

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2013-507969

(P2013-507969A)

(43) 公表日 平成25年3月7日 (2013. 3. 7)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09 (2006. 01)	C 1 2 N 15/00 Z N A A	4 B O 2 4
C 1 2 N 15/02 (2006. 01)	C 1 2 N 15/00 C	4 B O 6 4
C O 7 K 16/18 (2006. 01)	C O 7 K 16/18	4 B O 6 5
C O 7 K 1/14 (2006. 01)	C O 7 K 1/14	4 C O 8 4
C 1 2 N 1/15 (2006. 01)	C 1 2 N 1/15	4 C O 8 5
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 470 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2012-535410 (P2012-535410)
 (86) (22) 出願日 平成22年10月22日 (2010. 10. 22)
 (85) 翻訳文提出日 平成24年6月14日 (2012. 6. 14)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2010/053730
 (87) 国際公開番号 W02011/050262
 (87) 国際公開日 平成23年4月28日 (2011. 4. 28)
 (31) 優先権主張番号 12/605, 094
 (32) 優先日 平成21年10月23日 (2009. 10. 23)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 391008788
 アボット・ラボラトリーズ
 ABBOTT LABORATORIES
 アメリカ合衆国 イリノイ州 アボット
 パーク アボット パーク ロード 1 0
 0
 (74) 代理人 110001173
 特許業務法人川口国際特許事務所
 (72) 発明者 ガユール, タリク
 アメリカ合衆国、マサチューセッツ・0 1
 7 4 6、ホリストン、ワシントン・ストリ
 ート・1 0 1 4

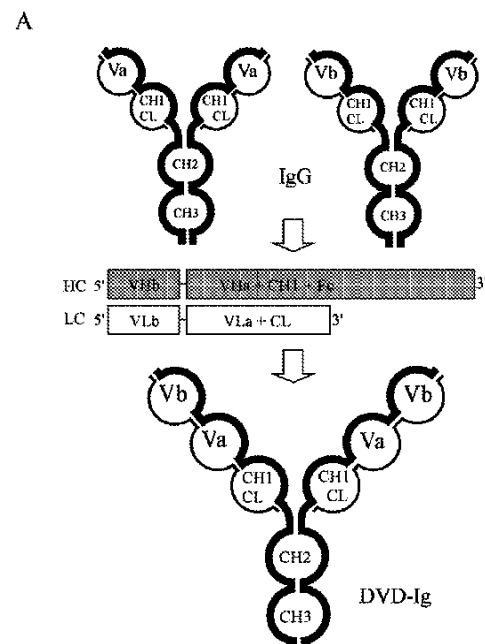
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 二重可変ドメイン免疫グロブリン及びその使用

(57) 【要約】

本発明は、工学操作された多価多重特異性結合タンパク質、作成方法、及び特に疾患の予防、診断及び／または治療におけるその使用に関する。

Figure 1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

$$VD1 - (X1)_n - VD2 - C - (X2)_n$$

(ここで、

VD1 は第 1 重鎖可変ドメインであり；

VD2 は第 2 重鎖可変ドメインであり；

C は重鎖定常ドメインであり；

X1 はリンカーであり、ただし CH1 ではなく；

X2 は Fc 領域であり；

(X1)_n は (X1)₀ または (X1)₁ であり；(X2)_n は (X2)₀ または (X2)₁ である)

10

からなるポリペプチド鎖を含む結合タンパク質であって、前記結合タンパク質が、CD-20 と CD-19、CD-20 と CD-80、CD-20 と CD-22、CD-20 と CD-40、CD-3 と HER-2、CD-3 と CD-19、EGFR と HER-2、EGFR と CD-3、EGFR と IGF1、2、EGFR と IGF1R、EGFR と RON、EGFR と HGF、EGFR と c-MET、HER-2 と IGF1、2、HER-2 と IGF1R、RON と HGF、VEGF と EGFR、VEGF と HER-2、VEGF と CD-20、VEGF と IGF1、2、VEGF と DLL4、VEGF と HGF、VEGF と RON、VEGF と NRP1、CD-20 と CD3、DLL-4 と PLGF、VEGF と PLGF、Erbb3 と EGFR、Erbb3 と HGF、HER-2 と Erbb3、c-Met と ErB3、PLGF と HER-2、及び HER-2 と HER-2 からなる群から選択される、1 対の抗原に結合し得る、前記結合タンパク質。

20

【請求項 2】

VD1 及び VD2 が、配列番号 28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、102、104 及び 106 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 1 に記載の結合タンパク質。

【請求項 3】

$$VD1 - (X1)_n - VD2 - C - (X2)_n$$

(ここで、

VD1 は第 1 軽鎖可変ドメインであり；

VD2 は第 2 軽鎖可変ドメインであり；

C は軽鎖定常ドメインであり；

X1 はリンカーであり、ただし CH1 ではなく；

X2 は Fc 領域を含まず；

(X1)_n は (X1)₀ または (X1)₁ であり；(X2)_n は (X2)₀ または (X2)₁ である)

30

からなるポリペプチド鎖を含む結合タンパク質であって、前記結合タンパク質が、CD-20 と CD-19、CD-20 と CD-80、CD-20 と CD-22、CD-20 と CD-40、CD-3 と HER-2、CD-3 と CD-19、EGFR と HER-2、EGFR と CD-3、EGFR と IGF1、2、EGFR と IGF1R、EGFR と RON、EGFR と HGF、EGFR と c-MET、HER-2 と IGF1、2、HER-2 と IGF1R、RON と HGF、VEGF と EGFR、VEGF と HER-2、VEGF と CD-20、VEGF と IGF1、2、VEGF と DLL4、VEGF と HGF、VEGF と RON、VEGF と NRP1、CD-20 と CD3、DLL-4 と PLGF、VEGF と PLGF、Erbb3 と EGFR、Erbb3 と HGF、HER-2 と Erbb3、c-Met と ErB3、PLGF と HER-2、及び HER-2 と HER-2 からなる群から選択される、1 対の抗原に結合し得る、前記結合タンパク質。

40

【請求項 4】

50

VD 1 及び VD 2 軽鎖可変ドメインが、配列番号 29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105 及び 107 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 3 に記載の結合タンパク質。

【請求項 5】

n が、0 である、請求項 1 または 3 に記載の結合タンパク質。

【請求項 6】

第 1 及び第 2 ポリペプチド鎖を含む結合タンパク質であって、前記第 1 ポリペプチド鎖が、第 1 VD 1 - (X 1)_n - VD 2 - C - (X 2)_n

10

(ここで、

VD 1 は第 1 重鎖可変ドメインであり；

VD 2 は第 2 重鎖可変ドメインであり；

C は重鎖定常ドメインであり；

X 1 はリンカーであり、ただし CH 1 ではなく；

X 2 は Fc 領域である)

からなり、第 2 ポリペプチド鎖が、第 2 VD 1 - (X 1)_n - VD 2 - C - (X 2)_n

(ここで、

VD 1 は第 1 軽鎖可変ドメインであり；

VD 2 は第 2 軽鎖可変ドメインであり；

C は軽鎖定常ドメインであり；

X 1 はリンカーであり、ただし CH 1 ではなく；

X 2 は Fc 領域を含まず；

(X 1)_n は (X 1)₀ または (X 1)₁ であり；

(X 2)_n は (X 2)₀ または (X 2)₁ である)

20

からなり、前記結合タンパク質が、CD-20 と CD-19、CD-20 と CD-80、CD-20 と CD-22、CD-20 と CD-40、CD-3 と HER-2、CD-3 と CD-19、EGFR と HER-2、EGFR と CD-3、EGFR と IGF1_{1,2}、EGFR と IGF1_R、EGFR と RON、EGFR と HGF、EGFR と c-MET、HER-2 と IGF1_{1,2}、HER-2 と IGF1_R、RON と HGF、VEGF と EGF_R、VEGF と HER-2、VEGF と CD-20、VEGF と IGF1_{1,2}、VEGF と DLL4、VEGF と HGF、VEGF と RON、VEGF と NRP1、CD-20 と CD3、DLL-4 と PLGF、VEGF と PLGF、Erbb3 と EGFR、Erbb3 と HGF、HER-2 と Erbb3、c-Met と Erbb3、PLGF と HER-2、及び HER-2 と HER-2 からなる群から選択される、1 対の抗原に結合し得る、前記結合タンパク質。

30

【請求項 7】

VD 1 及び VD 2 重鎖可変ドメインが、配列番号 28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、102、104 及び 106 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、VD 1 及び VD 2 軽鎖可変ドメインが、配列番号 29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105 及び 107 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 6 に記載の結合タンパク質。

40

【請求項 8】

X 1 または X 2 が、配列番号 1～26 からなる群から選択されるアミノ酸配列である、請求項 1、3 または 6 に記載の結合タンパク質。

【請求項 9】

50

結合タンパク質が、2つの第1ポリペプチド鎖及び2つの第2ポリペプチド鎖を含む、請求項6に記載の結合タンパク質。

【請求項10】

Fc領域が、未変性配列Fc領域及び変異配列Fc領域からなる群から選択される、請求項1、3または6に記載の結合タンパク質。

【請求項11】

Fc領域が、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgM、IgE及びIgD由来のFc領域からなる群から選択される、請求項10に記載の結合タンパク質。

【請求項12】

上記第1ポリペプチド鎖のVD1及び上記第2ポリペプチド鎖のVD1が、それぞれ同一の第1及び第2親抗体、またはその抗原結合部分から得られる、請求項1、3または6に記載の結合タンパク質。

10

【請求項13】

上記第1ポリペプチド鎖のVD1及び上記第2ポリペプチド鎖のVD1が、それぞれ異なる第1及び第2親抗体、またはその抗原結合部分から得られる、請求項1、3または6に記載の結合タンパク質。

【請求項14】

上記第1ポリペプチド鎖のVD2及び上記第2ポリペプチド鎖のVD2が、それぞれ同一の第1及び第2親抗体、またはその抗原結合部分から得られる、請求項1、3または6に記載の結合タンパク質。

20

【請求項15】

上記第1ポリペプチド鎖のVD2及び上記第2ポリペプチド鎖のVD2が、それぞれ異なる第1及び第2親抗体、またはその抗原結合部分から得られる、請求項1、3または6に記載の結合タンパク質。

【請求項16】

上記第1及び上記第2親抗体が、上記抗原上の異なるエピトープに結合する、請求項13～15のいずれか1項に記載の結合タンパク質。

【請求項17】

上記第1親抗体またはその抗原結合部分が、上記第2親抗体またはその抗原結合部分が第2抗原に結合する力価とは異なる力価で第1抗原に結合する、請求項13～15のいずれか1項に記載の結合タンパク質。

30

【請求項18】

上記第1親抗体またはその抗原結合部分が、上記第2親抗体またはその抗原結合部分が第2抗原に結合する親和性とは異なる親和性で第1抗原に結合する、請求項13～15のいずれか1項に記載の結合タンパク質。

【請求項19】

上記第1親抗体またはその抗原結合部分及び上記第2親抗体またはその抗原結合部分が、ヒト抗体、CDRグラフト化抗体及びヒト化抗体からなる群から選択される、請求項13～15のいずれか1項に記載の結合タンパク質。

【請求項20】

上記第1親抗体またはその抗原結合部分及び上記第2親抗体またはその抗原結合部分が、Fab断片、F(ab')₂断片、ヒンジ領域でジスルフィド架橋により連結されている2つのFab断片からなる二価断片、VH及びCH1ドメインから構成されるFd断片、抗体のシクグルアームのVL及びVHドメインから構成されるFv断片、dAb断片、単離された相補性決定領域(CDR)、一本鎖抗体及びダイアボディからなる群から選択される、請求項13～15のいずれか1項に記載の結合タンパク質。

40

【請求項21】

結合タンパク質が、上記第1親抗体またはその抗原結合部分、または上記第2親抗体またはその抗原結合部分により示される、少なくとも1つの所望特性を有する、請求項1、3または6に記載の結合タンパク質。

50

【請求項 2 2】

上記所望特性が、1つ以上の抗体パラメーターから選択される、請求項 2 2 に記載の結合タンパク質。

【請求項 2 3】

上記抗体パラメーターが、抗原特異性、抗原に対する親和性、力価、生物学的機能、エピトープ認識、安定性、可溶性、産生効率、免疫原性、薬物動態、バイオアベイラビリティ、組織交差反応性及びオルソログ抗原結合からなる群から選択される、請求項 2 1 に記載の結合タンパク質。

【請求項 2 4】

4つのポリペプチド鎖を含む2つの抗原に結合し得る結合タンパク質であって、前記した2つのポリペプチド鎖が、 $VD1 - (X1)_n - VD2 - C - (X2)_n$ 10

(ここで、

VD1は第1重鎖可変ドメインであり；

VD2は第2重鎖可変ドメインであり；

Cは重鎖定常ドメインであり；

X1はリンカーであり、ただしCH1ではなく；

X2はFc領域である)

からなり、2つのポリペプチド鎖が、 $VD1 - (X1)_n - VD2 - C - (X2)_n$

(ここで、

VD1は第1軽鎖可変ドメインであり； 20

VD2は第2軽鎖可変ドメインであり；

Cは軽鎖定常ドメインであり；

X1はリンカーであり、ただしCH1ではなく；

X2はFc領域を含まず；

$(X1)_n$ は $(X1)_0$ または $(X1)_1$ であり；

$(X2)_n$ は $(X2)_0$ または $(X2)_1$ である)

からなり、前記したVD1及びVD2重鎖可変ドメインが、配列番号28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、102、104及び106からなる群 30
から選択されるアミノ酸配列を含み、前記したVD1及びVD2軽鎖可変ドメインが、配列番号29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105及び107からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、前記結合タンパク質。

【請求項 2 5】

4つのポリペプチド鎖を含む2つの抗原に結合し得る結合タンパク質であって、前記した2つのポリペプチド鎖が、 $VD1 - (X1)_n - VD2 - C - (X2)_n$

(ここで、

VD1は第1重鎖可変ドメインであり； 40

VD2は第2重鎖可変ドメインであり；

Cは重鎖定常ドメインであり；

X1はリンカーであり、ただしCH1ではなく；

X2はFc領域であり；

$(X1)_n$ は $(X1)_0$ または $(X1)_1$ であり；

$(X2)_n$ は $(X2)_0$ または $(X2)_1$ である)

からなり、前記した2つのポリペプチド鎖が、 $VD1 - (X1)_n - VD2 - C - (X2)_n$

(ここで、

VD1は第1軽鎖可変ドメインであり； 50

V D 2 は第 2 軽鎖可変ドメインであり；

C は軽鎖定常ドメインであり；

X 1 はリンカーであり、ただし C H 1 ではなく；

X 2 は F c 領域を含まず；

(X 1)_n は (X 1)₀ または (X 1)₁ であり；

(X 2)_n は (X 2)₀ または (X 2)₁ である)

からなり、前記 D V D-I g が、C D-20、C D-19、C D-80、C D-22、C D-40、C D-3、ヒト上皮増殖因子受容体 2 (H E R-2)、上皮増殖因子受容体 (E G F R)、インスリン様成長因子 1, 2 (I G F 1, 2)、インスリン様成長因子受容体 (I G F 1 R)、マクロファージ刺激タンパク質受容体チロシンキナーゼ (R O N)、肝細胞増殖因子 (H G F)、間葉-上皮移行因子 (c-M E T)、血管内皮増殖因子 (V E G F)、ショウジョウバエデルタホモログ (D L L 4)、ニューロピリン 1 (N R P 1)、胎盤成長因子 (P L G F) 及び v-e r b-b 2 トリ赤芽球性白血病ウイルス発癌ホモログ 3 (E r b B 3) からなる群から選択される、少なくとも 1 つの抗原に結合する、前記結合タンパク質。

10

【請求項 26】

結合タンパク質が、1 つ以上の標的に対して表面プラズモン共鳴により測定して少なくとも約 $10^2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、少なくとも約 $10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、少なくとも約 $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、少なくとも約 $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、及び少なくとも約 $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ からなる群から選択される、オン速度定数 (K o n) を有する、請求項 1、3、6、24 または 25 に記載の結合タンパク質。

20

【請求項 27】

結合タンパク質が、1 つ以上の標的に対して表面プラズモン共鳴により測定して多くとも約 10^{-3} s^{-1} 、多くとも約 10^{-4} s^{-1} 、多くとも約 10^{-5} s^{-1} 、及び多くとも約 10^{-6} s^{-1} からなる群から選択される、オフ速度定数 (K o f f) を有する、請求項 1、3、6、24 または 25 に記載の結合タンパク質。

【請求項 28】

結合タンパク質が、1 つ以上の標的に対して多くとも約 10^{-7} M 、多くとも約 10^{-8} M 、多くとも約 10^{-9} M 、多くとも約 10^{-10} M 、多くとも約 10^{-11} M 、多くとも約 10^{-12} M 、及び多くとも 10^{-13} M からなる群から選択される解離定数 (K_D) を有する、請求項 1、3、6、24 または 25 に記載の結合タンパク質。

30

【請求項 29】

請求項 1、3、6、24 または 25 のいずれか 1 項に記載の結合タンパク質を含む結合タンパク質コンジュゲートであって、更に免疫接着分子、イメージング剤、治療薬及び細胞傷害薬からなる群から選択される物質を含む、前記結合タンパク質コンジュゲート。

【請求項 30】

上記物質が、放射標識、酵素、蛍光標識、発光標識、生物発光標識、磁気標識及びビオチンからなる群から選択されるイメージング剤である、請求項 29 に記載の結合タンパク質コンジュゲート。

【請求項 31】

上記イメージング剤が、 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{177}Lu 、 ^{166}Ho 及び ^{153}Sm からなる群から選択される放射標識である、請求項 30 に記載の結合タンパク質コンジュゲート。

40

【請求項 32】

上記物質が、代謝拮抗薬、アルキル化剤、抗生物質、成長因子、サイトカイン、抗血管新生薬、有糸分裂阻害薬、アントラサイクリン、毒素及びアポトシス剤からなる群から選択される、治療薬または細胞傷害薬である、請求項 30 に記載の結合タンパク質コンジュゲート。

【請求項 33】

結合タンパク質が、結晶化結合タンパク質である、請求項 1、3、6、24 または 25

50

に記載の結合タンパク質。

【請求項 34】

上記結晶が、担体非含有の医薬徐放性結晶である、請求項 33 に記載の結合タンパク質。

【請求項 35】

結合タンパク質が、該結合タンパク質の可溶性相当物よりも長いインビボ半減期を有する、請求項 33 に記載の結合タンパク質。

【請求項 36】

結合タンパク質が、生物活性を保持している、請求項 33 に記載の結合タンパク質。

【請求項 37】

請求項 1、3、6、24 または 25 のいずれか 1 項に記載の結合タンパク質アミノ酸配列をエンコードする、単離核酸。

【請求項 38】

請求項 37 に記載の単離核酸を含む、ベクター。

【請求項 39】

上記ベクターが、p c D N A、p T T、p T T 3、p E F B O S、p B V、p J V、p c D N A 3. 1 T O P O、p E F 6 T O P O 及び p B J からなる群から選択される、請求項 38 に記載のベクター。

【請求項 40】

請求項 38 に記載のベクターを含む、宿主細胞。

【請求項 41】

宿主細胞が、原核細胞である、請求項 40 に記載の宿主細胞。

【請求項 42】

宿主細胞が、大腸菌である、請求項 41 に記載の宿主細胞。

【請求項 43】

宿主細胞が、真核細胞である、請求項 40 に記載の宿主細胞。

【請求項 44】

上記真核細胞が、原生生物細胞、動物細胞、植物細胞及び真菌細胞からなる群から選択される、請求項 43 に記載の宿主細胞。

【請求項 45】

上記真核細胞が、哺乳動物細胞、鳥類細胞及び昆虫細胞からなる群から選択される、動物細胞である、請求項 43 に記載の宿主細胞。

【請求項 46】

宿主細胞が、C H O 細胞である、請求項 45 に記載の宿主細胞。

【請求項 47】

宿主細胞が、C O S である、請求項 45 に記載の宿主細胞。

【請求項 48】

宿主細胞が、酵母細胞である、請求項 43 に記載の宿主細胞。

【請求項 49】

上記酵母細胞が、サッカロミセス・セレビシアエ (*S a c c h a r o m y c e s c e r e v i s i a e*) である、請求項 48 に記載の宿主細胞。

【請求項 50】

宿主細胞が、昆虫 S f 9 細胞である、請求項 45 に記載の宿主細胞。

【請求項 51】

請求項 40～50 のいずれか 1 項に記載の宿主細胞を培地において結合タンパク質を産生するのに十分な条件下で培養することを含む、結合タンパク質の産生方法。

【請求項 52】

産生した結合タンパク質の 50%～75%が、二重特異性四価結合タンパク質である、請求項 51 に記載の方法。

【請求項 53】

10

20

30

40

50

産生した結合タンパク質の75%～90%が、二重特異性四価結合タンパク質である、請求項51に記載の方法。

【請求項54】

産生した結合タンパク質の90%～95%が、二重特異性四価結合タンパク質である、請求項51に記載の方法。

【請求項55】

請求項51に記載の方法に従って産生された、タンパク質。

【請求項56】

請求項1～36及び55のいずれか1項に記載の結合タンパク質及び医薬的に許容され得る担体を含む、医薬組成物。

【請求項57】

更に少なくとも1つの追加治療薬を含む、請求項56に記載の医薬組成物。

【請求項58】

上記追加治療薬が、治療薬、イメージング剤、細胞傷害薬、血管形成インヒビター、キナーゼ阻害剤、共刺激分子ブロッカー、接着分子ブロッカー、抗サイトカイン抗体またはその機能性断片、メトトレキサート、シクロスポリン、ラパマイシン、FK506、検出可能標識または受容体、TNFアンタゴニスト、抗リウマチ薬、筋弛緩薬、麻薬、非ステロイド系抗炎症薬(NSAID)、鎮痛薬、麻酔薬、鎮静薬、局所麻酔薬、神経筋ブロッカー、抗微生物剤、抗乾癬薬、コルチコステロイド、タンパク同化ステロイド、エリスロポエチン、免疫化、免疫グロブリン、免疫抑制薬、成長ホルモン、ホルモン補充薬、放射線医薬品、抗うつ薬、抗精神病薬、興奮薬、喘息薬物療法、 β -アゴニスト、吸入ステロイド、エピネフリンまたはアナログ、サイトカイン及びサイトカインアンタゴニストからなる群から選択される、請求項57に記載の医薬組成物。

【請求項59】

治療が達成されるように、被験者に対して請求項1～36及び55のいずれか1項に記載の結合タンパク質を投与することによる、疾患または障害のための被験者の治療方法。

【請求項60】

上記障害が、関節リウマチ、骨関節症、若年性慢性関節炎、敗血症性関節炎、ライム関節炎、乾癬性関節炎、反応性関節炎、脊椎関節症、全身性エリテマトーデス、クローン病、潰瘍性大腸炎、炎症性腸疾患、インスリン依存性糖尿病、甲状腺炎、喘息、アレルギー性疾患、乾癬、皮膚炎、強皮症、移植片対宿主病、臓器移植拒絶反応、臓器移植に関連する急性または慢性免疫疾患、サルコイドーシス、アテローム性動脈硬化症、播種性血管内凝固、川崎病、グレーブス病、ネフローゼ症候群、慢性疲労症候群、ウェジナー肉芽腫症、ヘノッホーシェンライン紫斑病、腎臓の顕微鏡的血管炎、慢性活動型肝炎、ブドウ膜炎、敗血症性ショック、毒素性ショック症候群、敗血症症候群、悪液質、感染性疾患、寄生虫疾患、後天性免疫不全症候群、急性横断性脊髄炎、ハンチントン舞蹈病、パーキンソン病、アルツハイマー病、卒中、原発性胆汁性肝硬変、溶血性貧血、悪性腫瘍、心不全、心筋梗塞、アジソン病、散在性、I型多腺性自己免疫症及びII型多腺性自己免疫症、シュミット症候群、成人(急性)呼吸窮迫症候群、脱毛症、円形脱毛症、血清反応陰性関節症、関節症、ライター病、乾癬性関節症、潰瘍性腸炎性関節症、腸炎性滑膜炎、クラミジア、エルシニア及びサルモネラ関連関節症、脊椎関節症、アテローム性疾患/動脈硬化症、アトピー性アレルギー、自己免疫性水疱性疾患、尋常性天疱瘡、落葉状天疱瘡、類天疱瘡、線状IgA病、自己免疫性溶血性貧血、クームズ試験陽性溶血性貧血、後天性悪性貧血、若年性悪性貧血、筋痛性脳炎/ローヤルフリー病、慢性皮膚粘膜カンジダ症、巨細胞動脈炎、原発性硬化性肝炎、特発性自己免疫性肝炎、後天性免疫不全症候群、後天性免疫不全症関連疾患、B型肝炎、C型肝炎、分類不能型免疫不全症(分類不能型低ガンマグロブリン血症)、拡張型心筋症、女性不妊症、卵巣機能不全、早発性卵巣機能不全、線維性肺疾患、特発性線維性肺胞炎、炎症後間質性肺疾患、間質性肺炎、結合組織病関連間質性肺疾患、混合結合組織病関連肺疾患、全身性硬化症関連間質性肺疾患、関節リウマチ関連間質性肺疾患、全身性エリテマトーデス関連肺疾患、皮膚筋炎/多発性筋炎関連肺疾患

10

20

30

40

50

、シェーグレン病関連肺疾患、強直性脊椎炎関連肺疾患、血管炎性びまん性肺疾患、ヘモジデリン沈着症関連肺疾患、薬物誘発性間質性肺疾患、線維症、放射線線維症、閉塞性細気管支炎、慢性好酸球性肺炎、リンパ球性浸潤性肺疾患、感染後間質性肺疾患、痛風性関節炎、自己免疫性肝炎、1型自己免疫性肝炎（古典的自己免疫性またはルポイド肝炎）、2型自己免疫性肝炎（抗LKM抗体肝炎）、自己免疫媒介低血糖症、黒色表皮腫を伴うB型インスリン抵抗性、副甲状腺機能低下症、臓器移植に関連する急性免疫疾患、臓器移植に関連する慢性免疫疾患、変形性関節症、原発性硬化性胆管炎、1型乾癬、2型乾癬、特発性白血球減少症、自己免疫性好中球減少症、腎疾患NOS、糸球体腎炎、腎臓の顕微鏡的血管炎、ライム病、円板状エリテマトーデス、特発性またはNOS男性不妊症、精子自己免疫、多発性硬化症（すべてのサブタイプ）、交感性眼炎、結合組織病に続発する肺性高血圧、グッドパスチャー症候群、結節性多発性動脈炎の肺症状、急性リウマチ熱、リウマチ様脊椎炎、スチル病、全身性硬化症、シェーグレン症候群、高安病／動脈炎、自己免疫性血小板減少症、特発性血小板減少症、自己免疫性甲状腺疾患、甲状腺機能亢進症、甲状腺腫様自己免疫性甲状腺機能低下症（橋本病）、萎縮性自己免疫性甲状腺機能低下症、原発性粘液水腫、水晶体原性ブドウ膜炎、原発性血管炎、白斑性急性肝疾患、慢性肝疾患、アルコール性肝硬変、アルコール誘発性肝損傷、胆汁鬱滞、特異体質性肝疾患、薬物誘発性肝炎、非アルコール性脂肪肝、アレルギー及び喘息、B群連鎖球菌（GBS）感染、精神障害（例えば、うつ病及び統合失調症）、Th2型及びTh1型媒介疾患、急性及び慢性疼痛（いろいろな形の疼痛）、並びに癌（例えば、肺癌、乳癌、胃癌、膀胱癌、大腸癌、膵臓癌、卵巣癌、前立腺癌及び腎臓癌）及び造血性悪性腫瘍（白血病及びリンパ腫）

、無βリポタンパク血症、先端チアノーゼ、急性及び慢性寄生虫または感染性プロセス、急性白血病、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、急性骨髄性白血病（AML）、急性または慢性細菌感染、急性膵炎、急性腎不全、腺癌、航空機異所性拍動、エイズ認知症複合、アルコール誘発性肝炎、アレルギー性結膜炎、アレルギー性接触皮膚炎、アレルギー性鼻炎、同種移植片拒絶反応、α-1-アンチトリプシン欠損症、筋萎縮側索硬化症、貧血、狭心症、前角細胞変性、抗cd3治療、抗リン脂質症候群、抗受容体過敏反応、大動脈瘤及び末梢動脈瘤、大動脈解離、動脈性高血圧、動脈硬化症、動静脈フィステル、運動失調症、心房細動（持続性または発作性）、心房粗動、房室ブロック、B細胞リンパ腫、移植骨片拒絶反応、骨髄移植（BMT）拒絶反応、脚ブロック、パーキットリンパ腫、火傷、心臓不整脈、心臓失神症候群、心臓腫瘍、心筋症、心肺バイパス炎症応答、軟骨移植拒絶反応、小脳皮質変性、小脳障害、無秩序または多源性心房頻拍、化学療法関連障害、慢性骨髄性白血病（CML）、慢性アルコール中毒、慢性炎症性病理、慢性リンパ球性白血病（CLL）、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、慢性サリチル酸中毒、大腸癌、鬱血性心不全、結膜炎、接触皮膚炎、肺性心、冠動脈疾患、クロイツフェルトーヤコブ病、培養陰性敗血症、膿疱性線維症、サイトカイン治療関連障害、拳闘家認知症、脱髄疾患、デング出血熱、皮膚炎、皮膚症状、糖尿病、真性糖尿病、糖尿病性アテローム性疾患、びまん性レヴィ小体病、拡張性鬱血性心筋症、脳幹神経節の障害、中年のダウン症候群、CNSドーパミン受容体をブロックする薬物による薬物誘発性運動障害、薬物過敏、湿疹、脳脊髄炎、心内膜炎、内分泌病、喉頭蓋炎、エプスタインバーウイルス感染、先端紅痛症、錐体外路性脳障害、家族性血球貪食リンパ組織球症、胎児性胸腺移植拒絶反応、フリードライヒ運動失調症、機能性末梢動脈障害、真菌性敗血症、ガス壊疽、胃潰瘍、糸球体腎炎、臓器または組織の移植片拒絶反応、グラム陰性敗血症、グラム陽性敗血症、細胞内生物による肉芽腫、毛様細胞白血病、ハラーホルデンースパッツ病、橋本甲状腺炎、枯草熱、心臓移植拒絶反応、血色素症、血液透析、溶血性尿毒症症候群／血栓溶解性血小板減少性紫斑病、出血、肝炎（A）、ヒス束不整脈、HIV感染／HIV神経障害、ホジキン病、運動過多性運動障害、過敏反応、過敏性肺炎、高血圧、運動減少性運動障害、視床下部一下垂体－副腎軸評価、特発性アジソン病、特発性肺線維症、抗体媒介細胞毒性、無力症、乳児脊髄性筋萎縮症、大動脈の炎症、インフルエンザA、電離放射線暴露、虹彩毛様体炎／ブドウ膜炎／視神経炎、虚血－再灌流傷害、虚血性発作、若年性関節リウマチ、若年性脊髄性筋萎縮症、カボジ肉腫、腎移植拒絶反応、レジオネラ、リーシュマニア症、ライ病、

皮質脊髄系の病巣、脂肪浮腫、肝移植拒絶反応、リンパ水腫、マラリア、悪性リンパ腫、
 悪性組織球症、悪性メラノーマ、髄膜炎、骨髄炎菌血症、代謝性／特発性、片頭痛、ミト
 コンドリア多系統障害、混合結合組織病、単クローン性免疫グロブリン血症、多発性骨髄
 腫、多系統変性（メンセル・ドゥジュリーヌ・スートマス・シードレーガー及びマシャドー
 ジョセフ）、重症筋無力症、マイコバクテリウム・アビウム・イントラセルラーレ、結核
 菌、骨髄異形成症候群、心筋梗塞、心筋虚血障害、鼻咽頭癌、新生児慢性肺疾患、腎炎、
 ネフローゼ、神経変性疾患、神経原性Ⅰ筋萎縮症、好中球減少性発熱、非ホジキンリンパ
 腫、腹部動脈及びその枝の閉塞、閉塞性動脈障害、okt3治療、睾丸炎／副睾丸炎、辜
 丸炎／精管復元術、臓器巨大症、骨粗しょう症、脾臓移植拒絶反応、脾臓癌、腫瘍随伴症
 候群／悪性腫瘍の高カルシウム血症、上皮小体移植拒絶反応、骨盤内炎症性疾患、多年性
 鼻炎、心膜疾患、末梢アテローム性疾患、末梢血管疾患、腹膜炎、悪性貧血、ニューモシ
 スティス・カリニ肺炎、肺炎、P O E M S症候群（多発性神経障害、臓器巨大症、内分泌
 症、単クローン性免疫グロブリン血症、及び皮膚症状症候群）、輸血後症候群、ポストポ
 ンプ症候群、M I 後心臓切開術症候群、子癇前症、進行性核上麻痺、原発性肺性高血圧、
 放射線治療、レイノー現象及び病、レイノー病、レフサム病、狭いQRSの規則正しい頻
 脈、腎血管性高血圧、再灌流傷害、拘束型心筋症、肉腫、強皮症、老人性舞蹈病、レヴィ
 小体型老人性認知症、血清反応陰性関節症、ショック、鎌状赤血球貧血、皮膚同種片拒絶
 反応、皮膚症状症候群、小腸移植拒絶反応、充実性腫瘍、特異的不整脈、脊髄性運動失調
 症、脊髄小脳変性、連鎖球菌性筋炎、小脳の構造的病巣、亜急性硬化性汎脳炎、失神、心
 血管系の梅毒、全身性アナフィラキシー、全身性炎症応答症候群、全身性若年性関節リウ
 マチ、T細胞またはF A B A L L、毛細管拡張症、閉塞性血栓血管炎、血小板減少症、
 毒性、移植片、外傷／出血、I I I型過敏症、I V型過敏症、不安定狭心症、尿毒症、尿
 路敗血症、じんま疹、心臓弁膜症、静脈瘤、血管炎、静脈病、静脈血栓症、心室細動、ウ
 イルス性及び真菌性感染、ウイルス性脳炎／無菌性髄膜炎、ウイルス関連血球貪食症候群
 、ウェルニッケーコルサコフ症候群、ウィルソン病、臓器または組織の異種片移植拒絶反
 応、急性冠動脈症候群、急性特発性多発性神経炎、急性炎症性脱髄性多発性神経根ニュー
 ロパシー、急性虚血、成人スチル病、円形脱毛症、アナフィラキシー、抗リン脂質抗体症
 候群、再生不良性貧血、動脈硬化症、アトピー性湿疹、アトピー性皮膚炎、自己免疫性皮
 膚炎、ストレプトコッカス感染に関連する自己免疫性障害、自己免疫性腸疾患、自己免疫
 性難聴、自己免疫性リンパ組織増殖性症候群（A L P S）、自己免疫性心筋炎、自己免疫
 性早発性卵巢機能不全、眼瞼炎、気管支拡張症、水疱性類天疱瘡、心血管疾患、難治性抗
 リン脂質症候群、セリアック病、頸椎症、慢性虚血、瘢痕性類天疱瘡、多発性硬化症のリ
 スクのある最初のエピソードからなる症候群（c i s）、結膜炎、小児期発症精神病、慢
 性閉塞性肺疾患（C O P D）、涙囊炎、皮膚筋炎、糖尿病性網膜症、真性糖尿病、椎間板
 ヘルニア、椎間板脱出、薬物誘引性免疫溶血性貧血、心内膜炎、子宮内膜炎、内眼球炎、
 上強膜炎、多形滲出性紅斑、重症多形紅斑、妊娠性類天疱瘡、ギランバレー症候群（G B
 S）、枯草熱、ヒューズ症候群、特発性パーキンソン病、特発性間質性肺炎、I g E媒介
 アレルギー、免疫溶血性貧血、封入体筋炎、感染性眼炎症性疾患、炎症性脱髄疾患、炎症
 性心疾患、炎症性腎疾患、I P F／U I P、虹彩炎、角膜炎、乾性角結膜炎、クスウマル
 病またはクスウマルーマイエル病、ランドリー麻痺、ランゲルハンス細胞組織球症、網状
 皮斑、黄斑変性、顕微鏡的多発性血管炎、ベヒテレフ病、運動ニューロン障害、粘膜類天
 疱瘡、多臓器不全、重症筋無力症、骨髄異形成症候群、心筋炎、神経根障害、神経障害、
 非A非B肝炎、視神経炎、骨溶解、卵巢癌、少関節J R A、末梢動脈閉塞性疾患（P A O
 D）、末梢血管疾患（P V D）、末梢動脈疾患（P A D）、静脈炎、結節性多発性動脈炎
 （または、結節性動脈周囲炎）、多発性軟骨炎、リウマチ性多発性筋痛、白髪、多関節性
 J R A、多内分泌欠乏症候群、多発性筋炎、リウマチ性多発性筋痛（P M R）、ポスト
 ポンプ症候群、原発性パーキンソン症候群、前立腺及び腎臓癌、及び造血性悪性腫瘍（白
 血病及びリンパ腫）、乾癬、真性赤血球系無形成症、原発性副腎機能不全、再発性視神経
 脊髄炎、再狭窄症、リウマチ性心疾患、s a p h o（滑膜炎、ニキビ、膿疱症、骨増殖症
 及び骨炎）、強皮症、続発性アミロイドーシス、ショック肺、強膜炎、坐骨神経痛、続発

10

20

30

40

50

性副腎機能不全、シリコーン関連結合組織病、スネドナーウィルキンソン皮膚病、強直性脊椎炎、スチーブンス・ジョンソン症候群（SJS）、全身性炎症性応答症候群、側頭動脈炎、トキソプラズマ網膜炎、中毒性表皮融解、横断性脊髄炎、TRAPS（腫瘍壊死因子受容体）、1型アレルギー反応、II型糖尿病、じんま疹、通常型間質性肺炎（UIP）、血管炎、春季カタル、ウイルス性網膜炎、フォクトー小柳ー原田症候群（VKH症候群）、滲出型黄斑変性、損傷治癒、エルシニア及びサルモネラ関連関節症からなる群から選択される、請求項59に記載の方法。

【請求項61】

被験者への投与が、非経口、皮下、筋肉内、静脈内、関節内、気管支内、腹腔内、包内、軟骨内、腔内、脳質内、小脳内、脳・小脳内、結腸内、子宮頸管内、胃内、肝内、心筋内、骨内、骨盤内、心膜内、腹腔内、胸膜内、前立腺内、肺内、直腸内、腎内、網膜内、髄腔内、髄液嚢内、胸内、子宮内、膀胱内、ボーラス、腔、直腸、頬側、舌下、鼻腔内及び経皮的から選択される、少なくとも1つのモードによる、請求項60に記載の方法。

【請求項62】

第1及び第2抗原に結合し得る二重可変ドメイン免疫グロブリンを作成するように、

a) 第1抗原に結合し得る第1親抗体またはその抗原結合部分を得るステップ；

b) 第2抗原に結合し得る第2親抗体またはその抗原結合部分を得るステップ；

c) $VD1 - (X1)_n - VD2 - C - (X2)_n$

(ここで、

VD1は第1親抗体またはその抗原結合部分から得られる第1重鎖可変ドメインであり；

VD2は第2親抗体またはその抗原結合部分から得られる第2重鎖可変ドメインであり；

Cは重鎖定常ドメインであり；

X1はリンカーであり、ただしCH1でなく；

X2はFc領域であり；

$(X1)_n$ は $(X1)_0$ または $(X1)_1$ であり；

$(X2)_n$ は $(X2)_0$ または $(X2)_1$ である)

からなる第1及び第3ポリペプチド鎖を構築するステップ；

d) $VD1 - (X1)_n - VD2 - C - (X2)_n$

(ここで、

VD1は第1親抗体またはその抗原結合部分から得られる第1軽鎖可変ドメインであり；

VD2は第2親抗体またはその抗原結合部分から得られる第2軽鎖可変ドメインであり；

Cは軽鎖定常ドメインであり；

X1はリンカーであり、ただしCH1でなく；

X2はFc領域を含まず；

$(X1)_n$ は $(X1)_0$ または $(X1)_1$ であり；

$(X2)_n$ は $(X2)_0$ または $(X2)_1$ である)

からなる第2及び第4ポリペプチド鎖を構築するステップ；及び

e) 第1、第2、第3及び第4ポリペプチド鎖を発現させるステップ；

を含む2つの抗原を結合し得る二重可変ドメイン免疫グロブリンの作成方法であって、前記結合タンパク質が、CD-20とCD-19、CD-20とCD-80、CD-20とCD-22、CD-20とCD-40、CD-3とHER-2、CD-3とCD-19、EGFRとHER-2、EGFRとCD-3、EGFRとIGF1, 2、EGFRとIGF1R、EGFRとRON、EGFRとHGF、EGFRとc-MET、HER-2とIGF1, 2、HER-2とIGF1R、RONとHGF、VEGFとEGFR、VEGFとHER-2、VEGFとCD-20、VEGFとIGF1, 2、VEGFとDLL4、

10

20

30

40

50

VEGFとHGF、VEGFとRON、VEGFとNRP1、CD-20とCD3、DLL-4とPLGF、VEGFとPLGF、ErBB3とEGFR、ErBB3とHGF、HER-2とErBB3、c-MetとErBB3、PLGFとHER-2、及びHER-2とHER-2からなる群から選択される、1対の抗原を結合し得る、前記方法。

【請求項63】

VD1及びVD2重鎖可変ドメインが、配列番号28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、102、104及び106からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、VD1及びVD2軽鎖可変ドメインが、配列番号29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105及び107からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項62に記載の方法。

10

【請求項64】

上記第1親抗体またはその抗原結合部分及び上記第2親抗体またはその抗原結合部分が、ヒト抗体、CDRグラフト化抗体及びヒト化抗体からなる群から選択される、請求項62に記載の方法。

【請求項65】

上記第1親抗体またはその抗原結合部分及び上記第2親抗体またはその抗原結合部分が、Fab断片、F(ab')₂断片、ヒンジ領域でジスルフィド架橋により連結されている2つのFab断片からなる二価断片、VH及びCH1ドメインから構成されるFd断片、抗体のシングルアームのVL及びVHドメインから構成されるFv断片、dAb断片、単離された相補性決定領域(CDR)、一本鎖抗体及びダイアボディからなる群から選択される、請求項62に記載の方法。

20

【請求項66】

上記第1親抗体またはその抗原結合部分が、二重可変ドメイン免疫グロブリンにより示される、少なくとも1つの所望特性を有する、請求項62に記載の方法。

【請求項67】

上記第2親抗体またはその抗原結合部分が、二重可変ドメイン免疫グロブリンにより示される、少なくとも1つの所望特性を有する、請求項62に記載の方法。

30

【請求項68】

Fc領域が、未変性配列Fc領域及び変異配列Fc領域からなる群から選択される、請求項62に記載の方法。

【請求項69】

Fc領域が、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgM、IgE及びIgD由来のFc領域からなる群から選択される、請求項62に記載の方法。

【請求項70】

上記所望特性が、1つ以上の抗体パラメーターから選択される、請求項66に記載の方法。

40

【請求項71】

上記所望特性が、1つ以上の抗体パラメーターから選択される、請求項67に記載の方法。

【請求項72】

上記抗体パラメーターが、抗原特異性、抗原に対する親和性、力価、生物学的機能、エピトープ認識、安定性、可溶性、産生効率、免疫原性、薬物動態、バイオアベイラビリティ、組織交差反応性及びオルソロガス抗原結合からなる群から選択される、請求項70に記載の方法。

【請求項73】

上記抗体パラメーターが、抗原特異性、抗原に対する親和性、力価、生物学的機能、エ

50

ピトープ認識、安定性、可溶性、産生効率、免疫原性、薬物動態、バイオアベイラビリティ、組織交差反応性及びオルソロガス抗原結合からなる群から選択される、請求項 7 1 に記載の方法。

【請求項 7 4】

上記第 1 親抗体またはその抗原結合部分が、上記第 2 親抗体またはその抗原結合部分が上記第 2 抗原に結合する親和性とは異なる親和性で上記第 1 抗原に結合する、請求項 6 2 に記載の方法。

【請求項 7 5】

上記第 1 親抗体またはその抗原結合部分が、上記第 2 親抗体またはその抗原結合部分が上記第 2 抗原に結合する力価とは異なる力価で上記第 1 抗原に結合する、請求項 6 2 に記載の方法。

【請求項 7 6】

所望特性を有する第 1 及び第 2 抗原に結合し得る二重可変ドメイン免疫グロブリンが作成されるように、

a) 第 1 抗原に結合し得且つ二重可変ドメイン免疫グロブリンにより示される少なくとも 1 つの所望特性を有する第 1 親抗体またはその抗原結合部分を得るステップ；

b) 第 2 抗原に結合し得且つ二重可変ドメイン免疫グロブリンにより示される少なくとも 1 つの所望特性を有する第 2 親抗体またはその抗原結合部分を得るステップ；

c) $VD1 - (X1)_n - VD2 - C - (X2)_n$

(ここで、

VD1 は第 1 親抗体またはその抗原結合部分から得られる第 1 重鎖可変ドメインであり；

VD2 は第 2 親抗体またはその抗原結合部分から得られる第 2 重鎖可変ドメインであり；

C は重鎖定常ドメインであり；

X1 はリンカーであり、ただし CH1 ではなく；

X2 は Fc 領域であり；

$(X1)_n$ は $(X1)_0$ または $(X1)_1$ であり；

$(X2)_n$ は $(X2)_0$ または $(X2)_1$ である)

からなる第 1 及び第 3 ポリペプチド鎖を構築するステップ；

d) $(X1)_n - VD2 - C - (X2)_n$

(ここで、

VD1 は第 1 親抗体またはその抗原結合部分から得られる第 1 軽鎖可変ドメインであり；

VD2 は第 2 親抗体またはその抗原結合部分から得られる第 2 軽鎖可変ドメインであり；

C は軽鎖定常ドメインであり；

X1 はリンカーであり、ただし CH1 ではなく；

X2 は Fc 領域を含まず；

$(X1)_n$ は $(X1)_0$ または $(X1)_1$ であり；

$(X2)_n$ は $(X2)_0$ または $(X2)_1$ である)

からなる第 2 及び第 4 ポリペプチド鎖を構築するステップ；

e) 第 1、第 2、第 3 及び第 4 ポリペプチド鎖を発現させるステップ；

を含む所望特性を有する 2 つの抗原に結合し得る二重可変ドメイン免疫グロブリンの作成方法であって、前記結合タンパク質が、CD-20 と CD-19、CD-20 と CD-80、CD-20 と CD-22、CD-20 と CD-40、CD-3 と HER-2、CD-3 と CD-19、EGFR と HER-2、EGFR と CD-3、EGFR と IGF1, 2、EGFR と IGF1R、EGFR と RON、EGFR と HGF、EGFR と c-MET、HER-2 と IGF1, 2、HER-2 と IGF1R、RON と HGF、VEGF と EGFR、VEGF と HER-2、VEGF と CD-20、VEGF と IGF1, 2、VE

10

20

30

40

50

G FとD L L 4、V E G FとH G F、V E G FとR O N、V E G FとN R P 1、C D - 2 0とC D 3、D L L - 4とP L G F、V E G FとP L G F、E r b B 3とE G F R、E r b B 3とH G F、H E R - 2とE r b B 3、c - M e tとE r B 3、P L G FとH E R - 2、及びH E R - 2とH E R - 2からなる群から選択される、1対の抗原に結合し得る、前記方法。

【請求項 77】

(a) 変更前の結合タンパク質の特性を測定するステップ；

(a) 重鎖及び／または軽鎖の $(X1)_1$ の長さ及び／または配列を変更させて、変更重鎖及び／または軽鎖を得るステップ；

(b) 変更重鎖及び軽鎖を含む変更結合タンパク質の改良された特性を測定するステップ 10
；
を含む、請求項 6 に記載の結合タンパク質の特性の改良方法。

【請求項 78】

(a) 変更前の結合タンパク質の特性を測定するステップ；

(b) $VD1 - (X1)_n - VD2 - C - (X2)_n$ が $VD2 - (X1)_n - VD1 - C - (X2)_n$ に変化するように第 1 及び第 2 ポリペプチド鎖を変更させて、変更重鎖及び軽鎖を得るステップ；

(c) 変更重鎖及び軽鎖を含む変更結合タンパク質の改良された特性を測定するステップ
；
を含む、請求項 6 に記載の結合タンパク質の特性の改良方法。 20

【請求項 79】

(a) 変更前の結合タンパク質の特性を測定するステップ；

(b) 重鎖及び／または軽鎖の $VD1$ または $VD2$ の 1 つのみの配列が変化するように第 1 及び／または第 2 ポリペプチド鎖を変更させるステップ；及び

(c) 変更重鎖及び軽鎖を含む変更結合タンパク質の特性を測定するステップ；
を含む、請求項 6 に記載の結合タンパク質の特性の改良方法。

【請求項 80】

特性が、標的抗原に対する結合、宿主細胞からの発現収率、インビトロ半減期、インビボ半減期、安定性、可溶性及び改良されたエフェクター機能からなる群から選択される、請求項 77～78 のいずれか 1 項に記載の方法。 30

【請求項 81】

変更重鎖の $(X1)_1$ の長さを長くする、請求項 77 に記載の方法。

【請求項 82】

変更重鎖の $(X1)_1$ の長さを短くする、請求項 77 または 80 に記載の方法。

【請求項 83】

変更軽鎖の $(X1)_1$ の長さを長くする、請求項 77 または 80 に記載の方法。

【請求項 84】

変更軽鎖の $(X1)_1$ の長さを短くする、請求項 77 または 80 に記載の方法。

【請求項 85】

変更重鎖の $(X1)_1$ が、配列番号 21 または 22 からなる群から選択されるアミノ酸 40
からなる、請求項 77 または 80 に記載の方法。

【請求項 86】

変更軽鎖の $(X1)_1$ が、配列番号 13 または 14 からなる群から選択されるアミノ酸
からなる、請求項 77 または 80 に記載の方法。

【請求項 87】

変更重鎖の $(X1)_1$ が、配列番号 22 であり、変更軽鎖の $(X1)_1$ が、配列番号 1
4 である、請求項 77 または 80 に記載の方法。

【請求項 88】

変更重鎖の $(X1)_1$ が、配列番号 21 であり、変更軽鎖の $(X1)_1$ が、配列番号 1
4 である、請求項 77 または 80 に記載の方法。 50

【請求項 89】

改変重鎖の (X1)₁ が、配列番号 22 であり、改変軽鎖の (X1)₁ が、配列番号 13 である、請求項 77 または 80 に記載の方法。

【請求項 90】

改変重鎖の (X1)₁ が、配列番号 21 であり、改変軽鎖の (X1)₁ が、配列番号 13 である、請求項 77 または 80 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本願は、2009 年 10 月 23 日に出願された米国特許出願第 12/605,094 号 10
に対して優先権を主張するものであり、参照によりその内容が本明細書に組み込まれる。
米国特許出願第 12/605,094 号は、2009 年 7 月 31 日に出願された米国仮特
許出願第 61/230,191 号および 2009 年 4 月 28 日に出願された米国特許出願
第 12/431,460 号に対する優先権を主張する一部継続出願であり、米国特許出願
第 12/431,460 号は、2008 年 4 月 29 日に出願された 米国仮特許出願第 6
1/125,834 号、2008 年 7 月 8 日に出願された米国仮特許出願 61/134
, 283 号、2008 年 10 月 23 日に出願された米国仮特許出願第 61/197,19
1 号 および 2008 年 11 月 12 日に出願された米国仮特許出願第 61/199,00
9 号 に対する優先権を主張する非仮出願であり、参照によりその内容が本明細書に組み
込まれる。 20

【0002】

本発明は、多価多重特異性結合タンパク質、作成方法、並びに特に急性及び慢性炎症性
疾患、癌及び他の疾患の診断、予防及び／または治療におけるその使用に関する。

【背景技術】

【0003】

2 つ以上の抗原に結合し得る多重特異性抗体のような工学操作したタンパク質は当業界
で公知である。前記多重特異性結合タンパク質は細胞融合、化学的コンジュゲーションま
たは組換え DNA 技術を用いて作成され得る。

【0004】

双特異性抗体は、双特異性抗体の所望の特異性でマウスモノクローナル抗体 (mAb) 30
を発現する 2 つの異なるハイブリドーマ細胞株の体細胞融合に基づくクアドローマテクノ
ロジーを用いて産生されている (Milstein, C. and A. C. Cuelllo (1983) Nature, 305 (5934): 537-40 を参照されたい)。生
じたハイブリッド-ハイブリドーマ (すなわち、クアドローマ) 内での 2 つの異なる免疫
グロブリン (Ig) 重鎖及び軽鎖のランダム対形成のために、最高 10 個の異なる Ig 種
が作成され、そのうちの 1 個のみが機能的な双特異性抗体である。誤対形成した副産物の存
在及び有意に低い産生収率は、精巧な精製手順が必要であることを意味する。

【0005】

双特異性抗体は 2 つの異なる mAb の化学的コンジュゲーションによっても産生され得
る (Staerz, U. D. ら (1985) Nature, 314 (6012): 628 40
-31 を参照されたい)。このアプローチは均質な調製物を生じない。他のアプローチは
、2 つの異なる mAb またはより小さい抗体断片の化学的コンジュゲーションを使用して
いる (Brennan, M. ら (1985) Science, 229 (4708): 81
-3 を参照されたい)。

【0006】

双特異性抗体を産生するために使用される別の方法は、2 つの親抗体をヘテロ二官能性
架橋剤でカップリングすることであるが、架橋剤の親抗体との反応が部位特異的でないの
で生じた双特異性抗体は大きな分子不均一を被る。双特異性抗体のより均質な調製物を得
るために、2 つの異なる Fab 断片をそのヒンジシステイン残基で部位特異的に化学的に
架橋した (Glennie, M. J. ら (1987) J. Immunol., 139 (7 50

）：2367-75を参照されたい）。しかし、この方法では、完全なIgG分子ではなく、Fab'2断片が生ずる。

【0007】

多種多様の他の組換え双特異性抗体フォーマットが開発されている（Kriangkum, J. ら（2001）*Biomol. Eng.*, 18（2）：31-40を参照されたい）。これらの中で、タンデム一本鎖Fv分子及びダイアボディ、並びにその各種誘導体が最も広く使用されている。日常的に、これらの分子の構築は異なる抗原を認識する2つの一本鎖Fv（scFv）断片から出発する（Economides, A. N. ら（2003）*Nat. Med.*, 9（1）：47-52を参照されたい）。タンデムscFv分子（taFv）は、2つのscFv分子を追加のペプチドリンカーで単に結合させる簡単なフォーマットに相当する。これらのタンデムscFv分子中に存在する2つのscFv断片は別々のフォールディング実体を形成する。各種リンカーが2つのscFv断片を最高63残基の長さのリンカーで結合させるために使用され得る（Nakanishi, K. ら（2001）*Ann. Rev. Immunol.*, 19：423-74を参照されたい）。親scFv断片は通常細菌中で可溶性形態で発現され得るが、タンデムscFv分子は細菌中で不溶性凝集物を形成することがしばしば観察されている。よって、リフォールディングプロトコルまたは哺乳動物発現系の使用が可溶性タンデムscFv分子を作成するために日常的に適用される。最近の研究で、CD28に対するタンデムscFv及びメラノーマ関連プロテオグリカンのトランスジェニック家兎及びウシによるインビボ発現が報告された（Gracie, J. A. ら（1999）*J. Clin. Invest.*, 104（10）：1393-401を参照されたい）。この構築物では、2つのscFv分子がCH1リンカーにより結合されており、最高100mg/Lの血清濃度の双特異性抗体が観察された。細菌中で可溶性発現できるように、ドメイン順序の変更、或いは長さまたは融通性の異なる中間リンカーを用いることを含めた各種戦略が使用された。現在、幾つかの研究が非常に短いAla3リンカーまたは長いグリシン/セリンに富むリンカーを用いる細菌での可溶性タンデムscFv分子の発現を報告している（Leung, B. P. ら（2000）*J. Immunol.*, 164（12）：6495-502；Ito, A. ら（2003）*J. Immunol.*, 170（9）：4802-9；Karni, A. ら（2002）*J. Neuroimmunol.*, 125（1-2）：134-40を参照されたい）。別の最近の研究で、細菌中で可溶性及び活性形態で産生される分子を豊富にするために、3または6個の残基の長さのランダム化中間リンカーを含有するタンデムscFvレパートリーのファージディスプレイを使用した。このアプローチにより、6個のアミノ酸残基リンカーを有するタンデムscFv分子が単離された（Arndt, M. and J. Krauss（2003）*Methods Mol. Biol.*, 207：305-21を参照されたい）。これらのリンカー配列がタンデムscFv分子の可溶性発現のための一般的な解決策に相当するかどうかは明らかでない。にもかかわらず、この研究は、定方向突然変異と組み合わせたタンデムscFv分子のファージディスプレイが細菌中で活性形態で発現され得る分子を豊富にするための強力なツールであることを立証した。

【0008】

双特異性ダイアボディ（Db）は発現のためにダイアボディフォーマットを利用している。ダイアボディは、VH及びVLドメインを結合させるリンカーの長さを約5個の残基に減らすことによりscFv断片から産生される（Peipp, M. and T. Valerius（2002）*Biochem. Soc. Trans.*, 30（4）：507-11を参照されたい）。このようにリンカーサイズを短くすると、VH及びVLドメインの交差対形成により2つのポリペプチド鎖のダイマー化が容易になる。双特異性ダイアボディは、同一細胞内で構造VHA-VLBとVHB-VLA（VH-VLコンフィギュレーション）、またはVLA-VHBとVLB-VHA（VL-VHコンフィギュレーション）を有する2つのポリペプチド鎖を発現させることにより産生される。これまでに多数の各種双特異性ダイアボディが産生されており、そのうちの多くは細菌中で可溶性形態

で発現されている。しかしながら、最近の比較研究は、可変ドメインの配向が発現及び活性結合部位の形成に影響を与え得ることを立証している (Mac k, M. ら (1995) Proc. Nat l. Acad. Sci. USA, 92 (15) : 7021-5を参照されたい)。にもかかわらず、細菌における可溶性発現はタンデム s c F v 分子よりも重要な効果を表す。しかしながら、2つの異なるポリペプチド鎖は単一細胞内で発現されるので、不活性ヘテロダイマーが活性ヘテロダイマーと一緒に産生され得る。こうなると、双特異性ダイアボディの均質調製物を得るためには追加の精製ステップの実行が必要である。双特異性ダイアボディを作成し得る1つのアプローチはノブ・イントゥー・ホールダイアボディの産生である (H o l l i g e r, P., T. Prospero, and G. Winter (1993) Proc. Nat l. Acad. Sci. USA, 90 (14) : 6444-8. 18を参照されたい)。このアプローチはHER2及びCD3に対する双特異性ダイアボディに対して立証された。Val 37をPheで、Leu 45をTrpで交換することによりVHドメイン中に大きなノブを導入し、抗HER2または抗CD3可変ドメインのいずれかにおいてPhe 98をMetに、Tyr 87をAlaに変異させることによりVLドメイン中に相補性ホールを生成した。このアプローチを用いることにより、双特異性ダイアボディの産生は親ダイアボディによる72%からノブ・イントゥー・ホールダイアボディよる90%以上に増加し得る。重要なことは、これらの突然変異の結果として産生収率が僅かしか減少しないことである。しかしながら、幾つかの構築物で抗原結合活性の低下が観察された。よって、このかなり手の込んだアプローチは、未改変の結合活性を有するヘテロダイマー分子を産生する突然変異を同定するために各種構築物を分析する必要がある。加えて、前記アプローチは、定常領域で免疫グロブリン配列を変異修飾して、高い免疫原性、乏しいインビボ安定性及び望ましくない薬物動態を生じる恐れがある非天然及び非自然形態の抗体配列を作成する必要がある。

【0009】

一本鎖ダイアボディ (s c D b) は双特異性ダイアボディ様分子の形成を改良するための代替戦略に相当する (H o l l i g e r, P. and G. Winter (1997) Cancer Immunol. Immunother., 45 (3-4) : 128-30; Wu, A. M. ら (1996) Immunotechnology, 2 (1) : p. 21-36を参照されたい)。双特異性一本鎖ダイアボディは、2個のダイアボディー形成性ポリペプチド鎖を約15個のアミノ酸残基の長さを有する追加中間リンカーで結合させることにより産生される。従って、モノマー一本鎖ダイアボディ (50~60 kDa) に相当する分子量を有する分子はすべて双特異性である。幾つかの研究で、双特異性一本鎖ダイアボディは細胞において可溶性及び活性形態で発現し、精製された分子の大部分はモノマーとして存在していることが立証された (H o l l i g e r, P. and G. Winter (1997) Cancer Immunol. Immunother., 45 (3-4) : 128-30; Wu, A. M. ら (1996) Immunotechnology, 2 (1) : 21-36; Pluckthun, A. and P. Pack (1997) Immunotechnol., 3 (2) : 83-105; Ridgway, J. B. ら (1996) Protein Engin., 9 (7) : 617-21を参照されたい)。よって、一本鎖ダイアボディはタンデム s c F v (すべてのモノマーが双特異性である) 及びダイアボディ (細菌中で可溶性発現) の作用効果を合わせ持つ。

【0010】

より最近では、ダイアボディをFcに融合させて、ジードアイアボディと命名されるよりIg様の分子が作成された (Lu, D. ら (2004) J. Biol. Chem., 279 (4) : 2856-65を参照されたい)。加えて、IgGの重鎖中に2つのFabリピートを含み、4つの抗原分子に結合し得る多価抗体構築物が記載されている (WO 0177342 A1及びMiller, K. ら (2003) J. Immunol., 170 (9) : 4854-61を参照されたい)。

【0011】

当業界には、2つ以上の抗原に結合し得る改良された多価結合タンパク質に対する要望

がある。米国特許出願 No. 11/507,050 は、二重可変ドメイン免疫グロブリン (DVD-Ig (商標)) と称される高親和性で 2 つ以上の抗原に結合し得る結合タンパク質の新規ファミリーを提供する。本発明は更に 2 つ以上の抗原に結合し得る新規結合タンパク質を提供する。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0012】

【特許文献 1】国際公開第 0177342 号

【特許文献 2】米国特許出願第 11/507,050 号

【非特許文献】

10

【0013】

【非特許文献 1】Milstein, C. and A. C. Cuelllo (1983) Nature, 305 (5934): 537-40

【非特許文献 2】Staerz, U. D. ら (1985) Nature, 314 (6012): 628-31

【非特許文献 3】Brennan, M. ら (1985) Science, 229 (4708): 81-3

【非特許文献 4】Glennie, M. J. ら (1987) J. Immunol., 139 (7): 2367-75

【非特許文献 5】Kriangkum, J. ら (2001) Biomol. Eng., 18 (2): 31-40

20

【非特許文献 6】Economides, A. N. ら (2003) Nat. Med., 9 (1): 47-52

【非特許文献 7】Nakanishi, K. ら (2001) Ann. Rev. Immunol., 19: 423-74

【非特許文献 8】Gracie, J. A. ら (1999) J. Clin. Invest., 104 (10): 1393-401

【非特許文献 9】Leung, B. P. ら (2000) J. Immunol., 164 (12): 6495-502

【非特許文献 10】Ito, A. ら (2003) J. Immunol., 170 (9): 4802-9

30

【非特許文献 11】Karni, A. ら (2002) J. Neuroimmunol., 125 (1-2): 134-40

【非特許文献 12】Arndt, M. and J. Krauss (2003) Methods Mol. Biol., 207: 305-21

【非特許文献 13】Peipp, M. and T. Valerius (2002) Biochem. Soc. Trans., 30 (4): 507-11

【非特許文献 14】Mack, M. ら (1995) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 92 (15): 7021-5

【非特許文献 15】Holliger, P., T. Prospero, and G. Winter (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90 (14): 6444-8. 18

40

【非特許文献 16】Holliger, P. and G. Winter (1997) Cancer Immunol. Immunother., 45 (3-4): 128-30

【非特許文献 17】Wu, A. M. ら (1996) Immunotechnology, 2 (1): 21-36

【非特許文献 18】Pluckthun, A. and P. Pack (1997) Immunotechnol., 3 (2): 83-105

【非特許文献 19】Ridgway, J. B. ら (1996) Protein Engin., 9 (7): 617-21

50

【非特許文献20】Lu, D. ら (2004) J. Biol. Chem., 279 (4) : 2856-65

【非特許文献21】Miller, K. ら (2003) J. Immunol., 170 (9) : 4854-61

【発明の概要】

【0014】

本発明は、2つ以上の抗原に結合し得る多価結合タンパク質に関する。本発明は、高親和性で2つ以上の抗原に結合し得る結合タンパク質の新規ファミリーを提供する。

【0015】

1つの実施形態では、本発明はポリペプチド鎖を含む結合タンパク質を提供し、前記ポリペプチド鎖はVD1-(X1-VD2-C-(X)2(ここで、VD1は第1可変ドメインであり、VD2は第2可変ドメインであり、Cは定常ドメインであり、X1はアミノ酸またはポリペプチドを表し、X2はFc領域を表し、nは0または1である)からなる。実施形態では、結合タンパク質中のVD1及びVD2は重鎖可変ドメインである。別の実施形態では、重鎖可変ドメインはマウス重鎖可変ドメイン、ヒト重鎖可変ドメイン、CDRグラフト化重鎖可変ドメイン及びヒト化重鎖可変ドメインからなる群から選択される。なお別の実施形態では、VD1及びVD2は同一抗原に結合し得る。別の実施形態では、VD1及びVD2は異なる抗原に結合し得る。さらに別の実施形態では、Cは重鎖定常ドメインである。例えば、X1はリンカーであり、ただしX1はCH1ではない。例えば、X1はAKTTPKLEEGEFSEAR(配列番号1)、AKTTPKLEEGEFSEARV(配列番号2)、AKTTPKLGG(配列番号3)、SAKTTPKLGG(配列番号4)、SAKTTP(配列番号5)、RADAAP(配列番号6)、RADAAPTVS(配列番号7)、RADAAAAGGPGS(配列番号8)、RADAAA(G₄S)₄(配列番号9)、SAKTTPKLEEGEFSEARV(配列番号10)、ADAAAP(配列番号11)、ADAAPTVSIFPP(配列番号12)、TVAAAP(配列番号13)、TVAAPSVFIFPP(配列番号14)、QPKAAP(配列番号15)、QPKAAPSVTLFPP(配列番号16)、AKTTPP(配列番号17)、AKTTPPSVTPLAP(配列番号18)、AKTTAP(配列番号19)、AKTTAPSVYPLAP(配列番号20)、ASTKGP(配列番号21)、ASTKGPSVFPLAP(配列番号22)、GGGGSGGGGSGGGGS(配列番号23)、GENKVEYAPALMALS(配列番号24)、GPAKELTPLKEAKVS(配列番号25)、GHEAAAVMQVQYPAS(配列番号26)からなる群から選択されるリンカーである。実施形態では、X2はFc領域である。別の実施形態では、X2はバリエーションFc領域である。

【0016】

実施形態では、本明細書中に開示されている結合タンパク質はポリペプチド鎖を含み、前記ポリペプチド鎖はVD1-(X1)_n-VD2-C-(X2)_n(ここで、VD1は第1重鎖可変ドメインであり、VD2は第2重鎖可変ドメインであり、Cは重鎖定常ドメインであり、X1はリンカーであり、ただしCH1ではなく、X2はFc領域である)からなる。

【0017】

実施形態では、結合タンパク質中のVD1及びVD2は軽鎖可変ドメインである。実施形態では、軽鎖可変ドメインはマウス軽鎖可変ドメイン、ヒト軽鎖可変ドメイン、CDRグラフト化軽鎖可変ドメイン及びヒト化軽鎖可変ドメインからなる群から選択される。1つの実施形態では、VD1及びVD2は同一抗原に結合し得る。別の実施形態では、VD1及びVD2は異なる抗原に結合し得る。実施形態では、Cは軽鎖定常ドメインである。別の実施形態では、X1はリンカーであり、ただしX1はCL1ではない。実施形態では、X1はAKTTPKLEEGEFSEAR(配列番号1)、AKTTPKLEEGEFSEARV(配列番号2)、AKTTPKLGG(配列番号3)、SAKTTPKLGG(配列番号4)、SAKTTP(配列番号5)、RADAAP(配列番号6)、RADAA

A P T V S (配列番号7)、R A D A A A A G G P G S (配列番号8)、R A D A A A A (G₄S)₄ (配列番号9)、S A K T T P K L E E G E F S E A R V (配列番号10)、A D A A P (配列番号11)、A D A A P T V S I F P P (配列番号12)、T V A A P (配列番号13)、T V A A P S V F I F P P (配列番号14)、Q P K A A P (配列番号15)、Q P K A A P S V T L F P P (配列番号16)、A K T T P P (配列番号17)、A K T T P P S V T P L A P (配列番号18)、A K T T A P (配列番号19)、A K T T A P S V Y P L A P (配列番号20)、A S T K G P (配列番号21)、A S T K G P S V F P L A P (配列番号22)、G G G G S G G G S G G G G S (配列番号23)、G E N K V E Y A P A L M A L S (配列番号24)、G P A K E L T P L K E A K V S (配列番号25)、G H E A A A V M Q V Q Y P A S (配列番号26) からなる群から選択されるリンカーである。実施形態では、結合タンパク質はX2を含まない。

10

【0018】

実施形態では、可変重鎖及び可変軽鎖は共に同一リンカーを含む。別の実施形態では、可変重鎖及び可変軽鎖は異なるリンカーを含む。別の実施形態では、可変重鎖及び可変軽鎖は共に短(約6個のアミノ酸)リンカーを含む。別の実施形態では、可変重鎖及び可変軽鎖は共に長(6個以上のアミノ酸)リンカーを含む。別の実施形態では、可変重鎖は短リンカーを含み、可変軽鎖は長リンカーを含む。別の実施形態では、可変重鎖は長リンカーを含み、可変軽鎖は短リンカーを含む。

【0019】

実施形態では、本明細書中に開示されている結合タンパク質はポリペプチド鎖を含み、前記ポリペプチド鎖はVD1-(X1)_n-VD2-C-(X2)_n(ここで、VD1は第1軽鎖可変ドメインであり、VD2は第2軽鎖可変ドメインであり、Cは軽鎖定常ドメインであり、X1はリンカーであり、ただしCH1ではなく、X2はFc領域を含まない)からなる。

20

【0020】

別の実施形態では、本発明は、2つのポリペプチド鎖を含む結合タンパク質を提供し、前記第1ポリペプチド鎖はVD1-(X1)_n-VD2-C-(X2)_n(ここで、VD1は第1重鎖可変ドメインであり、VD2は第2重鎖可変ドメインであり、Cは重鎖定常ドメインであり、X1はリンカーであり、ただしCH1ではなく、X2はFc領域である)からなり、前記第2ポリペプチド鎖はVD1-(X1)_n-VD2-C-(X2)_n(ここで、VD1は第1軽鎖可変ドメインであり、VD2は第2軽鎖可変ドメインであり、Cは軽鎖定常ドメイン、X1はリンカーであり、ただしCH1ではなく、X2はFc領域を含まない)からなる。特定実施形態では、二重可変ドメイン(DVD)結合タンパク質は4つのポリペプチド鎖を含み、第1の2つのポリペプチド鎖はそれぞれVD1-(X1)_n-VD2-C-(X2)_n(ここで、VD1は第1重鎖可変ドメインであり、VD2は第2重鎖可変ドメインであり、Cは重鎖定常ドメインであり、X1はリンカーであり、ただしCH1ではなく、X2はFc領域である)からなり、第2の2つのポリペプチド鎖はそれぞれVD1-(X1)_n-VD2-C-(X2)_n(ここで、VD1は第1軽鎖可変ドメインであり、VD2は第2軽鎖可変ドメインであり、Cは軽鎖定常ドメインであり、X1はリンカーであり、ただしCH1ではなく、X2はFc領域を含まない)からなる。二重可変ドメイン(DVD)タンパク質は4つの抗原結合部位を有する。

30

40

【0021】

別の実施形態では、本明細書中に開示されている結合タンパク質は1つ以上の標的に結合し得る。実施形態では、標的はサイトカイン、細胞表面タンパク質、酵素及び受容体からなる群から選択される。別の実施形態では、結合タンパク質は1つ以上の標的の生物学的機能をモジュレートし得る。別の実施形態では、結合タンパク質は1つ以上の標的を中和し得る。本発明の結合タンパク質は、リンホカイン、モノカイン、ポリペプチドホルモン、受容体または腫瘍マーカーからなる群から選択されるサイトカインに結合し得る。例えば、本発明のDVD-IgはCD-20、CD-19、CD-80、CD-22、CD-40、CD-3、ヒト上皮増殖因子受容体2(HER-2)、上皮増殖因子受容体(E

50

GFR)、インスリン様成長因子1, 2 (IGF1, 2)、インスリン様成長因子受容体 (IGF1R)、マクロファージ刺激タンパク質受容体チロシンキナーゼ (RON)、肝細胞増殖因子 (HGF)、間葉上皮的移行因子 (c-MET)、血管内皮増殖因子 (VEGF)、ショウジョウバエデルタホモログ4 (DLL4)、ニューロピリン1 (NRP1)、胎盤成長因子 (PLGF) 及び v-e-r-b-b 2 トリ赤芽球性白血病ウイルス発癌遺伝子ホモログ3 (ErBB3) の2つ以上に結合し得る (表2も参照されたい)。特定実施形態では、結合タンパク質はCD-20とCD-19、CD-20とCD-80、CD-20とCD-22、CD-20とCD-40、CD-3とHER-2、CD-3とCD-19、EGFRとHER-2、EGFRとCD-3、EGFRとIGF1, 2、EGFRとIGF1R、EGFRとRON、EGFRとHGF、EGFRとc-MET、HER-2とIGF1, 2、HER-2とIGF1R、RONとHGF、VEGFとEGFR、VEGFとHER-2、VEGFとCD-20、VEGFとIGF1, 2、VEGFとDLL4、VEGFとHGF、VEGFとRON、VEGFとNRP1、CD-20とCD-3、DLL4とPLGF、VEGFとPLGF、ErBB3とEGFR、ErBB3とHGF、HER-2とErBB3、c-MetとErBB3、PLGFとHER-2、HER-2とHER-2からなる群から選択される標的の対に結合し得る。

【0022】

実施形態では、CD-20とCD-19に結合し得る結合タンパク質は、配列番号112及び配列番号114からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号113及び配列番号115からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、CD-20とCD-19に結合し得る結合タンパク質は配列番号112のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号113のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、CD-20とCD-19に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号114のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号115のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0023】

実施形態では、CD-20とCD-3 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号116及び配列番号118からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号117及び配列番号119からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、CD-20とCD-3 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号116のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号117のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、CD-20とCD-3 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号118のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号119のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0024】

実施形態では、CD-20とCD-80に結合し得る結合タンパク質は、配列番号120及び配列番号122からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号121及び配列番号123からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、CD-20とCD-80に結合し得る結合タンパク質は配列番号120のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号121のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、CD-20とCD-80に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、comp r i s e s 配列番号122のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号123のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0025】

実施形態では、CD-20とCD-22に結合し得る結合タンパク質は、配列番号124及び配列番号126からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号125及び配列番号127からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、CD-20とCD-22に結合し得る結合タンパク質は配列番号124のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号125のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、CD-20とCD-22に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号126のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号127のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0026】

実施形態では、CD-20とCD-40に結合し得る結合タンパク質は、配列番号128及び配列番号130からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号129及び配列番号131からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、CD-20とCD-40に結合し得る結合タンパク質は配列番号128のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号129のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、CD-20とCD-40に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号130のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号131のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0027】

実施形態では、CD-3 (seq. 1)とHER-2 (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は、配列番号132及び配列番号134からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号133及び配列番号135からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、CD-3 (seq. 1)とHER-2 (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は配列番号132のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号133のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、CD-3 (seq. 1)とHER-2 (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号134のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号135のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0028】

実施形態では、CD-3 (seq. 1)とCD-19に結合し得る結合タンパク質は、配列番号136及び配列番号138からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号137及び配列番号139からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、CD-3 (seq. 1)とCD-19に結合し得る結合タンパク質は配列番号136のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号137のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、CD-3 (seq. 1)とCD-19に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号138のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号139のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0029】

実施形態では、EGFR (seq. 2)とHER-2 (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は、配列番号140及び配列番号142からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号141及び配列番号143からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 2)とHER-2 (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は配列番号140のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号141のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 2)とHER-2 (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号142のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号143のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0030】

実施形態では、EGFR (seq. 2)とCD-3 (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は、配列番号144及び配列番号146からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号145及び配列番号147からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 2)とCD-3 (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は配列番号144のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号145のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 1)とCD-3 (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号146のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号147のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0031】

実施形態では、EGFR (seq. 2)とIGF1, 2に結合し得る結合タンパク質は、配列番号148及び配列番号150からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号149及び配列番号151からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 2)とIGF1, 2に結合し得る結合タンパク質は配列番号148のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号149のDVD軽鎖ア

10

20

30

40

50

ミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 2) と IGF1, 2 に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 150 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 151 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0032】

実施形態では、EGFR (seq. 2) と IGF1R (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 152 及び配列番号 154 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 153 及び配列番号 155 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 2) と IGF1R (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 152 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 153 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 2) と IGF1R (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 154 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 155 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

10

【0033】

第2実施形態では、EGFR (seq. 2) と IGF1R (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 156 及び配列番号 158 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 157 及び配列番号 159 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 2) と IGF1R (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 156 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 157 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 2) と IGF1R (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 158 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 159 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

20

【0034】

第3実施形態では、EGFR (seq. 2) と IGF1R (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 160 及び配列番号 162 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 161 及び配列番号 163 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 2) と IGF1R (seq. 1) は配列番号 160 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 161 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 2) と IGF1R (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 162 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 163 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

30

【0035】

第4実施形態では、EGFR (seq. 2) と IGF1R (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 164 及び配列番号 166 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 165 及び配列番号 167 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 2) と IGF1R (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 164 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 165 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 2) と IGF1R (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 166 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 167 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

40

【0036】

実施形態では、EGFR (seq. 2) と IGF1R (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 168 及び配列番号 170 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 169 及び配列番号 171 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 2) と IGF1R (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 168 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 169 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 2) と IGF1R (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 170 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 171 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

50

【0037】

第2実施形態では、EGFR (seq. 2) と IGF1R (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号172及び配列番号174からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号173及び配列番号175からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 2) と IGF1R (seq. 2) は配列番号172のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号173のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 2) と IGF1R (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号174のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号175のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0038】

第3実施形態では、EGFR (seq. 2) と IGF1R (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号176及び配列番号178からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号177及び配列番号179からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 2) と IGF1R (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号176のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号177のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 2) と IGF1R (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号178のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号179のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0039】

第4実施形態では、EGFR (seq. 2) と IGF1R (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号18及び配列番号182からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号181及び配列番号183からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 2) と IGF1R (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号180のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号181のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 2) と IGF1R (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号182のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号183のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0040】

実施形態では、EGFR (seq. 2) と IGF1R (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号184及び配列番号186からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号185及び配列番号187からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 2) と IGF1R (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は配列番号184のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号185のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 2) と IGF1R (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号186のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号187のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0041】

第2実施形態では、EGFR (seq. 2) と IGF1R (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号188及び配列番号190からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号189及び配列番号192からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 2) と IGF1R (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は配列番号188のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号189のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 2) と IGF1R (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号190のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号191のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0042】

第3実施形態では、EGFR (seq. 2) と IGF1R (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号192及び配列番号194からなる群から選択されるDVD

重鎖アミノ酸配列、及び配列番号193及び配列番号195からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 2) とIGF1R (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は配列番号192のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号193のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 2) とIGF1R (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号194のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号195のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0043】

第4実施形態では、EGFR (seq. 2) とIGF1R (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号196及び配列番号198からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号197及び配列番号199からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 2) とIGF1R (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は配列番号196のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号197のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 2) とIGF1R (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号198のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号199のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

10

【0044】

実施形態では、EGFR (seq. 2) とRON (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号200及び配列番号202からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号201及び配列番号203からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 2) とRON (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号200のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号201のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 2) とRON (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号202のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号203のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

20

【0045】

第2実施形態では、EGFR (seq. 2) とRON (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号204及び配列番号206からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号205及び配列番号207からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 2) とRON (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号204のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号205のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 2) とRON (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号206のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号207のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

30

【0046】

第3実施形態では、EGFR (seq. 2) とRON (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号208及び配列番号210からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号209及び配列番号211からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 2) とRON (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号208のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号209のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 2) とRON (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号210のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号211のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

40

【0047】

第4実施形態では、EGFR (seq. 2) とRON (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号212及び配列番号214からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号213及び配列番号215からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 2) とRON (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号212のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号

50

213のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 2)とRON (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号214のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号215のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0048】

実施形態では、EGFR (seq. 2)とHGF (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は、配列番号216及び配列番号218からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号217及び配列番号219からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 2)とHGF (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は配列番号216のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号217のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 2)とHGF (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号218のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号219のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

10

【0049】

実施形態では、EGFR (seq. 1)とc-METに結合し得る結合タンパク質は、配列番号220及び配列番号222からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号221及び配列番号223からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 1)とc-METに結合し得る結合タンパク質は配列番号220のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号221のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 1)とc-METに結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号222のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号223のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

20

【0050】

実施形態では、HER-2 (seq. 1)とIGF1, 2に結合し得る結合タンパク質は、配列番号224及び配列番号226からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号225及び配列番号227からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、HER-2 (seq. 1)とIGF1, 2に結合し得る結合タンパク質は配列番号224のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号225のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HER-2 (seq. 1)とIGF1, 2に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号226のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号227のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

30

【0051】

実施形態では、HER-2 (seq. 1)とIGF1Rに結合し得る結合タンパク質は、配列番号228及び配列番号230からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号229及び配列番号231からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、HER-2 (seq. 1)とIGF1Rに結合し得る結合タンパク質は配列番号228のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号229のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HER-2 (seq. 1)とIGF1Rに結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号230のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号231のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

40

【0052】

実施形態では、RON (seq. 1)とHGF (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は、配列番号232及び配列番号234からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号233及び配列番号235からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、RON (seq. 1)とHGF (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は配列番号232のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号233のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、RON (seq. 1)とHGF (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号234のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号235のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0053】

実施形態では、VEGF (seq. 1)とEGFR (seq. 2)に結合し得る結合タ

50

ンパク質は、配列番号236及び配列番号238からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号237及び配列番号239からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 1) とEGFR (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号236のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号237のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 1) とEGFR (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号238のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号239のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0054】

実施形態では、VEGF (seq. 1) とHER-2 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号240及び配列番号242からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号241及び配列番号243からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 1) とHER-2 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号240のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号241のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 1) とHER-2 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号242のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号243のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0055】

実施形態では、VEGF (seq. 1) とCD-20に結合し得る結合タンパク質は、配列番号244及び配列番号246からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号245及び配列番号247からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 1) とCD-20に結合し得る結合タンパク質は配列番号244のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号245のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 1) とCD-20に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号246のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号247のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0056】

実施形態では、VEGF (seq. 1) とIGF1, 2に結合し得る結合タンパク質は、配列番号248及び配列番号250からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号249及び配列番号251からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 1) とIGF1, 2に結合し得る結合タンパク質は配列番号248のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号249のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 1) とIGF1, 2に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号250のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号251のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0057】

実施形態では、VEGF (seq. 1) とDLL-4 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質配列番号252及び配列番号254からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号253及び配列番号255からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 1) とDLL-4 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号252のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号253のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 1) とDLL-4 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号254のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号255のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0058】

実施形態では、VEGF (seq. 1) とHGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号256及び配列番号258からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号257及び配列番号259からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 1) とHGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号256のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号257のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 1) とHG

F (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 258 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 259 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0059】

第 2 実施形態では、VEGF (seq. 1) と HGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 260 及び配列番号 262 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 261 及び配列番号 263 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 1) と HGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 260 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 261 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 1) と HGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 262 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 263 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

10

【0060】

第 3 実施形態では、VEGF (seq. 1) と HGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 264 及び配列番号 266 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 265 及び配列番号 267 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 1) と HGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は列番号 264 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 265 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 1) と HGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 266 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 267 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

20

【0061】

第 4 実施形態では、VEGF (seq. 1) と HGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 268 及び配列番号 270 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 269 及び配列番号 271 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 1) と HGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 268 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 269 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 1) と HGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 270 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 271 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0062】

30

実施形態では、VEGF (seq. 1) と RON (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 272 及び配列番号 274 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 273 及び配列番号 275 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 1) と RON (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 272 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 273 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 1) と RON (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 274 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 275 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0063】

40

実施形態では、VEGF (seq. 1) と NRP1 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 276 及び配列番号 278 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 277 及び配列番号 279 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 1) と NRP1 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 276 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 277 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 1) と NRP1 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 278 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 279 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0064】

実施形態では、RON (seq. 2) と HGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 280 及び配列番号 282 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ

50

酸配列、及び配列番号281及び配列番号282からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、RON (seq. 2)とHGF (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は配列番号280のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号281のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、RON (seq. 2)とHGF (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号282のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号283のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0065】

実施形態では、RON (seq. 2)とEGFR (seq. 2)に結合し得る結合タンパク質は、配列番号284及び配列番号286からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号285及び配列番号287からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、RON (seq. 2)とEGFR (seq. 2)に結合し得る結合タンパク質は配列番号284のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号285のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、RON (seq. 2)とEGFR (seq. 2)に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号286のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号287のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0066】

実施形態では、RON (seq. 2)とVEGF (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は、配列番号288及び配列番号290からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号289及び配列番号291からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、RON (seq. 2)とVEGF (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は配列番号288のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号289のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、RON (seq. 2)とVEGF (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号290のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号291のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0067】

実施形態では、EGFR (seq. 1)とHER-2 (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は、配列番号292及び配列番号294からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号293及び配列番号295からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 1)とHER-2 (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は配列番号292のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号293のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 1)とHER-2 (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号294のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号295のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0068】

実施形態では、EGFR (seq. 1)とCD-3 (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は、配列番号296及び配列番号298からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号297及び配列番号299からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 1)とCD-3 (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は配列番号296のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号297のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 1)とCD-3 (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号298のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号299のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0069】

実施形態では、EGFR (seq. 1)とIGF1Rに結合し得る結合タンパク質は、配列番号300及び配列番号302からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号301及び配列番号303からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 1)とIGF1Rに結合し得る結合タンパク質は配列番号300のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号301のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 1)とIGF1Rに結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号302のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号3

03のDVD重鎖アミノ酸配列を含む。

【0070】

実施形態では、EGFR (seq. 1) とRON (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号304及び配列番号306からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号305及び配列番号307からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 1) とRON (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号304のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号305のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 1) とRON (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号306のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号307のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

10

【0071】

実施形態では、EGFR (seq. 1) とRON (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号308及び配列番号310からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号309及び配列番号311からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 1) とRON (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号308のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号309のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 1) とRON (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号310のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号311のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

20

【0072】

実施形態では、EGFR (seq. 1) とHGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号312及び配列番号314からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号313及び配列番号315からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 1) とHGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質配列番号312のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号313のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 1) とHGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号314のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号315のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0073】

実施形態では、EGFR (seq. 1) とc-METに結合し得る結合タンパク質は、配列番号316及び配列番号318からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号317及び配列番号319からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 1) とc-METに結合し得る結合タンパク質は配列番号316のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号317のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 1) とc-METに結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号318のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号319のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

30

【0074】

実施形態では、EGFR (seq. 1) とVEGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号320及び配列番号322からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号321及び配列番号323からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 1) とVEGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号320のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号321のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態ではEGFR (seq. 1) とVEGF (seq. 1) 、に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号322のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号323のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

40

【0075】

実施形態では、NRP1 (seq. 2) とVEGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号324及び配列番号326からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号325及び配列番号327からなる群から選択されるDVD軽

50

鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、NRP1 (seq. 2) と VEGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 324 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 325 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、NRP1 (seq. 2) と VEGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 326 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 327 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0076】

実施形態では、CD-3 (seq. 2) と CD-20 に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 328 及び配列番号 330 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 329 及び配列番号 331 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、CD-3 (seq. 2) と CD-20 に結合し得る結合タンパク質は配列番号 328 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 329 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、CD-3 (seq. 2) と CD-20 に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 330 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 331 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0077】

実施形態では、CD-3 (seq. 2) と HER-2 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 332 及び配列番号 334 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 333 及び配列番号 335 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、CD-3 (seq. 2) と HER-2 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 332 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 333 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、CD-3 (seq. 2) と HER-2 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 334 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 335 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0078】

実施形態では、CD-3 (seq. 2) と CD-19 に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 336 及び配列番号 338 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 337 及び配列番号 339 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、CD-3 (seq. 2) と CD-19 に結合し得る結合タンパク質は配列番号 336 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 337 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、CD-3 (seq. 2) と CD-19 に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 338 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 339 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0079】

実施形態では、CD-3 (seq. 2) と EGFR (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 340 及び配列番号 342 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 341 及び配列番号 343 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、CD-3 (seq. 2) と EGFR (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 340 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 341 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、CD-3 (seq. 2) と EGFR (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 342 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 343 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0080】

実施形態では、CD-3 (seq. 2) と EGFR (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 344 及び配列番号 346 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 345 及び配列番号 347 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、CD-3 (seq. 2) と EGFR (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 344 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 345 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、CD-3 (seq. 2) と EGFR (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 346 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 347 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0081】

実施形態では、EGFR (seq. 1) と IGF1, 2 に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 348 及び配列番号 350 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 349 及び配列番号 351 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 1) と IGF1, 2 に結合し得る結合タンパク質は配列番号 348 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 349 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 1) と IGF1, 2 に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 350 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 351 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0082】

実施形態では、DLL-4 (seq. 1) と PLGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 352 及び配列番号 354 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 353 及び配列番号 355 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、DLL-4 (seq. 1) と PLGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 352 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 353 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、DLL-4 (seq. 1) と PLGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 354 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 355 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0083】

実施形態では、VEGF (seq. 1) と PLGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 356 及び配列番号 358 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 357 及び配列番号 359 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 1) と PLGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 356 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 357 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 1) と PLGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 358 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 359 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0084】

第 2 実施形態では、VEGF (seq. 1) と PLGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 360 及び配列番号 362 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 361 及び配列番号 363 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 1) と PLGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 360 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 361 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 1) と PLGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 362 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 363 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0085】

第 3 実施形態では、VEGF (seq. 1) と PLGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 364 及び配列番号 366 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 365 及び配列番号 367 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 1) と PLGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 364 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 365 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 1) と PLGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 366 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 367 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0086】

第 4 実施形態では、VEGF (seq. 1) と PLGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 368 及び配列番号 370 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 369 及び配列番号 371 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 1) と PLGF (seq.

10

20

30

40

50

． 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 368 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 369 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 1) と PLGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 370 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 371 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0087】

実施形態では、EGFR (seq. 2) と ErbB3 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 372 及び配列番号 374 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 373 及び配列番号 375 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 2) と ErbB3 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 372 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 373 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 2) と ErbB3 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 374 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 375 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0088】

第 2 実施形態では、EGFR (seq. 2) と ErbB3 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 376 及び配列番号 378 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 377 及び配列番号 379 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 2) と ErbB3 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 376 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 377 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 2) と ErbB3 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 378 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 379 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0089】

第 3 実施形態では、EGFR (seq. 2) と ErbB3 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 380 及び配列番号 382 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 381 及び配列番号 383 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 2) と ErbB3 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 380 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 381 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 2) と ErbB3 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 382 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 383 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0090】

第 4 実施形態では、EGFR (seq. 2) と ErbB3 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 384 及び配列番号 386 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 385 及び配列番号 387 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 2) と ErbB3 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 384 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 385 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 2) と ErbB3 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 386 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 387 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0091】

実施形態では、EGFR (seq. 1) と ErbB3 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 388 及び配列番号 390 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 389 及び配列番号 391 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 1) と ErbB3 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 388 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 389 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 1) と ErbB3 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 3

90のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号391のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0092】

実施形態では、HGF (seq. 1) と ErbB3 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号392及び配列番号394からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号393及び配列番号395からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、HGF (seq. 1) と ErbB3 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号392のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号393のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HGF (seq. 1) と ErbB3 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号394のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号395のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

10

【0093】

実施形態では、EGFR (seq. 2) と ErbB3 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号396及び配列番号398からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号397及び配列番号399からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 2) と ErbB3 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号396のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号397のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 2) と ErbB3 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号398のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号399のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0094】

第2実施形態では、EGFR (seq. 2) と ErbB3 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号400及び配列番号402からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号401及び配列番号403からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 2) と ErbB3 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号400のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号401のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 2) と ErbB3 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号402のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号403のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

20

【0095】

第3実施形態では、EGFR (seq. 2) と ErbB3 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号404及び配列番号406からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号405及び配列番号407からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 2) と ErbB3 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号404のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号405のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 2) と ErbB3 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号406のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号407のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

30

【0096】

第4実施形態では、EGFR (seq. 2) と ErbB3 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号408及び配列番号410からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号409及び配列番号411からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 2) と ErbB3 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号408のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号409のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 2) と ErbB3 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号410のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号411のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

40

【0097】

50

実施形態では、EGFR (seq. 1) と ErbB3 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 412 及び配列番号 414 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 413 及び配列番号 415 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 1) と ErbB3 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 412 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 413 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 1) と ErbB3 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 414 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 415 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0098】

実施形態では、HGF (seq. 1) と ErbB3 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 416 及び配列番号 418 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 417 及び配列番号 419 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、HGF (seq. 1) と ErbB3 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 416 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 417 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HGF (seq. 1) と ErbB3 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 418 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 419 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0099】

実施形態では、VEGF (seq. 1) と DLL-4 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 420 及び配列番号 422 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 421 及び配列番号 423 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 1) と DLL-4 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 420 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 421 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 1) と DLL-4 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 422 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 423 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0100】

第2実施形態では、VEGF (seq. 1) と DLL-4 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 424 及び配列番号 426 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 425 及び配列番号 427 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 1) と DLL-4 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 424 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 425 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 1) と DLL-4 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 426 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 427 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0101】

第3実施形態では、VEGF (seq. 1) と DLL-4 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 428 及び配列番号 430 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 429 及び配列番号 431 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 1) と DLL-4 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 428 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 429 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 1) と DLL-4 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 430 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 431 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0102】

第4実施形態では、VEGF (seq. 1) と DLL-4 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 432 及び配列番号 433 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 434 及び配列番号 435 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 1) と DLL-4 (s

e q. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 432 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 433 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 1) と DLL-4 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 434 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 435 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0103】

実施形態では、VEGF (seq. 2) と DLL-4 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 436 及び配列番号 438 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 437 及び配列番号 439 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 2) と DLL-4 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 436 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 437 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 2) と DLL-4 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 438 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 439 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0104】

第 2 実施形態では、VEGF (seq. 2) と DLL-4 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 440 及び配列番号 442 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 441 及び配列番号 443 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 2) と DLL-4 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 440 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 441 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 2) と DLL-4 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 442 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 443 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0105】

第 3 実施形態では、VEGF (seq. 2) と DLL-4 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 444 及び配列番号 446 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 445 及び配列番号 447 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 2) と DLL-4 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 444 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 445 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 2) と DLL-4 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 446 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 447 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0106】

第 4 実施形態では、VEGF (seq. 2) と DLL-4 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 448 及び配列番号 450 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 449 及び配列番号 451 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 2) と DLL-4 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 448 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 449 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 2) と DLL-4 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 450 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 451 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0107】

実施形態では、VEGF (seq. 3) と DLL-4 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 452 及び配列番号 454 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 453 及び配列番号 455 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 3) と DLL-4 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 452 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列

番号453のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 3) とDLL-4 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号454のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号455のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0108】

第2実施形態では、VEGF (seq. 3) とDLL-4 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号456及び配列番号458からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号457及び配列番号459からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 3) とDLL-4 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号456のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号457のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 3) とDLL-4 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号458のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号459のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

10

【0109】

第3実施形態では、VEGF (seq. 3) とDLL-4 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号460及び配列番号462からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号461及び配列番号463からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 3) とDLL-4 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号460のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号461のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 3) とDLL-4 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号462のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号463のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

20

【0110】

第4実施形態では、VEGF (seq. 3) とDLL-4 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号464及び配列番号466からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号465及び配列番号467からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 3) とDLL-4 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号464のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号465のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 3) とDLL-4 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号466のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号467のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

30

【0111】

実施形態では、VEGF (seq. 2) とDLL-4 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号468及び配列番号470からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号469及び配列番号471からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 2) とDLL-4 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号468のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号469のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 2) とDLL-4 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号470のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号471のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

40

【0112】

第2実施形態では、VEGF (seq. 2) とDLL-4 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号472及び配列番号474からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号473及び配列番号475からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 2) とDLL-4 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号472のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号473のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 2) とDLL-4 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号

50

号 474 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 475 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0113】

第 3 実施形態では、VEGF (seq. 2) と DLL-4 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 476 及び配列番号 478 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 477 及び配列番号 479 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 2) と DLL-4 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 476 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 477 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 2) と DLL-4 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 478 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 479 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

10

【0114】

第 4 実施形態では、VEGF (seq. 2) と DLL-4 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 480 及び配列番号 482 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 481 及び配列番号 483 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 2) と DLL-4 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 480 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 481 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 2) と DLL-4 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 482 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 483 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

20

【0115】

実施形態では、VEGF (seq. 3) と DLL-4 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 484 及び配列番号 486 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 485 及び配列番号 487 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 3) と DLL-4 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 484 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 485 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 3) と DLL-4 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 486 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 487 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

30

【0116】

第 2 実施形態では、VEGF (seq. 3) と DLL-4 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 488 及び配列番号 490 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 489 及び配列番号 491 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 3) と DLL-4 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 488 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 489 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 3) と DLL-4 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 490 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 491 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

40

【0117】

第 3 実施形態では、VEGF (seq. 3) と DLL-4 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 492 及び配列番号 494 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 493 及び配列番号 495 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 3) と DLL-4 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 492 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 493 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 3) と DLL-4 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 494 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 495 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

50

。

【0118】

第4実施形態では、VEGF (seq. 3) とDLL-4 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号496及び配列番号498からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号497及び配列番号499からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 3) とDLL-4 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号496のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号497のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 3) とDLL-4 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号498のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号499のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む

10

。

【0119】

実施形態では、VEGF (seq. 1) とDLL-4 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号500及び配列番号502からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号501及び配列番号503からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 1) とDLL-4 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号500のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号501のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 1) とDLL-4 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号502のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号503のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

20

【0120】

第2実施形態では、VEGF (seq. 1) とDLL-4 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号504及び配列番号506からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号505及び配列番号507からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 1) とDLL-4 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号504のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号505のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 1) とDLL-4 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号506のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号507のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む

30

。

【0121】

第3実施形態では、VEGF (seq. 1) とDLL-4 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号508及び配列番号510からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号509及び配列番号511からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 1) とDLL-4 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号508のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号509のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 1) とDLL-4 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号510のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号511のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む

40

。

【0122】

実施形態では、VEGF (seq. 1) とDLL-4 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号512及び配列番号514からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号513及び配列番号515からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 1) とDLL-4 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は配列番号512のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号513のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 1) とDLL-4 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号514のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号515のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0123】

50

第2実施形態では、VEGF (seq. 1) とDLL-4 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号516及び配列番号518からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号517及び配列番号519からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 1) とDLL-4 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は配列番号516のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号517のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 1) とDLL-4 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号518のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号519のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0124】

10

第3実施形態では、VEGF (seq. 1) とDLL-4 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号520及び配列番号522からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号521及び配列番号523からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 1) とDLL-4 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は配列番号520のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号521のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 1) とDLL-4 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号522のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号523のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0125】

20

第4実施形態では、VEGF (seq. 1) とDLL-4 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号524及び配列番号526からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号525及び配列番号527からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 1) とDLL-4 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は配列番号524のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号525のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 1) とDLL-4 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号526のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号527のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0126】

30

実施形態では、VEGF (seq. 2) とDLL-4 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号528及び配列番号530からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号529及び配列番号531からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 2) とDLL-4 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は配列番号528のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号529のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 2) とDLL-4 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号530のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号531のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0127】

40

第2実施形態では、VEGF (seq. 2) とDLL-4 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号532及び配列番号534からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号533及び配列番号535からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 2) とDLL-4 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は配列番号532のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号533のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 2) とDLL-4 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号534のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号535のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0128】

50

第3実施形態では、VEGF (seq. 2) とDLL-4 (seq. 3) に結合し得る

結合タンパク質は、配列番号536及び配列番号538からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号537及び配列番号539からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 2) とDLL-4 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は配列番号536のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号537のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 2) とDLL-4 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号538のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号539のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0129】

第4実施形態では、VEGF (seq. 2) とDLL-4 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号540及び配列番号542からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号541及び配列番号543からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 2) とDLL-4 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は配列番号540のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号541のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 2) とDLL-4 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号542のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号543のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0130】

実施形態では、VEGF (seq. 3) とDLL-4 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号544及び配列番号546からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号545及び配列番号547からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 3) とDLL-4 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は配列番号544のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号545のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 3) とDLL-4 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号546のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号547のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0131】

第2実施形態では、VEGF (seq. 3) とDLL-4 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号548及び配列番号550からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号549及び配列番号552からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 3) とDLL-4 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は配列番号548のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号549のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 3) とDLL-4 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号550のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号55のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0132】

第3実施形態では、VEGF (seq. 3) とDLL-4 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号552及び配列番号554からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号553及び配列番号555からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 3) とDLL-4 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は配列番号552のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号553のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 3) とDLL-4 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号554のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号555のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0133】

第4実施形態では、VEGF (seq. 3) とDLL-4 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号556及び配列番号558からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号557及び配列番号559からなる群から選択されるD

V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、V E G F (seq. 3) と D L L - 4 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 5 5 6 の D V D 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 5 5 7 の D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、V E G F (seq. 3) と D L L - 4 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 5 5 8 の D V D 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 5 5 9 の D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0134】

実施形態では、V E G F (seq. 1) と D L L - 4 (seq. 4) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 5 6 0 及び配列番号 5 6 2 からなる群から選択される D V D 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 5 6 1 及び配列番号 5 6 3 からなる群から選択される D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、V E G F (seq. 1) と D L L - 4 (seq. 4) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 5 6 0 の D V D 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 5 6 1 の D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、V E G F (seq. 1) と D L L - 4 (seq. 4) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 5 6 2 の D V D 軽鎖アミノ酸配列及び配列番号 5 6 3 の D V D 重鎖アミノ酸配列を含む。

【0135】

第 2 実施形態では、V E G F (seq. 1) と D L L - 4 (seq. 4) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 5 6 4 及び配列番号 5 6 6 からなる群から選択される D V D 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 5 6 5 及び配列番号 5 6 7 からなる群から選択される D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、V E G F (seq. 1) と D L L - 4 (seq. 4) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 5 6 4 の D V D 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 5 6 5 の D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、V E G F (seq. 1) と D L L - 4 (seq. 4) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 5 6 6 の D V D 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 5 6 7 の D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0136】

第 3 実施形態では、V E G F (seq. 1) と D L L - 4 (seq. 4) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 5 6 8 及び配列番号 5 7 0 からなる群から選択される D V D 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 5 6 9 及び配列番号 5 7 1 からなる群から選択される D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、V E G F (seq. 1) と D L L - 4 (seq. 4) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 5 6 8 の D V D 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 5 6 9 の D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、V E G F (seq. 1) と D L L - 4 (seq. 4) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 5 7 0 の D V D 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 5 7 1 の D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0137】

第 4 実施形態では、V E G F (seq. 1) と D L L - 4 (seq. 4) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 5 7 2 及び配列番号 5 7 4 からなる群から選択される D V D 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 5 7 3 及び配列番号 5 7 5 からなる群から選択される D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、V E G F (seq. 1) と D L L - 4 (seq. 4) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 5 7 2 の D V D 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 5 7 3 の D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、V E G F (seq. 1) と D L L - 4 (seq. 4) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 5 7 4 の D V D 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 5 7 5 の D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0138】

実施形態では、V E G F (seq. 2) と D L L - 4 (seq. 4) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 5 7 6 及び配列番号 5 7 8 からなる群から選択される D V D 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 5 7 7 及び配列番号 5 7 9 からなる群から選択される D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、V E G F (seq. 2) と D L L - 4 (seq.

． 4）に結合し得る結合タンパク質は配列番号 576 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 577 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF（seq. 2）と DLL-4（seq. 4）に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 578 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 579 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0139】

第 2 実施形態では、VEGF（seq. 2）と DLL-4（seq. 4）に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 580 及び配列番号 582 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 581 及び配列番号 583 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF（seq. 2）と DLL-4（seq. 4）に結合し得る結合タンパク質は配列番号 580 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 581 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF（seq. 2）と DLL-4（seq. 4）に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 582 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 583 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

10

【0140】

第 3 実施形態では、VEGF（seq. 2）と DLL-4（seq. 4）に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 584 及び配列番号 586 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 585 及び配列番号 587 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF（seq. 2）と DLL-4（seq. 4）に結合し得る結合タンパク質は配列番号 584 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 585 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF（seq. 2）と DLL-4（seq. 4）に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 586 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 587 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

20

【0141】

第 4 実施形態では、VEGF（seq. 2）と DLL-4（seq. 4）に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 588 及び配列番号 590 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 589 及び配列番号 591 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF（seq. 2）と DLL-4（seq. 4）に結合し得る結合タンパク質は配列番号 588 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 589 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF（seq. 2）と DLL-4（seq. 4）に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 590 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 591 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

30

【0142】

実施形態では、VEGF（seq. 3）と DLL-4（seq. 4）に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 592 及び配列番号 594 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 593 及び配列番号 595 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF（seq. 3）と DLL-4（seq. 4）に結合し得る結合タンパク質は配列番号 592 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 593 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF（seq. 3）と DLL-4（seq. 4）に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 594 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 595 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

40

【0143】

第 2 実施形態では、VEGF（seq. 3）と DLL-4（seq. 4）に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 596 及び配列番号 598 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 597 及び配列番号 599 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF（seq. 3）と DLL-4（seq. 4）に結合し得る結合タンパク質は配列番号 596 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 597 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF（seq.

50

． 3）と D L L－4（seq． 4）に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 5 9 8 の D V D 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 5 9 9 の D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0144】

第 3 実施形態では、V E G F（seq． 3）と D L L－4（seq． 4）に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 6 0 0 及び配列番号 6 0 2 からなる群から選択される D V D 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 6 0 1 及び配列番号 6 0 3 からなる群から選択される D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、V E G F（seq． 3）と D L L－4（seq． 4）に結合し得る結合タンパク質は配列番号 6 0 0 の D V D 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 6 0 1 の D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、V E G F（seq． 3）と D L L－4（seq． 4）に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 6 0 2 の D V D 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 6 0 3 の D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。

10

【0145】

第 4 実施形態では、V E G F（seq． 3）と D L L－4（seq． 4）に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 6 0 4 及び配列番号 6 0 6 からなる群から選択される D V D 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 6 0 5 及び配列番号 6 0 7 からなる群から選択される D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、V E G F（seq． 3）と D L L－4（seq． 4）に結合し得る結合タンパク質は配列番号 6 0 4 の D V D 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 6 0 5 の D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、V E G F（seq． 3）と D L L－4（seq． 4）に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 6 0 6 の D V D 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 6 0 7 の D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。

20

【0146】

実施形態では、H E R－2（seq． 1）と E r b B 3（seq． 1）に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 6 0 8 及び配列番号 6 1 0 からなる群から選択される D V D 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 6 0 9 及び配列番号 6 1 1 からなる群から選択される D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、H E R－2（seq． 1）と E r b B 3（seq． 1）に結合し得る結合タンパク質は配列番号 6 0 8 の D V D 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 6 0 9 の D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、H E R－2（seq． 1）と E r b B 3（seq． 1）に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 6 1 0 の D V D 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 6 1 1 の D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。

30

【0147】

第 2 実施形態では、H E R－2（seq． 1）と E r b B 3（seq． 1）に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 6 1 2 及び配列番号 6 1 4 からなる群から選択される D V D 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 6 1 3 及び配列番号 6 1 5 からなる群から選択される D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、H E R－2（seq． 1）と E r b B 3（seq． 1）に結合し得る結合タンパク質は配列番号 6 1 2 の D V D 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 6 1 3 の D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、H E R－2（seq． 1）と E r b B 3（seq． 1）に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 6 1 4 の D V D 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 6 1 5 の D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。

40

【0148】

第 3 実施形態では、H E R－2（seq． 1）と E r b B 3（seq． 1）に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 6 1 6 及び配列番号 6 1 8 からなる群から選択される D V D 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 6 1 7 及び配列番号 6 1 9 からなる群から選択される D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、H E R－2（seq． 1）と E r b B 3（seq． 1）に結合し得る結合タンパク質は配列番号 6 1 6 の D V D 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 6 1 7 の D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、H E R－2（

50

s e q. 1) と E r b B 3 (s e q. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 6 1 8 の D V D 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 6 1 9 の D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0149】

第4実施形態では、H E R - 2 (s e q. 1) と E r b B 3 (s e q. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 6 2 0 及び配列番号 6 2 2 からなる群から選択される D V D 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 6 2 1 及び配列番号 6 2 3 からなる群から選択される D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、H E R - 2 (s e q. 1) と E r b B 3 (s e q. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 6 2 0 の D V D 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 6 2 1 の D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、H E R - 2 (s e q. 1) と E r b B 3 (s e q. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 6 2 2 の D V D 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 6 2 3 の D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。

10

【0150】

実施形態では、H E R - 2 (s e q. 1) と E r b B 3 (s e q. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 6 2 4 及び配列番号 6 2 6 からなる群から選択される D V D 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 6 2 5 及び配列番号 6 2 7 からなる群から選択される D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、H E R - 2 (s e q. 1) と E r b B 3 (s e q. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 6 2 4 の D V D 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 6 2 5 の D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、H E R - 2 (s e q. 1) と E r b B 3 (s e q. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 6 2 6 の D V D 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 6 2 7 の D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。

20

【0151】

第2実施形態では、H E R - 2 (s e q. 1) と E r b B 3 (s e q. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 6 2 8 及び配列番号 6 3 0 からなる群から選択される D V D 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 6 2 9 及び配列番号 6 3 1 からなる群から選択される D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、H E R - 2 (s e q. 1) と E r b B 3 (s e q. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 6 2 8 の D V D 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 6 2 9 の D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、H E R - 2 (s e q. 1) と E r b B 3 (s e q. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 6 3 0 の D V D 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 6 3 1 の D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。

30

【0152】

第3実施形態では、H E R - 2 (s e q. 1) と E r b B 3 (s e q. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 6 3 2 及び配列番号 6 3 4 からなる群から選択される D V D 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 6 3 3 及び配列番号 6 3 5 からなる群から選択される D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、H E R - 2 (s e q. 1) と E r b B 3 (s e q. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 6 3 2 の D V D 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 6 3 3 の D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、H E R - 2 (s e q. 1) と E r b B 3 (s e q. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 6 3 4 の D V D 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 6 3 5 の D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。

40

【0153】

第4実施形態では、H E R - 2 (s e q. 1) と E r b B 3 (s e q. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 6 3 6 及び配列番号 6 3 8 からなる群から選択される D V D 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 6 3 7 及び配列番号 6 3 9 からなる群から選択される D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、H E R - 2 (s e q. 1) と E r b B 3 (s e q. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 6 3 6 の D V D 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 6 3 7 の D V D 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、H E R - 2 (

50

seq. 1) と ErbB3 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 638 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 639 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0154】

実施形態では、EGFR (seq. 2) と ErbB3 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 640 及び配列番号 642 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 641 及び配列番号 643 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 2) と ErbB3 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 640 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 641 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 2) と ErbB3 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 642 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 643 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

10

【0155】

第 2 実施形態では、EGFR (seq. 2) と ErbB3 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 644 及び配列番号 646 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列; 及び配列番号 645 及び配列番号 647 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 2) と ErbB3 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 644 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 645 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 2) と ErbB3 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 646 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 647 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

20

【0156】

第 3 実施形態では、EGFR (seq. 2) と ErbB3 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 648 及び配列番号 650 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 649 及び配列番号 651 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 2) と ErbB3 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 648 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 649 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 2) と ErbB3 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 650 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 651 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

30

【0157】

第 4 実施形態では、EGFR (seq. 2) と ErbB3 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 652 及び配列番号 654 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 653 及び配列番号 655 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、EGFR (seq. 2) と ErbB3 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 652 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 653 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、EGFR (seq. 2) と ErbB3 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 654 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 655 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

40

【0158】

実施形態では、HER-2 (seq. 1) と ErbB3 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 656 及び配列番号 658 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 657 及び配列番号 659 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、HER-2 (seq. 1) と ErbB3 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 656 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 657 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HER-2 (seq. 1) と ErbB3 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列

50

番号 658 の DVD 重鎖 アミノ酸配列及び配列番号 659 の DVD 軽鎖 アミノ酸配列を含む。

【0159】

第 2 実施形態では、HER-2 (seq. 1) と ErbB3 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 660 及び配列番号 662 からなる群から選択される DVD 重鎖 アミノ酸配列、及び配列番号 661 及び配列番号 663 からなる群から選択される DVD 軽鎖 アミノ酸配列を含む。実施形態では、HER-2 (seq. 1) と ErbB3 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 660 の DVD 重鎖 アミノ酸配列及び配列番号 661 の DVD 軽鎖 アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HER-2 (seq. 1) と ErbB3 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 662 の DVD 重鎖 アミノ酸配列及び配列番号 663 の DVD 軽鎖 アミノ酸配列を含む。

10

【0160】

第 3 実施形態では、HER-2 (seq. 1) と ErbB3 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 664 及び配列番号 666 からなる群から選択される DVD 重鎖 アミノ酸配列、及び配列番号 665 及び配列番号 667 からなる群から選択される DVD 軽鎖 アミノ酸配列を含む。実施形態では、HER-2 (seq. 1) と ErbB3 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 664 の DVD 重鎖 アミノ酸配列及び配列番号 665 の DVD 軽鎖 アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HER-2 (seq. 1) と ErbB3 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 666 の DVD 重鎖 アミノ酸配列及び配列番号 667 の DVD 軽鎖 アミノ酸配列を含む。

20

【0161】

第 4 実施形態では、HER-2 (seq. 1) と ErbB3 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 668 及び配列番号 670 からなる群から選択される DVD 重鎖 アミノ酸配列、及び配列番号 669 及び配列番号 671 からなる群から選択される DVD 軽鎖 アミノ酸配列を含む。実施形態では、HER-2 (seq. 1) と ErbB3 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 668 の DVD 重鎖 アミノ酸配列及び配列番号 669 の DVD 軽鎖 アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HER-2 (seq. 1) と ErbB3 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 670 の DVD 重鎖 アミノ酸配列及び配列番号 671 の DVD 軽鎖 アミノ酸配列を含む。

30

【0162】

実施形態では、VEGF (seq. 1) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 672 及び配列番号 674 からなる群から選択される DVD 重鎖 アミノ酸配列、及び配列番号 673 及び配列番号 675 からなる群から選択される DVD 軽鎖 アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 1) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 672 の DVD 重鎖 アミノ酸配列及び配列番号 673 の DVD 軽鎖 アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 1) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 674 の DVD 重鎖 アミノ酸配列及び配列番号 675 の DVD 軽鎖 アミノ酸配列を含む。

40

【0163】

第 2 実施形態では、VEGF (seq. 1) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 676 及び配列番号 678 からなる群から選択される DVD 重鎖 アミノ酸配列、及び配列番号 677 及び配列番号 679 からなる群から選択される DVD 軽鎖 アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 1) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 676 の DVD 重鎖 アミノ酸配列及び配列番号 677 の DVD 軽鎖 アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 1) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 678 の DVD 重鎖 アミノ酸配列及び配列番号 679 の DVD 軽鎖 アミノ酸配列を含む。

50

【0164】

第3実施形態では、VEGF (seq. 1) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号680及び配列番号682からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号681及び配列番号683からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 1) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号680のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号681のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 1) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号682のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号683のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0165】

第4実施形態では、VEGF (seq. 1) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号684及び配列番号686からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号685及び配列番号687からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 1) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号684のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号685のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 1) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号686のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号687のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0166】

実施形態では、VEGF (seq. 2) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号688及び配列番号690からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号689及び配列番号691からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 2) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号688のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号689のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 2) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号690のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号691のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0167】

第2実施形態では、VEGF (seq. 2) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号692及び配列番号694からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号693及び配列番号695からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 2) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号692のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号693のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 2) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号694のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号695のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0168】

第3実施形態では、VEGF (seq. 2) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号696及び配列番号698からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号697及び配列番号699からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 2) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号696のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号697のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 2) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号698のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号699のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0169】

第4実施形態では、VEGF (seq. 2) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号700及び配列番号702からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号701及び配列番号703からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 2) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号700のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号701のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

10

20

30

40

50

． 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 700 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 701 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 2) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 702 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 703 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0170】

実施形態では、VEGF (seq. 3) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 704 及び配列番号 706 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 705 及び配列番号 707 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 3) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 704 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 705 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 3) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 706 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 707 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

10

【0171】

第 2 実施形態では、VEGF (seq. 3) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 708 及び配列番号 710 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 709 及び配列番号 711 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 3) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 708 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 709 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 3) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 710 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 711 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

20

【0172】

第 3 実施形態では、VEGF (seq. 3) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 712 及び配列番号 714 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 713 及び配列番号 715 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 3) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 712 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 713 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 3) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 714 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 715 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

30

【0173】

第 4 実施形態では、VEGF (seq. 3) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 716 及び配列番号 718 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 717 及び配列番号 719 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、VEGF (seq. 3) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 716 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 717 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、VEGF (seq. 3) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 718 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 719 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

40

【0174】

実施形態では、HER-2 (seq. 1) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 720 及び配列番号 722 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 721 及び配列番号 723 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、HER-2 (seq. 1) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 720 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 721 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HER-2 (seq. 1) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 722 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 723 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0175】

50

第2実施形態では、HER-2 (seq. 1) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号724及び配列番号726からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号725及び配列番号727からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、HER-2 (seq. 1) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号724のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号725のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HER-2 (seq. 1) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号726のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号727のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0176】

10

第3実施形態では、HER-2 (seq. 1) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号728及び配列番号730からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号729及び配列番号731からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、HER-2 (seq. 1) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号728のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号729のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HER-2 (seq. 1) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号730のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号731のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0177】

20

第4実施形態では、HER-2 (seq. 1) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号732及び配列番号734からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号733及び配列番号735からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、HER-2 (seq. 1) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号732のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号733のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HER-2 (seq. 1) と PLGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号734のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号735のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0178】

30

実施形態では、PLGF (seq. 1) と VEGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号736及び配列番号738からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列；及び配列番号737及び配列番号739からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、PLGF (seq. 1) と VEGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号736のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号737のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、PLGF (seq. 1) と VEGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号738のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号739のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0179】

40

第2実施形態では、PLGF (seq. 1) と VEGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号740及び配列番号742からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号741及び配列番号743からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、PLGF (seq. 1) と VEGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号740のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号741のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、PLGF (seq. 1) と VEGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号742のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号743のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0180】

50

第3実施形態では、PLGF (seq. 1) と VEGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号744及び配列番号746からなる群から選択されるDVD重

鎖アミノ酸配列、及び配列番号745及び配列番号747からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、PLGF (seq. 1)とVEGF (seq. 2)に結合し得る結合タンパク質は配列番号744のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号745のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、PLGF (seq. 1)とVEGF (seq. 2)に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号746のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号747のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0181】

第4実施形態では、PLGF (seq. 1)とVEGF (seq. 2)に結合し得る結合タンパク質は、配列番号748及び配列番号750からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号749及び配列番号751からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、PLGF (seq. 1)とVEGF (seq. 2)に結合し得る結合タンパク質は配列番号748のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号749のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、PLGF (seq. 1)とVEGF (seq. 2)に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号750のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号751のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0182】

実施形態では、PLGF (seq. 1)とVEGF (seq. 3)に結合し得る結合タンパク質は、配列番号752及び配列番号754からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号753及び配列番号755からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、PLGF (seq. 1)とVEGF (seq. 3)に結合し得る結合タンパク質は配列番号752のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号753のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、PLGF (seq. 1)とVEGF (seq. 3)に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号754のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号755のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0183】

第2実施形態では、PLGF (seq. 1)とVEGF (seq. 3)に結合し得る結合タンパク質は、配列番号756及び配列番号758からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号757及び配列番号759からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、PLGF (seq. 1)とVEGF (seq. 3)に結合し得る結合タンパク質は配列番号756のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号757のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、PLGF (seq. 1)とVEGF (seq. 3)に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号758のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号759のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0184】

第3実施形態では、PLGF (seq. 1)とVEGF (seq. 3)に結合し得る結合タンパク質は、配列番号760及び配列番号762からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号761及び配列番号763からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、PLGF (seq. 1)とVEGF (seq. 3)に結合し得る結合タンパク質は配列番号760のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号761のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、PLGF (seq. 1)とVEGF (seq. 3)に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号762のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号763のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0185】

第4実施形態では、PLGF (seq. 1)とVEGF (seq. 3)に結合し得る結合タンパク質は、配列番号764及び配列番号766からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号765及び配列番号767からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、PLGF (seq. 1)とVEGF (seq. 3)に結合し得る結合タンパク質は配列番号764のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号765のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、PLGF (seq. 1)とVEGF (seq. 3)に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号76

6のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号767のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0186】

実施形態では、HER-2 (seq. 1)とPLGF (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は、配列番号768及び配列番号770からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号769及び配列番号771からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、HER-2 (seq. 1)とPLGF (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は配列番号768のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号769のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HER-2 (seq. 1)とPLGF (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号770のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号771のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

10

【0187】

第2実施形態では、HER-2 (seq. 1)とPLGF (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は、配列番号772及び配列番号774からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号773及び配列番号775からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、HER-2 (seq. 1)とPLGF (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は配列番号772のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号773のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HER-2 (seq. 1)とPLGF (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号774のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号775のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

20

【0188】

第3実施形態では、HER-2 (seq. 1)とPLGF (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は、配列番号776及び配列番号778からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号779及び配列番号781からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、HER-2 (seq. 1)とPLGF (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は配列番号776のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号777のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HER-2 (seq. 1)とPLGF (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号7678のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号779のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

30

【0189】

第4実施形態では、HER-2 (seq. 1)とPLGF (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は、配列番号780及び配列番号782からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号781及び配列番号783からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、HER-2 (seq. 1)とPLGF (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は、配列番号780のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号781のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HER-2 (seq. 1)とPLGF (seq. 1)に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号782のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号783のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

40

【0190】

実施形態では、HGF (seq. 1)とVEGF (seq. 2)に結合し得る結合タンパク質は、配列番号784及び配列番号786からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号785及び配列番号787からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列に結合し得る結合タンパク質を含む。実施形態では、HGF (seq. 1)とVEGF (seq. 2)に結合し得る結合タンパク質は配列番号784のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号785のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HGF (seq. 1)とVEGF (seq. 2)に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号786のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号787のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

50

【0191】

第2実施形態では、HGF (seq. 1) とVEGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号788及び配列番号790からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号789及び配列番号791からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、HGF (seq. 1) とVEGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号788のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号789のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HGF (seq. 1) とVEGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号790のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号791のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0192】

第3実施形態では、HGF (seq. 1) とVEGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号792及び配列番号794からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号793及び配列番号795からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、HGF (seq. 1) とVEGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号792のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号793のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HGF (seq. 1) とVEGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号794のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号795のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0193】

第4実施形態では、HGF (seq. 1) とVEGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号796及び配列番号798からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号797及び配列番号799からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、HGF (seq. 1) とVEGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号796のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号797のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HGF (seq. 1) とVEGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号798のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号799のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0194】

実施形態では、HGF (seq. 1) とVEGF (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号800及び配列番号802からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号801及び配列番号803からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、HGF (seq. 1) とVEGF (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は配列番号800のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号801のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HGF (seq. 1) とVEGF (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号802のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号803のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0195】

第2実施形態では、HGF (seq. 1) とVEGF (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号804及び配列番号806からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号805及び配列番号807からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、HGF (seq. 1) とVEGF (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は配列番号804のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号805のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HGF (seq. 1) とVEGF (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号806のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号807のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0196】

第3実施形態では、HGF (seq. 1) とVEGF (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号808及び配列番号810からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号809及び配列番号811からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、HGF (seq. 1) とVEGF (seq. 3)

10

20

30

40

50

）に結合し得る結合タンパク質は配列番号 808 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 809 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HGF (seq. 1) と VEGF (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 810 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 811 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0197】

第 4 実施形態では、HGF (seq. 1) と VEGF (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 812 及び配列番号 814 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 813 及び配列番号 815 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、HGF (seq. 1) と VEGF (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 812 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 813 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HGF (seq. 1) と VEGF (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 814 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 815 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0198】

実施形態では、HGF (seq. 2) と VEGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 816 及び配列番号 818 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 817 及び配列番号 819 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、HGF (seq. 2) と VEGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 816 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 817 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HGF (seq. 2) と VEGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 818 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 819 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0199】

第 2 実施形態では、HGF (seq. 2) と VEGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 820 及び配列番号 822 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 821 及び配列番号 823 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、HGF (seq. 2) と VEGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 820 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 821 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HGF (seq. 2) と VEGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 822 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 823 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0200】

第 3 実施形態では、HGF (seq. 2) と VEGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 824 及び配列番号 826 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 825 及び配列番号 827 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、HGF (seq. 2) と VEGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 824 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 825 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HGF (seq. 2) と VEGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 826 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 827 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0201】

第 4 実施形態では、HGF (seq. 2) と VEGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 828 及び配列番号 830 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 829 及び配列番号 831 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、HGF (seq. 2) と VEGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 828 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 829 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HGF (seq. 2) と VEGF (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 830 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 831 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0202】

実施形態では、HGF (seq. 2) と VEGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 832 及び配列番号 834 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 833 及び配列番号 835 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、HGF (seq. 2) と VEGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 832 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 833 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HGF (seq. 2) と VEGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 834 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 835 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0203】

第 2 実施形態では、HGF (seq. 2) と VEGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 836 及び配列番号 838 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 837 及び配列番号 839 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、HGF (seq. 2) と VEGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 836 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 837 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HGF (seq. 2) と VEGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 838 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 839 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0204】

第 3 実施形態では、HGF (seq. 2) と VEGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 840 及び配列番号 842 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 841 及び配列番号 843 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、HGF (seq. 2) と VEGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 840 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 841 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HGF (seq. 2) と VEGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 842 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 843 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0205】

第 4 実施形態では、HGF (seq. 2) と VEGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 844 及び配列番号 846 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 845 及び配列番号 847 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、HGF (seq. 2) と VEGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 844 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 845 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HGF (seq. 2) と VEGF (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 846 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 847 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0206】

実施形態では、HGF (seq. 2) と VEGF (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 848 及び配列番号 850 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 849 及び配列番号 851 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、HGF (seq. 2) と VEGF (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 848 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 849 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HGF (seq. 2) と VEGF (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 850 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 851 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0207】

第 2 実施形態では、HGF (seq. 2) と VEGF (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 852 及び配列番号 854 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 853 及び配列番号 855 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、HGF (seq. 2) と VEGF (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 852 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号

853のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HGF (seq. 2)とVEGF (seq. 3)に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号85のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号855のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0208】

第3実施形態では、HGF (seq. 2)とVEGF (seq. 3)に結合し得る結合タンパク質は、配列番号856及び配列番号858からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列;及び配列番号857及び配列番号859からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、HGF (seq. 2)とVEGF (seq. 3)に結合し得る結合タンパク質は配列番号856のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号857のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HGF (seq. 2)とVEGF (seq. 3)に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号858のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号859のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

10

【0209】

第4実施形態では、HGF (seq. 2)とVEGF (seq. 3)に結合し得る結合タンパク質は、配列番号860及び配列番号862からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号861及び配列番号863からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、HGF (seq. 2)とVEGF (seq. 3)に結合し得る結合タンパク質は配列番号860のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号861のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HGF (seq. 2)とVEGF (seq. 3)に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号862のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号863のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

20

【0210】

実施形態では、HER-2 (seq. 1)とHER-2 (seq. 2)に結合し得る結合タンパク質は、配列番号864及び配列番号866からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号865及び配列番号867からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、HER-2 (seq. 1)とHER-2 (seq. 2)に結合し得る結合タンパク質は配列番号864DVDの重鎖アミノ酸配列及び配列番号865のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HER-2 (seq. 1)とHER-2 (seq. 2)に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号866のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号867のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

30

【0211】

第2実施形態では、HER-2 (seq. 1)とHER-2 (seq. 2)に結合し得る結合タンパク質は、配列番号868及び配列番号870からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号869及び配列番号871からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、HER-2 (seq. 1)とHER-2 (seq. 2)に結合し得る結合タンパク質は配列番号858のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号869のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HER-2 (seq. 1)とHER-2 (seq. 2)に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号870のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号871のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

40

【0212】

第3実施形態では、HER-2 (seq. 1)とHER-2 (seq. 2)に結合し得る結合タンパク質は、配列番号872及び配列番号874からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号873及び配列番号875からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、HER-2 (seq. 1)とHER-2 (seq. 2)に結合し得る結合タンパク質は配列番号872のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号873のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HER-2 (seq. 1)とHER-2 (seq. 2)に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号874のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号875のDVD軽鎖アミノ酸配列

50

を含む。

【0213】

第4実施形態では、HER-2 (seq. 1) と HER-2 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号876及び配列番号878からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号877及び配列番号879からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、HER-2 (seq. 1) と HER-2 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号876のDVDの重鎖アミノ酸配列及び配列番号877のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、HER-2 (seq. 1) と HER-2 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号878のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号879のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

10

【0214】

実施形態では、CD-3 (seq. 2) と CD-19 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号880及び配列番号882からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号881及び配列番号883からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、CD-3 (seq. 2) と CD-19 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号880のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号881のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、CD-3 (seq. 2) と CD-19 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号882のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号883のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

20

【0215】

実施形態では、CD-3 (seq. 3) と CD-19 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号884及び配列番号886からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号885及び配列番号887からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、CD-3 (seq. 3) と CD-19 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号884のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号885のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、CD-3 (seq. 3) と CD-19 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号886のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号887のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0216】

実施形態では、CD-3 (seq. 2) と CD-19 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号888及び配列番号890からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号889及び配列番号891からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、CD-3 (seq. 2) と CD-19 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は配列番号888のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号889のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、CD-3 (seq. 2) と CD-19 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号890のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号891のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

30

【0217】

実施形態では、CD-3 (seq. 3) と CD-19 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号892及び配列番号894からなる群から選択されるDVD重鎖アミノ酸配列、及び配列番号893及び配列番号895からなる群から選択されるDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、CD-3 (seq. 3) と CD-19 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は配列番号892のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号893のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、CD-3 (seq. 3) と CD-19 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号894のDVD重鎖アミノ酸配列及び配列番号895のDVD軽鎖アミノ酸配列を含む。

40

【0218】

実施形態では、CD-3 (seq. 2) と CD-19 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号896及び配列番号898からなる群から選択されるDVD重鎖

50

アミノ酸配列、及び配列番号 897 及び配列番号 899 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、CD-3 (seq. 2) と CD-19 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 896 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 897 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、CD-3 (seq. 2) と CD-19 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 898 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 899 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0219】

実施形態では、CD-3 (seq. 3) と CD-19 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 900 及び配列番号 902 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 901 及び配列番号 903 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、CD-3 (seq. 3) と CD-19 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 900 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 901 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、CD-3 (seq. 3) と CD-19 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 9032 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 903 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0220】

実施形態では、CD-3 (seq. 4) と CD-19 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 904 及び配列番号 906 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 905 及び配列番号 907 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、CD-3 (seq. 4) と CD-19 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 904 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 905 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、CD-3 (seq. 4) と CD-19 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 906 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 907 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0221】

実施形態では、CD-3 (seq. 4) と CD-19 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 908 及び配列番号 910 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 909 及び配列番号 911 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、CD-3 (seq. 4) と CD-19 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 908 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 909 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、CD-3 (seq. 4) と CD-19 (seq. 3) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 910 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 911 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0222】

実施形態では、CD-3 (seq. 4) と CD-19 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 912 及び配列番号 914 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 913 及び配列番号 915 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、CD-3 (seq. 4) と CD-19 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 912 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 913 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、CD-3 (seq. 4) と CD-19 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 914 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 915 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、CD-3 (seq. 4) と CD-19 (seq. 1) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 916 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 917 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0223】

実施形態では、CD-3 (seq. 2) と CD-19 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 918 及び配列番号 920 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 91999 及び配列番号 921 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、CD-3 (seq. 2) と CD-19 (s

10

20

30

40

50

e q. 2) に結合し得る結合タンパク質は配列番号 918 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 919 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、CD-3 (seq. 2) と CD-19 (seq. 2) に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 920 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 921 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0224】

実施形態では、マウス mCD-3 とマウス mCD-19 に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 922 及び配列番号 924 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 923 及び配列番号 925 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、mCD-3 と mCD-19 に結合し得る結合タンパク質は配列番号 922 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 923 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、mCD-3 と mCD-19 に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 924 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 925 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

10

【0225】

別の実施形態では、マウス mCD-3 とマウス mCD-19 に結合し得る結合タンパク質は、配列番号 926 及び配列番号 928 からなる群から選択される DVD 重鎖アミノ酸配列、及び配列番号 927 及び配列番号 929 からなる群から選択される DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。実施形態では、mCD-3 と mCD-19 に結合し得る結合タンパク質は配列番号 926 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 927 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、mCD-3 と mCD-19 に結合し得る結合タンパク質は逆配向を有し、配列番号 928 の DVD 重鎖アミノ酸配列及び配列番号 929 の DVD 軽鎖アミノ酸配列を含む。

20

【0226】

別の実施形態では、本発明はポリペプチド鎖を含む結合タンパク質を提供し、前記ポリペプチド鎖は $VD1-(X1)_n-VD2-C-(X2)_n$ (ここで、VD1 は第 1 親抗体またはその抗原結合部分から得られる第 1 重鎖可変ドメインであり；VD2 は第 2 親抗体またはその抗原結合部分から得られる第 2 重鎖可変ドメインであり；C は重鎖定常ドメインであり； $(X1)_n$ はリンカーであり、ただし CH1 ではなく、 $(X1)_n$ は存在するか存在せず； $(X2)_n$ は Fc 領域であり、 $(X2)_n$ は存在するか存在しない) からなる。実施形態では、Fc 領域は結合タンパク質から存在しない。

30

【0227】

別の実施形態では、本発明はポリペプチド鎖を含む結合タンパク質を提供し、前記ポリペプチド鎖は $VD1-(X1)_n-VD2-C-(X2)_n$ (ここで、VD1 は第 1 親抗体またはその抗原結合部分から得られる第 1 軽鎖可変ドメインであり；VD2 は第 2 親抗体またはその抗原結合部分から得られる第 2 軽鎖可変ドメインであり；C は軽鎖定常ドメインであり； $(X1)_n$ はリンカーであり、ただし CH1 ではなく、 $(X1)_n$ は存在するか存在せず； $(X2)_n$ は Fc 領域を含まず、 $(X2)$ は存在するか存在しない) からなる。実施形態では、 $(X2)_n$ は結合タンパク質から存在しない。

40

【0228】

別の実施形態では、本発明の結合タンパク質は第 1 及び第 2 ポリペプチド鎖を含み、前記第 1 ポリペプチド鎖は第 1 $VD1-(X1)_n-VD2-C-(X2)_n$ (ここで、VD1 は第 1 親抗体またはその抗原結合部分から得られる第 1 重鎖可変ドメインであり；VD2 は第 2 親抗体またはその抗原結合部分から得られる第 2 重鎖可変ドメインであり；C は重鎖定常ドメインであり； $(X1)_n$ はリンカーであり、ただし CH1 ではなく、 $(X1)_n$ は存在するか存在せず； $(X2)_n$ は Fc 領域であり、 $(X2)_n$ は存在するか存在しない) からなり、第 2 ポリペプチド鎖は第 2 $VD1-(X1)_n-VD2-C-(X2)_n$ (ここで、VD1 は第 1 親抗体またはその抗原結合部分から得られる第 1 軽鎖可変ドメインであり；VD2 は第 2 親抗体またはその抗原結合部分から得られる第 2 軽鎖可変ドメインであり；C は軽鎖定常ドメインであり； $(X1)_n$ はリンカーであり、ただし C

50

H 1ではなく、 $(X 1)_n$ は存在するか存在せず； $(X 2)_n$ はFc領域を含まず、 $(X 2)_n$ は存在するか存在しない）からなる。別の実施形態では、結合タンパク質は2つの第1ポリペプチド鎖及び2つの第2ポリペプチド鎖を含む。更に別の実施形態では、 $(X 2)_n$ は第2ポリペプチドから存在しない。さらに別の実施形態では、第1ポリペプチド中に存在するならば、Fc領域は未変性配列Fc領域及びバリエーション配列Fc領域からなる群から選択される。さらに別の実施形態では、Fc領域はIgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgM、IgE及びIgD由来のFc領域からなる群から選択される。

【0229】

別の実施形態では、本発明の結合タンパク質は4つのポリペプチド鎖を含む2つの抗原に結合し得るDVD-Igであり、前記した第1及び第3ポリペプチド鎖はVD1- $(X 1)_n$ -VD2-C- $(X 2)_n$ （ここで、VD1は第1親抗体またはその抗原結合部分から得られる第1重鎖可変ドメインであり；VD2は第2親抗体またはその抗原結合部分から得られる第2重鎖可変ドメインであり；Cは重鎖定常ドメインであり； $(X 1)_n$ はリンカーであり、ただしCH1ではなく、 $(X 1)_n$ は存在するか存在せず； $(X 2)_n$ はFc領域であり、 $(X 2)_n$ は存在するか存在しない）からなり、前記した第2及び第4ポリペプチド鎖はVD1- $(X 1)_n$ -VD2-C- $(X 2)_n$ （ここで、VD1は第1親抗体またはその抗原結合部分から得られる第1軽鎖可変ドメインであり；VD2は第2親抗体またはその抗原結合部分から得られる第2軽鎖可変ドメインであり；Cは軽鎖定常ドメインであり； $(X 1)_n$ はリンカーであり、ただしCH1ではなく、 $(X 1)_n$ は存在するか存在せず； $(X 2)_n$ はFc領域を含まず、 $(X 2)_n$ は存在するか存在しない）からなる。

【0230】

本発明は、親抗体を予め選択することによりDVD-Ig結合タンパク質を作成する方法を提供する。実施形態では、2つの抗原に結合し得る二重可変ドメイン免疫グロブリンを作成する方法は、第1及び第2抗原に結合し得る二重可変ドメイン免疫グロブリンが作成されるように、a)第1抗原に結合し得る第1親抗体またはその抗原結合部分を得るステップ；b)第2抗原に結合し得る第2親抗体またはその抗原結合部分を得るステップ；c)VD1- $(X 1)_n$ -VD2-C- $(X 2)_n$ （ここで、VD1は第1親抗体またはその抗原結合部分から得られる第1重鎖可変ドメインであり；VD2は第2親抗体またはその抗原結合部分から得られる第2重鎖可変ドメインであり；Cは重鎖定常ドメインであり； $(X 1)_n$ はリンカーであり、ただしCH1ではなく、 $(X 1)_n$ は存在するか存在せず； $(X 2)_n$ はFc領域であり、 $(X 2)_n$ は存在するか存在しない）からなる第1及び第3ポリペプチド鎖を構築するステップ；d)VD1- $(X 1)_n$ -VD2-C- $(X 2)_n$ （ここで、VD1は第1親抗体またはその抗原結合部分から得られる第1軽鎖可変ドメインであり；VD2は第2親抗体またはその抗原結合部分から得られる第2軽鎖可変ドメインであり；Cは軽鎖定常ドメインあり； $(X 1)_n$ はリンカーであり、ただしCH1ではなく、 $(X 1)_n$ は存在するか存在せず； $(X 2)_n$ はFc領域を含まず、 $(X 2)_n$ は存在するか存在しない）からなる第2及び第4ポリペプチド鎖を構築するステップ；e)第1、第2、第3及び第4ポリペプチド鎖を発現させるステップ；を含む。

【0231】

さらに別の実施形態では、本発明は、所望特性を有する2つの抗原に結合し得る二重可変ドメイン免疫グロブリンを作成する方法を提供し、その方法は、所望特性を有する第1及び第2抗原に結合し得る二重可変ドメイン免疫グロブリンが作成されるように、a)第1抗原に結合し得、二重可変ドメイン免疫グロブリンにより示される少なくとも1つの所望特性を有する第1親抗体またはその抗原結合部分を得るステップ；b)第2抗原に結合し得、二重可変ドメイン免疫グロブリンにより示される少なくとも1つの所望特性を有する第2親抗体またはその抗原結合部分を得るステップ；c)VD1- $(X 1)_n$ -VD2-C- $(X 2)_n$ （ここで、VD1は第1親抗体またはその抗原結合部分から得られる第1重鎖可変ドメインであり；VD2は第2親抗体またはその抗原結合部分から得られる第

10

20

30

40

50

2重鎖可変ドメインであり；Cは重鎖定常ドメインであり； $(X1)_n$ はリンカーであり、ただしCH1ではなく、 $(X1)_n$ は存在するか存在せず； $(X2)_n$ はFc領域であり、 $(X2)_n$ は存在するか存在しない）からなる第1及び第3ポリペプチド鎖を構築するステップ；d)VD1- $(X1)_n$ -VD2-C- $(X2)_n$ （ここで、VD1は第1親抗体またはその抗原結合部分から得られる第1軽鎖可変ドメインであり；VD2は第2親抗体またはその抗原結合部分から得られる第2軽鎖可変ドメインであり；Cは軽鎖定常ドメインであり； $(X1)_n$ はリンカーであり、ただしCH1ではなく $(X1)_n$ は存在するか存在せず； $(X2)_n$ はFc領域を含まず、 $(X2)_n$ は存在するか存在しない）からなる第2及び第4ポリペプチド鎖を構築するステップ；e)第1、第2、第3及び第4ポリペプチド鎖を発現させるステップ；を含む。

10

【0232】

1つの実施形態では、本明細書中に開示されている第1及び第2ポリペプチド鎖のVD1は同一親抗体またはその抗原結合部分から得られる。別の実施形態では、本明細書中に開示されている第1及び第2ポリペプチド鎖のVD1は異なる親抗体またはその抗原結合部分から得られる。別の実施形態では、本明細書中に開示されている第1及び第2ポリペプチド鎖のVD2は同一親抗体またはその抗原結合部分から得られる。別の実施形態では、本明細書中に開示されている第1及び第2ポリペプチド鎖のVD2は異なる親抗体またはその抗原結合部分から得られる。

【0233】

1つの実施形態では、第1親抗体またはその抗原結合部分及び第2親抗体またはその抗原結合部分は同一抗体である。別の実施形態では、第1親抗体またはその抗原結合部分及び第2親抗体またはその抗原結合部分は異なる抗体である。

20

【0234】

1つの実施形態では、第1親抗体またはその抗原結合部分は第1抗原に結合し、第2親抗体またはその抗原結合部分は第2抗原に結合する。特定実施形態では、第1及び第2抗原は同一抗原である。別の実施形態では、親抗体は同一抗原上の異なるエピトープに結合する。別の実施形態では、第1及び第2抗原は異なる抗原である。別の実施形態では、第1親抗体またはその抗原結合部分は、第2親抗体またはその抗原結合部分が第2抗原に結合する力価とは異なる力価で第1抗原に結合する。さらに別の実施形態では、第1親抗体またはその抗原結合部分は、第2親抗体またはその抗原結合部分が第2抗原に結合する親和性とは異なる親和性で第1抗原に結合する。

30

【0235】

別の実施形態では、第1親抗体またはその抗原結合部分及び第2親抗体またはその抗原結合部分は、ヒト抗体、CDRグラフト化抗体及びヒト化抗体からなる群から選択される。実施形態では、抗原結合部分は、Fab断片、 $F(a b')_2$ 断片、ヒンジ領域でジスルフィド架橋により連結される2つのFab断片からなる二価断片、VH及びCH1ドメインから構成されるFd断片、抗体のシングルアームのVL及びVHドメインから構成されるFv断片、dAb断片、単離相補性決定領域(CDR)、一本鎖抗体及びダイアボディからなる群から選択される。

【0236】

別の実施形態では、本発明の結合タンパク質は、第1親抗体またはその抗原結合部分、または第2親抗体またはその抗原結合部分により示される少なくとも1つの所望特性を有する。或いは、第1親抗体またはその抗原結合部分及び第2親抗体またはその抗原結合部分は、二重可変ドメイン免疫グロブリンにより示される少なくとも1つの所望特性を有する。実施形態では、所望特性は1つ以上の抗体パラメーターから選択される。別の実施形態では、抗体パラメーターは、抗原特異性、抗原に対する親和性、力価、生物学的機能、エピトープ認識、安定性、可溶性、産生効率、免疫原性、薬物動態、バイオアベイラビリティ、組織交差反応性及びオルトロガス抗原結合からなる群から選択される、実施形態では、結合タンパク質は多価である。別の実施形態では、結合タンパク質は多重特異性である。本明細書中に記載されている多価及び／または多重特異性結合タンパク質は特に治

40

50

療上の観点から望ましい特性を有している。例えば、多価及び／または多重特異性結合タンパク質は、(1)抗体が結合する抗原を発現する細胞により二価抗体よりも速く内部化（及び／または異化）され得；(2)アゴニスト抗体であり得；及び／または多価抗体が結合し得る抗原を発現する細胞の細胞死及び／またはアポトーシスを誘導し得る。多価及び／または多重特異性結合タンパク質の少なくとも1つの抗原結合特異性を与える「親抗体」は、抗体が結合する抗原を発現する細胞により内部化（及び／または異化）されるものであり得、及び／またはアゴニスト、細胞死誘導及び／またはアポトーシス誘導抗体であり得、本明細書中に記載されている多価及び／または多重特異性結合タンパク質は前記特性の1つ以上の改善を示し得る。更に、親抗体は前記特性の1つ以上を欠いていてもよいが、本明細書中に記載されている多価結合タンパク質として構築したときこれらの特性が付与され得る。 10

【0237】

別の実施形態では、本発明の結合タンパク質は、表面プラズモン共鳴により測定して、1つ以上の標的に対して少なくとも約 $10^2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、少なくとも約 $10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、少なくとも約 $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、少なくとも約 $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、及び少なくとも約 $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ からなる群から選択されるオン速度定数(K_{on})を有する。実施形態では、本発明の結合タンパク質は、表面プラズモン共鳴により測定して、1つ以上の標的に対して $10^2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1} \sim 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、 $10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1} \sim 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、 $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1} \sim 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、または $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1} \sim 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ の範囲のオン速度定数(K_{on})を有する。 20

【0238】

別の実施形態では、結合タンパク質は、表面プラズモン共鳴により測定して、1つ以上の標的に対して多くとも約 10^{-3} s^{-1} 、多くとも約 10^{-4} s^{-1} 、多くとも約 10^{-5} s^{-1} 、及び多くとも約 10^{-6} s^{-1} からなる群から選択されるオフ速度定数(K_{off})を有する。実施形態では、本発明の結合タンパク質は、表面プラズモン共鳴により測定して、1つ以上の標的に対して $10^{-3} \text{ s}^{-1} \sim 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 、 $10^{-4} \text{ s}^{-1} \sim 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 、または $10^{-5} \text{ s}^{-1} \sim 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ のオフ速度定数(K_{off})を有する。

【0239】

別の実施形態では、結合タンパク質は、1つ以上の標的に対して多くとも約 10^{-7} M 、多くとも約 10^{-8} M 、多くとも約 10^{-9} M 、多くとも約 10^{-10} M 、多くとも約 10^{-11} M 、多くとも約 10^{-12} M 、及び多くとも 10^{-13} M からなる群から選択される解離定数(K_D)を有している。実施形態では、本発明の結合タンパク質は、その標的に対して $10^{-7} \text{ M} \sim 10^{-8} \text{ M}$ 、 $10^{-8} \text{ M} \sim 10^{-9} \text{ M}$ 、 $10^{-9} \text{ M} \sim 10^{-10} \text{ M}$ 、 $10^{-10} \text{ M} \sim 10^{-11} \text{ M}$ 、 $10^{-11} \text{ M} \sim 10^{-12} \text{ M}$ 、または $10^{-12} \text{ M} \sim 10^{-13} \text{ M}$ の解離定数(K_D)を有している。 30

【0240】

別の実施形態では、本明細書中に記載されている結合タンパク質は免疫接着分子、イメージング剤、治療薬及び細胞傷害薬からなる群から選択される物質を更に含むコンジュゲートである。実施形態では、イメージング剤は、放射性標識、酵素、蛍光標識、発光標識、生物発光標識、磁気標識及びビオチンからなる群から選択される。別の実施形態では、イメージング剤は ^3H 、 ^{14}C 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{177}Lu 、 ^{166}Ho 及び ^{153}Sm からなる群から選択される標識である。さらに別の実施形態では、治療薬または細胞傷害薬は代謝拮抗物質、アルキル化剤、抗生物質、増殖因子、サイトカイン、抗血管新生薬、抗有糸分裂剤、アントラサイクリン、毒素及びアポトーシス剤からなる群から選択される。 40

【0241】

別の実施形態では、本明細書中に記載されている結合タンパク質は結晶化結合タンパク質であり、結晶として存在する。実施形態では、結晶は担体を含まない医薬徐放性結晶である。さらに別の実施形態では、結晶化結合タンパク質は該結合タンパク質の可溶性相当 50

物に比して長いインビボ半減期を有する。さらに別の実施形態では、結晶化結合タンパク質は生物活性を保持している。

【0242】

別の実施形態では、本明細書中に記載されている結合タンパク質はグリコシル化されている。例えば、グリコシル化はヒトグリコシル化パターンである。

【0243】

本発明の1つの態様は、本明細書中に開示されている結合タンパク質の1つをエンコードする単離核酸に関する。更なる実施形態は本明細書中に開示されている単離核酸を含むベクターを提供し、前記ベクターはp cDNA、pTT (Durocherら, Nucleic Acids Research, 2002, Vol. 30, No. 2)、pTT 3 (追加の複数のクローニング部位を有するpTT)、pEFBOS (Mizushima, S. and Nagata, S., (1990) Nucleic acids Research, Vol. 18, No. 17)、pBV、pJV、p cDNA 3.1 TOPO、pEF6 TOPO及びpBJからなる群から選択される。実施形態では、ベクターは米国特許出願No. 61/021, 282に開示されているベクターである。

【0244】

別の態様では、宿主細胞は本明細書中に開示されているベクターを用いて形質転換される。実施形態では、宿主細胞は原核細胞である。別の実施形態では、宿主細胞は大腸菌である。関連する実施形態では、宿主細胞は真核細胞である。別の実施形態では、真核細胞は原生生物、動物細胞、植物細胞及び真菌細胞からなる群から選択される。さらに別の実施形態では、宿主細胞は哺乳動物細胞（これには、CHO、COS; NS0、SP2、PER.C6が含まれるが、これらに限定されない）、真菌細胞（例えば、サッカロミセス・セレビシアエ (Saccharomyces cerevisiae)）、または昆虫細胞（例えば、Sf9）である。

【0245】

実施形態では、例えば異なる特異性を有する2つ以上のDVD-Igを単一の組換え宿主細胞において産生させる。例えば、抗体の混合物の発現はOligoclomics (商標) (オランダ国のMerus B. V.) 米国特許Nos. 7, 262, 028及び7, 429, 486と呼称されている。

【0246】

本発明の別の態様は、本明細書中に開示されている宿主細胞の1つを結合タンパク質を産生させるのに十分な条件下で培養培地で培養することを含む本明細書中に開示されている結合タンパク質の産生方法を提供する。実施形態では、この方法により産生された結合タンパク質の50%~75%は二重特異性四価結合タンパク質である。特定実施形態では、この方法により産生された結合タンパク質の75%~90%は二重特異性四価結合タンパク質である。特定実施形態では、産生された結合タンパク質の90%~95%は二重特異性四価結合タンパク質である。

【0247】

1つの実施形態は結合タンパク質を放出するための組成物を提供し、その組成物は本明細書中に開示されている結晶化結合タンパク質、成分及び少なくとも1つのポリマー担体を含む処方物からなる。例えば、ポリマー担体は、ポリ(アクリル酸)、ポリ(シアノアクリレート)、ポリ(アミノ酸)、ポリ(無水物)、ポリ(デブシペプチド)、ポリ(エステル)、ポリ(乳酸)、ポリ(乳酸-コグリコール酸)すなわちPLGA、ポリ(b-ヒドロキシブチレート)、ポリ(カプロラクトン)、ポリ(ジオキサノン)、ポリ(エチレングリコール)、ポリ((ヒドロキシプロピル)メタクリルアミド、ポリ[(有機)ホスファゼン]、ポリ(オルトエステル)、ポリ(ビニルアルコール)、ポリ(ビニルピロリドン)、無水マレイン酸-アルキルビニルエーテルコポリマー、ブルーロニックポリオール、アルブミン、アルギネート、セルロース及びセルロース誘導体、コラーゲン、フィブリン、ゼラチン、ヒアルロン酸、オリゴ糖、グリカミノグリカン、硫酸化多糖、そのブレンド及びコポリマーからなる群の1つ以上から選択されるポリマーである。例えば、

成分は、アルブミン、スクロース、トレハロース、ラクチトール、ゼラチン、ヒドロキシプロピル- β -シクロデキストリン、メトキシポリエチレングリコール及びポリエチレングリコールからなる群から選択される。別の実施形態は、哺乳動物に対して有効量の本明細書中に開示されている組成物を投与するステップを含む哺乳動物を治療するための方法を提供する。

【0248】

本発明は本明細書中に開示されている結合タンパク質及び医薬的に許容され得る担体を含む医薬組成物をも提供する。更なる実施形態では、医薬組成物は障害を治療するために少なくとも1つの追加治療薬を含む。例えば、追加物質は治療薬、イメージング剤、細胞傷害薬、血管新生抑制剤（抗VEGF抗体またはVEGF-trapが含まれるが、これらに限定されない）、キナーゼ阻害剤（KDR及びTIE-2阻害剤が含まれるが、これらに限定されない）、共刺激分子ブロッカー（抗B7.1、抗B7.2、CTLA4-Ig、抗CD20が含まれるが、これらに限定されない）、接着分子ブロッカー（抗LFA-1抗体、抗E/Lセレクトリン抗体、低分子インヒビターが含まれるが、これらに限定されない）、抗サイトカイン抗体またはその機能性断片（抗IL-18、抗TNF及び抗IL-6/サイトカイン受容体抗体が含まれるが、これらに限定されない）、メトトレキサート、シクロスポリン、ラパマイシン、FK506、検出可能な標識またはレポーター、TNFアンタゴニスト、抗リウマチ薬、筋弛緩薬、麻薬、非ステロイド系抗炎症薬（NSAID）、鎮痛薬、麻酔薬、鎮静薬、局所麻酔薬、神経筋ブロッカー、抗微生物剤、抗乾癬剤、コルチコステロイド、タンパク同化ステロイド、エリスロポエチン、免疫化、免疫グロブリン、免疫抑制薬、成長ホルモン、ホルモン補充薬、放射線医薬品、抗うつ薬、抗精神病薬、興奮薬、喘息薬物療法、 β -ゴニスト、吸入ステロイド、エピネフリンまたはアナログ、サイトカイン及びサイトカインアンタゴニストからなる群から選択される。

【0249】

別の態様では、本発明は、本明細書中に開示されている結合タンパク質により結合され得る1つ以上の標的が有害である障害を患っているヒト被験者を治療するための方法を提供し、その方法はヒト被験者中の1つ以上の標的の活性が阻害され、1つ以上の症状が緩和され、または治療が達成されるようにヒト被験者に対して本明細書中に開示されている結合タンパク質を投与することを含む。例えば、疾患は、関節リウマチ、骨関節症、若年性慢性関節炎、敗血症性関節炎、ライム関節炎、乾癬性関節炎、反応性関節炎、脊椎関節症、全身性エリテマトーデス、クローン病、潰瘍性大腸炎、炎症性腸疾患、インスリン依存性糖尿病、甲状腺炎、喘息、アレルギー性疾患、乾癬、皮膚炎、強皮症、移植片対宿主病、臓器移植拒絶反応、臓器移植に関連する急性または慢性免疫疾患、サルコイドーシス、アテローム性動脈硬化症、播種性血管内凝固、川崎病、グレーブス病、ネフローゼ症候群、慢性疲労症候群、ウェジナー肉芽腫症、ヘノッホーシェンライン紫斑病、腎臓の顕微鏡的血管炎、慢性活動型肝炎、ブドウ膜炎、敗血症性ショック、毒素性ショック症候群、敗血症症候群、悪液質、感染性疾患、寄生虫疾患、後天性免疫不全症候群、急性横断性脊髄炎、ハンチントン舞蹈病、パーキンソン病、アルツハイマー病、卒中、原発性胆汁性肝硬変、溶血性貧血、悪性腫瘍、心不全、心筋梗塞、アジソン病、散在性、I型多腺性自己免疫症及びII型多腺性自己免疫症、シュミット症候群、成人（急性）呼吸窮迫症候群、脱毛症、円形脱毛症、血清反応陰性関節症、関節症、ライター病、乾癬性関節症、潰瘍性腸炎性関節症、腸炎性滑膜炎、クラミジア、エルシニア及びサルモネラ関連関節症、脊椎関節症、アテローム性疾患/動脈硬化症、アトピー性アレルギー、自己免疫性水疱性疾患、尋常性天疱瘡、落葉状天疱瘡、類天疱瘡、線状IgA病、自己免疫性溶血性貧血、クームズ試験陽性溶血性貧血、後天性悪性貧血、若年性悪性貧血、筋痛性脳炎/ローヤルフリー病、慢性皮膚粘膜カンジダ症、巨細胞動脈炎、原発性硬化性肝炎、特発性自己免疫性肝炎、後天性免疫不全症候群、後天性免疫不全症関連疾患、B型肝炎、C型肝炎、分類不能型免疫不全症（分類不能型低ガンマグロブリン血症）、拡張型心筋症、女性不妊症、卵巣機能不全、早発性卵巣機能不全、線維性肺疾患、特発性線維性肺肺炎、炎症後間質性肺疾患、間質性肺炎、結合組織病関連間質性肺疾患、混合結合組織病関連肺疾患、全身性

硬化症関連間質性肺疾患、関節リウマチ関連間質性肺疾患、全身性エリテマトーデス関連肺疾患、皮膚筋炎／多発性筋炎関連肺疾患、シェーグレン病関連肺疾患、強直性脊椎炎関連肺疾患、血管炎性びまん性肺疾患、ヘモジデリン沈着症関連肺疾患、薬物誘発性間質性肺疾患、線維症、放射線線維症、閉塞性細気管支炎、慢性好酸球性肺炎、リンパ球性浸潤性肺疾患、感染後間質性肺疾患、痛風性関節炎、自己免疫性肝炎、1型自己免疫性肝炎（古典的自己免疫性またはルポイド肝炎）、2型自己免疫性肝炎（抗LKM抗体肝炎）、自己免疫媒介低血糖症、黒色表皮腫を伴うB型インスリン抵抗性、副甲状腺機能低下症、臓器移植に関連する急性免疫疾患、臓器移植に関連する慢性免疫疾患、変形性関節症、原発性硬化性胆管炎、1型乾癬、2型乾癬、特発性白血球減少症、自己免疫性好中球減少症、腎疾患NOS、糸球体腎炎、腎臓の顕微鏡的血管炎、ライム病、円板状エリテマトーデス、特発性またはNOS男性不妊症、精子自己免疫、多発性硬化症（すべてのサブタイプ）、交感性眼炎、結合組織病に続発する肺性高血圧、グッドパスチャー症候群、結節性多発性動脈炎の肺症状、急性リウマチ熱、リウマチ様脊椎炎、スチル病、全身性硬化症、シェーグレン症候群、高安病／動脈炎、自己免疫性血小板減少症、特発性血小板減少症、自己免疫性甲状腺疾患、甲状腺機能亢進症、甲状腺腫様自己免疫性甲状腺機能低下症（橋本病）、萎縮性自己免疫性甲状腺機能低下症、原発性粘液水腫、水晶体原性ブドウ膜炎、原発性血管炎、白斑性急性肝疾患、慢性肝疾患、アルコール性肝硬変、アルコール誘発性肝損傷、胆汁鬱滞、特異体質性肝疾患、薬物誘発性肝炎、非アルコール性脂肪肝、アレルギー及び喘息、B群連鎖球菌（GBS）感染、精神障害（例えば、うつ病及び統合失調症）、Th2型及びTh1型媒介疾患、急性及び慢性疼痛（いろいろな形の疼痛）、並びに癌（例えば、肺癌、乳癌、胃癌、膀胱癌、大腸癌、膵臓癌、卵巣癌、前立腺癌及び腎臓癌）及び造血性悪性腫瘍（白血病及びリンパ腫）、無βリポタンパク血症、先端チアノーゼ、急性及び慢性寄生虫または感染性プロセス、急性白血病、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、急性骨髄性白血病（AML）、急性または慢性細菌感染、急性肺炎、急性腎不全、腺癌、航空機異所性拍動、エイズ認知症複合、アルコール誘発性肝炎、アレルギー性結膜炎、アレルギー性接触皮膚炎、アレルギー性鼻炎、同種移植片拒絶反応、α-1-アンチトリプシン欠損症、筋萎縮側索硬化症、貧血、狭心症、前角細胞変性、抗cd3治療、抗リン脂質症候群、抗受容体過敏反応、大動脈瘤及び末梢動脈瘤、大動脈解離、動脈性高血圧、動脈硬化症、動静脈フィステル、運動失調症、心房細動（持続性または発作性）、心房粗動、房室ブロック、B細胞リンパ腫、移植骨片拒絶反応、骨髄移植（BMT）拒絶反応、脚ブロック、バーキットリンパ腫、火傷、心臓不整脈、心臓失神症候群、心臓腫瘍、心筋症、心肺バイパス炎症応答、軟骨移植拒絶反応、小脳皮質変性、小脳障害、無秩序または多源性心房頻拍、化学療法関連障害、慢性骨髄性白血病（CML）、慢性アルコール中毒、慢性炎症性病理、慢性リンパ球性白血病（CLL）、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、慢性サリチル酸中毒、大腸癌、鬱血性心不全、結膜炎、接触皮膚炎、肺性心、冠動脈疾患、クロイツフェルトーヤコブ病、培養陰性敗血症、膿疱性線維症、サイトカイン治療関連障害、拳闘家認知症、脱髄疾患、デング出血熱、皮膚炎、皮膚症状、糖尿病、真性糖尿病、糖尿病性アテローム性疾患、びまん性レヴィ小体病、拡張性鬱血性心筋症、脳幹神経節の障害、中年のダウン症候群、CNSドーパミン受容体をブロックする薬物による薬物誘発性運動障害、薬物過敏、湿疹、脳脊髄炎、心内膜炎、内分泌病、喉頭蓋炎、エプスタインバーウイルス感染、先端紅痛症、錐体外路性脳障害、家族性血球貪食リンパ組織球症、胎児性胸腺移植拒絶反応、フリードライヒ運動失調症、機能性末梢動脈障害、真菌性敗血症、ガス壊疽、胃潰瘍、糸球体腎炎、臓器または組織の移植片拒絶反応、グラム陰性敗血症、グラム陽性敗血症、細胞内生物による肉芽腫、毛様細胞白血病、ハラーホルデンスパッツ病、橋本甲状腺炎、枯草熱、心臓移植拒絶反応、血色素症、血液透析、溶血性尿毒症症候群／血栓溶解性血小板減少性紫斑病、出血、肝炎（A）、ヒス束不整脈、HIV感染／HIV神経障害、ホジキン病、運動過多性運動障害、過敏反応、過敏性肺炎、高血圧、運動減少性運動障害、視床下部一下垂体一副腎軸評価、特発性アジソン病、特発性肺線維症、抗体媒介細胞毒性、無力症、乳児脊髄性筋萎縮症、大動脈の炎症、インフルエンザA、電離放射線暴露、虹彩毛様体炎／ブドウ膜炎／視神経炎、虚血一再灌流障害、

虚血性発作、若年性関節リウマチ、若年性脊髄性筋萎縮症、カボジ肉腫、腎移植拒絶反応、レジオネラ、リーシュマニア症、ライ病、皮質脊髄系の病巣、脂肪浮腫、肝移植拒絶反応、リンパ水腫、マラリア、悪性リンパ腫、悪性組織球症、悪性メラノーマ、髄膜炎、骨髄炎菌血症、代謝性／特発性、片頭痛、ミトコンドリア多系統障害、混合結合組織病、単クローン性免疫グロブリン血症、多発性骨髄腫、多系統変性（メンセル・ドゥジュリーヌー・トーマス・シードレーガー及びマシャド・ジョセフ）、重症筋無力症、マイコバクテリウム・アビウム・イントラセルラレ、結核菌、骨髄異形成症候群、心筋梗塞、心筋虚血障害、鼻咽頭癌、新生児慢性肺疾患、腎炎、ネフローゼ、神経変性疾患、神経原性I筋萎縮症、好中球減少性発熱、非ホジキンリンパ腫、腹部動脈及びその枝の閉塞、閉塞性動脈障害、okt3治療、睾丸炎／副睾丸炎、睾丸炎／精管復元術、臓器巨大症、骨粗しょう症、膵臓移植拒絶反応、膵臓癌、腫瘍随伴症候群／悪性腫瘍の高カルシウム血症、上皮小体移植拒絶反応、骨盤内炎症性疾患、多年性鼻炎、心膜疾患、末梢アテローム性疾患、末梢血管疾患、腹膜炎、悪性貧血、ニューモシスティス・カリニ肺炎、肺炎、POEMS症候群（多発性神経障害、臓器巨大症、内分泌症、単クローン性免疫グロブリン血症、及び皮膚症状症候群）、輸血後症候群、ポストポンプ症候群、MI後心臓切開術症候群、子癇前症、進行性核上麻痺、原発性肺性高血圧、放射線治療、レイノー現象及び病、レイノー病、レフサム病、狭いQRSの規則正しい頻脈、腎血管性高血圧、再灌流障害、拘束型心筋症、肉腫、強皮症、老人性舞蹈病、レヴィ小体型老人性認知症、血清反応陰性関節症、ショック、鎌状赤血球貧血、皮膚同種片拒絶反応、皮膚症状症候群、小腸移植拒絶反応、充実性腫瘍、特異的不整脈、脊髄性運動失調症、脊髄小脳変性、連鎖球菌性筋炎、小脳の構造的病巣、亜急性硬化性汎脳炎、失神、心血管系の梅毒、全身性アナフィラキシー、全身性炎症応答症候群、全身性若年性関節リウマチ、T細胞またはFAB ALL、毛細管拡張症、閉塞性血栓血管炎、血小板減少症、毒性、移植片、外傷／出血、III型過敏症、IV型過敏症、不安定狭心症、尿毒症、尿路敗血症、じんま疹、心臓弁膜症、静脈瘤、血管炎、静脈病、静脈血栓症、心室細動、ウイルス性及び真菌性感染、ウイルス性脳炎／無菌性髄膜炎、ウイルス関連血球貪食症候群、ウェルニッケー・コルサコフ症候群、ウィルソン病、臓器または組織の異種片移植拒絶反応、急性冠動脈症候群、急性特発性多発性神経炎、急性炎症性脱髄性多発性神経根ニューロパシー、急性虚血、成人スチル病、円形脱毛症、アナフィラキシー、抗リン脂質抗体症候群、再生不良性貧血、動脈硬化症、アトピー性湿疹、アトピー性皮膚炎、自己免疫性皮膚炎、ストレプトコッカス感染に関連する自己免疫性障害、自己免疫性腸疾患、自己免疫性難聴、自己免疫性リンパ組織増殖性症候群（ALPS）、自己免疫性心筋炎、自己免疫性早発性卵巣機能不全、眼瞼炎、気管支拡張症、水疱性類天疱瘡、心血管疾患、難治性抗リン脂質症候群、セリアック病、頸椎症、慢性虚血、癬痕性類天疱瘡、多発性硬化症のリスクのある最初のエピソードからなる症候群（cis）、結膜炎、小児期発症精神病、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、涙囊炎、皮膚筋炎、糖尿病性網膜症、真性糖尿病、椎間板ヘルニア、椎間板脱出、薬物誘引性免疫溶血性貧血、心内膜炎、子宮内膜炎、内眼球炎、上強膜炎、多形滲出性紅斑、重症多形紅斑、妊娠性類天疱瘡、ギランバレー症候群（GBS）、枯草熱、ヒューズ症候群、特発性パーキンソン病、特発性間質性肺炎、IgE媒介アレルギー、免疫溶血性貧血、封入体筋炎、感染性眼炎症性疾患、炎症性脱髄疾患、炎症性心疾患、炎症性腎疾患、IPF／UIP、虹彩炎、角膜炎、乾性角結膜炎、クスウマル病またはクスウマル・マイエル病、ランドリー麻痺、ランゲルハンス細胞組織球症、網状皮斑、黄斑変性、顕微鏡的多発性血管炎、ベヒテレフ病、運動ニューロン障害、粘膜類天疱瘡、多臓器不全、重症筋無力症、骨髄異形成症候群、心筋炎、神経根障害、神経障害、非A非B肝炎、視神経炎、骨溶解、卵巣癌、小関節JRA、末梢動脈閉塞性疾患（PAD）、末梢血管疾患（PVD）、末梢動脈疾患（PAD）、静脈炎、結節性多発性動脈炎（または、結節性動脈周囲炎）、多発性軟骨炎、リウマチ性多発性筋痛、白髪、多関節性JRA、多内分泌欠乏症候群、多発性筋炎、リウマチ性多発性筋痛（PMR）、ポストポンプ症候群、原発性パーキンソン症候群、前立腺及び腎臓癌、及び造血性悪性腫瘍（白血病及びリンパ腫）、乾癬、真性赤血球系無形成症、原発性副腎機能不全、再発性視神経脊髄炎、再狭窄症、リウマチ性心疾患、sa

p h o（滑膜炎、ニキビ、膿疱症、骨増殖症及び骨炎）、強皮症、続発性アミロイドーシス、ショック肺、強膜炎、坐骨神経痛、続発性副腎機能不全、シリコーン関連結合組織病、スネドナーウィルキンソン皮膚病、強直性脊椎炎、スチーブンス・ジョンソン症候群（SJS）、全身性炎症性応答症候群、側頭動脈炎、トキソプラズマ網膜炎、中毒性表皮融解、横断性脊髄炎、TRAPS（腫瘍壊死因子受容体）、1型アレルギー反応、II型糖尿病、じんま疹、通常型間質性肺炎（UIP）、血管炎、春季カタル、ウイルス性網膜炎、フォクトー小柳ー原田症候群（VKH症候群）、滲出型黄斑変性、損傷治癒、エルシニア及びサルモネラ関連関節症からなる群から選択される。

【0250】

実施形態では、本発明の組成物及び方法を用いて治療または診断され得る疾患には、乳房、結腸、直腸、肺、中咽頭、下咽頭、食道、胃、膵臓、肝臓、胆嚢及び胆管、小腸、尿路（腎臓、膀胱及び尿路上皮を含む）、女性性器管（頸管、子宮及び卵巣、並びに絨毛癌及び妊娠性絨毛性疾患を含む）、男性性器管（前立腺、精嚢、精巣及び胚細胞腫瘍を含む）、内分泌腺（甲状腺、副腎及び下垂体を含む）及び皮膚の癌を含めた原発性及び転移性癌；並びに血管腫、メラノーマ、肉腫（骨及び軟組織から生ずる肉腫、並びにカポジ肉腫を含む）、脳、神経、眼及び髄膜の腫瘍（アストロチトーム、グリオーム、膠芽腫、網膜芽腫、神経腫、神経芽腫、神経線維腫及び髄膜腫を含む）、白血病のような造血性悪性疾患から生ずる充実性腫瘍、及びリンパ腫（ホジキン及び非ホジキンリンパ腫を含む）が含まれるが、これらに限定されない。

【0251】

実施形態では、本発明の抗体またはその抗原結合部分は、単独でまたは放射線療法及び／または他の化学療法剤と一緒に使用したとき、本明細書中に記載されている癌を治療するためまたは本明細書中に記載されている腫瘍の転移を予防するために使用される。

【0252】

別の態様では、本発明は、本明細書中で検討されている第2物質を投与する前、同時またはその後に本明細書中に開示されている結合タンパク質の1つを投与するステップを含む障害を患っている患者の治療方法を提供する。特定実施形態で、第2物質は、ブデノシド、上皮増殖因子、コルチコステロイド、シクロスポリン、スルファサラジン、アミノサリチル酸塩、6-メルカプトプリン、アザチオプリン、メトロニダゾール、リポキシゲナーゼ阻害剤、メサラミン、オルサラジン、バルサラジド、抗酸化剤、トロンボキサン阻害剤、IL-1受容体アンタゴニスト、抗IL-1 β mAb、抗IL-6またはIL-6受容体mAb、増殖因子、エラスターゼ阻害剤、ピリジニルイミダゾール化合物、TNF、LT、IL-1、IL-2、IL-6、IL-7、IL-8、IL-12、IL-13、IL-15、IL-16、IL-18、IL-23、EMAP-11、GM-CSF、FGF及びPDGFの抗体またはアゴニスト、CD2、CD3、CD4、CD8、CD-19、CD25、CD28、CD30、CD40、CD45、CD69、CD90またはそのリガンドの抗体、メトトレキサート、シクロスポリン、FK506、ラパマイシン、ミコフェノール酸モフェチル、レフルノミド、NSAID、イブプロフェン、コルチコステロイド、プレドニゾロン、ホスホジエステラーゼ阻害剤、アデノシンアゴニスト、抗血栓薬、補体インヒビター、アドレナリン作動薬、IRAK、NIK、IKK、p38、MAPキナーゼ阻害剤、IL-1 β 変換酵素阻害剤、TNF α 変換酵素阻害剤、T細胞シグナリングインヒビター、メタロプロテイナーゼ阻害剤、スルファサラジン、アザチオプリン、6-メルカプトプリン、アンギオテンシン変換酵素阻害剤、可溶性サイトカイン受容体、可溶性p55 TNF受容体、可溶性p75 TNF受容体、sIL-1RI、sIL-1RII、sIL-6R、抗炎症性サイトカイン、IL-4、IL-10、IL-11、IL-13及びTGFB β からなる群から選択される。

【0253】

特定実施形態では、本明細書中に開示されている医薬組成物は、患者に対して非経口、皮下、筋肉内、静脈内、関節内、気管支内、腹腔内、包内、軟骨内、腔内、脳質、小脳内

10

20

30

40

50

、脳・脳質内、結腸内、子宮頸管内、胃内、肝内、心筋内、骨内、骨盤内、心膜内、腹腔内、胸膜内、前立腺内、肺内、直腸内、腎内、網膜内、髄腔内、滑液嚢内、胸内、子宮内、膀胱内、ボラス、直腸、頬側、舌下、鼻腔内及び経皮的から選択される少なくとも1つのモードにより投与される。

【0254】

本発明の1つの態様は、本発明の少なくとも1つの結合タンパク質に対する少なくとも1つの抗イディオタイプ抗体を提供する。抗イディオタイプ抗体には、免疫グロブリン分子の少なくとも一部を含むタンパク質またはペプチド含有分子が含まれ、これらには例えば本発明の結合タンパク質に取り込まれ得る重鎖または軽鎖の少なくとも1つの相補性決定領域(CDR)、或いはそのリガンド結合部分、重鎖または軽鎖可変領域、重鎖または軽鎖定常領域、フレームワーク領域またはその一部があるが、これらに限定されない。

【0255】

本発明は、(a) 変更前の結合タンパク質の特性を測定するステップ；(a) 重鎖及び／または軽鎖の(X1)₁の長さ及び／または配列を変更して、変更重鎖及び／または軽鎖を与えるステップ；及び(b) 変更重鎖及び軽鎖を含む変更結合タンパク質の改良された特性を測定するステップ；を含む結合タンパク質の特性を改良するための方法を提供する。本発明は、(a) 変更前の結合タンパク質の特性を測定するステップ；(b) VD1-(X1)_n-VD2-C-(X2)_nがVD2-(X1)_n-VD1-C-(X2)_nに変化するように第1及び第2ポリペプチド鎖を変更して、変更重鎖及び軽鎖を与えるステップ；及び(c) 変更重鎖及び軽鎖を含む変更結合タンパク質の改良された特性を測定するステップ；を含む結合タンパク質の特性を改良するための方法をも提供する。

【0256】

別の態様では、本発明は、結合タンパク質の特性を改良するための方法を提供し、この方法は、(a) 変更前の結合タンパク質の特性を測定するステップ；(b) 重鎖及び／または軽鎖のVD1またはVD2の1つのみの配列が変化するように第1及び／または第2ポリペプチド鎖を変更するステップ；及び(c) 変更重鎖及び軽鎖を含む変更結合タンパク質の特性を測定するステップ；を含む。実施形態では、特性は標的抗原に対する結合、宿主細胞からの発現収率、インビトロ半減期、インビボ半減期、安定性、可溶性及び改良されたエフェクター機能からなる群から選択される。別の実施形態では、変更重鎖の(X1)₁の長さを長くする。別の実施形態では、変更重鎖の(X1)₁の長さを短くする。別の実施形態では、変更軽鎖の(X1)₁の長さを長くする。別の実施形態では、変更軽鎖の(X1)₁の長さを短くする。別の実施形態では、変更重鎖の(X1)₁は配列番号21または22からなる群から選択されるアミノ酸を含む。別の実施形態では、変更軽鎖の(X1)₁は配列番号13または14からなる群から選択されるアミノ酸を含む。別の実施形態では、変更重鎖の(X1)₁は配列番号22であり、変更軽鎖の(X1)₁は配列番号14である。別の実施形態では、変更重鎖の(X1)₁は配列番号21であり、変更軽鎖の(X1)₁は配列番号14である。別の実施形態では、変更重鎖の(X1)₁は配列番号22であり、変更軽鎖の(X1)₁は配列番号13である。別の実施形態では、変更重鎖の(X1)₁は配列番号21であり、変更軽鎖の(X1)₁は配列番号13である。

【図面の簡単な説明】

【0257】

【図1】A 二重可変ドメイン(DVD)-Ig構築物の概略図であり、2つの親抗体からDVD-Igを作成するための戦略を示す。B 構築物DVD1-Ig、DVD2-Ig、並びにハイブリドーマクローン2D13、E3(抗IL-1α)及び13F5、G5(抗IL-1β)からの2つのキメラ単一特異性抗体の概略図である。

【発明を実施するための形態】

【0258】

本発明は、2つ以上の抗原に結合し得る多価及び／または多重特異性結合タンパク質に関する。具体的には、本発明は、二重可変ドメイン免疫グロブリン(DVD-Ig)及び

その医薬組成物、並びに核酸、組換え発現ベクター及び前記DVD-Igを作成するための宿主細胞に関する。インビトロまたはインビボで特定抗原を検出するための本発明のDVD-Igの使用方法も本発明に包含される。

【0259】

本明細書中に別途定義されていない限り、本発明に関連して使用されている科学的及び技術的用語は当業者が通常理解している意味を有する。用語の意味及び範囲は明らかでなければならないが、潜在的に曖昧な場合には本明細書に記載されている定義が辞書または非本質的な定義に優先する。更に、別の文脈が要求されない限り、単数の用語は複数を含み、複数の用語は単数を含む。本明細書中、「または」の使用は別段の記述がない限り「及び／または」を意味する。更に、用語「含む (including)」及び「含む (includes)」や「含まれる (included)」のような他の形態は限定的でない。また、別段の記述がない限り、「要素」または「成分」のような用語は、1つの単位を含む複数の要素及び複数の成分、並びに1つ以上のサブユニットを含む複数の要素及び複数の成分を包含する。

【0260】

通常、本明細書に記載されている細胞及び組織培養、分子生物学、免疫学、微生物学、遺伝学、タンパク質及び核酸化学及びハイブリダイゼーションに関連して使用されている専門用語は当業界で公知であり、一般的に使用されているものである。別段の指示がない限り、本発明の方法及び技術は、通常当業界で公知であり、本明細書を通して引用され、検討されている各種一般文献及びより具体的な文献に記載されている慣用方法に従って実施される。酵素反応及び精製技術は、当業界で通常実行されているかまたは本明細書中に記載されているように製造業者の仕様書に従って実施される。本明細書に記載されている分析化学、合成有機化学、並びに医学的及び医薬化学に関連して使用されている専門用語並びにそれらの実験室の手順及び技術は当業界で公知であり、一般的使用されているものである。化学合成、化学分析、製薬、処方及びデリバリー、並びに患者の治療のためには標準技術が使用される。

【0261】

本発明はより容易に理解され得る。特定の用語を以下に定義する。

【0262】

本明細書中で使用されている用語「ポリペプチド」はアミノ酸のポリマー鎖を指す。用語「ペプチド」及び「タンパク質」は用語「ポリペプチド」と互換可能に使用されており、アミノ酸のポリマー鎖を指す。用語「ポリペプチド」は天然または人工タンパク質、タンパク質断片、及びタンパク質配列のポリペプチドアナログを包含する。ポリペプチドはモノマーまたはポリマーであり得る。本明細書中での「ポリペプチド」の使用は、文脈上別の解釈がない限りポリペプチド、及びその断片及びバリエーション（バリエーションの断片を含む）を包含すると意図される。抗原性ポリペプチドの場合、ポリペプチドの断片は場合によりポリペプチドの少なくとも1つの連続または非線形エピトープを含む。少なくとも1つのエピトープ断片の正確な境界は当業界の通常の技術を用いて確認され得る。断片は少なくとも約5個の連続アミノ酸、例えば少なくとも約10個の連続アミノ酸、少なくとも約15個の連続アミノ酸、または少なくとも約20個の連続アミノ酸を含む。ポリペプチドのバリエーションは本明細書に記載されている通りである。

【0263】

用語「単離タンパク質」または「単離ポリペプチド」は、誘導されるその起源またはソースによって天然状態で付随している天然結合成分を結合しておらず；同一種由来の他のタンパク質を実質的に含まず；異なる種由来の細胞により発現され；または天然に存在しないタンパク質またはポリペプチドである。よって、化学的に合成されるかまたは天然に由来する細胞とは異なる細胞系において合成されるポリペプチドは天然結合成分から単離されている。タンパク質は当業界で公知のタンパク質精製技術を用いて天然結合成分を実質的に含まないようにし得る。

【0264】

本明細書中で使用されている用語「回収する」は、ポリペプチドのような化学種を単離により、例えば当業界で公知のタンパク質精製技術を用いて天然結合成分を実質的に含まないようにするプロセスを指す。

【0265】

本明細書中で使用されている「生物活性」は、（インビボで見られるように天然に存在する、或いは組換え手段により与えられるかまたは可能になる）分子の1つ以上の固有の生物学的特性を指す。生物学的特性には、受容体への結合、細胞増殖の誘導、細胞増殖の抑制、他のサイトカインの誘導、アポトーシスの誘導及び酵素活性が含まれるが、これらに限定されない。生物活性はIg分子の活性をも含む。

【0266】

抗体、タンパク質またはペプチドの第2化学種との相互作用に関連して、本明細書中で使用されている用語「特異的結合」または「特異的に結合する」は、該相互作用が化学種上の特定構造（例えば、抗原決定基、すなわちエピトープ）の存在に依存することを意味する。例えば、抗体は一般的にタンパク質よりむしろ特定のタンパク質構造を認識し、結合する。抗体がエピトープ“A”に対して特異的であるならば、標識されている“A”及び抗体を含む反応におけるエピトープA（すなわち、遊離の非標識A）含有分子の存在により抗体に結合される標識Aの量が減少する。

【0267】

本明細書中で使用されている用語「抗体」は、広義にはIg分子の本質的エピトープ結合要件を保持している4本のポリペプチド鎖、2本の重（H）鎖と2本の軽（L）鎖からなる免疫グロブリン（Ig）分子、或いはその機能的断片、ミュータント、バリエーションまたは誘導体を指す。前記したミュータント、バリエーションまたは誘導体抗体フォーマットは当業界で公知である。その非限定的実施形態を以下に検討する。

【0268】

完全長抗体において、各重鎖は重鎖可変領域（本明細書中、HCVRまたはVHと略す）及び重鎖定常領域からなる。重鎖定常領域は3つのドメインCH1、CH2及びCH3からなる。各軽鎖は軽鎖可変領域（本明細書中、LCVRまたは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からなる。VH及びVL領域は更に相補性決定領域（CDR）と称される高度可変性の領域に分割され得、CDRにはフレームワーク領域（FR）と称されるより保存性の領域が点在している。VH及びVLの各々は、アミノ末端からカルボキシ末端にFR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4の順で配置されている3つのCDR及び4つのFRから構成されている。免疫グロブリン分子は任意のタイプ（例えば、IgG、IgE、IgM、IgD、IgA及びIgY）、クラス（例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及びIgA2）またはサブクラスを有し得る。

【0269】

用語「Fc領域」は、完全抗体のパパイン消化により生じ得る免疫グロブリン重鎖のC末端領域を規定するために使用される。Fc領域は未変性配列Fc領域またはバリエーションFc領域であり得る。免疫グロブリンのFc領域は通常2つの定常ドメインのCH2ドメイン及びCH3ドメインを含み、場合によりCH4ドメインを含む。抗体エフェクター機能を変化させるためにFc部分中のアミノ酸残基を置換することは当業界で公知である（Winterら，米国特許Nos. 5, 648, 260及び5, 624, 821）。抗体のFc部分は幾つかの重要なエフェクター機能、例えばサイトカイン誘導、ADCC、食作用、補体依存性細胞障害（CDC）、並びに抗体及び抗原-抗体複合体の半減期/クリアランス速度を媒介する。幾つかの場合ではこれらのエフェクター機能は治療用抗体のために望ましいが、他の場合には治療目的に応じて不必要であったり、有害でさえある。あるヒトIgGアイソタイプ、特にIgG1及びIgG3は、それぞれFcγR及び補体C1qを介してADCC及びCDCを媒介する。新生児Fc受容体（FcRn）は抗体の循環半減期を決める重要な成分である。さらに別の実施形態では、抗体のエフェクター機能が変化するように抗体の定常領域（例えば、抗体のFc領域）中の少なくとも1つのアミ

10

20

30

40

50

ノ酸残基が置換されている。免疫グロブリンの2つの同一重鎖のダイマー化はCH3ドメインのダイマー化により媒介され、ヒンジ領域内のジスルフィド結合により安定化される (Huberら, Nature, 264:415-20; Thiesら, 1999, J. Mol. Biol., 293:67-79)。重鎖-重鎖ジスルフィド結合を防止するためにヒンジ領域内のシステイン残基を変異させると、CH3ドメインのダイマー化を不安定にする。CH3ダイマー化に関与する残基は同定されている (Dall'Acqua, 1998, Biochemistry, 37:9266-73)。従って、一価の半Igを作成することが可能である。驚くことに、IgG及びIgAサブクラスの両方に対して一価の半Igが天然で見ついている (Seligman, 1978, Ann. Immunol., 129:855-70; Biewengaら, 1983, Clin. Exp. Immunol., 51:395-400)。FcRn:Ig Fc領域の化学量論は2:1であると判明しており (Westら, 2000, Biochemistry, 39:9698-708)、半FcはFcRn結合を媒介するのに十分である (Kimら, 1994, Eur. J. Immunol., 24:542-548)。CH3ダイマー化のために重要な残基がCH3 bシート構造の内側界面上にあり、FcRn結合に関与する領域はCH2-CH3ドメインの外側界面上にあるので、CH3ドメインのダイマー化を中断させるための突然変異はFcRn結合に対して大きな悪影響を有し得ない。しかしながら、半Ig分子は規則抗体よりもサイズが小さいために組織浸透の点である利点を有し得る。1つの実施形態では、重鎖のダイマー化が中断されて半DVD Ig分子が生ずるように、本発明の結合タンパク質の定常領域 (例えば、Fc領域) 中の少なくとも1つのアミノ酸残基が置換されている。IgGの抗炎症活性はIgG Fc断片のN連結グリカンのシアリル化に完全に依存している。適切なIgG1 Fc断片を作成し、これにより大きく高められた力価を有する完全組換えシアリル化IgG1 Fcが生じ得るように、抗炎症活性のための正確なグリカン要件は解明されている (Anthony, R. M. ら (2008) Science, 320:373-376)。

【0270】

本明細書中で使用されている用語抗体の「抗原結合部分」 (または、単に「抗体部分」) は、抗原に対して特異的に結合する能力を保持している抗体の1つ以上の断片を指す。抗体の抗原-結合機能が完全長抗体の断片により実施され得ることは判明している。抗体の実施形態は双特異性、二重特異性または多重特異性フォーマット; 2つ以上の異なる抗原に対する特異的結合であり得る。用語抗体の用語「抗原結合部分」内に包含される結合断片の例には、(i) VL、VH、CL及びCH1ドメインから構成される一価断片であるFab断片; (ii) ヒンジ領域でジスルフィド架橋により連結されている2つのFab断片からなる二価断片であるF(ab')₂断片; (iii) VH及びCH1ドメインから構成されるFd断片; (iv) 抗体のシングルアームのVL及びVHドメインから構成されるFv断片; (v) 単一可変ドメインを含むdAb断片 (参照により本明細書に組み入れるWardら (1989) Nature, 341:544-546; Winterら, PCT公開WO 90/05144 A1); 及び(vi) 単離された相補性決定領域(CDR)が含まれる。更に、Fv断片の2つのドメインVL及びVHは別の遺伝子によりコードされるが、これらは組換え方法により、VL及びVH領域が対になって一価分子 (一本鎖Fv (scFv)) として公知; 例えば、Birdら (1988) Science, 242:423-426; 及びHustonら (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85:5879-5883) を参照されたい) を形成する単一タンパク質鎖として作成できる合成リンカーにより連結され得る。一本鎖抗体も用語抗体の「抗原結合部分」に包含されると意図される。ダイアボディのような他の形態の一本鎖抗体も包含される。ダイアボディは、VH及びVLドメインが単一ポリペプチド鎖上で発現されるが、同一鎖上の2つのドメイン上で対を形成するには余りに短いリンカーを用いてドメインは別の鎖の相補性ドメインと対を形成し、2つの抗原結合部位を形成する二価の双特異性抗体である (例えば、Holliger, P. ら (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448; Poljak, R. J.

ら（1994）Structure, 2:1121-1123を参照されたい）。前記抗体結合部分は当業界で公知である（Kontermann and Dubel編, Antibody Engineering (2001) Springer-Verlag, New York, 790pp (ISBN 3-540-41354-5)。加えて、一本鎖抗体には、相補性軽鎖ポリペプチドと一緒に抗原結合領域の対を形成するタンデムFvセグメントの対（VH-CH1-VH-CH1）からなる「線状抗体」（Zapataら, Protein Eng., 8(10):1057-1062(1995)、及び米国特許No. 5,641,870）も含まれる。

【0271】

用語「多価結合タンパク質」は、明細書を通じて2つ以上の抗原結合部位を含む結合タンパク質を指すべく使用されている。実施形態では、多価結合タンパク質は3つ以上の抗原結合部位を有するように工学操作されており、通常天然抗体ではない。用語「多重特異性結合タンパク質」は、2つ以上の関連または非関連標的に結合し得る結合タンパク質を指す。本発明の二重可変ドメイン（DVD）結合タンパク質は2つ以上の抗原結合部位を含み、四価または多価結合タンパク質である。DVDは1つの抗原に結合し得る単一特異性であり得、または2つ以上の抗原に結合し得る多重特異性であり得る。2つの重鎖DVDポリペプチド及び2つの軽鎖DVDポリペプチドを含むDVD結合タンパク質をDVD-Igと称する。DVD-Igの各々半分は1つの重鎖DVDポリペプチドと1つの軽鎖DVDポリペプチド及び2つの抗原結合部位を含む。各結合部位は重鎖可変ドメインと軽鎖可変ドメインを含み、1つの抗原結合部位あたり全部で6つのCDRが抗原結合に関与している。

【0272】

本明細書中で使用されている用語「双特異性抗体」は、1つのみが機能性双特異性抗体である複数の異なる免疫グロブリン種が生ずるように、クアドローマ技術（Milstein, C. and A. C. Cuelllo, Nature, 1983, 305(5934):p. 537-40を参照されたい）により、2つの異なるモノクローナル抗体の化学コンジュゲーション（Staerz, U. D. ら, Nature, 1985, 314(6012), p. 628-31を参照されたい）により、またはFc領域に突然変異を導入するノブとホール（knob-into-hole）または類似のアプローチ（Holliger, P. T. Prospero, and G. Winter, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1993, 90(14):p. 6444-8. 18を参照されたい）により作成される完全長抗体を指す。分子機能により、双特異性抗体は2つの結合アームの1つ（HC/LCの1つの対）上の1つの抗原（または、エピトープ）に結合し、第2アーム（HC/LCの異なる対）上の異なる抗原（または、エピトープ）に結合する。この定義により、双特異性抗体は（特異性及びCDR配列の両方の点で）2つの別個の抗原結合アームを有し、抗体が結合している抗原毎に一価である。

【0273】

本明細書中で使用されている用語「二重特異性抗体」は、2つの結合アーム（HC/LCの対）の各々中の2つの異なる抗原（または、エピトープ）に結合することができる完全長抗体を指す（PCT公開WO 02/02773を参照されたい）。従って、二重特異性結合タンパク質は、同一の特異性及び同一のCDR配列を有する2つの同一抗原結合アームを有し、そのタンパク質が結合している抗原毎に二価である。

【0274】

結合タンパク質の「機能性抗原結合部位」は標的抗原に結合し得るものである。抗原結合部位の抗原結合親和性は必ずしも抗原結合部位が誘導される親抗体ほど強くないが、抗原に結合する能力は抗原に対する抗体結合を評価するために公知の各種方法の1つを用いて測定されなければならない。更に、本発明の多価抗体の抗原結合部位の各々の抗原結合親和性は定量的に同一である必要はない。

【0275】

用語「サイトカイン」は、1つの細胞集団により放出され、他の細胞集団に対して細胞

内メディエーターとして作用するタンパク質に対する一般用語である。サイトカインの例はリンホカイン、モノカイン及び従来のポリペプチドホルモンである。サイトカインの中には、成長ホルモン、例えばヒト成長ホルモン、N-メチオニルヒト成長ホルモン及びウシ成長ホルモン；副甲状腺ホルモン；チロキシン；インスリン；プロインスリン；レラキシン；プロレラキシン；糖タンパク質ホルモン、例えば卵胞刺激ホルモン（FSH）、甲状腺刺激ホルモン（TSH）及び黄体形成ホルモン（LH）；肝増殖因子；線維芽増殖因子；プロラクチン；胎盤ラクトゲン；腫瘍壊死因子- α 及び- β ；ミューラー管抑制因子；マウスゴナドトロピン関連ペプチド；インヒビン；アクチビン；血管内皮増殖因子；インテグリン；トロンボポエチン（TPO）；神経成長因子、例えばNGF- α ；血小板増殖因子；胎盤増殖因子、形質転換増殖因子（TGF）、例えばTGF- α 及びTGF- β ；インスリン様成長因子-1及び-1.1；エリスロポエチン（EPO）；骨形成誘導因子；インターフェロン、例えばインターフェロン- α 、- β 及び- γ ；コロニー刺激因子（CSF）、例えばマクロファージ-CSF（M-CSF）、顆粒球-マクロファージ-CSF（GM-CSF）及び顆粒球-CSF（G-CSF）；インターロイキン（IL）、例えばIL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、IL-13、IL-15、IL-18、IL-21、IL-22、IL-23、IL-33；腫瘍壊死因子、例えばTNF- α またはTNF- β ；並びにLIF及びキットリガンド（KL）を含めた他のポリペプチド因子が含まれる。本明細書中で使用されている用語「サイトカイン」には、天然ソースまたは組換え細胞培養物由来のタンパク質及び未変性配列サイトカインの生物活性均等物が含まれる。

【0276】

用語「リンカー」は、ペプチド結合により連結される2つ以上のアミノ酸残基を含むポリペプチドを指すために使用され、1つ以上の抗原結合部分を連結するために使用される。リンカーポリペプチドは当業界で公知である（例えば、Holliger, P. ら（1993）Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 6444-6448；Poljak, R. J. ら（1994）Structure, 2: 1121-1123を参照されたい）。リンカーの例には、AKTTPKLEEGEFSEAR（配列番号1）、AKTTPKLEEGEFSEARV（配列番号2）、AKTTPKLG（配列番号3）、SAKTTPKLG（配列番号4）、SAKTTP（配列番号5）、RADAAP（配列番号6）、RADAAPTVS（配列番号7）、RADAAAAGGPGS（配列番号8）、RADAAA（G₄S）₄（配列番号9）、SAKTTPKLEEGEFSEARV（配列番号10）、ADAAAP（配列番号11）、ADAAPTVSIFPP（配列番号12）、TVAAP（配列番号13）、TVAAPSVFIFPP（配列番号14）、QPKAAP（配列番号15）、QPKAAPSVTLFPP（配列番号16）、AKTTPP（配列番号17）、AKTTPPSVTPLAP（配列番号18）、AKTTAP（配列番号19）、AKTTAPSVYPLAP（配列番号20）、ASTKGP（配列番号21）、ASTKGPSVFPLAP（配列番号22）、GGGGSGGGGSGGGGS（配列番号23）、GENKVEYAPALMALS（配列番号24）、GPAKELTPLKEAKVS（配列番号25）、GHEAAAVMQVQYPAS（配列番号26）が含まれるが、これらに限定されない。

【0277】

「免疫グロブリン定常ドメイン」は重鎖または軽鎖定常ドメインを指す。ヒトIgG重鎖及び軽鎖定常ドメインアミノ酸配列は当業界で公知である。

【0278】

本明細書中で使用されている用語「モノクローナル抗体」または「mAb」は、実質的に均質の抗体の集団から得られる抗体を指す。すなわち、微量で存在し得る可能性ある天然に存在する突然変異を除いて集団を構成する個々の抗体は同一である。モノクローナル抗体は非常に特異的であり、単一抗原に対して指向される。更に、典型的には各種決定基（エピトープ）に対する各種抗体を含むポリクローナル抗体調製物とは対照的に、各mAb

bは抗原上の単一決定基に対して指向される。修飾語「モノクローナル」は特定方法による抗体の産生を必要とすると見なされない。

【0279】

本明細書中で使用されている用語「ヒト抗体」は、ヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列に由来する可変及び定常領域を有する抗体を含むと意図される。本発明のヒト抗体は、例えばCDR、特にCDR3においてヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列（例えば、インビトロでランダムまたは部位特異的変異誘発により、またはインビボで体細胞突然変異により誘導される突然変異）によりエンコードされないアミノ酸残基を含み得る。しかしながら、本明細書中で使用されている用語「ヒト抗体」は、別の哺乳動物種（例えば、マウス）の生殖細胞系由来のCDR配列がヒトフレームワーク配列にグラフト化されている抗体を含むと意図されない。

10

【0280】

本明細書中で使用されている用語「組換えヒト抗体」は、組換え手段により産生、発現、作成または単離されるすべてのヒト抗体、例えば宿主細胞にトランスフェクトした組換え発現ベクターを用いて発現させた抗体（以下のセクションIIに更に記載されている）；組換えコンビナトリアルヒト抗体ライブラリーから単離した抗体（Hoogenboom H. R. (1997) *TIB Tech.*, 15: 62-70; Azzazy H. and Highsmith W. E. (2002) *Clin. Biochem.*, 35: 425-445; Gavilondo J. V. and Larrick J. W. (2002) *BioTechniques*, 29: 128-145; Hoogenboom H. and Chames P. (2000) *Immunology Today*, 21: 371-378）；ヒト免疫グロブリン遺伝子に対してトランスジェニックな動物（例えば、マウス）から単離した抗体（Taylor, L. D. ら (1992) *Nucl. Acids Res.*, 20: 6287-6295; Kellermann S-A. and Green L. L. (2002) *Current Opinion in Biotechnology*, 13: 593-597; Little M. ら (2000) *Immunology Today*, 21: 364-370を参照されたい）；またはヒト免疫グロブリン遺伝子配列の他のDNA配列へのスプライシングを含む他の手段により作成、発現、作成または単離される抗体を含むと意図される。組換えヒト抗体はヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列由来の可変及び定常領域を有する。しかしながら、ある実施形態では、組換えヒト抗体をインビトロ変異誘発にかけ（または、ヒトIg配列に対してトランスジェニックな動物を使用するときにはインビボ体細胞変異誘発）、よって組換え抗体のVH及びVL領域のアミノ酸配列はヒト生殖細胞系VH及びVL配列に由来し、関連しているが、インビボでヒト抗体生殖細胞系レパートリー内に本来存在していないことがある配列である。

20

30

【0281】

「親和性成熟された」抗体は、その1つ以上のCDRに1つ以上の改変がなされており、これらの改変を持たない親抗体と比較して抗原に対する抗体の親和性が改善された抗体である。親和性成熟された抗体の例は標的抗原に対してナノモルまたはピコモルすらの親和性を有する。親和性成熟された抗体は当業界で公知の手法により産生される。Marksら, *Bidl Technology*, 10: 779-783 (1992)はVH及びVLドメインシャフリングによる親和性成熟を記載している。CDR及び／またはフレームワーク残基のランダム変異誘発はBarbasら, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 91: 3809-3813 (1994); Schierら, *Gene*, 169: 147-155 (1995); Yeltonら, *J. Immunol.*, 155: 1994-2004 (1995); Jacksonら, *J. Immunol.*, 154 (7): 3310-9 (1995); Hawkinsら, *J. Mol. Biol.*, 226: 889-896 (1992)に記載されており、活性強化アミノ酸残基を用いる選択的変異誘発位置、接触または過剰変異位置での選択的変異誘発は米国特許US 6914128 B1に記載されている。

40

50

【0282】

用語「キメラ抗体」は、1つの種由来の重鎖及び軽鎖可変領域配列及び別の種由来の定常領域配列を含む抗体、例えばヒト定常領域に連結させたマウス重鎖及び軽鎖可変領域を有する抗体を指す。

【0283】

用語「CDRグラフト化抗体」は、1つの種由来の重鎖及び軽鎖可変領域配列を含むが、VH及び／またはVLの1つ以上のCDR領域の配列が別の種のCDR配列で置換されている抗体、例えば1つ以上のマウスCDR（例えば、CDR3）がヒトCDR配列で置換されているマウス重鎖及び軽鎖可変領域を有している抗体を指す。

【0284】

用語「ヒト化抗体」は、非ヒト種（例えば、マウス）由来の重鎖及び軽鎖可変領域配列を含むが、VH及び／またはVL配列の少なくとも一部がより「ヒト様」であるように、すなわちヒト生殖細胞系可変配列により類似するように改変されている抗体を指す。ヒト化抗体の1つのタイプは、対応する非ヒトCDR配列を置換するためにヒトCDR配列が非ヒトVH及びVL配列に導入されているCDRグラフト化抗体である。また、「ヒト化抗体」は、当該抗原に免疫特異的に結合し、実質的にヒト抗体のアミノ酸配列を有するフレームワーク（FR）領域及び実質的に非ヒト抗体のアミノ酸配列を有する相補性決定領域（CDR）を含む抗体、或いはそのバリエーション、誘導体、アナログまたは断片である。CDRの関連で、本明細書中で使用されている用語「実質的に」は、非ヒト抗体CDRのアミノ酸配列に対して少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なく
20
とも95%、少なくとも98%、または少なくとも99%同一のアミノ酸配列を有するCDRを指す。ヒト化抗体は、CDR領域のすべてまたは実質的にすべてが非ヒト免疫グロブリン（すなわち、ドナー抗体）のものに相当し、フレームワーク領域のすべてまたは実質的にすべてがヒト免疫グロブリンコンセンサス配列のものである少なくとも1つ、典型的には2つの可変ドメイン（Fab、Fab'、F(ab')₂、FabC、Fv）の実質的にすべてを含む。実施形態では、ヒト化抗体は免疫グロブリン定常領域（Fc）、典型的にはヒト免疫グロブリンの定常領域の少なくとも一部をも含む。幾つかの実施形態では、ヒト化抗体は軽鎖及び重鎖の少なくとも可変ドメインの両方を含む。抗体は重鎖のCH1、ヒンジ、CH2、CH3及びCH4領域をも含み得る。幾つかの実施形態では、ヒト化抗体はヒト化軽鎖のみを含む。幾つかの実施形態では、ヒト化抗体はヒト化重鎖のみを
30
含む。特定実施形態では、ヒト化抗体は軽鎖のヒト化可変ドメイン及び／またはヒト化重鎖のみを含む。

【0285】

用語「カバットナンバリング」、「カバット定義」及び「カバットラベリング」は本明細書中で互換可能に使用される。当業界で認識されているこれらの用語は、抗体またはその抗原結合部分の重鎖及び軽鎖可変領域中の他のアミノ酸残基よりもより可変性（すなわち、高度可変性）であるアミノ酸残基をナンバリングするシステムを指す（Kabata
40
(1971) Ann. NY Acad. Sci., 190:382-391及びKabata, E. A. ら(1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第5版, U. S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242)。重鎖可変領域の場合、高度可変領域はCDR1についてアミノ酸位置31~35、CDR2についてアミノ酸位置50~65、及びCDR3についてアミノ酸位置95~102の範囲である。軽鎖可変領域の場合、高度可変領域はCDR1についてアミノ酸位置24~34、CDR2についてアミノ酸位置50~56、及びCDR3についてアミノ酸位置89~97の範囲である。

【0286】

本明細書中で使用されている用語「CDR」は、抗体可変配列内の相補性決定領域を指す。重鎖及び軽鎖の可変領域の各々に可変領域が各々CDR1、CDR2及びCDR3と称されている3つのCDRがある。本明細書中で使用されている用語「CDR組」は、抗
50

原を結合し得る単一可変領域中に存在する3つのCDRの群を指す。これらのCDRの正確な境界は各種システムに従って相違的に規定される。Kabatが記載しているシステム(Kabatら, Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md(1987)及び(1991))は、抗体の可変領域に対して適用可能な明白な残基ナンバリングを与えるだけでなく、3つのCDRを規定する正確な残基境界も与える。これらのCDRはカバットCDRと称され得る。Chothia及び同僚(Chothia & Lesk, J. Mol. Biol., 196: 901-917 (1987)及びChothiaら, Nature, 342: 877-883 (1989))は、アミノ酸配列のレベルで大きな相違があるにもかかわらず、カバットCDR内のあるサブ部分はほぼ同一のペプチド骨格コンフォメーションを採用していることを知見した。これらのサブ部分はL1、L2及びL3、またはH1、H2及びH3と称され、ここで“L”及び“H”はそれぞれ軽鎖及び重鎖領域を示す。これらの領域はコチアCDRと称され得、カバットCDRと重複する境界を有している。カバットCDRと重複するCDRを規定する他の境界は、Padlan (FASEB J., 9: 133-139 (1995))及びMacCallum (J. Mol. Biol., 262 (5): 732-45 (1996))により記載されている。さらに他のCDR境界規定は本明細書中のシステムの1つに厳密に従わなくてもよいが、それでもカバットCDRと重複しており、特定の残基、残基の群、または全CDRすら抗原結合に有意な影響を与えないという予想または実験的所見にてらして短縮または延長させることができる。ある実施形態はカバットまたはコヒト定義のCDRを使用しているが、本明細書中で使用される方法はこれらのシステムのいずれかに従って規定されるCDRを利用し得る。

【0287】

本明細書中で使用されている用語「フレームワーク」または「フレームワーク配列」は、可変領域からCDRを差し引いた残りの配列を指す。CDR配列の正確な定義は各種システムにより決定され得るが、フレームワーク配列の意味は対応して異なって解釈される。6つのCDR(軽鎖のCDR-L1、-L2及び-L3、並びに重鎖のCDR-H1、-H2及び-H3)は軽鎖及び重鎖上のフレームワーク領域を各々の鎖上の4つのサブ領域(FR1、FR2、FR3及びFR4)に分割し、CDR1はFR1とFR2の間に位置し、CDR2はFR2とFR3の間に位置し、CDR3はFR3とFR4の間に位置する。特定のサブ領域をFR1、FR2、FR3またはFR4と特定しないが、他の方法により称されるフレームワーク領域は単一の天然に存在する免疫グロブリン鎖の可変領域内の合わさったFRを表す。本明細書中で使用されているFRは4つのサブ領域の1つを表し、FRはフレームワーク領域を構成する4つのサブ領域の2つ以上を表す。

【0288】

本明細書中で使用されている用語「生殖細胞系抗体遺伝子」または「遺伝子断片」は、特定免疫グロブリンの発現のために遺伝子再配列及び成熟をもたらす成熟プロセスを受けていない非リンパ様細胞によりエンコードされる免疫グロブリン配列を指す(例えば、Shapiroら, Crit. Rev. Immunol., 22 (3): 183-200 (2002); Marchalonisら, Adv. Exp. Med. Biol., 484: 13-30 (2001)を参照されたい)。本発明の各種実施形態により与えられる作用効果の1つは、生殖細胞系抗体遺伝子は成熟抗体遺伝子よりも種の中の個体の必須アミノ酸配列構造特性を保存しそうであり、よってその種中で治療のために使用する場合外来ソース由来と認識されにくいという認識から生ずる。

【0289】

本明細書中で使用されている用語「中和する」は、結合タンパク質が抗原に特異的に結合するとき抗原の生物活性を相殺することを指す。実施形態では、中和結合タンパク質はサイトカインに結合し、その生物活性を少なくとも約20%、40%、60%、80%、85%またはそれ以上低下させる。

【0290】

10

20

30

40

50

用語「活性」は、DVD-Igの2つ以上の抗原に対する結合特異性及び親和性のような活性を含む。

【0291】

用語「エピトープ」は、免疫グロブリンまたはT細胞受容体に対して特異的に結合し得るポリペプチド決定基を含む。ある実施形態では、エピトープ決定基は分子（例えば、アミノ酸、糖側鎖、ホスホリルまたはスルホニル）の化学的に活性な表面基を含み、ある実施形態では特定の3次元構造特性及び／または特定の電荷特性を有し得る。エピトープは抗体により結合される抗原の領域である。ある実施形態では、抗体はタンパク質及び／またはマクロ分子の複合混合物中のその標的抗原を認識すると抗原に特異的に結合すると言われている。抗体が交差競合する（1つの抗体が他の抗体の結合またはモジュレート作用を妨げる）ならば、抗体は「同一エピトープに結合する」と言われている。加えて、エピトープの構造定義（重複、類似、同一）は情報を与えるが、機能定義は構造（結合）及び機能（モジュレーション、競合）パラメーターを含んでいるのでしばしばより適切である。

10

【0292】

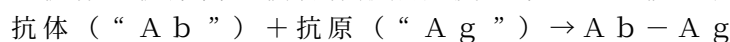
本明細書中で使用されている用語「表面プラズモン共鳴」は、バイオセンサーマトリックス内のタンパク質濃度の変化を例えばBIAcore（登録商標）システム（BIAcore International AB, a GE Healthcare company, スウェーデン国ウプサラ及びニュージャージー州ピスカタウェイ）を用いて検出することによりリアルタイム生物特異的相互作用を分析することができる光学現象を指す。更なる説明のために、Jonsson, U. ら（1993）Ann. Biol. Clin., 51:19-26; Jonsson, U. ら（1991）Biotechniques, 11:620-627; Johnsson, B. ら（1995）J. Mol. Recognit., 8:125-131; 及び Johnsson, B. ら（1991）Anal. Biochem., 198:268-277を参照されたい。

20

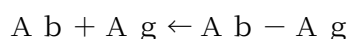
【0293】

本明細書中で使用されている用語「 K_{on} 」は、当業界で公知のように例えば抗体／抗原複合体を形成するための結合タンパク質（例えば、抗体）の抗原に対する会合に対するオン速度定数を指す。「 K_{on} 」は、本明細書中で互換可能に使用されている用語「会合速度定数」、すなわち「 k_a 」によっても公知である。抗体のその標的抗原に対する結合速度または抗体と抗原間の複合体形成速度を示すこの値は以下の式によっても示される：

30



本明細書中で使用されている用語「 K_{off} 」は、当業界で公知のように例えば抗体／抗原複合体からの結合タンパク質（例えば、抗体）の解離に対するオフ速度定数、すなわち「解離速度定数」を指す。この値は、抗体のその標的抗原からの解離速度、または以下の式：



により示す $Ab - Ag$ 複合体の遊離抗体及び抗原への経時的分離を示す。

【0294】

本明細書中で使用されている用語「 K_D 」は「平衡解離定数」を指すと意図され、平衡状態での滴定測定で得られる値または解離速度定数（ k_{off} ）を会合速度定数（ k_{on} ）で割ることにより得られる値を指す。会合速度定数、解離速度定数及び平衡解離定数は、抗体の抗原に対する結合親和性を表すために使用されている。会合速度定数及び解離速度定数の測定方法は当業界で公知である。蛍光に基づく技術を用いると、高い感受性及び平衡状態の生理学的バッファー中のサンプルを試験する能力が与えられる。他の実験アプローチ及び器具、例えばBIAcore（登録商標）（生体分子相互作用分析）アッセイを使用することができる（例えば、スウェーデン国ウプサラに所在のBIAcore International AB, a GE Healthcare companyから入手可能な計器）。加えて、Sapidyne Instruments（アイダホ州ボイジ）から入手可能なKinExA（登録商標）（Kinetic Exclusion

40

50

n Assay) アッセイも使用できる。

【0295】

「標識」及び「検出可能な標識」は、例えば特異的結合対のメンバー（例えば、抗体及びアナライト）間の反応を検出可能とするように特異的結合パートナー（例えば、抗体またはアナライト）に結合している部分を意味し、このように標識された特異的結合パートナー（例えば、抗体またはアナライト）は「検出可能に標識されている」と称される。よって、本明細書中で使用されている用語「標識された結合タンパク質」は、結合タンパク質の同定を与える組み込んだ標識を有するタンパク質を指す。実施形態では、標識は目視または器具、例えば放射標識されたアミノ酸の取り込みまたはマークしたアビジン（例えば、光学または比色方法により検出され得る蛍光マーカーまたは酵素活性を含有するストレプトアビジン）により検出され得るビオチニル部分のポリペプチドへの結合により検出可能なシグナルを生じ得る検出可能なマーカーである。ポリペプチドに対する標識の例には、放射性同位元素または放射性核種（例えば、 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{177}Lu 、 ^{166}Ho または ^{153}Sm ）；色素原、蛍光標識（例えば、FITC、ローダミン、ランタニドリン）、酵素標識（例えば、ホースラディッシュペルオキシダーゼ、ルシフェラーゼ、アルカリホスファターゼ）；化学発光マーカー；ビオチニル基；第2リポーター（例えば、ロイシンジッパー対配列、第2抗体に対する結合部位、金属結合ドメイン、エピトープタグ）により認識される前決定したポリペプチドエピトープ；及び磁気物質（例えば、ガドリニウムキレート）が含まれるが、これらに限定されない。イムノアッセイのために一般的に使用されている標識の代表例は、アクリジニウム化合物のように光を発する部分、フルオレセインのような蛍光を発する部分を含む。他の標識は本明細書中に記載されている。これに関して、部分それ自体は検出可能に標識されていなくてもよいが、別の部分と反応すると検出可能になり得る。「検出可能に標識されている」の使用は後者のタイプの検出可能な標識を包含すると意図される。

【0296】

用語「コンジュゲート」は、第2化学部分（例えば、治療薬または細胞傷害薬）に化学的に連結している結合タンパク質（例えば、抗体）を指す。用語「剤（薬、物質）」は、化合物、化合物の混合物、生物学的マクロ分子、または生物学的材料から作成される抽出物を指すべく本明細書において使用されている。実施形態では、治療薬または細胞傷害薬には、百日咳毒素、タキソール、サイトカラシンB、グラミシジンD、臭化エチジウム、エメチン、マイトマイシン、エトポシド、テノポシド、ビンクリスチン、ビンブラスチン、コルヒチン、ドキソルビシン、ダウノルビシン、ジヒドロキシアントラシンジオン、ミトキサントロン、ミトラマイシン、アクチノマイシンD、1-デヒドロテストステロン、グルココルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロパノロール及びピューロマイシン、並びにそのアナログまたはホモログが含まれるが、これらに限定されない。イムノアッセイの関連で使用する場合、コンジュゲート抗体は検出抗体として使用する検出可能に標識された抗体であり得る。

【0297】

本明細書中で使用されている用語「結晶」及び「結晶化されている」は、結晶の形態で存在している結合タンパク質（例えば、抗体）またはその抗原結合部分を指す。結晶は非晶質固体状態または液晶状態のような他の形態と区別される固体状態の1つの形態である。結晶は原子、イオン、分子（例えば、抗体のようなタンパク質）または分子アセンブリ（例えば、抗原／抗体複合体）の規則的、反復、三次元アレーから構成される。これらの三次元アレーは当分野で十分理解されている特定の数学的關係に従って配置される。結晶中で反復される基本的単位、すなわち構成ブロックは非対称単位と呼ばれる。所与の十分に規定された結晶学的対称に一致する配置中の非対称単位の反復により、結晶の「単位セル」が与えられる。すべての三次元での規則的移動による単位セルの反復により、結晶が生ずる。Giege, R. and Ducruix, A. Barrett, Crystallization of Nucleic Acids and Proteins

、a Practical Approach, 2nd ea., p. 201-16, Oxford University Press, New York, New York (1999) を参照されたい。

【0298】

用語「ポリヌクレオチド」は、リボヌクレオチドまたはデオキシヌクレオチドのいずれでかの2つ以上のヌクレオチドのポリマー形態、または各タイプのヌクレオチドの修飾形態を意味する。この用語はDNAの一本鎖及び二本鎖形態を含む。

【0299】

用語「単離ポリヌクレオチド」は、(例えば、ゲノム、cDNAまたは合成起源、或いはその幾つかかの組合せの) ポリヌクレオチドを意味し、その起源により「単離ポリヌクレオチド」は「単離ポリヌクレオチド」が天然で存在するポリヌクレオチドの全部または一部と結合しておらず；天然で連結していないポリヌクレオチドに機能し得る形で連結しており；または、大きな配列の一部として天然に存在していない。

【0300】

用語「ベクター」は、連結されている別の核酸を輸送することができる核酸分子を指すと意図される。1つのタイプのベクターは、追加DNAセグメントが連結され得る環状二本鎖DNAループを指す「プラスミド」である。別のタイプのベクターは、追加のDNAセグメントがウイルスゲノムに連結され得るウイルスベクターである。あるベクターは、該ベクターが導入されている宿主細胞において自律複製し得る(例えば、複製の細菌起源を有する細菌ベクター及びエピソーム哺乳動物ベクター)。他のベクター(例えば、非エピソーム哺乳動物ベクター)は宿主細胞に導入したときその宿主細胞のゲノムに組み込まれ得、よって宿主細胞ゲノムに沿って複製される。更に、あるベクターは機能し得る形で連結された遺伝子の発現を指向させることができる。前記ベクターを本明細書では「組換え発現ベクター」(または、単に「発現ベクター」)と称する。通常、組換えDNA技術において有用な発現ベクターはしばしばプラスミドの形態を有している。本明細書中、「プラスミド」及び「ベクター」は互換可能に使用され得、プラスミドは最も一般的に使用されているベクターの形態である。しかしながら、本発明は、均等の機能を発揮する他の形態の発現ベクター、例えばウイルスベクター(例えば、複製欠陥レトロウイルス、アデノウイルス及びアデノ随伴ウイルス)を含むと意図される。

【0301】

用語「機能し得る形で連結された」は、記載されている成分が意図する様式で機能し得る関係にある並置を指す。コード配列に「機能し得る形で連結された」制御配列は、コード配列の発現が制御配列と適合性の条件下で達成されるように連結されている。「機能し得る形で連結された」配列には、当該遺伝子に連続する発現制御配列及び当該遺伝子を制御するようにトランスでまたは少し離れて作用する発現制御配列が含まれる。本明細書中で使用されている用語「発現制御配列」は、連結されているコード配列の発現及びプロセッシングを生起するために必要なポリヌクレオチド配列を指す。発現制御配列には、適切な転写開始、終結、プロモーター及びエンハンサー配列；効率的なRNAプロセッシングシグナル、例えばスプライシング及びポリアデニル化シグナル；細胞質mRNAを安定化させる配列；翻訳効率を高める配列(すなわち、コザックのコンセンサス配列)；タンパク質安定性を高める配列；及び所望ならば、タンパク質分泌を高める配列が含まれる。制御配列の種類は宿主生物に依存して異なる。原核生物では、制御配列は通常プロモーター、リボソーム結合部位及び転写終結配列を含む。真核生物では、制御配列は通常プロモーター及び転写終結配列を含む。用語「制御配列」はその存在が発現及びプロセッシングのために必須である成分を含むと意図され、その存在が有利である追加の成分、例えばリーダー配列及び融合パートナー配列をも含み得る。

【0302】

「形質転換」は、外来性DNAを宿主細胞に入れるプロセスを指す。形質転換は当業界で公知の各種方法を用いて自然または人工条件下で起こり得る。形質転換は外来核酸配列を原核または真核宿主細胞に挿入するための公知方法に頼り得る。方法は形質転換される

宿主細胞に基づいて選択され、その中にはウイルス感染、エレクトロポレーション、リポフェクション及び粒子衝突が含まれるが、これらに限定されない。「形質転換された」細胞には、挿入されたDNAが自律複製プラスミドとしてまたは宿主染色体の一部として複製できる安定的に形質転換された細胞が含まれる。挿入されたDNAまたはRNAを限られた期間一時的に発現する細胞も含まれる。

【0303】

用語「組換え宿主細胞」（または、単に「宿主細胞」）は、外来性DNAが導入されている細胞を指すと意図される。この用語は特定の被験者細胞だけでなく、前記細胞の子孫を指すと意図されると理解されるべきである。突然変異または環境の影響のためにある修飾は次世代で起こり得るので、子孫は実際親細胞と同一でないことがあるが、なお本明細書中で使用されている用語「宿主細胞」の範囲に含まれる。実施形態では、宿主細胞には生物界から選択される原核及び真核細胞が含まれる。別の実施形態では、真核細胞には原生生物、真菌、植物及び動物細胞が含まれる。別の実施形態では、宿主細胞には原核細胞株大腸菌；哺乳動物細胞株CHO、HEK 293、COS、NS0、SP2及びPER.C6；昆虫細胞株Sf9；及び真菌細胞サッカロミセス・セレビシアエ（*Saccharomyces cerevisiae*）が含まれるが、これらに限定されない。

【0304】

組換えDNA、オリゴヌクレオチド合成、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）のために標準技術を使用し得る。酵素反応及び精製技術は製造業者の仕様書に従って、または当業界で通常実施されているかまたは本明細書中に記載されているように実施され得る。前記した技術及び手順は通常当業界で公知の慣用方法に従って、本明細書中に引用され、検討されている各種一般文献及びより具体的な文献に記載されているように実施され得る。例えば、参照により本明細書に組み入れるSambrookら、*Molecular Cloning: A Laboratory Manual*（第2版、Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y.（1989））を参照されたい。

【0305】

当業界で公知の「トランスジェニック生物」は、トランスジーンを含む細胞を有する生物を指し、生物（または、生物の先祖）に導入されたトランスジーンは生物では本質的に発現しないポリペプチドを発現する。「トランスジーン」は、トランスジェニック生物の1つ以上の細胞型または組織におけるコード化遺伝子産物の発現を指向すべくトランスジェニック生物を発生させる細胞のゲノムに安定的に機能し得る形で組み込まれるDNA構築物である。

【0306】

用語「調節する」及び「モジュレートする」は互換可能に使用されており、本明細書中で使用されているこれらの用語は当該分子の活性（例えば、サイトカインの生物活性）の変化または改変を指す。モジュレーションは当該分子のある活性または機能の大きさの増加または低下であり得る。分子の活性及び機能の例には、結合特性、酵素活性、細胞受容体活性化及びシグナル伝達が含まれるが、これらに限定されない。

【0307】

相応して、用語「モジュレーター」は当該分子の活性または機能（例えば、サイトカインの生物活性）を変化または改変させることができる化合物である。例えば、モジュレーターは、分子のある活性または機能の大きさをモジュレーターの非存在下で観察される該活性または機能の大きさと比較して増加または低下させ得る。ある実施形態では、モジュレーターは分子の少なくとも1つの活性または機能の大きさを低下させるインヒビターである。インヒビターの例には、タンパク質、ペプチド、抗体、ペプチボディ、炭水化物または小さい有機分子が含まれるが、これらに限定されない。ペプチボディは、例えばWO 01/83525に記載されている。

【0308】

用語「アゴニスト」は、当該分子と接触したとき分子のある活性または機能の大きさをアゴニストの非存在下で観察される該活性または機能の大きさと比較して増加させるモジュレーターを指す。当該具体的アゴニストには、ポリペプチド、核酸、炭水化物、または抗原に結合する他の分子が含まれるが、これらに限定されない。

【0309】

用語「アンタゴニスト」または「インヒビター」は、当該分子と接触したとき分子のある活性または機能の大きさをアゴニストの非存在下で観察される該活性または機能の大きさと比較して低下させるモジュレーターを指す。当該具体的アンタゴニストには、抗原の生物学的または免疫学的活性をブロックするまたはモジュレートするものが含まれる。抗原のアンタゴニスト及びインヒビターには、タンパク質、核酸、炭水化物、または抗原に結合する他の分子が含まれるが、これらに限定されない。

10

【0310】

本明細書中で使用されている用語「有効量」は、障害またはその1つ以上の症状の重症度及び／または期間を軽減または改善させる、障害の進行を予防する、障害を後退させる、障害に関連する1つ以上の症状の再発、発生、発症または進行を予防する、障害を検出する、或いは別の治療（例えば、予防薬または治療薬）の1つ以上の予防または治療効果を強化または向上させるのに十分な治療の量を指す。

【0311】

「患者」及び「被験者」は、動物、例えば霊長類（例えば、ヒト、サル及びチンパンジー）、非霊長類（例えば、ウシ、ウマ、ラクダ、ラマ、ウマ、ヤギ、家兎、ヒツジ、ハムスター、モルモット、ネコ、イヌ、ラット、マウス、クジラ）を含めた哺乳動物、鳥類（例えば、アヒルまたはガチョウ）及びサメを指すべく本明細書において互換可能に使用され得る。好ましくは、患者または被験者はヒト、例えば疾患、障害または状態のために治療または評価しようとするヒト、疾患、障害または状態のリスクのあるヒト、疾患、障害または状態を有するヒト及び／または疾患、障害または状態のために治療を受けているヒトである。

20

【0312】

本明細書中で使用されている用語「サンプル」は広義に使用されている。本明細書中で使用されている「生体」サンプルには、ある量の生き物または以前生きていた物由来の物質の量が含まれるが、これらに限定されない。生き物には、ヒト、マウス、ラット、サル、イヌ、家兎及び他の動物が含まれるが、これらに限定されない。前記物質には、血液（例えば、全血）、血漿、血清、尿、羊水、滑液、内皮細胞、白血球、単球、他の細胞、臓器、組織、骨髄、リンパ節及び脾臓が含まれるが、これらに限定されない。

30

【0313】

「成分」、「複数の成分」及び「少なくとも1つの成分」は、通常捕捉抗体、検出またはコンジュゲート抗体、対照、カリブレーター、一連のカリブレーター、感受性パネル、容器、バッファー、希釈剤、塩、酵素、酵素に対する補因子、検出試薬、前処理試薬／溶液、基質（例えば、溶液として）、停止液、及び本明細書中に記載されている方法及び当業界で公知の他の方法に従って被験サンプル（例えば、患者の尿、血清または血漿サンプル）をアッセイするためのキット中に含まれ得るものを指す。よって、本発明の関連で「少なくとも1つの成分」、「成分」及び「複数の成分」には、場合により例えば抗アナライト（例えば、抗ポリペプチド）抗体に結合させることにより固体支持体上に固定化されている上記したポリペプチドまたは他のアナライト、例えばアナライト（例えば、ポリペプチド）を含む組成物が含まれ得る。幾つかの成分は溶解しているかまたはアッセイに使用すべく再構成するために凍結乾燥されている。

40

【0314】

「対照」は、アナライトでないことが公知の組成物（「ネガティブ対照」）またはアナライトを含んでいることが公知の組成物（「ポジティブ対照」）を指す。ポジティブ対照は公知濃度のアナライトを含み得る。「対照」、「ポジティブ対照」及び「カリブレーター」は、公知濃度のアナライトを含む組成物を指すべく本明細書において互換可能に使用

50

され得る。「ポジティブ対照」は、アッセイ性能特性を確立するために使用され得、試薬（例えば、アナライト）の完全性の有用な指標である。

【0315】

「前決定したカットオフ」及び「前決定したレベル」は、通常前決定したカットオフ／レベルに対してアッセイ結果を比較することにより診断／予後／治療有効性の結果を評価するために使用されるアッセイカットオフ値を指し、前記した前決定したカットオフ／レベルは各種臨床パラメーター（例えば、疾患の重症度、進行／非進行／改善等）に既にリンクまたは関連している。本明細書は前決定したレベルの例を記載しているが、カットオフ値がイムノアッセイの種類（例えば、使用する抗体等）に依存して変動し得ることは公知である。更に、本明細書の開示に基づいて他のイムノアッセイに対するイムノアッセイ特異的カットオフ値を得るために本明細書の開示内容を他のアッセイに対して改作させることは当業者の技量の範囲内である。前決定したカットオフ／レベルの正確な値はアッセイ間で変動し得るが、本明細書中に記載されている相関関係（存在するならば）が通常適応され得る。

10

【0316】

本明細書中に記載されている診断アッセイにおいて使用される「前処理試薬」、例えば溶解、沈殿及び／または可溶化試薬は、被験サンプル中に存在する細胞を溶解する及び／またはアナライトを可溶化するものである。前処理は、本明細書中に更に記載するようにすべてのサンプルにとって必須でない。特に、アナライト（例えば、当該ポリペプチド）を可溶化すると、アナライトがサンプル中に存在する内因性結合タンパク質から放出し得る。前処理試薬は均質であっても（分離ステップを必要としない）、不均質であってもよい（分離ステップを必要とする）。不均質前処理試薬を使用する場合、被験サンプルから沈殿したアナライト結合タンパク質を除去した後、アッセイの次ステップにかける。

20

【0317】

本明細書中に記載されているイムノアッセイ及びキットの関連で、「品質コントロール試薬」には、カリブレーター、対照及び感受性パネル含まれるが、これらに限定されない。典型的には（例えば、1つ以上、例えば複数の）「カリブレーター」または「標準」がアナライト（例えば、抗体またはアナライト）の濃度を内挿するための較正曲線を作成するために使用される。或いは、前決定した正／負のカットオフに近い単一カリブレーターを使用してもよい。「感受性パネル」を構成するように複数のカリブレーター（すなわち、2つ以上のカリブレーターまたは異なる量の1つ以上のカリブレーター）を一緒に使用してもよい。

30

【0318】

「リスク」は、特定事象が現在または将来の幾つかの時点で生ずる可能性または見込みを指す。「リスク層化」は、医師が患者を特定の疾患、障害または状態を発症するリスクが低、中、高または最高であると分類できる公知の臨床リスク要因のアレイを指す。

【0319】

特異的結合対のメンバー（例えば、抗原（または、その断片）と抗体（または、その抗原反応性断片）間の相互作用の関連で、「特異的」及び「特異性」は相互作用の選択的反応性を指す。フレーズ「特異的に結合する」及び類似のフレーズは、抗体（または、その抗原反応性断片）がアナライト（または、その断片）に特異的に結合するが、他のものに特異的に結合しない能力を指す。

40

【0320】

「特異的結合パートナー」は特異的結合対のメンバーである。特異的結合対は相互に化学的または物理的手段を介して特異的に結合する2つの異なる分子からなる。従って、一般的なイムノアッセイの抗原－抗体特異的結合対に加えて、他の特異的結合対には、ビオチンとアビジン（または、ストレプトアビジン）、炭水化物とレクチン、相補的ヌクレオチド配列、エフェクターと受容体分子、補因子と酵素、酵素阻害剤と酵素、等が含まれ得る。更に、特異的結合対には、元の特異的結合メンバーのアナログ、例えばアナライトアナログであるメンバーが含まれ得る。免疫反応性の特異的結合メンバーには、単離された

50

または組換え産生された抗原、抗原断片、及びモノクローナル及びポリクローナル抗体を含めた抗体、並びにその複合体、断片及び（バリエントの断片を含めた）バリエントが含まれる。

【0321】

本明細書中で使用されている「バリエント」は、所与のポリペプチド（例えば、IL-18、BNP、NGALまたはHIVポリペプチド、または抗ポリペプチド抗体）とはアミノ酸の付加（例えば、挿入）、欠失または保存的置換によりアミノ酸配列の点で異なるが、所与のポリペプチドの生物活性を保持しているポリペプチドを意味する（例えば、バリエントIL-18はIL-18に対する結合に関して抗IL-18抗体と競合し得る）。

10

アミノ酸の保存的置換、すなわちアミノ酸の類似の特性（例えば、親水性及び荷電領域の分布度）を有する別のアミノ酸での置換は、典型的には当業界ではマイナーチェンジを伴うと認識されている。これらのマイナーチェンジは、一部には当業界で理解されているように（例えば、Kyteら, J. Mol. Biol., 157:105-132 (1982)を参照されたい）アミノ酸のハイドロパティール指標を考慮することにより同定され得る。アミノ酸のハイドロパティール指標は疎水性及び電荷の検討に基づいている。当業界では、類似のハイドロパティール指標を有するアミノ酸が置換されても、タンパク質機能は保持されることが公知である。1つの態様で、±2のハイドロパティール指標を有するアミノ酸を置換する。アミノ酸の親水性は生物学的機能を保持しているタンパク質を生ずる置換を明らかにするためにも使用され得る。ペプチドの関連で、アミノ酸の親水性を考慮すると、抗原性及び免疫原性とうまく相関していると報告されている（例えば、参照により本明細書に組み入れる米国特許No. 4,554,101を参照されたい）有用な尺度であるペプチドの最大の局所平均親水性を計算することができる。類似の親水性値を有するアミノ酸を置換すると、当業界で理解されているように生物活性（例えば、免疫原性）を保持しているペプチドが得られ得る。1つの態様で、置換は相互に±2内の親水性値を有するアミノ酸を用いて実施される。アミノ酸のハイドロパティール指標及び親水性値の両方が該アミノ酸の特定側鎖により影響される。所見と一致して、生物学的機能と適合するアミノ酸置換は疎水性、親水性、電荷、サイズ及び他の特性により明らかにされるアミノ酸の相対的類似性、特にアミノ酸の側鎖に依存していると理解される。「バリエント」は、例えばタンパク質分解、リン酸化または他の翻訳後修飾によりさまざまにプロセッシングされたが、なおその生物活性または抗原反応性（例えば、IL-18に対して結合する能力）を保持しているポリペプチドまたはその断片を指すためにも使用され得る。本明細書中の「バリエント」の使用は、他の点で文脈上矛盾しない限りバリエントの断片を包含すると意図される。

20

30

【0322】

I. DVD結合タンパク質の作成

本発明は、1つ以上の標的に結合し得る二重可変ドメイン結合タンパク質及びその作成方法に関する。実施形態では、結合タンパク質は、VD1-(X1)_n-VD2-C-(X2)_n（ここで、VD1は第1可変ドメインであり、VD2は第2可変ドメインであり、Cは定常ドメインであり、X1はアミノ酸またはポリペプチドを表し、X2はFc領域を表し、nは0または1である）からなるポリペプチド鎖を含む。本発明の結合タンパク質は各種技術を用いて作成され得る。本発明は、発現ベクター、宿主細胞及び結合タンパク質の作成方法を提供する。

40

【0323】

A. 親モノクローナル抗体の作成

DVD結合タンパク質の可変ドメインは、当該抗原に結合し得るポリクローナル及びmAbを含めた親抗体から得られ得る。これらの抗体は天然に存在していても、または組換えテクノロジーにより作成してもよい。

【0324】

MAbは、ハイブリドーマ、組換え体及びファージディスプレイテクノロジー、または

50

その組合せの使用を含めた当業界で公知の各種技術を用いて作成され得る。例えば、mAbは、当業界で公知の技術及び例えばHarlowら、Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 第2版, 1988); Hammerlingら, Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas, 563-681 (Elsevier, N. Y., 1981) (これらの文献は全文参照により本明細書に組み入れる) が教示している技術を含めたハイブリドーマ技術を用いて産生され得る。本明細書中で使用されている用語「モノクローナル抗体」はハイブリドーマテクノロジーにより産生される抗体に限定されない。用語「モノクローナル抗体」は、抗体を産生する方法ではなく、真核、原核またはファージクローンを含めた単クローンから誘導される抗体を指す。以下の実施例1で検討しているように、ハイブリドーマを選択し、クローニングし、ロバストなハイブリドーマ増殖、高い抗体産生及び望ましい抗体特性を含めた所望の特性について更にスクリーニングにかける。ハイブリドーマはインビボで同系動物において、免疫系を欠く動物(例えば、ヌードマウス)において、或いはインビトロで細胞培養で培養し、増殖され得る。ハイブリドーマを選択し、クローニングし、増殖させる方法は当業者に公知である。特定実施形態では、ハイブリドーマはマウスハイブリドーマである。別の実施形態では、ハイブリドーマは非ヒト非マウス種(例えば、ラット、ヒツジ、ブタ、ヤギ、ウシまたはウマ)において産生される。別の実施形態では、ハイブリドーマは、ヒト非分泌型ミエローマを特定抗原に結合し得る抗体を発現し得るヒト細胞に融合させたヒトハイブリドーマである。

10

20

【0325】

組換えmAbは、単一単離リンパ球から米国特許No. 5, 627, 052、PCT公開WO 92/02551及びBabcock, J. S. ら(1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93: 7843-7848に記載されている当業界で選択リンパ球抗体方法(SLAM)と称される手順を用いても作成される。この方法では、当該抗体を分泌する単一細胞、例えば免疫化動物から誘導したリンパ球を同定し、重鎖及び軽鎖可変領域cDNAを細胞から逆転写酵素-PCRにより救出し、その後これらの可変領域を適切な免疫グロブリン定常領域(例えば、ヒト定常領域)に関連して哺乳動物宿主細胞(例えば、COSまたはCHO細胞)において発現させ得る。次いで、インビボで選択したリンパ球から誘導した増幅免疫グロブリン配列をトランスフェクトした宿主細胞は、例えば当該抗原に対する抗体を発現する細胞を単離するためにトランスフェクトした細胞をパンニングすることによりインビトロで更なる分析及び選択を受け得る。増幅免疫グロブリン配列は更にインビトロで、例えばPCT公開WO 97/29131及びPCT公開WO 00/56772に記載されているようなインビトロ親和性成熟方法により操作され得る。

30

【0326】

モノクローナル抗体は、ヒト免疫グロブリン遺伝子座の一部または全部を含む非ヒト動物を当該抗原で免疫化することによっても産生される。実施形態では、非ヒト動物は、ヒト免疫グロブリン遺伝子座の大きな断片を含み且つマウス抗体産生に欠けている工学操作したマウス系統であるXENOMOUSEトランスジェニックマウスである。例えば、Greenら, Nature Genetics, 7: 13-21 (1994); 並びに米国特許Nos. 5, 916, 771、5, 939, 598、5, 985, 615、5, 998, 209、6, 075, 181、6, 091, 001、6, 114, 598及び6, 130, 364を参照されたい。また、1991年7月25日に公開されたWO 91/10741、1994年2月3日に公開されたWO 94/02602、いずれも1996年10月31日に公開されたWO 96/34096及びWO 96/33735、1998年4月23日に公開されたWO 98/16654、1998年6月11日に公開されたWO 98/24893、1998年11月12日に公開されたWO 98/50433、1999年9月10日に公開されたWO 99/45031、1999年10月21日に公開されたWO 99/53049、2000年2月24日に公開されたWO 0

40

50

0/09560及び2000年6月29日に公開されたWO 00/037504も参照されたい。XENOMOUSEトランスジェニックマウスは完全ヒト抗体の成人様ヒトレパートリーを産生し、抗原特異的ヒトモノクローナル抗体を作成する。XENOMOUSEトランスジェニックマウスは、ヒト重鎖遺伝子座及びx軽鎖遺伝子座のメガ塩基サイズの生殖細胞系コンフィギュレーションYAC断片の導入によりヒト抗体レパートリーの約80%を含む。開示内容を参照により本明細書に組み入れるMendezら, *Nature Genetics*, 15:146-156 (1997); Green and Jakobovits, *J. Exp. Med.*, 188:483-495 (1998)を参照されたい。

【0327】

所望の結合特異性を有する抗体を同定するために抗体ライブラリーをスクリーニングにかけるインビトロ方法も親抗体を作成するために使用され得る。組換え抗体ライブラリーをスクリーニングするための方法は当業界で公知であり、その中には例えば各々の開示内容を参照により本明細書に組み入れるLadnerら, 米国特許No. 5, 223, 409; Kangら, PCT公開WO 92/18619; Dowerら, PCT公開WO 91/17271; Winterら, PCT公開WO 92/20791; Marklandら, PCT公開WO 92/15679; Breitlingら, PCT公開WO 93/01288; McCaffertyら, PCT公開WO 92/01047; Garrardら, PCT公開WO 92/09690; Fuchsら (1991) *Bio/Technology*, 9:1370-1372; Hayら (1992) *Hum. Antibod. Hybridomas*, 3:81-85; Huseら (1989) *Science*, 246:1275-1281; McCaffertyら, *Nature* (1990) 348:552-554; Griffithsら (1993) *EMBO J.*, 12:725-734; Hawkinsら (1992) *J. Mol. Biol.*, 226:889-896; Clacksonら (1991) *Nature*, 352:624-628; Gramら (1992) *PNAS*, 89:3576-3580; Garrardら (1991) *Bio/Technology*, 9:1373-1377; Hoogenboomら (1991) *Nuc. Acid Res.*, 19:4133-4137; 及びBarbassら (1991) *PNAS*, 88:7978-7982; 米国特許出願公開20030186374及びPCT公開WO 97/29131に記載されている方法が含まれる。

【0328】

本発明の親抗体は、当業界で公知の各種ファージディスプレイ方法を用いても作成され得る。ファージディスプレイ方法では、機能的抗体ドメインはこれらをエンコードするポリヌクレオチド配列を有するファージディスプレイの表面上にディスプレイされる。特に、ファージはレパートリーまたはコンビナトリアル抗体ライブラリー（例えば、ヒトまたはマウス）から発現させた抗原-結合ドメインをディスプレイするために使用され得る。当該抗原に結合する抗原結合ドメインを発現するファージは、例えば標識抗原、または固体表面またはビーズに結合または捕捉させた抗原を用いて選択または同定され得る。これらの方法で使用されるファージは、典型的にはファージ遺伝子IIIまたは遺伝子VIIタンパク質に組換え融合させたFab、Fvまたはジスルフィド安定化Fv抗体ドメインを有するファージから発現させたfd及びM13結合ドメインを含めた繊維状ファージである。本発明の抗体を作成するために使用され得るファージディスプレイ方法の例には、各々全文参照により本明細書に組み入れるBrinkmanら, *J. Immunol. Methods*, 182:41-50 (1995); Amesら, *J. Immunol. Methods*, 184:177-186 (1995); Kettleboroughら, *Eur. J. Immunol.*, 24:952-958 (1994); Persicら, *Gene*, 187, 9-18 (1997); Burtonら, *Advances in Immunology*, 57:191-280 (1994); PCT出願PCT/GB 91/01134; PCT公開WO 90/02809; WO 91/10737; WO 92/01047; WO 92/18619; WO 93/11236; WO 95/

10

20

30

40

50

1 5 9 8 2 ; W O 9 5 / 2 0 4 0 1 ; 及び米国特許 N o s . 5 , 6 9 8 , 4 2 6 , 5 , 2 2 3 , 4 0 9 , 5 , 4 0 3 , 4 8 4 , 5 , 5 8 0 , 7 1 7 , 5 , 4 2 7 , 9 0 8 , 5 , 7 5 0 , 7 5 3 , 5 , 8 2 1 , 0 4 7 , 5 , 5 7 1 , 6 9 8 , 5 , 4 2 7 , 9 0 8 , 5 , 5 1 6 , 6 3 7 , 5 , 7 8 0 , 2 2 5 , 5 , 6 5 8 , 7 2 7 , 5 , 7 3 3 , 7 4 3 及び 5 , 9 6 9 , 1 0 8 に開示されている方法が含まれる。

【0329】

本明細書の参考文献に記載されているように、ファージを選択した後、ファージ由来の抗体コード化領域を単離し、ヒト抗体を含めた全抗体または他の所望する抗原結合断片を作成するために使用し、例えば以下に詳記されているように哺乳動物細胞、昆虫細胞、植物細胞、酵母及び細菌を含めた所望の宿主において発現させる。例えば、F a b、F a b ' 及び F (a b ') 2 断片を組換え産生するための技術は、例えば P C T 公開 W O 9 2 / 2 2 3 2 4 ; M u l l i n a x ら, B i o T e c h n i q u e s , 1 2 (6) : 8 6 4 - 8 6 9 (1 9 9 2) ; S a w a i ら, A J R I , 3 4 : 2 6 - 3 4 (1 9 9 5) ; 及び B e t t e r ら, S c i e n c e , 2 4 0 : 1 0 4 1 - 1 0 4 3 (1 9 8 8) (これらの文献は全文参照により本明細書に組み入れる) に開示されているような当業界で公知の方法も使用され得る。一本鎖 F v 及び抗体を産生するために使用され得る技術の例には、米国特許 4 , 9 4 6 , 7 7 8 及び 5 , 2 5 8 , 4 9 8 ; H u s t o n ら, M e t h o d s i n E n z y m o l o g y , 2 0 3 : 4 6 - 8 8 (1 9 9 1) ; S h u ら, P N A S , 9 0 : 7 9 9 5 - 7 9 9 9 (1 9 9 3) ; 及び S k e r r a ら, S c i e n c e , 2 4 0 : 1 0 3 8 - 1 0 4 0 (1 9 8 8) に記載されている技術が含まれる。

【0330】

組換え抗体ライブラリーのファージディスプレイによるスクリーニングの代わりに、大きいコンビナトリアルライブラリーをスクリーニングするための当業界で公知の他の方法が親抗体の同定に対して適用され得る。代替発現系の 1 つのタイプは、S z o s t a k and R o b e r t s による P C T 公開 W O 9 8 / 3 1 7 0 0 及び R o b e r t s , R . W . and S z o s t a k , J . W . (1 9 9 7) P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A , 9 4 : 1 2 2 9 7 - 1 2 3 0 2 に記載されている組換え抗体ライブラリーを R N A - タンパク質融合物として発現させるものである。この系では、3 ' 末端にペフチジルアクセプター抗生物質のピューロマイシンを有している合成 m R N A のインビトロ翻訳により m R N A と m R N A がコードするペプチドまたはタンパク質の間で共有結合融合物が生ずる。よって、特定 m R N A は、エンコードされるペプチドまたはタンパク質 (例えば、抗体またはその一部) の特性、例えば抗体またはその部分の二重特異性抗原に対する結合に基づいて m R N A の複合体混合物 (例えば、コンビナトリアルライブラリー) から濃縮され得る。前記ライブラリーのスクリーニングから回収した抗体またはその一部をエンコードする核酸配列を (例えば、哺乳動物宿主細胞において) 本明細書中に記載されている組換え手段により発現させ得、更に本明細書に記載されているように突然変異を元々選択した配列に導入した m R N A - ペプチド融合物を追加スクリーニングすることにより、または組換え抗体のインビトロでの他の親和性成熟方法により親和性成熟させることができる。

【0331】

別のアプローチでは、親抗体は当業界で公知の酵母ディスプレイ方法を用いても作成され得る。酵母ディスプレイ方法では、抗体ドメインを抗体細胞壁につなぎ、酵母の表面上でディスプレイするために遺伝的方法を使用する。特に、酵母はレポーターまたはコンビナトリアル抗体ライブラリー (例えば、ヒトまたはマウス) から発現させた抗原-結合ドメインをディスプレイするために利用され得る。親抗体を作成するために使用され得る酵母ディスプレイ方法の例には、参照により本明細書に組み入れる W i t t r u p ら、米国特許 N o . 6 , 6 9 9 , 6 5 8 に開示されている方法が含まれる。

【0332】

本明細書中に記載されている抗体は、C D R グラフト化及びヒト化親抗体を作成するために更に修飾され得る。C D R グラフト化親抗体はヒト抗体由来の重鎖及び軽鎖可変領域

配列を含み、 V_H 及び／または V_L の 1 つ以上の CDR 領域は当該抗原に結合し得るマウス抗体の CDR 配列で置換されている。ヒト抗体由来のフレームワーク配列は CDR グラフト化のための鋳型として役立ち得る。しかしながら、前記フレームワーク上の直鎖置換はしばしば抗原に対する結合親和性を若干低下させる。ヒト抗体の元のマウス抗体に対する相対性が高いと、マウス CDR をヒトフレームワークと組み合わせると親和性を低下させる変形が CDR に導入される可能性が少なくなるであろう。従って、実施形態では、CDR とは別にマウス可変フレームワークを置換するために選択されるヒト可変フレームワークはマウス抗体可変領域フレームワークと少なくとも 65% の配列同一性を有する。実施形態では、CDR とは別にヒト及びマウス可変領域は少なくとも 70% の配列同一性を有する。特定実施形態では、CDR とは別にヒト及びマウス可変領域は少なくとも 75% の配列同一性を有する。別の実施形態では、CDR とは別にヒト及びマウス可変領域は少なくとも 80% の配列同一性を有する。前記抗体を産生するための方法は当業界で公知である (EP 239, 400; PCT 公開 WO 91/09967; 米国特許 Nos. 5, 225, 539, 5, 530, 101 及び 5, 585, 089 を参照されたい)、化粧張りまたは再舗装 (EP 592, 106; EP 519, 596; Padlan, Molecular Immunology, 28 (4/5): 489-498 (1991); Studnicka, Protein Engineering, 7 (6): 805-814 (1994); Roguska, PNAS, 91: 969-973 (1994)) 及び鎖シャッフリング (米国特許 No. 5, 565, 352); 及び抗イディオタイプ抗体。

【0333】

ヒト化抗体は、非ヒト種由来の 1 つ以上の相補性決定領域 (CDR) 及びヒト免疫グロブリン分子由来のフレームワーク領域を有する所望の抗原に結合する非ヒト種抗体由来の抗体分子である。公知のヒト Ig 配列は、例えば各々を全文参照により本明細書に組み入れる

www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez-query.fcgi;
www.atcc.org/phage/hdb.html; www.sciquest.com/;
www.abcam.com/;

www.antibodyresource.com/onlinecomp.html;
 ;

www.public.iastate.edu/about/pedro/research_tools.html; www.mgen.uni-heidelberg.de/SD/IT/IT.html; www.whfreeman.com/immunology/CH-05/kuby05.htm;

www.library.thinkquest.org/12429/Immune/Antibody.html;

www.hhmi.org/grants/lectures/1996/vlab/;
www.path.cam.ac.uk/about/mrc7/m-ikeimages.html; www.antibodyresource.com/; mcb.harvard.edu/BioLinks/Immunology.html. www.immunologylink.com/; pathbox.wustl.edu/about/hcenter/index.html;

www.biotech.ufl.edu/about/hcl/; www.pebio.com/pa/340913/340913.html;

www.nal.usda.gov/awic/pubs/antibody/; www.m.ehime-u.ac.jp/about/yasuhito-Elisa.html; www.biodesign.com/table.asp; www.icnet.uk/axp/facs/davies/links.html;

www.biotech.ufl.edu/about/fccl/protocol.html; www.isac-net.org/sites_geo.html;

imtl.imt.uni-marburg.de/about.rek/AEP-Start.html; baserv.uci.kun.nl/about.jraats/links1.html;
 www.recab.uni-hd.de/immuno.bme.nwu.edu/;
 www.mrc-cpe.cam.ac.uk/imt-doc/public/INTRO.html; www.ibt.unam.mx/vir/V__mice.html;
 imgt.cnusc.fr:8104/;
 www.biochem.ucl.ac.uk/about.martin/abs/index.html; antibody.bath.ac.uk/;
 abgen.cvm.tamu.edu/lab/wwwabgen.html; www.unizh.ch/about.honegger/AHOseminar/Slideo.html; www.cryst.bbk.ac.uk/about.ubcg07s/;
 www.nimr.mrc.ac.uk/CC/ccaewg/ccaewg.htm;
 www.path.cam.ac.uk/about.mrc7/humanisation/TAHHP.html; www.ibt.unam.mx/vir/structure/stat__aim.html;
 www.biosci.missouri.edu/smithgp/index.html; www.cryst.bioc.cam.ac.uk/about.fmolina/Web-pages/Pept/spottech.html; www.jerini.de/fr/products.htm; www.patents.ibm.com/ibm.html; Kabatら, Sequences of Proteins of Immunological Interest, U. S. Dept. Health (1983)に開示されている。当業界で公知のように、取り込まれた配列は、免疫原性を減ずるために、或いは結合、親和性、オン速度、オフ速度、アビディティー、特異性、半減期または他の適当な特性を低下させる、強化するまたは修飾するために使用される。

【0334】

ヒトフレームワーク領域中のフレームワーク残基をCDRドナー抗体由来の対応する残基で置換して、抗原結合を改変（例えば、改善）してもよい。これらのフレームワーク置換は当業界で公知の方法により、例えばCDR及びフレームワーク残基の相互作用をモデル化して、抗原結合及び配列比較のために重要なフレームワーク残基を同定し、特定位置の異常なフレームワーク残基を同定することにより同定する（例えば、全文参照により本明細書に組み入れるQueenら, 米国特許No. 5, 585, 089; Riechmannら, Nature, 332:323 (1988)を参照されたい）。これらの三次元免疫グロブリンモデルは通常入手可能であり、当業者に知られている。選択した候補免疫グロブリン配列のありそうな三次元コンフォメーション構造を図示し、ディスプレイするコンピュータープログラムが入手可能である。これらのディスプレイを精査すると、候補免疫グロブリン配列の機能時の残基のありそうな役割の分析、すなわち候補免疫グロブリンがその抗原へ結合する能力に影響を与える残基の分析が可能となる。こうして、FR残基が選択され、所望の抗体特性（例えば、1つ以上の標的抗原に対する高い親和性）が達成するようにコンセンサスな重要な配列から合わせられる。通常、CDR残基は直接、殆ど実質的に抗原結合の影響に関与する。抗体は当業界で公知の各種技術を用いてヒト化され得、これらの技術の例には、各々全文参照により本明細書に組み入れるJonesら, Nature, 321:522 (1986); Verhoeyenら, Science, 239:1534 (1988); Simsら, J. Immunol., 151:2296 (1993); Chothia and Lesk, J. Mol. Biol., 196:901 (1987); Carterら, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 89:4285 (1992); Prestaら, J. Immunol., 151:2623 (1993); Padlan, Molecular Immunology,

28 (4/5), 489-498 (1991); Studnicka, Protein Engineering, 7 (6): 805-814 (1994); Roguska, PNAS, 91: 969-973 (1994); PCT公開WO 91/09967、PCT/US98/16280、US96/18978、US91/09630、US91/05939、US94/01234、GB89/01334、GB91/01134、GB92/01755; WO 90/14443、WO90/14424、WO 90/14430、EP 229246、EP 592, 106、EP 519, 596、EP 239, 400、米国特許Nos. 5, 565, 332, 5, 723, 323, 5, 976, 862, 5, 824, 514, 5, 817, 483, 5, 814, 476, 5, 763, 192, 5, 723, 323, 5, 766, 886, 5, 714, 352, 6, 204, 023, 6, 180, 370, 5, 693, 762, 5, 530, 101, 5, 585, 089, 5, 225, 539及び4, 816, 567及びこれらの中で引用されている参考文献に記載されている技術が含まれるが、これらに限定されない。

10

【0335】

B. 親モノクローナル抗体を選択するための基準

本発明の実施形態は、DVD-Ig分子において望まれる少なくとも1つ以上の特性を有する親抗体の選択に関する。実施形態では、所望特性は1つ以上の抗体パラメーターから選択される。他の実施形態では、抗体パラメーターは抗原特異性、抗原に対する親和性、力価、生物学的機能、エピトープ認識、安定性、可溶性、産生効率、免疫原性、薬物動態、バイオアベイラビリティ、組織交差反応性及びオルソロガス抗原結合からなる群から選択される。

20

【0336】

B1. 抗原に対する親和性

治療用mAbの所望の親和性は抗原の種類及び所望の治療のエンドポイントに依存し得る。実施形態では、サイトカイン-サイトカイン受容体相互作用は通常高親和性相互作用（例えば、 $< pM \sim < nM$ の範囲）であるので、前記相互作用をブロックしたときモノクローナル抗体はより高い親和性（ $Kd = 0.01 \sim 0.50 pM$ ）を有する。このような場合、その標的に対するmAb親和性は、サイトカイン（リガンド）のその受容体に対する親和性に等しいかまたはそれ以上でなければならない。一方、より低い親和性（ $> nM$ の範囲）を有するmAb（例えば、 $A-\beta$ アミロイドの循環種に結合し、隔離し、浄化するモノクローナル抗体）は、例えば循環している潜在的に病原性のタンパク質を浄化する際に治療上有効である。他の場合には、既存の高親和性mAbの親和性を部位特異的突然変異によりまたはその標的に対して低い親和性を有するmAbを用いて減ずることは、潜在的な副作用を避けるために使用され得る。例えば、高親和性mAbはその意図する標的のすべてを隔離/中和し得、よって標的タンパク質の1つ以上の機能を完全に減少/排除し得る。このシナリオでは、低親和性mAbは、疾患症状（病理的または過剰産生したレベル）に関与し得る標的を隔離/中和し、よって標的の機能はその1つ以上の正常な生理学的機能を発揮し続けることができる。従って、用量を調節し及び/または副作用を減らすべくKdを低下させることも可能であり得る。親mAbの親和性は、所望の治療結果を達成するために細胞表面分子を適切に標的化する際に役割を発揮し得る。例えば、標的が癌細胞上で高い密度で発現され、正常細胞では低い密度で発現されるならば、低親和性mAbは正常細胞よりも腫瘍細胞上の多数の標的に結合し、その結果腫瘍細胞はADCCまたはCDCを介して消失し、従って治療上望ましい効果を有する。よって、所望の親和性を有するmAbを選択することは可溶性及び表面標的にとって適切であり得る。

30

40

【0337】

そのリガンドとの相互作用時の受容体を介するシグナリングは受容体-リガンド相互作用の親和性に依存し得る。同様に、mAbの表面受容体に対する親和性は細胞内シグナリングの種類及びmAbがアゴニストまたはアンタゴニストシグナルを送達するかどうかを決定し得ることが考えられる。mAb媒介シグナリングの親和性に基づく種類はその副作用プロファイルに影響を有し得る。従って、治療用モノクローナル抗体の所望の親和性及

50

び所望の機能はインビトロ及びインビボ実験により注意深く決定されなければならない。

【0338】

結合タンパク質（例えば、抗体）の所望の K_d は所望の治療結果に応じて実験的に決定され得る。実施形態では、特定抗原に対する親和性（ K_d ）がDVD-Igの同一抗原に対する所望の親和性に等しいまたはそれ以上の親抗体を選択する。抗原結合親和性及びカイネティックはBiacoreまたは別の類似技術により評価される。1つの実施形態では、各親抗体は、その抗原に対して多くとも約 10^{-7} M、多くとも約 10^{-8} M、多くとも約 10^{-9} M、多くとも約 10^{-10} M、多くとも約 10^{-11} M、多くとも約 10^{-12} M、及び多くとも 10^{-13} Mからなる群から選択される解離定数（ K_d ）を有する。VD1を得る第1親抗体及びVD2を得る第2親抗体はそれぞれの抗原に対して類似または異なる親和性（ K_D ）を有し得る。各親抗体は、表面プラズモン共鳴により測定して、抗原に対して少なくとも約 $10^2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、少なくとも約 $10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、少なくとも約 $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、少なくとも約 $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、及び少なくとも約 $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ からなる群から選択されるオン速度定数（ K_{on} ）を有する。VD1を得る第1親抗体及びVD2を得る第2親抗体はそれぞれの抗原に対して類似または異なるオフ速度定数（ K_{off} ）を有し得る。1つの実施形態では、各親抗体は、表面プラズモン共鳴により測定して、抗原に対して多くとも約 10^{-3} s^{-1} 、多くとも約 10^{-4} s^{-1} 、多くとも約 10^{-5} s^{-1} 、及び多くとも約 10^{-6} s^{-1} からなる群から選択されるオフ速度定数（ K_{off} ）を有する。VD1を得る第1親抗体及びVD2を得る第2親抗体はそれぞれの抗原に対して類似または異なるオフ速度定数（ K_{off} ）を有し得る。

10

20

【0339】

B2. 力価

親モノクローナル抗体の所望の親和性／力価は所望の治療結果に依存する。例えば、受容体ーリガンド（R-L）相互作用に対して、親和性（ k_d ）はR-L k_d （pMの範囲）に等しいかまたはそれ以上である。病的循環タンパク質を簡単なクリアランス、例えば循環A- β ペプチドの各種種のクリアランスのためには、 k_d は低いnM範囲であり得る。加えて、 k_d は標的が同一エピトープの複数のコピーを発現するかどうかにも依存する。例えば、mAbはA β オリゴマー中のコンフォメーションエピトープを標的とする。

【0340】

VD1及びVD2が同一抗原に結合するが、異なるエピトープに結合する場合、DVD-Igは同一抗原に対して4つの結合部位を含み、よってDVD-Igのアビディティーが上昇し、これによりDVD-Igの見かけ k_d が上昇する。実施形態では、DVD-Igにおいて所望される k_d に等しいまたはそれ以上の k_d を有する親抗体を選択する。親mAbの親和性の考慮は、DVD-Igが4つ以上の同一抗原部位を含むかどうかにも依存し得る（すなわち、単一mAb由来のDVD-Ig）。この場合、見かけ k_d はアビディティーのためにmAbよりも大きい。このようなDVD-Igは表面受容体を架橋するために使用され得、中和力価を高め、病的タンパク質のクリアランスを高める等のために使用され得る。

30

【0341】

実施形態では、特定抗原に対する中和力価が同一抗原に対するDVD-Igの所望する中和能力に等しいかまたはそれ以上である親抗体を選択する。中和力価は、適当なタイプの細胞が標的刺激に応答して測定可能なシグナル（すなわち、増殖またはサイトカイン産生）を発生する標的依存性バイオアッセイにより評価され得、mAbによる標的中和は用量依存的にシグナルを減らし得る。

40

【0342】

B3. 生物学的機能

モノクローナル抗体は潜在的に幾つかの機能を発揮し得る。これらの機能の幾つかを表1にリストする。これらの機能はインビトロアッセイ（例えば、セルベース及び生化学アッセイ）及びインビボ動物モデルで評価され得る。

50

【0343】

【表1】

表1：治療用抗体に対する幾つかの潜在的用途

標的（クラス）	作用メカニズム（標的）
可溶性 （サイトカイン、その他）	活性の中和（例えば、サイトカイン） 増強クリアランス（例えば、 $A\beta$ オリゴマー） 向上した半減期（例えば、GLP1）
細胞表面 （受容体、その他）	アゴニスト（GLP1 R；EPO R；等） アンタゴニスト（例えば、インテグリン；等） 細胞傷害剤（CD20；等）
タンパク質沈着物	増強クリアランス／分解（例えば、 $A\beta$ プラーク、 アミロイド沈着物）

10

【0344】

表1の例に記載されている異なる機能を有しているmAbが所望の治療結果を達成するように選択され得る。次いで、2つ以上の選択した親モノクローナル抗体は、単一DVD-Ig分子で2つの異なる機能を達成するためにDVD-Igフォーマットで使用して、使用され得る。例えば、特定サイトカインの機能を中和する親mAbを選択し、病的タンパク質のクリアランスを強化する親mAbを選択することによりDVD-Igを作成し得る。同様に、2つの異なる細胞表面受容体を認識する2つの親モノクローナル抗体、すなわち1つの受容体上でアゴニスト機能を有する1つのmAb及び異なる受容体上でアンタゴニスト機能を有する他のmAbを選択することができる。各々が異なる機能を有するこれら2つの選択したモノクローナル抗体を使用して、単一分子において選択したモノクローナル抗体の2つの異なる機能（アゴニスト及びアンタゴニスト）を有する単一DVD-Ig分子を構築することができる。同様に、各々がそれぞれの受容体リガンド（例えば、EGF及びIGF）の結合をブロックする細胞表面受容体に対する2つの拮抗的モノクローナル抗体をDVD-Igフォーマットで使用する事ができる。逆に、DVD-Igを作成するために、拮抗的抗受容体mAb（例えば、抗EGFR）及び中和抗可溶性メディエーター（例えば、抗IGF1/2）mAbを選択し得る。

20

30

【0345】

B4. エピトープ認識

タンパク質の異なる領域は異なる機能を果たし得る。例えば、サイトカインの特定領域はサイトカイン受容体と相互作用して受容体活性化をもたらし、タンパク質の他の領域はサイトカインを安定化させるために必要であり得る。この場合、サイトカイン上の1つ以上の受容体相互作用領域に特異的に結合し、これによりサイトカイン-受容体相互作用をブロックするmAbを選択し得る。幾つかの場合、例えば複数のリガンドに結合するあるケモカイン受容体の場合には、1つのリガンドのみと相互作用するエピトープ（ケモカイン受容体上の領域）に結合するmAbを選択し得る。他の場合には、モノクローナル抗体はタンパク質の生理学的機能に直接関与しない標的上のエピトープに結合できるが、これらの領域に対するmAbの結合は生理学的機能（立体障害）を干渉し得、またはタンパク質が機能できないようにタンパク質のコンフォメーションを改変し得る（どのリガンドも結合できないように受容体コンフォメーションを改変する複数のリガンドを有する受容体に対するmAb）。サイトカインのその受容体への結合をブロックしないが、シグナル伝達をブロックする抗サイトカインモノクローナル抗体（例えば、125-2H、抗IL-18 mAb）が同定された。

40

【0346】

エピトープ及びmAb機能の例には、受容体-リガンド（R-L）相互作用をブロック

50

すること（R相互作用部位に結合する中和mAb）、R結合を減少またはゼロとする立体障害が含まれるが、これらに限定されない。Abは受容体結合部位以外の部位で標的に結合し得るが、コンフォメーション変化を誘導することにより標的の受容体結合及び機能を干渉し、機能を排除し（例えば、Xolair）、Rに結合するがシグナリングをブロックする（125-2H）。

【0347】

実施形態では、親mAbは最大有効性のために適切なエピトープを標的化しなければならない。エピトープはDVD-Ig中に保存されなければならない。mAbの結合エピトープは、共結晶学、mAb-抗原複合体の限定されたタンパク質分解+質量分光的ペプチドマッピング（Legros V. ら, 2000, Protein Sci., 9:1002-10）、ファージディスプレイペプチドライブラリー（O'Connor KH ら, 2005, J. Immunol. Methods, 299:21-35）及び突然変異（Wu C. ら, 2003, J. Immunol., 170:5571-7）を含めた幾つかのアプローチにより決定され得る。

【0348】

B5. 生理化学的及び薬学的特性

抗体での治療処置はしばしば（典型的に高分子量の結果として質量基準で力価が低いために）高用量で、しばしば数mg/kgの投与を必要とする。患者のコンプライアンスに適合させ、慢性疾患治療及び外来患者治療に十分取り組むために、治療用mAbの皮下（s.c.）または筋肉内（i.m.）投与が望ましい。例えば、s.c. 投与のための最大の望ましい容量は～1.0mLであり、従って用量あたりの注射回数を制限するためには>100mg/mLの濃度が望ましい。実施形態では、治療用抗体を1回用量で投与する。しかしながら、タンパク質-タンパク質相互作用（例えば、潜在的に免疫原性リスクを高める凝集物）により、プロセッシング及びデリバリー中の制限（例えば、粘度）により前記処方物の開発が制約される。従って、臨床有効性のために必要な大量及び関連する開発制約により、抗体処方物の能力及び高用量レジメンでのs.c. 投与の十分な開発が制約される。タンパク質分子及びタンパク質溶液の生理化学的及び薬学的特性（例えば、安定性、可溶性及び粘度要件）が最も重要であることは明らかである。

【0349】

B5.1 安定性

「安定な」抗体処方物は、該処方物中の抗体が本質的に保存時のその物理的安定性及び／または化学的安定性及び／または生物活性を保持しているものである。安定性は選択した期間選択した温度で調べられる。実施形態では、処方物中の抗体は室温（約30℃）または40℃で少なくとも1ヶ月間安定であり、及び／または約2～8℃で少なくとも1年間、少なくとも2年間安定である。更に、実施形態では、処方物は処方物の凍結（例えば、-70℃まで）及び融解（以後、「凍結／融解」サイクルと称する）後安定である。別の例では、「安定な」処方物は、タンパク質の約10%未満、約5%未満しか処方物中に凝集物として存在していないものであり得る。

【0350】

インビトロで各種温度で長時間安定なDVD-Igが望ましい。このことは、インビトロで高温（例えば、40℃）で2～4週間安定な親mAbを迅速にスクリーニングした後、安定性を評価することにより達成し得る。2～8℃での保存中、タンパク質は少なくとも12ヶ月間（例えば、少なくとも24ヶ月間）安定性を示す。安定性（モノマー完全分子の%）を各種技術（例えば、カチオン交換クロマトグラフィー、サイズ排除クロマトグラフィー、SDS-PAGE）及び生理活性試験を用いて評価され得る。共有結合コンフォメーション修飾相を分析するために使用され得る分析技術のより包括的なリストについては、Jones, A. J. S. (1993) Analytical methods for the assessment of protein formulations and delivery systems, Cleland, J. L.; Langer, R. 編, Formulation and delivery of pept

ides and proteins, 第1版, Washington, ACS, p. 22-45; 及び Pearlman, R., Nguyen, T. H. (1990) Analysis of protein drugs, Lee, V. FL編, Peptide and protein drug delivery, 第1版, New York, Marcel Dekker, Inc., p. 247-301を参照されたい。

【0351】

異質性及び凝集物形成：抗体の安定性は、処方物が約10%未満、実施形態では約5%未満、他の実施形態では約2%未満、或いは実施形態では0.5%～1.5%またはそれ未満の範囲でしかGMP抗体材料中に凝集物として存在しないことを示すような場合であり得る。サイズ排除クロマトグラフィーは、タンパク質凝集物の検出において高感度で再現性のある非常にロバストな方法である。

10

【0352】

低凝集物レベルに加えて、抗体は実施形態では化学的に安定でなければならない。化学的安定性はイオン交換クロマトグラフィー（例えば、カチオンまたはアニオン交換クロマトグラフィー）、疎水性相互作用クロマトグラフィーまたは他の方法（例えば、等電点分画またはキャピラリー電気泳動）により調べられ得る。例えば、抗体の化学的安定性は、2～8℃で少なくとも12ヶ月保存した後カチオン交換クロマトグラフィー中の未修飾抗体を表すピークが保存試験前の抗体溶液と比較して20%以下、実施形態では10%以下、または別の実施形態では5%以下しか増加する恐れがないような安定性であり得る。

【0353】

20

実施形態では、親抗体は構造保全性；正しいジスルフィド結合形成及び正しい折り畳みを示す。抗体の二次または三次構造の変化のため化学的に不安定になると抗体活性が影響され得る。例えば、抗体の活性により示される安定性は、2～8℃で少なくとも12ヶ月間保存後抗体の活性が保存試験前の抗体溶液と比較して50%以下、実施形態では30%以下、更には10%以下、或いは実施形態では5%または1%以下であるような安定性であり得る。適当な抗原-結合アッセイが抗体活性を調べるために使用され得る。

【0354】

B5. 2. 可溶性

mAbの「可溶性」は正しく折り畳まれたモノマーIgGの産生に相關する。従って、IgGの可溶性はHPLCにより評価され得る。例えば、可溶性（モノマー）IgGはHPLCクロマトグラフ上に単一ピークを生じるのに対して、不溶性（例えば、マルチマーまたは凝集状態）は複数のピークを生ずる。従って、当業者はルーチンのHPLC技術を用いてIgGの可溶性の増加または減少を検出することができる。可溶性を分析するために使用され得る分析技術のより包括的なリストについては、Jones, A. G., Dep. Chem. Biochem. Eng, Univ. Coll. London, London, UK. Editor(s): Shamlou, P. Ayazi., Process. Solid-Liq. Suspensions (1993), 93-117, Publisher: Butterworth-Heinemann, Oxford, UK及びPearlman, Rodney; Nguyen, Tue H, Advances in Parenteral Sciences (1990), 4 (Pept. Protein Drug Delivery), 247-301を参照された)。治療用mAbの可溶性は十分な投与のためにしばしば必要な高濃度に処方するために重要である。本明細書中に概説されているように、効率的な抗体投与に役立つためには>100mg/mLの溶解度が必要であり得る。例えば、抗体可溶性は早期の研究段階では約5mg/mL以上であり得る。実施形態では、進んだプロセスサイエンス段階では約25mg/mL以上であり得、実施形態では約100mg/mL以上、または実施形態では約150mg/mL以上であり得る。タンパク質分子の固有の特性、タンパク質溶液の物理化学的特性（例えば、安定性、可溶性、粘度）が重要であることは当業者には自明である。しかしながら、当業者は、最終タンパク質処方物の特性に有利に影響するための添加剤として使用され得る広範囲の賦形剤が存在することを認識している。これらの賦形剤には、(i) 液体溶媒、共

30

40

50

溶媒（例えば、エタノールのようなアルコール）、（i i）緩衝剤（例えば、リン酸、酢酸、クエン酸、アミノ酸バッファー）、（i i i）糖または糖アルコール（例えば、スクロース、トレハロース、フルクトース、ラフィノース、マンニトール、ソルビトール、デキストラン）、（i v）界面活性剤（例えば、ポリソルベート 20、40、60、80、ポロキサマー）、（v）等張剤（例えば、NaCl のような塩、糖または糖アルコール）、及び（v i）他の物質、例えば保存剤、キレート化剤、抗酸化剤、キレート化物質（例えば、EDTA）、生分解性ポリマー、担体分子（例えば、HSA、PEG）が含まれ得る。

【0355】

粘度は、抗体製造及び抗体プロセッシング（例えば、透析濾過／限外濾過）、フィルフィニッシュプロセス（ポンピング相、濾過相）及びデリバリー相（注射可能性、洗練されたデバイスデリバリー）に関して非常に重要なパラメーターである。低粘度により、より高濃度を有する抗体の溶液が得られる。こうすると、同一用量をより少ない容量で投与し得る。少ない注射用量は注射感覚の痛みが少ないという利点を与え、溶液は必ずしも患者における注射の痛みを減らすために等張性でなくてもよい。抗体溶液の粘度は、100（1/s）の剪断速度で抗体溶液粘度が200 mPa s 以下、実施形態では125 mPa s 以下、他の実施形態では70 mPa s 以下、別の実施形態では25 mPa s 以下、さらに別の実施形態では10 mPa s 以下であるような粘度であり得る。

【0356】

B 5. 3 産生効率

哺乳動物細胞（例えば、チャイニーズハムスター卵巣細胞（CHO））において効率的に発現するDVD-Igの作成は、実施形態ではそれ自体哺乳動物細胞において効率的に発現する2つの親モノクローナル抗体を必要とする。安定な哺乳動物細胞（すなわち、CHO）からの産生収率は約0.5 g/L 以上、実施形態では約1 g/L 以上、他の実施形態では約2～5 g/L の範囲でなければならない（Kipriyanov SM, Little M., 1999, Mol. Biotechnol., 12:173-201; Carroll S, Al-Rubeai M., 2004, Expert Opin. Biol. Ther., 4:1821-9）。

【0357】

哺乳動物細胞での抗体及びIg融合タンパク質の産生は幾つかの要因により影響される。強いプロモーター、エンハンサー及び選択マーカーを取り込んだ発現ベクターを工学操作すると、組み込まれたベクターコピーからの当該遺伝子の転写を最大とし得る。高レベルの遺伝子転写を可能にするベクター組み込み部位の同定はベクターからのタンパク質発現を高め得る（Wurmら, 2004, Nature Biotechnology, 2004, Vol/Iss/Pg. 22/11 (1393-1398)）。更に、産生レベルは抗体重鎖及び軽鎖の比及びタンパク質アセンブリ及び分泌のステップでの各種ステップにより影響される（Jiangら, 2006, Biotechnology Progress, Jan-Feb, 2006, vol. 22, No. 1, p. 313-8）。

【0358】

B 6. 免疫原性

治療用mAbを投与すると、免疫応答（すなわち、治療用mAbに対する内因性抗体の形成）がある頻度で生じ得る。免疫原性を引き出す可能性ある要素を親モノクローナル抗体を選択する間に分析しなければならず、DVD-Igを構築する前に親モノクローナル抗体を最適化するためにリスクを減らすステップを講じ得る。マウス由来抗体は患者において高度に免疫原性であることが判明した。マウス可変領域及びヒト定常領域を含むキメラ抗体の作成は治療用抗体の免疫原性を減らすための合理的な次ステップを与える（Morrisson and Schlom, 1990）。或いは、Riechmannら, 1988が治療用抗体について記載しているように、マウスCDR配列をヒト抗体フレームワークに移す（再成形／CDRグラフト化／ヒト化）ことにより免疫原性を減らすことができる。別の方法は「再舗装」または「化粧張り」と称され、齧歯類可変軽鎖及び重鎖ド

10

20

30

40

50

メインから出発して、CDR及び埋め込まれているアミノ酸は親齧歯類抗体由来そのままにしながら、表面接近可能なフレームワークアミノ酸のみをヒトのアミノ酸に改変する（Roguskaら，1996）。別のタイプのヒト化では、全CDRをグラフト化する代わり、1つの技術は抗体のその標的に対する結合に関与するCDR残基の部分組として規定される「特異性決定領域」（SDR）のみをグラフト化する（Kashmiriら，2005）。これは、標的と交差反応するかを調べるために抗体－標的複合体の利用可能な三元構造の解析または抗体CDR残基の変異解析によるSDRの同定を必要とする。或いは、完全ヒト抗体はマウス、キメラまたはヒト化抗体に比して少ない免疫原性を有し得る。

【0359】

治療用抗体の免疫原性を減らすための別のアプローチは、免疫原性があると予想される幾つかの特定配列を排除することである。1つのアプローチでは、第1世代バイオロジックをヒトで試験し、許容できないほどの免疫原性であると知見された後、B細胞エピトープをマッピングし、次いで免疫検出を避けるために改変し得る。別のアプローチは、可能性あるT細胞エピトープを予測し、除去するための方法を使用する。MHCタンパク質に結合する可能性があるバイオロジック治療薬のペプチド配列をスキャンし、同定するためにコンピューター方法が開発された（Desmetら，2005）。或いは、可能性あるタンパク質アレルゲン中のCD4⁺T細胞エピトープを同定するためにヒト樹状細胞をベースとする方法を使用し得る（Sticklerら，2005，S. L. Morrison and J. Schlom, Important Adv. Oncol. (1990), p. 3-18; Riechmann, L., Clark, M., Waldmann, H. and Winter, G., "Reshaping human antibodies for therapy", Nature (1988), 332:323-327; Roguska-M-A, Pedersen-J-T, Henry-A-H, Searle-S-M, Roja-C-M, Avery-B, Hoffee-M, Cook-S, Lambert-J-M, Blattler-W-A, Rees-A-R, Guild-B-C., A comparison of two murine mAb humanized by CDR-grafting and variable domain resurfacing, Protein engineering, {Protein-Eng}, 1996, vol. 9, p. 895-904; Kashmiri-Syed-V-S, De-Pascalis-Roberto, Gonzales-Nooren-R, Schlom-Jeffrey, SDR grafting-a new approach to antibody humanization, Methods (San Diego, Calif), {Methods}, May 2005, vol. 36, No. 1, p. 25-34; Desmet-Johan, Meersseman-Geert, Boutonnet-Nathalie, Pletinckx-Jurgen, De-Clercq-Krista, Debulpaep-Maja, Braeckman-Tessa, Lasters-Ignace, Anchor profiles of HLA-specific peptides: analysis by a novel affinity scoring method and experimental validation, Proteins, 2005, vol. 58, p. 53-69; Stickler-M-M, Estell-D-A, Harding-F-A, CD4⁺T-cell epitope determination using unexposed human donor-peripheral blood mononuclear cells, Journal of immunotherapy, 2000, vol. 23, p. 54-60)。

【0360】

B7. インビボ有効性

所望のインビボ有効性を有するDVD-Ig分子を作成するためには、一緒に与えたときに同様に所望のインビボ有効性を有するmAbを作成し、選択することが重要である。

しかしながら、幾つかの例では、D V D - I g は 2 つの別々の m A b の組合せで達成できないインビボ有効性を示し得る。例えば、D V D - I g は 2 つの標的を非常に接近させ、よって 2 つの別々の m A b の組合せで達成できない活性をもたらし得る。追加の所望する生物学的機能は本明細書のセクション B. 3 に記載されている。D V D - I g 分子において所望され得る特性を有する親抗体は複数の要因（例えば、薬物動態 t_{1/2}、組織分布、可溶性対細胞表面標的、及び標的濃度－可溶性／密度－表面）に基づいて選択され得る。

【0361】

B 8. インビボ組織分布

所望のインビボ組織分布を有する D V D - I g 分子を作成するためには、実施形態では類似の所望のインビボ組織分布プロファイルを有する親 m A b を選択しなければならない。或いは、二重特異性標的化戦術のメカニズムに基づいて、一緒に与えたときに同様に所望のインビボ組織分布を有する親 m A b を選択することがあるときには必要でないことがある。例えば、1 つの結合成分を標的とする D V D - I g の場合、D V D - I g は第 2 結合成分を同一標的部位に導くように特定部位に。例えば、D V D - I g の 1 つの結合特異性は膵臓（島細胞）を標的とし、他の特異性は G L P 1 を膵臓に導いて、インスリンを誘導することができる。

【0362】

B 9. アイソタイプ

所望の特性（これらには、アイソタイプ、エフェクター機能及び循環半減期が含まれるが、これらに限定されない）を有する D V D - I g 分子を作成するためには、実施形態では治療有用性及び所望の治療のエンドポイントに応じて適切な F c - エフェクター機能を有する親 m A b を選択する。5 つの主な重鎖クラスまたはアイソタイプがあり、このうちの幾つかは幾つかのサブタイプを有し、これらは抗体分子のエフェクター機能を決める。これらのエフェクター機能は抗体分子のヒンジ領域、C H 2 及び C H 3 ドメインに残っている。しかしながら、抗体分子の他の部分中の残基もエフェクター機能に影響を有し得る。ヒンジ領域 F c - エフェクター機能には、(i) 抗体依存性細胞細胞傷害性、(i i) 補体 (C 1 q) 結合、活性化及び補体依存性細胞傷害性 (C D C)、(i i i) 抗原－抗体複合体の食作用／クリアランス、及び (i v) 幾つかの場合にはサイトカイン放出が含まれる。抗体分子の F c - エフェクター機能は F c 領域と 1 組のクラス特異性細胞表面受容体との相互作用により媒介される。I g G 1 アイソタイプの抗体が最も活性であり、I g G 2 及び I g G 4 のエフェクター機能は最低であるか全くない。I g G 抗体のエフェクター機能は 3 つの構造的に相同な細胞 F c 受容体タイプ（及びサブタイプ）(F c g R I 、 F c g R I I 及び F c g R I I I) との相互作用を介して媒介される。I g G 1 のこれらのエフェクター機能は、F c g R 及び C 1 q 結合のために必要な低ヒンジ領域（例えば、L 2 3 4 A、L 2 3 5 A）中の特定のアミノ酸残基を変異させることにより排除され得る。F c 領域、特に C H 2 - C H 3 ドメイン中のアミノ酸残基も抗体分子の循環半減期を決める。この F c 機能は、抗体分子を酸性リボソームから体循環系に戻すために関与する新生児 F c 受容体 (F c R n) への F c 領域の結合を介して媒介される。

【0363】

m A b が活性または不活性アイソタイプを有するべきかどうかは抗体に対する所望する治療のエンドポイントに依存する。アイソタイプの使用及び所望の治療結果の幾つかの例を以下にリストする：

- a) 所望するエンドポイントが可溶性サイトカインの機能的中和であるならば、不活性アイソタイプを使用し得る；
- b) 所望する結果が病的タンパク質のクリアランスであるならば、活性アイソタイプを使用し得る；
- c) 所望する結果がタンパク質凝集物のクリアランスであるならば、活性アイソタイプを使用し得る；
- d) 所望する結果が表面受容体を拮抗させることならば、不活性アイソタイプ (T y s a

b r i、I g G 4；O K T 3，突然変異 I g G 1）を使用する；
 e）所望する結果が標的細胞を排除することならば、活性アイソタイプ（H e r c e p t i n，I g G 1（強化エフェクター機能を有する））を使用する；及び
 f）所望する結果が C N S に入ることなく循環からタンパク質を浄化することならば（例えば、循環 A b ペプチド種の浄化）、I g M アイソタイプを使用し得る。
 親 m A b の F c エフェクター機能は当業界で公知の各種インビトロ方法により調べられ得る。

【0364】

検討したように、アイソタイプ、よってエフェクター機能の選択は所望する治療のエンドポイントに依存する。循環標的の簡単な中和、例えば受容体ーリガンド相互作用のプロ
 ッキングが所望される場合には、エフェクター機能が必要とされないことがある。そのよ
 うな場合、エフェクター機能を排除する抗体の F c 領域におけるアイソタイプまたは突然
 変異が望ましい。標的細胞の排除（例えば、腫瘍細胞の排除）が治療のエンドポイントで
 ある他の場合には、エフェクター機能を強化する F c 領域におけるアイソタイプ、突然変
 異または脱フコシル化が望ましい（P r e s t a G L，A d v．D r u g D e l i v e r y R e v．，58：640－656，2006；S a t o h M，I i d a S，
 S h i t a r a K．，E x p e r t O p i n i o n B i o l．T h e r．，6：1161－1173，2006）。同様に、治療有用性に依存して、抗体分子の循環半減期
 は F c 領域に特異的突然変異を導入することにより抗体ー F c R n 相互作用をモジュレー
 トすることにより短縮／延長され得る（D a l l ' A c q u a W F，K i e n e r P
 A，W u H．，J．B i o l．C h e m．，281：23514－23524，2006；P e t k o v a S B，A k i l e s h S，S p r o u l e T J．ら，I n t e
 r n a l I m m u n o l．，18：1759－1769，2006；V a c c a r o
 C，B a w d o n R，W a n j i e S．ら，P N A S，103：18709－18714，2007）。

【0365】

通常の治療用 m A b の異なるエフェクター機能に影響を与える各種残基の公表されてい
 る情報が D V D－I g について確認する必要がある。D V D－I g フォーマットでは
 、モノクローナル抗体エフェクター機能のモジュレーションのために同定されている以外
 の追加の（異なる）F c 領域残基が重要であり得る。

【0366】

全体として、F c エフェクター機能（アイソタイプ）が最終 D V D－I g フォーマット
 において重要であるかどうかの決定は疾患適応、治療標的、所望する治療のエンドポイン
 ト及び安全性の考慮に依存する。非限定的に

- 。I g G 1－アロタイプ：G 1 m z
- 。I g G 1 ミュータント－A 2 3 4，A 2 3 5
- 。I g G 2－アロタイプ：G 2 m（n－）
- 。κ－K m 3
- 。λ

を含めた適切な重鎖及び軽鎖定常領域の例を以下にリストする。

【0367】

F c 受容体及び C 1 q 研究：細胞膜上の過剰表現した標的に対して抗体複合体化するこ
 とによる望ましくない抗体依存性 T 細胞媒介細胞傷害性（A D C C）及び補体依存性細胞
 傷害性（C D C）の可能性は、（例えば、L 2 3 4 A、L 2 3 5 A）ヒンジ領域突然変異
 により阻止され得る。m A b の I g G 1 ヒンジ領域中に存在する置換アミノ酸により、F
 c g R 結合は I g G 1 ヒンジ領域上の重複部位内で生ずると考えられるので m A b のヒト
 F c 受容体（F c R n ではない）に対する結合が低下すると予想され得る。m A b のこの
 特徴により、安全性プロファイルが野生型 I g G を含有する抗体よりも改善される。m A
 b のヒト F c 受容体に対する結合は、細胞株（例えば、T H P－1、K 5 6 2）及び F c
 g R I I b（または、他の F c g R s）を発現する工学操作した C H O 細胞株を用いてフ

ローサイトメトリー実験により調べられ得る。FcγRIIbに対する結合は影響されないが、mAbはIgG1対照モノクローナル抗体と比較してFcγRI及びFcγRIIaに対して低い結合を示す。C1qの抗原/IgG免疫複合体による結合及び活性化は古典的補体カスケードをトリガーし、その結果炎症及び/または免疫調節応答が生ずる。IgG上のC1q結合部位はIgGヒンジ領域内の残基に局在化された。高濃度のmAbに対するC1q結合をC1q ELISAにより評価した。結果は、野生型対照IgG1の結合と比較したときに予想されるようにmAbはC1qに結合できないことを立証している。全体として、L234A、L235Aヒンジ領域突然変異はmAbのFcγRI、FcγRIIa及びC1qへの結合を廃止するが、mAbのFcγRIIbとの相互作用に影響を与えない。このデータから、インビボでミュータントFcを有するmAbは通常抑制性FcγRIIbと相互作用するが、活性化FcγRI及びFcγRIIa受容体またはC1qとは相互作用できないだろうことが示唆される。

【0368】

ヒトFcRn結合：新生児受容体(FcRn)は、IgGの胎盤を横切る輸送及びIgG分子の異化半減期のコントロールに参与する。有効性を改善し、投与の用量または頻度を減らし、または標的に対する局在化を改善するために抗体の終末半減期を延長させることが望ましい。或いは、逆にすること、すなわち全身暴露を減らすために終末半減期を短縮させること、または標的対非標的結合比を改善することが有利である。IgGとそのサルベージ受容体のFcRn間の相互作用を取捨選択すると、IgGの終末半減期を延長または短縮する方法が与えられる。IgGを含めた循環中のタンパク質はある細胞(例えば、血管内皮の細胞)による微飲作用により流体相に取り上げられる。IgGは僅かに酸性(pH6.0~6.5)の条件下でエンドソーム中のFcRnに結合し得、細胞表面に再循環され、そこで殆ど中性(pH7.0~7.4)の条件下で放出される。Fc領域結合部位をFcRn80、16、17にマッピングすると、種にわたって保存される2つのヒスチジン残基His310及びHis435がこの相互作用のpH依存性に参与することが判明した。ファージディスプレイテクノロジーを使用して、FcRnへの結合を増加させ、マウスIgGの半減期を延長させるマウスFc領域突然変異が同定された(Victor, G. ら, Nature Biotechnology (1997), 15(7), 637-640を参照されたい)。pH7.4ではなく、pH6.0でのFcRnに対するヒトIgGの結合親和性を高めるFc領域突然変異も同定された(Dall'Acqua William F. ら, Journal of Immunology (2002), 169(9), 5171-80を参照されたい)。更に、1つの場合には、結合の類似のpH依存性上昇(最高27倍)もアカゲザルFcRnの場合に観察され、これによりアカゲザルにおける血清半減期は親IgGに比して2倍上昇した(Hinton, Paul R. ら, Journal of Biological Chemistry (2004), 279(8), 6213-6216を参照されたい)。これらの所見は、Fc領域のFcRnとの相互作用を取捨選択することにより抗体治療の血漿半減期を延長させることが実行可能であることを示す。逆に、FcRnとの相互作用を減衰させるFc領域突然変異は抗体半減期を短縮し得る。

【0369】

B10. 薬物動態(PK)

所望の薬物動態プロファイルを有するDVD-Ig分子を作成するために、実施形態では同様に所望の薬物動態プロファイルを有する親mAbを選択する。1つの考慮すべきことは、モノクローナル抗体に対する免疫原性応答(すなわち、HAA、ヒト抗ヒト抗体応答; HACA、ヒト抗キメラ抗体応答)が更に治療薬の薬物動態を複雑にすることである。実施形態では、免疫原性が全くまたは少ししかないモノクローナル抗体は、生じたDVD-Igが免疫原性を全くまたは殆ど有していないようにDVD-Ig分子を構築するために使用される。mAbのPKを決定する要因の幾つかには、mAbの固有の特性(VHアミノ酸配列)、免疫原性、FcRn結合及びFc機能が含まれるが、これらに限定されない。

【0370】

選択した親モノクローナル抗体のPKプロファイルは、齧歯類におけるPKプロファイルがカニクイザル及びヒトにおけるモノクローナル抗体のPKプロファイルとうまく相関している（または、密接に予想する）ので齧歯類で簡単に調べられ得る。PKプロファイルは実施例欄1. 2. 2. 3. Aに記載されているように調べられる。

【0371】

所望のPK特性（及び、本明細書中で検討されている他の所望する機能特性）を有する親モノクローナル抗体を選択した後、DVD-Igを構築する。DVD-Ig分子は2つの親モノクローナル抗体由来の2つの抗原-結合ドメインを含んでいるので、DVD-IgのPK特性も評価される。従って、DVD-IgのPK特性を調べながら、2つの親モノクローナル抗体から誘導した抗原-結合ドメインの機能性に基づいてPKプロファイルを調べるPKアッセイを使用し得る。DVD-IgのPKプロファイルは実施例1. 2. 2. 3. Aに記載されているように調べられ得る。DVD-IgのPKプロファイルに影響を与え得る追加の要因には、抗原-結合ドメイン（CDR）配向、リンカーサイズ及びFc/cRn相互作用が含まれる。親抗体のPK特性は以下のパラメーター、すなわち吸収、分布、代謝及び排泄を評価することにより評価され得る。

【0372】

吸収：今まで、治療用モノクローナル抗体は非経口ルート（例えば、静脈内[IV]、皮下[SC]または筋肉内[IM]）を介して投与されている。SCまたはIM投与後のmAbの間質腔から全身循環への吸収は主にリンパ経路を介する。飽和できる前全身タンパク質分解により、血管外投与後に変化し得る絶対バイオアベイラビリティが生じ得る。通常、高用量での飽和タンパク質分解能力のためにモノクローナル抗体の用量の増加と共に絶対バイオアベイラビリティが増加することが観察され得る。リンパ液がゆっくり血管系に流出するので、mAbの吸収プロセスは通常非常に遅く、吸収期間は数時間～数日間にわたり得る。SC投与後のモノクローナル抗体の絶対バイオアベイラビリティは通常50%～100%の範囲である。

【0373】

分布：IV投与後、モノクローナル抗体は通常、迅速分布相から始まり、その後に遅い排出相が続く二相の血清（または、血漿）濃度-時間プロファイルに従う。一般的に、双指数関数薬物動態モデルがこの種の薬物動態プロファイルをうまく説明する。mAbの中心コンパートメント（Vc）中の分布容量は通常血漿容量（2～3リッター）に等しいかまたは僅かに多い。血清（血漿）濃度-時間曲線の分布相は長い吸収部分により隠されるので、血清（血漿）濃度対時間プロファイルにおける明確な二相パターンは他の非経口投与ルート（例えば、IMまたはSC）では明らかでないことがある。生理化学的特性、部位特異的及び標的配向受容体により媒介される吸収、組織の結合能力及びmAb用量を含めた多くの要因がmAbの生体分布に影響を与え得る。これらの要因の幾つかがmAbの生体分布における非直線性に寄与し得る。

【0374】

代謝及び排泄：分子サイズのために、完全なモノクローナル抗体は腎臓を介して尿に排泄されない。これらの抗体は主に代謝（例えば、異化）により不活化される。IgGを主成分とする治療用モノクローナル抗体の場合、半減期は典型的には数時間または1～2日間から20日以上範囲である。mAbの排除は多くの要因により影響され得るが、これらの要因にはFcRn受容体に対する親和性、mAbの免疫原性、mAbのグリコシル化度、mAbのタンパク質分解に対する感受性及び受容体媒介排除が含まれるが、これらに限定されない。

【0375】

B11. ヒト及び毒性学種での組織交差反応性パターン

同一染色パターンから、可能性あるヒト毒性を毒性学種で評価することができることが示唆される。毒性学（tox）種は関連しない毒性が研究されている動物である。

【0376】

2つの基準、すなわち（1）抗体標的の公知の発現のために適した組織染色、及び（2）同一臓器からのヒト及び毒性学種組織間で類似の染色パターンを満たす個々の抗体を選択する。

【0377】

基準1：免疫化及び／または抗体選択は、典型的には組換えまたは合成した抗原（タンパク質、炭水化物または他の分子）を使用する。非関連抗原に対する天然相当物及びカウンタースクリーンへの結合はしばしば治療用抗体のためのスクリーニング漏斗の一部である。しかしながら、多数の抗原に対するスクリーニングはしばしば实际的でない。従って、すべての主要臓器からのヒト組織との組織交差反応性研究は、非関連抗原に対する抗体の望ましくない結合を除外するのに役立つ。

10

【0378】

基準2：ヒト及び毒性学種組織（カニクイザル、イヌ、可能ならば齧歯類等；ヒト研究と同一の36または37組織を試験する）を用いた比較組織交差反応性は毒性学種の選択を確認するために役立つ。凍結組織切片での典型的な組織交差反応性研究で、治療用抗体は公知抗原に対して予想される結合及び／または少ないが、低レベルの相互作用（非特異的結合、類似抗原に対する低レベル結合、低レベルの電荷をベースとする相互作用等）に基づく組織に対する結合を立証し得る。いずれの場合も、最も関連する毒性学動物種はヒト及び動物組織に対する結合の一致の程度が高いものである。

【0379】

組織交差反応性研究は、EC CPMPガイドライン111/5271/94 “Production and quality control of mAb” 及び1997 US FDA/CBER “Points to Consider in the Manufacture and Testing of Monoclonal Antibody Products for Human Use” を含めた適切な取りまとめガイドラインに従う。剖検または生検で得たヒト組織の低温切片（5 μm）を対物レンズ上に固定し、乾燥させた。組織切片のペルオキシダーゼ染色をアビジン-ビオチン系を用いて実施した。FDAのガイダンス “Points to Consider in the Manufacture and Testing of Monoclonal Antibody Products for Human Use”。関連文献には、Clarke J. , 2004、Boon L. , 2002a、Boon L. , 2002b、Ryan A. , 1999が含まれる。

20

30

【0380】

組織交差反応性研究は多くの場合2段階で実施する。第1段階は一人のヒトドナーからの32個の低温組織（典型的には、副腎、胃腸管、前立腺、膀胱、心臓、骨格筋、血球、腎臓、皮膚、骨髄、肝臓、脊髄、乳房、肺、脾臓、小脳、リンパ節、睾丸、大脳皮質、卵巣、胸腺、結腸、膵臓、甲状腺、内皮、副甲状腺、尿管、眼、下垂体、子宮、卵管及び胎盤）を含む。第2相では、完全交差反応性研究を3人の関連しない成人からの最高38の組織（副腎、血液、血管、骨髄、小脳、大脳、頸管、食道、眼、心臓、腎臓、大腸、肝臓、肺、リンパ節、乳腺、卵巣、卵管、膵臓、副甲状腺、末梢神経、下垂体、胎盤、前立腺、唾液腺、皮膚、小腸、脊髄、脾臓、胃、横紋筋、精巣、胸腺、甲状腺、扁桃、尿管、膀胱及び子宮を含む）で実施する。研究は典型的には少なくとも2つの用量レベルで実施する。

40

【0381】

アビジン-ビオチン複合体（ABC）検出のために、治療用抗体（すなわち、試験物）及びアイソタイプ適合対照抗体をビオチニル化し得る。他の検出方法には、FITC（または、他の方法で）標識された試験物のための三元抗体検出、または非標識試験物のための標識された抗ヒトIgGの前複合体形成が含まれ得る。

【0382】

簡単に説明すると、剖検または生検で得たヒト組織の低温切片（約5 μm）を対物レンズ上に固定し、乾燥させる。組織切片のペルオキシダーゼ染色をアビジン-ビオチン系を

50

用いて実施する。まず（前複合体形成検出システムの場合）、試験物を二次ビオチニル化抗ヒト I g G とインキュベートし、免疫複合体を形成する。対物レンズ上の組織切片に免疫複合体を 2 及び 10 g / m L - 試験物の最終濃度で添加した後、組織切片をアビジン-ビオチン-ペルオキシダーゼキットと 30 分間反応させる。その後、組織染色のためにペルオキシダーゼ反応の基質である D A B (3 , 3 ' - ジアミノベンジジン) を 4 分間適用した。抗原-セファロースをポジティブ対照組織切片として使用する。

【0383】

特異的染色は、当該標的抗原の公知発現に基づいて予測される（例えば、抗原発現と一致）または予期せぬ反応性であるかを判断する。特異的と判断された染色を強度及び頻度について評点する。抗原または血清競合またはブロック研究は観察された染色が特異的または非特異的であるかを判定する際に更に助け得る。

10

【0384】

2 つの選択した抗体が選択基準、すなわち適切な組織染色、ヒト及び毒性学動物特異的組織間の染色の適合に合致していることが分かったならば、これらを D V D - I g 作成のために選択し得る。

【0385】

組織交差反応性試験を最終 D V D - I g 構築物で反復しなければならないが、結合が 2 つの親抗体に由来し得、明らかにされていない結合を複雑な抗原競合試験で確認しなければならないので、これらの試験は本明細書中に概説されているのと同じプロトコルに従いながら評価するためにはより複雑である。

20

【0386】

2 つの親抗体を（1）予期せぬ組織交差反応性所見を欠くこと及び（2）対応するヒト及び毒性学動物種組織間の組織交差反応性所見の適切な類似性について選択したならば、D V D - I g のような多重特異性分子での組織交差反応性試験の複雑な仕事が大いに簡素化されることはすぐに分かる。

【0387】

B 1 2 . 特異性及び選択性

所望の特異性及び選択性を有する D V D - I g 分子を作成するためには、同様に所望の特異性及び選択性プロフィールを有する親 m A b を作成し、選択しなければならない。

【0388】

D V D - I g との特異性及び選択性についての結合研究は、抗原毎に 2 つの結合部位で 4 つ以上の結合部位があるために複雑であり得る。簡単に説明すると、D V D - I g 分子に対する 1、2 またはそれ以上の抗原の結合をモニターするために D V D - I g との E L I S A、B I A c o r e、K i n E x A または他の相互作用を用いる結合研究が必要である。B I A c o r e テクノロジーは複数の抗原の逐次独立結合を解明することができるが、E L I S A のようなより一般的な方法または K i n E x A のようなより現代的な技術はできない。従って、各親抗体を注意深く特徴づけることが重要である。各個別の抗体の特異性を特徴づけた後、D V D - I g 中の個別の結合部位の特異性保持の確認が十分簡素化される。

30

【0389】

D V D - I g に組み込む前に 2 つの親抗体の特異性について選択したならば、D V D - I g の特異性を調べる複雑な仕事が非常に簡素化されることはすぐに分かる。

40

【0390】

抗原-抗体相互反応研究は、多くの古典的タンパク質-タンパク質相互反応研究を含めた多くの形態をとり得、その中には E L I S A（酵素免疫測定法）、質量分光法、化学架橋、光散乱を伴う S E C、平衡透析、ゲル浸透、限外濾過、ゲルクロマトグラフィー、大ゾーン分析 S E C、マイクロ調製超遠心分離（沈降平衡）、分光的方法、滴定微小熱量測定、沈降平衡法（分析超遠心分離における）、沈降速度（分析遠心分離における）、表面プラズモン共鳴（B I A c o r e を含む）が含まれる。関連する文献には、“C u r r e n t P r o t o c o l s i n P r o t e i n S c i e n c e”，J o h n E. C

50

oligan, Ben M. Dunn, David W. Speicher, Paul T., Wingfield (編), 3巻, 19及び20章, John Wiley & Sons Inc. 発行及びその中に含まれる参考文献、及び“Current Protocols in Immunology”, John E. Coligan, Barbara E. Bierer, David H. Margulies, Ethan M. Shevach, Warren Strober (編), John Wiley & Sons Inc. 発行及びその中に含まれる参考文献が含まれる。

【0391】

全血におけるサイトカイン放出：mAbのヒト血球との相互作用はサイトカイン放出アッセイにより研究され得る (Wing, M. G., Therapeutic Immunology (1995), 2 (4), 183-190; “Current Protocols in Pharmacology”, S. J. Enna, Michael Williams, John W. Ferkany, Terry Kenakin, Paul Moser (編), John Wiley & Sons Inc. 発行; Madhusudan, S., Clinical Cancer Research (2004), 10 (19), 6528-6534; Cox, J. Methods (2006), 38 (4), 274-282; Choi, I., European Journal of Immunology (2001), 31 (1), 94-106)。簡単に説明すると、各種濃度のmAbをヒト全血と24時間インキュベートする。試験する濃度は患者中の典型的な血液レベルによく似た最終濃度を含めた広範囲（非限定例として、100ng/ml ~ 100µg/mlが挙げられる）をカバーしなければならない。インキュベートした後、上清及び細胞ライゼートをIL-1Ra、TNF-α、IL-1b、IL-6及びIL-8の存在について分析する。mAbに対して作成したサイトカイン濃度プロファイルをネガティブのヒトIgG対照及びポジティブのLPSまたはPHA対照により生じたプロファイルと比較した。細胞上清及び細胞ライゼート由来のmAbが示すサイトカインプロファイルは対照ヒトIgGに匹敵した。実施形態では、モノクローナル抗体は炎症性サイトカインを自然に放出するようにヒト血球と相互作用しない。

【0392】

DVD-Igについてのサイトカイン放出研究は、抗原毎に2つの結合部位で4つ以上の結合部位のために複雑であり得る。簡単に説明すると、本明細書中に記載されているサイトカイン放出研究は全DVD-Ig分子の全血または他の細胞系に対する影響を調べるが、分子のどの部分がサイトカイン放出を引き起こすかを解明できる。サイトカイン放出が検出されたら、幾つかの精製細胞成分がそれ自身でサイトカイン放出を引き起こし得るのでDVD-Ig調製物の純度を確認しなければならない。純度が問題でないならば、DVD-Igの断片化（これには、Fc部分の除去、結合部位の分離等が含まれるが、これらに限定されない）、所見を解析するために結合部位突然変異または他の方法を使用する必要があり得る。DVD-Igに組み込む前に2つの親抗体をサイトカイン放出の欠乏について選択したならば、この複雑な仕事が非常に簡素化されることはすぐに分かる。

【0393】

B13. 毒性学研究のための他の種に対する交差反応性

実施形態では、適切な毒性学種（例えば、カンクイザル）に対して十分な交差反応性を有する個々の抗体を選択した。親抗体はオルソロガス種標的（すなわち、カンクイザル）に結合し、適切な応答（モジュレーション、中和、活性化）を引き出さなければならない。実施形態では、オルソロガス種標的に対する交差反応性（親和性／力価）はヒト標的の10倍以内でなければならない。実際、親抗体をマウス、ラット、イヌ、サル（及び他の非ヒト霊長類）を含めた複数の種及び疾患モデル種（すなわち、喘息モデルの場合ヒツジ）に対して評価する。親モノクローナル抗体からの毒性学種に対する許容され得る交差反応性により、同一種においてDVD-Ig-Igの更なる毒性研究をすることができる。このために、2つの親モノクローナル抗体は共通する毒性学種に対して許容され得る交差反応性を有していなければならない、従って同一種においてDVD-Ig-Igの更なる毒

10

20

30

40

50

性学研究をすることができる。

【0394】

親mAbは特定標的に結合し得る当業界で公知の各種mAbから選択され得る。これらには、抗TNF抗体（米国特許No. 6, 258, 562）、抗IL-12及び／または抗IL-12p40抗体（米国特許No. 6, 914, 128）；抗IL-18抗体（US 2005/0147610 A1）、抗C5、抗CBL、抗CD147、抗gp120、抗VLA-4、抗CD11a、抗CD18、抗VEGF、抗CD40L、抗CD-40（例えば、WO 2007124299を参照されたい）、抗Id、抗ICAM-1、抗CXCL13、抗CD2、抗EGFR、抗TGF-β2、抗HGF、抗cMet、抗DLL-4、抗NPR1、抗PLGF、抗ErbbB3、抗E-セレクトイン、抗Fact V 10
II、抗Her2/neu、抗Fgp、抗CD11/18、抗CD14、抗ICAM-3、抗RON、抗CD-19、抗CD80（例えば、WO 2003039486）、抗CD4、抗CD3、抗CD23、抗β2-インテグリン、抗α4β7、抗CD52、抗HLA DR、抗CD22（例えば、米国特許No. 5, 789, 554を参照されたい）、抗CD20、抗MIF、抗CD64（FcR）、抗TCRαβ、抗CD2、抗Hep B、抗CA 125、抗EpCAM、抗gp120、抗CMV、抗gpIIbIIIIa、抗IgE、抗CD25、抗CD33、抗HLA、抗IGF1, 2、抗IGFR、抗VNR 20
インテグリン、抗IL-1α、抗IL-1β、抗IL-1受容体、抗IL-2受容体、抗IL-4、抗IL-4受容体、抗IL5、抗IL-5受容体、抗IL-6、抗IL-8、抗IL-9、抗IL-13、抗IL-13受容体、抗IL-17及び抗IL-23（Pr 20
esta LG., 2005, Selection, design, and engineering of therapeutic antibodies, J. Allergy Clin. Immunol., 116:731-6、及びhttp://www.path.cam.ac.uk/~mrc7/humanisation/antibodies.htmlを参照されたい）が含まれるが、これらに限定されない。

【0395】

親mAbは、使用が認可されている、臨床トライアル中、または臨床使用のために開発中の治療用抗体からも選択され得る。治療用抗体には、リツキシマブ（Rituxan（登録商標）、IDEC/Genentech/Roche）（例えば、米国特許No. 5, 736, 137を参照されたい）、非ホジキンリンパ腫治療のために認可されているキメラ抗CD20抗体；HuMax-CD20、現在Genmabが開発している抗CD20、米国特許No. 5, 500, 362に記載されている抗CD20抗体、AME-13 30
3（Applied Molecular Evolution）、hA20（Immunomedics, Inc.）、HumaLYM（Intracel）及びPRO70769（“Immunoglobulin Variants and Uses Thereof”の発明の名称のPCT/US2003/040426）、トラスツズマブ（Herceptin（登録商標）、Genentech）（例えば、米国特許No. 5, 677, 171を参照されたい）、乳癌治療のために認可されているヒト化抗Her2/neu抗体；現在Genentechが開発しているパーツズマブ（rhuMab-2C4, Omnitarg（登録商標））；米国特許No. 4, 753, 894に記載されている抗Her2抗体；セツキシマブ（Erbix（登録商標）、Imclone）（米国特許No. 4, 943, 533；PCT WO 96/40210）、各種癌に対して臨床トライアル中のキメラ抗EGFR抗体；現在Abgenix-Immunex-Amgenが開発しているABX-EGF（米国特許No. 6, 235, 883）；現在Genmabが開発しているHuMax-EGFr（米国特許出願No. 10/172, 317）；425, EMD55900、EMD62000及びEMD72000（Merck KGaA）（米国特許No. 5, 558, 864；Murthyら, 1987, Arch. Biochem. Biophys., 252（2）：549-60；Rodeckら, 1987, J. Cell Biochem., 35（4）：315-20；Kettl 40
eboroughら, 1991, Protein Eng., 4（7）：773-83） 50

; ICR62 (Institute of Cancer Research) (PCT WO 95/20045; Modjtahediら, 1993, J. Cell Biophys., 1993, 22 (1-3): 129-46; Modjtahediら, 1993, Br. J. Cancer., 1993, 67 (2): 247-53; Modjtahediら, 1996, Br. J. Cancer, 73 (2): 228-35; Modjtahediら, 2003, Int. J. Cancer, 105 (2): 273-80); TheraCIM hR3 (YM Biosciences, Canada and Centra de Immunologia Molecular, Cuba (米国特許No. 5, 891, 996; 米国特許No. 6, 506, 883; Mateoら, 1997, Immunotechnology, 3 (1): 71-81); mAb-806 (Ludwig Institute for Cancer Research, Memorial Sloan-Kettering) (Jungbluthら, 2003, Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 100 (2): 639-44); KSB-102 (KS Biomedix); MR1-1 (IVAX, National Cancer Institute) (PCT WO 0162931 A2); 及び SC100 (Scancell) (PCT WO 01/88138); アレムツズマブ (Campath (登録商標), Millenium)、B細胞慢性リンパ球性白血病治療のために現在認可されているヒト化mAb; ムロモナブ-CD3 (Orthoclone OKT3 (登録商標))、Ortho Biotech/Johnson & Johnsonが開発している抗CD3抗体、イブリツモマブ・チウキセタン (Zevalin (登録商標))、IDEC/Schering AGが開発している抗CD20抗体、ゲムツズマブ・オゾガマイシン (Mylotarg (登録商標))、Celltech/Wyethが開発している抗CD33 (p67タンパク質) 抗体、アレファセプト (Amevive (登録商標))、Biogenが開発している抗LFA-3 Fc融合物、Centocor/Lillyが開発しているアブシキマブ (ReoPro (登録商標))、Novartisが開発しているバシリキシマブ (Simulect (登録商標))、Medimmuneが開発しているパリビズマブ (Synagis (登録商標))、インフリキシマブ (Remicade (登録商標))、Centocorが開発している抗TNF α 抗体、アダリムマブ (Humira (登録商標))、Abbottが開発している抗TNF α 抗体、Humicade (登録商標)、Celltechが開発している抗TNF α 抗体、ゴリムマブ (CNTO-148)、Centocorが開発している完全ヒトTNF抗体、エタネルセプト (Enbrel (登録商標))、ImmuneX/Amgenが開発しているp75 TNF受容体Fc融合物、レネルセプト、既にRocheが開発したp55 TNF受容体Fc融合物、ABX-CBL、Abgenixが開発している抗CD147抗体、ABX-IL8、Abgenixが開発している抗IL8抗体、ABX-MA1、Abgenixが開発している抗MUC18抗体、ペムツモマブ (R1549, 90Y-muHMFGL)、Antisomaが開発中の抗MUC1、Therex (R1550)、Antisomaが開発している抗MUC1抗体、Antisomaが開発しているAngioMab (AS1405)、Antisomaが開発しているHuBC-1、Antisomaが開発しているチオプラチン (AS1407)、Antegren (登録商標) (ナタリズマブ)、Biogenが開発している抗 α -4- β -1 (VLA-4) 及び α -4- β -7抗体、VLA-1 mAb、Biogenが開発している抗VLA-1 インテグリン抗体、LTBR mAb、Biogenが開発している抗リンホトキシン β 受容体 (LTBR) 抗体、CAT-152、Cambridge Antibody Technologyが開発している抗TGF-2抗体、ABT 874 (J695)、Abbottが開発している抗IL-12 p40抗体、CAT-192、Cambridge Antibody Technology及びGenzymeが開発している抗TGF β 1抗体、CAT-213、Cambridge Antibody Technologyが開発している抗エオタキシン1抗体、Cambridge Antibody Technology及びHuman Genome Science

s Inc. が開発している LymphoStat-B (登録商標) 抗 Bly s 抗体、T
RAIL-R1mAb、Cambridge Antibody Technology
及び Human Genome Sciences, Inc. が開発している抗 TRAI
L-R1 抗体、Avastin (登録商標) ベバシズマブ、rhUMAb-VEGF)、
Genentech が開発している抗 VEGF 抗体、Genentech が開発している
抗 HER 受容体ファミリー抗体、抗組織因子 (ATF)、Genentech が開発して
いる抗組織因子抗体、Xolair (登録商標) (オマリズマブ)、Genentech
が開發している抗 IgE 抗体、Raptiva (登録商標) (エファリズマブ)、Gen
entech 及び Xoma が開発している抗 CD11a 抗体、Genentech 及び M
illenium Pharmaceuticals が開発している MLN-02 抗体 (10
旧、LDP-02)、HuMax CD4、Genmab が開発している抗 CD4 抗体、
HuMax-IL15、Genmab 及び Amgen が開発している抗 IL15 抗体、G
enmab 及び Medarex が開発している HuMax-Inflam、HuMax-
Cancer、Genmab 及び Medarex 及び Oxford GcoScie
nces が開発している抗ヘパラーゼ I 抗体、Genmab 及び Amgen が開発している
HuMax-Lymphoma、Genmab が開発している HuMax-TAC、ID
EC Pharmaceuticals が開発している IDEC-131 及び抗 CD40
L 抗体、IDEC-151 (クレノリキシマブ)、IDEC Pharmaceu
ticals が開発している抗 CD4 抗体、IDEC-114、IDEC Pharmaceu
ticals が開発している抗 CD80 抗体、IDEC-152、IDEC Pharm
aceuticals が開発している抗 CD23、IDEC Pharmaceu
ticals が開発している抗マクロファージ遊走因子 (MIF) 抗体、BEC2、Imc
lone が開発している抗イディオタイプ抗体、IMC-1C11、Imclone が開発し
ている抗 KDR 抗体、DC101、Imclone が開発している抗 flk-1 抗体、I
mclone が開発している抗 VE カドヘリン抗体、CEA-Cide (登録商標) (ラ
ベツズマブ)、Immunomedics が開発している抗癌胎児性抗原 (CEA) 抗体
、LymphoCide (登録商標) (エブラツズマブ)、Immunomedics が
開発している抗 CD22 抗体、Immunomedics が開発している AFP-Cid
e、Immunomedics が開発している MyelomaCide、Immunom
edics が開発している LkoCide、Immunomedics が開発している P
rostaCide、MDX-010、Medarex が開発している抗 CTLA4 抗体
、MDX-060、Medarex が開発している抗 CD30 抗体、Medarex が開
発している MDX-070、Medarex が開発している MDX-018、Oside
m (登録商標) (IDM-1)、及び Medarex 及び Immuno-Designe
d Molecules が開発している抗 Her2 抗体、HuMax (登録商標) -CD
4、Medarex 及び Genmab が開発している抗 CD4 抗体、HuMax-IL1
5、Medarex 及び Genmab が開発している抗 IL15 抗体、CNTO 148
、Medarex 及び Centocor/J&J が開発している抗 TNF α 抗体、CNT
O 1275、Centocor/J&J が開発している抗サイトカイン抗体、MOR1
01 及び MOR102、MorphoSys が開発している抗細胞内接着分子-1 (IC
AM-1) (CD54) 抗体、MOR201、MorphoSys が開発している抗線維
芽細胞増殖因子受容体 3 (FGFR-3) 抗体、Nuvion (登録商標) (ビシリズマ
ブ)、Protein Design Labs が開発している抗 CD3 抗体、HuZA
F (登録商標)、Protein Design Labs が開発している抗 γ インター
フェロン抗体、Protein Design Labs が開発している抗 $\alpha 5 \beta 1$ イン
テグリン、Protein Design Labs が開発している抗 IL-12、IN
G-1、Xoma が開発している抗 Ep-CAM 抗体、Genentech 及び Nova
rtis が開発している Xolair (登録商標) (オマリズマブ) ヒト化抗 IgE 抗体
及び MLN01、Xoma が開発している抗 $\beta 2$ インテグリン抗体が含まれるが、これら
に限定されず、この段落で引用した文献がすべて参照により本明細書に組み入れる。他の 50

実施形態では、治療薬には、KRN330 (Kirin)、huA33抗体 (A33, Ludwig Institute for Cancer Research)、CNTO 95 (α Vインテグリン, Centocor)、MEDI-522 (α V β 3インテグリン, Medimmune)、ボロキシマブ (α V β 1インテグリン, Biogen /

PDL)、ヒトmAb 216 (B細胞グリコシル化エピトープ, NCI)、BiTE MT103 (双特異性CD19 $\times$ CD3, Medimmune)、4G7 $\times$ H22 (双特異性B細胞 $\times$ Fc γ R1, Medarex/Merck KGa)、rM28 (双特異性CD28 $\times$ MAPG, 米国特許No. EP1444268)、MDX447 (EMD 82633) (双特異性CD64 $\times$ EGFR, Medarex)、カツマキソマブ (レモバブ) (双特異性EpCAM $\times$ 抗CD3, Trion/Fres)、エリツマキソマブ (双特異性HER2/CD3, Fresenius Biotech)、オレゴボマブ (Ovarex) (CA-125, ViRexx)、Rencarex (登録商標) (WX G250) (炭酸脱水酵素IX, Willex)、CNTO 888 (CCL2, Centocor)、TRC105 (CD105 (エンドグリン), Tracon)、BMS-663513 (CD137アゴニスト, Bristol Myers Squibb)、MDX-1342 (CD19, Medarex)、シプリズマブ (MEDI-507) (CD2, Medimmune)、オフツムマブ (Humax-CD20) (CD20, Genmab)、リツキシマブ (Rituxan) (CD20, Genentech)、ベルツズマブ (hA20) (CD20, Immunomedics)、エブラツズマブ (CD22, Amgen)、ルミリキシマブ (IDEC 152) (CD23, Biogen)、ムロモナブ-CD3 (CD3, Ortho)、HuM291 (CD3 f γ c受容体, PDL Biopharma)、HeFi-1, CD30, NCI)、MDX-060 (CD30, Medarex)、MDX-1401 (CD30, Medarex)、SGN-30 (CD30, Seattle Genentics)、SGN-33 (リンツズマブ) (CD33, Seattle Genentics)、ザノリムマブ (HuMax-CD4) (CD4, Genmab)、HCD122 (CD40, Novartis)、SGN-40 (CD40, Seattle Genentics)、キャンパス1h (アルメツズマブ) (CD52, Genzyme)、MDX-1411 (CD70, Medarex)、hLL1 (EPB-1) (CD74.38, Immunomedics)、ガリキシマブ (IDEC-144) (CD80, Biogen)、MT293 (TRC093/D93) (切断コラーゲン, Tracon)、HuLuc63 (CS1, PDL Pharma)、イピリムマブ (MDX-010) (CTLA4, Bristol Myers Squibb)、トレメリムマブ (チシリムマブ, CP-675, 2) (CTLA4, Pfizer)、HGS-ETR1 (マバツムマブ) (DR4 TRAIL-R1アゴニスト, Human Genome Science/Glaxo Smith Kline)、AMG-655 (DR5, Amgen)、アボマブ (DR5, Genentech)、CS-1008 (DR5, Daiichi Sankyo)、HGS-ETR2 (レキサツムマブ) (DR5 TRAIL-R2アゴニスト, HGS)、セツキシマブ (アービタックス (EGFR, Imclone)、IMC-11F8 (EGFR, Imclone)、ニモツズマブ (EGFR, YM Bio)、パニツムマブ (Vectabix) (EGFR, Amgen)、ザルツムマブ (HuMaxEGFr) (EGFR, Genmab)、CDX-110 (EGFRvIII, AVANT Immunotherapeutics)、アデカツムマブ (MT201) (Epcam, Merck)、エドレコロマブ (Panorex, 17-1A) (Epcam, Glaxo/Centocor)、MORAb-003 (フォレート受容体a, Morphotech)、KW-2871 (ガングリオシドGD3, Kyowa)、MORAb-009 (GP-9, Morphotech)、CDX-1307 (MDX-1307) (hCGb, Celldex)、トラストズマブ (Herceptin) (HER2, Celldex)、ベルツズマブ (rhUMAb 2C4) (HER2 (DI), Genentech)、アボリズマブ (HLA-D

10

20

30

40

50

R β 鎖, PDL Pharma)、AMG-479 (IGF-IR, Amgen)、抗IGF-1R R1507 (IGF1-R, Roche)、CP 751871 (IGF1-R, Pfizer)、IMC-A12 (IGF1-R, Imclone)、BILBO 22 (IGF-IR, Biogen)、Mik- β -1 (IL-2R β (CD122), Hoffman LaRoche)、CNTO 328 (IL6, Centocor)、抗KIR (1-7F9) (キラー細胞Ig様受容体 (KIR), Novo)、Hu3S1 93 (Lewis (y), Wyeth, Ludwig Institute of Cancer Research)、hCBE-11 (LT β R, Biogen)、HuHMF G1 (MUC1, Antisoma/NCI)、RAV12 (N連結炭水化物エトープ, Raven)、CAL (副甲状腺ホルモン関連タンパク質 (PTH-rP), University of California)、CT-011 (PD1, CureTech)、MDX-1106 (ONO-4538) (PD1, Medarex/Ono)、MAB CT-011 (PD1, Curetech)、IMC-3G3 (PDGFR α , Imclone)、バビツキシマブ (ホスファチジルコリン, Peregrine)、huJ591 (PSMA, Cornell Research Foundation)、muJ591 (PSMA, Cornell Research Foundation)、GC1008 (TGF β (pan) インヒビター (IgG4), Genzyme)、インフリキシマブ (Remicade) (TNF α , Centocor)、A27.15 (トランスフェリン受容体, Salk Institute, INSERN WO 2005/111082)、E2.3 (トランスフェリン受容体, Salk Institute)、ベバシズマブ (アバスチン) (VEGF, Genentech)、HuMV833 (VEGF, Tsukuba Research Lab-WO/2000/034337, University of Texas)、IMC-18F1 (VEGFR1, Imclone)、IMC-1121 (VEGFR2, Imclone) が含まれる。

【0396】

B. DVD分子の構築

二重可変ドメイン免疫グロブリン (DVD-Ig) 分子は、2つの異なる親モノクローナル抗体由来の2つの異なる軽鎖可変ドメイン (VL) を直接または短リンカーを介して組換えDNA技術によりタンデムに連結した後、軽鎖定常ドメインにより連結されるように設計される。同様に、重鎖はタンデムに連結されている2つの異なる重鎖可変ドメイン (VH)、その後定常ドメインCH1及びFc領域を含む (図1A)。

【0397】

可変ドメインは、本明細書中に記載されている方法の1つにより作成した親抗体から組換えDNA技術を用いて得られ得る。実施形態では、可変ドメインはマウス重鎖または軽鎖可変ドメインである。別の実施形態では、可変ドメインはCDRグラフト化またはヒト化可変重鎖または軽鎖ドメインである。実施形態では、可変ドメインはヒト重鎖または軽鎖可変ドメインである。

【0398】

1つの実施形態では、第1及び第2可変ドメインを組換えDNA技術を用いて相互に直接連結する。他の実施形態では、可変ドメインをリンカー配列を介して連結する。実施形態では、2つの可変ドメインを連結する。3つ以上の可変ドメインを直接またはリンカー配列を介して連結させてもよい。可変ドメインは同一の抗原に結合させても、別の抗原に結合させてもよい。本発明のDVD分子は、1つの免疫グロブリン可変ドメイン及び1つの非免疫グロブリン可変ドメイン (例えば、受容体のリガンド結合ドメイン、酵素の活性ドメイン) を含む得る。DVD分子は2つ以上の非Igドメインをも含む得る。

【0399】

リンカー配列は単一アミノ酸またはポリペプチド配列であり得る。実施形態では、リンカー配列は、AKTTPKLEEGEFSEAR (配列番号1)、AKTTPKLEEGEFSEARV (配列番号2)、AKTTPKLG (配列番号3)、SAKTTPKLG (配列番号4)、SAKTTP (配列番号5)、RADAAP (配列番号6)、RA

D A A P T V S (配列番号7)、R A D A A A A G G P G S (配列番号8)、R A D A A A A (G₄S)₄ (配列番号9)、S A K T T P K L E E G E F S E A R V (配列番号10)、A D A A P (配列番号11)、A D A A P T V S I F P P (配列番号12)、T V A A P (配列番号13)、T V A A P S V F I F P P (配列番号14)、Q P K A A P (配列番号15)、Q P K A A P S V T L F P P (配列番号16)、A K T T P P (配列番号17)、A K T T P P S V T P L A P (配列番号18)、A K T T A P (配列番号19)、A K T T A P S V Y P L A P (配列番号20)、A S T K G P (配列番号21)、A S T K G P S V F P L A P (配列番号22)、G G G G S G G G S G G G G S (配列番号23)、G E N K V E Y A P A L M A L S (配列番号24)、G P A K E L T P L K E A K V S (配列番号25)、G H E A A A V M Q V Q Y P A S (配列番号26) からなる群から選択される。リンカー配列の選択は数個の F a b 分子の結晶構造分析に基づいている。F a b または抗体分子構造中の可変ドメインと C H 1 / C L 定常ドメインの間に天然可動性リンケージがある。この天然リンケージは、V ドメインの C 末端から 4 ~ 6 個の残基及び C L / C H 1 ドメインの N 末端から 4 ~ 6 個の残基により与えられるほぼ約 10 ~ 12 個のアミノ酸残基からなる。本発明の D V D - I g は、D V D - I g の軽鎖及び重鎖中のリンカーとしてそれぞれ C L または C H 1 の N 末端の 5 ~ 6 アミノ酸残基または 11 ~ 12 アミノ酸残基を用いて作成した。C L または C H 1 ドメインの N 末端残基、特に最初の 5 ~ 6 アミノ酸残基は強い二次構造なしのループ構造を採用し、従って 2 つの可変ドメイン間の可動性リンカーとして作用し得る。C L または C H 1 ドメインの N 末端残基は、I g 配列の一部であるので可変ドメインの天然延長であり、従って潜在的にリンカー及び接合部から生ずる免疫原性がかなりの程度まで抑えられる

他のリンカー配列は C L / C H 1 ドメインの任意の長さの配列、例えば C L / C H 1 ドメインの最初の 5 ~ 12 アミノ酸残基を含み得るが、C L / C H 1 ドメインのすべての残基を含まなくてもよい。軽鎖リンカーは C κ または C λ 由来であり得、重鎖リンカーは C γ 1、C γ 2、C γ 3、C γ 4、C α 1、C α 2、C δ 、C ϵ 及び C μ を含めたアイソタイプの C H 1 から誘導され得る。リンカー配列は他のタンパク質、例えば I g 様タンパク質 (例えば、T C R、F c R、K I R)、G / S に基づく配列 (例えば、G 4 S リピート) (配列番号 27)、ヒンジ領域由来配列、及び他のタンパク質由来の他の天然配列からも誘導され得る。

【0400】

実施形態では、定常ドメインを組換え D N A 技術を用いて 2 つの連結した可変ドメインに連結する。実施形態では、連結した重鎖可変ドメインを含む配列を重鎖定常ドメインに連結しており、連結した軽鎖可変ドメインを含む配列を軽鎖定常ドメインに連結する。実施形態では、定常ドメインはそれぞれヒト重鎖定常ドメイン及びヒト軽鎖定常ドメインである。実施形態では、D V D 重鎖は更に F c 領域に連結されている。F c 領域は未変性配列 F c 領域またはバリエーション F c 領域であり得る。別の実施形態では、F c 領域はヒト F c 領域である。別の実施形態では、F c 領域は I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g A、I g M、I g E または I g D 由来の F c 領域を含む。

【0401】

別の実施形態では、2 つの重鎖 D V D ポリペプチド及び 2 つの軽鎖 D V D ポリペプチドを組合せて、D V D - I g 分子を形成する。表 2 は、疾患を治療するために (例えば、癌を治療するために) 有用な標的に対する例示的抗体の V H 及び V L 領域のアミノ酸配列をリストしている。実施形態では、本発明は、表 2 にリストされている V H 及び / または V L 領域の少なくとも 2 つを任意の配向で含む D V D を提供する。

【0402】

【表 2】

表 2 : D V D - I g を作成するための抗体の V H 及び V L 領域のアミノ酸配列のリスト

配列 番号	ABT ユニーク ID	タンパク質 領域	配列 1234567890123456789012345678901234567890
28	AB001VH	VH CD20	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQT PGRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAY MQLSSLTSEDSAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTTVTVS A
29	AB001VL	VL CD20	QIVLSQSPAILSPSPGEKVTMTCRASSSVSYIHWFAQKPG SSPKPWIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTSYSLTISRVEAE DAATYYCQQWTSNPPTFGGGTKLEIKR
30	AB002VH	VH CD3 (seq. 1)	QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTTRYTMHWVKQR PGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTDDKSSSTAY MQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLTVSS
31	AB002VL	VL CD3 (seq. 1)	QIVLTQSPAIMASASPGEKVTMTCRASSSVSYMNWYQQKSG TSPKRWIYDTSKVASGVPYRFSGSGSGTSYSLTISSMEAE DAATYYCQQWSSNPLTFGSGTKLEINR
32	AB003VH	VH EGFR (seq. 1)	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSVSSGDYYWTWIR QSPGKGLEWIGHIYYSGNTNYPNPSLKSRLTISIDTSKTQF SLKLSSVTAADTAIYYCVRDRVTGAFDIWGQGTMTVTVSS
33	AB003VL	VL EGFR (seq. 1)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKP GKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQP EDFATYYCQQHFDHLPLAFGGGTKEIKR
34	AB004VH	VH HER2 (seq. 1)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTTLTVSS
35	AB004VL	VL HER2 (seq. 1)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQP EDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKEIKR
36	AB005VH	VH RON (seq. 1)	EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQA PGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARFSGWPNYYYYGMDVWGQGTTV TVSS

10

20

30

40

配列 番号	ABT ユニーク ID	タンパク質 領域	配列 1234567890123456789012345678901234567890
37	AB005VL	VL RON (seq. 1)	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLSNGFNVDW YLQKPGQSPHLLIYFGSYRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYCMQALQTPPWFQGTQKVEIRR
38	AB006VH	VH CD-19 (seq. 1)	QVQLQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNVKQR PGQGLEWIGQIWPQDGDNTNYNGKFKGKATLTADESSSTAY MQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTSTV TVSS
39	AB006VL	VL CD-19 (seq. 1)	DILLTQTPASLAVSLGQRATISCKASQSVDDYDGD SYLNWY QQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSGSGTDFTLNHI PVEKVDAAATYHCQQSTEDPWFQGGTKLEIKR
40	AB007VH	VH CD-80	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGGSISGGYWGWIQR PPGKGLEWIGSFYSSSGNTYYNPSLKSQVTISTDTSKNQF SLKLNMTAADTAVYYCVRDRLFVVGMMVYNNWFDVWGPG VLTVTVSS
41	AB007VL	VL CD-80	ESALTQPPSVSGAPGQKVTISCTGSTSNIGGYDLHWYQQ PGTAPKLLIYDINKRPSGISDRFSGSKSGTAASLAITGLQ TEDEADYYCQSYDSSLNAQVFGGGTRLTVLG
42	AB008VH	VH CD-22	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGYTFTSYWLHWVRQA PGQGLEWIGYINPRNDYTEYNQNFKD KATITADESTNTAY MELSSLRSEDTAFYFCARRDITTFYWGQGTITVTVSS
43	AB008VL	VL CD-22	DIQLTQSPSSLSASVGDRTVMSCKSSQSVLYSANHKNYLA WYQQKPGKAPKLLIYWASTRESGVPSRFSGSGSGTDFTFT ISSLQPEDIAITYCHQYLSSWTFGGGTQKLEIKR
44	AB009VH	VH CD-40	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQA PGKGLEWVAVISYEESNRYHADS VKGRFTISRDN SKITLY LQMNSLRTEDTAVYYCARDGGIAAPGPDYWGQGTITVTVSS
45	AB009VL	VL CD-40	DIVMTQSPSLSLTVTPGEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDW YLQKPGQSPQVLISLGSNRSRGVDPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYCMQARQTPFTFGPGTKVDIRR
46	AB010VH	VH IGF1,2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTSYDINWVRQA TGQGLEWVGWMNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRNTSISTAY MELSSLRSEDTAVYYCARDPYYYYYGMVWVGQGTITVTVSS

10

20

30

40

配列 番号	ABT ユニーク ID	タンパク質 領域	配列 1234567890123456789012345678901234567890
47	AB010VL	VL IGF1,2	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIENNHSVWYQQL PGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQ TGDEADYYCETWDTSLSAGRVFGGGKLTVLG
48	AB011VH	VH IGF1R (seq. 1)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSSYAMNWVRQA PGKGLEWVSAISGSGGTTFYADSVKGRFTISRDNSTTLTY LQMNSLRAEDTAVYYCAKDLGWSDSYYYYYGMVDVWGQGT TVSS
49	AB011VL	VL IGF1R (seq. 1)	DIQMTQFPSSLSASVGDRTTITCRASQGIRNDLGWYQKQP GKAPKRLIYAASRLHRGVPSRFGSGSGTEFTLTISLQP EDFATYYCLQHNSYPCSFQGTKEIKR
50	AB012VH	VH HGF (seq. 1)	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLY LQMNSLRAEDTAVYYCARDEYNSGWYVLFQYWGQGTLLTV SS
51	AB012VL	VL HGF (seq. 1)	DIQMTQSPSSVSASVGDRTTITCRASQGISSWLAWYQKQP GKAPNLLIYEASSLQSGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQP EDFATYYCQQANGFPWTFGQGTKEIKR
52	AB013VH	VH c-MET	QVQLQQSGPELVPRPGASVKWSCPASGYTFTSYWLHWVKQ RPGQGLEWIGMIDPSNSDTRFNPPNFKDKATLNVDSSNT AYNLLSSLTSADSAVYYCATYGSYVSPLDYWGQGTSVYVS S
53	AB013VL	VL c-MET	DIMMSQSPSSLTVSVGEKVTVSCKSSQSLVTSSQKNYLA WYQKPKQQSPKLLIYWASTRESGVDRFTGSGSGTDFTLT ITSVKADDLAVYYCQYYAYPWTFGDGKLEIKR
54	AB014VH	VH VEGF (seq. 1)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQA PGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKSTAY LQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGGSSHWYFDVWGQGTLLT VSS
55	AB014VL	VL VEGF (seq. 1)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCSASQDISNYLNWYQKQP GKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQP EDFATYYCQYSTVPWTFGQGTKEIKR

10

20

30

40

配列 番号	ABT リンク ID	タンパク質 領域	配列 1234567890123456789012345678901234567890
56	AB015VH	VH DLL-4 (seq. 1)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDNWISWVRQA PGKGLEWVGYSIPNSGFTYYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCARDNFGGYFDYWGQGTLVTVSS
57	AB015VL	VL DLL-4 (seq. 1)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYCQQSYTGTVTFTGQGTKVEIKR
58	AB016VH	VH NRP1 (seq. 1)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSSEPISWVRQA PGKGLEWVSSITGKNGYTYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCARWGKKVYGMVDVWGQGTLVTVSS
59	AB016VL	VL NRP1 (seq. 1)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLAWYQQKP GKAPKLLIYGASSRASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYCQQYMSVPITFTGQGTKVEIKR
60	AB033VH	VH EGFR (seq. 2)	QVQLKQSGPGLVQPQSLSITCTVSGFSLTNYGVHWVRQS PGKGLEWLGVIWGGNTDYNTPFTSRLSINKDNSKSQVFF KMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEFAYWGQGTLVTVSA
61	AB033VL	VL EGFR (seq. 2)	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHWYQQRT NGSPRLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVES EDIADYYCQQNNNWPTFTGAGTKLELKR
62	AB034VH	VH RON (seq. 2)	QVQLQESGPGLVKPSEILSLTCTVSGGSISSHYWSWVRQP PGKGLEWIGYIYYSGSTNYNP SLKSRVTISVDTSKNQFSL NLSSVTAADTAVYYCARIPNYYDRSGYYPGYWYFDLWGRG TLVTVSS
63	AB034VL	VL RON (seq. 2)	QAVLTQPSSLSAPPGASASLTCTLRSGFNVD SYRISWYQQ KPGSP PQYLLRYKSDSDKQQGSGVPSRFSGSKDASANAGI LLISGLQSEDEADYYCMIWHSSAWVFGGGTKLTVLR
64	AB035VH	VH NRP1 (seq. 2)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSQISPAGGYTNYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCARELPYYRMSKVMVDVQGQGT LVT VSS
65	AB035VL	VL NRP1 (seq. 2)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQYFSSYLAWYQQKP GKAPKLLIYGASSRASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYCQQYLGSPPTFTGQGTKVEIKR

10

20

30

40

配列 番号	ABT ユニーク ID	タンパク質 領域	配列 1234567890123456789012345678901234567890
66	AB039VH	VH CD3 (seq. 2)	QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRYTMHWVKQR PGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTIDKSSSTAY MQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLTVSS
67	AB039VL	VL CD3 (seq. 2)	QIVLTQSPAIMASAPGKVTMTCSASSSVSYMNWYQQKSG TSPKRWIYDTSKLASGVP AHFRGSGSGTSYSLTISGMEAE DAATYYCQQWSSNPFTFGSGTKLEINR
68	AB047VH	VH PLGF (seq. 1)	QVQLQQSGAELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYINWVKLA PGQGLEWIGWIYPGSGNTKYNEKFKGKATLTIDTSSSTAY MQLSSLTSEDTAVYFCVRDSPFFDYWGQGTLLTVSS
69	AB047VL	VL PLGF (seq. 1)	DIVLTQSPDSLAVSLGERVTMNCKSSQSLNLSGMRKSFLA WYQQKPGQSPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLT ISSVQAEDVAVYYCKQSYHLFTFGSGTKLEIKR
70	AB062VH	VH ErbB3 (seq. 1)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQP PGKGLEWIGEINHSGSTNYPNPSLKSRTVISVETSKNQFSL KLSSVTAADTAVYYCARDKWTWYFDLWGRGTLVTVSS
71	AB062VL	VL ErbB3 (seq. 1)	DIEMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSVLYSSSNRNYLA WYQQNPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLT ISSLQAEDVAVYYCQYYSTPRFTFGQGTKEIKR
72	AB063VH	VH ErbB3 (seq. 2)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSIYSMNWVRQA PGKGLEWVSYISSSSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLY LQMNSLRDEDTAVYYCARDRGDFDAFDIWGQGTMTVTVSS
73	AB063VL	VL ErbB3 (seq. 2)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDITNYLNWYQQKP GKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQP EDIATYNCQQCENFPITFGQGTREIKR
74	AB067VH	VH ErbB3 (seq. 3)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYVMAWVRQA PGKGLEWVSSISSSGWTLYADSVKGRFTISRDNKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCTRGLKMATIFDYWGQGTTLTVSS
75	AB067VL	VL ErbB3 (seq. 3)	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNVSWYQQ HPGKAPKLLIYEVSQRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGL QTEDEADYYCCSYAGSSIFVIFGGGTVTVLG

10

20

30

40

配列 番号	ABT リンク ID	タンパク質 領域	配列 1234567890123456789012345678901234567890
76	AB069VH	VH DLL4 (seq. 2)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSTAYYIHVVKQA PGQGLEWIGYISSYNGATNYNQKFKGRVTFTDTSTSTAY MELRSLRSDDTAVYYCARDYDYDVGMDYWGQGTTLTVSS
77	AB069VL	VL DLL4 (seq. 2)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATISCRASESDNYGISFMKWF QQKPGQPPKLLIYAASNQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTIS SLQAEDVAVYYCQQQSKEVPWTFGGGTKVEIKR
78	AB070VH	VH VEGF (seq. 2)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIHWVRQA PGKGLEWVAGITPAGGYTTYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPYAMDYWGQGTTLTVSS
79	AB070VL	VL VEGF (seq. 2)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQP EDFATYYCQQSYTTPPTFGQGTKVEIKR
80	AB071VH	VH VEGF (seq. 3)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIHWVRQA PGKGLEWVGAIYPYSGYTNYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSPWAMDYWGQGTTLTVS S
81	AB071VL	VL VEGF (seq. 3)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQVIRRLAWYQQKP GKAPKLLIYAASNLAGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQP EDFATYYCQQSNTSPLTFGQGTKVEIKR
82	AB072VH	VH DLL4 (seq. 3)	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYVINWVKQK PGQGLEWIGLINPYNDGTYNEKFKVKATLTSDKSSSTAY MELSSLTSEDSAVYYCASYYYGSRYFYDYWGQGTTLTVSS
83	AB072VL	VL DLL4 (seq. 3)	DIQMTQSSSYLSVSLGGRVTITCKASDHINNWLAWYQQKP GNAPRLLISGATSLETGVPSRFSGSGSGKDYTLSTLSLQT EDVATYYCQQYWSIPLTFGAGTKLELKR
84	AB073VH	VH DLL4 (seq. 4)	EVQLQQSGPELEKPGASVKISCKASGYSTGYNMNWKQS NGKSLEWIGNIDPYFGGTNYNQKFKGKATLTVDKSSSTAY MQLKSLTSEDSAVYYCARNYDYGCGCFDYWGQGTTLTVSS
85	AB073VL	VL DLL4 (seq. 4)	QAVVTQESALTTSPGETVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQE KPDHLFTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLIGDKAALTITGA QTEDEAIYFCALWYSNHWVFGGGTKLTVLG

10

20

30

40

配列 番号	ABT ユニーク ID	タンパク質 領域	配列 1234567890123456789012345678901234567890
86	AB074VH	VH PLGF (seq. 2)	QVQLKQSGPGLVQPSQSLSTCTVSGFSLTTYGIHWVRQS PGKGLEWLGVMWSSGGDTDYDAAFISRLSISKDNSKQVFF KMNSLQANDTGIYYCARYRFYGM DYWGQGTSTVTSS
87	AB074VL	VL PLGF (seq. 2)	AIQMTQSSSSFSVSLGDRVTITCKASEDIYNRF AWYQQKP GNAPRL LISGAASLEAGVPSRFSGSGSGQDYTLSTSLQT EDVATYYCQY WSTPWTFGGGTKLEIKR
88	AB075VH	VH IGF1R (seq. 2)	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVRQA PGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADKSTSTAY MELSSLRSEDTAVYYCARAPLRFLEWSTQDHYYYYYMDVW GKGT TVTVSS
89	AB075VL	VL IGF1R (seq. 2)	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYATWYQQKPG QAPILVIYGENKRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAE DEADYYCKSRD GSGQHLVFGGGTKLTVLG
90	AB077VH	VH IGF1R (seq. 3)	EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSFAMHWVRQA PGKGLEWISVIDTRGATYYADSVKGRFTISRDN AKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCARLGNFY YGMDVWGQGT TVTVSS
91	AB077VL	VL IGF1R (seq. 3)	EIVLTQSPGTLSVSPGERATLSCRASQSIGSSSLHWYQQKP GQAPRL LIKYASQSLSGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEP EDFAVYYCHQSSRLPHTFGQGTKVEIKR
92	AB079VH	VH HGF (seq. 2)	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTTYWMHWVRQM PGKGLEWMGEINPTNGHTNYPNPSFQGV TISADKSISTAY LQWSSLKASDTAMYYCARNYVGSIFDYWGQGT LVTVSS
93	AB079VL	VL HGF (seq. 2)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASENVVSYVSWYQQKP GKAPKLLIYGASNRNTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQP EDFATYYCGQSYNYPYTFGQGTKLEIKR
94	AB080VH	VH HER2 (seq. 2)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQA PGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGT LVTVSS
95	AB080VL	VL HER2 (seq. 2)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDV SIGVAWYQQKP GKAPKLLIYSASYRYTGVP SRFSGSGSGTDFTLTISLQP EDFATYYCQYYIYPYTFGQGTKVEIKR

10

20

30

40

配列 番号	ABT リンク ID	タンパク質 領域	配列 1234567890123456789012345678901234567890
96	AB107VH	VH CD3 (seq. 3)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQA PGKGLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISVDKSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCARSQYGGSDSWYFDVWGQGTLLTVV SS
97	AB107VL	VL CD3 (seq. 3)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNYLNWYQQKP GKAPKLLIYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQP EDFATYYCQQGNTLPWTFGQGTKVEIKR
98	AB108VH	VH CD3 (seq. 4)	EVQLLES GGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQA PGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNT AYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLL VTVSS
99	AB108VL	VL CD3 (seq. 4)	ELVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQ KPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLGGAALTLSGV QPEDEAEYYCALWYSLWVFGGGTKLTVLG
100	AB110VH	VH mCD3	EVQLVESGGGLVQPGKSLKLSCEASGFTFSGYGMHWVRQA PGRGLESVAYITSSSINIKYADAVKGRFTVSRDNAKNLLF LQMNILKSEDTAMYYCARFDWDKNYWGQGTMTVTVSS
101	AB110VL	VL mCD3	DIQMTQSPSSLPASLGDRVTINCQASQDISNYLNWYQQKP GKAPKLLIYYTNKLADGVPSRFSGSGSGRDSSTISSLES EDIGSYCQQYYNYPWTFGPGTKLEIKR
102	AB111VH	VH CD19 (seq. 2)	EVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQP PRKGLEWLGVIWGSEGTTYNSALKSRLTIKDNSKSQVP LKMNSLQTDDETAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTSTVTS S
103	AB111VL	VL CD19 (seq. 2)	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKTLNWYQQKP DGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQ EDIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKEITR
104	AB112VH	VH CD19 (seq. 3)	EVQLQESGPGLVAPSVKISCKASGYAFSSSWMNWVIQR PGQGLEWIGRIYPGDGDTNYNGKFKGKATLTADKSSSTAY MQLSSLTSVDSAVYFCARSGFITTVLDFDYWGQGTTLTVS S

10

20

30

40

配列 番号	ABT ユニーク ID	タンパク質 領域	配列 1234567890123456789012345678901234567890
105	AB112VL	VL CD19 (seq. 3)	DIVLTQSPTSLAVSLGQRATISCRASESVDTFGISFMNWF QQKPGQPPKLLIHAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFSLNIH PMEEDDSAMYFCQQSKEVPFTFGSGTKLEIKR
106	AB114VH	VH mCD19	EVQLQQSGAELVRPGTSVKLSCKVSGDTITFYMHFVKQR PGQGLEWIGRIDPEDESTKYSEKFNKATLTADTSSNTAY LKLSSLTSEDATATYFCIYGGYYFDYWGQGVMTVSS
107	AB114VL	VL mCD19	DIQMTQSPASLSTSLGETVTIQCQASEDIYSGLAWYQQKP GKSPQQLLIYGASDLQDGVPSRFSGSGSGTQYSLKITSMT EDEGVYFCQQGLTYPRTFGGGKLELKR

10

【0403】

特定の標的に結合し得る特異的DVD-Ig分子及びその作成方法の詳細な説明は以下の実施例の欄に提示されている。

【0404】

20

C. DVDタンパク質の産生

本発明の結合タンパク質は当業界で公知の多数の技術により産生され得る。例えば、例えば、DVD重鎖及びDVD軽鎖をエンコードする発現ベクターを標準技術により宿主細胞にトランスフェクトする宿主細胞からの発現。用語「トランスフェクション」の各種形態は、外来性DNAを原核または真核宿主細胞に導入するために通常使用されている種々の技術、例えばエレクトロポレーション、リン酸カルシウム沈降、DEAE-デキストラントランスフェクション等を包含すると意図される。本発明のDVDタンパク質を原核または真核宿主細胞において発現させることができるが、真核細胞（及び、特に哺乳動物細胞）が原核細胞よりも正しく折り畳まれた免疫学的に活性なDVDタンパク質を組立て、分泌しそうなので、DVDタンパク質を真核細胞、例えば哺乳動物宿主細胞において発現させる。

30

【0405】

本発明の組換え抗体を発現するための哺乳動物宿主細胞の例には、チャイニーズハムスター卵巣（CHO細胞）（U r l a u b and C h a s i n, (1980) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:4216-4220に記載されており、例えばR. J. Kaufman and P. A. Sharp (1982) Mol. Biol., 159:601-621に記載されているDHFR選択可能なマーカーと一緒に使用されるdhfr-CHO細胞が含まれる）、NS0ミエローマ細胞、COS細胞、SP2及びPER.C6細胞が含まれる。DVDタンパク質をエンコードする組換え発現ベクターを哺乳動物宿主細胞を導入するとき、宿主細胞においてDVDタンパク質を発現させ、または宿主細胞を増殖させる培養培地にDVDタンパク質を分泌させるのに十分な時間宿主細胞を培養することによりDVDタンパク質が産生される。DVDタンパク質は標準のタンパク質精製方法を用いて培養培地から回収され得る。

40

【0406】

本発明のDVDタンパク質の組換え発現のための例示的系では、DVD重鎖及びDVD軽鎖の両方をエンコードする組換え発現ベクターをリン酸カルシウム媒介トランスフェクションによりdhfr-CHO細胞に導入する。組換え発現ベクター内で、DVD重鎖及び軽鎖遺伝子を高レベルで転写させるためにこれらの遺伝子は各々CMVエンハンサー／AdMLPプロモーター調節要素に機能し得る形で連結されている。組換え発現ベクターはDHFR遺伝子をも有し、これによりメトトレキサート選択／増幅を用いてベクターを

50

トランスフェクトしたCHO細胞を分泌させることができる。DVD重鎖及び軽鎖を発現させるために選択した形質転換体宿主細胞を培養し、完全なDVDタンパク質を培養培地から回収する。標準の分子生物学的技術を使用して、組換え発現ベクターを作成し、宿主細胞にトランスフェクトし、形質転換体を選択し、宿主細胞を培養し、培養培地からDVDタンパク質を回収する。更に、本発明は、本発明のDVDタンパク質が合成されるまで本発明の宿主細胞を適当な培養培地において培養することにより本発明のDVDタンパク質を合成する方法を提供する。この方法は更にDVDタンパク質を培養培地から単離することを含み得る。

【0407】

DVD-Igの重要な特徴は、DVD-Igが慣用の抗体と同様に産生され、精製され得ることである。DVD-Igが産生されると、定常領域の配列修飾または任意の種類の化学的修飾なしに所望される二重特異性活性を有する均質な単一の重要産物が生ずる。「双特異性」、「多重特異性」及び「多重特異性多価」完全長結合タンパク質を作成するための他の公知方法によると、単一主要産物は生ぜず、代わりに異なる結合部位の組合せを有する組み合わされた不活性、単一特異性、多重特異性、多価完全長結合タンパク質の混合物の細胞内または分泌産生がもたらされる。例えば、Miller and Presta (PCT公開WO 2001/077342 (A1)) が記載した設計に基づいて、重鎖及び軽鎖の可能な組合せは16個ある。従って、タンパク質の6.25%のみが多分所望の活性形態であり、他の15個の可能な組合せと比較して単一の重要な生成物または単一の主要な生成物として存在しない。典型的には大規模製造で使用する標準のクロマトグラフィー技術を用いて不活性及び部分的に不活性なタンパク質から所望の完全に活性な形態のタンパク質を分離することはまだ立証されていない。

【0408】

驚くことに、本発明の「二重特異性多価完全長結合タンパク質」の設計により、二重可変ドメイン軽鎖及び二重可変ドメイン重鎖が生じ、これらは主に所望の「二重特異性多価完全長結合タンパク質」に組み立てられる。

【0409】

組み立てられ、発現された二重可変ドメイン免疫グロブリン分子の少なくとも50%、少なくとも75%、少なくとも90%は所望の二重特異性四価タンパク質である。本発明のこの態様は特に本発明の商業的有用性を高める。従って、本発明は、二重可変ドメイン軽鎖及び二重可変ドメイン重鎖を単一細胞において発現させて、「二重特異性四価完全長結合タンパク質」の単一主要産物をもたらす方法を包含する。

【0410】

本発明は、二重可変ドメイン軽鎖及び二重可変ドメイン重鎖を単一細胞において発現させて、「二重特異性四価完全長結合タンパク質」の「主要産物」をもたらす方法を提供し、「主要産物」は二重可変ドメイン軽鎖及び二重可変ドメイン重鎖からなるすべての組み立てられたタンパク質の50%以上である。

【0411】

本発明は、二重可変ドメイン軽鎖及び二重可変ドメイン重鎖を単一細胞で発現させて、「二重特異性四価完全長結合タンパク質」の「主要産物」をもたらす方法を提供し、「主要産物」は二重可変ドメイン軽鎖及び二重可変ドメイン重鎖からなるすべての組み立てられたタンパク質の75%以上である。

【0412】

本発明は、二重可変ドメイン軽鎖及び二重可変ドメイン重鎖を単一細胞で発現させて、「二重特異性四価完全長結合タンパク質」の「主要産物」をもたらす方法を提供し、「主要産物」は二重可変ドメイン軽鎖及び二重可変ドメイン重鎖からなるすべての組み立てられたタンパク質の90%以上である。

【0413】

II. 誘導体化DVD結合タンパク質

1つの実施形態は、本発明の結合タンパク質が別の機能分子（例えば、別のペプチドま

10

20

30

40

50

たはタンパク質)に誘導体化または連結されている標識された結合タンパク質を提供する。例えば、本発明の標識された結合タンパク質は、本発明の結合タンパク質を1つ以上の他の分子実体、例えば結合タンパク質の別の分子(例えば、ストレプトアビジンコア領域またはポリヒスチジンタグ)との会合を媒介し得る別の抗体(例えば、双特異性抗体またはダイアボディ)、検出可能物質、細胞傷害薬、薬剤及び/またはタンパク質またはペプチドに(化学的カップリング、遺伝子融合、非共有結合または他の方法により)機能的に連結させることにより誘導され得る。

【0414】

本発明の結合タンパク質が誘導体化され得る有用な検出可能物質には蛍光化合物が含まれる。蛍光検出可能物質の例には、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、5-ジメチルアミン-1-ナフタレンスルホニルクロリド、フィコエリスリン等が含まれる。結合タンパク質は、検出可能な酵素(例えば、アルカリホスファターゼ、ホースラディッシュペルオキシダーゼ、グルコースオキシダーゼ等)でも誘導体化され得る。結合タンパク質を検出可能な酵素で誘導体化する場合、検出可能な反応生成物を生成するために前記酵素が使用する追加の試薬を添加することにより検出される。例えば、検出可能物質ホースラディッシュペルオキシダーゼが存在するときには、過酸化水素及びジアミノベンジジンを追加すると、検出可能な着色反応生成物が生ずる。結合タンパク質はビオチンでも誘導体化され、アビジンまたはストレプトアビジン結合を間接的に測定することにより検出され得る。

【0415】

本発明の別の実施形態は結晶化結合タンパク質、及び前記結晶を含む処方物及び組成物を提供する。1つの実施形態では、結晶化結合タンパク質は結合タンパク質の可溶性相当物よりも長いインビボ半減期を有する。別の実施形態では、結合タンパク質は結晶化後も生物活性を保持している。

【0416】

本発明の結晶化結合タンパク質は、当業界で公知の方法及び参照により本明細書に組み入れるWO 02072636に開示されている方法に従って製造され得る。

【0417】

本発明の別の実施形態は、抗体またはその抗原結合部分が1つ以上の炭水化物残基を含んでいるグリコシル化結合タンパク質を提供する。新生インビボタンパク質産生は翻訳後修飾として公知の更なるプロセッシングを受け得る。特に、糖(グリコシル)残基を酵素的に、グリコシル化として公知のプロセスにより付加し得る。共有結合したオリゴ糖側鎖を有する生じたタンパク質はグリコシル化タンパク質または糖タンパク質として公知である。抗体は、Fcドメイン及び可変ドメイン中に1つ以上の炭水化物残基を有する糖タンパク質である。Fcドメイン中の炭水化物残基は、Fcドメインのエフェクター機能に対して重要な影響を有するが、抗体の抗原結合または半減期に対する影響は小さい(R. Jefferys, Biotechnol. Prog., 21(2005), p. 11-16)。対照的に、可変ドメインのグリコシル化は抗体の抗原結合活性に対して影響を有し得る。可変ドメインでのグリコシル化は、多分立体障害のために抗体結合親和性に対して負の影響を有し得(Co, M. S. ら, Mol. Immunol. (1993), 30: 1361-1367)、或いは抗原に対して高い親和性を生じ得る(Wallick, S. C. ら, Exp. Med. (1988), 168: 1099-1109; Wright, A. ら, EMBO J. (1991), 10: 2717-2723)。

【0418】

本発明の1つの態様は、結合タンパク質のO-またはN-結合グリコシル化が変異されているグリコシル化部位ミュータントの作成に関する。当業者は前記ミュータントを標準の公知テクノロジーを用いて作成することができる。生物活性を保持しているが、増加または減少した結合活性を有しているグリコシル化部位ミュータントは本発明の別の目的である。

【0419】

さらに別の実施形態では、本発明の抗体または抗原結合部分のグリコシル化を修飾する。例えば、非グリコシル化抗体（すなわち、抗体はグリコシル化を欠く）を作成し得る。グリコシル化は、例えば抗体の抗原に対する親和性を高めるために改変され得る。炭水化物修飾は、例えば抗体配列内の1つ以上のグリコシル化部位を改変することによりなし得る。例えば、1つ以上の可変領域グリコシル化部位を排除して、その部位でのグリコシル化を排除する1つ以上のアミノ酸置換をなし得る。非グリコシル化は抗体の抗原に対する親和性を増加させ得る。前記アプローチは、各々が全文参照により本明細書に組み入れられるPCT公開WO 2003016466A2、並びに米国特許Nos. 5, 714, 350及び6, 350, 861に更に詳細に記載されている。

【0420】

加えてまたは或いは、改変タイプのグリコシル化を有する本発明の修飾結合タンパク質、例えば少ない量のフコシル残基を有する低フコシル化抗体（Kanda, Yutakara, Journal of Biotechnology (2007), 130(3), 300-310を参照されたい）または高い二等分GlcNAc構造を有する抗体が作成され得る。改変グリコシル化パターンは抗体のADCC能力を高めると立証されている。炭水化物修飾は、例えば改変グリコシル化機構を有する宿主細胞中で抗体を発現させることによりなし得る。改変グリコシル化機構を有する宿主細胞は当業界で公知であり、本発明の組換え抗体を発現させて改変グリコシル化を有する抗体を産生する宿主細胞として使用され得る。例えば、各々が全文参照により本明細書に組み入れられるShields, R. L. ら, (2002), J. Biol. Chem., 277:26733-26740; Umana ら, (1999), Nat. Biotech., 17:176-1; 並びに欧州特許EP 1, 176, 195、PCT公開WO 03/035835、WO 99/54342 80を参照されたい。

【0421】

タンパク質グリコシル化は、当該タンパク質のアミノ酸配列及びタンパク質を発現させる宿主細胞に依存する。生物が異なると、異なるグリコシル化酵素（例えば、グリコシルトランスフェラーゼ及びグリコシダーゼ）が産生し、利用可能な基質（ヌクレオチド糖）も異なる。これらの要因のために、タンパク質グリコシル化パターン及びグリコシル残基の組成は特定のタンパク質を発現させる宿主系に依存して異なり得る。本発明において有用なグリコシル残基には、グルコース、ガラクトース、マンノース、フコース、n-アセチルグルコサミン及びシアル酸が含まれるが、これらに限定されない。実施形態では、グリコシル化結合タンパク質は、グリコシル化パターンがヒトであるようにグリコシル残基を含む。

【0422】

タンパク質グリコシル化が異なると異なるタンパク質特性が生じ得ることは当業者に公知である。例えば、微生物宿主（例えば、酵母）において産生され、酵母内因性経路を用いてグリコシル化した治療用タンパク質の有効性は、哺乳動物細胞（例えば、CHO細胞株）において発現させた同一タンパク質の有効性に比して低いことがある。前記糖タンパク質はヒトにおいても免疫原性であり得、投与後短いインビボ半減期を示し得る。ヒト及び他の動物中の特定受容体は特異的グリコシル残基を認識し、タンパク質の血流からの迅速なクリアランスを促進し得る。他の悪影響には、タンパク質ホールディング、可溶性、プロテアーゼに対する感受性、トラフィックキング、輸送、区画化、分泌、他のタンパク質または因子による認識、抗原性またはアレルゲン性の変化が含まれ得る。従って、専門家は特定の組成及びグリコシル化パターン、例えばヒト細胞または意図する被験動物の種特異的細胞において産生されるものと同一または少なくとも類似のグリコシル化組成及びパターンを有する治療用タンパク質を選択し得る。

【0423】

宿主細胞とは異なるグリコシル化タンパク質の発現は、異種グリコシル化酵素を発現させるために宿主細胞を遺伝的に修飾させることによりなし得る。当業界で公知の技術を用いて、専門家はヒトタンパク質グリコシル化を発現する抗体またはその抗原結合部分を作

成し得る。例えば、酵母菌株において産生されるグリコシル化タンパク質（糖タンパク質）が動物細胞、特にヒト細胞のものと同一のタンパク質グリコシル化を示すように天然に存在しないグリコシル化酵素を発現させるべく酵母菌株を遺伝的に修飾させた（米国特許出願20040018590及び20020137134、並びにPCT公開WO 2005100584 A2）。

【0424】

結合タンパク質に加えて、本発明は、本発明の結合タンパク質に対して特異的な抗イディオタイプ（抗Id）抗体にも関する。抗Id抗体は、通常別の抗体の抗原-結合領域に結合する独自の決定基を認識する抗体である。抗Idは、動物を結合タンパク質またはそのCDR含有領域を用いて免疫化することにより産生され得る。免疫化された動物は、免疫化抗体のイディオタイプ決定基を認識し、応答し、抗Id抗体を産生し得る。DVD-Ig分子に取り込んだ2つ以上の親抗体に対する抗イディオタイプ抗体を作成し、当業界で認識されている方法（例えば、BIACore、ELISA）により結合研究を確認して、各親抗体のイディオタイプに対して特異的な抗イディオタイプ抗体がDVD-Igに関連してイディオタイプ（例えば、抗原結合部位）をも認識することを立証することがより容易であり得ることはすぐに分かる。DVD-Igの2つ以上の抗原結合部位の各々に対して特異的な抗イディオタイプ抗体は、患者血清中のヒトDVD-IgのDVD-Ig濃度を測定するための理想的な試薬を提供する。DVD-Ig濃度アッセイは、固相（例えば、BIACoreアチップ、ELISAプレート等）にコーティングし、濯ぎバッファーで濯ぎ、血清サンプルとインキュベートし、別に濯ぎ、最終的に結合反応の定量のためにそれ自体酵素で標記されている別の抗原結合部位に対する別の抗イディオタイプ抗体とインキュベートする第1抗原結合領域に対する抗体を用いる「サンドイッチアッセイELISAフォーマット」を用いて確立され得る。実施形態では、2つ以上異なる結合部位を有するDVD-Igの場合、2つの最外結合部位（定常領域から最も遠い及び近い）に対する抗イディオタイプ抗体はヒト血清中のDVD-Ig濃度を測定するのに役立つだけでなく、インビボで分子の一体性を証明するのに役立つ。各抗Id抗体は、別の動物で免疫応答を引き出して所謂抗-抗Id抗体を産生するための「免疫原」としても使用され得る。

【0425】

更に、ライブラリーのメンバー宿主細胞が変異グリコシル化パターンを有する当該タンパク質を産生するように、当該タンパク質を各種グリコシル化酵素を発現するように遺伝子操作された宿主細胞のライブラリーを用いて発現し得ることは当業者によりは認識されている。その後、専門家は特別の新規グリコシル化パターンを有する当該タンパク質を選択し、単離し得る。実施形態では、特に選択された新規グリコシル化パターンを有するタンパク質は改良されたまたは改変した生物学的特性を示す。

【0426】

III. DVD-Igの使用

2つ以上の抗原に結合する能力を考えると、本発明の結合タンパク質は（例えば、血清または血漿のような生物学的サンプル中の）抗原を慣用のイムノアッセイ（例えば、酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）、ラジオイムノアッセイ（RIA）または組織免疫組織化学）を用いて検出するために使用され得る。結合または非結合抗体の検出を容易とするためにDVD-Igを直接または間接的に検出可能物質で標識し得る。適当な検出可能物質には、各種酵素、補欠分子族、蛍光材料、発光材料及び放射性材料が含まれる。適当な酵素の例には、ホースラディッシュペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、β-ガラクトシダーゼまたはアセチルコリンエステラーゼが含まれる。適当な補欠分子族複合体の例には、ストレプトアビジン/ビオチン及びアビジン/ビオチンが含まれる。適当な蛍光材料の例には、ウンベリフェロン、フルオレセイン、フルオレセインイソシアシアネート、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミンフルオレセイン、ダンシルクロリドまたはフィコエリトリンが含まれる。発光材料の例にはルミノールが含まれる。適当な放射性材料の例には、³H、¹⁴C、³⁵S、⁹⁰Y、⁹⁹Tc、¹¹¹In、¹²⁵I、¹

³¹I、¹⁷⁷Lu、¹⁶⁶Hoまたは¹⁵³Smが含まれる。

【0427】

実施形態では、本発明の結合タンパク質はインビトロ及びインビボの両方で抗原の活性を中和し得る。従って、DVD-Igは、例えば抗原を含有する細胞培養物において、本発明の結合タンパク質が交差反応する抗原を有しているヒト被験者または他の哺乳動物被験者において抗原活性を阻害するために使用され得る。別の実施形態では、本発明は、抗原活性が有害な疾患または障害を患っている被験者において抗原活性を低下させるための方法を提供する。本発明の結合タンパク質は治療目的でヒト被験者に対して投与され得る。

【0428】

本明細書中で使用されている用語「抗原活性が有害な障害」は、障害を患っている被験者中の抗原の存在が障害の病態生理に関与するまたは障害の悪化に寄与する因子であることが判明しているかまたは疑われる疾患及び他の障害を含むと意図される。従って、抗原活性が有害な障害は、抗原活性が低下すると障害の症状及び／または障害の進行が緩和すると予想される障害である。前記障害は、例えば障害を患っている被験者の生物学的流体中の抗原の濃度の増加（例えば、被験者の血清、血漿、滑液等中の抗原の濃度の増加）により証明され得る。本発明の結合タンパク質で治療され得る障害の非限定例には、以下に及び本発明の抗体の医薬組成物に関するセクションで検討されている障害が含まれる。

【0429】

本発明のDVD-Igは1つの抗原または複数の抗原に結合し得る。前記抗原には、参照により本明細書に組み入れる以下のデータベース中にリストされている標的が含まれるが、これらに限定されない。これらの標的データベースには、以下のリスト：

治療用標的 (<http://xin.cz3.nus.edu.sg/group/cjtttd/ttd.asp>) ;

サイトカイン及びサイトカイン受容体 (<http://www.cytokinewebfacts.com/>, <http://www.copewithcytokines.de/cope.cgi>, 及び

http://cmbi.bjmu.edu.cn/cmbidata/cgf/CGF_Database/cytokine.medic.kumamoto-u.ac.jp/CFC/indexR.html) ;

ケモカイン (<http://cytokine.medic.kumamoto-u.ac.jp/CFC/CK/Chemokine.html>) ;

ケモカイン受容体及びGPCR (<http://csp.medic.kumamoto-u.ac.jp/CSP/receptor.html>, <http://www.gpcr.org/7tm/>) ;

嗅覚受容体 (<http://senselab.med.yale.edu/senselab/ORDB/default.asp>) ;

受容体 (<http://www.iuphar-db.org/iuphar-rd/list/index.htm>) ;

癌標的 (<http://cged.hgc.jp/cgi-bin/input.cgi>) ;

潜在的抗体標的としての分泌タンパク質 (<http://spd.cbi.pku.edu.cn/>) ;

タンパク質キナーゼ (<http://spd.cbi.pku.edu.cn/>) ; 及び

ヒトCDマーカー (http://content.labvelocity.eom/tools/6/1226/CD_table_final_locked.pdf) 及び

(Zola H, 2005 CD Molecule, 2005: human cell differentiation Molecule Blood, 106:3123-6)

が含まれる。

10

20

30

40

50

【0430】

DVD-Igは、有効性／安全性を高め、及び／または患者適用範囲を広げるように2つの異なる標的を同時にブロックするための治療薬として有用である。前記標的には、可溶性標的(TNF)及び細胞表面受容体標的(VEGFR及びEGFR)が含まれ得る。DVD-Igは、癌治療のために腫瘍細胞とT細胞(Her2及びCD3)の間で、自己免疫疾患または移植のために自己反応性細胞とエフェクター細胞の間で、または所与の疾患において疾患誘発細胞を排除するために標的細胞とエフェクター細胞の間で再指向される細胞傷害性を誘発させるためにも使用され得る。

【0431】

加えて、DVD-Igは、同一受容体上の2つの異なるエピトープを標的とするように設計されている場合には受容体クラスティング及び活性化をトリガーするために使用され得る。これは主動的または拮抗的抗GPCR治療薬を作成する際に有用であり得る。この場合、DVD-Igは、クラスティング／シグナリング(2つの細胞表面分子)またはシグナリング(1つの分子上)のために1つの細胞上の2つの異なるエピトープ(ループ領域及び細胞外ドメインの両方上のエピトープを含む)を標的とするために使用され得る。同様に、DVD-Ig分子は、CTLA-4細胞外ドメインの2つの異なるエピトープ(または、同一エピトープの2コピー)を標的として免疫応答をダウンレギュレーションすることによりCTLA-4連結反応及び負のシグナルをトリガーするように設計され得る。CTLA-4は多数の免疫学的障害の治療上処置のための临床上確認されている標的である。CTLA-4/B7相互作用は、細胞周期進行、IL-2産生及び活性化後のT細胞の増殖を減衰させることによりT細胞活性化を負に調節し、CTLA-4(CD152)参加はT細胞活性化をダウンレギュレートし、免疫寛容の誘導を促進し得る。しかしながら、CTLA-4のアゴニスト抗体参加によりT細胞活性化を減衰させる戦術は、CTLA-4活性化がライゲーションを必要とするので成功しなかった。血漿構造分析により立証されているように(Stamper, 2001, Nature, 410:608)、CTLA-4/B7の分子相互作用は「斜傾ジッパー」にある。しかしながら、抗CTLA-4 mAbを含めた現在入手可能なCTLA-4結合試薬のいずれもがライゲーション特性を有していない。この問題を解決するために幾つかの試みがなされている。1つの試みでは、細胞メンバー結合一本鎖抗体を作成し、マウスにおいて同種拒絶反応を有意に抑制した(Hwang, 2002, JI, 169:633)。別の試みでは、CTLA-4に対する人工のAPC表面連結された一本鎖抗体を作成し、T細胞応答を減衰させることが立証された(Griffin, 2000, JI, 164:4433)。いずれの試みも、CTLA-4ライゲーションを人工システムにおいて密接に局在化させたメンバー結合抗体により達成させた。これらの実験は、CTLA-4負のシグナリングをトリガーすることによる免疫ダウンレギュレーションについての概念実証を与えるが、これらのレポートで使用されている試薬は治療に使用するには適していない。このために、CTLA-4ライゲーションは、CTLA-4細胞外ドメインの2つの異なるエピトープ(または、同一エピトープの2コピー)を標的するDVD-Ig分子を用いることにより達成され得る。原理は、IgGの2つの結合部位に広がる距離約150~170 ÅはCTLA-4の能動的ライゲーションのためには余りに大きい(2つのCTLA-4ホモダイマー間は30~50 Å)。しかしながら、DVD-Ig(1つのアーム)上の2つの結合部位間の距離は30~50 Åの範囲で非常に短く、CTLA-4を適切にライゲートすることができる。

【0432】

同様に、DVD-Igは細胞表面受容体複合体の2つの異なるメンバー(例えば、IL-12Rアルファ及びベータ)を標的とし得る。更に、DVD-Igは、標的可溶性タンパク質／病原体を迅速に浄化するようにCR1及び可溶性タンパク質／病原体を標的とし得る。

【0433】

加えて、本発明のDVD-Igは、細胞内デリバリー(内在化受容体及び細胞内分子を

10

20

30

40

50

標的とする)、脳内部へのデリバリー(脳血液関門を横断するためにトランスフェリン受容体及びCNS疾患メディエーターを標的とする)を含めた組織特異的デリバリー(高い局所PK、よってより高い有効性及び/またはより低い毒性のために組織マーカー及び疾患メディエーターを標的とする)ために使用され得る。VD-Igは、抗原の非中和性エピトープへの結合を介して抗原を特定の場所にデリバリーし且つ抗原の半減期を延長させるために担体タンパク質としても役立ち得る。更に、DVD-Igは、患者に移植した医療デバイスに物理的に接続させるかまたはこれらの医療デバイスを標的とするように設計され得る(Burke, Sandra E., Kuntz, Richard E., Schwartz, Lewis B, Zotarolimus eluting stents, Advanced Drug Delivery Reviews (2006), 58 (3), 437-446; Surface coatings for biological activation and functionalization of medical devices, Hildebrand, H. F., Blanche main, N., Mayer, G., Chai, F., Lefebvre, M., Bosch, F., Surface and Coatings Technology (2006), 200 (22-23), 6318-6324; Drug/device combinations for local drug therapies and infection prophylaxis, Wu, Peng, Grainger, David W, Biomaterials (2006), 27 (11), 2450-2467; Mediation of the cytokine network in the implantation of orthopedic devices, Marques, A. P., Hunt, J. A., Reis, Rui L., Biodegradable Systems in Tissue Engineering and Regenerative Medicine (2005), 377-397を参照されたい)。簡単に説明すると、適切な型の細胞を医療インプラントの部位に指向させると、治癒及び正常組織機能の回復が促進され得る。或いは、デバイスに接続したまたはデバイスを標的するDVDによりデバイス移植時に放出されるメディエーター(非限定的に、サイトカインが含まれる)の抑制も提供される。例えば、ステントは閉塞した動脈を浄化し、心筋への血流を改善するために介入心臓病学において長年使用されてきた。しかしながら、従来の剥き出しのままの金属ステントは数人の患者で再狭窄(処理した領域の動脈が再び狭くなること)が生じ、血餅となる恐れがあることは公知である。最近、血液中を循環する内皮前駆細胞(EPC)を捕捉することにより再狭窄を減らし、血餅が生ずるのを防ぐ抗CD34抗体をコーティングしたステントが記載されている。内皮細胞は、血液をスムーズに流すように血管の内側を覆う細胞である。EPCは、ステントの硬質表面に接着して、治癒を促進するだけでなく、以前ステントの使用に関連していた合併症の再狭窄、血餅を予防する平滑な層を形成する(Aojira, 2005, J. Am. Coll. Cardiol., 45 (10): 1574-9)。ステントを必要とする患者の結果を改善することに加えて、心血管バイパス手術を必要とする患者にも関わりがある。例えば、抗EPC抗体をコーティングした人工血管(人工動脈)は、バイパス手術グラフトのために患者の脚または腕から動脈を使用する必要がなくなる。こうすると、手術及び麻酔時間が短縮され、よって冠動脈手術の死亡が減る。DVD-Igは、細胞動員を促進するために移植した機器上にコーティングした細胞表面マーカー(例えば、CD34)及びタンパク質(または、非限定的にタンパク質、脂質及び多糖が含まれる任意の種類のエピトープ)に結合するように設計される。このアプローチは一般的に他の医療インプラントにも適用され得る。或いは、DVD-Igは医療デバイス上にコーティングされ得、移植し、すべてのDVDをデバイス(または、既に充填したDVD-Igの老化及び変性を含めて、新しいDVD-Igを追加する必要がある他の必要性)から放出させたら、新しいDVD-Igを患者に全身投与することによりデバイスに再充填させ得る。このDVD-Igは、1組の結合部位を有する当該標的(サイトカイン、CD34のような細胞表面マーカー等)及び他の組でデバイス上ではコーティングされている標的(タンパク質、

非限定的に脂質、多糖及びポリマーを含めた任意の種類のエピトープを含む)に結合するように設計される。このテクノロジーはコーティングしたインプラントの有用性を広げる利点を有する。

【0434】

A. 各種疾患におけるDVD-Igの使用

本発明のDVD-Ig分子は各種疾患を治療するための治療分子としても有用である。前記DVD分子は特定疾患に関与する1つ以上の標的に結合し得る。各種疾患における前記標的の例を以下に記載する。

【0435】

1. ヒト自己免疫及び炎症応答

C5、CCL1(1-309)、CCL11(エオタキシン)、CCL13(mcp-4)、CCL15(MIP-1d)、CCL16(HCC-4)、CCL17(TARC)、CCL18(PARC)、CCL19、CCL2(mcp-1)、CCL20(MIP-3a)、CCL21(MIP-2)、CCL23(MPIF-1)、CCL24(MPIF-2/エオタキシン-2)、CCL25(TECK)、CCL26、CCL3(MIP-1a)、CCL4(MIP-1b)、CCL5(RANTES)、CCL7(mcp-3)、CCL8(mcp-2)、CXCL1、CXCL10(IP-10)、CXCL11(I-TAC/IP-9)、CXCL12(SDF1)、CXCL13、CXCL14、CXCL2、CXCL3、CXCL5(ENA-78/LIX)、CXCL6(GCP-2)、CXCL9、IL13、IL8、CCL13(mcp-4)、CCR1、CCR2、CCR3、CCR4、CCR5、CCR6、CCR7、CCR8、CCR9、CX3CR1、IL8RA、XCR1(CCXCR1)、IFNA2、IL10、IL13、IL17C、IL1A、IL1B、IL1F10、IL1F5、IL1F6、IL1F7、IL1F8、IL1F9、IL22、IL5、IL8、IL9、LTA、LTB、MIF、SCYE1(内皮単球活性化サイトカイン)、SPP1、TNF、TNFSF5、IFNA2、IL10RA、IL10RB、IL13、IL13RA1、IL5RA、IL9、IL9R、ABCF1、BCL6、C3、C4A、CEBPB、CRP、ICEBERG、IL1R1、IL1RN、IL8RB、LTB4R、TOLLIP、FADD、IRAK1、IRAK2、MYD88、NCK2、TNFAIP3、TRADD、TRAF1、TRAF2、TRAF3、TRAF4、TRAF5、TRAF6、ACVR1、ACVR1B、ACVR2、ACVR2B、ACVRL1、CD28、CD3E、CD3G、CD3Z、CD69、CD80、CD86、CNR1、CTLA4、CYSLTR1、FCER1A、FCER2、FCGR3A、GPR44、HAVCR2、OPRD1、P2RX7、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TLR10、BLR1、CCL1、CCL2、CCL3、CCL4、CCL5、CCL7、CCL8、CCL11、CCL13、CCL15、CCL16、CCL17、CCL18、CCL19、CCL20、CCL21、CCL22、CCL23、CCL24、CCL25、CCR1、CCR2、CCR3、CCR4、CCR5、CCR6、CCR7、CCR8、CCR9、CX3CL1、CX3CR1、CXCL1、CXCL2、CXCL3、CXCL5、CXCL6、CXCL10、CXCL11、CXCL12、CXCL13、CXCR4、GPR2、SCYE1、SDF2、XCL1、XCL2、XCR1、AMH、AMHR2、BMPR1A、BMPR1B、BMPR2、C19orf10(IL27w)、CER1、CSF1、CSF2、CSF3、DKFZp451J0118、FGF2、GFI1、IFNA1、IFNB1、IFNG、IGF1、IL1A、IL1B、IL1R1、IL1R2、IL2、IL2RA、IL2RB、IL2RG、IL3、IL4、IL4R、IL5、IL5RA、IL6、IL6R、IL6ST、IL7、IL8、IL8RA、IL8RB、IL9、IL9R、IL10、IL10RA、IL10RB、IL11、IL11RA、IL12A、IL12B、IL12RB1、IL12RB2、IL13、IL13RA1、IL13RA2、IL15、IL15RA、IL16、IL17、IL17R、IL18、IL18R1、IL19、IL20、KITL

10

20

30

40

50

G、LEP、LTA、LTB、LTB4R、LTB4R2、LTBR、MIF、NPPB、PDGFB、TBX21、TDGF1、TGFA、TGFB1、TGFB1I1、TGFB2、TGFB3、TGFB1、TGFB1R1、TGFB1R2、TGFB1R3、TH1L、TNF、TNFRSF1A、TNFRSF1B、TNFRSF7、TNFRSF8、TNFRSF9、TNFRSF11A、TNFRSF21、TNFSF4、TNFSF5、TNFSF6、TNFSF11、VEGF、ZFPM2及びRNF110（ZNF144）を含めた多くのシグナル分子が一般的に自己免疫及び炎症応答に関与している。1つの態様で、本明細書中にリストされている標的の1つ以上に結合し得るDVD-Igを提供する。

【0436】

10

2. 喘息

アレルギー性喘息は、好酸球増加症の存在、杯細胞異形成、上皮細胞変化、気道反応性亢進（AHR）、及びTh2及びTh1サイトカイン発現、並びに高い血清IgEレベルにより特徴づけられる。現在、気道炎症が炎症性細胞（例えば、T細胞、B細胞、好酸球、マスト細胞及びマクロファージ）とサイトカイン及びケモカインを含めたその分泌型メディエーターの複雑な相互作用を含めた喘息の病因の根底にある主たる要因であることは広く認められている。コルチコステロイドは今日喘息に対する最も重要な抗炎症治療である。しかしながら、この作用メカニズムは非特異的で、安全性の問題が特に若年性患者集団で存在する。従って、より特異性の標的化治療の開発が求められている。好酸球性炎症に関係なく、マウスにおいてIL-13がAHR、粘膜分泌過多及び気道線維化を含めた喘息の特徴の多くを真似ている証拠が増えつつある（Finottoら、International Immunology（2005）、17（8）、993-1007；Padillaら、Journal of Immunology（2005）、174（12）、8097-8105）。

20

【0437】

IL-13は、喘息に関連する病理学的応答を引き出すのに極めて重要な役割を有するとして関与している。肺におけるIL-13の作用を減らすための抗IL-13 mAb治療の開発は喘息に対する新規治療としてかなり有望である現存の新規アプローチである。しかしながら、異なる免疫学的経路の他のメディエーターも喘息病因に関与しており、IL-13に加えてこれらのメディエーターをブロックすると追加の治療有用性が得られ得る。前記標的対には、IL-13と炎症促進性サイトカイン（例えば、腫瘍壊死因子- α （TNF- α ））が含まれるが、これに限定されない。TNF- α は喘息における炎症応答を増幅させ得、疾患の重症度にリンクし得る（McDonnellら、Progress in Respiratory Research（2001）、31（New Drugs for Asthma, Allergy and COPD）、247-250）。このことは、IL-13及びTNF- α の両方をブロックすることは特に重症な気道疾患で有利な作用を有し得ることを示唆している。別の実施形態では、本発明のDVD-Igは標的IL-13及びTNF α に結合し、喘息を治療するために使用される。

30

【0438】

炎症及びAHRの両方を評価し得る動物モデル（例えば、OVA誘導喘息マウスモデル）は当業界で公知であり、各種DVD-Ig分子の喘息を治療する能力を調べるために使用され得る。喘息を研究するための動物モデルは、Coffmanら、Journal of Experimental Medicine（2005）、201（12）、1875-1879；Lloydら、Advances in Immunology（2001）、77、263-295；Boyceら、Journal of Experimental Medicine（2005）、201（12）、1869-1873；及びSnibsonら、Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology（2005）、35（2）、146-52に開示されている。これらの標的対のルーチンの安全性評価に加えて、免疫抑制の程度についての特別の試験が認可され得、最良の標的対を選

40

50

扱するのに有用であり得る (Lusterら, Toxicology (1994), 92 (1-3), 229-43; Descotesら, Developments in biological standardization (1992), 77, 99-102; Hartら, Journal of Allergy and Clinical Immunology (2001), 108 (2), 250-257を参照されたい)。

【0439】

本明細書に開示されており原理に基づき、有効性及び安全性についての同一評価モデルを使用して、DVD-Ig分子に結合し、喘息を治療するために有用であり得る他の標的対が調べられ得る。実施形態では、標的には、IL-13とIL-1 β (IL-1 β は喘息における炎症応答にも関与する) ; IL-13と炎症に関与するサイトカイン及びケモカイン、例えばIL-13とIL-9、IL-13とIL-4、IL-13とIL-5、IL-13とIL-25、IL-13とTARC、IL-13とMDC、IL-13とMIF、IL-13とTGF- β 、IL-13とLHRアゴニスト、IL-13とCL25、IL-13とSPRR2a、IL-13とSPRR2b、及びIL-13とADAM8が含まれるが、これらに限定されない。本発明は、喘息に関与するCSF1 (MCSF)、CSF2 (GM-CSF)、CSF3 (GCSF)、FGF2、IFNA1、IFNB1、IFNG、ヒスタミン及びヒスタミン受容体、IL1A、IL1B、IL2、IL3、IL4、IL5、IL6、IL7、IL8、IL9、IL10、IL11、IL12A、IL12B、IL13、IL14、IL15、IL16、IL17、IL18、IL19、KITLG、PDGFB、IL2RA、IL4R、IL5RA、IL8RA、IL8RB、IL12RB1、IL12RB2、IL13RA1、IL13RA2、IL18R1、TSLP、CCL1、CCL2、CCL3、CCL4、CCL5、CCL7、CCL8、CCL13、CCL17、CCL18、CCL19、CCL20、CCL22、CCL24、CX3CL1、CXCL1、CXCL2、CXCL3、XCL1、CCR2、CCR3、CCR4、CCR5、CCR6、CCR7、CCR8、CX3CR1、GPR2、XCR1、FOS、GATA3、JAK1、JAK3、STAT6、TBX21、TGFB1、TNF、TNFSF6、YY1、CYSLTR1、FCER1A、FCER2、LTB4R、TB4R2、LTBR及びキチナーゼからなる群から選択される1つ以上の標的に結合し得るDVD-Igをも提供する。

【0440】

3. 関節リウマチ

全身疾患である関節リウマチ (RA) は関節の滑膜の慢性炎症反応により特徴づけられ、軟膏の変性及び傍関節骨の浸食を伴っている。TNF、ケモカイン及び増殖因子を含めた多くの炎症促進性サイトカインが病的関節で発現している。抗TNF抗体またはsTNFR融合タンパク質のRAのマウスモデルへの全身投与は抗炎症性であり、関節を保護することが分かった。RA患者におけるTNFの活性が静脈内投与したイフリキシマブ (Hariman G, Harper LK, Schaible TF, 1999, Summary of clinical trials in rheumatoid arthritis using infliximab, an anti-TNF α treatment, Ann. Rheum. Dis., 58, Suppl. 1:161-4)、キメラ抗TNF mAbでブロックされたという臨床研究は、TNFがIL-6、IL-8、MCP-1及びVEGF産生、免疫及び臨床細胞の関節への動員、血管形成及びマトリックスメタロプロテアーゼ-1及び-3の血液レベルの低下を調節するという証拠を与えた。関節リウマチにおける炎症経路をより理解すると、関節リウマチに関与する他の治療標的が同定された。インターロイキン-6アンタゴニスト (Chugai, Rocheが開発したIL-6受容体抗体MRA; Nishimoto, Norihiroら, Arthritis & Rheumatism (2004), 50 (6), 1761-1769を参照されたい)、CTLA4Ig (アバタセプト; Genovese Mら, 2005, Abatacept for rheumatoid arthritis refractory to tumor necrosis factor al

pha inhibition, N. Engl. J. Med., 353:1114-23) 及び抗B細胞治療(リツキシマブ; Okamoto H., Kamatani N., 2004, Rituximab for rheumatoid arthritis, N. Engl. J. Med., 351:1909)のような将来有望な治療はすでに過去にランダム化比較トライアルにおいて試験されている。インターロイキン-15(治療抗体HuMax-IL-15, AMG 714; Baslund, Bora, Arthritis & Rheumatism(2005), 52(9), 2686-2692を参照されたい)、インターロイキン-17及びインターロイキン-18を含めた他のサイトカインが同定され、動物モデルで有用であることが判明し、これらの物質の臨床トライアルは現在進行中である。抗TNF及び別のメディエーターを組み合わせた二重特異性抗体治療は臨床効果及び/または患者適用範囲を向上させる点で高い可能性を有している。例えば、TNF及びVEGFの両方をブロックすると、いずれもRAの病態生理に関与する炎症及び血管形成を潜在的に根絶し得る。RAに関与する他の標的対を特異的DVD Igでブロックすることも考えられ、前記標的対にはTNFとIL-18、TNFとIL-12、TNFとIL-23、TNFとIL-1 β 、TNFとMIF、TNFとIL-17、TNFとIL-15が含まれるが、これらに限定されない。これらの標的対のルーチンな安全性評価に加えて、最良の標的対を選択する際に免疫抑制の程度についての特別の試験が認められ、有用であり得る(Lusterら, Toxicology(1994), 92(1-3), 229-43; Descotesら, Developments in biological standardization(1992), 77, 99-102; Hartら, Journal of Allergy and Clinical Immunology(2001), 108(2), 250-257を参照されたい)。DVD Ig分子が関節リウマチの治療のために有用であるかは、前臨床動物RAモデル(例えば、コラーゲン誘発関節炎マウスモデル)を用いて評価され得る。他の有用なモデルも当業界で公知である(Brand DD, Comp Med.(2005), 55(2):114-22を参照されたい)。ヒト及びマウスオルソログに対する親抗体の交差反応性(例えば、ヒト及びマウスTNF、ヒト及びマウスIL-15等に対する反応性)に基づいて、マウスCIAモデルを用いる確認試験を「整合させた代理抗体」由来DVD-Ig分子を用いて実施し得る。簡単に説明すると、2つ(または、それ以上)のマウス標的特異的抗体に基づくDVD-IgをヒトDVD-Ig構築のために使用される親ヒトまたはヒト化抗体の特性(類似の親和性、類似の中和能力、類似の半減期等)にできるだけ整合させ得る。

10

20

30

40

50

【0441】

4. SLE

SLEの免疫病因の特徴は、高グロブリン血症、自己抗体産生及び免疫複合体形成をもたらすポリクローナルB細胞活性化である。全身性T細胞調節異常のために機能異常はT細胞が禁止B細胞クローンを抑制できないようである。加えて、B及びT細胞相互作用は、第2シグナルを開始する幾つかのサイトカイン(例えば、IL-10)及び共刺激分子(例えば、CD40及びCD40L、B7及びCD28及びCTLA-4)により促進される。免疫複合体及びアポトーシス材料の損なわれた食細胞作用クリアランスとの相互作用は免疫応答を永続させ、組織損傷が生ずる。以下の標的がSLEに関与し得、治療介入のためのDVD-Igアプローチのために潜在的に使用され得る: B細胞標的化治療: CD-20、CD-22、CD-19、CD28、CD4、CD80、HLA-DRA、IL10、IL2、IL4、TNFRSF5、TNFRSF6、TNFSF5、TNFSF6、BLR1、HDAC4、HDAC5、HDAC7A、HDAC9、ICOSL、IGBP1、MS4A1、RGS1、SLA2、CD81、IFNB1、IL10、TNFRSF5、TNFRSF7、TNFSF5、AICDA、BLNK、GALNAC4S-6ST、HDAC4、HDAC5、HDAC7A、HDAC9、IL10、IL11、IL4、INHA、INHBA、KLF6、TNFRSF7、CD28、CD38、CD69、CD80、CD83、CD86、DPP4、FCER2、IL2RA、TNFRSF8

、TNFSF7、CD24、CD37、CD40、CD72、CD74、CD79A、CD79B、CR2、IL1R2、ITGA2、ITGA3、MS4A1、ST6GAL1、CD1C、CHST10、HLA-A、HLA-DRA及びNT5E；共刺激シグナル：CTLA4またはB7.1/B7.2；B細胞生存の抑制：BlyS、BAFF；補体不活性化：C5；サイトカインモジュレーション：主たる原理は組織における正味の生物学的応答が炎症促進性または抗炎症性サイトカインの局所レベル間のバランスの結果であることである（Sfikakis PPら，2005，Curr. Opin. Rheumatol.，17：550-7を参照されたい）。SLEは、血清IL-4、IL-6、IL-10の上昇が証明されているTh-2依存性疾患である。IL-4、IL-6、IL-10、IFN- α 及びTNF- α からなる群から選択される1つ以上の標的に結合し得るVD Igも考えられる。本明細書中で検討されている標的の組合せは多数のループス前臨床モデルで試験され得るSLEに対する治療有効性を高める（Peng SL（2004），Methods Mol. Med.，102：227-72を参照されたい）。ヒト及びマウス種オルソログに対する親抗体の交差反応性（例えば、ヒト及びマウスCD20、ヒト及びマウスインターフェロン α に対する反応性）に基づいて、マウスループスモデルでの確認試験を「整合させた代理抗体」誘導DVD-Ig分子を用いて実施し得る。簡単に説明すると、DVD-Igに基づく2つ以上のマウス標的特異的抗体をヒトDVD-Ig構築のために使用される親ヒトまたはヒト化抗体の特性（類似の親和性、類似の中和能力、類似の半減期等）にできるだけ整合させ得る。

【0442】

5. 多発性硬化症

多発性硬化症（MS）は、主に病因が未知の複雑なヒト自己免疫型疾患である。神経系全体でのミエリン塩基性タンパク質（MBP）の免疫破壊が多発性硬化症の主たる病理である。MSは、CD4+及びCD8+T細胞による浸潤及び中枢神経系内での応答を含む複雑な病理の疾患である。CNS中でのサイトカイン、反応性窒素種及び共刺激分子の発現がMSにおいて記載されている。自己免疫の発生に寄与する免疫学的メカニズムが主に考えられている。特に、他のT細胞（例えば、Th1及びTh2細胞）のバランスを助ける／モジュレートする抗原発現、サイトカイン及びリンパ球の相互作用及び調節T細胞が治療標的の同定のための重要な分野である。

【0443】

IL-12は、APCにより産生され、Th1エフェクター細胞の分化を促進する炎症促進性サイトカインである。IL-12はMS患者及びEAE罹患動物の発生している病巣中で産生されている。以前、IL-12経路を干渉すると齧歯類においてEAEは効果的に防止され、抗IL-12 mAbを用いたIL-12 p40のインビボ中和はコモンマーモセットのミエリン誘導EAEモデルにおいて有利な効果を有することが判明した。

【0444】

TWEAKは、細胞型に応じて炎症促進性、増殖性またはアポトーシス作用を有する中枢神経系（CNS）において構成的に発現されるTNFファミリーのメンバーである。その受容体Fn14は内皮細胞、反応性アストロサイト及びニューロンによりCNSにおいて発現される。TWEAK及びFn14 mRNA発現は実験的自己免疫性脳脊髄炎（EAE）の間脊髄中で増加した。C57BL/6マウスにおいてミエリン希突起膠細胞糖タンパク質（MOG）誘発EAEを抗TWEAK抗体で治療すると、プライミング相後マウスを治療したとき疾患の重症度及びリンパ球浸潤が減少した。

【0445】

本発明の1つの態様は、IL-12、TWEAK、IL-23、CXCL13、CD40、CD40L、IL-18、VEGF、VLA-4、TNF、CD45RB、CD200、IFNガンマ、GM-CSF、FGF、C5、CD52及びCCR2からなる群から選択される1つ以上（例えば、2つ）の標的に結合し得るDVD Ig分子に関する。実施形態は、MSの治療のために有益な治療薬としての二重特異性抗IL-12/TWEAK DVD Igを含む。

【0446】

MSを治療するためのDVD分子の有用性を評価するための幾つかの動物モデルは当業界で公知である (Steinman L. ら, (2005), Trends Immunol., 26 (11): 565-71; Lublin FD ら, (1985), Springer Semin Immunopathol., 8 (3): 197-208; Genain CP ら, (1997), J. Mol. Med., 75 (3): 187-97; Tuohy VK ら, (1999), J. Exp. Med., 189 (7): 1033-42; Owens T. ら, (1995), Neurol. Clin., 13 (1): 51-73; 及び t'Hart BA ら, (2005), J. Immunol., 175 (7): 4761-8 を参照されたい)。ヒト及び動物種オルソログに対する親抗体の交差反応性 (例えば、ヒト及びマウス IL-12、ヒト及びマウス TWEAK 等に対する反応性) に基づいて、マウス EAE モデルでの確認試験を「整合させた代理抗体」誘導 DVD-Ig 分子を用いて実施し得る。簡単に説明すると、(1つ以上の) マウス標的特異的抗体に基づく DVD-Ig をヒト DVD-Ig 構築のために使用される親ヒトまたはヒト化抗体の特性 (類似の親和性、類似の中和能力、類似の半減期等) にできるだけ整合させ得る。同一のコンセプトが他の非齧歯類の動物モデルに当てはまり、「整合させた代理抗体」誘導 DVD-Ig 分子は予想される薬理学及び潜在的な安全性研究のために選択される。これらの標的対のルーチンの安全性評価に加えて、免疫抑制の程度についての特別の試験が最良の標的対を選択する際に認められ、有用であり得る (Luster ら, Toxicology (1994), 92 (1-3), 229-43; Descotes ら, Developments in biological standardization (1992), 77, 99-102; Jones R., 2000, Rovelizumab (ICOS Corp), IDrugs, 3 (4): 442-6 を参照されたい)。

10

20

【0447】

6. 敗血症

敗血症の病態生理は、グラム陰性生物の外膜成分 (リポ多糖類 [LPS]、脂質 A、エンドトキシン) 及びグラム陽性生物の外膜成分 (リポテイコ酸、ペプチドグリカン) の両方により開始する。これらの外膜成分は単球の表面上の CD14 受容体に結合できる。最近記載されているツール様受容体によって、シグナルは細胞に伝達されて、最終的には炎症促進性サイトカイン腫瘍壊死因子- α (TNF- α) 及びインターロイキン-1 (IL-1) が産生される。圧倒的な炎症及び免疫応答は敗血症性ショックの本質的特徴であり、敗血症により誘発される組織損傷、多臓器不全及び死亡の病因の中心部分の役割を発揮する。サイトカイン、特に腫瘍壊死因子 (TNF) 及びインターロイキン (IL-1) は敗血症性ショックの重要なメディエーターであることが判明している。これらのサイトカインは組織に対して直接的な毒性作用を有し、またホスホリパーゼ A2 を活性化する。これらの作用及び他の作用により、血小板活性化因子の濃度が上昇し、酸化窒素シンターゼ活性は助長され、好中球による組織浸潤は助長され、好中球活性が助長される。

30

【0448】

敗血症及び敗血症性ショックの治療には臨床的難問が残っており、炎症応答に向けられる生物学的応答モディファイヤー (すなわち、抗 TNF、抗 MIF) を用いる最近の将来有望なトライアルは適度の臨床的有用性しか示さなかった。最近、免疫抑制の随伴期間を逆戻りさせることを目的とした治療に興味が変わった。実験動物及び臨床的に病的な患者の研究で、リンパ器官及び幾つかの実質組織の高いアポトーシスがこの免疫抑制、アネルギー及び臓器系機能不全に寄与している。敗血症症候群の間、リンパ球アポトーシスは IL-2 の不在により、またはグルココルチコイド、グランザイムまたは所謂「死」サイトカイン：腫瘍壊死因子 α または Fas リガンドの放出によりトリガーされ得る。アポトーシスは、Bcl-2 ファミリーのプロ-及び抗アポトーシスメンバーにより影響を受ける恐れがある細胞ゾル及び/またはミトコンドリアカスパーゼの自己活性化を介して進行する。実験動物では、アポトーシス抑制剤を用いる治療はリンパ系細胞アポトーシスを予防し得るだけでなく、結果も改善し得る。抗アポトーシス剤での臨床トライアルは、大部分

40

50

がその投与及び組織標的化に関連する技術的困難のために隔たったままであるが、リンパ球アポトーシスの抑制は敗血症性患者に対する魅力的な治療標的に相当する。同様に、炎症メディエーター及びアポトーシスメディエーターの両方を標的とする二重特異的物質は付加された有用性を有し得る。本発明の1つの態様は、敗血症に關与するTNF、IL-1、MIF、IL-6、IL-8、IL-18、IL-12、IL-23、FasL、LPS、トール様受容体、TLR-4、組織因子、MIP-2、ADORA2A、CASP1、CASP4、IL-10、IL-1B、NFKB1、PROC、TNFRSF1A、CSF3、CCR3、IL1RN、MIF、NFKB1、PTAFR、TLR2、TLR4、GPR44、HMOX1、ミッドカイン、IRAK1、NFKB2、SERPINA1、SERPINE1及びTREM1からなる群から選択される1つ以上の標的（実施形態では、2つの標的）に結合し得るDVD Igに関する。前記DVD Igの敗血症に対する有効性は当業界で公知の前臨床動物モデルを用いて評価され得る（Buras J Aら、（2005）、Nat. Rev. Drug Discov. , 4（10）：854-65及びCalandra T.ら、（2000）、Nat. Med. , 6（2）：164-70を参照されたい）。

【0449】

7. 神経障害

（7. 1. 神経変性疾患）

慢性神経変性疾患は、通常ニューロン機能の段階的喪失（ニューロン細胞死、脱髄）、可動性の喪失及び記憶喪失を特徴とする年齢依存性疾患である。慢性神経変性疾患（例えば、アルツハイマー病）の根底にあるメカニズムの新しい知識は複雑な病因を示し、各種要因、例えば年齢、血糖状態、アミロイド産生及びマルチマー化、その受容体RAGE（AGEに対する受容体）に結合する終末糖化産物（AGE）の蓄積、高い脳酸化ストレス、少ない脳血流、炎症サイトカイン及びケモカインの放出を含めた神経炎症、ニューロン機能不全及びミクログリア活性化がその発症及び進行に寄与することが認識されている。よって、これらの慢性神経変性疾患は複数の細胞型及びメディエーター間の複雑な相互作用に相当する。前記疾患の治療戦略は限られており、大部分は非特異的抗炎症剤（例えば、コルチコステロイド、COXインヒビター）またはニューロン損失及び／またはシナプス機能の予防薬のいずれかを用いて炎症プロセスをブロックしている。これらの治療は疾患の進行を停止できない。最近の研究は、（A-bオリゴマー形態を含めた）可溶性A-bペプチドに対する抗体のようなより標的化される治療は疾患の進行を停止するのを助けるだけでなく、記憶の維持も助けることを示唆している。これらの予備所見は、1つの疾患メディエーター（例えば、A-b、及びTNFのようなプロ炎症サイトカイン）よりも多くを標的とする特異的治療は1つの疾患メカニズムを標的として観察される疾患よりも慢性神経変性疾患に対してより良好な治療効果を与え得ることさえあることを示唆している（例えば、可溶性A-バロン）（C. E. Shepherdら、Neurobiol Aging, 2005, Oct. 24; Nelson RB., Curr. Pharm. Des., 2005, 11:3335; William L. Klein; Neurochem. Int., 2002, 41:345; Michelle C. Janelisら、J. Neuroinflammation, 2005, 2:23; Solomon B., Curr. Alzheimer Res., 2004, 1:149; Igor Klyubinら、Nat. Med., 2005, 11:556-61; Arancio O.ら、EMBO Journal (2004), 1-10; Bornemann KDら、Am. J. Pathol., 2001, 158:63; Deane R.ら、Nat. Med., 2003, 9:907-13; 及びEliezer Masliahら、Neuron., 2005, 46:857を参照されたい）。

【0450】

本発明のDVD-Ig分子は、慢性神経変性疾患（例えば、アルツハイマー病）に關与する1つ以上の標的に結合し得る。前記標的には、AD病因に關与する可溶性または細胞表面メディエーター、例えばAGE（S100A、アムホテリン）、炎症促進性サイトカ

10

20

30

40

50

イン（例えば、IL-1）、ケモカイン（例えば、MCP-1）、神経再生を抑制する分子（例えば、Nogo、RGM-A）、神経突起成長を強化する分子（ニューロトロフィン）が含まれるが、これらに限定されない。DVID-Ig分子の有効性は前臨床動物モデル、例えばアミロイド前駆体タンパク質またはRAGEを過剰発現し、アルツハイマー病様症状を発症しているトランスジェニックマウスにおいて確認され得る。加えて、DVID-Ig分子を構築し、動物モデルで有効性について試験することができ、最良の治療用DVID-Igはヒト患者において試験するために選択され得る。DVID-Ig分子は他の神経変性疾患（例えば、パーキンソン病）の治療のためにも使用され得る。 α -シヌクレインはパーキンソン病の病理に関与している。 α -シヌクレイン及び炎症メディエーター（例えば、TNF、IL-1、MCP-1）を標的とし得るDVID-Igはパーキンソン病のための効果的な治療を与えることができ、本発明において考えられる。

10

【0451】

（7. 2. ニューロン再生及び脊髄損傷）

病理メカニズムの知識は増えているが、脊髄損傷（SCI）はなお破壊的状态であり、高度の医療ニーズを特徴とする医学的適応に相当する。多くの脊髄損傷は挫傷または圧迫損傷であり、原発性損傷の後に、初期損傷を悪化させ、病巣域を有意に、ときには10倍以上に広げる続発性損傷メカニズム（サイトカインやケモカインのような炎症メディエーター）が生ずる。SCIにおけるこれらの原発性及び続発性メカニズムは他の手段（例えば、卒中）に起因する脳損傷におけるメカニズムに非常に類似している。満足な治療は存在せず、損傷後8時間の狭い時間枠内に大量のメチルプレドニゾロン（MP）をボラス注射することが唯一使用されている治療である。しかしながら、この治療も機能を大きく回復させることなく続発性損傷を予防することを意図しているだけである。絶対的な有効性の不足及び重症の副作用（例えば、その後の感染及び重症の組織病理的筋変性を伴う免疫抑制）についてかなり批評されている。内因性再生ポテンシャルを刺激する他の薬物、生物学または低分子は認可されていないが、有望な治療原理及び薬物候補が最近SCI動物モデルで有効であることが判明した。かなりの程度まで、ヒトSCIにおいて機能回復の不足は病巣部位、瘢痕組織、ミエリンまたは損傷関連細胞において神経突起伸長を抑制する因子に起因する。これらの因子はミエリン関連タンパク質NogoA、OMgp及びMAG、RGM-A、瘢痕関連CSPG（硫酸コンドロイチンプロテオグリカン）及び反応性星状膠細胞上の抑制因子（幾つかのセマホリン及びエフリン）である。しかしながら、病巣部位では、成長抑制分子だけでなく、神経突起伸長刺激因子（例えば、ニューロトロフィン、ラミニン、LI等）が見られる。神経突起伸長抑制及び増殖促進分子の両方から、抑制影響の低下がバランスを伸長抑制から伸長促進へ移行させ得るので、齧歯類SCIモデルで単一因子（例えば、NogoAまたはRGM-A）をブロックすると有意な機能回復が生ずることを説明することができる。しかしながら、1つの神経突起伸長抑制分子をブロックして観察される回復は完全でなかった。より速く且つより顕著な回復を得るためには、2つの神経突起伸長抑制分子（例えば、Nogo及びRGM-A）をブロックすること；神経突起伸長抑制分子をブロックし、神経突起伸長強化分子（例えば、Nogo及びニューロトロフィン）の機能を強化すること；または神経突起伸長抑制分子（例えば、Nogo）及び炎症促進性分子（例えば、TNF）をブロックすることが望ましいことがある（McGee AWら, Trends Neurosci., 2003, 26: 193; Marco Domeniconiら, J. Neurol. Sci., 2005, 233: 43; Milan Makwanalら, FEBS J., 2005, 272: 2628; Barry J. Dickson, Science, 2002, 298: 1959; Felicia Yu Hsuan Tengら, J. Neurosci. Res., 2005, 79: 273; Tara Karnezisら, Nature Neuroscience, 2004, 7, 736; Gang Xuら, J. Neurochem., 2004; 91: 1018を参照されたい）。

20

30

40

【0452】

1つの態様で、NGRとRGM-A、NogoAとRGM-A；MAGとRGM-A；

50

OMGpとRGM A；RGM AとRGM B；CSPGとRGM A；アグレカン、ミッドカイン、ニューロカン、ベルシカン、ホスファカン、Te38とTNF- α ；ABグロブリン特異的抗体と樹状突起及び軸索出芽を促進する抗体の組合せのような標的に結合し得るDVD-Igを提供する。樹状突起病理はADの非常に早期のサインであり、NOGO Aが樹状突起伸長を制限することは公知である。前記タイプのabとSCI候補（ミエリンタンパク質）Abを組み合わせたことができる。他のDVD-Ig標的には、NgR-p75、NgR-Troy、NgR-Nogo66（Nogo）、NgR-Lingo、Lingo-Troy、Lingo-p75、MAGまたはOmgpの組合せが含まれ得る。加えて、標的は神経突起の抑制に關与する可溶性または細胞表面のメディエーター、例えばNogo、Ompg、MAG、RGM A、セマフォリン、エフリン、可溶性A-b、炎症促進性サイトカイン（例えば、IL-1）、ケモカイン（例えば、MIP1a）、神経再生を抑制する分子をも含み得る。抗nogo／抗RGM Aまたは類似のDVD-Ig分子の有効性は脊髄損傷の前臨床モデルにおいて確認され得る。加えて、これらのDVD-Ig分子は構築され得、動物モデルで有効性を試験し得、ヒト患者で試験するために最良の治療用DVD-Igを選択することができる。加えて、1つの受容体、例えば3つのリガンドNogo、Ompg及びMAGを結合するNogo受容体、及びA-b及びS100Aを結合するRAGE上の2つの異なるリガンド結合部位を標的とするDVD-Ig分子が構築され得る。更に、神経突起伸長抑制剤、例えばnogo及びnogo受容体は、多発性硬化症のような免疫学的疾患における神経再生を防止する役割をも発揮する。nogo-nogo受容体相互作用の抑制が多発性硬化症の動物モデルで回復を強化することが判明した。従って、1つの免疫メディエーター（例えば、IL-12のようなサイトカイン）及び神経突起伸長抑制分子（例えば、nogoまたはRGM）の機能をブロックし得るDVD-Ig分子は、免疫または神経突起伸長抑制分子のみをブロックした場合よりも速く且つ高い有効性を与え得る。

【0453】

8. 腫瘍性障害

モノクローナル抗体治療は癌に対する重要な治療モダリティーとして出現した（von Mehren M. ら，2003，Monoclonal antibody therapy for cancer，Annu. Rev. Med.，54：343-69）。抗体は、アポトーシス、再指向した細胞傷害性を誘導し、リガンド-受容体相互作用を干渉し、または新生物表現型にとって重要なタンパク質の発現を防止することにより抗腫瘍作用を発揮し得る。加えて、抗体は、腫瘍関連血管系の形成のような生命構造を混乱させる腫瘍微小環境の成分を標的とし得る。抗体は、そのリガンドが増殖因子である受容体（例えば、上皮増殖因子受容体）をも標的とし得る。よって、抗体は結合から標的化腫瘍細胞への細胞増殖を刺激する天然リガンドを阻害する。或いは、抗体は抗イディオタイプネットワーク、補体媒介細胞傷害性または抗体依存性細胞傷害性（ADCC）を誘発し得る。2つの別の腫瘍メディエーターを標的とする二重特異性抗体を使用すると、多分単一特異性治療に比して追加の有用性が得られる。腫瘍性疾患を治療するために以下の標的に結合し得るDVD-Igも考えられる：IGF1とIGF2、IGF1／2とHER-2、VEGFRとEGFR、CD20とCD3、CD138とCD20、CD38とCD20、CD38とCD138、CD40とCD20、CD138とCD40、CD38とCD40、CD-20とCD-19、CD-20とEGFR、CD-20とCD-80、CD-20とCD-22、CD-3とHER-2、CD-3とCD-19、EGFRとHER-2、EGFRとCD-3、EGFRとIGF1，2、EGFRとIGF1R、EGFRとRON、EGFRとHGF、EGFRとc-MET、HER-2とIGF1，2、HER-2とIGF1R、RONとHGF、VEGFとEGFR、VEGFとHER-2、VEGFとCD-20、VEGFとIGF1，2、VEGFとDLL4、VEGFとHGF、VEGFとRON、VEGFとNRP1、CD20とCD3、VEGFとPLGF、DLL4とPLGF、Erbb3とEGFR、HGFとErbb3、HER-2とErbb3、c-MetとErbb3、HER-2とPLGF、及びHER-2とHER-2

。

【0454】

他の実施形態では、本発明のDVDは、VEGFとホスファチジルコリン、VEGFとErbbB3、VEGFとPLGF、VEGFとROBO4、VEGFとBSG2、VEGFとCDCP1、VEGFとANPEP、VEGFとc-MET、HER-2とERBB3、HER-2とBSG2、HER-2とCDCP1、HER-2とANPEP、EGFRとCD64、EGFRとBSG2、EGFRとCDCP1、EGFRとANPEP、IGF1RとPDGFR、IGF1RとVEGF、IGF1RとCD20、CD20とCD74、CD20とCD30、CD20とDR4、CD20とVEGFR2、CD20とCD52、CD20とCD4、HGFとc-MET、HGFとNRP1、HGFとホスファチジルセリン、ErbbB3とIGF1R、ErbbB3とIGF1, 2、c-MetとHer-2、c-MetとNRP1、c-MetとIGF1R、IGF1, 2とPDGFR、IGF1, 2とCD20、IGF1, 2とIGF1R、IGF2とEGFR、IGF2とHER2、IGF2とCD20、IGF2とVEGF、IGF2とIGF1R、IGF1とIGF2、PDGFRaとVEGFR2、PDGFRaとPLGF、PDGFRaとVEGF、PDGFRaとc-Met、PDGFRaとEGFR、PDGFRbとVEGFR2、PDGFRbとc-Met、PDGFRbとEGFR、RONとc-Met、RONとMTSP1、RONとMSP、RONとCDCP1、VGFR1とPLGF、VGFR1とRON、VGFR1とEGFR、VEGFR2とPLGF、VEGFR2とNRP1、VEGFR2とRON、VEGFR2とDLL4、VEGFR2とEGFR、VEGFR2とROBO4、VEGFR2とCD55、LPAとSIP、EPHB2とRON、CTLA4とVEGF、CD3とEPCAM、CD40とIL6、CD40とIGF、CD40とCD56、CD40とCD70、CD40とVEGFR1、CD40とDR5、CD40とDR4、CD40とAPRIL、CD40とBCMA、CD40とRANKL、CD28とMAPG、CD80とCD40、CD80とCD30、CD80とCD33、CD80とCD74、CD80とCD2、CD80とCD3、CD80とCD19、CD80とCD4、CD80とCD52、CD80とVEGF、CD80とDR5、CD80とVEGFR2、CD22とCD20、CD22とCD80、CD22とCD40、CD22とCD23、CD22とCD33、CD22とCD74、CD22とCD19、CD22とDR5、CD22とDR4、CD22とVEGF、CD22とCD52、CD30とCD20、CD30とCD22、CD30とCD23、CD30とCD40、CD30とVEGF、CD30とCD74、CD30とCD19、CD30とDR5、CD30とDR4、CD30とVEGFR2、CD30とCD52、CD30とCD4、CD138とRANKL、CD33とFTL3、CD33とVEGF、CD33とVEGFR2、CD33とCD44、CD33とDR4、CD33とDR5、DR4とCD137、DR4とIGF1, 2、DR4とIGF1R、DR4とDR5、DR5とCD40、DR5とCD137、DR5とCD20、DR5とEGFR、DR5とIGF1, 2、DR5とIGFR、DR5とHER-2、EGFRとDLL4に結合し得る。他の標的組合せには、EGF/erb-2/erb-3ファミリーの1つ以上のメンバーが含まれる。DVD Igが結合し得る腫瘍性疾患に関与する(1つ以上の)他の標的には、CD52、CD20、CD19、CD3、CD4、CD8、BMP6、IL12A、IL1A、IL1B、IL2、IL24、INHA、TNF、TNFSF10、BMP6、EGF、FGF1、FGF10、FGF11、FGF12、FGF13、FGF14、FGF16、FGF17、FGF18、FGF19、FGF2、FGF20、FGF21、FGF22、FGF23、FGF3、FGF4、FGF5、FGF6、FGF7、FGF8、FGF9、GRP、IGF1、IGF2、IL12A、IL1A、IL1B、IL2、INHA、TGFA、TGFB1、TGFB2、TGFB3、VEGF、CDK2、FGF10、FGF18、FGF2、FGF4、FGF7、IGF1R、IL2、BCL2、CD164、CDKN1A、CDKN1B、CDKN1C、CDKN2A、CDKN2B、CDKN2C、CDKN3、GNRH1、IGFBP6、IL1A、IL1B、ODZ1、PAWR、PL

G、TGFB1I1、AR、BRCA1、CDK3、CDK4、CDK5、CDK6、CDK7、CDK9、E2F1、EGFR、ENO1、ERBB2、ESR1、ESR2、IGFBP3、IGFBP6、IL2、INSL4、MYC、NOX5、NR6A1、PAP、PCNA、PRKCQ、PRKD1、PRL、TP53、FGF22、FGF23、FGF9、IGFBP3、IL2、INHA、KLK6、TP53、CHGB、GNRH1、IGF1、IGF2、INHA、INSL3、INSL4、PRL、KLK6、SHBG、NR1D1、NR1H3、NR1I3、NR2F6、NR4A3、ESR1、ESR2、NR0B1、NR0B2、NR1D2、NR1H2、NR1H4、NR1I2、NR2C1、NR2C2、NR2E1、NR2E3、NR2F1、NR2F2、NR3C1、NR3C2、NR4A1、NR4A2、NR5A1、NR5A2、NR6A1、PGR、RARβ、FGF1、FGF2、FGF6、KLK3、KRT1、APOC1、BRCA1、CHGA、CHGB、CLU、COL1A1、COL6A1、EGF、ERBB2、ERK8、FGF1、FGF10、FGF11、FGF13、FGF14、FGF16、FGF17、FGF18、FGF2、FGF20、FGF21、FGF22、FGF23、FGF3、FGF4、FGF5、FGF6、FGF7、FGF8、FGF9、GNRH1、IGF1、IGF2、IGFBP3、IGFBP6、IL12A、IL1A、IL1B、IL2、IL24、INHA、INSL3、INSL4、KLK10、KLK12、KLK13、KLK14、KLK15、KLK3、KLK4、KLK5、KLK6、KLK9、MMP2、MMP9、MSMB、NTN4、ODZ1、PAP、PLAU、PRL、PSAP、SERPINA3、SHBG、TGFA、TIMP3、CD44、CDH1、CDH10、CDH19、CDH20、CDH7、CDH9、CDH1、CDH10、CDH13、CDH18、CDH19、CDH20、CDH7、CDH8、CDH9、ROBO2、CD44、ILK、ITGA1、APC、CD164、COL6A1、MTSS1、PAP、TGFB1I1、AGR2、AIG1、AKAP1、AKAP2、CANT1、CAV1、CDH12、CLDN3、CLN3、CYB5、CYC1、DAB2IP、DES、DNCL1、ELAC2、ENO2、ENO3、FASN、FLJ12584、FLJ25530、GAGEB1、GAGEC1、GGT1、GSTP1、HIP1、HUMCYT2A、IL29、K6HF、KAI1、KRT2A、MIB1、PART1、PATE、PCA3、PIAS2、PIK3CG、PPID、PR1、PSCA、SLC2A2、SLC33A1、SLC43A1、STEAP、STEAP2、TPM1、TPM2、TRPC6、ANGPT1、ANGPT2、ANPEP、ECGF1、EREG、FGF1、FGF2、FIGF、FLT1、JAG1、KDR、LAMA5、NRP1、NRP2、PGF、PLXDC1、STAB1、VEGF、VEGFC、ANGPTL3、BAI1、COL4A3、IL8、LAMA5、NRP1、NRP2、STAB1、ANGPTL4、PECAM1、PF4、PROK2、SERPINF1、TNFAIP2、CCL11、CCL2、CXCL1、CXCL10、CXCL3、CXCL5、CXCL6、CXCL9、IFNA1、IFNB1、IFNG、IL1B、IL6、MDK、EDG1、EFNA1、EFNA3、EFNB2、EGF、EPHB4、FGFR3、HGF、IGF1、ITGB3、PDGFA、TEK、TGFA、TGFB1、TGFB2、TGFB1R1、CCL2、CDH5、COL18A1、EDG1、ENG、ITGAV、ITGB3、THBS1、THBS2、BAD、BAG1、BCL2、CCNA1、CCNA2、CCND1、CCNE1、CCNE2、CDH1（E-カドヘリン）、CDKN1B（p27Kip1）、CDKN2A（p16INK4a）、COL6A1、CTNNB1（b-カテニン）、CTSB（カテプシンB）、ERBB2（Her-2）、ESR1、ESR2、F3（TF）、FOSL1（FRA-1）、GATA3、GSN（ゲルソリン）、IGFBP2、IL2RA、IL6、IL6R、IL6ST（糖タンパク質130）、ITGA6（a6インテグリン）、JUN、KLK5、KRT19、MAP2K7（c-Jun）、MKI67（Ki-67）、NGFB（NGF）、NGFR、NME1（NM23A）、PGR、PLAU（uPA）、PTEN、SERPINB5（マスピン）、SERPINE1（PAI-1）、TGFA、THBS1（トロンボスポン

ジン-1)、TIE (Tie-1)、TNFRSF6 (Fas)、TNFSF6 (FasL)、TOP2A (トポイソメラーゼIIa)、TP53、AZGP1 (亜鉛-a-糖タンパク質)、BPAG1 (プレクチン)、CDKN1A (p21Wap1/Cip1)、CLDN7 (クラウジン-7)、CLU (クラスレリン)、ERBB2 (Her-2)、FGF1、FLRT1 (フィブロネクチン)、GABRP (GABAa)、GNAS1、ID2、ITGA6 (a6インテグリン)、ITGB4 (b4インデリン)、KLF5 (GC Box BP)、KRT19 (ケラチン19)、KRTHB6 (毛髪特異性タイプIIケラチン)、MACMARKKS、MT3 (メタロチオネクチン-II)、MUC1 (ムチン)、PTGS2 (COX-2)、RAC2 (p21Rac2)、S100A2、SCGB1D2 (リポフィリンB)、SCGB2A1 (マンマグロビン2)、SCGB2A2 (マンマグロビン1)、SPRR1B (Spr1)、THBS1、THBS2、THBS4及びTNFAIP2 (B94)、RON、c-Met、CD64、DLL4、PLGF、CTLA4、ホスファチジルセリン、ROBO4、CD80、CD22、CD40、CD23、CD28、CD80、CD55、CD38、CD70、CD74、CD30、CD138、CD56、CD33、CD2、CD137、DR4、DR5、RANKL、VEGFR2、PDGFR、VEGFR1、MTSP1、MSP、EPHB2、EPHA1、EPHA2、EPCAM、PGE2、NKG2D、LP/A、SIP、APRIL、BCMA、MAPG、FLT3、PDGFR α 、PDGFR β 、ROR1、PSMA、PSCA、SCD1及びCD59からなる群から選択されるものが含まれるが、これらに限定されない。

【0455】

IV. 医薬組成物

本発明は、本発明の結合タンパク質及び医薬的に許容され得る担体を含む医薬組成物をも提供する。本発明の結合タンパク質を含む医薬組成物は、障害の診断、検出またはモニターする際、障害または1つ以上のその症状の予防、治療、管理または改善する際及び/または研究において使用されるが、これらに限定されない。特定実施形態では、組成物は1つ以上の本発明の結合タンパク質を含む。別の実施形態では、医薬組成物は1つ以上の本発明の結合タンパク質及び本発明の結合タンパク質以外の障害を治療するための1つ以上の予防または治療薬を含む。実施形態では、予防または治療薬は障害または1つ以上のその症状の予防、治療、管理または改善のために有用であることが公知であり、または障害または1つ以上のその症状の予防、治療、管理または改善において使用されたかまたは現在使用されている。これらの実施形態では、組成物は更に担体、希釈剤または賦形剤を含み得る。

【0456】

本発明の結合タンパク質は、被験者に投与するのに適した医薬組成物中に配合され得る。典型的には、医薬組成物は本発明の結合タンパク質及び医薬的に許容され得る担体を含む。本明細書中で使用されている「医薬的に許容され得る担体」には、生理学的に適合し得るすべての溶媒、分散媒体、コーティング、抗細菌剤、抗真菌剤、等張剤及び吸収遅延剤等が含まれる。医薬的に許容され得る担体の例には、1つ以上の水、食塩液、リン酸緩衝食塩液、デキストロース、グリセロール、エタノール等、及びその組合せが含まれる。幾つかの実施形態では、等張剤、例えば糖、ポリアルコール (例えば、マンニトール)、ソルビトールまたは塩化ナトリウムが組成物中に配合される。医薬的に許容され得る担体は、更に抗体または抗体部分の保存寿命または有効性を高める補助物質、例えば湿潤または乳化剤、保存剤またはバッファーを少量含み得る。

【0457】

各種のデリバリーシステムが公知であり、本発明の1つ以上の抗体または本発明の1つ以上の抗体の組合せ及び障害または1つ以上のその症状を予防、管理、治療または改善するために有用な予防薬または治療薬を投与するために、例えばリポソームへのカプセル化、マイクロ粒子、マイクロカプセル、抗体または抗体断片を発現できる組換え細胞、受容体媒介エンドサイトーシス (例えば、Wu and Wu, J. Biol. Chem., 26

2:4429-4432 (1987)を参照されたい)、レトロウイルスまたは他のベクターの一部としての核酸の構築等が使用され得る。本発明の予防または治療薬の投与方法には、非経口投与(例えば、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内及び皮下)、硬膜外投与、腫瘍内投与及び粘膜投与(例えば、鼻腔内及び口腔ルート)が含まれるが、これらに限定されない。加えて、例えば吸入器またはネブライザー及びエアロゾル化剤を含む処方物を用いることにより肺内投与が使用され得る。例えば、各々が全文参照により本明細書に組み入れる米国特許Nos. 6,019,968、5,985,320、5,985,309、5,934,272、5,874,064、5,855,913、5,290,540及び4,880,078;及びPCT公開WO 92/19244、WO 97/32572、WO 97/44013、WO 98/31346及びWO 99/66903を参照されたい。1つの実施形態では、本発明の結合タンパク質、併用治療または本発明の組成物はAlkermes AIR(登録商標)肺内ドラッグデリバリーテクノロジー(Alkermes, Inc., マサチューセッツ州ケンブリッジ)を用いて投与される。特定実施形態では、本発明の予防または治療薬は筋肉内、静脈内、腫瘍内、経口、鼻腔内、肺内または皮下投与される。予防または治療薬は任意の便利なルートにより、例えば注入またはボーラス注射により、上皮または粘膜皮膚裏層(例えば、口腔粘膜、直腸及び腸粘膜等)を介する吸収により投与され得、他の生理活性物質と一緒に投与され得る。投与は全身または局所でもよい。

【0458】

実施形態では、腫瘍細胞を標的とするためにインビトロで腫瘍細胞に対する抗体結合カーボンナノチューブ(CNT)の特異的結合及びその後の近赤外(NIR)光での非常に特異的なアブレーションが使用され得る。例えば、ビオチニル化極性脂質を使用して、安定な生体適合性で非細胞傷害性のCNT分散物を調製した後、該分散物を1つ以上の腫瘍抗原(例えば、CD22)に対する1つまたは2つの異なるニュートラライトアビジン誘導体化DVD-Igに付着させる(Chakravarty, P.ら(2008)Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 105:8697-8702)。

【0459】

特定実施形態では、本発明の予防または治療薬を治療を要する区域に局所的に投与することが望ましいことがある。これは、非限定例として局所注入により、注射により、またはインプラントを用いて達成され得る。前記インプラントは、膜またはマトリックスを含めた多孔質または非孔質材料、例えばシラスティック膜、ポリマー、繊維質マトリックス(例えば、Tissue1(登録商標))またはコラーゲンマトリックスである。1つの実施形態では、障害またはその症状を予防、治療、管理及び/または改善するために有効量の1つ以上の本発明の抗体を被験者の罹患区域に局所投与する。別の実施形態では、障害または1つ以上のその症状を予防、治療、管理及び/または改善するために有効量の1つ以上の本発明の抗体を有効量の1つ以上の本発明の結合タンパク質以外の1つ以上の治療薬(例えば、1つ以上の予防または治療薬)と一緒に被験者の罹患区域に局所投与する。

【0460】

別の実施形態では、予防または治療薬は制御放出または徐放システムでデリバリーされ得る。1つの実施形態では、制御放出または徐放を達成するためにポンプが使用され得る(上掲したLanger; Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng., 14:20; Buchwaldら, 1980, Surgery, 88:507; Sauddekら, 1989, N. Engl. J. Med., 321, 574を参照されたい)。別の実施形態では、本発明の治療薬の制御放出または徐放を達成するためにポリマー材料が使用され得る(例えば、Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise(eds.), CRC Pres, Boca Raton, Fla(1974); Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance, Smolen and Ball(eds.), Wiley, New York(1984); Ranger and Pep

pas, 1983, J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem., 23:61を参照されたい。また、Levyら, 1985, Science, 228:190; Duringら, 1989, Ann. Neurol., 25:351; Howardら, 1989, J. Neurosurg., 71:105); 米国特許No. 5, 679, 377; 米国特許No. 5, 916, 597; 米国特許No. 5, 912, 015; 米国特許No. 5, 989, 463; 米国特許No. 5, 128, 326; PCT公開WO 99/15154; 及びPCT公開WO 99/20253を参照されたい)。徐放性処方物中に使用されるポリマーの例には、ポリ(2-ヒドロキシエチルメタクリレート)、ポリ(メタクリル酸メチル)、ポリ(アクリル酸)、ポリ(エチレン-コ-酢酸ビニル)、ポリ(メタクリル酸)、ポリグリコリド(PLG)、ポリ無水物、ポリ(N-ビニルピロリドン)、ポリ(ビニルアルコール)、ポリアクリルアミド、ポリ(エチレングリコール)、ポリラクチド(PLA)、ポリ(ラクチド-コ-グリコリド)(PLGA)及びポリオルトエステルが含まれるが、これらに限定されない。実施形態では、徐放性処方物中に使用されるポリマーは不活性であり、滲出する恐れがある不純物を含まず、保存時に安定であり、無菌であり、生物分解性である。さらに別の実施形態では、制御放出または徐放システムは、全身用量の分数しか必要としないように予防または治療標的の近くに配置し得る(例えば、Goodson, Medical Applications of Controlled Release, supra, vol. 2, p. 115-138(1984)を参照されたい)。

【0461】

徐放システムはLanger(1990, Science, 249:1527-1533)による概説の中で検討されている。1つ以上の本発明の治療薬を含む徐放性処方物を製造するために当業者に公知の技術が使用され得る。例えば、各々を全文参照により本明細書に組み入れる米国特許No. 4, 526, 938; PCT公開WO 91/05548; PCT公開WO 96/20698; Ningら, 1996, "Intratumoral Radioimmunotherapy of a Human Colon Cancer Xenograft Using a Sustained-Release Gel", Radiotherapy & Oncology, 39:179-189; Songら, 1995, "Antibody Mediated Lung Targeting of Long-Circulating Emulsions", PDA Journal of Pharmaceutical Science & Technology, 50:372-397; Cleekら, 1997, "Biodegradable Polymeric Carriers for a bFGF Antibody for Cardiovascular Application", Pro. Int'l. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater., 24:853-854; 及びLamら, 1997, "Microencapsulation of Recombinant Humanized Monoclonal Antibody for Local Delivery", Proc. Int'l. Symp. Control Rel. Bioact. Mater., 24:759-760を参照されたい。

【0462】

特定実施形態では、本発明の組成物が予防または治療薬をエンコードする核酸の場合、エンコード化予防または治療薬の発現を促進するために、核酸を適当な核酸発現ベクターの一部として構築し、例えばレトロウイルスベクター(米国特許No. 4, 980, 286を参照されたい)を使用することにより、直接注射により、ミクロ粒子衝撃(例えば、遺伝子銃; Biolistic, Dupont)を使用することにより細胞内になるように投与することにより; または脂質、細胞表面受容体または形質移入剤でコーティングすることにより; または核に進入することが公知のホメオボックス様ペプチドへ結合させて投与することにより(例えば、Joliotら, 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88:1864-1868を参照されたい)、核酸をインビボで投

与し得る。或いは、核酸を細胞内に導入し、相同組換えによる発現のために宿主細胞DNA内に取り込んでもよい。

【0463】

本発明の医薬組成物は意図する投与ルートと適合するように処方される。投与ルートの例には、非経口、例えば、静脈内、皮内、皮下、経口、鼻腔内（例えば、吸入）、経皮（例えば、局所）、経粘膜及び直腸投与が含まれるが、これらに限定されない。特定実施形態では、組成物はヒトに対して静脈内、皮下、筋肉内、経口、鼻腔内または局所投与するのに適した医薬組成物としてルーチンの手順に従って処方される。典型的には、静脈内投与のための組成物は滅菌等張性水性バッファー中の溶液である。必要により、組成物は可溶化剤及び注射部位の痛みを軽くするために局所麻酔薬（例えば、リグノカイン）をも含み得る。

10

【0464】

本発明の組成物を局所する投与するつもりならば、組成物は軟膏剤、クリーム剤、経皮パッチ、ローション剤、ゲル剤、シャンプー、スプレー剤、エアロゾル剤、溶液剤、エマルジョン剤の形態、または当業者の公知の他の形態で処方され得る。例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences and Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, 第19版, Mack Pub. Co., Easton, Pa (1995)を参照されたい。実施形態では、非スプレー式局所投与形態の場合、担体または局所適用に適合しており且つ水よりも高い動的粘度を有する1つ以上の賦形剤を含む粘性～半固体または固体形態が使用される。適当な処方物には、非限定的に溶液剤、懸濁液剤、エマルジョン剤、クリーム剤、軟膏剤、粉末剤、リニメント剤、軟膏剤等が含まれ、これらは所望により殺菌されており、または各種特性（例えば、浸透圧）に影響を与えるための補助剤（例えば、保存剤、安定化剤、湿潤剤、バッファーまたは塩）と混合される。他の適当な局所投与形態には、活性成分（実施形態では固体または液体不活性担体と組み合わせる）が加圧揮発物質（例えば、フレオンのような気体状噴射剤）との混合物で、または絞り出し式容器中に包装されているスプレー式エアロゾル製剤が含まれる。所望ならば、湿潤剤または保湿剤を医薬組成物及び剤形に添加してもよい。前記追加成分は当業界で公知である。

20

【0465】

本発明の方法が組成物の鼻腔内投与を含むならば、組成物はエアロゾル形態、スプレー、ミストまたは滴剤の形態で処方され得る。特に、本発明に従って使用するための予防または治療薬を適当な噴射剤（例えば、ジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、二酸化炭素または他の適当な気体）を用いて加圧バックまたはネブライザーからエアロゾルスプレー状の形態でデリバリーすることが好都合であり得る。加圧エアロゾルの場合、投与単位は定量をデリバリーするために弁を備えることにより決定され得る。吸入器または吹き入れ器中に使用するための化合物及び適当な粉末基剤（例えば、ラクトースまたは澱粉）の粉末ミックスを収容している（例えば、ゼラチンから構成される）カプセル剤及びカートリッジが処方され得る。

30

【0466】

本発明の方法が経口投与を含むならば、組成物は錠剤、カプセル剤、カシェ剤、ゲルキャップ剤、溶液剤、懸濁液剤等の形態で経口的に処方され得る。錠剤またはカプセル剤は、医薬的に許容され得る賦形剤、例えば結合剤（例えば、アルファ化トウモロコシ澱粉、ポリビニルピロリドンまたはヒドロキシプロピルメチルセルロース）、増量剤（例えば、ラクトース、結晶セルロースまたはリン酸水素カルシウム）、滑沢剤（例えば、ステアリン酸マグネシウム、タルクまたはシリカ）、崩壊剤（例えば、ジャガイモ澱粉またはナトリウム澱粉グリコレート）、または湿潤剤（例えば、ラウリル硫酸ナトリウム）を用いて慣用の手段により製造され得る。錠剤を当業界で公知の方法によりコーティングしてもよい。経口投与用液体製剤は、非限定的に溶液剤、シロップ剤または懸濁液剤の形態をとり得、または使用前に水または他の適当なビヒクルで構成するための乾燥製品として提供され得る。液体製剤は医薬的に許容され得る添加剤、例えば懸濁化剤（例えば、ソルビター

40

50

ルシロップ、セルロース誘導体または硬化油)、乳化剤(例えば、レシチンまたはアカシア)、非水性ビヒクル(例えば、アーモンド油、油状エステル、エチルアルコールまたは分画化植物油)、及び保存剤(例えば、メチルまたはプロピル-p-ヒドロキシベンゾエートまたはソルビン酸)を用いて慣用方法により製造される。製剤は、適当ならばバッファー塩、着香料、着色料及び甘味料をも含有し得る。経口投与用製剤は、適当には予防または治療薬の徐放、制御放出または持続放出のために処方され得る。

【0467】

本発明の方法は、エアロゾル化剤と共に処方した組成物の例えば吸入器またはネブライザーを用いた肺内投与を含み得る。例えば、各々全文参照により本明細書に組み入れる米国特許Nos. 6, 019, 968、5, 985, 320、5, 985, 309、5, 934, 272、5, 874, 064、5, 855, 913、5, 290, 540及び4, 880, 078;並びにPCT公開WO 92/19244、WO 97/32572、WO 97/44013、WO 98/31346及びWO 99/66903を参照されたい。特定実施形態では、本発明の結合タンパク質、併用治療及び/または本発明の組成物はAlkermes AIR(登録商標)肺内ドラッグデリバリーテクノロジー(Alkermes, Inc, マサチューセッツ州ケンブリッジ)を用いて投与される。

【0468】

本発明の方法は、非経口投与用に処方された組成物の注射(例えば、ボラス注射または連続注入)による投与を含み得る。注射用処方物は、保存剤を添加した単位投与形態(例えば、アンプルまたは複数回投与容器)で提供され得る。組成物は油性または水性ビヒクル中の懸濁液、溶液またはエマルジョンのような形態をとり得、製剤化剤(例えば、懸濁化剤、安定化剤及び/または分散剤)を含み得る。或いは、活性成分は使用前に適当なビヒクル(例えば、滅菌発熱物質非含有の水)を用いて構成するための粉末形態であり得る。

【0469】

本発明の方法は、更にデポ剤として処方される組成物の投与を含み得る。長時間作用する処方物は移植(例えば、皮下または筋肉内)により、または筋肉内注射により投与され得る。よって、例えば、組成物は適当な高分子または疎水性材料(例えば、許容され得る油中のエマルジョンとして)またはイオン交換樹脂と共に、或いは難溶性誘導体として(例えば、難溶性塩として)処方され得る。

【0470】

本発明の方法は、中性または塩の形態として処方された組成物の投与を包含する。医薬的に許容され得る塩には、アニオン(例えば、塩酸、リン酸、酢酸、シュウ酸、酒石酸等から誘導されるアニオン)で形成される塩及びカチオン(例えば、ナトリウム、カリウム、アンモニウム、カルシウム、水酸化第二鉄、イソプロピルアミン、トリエチルアミン、2-エチルアミノエタノール、ヒスチジン、プロカイン等から誘導されるカチオン)で形成される塩が含まれる。

【0471】

一般的に、組成物の成分は、別々にまたは単位投与形態と一緒に混合して、例えば活性物質の量が示されている密閉容器(例えば、アンプルまたはサッシェ)中の凍結乾燥粉末または水非含有濃厚物の形態として供給される。投与モードが注入の場合、組成物は滅菌医薬グレードの水または食塩液を収容している注入ボトルを用いて分配され得る。投与モードが注射による場合、投与前に成分が混合され得るように注射用滅菌水または食塩液のアンプルを用意してもよい。

【0472】

特に、本発明は、物質の量が示されている密閉容器(例えば、アンプル、サッシェ)中に包装されている1つ以上の本発明の予防または治療薬、或いは医薬組成物を提供する。1つの実施形態では、1つ以上の本発明の予防または治療薬、或いは医薬組成物は密閉容器中に乾燥凍結乾燥粉末または水非含有濃厚物として供給され得、被験者に投与するために適当な濃度に(例えば、水または食塩液を用いて)再構成され得る。実施形態では、1

つ以上の本発明の予防または治療薬、或いは医薬組成物は少なくとも5mg、少なくとも10mg、少なくとも15mg、少なくとも25mg、少なくとも35mg、少なくとも45mg、少なくとも50mg、少なくとも75mg、または少なくとも100mgの単位用量で密閉容器中に乾燥滅菌凍結乾燥粉末として供給される。本発明の凍結乾燥した予防または治療薬、或いは医薬組成物はその元の容器中に2℃～8℃で保存されなければならない。本発明の凍結乾燥した予防または治療薬、或いは医薬組成物は再構成してから1週間以内、例えば5日以内、72時間以内、48時間以内、24時間以内、12時間以内、6時間以内、5時間以内、3時間以内または1時間以内に投与されなければならない。代替実施形態では、1つ以上の本発明の予防または治療薬、或いは医薬組成物は物質の量及び濃度が示されている密閉容器中に液体形態で供給される。実施形態では、液体形態の投与される組成物は少なくとも0.25mg/ml、少なくとも0.5mg/ml、少なくとも1mg/ml、少なくとも2.5mg/ml、少なくとも5mg/ml、少なくとも8mg/ml、少なくとも10mg/ml、少なくとも15mg/kg、少なくとも25mg/ml、少なくとも50mg/ml、少なくとも75mg/ml、または少なくとも100mg/mlで密閉容器中に供給される。液体形態はその元の容器中に2℃～8℃で保存されなければならない。

【0473】

本発明の結合タンパク質は非経口投与に適した医薬組成物中に配合され得る。実施形態では、抗体または抗体部分は0.1～250mg/mlの結合タンパク質を含有する注射液として製造され得る。注射液は、フリントまたはアンバーバイアル、アンプルまたは充填済み注射器中の液体または凍結乾燥投与形態から構成され得る。バッファーはpH5.0～7.0（最適には、pH6.0）でL-ヒスチジン（1～50mM）、最適には5～10mMであり得る。他の適当なバッファーには、コハク酸ナトリウム、クエン酸ナトリウム、リン酸ナトリウムまたはリン酸カリウムが含まれるが、これらに限定されない。溶液の毒性を調節するために塩化ナトリウムが0～300mM（最適には、液体投与形態の場合150mM）の濃度で使用され得る。凍結乾燥投与形態に対して凍結防止剤、原則0～10% スクロース（最適には、0.5～1.0%）を配合し得る。他の適当な凍結防止剤にはトレハロース及びラクトースが含まれる。凍結乾燥投与形態に対して増量剤、原則1～10% マンニトール（最適には、2～4%）を配合し得る。安定化剤は液体及び凍結乾燥投与形態の両方で、原則1～50mM L-メチオニン（最適には、5～10mM）を使用し得る。他の適当な増量剤にはグリシン、アルギニンが含まれ、0～0.05% ポリソルベート80（最適には、0.005～0.01%）として配合され得る。追加の界面活性剤には、ポリソルベート20及びBRIJ界面活性剤が含まれるが、これらに限定されない。非経口投与のための注射液として製造される本発明の結合タンパク質を含む医薬組成物は、更にアジュバントとして有用な物質、例えば治療用タンパク質（例えば、抗体）の吸収または分散を改善するために使用される物質を含み得る。特に有用なアジュバントはヒアルロニダーゼ、例えばHyalenex（登録商標）（組換えヒトヒアルロニダーゼ）である。注射液中にヒアルロニダーゼを添加すると、非経口投与後、特に皮下投与後のヒトバイオアベイラビリティが改善される。痛み及び不快が少なく、注射部位反応の頻度が最小でより多い容量（すなわち、1ml以上）を注射することができる（参照により本明細書に組み入れるWO 2004078140及びUS 2006104968を参照されたい）。

【0474】

本発明の組成物は各種形態であり得る。これらには、例えば液体溶液剤（例えば、注射可能及び注入可能な溶液剤）、分散または懸濁液剤、錠剤、ピル剤、散剤、リボソーム剤及び座剤のような液体、半固体及び固体の剤形が含まれる。選択される形態は意図する投与モード及び治療用途に依存する。典型的な組成物は注射可能または注入可能な溶液剤、例えばヒトを他の抗体で受動免疫化するために使用されている組成物に類似の組成物の形態である。選択される投与モードは非経口（例えば、静脈内、皮下、腹腔内、筋肉内）である。実施形態では、抗体は静脈内注入または注射により投与される。別の実施形態では

、抗体は筋肉内または皮下注射により投与される。

【0475】

治療用組成物は、典型的には製造及び保存条件下で無菌であり、安定でなければならない。組成物は溶液、ミクロエマルジョン、分散液、リポソーム、または高い薬物濃度に適した他の秩序構造として処方され得る。滅菌注射液は、適当な溶媒中に必要な量の活性化化合物（すなわち、抗体または抗体部分）を所要により本明細書中に列挙されている1つ以上の成分と共に配合した後、濾過滅菌することにより製造され得る。通常、分散液は、基本分散媒体及び本明細書中に列記されている成分からの必要な他の成分を含む滅菌ビヒクル中な活性成分を配合することにより製造される。滅菌注射液を調製するための滅菌凍結乾燥粉末の場合、製造方法は既に滅菌濾過されている溶液から活性成分及び追加の所望成分の粉末を生ずる真空乾燥及び凍結乾燥である。溶液の適切な流動性は、例えばコーティング（例えば、レシチン）を使用することにより、分散液の場合には所要の粒度を維持することにより、界面活性剤を使用することにより維持され得る。注射用組成物の長期間吸収は、組成物中に吸収を遅らす物質（例えば、モノステアレート塩及びゼラチン）を配合することによりもたらし得る。

10

【0476】

本発明の結合タンパク質は当業界で公知の各種方法により投与され得るが、多くの治療用途の場合には、実施形態では投与ルート／モードは皮下注射、静脈内注射または注入である。当業者には自明のように、投与ルート／モードは所望の結果に依存して異なる。ある実施形態では、活性化化合物は、化合物が迅速放出するのを保護する担体を用いて、例えばインプラント、経皮パッチ及びマイクロカプセル化デリバリーシステムを含めた制御放出性処方物として製造され得る。生物分解性・生物適合性ポリマー、例えばエチレン酢酸ビニル、ポリ無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル及びポリ酪酸が使用され得る。前記処方物を製造するための多くの方法は特許されており、または当業者に一般的に知られている。例えば、Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J. R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978を参照されたい。

20

【0477】

ある実施形態では、本発明の結合タンパク質は、例えば不活性希釈剤または吸収性食用担体と共に経口投与され得る。化合物（及び、所望ならば他の成分）を硬または軟ゼラチンカプセル中に封入しても、錠剤に圧縮しても、または被験者の食事に直接取り込んでよい。経口治療投与の場合、化合物は賦形剤と共に配合され、摂取可能錠剤、バッカル錠、トローチ剤、カプセル剤、エリキシル剤、懸濁液剤、シロップ剤、カシェ剤等の形態で使用され得る。本発明の化合物を非経口投与以外で投与するためには、化合物にその不活化を防止するための材料をコーティングしても、または化合物を該材料と一緒に投与してもよい。

30

【0478】

補助活性化化合物も組成物に配合し得る。ある実施形態では、本発明の結合タンパク質は、本発明の結合タンパク質で障害を治療するために有用な1つ以上の追加治療薬と共処方しても及び／または共投与してもよい。例えば、本発明の結合タンパク質を他の標的（例えば、他のサイトカインに結合する抗体または細胞表面分子に結合する抗体）に結合する1つ以上の追加抗体と共処方しても及び／または共投与してもよい。更に、本発明の1つ以上の抗体は2つ以上の上記治療薬と併用され得る。前記併用治療は、有利には投与する治療薬の用量を低下させ、よって各種単独治療に関連する起こり得る毒性または合併症を避けることができる。

40

【0479】

ある実施形態では、結合タンパク質を当業界で公知の半減期を延長させるビヒクルにリンクさせる。前記ビヒクルには、Fcドメイン、ポリエチレングリコール及びデキストランが含まれるが、これらに限定されない。これらのビヒクルは、参照により本明細書に組

50

み入れる米国特許出願 No. 09/428, 082 及び公開された PCT 出願 WO 99/25044 に記載されている。

【0480】

特定実施形態では、障害または1つ以上のその症状を遺伝子治療により治療、予防、管理または改善するために、本発明の結合タンパク質或いは本発明の別の予防または治療薬をエンコードする核酸配列を投与する。遺伝子治療は、被験者に対して発現させたまたは発現可能な核酸を投与することにより実施される治療を指す。本発明のこの実施形態では、核酸は予防または治療効果を媒介する本発明のコード化抗体、或いは予防または治療薬を産生する。

【0481】

当業界で利用可能な遺伝子治療のための方法が本発明に従って使用され得る。遺伝子治療の方法の概説については、Goldspiehlら, 1993, Clinical Pharmacology, 12:488-505; Wu and Wu, 1991, Biotherapy, 3:87-95; Tolstoshev, 1993, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol., 32:573-596; Mulligan, Science, 260:926-932 (1993); 及び Morgan and Anderson, 1993, Ann. Rev. Biochem., 62:191-217, May, 1993, TIBTECH 11(5):155-215を参照されたい。使用され得る組換えDNAテクノロジーの業界で一般的に知られている方法は、Ausubelら (eds.), Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY (1993); 及び Kriegler, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY (1990) に記載されている。遺伝子治療の各種方法の詳細説明は参照により本明細書に組み入れる US 20050042664 A1 に開示されている。

【0482】

本発明の結合タンパク質は、結合タンパク質により認識される標的が有害である各種疾患を治療する際に有用である。前記疾患には、関節リウマチ、骨関節症、若年性慢性関節炎、敗血症性関節炎、ライム関節炎、乾癬性関節炎、反応性関節炎、脊椎関節症、全身性エリテマトーデス、クローン病、潰瘍性大腸炎、炎症性腸疾患、インスリン依存性糖尿病、甲状腺炎、喘息、アレルギー性疾患、乾癬、皮膚炎、強皮症、移植片対宿主病、臓器移植拒絶反応、臓器移植に関連する急性または慢性免疫疾患、サルコイドーシス、アテローム性動脈硬化症、播種性血管内凝固、川崎病、グレーブス病、ネフローゼ症候群、慢性疲労症候群、ウェジナー肉芽腫症、ヘノッホーシェンライン紫斑病、腎臓の顕微鏡的血管炎、慢性活動型肝炎、ブドウ膜炎、敗血症性ショック、毒素性ショック症候群、敗血症症候群、悪液質、感染性疾患、寄生虫疾患、後天性免疫不全症候群、急性横断性脊髄炎、ハンチントン舞蹈病、パーキンソン病、アルツハイマー病、卒中、原発性胆汁性肝硬変、溶血性貧血、悪性腫瘍、心不全、心筋梗塞、アジソン病、散在性、I型多腺性自己免疫症及びII型多腺性自己免疫症、シュミット症候群、成人（急性）呼吸窮迫症候群、脱毛症、円形脱毛症、血清反応陰性関節症、関節症、ライター病、乾癬性関節症、潰瘍性腸炎性関節症、腸炎性滑膜炎、クラミジア、エルシニア及びサルモネラ関連関節症、脊椎関節症、アテローム性疾患／動脈硬化症、アトピー性アレルギー、自己免疫性水疱性疾患、尋常性天疱瘡、落葉状天疱瘡、類天疱瘡、線状IgA病、自己免疫性溶血性貧血、クームズ試験陽性溶血性貧血、後天性悪性貧血、若年性悪性貧血、筋痛性脳炎／ローヤルフリー病、慢性皮膚粘膜カンジダ症、巨細胞動脈炎、原発性硬化性肝炎、特発性自己免疫性肝炎、後天性免疫不全症候群、後天性免疫不全症関連疾患、B型肝炎、C型肝炎、分類不能型免疫不全症（分類不能型低ガンマグロブリン血症）、拡張型心筋症、女性不妊症、卵巢機能不全、早発性卵巢機能不全、線維性肺疾患、特発性線維性肺肺炎、炎症後間質性肺疾患、間質性肺炎、結合組織病関連間質性肺疾患、混合結合組織病関連肺疾患、全身性硬化症関連間質性肺疾患、関節リウマチ関連間質性肺疾患、全身性エリテマトーデス関連肺疾患、皮

膚筋炎／多発性筋炎関連肺疾患、シェーグレン病関連肺疾患、強直性脊椎炎関連肺疾患、
 血管炎性びまん性肺疾患、ヘモジデリン沈着症関連肺疾患、薬物誘発性間質性肺疾患、線
 維症、放射線線維症、閉塞性細気管支炎、慢性好酸球性肺炎、リンパ球性浸潤性肺疾患、
 感染後間質性肺疾患、痛風性関節炎、自己免疫性肝炎、1型自己免疫性肝炎（古典的自己
 免疫性またはルポイド肝炎）、2型自己免疫性肝炎（抗LKM抗体肝炎）、自己免疫媒介
 低血糖症、黒色表皮腫を伴うB型インスリン抵抗性、副甲状腺機能低下症、臓器移植に関
 連する急性免疫疾患、臓器移植に関連する慢性免疫疾患、変形性関節症、原発性硬化性胆
 管炎、1型乾癬、2型乾癬、特発性白血球減少症、自己免疫性好中球減少症、腎疾患NO
 S、糸球体腎炎、腎臓の顕微鏡的血管炎、ライム病、円板状エリテマトーデス、特発性ま
 たはNOS男性不妊症、精子自己免疫、多発性硬化症（すべてのサブタイプ）、交感性眼
 10 炎、結合組織病に続発する肺性高血圧、グッドパスチャー症候群、結節性多発性動脈炎の
 肺症状、急性リウマチ熱、リウマチ様脊椎炎、スチル病、全身性硬化症、シェーグレン症
 候群、高安病／動脈炎、自己免疫性血小板減少症、特発性血小板減少症、自己免疫性甲状
 腺疾患、甲状腺機能亢進症、甲状腺腫様自己免疫性甲状腺機能低下症（橋本病）、萎縮性
 自己免疫性甲状腺機能低下症、原発性粘液水腫、水晶体原性ブドウ膜炎、原発性血管炎、
 白斑性急性肝疾患、慢性肝疾患、アルコール性肝硬変、アルコール誘発性肝損傷、胆汁鬱
 20 滞、特異体質性肝疾患、薬物誘発性肝炎、非アルコール性脂肪肝、アレルギー及び喘息、
 B群連鎖球菌（GBS）感染、精神障害（例えば、うつ病及び統合失調症）、Th2型及
 びTh1型媒介疾患、急性及び慢性疼痛（いろいろな形の疼痛）、並びに癌（例えば、肺
 癌、乳癌、胃癌、膀胱癌、大腸癌、膵臓癌、卵巣癌、前立腺癌及び腎臓癌）及び造血性悪
 30 性腫瘍（白血病及びリンパ腫）、無βリポタンパク血症、先端チアノーゼ、急性及び慢
 性寄生虫または感染性プロセス、急性白血病、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、急性
 骨髄性白血病（AML）、急性または慢性細菌感染、急性膵炎、急性腎不全、腺癌、航空
 機異所性拍動、エイズ認知症複合、アルコール誘発性肝炎、アレルギー性結膜炎、アレル
 40 ギー性接触皮膚炎、アレルギー性鼻炎、同種移植片拒絶反応、α-1-アンチトリプシン
 欠損症、筋萎縮側索硬化症、貧血、狭心症、前角細胞変性、抗cd3治療、抗リン脂質症
 候群、抗受容体過敏反応、大動脈瘤及び末梢動脈瘤、大動脈解離、動脈性高血圧、動脈硬
 化症、動静脈フィステル、運動失調症、心房細動（持続性または発作性）、心房粗動、房
 室ブロック、B細胞リンパ腫、移植骨片拒絶反応、骨髄移植（BMT）拒絶反応、脚ブロ
 50 ック、パーキットリンパ腫、火傷、心臓不整脈、心臓失神症候群、心臓腫瘍、心筋症、心
 肺バイパス炎症応答、軟骨移植拒絶反応、小脳皮質変性、小脳障害、無秩序または多源性
 心房頻拍、化学療法関連障害、慢性骨髄性白血病（CML）、慢性アルコール中毒、慢性
 炎症性病理、慢性リンパ球性白血病（CLL）、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、慢性サ
 リチル酸中毒、大腸癌、鬱血性心不全、結膜炎、接触皮膚炎、肺性心、冠動脈疾患、クロ
 イツフェルトーヤコブ病、培養陰性敗血症、膿疱性線維症、サイトカイン治療関連障害、
 拳闘家認知症、脱髄疾患、デング出血熱、皮膚炎、皮膚症状、糖尿病、真性糖尿病、糖尿
 60 病性アテローム性疾患、びまん性レヴィ小体病、拡張性鬱血性心筋症、脳幹神経節の障害
 、中年のダウン症候群、CNSドーパミン受容体をブロックする薬物による薬物誘発性運
 動障害、薬物過敏、湿疹、脳脊髄炎、心内膜炎、内分泌病、喉頭蓋炎、エプスタインーバ
 70 ーウイルス感染、先端紅痛症、錐体外路性脳障害、家族性血球貪食リンパ組織球症、胎児
 性胸腺移植拒絶反応、フリードライヒ運動失調症、機能性末梢動脈障害、真菌性敗血症、
 ガス壊疽、胃潰瘍、糸球体腎炎、臓器または組織の移植片拒絶反応、グラム陰性敗血症、
 グラム陽性敗血症、細胞内生物による肉芽腫、毛様細胞白血病、ハラーホルデンースパッ
 ツ病、橋本甲状腺炎、枯草熱、心臓移植拒絶反応、血色素症、血液透析、溶血性尿毒症症
 候群／血栓溶解性血小板減少性紫斑病、出血、肝炎（A）、ヒス束不整脈、HIV感染／
 HIV神経障害、ホジキン病、運動過多性運動障害、過敏反応、過敏性肺炎、高血圧、運
 80 動減少性運動障害、視床下部一下垂体一副腎軸評価、特発性アジソン病、特発性肺線維症
 、抗体媒介細胞毒性、無力症、乳児脊髄性筋萎縮症、大動脈の炎症、インフルエンザA、
 電離放射線暴露、虹彩毛様体炎／ブドウ膜炎／視神経炎、虚血一再灌流障害、虚血性発作
 、若年性関節リウマチ、若年性脊髄性筋萎縮症、カボジ肉腫、腎移植拒絶反応、レジオネ

10

20

30

40

50

ラ、リーシュマニア症、ライ病、皮質脊髄系の病巣、脂肪浮腫、肝移植拒絶反応、リンパ水腫、マラリア、悪性リンパ腫、悪性組織球症、悪性メラノーマ、髄膜炎、骨髄炎菌血症、代謝性／特発性、片頭痛、ミトコンドリア多系統障害、混合結合組織病、単クローン性免疫グロブリン血症、多発性骨髄腫、多系統変性（メンセル・ドゥジュリーヌートーマス・シードレーガー及びマシャドジョセフ）、重症筋無力症、マイコバクテリウム・アビウム・イントラセルラーレ、結核菌、骨髄異形成症候群、心筋梗塞、心筋虚血障害、鼻咽頭癌、新生児慢性肺疾患、腎炎、ネフローゼ、神経変性疾患、神経原性Ⅰ筋萎縮症、好中球減少性発熱、非ホジキンリンパ腫、腹部動脈及びその枝の閉塞、閉塞性動脈障害、okt3治療、睾丸炎／副睾丸炎、睾丸炎／精管復元術、臓器巨大症、骨粗しょう症、脾臓移植拒絶反応、脾臓癌、腫瘍随伴症候群／悪性腫瘍の高カルシウム血症、上皮小体移植拒絶反応、骨盤内炎症性疾患、多年性鼻炎、心膜疾患、末梢アテローム性疾患、末梢血管疾患、腹膜炎、悪性貧血、ニューモシスティス・カリニ肺炎、肺炎、P O E M S症候群（多発性神経障害、臓器巨大症、内分泌症、単クローン性免疫グロブリン血症、及び皮膚症状症候群）、輸血後症候群、ポストポンプ症候群、M I後心臓切開術症候群、子癇前症、進行性核上麻痺、原発性肺性高血圧、放射線治療、レイノー現象及び病、レイノー病、レフサム病、狭いQRSの規則正しい頻脈、腎血管性高血圧、再灌流障害、拘束型心筋症、肉腫、強皮症、老人性舞蹈病、レヴィ小体型老人性認知症、血清反応陰性関節症、ショック、鎌状赤血球貧血、皮膚同種片拒絶反応、皮膚症状症候群、小腸移植拒絶反応、充実性腫瘍、特異的不整脈、脊髄性運動失調症、脊髄小脳変性、連鎖球菌性筋炎、小脳の構造的病巣、亜急性硬化性汎脳炎、失神、心血管系の梅毒、全身性アナフィラクシー、全身性炎症応答症候群、全身性若年性関節リウマチ、T細胞またはF A B A L L、毛細管拡張症、閉塞性血栓血管炎、血小板減少症、毒性、移植片、外傷／出血、I I I型過敏症、I V型過敏症、不安定狭心症、尿毒症、尿路敗血症、じんま疹、心臓弁膜症、静脈瘤、血管炎、静脈病、静脈血栓症、心室細動、ウイルス性及び真菌性感染、ウイルス性脳炎／無菌性髄膜炎、ウイルス関連血球貪食症候群、ウェルニッケーコルサコフ症候群、ウィルソン病、臓器または組織の異種片移植拒絶反応が含まれるが、これらに限定されない（Perittら、P C T公開WO 2002097048A2；Leonardら、P C T公開WO 9524918 A及びSalfeldら、P C T公開WO 00／56772A1を参照されたい）。

10

20

【0483】

30

本発明の結合タンパク質は自己免疫疾患、特に関節リウマチ、脊椎炎、アレルギー、自己免疫性糖尿病、自己免疫性ブドウ膜炎を含めた炎症を伴う自己免疫疾患を患っているヒトを治療するために使用され得る。実施形態では、本発明の結合タンパク質またはその抗原結合部分は関節リウマチ、クローン病、多発性硬化症、インスリン依存性糖尿病及び乾癬を治療するために使用される。

【0484】

実施形態では、本発明の組成物及び方法で治療または診断され得る疾患には、乳房、結腸、直腸、肺、中咽頭、下咽頭、食道、胃、脾臓、肝臓、胆嚢及び胆管、小腸、尿路（腎臓、膀胱及び尿路上皮を含む）、女性性器管（頸管、子宮及び卵巣、並びに絨毛癌及び妊娠性絨毛性疾患を含む）、男性性器管（前立腺、精嚢、精巣及び胚細胞腫瘍を含む）、内分泌腺（甲状腺、副腎及び下垂体を含む）及び皮膚の癌を含めた原発性及び転移性癌；並びに血管腫、メラノーマ、肉腫（骨及び軟組織から生ずる肉腫、並びにカポジ肉腫を含む）、脳、神経、眼及び髄膜の腫瘍（アストロチトーム、グリオーム、膠芽腫、網膜芽腫、神経腫、神経芽腫、神経線維腫及び髄膜腫を含む）、白血病のような造血性悪性疾患から生ずる充実性腫瘍、及びリンパ腫（ホジキン及び非ホジキンリンパ腫を含む）が含まれるが、これらに限定されない。

40

【0485】

実施形態では、本発明の抗体またはその抗原結合部分は、単独で、または放射線療法剤及び／または他の化学療法剤と組合せて使用するとき本明細書中に記載されている癌を治療するために、または本明細書中に記載されている腫瘍からの転移を予防するために使

50

用される。

【0486】

本発明の抗体またはその抗原結合部分は物質と組み合わせられ得、前記物質には抗新生物薬、放射線療法剤、化学療法剤、例えばDNAアルキル化剤、シスプラチン、カルボプラチン、抗チューブリン剤、パクリタクセル、ドセタキセル、タキソール、ドキソルビシン、ゲムシタビン、ジェムザール、アントラサイクリン、アドリアマイシン、トポイソメラーゼI阻害剤、トポイソメラーゼII阻害剤、5-フルオロウラシル(5-FU)、ロイコボリン、イリノテカン、受容体チロシンキナーゼ阻害剤(例えば、エルロチニブ、ゲフィチニブ)、COX-2インヒビター(例えば、エレコキシブ)、キナーゼ阻害剤及びsiRNAが含まれるが、これらに限定されない。

10

【0487】

本発明の結合タンパク質は、各種疾患の治療において有用な1つ以上の追加治療薬と一緒に投与され得る。

【0488】

本発明の結合タンパク質は前記疾患を治療するために単独でまたは組合せて使用され得る。結合タンパク質は単独で、または治療薬のような追加物質と一緒に使用され得、追加物質は意図する目的のために当業者により選択されると理解されるべきである。例えば、追加物質は、本発明の抗体により治療される疾患または状態を治療するために有用であると当業界で認識されている治療薬であり得る。追加物質は、治療用組成物に対して有利な属性を付与する物質、例えば組成物の粘度に影響を与える物質であり得る。

20

【0489】

更に、本発明に包含される組合せは意図する目的のために有用な組合せであると理解されるべきである。下記する物質は例示であり、限定すると意図されない。本発明の一部である組合せは本発明の抗体及び以下のリストから選択される少なくとも1つの追加物質であり得る。形成された組成物がその意図する機能を遂行するように組み合わせられるならば、組合せには1つ以上の追加物質、例えば2つまたは3つの追加物質をも含み得る。

【0490】

自己免疫及び炎症疾患を治療するための組合せは、イブプロフェンのような薬物を含めたNSAIDsとも称される非ステロイド系抗炎症剤である。他の組合せは、プレドニゾロンを含めたコルチコステロイドである。ステロイド使用の公知の副作用は、本発明のD
VD Igと組み合わせる患者を治療するとき必要とされるステロイド用量を徐々に減らすことにより減少または解消すらし得る。本発明の抗体または抗体部分と組み合わせられ関節リウマチのための治療薬の非限定例には、サイトカイン抑制性抗炎症薬(CSAID)、他のヒトサイトカインまたは増殖因子(例えば、TNF、LT、IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-15、IL-16、IL-18、IL-21、IL-23、インターフェロン、EMAP-II、GM-CSF、FGF及びPDGF)に対する抗体またはこれらのアンタゴニストが含まれる。本発明の結合タンパク質またはその抗原結合部分は、細胞表面分子(例えば、CD2、CD3、CD4、CD8、CD25、CD28、CD30、CD40、CD45、CD69、CD80(B7.1)、CD86(B7.2)、CD90、CTLA)、またはC
D154(gp39またはCD40L)を含めたそのリガンドに対する抗体と組み合わせられ得る。

30

40

【0491】

治療薬の組合せは、自己免疫及びその後の炎症カスケードのいろいろな時点で干渉し得る。その例には、TNFアンタゴニスト、例えばキメラ、ヒト化またはヒトTNF抗体、ADALIMUMAB(PECT公開WO 97/29131)、CA2(Remicade(商標))、CDP571、及び可溶性p55またはp75 TNF受容体、その誘導体(p75TNFR1gG(Enbrel(商標))またはp55TNFR1gG(Lenercept)、及びTNF α 変換酵素(TACE)阻害剤が含まれる。また、IL-1インヒビター(インターロイキン-1変換酵素阻害剤、IL-1RA等)が同じ理由で

50

有効であり得る。他の組合せには、インターロイキン 11 が含まれる。さらに別の組合せには、IL-12 機能と平行して、IL-12 機能に依存して、または IL-12 機能とて協力して作用し得る自己免疫応答の主要プレーヤーが含まれる。特に、IL-18 抗体または可溶性 IL-18 受容体、または IL-18 結合タンパク質を含めた IL-18 アンタゴニストである。IL-12 及び IL-18 は重複しているが別個の機能を有し、これらに対するアンタゴニストの組合せはより有効であり得る。さらに別の組合せは非消耗性抗 CD4 インヒビターである。さらに他の組合せには、抗体、可溶性受容体または拮抗性リガンドを含めた共刺激経路 CD80 (B7.1) または CD86 (B7.2) のアンタゴニストが含まれる。

【0492】

本発明の結合タンパク質は、メトトレキサート、6-MP、アザチオプリンスルファサラジン、メサラジン、オルサラジン、クロロキニン／ヒドロキシクロロキン、ペニシラミン、オーロチオマレート（筋肉内及び経口）、アザチオプリン、コルヒチン、コルチコステロイド（経口、吸入及び局所注射）、 β -2 アデレナリン作動性受容体アゴニスト（サルブタモール、テルフタリン、サルメテロール）、キササンチン（テオフィリン、アミノフィリン）、クロモグリケート、ネドクロミル、ケトチフェン、イプラトピウム及びオキシトロピウム、シクロスポリン、FK506、ラパマイシン、ミコフェノール酸モフェチル、レフルノミド、NSAID（例えば、イブプロフェン）、コルチコステロイド（例えば、プレドニゾロン）、ホスホジエステラーゼ阻害剤、アデノシンアゴニスト、抗血栓剤、補体インヒビター、アドレナリン作動薬、炎症促進性サイトカイン（例えば、TNF- α または IL-1）によるシグナリングを干渉する物質（例えば、IRAK、NIK、IKK、p38 または MAPキナーゼ阻害剤）、IL-1 β 変換酵素阻害剤、TNF α 変換酵素（TACE）阻害剤、T細胞シグナリングインヒビター（例えば、キナーゼ阻害剤）、メタロプロテアーゼ阻害剤、スルファサラジン、アザチオプリン、6-メルカプトプリン、アンギオテンシン変換酵素阻害剤、可溶性サイトカイン受容体及びその誘導体（例えば、可溶性 p55 または p75 TNF 受容体及び誘導体 p75 TNFRIgG (Enbrel (商標) 及び p55 TNFRIgG (レネルセプト))、sIL-1RI、sIL-1RII、sIL-6R)、抗炎症サイトカイン（例えば、IL-4、IL-10、IL-11、IL-13 及び TGF β ）、セレコキシブ、葉酸、硫酸ヒドロキシクロロキン、ロフェコキシブ、エタネルセプト、インフリキシマブ、ナプロキセン、バルデコキシブ、スルファサラジン、メチルプレドニゾロン、メロキシカム、酢酸メチルプレドニゾロ、金チオリンゴ酸ナトリウム、アスピリン、トリアムシノロンアセトニド、ナブシル酸プロボキシフェン／アセトアミノフェン、フォレート、ナブメトン、ジクロフェナク、ピロキシカム、エトドラク、ジクロフェナクナトリウム、オキサプロジン、オキシコドン塩酸塩、酒石酸ヒドロコドン／アセトアミノフェン、ジクロフェナクナトリウム／ミソプロストール、フェンタニル、アナキンラ、ヒト組換え体、トラマドール塩酸塩、サルサラート、スリダク、シアノコバラミン／fa／ピリドキシン、アセトアミノフェン、アレンドロン酸ナトリウム、プレドニゾロン、硫酸モルヒネ、塩酸リドカイン、インドメタシン、硫酸グルコサミン／コンドロイチン、アミトリプチリン塩酸塩、スルファジアジン、オキシコドン塩酸塩／アセトアミノフェン、オロパタジン塩酸塩、ミソプロストール、ナプロキセンナトリウム、オメプラゾール、シクロホスファミド、リツキシマブ、IL-1 TRAP、MRA、CTLA4-Ig、IL-18 BP、抗 IL-18、抗 IL-15、BIRB-796、SCIO-469、VX-702、AMG-548、VX-740、ロフルミラスト、IC-485、CDC-801 及びメソプラムのような物質とも組み合わせられ得る。組合せには、メトトレキサートまたはレフルノミド、中症及び重症関節リウマチの症例ではシクロスポリンが含まれる。

【0493】

関節リウマチを治療するために結合タンパク質と一緒に使用され得る非限定的追加物質には、非ステロイド系抗炎症薬（NSAID）、サイトカイン抑制性抗炎症薬（CSAID）、CDP-571/BAY-10-3356（ヒト化抗 TNF α 抗体；Cellte

10

20

30

40

50

50

nt), S281を参照されたい)、ICEインヒビター(酵素インターロイキン-1 β 変換酵素の阻害剤)、zap-70及び/またはlckインヒビター(チロシンキナーゼzap-70またはlckのインヒビター)、VEGFインヒビター及び/またはVEGF-Rインヒビター(血管内皮細胞増殖因子または血管内皮細胞増殖因子受容体のインヒビター;血管形成のインヒビター)、コルチコステロイド抗炎症薬(例えば、SB203580)、TNF変換酵素阻害剤、抗IL-12抗体、抗IL-18抗体、インターロイキン-11(例えば、Arthritis & Rheumatism(1996) Vol. 39, No. 9(supplement)、S296を参照されたい)、インターロイキン-13(例えば、Arthritis & Rheumatism(1996) Vol. 39, No. 9(supplement)、S308を参照されたい)、インターロイキン-17インヒビター(例えば、Arthritis & Rheumatism(1996) Vol. 39, No. 9(supplement)、S120を参照されたい)、金、ペニシラミン、クロロキン、クロラムブシル、ヒドロキシクロロキン、シクロスポリン、シクロホスファミド、全身リンパ節照射法、抗胸腺細胞グロブリン、抗CD4抗体、CD5トキシン、経口投与されるペプチド及びコラーゲン、ロベンザリットニナトリウム、サイトカイン調節剤(CRA)HP228及びHP466(Houghten Pharmaceuticals, Inc.)、ICAM-1アンチセンスホスホロチオエートオリゴデオキシヌクレオチド(ISIS 2302; Isis Pharmaceuticals, Inc.)、可溶性補体受容体1(TP10; T Cell Sciences, Inc.)、プレドニゾン、オルゴテイン、グリコサミノグリカンポリスルフェート、ミノサイクリン、抗IL2R抗体、海産及び植物脂質(魚類及び植物種子脂肪酸;例えば、DeLucaら、(1995) Rheum. Dis. Clin. North Am., 21:759-777を参照されたい)、オーラノフィン、フェニルブタゾン、メクロフェナム酸、フルフェナム酸、静注用免疫グロブリン、ザイリューロン、アザリビン、マイコフェノール酸(RS-61443)、タクロリムス(FK-506)、シロリムス(ラバマイシン)、アミプリロース(テラフェクチン)、クラドリビン(2-クロロデオキシアデノシン)、メトトレキサート; bcl-2インヒビター(Bruncko, Milanら、Journal of Medicinal Chemistry(2007), 50(4), 641-662を参照されたい)、抗ウイルス剤及び免疫調節剤が含まれるが、これらに限定されない。

【0494】

1つの実施形態では、結合タンパク質またはその抗原結合部分は以下の関節リウマチ治療薬の1つと一緒に投与される: KDRの低分子インヒビター、Tie-2の低分子インヒビター、メトトレキサート、プレドニゾン、セレコキシブ、葉酸、硫酸ヒドロキシクロロキン、ロフェコキシブ、エタネルセプト、インフリキシマブ、レフルノミド、ナプロキセン、バルデコキシブ、スルファサラジン、メチルプレドニゾロン、イブプロフェン、メロキシカラム、酢酸メチルプレドニゾロン、金チオリンゴ酸ナトリウム、アスピリン、アザチオプリン、トリウムシノロンアセトニド、プロボキシフェンナブシレート/アセトアミノフェン、フォレート、ナブメトン、ジクロフェナク、ピロキシカム、エトドラク、ジクロフェナクナトリウム、オキサプロジン、オキシコドン塩酸塩、酒石酸ヒドロコドン/アセトアミノフェン、ジクロフェナクナトリウム/ミソプロストール、フェンタニル、アナキンラ、ヒト組換え体、トラマドール塩酸塩、サルサラート、スリンダク、シアノコバラミン/f a/ピリドキシン、アセトアミノフェン、アレンドロン酸ナトリウム、プレドニゾロン、硫酸モルヒネ、塩酸リドカイン、インドメタシン、硫酸グロコサミン/コンドロイチン、シクロスポリン、アミトリプチリン塩酸塩、スルファジアジン、オキシコドン塩酸塩/アセトアミノフェン、オロパタジン塩酸塩、ミソプロストール、ナプロキセンナトリウム、オメプラゾール、ミコフェノール酸モフェチル、シクロホスファミド、リツキシマブ、IL-1 TRAP、MRA; CTLA4-IG、IL-18 BP、IL-12/23、抗IL-18、抗IL-15、BIRB-796、SCIO-469、VX-702、AMG-548、VX-740、ロフルミラスト、IC-485、CDC-80

1 及びメソプラム。

【0495】

本発明の結合タンパク質と組み合わせられ得る炎症性腸疾患のための治療薬の非限定例には、ブデソニド、上皮増殖因子、コルチコステロイド、シクロスポリン、スルファサラジン、アミノサリチレート、6-メルカプトプリン、アザチオプリン、メトロナダゾール、リポキシゲナーゼ阻害剤、メサラミン、オルサラジン、バルサラジド、抗酸化剤、トロンボキサンインヒビター、IL-1受容体アンタゴニスト、抗IL-1 β mAb、抗IL-6 mAb、増殖因子、エラスターゼ阻害剤、ピリジニル-イミダゾール化合物、他のヒトサイトカインまたは増殖因子（例えば、TNF、LT、IL-1、IL-2、IL-6、IL-7、IL-8、IL-15、IL-16、IL-17、IL-18、EMAP-11、GM-CSF、FGF及びPDGF）に対する抗体またはこれらのアンタゴニストが含まれる。本発明の抗体またはその抗原結合部分は、細胞表面分子（例えば、CD2、CD3、CD4、CD8、CD25、CD28、CD30、CD40、CD45、CD69、CD90）またはそのリガンドに対する抗体と組み合わせられ得る。本発明の抗体またはその抗原結合部分は、メトトレキサート、シクロスポリン、FK506、ラパマイシン、ミコフェノール酸モフェチル、レフルノミド、NSAID（例えば、イブプロフェン）、コルチコステロイド（例えば、プレドニゾロン）、ホスホジエステラーゼ阻害剤、アデノシンアゴニスト、抗血栓剤、補体インヒビター、アドレナリン作動薬、TNF α またはIL-1のような炎症促進性サイトカインによるシグナリングを干渉する物質（例えば、IRAK、NIK、IKK、p38またはMAPキナーゼ阻害剤）、IL-1 β 変換酵素阻害剤、TNF α 変換酵素阻害剤、T細胞シグナリングインヒビター（例えば、キナーゼ阻害剤）、メタロプロテアーゼ阻害剤、スルファサラジン、アザチオプリン、6-メルカプトプリン、アンギオテンシン変換酵素阻害剤、可溶性サイトカイン受容体及びその誘導体（例えば、可溶性p55またはp75 TNF受容体、sIL-1RI、sIL-1RII、sIL-6R）、抗炎症サイトカイン（例えば、IL-4、IL-10、IL-11、IL-13及びTGF β ）及びbc1-2インヒビターのような物質と組み合わせられ得る。

10

20

【0496】

本発明の結合タンパク質と組み合わせられ得るクローン病のための治療薬の例には、TNFアンタゴニスト、例えば抗TNF抗体ADALIMUMAB（PCT公開WO 97/29131；HUMIRA）、CA2（REMICADE）、CDP 571、TNFR-Ig構築物（p75TNFR IgG（ENBRELL）及びp55TNFR IgG（LENERCEPT））インヒビター及びPDE4インヒビターが含まれる。本発明の抗体またはその抗原結合部分はコルチコステロイド（例えば、ブデノシド及びデキサメタゾン）と組み合わせられ得る。本発明の結合タンパク質またはその抗原結合部分は、スルファサラジン、5-アミノサリチル酸及びオルサラジン、並びに炎症促進性サイトカイン（例えば、IL-1）の合成または作用を干渉する物質（例えばIL-1 β 変換酵素阻害剤及びIL-1ra）のような物質と組み合わせられ得る。本発明の抗体またはその抗原結合部分は、T細胞シグナリングインヒビター（例えば、チロシンキナーゼ阻害剤6-メルカプトウリン）と共に使用され得る。本発明の結合タンパク質またはその抗原結合部分はIL-11と組み合わせられ得る。本発明の結合タンパク質またはその抗原結合部分は、メサラミン、プレドニゾン、アザチオプリン、メルカプトプリン、インフリキシマブ、コハク酸メチルプレドニゾロンナトリウム、ジフェノキシレート／硫酸アトロピン、塩酸ロペラミド、メトトレキサート、オメプラゾール、フォレート、シプロフロキサシン／デキストロース水、酒石酸ヒドロコドン／アセトアミノフェン、塩酸テトラサイクリン、フルオシノニド、メトロナダゾール、チメロサル／ホウ酸、コレスチラミン／スクロース、塩酸シプロフロキサシン、硫酸ヒヨスチアミン、塩酸メベリジン、塩酸ミダゾラム、オキシコドン塩酸塩／アセトアミノフェン、塩酸プロメタジン、リン酸ナトリウム、スルファメトキサゾール／トリメトプリム、セレコキシブ、ポリカルボフィル、ナプシル酸プロボキシフェン、ヒドロコルチゾン、マルチビタミン、バルサラジドジナトリウム、リン酸コデイン／

30

40

50

アセトアミノフェン、コレセルバム塩酸塩、シアノコバラミン、葉酸、レボフロキサシン、メチルプレドニゾロン、ナタリズマブ及びインターフェロン- γ と組み合わせられ得る。

【0497】

本発明の結合タンパク質と組み合わせられ得る多発性硬化症のための治療薬の非限定例には、コルチコステロイド、プレドニゾロン、メチルプレドニゾロン、アザチオプリン、シクロホスファミド、シクロスポリン、メトトレキサート、4-アミノピリジン、チザニジン、インターフェロン β -1a (AVONEX; Biogen)、インターフェロン β -1b (BETASERON; Chiron/Berlex)、インターフェロン α -n3 (Interferon Sciences/Fujimoto)、インターフェロン α (Alfa Wassermann/J&J)、インターフェロン β -1A-1F (Serono/Inhale Therapeutics)、ペグインターフェロン α -2b (Enzon/Schering-Plough)、コポリマー1 (Cop-1; COPAXONE; Teva Pharmaceutical Industries, Inc.)、高圧酸素、静脈内免疫グロブリン、クラドリビン、他のヒトサイトカインまたは増殖因子及び受容体 (例えば、TNF、LT、IL-1、IL-2、IL-6、IL-7、IL-8、IL-23、IL-15、IL-16、IL-18、EMAP-11、GM-CSF、FGF及びPDGF) に対する抗体またはこれらのアンタゴニストが含まれる。本発明の結合タンパク質は、細胞表面分子 (例えば、CD2、CD3、CD4、CD8、CD19、CD20、CD25、CD28、CD30、CD40、CD45、CD69、CD80、CD86、CD90) またはそのリガンドに対する抗体と組み合わせられ得る。本発明の結合タンパク質は、メトトレキサート、シクロスポリン、FK506、ラパマイシン、ミコフェノール酸モフェチル、レフルノミド、NSAID (例えば、イブプロフェン)、コルチコステロイド (例えば、プレドニゾロン)、ホスホジエステラーゼ阻害剤、アデノシンアゴニスト、抗血栓剤、補体インヒビター、アドレナリン作動薬、炎症促進性サイトカイン (例えば、TNF α またはIL-1) によるシグナリングを干渉する物質 (例えば、IRAK、NIK、IKK、p38またはMAPキナーゼ阻害剤)、IL-1 β 変換酵素阻害剤、TACEインヒビター、T細胞シグナリングインヒビター (例えば、キナーゼ阻害剤)、メタロプロテアーゼ阻害剤、スルファサラジン、アザチオプリン、6-メルカプトプリン、アンギオテンシン変換酵素阻害剤、可溶性サイトカイン受容体及びその誘導体 (例えば、可溶性p55またはp75 TNF受容体、sIL-1RI、sIL-1RII、sIL-6R)、抗炎症サイトカイン (例えば、IL-4、IL-10、IL-13及びTGF) 及びbc1-2インヒビターのような物質とも組み合わせられ得る。

【0498】

本発明の結合タンパク質と組み合わせられ得る多発性硬化症のための治療薬の例には、インターフェロン β (例えば、IFN β 1a及びIFN β 1b)、コパキソン、コルチコステロイド、カスパーゼ阻害剤 (例えば、カスパーゼ-1の阻害剤)、IL-1インヒビター、TNFインヒビター、及びCD40リガンド及びCD80に対する抗体が含まれる。

【0499】

本発明の結合タンパク質は、アレムツズマブ、ドロナビノール、ユニメド、ダクリズマブ、ミトキサントロン、塩酸キサリプロデン、ファムプリジン、酢酸グラチラマー、ナタリズマブ、シンナビドール、 α -イムノカインNNSO₃、ABR-215062、Anergix MS、ケモカイン受容体アンタゴニスト、BBR-2778、カラグアリン、CPI-1189、LEM (リボソームカプセル化ミトキサントロン)、THC、CBD (カンナビノイドアゴニスト) MBP-8298、メソプラム (PDE4インヒビター)、MNA-715、抗IL-6受容体抗体、ニューロバクス、ビルフェニドン・アロトラップ1258 (RDP-1258)、sTNF-R1、タランパネル、テリフルノミド、TGF- β 2、チプリモチド、VLA-4アンタゴニスト (例えば、TR-14035、VLA4 Ultrahaler、Antegran-ELAN/Biogen)、イ

ンターフェロン γ アンタゴニスト、IL-4アゴニストのような物質と組み合わせられ得る。

【0500】

本発明の結合タンパク質と組み合わせられ得る狭心症のための治療薬の非限定例には、アスピリン、ニトログリセリン、硝酸イソソルビド、コハク酸メトプロロール、アテノロール、酒石酸メトプロロール、ベシル酸アムロジピン、塩酸ジルチアゼム、硝酸イソソルビド、硫酸クロピドグレル、ニフェジピン、アトロバスタチンカルシウム、塩化カリウム、フロセミド、シンバスタチン、ベラパミル塩酸塩、ジゴキシン、塩酸プロプラノロール、カルベジロール、リシノプリル、スピロノラクトン、ヒドロクロロチアジド、マレイン酸エナラプリル、ナドロール、ラミプリル、エノキサパリンナトリウム、ヘパリンナトリウム、バルサルタン、塩酸ソタロール、フェノフィブレート、エゼチミベ、ブメタニド、ロサルタンカリウム、リシノプリル／ヒドロクロロチアジド、フェロジピン、カプトプリル、フマル酸ピソプロロールが含まれる。

【0501】

本発明の結合タンパク質と組み合わせられ得る強直性脊椎炎のための治療薬の非限定例には、イブプロフェン、ジクロフェナク及びミソプロストール、ナプロキセン、メロキシカム、インドメタシン、ジクロフェナク、セレコキシブ、ロフェコキシブ、スルファサラジン、メトトレキサート、アザチオプリン、ミノサイクリン、プレドニゾン、エタネルセプト、インフリキシマブが含まれる。

【0502】

本発明の結合タンパク質と組み合わせられ得る喘息のための治療薬の非限定例には、アルブテロール、サルメテロール／フルチカゾン、モンテルカストナトリウム、プロピオン酸フルチカゾン、ブデソニド、プレドニゾン、キシナホ酸サルメテロール、レバルブテロール塩酸塩、硫酸アルブテロール／イプラトピウム、リン酸プレドニゾロンナトリウム、トリウムシノロンアセトニド、プロピオン酸ベクロメタゾン、臭化イプラトロピウム、アジトロマイシン、酢酸ビルブテロール、プレドニゾン、無水テオフィリン、コハク酸メチルプレドニゾロンナトリウム、クラリスロマイシン、ザフィルルカスト、フマル酸ホルモテロール、インフルエンザウイルスワクチン、メチルプレドニゾン、アモキシシリン三水合物、フルニソリド、アレルギー注射、クロモリンナトリウム、塩酸フェキソフェナジン、フルニソリド／メントール、アモキシシリン／クラブラネート、レボフロキサシン、吸入器保持デバイス、グアイフェネシン、リン酸デキサメタゾンナトリウム、モキシフロキサシン塩酸塩、ドキシサイクリンハイクレート、グアイフェネシン／d-メトルファン、p-エフェドリン／コデイン／クロルフェニラミン、ガチフロキサシン、塩酸セチリジン、フランカルボン酸モメタゾン、キシナホ酸サルメテロール、ベンゾナタート、セファレキシン、p-ヒドロコドン／クロルフェニラミン、セチリジン塩酸塩／シュードエフェドリン、フェニレフリン／コデイン／プロメタジン、コデイン／プロメタジン、セフトロギル、デキサメタゾン、グアイフェネシン／シュードエフェドリン、クロルフェニラミン／ヒドロコドン、ネドクロミルナトリウム、硫酸テルブタリン、エピネフリン、メチルプレドニゾン、硫酸メタプロテレノールが含まれる。

【0503】

本発明の結合タンパク質と組み合わせられ得るCOPDのための治療薬の非限定例には、硫酸アルブテロール／イプラトピウム、臭化イプラトロピウム、サルメテロール／フルチカゾン、アルブテロール、キシナホ酸サルメテロール、プロピオン酸フルチカゾン、プレドニゾン、無水テオフィリン、コハク酸メチルプレドニゾロンナトリウム、モンテルカストナトリウム、ブデソニド、フマル酸ホルモテロール、トリウムシノロンアセトニド、レボフロキサシン、グアイフェネシン、アジトロマイシン、プロピオン酸ベクロメタゾン、レバルブテロール塩酸塩、フルニソリド、セフトリアキソンナトリウム、アモキシシリン三水合物、ガチフロキサシン、ザフィルルカスト、アモキシシリン／クラブラネート、フルニソリド／メントール、クロルフェニラミン／ヒドロコドン、硫酸メタプロテレノール、メチルプレドニゾン、フランカルボン酸モメタゾン、p-エフェドリン／コデイン／

10

20

30

40

50

クロルフェニラミン、酢酸ピルブテロール、p-エフェドリン／ロラタジン、硫酸テルブタリン、臭化チオトロピウム、(R, R)-ホルモテロール、TgAAT、シロミラスト、ロフルミラストが含まれる。

【0504】

本発明の結合タンパク質と組み合わせられ得るHCVのための治療薬の非限定例には、インターフェロン- α -2a、インターフェロン- α -2b、インターフェロン- α -con1、インターフェロン- α -n1、ペグ化インターフェロン- α -2a、ペグ化インターフェロン- α -2b、リバビリン、ペグインターフェロン α -2b+リバビリン、ウルソデオキシコール酸、グリチルリチン酸、チマルファシン、マクサミン、VX-497、及び以下の標的、すなわちHCVポリメラーゼ、HCVプロテアーゼ、HCVヘリカーゼ、HCVIRES（内部リボソーム導入部位）との介入を介してHCVを治療するために使用される化合物が含まれる。

10

【0505】

本発明の結合タンパク質と組み合わせられ得る特発性肺線維症のための治療薬の非限定例には、プレドニゾン、アザチオプリン、アルブテロール、コルヒチン、硫酸アルブテロール、ジゴキシン、 γ -インターフェロン、コハク酸メチルプレドニゾロンナトリウム、ロラゼパム、フロセミド、リシノプリル、ニトログリセリン、スピロノラクトン、シクロホスファミド、臭化イプラトロピウム、アクチノマイシンD、アルテプララーゼ、プロピオン酸フルチカゾン、レボフロキサシン、硫酸メタプロテレノール、硫酸モルヒネ、オキシコドン塩酸塩、塩化カリウム、トリウムシノロンアセトニド、無水タクロリムス、カルシウム、インターフェロン- α 、メトトレキサート、ミコフェノール酸モフェチル、インターフェロン- γ -1 β が含まれる。

20

【0506】

本発明の結合タンパク質と組み合わせられ得る心筋梗塞のための治療薬の非限定例には、アスピリン、ニトログリセリン、酒石酸メトプロロール、エノキサパリンナトリウム、ヘパリンナトリウム、硫酸クロピドグレル、カルベジロール、アテノロール、硫酸モルヒネ、コハク酸メトプロロール、ワルファリンナトリウム、リシノプリル、硝酸イソソルビド、ジゴキシン、フロセミド、シンバスタチン、ラミプリル、テネクテプララーゼ、マレイン酸エナラプリル、トルセミド、レタバーゼ、ロサルタンカリウム、キナプリル塩酸塩／炭酸マグネシウム、ブメタニド、アルテプララーゼ、エナラプリラート、塩酸アミオダロン、チロフィバン塩酸塩一水和物、塩酸ジルチアゼム、カプトプリル、イルベサルタン、バルサルタン、塩酸プロプラノロール、フォシノプリルナトリウム、塩酸リドカイン、エプチフィバチド、セファゾリンナトリウム、硫酸アトロピン、アミノカプロン酸、スピロノラクトン、インターフェロン、塩酸ソタロール、塩化カリウム、ドキュセートナトリウム、ドブタミン塩酸塩、アルプラゾラム、プラバスタチンナトリウム、アトルバスタチンカルシウム、塩酸ミダゾラム、塩酸メペリジン、硝酸イソソルビド、エピネフリン、塩酸ドーパミン、ピバリルジン、ロスバスタチン、エゼチミブ／シンバスタチン、アバシミベ、カリボリドが含まれる。

30

【0507】

本発明の結合タンパク質と組み合わせられ得る乾癬のための治療薬の非限定例には、KDRの低分子インヒビター、Tie-2の低分子インヒビター、カルシボトリエン、プロピオン酸クロベタゾール、トリウムシノロンアセトニド、プロピオン酸ハロベタゾール、タザロテン、メトトレキサート、フルオシノニド、増量プロピオン酸ベタメタゾン、フルオシノロンアセトニド、アシトレチン、タールシャンプー、吉草酸ベタメタゾン、フランカルボン酸モメタゾン、ケトコナゾール、プラモキシシン／フルオシノロン、吉草酸ヒドロコルチゾン、フルランドレノリド、尿素、ベタメタゾン、プロピオン酸クロベタゾール／皮膚軟化薬、プロピオン酸フルチカゾン、アジトロマイシン、ヒドロコルチゾン、モイスチャライジング処方物、葉酸、デソニド、ピメクロリムス、コールタール、酢酸ジフロラゾン、葉酸エタネルセプト、乳酸、メトキサレン、hc／次没食子酸ビスマス／酸化亜鉛／レゾルシノール、酢酸メチルプレドニゾロン、プレドニゾン、日焼け止め剤、ハルシノニ

40

50

ド、サリチル酸、アントラリン、ピバル酸クロコルトロン、コール抽出物、コールタール／サリチル酸、コールタール／サリチル酸／硫黄、デソキシメタゾン、ジアゼパム、皮膚軟化薬、フルオシノニド／皮膚軟化薬、鉱油／ヒマシ油／乳酸ナトリウム、鉱油／落花生油、石油／ミリスチン酸イソプロピル、プソラレン、サリチル酸、石炭／トリブROMサラン、チメロサル／ホウ酸、セレコキシブ、インフリキシマブ、シクロスポリン、アレファセプト、エファリズマブ、タクロリムス、ピメクロリムス、P U V A、U V B、スルファサラジンが含まれる。

【0508】

本発明の結合タンパク質と組み合わせられ得る乾癬性関節炎のための治療薬の非限定例には、メトトレキサート、エタネルセプト、ロフェコキシブ、セレコキシブ、葉酸、スルファサラジン、ナプロキセン、レフルノミド、酢酸メチルプレドニゾロン、インドメタシン、硫酸ヒドロキシクロロキン、プレドニゾン、スリンダク、増量プロピオン酸ベタメタゾン、インフリキシマブ、メトトレキサート、フォレート、トリウムシノロンアセトニド、ジクロフェナク、ジメチルスルホキシド、ピロキシカム、ジクロフェナクナトリウム、ケトプロフェン、メロキシカム、メチルプレドニゾロン、ナブメトン、トルメチンナトリウム、カルシポトリエン、シクロスポリン、ジクロフェナクナトリウム／ミソプロストール、フルオシノニド、硫酸グロコサミン、金チオリンゴ酸ナトリウム、酒石酸ヒドロコドン／アセトアミノフェン、イブプロフェン、リセドロネートナトリウム、スルファジアジン、チオグアニン、バルデコキシブ、アレファセプト、エファリズマブ及びb c 1-2 インヒビターが含まれる。

【0509】

本発明の結合タンパク質と組み合わせられ得る再狭窄のための治療薬の非限定例には、シロリムス、パクリタクセル、エベロリムス、タクロリムス、ゾタロリムス、アセトアミノフェンが含まれる。

【0510】

本発明の結合タンパク質と組み合わせられ得る坐骨神経痛のための治療薬の非限定例には、酒石酸ヒドロコドン／アセトアミノフェン、ロフェコキシブ、シクロベンザプリン塩酸塩、メチルプレドニゾロン、ナプロキセン、イブプロフェン、オキシコドン塩酸塩／アセトアミノフェン、セレコキシブ、バルデコキシブ、酢酸メチルプレドニゾロン、プレドニゾン、リン酸コデイン／アセトアミノフェン、トラマドール塩酸塩／アセトアミノフェン、メタクサロン、メロキシカム、メトカルバモル、塩酸リドカイン、ジクロフェナクナトリウム、ギャバペンチン、デキサメタゾン、カリソプロドール、ケトロラクトロメタミン、インドメタシン、アセトアミノフェン、ジアゼパム、ナブメトン、オキシコドン塩酸塩、チザニジン塩酸塩、ジクロフェナクナトリウム／ミソプロストール、ナブシル酸プロポキシフェン／アセトアミノフェン、A S A／オキシコドン／酒石酸オキシコドン、イブプロフェン／酒石酸ヒドロコドン、トラマドール塩酸塩、エトドラク、プロポキシフェン塩酸塩、アミトリプチリン塩酸塩、カリソプロドール／リン酸コデイン／A S A、硫酸モルヒネ、マルチビタミン、ナプロキセンナトリウム、クエン酸オルフェナドリン、テマゼパムが含まれる。

【0511】

本発明の結合タンパク質と組み合わせられ得るS L E（ループス）のための治療薬の例には、N S A I D、例えばジクロフェナク、ナプロキセン、イブプロフェン、ピロキシカム、インドメタシン；C O X 2 インヒビター、例えばセレコキシブ、ロフェコキシブ、バルデコキシブ；抗マラリア薬、例えばヒドロキシクロロキン；ステロイド、例えばプレドニゾン、プレドニゾロン、ブデノシド、デキサメタゾン；細胞傷害薬、例えばアザチオプリン、シクロホスファミド、ミコフェノール酸モフェチル、メトトレキサート；P D E 4のインヒビターまたはプリン合成インヒビター、例えばセルセプトが含まれ得る。本発明の結合タンパク質は、スルファサラジン、5-アミノサリチル酸、オルサラジン、イムランのような物質；または炎症促進性サイトカイン（例えば、I L-1）の合成、産生または作用を干渉する物質、例えばI L-1 β 変換酵素阻害剤及びI L-1 r aのようなカспа

10

20

30

40

50

ーゼ阻害剤とも組み合わせられ得る。また、本発明の結合タンパク質は、T細胞シグナリングインヒビター、例えばチロシンキナーゼ阻害剤；またはT細胞活性化分子を標的とする分子、例えばCTLA-4-IgG、または抗B7ファミリー抗体、抗PD-1ファミリー抗体と一緒に使用され得る。本発明の結合タンパク質は、IL-11または抗サイトカイン抗体、例えばフォントリズマブ（抗IFN γ 抗体）；または抗受容体受容体抗体、例えば抗IL-6受容体抗体及びB細胞表面分子に対する抗体と組み合わせられ得る。本発明の抗体またはその抗原結合部分は、LJP 394（アベチムス）；B細胞を消耗または不活性化させる物質、例えばリツキシマブ（抗CD20抗体）、リンフォスタットB（抗BlyS抗体）；TNFアンタゴニスト、例えば抗TNF抗体、アダリムマブ（PCT公開WO 97/29131；HUMIRA）、CA2（REMICADE）、CDP571、TNFR-Ig構築物、（p75TNFR-IgG（ENBRELL）及びp55TNFR-IgG（LENERCEPT））、並びにトランスジェニックマウスでのbc1-2過剰発現はループス様表現型を引き起こすことが立証され（Marquina, Reginaら, Journal of Immunology（2004）, 172（11）, 7177-7185を参照されたい）、従って抑制が治療効果を有すると予想されるのでbc1-2インヒビターと一緒に使用され得る。

10

【0512】

本発明の医薬組成物は、「治療有効量」または「予防有効量」の本発明の結合タンパク質を含み得る。「治療有効量」は、必要な用量で及び期間に所望の治療結果を達成するのに有効な量を指す。結合タンパク質の治療有効量は当業者により決定され得、複数の要因、例えば個人の病的状態、年齢、性別及び体重、並びに個人において結合タンパク質の所望の応答を引き出す能力に従って変更可能である。治療有効量も、治療上有効な作用が抗体または抗体部分の中毒または有害作用を上回る量である。「予防有効量」は、必要な用量で及び期間に所望の予防結果を達成するのに有効な量を指す。典型的には、予防用量は疾患の発症前またはより早期段階に被験者において使用されるので、予防有効量は治療有効量よりも少ない。

20

【0513】

投与レジメンは、最適の所望応答（例えば、治療または予防応答）を与えるために調節され得る。例えば、1回のボラスを投与しても、複数の分割用量を時間をかけて投与しても、または用量を治療状況の緊急度により示されるように比例して減少または増加させてもよい。投与の容易さ及び用量の均一性のために非経口組成物を単位投与形態で処方することが特に有利である。本明細書中で使用されている「単位投与形態」は治療しようとする哺乳動物被験者に対する1回用量として適した物理的にばらばらの単位を指す。各単位は、所望治療効果を生ずるように計算した所定量を活性化化合物を所要の医薬担体と一緒に含有している。本発明の投与単位形態の仕様は、（a）活性化化合物の独自の特性及び達成しようとする具体的治療または予防効果、及び（b）個人における感受性の治療のために活性化化合物をコンパウンドする業界に固有の制限により指示され、直接依存する。

30

【0514】

本発明の結合タンパク質の治療または予防有効量の例示的非限定範囲は0.1～20mg/kg、例えば1～10mg/kgである。用量の値は緩和しようとする状態のタイプ及び重症度により変更され得ることに留意されたい。更に、特定被験者に対する具体的容量レジメンは個人の必要性及び組成物を投与する人またはそれを監督する人の専門的判断に従って経時的に調節されなければならないこと、及び本明細書中に記載されている用量は例示にすぎず、特許請求されている組成物の範囲または実施を限定する意図はないことを理解すべきである。

40

【0515】

本明細書中に記載されている本発明の方法の他の適当な修飾及び改変は自明であり、本発明の範囲または本明細書中に記載されている実施形態を逸脱することなく適当な均等物を用いてなし得ることは当業者はすぐに分かるであろう。本発明を詳細に記載してきたが、例示の目的のみで提示されており、本発明を限定すると意図しない以下の実施例を参照

50

することにより本発明はより明確に理解されるであろう。

【0516】

V. 診断

本発明は診断用途も提供する。以下、これを更に説明する。

【0517】

(I. アッセイ方法)

本発明は、被験サンプル中のアナライト（または、その断片）の存在、量または濃度を本明細書中に記載されている少なくとも1つのDVD-Igを用いて測定するための方法をも提供する。この方法では当業界で公知の適当なアッセイを使用し得る。その例には、イムノアッセイ、例えば放射同位元素検出（ラジオイムノアッセイ（RIA））及び酵素検出（酵素イムノアッセイ（EIA）または酵素免疫測定法（ELISA）（例えば、Quantikine ELISAアッセイ、R&D Systems、ミネソタ州ミネアポリス））を含めたサンドイッチイムノアッセイ（例えば、モノクローナル、ポリクローナル及び／またはDVD-Igサンドイッチイムノアッセイ、或いはその変形（例えば、モノクローナル／DVD-Ig、DVD-Ig／ポリクローナル等）、競合阻害イムノアッセイ（例えば、前進及び逆）、蛍光偏光イムノアッセイ（FPIA）、競合的酵素免疫分析法（EMIT）、生物発光共鳴エネルギー移動（BRET）及び均質化学発光アッセイ等が含まれるが、これらに限定されない。SELDIに基づくイムノアッセイでは、当該アナライト（または、その断片）に特異的に結合する捕捉試薬を質量分析プローブ（例えば、予め活性化したタンパク質チップアレー）の表面に結合させる。次いで、アナライト（または、その断片）をバイオチップに特異的に捕捉し、捕捉したアナライト（または、その断片）を質量分析法により検出する。或いは、アナライト（または、その断片）を捕捉試薬から溶出させ、従来のMALDI（マトリックス支援レーザー脱離／イオン化法）またはSELDIにより検出してもよい。化学発光マイクロ粒子イムノアッセイ、特にARCHITECT（登録商標）自動アナライザー（Abbott Laboratories、イリノイ州アボットパーク）を用いるものが好ましいイムノアッセイの例である。

【0518】

本発明の実施において、例えば本明細書中に記載されているDVD-Igを免疫学的診断試薬として及び／またはアナライトイムノアッセイキットにおいて使用するとき、尿、血液、血清及び血漿、並びに他の体液を採取し、取り扱い、処理するための当業界で公知の方法が使用される。被験サンプルは、当該アナライトに加えて追加の成分、例えば抗体、抗原、ハプテン、ホルモン、薬物、酵素、受容体、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、オリゴヌクレオチド及び／またはポリヌクレオチドを含み得る。例えば、サンプルは被験者から得た全血サンプルであり得る。本明細書中に記載されているイムノアッセイの前に、被験サンプル、特に全血を例えば前処理試薬を用いて処理することが必要であったり、所望されることがある。前処理が必要でない場合でも（例えば、多くの尿サンプル）、場合により前処理を（例えば、市販プラットフォームのレジメンの一部として）実施してもよい。

【0519】

前処理試薬は本発明のイムノアッセイ及びキットと一緒に使用するのに適した任意の試薬であり得る。前処理は、場合により（a）1つ以上の溶媒（例えば、メタノール及びエチレングリコール）と場合により塩、（b）1つ以上の溶媒及び塩と場合により洗剤、（c）洗剤、または（d）洗剤及び塩を含む。前処理試薬は当業界で公知であり、前記前処理は文献（例えば、Yatscoffら、Abbott Tdx Monoclonal Antibody Assay Evaluated for Measuring Cyclosporine in Whole Blood, Clin. Chem., 36:1969-1973 (1990); 及びWallemacqら、Evaluation of the New AxSYM Cyclosporine Assay: Comparison with Tdx Monoclonal Whole Blood and EMIT Cyclosporine Assays, Clin. Chem.

、45:432-435(1999)を参照されたい)に記載されているように及び／または市販されているように例えばAbbot TDX, AxSYM(登録商標)及びARCHITECT(登録商標)アナライザー(Abbott Laboratories, イリノイ州アボットパーク)を用いるアッセイのために使用され得る。加えて、前処理はAbbotの米国特許No. 5, 135, 875、欧州特許出願公開No. 0 471 293、2006年12月26日に出願された米国特許仮出願60/878, 017及び米国特許出願公開No. 2008/0020401(前処理に関する教示のために全文参照により本明細書に組み入れる)に記載されているように実施され得る。前処理試薬は不均質試薬または均質試薬であり得る。

【0520】

10

不均質前処理試薬を使用する場合、前処理試薬はサンプル中に存在する結合タンパク質(例えば、アナライトまたはその断片に結合できるタンパク質)を沈殿させる。前処理ステップは、サンプルに前処理試薬を添加することにより形成された混合物の上清から沈殿したアナライト結合タンパク質を分離することによりアナライト結合タンパク質を除去することを含む。このアッセイでは、結合タンパク質が存在しない混合物の上清をアッセイにおいて使用し、直接抗体捕捉ステップにかける。

【0521】

均質前処理試薬を使用する場合には、上記した分離ステップがない。被験サンプル及び前処理試薬の全混合物をアナライト(または、その断片)に対する標識された特異的結合パートナー、例えば標識された抗アナライト抗体(または、その抗原反応性断片)と接触させる。典型的には第1特異的結合パートナーによる捕捉の前またはその間に、このアッセイのために使用される前処理試薬を前処理した被験サンプル混合物で希釈する。希釈しても、ある量の前処理試薬が捕捉中被験サンプル混合物中になお存在している(または、残存している)。本発明によれば、標識された特異的結合パートナーはDVD-Ig(または、その断片、バリエーション、またはバリエーションの断片)であり得る。

20

【0522】

不均質フォーマットでは、被験サンプルを被験者から採取した後、第1混合物を調製する。混合物はアナライト(または、その断片)について評価しようとする被験サンプル及び第1特異的結合パートナーを含み、第1特異的結合パートナー及び被験サンプル中に含まれているアナライトは第1特異的結合パートナー-アナライト複合体を形成する。好ましくは、第1特異的結合パートナーは抗アナライト抗体またはその断片である。第1特異的結合パートナーは本明細書中に記載されているDVD-Ig(または、その断片、バリエーション、またはバリエーションの断片)であり得る。混合物を形成するために被験サンプル及び第1特異的結合パートナーを添加する順序は重要でない。好ましくは、第1特異的結合パートナーを固相上に固定化する。(第1特異的結合パートナーと場合により第2特異的結合パートナーに対する)イムノアッセイにおいて使用される固相は当業界で公知の任意の固相であり得、例えば磁気粒子、ビーズ、試験管、微量測定プレート、キュベット、膜、足場分子、フィルム、濾紙、ディスク及びチップであるが、これらに限定されない。

30

【0523】

第1特異的結合パートナー-アナライト複合体を含有している混合物を形成したら、非結合アナライトを複合体から当業界で公知の技術を用いて除去する。例えば、非結合アナライトは洗浄により除去され得る。しかしながら、被験サンプル中に存在するすべてのアナライトが第1特異的結合パートナーにより結合されるように、第1特異的結合パートナーを被験サンプル中に存在するアナライトより過剰に存在させることが望ましい。

40

【0524】

非結合アナライトを除去したら、混合物に第2特異的結合パートナーを添加して、第1特異的結合パートナー-アナライト-第2特異的結合パートナー複合体を形成する。第2特異的結合パートナーは、好ましくは第1特異的結合パートナーにより結合されるアナライト上のエピトープとは異なるアナライト上のエピトープに結合する抗アナライト抗体である。更に、第2特異的結合パートナーを上記した検出可能な標識で標識するかまたは含

50

有していることも好ましい。第2特異的結合パートナーは本明細書中に記載されているD
VD-Ig（または、その断片、バリエント、またはバリエントの断片）であり得る。

【0525】

当業界で公知の適当な検出可能な標識が使用され得る。例えば、検出可能な標識は、放
射性標識（例えば、 ^3H 、 ^{125}I 、 ^{35}S 、 ^{11}C 、 ^{32}P 及び ^{33}P ）、酵素標識（
例えば、ホースラディッシュペルオキシダーゼ、アルカリペルオキシダーゼ、グルコース
6-ホスフェートデヒドロゲナーゼ等）、化学発光標識（例えば、アクリジニウムエステ
ル、チオエステルまたはスルホンアミド、ルミノール、イソルミノール、フェナントリジ
ニウムエステル等）、蛍光標識（例えば、フルオレセイン（例えば、5-フルオレセイン
、6-カルボキシフルオレセイン、3'-6-カルボキシフルオレセイン、5（6）-カル
ボキシフルオレセイン、6-ヘキサクロロフルオレセイン、6-テトラクロロフルオレ
セイン、フルオレセインイソチオシアネート等））、ローダミン、フィコビリタンパク質
、R-フィコエリスリン、量子ドット（例えば、硫化亜鉛をキャップしたセレン化カドミ
ウム）、温度測定標識またはイムノポリメラーゼ連鎖反応標識であり得る。標識の導入
、標識化手順及び標識の検出はPolak and Van Noorden, *Introduction to Immunocytochemistry*, 第2版, Springer Verlag, N. Y. (1997)、及びオレゴン州ユージーンに所在のM
olecular Probes, Inc. が発行のハンドブック及びカタログであるH
augland, *Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals* (1996) 中に見つけられる。FPIA
では、蛍光標識（例えば、全文参照により本明細書に組み入れる米国特許Nos. 5, 5
93, 896、5, 573, 904、5, 496, 925、5, 359, 093及び5,
352, 803を参照されたい）が使用され得る。均質または不均質化学発光アッセイで
は、アクリジニウム化合物が検出可能な標識として使用され得る（例えば、Adamcz
ykら, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 16:1324-1328 (2
006) ; Adamczykら, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 4:2
313-2317 (2004) ; Adamczykら, *Bioorg. Med. Chem.
Lett.*, 14:3917-3921 (2004) ; 及びAdamczykら, *Org
. Lett.*, 5:3779-3782 (2003) を参照されたい）。

【0526】

好ましいアクリジニウム化合物はアクリジニウム-9-カルボキサミドである。アクリ
ジニウム9-カルボキサミドの製造方法は、Mattingly, J. *Biolumin.
Chemilumin.*, 6:107-114 (1991) ; Adamczykら, J
. *Org. Chem.*, 63:5636-5639 (1998) ; Adamczykら,
Tetrahedron, 55:10899-10914 (1999) ; Adamcz
ykら, *Org. Lett.*, 1:779-781 (1999) ; Adamczykら, B
ioconjugate Chem., 11:714-724 (2000) ; Matti
nglyら, *Luminescence Biotechnology: Instruments and Applications* ; Dyke, K. V. Ed. ; CRC P
ress: Boca Raton, p. 77-105 (2002) ; Adamczykら
、*Org. Lett.*, 5:3779-3782 (2003) ; 並びに米国特許Nos.
5, 468, 646、5, 543, 524及び5, 783, 699（各々を前記方法に関
する教示のために全文参照により本明細書に組み入れる）に記載されている。別の好まし
いアクリジニウム化合物はアクリジニウム-9-カルボキシレートアリアルエステルであ
る。アクリジニウム-9-カルボキシレートアリアルエステルの例は10-メチル-9-
（フェノキシカルボニル）アクリジニウムフルオロスルホネート（ミシガン州アナーバー
のCayman Chemicalから入手可能）である。アクリジニウム9-カルボキ
シレートアリアルエステルの製造方法は、McCapraら, *Photobiol.*, 4:1111-21 (1965) ; Razaviら, *Lumines
cence*, 15:245-249 (2000) ; Razaviら, *Luminesce*

nce, 15:239-244 (2000); 及び米国特許No. 5, 241, 070 (各々を前記方法に関する教示のために全文参照により本明細書に組み入れる)に記載されている。更に、アクリジニウム-9-カルボキシレートアリアルエステル及びその使用に関する詳細はUS 2008-0248493に記載されている。

【0527】

化学発光アッセイ (例えば、上記したアクリジニウムまたは他の化学発光剤を用いる) はAdamczykら, Anal. Chim. Acta, 579 (1): 61-67 (2006)に記載されている方法に従って実施され得る。適当なアッセイフォーマットが使用され得るが、マイクロプレート・ケミルミノメーター (Mithras LB-940, Berthold Technologies U. S. A., LLC, テネシー州オークリッジ) は少容量の複数のサンプルを迅速にアッセイすることができる。

10

【0528】

化学発光アッセイのための混合物を形成するために被験サンプル及び特異的結合パートナーを添加する順序は重要でない。第1特異的結合パートナーが化学発光剤 (例えば、アクリジニウム化合物) で検出可能に標識されているならば、検出可能に標識された第1特異的結合パートナー-アナライト複合体が形成される。或いは、第2特異的結合パートナーを使用し、第2特異的結合パートナーが化学発光剤 (例えば、アクリジニウム化合物) で検出可能に標識されているならば、検出可能に標識された第1特異的結合パートナー-アナライト-第2特異的結合パートナー複合体が形成される。標識されていても標識されていなくても、非結合特異的結合パートナーは混合物から当業界で公知の技術 (例えば、洗浄) を用いてから除去され得る。

20

【0529】

上記アクリジニウム化合物を添加する前、同時またはその後に、過酸化水素を混合物中でその場で生成させても、または混合物に導入または供給してもよい (例えば、過酸化水素源は過酸化水素を含有していることが公知の1つ以上のバッファーまたは他の溶液である)。過酸化水素は当業者に自明な多数の方法でその場で生成され得る。

【0530】

少なくとも1つの塩基性溶液をサンプルに添加すると同時にまたはその後に、アナライトの存在を示す検出可能なシグナル、すなわち化学発光シグナルが発生する。塩基性溶液は少なくとも1つの塩基を含有し、10以上、好ましくは12以上のpHを有する。塩基性溶液の例には、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化カルシウム、水酸化アンモニウム、水酸化マグネシウム、炭酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、水酸化カルシウム、炭酸カルシウム及び炭酸水素カルシウムが含まれるが、これらに限定されない。サンプルに添加する塩基性溶液の量は塩基性溶液の濃度に依存する。使用する塩基性溶液の濃度に基づいて、当業者はサンプルに添加する塩基性溶液の量を容易に決定することができる。

30

【0531】

発生した化学発光シグナルは当業者に公知のルーチン技術により検出され得る。発生したシグナルの強度に基づいて、サンプル中のアナライトの量を定量することができる。具体的には、サンプル中のアナライトの量は発生したシグナルの強度に比例する。存在するアナライトの量は、発生した光の量をアナライトについての標準曲線と比較することにより、または参照標準と比較することにより定量することができる。標準曲線はアナライトの公知濃度の連続希釈物または溶液を用いて質量分析法、重量測定法及び当業界で公知の他の技術により作成され得る。化学発光剤としてアクリジニウム化合物の使用を強調して記載してきたが、当業者はこの記載を他の化学発光剤の使用に対して容易に適応させることができる。

40

【0532】

アナライトイムノアッセイは通常当業界で公知のフォーマット (非限定例として、サンドイッチフォーマット) を用いて行い得る。具体的には、1つのイムノアッセイフォーマットでは、少なくとも2つの抗体がサンプル中のアナライト (例えば、ヒトアナライト)

50

またはその断片を分離し、定量するために使用される。より具体的には、少なくとも2つの抗体はアナライト（または、その断片）上の別々のエピトープに結合して、「サンドイッチ」と称される免疫複合体を形成する。通常、イムノアッセイでは、1つ以上の抗体が被験サンプル中のアナライト（または、その断片）を捕捉するために使用され得（これらの抗体はしばしば「捕捉」抗体と称される）、1つ以上の抗体が検出可能な（すなわち、定量可能な）標識をサンドイッチに結合させるために使用され得る（これらの抗体はしばしば「検出抗体」、「コンジュゲート」または「複数のコンジュゲート」と称される）。よって、サンドイッチイムノアッセイフォーマットの関連で、本明細書中に記載されているDVD-Ig（または、その断片、バリエーション、またはバリエーションの断片）は捕捉抗体、検出抗体またはその両方として使用され得る。例えば、アナライト（または、その断片）上の第1エピトープに結合できるドメインを有する1つのDVD-Igが捕捉抗体として使用され得、及び／またはアナライト（または、その断片）上の第2エピトープに結合できるドメインを有する別のDVD-Igが検出抗体として使用され得る。この点で、アナライト（または、その断片）上の第1エピトープに結合できる第1ドメイン及びアナライト（または、その断片）上の第2エピトープに結合できる第2ドメインを有するDVD-Igは捕捉抗体及び／または検出抗体として使用され得る。或いは、第1アナライト（または、その断片）上のエピトープに結合できる第1ドメイン及び第2アナライト（または、その断片）上のエピトープに結合できる第2ドメインを有する1つのDVD-Igは2つ以上のアナライトを検出し、場合により定量するための捕捉抗体及び／または検出抗体として使用され得る。アナライトがサンプル中にモノマー形態及びホモマーまたはヘテロマーであり得るダイマー／マルチマー形態のような2つ以上の形態で存在する場合には、モノマー形態にさらされているエピトープに結合できるドメインを有する1つのDVD-Ig及びダイマー／マルチマー形態の異なる部分上のエピトープに結合できるドメインを有する別のDVD-Igが捕捉抗体及び／または検出抗体として使用され得、これにより所与のアナライトの異なる形態を検出、場合により定量することができる。更に、単一DVD-Ig内及び／またはDVD-Ig間で異なる親和性を有するDVD-Igを使用するとアビジティの効果が得られ得る。本明細書中に記載されているイムノアッセイの関連で、DVD-Igの構造内に1つ以上のリンカーを導入することが通常便利であったり望ましいことがある。存在させる場合、リンカーは最適にはエピトープの内部ドメインによる結合及び別のエピトープの外部ドメインによる結合を可能にする十分な長さ及び構造的融通性を有していなければならない。この点で、DVD-Igが2つの異なるアナライトに結合でき、1つのアナライトが他よりも大きいならば、大きいアナライトが外部ドメインにより結合されることが望ましい。

【0533】

概して、（例えば、含有していると疑われる）アナライト（または、その断片）について試験しようとするサンプルを少なくとも1つの捕捉抗体（または、複数の抗体）及び少なくとも1つの検出抗体（例えば捕捉及び／または検出抗体が複数の抗体を含む場合のように、第2検出抗体または第3検出抗体、或いは第4以降の抗体であり得る）と同時にまたは任意の順序で逐次接触させ得る。例えば、被験サンプルをまず少なくとも1つの捕捉抗体と接触させ、次いで（逐次）少なくとも1つの検出抗体と接触させる。或いは、被験サンプルをまず少なくとも1つの検出抗体と接触させ、次いで（逐次）少なくとも1つの捕捉抗体と接触させる。さらに別の代替例では、被験サンプルを捕捉抗体及び検出抗体と同時に接触させてもよい。

【0534】

サンドイッチアッセイフォーマットでは、アナライト（または、その断片）を含有していると疑われるサンプルをまず第1抗体／アナライト複合体の形成を可能にする条件下で少なくとも1つの第1捕捉抗体と接触させる。2つ以上の捕捉抗体を使用する場合には、2つ以上の捕捉抗体を含む第1捕捉抗体／アナライト複合体が形成される。サンドイッチアッセイでは、抗体、好ましくは、少なくとも1つの捕捉抗体を被験サンプル中で予想される最大量のアナライト（または、その断片）のモル過剰量で使用する。例えば、約5 μ

g～約1mgの抗体／mL－バッファー（例えば、マイクロ粒子コーティングバッファー）を使用し得る。

【0535】

競合阻害イムノアッセイは小アナライトを調べるためにしばしば使用されているが、1つの抗体のみによる結合が必要なので、このイムノアッセイは逐次及び古典的フォーマットを含む。逐次競合阻害イムノアッセイでは、当該アナライトに対する捕捉抗体を微量分析プレートのウェルまたは他の固体支持体上にコーティングする。当該アナライトを含有するサンプルをウェルに添加したとき、当該アナライトは捕捉抗体に結合する。洗浄後、公知量の標識（例えば、ビオチンまたはホースラディッシュペルオキシダーゼ（HRP））アナライトをウェルに添加する。シグナルを発生させるためには酵素標識に対する基質が必要である。HRPに対する適当な基質の例は3, 3', 5, 5'-テトラメチルベンジジン（TMB）である。洗浄後、標識アナライトより発生したシグナルを測定し、これはサンプル中のアナライトの量と逆比例する。古典的競合阻害イムノアッセイでは、当該アナライトに対する抗体を固体支持体（例えば、微量測定プレートのウェル）上にコーティングする。しかしながら、逐次競合阻害イムノアッセイとは異なり、サンプル及び標識アナライトをウェルに同時に添加する。サンプル中のアナライトは捕捉抗体に対する結合について標識アナライトと競合する。洗浄後、標識アナライトより発生したシグナルを測定し、これはサンプル中のアナライトの量に逆比例する。

【0536】

場合により、被験サンプルを少なくとも1つの捕捉抗体（例えば、第1捕捉抗体）と接触させる前に、少なくとも1つの捕捉抗体を固体支持体に結合させてもよい。こうすると、第1抗体／アナライト（または、その断片）複合体の被験サンプルからの分離が容易となる。捕捉抗体が結合する基質は捕捉抗体－アナライト複合体のサンプルからの分離を容易とする適当な固体支持体または固相であり得る。

【0537】

例には、プレート（例えば、微量測定プレート）のウェル、試験管、多孔質ゲル（例えば、シリカゲル、アガロース、デキストリンまたはゼラチン）、ポリマーフィルム（例えば、ポリアクリルアミド）、ビーズ（例えば、ポリスチレンビーズまたは磁気ビーズ）、フィルター／膜（例えば、ニトロセルロースまたはナイロン）のストリップ、マイクロ粒子（例えば、ラテックス粒子、磁化可能マイクロ粒子（例：酸化鉄または酸化クロムのコア及びホモまたはヘテロポリマーコーティングを有する約1～10ミクロンの半径のマイクロ粒子）が含まれる。基質を、抗原を結合させるように適当な表面親和性及び検出抗体が接近できるように十分な多孔性を有する適当な多孔質材料から構成してもよい。水和状態のゼラチン状材料を使用し得るが、微孔質材料が通常好ましい。約0.01～約0.5mm、好ましくは約0.1mmの厚さを有するシートの形態の多孔質基質が好ましい。孔径はかなり異なり得るが、孔径は好ましくは約0.025～約15ミクロン、より好ましくは約0.15～約15ミクロンである。抗体を基質に対して共有結合させる化学的プロセスにより基質の表面を活性化してもよい。抗原または抗体を基質に対する不可逆結合が通常疎水力を介する吸着により生ずる。或いは、結合が抗体のアナライトに結合する能力を干渉しない限り、抗体を基質に対して共有結合させるために化学カップリング剤または他の手段を使用し得る。或いは、予めストレプトアビジン（例えば、DYNAL（登録商標）磁気ビーズ、Invitrogen、カリフォルニア州カールズバッド）、ビオチン（例えば、Power-Bind™-SAM-PTストレプトアビジンをコーティングした（Seradyn、インディアナ州インディアナポリス）を用いる）または抗種特異性モノクローナル抗体でコーティングしたマイクロ粒子で抗体を結合させてもよい。所要により、抗体上の各種官能基と反応させることができるように基質を誘導体化させてもよい。誘導体化ではあるカップリング剤を使用しなければならず、その例には無水マレイン酸、N-ヒドロキシスクシンイミド及び1-エチル-3-（3-ジメチルアミノプロピル）カルボジイミドが含まれるが、これらに限定されない。所望ならば、各々が1つ以上のアナライトに対して特異的な1つ以上の捕捉試薬（例えば、抗体またはその断片）を異なる物理

10

20

30

40

50

的または指向可能な位置で固相に結合させてもよい（例えば、バイオチップコンフィギュレーション（例えば、米国特許No. 6, 225, 047；国際特許出願公開WO 99/51773；米国特許No. 6, 329, 209；国際特許出願公開WO 00/56934；及び米国特許No. 5, 242, 828を参照されたい）の場合のように）。捕捉試薬を質量分析プローブに固体支持体として結合させるならば、プローブに結合したアナライトの量はレーザー脱離イオン化質量分析法により検出され得る。或いは、単カラムに1つ以上の捕捉試薬を用いて誘導体化した別のビーズを充填させてもよく、これによりアナライトが1箇所で捕捉される（抗体誘導体化ビーズに基づくテクノロジー、例えばLuminox（テキサス州オースチン）のxMAPテクノロジーを参照されたい）。

【0538】

10

アナライト（または、その断片）についてアッセイしようとする被験サンプルを少なくとも1つの捕捉抗体（例えば、第1捕捉抗体）と接触させたら、混合物をインキュベートして、第1抗体（または、複数の抗体）－アナライト（または、その断片）複合体を形成する。インキュベーションは約4.5～約10.0のpH、約2℃～約45℃の温度及び少なくとも約1分間～約18時間、好ましくは約1～約24分間、最も好ましくは約4～約18分間実施する。本明細書中に記載されているイムノアッセイは1ステップ（被験サンプル、少なくとも1つの捕捉抗体及び少なくとも1つの検出抗体のすべてを逐次または同時に反応容器に添加することを意味する）または2つ以上のステップ（例えば、2ステップ、3ステップ等）で行われる。

【0539】

20

（第1または複数の）捕捉抗体／アナライト（または、その断片）複合体を形成した後、複合体を少なくとも1つの検出抗体と（第1または複数の）捕捉抗体／アナライト（または、その断片）／第2検出抗体複合体を形成できる条件下で接触させる。明瞭のために「第2」抗体（例えば、第2検出抗体）として捕捉されるが、実際捕捉及び／または検出のために複数の抗体を使用している場合には少なくとも1つの検出抗体はイムノアッセイで使用される第2、第3、第4等の抗体であり得る。捕捉抗体／アナライト（または、その断片）複合体を2つ以上の検出抗体と接触させると、（第1または複数の）捕捉抗体／アナライト（または、その断片）／（複数の）検出抗体複合体が形成される。捕捉抗体（例えば、第1捕捉抗体）の場合のような少なくとも1つの（例えば、第2及びその後の）検出抗体を捕捉抗体／アナライト（または、その断片）複合体と接触させるとき、上記したと同様の条件下でのインキュベーション時間が（第1または複数の）捕捉抗体／アナライト（または、その断片）／（第2または複数の）検出抗体複合体の形成のために必要とされる。好ましくは、少なくとも1つの検出抗体は検出可能な標識を含有している。（第1または複数の）捕捉抗体／アナライト（または、その断片）／（第2または複数の）検出抗体複合体を形成する前、同時またはその後に、検出可能な標識を少なくとも1つの検出抗体（例えば、第2検出抗体）に結合させ得る。当業界で公知の検出可能な標識を使用し得る（Polak and Van Noorden（1997）及びHaugland（1996）文献を含めた先の検討を参照されたい）。

30

【0540】

検出可能な標識は直接またはカップリング剤を介して抗体に結合され得る。使用され得るカップリング剤の例は、ミズーリ州セントルイスに所在のSigma-Aldrichから市販されているEDAC（1-エチル-3-（3-ジメチルアミノプロピル）カルボジイミド塩酸塩）である。使用され得る他のカップリング剤は当業界で公知である。抗体に対して検出可能な標識を結合させるための方法は当業界で公知である。加えて、抗体に対する検出可能な標識のカップリングを容易にする末端基を既に含有している多くの検出可能な標識、例えばCPSP-アクリジニウムエステル（すなわち、9-[N-トシル-N-(3-カルボキシプロピル)]-10-(3-スルホプロピル)アクリジニウムカルボキサミド）またはSPSP-アクリジニウムエステル（すなわち、N10-(3-スルホプロピル)-N-(3-スルホプロピル)-アクリジニウム-9-カルボキサミド）が購入され得るかまたは合成され得る。

40

50

【0541】

標識を定量する前に、（第1または複数の）捕捉抗体／アナライト／（第2または複数の）検出抗体複合体を被験サンプルの残りから分離し得るが、分離しなくてもよい。例えば、少なくとも1つの捕捉抗体（例えば、第1捕捉抗体）を固体支持体（例えば、ウェルまたはビーズ）に結合させたならば、固体支持体との接触から（被験サンプルの）流体を除去することにより分離が達成され得る。或いは、少なくとも第1捕捉抗体を固体支持体に結合させたならば、アナライト含有サンプル及び少なくとも1つの第2検出抗体を同時に接触させて第1（複数の）抗体／アナライト／第2（複数の）抗体複合体を形成した後、固体支持体との接触から流体（被験サンプル）を除去する。少なくとも1つの第1捕捉抗体が固体支持体に結合しないならば、標識の量を定量するために（第1または複数の）捕捉抗体／アナライト／（第2または複数の）検出抗体複合体を被験サンプルから除去しなくてもよい。

10

【0542】

標識された捕捉抗体／アナライト／検出抗体複合体（例えば、第1捕捉抗体／アナライト／第2検出抗体複合体）を形成した後、複合体中の標識の量を当業界で公知の技術を用いて定量する。例えば、酵素標識を使用するならば、標識された複合体を定量可能な反応（例えば、発色）を与える標識に対する基質と反応させる。標識が放射性標識ならば、標識を適切な手段（例えば、シンチレーションカウンター）を用いて定量する。標識が蛍光標識ならば、標識を1つの色の光（「励起波長」として公知である）で刺激し、刺激にตอบสนองして標識より発せられる別の色（「放出波長」として公知である）を検出することにより標識を定量する。標識が化学発光標識ならば、発せられる光を目視により、またはルミノメーター、X線フィルム、高速写真フィルム、CCDカメラ等を用いて検出することにより標識を定量する。複合体中の標識の量を定量したら、被験サンプル中のアナライトまたはその断片の濃度を適切な手段により、例えば公知濃度を有するアナライトまたはその断片の連続希釈物を用いて作成した標準曲線を用いることにより測定される。アナライトまたはその断片の連続希釈物を用いる以外、標準曲線は重量分析により、質量分析法により、及び他の当業界で公知の技術により作成され得る。

20

【0543】

ARCHITECT（登録商標）アナライザーを使用する化学発光マイクロ粒子アッセイでは、コンジュゲート希釈剤pHは約6.0±0.2でなければならず、マイクロ粒子コーティングバッファーはほぼ室温（すなわち、約17～約27℃）に維持されなければならず、マイクロ粒子コーティングバッファーpHは約6.5±0.2でなければならず、マイクロ粒子希釈剤pHは約7.8±0.2でなければならない。固体は、好ましくは約0.2%未満、例えば約0.15%、約0.14%未満、約0.13%未満、約0.12%未満、または約0.11%未満（例えば、約0.10%）である。

30

【0544】

FPIAは競合結合イムノアッセイ原理に基づいている。蛍光標識された化合物は、直接偏光により励起されたとき回転角度に逆比例する偏光度を有する蛍光を発する。蛍光標識されたトレーサー抗体複合体を直線偏光により励起すると、蛍光基は光が吸収される時間と光が発せられる時間の間の回転から拘束されるので発せられた光は高度に偏光されたままである。「遊離」トレーサー化合物（すなわち、抗体に結合しない化合物）を直線偏光により励起させると、その回転は競合結合イムノアッセイにおいて産生される対応するトレーサー抗体コンジュゲートよりも非常に速い。特殊な取り扱い及び廃棄を必要とする放射性物質がないので、FPIAはRIAよりも有利である。加えて、FPIAは容易且つ迅速に実施され得る均質アッセイである。

40

【0545】

上記にてらし、被験サンプル中のアナライト（または、その断片）の存在、量または濃度を調べる方法を提供する。この方法は、（i）（i'）抗体、アナライトに結合できる抗体の断片、アナライトに結合できる抗体のバリエーション、アナライトに結合できる抗体のバリエーションの断片、及びアナライトに結合できるDVD-Ig（または、その断片、バリ

50

アント、またはバリエーションの断片)の少なくとも1つ及び(i i')少なくとも1つの検出可能な標識を使用し、(i i)被験サンプル中のアナライト(または、その断片)の存在、量または濃度の直接または間接指標としての検出可能な標識より発生したシグナルを対照またはカリブレーター中のアナライト(または、その断片)の存在、量または濃度の直接または間接指標としての発生したシグナルと比較することにより被験サンプルをアナライト(または、その断片)についてアッセイすることを含む。場合により、カリブレーターはカリブレーターの各々がアナライトの濃度により他のカリブレーターとは異なる一連のカリブレーターの一部である。

【0546】

方法は、(i)被験サンプルを抗体、アナライトに結合できる抗体の断片、アナライトに結合できる抗体のバリエーション、アナライトに結合できる抗体のバリエーションの断片、及びアナライトに結合できるDVD-Ig(または、その断片、バリエーション、またはバリエーションの断片)からなる群から選択されるアナライト(または、その断片)に対する少なくとも1つの第1特異的結合パートナーと接触させて、第1特異的結合パートナー／アナライト(または、その断片)複合体を形成し、(i i)第1特異的結合パートナー／アナライト(または、その断片)複合体を抗アナライト抗体、検出可能に標識されたアナライトに結合できる抗アナライト抗体の断片、検出可能に標識されたアナライトに結合できる抗アナライト抗体のバリエーション、検出可能に標識されたアナライトに結合できる抗アナライト抗体のバリエーションの断片及び検出可能に標識されたDVD-Ig(または、その断片、バリエーション、またはバリエーションの断片)からなる群から選択されるアナライト(または、その断片)に対する少なくとも1つの第2特異的結合パートナーと接触させて、第1特異的結合パートナー／アナライト(または、その断片)／第2特異的結合パートナー複合体を形成し、(i i i)(i i)で形成された第1特異的結合パートナー／アナライト(または、その断片)／第2特異的結合パートナー複合体中の検出可能な標識より発生したシグナルを検出または測定することにより被験サンプル中のアナライトの存在、量または濃度を調べることを含む得る。アナライト(または、その断片)に対する少なくとも1つの第1特異的結合パートナー及び／またはアナライト(または、その断片)に対する少なくとも1つの第2特異的結合パートナーは本明細書中に記載されているDVD-Ig(または、その断片、バリエーション、またはバリエーションの断片)である方法が好ましい。

【0547】

或いは、方法は、被験サンプルを抗体、アナライトに結合できる抗体の断片、アナライトに結合できる抗体のバリエーション、アナライトに結合できる抗体のバリエーションの断片及びDVD-Ig(または、その断片、バリエーション、またはバリエーションの断片)からなる群から選択されるアナライト(または、その断片)に対する少なくとも1つの第1特異的結合パートナーと接触させ、同時にまたは逐次任意の順序で被験サンプルを少なくとも1つの第1特異的結合パートナーに対する結合に対してアナライト(または、その断片)と競合し且つ検出可能に標識されたアナライト、検出可能に標識された第1特異的結合パートナーに結合できるアナライトの断片、検出可能に標識された第1特異的結合パートナーに結合できるアナライトのバリエーション及び検出可能に標識された第1特異的結合パートナーに結合できるアナライトのバリエーションの断片からなる群から選択される少なくとも1つの第2特異的結合パートナーと接触させることを含む得る。被験サンプル中に存在するアナライト(または、その断片)及び少なくとも1つの第2特異的結合パートナーは相互に競合して、それぞれ第1特異的結合パートナー／アナライト(または、その断片)複合体及び第1特異的結合パートナー／第2特異的結合パートナー複合体を形成する。方法は、更に(i i)で形成された第1特異的結合パートナー／第2特異的結合パートナー複合体中の検出可能な標識より発生したシグナルを検出または測定することにより被験サンプル中のアナライトの存在、量または濃度を調べることを含む、第1特異的結合パートナー／第2特異的結合パートナー複合体中の検出可能な標識より発生したシグナルは被験サンプル中のアナライトの量または濃度に逆比例する。

【0548】

上記方法は、更に被験サンプルを採取した患者の治療／予防的処置の有効性を診断、予測または評価することを含み得る。方法が更に被験サンプルを採取した患者の治療／予防的処置の有効性の評価を含むならば、この方法は場合により更に有効性を向上させるために所要により患者の治療／予防的処置を修飾することを含む。方法は自動システムまたは半自動システムにおいて使用するために改作され得る。

【0549】

アッセイ方法（及び、そのためのキット）に関して、市販されている抗アナライト抗体または文献に記載されている抗アナライトの産生方法を使用することができる。各種抗体の市販業者には、Santa Cruz Biotechnology Inc.（カリフォルニア州サンタクルーズ）、GenWay Biotech, Inc.（カリフォルニア州サンジェゴ）及びR&D Systems（RDS；ミズーリ州ミネアポリス）が含まれるが、これらに限定されない。

10

【0550】

通常、例えば疾患または疾患のリスクを検出するために、前決定したレベルが被験サンプルをアナライトまたはその断片についてアッセイして得た結果を評価するためのベンチマークとして使用される。通常、比較する場合、前決定したレベルは、アナライトの存在、量または濃度の疾患、障害または状態の特定ステージまたはエンドポイントとの関連または相関、或いは特定の臨床指標との関連または相関が得られ得るように十分な数の時間及び適切な条件下で特定アッセイを実施することにより得られる。典型的には、前決定したレベルは、参照被験者（または、被験者の集団）をアッセイして得られる。測定されるアナライトには、その断片、その分解生成物及び／またはその酵素開裂産物が含まれ得る。

20

【0551】

特に、疾患の進行及び／または治療をモニターするために使用される前決定したレベルに関して、アナライトまたはその断片の量または濃度は「未変化」、「プラス」（または、「プラスに変化した」）、または「マイナス」（または、「マイナスに変化した」）であり得る。「上昇した」または「増加した」は、被験サンプル中の量または濃度が典型的または正常なレベルまたは範囲（例えば、前決定したレベル）よりも高い、または別の参照レベルまたは範囲（例えば、前のまたは基準サンプル）よりも高いことを指す。用語「低下した」または「減少した」は、被験サンプル中の量または濃度が典型的または正常なレベルまたは範囲（例えば、前決定したレベル）よりも低い、または別の参照レベルまたは範囲（例えば、前のまたは基準サンプル）よりも低いことを指す。用語「変化した（altered）」は、サンプル中の量または濃度が典型的または正常なレベルまたは範囲（例えば、前決定したレベル）または別の参照レベルまたは範囲（例えば、前のまたは基準サンプル）に比して変化している（増加または減少している）ことを指す。

30

【0552】

アナライトに対する典型的または正常なレベルまたは範囲は標準プラクティスに従って規定される。幾つかの場合にはアナライトのレベルが非常に低いので、所謂変化したレベルまたは変化は、実験誤差またはサンプル変動では説明できない典型的または正常なレベルまたは範囲、或いは参照レベルまたは範囲と比較して正味の変化があるときに生ずると見なされ得る。よって、特定サンプルで測定したレベルを所謂正常被験者由来の類似サンプルで測定したレベルまたはレベルの範囲と比較する。これに関連して、「正常被験者」は例えば検出され得る疾患を持たない個人であり、「正常」（ときどき、「対照」と呼ばれる）患者または集団は例えばそれぞれ検出され得る疾患を示さない患者または集団である。更に、アナライトがヒト集団の大部分で高レベルで日常的に存在していないとすると、「正常被験者」は実質的に検出可能な増加または上昇した量または濃度のアナライトを有さない個人と見なされ得、「正常」（ときどき、「対照」と呼ばれる）患者または集団は実質的に検出可能な増加または上昇した量または濃度のアナライトを示さない患者または集団である。「見かけ正常な被験者」は、アナライトをまだ評価したことがないかまたは現在評価している被験者である。アナライトが通常検出され得ない（例えば、正常レベ

40

50

ルは0であるかまたは正常集団の約25～約75百分位数の範囲である)が被験サンプル中で検出されたとき、または被験サンプル中にアナライトが正常レベルよりも高いレベルで存在しているとき、アナライトのレベルは「上昇している」と言われる。よって、特に、本発明は、特定の疾患、障害または状態を有しているかまたはそのリスクがある被験者のスクリーニング方法を提供する。このアッセイ方法は他のマーカー等のアッセイをも含み得る。

【0553】

従って、本明細書中に記載されている方法は、被験者が所与の疾患、障害または状態を有しているかまたは発症するリスクがあるかどうかを調べるために使用され得る。具体的には、前記方法は、

(a) 被験者由来の被験サンプル中のアナライト (または、その断片) の濃度または量を (例えば、本明細書中に記載されている方法または当業界で公知の方法を用いて) 測定するステップ; 及び

(b) ステップ(a)で測定したアナライト (または、その断片) の濃度または量を前決定したレベルと比較するステップ;

を含み得、ステップ(a)で測定したアナライトの濃度または量が前決定したレベルに対してプラスならば、被験者は所与の疾患、障害または状態を有していないかまたはそのリスクがないと判定される。しかしながら、ステップ(a)で測定したアナライトの濃度または量が前決定したレベルに対してマイナスならば、被験者は所与の疾患、障害または状態を有しているかまたはそのリスクがあると判定される。

【0554】

加えて、本発明では被験者における疾患の進行をモニターする方法を提供する。最適には、前記方法は、

(a) 被験者由来の被験サンプル中のアナライトの濃度または量を測定するステップ;

(b) その後の被験者由来の被験サンプル中のアナライトの濃度または量を測定するステップ; 及び

(c) ステップ(b)で測定したアナライトの濃度または量をステップ(a)で測定したアナライトの濃度または量と比較するステップ;

を含み、ステップ(b)で測定した濃度または量がステップ(a)で測定したアナライトの濃度または量と比較して未変化またはマイナスならば、被験者において疾患は継続、進行または悪化していると判断される。対照的に、ステップ(b)で測定したアナライトの濃度または量がステップ(a)で測定したアナライトの濃度または量と比較してプラスならば、被験者において疾患は停止、回復または改善していると判断される。

【0555】

場合により、方法は、更にステップ(a)で測定したアナライトの濃度または量を例えば前決定したレベルと比較することを含む。更に、場合により、方法は、例えばステップ(b)で測定したアナライトの濃度または量が前決定したレベルに対してマイナスに変化しているならば、被験者を1つ以上の医薬組成物で一時期治療することを含む。

【0556】

なお更に、方法は1つ以上の医薬組成物での治療を受けている被験者における治療をモニターするために使用され得る。具体的には、前記方法は、被験者に1つ以上の医薬組成物を投与する前に被験者由来の第1被験サンプルを用意することを含む。次いで、被験者由来の第1被験サンプル中のアナライトの濃度または量を (例えば、本明細書中に記載されている方法または当業界で公知の方法を用いて) 測定する。アナライトの濃度または量を測定した後、場合によりそのアナライトの濃度または量を前決定したレベルと比較する。第1被験サンプル中の測定したアナライトの濃度または量が前決定したレベルより低いならば、被験者を1つ以上の医薬組成物で治療しない。しかしながら、第1被験サンプル中の測定したアナライトの濃度または量が前決定したレベルより高いならば、被験者を1つ以上の医薬組成物で一時期治療する。被験者を1つ以上の医薬組成物で治療する期間は当業者により決定され得る (例えば、期間は約7日間～約2年間、好ましくは約14日間

10

20

30

40

50

～約 1 年間であり得る）。

【0557】

1 つ以上の医薬組成物での治療の経過中、第 2 及びその後の被験サンプルを被験者から採取する。被験サンプルの数及びその被験サンプルを被験者から採取する時間は重要でない。例えば、第 2 被験サンプルは被験者に最初に 1 つ以上の医薬組成物を投与してから 7 日後に採取し得、第 3 被験サンプルは被験者に最初に 1 つ以上の医薬組成物を投与してから 2 週間後に採取し得、第 4 被験サンプルは被験者に最初に 1 つ以上の医薬組成物を投与してから 3 週間後に採取し得、第 5 被験サンプルは被験者に最初に 1 つ以上の医薬組成物を投与してから 4 週間後に採取し得る。

【0558】

第 2 または後続の被験サンプルの各々を被験者から採取した後、第 2 または後続の被験サンプル中のアナライトの濃度または量を（例えば、本明細書中に記載されている方法または当業界で公知の方法を用いて）測定する。第 2 または後続の被験サンプルの各々で測定したアナライトの濃度または量を第 1 被験サンプル（例えば、元々場合により前決定したレベルと比較した被験サンプル）で測定したアナライトの濃度または量と比較する。ステップ（c）で測定したアナライトの濃度または量がステップ（a）で測定したアナライトの濃度または量と比較してプラスであるならば、被験者における疾患は停止、回復または改善していると判断され、被験者にはステップ（b）の医薬組成物の 1 つの投与を継続しなければならない。しかしながら、ステップ（c）で測定したアナライトの濃度または量がステップ（a）で測定したアナライトの濃度または量と比較して未変化またはマイナスならば、被験者における疾患は継続、進行または悪化していると判断され、ステップ（b）において被験者に対して投与した 1 つ以上の医薬組成物で高濃度で被験者を治療しなければならない。また、ステップ（b）において被験者に対して投与した 1 つ以上の医薬組成物とは異なる 1 つ以上の医薬組成物で被験者を治療しなければならない。具体的には、被験者は、被験者のアナライトレベルを減少または低下させるために被験者が以前受けた 1 つ以上の医薬組成物とは異なる 1 つ以上の医薬組成物で治療され得る。

【0559】

一般的に、反復検査をなし得る（例えば、疾患進行及び／または治療に対する応答をモニターする）アッセイの場合、第 2 または後続の被験サンプルは第 1 被験サンプルを被験者から採取してからある時間後採取する。具体的には、被験者由来の第 2 被験サンプルは第 1 被験サンプルを被験者から採取してから数分間、数時間、数日間、数週間または数年後に採取し得る。例えば、第 2 被験サンプルは、第 1 被験サンプルを被験者から採取してから約 1 分、約 5 分、約 10 分、約 15 分、約 30 分、約 45 分、約 60 分、約 2 時間、約 3 時間、約 4 時間、約 5 時間、約 6 時間、約 7 時間、約 8 時間、約 9 時間、約 10 時間、約 11 時間、約 12 時間、約 13 時間、約 14 時間、約 15 時間、約 16 時間、約 17 時間、約 18 時間、約 19 時間、約 20 時間、約 21 時間、約 22 時間、約 23 時間、約 24 時間、約 2 日、約 3 日、約 4 日、約 5 日、約 6 日、約 7 日、約 2 週間、約 3 週間、約 4 週間、約 5 週間、約 6 週間、約 7 週間、約 8 週間、約 9 週間、約 10 週間、約 11 週間、約 12 週間、約 13 週間、約 14 週間、約 15 週間、約 16 週間、約 17 週間、約 18 週間、約 19 週間、約 20 週間、約 21 週間、約 22 週間、約 23 週間、約 24 週間、約 25 週間、約 26 週間、約 27 週間、約 28 週間、約 29 週間、約 30 週間、約 31 週間、約 32 週間、約 33 週間、約 34 週間、約 35 週間、約 36 週間、約 37 週間、約 38 週間、約 39 週間、約 40 週間、約 41 週間、約 42 週間、約 43 週間、約 44 週間、約 45 週間、約 46 週間、約 47 週間、約 48 週間、約 49 週間、約 50 週間、約 51 週間、約 52 週間、約 1.5 年、約 2 年、約 2.5 年、約 3.0 年、約 3.5 年、約 4.0 年、約 4.5 年、約 5.0 年、約 5.5 年、約 6.0 年、約 6.5 年、約 7.0 年、約 7.5 年、約 8.0 年、約 8.5 年間、約 9.0 年、約 9.5 年または約 10.0 年後に被験者から採取し得る。

【0560】

疾患進行をモニターするために使用する場合、上記アッセイは急性状態を患っている被

験者における疾患の進行をモニターするために使用され得る。救急治療状態としても公知の急性状態は、例えば心血管系または排泄系を含めた急性の生命を脅かす疾患または他の救急医学的状态を指す。典型的には、救急治療状態は、病院施設（非限定的に、救急ルーム、集中治療室、外傷センターまたは他の緊急治療施設を含む）での急性医学的介入または救急医療士または他の現場医療関係者による投与を必要とする状態を指す。救急治療状態の場合、反復モニタリングは通常短い時間枠で、すなわち数分間、数時間または数日間（例えば、約1分間、約5分間、約10分間、約15分間、約30分間、約45分間、約60分間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約10時間、約11時間、約12時間、約13時間、約14時間、約15時間、約16時間、約17時間、約18時間、約19時間、約20時間、約21時間、約22時間、約23時間、約24時間、約2日間、約3日間、約4日間、約5日間、約6日間または約7日間）以内に実施され、最初のアッセイも同様に通常疾患または状態の発症から短い時間枠で、例えば約数分間、数時間または数日間以内に実施される。

10

【0561】

アッセイは、慢性、すなわち非急性状態を患っている被験者における疾患の進行をモニターするためにも使用され得る。非救急治療または非急性状態は、例えば心血管系または排泄系を含めた急性の生命を脅かす疾患または他の救急医学的状态以外の状態を指す。典型的には、非急性状態には、長期間または長く続く状態が含まれる。非急性状態の場合、反復モニタリングは通常長い時間枠で、例えば数時間、数日間、数週間、数ヶ月間または数年間（例えば、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約10時間、約11時間、約12時間、約13時間、約14時間、約15時間、約16時間、約17時間、約18時間、約19時間、約20時間、約21時間、約22時間、約23時間、約24時間、約2日間、約3日間、約4日間、約5日間、約6日間、約7日間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、約6週間、約7週間、約8週間、約9週間、約10週間、約11週間、約12週間、約13週間、約14週間、約15週間、約16週間、約17週間、約18週間、約19週間、約20週間、約21週間、約22週間、約23週間、約24週間、約25週間、約26週間、約27週間、約28週間、約29週間、約30週間、約31週間、約32週間、約33週間、約34週間、約35週間、約36週間、約37週間、約38週間、約39週間、約40週間、約41週間、約42週間、約43週間、約44週間、約45週間、約46週間、約47週間、約48週間、約49週間、約50週間、約51週間、約52週間、約1.5年間、約2年間、約2.5年間、約3.0年間、約3.5年間、約4.0年間、約4.5年間、約5.0年間、約5.5年間、約6.0年間、約6.5年間、約7.0年間、約7.5年間、約8.0年間、約8.5年間、約9.0年間、約9.5年間または約10.0年間）以内に実施され、最初のアッセイは通常同様に疾患または状態の発症から長い時間枠で、例えば約数時間、数日間、数ヶ月間または数年間以内に実施される。

20

30

【0562】

更に、上記アッセイは被験者から採取した第1被験サンプルを用いて実施され得、第1被験サンプルは1つのソース（例えば、尿、血清または血漿）から採取される。場合により、上記アッセイはその後被験者から採取した第2被験サンプルを用いて繰り返され得、第2被験サンプルは別のソースから採取される。例えば、第1被験サンプルを尿から採取したならば、第2被験サンプルは血清または血漿から採取され得る。第1被験サンプル及び第2被験サンプルを用いてアッセイから得た結果を比較し得る。比較は被験者における疾患または状態のステータスを評価するために使用され得る。

40

【0563】

更に、本発明は、所与の疾患、障害または状態の素因があるまたは患っている被験者が治療の恩恵を受けているかどうかを調べる方法にも関する。特に、本発明はアナライトコンパニオン診断方法及び製品に関する。よって、更に最適に本明細書中に記載されている「被験者における疾患の治療のモニタリング方法」は治療のための候補者を選択または同定することをも包含する。

50

【0564】

よって、特定実施形態では、本発明は、所与の疾患、障害または状態を有しているかまたはそのリスクのある被験者が治療に対する候補者であるかを決定する方法をも提供する。一般的に、被験者は所与の疾患、障害または状態の幾つかの症状を経験している、または所与の疾患、障害または状態を有しているかまたはそのリスクがあると実際診断された、及び／または本明細書中に記載されているアナライトまたはその断片の好ましくない濃度または量を示すものである。

【0565】

方法は、場合により本明細書中に記載されているアッセイを含み、アナライトは被験者を1つ以上の医薬組成物（例えば、アナライトが関与する作用メカニズムに関連する医薬）で、または免疫抑制治療または免疫吸着治療により治療する前及びその後に評価され、或いはアナライトは前記治療後に評価され、アナライトの濃度または量を前決定したレベルと比較する。治療後観察されたアナライトの濃度または量が好ましくない被験者が更なる治療または治療の継続の恩恵を受けないことが確認される。一方、治療後観察されたアナライトの濃度または量が好ましいと、被験者が更なる治療または治療の継続の恩恵を受けることが確認される。この確認は臨床研究の管理及び改良された患者ケアの提供を助ける。

【0566】

本明細書中のある実施形態は本明細書中で検討されている所与の疾患、障害または状態を評価するために使用する場合に有利であるが、アッセイ及びキットは他の疾患、障害及び状態におけるアナライトを評価するために使用され得ることは言うまでもない、。

【0567】

アッセイ方法は、所与の疾患、障害または状態を改善する化合物を同定するためにも使用され得る。例えば、アナライトを発現する細胞を候補化合物と接触させ得る。化合物と接触させた細胞中のアナライトの発現レベルは本明細書中に記載されているアッセイ方法を用いて対照細胞の発現レベルと比較され得る。

【0568】

(I I. キット)

被験サンプル中のアナライト（または、その断片）の存在、量また濃度について被験サンプルをアッセイするためのキットも提供する。キットは、被験サンプルをアナライト（または、その断片）についてアッセイするための少なくとも1つの成分及び被験サンプルをアナライト（または、その断片）についてアッセイするための使用説明書を含む。被験サンプルをアナライト（または、その断片）についてアッセイするための少なくとも1つの成分には、場合により固相上に固定化した抗アナライトDVD-Ig（または、その断片、バリエント、またはバリエントの断片）を含む組成物が含まれ得る。

【0569】

キットは、被験サンプルをアナライトについてイムノアッセイ（例えば、化学発光マイクロ粒子イムノアッセイ）によりアッセイするための少なくとも1つの成分及び被験サンプルをアナライトについてイムノアッセイ（例えば、化学発光マイクロ粒子イムノアッセイ）によりアッセイするための使用説明書を含む。例えば、キットはアナライトに対する少なくとも1つの特異的結合パートナー（例えば、抗アナライト、モノクローナル／ポリクローナル抗体（または、アナライトに結合できるその断片、アナライトに結合できるそのバリエント、またはアナライトに結合できるバリエントの断片））または抗アナライトDVD-Ig（または、その断片、バリエント、またはバリエントの断片）を含み得、いずれも検出可能に標識されていてもよい。或いはまたは加えて、キットは、抗アナライト、モノクローナル／ポリクローナル抗体（または、アナライトに結合できるその断片、アナライトに結合できるそのバリエント、またはアナライトに結合できるバリエントの断片）または抗アナライトDVD-Ig（または、その断片、バリエント、またはバリエントの断片）に対する結合に対して被験サンプル中のアナライトと競合し得る検出可能に標識されたアナライト（または、抗アナライト、モノクローナル／ポリクローナル抗体または抗ア

10

20

30

40

50

ナライトDVD-Ig（または、その断片、バリエーション、またはバリエーションの断片）を含み得、いずれも固体支持体上に固定化されていてもよい。キットはカリブレーターまたは対照（例えば、単離または精製されたアナライト）を含み得る。キットは、アッセイを実施するための少なくとも1つの容器（例えば、第1特異的結合パートナーで既にコーティングされているチューブ、微量測定プレートまたはストリップ）及び／またはバッファー（例えば、アッセイバッファーまたは洗浄バッファー）を含み得、前記バッファーのいずれか1つは濃厚溶液、検出可能な標識（例えば、酵素標識）に対する基質溶液または停止溶液として提供され得る。好ましくは、キットはアッセイを実施するために必要なすべての成分、すなわち試薬、標準、バッファー、希釈剤等を含む。使用説明書はペーパー形式またはコンピューターで読み込み可能な形式（例えば、ディスク、CD、DVD等）であり得る。

10

【0570】

抗体（例えば、抗アナライト抗体または抗アナライトDVD-Ig）またはトレーサーが本明細書中に記載されている検出可能な標識（例えば、蛍光基、放射活性部分、酵素、ビオチン／アビジン標識、発色団、化学発光標識等）を組み込んでもよく、またはキットが検出可能な標識を実施するための試薬を含んでいてもよい。抗体、カリブレーター及び／または対照を別々の容器に用意しても、適当なアッセイフォーマット（例えば、微量測定プレート）に前もって取り付けてもよい。

【0571】

場合により、キットは品質コントロール成分（例えば、感受性パネル、カリブレーター及びポジティブ対照）を含む。品質コントロール試薬の調製は当業界で公知であり、各種の免疫診断製品の添付文書に記載されている。場合により、感受性パネルメンバーがアッセイ性能特性を確立するために使用されており、更に場合によりイムノアッセイキット試薬の完全性及びアッセイの標準化の有用な指標である。

20

【0572】

キットは、場合により診断アッセイを行うためまたは品質コントロール評価を容易にするために必要な他の試薬、例えばバッファー、塩、酵素、酵素補因子、酵素基質、検出試薬等をも含み得る。他の成分、例えばバッファー及び被験サンプルの単離及び／または処理のための溶液（例えば、前処理試薬）をもキットに含み得る。キットは更に1つ以上の他の対照を含み得る。キットの成分の1つ以上を凍結乾燥してもよく、この場合キットは更に凍結乾燥成分を再構成するのに適した試薬を含み得る。

30

【0573】

場合により、キットの各種成分は所要により適当な容器（例えば、微量測定プレート）中に備えられる。キットは更にサンプルを保持または保存するための容器（例えば、尿サンプルのための容器またはカートリッジ）を含み得る。適切ならば、キットは、場合により反応容器、混合容器、及び試薬または被験サンプルの調製を容易にする他の成分をも含み得る。キットは被験サンプルを得るのを補助する1つ以上の器具（例えば、注射針、ピペット、鉗子、計量スプーン等）をも含み得る。

検出可能な標識が少なくとも1つのアクリジニウム化合物であるならば、キットは少なくとも1つのアクリジニウム-9-カルボキサミド、少なくとも1つのアクリジニウム-9-カルボキシレートアリアルエステルまたはその組合せを含み得る。検出可能な標識が少なくとも1つのアクリジニウム化合物であるならば、キットは過酸化水素源（例えば、バッファー、溶液及び／または少なくとも1つの塩基性溶液）をも含み得る。所望ならば、キットは固相（例えば、磁気粒子、ビーズ、試験管、微量測定プレート、キュービット、膜、足場分子、フィルム、濾紙、ディスクまたはチップ）を含有し得る。

40

【0574】

（III. キット及び方法の改作）

キット（または、その成分）及び被験サンプル中のアナライトの存在、量また濃度をアッセイ（例えば、本明細書中に記載されているイムノアッセイ）により測定する方法は、例えば米国特許Nos. 5, 089, 424及び5, 006, 309に記載されており、

50

例えばAbbott Laboratories（イリノイ州アボットパーク）よりARCHITECT（登録商標）として市販されている各種の自動及び半自動システム（固相がマイクロ粒子からなるシステムを含む）において使用するために改作され得る。

【0575】

非自動システム（例えば、ELISA）と比較した自動または半自動システム間の差の幾つかには、第1特異的結合パートナー（例えば、抗アナライト、モノクローナル／ポリクローナル抗体（または、その断片、そのバリエーションまたはそのバリエーションの断片）または抗アナライトDVD-Ig（または、その断片、そのバリエーション、またはそのバリエーションの断片）が結合している基質；どちらにしても、サンドイッチ形成及びアナライト反応性が影響され得る）、及び捕捉、検出及び／または任意の洗浄ステップの長さ及びタイミングが含まれる。ELISAのような非自動フォーマットではサンプル及び捕捉試薬とのインキュベーション時間を比較的長くしなければならない（例えば、約2時間）が、自動または半自動フォーマット（例えば、ARCHITECT（登録商標）、Abbott Laboratories）は比較的短いインキュベーション時間（例えば、ARCHITECT（登録商標）の場合約18分間）を有し得る。同様に、ELISAのような非自動フォーマットは検出抗体（例えば、コンジュゲート試薬）を比較的長いインキュベーション時間（例えば、約2時間）インキュベートし得るが、自動または半自動フォーマット（例えば、ARCHITECT（登録商標））は比較的短いインキュベーション時間（例えば、ARCHITECT（登録商標）の場合約4分間）を有し得る。

【0576】

Abbott Laboratoriesから入手し得る他のプラットフォームには、ASYM（登録商標）、IMx（登録商標）（例えば、全文参照により本明細書に組み入れる米国特許No. 5, 294, 404）、PRISM（登録商標）、EIA（ビーズ）及びQuantum（商標）II、並びに他のプラットフォームが含まれるが、これらに限定されない。加えて、アッセイ、キット及びキット成分は他のフォーマット、例えば電気化学または他のハンドヘルドまたはポイントオブケアシステムで使用され得る。本発明は、例えばサンドイッチイムノアッセイを実施する市販のAbbott Point of Care（i-STAT（登録商標）、Abbott Laboratories）電気化学イムノアッセイシステムに対して適用可能である。イムノセンサー、その製造方法及び使い捨てテストデバイスにおける操作は、例えばそれらに関する教示のために全文参照によりを組み合わせる米国特許No. 5, 063, 081、米国特許出願公開No. 2003/0170881、米国特許出願公開No. 2004/0018577、米国特許出願公開No. 2005/0054078及び米国特許出願公開No. 2006/0160164に記載されている。

【0577】

特に、アナライトアッセイのI-STAT（登録商標）システムに対する改作に関して、以下のコンフィギュレーションが好ましい。微細作製したシリコンチップを金電流滴定型作用電極及び銀-塩化銀参照電極の対を用いて作製する。作用電極の1つの上で、固定化抗アナライト、モノクローナル／ポリクローナル抗体（または、その断片、そのバリエーション、またはそのバリエーションの断片）または抗アナライトDVD-Ig（または、その断片、そのバリエーションまたはそのバリエーションの断片）を有するポリスチレンビーズ（直径0.2mm）を電極上のパターン化ポリビニルアルコールのポリマーコーティングに付着させる。このチップをイムノアッセイに適した流体力学フォーマットでI-STAT（登録商標）カートリッジに組み込む。カートリッジのサンプル保持チャンバの壁の一部には、検出可能に標識され得るアナライトに対する特異的結合パートナー、例えば抗アナライト、モノクローナル／ポリクローナル抗体（または、アナライトに結合できるその断片、そのバリエーションまたはそのバリエーションの断片）または抗アナライトDVD-Ig（または、アナライトに結合できるその断片、そのバリエーションまたはそのバリエーションの断片）を含む層がある。カートリッジの流体パウチ内にはp-アミノフェノールホスフェートを含む水性試薬が入っている。

【0578】

操作に際し、アナライトを含有すると疑われるサンプルを試験カートリッジの保持チャンバに添加し、カートリッジをI-S-T-A-T（登録商標）リーダーに挿入する。アナライトに対する特異的結合パートナーをサンプル中に溶解した後、カートリッジ内のポンプ素子によりサンプルをチップを収容している管に押しやる。ここで、サンドイッチの形成を促進すべく振動させる。アッセイの最後から2番目のステップでは、流体をパウチから押し出し、サンプルをチップから洗い出すために管、洗浄チャンバに押し入れる。アッセイの最終ステップでは、アルカリホスファターゼ標識をp-アミノフェノールホスフェートと反応させて、ホスフェート基を開裂させ、遊離したp-アミノフェノールを作用電極で電気化学的に酸化させる。測定した電流に基づいて、リーダーは組み込み型アルゴリズム及び現場で作成した校正曲線を用いてサンプル中のアナライトの量を計算することができる。

10

【0579】

更に、本明細書中に記載されている方法及びキットが必ずイムノアッセイを実施するための他の試薬及び方法を含むことは言うまでもない。例えば、当業界で公知である及び／または例えば洗浄のためにコンジュゲート希釈剤、マイクロ粒子希釈剤及び／またはカリブレーターとして使用されるように容易に調製または最適化され得るような各種バッファーが含まれる。コンジュゲート希釈剤の例は、あるキット（Abbott Laboratories, イリノイ州アボットパーク）中で使用されており、2-（N-モルホリノ）エタンスルホン酸（MES）、塩、タンパク質ブロkker、抗微生物剤及び洗剤を含有しているARCHITECT（登録商標）コンジュゲート希釈剤である。カリブレーター希釈剤の例は、あるキット（Abbott Laboratories, イリノイ州アボットパーク）中で使用されており、MESを含有するバッファー、他の塩、タンパク質ブロkker及び抗微生物剤を含むARCHITECT（登録商標）ヒトカリブレーター希釈剤である。加えて、2008年12月31日に出願された米国特許出願No. 61/142, 048に記載されているように、例えばI-Statカートリッジフォーマットにおいてシグナルアンプリファイアとしてシグナル抗体に連結させた核酸配列を用いて改善されたシグナル発生が得られ得る。

20

【実施例】

【0580】

30

[実施例1]

DVD-Igの設計、構築及び分析

実施例1. 1：親抗体及びDVD-Igを同定し、特徴づけるために使用されるアッセイ

別段の記載がない限り、以下のアッセイを親抗体及びDVD-Igを同定し、特徴づけるために実施例を通して使用した。

【0581】

実施例1. 1. 1：親抗体及びDVD-Igのその標的抗原に対する結合及び親和性を測定するために使用されるアッセイ

実施例1. 1. 1A：直接結合ELISA

40

所望の標的抗原に結合する抗体をスクリーニングするための酵素結合免疫吸着アッセイは以下のように実施した。高結合ELISAプレート（Corning Costar, #3369, マサチューセッツ州アクトン）をリン酸緩衝食塩液（10×PBS, Abbott Bioresearch Center, Media Prep, #MPS-073, マサチューセッツ州ウォセスター）中10 µg/mlの所望の標的抗原（R&D Systems, ミネソタ州ミネアポリス）、所望の標的抗原細胞外ドメイン／FC融合タンパク質（R&D Systems, ミネソタ州ミネアポリス）、またはモノクローナルマウス抗ポリヒスチジン抗体（R&D Systems, #MAB050, ミネソタ州ミネアポリス）（100 µL／ウェル）で4℃で一晩コーティングした。プレートを0.02% トゥイーン20を含有するPBSで4回洗浄した。ブロッキング溶液（脱脂粉

50

乳，各種小売業者，PBSで2%に希釈）（300 μ L／ウェル）を添加することによりプレートを室温で30分間ブロックした。ブロッキング後、プレートを0.02% トゥイーン20を含有するPBSで4回洗浄した。

【0582】

或いは、上記したようにモノクローナルマウス抗ポリヒスチジン抗体をコーティングしたプレートに10 μ g／mLのヒスチジン（His）タグを付けた所望の標的抗原（R & D Systems，ミネソタ州ミネアポリス）（100 μ L／ウェル）を添加し、室温で1時間インキュベートした。ウェルを0.02% トゥイーン20を含有するPBSで4回洗浄した。

【0583】

上記したように作成した所望の標的抗原プレート、所望の標的抗原／FC融合プレート、または抗ポリヒスチジン抗体／Hisタグを付けた所望の標的抗原プレートに上記したブロッキング溶液で希釈した抗体またはDVD-Ig調製物（100 μ L）を添加し、室温で1時間インキュベートした。ウェルを0.02% トゥイーン20を含有するPBSで4回洗浄する。

【0584】

所望の標的抗原プレートまたは抗ポリヒスチジン抗体／ヒスチジンタグを付けた所望の標的抗原プレートの各ウェルに10 ng／mLのヤギ抗ヒトIgG-FC特異的HRPコンジュゲート抗体（Southern Biotech，#2040-05，アラバマ州バーミングハム）（100 μ L）を添加した。或いは、所望の標的抗原／FC融合プレートの各ウェルに10 ng／mLのヤギ抗ヒトIgG- κ 軽鎖特異的HRPコンジュゲート抗体（Southern Biotech，#2060-05，アラバマ州バーミングハム）（100 μ L）を添加し、室温で1時間インキュベートした。プレートを0.02% トゥイーン20を含有するPBSで4回洗浄した。

【0585】

各ウェルに増強TMB溶液（Neogen Corp.，#308177，K Blue，ケンタッキー州レキシントン）（100 μ L）を添加し、室温で10分間インキュベートした。1N 硫酸（50 μ L）を添加することにより反応を停止した。プレートを450 nmの波長で分光光度的に測定した。

【0586】

表3は、直接結合アッセイで使用した抗原のリストを含む。

【0587】

表4は、直接結合ELISAアッセイで試験した抗体及びDVD-Ig構築物のEC₅₀（nM）で表示した結合データを含む。

【0588】

直接結合ELISAでは、多分標的抗原上の抗体結合部位が「隠された」、またはプラスチック表面にコーティングしたときに抗原が「歪められた」ために、結合がときどき観察されなかった。DVD-Igがその標的に結合できなかったのは、直接結合ELISAフォーマットによりDVD-Igに加えられる立体制限のためでもあり得る。直接結合ELISAフォーマットで結合しなかった親抗体及びDVD-Igは他のELISAフォーマット（例えば、FACS、Biacoreまたはバイオアッセイ）では標的抗原に結合した。DVD-Igの非結合は、先に示されているようにDVD-Igの2つの可変ドメイン間のリンカー長さを調節することによっても回復した。

【0589】

10

20

30

40

【表 3】

表 3：直接結合 E L I S A で使用する抗原

アッセイ	抗原	業者の呼称	業者	カタログ番号
CD-22	CD22/FC	Siglec-2 ECD/FC キメラ	R&D	1968-SL-050
CD-40	CD40/FC	CD40 ECD/FC キメラ- His タグ	R&D	1493-CD-050
CD-80	CD80/FC	B7-1 ECD/FC キメラ	R&D	140-B1-100
DLL4	DLL4	DLL4 ECD/His タグ	R&D	1506-D4-050
EGFR	EGFR/FC	EGFR ECD/FC キメラ	R&D	344-ER-050
HER-2	HER-2/FC	ErbB2 ECD/FC キメラ-His タグ	R&D	1129-ER-050
HGF	HGF	HGF-His タグ	R&D	294-HG-025
IGF1	IGF1	IGF-1	R&D	291-G1-050
IGF2	IGF2	IGF-2	R&D	292-G2-050
IGF1R	IGF1R	IGF1R ECD	R&D	391-GR-050
NPP1	NPP1	ニューロピリン-1 Npn-1-His タグ	R&D	3870-N1-025
PlGF	PlGF	胎盤 GF	R&D	264-PG-050
RON	RON	MSP 受容体 ECD-His タグ	R&D	1947-MS-050
VEGF	VEGF	VEGF1-165aa	R&D	293-VE-010
ErbB3	ErbB3	ErbB3 EDC/FC キメラ- His タグ	R&D	348-RB-050

E C D＝細胞外ドメイン

／F C キメラ＝抗原／I g G F C ドメイン融合タンパク質

【 0 5 9 0 】

10

20

30

【表 4】

表 4：親抗体及びDVD-Ig構築物の直接結合ELISA

親抗体または DVD-Ig ID	N末端可変 ドメイン (VD)	C末端可変 ドメイン (VD)	直接結合 ELISA N末端VD EC50 (nM)	直接結合 ELISA C末端VD EC50 (nM)
AB006	CD-19		0.04	
AB001	CD-20			
DVD001	CD-20	CD-19		12.93
DVD002	CD-19	CD-20	0.07	
AB007	CD-80		0.77	
AB001	CD-20			
DVD005	CD-20	CD-80		9.77
DVD006	CD-80	CD-20	1.09	
AB008	CD-22		3.44	
AB001	CD-20			
DVD007	CD-20	CD-22		30.54
DVD008	CD-22	CD-20	4.79	
AB009	CD-40		0.99	
AB001	CD-20			
DVD009	CD-20	CD-40		3.55
DVD010	CD-40	CD-20	0.82	
AB002	CD-3			
AB004	HER-2		0.15	
DVD011	CD-3	HER-2		6.63
DVD012	HER-2	CD-3	1.24	
AB002	CD-3			
AB006	CD-19		0.14	
DVD013	CD-3	CD-19		7.29
DVD014	CD-19	CD-3	0.12	
AB033	EGFR		0.66	
AB004	HER-2		1.9	
DVD015	EGFR	HER-2	0.41	148.48
DVD016	HER-2	EGFR	1.25	5.23
AB002	CD-3			
AB033	EGFR		0.28	
DVD017	EGFR	CD-3	0.3	
DVD018	CD-3	EGFR		1.93
AB033	EGFR		0.27	
AB011	IGF1R		0.28	
DVD021	EGFR	IGF1R	0.33	134.95
DVD022	IGF1R	EGFR	0.26	0.74
AB005	RON		0.26	

親抗体または DVD-Ig ID	N末端可変 ドメイン (VD)	C末端可変 ドメイン (VD)	直接結合 ELISA N末端VD EC50 (nM)	直接結合 ELISA C末端VD EC50 (nM)
AB033	EGFR		0.28	
DVD023	EGFR	RON	0.23	40.18
DVD024	RON	EGFR	0.54	1.87
AB033	EGFR		0.27	
AB012	HGF		0.22	
DVD025	EGFR	HGF	0.31	251.45
DVD026	HGF	EGFR	0.33	7.89
AB004	HER-2		0.44	
AB010	IGF1,2		4.77/10.02	
DVD029	HER-2	IGF1/IGF2	1226.04	229.33/206.12
DVD030	IGF1/IGF2	HER-2	1.75/5.49	10.65
AB004	HER-2		0.15	
AB011	IGF1R		0.28	
DVD031	HER-2	IGF1R	0.28	171.04
DVD032	IGF1R	HER-2	0.16	11.03
AB005	RON		0.21	
AB012	HGF		0.19	
DVD033	RON	HGF	0.22	11.95
DVD034	HGF	RON	0.27	116.46
AB014	VEGF		0.87	
AB033	EGFR		0.28	
DVD035	VEGF	EGFR	0.74	1.24
DVD036	EGFR	VEGF	0.18	336.13
AB014	VEGF		2.71	
AB004	HER-2		0.15	
DVD037	VEGF	HER-2	1.86	1.44
DVD038	HER-2	VEGF	0.66	106.77
AB001	CD-20			
AB014	VEGF		2.71	
DVD039	VEGF	CD-20	1.27	
DVD040	CD-20	VEGF		71.18
AB014	VEGF		0.87	
AB010	IGF1,2		4.77/18.13	
DVD041	VEGF	IGF1/IGF2	0.68	381.18/7335.24
DVD042	IGF1/IGF2	VEGF	2.54/17.62	42.3
AB015	DLL-4		0.31	
AB014	VEGF		2.71	
DVD043	VEGF	DLL4	28.25	2.12
DVD044	DLL4	VEGF	0.53	10.88
AB014	VEGF		2.95	
AB012	HGF		0.19	
DVD045	VEGF	HGF	2.87	184.53
DVD046	HGF	VEGF	0.5	46.3
AB005	RON		0.26	
AB014	VEGF		2.95	
DVD047	VEGF	RON	19.2	94.82

10

20

30

40

親抗体または DVD-Ig ID	N末端可変 ドメイン (VD)	C末端可変 ドメイン (VD)	直接結合 ELISA N末端VD EC50 (nM)	直接結合 ELISA C末端VD EC50 (nM)
DVD048	RON	VEGF	0.46	42.95
AB014	VEGF		2.95	
AB016	NRP1		0.58	
DVD049	VEGF	NRP1	1.71	0.5
DVD050	NRP1	VEGF	0.46	219.02
AB015	DLL-4		0.31	
AB047	PlGF		0.2	
DVD257	DLL4	PlGF	0.28	2
DVD258	PlGF	DLL4	0.08	2.3
AB014	VEGF		1.09	
AB047	PlGF		0.2	
DVD259	VEGF	PlGF	0.79	1.3
DVD260	PlGF	VEGF	0.12	19.06
AB062	ErbB3		1.93	
AB033	EGFR		0.68	
DVD299	ErbB3	EGFR	1.96	17.38
DVD300	EGFR	ErbB3	0.49	7633.3
AB063	ErbB3		0.28	
AB033	EGFR		0.68	
DVD305	ErbB3	EGFR	0.44	24.39
DVD306	EGFR	ErbB3	0.36	150.92

すべてのDVD-Ig構築物の結合は維持され、親抗体の結合に匹敵した。すべてのN末端可変ドメイン並びにDVD-Ig構築物DVD009、DVD016、DVD018、DVD022、DVD024、DVD035、DVD37、DVD043、DVD044、DVD49、DVD257、DVD258及びDVD259のC末端可変ドメインは親抗体に類似の高親和性で結合した。

【0591】

表5及び6は、3個のVEGF親抗体、並びに親VEGF参照抗体(Ref. Ab.) AB014-VEGF(seq. 1)、AB071-VEGF(seq. 2)及びAB070-VEGF(seq. 3)の可変ドメインから誘導されるC末端(C-term.)またはN末端(N-term.)可変ドメインのいずれかを有する96個のDVD-Ig構築物についてのVEGF直接結合ELISAデータを含む。これらの可変ドメインは、4個のDLL-4 Ref. Ab. (AB015-DLL-4(seq. 1)、AB069-DLL-4(seq. 2)、AB073-DLL-4(seq. 3)及びAB072-DLL-4(seq. 4))から誘導される4個のDLL-4可変ドメインと対形成した。DVD-Ig可変ドメインを2つのリンカー長さ(重鎖(HCリンカー)及び/または軽鎖(LCリンカー)で短い及び長い)により連結すると、4つの考えられるリンカー組合せ、すなわち短-短、長-長、短-長及び長-短が生ずる。これらの5つの要因(3つのVEGF配列×2つの配向×2つのHCリンカー×2つのLCリンカー×4つのDLL-4配列)を組み合わせると、96個のDVDの全要因実験が生ずる。

【0592】

10

20

30

40

【表 5】

表 5: 各種 VEGF 配列、配向及びリンカー長さの組合せを有する 96 個の DVD 構築物の VEGF に対する直接結合 ELISA

DVD ID	配列 番号	位置	HC リンカー	LC リンカー	他の DVD ドメイン	DVD VEGF EC ₅₀ (nM)	Ref. Ab ID	Ref. Ab VEGF EC ₅₀ (nM)
DVD043	VEGF (seq. 1)	N 末端	短	短	DLL4 (seq. 1)	1.25	AB014	2.36
DVD044	VEGF (seq. 1)	C 末端	短	短	DLL4 (seq. 1)	407.52	AB014	2.36
DVD469	VEGF (seq. 1)	C 末端	長	長	DLL4 (seq. 1)	1262.59	AB014	2.36
DVD470	VEGF (seq. 1)	N 末端	長	長	DLL4 (seq. 1)	1.87	AB014	2.36
DVD475	VEGF (seq. 1)	C 末端	長	短	DLL4 (seq. 1)	19.17	AB014	1.51
DVD476	VEGF (seq. 1)	N 末端	長	短	DLL4 (seq. 1)	0.55	AB014	1.51
DVD481	VEGF (seq. 1)	C 末端	短	長	DLL4 (seq. 1)	150.24	AB014	1.51
DVD482	VEGF (seq. 1)	N 末端	短	長	DLL4 (seq. 1)	1.30	AB014	1.51
DVD467	VEGF (seq. 2)	C 末端	短	短	DLL4 (seq. 1)	1805.23	AB071	60.82
DVD468	VEGF (seq. 2)	N 末端	短	短	DLL4 (seq. 1)	25.55	AB071	60.82
DVD473	VEGF (seq. 2)	C 末端	長	長	DLL4 (seq. 1)	388.01	AB071	60.82
DVD474	VEGF (seq. 2)	N 末端	長	長	DLL4 (seq. 1)	17.93	AB071	60.82
DVD479	VEGF (seq. 2)	C 末端	長	短	DLL4 (seq. 1)	455.50	AB071	68.55
DVD480	VEGF (seq. 2)	N 末端	長	短	DLL4 (seq. 1)	22.98	AB071	68.55
DVD485	VEGF (seq. 2)	C 末端	短	長	DLL4 (seq. 1)	121.21	AB071	68.55

10

20

30

40

DVD ID	配列 番号	位置	HC リンカー	LC リンカー	他の DVD トメイン	DVD VEGF EC ₅₀ (nM)	Ref. Ab ID	Ref. Ab VEGF EC ₅₀ (nM)
DVD486	VEGF (seq. 2)	N 末端	短	長	DLL4 (seq. 1)	27.96	AB071	68.55
DVD465	VEGF (seq. 3)	C 末端	短	短	DLL4 (seq. 1)	396.45	AB070	1.82
DVD466	VEGF (seq. 3)	N 末端	短	短	DLL4 (seq. 1)	2.61	AB070	1.82
DVD471	VEGF (seq. 3)	C 末端	長	長	DLL4 (seq. 1)	30.05	AB070	1.82
DVD472	VEGF (seq. 3)	N 末端	長	長	DLL4 (seq. 1)	9.22	AB070	1.82
DVD477	VEGF (seq. 3)	C 末端	長	短	DLL4 (seq. 1)	41.66	AB070	3.59
DVD478	VEGF (seq. 3)	N 末端	長	短	DLL4 (seq. 1)	2.72	AB070	3.59
DVD483	VEGF (seq. 3)	C 末端	短	長	DLL4 (seq. 1)	46.09	AB070	3.59
DVD484	VEGF (seq. 3)	N 末端	短	長	DLL4 (seq. 1)	4.74	AB070	3.59
DVD441	VEGF (seq. 1)	C 末端	短	短	DLL4 (seq. 2)	247.99	AB014	1.52
DVD442	VEGF (seq. 1)	N 末端	短	短	DLL4 (seq. 2)	0.59	AB014	1.52
DVD447	VEGF (seq. 1)	C 末端	長	長	DLL4 (seq. 2)	5.05	AB014	1.52
DVD448	VEGF (seq. 1)	N 末端	長	長	DLL4 (seq. 2)	1.59	AB014	1.52
DVD453	VEGF (seq. 1)	C 末端	長	短	DLL4 (seq. 2)	35.28	AB014	1.50
DVD454	VEGF (seq. 1)	N 末端	長	短	DLL4 (seq. 2)	1.43	AB014	1.50
DVD459	VEGF (seq. 1)	C 末端	短	長	DLL4 (seq. 2)	6.17	AB014	1.50

10

20

30

40

DVD ID	配列 番号	位置	HC リンカー	LC リンカー	他の DVD ドメイン	DVD VEGF EC ₅₀ (nM)	Ref. Ab ID	Ref. Ab VEGF EC ₅₀ (nM)
DVD460	VEGF (seq. 1)	N 末端	短	長	DLL4 (seq. 2)	0.94	AB014	1.50
DVD445	VEGF (seq. 2)	C 末端	短	短	DLL4 (seq. 2)	14482.02	AB071	48.07
DVD446	VEGF (seq. 2)	N 末端	短	短	DLL4 (seq. 2)	14.38	AB071	48.07
DVD451	VEGF (seq. 2)	C 末端	長	長	DLL4 (seq. 2)	2904.95	AB071	48.07
DVD452	VEGF (seq. 2)	N 末端	長	長	DLL4 (seq. 2)	17.75	AB071	48.07
DVD457	VEGF (seq. 2)	C 末端	長	短	DLL4 (seq. 2)	1475.74	AB071	40.24
DVD458	VEGF (seq. 2)	N 末端	長	短	DLL4 (seq. 2)	21.51	AB071	40.24
DVD463	VEGF (seq. 2)	C 末端	短	長	DLL4 (seq. 2)	1730.97	AB071	40.24
DVD464	VEGF (seq. 2)	N 末端	短	長	DLL4 (seq. 2)	19.31	AB071	40.24
DVD443	VEGF (seq. 3)	C 末端	短	短	DLL4 (seq. 2)	610.53	AB070	1.05
DVD444	VEGF (seq. 3)	N 末端	短	短	DLL4 (seq. 2)	2.44	AB070	1.05
DVD449	VEGF (seq. 3)	C 末端	長	長	DLL4 (seq. 2)	15.61	AB070	1.05
DVD450	VEGF (seq. 3)	N 末端	長	長	DLL4 (seq. 2)	12.06	AB070	1.05
DVD455	VEGF (seq. 3)	C 末端	長	短	DLL4 (seq. 2)	26.71	AB070	1.11
DVD456	VEGF (seq. 3)	N 末端	長	短	DLL4 (seq. 2)	1.63	AB070	1.11
DVD461	VEGF (seq. 3)	C 末端	短	長	DLL4 (seq. 2)	10.44	AB070	1.11

10

20

30

40

DVD ID	配列 番号	位置	HC リンカー	LC リンカー	他の DVD ドメイン	DVD VEGF EC ₅₀ (nM)	Ref. Ab ID	Ref. Ab VEGF EC ₅₀ (nM)
DVD462	VEGF (seq. 3)	N 末端	短	長	DLL4 (seq. 2)	8.00	AB070	1.11
DVD511	VEGF (seq. 1)	C 末端	短	短	DLL4 (seq. 3)	35.11	AB014	0.75
DVD512	VEGF (seq. 1)	N 末端	短	短	DLL4 (seq. 3)	0.71	AB014	0.75
DVD517	VEGF (seq. 1)	C 末端	長	長	DLL4 (seq. 3)	9.78	AB014	0.75
DVD518	VEGF (seq. 1)	N 末端	長	長	DLL4 (seq. 3)	162.44	AB014	0.75
DVD523	VEGF (seq. 1)	C 末端	長	短	DLL4 (seq. 3)	9.67	AB014	0.49
DVD524	VEGF (seq. 1)	N 末端	長	短	DLL4 (seq. 3)	0.30	AB014	0.49
DVD529	VEGF (seq. 1)	C 末端	短	長	DLL4 (seq. 3)	2.64	AB014	0.49
DVD530	VEGF (seq. 1)	N 末端	短	長	DLL4 (seq. 3)	0.79	AB014	0.49
DVD515	VEGF (seq. 2)	C 末端	短	短	DLL4 (seq. 3)	3015.10	AB071	35.19
DVD516	VEGF (seq. 2)	N 末端	短	短	DLL4 (seq. 3)	24.65	AB071	35.19
DVD521	VEGF (seq. 2)	C 末端	長	長	DLL4 (seq. 3)	654.85	AB071	35.19
DVD522	VEGF (seq. 2)	N 末端	長	長	DLL4 (seq. 3)	23.53	AB071	35.19
DVD527	VEGF (seq. 2)	C 末端	長	短	DLL4 (seq. 3)	2380.25	AB071	52.97
DVD528	VEGF (seq. 2)	N 末端	長	短	DLL4 (seq. 3)	27.69	AB071	52.97
DVD533	VEGF (seq. 2)	C 末端	短	長	DLL4 (seq. 3)	1260.61	AB071	52.97

10

20

30

40

DVD ID	配列 番号	位置	HC リンカー	LC リンカー	他の DVD ドメイン	DVD VEGF EC ₅₀ (nM)	Ref. Ab ID	Ref. Ab VEGF EC ₅₀ (nM)
DVD534	VEGF (seq. 2)	N 末端	短	長	DLL4 (seq. 3)	23. 61	AB071	52. 97
DVD513	VEGF (seq. 3)	C 末端	短	短	DLL4 (seq. 3)	58. 54	AB070	0. 97
DVD514	VEGF (seq. 3)	N 末端	短	短	DLL4 (seq. 3)	67. 41	AB070	0. 97
DVD519	VEGF (seq. 3)	C 末端	長	長	DLL4 (seq. 3)	77. 17	AB070	0. 97
DVD520	VEGF (seq. 3)	N 末端	長	長	DLL4 (seq. 3)	247. 74	AB070	0. 97
DVD525	VEGF (seq. 3)	C 末端	長	短	DLL4 (seq. 3)	21. 79	AB070	1. 42
DVD526	VEGF (seq. 3)	N 末端	長	短	DLL4 (seq. 3)	96. 22	AB070	1. 42
DVD531	VEGF (seq. 3)	C 末端	短	長	DLL4 (seq. 3)	60. 39	AB070	1. 42
DVD532	VEGF (seq. 3)	N 末端	短	長	DLL4 (seq. 3)	28. 91	AB070	1. 42
DVD487	VEGF (seq. 1)	C 末端	短	短	DLL4 (seq. 4)	39. 78	AB014	1. 61
DVD488	VEGF (seq. 1)	N 末端	短	短	DLL4 (seq. 4)	4. 98	AB014	1. 61
DVD493	VEGF (seq. 1)	C 末端	長	長	DLL4 (seq. 4)	2. 26	AB014	1. 61
DVD494	VEGF (seq. 1)	N 末端	長	長	DLL4 (seq. 4)	712. 21	AB014	1. 61
DVD499	VEGF (seq. 1)	C 末端	長	短	DLL4 (seq. 4)	5. 07	AB014	1. 41
DVD500	VEGF (seq. 1)	N 末端	長	短	DLL4 (seq. 4)	5. 28	AB014	1. 41
DVD505	VEGF (seq. 1)	C 末端	短	長	DLL4 (seq. 4)	1. 27	AB014	1. 41

10

20

30

40

DVD ID	配列 番号	位置	HC リンカー	LC リンカー	他の DVD ドメイン	DVD VEGF EC ₅₀ (nM)	Ref. Ab ID	Ref. Ab VEGF EC ₅₀ (nM)
DVD506	VEGF (seq. 1)	N 末端	短	長	DLL4 (seq. 4)	1.84	AB014	1.41
DVD491	VEGF (seq. 2)	C 末端	短	短	DLL4 (seq. 4)	1249.97	AB071	45.67
DVD492	VEGF (seq. 2)	N 末端	短	短	DLL4 (seq. 4)	8.42	AB071	45.67
DVD497	VEGF (seq. 2)	C 末端	長	長	DLL4 (seq. 4)	858.21	AB071	45.67
DVD498	VEGF (seq. 2)	N 末端	長	長	DLL4 (seq. 4)	30.61	AB071	45.67
DVD503	VEGF (seq. 2)	C 末端	長	短	DLL4 (seq. 4)	429.96	AB071	37.84
DVD504	VEGF (seq. 2)	N 末端	長	短	DLL4 (seq. 4)	16.74	AB071	37.84
DVD509	VEGF (seq. 2)	C 末端	短	長	DLL4 (seq. 4)	121.28	AB071	37.84
DVD510	VEGF (seq. 2)	N 末端	短	長	DLL4 (seq. 4)	23.89	AB071	37.84
DVD489	VEGF (seq. 3)	C 末端	短	短	DLL4 (seq. 4)	180.95	AB070	2.80
DVD490	VEGF (seq. 3)	N 末端	短	短	DLL4 (seq. 4)	6.70	AB070	2.80
DVD495	VEGF (seq. 3)	C 末端	長	長	DLL4 (seq. 4)	69.95	AB070	2.80
DVD496	VEGF (seq. 3)	N 末端	長	長	DLL4 (seq. 4)	107.87	AB070	2.80
DVD501	VEGF (seq. 3)	C 末端	長	短	DLL4 (seq. 4)	45.16	AB070	2.44
DVD502	VEGF (seq. 3)	N 末端	長	短	DLL4 (seq. 4)	3.25	AB070	2.44
DVD507	VEGF (seq. 3)	C 末端	短	長	DLL4 (seq. 4)	34.85	AB070	2.44

10

20

30

40

DVD ID	配列 番号	位置	HC リンカー	LC リンカー	他の DVD ドメイン	DVD VEGF EC ₅₀ (nM)	Ref. Ab ID	Ref. Ab VEGF EC ₅₀ (nM)
DVD508	VEGF (seq. 3)	N 末端	短	長	DLL4 (seq. 4)	7.88	AB070	2.44

50

すべてのDVD-Ig構築物のVEGFに対する結合は維持され、親抗体の結合に匹敵した。すべてのN末端可変ドメインが親抗体に類似の高親和性で結合した。重鎖及び軽鎖のリンカー長さの幾つかの特別の組合せは、親抗体に比してC末端ドメインの結合親和性を改善した。特に、軽鎖の短いリンカーよりも長いリンカーを有するC末端ドメインの親和性は統計上有意に ($p = 0.019$) 改善される。

【0593】

【表6】

表6：各種DLL4配列、配向及びリンカー長さの組合せを有する96個のDVD構築物のDLL4に対する直接結合ELISA

DVD-Ig ID	配列番号	配向	HC リンカー	LC リンカー	他の DVD-Ig 可変ドメイン	DVD-Ig DLL4 EC_{50} (nM)	Ref. Ab ID	Ref. Ab DLL4 EC_{50} (nM)
DVD043	DLL4 (seq. 1)	C 末端	短	短	VEGF (seq. 1)	0.67	AB015	1.39
DVD044	DLL4 (seq. 1)	N 末端	短	短	VEGF (seq. 1)	0.25	AB015	1.39
DVD469	DLL4 (seq. 1)	N 末端	長	長	VEGF (seq. 1)	2.78	AB015	1.39
DVD470	DLL4 (seq. 1)	C 末端	長	長	VEGF (seq. 1)	0.19	AB015	1.39
DVD475	DLL4 (seq. 1)	N 末端	長	短	VEGF (seq. 1)	0.23	AB015	1.23
DVD476	DLL4 (seq. 1)	C 末端	長	短	VEGF (seq. 1)	0.30	AB015	1.23
DVD481	DLL4 (seq. 1)	N 末端	短	長	VEGF (seq. 1)	3.30	AB015	1.23
DVD482	DLL4 (seq. 1)	C 末端	短	長	VEGF (seq. 1)	0.36	AB015	1.23
DVD441	DLL4 (seq. 4)	N 末端	短	短	VEGF (seq. 1)	0.04	AB069	0.10
DVD442	DLL4 (seq. 4)	C 末端	短	短	VEGF (seq. 1)	10.55	AB069	0.10
DVD447	DLL4 (seq. 4)	N 末端	長	長	VEGF (seq. 1)	0.12	AB069	0.10
DVD448	DLL4 (seq. 4)	C 末端	長	長	VEGF (seq. 1)	0.41	AB069	0.10
DVD453	DLL4 (seq. 4)	N 末端	長	短	VEGF (seq. 1)	0.09	AB069	0.04
DVD454	DLL4 (seq. 4)	C 末端	長	短	VEGF (seq. 1)	1.01	AB069	0.04

10

20

30

40

50

DVD-Ig ID	配列 番号	配向	HC リンカー	LC リンカー	他の DVD-Ig 可変ト ^o メイ ン	DVD-Ig DLL4 EC ₅₀ (nM)	Ref. Ab ID	Ref. Ab DLL4 EC ₅₀ (nM)
DVD459	DLL4 (seq. 4)	N 末端	短	長	VEGF (seq. 1)	0.26	AB069	0.04
DVD460	DLL4 (seq. 4)	C 末端	短	長	VEGF (seq. 1)	0.64	AB069	0.04
DVD511	DLL4 (seq. 2)	N 末端	短	短	VEGF (seq. 1)	0.10	AB073	0.08
DVD512	DLL4 (seq. 2)	C 末端	短	短	VEGF (seq. 1)	1.71	AB073	0.08
DVD517	DLL4 (seq. 2)	N 末端	長	長	VEGF (seq. 1)	0.10	AB073	0.08
DVD518	DLL4 (seq. 2)	C 末端	長	長	VEGF (seq. 1)	5.90	AB073	0.08
DVD523	DLL4 (seq. 2)	N 末端	長	短	VEGF (seq. 1)	0.09	AB073	0.03
DVD524	DLL4 (seq. 2)	C 末端	長	短	VEGF (seq. 1)	0.22	AB073	0.03
DVD529	DLL4 (seq. 2)	N 末端	短	長	VEGF (seq. 1)	0.10	AB073	0.03
DVD530	DLL4 (seq. 2)	C 末端	短	長	VEGF (seq. 1)	0.22	AB073	0.03
DVD487	DLL4 (seq. 3)	N 末端	短	短	VEGF (seq. 1)	0.14	AB072	1.29
DVD488	DLL4 (seq. 3)	C 末端	短	短	VEGF (seq. 1)	1.84	AB072	1.29
DVD493	DLL4 (seq. 3)	N 末端	長	長	VEGF (seq. 1)	0.06	AB072	1.29
DVD494	DLL4 (seq. 3)	C 末端	長	長	VEGF (seq. 1)	39.48	AB072	1.29
DVD499	DLL4 (seq. 3)	N 末端	長	短	VEGF (seq. 1)	0.09	AB072	0.70
DVD500	DLL4 (seq. 3)	C 末端	長	短	VEGF (seq. 1)	0.57	AB072	0.70

10

20

30

40

DVD-Ig ID	配列番号	配向	HC リンカー	LC リンカー	他の DVD-Ig 可変ドメイン	DVD-Ig DLL4 EC ₅₀ (nM)	Ref. Ab ID	Ref. Ab DLL4 EC ₅₀ (nM)
DVD505	DLL4 (seq. 3)	N 末端	短	長	VEGF (seq. 1)	0.09	AB072	0.70
DVD506	DLL4 (seq. 3)	C 末端	短	長	VEGF (seq. 1)	0.32	AB072	0.70
DVD467	DLL4 (seq. 1)	N 末端	短	短	VEGF (seq. 2)	0.54	AB015	0.30
DVD468	DLL4 (seq. 1)	C 末端	短	短	VEGF (seq. 2)	2.28	AB015	0.30
DVD473	DLL4 (seq. 1)	N 末端	長	長	VEGF (seq. 2)	1.80	AB015	0.30
DVD474	DLL4 (seq. 1)	C 末端	長	長	VEGF (seq. 2)	0.57	AB015	0.30
DVD479	DLL4 (seq. 1)	N 末端	長	短	VEGF (seq. 2)	1.69	AB015	0.28
DVD480	DLL4 (seq. 1)	C 末端	長	短	VEGF (seq. 2)	0.60	AB015	0.28
DVD485	DLL4 (seq. 1)	N 末端	短	長	VEGF (seq. 2)	1.41	AB015	0.28
DVD486	DLL4 (seq. 1)	C 末端	短	長	VEGF (seq. 2)	0.59	AB015	0.28
DVD445	DLL4 (seq. 4)	N 末端	短	短	VEGF (seq. 2)	0.17	AB069	0.20
DVD446	DLL4 (seq. 4)	C 末端	短	短	VEGF (seq. 2)	13.92	AB069	0.20
DVD451	DLL4 (seq. 4)	N 末端	長	長	VEGF (seq. 2)	0.40	AB069	0.20
DVD452	DLL4 (seq. 4)	C 末端	長	長	VEGF (seq. 2)	0.34	AB069	0.20
DVD457	VEGF (seq. 4)	N 末端	長	短	VEGF (seq. 2)	0.13	AB069	0.21
DVD458	DLL4 (seq. 4)	C 末端	長	短	VEGF (seq. 2)	1.54	AB069	0.21

10

20

30

40

DVD-Ig ID	配列 番号	配向	HC リンカー	LC リンカー	他の DVD-Ig 可変ドメイン	DVD-Ig DLL4 EC ₅₀ (nM)	Ref. Ab ID	Ref. Ab DLL4 EC ₅₀ (nM)
DVD463	VEGF (seq. 4)	N 末端	短	長	VEGF (seq. 2)	0.50	AB069	0.21
DVD464	VEGF (seq. 4)	C 末端	短	長	VEGF (seq. 2)	0.80	AB069	0.21
DVD515	VEGF (seq. 2)	N 末端	短	短	VEGF (seq. 2)	0.20	AB073	0.11
DVD516	DLL4 (seq. 2)	C 末端	短	短	VEGF (seq. 2)	4.33	AB073	0.11
DVD521	DLL4 (seq. 2)	N 末端	長	長	VEGF (seq. 2)	0.26	AB073	0.11
DVD522	DLL4 (seq. 2)	C 末端	長	長	VEGF (seq. 2)	0.48	AB073	0.11
DVD527	DLL4 (seq. 2)	N 末端	長	短	VEGF (seq. 2)	0.20	AB073	0.11
DVD528	DLL4 (seq. 2)	C 末端	長	短	VEGF (seq. 2)	0.81	AB073	0.11
DVD533	DLL4 (seq. 2)	N 末端	短	長	VEGF (seq. 2)	0.25	AB073	0.11
DVD534	DLL4 (seq. 2)	C 末端	短	長	VEGF (seq. 2)	0.47	AB073	0.11
DVD491	DLL4 (seq. 3)	N 末端	短	短	VEGF (seq. 2)	0.39	AB072	1.99
DVD492	DLL4 (seq. 3)	C 末端	短	短	VEGF (seq. 2)	1.77	AB072	1.99
DVD497	DLL4 (seq. 3)	N 末端	長	長	VEGF (seq. 2)	0.53	AB072	1.99
DVD498	DLL4 (seq. 3)	C 末端	長	長	VEGF (seq. 2)	0.45	AB072	1.99
DVD503	DLL4 (seq. 3)	N 末端	長	短	VEGF (seq. 2)	0.33	AB072	1.85
DVD504	DLL4F (seq. 3)	C 末端	長	短	VEGF (seq. 2)	0.53	AB072	1.85

10

20

30

40

DVD-Ig ID	配列番号	配向	HC リンカー	LC リンカー	他の DVD-Ig 可変ドメイン	DVD-Ig DLL4 EC ₅₀ (nM)	Ref. Ab ID	Ref. Ab DLL4 EC ₅₀ (nM)
DVD509	DLL4 (seq. 3)	N 末端	短	長	VEGF (seq. 2)	0.21	AB072	1.85
DVD510	DLL4 (seq. 3)	C 末端	短	長	VEGF (seq. 2)	0.42	AB072	1.85
DVD465	DLL4 (seq. 1)	N 末端	短	短	VEGF (seq. 3)	0.57	AB015	0.60
DVD466	DLL4 (seq. 1)	C 末端	短	短	VEGF (seq. 3)	19.84	AB015	0.60
DVD471	DLL4 (seq. 1)	N 末端	長	長	VEGF (seq. 3)	0.89	AB015	0.60
DVD472	DLL4 (seq. 1)	C 末端	長	長	VEGF (seq. 3)	2.78	AB015	0.60
DVD477	DLL4 (seq. 1)	N 末端	長	短	VEGF (seq. 3)	0.69	AB015	0.58
DVD478	DLL4 (seq. 1)	C 末端	長	短	VEGF (seq. 3)	2.53	AB015	0.58
DVD483	DLL4 (seq. 1)	N 末端	短	長	VEGF (seq. 3)	0.63	AB015	0.58
DVD484	DLL4 (seq. 1)	C 末端	短	長	VEGF (seq. 3)	1.75	AB015	0.58
DVD443	DLL4 (seq. 4)	N 末端	短	短	VEGF (seq. 3)	0.20	AB069	0.23
DVD444	DLL4 (seq. 4)	C 末端	短	短	VEGF (seq. 3)	30.54	AB069	0.23
DVD449	DLL4 (seq. 4)	N 末端	長	長	VEGF (seq. 3)	0.36	AB069	0.23
DVD450	DLL4 (seq. 4)	C 末端	長	長	VEGF (seq. 3)	1.99	AB069	0.23
DVD455	DLL4 (seq. 4)	N 末端	長	短	VEGF (seq. 3)	0.24	AB069	0.24
DVD456	DLL4 (seq. 4)	C 末端	長	短	VEGF (seq. 3)	2.48	AB069	0.24

10

20

30

40

DVD-Ig ID	配列番号	配向	HC リンカー	LC リンカー	他の DVD-Ig 可変ドメイン	DVD-Ig DLL4 EC ₅₀ (nM)	Ref. Ab ID	Ref. Ab DLL4 EC ₅₀ (nM)
DVD461	DLL4 (seq. 4)	N 末端	短	長	VEGF (seq. 3)	0.52	AB069	0.24
DVD462	DLL4 (seq. 4)	C 末端	短	長	VEGF (seq. 3)	7.99	AB069	0.24
DVD513	DLL4 (seq. 2)	N 末端	短	短	VEGF (seq. 3)	0.66	AB073	0.22
DVD514	DLL4 (seq. 2)	C 末端	短	短	VEGF (seq. 3)	21.05	AB073	0.22
DVD519	DLL4 (seq. 2)	N 末端	長	長	VEGF (seq. 3)	1.53	AB073	0.22
DVD520	DLL4 (seq. 2)	C 末端	長	長	VEGF (seq. 3)	17.34	AB073	0.22
DVD525	DLL4 (seq. 2)	N 末端	長	短	VEGF (seq. 3)	1.00	AB073	0.21
DVD526	DLL4 (seq. 2)	C 末端	長	短	VEGF (seq. 3)	1.57	AB073	0.21
DVD531	DLL4 (seq. 2)	N 末端	短	長	VEGF (seq. 3)	0.57	AB073	0.21
DVD532	DLL4 (seq. 2)	C 末端	短	長	VEGF (seq. 3)	1.43	AB073	0.21
DVD489	DLL4 (seq. 3)	N 末端	短	短	VEGF (seq. 3)	0.62	AB072	63.43
DVD490	DLL4 (seq. 3)	C 末端	短	短	VEGF (seq. 3)	9.27	AB072	63.43
DVD495	DLL4 (seq. 3)	N 末端	長	長	VEGF (seq. 3)	0.33	AB072	63.43
DVD496	DLL4 (seq. 3)	C 末端	長	長	VEGF (seq. 3)	5.59	AB072	63.43
DVD501	DLL4 (seq. 3)	N 末端	長	短	VEGF (seq. 3)	0.18	AB072	63.24
DVD502	DLL4 (seq. 3)	C 末端	長	短	VEGF (seq. 3)	3.17	AB072	63.24

10

20

30

40

DVD-Ig ID	配列番号	配向	HC リンカー	LC リンカー	他の DVD-Ig 可変ドメイン	DVD-Ig DLL4 EC ₅₀ (nM)	Ref. Ab ID	Ref. Ab DLL4 EC ₅₀ (nM)
DVD507	DLL4 (seq. 3)	N 末端	短	長	VEGF (seq. 3)	0.71	AB072	63.24
DVD508	DLL4 (seq. 3)	C 末端	短	長	VEGF (seq. 3)	0.61	AB072	63.24

10

すべての DVD-Ig 構築物の DLL4 に対する結合は維持され、親抗体の結合に匹敵した。すべての N 末端可変ドメインが親抗体に類似の高親和性で結合した。重鎖及び軽鎖のリンカー長さの幾つかの特別の組合せは、親抗体に比して C 末端ドメインの結合親和性を改善した。特に、重鎖及び軽鎖が共に短いリンカーよりも重鎖及び／または軽鎖の長いリンカーを有する C 末端ドメインの親和性が改善される傾向にある。

【0594】

【表7】

表7: 各種配向及びリンカー長さを有する8個のDVD構築物のRON及びEGFR直接結合ELISA

DVD-Ig ID	N 末端 VD 配列 ID	N 末端 VD EC ₅₀ (nM)	N 末端 Ref. Ab. ID	N 末端 Ref. Ab. EC ₅₀ (nM)	HC リンカー	LC リンカー	C 末端 VD 配列 ID	C 末端 VD EC ₅₀ (nM)	C 末端 Ref. Ab. ID	C 末端 Ref. Ab. EC ₅₀ (nM)
DVD023	EGFR	0.23	AB033	0.66	短	短	RON	40.18	AB005	0.26
DVD024	RON	0.54	AB005	0.26	短	短	EGFR	1.87	AB033	0.66
DVD535	RON	0.43	AB005	0.69	長	長	EGFR	1.7	AB033	1.17
DVD536	EGFR	1	AB033	1.17	長	長	RON	10.57	AB005	0.69
DVD537	RON	0.32	AB005	0.69	長	短	EGFR	0.94	AB033	0.17
DVD538	EGFR	1.17	AB033	1.17	長	短	RON	31.11	AB005	0.69
DVD539	RON	0.4	AB005	0.69	短	長	EGFR	1.38	AB033	1.17
DVD540	EGFR	1.1	AB033	1.17	短	長	RON	12.99	AB005	0.69

20

30

【0595】

【表 8】

表 8 : 各種配列、配向及びリンカー長さの組合せを有する 44 個の DVD 構築物の EGF
R、HER2 (ErbB2) 及び ErbB3 直接結合 ELISA

DVD-Ig ID	N 末端 VD 配列 ID	N 末端 VD EC ₅₀ (nM)	N 末端 Ref. Ab. ID	N 末端 Ref. Ab. EC ₅₀ (nM)	HC リンカー	LC リンカー	C 末端 VD 配列 ID	C 末端 VD EC ₅₀ (nM)	C 末端 Ref. Ab. ID	C 末端 Ref. Ab. EC ₅₀ (nM)
DVD385	ErbB3	1.72	AB062	0.75	長	長	EGFR	2.79	AB033	0.46
DVD386	EGFR	0.56	AB033	0.46	長	長	ErbB3	4.01	AB062	0.75
DVD387	ErbB3	1.18	AB062	0.75	長	長	HER-2	4.23	AB004	2.37
DVD388	HER-2	1.65	AB004	2.37	長	長	ErbB3	3.40	AB062	0.75
DVD389	ErbB3	1.25	AB062	0.75	長	短	EGFR	2.3	AB033	0.46
DVD390	EGFR	0.36	AB033	0.46	長	短	ErbB3	11.21	AB062	0.75
DVD391	ErbB3	4.06	AB062	0.97	長	短	HER-2	25.26	AB004	2.37
DVD392	HER-2	1.85	AB004	2.37	長	短	ErbB3	16.26	AB062	0.97
DVD393	ErbB3	1.39	AB062	0.97	短	長	EGFR	1.75	AB033	0.46
DVD394	EGFR	0.56	AB033	0.46	短	長	ErbB3	21.75	AB062	0.97
DVD395	ErbB3	1.58	AB062	0.97	短	長	HER-2	5.98	AB004	2.37
DVD396	HER-2	2.87	AB004	2.37	短	長	ErbB3	24.75	AB062	0.97
DVD397	ErbB3	1.05	AB063	0.87	長	長	EGFR	1.41	AB033	0.49
DVD398	EGFR	0.43	AB033	0.49	長	長	ErbB3	1.39	AB063	0.87
DVD399	ErbB3	599.0	AB063	0.87	長	長	HER-2	1102.54	AB004	2.67
DVD400	HER-2	3.57	AB004	2.67	長	長	ErbB3	7.74	AB063	0.87
DVD401	ErbB3	0.79	AB063	0.87	長	短	EGFR	1.65	AB033	0.49
DVD402	EGFR	0.65	AB033	0.49	長	短	ErbB3	0.13	AB063	0.87
DVD403	ErbB3	1.03	AB063	0.92	長	短	HER-2	13.82	AB004	2.67
DVD404	HER-2	1.25	AB004	2.67	長	短	ErbB3	4.34	AB063	0.92
DVD405	ErbB3	1.08	AB063	0.92	短	長	EGFR	1.68	AB033	0.49
DVD406	EGFR	0.60	AB033	0.49	短	長	ErbB3	1.11	AB063	0.92
DVD407	ErbB3	2.98	AB063	0.92	短	長	HER-2	28.51	AB004	2.67
DVD408	HER-2	2.61	AB004	2.67	短	長	ErbB3	4.37	AB063	0.92
DVD409	ErbB3	3.60	AB067	1.78	短	短	EGFR	1.75	AB033	0.48
DVD410	EGFR	0.36	AB033	0.59	短	短	ErbB3	55.38	AB067	2.20

10

20

30

DVD-Ig ID	N 末端 VD 配列 ID	N 末端 VD EC ₅₀ (nM)	N 末端 Ref. Ab. ID	N 末端 Ref. Ab. EC ₅₀ (nM)	HC リンカー	LC リンカー	C 末端 VD 配列 ID	C 末端 VD EC ₅₀ (nM)	C 末端 Ref. Ab. ID	C 末端 Ref. Ab. EC ₅₀ (nM)
DVD411	ErbB3	4.92	AB067	1.78	短	短	HER-2	15.4	AB004	1.19
DVD412	HER-2	4.24	AB004	1.52	短	短	ErbB3	205.98	AB067	2.20
DVD413	ErbB3	4.77	AB067	1.12	長	長	EGFR	1.1	AB033	0.48
DVD414	EGFR	0.49	AB033	0.59	長	長	ErbB3	21.27	AB067	2.20
DVD415	ErbB3	12.96	AB067	2.20	長	長	HER-2	1.56	AB004	1.19
DVD416	HER-2	3.58	AB004	1.52	長	長	ErbB3	64.36	AB067	2.20
DVD417	ErbB3	6.56	AB067	1.12	長	短	EGFR	1.62	AB033	0.48
DVD418	EGFR	0.46	AB033	0.59	長	短	ErbB3	18.20	AB067	2.20
DVD419	ErbB3	32.37	AB067	2.20	長	短	HER-2	4.78	AB004	1.19
DVD420	HER-2	3.58	AB004	1.52	長	短	ErbB3	143.66	AB067	1.78
DVD421	ErbB3	5.10	AB067	1.12	短	長	EGFR	1.1	AB033	0.45
DVD422	EGFR	0.48	AB033	0.59	短	長	ErbB3	17.97	AB067	1.78
DVD423	ErbB3	4.69	AB067	1.12	短	長	HER-2	1.29	AB004	1.19
DVD424	HER-2	4.47	AB004	1.52	短	長	ErbB3	40.69	AB067	1.78
DVD683	ErbB3	0.58	AB062	1.60	短	短	HER-2	35.64	AB004	2.22
DVD684	HER-2	0.93	AB004	2.22	短	短	ErbB3	215.63	AB062	1.60
DVD385	ErbB3	0.48	AB063	1.10	短	短	HER-2	29.02	AB004	2.22
DVD686	HER-2	1.25	AB004	2.22	短	短	ErbB3	97.39	AB063	1.10

10

20

【 0 5 9 6 】

【表 9】

表 9 : 各種配列、配向及びリンカー長さの組合せを有する 62 個の DVD 構築物の PLG
F、HER-2 及び VEGF 直接結合 ELISA

DVD-Ig ID	N 末端 VD 配列 ID	N 末端 VD EC ₅₀ (nM)	N 末端 Ref. Ab. ID	N 末端 Ref. Ab. EC ₅₀ (nM)	HC リンカー	LC リンカー	C 末端 VD 配列 ID	C 末端 VD EC ₅₀ (nM)	C 末端 Ref. Ab. ID	C 末端 Ref. Ab. EC ₅₀ (nM)
DVD541	PIGF	0.08	AB074	0.49	短	短	VEGF	64.44	AB014	1.40
DVD542	VEGF	0.80	AB014	1.40	短	短	PIGF	13.04	AB074	0.49
DVD543	PIGF	0.14	AB074	0.49	短	短	VEGF	1120.78	AB070	2.35
DVD544	VEGF	2.35	AB070	2.35	短	短	PIGF	13.76	AB074	0.49
DVD545	PIGF	98.78	AB074	0.49	短	短	VEGF	>1000	AB071	35.38
DVD546	VEGF	25.8	AB071	35.38	短	短	PIGF	7.03	AB074	0.49
DVD547	PIGF	0.14	AB074	0.49	短	短	HER-2	167.82	AB004	1.3
DVD548	HER-2	1.26	AB004	1.3	短	短	PIGF	7.42	AB074	0.49
DVD549	PIGF	265.03	AB074	0.49	長	長	VEGF	>1000	AB014	1.40
DVD550	VEGF	>1000	AB014	1.40	長	長	PIGF	145.70	AB074	0.49
DVD551	PIGF	96.98	AB074	0.49	長	長	VEGF	1589.29	AB070	2.35
DVD552	VEGF	313.54	AB070	2.35	長	長	PIGF	8.54	AB074	0.49
DVD553	PIGF	66317.52	AB074	0.49	長	長	VEGF	>1000	AB071	35.38
DVD554	VEGF	15.22	AB071	35.38	長	長	PIGF	0.45	AB074	0.49
DVD555	PIGF	N/B	AB074	0.49	長	長	HER-2	963.06	AB004	1.3
DVD556	HER-2	1.03	AB004	1.3	長	長	PIGF	0.24	AB074	0.49
DVD557	PIGF	0.17	AB074	0.49	長	短	VEGF	24.98	AB014	1.40
DVD558	VEGF	1.96	AB014	1.40	長	短	PIGF	3.37	AB074	0.49
DVD559	PIGF	0.13	AB074	0.49	長	短	VEGF	39.2	AB070	2.35
DVD560	VEGF	3.12	AB070	2.35	長	短	PIGF	2.53	AB074	0.49
DVD561	PIGF	1.04	AB074	0.49	長	短	VEGF	241.04	AB071	35.38
DVD562	VEGF	17.69	AB071	35.38	長	短	PIGF	1.12	AB074	0.49
DVD563	PIGF	0.21	AB074	0.49	長	短	HER-2	16.8	AB004	1.3
DVD564	HER-2	0.57	AB004	1.3	長	短	PIGF	1.37	AB074	0.49
DVD565	PIGF	3.24	AB074	0.49	短	長	VEGF	498.31	AB014	1.40
DVD566	VEGF	1.49	AB014	1.40	短	長	PIGF	1.42	AB074	0.49

10

20

30

DVD-Ig ID	N 末端 VD 配列 ID	N 末端 VD EC ₅₀ (nM)	N 末端 Ref. Ab. ID	N 末端 Ref. Ab. EC ₅₀ (nM)	HC リンカー	LC リンカー	C 末端 VD 配列 ID	C 末端 VD EC ₅₀ (nM)	C 末端 Ref. Ab. ID	C 末端 Ref. Ab. EC ₅₀ (nM)
DVD567	PIGF	340.25	AB074	0.49	短	長	VEGF	>1000	AB070	1.68
DVD568	VEGF	3.14	AB070	1.68	短	長	PIGF	2.84	AB074	0.49
DVD569	PIGF	88.47	AB074	0.49	短	長	VEGF	>1000	AB071	26.56
DVD570	VEGF	17.59	AB071	25.56	短	長	PIGF	1.44	AB074	0.49
DVD571	PIGF	33.1	AB074	0.49	短	長	HER-2	209.28	AB004	1.89
DVD572	HER-2	1.34	AB004	1.89	短	長	PIGF	2.34	AB074	0.49
DVD573	PIGF	0.14	AB074	0.14	短	短	VEGF	>1000	AB070	1.68
DVD574	VEGF	11.72	AB070	1.68	短	短	PIGF	7.04	AB047	0.14
DVD575	PIGF	0.14	AB047	0.14	短	短	VEGF	>1000	AB071	26.56
DVD576	VEGF	16.22	AB071	26.56	短	短	PIGF	1.82	AB047	0.14
DVD577	PIGF	0.15	AB047	0.14	短	短	HER-2	335.83	AB004	1.89
DVD578	HER-2	1.28	AB004	1.89	短	短	PIGF	1.21	AB047	0.14
DVD579	PIGF	1.18	AB047	0.17	長	長	VEGF	47.94	AB014	1.40
DVD580	VEGF	>1000	AB014	1.40	長	長	PIGF	34.14	AB047	0.17
DVD581	PIGF	0.39	AB047	0.17	長	長	VEGF	35.9	AB070	1.68
DVD582	VEGF	4.36	AB070	1.68	長	長	PIGF	0.37	AB047	0.17
DVD583	PIGF	0.32	AB047	0.17	長	長	VEGF	559.56	AB071	26.56
DVD584	VEGF	18.36	AB071	26.56	長	長	PIGF	0.32	AB047	0.17
DVD585	PIGF	0.26	AB047	0.13	長	長	HER-2	5.44	AB004	1.89
DVD586	HER-2	1.04	AB004	1.89	長	長	PIGF	0.18	AB047	0.13
DVD587	PIGF	0.13	AB047	0.13	長	短	VEGF	12.71	AB014	1.40
DVD588	VEGF	4.1	AB014	1.40	長	短	PIGF	1.84	AB047	0.13
DVD589	PIGF	0.12	AB047	0.13	長	短	VEGF	1356.24	AB070	1.9
DVD590	VEGF	21.09	AB070	1.9	長	短	PIGF	2.78	AB047	0.13
DVD591	PIGF	0.13	AB047	0.14	長	短	VEGF	1166.31	AB071	20.92
DVD592	VEGF	19.21	AB071	20.92	長	短	PIGF	0.31	AB047	0.14
DVD593	PIGF	0.09	AB047	0.14	長	短	HER-2	17.53	AB004	1.78
DVD594	HER-2	1.03	AB004	1.78	長	短	PIGF	0.38	AB047	0.14
DVD595	PIGF	0.21	AB047	0.14	短	長	VEGF	4.63	AB014	1.40
DVD596	VEGF	12.73	AB014	1.40	短	長	PIGF	14.59	AB047	0.14

10

20

30

40

DVD-Ig ID	N 末端 VD 配列 ID	N 末端 VD EC ₅₀ (nM)	N 末端 Ref. Ab. ID	N 末端 Ref. Ab. EC ₅₀ (nM)	HC リンカー	LC リンカー	C 末端 VD 配列 ID	C 末端 VD EC ₅₀ (nM)	C 末端 Ref. Ab. ID	C 末端 Ref. Ab. EC ₅₀ (nM)
DVD597	PIGF	0.17	AB047	0.13	短	長	VEGF	31.08	AB070	1.9
DVD588	VEGF	6.66	AB070	1.9	短	長	PIGF	0.66	AB047	0.13
DVD599	PIGF	0.23	AB047	0.13	短	長	VEGF	664.22	AB071	20.92
DVD600	VEGF	17.04	AB071	20.92	短	長	PIGF	0.4	AB047	0.13
DVD601	PIGF	0.24	AB047	0.13	短	長	HER-2	10.03	AB004	1.78
DVD602	HER-2	1.12	AB004	1.78	短	長	PIGF	0.31	AB047	0.13

【 0 5 9 7 】

【表 10】

表 10 : 各種配列、配向及びリンカー長さの組合せを有する 46 個の DVD 構築物の HGF 及び VEGF 直接結合 ELISA

DVD-Ig ID	N 末端 VD 配列 ID	N 末端 VD EC ₅₀ (nM)	N 末端 Ref. Ab. ID	N 末端 Ref. Ab. EC ₅₀ (nM)	HC リンカー	LC リンカー	C 末端 VD 配列 ID	C 末端 VD EC ₅₀ (nM)	C 末端 Ref. Ab. ID	C 末端 Ref. Ab. EC ₅₀ (nM)
DVD641	HGF	0.47	AB012	0.15	長	長	VEGF	41.55	AB014	1.40
DVD642	VEGF	6.35	AB014	1.40	長	長	HGF	0.87	AB012	0.15
DVD643	HGF	0.26	AB012	0.15	長	長	VEGF	175.3	AB070	5.22
DVD644	VEGF	5.31	AB070	5.22	長	長	HGF	0.29	AB012	0.15
DVD645	HGF	0.17	AB012	0.15	長	長	VEGF	>10000	AB071	40.35
DVD646	VEGF	30.74	AB071	40.35	長	長	HGF	0.49	AB012	0.15
DVD647	HGF	0.15	AB012	0.17	長	短	VEGF	25.45	AB014	1.40
DVD648	VEGF	1.72	AB014	1.40	長	短	HGF	4.17	AB012	0.17
DVD649	HGF	0.15	AB012	0.17	長	短	VEGF	185.88	AB070	5.22
DVD650	VEGF	2.67	AB070	5.22	長	短	HGF	4.63	AB012	0.17
DVD651	HGF	0.11	AB012	0.17	長	短	VEGF	340.64	AB071	40.35
DVD652	VEGF	13.83	AB071	40.35	長	短	HGF	4.71	AB012	0.17
DVD653	HGF	0.24	AB012	0.17	短	長	VEGF	16.77	AB014	1.40
DVD654	VEGF	3.71	AB014	1.40	短	長	HGF	0.91	AB012	0.17
DVD655	HGF	0.19	AB012	0.17	短	長	VEGF	92.93	AB070	5.22
DVD656	VEGF	7.87	AB070	5.22	短	長	HGF	1.27	AB012	0.17
DVD657	HGF	0.31	AB012	0.17	短	長	VEGF	357.93	AB071	40.35
DVD658	VEGF	28.66	AB071	40.35	短	長	HGF	0.94	AB012	0.17
DVD659	HGF	0.4	AB079	0.48	短	短	VEGF	161.03	AB014	1.40
DVD660	VEGF	1.51	AB014	1.40	短	短	HGF	449.24	AB079	0.48
DVD661	HGF	0.7	AB079	0.48	短	短	VEGF	566.36	AB070	4.64
DVD662	VEGF	70.17	AB070	4.64	短	短	HGF	213.76	AB079	0.48
DVD663	HGF	0.26	AB079	0.48	短	短	VEGF	>10000	AB071	80.43
DVD664	VEGF	40.91	AB071	80.43	短	短	HGF	80.87	AB079	0.48
DVD665	HGF	0.23	AB079	0.39	長	長	VEGF	8.09	AB014	1.40
DVD666	VEGF	133.6	AB014	1.40	長	長	HGF	14.7	AB079	0.39

10

20

30

40

DVD-Ig ID	N 末端 VD 配列 ID	N 末端 VD EC ₅₀ (nM)	N 末端 Ref. Ab. ID	N 末端 Ref. Ab. EC ₅₀ (nM)	HC リンカー	LC リンカー	C 末端 VD 配列 ID	C 末端 VD EC ₅₀ (nM)	C 末端 Ref. Ab. ID	C 末端 Ref. Ab. EC ₅₀ (nM)
DVD667	HGF	0.33	AB079	0.39	長	長	VEGF	51.29	AB070	4.64
DVD668	VEGF	135.82	AB070	4.64	長	長	HGF	20.23	AB079	0.39
DVD669	HGF	0.29	AB079	0.39	長	長	VEGF	1663.25	AB071	80.43
DVD670	VEGF	48.28	AB071	80.43	長	長	HGF	3.1	AB079	0.39
DVD671	HGF	0.35	AB079	0.4	長	長	VEGF	28.75	AB014	1.40
DVD672	VEGF	16.1	AB014	1.40	長	長	HGF	22.95	AB079	0.4
DVD673	HGF	0.4	AB079	0.4	長	短	VEGF	65.28	AB070	4.64
DVD674	VEGF	10.57	AB070	4.64	長	短	HGF	17.6	AB079	0.4
DVD675	HGF	0.48	AB079	0.4	長	短	VEGF	5767.36	AB071	80.43
DVD676	VEGF	130.31	AB071	80.43	長	短	HGF	35.83	AB079	0.4
DVD677	HGF	0.33	AB079	0.41	短	長	VEGF	1.02	AB014	1.40
DVD678	VEGF	0.65	AB014	1.40	短	長	HGF	4.69	AB079	0.41
DVD679	HGF	0.32	AB079	1.41	短	長	VEGF	92.36	AB070	5.62
DVD680	VEGF	12.62	AB070	5.62	短	長	HGF	5.17	AB079	0.41
DVD681	HGF	0.27	AB079	0.41	短	長	VEGF	2161.65	AB071	79.48
DVD682	VEGF	53.09	AB071	79.48	短	長	HGF	6.55	AB079	0.41
DVD709	HGF	0.14	AB012	0.16	短	短	VEGF	1366.2	AB070	5.62
DVD710	VEGF	2.43	AB070	5.62	短	短	HGF	17.76	AB012	0.16
DVD711	HGF	1.32	AB012	0.16	短	短	VEGF	165.93	AB071	79.48
DVD712	VEGF	64.2	AB071	79.48	短	短	HGF	37.18	AB012	0.16

10

20

30

mAbドメイン配向及びリンカー長さの異なるDVD-Igを作成するために、HER2の2つの異なるエピトープ（ドメインII及びドメインIV）を標的とする2つのmAbを使用した。直接ELISA及びBiacoreアッセイにおいてこれらのDVD-Igを標的結合機能について試験した。

【0598】

【表 1 1】

表 1 1 : H E R - 2 (e r b B 2) 配列、配向及びリンカー長さの組合せを有する 8 個の D V D 構築物の H E R - 2 に対する直接結合 E L I S A

親抗体または DVD-Ig ID	N 末端 可変ドメイン (VD)	C 末端 可変ドメイン (VD)	直接結合 ELISA EC ₅₀ (nM)
AB004	HER-2 (ドメイン IV)		0.68
AB080	HER-2 (ドメイン II)		3.84
DVD687	HER-2 (ドメイン IV)	HER-2 (ドメイン II)	1.71
DVD688	HER-2 (ドメイン II)	HER-2 (ドメイン IV)	3.59
DVD689	HER-2 (ドメイン IV)	HER-2 (ドメイン II)	0.60
DVD690	HER-2 (ドメイン II)	HER-2 (ドメイン IV)	0.48
DVD691	HER-2 (ドメイン IV)	HER-2 (ドメイン II)	0.19
DVD692	HER-2 (ドメイン II)	HER-2 (ドメイン IV)	5.96
DVD693	HER-2 (ドメイン IV)	HER-2 (ドメイン II)	0.16
DVD694	HER-2 (ドメイン II)	HER-2 (ドメイン IV)	0.53

すべての D V D - I g 構築物の H E R - 2 に対する結合は維持され、親抗体の結合に匹敵した。N 末端可変ドメインのすべての H E R - 2 ドメイン I V は親抗体に類似の高いまたは改良された親和性で結合した。重鎖及び軽鎖のリンカー長さの幾つかの特別の組合せは親抗体よりも良好な結合親和性を改善した。

【0599】

実施例 1. 1. 1. B : 再指向細胞傷害性 (r C T L) アッセイ

再指向細胞傷害性 (r C T L) アッセイは、D V D - I g が T 細胞及び腫瘍細胞を近接させて T 細胞が腫瘍細胞を死滅させることができるかを調べる。

【0600】

F A C S に基づくアッセイ (1) : ヒト C D 3 + T 細胞を予め凍結単離した P B M C からネガティブ選択濃縮カラム (R & D , カタログ番号 H T C C - 5 2 5) により単離する。完全 R P M I 培地 (L - グルタミン , 5 5 m M β - M E , P e n / S t r e p , 1 0 % F C S) 中 1 0 μ g / m L の抗 C D 3 (O K T - 3 , B D) 及び 2 μ g / m L の抗 C D 2 8 (C D 2 8 . 2 , A b e a m) をコーティングしたフラスコにおいて T 細胞を 4 日間刺激する。T 細胞を 3 0 U / m L の I L - 2 (P e p r o t e c h) 中に一晩静置した後、アッセイに使用する。D o H H 2 または R a j i 標的細胞を製造業者の使用説明書に従って P K H 2 6 (S i g m a) で標識する。r C T L アッセイを通じて L - グルタミン及び 1 0 % F B S (H y c l o n e) を含有する R P M I 1 6 4 0 培地 (フェノールなし , I n v i t r o g e n) を使用する。

【0601】

エフェクター T 細胞 (E) 及び標的 (T) をそれぞれ 9 6 ウェルプレート (C o s t a r , # 3 7 9 9) において 1 0 ⁵ 及び 1 0 ⁴ 個の細胞 / ウェルで平板培養して、1 0 : 1 の E : T 比を得る。濃度依存滴定曲線を得るために D V D - I g 分子を適切に希釈する。一晩インキュベートした後、細胞を平板培養し、P B S で 1 回洗浄し、次いで 0 . 1 % B S A (I n v i t r o g e n) 及び 0 . 5 μ g / m L ヨウ化プロピジウム (B D) を含有する P B S 中に再懸濁する。F A C S データを F A C S C a n t o マシン (B D) に集め、F l o w j o (T r e e s t a r) で分析する。

【0602】

全標的 (対照 , 非処理) のパーセントで割った D V D - I g 処理サンプル中の生標的のパーセントを計算して、特異的溶解 % を調べる。データをグラフで表し、I C ₅₀ を P r

ism (Graphpad) で計算する。

【0603】

インピーダンスに基づく(2): T細胞を先のように作成する。EGFR発現標的細胞をACEA RT-CES 96ウェルプレート(ACEA Bio, サンジェゴ)に一晩接着させる。次いで、エフェクターT細胞(E)及び標的(T)を 2×10^5 及び 2×10^4 個の細胞/ウェルで平板培養して、10:1のE:T比を得る。濃度依存滴定曲線を作成するためにDVD-Ig分子を適切に希釈する。DVD-Ig処理サンプル中の標的の細胞指数を対照標的(処理なし)の細胞指数で割って、特異的溶解%を計算する。データをグラフで表し、 IC_{50} をPrism(Graphpad)で計算する(Dreier, T. (2002) Int. J. Cancer, 100:690-697; Zhu, J. (2006) J. Immunol. Methods, 309:25-33)。このCD3/CD20 DVD-Igの配列は米国特許出願No. 20070071675に開示されている。

【0604】

【表12】

表12: DVD-Igとの再指向細胞傷害性(rCTL)

DVD-Ig ID	N末端 可変ドメイン (VD)	C末端 可変ドメイン (VD)	腫瘍標的細胞	rCTL IC_{50} (pM)	アッセイ
DVD857	CD3	CD19	DoHH2 (DSMZ ACC47)	4	FACS
DVD003	CD-20	CD3	DoHH2 (DSMZ ACC47)	283	FACS
DVD855	CD3	CD-20	DoHH2 (DSMZ ACC47)	472	FACS
DVD856	CD-20	CD3	DoHH2 (DSMZ ACC47)	5053	FACS
DVD859	CD3	EGFR	A431 (ATCC CRL-1555)	0.4	インピーダンス
DVD860	EGFR	CD3	A431 (ATCC CRL-1555)	31	インピーダンス
DVD018	CD3	EGFR	A431 (ATCC CRL-1555)	15	インピーダンス
DVD012	HER-2	CD3	BT-474 (ATCC HTB-20)	155	インピーダンス
DVD864	HER-2	CD3	BT-474 (ATCC HTB-20)	49	インピーダンス
DVD865	CD3	IGF1R	A431 (ATCC CRL-1555)	58	インピーダンス

【0605】

DVD-Ig ID857の有効性をDoHH-2 B細胞リンパ腫早期脇腹腫瘍モデルにおいて立証した。スキッドマウスの側腹にDoHH2腫瘍細胞のみまたは10:1の比のDoHH2腫瘍細胞+末梢血から精製したCD3⁺T細胞を注入した。T細胞の非存在下で80ugのリツキサンを1日目にiv投与した。DoHH2細胞のみまたはDoH

H2細胞+T細胞の両方を与えたマウスに対して80ugのDVD-Ig ID857を1～5日目に毎日iv投与した。32日目に、T細胞またはDVD-Ig 857を受けたDoHH-2群はそれぞれ63及び55の%TGIでDoHH-2増殖に対して有意な影響を有していた。リツキシマブで処理したDoHH-2(%TGI=94)は、DoHH2対照群と比較して有意な有効性($p \leq 0.0001$)を示した。[T細胞+DVD-Ig ID857]は、DoHH2対照群と比較してそれぞれ95及び98の%TGI($p \leq 0.0001$)でリツキシマブ群に等しい有効性を示した。52日目に、リツキシマブ及び[DVD-Ig ID857+T細胞]群には相互に有意な差がなかった。 Kaplan-Meier生存グラフ(lccエンドポイント)。ログランク(マンテル・コックス)統計は、DoHH-2対照群に比してリツキシマブ及び[DVD-Ig ID857+T細胞]で処理した群における生存の統計上($p \leq 0.0001$)の増加を示した。リツキシマブ及び[DVD-Ig ID857+T細胞]群には相互に有意な差がなかった。

【0606】

CD3及びCD19 DVD-IgをそれぞれAb002及びAB006由来の変ドメインを用いて作成した。ヒトCD3に対するDVD-Igの IC_{50} をJurkat細胞でのOKT3-PE(eBioscience, カタログ番号12-0037)競合FACS分析を用いて調べた。EC₉₀でのOKT3-PE及び各種濃度のDVD-Igと一緒に混合し、96ウェル丸底プレート(corning, #3365)において 0.5×10^6 個のJurkat細胞/ウェルで氷上で1時間インキュベートした。サンプルをFACS Calibur(Becton Dickinson)を用いて獲得し、Flo Jo(Becton Dickinson)を用いて分析した。ヒトCD19に対するDVD-Igの IC_{50} を、メソスケールディスカバリーを用いてヒトCD19を安定的にトランスフェクトした293細胞でスルホタグ付きAB006を用いて調べた。EC₉₀でのスルホタグ付きAB006を各種濃度のDVD-Igと混合し、96ウェル高結合プレート(Meso Scale Discovery, #L11XB-3)において25,000個の細胞/ウェルで293 hCD19細胞に添加した。サンプルをSector Image 6000(Meso Scale Discovery)で読み取った。

【0607】

【表13】

表13: DVD-Igの標記Ref. Abとの競合

N末端 可変ドメイン (VD)	N末端 可変ドメイン (VD)	HC リンカー	LC リンカー	競合 Jurkat 細胞 (OKT3) IC_{50} (nM)	競合 293-hCD19(AB006) IC_{50} (nM)
CD3	CD19	長	長	1.0,16	73,180
CD3	CD19	短	短	1.9,2.9	504,>1000
CD3	CD19	短	長	1.1,3.4	70,200
CD3	CD19	長	短	1.7,1.3	124,490
CD19	CD3	長	長	>1000	29

【0608】

実施例1. 1. 1. C: 捕捉ELISA-VEGF

ELISAプレート(Nunc, MaxiSorp, ニューヨーク州ロチェスター)を抗ヒトFc抗体(PBS中 $5 \mu g/ml$, Jackson Immunoresearch, ペンシルベニア州ウェストグロブ)と4℃で一晩インキュベートした。プレートを洗浄バッファー(0.05% トウイーン20を含有するPBS)で3回洗浄し、ブロッ

キングバッファー（1% BSAを含有するPBS）を用いて25℃で1時間ブロックした。ウェルを3回洗浄し、0.1% BSAを含有するPBS中の各抗体またはDVD-Igの連続希釈物をウェルに添加し、25℃で1時間インキュベートした。ウェルを3回洗浄し、ビオチニル化VEGF（2nM）をプレートに添加し、25℃で1時間インキュベートした。ウェルを3回洗浄した後、ストレプトアビジン-HRP（KPL, #474-3000, メリーランド州ゲーサーズバーグ）と25℃で1時間インキュベートした。ウェルを3回洗浄し、100μl/ウェルのULTRA-TMB ELISA（Pierce, イリノイ州ロックフォード）を添加した。発色後、反応を1N HClで停止し、吸光度を450nmで測定した。VEGF捕捉ELISAデータを表14に示す。

【0609】

実施例1. 1. 1. D: IgG-Fc捕捉ELISA-RON

96ウェルNunc-ImmunoプレートをPBS（Gibco, #10010-023, ニューヨーク州グランドアイランドのInvitrogen）中2μg/mLのヤギー抗ヒトIgG-Fc特異的抗体（Jackson ImmunoResearch, #109-055-098, ペンシルベニア州ウェストグローブ、5μL/ウェル）でコーティングし、4℃で一晩インキュベートした。プレートを洗浄バッファー（PBS, 0.05% トゥイーン20）で3回洗浄し、次いで100μL/ウェルのブロッキングバッファー（PBS, 2% BSA）を用いて室温で1時間ブロックした。プレートを3回洗浄し、適切な抗体またはDVD-Igの1μg/mL溶液（50μL/ウェル）と室温で1時間インキュベートした。1時間インキュベートした後、プレートを3回洗浄し、50μL/ウェルのhisタグ付き組換えRONタンパク質（R&D Systems, #1947-MS, ミネソタ州ミネアポリス、1000nM~0nMの最終用量範囲）と室温で1時間インキュベートした。プレートを3回洗浄し、50μL/ウェルの家兎-抗Hisタグ-HRP抗体（Abcam ab1187, マサチューセッツ州ケンブリッジ、2% BSA/PBS溶液で1:10, 000希釈）を添加し、プレートを室温で1時間インキュベートした。最終洗浄後、50μL/ウェルのTMB基質（Pierce, #34028, イリノイ州ロックフォード）を添加し、5分後反応を50μL/ウェルの2N H₂SO₄で停止した。吸光度を450nmで読み取った（Spectra Max Plusプレートリーダー, Molecular Devicesリーダー, カリフォルニア州サンニール）。EC₅₀をGraphPad Prism 4.03で計算した。RON捕捉ELISAデータを表14に示す。

【0610】

実施例1. 1. 1. E: 捕捉ELISA-IGF1, 2

96ウェルNunc-ImmunoプレートをD-PBS（Gibco, #14190, カリフォルニア州サンディエゴ）中5μg/mLのヒトIgGに対する抗体（Fey断片特異的, Jackson ImmunoResearch, ペンシルベニア州ウェストグローブ、#109-005-098、100μL/ウェル）でコーティングし、4℃で一晩インキュベートした。ELISAプレートを洗浄バッファー（PBS, 0.05% トゥイーン20）で3回洗浄した後、200μL/ウェルのブロッキングバッファー（D-PBS, 1% BSA）を用いて25℃で1時間ブロックした。次いで、プレートを洗浄し、100μL/ウェルの抗体またはDVD-Ig（ブロッキングバッファー中0.01μg/mL~100μg/mL）と37℃で1時間インキュベートした。次いで、プレートを3回洗浄し、ビオチン標識したヒトIGF1またはIGF2（ブロッキングバッファー中0.02nM~100nMの用量範囲、100μL/ウェル）と37℃で1時間インキュベートした。プレートを3回洗浄し、HRPをコンジュゲートしたストレプトアビジン（KPL, #474-3000, メリーランド州ゲーサーズバーグ、ブロッキングバッファーで1:10, 000希釈、100μL/ウェル）と25℃で1時間インキュベートした。最終洗浄後、プレートを100μL/ウェルのELISA基質（1-Step Ultra-TMB-ELISA, Pierce, #340280, イリノイ州ロックフォード）とインキュベートした。5分後、反応を25℃で100μL/ウェルの2N H

10

20

30

40

50

2SO_4 を用いて停止し、吸光度を 450nm で読み取った。IGF1, 2 捕捉 ELISA データを表 14 に示す。

【0611】

実施例 1. 1. 1. F : 捕捉 ELISA-DLL4

96 ウェル Nunc-Immuno プレート (#439454, ニューヨーク州ロチェスター) を D-PBS (Gibco, #14190, ニューヨーク州グランドアイランド) 中 $5\mu\text{g/ml}$ のヒト IgG に対する抗体 (Fc γ 断片特異的, Jackson ImmunoResearch, ペンシルベニア州ウェストグロブ, #109-005-098, $100\mu\text{l}$ /ウェル) でコーティングし、 4°C で一晩インキュベートした。ELISA プレートを洗浄バッファー (PBS, 0.05% トゥイーン 20) で 3 回洗浄した

後、 $200\mu\text{L}$ /ウェルのブロッキングバッファー (D-PBS, 1% BSA, 1mM CaCl_2 , 0.05% トゥイーン 20) を用いて 25°C で 1 時間ブロックした。プレートを 3 回洗浄し、 $100\mu\text{l}$ /ウェルの DLL4 抗体 ($0.0001\sim 100\text{nM}$, ブロッキングバッファーで 10 倍連続希釈) と 25°C で 1 時間インキュベートした後、再び 3 回洗浄した。捕捉した DLL4 Ab を含有するプレートをビオチン標識したヒト DLL4 細胞外ドメイン (ブロッキングバッファー中 10nM , $100\mu\text{L}$ /ウェル) と 25°C で 1 時間インキュベートし、3 回洗浄し、HRP をコンジュゲートしたストレプトアビジン (KPL, #474-3000C) とインキュベートし、3 回洗浄し、HRP をコンジュゲートしたストレプトアビジン (KPL, #474-3000, メリーランド州ゲサーズバーグ, ブロッキングバッファーで 1:10, 000 希釈, $100\mu\text{L}$ /ウェル) と 25°C で 1 時間インキュベートした。最終洗浄後、プレートを $100\mu\text{L}$ /ウェルの ELISA 基質 (1-Step Ultra TMB-ELISA, Pierce, #340280, イリノイ州ロックフォード) とインキュベートした。2 分後、反応を $100\mu\text{L}$ /ウェルの 2N H_2SO_4 を用いて 25°C で停止し、吸光度を 450nm で読み取った。DLL4 捕捉 ELISA データを表 14 に示す。

【0612】

実施例 1. 1. 1. G : 捕捉 ELISA-ErbB3 または EGFR

96 ウェル ELISA プレートを 33nM の濃度でヤギ抗ヒト IgG Fc (Jackson ImmunoResearch, ペンシルベニア州) でコーティングし、 4°C で一晩インキュベートした。プレートを 0.05% トゥイーン 20 を含有する PBS で 3 回洗浄し、 $200\mu\text{L}$ /ウェルの 1% BSA/PBS を用いて室温で 1 時間ブロックした。各ウェルに $50\mu\text{L}$ の 5nM DVD-Ig または抗体を添加し、室温で 1 時間インキュベートした。プレートを洗浄した後、 $50\mu\text{l}$ /ウェルの各種濃度のビオチニル化 ErbB3 またはビオチニル化 EGFR と室温で 1 時間インキュベートした。プレートを再び洗浄した後、 $50\mu\text{L}$ /ウェルの HRP をコンジュゲートしたストレプトアビジン (KPL, #474-3000, Protein Research Products, メリーランド州) と室温で 1 時間インキュベートした。ウェルを 3 回洗浄し、 $100\mu\text{l}$ /ウェルの ULTRA-TMB ELISA (Pierce, イリノイ州ロックフォード) を添加した。発色後、 1N HCl を用いて反応を停止させ、 450nm で吸光度を測定した。

【0613】

表 14 は、VEGF、RON、EGFR、IGFR、IGF-1, 2、HER-2、DLL4 及び ErbB3 における親抗体及び DVD-Ig 構築物の EC_{50} (nM) で表示した親和性を含む。

【0614】

【表 1 4】

表 1 4 : 親抗体及びDVD-I g 構築物のVEGF、RON、E r b B 3、I G F R、
I G F 1, 2、D L L 4 及びHER-2 抗原捕捉ELISA

親抗体または DVD-Ig ID	N末端可変 ドメイン	C末端可変 ドメイン	捕捉 ELISA における N末端A g 結合 (EC50, nM)	捕捉 ELISA における C末端A g 結合 (EC50, nM)
AB004	HER-2		0.4	
AB010	IGF1,2		4.8, 10	
DVD029	HER-2	IGF1,2		229, 206

親抗体または DVD-Ig ID	N末端可変 ドメイン	C末端可変 ドメイン	捕捉 ELISA における N末端 A g 結合 (EC50, nM)	捕捉 ELISA における C末端 A g 結合 (EC50, nM)
DVD030	IGF1,2	HER-2	1.8, 5.5	10.7
AB033	EGFR		0.3	
AB011	IGF1R		0.3	
DVD021	EGFR	IGF1R	0.3	135
DVD022	IGF1R	EGFR	0.3	0.7
AB005	RON		1.6	
DVD024	RON	EGFR	1.96	
DVD023	EGFR	RON		>100
AB004	HER-2		0.2	
AB011	IGF1R		0.3	
DVD031	HER-2	IGF1R	0.3	171
DVD032	IGF1R	HER-2	0.2	11
AB005	RON		0.7	
AB012	HGF			
DVD033	RON	HGF	2.5	
DVD034	HGF	RON		
AB014	VEGF		0.24	
DVD035	VEGF	EGFR	0.24	
AB014	VEGF		0.24	
DVD038	HER-2	VEGF		2.00
AB014	VEGF		0.9	
AB010	IGF1,2		4.8, 18.1	
DVD041	VEGF	IGF1,2	0.7	381, 7335
DVD042	IGF1,2	VEGF	2.5, 17.6	42.3
AB015	DLL-4		0.03	
AB014	VEGF		0.24	
DVD044	DLL4	VEGF	0.06	4.20
DVD043	VEGF	DLL4	0.20	0.50
AB014	VEGF		0.24	
AB012	HGF			
DVD045	VEGF	HGF	0.29	>100
AB005	RON		1.3	
AB014	VEGF		0.24	
DVD048	RON	VEGF	2.7	3.60
DVD047	VEGF	RON	0.36	>100
AB014	VEGF		0.24	
DVD049	VEGF	NRP1	4.80	
DVD050	NRP1	VEGF		2.30
AB014	VEGF		0.53	
DVD260	PIGF	VEGF		1.70
AB062	ErbB3		0.26	
DVD299	ErbB3	EGFR	0.25	>10.0
AB063	ErbB3		0.67	
AB033	EGFR			

10

20

30

40

親抗体または DVD-Ig ID	N末端可変 ドメイン	C末端可変 ドメイン	捕捉 ELISA における N末端 A g 結合 (EC ₅₀ , nM)	捕捉 ELISA における C末端 A g 結合 (EC ₅₀ , nM)
DVD305	ErbB3	EGFR	0.92	>10.0
DVD306	EGFR	ErbB3	0.48	>10.0
DVD385	ErbB3	EGFR	0.36	1.1
DVD409	ErbB3	EGFR	0.54	2.5
DVD410	EGFR	ErbB3	>10	0.77
DVD413	ErbB3	EGFR	0.59	0.71

10

【0615】

すべてのDVD-Ig構築物の可溶性抗原に対する結合は維持され、親抗体に匹敵した。すべてのN末端可変ドメイン並びにDVD022、DVD038、DVD043、DVD048、DVD50及びDVD260のC末端可変ドメインは親抗体に類似の高親和性で結合した。

【0616】

【表15】

表15: 7個のDLL4/VEGF DVD-Ig構築物及び親抗体のDLL4抗原捕捉ELISA

20

DVD-Ig ID	配列	配向	HC リンカー	LC リンカー	他の DVD-Ig VD	DVD-Ig DLL4 捕捉 ELISA (EC ₅₀ , nM)	Ref. Ab. ID	Ref. Ab. DLL4 捕捉 ELISA (EC ₅₀ , nM)
DVD470	DLL4 (seq. 1)	C末端	長	長	VEGF (seq. 1)	0.16	AB015	0.15
DVD476	DLL4 (seq. 1)	C末端	長	短	VEGF (seq. 1)	0.21	AB015	0.18
DVD482	DLL4 (seq. 1)	C末端	短	長	VEGF (seq. 1)	0.17	AB015	0.18
DVD474	DLL4 (seq. 1)	C末端	長	長	VEGF (seq. 2)	0.14	AB015	0.15
DVD486	DLL4 (seq. 1)	C末端	短	長	VEGF (seq. 2)	0.16	AB015	0.14
DVD485	DLL4 (seq. 1)	N末端	短	長	VEGF (seq. 2)	5.45	AB015	0.14
DVD471	DLL4 (seq. 1)	N末端	長	長	VEGF (seq. 3)	0.17	AB015	0.15

30

40

【0617】

すべてのDVD-Ig構築物のDLL4抗原に対する結合は維持され、親抗体に匹敵した。すべてのN末端可変ドメイン並びにDVD470、DVD476、DVD482、DVD474及びDVD486のC末端可変ドメインは親抗体に類似の高親和性で結合した。

【0618】

【表 16】

表 16 : 7 個の DLL4 / VEGF DVD-Ig 構築物及び親抗体の VEGF 抗原捕捉 ELISA

DVD-Ig ID	配列	配向	HC リンカー	LC リンカー	他の DVD-Ig VD	DVD-Ig VEGF 捕捉 ELISA (EC ₅₀ , nM)	Ref. Ab. ID	Ref. Ab. VEGF 捕捉 ELISA (EC ₅₀ , nM)
DVD470	DLL4 (seq. 1)	C 末端	長	長	VEGF (seq. 1)	0.27	AB014	0.21
DVD476	DLL4 (seq. 1)	C 末端	長	短	VEGF (seq. 1)	0.22	AB014	0.21
DVD482	DLL4 (seq. 1)	C 末端	短	長	VEGF (seq. 1)	0.22	AB014	0.21
DVD474	DLL4 (seq. 1)	C 末端	長	長	VEGF (seq. 2)	1.65	AB071	0.38
DVD486	DLL4 (seq. 1)	C 末端	短	長	VEGF (seq. 2)	0.53	AB071	0.38
DVD485	DLL4 (seq. 1)	N 末端	短	長	VEGF (seq. 2)	2.5	AB071	0.38
DVD471	DLL4 (seq. 1)	N 末端	長	長	VEGF (seq. 3)	0.56	AB070	0.35

【0619】

すべての DVD-Ig 構築物の VEGF 抗原に対する結合は維持され、親抗体に匹敵した。すべての N 末端可変ドメインは、親抗体並びに DVD470、DVD476、DVD482、DVD474 及び DVD486 の C 末端可変ドメインに類似の高親和性で結合した。

【0620】

実施例 1. 1. 1. H : 親 ErbB3 抗体、EGFR 抗体及び DVD-Ig 構築物によるインビトロでのリガンド非依存性 ErbB3 及び EGFR リン酸化の抑制

A431 細胞を 96 ウェルプレートにおいて 40,000 個の細胞/ウェルで平板培養し、37℃、5% CO₂ で 18~24 時間インキュベートした。インキュベートした後、細胞を 1×D-PBS で 2 回洗浄し、無血清培地中で一晚欠乏させた。翌日、細胞を 60 μM のモノクローナル抗体または DVD-Ig を含有する無血清培地 (50 μl) と 37℃ で 4 時間インキュベートした。抗体をインキュベートした後、細胞を氷冷 D-PBS で 2 回洗浄し、10 μl の HALT (登録商標) ホスファターゼ阻害剤カクテル (Thermo Scientific、イリノイ州ロックフォード)、1 個の Complete (登録商標) EDTA 非含有プロテアーゼ阻害剤錠 (1 錠/10ml, Roche Diagnostic、独国マンハイム) 及び PMSF を含有する細胞抽出バッファー (Biosource International、カリフォルニア州カールズバッド) (110 μl) 中で収集した。細胞ライゼートを氷上で断続的に渦状に攪拌しながら 30 分間インキュベートし、遠心 (10 分間, 14,000 rpm, 4℃) により予め清澄化し、ELISA 分析のために処理した。Human Phospho-ErbB3 検出キット (R&D Systems、#DYC1769、ミネソタ州ミネアポリス) を製造業者の

プロトコルに従って用いることによりリン光体－ErbB3を検出した。リン光体－EGFRは、Human Phospho-EGFR DuoSetキット（R&D Systems, #DYC1095, ミネソタ州ミネアポリス）を製造業者のプロトコルに従って用いて検出した。

【0621】

【表17】

表16A：ErbB3親抗体及びDVD-Ig構築物によるA431細胞におけるErbB3及びEGFRのリン酸化の抑制

親抗体 または DVD-Ig ID	N末端可変 ドメイン (VD)	C末端可変 ドメイン (VD)	ErbB3 リン酸化 の抑制 (60nM Ab/DVD での抑制%)	EGFRリン酸化 の抑制 (60nM Ab/DVD での抑制%)
AB062	ErbB3		72%	0%
AB033	EGFR		28%	54%
DVD385	ErbB3	EGFR	77%	61%
DVD409	ErbB3	EGFR	82%	63%
DVD413	ErbB3	EGFR	83%	62%
DVD299	ErbB3	EGFR	77%	55%
AB008	CD22		0%	4%

10

20

【0622】

実施例1. 1. 1. I：ErbB3またはEGFRモノクローナル抗体またはDVD-Igのインビトロでの増殖抑制効果

96ウェルプレートにおいてA431細胞にD-PBS-BSA（ダルベッコリン酸緩衝食塩液＋0.1% BSA）で希釈したErbB3、EGFRモノクローナル抗体またはDVD-Igを180uL中2.4及び21.6nMの最終濃度で添加した。プレートを加湿した5% CO₂雰囲気中37℃で3日間インキュベートした。ATPliteキット（Perkin Elmer, マサチューセッツ州ウォルサム）を製造業者の使用説明書に従って使用してATPレベルを評価することにより細胞生存／増殖を間接的に調べた。抗体処理のないウェルを0%抑制の対照として使用し、細胞なしのウェルは100%抑制を示すとみなされた。

30

【0623】

【表18】

表16B：ErbB3親抗体及びDVD-Ig構築物によるA431増殖の抑制

親抗体 または DVD-Ig ID	N末端可変 ドメイン (VD)	C末端可変 ドメイン (VD)	A431増殖の抑制 (2.4nM Ab/DVD での抑制%)	A431増殖の抑制 (21.6nM Ab/DVD での抑制%)
AB062	ErbB3		14%	27%
AB033	EGFR		14%	49%
DVD385	ErbB3	EGFR	57%	78%
DVD409	ErbB3	EGFR	65%	78%
DVD413	ErbB3	EGFR	52%	76%
DVD299	ErbB3	EGFR	52%	70%
AB008	CD22		ND	6%

40

【0624】

実施例1. 1. 1. J：BIACOREテクノロジーを用いる親和性測定

【0625】

【表 19】

表 17 : B i a c o r e 分析で使用する試薬

アッセイ	抗原	業者の呼称	業者	カタログ番号
DLL4	DLL4	DLL ECD/His タグ	R&D	1506-D4-050
EGFR	EGFR	EGFR ECD	R&D	1095-ER
HER-2	HER-2/FC	ErbB2/FC キメラ-His タグ	R&D	1129-ER-050
HGF	HGF	HGF	R&D	294-HG-025
IGF1	IGF1	IGF-1	R&D	291-G1-050
IGF2	IGF2	IGF-2	R&D	292-G2-050
IGF1R	IGF1R	IGF1R ECD	R&D	391-GR-050
NPP1	NPP1	ニューロピリン-1 Npn-1-His タグ	R&D	3870-N1-025
PlGF	PlGF	胎盤 GF	R&D	264-PG-050
RON	RON	MSP 受容体 ECD-His タグ	R&D	1947-MS-050
VEGF	VEGF	VEGF	R&D	293-VE-010
ErbB3	ErbB3	ErbB3/FC キメラ-His タグ	R&D	348-RB

E C D＝細胞外ドメイン

／F C キメラ＝抗原／I g G F C ドメイン融合タンパク質

【0626】

B I A C O R E 方法

B I A C O R E アッセイ (B i a c o r e , I n c . , ニュージャージー州ピスカタウェイ) はオン速度定数及びオフ速度定数のカイネティック測定で抗体または D V D - I g の親和性を調べる。抗体または D V D - I g の標的抗原 (例えば、精製組換え標的抗原) に対する結合を 25℃ でランニング H B S - E P (10 mM H E P E S [p H 7 . 4] , 150 mM N a C l , 3 mM E D T A 及び 0 . 005 % 界面活性剤 P 20) を用い、B i a c o r e (登録商標) 1000 または 3000 計器 (B i a c o r e (登録商標) A B , スウェーデン国ウプサラ) での表面プラズモン共鳴に基づく測定により調べた。すべての化学物質は B i a c o r e (登録商標) A B (スウェーデン国ウプサラ) またはテキスト中に記載されている別のソースから入手する。例えば、10 mM 酢酸ナトリウム (p H 4 . 5) で希釈したヤギ抗マウス I g G、(F c γ) 、断片特異的ポリクローナル抗体 (P i e r c e B i o t e c h n o l o g y I n c . , イリノイ州ロックフォード) (約 5000 R U) を 25 μ g / m l で標準アミンカップリングキットを製造業者の使用説明書及び手順に従って用いて C M 5 研究グレードのバイオセンサーチップ上に直接固定化する。バイオセンサー上の未反応部分をエタノールアミンでブロックする。フローセル 2 及び 4 中の変性カルボキシメチルデキストラン表面を反応表面として使用する。フローセル 1 及び 3 中のヤギ抗マウス I g G を含まない未変性カルボキシメチルデキストランを参照表面として使用する。カイネティック分析のために、1 : 1 ラングミュア結合モデルから誘導した速度式を B i a e v a l u a t i o n 4 . 0 . 1 ソフトウェアを用いて 8 個すべての注入の会合及び解離相に同時に (グローバルフィット分析により) フィットさせる。ヤギ抗マウス I g G 特異的反応表面を捕捉するために精製抗体または D V D - I g を H E P E S 緩衝食塩液で希釈する。リガンド (25 μ g / m l) として捕捉しようとする抗体または D V D - I g を 5 μ L / 分の流速で反応マトリックスに注入する。会合及び解離速度定数 k_{on} ($M^{-1} s^{-1}$) 及び k_{off} (s^{-1}) を 25 μ L / 分の連続流速で測定する。速度定数は、10 ~ 200 n M の範囲の異なる抗原濃度でカイネティック結合を測定することにより誘導される。次いで、抗体または D V D - I g と標的抗

原との間の反応の平行解離定数 (M) を以下の式 ; $K_D = k_{off} / k_{on}$ によりカイネティック速度定数から計算する。結合は時間の関数として記録し、カイネティック速度定数を計算する。このアッセイでは、 $10^6 M^{-1} s^{-1}$ くらい速いオン速度及び $10^{-6} s^{-1}$ くらい遅いオフ速度を測定し得る。

【 0 6 2 7 】

【 表 2 0 】

表 1 8 : 親抗体及び DVD-Ig の B I A C O R E 分析

親抗体または DVD-Ig ID	N末端可変 ドメイン (VD)	C末端可変 ドメイン (VD)	k_{on} ($M^{-1}s^{-1}$)	k_{off} (s^{-1})	K_D (M)
AB011	IGF1R		7.32E+04	6.21E-05	8.48E-10
DVD021	EGFR		1.22E+06	1.80E-03	1.47E-9
DVD021		IGF1R			
DVD022	IGF1R		1.06E+05	8.25E-05	7.78E-10
DVD022		EGFR	8.03E+04	2.26E-04	2.81E-9
AB004	HER-2		3.22E+05	1.28E-05	3.97E-11
AB011	IGF1R		7.32E+04	6.21E-05	8.48E-10
DVD031	HER-2		3.30E+05	7.02E-06	2.12E-11
DVD031		IGF1R			
DVD032	IGF1R		5.10E+04	4.23E-05	8.29E-10
DVD032		HER-2	1.84E+04	9.31E-06	5.05E-10
AB004	HER-2		3.22E+05	1.28E-05	3.97E-11
AB010	IGF1		3.17E+06	1.23E-03	3.88E-10
AB010	IGF2		6.47E+06	2.74E-06	4.23E-13
DVD029	HER-2		2.42E+05	9.64E-06	3.98E-11
DVD029		IGF1	6.65E+04	4.23E-04	6.36E-9
DVD029		IGF2	1.04E+05	3.15E-05	3.02E-10
DVD030	IGF1		3.96E+06	1.16E-03	2.92E-10
DVD030	IGF2		8.46E+06	1.98E-05	2.34E-12
DVD030		HER-2	1.54E+05	7.36E-04	4.77E-9
AB033	EGFR		7.93E+04	1.39E-03	1.75E-8
AB004	HER-2		3.22E+05	1.28E-05	3.97E-11
DVD015	EGFR		1.79E+06	1.96E-03	1.09E-9
DVD015		HER-2			
DVD016	HER-2		2.44E+05	4.36E-06	1.78E-11
DVD016		EGFR	2.36E+04	4.53E-04	1.92E-8
AB014	VEGF		1.47E+05	3.03E-05	2.07E-10
AB010	IGF1				
AB010	IGF2		3.35E+06	<1.00E-06	<2.99E-13
DVD041	VEGF		5.26E+05	2.39E-06	4.55E-12
DVD041		IGF1			
DVD041		IGF2	8.09E+04	<1.00E-06	<1.24E-11
DVD042	IGF1				
DVD042	IGF2		5.20E+06	5.18E-06	9.98E-13
DVD042		VEGF	3.45E+04	1.46E-05	4.21E-10
AB005	RON		3.66E+04	7.39E-04	2.02E-8

10

20

30

40

親抗体または DVD-Ig ID	N末端可変 ドメイン (VD)	C末端可変 ドメイン (VD)	k_{on} (M-1s-1)	k_{off} (s-1)	K_D (M)
AB033	EGFR		7.93E+04	1.39E-03	1.75E-8
DVD024	RON		4.56E+04	8.52E-04	1.86E-8
DVD024		EGFR			
DVD023	EGFR		2.08E+06	2.22E-03	1.06E-9
DVD023		RON			
AB005	RON		3.66E+04	7.39E-04	2.02E-8
AB012	HGF		>1.00E+7	2.84E-04	<2.84E-11
DVD033	RON		1.56E+05	1.18E-03	7.60E-09
DVD033		HGF	2.97E+05	9.20E-05	3.10E-10
DVD034	HGF		3.05E+06	6.55E-05	2.15E-11
DVD034		RON			
AB005	RON		3.66E+04	7.39E-04	2.01E-8
AB014	VEGF		3.06E+05	3.99E-06	1.30E-11
DVD048	RON				
DVD048		VEGF	3.85E+04	4.50E-05	1.17E-9
DVD047	VEGF		3.46E+05	2.79E-05	8.06E-11
DVD047		RON			
AB015	DLL-4		4.00E+05	1.66E-04	4.14E-10
AB014	VEGF		1.47E+05	3.03E-05	2.07E-10
DVD044	DLL4		5.90E+05	2.05E-04	3.47E-10
DVD044		VEGF	3.67E+04	1.13E-05	3.08E-10
DVD043	VEGF		4.94E+05	8.26E-06	1.67E-11
DVD043		DLL4	9.37E+04	2.17E-04	2.32E-09
AB015	DLL-4				
AB047	PIGF		3.80E+06	1.08E-04	2.84E-11
DVD257	DLL4		8.35E+05	1.96E-04	2.34E-10
DVD257		PIGF	3.02E+05	1.11E-04	3.67E-10
DVD258	PIGF		>1.00E+07	2.54E-03	<2.54E-10
DVD258		DLL4			
AB014	VEGF		1.47E+05	3.03E-05	2.07E-10
AB033	EGFR		8.85E+05	1.23E-03	1.39E-09
DVD035	VEGF		2.25E+05	1.73E-05	8.23E-11
DVD035		EGFR			
DVD036	EGFR		1.21E+06	1.57E-03	1.30E-09
DVD036		VEGF	4.80E+04	3.19E-04	6.65E-09
AB014	VEGF		3.07E+05	3.39E-05	1.06E-11
AB004	HER-2		3.02E+05	1.03E-05	3.40E-11
DVD037	VEGF		4.45E+05	<1.00E-06	<2.25E-12
DVD037		HER-2	7.61E+03	2.83E-06	3.72E-10
DVD038	HER-2		1.95E+05	4.81E-06	2.47E-11
DVD038		VEGF	3.67E+04	<1.00E-06	<2.27E-11
AB014	VEGF		1.47E+05	3.03E-05	2.07E-10
AB012	HGF		>1.00E+7	2.84E-04	<2.84E-11
DVD045	VEGF		2.01E+05	3.05E-06	1.52E-11
DVD045		HGF	1.84E+05	1.66E-04	9.01E-10
DVD046	HGF		>1.00E+7	2.36E-04	<2.36E-11
DVD046		VEGF			

10

20

30

40

親抗体または DVD-Ig ID	N末端可変 ドメイン (VD)	C末端可変 ドメイン (VD)	k_{on} (M-1s-1)	k_{off} (s-1)	K_D (M)
AB014	VEGF		3.06E+05	3.99E-06	1.30E-11
AB016	NRP1		1.47E+05	3.90E-04	2.67E-9
DVD049	VEGF				
DVD049		NRP1	1.42E+05	1.81E-04	1.28E-9
DVD050	NRP1		1.82E+05	2.61E-04	1.440E-9
DVD050		VEGF	1.82E+05	2.61E-04	1.440E-9
AB014	VEGF		3.07E+05	3.39E-05	1.06E-10
AB047	PlGF		3.80E+06	1.08E-04	2.85E-11
DVD259	VEGF		5.02E+05	2.06E-05	4.12E-11
DVD259		PlGF	2.99E+05	9.87E-05	3.30E-10
DVD260	PlGF		4.27E+06	5.14E-05	1.20E-11
DVD260		VEGF	4.99E+04	2.05E-05	4.11E-10
AB033	EGFR		8.85E+05	1.23E-03	1.39E-09
AB012	HGF		>1.00E+7	2.84E-04	<2.84E-11
DVD025	EGFR		7.31E+05	1.44E-03	1.98E-09
DVD025		HGF	3.05E+05	2.28E-04	7.46E-10
DVD026	HGF		4.19E+06	6.67E-05	1.59E-11
DVD026		EGFR			
AB062	ErbB3		8.66E+04	1.17E-04	1.360E-9
AB033	EGFR		7.93E+04	1.39E-03	1.75E-8
DVD299	ErbB3		1.95E+05	1.60E-04	8.20E-10
DVD299		EGFR	3.26E+04	4.48E-04	1.37E-8
DVD300	EGFR		1.52E+06	1.69E-03	1.11E-9
DVD300		ErbB3			
AB063	ErbB3		1.17E+06	1.75E-04	1.50 E-10
AB033	EGFR		7.93E+04	1.39E-03	1.75 E-8
DVD305	ErbB3		2.27E+06	1.37E-04	6.03E-11
DVD305		EGFR	3.99E+04	3.17E-04	7.940 E-9
DVD306	EGFR		1.82E+06	1.86E-03	1.020 E-9
DVD306		ErbB3			

10

20

30

B i a c o r eテクノロジーにより特徴づけられるすべてのDVD-Ig構築物の結合は維持され、親抗体の結合に匹敵した。すべてのN末端可変ドメイン並びにDVD-Ig構築物のDVD022、DVD016、DVD042、DVD044、DVD043、DVD038、DVD049、DVD260、DVD299及びDVD305のC末端可変ドメインは親抗体に類似の高親和性で結合した。

【0628】

【表 2 1】

表 1 9 : 親抗体及びDVD-IgのB I A C O R E分析

Ref.Ab または DVD-Ig	N 末端 VD	C 末端 VD	k_{on} ($M^{-1}s^{-1}$)	k_{off} (s^{-1})	k_D (M)
AB004	HER-2(ドメイン IV)		0.19E+05	2.01E-04	1.84E-09
AB080	HER-2(ドメイン II)		7.03E+04	4.21E-04	5.99E-09
DVD687	HER-2 (ドメイン IV)	HER-2 (ドメイン II)	1.03E+05	7.80E-05	7.57E-10
DVD688	HER-2 (ドメイン II)	HER-2 (ドメイン IV)	4.85E+04	2.66E-04	5.48E-09
DVD689	HER-2 (ドメイン IV)	HER-2 (ドメイン II)	N/A	N/A	N/A
DVD690	HER-2 (ドメイン II)	HER-2 (ドメイン IV)	N/A	N/A	N/A
DVD691	HER-2 (ドメイン IV)	HER-2 (ドメイン II)	1.18E+05	6.10E-05	5.17E-10
DVD692	HER-2 (ドメイン II)	HER-2 (ドメイン IV)	4.66E+04	1.35E-04	2.90E-09
DVD693	HER-2 (ドメイン IV)	HER-2 (ドメイン II)	1.26E+05	1.86E-05	1.48E-10
DVD694	HER-2 (ドメイン II)	HER-2 (ドメイン IV)	7.89E+04	1.46E-04	1.85E-09

10

20

30

B i a c o r eテクノロジーにより特徴づけられる6個のDVD-Ig構築物の結合は親抗体の結合に匹敵するかまたはそれ以上であった。N末端可変ドメインでのすべてのHER-2ドメインIVは親抗体よりも10～40倍高い親和性で結合し、DVD-Ig構築物のC末端可変ドメインでのすべてのHER-2ドメインIVは親抗体に匹敵する親和性を示す。

【0629】

【表 2 2】

表 20 : VEGF/DLL4 DVD構築物中のVEGFドメインのB I A C O R E 分析

DVD-Ig ID	VEGF 配列ID	DLL4 配列 ID	C- 末端 VD	N- 末端 VD	HC リンカー	LC リンカー	DLL4 ka	DLL4 kd	DLL4 KD
DVD044	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 1)	VEGF	DLL4	S	S	6.69E+05	1.45E-04	2.16E-10
DVD469	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 1)	VEGF	DLL4	L	L	1.41E+05	7.27E-05	5.15E-10
DVD475	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 1)	VEGF	DLL4	L	S	4.52E+05	1.95E-04	4.31E-10
DVD481	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 1)	VEGF	DLL4	S	L	1.87E+05	2.41E-04	1.29E-09
DVD441	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 2)	VEGF	DLL4	S	S	1.25E+05	5.71E-04	4.59E-09
DVD447	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 2)	VEGF	DLL4	L	L	9.92E+04	5.13E-04	5.17E-09
DVD453	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 2)	VEGF	DLL4	L	S	1.19E+05	5.97E-04	5.03E-09
DVD459	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 2)	VEGF	DLL4	S	L	1.22E+05	5.44E-04	4.48E-09
DVD511	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 3)	VEGF	DLL4	S	S	1.21E+06	1.73E-03	1.43E-09
DVD517	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 3)	VEGF	DLL4	L	L	1.19E+06	1.76E-03	1.48E-09
DVD523	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 3)	VEGF	DLL4	L	S	1.08E+06	2.09E-03	1.93E-09
DVD529	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 3)	VEGF	DLL4	S	L	8.40E+05	1.51E-03	1.80E-09
DVD487	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 4)	VEGF	DLL4	S	S	2.84E+05	8.19E-05	2.88E-10

10

20

DVD493	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 4)	VEGF	DLL4	L	L	2.92E+05	4.00E-05	1.37E-10
DVD499	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 4)	VEGF	DLL4	L	S	2.71E+05	8.01E-05	2.95E-10
DVD505	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 4)	VEGF	DLL4	S	L	2.62E+05	4.02E-05	1.53E-10
DVD043	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 1)	DLL4	VEGF	S	S	3.34E+04	2.81E-04	8.40E-09
DVD470	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 1)	DLL4	VEGF	L	L	6.84E+04	7.02E-05	1.03E-09
DVD476	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 1)	DLL4	VEGF	L	S	5.63E+04	1.67E-04	2.96E-09
DVD482	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 1)	DLL4	VEGF	S	L	1.11E+05	2.32E-04	2.08E-09
DVD442	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 2)	DLL4	VEGF	S	S	1.33E+05	2.18E-04	1.65E-09
DVD448	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 2)	DLL4	VEGF	L	L	1.92E+04	1.93E-04	1.01E-08
DVD454	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 2)	DLL4	VEGF	L	S	3.25E+03	2.37E-04	7.29E-08
DVD460	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 2)	DLL4	VEGF	S	L	1.54E+04	2.60E-04	1.69E-08
DVD512	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 3)	DLL4	VEGF	S	S	2.58E+05	7.57E-04	2.94E-09
DVD518	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 3)	DLL4	VEGF	L	L	1.22E+05	4.54E-04	3.72E-09
DVD524	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 3)	DLL4	VEGF	L	S	9.28E+04	8.77E-04	9.45E-09
DVD530	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 3)	DLL4	VEGF	S	L	4.07E+05	2.19E-03	5.38E-09
DVD488	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 4)	DLL4	VEGF	S	S	1.59E+05	6.62E-05	4.18E-10
DVD494	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 4)	DLL4	VEGF	L	L	1.32E+05	1.83E-04	1.39E-09
DVD500	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 4)	DLL4	VEGF	L	S	1.05E+05	5.72E-05	5.48E-10
DVD506	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 4)	DLL4	VEGF	S	L	7.07E+04	1.04E-04	1.47E-09
DVD467	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 1)	VEGF	DLL4	S	S	5.85E+05	1.77E-04	3.02E-10
DVD473	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 1)	VEGF	DLL4	L	L	2.26E+05	1.61E-04	7.16E-10
DVD479	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 1)	VEGF	DLL4	L	S	3.95E+05	1.74E-04	4.41E-10
DVD485	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 1)	VEGF	DLL4	S	L	1.48E+05	1.71E-04	1.16E-09
DVD445	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 2)	VEGF	DLL4	S	S	1.29E+05	6.46E-04	5.01E-09
DVD451	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 2)	VEGF	DLL4	L	L	7.17E+04	1.00E-03	1.40E-08
DVD457	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 2)	VEGF	DLL4	L	S	1.20E+05	5.78E-04	4.82E-09
DVD463	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 2)	VEGF	DLL4	S	L	1.23E+05	4.72E-04	3.82E-09
DVD515	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 3)	VEGF	DLL4	S	S	1.06E+06	1.60E-03	1.51E-09
DVD521	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 3)	VEGF	DLL4	L	L	9.47E+05	1.68E-03	1.77E-09
DVD527	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 3)	VEGF	DLL4	L	S	5.74E+05	1.09E-03	1.90E-09
DVD533	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 3)	VEGF	DLL4	S	L	5.98E+05	1.33E-03	2.22E-09
DVD491	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 4)	VEGF	DLL4	S	S	2.67E+05	6.35E-05	2.37E-10
DVD497	VEGF	DLL4	VEGF	DLL4	L	L	2.68E+05	7.12E-05	2.66E-10

10

20

30

40

	(Seq. 2)	(seq. 4)							
DVD503	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 4)	VEGF	DLL4	L	S	2.46E+05	4.72E-05	1.92E-10
DVD509	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 4)	VEGF	DLL4	S	L	2.30E+05	3.52E-05	1.53E-10
DVD468	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 1)	DLL4	VEGF	S	S	5.82E+04	2.19E-04	3.76E-09
DVD474	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 1)	DLL4	VEGF	L	L	6.31E+04	6.55E-05	1.04E-09
DVD480	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 1)	DLL4	VEGF	L	S	5.30E+04	1.79E-04	3.38E-09
DVD486	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 1)	DLL4	VEGF	S	L	6.27E+04	1.33E-04	2.13E-09
DVD446	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 2)	DLL4	VEGF	S	S	2.91E+04	1.69E-04	5.81E-09
DVD452	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 2)	DLL4	VEGF	L	L	2.37E+04	2.20E-04	9.30E-09
DVD458	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 2)	DLL4	VEGF	L	S	1.61E+04	2.61E-04	1.62E-08
DVD464	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 2)	DLL4	VEGF	S	L	3.28E+04	1.82E-04	5.53E-09
DVD516	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 3)	DLL4	VEGF	S	S	1.17E+05	5.83E-04	4.99E-09
DVD522	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 3)	DLL4	VEGF	L	L	1.15E+05	1.21E-03	1.05E-08
DVD528	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 3)	DLL4	VEGF	L	S	3.16E+05	1.52E-03	4.81E-09
DVD534	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 3)	DLL4	VEGF	S	L	3.46E+05	2.00E-03	5.78E-09
DVD492	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 4)	DLL4	VEGF	S	S	7.82E+04	8.35E-05	1.07E-09
DVD498	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 4)	DLL4	VEGF	L	L	6.46E+04	9.36E-05	1.45E-09
DVD504	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 4)	DLL4	VEGF	L	S	5.81E+04	7.32E-05	1.26E-09
DVD510	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 4)	DLL4	VEGF	S	L	5.69E+04	8.84E-05	1.55E-09
DVD465	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 1)	VEGF	DLL4	S	S	7.97E+05	1.64E-04	2.05E-10
DVD471	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 1)	VEGF	DLL4	L	L	3.76E+05	2.52E-04	6.72E-10
DVD477	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 1)	VEGF	DLL4	L	S	5.40E+05	1.65E-04	3.06E-10
DVD483	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 1)	VEGF	DLL4	S	L	4.16E+05	1.39E-04	3.34E-10
DVD443	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 2)	VEGF	DLL4	S	S	1.45E+05	5.96E-04	4.11E-09
DVD449	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 2)	VEGF	DLL4	L	L	1.21E+05	5.84E-04	4.81E-09
DVD455	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 2)	VEGF	DLL4	L	S	1.29E+05	6.04E-04	4.70E-09
DVD461	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 2)	VEGF	DLL4	S	L	1.15E+05	5.38E-04	4.69E-09
DVD513	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 3)	VEGF	DLL4	S	S	2.71E+05	6.77E-04	2.50E-09
DVD519	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 3)	VEGF	DLL4	L	L	1.67E+05	4.72E-04	2.83E-09
DVD525	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 3)	VEGF	DLL4	L	S	4.75E+05	1.22E-03	2.57E-09
DVD531	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 3)	VEGF	DLL4	S	L	2.48E+05	8.58E-04	3.47E-09
DVD489	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 4)	VEGF	DLL4	S	S	2.96E+05	8.38E-05	2.83E-10
DVD495	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 4)	VEGF	DLL4	L	L	3.01E+05	7.91E-05	2.63E-10

10

20

30

40

DVD501	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 4)	VEGF	DLL4	L	S	2.70E+05	8.14E-05	3.02E-10
DVD507	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 4)	VEGF	DLL4	S	L	2.70E+05	7.16E-05	2.65E-10
DVD466	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 1)	DLL4	VEGF	S	S	1.11E+05	1.39E-04	1.25E-09
DVD472	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 1)	DLL4	VEGF	L	L	9.80E+04	8.64E-05	8.81E-10
DVD478	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 1)	DLL4	VEGF	L	S	7.52E+04	1.67E-04	2.22E-09
DVD484	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 1)	DLL4	VEGF	S	L	9.97E+04	2.95E-04	2.96E-09
DVD444	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 2)	DLL4	VEGF	S	S	1.43E+05	3.40E-04	2.37E-09
DVD450	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 2)	DLL4	VEGF	L	L	3.38E+04	2.51E-04	7.41E-09
DVD456	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 2)	DLL4	VEGF	L	S	1.04E+05	1.74E-04	1.66E-09
DVD462	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 2)	DLL4	VEGF	S	L	8.39E+04	2.50E-04	2.98E-09
DVD514	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 3)	DLL4	VEGF	S	S	1.24E+05	4.32E-04	3.48E-09
DVD520	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 3)	DLL4	VEGF	L	L	1.24E+05	4.08E-04	3.30E-09
DVD526	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 3)	DLL4	VEGF	L	S	1.13E+05	6.29E-04	5.55E-09
DVD532	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 3)	DLL4	VEGF	S	L	1.18E+05	8.10E-04	6.85E-09
DVD490	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 4)	DLL4	VEGF	S	S	1.46E+05	7.70E-05	5.28E-10
DVD496	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 4)	DLL4	VEGF	L	L	1.20E+05	1.72E-04	1.44E-09
DVD502	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 4)	DLL4	VEGF	L	S	9.21E+04	7.43E-05	8.07E-10
DVD508	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 4)	DLL4	VEGF	S	L	9.84E+04	1.67E-04	1.70E-09

B i a c o r eテクノロジーにより特徴づけられるVEGF／DLL4 DVD-Ig構築物のDLL4に対する結合は親抗体の結合に匹敵した。すべてのNまたはC末端可変ドメインは親抗体に匹敵する親和性でDLL4に結合した。

【0630】

【表23】

表21：VEGF／DLL4 DVD構築物中のVEGFドメインのBIACORE分析

DVD-Ig ID	VEGF 配列ID	DLL4 配列 ID	C- 末端 VD	N- 末端 VD	HC リンカー	LC リンカー	VEGF ka	VEGF kd	VEGF KD
DVD469	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 1)	VEGF	DLL4	L	L	3.31E+07	1.51E-02	4.55E-10
DVD475	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 1)	VEGF	DLL4	L	S	2.86E+05	2.40E-04	8.38E-10
DVD481	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 1)	VEGF	DLL4	S	L	4.76E+05	5.73E-04	1.20E-09
DVD441	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 2)	VEGF	DLL4	S	S	1.33E+05	7.43E-05	5.58E-10
DVD447	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 2)	VEGF	DLL4	L	L	2.99E+05	4.76E-05	1.59E-10
DVD453	VEGF	DLL4	VEGF	DLL4	L	S	1.58E+05	2.62E-07	1.66E-12

	(Seq. 1)	(seq. 2)							
DVD459	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 2)	VEGF	DLL4	S	L	3.60E+05	5.66E-07	1.57E-12
DVD511	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 3)	VEGF	DLL4	S	S	3.66E+05	3.70E-04	1.01E-09
DVD517	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 3)	VEGF	DLL4	L	L	5.33E+05	3.03E-04	5.69E-10
DVD523	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 3)	VEGF	DLL4	L	S	5.73E+05	1.75E-04	3.05E-10
DVD529	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 3)	VEGF	DLL4	S	L	5.61E+05	1.86E-04	3.32E-10
DVD487	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 4)	VEGF	DLL4	S	S	3.15E+05	1.04E-04	3.30E-10
DVD493	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 4)	VEGF	DLL4	L	L	7.54E+05	2.09E-05	2.77E-11
DVD499	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 4)	VEGF	DLL4	L	S	3.40E+05	3.95E-05	1.16E-10
DVD505	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 4)	VEGF	DLL4	S	L	7.00E+05	6.05E-08	8.64E-14
DVD043	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 1)	DLL4	VEGF	S	S	1.68E+06	1.25E-04	7.46E-11
DVD470	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 1)	DLL4	VEGF	L	L	1.20E+06	2.40E-04	2.01E-10
DVD476	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 1)	DLL4	VEGF	L	S	1.69E+06	4.74E-05	2.81E-11
DVD482	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 1)	DLL4	VEGF	S	L	6.87E+05	1.38E-04	2.00E-10
DVD442	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 2)	DLL4	VEGF	S	S	1.93E+06	1.70E-04	8.80E-11
DVD448	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 2)	DLL4	VEGF	L	L	5.04E+05	1.36E-04	2.71E-10
DVD454	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 2)	DLL4	VEGF	L	S	1.59E+06	1.26E-04	7.90E-11
DVD460	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 2)	DLL4	VEGF	S	L	1.32E+06	2.28E-04	1.74E-10
DVD512	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 3)	DLL4	VEGF	S	S	9.39E+05	1.43E-04	1.53E-10
DVD518	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 3)	DLL4	VEGF	L	L	2.88E+08	1.25E-01	4.34E-10
DVD524	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 3)	DLL4	VEGF	L	S	1.67E+06	1.88E-04	1.13E-10
DVD530	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 3)	DLL4	VEGF	S	L	1.26E+06	1.71E-04	1.36E-10
DVD488	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 4)	DLL4	VEGF	S	S	6.99E+05	3.74E-04	5.36E-10
DVD494	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 4)	DLL4	VEGF	L	L	3.11E+07	1.76E-02	5.66E-10
DVD500	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 4)	DLL4	VEGF	L	S	4.92E+05	2.48E-04	5.04E-10
DVD506	VEGF (Seq. 1)	DLL4 (seq. 4)	DLL4	VEGF	S	L	6.06E+05	1.71E-04	2.81E-10
DVD467	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 1)	VEGF	DLL4	S	S	1.77E+05	2.36E-04	1.33E-09
DVD473	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 1)	VEGF	DLL4	L	L	2.09E+05	2.65E-04	1.27E-09
DVD479	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 1)	VEGF	DLL4	L	S	2.99E+05	2.57E-04	8.60E-10
DVD485	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 1)	VEGF	DLL4	S	L	1.22E+05	4.54E-05	3.72E-10
DVD445	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 2)	VEGF	DLL4	S	S	6.64E+09	1.80E+00	2.72E-10
DVD451	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 2)	VEGF	DLL4	L	L	9.22E+04	1.06E-06	1.15E-11
DVD457	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 2)	VEGF	DLL4	L	S	1.77E+05	5.43E-05	3.07E-10

10

20

30

40

DVD463	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 2)	VEGF	DLL4	S	L	6.21E+05	4.79E-04	7.71E-10
DVD515	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 3)	VEGF	DLL4	S	S	4.05E+05	5.85E-04	1.45E-09
DVD521	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 3)	VEGF	DLL4	L	L	6.66E+05	5.88E-04	8.82E-10
DVD527	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 3)	VEGF	DLL4	L	S	5.29E+05	4.46E-04	8.42E-10
DVD533	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 3)	VEGF	DLL4	S	L	6.08E+05	5.01E-04	8.25E-10
DVD491	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 4)	VEGF	DLL4	S	S	3.40E+05	2.45E-04	7.20E-10
DVD497	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 4)	VEGF	DLL4	L	L	1.25E+05	8.37E-05	6.68E-10
DVD503	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 4)	VEGF	DLL4	L	S	2.26E+05	1.05E-04	4.66E-10
DVD509	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 4)	VEGF	DLL4	S	L	1.28E+05	7.83E-06	6.13E-11
DVD468	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 1)	DLL4	VEGF	S	S	1.18E+05	1.74E-07	1.48E-12
DVD474	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 1)	DLL4	VEGF	L	L	1.36E+05	1.96E-07	1.44E-12
DVD480	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 1)	DLL4	VEGF	L	S	1.62E+05	4.91E-05	3.02E-10
DVD486	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 1)	DLL4	VEGF	S	L	1.54E+05	5.72E-05	3.71E-10
DVD446	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 2)	DLL4	VEGF	S	S	1.22E+05	3.62E-08	2.97E-13
DVD452	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 2)	DLL4	VEGF	L	L	1.04E+05	1.61E-08	1.55E-13
DVD458	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 2)	DLL4	VEGF	L	S	1.21E+05	3.39E-08	2.81E-13
DVD464	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 2)	DLL4	VEGF	S	L	9.37E+04	7.22E-08	7.70E-13
DVD516	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 3)	DLL4	VEGF	S	S	3.58E+05	2.80E-04	7.81E-10
DVD522	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 3)	DLL4	VEGF	L	L	4.89E+05	2.20E-04	4.50E-10
DVD528	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 3)	DLL4	VEGF	L	S	3.88E+05	1.60E-04	4.13E-10
DVD534	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 3)	DLL4	VEGF	S	L	3.74E+05	1.68E-04	4.49E-10
DVD492	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 4)	DLL4	VEGF	S	S	1.52E+05	7.60E-06	4.99E-11
DVD498	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 4)	DLL4	VEGF	L	L	1.62E+05	2.85E-05	1.76E-10
DVD504	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 4)	DLL4	VEGF	L	S	1.62E+05	1.52E-07	9.41E-13
DVD510	VEGF (Seq. 2)	DLL4 (seq. 4)	DLL4	VEGF	S	L	1.64E+05	1.20E-05	7.33E-11
DVD465	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 1)	VEGF	DLL4	S	S	3.48E+05	4.14E-04	1.19E-09
DVD471	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 1)	VEGF	DLL4	L	L	2.53E+05	2.32E-04	9.17E-10
DVD477	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 1)	VEGF	DLL4	L	S	2.49E+05	2.54E-04	1.02E-09
DVD483	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 1)	VEGF	DLL4	S	L	9.05E+05	8.72E-04	9.63E-10
DVD443	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 2)	VEGF	DLL4	S	S	1.57E+05	2.67E-04	1.71E-09
DVD449	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 2)	VEGF	DLL4	L	L	2.30E+05	2.08E-04	9.03E-10
DVD455	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 2)	VEGF	DLL4	L	S	1.77E+05	8.15E-05	4.60E-10
DVD461	VEGF	DLL4	VEGF	DLL4	S	L	2.69E+05	2.02E-04	7.50E-10

10

20

30

40

	(Seq.3)	(seq. 2)							
DVD513	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 3)	VEGF	DLL4	S	S	4.00E+05	4.97E-04	1.24E-09
DVD519	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 3)	VEGF	DLL4	L	L	2.35E+07	5.22E-03	2.23E-10
DVD525	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 3)	VEGF	DLL4	L	S	1.08E+06	4.83E-04	4.47E-10
DVD531	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 3)	VEGF	DLL4	S	L	7.56E+05	4.42E-04	5.84E-10
DVD489	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 4)	VEGF	DLL4	S	S	2.07E+05	3.65E-04	1.76E-09
DVD495	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 4)	VEGF	DLL4	L	L	3.16E+05	2.04E-04	6.45E-10
DVD501	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 4)	VEGF	DLL4	L	S	2.13E+05	1.75E-04	8.21E-10
DVD507	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 4)	VEGF	DLL4	S	L	2.38E+05	2.01E-04	8.47E-10
DVD466	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 1)	DLL4	VEGF	S	S	5.53E+05	3.93E-04	7.10E-10
DVD472	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 1)	DLL4	VEGF	L	L	1.20E+06	2.40E-04	2.01E-10
DVD478	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 1)	DLL4	VEGF	L	S	5.52E+05	1.95E-04	3.54E-10
DVD484	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 1)	DLL4	VEGF	S	L	1.61E+07	4.10E-03	2.55E-10
DVD444	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 2)	DLL4	VEGF	S	S	2.35E+07	3.80E-03	1.62E-10
DVD450	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 2)	DLL4	VEGF	L	L	1.69E+07	4.31E-03	2.55E-10
DVD456	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 2)	DLL4	VEGF	L	S	1.60E+07	4.48E-03	2.81E-10
DVD462	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 2)	DLL4	VEGF	S	L	9.93E+05	8.58E-04	8.64E-10
DVD514	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 3)	DLL4	VEGF	S	S	5.41E+05	5.49E-04	1.01E-09
DVD520	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 3)	DLL4	VEGF	L	L	1.18E+06	9.61E-04	8.17E-10
DVD526	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 3)	DLL4	VEGF	L	S	1.19E+06	8.01E-04	6.75E-10
DVD532	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 3)	DLL4	VEGF	S	L	4.47E+07	1.23E-02	2.76E-10
DVD490	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 4)	DLL4	VEGF	S	S	8.94E+05	1.69E-04	1.89E-10
DVD496	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 4)	DLL4	VEGF	L	L	2.12E+07	6.58E-03	3.11E-10
DVD502	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 4)	DLL4	VEGF	L	S	8.71E+05	2.31E-04	2.65E-10
DVD508	VEGF (Seq.3)	DLL4 (seq. 4)	DLL4	VEGF	S	L	1.31E+06	2.13E-04	1.62E-10

10

20

30

B i a c o r eテクノロジーにより特徴づけられるV E G F / D L L 4 D V D - I g 構築物のV E G Fに対する結合は親抗体の結合に匹敵した。すべてのNまたはC末端可変ドメインは親抗体に匹敵する親和性でV E G Fに結合した。

【0631】

実施例1. 1. 2 : 親抗体及びD V D - I gの機能活性を測定するために使用されるアッセイ

40

実施例1. 1. 2. A : サイトカインバイオアッセイ

抗サイトカインまたは抗増殖因子親抗体、或いは抗サイトカインまたは抗増殖因子配列を含有するD V D - I gの標的サイトカインまたは増殖因子生理活性を抑制または中和する能力を抗体またはD V D - I gの抑制ポテンシャルを測定することにより分析する。例えば、抗I L - 4抗体のI L - 4媒介I g E産生を抑制する能力を使用し得る。例えば、ヒト未変性B細胞をそれぞれ末梢血の軟膜からF i c o l l プラーク密度遠心した後、ヒトs l g D F I T C 標識ヤギF (a b) 2 抗体に対して特異的なM A C S ビーズ (M i l t e n y i B i o t e c , 独国ベルギッシュグラッドバッハ) 、次いで抗F I T C M A C S ビーズを用いて磁気分離することにより単離する。磁氣的に選別した未変性B細胞

50

胞をXV15で 3×10^5 個の細胞/mlに調節し、5% CO₂の存在下37℃で10日間培養中PBS充填ウェルで包囲したプレートの中心に6×6アレーで96ウェルプレートに100μL/ウェルで沈着させた。3ウェルずつの非誘導及び誘導対照、並びに4倍濃度予備希釈物(50μL)に添加した7μg/mlから出発して、29ng/mlの最終濃度まで3倍希釈で流した抗体滴定の5つ一組のリピートから構成される試験しようとする抗体あたり1つのプレートの各々を作成する。IgE産生を誘導するために、20ng/mlのrhIL-4及び0.5g/mlの最終濃度の抗CD40モノクローナル抗体(Novartis, スイス国バーゼル)を50μLずつ各ウェルに添加し、IgE濃度を培養期間の終わりに標準サンドイッチELISA方法により測定する。

【0632】

実施例1. 1. 2. B: サイトカイン放出アッセイ

親抗体またはDVD-Igのサイトカイン放出を引き起こす能力を分析する。3人の健康人ドナーから末梢血を静脈穿刺によりヘパリン処理したバキュティナチューブに採取する。全血をRPMI-1640培地で1:5希釈し、24ウェル組織培養プレートに0.5mL/ウェルで入れる。抗サイトカイン抗体(例えば、抗IL-4)をRPMI-1640で希釈し、200、100、50、10及び1μg/mLの最終濃度を与えるようにプレートに0.5mL/ウェルで入れる。培養プレート中の全血の最終希釈は1:10である。サイトカイン放出のためのポジティブ対照として、LPS及びPHAを2μg/mL及び5μg/mLの最終濃度で別々のウェルに添加する。ポリクローナルヒトIgGをネガティブ対照抗体として使用する。実験は2回実施する。プレートを37℃、5% CO₂でインキュベートする。24時間後、ウェルの内容物を試験管に移し、1200rpmで5分間回転させる。サイトカインアッセイのために細胞非含有上清を集め、凍結させる。細胞をプレート上に放置し、管中の細胞を溶解溶液(0.5mL)で溶解させ、-20℃に置き、融解させる。(容量を細胞非含有上清サンプルと同じレベルとするために)培地(0.5mL)を添加し、サイトカインアッセイのために細胞調製物を集め、凍結させる。細胞非含有上清及び細胞ライゼートのサイトカインレベルを例えばIL-8、IL-6、IL-1β、IL-1RAまたはTNF-αのレベルについてアッセイする。

【0633】

実施例1. 1. 2. C: サイトカイン交差反応性研究

抗サイトカイン親抗体または当該サイトカインに対するDVD-Igの他のサイトカインと交差反応する能力を分析する。親抗体またはDVD-IgをBiacoreバイオセンサーマトリックス上に固定する。まずマトリックス上のカルボキシ基を100mM N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)及び400mM N-エチル-N'-(3-ジメチルアミノプロピル)-カルボジイミド塩酸塩(EDC)で活性化することにより抗ヒトFc mAbを遊離アミン基を介してデキストランマトリックスに共有結合させる。酢酸ナトリウム(pH4.5)で希釈した25μg/mLの濃度の各抗体またはDVD-Ig調製物(約50μL)を活性化バイオセンサーに注入し、タンパク質上の遊離アミンを活性化カルボキシ基に直接結合させる。典型的には、5000共鳴単位(RU)を固定化する。1M エタノールアミンを注入することにより未反応マトリックスEDCエステルを失活させる。参照基準として、ヒトIgG1/Kを標準アミンカップリングキットを用いて固定化することにより第2フローセルを作成する。CMバイオセンサーチップを用いてSPR測定を実施する。バイオセンサー表面上の分析しようとするすべての抗原を0.01% P20を含有するHBS-EPランニングバッファーで希釈する。

【0634】

サイトカイン結合特異性を試験するために、過剰の当該サイトカイン(100μM, 例えば可溶性組換えヒト)を抗サイトカイン親抗体またはDVD-Ig固定化バイオセンサー表面に注入する(接触時間5分)。当該サイトカインの注入前及びその直後に、HBS-EPバッファーのみを各フローセルに流す。基準とサイトカイン注入が完了してから約30秒に相当する時点の間のシグナルの正味の差を最終結合値を表すために求める。再び、共鳴を共鳴単位で測定する。結合事象が観察された場合には、次のサンプルを注入する

前にバイオセンサーマトリックスを10 mM HClを用いて再生し、さもないとランニングバッファーをマトリックスに注入する。非特異的結合バックグラウンドを記録するために、ヒトサイトカイン（例えば、IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、IL-13、IL-15、IL-16、IL-17、IL-18、IL-19、IL-20、IL-22、IL-23、IL-27、TNF- α 、TNF- β 及びIFN- γ ）を同時に固定化マウスIgG1/K参照表面上に固定する。参照及び反応表面を作成することにより、Biacoreは自動的に反応表面データから参照表面データを差し引いて屈折率変化及び注入ノイズの大部分を排除する。こうして、抗サイトカイン抗体またはDVD-Ig結合反応に起因する真の結合共鳴を確認することができる。

10

【0635】

当該サイトカインを固定化抗サイトカイン抗体に注入すると、有意な結合が観察される。10 mM HCl再生すると共有結合していないタンパク質のすべてが完全に除去される。センサーグラムの検査は、可溶性サイトカインに対する固定化抗サイトカイン抗体またはDVD-Ig結合は強く、ロバストであることを示している。当該サイトカインでの予想される結果を確認した後、残りの組換えヒトサイトカインのパネルを各抗体またはDVD-Iについて別々に試験する。注入サイクル毎に抗サイトカイン抗体またはDVD-Ig結合または非結合サイトカインの量を記録する。3つの独立した実験の結果を使用して、各抗体またはDVD-Igの特異性プロファイルを調べる。予想されるように当該サイトカインに対して結合するが、他のサイトカインに対して結合しない抗体またはDVD-Igを選択する。

20

【0636】

実施例1. 1. 2. D：組織交差反応性

組織交差反応性研究を3段階で行い、下記するように第1段階には32個の組織の低温切片を含め、第2段階には最高38個の組織を含め、第3段階には3人の非関連生体からの追加組織を含める。典型的には、研究を2つの用量レベルで行う。

【0637】

第1段階：ヒト組織（一人のヒトドナーから剖検または生検時に得た32個の組織（典型的には、副腎、胃腸管、前立腺、膀胱、心臓、骨格筋、血球、腎臓、皮膚、骨髄、肝臓、脊髄、乳房、肺、脾臓、小脳、リンパ節、精巣、大脳皮質、卵巣、胸腺、結腸、膵臓、甲状腺、内皮、副甲状腺、尿管、眼、下垂体、子宮、卵管及び胎盤）の低温切片（約5 μ m）を対物レンズ上に固定し、乾燥させる。組織切片のペルオキシダーゼ染色をアビジン-ビオチン系を用いて実施する。

30

【0638】

第2段階：ヒト組織（3人の関連のない成人から剖検または生検時に得た（副腎、血液、血管、骨髄、小脳、大脳、頸部、食道、眼、心臓、腎臓、大腸、肝臓、肺、リンパ節、乳腺、卵巣、卵管、膵臓、副甲状腺、末梢神経、下垂体、胎盤、前立腺、唾液腺、皮膚、小腸、脊髄、脾臓、胃、横紋筋、精巣、胸腺、甲状腺、扁桃、尿管、膀胱及び子宮を含めた38個の組織）の低温切片（約5 μ m）を対物レンズ上に固定し、乾燥させる。組織切片のペルオキシダーゼ染色をアビジン-ビオチン系を用いて実施する。

40

【0639】

第3段階：カニクイザル組織（3匹の関連のない成体サルから剖検または生検時に得た38個の組織（副腎、血液、血管、骨髄、小脳、大脳、頸部、食道、眼、心臓、腎臓、大腸、肝臓、肺、リンパ節、乳腺、卵巣、卵管、膵臓、副甲状腺、末梢神経、下垂体、胎盤、前立腺、唾液腺、皮膚、小腸、脊髄、脾臓、胃、横紋筋、精巣、胸腺、甲状腺、扁桃、尿管、膀胱及び子宮を含む）の低温切片（約5 μ m）を対物レンズ上に固定し、乾燥させる。組織切片のペルオキシダーゼ染色をアビジン-ビオチン系を用いて実施する。

【0640】

抗体またはDVD-Igを第2ビオチニル化抗ヒトIgGとインキュベートし、免疫複合体を得る。免疫複合体を2及び10 g/mLの抗体またはDVD-Igの最終濃度で対

50

物レンズ上の組織切片に添加した後、組織切片をアビジン-ビオチン-ペルオキシダーゼキットと30分間反応させる。その後、組織染色のためにペルオキシダーゼ反応の基質であるDAB(3,3'-ジアミノベンジン)を4分間適用する。抗原-セファロースビーズを組織切片として使用する。標的抗原及びヒト血清ブロッティング研究は追加の対照として役立つ。2及び10g/mLの抗体またはDVD-Igの最終濃度の免疫複合体を標的抗原(100µg/mLの最終濃度)またはヒト血清(10%の最終濃度)と30分間ブレインキュベートした後、対物レンズ上の組織切片に添加し、次いで組織切片をアビジン-ビオチン-ペルオキシダーゼキットと30分間反応させる。その後、組織染色のためにペルオキシダーゼ反応の基質であるDAB(3,3'-ジアミノベンジン)を4分間適用する。

10

【0641】

当該標的抗原の公知発現に基づいて特異的染色が予想される(例えば、抗原発現と一致する)または予期せぬ反応性であるかを判断する。特異的と判断された染色について強度及び頻度を採点する。第2段階(ヒト組織)及び第3段階(カニクイザル組織)間の組織染色が類似しているか異なっているかを判断する。

【0642】

実施例1.1.2.E: VEGF親抗体及びDVD-Ig構築物によるHUVEC増殖/生存の抑制

アッセイのために平板培養する前に、正常ヒト臍帯血管内皮細胞またはHUVEC(継代2~6)をEGM-2 Single Quots(Lonza-Clonetics, メリーランド州ウォーカーズビル, #CC-4176)を補充したEBM-2(Lonza-Clonetics, メリーランド州ウォーカーズビル)において維持した。HUVEC細胞をコラーゲンをコーティングした黒色96ウェルプレートにおいて増殖因子を存在させずに0.1% FBSを加えたEBM-2(100µl)中10,000個の細胞/ウェルで平板培養した。翌日、培地を増殖因子を存在させずに0.1% FBSと交換した。翌日、培地を(増殖因子も血清も含まない)EBM-2(100µl)と交換し、4時間インキュベートした後、VEGF及び抗体/DVD-Igを添加した。(67nM、6.7nM及び0.67nMの最終濃度の)抗VEGFモノクローナル抗体またはDVD-Igを0.1% BSAを含むEBM-2で希釈し、50µlで25℃で組換えヒトVEGF₁₆₅(50ng/mL)と1時間ブレインキュベートした。次いで、細胞に抗体/DVD-Ig及びVEGF混合物(50µl)を添加し、プレートを加湿した5% CO₂ 雰囲気中37℃で72時間インキュベートした。ATPliteキット(Perkin Elmer, マサチューセッツ州ウォルサム)を製造業者の使用説明書に従って使用してATPレベルを評価することにより細胞生存/増殖を間接的に測定した。表22はHUVEC増殖/生存の抑制を示すデータを提示する。

20

30

【0643】

【表 2 4】

表 2 2 : V E G F 親抗体及び D V D - I g 構築物による H U V E C 増殖／生存の抑制

親抗体または DVD-Ig ID	N末端可変 ドメイン (VD)	C末端可変 ドメイン (VD)	N末端VD HUVEC 増殖 の抑制 (67, 6.7 及び 0.67nM Ab/DVD-Ig での抑制%)	C末端VD HUVEC 増殖 の抑制 (67, 6.7 及び 0.67nM Ab/DVD-Ig での抑制%)
AB014	VEGF		67nM=98%, 6.7nM=91%, 0.67nM=12%	
DVD038	HER-2	VEGF		67nM=45%, 6.7nM=-18%, 0.67nM=-22%
AB014	VEGF		67nM=98%, 6.7nM=91%, 0.67nM=12%	
DVD044	DLL4	VEGF		67nM=99%, 6.7nM=19%, 0.67nM=6%
DVD043	VEGF	DLL4	67nM=89%, 6.7nM=51%, 0.67nM=-22%	
AB014	VEGF		67nM=97%, 6.7nM=91%, 0.67nM=62%	
DVD048	RON	VEGF		67nM=91%, 6.7nM=88%, 0.67nM=62%
DVD047	VEGF	RON	67nM=65%, 6.7nM=31%, 0.67nM=-5%	
AB014	VEGF		67nM=97%, 6.7nM=91%, 0.67nM=62%	
DVD049	VEGF	NRP1	67nM=108%, 6.7nM=86%, 0.67nM=43%	
DVD050	NRP1	VEGF		67nM=103%, 6.7nM=74%, 0.67nM=15%
AB014	VEGF		67nM=98%, 6.7nM=91%, 0.67nM=12%	
DVD260	PIGF	VEGF		67nM=51%, 6.7nM=7%, 0.67nM=-16%

A B 0 1 4 由来の V D を含有する D V D - I g はすべて V E G F に起因する H U V E C 細胞増殖を抑制した。D V D 0 4 4、D V D 0 4 8、D V D 0 4 0、D V D 0 5 0 は 6 7 n M 濃度の D V D - I g で H U V E C 細胞増殖を > 9 0 % 抑制した。

【 0 6 4 4 】

【表 2 5】

表 2 3 : 7 個のDLL4/VEGF VEGF DVD-Ig 構築物及び親抗体によるHUEC増殖/生存の抑制

DVD-Ig ID	配列	配向	HC リンカー	LC リンカー	他の DVD-Ig VD	DVD-Ig HUVEC 増殖の抑制 (IC ₅₀ , nM)	Ref. Ab. ID	Ref. Ab. HUVEC 増殖の抑制 (IC ₅₀ , nM)
DVD470	DLL4 (seq. 1)	C 末端	長	長	VEGF (seq. 1)	0.45	AB014	0.19
DVD476	DLL4 (seq. 1)	C 末端	長	短	VEGF (seq. 1)	0.24	AB014	0.19
DVD482	DLL4 (seq. 1)	C 末端	短	長	VEGF (seq. 1)	0.32	AB014	0.19
DVD474	DLL4 (seq. 1)	C 末端	長	長	VEGF (seq. 2)	0.42	AB071	2.5
DVD486	DLL4 (seq. 1)	C 末端	短	長	VEGF (seq. 2)	0.88	AB071	2.5
DVD485	DLL4 (seq. 1)	N 末端	短	長	VEGF (seq. 2)	59.5	AB071	2.5
DVD471	DLL4 (seq. 1)	N 末端	長	長	VEGF (seq. 3)	6.8	AB070	7.0

10

20

30

40

AB014、AB071及びAB071由来のVDを含有するDVD-IgはすべてVEGFに起因するHUEC細胞増殖を抑制した。DVD470、DVD476、DVD482、DVD474、486、485及び471は親mAbに匹敵するIC₅₀でHUEC細胞増殖を抑制した。

【0645】

実施例 1. 1. 2. F: IGF1, 2モノクローナル抗体またはDVD-Igのインビトロでの腫瘍細胞増殖抑制効果

D-PBS-BSA (0.1% BSAを含むダルベッコリン酸緩衝食塩液) (20 μl) で希釈した IGF1, 2モノクローナル抗体またはDVD-Igを200 μl中0.01 μg/mL~100 μg/mLの最終濃度でヒト腫瘍細胞に添加した。プレートを加湿した5% CO₂ 雰囲気中で37℃で3日間インキュベートした。各ウェル中の生きている細胞の数をMTS試薬 (Promega, ウィスコンシン州マディソン) を製造業者の使用説明書に従って使用して定量して、腫瘍増殖抑制の%を調べた。抗体処理のないウェルを0%抑制の対照として使用し、細胞なしのウェルは100%抑制を示すと見なされた。

【0646】

【表 2 6】

表 2 4 : I G F 1 R 及び I G F 1, 2 親抗体及び D V D - I g 構築物を用いる
H 9 2 9、I F G R 株増殖抑制アッセイ

親抗体または DVD-Ig ID	N 末端可変 ドメイン (VD)	C 末端可変 ドメイン (VD)	N 末端 V D 増殖抑制 細胞アッセイ IC50 nM (H929, IGF1R 株)	C 末端 V D 増殖抑制 細胞アッセイ IC50 nM (H929, IGF1R 株)
AB033	EGFR		>67 (5% max)	
AB004	HER-2		>67 (10% max)	
DVD015	EGFR	HER-2	> 50 (20% max)	
DVD016	HER-2	EGFR		> 50 (15% max)
AB033	EGFR		> 67 (5% max)	
AB011	IGF1R		0.1 (65% max)	
DVD021	EGFR	IGF1R		> 50 (10% max)
DVD022	IGF1R	EGFR	0.05 (70% max)	
AB004	HER-2		> 67 (10% max)	
AB010	IGF1,2		1.6 (70% max)	
DVD029	HER-2	IGF1,2		6.8 (40% max)
DVD030	IGF1,2	HER-2	0.8 (70% max)	
AB004	HER-2		> 67 (10%)	
AB011	IGF1R		0.1 (65% max)	
DVD031	HER-2	IGF1R		> 50 (10% max)
DVD032	IGF1R	HER-2	0.1 (60% max)	

10

20

A B 0 3 3、A B 0 0 4、A B 0 1 1 または A B 0 1 0 由来の V D を N 末端または C 末端位に含有する D V D - I g A はすべて A 4 3 1 細胞増殖アッセイにおいて抑制を示した。

【 0 6 4 7 】

実施例 1. 1. 2. G : E G F R モノクローナル抗体または D V D - I g のインビトロでの増殖抑制効果

30

D - P B S - B S A (0 . 1 % B S A を含むダルベッコリン酸緩衝食塩液) (2 0 μ l) で希釈した E G F R モノクローナル抗体または D V D - I g を 1 8 0 u L 中 0 . 0 1 μ g / m L ~ 1 0 0 μ g / m L の最終濃度でヒト腫瘍細胞に添加した。プレートを加湿した 5 % C O ₂ 雰囲気中 3 7 ° C で 3 日間インキュベートした。各ウェル中の生きている細胞の数を M T S 試薬 (P r o m e g a , ウィスコンシン州マディソン) を製造業者の使用説明書に従って定量して、腫瘍増殖抑制の % を調べた。抗体処理のないウェルを 0 % 抑制の対照として使用し、細胞なしのウェルは 1 0 0 % 抑制を示すと見なされた。

【 0 6 4 8 】

【表 2 7】

表 2 5 : E G F R 親抗体及び D V D - I g 構築物を用いる A 4 3 1、
E G F R 細胞株増殖抑制アッセイ

親抗体 または DVD-Ig ID	N 末端可変 ドメイン (VD)	C 末端可変 ドメイン (VD)	N 末端 V D 増殖抑制細胞アッセイ IC50 nM (A431, EGFR 株)	C 末端 V D 増殖抑制細胞アッセイ IC50 nM (A431 EGFR 株)
AB033	EGFR		1.0 (65% max)	
AB004	HER-2		> 67 (10% max)	
DVD015	EGFR	HER-2	1.7 (65% max)	
DVD016	HER-2	EGFR		5.4 (80% max)
AB033	EGFR		1.0 (65% max)	
AB011	IGF1R		> 67 (5% max)	
DVD021	EGFR	IGF1R	1.5 (50% max)	
DVD022	IGF1R	EGFR		3.4 (65% max)
AB004	HER-2		> 67 (10% max)	
AB010	IGF1,2		> 67 (10% max)	
DVD029	HER-2	IGF1,2	> 50 (10% max)	
DVD030	IGF1,2	HER-2	> 50 (10% max)	
AB004	HER-2		> 67 (10% max)	
AB011	IGF1R		> 67 (5% max)	
DVD031	HER-2	IGF1R	> 50 (10% max)	
DVD032	IGF1R	HER-2	> 50 (10% max)	
AB014	VEGF		> 67 (0%)	
AB010	IGF1,2		>67 (10% max)	
DVD041	VEGF	IGF1,2	> 50 (0%)	

A B 0 3 3、A B 0 0 4、A B 0 1 1、A B 0 1 0、A B 0 1 4 由来の V D を N 末端
または C 末端位に含有する D V D - I g は A 4 3 1 細胞増殖アッセイにおいて抑制を示した
。

【 0 6 4 9】

10

20

30

【表 28】

表 26 : EGFR、IGFR1及びIGF1, 2 親抗体及びDVD-Ig 構築物を用いる
GEO, EGFR/IGF1R細胞株増殖抑制アッセイ

親抗体 または DVD-Ig ID	N 末端 可変 ドメイン (VD)	C 末端 可変 ドメイン (VD)	N 末端 増殖抑制細胞アッセイ IC50 nM (GEO, EGFR/ IGF1R 株)	C 末端 増殖抑制細胞アッセイ IC50 nM (GEO, EGFR/ IGF1R 株)
AB033	EGFR		0.2 (60% max)	
AB004	HER-2		> 67 (15% max)	
DVD015	EGFR	HER-2	13 (60% max)	
DVD016	HER-2	EGFR		10 (40% max)
AB033	EGFR		0.2 (60% max)	
AB011	IGF1R		> 67 (15% max)	
DVD021	EGFR	IGF1R	0.32 (60% max)	0.32 (60% max)
DVD022	IGF1R	EGFR	3.0 (40% max)	3.0 (40% max)
AB004	HER-2		> 67 (15% max)	
AB010	IGF1,2		20% at 67 nM	
DVD029	HER-2	IGF1,2	> 50 (10% max)	> 50 (10% max)
DVD030	IGF1,2	HER-2	> 50 (10% max)	> 50 (10% max)
AB004	HER-2		> 67 (15% max)	
AB011	IGF1R		> 67 (15% max)	
DVD031	HER-2	IGF1R	> 50 (10% max)	> 50 (10% max)
DVD032	IGF1R	HER-2	> 50 (10% max)	> 50 (10% max)

AB033、AB004、AB011、AB010、AB014 由来のVDをN末端またはC末端位に含有するDVD-IgはGEO細胞増殖アッセイにおいて抑制を示した。

【0650】

実施例 1. 1. 2. H : HER2 親抗体またはDVD-Ig 構築物のインビトロでの腫瘍細胞増殖抑制効果

D-PBS-BSA (0.1% BSAを含むダルベッコリン酸緩衝食塩液) (20 μl) で希釈したHER2モノクローナル抗体またはDVD-Igを0.01 μg/mL ~ 100 μg/mL (180 μl) の最終濃度でHER2発現ヒト腫瘍細胞 (BT474) に添加した。プレートを加湿した5% CO₂ 雰囲気中37℃で3日間インキュベートした。各ウェル中の生きている細胞の数をMTS試薬 (Promega, ウィスコンシン州マディソン) を製造業者の使用説明書に従って使用して定量して、腫瘍増殖抑制の%を調べた。抗体処理のないウェルを0%抑制の対照として使用し、細胞なしのウェルは100%抑制を示すと見なされた。

【0651】

10

20

30

【表 2 9】

表 2 7 : 抗 H e r - 2 親抗体及び D V D - I g 構築物を用いる B T 4 7 4 、
E r b 2 (H e r - 2) 細胞株増殖抑制アッセイ

親抗体 または DVD-Ig ID	N末端 可変 ドメイン (VD)	C末端 可変 ドメイン (VD)	N末端VD 増殖抑制細胞 アッセイ IC50 nM (BT474, ErbB2 株)	C末端VD 増殖抑制細胞 アッセイ IC50 nM (BT474, ErbB2 株)
AB004	HER-2		0.9	
DVD015	EGFR	HER-2		> 50
DVD016	HER-2	EGFR	1.7	
AB004	HER-2		0.9	
DVD029	HER-2	IGF1,2	2.7	
DVD030	IGF1,2	HER-2		> 50
AB004	HER-2		0.9	
DVD031	HER-2	IGF1R	2.2	
DVD032	IGF1R	HER-2		> 50

10

A B 0 0 4 由来の V D を N 末端または C 末端位に含有する D V D - I g は B T 4 7 4 細胞増殖アッセイにおいて抑制を示した。

20

【 0 6 5 2 】

実施例 1 . 1 . 2 . 1 : E a h y . 9 2 6 細胞における S v e g f r 1 (S f l t 1) の D L L 4 親抗体及び D V D - I g 構築物による組換え D L L 4 依存性増加の抑制

9 6 ウェル組織培養プレートに D - P B S (G i b c o , # 1 4 1 9 0 , ニューヨーク州グランドアイランド) 中 $5 \mu \text{g} / \text{ml}$ のヒト D L L 4 細胞外ドメイン ($100 \mu \text{L} / \text{ウェル}$) でコーティングし、 4°C で一晩インキュベートした。プレートを D - P B S で 1 回洗浄し、抗体または D V D - I g の存在または非存在下で 4 0 0 0 個の E A . h y 9 2 6 細胞 / ウェルを接種した。細胞増殖をその後 4 日間 C y Q U A N T 細胞増殖アッセイキット (I n v i t r o g e n , # C 3 5 0 0 7 , オレゴン州ユージーン) を用いて調べた。ならし培地中の s V E G F R 1 発現を E L I S A キットにより製造業者 (R & D S y s t e m s , # D V R 1 0 0 B , ミネソタ州ミネアポリス) の推奨に従って検出した。細胞増殖の差を説明するために s V E G F R 1 のレベルを C y Q U A N T アッセイにより測定した R F U に正規化した。

30

【 0 6 5 3 】

【表 3 0】

表 2 8 : D L L 4 親抗体及び D V D - I g 構築物による E a h y . 9 2 6 細胞における S v e g f r 1 (S f l t 1) の D L L 4 依存性増加の抑制

親抗体 または DVD-Ig ID	N末端 可変 ドメイン (VD)	C末端 可変 ドメイン (VD)	N末端VD 可溶性Flt1アッセイ (nM Abでの 中和の%)	C末端VD 可溶性Flt1アッセイ (nM Abでの 中和の%)
AB015	DLL-4		75.2% @9.2 nM, 78.7% @27.7 nM, 86.6% @83.3 nM	
DVD044	DLL4	VEGF	39.8% @9.2 nM, 76.2% @27.7 nM, 79.9% @83.3 nM	
DVD043	VEGF	DLL4		1.1% @9.2 nM, 50.3% @27.7 nM, 57.9% @83.3 nM

10

A B 0 1 5 由来の V D を N 末端または C 末端位に含有する D V D - I g は E a h y . 9 2 6 細胞由来の D L L 4 により誘導される s F L T 放出の用量依存的抑制を示した。

【 0 6 5 4 】

20

【表 3 1】

表 2 9 : 7 個の D L L 4 / V E G F D V D - I g 構築物及び親細胞による E A . h y 9 2 6 細胞における s V E G F R 1 (a F l t 1) の D L L 4 (2 μ g / m l) 依存性増加の抑制

DVD-Ig	配列	配向	HC リンカー	LC リンカー	他の DVD-Ig VD	DVD-Ig sFlt1 の 抑制 (IC ₅₀ , nM)	Ref. Ab	Ref. Ab sFlt1 の 抑制 (IC ₅₀ , nM)
DVD470	DLL4 (seq. 1)	C 末端	長	長	VEGF (seq. 1)	1. 02	AB015	0. 34
DVD476	DLL4 (seq. 1)	C 末端	長	短	VEGF (seq. 1)	1. 68	AB015	0. 34
DVD482	DLL4 (seq. 1)	C 末端	短	長	VEGF (seq. 1)	1. 11	AB015	0. 34
DVD474	DLL4 (seq. 1)	C 末端	長	長	VEGF (seq. 2)	0. 93	AB015	0. 34
DVD486	DLL4 (seq. 1)	C 末端	短	長	VEGF (seq. 2)	0. 70	AB015	0. 34
DVD485	DLL4 (seq. 1)	N 末端	短	長	VEGF (seq. 2)	6. 67	AB015	0. 34
DVD471	DLL4 (seq. 1)	N 末端	長	長	VEGF (seq. 3)	1. 92	AB015	0. 34

30

40

A B 0 1 5 由来の V D を N 末端または C 末端位に含有する D V D - I g は E a h y . 9 2 6 細胞からの D L L 4 により誘導される s F L T 1 放出の用量依存的抑制を示した。

【 0 6 5 5 】

50

実施例 1. 1. 2. J：親またはDVD-I g 抗体のインビトロでの殺腫瘍効果

腫瘍細胞上の標的抗原に結合する親抗体またはDVD-I を殺腫瘍活性について分析し得る。簡単に説明すると、親抗体またはDVD-I g をD-PBS-BSA (0.1% BSAを含むダルベッコリン酸緩衝食塩液) で希釈し、200 μ L 中0.01 μ g/mL ~ 100 μ g/mL の最終濃度でヒト腫瘍細胞に添加する。プレートを加湿した5% CO₂ 雰囲気中37℃で3日間インキュベートする。各ウェル中の生きている細胞の数をMTS試薬を製造業者 (Promega, ウィスコンシン州マディソン) の説明書に従って使用して定量して、腫瘍増殖抑制の%を調べる。抗体処理のないウェルを0%抑制の対照として使用し、細胞なしのウェルは100%抑制を示すと見なされた。

【0656】

アポトーシスを評価するために、カスパーゼ-3活性化を以下のプロトコルに従って調べた。96ウェルプレートにおいて抗体処理細胞を1×溶解バッファー (1.67 mM Hepes (pH 7.4), 7 mM KCl, 0.83 mM MgCl₂, 0.11 mM EDTA, 0.11 mM EGTA, 0.57% CHAPS, 1 mM DTT, 1×プロテアーゼ阻害剤カクテル錠; EDTA非含有; Roche Pharmaceuticals, ニュージャージー州ナットリー) (120 μ L) を用いて室温で振とうさせながら20分間溶解させる。細胞溶解後、カスパーゼ-3反応バッファー (48 mM Hepes (pH 7.5), 252 mM スクロース, 0.1% CHAPS, 4 mM DTT及び20 μ M Ac-DEVD-AMC基質; Biomol Research Labs, Inc., ペンシルベニア州プリマス・ミーティング) (80 μ L) を添加し、プレートを37℃で2時間インキュベートする。プレートを1420 VICTOR Multilabel Counter (Perkin Elmer Life Sciences, イリノイ州ダウナーズグロヴ) で励起=360/40、発光=460/40の設定を用いて読み取る。イソタイプ抗体対照処理細胞に対する抗体処理細胞からの蛍光単位の増加がアポトーシスを示す。

【0657】

実施例 1. 1. 2. K：HGF親抗体及びDVD-I g 構築物によるU87-MG腫瘍細胞増殖の抑制

U87-MGヒトグリオーマ腫瘍細胞を96ウェル皿において5%ウシ胎児血清を補充したRPMI培地中100 μ L 中2,000個の細胞/ウェルで平板培養し、37℃、5% CO₂ で一晩インキュベートした。翌日、細胞を抗体またはDVD-I g の連続希釈物 (0.013 nM ~ 133 nM の用量範囲) で処理し、加湿した5% CO₂ 雰囲気中37℃で5日間インキュベートした。ATP-liteキット (Perkin Elmer, マサチューセッツ州ウォルサム) を製造業者の使用説明書に従って使用してATPレベルを評価することにより細胞生存/増殖を間接的に調べた。

【0658】

10

20

30

【表 3 2】

表 3 0 : 抗HGF親抗体またはDVD-Ig構築物によるU87-MG腫瘍増殖抑制

親抗体 または DVD-Ig ID	N 末端 可変ドメイン (VD)	C 末端 可変ドメイン (VD)	N 末端 VD U87MG 増殖の 抑制(EC ₅₀)	C 末端 VD U87MG 増殖の 抑制(EC ₅₀)
AB012	HGF		12	
DVD025	EGFR	HGF		>200
AB012	HGF		12	
DVD033	RON	HGF		>200
DVD034	HGF	RON	136	
AB012	HGF		12	
DVD045	VEGF	HGF		>200
AB008	CD22		>200	

10

AB012 由来のVDをC末端位またはN末端位に含有するDVD-IgはU87-MG腫瘍細胞増殖を抑制した。

20

【0659】

実施例 1. 1. 2. L: インビトロでのMSP1とのRON相互作用のRON親抗体及びDVD-Ig構築物による抑制

96ウェルプレートに抗MSP α 鎖抗体(R&D Systems, #MAB352, ミネソタ州ミネアポリス, 2 μ g/mL)(50 μ l/ウェル)でコーティングし、プレートを4℃で一晩インキュベートした。プレートを洗浄バッファー(0.05% トウイン20を含有するPBS)で3回洗浄した後、ブロッキングバッファー(2% BSAを含有するPBS)(100 μ l/ウェル)を用いて25℃で1時間ブロックした。次いで、プレートを3回洗浄し、組換えヒトMSP1(R&D Systems, #352-MS, ミネソタ州ミネアポリス)の10nM溶液(50 μ l/ウェル)と25℃で1時間インキュベートした。プレートをインキュベートしている間、試験しようとする抗体の連続10倍希釈物(0nM~1000nMの用量範囲)を10nM 組換えHis-RON部分ECD(R&D Systems, #1947-MS, ミネソタ州ミネアポリス)と25℃で1時間プレインキュベートした。組換えヒトMSP1とインキュベートしたプレートを3回洗浄した後、抗体/His-RON複合体(50 μ l/ウェル)を3回添加した。25℃で1時間インキュベートした後、プレートを洗浄し、TMB基質(Pierce, #34028, イリノイ州ロックフォード)(50 μ l/ウェル)を添加し、25℃で5分間インキュベートした。5分後、反応を2N H₂SO₄(50 μ l/ウェル)を用いて停止した。吸光度を450nm(Spectra Max Plusプレートリーダー, Molecular Devices, カリフォルニア州サニーベール)で読み取った。EC₅₀をGraphPad Prism 4.03を用いて計算した。

30

40

【0660】

実施例 1. 1. 2. M: VEGF親抗体及びDVD-Ig構築物はVEGF₁₆₅のVEGFR1との相互作用を防止する

ELISAプレート(Nunc, MaxiSorp, ニューヨーク州ロチェスター)を組換えVEGFR1細胞外ドメイン-FC融合タンパク質(5 μ g/mL, R&D Systems, ミネソタ州ミネアポリス)を含有するPBS(100 μ l)と4℃で一晩インキュベートした。プレートを洗浄バッファー(0.05% トウイン20を含有するPBS)で3回洗浄し、ブロッキングバッファー(1% BSAを含有するPBS)を用

50

いて25℃で1時間ブロックした。0.1% BSAを含有するPBS中の各抗体/DVD-Igの連続希釈物を2nM ビオチニル化VEGF (50μl)と25℃で1時間インキュベートした。次いで、抗体/DVD-Ig-ビオチニル化VEGF混合物(100μl)をVEGFR1-Fcコーティングしたウェルに添加し、25℃で10分間インキュベートした。ウェルを3回洗浄した後、ストレプトアビジン-HRP (KPL, #474-3000、メリーランド州ゲーサーズバーグ) (100μl)と25℃で1時間インキュベートした。ウェルを3回洗浄し、ULTRA-TMB ELISA (Pierce, イリノイ州ロックフォード) (100μl/ウェル)を添加した。発色後、反応をINHClで停止し、吸光度を450nmで測定した。結果を下表31に提示する。

【0661】

【表33】

表31：7個のDLL4/VEGF DVD-Ig構築物及び親抗体についてのVEGFとVEGFR1間のリガンド-受容体相互作用の抑制

DVD-Ig ID	配列番号	配向	HC リンカー	LC リンカー	DVD-Ig	DVD-Ig VEGF リガンド-受容体 結合抑制 (IC ₅₀ , nM)	Ref. Ab. ID	Ref. Ab. VEGF リガンド-受容体 結合抑制 (IC ₅₀ , nM)
DVD470	DLL4 (seq. 1)	C 末端	長	長	VEGF (seq. 1)	2.7	AB014	2.2
DVD476	DLL4 (seq. 1)	C 末端	長	短	VEGF (seq. 1)	2.4	AB014	2.2
DVD482	DLL4 (seq. 1)	C 末端	短	長	VEGF (seq. 1)	1.7	AB014	2.2
DVD474	DLL4 (seq. 1)	C 末端	長	長	VEGF (seq. 2)	1.89	AB071	7.3
DVD486	DLL4 (seq. 1)	C 末端	短	長	VEGF (seq. 2)	1.98	AB071	7.3
DVD485	DLL4 (seq. 1)	N 末端	短	長	VEGF (seq. 2)	8.63	AB071	7.3
DVD471	DLL4 (seq. 1)	N 末端	長	長	VEGF (seq. 3)	5.46	AB070	2.8

AB014及びAB071由来のVDをN末端またはC末端位に含有するDVD-Igはすべてリガンド(VEGF)のその受容体(VEGFR1)への結合の抑制を示した。DVD-IgのN末端ドメイン及び親抗体はリガンド-受容体相互作用をブロックした。

【0662】

実施例1. 1. 2. N: インビトロでのNotch-1とのDLL4相互作用のDLL4親抗体及びDVD-Ig構築物による抑制

96ウェルNunc-Immunoプレート(Nunc, #439454, ニューヨーク州ロチェスター)を16nM ヒトNotch-1(R&D Systems, #3647-TK, ミネソタ州ミネアポリス, D-PBS中100μL/ウェル)でコーティングし、4℃で一晩インキュベートした。次いで、プレートを洗浄バッファー(PBS, 0.05% トゥイーン20)で1回洗浄し、ブロッキングバッファー(D-PBS, 1% BSA, 1mM CaCl₂, 0.05% トゥイーン20)(200μL/ウェル)を用いて25℃で1時間ブロックした。ブロッキングの間、ビオチン標識したヒトDLL

4細胞外ドメイン（14 nM）（300 μL）を抗体またはDVD-Ig（3.4 pM～66 nM，ブロッキングバッファーで3倍連続希釈）と25℃で1時間混合した。ブロッキング後、アッセイプレート洗浄し、DLL4抗体またはDVD-Ig混合物（100 μL／ウェル）と25℃で1時間インキュベートした。プレートを再び洗浄し、HRPをコンジュゲートしたストレプトアビジン（KPL，#474-3000，メリーランド州ゲーサーズバーグ，ブロッキングバッファーで1：10，000希釈）（100 μL／ウェル）を25℃で1時間添加した。最終洗浄後、プレートを基質（1-Step Ultra TMB-ELISA，Pierce，#340280，イリノイ州ロックフォード）（100 μL／ウェル）を用いて展開し、25℃で10～20分間インキュベートした後、2N H₂SO₄（100 μL／ウェル）を用いて反応を停止し、吸光度を450 nmで読み取った。結果を下表32に提示する。

10

【0663】

【表34】

表32：7個のDLL4／VEGF DVD-Ig構築物及び親抗体についてのDLL4とNotch1間のリガンド-受容体相互作用の抑制

DVD-Ig ID	配列番号	配向	HC リンカ	LC リンカ	他の DVD-Ig ID	DVD-Ig DLL4 リガンド-受容体 結合抑制 (IC ₅₀ , nM)	Ref. Ab. ID	Ref. Ab. DLL4 リガンド-受容体 結合抑制 (IC ₅₀ , nM)
DVD470	DLL4 (seq. 1)	C 末端	長	長	VEGF (seq. 1)	2.82	AB015	2.47
DVD476	DLL4 (seq. 1)	C 末端	長	短	VEGF (seq. 1)	4.90	AB015	2.69
DVD482	DLL4 (seq. 1)	C 末端	短	長	VEGF (seq. 1)	2.65	AB015	2.53
DVD474	DLL4 (seq. 1)	C 末端	長	長	VEGF (seq. 2)	2.30	AB015	2.69
DVD486	DLL4 (seq. 1)	C 末端	短	長	VEGF (seq. 2)	2.91	AB015	2.74
DVD485	DLL4 (seq. 1)	N 末端	短	長	VEGF (seq. 2)	3.44	AB015	2.74
DVD471	DLL4 (seq. 1)	N 末端	長	長	VEGF (seq. 3)	2.66	AB015	2.74

20

30

40

AB015由来のVDをN末端またはC末端位に含有するDVD-Igはすべてその受容体（Notch1）に対するリガンド（DLL4）の抑制を示した。DVD-IgのN末端ドメイン及び親抗体はリガンド-受容体相互作用をブロックした。

【0664】

【表 3 5】

表 3 3 : 7 個の DLL4 / VEGF DVD-Ig 構築物及び親抗体についての FACS
による 293G-ヒト DLL4 細胞と Notch1 間のリガンド-受容体相互作用の抑制

DVD-Ig ID	配列番号	配向	HC リンカー	LC リンカー	他の DVD-Ig ID	DVD-Ig DLL4 細胞への Notch1 結合の抑制 FACS (IC ₅₀ , nM)	Ref. Ab. ID	Ref. Ab. DLL4 細胞への Notch1 結合の抑制 FACS (IC ₅₀ , nM)
DVD470	DLL4 (seq. 1)	C 末端	長	長	VEGF (seq. 1)	38.3	AB015	2.3
DVD476	DLL4 (seq. 1)	C 末端	長	短	VEGF (seq. 1)	15.1	AB015	2.3
DVD482	DLL4 (seq. 1)	C 末端	短	長	VEGF (seq. 1)	16.3	AB015	2.3
DVD474	DLL4 (seq. 1)	C 末端	長	長	VEGF (seq. 2)	27.5	AB015	2.3
DVD486	DLL4 (seq. 1)	C 末端	短	長	VEGF (seq. 2)	10.2	AB015	2.3
DVD485	DLL4 (seq. 1)	N 末端	短	長	VEGF (seq. 2)	6.3	AB015	2.3
DVD471	DLL4 (seq. 1)	N 末端	長	長	VEGF (seq. 3)	4.1	AB015	2.3

【0665】

実施例 1. 1. 2. O : c-Met との HGF 相互作用の HGF 親抗体及び DVD-Ig 構築物による抑制

ELISA プレート (Nunc, MaxiSorp) を組換えヒト HGF (PBS 中 2 µg/ml の HGF, R&D Systems) (100 µL/ウェル) で 4℃ で一晚コーティングした。各抗体/DVD-Ig の連続希釈物及び 2 nM 可溶性 c-Met Fc 融合 (R&D Systems) (50 µL) を共インキュベートし、HGF コーティングしたウェルに添加した。c-Met 結合をビオチニル化抗 c-Met (BAF358, R&D Systems) 及びストレプトアビジン-HRP (KPL) (100 µL) で検出した。ウェルを PBST (0.05% トゥイーン 20 を含有する PBS) で 3 回洗浄し、ULTRA-TMB ELISA (Pierce) (100 µL/ウェル) を添加した。発色後、反応を 1N HCl で停止し、吸光度を 450 nm で測定した。データを最大シグナル (対照抗体または抗体を添加せず) と比較した抑制 % を計算することにより評価し、IC₅₀ 値を計算した。

【0666】

下表は、上記した RON、VEGF、DLL4 及び HGF に対するリガンド-受容体結合競合 ELISA アッセイにおける親抗体及び DVD-Ig 構築物の IC₅₀ (nM) で表示した親和性データを含む。

【0667】

【表 3 6】

表 3 4 : R O N、V E G F、D L L 4 及び H G F 親抗体及び D V D - I g 構築物の
インビトロでのリガンドー受容体相互作用の抑制

親抗体 または DVD-Ig ID	N末端 可変 ドメイン (VD)	C末端 可変 ドメイン (VD)	N末端VD リガンドー 受容体結合 競合アッセイ (IC50, nM)	C末端VD リガンドー 受容体結合 競合アッセイ (IC50, nM)
AB005	RON		8.1	
DVD024	RON	EGFR	9.6	
DVD023	EGFR	RON		
AB005	RON		0.32	
DVD033	RON	HGF	**0.0000097	
DVD034	HGF	RON		
AB014	VEGF		21.40	
DVD035	VEGF	EGFR	23.90	
AB014	VEGF		21.40	
DVD038	HER-2	VEGF		73.00
AB015	DLL-4		0.37	
AB014	VEGF		21.4	
DVD044	DLL4	VEGF	0.50	143
DVD043	VEGF	DLL4	24.1	13.10
AB005	RON		0.1	
AB014	VEGF		21.4	
DVD048	RON	VEGF	0.1127	114
DVD047	VEGF	RON	30.5	21.28
AB014	VEGF		21.40	
DVD050	NRP1	VEGF		79.00
AB015	DLL-4		0.4	
DVD257	DLL4	PIGF	0.38	
DVD258	PIGF	DLL4		17.47
AB014	VEGF		21.40	
DVD260	PIGF	VEGF		13.00
AB012	HGF		0.18	
DVD025	EGFR	HGF		>100
AB012	HGF		0.18	
DVD045	VEGF	HGF		>100
AB012	HGF		0.18	
DVD033	RON	HGF		8.7
DVD034	HGF	RON	0.34	

A B 0 0 5、A B 0 1 5、A B 0 1 5、A B 0 1 2 由来の V D を N 末端または C 末端位
に含有する D V D - I g はすべてその受容体に対するリガンドの抑制を示した。D V D -
I g の N 末端ドメイン及び親抗体はリガンドー受容体相互作用をブロックした。

【 0 6 6 8 】

10

20

30

40

【表 3 7】

表 3 5 : 親抗体及びDVD-I g 構築物のインビトロでのリガンド-
受容体相互作用の抑制

親抗体 または DVD-Ig ID	N末端 可変 ドメイン (VD)	C末端 可変 ドメイン (VD)	N末端VD リガンド- 受容体結合 競合アッセイ (IC50, nM)	C末端VD リガンド- 受容体結合 競合アッセイ (IC50, nM)
AB047	PIGF		3.07	
DVD573	PIGF	VEGF	2.59	
DVD574	VEGF	PIGF		23.68
AB047	PIGF		3.07	
DVD575	PIGF	VEGF	2.9	
DVD576	VEGF	PIGF		19.28
AB047	PIGF		3.07	
DVD577	PIGF	HER2	2.74	
DVD578	HER2	PIGF		21.36
AB047	PIGF		3.07	
DVD579	PIGF	VEGF	5.84	
AB047	PIGF		3.07	
DVD581	PIGF	VEGF	3.5	
DVD582	VEGF	PIGF		5.71
AB047	PIGF		3.07	
DVD583	PIGF	VEGF	3.25	
DVD584	VEGF	PIGF		3.71
AB047	PIGF		3.07	
DVD585	PIGF	HER2	3.4	
DVD586	HER2	PIGF		3.87
AB047	PIGF		3.07	
DVD587	PIGF	VEGF	3.65	
AB047	PIGF		3.07	
DVD589	PIGF	VEGF	2.87	
AB047	PIGF		3.07	
DVD591	PIGF	VEGF	3.23	
DVD592	VEGF	PIGF		3.93
AB047	PIGF		3.07	
DVD593	PIGF	HER2	2.76	
DVD594	HER2	PIGF		4.01
AB047	PIGF		3.07	
DVD595	PIGF	VEGF	3.65	
AB047	PIGF		3.07	
DVD597	PIGF	VEGF	2.94	
DVD598	VEGF	PIGF		4.64
AB047	PIGF		3.07	
DVD599	PIGF	VEGF	3.19	
DVD600	VEGF	PIGF		4.02
AB047	PIGF		3.07	
DVD601	PIGF	HER2	2.98	
DVD602	HER2	PIGF		3.75

A B 0 4 7 由来の V D を N 末端または C 末端位に含有する D V D - I g はすべてその受
容体 (V E G F R 1) に対するリガンドの抑制を示した。D V D - I g の N 末端ドメイン

及び親抗体はリガンド-受容体相互作用をブロックした。

【0669】

実施例 1. 1. 2. P: インビトロでの IGF 誘導 IGF R リン酸化の親抗体または DVD-Ig 構築物による抑制

ヒト癌細胞を 96 ウェルプレートにおいて無血清培地 (DMEM+0.1% BSA) (180 µl) 中 40,000 個の細胞/ウェルで平板培養し、37℃、5% CO₂ で一晩インキュベートした。Costar EIA プレート (マサチューセッツ州ローウェル) を IGF R 捕捉 Ab (R&D Systems, カタログ番号 MAB391, ミネソタ州ミネアポリス, 4 µg/ml の最終濃度) (100 µl/ウェル) でコーティングし、室温で振とうしながら一晩インキュベートした。翌日、IGF R 抗体コーティングした ELISA プレートを PBST (PBS 中 0.05% トゥイーン 20, pH 7.2~7.4) で 3 回洗浄し、ブロッキング溶液 (PBS 中 1% BSA, 0.05% NaN₃, pH 7.2~7.4) (200 µl) を添加して、ロッカーを用いて室温で 2 時間ブロックした。ヒト腫瘍細胞を抗体または DVD-Ig 及び IGF リガンドと共にインキュベートした。D-PBS-BSA (0.1% BSA を含むダルベッコリン酸緩衝食塩液) で希釈した IGF 1, 2 モノクローナル抗体または DVD-Ig をヒト癌細胞に 0.01 µg/mL~100 µg/mL の最終濃度で添加した。増殖因子 (IGF 1 及び IGF 2) を同時に 1~100 ng/mL の濃度 (200 µl) で細胞に添加し、細胞を加湿した 5% CO₂ 雰囲気中 37℃ で 1 時間インキュベートした。細胞を冷細胞抽出バッファー (10 mM トリス (pH 7.4), 100 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 1 mM NaF, 1 mM オルトバナジン酸ナトリウム, 1% トリトン X-100, 10% グリセロール, 0.1% SDS 及びプロテアーゼ阻害剤カクテル) (120 µl/ウェル) 中に溶解し、振とうしながら 4℃ で 20 分間インキュベートした。細胞ライゼート (100 µl) を ELISA プレートに添加し、やさしく振とうしながら 4℃ で一晩インキュベートした。翌日、ELISA プレートを洗浄し、pTy r-HRP 検出 Ab (p-IGF 1 R ELISA キット, R&D システム, #DYC1770, ミネソタ州ミネアポリス) (100 µl/ウェル) を添加し、プレートを暗所 25℃ で 2 時間インキュベートした。リン光体-IGF 1 R を調べるために、プレートを製造業者の使用説明書に従って展開した。結果を表 36 及び 37 に示す。

【0670】

【表 38】

表 36: 抗 IGF 1, 2 親抗体または DVD-Ig 構築物での IGF 1 による IGF 1 R リン酸化の抑制

親抗体 または DVD-Ig ID	N 末端 可変ドメイン (VD)	N 末端 可変ドメ イン (VD)	N 末端 VD pIGFR 細胞アッセイ (hIGF1 中和 IC ₅₀ , nM)	C 末端 VD pIGFR 細胞アッセイ (hIGF1 中和 IC ₅₀ , nM)
AB010	IGF1, 2		1.7	
DVD029	HER-2	IGF1, 2		14.22 (40% max)
DVD030	IGF1, 2	HER-2	1.9	
AB010	IGF1, 2		1.7	
DVD041	VEGF	IGF1, 2		16.8 (40% max)
DVD042	IGF1, 2	VEGF	1.8	

AB010 由来の VD を N 末端または C 末端位に含有する DVD-Ig は IGF 1 誘導

IGF1R受容体リン酸化の抑制を示した。DVD-IgのN末端位のAB010のVD及び親抗体AB010は受容体リン酸化をブロックした。

【0671】

【表39】

表37：抗IGF1，2親抗体またはDVD-Ig構築物でのIGF2によるIGF1Rリン酸化の抑制

親抗体または DVD-Ig ID	N末端 可変ドメイン (VD)	N末端 可変ドメイン (VD)	N末端VD pIGFR1細胞アッセイ (IGF2誘導 IC ₅₀ ,nM)	C末端VD pIGFR1細胞アッセイ (IGF2誘導 IC ₅₀ ,nM)
AB010	IGF1,2		0.3	
DVD029	HER-2	IGF1,2	ND	1.9
DVD030	IGF1,2	HER-2	0.4	ND
AB010	IGF1,2		0.3	
DVD041	VEGF	IGF1,2	ND	1.5
DVD042	IGF1,2	VEGF	0.3	ND

AB010由来のVDをN末端またはC末端位に含有するDVD-IgはIGF2誘導IGF1R受容体リン酸化の抑制を示した。DVD-IgのN末端位のAB010のVD及び親抗体AB010は受容体リン酸化をブロックした。

【0672】

実施例1. 1. 2. Q：AktのHGF媒介リン酸化のHGF親抗体及びDVD-Ig構築物による抑制

H1299非小細胞肺腫瘍細胞を96ウェルプレートにおいて20,000個の細胞／ウェル（100μlの全容量）で平板培養し、5% CO₂、37℃で18時間血清欠乏させた。抗HGFモノクローナル抗体またはDVD-Ig（67nM、6.7nM及び0.67nMの最終濃度）を0.1% BSAを含有するダルベッコ最小必須培地で希釈し、50μl中組換えヒトHGF（50ng/ml）と25℃で1時間プレインキュベートした。次いで、これらの抗体／DVD-Ig及びHGF混合物（50μl）を細胞に添加し、プレートを加湿した5% CO₂ 雰囲気中37℃で約15分間インキュベートした。次いで、各ウェルに等容量の7.6%ホルムアルデヒドを添加することにより細胞を固定し、プレートを25℃で15分間インキュベートした。固定後、細胞を0.1% トリトンX-100を含有するPBSで5回洗浄した。次いで、細胞をLi-COR Odysseyブロッキングバッファー（Li-COR Biosciences, ネブラスカ州リンカーン）（150μl／ウェル）で処理し、適度に振とうしながら室温で90分間インキュベートした。ブロッキングバッファーを除去し、細胞をブロッキングバッファー（Phospho Ser473-Aktの1：300希釈物，Cell Signaling Technology, #4060，マサチューセッツ州ボストン）で希釈した一次抗体と4℃で一晩インキュベートした。次いで、ウェルを0.1% トウイーン20を含有するPBSで5回洗浄した後、二次抗体（1×PBS+0.2% トウイーン20）中抗家兎IRDye（商標）680CW Li-COR（Li-COR Biosciences, ネブラスカ州リンカーン）の1：400希釈物）と25℃で1時間インキュベートした。細胞を0.1% トウイーン20を含有するPBSで5回洗浄し、Odyssey赤外イメージングシステムを用いて画像処理した。

【0673】

【表 40】

表 38 : HGF 親抗体及び DVD-Ig 構築物による Akt の HGF 媒介リン酸化の抑制

親抗体 または DVD-Ig ID	N 末端 可変ドメイン (VD)	N 末端 可変ドメイン (VD)	N 末端 VD Akt リン酸化の抑制 (67, 6.7 及び 0.67nM Ab/DVD での抑制%)	C 末端 VD Akt リン酸化の抑制 (67, 6.7 及び 0.67nM Ab/DVD での抑制%)
AB012	HGH		67nM=106%、6.7nM=110%、0.67nM=79%	
DVD033	RON	HGH		67nM=95%、 6.7nM=91%、 0.67nM=24%
DVD034	HGH	RON	67nM=111%、 6.7nM=105%、 0.67nM=99%	
AB012	HGH		67nM=106%、6.7nM=110%、0.67nM=79%	
DVD045	VEGF	HGH		67nM=64%、 6.7nM=-2%、 0.67nM=-5%
DAB008	CD22		67nM=8%、6.7nM=-13%	

10

20

AB012 由来の VD を N 末端または C 末端位に含有する DVD-Ig は HGF 誘導 Akt リン酸化の抑制を示した。DVD-Ig の N 末端位の AB012 の VD 及び親抗体 AB012 は Akt リン酸化をブロックした。

【0674】

実施例 1. 1. 2. R : VEGFR2 (KDR) リン酸化の VEGF 親抗体及び DVD-Ig 構築物による抑制

ヒト VEGFR2 (KDR) を発現する NIH3T3 細胞を 96 ウェルプレートにおいて 10% FBS を補充した DMEM (100 μ l) 中 20,000 個の細胞/ウェルで平板培養した。翌日、細胞を DMEM で 2 回洗浄し、FBS を含まない DMEM 中で 3 時間血清欠乏させた。DMEM + 0.1% BSA で希釈した抗 VEGF 親抗体または DVD-Ig (67nM、6.7nM 及び 0.67nM の最終濃度) を組換えヒト VEGF₁₆₅ (50 ng/ml) と 25°C で 1 時間プレインキュベートした。次いで、これらの抗体/DVD-Ig 及び VEGF 混合物を細胞に添加し、プレートを加湿した 5% CO₂ 雰囲気中 37°C で 10 分間インキュベートした。細胞を氷冷 PBS で 2 回洗浄し、0.1% NP40 を補充した細胞溶解バッファー (Cell Signaling, マサチューセッツ州ボストン) (100 μ l/ウェル) を添加することにより溶解した。2つのサンプルをプールし、170 μ l を予め抗 VEGFR2 抗体 (R&D Systems, AF357, ミネソタ州ミネアポリス) をコーティングした ELISA プレートのウェルに添加し、やさしく振とうしながら 25°C で 2 時間インキュベートした。ウェルを洗浄バッファー (0.05% トウイーン 20 を含有する PBS) で 5 回洗浄し、ビオチニル化抗ホスホチロシン抗体 (4G10; Millipore, マサチューセッツ州ビレリカ) の 1:2000 希釈物 (50 μ l) と 25°C で 1 時間インキュベートした。ウェルを 0.05% トウイーン 20 を含有する PBS で 5 回洗浄した後、ストレプトアビジン-HRP (KPL, #474-3000, メリーランド州ゲーサーズバーグ) と 25°C で 1 時間インキュベートした。ウェルをストレプトアビジン-HRP (KPL, #474-3000, メリーランド州ゲーサーズバーグ) で 3 回洗浄した。ウェルを 0.05% トウイーン 20 を含有する PBS で 3 回洗浄し、ULTRA-TMB ELISA (Pierce,

30

40

50

イリノイ州ロックフォード) (100 μ l / ウェル) を添加した。発色後、反応を 1 N HCl で停止し、吸光度を 450 nm で測定した。結果を表 39 に示す。

【0675】

【表 41】

表 39 : VEGF 親抗体または DVD-Ig 構築物による VEGFR2 (KDR) リン酸化の抑制

親抗体または DVD-Ig ID	N 末端 可変ドメイン (VD)	N 末端 可変ドメイン (VD)	N 末端 VD PkdR の抑制 (EC ₅₀)	C 末端 VD PkdR の抑制 (EC ₅₀)
AB014	VEGF		0.45	
DVD044	DLL4	VEGF		10.40
DVD043	VEGF	DLL4	0.54	
AB014	VEGF		0.45	
DVD048	RON	VEGF		31.80
DVD047	VEGF	RON	0.47	

10

AB014 由来の VD を N 末端または C 末端位に含有する DVD-Ig は VEGF 誘導 KDR リン酸化の良好な抑制を示した。DVD-Ig の N 末端位の AB014 の VD 及び親抗体 AB014 は KDR リン酸化をブロックした。

20

【0676】

実施例 1. 1. 2. S : インビトロでの EGF 誘導 EGF R リン酸化の EGF R 親抗体または DVD-Ig 構築物による抑制

D-PBS-BSA (ダルベッコリン酸緩衝食塩液 + 0.1% BSA) で希釈した EGF R モノクローナル抗体または DVD-Ig をヒト癌細胞に 0.01 μ g/mL ~ 100 μ g/mL (180 μ L) の最終濃度で添加した。プレートを加湿した 5% CO₂ 雰囲気中 37 °C で 1 時間インキュベートした。1 ~ 100 ng/mL の最終濃度の増殖因子 (EGF) (20 μ L) を細胞に 5 ~ 15 分間添加して、受容体 (EGF R) 自己リン酸化を刺激した。抗体処理のないウェルを 0% 抑制の対照として使用し、増殖因子刺激なしのウェルは 100% 抑制を示すと見なされた。細胞ライゼートは、細胞抽出バッファー (10 mM Tris (pH 7.4), 100 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 1 mM NaF, 1 mM オルトバナジン酸ナトリウム, 1% トリトン X-100, 10% グリセロール, 0.1% SDS 及びプロテアーゼ阻害剤カクテル) とインキュベートすることにより作成した。これらの細胞ライゼート中の Phospho-EGF R を R&D Systems (#DYC1095, ミネソタ州ミネアポリス) 製 p-EGF R ELISA キットを製造業者の使用説明書に従って用いて測定した。結果を表 40 及び 41 に示す。

30

【0677】

【表 4 2】

表 4 0 : 抗EGFR親抗体及びDVD-Ig構築物によるEGF誘導EGFRリン酸化の抑制

親抗体または DVD-Ig ID	N 末端 可変ドメイン (VD)	N 末端 可変ドメイン (VD)	N 末端 VD pEGFR 細胞アッセイ (EGF 誘導 IC ₅₀ , nM)	C 末端 VD pEGFR 細胞アッセイ (EGF 誘導 IC ₅₀ , nM)
AB033	EGFR		7.3	
DVD015	EGFR	HER-2	7.9	
DVD016	HER-2	EGFR		>50% (10% max)
AB033	EGFR		7.3	
DVD021	EGFR	IGF1R	7.7	
DVD022	IGF1R	EGFR	0.47	>50% (20% max)

10

AB033由来のVDをN末端またはC末端位に含有するDVD-IgはEGF誘導EGFRリン酸化の良好な抑制を示した。DVD-Ig (DVD015、DVD021)のN末端位のAB033のVD及び親抗体AB033はリン酸化をブロックした。

20

【0678】

【表 4 3】

表 4 1 : 抗EGFR親抗体及びDVD-Ig構築物によるEGF誘導EGFRリン酸化の抑制

親抗体または DVD-Ig ID	N 末端 可変ドメイン (VD)	N 末端 可変ドメイン (VD)	N 末端 細胞アッセイ EGF 誘導 pEGFR の抑 制 (IC ₅₀ , nM)	C 末端 細胞アッセイ EGF 誘導 pEGFR の抑 制 (IC ₅₀ , nM)
AB033	EGFR		0.35	
DVD024	RON	EGFR	ND	7.143
DVD023	EGFR	RON	0.54	ND

30

AB033由来のVDをN末端またはC末端位に含有するDVD-IgはEGF誘導EGFRリン酸化の良好な抑制を示した。DVD-Ig (DVD023)のN末端位のAB033のVD及び親抗体AB033EGFRはリン酸化をブロックした。

【0679】

実施例 1. 1. 2. T : インビトロでのMSP1誘導ERK1/2及びAKTリン酸化の親RON抗体及びDVD-Ig構築物による抑制

40

10% FBS/最小必須培地で増殖させたサブコンフルエントなDU145結腸腫瘍細胞をトリプシン処理し、6ウェル組織培養プレート(0.25×10⁶個の細胞/2mlの最終容量)に接種し、5% CO₂、37℃で18~24時間インキュベートした。インキュベートした後、細胞を1×D-PBSで2回洗浄し、無血清培地において一晚欠乏させた。翌日、細胞を1μMのモノクローナル抗体またはDVD-Igを含有する無血清培地(900μl)において37℃で1時間インキュベートした。抗体をインキュベートした後、細胞を13nM MSP1で処理した(37℃, 30分間)。細胞を氷冷したD-PBSで2回洗浄し、100μlのHALT(登録商標)ホスファターゼ阻害剤カクテル(Thermo Scientific, イリノイ州ロックフォード)、1個のComplete(登録商標)EDTA非含有プロテアーゼ阻害剤錠(1錠/10ml, Ro

50

che Diagnostic, ドイツ国マンハイム) 及び PMSF を含有する細胞抽出バッファー (Biosource International, カリフォルニア州カールズバッド) (150 μ l) 中に収集した。細胞ライゼートをときどき渦状に攪拌しながら氷上で30分間インキュベートし、遠心(10分間, 14,000 rpm, 4℃)により予め清澄化し、ウェスタンブロット分析のために処理した。全部で15 μ gの細胞ライゼートを4~12% NuPage Bis-Trisゲル上で1×MOPSランニングバッファー (Invitrogen, カリフォルニア州カールズバッド) を用いるSDS-PAGEにより分割した。タンパク質をニトロセルロース膜 (Invitrogen, カリフォルニア州カールズバッド) に移し、TBS-T (1×TBS/0.1% トゥイン20) 中5% 脱脂乳を用いて室温で1時間ブロックした。ブロックした後、膜を家兔ポリクローナルホスホ-p44/42 MAPK (Thr²⁰²/Tyr²⁰⁴) 抗体 (Cell Signaling, マサチューセッツ州ダンバース) または家兔モノクローナルホスホ-AKT (Ser⁴⁷³) 抗体 (Cell Signaling, マサチューセッツ州ダンバース) の1:1000希釈物と4℃で一晩インキュベートした。ブロットを3回洗浄し(1×TBS-T, 15分間)、抗家兔IgG、HRPコンジュゲートした二次ヤギ抗体 (Jackson ImmunoResearch, ペンシルベニア州ウェストグローブ) の5% 脱脂乳/TBS-T溶液中1:5000希釈物と室温で1時間インキュベートした。ブロットを3回洗浄し(1×TBS-T, 15分間)、ペルオキシダーゼをコンジュゲートした二次抗体をSuperSignal West Dura Luminol/Enhancer溶液 (登録商標) (Millipore, カリフォルニア州テメキュラ) と5分間インキュベートすることにより活性化し、化学発光をLuminescent イメージアナライザーLAS-3000 (FUJIFILM, 日本国東京) を用いて検出し、定量した。バンド密度をMultiGaugeソフトウェア (FUJIFILM, 日本国東京) を用いて測定し、バンド毎の全化学発光シグナルを定量した。全ERK1/2及びAKTレベルを測定するために、膜を1×Reblot Plus Strong溶液 (登録商標) (Thermo Scientific, イリノイ州ロックフォード) を用いて15分間ストリッピングし、家兔ポリクローナルp44/42 MAPK抗体 (Cell Signaling, マサチューセッツ州ダンバース) または家兔モノクローナルAKT抗体 (Cell Signaling, マサチューセッツ州ダンバース) の1:1000希釈物を用いて再プローブし、ホスホ抗体について上記したように処理した。Ph-ERK及びph-Aktレベルをそれぞれ全ERKまたは全Aktに対して標準化した。

10

20

30

【0680】

【表 4 4】

表 4 2 : RON親抗体またはDVD-Ig構築物によるMSP1誘導ERK1/2リン酸化の抑制

親抗体 または DVD-Ig ID	N 末端 可変ドメイン (VD)	N 末端 可変ドメイン (VD)	N 末端 VD 細胞アッセイ, RON 誘導 phERK1/2 の抑制 (nM Ab での中和の%)	C 末端 VD 細胞アッセイ, RON 誘導 phERK1/2 の抑制 (nM Ab での中和 の%)
AB005	RON		1000nM で 80%	
DVD024	RON	EGFR	1000nM で 97%	
AB005	RON		1000nM で 80%	
DVD033	RON	HGF	1000nM で 60%	

10

AB005由来のVDをN末端位に含有するDVD-IgはMSP1誘導ERK1/2リン酸化の十分な抑制を示した。DVD024及びDVD033の抑制プロフィールは親抗体AB005の抑制プロフィールに類似していた。

20

【0681】

実施例 1. 1. 2. U : ヒト癌皮下脇腹異種移植片の増殖に対するDVD-Igの有効性

A-431ヒト上皮癌細胞を組織培養フラスコにおいて99% 生存度、85% コンフルエンスまでインピトロで増殖させた。研究0日目に、19~25gのSCID雌マウス(Charles Rivers Labs, マサチューセッツ州ウィルミントン)の右脇腹に 1×10^6 個のヒト腫瘍細胞(1:1マトリゲル)を皮下注射した。マウスを約 $200 \sim 320 \text{ mm}^3$ の平均腫瘍容積を有するマウスの群にサイズ適合させた後、ヒトIgG対照またはDVD-Igの投与(IP, QD, $3 \times$ /週)を開始した。腫瘍細胞注入から約10日後から腫瘍を週2回測定した。

30

【0682】

EGFR+IGF1/2 DVD-Igを投与された動物において対照IgGのみを投与された動物における腫瘍に比して腫瘍容積の減少が見られた。2つの異なるEGFR+IGF1/2 DVD-Ig構築物の場合、3週投与相の終了から4日後に測定して%TGIは69及び64であった。

【0683】

実施例 1. 1. 2. V : フローサイトメトリーにより評価したモノクローナル抗体のヒト腫瘍細胞株の表面への結合

細胞表面当該抗原またはヒト腫瘍細胞株を過剰発現する安定な細胞株を組織培養フラスコから収集し、5% ウシ胎児血清(PBS/FBS)を含有するリン酸緩衝食塩液(PBS)中に再懸濁した。染色する前に、ヒト腫瘍細胞を氷上でヒトIgG($100 \mu\text{l}$)とPBS/FCS中 $5 \mu\text{g/ml}$ でインキュベートした。 $1 \sim 5 \times 10^5$ 個の細胞を氷上でPBS/FBS中抗体またはDVD-Ig($2 \mu\text{g/mL}$)と30~60分間インキュベートした。細胞を2回洗浄し、F(ab')₂ヤギ抗ヒトIgG、Fcγ-フィコエリスリン(PBS中1:200希釈物)(Jackson ImmunoResearch、ペンシルベニア州ウェストグロブ、カタログ番号109-116-170)($100 \mu\text{l}$)を添加した。氷上で30分間インキュベートした後、細胞を2回洗浄し、PBS/FBS中に再懸濁した。蛍光をBecton Dickinson FACSCalibur(Becton Dickinson、カリフォルニア州サンホセ)を用いて測定し

40

50

た。

【0684】

表43はDVD-Ig構築物についてのFACSデータを示す。幾何平均はn個の蛍光シグナル($a_1 \times a_2 \times a_3 \dots a_n$)の乗法産物のn根である。対数変換データを用いて、データ分布の重みづけを正規するために幾何平均を使用する。下表は親抗体及びDVD-Ig構築物のFACS幾何平均を含む。

【0685】

【表45】

表43：DVD-Ig構築物の蛍光活性化細胞選別

親抗体 または DVD-Ig ID	N末端 可変 ドメイン (VD)	C末端 可変 ドメイン (VD)	FACS 幾何平均 N末端	FACS 幾何平均 C末端
AB006	CD-19		979	
AB001	CD-20			
DVD001	CD-20	CD-19		161
DVD002	CD-19	CD-20	1102	
AB001	CD-20		95.8	
AB002	CD-3		461	
DVD003	CD-20	CD-3	45.9	5.7
DVD004	CD-3	CD-20	673	3.59
AB007	CD-80		25.4	
AB001	CD-20			
DVD005	CD-20	CD-80		6
DVD006	CD-80	CD-20	70.7	
AB002	CD-3		897	
AB004	HER-2		27.7	
DVD011	CD-3	HER-2	1096	3.39
DVD012	HER-2	CD-3	7.14	41.6
AB002	CD-3		461/897	
AB006	CD-19		661/989	
DVD013	CD-3	CD-19	417	103
DVD014	CD-19	CD-3	1090	23.3
AB033	EGFR		955.4	
AB004	HER-2		24.77	
DVD015	EGFR	HER-2	1006.4	200.07
DVD016	HER-2	EGFR	75.67	384.4
AB033	EGFR		955.4	
AB011	IGF1R		1684.5	
DVD021	EGFR	IGF1R	888.4	733.5
DVD022	IGF1R	EGFR	2016.5	411.4
AB005	RON		54.46	
AB033	EGFR		955.4	
DVD024	RON	EGFR	0.38	309.4
DVD023	EGFR	RON	1001.4	164.96
AB033	EGFR		955.4	

10

20

30

40

親抗体 または DVD-Ig ID	N末端 可変 ドメイン (VD)	C末端 可変 ドメイン (VD)	FACS 幾何平均 N末端	FACS 幾何平均 C末端
AB012	HGF			
DVD025	EGFR	HGF	1045.4	
DVD026	HGF	EGFR		143.4
AB004	HER-2		24.77	
AB010	IGF1,2			
DVD029	HER-2	IGF1,2	22.37	
DVD030	IGF1,2	HER-2		0.23
AB004	HER-2		24.77	
AB011	IGF1R		1684.5	
DVD031	HER-2	IGF1R	4.99	24.7
DVD032	IGF1R	HER-2	34.6	4.9
AB005	RON		54.46	
AB012	HGF			
DVD033	RON	HGF	6.46	
DVD034	HGF	RON		0.39
AB014	VEGF			
AB033	EGFR		955.4	
DVD035	VEGF	EGFR		162.4
DVD036	EGFR	VEGF	1081.4	
AB014	VEGF			
AB004	HER-2		24.77	
DVD037	VEGF	HER-2		1.03
DVD038	HER-2	VEGF	7.47	
AB015	DLL-4		308.27	
AB014	VEGF			
DVD044	DLL4	VEGF	297.27	
DVD043	VEGF	DLL4		68.37
AB014	VEGF			
AB012	HGF			
DVD045	VEGF	HGF		
DVD046	HGF	VEGF		
AB005	RON		54.46	
AB014	VEGF			
DVD048	RON	VEGF	29.86	
DVD047	VEGF	RON		0.51
AB014	VEGF			
AB016	NRP1		338.4	
DVD049	VEGF	NRP1		352.4
DVD050	NRP1	VEGF	336.4	
AB015	DLL-4		308.27	
AB047	PlGF			
DVD257	DLL4	PlGF	274.27	
DVD258	PlGF	DLL4		5.57

10

20

30

40

すべてのDVDがその細胞表面標的への結合を示した。DVDのN末端ドメインは細胞表面上のその標的に親抗体と同等またはそれ以上に結合した。リンカー長さを調節することにより結合は回復または改善され得る。

【0686】

実施例1. 1. 2. W: フローサイトメトリーにより評価した親EGFR抗体及びDV

50

D-Ig構築物のヒト腫瘍細胞株の表面への結合

細胞表面EGFRまたはヒト腫瘍細胞株を過剰発現する安定な細胞株を組織培養フラスコから収集し、1%ウシ胎児血清を含有するダルベッコリン酸緩衝食塩液(DPBS)(DPBS/FCS)中に再懸濁した。1~5×10⁵個の細胞をDPBS/FCS中の抗体またはDVD-Ig(10ug/mL)(100μl)と氷上で30~60分間インキュベートした。細胞を2回洗浄し、ヤギ抗ヒトIgG-フィコエリスリン(DPBS/BSA中1:50希釈物)(Southern Biotech Associates,アラバマ州バーミングハム,カタログ番号2040-09)(50μl)を添加した。氷上で30~45分間インキュベートした後、細胞を2回洗浄し、DPBS/FCS中1%ホルムアルデヒド中に125uL/ウェルで再懸濁した。蛍光をBecton Dickinson LSRII(Becton Dickinson,カリフォルニア州サンホセ)を用いて測定した。

【0687】

【表46】

表44：FACSによる抗EGFR親抗体及びDVD-Ig構築物のA431, EGFR細胞株に対する結合親和性

親抗体 または DVD-Ig ID	N末端 可変ドメイン (VD)	C末端 可変ドメイン (VD)	N末端VD Ag 結合 A431 FACS (EC ₅₀ ,nM)	C末端VD Ag 結合 A431 FACS (EC ₅₀ ,nM)
AB005	RON			
AB033	EGFR		4.2	
DVD024	RON	EGFR	ND	25.43
DVD023	EGFR	RON	5.38	ND

すべてのDVDがその細胞表面標的に結合した。DVDのN末端ドメイン及び親抗体は細胞表面上のその標的に結合した。

【0688】

【表47】

表45：FACSによる抗EGFR親抗体及びDVD-Ig構築物のBAFvar3細胞株に対する結合親和性

親抗体 または DVD-Ig ID	N末端 可変ドメイン (VD)	C末端 可変ドメイン (VD)	N末端VD Ag 結合 BAFvar3 FACS (EC ₅₀ ,nM)	C末端VD Ag 結合 BAFvar3 FACS (EC ₅₀ ,nM)
AB005	RON			
AB033	EGFR		0.5	
DVD024	RON	EGFR	ND	17.8
DVD023	EGFR	RON	0.6	ND

すべてのDVDがその細胞表面標的に結合した。DVDのN末端ドメイン及び親抗体は細胞表面上のその標的に結合した。

【0689】

【表 4 8】

表 4 6 : FACSによる7個のDLL4／VEGF DVD-Ig構築物及び親抗体の293G-ヒトDLL4細胞株に対する結合親和性

DVD-Ig ID	配列番号	配向	HC リンカー	LC リンカー	他の DVD-Ig ID	DVD-Ig DLL4 細胞結合 FACS (EC ₅₀ , nM)	Ref. Ad. ID	Ref. Ad. DLL4 細胞結合 FACS (EC ₅₀ , nM)
DVD470	DLL4 (seq. 1)	C 末端	長	長	VEGF (seq. 1)	1. 72	AB015	0. 50
DVD476	DLL4 (seq. 1)	C 末端	長	短	VEGF (seq. 1)	11. 72	AB015	0. 50
DVD482	DLL4 (seq. 1)	C 末端	短	長	VEGF (seq. 1)	3. 25	AB015	0. 50
DVD474	DLL4 (seq. 1)	C 末端	長	長	VEGF (seq. 2)	2. 19	AB015	0. 50
DVD486	DLL4 (seq. 1)	C 末端	短	長	VEGF (seq. 2)	2. 09	AB015	0. 50
DVD485	DLL4 (seq. 1)	N 末端	短	長	VEGF (seq. 2)	0. 89	AB015	0. 50
DVD471	DLL4 (seq. 1)	N 末端	長	長	VEGF (seq. 1)	1. 13	AB015	0. 50

すべてのDVDがその細胞表面標的（DLL4）に結合した。DVDのN及びC末端DLL4結合ドメイン及び親抗体は細胞表面上のその標的に結合した。

【0690】

実施例 1. 2 : 当該ヒト抗原に対する親モノクローナル抗体の作成

当該ヒト抗原に対して結合し且つ中和することができる親マウスmAb及びそのバリエーションを以下のようにして得る。

【0691】

実施例 1. 2. A : マウスの当該ヒト抗原での免疫化

1 日目に、完全フロイントアジュバントまたはImmunoeasyアジュバント（Qiagen, カリフォルニア州バレンシア）と混合した組換え精製ヒト抗原（例えば、IGF1, 2）（20 µg）を5匹の6～8週齢Balb/C、5匹のC57B/6マウス及び5匹のAJマウスに皮下注射する。24、38及び49日目に、不完全フロイントアジュバントまたはImmunoeasyアジュバントと混合した組換え精製ヒト抗原バリエーション（20 µg）を同じマウスに皮下注射する。84、112または144日目に、マ

ウスに当該組換え精製ヒト抗原（1 μg）を静脈注射する。

【0692】

実施例 1. 2. B：ハイブリドーマの作成

実施例 1. 2. A に記載した免疫化マウスから得た脾臓細胞を Kohler, G. and Milstein (1975) Nature, 256:495 に記載されている確立されている方法に従って SP2/O-Ag-14 細胞と 5:1 の比で融合して、ハイブリドーマを作成する。融合産物を 96 ウェルプレートにおいてアザセリン及びヒポキサンチンを含む選択培地を用いて 2.5×10^6 個の脾臓細胞/ウェルの密度で平板培養する。融合から 7~10 日後、肉眼で見えるハイブリドーマコロニーが観察される。ハイブリドーマコロニーを含む各ウェルからの上清を（実施例 1. 1. 1. A に記載されているように）当該抗原に対する抗体の存在について ELISA により試験する。次いで、抗原特異性活性を示す上清を（実施例 1. 1. 2 のアッセイにおいて記載した）活性、例えば実施例 1. 1. 2. 1 に記載されているバイオアッセイにおいて当該抗原を中和する能力について試験する。

【0693】

実施例 1. 2. C：当該ヒト標的抗原に対する親モノクローナル抗体の同定及び特徴づけ

実施例 1. 2. C. 1：親モノクローナル抗体中和活性の分析

ハイブリドーマ上清を、実施例 1. 2. A 及び 1. 2. B に従って作成した当該抗原に結合し、当該抗原のバリエーション（“抗原バリエーション”）にも結合できる親抗体の存在についてアッセイする。次いで、両アッセイでポジティブの抗体を有する上清をその抗原中和能力について、例えば実施例 1. 1. 2. 1 のサイトカインバイオアッセイで試験する。バイオアッセイで 1000 pM 未満、実施形態では 100 pM 未満の IC₅₀ 値を有する抗体を産生するハイブリドーマをスケールアップし、限界希釈によりクローン化する。ハイブリドーマ細胞を 10% 低 IgG ウシ胎児血清（Hyclone, #SH30151, ユタ州ローガン）を含む培地に広げる。Harlow, E. and Lane, D., 1988, “Antibodies: A Laboratory Manual” に記載されているように、平均して 250 mL の（クローン集団に由来する）各ハイブリドーマ上清を収集し、濃縮し、プロテイン A アフィニティークロマトグラフィーにより精製する。精製した mAb がその標的抗原の活性を阻害する能力も例えば実施例 1. 1. 2. 1 に記載されているサイトカインバイオアッセイを用いて調べる。

【0694】

実施例 1. 2. C. 2：親モノクローナル抗体の当該カニクイザル抗原に対する交差反応性の分析

本明細書中に記載されている選択した mAb が当該カニクイザル標的を認識するかどうかを調べるために、BIACORE 分析を組換えカニクイザル標的抗原を用いて本明細書（実施例 1. 1. 1. G）中に記載されているように実施する。加えて、mAb の当該組換えカニクイザル抗原に対する中和能力もサイトカインバイオアッセイ（実施例 1. 1. 2. 1）で調べ得る。良好なカニクイザル交差反応性（実施形態では、ヒト抗原に対する反応性の 5 倍以内）を有する mAb を更なる特徴づけのために選択する。

【0695】

実施例 1. 2. D：各マウス抗ヒトモノクローナル抗体の可変領域のアミノ酸配列の決定

cDNA の単離、発現及び組換え抗ヒトマウス mAb の特徴づけを以下のように実施する。各アミノ酸配列決定のために、約 1×10^6 個のハイブリドーマ細胞を遠心により単離し、トリゾール（Gibco BRL/Invitrogen, カリフォルニア州カールズバッド）を製造業者の使用説明書に従って用いてプロセッシングして、全 RNA を単離する。全 RNA を Superscript 一本鎖合成（Invitrogen, カリフォルニア州カールズバッド）を製造業者の使用説明書に従って使用して一本鎖 DNA 合成にかける。オリゴ（dT）を使用して一本鎖合成を開始して、ポリ（A）+RNA につい

て選択する。次いで、一本鎖 cDNA 産物をマウス免疫グロブリン可変領域の増幅のために設計されたプライマー (Ig-Primer Sets, Novagen, ウィスコンシン州マディソン) を用いて PCR により増幅させる。PCR 産物をアガロースゲルを用いて分離し、切り出し、精製した後、TOPO クローニングキットを用いて pCR2.1-TOPO ベクター (Invitrogen, カリフォルニア州カールズバッド) にサブクローン化し、TOP10 ケミカルコンピテント大腸菌 (Invitrogen, カリフォルニア州カールズバッド) に形質転換する。形質転換体に対してコロニー PCR を実施して、インサートを含むコロニーを同定する。インサートを含むコロニーから QIAprep Miniprep キット (Qiagen, カリフォルニア州バレンシア) を用いてプラスミド DNA を単離する。プラスミド中のインサートの両鎖を M13 順方向プライマー及び M13 逆方向プライマー (Fermentas Life Sciences, メリーランド州ハノーバー) を用いて配列決定して、可変重鎖または可変軽鎖 DNA 配列を決定する。mAb の可変重鎖及び可変軽鎖配列を同定する。実施形態では、次ステップ開発 (ヒト化) のためのリード mAb のパネルについての選択基準には次のものが含まれる:

- ・抗体は、CH2 中の標準のものを除いて、N-連結グリコシル化部位 (NXS) を含んでいない
- ・抗体は、すべての抗体中の通常システインに加えて余分のシステインを含んでいない。
- ・抗体配列は VH 及び VL に対して最も近いヒト生殖細胞配列とアラインし、異常なアミノ酸について他の天然ヒト抗体で存在しているかをチェックすべきである。
- ・抗体の活性に悪影響を与えないならば、N 末端グルタミン (Q) をグルタミン酸 (E) に変化させる。これにより、Q の環化のために不均一性が減る。
- ・効率的なシグナル配列開裂を質量分光法により確認する。これは COS 細胞または 293 細胞材料を用いてなし得る。
- ・タンパク質配列を活性を低下させる恐れがある Asn の脱アミド化のリスクについてチェックする。
- ・抗体は低い凝集レベルを有する。
- ・抗体は $> 5 \sim 10 \text{ mg/ml}$ (研究フェーズで) ; $> 25 \text{ mg/ml}$ の可溶性を有する。
- ・抗体は動的光散乱 (DLS) により通常サイズ ($5 \sim 6 \text{ nM}$) を有する。
- ・抗体は低い電荷不均一性を有する。
- ・抗体はサイトカイン放出を欠く (実施例 1. 1. 2. B を参照されたい)。
- ・抗体は意図するサイトカインに対して特異性を有する (実施例 1. 1. 2. C を参照されたい)。
- ・抗体は予期せぬ組織交差反応性を欠く (実施例 1. 1. 2. D を参照されたい)。
- ・抗体はヒト及びカニクイザル組織交差反応性の間で類似性を有する (実施例 1. 1. 2. D を参照されたい)。

【0696】

実施例 1. 2. 2 : 組換えヒト化親抗体

実施例 1. 2. 2. 1 : 組換えキメラ抗ヒト親抗体の構築及び発現

マウス抗ヒト親 mAb の重鎖定常領域をエンコードする DNA を、細菌での相同組換えにより 2 ヒンジ領域アミノ酸変異を含むヒト IgG1 定常領域をエンコードする cDNA 断片で置換する。これらの変異は 234 位 (EU ナンバリング) でのロイシンのアラニンへの変化及び 235 位でのロイシンのアラニンへの変化である (Lundra, 1991, J. Immunol., 147:2657)。これらの抗体の各々の軽鎖定常領域はヒト κ 定常領域により置換されている。完全長キメラ抗体を、pBOS 発現プラスミドに結合させたキメラ重鎖及び軽鎖 cDNA の同時トランスフェクションにより COS 細胞において一時的に発現させる (Mizushima and Nagata, Nucleic Acids Research, 1990, Vol. 18, p. 5322)。組換えキメラ抗体を含む細胞上清をプロテイン A セファロースクロマトグラフィーにより精製し、結合

した抗体を酸性バッファーを添加することにより溶離する。抗体を中和し、PBSに透析する。

【0697】

キメラmAbをエンコードする重鎖cDNAをそのキメラ軽鎖cDNA（いずれもpBOSベクターに結合されている）と共にCOS細胞に同時トランスフェクトする。組換えキメラ抗体を含む細胞上清をプロテインAセファロースクロマトグラフィーにより精製し、結合した抗体を酸性バッファーを添加することにより溶離する。抗体を中和し、PBSに透析する。

【0698】

次いで、精製したキメラ抗ヒト親mAbを例えば実施例1.1.1.G及び1.1.2.Bに記載されているように（Biacoreによる）結合に対する能力及びIgEのサイトカイン誘導産生を抑制するための機能的活性について試験する。親ハイブリドーマmAbの活性を維持しているキメラmAbを更なる開発のために選択する。

【0699】

実施例1.2.2.2：ヒト化抗ヒト親抗体の構築及び発現

実施例1.2.2.2.A：ヒト抗体フレームワークの選択

各マウス可変重鎖及び可変軽鎖遺伝子配列を別々に44個のヒト免疫グロブリン生殖細胞可変重鎖配列または46個の生殖細胞可変軽鎖配列（<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/igblast/retrieveig.html>のNCBI Ig Blastウェブサイトから得る）に対してベクターNTIソフトウェアを用いてアラインさせる。

【0700】

ヒト化は、アミノ酸配列相同性、CDRクラスター分析、発現ヒト抗体中での使用頻度、及びヒト抗体の結晶構造に基づく利用可能な情報に基づいている。抗体結合に対する起こり得る影響、VH-VL対形成及び他の要因を考慮して、幾つかの例外はあるが、マウス及びヒトフレームワーク残基に違いがあるマウス残基をヒト残基に変異させる。追加のヒト化戦略は、マウス抗体可変領域の実際のアミノ酸配列に対して高い相同期度、すなわち配列類似性を有するヒト生殖細胞抗体配列またはそのサブグループの分析に基づいて設計する。

【0701】

相同性モデリングは、抗体結合部位CDRの構造にとって重要であると予想されるマウス抗体配列に対して独自の残基を同定するために使用する。相同性モデリングは、タンパク質に対して概ねの三次元座標を作成する計算方法である。その更なる細分化のための初期座標のソース及びガイダンスは、三次元座標が公知であり、その配列が第1タンパク質の配列に関連している第2タンパク質、すなわち参照タンパク質である。2つのタンパク質の配列の間の関連性を使用して、参照タンパク質と座標が望ましいタンパク質、すなわち標的タンパク質間の対応性が得られる。参照及び標的タンパク質の主な配列を参照タンパク質から標的タンパク質に直接移動する2つのタンパク質の同一部分の座標とアラインさせる。例えば残基の変異、挿入または欠失に由来する2つのタンパク質のミスマッチ部分の座標を既に移動したモデル座標との適合性を保証するように改良した遺伝子構造テンプレート及びエネルギーから構築する。この計算タンパク質構造は更に改良またはモデリング研究で直接使用され得る。モデル構造の質は、参照及び標的タンパク質を関連させるコンテンションの精度及び配列アラインメントを構築する正確さにより決定される。

【0702】

マウスmAbの場合、適当な参照構造を同定するためにBLASTサーチング及び外観検査の組合せを使用する。参照及び標的アミノ酸配列間の25%の配列同一性は、相同性モデリング実行を試みるために必要な最小であると見なされる。配列アラインメントは手動で構築され、モデル座標をプログラムJackal（Petrey, D.ら（2003）Protein, 53（Suppl. 6）：430-435を参照されたい）を用いて作成する。

10

20

30

40

50

【0703】

選択した抗体のマウス及びヒトフレームワーク領域の主な配列は有意な同一性を共有している。異なる残基位置は、マウス抗体の観察された結合能力を保持するためにヒト化配列中にマウス残基を導入するための候補である。ヒト及びマウス配列間で異なるフレームワーク残基のリストを手動で構築する。表47はこの研究のために選択したフレームワーク配列を示す。

【0704】

【表49】

表47：ヒトIgG重鎖定常ドメイン及び軽鎖定常ドメインの配列

タンパク質	配列番号	配列
		12345678901234567890123456789012345678901
野生型 hIgG1 定常領域	108	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE <u>LL</u> GGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
ミュータント hIgG1 定常領域	109	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE <u>AA</u> GGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
I g κ 定常領域	110	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
I g λ 定常領域	111	QPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAW KADSSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASSYLSTLPEQWKSHR SYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

所与のフレームワーク残基が抗体の結合特性に影響を与える可能性はCDR残基に対するその近接に依存する。従って、モデル構造を用いて、マウスとヒト配列間で異なる残基をCDR中の原子からの距離に従ってランク付けする。CDR原子の4.5 Åの範囲内の残基が最も重要であると同定され、ヒト化抗体中のマウス残基の保持（すなわち、復帰突然変異）のための候補であると推奨される。

【0705】

インシリコ構築されるヒト化抗体をオリゴヌクレオチドを用いて構築する。可変領域cDN毎に、各々60～80ヌクレオチドの6オリゴヌクレチドを各オリゴヌクレチドの5'及び/または3'末端で20ヌクレオチドだけ相互に重複するように設計する。アニーリング反応で、全6オリゴヌクレチドを合わせ、煮沸し、dNTPの存在下でアニーリングする。重複オリゴヌクレチド間の約40bp間隙を埋めるためにDNAポリメラーゼI、大（クレノウ）断片（New England Biolabs, #M0210, マサチューセッツ州ビバリー）を添加する。PCRを修飾pBOSベクター中の複数のクローニング部位に対して相補的な重複配列を含む2つの最外プライマーを用いて実施して、全可変領域遺伝子を増幅させる（Mizushima, S. and Nagata, S. (1990) *Nucleic Acids Res.*, 18:17）。各cDNAアセンブリから誘導したPCR産物をアガロースゲルを用いて分離し、予想される可変領域cDNAサイズに相当するバンドを切り出し、精製する。可変重鎖領域を、2ヒンジ領域アミノ酸突然変異を含むヒトIgG1定常領域をエンコードするcDNA断片に細菌

中での相同組換えによりインフレームで挿入する。これらの突然変異は、234位（EUNANバリング）でのロイシンのアラニンへの変化及び235位でのロイシンのアラニンへの変化である（Lundら（1991）J. Immunol., 147:2657）。可変軽鎖領域を相同組換えによりヒトκ定常領域とインフレームで挿入する。細菌コロニーを単離し、プラスミドDNAを抽出する。cDNAインサートの全体を配列決定する。各抗体に相当する正しいヒト化重鎖及び軽鎖をCOS細胞に同時トランスフェクトして、完全長ヒト化抗ヒト抗体を一時的に産生する。組換えキメラ抗体を含む細胞上清をプロテインAセファロースクロマトグラフィーにより精製し、結合した抗体を酸性バッファーを用いて溶離させる。抗体を中和し、PBSに透析する。

【0706】

10

実施例1. 2. 2. 3：ヒト化抗体の特徴づけ

精製ヒト化抗体の機能活性を抑制する能力を、例えば実施例1. 1. 2. Aに記載されているサイトカインバイオアッセイを用いて調べる。ヒト化抗体の組換えヒト抗原に対する結合親和性を実施例1. 1. 1. Bに記載されている表面プラズモン共鳴（Biacore（登録商標））測定を用いて調べる。バイオアッセイからのIC₅₀値及びヒト化抗体の親和性をランク付けする。親ハイブリドーマmAbの活性を完全に維持するヒト化mAbを将来の開発のための候補として選択する。上2～3個の最も有利なヒト化mAbを更に特徴づける。

【0707】

20

実施例1. 2. 2. 3. A：ヒト化抗体の薬物動態分析

薬物動態研究をSprague-Dawleyラット及びカニクイザルで実施する。雄及び雌のラット及びカニクイザルに4mg/kg mAbの1回量で静脈内または皮下投与し、サンプルを抗原捕捉ELISAを用いて分析し、薬物動態パラメーターを非コンパートメント分析により調べる。簡単に説明すると、ELISAプレートをヤギ抗ビオチン抗体（5mg/ml, 4℃, 一晚）でコーティングし、Superblock（Pierce）でブロックし、ビオチニル化ヒト抗原と10% Superblock TTBS中50ng/mlで室温で2時間インキュベートする。血清サンプルを連続希釈し（TTBS中0.5% 血清, 10% Superblock）、プレート上で室温で30分間インキュベートする。HRP標識したヤギ抗ヒト抗体を用いて検出を実施し、濃度を4パラメーターロジスティックフィットを用いて標準曲線により調べる。薬物動態パラメーターの値は非コンパートメントモデルによりWinNonlinソフトウェア（Pharsight Corporation, カリフォルニア州マウンテンビュー）を用いて調べる。良好な薬物動態プロファイル（低クリアランス及び優れたバイオアベイラビリティ50～100%で、T_{1/2}が8～13日またはそれより良好）を有するヒト化mAbを選択する。

30

【0708】

実施例1. 2. 2. 3. B：ヒト化モノクローナル抗体の物理化学的及びインビトロでの安定性分析

（サイズ排除クロマトグラフィー）

抗体を水で2.5mg/mLに希釈し、20mLをTSKゲルG3000 SWXLカラム（Tosoh Bioscience, カタログ番号k5539-05k）を用いてShimadzu HPLCシステムで分析する。サンプルをカラムから211mM 硫酸ナトリウム、92mM リン酸ナトリウム（pH7.0）を0.3mL/分の流速で用いて溶離させる。HPLCシステム運転条件は以下の通りである：

40

移動相：211mM Na₂SO₄, 92mM Na₂HPO₄・7H₂O（pH7.0）

勾配：無勾配

流速：0.3mL/分

検出波長：280nm

オートサンプラークーラー温度：4℃

50

カラムオープン温度：周囲温度

保持時間：50分間。

【0709】

表48は、上記プロトコルにより測定したモノマー（予想される分子量を有する非凝集タンパク質）%として表示する親抗体及びDVD-Ig構築物の純度データを含む。

【0710】

【表50】

表48：サイズ排除クロマトグラフィーによる親抗体及びDVD-Ig構築物の純度

親抗体 または DVD-Ig ID	N末端 可変 ドメイン (VD)	C末端 可変 ドメイン (VD)	%モノマー（純度）
AB033	EGFR		99.75
AB004	HER-2		95.6
DVD015	EGFR	HER-2	96.98
DVD016	HER-2	EGFR	93.41
AB033	EGFR		99.75
AB011	IGF1R		98.23
DVD021	EGFR	IGF1R	99.25
DVD022	IGF1R	EGFR	99.53
AB005	RON		79.34
AB033	EGFR		99.75
DVD024	RON	EGFR	96.86
DVD023	EGFR	RON	97.27
AB033	EGFR		99.75
AB012	HGF		98.97
DVD025	EGFR	HGF	99.21
DVD026	HGF	EGFR	99.48

10

20

親抗体 または DVD-Ig ID	N末端 可変 ドメイン (VD)	C末端 可変 ドメイン (VD)	%モノマー（純度）
AB004	HER-2		95.6
AB010	IGF1,2		93.2
DVD029	HER-2	IGF1,2	88.2
DVD030	IGF1,2	HER-2	96.9
AB004	HER-2		95.6
AB011	IGF1R		98.23
DVD031	HER-2	IGF1R	94.53
DVD032	IGF1R	HER-2	98.1
AB005	RON		79.34
AB012	HGF		98.97
DVD033	RON	HGF	100
DVD034	HGF	RON	100
AB014	VEGF		97.81
AB033	EGFR		99.75
DVD035	VEGF	EGFR	97.7
DVD036	EGFR	VEGF	99.36
AB014	VEGF		97.81
AB004	HER-2		95.6
DVD037	VEGF	HER-2	45.4
DVD038	HER-2	VEGF	96.9
AB014	VEGF		97.81
AB010	IGF1,2		93.2
DVD041	VEGF	IGF1,2	94.7
DVD042	IGF1,2	VEGF	92.4
AB015	DLL-4		97.52
AB014	VEGF		97.81
DVD044	DLL4	VEGF	48.66
DVD043	VEGF	DLL4	96.72
AB014	VEGF		97.81
AB012	HGF		98.97
DVD045	VEGF	HGF	97.88
DVD046	HGF	VEGF	98.14
AB005	RON		79.34
AB014	VEGF		97.81
DVD048	RON	VEGF	100
DVD047	VEGF	RON	100
AB014	VEGF		97.81
AB016	NRP1		93.54
DVD049	VEGF	NRP1	97.74
DVD050	NRP1	VEGF	98.59
AB015	DLL-4		97.52
AB047	PlGF		99.47
DVD257	DLL4	PlGF	83.8
DVD258	PlGF	DLL4	100
AB014	VEGF		97.81
AB047	PlGF		99.47
DVD259	VEGF	PlGF	90.61

10

20

30

40

親抗体 または DVD-Ig ID	N末端 可変 ドメイン (VD)	C末端 可変 ドメイン (VD)	%モノマー（純度）
DVD260	PlGF	VEGF	98.57
AB062	ErbB3		100
AB033	EGFR		99.75
DVD299	ErbB3	EGFR	98.8
DVD300	EGFR	ErbB3	100
AB063	ErbB3		96
AB033	EGFR		99.75
DVD305	ErbB3	EGFR	83.8
DVD306	EGFR	ErbB3	100

D V D - I g は優れた S E C プロフィールを示し、殆どの D V D - I g は > 9 0 % モノマーを示した。この D V D - I g プロフィールは親抗体で観察されたプロフィールに類似している。

【 0 7 1 1 】

【表 5 1】

表 4 9 : サイズ排除クロマトグラフィーにより測定した V E G F / D L L 4
D V D - I g 構築物の純度

DVD ID	配列番号	位置	HC リンカー	LC リンカー	他の DVD ドメイン	% モノマー
DVD043	VEGF(seq.1)	N 末端	短	短	DLL4(seq.1)	96.8
DVD044	VEGF(seq.1)	C 末端	短	短	DLL4(seq.1)	51.4
DVD469	VEGF(seq.1)	C 末端	長	長	DLL4(seq.1)	44.5
DVD470	VEGF(seq.1)	N 末端	長	長	DLL4(seq.1)	96.0
DVD475	VEGF(seq.1)	C 末端	長	短	DLL4(seq.1)	47.3
DVD476	VEGF(seq.1)	N 末端	長	短	DLL4(seq.1)	97.6
DVD481	VEGF(seq.1)	C 末端	短	長	DLL4(seq.1)	
DVD482	VEGF(seq.1)	N 末端	短	長	DLL4(seq.1)	95.9
DVD467	VEGF(seq.2)	C 末端	短	短	DLL4(seq.1)	70.1
DVD468	VEGF(seq.2)	N 末端	短	短	DLL4(seq.1)	90.5
DVD473	VEGF(seq.2)	C 末端	長	長	DLL4(seq.1)	96.8
DVD474	VEGF(seq.2)	N 末端	長	長	DLL4(seq.1)	95.3
DVD479	VEGF(seq.2)	C 末端	長	短	DLL4(seq.1)	
DVD480	VEGF(seq.2)	N 末端	長	短	DLL4(seq.1)	94.1
DVD485	VEGF(seq.2)	C 末端	短	長	DLL4(seq.1)	96.5
DVD486	VEGF(seq.2)	N 末端	短	長	DLL4(seq.1)	95.5
DVD465	VEGF(seq.3)	C 末端	短	短	DLL4(seq.1)	80.6
DVD466	VEGF(seq.3)	N 末端	短	短	DLL4(seq.1)	91.5
DVD471	VEGF(seq.3)	C 末端	長	長	DLL4(seq.1)	78.8
DVD472	VEGF(seq.3)	N 末端	長	長	DLL4(seq.1)	85.4
DVD477	VEGF(seq.3)	C 末端	長	短	DLL4(seq.1)	79.2
DVD478	VEGF(seq.3)	N 末端	長	短	DLL4(seq.1)	91.0
DVD483	VEGF(seq.3)	C 末端	短	長	DLL4(seq.1)	76.9
DVD484	VEGF(seq.3)	N 末端	短	長	DLL4(seq.1)	90.1

D V D - I g は優れた S E C プロフィールを示し、殆どの D V D - I g は > 9 0 % モノマーを示した。この D V D - I g プロフィールは親抗体で観察されたプロフィールに類似している。

【 0 7 1 2 】

(S D S - P A G E)

抗体を還元及び非還元条件下でドデシル硫酸ナトリウム-ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (S D S - P A G E) により分析する。アダリムマブ (ロット A F P 0 4 C) を対照として使用する。還元条件の場合、サンプルを 1 0 0 m M D T T を含む 2 × トリスグリシン S D S - P A G E サンプルバッファー (I n v i t r o g e n , カタログ番号 L C 2 6 7 6 , ロット番号 1 3 2 3 2 0 8) と 1 : 1 で混合し、 6 0 ° C で 3 0 分間加熱する。非還元条件の場合には、サンプルをサンプルバッファーと 1 : 1 で混合し、 1 0 0 ° C で 5 分間加熱する。還元サンプル (1 0 m g / レーン) を 1 2 % プレキャストトリスグリシン

ゲル (Invitrogen、カタログ番号 EC6005box, ロット番号 6111021) に充填し、非還元サンプル (10mg/レーン) を 8%~16% プレキャストトリスグリシゲル (Invitrogen、カタログ番号 EC6045box, ロット番号 6111021) に充填する。SeeBlue Plus 2 (Invitrogen、カタログ番号 LC5925, ロット番号 1351542) を分子量マーカーとして使用する。ゲルを XCell SureLock ミニセルゲルボックス (Invitrogen、カタログ番号 EI0001) に流し、まずサンプルをゲル中に積み重ねるために 75 の電圧を印加した後、染料の先端がゲルの底部に達するまで 125 の定電圧を印加することによりタンパク質を分離する。使用したランニングバッファーは、10×トリスグリシン SDS バッファー (ABC, MPS-79-080106) から作成した 1×トリスグリシン SDS バッファーである。ゲルをコロイド状青色ステイン (Invitrogen、カタログ番号 46-7015, 46-7016) で一晩染色し、バックグラウンドが透明になるまでミリ Q 水を用いて脱染する。次いで、染色したゲルを Epson 発現スキャナー (モデル 1680, S/N DAXX003641) を用いてスキャンする。

10

【0713】

(沈降速度分析)

抗体を 3 つの標準 2 セクターのカーボンエボンセンターピースの各々のサンプルチャンバに充填する。これらのセンターピースは 1.2 cm の光路長を有し、サファイヤ窓をつけて構成する。参照バッファーに対して PBS を使用し、各チャンバは 140 μ L を含んでいる。すべてのサンプルを Beckman ProteomeLab XL-I 分析用超遠心機械 (シリアル番号 PL106C01) において 4 ホール (AN-60Ti) ローターを用いて同時に分析する。

20

【0714】

ラン条件をプログラムし、遠心コントロールを ProteomeLab (v5.6) を用いて実施する。サンプル及びローターを 1 時間熱的に平衡化した後、分析する (20.0 $\pm$ 0.1 $^{\circ}$ C)。適切なセル充填の確認を 3000 rpm で実施し、セル毎に 1 回スキャンを記録する。沈降速度条件は、

サンプルセル容量: 420 mL

参照セル容量: 420 mL

温度: 20 $^{\circ}$ C

30

ローター速度: 35,000 rpm

時間: 8:00 時間

UV 波長: 280 nm

ラジアルステップサイズ: 0.003 cm

データ収集: シグナル平均化なしに 1 ステップにつき 1 データポイント

全スキャン回数: 100

である。

【0715】

(完全抗体の LC-MS 分子量測定)

完全抗体の分子量を LC-MS により分析する。各抗体を水で約 1 mg/mL まで希釈する。脱塩するためにタンパク質マイクロトラップ (Michrom Bioresources, Inc., カタログ番号 004/25109/03) を備えた 1100 HPLC (Agilent) システムを使用し、サンプル (5 mg) を API Qstar pulsar i 質量分光計 (Applied Biosystems) に導入する。短い勾配を使用してサンプルを溶離させる。勾配は移動相 A (HPLC 水中 0.08% FA、0.02% TFA) 及び移動相 B (アセトニトリル中 0.08% FA 及び 0.02% TFA) を用いて 50 mL/分の流速で流す。質量分光計を 4.5 kV o.l.t.s プレー電圧及び 2000~3500 の質量電荷比のスキャン範囲で運転する。

40

【0716】

(抗体軽鎖及び重鎖の LC-MS 分子量測定)

50

抗体軽鎖（LC）、重鎖（HC）及び脱グリコシル化HCの分子量測定をLC-MSにより分析する。抗体を水で1mg/mLに希釈し、サンプルを10mM DTTの最終濃度で37℃で30分間でLC及びHCに還元する。抗体を脱グリコシル化するために、抗体（100mg）をPNGアゼF（2mL）、10% N-オクチルグルコシド（5mL）と100mLの全容量で37℃で一晩インキュベートする。脱グリコシル化後、サンプルを10mM DTTの最終濃度で37℃で30分間還元する。脱塩するためにC4カラム（Vydac, カタログ番号214TP5115, S/N 060206537204069）を備えたAgilent 1100 HPLCシステムを使用し、サンプル（5mg）をAPI Qstar pulsar i質量分光計（Applied Biosystems）に導入する。短い勾配を使用してサンプルを溶離させる。勾配は移動相A（HPLC水中0.08% FA及び0.02% TFA）及び移動相B（アセトニトリル中0.08% FA及び0.02% TFA）を用いて50mL/分の流速で流す。質量分光計を4.5kVोलtsスプレー電圧及び800～3500の質量電荷比のスキャン範囲で運転する。

【0717】

（ペプチドマッピング）

抗体を75mM 炭酸水素アンモニウム中6M 塩酸グアニジンの最終濃度で室温で15分間変性させる。変性したサンプルを10mM DTTの最終濃度で37℃で60分間還元した後、暗所37℃で50mM ヨード酢酸（IAA）を用いて30分間アルキル化する。アルキル化後、サンプルを10mM 炭酸水素アンモニウム（4L）に対して4℃で一晩透析する。透析したサンプルを10mM 炭酸水素アンモニウム（pH7.8）で1mg/mLに希釈し、抗体（100mg）をトリプシン（Promega, カタログ番号V5111）またはLys-C（Roche, カタログ番号11047825001）で1:20（w/w）トリプシン/Lys-C：抗体比で用いて37℃で4時間消化する。消化を1N HCl（1mL）でクエンチする。質量分光的検出を含むペプチドマッピングのために、消化物（40mL）をAgilent 1100 HPLCシステムでC18カラム（Vydac, カタログ番号218TP51, S/N NE960610.3.5）を用いる逆相高速液体クロマトグラフィー（RPHPLC）により分離する。ペプチド分離は移動相A（HPLCグレードの水中0.02% TFA及び0.08% FA）及び移動相B（アセトニトリル中0.02% TFA及び0.08% FA）を用い、50mL/分の流速で勾配的に実施する。API QSTAR Pulsar i質量分光計を4.5kVोलtsスプレー電圧及び800～2500の質量電荷比のスキャン範囲で陽イオンモードで運転する。

【0718】

（ジスルフィド結合マッピング）

抗体を変性させるために、抗体（100mL）を100mM 炭酸水素アンモニウム中8M グアニジンHCl（300mL）と混合する。7～8の範囲にあることを確かめるためにpHをチェックし、サンプルを6M グアニジンHClの最終濃度で室温で15分間変性させる。変性させたサンプルの一部（100mL）をミリQ水で600mLまで希釈して、1Mの最終グアニジン-HCl濃度とする。サンプル（220mg）をトリプシン（Promega, カタログ番号V5111, ロット番号22265901）またはLys-C（Roche, カタログ番号11047825001, ロット番号12808000）で1:50 トリプシンまたは1:50 Lys-C：抗体（w/w）比で用いて（4.4mgの酵素：220mgのサンプル）37℃で約16時間消化する。サンプルに追加（5mg）のトリプシンまたはLys-Cを添加し、消化を37℃で更に2時間実施する。各サンプルにTFA（1mL）を添加することにより消化を停止する。消化したサンプルをAgilent HPLCシステムでC18カラム（Vydac, カタログ番号218TP51 S/N NE020630-4-1A）を用いるRPHPLCにより分離する。分離は移動相A（HPLCグレードの水中0.02% TFA及び0.08% FA）及び移動相B（アセトニトリル中0.02% TFA及び0.08% FA）を5

0 mL/分の流速で用いて、ペプチドマッピングのために使用したのと同じ勾配を用いて実施する。HPLC運転条件はペプチドマッピングのために使用した条件と同一である。API QSTAR Pulsar i 質量分光計を4.5 kV o l t s スプレー電圧及び800～2500の質量電荷比のスキャン範囲で陽イオンモードで運転する。ジスルフィド結合をペプチドの実測MWをジスルフィド結合により結合したトリプシンまたはLys-Cペプチドの予測MWと照合させることにより帰属させる。

【0719】

(遊離スルフヒドリル測定)

抗体中の遊離システインを定量するために使用される方法は、特徴的な発色生成物5-チオ- (2-ニトロ安息香酸) (TNB) を生ずるエルマン試薬5, 5'-ジチオ-ビス (2-ニトロ安息香酸) (DTNB) とスルフヒドリル基 (SH) の反応に基づいている。この反応は以下の式で示される。



【0720】

TNB⁻の吸光度を412 nmでCary 50分光光度計を用いて測定する。吸光度曲線を遊離SH標準として2-メルカプトエタノール (b-ME) の希釈物を用いてプロットし、タンパク質中の遊離スルフヒドリル基の濃度をサンプルの412 nmでの吸光度から求める。

【0721】

b-ME標準ストックは、14.2 M b-MEを0.142 mMの最終濃度までHPLCグレードの水で連続希釈することにより調製する。各濃度につき3つの標準物を調製する。抗体をアミコンウルトラ10,000 MWCO遠心フィルター (Millipore, カタログ番号UFC801096, ロット番号L3KN5251) を用いて10 mg/mLに濃縮し、バッファーをアダリムマブのために使用した処方バッファー (5.5 mM リン酸第一ナトリウム, 8.69 mM リン酸水素二ナトリウム, 106.69 mM NaCl, 1.07 mM クエン酸ナトリウム, 6.45 mM クエン酸, 66.68 mM マンニトール (pH 5.2), 0.1% (w/v) トゥイーン) に交換する。サンプルを振とう機を用いて室温で20分間混合する。次いで、各サンプル及び標準に100 mM トリスバッファー (pH 8.1) (180 mL) を添加した後、10 mM リン酸バッファー (pH 8.1) 中2 mM DTNB (300 mL) を添加する。十分混合した後、サンプル及び標準の吸光度をCary 50分光光度計を用いて412 nmで測定する。遊離SHの量及びb-ME標準のOD_{412 nm}をプロットすることにより標準曲線を作成する。サンプルの遊離SH含量をブランクを差し引いた後この曲線に基づいて計算する。

【0722】

(弱カチオン交換クロマトグラフィー)

抗体を10 mM リン酸ナトリウム (pH 6.0) で1 mg/mLに希釈する。電荷不均一性をWCX-10 ProPac分析カラム (Dionex, カタログ番号054993, S/N 02722) を備えたShimadzu HPLCシステムを用いて分析する。サンプルを80% 移動相A (10 mM リン酸ナトリウム, pH 6.0) 及び20% 移動相B (10 mM リン酸ナトリウム, 500 mM NaCl, pH 6.0) でカラムに充填し、1.0 mL/分の流速で溶離させる。

【0723】

(オリゴ糖プロファイリング)

抗体をPNGアゼF処理した後放出されたオリゴ糖を2-アミノベンズアミド (2-AB) 標識試薬を用いて誘導体化する。蛍光標識したオリゴ糖を順相高速液体クロマトグラフィー (NPHPLC) により分離し、各種形態のオリゴ糖を公知標準との保持時間比較に基づいて特徴づける。

【0724】

抗体をまずPNGアゼFで消化して、重鎖のFc部分からN連結オリゴ糖を切断する

。抗体（200 mg）をPNGアーゼF（2 mL）及び10% N-オクチルグルコシド（3 mL）と一緒に500 mL容量のエッペンドルフチューブに入れる。リン酸緩衝食塩液を添加して60 mLの最終容量とする。サンプルを700 rpmに設定したエッペンドルフサーモミキサーにおいて37℃で一晩インキュベートする。対照として、アドリムマブ（ロットAFPO4C）もPNGaアーゼFで消化する。

【0725】

PNGアーゼF処理後、サンプルを750 rpmに設定したエッペンドルフサーモミキサーにおいて95℃で5分間インキュベートしてタンパク質を沈殿させた後、サンプルをエッペンドルフ遠心機に10,000 rpmで2分間置いて、沈殿したタンパク質を遠心沈殿させる。オリゴ糖を含む上清を500 mL容量のエッペンドルフチューブに移し、スピードバックにおいて65℃で乾燥させる。

10

【0726】

オリゴ糖をProzymeから購入した2AB標識キット（カタログ番号GKK-404, ロット番号132026）を用いて2ABで標識する。標識試薬は製造業者の使用説明書に従って調製する。（キット中に備えられている）DMSOバイアルに酢酸（150 mL, キット中に備えられている）を添加し、溶液に数回上下にピペット操作を加えることにより混合する。酢酸/DMSO混合物（100 mL）を2-AB染料のバイアルに移し（使用直前に）、染料が十分に溶解するまで混合する。次いで、染料溶液を還元剤のバイアル（キット中に備えられている）に添加し、十分に混合する（標識試薬）。標識試薬（5 mL）を各乾燥したオリゴ糖サンプルバイアルに添加し、十分混合する。反応バイアルを65℃及び700～800 rpmに設定したエッペンドルフサーモミキサーに2時間の反応の間置く。

20

【0727】

標識反応後、過剰の蛍光染料をProzyme製GlycoClean Sカートリッジ（カタログ番号GKI-4726）を用いて除去する。サンプルを添加する前に、カートリッジをミリQ水（1 mL）で洗浄し、次いで30% 酢酸溶液（1 mL）で5回洗浄する。サンプルを添加する直前に、カートリッジにアセトニトリル（Burdick and Jackson, カタログ番号AH015-4）（1 mL）を添加する。

【0728】

すべてのアセトニトリルがカートリッジを通過した後、サンプルを洗浄したての皿の中央に置き、皿上に10分間吸着させる。皿をアセトニトリル（1 mL）で洗浄した後、96% アセトニトリル（1 mL）で5回洗浄する。カートリッジを1.5 mL容量のエッペンドルフチューブに入れ、2-AB標識したオリゴ糖をミリQ水（1回洗浄あたり400 mL）で3回洗浄する。

30

【0729】

オリゴ糖をShimadzu HPLCシステムに接続したGlycosep NHPLC（カタログ番号GKI-4728）カラムを用いて分離する。Shimadzu HPLCシステムはシステムコントローラー、脱ガス器、バイナリポンプ、サンプル冷却器を有するオートサンプラー及び蛍光検出器から構成されている。

【0730】

40

（高温での安定性）

抗体のバッファーは5.57 mM リン酸第一ナトリウム、8.69 mM リン酸水素二ナトリウム、106.69 mM NaCl、1.07 mM クエン酸ナトリウム、6.45 mM クエン酸、66.68 mM マンニトール、0.1% (w/v) トゥイーン（pH 5.2）；または10 mM ヒスチジン、10 mM メチオニン、4% マンニトール（pH 5.9）であり、Amicon超遠心フィルターを用いる。抗体の最終濃度を適当なバッファーを用いて2 mg/mLに調節する。次いで、抗体溶液を濾過殺菌し、0.25 mLのアリコート滅菌条件下で調製する。アリコートを-80℃、5℃、25℃または40℃で1、2または3週間放置する。インキュベーション期間後、サンプルをサイズ排除クロマトグラフィー及びSDS-PAGEにより分析する。

50

【0731】

サンプルの安定性を還元及び非還元条件下でSDS-PAGEにより分析する。使用した手順は本明細書中に記載されているのと同じである。ゲルをコロイド状青色ステイン（Invitrogen, カタログ番号46-7015, 46-7016）で一晩染色し、バックグラウンドが透明になるまでミリQ水を用いて脱染する。次いで、染色したゲルをEpson発現スキャナー（モデル1680, S/N DAXX003641）を用いてスキャンする。より高い感度を得るために、同一ゲルを銀染色キット（Owl Scientific）を用いて染色し、製造業者が勧める手順を使用する。

【0732】

実施例1. 2. 2. 3. C：単独または化学療法と組み合わせたヒト化モノクローナル抗体のヒト癌異種移植片増殖に対する有効性 10

ヒト癌細胞をインビトロで組織培養フラスコにおいて99% 生存度、85% コンフルエンスまで増殖させる。19~25gのSCID雌または雄マウス（Charles Rivers Labs）の耳にタグを付け、毛を剃る。次いで、実験0日目に、マウスの右脇腹に 2×10^6 個のヒト腫瘍細胞（1:1マトリゲル）（0.2ml）を皮下接種する。マウスを約150~200mm³の平均腫瘍容積でマウスの別のケージにサイズ整合させたら、ビヒクル（PBS）、ヒト化抗体及び／または化学療法の投与（IP, Q3D/週）を開始する。接種後10日目から始めて週2回腫瘍を1対のカリバスにより測定し、腫瘍容積を式 $V = L \times W^2 / 2$ （V：容積（mm³）、L：長さ（mm）、W：幅（mm））に従って計算する。単独または化学療法と組み合わせたmAbで処置した動物では、ビヒクルまたはイソタイプ対照mAbのみを与えられた動物における腫瘍に比して腫瘍容積の減少が見られる。 20

【0733】

実施例1. 4：DVD-Igの作成

2つの抗原に結合し得るDVD-Ig分子を、1つがヒト抗原Aに対する親モノクローナル抗体及び他がヒト抗原Bに対する親モノクローナル抗体である本明細書中に記載されている2つの親モノクローナル抗体を用いて構築する。

【0734】

実施例1. 4. 1：2つのリンカー長さを有するDVD-Igの作成

ADCC/CDCエフェクター機能を排除するために234及び235に変異を有する μ L Fcを含む定常領域を使用する。2つは短リンカー、2つは長リンカーを有し、各々が2つの異なるドメイン配向： $V_A - V_B - C$ 及び $V_B - V_A - C$ （表50を参照されたい）にある4つの異なる抗A/B DVD-Ig構築物を作成する。ヒトC1/CkまたはCH1ドメインのN末端配列から誘導されるリンカー配列は以下の通りである： 30

DVDBA構築物の場合：

軽鎖（抗Aが λ を有するならば）：短リンカー：QPKAAP；長リンカー：QPKAAPSVTLFPP

軽鎖（抗Aが κ を有するならば）：短リンカー：TVAAP；長リンカー：TVAAPSVFI FPP

重鎖（ $\gamma 1$ ）：短リンカー：ASTKGP；長リンカー：ASTKGPSVFPLAP。 40

【0735】

DVDBA構築物の場合：

軽鎖（抗Bが λ を有するならば）：短リンカー：QPKAAP；長リンカー：QPKAAPSVTLFPP

軽鎖（抗Bが κ を有するならば）：短リンカー：TVAAP；長リンカー：TVAAPSVFI FPP

重鎖（ $\gamma 1$ ）：短リンカー：ASTKGP；長リンカー：ASTKGPSVFPLAP。

【0736】

重鎖及び軽鎖構築物をpBOS発現ベクターにサブクローニングし、COS細胞において発現させた後、プロテインAクロマトグラフィーにより精製する。精製した材料をSD 50

S-PAGE及びSEC分析にかける。

【0737】

表50は、各抗A/B DVD-Igタンパク質を発現させるために使用した重鎖及び軽鎖構築物を示す。

【0738】

【表52】

表50：抗A/B DVD-Ig構築物

DVD-Ig タンパク質	重鎖構築物	軽鎖構築物
DADABSL	DVDABHC-SL	DVDABLC-SL
DADABLL	DVDABHC-LL	DVDABLC-LL
DADBASL	DVDBAHC-SL	DVDBALC-SL
DADBALL	DVDBAHC-LL	DVDBALC-LL

10

【0739】

実施例1.4.2：DVDABSL及びDVDABLLに対するDNA構築物の分子クローニング

重鎖構築物DVDABHC-LL及びDVDABHC-SLを作成するために、A抗体のVHドメインを特定プライマー（3'プライマーはそれぞれSL/LL構築物に対して短/長リンカー配列を含む）を用いてPCR増幅し、B抗体のVHドメインを特定プライマー（5'プライマーはそれぞれSL/LL構築物に対して短/長リンカー配列を含む）を用いて増幅する。両PCR反応を標準のPCR技術及び手順に従って実施する。2つのPCR産物をゲル精製し、その後の重複PCR反応のための重複鋳型として一緒に使用する。重複PCR産物を標準の相同組換えアプローチを用いることによりSrf I及びSal I二重消化したpBOS-hCyl, z non-a哺乳動物発現ベクター（Abbot）にサブクローニングした。

20

【0740】

軽鎖構築物DVDABLC-LL及びDVDABLC-SLを作成するために、A抗体のVLドメインを特定プライマー（3'プライマーはそれぞれSL/LL構築物に対して短/長リンカー配列を含む）を用いてPCR増幅し、B抗体のVLドメインを特定プライマー（5'プライマーそれぞれSL/LL構築物短/長リンカー配列を含む）を用いて増幅する。両PCR反応を標準のPCR技術及び手順に従って実施する。2つのPCR産物をゲル精製し、その後の標準のPCR条件を用いる重複PCR反応のための重複鋳型として一緒に使用する。重複PCR産物を標準の相同組換えアプローチを用いることによりSrf I及びNot I二重消化したpBOS-hCk哺乳動物発現ベクター（Abbot）にサブクローニングした。下記するように、DVDBASL及びDVDBALLを作成するために同様のアプローチを使用した。

30

【0741】

実施例1.4.3：DNA構築物のDVDBASL及びDVDBALLに対する分子クローニング

重鎖構築物DVDBAHC-LL及びDVDBAHC-SLを作成するために、抗体BのVHドメインを特定プライマー（3'プライマーはそれぞれSL/LL構築物に対して短/長リンカー配列を含む）を用いてPCR増幅し、抗体AのVHドメインを特定プライマー（5'プライマーはそれぞれSL/LL構築物に対して短/長リンカー配列を含む）を用いて増幅する。両PCR反応を標準のPCR技術及び手順に従って実施する。2つのPCR産物をゲル精製し、標準のPCR条件を用いるその後の重複PCR反応のための重複鋳型として一緒に使用する。重複PCR産物を標準の相同組み換えアプローチを用いてSrf I及びSal I二重消化したpBOS-hCyl, z non-a哺乳動物

40

50

発現ベクター (A b b o t t) にサブクロニングする。

【0742】

軽鎖構築物 D V D B A L C - L L 及び D V D B A L C - S L を作成するために、抗体 B の V L ドメインを特定プライマー (3' プライマーはそれぞれ S L / L L 構築物に対して短/長リンカー配列を含む) を用いて P C R 増幅し、抗体 A の V L ドメインは特定プライマー (5' プライマーはそれぞれ S L / L L 構築物に対して短/長リンカー配列を含む) を用いて増幅する。両 P C R 反応を標準の P C R 技術及び手順に従って実施する。2つの P C R 産物をゲル精製し、標準の P C R 条件を用いるその後の重複 P C R 反応のための重複鋳型として一緒に使用する。重複 P C R 産物を標準の相同組み換えアプローチを用いて S r f I 及び N o t I 二重消化した p B O S - h C k 哺乳動物発現ベクター (A b b o t t) にサブクロニングする。

10

【0743】

実施例 1. 4. 4 : 追加の D V D - I g の構築及び発現

実施例 1. 4. 4. 1 : D V D - I g ベクター構築物の作成

D V D - I g に取り込むための特定抗原またはそのエピトープを認識する特定抗体に対する親抗体アミノ酸配列は、上記したようにハイブリドーマを作成することにより得ることができ、または公知の抗体タンパク質または核酸を配列決定することにより得ることができる。加えて、公知の配列は文献から得ることができる。配列は、細胞で発現させるために標準の D N A 合成または増幅テクノロジーを用い、所望の抗体断片を標準の組換え D N A テクノロジーを用いて発現ベクターに組み立てることにより核酸を合成するために使用され得る。

20

【0744】

例えば、核酸コドンを実アミノ酸配列から決定し、オリゴヌクレオチド D N A を米国ワシントン州ボセルに所在の B l u e H e r o n B i o t e c h n o l o g y , I n c . (www. b l u e h e r o n b i o . c o m) により合成した。オリゴヌクレオチドを 300 ~ 2,000 塩基対の二本鎖 D N A 断片に組立て、プラスミドベクターにクロニングし、配列を確認した。クローン化断片を酵素プロセスを用いて組立てて完全遺伝子を得、発現ベクターにサブクロニングした (7, 306, 914, 7, 297, 541, 7, 279, 159, 7, 150, 969, 20080115243, 20080102475, 20080081379, 20080075690, 20080063780, 20080050506, 20080038777, 20080022422, 20070289033, 20070287170, 20070254338, 20070243194, 20070225227, 20070207171, 20070150976, 20070135620, 20070128190, 20070104722, 20070092484, 20070037196, 20070028321, 20060172404, 20060162026, 20060153791, 20030215458, 20030157643 を参照されたい)。

30

【0745】

親抗体及び D V D - I g クローニングのために 1 群の p H y b E ベクター (米国特許出願 N o . 61 / 021, 282) を使用した。p J P 183 ; p H y b E - h C g l , z , n o n - a V 2 から誘導した V 1 を野生型定常領域を有する抗体及び D V D 重鎖をクロニングするために使用した。p J P 191 ; p H y b E - h C k V 2 から誘導した V 2 を κ 定常領域を有する抗体及び D V D 軽鎖をクロニングするために使用した。p J P 192 ; p H y b E - h C l V 2 から誘導した V 3 を λ 定常領域を有する抗体及び D V D 軽鎖をクロニングするために使用した。 λ シグナルペプチド及び κ 定常領域を有する構築した V 4 を λ - κ ハイブリッド V ドメインを有する D V D 軽鎖をクロニングするために使用した。 κ シグナルペプチド及び λ 定常領域を有する構築した V 5 は κ - λ ハイブリッド V ドメインを有する D V D 軽鎖をクロニングするために使用した。p J P 183 ; p H y b E - h C g l , z , n o n - a V 2 から誘導した V 7 を (234, 235 A A) ミュータント定常領域を有する抗体及び D V D 重鎖をクロニングするために使

40

50

用した。

【 0 7 4 6 】

表 5 1 を参照すると、多数のベクターが親抗体及び D V D - I g V H 及び V L 鎖のクローニングにおいて使用された。

【 0 7 4 7 】

【表 5 3 】

表 5 1 : 親抗体及び D V D - I g をクローン化するために使用されるベクター

ID	重鎖ベクター	軽鎖ベクター
AB001	V1	V2
AB002	V1	V2
AB003	V1	V2
AB004	V1	V2
AB005	V1	V2
AB006	V1	V2
AB007	V1	V3
AB008	V1	V2
AB009	V1	V2
AB010	V1	V3
AB011	V1	V2
AB012	V1	V2

10

20

ID	重鎖ベクター	軽鎖ベクター
AB013	V1	V2
AB014	V1	V2
AB015	V1	V2
AB016	V1	V2
AB033	V1	V2
AB034	V1	V2
AB035	V1	V2
AB039	V1	V2
AB047	V1	V2
AB062	V1	V2
AB063	V1	V2
AB067	V7	V3
AB069	V1	V2
AB070	V1	V2
AB071	V7	V2
AB072	V1	V2
AB073	V1	V3
AB074	V1	V2
AB075	V1	V3
AB077	V1	V2
AB079	V1	V2
AB080	V1	V2
DVD001	V1	V2
DVD002	V1	V2
DVD003	V1	V2
DVD004	V1	V2
DVD005	V1	V5
DVD006	V1	V4
DVD007	V1	V2
DVD008	V1	V2
DVD009	V1	V2
DVD010	V1	V2
DVD011	V1	V2
DVD012	V1	V2
DVD013	V1	V2
DVD014	V1	V2
DVD015	V1	V2
DVD016	V1	V2
DVD017	V1	V2
DVD018	V1	V2
DVD019	V1	V5
DVD020	V1	V4
DVD021	V1	V2
DVD022	V1	V2
DVD023	V1	V2
DVD024	V1	V2
DVD025	V1	V2

10

20

30

40

ID	重鎖ベクター	軽鎖ベクター
DVD026	V1	V2
DVD027	V1	V2
DVD028	V1	V2
DVD029	V1	V5
DVD030	V1	V4
DVD031	V1	V2
DVD032	V1	V2
DVD033	V1	V2
DVD034	V1	V2
DVD035	V1	V2
DVD036	V1	V2
DVD037	V1	V2
DVD038	V1	V2
DVD039	V1	V2
DVD040	V1	V2
DVD041	V1	V5
DVD042	V1	V4
DVD043	V1	V2
DVD044	V1	V2
DVD045	V1	V2
DVD046	V1	V2
DVD047	V1	V2
DVD048	V1	V2
DVD049	V1	V2
DVD050	V1	V2
DVD073	V1	V2
DVD074	V1	V2
DVD075	V1	V2
DVD076	V1	V2
DVD077	V1	V2
DVD078	V1	V2
DVD079	V1	V2
DVD080	V1	V2
DVD081	V1	V2
DVD082	V1	V2
DVD083	V1	V2
DVD084	V1	V2
DVD085	V1	V2
DVD086	V1	V2
DVD087	V1	V2
DVD088	V1	V2
DVD089	V1	V2
DVD090	V1	V2
DVD091	V1	V2
DVD092	V1	V2
DVD093	V1	V2
DVD094	V1	V2

10

20

30

40

ID	重鎖ベクター	軽鎖ベクター
DVD107	V1	V2
DVD108	V1	V2
DVD131	V1	V2
DVD132	V1	V2
DVD135	V1	V2
DVD136	V1	V2
DVD137	V1	V2
DVD138	V1	V2
DVD139	V1	V2
DVD140	V1	V2
DVD141	V1	V2
DVD142	V1	V2
DVD143	V1	V2
DVD144	V1	V2
DVD257	V1	V2
DVD258	V1	V2
DVD259	V1	V2
DVD260	V1	V2
DVD299	V1	V2
DVD300	V1	V2
DVD301	V1	V2
DVD302	V1	V2
DVD303	V1	V2
DVD304	V1	V2
DVD305	V1	V2
DVD306	V1	V2
DVD307	V1	V2
DVD308	V1	V2
DVD309	V1	V2
DVD310	V1	V2
DVD385	V1	V2
DVD386	V1	V2
DVD387	V7	V2
DVD388	V1	V2
DVD389	V1	V2
DVD390	V1	V2
DVD391	V7	V2
DVD392	V1	V2
DVD393	V1	V2
DVD394	V1	V2
DVD395	V1	V2
DVD396	V1	V2
DVD397	V1	V2
DVD398	V1	V2
DVD399	V1	V2
DVD400	V1	V2
DVD401	V1	V2

10

20

30

40

ID	重鎖ベクター	軽鎖ベクター
DVD402	V1	V2
DVD403	V1	V2
DVD404	V1	V2
DVD405	V1	V2
DVD406	V1	V2
DVD407	V1	V2
DVD408	V1	V2
DVD409	V1	V4
DVD410	V1	V5
DVD411	V1	V4
DVD412	V1	V5
DVD413	V1	V4
DVD414	V7	V5
DVD415	V1	V4
DVD416	V1	V5
DVD417	V1	V4
DVD418	V7	V5
DVD419	V1	V4
DVD420	V1	V5
DVD421	V1	V4
DVD422	V1	V5
DVD423	V1	V4
DVD424	V1	V5
DVD441	V1	V2
DVD442	V1	V2
DVD443	V1	V2
DVD444	V1	V2
DVD445	V1	V2
DVD446	V1	V2
DVD447	V1	V2
DVD448	V1	V2
DVD449	V1	V2
DVD450	V1	V2
DVD451	V7	V2
DVD452	V7	V2
DVD453	V1	V2
DVD454	V1	V2
DVD455	V1	V2
DVD456	V1	V2
DVD457	V7	V2
DVD458	V7	V2
DVD459	V1	V2
DVD460	V1	V2
DVD461	V1	V2
DVD462	V1	V2
DVD463	V1	V2
DVD464	V1	V2

10

20

30

40

ID	重鎖ベクター	軽鎖ベクター
DVD465	V1	V2
DVD466	V1	V2
DVD467	V1	V2
DVD468	V1	V2
DVD469	V1	V2
DVD470	V1	V2
DVD471	V7	V2
DVD472	V1	V2
DVD473	V1	V2
DVD474	V1	V2
DVD475	V1	V2
DVD476	V1	V2
DVD477	V7	V2
DVD478	V1	V2
DVD479	V1	V2
DVD480	V1	V2
DVD481	V1	V2
DVD482	V1	V2
DVD483	V1	V2
DVD484	V1	V2
DVD485	V1	V2
DVD486	V1	V2
DVD487	V1	V2
DVD488	V1	V2
DVD489	V7	V2
DVD490	V1	V2
DVD491	V1	V2
DVD492	V1	V2
DVD493	V1	V2
DVD494	V1	V2
DVD495	V1	V2
DVD496	V1	V2
DVD497	V1	V2
DVD498	V1	V2
DVD499	V1	V2
DVD500	V1	V2
DVD501	V1	V2
DVD502	V1	V2
DVD503	V1	V2
DVD504	V1	V2
DVD505	V1	V2
DVD506	V1	V2
DVD507	V7	V2
DVD508	V1	V2
DVD509	V1	V2
DVD510	V1	V2
DVD511	V1	V4

10

20

30

40

ID	重鎖ベクター	軽鎖ベクター
DVD512	V7	V5
DVD513	V1	V4
DVD514	V1	V5
DVD515	V1	V4
DVD516	V1	V5
DVD517	V1	V4
DVD518	V1	V5
DVD519	V1	V4
DVD520	V1	V5
DVD521	V7	V4
DVD522	V7	V5
DVD523	V1	V4
DVD524	V1	V5
DVD525	V1	V4
DVD526	V1	V5
DVD527	V1	V4
DVD528	V1	V5
DVD529	V1	V4
DVD530	V7	V5
DVD531	V1	V4
DVD532	V1	V5
DVD533	V7	V4
DVD534	V7	V5
DVD535	V1	V2
DVD536	V1	V2
DVD537	V1	V2
DVD538	V1	V2
DVD539	V1	V2
DVD540	V1	V2
DVD541	V1	V2
DVD542	V1	V2
DVD543	V1	V2
DVD544	V1	V2
DVD545	V1	V2
DVD546	V1	V2
DVD547	V1	V2
DVD548	V1	V2
DVD549	V1	V2
DVD550	V1	V2
DVD551	V1	V2
DVD552	V1	V2
DVD553	V1	V2
DVD554	V1	V2
DVD555	V1	V2
DVD556	V1	V2
DVD557	V1	V2
DVD558	V1	V2

10

20

30

40

ID	重鎖ベクター	軽鎖ベクター
DVD559	V1	V2
DVD560	V1	V2
DVD561	V1	V2
DVD562	V1	V2
DVD563	V1	V2
DVD564	V1	V2
DVD565	V1	V2
DVD566	V1	V2
DVD567	V1	V2
DVD568	V1	V2
DVD569	V1	V2
DVD570	V1	V2
DVD571	V1	V2
DVD572	V1	V2
DVD573	V1	V2
DVD574	V1	V2
DVD575	V1	V2
DVD576	V1	V2
DVD577	V1	V2
DVD578	V1	V2
DVD579	V1	V2
DVD580	V1	V2
DVD581	V1	V2
DVD582	V1	V2
DVD583	V1	V2
DVD584	V1	V2
DVD585	V1	V2
DVD586	V1	V2
DVD587	V1	V2
DVD588	V1	V2
DVD589	V1	V2
DVD590	V1	V2
DVD591	V1	V2
DVD592	V1	V2
DVD593	V1	V2
DVD594	V1	V2
DVD595	V1	V2
DVD596	V1	V2
DVD597	V1	V2
DVD598	V1	V2
DVD599	V1	V2
DVD600	V1	V2
DVD601	V1	V2
DVD602	V1	V2
DVD603	V1	V4
DVD604	V1	V5
DVD605	V1	V4

10

20

30

40

ID	重鎖ベクター	軽鎖ベクター
DVD606	V1	V5
DVD607	V1	V4
DVD608	V1	V5
DVD609	V1	V4
DVD610	V1	V5
DVD611	V1	V2
DVD612	V1	V2
DVD613	V1	V2
DVD614	V1	V2
DVD615	V1	V2
DVD616	V1	V2
DVD625	V1	V2
DVD626	V1	V2
DVD627	V1	V2
DVD628	V1	V2
DVD629	V1	V2
DVD630	V1	V2
DVD631	V1	V2
DVD632	V1	V2
DVD641	V1	V2
DVD642	V1	V2
DVD643	V1	V2
DVD644	V1	V2
DVD645	V1	V2
DVD646	V1	V2
DVD647	V1	V2
DVD648	V1	V2
DVD649	V1	V2
DVD650	V1	V2
DVD651	V1	V2
DVD652	V1	V2
DVD653	V1	V2
DVD654	V1	V2
DVD655	V1	V2
DVD656	V1	V2
DVD657	V1	V2
DVD658	V1	V2
DVD659	V1	V2
DVD660	V1	V2
DVD661	V1	V2
DVD662	V1	V2
DVD663	V1	V2
DVD664	V1	V2
DVD665	V1	V2
DVD666	V1	V2
DVD667	V1	V2
DVD668	V1	V2

10

20

30

40

ID	重鎖ベクター	軽鎖ベクター
DVD669	V1	V2
DVD670	V1	V2
DVD671	V1	V2
DVD672	V1	V2
DVD673	V1	V2
DVD674	V1	V2
DVD675	V1	V2
DVD676	V1	V2
DVD677	V1	V2
DVD678	V1	V2
DVD679	V1	V2
DVD680	V1	V2
DVD681	V1	V2
DVD682	V1	V2
DVD683	V1	V2
DVD684	V1	V2
DVD685	V1	V2
DVD686	V1	V2
DVD687	V1	V2
DVD688	V1	V2
DVD689	V1	V2
DVD690	V1	V2
DVD691	V1	V2
DVD692	V1	V2
DVD693	V1	V2
DVD694	V1	V2
DVD709	V1	V2
DVD710	V1	V2
DVD711	V1	V2
DVD712	V1	V2

10

20

30

【0748】

実施例 1. 4. 4. 2 : 293 細胞におけるトランスフェクション及び発現

DVD-Ig のタンパク質を産生するために DVD-Ig ベクター構築物を 293 細胞にトランスフェクトする。使用する 293 一過性トランスフェクション手順は Durocher ら (2002) Nucleic Acids Res., 30 (2) : E9 及び P
ham ら (2005) Biotech. Bioengineering, 90 (3) : 3
32-44 で公開されている方法の修飾である。トランスフェクションで使用した試薬は、

40

・ 130 rpm、37℃及び 5% CO₂ に設定した加湿したインキュベーターにおいて
使い捨て三角フラスコ中で培養した HEK 293-6E 細胞 (EBNA1 を安定的に発
現するヒト胚腎臓細胞株; National Research Council Canada から入手) ;

・ 培養培地 : FreeStyle 293 発現培地 (Invitrogen 12338-018) + 25 µg/mL ゲネティシン (G418) (Invitrogen 10131-027) 及び 0.1% プルーロニック F-68 (Invitrogen 24040-032) ;

・ トランスフェクション培地 : FreeStyle 293 発現培地 + 10 mM HEPES (Invitrogen 15630-080) ;

・ ポリエチレンイミン (PEI) ストック : 直線 25 kDa PEI (Polysciences 50

nces) で調製し、 -15°C 未満で保存した 1 mg/mL の滅菌ストック溶液 ($\text{pH } 7.0$) ;

・トリプトン供給培地: Free Style 293 発現培地中トリプトン N1 (Organotechnie, 19554) の $5\% \text{ w/v}$ 滅菌ストック ;
を含んでいた。

【0749】

トランスフェクションのための細胞作成: トランスフェクションの約2～4時間前に、HEK 293-6E細胞を遠心により収集し、約100万個の生菌/mLの細胞密度で培養培地中に再懸濁する。トランスフェクション毎に、40 mLの細胞懸濁液を使い捨て250 mL容量の三角フラスコに移し、2～4時間インキュベートする。

10

【0750】

トランスフェクション: トランスフェクション培地及びPEIストックを予め室温 (RT) まで加温する。トランスフェクション毎に、プラスミドDNA ($25\text{ }\mu\text{g}$) 及びポリエチレンイミン (PEI) ($50\text{ }\mu\text{g}$) をトランスフェクション培地 (5 mL) 中で合わせ、室温で15～20分間インキュベートして、DNA: PEI複合体を形成する。BR3-Ig トランスフェクションのために、1回のトランスフェクションにつき $25\text{ }\mu\text{g}$ のBR3-Igプラスミドを使用する。各5 mLのDNA: PEI複合体混合物を予め調製した培養物 (40 mL) に添加し、 130 rpm 、 37°C 及び $5\% \text{ CO}_2$ に設定した加湿したインキュベーターに戻す。20～28時間後、トリプトン供給培地 (5 mL) を各トランスフェクションに添加し、培養を6日間続ける。

20

【0751】

表52は、293細胞における親抗体またはDVD-Ig構築物の収率データ (mg/L で表示) を含む。

【0752】

【表54】

表52: 293細胞における親抗体及びDVD-Ig構築物の一過性発現 (収率)

親抗体 または DVD-Ig ID	N末端 可変 ドメイン (VD)	C末端 可変 ドメイン (VD)	発現収率 (mg/L)
AB006	CD-19		9.4
AB001	CD-20		90.2
DVD001	CD-20	CD-19	5.8
DVD002	CD-19	CD-20	2.4
AB001	CD-20		90.2
AB002	CD-3		67.2
DVD003	CD-20	CD-3	4.2
DVD004	CD-3	CD-20	7.4

30

親抗体 または DVD-Ig ID	N末端 可変 ドメイン (VD)	C末端 可変 ドメイン (VD)	発現収率 (mg/L)
AB007	CD-80		9.6
AB001	CD-20		90.2
DVD005	CD-20	CD-80	35.4
DVD006	CD-80	CD-20	43.4
AB008	CD-22		50
AB001	CD-20		90.2
DVD007	CD-20	CD-22	0.8
DVD008	CD-22	CD-20	0.22
AB009	CD-40		36.6
AB001	CD-20		90.2
DVD009	CD-20	CD-40	2.6
DVD010	CD-40	CD-20	8
AB002	CD-3		67.2
AB004	HER-2		108.2
DVD011	CD-3	HER-2	30.6
DVD012	HER-2	CD-3	74
AB002	CD-3		67.2
AB006	CD-19		9.4
DVD013	CD-3	CD-19	12.4
DVD014	CD-19	CD-3	7.2
AB033	EGFR		44.4
AB004	HER-2		108.2
DVD015	EGFR	HER-2	42.2
DVD016	HER-2	EGFR	17
AB002	CD-3		67.2
AB033	EGFR		44.4
DVD017	EGFR	CD-3	9.6
DVD018	CD-3	EGFR	4
AB033	EGFR		44.4
AB011	IGF1R		28.5
DVD021	EGFR	IGF1R	10.4
DVD022	IGF1R	EGFR	17.8
AB005	RON		67.4
AB033	EGFR		44.4
DVD024	RON	EGFR	19.2
DVD023	EGFR	RON	17.8
AB033	EGFR		44.4
AB012	HGF		22.8
DVD025	EGFR	HGF	5.8
DVD026	HGF	EGFR	2.2
AB004	HER-2		108.2
AB010	IGF1,2		38.6
DVD029	HER-2	IGF1,2	74.4
DVD030	IGF1,2	HER-2	26.8
AB004	HER-2		108.2
AB011	IGF1R		28.5
DVD031	HER-2	IGF1R	95

10

20

30

40

親抗体 または DVD-Ig ID	N末端 可変 ドメイン (VD)	C末端 可変 ドメイン (VD)	発現収率 (mg/L)
DVD032	IGF1R	HER-2	41.4
AB005	RON		67.4
AB012	HGF		22.8
DVD033	RON	HGF	29.4
DVD034	HGF	RON	7.8
AB014	VEGF		52.4
AB033	EGFR		44.4
DVD035	VEGF	EGFR	6.4
DVD036	EGFR	VEGF	5.4
AB014	VEGF		52.4
AB004	HER-2		108.2
DVD037	VEGF	HER-2	43.4
DVD038	HER-2	VEGF	41.2
AB001	CD-20		57
AB014	VEGF		52.4
DVD039	VEGF	CD-20	0.22
DVD040	CD-20	VEGF	0.48
AB014	VEGF		52.4
AB010	IGF1,2		38.6
DVD041	VEGF	IGF1,2	39.4
DVD042	IGF1,2	VEGF	8.8
AB015	DLL-4		57.6
AB014	VEGF		52.4
DVD044	DLL4	VEGF	5.4
DVD043	VEGF	DLL4	17.4
AB014	VEGF		52.4
AB012	HGF		22.8
DVD045	VEGF	HGF	4
DVD046	HGF	VEGF	1.4
AB005	RON		67.4
AB014	VEGF		52.4
DVD048	RON	VEGF	14
DVD047	VEGF	RON	18
AB014	VEGF		52.4
AB016	NRP1		114.6
DVD049	VEGF	NRP1	13
DVD050	NRP1	VEGF	27.2
AB015	DLL-4		57.6
AB047	PlGF		23.6
DVD257	DLL4	PlGF	31.2
DVD258	PlGF	DLL4	21
AB014	VEGF		52.4
AB047	PlGF		23.6
DVD259	VEGF	PlGF	2.2
DVD260	PlGF	VEGF	7.8
AB062	ErbB3		24.6
AB033	EGFR		44.4

10

20

30

40

親抗体 または DVD-Ig ID	N末端 可変 ドメイン (VD)	C末端 可変 ドメイン (VD)	発現収率 (mg/L)
DVD299	ErbB3	EGFR	4.2
DVD300	EGFR	ErbB3	1.6
AB063	ErbB3		37.8
AB033	EGFR		44.4
DVD305	ErbB3	EGFR	5.6
DVD306	EGFR	ErbB3	11.2

10

すべてのDVDが293細胞においてうまく発現した。DVDはプロテインAカラムを用いて容易に精製することができた。多くの場合、 $> 5 \text{ mg/L}$ の精製DVD-Igが293細胞の上清から容易に得ることができた。

【0753】

【表 5 5】

表 5 3 : 293細胞における VEGF/DLL4 DVD-I g 構築物の一過性発現 (収率)

DVD ID	配列 ID	位置	HC リンカー	LC リンカー	他の DVD ドメイン	発現収率 (mg/L)
DVD043	VEGF (seq. 1)	N 末端	短	短	DLL4 (seq. 1)	17.4
DVD044	VEGF (seq. 1)	C 末端	短	短	DLL4 (seq. 1)	5.4
DVD469	VEGF (seq. 1)	C 末端	長	長	DLL4 (seq. 1)	1.6
DVD470	VEGF (seq. 1)	N 末端	長	長	DLL4 (seq. 1)	9.2
DVD475	VEGF (seq. 1)	C 末端	長	短	DLL4 (seq. 1)	6.2
DVD476	VEGF (seq. 1)	N 末端	長	短	DLL4 (seq. 1)	18.2
DVD481	VEGF (seq. 1)	C 末端	短	長	DLL4 (seq. 1)	0.9
DVD482	VEGF (seq. 1)	N 末端	短	長	DLL4 (seq. 1)	16.8
DVD467	VEGF (seq. 2)	C 末端	短	短	DLL4 (seq. 1)	2.4
DVD468	VEGF (seq. 2)	N 末端	短	短	DLL4 (seq. 1)	83.6
DVD473	VEGF (seq. 2)	C 末端	長	長	DLL4 (seq. 1)	1.8
DVD474	VEGF (seq. 2)	N 末端	長	長	DLL4 (seq. 1)	67.8
DVD479	VEGF (seq. 2)	C 末端	長	短	DLL4 (seq. 1)	0.8
DVD480	VEGF (seq. 2)	N 末端	長	短	DLL4 (seq. 1)	70.2
DVD485	VEGF (seq. 2)	C 末端	短	長	DLL4 (seq. 1)	2.6
DVD486	VEGF (seq. 2)	N 末端	短	長	DLL4 (seq. 1)	62.6
DVD465	VEGF (seq. 3)	C 末端	短	短	DLL4 (seq. 1)	22.4
DVD466	VEGF (seq. 3)	N 末端	短	短	DLL4 (seq. 1)	2.7
DVD471	VEGF (seq. 3)	C 末端	長	長	DLL4 (seq. 1)	10.6
DVD472	VEGF (seq. 3)	N 末端	長	長	DLL4 (seq. 1)	1.4
DVD477	VEGF (seq. 3)	C 末端	長	短	DLL4 (seq. 1)	18.2
DVD478	VEGF (seq. 3)	N 末端	長	短	DLL4 (seq. 1)	3.2
DVD483	VEGF (seq. 3)	C 末端	短	長	DLL4 (seq. 1)	13.6
DVD484	VEGF (seq. 3)	N 末端	短	長	DLL4 (seq. 1)	2.4
DVD441	VEGF (seq. 1)	C 末端	短	短	DLL4 (seq. 2)	9.2
DVD442	VEGF (seq. 1)	N 末端	短	短	DLL4 (seq. 2)	4.4
DVD447	VEGF (seq. 1)	C 末端	長	長	DLL4 (seq. 2)	9.2
DVD448	VEGF (seq. 1)	N 末端	長	長	DLL4 (seq. 2)	2.8
DVD453	VEGF (seq. 1)	C 末端	長	短	DLL4 (seq. 2)	5.0
DVD454	VEGF (seq. 1)	N 末端	長	短	DLL4 (seq. 2)	5.4

10

20

30

40

DVD ID	配列 ID	位置	HC リンカー	LC リンカー	他の DVD ト メ イン	発現収率 (mg/L)
DVD459	VEGF (seq. 1)	C 末端	短	長	DLL4 (seq. 2)	12.4
DVD460	VEGF (seq. 1)	N 末端	短	長	DLL4 (seq. 2)	4.6
DVD445	VEGF (seq. 2)	C 末端	短	短	DLL4 (seq. 2)	40.0
DVD446	VEGF (seq. 2)	N 末端	短	短	DLL4 (seq. 2)	29.8
DVD451	VEGF (seq. 2)	C 末端	長	長	DLL4 (seq. 2)	35.0
DVD452	VEGF (seq. 2)	N 末端	長	長	DLL4 (seq. 2)	18.0
DVD457	VEGF (seq. 2)	C 末端	長	短	DLL4 (seq. 2)	46.8
DVD458	VEGF (seq. 2)	N 末端	長	短	DLL4 (seq. 2)	29.6
DVD463	VEGF (seq. 2)	C 末端	短	長	DLL4 (seq. 2)	37.6
DVD464	VEGF (seq. 2)	N 末端	短	長	DLL4 (seq. 2)	11.0
DVD443	VEGF (seq. 3)	C 末端	短	短	DLL4 (seq. 2)	40.4
DVD444	VEGF (seq. 3)	N 末端	短	短	DLL4 (seq. 2)	1.1
DVD449	VEGF (seq. 3)	C 末端	長	長	DLL4 (seq. 2)	31.6
DVD450	VEGF (seq. 3)	N 末端	長	長	DLL4 (seq. 2)	0.7
DVD455	VEGF (seq. 3)	C 末端	長	短	DLL4 (seq. 2)	62.6
DVD456	VEGF (seq. 3)	N 末端	長	短	DLL4 (seq. 2)	1.8
DVD461	VEGF (seq. 3)	C 末端	短	長	DLL4 (seq. 2)	42.0
DVD462	VEGF (seq. 3)	N 末端	短	長	DLL4 (seq. 2)	1.0
DVD511	VEGF (seq. 1)	C 末端	短	短	DLL4 (seq. 3)	7.8
DVD512	VEGF (seq. 1)	N 末端	短	短	DLL4 (seq. 3)	9.0
DVD517	VEGF (seq. 1)	C 末端	長	長	DLL4 (seq. 3)	8.2
DVD518	VEGF (seq. 1)	N 末端	長	長	DLL4 (seq. 3)	0.3
DVD523	VEGF (seq. 1)	C 末端	長	短	DLL4 (seq. 3)	9.4
DVD524	VEGF (seq. 1)	N 末端	長	短	DLL4 (seq. 3)	3.2
DVD529	VEGF (seq. 1)	C 末端	短	長	DLL4 (seq. 3)	12.4
DVD530	VEGF (seq. 1)	N 末端	短	長	DLL4 (seq. 3)	3.0
DVD515	VEGF (seq. 2)	C 末端	短	短	DLL4 (seq. 3)	24.0
DVD516	VEGF (seq. 2)	N 末端	短	短	DLL4 (seq. 3)	58.6
DVD521	VEGF (seq. 2)	C 末端	長	長	DLL4 (seq. 3)	43.4
DVD522	VEGF (seq. 2)	N 末端	長	長	DLL4 (seq. 3)	43.4
DVD527	VEGF (seq. 2)	C 末端	長	短	DLL4 (seq. 3)	33.0
DVD528	VEGF (seq. 2)	N 末端	長	短	DLL4 (seq. 3)	55.6
DVD533	VEGF (seq. 2)	C 末端	短	長	DLL4 (seq. 3)	40.8

10

20

30

40

DVD ID	配列 ID	位置	HC リンカー	LC リンカー	他の DVD ドメイン	発現収率 (mg/L)
DVD534	VEGF (seq. 2)	N 末端	短	長	DLL4 (seq. 3)	24.8
DVD513	VEGF (seq. 3)	C 末端	短	短	DLL4 (seq. 3)	29.6
DVD514	VEGF (seq. 3)	N 末端	短	短	DLL4 (seq. 3)	2.0
DVD519	VEGF (seq. 3)	C 末端	長	長	DLL4 (seq. 3)	9.0
DVD520	VEGF (seq. 3)	N 末端	長	長	DLL4 (seq. 3)	1.0
DVD525	VEGF (seq. 3)	C 末端	長	短	DLL4 (seq. 3)	26.8
DVD526	VEGF (seq. 3)	N 末端	長	短	DLL4 (seq. 3)	1.2
DVD531	VEGF (seq. 3)	C 末端	短	長	DLL4 (seq. 3)	20.2
DVD532	VEGF (seq. 3)	N 末端	短	長	DLL4 (seq. 3)	1.6
DVD487	VEGF (seq. 1)	C 末端	短	短	DLL4 (seq. 4)	2.1
DVD488	VEGF (seq. 1)	N 末端	短	短	DLL4 (seq. 4)	6.6
DVD493	VEGF (seq. 1)	C 末端	長	長	DLL4 (seq. 4)	10.4
DVD494	VEGF (seq. 1)	N 末端	長	長	DLL4 (seq. 4)	0.4
DVD499	VEGF (seq. 1)	C 末端	長	短	DLL4 (seq. 4)	12.2
DVD500	VEGF (seq. 1)	N 末端	長	短	DLL4 (seq. 4)	7.4
DVD505	VEGF (seq. 1)	C 末端	短	長	DLL4 (seq. 4)	6.2
DVD506	VEGF (seq. 1)	N 末端	短	長	DLL4 (seq. 4)	4.0
DVD491	VEGF (seq. 2)	C 末端	短	短	DLL4 (seq. 4)	18.2
DVD492	VEGF (seq. 2)	N 末端	短	短	DLL4 (seq. 4)	54.6
DVD497	VEGF (seq. 2)	C 末端	長	長	DLL4 (seq. 4)	8.6
DVD498	VEGF (seq. 2)	N 末端	長	長	DLL4 (seq. 4)	28.0
DVD503	VEGF (seq. 2)	C 末端	長	短	DLL4 (seq. 4)	20.0
DVD504	VEGF (seq. 2)	N 末端	長	短	DLL4 (seq. 4)	49.0
DVD509	VEGF (seq. 2)	C 末端	短	長	DLL4 (seq. 4)	14.2
DVD510	VEGF (seq. 2)	N 末端	短	長	DLL4 (seq. 4)	28.8
DVD489	VEGF (seq. 3)	C 末端	短	短	DLL4 (seq. 4)	14.8
DVD490	VEGF (seq. 3)	N 末端	短	短	DLL4 (seq. 4)	2.4
DVD495	VEGF (seq. 3)	C 末端	長	長	DLL4 (seq. 4)	4.8
DVD496	VEGF (seq. 3)	N 末端	長	長	DLL4 (seq. 4)	0.6
DVD501	VEGF (seq. 3)	C 末端	長	短	DLL4 (seq. 4)	20.2
DVD502	VEGF (seq. 3)	N 末端	長	短	DLL4 (seq. 4)	0.9
DVD507	VEGF (seq. 3)	C 末端	短	長	DLL4 (seq. 4)	5.8
DVD508	VEGF (seq. 3)	N 末端	短	長	DLL4 (seq. 4)	0.7

すべての DVD が 293 細胞においてうまく発現した。DVD はプロテイン A カラムを用いて容易に精製することができた。多くの場合、 $> 5 \text{ mg/L}$ の精製 DVD-Ig が 293 細胞の上清から容易に得ることができた。

【0754】

10

20

30

40

50

実施例 1. 4. 5 : A / B DVD-I g の特徴づけ及び誘導選択

タンパク質 A 及びタンパク質 B に対する抗 A / B DVD-I g の結合親和性を B i a c o r e を用いて分析する。DVD-I g の四価特性を B i a c o r e を用いる複数の結合研究により試験する。一方、タンパク質 A 及びタンパク質 B に対する DVD-I g の中和力価をそれぞれ本明細書中に記載されているバイオアッセイにより評価する。元の親 m A b の親和性及び力価を最もうまく保持している DVD-I g 分子を各 m A b について本明細書中に記載されている徹底的な生理化学的及び生化学分析 (r a t P K) 特徴づけのために選択する。分析収集に基づいて、最終誘導 DVD-I g は C H O 安定細胞株発生に進み、C H O 誘導材料をカニクイザルにおける安定性、薬物動態及び有効性研究、並びに予備処方活性において使用する。

10

【 0 7 5 5 】

[実施例 2]

二重可変ドメイン免疫グロブリン (DVD-I g) の作成及び特徴づけ

二重可変ドメイン免疫グロブリン (DVD-I g) を、公知のアミノ酸配列を有する親抗体を用いて実施例 1. 4. 4. 1 に従って DVD-I g 可変重鎖及び DVD-I g 可変軽鎖配列をエンコードするポリヌクレオチド断片を合成し、その断片を p H y b C - D 2 ベクターにクローン化することにより作成した。DVD-I g 構築物を実施例 1. 4. 4. 2 に記載されているように 2 9 3 細胞にクローン化し、発現させた。DVD-I g タンパク質を標準方法に従って精製した。機能的特性を指示されているように実施例 1. 1. 1 及び 1. 1. 2 に記載されている方法に従って測定した。本発明の DVD-I g のため

20

【 0 7 5 6 】

実施例 2. 1 : C D - 2 0 及び C D - 1 9 DVD-I g の作成

【 0 7 5 7 】

【 表 5 6 】

表 54

配列番号	DVD可変ドメイン名	外側可変ドメイン名	内側可変ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
112	DVD001H	AB001VH	AB006VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTTVTVSA ASTKGP QVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPQGQLEWIGQIWPGDGDTNNGKFKGKATLTADESSSTAYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVGRIYYAMDYWGQGTSTVSS
113	DVD001L	AB001VL	AB006VL	QIVLSQSPAILSPSPGKVTMTCRASSSVSYIHWFGQKPGSSPKPIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQWTSNPPTFGGGTKLEIKR TVAAP DILLTQTPASLAVSLGQRATISCKASQSVDDYDGSYLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSGSGTDFTLNIHPVEKVDAAATYHCQQSTEDPWTFGGGTKLEIKR
114	DVD002H	AB006VH	AB001VH	QVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPQGQLEWIGQIWPGDGDTNNGKFKGKATLTADESSSTAYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTSTVSS ASTKGP QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTTVTVSA
115	DVD002L	AB006VL	AB001VL	DILLTQTPASLAVSLGQRATISCKASQSVDDYDGSYLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSGSGTDFTLNIHPVEKVDAAATYHCQQSTEDPWTFGGGTKLEIKR TVAAP QIVLSQSPAILSPSPGKVTMTCRASSSVSYIHWFGQKPGSSPKPIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQWTSNPPTFGGGTKLEIKR

30

40

50

【 0 7 5 8 】

実施例 2. 2 : C D - 2 0 及び C D - 3 (s e q . 1) D V D - I g の作成

【 0 7 5 9 】

【 表 5 7 】

表 55

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
116	DVD003H	AB001VH	AB002VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMH WVKQTPGRGLEWIGAIYPNGDTSYNQKFKGKATL TADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSTYYGGD WYFNVWGAGTTVTVSA ASTKGP QVQLQQSGAELAR PGASVKMSCKASGYTFTTRYTMHWVKQRPQGLEWI GYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTDDKSSSTAYMQL SSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLTVS S
117	DVD003L	AB001VL	AB002VL	QIVLSQSPAILSPSPGKVTMTCRASSSVSYIHWF QQKPGSSPKPWIIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTSY SLTISRVEAEDAATYYCQWTSNPPTFGGGTKLEI KR TVAAP QIVLTQSPAIMASAPGKVTMTCRASSS VSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPYRFSG SGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQWSSNPLTFG SGTKLEINR
118	DVD004H	AB002VH	AB001VH	QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTTRYTMH WVKQRPQGQLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATL TDDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYC LDYWGQGTTLTVSS ASTKGP QVQLQQPGAELVKPG ASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGRGLEWIGA IYPNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSS LTSEDSAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTTVTVS A
119	DVD004L	AB002VL	AB001VL	QIVLTQSPAIMASAPGKVTMTCRASSSVSYMNWY QQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPYRFSGSGSGTSY SLTISSMEAEDAATYYCQWSSNPLTFGSGTKLEI NR TVAAP QIVLSQSPAILSPSPGKVTMTCRASSS VSYIHWFQQKPGSSPKPWIIYATSNLASGVPVRFSG SGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQWTSNPPTFG GGTKLEIKR

10

20

【 0 7 6 0 】

実施例 2. 3 : C D - 2 0 及び C D - 8 0 D V D - I g の作成

【 0 7 6 1 】

30

【表 58】

表 56

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
120	DVD005H	AB001VH	AB007VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMH WVKQTPGRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATL TADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSTYYGGD WYFNVWCAGTTVTVSA ASTKGP QVQLQESGPGVLK PSETLSLTCAVSGGSISGGYCWGWIRQPPGKGLEW IGSFYSSSGNTYYNP SLKSQVTISTDTSKNQFSLK LNSMTAADTAVYYCVRDR LFSVVGVMVYNNWFDVWG PGVLVTVSS
121	DVD005L	AB001VL	AB007VL	QIVLSQSPAILSPSPGKVTMTCRASSSVSYIHW QQKPGSSPKPWIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTSY SLTISRVEAEDAATYYCQQWTSNPPTFGGGTKLEI KR TVAAP ESALTQPPSVSGAPGQKVTISCTGSTSN IGGYDLHWYQQLPGTAPKLLIYDINKRPSGISDRF SGSKSGTAASLAITGLQTEDEADYYCQSYDSSLNA QVFGGGTRLTVLG
122	DVD006H	AB007VH	AB001VH	QVQLQESGPGVLKVPSETLSLTCAVSGGSISGGYCW GWIRQPPGKGLEWIGSFYSSSGNTYYNP SLKSQVT ISTDTSKNQFSLK LNSMTAADTAVYYCVRDR LFSV VGMVYNNWFDVWGPGVLVTVSS ASTKGP QVQLQQP GAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPG RGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSS

10

20

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
				TAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSTYYGGDWYFNVWG AGTTVTVSA
123	DVD006L	AB007VL	AB001VL	ESALTQPPSVSGAPGQKVTISCTGSTSNIGGYDLH WYQQLPGTAPKLLIYDINKRPSGISDRFSGSKSGT AASLAITGLQTEDEADYYCQSYDSSLNAQVFGGGT RLTVLG QPKAAP QIVLSQSPAILSPSPGKVTMT CRASSSVSYIHWQQKPGSSPKPWIYATSNLASGVP VRFSGSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWTSN PPTFGGGTKLEIKR

30

【0762】

実施例 2. 4 : CD-20 及び CD-22 DVD-I g の作成

【0763】

【表 5 9】

表 57

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
124	DVD007H	AB001VH	AB008VH	12345678901234567890123456789012345 QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMH WVKQTPGRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATL TADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSTYYGGD WYFNVWGAGTTVTVSA ASTKGP QVQLVQSGAEVKK PGSSVKVSKASGYTFTSYWLHWVRQAPGQGLEWI GYINPRNDYTEYNQNFKDKATITADESTNTAYMEL SSLRSEDTAFYFCARRDITTFYWGQGTITVTVSS
125	DVD007L	AB001VL	AB008VL	QIVLSQSPAILSPSPGKVTMTCRASSSVSYIHW QQKPGSSPKPWIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTSY SLTISRVEAEDAATYYCQQWTSNPPTFGGGTKLEI KR TVAAP DIQLTQSPSSLSASVGDRTVMSCKSSQS VLYSANHKNYLAWYQQKPGKAPKLLIYWASTRESG VPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDATYYCHQYL SSWTFGGGTKLEIKR
126	DVD008H	AB008VH	AB001VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYWLH WVRQAPGQGLEWIGYINPRNDYTEYNQNFKDKATI TADESTNTAYMELSSLRSEDTAFYFCARRDITTFY WGQGTITVTVSS ASTKGP QVQLQQPGAELVKPGASV KMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGRGLEWIGAIYP GNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTS EDSAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTTVTVSA
127	DVD008L	AB008VL	AB001VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRTVMSCKSSQSVLYSANH KNYLAWYQQKPGKAPKLLIYWASTRESGVPSPRFS SGSGTDFTFTISSLQPEDATYYCHQYLSSWTFGG GTKLEIKR TVAAP QIVLSQSPAILSPSPGKVTMT CRASSSVSYIHWYQQKPGSSPKPWIYATSNLASG VPVRFSGSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWTS NPPTFGGGTKLEIKR

10

20

【0 7 6 4】

実施例 2. 5 : C D - 2 0 及び C D - 4 0 D V D - I g の作成

【0 7 6 5】

【表 6 0】

表 58

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
128	DVD009H	AB001VH	AB009VH	12345678901234567890123456789012345 QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMH WVKQTPGRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATL TADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSTYYGGD WYFNVWGAGTTVTVSA ASTKGP QVQLVSGGGVVQ PGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWV AVISYEEENRYHADSVKGRFTISRDNKITYLQ NSLRTEDTAVYYCARDGGIAAPGPDYWGQGLTVTV SS

30

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345
129	DVD009L	AB001VL	AB009VL	QIVLSQSPAILSPSPGKVTMTCRASSSVSYIHW FQQKPGSSPKPIYATSNLASGVPVRFSGSGS GTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWTSNPPTF GGGKLEIKRTVAAPDIVMTQSPLSLTVTPGE PASISCRSSQSLLYSNGYNYLDWYLQKPGQSP QVLISLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVIYCMQARQTPFTFGPGTKVDIRR
130	DVD010H	AB009VH	AB001VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSY GMHWVRQAPGKGLEWVAVISYEESNRYHADSV KGRFTISRDN SKITLYLQMNSLRTEDTAVYYC ARDGGIAAPGPDYWGQGTLLVTVSS ASTKGP QVQLQPGAEVLKPGASVKMSCKASGYTFTSY NMHWVKQTPGRGLEWIGAIYPPGNGDTSYNQ KFKGKATLTADKSSSTAYMQLSLTSEDSAVY YCARSTYYGGDWYFNVWGAGTTVTVSA
131	DVD010L	AB009VL	AB001VL	DIVMTQSPLSLTVTPGEPASISCRSSQSLLYS NGYNYLDWYLQKPGQSPQVLISLGSNRASGVP DRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVIYCMQ ARQTPFTFGPGTKVDIRR TVAAP QIVLSQSP AILSPSPGKVTMTCRASSSVSYIHW FQQKPG SSPKPIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTSYSLT ISRVEAEDAATYYCQQWTSNPPTFGGKLEIKR

10

【0766】

20

実施例 2. 6 : CD-3 (seq. 1) 及び HER-2 (seq. 1) DVD-Ig の作成

【0767】

【表 61】

表 59

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345
132	DVD011H	AB002VH	AB004VH	QVQLQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRY TMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQK FKDKATLTDDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVY YCARYDDHYCLDYWGQGTLLTVSS ASTKGP EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDT YIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSV KGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYC SRWGGDGFYAMDYWGQGTLLTVSS
133	DVD011L	AB002VL	AB004VL	QIVLTQSPAISASPGKVTMTCRASSSVSYMN WYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPYRFSGS GSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSNPLT FGSGTKLEINR TVAAP DIQMTQSPSSLSASV GDRVITITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPK LLIYSASFYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQHYYTPPTFGQGTKVEIKR
134	DVD012H	AB004VH	AB002VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDT YIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSV KGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYC SRWGGDGFYAMDYWGQGTLLTVSS ASTKGP QVQLQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRY TMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQK FKDKATLTDDKSSSTAYMQLSLTSEDSAVY YCARYDDHYCLDYWGQGTLLTVSS
135	DVD012L	AB004VL	AB002VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVNTA VAWYQQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPSRFS GSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHYYTP PTFGQGTKVEIKR TVAAP QIVLTQSPAISAS PGKVTMTCRASSSVSYMNWYQQKSGTSPKR WIYDTSKVASGVPYRFSGSGSGTSYSLTISS MEAEDAATYYCQQWSSNPLTFGSGTKLEINR

30

40

【0768】

実施例 2. 7 : CD-3 (seq. 1) 及び CD-19 DVD-Ig の作成

【0769】

50

【表 6 2】

表 60

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
136	DVD013H	AB002VH	AB006VH	QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRYTMH WVKQRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATL TDDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYC LDYWGQGTTLTVSS ASTKGP QVQLQQSGAELVRPG SSVKISKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQ IWPGDGDTNYNGKFKGKATLTADESSSTAYMQLSS LASEDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTSTV TVSS
137	DVD013L	AB002VL	AB006VL	QIVLTQSPAISASPGKVTMTTCRASSSVSYMNWY QQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPRFSGSGSGTSTY SLTISSMEAEADAATYYCQQWSSNPLTFGSGTKLEI NR TVAAP DILLTQTPASLAVSLGQRATISCKASQS VDYDGD SYLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIP PRFSGSGSGTDFTLNIHPVEKVDAAATYHCQQSTED PWTFGGKLEIKR
138	DVD014H	AB006VH	AB002VH	QVQLQQSGAELVRPGSSVKISKASGYAFSSYWMN WVKQRPGQGLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATL TADESSSTAYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVG RYYYAMDYWGQGTSTVTVSS ASTKGP QVQLQQSGAE LARPGASVKMSCKASGYTFTRYTMHWVKQRPGQGL EWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTDDKSSSTAY MQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTL TVSS
139	DVD014L	AB006VL	AB002VL	DILLTQTPASLAVSLGQRATISCKASQSDYDGD SYLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSG SGTDFTLNIHPVEKVDAAATYHCQQSTEDPWTFGG TKLEIKR TVAAP QIVLTQSPAISASPGKVTMT TCRASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGV PRFSGSGSGTSTYSLTISSMEAEADAATYYCQQWSS NPLTFGSGTKLEINR

10

20

【0770】

実施例 2. 8 : E G F R (s e q . 2) 及び H E R - 2 (s e q . 1) D V D - I g の
作成

【0771】

30

【表 6 3】

表 61

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
140	DVD015H	AB033VH	AB004VH	QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVH WVRQSPGKGLEWLGVIWGGNTDYNTPFTSRLSIN KDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYDYE FAYWGQGTTLTVSA ASTKGP EVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKLEWVAR IYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNS LRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTTLTVSS
141	DVD015L	AB033VL	AB004VL	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHW YQQRNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTD FTLSINSVESEDIADYYCQNNNWPTTFGAGTKLE LKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQ DVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPSRF SGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHYTTPPT FGQGTKVEIKR
142	DVD016H	AB004VH	AB033VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYI HWVRQAPGKLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFY AMDYWGQGTTLTVSS ASTKGP QVQLKQSGPGLVQ PSQSLITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKLEWLG VIWGGNTDYNTPFTSRLSINKDNSKSQVFFKMNS LQSNDAIYYCARALTYDYDEFAFYWGQGTTLTVSA

40

50

143	DVD016L	AB004VL	AB033VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRASQDVNTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFVSGVPSRFSGRSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKE IKR TVAAP DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQ SIGTNIHWYQQRNGSPRLIKYASESISGIPSRF SGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQNNWPTT FGAGTKLELKR

実施例 2. 9 : E G F R (s e q . 2) 及び C D - 3 (s e q . 1) D V D - I g の作
成

【 0 7 7 2 】

【 表 6 4 】

10

表 62

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
144	DVD017H	AB033VH	AB002VH	QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVH WVRQSPGKGLEWLGVIWGGNTDYNTPFTSRLSIN KDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYE FAYWGQGTTLVTVSA ASTKGP QVQLQSGAELARPG ASVKMSCKASGYTFTRYTMHWVKQRPQGLEWIGY INPSRGYTNYNQKFKDKATLTDDKSSSTAYMQLSS LTSEDSAVYYCARYDDHYCLDYWGQGTTLTVSS
145	DVD017L	VD033VL	AB002VL	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHW YQQRNGSPRLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTD FTLSINSVESEDIADYYCQQNNWPTTFGAGTKLE LKR TVAAP QIVLTQSPAISASPGKVTMTCRASS SVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPRFS SGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSNPLTF GSGTKLEINR
146	DVD018H	AB002VH	AB033VH	QVQLQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRYTMH WVKQRPQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATL TDDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYDDHYC LDYWGQGTTLTVSS ASTKGP QVQLKQSGPGLVQPS QSLITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLEWLG IWSGGNTDYNTPFTSRLSINKDNSKSQVFFKMNSL QSNDAIYYCARALTYDYEFAYWGQGTTLVTVSA
147	DVD018L	AB002VL	AB033VL	QIVLTQSPAISASPGKVTMTCRASSSVSYMNWY QQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPRFSGSGSGTSY SLTISSMEAEDAATYYCQQWSSNPLTFGSGTKLEI NR TVAAP DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQS IGTNIHWYQQRNGSPRLIKYASESISGIPSRFS SGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQNNWPTTF GAGTKLELKR

20

30

【 0 7 7 3 】

実施例 2. 10 : E G F R (s e q . 2) 及び I G F 1 , 2 D V D - I g の作成

【 0 7 7 4 】

【表 6 5】

表 63

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
148	DVD019H	AB033VH	AB010VH	123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345 QVQLKQSGPGLVQPSSLSITCTVSGFSLTNYGVH WVRQSPGKGLEWLGVIWSSGNTDYNTPTTSRLSIN KDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYDYE FAYWGQGLVTVSA ASTKGP QVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQATGQGLEWMGW MNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRNTSISTAYMELSS LRSEDTAVYYCARDPYYYYYGMVWGQGTITVTVSS
149	DVD019L	AB033VL	AB010VL	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHW YQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTD FTLSINSVESEDIADYYCQQNNNWPTTFGAGTKLE LKR TVAAP QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSS NIENNHVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDR FSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCETWDTSL AGRVFGGGTKLTVLG

10

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
150	DVD020H	AB010VH	AB033VH	123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDIN WVRQATGQGLEWMGMNPNSGNTGYAQKFQGRVTM TRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDPYYYYY GMVWGQGTITVTVSS ASTKGP QVQLKQSGPGLVQP SQSLITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLEWLG VIWSSGNTDYNTPTTSRLSINKDNSKSQVFFKMNS LQSNDAIYYCARALTYDYEFAYWGQGLVTVSA
151	DVD020L	AB010VL	AB033VL	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIENNHVS WYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSKSGT SATLGITGLQTGDEADYYCETWDTSLSAGRVFGGG TKLTVLG QPKAAP DILLTQSPVILSVSPGERVSFS CRASQSIGTNIHWYQRTNGSPRLLIKYASESISG IPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQNN NWPTTFGAGTKLELKR

20

【0 7 7 5】

30

実施例 2. 1 1 : リンカー組 1 を用いる E G F R (s e q . 2) 及び I G F 1 R (s e q . 1) D V D - I g の作成

【0 7 7 6】

【表 6 6】

表 64

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
152	DVD021H	AB033VH	AB011VH	QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVH WVRQSPGKGLEWLGVIWSSGGNTDYNTPFTSRLSIN KDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYDE FAYWQGGLVTVSA ASTKGP EVQLLESGLLVQPG GSLRLSCTASGFTFSSYAMNWVRQAPGKGLEWVSA ISGSGGTTFYADSVKGRFTISRDNSTTLTYLQMNS LRAEDTAVYYCAKDLGWSDSYYYYYGMVWGQGT TVSS
153	DVD021L	AB033VL	AB011VL	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHW YQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTD FTLSINSVESEDIADYYCQNNNWPTTFGAGTKLE LKR TVAAP DIQMTQFPSSLSASVGDRTITCRASQ GIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASRLHRGVPSRF SGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPCS FGQGTKLEIKR
154	DVD022H	AB011VH	AB033VH	EVQLLESGLLVQPGGSLRLSCTASGFTFSSYAMN WVRQAPGKGLEWVSAISGSGGTTFYADSVKGRFTI SRDNSTTLTYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDLGWSDS YYYYYGMVWGQGTTVTVSS ASTKGP QVQLKQSGP GLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKG LEWLGVIWSSGGNTDYNTPFTSRLSINKDNSKSQVF FKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYDEFAWQGGLT VTVSA
155	DVD022L	AB011VL	AB033VL	DIQMTQFPSSLSASVGDRTITCRASQGIRNDLGW YQQKPGKAPKRLIYAASRLHRGVPSRFSGSGSGTE FTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPCSFQGTKLE IKR TVAAP DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQ SIGTNIHWYQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRF SGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQNNNWPTT FGAGTKLELKR

10

20

【0 7 7 7】

実施例 2. 1 2 : リンカー組 2 を用いる E G F R (s e q . 2) 及び I G F 1 R (s e q . 1) D V D - I g の作成

【0 7 7 8】

30

【表 6 7】

表 65

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
156	DVD611H	AB011VH	AB033VH	EVQLLESGLLVQPGGSLRLSCTASGFTFSSYAMN

配列番号	DVD可変ドメイン名	外側可変ドメイン名	内側可変ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
				WVRQAPGKGLEWVSAISGSGGTTFYADSVKGRFTI SRDNSRTTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDLGWSDS YYYYYGMDVWGQGTTVTVSS ASTKGPSVFPLAPQV QLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVHVV RQSPGKGLEWLGVIWGGNTDYNTPFTSRLSINKD NSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYDEFA YWGQGTTLVTVSA
157	DVD611L	AB011VL	AB033VL	DIQMTQFPSSLSASVGDRVTITCRASQGIKNDLW YQQKPGKAPKRLIYAASRLHGVPSRFGSGSGTE FTLTISLQPEDFATYYCLQHNSYPCSFQGTGKLE IKR TVAAPSVFIFPP DILLTQSPVILSVSPGERVS FSCRASQSIGTNIHWYQRTNGSPRLLIKYASESI SGIPSRFGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQ NNNWPTTFGAGTKLELKR
158	DVD612H	AB033VH	AB011VH	QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVH WVRQSPGKGLEWLGVIWGGNTDYNTPFTSRLSIN KDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYDE FAYWGQGTTLVTVSA ASTKGPSVFPLAP EVQLLESG GGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSSYAMNWVRQAPGK GLEWVSAISGSGGTTFYADSVKGRFTISRDNSTT LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDLGWSDSYYYYYGMD VWGQGTTVTVSS
159	DVD612L	AB033VL	AB011VL	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHW YQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFGSGSGTD FTLSINSVESEDIADYYCQQNNNWPTTFGAGTKLE LKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQFPSSLSASVGDRVT ITCRASQGIKNDLWYQQKPGKAPKRLIYAASRLH RGVPSRFGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCLQ HNSYPCSFQGTGKLEIKR

10

20

【0779】

実施例 2. 13 : リンカー組 3 を用いる E G F R (s e q . 2) 及び I G F 1 R (s e q . 1) D V D - I g の作成

【0780】

【表 68】

表 66

配列番号	DVD可変ドメイン名	外側可変ドメイン名	内側可変ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
160	DVD613H	AB011VH	AB033VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSSYAMN WVRQAPGKGLEWVSAISGSGGTTFYADSVKGRFTI SRDNSRTTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDLGWSDS YYYYYGMDVWGQGTTVTVSS ASTKGPSVFPLAPQV QLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVHVV RQSPGKGLEWLGVIWGGNTDYNTPFTSRLSINKD NSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYDEFA YWGQGTTLVTVSA
161	DVD613L	AB011VL	AB033VL	DIQMTQFPSSLSASVGDRVTITCRASQGIKNDLW YQQKPGKAPKRLIYAASRLHGVPSRFGSGSGTE FTLTISLQPEDFATYYCLQHNSYPCSFQGTGKLE IKR TVAAP DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQ SIGTNIHWYQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRF SGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQNNNWPTT FGAGTKLELKR
162	DVD614H	AB033VH	AB011VH	QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVH WVRQSPGKGLEWLGVIWGGNTDYNTPFTSRLSIN KDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYDE FAYWGQGTTLVTVSA ASTKGPSVFPLAP EVQLLESG GGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSSYAMNWVRQAPGK GLEWVSAISGSGGTTFYADSVKGRFTISRDNSTT LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDLGWSDSYYYYYGMD VWGQGTTVTVSS
163	DVD614L	AB033VL	AB011VL	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHW YQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFGSGSGTD

30

40

50

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
				FTLSINSVESEDIADYYCQNNNWPTTFGAGTKLE LKR TVAAP DIQMTQFPSSLSASVGDRVTITCRASQ GIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASRLHRGVPSRF SGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCLQHNSYPSCS FGQGTKLEIKR

【0781】

実施例 2. 14 : リンカー組 4 を用いる E G F R (s e q . 2) 及び I G F 1 R (s e q . 1) D V D - I g の作成

10

【0782】

【表 69】

表 67

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
164	DVD615H	AB011VH	AB033VH	EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSSYAMN WVRQAPGKGLEWVSAISGSGGTTFYADSVKGRFTI SRDNSRTTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDLGWSDS YYYYYGMDVWGQGTITVTVSS ASTKGP QVQLKQSGP GLVQPSQSL SITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKG LEWLGVWSGGNTDYNTPFTSRLSINKDNSKSKQVF FKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEFAYWGQGT LTVSA
165	DVD615L	AB011VL	AB033VL	DIQMTQFPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGW YQQKPGKAPKRLIYAASRLHRGVPSRFSGSGSGTE FTLTISLQPEDFATYYCLQHNSYPSCSFGQGTKLE IKR TVAAPSVFI FPDILLTQSPVILSVSPGERVS FSCRASQSIGTNIHWYQRTNGSPRLLIKYASESI SGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQ NNNWPTTFGAGTKLELKR
166	DVD616H	AB033VH	AB011VH	QVQLKQSGPGLVQPSQSL SITCTVSGFSLTNYGVH WVRQSPGKGLEWLGVWSGGNTDYNTPFTSRLSIN KDNSKSKQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEF FAYWGQGT LTVSA ASTKGP EVQLLES GGGGLVQPG GSLRLSCTASGFTFSSYAMNWVRQAPGKGLEWVSA ISGSGGTTFYADSVKGRFTISRDNSTTLYLQMNS LRAEDTAVYYCAKDLGWSDSYYYYYGMDVWGQGT TVSS
167	DVD616L	AB033VL	AB011VL	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHW YQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTD FTLSINSVESEDIADYYCQNNNWPTTFGAGTKLE LKR TVAAPSVFI FPDIQMTQFPSSLSASVGDRVT ITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASRLH RGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCLQ HNSYPSCSFGQGTKLEIKR

20

30

【0783】

実施例 2. 15 : リンカー組 1 を用いる E G F R (s e q . 2) 及び I G F 1 R (s e q . 2) D V D - I g の作成

【0784】

40

【表 70】

表 68

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
168	DVD603H	AB075VH	AB033VH	12345678901234567890123456789012345 EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAIS WVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTI TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARAPLRFL WSTQDHYYYYYMDVWGKGTITVTVSS ASTKGP QVQL KQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVHWVRQ SPGKGLEWLGVIWSSGNTDYNTPTTSRLSINKDNS KSQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEFAYW QGTLITVSA

10

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
169	DVD603L	AB075VL	AB033VL	12345678901234567890123456789012345 SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDLSRYYATWY QQKPGQAPILVIYGENKRPSGIPDRFSGSSSGNTA SLTITGAQAEDEADYCKSRDGSQHLVFGGGTKL TVLG QPKAAP DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRA SQSIGTNIHWYQQRNGSPRLLIKYASESISGIPS RFGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQNNNWP TTFGAGTKLELKR
170	DVD604H	AB033VH	AB075VH	QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVH WVRQSPGKGLEWLGVIWSSGNTDYNTPTTSRLSIN KDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEF FAYWGQGTITVTVSA ASTKGPEV QLVQSGAEVKKPG SSVKVSKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGG IIPIFGTANYAQKFQGRVTITADKSTSTAYMELSS LRSEDTAVYYCARAPLRFLWSTQDHYYYYYMDVW GKGTITVTVSS
171	DVD604L	AB033VL	AB075VL	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHW YQQRNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTD FTLSINSVESEDIADYYCQNNNWPPTTFGAGTKLE LKR TVAAP SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGD LSRYYATWYQQKPGQAPILVIYGENKRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYCKSRDGSQHL VFGGGTKLTVLG

20

30

【0785】

実施例 2. 16 : リンカー組 2 を用いる EGF R (seq. 2) 及び IGF1 R (seq. 2) DVD-I g の作成

【0786】

【表 7 1】

表 69

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
172	DVD605H	AB075VH	AB033VH	12345678901234567890123456789012345 EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAIS WVRQAPGQGLEWMGGIIPFGTANYAQKFQGRVTI TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARAPLRFLE WSTQDHYYYYYMDVWGKGTITVTVSS ASTKGPSVFP LAPQVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNY GVHWVRQSPGKGLEWLGVIWSGGNTDYNTPFTSRL SINKDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTY DYEFAYWGQGTITVTVSA
173	DVD605L	AB075VL	AB033VL	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDLSRYYATWY QQKPGQAPILVIYGENKRPSGIPDRFSGSSSGNTA SLTITGAQAEDEADYYCKSRDGSQHLVFGGGTKL TVLG QPKAAPSVTLFPP DILLTQSPVILSVSPGER VSFSCRASQSIGTNIHWYQQRNGSPRLIKYASE SISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYC QQNNNWPTTFGAGTKLELKR
174	DVD606H	AB033VH	AB075VH	QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVH WVRQSPGKGLEWLGVIWSGGNTDYNTPFTSRLSIN KDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDY FAYWGQGTITVTVSA ASTKGPSVFPLAPEVQLVQSG AEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQ GLEWMGGIIPFGTANYAQKFQGRVTITADKSTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARAPLRFLEWSTQDHY YYYYMDVWGKGTITVTVSS
175	DVD606L	AB033VL	AB075VL	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHW YQQRNGSPRLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTD FTLSINSVESEDIADYYCQQNNNWPTTFGAGTKLE LKR TVAAPSVFIFPP SSELTQDPAVSVALGQTVRI TCQGDLSRYYATWYQQKPGQAPILVIYGENKRPS GIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCKSR DGSGQHLVFGGGTKLTVLG

10

20

【0787】

実施例 2. 17: リンカー組 3 を用いる EGF R (seq. 2) 及び IGF1 R (seq. 2) DVD-I g の作成

【0788】

30

【表 7 2】

表 70

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
176	DVD607H	AB075VH	AB033VH	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAIS WVRQAPGQGLEWMGGIIPFGTANYAQKFQGRVTI TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARAPLRFLE WSTQDHYYYYYMDVWGKGTITVTVSS ASTKGPSVFPLAP LAP QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNY GVHWVRQSPGKGLEWLGVIWSSGNTDYNTPFTSRL SINKDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTY DYEFAYWGQGLTVTVSA
177	DVD607L	AB075VL	AB033VL	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYATWY QQKPGQAPILVIYGENKRPSGIPDRFSGSSSGNTA SLTITGAQAEDEADYYCKSRDGSQHLVFGGGTKL TVLG QPKAAP DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRA SQSIGTNIHWYQQRNGSPRLLIKYASESISGIPS RFGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQNNNWP TTFGAGTKLELKR
178	DVD608H	AB033VH	AB075VH	QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVH WVRQSPGKGLEWLGVIWSSGNTDYNTPFTSRLSIN KDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDY FAYWGQGLTVTVSA ASTKGPSVFPLAP EVQLVQSG AEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQ GLEWMGGIIPFGTANYAQKFQGRVTITADKSTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARAPLRFLEWSTQDHY YYMDVWGKGTITVTVSS
179	DVD608L	AB033VL	AB075VL	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHW YQQRNGSPRLLIKYASESISGIPSRFGSGSGTD FTLSINSVESEDIADYYCQNNNWP TTFGAGTKLE LKR TVAAP SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGD SLRSYATWYQQKPGQAPILVIYGENKRPSGIPDRF SGSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCKSRDGSQHL VFGGGTKLTVLG

10

20

【0 7 8 9】

実施例 2. 18 : リンカー組 4 を用いる E G F R (s e q . 2) 及び I G F 1 R (s e q . 2) D V D - I g の作成

【0 7 9 0】

30

【表 7 3】

表 71

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
180	DVD609H	AB075VH	AB033VH	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAIS WVRQAPGQGLEWMGGIIPFGTANYAQKFQGRVTI TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARAPLRFLE WSTQDHYYYYYMDVWGKGTITVTVSS ASTKGP QVQL KQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVHWVRQ SPGKGLEWLGVIWSSGNTDYNTPFTSRLSINKDNS KSQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEFAYW GQGLTVTVSA
181	DVD609L	AB075VL	AB033VL	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYATWY QQKPGQAPILVIYGENKRPSGIPDRFSGSSSGNTA SLTITGAQAEDEADYYCKSRDGSQHLVFGGGTKL TVLG QPKAAPSVTLFPP DILLTQSPVILSVSPGER VSFSCRASQSIGTNIHWYQQRNGSPRLLIKYASE SISGIPSRFGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYC QNNNWP TTFGAGTKLELKR
182	DVD610H	AB033VH	AB075VH	QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVH WVRQSPGKGLEWLGVIWSSGNTDYNTPFTSRLSIN KDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDY

40

配列番号	DVD可変ドメイン名	外側可変ドメイン名	内側可変ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
				FAYWGQGLTVTVSA ASTKGPE VQLVQSGAEVKKPG SSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGG IIPIFGTANYAQKFQGRVTITADKSTSTAYMELSS LRSEDTAVYYCARAPLRFLWSTQDHYYYYYMDVW GKGTTVTVSS
183	DVD610L	AB033VL	AB075VL	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHW YQQRNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTD FTLSINSVESEDIADYYCQNNNWPTTFGAGTKLE LKR TVAAPSVFIFPP SSELTQDPAVSVALGQTVRI TCQGDSLRSYYATWYQQKPGQAPILVIYGENKRPS GIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCKSR DGSQHLVFGGGTKLTVLG

10

【0791】

実施例 2. 19：リンカー組 1 を用いる EGF R (seq. 2) 及び IGF1 R (seq. 3) DVD-I g の作成

【0792】

【表 74】

表 72

配列番号	DVD可変ドメイン名	外側可変ドメイン名	内側可変ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
184	DVD625H	AB077VH	AB033VH	EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSFAMH WVRQAPGKGLEWISVIDTRGATYYADSVKGRFTIS RDNANKSLYLQMNSLRRAEDTAVYYCARLGNFYGM DVWGQGTITVTVSS ASTKG PQVQLKQSGPGLVQPSQ SLSLITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLEWLGVI WSGGNTDYNTPFTSRLSINKDNKSKSQVFFKMNSLQ SNDTAIYYCARALTYDYEFAYWGQGLTVTVSA
185	DVD625L	AB077VL	AB033VL	EIVLTQSPGTLSVSPGERATLSCRASQSIGSSSLHW YQQKPGQAPRLLIKYASQSLSGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCHQSSRLPHTFGQGTKVE IKR TVAAP DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQ SIGTNIHWYQQRNGSPRLLIKYASESISGIPSRF SGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQNNNWPTT FGAGTKLELKR
186	DVD626H	AB033VH	AB077VH	QVQLKQSGPGLVQPSQSLSLITCTVSGFSLTNYGVH WVRQSPGKGLEWLGVIWSGGNTDYNTPFTSRLSIN KDNKSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEF FAYWGQGLTVTVSA ASTKGPE VQLVQSGGGLVKPG GSLRLSCAASGFTFSSFAMHWVRQAPGKGLEWISV IDTRGATYYADSVKGRFTISRDNANKSLYLQMNSL RAEDTAVYYCARLGNFYGMQVWGQGTITVTVSS
187	DVD626L	AB033VL	AB077VL	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHW YQQRNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTD FTLSINSVESEDIADYYCQNNNWPTTFGAGTKLE LKR TVAAP EIVLTQSPGTLSVSPGERATLSCRASQ SIGSSSLHWYQQKPGQAPRLLIKYASQSLSGIPDRF SGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCHQSSRLPHT FGQGTKVEIKR

20

30

40

【0793】

実施例 2. 20：リンカー組 2 を用いる EGF R (seq. 2) 及び IGF1 R (seq. 3) DVD-I g の作成

【0794】

【表 7 5】

表 73

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345
188	DVD627H	AB077VH	AB033VH	EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSFAMH WVRQAPGKGLEWISVIDTRGATYYADSVKGRFTIS

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345
				RDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLGNFYFGM DVWGQGTITVTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQLKQSGP GLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKG LEWLGVIWGGNTDYNTPFTSRLSINKDNSKSQVF FKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEFAYWGQGT LTVSA
189	DVD627L	AB077VL	AB033VL	EIVLTQSPGTLSVSPGERATLSCRASQSIGSSLHW YQQKPGQAPRLLIKYASQSLSGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCHQSSRLPHTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP DILLTQSPVILSVSPGERVS FSCRASQSIGTNIHWYQRTNGSPRLLIKYASESI SGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQ NNNWPTTFGAGTKLELKR
190	DVD628H	AB033VH	AB077VH	QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVH WVRQSPGKGLEWLGVIWGGNTDYNTPFTSRLSIN KDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEF FAYWGQGTITVTVSA ASTKGPSVFPLAP EVQLVQSG GGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSFAMHWVRQAPGK GLEWISVIDTRGATYYADSVKGRFTISRDNKNSL YLQMNSLRAEDTAVYYCARLGNFYGMGVWGQGT ITVSS
191	DVD628L	AB033VL	AB077VL	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHW YQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTD FTLSINSVESEDIADYYCQQNNNWPTTFGAGTKLE LKR TVAAPSVFIFPPE IIVLTQSPGTLSVSPGERAT LSCRASQSIGSSLHWYQQKPGQAPRLLIKYASQSL SGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCHQ SSRLPHTFGQGTKVEIKR

10

20

30

【0795】

実施例 2. 21 : リンカー組 3 を用いる EGF R (seq. 2) 及び IGF1 R (seq. 3) DVD-I g の作成

【0796】

【表 7 6】

表 74

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
192	DVD629H	AB077VH	AB033VH	EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSSFAMH WVRQAPGKGLEWISVIDTRGATYYADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLGNFYGM DVWGQGTTVTVSS ASTKGPSVFPLAPQ VQLKQSGP GLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKG LEWLGVIWSSGNTDYNTPFTSRLSINKDNSKSQVF FKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEFAYWGQGT LTVSA
193	DVD629L	AB077VL	AB033VL	EIVLTQSPGTLSVSPGERATLSCRASQSIGSSSLHW YQQKPGQAPRLLIKYASQSLSGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCHQSSRLPHTFGQGTKVE IKR TVAAP DILLTQSPVILSVSPGERVSVFSCRASQ SIGTNIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRF SGSGSGTDFTLINSVESEDIADYYCQQNNNWPTT FGAGTKLELKR
194	DVD630H	AB033VH	AB077VH	QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVH WVRQSPGKGLEWLGVIWSSGNTDYNTPFTSRLSIN KDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEF FAYWGQGTLLTVSA ASTKGPSVFPLAPE VQLVQSG GGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSSFAMHWVRQAPGK GLEWISVIDTRGATYYADSVKGRFTISRDNKNSL YLQMNSLRAEDTAVYYCARLGNFYGMVDWGQGT LTVSS
195	DVD630L	AB033VL	AB077VL	DILLTQSPVILSVSPGERVSVFSCRASQSIGTNIHW YQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTD

10

20

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
				FTLSINSVESEDIADYYCQQNNNWPTTFGAGTKLE LKR TVAAP EIVLTQSPGTLSVSPGERATLSCRASQ SIGSSSLHWYQQKPGQAPRLLIKYASQSLSGIPDRF SGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCHQSSRLPHT FGQGTKVEIKR

30

【0 7 9 7】

実施例 2. 22 : リンカー組 4 を用いる E G F R (s e q . 2) 及び I G F 1 R (s e q . 3) D V D - I g の作成

【0 7 9 8】

【表 77】

表 75

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
196	DVD631H	AB077VH	AB033VH	EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSFAMH WVRQAPGKGLEWISVIDTRGATYYADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLGNFYGM DVWGQGTTTVTVSS ASTKG QVQLKQSGPGLVQPSQ SLITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLEWLGVI WGGNTDYNTPFTSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQ SNDTAIYYCARALTYDYEFAYWGQGTTLVTVSA
197	DVD631L	AB077VL	AB033VL	EIVLTQSPGTLSPVSPGERATLSCRASQSIGSSSLHW YQKPGQAPRLLIKYASQSLSGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCHQSSRLPHTFGQGTKVE IKR TVAAPS VFI FP DILLTQSPVILSVSPGERVS FSCRASQSIGTNIHWYQQRNGSPRLLIKYASESI SGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQ NNNWPTTFGAGTKLELKR
198	DVD632H	AB033VH	AB077VH	QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVH WVRQSPGKGLEWLGVIWGGNTDYNTPFTSRLSIN KDNSKSQVFFKMNSLQSNDTAIYYCARALTYDYEF FAYWGQGTTLVTVSA ASTKG EVQLVQSGGGLVKPG GSLRLSCAASGFTFSSFAMHWVRQAPGKGLEWISV IDTRGATYYADSVKGRFTISRDNNAKNSLYLQMNSL RAEDTAVYYCARLGNFYGMVWGQGTTLVTVSS
199	DVD632L	AB033VL	AB077VL	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHW YQQRNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTD FTLSINSVESEDIADYYCQQNNNWPTTFGAGTKLE LKR TVAAPS VFI FP EIVLTQSPGTLSPVSPGERAT LSCRASQSIGSSSLHWYQKPGQAPRLLIKYASQSL SGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCHQ SSRLPHTFGQGTKVEIKR

10

20

【0799】

実施例 2. 23: リンカー組 1 を用いる E G F R (s e q . 2) 及び R O N (s e q .

1) DVD-I g の作成

【0800】

【表 78】

表 76

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
200	DVD023H	AB033VH	AB005VH	QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVH WVRQSPGKGLEWLGVIWGGNTDYNTPFTSRLSIN KDNSKSQVFFKMNSLQSNDTAIYYCARALTYDYEF FAYWGQGTTLVTVSA ASTKG EVQLVQSGGGLVKPG GSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAV ISYDGSNKKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCARFSGWPNNYYYGMVWGQGTTV TVSS
201	DVD023L	AB033VL	AB005VL	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHW

30

40

				YQQRNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTD FTLSINSVESEDIADYYCQNNNNWPTTFGAGTKLE LKR TVAAP DVVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQ SLLHNGFNVDWYLLQKPGQSPHLLIYFGSYRASG VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQAL QTPPWTFGQGTKEIRR
202	DVD024H	AB005VH	AB033VH	EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMH WVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARFSGWPNN YYYYGMDVWGQGTITVTVSS ASTKGP QVQLKQSGPG LVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGL EWLGVIWGGNTDYNTPFTSRLSINKDNSKQVFF KMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEFAYWGQGTILV TVSA
203	DVD024L	AB005VL	AB033VL	DVVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLHNGF NYVDWYLLQKPGQSPHLLIYFGSYRASGVDPDRFSGS SGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPPWTFG QGTKEIRR TVAAP DILLTQSPVILSVSPGERVSF SCRASQSIGTNIHWYQQRNGSPRLLIKYASESIS GIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQNN NNWPTTFGAGTKLELKR

10

【0801】

実施例 2. 24：リンカー組 2 を用いる E G F R (seq. 2) 及び R O N (seq.

1) DVD-I g の作成

【0802】

【表 79】

20

表 77

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345
204	DVD535H	AB005VH	AB033VH	EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMH WVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARFSGWPNN YYYYGMDVWGQGTITVTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQ LKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVHWVR QSPGKGLEWLGVIWGGNTDYNTPFTSRLSINKDN SKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEFAY WGQGTILVTVSA
205	DVD535L	AB005VL	AB033VL	DVVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLHNGF NYVDWYLLQKPGQSPHLLIYFGSYRASGVDPDRFSGS SGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPPWTFG QGTKEIRR TVAAPSVFIFPP DILLTQSPVILSVS PGERVSEFSCRASQSIGTNIHWYQQRNGSPRLLIK YASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDI ADYYCQNNNNWPTTFGAGTKLELKR
206	DVD536H	AB033VH	AB005VH	QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVH WVRQSPGKGLEWLGVIWGGNTDYNTPFTSRLSIN KDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEF FAYWGQGTILVTVSA ASTKGPSVFPLAP EVQLVQSG GGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGK GLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARFSGWPNYYYYGMDV WGQGTITVTVSS
207	DVD536L	AB033VL	AB005VL	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHW YQQRNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTD FTLSINSVESEDIADYYCQNNNNWPTTFGAGTKLE LKR TVAAPSVFIFPP DVVMTQSPLSLPVTGPGEPA ISCRSSQSLLHNGFNVDWYLLQKPGQSPHLLIYF GSYRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCMQALQTPPWTFGQGTKEIRR

30

40

【0803】

実施例 2. 25：リンカー組 3 を用いる E G F R (seq. 2) 及び R O N (seq.

1) DVD-I g の作成

【0804】

【表 80】

表 78

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
208	DVD537H	AB005VH	AB033VH	12345678901234567890123456789012345 EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMH WVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKKYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARFSGWPNN YYYYGMDVWGQGTITVTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQ LKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVHWVR QSPGKGLEWLGVIWSGGNTDYNTPFTSRLSINKDN SKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEFAY WGQGTITVTVSA
209	DVD537L	AB005VL	AB033VL	DVMTQSPSLSPVTPGEPASISCRSSQSLHNSGF NYVDWYLQKPGQSPHLLIYFGSYRASGVDPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPPWTFG QGTKVEIRR TVAAP DILLTQSPVILSVSPGERVSF SCRASQSIGTNIHWYQQRNGSPRLLIKYASESIS GIPSRFSGSGSGTDFTLINSVESEDIADYYCQQN NNWPTTFGAGTKLELKR
210	DVD538H	AB033VH	AB005VH	QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVH WVRQSPGKGLEWLGVIWSGGNTDYNTPFTSRLSIN KDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEFAY WGQGTITVTVS AASTKGPSVFPLAPE VQLVQSG GGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGK GLEWVAVISYDGSNKKYADSVKGRFTISRDNKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARFSGWPNNYYYYGMDV WGQGTITVTVSS
211	DVD538L	AB033VL	AB005VL	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHW YQQRNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTD FTLINSVESEDIADYYCQQNNWPTTFGAGTKLE LKR TVAAP DVMTQSPSLSPVTPGEPASISCRSSQ SLHNSGFNYVDWYLQKPGQSPHLLIYFGSYRASG VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQAL QTPPWTFGQGTKVEIRR

10

20

【0805】

実施例 2. 26 : リンカー組 4 を用いる E G F R (s e q . 2) 及び R O N (s e q .

1) D V D - I g の作成

【0806】

30

【表 8 1】

表 79

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
212	DVD539H	AB005VH	AB033VH	EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMH WVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARFSGWPNN YYYYGMDVWGQGTITVTVSS ASTKGP QVQLKQSGPG LVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGL EWLGVIWSGGNTDYNTPFTSRLSINKDNSKQVFF KMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEFAYWGQGTITV TVSA
213	DVD539L	AB005VL	AB033VL	DVVMTQSPSLPVTTPGEPASISCRSSQSLLSHNGF NYVDWYLQKPGQSPHLLIYFGSYRASGVDPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCMQALQTPPWTFG QGTKVEIRR TVAAPSVFI FPDILLTQSPVILSVS PGERVSFSCRASQSIGTNIHWYQQRNGSPRLLIK YASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLINSVESEDI DYCQNNNNWPTTFGAGTKLELKR
214	DVD540H	AB033VH	AB005VH	QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVH WVRQSPGKGLEWLGVIWSGGNTDYNTPFTSRLSIN KDNSKQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEF FAYWGQGTITVTVSA ASTKGP EVQLVQSGGGLVKPG GSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAV ISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCARFSGWPNNYYYYGMDVWGQGTITV TVSS
215	DVD540L	AB033VL	AB005VL	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHW YQQRNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTD FTLSINSVESEDIADYDQNNNNWPTTFGAGTKLE LKR TVAAPSVFI FPDVMVTQSPSLPVTTPGEPAS ISCRSSQSLLSHNGFNKYVDWYLQKPGQSPHLLIYF GSYRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVG VYCMQALQTPPWTFGQGTKVEIRR

10

20

【0807】

実施例 2. 27 : E G F R (s e q . 1) 及び H G F (s e q . 1) DVD - I g の作
成

【0808】

30

【表 8 2】

表 80

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
216	DVD025H	AB033VH	AB012VH	12345678901234567890123456789012345 QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVH WVRQSPGKGLEWLGVIWSSGNTDYNTPFTSRLSIN KDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYDYE FAYWGQGTILVTVSA ASTKGP QVQLVESGGGLVKPG GSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCARDEYNSGWYVLFDYWGQGTILVTV SS
217	DVD025L	AB033VL	AB012VL	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHW YQQRNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTD FTLSINSVESEDIADYYCQNNNWPTTFGAGTKLE LKR TVAAP DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQ GISSWLAWYQKPKGAPNLLIYEASSLQSGVPSRF GGSGSGTDFTLTISSLPEDFATYYCQANGFPWT FGQGTKVEIKR
218	DVD026H	AB012VH	AB033VH	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMS WIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDEYNSGW YVLFDYWGQGTILVTVSS ASTKGP QVQLKQSGPGLV QPSQSLITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLEW LGVIWSSGNTDYNTPFTSRLSINKDNSKSQVFFKM NSLQSNDAIYYCARALTYDYDYEFAFWGQGTILVTV SA
219	DVD026L	AB012VL	AB033VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGISSWLAW YQKPKGAPNLLIYEASSLQSGVPSRFGGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQANGFPWTFGQGTKVE IKR TVAAP DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQ SIGTNIHWYQQRNGSPRLLIKYASESISGIPSRF SGSGSGTDFTLINSVESEDIADYYCQNNNWPTT FGAGTKLELKR

10

20

【0809】

実施例 2. 28 : E G F R (s e q . 2) 及び c - M E T DVD - I g の作成

【0810】

【表 8 3】

表 81

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
220	DVD027H	AB033VH	AB013VH	12345678901234567890123456789012345 QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVH WVRQSPGKGLEWLGVIWSSGNTDYNTPFTSRLSIN KDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYDYE FAYWGQGTILVTVSA ASTKGP QVQLQSGPELVRPG ASVKWNSCPASGYTFTSYWLHWVKQRPGGLEWIG MIDPSNSDTRFNPPNFKDKATLNVDRSSNTAYNLL SSLTSADSAVYYCATYGSYVSPLDYWGQGTSVYVS S
221	DVD027L	AB033VL	AB013VL	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHW

30

40

				YQQRNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTD FTLSINSVESEDIADYYCQNNNWPPTFGAGTKLE LKR TVAAP DIMMSQSPSSLTVSVGEKVTVSCSSQ SLLVTSQKNYLAWYQKPKQSPKLLIYWASTRES GVPDRFTGSGSGTDFTLTITSVKADDLAVYYCQY YAYPWTFGDKLEIKR
222	DVD028H	AB013VH	AB033VH	QVQLQQSGPELVPRPGASVKWSCPASGYTFTSYWLH WVKKQRPQGQLEWIGMIDPSNSDTRFNPPNFKDKA TLNVDRSSNTAYNLLSSLTSADSAVYYCATYGSYV SPLDYWGQTSVYVSS ASTKGP QVQLKQSGPGLVQ PSQSLTITCTVSGFSLTNYGVHWRQSPGKLEWL GVIWSSGNTDYNTPFTSRLSINKDNSKSQVFFKMN SLQSNDAIYYCARALTYDYEFAYWGQGLVTVS A
223	DVD028L	AB013VL	AB033VL	DIMMSQSPSSLTVSVGEKVTVSCSSQSLLVTSQ KNYLAWYQKPKQSPKLLIYWASTRESGVPDRFTG SGSGTDFTLTITSVKADDLAVYYCQYAYPWTFG DGTKLEIKR TVAAP DILLTQSPVILSVSPGERVSF SCRASQSIGTNIHWYQQRNGSPRLLIKYASESIS GIPSRFSGSGSGTDFTLINSINSVESEDIADYYCQNN NNWPPTFGAGTKLEIKR

10

【0811】

実施例 2. 29 : HER-2 (seq. 1) 及び IGF1, 2 DVD-Ig の作成

【0812】

【表 84】

表 82

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
224	DVD029H	AB004VH	AB010VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIH WVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFY AMDYWGQGLTVTVSS ASTKGP QVQLVQSGAEVKKP GASVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQATGQGLEWMG WMNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRNTSISTAYMELS SLRSED TAVYYCARDPYYYYYGMVDVWGQGLTVTVS S
225	DVD029L	AB004VL	AB010VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFVSGVPSRFSGSRSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQHHYTPPTFGQGTKEV IKR TVAAP QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSS NIENNHVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSPGIPDR FSGSKGT SATLGITGLQTGDEADYYCETWDTSL AGRVFGGGTKLTVLG
226	DVD030H	AB010VH	AB004VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDIN WVRQATGQGLEWMGWMNPNSGNTGYAQKFQGRVTM TRNTSISTAYMELSSLRSED TAVYYCARDPYYYYY GMDVWGQGLTVTVSS ASTKGP EVQLVESGGGLVQ PGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWRQAPGKGLEWVA RIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMN SLRAED TAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLTVTVS S
227	DVD030L	AB010VL	AB004VL	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIENNHVS WYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSPGIPDRFSGSKSGT SATLGITGLQTGDEADYYCETWDTSLAGRVFGGG TKLTVLG QPKAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFVSG VPSRFSGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQHHY TTPPTFGQGTKEIKR

20

30

40

【0813】

実施例 2. 30 : HER-2 (seq. 1) 及び IGF1R DVD-Ig の作成

【0814】

【表 8 5】

表 83

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
228	DVD031H	AB004VH	AB011VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTTLVTVSS ASTKGP EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSSYAMNWVRQAPGKGLEWVS AISGSGGTTFYADSVKGRFTISRDN SRTTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAKDLGWSDSY YYYGMDVWGQGT
229	DVD031L	AB004VL	AB011VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQKPGKAPKLLIYSASF L YSGVPSRFSGRSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKR TVAAP DIQMTQFPSSLSASVGDRVTITCRASQ GIRNDLGWYQKPGKAPKRLIYAASRLHRGVPSRFSGSGSGTEFTLTIS SLQPEDFATYYCLQHNSYPCSFQGTKLEIKR
230	DVD032H	AB011VH	AB004VH	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSSYAMNWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGTTFYADSVKGRFTISRDN SRTTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAKDLGWSDSY YYYGMDVWGQGTTLVTVSS ASTKGP EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTTLVTVSS
231	DVD032L	AB011VL	AB004VL	DIQMTQFPSSLSASVGDRVTITCRASQ GIRNDLGWYQKPGKAPKRLIYAASRLHRGVPSRFSGSGSGTEFTLTIS SLQPEDFATYYCLQHNSYPCSFQGTKLEIKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ DVNTAVAWYQKPGKAPKLLIYSASF L YSGVPSRFSGSRSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKR

10

20

【0 8 1 5】

実施例 2. 3 1 : R O N (s e q . 1) 及び H G F (s e q . 1) D V D - I g の作成

【0 8 1 6】

【表 8 6】

表 84

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
232	DVD033H	AB005VH	AB012VH	EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARFSGWPNNY YYYGMDVWGQGTTLVTVSS ASTKGP QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCARDEYNSGWYVLFDYWGQGTTLVTVSS
233	DVD033L	AB005VL	AB012VL	DVVTQSPSLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSHNGFN YVDWYLQKPGQSPHLLIYFGSYRASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPPWTFGQGTKVEIRR TVAAP DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQKPGKAPNLLIYEASSLQSGVPSRFGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQA NGFPWTFGQGTKVEIKR
234	DVD034H	AB012VH	AB005VH	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCARDEYNSGWYVLFDYWGQGTTLVTVSS ASTKGP EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARFSGWPNNY YYYGMDVWGQGTTLVTVSS

30

40

50

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
235	DVD034L	AB012VL	AB005VL	123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345 DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGIISSWLAW YQQKPGKAPNLLIYEASLQSGVPSRFGSGSGSTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQANGFPWTFGQGTKVE IKR TVAAP DVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQ SLLHSNGFNVDWYLQKPGQSPHLLIYFGSYRASG VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQAL QTPPWTFGQGTKVEIRR

【0817】

10

実施例 2. 32 : VEGF (seq. 1) 及び EGFR (seq. 2) DVD-I g の作成

【0818】

【表 87】

表 85

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
236	DVD035H	AB014VH	AB033VH	123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYYS SHWYFDVWGQGTLLVTVSS ASTKG QVQLKQSGPGL VQPSQSLISITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLE WLGVIWSGGNTDYNTPFTSRLSINKDNSKSKQVFFK MNSLQSNDAIYYCARALTYDYEFAYWGQGTLLV VSA
237	DVD035L	AB014VL	AB033VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIIYFTSSLSHSGVPSRFGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKVE IKR TVAAP DIIILTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQ SIGTNIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRF SGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQNNNWPTT FGAGTKLELKR
238	DVD036H	AB033VH	AB014VH	QVQLKQSGPGLVQPSQSLISITCTVSGFSLTNYGVH WVRQSPGKGLEWLGVIWSGGNTDYNTPFTSRLSIN KDNSKSKQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEF FAYWGQGTLLVTVSA ASTKG FEVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKGLEWVGW INTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKSTAYLQMNS LRAEDTAVYYCAKYPHYYS SHWYFDVWGQGTLLVTVSS
239	DVD036L	AB033VL	AB014VL	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHW YQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTD FTLSINSVESEDIADYYCQQNNNWPTTFGAGTKLE LKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCSASQ DISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLSHSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSTVPWT FGQGTKVEIKR

20

30

【0819】

40

実施例 2. 33 : VEGF (seq. 1) 及び HER-2 (seq. 1) DVD-I g の作成

【0820】

【表 88】

表 86

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
240	DVD037H	AB014VH	AB004VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYYS SHWYFDVWGQGTLLTVSS ASTKGPE VQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLE WVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYL

				QMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLLV TVSS
241	DVD037L	AB014VL	AB004VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIIYFTSSLSHSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKVE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQ DVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPSRF SGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPT FGQGTKVEIKR
242	DVD038H	AB004VH	AB014VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHW WVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFY AMDYWGQGTLLTVSS ASTKGPE VQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKGLEWVG WINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKSTAYLQMN SLRAEDTAVYYCAKYPHYYS SHWYFDVWGQGTLLV TVSS
243	DVD038L	AB004VL	AB014VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDVNTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPSRFSGSRSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQ DISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLSHSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSTVPWT FGQGTKVEIKR

10

20

【0821】

実施例 2. 34 : VEGF (seq. 1) 及び CD-20 DVD-Ig の作成

【0822】

【表 89】

表 87

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
244	DVD039H	AB014VH	AB001VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYHYS SHWYFDVWGQGTLLTVSS ASTKGP QVQLQPGAE VKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGRGLE WIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYM QLSSLTSEDSAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTT VTVSA
245	DVD039L	AB014VL	AB001VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKE IKR TVAAP QIVLSQSPAILSPSPGKVTMTCRASS SVSYIHWFQQKPGSSPKPWIYATSNLASGVVPRFS GSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWTSNPPTF GGGTKLEIKR
246	DVD040H	AB001VH	AB014VH	QVQLQPGAEELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMH WVKQTPGRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATL TADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSTYYGGD WYFNVWGAGTTVTVSA ASTKGP EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNHWVRQAPGKLEWV GWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKSTAYLQM NSLRAEDTAVYYCAKYPHYHYS SHWYFDVWGQGTLLTVSS
247	DVD040L	AB001VL	AB014VL	QIVLSQSPAILSPSPGKVTMTCRASSSVSYIHWF QQKPGSSPKPWIYATSNLASGVVPRFSGSGSGTSY SLTISRVEAEDAATYYCQQWTSNPPTFGGTKLEI KR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCSASQD ISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYSTVPWTF GQGTKEIKR

10

20

【0823】

実施例 2. 35 : VEGF (seq. 1) 及び IGF 1, 2 DVD-Ig の作成

【0824】

【表 90】

表 88

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345
248	DVD041H	AB014VH	AB010VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYYS SHWYFDVWGQGTTLTVSS ASTKGP QVQLVQSGAEV KKPGASVKVSCASGYTFTSYDINWVRQATGQGLE WMGWMNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRNTSISTAYM ELSSLRSED TAVYYCARDPYYYYYGMVWGQGT TV TVSS
249	DVD041L	AB014VL	AB010VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIIYFTSSSLHSGVPSRFGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKE IKR TVAAP QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSS NIENNHSVWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDR FSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCETWDTSL AGRVFGGGTKLTVLG
250	DVD042H	AB010VH	AB014VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYDIN WVRQATGQGLEWMGWMNPNSGNTGYAQKFQGRVTM TRNTSISTAYMELSSLRSED TAVYYCARDPYYYYY GMDVWGQGT TVTVSS ASTKGP EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKGLEWVG WINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKSTAYLQMN SLRAEDTAVYYCAKYPHYYS SHWYFDVWGQGT TLV TVSS
251	DVD042L	AB010VL	AB014VL	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIENNHSV WYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSKSGT SATLGITGLQTGDEADYYCETWDTSLSAGRVFGGG TKLTVLG QPKAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRTTIT CSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSSLHSG VPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYS TVPWTFGQGTKEIKR

10

20

【0825】

実施例 2. 36 : VEGF (seq. 1) 及び DLL4 (seq. 1) DVD-I g の
作成

【0826】

30

【表 91】

表 89

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345
252	DVD043H	AB014VH	AB015VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYYS SHWYFDVWGQGTTLTVSS ASTKGP EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGFTFTDNWISWVRQAPGKGLE WVGYISPNSGFTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYL QMNSLRAEDTAVYYCARDNFGGYFDYWGQGT TLVTV SS
253	DVD043L	AB014VL	AB015VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIIYFTSSSLHSGVPSRFGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRASQ DVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYTGTV TFGQGTKEIKR
254	DVD044H	AB015VH	AB014VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDNWIS WVRQAPGKGLEWVGYISPNSGFTYYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARDNFGGYF DYWGQGT TLVTVSS ASTKGP EVQLVESGGGLVQPGG

40

				SLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYYGSSHWFYFDVWGQGTIVTVSS
255	DVD044L	AB015VL	AB014VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYTGTVTFGQGTKVEIKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKVEIKR

【0827】

10

実施例 2. 37: リンカー組 1 を用いる VEGF (seq. 1) 及び HGF (seq.

1) DVD-I g の作成

【0828】

【表 92】

表 90

配列番号	DVD可変ドメイン名	外側可変ドメイン名	内側可変ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
256	DVD045H	AB014VH	AB012VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGSSHWFYFDVWGQGTIVTVSS ASTKGP QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDEYNSGWYVLFDYWGQGTIVTVSS
257	DVD045L	AB014VL	AB012VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKVEIKR TVAAP DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPNLLIYEASSLQSGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANGFPWTFGQGTKVEIKR
258	DVD046H	AB012VH	AB014VH	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDEYNSGWYVLFDYWGQGTIVTVSS ASTKGPEV QLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYYGSSHWFYFDVWGQGTIVTVSS
259	DVD046L	AB012VL	AB014VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPNLLIYEASSLQSGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANGFPWTFGQGTKVEIKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKVEIKR

20

30

【0829】

40

実施例 2. 38: リンカー組 2 を用いる VEGF (seq. 1) 及び HGF (seq.

1) DVD-I g の作成

【0830】

【表 9 3】

表 91

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
260	DVD641H	AB012VH	AB014VH	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDDYMS WIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDEYN SGW YVLFDYWGQGTTLVTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLV ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQA PGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTS

10

				KSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGSSHWYF DVWGQGTTLVTVSS
261	DVD641L	AB012VL	AB014VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLAW YQQKPGKAPNLLIYEASSLQSGVPSRFGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQANGFPWTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRVIT ITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLH SGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ YSTVPWTFGQGTKVEIKR
262	DVD642H	AB014VH	AB012VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGS SHWYFDVWGQGTTLVTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQL VESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDDYMSWIRQ APGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDEYNSGWYVLF DYWGQGTTLVTVSS
263	DVD642L	AB014VL	AB012VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSVSASVGDRVIT ITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPNLLIYEASSLQ SGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ ANGFPWTFGQGTKVEIKR

20

【0 8 3 1】

実施例 2. 3 9 : リンカー組 3 を用いる V E G F (s e q . 1) 及び H G F (s e q .

1) DVD-I g の作成

【0 8 3 2】

30

【表 9 4】

表 92

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
264	DVD647H	AB012VH	AB014VH	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMS WIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDEYNSGW YVLFDYWGQGTTLVTVSS ASTKGPSVFPLAPE VQLV ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQA PGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTS KSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYYGSSHWYF DVWGQGTTLVTVSS
265	DVD647L	AB012VL	AB014VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAW YQQKPGKAPNLLIYEASSLQSGVPSRFGSGSGSTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQANGFPWTFGQGTKVE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQ DISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSTVPWT FGQGTKVEIKR
266	DVD648H	AB014VH	AB012VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYYS SHWYFDVWGQGTTLVTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQL VESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQ APGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDEYNSGWYVLF DYWGQGTTLVTVSS
267	DVD648L	AB014VL	AB012VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFGSGSGSTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKVE IKR TVAAP DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQ GISSWLAWYQQKPGKAPNLLIYEASSLQSGVPSRF GGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANGFPWT FGQGTKVEIKR

10

20

【0833】

実施例 2. 40 : リンカー組 4 を用いる VEGF (seq. 1) 及び HGF (seq. 1) DVD-I g の作成

【0834】

30

【表 9 5】

表 93

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
268	DVD653H	AB012VH	AB014VH	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMS WIRQAPGKGLEWVSYYSSSGSTIYYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDEYNSGW YVLFYDWGQGTTLVTVSS ASTKGPE VQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKGLEW VGWINTYTGEPTYAADFKRRTFSLDTSKSTAYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGYSSHWYFDVWGQGT LTVVSS
269	DVD653L	AB012VL	AB014VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGIISSWLAW YQQKPGKAPNLLIYEASSLQSGVPSRFGSGSGGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQANGFPWTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRVIT ITCSAQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLH SGVPSRFGSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ YSTVPWTFGQGTKVEIKR
270	DVD654H	AB014VH	AB012VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYYS SHWYFDVWGQGTTLVTVSS ASTKGPE VQLVESGGGL VKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLE WVSYYSSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCARDEYNSGWYVLFYDWGQGT LTVVSS
271	DVD654L	AB014VL	AB012VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSAQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFGSGSGGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQYSTVPWTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSVSASVGDRVIT ITCRASQGIISSWLAWYQQKPGKAPNLLIYEASSLQ SGVPSRFGSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ ANGFPWTFGQGTKVEIKR

10

20

【0 8 3 5】

実施例 2. 4 1 : V E G F (s e q . 1) 及び R O N (s e q . 1) DVD-I g の作
成

【0 8 3 6】

30

【表 9 6】

表 94

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
272	DVD047H	AB014VL	AB005VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYYS SHWYFDVWGQGTTLVTVSS ASTKGPE VQLVQSGGGL VKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLE WVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARFSGWPNNYYYYGMDVWGQ GTTVTVSS
273	DVD047L	AB014VH	AB005VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSAQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFGSGSGGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQYSTVPWTFGQGTKVE IKR TVAAP DVVMQSPSLPVTPEGEPASISCRSSQ SLLHNGFNVDWYLQKPGQSPHLLIYFGSYRASG VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQAL QTPPWTFGQGTKVEIRR
274	DVD048H	AB005VH	AB014VL	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMH WVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTI SRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARFSGWPNN YYYYGMDVWGQGTTLVTVSS ASTKGPE VQLVESGGG LVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKGL EWVGWINTYTGEPTYAADFKRRTFSLDTSKSTAY

40

50

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345 LQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYYGSSHWYFDVWGQ GTLTVSS
275	DVD048L	AB005VL	AB014VH	DVVMTQSPSLPVPTPGEPASISCRSSQSLHNSGF NYVDWYLQKPGQSPHLLIYFGSYRASGVPDRFSGS SGTDFTLKISRVEAEDVGYYCMQALQTPPWTFG QGKTKEIRRTVAAPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQY STVPWTFGQGTKEIKR

10

【0837】

実施例 2. 42 : VEGF (seq. 1) 及び NPP1 (seq. 1) DVD-Ig の作成

【0838】

【表 97】

表 95

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYYS SHWYFDVWGQGTTLTVSSASTKGPEVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGFSFSSEPISWVRQAPGKGLE WVSSITGKNGYTYADSVKGRFTISADTSKNTAYL QMNSLRAEDTAVYYCARWGKKVYGMVWGQGTTLTV VSS
276	DVD049H	AB014VH	AB016VH	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQYSTVPWTFGQGTKEI KRVAAPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCRASQ SISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSRASGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQYMSVPIT FGQGTKEIKR
277	DVD049L	AB014VL	AB016VL	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSSEPI WVRQAPGKGLEWVSSITGKNGYTYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGKKVY MDVWGQGTTLTVSSASTKGPEVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKLEWVGW INTYTGEPTYAADFKRRFTSLDTSKSTAYLQMN SLRAEDTAVYYCAKYPHYYGSSHWYFDVWGQGTTLTV VSS
278	DVD050H	AB016VH	AB014VH	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCRASQSISSYLAW YQQKPGKAPKLLIYGASSRASGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQYMSVPITFGQGTKEI KRVAAPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCSASQ DISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQYSTVPWT FGQGTKEIKR
279	DVD050L	AB016VL	AB014VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCRASQSISSYLAW YQQKPGKAPKLLIYGASSRASGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQYMSVPITFGQGTKEI KRVAAPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCSASQ DISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQYSTVPWT FGQGTKEIKR

20

30

40

【0839】

実施例 2. 43 : HGF (seq. 1) 及び RON (seq. 2) DVD-Ig の作成

【0840】

【表 98】

表 96

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
280	DVD073H	AB034VH	AB012VH	12345678901234567890123456789012345 QVQLQESGPGGLVKPSEILSLTCTVSGGSISSHYWS WVRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLNLSVTAADTAVYYCARIPNYYDRS GYYPGYWYFDLWGRGTLVTVSS ASTKGP QVQLVES

				GGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPG KGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKN SLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDEYNCGWYVLFDYW QGGLVTVSS
281	DVD073L	AB034VL	AB012VL	QAVLTQPSSLSAPPGASASLTCTLRSGFNVDYSYRI SWYQQKPGSPPQYLLRYKSDSDKQQGSGVPSRFSG SKDASANAGILLISGLQSEDEADYYCMIWHSSAWV FGGGTKLTVLR TVAAP DIQMTQSPSSVSASVGD RVTITCRASQGIISSWLAWYQQKPGKAPNLLIYEASSL QSGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QANGFPWTFGGGTKVEIKR
282	DVD074H	AB012VH	AB034VH	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMS WIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDEYNCGW YVLFDYWGQGTLVTVSS ASTKGP QVQLQESGPGLV KPSEILSLTCTVSGGSISSHYWSWVRQPPGKGLEW IGYIYYSGSTNYPNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLNL SSVTAADTAVYYCARIPNYYDRSGYYPGYWYFDLW GRGTLVTVSS
283	DVD074L	AB012VL	AB034VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGIISSWLAW YQQKPGKAPNLLIYEASSLQSGVPSRFGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQANGFPWTFGGGTKVE IKR TVAAP QAVLTQPSSLSAPPGASASLTCTLRSG FNVDYSYRISWYQQKPGSPPQYLLRYKSDSDKQQGS GVPSRFGSGKDSANAGILLISGLQSEDEADYYCM IWHSSAWVFGGGTKLTVLR

10

20

【0841】

実施例 2. 44 : E G F R (s e q . 2) 及び R O N (s e q . 2) D V D - I g の作
成

【0842】

30

【表 99】

表 97

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
284	DVD075H	AB034VH	AB033VH	12345678901234567890123456789012345 QVQLQESGPGGLVKPSEILSLTCTVSGGSISSHYWS WVRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLNLSSVTAADTAVYYCARIPNYYDRS GYYPGYWYFDLWGRGTLVTVSS ASTKGP QVQLKQS GPGLVQPSQSL SITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPG KGLEWLGVIWSSGNTDYNTPFTSRLSINKDNSKSQ VFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEFAYWGQG TLVTVSA
285	DVD075L	AB034VL	AB033VL	QAVLTQPSSLSAPPGASASLTCTLRSGFNVDYRI SWYQQKPGSPPQYLLRYKSDSDKQQGSGVPSRFSG SKDASANAGILLISGLQSEDEADYYCMIWHSSAWV FGGGTKLTVLR TVAAP DILLTQSPVILSVSPGERV SFSCRASQSIGTNIHWYQQRTNGSPRLLIKYASES ISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQ QNNNWPTTFGAGTKLELKR
286	DVD076H	AB033VH	AB034VH	QVQLKQSGPGLVQPSQSL SITCTVSGFSLTNYGVH WVRQSPGKGLEWLGVIWSSGNTDYNTPFTSRLSIN KDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEF FAYWGQGTILVTVSA ASTKGP QVQLQESGPGGLVKPS EILSLTCTVSGGSISSHYWSWVRQPPGKGLEWIGY IYYSGSTNYPNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLNLSSV TAADTAVYYCARIPNYYDRSGYYPGYWYFDLWGRG TLVTVSS
287	DVD076L	AB033VL	AB034VL	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHW YQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTD FTLSINSVESEDIADYYCQNNNWPTTFGAGTKLE LKR TVAAP QAVLTQPSSLSAPPGASASLTCTLRSG FNVDYRISWYQQKPGSPPQYLLRYKSDSDKQQGS GVPSRFSGSKDASANAGILLISGLQSEDEADYYCM IWHSSAWVFGGGTKLTVLR

10

20

【0843】

実施例 2. 45 : VEGF (seq. 1) 及びRON (seq. 2) DVD-Ig の作
成

【0844】

30

【表 100】

表 98

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
288	DVD077H	AB034VH	AB014VH	12345678901234567890123456789012345 QVQLQESGPGGLVKPSEILSLTCTVSGGSISSHYWS WVRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYPNPSLKSRTIS VDTSKNQFSLNLSSVTAADTAVYYCARIPNYYDRS GYYPGYWYFDLWGRGTLVTVSS ASTKGP EVQLVES GGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPG KGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKS TAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGSSHWYFDV WGQGTLVTVSS
289	DVD077L	AB034VL	AB014VL	QAVLTQSPSSLSAPPGASASLTCTLRSGFNVDYSYRI SWYQQKPGSPPQYLLRYKSDSDKQQGSGVPSRFSG SKDASANAGILLISGLQSEDEADYYCMIWHSSAWV FGGGTKLTVLR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGRV TITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSL HSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ QYSTVPWTFGQGTKVEIKR
290	DVD078H	AB014VH	AB034VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGS SHWYFDVWGQGTLVTVSS ASTKGP QVQLQESGPG LVPSEILSLTCTVSGGSISSHYWSWVRQPPGKGLE WIGYIYYSGSTNYPNPSLKSRTISVDTSKNQFSLN LSSVTAADTAVYYCARIPNYYDRSGYYPGYWYFDL WGRGTLVTVSS
291	DVD078L	AB014VL	AB034VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQYSTVPWTFGQGTKVE IKR TVAAP QAVLTQSPSSLSAPPGASASLTCTLRSG FNVDYSYRIWYQQKPGSPPQYLLRYKSDSDKQQGS GVPSRFSGSKDASANAGILLISGLQSEDEADYYCM IWHSSAWVFGGGTKLTVLR

10

20

【0845】

実施例 2. 46 : EGF R (seq. 2) 及び HER-2 (seq. 1) DVD-I g
の作成

【0846】

30

【表 101】

表 99

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
292	DVD079H	AB003VH	AB004VH	12345678901234567890123456789012345 QVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGVSVDYY WTWIRQSPGKGLEWIGHIYYSGNTNYPNPSLKSRLT ISIDTSKTQFSLKLSSVTAADTAIYYCVRDRVTGA FDIWGQGTMTVTVSS ASTKGP EVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVAR IYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNS LRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS
293	DVD079L	AB003VL	AB004VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCQASQDISNYLNW YQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTD FTFTISSLPEDIATYFCQHFHDLPLAFGGGKVE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQ DVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRF SGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQHYHTPPT FGQGTKVEIKR
294	DVD080H	AB004VH	AB003VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIH WVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFY AMDYWGQGTLVTVSS ASTKGP QVQLQESGPGGLVKP

40

				SETLSLTCTVSGGSVSSGDYYWTWIRQSPGKGLEW IGHIYYSGNTNYPNPSLKSRLTISIDTSKTQFSLKL SSVTAADTAIYYCVRDRVTGAFDIWGQGTMTVTVSS
295	DVD080L	AB004VL	AB003VL	DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCRASQDVNTAVAW YQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPSRFSRSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCQASQ DISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRF SGSGSGTDFTFTISSLQPEDATYFCQHFDHPLA FGGKTKVEIKR

【0847】

実施例 2. 47 : E G F R (s e q . 1) 及び C D 3 (s e q . 1) D V D - I g の作 10
成

【0848】

【表 102】

表 100

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
296	DVD081H	AB003VH	AB002VH	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSVSSGDYY WTWIRQSPGKGLEWIGHIYYSGNTNYPNPSLKSRLT ISIDTSKTQFSLKLSSVTAADTAIYYCVRDRVTGA FDIWGQGTMTVTVSS ASTKGP QVQLQSGAELARPG ASVKMSCKASGYTFTRYTMHWVKQRPGQGLEWIGY INPSRGYTNYNQKFKDKATLTDDKSSSTAYMQLSS LTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLTVSS
297	DVD081L	AB003VL	AB002VL	DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCQASQDISNYLNW YQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSRSGSGTD FTFTISSLQPEDATYFCQHFDHPLAFGGGTKE IKR TVAAP QIVLTQSPAIMASAPGKVTMTCRASS SVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPRFS SGSGSGTSYSLTISSEAEADAATYYCQQWSSNPLTF GSGTKLEINR
298	DVD082H	AB002VH	AB003VH	QVQLQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRYTMH WVKQRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATL TDDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYC LDYWGQGTTLTVSS ASTKGP QVQLQESGPGLVKPS ETLSLTCTVSGGSVSSGDYYWTWIRQSPGKGLEWI GHIYYSGNTNYPNPSLKSRLTISIDTSKTQFSLKLS SVTAADTAIYYCVRDRVTGAFDIWGQGTMTVTVSS
299	DVD082L	AB002VL	AB003VL	QIVLTQSPAIMASAPGKVTMTCRASSSVSYMNWY QQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPRFSRSGSGTSY SLTISSEAEADAATYYCQQWSSNPLTFGSGTKLEI NR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCQASQD ISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFS SGSGSGTDFTFTISSLQPEDATYFCQHFDHPLAF GGGTKEIKR

【0849】

実施例 2. 48 : E G F R (s e q . 1) 及び I G F 1 R D V D - I g の作成

【0850】

【表 103】

表 101

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
300	DVD083H	AB003VH	AB011VH	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSVSSGDYY WTWIRQSPGKGLEWIGHIYYSGNTNYPNPSLKSRLT ISIDTSKTQFSLKLSSVTAADTAIYYCVRDRVTGA FDIWGQGTMTVTVSS ASTKGPE VQLLESGGGLVQPG GSLRLSCTASGFTFSSYAMNWRQAPGKGLEWVSA ISGSGGTTFYADSVKGRFTISRDNRSRTTLYLQMNS LRAEDTAVYYCAKDLGWSDSYYYYYGMDVWGQGT TVTVSS
301	DVD083L	AB003VL	AB011VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNW

10

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
				YQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTD FTFTISSLQPEDATYFCQHFHDLPLAFGGGKVE IKR TVAAP DIQMTQFPSSLSASVGDRVTITCRASQ GIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASRLHRGVPSRF SGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPCS FGQGTKLEIKR
302	DVD084H	AB011VH	AB003VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSSYAMN WVRQAPGKGLEWVSAISGSGGTTFYADSVKGRFTI SRDNRSRTTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDLGWSDS YYYYYGMDVWGQGTTVTVSS ASTKGP QVQLQESGP GLVKPSETLSLTCTVSGGSVSSGDYYWTWIRQSPG KGLEWIGHIYYSGNTNYPNPSLKSRLTISIDTSKTQ FSLKLSSVTAADTAIYYCVRDRVTGAFDIWGQGT MTVTVSS
303	DVD084L	AB011VL	AB003VL	DIQMTQFPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGW YQQKPGKAPKRLIYAASRLHRGVPSRFSGSGSGTE FTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPCSFQGTKLE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQ DISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRF SGSGSGTDFTFTISSLQPEDATYFCQHFHDLPLA FGGKTKVEIKR

20

30

【0851】

実施例 2. 49 : E G F R (s e q . 1) 及び R O N (s e q . 1) D V D - I g の作
成

【0852】

【表 104】

表 102

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
304	DVD085H	AB003VH	AB005VH	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSVSSGDYY WTWIRQSPGKGLEWIGHIYYSGNTNYPNPSLKSRLT ISIDTSKTQFSLKLSSVTAADTAIYYCVRDRVTGA FDIWGQGTMTVTVSS ASTKGPE VQLVQSGGGLVKPG GSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAV ISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCARFSGWPNYYYYGMDVWGQGTTV TVSS
305	DVD085L	AB003VL	AB005VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNW YQKPGKAPKLLIYDASNLETGVP SRFGSGSGTD FTFTISSLQPEDIATYFCQHFDHLPLAFGGGTKVE IKR TVAAP DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQ SLLHSGNFNYVDWYLQKPGQSPHLLIYFGSYRASG VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQAL QTPPWTFGQGTKEIRR
306	DVD086H	AB005VH	AB003VH	EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMH WVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTI SRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARFSGWPN YYYYGMDVWGQGTTVTVSS ASTKGPE VQLQESGPG LVKPSSETLSLTCTVSGGSVSSGDYYWTWIRQSPGK GLEWIGHIYYSGNTNYPNPSLKSRLTISIDTSKTQF SLKLSSVTAADTAIYYCVRDRVTGAFDIWGQGTMTV TVSS
307	DVD086L	AB005VL	AB003VL	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSGNF NYVDWYLQKPGQSPHLLIYFGSYRASGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPPWTFG QGTKEIRR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCQASQDISNYLNWYQKPGKAPKLLIYDASNLET GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYFCQHF DHLPLAFGGGTKVEIKR

10

20

【0853】

実施例 2. 50 : EGFR (seq. 1) 及び RON (seq. 2) DVD-I g の作成

【0854】

【表 105】

表 103

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
308	DVD087H	AB003VH	AB034VH	QVQLQESGPGGLVVKPSETLSLTCTVSGGSVSSGDYY WTWIRQSPGKGLEWIGHIYYSGNTNYPNPSLKSRLT ISIDTSKTQFSLKLSSVTAADTAIYYCVRDRVTGA FDIWGQGTMTVTVSS ASTKGP QVQLQESGPGLVKPS EILSLTCTVSGGSISSHYWSWVRQPPGKGLEWIGY IYYSGSTNYPNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLNLSSV TAADTAVYYCARIPNYDRSGYYPGYWYFDLWGRG TLTVTVSS
309	DVD087L	AB003VL	AB034VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQDISNYLNW YQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFGSGSGTD FTFTISSLPEDIATYFCQHFHDLPLAFGGGKVE IKR TVAAP QAVLTQSPSSLSAPPASASLTCTLRSG FNVDSYRISWYQQKPGSPPPQYLLRYKSDSDKQQGS GVPSRFGSKDASANAGILLISGLQSEDEADYYCM IWHSSAWVFGGGTKLTVLR
310	DVD088H	AB034VH	AB003VH	QVQLQESGPGGLVVKPSEILSLTCTVSGGSISSHYWS WVRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLNLSSVTAADTAVYYCARIPNYDRS GYYPGYWYFDLWGRGTLTVTVSS ASTKGP QVQLQES GPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSVSSGDYYWTWIRQS PGKGLEWIGHIYYSGNTNYPNPSLKSRLTISIDTSK TQFSLKLSSVTAADTAIYYCVRDRVTGAFDIWGQG TMTVTVSS
311	DVD088L	AB034VL	AB003VL	QAVLTQSPSSLSAPPASASLTCTLRSGFNVDYRI SWYQQKPGSPPPQYLLRYKSDSDKQQGSGVPSRFG SKDASANAGILLISGLQSEDEADYYCMIWHSSAWV FGGGTKLTVLR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRT ITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLT ETGVPSRFGSGSGTDFTFTISSLPEDIATYFCQ HFDHLPPLAFGGGKVEIKR

10

20

【0855】

実施例 2. 51 : E G F R (s e q . 1) 及び H G F (s e q . 1) DVD-I g の作
成

【0856】

30

【表 106】

表 104

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
312	DVD089H	AB003VH	AB012VH	QVQLQESGPGGLVVKPSETLSLTCTVSGGSVSSGDYY WTWIRQSPGKGLEWIGHIYYSGNTNYPNPSLKSRLT ISIDTSKTQFSLKLSSVTAADTAIYYCVRDRVTGA FDIWGQGTMTVTVSS ASTKGP QVQLVESGGGLVKPG GSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSY ISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYCARDEYNSGWYVLFDYWGQGTITVTV SS
313	DVD089L	AB003VL	AB012VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQDISNYLNW YQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFGSGSGTD FTFTISSLPEDIATYFCQHFHDLPLAFGGGKVE IKR TVAAP DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQ GISSWLAWYQQKPGKAPNLLIYEASSLQSGVPSRF GGSGSGTDFTLTITSSLPEDFATYYCQANGFPWT FGGKTKVEIKR
314	DVD090H	AB012VH	AB003VH	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMS WIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDEYNSGW YVLFDYWGQGTITVTVSS ASTKGP QVQLQESGPGGLV

40

				KPSETLSLTCTVSGGSVSSGDYYWTWIRQSPGKGL EWIGHIYYSGNTNYPNPSLKSRLTISIDTSKTQFSL KLSSVTAADTAIYYCVRDRVTGAFDIWGQGTMTVT SS
315	DVD090L	AB012VL	AB003VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRTTITCRASQGISSWLAW YQQKPGKAPNLLIYEASSLQSGVPSRFGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQANGFPWTFGQGTKE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCQASQ DISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRF SGSGSGTDFTFTISSSLQPEDIATYFCQHFDHLPLA FGGGTKVEIKR

【0857】

10

実施例 2. 52 : EGFR (seq. 1) 及び c-MET DVD-Ig の作成

【0858】

【表107】

表 105

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
316	DVD091H	AB003VH	AB013VH	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSVSSGDYY WTWIRQSPGKGLEWIGHIYYSGNTNYPNPSLKSRLT ISIDTSKTQFSLKLSSVTAADTAIYYCVRDRVTGA FDIWGQGTMTVTSS ASTKGP QVQLQSGPELVRPG ASVKWSCPASGYTFTSYWLHWVKQRPGQGLEWIG MIDPSNSDTRFNPPNFKDKATLNVDRSSNTAYNLL SSLTSADSAVYYCATYGSYVSPLDYWGQGTSVYVS S
317	DVD091L	AB003VL	AB013VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCQASQDISNYLNW YQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFGSGSGTD FTFTISSSLQPEDIATYFCQHFDHLPLAFGGGKVE IKR TVAAP DIMMSQSPSSLTVSVGEKVTVSCKSSQ SLLVTSSQKNYLAWYQQKPGKAPKLLIYWASTRES GVPDRFTGSGSGTDFTLTITTSVKADDLAVYYCQQY YAYPWTFGDKLEIKR
318	DVD092H	AB013VH	AB003VH	QVQLQSGPELVRPGASVKWSCPASGYTFTSYWLH WVKQRPGQGLEWIGMIDPSNSDTRFNPPNFKDKA TLNVDRSSNTAYNLLSSLTSADSAVYYCATYGSYV SPLDYWGQGTSVYVSS ASTKGP QVQLQESGPGLVK PSETLSLTCTVSGGSVSSGDYYWTWIRQSPGKGL WIGHIYYSGNTNYPNPSLKSRLTISIDTSKTQFSLK LSSVTAADTAIYYCVRDRVTGAFDIWGQGTMTVTS S
319	DVD092L	AB013VL	AB003VL	DIMMSQSPSSLTVSVGEKVTVSCKSSQSLLVTSSQ KNYLAWYQQKPGKAPKLLIYWASTRESGVPDRFTG SGSGTDFTLTITTSVKADDLAVYYCQQYAYPWTFG DGTKEIKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRTT ITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLET GVPSRFGSGSGTDFTFTISSSLQPEDIATYFCQHF DHLPLAFGGGKVEIKR

20

30

【0859】

実施例 2. 53 : EGFR (seq. 1) 及び VEGF (seq. 1) DVD-Ig の作成

40

【0860】

【表 108】

表 106

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
320	DVD093H	AB003VH	AB014VH	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSVSSGDYY WTWIRQSPGKGLEWIGHIYYSGNTNYPNPSLKSRLT ISIDTSKTQFSLKLSSVTAADTAIYYCVRDRVTGA FDIWGQGTMTVTVSS ASTKGPE VQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKGLEWVGW

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
				INTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKSTAYLQMNS LRAEDTAVYYCAKYPHYGSSHWYFDVWGQGTILVT VSS
321	DVD093L	AB003VL	AB014VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQDISNYLNW YQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTD FTFTISSLQPEDIATYFCQHFHDLPLAFGGGTKE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCSASQ DISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYFTSSSLHSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQYSTVPWT FGGGTKVEIKR
322	DVD094H	AB014VH	AB003VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGS SHWYFDVWGQGTILVTVSS ASTKGPE VQLQESGPG LVKPSSETLSLTCTVSGGSVSSGDYYWTWIRQSPGK GLEWIGHIYYSGNTNYPNPSLKSRLTISIDTSKTQF SLKLSSVTAADTAIYYCVRDRVTGAFDIWGQGTMT VTVSS
323	DVD094L	AB014VL	AB003VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKLLIYFTSSSLHSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQYSTVPWTFGGGTKE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQ DISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRF SGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYFCQHFHDLPLA FGGGTKVEIKR

10

20

30

【0861】

実施例 2. 54 : NRP1 (seq. 2) 及び VEGF (seq. 1) DVD-Ig の作成

【0862】

【表 109】

表 107

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345
324	DVD107H	AB035VH	AB014VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMS WVRQAPGKGLEWVSQISPAGGYTNYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARELPYYRM SKVMDVQGQGT LVTVSS ASTKGPE EVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKGLEW VGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKSTAYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKYPHYYGSSHWYFDVWGQGT LVTVSS
325	DVD107L	AB035VL	AB014VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCRASQYFSSYLAW YQQKPGKAPKLLIYGASSRASGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQYLGSPPTFGQGTKVE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCSASQ DISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSSLHSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSTVPWT FGQGTKVEIKR
326	DVD108H	AB014VH	AB035VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYYS SHWYFDVWGQGT LVTVSS ASTKGPE EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLE WVSQISPAGGYTNYADSVKGRFTISADTSKNTAYL QMNSLRAEDTAVYYCARELPYYRMSKVM DVQGQGT LVTVSS
327	DVD108L	AB014VL	AB035VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIIYFTSSSLHSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKVE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCRASQ YFSSYLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSRASGVPSRF

10

20

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345
				SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYLGSPPT FGQGTKVEIKR

30

【0863】

実施例 2. 55 : CD3 (seq. 2) 及び CD-20 DVD-Ig の作成

【0864】

【表 1 1 0】

表 108

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
328	DVD131H	AB039VH	AB001VH	12345678901234567890123456789012345 QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRYTMH WVKQRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATL TTDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYC LDYWGGGTTTLTVSS ASTKGP QVQLQQPGAELVKPG ASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGRGLEWIGA IYPNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSS LTSEDSAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTTTVTS A
329	DVD131L	AB039VL	AB001VL	QIVLTQSPAIMASASPGEKVTMTCSASSSVSYMNWY QQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPAPHFRGSGSGTSY SLTISGMEAEDAATYYCQQWSSNPFTFGSGTKLEI NR TVAAP QIVLSQSPAILSPSPGEKVTMTCRASSS VSYIHWYQQKPGSSPKPWIYATSNLASGVPVRFSG SGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQTWSNPFTFG GGTKLEIKR
330	DVD132H	AB001VH	AB039VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMH WVKQTPGRGLEWIGAIYPNGDTSYNQKFKGKATL TADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSTYYGGD WYFNVWGAGTTTVTSA ASTKGP QVQLQQSGAELAR PGASVKMSCKASGYTFTRYTMHWVKQRPGQGLEWI GYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTADKSSSTAYMQL SSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLTVS S
331	DVD132L	AB001VL	AB039VL	QIVLSQSPAILSPSPGEKVTMTCRASSSVSYIHWY QQKPGSSPKPWIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTSY SLTISRVEAEDAATYYCQQTWSNPFTFGGGTKLEI KR TVAAP QIVLTQSPAIMASASPGEKVTMTCSASSS VSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPAPHFRG SGSGTSYSLTISGMEAEDAATYYCQQWSSNPFTFG SGTKLEINR

10

20

【0 8 6 5】

実施例 2. 5 6 : C D - 3 (s e q . 2) 及び H E R - 2 (s e q . 1) D V D - I g
の作成

【0 8 6 6】

30

【表 1 1 1】

表 109

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
332	DVD135H	AB039VH	AB004VH	12345678901234567890123456789012345 QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRYTMH WVKQRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATL TTDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYC LDYWGGGTTTLTVSS ASTKGPEV QLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKLEWVAR IYPTNGYTRYADSVKGRTISADTSKNTAYLQMNS LRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTTLTVSS
333	DVD135L	AB039VL	AB004VL	QIVLTQSPAIMASASPGEKVTMTCSASSSVSYMNWY QQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPAPHFRGSGSGTSY SLTISGMEAEDAATYYCQQWSSNPFTFGSGTKLEI NR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQD VNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPSRFS

40

				GSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKEIKR
334	DVD136H	AB004VH	AB039VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLLTVVSS ASTKGP QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRYTMHWVKQRPQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTDKSSSTAYMQLSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTLLTVSS
335	DVD136L	AB004VL	AB039VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPSRFSRSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKEIKR TVAAP QIVLTQSPAIMASASPGEKVTMTCSASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVP AHFRGSGSGTSYSLTISGMEAEDAATYYCQQWSSNPFTFGSGTKLEINR

10

【 0 8 6 7 】

実施例 2. 57 : C D - 3 (s e q . 2) 及び C D - 1 9 D V D - I g の作成

【 0 8 6 8 】

【 表 1 1 2 】

表 110

配列番号	DVD可変ドメイン名	外側可変ドメイン名	内側可変ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
336	DVD137H	AB039VH	AB006VH	QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRYTMHWVKQRPQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTLLTVSS ASTKGP QVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPQGLEWIGQIWPGDGDNTYNGKFKGKATLTADESSSTAYMQLSSLADEDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTSTVTVSS
337	DVD137L	AB039VL	AB006VL	QIVLTQSPAIMASASPGEKVTMTCSASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVP AHFRGSGSGTSYSLTISGMEAEDAATYYCQQWSSNPFTFGSGTKLEINR TVAAP DILLTQTPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSGSGTDFTLNIHPVEKVDAATYHCQQSTEDPWTFGGCTKLEIKR
338	DVD138H	AB006VH	AB039VH	QVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPQGLEWIGQIWPGDGDNTYNGKFKGKATLTADESSSTAYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTSTVTVSS ASTKGP QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRYTMHWVKQRPQGQLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTLLTVSS
339	DVD138L	AB006VL	AB039VL	DILLTQTPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSGSGTDFTLNIHPVEKVDAATYHCQQSTEDPWTFGGCTKLEIKR TVAAP QIVLTQSPAIMASASPGEKVTMTCSASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVP AHFRGSGSGTSYSLTISGMEAEDAATYYCQQWSSNPFTFGSGTKLEINR

20

30

40

【 0 8 6 9 】

実施例 2. 58 : C D - 3 (s e q . 2) 及び E G F R (s e q . 2) D V D - I g の作成

【 0 8 7 0 】

【表 1 1 3】

表 111

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
340	DVD139H	AB039VH	AB033VH	12345678901234567890123456789012345 QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRYTMH
				WVKQRPQGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATL TTDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYC LDYWGQGTTTLTVSS ASTKGP QVQLKQSGPGLVQPS QSLSTCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLEWLG IWSGGNTDYNTPFTSRLSINKDNSKQVFFKMNSL QSNDAIYYCARALTYDYEFAYWGQGLTVTVSA
341	DVD139L	AB039VL	AB033VL	QIVLTQSPAIMASAPGEKVTMTCSASSSVSYMNWY QKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPAPFRGSGSGTSY SLTISGMEADAATYYCQWSSNPFTFGSGTKLEI NR TVAAP DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQS IGTNIHWYQQRNGSPRLIKYASESISGIPSRFS GSGSGTDFTLINSVESEDIADYYCQNNNWPTTF GAGTKLELKR
342	DVD140H	AB033VH	AB039VH	QVQLKQSGPGLVQPSQSLSTCTVSGFSLTNYGVH WVRQSPGKGLEWLGVIWSGGNTDYNTPFTSRLSIN KDNSKQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEF FAYWGQGLTVTVSA ASTKGP QVQLQQSGAELARPG ASVKMSCKASGYTFTRYTMHWVKQRPQGQGLEWIGY INPSRGYTNYNQKFKDKATLTDDKSSSTAYMQLSS LTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTTLTVSS
343	DVD140L	AB033VL	AB039VL	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHW YQQRNGSPRLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTD FTLSINSVESEDIADYYCQNNNWPTTFGAGTKLE LKR TVAAP QIVLTQSPAIMASAPGEKVTMTCSASS SVSYMNWYQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPAPFR GSGSGTSYSLTISGMEADAATYYCQWSSNPFTF GSGTKLEINR

10

20

【0 8 7 1】

実施例 2. 59 : C D - 3 (s e q . 2) 及び E G F R (s e q . 1) D V D - I g の
作成

【0 8 7 2】

30

【表 1 1 4】

表 112

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
344	DVD141H	AB039VH	AB003VH	QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRYTMH WVKQRPQGQLEWIGYINPSRGYTNYNQKPKDKATL TTDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYC LDYWGQGTTTLTVSS ASTKGP QVQLQESGPGLVKPS ETLSLTCTVSGGSVSSGDYYWTWIRQSPGKGLEWI GHIYYSGNTNYPNPSLKSRLTISIDTSKTQFSLKLS SVTAADTAIYYCVRDRVTGAFDIWGQGTMTVTVSS
345	DVD141L	AB039VL	AB003VL	QIVLTQSPAIMASAPGEKVTMTCSASSSVSYMNWY QQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVP AHFRGSGSGTSY SLTISGMEAEDAATYYCQQWSSNPFTFGSGTKLEI NR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQD ISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFS GSGSGTDFTFTISSLPEDIAITYFCQHFHDLPLAF GGGTKVEIKR
346	DVD142H	AB003VH	AB039VH	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSVSSGDYY WTWIRQSPGKGLEWIGHIYYSGNTNYPNPSLKSRLT ISIDTSKTQFSLKLSVTAADTAIYYCVRDRVTGA FDIWGQGTMTVTVSS ASTKGP QVQLQQSGAELARPG ASVKMSCKASGYTFTRYTMHWVKQRPQGQLEWIGY INPSRGYTNYNQKPKDKATLTTDKSSSTAYMQLSS LTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTTLTVSS
347	DVD142L	AB003VL	AB039VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNW YQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTD FTFTISSLPEDIAITYFCQHFHDLPLAFGGGKVE IKR TVAAP QIVLTQSPAIMASAPGEKVTMTCSASS SVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVP AHFR GSGSGTSYSLTISGMEAEDAATYYCQQWSSNPFTF GSGTKLEINR

10

20

【0 8 7 3】

実施例 2. 60 : E G F R (s e q . 1) 及び I G F 1 , 2 DVD - I g の作成

【0 8 7 4】

【表 1 1 5】

表 113

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
348	DVD143H	AB003VH	AB010VH	QVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSVSSGDYY WTWIRQSPGKGLEWIGHIYYSGNTNYPNPSLKSRLT ISIDTSKTQFSLKLSSVTAADTAIYYCVRDRVTGA FDIWGQGTMTVTVSS ASTKGP QVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQATGQGLEWMGW MNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRNTSISTAYMELSS LRSEDTAVYYCARDPYYYYYGMVWVGQGTITVTVSS
349	DVD143L	AB003VL	AB010VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNW YQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTD FTFTISSLPEDIATYFCQHFHDLPLAFGGGKVE IKR TVAAP QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSS NIENNHSVWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDR FSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCETWDTSL AGRVFGGGKTLTVLG
350	DVD144H	AB010VH	AB003VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDIN WVRQATGQGLEWMGMNPNSGNTGYAQKFQGRVTM TRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDPYYYYY GMVWVGQGTITVTVSS ASTKGP QVQLQESGPGGLVKP SETLSLTCTVSGGSVSSGDYYWTWIRQSPGKGLEW IGHIYYSGNTNYPNPSLKSRLTISIDTSKTQFSLKL SSVTAADTAIYYCVRDRVTGAFDIWGQGTMTVTVSS
351	DVD144L	AB010VL	AB003VL	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIENNHSV WYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSKSGT SATLGITGLQTGDEADYYCETWDTSLSAGRVFGGG TKLTVLG QPKAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETG VPSRFSGSGSGTDFTFTISSLPEDIATYFCQHFH DLPLAFGGGKVEIKR

10

20

【0 8 7 5】

実施例 2. 6 1 : D L L - 4 (s e q . 1) 及び P L G F (s e q . 1) D V D - I g
の作成

【0 8 7 6】

【表 1 1 6】

表 114

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
352	VD257H	AB015VH	AB047VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDNWIS WVRQAPGKGLEWVGYISPNSGFTYYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARDNFGGYF DYWGQGTITVTVSS ASTKGP QVQLQSGAELVKPGA SVKISCKASGYTFTDYYINWVKLAPGQGLEWIGWI YPGSGNTKYNEKFKGKATLTIDTSSSTAYMQLSSL TSEDTAVYFCVRDSPFFFDYWGQGTLLTVSS
353	VD257L	AB015VL	AB047VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLPEDFATYYCQQSYTGTVTFGQGTKV EIKR TVAAP DIVLTQSPDSLAVSLGERVTMCKSS QSLNLSGMRKSFLLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRE SGVPDRFTGSGSGTDFTLTISVQAEDVAVYYCKQ SYHLFTFGSGTKLEIKR
354	VD258H	AB047VH	AB015VH	QVQLQSGAELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYIN WVKLAPGQGLEWIGWIYPGSGNTKYNEKFKGKATL TIDTSSSTAYMQLSSLTSEDTAVYFCVRDSPFFD YWGQGTLLTVSS ASTKGP EVQLVESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFTFTDNWISWVRQAPGKGLEWVGYISP NSGFTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA EDTAVYYCARDNFGGYFDYWGQGTITVTVSS

30

40

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
355	VD258L	AB047VL	AB015VL	12345678901234567890123456789012345 DIVLTQSPDSLAVSLGERVTMCKSSQSLNSGMR KSFLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRESGVPDRFTG SGSGTDFTLTISVQAEDVAVYYCKQSYHLFTFGS GTKLEIKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRTIT CRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSG VPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQS YTGTVTFGQGTKVEIKR

【0877】

10

実施例 2. 62 : リンカー組 1 を用いる VEGF (seq. 1) 及び PLGF (seq. 1) DVD-Ig の作成

【0878】

【表 117】

表 115

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
356	VD259H	AB014VH	AB047VH	12345678901234567890123456789012345 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFITNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGGS SHWYFDVWGQGTITLVTVSS ASTKGP VQLQQSGAEL VKPGASVKISCKASGYTFITDYYINWVKLAPGQGLE WIGWIYPGSGNTKYNEKFKGKATLTIDTSSSTAYM QLSSLTSEDVAVYFCVRDSPFFDYWGQGTITLVTVSS
357	VD259L	AB014VL	AB047VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIIYFTSSSLHSGVPSRFGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKVE IKR TVAAP DIVLTQSPDSLAVSLGERVTMCKSSQ SLNSGMRKSFLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRES GVPDRFTGSGSGTDFTLTISVQAEDVAVYYCKQS YHLFTFGSGTKLEIKR
358	VD260H	AB047VH	AB014VH	QVQLQQSGAELVKPGASVKISCKASGYTFITDYYIN WVKLAPGQGLEWIGWIYPGSGNTKYNEKFKGKATL TIDTSSSTAYMQLSSLTSEDVAVYFCVRDSPFFDY WGQGTITLVTVSS ASTKGP EVQLVESGGGLVQPGGSL RLSCAASGYTFITNYGMNWVRQAPGKGLEWVGWINT YTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKSTAYLQMNSLRA EDTAVYYCAKYPHYGSSHWYFDVWGQGTITLVTVSS
359	VD260L	AB047VL	AB014VL	DIVLTQSPDSLAVSLGERVTMCKSSQSLNSGMR KSFLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRESGVPDRFTG SGSGTDFTLTISVQAEDVAVYYCKQSYHLFTFGS GTKLEIKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRTIT CSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSSLHSG VPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYS TVPWTFGQGTKVEIKR

20

30

【0879】

実施例 2. 63 : リンカー組 2 を用いる VEGF (seq. 1) 及び PLGF (seq. 1) DVD-Ig の作成

40

【0880】

【表 1 1 8】

表 116

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
360	DVD579H	AB047VH	AB014VH	12345678901234567890123456789012345 QVQLQQSGAELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYIN WVKLAPQGQLEWIGWIYPGSGNTKYNEKFKGKATL TIDTSSSTAYMQLSSLTSEDVAVYFCVRDSPFFDY WGQGTLLTVSS ASTKGPSVFPLAPE VQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKGLE WVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKSTAYL QMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGSSHWYFDVWGQG TLVTVSS

10

361	DVD579L	AB047VL	AB014VL	DIVLTQSPDSLAVSLGERVTMNCSSQSLNLSGMR KSFLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRESGVPDRFTG SGSGTDFTLTISVQAEDVAVYYCKQSYHLFTFGS GTKLEIKR TVAAPSVEFIFPP DIQMTQSPSSLSASV GDRVITITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYF TSSLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAT YYCQQYSTVPWTFGQGTKVEIKR
362	DVD580H	AB014VH	AB047VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGS SHWYFDVWGQGTLLTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQL QQSGAELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYINWVKL APQGQLEWIGWIYPGSGNTKYNEKFKGKATLTIDT SSSTAYMQLSSLTSEDVAVYFCVRDSPFFDYWGQG TLLTVSS
363	DVD580L	AB014VL	AB047VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKVE IKR TVAAPSVEFIFPP DIVLTQSPDSLAVSLGERVT MNCSSQSLNLSGMRKSFLAWYQQKPGQSPKLLIY WASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISVQAEDVA VYYCKQSYHLFTFGSGTKLEIKR

20

【0 8 8 1】

実施例 2. 6 4 : リンカー組 3 を用いる VEGF (seq. 1) 及び PLGF (seq. 1) DVD-I g の作成

【0 8 8 2】

30

【表 1 1 9】

表 117

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345
364	DVD587VH	AB047VH	AB014VH	QVQLQQSGAELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYIN WVKLAPGGGLEWIGWIYPGSGNTKYNEKFKGKATL TIDTSSSTAYMQLSSLTSEDVAVYFCVRDSPFFDY WGQGTLTIVSS ASTKGPSVFPLAPE VQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKGLE WVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKSTAYL QMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGYGSSHWYFDVWGQG TLVTVSS
365	DVD587VL	AB047VL	AB014VL	DIVLTQSPDLSAVSLGERVTMNCSSQSLNLSGMR KSFLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRESGVPRFTG SGSGTDFTLTITSSVQAEDVAVYYCKQSYHLFTFGS GTKLEIKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSG VPSRFSGSGSGTDFTLTITSSLPEDFATYYCQQYS TVPWTFGQGTKVEIKR
366	DVD588VH	AB014VH	AB047VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYYS SHWYFDVWGQGTLLVTVSS ASTKGPSVFPLAPQ VQL QQSGAELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYINWVKL APGQGLEWIGWIYPGSGNTKYNEKFKGKATLTIDT SSSTAYMQLSSLTSEDVAVYFCVRDSPFFDYWGQG TLVTVSS
367	DVD588VL	AB014VL	AB047VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTD FTLTITSSLPEDFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKVE IKR TVAAP DIVLTQSPDLSAVSLGERVTMNCSSQ SLNLSGMRKSFLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRES GVPRFTGSGSGTDFTLTITSSVQAEDVAVYYCKQS YHLFTFGSGTKLEIKR

10

20

【0 8 8 3】

実施例 2. 6 5 : リンカー組 4 を用いる V E G F (s e q . 1) 及び P L G F (s e q . 1) D V D - I g の作成

【0 8 8 4】

30

【表 1 2 0】

表 118

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
368	DVD595VH	AB047VH	AB014VH	QVQLQQSGAELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYIN WVKLAPGQGLEWIGWIYPGSGNTKYNEKFKGKATL TIDTSSSTAYMQLSSLTSEDTAVYFCVRDSPFFDY WGQGTLLTVSS ASTKGPE VQLVESGGGLVQPGGSL RLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKGLEWVGWINT YTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKSTAYLQMNSLRA EDTAVYYCAKYPHYGSSHWYFDVWGQGTLLTVSS
369	DVD595VL	AB047VL	AB014VL	DIVLTQSPDSLAVSLGERVTMNCKSSQSLNLSGMR KSFLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRESGVPDRFTG SGSGTDFTLTISVQAEDVAVYYCKQSYHLFTFGS GTKLEIKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASV GDRVITITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYF TSSLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQYSTVPWTFGQGTKVEIKR
370	DVD596VH	AB014VH	AB047VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGS SHWYFDVWGQGTLLTVSS ASTKGPE VQLQQSGAEL VKPGASVKISCKASGYTFTDYYINWVKLAPGQGLE WIGWIYPGSGNTKYNEKFKGKATLTIDTSSSTAYM QLSSLTSEDTAVYFCVRDSPFFDYWGQGTLLTVSS
371	DVD596VL	AB014VL	AB047VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP DIVLTQSPDSLAVSLGERVT MNCKSSQSLNLSGMRKSFLAWYQQKPGQSPKLLIY WASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISVQAEDVA VYYCKQSYHLFTFGSGTKLEIKR

10

20

【0 8 8 5】

実施例 2. 6 6 : リンカー組 1 を用いる E G F R (s e q . 2) 及び E r b B 3 (s e q . 1) D V D - I g の作成

【0 8 8 6】

【表 1 2 1】

表 119

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
372	VD299H	AB062VH	AB033VH	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWS WIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYPNPSLKSRTIS VETSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDKWTWYFD LWGRGTLVTVSS ASTKGP QVQLKQSGPGLVQPSQS LSITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLEWLGVIW SGGNTDYNTPFTSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQS NDTAIYYCARALTYDYEFAYWGQGLTVTVSA
373	VD299L	AB062VL	AB033VL	DIEMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSVLYSSSN RNYLAWYQQNPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSG SGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPRTFG QGTKVEIKR TVAAP DILLTQSPVILSVSPGERVSF SCRASQSIGTNIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESIS GIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQN NNWPTTFGAGTKLELKR
374	VD300H	AB033VH	AB062VH	QVQLKQSGPGLVQPSQSLTCTVSGFSLTNYGVH WVRQSPGKGLEWLGVIWSSGGNTDYNTPFTSRLSIN KDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEF FAYWGQGLTVTVSA ASTKGP QVQLQQWGAGLLKPS ETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGE INHSGSTNYPNPSLKSRTISVETSKNQFSLKLSSV TAADTAVYYCARDKWTWYFDLWGRGTLVTVSS
375	VD300L	AB033VL	AB062VL	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHW YQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTD FTLSINSVESEDIADYYCQQNNWPTTFGAGTKLE

10

20

				LKR TVAAP DIEMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQ SVLYSSSNRNYLAWYQQNPGQPPKLLIYWASTRES GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQY YSTPRTFGQGTKVEIKR

【0 8 8 7】

実施例 2. 6 7 : リンカー組 2 を用いる E G F R (s e q . 2) 及び E r b B 3 (s e q . 1) D V D - I g の作成

【0 8 8 8】

30

【表 1 2 2】

表 120

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
376	DVD385H	AB062	AB033	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWS WIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VETSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDKWTWYFD LWGRGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQLKQSGPG LVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGL EWLGVIWSGGNTDYNTPFTRSLSINKDNSKSQVFF KMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEFAYWGQGLTV TVSA
377	DVD385L	AB062	AB033	DIEMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSVLYSSSN RNYLAWYQQNPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSG SGSGTDFTLTITSSSLQAEDVAVYYCQYYSTPRTEG QGTKEIKR TVAAPSVFIFPP DILLTQSPVILSVS PGERVSFSCRASQSIGTNIHWYQQRRTNGSPRLLIK YASEISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIA DYCQNNNWPTTFGAGTKLELKR
378	DVD386H	AB033	AB062	QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVH WVRQSPGKGLEWLGVIWSGGNTDYNTPFTRSLSIN KDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEF FAYWGQGLTVTVSA ASTKGPSVFPLAP QVQLQQWG AGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGK GLEWIGEINHSGSTNYPNPSLKSRVTISVETSKNQF SLKLSSVTAADTAVYYCARDKWTWYFDLWGRGTLV TVSS
379	DVD386L	AB033	AB062	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHW YQQRRTNGSPRLLIKYASEISGIPSRFSGSGSGTD FTLSINSVESEDIADYYCQNNNWPTTFGAGTKLE LKR TVAAPSVFIFPP DIEMTQSPDSLAVSLGERAT INCRSSQSVLYSSSNRNYLAWYQQNPGQPPKLLIY WASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTITSSSLQAEDVA VYYCQYYSTPRTEGQGTKEIKR

10

20

【0 8 8 9】

実施例 2. 6 8 : リンカー組 3 を用いる E G F R (s e q . 2) 及び E r b B 3 (s e q . 1) D V D - I g の作成

30

【0 8 9 0】

【表 1 2 3】

表 121

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
380	DVD389H	AB062	AB033	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWS WIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VETSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDKWTWYFD LWGRGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQLKQSGPG LVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGL EWLGVIWSGGNTDYNTPFTRSLSINKDNSKSQVFF KMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEFAYWGQGLTV TVSA
381	DVD389L	AB062	AB033	DIEMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSVLYSSSN RNYLAWYQQNPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSG

40

				SGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPRTFG QGTKVEIKR TVAAP DILLTQSPVILSVSPGERVSF SCRASQSIGTNIHWYQQRNGSPRLLIKYASESIS GIPSRFSGSGSGTDFTLINSVESEDIADYYCQQN NNWPTTFGAGTKLELKR
382	DVD390H	AB033	AB062	QVQLKQSGPGLVQPSQSLSTICTVSGFSLTNYGVH WVRQSPGKGLEWLGVIWSSGNTDYNTPTTSRLSIN KDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYDYE FAYWGQGLTVTVSA ASTKGPSVFPLAP QVQLQQWG AGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGK GLEWIGEINHSSTNYNPSLKSRTISVETSKNQF SLKLSSVTAADTAVYYCARDKWTWYFDLWGRGTLV TVSS
383	DVD390L	AB033	AB062	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHW YQQRNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTD FTLSINSVESEDIADYYCQQNNWPTTFGAGTKLE LKRTVAAPDIEMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQ SVLYSSNRNYLAWYQQNPGQPPKLLIYWASTRES GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQY YSTPRTFGQGTKVEIKR

10

【0891】

実施例 2. 69：リンカー組 4 を用いる EGFR (seq. 2) 及び ErbB3 (seq. 1) DVD-Ig の作成

【0892】

【表 124】

20

表 122

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345
384	DVD393H	AB062	AB033	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWS WIRQPPGKGLEWIGEINHSSTNYNPSLKSRTIS VETSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDKWTWYFD LWGRGTLTVTVSS ASTKG QVQLKQSGPGLVQPSQS LSITCTVSGFSLTNYGVHWRQSPGKGLEWLGVIW SSGNTDYNTPTTSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQ SNDTAIYYCARALTYDYDYEFAIWGQGLTVTVSA
385	DVD393L	AB062	AB033	DIEMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSVLYSSN RNYLAWYQQNPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSG SGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPRTFG QGTKVEIKR TVAAPSVFIFPP DILLTQSPVILSV SPGERVSFSCRASQSIGTNIHWYQQRNGSPRLLIK YASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLINSVESEDI ADYYCQQNNWPTTFGAGTKLELKR
386	DVD394H	AB033	AB062	QVQLKQSGPGLVQPSQSLSTICTVSGFSLTNYGVH WVRQSPGKGLEWLGVIWSSGNTDYNTPTTSRLSIN KDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYDYE FAYWGQGLTVTVSA ASTKG QVQLQQWGAGLLKPS ETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGE INHSSTNYNPSLKSRTISVETSKNQFSLKLSSV TAADTAVYYCARDKWTWYFDLWGRGTLTVTVSS
387	DVD394L	AB033	AB062	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHW YQQRNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTD FTLSINSVESEDIADYYCQQNNWPTTFGAGTKLE LKR TVAAPSVFIFPP DIEMTQSPDSLAVSLGERAT INCRSSQSVLYSSNRNYLAWYQQNPGQPPKLLIY WASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVA VYYCQQYYSTPRTFGQGTKVEIKR

30

40

【0893】

実施例 2. 70：EGFR (seq. 1) 及び ErbB3 (seq. 1) DVD-Ig の作成

【0894】

【表 1 2 5】

表 123				
配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
388	DVD301H	AB062VH	AB003VH	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWS WIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYPNPSLKSRTIS VETSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDKWTWYFD LWGRGTLVTVSS ASTKGP QVQLQESGPGLVKPSET LSLTCTVSGSVSSGDYYWTWIRQSPGKGLEWIGH IYYSGNTNYPNPSLKSRLTISIDTSKTQFSLKLSSV TAADTAIYYCVRDRVTGAFDIWGQGTMTVSS
389	DVD301L	AB062VL	AB003VL	DIEMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSVLYSSN RNYLAWYQQNPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFG SGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQYYSTPRTFG QGTKEIKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRTIT TCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLET GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLPEDIATYFCQHF DHLPLAFGGGKVEIKR
390	DVD302H	AB003VH	AB062VH	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGSVSSGDYY WTWIRQSPGKGLEWIGHIYYSGNTNYPNPSLKSRLT ISIDTSKTQFSLKLSSVTAADTAIYYCVRDRVTGA FDIWGQGTMTVSS ASTKGP QVQLQQWGAGLLKPS ETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGE INHSGSTNYPNPSLKSRTISVETSKNQFSLKLSSV TAADTAVYYCARDKWTWYFDLWGRGTLVTVSS
391	DVD302L	AB003VL	AB062VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITTCQASQDISNYLNW YQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTD FTFTISSLPEDIATYFCQHFHDHLPLAFGGGKVE IKR TVAAP DIEMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQ SVLYSSNRNYLAWYQQNPGQPPKLLIYWASTRES GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQY YSTPRTFGQGTKEIKR

10

20

【0 8 9 5】

実施例 2. 7 1 : H G F (s e q . 1) 及び E r b B 3 (s e q . 1) D V D - I g の
作成

【0 8 9 6】

【表 1 2 6】

表 124

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
392	DVD303H	AB062VH	AB012VH	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWS WIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VETSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARDKWTWYFD LWGRGTLVTVSS ASTKGP QVQLVESGGGLVKPGGS LRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYSIS SSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLR AEDTAVYYCARDEYNSGWYVLFDYWGQGTTLTVSS
393	DVD303L	AB062VL	AB012VL	DIEMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSVLYSSSN RNYLAWYQQNPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSG SGSGTDFTLTISSSLQAEDVAVYYCQQYYSTPRTFG QGTKVEIKR TVAAP DIQMTQSPSSVSASVGDRTIT TCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPNLLIYEASSLQS GVPSRFGSGSGTDFTLTISSSLQPEDFATYYCQQA NGFPWTFGQGTKVEIKR
394	DVD304H	AB012VH	AB062VH	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMS WIRQAPGKGLEWVSYSISSSGSTIYYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDEYNSGW YVLFDYWGQGTTLVTVSS ASTKGP QVQLQQWGAGLL KPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEW IGEINHSGSTNYPNPSLKSRVTISVETSKNQFSLKL SSVTAADTAVYYCARDKWTWYFDLWGRGTLVTVSS
395	DVD304L	AB012VL	AB062VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGISSWLAW YQQKPGKAPNLLIYEASSLQSGVPSRFGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQANGFPWTFGQGTKVE IKR TVAAP DIEMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQ SVLYSSSNRNYLAWYQQNPGQPPKLLIYWASTRES GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSSLQAEDVAVYYCQQY YSTPRTFGQGTKVEIKR

10

20

【0 8 9 7】

実施例 2. 7 2 : リンカー組 1 を用いる E G F R (s e q . 2) 及び E r b B 3 (s e q . 2) D V D - I g の作成

【0 8 9 8】

【表 1 2 7】

表 125

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
396	DVD305H	AB063VH	AB033VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSIYSMN WVRQAPGKGLEWVSYISSSSSTIYYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCARDRGDFDA FDIWGQGTMTVTVSS ASTKG PQVQLKQSGPGLVQPS QSL SITCTVSGFSLTNYGVHWRQSPGKGLEWLG IWSGNTDYNTPFTSRLSINKDNSKSKQVFFKMNSL QSNDAIYYCARALTYDYEFAYWGQGLTVTVSA
397	DVD305L	AB063VL	AB033VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDITNYLNW YQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTD FTFTISLQPEDIAATYNCQQCENFPITFGQGTRE IKR TVAAP DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQ SIGTNIHWYQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRF SGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQNNNWPTT FGAGTKLELKR
398	DVD306H	AB033VH	AB063VH	QVQLKQSGPGLVQPSQSL SITCTVSGFSLTNYGVH WVRQSPGKGLEWLGVIWGGNTDYNTPFTSRLSIN KDNSKSKQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEF FAYWGQGLTVTVSA ASTKG PEVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGFTFSIYSMNWVRQAPGKGLEWVSY ISSSSSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNS LRDEDTAVYYCARDRGDFDAFDIWGQGTMTVTVSS
399	DVD306L	AB033VL	AB063VL	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHW YQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTD FTLSINSVESEDIADYYCQNNNWPTTFGAGTKLE LKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQ DITNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRF SGSGSGTDFTFTISLQPEDIAATYNCQQCENFPIT FGQGTREIKR

10

20

【0 8 9 9】

実施例 2. 7 3 : リンカー組 2 を用いる E G F R (s e q . 2) 及び E r b B 3 (s e q . 2) D V D - I g の作成

【0 9 0 0】

【表 1 2 8】

表 126

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
400	DVD397H	AB063	AB033	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSIYSMN WVRQAPGKGLEWVSYISSSSSTIYYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCARDRGDFDA FDIWGQGTMTVTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQLKQSG PGLVQPSQSL SITCTVSGFSLTNYGVHWRQSPGK GLEWLGVIWGGNTDYNTPFTSRLSINKDNSKSKQV FFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEFAYWGQGL LTVTVSA
401	DVD397L	AB063	AB033	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDITNYLNW YQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTD FTFTISLQPEDIAATYNCQQCENFPITFGQGTRE IKR TVAAPSVFIFPP DILLTQSPVILSVSPGERVS FSCRASQSIGTNIHWYQRTNGSPRLLIKYASESI SGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQ NNNWPTTFGAGTKLELKR
402	DVD398H	AB033	AB063	QVQLKQSGPGLVQPSQSL SITCTVSGFSLTNYGVH WVRQSPGKGLEWLGVIWGGNTDYNTPFTSRLSIN KDNSKSKQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEF FAYWGQGLTVTVSA ASTKGPSVFPLAP EVQLVESG GGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSIYSMNWVRQAPGK

30

40

				GLEWVSYISSSSSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNS LYLQMNSLRDEDTAVYYCARDRGDFDAFDIWGQGT MVTVSS
403	DVD398L	AB033	AB063	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHW YQQRRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTD FTLSINSVESEDIADYYCQNNNWPTTFGAGTKLE LKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCQASQDITNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLE TGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSSLQPEDIATYNCQQ CENFPITFGQGTRLEIKR

【0901】

実施例 2. 74：リンカー組 3 を用いる E G F R (seq. 2) 及び E r b B 3 (seq. 2) D V D - I g の作成 10

【0902】

【表 129】

表 127

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345
404	DVD401H	AB063	AB033	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSIYSMN WVRQAPGKGLEWVSYISSSSSTIYYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCARDRGDFDA FDIWGQGTMTVTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQLKQSG PGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGK GLEWLGVIWSGGNTDYNTPFTSRLSINKDNKSQV FFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEFAYWGQGT LTVSA
405	DVD401L	AB063	AB033	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDITNYLNW YQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTD FTFTISSSLQPEDIATYNCQQCENFPITFGQGTRLE IKR TVAAP DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQ SIGTNIHWYQQRRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRF SGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQNNNWPTT FGAGTKLELKR
406	DVD402H	AB033	AB063	QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVH WVRQSPGKGLEWLGVIWSGGNTDYNTPFTSRLSIN KDNKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEFAYWGQGT LTVSA ASTKGPSVFPLAP EVQLVESG GGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSIYSMNWVRQAPGK GLEWVSYISSSSSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNS LYLQMNSLRDEDTAVYYCARDRGDFDAFDIWGQGT MVTVSS
407	DVD402L	AB033	AB063	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHW YQQRRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTD FTLSINSVESEDIADYYCQNNNWPTTFGAGTKLE LKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQ DITNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRF SGSGSGTDFTFTISSSLQPEDIATYNCQQCENFPIT FGQGTRLEIKR

【0903】

実施例 2. 75：リンカー組 4 を用いる E G F R (seq. 2) 及び E r b B 3 (seq. 2) D V D - I g の作成 40

【0904】

【表 1 3 0】

表 128

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
408	DVD405H	AB063	AB033	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSIYSMN WVRQAPGKGLEWVSYISSSSSTIYYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCARDRGDFDA FDIWGQGTMTVTVSS ASTKGP QVQLKQSGPGLVQPS QSLITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLEWLG VWISGCGNTDYNTPFTSRLSINKDNSKSVFFKMNSL QSNDAIYYCARALTYDYEFAYWGQGTTLVTVSA
409	DVD405L	AB063	AB033	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDITNYLNW YQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSTRFSGSGSGTD FTFTISSLQPEDATYNCQQCENFPITFGQGRLE IKR TVAAPSVEIFPP DILLTQSPVILSVSPGERVS FSCRASQSIGTNIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESI SGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQ NNNWPTTFGAGTKLELKR
410	DVD406H	AB033	AB063	QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVH WVRQSPGKGLEWLGVIWISGCGNTDYNTPFTSRLSIN KDNSKSVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEF FAYWGQGTTLVTVSA ASTKGP EVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGFTFSIYSMNWVRQAPGKGLEWVSY ISSSSSTIYYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNS LRDEDTAVYYCARDRGDFDAFDIWGQGTMTVTVSS
411	DVD406L	AB033	AB063	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHW YQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTD FTLSINSVESEDIADYYCQQNNNWPTTFGAGTKLE LKR TVAAPSVEIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCQASQDITNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLE TGVPSTRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDATYNCQQ CENFPITFGQGRLEIKR

10

20

【0905】

実施例 2. 76 : E G F R (s e q . 1) 及び E r b B 3 (s e q . 2) D V D - I g
の作成

【0906】

【表 1 3 1】

表 129

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
412	DVD307H	AB063VH	AB003VH	12345678901234567890123456789012345 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSIYSMN WVRQAPGKGLEWVSYISSSSSTIYYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCARDRGDFDA FDIWGQGTMTVTVSS ASTKGP QVQLQESGPGLVKPS ETLSLTCTVSGGSVSSGDYYWTWIRQSPGKGLEWI GHIYYSGNTNYPNPSLKSRLTISIDTSKTQFSLKLS SVTAADTAIYYCVRDRVTGAFDIWGQGTMTVTVSS
413	DVD307L	AB063VL	AB003VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCQASQDITNYLNW YQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTD FTFTISSLQPEDIATYNCQQCENFPITFGQGRLE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCQASQ DISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRF SGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYFCQHFHDLPLA FGGGTKVEIKR
414	DVD308H	AB003VH	AB063VH	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSVSSGDYY WTWIRQSPGKGLEWIGHIYYSGNTNYPNPSLKSRLT ISIDTSKTQFSLKLSVTAADTAIYYCVRDRVTGA FDIWGQGTMTVTVSS ASTKGP EVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGFTFSIYSMNWVRQAPGKGLEWVSY ISSSSSTIYYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNS LRDEDTAVYYCARDRGDFDAFDIWGQGTMTVTVSS
415	DVD308L	AB003VL	AB063VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCQASQDISNYLNW YQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTD FTFTISSLQPEDIATYFCQHFHDLPLAFGGGTKVE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCQASQ DITNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRF SGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYNCQQCENFPIT FGQGRLEIKR

10

20

【0907】

実施例 2. 77 : HGF (seq. 1) 及び ErbB3 (seq. 2) DVD-Ig の
作成

【0908】

【表 1 3 2】

表 130

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
416	DVD309H	AB063VH	AB012VH	12345678901234567890123456789012345 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSIYSMN WVRQAPGKGLEWVSYISSSSSTIYYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCARDRGDFDA FDIWGQGTMTVSS ASTKGP QVQLVESGGGLVKPG GSLRLSCAASGFTFSIYMSWIRQAPGKGLEWVSY ISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNNAKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYCARDEYNSGWYVLFQYWGQGTITVTV SS
417	DVD309L	AB063VL	AB012VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCQASQDITNYLNW YQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFGSGSGTD FTFTISLQPEDATYNCQQCENFPITFGQGTGLE IKR TVAAP DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQ GISSWLAWYQQKPGKAPNLLIYEASSLQSGVPSRF GGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANGFPWT FGQGTKEIKR
418	DVD310H	AB012VH	AB063VH	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSIYMS WIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDEYNSGW YVLFQYWGQGTITVTVSS ASTKGP EVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGFTFSIYSMNWVRQAPGKGLEW VSYISSSSSTIYYADSVKGRFTISRDNNAKNSLYLQ MNSLRDEDTAVYYCARDRGDFDAFDIWGQGTMTVTV SS
419	DVD310L	AB012VL	AB063VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLAW YQQKPGKAPNLLIYEASSLQSGVPSRFGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQANGFPWTFGQGTKE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCQASQ DITNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRF SGSGSGTDFTFTISLQPEDATYNCQQCENFPIT FGQGTGLEIKR

10

20

【0 9 0 9】

実施例 2. 7 8 : リンカー組 1 を用いる V E G F (s e q . 1) 及び D L L 4 (s e q . 2) D V D - I g の作成

【0 9 1 0】

【表 1 3 3】

表 131

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
420	DVD441H	AB069	AB014	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSTAYYIH WVKQAPGQGLEWIGYISSYNGATNYNQKFKGRVTF TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYDYG MDYWGQGTLLVTVSS ASTKGPE VQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGYTFTNYGMNWRQAPGKGLEWVGW INTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKSTAYLQMNS LRAEDTAVYYCAKYPHYYGSSHWYFDVWGQGTLLV VSS
421	DVD441L	AB069	AB014	DIVMTQSPDSLAVSLGERATISCRASESVDNYGIS FMKWFQQKPGQPPKLLIYAASNQSGVDPDRFSGSG SGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSKEVPWTFGGG TKVEIKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRTITC SASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGV PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYST VPWTFGQGTKVEIKR
422	DVD442H	AB014	AB069	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYYS SHWYFDVWGQGTLLVTVSS ASTKGPE VQLVQSGAEV KKPGASVKISCKASGYSTAYYIHVVKQAPGQGLE WIGYISSYNGATNYNQKFKGRVTFTTDTSTSTAYM ELRSLRSDDTAVYYCARDYDYGMDYWGQGTLLV VSS
423	DVD442L	AB014	AB069	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTD

10

20

				FTLTISSLQPEDFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKVE IKR TVAAP DIVMTQSPDSLAVSLGERATISCRASE SVDNYGISFMKWFQQKPGQPPKLLIYAASNQSGSV PDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSKE VPWTFGGGTKVEIKR

【0 9 1 1】

実施例 2. 7 9 : リンカー組 2 を用いる V E G F (s e q . 1) 及び D L L 4 (s e q . 2) DVD-I g の作成

30

【0 9 1 2】

【表 1 3 4】

表 132

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
424	DVD447H	AB069	AB014	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSTAYYIH WVKQAPGQGLEWIGYISSYNGATNYNQKFKGRVTF TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYDYDVG MDYWGQGLTVTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLVESG GGLVQPGGSLRLSCAASGYFTFTNYGMNWVRQAPGK GLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKST AYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYYGSSHWYFDVW GQGLTVTVSS
425	DVD447L	AB069	AB014	DIVMTQSPDSLAVSLGERATISCRASESVDNYGIS FMKWFQQKPGQPPKLLIYAASNQSGVDPDRFSGSG SGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQSKEVPWTFGGG TKVEIKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVG DRVITITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFT SSLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCQQYSTVPWTFGGGTKEIKR
426	DVD448H	AB014	AB069	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYFTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYYS SHWYFDVWGQGLTVTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQL VQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSTAYYIHWVKQ APGQGLEWIGYISSYNGATNYNQKFKGRVTFTTDT STSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYDYDVGMDYW GQGLTVTVSS
427	DVD448L	AB014	AB069	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQYSTVPWTFGGGTKEI IKR TVAAPSVFIFPP DIVMTQSPDSLAVSLGERAT ISCRASESVDNYGISFMKWFQQKPGQPPKLLIYAA SNQSGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVY YCQQSKEVPWTFGGGTKEIKR

10

20

【0 9 1 3】

実施例 2. 80 : リンカー組 3 を用いる VEGF (seq. 1) 及び DLL4 (seq. 2) DVD-I g の作成

【0 9 1 4】

【表 1 3 5】

表 133

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
428	DVD453H	AB069	AB014	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSTAYYIH WVKQAPGQGLEWIGYISSYNGATNYNQKFKGRVTF TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYDYDVG MDYWGQGLTVTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLVESG GGLVQPGGSLRLSCAASGYFTFTNYGMNWVRQAPGK GLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKST AYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYYGSSHWYFDVW GQGLTVTVSS
429	DVD453L	AB069	AB014	DIVMTQSPDSLAVSLGERATISCRASESVDNYGIS FMKWFQQKPGQPPKLLIYAASNQSGVDPDRFSGSG SGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQSKEVPWTFGGG TKVEIKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITC

30

40

				SASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGV PSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYST VPWTFGGGTKVEIKR
430	DVD454H	AB014	AB069	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYYS SHWYFDVWGQGTLLVTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQL VQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSTAYYIHWVKQ APGQGLEWIGYISSYNGATNYNQKFKGRVTFITDT STSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYDYGMDYD GQGTLLVTVSS
431	DVD454L	AB014	AB069	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQYSTVPWTFGGGTKVE IKR TVAAP DIVMTQSPDSLAVSLGERATISCRASE SVDNYGISFMKWFQQKPGQPPKLLIYAASNQSGSV PDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQSKE VPWTFGGGTKVEIKR

10

【0915】

実施例 2. 81：リンカー組 4 を用いる VEGF (seq. 1) 及び D L L 4 (seq. 2) DVD-I g の作成

【0916】

【表 136】

表 134

20

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345
432	DVD459H	AB069	AB014	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSTAYYIH WVKQAPGQGLEWIGYISSYNGATNYNQKFKGRVTF TDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYDYG MDYWGQGTLLVTVSS ASTKGPEVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGYTFTNYGMNWRQAPGKGLEWVGW INTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKSTAYLQMNS LRAEDTAVYYCAKYPHYYS SHWYFDVWGQGTLLV TVSS
433	DVD459L	AB069	AB014	DIVMTQSPDSLAVSLGERATISCRASESVDNYGIS FMKWFQQKPGQPPKLLIYAASNQSGSV PDRFSGSG SGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQSKEVPWTFGGG TKVEIKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVG DRVTITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFT SSLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCQQYSTVPWTFGGGTKVEIKR
434	DVD460H	AB014	AB069	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYYS SHWYFDVWGQGTLLVTVSS ASTKGPEVQLVQSGAEV KKPGASVKISCKASGYSTAYYIHWVKQAPGQGLE WIGYISSYNGATNYNQKFKGRVTFITDTSTSTAYM ELRSLRSDDTAVYYCARDYDYGMDYWGQGTLLV TVSS
435	DVD460L	AB014	AB069	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQYSTVPWTFGGGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP DIVMTQSPDSLAVSLGERAT ISCRASESVDNYGISFMKWFQQKPGQPPKLLIYAA SNQSGSV PDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVY YCQQSKEVPWTFGGGTKVEIKR

30

40

【0917】

実施例 2. 82：リンカー組 1 を用いる VEGF (seq. 2) 及び D L L 4 (seq. 2) DVD-I g の作成

【0918】

【表 1 3 7】

表 135

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
436	DVD443H	AB069	AB070	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSTAYYIH WVKQAPGQGLEWIGYISSYNGATNYNQKFKGRVTF TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYDYDVG MDYWGQGTLLVTVSS ASTKG PEVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGFTISDYWIHWVRQAPGKLEWVAG ITPAGGYTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNS LRAEDTAVYYCARFVFFLPYAMDYWGQGTLLVTVSS
437	DVD443L	AB069	AB070	DIVMTQSPDSLAVSLGERATISCRASESVDNYGIS FMKWFQKPGQPPKLLIYAASNQGSVPDRFSGSG SGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQSKEVPWTFGGG TKVEIKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFYSGV PSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYT TPPTFGQGTKVEIKR
438	DVD444H	AB070	AB069	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIH WVRQAPGKLEWVAGITPAGGYTYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPY AMDYWGQGTLLVTVSS ASTKG PQVQLVQSGAEVKKP GASVKISCKASGYSTAYYIHWVKQAPGQGLEWIG YISSYNGATNYNQKFKGRVTFDTSTSTAYMELR SLRSDDTAVYYCARDYDYDVGMDYWGQGTLLVTVSS
439	DVD444L	AB070	AB069	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSYTTPPTFGQGTKVE IKR TVAAP DIVMTQSPDSLAVSLGERATISCRASE SVDNYGISFMKWFQKPGQPPKLLIYAASNQGSV PDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQSKE VPWTFGGGTKVEIKR

10

20

【0 9 1 9】

実施例 2. 8 3 : リンカー組 2 を用いる V E G F (s e q . 2) 及び D L L 4 (s e q . 2) D V D - I g の作成

【0 9 2 0】

【表 1 3 8】

表 136

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
440	DVD449H	AB069	AB070	12345678901234567890123456789012345 QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSFTAYYIH WVKQAPGQGLEWIGYISSYNGATNYNQKFKGRVTF TDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYDYDVG MDYWGQGTLLVTVSS ASTKGPSVFPLAPEV QLVESG GGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIHWVRQAPGK GLEWVAGITPAGGYTYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPYAMDYWGQG TLVTVSS
441	DVD449L	AB069	AB070	DIVMTQSPDSLAVSLGERATISCRASESDNYGIS FMKWFQQKPGQPPKLLIYAASNQSGVDPDRFSGSG SGTDFTLTISSSLQAEDVAVYYCQQSKEVPWTFGGG TKVEIKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVG DRVITITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSA SFLYSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSSLQPEDFATY YCQQSYTTPPTFGQGTKVEIKR
442	DVD450H	AB070	AB069	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIH WVRQAPGKGLEWVAGITPAGGYTYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPY AMDYWGQGTLLVTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQLVQS GAEVKKPGASVKISCKASGYSFTAYYIHVKQAPG QGLEWIGYISSYNGATNYNQKFKGRVTFDTSTST TAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYDYDVGMDYWGQG TLVTVSS
443	DVD450L	AB070	AB069	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYASFLYSGVPSRFRSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSYTTPPTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP DIVMTQSPDSLAVSLGERAT ISCRASESDNYGISFMKWFQQKPGQPPKLLIYAA

				SNQSGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISSSLQAEDVAVY YCQQSKEVPWTFGGGTKVEIKR

【0 9 2 1】

実施例 2. 8 4 : リンカー組 3 を用いる V E G F (s e q . 2) 及び D L L 4 (s e q . 2) D V D - I g の作成

【0 9 2 2】

10

20

30

【表 1 3 9】

表 137

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
444	DVD455H	AB069	AB070	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSTAYYIH WVKQAPGQGLEWIGYISSYNGATNYNQKFKGRVTF TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYDYDVG MDYWGQGTLLTVTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLVESG GGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIHWVRQAPGK GLEWVAGITPAGGYTYYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPYAMDYWGQG TLTVTVSS
445	DVD455L	AB069	AB070	DIVMTQSPDSLAVSLGERATISCRASESVDNYGIS FMKWFQQKPGQPPKLLIYAASNQGSQVDRFSGSG SGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQSKEVPWTFGGG TKVEIKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRTITC RASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYASFLYSGV PSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYT TPPTFGQGTKEIKR
446	DVD456H	AB070	AB069	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIH WVRQAPGKGLEWVAGITPAGGYTYYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPY AMDYWGQGTLLTVTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQLVQS GAEVKKPGASVKISCKASGYSTAYYIHWVKQAPG QGLEWIGYISSYNGATNYNQKFKGRVTFTTDTSTS TAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYDYDVGMDYWGQG TLTVTVSS
447	DVD456L	AB070	AB069	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYASFLYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSYTPPTFGQGTKEI IKR TVAAP DIVMTQSPDSLAVSLGERATISCRASE SVDNYGISFMKWFQQKPGQPPKLLIYAASNQGSQV PDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQSKE VPWTFGGGTKEIKR

10

20

【0 9 2 3】

実施例 2. 8 5 : リンカー組 4 を用いる V E G F (s e q . 2) 及び D L L 4 (s e q . 2) D V D - I g の作成

【0 9 2 4】

30

【表 1 4 0】

表 138

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
448	DVD461H	AB069	AB070	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSTAYYIH WVKQAPGQGLEWIGYISSYNGATNYNQKFKGRVTF TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYDYDVG MDYWGQGTLLTVTVSS ASTKG PEVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGFTISDYWIHWVRQAPGKGLEWVAG ITPAGGYTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNS LRAEDTAVYYCARFVFFLPYAMDYWGQGTLLTVTVSS
449	DVD461L	AB069	AB070	DIVMTQSPDSLAVSLGERATISCRASESVDNYGIS FMKWFQQKPGQPPKLLIYAASNQGSQVDRFSGSG SGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQSKEVPWTFGGG TKVEIKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSA SFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCCQSYTTPPTFGQGTKEIKR
450	DVD462H	AB070	AB069	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIH

40

				WVRQAPGKGLEWVAGITPAGGYTTYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPY AMDYWGQGTTLVTVSS ASTKGP QVQLVQSGAEVKKP GASVKISCKASGYSTAYYIHWVKQAPGQGLEWIG YISSYNGATNYNQKFKGRVTFTTDTSTSTAYMELR SLRSDDTAVYYCARDYDYDVGMDYWGQGTTLVTVSS
451	DVD462L	AB070	AB069	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQSYTTPPTFGQGTKVE IKR TVAAPSVEIFPP DIVMTQSPDSLAVSLGERAT ISCRASESDNYGISFMKWFQQKPGQPPKLLIYAA SNQGSQGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVY YCQQSKEVPWTFGGGTKVEIKR

10

【0925】

実施例 2. 86：リンカー組 1 を用いる VEGF (seq. 3) 及び D L L 4 (seq. 2) DVD-I g の作成

【0926】

【表 141】

表 139

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
452	DVD445H	AB069	AB071	12345678901234567890123456789012345 QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSTAYYIH WVKQAPGQGLEWIGYISSYNGATNYNQKFKGRVTF TDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYDYDVG MDYWGQGTTLVTVSS ASTKGPE VQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGFTINASWIHWVRQAPGKGLEWVGA IYPYSGYTNADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNS LRAEDTAVYYCARWGHSTSPWAMDYWGQGTTLVTVS S
453	DVD445L	AB069	AB071	DIVMTQSPDSLAVSLGERATISCRASESDNYGIS FMKWFQQKPGQPPKLLIYAASNQGSQGVDPDRFSGS SGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSKEVPWTFGGG TKVEIKR TVAAPD IQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQVIRRLAWYQQKPGKAPKLLIYAASNLAGSV PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNT SPLTFGQGTKVEIKR
454	DVD446H	AB071	AB069	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIH WVRQAPGKGLEWVGAIYPYSGYTNADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSP WAMDYWGQGTTLVTVSS ASTKGP QVQLVQSGAEVKK PGASVKISCKASGYSTAYYIHWVKQAPGQGLEWI GYISSYNGATNYNQKFKGRVTFTTDTSTSTAYMEL RLRSDDTAVYYCARDYDYDVGMDYWGQGTTLVTVS S
455	DVD446L	AB071	AB069	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQVIRRLAW YQQKPGKAPKLLIYAASNLAGSVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQSNTSPLTFGQGTKVE IKR TVAAP DIVMTQSPDSLAVSLGERATISCRASE SDNYGISFMKWFQQKPGQPPKLLIYAASNQGSQGV PDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSKE VPWTFGGGTKVEIKR

20

30

40

【0927】

実施例 2. 87：リンカー組 2 を用いる VEGF (seq. 3) 及び D L L 4 (seq. 2) DVD-I g の作成

【0928】

【表 1 4 2】

表 140

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
456	DVD451H	AB069	AB071	12345678901234567890123456789012345 QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSTAYYIH WVKQAPGQGLEWIGYISSYNGATNYNQKFKGRVTF TDDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYDYDVG MDYWGQGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLVESG

				GGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIHWVRQAPGK GLEWVGAIYPYSGYTNYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSPWAMDYWGQ GTLVTVSS
457	DVD451L	AB069	AB071	DIVMTQSPDSLAVSLGERATISCRASESVDNYGIS FMKWFQQKPGQPPKLLIYAASNQSGVDRFSGSG SGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSKEVPWTFGGG TKVEIKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVG DRVITITCRASQVIRRLAWYQQKPGKAPKLLIYAA SNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQQSNTSPLTFGGGTKVEIKR
458	DVD452H	AB071	AB069	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIH WVRQAPGKGLEWVGAIYPYSGYTNYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSP WAMDYWGQGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQLVQ SGAEVKKPGASVKISCKASGYSTAYYIHWVKQAP GQGLEWIGYISSYNGATNYNQKFKGRVTFDDTST STAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYDYDVGMDYWGQ GTLVTVSS
459	DVD452L	AB071	AB069	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQVIRRLAW YQQKPGKAPKLLIYAASNLASGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQSNTSPLTFGGGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP DIVMTQSPDSLAVSLGERAT ISCRASESVDNYGISFMKWFQQKPGQPPKLLIYAA SNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVY YCQQSKEVPWTFGGGTKVEIKR

10

20

【0 9 2 9】

実施例 2. 8 8 : リンカー組 3 を用いる VEGF (seq. 3) 及び DLL4 (seq. 2) DVD-Ig の作成

【0 9 3 0】

30

【表 1 4 3】

表 141

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
460	DVD457H	AB069	AB071	12345678901234567890123456789012345 QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSTAYYIH WVKQAPGQGLEWIGYISSYNGATNYNQKFKGRVTF TDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYDYDVG MDYWGQGTLLVTVSS ASTKGPSVFPLAPE VQLVESG GGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIHWVRQAPGK GLEWVGAIYPYSGYTNADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSPWAMDYWGQ GTLVTVSS
461	DVD457L	AB069	AB071	DIVMTQSPDSLAVSLGERATISCRASESDNYGIS FMKWFQQKPGQPPKLLIYAASNQSGVDRFSGSG SGTDFTLTISLQAEADVAVYYCQQSKEVPWTFGGG TKVEIKR TVAAPD IQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQVIRRLAWYQQKPGKAPKLLIYAASNLASGV PSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSNT SPLTFGQGTKVEIKR
462	DVD458H	AB071	AB069	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIH WVRQAPGKGLEWVGAIYPYSGYTNADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSP WAMDYWGQGTLLVTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQLVQ SGAEVKKPGASVKISCKASGYSTAYYIHWVKQAP GQGLEWIGYISSYNGATNYNQKFKGRVTFDTST STAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYDYDVGMDYWGQ GTLVTVSS
463	DVD458L	AB071	AB069	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQVIRRLAW YQQKPGKAPKLLIYAASNLASGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSNTSPLTFGQGTKVE IKR TVAAP DIVMTQSPDSLAVSLGERATISCRASE SDNYGISFMKWFQQKPGQPPKLLIYAASNQSGSV PDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEADVAVYYCQQSKE VPWTFGGGTKVEIKR

10

20

【0 9 3 1】

実施例 2. 8 9 : リンカー組 4 を用いる V E G F (s e q . 3) 及び D L L 4 (s e q . 2) D V D - I g の作成

【0 9 3 2】

30

【表 1 4 4】

表 142

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345
464	DVD463H	AB069	AB071	QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSFTAYYIH WVKQAPGQGLEWIGYISSYNGATNYNQKFKGRVTF TDDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYDYDVG MDYWGQGTLLVTVSS ASTKGP EVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGFTINASWIHWVRQAPGKGLEWVGA IYPYSGYTNADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNS LRAEDTAVYYCARWGHSTSPWAMDYWGQGTLLVTVS S
465	DVD463L	AB069	AB071	DIVMTQSPDSLAVSLGERATISCRASESVDNYGIS FMKWFQKPGQPPKLLIYAASNQSGVDRFSGSG SGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSKEVPWTFGGG TKVEIKR TVAAPS VFIFPP DIQMTQSPSSLSASVG DRVITITCRASQVIRRLAWYQQKPGKAPKLLIYAA SNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQQSNTSPLTFGQGTKEIKR
466	DVD464H	AB071	AB069	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIH WVRQAPGKGLEWVGAIYPYSGYTNADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSP WAMDYWGQGTLLVTVSS ASTKGP QVQLVQSGAEVKK PGASVKISCKASGYSFTAYYIHVWKQAPGQGLEWI GYISSYNGATNYNQKFKGRVTFDDTSTSTAYMEL RSLRSDDTAVYYCARDYDYDVGMDYWGQGTLLVTVS S
467	DVD464L	AB071	AB069	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQVIRRLAW YQQKPGKAPKLLIYAAASNLASGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQSNTSPLTFGQGTKEI KR TVAAPS VFIFPP DIVMTQSPDSLAVSLGERAT ISCRASESVDNYGISFMKWFQKPGQPPKLLIYAA SNQSGVDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVY YCQQSKEVPWTFGGGTKEIKR

10

20

【0 9 3 3】

実施例 2. 90 : リンカー組 1 を用いる VEGF (seq. 2) 及び DLL4 (seq. 1) DVD-Ig の作成

【0 9 3 4】

【表 1 4 5】

表 143

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345
468	DVD465H	AB015	AB070	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDNWIS WVRQAPGKGLEWVGYSIPNSGFTYYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARDNFGGYF DYWGQGTLLVTVSS ASTKGP EVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGFTISDYWIHWVRQAPGKGLEWVAGI TPAGGYTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCARFVFFLPYAMDYWGQGTLLVTVSS
469	DVD465L	AB015	AB070	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYASFLYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQSYTGTVTFGQGTKEI KR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRAS QDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYASFLYSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYTTPP TFGQGTKEIKR
470	DVD466H	AB070	AB015	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIH WVRQAPGKGLEWVAGITPAGGYTYYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPY AMDYWGQGTLLVTVSS ASTKGP EVQLVESGGGLVQPG

40

				GGSLRLSCAASGFTFTDNWISWVRQAPGKGLEWVG YISPNSGFTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMN SLRAEDTAVYYCARDNFGGYFDYWGQGTTLVTVSS
471	DVD466L	AB070	AB015	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFVSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSYTTPPTFGQGTKVE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ DVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFVSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYTGT TFGQGTKVEIKR

【0935】

実施例 2. 9 1 : リンカー組 2 を用いる VEGF (seq. 2) 及び DLL4 (seq. 1) DVD-I g の作成 10

【0936】

【表 146】

表 144

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
472	DVD471H	AB015	AB070	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDNWIS WVRQAPGKGLEWVG YISPNSGFTYYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNLSRAEDTAVYYCARDNFGGYF DYWGQGTTLVTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLVESGG GLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIHWVRQAPGK LEWVAGITPAGGYTYYADSVKGRFTISADTSKNTA YLQMNLSRAEDTAVYYCARFVFFLPYAMDYWGQGT LVTVSS
473	DVD471L	AB015	AB070	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFVSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSYTGTVTFGQGTKV EIKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASF VSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ QSYTTPPTFGQGTKVEIKR
474	DVD472H	AB070	AB015	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIH WVRQAPGKGLEWVAGITPAGGYTYYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNLSRAEDTAVYYCARFVFFLPY AMDYWGQGTTLVTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLVES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDNWISWVRQAPG KGLEWVG YISPNSGFTYYADSVKGRFTISADTSKN TAYLQMNLSRAEDTAVYYCARDNFGGYFDYWGQGT LVTVSS
475	DVD472L	AB070	AB015	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFVSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSYTTPPTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASF VSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ QSYTGTVTFGQGTKVEIKR

20

30

【0937】

実施例 2. 9 2 : リンカー組 3 を用いる VEGF (seq. 2) 及び DLL4 (seq. 1) DVD-I g の作成 40

【0938】

【表 1 4 7】

表 145

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
476	DVD477H	AB015	AB070	12345678901234567890123456789012345 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDNWIS WVRQAPGKGLEWVGYSIPNSGFTYYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARDNFGGYF DYWGQGTLLVTVSS ASTKGPSVFPLA EVQLVESGG GLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIHWVRQAPGK LEWVAGITPAGGYTYYADSVKGRFTISADTSKNTA YLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPYAMDYWGQGT

10

477	DVD477L	AB015	AB070	LVTVSS DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQSYTGTFTFGQGTKV EIKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS QDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYTTP FTFGQGTKVEIKR
478	DVD478H	AB070	AB015	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIH WVRQAPGKGLEWVAGITPAGGYTYYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPY AMDYWGQGTLLVTVSS ASTKGPSVFPLA EVQLVES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDNWISWVRQAPG KGLEWVGYSIPNSGFTYYADSVKGRFTISADTSKN TAYLQMNSLRAEDTAVYYCARDNFGGYFDYWGQGT LVTVSS
479	DVD478L	AB070	AB015	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQSYTTPFTFGQGTKVE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ DVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYTGT FTFGQGTKVEIKR

20

【0 9 3 9】

実施例 2. 9 3 : リンカー組 4 を用いる V E G F (s e q . 2) 及び D L L 4 (s e q . 1) D V D - I g の作成 30

【0 9 4 0】

【表 1 4 8】

表 146

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
480	DVD483H	AB015	AB070	12345678901234567890123456789012345 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDNWIS WVRQAPGKGLEWVGYYISPNSGFTYYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARDNFGGYF DYWGQGTLVTVSS ASTKGPE EVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGFTISDYWIHWVRQAPGKGLEWVAGI TPAGGYTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCARFVFFFLPYAMDYWGQGTLLTVSS
481	DVD483L	AB015	AB070	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQSYTGTVTFGQGTKV EIKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFY SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QSYTTPPTFGQGTKVEIKR
482	DVD484H	AB070	AB015	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIH WVRQAPGKGLEWVAGITPAGGYTYYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFFLPY AMDYWGQGTLLTVSS ASTKGPE EVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGFTFTDNWISWVRQAPGKGLEWVG YISPNSGFTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMN SLRAEDTAVYYCARDNFGGYFDYWGQGTLLTVSS
483	DVD484L	AB070	AB015	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQSYTTPPTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFY SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QSYTGTVTFGQGTKVEIKR

10

20

【0 9 4 1】

実施例 2. 9 4 : リンカー組 1 を用いる V E G F (s e q . 3) 及び D L L 4 (s e q . 1) D V D - I g の作成

【0 9 4 2】

【表 1 4 9】

表 147

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
484	DVD467H	AB015	AB071	123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDNWIS WVRQAPGKGLEWVGYYISPNSGFTYYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARDNFGGYF DYWGQGTTLVTVSS ASTKGPE EVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGFTINASWIHWVRQAPGKGLEWVGAI YPYSGYTNYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCARWGHSTSPWAMDYWGQGTTLVTVSS
485	DVD467L	AB015	AB071	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQSYTGTVTFGQGTKV EIKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS QVIRRLAWYQQKPGKAPKLLIYAASNLASGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNTSPL TFGQGTKVEIKR
486	DVD468H	AB071	AB015	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIH WVRQAPGKGLEWVGAIYPYSGYTNYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSP WAMDYWGQGTTLVTVSS ASTKGPE EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGFTFTDNWISWVRQAPGKGLEWV GYISPNSGFTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQM NSLRAEDTAVYYCARDNFGGYFDYWGQGTTLVTVSS
487	DVD468L	AB071	AB015	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQVIRRLAW YQQKPGKAPKLLIYAASNLASGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQSNTSPLTFGQGTKVE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ DVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYTGTV TFGQGTKVEIKR

10

20

【0 9 4 3】

実施例 2. 9 5 : リンカー組 2 を用いる V E G F (s e q . 3) 及び D L L 4 (s e q . 1) DVD-I g の作成

【0 9 4 4】

【表 150】

表 148

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
488	DVD473H	AB015	AB071	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDNWIS WVRQAPGKGLEWVGYYISPNSGFTYYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARDNFGGYF DYWGQGTTLVTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLVESGG GLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIHWVRQAPGK LEWVGAIYPYSGYTNYADSVKGRFTISADTSKNTA YLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSPWAMDYWGQ TLVTVSS
489	DVD473L	AB015	AB071	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSYTGTVTFGQGTKV EIKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQVIRRLAWYQQKPGKAPKLLIYAASNL ASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ QSNTSPLTFGQGTKVEIKR
490	DVD474H	AB071	AB015	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIH WVRQAPGKGLEWVGAIYPYSGYTNYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSP WAMDYWGQGTTLVTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLVE SGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDNWISWVRQAP GKGLEWVGYYISPNSGFTYYADSVKGRFTISADTSK NTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARDNFGGYFDYWGQ TLVTVSS
491	DVD474L	AB071	AB015	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQVIRRLAW YQQKPGKAPKLLIYAASNLASGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSNTSPLTFGQGTKVEIKR

10

20

				FTLTISLQPEDFATYYCQQSNTSPLTFGQGTKVEIKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYTGTVTFGQGTKVEIKR

【0945】

実施例 2. 96 : リンカー組 3 を用いる VEGF (seq. 3) 及び DLL4 (seq. 1) DVD-Ig の作成

30

【0946】

【表 1 5 1】

表 149

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345
492	DVD479H	AB015	AB071	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDNWIS WVRQAPGKGLEWVGYYISPNSGFTYYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARDNFGGYF DYWGQGTTLVTVSS ASTKGPSVFPLA EVQLVESGG GLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIHWVRQAPGK LEWVGAIYPYSGYTNADSVKGRFTISADTSKNTA YLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSPWAMDYWGQG TLVTVSS
493	DVD479L	AB015	AB071	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFYLSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSYTGTVTFGQGTKV EIKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRAS QVIRRLAWYQQKPGKAPKLLIYAASNLASGVPSR FSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSNTSPL TFGQGTKVEIKR
494	DVD480H	AB071	AB015	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIH WVRQAPGKGLEWVGAIYPYSGYTNADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSP WAMDYWGQGTTLVTVSS ASTKGPSVFPLA EVQLVE SGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDNWISWVRQAP GKGLEWVGYYISPNSGFTYYADSVKGRFTISADTSK NTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARDNFGGYFDYWGQG TLVTVSS
495	DVD480L	AB071	AB015	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQVIRRLAW YQQKPGKAPKLLIYAASNLASGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSNTSPLTFGQGTKVE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQ DVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFYLSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYTGT TFGQGTKVEIKR

10

20

【0 9 4 7】

実施例 2. 97：リンカー組 4 を用いる VEGF (seq. 3) 及び DLL4 (seq. 1) DVD-Ig の作成

【0 9 4 8】

【表 1 5 2】

表 150

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345
496	DVD485H	AB015	AB071	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDNWIS WVRQAPGKGLEWVGYYISPNSGFTYYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARDNFGGYF DYWGQGTTLVTVSS ASTKGPE EVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGFTINASWIHWVRQAPGKGLEWVGAI YPYSGYTNADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCARWGHSTSPWAMDYWGQGTTLVTVSS
497	DVD485L	AB015	AB071	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFYLSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSYTGTVTFGQGTKV EIKR TVAAPSVFI FPDIQMTQSPSSLSASVGRV TITCRASQVIRRLAWYQQKPGKAPKLLIYAASNL

30

40

				ASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QSNTSPLTFGQGTKVEIKR
498	DVD486H	AB071	AB015	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIH WVRQAPGKGLEWVGAIYPYSGYTNYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSP WAMDYWGQGTTLVTVSS ASTKGPEVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGFTFTDNWISWVRQAPGKGLEWV GYISPN SGFTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQM NSLRAEDTAVYYCARDNFGGYFDYWGQGTTLVTVSS
499	DVD486L	AB071	AB015	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQVIRRLAW YQQKPGKAPKLLIYAASNLASGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQSNTSPLTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRV ITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLY SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QSYTGTVTFGQGTKVEIKR

10

【0949】

実施例 2. 98：リンカー組 1 を用いる VEGF (seq. 1) 及び D L L 4 (seq. 1) DVD-I g の作成

【0950】

【表 153】

表 151

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345
500	DVD469H	AB015	AB014	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDNWIS WVRQAPGKGLEWVGYISPN SGFTYYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARDNFGGYF DYWGQGTTLVTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLVESGG GLVQPGGSLRLSCAASGYFTFTNYGMNWVRQAPGK LEWVGWINTYTG EPTYAADFKRRFTFSLDTSKSTA YLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYYGSSHWYFDVWG QGTTLVTVSS
501	DVD469L	AB015	AB014	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQSYTGTVTFGQGTKV EIKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSL HSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QYSTVPWTFGQGTKVEIKR
502	DVD470H	AB014	AB015	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYFTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTG EPTYAADFKRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYYG SHWYFDVWGQGTTLVTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQL VESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDNWISWVRQ APGKGLEWVGYISPN SGFTYYADSVKGRFTISADT SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARDNFGGYFDYWG QGTTLVTVSS
503	DVD470L	AB014	AB015	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQYSTVPWTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRV ITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLY SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QSYTGTVTFGQGTKVEIKR

20

30

40

【0951】

実施例 2. 99：リンカー組 2 を用いる VEGF (seq. 1) 及び D L L 4 (seq. 1) DVD-I g の作成

【0952】

【表 1 5 4】

表 152

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
504	DVD475H	AB015	AB014	123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDNWIS
				WVRQAPGKGLEWVGYISPNSGFTYYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARDNFGGYF DYWGQGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAPE EVQLVESGG GLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKG LEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKSTA YLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGSSHWYFDVWG QGTLVTVSS
505	DVD475L	AB015	AB014	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQSYTGTVTFGQGTKV EIKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCSAS QDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSTVPW TFGQGTKVEIKR
506	DVD476H	AB014	AB015	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGS SHWYFDVWGQGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAPE EVQL VESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDNWISWVRQ APGKGLEWVGYISPNSGFTYYADSVKGRFTISADT SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARDNFGGYFDYWG QGTLVTVSS
507	DVD476L	AB014	AB015	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKVE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRASQ DVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYTGTV TFGQGTKVEIKR

10

20

【0 9 5 3】

実施例 2. 1 0 0 : リンカー組 3 を用いる V E G F (s e q . 1) 及び D L L 4 (s e q . 1) D V D - I g の作成

【0 9 5 4】

30

【表 1 5 5】

表 153

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
508	DVD481H	AB015	AB014	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDNWIS WVRQAPGKGLEWVGYSIPNSGFTYYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARDNFGGYF DYWGQGTTLVTVSS ASTKGPE EVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKGLEWVGWI NTYTGEPTYAADFRRFTFSLDTSKSTAYLQMNSL RAEDTAVYYCAKYPHYGSSHWYFDVWGQGTTLVTV SS
509	DVD481L	AB015	AB014	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPSRFGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSYTGTVTFGQGTKV EIKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSL HSGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ QYSTVPWTFGQGTKVEIKR
510	DVD482H	AB014	AB015	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGS SHWYFDVWGQGTTLVTVSS ASTKGPE EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGFTFTDNWISWVRQAPGKGLE WVGYSIPNSGFTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYL QMNSLRAEDTAVYYCARDNFGGYFDYWGQGTTLVTV SS
511	DVD482L	AB014	AB015	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRV ITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFY SGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ QSYTGTVTFGQGTKVEIKR

10

20

【0 9 5 5】

実施例 2. 1 0 1 : リンカー組 1 を用いる V E G F (s e q . 1) 及び D L L 4 (s e q . 3) D V D - I g の作成

【0 9 5 6】

30

【表 1 5 6】

表 154

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
512	DVD487H	AB072	AB014	12345678901234567890123456789012345 EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYVIN WVKQKPGQGLEWIGLINPYNDGTYNEKFKVKATL TSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCASYYYGSR YFDYWGGTTLTVSS ASTKGPE EVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKGLEWVG WINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKSTAYLQMN SLRAEDTAVYYCAKYPHYYGSSHWFYFDVWGQGT LVTVSS
513	DVD487L	AB072	AB014	DIQMTQSSSYLSVSLGGRVTITCKASDHINNWLAW YQQKPGNAPRLISGATSLETGVPSRFSGSGSGKD YTLSTSLQTEDVATYYCQYWSIPLTFGAGTKLE LKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCSASQ DISNYLNWYQQKPGKAPKVLITYFTSSLHSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQYSTVTPWT FGQGTKVEIKR
514	DVD488H	AB014	AB072	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTF SLDTSKSTAYLQMNLSRAEDTAVYYCAKYPHYYS SHWFYFDVWGQGTLLTVSS ASTKGPE EVQLQQSGPEL VKPGASVKMSCKASGYTFTSYVINWVKQKPGQGLE WIGLINPYNDGTYNEKFKVKATLTSDKSSSTAYM ELSSLTSEDSAVYYCASYYYGSRYYFDYWGGTTL TVSS
515	DBD488L	AB014	AB072	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLITYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQYSTVTPWTFGQGTKVE IKR TVAAP DIQMTQSSSYLSVSLGGRVTITCKASD HINNWLAWYQQKPGNAPRLISGATSLETGVPSRF SGSGSGKDYTLSTSLQTEDVATYYCQYWSIPLT FGAGTKLELKR

10

20

【0 9 5 7】

実施例 2. 1 0 2 : リンカー組 2 を用いる V E G F (s e q . 1) 及び D L L 4 (s e q . 3) D V D - I g の作成

【0 9 5 8】

30

【表 1 5 7】

表 155

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
516	DVD493H	AB072	AB014	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYVIN WVKQKPGQGLEWIGLINPYNDGTTYNEKFKVKATL TSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCASYYYGSRY YFDYWGQGTTLTVSS ASTKGPSVFPLAPE EVQLVES GGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPG KGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKS TAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGSSHWYFDV WGQGTTLTVSS
517	DVD493L	AB072	AB014	DIQMTQSSSYLSVSLGGRVTITCKASDHINNWLAW YQKPGNAPRLISGATSLETGVPSRFGSGSGKD YTLSTSLQTEDVATYYCQYWSIPLTFGAGTKLE LKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCSASQDISNYLNWYQKPGKAPKVLIIYFTSSLH SGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ YSTVPWTFGQGTKVEIKR
518	DVD494H	AB014	AB072	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGS SHWYFDVWGQGTTLTVSS ASTKGPSVFPLAPE EVQL QQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYVINWVKQ KPGQGLEWIGLINPYNDGTTYNEKFKVKATLTSDK SSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCASYYYGSRYFDY WGQGTTLTVSS
519	DVD494L	AB014	AB072	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDISNYLNW YQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQYSTVPWTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSSSYLSVSLGGRVT ITCKASDHINNWLAWYQKPGNAPRLISGATSLE TGVPSRFGSGSGKDYTLSTSLQTEDVATYYCQ YWSIPLTFGAGTKLELKR

10

20

【0 9 5 9】

実施例 2. 1 0 3 : リンカー組 3 を用いる V E G F (s e q . 1) 及び D L L 4 (s e q . 3) D V D - I g の作成

【0 9 6 0】

30

【表 1 5 8】

表 156

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
520	DVD499H	AB072	AB014	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYVIN WVKQKPGQGLEWIGLINPYNDGTYNEKFKVKATL TSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCASYYYGSRY YFDYWGGQTTLTVSS ASTKGPSVFPLAPE EVQLVES GGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPG KGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKS TAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYYGSSHWYFDV WGQGTTLTVSS
521	DVD499L	AB072	AB014	DIQMTQSSSYLSVSLGGRVTITCKASDHINNWLAW YQQKPGNAPRLLISGATSLETGVPSRFGSGSGSKD YTLSTSLQTEDVATYYCQYWSIPLTFGAGTKLE LKRT TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQ DISNYLNWYQQKPGKAPKVLITYFTSSLHSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQYSTVWPWT FGQGTKVEIKR
522	DVD500H	AB014	AB072	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYYS SHWYFDVWGQGTTLTVSS ASTKGPSVFPLAPE EVQL QQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYVINWVKQ KPGQGLEWIGLINPYNDGTYNEKFKVKATLTSDK SSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCASYYYGSRYFYDY WGQGTTLTVSS
523	DVD500L	AB014	AB072	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLITYFTSSLHSGVPSRFGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQYSTVWPWTFGQGTKVE IKRT TVAAP DIQMTQSSSYLSVSLGGRVTITCKASD HINNWLAWYQQKPGNAPRLLISGATSLETGVPSRF SGSGSGKDYTLSTSLQTEDVATYYCQYWSIPLT FGAGTKLELKR

10

20

【0 9 6 1】

実施例 2. 1 0 4 : リンカー組 4 を用いる V E G F (s e q . 1) 及び D L L 4 (s e q . 3) D V D - I g の作成

【0 9 6 2】

30

【表 159】

表 157

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
524	DVD505H	AB072	AB014	12345678901234567890123456789012345 EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYVIN WVKQKPGQGLEWIGLINPYNDGTYNEKFKVKATL
				TSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCASYYYGSRY YFDYWGQGTTLTVSS ASTKGPE EVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWRQAPGKGLEWVG WINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKSTAYLQMN SLRAEDTAVYYCAKYPHYGSSHWYFDVWGQGTTLV TVSS
525	DVD505L	AB072	AB014	DIQMTQSSSYLSVSLGGRVTITCKASDHINNWLAW YQQKPGNAPRLISGATSLETGVPSRFGSGSGKD YTLSITSLQTEDVATYYCQQYWSIPLTFGAGTKLE LKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLH SGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ YSTVPWTFGQGTKVEIKR
526	DVD506H	AB014	AB072	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTF SLDTSKSTAYLQMNLSRAEDTAVYYCAKYPHYGS SHWYFDVWGQGTTLTVSS ASTKGPE EVQLQQSGPEL VKPGASVKMSCKASGYTFTSYVINWVKQKPGQGLE WIGLINPYNDGTYNEKFKVKATLTSDKSSSTAYM ELSSLTSEDSAVYYCASYYYGSRYFDYWGQGTTL TVSS
527	DVD506L	AB014	AB072	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSSSYLSVSLGGRVT ITCKASDHINNWLAWYQQKPGNAPRLISGATSLE TGVPSRFGSGSGKDYTLISITSLQTEDVATYYCQQ YWSIPLTFGAGTKLELKR

10

20

【0963】

実施例 2. 105 : リンカー組 1 を用いる VEGF (seq. 2) 及び DLL4 (seq. 3) DVD-Ig の作成

【0964】

30

【表 160】

表 158

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345
528	DVD489H	AB072	AB070	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYVIN WVKQKPGQGLEWIGLINPYNDGTKYNEKFKVKATL TSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCASYYYGSRY YFDYWGGTTLTVSS ASTKGPE EVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTISDYWIHWVRQAPGKGLEWVA GITPAGGYTTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMN SLRAEDTAVYYCARFVFFLPYAMDYWGQGTTLVTVS S
529	DVD489L	AB072	AB070	DIQMTQSSSYLSVSLGGRVTITCKASDHINNWLAW YQQKPGNAPRLISGATSLETGVPSRFSGSGSGKD YTLSTSLQTEDVATYYCQYWSIPLTFGAGTKLE LKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ DVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYTTPPT FGQGTKVEIKR
530	DVD490H	AB070	AB072	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIH WVRQAPGKGLEWVAGITPAGGYTTYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPY AMDYWGQGTTLTVSS ASTKGPE EVQLQQSGPELVK PGASVKMSCKASGYTFTSYVINWVKQKPGQGLEWIG LINPYNDGTKYNEKFKVKATLTSKSSSTAYMELS SLTSEDSAVYYCASYYYGSRYFDYWGGTTLTVS S
531	DVD490L	AB070	AB072	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSYTTPPTFGQGTKVE IKR TVAAP DIQMTQSSSYLSVSLGGRVTITCKASD HINNWLAWYQQKPGNAPRLISGATSLETGVPSRF SGSGSGKDYTLSTSLQTEDVATYYCQYWSIPLT
				FGAGTKLELKR

10

20

【0965】

実施例 2. 106 : リンカー組 2 を用いる VEGF (seq. 2) 及び DLL4 (seq. 3) DVD-Ig の作成

【0966】

30

【表 1 6 1】

表 159

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
532	DVD495H	AB072	AB070	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYVIN WVKQKPGQGLEWIGLINPYNDGTYNEKFKVKATL TSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCASYYYGSRY YFDYWQGTTTLTVSS ASTKGPSVFPLAPE EVQLVES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIHWVRQAPG KGLEWVAGITPAGGYTTYADSVKGRFTISADTSKN TAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPYAMDYWGQ GTLVTVSS
533	DVD495L	AB072	AB070	DIQMTQSSSYLSVSLGGRVTITCKASDHINNWLAW YQQKPGNAPRLLISGATSLETGVPSRFSGSGSGKD YTLSITSLQTEDVATYYCQYWSIPLTFGAGTKLE LKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRV ITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLY SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQY SYTTPPTFGQGTKEIKR
534	DVD496H	AB070	AB072	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIH WVRQAPGKGLEWVAGITPAGGYTTYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPY AMDYWGQGTTLTVSS ASTKGPSVFPLAPE EVQLQSS GPPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYVINWVKQKPG QGLEWIGLINPYNDGTYNEKFKVKATLTSDKSSS TAYMELSSLTSEDSAVYYCASYYYGSRYFDYWQG GTTTLTVSS
535	DVD496L	AB070	AB072	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQYSYTTPPTFGQGTKE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSSSYLSVSLGGRVT ITCKASDHINNWLAWYQQKPGNAPRLLISGATSLE TGVPSRFSGSGSGDYTLSTSLQTEDVATYYCQY YWSIPLTFGAGTKLELKR

10

20

【0 9 6 7】

実施例 2. 1 0 7 : リンカー組 3 を用いる V E G F (s e q . 2) 及び D L L 4 (s e q . 3) D V D - I g の作成

【0 9 6 8】

30

【表 1 6 2】

表 160

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
536	DVD501H	AB072	AB070	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYVIN WVKQKPGQGLEWIGLINPYNDGTYNEKFKVKATL TSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCASYYYGSRY YFDYWQGTTTLTVSS ASTKGPSVFPLAPE EVQLVES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIHWVRQAPG KGLEWVAGITPAGGYTTYADSVKGRFTISADTSKN TAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPYAMDYWGQ GTLVTVSS
537	DVD501L	AB072	AB070	DIQMTQSSSYLSVSLGGRVTITCKASDHINNWLAW YQQKPGNAPRLLISGATSLETGVPSRFSGSGSGKD YTLSITSLQTEDVATYYCQYWSIPLTFGAGTKLE LKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQ DVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQYSYTTPPT FGQGTKEIKR
538	DVD502H	AB070	AB072	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIH

40

				WVRQAPGKGLEWVAGITPAGGYTTYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPY AMDYWGQGTTLVTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLQQS GPQLVKGASVKMSCKASGYTFTSYVINWVKQKPG QGLEWIGLINPYNDGTYNEKFKVKATLTSDKSSS TAYMELSSLTSEDSAVYYCASYYYGSRYFDYWGQ GTTLTVSS
539	DVD502L	AB070	AB072	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQSYTTPPTFGQGTKVE IKR TVAAP DIQMTQSSSYLSVSLGGRVTITCKASD HINNWLAWYQQKPGNAPRLISGATSLETGVPSRF SGSGSGKDYTLSTISLTQTEDVATYYCQQYWSIPLT FGAGTKLELKR

10

【0969】

実施例 2. 108：リンカー組 4 を用いる VEGF (seq. 2) 及び D L L 4 (seq. 3) DVD-I g の作成

【0970】

【表 163】

表 161

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345
540	DVD507H	AB072	AB070	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYVIN WVKQKPGQGLEWIGLINPYNDGTYNEKFKVKATL TSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCASYYYGSRY YFDYWGQGTTLTVSS ASTKGPE EVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTISDYWIHWVRQAPGKGLEWVA GITPAGGYTTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMN SLRAEDTAVYYCARFVFFLPYAMDYWGQGTTLTVS S
541	DVD507L	AB072	AB070	DIQMTQSSSYLSVSLGGRVTITCKASDHINNWLAW YQQKPGNAPRLISGATSLETGVPSRFSGSGSGKD YTLSTISLTQTEDVATYYCQQYWSIPLTFGAGTKLE LKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLY SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ SYTTPPTFGQGTKVEIKR
542	DVD508H	AB070	AB072	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIH WVRQAPGKGLEWVAGITPAGGYTTYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPY AMDYWGQGTTLVTVSS ASTKGPE EVQLQQSGPELVK PGASVKMSCKASGYTFTSYVINWVKQKPGQGLEWIG LINPYNDGTYNEKFKVKATLTSDKSSSTAYMELS SLTSEDSAVYYCASYYYGSRYFDYWGQGTTLTVS S
543	DVD508L	AB070	AB072	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQSYTTPPTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSSSYLSVSLGGRVT ITCKASDHINNWLAWYQQKPGNAPRLISGATSLE TGVPSRFSGSGSGKDYTLSTISLTQTEDVATYYCQQ YWSIPLTFGAGTKLELKR

20

30

40

【0971】

実施例 2. 109：リンカー組 1 を用いる VEGF (seq. 3) 及び D L L 4 (seq. 3) DVD-I g の作成

【0972】

【表 164】

表 162

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
544	DVD491H	AB072	AB071	12345678901234567890123456789012345 EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYVIN WVKQKPGQGLEWIGLINPYNDGTYNEKFKVKATL TSKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCASYYYGSRY
				YFDYWGQGTTTLTVSS ASTKGPEV QLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTINASWIHWVRQAPGKGLEWVG AIYPYSGYTNADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMN SLRAEDTAVYYCARWGHSTSPWAMDYWGQGTLTV SS
545	DVD491L	AB072	AB071	DIQMTQSSSYLSVSLGGRVTITCKASDHINNLAW YQQKPGNAPRLISGATSLETGVPSRFSGSGSGKD YTLSTSLQTEDVATYYCQQYWSIPLTFGAGTKLE LKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ VIRRLAWYQQKPGKAPKLLIYAASNLAGVPSRF SGSGSGTDFTLTITSSLPEDFATYYCQQSNTSPLT FGQGTKVEIKR
546	DVD492H	AB071	AB072	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIH WVRQAPGKGLEWVGAIYPYSGYTNADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSP WAMDYWGQGTLTVSS ASTKGPEV QLQQSGPELVK PGASVKMSCKASGYTFTSYVINWVKQKPGQGLEWI GLINPYNDGTYNEKFKVKATLTSDKSSSTAYMEL SSLTSEDSAVYYCASYYYGSRYYFDYWGQGTTTLTV SS
547	DVD492L	AB071	AB072	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQVIRRLAW YQQKPGKAPKLLIYAASNLAGVPSRFSGSGSGTD FTLTITSSLPEDFATYYCQQSNTSPLTFGQGTKVE IKR TVAAP DIQMTQSSSYLSVSLGGRVTITCKASD HINNLAWYQQKPGNAPRLISGATSLETGVPSRF SGSGSGKDYTLSTSLQTEDVATYYCQQYWSIPLT FGAGTKLELKR

10

20

【0973】

実施例 2. 110 : リンカー組 2 を用いる VEGF (seq. 3) 及び DLL4 (seq. 3) DVD-Ig の作成

【0974】

30

【表 1 6 5】

表 163

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
548	DVD497H	AB072	AB071	12345678901234567890123456789012345 EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYVIN WVKQKPGQGLEWIGLINPYNDGTYNEKFKVKATL TSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCASYYYGSRY YFDYWGGQTTLTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLVES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIHWVRQAPG KGLEWVGAIYPYSGYTNADSVKGRFTISADTSKN TAYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSPWAMDYWG QGTLVTVSS
549	DVD497L	AB072	AB071	DIQMTQSSSYLSVSLGGRVTITCKASDHINNWLAW YQQKPGNAPRLLISGATSLETGVPSRFGSGSGKD YTLSITSLQTEDVATYYCQQYWSIPLTFGAGTKLE LKR TVAAPS VFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQVIRRLAWYQQKPGKAPKLLIYAASNLA SGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ SNTSPLTFGQGTKVEIKR
550	DVD498H	AB071	AB072	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIH WVRQAPGKGLEWVGAIYPYSGYTNADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSP WAMDYWGQGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLQQ SGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYVINWVKQKP QGQGLEWIGLINPYNDGTYNEKFKVKATLTSDKSS STAYMELSSLTSEDSAVYYCASYYYGSRYFDYWG QGTTTLTVSS
551	DVD498L	AB071	AB072	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQVIRRLAW YQQKPGKAPKLLIYAASNLAGVPSRFGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSNTSPLTFGQGTKVE IKR TVAAPS VFIFPP DIQMTQSSSYLSVSLGGRVT ITCKASDHINNWLAWYQQKPGNAPRLLISGATSLE TGVPSRFGSGSGKDYTLSITSLQTEDVATYYCQQ YWSIPLTFGAGTKLELKR

10

20

【0 9 7 5】

実施例 2. 1 1 1 : リンカー組 3 を用いる V E G F (s e q . 3) 及び D L L 4 (s e q . 3) D V D - I g の作成

【0 9 7 6】

30

【表 1 6 6】

表 164

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345
552	DVD503H	AB072	AB071	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYVIN WVKQKPGQGLEWIGLINPYNDGTKYNEKFKVKATL TSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCASYYYGSRY YFDYWGQGTTLTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLVES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIHWVRQAPG KGLEWVGAIYPYSGYTNADSVKGRFTISADTSKN TAYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSPWAMDYWG QGTTLTVSS
553	DVD503L	AB072	AB071	DIQMTQSSSYLSVSLGGRVTITCKASDHINNWLAW YQQKPGNAPRLLISGATSLETGVPSRFSGSGSGKD YTLSITSLQTEDVATYYCQQYWSIPLTFGAGTKLE LKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ VIRRLAWYQQKPGKAPKLLIYAASNLAGVPSRF SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSNTSPLT FGQGTKVEIKR
554	DVD504H	AB071	AB072	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIH WVRQAPGKGLEWVGAIYPYSGYTNADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSP WAMDYWGQGTTLTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLQQ SGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYVINWVKQKP GQGLEWIGLINPYNDGTKYNEKFKVKATLTSKSS STAYMELSSLTSEDSAVYYCASYYYGSRYFDYWG QGTTLTVSS
555	DVD504L	AB071	AB072	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQVIRRLAW YQQKPGKAPKLLIYAASNLAGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSNTSPLTFGQGTKVE IKR TVAAP DIQMTQSSSYLSVSLGGRVTITCKASD HINNWLAWYQQKPGNAPRLLISGATSLETGVPSRF SGSGSGKDYTLSITSLQTEDVATYYCQQYWSIPLT FGAGTKLELKR

10

20

【0 9 7 7】

実施例 2. 1 1 2 : リンカー組 4 を用いる V E G F (s e q . 3) 及び D L L 4 (s e q . 3) D V D - I g の作成

【0 9 7 8】

30

【表 1 6 7】

表 165

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345
556	DVD509H	AB072	AB071	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYVIN WVKQKPGQGLEWIGLINPYNDGTKYNEKFKVKATL TSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCASYYYGSRY YFDYWGQGTTLTVSS ASTKGPEVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTINASWIHWVRQAPGKGLEWVG AIYPYSGYTNADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMN SLRAEDTAVYYCARWGHSTSPWAMDYWGQGTTLTV SS
557	DVD509L	AB072	AB071	DIQMTQSSSYLSVSLGGRVTITCKASDHINNWLAW YQQKPGNAPRLLISGATSLETGVPSRFSGSGSGKD YTLSITSLQTEDVATYYCQQYWSIPLTFGAGTKLE LKR TVAAPSVFI FPDIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQVIRRLAWYQQKPGKAPKLLIYAASNLA SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ SNTSPLTFGQGTKVEIKR
558	DVD510H	AB071	AB072	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIH WVRQAPGKGLEWVGAIYPYSGYTNADSVKGRFTI

40

				SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSP WAMDYWGQGTTLVTVSS ASTKGPE VQLQQSGPELVK PGASVKMSCKASGYTFTSYVINWVKQKPGQGLEWI GLINPYNDGTYNEKFKVKATLTSDKSSSTAYMEL SSLTSEDSAVYYCASYYYGSRYFDYWGQGTTLTV SS
559	DVD510L	AB071	AB072	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRASQVIRRLAW YQQKPGKAPKLLIYAASNLASGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSNTSPLTFGQGTKVE IKR TVAAPSVEIFPP DIQMTQSSSYLSVSLGGRVT ITCKASDHINNWLAWYQQKPGNAPRLISGATSLE TGVPSRFSGSGSGKDYTLTSITSLQTEDVATYYCQQ YWSIPLTFGAGTKLELKR

10

【0979】

実施例 2. 113: リンカー組 1 を用いる VEGF (seq. 1) 及び D L L 4 (seq. 4) DVD-I g の作成

【0980】

【表 168】

表 166

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345
560	DVD511H	AB073	AB014	EVQLQQSGPELEKPGASVKISCKASGYSTFGYNMN WVKQSNKGKLEWIGNIDPYFGGTNYNQKFKGKATL TVDKSSSTAYMQLKSLTSEDSAVYYCARNYDYDGG CFDYWGQGTTLTVSS ASTKGPE VQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKGLEWVG WINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKSTAYLQMN SLRAEDTAVYYCAKYPHYGGSSHWYFDVWGQGTTLV TVSS
561	DVD511L	AB073	AB014	QAVVTQESALTTSPGETVTLTCSRSTGAVTTSNYA NWVQEKPDHLFTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLIG DKAALTITGAQTEDEAIYFCALWYSNHWVFGGK LTVLG QPKAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCS ASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVP SRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQYSTV PWTFGQGTKVEIKR
562	DVD512H	AB014	AB073	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGS SHWYFDVWGQGTTLTVSS ASTKGPE VQLQQSGPEL EKPGASVKISCKASGYSTFGYNMNWVKQSNKGKLE WIGNIDPYFGGTNYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYM QLKSLTSEDSAVYYCARNYDYDGGCFDYWGQGTTL TVSS
563	DVD512L	AB014	AB073	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQYSTVTPWTFGQGTKVE IKR TVAAP QAVVTQESALTTSPGETVTLTCSRSTG AVTTSNYANWVQEKPDHLFTGLIGGTNNRAPGVPA RFSGSLIGDKAALTITGAQTEDEAIYFCALWYSNH WVEGGGKLTVLG

20

30

40

【0981】

実施例 2. 114: リンカー組 2 を用いる VEGF (seq. 1) 及び D L L 4 (seq. 4) DVD-I g の作成

【0982】

【表 169】

表 167

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
564	DVD517H	AB073	AB014	12345678901234567890123456789012345 EVQLQQSGPELEKPGASVKISCKASGYSTFGYNMN WVKQSNKGSLEWIGNIDPYFGGTNYNQKFKGKATL TVDKSSSTAYMQLKSLTSEDSAVYYCARNYDYDGG CFDYWGQGTTLTVSS ASTKGPSVFPLAPEVQLVES

				GGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPG KLEWVGWINTYTGEPYAADFRRFTFSLDTSKS TAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGSSHWYFDV WGQGTTLTVSS
565	DVD517L	AB073	AB014	QAVVTQESALTTSPGETVTLTCRSSTGAVTTSNYA NWVQEKPDHLFTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLIG DKAALTITGAQTEDEAIYFCALWYSNHWVFGGGTK LTVLG QPKAAPSVTLFPP DIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTS SLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY CQQYSTVPWTFGQGTKVEIKR
566	DVD518H	AB014	AB073	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMN WVRQAPGKLEWVGWINTYTGEPYAADFRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGS SHWYFDVWGQGTTLTVSS ASTKGPSVFPLAPEVQL QQSGPELEKPGASVKISCKASGYSTFGYNMNWVKQ SNKGSLEWIGNIDPYFGGTNYNQKFKGKATLTVDK SSSTAYMQLKSLTSEDSAVYYCARNYDYDGGCFDY WGQGTTLTVSS
567	DVD518L	AB014	AB073	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKVE IKR TVAAPSVEFI PPQAVVTQESALTTSPGETVTL TCRSSTGAVTTSNYANWVQEKPDHLFTGLIGGTNN RAPGVPARFSGSLIGDKAALTITGAQTEDEAIYFC ALWYSNHWVFGGGTKLTVLG

10

20

【0983】

実施例 2. 115 : リンカー組 3 を用いる VEGF (seq. 1) 及び DLL4 (seq. 4) DVD-Ig の作成

【0984】

30

【表 170】

表 168

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345
568	DVD523H	AB073	AB014	EVQLQQSGPELEKPGASVKISCKASGYSFTGYNMN WVKQSNQKSLEWIGNIDPYFGGTNYNQKFKGKATL TVDKSSSTAYMQLKSLTSEDSAVYYCARNYDYDGG CFDYWGQGTTLTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLVES GGGLVQPGGSLRLSCAASGYFTFTNYGMNWVRQAPG KGLEWVGWINTYTGPTYAADFKRRFTFSLDTSKS TAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGSSHWYFDV WGQGTTLTVSS
569	DVD523L	AB073	AB014	QAVVTQESALTTSPGETVTTLTCSRSTGAVTTSNYA NWVQEKPDHLFTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLIG DKAALTITGAQTEDEAIYFCALWYSNHWVFGGGTK LTVLG QPKAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCS ASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVP SRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYSTV PWTFGQGTKVEIKR
570	DVD524H	AB014	AB073	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYFTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGPTYAADFKRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGGS SHWYFDVWGQGTTLTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQL QQSGPELEKPGASVKISCKASGYSFTGYNMNWVKQ SNGKSLEWIGNIDPYFGGTNYNQKFKGKATLTVDK SSSTAYMQLKSLTSEDSAVYYCARNYDYDGGCFDY WGQGTTLTVSS
571	DVD524L	AB014	AB073	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQYSTVTPWTFGQGTKVE IKR TVAAP QAVVTQESALTTSPGETVTTLTCSRSTG AVTTSNYANWVQEKPDHLFTGLIGGTNNRAPGVP ARFSGSLIGDKAALTITGAQTEDEAIYFCALWYSNH WVFGGGTKLTVLG

10

20

【0985】

実施例 2. 116 : リンカー組 4 を用いる VEGF (seq. 1) 及び DLL4 (seq. 4) DVD-Ig の作成

【0986】

30

【表 171】

表 169

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
572	DVD529H	AB073	AB014	12345678901234567890123456789012345 EVQLQQSGPELEKPGASVKISCKASGYSTGYNMN WVKQSNKGKLEWIGNIDPYFGGTNYNQKFKGKATL TVDKSSSTAYMQLKSLTSEDSAVYYCARNYDYDGG CFDYWGQGTTLTVSS ASTKGPEVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKGLEWVG WINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKSTAYLQMN SLRAEDTAVYYCAKYPHYGSSHWYFDVWGQGTTLV TVSS
573	DVD529L	AB073	AB014	QAVVTQESALTTSPGETVTTLTCRSSTGAVTTSNYA NWVQEKPDHLFTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLIG DKAALTITGAQTEDEAIYFCALWYSNHWVFGGGTK LTVLG QPKAAPSVTLFPP DIQMTQSPSSLSASVGD RVITITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTS SLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYY CQQYSTVPWTFGQGTKVEIKR
574	DVD530H	AB014	AB073	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGSS SHWYFDVWGQGTTLVTVSS ASTKGPEVQLQQSGPEL EKPGASVKISCKASGYSTGYNMNWVKQSNKGKLE WIGNIDPYFGGTNYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYM QLKSLTSEDSAVYYCARNYDYDGGCFDYWGQGTTL TVSS
575	DVD530L	AB014	AB073	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKVE IKR TVAAPSFI FPQAVVTQESALTTSPGETVTL TCRSSTGAVTTSNYANWVQEKPDHLFTGLIGGTNN RAPGVPARFSGSLIGDKAALTITGAQTEDEAIYFC ALWYSNHWVFGGGTKLTVLG

10

20

【0987】

実施例 2. 117 : リンカー組 1 を用いる VEGF (seq. 2) 及び DLL4 (seq. 4) DVD-Ig の作成

【0988】

30

【表 172】

表 170

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
576	DVD513H	AB073	AB070	12345678901234567890123456789012345 EVQLQQSGPELEKPGASVKISCKASGYSTGYNMN WVKQSNKGKLEWIGNIDPYFGGTNYNQKFKGKATL TVDKSSSTAYMQLKSLTSEDSAVYYCARNYDYDGG CFDYWGQGTTLTVSS ASTKGPEVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTISDYWIHWVRQAPGKGLEWVA GITPAGGYTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMN SLRAEDTAVYYCARFVFFLPYAMDYWGQGTTLTVS S
577	DVD513L	AB073	AB070	QAVVTQESALTTSPGETVTTLTCRSSTGAVTTSNYA NWVQEKPDHLFTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLIG DKAALTITGAQTEDEAIYFCALWYSNHWVFGGGTK LTVLG QPKAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCR ASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVP SRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYTT PPTFGQGTKVEIKR
578	DVD514H	AB070	AB073	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIH WVRQAPGKGLEWVAGITPAGGYTYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPY

40

				AMDYWGQGTTLVTVSS ASTKGPE EVQLQQSGPELEKP GASVKISCKASGYSTFGYNNMWVKQSNQKSLWIG NIDPYFGGTNYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMQLK SLTSEDSAVYYCARNYDYDGGCFDYWGQGTTLTVS S
579	DVD514L	AB070	AB073	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQSYTTPPTFGQGTKVE IKR TVAAPQ AVVTQESALTTSPGETVTLTCSRSTG AVTTSNYANWVQEKPDHFTGLIGGTNNRAPGVPA RFGSLIGDKAALTITGAQTEDEAIYFCALWYSNH WVFGGGTKLTVLG

【0989】

10

実施例 2. 118 : リンカー組 2 を用いる VEGF (seq. 2) 及び D L L 4 (seq. 4) DVD-I g の作成

【0990】

【表 173】

表 171

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
580	DVD519H	AB073	AB070	123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345 EVQLQQSGPELEKPGASVKISCKASGYSTFGYNNM WVKQSNQKSLWIGNIDPYFGGTNYNQKFKGKATL TVDKSSSTAYMQLKSLTSEDSAVYYCARNYDYDGG CFDYWGQGTTLTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLVES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIHWVRQAPG KGLEWVAGITPAGGYTYYADSVKGRFTISADTSKN TAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPYAMDYWGQ GTLVTVSS
581	DVD519L	AB073	AB070	QAVVTQESALTTSPGETVTLTCSRSTGAVTTSNYA NWVQEKPDHFTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLIG DKAALTITGAQTEDEAIYFCALWYSNHWVFGGGTK LTVLG QPKAAPSVTLFPP DIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSAS FLYSGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYY CQSYTTPPTFGQGTKVEIKR
582	DVD520H	AB070	AB073	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIH WVRQAPGKLEWVAGITPAGGYTYYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPY AMDYWGQGTTLVTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLQQS GPELEKPGASVKISCKASGYSTFGYNNMWVKQSNQ KSLWIGNIDPYFGGTNYNQKFKGKATLTVDKSSS TAYMQLKSLTSEDSAVYYCARNYDYDGGCFDYWGQ GTTTLTVSS
583	DVD520L	AB070	AB073	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQSYTTPPTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFI FPQAVVTQESALTTSPGETVTL TCRSSTGAVTTSNYANWVQEKPDHFTGLIGGTNN RAPGVPARFSGSLIGDKAALTITGAQTEDEAIYFC ALWYSNHWVFGGGTKLTVLG

20

30

【0991】

40

実施例 2. 119 : リンカー組 3 を用いる VEGF (seq. 2) 及び D L L 4 (seq. 4) DVD-I g の作成

【0992】

【表 1 7 4】

表 172

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
584	DVD525H	AB073	AB070	12345678901234567890123456789012345 EVQLQQSGPELEKPGASVKISCKASGYSTGYNMN WVKQSNQKSLGWIGNIDPYFGGTNYNQKFKGKATL TVDKSSSTAYMQLKSLTSEDSAVYYCARNYDYDGG CFDYWGQGTTLTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLVES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIHWVRQAPG

				KGLEWVAGITPAGGYTYYADSVKGRFTISADTSKN TAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPYAMDYWGQ GTLTVTVSS
585	DVD525L	AB073	AB070	QAVVTQESALTTSPGETVTTLTCRSSTGAVTTSNYA NWWQEKPDHLFTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLIG DKAALTITGAQTEDEAIYFCALWYSNHWVFGGK LTVLG QPKAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCR ASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFYSGVP SRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQSYTT PPTFGQGTKVEIKR
586	DVD526H	AB070	AB073	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIH WVRQAPGKLEWVAGITPAGGYTYYADSVKGRFTI SADTSKN TAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPY AMDYWGQGTTLTVTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLQQS GPELEKPGASVKISCKASGYSTGYNMN WVKQSNQ KSLGWIGNIDPYFGGTNYNQKFKGKATLTVDKSSS TAYMQLKSLTSEDSAVYYCARNYDYDGGCFDYWGQ GTTTLTVSS
587	DVD526L	AB070	AB073	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQSYTTPPTFGQGTKVE IKR TVAAP QAVVTQESALTTSPGETVTTLTCRSSTG AVTTSNYANWVQEKPDHLFTGLIGGTNNRAPGVPA RFSGSLIGDKAALTITGAQTEDEAIYFCALWYSNH WVFGGKTKLTVLG

10

20

【0 9 9 3】

実施例 2. 1 2 0 : リンカー組 4 を用いる VEGF (seq. 2) 及び DLL4 (seq. 4) DVD-Ig の作成

【0 9 9 4】

30

【表 175】

表 173

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
588	DVD531H	AB073	AB070	123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345 EVQLQQSGPELEKPGASVKISCKASGYSFTGYNMN WVKQSNKGKSLIEWIGNIDPYFGGTNYNQKFKGKATL TVDKSSSTAYMQLKSLTSEDSAVYYCARNYDYDGG CFDYWGQGTTLTVSS ASTKGPE EVQLVESGGGLVQF GGSLRLSCAASGFTISDYWIHWVRQAPGKGLEWVA GITPAGGYTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMN SLRAEDTAVYYCARFVFFLPYAMDYWGQGTTLTVS S
589	DVD531L	AB073	AB070	QAVVTQESALTTSPGETVTTLTCRSSTGAVTTSNYA NWVQEKPDHLFTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLIG DKAALTITGAQTEDEAIYFCALWYSNHWVFGGGTK LTVLG QPKAAPSVTLFPP DIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSAS FLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYY CQQSYTTPPTFGQGTKVEIKR
590	DVD532H	AB070	AB073	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIH WVRQAPGKGLEWVAGITPAGGYTYYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPY AMDYWGQGTTLTVSS ASTKGPE EVQLQQSGPELEKP GASVKISCKASGYSFTGYNMNWVKQSNKGKSLIEWI GNIDPYFGGTNYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMQLK SLTSEDSAVYYCARNYDYDGGCFDYWGQGTTLTVS S
591	DVD532L	AB070	AB073	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSYTTPPTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP QAVVTQESALTTSPGETVTL TCRSSTGAVTTSNYANWVQEKPDHLFTGLIGGTNN RAPGVPARFSGSLIGDKAALTITGAQTEDEAIYFC ALWYSNHWVFGGGTKLTVLG

10

20

【0995】

実施例 2. 121 : リンカー組 1 を用いる VEGF (seq. 3) 及び DLL4 (seq. 4) DVD-Ig の作成

【0996】

30

【表 176】

表 174

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
592	DVD515H	AB073	AB071	EVQLQQSGPELEKPGASVKISCKASGYSTGYNMN WVKQSNQKSLEWIGNIDPYFGGTNYNQKFKGKATL TVDKSSSTAYMQLKSLTSEDSAVYYCARNYDYDGG CFDYWGQGTTLTVSS ASTKGPEVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTINASWIHWVRQAPGKGLEWVG AIYPYSGYTNYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMN SLRAEDTAVYYCARWGHSTSPWAMDYWGQGTTLTV SS
593	DVD515L	AB073	AB071	QAVVTQESALTTSPGETVTTLTCSRSTGAVTTSNYA NWVQEKPDHLFTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLIG DKAALTITGAQTEDEAIYFCALWYSNHWVFGGGTK LTVLG QPKAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQVIRRLAWYQQKPGKAPKLLIYAASNLASGVP SRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSNTS PLTFGQGTKVEIKR
594	DVD516H	AB071	AB073	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIH WVRQAPGKGLEWVGAIYPYSGYTNYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSP WAMDYWGQGTTLTVSS ASTKGPEVQLQQSGPELEK PGASVKISCKASGYSTGYNMNWVKQSNQKSLEWI GNIDPYFGGTNYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMQL KSLTSEDSAVYYCARNYDYDGGCFDYWGQGTTLTV SS
595	DVD516L	AB071	AB073	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQVIRRLAW YQQKPGKAPKLLIYAASNLASGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSNTSPLTFGQGTKVE IKR TVAAP QAVVTQESALTTSPGETVTTLTCSRSTG AVTTSNYANWVQEKPDHLFTGLIGGTNNRAPGVPA RFSGSLIGDKAALTITGAQTEDEAIYFCALWYSNH WVFGGGTKLTVLG

10

20

【0997】

実施例 2. 122 : リンカー組 2 を用いる VEGF (seq. 3) 及び DLL4 (seq. 4) DVD-Ig の作成

【0998】

30

【表 177】

表 175

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
596	DVD521H	AB073	AB071	EVQLQQSGPELEKPGASVKISCKASGYSTGYNMN WVKQSNQKSLEWIGNIDPYFGGTNYNQKFKGKATL TVDKSSSTAYMQLKSLTSEDSAVYYCARNYDYDGG CFDYWGQGTTLTVSS ASTKGPSVFPLA EVQLVES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIHWVRQAPG KGLEWVGAIYPYSGYTNYADSVKGRFTISADTSKN TAYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSPWAMDYWG QGTTLTVSS
597	DVD521L	AB073	AB071	QAVVTQESALTTSPGETVTTLTCSRSTGAVTTSNYA NWVQEKPDHLFTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLIG DKAALTITGAQTEDEAIYFCALWYSNHWVFGGGTK LTVLG QPKAAPSVTLFPP DIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCRASQVIRRLAWYQQKPGKAPKLLIYAAS NLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYY CQQSNTSPLTFGQGTKVEIKR
598	DVD522H	AB071	AB073	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIH WVRQAPGKGLEWVGAIYPYSGYTNYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSP WAMDYWGQGTTLTVSS ASTKGPSVFPLA EVQLQQ

40

				SGPELEKPGASVKISCKASGYSTGYNMNVKQSN GKSLEWIGNIDPYFGGTNYNQKFKGKATLTVDKSS STAYMQLKSLTSEDSAVYYCARNYDYDGGCFDYWG QGTTTLTVSS
599	DVD522L	AB071	AB073	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCRASQVIRRLAW YQQKPGKAPKLLIYAASNLAGVPSRFGSGSGSTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQSNTSPLTFGQGTKE IKR TVAAPSVFIFPP QAVVTQESALTTSPGETVTL TCRSSTGAVTTSNYANWVQEKPDHFLTGLIGGTNN RAPGVPARFSGSLIGDKAALTITGAQTEDEAIYFC ALWYSNHWVFGGGTKLTVLG

【0999】

10

実施例 2. 123 : リンカー組 3 を用いる VEGF (seq. 3) 及び D L L 4 (seq. 4) DVD-I g の作成

【1000】

【表 178】

表 176

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
600	DVD527H	AB073	AB071	123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345 EVQLQQSGPELEKPGASVKISCKASGYSTGYNMN WVKQSNKGKLEWIGNIDPYFGGTNYNQKFKGKATL TVDKSSSTAYMQLKSLTSEDSAVYYCARNYDYDGG CFDYWGQGTTTLTVSS ASTKGPSVFPLAPE VQLVES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIHWVRQAPG KGLEWVGAIPYSGYTNADSVKGRFTISADTSKN TAYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSPWAMDYWG QGTLVTVSS
601	DVD527L	AB073	AB071	QAVVTQESALTTSPGETVTLTCRSSTGAVTTSNYA NWWQEKPDHFLTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLIG DKAALTITGAQTEDEAIYFCALWYSNHWVFGGGTK LTVLG QPKAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCR ASQVIRRLAWYQQKPGKAPKLLIYAASNLAGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNTS PLTFGQGTKEIKR
602	DVD528H	AB071	AB073	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIH WVRQAPGKLEWVGAIPYSGYTNADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSP WAMDYWGQGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAPE VQLQQ SGPELEKPGASVKISCKASGYSTGYNMNVKQSN GKSLEWIGNIDPYFGGTNYNQKFKGKATLTVDKSS STAYMQLKSLTSEDSAVYYCARNYDYDGGCFDYWG QGTTTLTVSS
603	DVD528L	AB071	AB073	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCRASQVIRRLAW YQQKPGKAPKLLIYAASNLAGVPSRFGSGSGSTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQSNTSPLTFGQGTKE IKR TVAAP QAVVTQESALTTSPGETVTLTCRSSTG AVTTSNYANWVQEKPDHFLTGLIGGTNNRAPGVPA RFGSLIGDKAALTITGAQTEDEAIYFCALWYSNH WVFGGGTKLTVLG

20

30

【1001】

40

実施例 2. 124 : リンカー組 4 を用いる VEGF (seq. 3) 及び D L L 4 (seq. 4) DVD-I g の作成

【1002】

【表 179】

表 177

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
604	DVD533H	AB073	AB071	EVQLQQSGPELEKPGASVKISCKASGYSFTGYNMN WVKQSNKGSLEWIGNIDPYFGGTNYNQKFKGKATL TVDKSSSTAYMQLKSLTSEDSAVYYCARNYDYDGG CFDYWGQGTTLTVSS ASTKGPE VQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTINASWIHWVRQAPGKGLEWVG AIYPYSGYTNYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMN

10

				SLRAEDTAVYYCARWGHSTSPWAMDYWGQGTTLTV SS
605	DVD533L	AB073	AB071	QAVVTQESALTTSPGETVTTLTCSRSTGAVTTSNYA NWVQEKPDHLFTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLIG DKAALTITGAQTEDEAIYFCALWYSNHWVFGGGTK LTVLG QPKAAPSVTLFPP DIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCRASQVIRRLAWYQQKPGKAPKLLIYAAS NLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYY CQQSNTSPLTFGQGTKVEIKR
606	DVD534H	AB071	AB073	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIH WVRQAPGKGLEWVGAIYPYSGYTNYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSP WAMDYWGQGTTLTVSS ASTKGPE VQLQQSGPELEK PGASVKISCKASGYSFTGYNMNWVKQSNKGSLEWI GNIDPYFGGTNYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMQL KSLTSEDSAVYYCARNYDYDGGCFDYWGQGTTLTV SS
607	DVD534L	AB071	AB073	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQVIRRLAW YQQKPGKAPKLLIYAASNLAGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSNTSPLTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFI FPQAVVTQESALTTSPGETVTL TCRSSTGAVTTSNYANWVQEKPDHLFTGLIGGTNN RAPGVPARFSGSLIGDKAALTITGAQTEDEAIYFC ALWYSNHWVFGGGTKLTVLG

20

【1003】

実施例 2. 125: リンカー組 1 を用いる HER 2 (seq. 1) 及び ErbB 3 (seq. 1) DVD-Ig の作成

30

【1004】

【表 180】

表 178

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
608	DVD387H	AB062	AB004	QVQLQQWAGAGLLKPSSETLSLTCAVYGGSFSGYYWS WIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VETSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDKWTWYFD LWGRGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLVESGGG LVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGL EWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTL VTVSS
609	DVD387L	AB062	AB004	DIEMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSVLYSSSN RNYLAWYQQNPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSG SGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQYYSTPRTEFG QGTKVEIKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSAS VGDRVITITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIY SASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFA TYQCQQHYTTPTPTFGQGTKVEIKR
610	DVD388H	AB004	AB062	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHW VRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFY AMDYWGQGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQLQQW GAGLLKPSSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPG KGLEWIGEINHSGSTNYPNPSLKSRVTISVETSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCARDKWTWYFDLWGRGTL VTVSS
611	DVD388L	AB004	AB062	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDVNTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPTPTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP DIEMTQSPDSLAVSLGERAT INCRSSQSVLYSSSNRNYLAWYQQNPGQPPKLLIY WASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVA VYYCQYYSTPRTEFGQGTKVEIKR

10

20

【1005】

実施例 2. 126 : リンカー組 2 を用いる HER 2 (seq. 1) 及び ErbB3 (seq. 1) DVD-Ig の作成

【1006】

30

【表 181】

表 179

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
612	DVD391H	AB062	AB004	12345678901234567890123456789012345 QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWS WIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VETSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDKWTWYFD LWGRGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLVESGGG LVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGL EWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGT LTVTVSS
613	DVD391L	AB062	AB004	DIEMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSVLYSSSN RNYLAWYQQNPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSG SGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPRTFG QGTKVEIKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGRVTI TCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASF LYSGVPSRFSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QHYYTPPTFGQGTKVEIKR
614	DVD392H	AB004	AB062	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYI HWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFY AMDYWGQGTLLTVTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQLQQW GAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPG KGLEWIGEINHSGSTNYPNPSLKSRVTISVETSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCARDKWTWYFDLWGRGTL VTVSS
615	DVD392L	AB004	AB062	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQDVNTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASF LYSGVPSRFSRSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQ QHYYTPPTFGQGTKVE IKR TVAAP DIEMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQ SVLYSSSNRNYLAWYQQNPGQPPKLLIYWASTRES GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQ QYYSTPRTFGQGTKVEIKR

10

20

【1007】

実施例 2. 127 : リンカー組 3 を用いる HER 2 (seq. 1) 及び ErbB3 (seq. 1) DVD-Ig の作成

【1008】

30

【表 182】

表 180

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
616	DVD395H	AB062	AB004	12345678901234567890123456789012345 QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWS WIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VETSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDKWTWYFD LWGRGTLVTVSS ASTKGPE EVQLVESGGGLVQPGGS LRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIY PTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLLTVTVSS
617	DVD395L	AB062	AB004	DIEMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSVLYSSSN RNYLAWYQQNPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSG SGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPRTFG QGTKVEIKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSAS VGDRVITITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIY SASF LYSGVPSRFSRSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQ QHYYTPPTFGQGTKVEIKR
618	DVD396H	AB004	AB062	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYI HWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFY AMDYWGQGTLLTVTVSS ASTKGP QVQLQQWGAGLLKP

40

				SETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIG EINHSGSTNYPNPSLKSRVTISVETSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCARDKWTWYFDLWGRGTLVTVSS
619	DVD396L	AB004	AB062	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPSRFSGRSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPFTFGQGTKE IKR TVAAPSVFI PPDIEMTQSPDSLAVSLGERAT INCRSSQSVLYSSSNRNYLAWYQQNPGQPPKLLIY WASTRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVA VYYCQQYYSTPRTEFGQGTKEIKR

【1009】

実施例 2. 128 : リンカー組 4 を用いる HER 2 (seq. 1) 及び ErbB3 (seq. 1) DVD-Ig の作成

【1010】

【表 183】

表 181

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
620	DVD683H	AB062	AB004	QVQLQQWAGALLKPSSETLSLTCAVYGGSFSGYYWS WIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VETSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDKWTWYFD LWGRGTLVTVSS ASTKGPE VQLVESGGGLVQPGGS LRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIY PTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTTLVTVSS
621	DVD683L	AB062	AB004	DIEMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSVLYSSN RNYLAWYQQNPGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFSG SGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPRTEFG QGTKEIKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFYLS GVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQH YTPPTFTFGQGTKEIKR
622	DVD684H	AB004	AB062	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHW VRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFY AMDYWGQGTTLVTVSS ASTKGPE QVQLQQWAGALLK PSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIG EINHSGSTNYPNPSLKSRVTISVETSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCARDKWTWYFDLWGRGTLVTVSS
623	DVD684L	AB004	AB062	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPSRFSGRSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPFTFGQGTKE IKR TVAAP DIEMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQ SVLYSSSNRNYLAWYQQNPGQPPKLLIYWASTRES GVDPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQY YSTPRTEFGQGTKEIKR

【1011】

実施例 2. 129 : リンカー組 1 を用いる HER 2 (seq. 1) 及び ErbB3 (seq. 2) DVD-Ig の作成

【1012】

【表 184】

表 182

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
624	DVD399H	AB063	AB004	12345678901234567890123456789012345 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSIYSMN WVRQAPGKGLEWVSYISSSSTIYYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCARDRGDFDA FDIWGQGTMTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLVESG GGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQG TLVTVSS

10

625	DVD399L	AB063	AB004	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDITNYLNW YQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSTRFSGSGSD FTFTISSLQPEDATYNCQQCENFPITFGQGRLE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLY SGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ HYTTPPTFGQGTKVEIKR
626	DVD400H	AB004	AB063	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIH WVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFY AMDYWGQGTTLVTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLVES GGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSIYSMNWVRQAPG KGLEWVSYISSSSTIYYADSVKGRFTISRDNKN SLYLQMNSLRDEDTAVYYCARDRGDFDAFDIWGQG TMVTVSS
627	DVD400L	AB004	AB063	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAW YQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCQASQDITNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLE TGVPSTRFSGSGSDFTFTFTISSLQPEDATYNCQQ CENFPITFGQGRLEIKR

20

【1013】

実施例 2. 130: リンカー組 2 を用いる HER 2 (seq. 1) 及び ErbB 3 (seq. 2) DVD-Ig の作成

【1014】

30

【表 185】

表 183

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
628	DVD403H	AB063	AB004	12345678901234567890123456789012345 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSIYSMN WVRQAPGKGLEWVSYISSSSSTIYYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCARDRGDFDA FDIWGQGTMTVTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLVESG GGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRDEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQG TLVTVSS
629	DVD403L	AB063	AB004	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDITNYLNW YQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTD FTFTISSLPEDIATYNCQQCENFPITFGQGTGLE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ DVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRF SGSRSGTDFTLTISSLPEDFATYYCQQHYTTPPT FGQGTKVEIKR
630	DVD404H	AB004	AB063	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIH WVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRDEDTAVYYCSRWGGDGFY AMDYWGQGTMTVTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLVES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSIYSMNWVRQAPG KGLEWVSYISSSSSTIYYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRDEDTAVYYCARDRGDFDAFDIWGQG TMVTVSS
631	DVD404L	AB004	AB063	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTD FTLTISSLPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQ DITNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRF SGSGSGTDFTFTISSLPEDIATYNCQQCENFPIT FGQGTGLEIKR

10

20

【1015】

実施例 2. 131: リンカー組 3 を用いる HER 2 (seq. 1) 及び ErbB 3 (seq. 2) DVD-Ig の作成

【1016】

30

【表 186】

表 184

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
632	DVD407H	AB063	AB004	12345678901234567890123456789012345 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSIYSMN WVRQAPGKGLEWVSYISSSSTIYYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCARDRGDFDA FDIWGQGTMTVTVSS ASTKGPE EVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVAR IYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNS LRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTTLVTVSS
633	DVD407L	AB063	AB004	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQDITNYLNW YQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTD FTFTISSLQPEDIATYNCQQCENFPITFGQGTRLE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRTI TCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLY SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ HYTTPPTFGQGTKVEIKR
634	DVD408H	AB004	AB063	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIH WVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFY AMDYWGQGTTLVTVSS ASTKGPE EVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTFSIYSMNWVRQAPGKGLEWVS YISSSSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMN SLRDEDTAVYYCARDRGDFDAFDIWGQGTMTVTVSS
635	DVD408L	AB004	AB063	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVNTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRTI TCQASQDITNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLE TGVPSPRFSGSGSGTDFTFTISLQPEDIATYNCQQ CENFPITFGQGTRLEIKR

10

20

【1017】

実施例 2. 132: リンカー組 4 を用いる HER2 (seq. 1) 及び ErbB3 (seq. 2) DVD-Ig の作成

【1018】

【表 187】

表 185

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
636	DVD685H	AB063	AB004	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSIYSMN WVRQAPGKGLEWVS ^Y ISSSSSTIYYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCARDRGDFDA FDIWGQGTMTVSS ASTKGPE EVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKLEWVAR IYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNS LRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTTLTVSS
637	DVD685L	AB063	AB004	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDITNYLNW YQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFGSGSGTD FTFTISSLQPEDATYNCQQCENFPITFGQGRLE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ DVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRF SGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPT FGQGTKVEIKR
638	DVD686H	AB004	AB063	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIH WVRQAPGKLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFY AMDYWGQGTTLTVTVSS ASTKGPE EVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTFSIYSMNWVRQAPGKLEWVS YISSSSSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMN SLRDEDTAVYYCARDRGDFDAFDIWGQGTMTVTVSS
639	DVD686L	AB004	AB063	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFGSRSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVE
				IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQ DITNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRF SGSGSGTDFTFTISSLQPEDATYNCQQCENFPIT FGQGRLEIKR

10

20

【1019】

実施例 2. 133：リンカー組 1 を用いる EGF R (seq. 2) 及び ErbB3 (seq. 3) DVD-Ig の作成

【1020】

【表 188】

表 186

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
640	DVD409H	AB067	AB033	EVQLLES GGG L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S H Y V M A W V R Q A P G K G L E W V S S I S S S G G W T L Y A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C T R G L K M A T I F D Y W G Q G T L V T V S S A S T K G P Q V Q L K Q S G P G L V Q P S Q S L S I T C T V S G F S L T N Y G V H W V R Q S P G K G L E W L G V I W S G N T D Y N T P F T S R L S I N K D N S K S Q V F F K M N S L Q S N D T A I Y Y C A R A L T Y Y D Y E F A Y W G Q G T L V T V S A
641	DVD409L	AB067	AB033	Q S A L T Q P A S V S G S P G Q S I T I S C T G T S S D V G S Y N V V S W Y Q Q H P G K A P K L I I Y E V S Q R P S G V S N R F S G S K S G N T A S L T I S G L Q T E D E A D Y Y C C S Y A G S S I F V I F G G G T K V T V L G Q P K A A P D I L L T Q S P V I L S V S P G E R V S F S C R A S Q S I G T N I H W Y Q Q R T N G S P R L L I K Y A S E S I S G I P S R F S G S G S G T D F T L S I N S V E S E D I A D Y Y C Q Q N N N W P T T F G A G T K L E L K R
642	DVD410H	AB033	AB067	Q V Q L K Q S G P G L V Q P S Q S L S I T C T V S G F S L T N Y G V H W V R Q S P G K G L E W L G V I W S G N T D Y N T P F T S R L S I N K D N S K S Q V F F K M N S L Q S N D T A I Y Y C A R A L T Y Y D Y E F A Y W G Q G T L V T V S A A S T K G P E V Q L L E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S H Y V M A W V R Q A P G K G L E W V S S I S S S G G W T L Y A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C T R G L K M A T I F D Y W G Q G T L V T V S S
643	DVD410L	AB033	AB067	D I L L T Q S P V I L S V S P G E R V S F S C R A S Q S I G T N I H W Y Q Q R T N G S P R L L I K Y A S E S I S G I P S R F S G S G S G T D F T L S I N S V E S E D I A D Y Y C Q Q N N N W P T T F G A G T K L E L K R T V A A P Q S A L T Q P A S V S G S P G Q S I T I S C T G T S S D V G S Y N V V S W Y Q Q H P G K A P K L I I Y E V S Q R P S G V S N R F S G S K S G N T A S L T I S G L Q T E D E A D Y Y C C S Y A G S S I F V I F G G G T K V T V L G

10

20

【1021】

実施例 2. 134: リンカー組 2 を用いる E G F R (s e q . 2) 及び E r b B 3 (s e q . 3) D V D - I g の作成

【1022】

【表 189】

表 187

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
644	DVD413H	AB067	AB033	EVQLLES GGG L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S H Y V M A W V R Q A P G K G L E W V S S I S S S G G W T L Y A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C T R G L K M A T I 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 Q V Q L K Q S G P G L V Q P S Q S L S I T C T V S G F S L T N Y G V H W V R Q S P G K G L E W L G V I W S G N T D Y N T P F T S R L S I N K D N S K S Q V F F K M N S L Q S N D T A I Y Y C A R A L T Y Y D Y E F A Y W G Q G T L V T V S A
645	DVD413L	AB067	AB033	Q S A L T Q P A S V S G S P G Q S I T I S C T G T S S D V G S Y N V V S W Y Q Q H P G K A P K L I I Y E V S Q R P S G V S N R F S G S K S G N T A S L T I S G L Q T E D E A D Y Y C C S Y A G S S I F V I F G G G T K V T V L G Q P K A A P S V T L F P P D I L L T Q S P V I L S V S P G E R V S F S C R A S Q S I G T N I H W Y Q Q R T N G S P R L L I K Y A S E S I S G I P S R F S G S G S G T D F T L S I N S V E S E D I A D Y Y C Q Q N N N W P T T F G A G T K L E L K R

30

40

646	DVD414H	AB033	AB067	QVQLKQSGPGLVQPSSLSITCTVSGFSLTNYGVH WVRQSPGKGLEWLGVWSGGNTDYNTPFSTRLSIN KDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYDYE FAYWGQGT LVTVSA ASTKGPSVFPLAP EVQLLESG GGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYVMAWVRQAPGK GLEWVSSISSGGWTLYADSVKGRFTISRDNKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCTRGLKMATIFDYWGQGT LVTVSS
647	DVD414L	AB033	AB067	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHW YQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTD FTLSINSVESEDIADYYCQNNNWPTTFGAGTKLE LKR TVAAPSVFIFPP QSALTQPASVSGSPGQSITI SCTGTSSDVGSYNVSWYQQHPGKAPKLIIEVSQ RPSGVSNRFSKSGNTASLTISGLQTEDEADYYC CSYAGSSIFVIFGGGKVTVLG

10

【1023】

実施例 2. 135 : リンカー組 3 を用いる E G F R (s e q . 2) 及び E r b B 3 (s e q . 3) D V D - I g の作成

【1024】

【表 190】

表 188

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345
648	DVD417H	AB067	AB033	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYVMA WVRQAPGKGLEWVSSISSGGWTLYADSVKGRFTI SRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRGLKMATI FDYWGQGT LVTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQLKQSG PGLVQPSQSL SITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGK GLEWLGVWSGGNTDYNTPFSTRLSINKDNSKSQV FFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYDEYFAYWGQGT LVTVSA
649	DVD417L	AB067	AB033	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNV SWYQQHPGKAPKLIIEVSQRPSGVSNRFSKSG NTASLTISGLQTEDEADYYCCSYAGSSIFVIFGGG TKVTVLG QPKAAP DILLTQSPVILSVSPGERVSFS CRASQSIGTNIHWYQRTNGSPRLLIKYASESISG IPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQNN NWPTTFGAGTKLELKR
650	DVD418H	AB033	AB067	QVQLKQSGPGLVQPSSLSITCTVSGFSLTNYGVH WVRQSPGKGLEWLGVWSGGNTDYNTPFSTRLSIN KDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYDYE FAYWGQGT LVTVSA ASTKGPSVFPLAP EVQLLESG GGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYVMAWVRQAPGK GLEWVSSISSGGWTLYADSVKGRFTISRDNKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCTRGLKMATIFDYWGQGT LVTVSS
651	DVD418L	AB033	AB067	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHW YQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTD FTLSINSVESEDIADYYCQNNNWPTTFGAGTKLE LKR TVAAP QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSS DVGSYNVSWYQQHPGKAPKLIIEVSQRPSGVSN RFSKSGNTASLTISGLQTEDEADYYCCSYAGSS IFVIFGGGKVTVLG

20

30

40

【1025】

実施例 2. 136 : リンカー組 4 を用いる E G F R (s e q . 2) 及び E r b B 3 (s e q . 3) D V D - I g の作成

【1026】

【表 191】

表 189

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
652	DVD421H	AB067	AB033	12345678901234567890123456789012345 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYVMA WVRQAPGKGLEWVSSISSSGWTLYADSVKGRFTI
				SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRGLKMATI FDYWGQGTTLVTVSS ASTKGP QVQLKQSGPGLVQPS QSLSTCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLEWLG VWSGGNTDYNTPTFSRLSINKDNSKSKQVFFKMNSL QSNDAIYYCARALTYDYEFAYWGQGTTLVTVSA
653	DVD421L	AB067	AB033	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNV SWYQQHPGKAPKLIIEVVSQRPSGVSNRFGSGSKG NTASLTISGLQTEDEADYYCCSYAGSSIFVIFGGG TKVTVLG QPKAAPSVTLFPP DILLTQSPVILSVSP GERVSFSCRASQSIGTNIHWYQQRTNGSPRLLIK YASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIAD YYCQNNNWPTTFGAGTKLELKR
654	DVD422H	AB033	AB067	QVQLKQSGPGLVQPSQSLSTCTVSGFSLTNYGVH WVRQSPGKGLEWLGVIWSGGNTDYNTPTFSRLSIN KDNSKSKQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDY EFAYWGQGTTLVTVSA ASTKGP EVQLLESGGGLVQPG GSLRLSCAASGFTFSHYVMAWVRQAPGKGLEWVSS ISSSGWTLYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCTRGLKMATIFDYWGQGTTLVTVSS
655	DVD422L	AB033	AB067	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHW YQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTD FTLSINSVESEDIADYYCQNNNWPTTFGAGTKLE LKR TVAAPSVFIFPP QSALTQPASVSGSPGQSITI SCTGTSSDVGSYNVSWYQQHPGKAPKLIIEVVSQ RPSGVSNRFGSGSKSGNTASLTISGLQTEDEADYYC CSYAGSSIFVIFGGGTKVTVLG

10

20

【1027】

実施例 2. 137: リンカー組 1 を用いる HER 2 (seq. 1) 及び ErbB3 (seq. 3) DVD-Ig の作成

【1028】

【表 192】

表 190

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
656	DVD411H	AB067	AB004	12345678901234567890123456789012345 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYVMA WVRQAPGKGLEWVSSISSSGGWTLYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRGLKMATI FDYWGQGTLLVTVSS ASTKGPE VQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVAR IYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNS LRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLLVTVSS
657	DVD411L	AB067	AB004	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNV SWYQQHPGKAPKLLIYEVSQRPSGVSNRFGSKSG NTASLTISGLQTEDEADYYCCSYAGSSI FVIFGGG TKVTVLG QPKAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRTTIT CRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASF LYSGVPSRFGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QHYTTPPTFGQGTKVEIKR
658	DVD412H	AB004	AB067	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYI HWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFY AMDYWGQGTLLVTVSS ASTKGPE VQLLESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGFTFSHYVMAWVRQAPGKGLEWV SISSSGGWTLYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCTRGLKMATIFDYWGQGTLLVTVSS
659	DVD412L	AB004	AB067	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRASQDVNTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASF LYSGVPSRFGSRSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQ QHYTTPPTFGQGTKVE IKR TVAAP QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSS DVGSYNVSWYQQHPGKAPKLLIYEVSQRPSGVSN RFGSKSGNTASLTISGLQTEDEADYYCCSYAGSS IFVIFGGGTKVTVLG

10

20

【1029】

実施例 2. 138 : リンカー組 2 を用いる HER 2 (seq. 1) 及び ErbB3 (seq. 3) DVD-Ig の作成

【1030】

【表 193】

表 191

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
660	DVD415H	AB067	AB004	EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYVMA WVRQAPGKGLEWVSSISSSGGWTLYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRGLKMATI FDYWGQGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAPE EVQLVESG GGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQG TLVTVSS
661	DVD415L	AB067	AB004	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNV SWYQQHPGKAPKLIIEVSVSRPSGVSNRFGSKSG NTASLTISGLQTEDEADYYCCSYAGSSIFVIFGGG TKVTVLG QPKAAPSVTLFPP DIQMTQSPSSLSASV GDRVITITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYS ASFLYSGVPSRFGSGSRSGTDFTLTISLQPEDFAT YYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKR
662	DVD416H	AB004	AB067	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIH WVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFY AMDYWGQGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAPE EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYVMAWVRQAPG KGLEWVSSISSSGGWTLYADSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRGLKMATIFDYWGQG TLVTVSS
663	DVD416L	AB004	AB067	DIQMTQSPSSLSASV GDRVITITCRASQDVNTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFGSGSRSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFI FPP QSALTQPASVSGSPGQSITI SCTGTSSDVGSYNVSWYQQHPGKAPKLIIEVSV RPSGVSNRFGSKSGNTASLTISGLQTEDEADYYC CSYAGSSIFVIFGGGTKVTVLG

10

20

【1031】

実施例 2. 139: リンカー組 3 を用いる HER 2 (seq. 1) 及び ErbB 3 (seq. 3) DVD-Ig の作成

【1032】

【表 194】

表 192

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
664	DVD419H	AB067	AB004	EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYVMA WVRQAPGKGLEWVSSISSSGGWTLYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRGLKMATI FDYWGQGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAPE EVQLVESG GGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQG TLVTVSS
665	DVD419L	AB067	AB004	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNV SWYQQHPGKAPKLIIEVSVSRPSGVSNRFGSKSG NTASLTISGLQTEDEADYYCCSYAGSSIFVIFGGG TKVTVLG QPKAAP DIQMTQSPSSLSASV GDRVITIT CRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSG VPSRFGSGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHY TTPPTFGQGTKVEIKR
666	DVD420H	AB004	AB067	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIH WVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFY AMDYWGQGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAPE EVQLLES

40

				GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYVMAWVRQAPG KGLEWVSSISSSGGWTLYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRGLKMATIFDYWGQ GLTVTVSS
667	DVD420L	AB004	AB067	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVNTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFVSGVPSRFGSGRSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVE IKR TVAAP QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSS DVGSYNVSWYQQHPGKAPKLLIYEVSQRP SGVSNRFGSGSKSGNTASLTISGLQTEDEADYYCCSYAGSS IFVIFGGGTKVTVLG

【1033】

10

実施例 2. 140 : リンカー組 4 を用いる HER2 (seq. 1) 及び ErbB3 (seq. 3) DVD-Ig の作成

【1034】

【表195】

表 193

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345
668	DVD423H	AB067	AB004	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYVMA WVRQAPGKGLEWVSSISSSGGWTLYADSVKGRFTI SRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCTRGLKMATI FDYWGQGLTVTVSS ASTKGPE VQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVAR IYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMN SLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLTVTVSS
669	DVD423L	AB067	AB004	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNV SWYQQHPGKAPKLLIYEVSQRP SGVSNRFGSGSKSGNTASLTISGLQTEDEADYYCCSYAGSSIFVIFGGG TKVTVLG QPKAAPSVTLFPP DIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYS ASFVSGVPSRFGSGRSGTDFTLTISLQPEDFAT YYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKR
670	DVD424H	AB004	AB067	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYI HWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMN SLRAEDTAVYYCSRWGGDGFY AMDYWGQGLTVTVSS ASTKGPE VQLLESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTFSHYVMAWVRQAPGKGLEWVS SISSSGGWTLYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCTRGLKMATIFDYWGQGLTVTVSS
671	DVD424L	AB004	AB067	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVNTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFVSGVPSRFGSGRSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP QSALTQPASVSGSPGQSITI SCTGTSSDVGSYNVSWYQQHPGKAPKLLIYEVSQ RPSGVSNRFGSGSKSGNTASLTISGLQTEDEADYYC CSYAGSSIFVIFGGGTKVTVLG

20

30

【1035】

実施例 2. 141 : リンカー組 1 を用いる VEGF (seq. 1) 及び PLGF (seq. 2) DVD-Ig の作成

40

【1036】

【表 196】

表 194

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
672	DVD541H	AB074VH	AB014VH	12345678901234567890123456789012345 QVQLKQSGPGLVQPSQSL SITCTVSGFSLTTYGIH WVRQSPGKGLEWLGVMWSGGDTDYDAAFISRLSIS KDNSKSQVFFKMNSLQANDTGIYYCARYRFYGM DY WGQGTSTVTVSS ASTKGP EVQLVESGGGLVQPGGSL RLSCAASGYTFTNYGMNWRQAPGKGLEWVGVWINT YTGEPTYAADEFKRRFTFSLDTSKSTAYLQMNSLRA

10

673	DVD541L	AB074VL	AB014VL	EDTAVYYCAKYPHYGGSSHWYFDVWGQGTILTVSS AIQMTQSSSSFSVSLGDRVTITCKASEDIYNRFAW YQQKPGNAPRLISGAASLEAGVPSRFSGSGSGQD YTLSTISLQTEDVATYYCQYWSWPWFSGGKTLE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCSASQ DISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQYSTVPWT FGQGTKVEIKR
674	DVD542H	AB014VH	AB074VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWGVWINTYTGEPTYAADEFKRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGS SHWYFDVWGQGTILTVSS ASTKGP QVQLKQSGPGL VQPSQSL SITCTVSGFSLTTYGIHWVRQSPGKGLE WLGVMWSGGDTDYDAAFISRLSISKDNSKSQVFFK MNSLQANDTGIYYCARYRFYGM DYWGQGTSTVTVSS
675	DVD542L	AB014VL	AB074VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQYSTVPWTFGQGTKVE IKR TVAAP AIQMTQSSSSFSVSLGDRVTITCKASE DIYNRFAWYQQKPGNAPRLISGAASLEAGVPSRF SGSGSGQDYTLSTISLQTEDVATYYCQYWSWPWT FGGGTKLEIKR

20

【1037】

実施例 2. 142 : リンカー組 2 を用いる VEGF (seq. 1) 及び PLGF (seq. 2) DVD-Ig の作成

【1038】

30

【表 197】

表 195

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
676	DVD549H	AB074VH	AB014VH	123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345 QQVQLKQSGPGLVQPSQSLSTICTVSGFSLTTYGIH WVRQSPGKGLEWLGVMWSSGGDTDYDAAFISRLSIS KDNSKSQVFFKMNSLQANDTGIYYCARYRFYGM DY WQQGTSVTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKGLE WVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKSTAYL QMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGSSHWYFDVWGQG TLVTVSS
677	DVD549L	AB074VL	AB014VL	AIQMTQSSSSFSVSLGDRVTITCKASEDIYNRFAW YQQKPGNAPRLLISGAASLEAGVPSRFSGSGSGQD YTLSITSLQTEDVATYYCQQYWSTPWTFGGGTKLE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLH SGVPSRFSGSGSGDTFTLTISLQPEDFATYYCQQ YSTVPWTFGGQTKVEIKR
678	DVD550H	AB014VH	AB074VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGS SHWYFDVWGQGTTLVTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQL KQSGPGLVQPSQSLSTICTVSGFSLTTYGIHWVRQ SPGKGLEWLGVMWSSGGDTDYDAAFISRLSISKDNS KSQVFFKMNSLQANDTGIYYCARYRFYGM DYWGQG TSVTVSS
679	DVD550L	AB014VL	AB074VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQYSTVPWTFGGQTKVE IKR TVAAPSVFIFPP AIQMTQSSSSFSVSLGDRVT ITCKASEDIYNRFAWYQQKPGNAPRLLISGAASLE AGVPSRFSGSGSGQDYTLSITSLQTEDVATYYCQQ YWSTPWTFGGGTKLEIKR

10

20

【1039】

実施例 2. 143 : リンカー組 3 を用いる VEGF (seq. 1) 及び PLGF (seq. 2) DVD-Ig の作成

【1040】

30

【表 198】

表 196

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
680	DVD557H	AB074VH	AB014VH	QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTTYGIH WVRQSPGKGLEWLGVMWSGGDTDYDAAFISRLSIS KDNSKQVFFKMNSLQANDTGIYYCARYRFYGM DY WGQGTSTVTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKGLE WVGWINTYTGEPTYAADFRRFTFSLDTSKSTAYL QMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGSSHWYFDVWGQG TLVTVSS
681	DVD557L	AB074VL	AB014VL	AIQMTQSSSSFSVSLGDRVTITCKASEDIYNRFAW YQQKPGNAPRLISGAASLEAGVPSRFSGSGSGQD YTLSTISLQTEDVATYYCQQYWSTPWTFGGGTKLE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQ DISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYSTVPWT FGQGTKVEIKR
682	DVD558H	AB014VH	AB074VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGS SHWYFDVWGQGTTLVTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQL KQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTTYGIHWVRQ SPGKGLEWLGVMWSGGDTDYDAAFISRLSISKDNS KQVFFKMNSLQANDTGIYYCARYRFYGM DYWGQG TSVTVSS
683	DVD558L	AB014VL	AB074VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKVE IKR TVAAP AIQMTQSSSSFSVSLGDRVTITCKASE DIYNRFAWYQQKPGNAPRLISGAASLEAGVPSRF SGSGSGQDYTLSTISLQTEDVATYYCQQYWSTPWT FGGGTKLEIKR

10

20

【1041】

実施例 2. 144 : リンカー組 4 を用いる VEGF (seq. 1) 及び PLGF (seq. 2) DVD-Ig の作成

【1042】

30

【表 199】

表 197

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345
684	DVD565H	AB074VH	AB014VH	QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTTYGIH WVRQSPGKGLEWLGVMWSGGDTDYDAAFISRLSIS KDNSKSQVFFKMNSLQANDTGIYYCARYRFYGM DY WGQGTSTVTVSS ASTKGP EVQLVESGGGLVQPGGSL RLSCAASGYTFTNYGMNWRQAPGKGLEWVGWINT YTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKSTAYLQMNSLRA EDTAVYYCAKYPHYYGSSHWYFDVWGQGTTLTVSS
685	DVD565L	AB074VL	AB014VL	AIQMTQSSSSFSVSLGDRVTITCKASEDIYNRFAW YQQKPGNAPRLISGAASLEAGVPSRFSGSGSGQD YTLTISLTQTEDVATYYCQQYWSTPWTFGGGTKLE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLH SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLTQPEDFATYYCQQ YSTVPWTFGGGTKVEIKR
686	DVD566H	AB014VH	AB074VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYYG SHWYFDVWGQGTTLTVSS ASTKGP QVQLKQSGPGL VQPSQSLITCTVSGFSLTTYGIHWVRQSPGKGLE WLGVMWSGGDTDYDAAFISRLSISKDNSKSQVFFK MNSLQANDTGIYYCARYRFYGM DYWGQGTSTVTVSS
687	DVD566L	AB014VL	AB074VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLTQPEDFATYYCQQYSTVPWTFGGGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP AIQMTQSSSSFSVSLGDRVT ITCKASEDIYNRFAWYQQKPGNAPRLISGAASLE AGVPSRFSGSGSGQDYTLTISLTQTEDVATYYCQQ YWSTPWTFGGGTKLEIKR

10

20

【1043】

実施例 2. 145 : リンカー組 1 を用いる VEGF (seq. 2) 及び PLGF (seq. 2) DVD-Ig の作成

【1044】

【表 200】

表 198

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
688	DVD543H	AB074VH	AB070VH	QVQLKQSGPGLVQPSQSL SITCTVSGFSLTTYGIH WVRQSPGKGLEWLGVMWSGGDTDYDAAFISRLSIS KDNSKSQVFFKMNSLQANDTGIYYCARYRFYGM DY WGQGTSTVTVSS ASTKGPE VQLVESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFTISDYWIHWVRQAPGKGLEWVAGITP AGGYTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA EDTAVYYCARFVFFLPYAMDYWGQGT LVTVSS
689	DVD543L	AB074VL	AB070VL	AIQMTQSSSSFSVSLGDRV TITCKASEDIYNRFAW YQQKPGNAPRLLISGAASLEAGVPSRFSGSGSQD YTLSITSLQTEDVATYYCQYWSTPWTFGGGTKLE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQ DVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASF LYSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQSYTTPPT FGGGTKVEIKR
690	DVD544H	AB070VH	AB074VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIH WVRQAPGKGLEWVAGITPAGGYTYYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPY AMDYWGQGT LVTVSS ASTKGPE VQLKQSGPGLVQP SQSL SITCTVSGFSLTTYGIHWVRQSPGKGLEWLG VMWSGGDTDYDAAFISRLSISKDNSKSQVFFKMNS LQANDTGIYYCARYRFYGM DYWGQGTSTVTVSS
691	DVD544L	AB070VL	AB074VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASF LYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQSYTTPPTFGGGTKVE IKR TVAAP AIQMTQSSSSFSVSLGDRV TITCKASE DIYNRFAWYQQKPGNAPRLLISGAASLEAGVPSRF SGSGSGQDYTLSITSLQTEDVATYYCQYWSTPWT FGGGTKLEIKR

10

20

【1045】

実施例 2. 146: リンカー組 2 を用いる VEGF (seq. 2) 及び PLGF (seq. 2) DVD-I g の作成

【1046】

【表 201】

表 199

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
692	DVD551H	AB074VH	AB070VH	QVQLKQSGPGLVQPSQSL SITCTVSGFSLTTYGIH WVRQSPGKGLEWLGVMWSGGDTDYDAAFISRLSIS KDNSKSQVFFKMNSLQANDTGIYYCARYRFYGM DY WGQGTSTVTVSS ASTKGPSVFPLA PEVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIHWVRQAPGKGLE WVAGITPAGGYTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYL QMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPYAMDYWGQGT LVT TVSS
693	DVD551L	AB074VL	AB070VL	AIQMTQSSSSFSVSLGDRV TITCKASEDIYNRFAW YQQKPGNAPRLLISGAASLEAGVPSRFSGSGSQD YTLSITSLQTEDVATYYCQYWSTPWTFGGGTKLE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRV T ITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASF L

30

40

				SGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLPEDFATYYCQQ SYTTPPTFGGQTKVEIKR
694	DVD552H	AB070VH	AB074VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIH WVRQAPGKGLEWVAGITPAGGYTTYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPY AMDYWGQGLTVTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQLKQS GPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTTYGIHWVRQSPG KGLEWLGVMWSSGGTDYDAAFISRLSISKDNSKSQ VFFKMNSLQANDTGIYYCARYRFYGM DYWGQGTSV TVSS
695	DVD552L	AB070VL	AB074VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSYTTPPTFGGQTKVE IKR TVAAPSVFIFPP AIQMTQSSSSFSVSLGDRVT ITCKASEDIYNRFAWYQQKPGNAPRLISGAASLE AGVPSRFGSGSGQDYTLISITSLQTEDVATYYCQQ YWSTPWTFGGQTKLEIKR

10

【1047】

実施例 2. 147 : リンカー組 3 を用いる VEGF (seq. 2) 及び PLGF (seq. 2) DVD-I g の作成

【1048】

【表 202】

表 200

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345
696	DVD559H	AB074VH	AB070VH	QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTTYGIH WVRQSPGKGLEWLGVMWSSGGTDYDAAFISRLSIS KDNSKSQVFFKMNSLQANDTGIYYCARYRFYGM DY WGQGTSVTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIHWVRQAPGKGLE WVAGITPAGGYTTYADSVKGRFTISADTSKNTAYL QMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPYAMDYWGQGLTV TVSS
697	DVD559L	AB074VL	AB070VL	AIQMTQSSSSFSVSLGDRVTITCKASEDIYNRFAW YQQKPGNAPRLISGAASLEAGVPSRFGSGSGQD YTLISITSLQTEDVATYYCQQYWSTPWTFGGQTKLE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQ DVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLPEDFATYYCQQSYTTPPT FGGQTKVEIKR
698	DVD560H	AB070VH	AB074VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIH WVRQAPGKGLEWVAGITPAGGYTTYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPY AMDYWGQGLTVTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQLKQS GPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTTYGIHWVRQSPG KGLEWLGVMWSSGGTDYDAAFISRLSISKDNSKSQ VFFKMNSLQANDTGIYYCARYRFYGM DYWGQGTSV TVSS
699	DVD560L	AB070VL	AB074VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSYTTPPTFGGQTKVE IKR TVAAP AIQMTQSSSSFSVSLGDRVTITCKASE DIYNRFAWYQQKPGNAPRLISGAASLEAGVPSRF SGSGSGQDYTLISITSLQTEDVATYYCQQYWSTPWT FGGQTKLEIKR

20

30

40

【1049】

実施例 2. 148 : リンカー組 4 を用いる VEGF (seq. 2) 及び PLGF (seq. 2) DVD-I g の作成

【1050】

【表 203】

表 201

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
700	DVD567H	AB074VH	AB070VH	12345678901234567890123456789012345 QVQLKQSGPGLVQPSSQLSITCTVSGFSLTTYGIH WVRQSPGKGLEWLGVMWMSGGDTDYDAAFISRLSIS KDNSKSQVFFKMNSLQANDTGIYYCARYRFYGM DY WGQGTSTVTVSS ASTKGPE VQLVESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFTISDYWIHWVRQAPGKGLEWVAGITP AGGYTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA EDTAVYYCARFVFFLPYAMDYWGQGTSLVTVSS
701	DVD567L	AB074VL	AB070VL	AIQMTQSSSSFSVSLGDRVTITCKASEDIYNRFAW YQKPGNAPRLISGAASLEAGVPSRFSGSGSGQD YTLSTSLQTEDVATYYCQYQYWPSTPWFSGGKLE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRT ITCRASQDVSTAVAWYQKPGKAPKLLIYSASFLY SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ SYTTPPTFGQGTKVEIKR
702	DVD568VH	AB070VH	AB074VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIH WVRQAPGKGLEWVAGITPAGGYTYYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPY AMDYWGQGTSLVTVSS ASTKGPE VQLKQSGPGLVQP SQSLSTCTVSGFSLTTYGIHWVRQSPGKGLEWLG VMWMSGGDTDYDAAFISRLSISKDNSKSQVFFKMNS LQANDTGIYYCARYRFYGM DYWGQGTSTVTVSS
703	DVD568VL	AB070VL	AB074VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVSTAVAW YQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQSYTTPPTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP AIQMTQSSSSFSVSLGDRVT ITCKASEDIYNRFAWYQKPGNAPRLISGAASLE AGVPSRFSGSGSGQDYTLSTSLQTEDVATYYCQ YWSTPWFSGGKLEIKR

10

20

【1051】

実施例 2. 149: リンカー組 1 を用いる VEGF (seq. 3) 及び PLGF (seq. 2) DVD-Ig の作成

【1052】

【表 204】

表 202

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
704	DVD545H	AB074VH	AB071VH	12345678901234567890123456789012345 QVQLKQSGPGLVQPSQSL SITCTVSGFSLTTYGIH WVRQSPGKGLEWLGVMWSSGGDTDYDAAFISRLSIS KDNSKSQVFFKMNSLQANDTGIYYCARYRFYGM DY WGQGTSTVTVSS ASTKGP EVQLVESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFTINASWIHWVRQAPGKGLEWVGAIYP YSGYTNYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA EDTAVYYCARWGHSTSPWAMDYWGQGTTLTVSS
705	DVD545L	AB074VL	AB071VL	AIQMTQSSSSFSVSLGDRVTITCKASEDIYNRFAW YQKPGNAPRLLISGAASLEAGVPSRFSGSGSGQD YTLSTISLQTEDVATYYCQYWSTPWTFGGGTKLE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQ VIRRLAWYQKPGKAPKLLIYAASNLAGVPSRF SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSNTSPLT FGQGTKVEIKR
706	DVD546H	AB071VH	AB074VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIH WVRQAPGKGLEWVGAIYPYSGYTNYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSP WAMDYWGQGTTLTVTVSS ASTKGP QVQLKQSGPGLVQ PSQSL SITCTVSGFSLTTYGIHWVRQSPGKGLEWL GVMWSSGGDTDYDAAFISRLSISKDNSKSQVFFKMN SLQANDTGIYYCARYRFYGM DYWGQGTSTVTVSS
707	DVD546L	AB071VL	AB074VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQVIRRLAW YQKPGKAPKLLIYAASNLAGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSNTSPLTFGQGTKVE IKR TVAAP AIQMTQSSSSFSVSLGDRVTITCKASE DIYNRFAWYQKPGNAPRLLISGAASLEAGVPSRF SGSGSGQDYTLSTISLQTEDVATYYCQYWSTPWT FGGGTKLEIKR

10

20

【1053】

実施例 2. 150: リンカー組 2 を用いる VEGF (seq. 3) 及び PLGF (seq. 2) DVD-Ig の作成

【1054】

【表 205】

表 203

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
708	DVD553H	AB074VH	AB071VH	12345678901234567890123456789012345 QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTTYGIH WVRQSPGKGLEWLGVMWSSGGDTDYDAAFISRLSIS KDNSKSQVFFKMNSLQANDTGIYYCARYRFYGM DY WGQGTSTVTVSS ASTKGPSVFPLAPE EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGFTINASWIHWVRQAPGKGLE WVGAIYPYSGYTNYADSVKGRFTISADTSKNTAYL QMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSPWAMDYWGQGT LTVSS
709	DVD553L	AB074VL	AB071VL	AIQMTQSSSSFSVSLGDRVTITCKASEDIYNRFAW YQQKPGNAPRLLISGAASLEAGVPSRFSGSGSGQD YTLSTISLQTEDVATYYCQYWSTPWTFGGGTKLE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRT ITCRASQVIRRLAWYQQKPGKAPKLLIYAASNLA SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ SNTSPLTFGQGTKVEIKR
710	DVD554H	AB071VH	AB074VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIH WVRQAPGKGLEWVGAIYPYSGYTNYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSP WAMDYWGQGT LTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQLKQ SGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTTYGIHWVRQSP GKGLEWLGVMWSSGGDTDYDAAFISRLSISKDNSKS QVFFKMNSLQANDTGIYYCARYRFYGM DYWGQGT STVSS
711	DVD554L	AB071VL	AB074VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQVIRRLAW YQQKPGKAPKLLIYAASNLAGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSNTSPLTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP AIQMTQSSSSFSVSLGDRVT ITCKASEDIYNRFAWYQQKPGNAPRLLISGAASLE AGVPSRFSGSGSGQDYTLSTISLQTEDVATYYCQ YWSTPWTFGGGTKLEIKR

10

20

【1055】

実施例 2. 151: リンカー組 3 を用いる VEGF (seq. 3) 及び PLGF (seq. 2) DVD-Ig の作成

【1056】

30

【表 206】

表 204

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
712	DVD561H	AB074VH	AB071VH	12345678901234567890123456789012345 QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTTYGIH WVRQSPGKGLEWLGVMWSSGGDTDYDAAFISRLSIS KDNSKSQVFFKMNSLQANDTGIYYCARYRFYGM DY WGQGTSTVTVSS ASTKGPSVFPLAPE EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGFTINASWIHWVRQAPGKGLE WVGAIYPYSGYTNYADSVKGRFTISADTSKNTAYL QMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSPWAMDYWGQGT LTVSS
713	DVD561L	AB074VL	AB071VL	AIQMTQSSSSFSVSLGDRVTITCKASEDIYNRFAW YQQKPGNAPRLLISGAASLEAGVPSRFSGSGSGQD YTLSTISLQTEDVATYYCQYWSTPWTFGGGTKLE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQ VIRRLAWYQQKPGKAPKLLIYAASNLAGVPSRF SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSNTSPLT FGQGTKVEIKR
714	DVD562H	AB071VH	AB074VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIH WVRQAPGKGLEWVGAIYPYSGYTNYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSP

40

				WAMDYWGQGTTLVTVSS ASTKGPSVFPLAPQ VQLKQ SGPGLVQPSQSLSTICTVSGFSLTTYGIHWVRQSP GKGLEWLGMWMSGGDTDYDAAFISRLSISKDNSKS QVFFKMNSLQANDTGIYYCARYRFYGM DYWGQGT TVSS
715	DVD562L	AB071VL	AB074VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQVIRRLAW YQQKPGKAPKLLIYAASNLAGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQSNTSPLTFGQGTKE IKR TVAAP AIQMTQSSSSFSVSLGDRVTITCKASE DIYNRFAYYQQKPGNAPRLLISGAASLEAGVPSRF SGSGSGQDYTLSTSLQTEDVATYYCQYWPSTPWT FGGGTKLEIKR

【1057】

10

実施例 2. 152 : リンカー組 4 を用いる VEGF (seq. 3) 及び PLGF (seq. 2) DVD-Ig の作成

【1058】

【表 207】

表 205

配列番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
716	DVD569H	AB074VH	AB071VH	123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345 QVQLKQSGPGLVQPSQSLSTICTVSGFSLTTYGIH WVRQSPGKGLEWLGMWMSGGDTDYDAAFISRLSIS KDNSKSQVFFKMNSLQANDTGIYYCARYRFYGM DY WGQGTSTVTVSS ASTKGPE VQLVESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFTINASWIHWVRQAPGKGLEWVGAIYP YSGYTNADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA EDTAVYYCARWGHSTSPWAMDYWGQGTTLVTVSS
717	DVD569L	AB074VL	AB071VL	AIQMTQSSSSFSVSLGDRVTITCKASEDIYNRFAY YQQKPGNAPRLLISGAASLEAGVPSRFSGSGSGQD YTLSTSLQTEDVATYYCQYWPSTPWTFGGGTKLE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQVIRRLAWYQQKPGKAPKLLIYAASNLA SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ SNTSPLTFGQGTKEIKR
718	DVD570H	AB071VH	AB074VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIH WVRQAPGKGLEWVGAIYPYSGYTNADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSP WAMDYWGQGTTLVTVSS ASTKG PQVQLKQSGPGLVQ PSQSLSTICTVSGFSLTTYGIHWVRQSPGKGLEWL GMWMSGGDTDYDAAFISRLSISKDNSKSQVFFKMN SLQANDTGIYYCARYRFYGM DYWGQGTSTVTVSS
719	DVD570L	AB071VL	AB074VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQVIRRLAW YQQKPGKAPKLLIYAASNLAGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQSNTSPLTFGQGTKE IKR TVAAPSVFIFPP AIQMTQSSSSFSVSLGDRVT ITCKASEDIYNRFAYYQQKPGNAPRLLISGAASLE AGVPSRFSGSGSGQDYTLSTSLQTEDVATYYCQQ YWPSTPWTFGGGTKLEIKR

20

30

【1059】

実施例 2. 153 : リンカー組 1 を用いる HER2 (seq. 1) 及び PLGF (seq. 2) DVD-Ig の作成

【1060】

40

【表 208】

表 206

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
720	DVD547H	AB074VH	AB004VH	12345678901234567890123456789012345 QVQLKQSGPGLVQPSSLSITCTVSGFSLTTYGIH WVRQSPGKGLEWLGVMWSGGDTDYDAAFISRLSIS KDNSKSQVFFKMNSLQANDTGIYYCARYRFYGM DY WGQGTSTVTVSS ASTKGPE VQLVESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYP TNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA EDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTTLVTVSS
721	DVD547L	AB074VL	AB004VL	AIQMTQSSSSFSVSLGDRVITITCKASEDIYNRFAW YQKPGNAPRLISGAASLEAGVPSRFSGSGSGQD YTLTITSLQTEDVATYYCQYWPSTPWTFGGKLE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQ DVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRF SGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHYHTTPPT FGQGTKVEIKR
722	DVD548H	AB004VH	AB074VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHW VRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFY AMDYWGQGTTLVTVSS ASTKGP QVQLKQSGPGLVQP SSLSITCTVSGFSLTTYGIHWVRQSPGKGLEWLG VMWSGGDTDYDAAFISRLSISKDNSKSQVFFKMNS LQANDTGIYYCARYRFYGM DYWGQGTSTVTVSS
723	DVD548L	AB004VL	AB074VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVNTAVAW YQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQHYHTTPPTFGQGTKVE IKR TVAAP AIQMTQSSSSFSVSLGDRVITITCKASE DIYNRFAWYQQKPGNAPRLISGAASLEAGVPSRF SGSGSGQDYTLTITSLQTEDVATYYCQYWPSTPWT FGGKLEIKR

10

20

【1061】

実施例 2. 154: リンカー組 2 を用いる HER 2 (seq. 1) 及び PLGF (seq. 2) DVD-I g の作成

【1062】

【表 209】

表 207

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
724	DVD555H	AB074VH	AB004VH	12345678901234567890123456789012345 QVQLKQSGPGLVQPSSLSITCTVSGFSLTTYGIH WVRQSPGKGLEWLGVMWSGGDTDYDAAFISRLSIS KDNSKSQVFFKMNSLQANDTGIYYCARYRFYGM DY WGQGTSTVTVSS ASTKGPSVFPLAPE EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLE WVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYL QMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLV TVSS
725	DVD555L	AB074VL	AB004VL	AIQMTQSSSSFSVSLGDRVITITCKASEDIYNRFAW YQQKPGNAPRLLISGAASLEAGVPSRFGSGSGSQD YTLSITSLQTEDVATYYCQQYWPSTPWTFGGGTKLE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRV ITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLY SGVPSRFGSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ HYTTPPTFGQGTKVEIKR
726	DVD556H	AB004VH	AB074VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIH WVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFY AMDYWGQGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQLKQS GPGLVQPSSLSITCTVSGFSLTTYGIHWRQSPG KGLEWLGVMWSGGDTDYDAAFISRLSISKDNSKSQ VFFKMNSLQANDTGIYYCARYRFYGM DYWGQGTSTV TVSS
727	DVD556L	AB004VL	AB074VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDVNTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFGSGSRSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP AIQMTQSSSSFSVSLGDRV ITCKASEDIYNRFAWYQQKPGNAPRLLISGAASLE AGVPSRFGSGSGSQDYTLSITSLQTEDVATYYCQQ YWPSTPWTFGGGTKLEIKR

10

20

【1063】

実施例 2. 155 : リンカー組 3 を用いる HER 2 (seq. 1) 及び PLGF (seq. 2) DVD-Ig の作成

【1064】

30

【表 2 1 0】

表 208

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
728	DVD563H	AB074VH	AB004VH	12345678901234567890123456789012345 QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTTYGIH WVRQSPGKGLEWLGVMWSGGDTDYDAAFISRLSIS KDNSKQVFFKMNSLQANDTGIYYCARYRFYGM DY WGQGTSTVTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLE WVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYL QMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTTLV TVSS
729	DVD563L	AB074VL	AB004VL	AIQMTQSSSSFSVSLGDRVTITCKASEDIYNRFAW YQQKPGNAPRLISGAASLEAGVPSRFSGSGSQD YTLSITSLQTEDVATYYCQQYWSTPWTFGGGTKLE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ DVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFYLYSGVPSRF SGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPT FGQGTKVEIKR
730	DVD564H	AB004VH	AB074VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHW VRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFY AMDYWGQGTTLVTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQLKQS GPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTTYGIHWVRQSPG KGLEWLGVMWSGGDTDYDAAFISRLSISKDNSKSQ VFFKMNSLQANDTGIYYCARYRFYGM DYWGQGTSTV TVSS
731	DVD564L	AB004VL	AB074VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFYLYSGVPSRFSGSRSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVE IKR TVAAP AIQMTQSSSSFSVSLGDRVTITCKASE DIYNRFAWYQQKPGNAPRLISGAASLEAGVPSRF SGSGSQDYTLSITSLQTEDVATYYCQQYWSTPWT FGGGTKLEIKR

10

20

【1 0 6 5】

実施例 2. 1 5 6 : リンカー組 4 を用いる HER 2 (seq. 1) 及び PLGF (seq. 2) DVD-I g の作成

【1 0 6 6】

【表 2 1 1】

表 209

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
732	DVD571H	AB074VH	AB004VH	12345678901234567890123456789012345 QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTTYGIH WVRQSPGKGLEWLGVMWSGGDDTDYDAAFISRLSIS KDNSKSQVFFKMNSLQANDTGIYYCARYRFYGM DY WGQGTSTVTVSS ASTKGP EVQLVESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYP TNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA EDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTSLTVTVSS
733	DVD571L	AB074VL	AB004VL	AIQMTQSSSSFSVSLGDRVTITCKASEDIYNRFAW YQKPGNAPRLLISGAASLEAGVPSRFGSGSGGQD YTLSTISLQTEDVATYYCQQYWSTPWTFGGGTKLE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQDVNTAVAWYQKPGKAPKLLIYSASFY SGVPSRFGSGSRSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQ HYTTPPTFGGQTKVEIKR
734	DVD572H	AB004VH	AB074VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHW VRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFY AMDYWGQGTSLTVTVSS ASTKGP QVQLKQSGPGLVQP SQSLITCTVSGFSLTTYGIHWRQSPGKGLEWLG VMWSGGDDTDYDAAFISRLSISKDNSKSQVFFKMNS LQANDTGIYYCARYRFYGM DYWGQGTSTVTVSS
735	DVD572L	AB004VL	AB004VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAW YQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPSRFGSGSRSGTD
				FTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGGQTKVE IKR TVAAPSVFIFPP AIQMTQSSSSFSVSLGDRVT ITCKASEDIYNRFAWYQKPGNAPRLLISGAASLE AGVPSRFGSGSGGQDYTLSTISLQTEDVATYYCQQ YWSTPWTFGGGTKLEIKR

10

20

【1 0 6 7】

実施例 2. 1 5 7 : リンカー組 1 を用いる P L G F (s e q . 1) 及び V E G F (s e q . 2) D V D - I g の作成

【1 0 6 8】

【表 2 1 2】

表 210

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
736	DVD573H	AB047VH	AB070VH	QVQLQQSGAELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYINWV KLAPGQGLEWIGWIYPGSGNTKYNEKFKGKATLTIDT SSSTAYMQLSSLTSEDVAVYFCVRDSPFFDYWGQGTLL TVSS ASTKGPE VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FTISDYWIHWVRQAPGKLEWVAGITPAGGYTTYADS VKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFV FFLPYAMDYWGQGTLLTVSS
737	DVD573L	AB047VL	AB070VL	DIVLTQSPDLSLAVSLGERVTMNCSSQSLNLSGMRKS FLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSG TDFTLTISSVQAEDVAVYYCKQSYHLFTFGSGTKLEI KR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGRVITITCRASQDV TAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFYLYSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQSYTTPPTFGQGTKV EIKR
738	DVD574H	AB070VH	AB047VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIHWV RQAPGKLEWVAGITPAGGYTTYADSVKGRFTISADT SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPYAMDYWG QGTLLTVSS ASTKGPE VQLQQSGAELVKPGASVKIS KASGYTFTDYYINWVKLAPGQGLEWIGWIYPGSGNTK YNEKFKGKATLTIDTSSSTAYMQLSSLTSEDVAVYFC VRDSPFFDYWGQGTLLTVSS
739	DVD574L	AB070VL	AB047VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVITITCRASQDVSTAVAWYQ QKPGKAPKLLIYSASFYLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCQSYTTPPTFGQGTKVEIKR TVA AP DIVLTQSPDLSLAVSLGERVTMNCSSQSLNLSGMR KSFLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSG SGTDFTLTISSVQAEDVAVYYCKQSYHLFTFGSGTKL EIKR

10

20

【1 0 6 9】

実施例 2. 1 5 8 : リンカー組 2 を用いる P L G F (s e q . 1) 及び V E G F (s e q . 2) D V D - I g の作成

【1 0 7 0】

【表 2 1 3】

表 211

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
740	DVD581H	AB047VH	AB070VH	QVQLQQSGAELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYIN WVKLAPGQGLEWIGWIYPGSGNTKYNEKFKGKATL TIDTSSSTAYMQLSSLTSEDVAVYFCVRDSPFFDY WGQGTLLTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIHWVRQAPGKLE WVAGITPAGGYTTYADSVKGRFTISADTSKNTAYL QMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPYAMDYWGQGTLLV TVSS
741	DVD581L	AB047VL	AB070VL	DIVLTQSPDLSLAVSLGERVTMNCSSQSLNLSGMR KSFLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRESGVPDRFTG SGSGTDFTLTISSVQAEDVAVYYCKQSYHLFTFGS GTKLEIKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASV GDRVITITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYS ASFYLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAT

30

40

				YYCQSQSYTTPPTFGQGTKVEIKR
742	DVD582H	AB070VH	AB047VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIHWVRQAPGKGLEWVAGITPAGGYTTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPYAMDYWGQGTLLTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQLQQS GAELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYINWVKLAPGQGLEWIGWIYPGSGNTKYNEKFKGKATLTIDTSSSTAYMQLSSLTSED TAVYFCVRDSPFFDYWGQGTLLTVSS
743	DVD582L	AB070VL	AB047VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASF LYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQSQSYTTPPTFGQGTKVEIKR TVAAPSVFIFPP DI VLTQSPDLSAVSLGERVTMNCSSQSLNSGMRKSF LAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTIS SVQAEDVAVYYCKQSYHLFTFGSGTKLEIKR

10

【1071】

実施例 2. 159：リンカー組 3 を用いる PLGF (seq. 1) 及び VEGF (seq. 2) DVD-Ig の作成

【1072】

【表 214】

表 212

配列番号	DVD可変ドメイン名	外側可変ドメイン名	内側可変ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
744	DVD589VH	AB047VH	AB070VH	QVQLQQSGAELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYINWVKLAPGQGLEWIGWIYPGSGNTKYNEKFKGKATLTIDTSSSTAYMQLSSLTSED TAVYFCVRDSPFFDYWGQGTLLTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIHWVRQAPGKGLEWVAGITPAGGYTTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPYAMDYWGQGTLLTVSS
745	DVD589VL	AB047VL	AB070VL	DIVLTQSPDLSAVSLGERVTMNCSSQSLNSGMRKSF LAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTIS SVQAEDVAVYYCKQSYHLFTFGSGTKLEIKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASF LYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQSQSYTTPPTFGQGTKVEIKR
746	DVD590VH	AB070VH	AB047VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIHWVRQAPGKGLEWVAGITPAGGYTTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPYAMDYWGQGTLLTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQLQQS GAELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYINWVKLAPGQGLEWIGWIYPGSGNTKYNEKFKGKATLTIDTSSSTAYMQLSSLTSED TAVYFCVRDSPFFDYWGQGTLLTVSS
747	DVD590VL	AB070VL	AB047VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASF LYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQSQSYTTPPTFGQGTKVEIKR TVAAP DI VLTQSPDLSAVSLGERVTMNCSSQSLNSGMRKSF LAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTIS SVQAEDVAVYYCKQSYHLFTFGSGTKLEIKR

20

30

40

【1073】

実施例 2. 160：リンカー組 4 を用いる PLGF (seq. 1) 及び VEGF (seq. 2) DVD-Ig の作成

【1074】

【表 2 1 5】

表 213

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
748	DVD597VH	AB047VH	AB070VH	12345678901234567890123456789012345 QVQLQQSGAELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYIN
				WVKLAPQGQGLEWIGWIYPGSGNTKYNEKFKGKATL TIDTSSSTAYMQLSLTS EDTAVYFCVRDSPFFDY WGQGTLLTVSS ASTKGPE VQLVESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFTISDYWIHWVRQAPGKGLEWVAGITP AGGYTTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA EDTAVYYCARFVFFLPYAMDYWGQGTLLTVSS
749	DVD597VL	AB047VL	AB070VL	DIVLTQSPDLSLAVSLGERVTMNCKSSQSLNSGMR KSFLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRESGVPDRFTG SGSGTDFTLTISSVQAEDVAVYYCKQSYHLFTFGS GTKLEIKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASV GDRVITTCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYS ASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQSYTTPPTFGQGTKVEIKR
750	DVD598VH	AB070VH	AB047VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIH WVRQAPGKGLEWVAGITPAGGYTTYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPY AMDYWGQGTLLTVSS ASTKGPE VQLQQSGAELVKP GASVKISCKASGYTFTDYYINWVKLAPQGQGLEWIG WIYPGSGNTKYNEKFKGKATLTIDTSSSTAYMQLS SLTSEDTAVYFCVRDSPFFDYWGQGTLLTVSS
751	DVD598VL	AB070VL	AB047VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITTCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQSYTTPPTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP DIVLTQSPDLSLAVSLGERVT MNCKSSQSLNSGMRKSFLAWYQQKPGQSPKLLIY WASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDVA VYYCKQSYHLFTFGSGTKLEIKR

10

20

【1 0 7 5】

実施例 2. 1 6 1 : リンカー組 1 を用いる P L G F (s e q . 1) 及び V E G F (s e q . 3) D V D - I g の作成

【1 0 7 6】

【表 2 1 6】

表 214

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
752	DVD575H	AB047VH	AB071VH	12345678901234567890123456789012345 QVQLQSGAELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYIN WVKLAPGGGLEWIGWIYPGSGNTKYNEKFKGKATL TIDTSSSTAYMQLSSLTSEDVAVYFCVRDSPFFDY WGQGTLLTVSS ASTKGPE VQLVESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFTINASWIHWVRQAPGKGLEWVGAIYP YSGYTNYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA EDTAVYYCARWGHSTSPWAMDYWGQGTLLTVSS
753	DVD575L	AB047VL	AB071VL	DIVLTQSPDRLAVSLGERVTMNCSSQSLNLSGMR KSFLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRESGVPDRFTG SGSGTDFTLTISSVQAEDVAVYYCKQSYHLFTFGS GTKLEIKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRTIT CRASQVIRRLAWYQQKPGKAPKLLIYAASNLASG VPSRFGSGSGTDFTLTISSLPEDFATYYCQQSN TSPLTFGQGTKVEIKR
754	DVD576H	AB071VH	AB047VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIH WVRQAPGKGLEWVGAIYPYSGYTNYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSP WAMDYWGQGTLLTVSS ASTKGPE VQLQSGAELVK PGASVKISCKASGYTFTDYYINWVKLAPGGGLEWI GWIYPGSGNTKYNEKFKGKATLTIDTSSSTAYMQL SSLTSEDVAVYFCVRDSPFFDYWGQGTLLTVSS
755	DVD576L	AB071VL	AB047VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQVIRRLAW YQQKPGKAPKLLIYAASNLASGVPSRFGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQSNTSPLTFGQGTKVE IKR TVAAP DIVLTQSPDRLAVSLGERVTMNCSSQ SLLNSGMRKSFLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRES GVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDVAVYYCKQS YHLFTFGSGTKLEIKR

10

20

【1 0 7 7】

実施例 2. 1 6 2 : リンカー組 2 を用いる P L G F (s e q . 1) 及び V E G F (s e q . 3) D V D - I g の作成

【1 0 7 8】

【表 2 1 7】

表 215

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
756	DVD583H	AB047VH	AB071VH	QVQLQQSGAELVKPGASVKISCKASGYTFTDYIN WVKLAPGQGLEWIGWIYPGSGNTKYNEKFKGKATL TIDTSSSTAYMQLSSLTSEDVAVYFCVRDSPFFDY WGQGTLLTVSS ASTKGPSVFPLAPE EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGFTINASWIHWVRQAPGKGLE WVGAIYPYSGYTNYADSVKGRFTISADTSKNTAYL QMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSPWAMDYWGQGT LTVSS
757	DVD583L	AB047VL	AB071VL	DIVLTQSPDLSAVSLGERVTMCKSSQSLNSGMR KSFLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRESGVPDRFTG SGSGTDFTLTISVQAEDVAVYYCKQSYHLFTFGS GTKLEIKR TVAAPSVEIFPP DIQMTQSPSSLSASV GDRVITITCRASQVIRRLAWYQQKPGKAPKLLIYA ASNLAGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAT YYCQQSNTSPLTFGQGTKVEIKR
758	DVD584H	AB071VH	AB047VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIH WVRQAPGKGLEWVGAIYPYSGYTNYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSP WAMDYWGQGTLLTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQLQQ SGAELVKPGASVKISCKASGYTFTDYINWVKLAP GQGLEWIGWIYPGSGNTKYNEKFKGKATLTIDTSS STAYMQLSSLTSEDVAVYFCVRDSPFFDYWGQGT LTVSS
759	DVD584L	AB071VL	AB047VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQVIRRLAW YQQKPGKAPKLLIYAASNLAGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSNTSPLTFGQGTKVE IKR TVAAPSVEIFPP DIVLTQSPDLSAVSLGERVT MCKSSQSLNSGMRKSFLAWYQQKPGQSPKLLIY WASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISVQAEDVA VYYCKQSYHLFTFGSGTKLEIKR

10

20

【1 0 7 9】

実施例 2. 1 6 3 : リンカー組 3 を用いる P L G F (s e q . 1) 及び V E G F (s e q . 3) D V D - I g の作成

【1 0 8 0】

30

【表 2 1 8】

表 216

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
760	DVD591VH	AB047VH	AB071VH	QVQLQQSGAELVKPGASVKISCKASGYTFTDYIN WVKLAPGQGLEWIGWIYPGSGNTKYNEKFKGKATL TIDTSSSTAYMQLSSLTSEDVAVYFCVRDSPFFDY WGQGTLLTVSS ASTKGPSVFPLAPE EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGFTINASWIHWVRQAPGKGLE WVGAIYPYSGYTNYADSVKGRFTISADTSKNTAYL QMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSPWAMDYWGQGT LTVSS
761	DVD591VL	AB047VL	AB071VL	DIVLTQSPDLSAVSLGERVTMCKSSQSLNSGMR KSFLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRESGVPDRFTG SGSGTDFTLTISVQAEDVAVYYCKQSYHLFTFGS GTKLEIKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVIT ITCRASQVIRRLAWYQQKPGKAPKLLIYAASNLAG VPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSN TSPLTFGQGTKVEIKR
762	DVD592VH	AB071VH	AB047VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIH WVRQAPGKGLEWVGAIYPYSGYTNYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSP WAMDYWGQGTLLTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQLQQ

40

				SGAELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYINWVKLAP GQGLEWIGWIYPGSGNTKYNEKFKGKATLTIDTSS STAYMQLSSLTSEDVAVYFCVRDSPFFDYWGQGTLL TVSS
763	DVD592VL	AB071VL	AB047VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQVIRRLAW YQQKPGKAPKLLIYAASNLAGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQSNTSPLTFGQGTKE IKR TVAAP DIVLTQSPDSLAVSLGERVTMNCSSQ SLLNSGMRKSFLLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRES GVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDVAVYYCKQS YHLFTFGSGTKLEIKR

【1081】

10

実施例 2. 164 : リンカー組 4 を用いる PLGF (seq. 1) 及び VEGF (seq. 3) DVD-Ig の作成

【1082】

【表 219】

表 217

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345
764	DVD599VH	AB047VH	AB071VH	QVQLQQSGAELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYIN WVKLAPGQGLEWIGWIYPGSGNTKYNEKFKGKATL TIDTSSSTAYMQLSSLTSEDVAVYFCVRDSPFFDY WGQGTLLTVSS ASTKGP EVQLVESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFTINASWIHWVRQAPGKGLEWVGAIYP YSGYTNYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA EDTAVYYCARWGHSTSPWAMDYWGQGTLLTVSS
765	DVD599VL	AB047VL	AB071VL	DIVLTQSPDSLAVSLGERVTMNCSSQSLLNSGMR KSFLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRESGVPDRFTG SGSGTDFTLTISSVQAEDVAVYYCKQSYHLFTFGS GTKLEIKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQVIRRLAWYQQKPGKAPKLLIYA ASNLAGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQSNTSPLTFGQGTKEIKR
766	DVD600VH	AB071VH	AB047VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIH WVRQAPGKGLEWVGAIYPYSGYTNYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSP WAMDYWGQGTLLTVSS ASTKGP QVQLQQSGAELVK PGASVKISCKASGYTFTDYYINWVKLAPGQGLEWI GWIYPGSGNTKYNEKFKGKATLTIDTSSSTAYMQL SSLTSEDVAVYFCVRDSPFFDYWGQGTLLTVSS
767	DVD600VL	AB071VL	AB047VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQVIRRLAW YQQKPGKAPKLLIYAASNLAGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQSNTSPLTFGQGTKE IKR TVAAPSVFIFPP DIVLTQSPDSLAVSLGERVT MNCSSQSLLNSGMRKSFLLAWYQQKPGQSPKLLIY WASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDVA VYYCKQSYHLFTFGSGTKLEIKR

20

30

【1083】

40

実施例 2. 165 : リンカー組 1 を用いる HER2 (seq. 1) 及び PLGF (seq. 1) DVD-Ig の作成

【1084】

【表 2 2 0】

表 218

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
768	DVD577H	AB047VH	AB004VH	QVQLQQSGAELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYIN WVKLAPGQGLEWIGWIYPGSGNTKYNEKFKGKATL TIDTSSSTAYMQLSSLTSEDVAVYFCVRDSPFFDY WGQGTLLTVSS ASTKGP EVQLVESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYP TNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA EDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLLTVSS
769	DVD577L	AB047VL	AB004VL	DIVLTQSPDLSAVSLGERVTMNCSSQSLNSGMR

10

				KSFLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRESGVPDRFTG SGSGTDFLTITSSVQAEDVAVYYCKQSYHLFTFGS GTKLEIKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFYSG VPSRFGSGRSGTDFLTITSSLPEDFATYYCQQHY TTPPTFGQGTKVEIKR
770	DVD578H	AB004VH	AB047VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIH WVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFY AMDYWGQGTLLTVSS ASTKGP QVQLQQSGAELVKP GASVKISCKASGYTFTDYYINWVKLAPGQGLEWIG WIYPGSGNTKYNEKFKGKATLTIDTSSSTAYMQLS SLTSEDVAVYFCVRDSPFFDYWGQGTLLTVSS
771	DVD578L	AB004VL	AB047VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPSRFGSGRSGTD FTLTITSSLPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVE IKR TVAAP DIVLTQSPDLSAVSLGERVTMNCSSQ SLNSGMRKSFLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRES GVPDRFTGSGSGTDFLTITSSVQAEDVAVYYCKQS YHLFTFGSGTKLEIKR

20

【1085】

実施例 2. 166 : リンカー組 2 を用いる HER 2 (seq. 1) 及び PLGF (seq. 1) DVD-I g の作成

【1086】

30

【表 2 2 1】

表 219

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
772	DVD585H	AB047VH	AB004VH	12345678901234567890123456789012345 QVQLQSGAELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYIN WVKLAPGQGLEWIGWIYPGSGNTKYNEKFKGKATL TIDTSSSTAYMQLSSLTSEDVAVYFCVRDSPFFDY WGQGTLTIVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLE WVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYL QMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLV TVSS
773	DVD585L	AB047VL	AB004VL	DIVLTQSPDLSAVSLGERVTMNCSSQSLNLSGMR KSLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRESGVPDRFTG SGSGTDFTLTISVQAEDVAVYYCKQSYHLFTFGS GTKLEIKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASV GDRVITITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYS ASFLYSGVPSRFRSGSRSGTDFTLTISLQPEDFAT YYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKR
774	DVD586H	AB004VH	AB047VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIH WVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFY AMDYWGQGLVTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQLQGS GAELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYINWVKLAPG QGLEWIGWIYPGSGNTKYNEKFKGKATLTIDTSSS TAYMQLSSLTSEDVAVYFCVRDSPFFDYWGQGLL TVSS
775	DVD586L	AB004VL	AB047VL	DIQMTQSPSSLSASVDRVITITCRASQDVNTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFRSGSRSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP DIVLTQSPDLSAVSLGERVT MNCSSQSLNLSGMRKSLAWYQQKPGQSPKLLIY WASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISVQAEDVA VYYCKQSYHLFTFGSGTKLEIKR

10

20

【1 0 8 7】

実施例 2. 1 6 7 : リンカー組 3 を用いる HER 2 (s e q . 1) 及び P L G F (s e q . 1) D V D - I g の作成

【1 0 8 8】

30

【表 2 2 2】

表 220

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
776	DVD593VH	AB047VH	AB004VH	QVQLQQSGAELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYIN WVKLAPGQGLEWIGWIYPGSGNTKYNEKFKGKATL TIDTSSSTAYMQLSSLTSEDVAVYFCVRDSPFFDY WGQGTLTIVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLE WVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYL QMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTILV TVSS
777	DVD593VL	AB047VL	AB004VL	DIVLTQSPDLSAVSLGERVTMNCSSQSLNLSGMR KSFLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRESGVPDRFTG SGSGTDFTLTISVQAEDVAVYYCKQSYHLFTFGS GTKLEIKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRTIT CRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFYSG VPSRFGSGRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHY TTPPTFGQGTKVEIKR
778	DVD594VH	AB004VH	AB047VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIH WVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFY AMDYWGQGTILVTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQLQQS GAELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYINWVKLAPG QGLEWIGWIYPGSGNTKYNEKFKGKATLTIDTSS TAYMQLSSLTSEDVAVYFCVRDSPFFDYWGQGTLL TVSS
779	DVD594VL	AB004VL	AB047VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVNTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPSRFGSGRSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVE IKR TVAAP DIVLTQSPDLSAVSLGERVTMNCSSQ SLNLSGMRKSFLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRES GVPDRFTGSGSGTDFTLTISVQAEDVAVYYCKQS YHLFTFGSGTKLEIKR

10

20

【1 0 8 9】

実施例 2. 1 6 8 : リンカー組 4 を用いる HER 2 (seq. 1) 及び PLGF (seq. 1) DVD-I g の作成

【1 0 9 0】

30

【表 2 2 3】

表 221

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
780	DVD601VH	AB047VH	AB004VH	123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345 QVQLQQSGAELVKPGASVKISCKASGYTFTDYIN WVKLAPGQGLEWIGWIYPGSGNTKYNEKFKGKATL TIDTSSSTAYMQLSSLTSEDVAVYFCVRDSPFFDY WGQGTLLTVSS ASTKGP EVQLVESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYP TNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA EDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLLTVSS
781	DVD601VL	AB047VL	AB004VL	DIVLTQSPDSLAVSLGERVTMNCKSSQSLNSGMR KSFLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRESGVDRFTG SGSGTDFTLTISSVQAEDVAVYYCKQSYHLFTFGS GTKLEIKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASV GDRVITITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYS ASFLYSGVPSRFRSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKR
782	DVD602VH	AB004VH	AB047VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIH WVRQAPGKGLEWARIYPTNGYTRYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFY AMDYWGQGTLLTVSS ASTKGP QVQLQQSGAELVKP GASVKISCKASGYTFTDYINWVKLAPGQGLEWIG WIYPGSGNTKYNEKFKGKATLTIDTSSSTAYMQLS SLTSEDVAVYFCVRDSPFFDYWGQGTLLTVSS
783	DVD602VL	AB004VL	AB047VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVNTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFRSGSRSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP DIVLTQSPDSLAVSLGERVT MNCKSSQSLNSGMRKSFLAWYQQKPGQSPKLLIY WASTRESGVDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDVA VYYCKQSYHLFTFGSGTKLEIKR

10

20

【1 0 9 1】

実施例 2. 1 6 9 : リンカー組 1 を用いる H G F (s e q . 1) 及び V E G F (s e q . 2) D V D - I g の作成

【1 0 9 2】

【表 2 2 4】

表 222

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
784	DVD643H	AB012VH	AB070VH	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDDYMS WIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDEYNSGW YVLFDYWGQGTLLTVTVSS ASTKGPSVFPLAPE VQLV ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIHWVRQA PGKGLEWVAGITPAGGYTTYADSVKGRFTISADTS KNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPYAMDYW GQGTLLTVTVSS
785	DVD643L	AB012VL	AB070VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLAW YQQKPGKAPNLLIYEASSLQSGVPSRFGSGSGSTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQANGFPWTFGQGTKVE IKR TVAAPSVEFI FPDIQMTQSPSSLSASVGDRVIT ITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLY SGVPSRFGSGSGSTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ SYTTPPTFGQGTKVEIKR
786	DVD644H	AB070VH	AB012VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIH WVRQAPGKGLEWVAGITPAGGYTTYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPY AMDYWGQGTLLTVTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQLVES GGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDDYMSWIRQAPG KGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDEYNSGWYVLFDYW GQGTLLTVTVSS
787	DVD644L	AB070VL	AB012VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFGSGSGSTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQSYTTPPTFGQGTKVE IKR TVAAPSVEFI FPDIQMTQSPSSVSASVGDRVIT ITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPNLLIYEASSLQ SGVPSRFGSGSGSTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ ANGFPWTFGQGTKVEIKR

10

20

【1 0 9 3】

実施例 2. 1 7 0 : リンカー組 2 を用いる H G F (s e q . 1) 及び V E G F (s e q . 2) D V D - I g の作成

【1 0 9 4】

30

【表 2 2 5】

表 223

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
788	DVD649H	AB012VH	AB070VH	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDDYMS WIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDEYNSGW YVLFDYWGQGTLLTVTVSS ASTKGPSVFPLAPE VQLV ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIHWVRQA PGKGLEWVAGITPAGGYTTYADSVKGRFTISADTS KNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPYAMDYW GQGTLLTVTVSS
789	DVD649L	AB012VL	AB070VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLAW YQQKPGKAPNLLIYEASSLQSGVPSRFGSGSGSTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQANGFPWTFGQGTKVE

40

				IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYTTPPTFGQGTKVEIKR
790	DVD650H	AB070VH	AB012VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIHWVRQAPGKGLEWVAGITPAGGYTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPYAMDYWGQGTTLVTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDEYNSGWYVLFDYWGQGTTLVTVSS
791	DVD650L	AB070VL	AB012VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYTTPPTFGQGTKVEIKR TVAAP DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPNLLIYEASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANGFPWTFGQGTKVEIKR

10

【1095】

実施例 2. 171 : リンカー組 3 を用いる HGF (seq. 1) 及び VEGF (seq. 2) DVD-I g の作成

【1096】

【表 226】

表 224

配列番号	DVD可変ドメイン名	外側可変ドメイン名	内側可変ドメイン名	配列
				123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345
792	DVD655H	AB012VH	AB070VH	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDEYNSGWYVLFDYWGQGTTLVTVSS ASTKGPE VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIHWVRQAPGKGLEWVAGITPAGGYTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPYAMDYWGQGTTLTVSS
793	DVD655L	AB012VL	AB070VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPNLLIYEASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANGFPWTFGQGTKVEIKR TVAAPSVFI FPPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYTTPPTFGQGTKVEIKR
794	DVD656H	AB070VH	AB012VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIHWVRQAPGKGLEWVAGITPAGGYTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPYAMDYWGQGTTLVTVSS ASTKG PVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDEYNSGWYVLFDYWGQGTTLTVSS
795	DVD656L	AB070VL	AB012VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYTTPPTFGQGTKVEIKR TVAAPSVFI FPPDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPNLLIYEASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANGFPWTFGQGTKVEIKR

20

30

40

【1097】

実施例 2. 172 : リンカー組 4 を用いる HGF (seq. 1) 及び VEGF (seq. 2) DVD-I g の作成

【1098】

【表 2 2 7】

表 225

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
796	DVD709VH	AB012VH	AB070VH	12345678901234567890123456789012345 QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMS WIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTI SRDIAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDEYNSGW YVLFDYWGQGLTVTVSS ASTKGP EVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGFTISDYWIHWVRQAPGKGLEW VAGITPAGGYTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQ MNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPYAMDYWGQGLTVT VSS
797	DVD709VL	AB012VL	AB070VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLAW YQQKPGKAPNLLIYEASSLQSGVPSRFGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQANGFPWTFGQGTKVE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQ DVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYTTPPT FGQGTKVEIKR
798	DVD710VH	AB070VH	AB012VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIH WVRQAPGKGLEWVAGITPAGGYTYYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPY AMDYWGQGLTVTVSS ASTKGP QVQLVESGGGLVKP GGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDIAKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCARDEYNSGWYVLFDYWGQGLTVT VSS
799	DVD710VL	AB070VL	AB012VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQSYTTPPTFGQGTKVE IKR TVAAP DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQ GISSWLAWYQQKPGKAPNLLIYEASSLQSGVPSRF GGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANGFPWT FGQGTKVEIKR

10

20

【1 0 9 9】

実施例 2. 1 7 3 : リンカー組 1 を用いる H G F (s e q . 1) 及び V E G F (s e q . 3) D V D - I g の作成

【1 1 0 0】

30

【表 2 2 8】

表 226

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
800	DVD645H	AB012VH	AB071VH	123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345 QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMS WIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDEYNSGW YVLFDYWGQGLTLVTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLV ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIHWVRQA PGKGLEWVGAIYPYSGYTNYADSVKGRFTISADTS KNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSPWAMDY WGQGLTLTVSS
801	DVD645L	AB012VL	AB071VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAW YQQKPGKAPNLLIYEASSLQSGVPSRFGSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQANGFPWTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQVIRRLAWYQQKPGKAPKLLIYAASNLA SGVPSRFGSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ SNTSPLTFGQGTKVEIKR
802	DVD646H	AB071VH	AB012VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIH WVRQAPGKGLEWVGAIYPYSGYTNYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSP WAMDYWGQGLTLVTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQLVE SGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAP GKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAL NSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDEYNSGWYVLFDY WGQGLTLTVSS
803	DVD646L	AB071VL	AB012VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQVIRRLAW YQQKPGKAPKLLIYAASNLASGVPSRFGSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQSNTSPLTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSVSASVGDRVT ITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPNLLIYEASSLQ SGVPSRFGSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ ANGFPWTFGQGTKVEIKR

10

20

【1 1 0 1】

実施例 2. 1 7 4 : リンカー組 2 を用いる H G F (s e q . 1) 及び V E G F (s e q . 3) D V D - I g の作成

【1 1 0 2】

30

【表 2 2 9】

表 227

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
804	DVD651H	AB012VH	AB071VH	12345678901234567890123456789012345 QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDDYMS WIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDEYNSGW YVLFDYWGQGTLLVTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLV ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIHWVRQA PGKGLEWVGAIYPYSGYTNYADSVKGRFTISADTS KNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSPWAMDY WGQGTLLVTVSS
805	DVD651L	AB012VL	AB071VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLAW YQQKPGKAPNLLIYEASSLQSGVPSRFGSGSGSTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQANGFPWTFGQGTKE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQ VIRRLAWYQQKPGKAPKLLIYAASNLASGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQSNSTPLT FGQGTKEIKR
806	DVD652H	AB071VH	AB012VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIH WVRQAPGKGLEWVGAIYPYSGYTNYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSP WAMDYWGQGTLLVTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQLVE SGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDDYMSWIRQAP GKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDEYNSGWYVLF DYWGQGTLLVTVSS
807	DVD652L	AB071VL	AB012VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQVIRRLAW YQQKPGKAPKLLIYAASNLASGVPSRFGSGSGSTD FTLTISSLQPEDFATYYCQSNSTPLTFGQGTKE IKR TVAAP DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQ GISSWLAWYQQKPGKAPNLLIYEASSLQSGVPSRF GGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANGFPWT FGQGTKEIKR

10

20

【1 1 0 3】

実施例 2. 1 7 5 : リンカー組 3 を用いる H G F (s e q . 1) 及び V E G F (s e q . 3) D V D - I g の作成

【1 1 0 4】

30

【表 2 3 0】

表 228

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
808	DVD657H	AB012VH	AB071VH	12345678901234567890123456789012345 QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDDYMS WIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDEYNSGW YVLFDYWGQGTLLVTVSS ASTKGPEVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGFTINASWIHWVRQAPGKLEW VGAIYPYSGYTNYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQ MNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSPWAMDYWGQGTLLV TVSS
809	DVD657L	AB012VL	AB071VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLAW YQQKPGKAPNLLIYEASSLQSGVPSRFGSGSGSTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQANGFPWTFGQGTKE IKR TVAAPSVFI FPDIQMTQSPSSLSASVGDRVIT

40

				ITCRASQVIRRLAWYQQKPGKAPKLLIYAASNLA SGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ SNTSPLTFGQGTKVEIKR
810	DVD658H	AB071VH	AB012VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIH WVRQAPGKGLEWVGAIYPYSGYTNADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSP WAMDYWGQGTTLVTVSS ASTKGP QVQLVESGGGLVK PGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWV SYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQM NSLRAEDTAVYYCARDEYNSGWYVLFYWGQGTILV TVSS
811	DVD658L	AB071VL	AB012VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQVIRRLAW YQQKPGKAPKLLIYAASNLASGVPSRFGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSNTSPLTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSVSASVGDRVT ITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPNLLIYEASSLQ SGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ ANGFPWTFGQGTKVEIKR

10

【1105】

実施例 2. 176 : リンカー組 4 を用いる HGF (seq. 1) 及び VEGF (seq. 3) DVD-Ig の作成

【1106】

【表 231】

表 229

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
812	DVD711VH	AB012VH	AB071VH	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMS WIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDEYNSGW YVLFYWGQGTILVTVSS ASTKGP EVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGFTINASWIHWVRQAPGKGLEW VGAIYPYSGYTNADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQM NSLRAEDTAVYYCARWGHSTSPWAMDYWGQGTILV TVSS
813	DVD711VL	AB012VL	AB071VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAW YQQKPGKAPNLLIYEASSLQSGVPSRFGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQANGFPWTFGQGTKVE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ VIRRLAWYQQKPGKAPKLLIYAASNLASGVPSRF SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSNTSPLT FGQGTKVEIKR
814	DVD712VH	AB071VH	AB012VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIH WVRQAPGKGLEWVGAIYPYSGYTNADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSP WAMDYWGQGTILVTVSS ASTKGP QVQLVESGGGLVK PGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWV SYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQM NSLRAEDTAVYYCARDEYNSGWYVLFYWGQGTILV TVSS
815	DVD712VL	AB071VL	AB012VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQVIRRLAW YQQKPGKAPKLLIYAASNLASGVPSRFGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSNTSPLTFGQGTKVE IKR TVAAP DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQ GISSWLAWYQQKPGKAPNLLIYEASSLQSGVPSRF GGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANGFPWT FGQGTKVEIKR

20

30

40

【1107】

実施例 2. 177 : リンカー組 1 を用いる HGF (seq. 2) 及び VEGF (seq. 1) DVD-Ig の作成

【1108】

【表 2 3 2】

表 230

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
816	DVD659H	AB079VH	AB014VH	12345678901234567890123456789012345 EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTTYWMH WVRQMPGKGLEWMGEINPTNGHTNYPNPSFQGGVTI SADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARNYVGSIF DYWGQGTLLVTVSS ASTKGPE VQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGYFTFTNYGMNWVRQAPGKGLEWVGWI NTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKSTAYLQMNSL RAEDTAVYYCAKYPHYYGSSHWYFDVWGQGTLLVTV SS
817	DVD659L	AB079VL	AB014VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASENVVSYVSW YQQKPGKAPKLLIYGASNRNTGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCGQSYNYPYTFGQGTKLE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASE DISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLSHSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQYSTVPWT FGQGTKVEIKR
818	DVD660H	AB014VH	AB079VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYFTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYYS SHWYFDVWGQGTLLVTVSS ASTKGPE VQLVQSGAEV KKPGESLKISCKGSGYSFTTYWMHWVRQMPGKGLE WMGEINPTNGHTNYPNPSFQGGVTISADKSISTAYL QWSSLKASDTAMYYCARNYVGSIFDYWGQGTLLVTV SS
819	DVD660L	AB014VL	AB079VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIIYFTSSLSHSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQYSTVPWTFGQGTKVE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASE NVVSYVSWYQQKPGKAPKLLIYGASNRNTGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCGQSYNYPYT FGQGTKLEIKR

10

20

【1 1 0 9】

実施例 2. 1 7 8 : リンカー組 2 を用いる H G F (s e q . 2) 及び V E G F (s e q . 1) D V D - I g の作成

【1 1 1 0】

30

【表 2 3 3】

表 231

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
820	DVD665H	AB079VH	AB014VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTTYWMH WVRQMPGKGLEWMGEINPTNGHTNYPNPSFQGGVTI SADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARNYVGSIF DYWGQGTTLVTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLVESGG GLVQPGGSLRLSCAASGYFTFTNYGMNWVRQAPGKG LEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKSTA YMQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGSSHWYFDVWG QGTTLVTVSS
821	DVD665L	AB079VL	AB014VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASENVVSYVSW YQQKPGKAPKLLIYGASNRNTGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCGQSYNYPYTFGQGTKE IKR TVAAPSVERFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRT ITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLH SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ YSTVPWTFGQGTKEIKR
822	DVD666H	AB014VH	AB079VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYFTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYG SHWYFDVWGQGTTLVTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQL VQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTTYWMHWVRQ MPGKGLEWMGEINPTNGHTNYPNPSFQGGVTISADK SISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARNYVGSIFDYWG QGTTLVTVSS
823	DVD666L	AB014VL	AB079VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQYSTVPWTFGQGTKE
				IKR TVAAPSVERFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRT ITCKASENVVSYVSWYQQKPGKAPKLLIYGASNRN TGVPSPRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCGQ SYNYPYTFGQGTKEIKR

10

20

【1 1 1 1】

実施例 2. 1 7 9 : リンカー組 3 を用いる H G F (s e q . 2) 及び V E G F (s e q . 1) D V D - I g の作成

【1 1 1 2】

30

【表 2 3 4】

表 232

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
824	DVD671VH	AB079VH	AB014VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTTYWMH WVRQMPGKGLEWMGEINPTNGHTNYPNPSFQGGVTI SADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARNYVGSIF DYWGQGTLLVTVSS ASTKGPSVFPLA EVQLVESGG GLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWRQAPGKG LEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKSTA YLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYYGSSHWYFDVWG QGTLLVTVSS
825	DVD671VL	AB079VL	AB014VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASENVVSYVSW YQQKPGKAPKLLIYGASNRNTGVPSRFGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCGQSYNYPYTFGQGTKLE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQ DISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQYSTVPWT FGQGTKVEIKR
826	DVD672VH	AB014VH	AB079VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYYS SHWYFDVWGQGTLLVTVSS ASTKGPSVFPLA EVQL VQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTTYWMHWVRQ MPGKGLEWMGEINPTNGHTNYPNPSFQGGVTISADK SISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARNYVGSIFDYWG QGTLLVTVSS
827	DVD672VL	AB014VL	AB079VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQYSTVPWTFGQGTKVE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASE NVVSYVSWYQQKPGKAPKLLIYGASNRNTGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCGQSYNYPYT FGQGTKLEIKR

10

20

【1 1 1 3】

実施例 2. 1 8 0 : リンカー組 4 を用いる H G F (s e q . 2) 及び V E G F (s e q . 1) D V D - I g の作成

【1 1 1 4】

【表 2 3 5】

表 233

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
828	DVD677VH	AB079VH	AB014VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTTYWMH WVRQMPGKGLEWMGEINPTNGHTNYPNPSFQGGVTI SADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARNYVGSIF DYWGQGTLLVTVSS ASTKGPE EVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGYTFTNYGMNWRQAPGKGLEWVGWI NTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKSTAYLQMNSL RAEDTAVYYCAKYPHYYGSSHWYFDVWGQGTLLVTV SS
829	DVD677VL	AB079VL	AB014VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASENVVSYVSW YQQKPGKAPKLLIYGASNRNTGVPSRFGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCGQSYNYPYTFGQGTKLE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLH

40

				SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLPEDFATYYCQQ YSTVPWTFGQGTKVEIKR
830	DVD678VH	AB014VH	AB079VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMN WVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYYS SHWYFDVWGQGTLLVTVSS ASTKGPE EVQLVQSGAEV KKPGESLKISCKGSGYSFTTYWMHWVRQMPGKGLE WMGEINPTNGHTNYPNPSFQGVTTISADKSISTAYL QWSSSLKASDTAMYYCARNYVGSIFDYWGQGTLLVTV SS
831	DVD678VL	AB014VL	AB079VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDISNYLNW YQQKPGKAPKVLIIYFTSSSLHSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLPEDFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCKASENVVSVSWYQQKPGKAPKLLIYGASNRN TGVPSPRFSGSGSGTDFTLTISSLPEDFATYYCGQ SYNYPYTFGQGTKLEIKR

10

【1115】

実施例 2. 181 : リンカー組 1 を用いる HGF (seq. 2) 及び VEGF (seq. 2) DVD-Ig の作成

【1116】

【表 236】

表 234

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
832	DVD661H	AB079VH	AB070VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTTYWMH WVRQMPGKGLEWWMGEINPTNGHTNYPNPSFQGVTTI SADKSISTAYLQWSSSLKASDTAMYYCARNYVGSIF DYWGQGTLLVTVSS ASTKGPE EVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGFTTISDYWIHWVRQAPGKGLEWVAGI TPAGGYTYADSVKGRFTTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCARFVFFLPYAMDYWGQGTLLVTVSS
833	DVD661L	AB079VL	AB070VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASENVVSVSW YQQKPGKAPKLLIYGASNRNTGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLPEDFATYYCGQSYNYPYTFGQGTKLE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ DVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLPEDFATYYCQQSYTTPPT FGQGTKVEIKR
834	DVD662H	AB070VH	AB079VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTISDYWIH WVRQAPGKGLEWVAGITPAGGYTYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPY AMDYWGQGTLLVTVSS ASTKGPE EVQLVQSGAEVKKP GESLKISCKGSGYSFTTYWMHWVRQMPGKGLEWWMG EINPTNGHTNYPNPSFQGVTTISADKSISTAYLQWS SLKASDTAMYYCARNYVGSIFDYWGQGTLLVTVSS
835	DVD662L	AB070VL	AB079VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLPEDFATYYCQQSYTTPPTFGQGTKVE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASE NVVSVSVSWYQQKPGKAPKLLIYGASNRNTGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLPEDFATYYCGQSYNYPYT FGQGTKLEIKR

20

30

40

【1117】

実施例 2. 182 : リンカー組 2 を用いる HGF (seq. 2) 及び VEGF (seq. 2) DVD-Ig の作成

【1118】

【表 2 3 7】

表 235

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
836	DVD667H	AB079VH	AB070VH	12345678901234567890123456789012345 EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTTYWMH WVRQMPGKGLEWMGEINPTNGHTNYPNPSFQGQVTI
				SADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYYCARNYVGSIF DYWGQGT LVTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLVESGG GLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIHWVRQAPGKG LEWVAGITPAGGYTTYADSVKGRFTISADTSKNTA YLMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPYAMDYWGQGT LVTVSS
837	DVD667L	AB079VL	AB070VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASENVVSYVSW YQQKPGKAPKLLIYGASNRNTGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCGQSYNYPYTFGQGTKLE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRTI ITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLY SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ SYTTPPTFGQGTKVEIKR
838	DVD668H	AB070VH	AB079VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIH WVRQAPGKGLEWVAGITPAGGYTTYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNLSLRAEDTAVYYCARFVFFLPY AMDYWGQGT LVTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLVQS GAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTTYWMHWVRQMPG KGLEWMGEINPTNGHTNYPNPSFQGQVTISADKSI TAYLQWSSLKASDTAMYYCARNYVGSIFDYWGQGT LVTVSS
839	DVD668L	AB070VL	AB079VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQSYTTPPTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRTI ITCKASENVVSYVSWYQQKPGKAPKLLIYGASNRN TGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ SYNYPYTFGQGTKLEIKR

10

20

【1 1 1 9】

実施例 2. 1 8 3 : リンカー組 3 を用いる H G F (s e q . 2) 及び V E G F (s e q . 2) D V D - I g の作成

【1 1 2 0】

30

【表 2 3 8】

表 236

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
840	DVD673VH	AB079VH	AB070VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTTYWMH WVRQMPGKGLEWMGEINPTNGHTNYPNPSFQGGVTI SADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARNYVGSIF DYWGQGTLLVTVSS ASTKGPSVFPLAPE EVQLVESGG GLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIHWVRQAPGKG LEWVAGITPAGGYTTYADSVKGRFTISADTSKNTA YLQMNSLR AEDTAVYYCARFVFFLPYAMDYWGQGT LVTVSS
841	DVD673VL	AB079VL	AB070VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCKASENVVSYVSW YQQKPGKAPKLLIYGASNRNTGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCGQSYNYPYTFGQGTKLE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCRASQ DVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQSYTTPPT FGQGTKVEIKR
842	DVD674VH	AB070VH	AB079VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIH WVRQAPGKGLEWVAGITPAGGYTTYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCARFVFFLPY AMDYWGQGTLLVTVSS ASTKGPSVFPLAPE EVQLVQS GAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTTYWMHWVRQMPG KGLEWMGEINPTNGHTNYPNPSFQGGVTISADKSIS TAYLQWSSLKASDTAMYYCARNYVGSIFDYWGQGT LVTVSS
843	DVD674VL	AB070VL	AB079VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQSYTTPPTFGQGTKVE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCKASE NVVSYVSWYQQKPGKAPKLLIYGASNRNTGVPSRF SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCGQSYNYPYT FGQGTKLEIKR
				FGQGTKLEIKR

10

20

【1 1 2 1】

実施例 2. 1 8 4 : リンカー組 4 を用いる H G F (s e q . 2) 及び V E G F (s e q . 2) D V D - I g の作成

【1 1 2 2】

30

【表 2 3 9】

表 237

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
844	DVD679VH	AB079VH	AB070VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTTYWMH WVRQMPGKGLEWMGEINPTNGHTNYPNPSFQQQVTI SADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARNYVGSIF DYWGQGTTLVTVSS ASTKGPE VQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGFTISDYWIHWVRQAPGKGLEWVAGI TPAGGYTTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCARFVFFLPYAMDYWGQGTTLVTVSS
845	DVD679VL	AB079VL	AB070VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCKASENVVSYVSW YQQKPGKAPKLLIYGASNRNTGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCGQSYNYPYTFGQGTKLE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRTT ITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASF LYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QSYTTPPTFGQGTKVEIKR
846	DVD680VH	AB070VH	AB079VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIH WVRQAPGKGLEWVAGITPAGGYTTYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPY AMDYWGQGTTLVTVSS ASTKGPE VQLVQSGAEVKKP GESLKISCKGSGYSFTTYWMHWVRQMPGKGLEWMG EINPTNGHTNYPNPSFQQQVTISADKSISTAYLQWS SLKASDTAMYYCARNYVGSIFDYWGQGTTLVTVSS
847	DVD680VL	AB070VL	AB079VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFYLYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQSYTTPPTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRTT ITCKASENVVSYVSWYQQKPGKAPKLLIYGASNRN TGVPSPRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCGQ SYNYPYTFGQGTKLEIKR

10

20

【1 1 2 3】

実施例 2. 1 8 5 : リンカー組 1 を用いる H G F (s e q . 2) 及び V E G F (s e q . 3) D V D - I g の作成

【1 1 2 4】

【表 2 4 0】

表 238

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
848	DVD663H	AB079VH	AB071VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTTYWMH WVRQMPGKGLEWMGEINPTNGHTNYPNPSFQQQVTI SADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARNYVGSIF DYWGQGTTLVTVSS ASTKGPE VQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGFTINASWIHWVRQAPGKGLEWVAGI YPYSGYTNYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCARWGHSTSPWAMDYWGQGTTLVTVSS
849	DVD663L	AB079VL	AB071VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCKASENVVSYVSW YQQKPGKAPKLLIYGASNRNTGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCGQSYNYPYTFGQGTKLE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRASQ VIRSLAWYQQKPGKAPKLLIYAASNLAGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQSNSTPLT FGQGTKVEIKR
850	DVD664H	AB071VH	AB079VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIH WVRQAPGKGLEWVAGIYPYSGYTNYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSP WAMDYWGQGTTLVTVSS ASTKGPE VQLVQSGAEVKK

30

40

				PGESLKISCKGSGYSFTTYWMHWVRQMPGKGLEWM GEINPTNGHTNYNPSFQGGVTISADKSI STAYLQW SSLKASDTAMYVCARNYVGSIFDYWGQGLTVTVSS
851	DVD664L	AB071VL	AB079VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQVIRRLAW YQQKPGKAPKLLIYAASNLAGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQSNTSPLTFGQGTKVE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASE NVVSVSWYQQKPGKAPKLLIYGASNRNTGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCGQSYNYPYT FGQGTKLEIKR

【1125】

実施例 2. 186 : リンカー組 2 を用いる HGF (seq. 2) 及び VEGF (seq. 3) DVD-Ig の作成 10

【1126】

【表 241】

表 239

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				123456789 0 123456789 0 123456789 0 12345
852	DVD669H	AB079VH	AB071VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTTYWMH WVRQMPGKGLEWMGEINPTNGHTNYNPSFQGGVTI SADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYVCARNYVGSIF DYWGQGLTVTVSS ASTKGPSVFPLAPE EVQLVESGG GLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIHWVRQAPGKG LEWVGAIYPYSGYTNADSVKGRFTISADTSKNTA YLQMNSLR AEDTAVYYCARWGHSTSPWAMDYWGQG GLTVTVSS
853	DVD669L	AB079VL	AB071VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASENVVSVSW YQQKPGKAPKLLIYGASNRNTGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQSYNYPYTFGQGTKLE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQVIRRLAWYQQKPGKAPKLLIYAASNLA SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ SNTSPLTFGQGTKVEIKR
854	DVD670H	AB071VH	AB079VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIH WVRQAPGKGLEWVGAIYPYSGYTNADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCARWGHSTSP WAMDYWGQGLTVTVSS ASTKGPSVFPLAPE EVQLVQ SGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTTYWMHWVRQMP GKGLEWMGEINPTNGHTNYNPSFQGGVTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYVCARNYVGSIFDYWGQG GLTVTVSS
855	DVD670L	AB071VL	AB079VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQVIRRLAW YQQKPGKAPKLLIYAASNLAGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQSNTSPLTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCKASENVVSVSWYQQKPGKAPKLLIYGASNRN TGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCGQ SYNYPYTFGQGTKLEIKR

【1127】

実施例 2. 187 : リンカー組 3 を用いる HGF (seq. 2) 及び VEGF (seq. 3) DVD-Ig の作成 40

【1128】

【表 2 4 2】

表 240

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
856	DVD675VH	AB079VH	AB071VH	12345678901234567890123456789012345 EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTTYWMH WVRQMPGKGLEWMGEINPTNGHTNYPNPSFQGGVTI SADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARNYVGSIF DYWGQGTTLVTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLVESGG GLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIHWVRQAPGKG LEWVGAIYPYSGYTNYADSVKGRFTISADTSKNTA YLQMNSLR AEDTAVYYCARWGHSTSPWAMDYWGQG

10

857	DVD675VL	AB079VL	AB071VL	TLVTVSS DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASENVVSVSW YQQKPGKAPKLLIYGASNRNTGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCGQSYNYPYTFGQGTKLE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ VIRRLAWYQQKPGKAPKLLIYAASNLASGVPSRF SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQNTSPLT FGQGTKVEIKR
858	DVD676VH	AB071VH	AB079VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIH WVRQAPGKGLEWVGAIYPYSGYTNYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCARWGHSTSP WAMDYWGQGTTLVTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLVQ SGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTTYWMHWVRQMP GKGLEWMGEINPTNGHTNYPNPSFQGGVTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYYCARNYVGSIFDYWGQG TLVTVSS
859	DVD676VL	AB071VL	AB079VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQVIRRLAW YQQKPGKAPKLLIYAASNLASGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQNTSPLTFGQGTKVE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASE NVVSVSWYQQKPGKAPKLLIYGASNRNTGVPSRF SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCGQSYNYPYT FGQGTKLEIKR

20

【1 1 2 9】

実施例 2. 1 8 8 : リンカー組 4 を用いる H G F (s e q . 2) 及び V E G F (s e q . 3) D V D - I g の作成

30

【1 1 3 0】

【表 2 4 3】

表 241

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
860	DVD681VH	AB079VH	AB071VH	12345678901234567890123456789012345 EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTTYWMH WVRQMPGKGLEWMGEINPTNGHTNYPNPSFQGQVTI SADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARNYVGSIF DYWGQGTTLVTVSS ASTKGPEVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGFTINASWIHWVRQAPGKGLEWVGAI YPYSGYTNYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCARWGHSTSPWAMDYWGQGTTLVTVSS
861	DVD681VL	AB079VL	AB071VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASENVVSYVSW YQKPKGKAPKLLIYGASNRNTGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCGQSYNYPYTFGQGTKLE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRTI ITCRASQVIRRLAWYQQKPGKAPKLLIYAASNLA SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ SNTSPLTFGQGTKVEIKR
862	DVD682VH	AB071VH	AB079VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTINASWIH WVRQAPGKGLEWVGAIYPYSGYTNYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGHSTSP WAMDYWGQGTTLVTVSS ASTKGPEVQLVQSGAEVKK PGESLKISCKGSGYSFTTYWMHWVRQMPGKGLEWM GEINPTNGHTNYPNPSFQGQVTISADKSISTAYLQW SSLKASDTAMYYCARNYVGSIFDYWGQGTTLVTVSS
863	DVD682VL	AB071VL	AB079VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQVIRRLAW YQKPKGKAPKLLIYAASNLASGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQSNTSPLTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRTI ITCKASENVVSYVSWYQQKPGKAPKLLIYGASNRN TGVPSPRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ SYNYPYTFGQGTKLEIKR

10

20

【1 1 3 1】

実施例 2. 1 8 9 : リンカー組 1 を用いる HER 2 (seq. 1) 及び HER 2 (seq. 2) DVD-I g の作成

【1 1 3 2】

【表 2 4 4】

表 242

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
864	DVD687H	AB004VH	AB080VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIH WVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFY AMDYWGQGTTLVTVSS ASTKGPE EVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTFTDYMWDWVRQAPGKGLEWVA DVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTTLVTVSS
865	DVD687L	AB004VL	AB080VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPSRFSGRSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQHHYTPPTFGQGTKVE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQ DVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASRYTGVPSTRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHHYIYPYT FGQGTKVEIKR
866	DVD688H	AB080VH	AB004VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMWD WVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTL SVDRSKNTLYLQMNLSLRAEDTAVYYCARNLGPSFY FDYWGQGTTLVTVSS ASTKGPE EVQLVESGGGLVQP GSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVAR IYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMN SLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTTLVTVSS
867	DVD688L	AB080VL	AB004VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAW YQQKPGKAPKLLIYSASRYTGVPSTRFSGRSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQHHYIYPYTFGQGTKVE IKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ DVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPSRFS SGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHHYTPPT FGQGTKVEIKR

10

20

【1 1 3 3】

実施例 2. 190: リンカー組 2 を用いる HER 2 (seq. 1) 及び HER 2 (seq. 2) DVD-Ig の作成

【1 1 3 4】

【表 2 4 5】

表 243

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
868	DVD689H	AB004VH	AB080VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTTLVTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTTLVTVSS
869	DVD689L	AB004VL	AB080VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIKR
870	DVD690H	AB080VH	AB004VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTTLVTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTTLVTVSS
871	DVD690L	AB080VL	AB004VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKR
				FTLTISLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKR

10

20

【1 1 3 5】

実施例 2. 1 9 1 : リンカー組 3 を用いる H E R 2 (s e q . 1) 及び H E R 2 (s e q . 2) D V D - I g の作成

【1 1 3 6】

30

【表 2 4 6】

表 244

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
872	DVD691H	AB004VH	AB080VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLVWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTTLVTVSS ASTKGPSVFPLAPE EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMWDWRQAPGKGLVWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTTLVTVSS
873	DVD691L	AB004VL	AB080VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFVLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKR TVAAP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYIYPYTFGQGTKVEIKR
874	DVD692H	AB080VH	AB004VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMWDWRQAPGKGLVWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTTLVTVSS ASTKGPSVFPLAPE EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLVWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTTLVTVSS
875	DVD692L	AB080VL	AB004VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFVLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKR

10

20

【1 1 3 7】

実施例 2. 1 9 2 : リンカー組 4 を用いる H E R 2 (s e q . 1) 及び H E R 2 (s e q . 2) D V D - I g の作成

【1 1 3 8】

30

【表 2 4 7】

表 245

SEQ ID NO	DVD Variable Domain Name	Outer Variable Domain Name	Inner Variable Domain Name	Sequence
				12345678901234567890123456789012345
876	DVD693H	AB004VH	AB080VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLVWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTTLVTVSS ASTKGPE EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMWDWRQAPGKGLVWADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNLSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTTLVTVSS
877	DVD693L	AB004VL	AB080VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFVLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRY

40

				TGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ YYIYPYTFGQGTKVEIKR
878	DVD694H	AB080VH	AB004VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYM WVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTL SVDISKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSTY FDYWGQGTTLTVSS ASTKGPE EVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVAR IYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMN LRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTTLTVSS
879	DVD694L	AB080VL	AB004VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDVSIQVAV YQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPSTRFSGSGSGT FTLTISLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGDRTI ITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLY SGVPSRFSRSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ HYTTPPTFGQGTKVEIKR

10

【1139】

実施例 2. 193 : リンカー組 1 を用いる CD 3 (seq. 2) 及び CD-19 (seq. 2) DVD-Ig の作成

【1140】

【表 248】

表 246

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
880	DVD897H	AB039VH	AB111VH	QVQLQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRYTMH WVKQRPQGGLWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATL TIDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYC LDYWGQGTTLTVSS ASTKGPSVFPLAP EVKLQESG PGLVAPQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRK GLEWLGVIWGSEGTYYNSALKSRLLTIKDNSKSQ VPLKMNLSLTDDTAIYYCAKHHYYGGSYAMDYWGQ GTSVTVSS
881	DVD897L	AB039VL	AB111VL	QIVLTQSPAISASPGKVTMTCSASSSVSYMNY QQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPAPFRGSGSGTSY SLTISGMEAEADAATYYCQQWSSNPFTFGSGTKLEI NR TVAAPSVFIFPP DIQMTQTSSLSASLGDRVTI SCRASQDISKTLNLYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHS GVPSRFSRSGSGTSDYSLTISNLEQEDIATYFCQQG NTLPYTFGGGTKLEITR
882	DVD898H	AB111VH	AB039VH	EVKLQESGPGGLVAPQSLSVTCTVSGVSLPDYGV WIRQPPRKGLEWLGVIWGSEGTYYNSALKSRLLTI KDNSKSQVPLKMNLSLTDDTAIYYCAKHHYYGGS YAMDYWGQGTSTVTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQLQ SGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRYTMHWKQRP QGGLWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTIDKSS STAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQ GTTTLTVSS
883	DVD898L	AB111VL	AB039VL	DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKTLN YQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSRSGSGTD YSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEI ITR TVAAPSVFIFPP QIVLTQSPAISASPGKVT MTCSASSSVSYMNYQQKSGTSPKRWIYDTSKLAS GVPAPFRGSGSGTSYSLTISGMEAEADAATYYCQQW SSNPFTFGSGTKLEINR

20

30

40

【1141】

実施例 2. 194 : リンカー組 1 を用いる CD 3 (seq. 3) 及び CD-19 (seq. 2) DVD-Ig の作成

【1142】

【表 2 4 9】

表 247

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
884	DVD899H	AB107VH	AB111VH	12345678901234567890123456789012345 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSTGYTMN
				WVRQAPGKGLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTI SVDKSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYGDS DWYFDVWGQGTTLVTVSS ASTKGPSVFPLAPE EVKLQ ESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQP PRKGLEWLGVIWGSEGTYYNSALKSRLLTIKDNS KSQVPLKMNSLQTDDETAIYYCAKHHYYGGSYAMDY WGQGTSTVTVSS
885	DVD899L	AB107VL	AB111VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQDIRNYLNW YQQKPGKAPKLLIYYTSRLESGVPSRFGSGSGTD YTLTISLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGQGTKE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQTSLSASLGDRVT ISCRASQDISKTLNWKYQQKPDGTVKLLIYHLSRLH SGVPSRFGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQ GNTLPYTFGGGKLEITR
886	DVD900H	AB111VH	AB107VH	EVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGV WIRQPPRKGLEWLGVIWGSEGTYYNSALKSRLLTI IKDNSKSQVPLKMNSLQTDDETAIYYCAKHHYYGGS YAMDYWGQGTSTVTVSS ASTKGPSVFPLAPE EVQLVE SGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSTGYTMNWVRQAP GKGLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISVDKSK NTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYGDSDWYFDV WGQGTTLVTVSS
887	DVD900L	AB111VL	AB107VL	DIQMTQTSLSASLGDRVTISCRASQDISKTLNW YQQKPDGTVKLLIYHLSRLHSGVPSRFGSGSGTD YSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLE ITR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASVGRVT ITCRASQDIRNYLNWKYQQKPGKAPKLLIYYTSRLE SGVPSRFGSGSGTDYTLTISLQPEDFATYYCQQ GNTLPWTFGQGTKEIKR

10

20

【1 1 4 3】

実施例 2. 1 9 5 : リンカー組 1 を用いる C D 3 (s e q . 2) 及び C D - 1 9 (s e q . 3) D V D - I g の作成

【1 1 4 4】

30

【表 250】

表 248

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
888	DVD901H	AB039VH	AB112VH	QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRYTMH WVKQRPQGQLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATL TTDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYC LDYWGQGTTLTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLQESG PELVKPGASVKISCKASGYAFSSSWMNWVIQRPQG GLEWIGRIYPGDDTNYNGKFKGKATLTADKSSST AYMQLSSLTSDSAVYFCARSGFITTVLDFDYWGQ GTTTLTVSS
889	DVD901L	AB039VL	AB112VL	QIVLTQSPAIMASPGKVTMTCSASSSVSYMNWY QQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPFAHFRGSGSGTSY SLTISGMEAEDAATYYCQWSSNPFTFGSGTKLEI NR TVAAPSVFIFPP DIVLTQSPTSLAVSLGQRATI SCRASESVDTFGISFMNWFQKPGQPPKLLIHAAS NQSGVPSRFRSGSGSGTDFSLNIHPMEEDDSAMYF CQQSKEVPFTFGSGTKLEIKR
890	DVD902H	AB112VH	AB039VH	EVQLQESGPELVKPGASVKISCKASGYAFSSSWMN WVIQRPQGQLEWIGRIYPGDDTNYNGKFKGKATL TADKSSSTAYMQLSSLTSDSAVYFCARSGFITTV LDFDYWGQGTTLTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQLQQ SGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRYTMHWVKQRP QGQLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTADKSS STAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQ GTTTLTVSS
891	DVD902L	AB112VL	AB039VL	DIVLTQSPTSLAVSLGQRATISCRASESVDTFGIS FMNWFQKPGQPPKLLIHAASNQSGVPSRFRSGSG SGTDFSLNIHPMEEDDSAMYFCQQSKEVPFTFGSG TKLEIKR TVAAPSVFIFPP QIVLTQSPAIMASPG EKVTMTCSASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTS
				KLASGVPFAHFRGSGSGTSYSLTISGMEAEDAATYY CQWSSNPFTFGSGTKLEINR

10

20

【1145】

実施例 2. 196 : リンカー組 1 を用いる CD 3 (seq. 3) 及び CD-19 (seq. 3) DVD-I g の作成

【1146】

30

【表 2 5 1】

表 249

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
892	DVD903H	AB107VH	AB112VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTGYTMN WVRQAPGKGLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTI SVDKSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYYGDS DWYFDVWGQGTTLTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLQ ESGPQLVKPGASVKISCKASGYAFSSSWMNWVIQR PGQGLEWIGRIYPGDGDTNNGKFKGKATLTADKS SSTAYMQLSSLTSVDSAVYFCARSGFITTVLDFDY WGQGTTLTVSS
893	DVD903L	AB107VL	AB112VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDIRNYLNW YQQKPGKAPKLLIYYTSRLESGVPSRFRSGSGSD YTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGQGTKVE IKR TVAAPSVEIFPP DIVLTQSPSTSLAVSLGQRAT ISCRASESVDTFGISFMNWFQKPGQPPKLLIHAA SNQSGGVPSRFRSGSGSDYTLTISSLQPEDFATY FCQQSKEVPFTFGSGTKLEIKR
894	DVD904H	AB112VH	AB107VH	EVQLQESGPQLVKPGASVKISCKASGYAFSSSWMN WVIQRPGQGLEWIGRIYPGDGDTNNGKFKGKATL TADKSSSTAYMQLSSLTSVDSAVYFCARSGFITTV LDFDYWGQGTTLTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQLVE SGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQAP GKGLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISVDKSK NTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYYGDSDWYFDV WGQGTTLTVSS
895	DVD904L	AB112VL	AB107VL	DIVLTQSPSTSLAVSLGQRATISCRASESVDTFGIS FMNWFQKPGQPPKLLIHAAASNQSGGVPSRFRSGS SGTDFSLNIHPMEEDDSAMYFCQQSKEVPFTFGSG TKLEIKR TVAAPSVEIFPP DIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQDIRNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYT SRLESGVPSRFRSGSGSDYTLTISSLQPEDFATY YCQQGNTLPWTFGQGTKVEIKR

10

20

【1 1 4 7】

実施例 2. 1 9 7 : リンカー組 1 を用いる C D 3 (s e q . 2) 及び C D - 1 9 (s e q . 1) D V D - I g の作成

【1 1 4 8】

【表 2 5 2】

表 250

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
896	DVD913H	AB039VH	AB006VH	QVQLQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRYTMH WVKQRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATL TDDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYC LDYWGQGTTLTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQLQSG AELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKRPGQ GLEWIGQIWPGDGDTNNGKFKGKATLTADESSST AYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDY WGQGTSTVTVSS
897	DVD913L	AB039VL	AB006VL	QIVLTQSPAIMASAPGKVTMTCSASSSVSYMNWY QQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPAHFRSGSGSTSY SLTISGMEADAATYYCQQWSSNPFTFGSGTKLEI NR TVAAPSVEIFPP DILLTQTPASLAVSLGQRATI SCKASQSDYDGDSYLNWYQQIPGQPPKLLIYDAS NLVSGIPPRFSGSGSDYTLNIHPVEKVDAAATYH CQQSTEDPWTFGGGKLEIKR

30

40

898	DVD914H	AB006VH	AB039VH	QVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMN WVKQRPQGQLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATL TADESSSTAYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVG RYYYAMDYWGQGTSTVTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQ LQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRYTMHWVK QRPQGQLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTDT KSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDY WGQGTTLTVSS
899	DVD914L	AB006VL	AB039VL	DILLTQTPASLAVSLGQRATISCKASQSVDDYDGD YLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSG SGTDFTLNHPVEKVDAAATYHCQQSTEDPWTFGGG TKLEIKR TVAAPSVFIFPP QIVLTQSPAIMASASP EKVTMTCSASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTS KLASGVPAHFRGSGSGTSYSLTISGMEAEDAATYY CQQWSSNPFTFGSGTKLEINR

10

【1149】

実施例 2. 198 : リンカー組 1 を用いる CD 3 (seq. 3) 及び CD-19 (seq. 1) DVD-Ig の作成

【1150】

【表 253】

表 251

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
900	DVD915H	AB107VH	AB006VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTGYTMN WVRQAPGKGLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTI SVDKSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYYGDS DWYFDVWGQGTTLVTVSS ASTKGPSVFPLAP QVQLQ QSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQR PGQGLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTADES SSTAYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVGRYYA MDYWGQGTSTVTVSS
901	DVD915L	AB107VL	AB006VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDIRNYLNW YQKPKGKAPKLLIYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTD YTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGQGTKVE IKR TVAAPSVFIFPP DILLTQTPASLAVSLGQRAT ISCKASQSVDDYDGDYLNWYQQIPGQPPKLLIYDA SNLVSGIPPRFSGSGSGTDFTLNHPVEKVDAAATY HCQQSTEDPWTFGGGTKLEIKR
902	DVD916H	AB006VH	AB107VH	QVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMN WVKQRPQGQLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATL TADESSSTAYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVG RYYYAMDYWGQGTSTVTVSS ASTKGPSVFPLAP EVQ LVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVR QAPGKGLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISVD KSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYYGDSDWY FDVWGQGTTLVTVSS
903	DVD916L	AB006VL	AB107VL	DILLTQTPASLAVSLGQRATISCKASQSVDDYDGD YLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSG SGTDFTLNHPVEKVDAAATYHCQQSTEDPWTFGGG TKLEIKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQDIRNYLNWYQKPKGKAPKLLIYYT SRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATY YCQQGNTLPWTFGQGTKVEIKR

20

30

40

【1151】

実施例 2. 199 : リンカー組 1 を用いる CD 3 (seq. 4) 及び CD-19 (seq. 2) DVD-Ig の作成

【1152】

【表 2 5 4】

表 252

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
904	DVD917H	AB108VH	AB111VH	12345678901234567890123456789012345 EVQLLESQGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRF
				TISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFG NSYVSWFAYWGQGTLLVTVSS ASTKGPSVFPLAPEV KLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWI RQPPRKGLEWLGVIWGSEGTYYNSALKSRLLTIK DNSKSQVPLKMNSLQTDDTAIYYCAKHYYGGSYA MDYWGQGTSTVTVSS
905	DVD917L	AB108VL	AB111VL	ELVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYA NWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLG GKAALTLQSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTK LTVLG QPKAAPSVTLFPP DIQMTQTTSSLSASLGD RVTISCRASQDISKTLNWWYQQKPDGTVKLLIYHTS RLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYF CQQGNTLPYTFGGGKLEITR
906	DVD918H	AB111VH	AB108VH	EVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWI RQPPRKGLEWLGVIWGSEGTYYNSALKSRLLTI IKDNSKSQVPLKMNSLQTDDTAIYYCAKHYYGGSYA YAMDYWGQGTSTVTVSS ASTKGPSVFPLAPEV QVLL ESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWWVRQAP GKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDD SKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSW FAYWGQGTLLVTVSS
907	DVD918L	AB111VL	AB108VL	DIQMTQTTSSLSASLGDRTVISCASQDISKTLNWWY QQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTD YSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLE ITR TVAAPSVFI FPPELVVTQEPSTLVSPGGTVTL TCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKR APGTPARFSGSLLGKAALTLQSGVQPEDEAEYYC ALWYSNLWVFGGGTKLTVLG

10

20

【1 1 5 3】

実施例 2. 2 0 0 : リンカー組 1 を用いる C D 3 (s e q . 4) 及び C D - 1 9 (s e q . 3) D V D - I g の作成

【1 1 5 4】

30

【表 2 5 5】

表 253

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
908	DVD919H	AB108VH	AB112VH	12345678901234567890123456789012345 EVQLLES ~~GGGLVQPGGSLKLS~~ CAASGFTFNTYAMN WVRQAPGK ~~GLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRF~~ TISRDDS ~~KN~~ TAYLQMN ~~NLKTEDTAVYYCVRHGNFG~~ NSYVSWFAYWGQGT ~~LVTVSS~~ ASTKGPSVFPLA PEV QLQESGPELVKPGASVKISCKASGYAFSSSWMNWV IQRPGQGLEWIGRIYPGDGDTNYNGKFKGKATLTA DKSSSTAYMQLSSLTSVDSAVYFCARSGFITT ~~VL~~ D FDYWGQGT ~~LVTVSS~~
909	DVD919L	AB108VL	AB112VL	ELVVTQEP ~~SLTVSPGGTVTL~~ TCRSSTGAVTTSNYA NWVQ ~~QKPGQAPRGLIGGTN~~ KRAPGTPARFSGSLLG GKAAL ~~TL~~ SGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTK LTVLG QPKAAPSVTLFPP DIVLTQSPTSLAVSLGQ RATISCRASESVDTFGISFMNWFQ ~~QKPGQPPKLLI~~ HAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFSLNIHPMEEDDS AMYFCQ ~~Q~~ SKVEPFTFGSGTKLEIKR
910	DVD920H	AB112VH	AB108VH	EVQLQESGPELVKPGASVKISCKASGYAFSSSWMN WVIQRPGQGLEWIGRIYPGDGDTNYNGKFKGKATL TADKSSSTAYMQLSSLTSVDSAVYFCARSGFITT ~~V~~ LDFDYWGQGT ~~LVTVSS~~ ASTKGPSVFPLA PEVQLLE SGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAP GKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDD SKNTAYLQMN ~~NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSW~~ FAYWGQGT ~~LVTVSS~~
911	DVD920L	AB112VL	AB108VL	DIVLTQSPTSLAVSLGQRATISCRASESVDTFGIS FMNWFQ ~~QKPGQPPKLLI~~ HAASNQSGVPSRFSGSG SGTDFSLNIHPMEEDDSAMYFCQ ~~Q~~ SKVEPFTFGSG TKLEIKR TVAAPSVFI FPPELVVTQEP ~~SLTVSPGG~~ TVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQ ~~QKPGQAPRGLIG~~ GTNKRAPGTPARFSGSLLGKAAL ~~TL~~ SGVQPEDEA EYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLG

10

20

【1 1 5 5】

実施例 2. 2 0 1 : リンカー組 1 を用いる C D 3 (s e q . 4) 及び C D - 1 9 (s e q . 1) D V D - I g の作成

【1 1 5 6】

30

【表 2 5 6】

表 254

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
912	DVD921H	AB108VH	AB006VH	EVQLLES ~~GGGLVQPGGSLKL~~ SCAASGFTFNTYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRF TISRDDSKNTAYLQMN ~~NLKTEDTAVYYCVRHGNFG~~ NSYVSWFAYWGQ ~~GLTVTVSS~~ ASTKGPSVFPLAP QV QLQQSGAELVVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNV KQRPQG ~~GLEWIGQI~~ WPGDGD ~~TNYNGKFKGKATLTA~~ DESSSTAYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVGRY YYAMDYWGQ ~~TSVTVSS~~
913	DVD921L	AB108VL	AB006VL	ELVVTQEP ~~SLTVSPGGT~~ TVTLTCRSSTGAVTTSNYA NWVQQKPGQAPRGLIG ~~TNKRAPGTPARFSGSLLG~~ GKAAL ~~TL~~ SGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTK LTVLG QPKAAPSVTLFPP DILLTQT ~~PASLAVSLGQ~~ RATISCKASQSV ~~DYDGDSYLNWYQQIPGQPPKLLI~~ YDASNLVSGIPPRFSGSGS ~~GTDFTLNIHPVEKVDA~~ ATYHCQ ~~QSTEDPWT~~ FGGGTKLEIKR
914	DVD922H	AB006VH	AB108VH	QVQLQQSGAELVVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMN WVKQRPQG ~~GLEWIGQI~~ WPGDGD ~~TNYNGKFKGKATL~~ TADESSSTAYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVG RYYYAMDYWGQ ~~TSVTVSS~~ ASTKGPSVFPLAPEVQ LLES ~~GGGLVQPGGSLKL~~ SCAASGFTFNTYAMNWVR QAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS ~~SKNTAYLQMN~~ NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY VSWFAYWGQ ~~GLTVTVSS~~
915	DVD922L	AB006VL	AB108VL	DILLTQT ~~PASLAVSLGQ~~ RATISCKASQSV ~~DYDGDS~~ YLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSG SGTDF ~~TLNIHPVEKVDAATYHCQ~~ QSTEDPWTFGGG TKLEIKR TVAAPSVFIFPP ELVVTQEP ~~SLTVSPGG~~ TVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGKKAAL ~~TL~~ SGVQPEDEA EYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLG

10

20

【1 1 5 7】

実施例 2. 2 0 2 : リンカー組 2 を用いる C D 3 (s e q . 4) 及び C D - 1 9 (s e q . 1) D V D - I g の作成

【1 1 5 8】

30

【表 2 5 7】

表 255

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
916	DVD1000H	AB006VH	AB108VH	QVQLQQSGAELVVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMN WVKQRPQG ~~GLEWIGQI~~ WPGDGD ~~TNYNGKFKGKATL~~ TADESSSTAYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVG RYYYAMDYWGQ ~~TSVTVSS~~ ASTKGPEVQLLES GGG LVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGL EWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNT AYLQMN ~~NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVS~~ WFAYW GQGLTVTVSS
917	DVD1000L	AB006VL	AB108VL	DILLTQT ~~PASLAVSLGQ~~ RATISCKASQSV ~~DYDGDS~~ YLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSG SGTDF ~~TLNIHPVEKVDAATYHCQ~~ QSTEDPWTFGGG TKLEIKR TVAAP ELVVTQEP ~~SLTVSPGGT~~ TVTLTCR SSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAP GTPARFSGSLLGKKAAL ~~TL~~ SGVQPEDEAEYYCALW YSNLWVFGGGTKLTVLG

40

【1 1 5 9】

実施例 2. 2 0 3 : リンカー組 2 を用いる C D 3 (s e q . 2) 及び C D - 1 9 (s e q . 2) D V D - I g の作成

【1 1 6 0】

50

【表 2 5 8】

表 256

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
918	DVD1005H	AB039VH	AB111VH	QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRYTMH WVKQRPQGQLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATL TDDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYC LDYWGQGTTLTVSS ASTKGP EVKLQESGPGLVAPS QSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLG IWGSEGTYYNSALKSRLTIKDNSKSKVPLKMNS LQTDDTAIYYCAKHHYYGGSYAMDYWGQGTSVTVS S
919	DVD1005L	AB039VL	AB111VL	QIVLTQSPAISASPGKEVTMTCSASSSVSYMNWY QQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPAHFRGSGSGTSY SLTISGMEADAATYYCQQWSSNPFTFGSGTKLEI NR TVAAP DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQD ISKTLNWKQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFS GSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTF GGGKLEITR
920	DVD1006H	AB111VH	AB039VH	EVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGV WIRQPPRKGLEWLGVIWGSEGTYYNSALKSRLTI IKDNSKSKVPLKMNSLQTDDTAIYYCAKHHYYGG SYAMDYWGQGTSVTVSS ASTKGP QVQLQQSGAELAR PGASVKMSCKASGYTFTRYTMHWVKQRPQGQLEW IGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTDKSSSTAYMQL SSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLTVS S
921	DVD1006L	AB111VL	AB039VL	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKTLN WYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGT DYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLE ITR TVAAP QIVLTQSPAISASPGKEVTMTCSASS SVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPAHFR GSGSGTYSYSLTISGMEADAATYYCQQWSSNPFTF GSGTKLEINR

10

20

【1 1 6 1】

実施例 2. 2 0 4 : リンカー組 1 を用いる m C D 3 及び m C D - 1 9 DVD - I g の
作成

【1 1 6 2】

30

【表 2 5 9】

表 257

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
922	DVD1044H	AB110VH	AB114VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLKLSCEASGFTFSGYGMH WVRQAPGRGLESVAITSSSINIKYADAVKGRFTV SRDNAKLLFLQMNILKSEDTAMYYCARFDWDKNY WGQGTMTVTVSS ASTKGP EVQLQQSGAELVRPGTSV KLCKVSGDTITFYMHFVKQRPQGQLEWIGRIDP EDESTKYSEKFKNKATLTADTSSNTAYLKLSSLTS EDTATYFCIYGGYYFDYWGQGMVTVSS
923	DVD1044L	AB110VL	AB114VL	DIQMTQSPSSLPASLGDRVTINCQASQDISNYLNW YQQKPGKAPKLLIYTNKLADGVPSRFSGSGSGRD SSFTISSLESEDIGSYCQQYYNPWTFPGGTKLE IKR TVAAP DIQMTQSPASLSTSLGETVTIQCQASE DIYSGLAWYQQKPGKSPQLLIYGASDLQDGVPSRF SGSGSGTQYSLKITSMTQTEDEGVYFCQQGLTYPR TGGGKLELKR
924	DVD1045H	AB114VH	AB110VH	EVQLQQSGAELVRPGTSVKLSCKVSGDTITFYMH FVKQRPQGQLEWIGRIDPEDESTKYSEKFKNKATL TADTSSNTAYLKLSSLTSEDATYFCIYGGYYFDY WGQGMVTVSS ASTKGP EVQLVESGGGLVQPGKSL

40

				KLSCEASGFTFSGYGMHWVRQAPGRGLESVAYITS SSINIKYADAVKGRFTVSRDNAKNLLFLQMNILKS EDTAMYYCARFDWDKNYWGQGTMTVTSS
925	DVD1045L	AB114VL	AB110VL	DIQMTQSPASLSTSLGETVTIQCQASEDIYSGLAW YQQKPGKSPQLLIYGASDLQDGVPSRFSGSGSGTQ YSLKITSMTQTEDEGVYFCQQGLTYPRTFGGGKLE LKR TVAAP DIQMTQSPSSLPASLGDRVTINQASQ DISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTNKLADGVPSRF SGSGSGRDSSTISSLESEDIGSYCQQYYNPWT FGPGTKLEIKR

【 1 1 6 3 】

実施例 2. 205 : リンカー組 2 を用いる m C D 3 及び m C D - 1 9 D V D - I g の 10
作成

【 1 1 6 4 】

【表 2 6 0 】

表 258

配列 番号	DVD 可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列
				12345678901234567890123456789012345
926	DVD1046H	AB110VH	AB114VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLKLSCEASGFTFSGYGMH WVRQAPGRGLESVAYITSSINIKYADAVKGRFTV SRDNAKNLLFLQMNILKSEDTAMYYCARFDWDKNY WGQGTMTVTSS ASTKGPSVFPLAPE VQLQQSGAEL VRPGTSVKLSCKVSGDTITFYMHFVKQRPGGLE WIGRIDPEDESTKYSEKFNKATLTADTSSNTAYL KLSSLTSEDTATYFCIYGGYFDYWGQGVMTVTSS
927	DVD1046L	AB110VL	AB114VL	DIQMTQSPSSLPASLGDRVTINQASQDISNYLNW YQQKPGKAPKLLIYYTNKLADGVPSRFSGSGSGRD SSFTISSLESEDIGSYCQQYYNPWTFGPGTKLE IKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPASLSTSLGETVT IQCQASEDIYSGLAWYQQKPGKSPQLLIYGASDLQ DGVPSRFSGSGSGTQYSLKITSMTQTEDEGVYFCQQ GLTYPRTFGGGKLELKR
928	DVD1047H	AB114VH	AB110VH	EVQLQQSGAELVRPGTSVKLSCKVSGDTITFYMH FVKQRPGGLEWIGRIDPEDESTKYSEKFNKATL TADTSSNTAYLKLSSLTSEDTATYFCIYGGYFDY WGQGVMTVTSS ASTKGPSVFPLAPE VQLVESGGGL VQPGKSLKLSCEASGFTFSGYGMHWVRQAPGRGLE SVAYITSSINIKYADAVKGRFTVSRDNAKNLLFL QMNILKSEDTAMYYCARFDWDKNYWGQGTMTVTSS
929	DVD1047L	AB114VL	AB110VL	DIQMTQSPASLSTSLGETVTIQCQASEDIYSGLAW YQQKPGKSPQLLIYGASDLQDGVPSRFSGSGSGTQ YSLKITSMTQTEDEGVYFCQQGLTYPRTFGGGKLE LKR TVAAPSVFIFPP DIQMTQSPSSLPASLGDRVT INQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTNKLA DGVPSRFSGSGSGRDSSTISSLESEDIGSYCQQ YYNPWTFGPGTKLEIKR

【 1 1 6 5 】

実施例 2. 206 : 親抗体及び D V D - I g 配列をクローン化するために使用されるク
ローニングベクター配列

【 1 1 6 6 】

【表 2 6 1 】

表 259

ベクター 名	配列番号	ヌクレオチド配列
V1	930	123456789012345678901234567890123456789012345678901 GCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGC ACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCC GAACCGGTGACGGTGCTGGAAGTCAAGCGCCCTGACCAGCGCGTGCAC ACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTG GTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTG AATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTAGCCCAATCT TGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACCTCTGGG

		GGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATC TCCCGGACCCCTGAGGTACACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCC AAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGC GTCTTCACCGTCTTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC AAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAA GCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCCG GAGGAGATGACCAAGAACCAGGTACAGCTGACCTGCCCTGGTCAAAGGCTTC TATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAAC AACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTC TACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTC TCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGC CTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGAGCGGCCGCTCGAGGCCGGCAAGGCCGG ATCCCCCGACCTCGACCTCTGGCTAATAAAGGAAATTTATTTTCATTGCAA TAGTGTGTTGGAATTTTGTGTCTCTCACTCGGAAGGACATATGGGAGGG CAAATCATTTGGTCGAGATCCCTCGGAGATCTCTAGCTAGAGGATCGATCC CCGCCCCGGACGAATAAACCTGACTACGACATCTCTGCCCTTCTTCGCG GGGCAGTGCATGTAATCCCTTCAGTTGGTTGGTACAACCTTGCCAACCTGGGC CCTGTTCCACATGTGACACGGGGGGGGACCAACAAAGGGGTCTCTGA CTGTAGTTGACATCCTTATAAATGGATGTGCACATTTGCCAACACTGAGTG GCTTTTCATCCTGGAGCAGACTTTGCAGTCTGTGGACTGCAACACAACATTG CCTTTATGTGTAACCTTGGCTGAAGCTCTTACACCAATGCTGGGGGACAT GTACCTCCCAGGGGCCAGGAAGACTACGGGAGGCTACACCAACGTCAATC AGAGGGGCCTGTGTAGCTACCGATAAGCGGACCCCTCAAGAGGGCATTAGCA ATAGTGTTTATAAGGCCCCCTTGTTAACCTAAACGGGTAGCATATGCTTC CCGGGTAGTAGTATATACTATCCAGACTAACCTAATTCAATAGCATATGT TACCCAACGGGAAGCATATGCTATCGAATTAGGGTTAGTAAAGGGTCTTA AGGAACAGCGATATCTCCACCCCATGAGCTGTACGGTTTTATTATACATG GGGTACAGGATTCCACGAGGGTAGTGAACCATTTTAGTCACAAGGGCAGTGG CTGAAGATCAAGGAGCGGGCAGTGAACCTCTCTGAATCTTCGCCTGCTTCT TCATTCTCCTTCGTTTAGCTAATAGAATAACTGCTGAGTTGTGAACAGTAA GGTGTATGTGAGGTGCTCGAAAACAAGGTTTCAGGTGACCCCCCAGAATA AAATTTGGACGGGGGGTTCAGTGGTGGCATTGTGCTATGACACCAATATAA CCCTCACAAACCCCTTGGGCAATAAATACTAGTGTAGGAATGAAACATTCT GAATATCTTTAACAATAGAAATCCATGGGGTGGGGACAAGCCGTAAAGACT GGATGTCCATCTCACACGAATTTATGGCTATGGGCAACACATAATCCTAGT GCAATATGATACTGGGGTTATTAAGATGTGTCCAGGCAGGGACCAAGACA GGTGAACCATGTTGTTTACACTCTATTTGTAACAAGGGGAAAGAGAGTGGAC GCCGACAGCAGCGGACTCCACTGGTTGTCTCTAACACCCCCGAAAATTA CGGGGCTCCACGCCAATGGGGCCCATAAACAAAGACAAGTGGCCACTCTTT TTTTTGAAATTGTGGAGTGGGGGCACGCGTCAGCCCCACACGCCGCCCTG CGTTTTTGGACTGTAAATAAGGGTGTAAATAACTTGGCTGATTGTAACCCC GCTAACCACTGCGGTCAAACCACTTGCCACAAAACCACTAATGGCACCCC GGGGAATACCTGCATAAGTAGGTGGGCGGGCCAAGATAGGGGCGCGATTGC TGCGATCTGGAGGACAAATTACACACACTTGCGCCTGAGCGCCAAGCACAG GGTTGTTGGTCCTCATATTCACGAGGTGCTGAGAGCACGGTGGGCTAATG TTGCCATGGGTAGCATATACTACCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCC TAATCTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCAT ATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCT GGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCCTAA TCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATCTGTATCCGGGTAGCATATG CTATCCTAATAGAGATTAGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGG TAGCATATACTACCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCCTAATCTATAT CTGGGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCT AATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATA TGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTG GGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAAT CTGTATCCGGGTAGCATATGCTATCCTCATGATAAGCTGTCAAACATGAGA ATTTTCTTGAAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCTATTTTATAGGTTAA TGTATGATAATAATGGTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAA TGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTCTAAATACATTCAAATATGTA
	10	
	20	
	30	
	40	

		TCCGCTCATGAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAG GAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTGC GGCATTTTTGCCCTTCCTGTTTTTTGCTCACCAGAAACGCTGGTGAAAGTAA AGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTACATCGAAGTGGATCT CAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTTCGCCCCGAAGAAGTTTTCCAAT GATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTGTGA CGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTT GGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGT AAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAA CTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCA CAACATGGGGGATCATGTAACCTGCCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAA TGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGCAGCAATGGC AACAACGTTGCGCAAACTATTAAC TGCGGAACTACTTACTCTAGCTTCCCG GCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAAGTTGCAGGACCACCTCT GCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGG TGAGCGTGGGTCTCGCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCC CTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGA ACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTTGGTA ACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAACTTCA TTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATAATCTCATGAC CAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGA AAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTG CTTGCAAAACAAAAAACACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTGTTGCCGGATCA AGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAAC TGCTTCAGCAGAGCGCAGAT ACCAAATACTGTTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACCTTCAAGAA CTCTGTAGCACC GCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGC TGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATA GTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCTGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACA GCCCAGCTTGAGCGCAACGACCTACACCGAAGTGAAGTACCTACAGCGTGA GCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGAGAGAAAGCGGACGGATCC GGTAAGCGGCAGGGTTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGG AAACGCCCTGGTATCTTTATAGTCTGTGCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGA GCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGC CAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCTTGCCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCA CATGTTCTTTCTGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGC CTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGACGCCGAACGACCGAGCGCAGCGA GTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCC CGCGGTTGGCCGATTCAATTAATGCAGCTGGCAGCAGAGTTTCCCGACTG GAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTA GGCACCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAAT TGTGAGCGGATAACAATTTACACAGGAAAACAGCTATGACCATGATTACGC CAAGCTCTAGCTAGAGGTGAGTCCCTCCCCAGCAGGCAGAAGTATGCAAA GCATGCATCTCAATTAGTCAGCAACCATAGTCCCGCCCCTAAC TCCGCCCA TCCCGCCCCTAAC TCCGCCAGTTCCGCCCATTTCTCCGCCCATGGCTGAC TAATTTTTTTTATTTATGAGAGGCCGAGGCCGCTCGGCCTCTGAGCTAT TCCAGAAGTAGTGAGGAGGCTTTTTTGAGGGCTAGGCTTTTGCAAAAAGC TTTGCAAAGATGGATAAAGTTTTTAAACAGAGAGGAATCTTTGCAGCTAATG GACCTTCTAGGTCTTGAAAGGAGTGGGAATTGGCTCCGGTGCCCGTCAGTG GGCAGAGCGCACATCGCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCCGG CAATTGAACCGGTGCTTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGA TGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACC GTATAT AAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAG AACACAGGTAAGTGCCGTGTGTGGTTCCCGCGGGCCTGGCCTCTTTACGGG TTATGGCCCTTGCGTGCTTGAATTACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGAT TCTTGATCCCCGAGCTTCGGGTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTTCGAGGCCTTG CGCTTAAGGAGCCCCCTTCGCCTCGTGCTTGAGTTGAGGCCTGGCCTGGGCG CTGGGGCCGCCGCTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGCTCGCTGCTG TTTCGATAAGTCTCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCTGCGACGCT TTTTTCTGGCAAGATAGTCTTGTAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGG TATTTTCGGTTTTTGGGGCCGCGGGCGGCACGGGGCCCGTGCTCCAGCG CACATGTTGCGCGAGGCGGGGCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACG

10

20

30

40

		GGGGTAGTCTCAAGCTGGCCGGCCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCGCC GTGTATCGCCCCGCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCCCGGTGCGCACCAAGTTGC GTGAGCGGAAAGATGGCCGCTTCCCGGCCCTGCTGCAGGGAGCTCAAAATG GAGGACGCGGCGCTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGTCACCCACACAAAGGAA AAGGGCCTTTCCGTCCTCAGCCGTCGCTTCATGTGACTCCACGGAGTACCG GCGGCCGTCCAGGCACCTCGATTAGTTCTCGAGCTTTTGGAGTACGTCGTC TTAGGTTGGGGGGAGGGGTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTG GGTGGAGACTGAAGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGA ATTTGCCCTTTTGGAGTTTGATCTTGGTTTATTCTCAAGCCTCAGACAGT GGTCAAAGTTTTTTTCTTCATTTAGGTGTCGTGAGGAATTCTCTAGAG ATCCCTCGACCTCGAGATCCATTGTGCCCGGGCGCCACCATGGAGTTTGGG CTGAGCTGGCTTTTTCTTGTGCGGATTTTAAAGGTGTCCAGTGC
V2	931	ACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTG AAATCTGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGA GAGGCCAAAGTACAGTGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCC CAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGC AGCACCTTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCC TGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAAC AGGGGAGAGTGTTGAGCGGCCGCTCGAGGCCGGCAAGGCCGATCCCCCGA CCTCGACCTCTGGCTAATAAAGGAAATTTATTTTCATTGCAATAGTGTGTT GGAATTTTTTGTGTCTCTCACTCGGAAGGACATATGGGAGGGCAAAATCATT TGGTCGAGATCCCTCGGAGATCTCTAGCTAGAGGATCGATCCCCGCCCCGG ACGAACTAAACCTGACTACGACATCTCTGCCCTTCTTCGCGGGGCAGTGC ATGTAATCCCTTCAGTTGGTTGGTACAACCTTGCCAACCTGGGCCCTGTTCCA CATGTGACACGGGGGGGGACCAAACACAAAGGGGTTCTCTGACTGTAGTTG ACATCCTTATAAATGGATGTGCACATTTGCCAACACTGAGTGGCTTTCATC CTGGAGCAGACTTTGCAGTCTGTGGACTGCAACACAACATTGCCCTTATGT GTAACCTTTGGCTGAAGCTCTTACACCAATGCTGGGGGACATGTACCTCCC AGGGGCCAGGAAGACTACGGGAGGCTACACCAACGTCAATCAGAGGGGCC TGTGTAGCTACCGATAAGCGGACCCCTCAAGAGGGCATTAGCAATAGTGT ATAAGGCCCCCTTGTTAACCCCTAAACGGGTAGCATATGCTTCCCGGGTAGT AGTATATACTATCCAGACTAACCCCTAATTCAATAGCATATGTTACCAACG GGAAGCATATGCTATCGAATTAGGGTTAGTAAAAGGGTCTTAAGGAACAGC GATATCTCCACCCCATGAGCTGTCACGGTTTTATTTACATGGGGTCAGGA TTCCACGAGGGTAGTGAACCATTTTAGTCACAAGGGCAGTGGCTGAAGATC AAGGAGCGGGCAGTGAACCTCCTGAATCTTCGCCTGCTTCTTCATTCTCC TTCGTTTAGCTAATAGAATAACTGCTGAGTTGTGAACAGTAAGGTGTATGT GAGGTGCTCGAAAACAAGGTTTCAGGTGACGCCCCCAGAATAAAATTTGGA CGGGGGGTTTCAAGTGGTGGCATTTGTGCTATGACACCAATATAACCCCTCACA ACCCCTTGGGCAATAAATACTAGTGTAGGAATGAAACATTCTGAATATCTT TAACAATAGAAATCCATGGGGTGGGGACAAGCCGTAAAGACTGGATGTCCA TCTCACACGAATTTATGGCTATGGGCAACACATAATCCTAGTGAATATGA TACTGGGGTTATTAAGATGTGTCCAGGCAGGGACCAAGACAGGTGAACCA TGTGTTACACTCTATTTGTAACAAGGGGAAAGAGAGTGGACGCCGACAGC AGCGGACTCCACTGGTTGTCTCTAACACCCCCGAAAATTTAAACGGGGCTCC ACGCCAATGGGGCCCATAAACAAAGACAAGTGGCCACTCTTTTTTTTGAAA TTGTGGAGTGGGGGCACGCGTCAGCCCCCACACGCCGCCCTGCGGTTTTGG ACTGTAAAATAAGGGTGTAACTTGGCTGATTGTAACCCCGCTAACCCAC TGCGGTCAAACCACTTGCCCCACAAAACCACTAATGGCACCCCGGGGAATAC CTGCATAAGTAGGTGGGCGGGCCAAGATAGGGGCGCGATTGCTGCGATCTG GAGGACAAATTACACACACTTGCGCCTGAGCGCCAAGCACAGGGTTGTTGG TCCTCATATTACAGAGGTCGCTGAGAGCACGGTGGGCTAATGTTGCCATGG GTAGCATATACTACCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCCTAATCTATA TCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCC TAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCAT AGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCT GGGTAGTATATGCTATCCTAATCTGTATCCGGGTAGCATATGCTATCCTAA TAGAGATTAGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCATATA CTACCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGC ATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATAT CTGGGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCT

10

20

30

40

		AATTTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATA TGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATCTGTATCCG GGTAGCATATGCTATCCTCATGATAAGCTGTCAAACATGAGAATTTTCTTG AAGACGAAAAGGCCTCGTGATACGCCATTATTTTATAGGTTAATGTCATGAT AATAATGGTTTCTTAGACGTGAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGG AACCCCTATTTGTTTATTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCAT GAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTAT GAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCTTTTTTTCGCGCATTTTG CCTTCCTGTTTTTGTCTACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAAGATGCTGA AGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGG TAAGATCCTTGAGAGTTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCAC TTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTGTTGACGCCGGGCA AGAGCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTA CTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATT ATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAATTACTTCT GACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGG GGATCATGTAACTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCAT ACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCGTCAGCAATGGCAACAACGTT GCGCAAATATTAACCTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATT AATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGC CCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGG GTCTCGCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTAT CGTAGTTATCTACACGACGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAG ACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAACCTGTCAGA CCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAACTTCATTTTAAATT TAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCC TTAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAA AGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAAC AAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTCGCGGATCAAGAGCTACC AACTCTTTTTTCCGAAGGTAACCTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAATAC TGTTCTTCTAGTGAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAATACTGTAGC ACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAAGTGGCTGCTGCCAG TGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGA TAAGGCGCAGCGGTGCGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCAGCTT GGAGCGAACGACCTACACCGAAGTGAATACCTACAGCGTGAGCTATGAGA AAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGG CAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCGCTG GTATCTTTATAGTCCTGTGCGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATT TTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGC GGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGTGCGCCTTTTGCTCACATGTTCTT TCCTGCGTTATCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTG AGCTGATACCGCTCGCCGAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAG CGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCGCGCGTTG GCCGATTCATTAATGCAGCTGGCACGACAGGTTTCCCGACTGGAAAGCGGG CAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCCA GGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGG ATAACAATTTACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACGCCAAGCTCTA GCTAGAGGTGAGTCCCTCCCGAGCAGGCAGAAGTATGCAAAGCATGCATC TCAATTAGTCAGCAACCATAGTCCCGCCCCTAACCTCCGCCATCCCGCCCC TAACTCCGCCAGTTCCGCCATTCTCCGCCCATGGCTGACTAATTTTTTT TTATTTATGCAGAGGCCGAGGCCGCTCGGCCTCTGAGCTATTCCAGAAGT AGTGAGGAGGCTTTTTTGGAGGCCTAGGCTTTTGCAAAAAGCTTTGCAAAG ATGGATAAAGTTTTAAACAGAGAGGAATCTTTGCAGCTAATGGACCTTCTA GGTCTTGAAAGGAGTGGAATTGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCG CACATCGCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGGCAATTGAAC CGGTGCCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTA CTGGCTCCGCCCTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGT AGTCGCCGTGAACGTTCTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACACAGGT AAGTGCCGTGTGTGGTTCCCGCGGGCCTGGCCTCTTACCGGGTTAGGCC TTGCGTGCTTGAATTACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGATTCTTGATCC CGAGCTTCGGGTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTTCGAGGCCCTGCGCTTAAGG

10

20

30

40

		AGCCCCCTTCGCCTCGTGCTTGAGTTGAGGCCTGGCCTGGGCGCTGGGGCCG CCGCGTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGCTTTTCGATAA GTCTCTAGCCATTTAAATTTTTGATGACCTGCTGCGACGCTTTTTTCTG GCAAGATAGTCTTGTAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGGTATTTTCGGT TTTTGGGGCCGCGGGCGGGGACGGGGCCCGTGCCTCCAGCGCACATGTTT GGCGAGGCGGGGCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACGGGGGTAGTC TCAAGCTGGCCGGCCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCGCCGTGTATCGC CCCGCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCCCGGTGCGCACCAAGTTGCGTGAGCGGA AAGATGGCCGCTTCCCGCCCTGCTGCGAGGAGCTCAAAATGGAGGACGCG GCGCTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGTCACCCACACAAAGGAAAAGGGCCTT TCCGTCTCAGCCGTGCTTTCATGTGACTCCACGGAGTACGGGGCGCCGTC CAGGCACCTCGATTAGTTCTCGAGCTTTTGGAGTACGTGCTCTTTAGGTTG GGGGGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCACACTGAGTGGGTGGAGAC TGAAGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGAATTTGCCCT TTTTGAGTTTGGATCTTGGTTTATTCTCAAGCCTCAGACAGTGGTTCAAAG TTTTTTTCTTCCATTTAGGTGTCGTGAGGAATTCTCTAGAGATCCCTCGA CCTCGAGATCCATTGTGCCCGGGCGCACCATGGACATGCGCGTGGCCGCC AGCTGCTGGGCTGCTGCTGCTGTGGTTCCCGGCTCGCGATGC
v3	932	CAACCCAAGGCTGCCCCCTCGGTCACTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAG CTTCAAGCCAACAAGGCCACACTGGTGTGTCTCATAAGTGACTTCTACCCG GGAGCCGTGACAGTGGCCTGGAAGGCAGATAGCAGCCCCGTCAAGGCGGGA GTGGAGACCACCACACCTTCAAACAAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGC AGCTACCTGAGCCTGACGCTGAGCAGTGGAAAGTCCACAGAAGCTACAGC TGCCAGGTACGCGATGAAGGGAGCACCGTGGAGAAGACAGTGGCCCCTACA GAATGTTTCATGAGCGGCCGCTCGAGGCCGGCAAGGCCGGATCCCCGACCT CGACCTCTGGCTAATAAAGGAAATTTATTTTCATTGCAATAGTGTGTGGA ATTTTTTGTGTCTCTCACTCGGAAGGACATATGGGAGGGCAATATTGG TCGAGATCCCTCGGAGATCTCTAGCTAGAGGATCGATCCCCGCCCCGACG AACTAAACCTGACTACGACATCTCTGCCCCCTCTTCGCGGGGAGTGCATG TAATCCCTTCAGTTGGTTGGTACAACCTTGCCAACCTGGGCCCTGTTCCACAT GTGACACGGGGGGGACCAAACACAAGGGGTCTCTGACTGTAGTTGACA TCCTTATAAATGGATGTGCACATTTGCCAACCTGAGTGGCTTTTCATCCTG GAGCAGACTTTGCAGTCTGTGGACTGCAACACAACATTGCCTTTATGTGTA ACTCTTGGCTGAAGCTCTTACACCAATGCTGGGGGACATGTACCTCCCAGG GGCCCAGGAAGACTACGGGAGGCTACACCAACGTCAATCAGAGGGGCCCTGT GTAGCTACCGATAAGCGGACCCTCAAGAGGGCATTAGCAATAGTGTTTATA AGGCCCCCTTGTTAACCCTAAACGGGTAGCATATGCTTCCCGGGTAGTAGT ATATACTATCCAGACTAACCTAATTCAATAGCATATGTTACCCAACGGGA AGCATATGCTATCGAATTAGGGTTAGTAAAAGGGTCTAAGGAACAGCGAT ATCTCCCACCCCATGAGCTGTCACGGTTTTATTTACATGGGGTCAGGATTC CACGAGGGTAGTGAACCATTTTAGTCACAAGGGCAGTGGCTGAAGATCAAG GAGCGGGCAGTGAACCTCTCCTGAATCTTCGCCTGCTTCTTCATTCTCCTTC GTTTAGCTAATAAGAATAACTGCTGAGTTGTGAACAGTAAGGTGTATGTGAG GTGCTCGAAAACAAGGTTTCAGGTGACGCCCCCAGAATAAAATTTGGACGG GGGGTTTCAGTGGTGGCATTGTGCTATGACACCAATATAACCTCACAAACC CCTTGGGCAATAAATACTAGTGTAGGAATGAAACATTCTGAATATCTTTAA CAATAGAAATCCATGGGGTGGGGACAAGCCGTAAAGACTGGATGTCCATCT CACACGAATTTATGGCTATGGGCAACACATAATCCTAGTGCAATATGATAC TGGGGTTATTAAGATGTGTCCCAGGCAGGGACCAAGACAGGTGAACCATGT TGTTACACTCTATTTGTAACAAGGGGAAAGAGAGTGGACGCCGACAGCAGC GGACTCCACTGGTTGTCTCTAACACCCCCGAAAATTAACGGGGCTCCACG CCAATGGGGCCCATAAACAAGACAAGTGGCCACTCTTTTTTTTGAATTTG TGGAGTGGGGGCACGCGTCAGCCCCCACACGCCGCCCTGCGGTTTTGGACT GTAAAATAAGGGTGTAACTTGGCTGATTGTAACCCCGCTAACCATGCG GGTCAAACCACTTGCCCACAAAACCACTAATGGCACCCCGGGGAATACCTG CATAAGTAGGTGGGCGGGCCAAGATAGGGGCGCGATTGCTGCGATCTGGAG GACAAATTACACACACTTGCGCCTGAGCGCCAAGCACAGGGTTGTTGGTCC TCATATTCACGAGGTGCTGAGAGCACGGTGGGCTAATGTTGCCATGGGTA GCATATACTACCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCCTAATCTATATCT GGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCCTAA TCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCATAGG

10

20

30

40

		CTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGG TAGTATATGCTATCCTAATCTGTATCCGGGTAGCATATGCTATCCTAATAG AGATTAGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCATATACTA CCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATA TGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTG GGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAAT TTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGC TATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATCTGTATCCGGGT AGCATATGCTATCCTCATGATAAGCTGTCAAACATGAGAATTTCTTTGAAG ACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGATAAT AATGGTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGAAATGTGCGCGGAAC CCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAG ACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAG TATTCAACATTTCCGTGTGCGCCTTATTCCCTTTTTTGCGGCATTTTGCCT TCCTGTTTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGA TCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAA GATCCTTGAGAGTTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTT TAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTGTTGACGCCGGCAAGA GCAACTCGGTGCGCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTC ACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATG CAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGAC AACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGA TCATGTAACCTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACC AAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGCAGCAATGGCAACAACGTTGCG CAAATATTAACCTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAAT AGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCATTCTGCGCTCGGCCCT TCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTC TCGCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGT AGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACA GATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAACGTCAGACCA AGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAACTTCATTTTTAATTTAA AAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTGTATAATCTCATGACCAAAATCCCTTA ACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGG ATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAACAAA AAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTGTTGCCGGATCAAGAGCTACCAAC TCTTTTCCGAAGGTAACCTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAAATACTGT TCTTCTAGTGATAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACC GCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGG CGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAA GGCGCAGCGGTGCGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCAGCTTGGA GCGAACGACCTACACCGAAGTGAAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAG CGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAG GGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTA TCTTTATAGTCCTGTGCGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTT GTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGA AAAACGCCAGCAACGCGGC CTTTTACGTTTCTGCGCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTTTCC TGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGC TGATACCGCTCGCCGACGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGA GGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCC GATTCATTAATGCAGCTGGCAGCAGAGTTTCCCGACTGGAAGCGGGCAG TGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCCAGGC TTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGATA ACAATTTACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACGCCAAGCTCTAGCT AGAGGTCGAGTCCCTCCCCAGCAGGCAGAAAGTATGCAAAGCATGCATCTCA ATTAGTCAGCAACCATAGTCCCGCCCCCTAACTCCGCCCATCCCGCCCCCTAA CTCCGCCCAGTTCCGCCCATTTCTCCGCCCATGGCTGACTAATTTTTTTTA TTTATGCAGAGGCCGAGGCCGCTCGGCCTCTGAGCTATTCCAGAAGTAGT GAGGAGGCTTTTTTGGAGGCCTAGGCTTTTGCAAAAAGCTTTGCAAAGATG GATAAAGTTTTTAAACAGAGAGGAATCTTTGCAGCTAATGGACCTTCTAGGT CTTGAAAGGAGTGGAATTGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCGAGCGCAC ATCGCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAGGGTTCGGCAATTGAACCGG

10

20

30

40

		TGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTG GCTCCGCTTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGTAGT CGCCGTGAACGTTCTTTTTTCGAACGGGTTTGCCGCCAGAACACAGGTAAG TGCCGTGTGTGGTTCGCGGGGCTGGCCTCTTACGGGTTATGGCCCTTG CGTGCCCTGAATTACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGATTCTTGATCCCGA GCTTCGGGTGGAAAGTGGGTGGGAGAGTTCGAGGCCTTGCGCTTAAGGAGC CCCTTCGCCCTCGTGCTTGAGTTGAGGCTGGCCTGGGCGCTGGGGCCGCCG CGTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGCTTTCGATAAGTC TCTAGCCATTTAAAATTTTGTATGACCTGCTGCGACGCTTTTTTTCTGGCA AGATAGTCTTGTAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGGTATTTTCGGTTTTT TGGGGCCGCGGGCGGCGACGGGGCCCGTGCGTCCAGCGCACATGTTCCGGC GAGGCGGGGCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACGGGGGTAGTCTCA AGCTGGCCGGCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCGCCGTGTATCGCCCC GCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCCCGGTGCGCACAGTTGCGTGAGCGGAAAG ATGGCCGCTTCCCGGCCCTGCTGCAGGGAGCTCAAAATGGAGGACGCGGCG CTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGTCACCCACACAAAGGAAAAGGGCCTTTCC GTCCTCAGCCGTGCTTTCATGTGACTCCACGGAGTACGGGGCGCCGTCCAG GCACCTCGATTAGTTCTCGAGCTTTTGGAGTACGTGCTTTAGGTTGGGG GGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTGGGTGGAGACTGA AGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGAATTTGCCCTTTT TGAGTTTGGATCTTGGTTCAATTCTCAAGCCTCAGACAGTGGTTCAAAGTTT TTTTCTTCCATTTAGGTGTCTGAGGAATTCTCTAGAGATCCCTCGACCT CGAGATCCATTGTGCCCCGGGCGCCACCATGACTTGGACCCCACTCCTCTTC CTCACCTCCTCCTCCACTGCACAGGAAGCTTATCG	10
V4	933	ACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTG AAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCGTGTAATAACTTCTATCCCAGA GAGGCCAAAGTACAGTGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACCTC CAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTTACGCTCAGC AGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAAACACAAAGTCTACGCC TGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAAC AGGGGAGAGTGTGAGCGGCCGCTCGAGGCCGGAAGGCCGATCCCCGA CCTCGACCTCTGGCTAATAAAGGAAATTTATTTTCATTGCAATAGTGTGTT GGAATTTTTTGTGTCTCTCACTCGGAAGGACATATGGGAGGGCAAATCATT TGGTCGAGATCCCTCGGAGATCTCTAGCTAGAGGATCGATCCCCGCCCGG ACGAACTAAACCTGACTACGACATCTCTGCCCTTCTTCGCGGGGCAGTGC ATGTAATCCCTTCAGTTGGTTGGTACAACCTTGCCAACTGGGCCCTGTTC CATGTGACACGGGGGGGACCAAACACAAAGGGGTCTCTGACTGTAGTTG ACATCCTTATAAATGGATGTGCACATTTGCCAACACTGAGTGGCTTTTCATC CTGGAGCAGACTTTGCAGTCTGTGGACTGCAACACAACATTGCCTTTATGT GTAACCTTTGGCTGAAGCTCTTACACCAATGCTGGGGGACATGTACCTCCC AGGGGCCCAGGAAGACTACGGGAGGCTACACCAACGTCAATCAGAGGGGCC TGTGTAGCTACCGATAAGCGGACCCCTCAAGAGGGCATTAGCAATAGTGT ATAAGGCCCCCTTGTTAACCTAAACGGGTAGCATATGCTTCCCGGGTAGT AGTATATACTATCCAGACTAACCTAATTCAATAGCATATGTTACCCAACG GGAAGCATATGCTATCGAATTAGGGTTAGTAAAAGGGTCCTAAGGAACAGC GATATCTCCCACCCCATGAGCTGTCACGGTTTTATTTACATGGGGTCAGGA TTCCACGAGGGTAGTGAACCATTTTAGTCAAGGGCAGTGGCTGAAGATC AAGGAGCGGGCAGTGAACCTCTCCTGAATCTTCGCTGCTTCTTCATTCTCC TTCGTTTAGCTAATAGAATAACTGCTGAGTTGTGAACAGTAAGGTGTATGT GAGGTGCTCGAAAACAAGGTTTCAGGTGACCCCCAGAATAAAATTTGGA CGGGGGGTTCACTGGTGGCATTGTGCTATGACACCAATATAACCCTCACAA ACCCTTGGGCAATAAATACTAGTGTAGGAATGAAACATTCTGAATATCTT TAACAATAGAAATCCATGGGGTGGGACAAAGCCGTAAAGACTGGATGTCCA TCTCACACGAATTTATGGCTATGGGCAACATAATCCTAGTGCAATATGA TACTGGGGTTATTAAGATGTGTCCAGGCAGGGACCAAGACAGGTGAACCA TGTGTACTACTCTATTTGTAACAAGGGGAAAGAGAGTGGACGCCGACAGC AGCGGACTCCACTGGTTGTCTCTAACACCCCCGAAAAATTAACGGGGCTCC ACGCCAATGGGGCCATAAACAAGACAAGTGGCCACTCTTTTTTTTGA TTGTGGAGTGGGGGCACGCTCAGCCCCACACGCCGCCCTGCGGTTTTGG ACTGTAAAAAAGGGTGTAAATAACTTGGCTGATTGTAACCCCGCTAACCAC TGCGGTCAAACCACTTGCCACAAAACCACTAATGGCACCCCGGGGAATAC	20 30 40

		CTGCATAAGTAGGTGGGCGGGCCAAGATAGGGGCGCGATTGCTGCGATCTG GAGGACAAATTACACACACTTGCGCCTGAGCGCCAAGCACAGGGTTGTTGG TCCTCATATTCACGAGGTGCTGAGAGCACGGTGGGCTAATGTTGCCATGG GTAGCATATACTACCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCCTAATCTATA TCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCC TAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCAT AGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCT GGGTAGTATATGCTATCCTAATCTGTATCCGGGTAGCATATGCTATCCTAA TAGAGATTAGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCATATA CTACCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGC ATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATAT CTGGGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCT AATTTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATA TGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATCTGTATCCG GGTAGCATATGCTATCCTCATGATAAGCTGTCAAACATGAGAATTTTCTTG AAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGAT AATAATGGTTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGAAATGTGCGCGG AACCCTATTTGTTTATTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCAT GAGACAATAACCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTAT GAGTATTTCAACATTTCCGTGTCGCCCCATTCCCTTTTTTGCGGCATTTTG CCTTCCGTGTTTTTGCTCAGGAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAGATGCTGA AGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAAGTGGATCTCAACAGCGG TAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCAC TTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTGTGACGCCGGGCA AGAGCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTA CTCACCAGTCACAGAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATT ATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCT GACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCAACATGGG GGATCATGTAACTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCAT ACCAACGACGAGCGTGACACCAGATGCCTGCAGCAATGGCAACAAGGTT GCGCAAACTATTAACCTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGCAACAATT AATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGC CCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGG GTCTCGCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTAT CGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAG ACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAAGCATTTGGTAACTGTCAGA CCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAACTTCATTTTTAATT TAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCC TTAACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCGTAGAAAAGATCAA AGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAAC AAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTGTCGGGATCAAGAGCTACC AACTCTTTTTCCGAAGGTAACCTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAATAC TGTTCTTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGC ACCGCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAG TGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGA TAAGGCGCAGCGGTGCGGCTGAACGGGGGGTTCTGTGCACACAGCCCAGCTT GGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGA AAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGG CAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCGT GTATCTTTATAGTCCTGTGCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATT TTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGC GGCCTTTTTACGGTTTCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCATATGTTCTT TCCTGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTG AGCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAG CGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTG GCCGATTCATTAATGCAGCTGGCACGACAGGTTTCCCGACTGGAAAGCGGG CAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTATTAGGCACCCCA GGCTTTTACGTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGG ATAACAATTTACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACGCCAAGCTCTA GCTAGAGGTCGAGTCCCTCCCCAGCAGGCAGAAGTATGCAAAGCATGCATC TCAATTAGTCAGCAACCATAGTCCCGCCCCCTAATCCGCCCATCCCGCCCC

10

20

30

40

		TAACTCCGCCCCAGTTCCGCCCATTTCTCCGCCCATGGCTGACTAATTTTTT TTATTTATGCAGAGGCCGAGGCCGCTCGGCCTCTGAGCTATTCCAGAAGT AGTGAGGAGGCTTTTTTGGAGGCCCTAGGCTTTTGCAAAAAGCTTTGCAAAG ATGGATAAAGTTTTAAACAGAGAGGAATCTTGCAGCTAATGGACCTTCTA GGTCTTGAAAGGAGTGGGAATTGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCG CACATCGCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTGCGCAATTGAAC CGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTA CTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCCTATATAAGTGCAGT AGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACACAGGT AAGTGCCGTGTGTGGTTCCCGCGGGCCTGGCCTCTTACGGGTATGGCCC TTGCGTGCCCTGAATTACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGATTCTTGATCC CGAGCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTCGAGGCCCTGCGCTTAAGG AGCCCCCTTCGCCTCGTGCTTGAGTTGAGGCCTGGCCTGGGCGCTGGGGCCG CCGCGTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGCTTTCGATAA GTCTCTAGCCATTTAAATTTTTGATGACCTGCTGCGACGCTTTTTTCTG GCAAGATAGTCTTGTAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGGTATTTTCGGT TTTTGGGGCCGCGGGCGGCGACGGGGCCCGTGCGTCCCAGCGCACATGTTT GGCGAGGCGGGGCCGTCGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACGGGGGTAGTC TCAAGCTGGCCGGCCTGCTCTGGTGCCCTGGCCTCGCGCCGCCGTGTATCGC CCCGCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCCCCGGTCGGCACCAAGTTGCGTGAGCGGA AAGATGGCCGCTTCCCGGCCCTGCTGCAGGGAGCTCAAAATGGAGGACGCG GCGCTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGTCACCCACACAAAGGAAAAGGGCCTT TCCGTCTCAGCCGTCGCTTCATGTGACTCCACGGAGTACCGGGCGCCGTC CAGGCACCTCGATTAGTTCTCGAGCTTTTGGAGTACGTGCTTTAGGTTG GGGGGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTGGTGGAGAC TGAAGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTTCTCCTTGGAAATTTGCCCT TTTTGAGTTTGGATCTTGGTTCATTCTCAAGCCTCAGACAGTGGTTCAAAG TTTTTTCTTCCATTTCAAGTGTCGTGAGGAATTCTCTAGAGATCCCTCGA CCTCGAGATCCATTGTGCCCGGCGCACCATGACTTGGACCCCACTCCTCT TCCTCACCCCTCCTCCTCCACTGCACAGGAAGCTTATCG	10
V5	934	CAACCCAAGGCTGCCCCCTCGGTCACCTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAG CTTCAAGCCAACAAGGCCACACTGGTGTGTCTCATAAGTGACTTCTACCCG GGAGCCGTGACAGTGGCCTGGAAGGCAGATAGCAGCCCCGTCAAGGCGGGGA GTGGAGACCACCACACCCCTCCAAACAAAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGC AGCTACCTGAGCCTGACGCTGAGCAGTGGAAGTCCCACAGAAGCTACAGC TGCCAGGTACGCATGAAGGGAGCACCGTGGAGAAGACAGTGGCCCCCTACA GAATGTTTCATGAGCGGCCGCTCGAGGCCGGAAGGCCGGATCCCCGACCT CGACCTCTGGCTAATAAAGGAAATTTATTTTCATTGCAATAGTGTGTTGGA ATTTTTTGTGTCTCTCACTCGGAAGGACATATGGGAGGGCAAATCATTGG TCGAGATCCCTCGGAGATCTCTAGCTAGAGGATCGATCCCCGCCCGGACG AACTAAACCTGACTACGACATCTCTGCCCCCTTCTTCGCGGGGCAGTGCATG TAATCCCTTCAGTTGGTTGGTACAACCTTGCCAACCTGGGCCCTGTTCACAT GTGACACGGGGGGGGACCAACACAAAGGGGTTCTCTGACTGTAGTTGACA TCCTTATAAATGGATGTGCACATTTGCCAACACTGAGTGGCTTTTCATCCTG GAGCAGACTTTGCAGTCTGTGGACTGCAACACAACATTGCCCTTATGTGTA ACTCTTGGCTGAAGCTCTTACACCAATGCTGGGGGACATGTACCTCCCAGG GGCCAGGAAGACTACGGGAGGCTACACCAACGTCAATCAGAGGGGCTGT GTAGCTACCGATAAGCGGACCCTCAAGAGGGCATTAGCAATAGTGTTTATA AGGCCCCCTTGTTAACCCTAAACGGGTAGCATATGCTTCCCGGGTAGTAGT ATATACTATCCAGACTAACCCTAATTCAATAGCATATGTTACCCAACGGGA AGCATATGCTATCGAATTAGGGTTAGTAAAAGGGTCCTAAGGAACAGCGAT ATCTCCCAACCCATGAGCTGTCACGGTTTTATTTACATGGGGTCAGGATTC CACGAGGGTAGTGAACCATTTTAGTCAACAGGGCAGTGGCTGAAGATCAAG GAGCGGGCAGTGAACCTCCTGAATCTTCGCCTGCTTCTTCATCTCTCTTC GTTTAGCTAATAAGAATAACTGCTGAGTTGTGAACAGTAAGGTGTATGTGAG GTGCTCGAAAACAAGGTTTCAGGTGACGCCCCAGAATAAAATTTGGACGG GGGGTTCAAGTGGTGGCATTGTGCTATGACACCAATATAACCCTCACAAACC CCTTGGGCAATAAATACTAGTGTAGGAATGAAACATTTCTGAATATCTTTAA CAATAGAAATCCATGGGGTGGGGACAAGCCGTAAAGACTGGATGTCCATCT CACACGAATTTATGGCTATGGGCAACACATAATCCTAGTGCAATATGATAC TGGGGTTATTAAGATGTGTCCAGGCAGGGACCAAGACAGGTGAACCATGT	30
			40

		TGTTACACTCTATTTGTAACAAGGGGAAAGAGAGTGGACGCCGACAGCAGC GGACTCCACTGGTTGTCTCTAACACCCCCGAAAAATAACGGGGCTCCACG CCAATGGGGCCCATAAACAAAGACAAGTGGCCACTCTTTTTTTTGAAATTG TGGAGTGGGGGCACGCGTCAGCCCCCACACGCCGCCCTGCGGTTTTGGACT GTAAAATAAGGGTGTAAATAACTTGGCTGATTGTAACCCCGCTAACCCTGC GGTCAAACCACTTGCCCAAAAACCACTAATGGCACCCCGGGGAATACCTG CATAAGTAGGTGGCGGGCCAAAGATAGGGGCGCGATTGCTGCGATCTGGAG GACAAATTACACACACTTGCGCCTGAGCGCCAAGCACAGGGTTGTTGGTCC TCATATTCACGAGGTGCGTGAGAGCACGGTGGGCTAATGTTGCCATGGGTA GCATATACTACCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCCTAATCTATATCT GGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCCTAA TCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCATAGG CTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGG TAGTATATGCTATCCTAATCTGTATCCGGGTAGCATATGCTATCCTAATAG AGATTAGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCATATACTA CCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATA TGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTG GGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAAT TTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGC TATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATCTGATCCGGGT AGCATATGCTATCCTCATGATAAGCTGTCAAACATGAGAATTTTCTTGAAG ACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTAAATGTCATGATAAT AATGGTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAAC CCCTATTTGTTTATTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAG ACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAG TATTCAACATTTCCGTGTGCGCCCTTATCCCTTTTTTTCGCGCATTTTGCCT TCCTGTTTTTGTCTACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGA TCAGTTGGGTGACGAGTGGGTACATCGAAGTGGATCTCAACAGCGGTAA GATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAAGCTTTTCCAATGATGAGCACTTT TAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTGTGACGCCGGCAGA GCAACTCGGTGCGCCGATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTC ACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATG CAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAATTACTTCTGAC AACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGA TCATGTAACTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACC AAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGCAGCAATGGCAACAACGTTGCG CAAACATTAAC TGCGCAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAAT AGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGCCCT TCCGGCTGGCTGGTTTATTTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGT TCGCGGTATCATTGACGACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGT AGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACA GATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTTGGTAAGTGCAGACCA AGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAACTTCATTTTTAATTTAA AAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCCTTA ACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGG ATCTTCTTGAGATCCTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAA AAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTGTTGCCGATCAAGAGCTACCAAC TCTTTTTCCGAAGGTAAC TGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAAATCTGT TCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACC GCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGG CGATAAGTCGTGCTTACC GGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAA GGCGCAGCGGTGCGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGA GCGAACGACCTACACCGAAGTGAATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAG CGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAG GGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTA TCTTTATAGTCTGTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTT GTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGA AAAACGCCAGCAACGCGGC CTTTTTACGGTTCTTGCCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTTTCC TGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGC TGATAACCGCTCGCCGACGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGA GGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTTCCCCGCGCGTTGGCC
	10	
	20	
	30	
	40	

		GATTCATTAATGCAGCTGGCACGACAGGTTTCCCGACTGGAAAGCGGGCAG TGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCAGGC TTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGATA ACAATTTACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACGCCAAGCTCTAGCT AGAGGTCGAGTCCCTCCCCAGCAGGCAGAAGTATGCAAAGCATGCATCTCA ATTAGTCAGCAACCATAGTCCCGCCCCCTAACTCCGCCCCATCCCGCCCCCTAA CTCCGCCCAGTTCCGCCCCATTCTCCGCCCCATGGCTGACTAATTTTTTTTA TTTATGCAGAGGCCGAGGCCGCTCGGCCCTCTGAGCTATTCCAGAAGTAGT GAGGAGGCTTTTTTGGAGGCCCTAGGCTTTTGCAAAAAGCTTTGCAAGATG GATAAAGTTTTTAAACAGAGAGGAATCTTTGCAGCTAATGGACCTCTAGGT CTTGAAAGGAGTGGGAATTGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCAC ATCGCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGAGGGGTCCGCAATTGAACCGG TGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGTAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTAAGT GCTCCGCCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCCTATATAAGTGCAGTAGT CGCCGTGAACGTTCTTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACACAGGTAAG TGCCGTGTGTGGTTCCCGCGGGCTGGCCTCTTTACGGGTTATGGCCCTTG CGTGCTTGAATTACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGATTCTTGATCCCGA GCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTTCGAGGCCTTCGCTTAAGGAGC CCCTTCGCCTCGTGCTTGAGTTGAGGCCTGGCCTGGGCGCTGGGCGCCGCG CGTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGCTTTTCGATAAGTC TCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCTGCGACGCTTTTTTTCTGGCA AGATAGTCTTGTAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGGTATTTTCGGTTTT TGGGGCCGCGGGCGGCGACGGGGCCCGTGCGTCCCAGCGCACATGTTTCGGC GAGGCGGGGCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACGGGGGTAGTCTCA AGCTGGCCGGCCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCGCGCTGTATCGCCCC GCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCCCGGTCCGACACAGTTGCGTGAGCGGAAAG ATGGCCGCTTCCCGGCCCTGCTGCAGGGAGCTCAAAATGGAGGACGCGCGC CTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGTCACCCACACAAAGGAAAAGGCCCTTCC GTCCCTCAGCCGTGCTTTCATGTGACTCCACGGAGTACCGGGCGCGCTCCAG GCACCTCGATTAGTTCTCGAGCTTTTGGAGTACGTCTGCTTTAGGTTGGGG GGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCGACACTGAGTGGGTGGAGACTGA AGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGAATTTGCCCTTTT TGAGTTTGATCTTGGTTCATTCTCAAGCCTCAGACAGTGGTTCAAAGTTT TTTTCTTCCATTTAGGTGTCTGTGAGGAATTCTCTAGAGATCCCTCGACCT CGAGATCCATTGTGCCCCGGCGCCACCATGGACATGCGCGTGCCCCGCCAG CTGCTGGGCCTGCTGCTGTGTTTCCCCGGCTCGCGATGC	10
V7	935	GCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCTCCCAAGAGC ACCTCTGGGGGACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCC GAACCGGTGACGGTGTCTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGCGTGCAC ACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTG GTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTG AATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCAAATCT TGTGACAAAACCTCACACATGCCCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCCGCGGGG GGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAAACCAAGGACACCTCATGATC TCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCC AAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGC GTCCCTACCGTCTGCAACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC AAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAA GCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGC GAGGAGATGACCAAGAACCAGGTACGCTGACCTGCCCTGGTCAAAGGCTTC TATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAAC AACTACAAGACCACGCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTC TACAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTC TCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGC CTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGAGCGGCCGCTCGAGGCGCGCAAGCCGG ATCCCCGACCTCGACCTCTGGCTAATAAAGGAAATTTATTTTCATTGCAA TAGTGTGTTGGAATTTTTTGTGTCTCTCACTCGGAAGGACATATGGGAGGG CAAATCATTTGGTCGAGATCCCTCGGAGATCTCTAGCTAGAGGATCGATCC CCGCCCCGACGAACCTAAACCTGACTACGACATCTCTGCCCCCTTCTTCGCG GGGCAGTGCATGTAATCCCTTCAGTTGGTTGGTACAACCTGCCAACTGGGC	20
		GCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCTCCCAAGAGC ACCTCTGGGGGACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCC GAACCGGTGACGGTGTCTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGCGTGCAC ACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTG GTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTG AATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCAAATCT TGTGACAAAACCTCACACATGCCCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCCGCGGGG GGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAAACCAAGGACACCTCATGATC TCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCC AAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGC GTCCCTACCGTCTGCAACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC AAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAA GCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGC GAGGAGATGACCAAGAACCAGGTACGCTGACCTGCCCTGGTCAAAGGCTTC TATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAAC AACTACAAGACCACGCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTC TACAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTC TCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGC CTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGAGCGGCCGCTCGAGGCGCGCAAGCCGG ATCCCCGACCTCGACCTCTGGCTAATAAAGGAAATTTATTTTCATTGCAA TAGTGTGTTGGAATTTTTTGTGTCTCTCACTCGGAAGGACATATGGGAGGG CAAATCATTTGGTCGAGATCCCTCGGAGATCTCTAGCTAGAGGATCGATCC CCGCCCCGACGAACCTAAACCTGACTACGACATCTCTGCCCCCTTCTTCGCG GGGCAGTGCATGTAATCCCTTCAGTTGGTTGGTACAACCTGCCAACTGGGC	30
		GCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCTCCCAAGAGC ACCTCTGGGGGACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCC GAACCGGTGACGGTGTCTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGCGTGCAC ACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTG GTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTG AATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCAAATCT TGTGACAAAACCTCACACATGCCCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCCGCGGGG GGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAAACCAAGGACACCTCATGATC TCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCC AAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGC GTCCCTACCGTCTGCAACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC AAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAA GCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGC GAGGAGATGACCAAGAACCAGGTACGCTGACCTGCCCTGGTCAAAGGCTTC TATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAAC AACTACAAGACCACGCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTC TACAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTC TCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGC CTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGAGCGGCCGCTCGAGGCGCGCAAGCCGG ATCCCCGACCTCGACCTCTGGCTAATAAAGGAAATTTATTTTCATTGCAA TAGTGTGTTGGAATTTTTTGTGTCTCTCACTCGGAAGGACATATGGGAGGG CAAATCATTTGGTCGAGATCCCTCGGAGATCTCTAGCTAGAGGATCGATCC CCGCCCCGACGAACCTAAACCTGACTACGACATCTCTGCCCCCTTCTTCGCG GGGCAGTGCATGTAATCCCTTCAGTTGGTTGGTACAACCTGCCAACTGGGC	40

		CCTGTTCCACATGTGACACGGGGGGGACCAAACACAAAGGGGTTCTCTGA CTGTAGTTGACATCCTTATAAATGGATGTGCACATTTGCCAACACTGAGTG GCTTTCATCCTGGAGCAGACTTTGCAGTCTGTGGACTGCAACACAACATTG CCTTTATGTGTAACCTTTGGCTGAAGCTCTTACACCAATGCTGGGGGACAT GTACCTCCCAGGGGGCCAGGAAGACTACGGGAGGCTACACCAACGTCAATC AGAGGGGCCTGTGTAGCTACCGATAAGCGGACCCTCAAGAGGGCATTAGCA ATAGTGTTTATAAGGCCCCCTTGTAAACCCTAAACGGGTAGCATATGCTTC CCGGGTAGTAGTATATACTATCCAGACTAACCCTAATTCAATAGCATATGT TACCCAACGGGAAGCATATGCTATCGAATTAGGGTTAGTAAAAGGGTCCTA AGGAACAGCGATATCTCCACCCCATGAGCTGTCACGGTTTTATTACATG GGGTGAGGATTCCACGAGGGTAGTGAACCATTTTAGTCACAAGGGCAGTGG CTGAAGATCAAGGAGCGGGCAGTGAACCTCTCCTGAATCTTCGCTGCTTCT TCATTCTCCTTCGTTTAGCTAATAGAATAACTGCTGAGTTGTGAACAGTAA GGTGTATGTGAGGTGCTCGAAAACAAGGTTTCAGGTGACCCCCAGAATA AAATTTGGACGGGGGGTTCAGTGGTGGCATTGTGCTATGACACCAATATAA CCCTCACAAACCCCTTGGGCAATAAATACTAGTGATAGGAATGAAACATTCT GAATATCTTTAACAATAGAAATCCATGGGGTGGGGACAAGCCGTAAAGACT GGATGTCCATCTCACACGAATTTATGGCTATGGGCAACACATAATCCTAGT GCAATATGATACTGGGGTTATTAAGATGTGTCCAGGACGGACCAAGACA GGTGAACCATGTTGTTACACTCTATTTGTAACAAGGGGAAAGAGAGTGGAC GCCGACAGCAGCGGACTCCACTGGTTGTCTCTAACACCCCCGAAAATTAAA CGGGGCTCCACGCCAATGGGGCCCATAAACAAAGACAAGTGGCCACTCTTT TTTTTGAAATTGTGGAGTGGGGGCACGCGTCAGCCCCACACGCCGCCCTG CGGTTTTGGACTGTAAAAAAGGGTGTAAATAACTTGGCTGATTGTAACCCC GCTAACCACTGCGGTCAAACCACTTGCCACAAAACCACTAATGGCACCCC GGGGAATACCTGCATAAGTAGGTGGGCGGGCCAAGATAGGGGCGCGATTGC TGCGATCTGGAGGACAAATTACACACACTTGCGCTGAGCGCCAAAGCACAG GGTTGTTGGTCTCATATTCACGAGGTGCTGAGAGCACGGTGGGCTAATG TTGCCATGGGTAGCATATACTACCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCC TAATCTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCAT ATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCT GGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCCTAA TCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATCTGTATCCGGGTAGCATATG CTATCCTAATAGAGATTAGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGG TAGCATATACTACCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCCTAATCTATAT CTGGGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCT AATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATA TGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTG GGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAAT CTGTATCCGGGTAGCATATGCTATCCTCATGATAAGCTGTCAAACATGAGA ATTTTCTTGAAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCATTTTATAGGTTAA TGTCATGATAATAATGGTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAA TGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTA TCCGCTCATGAGACAATAACCCGTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAG GAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTGCCCTTATCCCTTTTTTGC GGCATTGTCCTTCCCTGTTTTTGTCAACCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAA AGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTACATCGAACTGGATCT CAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTTCAAT GATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTGTTGA CGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTGCGCGCATACACTATTCTCAGAATGACTT GGTTGAGTACTACCCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGT AAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAA CTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCA CAACATGGGGGATCATGTAACCTGCTTGCCTTGCCTGGGAACGGGAGCTGAA TGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCTGTCAGCAATGGC AACAACGTTGCGCAAACCTATTAACCTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCG GCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCT GCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGG TGAGCGTGGGTCTCGCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCC CTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGAGTCAGGCAACTATGGATGA ACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTA
	10	
	20	
	30	
	40	

		ACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAACTTCA TTTTTAATTTAAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGAC CAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTCTGTTCCACTGAGCGTCAGACCCGCTAGA AAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTG CTTGCAAACAAAAAACCCGCTACCAGCGGTGGTTTGTGTTGCCGGATCA AGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACCTGGCTTCAGCAGAGCGCAGAT ACCAAATACTGTTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAA CTCTGTAGCACCCGCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCACTGGC TGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGACTCAAGACGATA GTTACCGGATAAAGCGCAGCGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTCTGTGCACACA GCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGA GCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCC GGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGG AAACGCCGTGGTATCTTTATAGTCTGTGCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGA GCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAACACGC CAGCAACGCGGCCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCA CATGTTCTTTCTGCGTTATCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGC CTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGACGCCGAACGACCGAGCGCAGCGA GTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCTCTCCC CGCGCGTTGGCCGATTCAATTAATGCAGCTGGCACGACAGGTTTCCCGACTG GAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTA GGCACCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAAT TGTGAGCGGATAACAATTTACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACGC CAAGCTCTAGCTAGAGGTCGAGTCCCTCCCCAGCAGGCAGAAGTATGCAAA GCATGCATCTCAATTAGTCAGCAACCATAGTCCCGCCCCTAACCTCCGCCCA TCCCGCCCCTAACCTCCGCCAGTTCGCCCATTTCTCCGCCCATGGCTGAC TAATTTTTTTTTATTATGCAGAGGCCGAGGCCGCTCGGCCTCTGAGCTAT TCCAGAAAGTAGTGAGGAGGCTTTTTTGGAGGCCCTAGGCTTTTGCAAAAAGC TTTGCAAAGATGGATAAAGTTTTTAAACAGAGAGGAATCTTTGCAGCTAATG GACCTTCTAGGTCTTGAAAGGAGTGGAATTTGGCTCCGGTGCCCGTCAGTG GGCAGAGCGCACATCGCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTGCG CAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGA TGTCGTGTACTGGCTCCGCCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCCTATAT AAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAG AACACAGGTAAGTGCCGTGTGTGGTTCCCGCGGGCCTGGCCTCTTTACGGG TTATGGCCCTTGCGTGCCTTGAATTACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGAT TCTTGATCCCGAGCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTTCGAGGCCTTG CGCTTAAGGAGCCCCCTTCGCTCGTGCTTGAGTTGAGGCCTGGCCTGGGCG CTGGGGCCGCGCGTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGC TTTCGATAAGTCTCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCTGCGACGCT TTTTTTCTGGCAAGATAGTCTTGTAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGG TATTTTCGGTTTTTGGGGCCGCGGGCGGCGACGGGGCCCGTGCCTCCAGCG CACATGTTGCGCGAGGCGGGGCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACG GGGGTAGTCTCAAGCTGGCCGGCCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCGCC GTGTATCGCCCCGCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCCCGTGGCACCAGTTGC GTGAGCGGAAAGATGGCCGCTTCCCGGCCCTGCTGCAGGGAGCTCAAAATG GAGGACGCGGCGCTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGTCAACACACAAAGGAA AAGGGCCTTTCCGTCTCAGCCGTGCTTCATGTGACTCCACGAGTACCG GGCGCCGTCCAGGCACCTCGATTAGTTCTCGAGCTTTTGGAGTACGTCGTC TTTAGGTTGGGGGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTG GGTGGAGACTGAAGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGA ATTTGCCCTTTTTGAGTTTGATCTTGGTTTCAATCTCAAGCCTCAGACAGT GGTTCAAAGTTTTTTCTTCCATTTAGGTGTCGTGAGGAATTCTCTAGAG ATCCCTCGACCTCGAGATCCATTGTGCCCCGGCGCCACCATGGAGTTTGGG CTGAGCTGGCTTTTCTTGTGCGGATTTTAAAAGGTGTCCAGTGC	10 20 30 40

【 1 1 6 7 】

本発明は、分子生物学及びドラッグデリバリーの分野で公知の技術を全部参照により組み入れる。これらの技術には、以下の刊行物に記載されている技術が含まれるが、これらに限定されない。

【 1 1 6 8 】

【表 2 6 2】

- Ausubel et al. (eds.), Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY (1993);
 Ausubel, F.M. et al. eds., Short Protocols In Molecular Biology (4th Ed. 1999) John Wiley & Sons, NY. (ISBN 0-471-32938-X).
Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance, Smolen and Ball (eds.), Wiley, New York (1984);
 Giege, R. and Ducruix, A. Barrett, Crystallization of Nucleic Acids and Proteins, a Practical Approach, 2nd ea., pp. 20 1-16, Oxford University Press, New York, New York, (1999);
 Goodson, in Medical Applications of Controlled Release, vol. 2, pp. 115-138 (1984);
 Hammerling, et al., in: Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981);
 Harlow et al., Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988);
 Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987) and (1991);
 Kabat, E.A., *et al.* (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242;
 Kontermann and Dubel eds., Antibody Engineering (2001) Springer-Verlag. New York. 790 pp. (ISBN 3-540-41354-5).
 Kriegler, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY (1990);
 Lu and Weiner eds., Cloning and Expression Vectors for Gene Function Analysis (2001) BioTechniques Press. Westborough, MA. 298 pp. (ISBN 1-881299-21-X).
Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), CRC Pres., Boca Raton, Fla. (1974);
 Old, R.W. & S.B. Primrose, Principles of Gene Manipulation: An Introduction To Genetic Engineering (3d Ed. 1985) Blackwell Scientific Publications, Boston. Studies in Microbiology; V.2:409 pp. (ISBN 0-632-01318-4).
 Sambrook, J. et al. eds., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2d Ed. 1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY. Vols. 1-3. (ISBN 0-87969-309-6).
Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978
 Winnacker, E.L. From Genes To Clones: Introduction To Gene Technology (1987) VCH Publishers, NY (translated by Horst Ibelgauf). 634 pp. (ISBN 0-89573-614-4).

10

20

30

40

【1 1 6 9】

参照による組み入れ

本出願を通して引用され得る（文献、特許、特許出願及びウェブサイトを含めた）すべての引用文献の内容は本明細書中に引用されている文献のように全文参照により明らかに組み入れられる。別段の指示がない限り、本発明の実施は当業界で公知の免疫学、分子生物学及び細胞生物学の一般的技術を使用する。

【1 1 7 0】

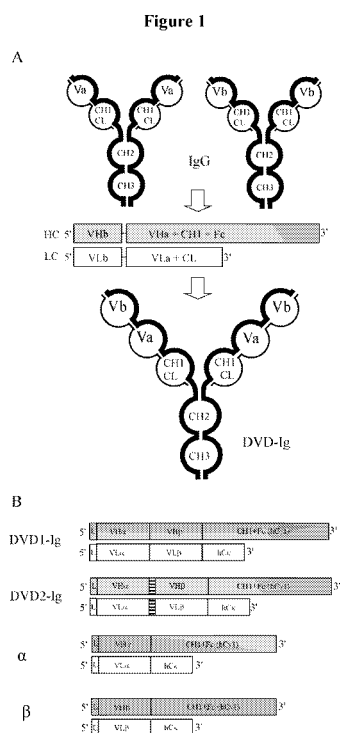
均等

本発明は、その趣旨または必須要件を逸脱しない限り他の特別な形態で具体化され得る

50

。従って、上記実施形態は、すべての面で本明細書中に記載されている発明を限定するよりむしろ例示と見なされる。よって、本発明の範囲は先の記載よりもむしろ添付されている特許請求の範囲により示され、従って特許請求の範囲の均等の意味及び範囲に入るすべての変化が本発明に包含されると意図される。

【 図 1 】



【配列表】
2013507969000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 10/53730

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - C12P 21/08 (2011.01) USPC - 530/387.3 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) IPC(8) - C12P 21/08 (2011.01) USPC - 530/387.3 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched 424/136.1; 435/7.1 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) pubWEST; Google Scholar search terms: antibody, antigen, lgg, bispecific\$, multispecific\$, bivalent\$, multivalent\$, dual, bi, multi\$, many, specific\$, valent, valency, heavy, light, linker, fc, hcv, variable, domain, cd20, cd-20, cd19, cd-19, membrane-spanning 4-domains, bp35, MS4A2, leu-18, B-lymphocyte cell		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X — Y	US 2009/0215982 A1 (WU et al.) 27 August 2009 (27.08.2009) para [0013]-[0018]; [0025]-[0032]; [0044]; [0047]; [0048]; [0052]; SEQ ID NOs: 5, 55.	1, 3, 5, 6, 9-15, 21-23, 25, (26-29)/(1, 3, 6, 25), 33/(1, 3, 6, 25), 34-50 2, 7, 24, (26-29)/24, 33/24
Y	US 2006/0134105 A1 (LAZAR et al.) 22 June 2006 (22.06.2006) para [0013]; [0428]; [0517]; [1714]; [1786]; Table 10; SEQ ID NO: 2.	2, 7, 24, (26-29)/24, 33/24
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "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 28 April 2011 (28.04.2011)		Date of mailing of the international search report 06 MAY 2011
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201		Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT Q&P: 571-272-7774

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 10/53730

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of Item I.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 filed or furnished:

a. (means)

☐

on paper

☒

in electronic form

b. (time)

☐

in the international application as filed

☒

together with the international application in electronic form

☐

subsequently to this Authority for the purposes of search

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:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 10/53730

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of 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. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims 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. ☒ Claims Nos.: 16-20, 51-61, and 82-90
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:
This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Groups I+: Claims 1-15, 21-50, and 77-81, drawn to a binding protein, where the first named invention will be searched and is limited to the pair of target antigens CD19 and CD20, and the VD sequence of SEQ ID NO: 28 (i.e. claims 1-3, 5-7, 9-15, and 21-50, limited to CD19 and CD20, wherein claims 2, 7, and 24 are limited to SEQ ID NO: 28). Applicant may have additional pairs of antigens searched for an additional search fee per pair of antigens.

-----continued on first blank sheet attached hereto-----

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 claims Nos.:
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 claims Nos.:
1-15, 21-50 and 77-81 limited to SEQ ID NO: 28, with targets limited to CD19 and CD20

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.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 10/53730

continuation of Box No. III: Observations where unity of invention is lacking

The first named invention also contains multiple species, each drawn to one or more SEQ IDs. Applicant may have one or more sequences searched for an additional search fee(s) as follows: Due to the number of sequences in this application, Groups I+ will be defined as necessary depending on Applicant's ultimate payment of additional fees. The additional sequences will be searched if applicant pays for each additional sequence or shows that the sequences share a special technical feature, i.e. a common structure or feature that defines a contribution over the prior art. Note that each additional sequence to be searched must be specified by the Applicant in the response to this invitation and must either (1) have an additional invention fee paid or (2) have a showing that the sequences share a common structure or feature that defines a contribution over the prior art.

The first named invention also contains an additional species: a method for improving a characteristic of the binding protein (claims 77-81), which applicant may searched for an additional search fee.

Group II: Claims 62-76, drawn to a method for generating a Dual Variable Domain Immunoglobulin capable of binding two antigens

*Note: claim 6 has been included with each of Groups I and III to the extent that it encompasses the subject matter of the respective groups.

The groups listed above do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons.

Groups I+ share the technical features of claims 1, 3, 6, 24, or 25. However, none of these technical features represent an improvement over the prior art.

Regarding claims 24 and 25 (note that all of the limitations of claims 1, 3, and 6 are included in claims 24 and 25): Wu et al. (US 2007/0071675 A1, hereinafter "Wu") teaches a binding protein capable of binding two antigens comprising four polypeptide chains (para [0016]),

wherein two polypeptide chains comprise VD1-(X1)_n-VD2-C-(X2)_n, wherein

VD1 is a first heavy chain variable domain;

VD2 is a second heavy chain variable domain;

C is a heavy chain constant domain;

X1 is a linker with the proviso that it is not CH1; and

X2 is an Fc region; and

wherein two polypeptide chains comprise VD1-(X1)_n-VD2-C-(X2)_n, wherein

VD1 is a first light chain variable domain;

VD2 is a second light chain variable domain;

C is a light chain constant domain;

X1 is a linker with the proviso that it is not CH1;

X2 does not comprise an Fc region and

n is 0 or 1 (para [0016]);

Wu does not teach an embodiment wherein the binding protein is capable of binding CD19 and Cd20; however, such would have been further obvious in order to tether an anti-CD20 antibody with an anti-CD19 antibody because US 2009/0191225 A1 (Chang et al.; July 2009) teaches tethering an anti-CD20 and an anti-CD19 antibody (anti-CD19 X anti-CD20; para [045]).

Groups I+ contains multiple species, drawn to different sequences (VD sequences or X sequences) which do not share a common structure. Further, Groups I+ also contains an additional species, which contains a distinct species/technical feature which is not present in the other species and is drawn to a method for improving a characteristic of the binding protein.

Accordingly, unity of invention is lacking.

Note: Claims 4 and 8 are not within the scope of the first named invention, and therefore are not included in this opinion.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.

F I

テーマコード (参考)

C 1 2 N 1/19 (2006.01)
 C 1 2 N 1/21 (2006.01)
 C 1 2 N 5/10 (2006.01)
 A 6 1 K 39/395 (2006.01)
 A 6 1 K 51/00 (2006.01)
 A 6 1 K 49/00 (2006.01)
 A 6 1 K 38/00 (2006.01)
 A 6 1 K 45/00 (2006.01)
 A 6 1 P 43/00 (2006.01)
 A 6 1 P 29/00 (2006.01)
 A 6 1 P 19/02 (2006.01)
 A 6 1 P 17/06 (2006.01)
 A 6 1 P 37/02 (2006.01)
 A 6 1 P 1/04 (2006.01)
 A 6 1 P 3/10 (2006.01)
 A 6 1 P 5/14 (2006.01)
 A 6 1 P 11/06 (2006.01)
 A 6 1 P 37/08 (2006.01)
 A 6 1 P 17/00 (2006.01)
 A 6 1 P 37/06 (2006.01)
 A 6 1 P 9/10 (2006.01)
 A 6 1 P 7/02 (2006.01)
 A 6 1 P 13/12 (2006.01)
 A 6 1 P 1/16 (2006.01)
 A 6 1 P 27/02 (2006.01)
 A 6 1 P 31/04 (2006.01)
 A 6 1 P 33/00 (2006.01)
 A 6 1 P 31/18 (2006.01)
 A 6 1 P 25/00 (2006.01)
 A 6 1 P 25/14 (2006.01)
 A 6 1 P 25/16 (2006.01)
 A 6 1 P 25/28 (2006.01)
 A 6 1 P 9/00 (2006.01)
 A 6 1 P 7/06 (2006.01)
 A 6 1 P 35/00 (2006.01)
 A 6 1 P 9/04 (2006.01)
 A 6 1 P 17/14 (2006.01)
 A 6 1 P 19/00 (2006.01)
 A 6 1 P 17/04 (2006.01)
 A 6 1 P 31/10 (2006.01)
 A 6 1 P 31/14 (2006.01)
 A 6 1 P 31/20 (2006.01)
 A 6 1 P 15/08 (2006.01)
 A 6 1 P 11/00 (2006.01)
 A 6 1 P 21/00 (2006.01)
 A 6 1 P 7/00 (2006.01)
 A 6 1 P 25/18 (2006.01)

C 1 2 N 1/19
 C 1 2 N 1/21
 C 1 2 N 5/00 1 0 1
 A 6 1 K 39/395 N
 A 6 1 K 39/395 L
 A 6 1 K 49/02 A
 A 6 1 K 49/00 A
 A 6 1 K 49/00 C
 A 6 1 K 49/02 B
 A 6 1 K 49/02 C
 A 6 1 K 37/02
 A 6 1 K 45/00
 A 6 1 P 43/00 1 2 1
 A 6 1 P 29/00 1 0 1
 A 6 1 P 19/02
 A 6 1 P 17/06
 A 6 1 P 37/02
 A 6 1 P 1/04
 A 6 1 P 3/10
 A 6 1 P 5/14
 A 6 1 P 11/06
 A 6 1 P 37/08
 A 6 1 P 17/00
 A 6 1 P 37/06
 A 6 1 P 9/10 1 0 1
 A 6 1 P 7/02
 A 6 1 P 13/12
 A 6 1 P 1/16
 A 6 1 P 29/00
 A 6 1 P 27/02
 A 6 1 P 31/04
 A 6 1 P 33/00
 A 6 1 P 31/18
 A 6 1 P 25/00
 A 6 1 P 25/14
 A 6 1 P 25/16
 A 6 1 P 25/28
 A 6 1 P 9/00
 A 6 1 P 25/00
 A 6 1 P 25/14
 A 6 1 P 25/16
 A 6 1 P 25/28
 A 6 1 P 9/00
 A 6 1 P 7/06
 A 6 1 P 35/00
 A 6 1 P 9/04
 A 6 1 P 17/14
 A 6 1 P 19/00
 A 6 1 P 17/04
 A 6 1 P 31/10
 A 6 1 P 31/14
 A 6 1 P 9/10 1 0 3
 A 6 1 P 17/14
 A 6 1 P 19/00
 A 6 1 P 17/04
 A 6 1 P 31/10
 A 6 1 P 31/14

4 C 0 8 6
 4 C 2 0 6
 4 H 0 4 5

A 6 1 P	25/24	(2006.01)	A 6 1 P	31/20
A 6 1 P	25/04	(2006.01)	A 6 1 P	15/08
A 6 1 P	35/02	(2006.01)	A 6 1 P	11/00
A 6 1 P	1/18	(2006.01)	A 6 1 P	21/00
A 6 1 P	11/02	(2006.01)	A 6 1 P	7/00
A 6 1 P	9/12	(2006.01)	A 6 1 P	25/18
A 6 1 P	9/06	(2006.01)	A 6 1 P	25/24
A 6 1 P	17/02	(2006.01)	A 6 1 P	25/04
A 6 1 P	25/32	(2006.01)	A 6 1 P	35/02
A 6 1 P	25/30	(2006.01)	A 6 1 P	1/18
A 6 1 P	33/06	(2006.01)	A 6 1 P	11/02
A 6 1 P	25/06	(2006.01)	A 6 1 P	9/12
A 6 1 P	19/10	(2006.01)	A 6 1 P	9/06
A 6 1 P	19/08	(2006.01)	A 6 1 P	17/02
A 6 1 P	39/00	(2006.01)	A 6 1 P	25/32
A 6 1 P	31/12	(2006.01)	A 6 1 P	25/30
A 6 1 P	21/04	(2006.01)	A 6 1 P	33/06
A 6 1 P	25/02	(2006.01)	A 6 1 P	25/06
A 6 1 K	31/519	(2006.01)	A 6 1 P	19/10
A 6 1 K	31/436	(2006.01)	A 6 1 P	19/08
A 6 1 K	31/706	(2006.01)	A 6 1 P	39/00
A 6 1 K	31/137	(2006.01)	A 6 1 P	31/12
C 1 2 P	21/08	(2006.01)	A 6 1 P	21/04
			A 6 1 P	25/02 1 0 1
			A 6 1 K	31/519
			A 6 1 K	31/436
			A 6 1 K	31/706
			A 6 1 K	31/137
			C 1 2 P	21/08

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, T M), 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, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, R S, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, I D, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO , NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(72)発明者 モーガン・ラツペ, スーザン・イー

アメリカ合衆国、イリノイ・60656、シカゴ、ノース・キャンフィールド・アベニュー・54
19

(72)発明者 ライリー, エドワード・ビー

アメリカ合衆国、イリノイ・60048、リバティビル、ウイナーズ・サークル・1136

(72)発明者 キングスバリー, ジリアン・エイ

アメリカ合衆国、マサチューセッツ・01778、ウエイランド、アクエダクト・ロード・46

(72)発明者 フイリツプス, アンドリユー

アメリカ合衆国、イリノイ・60048、リバティビル、ガーフィールド・アベニュー・519

(72)発明者 ワン, ジェイ

アメリカ合衆国、イリノイ・60044、レイク・ブラフ、バタフライ・コート・29726

(72)発明者 ベル, ランディ・エル

- アメリカ合衆国、イリノイ・６００４６、リンデンハースト、フエデラル・パークウェイ・７０３
 (72)発明者 ノーベル, スザンヌ・エム
 アメリカ合衆国、イリノイ・６００４７、ロング・グローブ、ノース・クルーガー・ロード・４５
 ３１
 (72)発明者 リー, インチュン
 アメリカ合衆国、イリノイ・６００８９、バツファロー・グローブ、ニューフィールド・ドライブ
 ・１０３
 (72)発明者 リウ, ジュインジエン
 アメリカ合衆国、マサチューセッツ・０１５４５、シユルーズベリー、クリムゾン・ドライブ・１
 ４
 (72)発明者 イン, ホワ
 アメリカ合衆国、マサチューセッツ・０１５２０、ホールデン、タイラー・ドライブ・１５
 (72)発明者 リウ, ジーホン
 アメリカ合衆国、イリノイ・６００３１、ガーニー、グレーストーン・ドライブ・１４５５

F ターム(参考) 4B024 AA01 BA43 CA01 DA01 DA02 DA06 DA12 DA20 EA04 GA11
 HA01
 4B064 AG27 BJ12 CA02 CA06 CA10 CA11 CA19 CC24 DA01
 4B065 AA26X AA72X AA88X AA90X AA90Y AA99X AB01 AC14 BA02 CA25
 CA44
 4C084 AA02 AA19 BA09 BA18 BA24 MA02 MA58 MA59 MA60 MA63
 MA66 NA13 NA14 ZA082 ZA122 ZA162 ZA182 ZA222 ZA332 ZA342
 ZA402 ZA422 ZA452 ZA542 ZA552 ZA612 ZA682 ZA752 ZA812 ZA922
 ZA942 ZA972 ZB072 ZB082 ZB112 ZB132 ZB152 ZB272 ZB332 ZB352
 ZB372 ZC062 ZC312 ZC352 ZC392 ZC552 ZC752
 4C085 AA14 CC23 DD63 EE01 EE03 HH03 HH07 HH11 KA27 KA28
 KA29 KA36 LL18
 4C086 AA01 AA02 CB09 CB22 EA04 MA01 MA02 MA04 MA10 MA58
 MA59 MA60 MA63 MA66 NA13 NA14 ZA08 ZA12 ZA16 ZA18
 ZA22 ZA33 ZA34 ZA40 ZA42 ZA45 ZA54 ZA55 ZA61 ZA68
 ZA75 ZA81 ZA92 ZA94 ZA97 ZB07 ZB08 ZB11 ZB13 ZB15
 ZB27 ZB33 ZB35 ZB37 ZC06 ZC31 ZC35 ZC39 ZC55 ZC75
 4C206 AA01 AA02 FA14 MA01 MA02 MA04 MA17 MA78 MA79 MA80
 MA83 MA86 NA05 NA13 NA14 ZA08 ZA12 ZA15 ZA18 ZA33
 ZA34 ZA45 ZA54 ZA55 ZA68 ZA75 ZA92 ZA97 ZB08 ZB11
 ZB13 ZB15 ZB33 ZB35 ZB37 ZC06 ZC35 ZC55 ZC75
 4H045 AA11 AA20 AA30 BA41 CA40 DA76 DA86 EA22 EA24 EA27
 FA74