

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2021-91702

(P2021-91702A)

(43) 公開日 令和3年6月17日(2021.6.17)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07K 14/78 (2006.01)	C07K 14/78	4C076
A61K 38/16 (2006.01)	A61K 38/16	4C084
A61K 47/60 (2017.01)	A61K 47/60	4H045
A61K 47/64 (2017.01)	A61K 47/64	
A61K 47/68 (2017.01)	A61K 47/68	
審査請求 有 請求項の数 20 O L (全 183 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2021-29567 (P2021-29567)	(71) 出願人	391015708
(22) 出願日	令和3年2月26日 (2021.2.26)		ブリストル・マイヤーズ スクイブ カン
(62) 分割の表示	特願2018-229776 (P2018-229776)		パニー
原出願日	平成23年4月13日 (2011.4.13)		BRISTOL-MYERS SQUIB
(31) 優先権主張番号	61/330,731		B COMPANY
(32) 優先日	平成22年5月3日 (2010.5.3)		アメリカ合衆国08543ニュージャージ
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		ー州 プリンストン、ルート206アンド
			・プロビンス・ライン・ロード
(31) 優先権主張番号	61/323,562	(74) 代理人	100145403
(32) 優先日	平成22年4月13日 (2010.4.13)		弁理士 山尾 憲人
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)	(74) 代理人	100122301
			弁理士 富田 憲史
		(74) 代理人	100157956
			弁理士 稲井 史生
(特許庁注：以下のものは登録商標)		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 PCSK9に結合するフィブロネクチンベースのスカフォールドドメインタンパク質

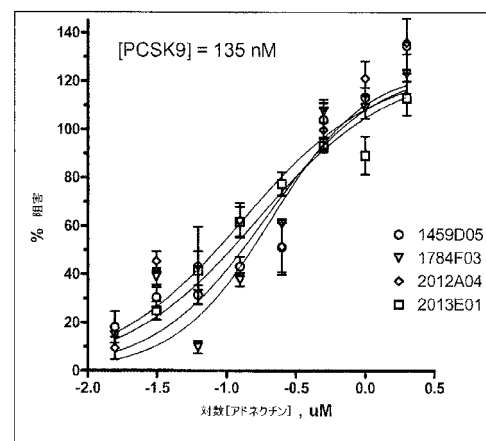
(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 アテローム性動脈硬化症、高コレステロール血症および他のコレステロール関連疾患の治療処置のための、PCSK9に結合する改善されたフィブロネクチンドメインスカフォールドタンパク質を提供する。

【解決手段】 フィブロネクチンIII型第10ドメイン (^{10} Fn3) を含むポリペプチドであって、該 ^{10} Fn3 は、ヒト ^{10} Fn3ドメインの対応するループの配列と比較して、改変されたアミノ酸配列を有するループBC、DEおよびFGから選択される少なくとも1つのループを有し、該ポリペプチドは (前駆タンパク質転換酵素サブチリシンケキシン9型) PCSK9に結合するポリペプチドである。

【選択図】 図6

FIG. 6



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

フィブロネクチン I I I 型第 10 ドメイン ($^{10}Fn3$) を含むポリペプチドであって、該 $^{10}Fn3$ は、ヒト $^{10}Fn3$ ドメインの対応するループの配列と比較して、改変されたアミノ酸配列を有するループ BC、DE および FG から選択される少なくとも 1 つのループを有し、該ポリペプチドは (前駆タンパク質転換酵素サブチリシンケキシン 9 型) PCSK9 に結合するポリペプチド。

【請求項 2】

500 nM 未満の K_D で PCSK9 に結合する、請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 3】

BC ループが、式 $(X_1)_Z X_2 G$ (配列番号: 449) による配列であって、式中、 X_1 は任意のアミノ酸であり、Z は 6-9 の数であり、そして X_2 は Y または H である配列を含む、請求項 1 または 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 4】

BC ループが、表 3 に示される配列番号: 2-17, 107-135 および 301-303 のいずれかの網掛け部分を含む、請求項 1-3 のいずれかに記載のポリペプチド。

【請求項 5】

BC ループが配列番号: 2-17, 107-135 および 301-303 から選択される、請求項 3 または 4 に記載のポリペプチド。

【請求項 6】

DE ループが、式 $X_1 X_1 X_1 X_3$ (配列番号: 450) による配列であって、式中、 X_1 は任意のアミノ酸であり; そして X_3 は G または S である配列を含む、請求項 1-5 のいずれかに記載のポリペプチド。

【請求項 7】

DE ループが、表 3 に示される配列番号: 18-27 および 136-141 のいずれかの網掛け部分を含む、請求項 1、2 または 6 に記載のポリペプチド。

【請求項 8】

DE ループが、配列番号: 18-27 および 136-141 から選択される、請求項 6 または 7 に記載のポリペプチド。

【請求項 9】

式 $EX_4 X_1 X_5 X_1 X_1 X_6 GYX_4 HR$ (配列番号: 451) による配列であって、式中、 X_1 は任意のアミノ酸であり; X_4 は Y または F であり; X_5 は Y、F または W であり; そして X_6 は S または A である配列を含む、請求項 1-8 のいずれかに記載のポリペプチド。

【請求項 10】

FG ループが、表 3 に示される配列番号: 28-38 および 142-172 のいずれかの網掛け部分を含む、請求項 1、2 または 9 のいずれかに記載のポリペプチド。

【請求項 11】

FG ループが、配列番号: 28-38 および 142-172 から選択される、請求項 9 または 10 に記載のポリペプチド。

【請求項 12】

BC、DE または FG ループアミノ酸配列が、配列番号: 2-38、106-172 および 301-303 のいずれかと少なくとも 80% 同一である、請求項 1、2、3、6 または 9 のいずれかに記載のポリペプチド。

【請求項 13】

配列番号: 39-76、173-290 および 304-309 のいずれかと少なくとも 80% 同一であるアミノ酸配列を含む、請求項 1-12 のいずれかに記載のポリペプチド。

【請求項 14】

ポリエチレングリコール、シアル酸、Fc、Fc フラグメント、トランスフェリン、血

10

20

30

40

50

清アルブミン、血清アルブミン結合タンパク質および血清免疫グロブリン結合タンパク質からなる群から選択される1つ以上の薬物動態学（PK）部分をさらに含む、請求項1-10のいずれかに記載のポリペプチド。

【請求項15】

血清アルブミン結合タンパク質が、フィブロネクチンIII型第10ドメイン（¹⁰Fn3）を含む、請求項14に記載のポリペプチド。

【請求項16】

¹⁰Fn3ドメインがHSAに結合する、請求項15に記載のポリペプチド。

【請求項17】

PK部分がポリエチレングリコールである、請求項14に記載のポリペプチド。

10

【請求項18】

本質的にエンドトキシンを含まない、請求項1-17のいずれかに記載のポリペプチドを含む薬学的に許容される組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

配列表

本出願は、ASCIIフォーマットにおいてEFS-Webを介して提出されており、その全体において出典明示により本明細書に包含させる配列表を含む。2011年4月13日に作成された該ASCIIのコピーは、11594 PCT. ST25. txtという名であり、1,382KBのサイズである。

20

【0002】

技術分野

本発明は、前駆タンパク質転換酵素サブチリシンケキシン9型（PCSK9）に結合するフィブロネクチンベースのスカフォールドドメインタンパク質に関する。本発明はまた、アテローム性動脈硬化症、高コレステロール血症および他のコレステロール関連疾患を処置するための治療的適応における革新的なタンパク質の使用に関する。本発明は、さらに、このようなタンパク質、このようなタンパク質をコードするポリヌクレオチドまたはそれらのフラグメントを含む細胞、および革新的なタンパク質をコードするポリヌクレオチドを含むベクターに関する。

30

【背景技術】

【0003】

序論

アテローム性動脈硬化症は、先進工業国において多数の死の根底にある冠動脈性心臓疾患（CHD）に關与する動脈疾患である（Lusis（2000））。現在、CHDに關するいくつかの危険因子：脂質異常症、高血圧、糖尿病、喫煙、質の悪い食生活、運動不足およびストレスは、よく確立されている。多数の臨床的に關連した、および一般的な脂質異常症は、高トリグリセリド血症の非存在および存在下で、高コレステロール血症での低比重リポタンパク質および超低密度リポタンパク質（LDLおよびVLDL）の増加により特徴付けられる（Fredricksonら（1967））。単離されたLDLコレステロールの上昇は、CHDに対する最も一般的な危険因子の1つである。PCSK9（HCHOLA3、NARCL1またはFH3とも称される）は、分泌サブチラーゼファミリーのプロテイナーゼKサブファミリーに属するプロテアーゼである（Naureckieneら Arch. Biochem. Biophys., 420: 55-57（2003））。PCSK9は、コレステロールホメオスタシスおよび血中低比重リポタンパク質レベルの重要なレギュレーターであることが示されている。血中PCSK9タンパク質は、LDL受容体への直接結合および肝細胞における分解の促進により、LDL代謝をコントロールする。LDL受容体タンパク質および活性のPCSK9介在下方制御は、血中からのLDLのクリアランスの減少およびより高いLDLレベルをもたらす。常染色体優性高コレステロール血症（ADH）に關連しているS127R、F216LおよびD374Yを含むS127R、N157K、F216L、R218SおよびD374Yを

40

50

含む、PCSK9のいくつかの変異体形態が知られている。野生型PCSK9が、より少ないLDLクリアランスを引き起こすLDL受容体の回転率を増加させるが(Maxwellら Proc. Natl. Acad. Sci., 102(6):2069-2074 (2005); Benjannetら and Lallanéeら)、PCSK9機能喪失変異体が低比重リポタンパク質受容体(LDLR)のレベルの増加、血中LDLのクリアランスの増加、および血漿コレステロールレベルの対応する増加をもたらすことが考えられている(Rashidら Proc. Natl. Acad. Sci., 102(15):5374-5379 (2005))。そのため、PCSK9は、アテローム性動脈硬化症、高コレステロール血症および他のコレステロール関連疾患の処置のための可能性のある標的である。

【0004】

フィブロネクチンベースのスcaffoldingは、興味ある任意の化合物に結合するように発展することができるタンパク質のファミリーである。一般的にフィブロネクチンIII型(Fn3)またはFn3様ドメイン由来のスcaffoldingに使用されるこれらのタンパク質は、天然の抗体または操作された抗体(すなわち、ポリクローナル、モノクローナルまたは一本鎖抗体)の挙動特性において機能し、加えて、構造的利点を有する。具体的には、これらの抗体模倣物の構造は、通常、抗体における構造および機能の喪失を引き起こす条件下でさえ、最適なフォールディング、安定性および溶解性に設計されている。フィブロネクチンベースのスcaffoldingタンパク質の例は、アドネクチンである(Adnexus, a Bristol-Myers Squibb R&D Company)。

【0005】

フィブロネクチンIII型(Fn3)ドメインは、N-末端からC-末端の順に、ベータまたはベータ様鎖、A; ループ、AB; ベータまたはベータ様鎖、B; ループ、BC; ベータまたはベータ様鎖C; ループCD; ベータまたはベータ様鎖D; ループDE; ベータまたはベータ様鎖、E; ループ、EF; ベータまたはベータ様鎖F; ループFG; およびベータまたはベータ様鎖Gを含む。ループAB、BC、CD、DE、EFおよびFGのいずれかまたはすべてが、標的結合に関与し得る。BC、DEおよびFGループは、免疫グロブリン由来の相補性決定領域(CDR)と構造的および機能的の両方で類似している。米国特許第7,115,396号は、BC、DEおよびFGループに対する改変が高親和性TNF α バインダーをもたらすFn3ドメインタンパク質を記載している。米国公開第2007/0148126号は、BC、DEおよびFGループに対する改変が高親和性VEGFR2バインダーをもたらすFn3ドメインタンパク質を記載している。

【0006】

アテローム性動脈硬化症、高コレステロール血症および他のコレステロール関連疾患の治療処置のために、PCSK9に結合する改善されたフィブロネクチンドメインスcaffoldingタンパク質を得ることは、有利である。

【発明の概要】

【0007】

発明の概要

本出願は、ヒトPCSK9に対するアドネクチンを提供する。本発明の1つの局面は、1つ以上の溶媒接触可能ループがランダム化または変異化されているFn3ドメインを含むポリペプチドを提供する。いくつかの態様において、Fn3ドメインは、ヒトフィブロネクチンIII型ドメインの野生型第10モジュール(¹⁰F_{Fn3})由来のFn3ドメインである。いくつかの態様において、本発明の¹⁰F_{Fn3}ポリペプチドは、ヒト¹⁰F_{Fn3}ドメインと少なくとも40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%または90%同一である。

【0008】

いくつかの態様において、BC、DEおよびFGから選択される1つ以上のループは、対応するヒトフィブロネクチンループと比較して、長さが伸長または短縮され得る。

【0009】

いくつかの態様において、本発明のポリペプチドは、第10フィブロネクチンIII型(¹⁰F_{Fn3})ドメインを含み、該¹⁰F_{Fn3}ドメインは、ループ、AB; ループ、BC

；ループ、C D；ループ、D E；ループ、E F；およびループ、F Gを含み；ヒト¹⁰Fn3ドメインの対応するループの配列と比較して、改変されたアミノ酸配列を有するループB C、D EおよびF Gから選択される少なくとも1つのループを有する。

【0010】

いくつかの態様において、本発明のポリペプチドは、非ループ領域と少なくとも80、85、90、95、98、99または100%同一のアミノ酸配列を含むFn3ドメインを含む。

【0011】

いくつかの態様において、本発明のタンパク質のB Cループは、配列番号：2-17、106-135および301-303からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。1つの態様において、本発明のタンパク質のB Cループは、表3に示される配列番号：2-17、106-135および301-303のいずれかの網掛け部分を含む。例えば、1つの態様において、B Cループは、配列P P P S H G Y G（配列番号：2の残基3-10）、D A P A H A Y G（配列番号：5の残基3-10）、E P F S R L P G G G E（配列番号：106の残基3-13）またはD A P A D G G Y G（配列番号：107の残基3-11）を含む。

【0012】

いくつかの態様において、本発明のタンパク質のD Eループは、配列番号：18-27および136-141からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。1つの態様において、本発明のタンパク質のD Eループは、表3に示される配列番号：18-27および136-141のいずれかの網掛け部分を含む。例えば、1つの態様において、D Eループは、配列P G K G（配列番号：18の残基2-5）、V G V G（配列番号：27の残基2-5）またはV S K S（配列番号：137の残基2-5）を含む。

【0013】

いくつかの態様において、本発明のタンパク質のF Gループは、配列番号：28-38および142-172からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。1つの態様において、本発明のタンパク質のD Eループは、表3に示される配列番号：28-38および142-172のいずれかの網掛け部分を含む。例えば、1つの態様において、F Gループは、配列E Y P Y K H S G Y Y H R（配列番号：28における残基1-12）、E Y P Y D Y S G Y Y H R（配列番号：142における残基1-12）またはE F D F V G A G Y Y H R（配列番号：167における残基1-12）を含む。

【0014】

いくつかの態様において、¹⁰Fn3ドメインは、アミノ酸置換、挿入または欠失で開始および／または終結し得る。

【0015】

いくつかの態様において、本発明のタンパク質は、配列番号：2-17、106-135および301-303に示されるB Cループ配列；配列番号：18-27および136-141に示される1つのD Eループ配列；ならびに配列番号：28-38および142-172に示される1つのF Gループ配列からの1つのループ配列を含む。1つの態様において、本発明のタンパク質は、表3に示される配列番号：2-17、106-135および301-303のいずれかの網掛け部分を含む1つのB Cループ配列；表3に示される配列番号：18-27および136-141のいずれかの網掛け部分を含む1つのD Eループ配列；ならびに表3に示される配列番号：28-38および142-172のいずれかの網掛け部分を含む1つのF Gループ配列を含む。

【0016】

いくつかの態様において、本発明のタンパク質は、配列番号：2-38、106-172および301-303のいずれか1つと少なくとも70、75、80、85、90、95、98、99または100%同一であるB C、D EおよびF Gループアミノ酸配列を含む。1つの態様において、本発明のタンパク質は、上記のとおり、表3に示されるB C、D EおよびF Gループの網掛け部分のいずれか1つと少なくとも70、75、80、85

、 90、95、98、99または100%同一であるBC、DEおよびFGループアミノ酸配列を含む。

【0017】

いくつかの態様において、抗-PCSK9アドネクチンは、配列番号：39-76、173-290および304-309のいずれか1つのアミノ酸配列を含む。

【0018】

いくつかの態様において、抗-PCSK9アドネクチンは、配列番号：39-76、173-290および304-309のいずれか1つの位置3-96からのFn3ドメインアミノ酸配列を含む。

【0019】

1つの局面において、本記載は、配列SW(X₁)_ZX₂G(配列番号：323)を有するBCループを含む抗-PCSK9アドネクチンであって、式中、X₁は任意のアミノ酸であり、Zは6-9の数であり、そしてX₂はYまたはHである抗-PCSK9アドネクチンを提供する。

【0020】

1つの局面において、本記載は、配列PX₁X₁X₁X₃T(配列番号：324)を有するDEループを含む抗-PCSK9アドネクチンであって、式中、X₁は任意のアミノ酸であり、そしてX₃はGまたはSである抗-PCSK9アドネクチンを提供する。

【0021】

1つの局面において、本記載は、配列EX₄X₁X₅X₁X₁X₆GYX₄HRP(配列番号：325)を有するFGループを含む抗-PCSK9アドネクチンであって、式中、X₁は任意のアミノ酸であり；X₄はYまたはFであり；X₅はY、FまたはWであり；そしてX₆はSまたはAである抗-PCSK9アドネクチンを提供する。1つの態様において、X₄およびX₅は芳香族性残基であり、それぞれ独立してY、F、WまたはHから選択される。

【0022】

1つの局面において、本記載は、本明細書において定義されているとおり、配列SW(X₁)_ZX₂G(配列番号：323)を有するBCループ、配列PX₁X₁X₁X₃T(配列番号：324)を有するDEループおよび配列EX₄X₁X₅X₁X₁X₆GYX₄HRP(配列番号：325)を有するFGループを含む抗-PCSK9アドネクチンを提供する。

【0023】

1つの局面において、本記載は、本明細書において定義されているとおり、配列SWEPFSRLPGGE(配列番号：106)を有するBCループ、配列PX₁X₁X₁X₃T(配列番号：324)を有するDEループおよび配列EX₄X₁X₅X₁X₁X₆GYX₄HRP(配列番号：325)を有するFGループを含む抗-PCSK9アドネクチンを提供する。

【0024】

1つの局面において、本記載は、配列(X₁)_ZX₂G(配列番号：449)を有するBCループを含む抗-PCSK9アドネクチンであって、式中、X₁は任意のアミノ酸であり、Zは6-9の数であり、そしてX₂はYまたはHである抗-PCSK9アドネクチンを提供する。

【0025】

1つの局面において、本記載は、配列X₁X₁X₁X₃(配列番号：450)を有するDEループを含む抗-PCSK9アドネクチンであって、式中、X₁は任意のアミノ酸であり、そしてX₃はGまたはSである抗-PCSK9アドネクチンを提供する。

【0026】

1つの局面において、本記載は、配列EX₄X₁X₅X₁X₁X₆GYX₄HR(配列番号：451)を有するFGループを含む抗-PCSK9アドネクチンであって、式中、X₁は任意のアミノ酸であり；X₄はYまたはFであり；X₅はY、FまたはWであり；

10

20

30

40

50

そして X_6 はSまたはAである抗-PCSK9アドネクチンを提供する。1つの態様において、 X_4 および X_5 は、それぞれ独立して、Y、F、WまたはHから選択される芳香族性残基である。

【0027】

1つの局面において、本記載は、本明細書において定義されているとおり、配列(X_1)_z X_2 G(配列番号:449)を有するBCループ、配列 $X_1X_1X_1X_3$ (配列番号:450)を有するDEループおよび配列 $EX_4X_1X_5X_1X_1X_6GYX_4HR$ (配列番号:451)を有するFGループを含む抗-PCSK9アドネクチンを提供する。

【0028】

いくつかの態様において、PCSK9アドネクチンのN-末端から少なくとも1つのアミノ酸欠失がある。

10

【0029】

いくつかの態様において、PCSK9アドネクチンのC-末端から少なくとも1つのアミノ酸欠失、挿入または置換がある。

【0030】

いくつかの態様において、リンカーは、PCSK9アドネクチンのC-末端に付加される。

【0031】

いくつかの態様において、PCSK9アドネクチンは、非-¹⁰F_{n3}部分、例えば、PCT公開WO2009/133208およびWO2009/083804に記載されているヒト血清アルブミン(HSA)に結合され得る。

20

【0032】

いくつかの態様において、PCSK9アドネクチンは、PCT公開WO2009/133208およびWO2009/083804に記載されている、AB、CDおよびEFループアミノ酸配列における変異を有し得る。

【0033】

1つの局面において、抗-PCSK9アドネクチンは、薬物動態学(PK)部分をさらに含む。1つの態様において、PK部分は、ポリエチレングリコール(PEG)を含む。1つの態様において、PK部分は、Fc領域を含む。いくつかの態様において、PKは、1つ以上の血清アルブミン結合アドネクチンを含む。典型的な抗-PCSK9アドネクチン-Fc融合タンパク質は、表1に示される。典型的な抗-PCSK9-血清アルブミン結合アドネクチンは、配列番号:618または619を含む。

30

【0034】

1つの態様において、PK部分を有する抗-PCSK9アドネクチンは、配列番号:322に記載されている配列を含む。

【0035】

別の局面において、抗-PCSK9アドネクチンは、あらゆるPK部分(すなわち、「裸の」抗-PCSK9アドネクチン)を含まない。1つの態様において、裸の抗-PCSK9アドネクチンは、所望の治療効果を十分になし遂げることができる頻度で投与され得る。別の態様において、裸の抗-PCSK9アドネクチンは、伸長放出製剤(例えば、皮下製剤)を使用して投与することができる。いくつかの態様において、伸長放出製剤は、吸収相の長さを増加するか、もしくは薬物動力学効果の長さを伸長するか、またはそれら両方である。単に説明するために、伸長放出製剤はプロピレングリコール/PBS溶液を含む。

40

【0036】

1つの局面において、本出願は、アテローム性動脈硬化症、高コレステロール血症および他のコレステロール関連疾患の処置において有用な抗-PCSK9アドネクチンを提供する。

【0037】

1つの局面において、本発明は、血清アルブミンに結合するフィブロネクチンIII型

50

第10 (¹⁰Fn3) ドメインおよび抗-PCSK9アドネクチンを含む融合ポリペプチドであって、該血清アルブミン結合 ¹⁰Fn3 ドメインは、1 μM以下のK_dで血清アルブミン、例えば、HSAに結合する融合ポリペプチドを提供する。1つの態様において、血清アルブミンに結合する ¹⁰Fn3 ドメインは、配列番号：330と少なくとも70%同一であるアミノ酸配列を含む。1つの態様において、血清アルブミンに結合する ¹⁰Fn3 ドメインは、配列番号：331に記載されているアミノ酸配列を有するBCループ、配列番号：332に記載されているアミノ酸配列を有するDEループおよび配列番号：333に記載されているアミノ酸配列を有するFGループを含む。別の態様において、血清アルブミンに結合する ¹⁰Fn3 ドメインは、1つ以上の、配列番号：331に記載されているアミノ酸配列を有するBCループ、配列番号：332に記載されているアミノ酸配列を有するDEループおよび配列番号：333に記載されているアミノ酸配列を有するFGループを含む。

10

【0038】

1つの態様において、融合ポリペプチドの血清アルブミン結合 ¹⁰Fn3 ドメインはまた、1つ以上のアカゲザル血清アルブミン (RhSA)、カニクイザル血清アルブミン (CySA) またはマウス血清アルブミン (MuSA) に結合する。他の態様において、血清アルブミンに結合する ¹⁰Fn3 ドメインは、1つ以上のRhSA、CySAまたはMuSAと交差反応しない。

【0039】

1つの態様において、融合ポリペプチドの血清アルブミン結合 ¹⁰Fn3 ドメインは、1 μM以下のK_dでHSAに結合する。いくつかの態様において、血清アルブミン結合 ¹⁰Fn3 ドメインは、500 nM以下のK_dでHSAに結合する。他の態様において、血清アルブミン結合 ¹⁰Fn3 ドメインは、少なくとも200 nM、100 nM、50 nM、20 nM、10 nMまたは5 nMのK_dでHSAに結合する。

20

【0040】

他の態様において、融合ポリペプチドの血清アルブミン結合 ¹⁰Fn3 ドメインは、HSAのドメインIまたはIIに結合する。1つの態様において、血清アルブミン結合 ¹⁰Fn3 ドメインは、HSAのドメインIおよびIIの両方に結合する。いくつかの態様において、血清アルブミン結合 ¹⁰Fn3 ドメインは、5.5から7.4のpH範囲でHSAに結合する。他の態様において、血清アルブミン結合 ¹⁰Fn3 ドメインは、pH 5.5で200 nM以下のK_dでHSAに結合する。別の態様において、血清アルブミン結合 ¹⁰Fn3 ドメインは、5.5から7.4のpH範囲で少なくとも500 nM、200 nM、100 nM、50 nM、20 nM、10 nMまたは5 nMのK_dでHSAに結合する。1つの態様において、血清アルブミン結合 ¹⁰Fn3 ドメインは、pH 5.5で少なくとも500 nM、200 nM、100 nM、50 nM、20 nM、10 nMまたは5 nMのK_dでHSAに結合する。

30

【0041】

いくつかの態様において、血清アルブミンの存在下での融合ポリペプチドの血清半減期は、血清アルブミンの非存在下での融合ポリペプチドの血清半減期よりも少なくとも5倍良い。1つの態様において、血清アルブミンの存在下での融合ポリペプチドの血清半減期は、血清アルブミンの非存在下での融合ポリペプチドの血清半減期よりも少なくとも2倍、5倍、7倍、10倍、12倍、15倍、20倍、22倍、25倍、27倍または30倍良い。いくつかの態様において、血清アルブミンは、HSA、RhSA、CySAまたはMuSAのいずれか1つである。

40

【0042】

1つの態様において、血清アルブミンの存在下での融合ポリペプチドの血清半減期は、少なくとも20時間である。1つの態様において、血清アルブミンの存在下での融合ポリペプチドの血清半減期は、少なくとも10時間、12時間、15時間、20時間、25時間、30時間、40時間、50時間、75時間、90時間、100時間、110時間、120時間、130時間、150時間、170時間または200時間である。いくつかの態

50

様において、融合ポリペプチドの半減期は、霊長類（例えば、ヒトまたはサル）またはマウスにおいて観察される。

【0043】

前記局面および態様のいずれかにおいて、血清アルブミンに結合する¹⁰F_n3ドメインは、配列番号：334、338、342、346および348-370から選択される配列を含む。

【図面の簡単な説明】

【0044】

【図1】図1は、典型的な抗-PCSK9アドネクチンアミノ酸配列のアラインメントを示す。BC、DEおよびFGループアミノ酸配列は、それぞれ下線、イタリック体／下線または太字／下線により同定される。

10

【0045】

【図2】図2は、実施例2に記載されている、PCSK9アドネクチンを阻害するPCSK9：LDLRの効力を測定するために使用された、PCSK9：上皮細胞増殖因子前駆体相同ドメイン（EGFADメイン）蛍光共鳴エネルギー移動（FRET）アッセイを示す図である。

【0046】

【図3-1】図3は、実施例2に記載されているPCSK9アドネクチンクローン1459D05、1784F03、1813E02、1922G04および1923B02（パネルA）ならびにクローン1459D05、2012A04、2011H05および2013E01（パネルB）によるヒトPCSK9：EGFAの阻害を測定するために使用されたFRETアッセイから生成された曲線を示す。

20

【図3-2】図3は、実施例2に記載されているPCSK9アドネクチンクローン1459D05、1784F03、1813E02、1922G04および1923B02（パネルA）ならびにクローン1459D05、2012A04、2011H05および2013E01（パネルB）によるヒトPCSK9：EGFAの阻害を測定するために使用されたFRETアッセイから生成された曲線を示す。

【0047】

【図4-1】図4は、実施例2に記載されているPCSK9アドネクチンクローン1459D05、1784F03、1813E02、1922G04および1923B02（パネルA）ならびにクローン2011H05、2012A04および2013E01（パネルB）によるヒトPCSK9：ATI000972相互作用の阻害を測定するために使用されたFRETアッセイから生成された曲線を示す。

30

【図4-2】図4は、実施例2に記載されているPCSK9アドネクチンクローン1459D05、1784F03、1813E02、1922G04および1923B02（パネルA）ならびにクローン2011H05、2012A04および2013E01（パネルB）によるヒトPCSK9：ATI000972相互作用の阻害を測定するために使用されたFRETアッセイから生成された曲線を示す。

【0048】

【図5-1】図5は、実施例2に記載されている直接結合ヒトPCSK9 FRETアッセイにおけるPCSK9アドネクチンクローン1459D05、1784F03、1813E02、1922G04および1923B02（パネルA）ならびにクローン2011H05、2012A04および2013E01（パネルB）の活性を示す。

40

【図5-2】図5は、実施例2に記載されている直接結合ヒトPCSK9 FRETアッセイにおけるPCSK9アドネクチンクローン1459D05、1784F03、1813E02、1922G04および1923B02（パネルA）ならびにクローン2011H05、2012A04および2013E01（パネルB）の活性を示す。

【0049】

【図6】図6は、実施例2に記載されているDiI-LDL摂取方法によりアッセイされたHepG2細胞におけるPCSK9活性の阻害を示す。

50

【0050】

【図7-1】図7は、実施例2に記載されているPCSK9アドネクチンクローン1459D05、1784F03、2012A04および2011H05（パネルA）ならびにクローンID2011H05、2012A04および2013E01（パネルB）による、HepG2細胞表面からのPCSK9誘導LDLR枯渇の阻害を示す。1784F03、2012A04、2011H05および2013E01のEC₅₀（nM）は、それぞれ15.98、7.78、8.85および12.41であり；PCSK9アドネクチンクローン1459D05、1784F03、2012A04、2011H05および2013E01の75nMでのPCSK9の阻害パーセントは、それぞれ66.8、150.2、190.1、177.4および152.2である。

10

【図7-2】図7は、実施例2に記載されているPCSK9アドネクチンクローン1459D05、1784F03、2012A04および2011H05（パネルA）ならびにクローンID2011H05、2012A04および2013E01（パネルB）による、HepG2細胞表面からのPCSK9誘導LDLR枯渇の阻害を示す。1784F03、2012A04、2011H05および2013E01のEC₅₀（nM）は、それぞれ15.98、7.78、8.85および12.41であり；PCSK9アドネクチンクローン1459D05、1784F03、2012A04、2011H05および2013E01の75nMでのPCSK9の阻害パーセントは、それぞれ66.8、150.2、190.1、177.4および152.2である。

20

【0051】

【図8-1】図8は、実施例3に記載されているhPCSK9を過剰発現するトランスジェニックマウスにおける、血漿コレステロール（パネルA）および血漿非結合hPCSK9（パネルB）に対するPCSK9アドネクチンATI000959（100mg/kg）のインビボ効果を示す。ATI000959は、40kDaの分岐NOFPEGを含む。

【図8-2】図8は、実施例3に記載されているhPCSK9を過剰発現するトランスジェニックマウスにおける、血漿コレステロール（パネルA）および血漿非結合hPCSK9（パネルB）に対するPCSK9アドネクチンATI000959（100mg/kg）のインビボ効果を示す。ATI000959は、40kDaの分岐NOFPEGを含む。

30

【0052】

【図9-1】図9は、実施例3に記載されているhPCSK9を過剰発現するトランスジェニックマウスにおける、血漿コレステロールレベル（パネルA）および血漿非結合hPCSK9レベル（パネルB）に対するPCSK9アドネクチンATI001114（10または60mg/kg）のインビボ効果を示す。

【図9-2】図9は、実施例3に記載されているhPCSK9を過剰発現するトランスジェニックマウスにおける、血漿コレステロールレベル（パネルA）および血漿非結合hPCSK9レベル（パネルB）に対するPCSK9アドネクチンATI001114（10または60mg/kg）のインビボ効果を示す。

【0053】

【図10-1】図10は、実施例3に記載されている正常発現体hPCSK9トランスジェニックマウス（平均+/-SD）における5mg/kgで腹腔内（i.p.）単回投与で投与された非結合血漿hPCSK9に対するPCSK9アドネクチンATI000959（パネルA）またはATI001114（パネルB）のインビボ効果を示す。

【図10-2】図10は、実施例3に記載されている正常発現体hPCSK9トランスジェニックマウス（平均+/-SD）における5mg/kgで腹腔内（i.p.）単回投与で投与された非結合血漿hPCSK9に対するPCSK9アドネクチンATI000959（パネルA）またはATI001114（パネルB）のインビボ効果を示す。

【0054】

【図11】図11は、実施例3に記載されている正常発現体hPCSK9トランスジェニ

50

ックマウスにおける非結合hPCSK9に対するPCSK9アドネクチン AT I 0 0 1 1 1 4 の用量依存効果を示す。

【0055】

【図12】図12は、実施例3に記載されているカニクイザルにおけるLDL-C低下に対するPCSK9アドネクチン AT I 0 0 1 1 1 4 (5mg/kg i.v.)の単回投与の効果を示す(平均+/-SEM、n=3)。

【0056】

【図13-1】図13。PCSK9アドネクチン親和性およびhPCSK9への結合の化学量論のITC決定。PCSK9アドネクチンは、1:1化学量論でhPCSK9に結合する。左パネルはPCSK9アドネクチン AT I 0 0 1 0 8 1 に対するデータを示す；右パネルはPCSK9アドネクチン AT I 0 0 1 1 7 4 に対するデータを示す。

【図13-2】図13。PCSK9アドネクチン親和性およびhPCSK9への結合の化学量論のITC決定。PCSK9アドネクチンは、1:1化学量論でhPCSK9に結合する。左パネルはPCSK9アドネクチン AT I 0 0 1 0 8 1 に対するデータを示す；右パネルはPCSK9アドネクチン AT I 0 0 1 1 7 4 に対するデータを示す。

【0057】

【図14】図14。PCSK9アドネクチンによるPCSK9:EGFA FRETアッセイ(左パネル)およびPCSK9:ATI-972 FRETアッセイ(右パネル)の阻害。

【0058】

【図15-1】図15。抗-PCSK9アドネクチンによるHe p G 2細胞表面からのPCSK9誘導LDLR枯渇の阻害

【図15-2】図15。抗-PCSK9アドネクチンによるHe p G 2細胞表面からのPCSK9誘導LDLR枯渇の阻害

【0059】

【図16】図16。He p G 2細胞におけるPCSK9-AF647細胞への侵入の阻害。

【0060】

【図17】図17。PRD460(i.p.投与)で処置されたトランスジェニックマウスにおける血漿非結合hPCSK9レベル。

【0061】

【図18】図18。カニクイザルにおけるLDL-Cおよび遊離PCSK9に対するPRD460(15mg/kg i.v.)の効果(平均+/-SEM、n=3)。

【0062】

【図19】図19。カニクイザルにおける非結合PCSK9レベルに対するATI-1081(またATI001081と称される)の効果。

【0063】

【図20】図20。カニクイザルにおけるLDL-Cレベルに対するATI-1081の効果。

【0064】

【図21】図21。トランスジェニックマウスにおけるPBSビヒクル中のATI-1081の効果。図は、トランスジェニックマウスにおける非結合血漿hPCSK9のレベルを説明する。

【0065】

【図22】図22。トランスジェニックマウスにおけるPGビヒクル中で皮下に投与されたATI-1081の効果。図は、トランスジェニックマウスにおける非結合hPCSK9のレベルを説明する。

【0066】

【図23-1】図23。マウスにおけるインビボHSA半減期。HSAを、20mg/kg(パネルA)または50mg/kg(パネルB)でヌードマウスに注射した。

【図 2 3 - 2】図 2 3。マウスにおけるインビボ H S A 半減期。H S A を、2 0 m g / k g （パネル A）または 5 0 m g / k g （パネル B）でヌードマウスに注射した。

【0 0 6 7】

【図 2 4 - 1】図 2 4。マウスにおける S A B A 1 . 1 （パネル A）、S A B A 2 . 1 （パネル B）、S A B A 3 . 1 （パネル C）および S A B A 4 . 1 （パネル D）の半減期決定。

【図 2 4 - 2】図 2 4。マウスにおける S A B A 1 . 1 （パネル A）、S A B A 2 . 1 （パネル B）、S A B A 3 . 1 （パネル C）および S A B A 4 . 1 （パネル D）の半減期決定。

【図 2 4 - 3】図 2 4。マウスにおける S A B A 1 . 1 （パネル A）、S A B A 2 . 1 （パネル B）、S A B A 3 . 1 （パネル C）および S A B A 4 . 1 （パネル D）の半減期決定。 10

【図 2 4 - 4】図 2 4。マウスにおける S A B A 1 . 1 （パネル A）、S A B A 2 . 1 （パネル B）、S A B A 3 . 1 （パネル C）および S A B A 4 . 1 （パネル D）の半減期決定。

【0 0 6 8】

【図 2 5】図 2 5。H S A を共注入されたときの S A B A 1 - 4 のマウスにおける半減期増強の概要を示すグラフ。

【0 0 6 9】

【図 2 6 - 1】図 2 6。カニクイザルにおける S A B A 1 . 1 （パネル A）および S A B A 5 . 1 （パネル B）の半減期決定。 20

【図 2 6 - 2】図 2 6。カニクイザルにおける S A B A 1 . 1 （パネル A）および S A B A 5 . 1 （パネル B）の半減期決定。

【0 0 7 0】

【図 2 7】図 2 7。直接結合 E L I S A アッセイによるヒト、マウスおよびラット由来のアルブミンへの S A B A 1 . 2 結合。

【0 0 7 1】

【図 2 8】図 2 8。S A B A 1 . 1 および H S A 化学量論の決定。S A B A 1 . 1 および H S A は、1 : 1 の化学量論で結合する。

【0 0 7 2】

【図 2 9】図 2 9。H S A の組換えドメインフラグメントへの S A B A 1 . 2 結合の B I A C O R E （登録商標）分析。 30

【0 0 7 3】

【図 3 0】図 3 0。1 m p k および 1 0 m p k で投与されたカニクイザルにおける S A B A 1 . 2 に対する薬物動態学プロフィール。

【0 0 7 4】

【図 3 1】図 3 1。1 m p k で静脈内または皮下に投与されたサルにおける S A B A 1 . 2 に対する薬物動態学プロフィール。

【発明を実施するための形態】

【0 0 7 5】

発明の詳細な説明

定義

「ポリペプチド」は、長さ、翻訳後修飾または機能にかかわらず、2 つ以上のアミノ酸のあらゆる配列を意味する。「ポリペプチド」、「ペプチド」および「タンパク質」は、本明細書において互換的に使用される。ポリペプチドは、米国特許第 6 , 5 5 9 , 1 2 6 号（出典明示により本明細書に包含させる）に記載されているもののような天然アミノ酸および非天然アミノ酸を含むことができる。ポリペプチドはまた、種々の標準的な化学法のいずれかで修飾されていてもよい（例えば、アミノ酸は保護基で修飾されていてもよい；カルボキシ末端アミノ酸は、末端アミド基にされてもよい；アミノ末端残基は、例えば、親油性を増強するための基で修飾されてもよい；またはポリペプチドは、化学的にグリ 50

コシル化されていてもよく、あるいは、安定性もしくはインビボ半減期を増大するように修飾されていてもよい）。ポリペプチド修飾は、ポリペプチドへの別の構造、例えば、環状化合物または他の分子の結合を含み得、また、1つ以上のアミノ酸を改変された立体配置（すなわち、RもしくはS；またはLもしくはD）で含むポリペプチドを含み得る。本発明のペプチドは、PCSK9に特異的に結合するように修飾されているフィブロネクチンの第10III型ドメイン由来のタンパク質であり、「抗-PCSK9アドネクチン」または「PCSK9アドネクチン」として本明細書において称される。

【0076】

「PK」なる用語は、「薬物動態学」に対する頭字語であり、一例として、対象による吸収、分布、代謝および排出を含む化合物の特性を含む。「PK調節タンパク質」または「PK部分」は、生物学的に活性な分子と融合されるか、一緒に投与されるとき、生物学的に活性な分子の薬物動態学的特性に影響するあらゆるタンパク質、ペプチドまたは部分を示す。PK調節タンパク質またはPK部分の例は、PEG、ヒト血清アルブミン（HSA）バインダー（米国公開第2005/0287153および2007/0003549号、PCT公開WO2009/083804およびWO2009/133208に記載されているような、ならびに本明細書に記載されているSABA分子）、ヒト血清アルブミン、FcまたはFcフラグメントおよびそれらの変異体および糖（例えば、シアル酸）を含む。

【0077】

本明細書における「アミノ酸配列同一性パーセント（％）」は、配列同一性の一部として保存的置換は考慮することなく、必要なとき配列同一性最大パーセントなし遂げるように、配列をアラインし、ギャップを導入した後に、選択された配列中のアミノ酸残基と同一である候補配列中のアミノ酸残基のパーセントとして定義される。アミノ酸配列同一性パーセントを決定する目的のためのアラインメントは、当技術分野における技術の範囲内の種々の方法で、例えば、公的に入手可能なコンピューターソフトウェア、例えば、BLAST、BLAST-2、ALIGN、ALIGN-2またはMegaalign（DNASTAR（登録商標））ソフトウェアを使用して、なし遂げることができる。当業者は、比較される配列の全長にわたって最大アラインメントをなし遂げるために必要な任意のアルゴリズムを含むアラインメントを測定するための適当なパラメーターを決定することができる。

【0078】

「単離された」ポリペプチドは、天然環境の成分から同定および分離および／または回収されているものである。その天然環境の汚染成分は、ポリペプチドの診断または治療の使用を妨げる物質であり、酵素、ホルモンおよび他のタンパク質性または非タンパク質性溶質を含み得る。好ましい態様において、ポリペプチドは、（1）Lowry法により決定される95重量％以上の、および、より好ましくは99重量％以上のポリペプチドに、（2）スピニングカップシークエネーターの使用により、N-末端もしくは内部アミノ酸配列の少なくとも残基を得るために十分な程度に、または（3）クーマシーブルーもしくは、好ましくは銀染色を使用する還元もしくは非還元条件下でSDS-PAGEにより均質性に精製される。単離されたポリペプチドは、ポリペプチドの天然環境の少なくとも1つの成分が存在しないため、組換え細胞内で*in situ*でポリペプチドを含む。しかしながら、通常、単離されたポリペプチドは、少なくとも1つの精製工程により製造される。

【0079】

「mpk」、「mg/kg」または「kgあたりのmg」なる表記は、1キログラムあたりのミリグラムを示す。全ての表記は、本記載中で互換的に使用される。

【0080】

アミノ酸配列または化合物の「半減期」は、例えば、天然の機序による、配列もしくは化合物の分解および／または配列もしくは化合物のクリアランスもしくは隔離によって、インビボでポリペプチドの血清濃度が、50％低減されるのにかかる時間として定義され

10

20

30

40

50

得る。半減期は、それ自体既知の任意の方法、例えば、薬物動態学分析により決定することができる。適当な技術は当業者に明らかであり、例えば、一般的に、適当な用量のアミノ酸配列または本発明の化合物を霊長類へ適当に投与する工程；一定間隔で該霊長類から血液サンプルまたは他のサンプルを回収する工程；該血液サンプル中のアミノ酸配列または本発明の化合物のレベルまたは濃度を決定する工程；および、このように得られたデータ（のプロット）から、アミノ酸配列または本発明の化合物のレベルまたは濃度が投与時の最初のレベルと比較して50%低減されるまでの時間を計算する工程を含む。例えば、標準ハンドブック、例えば、Kenneth, Aら Chemical Stability of Pharmaceuticals: A Handbook for PharmacistsおよびPetersら Pharmacokinetic analysis: A Practical Approach (1996)が参照される。また、Gibaldi, Mら Pharmacokinetics, 2nd Rev. Edition, Marcel Dekker (1982)も参照される。

10

【0081】

半減期は、パラメーター、例えば、 $t_{1/2}$ -アルファ、 $t_{1/2}$ -ベータ、 HL —ラムダ— z および曲線下面積（AUC）を使用して示すことができる。本願明細書において、「半減期における増加」は、これらのパラメーターのいずれか1つ、これらのパラメーターのいずれか2つ、これらのパラメーターのいずれか3つ、またはこれらのパラメーターの全4つにおける増加を示す。「半減期における増加」は、特に、 $t_{1/2}$ -アルファおよび／またはAUCまたは両方における増加を伴って、または伴わずのいずれかで、 $t_{1/2}$ -ベータおよび／または HL —ラムダ— z における増加を示す。

20

【0082】

概観

本出願は、ヒトPCSK9に対するアドネクチンを提供する。PCSK9特異的アンタゴニストを同定するために、PCSK9を、アドネクチンの大型合成ライブラリーに提供した。PCSK9に結合したアドネクチンを、PCSK9結合、生物物理的特性およびPCSK9阻害活性についてスクリーニングした。抗-PCSK9アドネクチンを変異させ、標的濃度を低下させ、スローオフ速度(slow off-rate)で抗-PCSK9アドネクチンを選択することによるさらなる選択圧に付した。この最適化処理から、アドネクチンファミリーが好ましい生化学的および生物物理的特性を有するPCSK9特異的阻害剤として同定された。

30

【0083】

フィブロネクチンベースのスカフォールド

本出願の1つの局面は、1つ以上の溶媒接触可能ループがランダム化または変異化されているFn3ドメインを含むポリペプチドを提供する。いくつかの態様において、Fn3ドメインは、ヒトフィブロネクチンIII型ドメイン（¹⁰Fn3）の野生型第10モジュール由来のFn3ドメインである：VSDVPRDLEVVAAATPTSLLSWD
APAVTVRYYRITYGETGGNSPVQEFTVPGSKSTATISGLK
PGVDYTITVYAVTGRGDSPPASSKPISINYRT（配列番号：1）。¹⁰Fn3配列において、BC、DEおよびFGループは下線を引かれている。

【0084】

本明細書に記載されているとおり、¹⁰Fn3の非リガンド結合配列、すなわち「¹⁰Fn3スカフォールド」は改変され得るが、¹⁰Fn3はリガンド結合機能および／または構造安定性を保持する。種々の変異体¹⁰Fn3スカフォールドが報告されている。1つの局面において、1つ以上のAsp7、Glu9およびAsp23は、別のアミノ酸、例えば、負の電荷を有さないアミノ酸残基（例えば、Asn、Lysなど）により置換される。これらの変異は、野生型形態と比較して、中性pHで変異体¹⁰Fn3のより大きな安定性を促進する効果を有すると報告されている（PCT公開WO02/04523参照）。有益または中立のいずれかである¹⁰Fn3スカフォールドにおける種々のさらなる改変が開示されている。例えば、Batoriら Protein Eng., 15(12):1015-1020 (Dec. 2002); Koideら Biochemistry, 40(34):10326-10333 (Aug. 28, 2001)参照。

40

【0085】

50

変異体および野生型¹⁰Fn3タンパク質の両方は、同じ構造、即ち、AからGと示される7つのベータ鎖ドメイン配列ならびに7つのベータ鎖ドメイン配列に連結する6つのループ領域（ABループ、BCループ、CDループ、DEループ、EFループおよびFGループ）により特徴付けられる。N-およびC-末端に最も近くに位置するベータストランドは、溶液中でベータ様コンフォメーションをとり得る。配列番号：1において、ABループは残基15-16に対応し、BCループは残基21-30に対応し、CDループは残基39-45に対応し、DEループは残基51-56に対応し、EFループは残基60-66に対応し、FGループは残基76-87に対応する（Xuら Chemistry & Biology, 9:933-942 (2002)）。

【0086】

10

いくつかの態様において、¹⁰Fn3ポリペプチドは、配列番号：1に示されるヒト¹⁰Fn3ドメインと少なくとも40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%または90%同一であり得る。可変性の多くは、一般的に1つ以上のループ中で起こる。¹⁰Fn3ポリペプチドのベータまたはベータ様鎖のいずれかは、本質的に、配列番号：1の対応するベータまたはベータ様鎖の配列と少なくとも80%、85%、90%、95%または100%同一であるアミノ酸配列からなり得るが、このような変異は生理学的条件におけるポリペプチドの安定性を乱さない。

【0087】

20

いくつかの態様において、本記載は、第10フィブロネクチンIII型（¹⁰Fn3）ドメインを含むポリペプチドであって、該¹⁰Fn3ドメインは、ループ、AB；ループ、BC；ループ、CD；ループ、DE；ループ、EF；およびループ、FGを含み；ヒト¹⁰Fn3ドメインの対応するループの配列と比較して、改変されたアミノ酸配列を有するループBC、DEおよびFGから選択される少なくとも1つのループを有するポリペプチドを提供する。いくつかの態様において、BCおよびFGループは改変され、いくつかの態様において、BC、DEおよびFGループは改変され、すなわち、Fn3ドメインは非天然ループを含む。いくつかの態様において、AB、CDおよび/またはEFループは改変される。「改変」は、鋳型配列（対応するヒトフィブロネクチンドメイン）と比較して1つ以上のアミノ酸配列改変を意味し、アミノ酸付加、欠失および置換を含む。アミノ酸配列の改変は、一般的に核酸コード配列の意図的な、盲検的な(blind)または自発的な配列変異を介して成し遂げられ得、任意の技術、例えば、PCR、エラープロードPCRまたは化学的DNA合成により起こり得る。

30

【0088】

いくつかの態様において、BC、DEおよびFGから選択される1つ以上のループは、対応するヒトフィブロネクチンループと比較して、長さが伸長または短縮され得る。いくつかの態様において、ループの長さは、2-25個のアミノ酸により伸長され得る。いくつかの態様において、ループの長さは、1-11個のアミノ酸により減少され得る。したがって、抗原結合を最適化するために、¹⁰Fn3のループの長さは、抗原結合において最大の可能な柔軟性および親和性を得るように、長さならびに配列において改変され得る。

【0089】

40

いくつかの態様において、ポリペプチドは、配列番号：1の非ループ領域と少なくとも80%、85%、90%、95%、98%、99%または100%同一であるアミノ酸配列を含むFn3ドメインであって、BC、DEおよびFGから選択される少なくとも1つのループは、改変されているFn3ドメインを含む。いくつかの態様において、改変されたBCループは、最大10個のアミノ酸置換、最大4個のアミノ酸欠失、最大10個のアミノ酸挿入またはそれらの組合せを有する。いくつかの態様において、改変されたDEループは、最大6個のアミノ酸置換、最大4個のアミノ酸欠失、最大13個のアミノ酸挿入またはそれらの組合せを有する。いくつかの態様において、FGループは、最大12個のアミノ酸置換、最大11個のアミノ酸欠失、最大25個のアミノ酸挿入またはそれらの組合せを有する。

50

【0090】

上記のとおり、配列番号：1の残基21-30、51-56および76-87に対応するアミノ酸残基は、それぞれBC、DEおよびFGループを定義する。しかしながら、該ループ領域内のすべての残基が、所望の標的（例えば、PCSK9）に対する強い親和性を有する¹⁰F_n3バインダーをなし遂げるために、修飾される必要はないことを理解すべきである。

【0091】

例えば、配列番号：1に示されるBCループの残基21（S）および22（W）は、PCSK9への結合のために修飾される必要はない。すなわち、PCSK9への高親和性結合を有する¹⁰F_n3ドメインは、配列番号：1に示されるループBCの残基23-30のみを修飾することにより得ることができる。表3に例示されているBCループにおいて、残基にまたがる網掛け位置のみが改変されたことを示すことを証明する。したがって、いくつかの態様において、この指定のBCループは、表3に示される配列番号：2-17、106-135および301-303のいずれかの網掛け部分を含む。例えば、1つの態様において、BCループは、配列PPPSHGYG（配列番号：2の残基3-10）、DAPAHAYG（配列番号：5の残基3-10）、EPFSRLPGGGE（配列番号：106の残基3-13）またはDAPADGGYG（配列番号：107の残基3-11）を含み得る。

【0092】

同様に、配列番号：1に示されるループDEの位置51（P）および56（T）は、PCSK9への結合のために修飾される必要はない。すなわち、PCSK9への高親和性結合を有する¹⁰F_n3ドメインは、配列番号：1に示されるループDEの残基52-55のみを修飾することにより得ることができる。表3に例示されているDEループにおいて、残基にまたがる網掛け位置のみが改変されたことを示すことを証明する。したがって、いくつかの態様において、この指定のDEループは、表3に示される配列番号：18-27および136-141のいずれかの網掛け部分を含む。例えば、1つの態様において、DEループは、配列PGKG（配列番号：18の残基2-5）、VGVG（配列番号：27の残基2-5）またはVSKS（配列番号：137の残基2-5）を含み得る。

【0093】

同様に、配列番号：1に示されるFGループの位置87（P）は、PCSK9への結合のために修飾される必要はない。すなわち、PCSK9への高親和性結合を有する¹⁰F_n3ドメインは、配列番号：1に示されるFGループの残基76-86のみを修飾することにより得ることができる。表3に例示されているFGループにおいて、残基にまたがる網掛け位置のみが改変されたことを示すことを証明する。したがって、いくつかの態様において、この指定のFGループは、表3に示される配列番号：28-38および142-172のいずれかの網掛け部分を含む。例えば、1つの態様において、FGループは、配列EYPYKHSGY YHR（配列番号：28における残基1-12）、EYPYDYSG Y YHR（配列番号：142における残基1-12）またはEFD FVGAG Y YHR（配列番号：167における残基1-12）を含み得る。

【0094】

いくつかの態様において、本出願は、BC、DEおよびFGループ領域が、一般的に、コンセンサス配列によって表すことができることを証明する。例えば、BCループは、一般的に、コンセンサス配列SW（X₁）_ZX₂G（配列番号：323）により定義され得、式中X₁は任意のアミノ酸であり、Zは6-9の数であり、そしてX₂はYまたはHである。このコンセンサス配列は、配列番号：106により定義されたBCループを除けば、表3に示されるBCループにより例示される。他の態様において、Zは2-5から選択される数である。1つの態様において、Zは10-15から選択される数である。いくつかの態様において、X₂は任意の芳香族性残基（すなわち、Y、F、WまたはH）である。

【0095】

いくつかの態様において、本出願は、DEおよびFGループ領域が、一般的に、コンセンサス配列によって表すことができることを証明する。例えば、DEループは、一般的に、コンセンサス配列SW（X₁）_ZX₂G（配列番号：323）により定義され得、式中X₁は任意のアミノ酸であり、Zは6-9の数であり、そしてX₂はYまたはHである。このコンセンサス配列は、配列番号：106により定義されたDEループを除けば、表3に示されるDEループにより例示される。他の態様において、Zは2-5から選択される数である。1つの態様において、Zは10-15から選択される数である。いくつかの態様において、X₂は任意の芳香族性残基（すなわち、Y、F、WまたはH）である。

10

20

30

40

50

別の態様において、DEループは、一般的に、コンセンサス配列 $PX_1X_1X_1X_3T$ 、（配列番号：324）により定義され得、式中 X_1 は任意のアミノ酸であり、そして X_3 はGまたはSである。このコンセンサスは、表3に示されるDEループにより例示される。

【0096】

別の態様において、FGループは、一般的に、コンセンサス配列 $EX_4X_1X_5X_1X_1X_6GYX_4HRP$ （配列番号：325）により定義され得、式中 X_1 は任意のアミノ酸であり； X_4 はYまたはFであり； X_5 はY、FまたはWであり；そして X_6 はSまたはAである。1つの態様において、 X_4 および X_5 は、それぞれ独立してY、F、WまたはHから選択される芳香族性残基である。このコンセンサスは、表3に示されるFGループにより例示される。

10

【0097】

したがって、1つの態様において、本記載は、上記定義のとおり、配列 $SW(X_1)_ZX_2G$ （配列番号：323）を有するBCループ、配列 $PX_1X_1X_1X_3T$ （配列番号：324）を有するDEループおよび配列 $EX_4X_1X_5X_1X_1X_6GYX_4HRP$ （配列番号：325）を有するFGループを含むPCSK9結合アドネクチンを提供する。

【0098】

別の態様において、本記載は、上記定義のとおり、配列 $SWEPFSRLPGGGE$ （配列番号：106）を有するBCループ、配列 $PX_1X_1X_1X_3T$ （配列番号：324）を有するDEループおよび配列 $EX_4X_1X_5X_1X_1X_6GYX_4HRP$ （配列番号：325）を有するFGループを含むPCSK9結合アドネクチンを提供する。

20

【0099】

1つの態様において、BCループは、一般的に、コンセンサス配列 $(X_1)_ZX_2G$ （配列番号：449）により定義され得、式中 X_1 は任意のアミノ酸であり、Zは6-9の数であり、そして X_2 はYまたはHである。このコンセンサス配列は、配列番号：106により定義されたBCループを除けば、表3に示されるBCループにより例示される。他の態様において、Zは2-5から選択される数である。1つの態様において、Zは10-15から選択される数である。いくつかの態様において、 X_2 は任意の芳香族性残基（すなわち、Y、F、WまたはH）である。

【0100】

1つの態様において、DEループは、一般的に、コンセンサス配列 $X_1X_1X_1X_3$ （配列番号：450）により定義され得、式中 X_1 は任意のアミノ酸であり、 X_3 はGまたはSである。このコンセンサスは、表3に示されるDEループにより証明される。

30

【0101】

1つの態様において、FGループは、一般的に、コンセンサス配列 $EX_4X_1X_5X_1X_1X_6GYX_4HR$ （配列番号：451）により定義され得、式中 X_1 は任意のアミノ酸であり； X_4 はYまたはFであり； X_5 はY、FまたはWであり；そして X_6 はSまたはAである。いくつかの態様において、 X_4 および X_5 はそれぞれ独立してY、F、WまたはHから選択される芳香族性残基である。このコンセンサスは、表3に示されるFGループにより例示される。

40

【0102】

したがって、1つの態様において、本記載は、上記定義のとおり、配列 $(X_1)_ZX_2G$ （配列番号：449）を含むBCループ、配列 $X_1X_1X_1X_3$ （配列番号：450）を含むDEループおよび配列 $EX_4X_1X_5X_1X_1X_6GYX_4HR$ （配列番号：451）を含むFGループを有するPCSK9結合アドネクチンを提供する。

【0103】

1つの態様において、 $^{10}Fn3$ スカフォールドに基づく抗体様タンパク質は、一般的に、以下の式により定義することができる：

$EVVAAT(X)_aSLLI(X)_xYYRITYGE(X)_bQEFTV(X)_yAT I(X)_cDYTITVYAV(X)_zISINYRT$ （配列番号：328）

50

【0104】

配列番号：328において、ABループは X_a により示され、CDループは X_b により示され、EFループは X_c により示され、BCループは X_x により示され、DEループは X_y により示され、そしてFGループは X_z により示される。Xは任意のアミノ酸を示し、Xの次の下付きはアミノ酸の数の整数を示す。特に、aは1-15、2-15、1-10、2-10、1-8、2-8、1-5、2-5、1-4、2-4、1-3、2-3または1-2アミノ酸の範囲であり得；そして、b、c、x、yおよびzは、それぞれ独立して、2-20、2-15、2-10、2-8、5-20、5-15、5-10、5-8、6-20、6-15、6-10、6-8、2-7、5-7または6-7アミノ酸の範囲であり得る。好ましい態様において、aは2アミノ酸であり、bは7アミノ酸であり、cは7アミノ酸であり、xは9アミノ酸であり、yは6アミノ酸であり、そしてzは12アミノ酸である。ベータストランドの配列は、配列番号：1に示される対応するアミノ酸と比較して、全7つのスカフォールド領域にわたって0から10、0から8、0から6、0から5、0から4、0から3、0から2または0から1個の範囲の置換、欠失または付加を有し得る。典型的な態様において、ベータストランドの配列は、配列番号：1に示される対応するアミノ酸と比較して、全7つのスカフォールド領域にわたって0から10、0から8、0から6、0から5、0から4、0から3、0から2または0から1個の範囲の保存的置換を有し得る。1つの態様において、コアアミノ酸残基は固定されており、任意の置換、保存的置換、欠失または付加は、コアアミノ酸残基以外の残基で起こる。

10

【0105】

20

典型的な態様において、 $(X)_x$ 、 $(X)_y$ および $(X)_z$ によりそれぞれ示されるBC、DEおよびFGループは、表3に示されるPCSK9バインダーのいずれかのBC、DEおよびFGループ配列、またはそれらの網掛け部分、またはコンセンサス配列323-325もしくは449-451を含むポリペプチドで置換される。

【0106】

1つの態様において、¹⁰F_n3スカフォールドに基づく抗体様タンパク質は、一般的に配列により定義され得る：

EVVAATPTSLLI $(X)_x$ YYRITYGETGGNSPVQEFTV $(X)_y$
ATISGLKPGVDYTITVYAV $(X)_z$ ISINYRT (配列番号：329)

【0107】

30

配列番号：329において、BCループは X_x により示され、DEループは X_y により示され、そしてFGループは X_z により示される。Xは任意のアミノ酸を示し、Xの次の下付きはアミノ酸の数の整数を示す。特に、x、yおよびzは、それぞれ独立して、2-20、2-15、2-10、2-8、5-20、5-15、5-10、5-8、6-20、6-15、6-10、6-8、2-7、5-7または6-7アミノ酸の範囲であり得る。好ましい態様において、xは9アミノ酸であり、yは6アミノ酸であり、そしてzは12アミノ酸である。ベータストランドの配列は、配列番号：1に示される対応するアミノ酸と比較して、全7つのスカフォールド領域にわたって0から10、0から8、0から6、0から5、0から4、0から3、0から2または0から1の範囲の置換、欠失または付加を有し得る。典型的な態様において、ベータストランドの配列は、配列番号：1に示される対応するアミノ酸と比較して、全7つのスカフォールド領域にわたって0から10、0から8、0から6、0から5、0から4、0から3、0から2または0から1個の範囲の保存的置換を有し得る。1つの態様において、コアアミノ酸残基は固定されており、任意の置換、保存的置換、欠失または付加は、コアアミノ酸残基以外の残基で起こる。典型的な態様において、 $(X)_x$ 、 $(X)_y$ および $(X)_z$ によりそれぞれ示されるBC、DEおよびFGループは、表3に示されるPCSK9バインダーのいずれかのBC、DEおよびFGループ配列、またはそれらの網掛け部分、またはコンセンサス配列323-325もしくは449-451を含むポリペプチドで置換される。

40

【0108】

1つの態様において、本明細書に記載されている抗-PCSK9アドネクチンは、配列

50

番号：328または329に記載されている配列を含み得、式中 $(X)_x$ 、 $(X)_y$ および $(X)_z$ によりそれぞれ示されるBC、DEおよびFGループは、表3におけるクローンのいずれかの特定のBC、DEおよびFGループのそれぞれのセット、または、表3に記載されているクローンのBC、DEまたはFGループ配列と少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%または99%同一の配列で置換される。典型的な態様において、本明細書に記載されている抗-PCSK9アドネクチンは、配列番号：329により定義され、表3に記載されているクローンのいずれかのBC、DEおよびFGループ配列のそれぞれのセットを有する。例えば、表3におけるクローン1459D05は、配列番号：2、18および28にそれぞれ記載されているBC、DEおよびFGループを含む。したがって、これらのループに基づく抗-PCSK9アドネクチンは、配列番号：328または329を含み得、式中 $(X)_x$ は配列番号：2を含み、 $(X)_y$ は配列番号：18を含み、そして $(X)_z$ は配列番号：28を含む。同様の構築物は、表3における他のクローンからのBC、DEおよびFGループのセット、またはコンセンサス配列323-325または449-451を利用することが考えられる。このような抗-PCSK9アドネクチンのスカフォールド領域は、配列番号：1のスカフォールドアミノ酸残基と比較して、0から20、0から15、0から10、0から8、0から6、0から5、0から4、0から3、0から2または0から1の範囲の置換、保存的置換、欠失または付加を含み得る。このようなスカフォールド修飾は、抗-PCSK9アドネクチンが所望の K_D でPCSK9に結合することができる限り、作成され得る。

【0109】

いくつかの態様において、本発明のタンパク質のBCループは、SWPPPSHGYG（配列番号：2）、SWRPPIHAYG（配列番号：3）、SWDAPIHAYG（配列番号：4）、SWDAPAHAYG（配列番号：5）およびSWDAPAVTYG（配列番号：6）、SWSPPANGYG（配列番号：7）、SWTPPPKGYG（配列番号：8）、SWRPPSHAYG（配列番号：9）、SWDPPSHAYG（配列番号：10）、SWEPPSHAYG（配列番号：11）、SWSPPSHAYG（配列番号：12）、SWRPPPSNGHG（配列番号：13）、SWVPPSDDYG（配列番号：14）、SWVPPSSHAYG（配列番号：15）、SWDPPSSHAYG（配列番号：16）およびSWEPPSSHAYG（配列番号：17）からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。さらなる態様において、本発明のタンパク質のBCループは、配列番号：106-135および301-303から選択されるアミノ酸配列を含む。他の態様において、本発明のタンパク質のBCループは、表3に示される配列番号：2-17、106-135および301-303のいずれかの網掛け部分を含む。例えば、1つの態様において、BCループは、配列PPPSHGYG（配列番号：2の残基3-10）、DAPAHAYG（配列番号：5の残基3-10）、EPFSRLPGGGE（配列番号：106の残基3-13）またはDAPADGGYG（配列番号：107の残基3-11）を含む。

【0110】

いくつかの態様において、本発明のタンパク質のDEループは、PPGKGT（配列番号：18）、PIVEGT（配列番号：19）、PGSEGT（配列番号：20）、PGSKGT（配列番号：21）、PGSKST（配列番号：22）、PVGRGT（配列番号：23）、PVGEGT（配列番号：24）、PIGKGT（配列番号：25）、PVNEG T（配列番号：26）およびPVGVGT（配列番号：27）からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。さらなる態様において、本発明のタンパク質のDEループは、配列番号：136-141から選択されるアミノ酸配列を含む。他の態様において、本発明のタンパク質のDEループは、表3に示される配列番号：18-27および136-141のいずれかの網掛け部分を含む。例えば、1つの態様において、DEループは、配列PGKG（配列番号：18の残基2-5）、VGVG（配列番号：27の残基2-5）またはVSKS（配列番号：137の残基2-5）を含む。

【0111】

いくつかの態様において、本発明のタンパク質のFGループは、EYPYKHS GYYHRP（配列番号：28）、EYTFKHS GYYHRP（配列番号：29）、EYTYKSGYYHRP（配列番号：30）、EYTYNGAGYYHRP（配列番号：31）、EYTYIGAGYYHRP（配列番号：32）、EYTYEGAGYYHRP（配列番号：33）、EYAYNGAGYYHRP（配列番号：34）、EYPWKSGSYHRP（配列番号：35）、EFPFKWS GYYHRP（配列番号：36）、EFPWPHAGYYHRP（配列番号：37）およびEYAFEGAGYYHRP（配列番号：38）からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。さらなる態様において、本発明のタンパク質のFGループは、配列番号：142-172から選択されるアミノ酸配列を含む。他の態様において、本発明のタンパク質のFGループは、表3に示される配列番号：28-38および142-172のいずれかの網掛け部分を含む。例えば、1つの態様において、FGループは、配列EYPYKHS GYYHR（配列番号：28における残基1-12）、EYPYDYS GYYHR（配列番号：142における残基1-12）またはEFD FVGAGYYHR（配列番号：167における残基1-12）を含む。

10

【0112】

いくつかの態様において、本発明のタンパク質は、配列番号：2-17、106-135および301-303を有するBCループ配列から選択される1つのBCループ配列、または表3に示される配列番号：2-17、106-135および301-303のいずれかの網掛け部分；配列番号：18-27および136-141を有するDEループ配列から選択される1つのDEループ配列、または表3に示される配列番号：18-27および136-141のいずれかの網掛け部分；ならびに、配列番号：28-38および142-172を有するFGループ配列から選択される1つのFGループ配列、または表3に示される配列番号：28-38および142-172のいずれかの網掛け部分を含む。いくつかの態様において、本発明のタンパク質は、配列番号：2-38、106-172、301-303のいずれか1つと少なくとも70、75、80、85、90、95、98、99または100%同一のBC、DEおよびFGループアミノ酸配列を含む。他の態様において、本発明のタンパク質は、表3に示される配列番号：2-38、106-172、301-303のいずれかの網掛け部分と少なくとも70、75、80、85、90、95、98、99または100%同一のBC、DEおよびFGループアミノ酸配列を含む。

20

30

【0113】

いくつかの態様において、抗-PCSK9アドネクチンは、配列番号：39-76、173-290および304-309のいずれか1つのアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、抗-PCSK9アドネクチンは、配列番号：39-76、173-290および304-309のいずれか1つの位置3-96からのFn3ドメインアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、抗-PCSK9アドネクチンは、配列番号：39-76、173-290および304-309のいずれかと少なくとも70、75、80、85、90、95、98、99または100%同一のアミノ酸配列を含む。

【0114】

フィブロネクチンは、天然に、インテグリン結合モチーフ、「アルギニン-グリシン-アスパラギン酸」（RGD）を介してインテグリンの特定の型に結合する。いくつかの態様において、ポリペプチドは、（RGD）インテグリン結合モチーフを欠く¹⁰Fn3ドメインを含む。インテグリン結合ドメインは、アミノ酸置換、欠失または挿入によってRGD配列を改変することにより除去され得る。

40

【0115】

1つの態様において、本発明の抗-PCSK9アドネクチン分子は、N-末端伸長配列および／またはC-末端伸長を含むように修飾され得る。例えば、MG配列は、配列番号：1により定義される¹⁰Fn3のN-末端で置換され得る。Mは、通常、切断され、N-末端でGを放出する。あるいは、表4に示される抗-PCSK9アドネクチンの最初の10アミノ酸は、表6（すなわち、配列番号：371-379）に示される本明細書にお

50

いてN-末端伸長と称される代替N-末端配列で置換され得る。加えて、M、GまたはMGはまた、配列番号：371-379を有するN-末端伸長のいずれかのN-末端側で置換され得る。本明細書に記載されている抗-PCSK9アドネクチンはまた、本明細書においてC-末端伸長配列と称される代替C-末端テール配列を含み得る。例えば、表4に示される抗-PCSK9アドネクチン配列は、配列番号：1のT94に対応するスレオニンで切断され得る（すなわち、配列のINRYRT（配列番号：636）部分後に切断される）。このような切断バージョンは、切断形態において治療分子として使用され得るか、または代替C-末端伸長がスレオニン残基後に加えられ得る。典型的なC-末端伸長配列は、配列番号：380-395として表6に示される。C-末端伸長配列を含む典型的な抗-PCSK9アドネクチンは、表4に示される。例えば、配列番号：49（クローン1813E02）は、天然C-末端伸長EIDKPSQ（配列番号：380）次にHis6タグ（配列番号：637）を含む。しかしながら、His6タグは完全に任意であることが理解されるべきである。

【0116】

1つの態様において、C-末端伸長配列（「テール」とも呼ばれる）は、EおよびD残基を含み、8から50、10から30、10から20、5から10および2から4アミノ酸長であり得る。いくつかの態様において、テール配列はEDベースのリンカーを含み、該配列はEDのタンデムリピートを含む。典型的な態様において、テール配列は、2-10、2-7、2-5、3-10、3-7、3-5、3、4または5EDリピートを含む。1つの態様において、EDベースのテール配列はまた、さらなるアミノ酸残基、例えば：EI（配列番号：385）、EID、ES、EC、EGSおよびEGCを含み得る。このような配列は、一部、既知のアドネクチンテール配列、例えば、残基DおよびKが除去されているEIDKPSQ（配列番号：380）に基づく。典型的な態様において、EDベースのテールは、EDリピート前にE、IまたはEI（配列番号：385）残基を含む。

【0117】

他の態様において、N-もしくはC-末端配列は、抗-PCSK9アドネクチン融合分子を設計するとき、必要なとき、他の既知のリンカー配列（例えば、表6における配列番号：396-419）と組み合わせられ得る。典型的なリンカー配列を含む抗-PCSK9アドネクチンは、表4に示される（例えば、配列番号：53、55および57）。いくつかの態様において、配列は、薬物動態学部分の結合を容易にするように、¹⁰Fn3ドメインのC-末端で置換され得る。例えば、システイン含有リンカー、例えば、GSGC（配列番号：77）は、システイン残基における部位特異的ペグ化を容易にするように、C-末端に付加され得る。

【0118】

薬物動態学部分

1つの局面において、本出願は、薬物動態学（PK）部分をさらに含む抗-PCSK9アドネクチンを提供する。改善された薬物動態学は、認識される治療的必要性にしたがって評価され得る。しばしば、恐らくタンパク質が投与後の血清において利用可能なままである時間を増加させることにより、バイオアベイラビリティを増加させること、および/または投与間の時間を増加させることが望ましい。場合によっては、時間とともにタンパク質の血清濃度の連続性を改善すること（例えば、投与直後および次の投与直前の、タンパク質の血清濃度における違いを減少させること）が望ましい。抗-PCSK9アドネクチンは、哺乳動物（例えば、マウス、ラットまたはヒト）におけるポリペプチドのクリアランス速度を、非修飾抗-PCSK9アドネクチンと比較して3倍以上低減させる部分に結合させてもよい。改善された薬物動態学の他の尺度は、しばしば、アルファ相およびベータ相に分類される血清半減期を含み得る。いずれかの相または両方の相は、適当な部分の付加により有意に改善され得る。

【0119】

本明細書において「PK部分」と称される血液からのタンパク質のクリアランスを遅延する傾向がある部分は、ポリオキシアルキレン部分、例えば、ポリエチレングリコール、

糖（例えば、シアル酸）、および耐容性良好であるタンパク質部分（例えば、Fcならびにそのフラグメントおよび変異体、トランスフェリンまたは血清アルブミン）を含む。抗-PCSK9アドネクチンは、米国公開第2007/0048282号に記載されているアルブミンまたはアルブミンのフラグメント（部分）もしくは変異体に融合され得る。いくつかの態様において、PCSK9アドネクチンは、本明細書に記載されているとおりに、1つ以上の血清アルブミン結合アドネクチンに融合され得る。

【0120】

いくつかの態様において、PK部分は、血清アルブミン結合タンパク質、例えば、米国公開第2007/0178082および2007/0269422号に記載されているものである。

【0121】

いくつかの態様において、PK部分は、血清免疫グロブリン結合タンパク質、例えば、米国公開第2007/0178082号に記載されているものである。

【0122】

いくつかの態様において、抗-PCSK9アドネクチンはポリエチレングリコール（PEG）を含む。1つ以上のPEG分子は、タンパク質上の異なる位置で結合してもよく、このような結合は、アミン、チオールまたは他の適当な反応基との反応によりなし遂げられ得る。アミン部分は、例えば、ポリペプチドのN末端で見られる第一級アミンまたはリジンもしくはアルギニンのようなアミノ酸に存在するアミン基であり得る。いくつかの態様において、PEG部分は、a) N-末端；b) N-末端および最もN-末端側のベータストランドまたはベータ様鎖間；c) 標的結合部位と反対側のポリペプチドの表面上に位置するループ；d) C-末端および最もC-末端側のベータストランドまたはベータ様鎖間；ならびにe) C-末端からなる群から選択されるポリペプチドの位置で結合する。

【0123】

ペグ化は、適当な反応基が、ペグ化が優先的に起こる部位を作るように、タンパク質に導入されている部位特異的ペグ化によりなし遂げられ得る。いくつかの態様において、タンパク質は、所望の位置でシステイン残基を導入するように修飾され、システイン上の部位特異的ペグ化を可能にする。PEGは、分子量を広範囲に変化し得、分岐状または直線状であり得る。1つの態様において、PEGは2つの分岐を有する。別の態様において、PEGは4つの分岐を有する。

【0124】

いくつかの態様において、抗-PCSK9アドネクチンは、免疫グロブリンFcドメインまたはそのフラグメントもしくは変異体に融合される。典型的な態様において、Fcドメインは、IgG1サブクラス由来である、しかしながら、他のサブクラス（例えば、IgG2、IgG3およびIgG4）もまた使用され得る。以下に示されているものは、ヒトIgG1免疫グロブリンFcドメインの配列であり、Fcドメイン内のそれぞれの領域の相対位置は、EU番号付けフォーマットに基づいて示される：

【表1】

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(配列番号:315)

コアヒンジ配列は下線を引かれており、CH1領域はイタリック体であり；CH2およ

10

20

30

40

50

びCH3領域は通常の文字列である。C-末端リジンは任意であることが理解されるべきである。

【0125】

融合物は、抗-PCSK9アドネクチンをFc分子のいずれかの末端に結合させることにより、すなわち、Fc-抗-PCSK9アドネクチンまたは抗-PCSK9アドネクチン-Fc配置で形成され得る。1つの態様において、Fcおよび抗-PCSK9アドネクチンは、リンカーを介して融合される。典型的なリンカー配列は、AGGGSG（配列番号：310）、GSGSGSGSGSGS（配列番号：311）、QPDEPGGS（配列番号：312）、ELQLEESA AEAQDGE LD（配列番号：313）、TVAAP S（配列番号：314）、KAGGGSG（配列番号：620）、KSGSGSGSGSGSGS（配列番号：621）、KQPDEPGGS（配列番号：622）、KELQLEESA AEAQDGE LD（配列番号：623）、KTVAAP S（配列番号：624）、KAGGGSGSG（配列番号：625）、KSGSGSGSGSGSGSGSGS（配列番号：626）、KQPDEPGSGSG（配列番号：627）、KELQLEESA AEAQDGE LDG（配列番号：628）、KTVAAPSG（配列番号：629）AGGGSGSG（配列番号：630）、GSGSGSGSGSGSGSGSG（配列番号：631）、QPDEPGSGSG（配列番号：632）、ELQLEESA AEAQDGE LDG（配列番号：633）およびTVAAPSG（配列番号：634）を含む。

【0126】

いくつかの態様において、抗-PCSK9アドネクチン融合物において使用されるFc領域は、Fc分子のヒンジ領域を含む。本明細書において使用される「ヒンジ」領域は、EU番号付けによる位置221-236に対応するIgG1の配列番号：315のコアヒンジ残基にまたがる位置104-119（DKTHTCPPCPAPELLG；配列番号：316）を含む。1つの態様において、the 抗-PCSK9アドネクチン-Fc融合物は、一部、ヒンジ領域内で配列番号：315の位置109および112（それぞれ、EU番号付け226および229）でのシステイン残基のため、多量体構造（例えば、ダイマー）を採用する。他の態様において、本明細書において使用されるヒンジ領域は、配列番号：315に示されるコアヒンジ配列の側面に位置するCH1およびCH2領域由来の残基をさらに含み得る。

【0127】

いくつかの態様において、ヒンジ配列は、望ましい薬物動態学的、生物物理学的および／または生物学的特性を与える置換を含み得る。いくつかの典型的なヒンジ配列は、EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPS（配列番号：317；コアヒンジ領域は下線を引かれている）、EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGSS（配列番号：318；コアヒンジ領域は下線を引かれている）、EPKSSGSTHTTCPPCPAPELLGGSS（配列番号：319；コアヒンジ領域は下線を引かれている）、DKTHTCPPCPAPELLGGPS（配列番号：320；コアヒンジ領域は下線を引かれている）およびDKTHTCPPCPAPELLGGSS（配列番号：321、コアヒンジ領域は下線を引かれている）を含む。1つの態様において、配列番号：315の位置122（EU番号付け238）での残基Pは、Fcエフェクター機能を除去するようにSで置換されている；該置換は、配列番号：318、319および321のいずれか1つを有するヒンジにおいて例示される。別の態様において、配列番号：315の位置104-105（EU番号付け221-222）での残基DKは、可能性のあるクリップ部位を除去するようにGSで置換されている；該置換は、配列番号：319において例示される。別の態様において、配列番号：315の位置103（EU番号付け220）でのCは、軽鎖の非存在下で不適当なシステイン結合形成を防止するようにSで置換されている；該置換は、配列番号：317-319において例示される。

【0128】

1つの態様において、抗PCSK9アドネクチン-Fc融合物は、以下の立体配置を有し得る：1）抗-PCSK9アドネクチン-ヒンジーFc、または2）ヒンジーFc-抗

10

20

30

40

50

ー P C S K 9 アドネクチン。したがって、本発明の任意の抗ー P C S K 9 アドネクチンは、これらの立体配置によるヒンジ配列を含む F c 領域に融合させることができる。いくつかの態様において、リンカーは、抗ー P C S K 9 アドネクチンをヒンジー F c 部分に結合するために使用され得る、例えば、典型的な融合タンパク質は、立体配置ヒンジー抗ー P C S K 9 アドネクチンーリンカーー F c を有し得る。さらに、融合ポリペプチドが生産される系に依存して、リーダー配列は、融合ポリペプチドの N-末端で置換され得る。例えば、融合物が哺乳動物系において生産されるとき、リーダー配列、例えば、M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G (配列番号：326) は、融合分子の N-末端に付加され得る。融合物が大腸菌において生産されるとき、融合配列は、メチオニンが先行する。

【0129】

10

以下の配列は、哺乳動物系において生産される抗ー P C S K 9 アドネクチンーヒンジー F c 構築物を例示する：

【表2】

METDTLLLWVLLLWVPGSTGGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWVPPSDDYGYRIT
YGETGGNSPVQEFTVPIGKGTATISGLKPGVDYTITVYAVEFPWPHAGYYHRPISINYRT
E/EPKSSGSTHTCPPCPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED
PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK
VSNAKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA
VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEAL
HNHYTQKSLSLSPGK (配列番号:322)

20

したがって、F c ドメインは、以下のとおりのヒト I g G 1 C H 2 および C H 3 領域を含む：V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R D E L T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K (配列番号：448) および配列番号：319のヒンジ配列。配列番号：322において、リーダー配列は太字であり、抗ー P C S K 9 アドネクチン配列はイタリック体であり、ヒンジ領域は下線を引かれている。配列番号：322の末端でのリジンは任意であることが理解されるべきである。配列番号：322に記載されているポリペプチド融合物（本明細書において P R D 4 6 0 としても記載されている）の有効性は、実施例4において証明される。

30

【0130】

典型的な P C S K 9 アドネクチンー F c 融合物は表1に示される。全ての配列は、メチオニンまたは哺乳動物リーダー配列（例えば、配列番号：326）で開始され得る。

表1

40

典型的な抗ー P C S K 9 アドネクチンー F c 融合物タンパク質

【表 3】

配列 番号	クロー ン また は 名前	記述	配列
P C S K 9 アドネクチン-X ₁ -F c C-末端融合物			
452	1 4 5 9 D 0 5 - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在す るとき、E、E I、E I D 、E I D K（配列番号：3 8 4）、E I E および E I E K（配列番号：6 3 5） から選択することができる ；X 2 はヒンジ配列配列番 号：3 1 7 - 3 2 1 から選 択される；F c は所望によ り C-末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWPPPSHGYGY YRITYGETGGNSPVQEFTVPPGKGATISGLK PGVDYTITVYAVEYPYKHSYHHRPISINYRT -X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
453	1 7 8 4 F 0 3 - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在す るとき、E、E I、E I D 、E I D K（配列番号：3 8 4）、E I E および E I E K（配列番号：6 3 5） から選択することができる ；X 2 はヒンジ配列配列番 号：3 1 7 - 3 2 1 から選 択される；F c は所望によ り C-末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWRPPIHAYGY YRITYGETGGNSPVQEFTVPIVEGTATISGLK PGVDYTITVYAVEYTFKHSYHHRPISINYRT -X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

10

20

【表 4】

454	1 7 8 4 F 0 3 — m 1 — F c 融 合物	X 1 は任意であり、存在する とき、E、E I、E I D、E I D K (配列番号：3 8 4) 、E I E および E I E K (配 列番号：6 3 5) から選択す ることができる；X 2 はヒン ジ配列配列番号：3 1 7—3 2 1 から選択される；F c は 所望により C—末端に K を含 み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPIHAYGYRI TYGETGGNSPVQEFTVPGSEGTATISGLKPGVDYT ITVYAVEYTFKHSGYYHRPISINYRT-X ₁ -X ₂ -VFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
455	1 7 8 4 F 0 3 — m 2 — F c 融 合物	X 1 は任意であり、存在する とき、E、E I、E I D、E I D K (配列番号：3 8 4) 、E I E および E I E K (配 列番号：6 3 5) から選択す ることができる；X 2 はヒン ジ配列配列番号：3 1 7—3 2 1 から選択される；F c は 所望により C—末端に K を含 み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAHAYGYRI TYGETGGNSPVQEFTVPGSKGTATISGLKPGVDYT ITVYAVEYTFKHSGYYHRPISINYRT-X ₁ -X ₂ -VFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPG

10

20

【表 5】

456	1 7 8 4 F 0 3 — m 3 — F c 融 合物	X 1 は任意であり、存在す るとき、E、E I、E I D 、E I D K (配列番号：3 8 4)、E I E および E I E K (配列番号：6 3 5) から選択することができる ；X 2 はヒンジ配列配列番 号：3 1 7—3 2 1 から選 択される；F c は所望によ り C—末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTYGY YRITYGETGGNSPVQEFTVPGSKSTATISGLK PGVDYTITVYAVEYTFKHSGYYHRPISINYRT -X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
457	1 8 1 3 E 0 2 — F c 融 合物	X 1 は任意であり、存在す るとき、E、E I、E I D 、E I D K (配列番号：3 8 4)、E I E および E I E K (配列番号：6 3 5) から選択することができる ；X 2 はヒンジ配列配列番 号：3 1 7—3 2 1 から選 択される；F c は所望によ り C—末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWSPANGYGY YRITYGETGGNSPVQEFTVPVGRGTATISGLK PGVDYTITVYAVEYTYKSGYYHRPISINYRT -X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

30

40

50

【表 6】

458	1 9 2 3 B 0 2－ F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在するとき、E、E I、E I D、E I D K（配列番号：3 8 4）、E I E および E I E K（配列番号：6 3 5）から選択することができる；X 2 はヒンジ配列配列番号：3 1 7－3 2 1 から選択される；F c は所望により C－末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWTTPPKGYGY YRITYGETGGNSPVQEFTVPVGEGTATISGLK PGVDYTITVYAVEYTYNGAGYYHRPISINYRT -X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
459	1 9 2 3 B 0 2 (N 8 2 I)－ F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在するとき、E、E I、E I D、E I D K（配列番号：3 8 4）、E I E および E I E K（配列番号：6 3 5）から選択することができる；X 2 はヒンジ配列配列番号：3 1 7－3 2 1 から選択される；F c は所望により C－末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWTTPPKGYGY YRITYGETGGNSPVQEFTVPVGEGTATISGLK PGVDYTITVYAVEYTYIGAGYYHRPISINYRT -X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

10

20

【表 7】

460	1 9 2 3 B 0 2 (N 8 2 E)－ F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在するとき、E、E I、E I D、E I D K（配列番号：3 8 4）、E I E および E I E K（配列番号：6 3 5）から選択することができる；X 2 はヒンジ配列配列番号：3 1 7－3 2 1 から選択される；F c は所望により C－末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWTTPPKGYGY YRITYGETGGNSPVQEFTVPVGEGTATISGLK PGVDYTITVYAVEYTYEGAGYYHRPISINYRT -X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
461	1 9 2 3 B 0 2 (T 8 0 A)－ F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在するとき、E、E I、E I D、E I D K（配列番号：3 8 4）、E I E および E I E K（配列番号：6 3 5）から選択することができる；X 2 はヒンジ配列配列番号：3 1 7－3 2 1 から選択される；F c は所望により C－末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWTTPPKGYGY YRITYGETGGNSPVQEFTVPVGEGTATISGLK PGVDYTITVYAVEYAYNGAGYYHRPISINYRT -X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

30

40

【表 8】

462	1 9 2 2 G O 4 - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在する とき、E、E I、E I D、E I D K (配列番号：3 8 4) 、E I E および E I E K (配 列番号：6 3 5) から選択す ることができる；X 2 はヒン ジ配列配列番号：3 1 7 - 3 2 1 から選択される；F c は 所望により C - 末端に K を含 み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWRPPSHAYGYRI TYGETGGNSPVQEFTVPIGKGATISGLKPGVDYT ITVYAVEYPWKSGYYHRPISINYRT-X ₁ -X ₂ -VFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
463	1 9 2 2 G O 4 (R 2 5 D) - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在する とき、E、E I、E I D、E I D K (配列番号：3 8 4) 、E I E および E I E K (配 列番号：6 3 5) から選択す ることができる；X 2 はヒン ジ配列配列番号：3 1 7 - 3 2 1 から選択される；F c は 所望により C - 末端に K を含 み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDPPSHAYGYRI TYGETGGNSPVQEFTVPIGKGATISGLKPGVDYT ITVYAVEYPWKSGYYHRPISINYRT-X ₁ -X ₂ -VFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

10

20

【表 9】

464	1 9 2 2 G O 4 (R 2 5 E) - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在す るとき、E、E I、E I D 、E I D K (配列番号：3 8 4)、E I E および E I E K (配列番号：6 3 5) から選択することができる ；X 2 はヒンジ配列配列番 号：3 1 7 - 3 2 1 から選 択される；F c は所望によ り C - 末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWEPPSHAYGY YRITYGETGGNSPVQEFTVPIGKGATISGLK PGVDYTITVYAVEYPWKSGYYHRPISINYRT -X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
465	1 9 2 2 G O 4 (R 2 5 S) - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在す るとき、E、E I、E I D 、E I D K (配列番号：3 8 4)、E I E および E I E K (配列番号：6 3 5) から選択することができる ；X 2 はヒンジ配列配列番 号：3 1 7 - 3 2 1 から選 択される；F c は所望によ り C - 末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWSPPSHAYGY YRITYGETGGNSPVQEFTVPIGKGATISGLK PGVDYTITVYAVEYPWKSGYYHRPISINYRT -X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

30

40

50

【表 1 0】

466	2 0 1 2 A 0 4 - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在するとき、E、E I、E I D、E I D K（配列番号：3 8 4）、E I E および E I E K（配列番号：6 3 5）から選択することができる；X 2 はヒンジ配列配列番号：3 1 7 - 3 2 1 から選択される；F c は所望により C - 末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWRPPSNHGYYRITYGETGGNSPVQEFTVPVNEGATISGLKPGVDYTTITVYAVEFPFKWSGYHRPISINYRT-X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
467	2 0 1 3 E 0 1 - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在するとき、E、E I、E I D、E I D K（配列番号：3 8 4）、E I E および E I E K（配列番号：6 3 5）から選択することができる；X 2 はヒンジ配列配列番号：3 1 7 - 3 2 1 から選択される；F c は所望により C - 末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWVPPSDDYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPIGKTATISGLKPGVDYTTITVYAVEFPWPHAGYYHRPISINYRT-X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

10

20

【表 1 1】

468	2 0 1 1 H 0 5 - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在するとき、E、E I、E I D、E I D K（配列番号：3 8 4）、E I E および E I E K（配列番号：6 3 5）から選択することができる；X 2 はヒンジ配列配列番号：3 1 7 - 3 2 1 から選択される；F c は所望により C - 末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWVPSSHAYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPVGVGTATISGLKPGVDYTTITVYAVEYAFEGAGYYHRPISINYRT-X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
469	2 0 1 1 H 0 5 (V 2 3 D) - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在するとき、E、E I、E I D、E I D K（配列番号：3 8 4）、E I E および E I E K（配列番号：6 3 5）から選択することができる；X 2 はヒンジ配列配列番号：3 1 7 - 3 2 1 から選択される；F c は所望により C - 末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDPSSHAYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPVGVGTATISGLKPGVDYTTITVYAVEYAFEGAGYYHRPISINYRT-X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

30

40

【表 1 2】

470	2 0 1 1 H 0 5 (V 2 3 E) — F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在する とき、E、E I、E I D、E I D K (配列番号：3 8 4) 、E I E および E I E K (配 列番号：6 3 5) から選択す ることができる；X 2 はヒン ジ配列配列番号：3 1 7—3 2 1 から選択される；F c は 所望により C—末端に K を含 み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWEPSSHAYGYRI TYGETGGNSPVQEFTVPVGVGTATISGLKPGVDYT ITVYAVEYAFEGAGYYHRPISINYRT-X ₁ -X ₂ -VFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
471	2 3 8 1 B 0 2— F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在する とき、E、E I、E I D、E I D K (配列番号：3 8 4) 、E I E および E I E K (配 列番号：6 3 5) から選択す ることができる；X 2 はヒン ジ配列配列番号：3 1 7—3 2 1 から選択される；F c は 所望により C—末端に K を含 み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWEPFSRLPGGGEY YRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYPYDYSYYHRPISINYRT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

10

20

【表 1 3】

472	2 3 8 1 B 0 4— F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在す るとき、E、E I、E I D 、E I D K (配列番号：3 8 4)、E I E および E I E K (配列番号：6 3 5) から選択することができる ；X 2 はヒンジ配列配列番 号：3 1 7—3 2 1 から選 択される；F c は所望によ り C—末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWEPFSRLPGG GEYYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTATIS GLKPGVDYTITVYAVEYPYEHSGYYHRPISIN YRT-X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNQKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPN NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
473	2 3 8 1 B 0 6— F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在す るとき、E、E I、E I D 、E I D K (配列番号：3 8 4)、E I E および E I E K (配列番号：6 3 5) から選択することができる ；X 2 はヒンジ配列配列番 号：3 1 7—3 2 1 から選 択される；F c は所望によ り C—末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWEPFSRLPGG GEYYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTATIS GLKPGVDYTITVYAVEYPYPHSGYYHRPISIN YRT-X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNQKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPN NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

30

40

50

【表 1 4】

474	2 3 8 1 B 0 8 - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在するとき、E、E I、E I D、E I D K（配列番号：3 8 4）、E I E および E I E K（配列番号：6 3 5）から選択することができる；X 2 はヒンジ配列配列番号：3 1 7 - 3 2 1 から選択される；F c は所望により C - 末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPADGGYG YYRITYGETGGNSPVQEFTVPSSKGTATISGL KPGVDYTITVYAVEYTFPGAGYYHRPISINR T-X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
475	2 3 8 1 D 0 2 - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在するとき、E、E I、E I D、E I D K（配列番号：3 8 4）、E I E および E I E K（配列番号：6 3 5）から選択することができる；X 2 はヒンジ配列配列番号：3 1 7 - 3 2 1 から選択される；F c は所望により C - 末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWEPFSRLPGG GEYYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTATIS GLKPGVDYTITVYAVEYPYDHSGYYHRPISIN YRT-X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

10

20

【表 1 5】

476	2 3 8 1 D 0 4 - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在するとき、E、E I、E I D、E I D K（配列番号：3 8 4）、E I E および E I E K（配列番号：6 3 5）から選択することができる；X 2 はヒンジ配列配列番号：3 1 7 - 3 2 1 から選択される；F c は所望により C - 末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWEPFSRLPGG GEYYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTATIS GLKPGVDYTITVYAVEFPYDHSGYYHRPISIN YRT-X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
477	2 3 8 1 F 1 1 - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在するとき、E、E I、E I D、E I D K（配列番号：3 8 4）、E I E および E I E K（配列番号：6 3 5）から選択することができる；X 2 はヒンジ配列配列番号：3 1 7 - 3 2 1 から選択される；F c は所望により C - 末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPADGGYG YYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKSTATISGL KPGVDYTITVYAVEYTFPGAGYYHRPISINR T-X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

30

40

【表 1 6】

478	2 3 8 1 G O 3 - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在する とき、E、E I、E I D、E I D K（配列番号：3 8 4） 、E I E および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択す ることができる；X 2 はヒン ジ配列配列番号：3 1 7 - 3 2 1 から選択される；F c は 所望により C - 末端に K を含 み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWEPFSRLPGGGEY YRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFPYAHSGYYHRPISINYRT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
479	2 3 8 1 G O 9 - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在する とき、E、E I、E I D、E I D K（配列番号：3 8 4） 、E I E および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択す ることができる；X 2 はヒン ジ配列配列番号：3 1 7 - 3 2 1 から選択される；F c は 所望により C - 末端に K を含 み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAGDGYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEFTFPGAGYYHRPISINYRT-X ₁ -X ₂ -VF LFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

10

20

【表 1 7】

480	2 3 8 1 H O 3 - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在す るとき、E、E I、E I D 、E I D K（配列番号：3 8 4）、E I E および E I E K（配列番号：6 3 5） から選択することができる ；X 2 はヒンジ配列配列番 号：3 1 7 - 3 2 1 から選 択される；F c は所望によ り C - 末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWEPFSRLPGG GEYYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTATIS GLKPGVDYTITVYAVEYPYAHSGYFHRPISIN YRT-X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
481	2 3 8 2 A O 1 - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在す るとき、E、E I、E I D 、E I D K（配列番号：3 8 4）、E I E および E I E K（配列番号：6 3 5） から選択することができる ；X 2 はヒンジ配列配列番 号：3 1 7 - 3 2 1 から選 択される；F c は所望によ り C - 末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWAAPAGGGYG YRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGL KPGVDYTITVYAVEYDFPGAGYYHRPISINYR T-X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

30

40

50

【表 18】

482	23 82 B1 0- Fc 融合物	X1は任意であり、存在するとき、E、EI、EID、EIDK（配列番号：384）、EIEおよびEIEK（配列番号：635）から選択することができる；X2はヒンジ配列配列番号：317-321から選択される；Fcは所望によりC-末端にKを含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPADAYGY YRITYGETGGNSPVQEFTVPSSKGTATISGLK PGVDYTITVYAVEYDFPGSGYYHRPISINYRT -X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
483	23 82 B0 9- Fc 融合物	X1は任意であり、存在するとき、E、EI、EID、EIDK（配列番号：384）、EIEおよびEIEK（配列番号：635）から選択することができる；X2はヒンジ配列配列番号：317-321から選択される；Fcは所望によりC-末端にKを含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPADAYGY YRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLK PGVDYTITVYAVEFDYPGSGYYHRPISINYRT -X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

10

20

【表 19】

484	23 82 C0 5- Fc 融合物	X1は任意であり、存在するとき、E、EI、EID、EIDK（配列番号：384）、EIEおよびEIEK（配列番号：635）から選択することができる；X2はヒンジ配列配列番号：317-321から選択される；Fcは所望によりC-末端にKを含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPADGAYG YYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGL KPGVDYTITVYAVEYSFPGAGYYHRPISINYR T-X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
485	23 82 C0 9- Fc 融合物	X1は任意であり、存在するとき、E、EI、EID、EIDK（配列番号：384）、EIEおよびEIEK（配列番号：635）から選択することができる；X2はヒンジ配列配列番号：317-321から選択される；Fcは所望によりC-末端にKを含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAEYGY YRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLK PGVDYTITVYAVEFDYPGSGYYHRPISINYRT -X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

30

40

【表 2 0】

486	2 3 8 2 D O 3 - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在する とき、E、E I、E I D、E I D K (配列番号：3 8 4) 、E I E および E I E K (配 列番号：6 3 5) から選択す ることができる；X 2 はヒン ジ配列配列番号：3 1 7 - 3 2 1 から選択される；F c は 所望により C - 末端に K を含 み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPADEAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEFDFFPGAGYYHRPISINYRT-X ₁ -X ₂ -VF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
487	2 3 8 2 D O 5 - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在する とき、E、E I、E I D、E I D K (配列番号：3 8 4) 、E I E および E I E K (配 列番号：6 3 5) から選択す ることができる；X 2 はヒン ジ配列配列番号：3 1 7 - 3 2 1 から選択される；F c は 所望により C - 末端に K を含 み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPADGGYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEFDFFPGAGYYHRPISINYRT-X ₁ -X ₂ -VF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPG

10

20

【表 2 1】

488	2 3 8 2 D O 8 - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在す るとき、E、E I、E I D 、E I D K (配列番号：3 8 4)、E I E および E I E K (配列番号：6 3 5) から選択することができる ；X 2 はヒンジ配列配列番 号：3 1 7 - 3 2 1 から選 択される；F c は所望によ り C - 末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPADGYGY YRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLK PGVDYTITVYAVEFPFPGSGYYHRPISINYRT -X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
489	2 3 8 2 D O 9 - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在す るとき、E、E I、E I D 、E I D K (配列番号：3 8 4)、E I E および E I E K (配列番号：6 3 5) から選択することができる ；X 2 はヒンジ配列配列番 号：3 1 7 - 3 2 1 から選 択される；F c は所望によ り C - 末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAEYGYGY YRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLK PGVDYTITVYAVEFDFFPGAGYYHRPISINYRT -X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

30

40

50

【表 2 2】

490	2 3 8 2 F 0 2- F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在するとき、E、E I、E I D、E I D K (配列番号: 3 8 4)、E I E および E I E K (配列番号: 6 3 5) から選択することができる; X 2 はヒンジ配列配列番号: 3 1 7-3 2 1 から選択される; F c は所望により C-末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAGGGYG YYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGL KPGVDYTITVYAVEFDFPGSGYYHRPISINR T-X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
491	2 3 8 2 F 0 3- F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在するとき、E、E I、E I D、E I D K (配列番号: 3 8 4)、E I E および E I E K (配列番号: 6 3 5) から選択することができる; X 2 はヒンジ配列配列番号: 3 1 7-3 2 1 から選択される; F c は所望により C-末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAADAYG YYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGL KPGVDYTITVYAVEFNFPAGAGYYHRPISINR T-X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

10

20

【表 2 3】

492	2 3 8 2 F 0 5- F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在するとき、E、E I、E I D、E I D K (配列番号: 3 8 4)、E I E および E I E K (配列番号: 6 3 5) から選択することができる; X 2 はヒンジ配列配列番号: 3 1 7-3 2 1 から選択される; F c は所望により C-末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAEAGKH YGYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATIS GLKPGVDYTITVYAVEFDFPGAGYYHRPISIN YRT-X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
493	2 3 8 2 F 0 8- F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在するとき、E、E I、E I D、E I D K (配列番号: 3 8 4)、E I E および E I E K (配列番号: 6 3 5) から選択することができる; X 2 はヒンジ配列配列番号: 3 1 7-3 2 1 から選択される; F c は所望により C-末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAEAYGY YRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLK PGVDYTITVYAVEFTYPGSGYYHRPISINR T-X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

30

40

【表 2 4】

494	2 3 8 2 F 0 9 - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在する とき、E、E I、E I D、E I D K (配列番号: 3 8 4) 、E I E および E I E K (配 列番号: 6 3 5) から選択す ることができる; X 2 はヒン ジ配列配列番号: 3 1 7 - 3 2 1 から選択される; F c は 所望により C - 末端に K を含 み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAAAYGYRI TYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVDYT ITVYAVEYDFPGSGYYHRPISINYRT-X ₁ -X ₂ -VFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
495	2 3 8 2 G 0 4 - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在する とき、E、E I、E I D、E I D K (配列番号: 3 8 4) 、E I E および E I E K (配 列番号: 6 3 5) から選択す ることができる; X 2 はヒン ジ配列配列番号: 3 1 7 - 3 2 1 から選択される; F c は 所望により C - 末端に K を含 み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAGGGYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPSSKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEFDFPGAGYYHRPISINYRT-X ₁ -X ₂ -VF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPG

10

20

【表 2 5】

496	2 3 8 2 H 1 0 - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在す るとき、E、E I、E I D 、E I D K (配列番号: 3 8 4)、E I E および E I E K (配列番号: 6 3 5) から選択することができる ; X 2 はヒンジ配列配列番 号: 3 1 7 - 3 2 1 から選 択される; F c は所望によ り C - 末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAGGYGY YRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLK PGVDYTITVYAVEFDFPGSGYYHRPISINYRT -X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
497	2 3 8 2 H 1 1 - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在す るとき、E、E I、E I D 、E I D K (配列番号: 3 8 4)、E I E および E I E K (配列番号: 6 3 5) から選択することができる ; X 2 はヒンジ配列配列番 号: 3 1 7 - 3 2 1 から選 択される; F c は所望によ り C - 末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPADGYGY YRITYGETGGNSPVQEFTVPVFKGTATISGLK PGVDYTITVYAVEFDYPGSGYYHRPISINYRT -X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

30

40

50

【表 2 6】

498	2 3 8 2 H 0 4 - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在するとき、E、E I、E I D、E I D K (配列番号: 3 8 4)、E I E および E I E K (配列番号: 6 3 5) から選択することができる; X 2 はヒンジ配列配列番号: 3 1 7 - 3 2 1 から選択される; F c は所望により C - 末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAAGGYG YYRITYGETGGNSPVQEFTVPSSKGTATISGL KPGVDYTITVYAVEYDFPGAGYYHRPISINYR T-X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
499	2 3 8 2 H 0 7 - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在するとき、E、E I、E I D、E I D K (配列番号: 3 8 4)、E I E および E I E K (配列番号: 6 3 5) から選択することができる; X 2 はヒンジ配列配列番号: 3 1 7 - 3 2 1 から選択される; F c は所望により C - 末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPADAYGY YRITYGETGGNSPVQEFTVPGSKGTATISGLK PGVDYTITVYAVEFDFPGSGYYHRPISINYRT -X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

10

20

【表 2 7】

500	2 3 8 2 H 0 9 - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在するとき、E、E I、E I D、E I D K (配列番号: 3 8 4)、E I E および E I E K (配列番号: 6 3 5) から選択することができる; X 2 はヒンジ配列配列番号: 3 1 7 - 3 2 1 から選択される; F c は所望により C - 末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAAAGGY YRITYGETGGNSPVQEFTVPSSKGTATISGLK PGVDYTITVYAVEFDFPGSGYYHRPISINYRT -X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
501	2 4 5 1 A 0 2 - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在するとき、E、E I、E I D、E I D K (配列番号: 3 8 4)、E I E および E I E K (配列番号: 6 3 5) から選択することができる; X 2 はヒンジ配列配列番号: 3 1 7 - 3 2 1 から選択される; F c は所望により C - 末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAAGGY YRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLK PGVDYTITVYAVEFPFPGSGYYHRPISINYRT -X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

30

40

【表 28】

502	24 51 B0 5- Fc 融合 物	X1は任意であり、存在する とき、E、EI、EID、E IDK（配列番号：384） 、EIEおよびEIEK（配 列番号：635）から選択す ることができる；X2はヒン ジ配列配列番号：317-3 21から選択される；Fcは 所望によりC-末端にKを含 み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAGGYGYRI TYGETGGNSPVQEFTVPSSKGTATISGLKPGVDYT ITVYAVEFDYPGSGYHRPISINYRT-X ₁ -X ₂ -VFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
503	24 51 B0 6- Fc 融合 物（2 38 2D 05 と同 等物）	X1は任意であり、存在する とき、E、EI、EID、E IDK（配列番号：384） 、EIEおよびEIEK（配 列番号：635）から選択す ることができる；X2はヒン ジ配列配列番号：317-3 21から選択される；Fcは 所望によりC-末端にKを含 み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPADGGYGYRI ITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEFDYFPGAGYHRPISINYRT-X ₁ -X ₂ -VF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DNLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

10

20

30

【表 29】

504	24 51 C0 6- Fc 融合 物	X1は任意であり、存在する とき、E、EI、EID、E IDK（配列番号：384） 、EIEおよびEIEK（配 列番号：635）から選択す ることができる；X2はヒン ジ配列配列番号：317-3 21から選択される；Fcは 所望によりC-末端にKを含 み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAGAASYGY RITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVD YTITVYAVEFPFPGAGYYHRPISINYRT-X ₁ -X ₂ -V FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWWVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
505	24 51 D0 5- Fc 融合 物	X1は任意であり、存在する とき、E、EI、EID、E IDK（配列番号：384） 、EIEおよびEIEK（配 列番号：635）から選択す ることができる；X2はヒン ジ配列配列番号：317-3 21から選択される；Fcは 所望によりC-末端にKを含 み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAGAYGYRI TYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVDYT ITVYAVEFDPPGSGYYHRPISINYRT-X ₁ -X ₂ -VFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPG

10

20

【表 30】

506	24 51 F0 3- Fc 融合 物	X1は任意であり、存在す るとき、E、EI、EID 、EIDK（配列番号：3 84）、EIEおよびEIE EK（配列番号：635） から選択することができる ；X2はヒンジ配列配列番 号：317-321から選 択される；Fcは所望によ りC-末端にKを含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDPPAEGYGY YRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLK PGVDYTITVYAVEFNFPGSGYYHRPISINYRT -X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
507	24 51 G0 1- Fc 融合 物	X1は任意であり、存在す るとき、E、EI、EID 、EIDK（配列番号：3 84）、EIEおよびEIE EK（配列番号：635） から選択することができる ；X2はヒンジ配列配列番 号：317-321から選 択される；Fcは所望によ りC-末端にKを含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAGGYGY YRITYGETGGNSPVQEFTVPSSKGTATISGLK PGVDYTITVYAVEFDPPGSGYYHRPISINYRT -X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

30

40

50

【表 3 1】

508	2 4 5 1 H O 7 - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在するとき、E、E I、E I D、E I D K（配列番号：3 8 4）、E I E および E I E K（配列番号：6 3 5）から選択することができる；X 2 はヒンジ配列配列番号：3 1 7 - 3 2 1 から選択される；F c は所望により C - 末端に K を含み得る	GITDVPRDLEVVAATPTSLLISWNPPDVNYGY YRITYGETGGNSPLQEFTVPVSKGTATISGLK PGVDYTITVYAVEYPYAHAGYYHRPISINYRT -X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
509	2 3 8 2 E O 3 - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在するとき、E、E I、E I D、E I D K（配列番号：3 8 4）、E I E および E I E K（配列番号：6 3 5）から選択することができる；X 2 はヒンジ配列配列番号：3 1 7 - 3 2 1 から選択される；F c は所望により C - 末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAGDGYG YYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGL KPGVDYTITVYAVEFDGAGYYHRPISINYR T-X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

10

20

【表 3 2】

510	2 3 8 2 E O 4 - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在するとき、E、E I、E I D、E I D K（配列番号：3 8 4）、E I E および E I E K（配列番号：6 3 5）から選択することができる；X 2 はヒンジ配列配列番号：3 1 7 - 3 2 1 から選択される；F c は所望により C - 末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAGGGYG YYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGL KPGVDYTITVYAVEFTGAGYYHRPISINYR T-X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
511	2 3 8 2 E O 5 - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在するとき、E、E I、E I D、E I D K（配列番号：3 8 4）、E I E および E I E K（配列番号：6 3 5）から選択することができる；X 2 はヒンジ配列配列番号：3 1 7 - 3 2 1 から選択される；F c は所望により C - 末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAEAGGYG YYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGL KPGVDYTITVYAVEFDGAGYYHRPISINYR T-X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

30

40

【表 3 3】

512	2 3 8 2 E 0 9－ F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在する とき、E、E I、E I D、E I D K（配列番号：3 8 4） 、E I E および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択す ることができる；X 2 はヒン ジ配列配列番号：3 1 7－3 2 1 から選択される；F c は 所望により C－末端に K を含 み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAEAYGYRI TYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVDYT ITVYAVEYDFPGSGYYHRPISINYRT-X ₁ -X ₂ -VFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
513	2 3 8 1 A 0 4－ F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在する とき、E、E I、E I D、E I D K（配列番号：3 8 4） 、E I E および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択す ることができる；X 2 はヒン ジ配列配列番号：3 1 7－3 2 1 から選択される；F c は 所望により C－末端に K を含 み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWEPFSRLPGGGEY YRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYPYPFSGYYHRPISINYRT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

10

20

【表 3 4】

514	2 3 8 1 A 0 8－ F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在す るとき、E、E I、E I D 、E I D K（配列番号：3 8 4）、E I E および E I E K（配列番号：6 3 5） から選択することができる ；X 2 はヒンジ配列配列番 号：3 1 7－3 2 1 から選 択される；F c は所望によ り C－末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPADGGYG YYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGL KPGVDYTITVYAVEYDFPGAGYYHRPISINYR T-X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
515	2 3 8 1 B 1 0－ F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在す るとき、E、E I、E I D 、E I D K（配列番号：3 8 4）、E I E および E I E K（配列番号：6 3 5） から選択することができる ；X 2 はヒンジ配列配列番 号：3 1 7－3 2 1 から選 択される；F c は所望によ り C－末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAGGGYG YYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGL KPGVDYTITVYAVEYNFIGAGYYHRPISINYR T-X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

30

40

50

【表 3 5】

516	2 3 8 1 C 0 8 - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在するとき、E、E I、E I D、E I D K（配列番号：3 8 4）、E I E および E I E K（配列番号：6 3 5）から選択することができる；X 2 はヒンジ配列配列番号：3 1 7 - 3 2 1 から選択される；F c は所望により C - 末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPADGAYG YYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGL KPGVDYTITVYAVEFPYPFAGYYHRPISINR T-X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
517	2 3 8 1 G 0 6 - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在するとき、E、E I、E I D、E I D K（配列番号：3 8 4）、E I E および E I E K（配列番号：6 3 5）から選択することができる；X 2 はヒンジ配列配列番号：3 1 7 - 3 2 1 から選択される；F c は所望により C - 末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWSEKLDGKAR RGYYRITYGETGGNSPVQQFTVPVSKGTATIS GLKPGVDYTITVYAVEFPYDHSYYHRPISIN YRT-X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NKKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG

10

20

【表 3 6】

518	2 3 8 1 H 0 1 - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在するとき、E、E I、E I D、E I D K（配列番号：3 8 4）、E I E および E I E K（配列番号：6 3 5）から選択することができる；X 2 はヒンジ配列配列番号：3 1 7 - 3 2 1 から選択される；F c は所望により C - 末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWSPRDSTGLV RRGYRITYGETGGNSPVQQFTVPVSKGTATI SGLKPGVDYTITVYAVEYPYDHSYYHRPISI NYRT-X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
519	2 3 8 1 H 0 6 - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在するとき、E、E I、E I D、E I D K（配列番号：3 8 4）、E I E および E I E K（配列番号：6 3 5）から選択することができる；X 2 はヒンジ配列配列番号：3 1 7 - 3 2 1 から選択される；F c は所望により C - 末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWGDVRTNEAR QGYRITYGETGGNSPLQGFTVPVSKGTATIS GLKPGVDYTITVYAVEYTYEHSYYHRPISIN YRT-X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NKKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG

30

40

【表 3 7】

520	2 3 8 1 H O 9 - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在する とき、E、E I、E I D、E I D K（配列番号：3 8 4） 、E I E および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択す ることができる；X 2 はヒン ジ配列配列番号：3 1 7 - 3 2 1 から選択される；F c は 所望により C - 末端に K を含 み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAGGGYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEFDVFGAGYYHRPISINYRT-X ₁ -X ₂ -VF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
521	2 3 8 2 B 1 1 - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在する とき、E、E I、E I D、E I D K（配列番号：3 8 4） 、E I E および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択す ることができる；X 2 はヒン ジ配列配列番号：3 1 7 - 3 2 1 から選択される；F c は 所望により C - 末端に K を含 み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAAAYGYRI TYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVDYT ITVYAVEYDFAGSGYYHRPISINYRT-X ₁ -X ₂ -VFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPG

10

20

【表 3 8】

522	2 3 8 2 B O 8 - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在す るとき、E、E I、E I D 、E I D K（配列番号：3 8 4）、E I E および E I E K（配列番号：6 3 5） から選択することができる ；X 2 はヒンジ配列配列番 号：3 1 7 - 3 2 1 から選 択される；F c は所望によ り C - 末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPADAYGY YRITYGETGGNSPVQEFTVPSSKGTATISGLK PGVDYTITVYAVEFAFPAGAGYYHRPISINYRT -X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
523	2 3 8 2 C 1 1 - F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在す るとき、E、E I、E I D 、E I D K（配列番号：3 8 4）、E I E および E I E K（配列番号：6 3 5） から選択することができる ；X 2 はヒンジ配列配列番 号：3 1 7 - 3 2 1 から選 択される；F c は所望によ り C - 末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAGGYGY YRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLK PGVDYTITVYAVEYDFAGSGYYHRPISINYRT -X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

30

40

50

【表 39】

524	23 82 G0 3- Fc 融合物	X1は任意であり、存在するとき、E、EI、EID、EIDK（配列番号：384）、EIEおよびEIEK（配列番号：635）から選択することができる；X2はヒンジ配列配列番号：317-321から選択される；Fcは所望によりC-末端にKを含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAEAEAY GYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISG LKPVDYTTITVYAVEYVFPAGYYHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
525	23 82 H0 3- Fc 融合物	X1は任意であり、存在するとき、E、EI、EID、EIDK（配列番号：384）、EIEおよびEIEK（配列番号：635）から選択することができる；X2はヒンジ配列配列番号：317-321から選択される；Fcは所望によりC-末端にKを含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAEAGAYG YYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGL KPGVDYTTITVYAVEYPYFAGYYHRPISINYR T-X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

10

20

【表 40】

526	24 51 A1 0- Fc 融合物	X1は任意であり、存在するとき、E、EI、EID、EIDK（配列番号：384）、EIEおよびEIEK（配列番号：635）から選択することができる；X2はヒンジ配列配列番号：317-321から選択される；Fcは所望によりC-末端にKを含み得る	GVTDVPRDMEVVAATPTSLLISWQPPAVTYGY YRITYGETGGNSTLQQFTVPVYKGTATISGLK PGVDYTTITVYAVEYPYDHSGYYHRPISINYRT -X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
527	24 51 B0 2- Fc 融合物	X1は任意であり、存在するとき、E、EI、EID、EIDK（配列番号：384）、EIEおよびEIEK（配列番号：635）から選択することができる；X2はヒンジ配列配列番号：317-321から選択される；Fcは所望によりC-末端にKを含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAAAYGY YRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLK PGVDYTTITVYAVEFDYPGSGYYHRPISINYRT -X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

30

40

【表 4 1】

528	2 4 5 1 C 1 1－ F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在する とき、E、E I、E I D、E I D K（配列番号：3 8 4） 、E I E および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択す ることができる；X 2 はヒン ジ配列配列番号：3 1 7－3 2 1 から選択される；F c は 所望により C－末端に K を含 み得る	GIVDVPRDLEVVAATPTSLLISWDPPAGAYGYRI TYGETGGNSPKQFTVPQYKGTATISGLKPGVDYT ITVYAVEYPYDHSGYYHRPISINYRT-X ₁ -X ₂ -VFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
529	2 4 5 1 H O 1－ F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在する とき、E、E I、E I D、E I D K（配列番号：3 8 4） 、E I E および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択す ることができる；X 2 はヒン ジ配列配列番号：3 1 7－3 2 1 から選択される；F c は 所望により C－末端に K を含 み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAAGYGYRI TYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVDYT ITVYAVEYDFPGSGYYHRPISINYRT-X ₁ -X ₂ -VFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPG

10

20

【表 4 2】

530	2 0 1 1 B 1 1－ F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在す るとき、E、E I、E I D 、E I D K（配列番号：3 8 4）、E I E および E I E K（配列番号：6 3 5） から選択することができる ；X 2 はヒンジ配列配列番 号：3 1 7－3 2 1 から選 択される；F c は所望によ り C－末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWAPPSDAYGY YRITYGETGGNSPVQEFTVPIGKGTATISGLK PGVDYTITVYAVEYPYSHAGYYHRPISINYRT -X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNQKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
531	2 9 7 1 A 0 3－ F c 融合 物	X 1 は任意であり、存在す るとき、E、E I、E I D 、E I D K（配列番号：3 8 4）、E I E および E I E K（配列番号：6 3 5） から選択することができる ；X 2 はヒンジ配列配列番 号：3 1 7－3 2 1 から選 択される；F c は所望によ り C－末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDPPSDDYGY YRITYGETGGNSPVQEFTVPIGKGTATISGLK PGVDYTITVYAVEFPWPHAGYYHRPISINYRT -X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNQKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

30

40

50

【表 4 3】

532	2 9 7 1 A 0 9 - F c 融 合 物	X 1 は任意であり、存在するとき、E、E I、E I D、E I D K (配列番号: 3 8 4)、E I E および E I E K (配列番号: 6 3 5) から選択することができる; X 2 はヒンジ配列配列番号: 3 1 7 - 3 2 1 から選択される; F c は所望により C - 末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPADDYGY YRITYGETGGNSPVQEFTVPIGKTATISGLK PGVDYTITVYAVEFPWPHAGYYHRPISINYRT -X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
533	2 9 7 1 E 0 2 - F c 融 合 物	X 1 は任意であり、存在するとき、E、E I、E I D、E I D K (配列番号: 3 8 4)、E I E および E I E K (配列番号: 6 3 5) から選択することができる; X 2 はヒンジ配列配列番号: 3 1 7 - 3 2 1 から選択される; F c は所望により C - 末端に K を含み得る	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPSDDYGY YRITYGETGGNSPVQEFTVPIGKTATISGLK PGVDYTITVYAVEFPWPHAGYYHRPISINYRT -X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

10

20

【表 4 4】

X ₁ - F c - X ₂ - P C S K 9 アドネクチン N - 末端融合物			
534	F c - 1 4 5 9 D 0 5 融 合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号: 3 1 7 - 3 2 1 から選択される; X 2 はリンカー配列配列番号: 3 1 0 - 3 1 4 および 6 2 0 - 6 3 4 から選択される; X 3 は任意であり、存在するとき、配列番号: 3 8 0 - 3 9 5 および E I E K (配列番号: 6 3 5) から選択される C - 末端テール配列であり得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG-X ₂ -VSDVPRDLEV VAATPTSLLISWPPPSHGYGYRITYGETGGN SPVQEFTVPPGKGTATISGLKPGVDYTITVYA VEYPYKHSGYHYHRPISINYRT-X ₃
535	F c - 1 7 8 4 F 0 3 融 合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号: 3 1 7 - 3 2 1 から選択される; X 2 はリンカー配列配列番号: 3 1 0 - 3 1 4 および 6 2 0 - 6 3 4 から選択される; X 3 は任意であり、存在するとき、配列番号: 3 8 0 - 3 9 5 および E I E K (配列番号: 6 3 5) から選択される C - 末端テール配列であり得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG-X ₂ -VSDVPRDLEV VAATPTSLLISWRPPIHAYGYRITYGETGGN SPVQEFTVPIVEGTATISGLKPGVDYTITVYA VEYTFKHSGYHYHRPISINYRT-X ₃

30

40

【表 4 5】

536	F c — 1 7 8 4 F 0 3 — m 1 融 合物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7 — 3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0 — 3 1 4 および 6 2 0 — 6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 — 3 9 5 およびE I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れるC—末端テール配列であ り得る	X ₁ —VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG— X ₂ —VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWDAPIHAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPGSEGTATISGLKPGVDY TITVYAVEYTFKHSGYYHRPISINYRT—X ₃
537	F c — 1 7 8 4 F 0 3 — m 2 融 合物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7 — 3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0 — 3 1 4 および 6 2 0 — 6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 — 3 9 5 およびE I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れるC—末端テール配列であ り得る	X ₁ —VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG— X ₂ —VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWDAPAHAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPGSKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEYTFKHSGYYHRPISINYRT—X ₃

10

20

30

【表 4 6】

538	F c — 1 7 8 4 F 0 3 — m 3 融 合物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7 — 3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0 — 3 1 4 および 6 2 0 — 6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 — 3 9 5 およびE I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れるC—末端テール配列であ り得る	X ₁ —VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG— X ₂ —VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPGSKSTATISGLKPGVDY TITVYAVEYTFKHSGYYHRPISINYRT—X ₃
539	F c — 1 8 1 3 E 0 2 融 合物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7 — 3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0 — 3 1 4 および 6 2 0 — 6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 — 3 9 5 およびE I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れるC—末端テール配列であ り得る	X ₁ —VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG— X ₂ —VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWSPPANGYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVGRGTATISGLKPGVDY TITVYAVEYTYKSGYYHRPISINYRT—X ₃

10

20

30

【表 4 7】

540	F c — 1 9 2 3 B 0 2 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7 — 3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0 — 3 1 4 および 6 2 0 — 6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 — 3 9 5 およびE I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れるC—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWTPPPKGYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVGEGTATISGLKPGVDY TITVYAVEYTYNGAGYYHRPISINYRT-X ₃
541	F c — 1 9 2 3 B 0 2 (N 8 2 I) 融 合物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7 — 3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0 — 3 1 4 および 6 2 0 — 6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 — 3 9 5 およびE I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れるC—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWTPPPKGYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVGEGTATISGLKPGVDY TITVYAVEYTYIGAGYYHRPISINYRT-X ₃

10

20

30

【表 4 8】

542	F c — 1 9 2 3 B 0 2 (N 8 2 E) 融 合物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K (配 列番号：6 3 5) から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWTPPPKGYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVGEATISGLKPGVDY TITVYAVEYTYEGAGYYHRPISINYRT-X ₃
543	F c — 1 9 2 3 B 0 2 (T 8 0 A) 融 合物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K (配 列番号：6 3 5) から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWTPPPKGYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVGEATISGLKPGVDY TITVYAVEYAYNGAGYYHRPISINYRT-X ₃

10

20

30

【表 4 9】

544	F c — 1 9 2 2 G 0 4 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWRPPSHAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPIGKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEYPWKGSGYYHRPISINYRT-X ₃
545	F c — 1 9 2 2 G 0 4 (R 2 5 D) 融 合物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWDPPSHAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPIGKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEYPWKGSGYYHRPISINYRT-X ₃

10

20

30

【表 50】

546	F c — 1 9 2 2 G 0 4 (R 2 5 E) 融 合物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K (配 列番号：6 3 5) から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWEPPSHAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPIGKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEYPWKGSGYYHRPISINYRT-X ₃
547	F c — 1 9 2 2 G 0 4 (R 2 5 S) 融 合物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K (配 列番号：6 3 5) から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWSPSHAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPIGKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEYPWKGSGYYHRPISINYRT-X ₃

10

20

30

【表 5 1】

548	F c — 2 0 1 2 A 0 4 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7 — 3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0 — 3 1 4 および 6 2 0 — 6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 — 3 9 5 およびE I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れるC—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG— X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWRPPSNHGYYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVNEGATISGLKPGVDY TITVYAVEFPFKWSGYHHRPISINYRT-X ₃
549	F c — 2 0 1 3 E 0 1 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7 — 3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0 — 3 1 4 および 6 2 0 — 6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 — 3 9 5 およびE I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れるC—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG— X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWPPSDDYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPIGKGATISGLKPGVDY TITVYAVEFPWPHAGYYHHRPISINYRT-X ₃

10

20

30

【表 5 2】

550	F c — 2 0 1 1 H 0 5 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7 — 3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0 — 3 1 4 および 6 2 0 — 6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 — 3 9 5 およびE I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れるC—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG— X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWVPSSHAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVGVTATISGLKPGVDY TITVYAVEYAFEGAGYYHRPISINYRT-X ₃
551	F c — 2 0 1 1 H 0 5 (V 2 3 D) 融 合物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7 — 3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0 — 3 1 4 および 6 2 0 — 6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 — 3 9 5 およびE I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れるC—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG— X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWDPSHAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVGVTATISGLKPGVDY TITVYAVEYAFEGAGYYHRPISINYRT-X ₃

10

20

30

【表 5 3】

552	F c — 2 0 1 1 H 0 5 (V 2 3 E) 融 合物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K (配 列番号：6 3 5) から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG— X ₂ -VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWEPSSHAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVGVGTATISGLKPGVDY TITVYAVEYAFEGAGYYHRPISINYRT-X ₃
553	F c — 2 3 8 1 B 0 2 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K (配 列番号：6 3 5) から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG— X ₂ -VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWEPFSRLPGGGE YYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEYPYDYSGLYYHRPISINYRT-X ₃

10

20

30

【表 5 4】

554	F c — 2 3 8 1 B 0 4 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7 — 3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0 — 3 1 4 および 6 2 0 — 6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 — 3 9 5 およびE I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れるC—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG— X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWEPFSRLPGGGE YYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEYPYEHSGYYHRPISINRYT-X ₃
555	F c — 2 3 8 1 B 0 6 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7 — 3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0 — 3 1 4 および 6 2 0 — 6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 — 3 9 5 およびE I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れるC—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG— X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWEPFSRLPGGGE YYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEYPYPHSGYYHRPISINRYT-X ₃

10

20

30

【表 5 5】

556	F c — 2 3 8 1 B 0 8 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWDAPADGGYGY RITYGETGGNSPVQFTVPSSKGTATISGLKPGVD YTITVYAVEYTFPGAGYYHRPISINRYT-X ₃
557	F c — 2 3 8 1 D 0 2 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWEPFSRLPGGGE YYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEYPYDHSGYYHRPISINRYT-X ₃

10

20

30

【表 5 6】

558	F c — 2 3 8 1 D 0 4 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWEPFSRLPGGGE YYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEFPYDHSGYYHRPISINVRT-X ₃
559	F c — 2 3 8 1 F 1 1 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWDAPADGGYGY RITYGETGGNSPVQEFTVPVSKSTATISGLKPGVD YTITVYAVEYTFPGAGYYHRPISINVRT-X ₃

10

20

30

【表 57】

560	F c — 2 3 8 1 G 0 3 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWEPFSRLPGGGE YYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEFPYAHSAGYYHRPISINRYT-X ₃
561	F c — 2 3 8 1 G 0 9 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWDAPAGDGYGY RITYGETGGNSPVQEFTVPSKGTATISGLKPGVD YTITVYAVEFTFPGAGYYHRPISINRYT-X ₃

10

20

30

【表 58】

562	F c — 2 3 8 1 H 0 3 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWEPFSRLPGGGE YYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEYPYAHSYGYPHRPISINVRT-X ₃
563	F c — 2 3 8 2 A 0 1 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWAAPAGGGYGY RITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVD YTITVYAVEYDFPGAGYYHRPISINVRT-X ₃

10

20

30

【表 5 9】

564	F c — 2 3 8 2 B 1 0 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 およびE I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れるC—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPADAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPSSKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEYDFPGSGYYHRPISINYRT-X ₃
565	F c — 2 3 8 2 B 0 9 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 およびE I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れるC—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPADAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEFDYPGSGYYHRPISINYRT-X ₃

10

20

30

【表 60】

566	F c — 2 3 8 2 C 0 5 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWDAPADGAYGY RITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVD YTITVYAVEYSFPGAGYYHRPISINYRT-X ₃
567	F c — 2 3 8 2 C 0 9 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWDAPAEGYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEFDPPGSGYYHRPISINYRT-X ₃

10

20

30

【表 6 1】

568	F c — 2 3 8 2 D 0 3 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWDAPADEAYGY RITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVD YTITVYAVEFDFPGAGYYHRPISINRYT-X ₃
569	F c — 2 3 8 2 D 0 5 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWDAPADGGYGY RITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVD YTITVYAVEFDFPGAGYYHRPISINRYT-X ₃

10

20

30

【表 6 2】

570	F c — 2 3 8 2 D 0 8 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7 — 3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0 — 3 1 4 および 6 2 0 — 6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 — 3 9 5 およびE I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れるC—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWDAPADGYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEFPFPGSGYYHRPISINYRT-X ₃
571	F c — 2 3 8 2 D 0 9 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7 — 3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0 — 3 1 4 および 6 2 0 — 6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 — 3 9 5 およびE I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れるC—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWDAPAEGYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEFDPPGAGYYHRPISINYRT-X ₃

10

20

30

【表 6 3】

572	F c — 2 3 8 2 F 0 2 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFLYSLKTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWDAPAGGGYGY RITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVD YTITVYAVEFDFPGSGYYHRPISINYRT-X ₃
573	F c — 2 3 8 2 F 0 3 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFLYSLKTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWDAPAADAYGY RITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVD YTITVYAVEFNFPAGAGYYHRPISINYRT-X ₃

10

20

30

【表 6 4】

574	F c — 2 3 8 2 F 0 5 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 およびE I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れるC—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWDAPAEAGKHYG YYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEFDGPGAGYYHRPISINYRT-X ₃
575	F c — 2 3 8 2 F 0 8 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 およびE I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れるC—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWDAPAEAYGYRR ITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEFTYPGSGYYHRPISINYRT-X ₃

10

20

30

【表 6 5】

576	F c — 2 3 8 2 F 0 9 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7 — 3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0 — 3 1 4 および 6 2 0 — 6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 — 3 9 5 およびE I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れるC—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG— X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWDAPAAAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEYDFPGSGYYHRPISINYRT-X ₃
577	F c — 2 3 8 2 G 0 4 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7 — 3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0 — 3 1 4 および 6 2 0 — 6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 — 3 9 5 およびE I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れるC—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG— X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWDAPAGGGYGY RITYGETGGNSPVQEFTVPSSKGTATISGLKPGVD YTITVYAVEFDFPGAGYYHRPISINYRT-X ₃

10

20

30

【表 6 6】

578	F c — 2 3 8 2 H 1 0 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWDAPAGGYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEFDPPGSGYYHRPISINYRT-X ₃
579	F c — 2 3 8 2 H 1 1 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWDAPADGYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVFKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEFDYPPGSGYYHRPISINYRT-X ₃

10

20

30

【表 67】

580	F c — 2 3 8 2 H 0 4 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWDAPAAGGYGY RITYGETGGNSPVQEFTVPSSKGTATISGLKPGVD YTITVYAVEYDFPGAGYYHRPISINYRT-X ₃
581	F c — 2 3 8 2 H 0 7 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWDAPADAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPGSKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEFDFPGSGYYHRPISINYRT-X ₃

10

20

30

【表 6 8】

582	F c — 2 3 8 2 H 0 9 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 およびE I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れるC—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAAAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPSSKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEFDFPGSGYYHRPISINYRT-X ₃
583	F c — 2 4 5 1 A 0 2 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 およびE I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れるC—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAAAGYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEFPFPGSGYYHRPISINYRT-X ₃

10

20

30

【表 6 9】

584	F c — 2 4 5 1 B 0 5 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFLYSLKTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAGGYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPSSKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEFDYPGSGYYHRPISINYRT-X ₃
585	F c — 2 4 5 1 B 0 6 融合 物（と 同等 物 2 3 8 2 D 0 5）	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFLYSLKTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPADGGYGY RITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVD YTITVYAVEFDYFPGAGYYHRPISINYRT-X ₃

10

20

30

【表 70】

586	F c — 2 4 5 1 C 0 6 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFLYSLKTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWDAPAGAASYGY YRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFPFPGAGYYHRPISINYRT-X ₃
587	F c — 2 4 5 1 D 0 5 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFLYSLKTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWDAPAGAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEFDPPGSGYYHRPISINYRT-X ₃

10

20

30

【表 7 1】

588	F c — 2 4 5 1 F 0 3 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7 — 3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0 — 3 1 4 および 6 2 0 — 6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 — 3 9 5 およびE I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れるC—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG— X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWDPPAEGYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEFNFPGSGYYHRPISINYRT-X ₃
589	F c — 2 4 5 1 G 0 1 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7 — 3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0 — 3 1 4 および 6 2 0 — 6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 — 3 9 5 およびE I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れるC—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG— X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWDAPAGGYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPSSKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEFDPPGSGYYHRPISINYRT-X ₃

10

20

30

【表 7 2】

590	F c — 2 4 5 1 H 0 7 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 およびE I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れるC—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -ITDVPRDLEVVAATPTSLLISWNPPDVNYGYR ITYGETGGNSPLQEFTVPVSKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEYPYAHAGYYHRPISINYRT-X ₃
591	F c — 2 3 8 2 E 0 3 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 およびE I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れるC—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAGDGYGY RITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVD YTITVYAVEFDGPGAGYYHRPISINYRT-X ₃

10

20

30

【表 7 3】

592	F c — 2 3 8 2 E 0 4 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7 — 3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0 — 3 1 4 および 6 2 0 — 6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 — 3 9 5 およびE I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れるC—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWDAPAGGGYGY RITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVD YTITVYAVEFTFPGAGYYHRPISINVRT-X ₃
593	F c — 2 3 8 2 E 0 5 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7 — 3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0 — 3 1 4 および 6 2 0 — 6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 — 3 9 5 およびE I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れるC—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWDAPAEAGGYGY RITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVD YTITVYAVEFDFFPGAGYYHRPISINVRT-X ₃

10

20

30

【表 7 4】

594	F c — 2 3 8 2 E 0 9 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWDAPAEAYGYR ITYGETGGNSPVQEFVTVPSKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEYDFPGSGYYHRPISINYRT-X ₃
595	F c — 2 3 8 1 A 0 4 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWEPFSRLPGGGE YYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEYPYPFSGYYHRPISINYRT-X ₃

10

20

30

【表 7 5】

596	F c — 2 3 8 1 A 0 8 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 およびE I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れるC—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWDAPADGGGYGY RITYGETGGNSPVQEFTVPGSKGTATISGLKPGVD YTITVYAVEYDFPGAGYYHRPISINYRT-X ₃
597	F c — 2 3 8 1 B 1 0 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 およびE I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れるC—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWDAPAGGGGYGY RITYGETGGNSPVQEFTVPSKGTATISGLKPGVD YTITVYAVEYNFIGAGYYHRPISINYRT-X ₃

10

20

30

【表 7 6】

598	F c — 2 3 8 1 C 0 8 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPADGAYGY RITYGETGGNSPVQFTVPVSKGTATISGLKPGVD YTITVYAVEFPYPFAGYYHRPISINYRT-X ₃
599	F c — 2 3 8 1 G 0 6 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWSEKLDGKARRG YYRITYGETGGNSPVQQFTVPGSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEFPYDHSGYYHRPISINYRT-X ₃

10

20

30

【表 77】

600	F c — 2 3 8 1 H 0 1 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWSPRDSTGLVRR GYYRITYGETGGNSPVQQFTVPGSKGTATISGLKP GVDYTTITVYAVEYPYDHSGYYHRPISINYRT-X ₃
601	F c — 2 3 8 1 H 0 6 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWGDVRTNEARQG YYRITYGETGGNSPLQGFTVPGSKGTATISGLKPG VDYTTITVYAVEYTYEHSYYHRPISINYRT-X ₃

10

20

30

【表 7 8】

602	F c — 2 3 8 1 H 0 9 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 およびE I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れるC—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWDAPAGGGYGY RITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVD YTITVYAVEFDFVGAGYYHRPISINYRT-X ₃
603	F c — 2 3 8 2 B 1 1 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 およびE I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れるC—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWDAPAAAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEYDFAGSGYYHRPISINYRT-X ₃

10

20

30

【表 7 9】

604	F c — 2 3 8 2 B 0 8 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWDAPADAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPSSKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEFAFPGAGYYHRPISINYRT-X ₃
605	F c — 2 3 8 2 C 1 1 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWDAPAGGYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEYDFAGSGYYHRPISINYRT-X ₃

10

20

30

【表 80】

606	F c — 2 3 8 2 G 0 3 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7 — 3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0 — 3 1 4 および 6 2 0 — 6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 — 3 9 5 およびE I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れるC—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAEAEAYGY YRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYVFPAGAGYYHRPISINYRT-X ₃
607	F c — 2 3 8 2 H 0 3 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7 — 3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0 — 3 1 4 および 6 2 0 — 6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 — 3 9 5 およびE I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れるC—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAEAGAYGY RITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVD YTITVYAVEYPYPFAGAGYYHRPISINYRT-X ₃

10

20

30

【表 8 1】

608	F c — 2 4 5 1 A 1 0 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VTDVPRDMEVVAATPTSLLISWQPPAVTYGYRR ITYGETGGNSTLQQFTVPVYKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEYPYDHSGYYHRPISINYRT-X ₃
609	F c — 2 4 5 1 B 0 2 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG- X ₂ -VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAAAYGYRR ITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEFDYPGSGYYHRPISINYRT-X ₃

10

20

30

【表 8 2】

610	F c — 2 4 5 1 C 1 1 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7 — 3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0 — 3 1 4 および 6 2 0 — 6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 — 3 9 5 およびE I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れるC—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG— X ₂ -IVDVPRDLEVVAATPTSLLISWDPPAGAYGYR ITYGETGGNSPKQQTVPYKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEYPYDHSGYYHRPISINYRT-X ₃
611	F c — 2 4 5 1 H 0 1 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7 — 3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0 — 3 1 4 および 6 2 0 — 6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 — 3 9 5 およびE I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れるC—末端テール配列であ り得る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTV DKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG— X ₂ -VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAAGYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEYDFPGSGYYHRPISINYRT-X ₃

10

20

30

【表 8 3】

612	F c - 2 0 1 1 B 1 1 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号 : 3 1 7 - 3 2 1 から選択 される; X 2 はリンカー配 列配列番号: 3 1 0 - 3 1 4 および 6 2 0 - 6 3 4 か ら選択される; X 3 は任意 であり、存在するとき、配 列番号: 3 8 0 - 3 9 5 お よび E I E K (配列番号: 6 3 5) から選択される C - 末端テール配列であり得 る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM HEALHNHYTQKSLSLSPG-X ₂ -VSDVPRDLEV VAATPTSLLISWAPPSDAYGYRITYGETGGN SPVQEFTVPIGKGATISGLKPGVDYITITVYA VEYPYSHAGYYHRPISINVRT-X ₃
613	F c - 2 9 7 1 A 0 3 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号 : 3 1 7 - 3 2 1 から選択 される; X 2 はリンカー配 列配列番号: 3 1 0 - 3 1 4 および 6 2 0 - 6 3 4 か ら選択される; X 3 は任意 であり、存在するとき、配 列番号: 3 8 0 - 3 9 5 お よび E I E K (配列番号: 6 3 5) から選択される C - 末端テール配列であり得 る	X ₁ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM HEALHNHYTQKSLSLSPG-X ₂ -VSDVPRDLEV VAATPTSLLISWDPPSDDYGYRITYGETGGN SPVQEFTVPIGKGATISGLKPGVDYITITVYA VEFPWPHAGYYHRPISINVRT-X ₃

10

20

【表 8 4】

614	F c — 2 9 7 1 A 0 9 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ —VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDFLYSKLTV DKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG— X ₂ —VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPADDYGYRR ITYGETGGNSPVQEFTVPIGKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEFPWPHAGYYHRPISINYRT—X ₃
615	F c — 2 9 7 1 E 0 2 融合 物	X 1 はヒンジ配列配列番号： 3 1 7—3 2 1 から選択され る；X 2 はリンカー配列配列 番号：3 1 0—3 1 4 および 6 2 0—6 3 4 から選択され る；X 3 は任意であり、存在 するとき、配列番号：3 8 0 —3 9 5 および E I E K（配 列番号：6 3 5）から選択さ れる C—末端テール配列であ り得る	X ₁ —VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDFLYSKLTV DKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG— X ₂ —VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPSDDYGYRR ITYGETGGNSPVQEFTVPIGKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEFPWPHAGYYHRPISINYRT—X ₃

10

20

30

【0 1 3 1】

いくつかの態様において、抗—P C S K 9 アドネクチンは、F n 3 ドメインおよび P K 部分を含む。いくつかの態様において、F n 3 ドメインは^{1 0} F n 3 ドメインである。いくつかの態様において、P K 部分は、F n 3 ドメイン単独と比較して、5、1 0、2 0、3 0、4 0、5 0、6 0、7 0、8 0、9 0、1 0 0、1 2 0、1 5 0、2 0 0、4 0 0、6 0 0、8 0 0、1 0 0 0 % 以上、またはそれ以上ポリペプチドの血清半減期を増加させる。

【0 1 3 2】

いくつかの態様において、P K 部分はポリマー糖である。いくつかの態様において、P K 部分はポリエチレングリコール部分である。いくつかの態様において、P K 部分は血清アルブミン結合タンパク質である。いくつかの態様において、P K 部分はヒト血清アルブミンである。いくつかの態様において、P K 部分は血清免疫グロブリン結合タンパク質である。いくつかの態様において、P K 部分はトランスフェリンである。

40

【0 1 3 3】

いくつかの態様において、P K 部分は、血清タンパク質、例えば、H S A に対して特異的な別のアドネクチンである。本出願は、本明細書に記載されているとおり、特異的血清アルブミン結合アドネクチン分子（または S A B A）を提供する。1 つの態様において、S A B A に融合された P C S K 9 アドネクチンは、一般的に、以下のとおりに定義することができる：X₁—P C S K 9 アドネクチン—コア—X₂—X₃—X₄—S A B A—コア—X₅（配列番号：6 1 8）、または X₁—S A B A—コア—X₂—X₃—X₄—P C S

50

K9アドネクチン コア- X_5 (配列番号: 619)、式中 X_1 および X_4 は任意のN-末端伸長配列を示し、 X_2 および X_5 は任意のC-末端伸長配列を示し、そして X_3 はリンカーである。1つの態様において、配列番号: 618および619のアドネクチン (PCSK9または血清アルブミン結合のいずれか) は、アドネクチンの「コア」領域を含む、すなわち、PCSK9アドネクチンコア配列は、表4に示されるPCSK9アドネクチン配列のいずれか1つであり得、該配列は配列番号: 1のE8に対応するアミノ酸残基で開始し、配列番号: 1の残基T94に対応するアミノ酸で終結し; そして、SABAコア配列は、表6に示されるSABAコア配列のいずれかから選択され得る。

【0134】

いくつかの態様において、 X_1 および X_4 は独立して任意であり、存在するとき、独立して表6に記載されている配列番号: 371-379から選択され、そして、このような残基がすでに存在しないとき、所望によりN-末端でM、GまたはMG配列を含み得る。哺乳動物系における発現のために、融合タンパク質は、N-末端でリーダー配列、例えば、METDTLLLVVLLLVVPGSTG (配列番号: 326) をさらに含み得る。いくつかの態様において、 X_2 および X_5 は独立して任意であり、存在するとき、独立して表6に記載されている配列番号: 380-395から選択される。1つの態様において、 X_3 は、表6に記載されている配列番号: 396-419から選択されるリンカー配列である。表2に示される配列は、抗-PCSK9アドネクチンおよびSABAの典型的な融合物を示す。本出願に記載されているあらゆるPCSK9アドネクチンおよびSABA配列が、これらの立体配置に組み込まれ得ることを理解すべきである。

表2

10

20

【表 8 5】

典型的な P C S K 9 アドネクチン- S A B A 融合物配列			
配列番号	クローンまたは名前	記述	配列
616	P C S K 9 アドネクチン- S A B A 融合物	P C S K 9 アドネクチン配列は下線を引かれており; S A B A 配列は太字である。P C S K 9 アドネクチン配列はクローン 2 0 1 3 E 0 1 由来のコア領域であり; S A B A 配列は S A B A 1 (配列番号: 3 3 0) 由来である	X ₁ - <u>EVVAATPTSLLISWVPPSDDYGYRITY</u> <u>GETGGNSPVQEFTVPPIGKGTATISGLKP</u> <u>GVDYTITVYAVEFPWPHAGYYHRPISIN</u> YRT-X ₂ -X ₃ -X ₄ - EVVAATPTSLLISWHSYYEQNSYYRITY GETGGNSPVQEFTVPYSQTTATISGLKP GVDYTITVYAVYGSKYYYPISINYRT- X ₅
617	S A B A - P C S K 9 アドネクチン融合物	S A B A 配列は太字であり; P C S K 9 アドネクチン配列は下線を引かれている。S A B A 配列は S A B A 1 (配列番号: 3 3 0) 由来であり; P C S K 9 アドネクチン配列はクローン 2 0 1 3 E 0 1 由来のコア領域である	X ₁ - EVVAATPTSLLISWHSYYEQNSYYRITY GETGGNSPVQEFTVPYSQTTATISGLKP GVDYTITVYAVYGSKYYYPISINYRT- X ₂ -X ₃ -X ₄ - <u>EVVAATPTSLLISWVPPSDDYGYRITY</u> <u>GETGGNSPVQEFTVPPIGKGTATISGLKP</u> <u>GVDYTITVYAVEFPWPHAGYYHRPISIN</u> YRT-X ₅

【0 1 3 5】

生物物理学的および生化学的特性化

本出願は、P C S K 9 に結合する F n 3 ドメインを含むアドネクチンを提供する。標的分子へのポリペプチド結合は、平衡定数（例えば、解離、 K_D ）および速度定数（例えば、結合の速度定数、 K_{on} および解離の速度定数、 k_{off} ）について評価され得る。アドネクチンは、一般的に、500 nM、100 nM、10 nM、1 nM、500 pM、200 pM、100 pM 未満の K_D で標的分子に結合するが、より高い K_D 値は、 K_{off} が十分に低いか、または K_{on} が十分に高いとき許容され得る。

【0 1 3 6】

本発明の抗-P C S K 9 アドネクチンの B C、D E および F G ループの配列番号は、表 3 に示される。

表 3

抗-P C S K 9 アドネクチン B C、D E および F G ループ

【表 8 6】

クローン番号	親和性 (K_D , nM)	PCSK9- EGFA FRET (EC_{50} , nM)	LDLR 枯渇 (75nMでの 阻害%, EC_{50} (nM))	BCグループ	配列 番号	DEグループ	配列 番号	FGグループ	配列 番号
1459D05	14.4† 1.58* 26^	4	66.8, >200	SWPPSHGYG	2	PECKGT	18	EYFKHSGYIHRP	28
1784F03	3.8^	2	150.2, 26±13	SWRPIHAYG	3	PIVEGT	19	EYFKHSGYIHRP	29
1784F03-m1	nd	nd	nd, >2000	SWDAPHAYG	4	PGSEGT	20	EYFKHSGYIHRP	29
1784F03-m2	nd	nd	nd, >2000	SWDAPAHAYG	5	PGSKGT	21	EYFKHSGYIHRP	29
1784F03-m3	nd	nd	nd, >2000	SWDATAVTYG	6	PGSKST	22	EYFKHSGYIHRP	29
1813E02	<2^	1.3	nd, 16	SWSPFANGYG	7	PVGRGT	23	EYFKGSGYIHRP	30
1923B02	0.173*	2.3	178.0, 23±7	SWTPPPKGYG	8	PVGEGT	24	EYFYNGAGYIHRP	31
1923B02(N82I)	nd	nd	nd, 14	SWTPPPKGYG	8	PVGEGT	24	EYFYIGAGYIHRP	32
1923B02(N82E)	nd	nd	nd, 28	SWTPPPKGYG	8	PVGEGT	24	EYFIEGAGYIHRP	33
1923B02(T80A)	nd	nd	nd, 42	SWTPPPKGYG	8	PVGEGT	24	EYAYNGAGYIHRP	34
1922G04	0.09*	1.2	105.1, 10±2	SWRPPSHAYG	9	PIGKGT	25	EYFKGSGYIHRP	35
1922G04(R25D)	nd	2.5	nd, 29±8	SWDPPSHAYG	10	PIGKGT	25	EYFKGSGYIHRP	35

10

20

30

40

【表 8 7】

クローン番号	親和性 (K_D , nM)	PCSK9- EGFA FRET (EC_{50} , nM)	LDLR 枯渇 (75nMでの 阻害%, EC_{50} (nM))	BCグループ	配列 番号	DEグループ	配列 番号	FGグループ	配列 番号
1922G04(R25E)	nd	3.5	nd, 29±18	SWEPPSSHAIG	11	PIGKGT	25	EYPNKGSGYHRP	35
1922G04(R25S)	nd	nd	nd, 21	SWSPSSHAYG	12	PIGKGT	25	EYPNKGSGYHRP	35
2012A04	0.25*	2.1	144.5, 12±6	SWRPSSNGHG	13	PVNEG	26	EFPNKGSGYHRP	36
2013E01	1.51† 0.29*	1.6	165.5, 10±4	SWPSSDDYG	14	PIGKGT	25	EFPNKGSGYHRP	37
2011H05	0.08*	2.7	197.6, 12±5	SWRPSSHAIG	15	PVGVT	27	EYAFEGAGYHRP	38
2011H05(V23D)	nd	5.5	nd, 18±3	SWDPSSHAIG	16	PVGVT	27	EYAFEGAGYHRP	38
2011H05(V23E)	nd	7.4	nd, 12±3	SWPSSHAIG	17	PVGVT	27	EYAFEGAGYHRP	38
2381B02(1)	3.29†	2.5	125.4, nd	SWEPTSRLPGGGE	106	PGSKGT	21	EYPYDSGYHRP	142
2381B04(1)	0.527†	2.4	121.6, nd	SWEPTSRLPGGGE	106	PGSKGT	21	EYPIEHSGYHRP	143
2381B06(1)	nd	3.5	119.7, nd	SWEPTSRLPGGGE	106	PGSKGT	21	EYPIEHSGYHRP	144
2381B08	4.11†	2.6	124.8, nd	SWDAPADGGYG	107	PSSKGT	136	EYTFEGAGYHRP	145
2381D02(1)	nd	3.1	185.0, nd	SWEPTSRLPGGGE	106	PGSKGT	21	EYPIEHSGYHRP	146
2381D04(1)	0.237†	2.9	119.2, nd	SWEPTSRLPGGGE	106	PGSKGT	21	EYPIEHSGYHRP	147
2381F11	1.59†	4	110.2, nd	SWDAPADGGYG	107	PVSKGT	137	EYTFEGAGYHRP	145
2381G03(1)	nd	3.4	70.2, nd	SWEPTSRLPGGGE	106	PGSKGT	21	EYPIEHSGYHRP	148

10

20

30

40

【表 8 8】

クローン番号	親和性 (K_D , nM)	PCSK9- EGFA FRET (EC_{50} , nM)	LDLR 枯渇 (75nMでの 阻害%, EC_{50} (nM))	BCグループ	配列 番号	DEグループ	配列 番号	FGグループ	配列 番号
2381G09	1.12†	3.1	133.0, nd	SWDAPAGDGIG	108	PVSKGT	138	EFTFPGAGYHRP	149
2381H03(1)	nd	3.4	89.8, nd	SWEPFRLPGGGE	106	PGSKGT	21	EYPYAHSGYHRP	150
2382A01	nd	12.9	119.8, nd	SWAAPAGGGGIG	109	PVSKGT	138	EYDFPGAGYHRP	151
2382B10	2.35†	3	100.2, nd	SWDAPADAYG	110	PSSKGT	136	EYDFPGSGYHRP	152
2382B09	0.656†	3.8	105.0, nd	SWDAPADAYG	110	PVSKGT	138	EYDFPGSGYHRP	153
2382C05	2.49†	4	105.3, nd	SWDAPADGAYG	111	PVSKGT	138	EYSFPGAGYHRP	154
2382C09	0.757†	3.5	121.7, nd	SWDAPAEIGYG	112	PVSKGT	138	EYDFPGSGYHRP	155
2382D03	1.53†	3.3	80.4, nd	SWDAPADEAYG	113	PVSKGT	138	EYDFPGAGYHRP	156
2382D05	0.314†	2.6	140.5, nd	SWDAPADGGYG	107	PVSKGT	138	EYDFPGAGYHRP	156
2382D08	nd	3.1	106.6, nd	SWDAPADGIG	114	PVSKGT	138	EYDFPGSGYHRP	157
2382D09	0.304†	2.6	109.1, nd	SWDAPAEIGYG	112	PVSKGT	138	EYDFPGAGYHRP	156
2382F02	nd	2.6	-6.3, nd	SWDAPAGGGYG	115	PVSKGT	138	EYDFPGSGYHRP	155
2382F03	nd	2.7	88.6, nd	SWDAPADAYG	116	PVSKGT	138	EYDFPGAGYHRP	158
2382F05	4.54†	2.4	72.2, nd	SWDAPAEAGKHIG	117	PVSKGT	138	EYDFPGAGYHRP	156
2382F08	nd	2.5	105.0, nd	SWDAPAEAYG	118	PVSKGT	138	EYDFPGSGYHRP	159
2382F09	nd	3.1	109.7, nd	SWDAPAGAYG	119	PVSKGT	138	EYDFPGSGYHRP	152

10

20

30

40

【表 8 9】

クローン番号	親和性 (K_D , nM)	PCSK9- EGFA FRET (EC_{50} , nM)	LDLR 枯渇 (75nMでの 阻害%, EC_{50} (nM))	BCグループ	配列 番号	DEグループ	配列 番号	FGグループ	配列 番号
2382G04	1.11†	2.9	146.1, nd	SWDAPAGGGYG	115	PSSKGT	136	EEDEPGAGYHRP	156
2382H10	1.40†	2.6	118.6, nd	SWDAPAGGGYG	120	PVSKGT	138	EEDEPGSGYHRP	155
2382H11	nd	2.9	117.2, nd	SWDAPADGGYG	114	PVSKGT	139	EEDEPGSGYHRP	153
2382H04	nd	3.2	68.2, nd	SWDAPAGGGYG	121	PSSKGT	136	EYDEPGAGYHRP	151
2382H07	nd	2.7	86.2, nd	SWDAPADGGYG	110	PSSKGT	21	EEDEPGSGYHRP	155
2382H09	1.86†	0.9	101.2, nd	SWDAPAGGGYG	119	PSSKGT	136	EEDEPGSGYHRP	155
2451A02	nd	3.2	106.4, nd	SWDAPAGGGYG	122	PVSKGT	138	EEDEPGSGYHRP	157
2451B05	nd	6.3	91.7, nd	SWDAPAGGGYG	120	PSSKGT	136	EEDEPGSGYHRP	153
2451B06	nd	4.5	92.2, nd	SWDAPADGGYG	107	PVSKGT	138	EEDEPGAGYHRP	156
2451C06	1.27†	1.2	89.4, nd	SWDAPAGAGSYG	123	PVSKGT	138	EEDEPGAGYHRP	160
2451D05	nd	2.8	115.0, nd	SWDAPAGAGYG	124	PVSKGT	138	EEDEPGSGYHRP	155
2451F03	nd	2.8	113.2, nd	SWDPPAEGYG	125	PVSKGT	138	EEDEPGSGYHRP	161
2451G01	nd	3.8	90.8, nd	SWDAPAGGGYG	120	PSSKGT	136	EEDEPGSGYHRP	155
2451H07(2)	2.08†	0.2	88.8, nd	SWNPDNNG	126	PVSKGT	138	EYDPAHAGYHRP	162
2382E03	2.94†	2.4	89.5, nd	SWDAPAGGGYG	108	PVSKGT	138	EEDEPGAGYHRP	156
2382E04	nd	3	61.5, nd	SWDAPAGGGYG	115	PVSKGT	138	EEDEPGAGYHRP	149

10

20

30

40

【表 90】

クローン番号	親和性 (K_D , nM)	PCSK9- EGFA FRET (EC_{50} , nM)	LDLR 枯渇 (75nMでの 阻害%, EC_{50} (nM))	BCグループ	配列 番号	DEグループ	配列 番号	FGグループ	配列 番号
2382E05	0.604†	2.8	103.5, nd	SWDAPAEGGIG	127	PVSKGT	138	EYDFPGAGYHRP	156
2382E09	nd	6.2	97.2, nd	SWDAPAEAYG	118	PVSKGT	138	EYDFPGSGYHRP	152
2381A04(1)	nd	3.3	100.1, nd	SWEPFSRLPGGG	106	PGSKGT	21	EYDFPGSGYHRP	163
2381A08	nd	3.6	91.4, nd	SWDAPADGGIG	107	PGSKGT	21	EYDFPGAGYHRP	151
2381B10	nd	7.3	96.4, nd	SWDAPAGGGIG	115	PVSKGT	138	EYDFPGAGYHRP	164
2381C08	nd	0.7	15.3, nd	SWDAPADGAYG	111	PVSKGT	138	EYDFPGAGYHRP	165
2381G06(3)	nd	9	57.7, nd	SWSEKLDGKARRG	128	PGSKGT	21	EYDFPGAGYHRP	147
2381H01(3)	nd	4	22.2, nd	SWSPRDSGLVRRG	129	PGSKGT	21	EYDFPGAGYHRP	146
2381H06(4)	nd	5	53.4, nd	SWGDVETNEARQG	130	PGSKGT	21	EYDFPGAGYHRP	166
2381H09	3.23†	3.4	94.4, nd	SWDAPAGGGIG	115	PVSKGT	138	EYDFPGAGYHRP	167
2382B11	nd	2.9	88.8, nd	SWDAPAAAYG	119	PVSKGT	138	EYDFPGAGYHRP	168
2382B08	nd	2.9	107.2, nd	SWDAPADAYG	110	PGSKGT	136	EYDFPGAGYHRP	169
2382C11	nd	3.7	82.9, nd	SWDAPAGGIG	120	PVSKGT	138	EYDFPGAGYHRP	168
2382G03	nd	2.7	77.8, nd	SWDAPAEAEAYG	131	PVSKGT	138	EYDFPGAGYHRP	170
2382H03	0.677†	3.4	102.1, nd	SWDAPAEAGAYG	132	PVSKGT	138	EYDFPGAGYHRP	171
2451A10(5)	nd	10.9	53.7, nd	SWOPPAVTYG	133	PVSKGT	140	EYDFPGAGYHRP	146

10

20

30

40

【表 9 1】

クローン番号	親和性 (K_D , nM)	PCSK9- EGFA FRET (EC_{50} , nM)	LDLR 枯渴 (75nMでの 阻害%, EC_{50} (nM))	BCループ	配列 番号	DEループ	配列 番号	FGループ	配列 番号
2451B02	nd	5.3	71.4, nd	SWDAPAAAYG	119	PVSKGT	138	EEDYPGSGYHHRP	153
2451C11(6)	nd	9.7	70.3, nd	SWDPPAGAYG	134	PGYKGT	141	EYFYDHSGYHHRP	146
2451H01	nd	2.8	95.8, nd	SWDAPAAAGYG	122	PVSKGT	138	EYDFPGSGYHHRP	152
2011B11	nd	1.7	144.5, nd	SWAPESDAYG	135	PICKGT	25	EYFYSHAGYHHRP	172
2971A03	0.806†	nd	120.1, nd	SWDPPSDDYG	301	PICKGT	25	EFPWPHAGYHHRP	37
2971A09	2.79†	nd	132.3, nd	SWDAPADDYG	302	PICKGT	25	EFPWPHAGYHHRP	37
2971E02	1.78†	nd	126.2, nd	SWDAPSDDYG	303	PICKGT	25	EFPWPHAGYHHRP	37

† 37℃でOctet Redを使用して決定された K_D ；* 25℃でProteinを使用して決定された K_D ；^ 37℃でITCを使用して決定された K_D ；(1)ループにおける変異に加えて、これらのクローンはまた、変異V45LおよびE47Qを有

10

20

30

40

50

し；（２）ループにおける変異に加えて、このクローンはまた、変異 V 1 I、S 2 T および V 4 5 L を有し；（３）ループにおける変異に加えて、これらのクローンはまた、変異 E 4 7 Q を有し；（４）ループにおける変異に加えて、このクローンはまた、変異 V 4 5 L および E 4 7 G を有し；（５）ループにおける変異に加えて、このクローンはまた、変異 S 2 T、L 8 M、P 4 4 T、V 4 5 L および E 4 7 Q を有し；（６）ループにおける変異に加えて、このクローンはまた、変異 V 1 I、S 2 V、V 4 5 K および E 4 7 Q を有する。

【 0 1 3 7 】

本発明の抗－P C S K 9 アドネクチンのファミリーの配列番号は、表 4 に示される。

表 4

抗－P C S K 9 アドネクチンファミリー

【表 9 2】

クロー ン	配列	
	アミノ酸	核酸
1459D05 はまた、 ATI0008 91また はATI-8 91と称 される	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSL LISWPPPSHGYG YYRITYGETGGNSPVQ EFTVPPGKGTATISGL KPGVDYTITVYAVEYP YKHS GYYHRPISIN YR TEIDKPSQH HHHHHH (配列番号:39)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGC CACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGCCGCCGCGTCTCATG GTTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAAT AGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCGCCTGGTAAAGGTACAGC TACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTG TGTATGCTGTGCGAATACCCGTACAAACATTCTGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATC CCAGCACCATCACCACCACCAC (配列番号:40)
1784F03	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSL LISWRPPIHAYG YYRITYGETGGNSPVQ EFTVPIVEGTATISGL KPGVDYTITVYAVEYT FKHS GYYHRPISIN YR TEIDKPSQH HHHHHH (配列番号:41)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGC CACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGAGGCCGCCGATTTCATG CTTACGGGTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAAT AGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTATTGTTGAAGGTACAGC TACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTG TGTATGCTGTGCGAATATACATTTAAACATTCCGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATC CCAGCACCATCACCACCACCAC (配列番号:42)
1784F03 -m1	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSL LISWDAPIHAYG YYRITYGETGGNSPVQ EFTVPGSEGTATISGL KPGVDYTITVYAVEYT FKHS GYYHRPISIN YR TEIDKPSQH HHHHHH (配列番号:43)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGC CACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGATTTCATG CTTACGGGTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAAT AGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTGGTTCTGAAGGTACAGC TACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTG TGTATGCTGTGCGAATATACATTTAAACATTCCGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATC CCAGCACCATCACCACCACCAC (配列番号:44)
1784F03 -m2	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSL LISWDAPAHAYG YYRITYGETGGNSPVQ EFTVPGSKGTATISGL KPGVDYTITVYAVEYT FKHS GYYHRPISIN YR TEIDKPSQH HHHHHH (配列番号:45)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGC CACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTCATG CTTACGGGTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAAT AGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGC TACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTG TGTATGCTGTGCGAATATACATTTAAACATTCCGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATC CCAGCACCATCACCACCACCAC (配列番号:46)

10

20

30

40

【表 9 3】

1784F03 -m3	MGVSDVPRDLEVVAATP TSLLISWDAPVITYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPGSKSTATISGLKPGV DYTITVYAVEYTFKHSG YYHRPISINYRTEIDKP SQHHHHHH (配列番 号:47)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGTTACTTACGGG TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTGGTTCTAAATCTACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATATACA TTTAAACATTCCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:48)
1813E02	MGVSDVPRDLEVVAATP TSLLISWSPANGYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPVGRGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYTYKSG YYHRPISINYRTEIDKP SQHHHHHH (配列番 号:49)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGTCCCCACCGGCTAACGGTTACGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTGTTGGTAGAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGAGTATACC TACAAAGGCTCTGGTTACTACCATCGCCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:50)
1923B02	MGVSDVPRDLEVVAATP TSLLISWTTPPKGYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPVGEGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYTYNGAG YYHRPISINYRTEIDKP SQHHHHHH (配列番 号:51)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGACGCCTCCCCCTAAAGGGTATGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTGTTGGTGAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATACAG TACAACGGTGCCGGTTACTACCACCGGCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:52)
1923B02 (N82I)	MGVSDVPRDLEVVAATP TSLLISWTTPPKGYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPVGEGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYTYIGAG YYHRPISINYRTGSGSH HHHHH (配列番号:5 3)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGACGCCTCCCCCTAAAGGGTATGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTGTTGGTGAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATACAG TACATTGGTGCCGGTTACTACCACCGGCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGGTAGCGGTTCCACCATCACCACCATCAC (配列番号:54)

10

20

30

40

【表 9 4】

1923B02 (N82E)	MGVSDVPRDLEVVAATP TSLLISWTPPPKGYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPVGEGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYTYEGAG YYHRPISINYRTGSGSH HHHHH (配列番号:5 5)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGACGCCTCCCCCTAAAGGGTATGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTGTTGGTGAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATACACG TACGAAGGTGCCGGTTACTACCACCGGCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGGTAGCGGTTCCCACCATCACCACCATCAC (配列番号:56)
1923B02 (T80A)	MGVSDVPRDLEVVAATP TSLLISWTPPPKGYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPVGEGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYAYNGAG YYHRPISINYRTGSGSH HHHHH (配列番号:5 7)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGACGCCTCCCCCTAAAGGGTATGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTGTTGGTGAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATACCGC TACAACGGTGCCGGTTACTACCACCGGCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGGTAGCGGTTCCCACCATCACCACCATCAC (配列番号:58)
1922G04 はまた、 本明細 書にお いてATI 001057 またはA TI-1057 と称さ れる	MGVSDVPRDLEVVAATP TSLLISWRPPSHAYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPIGKTATISGLKPGV DYTITVYAVEYPWKGS YYHRPISINYRTEIDKP SQHHHHHH (配列番 号:59)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGCGGCCGCCATCTCATGCTTATGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTATTGGGAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATACCCG TGGAAAGGTTCTGGTTACTACCATCGGCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:60)
1922G04 (R25D)	MGVSDVPRDLEVVAATP TSLLISWDPPSHAYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPIGKTATISGLKPGV DYTITVYAVEYPWKGS YYHRPISINYRTGSGSH HHHHH (配列番号:6 1)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACCCGCCATCTCATGCTTATGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTATTGGGAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATACCCG TGGAAAGGTTCTGGTTACTACCATCGGCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGGTAGCGGTTCCCACCATCACCACCATCAC (配列番号:62)

10

20

30

40

【表 9 5】

1922G04 (R25E)	MGVSDVPRDLEVVAATP TSLLISWEPPSHAYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPIGKTATISGLKPGV DYTITVYAVEYPWKGS YYHRPISINYRTGSGSH HHHHH (配列番号:6 3)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAACCGCCATCTCATGCTTATGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTATTGGGAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATACCCG TGGAAAGGTTCTGGTTACTACCATCGGCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGGTAGCGGTTCCACCATCACCACCATCAC (配列番号:64)
1922G04 (R25S)	MGVSDVPRDLEVVAATP TSLLISWSPSHAYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPIGKTATISGLKPGV DYTITVYAVEYPWKGS YYHRPISINYRTGSGSH HHHHH (配列番号:6 5)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGAGCCCGCCATCTCATGCTTATGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTATTGGGAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATACCCG TGGAAAGGTTCTGGTTACTACCATCGGCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGGTAGCGGTTCCACCATCACCACCATCAC (配列番号:66)
2012A04	MGVSDVPRDLEVVAATP TSLLISWRPPSNHGY RITYGETGGNSPVQEFT VPVNEGATISGLKPGV DYTITVYAVEFPFKWS YYHRPISINYRTEIDKP SQHHHHHH (配列番 号:67)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGCGGCCCCCTCTAATGGTCACGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTGTTAATGAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATACCCG TTCAAGTGGTCGGGCTACTACCATCGACCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:68)
2013E01 はまた、 ATI0010 81また はATI-1 081と称 される	MGVSDVPRDLEVVAATP TSLLISWVPPSDDYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPIGKTATISGLKPGV DYTITVYAVEFPWPHAG YYHRPISINYRTEIDKP SQHHHHHH (配列番 号:69)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGTCCCGCCTTCAGATGATTACGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTATTGGTAAAGGAACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGAGTTTCCG TGGCCACATGCTGGTTACTATCATCGGCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:70)

10

20

30

40

【表 9 6】

2011H05 はまた、 ATI0010 91また はATI-1 091と称 される	MGVSDVPRDLEVVAATP TSLLISWVPSSHAYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPVGVGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYAFEGAG YYHRPISINYRTEIDKP SQHHHHHH (配列番 号:71)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGTTCCGTCGTCTCATGCCTACGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTGTGGGGGTAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATACGCT TTCGAAGGGGCTGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:72)
2011H05 (V23D)	MGVSDVPRDLEVVAATP TSLLISWDPSSHAYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPVGVGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYAFEGAG YYHRPISINYRTEIDKP SQHHHHHH (配列番 号:73)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACCGTCGTCTCATGCCTACGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTGTGGGGGTAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATACGCT TTCGAAGGGGCTGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:74)
2011H05 (V23E)	MGVSDVPRDLEVVAATP TSLLISWEPSSHAYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPVGVGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYAFEGAG YYHRPISINYRTEIDKP SQHHHHHH (配列番 号:75)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAACCGTCGTCTCATGCCTACGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTGTGGGGGTAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATACGCT TTCGAAGGGGCTGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:76)
2381B02	MGVSDVPRDLEVVAATP TSLLISWEPFSRLPGGG EYYRITYGETGGNSPLQ QFTVPGSKGTATISGLK PGVDYTITVYAVEYPYD YSGYYHRPISINYRTEI DKPSQHHHHHH (配列 番号:173)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAGCCGTTACGCCGTTGCCCGGG GGCGGCGAGTATTACCGGATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGC CCTCTGCAGCAGTTCACTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGCTACCATC AGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTC GAATACCCGTACGACTATTCTGGTTACTACCATCGCCCCATTTCCATT AATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCAC CAC (配列番号:174)

10

20

30

40

【表 9 7】

2381B04	MGVSDVPRDLEVVAATP TSLLISWEPFSRLPGGG EYYRITYGETGGNSPLQ QFTVPGSKGTATISGLK PGVDYTITVYAVEYPYE HSGYYHRPISINYRTEI DKPSQHIIIIIIH (配列 番号:175)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAGCCGTTAGCCGGTTGCCCGGG GGCGGCGAGTATTACCGGATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGC CCTCTGCAGCAGTTCACTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGTACCATC AGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTC GAATACCCGTACGAGCATTCTGGGTACTATCATCGTCCGATTTCCATT AATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCAC CAC (配列番号:176)
2381B06	MGVSDVPRDLEVVAATP TSLLISWEPFSRLPGGG EYYRITYGETGGNSPLQ QFTVPGSKGTATISGLK PGVDYTITVYAVEYPYP HSGYYHRPISINYRTEI DKPSQHIIIIIIH (配列 番号:177)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAGCCGTTAGCCGGTTGCCCGGG GGCGGCGAGTATTACCGGATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGC CCTCTGCAGCAGTTCACTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGTACCATC AGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTC GAATACCCGTACCCGATTCTGGTTACTACCATCGACCGATTTCCATT AATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCAC CAC (配列番号:178)
2381B08	MGVSDVPRDLEVVAATP TSLLISWDAPADGGYGY YRITYGETGGNSPVQEF TVPSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEYTFPGA GYHHRPISINYRTEIDK PSQHIIIIIIH (配列番 号:179)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGATGGAGGGTAC GGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCACTGTGCCTAGTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGC CTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATAC ACCTTCCCGGGCGCCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTAC CGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:180)
2381D02	MGVSDVPRDLEVVAATP TSLLISWEPFSRLPGGG EYYRITYGETGGNSPLQ QFTVPGSKGTATISGLK PGVDYTITVYAVEYPYD HSGYYHRPISINYRTEI DKPSQHIIIIIIH (配列 番号:181)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAGCCGTTAGCCGGTTGCCCGGG GGCGGCGAGTATTACCGGATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGC CCTCTGCAGCAGTTCACTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGTACCATC AGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTC GAATACCCGTACGACCATCTGGTTACTACCATCGTCCCATTTCCATT AATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCAC CAC (配列番号:182)

10

20

30

40

【表 9 8】

2381D04	MGVSDVPRDLEVVAATP TSLLISWEPFSRLPGGG EYYRITYGETGGNSPLQ QFTVPGSKGTATISGLK PGVDYTITVYAVEFPYD HSGYYHRPISINYRTEI DKPSQHIIHHH (配列 番号:183)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAGCCGTTAGCCGGTTGCCCGGG GGCGGCGAGTATTACCGGATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGC CCTCTGCAGCAGTTCACTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGTACCATC AGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTC GAATTCCTGACGACATTCTGGTTACTACCATCGGCCCATTTCCATT AATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCAC CAC (配列番号:184)
2381F11	MGVSDVPRDLEVVAATP TSLLISWDAPADGGYGY YRITYGETGGNSPVQEF TVPVSKSTATISGLKPG VDYTITVYAVEYTFPGA GYHHRPISINYRTEIDK PSQHIIHHH (配列番 号:185)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAGCGCTCCGGCTAGCGGGGGTAC GGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAAGTACAGTACCATCAGCGGC CTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATAC ACCTTCCCGGCGCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTAC CGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:186)
2381G03	MGVSDVPRDLEVVAATP TSLLISWEPFSRLPGGG EYYRITYGETGGNSPLQ QFTVPGSKGTATISGLK PGVDYTITVYAVEFPYA HSGYYHRPISINYRTEI DKPSQHIIHHH (配列 番号:187)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAGCCGTTAGCCGGTTGCCCGGG GGCGGCGAGTATTACCGGATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGC CCTCTGCAGCAGTTCACTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGTACCATC AGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTC GAATTCCTGACGCGATTCTGGGTACTACCATCGTCCGATTTCCATT AATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCAC CAC (配列番号:188)
2381G09	MGVSDVPRDLEVVAATP TSLLISWDAPADGGYGY YRITYGETGGNSPVQEF TVPVSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEYTFPGA GYHHRPISINYRTEIDK PSQHIIHHH (配列番 号:189)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAGCGCTCCGGCTGGGGACGGTTAC GGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCACTGTGCGCGTTTCTAAAAGTACAGTACCATCAGCGGC CTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTC ACCTTCCCGGCGCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTAC CGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:190)

10

20

30

40

【表 9 9】

2381H03	MGVSDVPRDLEVVAATP TSLLISWEPF SRLPGGG EYYRITYGETGGNSPLQ QFTVPGSKGTATISGLK PGVDYTITVYAVEYPYA HSGYFHRPISINYRTEI DKPSQHHHHH (配列 番号:191)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAGCCGTTAGCCGGTTGCCCGGG GGCGGCGAGTATTACCGGATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGC CCTCTGCAGCAGTTCACTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGTACCATC AGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTC GAATACCCGTACGCGCATTCTGGTTACTTCCATCGTCCGATTTCCATT AATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCAC CAC (配列番号:192)
2382A01	MGVSDVPRDLEVVAATP TSLLISWAAPAGGGYGY YRITYGETGGNSPVQEF TVPVSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEYDFPGA GYHRPISINYRTEIDK PSQHHHHH (配列番 号:193)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGCGCTCCGGCTGGTGGTGGCTAC GGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGC CTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATAC GACTTCCCGGGCGCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTAC CGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配 列番号:194)
2382B10	MGVSDVPRDLEVVAATP TSLLISWDAPADAYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPSSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYDFPGSG YYHRPISINYRTEIDKP SQHHHHH (配列番 号:195)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATAAGCTGGGACGCTCCGGCTGACGCGTACGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTAGTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATACGAC TTCCCGGCAGCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:196)
2382B09	MGVSDVPRDLEVVAATP TSLLISWDAPADAYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPVSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFDYPGSG YYHRPISINYRTEIDKP SQHHHHH (配列番 号:197)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGACGCGTACGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATTCGAC TACCCCGGCTCCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:198)

10

20

30

40

【表 100】

2382C05	MGVSDVPRDLEVVAATP TSL LISWDAPADGAYGY YRITYGETGGNSPVQEF TVPVSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEYSFPGA GYYHRPISINYRTEIDK PSQH HHHHH (配列番号:199)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGATGGGGCATAAC GGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAGGGTACAGCTACCATCAGCGGC CTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATAC TCCTTCCCGGCGCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTAC CGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列番号:200)
2382C09	MGVSDVPRDLEVVAATP TSL LISWDAPAEYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPVSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFDFPGSG YYHRPISINYRTEIDKP SQH HHHHH (配列番号:201)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGAGGGTTACGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTGAC TTCCCGGCTCCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列番号:202)
2382D03	MGVSDVPRDLEVVAATP TSL LISWDAPADEAYGY YRITYGETGGNSPVQEF TVPVSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEFDFPGA GYYHRPISINYRTEIDK PSQH HHHHH (配列番号:203)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGACGAGGCGTAC GGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAGGTACAGCTACCATCAGCGGC CTTAAACCTGGTGTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTC GACTTCCCGGCGCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTAC CGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列番号:204)
2382D05	MGVSDVPRDLEVVAATP TSL LISWDAPADGGYGY YRITYGETGGNSPVQEF TVPVSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEFDFPGA GYYHRPISINYRTEIDK PSQH HHHHH (配列番号:205)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGATGGTGTTAC GGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAGGTACAGCTACCATCAGCGGC CTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTC GACTTCCCGGGCGCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTAC CGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列番号:206)

10

20

30

40

【表 1 0 1】

2382D08	MGVSDVPRDLEVVAATP TSL LISWDAPADGYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPVSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFPFPGSG YYHRPISINYRTEIDKP SQHHHHHH (配列番 号:207)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGATGGCTACGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATTCCCC TTCCCCGGCTCCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:208)
2382D09	MGVSDVPRDLEVVAATP TSL LISWDAPAEYGYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPVSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFDPPGAG YYHRPISINYRTEIDKP SQHHHHHH (配列番 号:209)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGAAGGGTACGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATTCGAC TTCCCCGGCGCCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:210)
2382F02	MGVSDVPRDLEVVAATP TSL LISWDAPAGGGYGY YRITYGETGGNSPVQEF TVPVSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEFDPPGS GYYHRPISINYRTEIDK PSQHHHHHH (配列番 号:211)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGGCGGGGGGTAC GGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGC CTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATTC GACTTCCCCGGGCTCCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTAC CGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:212)
2382F03	MGVSDVPRDLEVVAATP TSL LISWDAPAADAYGY YRITYGETGGNSPVQEF TVPVSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEFNPGA GYYHRPISINYRTEIDK PSQHHHHHH (配列番 号:213)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGCCGATGCTTAC GGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGC CTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATTC AACTTCCCCGGGCGCCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTAC CGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:214)

10

20

30

40

【表 1 0 2】

2382F05	MGVSDVPRDLEVVAATP TSL LISWDAPAEAGKHY GYRITYGETGGNSPVQ EFTVPVSKGTATISGLK PGVDYTITVYAVEFDFP GAGYYHRPISINYRTEI DKPSQHHHHHH (配列 番号:215)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGAAGCAGGTAAG CACTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGC CCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATC AGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTC GAATTCGACTTCCCGGGCGCCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATT AATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCAC CAC (配列番号:216)
2382F08	MGVSDVPRDLEVVAATP TSL LISWDAPAEAYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPVSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFTYPGSG YYHRPISINYRTEIDKP SQHHHHHHH (配列番 号:217)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGAAGCATAACGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATTCACC TACCCCGGCTCCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:218)
2382F09	MGVSDVPRDLEVVAATP TSL LISWDAPAAAYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPVSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYDFPGSG YYHRPISINYRTEIDKP SQHHHHHHH (配列番 号:219)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGCAGCCTACGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATACGAC TTCCCGGCTCCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:220)
2382G04	MGVSDVPRDLEVVAATP TSL LISWDAPAGGGYGY YRITYGETGGNSPVQEF TVPSSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEFDFPGA GYYHRPISINYRTEIDK PSQHHHHHHH (配列番 号:221)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGGTGGGGGATAC GGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCACTGTGCCTAGTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGC CTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATTC GACTTCCCGGGCGCCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTAC CGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:222)

10

20

30

40

【表 1 0 3】

2382H10	MGVSDVPRDLEVVAATP TSL LISWDAPAGGYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPVSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFDPPGSG YYHRPISINYRTEIDKP SQHHHHHH (配列番 号:223)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGGGGGCTACGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTTCGAC TTCCCGGCTCCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:224)
2382H11	MGVSDVPRDLEVVAATP TSL LISWDAPADGYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPVFKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFDYPGSG YYHRPISINYRTEIDKP SQHHHHHH (配列番 号:225)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGATGGTTACGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTGTTTTTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTTCGAC TACCCCGGCTCCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:226)
2382H04	MGVSDVPRDLEVVAATP TSL LISWDAPAAGGYGY YRITYGETGGNSPVQEF TVPSSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEYDFPGA GYYHRPISINYRTEIDK PSQHHHHHH (配列番 号:227)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGCGGGGGGTAC GGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCACTGTGCCTAGTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGC CTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTATATGCTGTGCGAATAC GACTTCCCGGCGCCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTAC CGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:228)
2382H07	MGVSDVPRDLEVVAATP TSL LISWDAPADAYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPGSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFDPPGSG YYHRPISINYRTEIDKP SQHHHHHH (配列番 号:229)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGATGCTTACGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCAGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTTCGAC TTCCCGGCTCCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:230)

10

20

30

40

【表 1 0 4】

2382H09	MGVSDVPRDLEVVAATP TSL LISWDAPAAAYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPSSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFDPPGSG YYHRPISINYRTEIDKP SQHHHHHH (配列番 号:231)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGCGGCTTACGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTAGTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTTCGAC TTCCCGGCTCCGGTTACTACCATCGCCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:232)
2451A02	MGVSDVPRDLEVVAATP TSL LISWDAPAGGYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPVSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFPFPGSG YYHRPISINYRTEIDKP SQHHHHHH (配列番 号:233)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGCGGGTTACGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTCCCC TTCCCGGCTCCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:234)
2451B05	MGVSDVPRDLEVVAATP TSL LISWDAPAGGYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPSSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFDYPPGSG YYHRPISINYRTEIDKP SQHHHHHH (配列番 号:235)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGGGGGATACGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTAGTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTTCGAC TACCCCGGCTCCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:236)
2451B06 (2382D0 5と同等 物)	MGVSDVPRDLEVVAATP TSL LISWDAPADGGYGY YRITYGETGGNSPVQEF TVPVSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEFDPPGA GYYHRPISINYRTEIDK PSQHHHHHH (配列番 号:205)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGATGGTGTTAC GGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGC CTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTTC GACTTCCCGGGCGCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTAC CGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:206)

10

20

30

40

【表 1 0 5】

2451C06	MGVSDVPRDLEVVAATP TSL LISWDAPAGAASYG YYRITYGETGGNSPVQE FTVPVSKGTATISGLKP GVDYTITVYAVEFPFPG AGYYHRPISINYRTEID KPSQH H H H H H (配列 番号:237)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGGGGCAGCGTCC TACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCT GTCCAGGAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGC GGCCTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAA TTCCCTTCCCGGCGCGCGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAAT TACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列番号:238)
2451D05	MGVSDVPRDLEVVAATP TSL LISWDAPAGAYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPVSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFDPPGSG YYHRPISINYRTEIDKP SQH H H H H H (配列番 号:239)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGGCGGTACGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATTCGAC TTCCCGGCTCCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:240)
2451F03	MGVSDVPRDLEVVAATP TSL LISWDPPAEGYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPVSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFNPPGSG YYHRPISINYRTEIDKP SQH H H H H H (配列番 号:241)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACCTCCGGCTGAAGGTTACGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATTCGAC TTCCCGGCTCCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:242)
2451G01	MGVSDVPRDLEVVAATP TSL LISWDAPAGGYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPSSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFDPPGSG YYHRPISINYRTEIDKP SQH H H H H H (配列番 号:243)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGGGGGCTACGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTAGTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATTCGAC TTCCCGGGCTCCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:244)

10

20

30

40

【表 1 0 6】

2451H07	MGITDVPRDLEVVAATP TSL LISWNPDPVNYGY RITYGETGGNSPLQEFT VPVSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYPYAHAG YYHRPISINYRTEIDKP SQHHHHHH (配列番 号:245)	ATGGGTATCACGGATGTGCCGCGAGACTTGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGAACCGCCGGATGTGAATTACGGT TATTATCGCATCACTTACGGGGAAACAGGAGGCAATAGCCCTTTGCAG GAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATATCCG TACGCGCAOGCTGGTTACTACCATCGTCCGATTTCCATTAATTACCGC ACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:246)
2382E03	MGVSDVPRDLEVVAATP TSL LISWDAPAGDGYGY YRITYGETGGNSPVQEF TVPVSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEFDPGA GYHRPISINYRTEIDK PSQHHHHHH (配列番 号:247)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGGGGACGGGTAC GGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGC CTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATTC GACTTCCCGGGCGCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTAC CGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配 列番号:248)
2382E04	MGVSDVPRDLEVVAATP TSL LISWDAPAGGGYGY YRITYGETGGNSPVQEF TVPVSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEFTPGA GYHRPISINYRTEIDK PSQHHHHHH (配列番 号:249)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGGTGGTGATAC GGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGC CTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATTC ACCTTCCCGGGCGCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTAC CGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配 列番号:250)
2382E05	MGVSDVPRDLEVVAATP TSL LISWDAPAEGGYGY YRITYGETGGNSPVQEF TVPVSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEFDPGA GYHRPISINYRTEIDK PSQHHHHHH (配列番 号:251)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGAGGGCGGCTAC GGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGC CTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATTC GACTTCCCGGGCGCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTAC CGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配 列番号:252)

10

20

30

40

【表 107】

2382E09	MGVSDVPRDLEVVAATP TSLLISWDAPAEAYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPVSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYDFPGSG YYHRPISINYRTEIDKP SQHHHHHH (配列番 号:253)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGAGGCTTACGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATACGAC TTCCCGGCTCCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:254)
2381A04	MGVSDVPRDLEVVAATP TSLLISWEPFRLPGGG EYYRITYGETGGNSPLQ QFTVPGSKGTATISGLK PGVDYTITVYAVEYPYP FSGYYHRPISINYRTEI DKPSQHHHHHH (配列 番号:255)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAGCGGTTAGCCGGTTGCCCGGG GGCGGCGAGTATTACCGGATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGC CCTCTGCAGCAGTTCACTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGCTACCATC AGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTC GAATACCCGTACCCGTTTTCTGGTTACTACCATCGTCCCATTTCCATT AATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCAC CAC (配列番号:256)
2381A08	MGVSDVPRDLEVVAATP TSLLISWDAPADGGYGY YRITYGETGGNSPVQEF TVPGSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEYDFPGA GYHRPISINYRTEIDK PSQHHHHHH (配列番 号:257)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGACGGCGGGTAC GGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCACTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGC CTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATAC GACTTCCCGGGCGCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTAC CGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:258)
2381B10	MGVSDVPRDLEVVAATP TSLLISWDAPAGGGYGY YRITYGETGGNSPVQEF TVPVSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEYNFIGA GYHRPISINYRTEIDK PSQHHHHHH (配列番 号:259)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGGGGGTGGATAC GGTTATTACCGSATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGC CTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATAC AACTTCATCGGCGCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTAC CGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:260)

10

20

30

40

【表 108】

2381C08	MGVSDVPRDLEVVAATP TSL LISWDAPADGAYGY YRITYGETGGNSPVQEF TVPVSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEFPYFA GYYHRPISINYRTEIDK PSQH HHHHH (配列番号:261)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGACGGTGCTTAC GGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGC CTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTC CCCTACCCCTTCGCCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTAC CGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列番号:262)
2381G06	MGVSDVPRDLEVVAATP TSL LISWSEKLDGKARR GYRITYGETGGNSPVQ QFTVPGSKGTATISGLK PGVDYTITVYAVEFPYD HSGYYHRPISINYRTEI DKPSQH HHHHH (配列番号:263)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGTGGGAGAGTTGGACGGGAAGGCG CGCCGCGGGTATTACCGCATCACATACGGCGAAACAGGAGGCAATAGC CCTGTCCAGCAGTTCACTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGCTACCATC AGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTC GAATTCCTGACGACCATCTGGTTACTACCATCGTCCCATTTCCATT AATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCAC CAC (配列番号:264)
2381H01	MGVSDVPRDLEVVAATP TSL LISWSPRDSTGLVR RGYYRITYGETGGNSPV QQFTVPGSKGTATISGL KPGVDYTITVYAVEYPY DHSGYYHRPISINYRTE IDKPSQH HHHHH (配列番号:265)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGAGCCCGCGGGACTCCACCGGCTTG GTGAGGCGGGGTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAAT AGCCCTGTTCAGCAGTTCACTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGCTACC ATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCT GTCGAATAACCGTACGACCATCTGGTTACTACCATCGGCCCATTTCC ATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCAC CACCAC (配列番号:266)
2381H06	MGVSDVPRDLEVVAATP TSL LISWGDVRTNEARQ GYRITYGETGGNSPLQ GFTVPGSKGTATISGLK PGVDYTITVYAVEYTYE HSGYYHRPISINYRTEI DKPSQH HHHHH (配列番号:267)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGCGACGTCGGACGAACGAGGCG CGGCAGGGCTATTACCGGATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGC CCTCTCCAGGGTTCACTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGCTACCATC AGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTC GAGTATACGTACGAGCATCTGGTTACTACCATCGTCCGATTTCCATT AATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCAC CAC (配列番号:268)

10

20

30

40

【表 109】

2381H09	MGVSDVPRDLEVVAATP TSL LISWDAPAGGGYGY YRITYGETGGNSPVQEF TVPVSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEFDFVGA GYYHRPISINYRTEIDK PSQH HHHHH (配列番 号:269)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGGGGGGGGCTAC GGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGC CTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATTC GACTTCGTGCGCGCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTAC CGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配 列番号:270)
2382B11	MGVSDVPRDLEVVAATP TSL LISWDAPAAAYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPVSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYDFAGSG YYHRPISINYRTEIDKP SQH HHHHH (配列番 号:271)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGCGGCCTACGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATACGAC TTCGCGGGCTCCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:272)
2382B08	MGVSDVPRDLEVVAATP TSL LISWDAPADAYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPSSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFAFPGAG YYHRPISINYRTEIDKP SQH HHHHH (配列番 号:273)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGACGCGTACGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTAGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTATATGCTGTGGAATTCGCC TTCCCCGGCGCCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:274)
2382C11	MGVSDVPRDLEVVAATP TSL LISWDAPAGGYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPVSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYDFAGSG YYHRPISINYRTEIDKP SQH HHHHH (配列番 号:275)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGGAGGTTACGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATACGAC TTCGCGGGCTCCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:276)

10

20

30

40

【表 1 1 0】

2382G03	MGVSDVPRDLEVVAATP TSL LISWDAPAEAEAYG YYRITYGETGGNSPVQE FTVPVSKGTATISGLKP GVDYTITVYAVEYVFP AGYYHRPISINYRTEID KPSQH H H H H H (配列 番号:277)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGAAGCAGAAGCG TACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCT GTCCAGGAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGC GGCCTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAA TACGTCTTCCCCGGCGCCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAAT TACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列番号:278)
2382H03	MGVSDVPRDLEVVAATP TSL LISWDAPAEAYGY YRITYGETGGNSPVQEF TVPVSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEYPYFPA GYHRPISINYRTEIDK PSQH H H H H H (配列番 号:279)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGAGGGCGCTTAC GGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGC CTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATAC CCCTACCCCTTCGCCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTAC CGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配 列番号:280)
2451A10	MGVTDVPRDMEVVAATP TSL LISWQPPAVTYGY RITYGETGGNSTLQQFT VPVYKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYPYDHSG YYHRPISINYRTEIDKP SQH H H H H H (配列番 号:281)	ATGGGTGTACCGATGTGCCGCGCGACATGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGCAGCCGCCGGCTGTTACTTACGGT TATTATCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCACTCTCCAG CAGTTCACTGTGCCTGTTTATAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATACCCG TACGACCATTCTGGGTACTACCATCGGCCGATTTCCATTAATTACCGC ACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:282)
2451B02	MGVSDVPRDLEVVAATP TSL LISWDAPAAAYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPVSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFDYPGSG YYHRPISINYRTEIDKP SQH H H H H H (配列番 号:283)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGCTGCTTACGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTGAC TACCCCGGCTCCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:284)

10

20

30

40

【表 1 1 1】

2451C11	MGIVDVPRDLEVVAATP TSLLISWDPPAGAYGY RITYGETGGNSPKQFT VPGYKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYPYDHSG YYHRPISINYRTEIDKP SQHHHHHH (配列番 号:285)	ATGGGTATCGTGGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACCGCCGGCTGGTGCTTACGGT TATTATCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCAAAGCAG CAGTTCACTGTGCCTGGTTATAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATACCCG TACGACCATTCTGGTTACTACCATCGGCCGATTTCCATTAATTACCGC ACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:286)
2451H01	MGVSDVPRDLEVVAATP TSLLISWDAPAAGYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPVSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYDFPGSG YYHRPISINYRTEIDKP SQHHHHHH (配列番 号:287)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGCGGGGTACGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATACGAC TTCCCGGCTCCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:288)
2011B11	MGVSDVPRDLEVVAATP TSLLISWAPPSDAYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPIGKTATISGLKPGV DYTITVYAVEYPYSHAG YYHRPISINYRTEIDKP SQHHHHHH (配列番 号:289)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGCGCCGCTTCTGATGCGTACGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTATTGGTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATACCCG TATTCACATGCTGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:290)
2971A03	MGVSDVPRDLEVVAATP TSLLISWDPPSDDYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPIGKTATISGLKPGV DYTITVYAVEFPWPHAG YYHRPISINYRTEIDKP SQHHHHHH (配列番 号:304)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACCGCCCTTCGGATGATTACGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTATTGGTAAAGGAACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGAGTTTCCG TGGCCACATGCTGGTTACTATCATCGGCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:305)

10

20

30

40

【表 1 1 2】

2971A09	MGVSDVPRDLEVVAATP TSLLISWDAPADDYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPIGKTATISGLKPGV DYTITVYAVEFPWPHAG YYHRPISINYRTEIDKP SQHHHHHH (配列番 号:306)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCGCCTGCGGATGATTACGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTATTGGTAAAGGAACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGAGTTTCCG TGGCCACATGCTGGTTACTATCATCGGCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:307)
2971E02	MGVSDVPRDLEVVAATP TSLLISWDAPSDDYGY RITYGETGGNSPVQEFT VPIGKTATISGLKPGV DYTITVYAVEFPWPHAG YYHRPISINYRTEIDKP SQHHHHHH (配列番 号:308)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACC CCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCGCCTTTCGGATGATTACGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTATTGGTAAAGGAACAGCTACCATCAGCGGCCTT AAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGAGTTTCCG TGGCCACATGCTGGTTACTATCATCGGCCAATTTCCATTAATTACCGC ACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (配列 番号:309)

10

20

【0 1 3 8】

本発明のペグ化抗－P C S K 9 アドネクチンのファミリーの配列番号は、表 5 に示される。

表 5

ペグ化を可能にする抗－P C S K 9 アドネクチンファミリーシステイン変異体

＊注意：記載されているいくつかのタンパク質は、まだペグ化されていないが、システイン変異を介してペグ化可能である。ペグ化されているタンパク質は、アステリスクにより示される。

30

【表 1 1 3】

A T I #/ クローン# [記述]	配列	
	AA	N T
ATI001170 [2013E01-非 His ^{タグ} Cys m ut]	MGVSDVPRDLEVAA TPTSL LISWPPSDD YGYRITYGETGGNS PVQEFTVPIGKTAT ISGLKPGVDYITIVY AVEFPWPHAGYYHRP ISINYRTEIDKPCQ (配列番号:78)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGGACCTGGAAGTGGTTGC TGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGTCCCGCCTT CAGATGATTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACA GGAGGCAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTATTGG TAAAGGAACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTG ATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGAGTTTCCGTGGCCA CATGCTGGTTACTATCATCGGCCAATTTCCATTAATTACCG CACAGAAATTGACAAACCATGCCAGTG (配列番号:79)
ATI001172 [2013E01-非 His ^{タグ} Cys m ut]	MGVSDVPRDLEVAA TPTSL LISWPPSDD YGYRITYGETGGNS PVQEFTVPIGKTAT ISGLKPGVDYITIVY AVEFPWPHAGYYHRP ISINYRTEGSGC (配列番号:80)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGGACCTGGAAGTGGTTGC TGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGTCCCGCCTT CAGATGATTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACA GGAGGCAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTATTGG TAAAGGAACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTG ATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGAGTTTCCGTGGCCA CATGCTGGTTACTATCATCGGCCAATTTCCATTAATTACCG AACAGAAGGTAGCGGTTGCTG (配列番号:81)
ATI001174* [2013E01-非 His ^{タグ} Cys m ut]はまた、A TI-1174と称 される	MGVSDVPRDLEVAA TPTSL LISWPPSDD YGYRITYGETGGNS PVQEFTVPIGKTAT ISGLKPGVDYITIVY AVEFPWPHAGYYHRP ISINYRTEIEKPCQ (配列番号:82)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGGACCTGGAAGTGGTTGC TGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGTCCCGCCTT CAGATGATTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACA GGAGGCAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTATTGG TAAAGGAACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTG ATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGAGTTTCCGTGGCCA CATGCTGGTTACTATCATCGGCCAATTTCCATTAATTACCG CACAGAAATTGAGAAACCATGCCAGTG (配列番号:83)
ATI001114* [2013E01cys mut]はまた 、ATI-1114 と称される	MGVSDVPRDLEVAA TPTSL LISWPPSDD YGYRITYGETGGNS PVQEFTVPIGKTAT ISGLKPGVDYITIVY AVEFPWPHAGYYHRP ISINYRTGSGCHHHH HH (配列番号:84)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGGACCTGGAAGTGGTTGC TGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGTCCCGCCTT CAGATGATTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACA GGAGGCAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTATTGG TAAAGGAACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTG ATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGAGTTTCCGTGGCCA CATGCTGGTTACTATCATCGGCCAATTTCCATTAATTACCG CACAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (配列 番号:85)

10

20

30

40

【表 1 1 4】

ATI000959* [1459D05 cy s mut]	MGVSDVPRDLEVAA TPTSL LISWPPPSHG YGYRITYGETGGNS PVQEFTVPPGKTAT ISGLKPGVDYITIVY AVEYPYKHS GYYHRP ISINYRTEIDKPCQH HHHHH (配列番号 :86)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGC TGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGCCGCCGCCGT CTCATGGTTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACA GGAGGCAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCGCCTGG TAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTG ATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGAATACCCGTACAAA CATTCTGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTACCG CACAGAAATTGACAAACCATGCCAGCACCATCACCACCACC AC (配列番号:87)
ATI001063* [1784F03 Cy s mut]	MGVSDVPRDLEVAA TPTSL LISWRPPIHA YGYRITYGETGGNS PVQEFTVPIVEGTAT ISGLKPGVDYITIVY AVEYTFKHS GYYHRP ISINYRTEIDKPCQH HHHHH (配列番号 :88)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGC TGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGAGGCCGCCGA TTCATGCTTACGGGTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACA GGAGGCAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTATTGT TGAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTG ATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGAATATACATTTAAA CATTCCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTACCG CACAGAAATTGACAAACCATGCCAGCACCATCACCACCACC AC (配列番号:89)
ATI001119* [2012A04 Cy s mut]	MGVSDVPRDLEVAA TPTSL LISWRPPSNG HGYRITYGETGGNS PVQEFTVPVNEGAT ISGLKPGVDYITIVY AVEFPFKWS GYYHRP ISINYRTGSGCHHHH HH (配列番号:90)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGC TGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGCGGCCCCCT CTAATGGTCACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACA GGAGGCAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTGTAA TGAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTG ATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGAATTCCTTCAAG TGGTCGGGCTACTACCATCGACCAATTTCCATTAATTACCG CACAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (配列 番号:91)
ATI001117* [2011H05 Cy s mut]	MGVSDVPRDLEVAA TPTSL LISWVPSSHA YGYRITYGETGGNS PVQEFTVPVGVGTAT ISGLKPGVDYITIVY AVEYAFEGAGYYHRP ISINYRTGSGCHHHH HH (配列番号:92)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGC TGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGTTCCGTCGT CTCATGCCTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACA GGAGGCAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTGTGGG GGTAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTG ATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGAATACGCTTTCGAA GGGGCTGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTACCG CACAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (配列 番号:93)

10

20

30

40

【表 1 1 5】

ATI001194* [2011H05 (V2 3D) y smut]	MGVSDVPRDLEVAA TPTSL LISWDPSSHA YGYRITYGETGGNS PVQEFTVPVGVGTAT ISGLKPGVDYITIVY AVEYAFEGAGYYHRP ISINYRTEGSGCHHH HHH (配列番号:9 4)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGC TGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACCCGTCGT CTCATGCCTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACA GGAGGCAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTGTGGG GGTAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTG ATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGAATACGCTTTCGAA GGGGCTGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTACCG CACAGAAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (配 列番号:95)
2011H05 (V2 3E)-Cys mut	MGVSDVPRDLEVAA TPTSL LISWEPSSHA YGYRITYGETGGNS PVQEFTVPVGVGTAT ISGLKPGVDYITIVY AVEYAFEGAGYYHRP ISINYRTEGSGCHHH HHH (配列番号:9 6)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGC TGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAACCGTCGT CTCATGCCTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACA GGAGGCAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTGTGGG GGTAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTG ATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGAATACGCTTTCGAA GGGGCTGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTACCG CACAGAAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (配 列番号:97)
ATI001112 [1923B02 Cy s mut]	MGVSDVPRDLEVAA TPTSL LISWTPPKG YGYRITYGETGGNS PVQEFTVPVGEATAT ISGLKPGVDYITIVY AVEYTYNGAGYYHRP ISINYRTGSGCHHHH HH (配列番号:98)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGC TGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGACGCCTCCCC CTAAGGGTATGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACA GGAGGCAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTGTTGG TGAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTG ATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGAATACACGTACAAC GGTGCCGGTTACTACCACCGGCAATTTCCATTAATTACCG CACAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (配列 番号:99)
ATI001110 [1922G04 Cy s mut]	MGVSDVPRDLEVAA TPTSL LISWRPPSHA YGYRITYGETGGNS PVQEFTVPIGKTAT ISGLKPGVDYITIVY AVEYPWKSGSYYHRP ISINYRTGSGCHHHH HH (配列番号:10 0)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGC TGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGCGGCCCGCAT CTCATGCTTATGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACA GGAGGCAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTATTGG GAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTG ATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGAATACCGTGGAAA GGTCTGGTTACTACCATCGGCAATTTCCATTAATTACCG CACAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (配列 番号:101)

10

20

30

40

【表 1 1 6】

ATI001128 [1922G04 Cys mut]	MGVSDVPRDLEVVA TPTSL LISWRPPSHA YGYRITYGETGGNS PVQEFTVPIGKTAT ISGLKPGVDYITIVY AVEYPWKSGYYHRP ISINYRTEIDKPCQH HHHHH (配列番号:102)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGC TGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGCGGCCGCCAT CTCATGCTTATGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACA GGAGGCAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTATTGG GAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCCTTAAACCTGGCGTTG ATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATACCCGTGGAAA GGTTCTGGTTACTACCATCGGCCAATTTCCATTAATTACCG CACAGAAATTGACAAACCATGCCAGCACCACCACCACCAC AC (配列番号:103)
ATI001184 * [1922G04 (R2 3E) Cys mut]	MGVSDVPRDLEVVA TPTSL LISWEPPSHA YGYRITYGETGGNS PVQEFTVPIGKTAT ISGLKPGVDYITIVY AVEYPWKSGYYHRP ISINYRTEGSGCHHH HHH (配列番号:104)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGC TGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAACCGCCAT CTCATGCTTATGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACA GGAGGCAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTATTGG GAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCCTTAAACCTGGCGTTG ATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATACCCGTGGAAA GGTTCTGGTTACTACCATCGGCCAATTTCCATTAATTACCG CACAGAAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (配列番号:105)
2381D04-Cys	MGVSDVPRDLEVVA TPTSL LISWEPFSL PGGGEYRITYGETG GNSPLQQFTVPGSKG TATISGLKPGVDYIT TVYAVEFPYDHSGYY HRPISINYRTGSGCH HHHHH (配列番号:291)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGC TGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAGCCGTTCA GCCGGTTGCCCGGGGGCGCGAGTATTACCGGATCACTTAC GGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTCTGCAGCAGTTCACTGT GCCTGGTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCCTTAAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTC CCGTACGACCATTTCTGGTTACTACCATCGGCCCATTTCCAT TAATTACCGCACAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATC AC (配列番号:292)
2382D09-Cys	MGVSDVPRDLEVVA TPTSL LISWDAPAE YGYRITYGETGGNS PVQEFTVPVSKGTAT ISGLKPGVDYITIVY AVEFDFFPGAGYYHRP ISINYRTGSGCHHHH HH (配列番号:293)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGC TGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGG CTGAAGGGTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACA GGAGGCAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTGTTTC TAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCCTTAAACCTGGCGTTG ATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTCGACTTCCC GGCGCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTACCG CACAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (配列番号:294)

10

20

30

40

【表 1 1 7】

2451B06-Cys	MGVSDVPRDLEVAA TPTSLIISWDAPADG GYGYRITYGETGGN SPVQEFTVPVSKGTA TISGLKPGVDYITIV YAVEFDPPGAGYYHR PISINYRTGSGCHHH HHH (配列番号:295)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGC TGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGG CTGATGGTGGTTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAA ACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCTGT TTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCG TTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGAATTCGACTTC CCGGGCGCCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTA CCGCACAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (配列番号:296)
2382E05-Cys	MGVSDVPRDLEVAA TPTSLIISWDAPAE GYGYRITYGETGGN SPVQEFTVPVSKGTA TISGLKPGVDYITIV YAVEFDPPGAGYYHR PISINYRTGSGCHHH HHH (配列番号:297)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGC TGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGG CTGAGGGCGGCTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAA ACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCTGT TTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCG TTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGAATTCGACTTC CCGGGCGCCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTA CCGCACAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (配列番号:298)
2382B09-Cys	MGVSDVPRDLEVAA TPTSLIISWDAPADA YGYRITYGETGGNS PVQEFTVPVSKGTAT ISGLKPGVDYITIVY AVEFDYPGSGYYHRP ISINYRTGSGCHHHH HH (配列番号:299)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGC TGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGG CTGACGCGTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACA GGAGGCAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCTGTTTC TAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTG ATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGAATTCGACTACCCC GGCTCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTACCG CACAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (配列番号:300)

10

20

30

【0 1 3 9】

核酸-タンパク質融合技術

1つの局面において、本出願は、P C S K 9に結合するフィブロネクチン I I I 型ドメインを含むアドネクチンを提供する。特異的結合特性を有する F n 3 ドメインを迅速に生成し、試験する1つの方法は、Adnexus, a Bristol-Myers Squibb R&D Companyの核酸-タンパク質融合技術である。本記載は、核酸-タンパク質融合物（RNA-およびDNA-タンパク質融合物）を利用して、タンパク質への結合のために重要である新規ポリペプチドおよびアミノ酸モチーフを同定する、P R O f u s i o n と称されるインビトロ発現およびタグ技術を利用する。核酸-タンパク質融合技術は、タンパク質をそのコーディング遺伝情報に共有的に連結する技術である。RNA-タンパク質融合技術およびフィブロネクチンベースのスカフォールドタンパク質ライブラリースクリーニング方法の詳細な説明のために、S z o s t a k ら、米国特許第 6, 2 5 8, 5 5 8、6, 2 6 1, 8 0 4、6, 2 1 4, 5 5 3、6, 2 8 1, 3 4 4、6, 2 0 7, 4 4 6、6, 5 1 8, 0 1 8 お

40

50

よび 6, 818, 418 号; ならびに Roberts ら *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 94:12297-12302 (1997) (出典明示により本明細書に包含させる) 参照。

【0140】

ベクターおよびポリヌクレオチド態様

本明細書に記載されている種々のタンパク質またはポリペプチドのいずれかをコードする核酸は、化学的に合成され得る。コドン使用頻度は、細胞における発現を改善するように選択され得る。このようなコドン使用頻度は、選択される細胞型に依存する。特定化されたコドン使用頻度パターンは、大腸菌および他の細菌、ならびに哺乳動物細胞、植物細胞、酵母細胞および昆虫細胞に対して開発されている。例えば: Mayfield ら *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100(2):438-442 (Jan. 21, 2003); Sinclair ら *Protein Expr. Purif.*, 26(1):96-105 (Oct. 2002); Connell, N.D., *Curr. Opin. Biotechnol.*, 12(5):446-449 (Oct. 2001); Makrides ら *Microbiol. Rev.*, 60(3):512-538 (Sep. 1996); および Sharp ら *Yeast*, 7(7):657-678 (Oct. 1991) 参照。

【0141】

核酸操作の一般的な技術は、例えば、Sambrook ら *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd Edition, Vols. 1-3, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989) または Ausubel, F ら *Current Protocols in Molecular Biology*, Green Publishing and Wiley-Interscience, New York (1987) および定期的アップデートされたもの (出典明示により本明細書に包含させる) に記載されている。一般的に、ポリペプチドをコードする DNA は、哺乳動物、ウイルスまたは昆虫遺伝子由来の適当な転写または翻訳調節要素に作動可能に連結される。このような調節要素は、転写プロモーター、転写をコントロールするための任意のオペレーター配列、適当な mRNA リボソーム結合部位をコードする配列、および転写および翻訳の終結をコントロールする配列を含む。宿主において複製する能力は、通常、複製起点により与えられ、形質転換体の認識を容易にするための選択遺伝子がさらに組み込まれる。

【0142】

本明細書に記載されているタンパク質は、直接的にだけではなく、好ましくはシグナル配列または成熟タンパク質またはポリペプチドの N-末端で特異的切断部位を有する他のポリペプチドである異種ポリペプチドとの融合ポリペプチドとしても組換え的に生産され得る。選択される異種シグナル配列は、好ましくは、宿主細胞により認識され、プロセッシングされる (すなわち、シグナルペプチダーゼにより切断される) ものである。哺乳動物系におけるポリペプチドの生産のための典型的な N-末端リーダー配列は、次の発現で宿主細胞により除去される METDTLLLVVLLLVVPGSTG (配列番号: 326) である。

【0143】

天然シグナル配列を認識せず、プロセッシングしない原核生物宿主細胞のために、シグナル配列は、例えば、アルカリホスファターゼ、ペニシリナーゼ、lpp または熱安定性エンテロトキシン II リーダーの群から選択される原核生物シグナル配列により置換される。

【0144】

酵母分泌のために、天然シグナル配列は、例えば、酵母インベルターゼリーダー、因子リーダー (サッカロミセス (*Saccharomyces*) および クルイペロマイセス (*Kluyveromyces*) アルファ因子リーダーを含む) または酸性ホスファターゼリーダー、C. アルビカンス (*albicans*) グルコアミラーゼリーダー、または米国特許第 5, 631, 144 号に記載されているシグナルにより置換され得る。哺乳動物細胞発現において、哺乳動物シグナル配列ならびにウイルス分泌リーダー、例えば、単純ヘルペス gD シグナルを利用できる。このような前駆体領域の DNA は、タンパク質をコードする DNA にリーディングフレームにおいてライゲートされ得る。

【0145】

発現およびクローニングベクターの両方は、ベクターが 1 つ以上の選択された宿主細胞

において複製することを可能にする核酸配列を含む。一般的に、クローニングベクターにおいて、この配列は、ベクターが宿主染色体DNAと独立して複製することを可能にするものであり、複製起点または自己複製配列を含む。このような配列は、種々の細菌、酵母およびウイルスに対してよく知られている。プラスミド pBR322 由来の複製起点は多数のグラム陰性菌に適当であり、2 ミクロンプラスミド起源は酵母に適当であり、種々のウイルス起源 (SV40、ポリオーマ、アデノウイルス、VSV または BPV) は哺乳動物細胞においてクローニングベクターのために有用である。一般的に、複製起点成分は、哺乳動物発現ベクターのために必要ではない (SV40 起点は一般的に、単に初期プロモーターを含むため、使用され得る)。

【0146】

発現およびクローニングベクターは、選択可能なマーカーとも称される選択遺伝子を含み得る。典型的な選択遺伝子は、(a) 抗生物質または他のトキシン、例えば、アンピシリン、ネオマイシン、メトトレキサートまたはテトラサイクリンに対する耐性を与える、(b) 栄養要求性欠失を補足する、または (c) 複合培地から利用できない決定的な栄養素を提供するタンパク質をコードする、例えば、バチルス (Bacilli) の D-アラニンラセマーゼをコードする遺伝子である。

【0147】

発現およびクローニングベクターは、通常、宿主生物により認識され、本発明のタンパク質、例えば、フィブロネクチンベースのスcaffoldingタンパク質をコードする核酸に作動可能に連結されるプロモーターを含む。原核生物宿主と共に使用するために適当なプロモーターは、phoAプロモーター、ベクターラクターマーゼおよびラクトースプロモーター系、アルカリホスファターゼ、トリプトファン (trp) プロモーター系およびハイブリッドプロモーター、例えば、tanプロモーターを含む。しかしながら、他の既知の細菌プロモーターが適当である。細菌系における使用のためのプロモーターはまた、本発明のタンパク質をコードするDNAに作動可能に連結したシャイン-ダルガノ (S. D.) 配列を含む。真核生物のためのプロモーター配列は知られている。実質的には、全ての真核遺伝子は、転写が開始される部位から約25から30塩基上流に位置するAT-rich領域を有する。多数の遺伝子の転写の開始から70から80塩基上流に見出される別の配列はCNCAT領域であり、Nは任意のヌクレオチドであってよい。多数の真核遺伝子の3'末端に、コード配列の3'末端へのポリAテールの付加のためのシグナルであり得るAATAA配列がある。これらの配列の全ては、真核発現ベクターに適当に挿入される。

【0148】

酵母宿主と共に使用するための適当な促進配列の例は、3-ホスホグリセリン酸キナーゼまたは他の糖分解酵素、例えば、エノラーゼ、グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ、ヘキソキナーゼ、ピルビン酸デカルボキシラーゼ、ホスホフルクトキナーゼ、グルコース-6-リン酸イソメラーゼ、3-ホスホグリセリン酸ムターゼ、ピルビン酸キナーゼ、トリオースリン酸イソメラーゼ、ホスホグルコースイソメラーゼおよびグルコキナーゼに対するプロモーターを含む。

【0149】

哺乳動物宿主細胞におけるベクターからの転写は、例えば、ウイルス、例えば、ポリオーマウイルス、鶏痘ウイルス、アデノウイルス (例えば、アデノウイルス2)、ウシパピローマウイルス、トリ肉腫ウイルス、サイトメガロウイルス、レトロウイルス、B型肝炎ウイルス、およびより好ましくはシミアンウイルス40 (SV40) のゲノムから得られるプロモーター、異種哺乳動物プロモーター、例えば、アクチンプロモーターまたは免疫グロブリンプロモーター、ヒートショックプロモーターによりコントロールすることができ、このようなプロモーターは宿主細胞系と適合性である。

【0150】

高等真核生物による本発明のタンパク質をコードするDNAの転写は、しばしば、ベクターにエンハンサー配列を挿入することにより増加される。哺乳動物遺伝子由来の多数の

10

20

30

40

50

エンハンサー配列が、現在、知られている（グロビン、エラスターゼ、アルブミン、 α -フェトプロテインおよびインスリン）。しかしながら、一般的に、真核細胞ウイルス由来のエンハンサーを使用する。例としては、複製起点の後ろ側においてSV40エンハンサー（bp100-270）、サイトメガロウイルス初期プロモーターエンハンサー、複製起点の後ろ側においてポリオーマエンハンサーおよびアデノウイルスエンハンサーを含む。真核プロモーターの活性化のためのエンハンサーエレメントについて、Yaniv, Nature, 297:17-18 (1982)も参照。エンハンサーは、ペプチドコード配列に対して5'または3'側の位置でベクターにスプライシングされ得るが、プロモーターの5'側に位置することが好ましい。

【0151】

真核宿主細胞（例えば、酵母、真菌、昆虫、植物、動物、ヒトまたは他の多細胞生物からの有核細胞）において使用される発現ベクターはまた、転写の終結のため、およびmRNAを安定化させるために必要な配列を含む。このような配列は、真核またはウイルスDNAまたはcDNAの5'および、時折3'非翻訳領域から一般的に利用できる。これらの領域は、本発明のタンパク質をコードするmRNAの非翻訳部分におけるポリアデニル化フラグメントとして転写されるヌクレオチドセグメントを含む。1つの有用な転写終結成分は、ウシ成長ホルモンポリアデニル化領域である。WO94/11026およびそこに記載されている発現ベクター、参照。

【0152】

組換えDNAはまた、タンパク質を精製するために有用であり得るあらゆる型のタンパク質タグ配列を含むことができる。タンパク質タグの例は、限定はしないが、ヒスチジンタグ、FLAGタグ、mycタグ、HAタグまたはGSTタグを含む。細菌、真菌、酵母および哺乳動物細胞宿主で使用するために適当なクローニングおよび発現ベクターは、Cloning Vectors: A Laboratory Manual, (Elsevier, New York (1985))（この関連の記載は、出典明示により本明細書に包含させる）において見出すことができる。

【0153】

発現構築物は、当業者に明らかであるとおりに、宿主細胞に対して適当な方法を使用して宿主細胞に導入される。宿主細胞に核酸を導入するための種々の方法は、当分野で知られており、限定はしないが、エレクトロポレーション；塩化カルシウム、塩化ルビジウム、リン酸カルシウム、DEAE-デキストランまたは他の物質を使用するトランスフェクション；微粒子銃；リポフェクション；および感染（ベクターが感染性因子である）を含む。

【0154】

適当な宿主細胞は、原核生物、酵母、哺乳動物細胞または細菌細胞を含む。適当な細菌は、グラム陰性またはグラム陽性生物体、例えば、大腸菌またはバチルス種を含む。好ましくはサッカロミセス種由来の酵母、例えば、サッカロミセス・セレビシエがまた、ポリペプチドの生産のために使用され得る。種々の哺乳動物または昆虫細胞培養系をまた、組換えタンパク質を発現させるために使用することができる。昆虫細胞における異種タンパク質の生産のためのバキュロウイルス系は、Luckowら (Bio/Technology, 6:47 (1988))により概説されている。適当な哺乳動物宿主細胞系の例は、内皮細胞、COS-7サル腎臓細胞、CV-1、L細胞、C127、3T3、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）、ヒト胚腎臓細胞、HeLa、293、293TおよびBHK細胞系を含む。精製ポリペプチドは、適当な宿主／ベクター系を培養し、組換えタンパク質を発現させることにより調製される。多数の適用のために、本明細書に記載されている小さいサイズの多数のポリペプチドは、発現のための好ましい方法として大腸菌において発現させる。次に、タンパク質は、培養培地または細胞抽出物から精製される。

【0155】

タンパク質生産

宿主細胞は、タンパク質生産のために本明細書において記載されている発現またはクローニングベクターで形質転換され、プロモーターを誘導するか、形質転換体を選択するか

10

20

30

40

50

、または所望の配列をコードする遺伝子を増幅するために適当に修飾された慣用の栄養培地中で培養される。本明細書に示される例において、ハイスループットタンパク質生産（HTPP）および中規模生産のために使用された宿主細胞は、HMS174-細菌株であった。本発明のタンパク質を生産するために使用される宿主細胞は、種々の培地で培養され得る。市販の培地、例えば、Ham's F10（Sigma）、最小必須培地（MEM）、（Sigma）、RPMI-1640（Sigma）およびダルベッコ改変イーグル培地（DMEM、Sigma）は、宿主細胞を培養するために適当である。加えて、Hamら Meth. Enzymol., 58:44 (1979)、Baritesら Anal. Biochem., 102:255 (1980)、米国特許第4,767,704、4,657,866、4,927,762、4,560,655、5,122,469、6,048,728、5,672,502号、または米国特許第RE30,985号に記載されている培地が、宿主細胞のための培養培地として使用され得る。これらの培地はいずれも、必要なとき、ホルモンおよび／または他の増殖因子（例えば、インスリン、トランスフェリンまたは上皮細胞増殖因子）、塩（例えば、塩化ナトリウム、カルシウム、マグネシウムおよびホスフェート）、バッファー（例えば、HEPES）、ヌクレオチド（例えば、アデノシンおよびチミジン）、抗生物質（例えば、ゲンタマイシン薬）、微量元素（マイクロモル範囲の最終濃度で通常存在する無機化合物として定義される）、およびグルコースまたは同等のエネルギー供給源を補給され得る。任意の他の必要な栄養補助剤がまた、当業者に知られている適当な濃度で含まれ得る。培養条件、例えば、温度、pHなどは、発現のために選択された宿主細胞で以前に使用されたものであり、当業者に明らかである。

10

20

【0156】

本明細書に記載されているタンパク質はまた、細胞-翻訳系を使用して生産することができる。このような目的のために、ポリペプチドをコードする核酸は、インビトロ転写がmRNAを生産することを可能にし、利用される特定の無細胞系（真核、例えば、哺乳動物または酵母無細胞翻訳系、または原核生物、例えば、細菌無細胞翻訳系）におけるmRNAの無細胞翻訳を可能にするように修飾されるべきである。

【0157】

本発明のタンパク質はまた、化学合成（例えば、Solid Phase Peptide Synthesis, 2nd Edition, The Pierce Chemical Co., Rockford, IL (1984)に記載されている方法による）により生産することができる。タンパク質に対する修飾はまた、化学合成により生産することができる。

30

【0158】

本発明のタンパク質は、タンパク質化学の分野において一般的に知られているタンパク質に対する単離／精製方法により精製することができる。非限定的な例は、抽出、再結晶化、塩析（例えば、硫酸アンモニウムまたは硫酸ナトリウムで）、遠心分離、透析、限外ろ過、吸着クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、疎水性クロマトグラフィー、順相クロマトグラフィー、逆相クロマトグラフィー、ゲル濾過、ゲル浸透クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、電気泳動法、向流分配またはこれらの任意の組合せを含む。精製後、ポリペプチドは、異なるバッファーに交換され、および／または限定はしないが、濾過および透析を含む当分野で既知の任意の種々の方法により濃縮され得る。

40

【0159】

精製されたポリペプチドは、好ましくは少なくとも85%純粋、または好ましくは少なくとも95%純粋、およびより好ましくは少なくとも98%純粋である。純度の正確な数値にかかわらず、ポリペプチドは、医薬品として使用するために十分に純粋である。

【0160】

プラットフォーム製造工程を使用して、抗-PCSK9アドネクチンを調製した。抗-PCSK9アドネクチンは、大腸菌(E.coli)において生産される。大腸菌BLR(DE3)細胞を、タンパク質を可溶性形態において細胞内に生産する発現ベクター(pET9d/A T I 0 0 1 1 7 3)で形質転換した。組換え株を、かくはん発酵槽において増殖させる

50

。発酵の最後に、細胞を回収し、溶解し、精製のための調製において浄化する。A T I O 0 1 1 7 3 は、A T I O 0 1 1 1 4 の非-h i s タグバージョンである。精製された抗-PCSK9 アドネクチンを、マレイミドリンカーを使用して40 k D a の分岐メトキシPEGに結合させる。次に、結合した物質を再精製し、遊離PEG、遊離抗-PCSK9 アドネクチンおよび製造工程由来不純物を除去する。品質管理試験を、バルク薬物にて行う。

【0161】

インビボでの治療使用

1つの局面において、本出願は、アテローム性動脈硬化症、高コレステロール血症および他のコレステロール関連疾患の処置において有用な抗-PCSK9 アドネクチンを提供する。本出願はまた、抗-PCSK9 アドネクチンを対象に投与するための方法を提供する。いくつかの態様において、対象はヒトである。いくつかの態様において、抗-PCSK9 アドネクチンは、哺乳動物、特にヒトに対して薬学的に許容される。「薬学的に許容される」ポリペプチドは、重大な有害な医学的結果なしで、例えば、本質的にエンドトキシンなしで、または非常に低いエンドトキシンレベルで動物に投与されるポリペプチドを示す。

【0162】

製剤および投与

本出願は、さらに、本明細書に記載されている抗-PCSK9 アドネクチンまたはその融合タンパク質を含む薬学的に許容される組成物であって、本質的にエンドトキシンを含まない組成物を提供する。抗-PCSK9 アドネクチンまたはその融合物を含む治療製剤は、所望の程度の純度を有する記載されているポリペプチドを、任意の生理学的に許容される担体、賦形剤または安定剤 (Osol, A., Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th Edition (1980)) と混合することにより、水溶液、凍結乾燥された、または他の乾燥された製剤の形態において保存のために調製される。許容される担体、賦形剤または安定剤は、使用される用量および濃度でレシピエントに対して非毒性であり、バッファー、例えば、リン酸、クエン酸および他の有機酸；抗酸化剤、例えば、アスコルビン酸およびメチオニン；防腐剤（例えば、オクタデシルジメチルベンジル塩化アンモニウム；塩化ヘキサメトニウム；塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム；フェノール、ブチルまたはベンジルアルコール；アルキルパラベン、例えば、メチルまたはプロピルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；3-ペンタノール；およびm-クレゾール）；低分子量（約10残基未満）ポリペプチド；タンパク質、例えば、血清アルブミン、ゼラチンまたは免疫グロブリン；親水性ポリマー、例えば、ポリビニルピロリドン；アミノ酸、例えば、グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニンまたはリジン；単糖類、二糖類および他の炭水化物、例えば、グルコース、マンノースまたはデキストラン；キレート化剤、例えば、EDTA；糖、例えば、スクロース、マンニトール、トレハロースまたはソルビトール；塩形成性対イオン、例えば、ナトリウム；金属錯体（例えば、Zn-タンパク質複合体）；および／または非イオン性界面活性剤、例えば、Tween、PLURONIC（登録商標）またはポリエチレングリコール（PEG）を含む。

【0163】

本明細書における製剤はまた、処置される特定の適応のために必要なとき2つ以上の活性化合物、好ましくは互いに有害に影響しない相補的活性を有するものを含み得る。このような分子は、意図される目的のために有効である量において組合せで適当に存在する。

【0164】

インビボ投与のために使用される製剤は、無菌でなければならない。これは、無菌濾過膜を介する濾過により容易に成し遂げる。

【0165】

当業者は、それぞれの治療剤の用量が薬剤の正体に依存することを理解している。

【0166】

10

20

30

40

50

治療的適応のために、抗-PCSK9アドネクチンまたは抗-PCSK9アドネクチンを含む融合タンパク質は、薬学的に許容される投与形態において対象に投与される。それらは、ボラスとして静脈内に、または期間にわたって連続的な注入により、または皮下経路により投与することができる。適当な薬学的に許容される担体、希釈剤および賦形剤はよく知られており、臨床状態が保証されたとき、当業者により決定することができる。適当な担体、希釈剤および／または賦形剤の例は、(1)ダルベッコのリン酸緩衝生理食塩水、(2)0.9%の生理食塩水(0.9% w/v NaCl)、および(3)5% (w/v) デキストロースを含む。

【0167】

本発明の方法は、インビトロ、インビボまたはエキソビボで実施することができる。

10

【0168】

共投与または連続投与であろうとなかろうと、抗-PCSK9アドネクチンまたはその融合物および1つ以上のさらなる治療剤の投与は、治療的適応のために上記のとおりに生じ得る。共投与のための適当な薬学的に許容される担体、希釈剤および賦形剤は、当業者により理解されており、投与される特定の治療剤の正体に依存する。

【0169】

凍結乾燥されるよりむしろ、水性投与形態において存在するとき、タンパク質は、一般的に、約0.1 mg/mlから100 mg/mlの濃度で製剤化されるが、これらの範囲の外側の広範な変化も許される。疾患の処置のために、抗-PCSK9アドネクチンまたはその融合物の適当な用量は、処置される疾患の型、疾患の重症度および経過、タンパク質が予防もしくは治療目的のために投与されるか否か、以前の治療の経過、患者の病歴およびタンパク質に対する応答、ならびに担当医の判断に依存する。タンパク質は、一度で、または一連の処置にわたって、患者に適当に投与される。

20

【0170】

血清アルブミン結合アドネクチン(SABA)の融合物

1つの局面において、本出願は、ヒト血清アルブミンに結合する¹⁰Fn3ドメインに融合した抗-PCSK9アドネクチン(血清アルブミン結合アドネクチン(¹⁰Fn3ドメイン)またはSABA)を含む融合タンパク質を提供する。このような融合タンパク質は、抗-PCSK9アドネクチン単独(例えば、PK部分に結合していない)と比較して、アルブミンの存在下で伸長した血清半減期を有する。

30

【0171】

¹⁰Fn3ドメインは、~10 kDaの小さいサイズのために、腎臓濾過および分解を介して血中から迅速にクリアランスされる($t_{1/2}$ = マウスにおいて15-45分; サルにおいて1-3時間)。血清アルブミン、例えば、ヒト血清アルブミン(HSA)に特異的に結合する¹⁰Fn3ドメインを含む第2のポリペプチドへの¹⁰Fn3ドメイン、例えば、抗-PCSK9アドネクチンの融合物は、抗-PCSK9アドネクチンの $t_{1/2}$ を延長するために使用され得る。

【0172】

1つの態様において、SABAに融合させた抗-PCSK9アドネクチンの血清半減期は、SABAに結合していないときの抗-PCSK9アドネクチンの血清半減期と比較して増加される。1つの態様において、SABA融合物の血清半減期は、SABAに融合していないときの抗-PCSK9アドネクチンの血清半減期と比較して、少なくとも20、40、60、80、100、120、150、180、200、400、600、800、1000、1200、1500、1800、1900、2000、2500または3000%長い。他の態様において、SABA融合物の血清半減期は、SABAに融合していないときの抗-PCSK9アドネクチンの血清半減期と比較して、少なくとも1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、10倍、12倍、13倍、15倍、17倍、20倍、22倍、25倍、27倍、30倍、35倍、40倍または50倍長い。いくつかの態様において、SABA融合物の血清半減期は、少なくとも10時間、15時間、20時間、25時間、30時間、35時間、40時間、5

40

50

0時間、60時間、70時間、80時間、90時間、100時間、110時間、120時間、130時間、135時間、140時間、150時間、160時間または200時間である。

【0173】

1つの態様において、SABA融合タンパク質の血清アルブミン結合部分は、3 μ M、2.5 μ M、2 μ M、1.5 μ M、1 μ M、500 nM、100 nM、50 nM、10 nM、1 nM、500 pM、100 pM、100 pM、50 pMまたは10 pM未満の K_D でHSAに結合する。1つの態様において、SABA融合タンパク質の血清アルブミン結合部分は、25℃または37℃で5.5から7.4のpH範囲で3 μ M、2.5 μ M、2 μ M、1.5 μ M、1 μ M、500 nM、100 nM、50 nM、10 nM、1 nM、500 pM、100 pM、100 pM、50 pMまたは10 pM未満の K_D でHSAに結合する。いくつかの態様において、SABA融合タンパク質の血清アルブミン結合部分は、pH 7.4での結合と比較して、pH 7.4未満でHSAにさらにしっかりと結合する。

10

【0174】

したがって、本明細書に記載されているSABA融合物分子は、抗-PCSK9アドネクチンおよびSABA間の融合をすることにより、抗-PCSK9アドネクチンの半減期を増加させるために有用である。このような融合分子は、PCSK9の生物学的活性に応答する状態を処置するために使用され得る。本発明は、PCSK9の異常制御により引き起こされる疾患におけるSABA融合物分子の使用を考慮する。

【0175】

20

融合物は、抗-PCSK9アドネクチンをSABA分子のいずれかの末端に結合させることにより、すなわち、SABA-抗-PCSK9アドネクチンまたは抗-PCSK9アドネクチン-SABA配置で形成され得る。

【0176】

HSAは、ヒトにおいて600 μ Mの血清濃度および19日間の $t_{1/2}$ を有する。HSAの伸長された $t_{1/2}$ は、一部、新生児のFc受容体(FcRn)を介してリサイクルされることに起因している。HSAは、内皮細胞へのエンドソーム摂取後にpH依存性においてFcRnに結合し；該相互作用は、HSAを血流にもう一度リサイクルし、それによりリソソーム分解から離れる。FcRnは広範に発現され、再循環経路は常時的であると考えられる。大多数の細胞型において、多数のFcRnは、細胞内選別エンドソームに属する。HSAは、液相飲作用の非特異的メカニズムにより容易に内在化され、FcRnによるリソソームにおける分解から救出される。エンドソームにおいて見出される酸性pHで、FcRnに対するHSAの親和性は増加される(pH 6.0で5 μ M)。FcRnに結合すると、HSAは、リソソーム分解経路から離れて、トランスサイトosisされ、細胞表面にで放出される。

30

【0177】

1つの態様において、本明細書に記載されているSABA融合タンパク質の血清アルブミン結合部分はまた、サル、ラットまたはマウスの1つ以上からの血清アルブミンに結合し得る。1つの態様において、本明細書に記載されているSABA融合タンパク質のHSA結合部分は、3 μ M、2.5 μ M、2 μ M、1.5 μ M、1 μ M、500 nM、100 nM、50 nM、10 nM、1 nM、500 pMまたは100 pM未満の K_D で、アカゲザル血清アルブミン(RhSA)またはカニクイザル血清アルブミン(CySA)に結合する。

40

【0178】

1つの態様において、本明細書に記載されているSABA融合タンパク質の血清アルブミン結合部分は、HSAのドメインIおよび／またはドメインIIに結合する。1つの態様において、本明細書に記載されているSABA融合タンパク質のHSA結合部分は、HSAのドメインIIIに結合しない。

【0179】

1つの態様において、SABA融合タンパク質の血清アルブミン結合部分は、野生型¹

50

⁰Fn3ドメイン（配列番号：1）と少なくとも40%、50%、60%、70%、75%、80%または85%同一性を有する配列を含む。1つの態様において、少なくとも1つのBC、DEまたはFGループは、野生型¹⁰Fn3ドメインと比較して修飾される。別の態様において、少なくとも2つのBC、DEまたはFGループは、野生型¹⁰Fn3ドメインと比較して修飾される。別の態様において、全3つのBC、DEおよびFGループは、野生型¹⁰Fn3ドメインと比較して修飾される。他の態様において、SABAは、表6に示される26コアSABA配列（すなわち、配列番号：334、338、342、346および348-370）のいずれか1つ、または表6に示される伸長されたSABA配列（すなわち、配列番号：420-447 マイナス 6×HISTAG）のいずれか1つと少なくとも40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%または95%同一性を有する配列を含む。

10

【0180】

1つの態様において、¹⁰Fn3スカフォールドに基づく血清結合アドネクチンは、以下の配列により一般的に定義することができる：

EVVAAT(X)_aSLLI(X)_xYYRITYGE(X)_bQEFTV(X)_yATI(X)_cDYTTITVYAV(X)_zISINYRT（配列番号：328）

【0181】

1つの態様において、¹⁰Fn3スカフォールドに基づく血清結合アドネクチンは、配列により一般的に定義することができる：

EVVAATPTSLLI(X)_xYYRITYGETGGNSPVQEFTV(X)_yATISGLKPGVDYTTITVYAV(X)_zISINYRT（配列番号：329）

20

【0182】

抗-PCSK9アドネクチンに対して本明細書に記載されているとおり、配列番号：328および329は、同じ方法においてSABA分子を定義し、該分子に適用することができる。典型的な態様において、(X)_x、(X)_yおよび(X)_zによりそれぞれ示されているBC、DEおよびFGループは、以下の表6に示されるHSAバインダーのいずれか（すなわち、表6における配列番号：330、334、338、342、346および348-370）のBC、DEおよびFGループ配列を含むポリペプチドで置換される。1つの態様において、表6に示されるBC、DEまたはFGループ配列は、N-および/またはC-末端の側面に1つ以上のさらなる残基を含み得る。特に、BCループは、配列番号：328において(X)_xを置換するとき、表6に示されるBCループ配列のN-末端でSWを含み得る。同様に、DEループは、配列番号：328において(X)_yを置換するとき、ループDEの前にPおよびループDEの後に残基Tを含み得る。FGループは、配列番号：328において(X)_zを置換するとき、FGループの後にPを含み得る。例えば、配列番号：330は、BC、DEおよびFGループが、それぞれHSYYEQNS（配列番号：638）、YSQT（配列番号：639）およびYGSKYYP（配列番号：640）を含むことを示す。しかしながら、配列番号：328において(X)_x、(X)_yおよび(X)_z、すなわち、BC、DEおよびFGループを置換するとき、(X)_x配列はSWHSYYEQNS（配列番号：641）であり得、(X)_y配列はPYSQLTT（配列番号：642）であり得、(X)_z配列はYGSKYYP（配列番号：643）であり得る。

30

40

【0183】

1つの態様において、本明細書に記載されている融合物における使用のためのSABAは、配列番号：328または329に記載されている配列を含み得、式中(X)_x、(X)_yおよび(X)_zによりそれぞれ示されるBC、DEおよびFGループは、26コアSABA配列のいずれかの特定のBC、DEおよびFGループ（すなわち、表6における配列番号：330、334、338、342、346および348-370）のそれぞれのセット、または、26コアSABA配列のBC、DEおよびFGループ配列と少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%または99%同一の配列で置換される。典型的な態様において、本明細書に記載されているSABAは、配列番号：3

50

29により定義され、所望により上記ループ配列へのN-および/またはC-末端付加を有する、26コアSABA配列（すなわち、表6における配列番号：330、334、338、342、346および348-370）のいずれかのBC、DEおよびFGループ配列のセットを有する。例えば、SABA1は配列番号：330に記載されているコア配列を有し、配列番号：331-333に記載されているそれぞれのBC、DEおよびFGループを含む。したがって、SABA1コアに基づくSABAは、配列番号：328または329を含み得、式中 $(X)_x$ は配列番号：331を含み、 $(X)_y$ は配列番号：332を含み、そして $(X)_z$ は配列番号：333を含む。いくつかの態様において、 $(X)_x$ 、 $(X)_y$ および $(X)_z$ を置換する配列は、上記ループの末端のいずれか、または両方におけるさらなる残基を含む。同様の構築物は、他のSABAコア配列からのBC、DEおよびFGループのセットを利用することが考えられる。このようなSABAのスcaffold領域は、配列番号：1のスcaffoldアミノ酸残基と比較して、0から20、0から15、0から10、0から8、0から6、0から5、0から4、0から3、0から2または0から1の範囲の置換、保存的置換、欠失または付加を含み得る。このようなスcaffold修飾は、SABAが所望の K_D で血清アルブミン、例えば、HSAに結合することができる限り、作成され得る。

10

【0184】

1つの態様において、SABA（例えば、SABAコア配列または上記に基づく配列）は、N-末端伸長配列および/またはC-末端伸長を含むように修飾され得る。典型的な伸長配列は表6に示される。例えば、SABA1.1として示される配列番号：420は、N-末端配列MGVSDVPRDLE（配列番号：371、AdNT1として示される）およびC-末端配列EIDKPSQ（配列番号：380、AdCT1として示される）を有するコアSABA1配列（配列番号：330）を含む。SABA1.1はC-末端でHis6タグをさらに含むが、しかしながら、His6タグは完全に任意であり、N-もしくはC-末端伸長配列内のどこにでも位置よく、または互いの配列に存在しないことが理解されるべきである。さらに、表6において提供される典型的なN-もしくはC-末端伸長配列のいずれか（配列番号：371-395）、およびそれらの変異体のいずれかを、表6において提供されるあらゆる所定のSABAコア配列を修飾するために使用することができる。

20

【0185】

1つの態様において、C-末端伸長配列（「テール」とも呼ばれる）は、EおよびD残基を含み、8から50、10から30、10から20、5から10および2から4アミノ酸長であり得る。いくつかの態様において、テール配列はEDベースのリンカーを含み、該配列はEDのタンデムリピートを含む。典型的な態様において、テール配列は、2-10、2-7、2-5、3-10、3-7、3-5、3、4または5EDリピートを含む。1つの態様において、EDベースのテール配列はまた、さらなるアミノ酸残基、例えば：EI、EID、ES、EC、EGSおよびEGCを含み得る。このような配列は、一部、既知のアドネクチンテール配列、例えば、残基DおよびKが除去されているEIDKPSQ（配列番号：380）に基づく。典型的な態様において、EDベースのテールは、EDリピート前にE、IまたはEI残基を含む。

30

40

【0186】

他の態様において、テール配列は、SABA融合物分子を設計するとき、必要なとき、他の既知のリンカー配列（例えば、表6における配列番号：396-419）と組み合わせられ得る。

【0187】

コンジュゲーション／リンカー

SABA融合物は、共有的または非共有的に連結され得る。いくつかの態様において、血清アルブミン結合¹⁰Fn3は、直接的またはポリペプチドリナーを介して間接的に抗-PCSK9アドネクチンに連結され得る。Fn3ドメインを結合するために適当なリンカーは、個々のドメインが互いに独立してフォールディング可能であり、標的分子への

50

高親和性結合を可能にする三次元構造を形成するものである。

【0188】

本記載は、これらの必要条件を満たす多くの適当なリンカー、例えば、グリシンーセリンベースのリンカー、グリシンープロリンベースのリンカー、ならびにアミノ酸配列 P S T S T S T（配列番号：416）を有するリンカーを提供する。本明細書に記載されている例は、ポリペプチドリンカーを介して連結した F n 3 ドメインが標的結合機能を保持することを証明する。いくつかの態様において、リンカーは、グリシンーセリンベースのリンカーである。これらのリンカーは、グリシンおよびセリン残基を含み、8 から 50、10 から 30 および 10 から 20 アミノ酸長であり得る。例としては、アミノ酸配列 (G S)₇（配列番号：403）、G (G S)₆（配列番号：398）および G (G S)₇ G（配列番号：400）を有するリンカーを含む。他のリンカーは、グルタミン酸を含み、例えば、(G S E)₅（配列番号：405）および G G S E G G S E（配列番号：409）を含む。他の典型的なグリシンーセリンリンカーは、(G S)₄（配列番号：402）、(G G G G S)₇（配列番号：411）、(G G G G S)₅（配列番号：412）および (G G G G S)₃ G（配列番号：413）を含む。いくつかの態様において、リンカーは、グリシンープロリンベースのリンカーである。これらのリンカーは、グリシンおよびプロリン残基を含み、3 から 30、10 から 30 および 3 から 20 アミノ酸長であり得る。例としては、アミノ酸配列 (G P)₃ G（配列番号：414）、(G P)₅ G（配列番号：415）および G P G を有するリンカーを含む。他の態様において、リンカーは、3 から 30、10 から 30 および 3 から 20 アミノ酸長を有するプロリンーアラニンベースのリンカーであり得る。プロリンアラニンベースのリンカーの例は、例えば、(P A)₃（配列番号：417）、(P A)₆（配列番号：418）および (P A)₉（配列番号：419）を含む。最適なリンカーの長さおよびアミノ酸組成物は、本明細書において提供される教示を考慮して、日常の実験により決定することができると考えられる。いくつかの態様において、抗-P C S K 9 アドネクチンは、血液または標的組織中のプロテアーゼにより切断可能であるプロテアーゼ部位を有するポリペプチドリンカーを介して S A B A に連結される。このような態様は、より良い送達もしくは治療特性またはより効率的な生産のために抗-P C S K 9 アドネクチンを放出するために使用することができる。

【0189】

さらなるリンカーまたはスペーサーは、F n 3 ドメインおよびポリペプチドリンカー間の F n 3 ドメインの C 末端に導入され得る。さらなるリンカーまたはスペーサーは、F n 3 ドメインおよびポリペプチドリンカー間の F n 3 ドメインの N 末端に導入され得る。

【0190】

いくつかの態様において、抗-P C S K 9 アドネクチンは、S A B A に、直接的またはポリマーリンカーを介して間接的に連結される。ポリマーリンカーは、融合物のそれぞれの成分間の距離を最適に変化させ、1 つ以上の以下の特性を有するタンパク質融合物を生成するために使用することができる：1) 興味あるタンパク質に結合するときの、1 つ以上のタンパク質ドメインの結合の立体障害の減少または増加、2) タンパク質安定性または溶解度の増加、3) タンパク質凝集の減少、および 4) タンパク質の全体的な親和力または親和性の増加。

【0191】

いくつかの態様において、抗-P C S K 9 アドネクチンは、生体適合性ポリマー、例えば、ポリマー糖を介して S A B A に連結される。ポリマー糖は、血液または標的組織中の酵素により切断可能である酵素切断部位を含むことができる。このような態様は、より良い送達もしくは治療特性またはより効率的な生産のために抗-P C S K 9 アドネクチンを放出するために使用することができる。

【0192】

配列の要約

上記「血清アルブミン結合アドネクチン (S A B A) の融合物」および「コンジュゲーション／リンカー」の欄に示されている多数の配列は、以下の表 6 に要約される。特記さ

れない限り、全てのN-末端伸長は、一本下線で示され、全てのC末端テール／伸長は、二本下線で示され、リンカー配列は囲まれている。ループ領域BC、DEおよびFGは、それぞれのコアSABA配列に対して網掛けされている。さらに上記のとおり、修飾配列（例えば、NまたはC末端伸長およびリンカー）はまた、抗-PCSK9アドネクチン分子を修飾するために使用することができる。

表6

典型的な配列の要約

【表118】

配列番号	配列名	記述	配列
典型的な血清アルブミン結合アドネクチン (SABA)			
327	¹⁰ F _n 3WTコア	WTコアヒト ¹⁰ F _n 3ドメイン	EVVAATPTSL ~~LI~~ SWDAPAVTVRRYYRITYGET GGNSPVQ ~~EFTV~~ PGSKSTATISGLKPGVDYTI TVYAVTGRGDSPASSK ~~PI~~ SIN ~~YRT~~
328	¹⁰ F _n 3v6	6個の可変ループを有する一般的な ¹⁰ F _n 3	EVVAAT(X) ₁ SLLI(X) ₂ YYRITYGE(X) ₃ QEFTV(X) ₄ AT ~~I~~ (X) ₅ DYTITVYAV(X) ₆ ISIN ~~YRT~~
329	¹⁰ F _n 3v3	3個の可変ループを有する一般的な ¹⁰ F _n 3	EVVAATPTSLLI(X) ₁ YYRITYGETGGNSPVQ ~~EFTV~~ (X) ₂ ATISGLKPGVDYTITVYAV(X) ₃ ISIN ~~YRT~~
330	SABA1	コア1アドネクチン	EVVAATPTSL ~~LI~~ SW ~~HSYYEQNS~~ YYRITYGET GGNSPVQ ~~EFTV~~ PYSQTATISGLKPGVDYTI TVYAVY ~~GSKYYY~~ PI ~~SIN~~ YRT
331	SABA1BC	コア1BCループ	HSYYEQNS
332	SABA1DE	コア1DEループ	YSQT
333	SABA1FG	コア1FGループ	YGSKYYY
334	SABA2	コア2アドネクチン	EVVAATPTSL ~~LI~~ SWPKYDKTGHYYRITYGET GGNSPVQ ~~EFTV~~ PT ~~TRQT~~ TATISGLKPGVDYTI TVYAV ~~SKDDYYPHEHR~~ PI ~~SIN~~ YRT
335	SABA2BC	コア2BCループ	PKYDKTGH
336	SABA2DE	コア2DEループ	TRQT
337	SABA2FG	コア2FGループ	SKDDYYPHEHR
338	SABA3	コア3アドネクチン	EVVAATPTSL ~~LI~~ SW ~~SNDGPGLS~~ YYRITYGET GGNSPVQ ~~EFTV~~ PSSQTATISGLKPGVDYTI TVYAV ~~SYITKKAYSAG~~ PI ~~SIN~~ YRT
339	SABA3BC	コア3BCループ	SNDGPGLS
340	SABA3DE	コア3DEループ	SSQT
341	SABA3FG	コア3FGループ	SYITKKAYSAG
342	SABA4	コア4アドネクチン；スカフォールド変異（太字）を含み；スカフォールド完全バージョンはSABA5である	~~EM~~ VAATPTSL ~~LI~~ SW ~~EDDSYYSR~~ YYRITYGET GGNSPVQ ~~EFTV~~ P ~~SDLY~~ TATISGLKPGVDYTI TVYAVTY ~~VDVTDLIMHE~~ PI ~~SIN~~ YRT
343	SABA4BC	コア4BCループ	EDDSYYSR
344	SABA4DE	コア4DEループ	SDLY
345	SABA4FG	コア4FGループ	YDVTDLIMHE

10

20

30

40

【表 1 1 9】

346	SABA5	コア 5 アドネクチン ; S A B A 4 に対する記述参照 ; 訂正された残基は太字である	EVVAATPTSLLISW EDDSYYS RYRITYGET GGNSPVQEFVTP SDLY TATISGLKPGVDYTI TVYAVTYDVTDLIMHEPISINRYT
347	SABA5BC	コア 5 B C ループ	EDDSYYSR
348	SABA5DE	コア 5 D E ループ	SDLY
349	SABA5FG	コア 5 F G ループ	YDVTDLIMHE
350	SABA6	コア 6 アドネクチン	EVVAATPTSLLISW YMDEYDVR YYRITYGET GGNSPVQEFVTP NY INTATISGLKPGVDYTI TVYAVTRIKANN MYGP PISINRYT
351	SABA7	コア 7 アドネクチン	EVVAATPTSLLISW NHLEHVAR YYRITYGET GGNSPVQEFVTP EYPT TATISGLKPGVDYTI TVYAVTITMLKY PTQS PISINRYT
352	SABA8	コア 8 アドネクチン	EVVAATPTSLLISW GHYRRSGH YYRITYGET GGNSPVQEFVTP DSSY TATISGLKPGVDYTI TVYAVSKDDY YPHEER PISINRYT
353	SABA9	コア 9 アドネクチン	EVVAATPTSLLISW DASHYERR YYRITYGET GGNSPVQEFVTP RYEH TATISGLKPGVDYTI TVYAVTQAOEHY QPP ISINRYT
354	SABA10	コア 1 0 アドネクチン	EVVAATPTSLLISW NSYYHSADY RITYGET GGNSPVQEFVTP YPP TATISGLKPGVDYTI TVYAVYS AKSY YPISINRYT
355	SABA11	コア 1 1 アドネクチン	EVVAATPTSLLISW SKYSKHGH YYRITYGET GGNSPVQEFVTP SCNA TATISGLKPGVDYTI TVYAVE EDNDYPHTER PISINRYT
356	SABA12	コア 1 2 アドネクチン	EVVAATPTSLLISW HGEFDQ TRYYRITYGET GGNSPVQEFVTP PYRR TATISGLKPGVDYTI TVYAVTSGYT GHYQ PISINRYT
357	SABA13	コア 1 3 アドネクチン	EVVAATPTSLLISW SKYSKHGH YYRITYGET GGNSPVQEFVTP DSSY TATISGLKPGVDYTI TVYAVSKDDY YPHEER PISINRYT
358	SABA14	コア 1 4 アドネクチン	EVVAATPTSLLISW YEPYTP HYRITYGET GGNSPVQEFVTP GYGT TATISGLKPGVDYTI TVYAVYGY YQYTP ISINRYT
359	SABA15	コア 1 5 アドネクチン	EVVAATPTSLLISW SKYSKHGH YYRITYGET GGNSPVQEFVTP SCNA TATISGLKPGVDYTI TVYAVS DDNKY YHQERISINRYT
360	SABA16	コア 1 6 アドネクチン	EVVAATPTSLLISW GHYRRSGH YYRITYGET GGNSPVQEFVTP DSSY TATISGLKPGVDYTI TVYAVSKDDY YPHEER PISINRYT

10

20

30

40

【表 1 2 0】

361	SABA17	コア 1 7 アドネク チ ン	EVVAATPTSLLISW SKYSKH GHYYRITYGET GGNSPVQEFTVP SGN ATATISGLKPGVDYTI TVYAV EDTNDYPH TERPISINYRT
362	SABA18	コア 1 8 アドネク チ ン	EVVAATPTSLLISW YEPGASV YYYYRITYGET GGNSPVQEFTVP SY YHTATISGLKPGVDYTI TVYAV YGYEYE EPISINYRT
363	SABA19	コア 1 9 アドネク チ ン	EVVAATPTSLLISW QSYAH SDYYRITYGET GGNSPVQEFTVP YPP QTATISGLKPGVDYTI TVYAV YAGSS YYPISINYRT
364	SABA20	コア 2 0 アドネク チ ン	EVVAATPTSLLISW GHYRR SGHYYRITYGET GGNSPVQEFTVP DPSS YATISGLKPGVDYTI TVYAV SKDDYYPHE TERPISINYRT
365	SABA21	コア 2 1 アドネク チ ン	EVVAATPTSLLISW PEPGT EVYYYYRITYGET GGNSPVQEFTVP AY YGTATISGLKPGVDYTI TVYAV YGYDY SPISINYRT
366	SABA22	コア 2 2 アドネク チ ン	EVVAATPTSLLISW YRIEKTQ HYYRITYGET GGNSPVQEFTVP PES GTATISGLKPGVDYTI TVYAV YAGYEYPH TERPISINYRT
367	SABA23	コア 2 3 アドネク チ ン	EVVAATPTSLLISW VKSE EYRYRITYGET GGNSPVQEFTVP YV YHTATISGLKPGVDYTI TVYAV TEYYYAGAV VSVPISINYRT
368	SABA24	コア 2 4 アドネク チ ン	EVVAATPTSLLISW YDPY TYGSYYRITYGET GGNSPVQEFTV GPY TTATISGLKPGVDYTI TVYAV SY YYSTQPIISINYRT
369	SABA25	コア 2 5 アドネク チ ン	EVVAATPTSLLISW NDGP GLSYYRITYGET GGNSPVQEFTVP SSQ TATISGLKPGVDYTI TVYAV SY YTKAYSAGPISINYRT
370	SABA26	コア 2 6 アドネク チ ン	EVVAATPTSLLISW PDFY KKPDYYRITYGET GGNSPVQEFTVP RDY TTATISGLKPGVDYTI TVYAV SY YGYYPISINYRT

10

20

30

【表 1 2 1】

典型的なアドネクチンN-末端伸長配列			
371	AdNT1	典型的なリーダー	MGVSDVPRDL
372	AdNT2	典型的なリーダー	GVSDVPRDL
373	AdNT3	典型的なリーダー	VSDVPRDL
374	AdNT4	典型的なリーダー	SDVPRDL
375	AdNT5	典型的なリーダー	DVPRDL
376	AdNT6	典型的なリーダー	VPRDL
377	AdNT7	典型的なリーダー	PRDL
378	AdNT8	典型的なリーダー	RDL
379	AdNT9	典型的なリーダー	DL

40

【表 1 2 2】

典型的なアドネクチンCー末端伸長配列			
380	AdCT1	典型的なテール	E I D K P S Q
381	AdCT2	典型的なテール	E I D K P S
382	AdCT3	典型的なテール	E I D K P C
383	AdCT4	典型的なテール	E I D K P
384	AdCT5	典型的なテール	E I D K
385	AdCT6	典型的なテール	E I
386	AdCT7	典型的なテール	E I E K P S Q
387	AdCT8	典型的なテール	E I D K P S Q L E
388	AdCT9	典型的なテール	E I E D E D E D E D E D E D
389	AdCT10	典型的なテール	E I E K P S Q E D E D E D E D E D
390	AdCT11	典型的なテール	E G S G S
391	AdCT12	典型的なテール	E I D K P C Q
392	AdCT13	典型的なテール	E I E K P C Q
393	AdCT14	典型的なテール	G S G C
394	AdCT15	典型的なテール	E G S G C
395	AdCT16	典型的なテール	E I D K P C Q L E

10

20

【表 1 2 3】

396	L1	G (GS) ₂	GGSGS
397	L2	G (GS) ₄	GGSGSGSGS
398	L3	G (GS) ₆	GGSGSGSGSGSGS
399	L4	G (GS) ₇	GGSGSGSGSGSGSGS
400	L5	G (GS) ₇ G	GGSGSGSGSGSGSGSG
401	L6	GSGS	GSGS
402	L7	(GS) ₄	GSGSGSGS
403	L7	(GS) ₇	GSGSGSGSGSGSGS
404	L9	GS (A) 9GS	GSAAAAAAAAAGS
405	L10	(GSE) ₅	GSEGSEGSEGSEGSE
406	L11	(PAS) ₅	PASPASPASPAS
407	L12	(GSP) ₅	GSPGSPGSPGSPGSP
408	L13	GS (TVAAPS) ₂	GSTVAAPSTVAAPS
409	L14	(GGSE) ₂	GGSEGGSE
410	L15	(ST) ₃ G	STSTSTG
411	L16	(GGGGS) ₇	GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS SGGGGS GGGGS GGGGS
412	L17	(GGGGS) ₅	GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS SGGGGS GGGGS
413	L18	(GGGGS) ₃ G	GGGGS GGGGS GGGGS G
414	L19	(GP) ₃ G	GPGPGPG
415	L20	(GP) ₅ G	GPGPGPGPGPG
416	L21	P (ST) ₃	PSTSTST
417	L22	(PA) ₃	PAPAPA
418	L23	(PA) ₆	PAPAPAPAPAPA
419	L24	(PA) ₉	PAPAPAPAPAPAPAPAPA

10

20

30

【表 1 2 4】

アドネクチンコア配列に対する典型的な伸長			
420	SABA1.1	A d N T 1 および H i s 6 タグを有する A d C T 1 末端配列 を有するアドネクチ ンコア 1 配列	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWHSYYEQN SYYRITYGETGGNSPVQEFTVPYSQTTATIS GLKPGVDYTTITVYAVYGSKYYYPI SIN YRTE <u>IDKPSQH</u> HHHHHH
421	SABA1.2	A d N T 1 および A d C T 8 末端配列を 有するアドネクチン コア 1 配列	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWHSYYEQN SYYRITYGETGGNSPVQEFTVPYSQTTATIS GLKPGVDYTTITVYAVYGSKYYYPI SIN YRTE <u>IEDEDEDEDE</u>
422	SABA1.3	A d N T 1 および H i s 6 タグを有する A d C T 9 末端配列 を有するアドネクチ ンコア 1 配列	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWHSYYEQN SYYRITYGETGGNSPVQEFTVPYSQTTATIS GLKPGVDYTTITVYAVYGSKYYYPI SIN YRTE <u>IEDEDEDEDE</u> HHHHHH
423	SABA2.1	A d N T 1 および H i s 6 タグを有する A d C T 1 末端配列 を有するアドネクチ ンコア 2 配列	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWPKYDKTG HYYRITYGETGGNSPVQEFTVPTRQTTATIS GLKPGVDYTTITVYAVSKDDYYPHEHRPISIN YRTE <u>IDKPSQ</u> HHHHHH
424	SABA3.1	A d N T 1 および H i s 6 タグを有する A d C T 1 末端配列 を有するアドネクチ ンコア 3 配列	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWSDNGPGL SYYRITYGETGGNSPVQEFTVPSSQTTATIS GLKPGVDYTTITVYAVSYTKKAYSAGPISIN YRTE <u>IDKPSQ</u> HHHHHH
425	SABA4.1	A d N T 1 および H i s 6 タグを有する A d C T 1 末端配列 を有するアドネクチ ンコア 4 配列	MGVSDVPRDLEMVAATPTSLLISWEDDSYYS RYYRITYGETGGNSPVQEFTVPSDLYTATIS GLKPGVDYTTITVYAVTYDVTDLIMHEPISIN YRTE <u>IDKPSQ</u> HHHHHH

10

20

30

【表 1 2 5】

426	SABA5.1	A d N T 1 および H i s 6 タグを有する A d C T 1 末端配列 を有するアドネクチ ンコア 5 配列	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWEDDSYYS RYYRITYGETGGNSPVQEFTVPSOLYTATIS GLKPGVDYTITVYAVTYDVTDLIMHEPISIN YRTEIDKPSQH ² HHHHEH
427	SABA6.1	A d N T 1 および H i s 6 タグを有する A d C T 1 末端配列 を有するアドネクチ ンコア 6 配列	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWYMDEYDV RYYRITYGETGGNSPVQEFTVPNYYNTATIS GLKPGVDYTITVYAVTRIKANNYMYGPISIN YRTEIDKPSQH ² HHHHEH
428	SABA7.1	A d N T 1 および H i s 6 タグを有する A d C T 1 末端配列 を有するアドネクチ ンコア 7 配列	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWNHLEHVA RYYRITYGETGGNSPVQEFTVPEYPTTATIS GLKPGVDYTITVYAVTITMLKYPTQSPISIN YRTEIDKPSQH ² HHHHHEH
429	SABA8.1	A d N T 1 および H i s 6 タグを有する A d C T 1 末端配列 を有するアドネクチ ンコア 8 配列	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWGHYRRSG HYYRITYGETGGNSPVQEFTVDPSSYTATIS GLKPGVDYTITVYAVSKDDYYPHEHRPISIN YRTEIDKPSQH ² HHHHEH
430	SABA9.1	A d N T 1 および H i s 6 タグを有する A d C T 1 末端配列 を有するアドネクチ ンコア 9 配列	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDASHYER RYYRITYGETGGNSPVQEFTVPRYHHTATIS GLKPGVDYTITVYAVTQAQEHYQPPISIN YRTEIDKPSQH ² HHHHH
431	SABA10.1	A d N T 1 および H i s 6 タグを有する A d C T 1 末端配列 を有するアドネクチ ンコア 1 0 配列	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWNSYYHSA DYYRITYGETGGNSPVQEFTVPYPPTTATIS GLKPGVDYTITVYAVYSAKSYYPI ² SIN YRTEIDKPSQH ² HHHHH

10

20

30

【表 1 2 6】

432	SABA11. 1	A d N T 1 および H i s 6 タグを有する A d C T 1 末端配列 を有するアドネクチ ンコア 1 1 配列	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWSKYSKHG HYYRITYGETGGNSPVQEFTVPSSGNATATIS GLKPGVDYTITVYAVEDTNDYPHTRPISIN YRTEIDKPSQH ~~HH~~ HEH
433	SABA12. 1	A d N T 1 および H i s 6 タグを有する A d C T 1 末端配列 を有するアドネクチ ンコア 1 2 配列	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWHGEPDQT RYYRITYGETGGNSPVQEFTVPPYRRATATIS GLKPGVDYTITVYAVTSGYTGHYQPISINYR TEIDKPSQH ~~HH~~ HHH
434	SABA13. 1	A d N T 1 および H i s 6 タグを有する A d C T 1 末端配列 を有するアドネクチ ンコア 1 3 配列	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWSKYSKHG HYYRITYGETGGNSPVQEFTVDPSSYTATIS GLKPGVDYTITVYAVSKDDYYPHEHRPISIN YRTEIDKPSQH ~~HH~~ HEH
435	SABA14. 1	A d N T 1 および H i s 6 タグを有する A d C T 1 末端配列 を有するアドネクチ ンコア 1 4 配列	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWYEPYTPI HYYRITYGETGGNSPVQEFTVPGYYGTATIS GLKPGVDYTITVYAVYGYQYTPISINYRTE IDKPSQH ~~HH~~ HHHH
436	SABA15. 1	A d N T 1 および H i s 6 タグを有する A d C T 1 末端配列 を有するアドネクチ ンコア 1 5 配列	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWSKYSKHG HYYRITYGETGGNSPVQEFTVPSSGNATATIS GLKPGVDYTITVYAVSDDNKYYHQHRPISIN YRTEIDKPSQH ~~HH~~ HEH
437	SABA16. 1	A d N T 1 および H i s 6 タグを有する A d C T 1 末端配列 を有するアドネクチ ンコア 1 6 配列	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWGHYRRSG HYYRITYGETGGNSPVQEFTVDPSSYTATIS GLKPGVDYTITVYAVSKDDYYPHEHRPISIN YRTEIDKPSQH ~~HH~~ HEH

10

20

30

【表 1 2 7】

438	SABA17. 1	A d N T 1 および H i s 6 タグを有する A d C T 1 末端配列 を有するアドネクチ ンコア 1 7 配列	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWSKYSKHG</u> HYYRITYGETGGNSPVQEFTVPSGNATATIS GLKPGVDYTITVYAVEDTNDYPHTRPISIN YRTE <u>IDKPSQH</u> HHHHEH
439	SABA18. 1	A d N T 1 および H i s 6 タグを有する A d C T 1 末端配列 を有するアドネクチ ンコア 1 8 配列	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWYEPGASV</u> YYYRITYGETGGNSPVQEFTVPSYYHTATIS GLKPGVDYTITVYAVYGYEYEPISINYRTE <u>IDKPSQH</u> HHHHEH
440	SABA19. 1	A d N T 1 および H i s 6 タグを有する A d C T 1 末端配列 を有するアドネクチ ンコア 1 9 配列	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWQSYAHS</u> DYYRITYGETGGNSPVQEFTVPYPPQTATIS GLKPGVDYTITVYAVYAGSSYYPIISINYRTE <u>IDKPSQH</u> HHHHEH
441	SABA20. 1	A d N T 1 および H i s 6 タグを有する A d C T 1 末端配列 を有するアドネクチ ンコア 2 0 配列	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWGHYRRSG</u> HYYRITYGETGGNSPVQEFTVDPSSYTATIS GLKPGVDYTITVYAVSKDDYYPHEHRPISIN YRTE <u>IDKPSQH</u> HHHHEH
442	SABA21. 1	A d N T 1 および H i s 6 タグを有する A d C T 1 末端配列 を有するアドネクチ ンコア 2 1 配列	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWPEPGTPV</u> YYYRITYGETGGNSPVQEFTVPAYYGTATIS GLKPGVDYTITVYAVYGYDYDPSPIISINYRTE <u>IDKPSQH</u> HHHHEH
443	SABA22. 1	A d N T 1 および H i s 6 タグを有する A d C T 1 末端配列 を有するアドネクチ ンコア 2 2 配列	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWYRYEKTQ</u> HYYRITYGETGGNSPVQEFTVPPESGTATIS GLKPGVDYTITVYAVYAGYEYPHTRPISIN YRTE <u>IDKPSQH</u> HHHHEH

10

20

30

【表 1 2 8】

444	SABA23.1	A d N T 1 および H i s 6 タグを有する A d C T 1 末端配列 を有するアドネクチ ンコア 2 3 配列	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWVKSEEEY RYYRITYGETGGNSPVQEFTVPYYVHTATIS GLKPGVDYTITVYAVTEYYYAGAVVSVPI NYRTEIDKPSQHHEHHH
445	SABA24.1	A d N T 1 および H i s 6 タグを有する A d C T 1 末端配列 を有するアドネクチ ンコア 2 4 配列	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWYDPYTYG SYYRITYGETGGNSPVQEFTVGPYTTTATIS GLKPGVDYTITVYAVSYYYSTQPIISINYRTE IDKPSQHHEHHH
446	SABA25.1	A d N T 1 および H i s 6 タグを有する A d C T 1 末端配列 を有するアドネクチ ンコア 2 5 配列	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWSNDGPGL SYYRITYGETGGNSPVQEFTVPSSQTTATIS GLKPGVDYTITVYAVSYYYTKKAYSAGPISIN YRTEIDKPSQHHEHHH
447	SABA26.1	A d N T 1 および H i s 6 タグを有する A d C T 1 末端配列 を有するアドネクチ ンコア 2 6 配列	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDPYYPKP DYYRITYGETGGNSPVQEFTVPRDYTTATIS GLKPGVDYTITVYAVSYYYGYYPISINYRTE IDKPSQHHEHHH

10

20

【実施例】

【0193】

実施例 1

本明細書において使用される材料および方法

ハイスループットタンパク質生成 (HTPP)

pET9d ベクターにクローニングし、大腸菌 HMS174 細胞に形質転換された選択されたバインダーを、24-ウェルフォーマットにおいて $50 \mu\text{g}/\text{mL}$ のカナマイシンを含む 5 mL の LB 培地に播種し、 37°C で一晚増殖させた。新鮮な 5 mL の LB 培地 ($50 \mu\text{g}/\text{mL}$ のカナマイシン) 培養物を、一晚培養物から $200 \mu\text{L}$ の吸引および適当なウェルに分配することにより、誘導発現のために調製した。培養物を、 37°C で A_{600} 0.6-0.9 まで増殖させた。 1 mM のイソプロピル β -チオガラクトシド (IPTG) での誘導後、培養物を 30°C で 6 時間で発現させ、 4°C で 2750 g で 10 分間の遠心分離により回収した。

30

【0194】

細胞ペレット (24-ウェルフォーマット中) を、 $450 \mu\text{L}$ の溶解バッファー (50 mM の NaH_2PO_4 、 0.5 M の NaCl 、 $1\times$ Complete Protease Inhibitor Cocktail-EDTA free (Roche)、 1 mM の PMSF、 10 mM の CHAPS、 40 mM のイミダゾール、 $1 \text{ mg}/\text{mL}$ のリゾチーム、 $30 \mu\text{g}/\text{mL}$ の DNase、 $2 \mu\text{g}/\text{mL}$ のアプロチニン、 $\text{pH } 8.0$) 中に再懸濁し、1-3 時間室温で振盪することにより溶解した。溶解物を浄化し、96-ウェル、 1.2 mL のキャッチプレートが取り付けられた 96-ウェル Whatman GF/D UNIFILTER (登録商標) に移すことにより 96-ウェルフォーマットに再び移し、陽圧により濾過した。浄化された溶解物を、平衡バッファー (50 mM の NaH_2PO_4 、 0.5 M の NaCl 、 40 mM のイミダゾール、 $\text{pH } 8.0$) で平衡化されている 96-ウェル Ni-Chelating Plate に移し、5 分間インキュベートした。結合していない物質を減圧により除去した。樹脂を、洗浄バッファー #1 (50 mM の NaH_2PO_4 、 0.5 M の NaCl 、 5 mM の CHAPS、 40 mM のイミダゾール、 $\text{pH } 8.0$) で $2\times 0.3 \text{ mL}/\text{ウェル}$ で洗浄し、それぞれの洗浄液を減圧により除去

40

50

した。溶離前に、それぞれのウェルを50 μ lの溶離バッファー（PBS+20 mMのEDTA）で洗浄し、5分インキュベートし、この洗浄液を減圧により除去した。タンパク質を、さらなる100 μ lの溶離バッファーをそれぞれのウェルに適用することにより溶離した。室温で30分インキュベーション後、プレートを200 gで5分間遠心分離し、溶出されたタンパク質を、溶離前に溶離キャッチプレートの底に加えた5 μ lの0.5 MのMgCl₂を含む96-ウェルキャッチプレートに回収した。溶出されたタンパク質を、タンパク質標準としてSGEを使用するBCAアッセイを使用して定量した。

【0195】

不溶性フィブロネクチンベースのスカフォールドタンパク質バインダーの中規模発現および精製

不溶性クロンの発現のために、クロン、次にHIS₆ タグを、pET9d（EMD Bioscience, San Diego, CA）ベクターにクローニングし、大腸菌HMS174細胞において発現させる。20 mlの接種培養物（単一被覆コロニーから産生された）を使用し、50 μ g/mlのカルベニシリンおよび34 μ g/mlのクロラムフェニコールを含む1リットルのLB培地に播種する。培養物を37℃でA₆₀₀ 0.6-1.0まで増殖させる。1 mMのイソプロピル- β -チオガラクトシド（IPTG）で誘導後、培養物を30℃で4時間増殖させ、4℃で $\geq$ 10,000 gで30分間の遠心分離により回収する。細胞ペレットを-80℃で凍結する。細胞ペレットを、氷上でULTRA-TURRAX（登録商標）ホモジェナイザー（IKA works）を使用して、25 mlの溶解バッファー（20 mMのNaH₂PO₄、0.5 MのNaCl、1 $\times$ Complete Protease Inhibitor Cocktail-EDTA free（Roche）、1 mMのPMSF、pH 7.4）に再懸濁する。細胞溶解は、Model M-110S MICROFLUIDIZER（登録商標）（Microfluidics）を使用する高圧ホモジェネーション（ $\geq$ 18,000 psi）によりなし遂げる。不溶性画分を、4℃で23,300 gで30分間の遠心分離により分離する。溶解物の遠心分離から回収された不溶性ペレットを20 mMのリン酸ナトリウム/500 mMのNaCl、pH 7.4で洗浄する。ペレットを、超音波処理で20 mMのリン酸ナトリウム/500 mMのNaCl pH 7.4の6.0 Mの塩酸グアニジンに再溶解し、次に37℃で1-2時間インキュベーションする。再溶解されたペレットを0.45 μ mに濾過し、20 mMのリン酸ナトリウム/500 mMのNaCl/6.0 Mのグアニジン pH 7.4 バッファーで平衡化されたHiTrapカラム上に負荷する。ローディング後、カラムを、同じバッファーでさらなる25 CVのために洗浄する。結合しているタンパク質を、20 mMのリン酸ナトリウム/500 mMのNaCl/6.0 Mのguan-HCl pH 7.4の50 mMのイミダゾールで溶離する。精製されたタンパク質は、50 mMの酢酸ナトリウム/150 mMのNaCl pH 4.5に対する透析により再フォールディングされる。

【0196】

可溶性フィブロネクチンベースのスカフォールドタンパク質バインダーの中規模発現および精製

可溶性クロンの発現のために、クロン、次にHIS₆ タグを、pET9d（EMD Bioscience, San Diego, CA）ベクターにクローニングし、大腸菌HMS174細胞において発現させた。20 mlの接種培養物（単一被覆コロニーから産生された）を使用し、50 μ g/mlのカルベニシリンおよび34 μ g/mlのクロラムフェニコールを含む1リットルのLB培地に播種した。培養物を37℃でA₆₀₀ 0.6-1.0まで増殖させた。1 mMのイソプロピル- β -チオガラクトシド（IPTG）で誘導後、培養物を30℃で4時間増殖させ、4℃で $\geq$ 10,000 gで30分間の遠心分離により回収した。細胞ペレットを-80℃で凍結した。細胞ペレットを、氷上でULTRA-TURRAX（登録商標）ホモジェナイザー（IKA works）を使用して、25 mlの溶解バッファー（20 mMのNaH₂PO₄、0.5 MのNaCl、1 $\times$ Complete Protease Inhibitor Cocktail-EDTA free（Roche）、1 mMのPMSF、pH 7.4）に再懸濁した。細胞溶解は、Model M-110S M

10

20

30

40

50

ICROFLUIDIZER（登録商標）（Microfluidics）を使用する高圧ホモジナイゼーション（ $\geq 18,000 \text{ psi}$ ）によりなし遂げた。可溶性画分を、 4°C で23,300gで30分間の遠心分離により分離した。上清を $0.45 \mu\text{m}$ フィルターを介して浄化化した。浄化した溶解物を、20mMのリン酸ナトリウム／500MのNaCl pH 7.4であらかじめ平衡化されたHistrap カラム（GE）上に負荷した。次に、カラムを、25カラム容量の同じバッファー、次に20カラム容量の20mMのリン酸ナトリウム／500MのNaCl／25mMのイミダゾール、pH 7.4、次に、35カラム容量の20mMのリン酸ナトリウム／500MのNaCl／40mMのイミダゾール、pH 7.4で洗浄した。タンパク質を、15カラム容量の20mMのリン酸ナトリウム／500MのNaCl／500mMのイミダゾール、pH 7.4で溶離し、画分を A_{280} での吸光度に基づいてプールし、 $1 \times \text{PBS}$ 、50mMのTris、150mMのNaCl pH 8.5または50mMのNaOAc；150mMのNaCl；pH 4.5に対して透析した。あらゆる沈殿物が、 $0.22 \mu\text{m}$ で濾過することにより除去された。

【0197】

実施例 2

インビトロの非臨床薬理学

SPRによる K_D

結合特性は、表面プラズモン共鳴（SPR）により特徴付けた。ヒトPCSK9およびカニクイザルPCSK9を、Protein XPR（Bio-Rad）チップ表面の一次元上の別々のチャンネル上に固定し、同じSPRチップ表面の他の次元において6つの異なる濃度の 2.013×10^{-1} に暴露した。これは、再生の非存在下での速度論的定量を与えた。デュプリケートチップを、 25°C でのヒトおよびカニクイザルPCSK9の速度論的定量のために使用した。速度論的パラメーターの評価は、Langmuir相互作用モデルおよびProtein Managerソフトウェアでの定数パラメーターフィッティングを使用して行った。

【0198】

これらの条件下、抗-PCSK9アドネクチンは、80pMから1.6nMの範囲の解離定数（ K_D ）でヒトPCSK9に、および8nMから24nMの範囲の解離定数（ K_D ）でcynoPCSK9に結合した（表7）。会合速度は約 $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ であり、加えて、解離は一般的に $10^{-3} - 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ であった。同じアドネクチンにおいて、ヒトPCSK9からのオフ速度は、ヒトPCSK9からのこれらの解離定数測定を概算することを可能にするような、SPR技術の検出限界に近いスロー（ 10^{-5} s^{-1} の桁）であった。

表 7

直接的に固定されたヒトおよびCynoPCSK9に対する抗-PCSK9アドネクチンに対するSPR決定速度論的パラメーター

【表 129】

クローンID	PCSK9種	$k_{\text{on}} (\text{M}^{-1} \text{s}^{-1})$	$k_{\text{off}} (\text{s}^{-1})$	$K_D (\text{nM})$
1459D05	ヒト	1.13E+05	1.80E-04	1.58 ± 0.176
2013E01	ヒト	$7.03 \pm 0.1 \text{E}+05$	$2.42 \pm 0.3 \text{E}-05$	0.292 ± 0.008
2013E01	cyno	2.19E+05	1.77E-03	8.1
1922G04	ヒト	5.41E+05	5.08E-05	0.094 ± 0.009
1922G04	cyno	4.65E+05	7.00E-03	15.03
2011H05	ヒト	1.18E+05	9.76E-06	0.079 ± 0.038
2011H05	cyno	1.90E+05	4.40E-03	23.1
2012A04	ヒト	2.59E+05	6.47E-05	0.251 ± 0.011
2012A04	cyno	1.95E+05	4.75E-03	24.32

【0199】

B L I による K_D

アドネクチンおよびヒト P C S K 9 の結合特性はまた、バイオレイヤー干渉法 (B L I) により決定した。ビオチン化ヒト P C S K 9 をスーパーストレプトアビジンセンサーチップ上に固定し、次に結合相の期間、希釈されたアドネクチンを含むウェルに浸した。次に、チップを、アドネクチン解離の観察のために、バッファーのみのウェルに浸した。実験を、25 または 37 °C のいずれかで温度コントロール環境下で行い、振動スピードは 1500 rpm に合わせた。

【0200】

結合相互作用分析を、Fortebio の専有ソフトウェア (Fortebio Data Analysis Software バージョン 6.3.0.36) を使用して行った。全体的適合を、1:1 結合モデルを使用して全てのサンプルに対して行った。これらの全体的適合の特性は、互いに束縛された結合および解離速度の一对に、全濃度値を強いた。親和性 (K_D)、結合および解離速度を、分析において使用された種々のローディングレベルにわたって平均化した。これらの条件下、アドネクチンは、表 8 に示されるとおり、ヒト P C S K 9 に 200 pM から 7.5 nM の親和性で結合した。会合速度は $10^4 - 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ であり、加えて、解離は一般的に $10^{-3} - 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ であった。

表 8

ヒト P C S K 9 に対する P C S K 9 アドネクチンに対する B L I 決定速度論的パラメーター

【表 130】

クローンIDまたは ATI#	$k_{\text{on}} (\text{M}^{-1} \text{s}^{-1})$	$k_{\text{off}} (\text{s}^{-1})$	$K_D (\text{nM})$
2381D04	$2.66\text{E}+05 \pm 6.4\text{E}+04$	$6.90\text{E}-05 \pm 6.9\text{E}-05$	0.237 ± 0.08
2382D09	$5.33\text{E}+05$	$1.64\text{E}-04$	0.304
2382D05	$5.05\text{E}+05 \pm 2.0\text{E}+05$	$1.57\text{E}-04 \pm 4.2\text{E}-05$	0.314 ± 0.06
2381B04	$3.09\text{E}+05 \pm 2.1\text{E}+04$	$1.60\text{E}-04 \pm 1.6\text{E}-04$	0.527 ± 0.11
2382E05	$4.36\text{E}+05 \pm 1.6\text{E}+05$	$2.50\text{E}-04 \pm 1.1\text{E}-05$	0.604 ± 0.21
2382B09	$4.51\text{E}+05 \pm 4.7\text{E}+04$	$2.91\text{E}-04 \pm 4.0\text{E}-05$	0.656 ± 0.02
2382H03	$4.71\text{E}+05 \pm 1.4\text{E}+05$	$5.57\text{E}-04 \pm 2.3\text{E}-04$	0.677 ± 0.02
2382C09	$3.49\text{E}+05$	$2.33\text{E}-04$	0.757
2971A03	$5.74\text{E}+05$	$4.20\text{E}-04$	0.806
2382G04	$4.19\text{E}+05$	$4.64\text{E}-04$	1.11
2381G09	$2.71\text{E}+05$	$2.91\text{E}-04$	1.12
2451C06	$3.47\text{E}+05 \pm 5.4\text{E}+04$	$4.35\text{E}-04 \pm 5.4\text{E}+04$	1.27 ± 0.14
2382H10	$2.88\text{E}+05$	$3.82\text{E}-04$	1.40
2013E01	$5.46\text{E}+05$	$8.37\text{E}-04$	1.51
2382D03	$3.54\text{E}+05$	$6.63\text{E}-04$	1.53
2381F11	$3.23\text{E}+05$	$5.22\text{E}-04$	1.59
2971E02	$3.55\text{E}+05$	$5.55\text{E}-04$	1.78

【表 1 3 1】

2382H09	2. 51E+05	4. 83E-04	1. 86
2451H07	4. 48E+05	9. 40E-04	2. 08
2382B10	3. 94E+05	9. 77E-04	2. 35
2382C05	3. 68E+05	8. 79E-04	2. 49
2971A09	3. 99E+05	1. 05E-03	2. 79
2382E03	2. 20E+05	5. 96E-04	2. 94
2381H09	1. 36E+05	4. 60E-04	3. 23
2381B02	2. 65E+05	8. 31E-04	3. 29
2381B08	2. 13E+05	9. 40E-04	4. 11
2382F05	2. 44E+05	1. 09E-03	4. 54
1459D05	1. 49E+05±2. 5E+04	2. 02E-03±2. 0E-03	14. 4±0. 2
ATI 1091	2. 863E+05	8. 201E-05	0. 293
ATI001117	1. 451E+05	5. 074E-05	0. 554
ATI001057	5. 325E+05	1. 403E-04	0. 255
ATI001119	8. 190E+04	4. 450E-04	5. 296
ATI001168 ¹	5. 829E+05	3. 335E-04	0. 586
ATI001175 ²	6. 558E+05	3. 522E-04	0. 543
ATI 1081	8. 29E+05±8. 1E+05	3. 49E-04±3E-04	0. 479±0. 11
ATI891	1. 08E+05	4. 03E-04	3. 56
ATI1114	8. 072E+04	3. 952E-04	4. 876
ATI1174	1. 265E+05	9. 012E-04	7. 397

10

20

30

¹ A T I 0 0 1 1 6 8 は R 2 3 E 置換を有する 1 9 2 2 G 0 4 の脱免疫化バージョンである。

² A T I 0 0 1 1 7 5 は R 2 3 D 置換を有する 1 9 2 2 G 0 4 の脱免疫化バージョンである。

【0 2 0 1】

溶液相親和性

K i n E x A

ヒト P C S K 9 に対する A T I 0 0 1 0 8 1 および A T I 0 0 1 1 7 4 の溶液親和性は、K i n e t i c E x c l u s i o n A s s a y (K i n E x A) を使用して測定した。相対的非結合アドネクチン濃度は、h P C S K 9 固体マトリックス上の捕捉、次に、アドネクチンスカフォールドを認識する蛍光的に標識された抗体での検出により測定した。技術的限界によって、試験することができたアドネクチンの最も低い濃度は 1 n M であった。全体的 K_D 分析では、A T I 0 0 1 0 8 1 に対して K_D = 7 0 p M (9 5 % 信頼区間内で 2 8 - 1 2 7 p M) および A T I 0 0 1 1 7 4 に対して K_D = 2 2 3 p M (9 5 % 信頼区間内で 5 4 - 5 8 5 p M の範囲) と概算する。

表 9

40

【表 1 3 2】

P C S K 9 アドネクチンに対する溶液相親和性測定		
	A T I 0 0 1 0 8 1	A T I 0 0 1 1 7 4
K _D	6 9 . 5 p M	2 2 3 p M
9 5 %信頼区間：		
K _d 高い	1 2 7 p M	5 8 5 p M
K _d 低い	2 8 p M	5 4 p M

10

【0 2 0 2】

I T C

ヒト P C S K 9 へのアドネクチン A T I 0 0 1 1 7 4 および A T I 0 0 1 0 8 1 の結合の熱力学および化学量論は、等温滴定熱量計（I T C）により特徴付けた。溶液相結合は、37℃で25mMのH E P E S、p H 7 . 4 1、150mMのN a C l 中で測定した。1 . 3 ± 0 . 2 n M の平均単分子結合定数が A T I 0 0 1 1 7 4 に対して、および 1 . 4 ± 0 . 4 n M が A T I 0 0 1 0 8 1 に対して観察された。詳細な熱力学的分析は、表 1 0 および図 1 3 に示される。2つのアドネクチンに対して観察されるエンタルピーの違い（−3 . 3 k c a l / m o l ）は、A T I 0 0 1 1 7 4 が、エントロピーにおける対応する違い（−10 . 4 c a l / m o l ・ K ）によって少なくとも部分的に相殺される、ペグ化によって P C S K 9 に対する親和性における大きさの減少の秩序をもたらすということを示唆する。

20

表 1 0

【表 1 3 3】

アドネクチン	化学量論 (N)	K _A (M ⁻¹)	K _D (nM)	ΔH (kcal/mol)	ΔS (cal/mol℃)
ATI001081	0.926	7.1E8±2.1E8	1.4±0.4(±30%)	-26.6±0.2	-45.4
ATI001174*	0.857	7.5E8±1.5E8	1.3±0.2	-29.9±0.1	-55.8

30

* 3つの実験の平均

【0 2 0 3】

蛍光共鳴エネルギー移動（F R E T）アッセイ

これらの F R E T ベースのアッセイは、M a i o ら（Miao, B. ら Meth. Enzymol., 357 :180-188 (2002) 参照）により以前に記載されている一般的な方法から採用された P C S K 9 結合アドネクチンの結合親和性および効力を決定するために開発された。P C S K 9 : E G F A F R E T アッセイ（図 2 および 3）によって、バキュロウイルスにおいて発現される組換えヒト P C S K 9 および合成 4 0 - m e r E G F A ペプチド（ビオチン化）を使用して、低比重リポタンパク質受容体（L D L R）上皮細胞増殖因子前駆体相同性ドメイン（E G F A ドメイン）への P C S K 9 結合の障害を測定した。E G F A は、P C S K 9 と L D L R の重要な相互作用ドメインを示すことが示されている（Kwon, H.J. ら P roc. Natl. Acad. Sci. USA, 105(6):1820-1825 (2008)）。このアッセイは、ストレプトアビジン／アロフィコシアニン フルオロフォア複合体を介するビオチン化 E G F A との F R E T 相互作用を提供するために、E u - キレートで標識化された P C S K 9 C - 末端ドメイン結合 m A b （m A b 4 H 5）を使用した。

40

【0 2 0 4】

2つの他の関連した、P C S K 9 依存性 F R E T アッセイもまた構築した。これらのア

50

ッセイの1つにおいて、ビオチン化アドネクチン-A T I 0 0 0 9 7 2 または A T I 0 0 1 1 2 5 のアドネクチンによる競合的置換を定量する（図4に示される A T I 0 0 0 9 7 2 結果）。A T I 0 0 0 9 7 2 は 1 4 5 9 D 0 5 のビオチン化バージョン、A T I 0 0 1 1 2 5 は A T I 0 0 1 0 8 1 のビオチン化バージョンである。別のアッセイにおいて、P C S K 9 へのアドネクチン（h i s タグされている）の直接結合は、抗-h i s 6 抗体を使用してアッセイする（図5）。F R E T アッセイのそれぞれにおいて、ヒト P C S K 9 濃度は 1 または 5 n M のいずれかであった。いくつかの場合において、カニクイザル P C S K 9 を h P C S K 9 と置き換えた。表 1 1 は、これらの 3 つの F R E T アッセイからの全てのデータを要約する。

表 1 1

ヒト P C S K 9 を使用する 3 つの F R E T アッセイおよび C y n o P C S K 9 に対する 1 つのアッセイに対するアドネクチン試験データの要約

【表 1 3 4】

クローンID	hPCSK9:E GFA IC50 (nM)	hPCSK9:AT I000972 I C50 (nM)	hPCSK9:AT I001125 I C50 (nM)	直接結合h PCSK9EC50 (nM)	cPCSK9:EGF AIC50 (nM)
1459D05	4.0	14	nd	3.9	2300
1784F03	2	1.9	nd	1.6	106
1813E02	1.3	2.4	nd	2.3	118
1923B02	2.3	3.2	nd	3.2	53.5
1922G04	1.2	2.0	nd	2.5	26.6
2012A04	2.1	1.2	nd	1.4	70.3
2011H05	2.7	1.4	nd	2.0	17.2
2013E01	1.6	1.8	nd	0.90	12.5
1922G04 (R25D)	2.5	nd	nd	nd	48.1
1922G04 (R25E)	3.5	nd	nd	nd	58.5
2382E03	2.4	nd	0.5	3.7	10.8
2382E05	2.8	nd	0.4	3.8	12.6
2381B08	2.6	nd	1	4.1	27.1
2381B02	2.5	nd	0.5	8.4	9.8
2381B04	2.4	nd	0.5	4.2	17.3

10

20

30

【表 1 3 5】

2451H07	0.2	nd	0.2	13.2	27.1
2381D04	2.9	nd	0.5	3.7	12
2381F11	4	nd	0.8	<1	26.5
2381G09	3.1	nd	1.1	4.5	25.2
2381H09	3.4	nd	0.5	4.1	20.2
2382B09	3.8	nd	0.6	4.0	37.2
2382B10	3	nd	0.5	3.1	18.1
2382C05	4	nd	0.9	3.4	27.2
2382C09	3.5	nd	0.6	2.9	23.9
2382D03	3.3	nd	0.6	3.3	11.8
2382D09	2.6	nd	0.4	3.7	13.9
2382F05	2.4	nd	0.9	3.8	14.6
2382G04	2.9	nd	0.5	3.6	20.1
2382H03	3.4	nd	0.3	3.8	19.8
2382H09	0.9	nd	0.3	3.6	17.9
2382H10	2.6	nd	0.4	4.6	18.2
2382D02	4.5	nd	0.5	5.3	57.8
2451C06	1.2	nd	0.4	5.5	24.7

10

20

【0 2 0 5】

P C S K 9 アドネクチンによる P C S K 9 活性の細胞ベースの阻害

D i I - L D L 摂取アッセイ

細胞培養方法を、アドネクチンが L D L R における P C S K 9 活性を阻害する能力をアッセイするために開発した。細胞性 L D L R 活性を測定するための有効な方法は、Lagace, T.A.ら(J. Clin. Invest., 116(11):2995-3005 (2006))により示されているとおりに、標識化 L D L の摂取に関するアッセイを通す。本試験は、Teupserら (Biochim. Biophys. Acta, 1303(3):193-198 (1996))により最初に示された方法から採用された蛍光標識化 L D L (D i I - L D L) 摂取を使用する L D L R 機能活性のための方法をさらに採用した。最初に、細胞を示されているアドネクチンの存在および非存在下で組換えヒト P C S K 9 タンパク質 (10 μ g/mL、135 nM) とプレインキュベートした。2時間後、残りの L D L R 活性を、2時間 D i I - L D L (5 μ g) とのインキュベーション、次に、高含量蛍光顕微鏡およびイメージング分析 (Cellomics) を使用する細胞内の蓄積された D i I - L D L の評価によりアッセイした。図 6 は、P C S K 9 活性を阻害し、Hep G 2 細胞において L D L R 機能活性を回復させるいくつかのアドネクチンの効果を示す。このアッセイにおいて、アドネクチンは、以下の E C₅₀ 値で P C S K 9 を阻害し、D i I - L D L 摂取を回復させた: 1459 D 05、E C₅₀ = 190 nM; 1784 F 03、210 nM; 2012 A 04、130 nM; 2013 E 01、160 nM。

30

40

【0 2 0 6】

L D L R 枯渇アッセイ

Hep G 2 細胞を、10%の F B S (Hyclone) を有する完全培地、Eagle's Minimum Essential Medium (EMEM、ATCC (登録商標)) 中で培養し、トリプシン 0.25% (Invitrogen) で週に 2 回スプリットした。L D L 受容体の上方調節を誘導するために、細胞を L P D S 培地 [5%のリボタンパク質欠失

50

血清 (Intracel)、100 nM のスーパーステーション (superstation) (BMS) および 50 μ M のメバロン酸ナトリウム (Sigma) を有する RPMI (ATCC) 中で一晩インキュベートした。次の日、細胞を、簡潔にはトリプシン 0.05% (Invitrogen) でトリプシン処理し、 2×10^6 個の細胞/ml で再懸濁し、次に V 底 96 ウェルプレート中 100 μ l / ウェルでアリコートした。その後、アドネクチンを 37 $^{\circ}$ C で 1 時間 LPDS 培地中で PCSK9 とプレインキュベートした。1 時間後、細胞を遠心し、100 μ l のアドネクチン / PCSK9 混合物に再懸濁し、37 $^{\circ}$ C で一晩インキュベートした。次の日、細胞を LDL 受容体に対する抗体 (R&D からの BAF 2148)、次にフィコエリトリン (PE) - ストレプトアビジン結合二次抗体 (BD Pharmingen からの BD554061) で標識化し、FACS Canto II (BD) における FACS により分析した。

10

【0207】

10 nM の PCSK9 を、HepG2 細胞に加える前に、アドネクチン候補物の濃度の増加につれて 1 時間プレインキュベートした。一晩インキュベーション後、LDLR レベルを FACS により測定し、PCSK9 誘導 LDLR 枯渇の阻害パーセントをグラフにし、EC50 を PRISM を使用して決定した。1459D05 は、試験されたもののの中で最も低い効力の候補物を表し、最大阻害に到達しなかったが、他のクローンは PCSK9 の 150 - 200% 最大阻害に到達した (図 7)。PCSK9 アドネクチンのインビトロ薬理学的データの要約は、以下の表 12 に示される。

表 12

20

【表 1 3 6】

クローン ID	モノマー-% (SEC-HPLC)	Tm (°C, DSC)	KD hPCSK9 (37°C, Octet Red) (nM)	K _D hPCSK9 (25 °C, ProteOn) (nM)	Cyno 交差反応性		PCSK9: GFA FRET (EC ₅₀ , nM)	LDLR 枯渇	
					K _D cPCSK9 (25 °C, ProteOn) (nM)	Cyno PCSK9: EGFA FRET (EC ₅₀ , nM)		75nMでの 阻害%	EC ₅₀ (nM)
1459D05	≥95	63	14.4	1.58	>1000	>1000	5.8	66.8	>200
1813E02	≥95	70	nd	nd	nd	118.5	2.7	nd	16
1784F03	≥95	65	nd	nd	nd	106.5	2.01	150.2	26±13
1923B02	≥95	73	nd	0.17	nd	53.5	2.3	178	23±7
1922G04	100	83	nd	0.09	15.0	26.6	1.2	105.1	10±2
2013E01	100	81	nd	0.29	8.1	12.5	1.6	165.5	10±4
2012A04	100	84	nd	0.25	24.3	70.3	2.1	144.5	12±6
2011H05	100	76	nd	0.08	23.1	17.2	2.7	197.6	12±5
2382D05	97	86	0.314	nd	nd	57.8	2.6	140.5	nd
2382E03	96	83	2.94	nd	nd	10.8	2.4	89.5	nd
2382E05	95	84	0.604	nd	nd	12.6	2.8	103.5	nd
2381B02	96	68	3.29	nd	nd	9.8	2.5	125.4	nd
2381B04	98	77	0.527	nd	nd	17.3	2.4	121.6	nd
2381B08	97	78	4.11	nd	nd	27.1	2.6	124.8	nd

10

20

30

40

【表 1 3 7】

クローン ID	モノマー% (SEC-HPLC)	Tm (°C, DSC)	KD hPCSK9 (37°C, Octet Red) (nM)	KD hPCSK9 (25 °C, ProteOn) (nM)	Cyno 交差反応性		PCSK9: GFA FRET (EC ₅₀ , nM)	LDLR 枯渇	
					K _D cPCSK9 (25 °C, ProteOn) (nM)	Cyno PCSK9: EGFA FRET (EC ₅₀ , nM)		75nMでの 阻害%	EC ₅₀ (nM)
2381D04	98	70	0.237	nd	nd	12	2.9	119.2	nd
2381F11	95	79	1.59	nd	nd	26.5	4	110.2	nd
2381G09	96	78	1.12	nd	nd	25.2	3.1	133.0	nd
2381H09	77	63	3.23	nd	nd	20.2	3.4	94.4	nd
2382B09	99	88	0.656	nd	nd	37.2	3.8	105.0	nd
2382B10	99	82	2.35	nd	nd	18.1	3	100.2	nd
2382C05	97	85	2.49	nd	nd	27.2	4	105.3	nd
2382C09	96	85	0.757	nd	nd	23.9	3.5	121.7	nd
2382D03	97	84	1.53	nd	nd	11.8	3.3	80.4	nd
2382D09	93	84	0.304	nd	nd	13.9	2.6	109.1	nd
2382F05	99	83	4.54	nd	nd	14.6	2.4	72.2	nd
2382G04	95	81	1.11	nd	nd	20.1	2.9	146.1	nd
2382H03	96	85	0.677	nd	nd	19.8	3.4	102.1	nd
2382H09	95	81	1.86	nd	nd	17.9	0.9	101.2	nd
2382H10	97	87	1.40	nd	nd	18.2	2.6	118.6	nd

10

20

30

40

【表 1 3 8】

クローン ID	モノマー-% (SEC-HPLC)	T _m (°C, DSC)	KD hPCSK9 (37°C, Octet Red) (nM)	K _D hPCSK9 (25 °C, ProteOn) (nM)	Cyno 交差反応性		PCSK9: GFA FRET (EC ₅₀ , nM)	LDLR 枯渇	
					K _D cPCSK9 (25 °C, ProteOn) (nM)	Cyno PCSK9: EGFA FRET (EC ₅₀ , nM)		75nMでの 阻害%	EC ₅₀ (nM)
2451B06	nd	nd	nd	nd	nd	57.8	4.5	92.2	nd
2451C06	96	87	1.27	nd	nd	24.7	1.2	89.4	nd
2451H07	97	87	2.08	nd	nd	27.1	0.2	88.8	nd

実施例 3

P C S K 9 アドネクチンのインビボ薬物動力学効果

ヒト P C S K 9 トランスジェニックマウスモデル

P C S K 9 アドネクチンは、2つの異なるヒトトランスジェニックマウスモデルにおけるインビボでの薬物動力学効果を示した。1つのマウスモデルはヒト P C S K 9 レベルを著しく過剰発現し、結果として高コレステロール血症を示す (Lagace, T.Aら J. Clin. Invest., 116(11):2995-3005 (2006))。他のマウスモデルは、マウス P C S K 9 と同様に肝臓において制御され、血漿中でほぼヒト正常レベルの h P C S K 9 を発現するゲノム h P C S K 9 トランスジェニック (B A C トランスジェニック) である。これらの試験のために、種特異的、部位特異的標識された抗体およびアドネクチンを使用する E L I S A アッセイを、標的分子への結合の指標としての血漿非結合ヒト P C S K 9 レベル (すなわち、投与されたアドネクチンと複合体化していない h P C S K 9) を測定するために開発した。

10

【0209】

ペグ化形態における P C S K 9 アドネクチンの単回投与を、図 8-9 に示される用量で過剰発現体 h P C S K 9 トランスジェニックマウスモデルに腹腔内に注射した。P B S または透析物サンプルもまた、コントロールとして注射した。アドネクチン 1 4 5 9 D 0 5 - P E G (100 mg / kg 腹腔内) 処置は、血漿総コレステロール (図 8 A) および L D L - C (示されていない) を 4 時間でベースライン以下に、> 35 % 迅速に減少させた。アドネクチン処置マウス中のコレステロールレベルは、試験期間 48 時間中、コントロールレベル未満を維持した。これは、アドネクチン処置トランスジェニックマウス中の非結合 h P C S K 9 の血中レベルにおける鋭い減少と同時に起こった (図 8 B)。並行試験において 6 時間で得られた肝臓のウェスタンブロットは、L D L R タンパク質レベルがアドネクチン処置マウスにおいて ~ 2 倍増加したことを示した (本明細書に示されていない)。このトランスジェニックマウスモデルにおけるさらなる試験において、A T I 0 0 1 1 1 4 を 10 または 60 mg / kg で投与した。血漿コレステロールの著しい用量依存の迅速な低下が、非結合 h P C S K 9 レベルにおける用量依存的減少と同時に見られた (図 9)。これらの試験は、高コレステロール血症ヒトトランスジェニック P C S K 9 マウスモデルにおける有効なコレステロール低下剤としての、P C S K 9 アドネクチンに対するインビボでの概念実証を示す。

20

30

【0210】

インビボ試験を、正常発現体 h P C S K 9 トランスジェニックマウスモデルにおいて行った。1 4 5 9 D 0 5 - P E G または A T I 0 0 1 1 1 4 の単回投与の注射 (5 mg / kg) は、血漿中の非結合 h P C S K 9 レベルにおける迅速かつ強い減少をもたらした (図 10)。非結合 h P C S K 9 におけるこの薬物動力学効果は、より高い親和性 / 効力アドネクチンに対して観察される効果のより大きな規模および期間で、1 4 5 9 D 0 5 - P E G と比較して A T I 0 0 1 1 1 4 後により顕著であった。用量依存性のさらなる試験は、50 % 阻害量 (E D 50) が、図 11 に示されるとおり、投与 3 から 48 時間後の時点で、A T I 0 0 1 1 1 4 について 0.1 mg / kg 未満であったことを示した。正常発現体トランスジェニックマウスモデルにおけるこれらの発見は、P C S K 9 阻害アドネクチンが、L D L R 制御および L D L コレステロール低下と相関している薬物動力学終点における著しい、親和性依存性および用量依存効果を示すことを示す。

40

【0211】

カニクイザル

薬物動力学試験を、正常な細身の (lean) カニクイザルにおいて行った。アドネクチン A T I 0 0 1 1 1 4 を 5 mg / kg で c y n o の静脈内に投与し、血漿サンプルを L D L - C アッセイおよび薬物動態学評価のために時間間隔で回収した。A T I 0 0 1 1 1 4 の単回投与は、48 時間以内に、ベースライン (または P B S コントロールグループ) に対して、血漿 L D L - C レベルを > 50 % に迅速に低下させた (図 12)。L D L - C における効果の期間は 1 週間以上持続し、3 週間でベースラインへ最終的に戻った。この効果を

50

、抗-PCSK9アドネクチンの二分岐および四分岐40kDaペグ化形態（それぞれATI001114およびATI001211）の両方で観察した。ATI001211は、40kDaの4分岐NOF PEG部分と有するATI001081である。総コレステロールは同様のパターンを示したが、HDLまたは他の代謝パラメーターにおける効果は観察されなかった（本明細書に示されていない）。薬物動態学分析は、血漿半減期がcynoにおけるLDL低下の薬物動力学と一致する約80-120時間であったことを示した。これらの発見は、PCSK9アドネクチンが、カニクイザルモデルにおいてLDL-C低下に対して迅速な、強力な、特異的な効果で有効かつ即効性であることを示す。

【0212】

実施例4

PCSK9アドネクチン-Fc融合タンパク質であるPRD460のインビトロおよびインビボでの薬理学的評価

PRD460の生産

PRD460をコードするベクターを、ポリエチレンイミン（PEI）を使用してHEK-2936E細胞にトランスフェクトした。細胞を、80%加湿および5%CO₂で37℃で5日間培養した。次に細胞をペレット化し、上清を0.22μmフィルターを通し、次に、タンパク質Aカラムに負荷した。カラムをPBSで洗浄し、タンパク質を20mMのGlycine、150mMのNaCl pH2.8に溶離した。溶出されたタンパク質を濃縮し、50mMのMES、100mMのNaCl pH5.8中でsuperdex200カラムを通した。

【0213】

SPRによるPRD460 K_D

【0214】

結合特性は、表面プラズモン共鳴（SPR）により特徴付けられた。抗-ヒト抗体は、BIACORE（登録商標）チップ上に固定され、PRD460（配列番号：322に記載されている配列）をチップ表面上に捕捉した。種々の濃度のhPCSK9をフロー溶液に置き、サイクル間のチップ再生のためにMgCl₂（3M）を使用した。比較のために、ATI-1081を、BIACORE（登録商標）チップ上に固定される抗-His抗体に捕捉した。PRD460に対するデュプリケート実験を異なる日に実施した。速度論的定量を25℃で実施した。速度論的パラメーターの評価を、BIACORE（登録商標）評価ソフトウェアにおける1:1結合アルゴリズムを使用して実施した。

【0215】

これらの条件下、ATI-1081は25℃で6.7nMの解離定数（K_D）でヒトPCSK9に結合し、PRD460は25℃で3.29+/-0.55nMの解離定数（K_D）でヒトPCSK9に結合した（表13）。このアッセイフォーマットを使用するオフ速度決定は、固定された捕捉抗体からの捕捉されたりガンドのオフ速度により人為的限定され得、したがって、PCSK9の直接的固定化を使用するアッセイフォーマットは、ATI-1081に対する解離定数（K_D）のさらに正確な反映である。

表13

捕捉されたヒトPCSK9に対するPRD460およびATI-1081に対する速度論的パラメーター

【表139】

	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (nM)
PRD460	3.75+/-0.7 E+04	1.21+/-0.05 E-04	3.29+/-0.55
ATI-1081	3.65E+04	2.45E-04	6.7

【0216】

PCSK9結合FRETアッセイ

2つの蛍光共鳴エネルギー移動（FRET）ベースのアッセイを使用して、hPCSK

10

20

30

40

50

9へのPRD460および他のアドネクチンの競合的結合効力を決定した。PCSK9:EGFA FRETアッセイは、可溶性上皮細胞増殖因子前駆体相同性ドメイン-A (EGFA) ペプチドおよび組換えヒトPCSK9を使用して、LDLRへのPCSK9の結合を測定する。PCSK9:ATI972 FRETアッセイは、PCSK9からビオチン化アドネクチンATI-972のアドネクチンによる競合的置換を測定する。

【0217】

PCSK9:EGFA FRETアッセイ (5 nMのPCSK9) において、PRD460は、EC50 = 0.7 nMでEGFAをPCSK9結合部位から完全に、かつ強く置換した (図1、左パネル)。PRD460は、ATI-1174 (EC50 = 1.9 nM) またはATI-1081 (EC50 = 3.7 nM) のいずれかよりもこのアッセイにおいてより強力であった (図14)。このアッセイにおけるPRD460のより良い明白な効力は、ATI-1081およびATI-1174による一価 (1:1) 結合と比較して、PCSK9へのアドネクチンPRD460の二価 (2:1) 結合により説明され得る (理論的に)。

【0218】

PCSK9:ATI-972 FRETアッセイ (5 nMのヒトPCSK9) を使用して、PRD460は、ATI-1114に対して0.8 nMおよびATI-1081に対して2.8 nMと比較して、EC50 = 0.3 nMで阻害した (図15)。これらの発見は、PRD460がビオチン化アドネクチンATI-972をPCSK9上の結合部位から強く置換したことを示す。ATI-1081およびATI-1174と比較してPRD460のより高い効力は、PRD460による二価結合と一致する。

【0219】

HepG2細胞におけるPCSK9誘導LDLR枯渇の阻害

ヒトPCSK9は、HepG2細胞の表面からのLDLRの枯渇を促進する。PCSK9のPCSK9アドネクチンとのプレインキュベーションは、LDLRへのPCSK9結合を阻害し、細胞表面からのLDLRの枯渇を防止する。このアッセイは、ATI-1081、ATI-1174およびPRD460が細胞表面からのLDLRのPCSK9誘導枯渇を阻害する効力を測定するために使用された。

【0220】

PCSK9アドネクチンの希釈シリーズを、37℃で1時間、10 nMのヒトPCSK9とプレインキュベーションし、プレインキュベーションされた混合物をHepG2細胞に加え、該細胞を24時間インキュベートした。該インキュベーション後、HepG2細胞上のLDLRのレベルを、FACS分析を使用して測定した。PCSK9誘導LDLR枯渇の阻害パーセントを計算し、グラフで示した (図15)。このアッセイにおいて、ATI-1081、ATI-1174およびPRD460は、同等のEC50 (それぞれ9 nM、8 nMおよび6 nM) でPCSK9を阻害したが、応答曲線の左方向シフトは、一貫して、PRD460に対して観察された。これらのEC50は、アッセイの限界を示す。

【0221】

HepG2細胞におけるPCSK9細胞への侵入アッセイ

肝細胞の表面上のLDLRへのPCSK9結合は、LDLRエンドサイトーシス中、LDLR-PCSK9複合体の共内在化をもたらす、LDLRの増強された分解をもたらす。細胞ベースアッセイを、蛍光PCSK9のLDLR依存性細胞侵入を測定するために開発した。ヒトPCSK9を、フルオロフォア ALEXA FLUOR (登録商標) -647 (AF647) を使用して共有的に標識化した。PCSK9-AF647を、PCSK9-アドネクチンの存在または非存在下でHepG2細胞とインキュベートし、細胞内蛍光を、高含量蛍光顕微鏡および画像分析 (Cellomics) により定量した。PCSK9-AF647細胞への侵入のLDLRエンドサイトーシスへの依存が、予備実験において確立された。HepG2細胞を、10 nMのPCSK9-AF647および種々のレベルのアドネクチンと37℃で4時間インキュベートした。このアッセイにおいて、PCSK

9-AF647細胞内蛍光の強力な阻害は、PRD460（EC50 = 6 nM）ならびにATI-1174（EC50 = 10 nM）に対して観察された（図16）。これらの発見は、アドネクチンPRD460およびATI-1174が、培養中のヒト肝臓由来の細胞系においてPCSK9の細胞表面LDLRへの結合を有効にブロックし、それにより、LDLRエンドサイトーシス中、PCSK9-AF647の内在化を減少させたことを示す。

【0222】

インビボでのトランスジェニックマウス試験

インビボ試験を、正常発現体hPCSK9トランスジェニックマウスモデルにおいて実施した。血漿中のアドネクチンのPCSK9への結合は、非結合（遊離）血中PCSK9の測定された量における減少をもたらすことが予期される。非結合PCSK9における減少は、最初の薬物動力学事象であり、PCSK9-LDLR相互作用の阻害およびLDLコレステロール低下をもたらす。トランスジェニックマウスへのPRD460の単回投与（i. p. 投与 0.6から18 mg/kg）は、血漿非結合hPCSK9レベルにおいて迅速な、強い減少を引き起こした（図17）。非結合PCSK9における用量依存的増加は、3時間の時点でED50 < 0.6 mg/kgで観察された。正常発現体ヒトPCSK9トランスジェニックマウスモデルにおけるこれらの発見は、PRD460がインビボで血中hPCSK9に強く、強力に結合することを示す。

【0223】

カニクイザルにおけるインビボでの薬物動力学

PCSK9アドネクチンPRD460の薬物動力学効果は、正常な細身のカニクイザルにおいて評価した。PRD460を、15 mg/kgでのi. v. 投与によりサルに投与し、LDL-Cおよび遊離PCSK9レベルのアッセイのために血漿サンプルを4週間にわたって時間間隔で回収した。PRD460の単回投与は、サルにおいて血漿LDL-Cレベルを迅速に低下させ、投与3日後までにベースラインLDL-Cの42%の平均最大効果（58%減少；n = 3匹サル）に到達した（図18）。LDL-Cレベルは、投与で1週間、50%またはそれ以上減少し、3週間ベースライン以下を有意に維持し、4週間でベースラインに戻った。総コレステロールは同様のパターンを示したが、HDLでは効果が観察されなかった（示されていない）。PRD460での処置は、非結合、遊離形の血漿PCSK9において、0付近（定量下限以下）への即座の低下を引き起こした（図18）。遊離PCSK9レベルは、数日間、検出下限付近を維持し、4週間の終わりまでにベースラインレベルに徐々に戻り、血漿LDL-Cとの因果関係と一致した。該データは、血漿LDL低下が遊離PCSK9レベルにおける低下を反映し、インビボでのPRD460での処置後、LDLR機能を制御するPCSK9阻害と一致することを示す。薬物動態学分析は、アドネクチンPRD460の血漿半減期が該カニクイザル試験において約70時間であったことを示した。これらの発見は、PCSK9アドネクチン-Fc融合タンパク質が、カニクイザルモデルにおいてLDL-C低下に対する強力な、特異的な、かつ長期の効果で高度に有効かつ即効性であることを示す。

【0224】

非修飾PCSK9アドネクチンATI-1081のインビボでの薬理学的評価

PK部分（例えば、ペグ化およびFc-融合アドネクチン）を含む修飾アドネクチンに加えて、非修飾（「裸の」）PCSK9アドネクチンもまた投与することができる。非修飾PCSK9アドネクチン処置のための戦略は、より短いPK半減期に適応させるためにより頻繁な投与、または吸収相の長さを増加させ、薬物動力学効果を伸長させるために持続放出皮下製剤の使用を含む。多数のこのような製剤は、1つの例として、吸収速度を遅延させ、血中でアドネクチンへの暴露時間を増加させるためにプロピレングリコール/PBS溶液を含むことを構想することができる。

【0225】

非修飾アドネクチンATI-1081を、PBSビヒクル中10 mg/kgでカニクイザルにi. v. 投与した。ATI-1114（同じアドネクチンのペグ化バージョン）も

また、比較としてPBS中1mg/kgで投与した。ATI-1081は、非結合血中PCSK9レベルの迅速な、一過性の阻害を引き起こした。30分以内で、最初の阻害の程度は100%（定量限界未満）に近づき、数時間後にベースラインに戻った（図19）。同時に、LDL-Cレベル低下の傾向は、ATI-1081処置サルにおいて最初の24時間にわたって観察された（図20）。

【0226】

非修飾アドネクチンATI-1081もまた、PBSビヒクルと比較して、50:50プロピレングリコール:PBSビヒクル（PGビヒクル）を使用する単一の持続放出皮下製剤において、正常発現体hPCSK9トランスジェニックマウスに投与した。この製剤は、アドネクチン吸収速度を穏やかに遅延させ、血中でATI-1081への暴露時間を増加させ、したがって薬物動力学応答を改善することが期待される。PBSビヒクル中1mg/kgでATI-1081の投与（腹腔内）は、0.3mg/kgでATI-1114において>85%低下と比較して、3時間で非結合血漿PCSK9の~50%低下をもたらした（図21）。トランスジェニックマウスにおける第2の実験において、PGビヒクル中で皮下注射により投与されたATI-1081は、試験の最初の6時間にわたって効果の改善された期間で、ATI-1174と比較して非結合LDLにおいてほぼ同等の減少をもたらした（図22）。これらの発見は、非修飾PCSK9アドネクチンATI-1081が、単一の持続放出ビヒクルにおいて皮下に投与されたとき、インビボで標的ヒトPCSK9に結合し、最初の薬物動力学応答を引き起こすことを示す。応答の時間依存性は、非修飾PCSK9アドネクチンに関する効果の期間を延長する持続放出と一致した。

10

20

【0227】

実施例5

血清アルブミン結合アドネクチン（SABA）

実施例5A．候補血清アルブミン結合アドネクチンのスクリーニングおよび選択概観

PROfusionとして知られる選択技術（例えば、Robertsら Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 94(23):12297-12302 (1997)およびWO2008/066752参照）を、¹⁰F_n3のBC、DEおよびFGループに設計された可変領域を有するDNAライブラリーに適用した。10¹³個以上の分子のランダムライブラリーをこの設計から作りだし、選択圧をHSAのビオチン化形態に対して適用し、望ましい結合特性を有する候補血清アルブミン結合アドネクチン（SABA）を単離した。

30

【0228】

ハイスループットタンパク質生産（HTTP）処理

種々のHSA結合アドネクチンを、ハイスループットタンパク質生産処理（HTTP）を使用して精製した。選択されたバインダーを、HIS6タグを含むpET9dベクターにクローニングし、大腸菌BL21（DE3）pLysS細胞に形質転換した。形質転換細胞を24-ウェルフォーマット中で50μg/mLのカナマイシンを含む5mLのLB培地に植菌し、37℃で一晩培養した。新鮮な5mLのLB培地（50μg/mLのカナマイシン）培養物を、誘導発現のために、一晩培養物から200μL吸引し、適当なウェルに分配することにより調製した。培養物をA₆₀₀ 0.6-0.9まで37℃で培養した。1mMのイソプロピル-β-チオガラクトシド（IPTG）で誘導後、培養物を30℃でさらに4時間培養し、4℃で3220×gで10分遠心分離により回収した。細胞ペレットを-80℃で冷凍した。

40

【0229】

細胞ペレット（24-ウェルフォーマット中）を、450μLの溶解バッファー（50mMのNaH₂PO₄、0.5MのNaCl、1× Complete Protease Inhibitor Cocktail-EDTA free（Roche）、1mMのPMSF、10mMのCHAPS、40mMのイミダゾール、1mg/mLのリゾチム、30ug/mLのDNase、2ug/mLのアプロチニン、pH8.0）中に再懸

50

濁し、1時間室温で振盪することにより溶解した。溶解物を浄化し、96-ウェル、650 μ l キャッチプレートが取り付けられた96-ウェル Whatman GF/D UNIFILTER (登録商標)に移すことにより96-ウェルフォーマットに再び移し(re-racked)、200 $\times$ gで5分遠心した。浄化された溶解物を、平衡バッファー(50 mMの NaH_2PO_4 、0.5 Mの NaCl 、10 mMのCHAPS、40 mMのイミダゾール、pH 8.0)で平衡化されている96-ウェル Ni-Chelating Plateに移し、5分間インキュベートした。結合していない物質を除去した。樹脂を、洗浄バッファー#1(50 mMの NaH_2PO_4 、0.5 Mの NaCl 、5 mMのCHAPS、40 mMのイミダゾール、pH 8.0)で2 $\times$ 0.3 ml/ウェルで洗浄した。次に、樹脂をPBSで3 $\times$ 0.3 ml/ウェルで洗浄した。溶離前に、それぞれのウェルを50 μ lの溶離バッファー(PBS + 20 mMのEDTA)で洗浄し、5分インキュベートし、この洗浄液を減圧により除去した。タンパク質を、さらなる100 μ lの溶離バッファーをそれぞれのウェルに適用することにより溶離した。室温で30分インキュベーション後、プレートを200 $\times$ gで5分間遠心分離し、溶出されたタンパク質を、Ni-プレートの底に加えた5 μ lの0.5 Mの MgCl_2 を含む96-ウェルキャッチプレートに回収した。溶出されたタンパク質を、タンパク質標準としてSGE(コントロール アドネクチン)を使用するBCAタンパク質アッセイを使用して定量した。SGEアドネクチンは、インテグリン結合ドメイン(位置78-80でアミノ酸RGD)がSGEで置換されている野生型¹⁰ Fn3ドメイン(配列番号:1)である。

10

20

30

40

50

【0230】

HSA、RhSAおよびMuSA直接結合ELISA

HSAに対する直接的バインダーをアッセイするために、MaxiSorpプレート(Nunc International, Rochester, NY)をPBS中10 μ g/mLのHSA(Sigma, St. Louis, MO)で4℃で一晩でコーティングし、カゼインブロックバッファー(Thermo Scientific, Rockford, IL)で室温で1-3時間ブロックした。一点スクリーニングアッセイのために、精製されたHTPPアドネクチンをカゼインブロックバッファーで1:20に希釈し、それぞれのウェル中で室温で1時間HSAに結合させた。用量応答アッセイのために、0.1 nMから最大1 μ Mの範囲の濃度を使用した。非結合アドネクチンを除去するためにPBSTで洗浄後、カゼインブロックバッファーで1:2500に希釈された抗-His mAb-HRPコンジュゲート(R&D Systems, MN)を結合His-タグ アドネクチンに室温で1時間に加えた。過剰なコンジュゲートをPBSTで洗浄することにより除去し、結合したアドネクチンを製造業者の指示にしたがってTMB検出試薬(BD Biosciences)を使用して検出した。

【0231】

分析的サイズ排除クロマトグラフィーによる凝集測定

サイズ排除クロマトグラフィー(SEC)をHTPPから得られるSABAにおいて実施した。HTPP由来物質のSECを、 A_{214} nmおよび A_{280} nmでのUV検出ならびに蛍光検出(励起=280 nm、発光=350 nm)にて、Agilent 1100または1200 HPLCシステムにおいてSUPERDEX(登録商標) 200 5/150またはSUPERDEX(登録商標) 75 5/150 カラム(GE Healthcare)を使用して実施した。100 mMの硫酸ナトリウム、100 mMのリン酸ナトリウム、150 mMの塩化ナトリウム、pH 6.8のバッファーをSECカラムの適当な流速で使用した。ゲル濾過標準(Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA)を分子量校正のために使用した。

【0232】

HTPP精製SABAにおけるSECの結果は、主にモノマーであることが示され、ほぼ10 kDaの範囲 対 球状ゲル濾過標準(BioRad)において溶離した。

【0233】

候補血清アルブミン結合アドネクチン(SABA)の同定

HSA/RhSA/MuSA結合および生物物理学基準のスクリーニングの結果として

、4つのユニークな(unique)血清アルブミン結合アドネクチン(SABA)が、マウスにおいて評価されたそれらの半減期を有するように同定され、選択された。インビトロおよびインビボでの特性化を行うために、中規模を4つのSABAのために行った。表6は、SABA1-26として示されるPROfusionから同定された26個のユニークなSABAコア配列の配列を提供する。SABA4は、スカフォールド変異を有し、中規模化の前に固定された。SABA4のスカフォールドー完全バージョンはSABA5である。SABA4およびSABA5は、BC、DEおよびFGグループにおいて同一の配列を有する。

【0234】

実施例5B. 候補物SABAの生産および製剤

10

SABAの中規模タンパク質生産

実施例5Aに記載されている選択されたSABA、次にHis6タグを、pET 9dベクターにクローニングし、大腸菌BL21(DE3) pLysS細胞において発現させた(設計されたSABA1.1、SABA2.1、SABA3.1およびSABA5.1のそれぞれのHis-タグSABA配列について表6参照)。20mlの接種培養物(単一被覆コロニーから産生された)を使用し、50μg/mLのカナマイシンを含む1リットルのLB培地に播種する。培養物を37℃でA₆₀₀ 0.6-1.0まで増殖させた。1mMのイソプロピル-β-チオガラクトシド(IPTG)で誘導後、培養物を30℃でさらに4時間増殖させ、4℃で≥10,000gで30分間の遠心分離により回収した。細胞ペレットを-80℃で凍結した。細胞ペレットを、氷上でULTRA-TURRAX(登録商標)ホモジェナイザー(IKA works)を使用して、25mLの溶解バッファー(20mMのNaH₂PO₄、0.5MのNaCl、1×Complete Protease Inhibitor Cocktail-EDTA free (Roche)、pH7.4)に再懸濁した。細胞溶解は、Model M-110S MICROFLUIDIZER(登録商標)(Microfluidics)を使用する高圧ホモジェナイゼーション(≥18,000psi)によりなし遂げた。可溶性画分を、4℃で23,300gで30分間の遠心分離により分離した。上清を0.45μmフィルターを介して洗浄した。浄化された溶解物を20mMのNaH₂PO₄、0.5MのNaCl、pH7.4で平衡化されたHISTRAP(登録商標)カラム(GE)上に負荷した。次に、カラムを、25カラム容量の20mMのNaH₂PO₄、0.5MのNaCl、pH7.4、次に20カラム容量の20mMのNaH₂PO₄、0.5MのNaCl、25mMのイミダゾール pH7.4、次に35カラム容量の20mMのNaH₂PO₄、0.5MのNaCl、40mMのイミダゾール pH7.4で洗浄した。タンパク質を、15カラム容量の20mMのNaH₂PO₄、0.5MのNaCl、500mMのイミダゾール pH7.4で溶離し、画分をA₂₈₀での吸光度に基づいてプールし、1×PBS、50mMのTris、150mMのNaCl pH8.5または50mMのNaOAc; 150mMのNaCl; pH4.5に対して透析した。あらゆる沈殿物が、0.22μmで濾過することにより除去された。

20

30

【0235】

中規模発現および精製は、可溶性形態において発現され、細菌サイトゾルの可溶性画分から精製された高度に純粋な、かつ活性なアドネクチンをもたらした。100mMのNaPO₄、100mMのNaSO₄、150mMのNaCl、pH6.8(GE Healthcare)の移動相におけるSUPERDEX(登録商標) 200またはSUPERDEX(登録商標) 75 10/30GLにおけるSEC分析は、主にモノマーアドネクチンを証明した。

40

【0236】

SABA1.2の製剤

1つの特定のSABA、SABA1.2(配列番号:411)を、予備的製剤スクリーンのために選択した。SABA1.2は、¹⁰F_n3の「コア1」配列において(ED)₅伸長を含む(表6における配列番号:421参照)。SABA1.2において、10m

50

Mのコハク酸、8%のソルビトール、5%のグリシン pH 6.0および5 mg/mLの生成物濃度の安定な製剤を同定した。この製剤化において、タンパク質融解温度は1.25 mg/mLのタンパク質濃度を使用して示差走査熱量測定(DSC)により決定されたとき、75℃であった。該製剤は、4℃および25℃で1.2%の最初の凝集レベルを有する十分な物理化学的安定性を提供した。1月安定後、凝集レベルは非常に低かった(4℃で1.6%および25℃で3.8%)。該タンパク質はまた、-80℃および-20℃から環境温度への変化としての凍結融解の5サイクル後に該製剤中で安定であった。加えて、この製剤化において、SABA1.2は、沈殿または凝集の増加なしで4℃および環境温度で少なくとも20 mg/mLのタンパク質濃度まで溶解できた。

【0237】

実施例5C. 候補物SABAの生物物理学特性化

サイズ排除クロマトグラフィー

標準サイズ排除クロマトグラフィー(SEC)を、中規模プロセスから得られた候補物SABAについて実施した。中規模(midscaled)材料のSECを、A₂₁₄ nmおよびA₂₈₀ nmでのUV検出ならびに蛍光検出(励起=280 nm、発光=350 nm)にて、Agilent 1100または1200 HPLCシステムにおいてSUPERDEX(登録商標) 200 10/30またはSUPERDEX(登録商標) 75 10/30 カラム(GE Healthcare)を使用して実施した。100 mMの硫酸ナトリウム、100 mMのリン酸ナトリウム、150 mMの塩化ナトリウム、pH 6.8のバッファーを、SECカラムの適当な流速で使用した。ゲル濾過標準(Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA)を分子量校正のために使用した。

【0238】

中規模精製SABAにおけるSECの結果は、主にモノマーアドネクチンであることが示され、ほぼ10 kDaの範囲 対 球状ゲル濾過標準(BioRad)において溶離した。

【0239】

熱安定性

中規模SABAの示差走査熱量測定(DSC)分析を実施して、それぞれのT_mを決定した。1 mg/mLの溶液を、N-DSC II熱量計(Calorimetry Sciences Corp)において、3気圧下で1分当たり1℃の速度で5℃から95℃に勾配をつけることによりスキャンした。データは、Originソフトウェア(Origin Lab Corp)を使用し、最適適合を使用して、適当なバッファーのコントロール実施に対して分析した。SECおよびDSC分析の結果を表14に要約する。

表14

候補物SABAにおけるSECおよびDSC分析の要約

【表140】

クローン	SEC		DSC (T _m)
	モノマー(%)	ダイマー(%)	
SABA1.1	92.3	7.7	63.9℃
SABA5.1	88	12	70.1℃
SABA2.1	91	9	58.5℃/78.2℃
SABA3.1	99	BLD	65.2℃

【0240】

実施例5D. 血清アルブミンへの候補物SABA1結合の特性化

実施例5Aおよび5Bに記載されているHTPPおよび/または中規模材料から精製された選択されたSABAクロンの動力学を、Biasensor CM5 チップの表面上のそれぞれの血清アルブミン(HSA/RhSA/MuSA)を捕捉し、参照フロー細胞および捕捉アルブミンの両方に、濃度系列のSABAを流すことにより決定した。加えて、アルブミンへの結合を、pH 5.5からpH 7.4の範囲の種々のpH条件下で行

った。H S A 結合アドネクチン S A B A 2 . 1、S A B A 3 . 1、S A B A 4 . 1 および S A B A 1 . 1 は R h S A と公差反応したが、M u S A と公差反応しなかった。S A B A 2 および S A B A 4 結合は p H 感受性であるが、クローン S A B A 3 は、p H 6 . 0 に至るまで H S A への p H 抵抗性結合を証明した。S A B A 1 . 1 は、p H 5 . 5 に至るまで p H 抵抗性および親和性／動力学に対する生化学的基準に合う。

【0241】

ドメインマッピングを B I A C O R E（登録商標）により決定した。H T P P および／または中規模材料から精製された選択された S A B A クローンを、B i a s e n s o r C M 5 チップの表面上のちょうど H S A ドメイン I & I I または H S A ドメイン I I I からなる H S A または構築物を捕捉し、参照フロー細胞および捕捉アルブミンの両方に、濃度系列の S A B A を流すことにより決定した。クローン S A B A 2 & S A B A 1 は、H S A および H S A ドメイン I - I I 構築物に結合したが、H S A ドメイン I I I 構築物に結合しなかった。クローン S A B A 3 & S A B A 4 は、H S A に結合したが、H S A ドメイン I - I I または H S A ドメイン I I I 構築物のいずれにも結合しなかった。該結果を表 1 5 に要約する。

表 1 5

候補物 S A B A（S A B A 1 . 1、2 . 1、3 . 1 および 4 . 1）の結合親和性および動力学

【表 1 4 1】

アドネクチン	標的	K _D (nM)	K _{off} (s ⁻¹)	pH7.4→5.5?に対する抵抗性	HSA上のエピソード
SABA2	HSA	33.8+/-20.5 (n=6)	1.71E-04	---	ドメインI-II
	RhSA	63.6	4.42E-04		
SABA3	HSA	863	6.82E-02	+++ (pH6.0に至るまで)	ドメインI-IIでもIIIでもない(界面?)
	RhSA	431	3.37E-02		
SABA4	HSA	412+/-8 (n=4)	7.82E-04	--	ドメインI-IIでもIIIでもない(界面?)
	RhSA	>1000	3.83E-03		
SABA1	HSA	47.2+/-18.2 (n=9)	4.57E-04	+++	ドメインI-II
	RhSA	778+/-313 (n=4)	5.45E-03		

【0242】

実施例 5 E．候補物 S A B A のインビボ t_{1/2} の試験

H S A 結合アドネクチンが M u S A と交差反応しないため、マウスにおいて H S A の半減期を、マウスにおいて H S A 結合アドネクチンの評価を可能にするように決定した。H S A を、20 mg / k g（図 2 3 A）および 50 mg / k g 用量（図 2 3 B）で約 6 週齢 N c r n u d e メス マウスの尾静脈に注射し、注射後間隔で採取された血液サンプルにおける H S A の濃度を E L I S A により決定した。20 mg / k g および 50 mg / k g でマウスに注射された H S A の t_{1/2} は、それぞれ～24 時間および～20 時間であると決定された。

【0243】

マウスにおける S A B A 1 - 4 の半減期決定

H S A 結合クローン S A B A 1 . 1、S A B A 2 . 1、S A B A 3 . 1 および S A B A 4 . 1 の 1 リットルの大腸菌培養物を調製し、精製し、エンドトキシンを除去した。それぞれの S A B A 変異体をマウスの尾静脈に注射し、注射後間隔で採取された血液サンプルにおける濃度を E L I S A により決定した。

【0244】

それぞれのSABAの薬物動態学プロフィールを、約6週齢のNcr nude メスマウスにおいてHSAの存在または非存在下で比較した。結合クローンはHSAおよびRhSAに対して選択的であり、マウス血清アルブミンに結合しないため、HSAを共注入されたマウスは、それぞれのSABA（3-4モル過剰におけるHSA）と前混合されたHSAを有した。マウス血漿中のSABA1.1（クローン1318H04）の半減期は0.56時間であったが、HSAを共注入されたSABA1.1の半減期は5.6時間であり、半減期において~10倍増加した（図24A）。マウス血漿中のSABA2.1の半減期は0.24時間であったが、HSAを共注入されたSABA2.1の半減期は2.8時間であり、半減期において~12倍増加した（図24B）。マウス血漿中のSABA3.1（クローン1245H07）の半減期は0.28時間であったが、HSAを共注入されたSABA3.1の半減期は0.53時間であり、半減期において~2倍増加した（図24C）。マウス血漿中のSABA4.1の半減期は0.66時間であったが、HSAを共注入されたSABA4.1の半減期は4.6時間であり、半減期において~7倍増加した（図24D）。実施例の要約は図25に示される。表16は、SABA1.1、SABA2.1、SABA3.1およびSABA5.1に対する同様のデータを要約し；比較は、利用できるときcynoにおける半減期にて作成する。

表16

【表142】

クローン	PK(T1/2)		コメント
	マウス	Cyno	
SABA1.1	5.6時間	96-137時間	T1/2=96-137時間
SABA5.1	4.6時間	12時間	RhSAに対する乏しい結合親和性 pH<6.0で観察されるKDにおいて2倍減少
SABA2.1	2.8時間	NA	pH<6.5での結合の喪失
SABA3.1	32分	NA	マウスにおいて観察される乏しいT1/2

【0245】

カニクイザルにおけるSABA1.1およびSABA5.1の半減期決定
SABA1.1（図26A）およびSABA5.1（図26B）の概念試験の3週間単回投与試験をカニクイザルにおいて行い、2匹のカニクイザルにおいて1mg/kg（mpk）のIV投与にて薬物動態学を評価した。薬物動態学は、血漿サンプル中のアドネクチンを検出するために開発された定量ELISAベースのアッセイを使用して評価した。SABA1.1は、96-137時間（図26Aおよび表17A）の範囲の半減期を有した。SABA5.1は、約12時間の半減期を有し、唯一、ELISAにおいて最大120時間測定可能であった（図26B）。表17Aは、SABA1.1に対するデータを要約し；表17Bは、SABA5.1に対するデータを要約する。

表17A

SABA1.1

【表143】

サトル	t1/2 (時間)	Cmax (μg/mL)	AUCall (hr*μg/mL)	Cl_obs (mL/hr/kg)	Vz_obs (mL/kg)
#1	95.8	9.03	673.7	1.45	200.8
#2	136.6	7.24	625.1	1.60	315.2

表17B

SABA5.1

【表 1 4 4】

	HL_ラミタ ^z _z (時間)	Cmax (μ g/mL)	AUC ₀₋₁₁ (hr $\cdot$ μ g/mL)	Cl _{obs} (mL/hr/kg)	Vz _{obs} (mL/kg)
N	2	2	2	2	2
平均	12.186	17.358	246.882	4.089	72.507
SD	1.451	3.08	36.245	0.596	19.045
最小	11.16	15.18	221.25	3.67	59.04
最大	13.21	19.54	272.51	4.51	85.97
CV%	11.9	17.7	14.7	14.6	26.3

10

【0 2 4 6】

実施例 5 F. 血清アルブミンへの S A B A 1 結合の特性化

S A B A 1. 1 および 1. 2 は H S A および R h S A に結合する

(E D)₅ 伸長を含む「コア 1」^{1 0} F n 3 である S A B A 1. 2 (表 6 における配列番号: 4 2 1) は、中性 pH および 25 °C で $8.21 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ の平均会合速度定数 (k_a) および $4.43 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ の平均解離速度定数 (k_d)、計算された 55.3 nM の平均 K_d にてヒト血清アルブミン (H S A) に結合した (表 1 8)。アカゲザル血清アルブミン (R h S A) について、測定された平均会合速度定数は $6.60 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ であり、解離速度定数は $3.78 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ であり、 580 nM の計算された平均 K_d であった。S A B A 1. 2 とマウスまたはラット血清アルブミン間の測定可能な相互作用は、最大 $1 \mu\text{M}$ で観察することができなかった (表 1 8 および図 2 7)。37 °C で、 k_a および k_d は 2 から 5 倍増加し、H S A に対する親和性において ~ 2 倍増加ならびに R h S A に対する親和性において 1 / 2 となった (表 1 8)。

20

表 1 8

H B S - P バッファー中のアルブミンへの S A B A 1. 2 結合に対する速度論的パラメーター

【表 1 4 5】

アルブミン	Temp (°C)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	KD (nM)
ヒト	25	$8.21 \pm 1.19 \times 10^3$	$4.43 \pm 0.65 \times 10^{-4}$	55.3 ± 13.7
アカゲザル		$6.60 \pm 1.18 \times 10^3$	$3.78 \pm 0.45 \times 10^{-3}$	580 ± 62.6
マウス		観察できる結合なし		
ヒト	37	3.38×10^4	8.15×10^{-4}	24.1
アカゲザル		1.89×10^4	1.85×10^{-2}	977.4
マウス		観察できる結合なし		

30

【0 2 4 7】

さらに、熱量滴定を行い、S A B A 1 および H S A 間の化学量論を決定した。本試験において、H i s 6 伸長を含む「コア」^{1 0} F n 3 である S A B A 1. 1 (表 6 における配列番号: 4 2 0) を使用した。H S A ($115 \mu\text{M}$ のタンパク質溶液の注射あたり $10 \mu\text{l}$) を $8.1 \mu\text{M}$ の濃度で S A B A 1. 1 を含む熱量測定セル (calorimetric cell) に注射した。該実験は、37 °C で P B S バッファー pH 7. 4 中で行った。図 2 8 は、S A B A 1. 1 が 1 : 1 化学量論で H S A に結合することを示す。

40

【0 2 4 8】

S A B A 1. 2 は低 pH で H S A に強く結合する

アルブミンの長半減期 (例えば、H S A の $t_{1/2}$ は 19 日間である) は、主に、エンドソーム内部に存在する低 pH 条件下で新生児の F c 受容体である F c R n に結合することによりエンドサイトーシス経路からリサイクルされるという事実による。表 1 9 に示されるとおり、S A B A 1. 2 は 5. 5 の pH でエンドソームにて H S A に強く結合し、S

50

A B A 1 の $t_{1/2}$ は、H S A に結合すると、また、F c R n リサイクルメカニズムから利益を得ることを示唆した。

表 1 9

M E S バッファー中の pH 7. 4 および 5. 5 でのアルブミン結合動力学的比較
【表 1 4 6】

アルブミン	pH	ka(1/Ms)	kd(1/s)	KD(nM)
ヒト	7. 4	9. 26E+03	3. 88E-04	41. 9
	5. 5	9. 44E+03	2. 70E-04	28. 6
マウス	7. 4	6. 16E+03	2. 95E-03	479
	5. 5	7. 57E+03	2. 72E-03	359

10

【0 2 4 9】

S A B A 1. 2 は H S A のドメイン I および I I に結合するが、ドメイン I I I に結合しない

アルブミン上の結合部位 S A B A 1. 2 は、組換え H S A フラグメントを使用して N-末端ドメイン I または I I にマッピングされ、ドメイン I I I への検出可能な結合は有さなかった（図 2 9）。ドメイン I I I が主に F c R n と相互作用する H S A のドメインであるため、S A B A 1. 2 が F c R n への H S A 結合に対して競合する可能性は少なく、再び、半減期の延長のためにリサイクルメカニズムを少なくとも利用する可能性を増加させる。

20

【0 2 5 0】

実施例 5 G. S A B A 1. 2 のインビボ薬理学的

S A B A 1. 2 の 4 週間、単回投与、前毒性試験を、マウスにおいて行い、2 つの異なる用量レベルで薬物動態学および免疫原性を評価した。薬物動態学および免疫原性もまた、静脈内および皮下投与の両方を含む 3 週間、単回投与、前毒性試験において評価した。さらに、S A B A 1. 2 の薬物動態学を、血漿サンプル中の S A B A 1. 2 を検出するために開発された定量 E L I S A ベースのアッセイを使用して、マウスにおける 2 回別々、単回投与、前毒性試験において評価した。

【0 2 5 1】

S A B A 1. 2 を、1 m p k および 1 0 m p k で I V でサルに投与した。W I N N O N L I N（登録商標）ソフトウェアを使用する非区画分析を行って、薬物動態パラメーターを評価した。図 3 0 および以下に記載されるパラメーターに示されるとおり、S A B A 1. 2 は、濃度-時間曲線下面積（A U C）評価により決定されるとおり、本試験において用量依存的薬物動態学を示した。1 0 m p k で S A B A 1. 2 に対するクリアランス（C L）は 0. 1 5 m l / h r / k g であり、ベータ相半減期（ $t_{1/2}$ ）は 1 4 3 時間であり、分布容量（V z）は 3 0 m L / k g であり、全薬物暴露（A U C a l l）は 5, 6 0 9, 4 5 7 h r * n m o l / L であった（表 2 0）。1 m p k で S A B A 1. 2 に対するクリアランス（C L）は 0. 4 m l / h r / k g であり、半減期（ $t_{1/2}$ ）は 1 2 4 時間であり、分布容量（V z）は 7 2 m L / k g であり、全薬物暴露（A U C a l l）は 2 1 4, 6 3 6 h r * n m o l / L であった（表 2 0）。

30

40

【0 2 5 2】

S A B A 1. 2 の S C または I V 投与後、ベータ相薬物動態学プロファイルは同様であった（図 3 1）。1 m p k で I V で S A B A 1. 2 に対するクリアランス（C L）は 0. 2 2 m l / h r / k g であり、ベータ相半減期（ $t_{1/2}$ ）は 1 2 5 時間であり、分布容量（V z）は 4 0 m L / k g であり、全薬物暴露（A U C a l l）は 3 5 7, 9 9 3 h r * n m o l / L であった（表 2 0）。1 m p k で S C で S A B A 1. 2 に対するクリアランス（C L）は 0. 3 2 m l / h r / k g であり、ベータ相半減期（ $t_{1/2}$ ）は 1 3 4 時間であり、分布容量（V z）は 6 2 m L / k g であり、全薬物暴露（A U C a l l）は 2 5 1, 3 3 9 h r * n m o l / L であった（表 2 0）。I V と比較して S C 相対バイオ

50

アベイラビリティ (F) は 0.7 であった。

表 20

サルにおける SABA 1.2 に対する薬物動態パラメーター

【表 147】

試験 #	1		2	
用量 (mg/kg)	1	10	1	1
投与経路	i.v.	i.v.	i.v.	s.c.
N	3	3	1	2
CL (mL/hr/kg)	0.4	0.15	0.22	0.32
Vz (mL/kg)	72	30	40	62
AUC ₀₋₁₁ (hr*nmol/L)	214,636	5,609,457	357,993	251,339
ベータ T _{1/2} (h)	124	143	125	134
バイオアベイラビリティ (F)	n/a	n/a	n/a	0.7

10

【図 1】

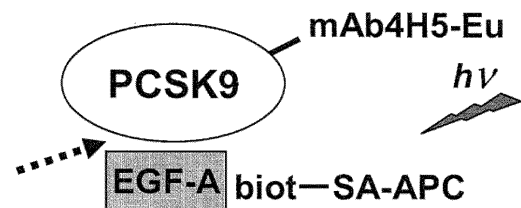
FIG. 1

1459D05 MGVSDFPRDLVVAATPTSLLSWPPPSHGYYRITYGTGGNSPVQETVPFGKGTAT
 1784F03 MGVSDFPRDLVVAATPTSLLSWPPPSHGYYRITYGTGGNSPVQETVPFGKGTAT
 1784F03-m1 MGVSDFPRDLVVAATPTSLLSWPPPSHGYYRITYGTGGNSPVQETVPFGKGTAT
 1784F03-m2 MGVSDFPRDLVVAATPTSLLSWPPPSHGYYRITYGTGGNSPVQETVPFGKGTAT
 1784F03-m3 MGVSDFPRDLVVAATPTSLLSWPPPSHGYYRITYGTGGNSPVQETVPFGKGTAT
 1813B02 MGVSDFPRDLVVAATPTSLLSWPPPSHGYYRITYGTGGNSPVQETVPFGKGTAT
 1923B02 MGVSDFPRDLVVAATPTSLLSWPPPSHGYYRITYGTGGNSPVQETVPFGKGTAT
 1923B02_N82I MGVSDFPRDLVVAATPTSLLSWPPPSHGYYRITYGTGGNSPVQETVPFGKGTAT
 1923B02_N82E MGVSDFPRDLVVAATPTSLLSWPPPSHGYYRITYGTGGNSPVQETVPFGKGTAT
 1923B02_T80A MGVSDFPRDLVVAATPTSLLSWPPPSHGYYRITYGTGGNSPVQETVPFGKGTAT
 1922G04 MGVSDFPRDLVVAATPTSLLSWPPPSHGYYRITYGTGGNSPVQETVPFGKGTAT
 1922G04_R25D MGVSDFPRDLVVAATPTSLLSWPPPSHGYYRITYGTGGNSPVQETVPFGKGTAT
 1922G04_R25E MGVSDFPRDLVVAATPTSLLSWPPPSHGYYRITYGTGGNSPVQETVPFGKGTAT
 1922G04_R25F MGVSDFPRDLVVAATPTSLLSWPPPSHGYYRITYGTGGNSPVQETVPFGKGTAT
 2012A04 MGVSDFPRDLVVAATPTSLLSWPPPSHGYYRITYGTGGNSPVQETVPFGKGTAT
 2013E01 MGVSDFPRDLVVAATPTSLLSWPPPSHGYYRITYGTGGNSPVQETVPFGKGTAT
 2011H05 MGVSDFPRDLVVAATPTSLLSWPPPSHGYYRITYGTGGNSPVQETVPFGKGTAT
 2011H05_V23D MGVSDFPRDLVVAATPTSLLSWPPPSHGYYRITYGTGGNSPVQETVPFGKGTAT
 2011H05_V23E MGVSDFPRDLVVAATPTSLLSWPPPSHGYYRITYGTGGNSPVQETVPFGKGTAT

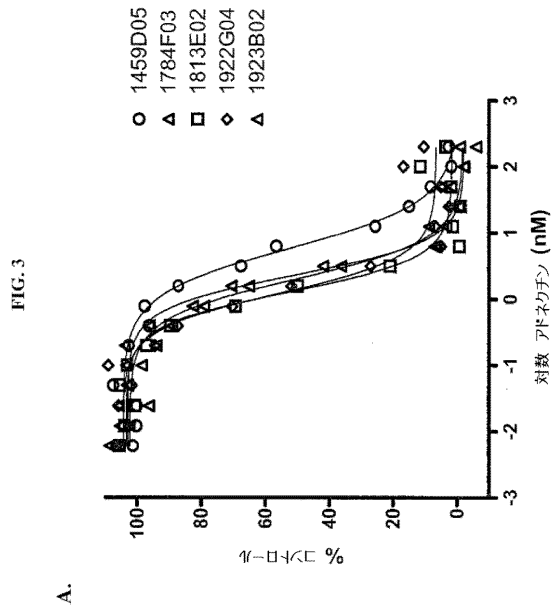
1459D05 ISGLKPGVDYTTITVYAVEYFKHSGYYHRPISINRYTEIDKPSQHNNHHH (配列番号:39)
 1784F03 ISGLKPGVDYTTITVYAVEYFKHSGYYHRPISINRYTEIDKPSQHNNHHH (配列番号:41)
 1784F03-m1 ISGLKPGVDYTTITVYAVEYFKHSGYYHRPISINRYTEIDKPSQHNNHHH (配列番号:43)
 1784F03-m2 ISGLKPGVDYTTITVYAVEYFKHSGYYHRPISINRYTEIDKPSQHNNHHH (配列番号:45)
 1784F03-m3 ISGLKPGVDYTTITVYAVEYFKHSGYYHRPISINRYTEIDKPSQHNNHHH (配列番号:47)
 1813B02 ISGLKPGVDYTTITVYAVEYFKHSGYYHRPISINRYTEIDKPSQHNNHHH (配列番号:49)
 1923B02 ISGLKPGVDYTTITVYAVEYFKHSGYYHRPISINRYTEIDKPSQHNNHHH (配列番号:51)
 1923B02_N82I ISGLKPGVDYTTITVYAVEYFKHSGYYHRPISINRYTEIDKPSQHNNHHH (配列番号:53)
 1923B02_N82E ISGLKPGVDYTTITVYAVEYFKHSGYYHRPISINRYTEIDKPSQHNNHHH (配列番号:55)
 1923B02_T80A ISGLKPGVDYTTITVYAVEYFKHSGYYHRPISINRYTEIDKPSQHNNHHH (配列番号:57)
 1922G04 ISGLKPGVDYTTITVYAVEYFKHSGYYHRPISINRYTEIDKPSQHNNHHH (配列番号:59)
 1922G04_R25D ISGLKPGVDYTTITVYAVEYFKHSGYYHRPISINRYTEIDKPSQHNNHHH (配列番号:61)
 1922G04_R25E ISGLKPGVDYTTITVYAVEYFKHSGYYHRPISINRYTEIDKPSQHNNHHH (配列番号:63)
 1922G04_R25F ISGLKPGVDYTTITVYAVEYFKHSGYYHRPISINRYTEIDKPSQHNNHHH (配列番号:65)
 2012A04 ISGLKPGVDYTTITVYAVEYFKHSGYYHRPISINRYTEIDKPSQHNNHHH (配列番号:67)
 2013E01 ISGLKPGVDYTTITVYAVEYFKHSGYYHRPISINRYTEIDKPSQHNNHHH (配列番号:69)
 2011H05 ISGLKPGVDYTTITVYAVEYFKHSGYYHRPISINRYTEIDKPSQHNNHHH (配列番号:71)
 2011H05_V23D ISGLKPGVDYTTITVYAVEYFKHSGYYHRPISINRYTEIDKPSQHNNHHH (配列番号:73)
 2011H05_V23E ISGLKPGVDYTTITVYAVEYFKHSGYYHRPISINRYTEIDKPSQHNNHHH (配列番号:75)

【図 2】

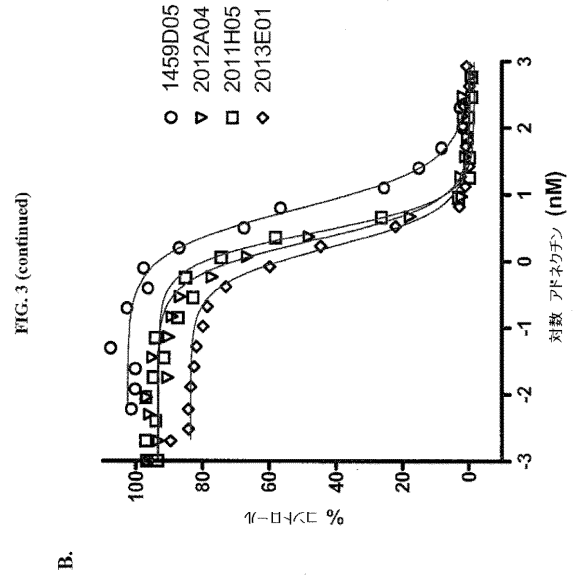
FIG. 2



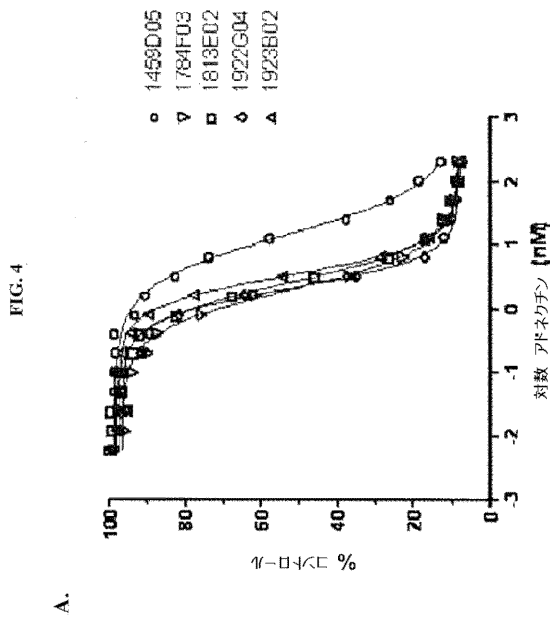
【図 3 - 1】



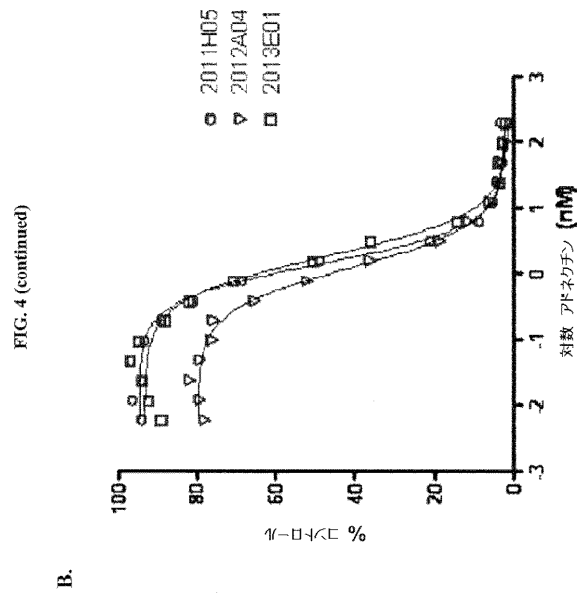
【図 3 - 2】



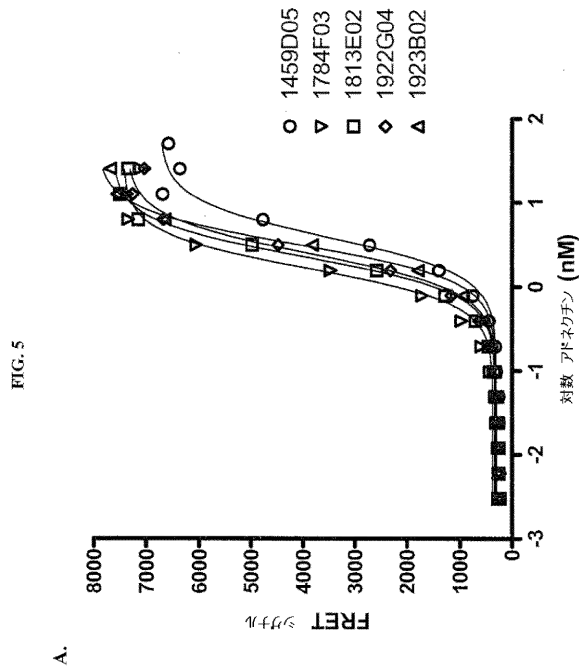
【図 4 - 1】



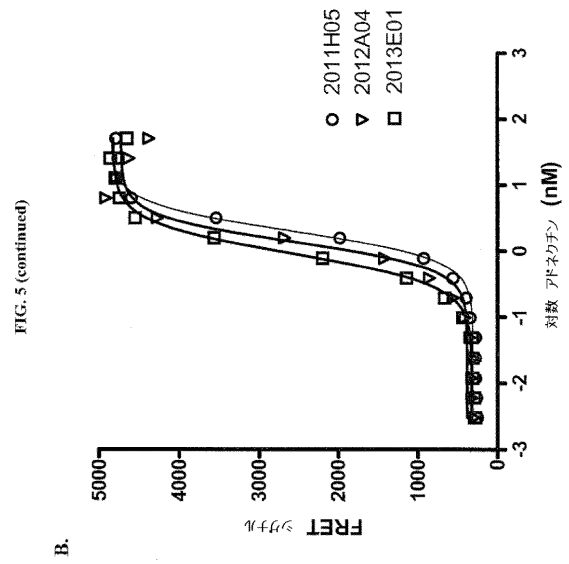
【図 4 - 2】



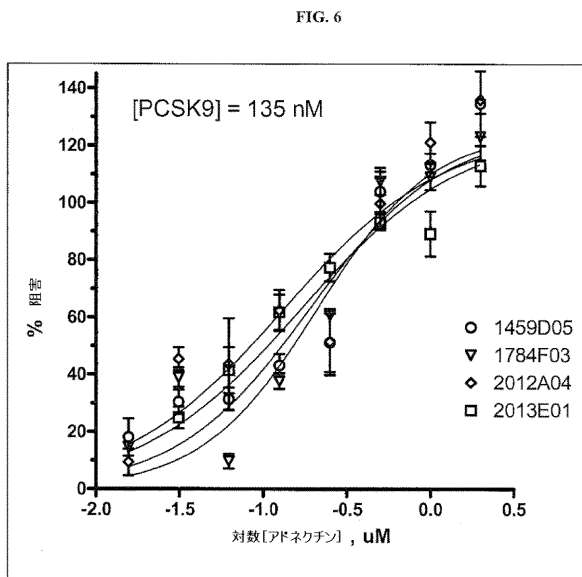
【図 5 - 1】



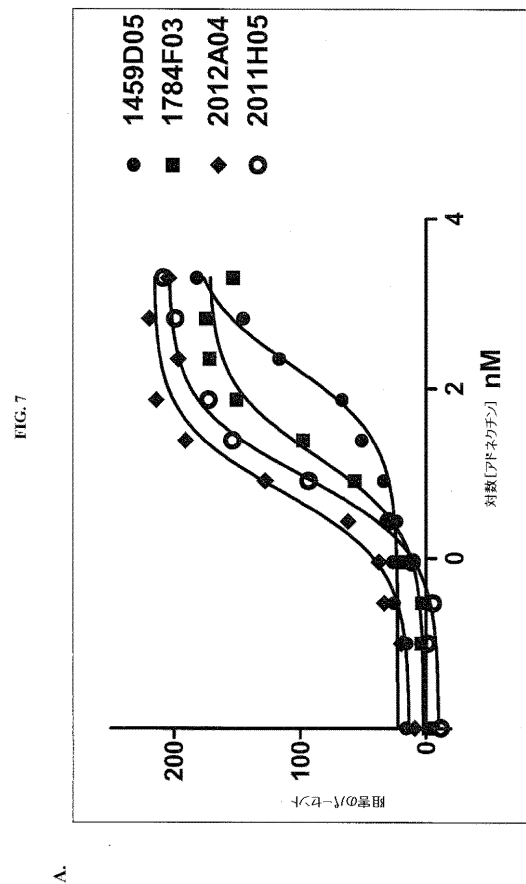
【図 5 - 2】



【図 6】

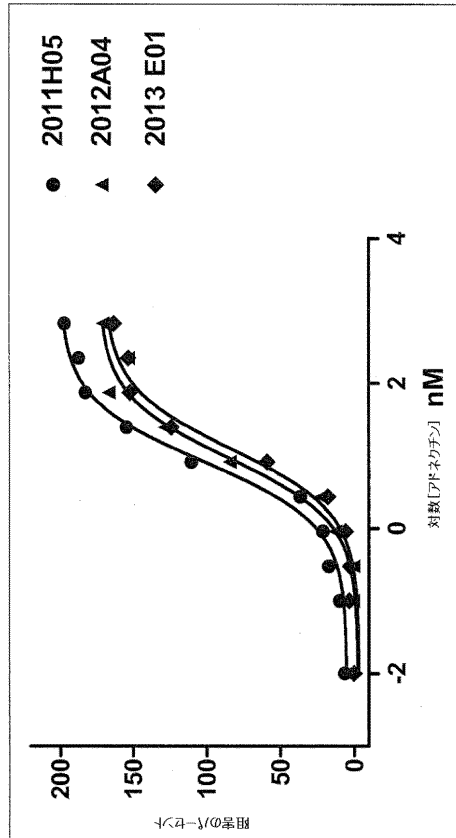


【図 7 - 1】



【図 7 - 2】

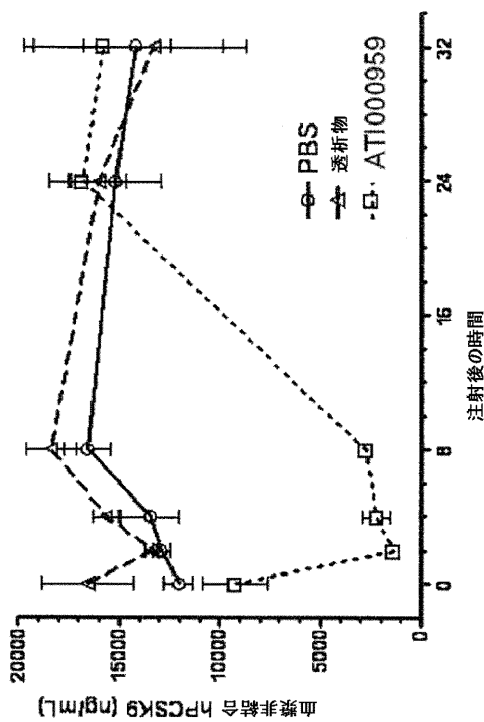
FIG. 7 (continued)



B.

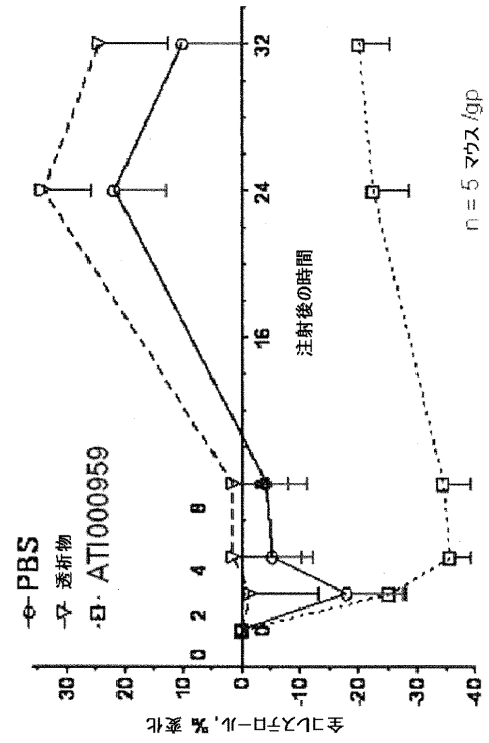
【図 8 - 2】

FIG. 8 (continued)



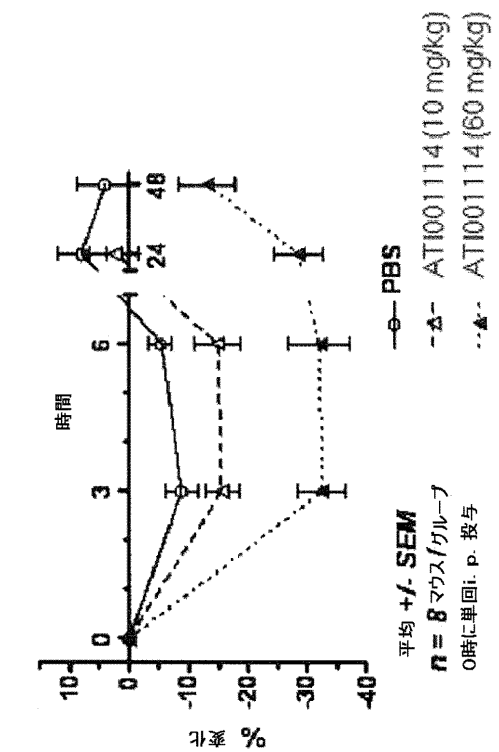
【図 8 - 1】

FIG. 8



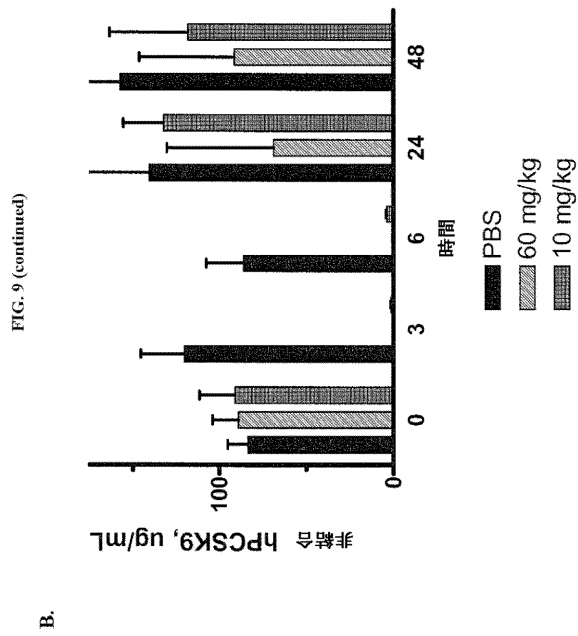
【図 9 - 1】

FIG. 9



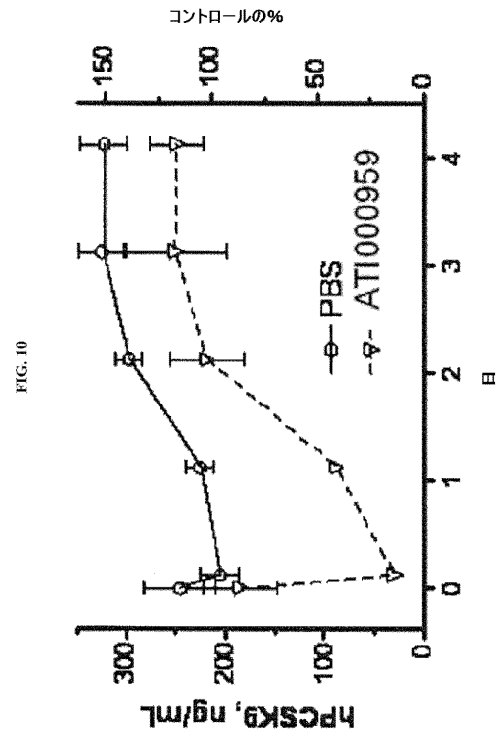
A.

【図 9 - 2】



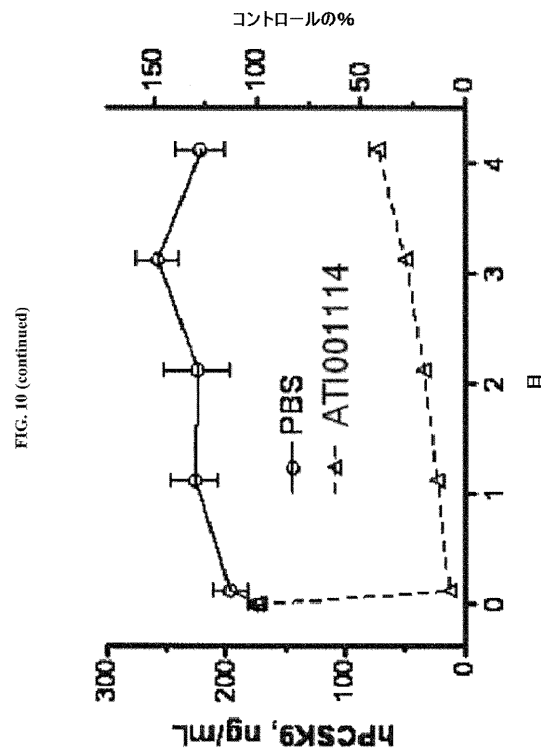
B.

【図 10 - 1】



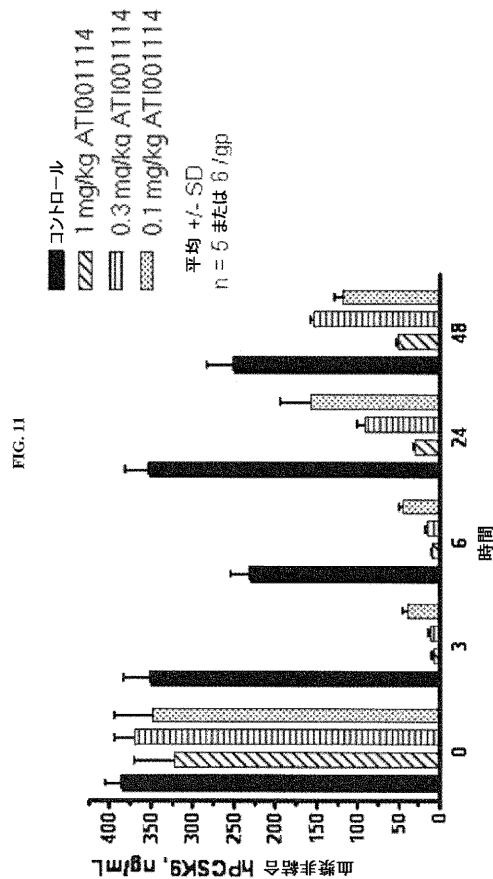
A.

【図 10 - 2】

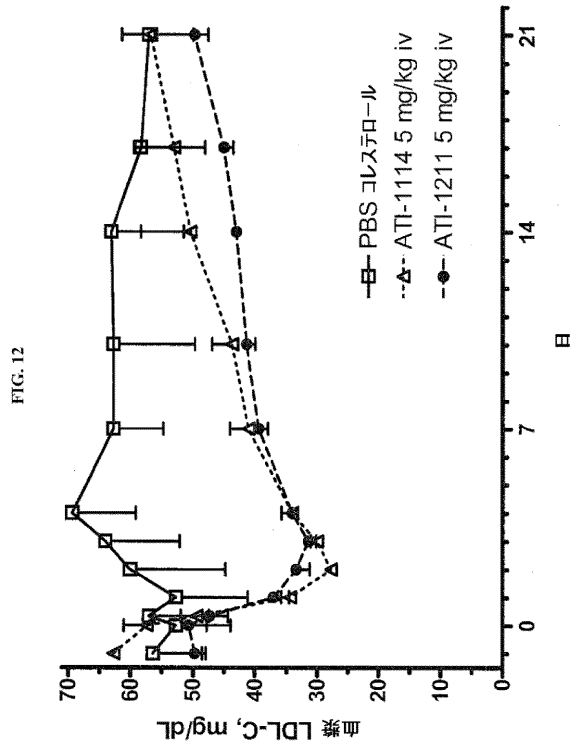


B.

【図 11】

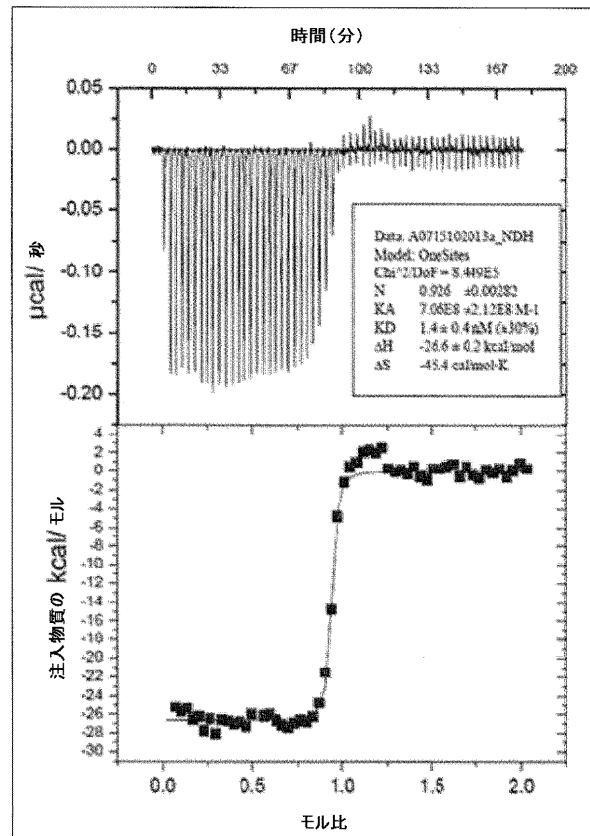


【図 1 2】



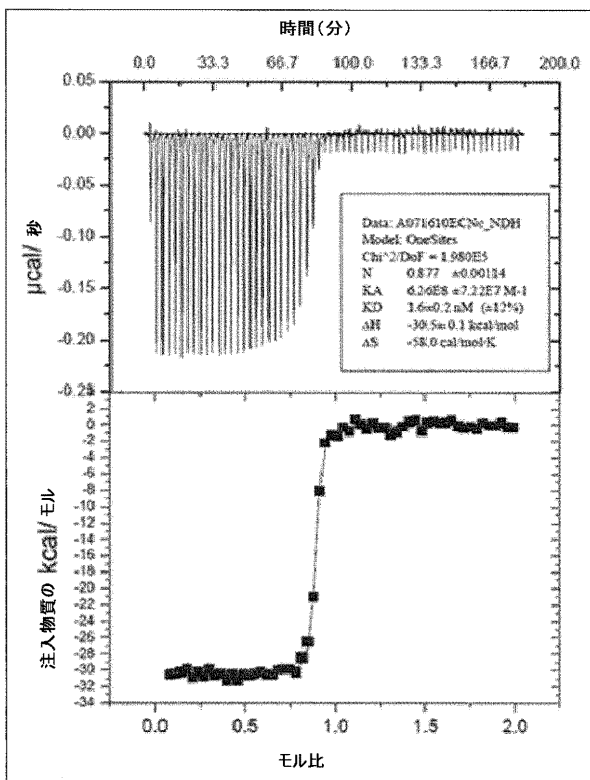
【図 1 3 - 1】

FIG. 13



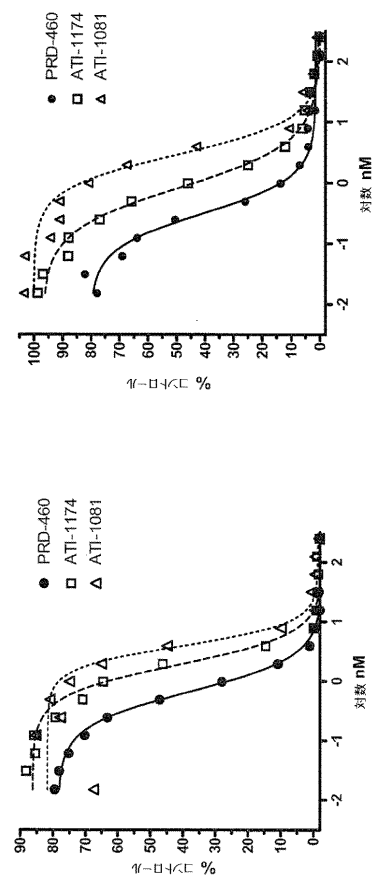
【図 1 3 - 2】

FIG. 13 (continued)

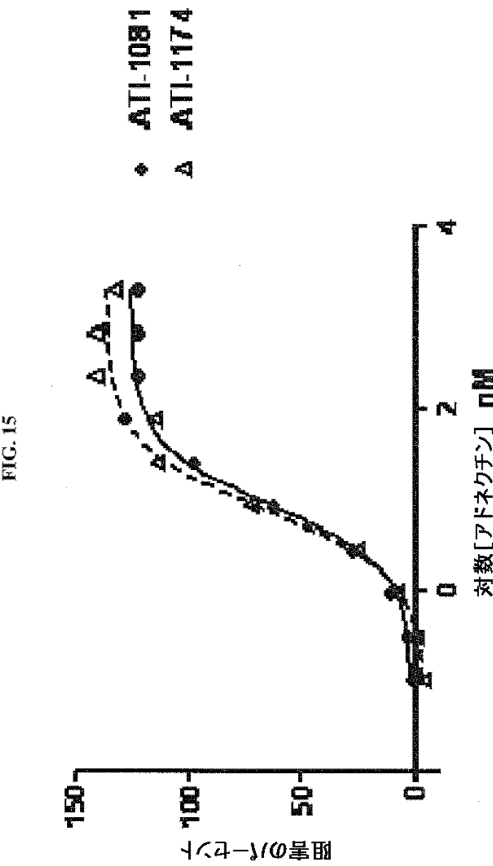


【図 1 4】

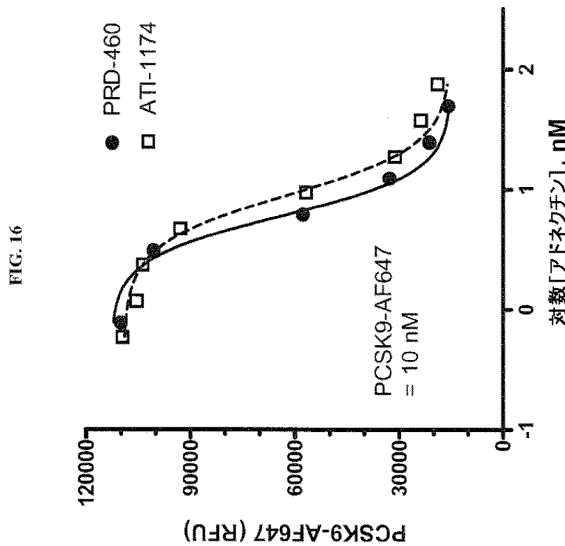
FIG. 14



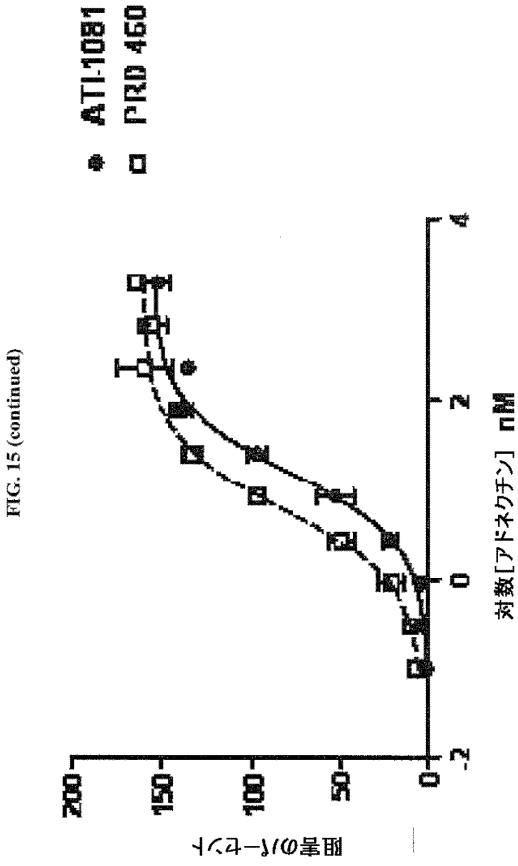
【 図 1 5 - 1 】



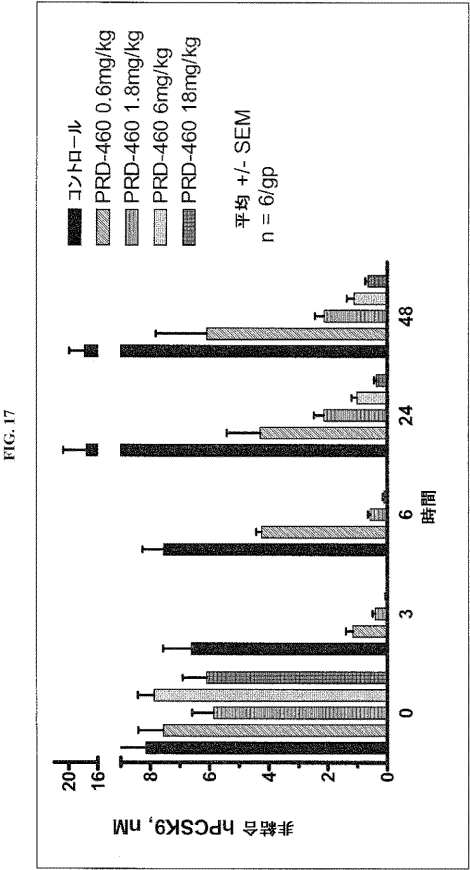
【 図 1 6 】



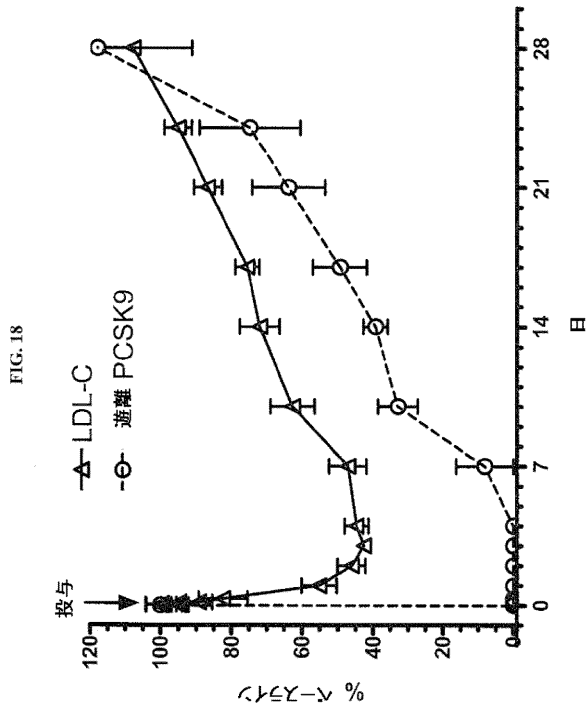
【 図 1 5 - 2 】



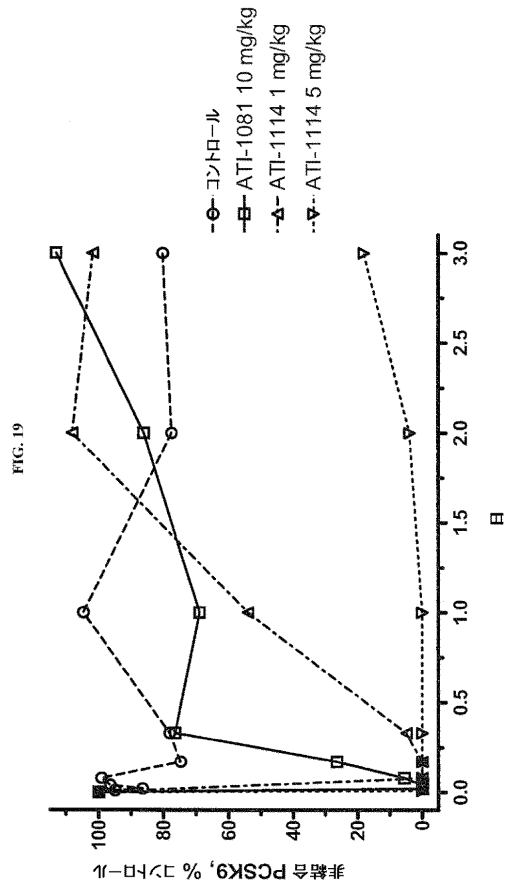
【 図 1 7 】



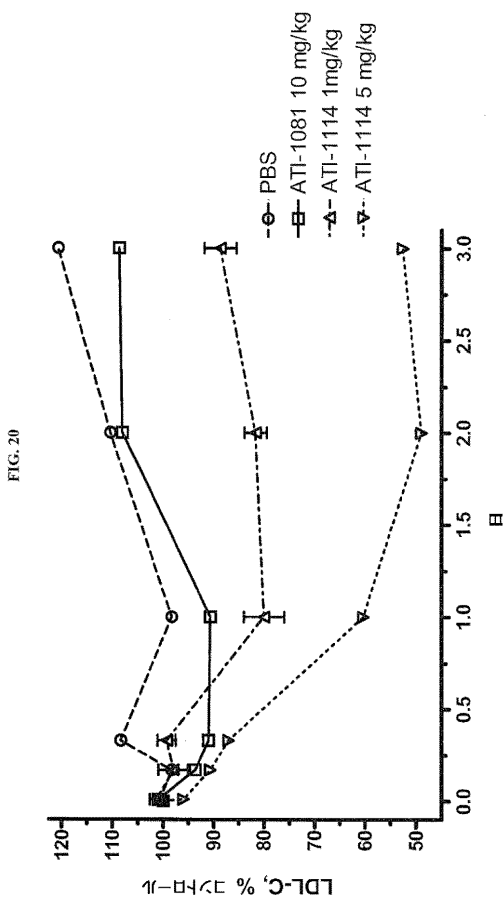
【図 18】



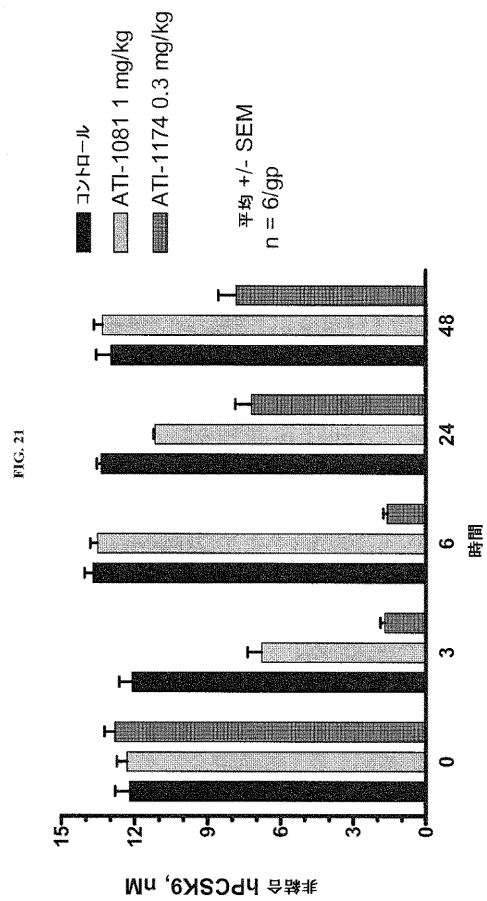
【図 19】



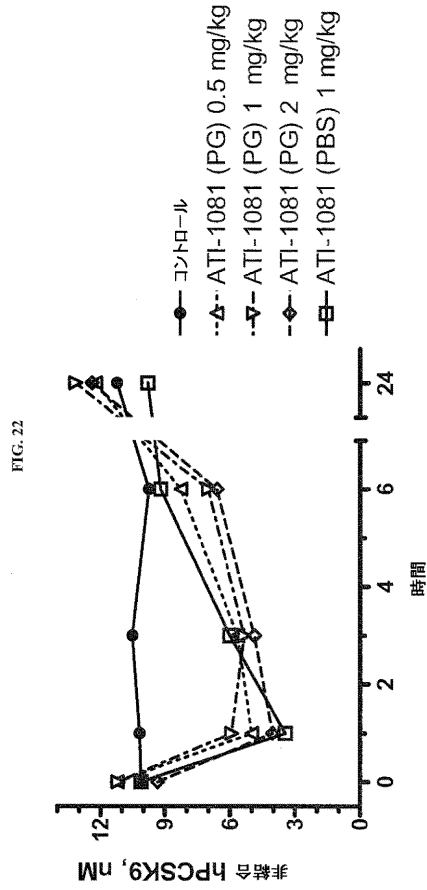
【図 20】



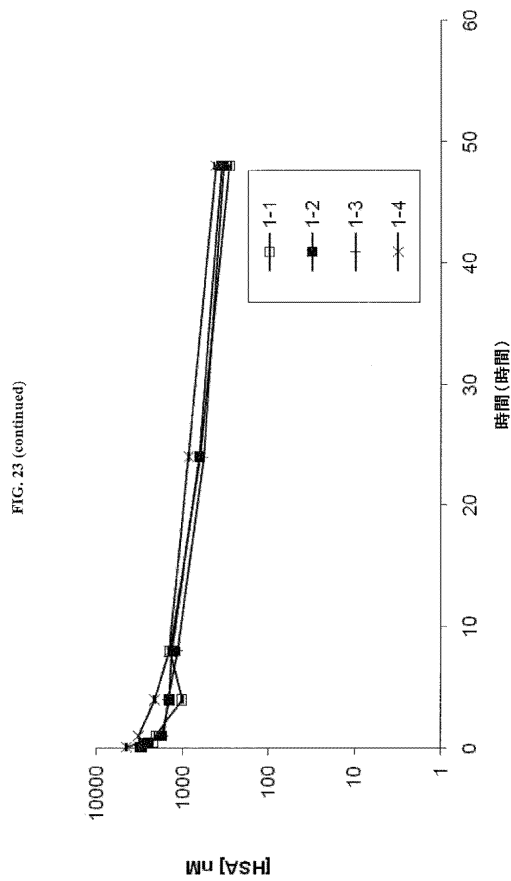
【図 21】



【図 22】

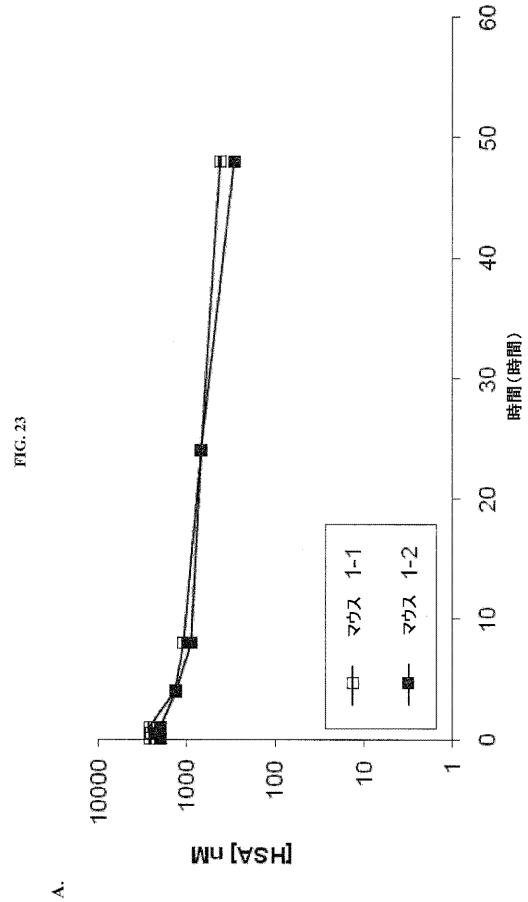


【図 23 - 2】



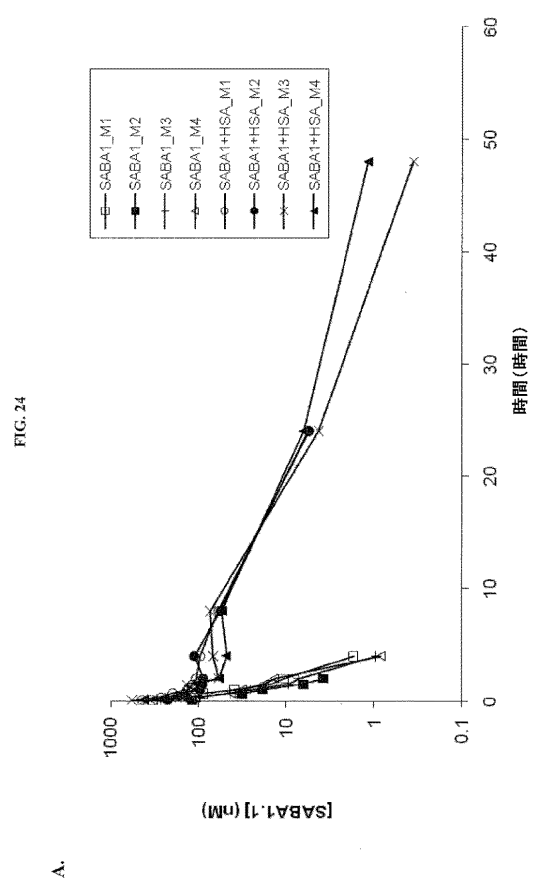
B.

【図 23 - 1】



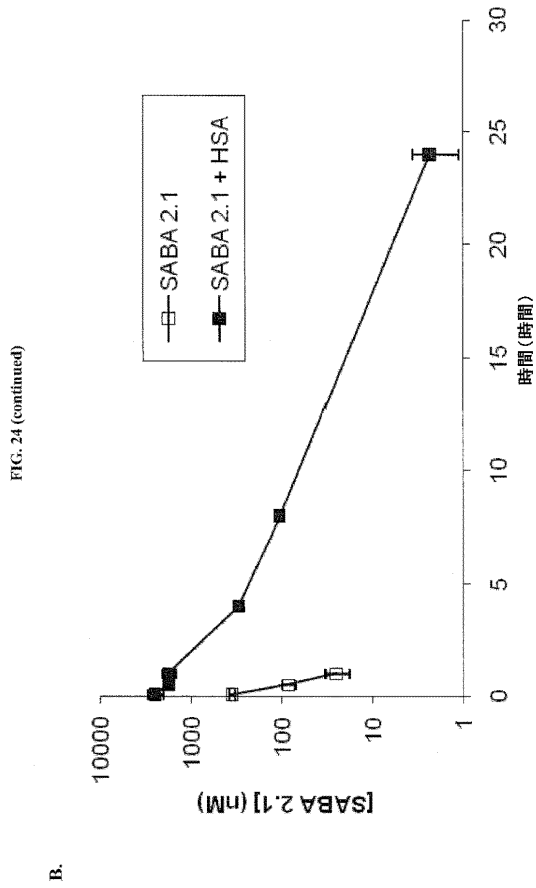
A.

【図 24 - 1】



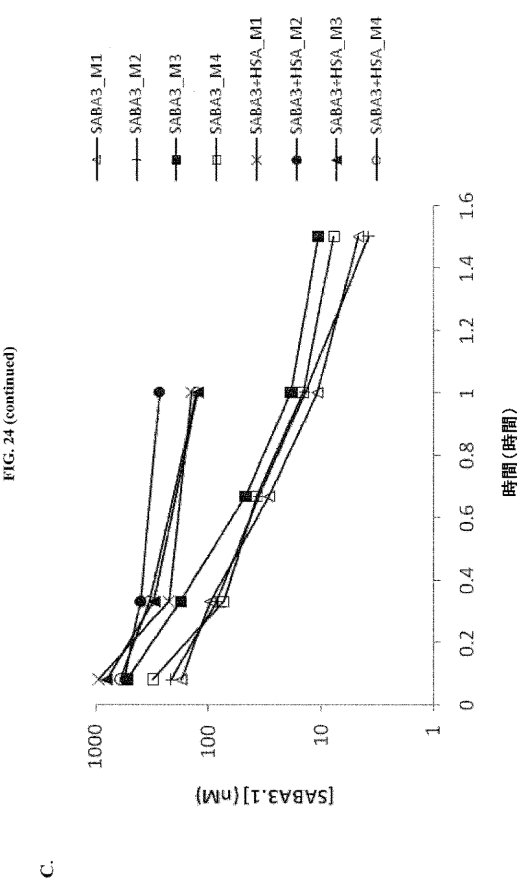
A.

【 図 2 4 - 2 】



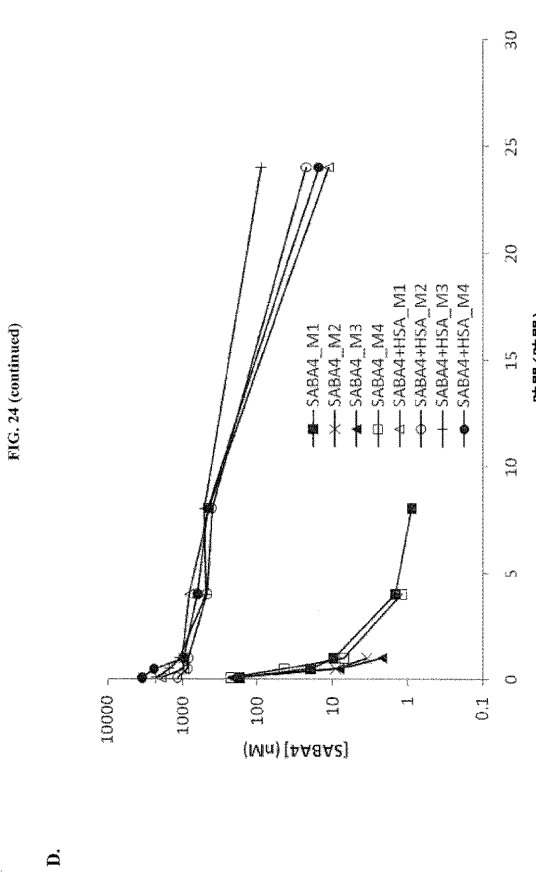
B.

【 図 2 4 - 3 】



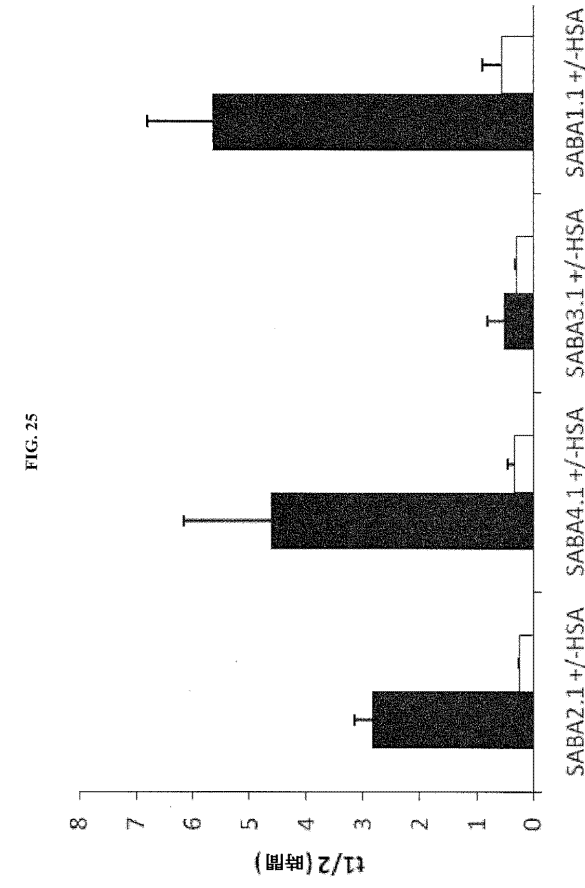
C.

【 図 2 4 - 4 】

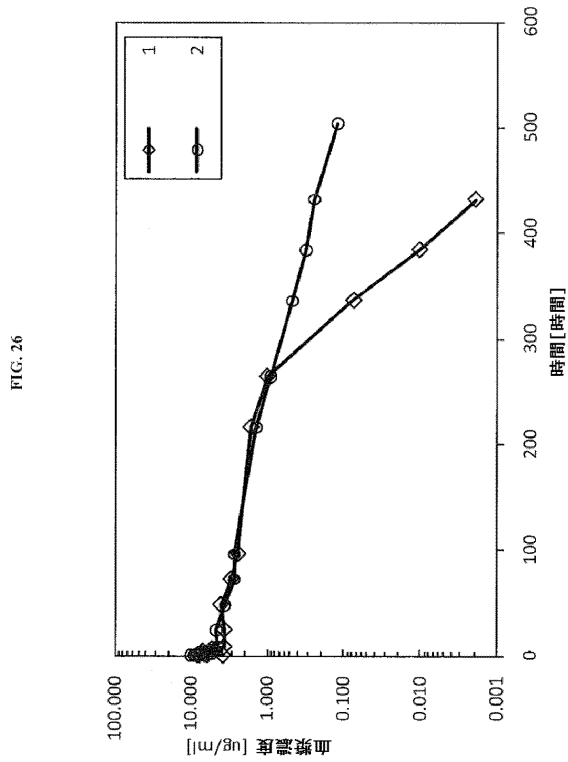


D.

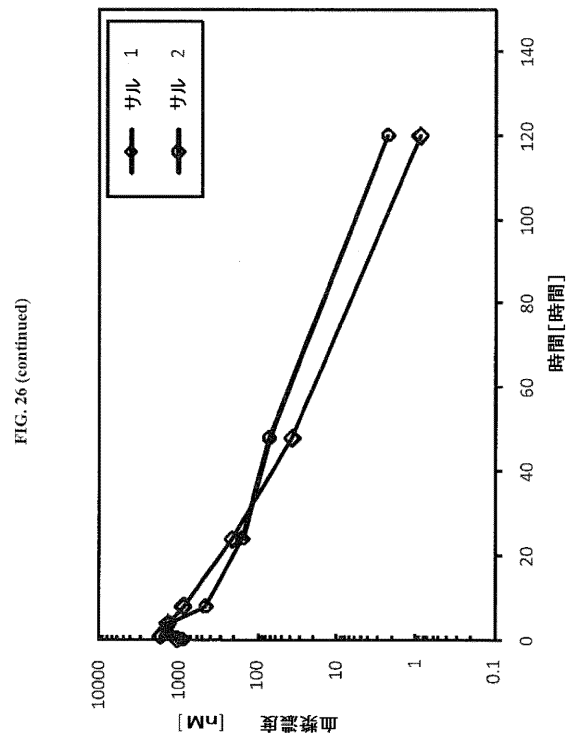
【 図 2 5 】



【図 26-1】

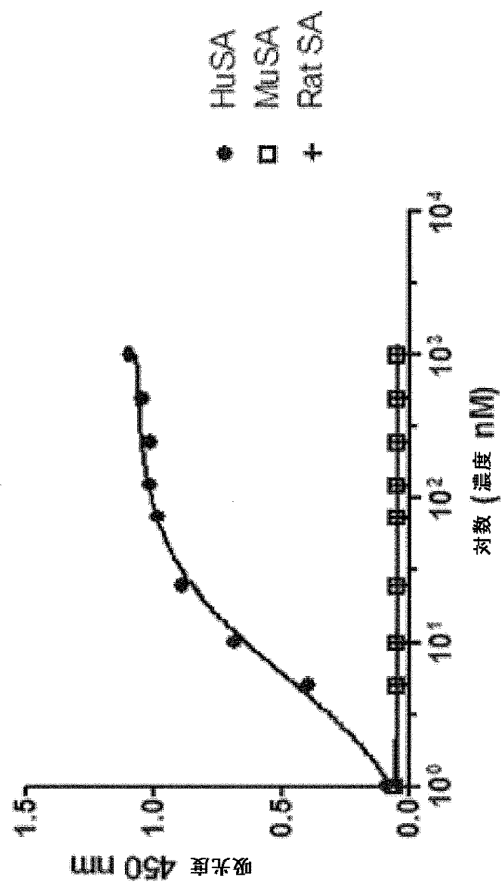


【図 26-2】

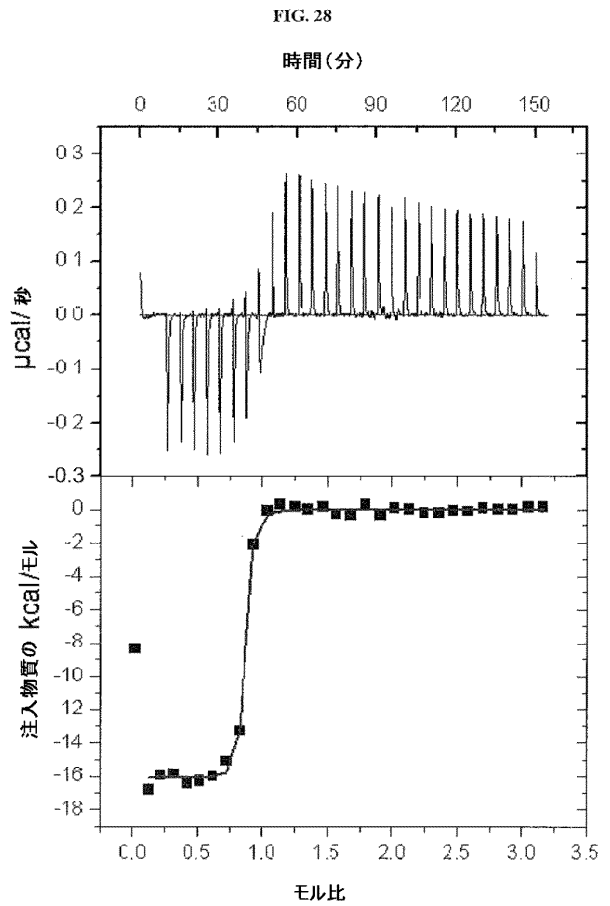


B.

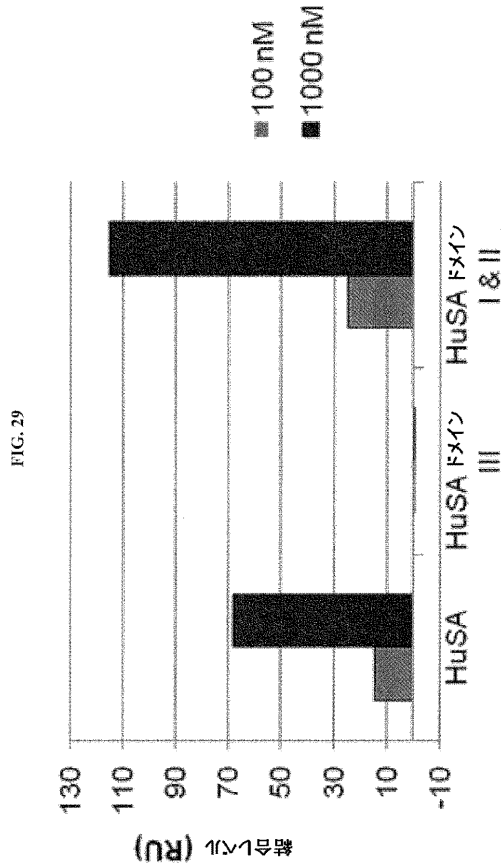
【図 27】



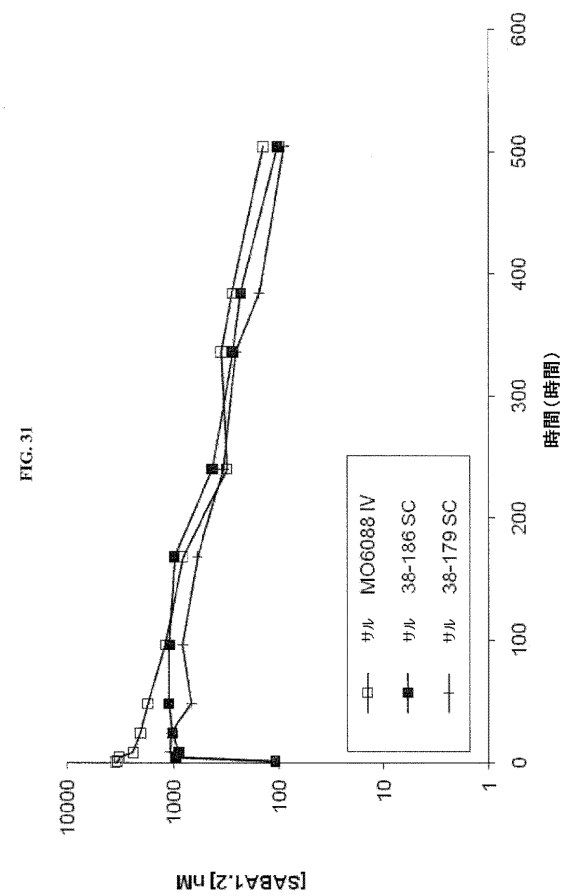
【図 28】



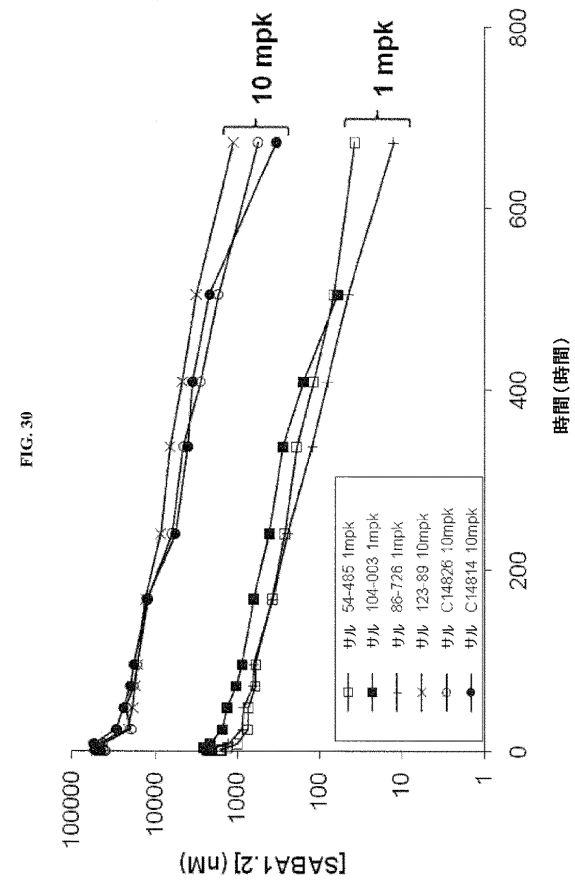
【図 29】



【図 31】



【図 30】



【配列表】

2021091702000001.app

【手続補正書】

【提出日】 令和3年2月26日 (2021.2.26)

【手続補正1】

【補正対象書類名】 特許請求の範囲

【補正対象項目名】 全文

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

フィブロネクチンⅠⅠⅠ型第10ドメイン ($^{10}\text{Fn3}$) を含むポリペプチドであって、該 $^{10}\text{Fn3}$ は、BC、DEおよびFGループを有し、

BCループが、配列 $(X_1)_Z X_2 G$ [式中、 X_1 は任意のアミノ酸であり、Zは6-9であり、そして X_2 はYまたはHである] を含み、BCループが、以下の表1-1および表1-2から選択され：

【表1-1】

BCループ	配列番号
SWPPPSHGYG	2
SWRPPIHAYG	3
SWDAPIHAYG	4
SWDAPAHAYG	5
SWDAPAVTYG	6
SWSPPPANGYG	7
SWTPPPKGYG	8
SWRPPSHAYG	9
SWDPPSHAYG	10
SWEPPSHAYG	11
SWSPPSHAYG	12
SWRPPSNGHG	13
SWVPPSDDYG	14
SWVPSSHAYG	15
SWDPSSHAYG	16
SWEPPSSHAYG	17
SWDAPADGGYG	107
SWDAPAGDGYG	108
SWAAPAGGGYG	109
SWDAPADAYG	110
SWDAPADGAYG	111
SWDAPAEGYG	112
SWDAPADEAYG	113
SWDAPADGYG	114

【表 1 - 2】

SWDAPAGGGYG	1 1 5
SWDAPAADAYG	1 1 6
SWDAPAEAGKHYG	1 1 7
SWDAPAEAYG	1 1 8
SWDAPAAAYG	1 1 9
SWDAPAGGGYG	1 2 0
SWDAPAAGGGYG	1 2 1
SWDAPAAGYG	1 2 2
SWDAPAGAASYG	1 2 3
SWDAPAGAYG	1 2 4
SWDPPAEGYG	1 2 5
SWNPPDVNYG	1 2 6
SWDAPAEGGYG	1 2 7
SWDAPAEAEAYG	1 3 1
SWDAPAEAGAYG	1 3 2
SWQPPAVTYG	1 3 3
SWDPPAGAYG	1 3 4
SWAPPSDAYG	1 3 5
SWDPPSDDYG	3 0 1
SWDAPADDYG	3 0 2
SWDAPSDDYG	3 0 3

DEループが、配列 $X_1 X_1 X_1 X_3$ [X_1 は任意のアミノ酸であり；そして X_3 は G または S である] を含み、DEループが、以下の表 2 から選択され；

【表 2】

DEループ	配列番号
PPGKGT	18
PIVEGT	19
PGSEGT	20
PGSKGT	21
PGSKST	22
PVGRGT	23
PVGEGT	24
PIGKGT	25
PVNEGT	26
PVGVG T	27
PGSKGT	21
PGSKGT	21
PGSKGT	21
PSSKGT	136
PVSKST	137
PVSKGT	138
PVFKGT	139
PVYKGT	140
PGYKGT	141

FGループが、配列 $EX_4X_1X_5X_1X_1X_6GYX_4HR$ (配列番号：451) [式中、 X_1 は任意のアミノ酸であり； X_4 はYまたはFであり； X_5 はY、FまたはWであり；そして X_6 はSまたはAである] を含み、FGループが、以下の表3から選択され：

【表 3】

FGループ	配列番号
EYPYKHSGYYHRP	28
EYTFKHSGYYHRP	29
EYTYKGSGYYHRP	30
EYTYNGAGYYHRP	31
EYTYIGAGYYHRP	32
EYTYEGAGYYHRP	33
EYAYNGAGYYHRP	34
EYPWKGSGYYHRP	35
EFPFKWSGYYHRP	36
EFPWPHAGYYHRP	37
EYAFEGAGYYHRP	38
EYPYDYSGYYHRP	142
EYPYEHSGYYHRP	143
EYPYPHSGYYHRP	144
EYTFPGAGYYHRP	145
EYPYDHSGYYHRP	146
EFPYDHSGYYHRP	147
EFPYAHSGYYHRP	148
EFTFPAGAGYYHRP	149
EYPYAHSGYFHRP	150
EYDFPGAGYYHRP	151
EYDFPGSGYYHRP	152
EFDYPGSGYYHRP	153
EYSFPGAGYYHRP	154
EFDFPGSGYYHRP	155
EFDFPAGAGYYHRP	156
EFPFPGSGYYHRP	157
EFNFPGAGYYHRP	158
EFTYPGSGYYHRP	159
EFPFPGAGYYHRP	160
EFNFPGSGYYHRP	161
EYPYAHAGYYHRP	162
EYPYPFSGYYHRP	163
EYNFIGAGYYHRP	164
EFPYPFAGYYHRP	165
EYTYEHSGYYHRP	166
EFDVFGAGYYHRP	167
EYDFAGSGYYHRP	168
EFAFPAGAGYYHRP	169
EYVFPGAGYYHRP	170
EYPYPFAGYYHRP	171
EYPYSHAGYYHRP	172

該ポリペプチドは前駆タンパク質転換酵素サブチリシンケキシシ9型(PCSK9)に結合する、ポリペプチド。

【請求項2】

ポリペプチドが、配列番号：209を含み；配列番号：209のHis6タグが欠如されているか、またはアミノ酸配列が配列番号：1のT94に対応する位置で切断されており、所望によりEまたはD残基の1つ以上のC-末端伸長を含む、請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項3】

ポリペプチドが、配列番号：1のT94に対応する位置で切断され、EまたはD残基の1つ以上のC-末端伸長を含むアミノ酸配列を含む、請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項4】

ヒト前駆タンパク質転換酵素サブチリシンケキシシ9型(PCSK9)に結合する、請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項5】

500nM未満の K_D でPCSK9に結合する、請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項6】

10nM未満の K_D でPCSK9に結合する、請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項7】

ポリエチレングリコール、シアル酸、Fc、Fcフラグメント、トランスフェリン、血清アルブミン、血清アルブミン結合タンパク質および血清免疫グロブリン結合タンパク質から選択される1つ以上の薬物動態学(PK)部分をさらに含む、請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項8】

血清アルブミンPK部分を含む、請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項9】

請求項1に記載のポリペプチドおよび薬学的に許容される担体を含む、医薬組成物。

【請求項10】

組成物が配列番号：209と少なくとも80%同一であるアミノ酸配列を含み、ポリペプチドがHis6タグを含まない、請求項9に記載の組成物。

【請求項11】

組成物が、配列番号：1のT94に対応する位置で切断され、EまたはD残基の1つ以上のC-末端伸長を含むアミノ酸配列を含む、請求項9に記載の組成物。

【請求項12】

ポリペプチドが血清アルブミンPK部分を含む、請求項9に記載の組成物。

【請求項13】

請求項9に記載の組成物を対象に投与することを含む、対象における高コレステロール血症を処置する方法。

【請求項14】

対象がアテローム性動脈硬化症を有する、請求項13に記載の方法。

【請求項15】

組成物が皮下投与によって投与される、請求項13に記載の方法。

【請求項16】

組成物が静脈投与によって投与される、請求項13に記載の方法。

【請求項17】

静脈投与がボラスによる、請求項16に記載の方法。

【請求項18】

静脈投与が連続的な注入による、請求項16に記載の方法。

【請求項19】

ポリペプチドが血清アルブミン P K 部分を含む、請求項 1 3 に記載の方法。

【請求項 2 0】

本質的にエンドトキシンを含まない、請求項 9 に記載の組成物。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 P 3/06 (2006.01)	A 6 1 P	3/06		
A 6 1 P 9/10 (2006.01)	A 6 1 P	9/10	1 0 1	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1	
C 1 2 N 15/12 (2006.01)	C 1 2 N	15/12	Z N A	

1. T W E E N

- (74)代理人 100170520
弁理士 笹倉 真奈美
- (72)発明者 レイ・キャンプハウゼン
アメリカ合衆国 0 2 4 5 3 マサチューセッツ州ウォルサム、ビーバー・ストリート 1 0 0 番、ブリ
ストル・マイヤーズ・スクイブ・カンパニー内
- (72)発明者 シャロン・ティ・クロード
アメリカ合衆国 0 2 4 5 3 マサチューセッツ州ウォルサム、ビーバー・ストリート 1 0 0 番、ブリ
ストル・マイヤーズ・スクイブ・カンパニー内
- (72)発明者 ジョナサン・エイチ・デイビス
アメリカ合衆国 0 2 4 5 3 マサチューセッツ州ウォルサム、ビーバー・ストリート 1 0 0 番、ブリ
ストル・マイヤーズ・スクイブ・カンパニー内
- (72)発明者 ファビエンヌ・エム・デンヘズ
アメリカ合衆国 0 2 4 5 3 マサチューセッツ州ウォルサム、ビーバー・ストリート 1 0 0 番、ブリ
ストル・マイヤーズ・スクイブ・カンパニー内
- (72)発明者 アムナ・サイード・コーゼ
アメリカ合衆国 0 2 1 3 2 マサチューセッツ州ウエスト・ロクスベリー、ウェルド・ストリート 5
4 2 番
- (72)発明者 ダーサ・リポヴシェク
アメリカ合衆国 0 2 4 5 3 マサチューセッツ州ウォルサム、ビーバー・ストリート 1 0 0 番、ブリ
ストル・マイヤーズ・スクイブ・カンパニー内
- (72)発明者 チー・メン・ロウ
アメリカ合衆国 0 2 4 5 3 マサチューセッツ州ウォルサム、ビーバー・ストリート 1 0 0 番、ブリ
ストル・マイヤーズ・スクイブ・カンパニー内
- (72)発明者 トレーシー・エス・ミッチェル
アメリカ合衆国 0 2 4 5 3 マサチューセッツ州ウォルサム、ビーバー・ストリート 1 0 0 番、ブリ
ストル・マイヤーズ・スクイブ・カンパニー内
- (72)発明者 ジンジャー・シー・レイクストロー
アメリカ合衆国 0 2 4 5 3 マサチューセッツ州ウォルサム、ビーバー・ストリート 1 0 0 番、ブリ
ストル・マイヤーズ・スクイブ・カンパニー内
- (72)発明者 ケイティ・エイ・ルッソ
アメリカ合衆国 0 2 4 5 3 マサチューセッツ州ウォルサム、ビーバー・ストリート 1 0 0 番、ブリ
ストル・マイヤーズ・スクイブ・カンパニー内
- (72)発明者 チン・シウン・フレデリック・ロ
アメリカ合衆国 0 8 5 3 4 ニュージャージー州ペニントン、ペニントン・ロッキー・ヒル 3 1 1 番
、ブリストル・マイヤーズ・スクイブ・カンパニー内
- (72)発明者 ボーマン・ミャオ
アメリカ合衆国 1 8 9 6 6 ペンシルベニア州チャーチビル、エドワーズ・ドライブ 1 4 2 番
- (72)発明者 レックス・エイ・パーカー
アメリカ合衆国 0 8 5 3 4 ニュージャージー州ペニントン、ペニントン・ロッキー・ヒル 3 1 1 番
、ブリストル・マイヤーズ・スクイブ・カンパニー内

(72)発明者 ドリー・エフ・シトコフ

アメリカ合衆国 0 8 5 3 4 ニュージャージー州ペニントン、ペニントン－ロッキー・ヒル 3 1 1 番
、ブリストル－マイヤーズ・スクイブ・カンパニー内

Fターム(参考) 4C076 CC11 CC21 EE30 EE41 EE59 FF34 FF36

4C084 AA02 AA07 BA01 BA08 BA22 BA23 BA34 BA37 BA41 DC50

NA14 ZA451 ZC331 ZC411

4H045 AA10 AA20 AA30 BA10 BA40 BA41 BA57 CA40 DA70 DA76

EA20 FA72 FA74 GA01 GA15 GA26