPI	623

すべての分子において、すべての L R P a b の C D R - L 1 は S V S S A (配列番号 1) である

10

20

30

40

50

【表 1 1】

表 6 D	F Z D パラトープ									
分子	F Z D 特異性	7	H1 (8)	配列 番号	H2 (9)	配列 番号	H3 (10)	配列 番号	L3 (11)	配列 番号
ANT59-ホール			CDR-H1		CDR-H2		CDR-H3		CDR-L3	
ANT59-ノブ	5	N	IAYSSM	365	TIYPSYSSTY	462	YYAM	484	AHYFPI	285
ANT9-ホール	5	N	IAYSSM	365	TIYPSYSSTY	462	YYAM	484	AHYFPI	285
ANT9-ノブ	1,2,4,5,7,8	N	IHSSSI	893	ATYSSFGSIT	894	YHHPFGYAL	895	GVYLF	896
ANT9-ノブ	1,2,4,5,7,8	N	IHSSSI	893	ATYSSFGSIT	894	YHHPFGYAL	895	GVYLF	896

すべての分子において、F Z D F A B に対する C D R - L 1 は S V S S A (配列番号 1) であり、C D R - L 2 は S A S S L Y S (配列番号 2) である

【0 1 2 8】

C. F Z D アゴニストは、F Z D 4 に非常に特異的であり、高い特異性で結合し、溶液中で安定である。

生物層干渉法 (B L I) を使用して、本発明者らは、本明細書に記載の F Z D 4 アゴニストが他の F Z D 受容体よりも F Z D 4 に高度に特異的であることを見出した。組換え F Z D E C D タンパク質を B L I センサーに固定化した。L R P 5 について二価かつ二重特異性であるダイアボディから構成される L R P 5 結合ドメインと、2つの F Z D 4 結合 F a b 断片から構成される F Z D 4 結合ドメインとを有するダイアボディー F c - F a b フォーマットの F Z D 4 アゴニストを、E C D タンパク質への結合について、P B S + 0

10

20

30

40

50

． 0.5% Tween-20 及び 1% BSA の緩衝液中で 100 nM の濃度で試験した。結果を図 8 A に示す。アッセイの対照には、CM0199、FZD4 及び LRP5 を認識するダイアボディー Fc-ダイアボディフォーマット FZD アゴニスト、並びに FZD 又は LRP に結合しない IgG である免疫グロブリン 4275 が含まれた。

【0129】

FZD4 アゴニストも、共通の非特異的抗原を認識しなかった。FZD4 アゴニストを、Monquet et al. 「Polyreactivity increases the apparent affinity of anti-HIV antibodies by heteroligation」Nature 2010 Sep 30; 467 (7315): 591-5 (PMC3699875)、及び Jain et al., 「Biophysical properties of the clinical-stage antibody landscape」Proc Natl Acad Sci 2017 Jan 31; 114 (5): 944-949. (PMC5293111) に本質的に記載されるように、抗原のパネルへの結合について 100 nM で試験した。アッセイの対照には、CM0199、FZD4 及び LRP5 を認識するダイアボディー Fc-ダイアボディフォーマット FZD アゴニスト、並びにこのアッセイでは非特異的結合を特に起こしやすい IgG である免疫グロブリン 6606 が含まれた。結果を図 8 B に示す。

【0130】

FZD4 及び LRP5 に対する結合ドメインを含む FZD4 アゴニストは、FZD4 及び LRP5 の両方に高い親和性で結合する。FZD4 の組換え ECD に対する FZD4 アゴニストの見かけの親和性は、本質的に Elife. 2019 Aug 27; 8: e46134 に記載されているように、バイオレイヤー干渉法によって決定された。簡単に記載すると、BLI アッセイを、Octet HTX 機器 (ForteBio) を使用して行った。抗原への結合を測定するために、FZD-Fc タンパク質を AHQ BLI センサー (18-5001、ForteBio) 上に捕捉して、0.6~1 nm の BLI 応答を達成し、残りの Fc 結合部位をヒト Fc (009-000-008, Jackson ImmunoResearch) で飽和させた。FZD コーティング又は対照 (Fc コーティング) センサーを、アッセイ緩衝液 (PBS、1% BSA、0.05% Tween 20) 中 100~0.1 nM 四価 FZD アゴニストに移し、会合を 300 秒間モニターした。次いで、センサーをアッセイ緩衝液に移し、解離をさらに 300 秒間監視した。振盪速度は 1000 rpm であり、温度は 25 °C であった。結果を表 7 に示す。

【表 12】

表 7		
分子	FZD4 KD (nM)	LRP5 EC50 (nM)
CM0199	0.7	7.5
ANT16	0.6	1.4
ANT18	2.6	ND
ANT20	0.7	ND
ANT21	2.2	ND
ANT36	<0.1*	ND
ANT39	0.3	ND

【0131】

FZD4 アゴニストも、トラスツズマブ IgG と比較して SEC によって分析した。結

果を図 9 A に提示し、ダイアボディー F c - F a b フォーマットのアゴニストが溶液中で安定で均一であることを実証する。

【 0 1 3 2 】

F Z D 4 アゴニストもまた、溶液中で安定である。精製した F Z D 4 アゴニスト、A N T 1 6、A N T 1 8、A N T 2 0、A N T 2 1 及び A N T 3 6 を、1 0 m M ヒスチジン、1 4 0 m M N a C l、0. 9 % スクロース、p H 6 中に、1 m g / m l (0. 3 4 m g / m l で再懸濁した A N T 1 8 を除く) に再懸濁し、4 ° C 又は 4 0 ° C のいずれかで 6 日間保存した。試料を様々な時点に取り出し、遠心分離して沈殿したタンパク質を除去し、残留タンパク質濃度を測定した。結果を表 8 及び 9 に示す。

【表 1 3】

10

表 8				
可溶性タンパク質残存率 (%)				
4 0 度での時間 (日数)	0	1	2	6
CM0199	100%	60%	64%	40%
ANT-16	100%	102%	104%	104%
ANT-18	100%	92%	83%	105%
ANT-20	100%	97%	67%	104%
ANT-21	100%	102%	75%	102%
ANT-36	100%	100%	149%	106%

20

【表 1 4】

表 9		
活性タンパク質残存率		
4 0 度での時間 (日数)	0	6
CM0199	100%	42%
ANT-16	100%	34%
ANT-18	100%	42%
ANT-20	100%	30%
ANT-21	100%	25%

30

【 0 1 3 3 】

6 日目に、試料中に残存する F Z D 4 特異的結合部位の量を、B L I を使用して定量した。示差走査蛍光定量法による分析は、F c ドメインの N 末端に L R P 結合ダイアボディを有し、F c ドメインの C 末端に 2 つの F Z D 4 結合 F a b を有するダイアボディー F c - F a b フォーマットを有する F Z D 4 アゴニストが、トラスツズマブの熱変性プロファイルと同様の熱変性プロファイルを有することを示した。I g G は、一般に、熱安定性アッセイにおいて 2 つのピークを示し、最初のピークは C H 2 に対応し、後のピークは F a b ドメイン及び C H 3 に対応する (図 9 B を参照のこと) 。

40

【 0 1 3 4 】

F Z D 4 アゴニストは、マウス内皮細胞株 (b E N D 3 . 1) におけるベーターカテニン標的遺伝子 A X I N 2 の誘導についてもアッセイし、濃度依存的に転写を誘導することが示された。これらの結果を図 1 0 に示す。

50

【表 1 5】

表 1 0			
抗体番号		認識された F Z D	認識された コレセプター
5019		FZD1, FZD2, FZD4, FZD5, FZD7, FZD8	
5027		FZD4	
5044		FZD4	
5016		FZD1, FZD2, FZD4, FZD5, FZD7, FZD8	
5056		FZD1, FZD 2, FZD 4, FZD5, FZD7, FZD8, FZD10	
2459			LRP5-W3
2460			LRP5-W1
8716			LRP5-W3
12600			LRP5-W1
12608			LPR5-W1
2539			LRP6-W3
2540			LRP6-W3
2542			LRP6-W1
CM0199		FZD4	LRP5
6066		非特異的アッセイに対する N / A 陽性対照	
4275		F Z D / L R P 結合なし	

【 0 1 3 5 】

例 4 . F Z D 4 アゴニストを、細胞接合部の解離及び組織低酸素中に放出されるサイトカインである V E G F によって媒介される透過性の増加に対する効果に対抗する能力についてアッセイした。b E N D 3 . 1 細胞の V E G F 処理は、C L D N 3、C L D N 5 及び Z O - 1 の原形質膜染色の喪失によって見られるように、接合部解離をもたらす。V E G F 及び F Z D 4 アゴニストによる細胞の同時処理は、この効果のほぼ完全な救済をもたらす（図 1 1）。V E G F 処理によって媒介されるこの細胞－細胞接合部の安定性の低下は、トランスウェルフィルタ上で成長させた b E n d . 3 のコンフルエントな内皮単層を横切る 4 0 k D a の F I T C - デキストランの通過を測定する経内皮透過性アッセイにおけるモニターとしての内皮細胞透過性の増加につながる。V E G F 及び F Z D 4 アゴニストによる細胞の同時処理は、細胞透過性の V E G F 媒介性増加を完全に救済する。これらの結果は、F Z D 4 アゴニストが V E G F とは独立した機構で内皮細胞バリア機能を促進することを示している。

【 0 1 3 6 】

A) bEnd.3細胞接合部上のZO-1 (緑色) / CLDN3 (赤色) 及び ZO-1 (緑色) / CLDN5 (赤色) 局在化の免疫蛍光。bEnd.3細胞を、VEGF (100 ng/ml) の存在下又は非存在下、30 nMのF4L5.13 (別名CM0199) 及びNorrinで1時間処理し、又は処理しなかった。DAPI (青色) は核を染色する。B) 経内皮透過性を、bEnd.3単層を通るFITC-デキストランの通過を測定することによって決定した。VEGF (100 ng/ml) とF4L5.13 (30 nM) を単独又は同時に、あるいはVEGFで1時間前処理した後にF4L5.13で1時間処理して、bEnd.3処理後にFITCデキストランの通過を測定した。エラーバーはSEMを示し、n = 5である。結果を図11に示す。

【0137】

例5. 新規FZD5抗体は、親和性成熟ライブラリから同定された2919と重複する部位でFZD5に結合する。

単一点ELISAを、飽和濃度の2919 IgGの存在下又は非存在下で、ヒトFZD5タンパク質のECDでコーティングした96ウェルMaxisorpプレートで実施した。プレートをモノクローナルFabファージと共にインキュベートし、続いてホースラディッシュペルオキシダーゼ (HRP) コンジュゲート抗M13抗体と共にインキュベートした。続いて、ウェルを8回洗浄した後、3, 3', 5, 5'-テトラメチルベンジジン / H₂O₂ ペルオキシダーゼ (TMB) 基質と5~10分間インキュベートした。1M H₃PO₄を添加することによって反応を停止させ、マイクロタイタープレートリーダーにおいて450 nmで吸光度を分光光度計で測定した。結果を図12に示す。

【0138】

例6. 2928個の親和性成熟ライブラリからの新規FZD5抗体は、FZD5に選択的に結合する。

ヒトFZD2、FZD5又はFZD8タンパク質のECDでコーティングした96ウェルMaxisorpプレート上で、単一点ELISAを実施した。プレートをモノクローナルFabファージと共にインキュベートし、続いてホースラディッシュペルオキシダーゼ (HRP) コンジュゲート抗M13抗体と共にインキュベートした。続いて、ウェルを8回洗浄した後、3, 3', 5, 5'-テトラメチルベンジジン / H₂O₂ ペルオキシダーゼ (TMB) 基質と5~10分間インキュベートした。1M H₃PO₄を添加することによって反応を停止させ、マイクロタイタープレートリーダーにおいて450 nmで吸光度を分光光度計で測定した。結果を図13に示す。

【0139】

例7. Pan-FZD / LRP6 ANT9及びFZD5特異的 / LRP6 ANT9は、細胞内のWntシグナル伝達を活性化する。

TOPFLASH HEK293細胞を様々な濃度のFZDアゴニスト又は非標的化対照分子 (CM0156) で一晩処理し、TCF / LEF 駆動ルシフェラーゼ発現を、標準的なルシフェラーゼアッセイを使用して測定した。両方の分子は、FZD媒介ルシフェラーゼ発現を濃度応答性様式で活性化することができる。ANT9は、10個のFZD受容体サブタイプのうちの7個に結合することができ、FZD5特異的ANT59よりも高い最大活性化シグナルを生じる。

【0140】

インビボ実験

DSS誘導性大腸炎モデル

図24では、C57 / BL6マウスに飲料水中2% DSSを7日間、0.5% DSSをさらに3日間与えて大腸炎を誘導した。対照FLAG、Pan-FLAG及びANT59を、10 mg/kgの投与量で4日目及び7日目に腹腔内注射によって投与した。マウスの体重を毎日測定した。10日目に、マウスを安楽死させ、結腸長及び組織学の測定のために組織を採取した。

【0141】

組織学

10

20

30

40

50

組織学的分析のために、採取した組織を4%パラホルムアルデヒドで固定し、パラフィンに包埋した。5 μ mの切片をヘマトキシリン及びエオシン(H&E)で染色した。Nikon Eclipse顕微鏡を使用して画像をキャプチャした(図23)。

【0142】

オルガノイドの培養及び生存率測定

小腸陰窩を8週齢の雌C57BL/6マウスから採取し、以前に記載されたように培養した(O'Rourke et al., 2016)。オルガノイド培養物を継代し、25 μ lの増殖因子低減マトリゲル(Corning, 356231)に包埋し、48ウェルプレートに三連で播種した。オルガノイド培養物を、DMSO、1 μ M LGK974、1 μ M LGK974+50% WNT3A馴化培地、1 μ M LGK974+30 nM Pan-FLAG、1 μ M LGK974+30 nM FZD2-FLAG、1 μ M LGK974+30 nM FZD4-FLAG、1 μ M LGK974+30 nM FZD5-FLAG、1 μ M LGK974+30 nM FZD7-FLAGで処理した。処理を250 μ lの完全培地中で調製し、継代の日に各ウェルに添加し、2~3日ごとに交換した。エンドポイント(7日間)で、150 μ lのCell Titer-Glo3D(Promega)を各ウェルの150 μ l培地に添加した。オルガノイドを揺動プラットフォーム上で室温にて30分間溶解した。Envisionマルチラベルプレートリーダーの各ウェルからの20 μ lの溶解物について、発光読み取り値を二連で測定した。各条件の平均発光読み取り値を対照条件に対して正規化して、相対生存率を計算した(図22)。

10

20

【0143】

例8. 8つのANT39バリエーションの一過性発現。標準的な製造脂質ベースのプロトコル(ThermoFisher)を使用して、一連の8つのANT39バリエーション(図16A及び16B)をCHO細胞において一過性に発現させた。手短に言えば、細胞を増殖培地中で約 2.0×10^6 細胞/mlの密度まで増殖させ、関連DNAを適切なトランスフェクション試薬でトランスフェクトした。各バリエーションについて、1:1:2又は2:1:3(ノブ重鎖:ホール重鎖:軽鎖)のいずれかの2つの代替投入プラスミド比を試験した。馴化培地を7日後に回収し、プロテインAセファロースによって精製し、力価を測定した。

30

40

50

【表 1 6】

表 1 1

分子	DNA比 (ノブ：ホール：LC)	力価 (mg/L)
ANT39	1:1:2	390
	2:1:3	290
ANT39i	1:1:2	260
	2:1:3	250
ANT39 LALAPS	1:1:2	330
	2:1:3	250
ANT39i LALAPS	1:1:2	300
	2:1:3	270
ANT39 LALAPS Merchant	1:1:2	340
	2:1:3	280
ANT39i LALAPS Merchant	1:1:2	240
	2:1:3	280
ANT39 LALAPS Merchant S:S	1:1:2	320
	2:1:3	190
ANT39i LALAPS Merchant S:S	1:1:2	300
	2:1:3	250
ANT42*	1:1:2	107
ANT42 LALA*	1:1:2	287
ANT42 LALAPS*	1:1:2	95
ANT42i LALAPS*	1:1:2	49

*バリエントをHEK293細胞において一過性に発現させた

【0144】

当業者は、日常的な実験のみを使用して、本明細書に記載の特定の手順に対する多数の均等物を認識するか、又は確認することができるであろう。そのような均等物は、本発明の範囲内であると考えられる。本発明の趣旨及び範囲から逸脱することなく、本発明に対して様々な置換、変更及び修正が行われ得る。他の態様、利点、及び修正は、本発明の範囲内である。

【0145】

本出願を通じて引用されるすべての参考文献、発行された特許、及び公開された特許出願の内容は、参照により本明細書に組み込まれる。これらの特許、出願及び他の文献の適切な構成要素、プロセス及び方法を、本発明及びその実施形態のために選択することがで

きる。

【0146】

以下の明細書及び特許請求の範囲を通して、文脈が特に必要としない限り、「含む (comprise)」という単語、並びに「含む (comprises)」及び「含む (comprising)」などの変形は、記載された整数、工程、整数群又は工程群の包含を意味するが、他の整数、工程、整数群又は工程群を除外するものではないと理解される。

【0147】

本明細書の使用を明確にし、これにより公衆に通知するために、「 $\langle A \rangle$ 、 $\langle B \rangle$ 、 $\dots$ 及び $\langle N \rangle$ のうちの少なくとも1つ」又は「 $\langle A \rangle$ 、 $\langle B \rangle$ 、 $\dots$ 又は $\langle N \rangle$ のうちの少なくとも1つ」又は「 $\langle A \rangle$ 、 $\langle B \rangle$ 、 $\dots$ 、 $\langle N \rangle$ 、又はそれらの組み合わせのうちの少なくとも1つ」又は「 $\langle A \rangle$ 、 $\langle B \rangle$ 、 $\dots$ 及び $\langle N \rangle$ 」という語句は、最も広い意味で本出願人によって定義され、本出願人によってそうではないと明示的に述べられていない限り、 A 、 B 、 $\dots$ 及び N を含む群から選択される1つ又は複数の要素を意味するために、上記又は以下の任意の他の暗示された定義に取って代わる。換言すれば、その語句は、任意の1つの要素のみを含む要素 A 、 B 、 $\dots$ 又は N のうちの1つ又は複数の任意の組み合わせ、あるいは列挙されていない追加の要素も組み合わせることで含むことができる1つ又は複数の他の要素と組み合わせた1つの要素を意味する。他に指示がない限り、又は文脈が他に示唆しない限り、本明細書で 사용되는場合、「 a 」又は「 a_n 」は、「少なくとも1つ」又は「1つ又は複数」を意味する。

【0148】

10

20

30

40

50

【表 17】

表 12

FZD4アゴニスト、ANT16、ANT18、ANT20、ANT21、ANT39及びANT42の「重鎖」ホー ル構築物、「重鎖」ノブ構築物及び「軽鎖」構築物のダイアボディー- F c - F a b アミノ酸配列。
鎖のCDRに下線を引いてイタリック体で示す。CDRは、結合特異性を変化させるために別の抗体のCDRで置き換えられてもよ く、例えば、特異性は、FZD若しくはLFR5／6上の別の部位、又は別のFZD若しくはLFRに結合するように変化され得る。

FZD4アゴニストANT16	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDFTAYAMHWVRQAPGKGLEWVA ~~SIYPSGGY~~ TAYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQ MNSLRAEDTAVYYCAR ~~RSYFFAL~~ DYWGQGTLTIVSSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRAS ~~QSVSSA~~ VAWYQQKPGK APKLLIY ~~S4SSL~~ YSGVPSRFSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ ~~YWA~~ ~~YISPT~~ TFGQGTKVEIKGGGGGGGSEPKTSDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPMVFDLPPSREEMTKNQVSLWCMVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KITPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKLSLSPGKGGGGGGGGGGSGTGEVQLVES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFT ~~LSYS~~ MHWVRQAPGKGLEWVA ~~YISYIGY~~ TYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAED TAVYYCAR ~~PAPGH~~ WGF ~~FD~~ YWGQGTLTIVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAAGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (配列番号: 897)
ノブHc構築物	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFD ~~FS~~ ~~SS~~ ~~SH~~ HWVRQAPGKGLEWVA ~~SIS~~ ~~SY~~ ~~GY~~ TYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMN SLRAEDTAVYYCAR ~~WAM~~ DYWGQGTLTIVSSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRAS ~~QSVSSA~~ VAWYQQKPGKAPKL LIY ~~S4SDL~~ YSGVPSRFSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ ~~YAGA~~ ~~GLT~~ TFGQGTKVEIKGGGGGGGSEPKSSDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPIRELMTSNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKLSLSPGKGGGGGGGGGGSGTGEVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGFT ~~LSYS~~ MHWVRQAPGKGLEWVA ~~YISYIGY~~ TYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYC AR ~~PAPGH~~ WGF ~~FD~~ YWGQGTLTIVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAAGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (配列番号: 898)
軽鎖	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRAS ~~QSVSSA~~ VAWYQQKPGKAPKLLIY ~~S4SSL~~ YSGVPSRFSRSGTDFTLTISLQPEDFATYY CQQ ~~WY~~ ~~Y~~ ~~AP~~ ~~IT~~ FGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (配列番号: 899)

10
20
30
40

【表 1 8】

F Z D 4 ア ェ ニ ス ト A N T 1 8	
ノゾヒの難読物	MNLLILTFVAAA VAEVQLVESGGGMVQPGGSLRLSCAASGFNFSSSHHWVRQAPGKGLEWVA <u>SSSSSYGYTY</u> YADSVKGR FTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR <u>GGSGF/SHYGSV/YSWW/AL</u> DYWGQGLTVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSAS VGDRVTTITCRASQ <u>SS4</u> VAWYQQKPKAPKLLIY <u>S4SSL</u> YSGVPSRFSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ <u>4SYAPT</u> TFG QGKVEIKGGGGGGGSEPKTSDKTHTCPPCAPPELLGGPSVFLPPKPKDPTLMISRTPETVTCVVA VSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPMVFDLPISRREEMTKN QVSLWCMVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSL SLSPGKGGGGGGGGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGF <u>TLSSYSM</u> HWVRQAPGKGLEWVA <u>YSSYY</u> <u>GYTY</u> YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR <u>PAPGH/HG</u> FDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVVPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHT (配列番号 : 900)
サインルHの難読物	MNLLILTFVAAA VAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFN <u>LSYYM</u> HWVRQAPGKGLEWVA <u>SYSSYGYTY</u> YADSVKGR RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR <u>WSH/SGHYS</u> GMDYWGQGLTVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRV ITCRASQ <u>SL/SS4</u> VAWYQQKPKAPKLLIY <u>S4SSL</u> YSGVPSRFSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ <u>SSYS</u> LTFGQGTKVEI KGGGGGGGSEPKSSDKTHTCPPCAPPELLGGPSVFLPPKPKDPTLMISRTPETVTCVVA VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREQVYTLPIRELMTSNQVSLSCA VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSPGKGG SGGGGGGGGGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGF <u>TLSSYSM</u> HWVRQAPGKGLEWVA <u>YSSYYGYTY</u> YADS VKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR <u>PAPGH/HG</u> FDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVVPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH T (配列番号 : 901)
標識	MNLLILTFVAAA VADIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCRASQ <u>SY/SS4</u> VAWYQQKPKAPKLLIY <u>S4SSL</u> YSGVPSRFSRSGT DFTLTISLQPEDFATYYCQQ <u>WYTA/PT</u> FGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSITYSLSSITLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (配列番号 : 902)

10

20

30

40

50

【表 1 9】

F Z D 4 ア 3 ニ ス ト A N T 2 0	ノゾH。糖薬物	MNLLLILTFVAAA ~~AEVQL~~ VESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFD ~~FTAYAM~~ HWVRQAPGKGLEWVA ~~SIYPSGGTY~~ AYADSVKGR FTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR ~~RSYFALD~~ YWGGTLVTVSSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQ ~~S~~ ~~LSSA~~ VAWYQQKPGKAPKLLIY ~~S4SSL~~ YSGVPSRFSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ ~~Q4SYA~~ PIITFGQGTKEIKGGGSGG GGSEPKTSDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY GSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPMVFDLPPSREEMTKNQVSLWCMVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSPGKGGSGGSGGSGG GSGSTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFD ~~TLSSYS~~ MHWVRQAPGKGLEWVA ~~YISSYGYTY~~ YADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCAR ~~PAPGH~~ WGF ~~FD~~ YWGGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (配列番号：903)
	ノゾH。糖薬物	MNLLLILTFVAAA ~~AEVQL~~ VESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFD ~~FTAYAM~~ HWVRQAPGKGLEWVA ~~SIYPSGGTY~~ YADSVKGRF TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR ~~SHVSGHYS~~ GM ~~D~~ YWGGTLVTVSSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCR ASQ ~~YSSA~~ VAWYQQKPGKAPKLLIY ~~S4SDL~~ YSGVPSRFSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ ~~Q4YAG~~ GLITFGQGTKEIKGG GGSGGGSEPKSSDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPIRELMTSNQVSLSCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSPGKGGSGGSGG GSGGGSGSTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFD ~~TLSSYS~~ MHWVRQAPGKGLEWVA ~~YISSYGYTY~~ YADSVKGRFTISADT SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR ~~PAPGH~~ WGF ~~FD~~ YWGGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (配列番号：904)
糖質	ノゾH。糖薬物	MNLLLILTFVAAA ~~ADIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQ~~ YSSA ~~V~~ AWYQQKPGKAPKLLIY ~~S4SSL~~ YSGVPSRFSRSGTDF TLTISLQPEDFATYYCQ ~~WYYA~~ PIITFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSYSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (配列番号：902)
	糖質	

10

20

30

40

50

【表 2 0】

F Z D 4 ア フ ニ ス ト A N T 2 1	ノゾH。構築物	MNLLLILTFVAAA ⁹⁰⁵ VAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT ⁹⁰⁵ SSSS ⁹⁰⁵ IHWVRQAPGKGLEWVA ⁹⁰⁵ SISSSYGYTY ⁹⁰⁵ YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR ⁹⁰⁵ GGSGVSHYGSVYYSW ⁹⁰⁵ WALDYWGQGITLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGRVITTCRASQ ⁹⁰⁵ SV ⁹⁰⁵ SS ⁹⁰⁵ AVAWYQKPGKAPKLLIYS ⁹⁰⁵ ASSLSYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ ⁹⁰⁵ YW ⁹⁰⁵ AY ⁹⁰⁵ SPITFGQGTKVEIKGGGGGGGGSEPKTSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVA ⁹⁰⁵ VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTTISKAKGQPREPMVFDLPSPREEMTKNQVSLWCMVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC ⁹⁰⁵ SVMEALHNHYTQKSLSPGKGGSGGGGGGGGGSGSTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT ⁹⁰⁵ SSYS ⁹⁰⁵ MHWVRQAPGKGLEWVA ⁹⁰⁵ YISSYGYTY ⁹⁰⁵ YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR ⁹⁰⁵ PAPGHW ⁹⁰⁵ GFDYWGQGITLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (配列番号 : 905)
	オールH。構築物	MNLLLILTFVAAA ⁹⁰⁶ VAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT ⁹⁰⁶ SSSS ⁹⁰⁶ IHWVRQAPGKGLEWVA ⁹⁰⁶ SISSSYGYTY ⁹⁰⁶ YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR ⁹⁰⁶ SW ⁹⁰⁶ AMDYWGQGITLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGRVITTCRASQ ⁹⁰⁶ SV ⁹⁰⁶ SS ⁹⁰⁶ AVAWYQKPGKAPKLLIYS ⁹⁰⁶ ASSLSYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ ⁹⁰⁶ SYSLIT ⁹⁰⁶ FGQGTKVEIKGGGGSGGGSEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVA ⁹⁰⁶ VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTTISKAKGQPREPQVY ⁹⁰⁶ TLPPIRELMTSNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC ⁹⁰⁶ SVMEALHNHYTQKSLSPGKGGGGGGGGGGSGGGSGSTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT ⁹⁰⁶ SSYS ⁹⁰⁶ MHWVRQAPGKGLEWVA ⁹⁰⁶ YISSYGYTY ⁹⁰⁶ YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR ⁹⁰⁶ PAPGHW ⁹⁰⁶ GFDYWGQGITLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (配列番号 : 906)
F Z D 4 ア フ ニ ス ト A N T 2 1	構築物	MNLLLILTFVAAA ⁹⁰⁷ VAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT ⁹⁰⁷ SSSS ⁹⁰⁷ IHWVRQAPGKGLEWVA ⁹⁰⁷ SISSSYGYTY ⁹⁰⁷ YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR ⁹⁰⁷ GGSGVSHYGSVYYSW ⁹⁰⁷ WALDYWGQGITLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGRVITTCRASQ ⁹⁰⁷ SV ⁹⁰⁷ SS ⁹⁰⁷ AVAWYQKPGKAPKLLIYS ⁹⁰⁷ ASSLSYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ ⁹⁰⁷ YW ⁹⁰⁷ AY ⁹⁰⁷ SPITFGQGTKVEIKGGGGGGGGSEPKTSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVA ⁹⁰⁷ VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTTISKAKGQPREPMVFDLPSPREEMTKNQVSLWCMVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC ⁹⁰⁷ SVMEALHNHYTQKSLSPGKGGSGGGGGGGGGSGSTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT ⁹⁰⁷ SSYS ⁹⁰⁷ MHWVRQAPGKGLEWVA ⁹⁰⁷ YISSYGYTY ⁹⁰⁷ YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR ⁹⁰⁷ PAPGHW ⁹⁰⁷ GFDYWGQGITLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (配列番号 : 907)
	構築物	MNLLLILTFVAAA ⁹⁰⁸ VAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT ⁹⁰⁸ SSSS ⁹⁰⁸ IHWVRQAPGKGLEWVA ⁹⁰⁸ SISSSYGYTY ⁹⁰⁸ YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR ⁹⁰⁸ GGSGVSHYGSVYYSW ⁹⁰⁸ WALDYWGQGITLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGRVITTCRASQ ⁹⁰⁸ SV ⁹⁰⁸ SS ⁹⁰⁸ AVAWYQKPGKAPKLLIYS ⁹⁰⁸ ASSLSYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ ⁹⁰⁸ YW ⁹⁰⁸ AY ⁹⁰⁸ SPITFGQGTKVEIKGGGGGGGGSEPKTSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVA ⁹⁰⁸ VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTTISKAKGQPREPMVFDLPSPREEMTKNQVSLWCMVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC ⁹⁰⁸ SVMEALHNHYTQKSLSPGKGGSGGGGGGGGGSGSTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT ⁹⁰⁸ SSYS ⁹⁰⁸ MHWVRQAPGKGLEWVA ⁹⁰⁸ YISSYGYTY ⁹⁰⁸ YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR ⁹⁰⁸ PAPGHW ⁹⁰⁸ GFDYWGQGITLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (配列番号 : 908)

10

20

30

40

50

【表 2 1】

F Z D 4 アゴニスト A N T 3 9	ノゾヒ。標薬物	MNLLILTFVAAA VAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDFTAYAMHWVRQAPGKGLEWVASIYPSGGYTAAYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSIYFALDYWGQGITLVTVSSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGRSGTDFLTLSLQPEDFATYYCQQYW4YISPTTFGGQGTKVEIKGGGGGGGGSEPKTSDKTHTCPPCAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPETVTCVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNATKNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTSKAKGQPREPQVYTLPIRELMTSNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLSPGKGGSGGFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARPAVGHMAFDYWGQGITLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARPAVGHMAFDYWGQGITLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSKCDKTHT (配列番号 : 907)
	オールヒ。標薬物	MNLLILTFVAAA VAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDSSSSHWVRQAPGKGLEWVASISSYGYTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSW/AMDYWGQGITLVTVSSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSADLYSGVPSRFSGRSGTDFLTLSLQPEDFATYYCQQY4G4GLTTFGGQGTKVEIKGGGGGGGGSEPKTSDKTHTCPPCAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPETVTCVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNATKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTSKAKGQPREPQVYTLPIRELMTSNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLSPGKGGSGGFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARPAVGHMAFDYWGQGITLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSKCDKTHT (配列番号 : 908)
	糖鎖	MNLLILTFVAAA VADIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQSSVSS4VAWYQQKPGKAPKLLIYS4SSLYSGVPSRFSGRSGTDFLTLSLQPEDFATYYCQQWYNAPITFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYSLSSITLTLTKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (配列番号 : 909)

10

20

30

40

50

【表 2 2 - 2】

FZD5-LRP6 ANT 59	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDLSHSSHHWVRQAPGKGLEWVA ~~SISSHHYGYTHY~~ ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMN NSLRAEDTAVYYCAR ~~SSYFPWF~~ FDLDYWGQGTILVTVSSGGGGSDIOMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQ ~~SISSA~~ VAWYQQKRP GKAPKLLIY ~~SASSLYSGV~~ PSRFSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ ~~YYP~~ ITFGQGTKVEIKGGGGGGGSEPKTSDKTHIT CPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYCKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPMVFDLPPSREEMTKNQVSLWCMVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKLSLSPGKGGGGGGGGGGGGSTGEVQLVES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFN ~~IAYSSM~~ HWVRQAPGKGLEWVA ~~TIYPSYSS~~ TYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAED TAVYYCAR ~~YYAMD~~ YWGQGTILVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSVVTVTPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHIT (配列番号 : 913)
	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGF ~~DISSYF~~ HHWVRQAPGKGLEWVA ~~SIYPSYSY~~ TYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMN SLRAEDTAVYYCARN ~~RGFRKPYFSR~~ WAMDYWGQGTILTVTVSSGGGGSDIOMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQ ~~SISSA~~ VAW YQQKPGKAPKLLIY ~~SASSLYSGV~~ PSRFSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ ~~YFP~~ ITFGQGTKVEIKGGGGGGGSEPKSS DKTHITCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYCKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPIRELMNTSNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKLSLSPGKGGGGGGGGGGGGSTGEV QLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFN ~~IAYSSM~~ HWVRQAPGKGLEWVA ~~TIYPSYSS~~ TYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMN SLRAEDTAVYYCAR ~~YYAMD~~ YWGQGTILTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSVVTVTPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHIT (配列番号 : 914)
糖鎖	DIOMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQ ~~SISSA~~ VAWYQQKPGKAPKLLIY ~~SASSLYSGV~~ PSRFSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYY CQQ ~~4HYFP~~ ITFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC (配列番号 : 915)

10

20

30

40

【表 2 3】

pFZ-LRP6 ANT9	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDLSHSSHHWVRQAPGKGLEWVA ~~SSSHYGYTHY~~ ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQM NSLRAEDTAVYYCAR ~~SSYFPWF~~ FEALDYWGQGTLVTVSSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQ ~~SLSS~~ AVAWYQQK PKAPKLLIY ~~SASSLY~~ SGVPSRFSRSGTDFLTLSLQPEDFATYYCQQ ~~YYP~~ TFGGQTKVEIKGGGGGGGSEPKTSDKTHI CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLT VTLHQLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSPGKGGGGGGGGSGSTGEVQLVES KTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSPGKGGGGGGGGSGSTGEVQLVES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFIHSSSHHWVRQAPGKGLEWVA ~~ATYSFSGSY~~ ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDT AVYYCAR ~~YHHPF~~ GYALDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGTAAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (配列番号 : 916)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDLSHSHHWVRQAPGKGLEWVA ~~SYPSYSY~~ ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMN SLRAEDTAVYYCARNV ~~RGFRKPYFSRW~~ AMDYWGQGTLVTVSSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQ ~~SLSS~~ AVAW YQQKPGKAPKLLIY ~~SASSLY~~ SGVPSRFSRSGTDFLTLSLQPEDFATYYCQQ ~~YFP~~ TFGGQTKVEIKGGGGGGGSEPKSS DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPIRELMTSNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSPGKGGGGGGGGSGSTGEV QLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFIHSSSHHWVRQAPGKGLEWVA ~~ATYSFSGSY~~ ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCAR ~~YHHPF~~ GYALDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGTAAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (配列番号 : 917)
	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQ ~~SLSS~~ AVAWYQQKPGKAPKLLIY ~~SASSLY~~ SGVPSRFSRSGTDFLTLSLQPEDFATYY CQQG ~~Y~~ TLFTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (配列番号 : 918)	

10

20

30

40

50

【表 2 4】

ダイアボディ- F c - ダイアボディ F Z D 4 C M 0 1 9 9	EFEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFN <u>SSFYFM</u> HWVRQAPGKGLEWVA <u>ATVPVLD</u> ITYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR <u>AFPGSYHPMD</u> YWGQGLVTVSSGGGGSDIQTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ <u>SYSSAVAWYQQ</u> KPGKAPKLLIY <u>SASSL</u> YSGVPSRFSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQO <u>SSYSL</u> ITFGQGTKEIKLEDKTHIKVEPKTSDDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPMVFDLPPSREEMTKNQVSLWCMVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSMHEALHNHYTQKSLSPGKSGSETPGTSESATPESGGGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFN <u>ESSSYH</u> HWVRQAPGKGLEWVA <u>ASISSYGY</u> ITYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR <u>GGSGI/SHYGSVYYSW/ALD</u> YWGQGLVTVSSGGGGSDIQTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ <u>SYSSAVAWYQQ</u> KPGKAPKLLIY <u>SASSL</u> YSGVPSRFSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQO <u>ASVAPIT</u> FGQGTKEIK (配列番号 : 919)
	EFEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFN <u>SSFYFM</u> HWVRQAPGKGLEWVA <u>ATVPVLD</u> ITYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR <u>AFPGSYHPMD</u> YWGQGLVTVSSGGGGSDIQTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ <u>SYSSAVAWYQQ</u> KPGKAPKLLIY <u>SASSL</u> YSGVPSRFSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQO <u>SSYSL</u> ITFGQGTKEIKLEDKTHIKVEPKTSDDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPIRELMTSNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSMHEALHNHYTQKSLSPGKSGSETPGTSESATPESGGGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFN <u>LSYYTM</u> HWVRQAPGKGLEWVA <u>SSSYGY</u> ITYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR <u>SHVSGHYSGMD</u> YWGQGLVTVSSGGGGSDIQTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ <u>SYSSAVAWYQQ</u> KPGKAPKLLIY <u>SASSL</u> YSGVPSRFSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQO <u>SSYSL</u> ITFGQGTKEIK (配列番号 : 920)

【 0 1 4 9 】

表 1 3

F c ドメインアミノ酸変異 D A N G、L A L A P S、L A L A P S 及びマーチャント又は L A L A P S 及びマーチャント S - S を有する F Z D 4 アゴニスト、A N T 3 9 及び A N T 4 2、A N T 3 9 及び A N T 4 2、並びに A N T 3 9 i 及び A N T 4 2 i の「重鎖」ホール構築物、「重鎖」ノブ構築物及び「軽鎖」構築物のダイアボディ- F c - F a b 及び I g G - ダイアボディアミノ酸配列。成熟配列は 5' リーダーペプチドを含まない。鎖の V 領域 C D R に下線を引き、イタリック体及び太字にし、F c ヌル変異をイタリック体にし、C H 3 ヘテロ二量体化変異に下線を引き、イタリック体にし、C H 3 c y s ジス

10

20

30

40

50

ルフィド架橋に太字にし、リンカーに下線を引く。
【0150】
【数1】

表13

Fcドメインアミノ酸変異DANG、LALAPS、LALAPS及びマーチャント又はLALAPS及びマーチャントS-
Sを有するFZD4アゴニスト、ANT39及びANT42、並びにANT39i及びANT42
iの「重鎖」ホール構築物、「重鎖」ノブ構築物及び「軽鎖」構築物のダイアボディーFc-Fab及びIgG-ダイアボディ
アミノ酸配列。成熟配列は5'リーダーペプチドを含まない。鎖のV領域CDRに下線を引き、イタリック体及び太字にし、F
cスル変異をイタリック体にし、CH3ヘテロ二量体化変異に下線を引き、イタリック体にし、CH3 cysジスルフィド架
橋に太字にし、リンカーに下線を引く。

ANT39i HCホールDANG

MNLLILTFVAAA¹VAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLS²SYSMHWVRQAPGKGLEWVA³YSSYDS⁴ITDYADSVKGRFTISAD
TSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR⁵PAI⁶GHMA⁷FDYWGGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKP
KDTLMISRTPETCVVVA⁸VS⁹HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPP¹⁰RE¹¹MT¹²SNQ¹³SL¹⁴CAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL¹⁵/SKLTVDKSRWQQGNV
FSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFD¹⁶FS¹⁷SS¹⁸SH¹⁹HWVRQAPG
KGLEWVA²⁰SS²¹SYGY²²Y²³ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR²⁴SW²⁵AMP²⁶YWGGTLVTVSSGGGGSDIQMTQSPS
SLASVGDRTITCRAS²⁷Q²⁸SL²⁹SS³⁰VAWYQQKPGKAPKLLIY³¹S³²SDL³³YSGVPSRFSRSGTDFLTIISSLPEDFATYYCQQ³⁴Y³⁵A³⁶G³⁷A³⁸G³⁹L⁴⁰I⁴¹T⁴²F⁴³G
QGTKVEIK* (配列番号: 921)

【数2】

10

20

30

40

50

ANT39i HCホールLALA P S
MNL L L L T F V A A A V A E V Q L V E S G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T L S S Y S M H W V R Q A P G K G L E W V A Y I S S Y D S I T D Y A D S V K G R F T I S A D
T S K N T A Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R P A I G H M A F E D Y W G Q G I L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S
W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K K V E P K S C D K T H T C P P C A P E A A G G P S V F L F P P K P
K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A S I E
K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P / R E / M T S N Q V S L S C A V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L / S K L T V D K S R W Q Q G N V
F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S P G K G G G S G G S G G S T G E V Q L V E S G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F D E S S S S H W V R Q A P G
K G L E W V A S L S S Y G Y T T Y A D S V K G R F T I S A D T S K N T A Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R S W A M D Y W G Q G T L V T V S S G G G S D I Q M T Q S P S
S L S A S V G D R V T I T C R A S Q S V S S A V A W Y Q Q K P G K A P K L L I Y S 4 S D L Y S G V P S R F S G S R S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q Y A G A G L I T F G
Q G T K V E I K * (配列番号 : 922)

【数 3】

10

20

30

40

A N T 3 9 i H C ホ ー ル L A L A P S M e r c h a n t

MNLLLLTFVAAAVAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLS~~SSYS~~SMHWVVRQAPGKGLEWVA~~YISSYDS~~ITDYADSVKGRFTISAD
TSKN~~TAYLQMN~~SLRAEDTAVYYCAR~~PAVGHMA~~FDYWGQGITLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCTPPCPAPEAAGGSPSVFLFPPKP
KDTLMISRTPETCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAAIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL~~SC~~AVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFL/ SKLTVDKSRWQQGN
VFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT~~DESSSS~~SHHWVRQAP
GKGLEWVA~~SISSSYGY~~TYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCAR~~SH~~4MDYWGQGITLVTVSSGGGGSDIQMTQS
PSSLSASVGDRTITCRAS~~QSI~~SSAVAWYQQKPKAPKLLIY~~S4SDLYSGVPSRFSGRSGTDFLTLTISLQPEDFATYYCQQ~~YAGAG~~LIT
FGQGTKVEIK* (配列番号 : 923)~~

【数 4】

10

20

30

40

ANT39i H C 求 一 九 L A L A P S M e r c h a n t S - S

MNLLLILTFVAAA/AEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLSISYSMHWVRQAPGKGLEWVAIYSSYDSITDYADSVKGRFTISAD
TSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARPAIGHMAFDYWGQGTAVTVSSASTKGPSPFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCTPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP
KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASE
KTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNNYKTTTPPVLDSDGSFLL/SKLTVDKSRWQQGN
VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDSSSIHFWVRQAP
GKGLEWVAISISSYGYIYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSWAMDYWGQGTAVTVSSGGGGSDIQMTQS
PSSLASVGDRTITCRASQSLSSAVAWYQQKPKGAPKLLIYSA~~SDL~~YSGVPSRFSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYAGAGLIT
FGQGTKVEIK* (配列番号 : 924)

【数 5】

10

20

30

40

成熟ANT39i H Cホー ルD A N G

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLSSYSMHWVRQAPGKGLEWVAYISSYDSITDYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA
EDTAVYYCARPAVGHMAFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALISGVHITPAAV
LQSSGLYSLSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCTPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPPEVTCVV
VAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPPRE/MTSNQVSLSC4VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFL/ SKLTVDKSRWQQGNVFCVSMHEALHNHYT
QKSLSLSPGKGGSGGGSGGGSGGSTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDFSSSYJHWVRQAPGKGLEWVASYSSSYGYT
IYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSWAMDYWQGTLLTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRA
SQSYSSAVAWYQQKPKGAPKLLIYS4SDLYSGVPSRFSRSGTDFTLTITSSLPEDFATYYCCQYAGAGLITFGQGTKVEIK* (配列
番号:925)

【数6】

10

20

30

40

50

成熟ANT39i HCホー ル L A L A P S

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLSYSYMHVVRQAPGKGLEWVA YISSVDSITDYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA
EDTAVYYCAR PAVGHMAFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDDKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGSPSVFLFPPKPKD.TLMISR.TPEV.TCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASEIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPP/RE/MTLNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL/SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHREALHNHYT
QKSLSLSPGKGGSGGGSGGGSGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT DESSSSJHWWVRQAPGKGLEWVA YISSSYGYT
YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR SWAMDYWGQGTLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRA
SQSLSSAVAWYQQKPGKAPKLLIY SASDLISGVPSRFSRSGTDFLTITSLQPEDFATYYCCQ YAGAGLITFGQGTKVEIK* (配列番号
: 926)

【数7】

10

20

30

40

50

【 数 8 】

成熟ANT39i HCホー ル L A L A P S M e r c h a n t
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLSSTYS~~MS~~HWVRQAPGKGLEWVA~~YISSYDSITDY~~ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA
EDTAVYYCAR~~PAVGHMAFDY~~WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPASTIEKTIISKAKGQPREPQVY
TLPPSREEMTKNQVSL~~SC~~AVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFL~~SKL~~TVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGKGGSGGGSGGGSGGSTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT~~DESSSS~~HWVRQAPGKGLEWVA~~YISSSYGYT~~
~~Y~~YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~SWAAMD~~YWGQGTLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRA
~~SO~~~~SV~~~~SS~~~~SA~~VAWYQQKPGKAPKLLIY~~SASDL~~YSGVPSRFSRSGTDFLTITSLQPEDFATYYCQQ~~YAGAGLIT~~FGQGTKVEIK* (配列番号
: 927)

10

20

30

40

成熟ANT39i HCホー ル L A L A P S M e r c h a n t S - S

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLSYYSMHWVRQAPGKGLEWVA~~YISSYDSITDY~~ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA
EDTAVYYCAR~~PAVGHMAFD~~YWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE4AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDQWLNKGKEYCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQVVC
TLPPSRREEMTKNQVSLQCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLFSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGKGGSGGGSGGGSGTIGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT~~DESSSS~~HWVRQAPGKGLEWVA~~SSSSYGYT~~
YYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~SWAMD~~YWGQGTLLVTVSSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVTTCRA
~~SQSVSSA~~VAWYQQKPGKAPKLLIY~~SASDL~~YSGVPSRFSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQY~~AGAGLIT~~FGQGTKVEIK* (配列番号
: 928)

【 数 9 】

10

20

30

40

A N T 3 9 i H C / ブ D A N G

MNLLLILTFVAAA~~V~~AEVQLVESGGGLVQPGSLRLSCAASGFTLSSYSMHWVRQAPGKGLEWVAVISSYDSITDPYADSVKGRFTISAD
TSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARPAI/GHMAFDYWGQGITLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYRPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCTPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK
KDTLMISRTPETVCVVVA~~V~~AVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
KTISKAKGQPREPMVFDLPPSREEMTKNQVSLCMVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGSGTGEVQLVESGGGLVQPGSLRLSCAASGFDFTAY4MHWVRQ
APGKGLEWVASIYPSGGYTAYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRSYVFALDYWGQGITLVTVSSGGGGSDIQ
MTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSAVAWYQQKPGKAPKLLIYS4SSLYSGVPSRFSGRSGTDFLTITSLQPEDFATYYCQQYWA
YISPITFGGQGTKVEIK* (配列番号 : 929)

【数 1 0】

10

20

30

40

A N T 3 9 i H C ノ ブ L A L A P S

MNLLILTFVAAA/AEVLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLSSYSMHWVRQAPGKGLEWVAYISSYDSITDYADSVKGRFTISAD
TSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARPAVGHMAFDYWGQGTILVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP
KDTLMISRTPETCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIE
KTISKAKGQPREPMVEDLPPSREEMTKNQVSLWCMVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMHAEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDFTAYAMHWWVRQ
APGKGLEWVASIYPSGGYTAYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRSYVFALDYWGQGTILVTVSSGGGGSDIQ
MTQSPSSLSASVGRVTVITCRASQSLSAVAWYQQKPKAPKLLIYS4SSLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTITSLQPEDFATYYCCQQYWA
YYSPITFGQGTKVEIK* (配列番号 : 930)

【 数 1 1 】

10

20

30

40

ANT39i HCノブラLALAPS Merch ant

MNLLLILTFVAAA~~AEVQL~~VESGGGLVQPGGSLRLSCAASGF~~TLSSYS~~MHWVRQAPGKGLEWVA~~YISSYDSITL~~YADSVKGRFTISAD
TSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~PAVGHMA~~FDYWGQGTILVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP
KDTLMISRTPETCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASEI
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLVCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VFSQVMHEALHNNHYTQKSLSLSPGKGGSGGGSGGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGF~~DFTA~~YAMHWVRQA
PGKGLEWVA~~SIYP~~SGGYTA~~Y~~ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~RSYTF~~ALDYWGQGTILVTVSSGGGGSDIQM
TQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI~~SSA~~VAWYQQKPGKAPKLLIYS~~ASSL~~YSGVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCCQ~~QY~~W~~AY~~Y
~~SPIT~~FGQGTKVEIK* (配列番号 : 931)

【数 1 2】

10

20

30

40

50

A N T 3 9 i H C / プ L A L A P S M e r c h a n t S - S

MNLLLLTFVAAA¹VAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLSSYS²MHHWVRQAPGKGLEWVA³YISSYDSIT⁴DPYADSVKGRFTISAD
TSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR⁵PAVGHMA⁶FDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCTPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP
KDTLMISRTPETVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLVCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VFSCSYMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGSGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFD⁷FTAYAM⁸HHWVRQA
PGKGLEWVA⁹SYTPSGGYTA¹⁰YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR¹¹RSYTFAL¹²DYWGQGTLLTVSSGGGGSDIQM
TQSPSSLSASVGDRTITCRASQ¹³SLSSA¹⁴VAWYQQKPGKAPKLLIY¹⁵SASSLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQY¹⁶WAVY
SPITFGQGTKVEIK* (配列番号 : 932)

【数 1 3】

10

20

30

40

成熟ANT39 i HC / フ D A N G .

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLSSYSMHWVRQAPGKGLEWVAIYSSYDSITDYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA
EDTAVYYCARPAVGHMAFDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHIKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPMVFE
DLPPSRREEMTKNQVSLT/CMAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHY
TQKSLSLSPGKGGSGGGSGGGSGGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDFTAYAMHWVRQAPGKGLEWVAIYPSGGG
YTAYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRSYIFALDYWGQGTLLTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTI
TCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYWAIYSPITFGGQGTKVEIK*

(配列番号 : 933)

10

20

30

40

【 数 1 4 】

50

成熟ANT39i HC / プ L A L A P S

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLS~~SY~~SMHHWVRQAPGKGLEWVA~~YISSYDSITD~~YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA
EDTAVYYCAR~~PAVGHMAFD~~YWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQYICNVNHHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCTPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKD~~TL~~MISRTPETVCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASTIEKTI~~SK~~AKGQPREP~~AVE~~
~~DL~~PPSREEMTKNQVSL~~CM~~VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV~~FS~~CSVMHEALHNHY
TQKSLSLSPGKGGSGGGSGGGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT~~FTAYAM~~HHWVRQAPGKGLEWVA~~SY~~PSGG
~~YTA~~YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~RSYYFAL~~DYWGQGTLVTVSSGGGSDIQMTQSPSSL~~SASV~~GDRVTI
TCRAS~~QSVSSA~~VAWYQQKPGKAPKLLIY~~S4SSL~~YSGVPSRFSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ~~YWAYTSP~~TFGGQGTKVEIK*

(配列番号 : 934)

10

20

30

40

50

【 数 1 5 】

成熟ANT39i HCノブラLAPS Merchant

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLSYSYMHVVRQAPGKGLEWVA~~YISSYDSITD~~YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA
EDTAVYYCAR~~PAVGHMAFD~~YWGQGTILVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCTCPAPEA4GGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASTIEKTIKAKGQPREPQVY
TLPPSREEMTKNQVSL//CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSCVMHEALHNHY
TQKSLSLSPGKGGSGGGSGGGSGGSTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT~~FTAYAM~~HVVRQAPGKGLEWVA~~SIYPSGG~~
~~YTA~~YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~RSYFEAL~~DYW'GQGTILVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASV'GDRVTI
TCRAS~~QSI/SSA~~VAWYQQKPGKAPKLLIY~~SASSL~~YSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCCQ~~YW4YISPI~~TFGGQGTKVEIK*

(配列番号 : 935)

【 数 1 6 】

10

20

30

40

50

成熟ANT39i HC / 3 L A L A P S M e r c h a n t S - S

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGF~~TLSSYS~~MHWVRQAPGKGLEWVA~~YISSYD~~~~SITD~~YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA
EDTAVYYCART~~PAI~~~~GHMA~~FDYWGQGTILVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCTPCPAPEAAGGPSVFELFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPASPJEKTISKAKGQPREPQVY
TLPPCREEMTKNQVSL~~CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFNCSVMHEALHNHY~~
TQKLSLSLSPGKGGSGGGSGGGSGGSTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGF~~DETA~~~~YAM~~HWVRQAPGKGLEWVA~~SIYPSGG~~
~~YT~~AYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~RSYFEALD~~YWGGQGTILVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTI
TCRAS~~QSS~~~~SA~~VAWYQQKPGKAPKLLIY~~SASSL~~YSGVPSRFSGRSGTDFLTITSSLQPEDFATYYCCQ~~VW~~~~AY~~~~YSPI~~TFGGQGTKVEIK*

(配列番号 : 936)

10

20

30

40

50

【数 1 7】

A N T 3 9 H c ホ ー ル D A N G

MNLLLLTFVAAA~~AEVQL~~VESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFD~~FSSSS~~HWVRQAPGKGLEWVA~~SSSSYGTTY~~YADSVKGRFTISADT
SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~SWAMD~~YWGQGT~~LVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASV~~GDRVTITCRAS~~QSVSSA~~VAWYQKQP
GKAPKLLIY~~S4SDL~~YSGVPSRFSGRSGTDFLT~~TISSLQPEDFATYYCQYAGAGL~~ITFGQGTKVEIKGGGGGGGSEPKSSDKTHICPP
CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVA~~VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY~~GSTYRVVSVLTVLHQD~~DWLN~~
GKEYCKVSNKALPAPIEK~~TISKAK~~GQPREPQVYTLPP/RE~~MTSNQVSLSCA~~VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK~~TTTPVLD~~SDGSFF
L/SLKLTVDKSRWQQGNV~~FSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK~~GGGGGGGGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
GFT~~LSYS~~MHWVRQAPGKGLEWVA~~YSSYDSITDY~~ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~PAVGHMAFD~~YWGQ
GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK~~THIT~~* (配列番号 : 908)

10

20

30

40

【 数 1 8 】

50

A N T 3 9 H e ホ ー ル L A L A P S

MNLLJLTFVAAAVAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDFSSSSHWVRQAPGKGLEWVASISSSYGYTYADSVKGRFTISADT
SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARWAMDYWGQGTLVTVSSGGGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSKSSAVAWYQQK
GKAPKLLIYSASDLYSGVPSRFSGRSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQYAGAGLITFGQGTKVEIKGGGGGGGSEPKSSDKTHICPP
CPAPE44GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYCKVSNKALPASEIKTISKAKGQPREPQVYTLPPRELMTSNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF
L/SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGSGSTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
GFTLSSYSMHWVRQAPGKGLEWVAYSSDSITIDYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARPAVGHMAFDYWGQ
GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT* (配列番号 : 937)

【 数 1 9 】

10

20

30

40

50

A N T 3 9 H c ホ ー ル L A L A P S M e r c h a n t .

MNLLLILTFVAAA/AEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFD~~ESSSS~~HHVVRQAPGKGLEWVA~~SSSSYGYTY~~YADSVKGRFTISADT
SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~SW~~~~AM~~DYW/GQGTLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS~~QSYSSA~~VAWYQQKP
GKAPKLLIY~~S4SD~~LYSGVPSRFSGRSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQYAGAGLITFGQGTKVEIKGGGGGGGGSEPKSSDKTHTCPP
CPAPEAAGGPSVFLPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYCKVSNKALPASIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL~~SCA~~VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF
FL~~SK~~LTVDKSRWQQGNV~~FSC~~VMHEALHNHYTQKSLSPGKGGGGGGGGGGSGTIGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA
SGF~~TLSSYS~~~~M~~HHVVRQAPGKGLEWVA~~YISSYDSITDY~~ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~PAVGHMAFD~~YWG
QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTEP AVLQSSGLYSLSVVTVTPSSSLGTQTY
ICNVN~~HK~~PSNTKVDKKVEPKSCDKTHT* (配列番号 : 938)

10

20

30

40

【 数 2 0 】

ANT39 Hcホ一ルLALAPS Merch ant S-S

MNLLLILTFVAAA VAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDESSSSHHWVRQAPGKGLEWVASSSSYGYTYYADSVKGRFTISADT
SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSH/AMDYWGQTLVTVSSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSVSSAVAWYQQKP
GKAPKLLIYS4SDLYSGVPSRFGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYAGAGLITFGQGTKVEIKGGGGGGGGSEPKSSDKKTHTCPP
CPAPEAAGGPSVFLFPKPKDTLMISRTPETCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
N GKEYKCKVSNKALPASEIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF
FL/SKLTVDKSRWQQGNVSCSMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGSGSTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA
SGFTLSYSSMHHWVRQAPGKGLEWVAYSSYDS/IDYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARPAI/GHMAFDYWG
QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTY
ICNVNHPKSN TKVDKKVEPKSCDKTHT*(配列番号 : 939)

【数 2 1】

10

20

30

40

50

成熟ANT 3 9 H c ホールDANG

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFD~~ESSSS~~HVVRQAPGKGLEWVA~~SISSSYGY~~TYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA
EDTAVYYCAR~~SW~~~~AMD~~YWGQGTILVTVSSGGGSDIQTQSPSSLASVGDRVTITCRAS~~QSI/SSA~~VAWYQQKPGKAPKLLIY~~SASDLY~~
SGVPSRFSGSRSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQY~~AGAGL~~TFGQGTKVEIKGGGGGGGSEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPP/RE/MT~~SNQ~~VS~~L~~CAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNNYKTTTPVLDSDGSFFL/SKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSPGKGGGGGGGGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTL~~SSYS~~MHWVRQ
APGKGLEWVA~~YISSYDSITDY~~ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~PA~~~~VGHMAFDY~~WGQGTILVTVSSASTKGPS
VFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDK
KVEPKSCDKTHT*(配列番号 : 940)

【 数 2 2 】

10

20

30

40

50

成熟ANT39 HcホーラLALAPS

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDESSSSHWVVRQAPGKGLEWVASSSYGYTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA
EDTAVYYCARSWAMDYWGQGTLVTVSSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASDLY
SGVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYAGAGLITFGQGTKVEIKGGGGGGGGSEPKSSDKTHTCPPCPAPE44GGPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALP
ASTEKTIKAKGQPREPQVYTLPP/RE/MTSNQVSLCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL/ISKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSPKGGGGGGGGGGSTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFLSSYSMHWVVRQ
APGKGLEWVAVISSYDSITDYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARPAVGHMAFDYWGQGTLVTVSSASTKGPS
VFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK
KVEPKSCDKTHT*(配列番号: 941)

【 数 2 3 】

10

20

30

40

成熱ANT39 Hcホ-ルLALAPS Merchant

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFD~~FS~~SSSHHWVRQAPGKGLEWVAS~~SS~~SYGYTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA
EDTAVYYCAR~~SW~~~~AM~~DYWGQGTLLVTVSSGGGSDIOMTQSPSSLASVGDRTTITCRAS~~QS~~~~Y~~~~SS~~AVAWYQQKPGKAPKLLIY~~S~~~~AS~~~~DL~~~~Y~~
SGVPSRFSGSRSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQ~~YAGAGL~~ITFGQGTKVEIKGGGGGGGSEPKSSDKTHICPPCPAPE4AGGPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
ASTEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL~~SC~~AVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFL/SKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSPGKGGGGGGGGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT~~LS~~~~SY~~~~SM~~HWVR
QAPGKGLEWVAS~~Y~~~~SS~~~~YD~~~~S~~~~IT~~~~Y~~ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~PA~~~~V~~~~G~~~~H~~~~M~~~~A~~~~F~~~~D~~~~Y~~~~W~~~~G~~~~Q~~~~G~~~~T~~~~L~~~~V~~~~T~~~~V~~~~S~~~~S~~~~A~~~~S~~~~T~~~~K~~~~G~~~~P~~
SVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVD
KKVEPKSCDKTHT* (配列番号 : 942)

【数 2 4】

10

20

30

40

50

成熟ANT39 HcホーLLALAPS Merchant S-S

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDESSSSHHWVRQAPGKGLEWVASISSSYGYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA
EDTAVYYCARSWAMDYWGQGTLLVTVSSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTTTCRASQSVSSAVAWYQKPGKAPKLLIYSSADLY
SGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYVCQQYAGAGLITFGQGTKEIKGGGGGGSEPKSSDKTHICPPCPAPEAAGGPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
ASTEKTIKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLTSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLISKLTVDKSRWQ
QGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGSGSTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLSSYSMHWVR
QAPGKGLEWVAYSSYDSITDYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARPAIGHMAFDYWGQGTLLVTVSSASTKGP
SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTIKVD
KKVEPKSCDKTHT* (配列番号: 943)

【数 2 5】

10

20

30

40

A N T 3 9 H e / プ D A N G

MNLLLILTFVAAAVAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG**FDTAYAM**HWVRQAPGKGLEWVA**SIYPSGGYT**AYADSVKGRFTISA
DTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**RSYYFAL**DYWGQGTLLVTVSSGGGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS**QSISSA**VAWY
QQKPGKAPKLLIY**S4SSL**YSGVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQYW4YYSPT**FGQGTKVEIKGGGGGGGGSEPKSSDKT
HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTSKAKGQPREP**MEEDL**PPSREEMTKNQVSL**WCMVK**GFYPSDIAVEWESNGQPENNNYKTTTPPV
DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV**FSCSV**MHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSL
RLSCAASG**FTLSSYS**MHWVRQAPGKGLEWVA**YSSYDSITDY**ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**PAVGHMA**
FDYWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS
LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK'THT* (配列番号 : 944)

【数 2 6】

10

20

30

40

50

ANT39 Hc / プ L A L A P S

MNLLLLTFVAAA VAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDFTAYAMHWVRQAPGKGLEWVASIYPSGGYTA YADSVKGRFTISA
DTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRSYFALDYWGQGTLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSAVAWY
QQKPGKAPKLLIYSASSL YSGVPSRFSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYW/YYSPITFGQGTKVEIKGGGGGGGGSEPKSSDKT
HTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYCKVSNKALPAPASIEK TISKAKGQPREP/ VFDLPPSREEMTKNQVSL/CMVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNNYKTTTPVL
DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYTQKSLSPGKGGGGGGGGSGSTGEVQLVESGGGLVQPGGSL
RLSCAASGFTLSYSMHWVRQAPGKGLEWVAIYSSYDSITDYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARPAI/GHMA
FDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS
LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT* (配列番号 : 945)

10

20

30

40

【数 2 7】

50

ANT39 Hc/フLALAPS Merchant

MNLLILTFVAAA~~VAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDFTAYAM~~HWVRQAPGKGLEWVA~~SIYPSGGYLA~~YADSVKGRFTISA
DTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~RSYYEAL~~DYWGQGTLLTVSSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGD~~RV~~TTITCRAS~~QSISSA~~VAWY
QQKPGKAPKLLIY~~SASSL~~YSGVPSRFSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCCQ~~YHAYYP~~ITFGQGTKVEIKGGGGGGGSEPKSSDKT
HTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAASTIEKTI~~SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL~~/CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD
SDGSFFLYSKLTV~~DKSRWQQGNV~~FSCVMHEALHNHYTQKSLSLPGKGGGGGGGGSGSTGEVQLVESGGGLVQPGGSLR
LSCAASGF~~TLSSYS~~MHWVRQAPGKGLEWVA~~YISSYDSITD~~YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~PAVGHMAF~~
DYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL
GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT* (SEQ ID NO: 946)

【数 2 8】

10

20

30

40

50

ANT39 Hc / プ L A L A P S M e r c h a n t S - S

MNLLILTFVAAVAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDFTAYAMHWVRQAPGKGLEWVASIYPSGGYTA¹⁰YADSVKGRFTISA
DTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRSYYFALDYWGQGTLVTVSSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITICRASQSYSSAVAWY
QQKPGKAPKLLIYSA²⁰SLYSGVPSRFSGRSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQYHAYYSPITFGQGTKVEIKGGGGGGGSEPKSSDKT
HTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKD³⁰YTL⁴⁰MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK⁴⁰TSKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLVCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD
SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV⁵⁰VFSCVMHEALHNHYTQKSLSPGKGGSGGGSGGSTGEVQLVESGGGLVQPGGSLR
LSCAASGFTLS⁶⁰SYSMHWVRQAPGKGLEWVA⁷⁰YSSYDSITDYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARPAVGHMAF
DYWGQGT⁸⁰LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL
GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT* (配列番号 : 947)

【数 2 9】

10

20

30

40

50

成熟ANT39 HcノブDANG

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDFTAYAMHWVRQAPGKGLEWVASIYPSGGYTA~~Y~~ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR
AEDTAVYYCAR~~RSYVEALD~~YWGQGTLYTVSSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS~~QSISSA~~VAWYQQKPGKAPKLLIY~~SAS~~
~~SL~~YSGVPSRFSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYW~~AYKSPIT~~TFGQGTKVEIKGGGGGGGSEPKSSDKTHICPPCPAPELLGGPS
VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVA~~AV~~SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKKVS
KALPAPIEKTISKAKGQPREP~~MVE~~DLPPSREEMTKNQVSL~~WCM~~VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTL~~SSYSM~~
HWVRQAPGKGLEWVA~~YISSYDSITD~~YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~PAVGHMAFDY~~WGQGTLYTVSSA
STKGPSVFP~~LAP~~SSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHHKPSN
TKVDKKVEPKSCDKTHT* (配列番号 : 948)

10

20

30

40

【 数 3 0 】

成熟ANT39 HcノブラLALAPS

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDFTAY4MHWVRQAPGKGLEWVA~~SIYPSGGYT4~~YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR
AEDTAVYYCAR~~RSYVFA~~LDYWGQGTLLTVSSGGGGSDIOMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS~~QSYSS4~~VAWYQQKPKGAPKLLIYS4S
~~SL~~YSGVPSRFGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ~~IWA~~YYS~~PIT~~FGQGTKVEIKGGGGSGGGSEPKSSDK~~TH~~TCPPCPAPEA4GGPS
VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSN
KALPASEIEKTTISKAKGQPREP~~MVE~~DLPPSREEMTKNQVSL~~IC~~MAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYTQKSLSPGKGGGGSGGGSGSTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT~~LSYKSM~~
HWVRQAPGKGLEWVA~~YISSYDSITD~~YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCAR~~PAVGHMAFD~~YWGQGTLLTVVSSA
STKGPSVFPFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHHKPSN
TKVDKKVEPKSCDKTHT* (配列番号 : 949)

【 数 3 1 】

10

20

30

40

成熟ANT39 HcノブラLALAPS Merch ant

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDFTAYAMHWVRQAPGKGLEWVASIYPSGGYTAYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR
AEDTAVYYCARRSYYFALDYWGQGTLYVSSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTTTCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSAS
SLYSGVPSRFSRSGTDFLTITSLQPEDFATYYCQQYWAIYSPITFGQGTKVEIKGGGGGGGSEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPS
VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KALPASTEKTIKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSL/CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSPGKGGGGGGGGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLSYSM
HWVRQAPGKGLEWVAIYSSYDSITDYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARPALGHMAFDYWGQGTLYVTVSSA
STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHNKPSN
TKVDKKVEPKSCDKTHIT* (配列番号 : 950)

【 数 3 2 】

10

20

30

40

成熟ANT39 HcノブLALAAPS Merch ant

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDFTAYAMHWVRQAPGKGLEWVASIYPSGGYTA~~Y~~ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR
AEDTAVYYCARRSYYFALDYWGQGTLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRASQSYSSA~~V~~AWYQQKPGKAPKLLIYSA~~S~~
SLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYWA~~Y~~YISPTFGQGTKEIKGGGGGGGGSEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPS
VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KALPASEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSL/CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGSGGGGGSGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLSYSYSM
HWVRQAPGKGLEWVA~~Y~~ISSYDSITDYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCARPAVGHMAFDYWGQGTLVTVSSA
STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHHKPSN
TKVDKKVEPKSCDKTHT* (配列番号 : 951)

【 数 3 3 】

10

20

30

40

50

A N T 3 9 L C

MNLLLLTFVAAAADIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSA~~SS~~LYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTIS
SLQPEDFATYYCQQWYNAPITFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT
EQDSKDSYSTSLSS~~TL~~TL~~SK~~ADY~~EH~~KVYACEVTHQGLSSPVT~~KS~~FN~~R~~GEC* (配列番号 : 909)

10

20

30

40

【 数 3 4 】

50

成熟ANT39 LC

DIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQSVSS4VAWYQOKPGKAPKLLIY\$4\$SLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQW
YN4PTIFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYSLSTLT
SKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (配列番号 : 952)

10

20

30

40

50

【 数 3 5 】

A N T 4 2 i H C ホ ー ル D A N G

MNLLLILTFVAAA~~V~~AEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSD~~DFYF~~HHWVRQAPGKGLEWVA~~TIY~~~~PFI~~GN~~TY~~YADSVKGRFTISAD
TSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~AFPGSV~~HPEDYWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCTPCPAPELLGGPSVFLFPPKP
KDTLMISRTPDEVTCVVVA~~V~~SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPP~~RE~~MT~~SNQV~~SL~~SC~~AVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFL~~SKLT~~VDKSRWQQGNV
FSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGSGGGSGGSGTIGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT~~DFSSSI~~HHWVRQAPG
KGLEWVA~~SISSYG~~TY~~Y~~ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~SW~~~~AMDY~~WGQGTLLVTVSSGGGGSDIQMTQSPS
SLASVGDRTITCRAS~~QSVSSA~~VAWYQQKPGKAPKLLIY~~SASDL~~YSGVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ~~YAGAGL~~ITFG
QGTKVEIK* (配列番号 : 953)

10

20

30

40

【 数 3 6 】

50

A N T 4 2 i H C ホ ー ル L A L A P S

MNLLLILTFVAAA¹AEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSD²FYF³HWVRQAPGKGLEWVA⁴TIY⁵PFIGN⁶TY⁷Y⁸ADSVKGRFTISAD
TSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR⁹AFPG¹⁰SYH¹¹PF¹²YWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA¹³LGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEA¹⁴AGGPSVFLFPPKP
KDTLMISRTPETCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPASTE
KTISKAKGQPREPQVYTLPP¹⁵RE¹⁶MT¹⁷SNQVSL¹⁸CA¹⁹VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFL²⁰/SKLTVDKSRWQQGNV
FSCVMHEALHNHYTQKSLSPKGGGGGGGGGGGGGGSTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT²¹DE²²SS²³SY²⁴HWVRQAPG
KGLEWVA²⁵SI²⁶SS²⁷YGY²⁸TY²⁹ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR³⁰SW³¹AMDYWGQGLVTVSSGGGGGGDIQMTQSPS
SLSASVGRV³²TTICRAS³³Q³⁴SI³⁵SS³⁶AVAWYQQKPGKAPKLLIY³⁷SA³⁸SDL³⁹YSGVPSRFGSGRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ⁴⁰YAGAGL⁴¹ITFG
QGTKVEIK* (配列番号 : 954)

10

20

30

40

【 数 3 7 】

A N T 4 2 i H C ホ ー ル L A L A P S M e r c h a n t

MNLLILTFVAAA~~AEVQL~~VESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSDFYFHWVRQAPGKGLEWVATIYPIGNTTYADSVKGRFTISAD
TSKNTAYLQMN~~SLRAEDTA~~VYYCARFPGSYHPFDYWGQTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH~~TCPPCPAPEA~~AGPSVFLFPPKP
KDTLMISRTPETCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL~~SCA~~VKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL/SLKLTVDKSRWQQGN
VFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGSTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDESSSYHHWVRQAP
GKGLEWVASSSYGYTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSWAMDYWQQGTLVTVSSGGGGSDIQMTQS
PSSLASVGD~~RV~~TIITCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASDLYSGVPSRFSGRSGIDFILTISSLQPEDFATYYCQYAGAGLIT
FGQGTKVEIK* (配列番号 : 955)

【 数 3 8 】

10

20

30

40

A N T 4 2 i H C ホ ー ル L A L A P S M e r c h a n t S - S
M N L L L I L T F V A A A V A E V Q L V E S G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T S D F Y F H W V R Q A P G K G L E W V A T I Y P F I G N T Y A D S V K G R F T I S A D
T S K N T A Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R A F P G S Y H P F D Y W G Q G T L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S
W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K K V E P K S C D K T H T C P P C P A P E A A G G P S V F L F P P K P
K D T L M I S R T P E V T C V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A S I E
K T I S K A K G Q P R E P Q V C T L P P S R E E M T K N Q V S L S C A V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L S K L T V D K S R W Q Q G N
V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K G G G S G G G S G T G E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F D F S S S S H W V R Q A P
G K G L E W V A S I S S S Y G I Y T Y A D S V K G R F T I S A D T S K N T A Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R S W A M D Y W G Q G T L V T V S S G G G S D I Q M T Q S
P S S L S A S V G D R V T I T C R A S O S I S S A V A W Y Q Q K P G K A P K L L I Y S A S D L Y S G V P S R F S G S R S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q Y A G A G L I T
F G Q G T K V E I K * (配 列 番 号 : 956)

【 数 3 9 】

10

20

30

40

成熟ANT42i HCホーランドANG

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSD~~FEY~~EHWVRQAPGKGLEWVA~~TIY~~~~PI~~IGN~~TY~~ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA
EDTAVYYCAR~~AFPGSYH~~PFEDYWGQGTILVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLPPKPKDITLMISRTPDEVTCVV
VAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVY
TLPPRE~~L~~MT~~Q~~NSL~~Q~~CAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFL~~Y~~SKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGKGGGGGGGGSGGSTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT~~DFSSSS~~SIHWVRQAPGKGLEWVA~~SISSSYGYT~~
~~IY~~ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~SWAMD~~YWGQGTILVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRA
~~SOVS~~~~SA~~VAWYQQKPGKAPKLLIY~~SA~~~~SDL~~YSGVPSRFSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCCQ~~YAGAGL~~ITFGQGTKVEIK* (配列番号
: 957)

【数 4 0】

10

20

30

40

50

成熟ANT42i HCホールLALAPS

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSDIFYFHHWVRQAPGKGLEWVA~~TIYPI~~IGNTIYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA
EDTAVYYCAR~~AFPGSVHP~~FDYWGGQTLVTVSSASTKGPSVFFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCTPCPAPE~~AGG~~PSVFLFPPKPKD~~TLM~~ISRTP~~EV~~TCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD~~W~~LNKGKEYCKVSNKALPASEIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPP~~RE~~MT~~SNQ~~VS~~L~~CAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL~~I~~SKLTVDKSRWQQGNV~~F~~SCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGKGGSGGGSGGGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT~~DESSSS~~HHWVRQAPGKGLEWVA~~AS~~~~SS~~~~SY~~~~GYT~~
IYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~SH~~~~AM~~DYWGGQTLVTVSSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRA
~~SQSI~~~~SS~~~~AV~~AWYQQKPGKAPKLLIY~~S~~~~AS~~~~DL~~~~I~~YSGVPSRFSGRSGTDFLT~~TI~~SSLPEDFATYYCQQ~~Y~~~~AG~~~~GL~~~~I~~TFGQGTKVEIK* (配列番号
:958)

【数 4 1】

10

20

30

40

50

成熟ANT42i H Cホ一ルL A L A P S M e r c h a n t

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSDFYFIHWVRQAPGKGLEWVA**TIYFIGN**TYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA
EDTAVYYCAR**AFPGSYHPFD**YWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCTPPCPAPE**AGG**PSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPASEIETISKAKGQPREPQVY
TLPPSREEMTKNQVSL**SC**AVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL**SKL**TVDKSRWQQGNVSCVMHEALHNHYT
QKSLSPGKGGSGGGSGGGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT**DESSSS**HWVRQAPGKGLEWVA**SISSSYGYT**
YYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**SWAMD**YWGQGTLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRA
SOSSSAVAWYQQKPGKAPKLLIY**SASDL**LYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCYCQ**YAGAGLIT**FGQGTKVEIK* (配列番号
: 959)

10

20

30

40

50

【数 4 2】

成熟ANT42i HCホールLALAPS Merch ant S-S

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSDIFYFHHWVRQAPGKGLEWVATIYPIGNTIYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA
EDTAVYYCARAFPGSYHPIDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLPPKPKDITLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPASEKTIISKAKGQPREPQVC
TLPPSRREEMTKNQVSLC₄VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL/SKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGKGGSGGGSGGGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTDFSSSYJHWWVRQAPGKGLEWVASISSSYGYT
IYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSWAMDYWGGQGTLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITTCRA
SQSISSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASDLIYSGVPSRFSRSGTDFLTITSLQPEDFATYYCQQYAGAGLIITFGQGTKVEIK* (配列番号
: 960)

10

20

30

40

【数 4 3】

50

ANT42i HC/フDANG

MNLLILTFVAAAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSDFVFHWVRQAPGKGLEWVATIYPFIGNTIYADSVKGRFTISAD
TSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARAFPGSIHPFDYWGGGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP
KDTLMISRTPETCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
KTISKAKGQPREPMFDLPPSREEMTKNQVSLCMVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDFTAYAMHWVRQ
APGKGLEWVASIYPSGGYIAYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRSIIFALDYWGGGLVTVSSGGGGSDIQ
MTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSSSLYSGVPSRFSRSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQIWA
YSPITFGQGTKVEIK* (配列番号 : 961)

【数 4 4】

10

20

30

40

50

A N T 4 2 i H C / ㄉ L A L A P S

MNLLLILTFVAAA~~V~~AEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGF~~TSDFYFI~~HWVVRQAPGKGLEWVA~~TIYPFIGN~~TIYADSVKGRFTISAD
TSKNTAYLQMNSLR~~A~~EDTA~~V~~YYCAR~~AFPGSVHPFD~~YWGQGTILVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCTPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP
KDTLMISRTPETCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASE
KTISKAKGQPREP~~M~~~~V~~~~E~~~~D~~PPSREEMTKNQVSL~~#~~CMAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFELYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGF~~DFTAYAM~~HWVRQ
APGKGLEWVA~~SIYPSGGYTAY~~ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR~~A~~EDTA~~V~~YYCAR~~RSYFFAL~~DYWGQGTILVTVSSGGGGSDIQ
MTQSPSSLASVGDRTVITCRAS~~QS~~~~V~~~~SSA~~VAWYQQKPGKAPKLLIY~~S~~~~ASSL~~YSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ~~YWA~~
YISPTTFGQGTKVEIK* (配列番号 : 962)

【数 4 5】

10

20

30

40

A N T 4 2 i H C / プ L A L A P S M e r c h a n t .

MNLLLILTFVAAA~~V~~AEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSD~~F~~YF~~H~~HWVRQAPGKGLEWVA~~T~~IY~~P~~FIGNTIYADSVKGRFTISAD
TSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARA~~F~~P~~G~~S~~V~~H~~P~~F~~D~~YWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCTPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP
KDTLMISRTPETVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL~~W~~CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGGGGGSTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT~~D~~E~~T~~A~~I~~Y~~A~~M~~H~~WVRQA
PGKGLEWVA~~S~~I~~P~~S~~G~~G~~G~~Y~~T~~A~~I~~YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~R~~S~~V~~Y~~F~~A~~L~~DYWGQGTLVTVSSGGGGSDIQM
TQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ~~S~~I~~S~~A~~V~~AWYQQKPGKAPKLLIY~~S~~A~~S~~S~~L~~YSGVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ~~W~~A~~V~~Y
SPITFGQGTKVEIK* (配列番号 : 963)

10

20

30

40

【 数 4 6 】

A N T 4 2 i H C ノ ブ L A L A P S M e r c h a n t S - S

M N L L L I L T F V A A A V A E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T S D F Y F H W V R Q A P G K G L E W V A T I Y P F I G N T Y V A D S V K G R F T I S A D
T S K N T A Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R A F P G S Y H P E D Y W G Q G T L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S
W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K K V E P K S C D K T H T C P P C P A P E A 4 G G P S V F L F P P K P
K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A S I E
K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P C R E E M T K N Q V S L # C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N
V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K G G G S G G S G S T G E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F D F T A Y A M H W V R Q A
P G K G L E W V A S I Y P S G G Y T A Y A D S V K G R F T I S A D T S K N T A Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R R S Y Y F A L D Y W G Q G T L V T V S S G G G S D I Q M
T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A S O S V S S A V A W Y Q Q K P G K A P K L L I Y S 4 S S L Y S G V P S R F S G S R S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q Y W A Y Y
S P I T F G Q G T K V E I K * (配列番号 : 964)

10

20

30

40

【数 4 7】

成熟ANT42i HCノブDANG

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSDFYFHHWVRQAPGKGLEWVA**TIYPI**IGNTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA
EDTAVYYCAR**AFPGSYHP**FDYWGGGTLVTYSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQYICNVNHPKSTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPETVTCVV
VAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP**MVE**
DLPPSREEMTKNQVSL**W**CMVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHY
TQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT**DTAYAM**HWVRQAPGKGLEWVA**SIYPSGG**
YTAYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**RSYYFA**LDYWGGGTLVTYSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTI
TCRAS**QSYSSA**VAWYQQKPGKAPKLLIY**SASSL**YSGVPSRFSGSRSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQQ**YWAYYSP**ITFGQGTKEIK*

(配列番号 : 965)

10

20

30

40

50

【 数 4 8 】

成熟ANT42i HCノブラLALAPS

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSDYFIHWVRQAPGKGLEWVA**TIYPI**IGNTIYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA
EDTAVYYCAR**AFPGSYHP**EDYWGGGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPASTIEKTIISKAKGQPREP**MVE**
DLPPSREEMTKNQVSL**WCMVK**GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHY
TQKSLSLSPGKGGSGGGSGGGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGF**DETAIYAM**HWVRQAPGKGLEWVA**SIYPSGG**
YTAYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**RSYIFAL**DYWGGGTLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTI
TCRAS**QSISSA**VAWYQQKPGKAPKLLIY**SASSL**YSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ**YW4YYSP**ITFGQGTKVEIK*

(配列番号 : 966)

【数 4 9】

10

20

30

40

50

成熟ANT42i HC / プ L A L A P S M e r c h a n t .

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSDFYFHHWVRQAPGKGLEWVATIYPIGNTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA
EDTAVYYCARAFPGSYHPFDYWGGGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAV
LQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGSPVFLPPKPKD TLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASTIEKTIISKAKGQPREPQVY
TLPSSRREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVSMHEALHNHY
TQKSLSPGKGGSGGGSGGSGGSTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTDFIAYAMHHWVRQAPGKGLEWVASIYPSGG
YTAYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRSYIFALDYWGGGTLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTI
TCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGRSGTDITLTISLQPEDFATYYCCQYWAYYSPITFGQGTKEIK*

(配列番号 : 967)

10

20

30

40

【数 5 0】

成熟ANT42i HCノPLALAPS Merchant S-S

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSDFYEHHWVRQAPGKGLEWVATIYPIFGNTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA
EDTAVYYCARAFPGSYHPFDYWGGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCTPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASEIEKTIISKAKGQPREPQVY
TLPPCREEMTKNQVSLVCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHY
TQKLSLSPGKGGSGGGSGGGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDFTAYAMHWVRQAPGKGLEWVASIYPSGG
YTAYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRSYYEALDYWGGTLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTI
TCRASQSLSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTIDFILTISSLQPEDFATYYCQQYW4YISPTITFGQGTKVEIK*

(配列番号 : 968)

【 数 5 1 】

10

20

30

40

A N T 4 2 H c ホ ー ル D A N G

MNLLLLTFVAAA/AEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDESSSYHWVRQAPGKGLEWVASSSYGYTYADSVKGRFTISADT
SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSWAMDYWGGTLVTVSSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRAVTITCRASQSISSAVAWYQKP
GKAPKLLIYSASDLYSGVPSRFSGRSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQYAGAGLITFGQGTKVEIKGGGGGGGSEPKSSDKTHTCPP
CPAPELLGGPSVFLPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPP/RELMITSNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF
L/SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSPGKGGGGGGGGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
GFTSDFYFHHWVRQAPGKGLEWVATIYPIFIGNTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARAFPGSYHPFDYWGQ
GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT* (配列番号 : 911)

10

20

30

40

【 数 5 2 】

A N T 4 2 H c ホ ー ル L A L A P S

MNLLLILTFVAAA~~V~~AEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDFS~~SS~~SHWVRQAPGKGLEWVASS~~SS~~YGYTY~~Y~~ADSVKGRFTISADT
SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSH~~AM~~DYWGQGITLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCRASQS~~SS~~AVAWYQQKP
GKAPKLLIYS~~S~~DLYSGVPSRFSGRSGIDFTLTIISSLPEDFATYYCQQYAG~~GL~~ITFGQGTKVEIKGGGGGGGSEPKSSDKTHITCPP
CPAPEAAGGPSVFLFPKPKDTLMISRTPETCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYCKVSNKALPASEKTISKAKGQPREPQVYTLPP/RE/MTSNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF
L/SLKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSPGKGGGGGGGGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
GFTS~~DFYFTHHWVRQAPGKGLEWVATI~~YF~~IGNTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARAF~~PG~~SYHPFDYWGQ
GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTEPAVLQSSGLYSLSSVTVVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDDKKVEPKSCDKTHT* (配列番号 : 969)~~

10

20

30

40

【 数 5 3 】

50

A N T 4 2 H c ホ ー ル L A L A P S M e r c h a n t .

MNLLLLITFVAAA~~V~~AEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFD~~FSSSS~~HHWVRQAPGKGLEWVA~~S~~SSSYGYTY~~Y~~ADSVKGRFTISADT
SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~SW~~AMDYWGQGTILVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS~~QSVSSA~~VAWYQQKP
GKAPKLLIY~~S4SD~~LYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTITSSLPEDFA~~TY~~YCQ~~Q~~YAGAGLITFGQGTKVEIKGGGGGGGSEPKSSDKKTHICPP
CPAPE4AGGPSVFLFPKPKD~~TL~~MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD~~WLN~~
GKEYCKVSNKALPASEIKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL~~SCA~~VKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNNYKTTTPVLDSDGSF
FL~~SKL~~TVDKSRWQQGNV~~FS~~SVMEALHNHYTQKSLSPGKGGGGGGGGGGGGSTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA
SGF~~TSDFYF~~HHWVRQAPGKGLEWVA~~TI~~YFIGN~~TY~~ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~AF~~FGSYHPEDYWG
QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTY
ICNVN~~HK~~PSNTKVDKKVEPKSCDKTHT* (配列番号 : 970)

10

20

30

40

【 数 5 4 】

ANT42 HcホーLALA.PS Merch ant S-S

MNLLLJLTFVAAA/AEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFD~~ESS~~SHWVRQAPGKGLEWVA~~SSSYGYTY~~YADSVKGRFTISADT
SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~SW~~/MDYWGGTLVTVSSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS~~QSVSS~~AVAWYQQKP
GKAPKLLIY~~S4SDL~~YSGVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQY~~AGA~~GLTTFGQGTKVEIKGGGGGGGGSEPKSSDKTHTC
CPAPEAAGGPSVFLFPKPKDTLMISRTPETCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
N
GKEYCKVSNKALPASEKTIISKAKGQPREPQVCTLPSSREEMTKNQVSL~~SC~~AVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF
FL/SKLTVDKSRWQQGNVFCSVMEALHNHYTQKSLSPGKGGGGGGGGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA
SGFTSD~~FYF~~HWVRQAPGKGLEWVA~~TIYF~~IGNTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~4FPGSYH~~FDYWG
QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTY
ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT*(配列番号 : 971)

10

20

30

40

【数 5 5】

成熟ANT42 HcホールDANG

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFD~~ESSSS~~HHWVRQAPGKGLEWVA~~SISSSYGY~~TTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA
EDTAVYYCAR~~SW/AMD~~YWGGGTLYTVSSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRAS~~QSI/SSA~~VAWYQQKPGKAPKLLIY~~S4SDLY~~
SGVPSRFSGRSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQY~~AGAGL~~/TFGGGTKVEIKGGGGGGSEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVA~~V~~SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALP
APIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPP/RELMT~~SNQVSL~~SCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNNYKTTTPVLDSDGSFFL/SKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGF~~TSDFYF~~HHWVRQ
APGKGLEWVA~~TIYPFIGN~~YYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~FPGSYHPED~~YWGGGTLYTVSSASTKGP
SVEPLAPSSKSTGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTIYICNNVNHKPSNTKVD
KKVEPKSCDKTHT* (配列番号 : 972)

【数56】

10

20

30

40

成熟ANT42 HcホーLLLLAPS

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDESSSSHWVRQAPGKGLEWVASSSSGYITYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA
EDTAVYYCARSWAMDYWGGTLVTVSSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSYSSAVAWYQQKPGKAPKLLITYSASDLY
SGVPSRFSGSRSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQLAGGLTFGQGTKVEIKGGGGGGGSEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGSPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
ASTIEKTIKAKGQPREPQVYTLPP/REZMTNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLFSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPKGGGGGGGGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSDFYFHWVRQ
APGKGLEWVATIYPFIGNTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARAFPGSYHPFDYWGGTGLVTVSSASTKGP
SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVD
KKVEPKSCDKTHT* (配列番号 : 973)

【数 5 7】

10

20

30

40

成熟ANT42 Hcホー ル L A L A P S M e r c h a n t

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFD~~FS~~~~SS~~SIHWVRQAPGKGLEWVA~~SI~~~~SS~~SYGYTTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA
EDTAVYYCAR~~SW~~~~AMD~~YWGGGTLLVTVSSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS~~Q~~~~Y~~~~SS~~AVAWYQKPGKAPKLLIY~~S~~~~A~~~~SD~~~~LY~~
SGVPSRFSGSRSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQY~~AG~~~~GL~~TFGGGTKVEIKGGGGGGGSEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
ASIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL~~SC~~AVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDSGSFEL~~/~~SKLLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSPGKGGGGGGGGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT~~SD~~~~FY~~~~FH~~~~WVR~~
QAPGKGLEWVA~~II~~~~Y~~~~P~~~~F~~~~I~~~~G~~~~N~~~~T~~~~Y~~ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~AF~~~~PG~~~~SY~~~~HP~~~~ED~~YWGGGTLLVTVSSASTKG
PSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVD
KKVEPKSCDKTHT* (配列番号 : 974)

【 数 5 8 】

10

20

30

40

成熟ANT42 HcホールLALAPS Merchants-S

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFD~~FS~~SS~~SH~~HWVRQAPGKGLEWVA~~SI~~SS~~Y~~G~~Y~~TYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA
EDTAVYYCAR~~SW~~~~AM~~DYYWGQGTLLTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITTCRAS~~QSV~~~~SS~~AVAWYQQKPGKAPKLLIY~~S~~~~AS~~DLY
SGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ~~Y~~~~AG~~~~GL~~TFGQGTKVEIKGGGGGGGSEPKSSDKTHICPPCPAPEAAGGPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
ASTEKTSKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSL~~SC~~AVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFL~~Y~~SKLTVDKSRWQ
QGNVFS~~CS~~VMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT~~SD~~~~F~~~~Y~~~~F~~~~F~~~~H~~WVR
QAPGKGLEWVA~~TI~~~~Y~~~~P~~~~F~~~~I~~~~G~~~~N~~~~T~~~~Y~~YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~AF~~~~P~~~~G~~~~S~~~~Y~~~~H~~~~P~~~~F~~~~D~~~~Y~~WGQGTLLTVSSASTKG
PSVFP~~L~~APSSKSTGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVD
KKVEPKSCDKTHT*(配列番号 : 975)

【数 5 9】

10

20

30

40

A N T 4 2 H e / フ D A N G

MNLLLLTFVAAA~~V~~AEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGEDFTAIAMHWVRQAPGKGLEWVASIYPSGGYTAYADSVKGRFTISA
DTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRSYYFALDYWGQGLVTVSSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTTTCRASQSLSSAVAWY
QQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGRSGTIDFTLTISLQPEDFATYYCQQIYIYSPITFGQGTKVEIKGGGGGGGGSEPKSSDKT
HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVA~~V~~AVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPMVEDLPPSREEMTKNQVSLWCMVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNNYKTTTPPVL
DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSPGKGGGGGGGGGGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSL
RLSCAASGETSDFYFHWVRQAPGKGLEWVATIYPIFIGNTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARAFPGSYHP
FDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS
LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT* (配列番号 : 976)

10

20

30

40

【数 6 0】

ANT42 HcノブラLALAPS

MNLLLITFVAAA VAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDFTAYAMHWVRQAPGKGLEWVA **SIYPSGGYT**AYADSVKGRFTISA
DTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR **RSYIFEAL**DYWGQGLVTVSSGGGGSDIQTQSPSSLASVGDRVTITCRAS **QSVSSA**VAWY
QQKPGKAPKLLIY **S4SSL**YSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ **QYHAYYSPT**FGQGTKVEIKGGGGGGGGSEPKSSDKT
HICPPCPAPE **4AGPS**VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYCKCKVSNKALPASEIEKTISKAKGQPREP **MVE**DLPPSREEMTKNQVSL **CMVK**GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL
DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGKGGGGGGGGGGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSL
RLSCAASGFT **TSDFEY**FWVRQAPGKGLEWVA **TIYPFIGN**TYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR **4FPGSYHP**
EDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSS
LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT* (配列番号 : 977)

10

20

30

40

【数 6 1】

A N T 4 2 H c / ㄗ L A L A P S M e r c h a n t .

MNLLLLTFVAAA~~V~~AEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFD~~FT~~~~AY~~~~AM~~HWVRQAPGKGLEWVA~~SI~~~~YPSGGY~~~~TA~~YADSVKGRFTISA
DTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~RSYYF~~~~AL~~DYWGQGTILVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCRAS~~QSI~~~~SS~~~~AV~~AWY
QKPGKAPKLLIY~~S~~~~ASSL~~YSGVPSRFSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ~~YW~~~~AYIS~~~~PT~~TFGQGTKVEIKGGGGSGGGSEPKSSDKT
HICPPCPAPE44GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPASTEKTISKAKGQPREPQVYVTLPPSREEMTKNQVSL~~W~~CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD
SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCVMHEALHNHYTQKSLSPGKGGGGGGGGSGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSLR
LSCAASGFT~~SD~~~~FY~~~~FH~~HWVRQAPGKGLEWVA~~TI~~~~YF~~~~IGN~~~~TY~~ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~AF~~~~PG~~~~SY~~~~H~~~~P~~~~F~~
DYWGQGTILVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSL
GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT* (配列番号 : 978)

【数 6 2】

10

20

30

40

50

ANT42 Hc / プ L A L A P S M e r c h a n t S - S

MNLLILTFVAAAVAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDFTAYAMHWVRQAPGKGLEWVASIYPSGGYTAYADSVKGRFTISA
DTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRSYFALDYWGQGTILVTVSSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSVSSAVAWY
QQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSRSGTDFLTITSLQPEDFATYYCQQYWAIVYSPITFGQGTKVEIKGGGGSGGGSEPKSSDKT
HTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYCKVSNKALPASTEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLVCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD
SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSPGKGGSGGGSGGGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSLR
LSCAASGFTSDFYFTHWVRQAPGKGLEWVAIYPIFIGNTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARAFPGSYHPF
DYWGQGTILVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSL
GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHI* (配列番号 : 979)

【数 6 3】

10

20

30

40

50

成熟ANT42 HcノブDANG

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDFTAYAMHWVRQAPGKGLEWVA~~SIYPSGGYTAY~~ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR
AEDTAVYYCAR~~RSYYFALD~~YWGQGTLVTVSSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS~~QSYSSAV~~AWYQQKPGKAPKLLIY~~SAS~~
~~SL~~YSGVPSRFSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ~~IW4YKSP~~ITFGQGTKVEIKGGGGGGGSEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPS
VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDDWLNKGKEYCKVSN
KALPAPIEKTIISKAKGQPREP~~AV~~EDLPPSREEMTKNQVSL~~W~~CMVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGSGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT~~SDFYFI~~
HWVRQAPGKGLEWVA~~TIYPIFIGNTYY~~ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~AFPGSYHPFDY~~WGQGTLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS
NTKVDKKVEPKSCDKTHT* (配列番号 : 980)

【数 6 4】

10

20

30

40

50

成熟ANT42 HcノブラLALAPS

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDFTAYAMHWVRQAPGKGLEWVASIYPSGGYTAYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR
AEDTAVYYCARRSYVFALDYWGQGTLVTVSSGGGGDIQMTQSPSSASVGDRTVTITCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIY\$4\$
SLYSGVPSRFSGRSGTDFLTITSLQPEDFATYYCQYWA4YYSPTTFGQGTKVEIKGGGGGGGGSEPKSSDKTHICPPCPAPE44GGPS
VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KALPASTEKTIISKAKGQPREPMVEELPPSREEMTKNQVSLWCMVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSPKGGGGGGGGSGSTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSDYFI
HWVRQAPGKGLEWVA4IYPIGNTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR4FPGSYHPPFDYWGQGTLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALISGVHITPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHPKS
NTKVDKKEPKSCDKTHT* (配列番号 : 981)

【 数 6 5 】

10

20

30

40

成熟ANT42 HcノブラLAPS Merchant

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDFTAYAMHWVRQAPGKGLEWVASIYPSGGYTAYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR
AEDTAVYYCARRSYYFALDYWGQGTLLVTVSSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSAS
SLISGVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQYWAYSPITFGQGTKVEIKGGGGSGGSEPKSSDKTHICPPCPAPEA44GGPS
VFLFPKPKDTLMISRTPETCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KALPASTIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSDYFI
HWVRQAPGKGLEWVATIYFFIGNTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR4FPGSYHPPFDYWGGQGTLLTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPS
NTKVDKKVEPKSCDKTHT* (配列番号 : 982)

10

20

30

40

【数 6 6】

50

成熟ANT42 Hc/PLALAPS Merchants-S

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDFTAYAMHWVRQAPGKGLEWVA~~SIYPSGGYT~~YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR
AEDTAVYYCAR~~RSYYFAL~~DYWGQGTLLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRAS~~QSLSSA~~VAWYQQKPGKAPKLLIY~~SAS~~
~~SL~~YSGVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ~~YWAYISPT~~IFGQGTKVEIKGGGGGGGGSEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPS
VFLFPPKPKDTLMISRTPETVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KALPASTIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSL~~W~~CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSPGKGGGGGGGGSGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT~~SDFYFI~~
HWVRQAPGKGLEWVA~~TIYFPIGNT~~YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR4~~FPGSVHPFD~~YWGQGTLLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS
NTKVDKKVEPKSCDKTHT* (配列番号 : 983)

【数 6 7】

10

20

30

40

50

A N T 4 2 L C

MNLLLLTFVAAAADIQMTQSPSSLASVGDRVTITCRASQSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSSLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTIS
SLQPEDFATYYCQQSTGSLITFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
QDSKDSYSTYSLSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC* (配列番号 : 912)

10

20

30

40

【 数 6 8 】

50

成熟ANT42 LC

DIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYS4SSLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQS
TGSLLITFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLT
SKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (配列番号 : 984)

【数 6 9】

10

20

30

40

50

A N T 8 0 - 1 ポール

MNLLILTFVAAVAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLSVSYHWHVRQAPKGLEWVASIYSYTGATDYADSVKGRFTISADT
SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYHSTNRILSYGGMDYWGQTLVTVSSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQYVSSA
VAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCCQYFDPIITFGQGTKVEIKGGGGSGGGSEPKSSD
KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPIRELMTSNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL
DSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGSTGEVQLVESGGGLVQPGGSL
RLSCAASGFMIAVSSMHWVRQAPKGLEWVAJTIPSISSTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYYAMDYW
GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQT
YICNVNHHKPSNTKVDDKKVEPKSCDKTHT (配列番号 : 986)

10

20

30

40

【数 7 0】

A N T 8 0 - 2 / 7

MNLLILTFVAAA VAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGEDLSHSSSHWVRQAPGKGLEWVASSSHYGYTHYADSVKGRFTISAD
TSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSSYFPWFFFALDYWGQGTLVTVSSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQDISLAV A
WYQQKPGKAPKLLIYS4SFLYSSGVPSRFSGRSGLTDFTLTSSLQPEDFATYYCQQHHYTTPPIFGQGTKVEIKGGGGSGGGSEPKTSDK
THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLH
QDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPMVFDLPPSREEMTKNQVSLWCMVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPV
LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGSGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGGS
LRLSCAASGENIAYSSMHWVRQAPGKGLEWVATIVPSYSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYY4MDY
WGQGTLVTVSSASTKGPVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT
QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (配列番号 : 987)

10

20

30

40

【数 7 1】

A N T 9 8 - 1 ホール

MNLLJLTFVAAA~~V~~AEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTL~~SYSY~~HWVRQAPGKGLEWVA~~SIYSTGATD~~YADSVKGRFTISADT
SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~YVSTNRILSYGGM~~DYWGQGTLLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ~~SVSSA~~
VAWYQQKPGKAPKLLIY~~SASSLYSG~~VPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ~~YFDPT~~IFGQGTKVEIKGGGGGGGGSEPKSSD
KTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVAVVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVL
HQQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPIRELMTSNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVL
DSDGSFFLVSKLTVDKSRWQOQGNVFSCVMHEALHNHYTOKLSLSPGKGGGGGGGGSGSTGEVOLVESGGGLVQPGGSL
RLSCAASGFT~~NIAYSM~~HWVRQAPGKGLEWVA~~TIYPSYSSTI~~YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~DYAMDY~~W
GQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT
YICNVNHPKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (配列番号 : 988)

【数 7 2】

10

20

30

40

50

A N T 9 8 - 2 / 7

MNLLLITFVAAA VAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDLSHSSHWVRQAPGKGLEWVASISSHYGYTHYADSVKGRFTISAD
TSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSSYEPWFFALDYWGQGTLVTVSSGGGSDIQMTQSPSSLASVGDRTVITICRASQDVSIAVA
WYQQKPGKAPKLLIYSSFLYSGVPSRFSGRSGTDFLTISLQPEDFAITYYCQQHYITPTTFGQGTKVEIKGGGGGGGGSEPKTSDIK
THTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLH
QDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPMVIEDLPSSREEMTKNQVSLWCMVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV
LSDGSEFELYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGSGTGEVQLVESGGGLVQPGGS
LRLSCAASGFNIAYSMMHWVRQAPGKGLEWVAITYPSYSTTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARDYAMDY
WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGT
QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (配列番号 : 989)

10

20

30

40

【数 7 3】

50

A N T 9 9 - 1 ホール

MNLLLLTFVAAA VAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLSYSYHWRQAPGKGLEWVA SIYSYTGATDYADSVKGRFTISADT
SKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCAR YHSTNRILSYGGMDYWGQGTLLVTVSSGGGGSDIQTQSPSSLASV GDRVTITCRASQ SISSA
VAWYQQKPGKAPKLLIY SASSLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ YFDPITFGQGTKVEIKGGGGGGGGSEPKSSD
KTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPIRELMTSNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL
DSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCVVMHEALHNHYTQKSLSPGKGGGGGGGGSGSTGEVQLVESGGGLVQPGGSL
RLSCAASGFTLSYSYHWRQAPGKGLEWVA TIYPSYSSSTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCAR YVDMDYW
GQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQT
YICNVNHHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (配列番号 : 990)

【数 7 4】

10

20

30

40

50

A N T 9 9 - 2 ノ 7

MNLLLLTFVAAA^{AEVQL}VESGGGLVQPGSLRLSCAASGF^{DL}SHSVHWVRQAPKGLEWVA^{SSHHYGYTH}YADSVKGRFTISAD
TSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR^{SSYFPWF}FALDYWGQGLVTVSSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ^{DKSTA}VA
WYQQKPGKAPKLLIY^{SAFLYS}GVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ^{HYTTP}TFGQGTKVEIKGGGGGGGGSEPKTSDK
THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVA^{VS}HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLH
QDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEK^{TISK}AKGQPREPMVFDLPPSREEMTKNQVSLWCMVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK^{TT}PPV
LDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV^{FSCVM}HEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGSGSTGEVQLVESGGGLVQPGGS
LRLSCAASGF^{NIAYSSM}HHWVRQAPGKLEWVA^{TIYPSYSS}TYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR^{YYDM}DY
WGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGT
QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (配列番号 : 991)

10

20

30

40

【 数 7 5 】

ANT 8 0 ANT 9 8 ANT 9 9 L C

MNLLLLITFVAAAADIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLKSGVPSRFSGSRSGTDFTLTIS
SLQPEDFATYYCQQAHYFPTTFGGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
QDSKDSYSTLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (配列番号 : 992)

【数 7 6】

10

20

30

40

50

C M O O 4 2 (D i a - F c - D i a)

MNLLJLTFVAAVAEFEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIGSSSHHWVRQAPGKGLEWVASIKSAFASTSYADSVKGRFTISA
DTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYHFPFGEALDYWGQGTLLVTVSSGGGGDIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQSIKSAVA
WYQQKPGKAPKLLIYS4SLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGVIYLFTFGQGTKVEIKLEDKTHTKVEPKSSDKTH
TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNNGKEYCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLD
DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCVMHEALHNHYTQKSLSPGKSGSETPGTSEATPESGGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSC
AASGFNISYSHHWVRQAPGKGLEWVAYISSYGYTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR4HYFPWAGAMD
YWGQGTLLVTVSSGGGGDIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQSIKSAVAWYQQKPGKAPKLLIYS4SLYSGVPSRFSGSRSGTDFTL
TISSLQPEDFATYYCQQYSWGPPTFGQGTKVEIK (配列番号 : 993)

【数 7 7】

10

20

30

40

50

CM0011 / フ (D i a - F c - D i a)

MNLLLITFVAAA VAEFEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIGSSSHHWVRQAPGKGLEWVA SIYS4FASTSY ADSVKGRFTISA
DTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR YHFPFGFAL DYWGQGLVTVS SGGGGSDIQMTQSPSSLASV GDRVTITCRASQ SS4VA
WYQQKPGKAPKLLIY S4SSL YSGVPSRFSGRSGTIDFTLTISSLQPEDFATYYCQ GLYL FTFGGQGTKVEIKLEDKTHKVEPKTSDKTH
TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPMVFDLPSSRHEMTKNQVSLWCMVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD
SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMHEALHNHYTQKSLSPGKSGSETPGTSESATPESGGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLS
CAASGF NIYS SHHWVRQAPGKGLEWVA YISSYGY TTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR HYFFPWAGAM
DYWGQGLVTVS SGGGGSDIQMTQSPSSLASV GDRVTITCRASQ SS4VA WYQQKPGKAPKLLIY S4SSL YSGVPSRFSGRSGTDF
TLTISSLQPEDFATYYCQ YYWP ITFGGQGTKVEIK (配列番号 : 995)

【数 7 9】

10

20

30

40

50

CM0126ボール (Dia-Fc-Dia)

MNLLLLTFVAAVAEFVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIHSSHHWVRQAPGKGLEWVAATYSSFGSITVADSVKGRFTISA
DTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~YHHPFGYAL~~DYWGQGTLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLASVGDRTVITCRASQSYSS4VA
WYQQKPGKAPKLLIY~~S4SSL~~YSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ~~GLYL~~FTFGQGTKVEIKLEDKTHTKVEPKSSDKTH
NCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNKGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPIRELMTSNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNNYKTTTPVLDSD
GSFELVSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMEALHNHYTQKSLSLSPGKSGSETPGTSEATPESGGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA
ASGFN~~ISSYY~~HWVRQAPGKGLEWVA~~SIYSSYGYSY~~ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~TVRGSKKPYFSGW~~
AMDYWGQGTLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLASVGDRTVITCRASQ~~YSS4~~VAWYQQKPGKAPKLLIY~~S4SSL~~YSGVPSRFSGRSGT
DFTLTISLQPEDFATYYCQ~~YSWGPF~~FTFGQGTKVEIK (配列番号 : 996)

【数 8 0】

10

20

30

40

CM0126ノヅ (Dia-Fc-Dia)

MNLLLTFVAAVAEFVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIHSSHHWVRQAPGKGLEWVAATYSSFGSITYADSVKGRFTISA
DTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~YHH~~PFYALDYWGQGLTVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLASVGDRTTITCRASQ~~YSS~~AVA
WYQQKPGKAPKLLIY~~SASSLY~~SGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ~~GLYL~~FTFGQGTKVEIKLEDKTHTKVEPKTSDKTH
TCPGPCAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNAGEYKCKVSNKALPAPIEKTTISKAKGQPREPMVFDLPPSREEMTKNQVSLWCMVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD
SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSPGKSGSETPGTSEATPESGGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLS
CAASGFNI~~SYSS~~HHWVRQAPGKGLEWVA~~YISSYGY~~TYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~HYFPW~~AGAM
DYWGQGLTVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLASVGDRTTITCRASQ~~YSS~~AVAWYQQKPGKAPKLLIY~~SASSLY~~SGVPSRFSGRSGTDF
TLTISLQPEDFATYYCQQ~~YYP~~TFGQGTKVEIK (配列番号 : 997)

【数 8 1】

10

20

30

40

C M O 1 0 7 ㊦ ㄱ (D i a - F c - s c F v)

MNLLLLTFVAAVAEFEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIGSSSHHWVRQAPGKGLEWVASIYSAFASTSYADSVKGRFTISA
DTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYHFPFGFALDYWGGGTLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLASVGDRTITTCRASQSISSAVA
WYQQKPGKAPKLLIYSSSLYSGVPSRFSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGILFTFGQGTKVEIKLEDKTHTKVEPKSSDKTH
NCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNKGEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPIRELMTSNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD
GSFELVSKLTVDKSRWQQGNVFTSCVMHEALHNHYTQKSLSPGKSGSETPGTSESATPESGGGDIQMTQSPSSLASVGDRTITTCR
ASQSISSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSSSLYSGVPSRFSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYSWGPFTFGQGTKVEIKGTTAASG
SSGGSSSGAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNISSSSHHWVRQAPGKGLEWVAYISSYGYTYADSVKGRFTISADTSKNTAY
LQMNSLRAEDTAVYYCARAHYFPWAGAMDYWGQGTLVTVSS (配列番号 : 998)

【 数 8 2 】

10

20

30

40

50

CM0107 / ㄗ (D i a - F c - s c F v)

MNLLILTFVAAA VAEFEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFMIGSSSIHWVRQAPGKGLEWVASIYS4F4STSYADSVKGRFTISA
DTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR YHFFPGFALDYWGQGTLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLASVGDRTITTCRASQSISS4VA
WYQQKPGKAPKLLIYS4SSLYSGVPSRFSGSRSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQGIYLFITFGQGTKVEIKLEDKTHTKVEPKTSDKTH
TCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNKGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPMVFDLPPSREEMTKNQVSLWCMVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD
SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCVMHEALHNYTKQSLSLSPGKSGSETPGTSEATPESGGGDIQMTQSPSSLASVGDRTIT
CRASQSISS4VAWYQQKPGKAPKLLIYS4SSLYSGVPSRFSGSRSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQIYSWGPFITFGQGTKVEIKGTAA
SGSSGGSSSGAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIS4SIHWVRQAPGKGLEWVASIISYYGYIYYADSVKGRFTISADTSKNT
AYLQMNSLRAEDTAVYYCAR HYFPWAGAMDYWGGQGTILVTVSS (SEQ ID NO: 999)

10

20

30

40

【数 8 3】

C M O 1 0 8 ㇿ ㇿ (D i a - F c - s c F v)

MNLLJLTFVAAA/AEFEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIGSSSHHWVRQAPGKGLEWVA~~SIKSAFASTSY~~ADSVKGRFTISA
DTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~YHFPFGFAL~~DYWGQGLTVTVSSGGGSDIQMTQSPSSLASVGDRTTITCRASQ~~SISSA~~V/A
WYQQKPGKAPKLLIY~~S4SSLY~~SGVPSRFSGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQG~~IVLFL~~TFGQGTKEIKLEDKTHTKVEPKSSDKTH
NCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNKGKEYCKVSNKALPAPIEK TISKAK GQPREPQVYTLPPIRELMTSNQVSLSCA VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD
GSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFTSCVMHEALHNHYTQKSLSPGKSGSETPTGTSESATPESGGGDIQMTQSPSSLASVGDRTTITCR
ASQ~~SISSA~~VAWYQQKPGKAPKLLIY~~S4SSLY~~SGVPSRFSGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ~~YVWPT~~TFGQGTKEIKGTGTTAASGSS
GGSSSGAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFN~~ISSYVHWVRQAPGKGLEWVA~~~~SISSYGYTS~~ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQ
MNSLRAEDTAVYYCAR~~TVRGSKKPYFSGWAMDYWGQGLTVTVSS~~ (配列番号 : 1000)

【 数 8 4 】

10

20

30

40

CM0108ノヅ (Dia - F c - s c F v)

MNLLLTFVAAVAEFEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIGSSJHWHVRQAPGKGLEWVASIYS4FASTSYADSVKGRFTISA
DTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARIHFPFGFALDYWGQGTLLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCRASQSISSAVA
WYQQKPGKAPKLLIYS4SLYSGVPSRFSGRSGTDFLTITSSLQPEDFATYYCQQGVYLFTFGQGTKVEIKLEDKTHTKVEPKTSDKTH
TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNKKEYCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPMVFDLPPSREEMTKNQVSLWCMVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLD
SDGSFELYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGSETPGTSEATPESGGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTTIT
CRASQSISSAVA WYQQKPGKAPKLLIYS4SLYSGVPSRFSGRSGTDFLTITSSLQPEDFATYYCQQYVWPIFTFGQGTKVEIKGTTAAS
GSSGGSSSGAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNISYYHWHVRQAPGKGLEWVASIYSSYGYTSYADSVKGRFTISADTSKNNTA
YLQMNSLRAEDTAVYYCARTVRGSKKPYFSGWAMDYWGQGTLLVTVSS (配列番号 : 1001)

10

20

30

40

【数 8 5】

C M O 1 0 8 ホール (D i a - F c - s c F v)

MNLLLLTFVAAA VAEFEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIGSSYJHVVVRQAPGKGLEWVA SIKSAFASTSYADSVKGRFTISA
DTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR JHFPFGFALDYWGQGITLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQ SVSSAV
WYQOKPGKAPKLLIY SASSLYSGVPSRFSSGSRSGIDFTLTISLQPEDFATYYCQ QGYILFTFGQGTKVEIKLEDKTHTKVEPKSSDKTH
NCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNQKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPIRELMTSNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD
GSFELVSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSPGKSGSETPGTSEATPESGGGDIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCR
ASQ SLSSAVAWYQQKPGKAPKLLIY SASSLYSGVPSRFSSGSRSGIDFTLTISLQPEDFATYYCQ QYIWPIJFGQGTKVEIKGTAAAGSS
GGSSSGAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFN ISSYIJHVVVRQAPGKGLEWVA SIKSYGITSYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQ
MNSLRAEDTAVYYCAR TVRGSKKPYFSGWAMDYWGQGITLVTVSS (配列番号 : 1000)

10

20

30

40

【数 8 6】

50

CM0108 / ㄉ (D i a - F c - s c F v)

MNLLILTFVAAA VAEFEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIGSSS YHWVRQAPGKGLEWVA ~~SIYSALFAS~~TSYADSVKGRFTISA
DTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR YHFPFGFALDYWGQGTLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ SISSAVA
WYQQKPGKAPKLLIY SASSLYSGVPSRFSSGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ QGLTLFTFGQGTKVEIKLEDKTHTKVEPKTSDKTH
TCPPCAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNKGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPMVFDLPPSRHEMTKNQVSLWCMVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD
SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSMHEALHNHYTQKSLSPGKSGSETPGTSESATPESGGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT
CRASQ SISSAVAWYQQKPGKAPKLLIY SASSLYSGVPSRFSSGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ QYIWPTFGQGTKVEIKGTTAAS
GSSGGSSSGAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIS SYIHWVRQAPGKGLEWVA ~~SIYSYGYTSY~~ADSVKGRFTISADTSKNTA
YLQMNSLRAEDTAVYYCAR TVRGSKKPYFSGWAMDYWGQGTLVTVSS (配列番号 : 1001)

10

20

30

40

【数 8 7】

CMO109 本 一 九 (D i a - F c - s c F v)

MNLLLJLTFVAAAFAEFVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIGSSSIHWVVRQAPGKGLEWVA~~SIYS~~AF~~AST~~SYADSVKGRFTISA
DTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~YHFFPGF~~ALDYWGQGTLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ~~VS~~SAVA
WYQQKPGKAPKLLIY~~S4SSL~~YSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ~~GLYL~~FTFGQGTKVEIKLEDKTHTKVEPKSSDKTH
NCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPIRELMTSNQVLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSD
GSFELVSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLSPGKSGSETPTGTSEATPESGGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCR
ASQ~~VS~~SAVAWYQQKPGKAPKLLIY~~S4SSL~~YSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ~~YH~~~~PT~~FGQGTKVEIKGTTAASGSS
GGSSSGAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFN~~IS~~YYHWVVRQAPGKGLEWVA~~SIYS~~Y~~GT~~TSYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQ
MNSLRAEDTAVYYCAR~~TI~~~~RGSKKPYFS~~~~GW~~AMDYWGQGTLVTVSS (配列番号 : 1000)

【 数 8 8 】

10

20

30

40

CM0109 / ㄉ (D i a - F c - s c F v)

MNLLLITFVAAA~~VA~~AEFEVQLVESGGGLVQP~~GGSLRL~~SCAASGFNIGSSSHHWVROAPGKGLEWVA~~SIKSAFAS~~TSYADSVKGRFTISA
DTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~YHFPFGFAL~~DYWGQGITLVSSGGGGSDIQMTQSPSSLASVGD~~RV~~TITCRASQ~~SVSSA~~VVA
WYQQKPGKAPKLLIY~~S4SSL~~YSGVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ~~QGVYLF~~TFGGQGTKEIKLEDKTHTKVEPKTSDKTH
TCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLN~~KEY~~CKVSNKALPAPIEK~~TISK~~AKGQPREPMVFDLPPSREEMTKNQVSLWCMVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD
SDGSFFLYSKLTV~~DKSR~~WQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKSGSETPGTSESATPESGGGDIQMTQSPSSLASVGD~~RV~~TIT
CRASQ~~SVSSA~~VAWYQQKPGKAPKLLIY~~S4SSL~~YSGVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ~~QYSGPFI~~TFGGQGTKEIKGTAA
SGSSGGSSSGAEVQLVESGGGLVQP~~GGSLRL~~SCAASGFNI~~YSSH~~HWVROAPGKGLEWVA~~YISSYIGYTY~~YADSVKGRFTISADTSKNT
AYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~AHYFPWAGAMD~~YWGGQGLTVTVSS (配列番号 : 999)

【数 8 9】

10

20

30

40

C T O O 3 本 ー ル (D i a - F c - s c F v)

MNLLLLTFVAAAFAEFVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFMNSSVYZHHWVRQAPKGLEWVASIKSSYGYTSYADSVKGRFTISA
DTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARTVRGSKKPYFSGW/AMDYWGQGLVTVS~~SSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS~~
VSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYS4SSLISGVPSRFSGSRSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQISWGPFFTFGQGTKVEIKLEDKTHTKVEP
KSSDKTHNCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKKTISKAKGQPREPQVYTLPPIRELMTSNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT
TPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGSETPGTSESATPESGGGEVQLVESGGGLVQPG
GSLRLSCAASGFMHHSSSZHHWVRQAPKGLEWVA4TYSFGYTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYHHHPF
GYALDYWGGQGLVTVSSGTTAASGSSGGSSGADIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSAVAWYQQKPGKAPKLLIYS4SSLYS
GVPSRFSGSRSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQGLVLFTFGQGTKVEIK (配列番号 : 1002)

10

20

30

40

【数 9 0】

50

C T 0 0 3 / プ (D i a - F c - s c F v)

MNLLILTFVAAVAEFVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTNYSYSHHWVRQAPGKGLEWVAIYSSYTGITYYADSVKGRFTISA
DTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARAHYFPWAGAMDYWGQGTLVTVSSGGGGDIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQSYSSAV
AWYQQKPGKAPKLLIYS4SSLKSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYIWPPIITFGQGTKVEIKLEDKTHTKVEPKTSDKT
HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDILMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPMVFDLPSSREEMTKNQVSLWCMVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVL
DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGSETPGTSEATPESGGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRL
SCAASGFNIHSSSHHWVRQAPGKGLEWVAATYSFGSITYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYHHHPFGYALD
YWGQGTLVTVSSGTTAASGSSGGSSGADIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQSYSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYS4SSLKSGVPSRF
SGRSRGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGVYLFITFGQGTKVEIK (配列番号 : 1003)

10

20

30

40

【数 9 1】

CM0112ボール (s c F v - F c - D i a)

MNLLLLTFVAAVAEFDIQMTQSPSSLASVGDRTVTITCRASQVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGRSGTDFTLT
ISSLQPEDFATYYCQQGVYLFTFGQGTKVEIKGTTAASGSSGGSSSGAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFGNIGSSSIHWVVRQAP
GKGLEWVASIYS4F4TSYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~YHFPFGFAL~~DYWGQGTLLTVSSLEDKTHTK
VEPKSSDKTHNCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPIRELMTSNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN
YKTTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGSETPGTSESATPESGGGEVQLVESGGGLV
QPGGSLRLSCAASGFGN~~ISSYIYH~~WVRQAPGKGLEWVASI~~YSSIGYTS~~YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~TV~~
~~RGSKKPYFSGWAMD~~YWGQGTLLTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSG
VPSRFSGRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ~~YSWGPF~~TFGQGTKVEIK (配列番号 : 1004)

10

20

30

40

【数 9 2】

C M 0 1 1 2 / 丿 (s c F v - F c - D i a)

MNLLLLTFVAAA/AEFDIQMTQSPSSLASVGDRTTITCRASQVSSA VAWYQQKPGKAPKLLIY\$4SSL\$YSGVPSRFSGRSGTDFTLT
ISSLQPEDFATYYCQQGVYLFTFGQGTKVEIKGTTAASGSSGSSSGAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFMIGSSSHHWVRQAP
GKGLEWVASIYS4F4STSYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~YHFFPF~~FALDYWGQGLVTVSSLEDKTHIK
VEPKTSDKTHITCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPMVFDLPPSREEMTKNQVSLWCMVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGSETPGTSESATPESGGGEVQLVESGGGL
VQPGGSLRLSCAASGFN\$YSS\$HWWVRQAPGKGLEWVA~~YSSYYGY~~TYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR4
~~HYFPW~~AGAMDYWGQGLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLASVGDRTTITCRASQVSSA VAWYQQKPGKAPKLLIY\$4SSL\$YSGVPSR
FSGRSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQY~~YVW~~PITFGQGTKVEIK (配列番号 : 1005)

【数 9 3】

10

20

30

40

50

CMO110ホール (s c F v - F c - s c F v)

MNLLLLTFVAAA/AEFDIQMTQSPSSLASV/GDRVTITCRASQSSA/VAWYQQKPKAPKLLIY\$4SSLYSGVPSRFSGSRSGTDFLT
ISSLPEDFATYYCQQGIVLFTFGQGTKVEIKGTTAASGSSGGSSGAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIGSSY/HWVRQAP
GKGLEWVASIYS4FATSADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~YHFPFGFAL~~DYWGQGTLVTVSSLEDKTHIK
VEPKSSDKTHNCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPIRELMNTSNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN
YKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGSETPGTSESATPESGGGDIQMTQSPSSLSA
SVGDRVTITCRASQSISSA/VAWYQQKPKAPKLLIY\$4SSLYSGVPSRFSGSRSGTDFLTISSLPEDFATYYCQQIYW/PITFGQGTKV
EIKGTTAASGSSGGSSGAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNISSYY/HWVRQAPGKGLEWVASIYSYGYTSYADSVKGRFTIS
ADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~TVRGSKKPYFSGWAMD~~DYWGQGTLVTVSS (配列番号 : 1006)

【数 9 4】

10

20

30

40

50

C M 0 1 1 0 / 丌 (s c F v - F c - s c F v)

MNLLJLTFVAAA VAEFDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSS4VAWYQKPGKAPKLLIY\$ASSL YSGVPSRFSGSRSGTDFTLT
ISSLOPEDFATYYCQQGVYLFTFGGQGTKVEIKGTTAASGSSGSSGAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIGSSSIHHWVRQAP
GKGLEWVA\$IYS\$AF\$ASTSYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR\$HFFPFGFALDYWGQGLVTVSSLEDKTHTK
VEPKTSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPMVFDLPPSREEMTKNQVSLWCMVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCVMHEALHNHYTQKSLSPGKSGSETPGTSESATPESGGGDIQMTQSPSSLS
ASVGDRVTITCRASQSS4VAWYQKPGKAPKLLIY\$ASSL YSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ\$Y\$W\$G\$P\$F\$TFGGGT
KVEIKGTTAASGSSGSSGAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFN\$SI\$SI\$HHWVRQAPGKGLEWVA\$Y\$SI\$Y\$G\$Y\$T\$Y\$Y\$ADSVKGRF
TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR\$HFFPFWAGAMDYWGQGLVTVSS (配列番号 : 1007)

10

20

30

40

【数 9 5】

C T 0 0 1 C M 0 2 9 9 C M 0 3 0 0 C M 0 3 0 1 A N T 1 L C

MNLLLILTFVAAAADIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSSLYSGVPSRFGSRSGTDFILTIS
SLQPEDFATYYCCQGGYLFYTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
QDSKDYSTYLSSTLTLKADYEEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC (配列番号 : 1008)

10

20

30

40

【数 9 6】

50

C T O O I ホ ー ル (b s I g G - d i a)

MNLLLILTFVAAAADIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQZSS4VAWYQQKPKAPKLLIYS4SSLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTIS
SLQPEDFATYYCQQG/YLFTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
QDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEEKHVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 1008)
MNLLLILTFVAAAIAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNHHSSHHHWVRQAPGKGLEWVAATYSSFGSITYADSVKGRFTISADT
SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYHHPFGYALDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW
NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHICPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK
DILMISRTPETCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK
TISKAKGQPREPQVYTLPPIRELMTSNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVF
SCSVMIHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGSETPTGESATPESGGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNSSYYIYHHWVRQAPGKGLE
WVASIYSSYGYTSYADSVKGRFTISADT SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARTVRGSKKPYFSGWAMDYWGQGTLVTVSSGGGGSDI
QMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQZSS4VAWYQQKPKAPKLLIYS4SSLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQQYS
WGPFTFGQGTKEIK (配列番号 : 1009)

【 数 9 7 】

10

20

30

40

50

C T O O 1 ノ ㇿ (b s I g G - d i a)

MNLLILTFVAAA AEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNHSSHHWVVRQAPGKGLEWVA ATYSSFGSITYADSVKGRFTISADT
SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR YHHPFGYALDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW
NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCTPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK
DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEK
TISKAKGQPREPMVFDLPPSREEMTKNQVSLWCMVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VFSCSVMMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGSETPGTSEATPESGGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFN ISYSSJHHWVVRQAPGK
LEWVA YISSYIGYITYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR 4HYFPWAGAMDYWGQGTLVTVSSGGGGSDIQM
TQSPSSLASVGDRTVITTCRASQ WSS4VAWYQQKPKGAPKLLIY S4SSLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ YTWPI
TFGQGTKVEIK (配列番号 : 1010)

10

20

30

40

【 数 9 8 】

50

C M O 2 9 9 H c (I g G - D i a)
MNL L L I L T F V A A A V A E V Q L V E S G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F N I H S S I H W V R Q A P G K G L E W V A 4 T Y S S F G S I T Y A D S V K G R F T I S A D T
S K N T A Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R Y H H P F G Y A L D Y W G Q T L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W
N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K K V E P K S C D K T H T C P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K
D T L M I S R T P E V T C V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K
T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G O P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V
F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K S G S E T P G T S E A T P E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F N I S Y S S I H W V R Q A P G K G L
E W V A Y I S S Y Y G Y T Y A D S V K G R F T I S A D T S K N T A Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R A H Y F P W A G A M D Y W G Q T L V T V S S G G G S D I Q M T
Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A S Q Y S S A V A W Y Q Q K P G K A P K L L I Y S 4 S S L Y S G V P S R F S G S R S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q Y S W G P F
T F G Q G T K V E I K (配列番号 : 1011)

【 数 9 9 】

10

20

30

40

50

C M O 3 0 0 H c (I g G - s c F v)

MNLLLLTFVAAAVAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNHHSSSHHWVRQAPGKGLEWVAATYSSFGSITYADSVKGRFTISADT
SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYHHPFGLDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW
NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCTPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK
DTLMISRTPETVCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK
TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV
FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKSGSETPGTSEATPESGGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSLSSAVAWYQQKPKGKAPK
LLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTDFLTITSSLPQEDFATYYCQQYSHGPFTFGQGTKVEIKGTTAASGSSGGSSSGAEVQLVESGGGLVQ
PGGSLRLSCAASGFNSYSSSHHWVRQAPGKGLEWVAYSSYTGTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARAHY
FPWAGAMDYWGQGTLVTVSS (配列番号 : 1012)

【数 1 0 0】

10

20

30

40

50

CM0301 Hc (I g G - s c F v)

MNLLLTFVAAA VAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNHHSSSHHWVRQAPGKGLEWVAATYSYFGSITYADSVKGRFTISADT
SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~YHHFPGYAL~~DYWGQGLVTVSSASTKGPSVEPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW
NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCAPELLGGPSVFLFPPKPK
DTLMISRTPETCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEK
TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFELYSKLTVDKSRWQQGNV
FSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGSETPGTSEATPESGGGDIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRASQSLSSAVAWYQQKPKAPK
LLIY~~S4SSL~~YSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQY~~YHWP~~ITFGQGTKVEIKGTTAASGSSGGSSSGAEVQLVESGGGLVQP
GGSLRLSCAASGF~~NISSYY~~THWVRQAPGKGLEWVA~~SIYSSYGYTSY~~ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~TVRG~~
~~SKKPYFSGWAMD~~YWGQGLVTVSS (配列番号 : 1013)

10

20

30

40

【数 1 0 1】

A N T 1 ホ ー ル (D i a - F c - F a b)

MNLLLLTFVAAVAEFVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFN**ISSYYI**HWVRQAPGKGLEWVA**SISSYGYTSY**ADSVKGRFTISA
DTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**TVRGSKKPIFSGW/AMD**YWGQGTLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ**S**
ISSAVAWYQQKPGKAPKLLIY**S4SL**YSGVPSRFSRSGTDFLTISSLQPEDFATYYCQQ**YYFL**ITFGQGTKEKLEDKTHTKVEPKS
SDKTHNCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
VLHODWNLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPIRELMTSNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNNYKTTTPP
VLDSGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGSETPGTSEATPESGGGEVQLVESGGGLVQPGGSL
RLSCAASGFN**IHSS**THWVRQAPGKGLEWVA**ATISSFGSITY**ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**YHHPPFGYA**
LDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS
LGTQTYICNVNHKPSNTIKVDKKVEPKSCDKTHT (配列番号 : 1014)

10

20

30

40

【 数 1 0 2 】

ANT1ノフ (D i a - F c - F a b)

MNLLLITFVAAVAEFEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNISYSSJHWVRQAPGKLEWVASISPIYGYTYADSVKGRFTISA
DTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSSYFPWFSAMDYWGQGLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSAV
AWYQQKPGKAPKLLIYS4SSLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYWPTFGQGTKVEIKLEDKTHTKVEPKTSDKT
HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNATKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPMVFDLPPSRREMTKNQVSLWCMVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL
DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGSETPGTSEATPESGGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRL
SCAASGFNHHSSJHWVRQAPGKLEWVAA4TSSFGSITYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYHHHPFGYALD
YWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYHPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG
TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (配列番号 : 1015)

10

20

30

40

【数 1 0 3】

F a b - D i a H c (F a b - D i a)

MNLLLITFVAAA~~V~~AEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIHSSJHVVROAPGKGLEWVAATYSSFGSITYADSVKGRFTISADT
SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYHHHPFGYALDYWGQGTILVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW
NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHITGGSGGEVQLVESGGGLVQPGG
SLRLSCAASGFTISYSSJHVVROAPGKGLEWVA~~SI~~SPYIGYTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~SSYFPWF~~
~~SAMD~~YWGQGTILVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ~~SSA~~VAWYQQKPGKAPKLLIY~~SASSL~~KSGVPSRFSGSRSG
TDFLTITSSLPEDFATYYCQ~~YYWPI~~TFGGQGTKVEIK (配列番号 : 1016)

10

20

30

40

【数 1 0 4】

F a b - D i a _ L C (F a b - D i a)
MNL L L L T F V A A A V A D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T T T C R A S Q S I S S A V A W Y Q Q K P G K A P K L L I Y S 4 S S L Y S G V P S R F S G S R S G T D F T L T I S
S L Q P E D F A T Y Y C Q Q G I Y L F T F G Q G T K V E I K R T V A A P S V F I P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W K V D N A L Q S G N S Q E S V T E
Q D S K D S T Y S L S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C G G G S E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T I S S Y Y H
W V R Q A P G K G L E W V A S I Y S S Y G Y T S Y A D S V K G R F T I S A D T S K N T A Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R T I R G S K K P Y F S G W A M D Y W G Q G T L
V T V S S G G G S D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T T T C R A S Q S I S S A V A W Y Q Q K P G K A P K L L I Y S 4 S S L Y S G V P S R F S G S R S G T D F T L T I S S L Q P E
D F A T Y Y C Q Q Y Y F L I T F G Q G T K V E I K (配列番号 : 1017)

【 数 1 0 5 】

10

20

30

40

50

CH3 (Dia-CH3-Dia)

MNLLJLTFVAAVAEFEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIGSSSIHHWVVRQAPGKGLEWVA~~SIYS4FASTSY~~ADSVKGRFTISA
DTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~YHFPFGFAL~~DYWGQGTLLTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLASVGDRTTITCRASQ~~SLSSA~~VA
WYQQKPGKAPKLLIY~~SASSLYSG~~VPSRFSGSRSGTDFLTITSSLPQEDFATYYCQQG~~YLF~~TFGQGTKVEIKDKTHTKVEPKTSDKTHTC
PPCPGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
CSVMHEALHNHYTQKSLSPGKGTAAAGSSGGSSGAGRTEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFN~~ISYSHWVRQAPGKGLE~~
WVA~~YISSYTGTY~~YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR~~HYFPWAGAMDY~~WGQGTLLTVSSGGGGSDIQMTQ
SPSSLASVGDRTTITCRASQ~~SVSSA~~VAWYQQKPGKAPKLLIY~~SASSLYSG~~VPSRFSGSRSGTDFLTITSSLPQEDFATYYCQQ~~YSWGPFT~~
FGQGTKVEIK (配列番号 : 1018)

10

20

30

40

【数 1 0 6】

50

CMO 1 5 6

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNISIYIMHWVRQAPGKGLEWVAISPIYISYISYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA
EDTAVYYCARPSAWSHYTPSSSSAFDYWGQGILVTVSSGGGGSDIOMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQZSSAVAWYQQKPGKAP
KLLIYSASSLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSSISLITFGQGTKVEIKLEDKTHTKVEPKSSDKTHTCPPCPAPELLG
GPSVLEFPKPKD/LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK
VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGSETPGTSEATPESGGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNISIYIM
HWVRQAPGKGLEWVAISPIYISYISYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARPSAWSHYTPSSSSAFDYWGQGT
LVTVSSGGGGSDIOMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQZSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQ
EDFATYYCQQSSISLITFGQGTKVEIK (配列番号 : 1019)

【 0 1 5 1 】

10

20

30

40

50

表 1 4
プロテインA精製後のF Z Dアゴニストの発現力価及び単分散性の比較。
対応する図 2 1 を参照されたい。

分子	フォーマット	N 末端 パラトープ	C 末端 パラトープ	発現力価 (m g / l)	%モノマー	モノマー収量 (m g / l)
CM0042	Dia - Fc - Dia	5019	2539	8±4	43	3
CM0011	Dia - Fc - Dia	5019	2539/2542	12±3	81±5	10
CM0126	Dia - Fc - Dia	5016	2539/2542	8±0.7	ND	ND
CM0107	Dia - Fc - scFv	5019	2539	90	87	80
CM0108	Dia - Fc - scFv	5019	2542	47	89	40
CM0109	Dia - Fc - scFv	5019	2539/2542	79	86	70
CT003	Dia - Fc - scFv	2539/2542	5016	47	67	30
CM0112	scFv - Fc - Dia	5019	2539/2542	15	79	10
CM0110	scFv - Fc - scFv	5019	2539/2542	82	81	70
CT001	bsIgG-dia	5016	2539/2542	47±21	44±11	30
CM0299	IgG-dia	5016	2539	20±8	ND	ND
CM0300	IgG - scFv	5016	2539	134±38	66±7	100
CM0301	IgG - scFv	5016	2542	134±27	71±8	90
ANT1	Dia-Fc-Fab	5016	2539/2542	294±75	53±9	150
CH3	Dia-CH3-Dia	5019	2539	<1	ND	ND
Fab-Dia	Fab-Dia	5016	2540/2542	1	ND	ND

【表 2 6】

表 1 5
FZDアゴニストの機能比較。各FZDアゴニストの濃度-応答曲線を、TOPFLASHアッセイを使用して作成した。図20は、比較のためにWnt3aを重ね合わせたA) ダイアボディーFc-ダイアボディー及びB) ダイアボディーFc-Fabフォーマットの代表トレースを示す。計算されたEC50及び組換えWnt3a対照と比較した最大有効性を導出し、平均±SDとして示す。

名称	フォーマット	N末端 パラトープ	C末端 パラトープ	EC ₅₀ (nM)	最大シグナル (%Wnt3a最大値)
Wnt3a	組換えタンパク質	NA	NA	6±3	100
CM0042	Dia-Fc-Dia	5019	2539	0.9±0.8	33±22
CM0011	Dia-Fc-Dia	5019	2539/2542	0.3±0.1	63±10
CM0126	Dia-Fc-Dia	5016	2539/2542	0.3±0.2	52±1
CM0107	Dia-Fc-scFv	5019	2539	ND	ND
CM0108	Dia-Fc-scFv	5019	2542	ND	ND
CM0109	Dia-Fc-scFv	5019	2539/2542	ND	ND
CT003	Dia-Fc-scFv	2539/2542	5016	0.4±0.1	42±16
CM0112	scFv-Fc-Dia	5019	2539/2542	ND	ND
CM0110	scFv-Fc-scFv	5019	2539/2542	ND	ND
CT001	bsIgG-dia	5016	2539/2542	0.3±0.1	57±17
CM0299	IgG-dia	5016	2539	0.1±0.1	14±5
CM0300	IgG-scFv	5016	2539	0.3±0.2	5±2
CM0301	IgG-scFv	5016	2542	0.2±0.2	1±1
ANT1	Dia-Fc-Fab	5016	2539/2542	0.7±0.5	50±18
CH3	Dia-CH3-Dia	5019	2539	ND	22±10
Fab-Dia	Fab-Dia	5016	2540/2542	0.4±0.2	42±16

10

20

30

40

50

【表 2 7】

表 1 6

FZD2-LRP6 CM0072	MNLLILTFVAAVAEVEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFN YIYSS HWVRQAPGKGLEWVA SIYPYGYTY YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR YHYGL DYWGQGTLLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQ S I SS4 VAWYQQKPGKAPKLLIY S4SSL YSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ SYWHSYL ITFGQGTKVEIKLEDKTHTKVEPKTSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPETCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTSKAKGQPREPMVFDLPPSREEMTKNQVSLWCMVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGSETPGTSESAT PESGGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFN ISYSS HWVRQAPGKGLEWVA YISSYIGYTY YADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCAR HYFPWAGAMD YWQGTLLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQ IS SA V WYQQKPGKAPKLLIY S4SSL YSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ YIWPIT ITFGQGTKVEIK (配列番号 : 1020)
ホーミの細胞	MNLLILTFVAAVAEVEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFN YIYSS HWVRQAPGKGLEWVA SIYPYGYTY YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR YHYGL DYWGQGTLLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQ S I SS4 VAWYQQKPGKAPKLLIY S4SSL YSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ SYWHSYL ITFGQGTKVEIKLEDKTHTKVEPKTSDKTHNCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPETCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTSKAKGQPREPQVYTLPIRELMNTSNQVSLSCAVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGSETPGTSESATPES GGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFN ISYSS HWVRQAPGKGLEWVA SIYSYGYTSY ADSVKGRFTISADTSKNTAYL QMNSLRAEDTAVYYCAR TVRGSKKPYFSGWAMD YWQGTLLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQ IS SA VAWYQQKPGKAPKLLIY S4SSL YSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ ISWGP ITFGQGTKVEIK (配列番号 : 1021)

10

20

30

40

50

【表 2 8】

FZD5-LRP6 CM0024	ノゾ構築物	MNLLLILTFVAAA ~~VAE~~ FEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFM ~~SYSS~~ HWVRQAPGKGLEWVA ~~SYPSYSS~~ TYADSVKGR FTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR ~~YYAMDY~~ WGQGTLLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ ~~SY~~ ~~S4~~ VAWYQQKPGKAPKLLIY ~~S4SSL~~ YSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ ~~AFYYPT~~ TFGGQGTKVEIKLEDKTHTKV EPKTS ~~DK~~ TH ~~TC~~ PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD ~~TL~~ MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK ~~TISKAK~~ GQPREPMVFDLPPSREEMTKNQVSLWCMVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYK ~~TT~~ PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV ~~FSC~~ VMHEALHNHYTQKSLSPGKSGSETPGTSESATPESGG GEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFM ~~SYSS~~ HWVRQAPGKGLEWVA ~~YISSYGYTY~~ YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQM NSLRAEDTAVYYCAR ~~HYFPWAGAMDY~~ WGQGTLLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ ~~SYSS4~~ VAWYQQK GKAPKLLIY ~~S4SSL~~ YSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ ~~YYWPT~~ TFGGQGTKVEIK (配列番号 : 1022)
	キーノ構築物	MNLLLILTFVAAA ~~VAE~~ FEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFM ~~SYSS~~ HWVRQAPGKGLEWVA ~~SYPSYSS~~ TYADSVKGR FTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR ~~YYAMDY~~ WGQGTLLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ ~~SY~~ ~~S4~~ VAWYQQKPGKAPKLLIY ~~S4SSL~~ YSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ ~~AFYYPT~~ TFGGQGTKVEIKLEDKTHTKV EPKSSDKTHNCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD ~~TL~~ MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK ~~TISKAK~~ GQPREPQVYTLPIRELMTSNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYK ~~TT~~ PPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNV ~~FSC~~ VMHEALHNHYTQKSLSPGKSGSETPGTSESATPESGG EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFM ~~SYSS~~ HWVRQAPGKGLEWVA ~~SYSSYGYTY~~ YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMN SLRAEDTAVYYCAR ~~TRGSKKPPYFSGWAMDY~~ WGQGTLLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ ~~SYSS4~~ VAWYQ QKPGKAPKLLIY ~~S4SSL~~ YSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ ~~QYSGPPE~~ TFGGQGTKVEIK (配列番号 : 1023)

10

20

30

40

50

【表 2 9】

FZD7-LRP6 CM0172	
ノニ糖漿粉	MNLLLILTFVAAVAEFEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNISSSSMHWVRQAPGKGLEWVA <u>SIKSYIGSTYY</u> ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR <u>WYGM</u> DYWGQGTLLVTVSSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ <u>SIKSYI</u> VAWYQQKPGKAPKLLIY <u>S4SSL</u> YSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ <u>PGSWYFPPI</u> TFGGQTKVEIKLEDKTHTKVEPKTSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNATKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTSISKAKGQPREPQVYTLPIRELMTSNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGKSGSETPGTSESA TPESGGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNISYSSHHWVRQAPGKGLEWVA <u>YISSYGYTYY</u> ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR <u>4HYFPWAGAMD</u> YWGQGTLLVTVSSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ <u>YISS4VA</u> WYQQKPGKAPKLLIY <u>S4SSL</u> YSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ <u>YVHPPI</u> TFGGQTKVEIK (配列番号 : 1024)
ホニ糖漿粉	MNLLLILTFVAAVAEFEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNISSSSMHWVRQAPGKGLEWVA <u>SIKSYIGSTYY</u> ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR <u>WYGM</u> DYWGQGTLLVTVSSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ <u>SIKSYI</u> VAWYQQKPGKAPKLLIY <u>S4SSL</u> YSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ <u>PGSWYFPPI</u> TFGGQTKVEIKLEDKTHTKVEPKTSDKTHNCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNATKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTSISKAKGQPREPQVYTLPIRELMTSNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGKSGSETPGTSESA TPESGGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNISYSSHHWVRQAPGKGLEWVA <u>SIKSYGYTYY</u> ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR <u>YVRGSKKPYFSGWAMD</u> YWGQGTLLVTVSSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ <u>YISS4VA</u> WYQQKPGKAPKLLIY <u>S4SSL</u> YSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ <u>YVHPPI</u> TFGGQTKVEIK (配列番号 : 1025)

10

20

30

40

50

【表 3 0】

PanFZD-LRP6 CM0011	ノミ糖 物	MNLLLITFVAAA ~~AEFEV~~ QLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIGSSSSHHWVRQAPGKGLEWVA ~~SIYS4F4ST~~ YADSVKGR FTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR ~~YHFPFGFAL~~ DYWGQGTLTVTSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRA SQ ~~SS4~~ VAWYYQKPGKAPKLLIY ~~S4SSL~~ YSGVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ ~~QGVYLF~~ TFTGGQGTKVEIKLEDKT HTKVEPKTSDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKD ~~TL~~ MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK ~~TISK~~ AKGQPREPMVFDLPPSREEMTKNQVSLWCMVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV ~~FSC~~ VMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGSETPGTSESA TPESGGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNISYSSHHWVRQAPGKGLEWVA ~~YISSYGYTY~~ YADSVKGRFTISADTSKN TAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR ~~4HYFPWAGAMD~~ YWGQGTLTVTSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRA <del>SQ~~SS4~~V</del> A WYQKPGKAPKLLIY ~~S4SSL~~ YSGVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ ~~QYVWPI~~ TFTGGQGTKVEIK (配列番号 : 1026)
	ホーミ糖 物	MNLLLITFVAAA ~~AEFEV~~ QLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIGSSSSHHWVRQAPGKGLEWVA ~~SIYS4F4ST~~ YADSVKGR FTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR ~~YHFPFGFAL~~ DYWGQGTLTVTSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRA SQ ~~SS4~~ VAWYYQKPGKAPKLLIY ~~S4SSL~~ YSGVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ ~~QGVYLF~~ TFTGGQGTKVEIKLEDKT HTKVEPKSSDKTHNCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKD ~~TL~~ MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK ~~TISK~~ AKGQPREPQVY ~~TL~~ PPIRELMTSNQVSLSCAVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNV ~~FSC~~ VMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGSETPGTSESATP ESGGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNISYSSHHWVRQAPGKGLEWVA ~~SIYSYGYTY~~ YADSVKGRFTISADTSKNTA YLQMNSLRAEDTAVYYCAR ~~TYRGSKKPYFSGWAMD~~ YWGQGTLTVTSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRA <del>SQ~~SS4~~V</del> A VAWYYQKPGKAPKLLIY ~~S4SSL~~ YSGVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ ~~QYVWGPPI~~ TFTGGQGTKVEIK (配列番号 : 1027)

10

20

30

40

50

【表 3 1】

FZD4-LRP6 CM0016	MNLLILTFVAAA ¹ VAEFVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFM ² SY ³ Y ⁴ Y ⁵ HW ⁶ VRQAPGKGLEW ⁷ VA ⁸ SI ⁹ PS ¹⁰ SG ¹¹ Y ¹² Y ¹³ ADSVKGR FTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVY ¹⁴ YCAR ¹⁵ SS ¹⁶ F ¹⁷ Y ¹⁸ W ¹⁹ AMD ²⁰ YWGQGLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLASVGD ²¹ RV ²² TITCRASQ SI ²³ SS ²⁴ AVAWYQQKPGKAPKLLIY ²⁵ S ²⁶ SS ²⁷ L ²⁸ YSGVPSRFSGRSGTDFTLTISS ²⁹ LQPEDFATY ³⁰ YCCQ ³¹ SY ³² AA ³³ YL ³⁴ FTFGQGT ³⁵ KVEIKLED ³⁶ KT HTK ³⁷ VEPKSSDK ³⁸ THNCP ³⁹ CPAPELLGGPSVFLPPKPKD ⁴⁰ TLMSIRTP ⁴¹ EV ⁴² TCV ⁴³ VVDV ⁴⁴ SHEDPEVKFNW ⁴⁵ YVDGVEVHN ⁴⁶ AKTKPREE QYNSTY ⁴⁷ RVVSVLTVLHQD ⁴⁸ WLN ⁴⁹ GKEYCK ⁵⁰ VSNK ⁵¹ ALPAPIEK ⁵² TISK ⁵³ AKGQPREP ⁵⁴ QV ⁵⁵ Y ⁵⁶ TLPP ⁵⁷ IRELMT ⁵⁸ SNQ ⁵⁹ VS ⁶⁰ LS ⁶¹ CA ⁶² VK ⁶³ GFY ⁶⁴ PS ⁶⁵ DIA VEWESNGQ ⁶⁶ PENNY ⁶⁷ KTTP ⁶⁸ VLDS ⁶⁹ DGSF ⁷⁰ FLVSK ⁷¹ LTVDK ⁷² SRWQQGNV ⁷³ FSCVM ⁷⁴ HEALHN ⁷⁵ HY ⁷⁶ TQ ⁷⁷ KS ⁷⁸ LS ⁷⁹ SPGK ⁸⁰ SGSET ⁸¹ PT ⁸² SESATP ESGGGEV ⁸³ QLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFM ⁸⁴ SY ⁸⁵ Y ⁸⁶ Y ⁸⁷ HW ⁸⁸ VRQAPGKGLEW ⁸⁹ VA ⁹⁰ SI ⁹¹ PS ⁹² SG ⁹³ Y ⁹⁴ Y ⁹⁵ ADSVKGR ⁹⁶ FTISADTSKNTA YLQMNSLRAEDTAVY ⁹⁷ YCAR ⁹⁸ J ⁹⁹ RGSK ¹⁰⁰ KPI ¹⁰¹ FSG ¹⁰² W ¹⁰³ AMD ¹⁰⁴ YWGQGLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLASVGD ¹⁰⁵ RV ¹⁰⁶ TITCRASQ ¹⁰⁷ SI ¹⁰⁸ SS ¹⁰⁹ 4 VAWYQQKPGKAPKLLIY ¹¹⁰ S ¹¹¹ SS ¹¹² L ¹¹³ YSGVPSRFSGRSGTDFTLTISS ¹¹⁴ LQPEDFATY ¹¹⁵ YCCQ ¹¹⁶ SY ¹¹⁷ W ¹¹⁸ GP ¹¹⁹ FTFGQGT ¹²⁰ KVEIK (配列番号： 1028)
ノミ構築物	MNLLILTFVAAA ¹ VAEFVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFM ² SY ³ Y ⁴ Y ⁵ HW ⁶ VRQAPGKGLEW ⁷ VA ⁸ SI ⁹ PS ¹⁰ SG ¹¹ Y ¹² Y ¹³ ADSVKGR FTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVY ¹⁴ YCAR ¹⁵ SS ¹⁶ F ¹⁷ Y ¹⁸ W ¹⁹ AMD ²⁰ YWGQGLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLASVGD ²¹ RV ²² TITCRASQ SI ²³ SS ²⁴ AVAWYQQKPGKAPKLLIY ²⁵ S ²⁶ SS ²⁷ L ²⁸ YSGVPSRFSGRSGTDFTLTISS ²⁹ LQPEDFATY ³⁰ YCCQ ³¹ SY ³² AA ³³ YL ³⁴ FTFGQGT ³⁵ KVEIKLED ³⁶ KT HTK ³⁷ VEPKSSDK ³⁸ THNCP ³⁹ CPAPELLGGPSVFLPPKPKD ⁴⁰ TLMSIRTP ⁴¹ EV ⁴² TCV ⁴³ VVDV ⁴⁴ SHEDPEVKFNW ⁴⁵ YVDGVEVHN ⁴⁶ AKTKPREE QYNSTY ⁴⁷ RVVSVLTVLHQD ⁴⁸ WLN ⁴⁹ GKEYCK ⁵⁰ VSNK ⁵¹ ALPAPIEK ⁵² TISK ⁵³ AKGQPREP ⁵⁴ QV ⁵⁵ Y ⁵⁶ TLPP ⁵⁷ IRELMT ⁵⁸ SNQ ⁵⁹ VS ⁶⁰ LS ⁶¹ CA ⁶² VK ⁶³ GFY ⁶⁴ PS ⁶⁵ D IAVEWESNGQ ⁶⁶ PENNY ⁶⁷ KTTP ⁶⁸ VLDS ⁶⁹ DGSF ⁷⁰ FLVSK ⁷¹ LTVDK ⁷² SRWQQGNV ⁷³ FSCVM ⁷⁴ HEALHN ⁷⁵ HY ⁷⁶ TQ ⁷⁷ KS ⁷⁸ LS ⁷⁹ SPGK ⁸⁰ SGSET ⁸¹ PT ⁸² SES TPESGGGEV ⁸³ QLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFM ⁸⁴ SY ⁸⁵ Y ⁸⁶ Y ⁸⁷ HW ⁸⁸ VRQAPGKGLEW ⁸⁹ VA ⁹⁰ SI ⁹¹ PS ⁹² SG ⁹³ Y ⁹⁴ Y ⁹⁵ ADSVKGR ⁹⁶ FTISADTSKN TAYLQMNSLRAEDTAVY ⁹⁷ YCAR ⁹⁸ 4 ⁹⁹ HY ¹⁰⁰ FPW ¹⁰¹ 4G ¹⁰² AMD ¹⁰³ YWGQGLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLASVGD ¹⁰⁴ RV ¹⁰⁵ TITCRASQ ¹⁰⁶ SI ¹⁰⁷ SS ¹⁰⁸ 4VA WYQQKPGKAPKLLIY ¹⁰⁹ S ¹¹⁰ SS ¹¹¹ L ¹¹² YSGVPSRFSGRSGTDFTLTISS ¹¹³ LQPEDFATY ¹¹⁴ YCCQ ¹¹⁵ SY ¹¹⁶ W ¹¹⁷ P ¹¹⁸ FTFGQGT ¹¹⁹ KVEIK (配列番号： 1029)
ホーミ構築	

10

20

30

40

【配列表フリーテキスト】

【0153】

配列表 1 ～ 8 9 6 < 2 2 3 > 人工配列の記載：合成ペプチド

配列表 8 9 7 ～ 9 8 4 < 2 2 3 > 人工配列の記載：合成ポリペプチド

配列表 9 8 5 < 2 2 3 > 人工配列の記載：合成ペプチド

配列表 9 8 6 ～ 1 0 2 9 < 2 2 3 > 人工配列の記載：合成ポリペプチド

【図面】

【図 1 A】

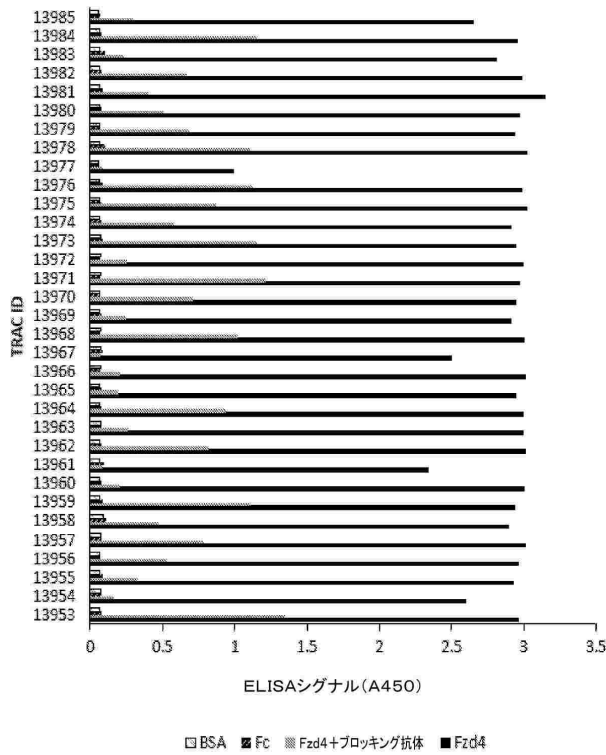


図 1A

【図 1 B】

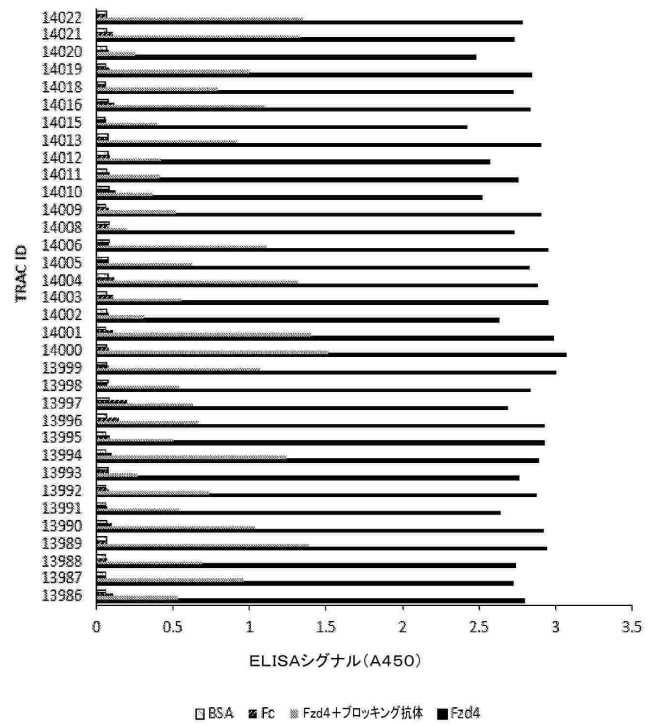


図 1B

【図 2】

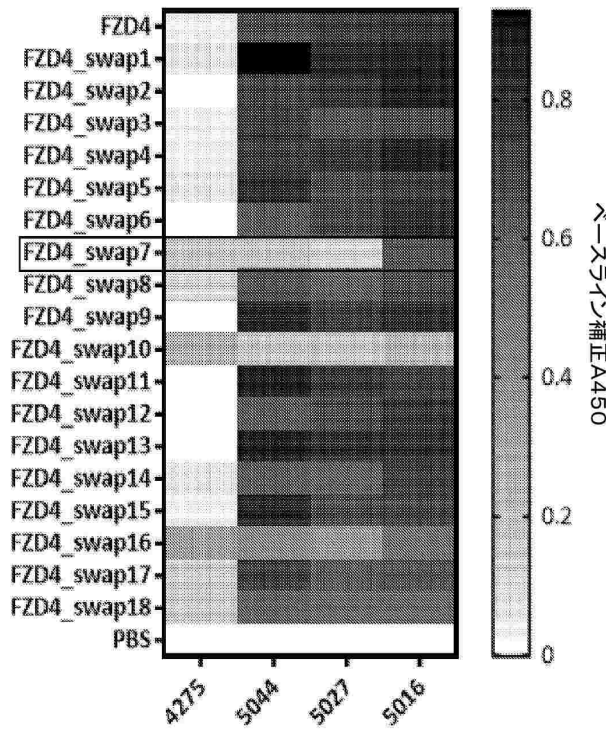


図 2

【図 3 A】

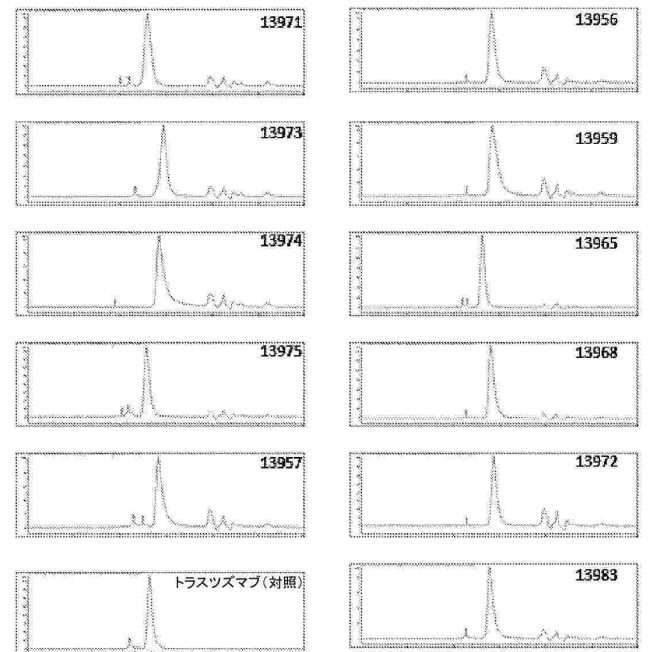


図 3A

10

20

30

40

50

【図 3 B】

ELISAシグナル(A450)

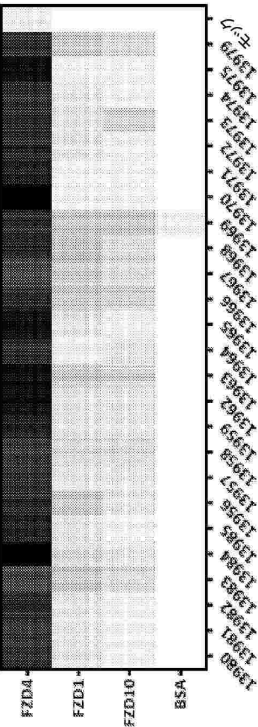
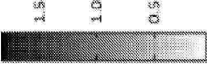


図 3 B

【図 4】

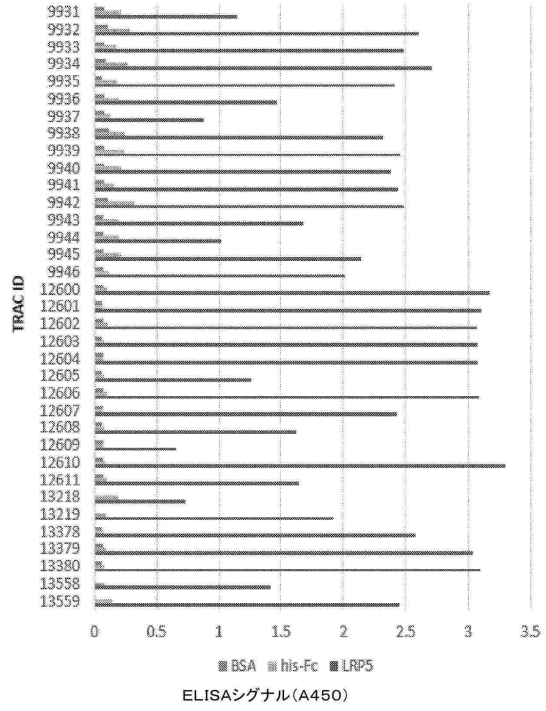


図 4

【図 5 A】

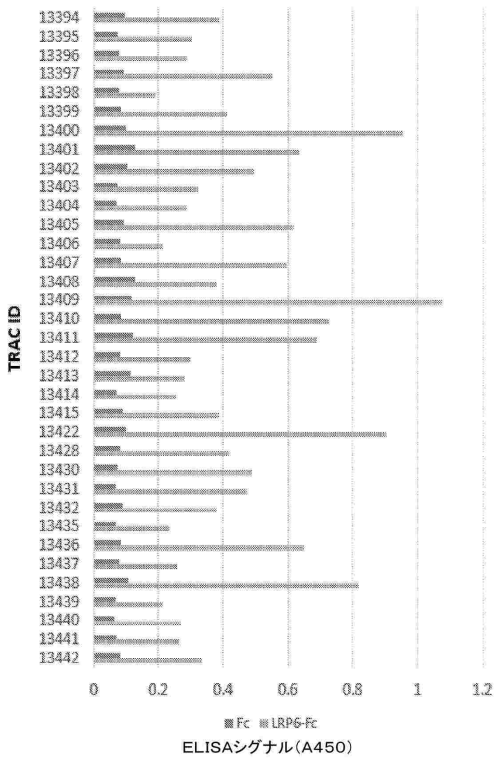


図 5A

【図 5 B】

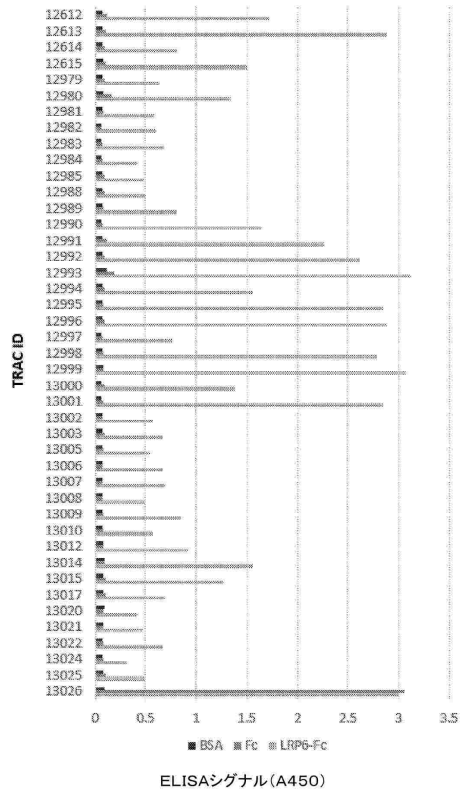


図 5B

【図 6】

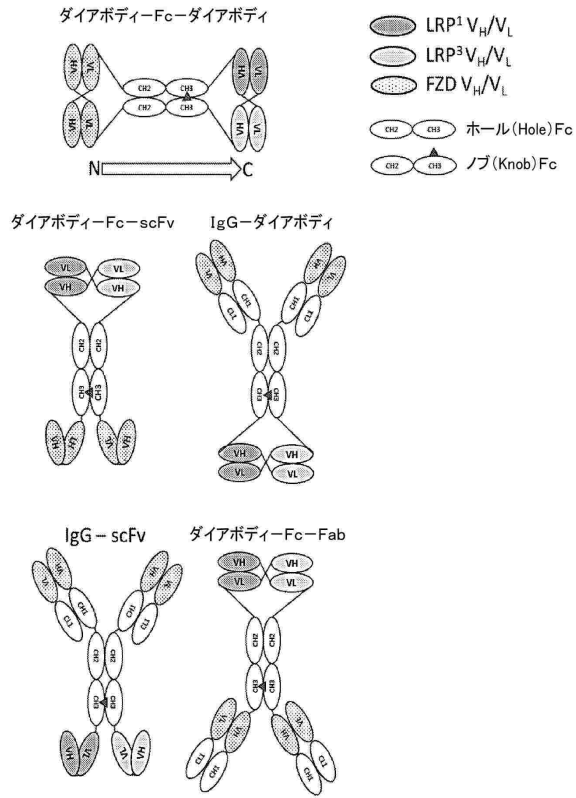


図 6

【図 7】

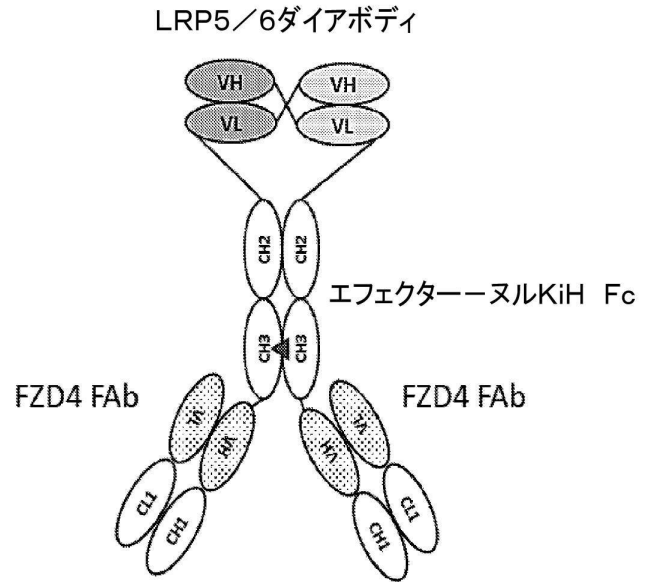


図 7

【図 8 A】

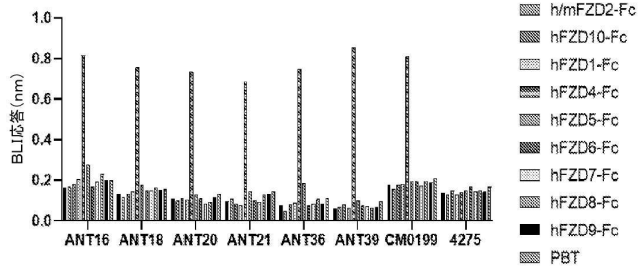


図 8A

【図 8 B】

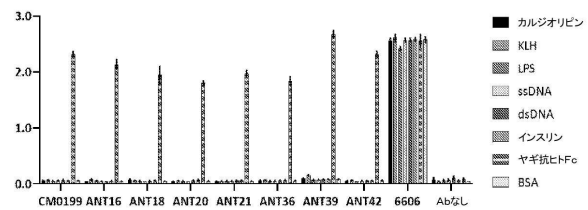


図 8B

10

20

30

40

50

【図 9 A】

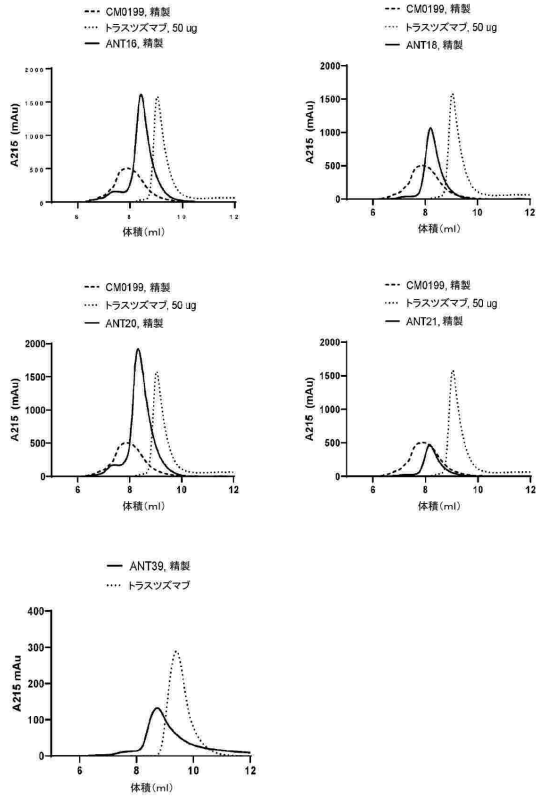


図 9A

【図 9 B】

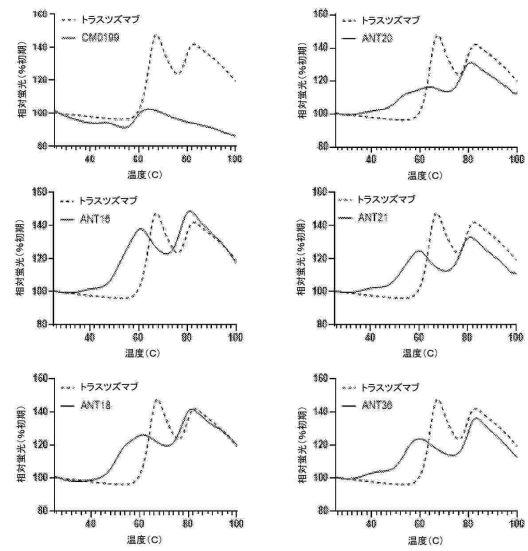


図 9B

【図 10 - 1】

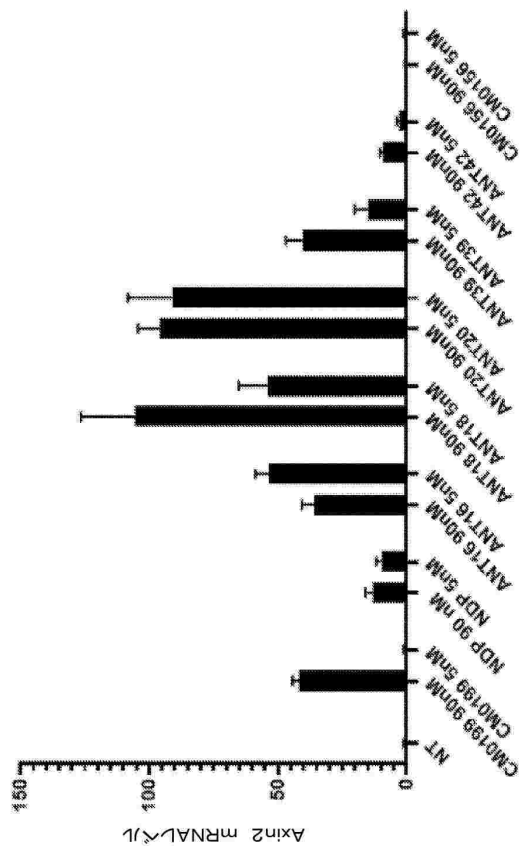


図 10

【図 10 - 2】

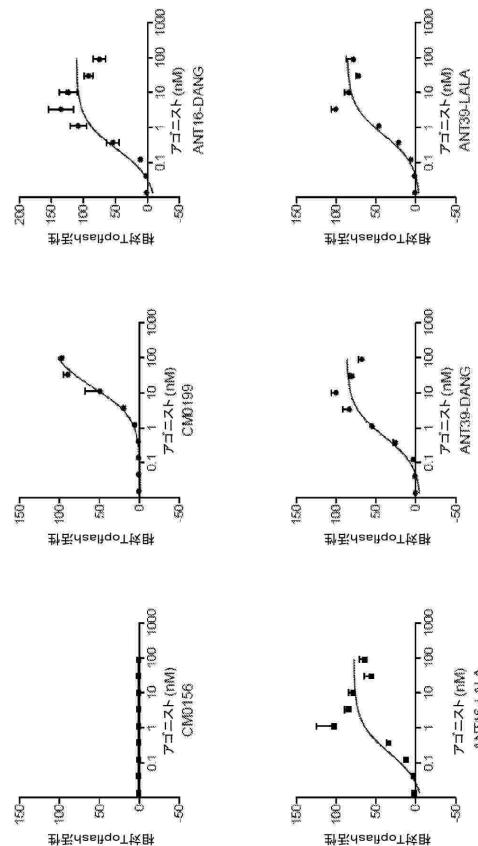


図 10 続き

10

20

30

40

50

【図 10-3】

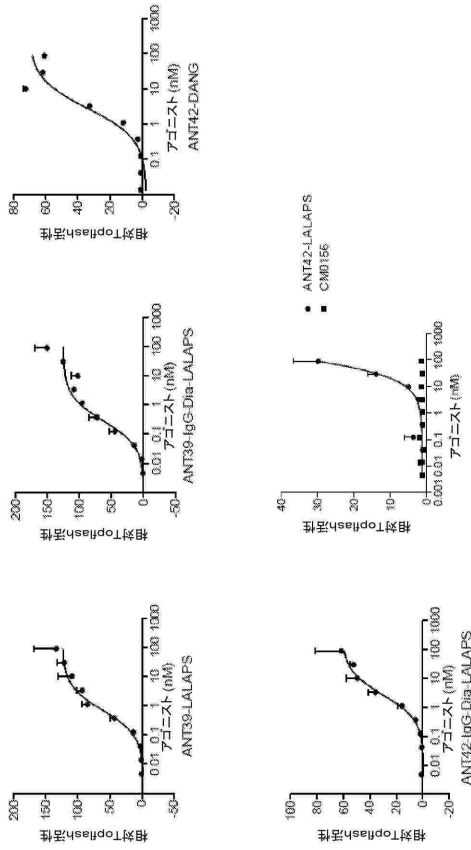


図 10 続き

【図 11A】

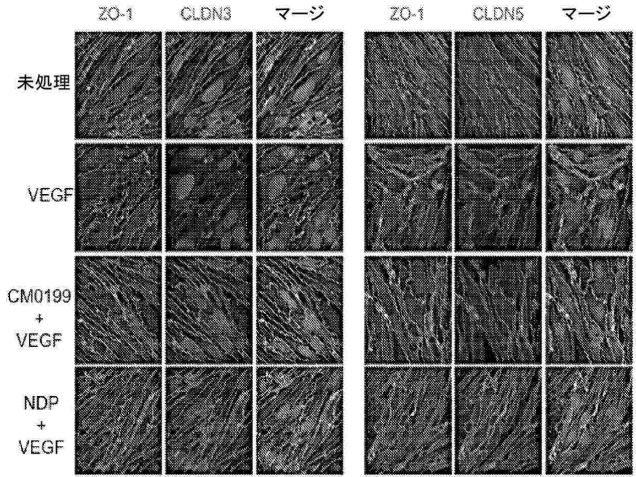


図 11A

【図 11B】

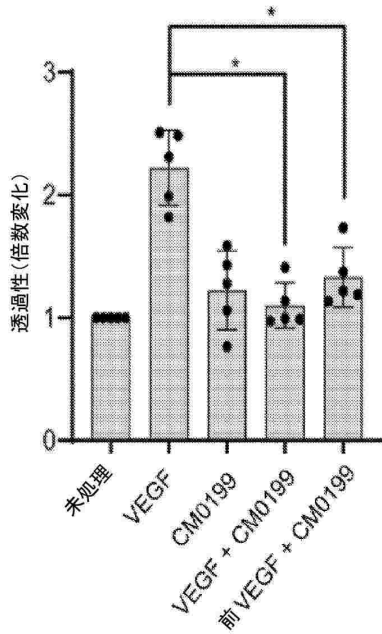


図 11B

【図 12】

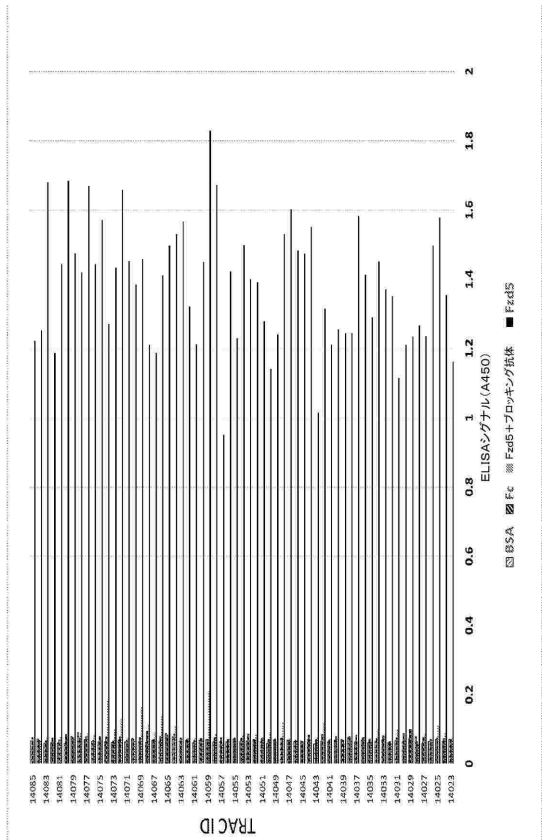


図 12

10

20

30

40

50

【図 13】

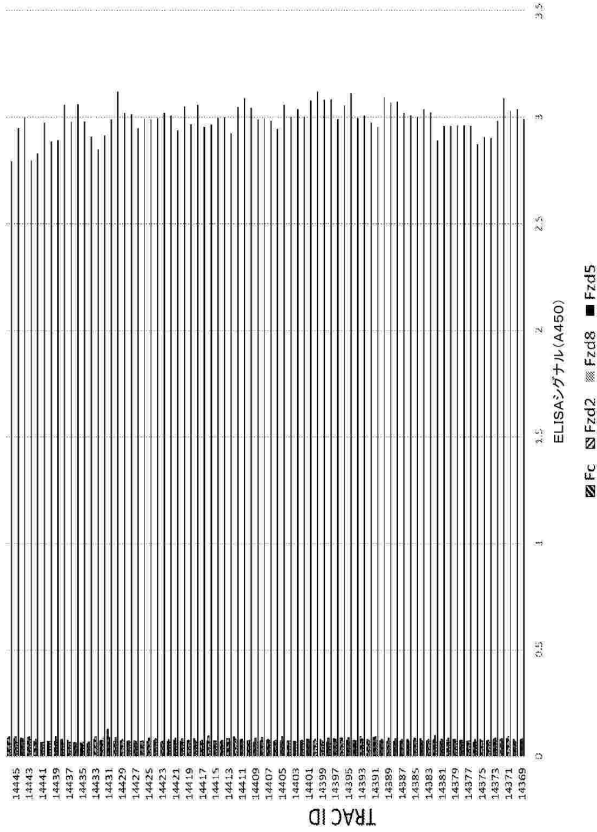


図 13

【図 14】

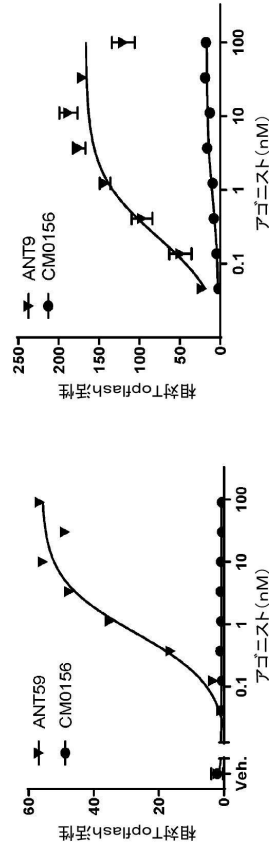


図 14

【図 15】

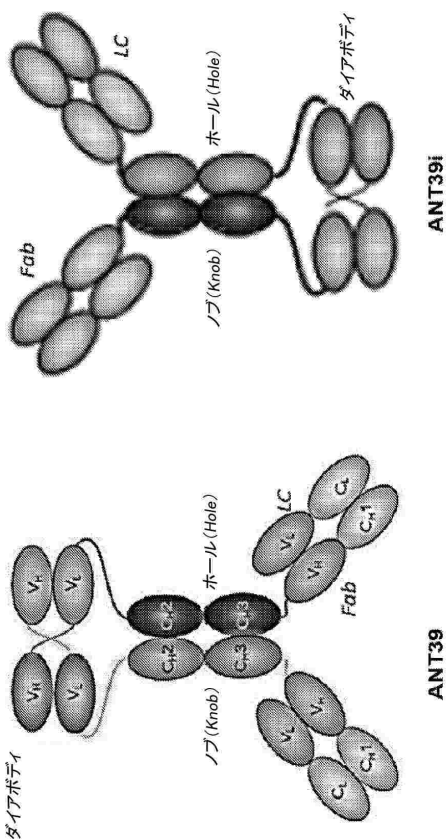


図 15

【図 16 A - 1】

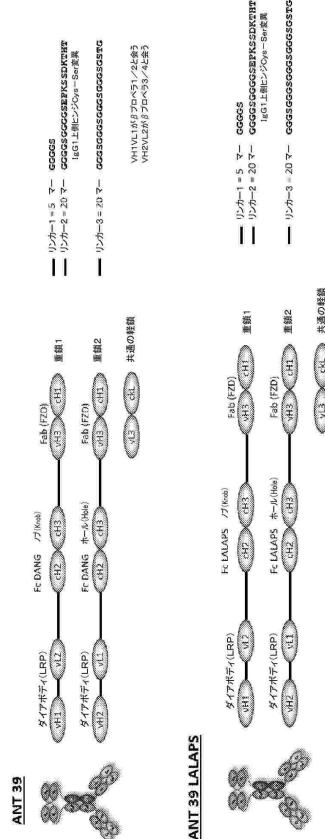


図 16A

10

20

30

40

50

【図 16A-2】

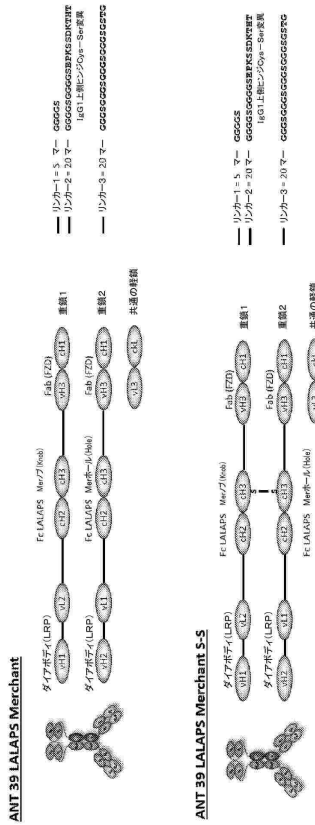


図 16A 続き

【図 16B-1】

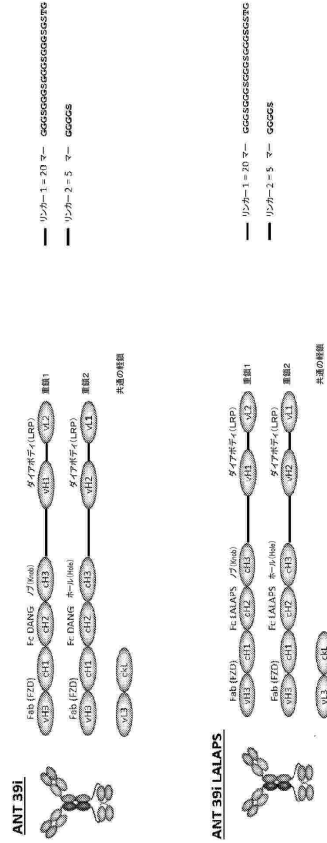


図 16B

【図 16B-2】

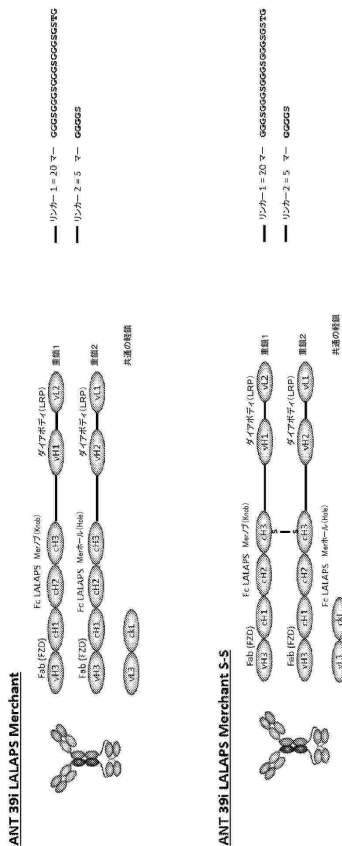


図 16B 続き

【図 17】

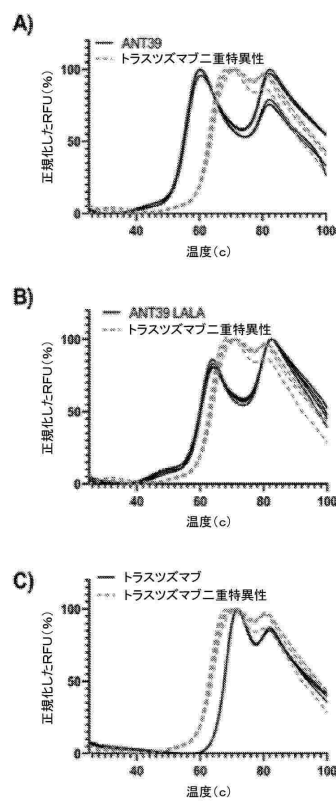
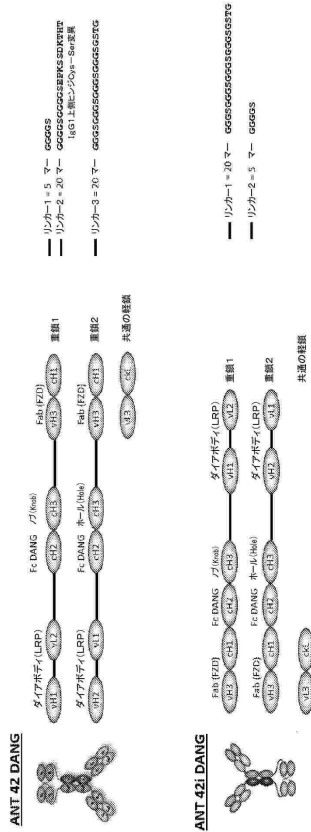


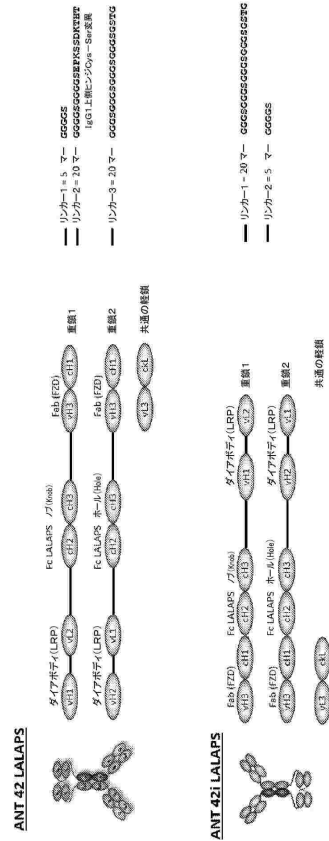
図 17

【図 18-1】

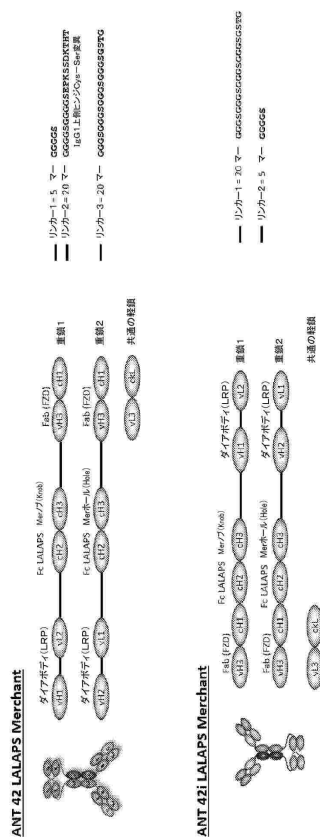


18 ❖

【圖 18-2】

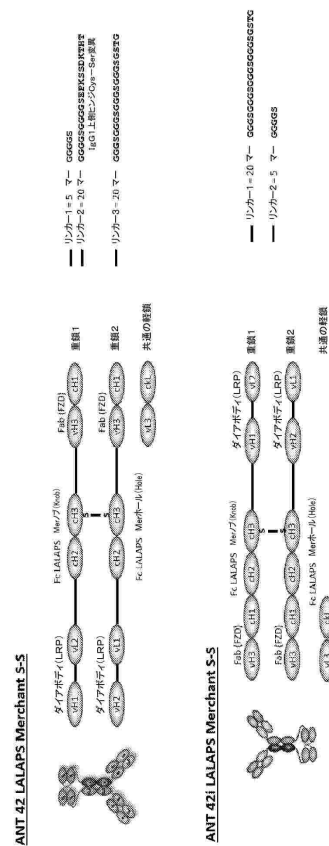


【図 18-3】



☒ 18

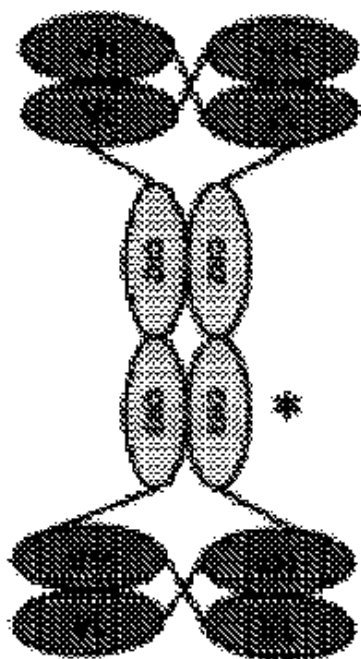
【圖 18-4】



☒ 18

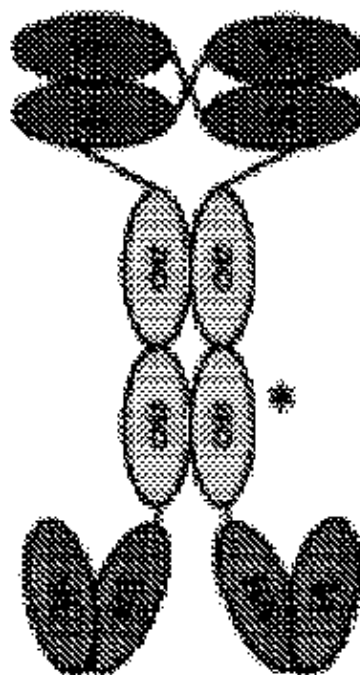
【図 19 A）】

A)



【図 19 B）】

B)

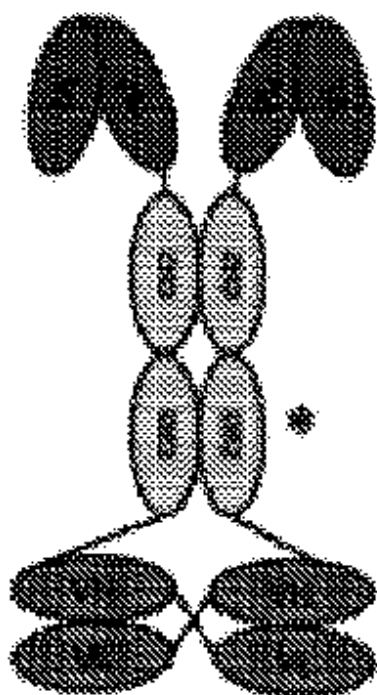


10

20

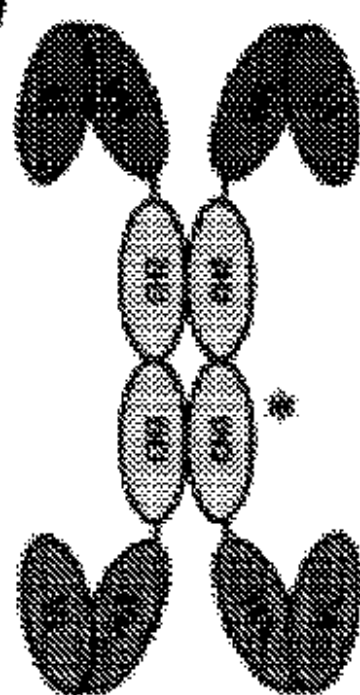
【図 19 C）】

C)



【図 19 D）】

D)



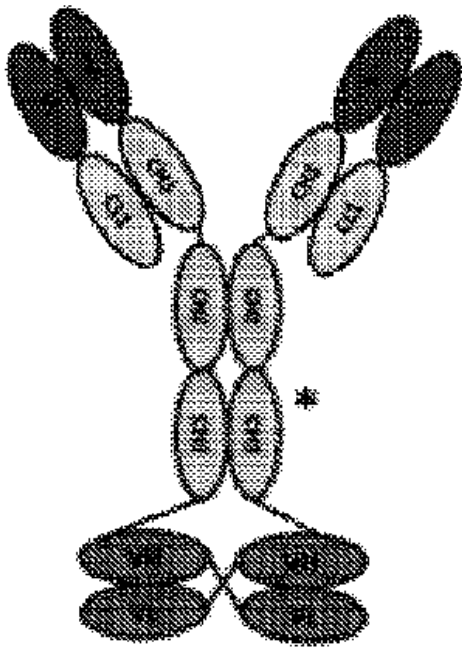
30

40

50

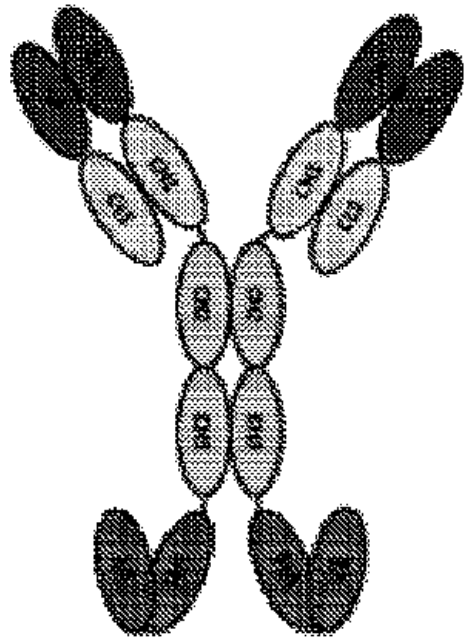
【図 19 E）】

E)



【図 19 F）】

F)

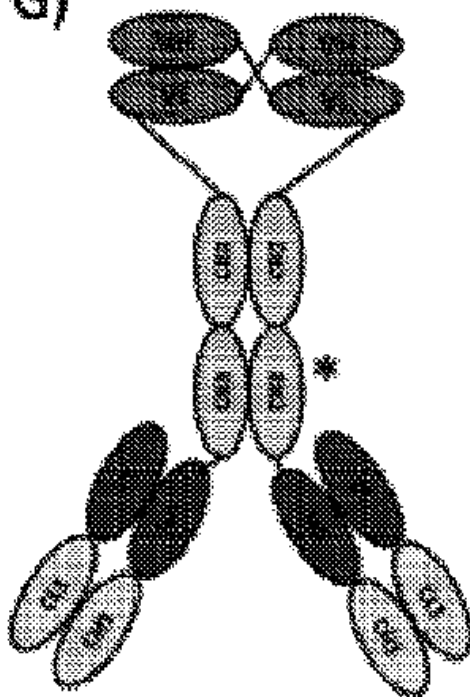


10

20

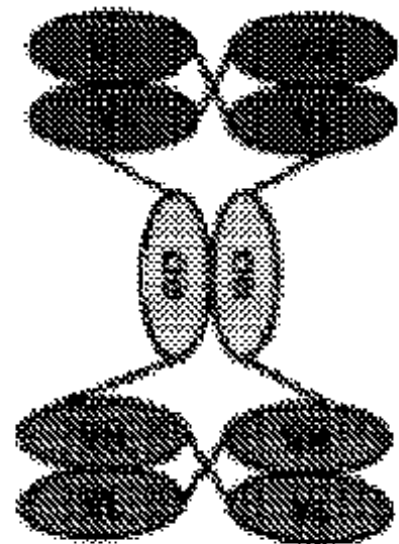
【図 19 G）】

G)



【図 19 H）】

H)

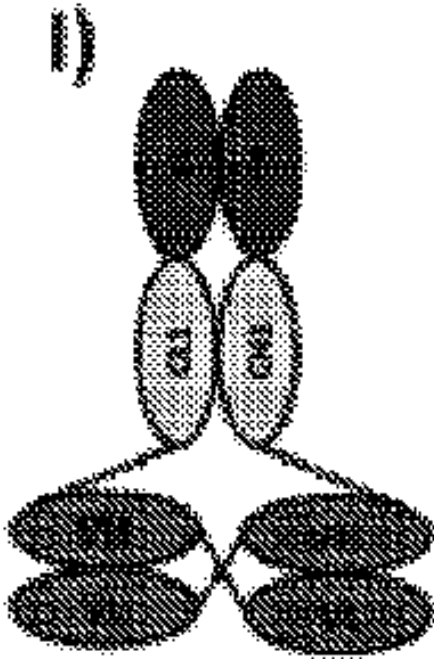


30

40

50

【図 19 I）】



【図 20】

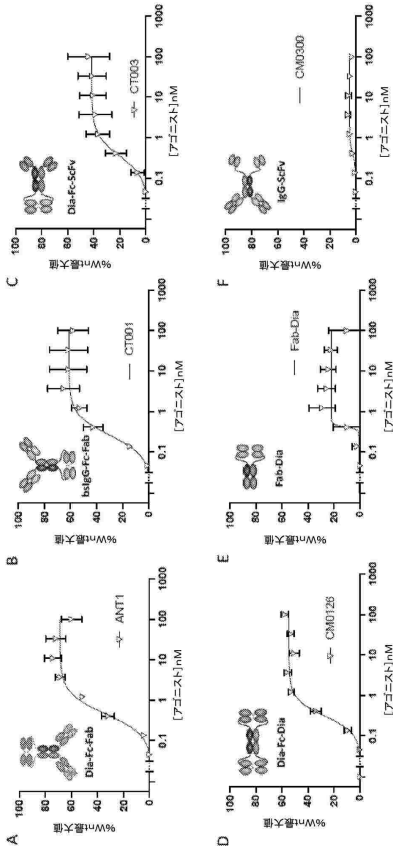


図 20

【図 21 - 1】

#	フォーマット	発現 [モノマー] (mg/l)*	EC50 (nM)	代替名/代替バリエーション名
1	Dia-Fc-Fab	97	0.45	ANT#, Ant#, ANT #, Ant #, ダイアボデー-Fc-Fab, ANT#LALAPS, ANT# LALAPS, ANT# LALAPS Merchant, ANT# LALAPS Merchant_S.S, ANT#LALA, ANT# LALA, ANT#DANG, ANT# DANG,
2	bsIgG-Dia	50	0.26	ANT#i, Ant#i, IgG-ダイボデー, IgG-Dia, bsIgG-Dia, CT#, CM#, ANT#iLALAPS, ANT#i LALAPS, ANT#i LALAPS Merchant, ANT#i LALAPS Merchant_S.S
3	Dia-Fc-ScFv	50	0.60	ダイボデー-Fc-ScFv, CM#, CT #
4	Dia-Fc-Dia	20	0.31	FLAG, CM#, ダイボデー-Fc-ダイボデー, CM#
5	Fab-Dia	25	0.42	Fab-ダイボデー, CM #
6	IgG-ScFv	100	NA	CM#

#-番号、Dia=ダイボデー

図 21

【図 21 - 2】

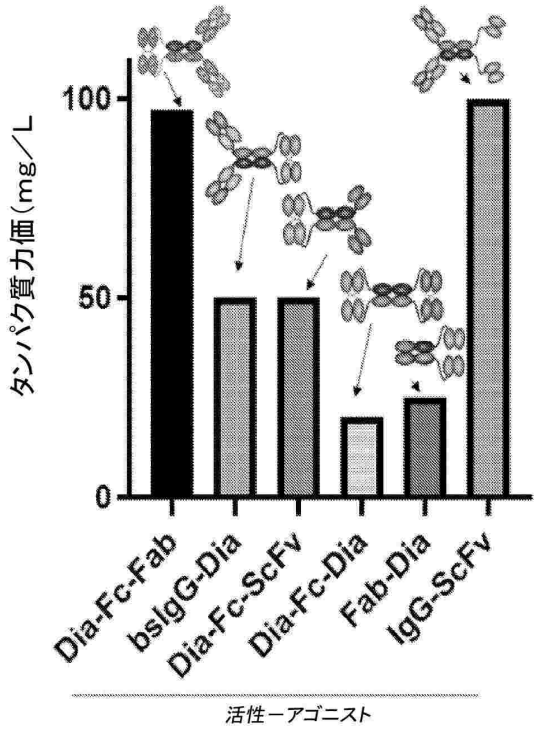


図 21 続き

【図 2 2】

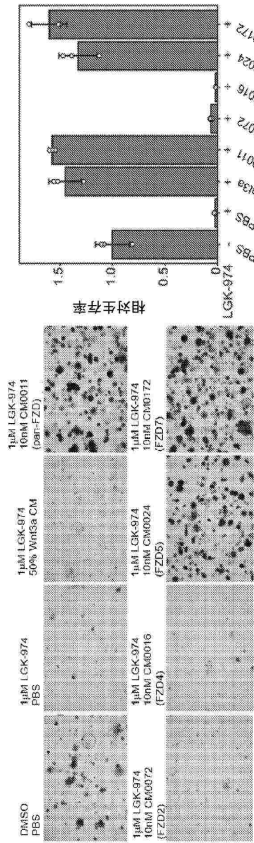
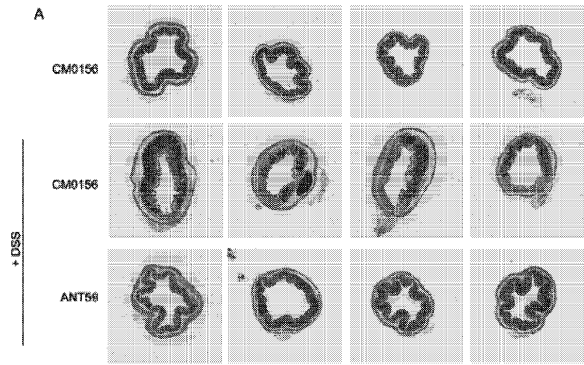


図 22

【図 2 3 A】

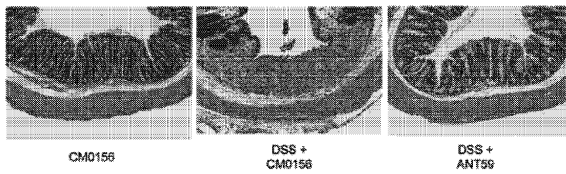


10

20

【図 2 3 B】

B



【図 2 4 - 1】

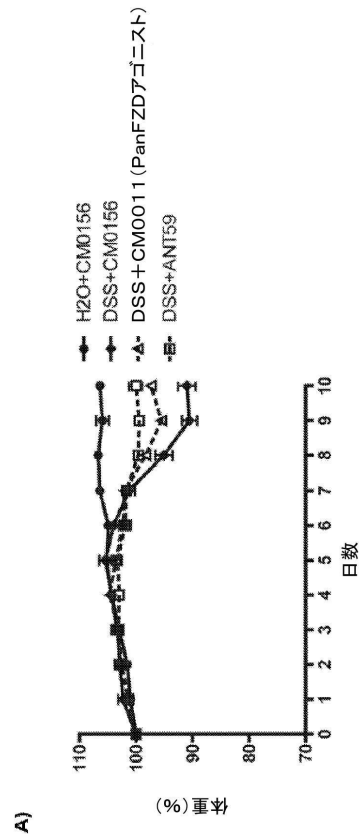


図 24

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/IB2021/061971
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC: <i>C07K 16/46</i> (2006.01), <i>A61K 39/395</i> (2006.01), <i>A61P 25/28</i> (2006.01), <i>A61P 27/02</i> (2006.01) CPC: <i>C07K 16/468</i> (2020.01), <i>A61K 39/395</i> (2020.01), <i>A61P 25/28</i> (2020.01), <i>A61P 27/02</i> (2020.01) According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) Keywords used across the whole IPC		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic database(s) consulted during the international search (name of database(s) and, where practicable, search terms used) Databases: GQ Pat, Genbank, GB SET, Protein Data Bank, Questel, Google, Scopus, Protein Data Bank, Genpept, STM Source, Derwent Biotechnology Abstracts Keywords: LRP6, FZD5, antibody; Sequences: SEQ ID NO:990, 991, 992		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2020/250156 A1 (ANGERS, S. et al.) 17 December 2020 (17-12-2020)	
X	WO 2019/159084 A1 (ANGERS, S. et al.) 22 August 2019 (22-08-2019)	1-16, 18-28, 30, 32, 34-37, 39, 43, 45 and 46
X	TAO, Y. et al. Tailored tetravalent antibodies potently and specifically activate Wnt/Frizzled pathways in cells, organoids and mice. <i>Elife</i> . 27 August 2019 (27-08-2019), Vol. 8, Article e46134.	1-8, 10-16, 18, 20-28, 30, 32, 34-37 and 39
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* "A" "D" "E" "L" "O" "P"	Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search 25 February 2022 (25-02-2022)		Date of mailing of the international search report 26 April 2022 (26-04-2022)
Name and mailing address of the ISA/CA Canadian Intellectual Property Office Place du Portage I, C114 - 1st Floor, Box PCT 50 Victoria Street Gatineau, Quebec K1A 0C9 Facsimile No.: 819-953-2476		Authorized officer Rena Oulton (819) 639-6855

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/IB2021/061971

Box No. I	Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)
	1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing: a. ☒ forming part of the international application as filed: ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file. ☐ on paper or in the form of an image file. b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file. c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only: ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)). ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713). 2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished. 3. Additional comments:

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (1)) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/IB2021/061971
Box No. II	Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of the first sheet)	
This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:		
1. ☐ Claim Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:		
2. ☐ Claim Nos.: because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:		
3. ☐ Claim Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).		
Box No. III	Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)	
This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows: See extra sheet.		
1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.		
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.		
3. ☒ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claim Nos.: claims 1-28 and 30-46 (all partially).		
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claim Nos.:		
Remark on Protest	☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee. ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation. ☒ No protest accompanied the payment of additional search fees.	

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (2)) (July 2019)

International application No.
PCT/IB2021/061971

Patent Document Cited in Search Report	Publication Date	Patent Family Member(s)	Publication Date
WO2019159084A1	22 August 2019 (22-08-2019)	CA3129736A1 CN111989345A EP3752537A1 EP3752537A4 IL276646D0 JP2021519574A SG11202007675VA US2021032352A1	22 August 2019 (22-08-2019) 24 November 2020 (24-11-2020) 23 December 2020 (23-12-2020) 01 December 2021 (01-12-2021) 30 September 2020 (30-09-2020) 12 August 2021 (12-08-2021) 29 September 2020 (29-09-2020) 04 February 2021 (04-02-2021)
WO2020250156A1	17 December 2020 (17-12-2020)	AU2020291208A1 CA3140580A1	06 January 2022 (06-01-2022) 17 December 2020 (17-12-2020)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/IB2021/061971

Continuation of Box No. III:

Documents cited:

D1: WO 2020/250156 A1 (ANGERS, S. et al.) 17 December 2020 (17-12-2020)

D2 : WO 2019/159084 A1 (ANGERS, S. et al.) 22 August 2019 (22-08-2019)

D1 discloses tetravalent binding molecules (claim 16) comprising an Fc domain, a bivalent Wnt co-receptor binding domain (linked to one terminus of the Fc domain), and a bivalent FZD2 or FZD7 receptor binding domain (linked to the other Fc domain terminus). The co-receptor binding domain may bind to any Wnt co-receptor, such as LRP5/6 (paragraph 0081). The Wnt co-receptor binding domain and the FZD2 or FZD7 receptor binding domain may include two scFv or diabodies (paragraphs [0013] to [0017]).

D2 discloses tetravalent binding molecules comprising an Fc domain, a bivalent LRP binding domain (linked to one terminus of the Fc domain), and a bivalent FZD binding domain (linked to the other Fc domain terminus); see claims 9 and 14. Further disclosed are FZD binding domain antibodies (5019, 5027, 5044, 5056; Tables 1 and 2, and paragraph [0175]), as well as LRP5 (2459 and 2460; paragraph [0174]) and LRP6 antibodies (2539, 2540, 2542; Table 2 and paragraph [0155]). Binding domain formats including Fab, scFv and diabodies are contemplated (paragraphs [0015] and [0136]). Specifically disclosed is the antibody 5019-K/H-2459:2460 (paragraph [0174]) which binds to FZD1 (pan-FZD diabody 5019) and LRP5 (2459 and 2460).

The claims are directed to a plurality of inventive concepts as follows:

The claims relate to tetravalent binding antibody molecules comprising:

- (a) an Fc domain or fragment thereof comprising a constant heavy chain domain 3 (CH3),
- (b) a bivalent low-density lipoprotein receptor-related protein (LRP) binding domain, and
- (c) a bivalent Frizzled (FZD) binding domain.

With regard to feature (b), the following structurally distinct embodiments are contemplated: anti-LRP5 antibodies having CDR regions from Tables 3 and 6; anti-LRP6 antibodies having CDR regions from Tables 4 and 6; and combinations thereof.

With regard to feature (c), the following structurally distinct embodiments are contemplated: binding domains for 10 types of Frizzled Class Receptors, FZD1-FZD10, and anti-FZD antibodies having CDR regions from Tables 1, 2, 6 and 10.

Further, it appears that tetravalent binding antibody molecules comprising features (a) to (c) are known; see D1 or D2 as described above. In addition, D2 discloses all combinations of FZD binding domains selected from one or more binding domains to FZD 1-FZD 10, and LRP binding domains selected from binding domains to LRP5, LRP6 and LRP5/6 (claim 14). D2 also discloses the anti-FZD4 antibody 5044 (Tables 1 and 2) which is the first antibody listed in Table 1 of the instant application. Moreover D2 discloses the anti-LRP5 antibody 2459 (Tables 1 and 2) which is the first antibody listed in Table 3 of the instant application.

In view of the structurally distinct embodiments and the prior art, the claims lack unity *a priori* and *a posteriori*.

Therefore each tetravalent binding antibody molecule is considered a separate inventive concept wherein each FZD binding domain is defined by a specific antibody (for example, one of the antibodies listed in Tables 1 (34 FZD4 antibodies), 2A (35 FZD4 antibodies), 2B (140 FZD5 antibodies), 6 or 10 (3 pan-FZD antibodies)), and each LRP binding domain is defined by a specific antibody (for example, one of the antibodies listed in Tables 3 (38 LRP5 antibodies), 4 (90 LRP6 antibodies) or 6).

The claims must be limited to one inventive concept as set out in PCT Rule 13.

The International Searching Authority has established the international search report on those parts of the international application which relate to the following groups:

- (i) the invention first mentioned, specifically wherein the LRP binding domain binds LRP5 and is antibody 2459 (the first antibody listed in Table 3), and wherein the FZD binding domain binds FZD1 and is antibody 5019 (the first FZD1 antibody listed in Table 10; Tables 1, 2 and 6 do not explicitly identify FZD1 antibodies): claims 1-14, 16, 19, 34-36 and 39-46 (all partially), and
- (ii) the tetravalent binding antibody molecule wherein the LRP binding domain binds LRP6, and wherein the FZD binding domain binds FZD5, wherein the antibody is ANT99 (identified in Table 13): claims 1-28, 30-39, 43, 45 and 46 (all partially).

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 P	13/12	(2006.01)	A 6 1 P	13/12	
A 6 1 P	27/02	(2006.01)	A 6 1 P	27/02	
A 6 1 P	1/04	(2006.01)	A 6 1 P	1/04	
A 6 1 K	39/395	(2006.01)	A 6 1 K	39/395	N
C 1 2 N	15/13	(2006.01)	C 1 2 N	15/13	

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,N
E,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,
CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,K
E,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,N
G,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,
TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. T W E E N

、トロント、ブランズウィック アベニュー 1 3 4

(72)発明者 ブレイザー、レヴィ

カナダ エム8エックス 1エイ7 オンタリオ、エトビコ、プロア ストリート 2 8 1 6、ウエス
ト アpartment 2

(72)発明者 アダムス、ジャレット

カナダ エム4ジー4ケー2 オンタリオ、トロント、ベイビュー アベニュー 1 8 0 1 ユニット
1 0 7

(72)発明者 セシャギリ、ソマセカール

カナダ エム5エイチ 2ティー6 オンタリオ、トロント、アイコ ファスケン マルティノー、ベ
イ ストリート 2 4 0 0-3 3 3、ピー. オー. ボックス 2 0

F ターム (参考) 4B065 AA90X AA90Y AB01 AC14 BA01 CA44 CA46

4C085 AA13 AA14 BB11 BB42 EE01 GG01 GG02 GG04 GG06 GG08
GG10

4H045 AA10 AA30 BA09 BA41 CA40 DA76 EA20 EA50 FA74