(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第6823606号
(P6823606)

(45)発行日　令和3年2月3日(2021.2.3)　(24)登録日　令和3年1月13日(2021.1.13)

(51)Int.Cl.		F I		
C12N 15/13	(2006.01)	C12N	15/13	ZNA
C07K 16/00	(2006.01)	C07K	16/00	
A61K 39/395	(2006.01)	A61K	39/395	Y
A61K 47/68	(2017.01)	A61K	39/395	L
C07K 16/28	(2006.01)	A61K	47/68	

請求項の数 14　(全 265 頁)　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2017-565751 (P2017-565751)
(86)(22)出願日　平成28年6月17日(2016.6.17)
(65)公表番号　特表2018-526975 (P2018-526975A)
(43)公表日　平成30年9月20日(2018.9.20)
(86)国際出願番号　PCT/US2016/038041
(87)国際公開番号　WO2016/205618
(87)国際公開日　平成28年12月22日(2016.12.22)
審査請求日　平成31年4月23日(2019.4.23)
(31)優先権主張番号　62/182,020
(32)優先日　平成27年6月19日(2015.6.19)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(73)特許権者　506137147
エーザイ・アール・アンド・ディー・マネジメント株式会社
東京都文京区小石川四丁目６番１０号
(74)代理人　100078282
弁理士　山本　秀策
(74)代理人　100113413
弁理士　森下　夏樹
(74)代理人　100181674
弁理士　飯田　貴敏
(74)代理人　100181641
弁理士　石川　大輔
(74)代理人　230113332
弁護士　山本　健策

最終頁に続く

(54)【発明の名称】ＣＹＳ８０抱合型免疫グロブリン

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
抱合型免疫グロブリンの生成方法であって、
ウサギに由来する免疫グロブリンの軽鎖可変領域におけるアミノ酸８０位のシステイン（「Ｃｙｓ８０」）をキャップ除去することであって、前記Ｃｙｓ８０が、Ｋａｂａｔ付番系またはＣｈｏｔｈｉａ付番系に基づいており、前記免疫グロブリンが重鎖可変領域及び前記軽鎖可変領域を含む、キャップ除去することと、
チオール反応性化合物を前記Ｃｙｓ８０に抱合させることであって、前記チオール反応性化合物がチオール反応基を含む、抱合させることと、を含む、方法。
【請求項２】
前記免疫グロブリンを還元緩衝液と共にインキュベートし、次いで前記免疫グロブリンを酸化緩衝液と共にインキュベートすることを含む、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
前記免疫グロブリンを、基質上に固定してから前記還元緩衝液と共にインキュベートし、前記酸化緩衝液と共にインキュベートした後、前記免疫グロブリンを前記基質から溶出させることを更に含む、請求項２に記載の方法。
【請求項４】
前記チオール反応性化合物が機能性剤に結合する、請求項１～３のいずれか一項に記載の方法。
【請求項５】

前記機能性剤が、フルオロフォア、蛍光色素、ポリペプチド、免疫グロブリン、抗生物質、核酸、放射性核種、化学リンカー、小分子、キレート剤、脂質、または薬物を含む、請求項４に記載の方法。

【請求項６】

前記チオール反応性化合物が、第２のチオール反応性化合物に結合し、前記第２のチオール反応性化合物が、第２の重鎖可変領域及び第２の軽鎖可変領域を有する第２の免疫グロブリンに結合し、前記第２の軽鎖可変領域が、アミノ酸８０位のシステイン（「Ｃｙｓ８０^{2}」）を有し、前記Ｃｙｓ８０^{2}が、Ｋａｂａｔ付番系またはＣｈｏｔｈｉａ付番系に基づいており、前記第２のチオール反応性化合物が、前記Ｃｙｓ８０^{2}に結合した第２のチオール反応基を含む、請求項１～５のいずれか一項に記載の方法。

【請求項７】

前記Ｃｙｓ８０が不対である、請求項１～６のいずれか一項に記載の方法。

【請求項８】

８３位のアミノ酸を、Ｐｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸残基で置換することを更に含み、前記８３位が、Ｋａｂａｔ付番系またはＣｈｏｔｈｉａ付番系に基づいている、請求項１～７のいずれか一項に記載の方法。

【請求項９】

抗原結合分子の生成方法であって、第１の抱合型免疫グロブリンを第２の抱合型免疫グロブリンと共にインキュベートして、前記抗原結合分子を生成することを含み、

前記第１の抱合型免疫グロブリンが、第１の重鎖可変領域及び第１の軽鎖可変領域を含み、前記第１の軽鎖可変領域が、８０位のシステイン（「Ｃｙｓ８０^{1}」）を有し、前記Ｃｙｓ８０^{1}が、第１のチオール反応基を含む第１のチオール反応性化合物に抱合され、前記第１の免疫グロブリンが、ウサギに由来し、前記Ｃｙｓ８０^{1}が、Ｋａｂａｔ付番系またはＣｈｏｔｈｉａ付番系に基づいており、

前記第２の抱合型免疫グロブリンが、第２の重鎖可変領域及び第２の軽鎖可変領域を含み、前記第２の軽鎖可変領域が、８０位のシステイン（「Ｃｙｓ８０^{2}」）を有し、前記Ｃｙｓ８０^{2}が、第２のチオール反応基を含む第２のチオール反応性化合物に抱合され、前記第２の免疫グロブリンが、ウサギに由来し、前記Ｃｙｓ８０^{2}が、Ｋａｂａｔ付番系またはＣｈｏｔｈｉａ付番系に基づいている、方法。

【請求項１０】

前記Ｃｙｓ８０^{1}、前記Ｃｙｓ８０^{2}、またはそれらの両方が、不対である、請求項９に記載の方法。

【請求項１１】

前記インキュベーションステップの前に、

前記Ｃｙｓ８０^{1}、Ｃｙｓ８０^{2}、またはそれらの両方をキャップ除去することと、

第１のチオール反応性化合物を前記Ｃｙｓ８０^{1}に抱合させること、第２のチオール反応性化合物を前記Ｃｙｓ８０^{2}に抱合させこと、またはそれらの両方を行うことと、を更に含み、前記第１のチオール反応性化合物が第１のチオール反応基を含み、前記第２のチオール反応性化合物が第２のチオール反応基を含む、請求項９または１０に記載の方法。

【請求項１２】

前記第１のチオール反応性化合物が第１の機能性剤を更に含むか、前記第２のチオール反応性化合物が第２の機能性剤を更に含むか、またはそれらの両方である、請求項９～１１のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１３】

前記第１の免疫グロブリンが第１のＦａｂであるか、前記第２の免疫グロブリンが第２のＦａｂであるか、またはそれらの両方である、請求項９～１２のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１４】

前記第１の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸を、Ｐｈｅ、Ｌｙｓ、もしくはＣｙｓ以外のアミノ酸残基で置換すること、前記第２の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸を、Ｐｈｅ

、Ｌｙｓ、もしくはＣｙｓ以外のアミノ酸残基で置換すること、またはその両方を行うことを更に含み、前記８３位が、Ｋａｂａｔ付番系またはＣｈｏｔｈｉａ付番系に基づいている、請求項９～１３のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願の相互参照
本出願は、２０１５年６月１９日出願の米国仮出願第６２／１８２，０２０号に対する優先権を主張し、その開示は全体が参照により本明細書に援用される。
【０００２】
配列表
本出願は、ＡＳＣＩＩ形式で電子提出された配列表を含み、その全体が参照により本明細書に援用される。２０１６年６月１６日に作成したＡＳＣＩＩコピーの名称は１０４０１８．０００９５３＿ＳＬ．ｔｘｔであり、サイズは３７９，４４１バイトである。
【０００３】
技術分野
Ｃｙｓ８０抱合型免疫グロブリン及びその創出方法が本明細書で提供される。
【背景技術】
【０００４】
モノクローナル抗体の有用性は、基礎的な研究から治療及び診断用途まで多岐にわたる。抗体を機能性剤に抱合させる能力により、それらの機能性は更に広がる。抱合型抗体の製造は、通常、リンカー、薬物、または他の機能性剤を、モノクローナル抗体（ｍＡｂ）の重鎖（ＨＣ）及び軽鎖（ＬＣ）上の反応性リジンまたはシステイン残基と抱合させることを伴う。リジン抱合は、典型的には、スクシンイミド（ＮＨＳ）系またはイソチオシアネート系の相性によって媒介される。抗体表面上の露出したリジンの数を所与とすると、アミン系抱合手法により、全てのリジン残基が同程度に修飾されるわけではないものの、複数のリジンが修飾される。したがって、最終産物は、薬物対抗体（ＤＡＲ）比の分布でのｍＡｂの不均質な混合物である。
【０００５】
抗体中の大半のシステインは、鎖間または鎖内いずれかのジスルフィド結合に関与する。このため、システインへの抱合には、抗体の少なくとも一部の還元が必要となる。リジン系抱合と同様、システイン系抱合により、薬物負荷及び抱合部位が異なる抱合型抗体の不均質な混合物が得られる。抱合型抗体の各種は異なる特性を有してもよく、こうして多種多様なインビボの薬物動態特性がもたらされ得る。加えて、かかる不均質は、抱合型抗体の製造に困難を提示し得る。
【発明の概要】
【課題を解決するための手段】
【０００６】
抱合型免疫グロブリンの生成方法が本明細書で開示され、本方法は、ウサギに由来する免疫グロブリンの軽鎖可変領域におけるアミノ酸８０位のシステイン（「Ｃｙｓ８０」）をキャップ除去することであって、免疫グロブリンが重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む、キャップ除去することと、チオール反応性化合物をＣｙｓ８０に抱合させることであって、チオール反応性化合物がチオール反応基を含む、抱合させることと、を含む。
【０００７】
抗原結合分子の生成方法も提供され、本方法は、第１の抱合型免疫グロブリンを第２の抱合型免疫グロブリンと共にインキュベートして抗原結合分子を生成することを含み、第１の抱合型免疫グロブリンは第１の重鎖可変領域及び第１の軽鎖可変領域を含み、第１の軽鎖可変領域は８０位のシステイン（「Ｃｙｓ８０^{1}」）を含み、Ｃｙｓ８０^{1}は第１のチオール反応基を含む第１のチオール反応性化合物に抱合され、第２の抱合型免疫グロブ

リンは第２の重鎖可変領域及び第２の軽鎖可変領域を含み、第２の軽鎖可変領域は８０位のシステイン（「Ｃｙｓ８０^{2}」）を含み、Ｃｙｓ８０^{2}は第２のチオール反応基を含む第２のチオール反応性化合物に抱合される。

【０００８】

重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む免疫グロブリン、８０位のシステイン（「Ｃｙｓ８０」）を有する軽鎖可変領域、及び８３位のＰｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸、ならびに免疫グロブリンをコードする核酸分子、及び核酸分子を含む宿主細胞も本明細書で提供される。

【０００９】

８０位のシステインがチオール反応性化合物に抱合され、チオール反応性化合物がチオール反応基を含む、開示の免疫グロブリンを含む抱合型免疫グロブリンが、更に提供される。

【００１０】

対象における癌の治療方法も本明細書で開示され、本方法は、対象に薬学的有効量の抱合型メソテリン免疫グロブリンを提供することを含み、本抱合型メソテリン免疫グロブリンは、開示のメソテリン免疫グロブリンのいずれかと、チオール反応基、リンカー、及び機能性剤を含むチオール反応性化合物とを含む。

【００１１】

抗原結合分子が提供され、本抗原結合分子は、以下を含む：第１の重鎖可変領域及び第１の軽鎖可変領域を含む第１の抱合型免疫グロブリン、Ｃｙｓ８０^{1}が第１のチオール反応基を含む第１のチオール反応性化合物に抱合される、８０位のシステイン（「Ｃｙｓ８０^{1}」）を有する第１の軽鎖可変領域、第２の重鎖可変領域及び第２の軽鎖可変領域を含む第２の抱合型免疫グロブリン、Ｃｙｓ８０^{2}が第２のチオール反応基を含む第２のチオール反応性化合物に抱合される、８０位のシステイン（「Ｃｙｓ８０^{2}」）を有する第２の軽鎖可変領域。

【００１２】

抱合型免疫グロブリン中で使用するための軽鎖可変領域であって、軽鎖可変領域が、アミノ酸８０位のシステイン（「Ｃｙｓ８０」）と、アミノ酸８３位のＰｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸残基とを有し、Ｃｙｓ８０が不対である、軽鎖可変領域も本明細書で開示される。

本発明は、例えば、以下の項目を提供する。

（項目１）

抱合型免疫グロブリンの生成方法であって、

ウサギに由来する免疫グロブリンの軽鎖可変領域におけるアミノ酸８０位のシステイン（「Ｃｙｓ８０」）をキャップ除去することであって、前記免疫グロブリンが重鎖可変領域及び前記軽鎖可変領域を含む、キャップ除去することと、

チオール反応性化合物を前記Ｃｙｓ８０に抱合させることであって、前記チオール反応性化合物がチオール反応基を含む、抱合させることと、を含む、方法。

（項目２）

前記免疫グロブリンを還元緩衝液と共にインキュベートし、次いで前記免疫グロブリンを酸化緩衝液と共にインキュベートすることを含む、項目１に記載の方法。

（項目３）

前記免疫グロブリンを、基質上に固定してから前記還元緩衝液と共にインキュベートし、前記酸化緩衝液と共にインキュベートした後、前記免疫グロブリンを前記基質から溶出させることを更に含む、項目２に記載の方法。

（項目４）

前記チオール反応性化合物が機能性剤に結合する、項目１～３のいずれか一項に記載の方法。

（項目５）

前記機能性剤が、フルオロフォア、蛍光色素、ポリペプチド、免疫グロブリン、抗生物

質、核酸、放射性核種、化学リンカー、小分子、キレート剤、脂質、または薬物を含む、項目４に記載の方法。

（項目６）

前記チオール反応性化合物が、第２のチオール反応性化合物に結合し、前記第２のチオール反応性化合物が、第２の重鎖可変領域及び第２の軽鎖可変領域を有する第２の免疫グロブリンに結合し、前記第２の軽鎖可変領域が、アミノ酸８０位のシステイン（「Ｃｙｓ８０^{2}」）を有し、前記第２のチオール反応性化合物が、前記Ｃｙｓ８０^{2}に結合した第２のチオール反応基を含む、項目１～５のいずれか一項に記載の方法。

（項目７）

前記Ｃｙｓ８０が不対である、項目１～６のいずれか一項に記載の方法。

（項目８）

８３位のアミノ酸を、Ｐｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸残基で置換することを更に含む、項目１～７のいずれか一項に記載の方法。

（項目９）

抗原結合分子の生成方法であって、第１の抱合型免疫グロブリンを第２の抱合型免疫グロブリンと共にインキュベートして、前記抗原結合分子を生成することを含み、

前記第１の抱合型免疫グロブリンが、第１の重鎖可変領域及び第１の軽鎖可変領域を含み、前記第１の軽鎖可変領域が、８０位のシステイン（「Ｃｙｓ８０^{1}」）を有し、前記Ｃｙｓ８０^{1}が、第１のチオール反応基を含む第１のチオール反応性化合物に抱合され、

前記第２の抱合型免疫グロブリンが、第２の重鎖可変領域及び第２の軽鎖可変領域を含み、前記第２の軽鎖可変領域が、８０位のシステイン（「Ｃｙｓ８０^{2}」）を有し、前記Ｃｙｓ８０^{2}が、第２のチオール反応基を含む第２のチオール反応性化合物に抱合される、方法。

（項目１０）

前記Ｃｙｓ８０^{1}、前記Ｃｙｓ８０^{2}、またはそれらの両方が、不対である、項目９に記載の方法。

（項目１１）

前記インキュベーションステップの前に、

前記Ｃｙｓ８０^{1}、Ｃｙｓ８０^{2}、またはそれらの両方をキャップ除去することと、

第１のチオール反応性化合物を前記Ｃｙｓ８０^{1}に抱合させること、第２のチオール反応性化合物を前記Ｃｙｓ８０^{2}に抱合させこと、またはそれらの両方を行うことと、を更に含み、前記第１のチオール反応性化合物が第１のチオール反応基を含み、前記第２のチオール反応性化合物が第２のチオール反応基を含む、項目９または１０に記載の方法。

（項目１２）

前記第１のチオール反応性化合物が第１の機能性剤を更に含むか、前記第２のチオール反応性化合物が第２の機能性剤を更に含むか、またはそれらの両方である、項目９～１１のいずれか一項に記載の方法。

（項目１３）

前記第１の免疫グロブリンが第１のＦａｂであるか、前記第２の免疫グロブリンが第２のＦａｂであるか、またはそれらの両方である、項目９～１２のいずれか一項に記載の方法。

（項目１４）

前記第１の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸を、Ｐｈｅ、Ｌｙｓ、もしくはＣｙｓ以外のアミノ酸残基で置換すること、前記第２の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸を、Ｐｈｅ、Ｌｙｓ、もしくはＣｙｓ以外のアミノ酸残基で置換すること、またはその両方を行うことを更に含む、項目９～１３のいずれか一項に記載の方法。

（項目１５）

項目９～１４のいずれか一項に記載の方法に従って産出される抗原結合分子。

（項目１６）

重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む免疫グロブリンであって、前記軽鎖可変領域が８

０位のシステイン（「Ｃｙｓ８０」）と、８３位のＰｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸と、を有する、免疫グロブリン。

（項目１７）

前記Ｃｙｓ８０が不対である、項目１６に記載の免疫グロブリン。

（項目１８）

前記Ｃｙｓ８０がキャップ除去される、項目１６または１７に記載の免疫グロブリン。

（項目１９）

ａ．ｘｉ１５５Ｄ５ＨＣ（配列番号５２）のアミノ酸２０～１４１と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ１５５Ｄ５ＬＣ（配列番号７８）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｂ．ｚｕ１５５Ｄ５ＨＣ（配列番号５４）のアミノ酸２０～１４４と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－３（配列番号８４）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－４（配列番号８６）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－５（配列番号８８）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－６（配列番号９０）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－７（配列番号９２）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ２－４０（配列番号９６）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ４－１（配列番号１００）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ６－２１（配列番号１０２）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ６Ｄ－４１（配列番号１０４）、もしくはｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ７－３－Ｇｌｕ８１（配列番号１０６）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｃ．ｘｉ１Ｅ４ＨＣ（配列番号５８）のアミノ酸２０～１３８と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ１Ｅ４ＬＣ（配列番号１１０）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｄ．ｚｕ１Ｅ４ＨＣ（配列番号６０）のアミノ酸２０～１４０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｚｕ１Ｅ４ＬＣ－ＣＸＸＡ（配列番号１１４）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｅ．ｘｉ１６６Ｂ３ＨＣ（配列番号７４）のアミノ酸２０～１４２と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ１６６Ｂ３ＬＣ（配列番号１３２）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、または

ｆ．ｚｕ１６６Ｂ３ＨＣ（配列番号７６）のアミノ酸２０～１４５と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｚｕ１６６Ｂ３ＬＣ－ＣＸＸＡ（配列番号１３６）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、を含む、項目１６～１８のいずれか一項に記載の免疫グロブリン。

（項目２０）

ａ．それぞれ配列番号１４６、１４８、及び１５０と示される、ｘｉ１５５Ｄ５ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号２２４、２２６、及び２２８と示される、ｘｉ１５５Ｄ５ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、

ｂ．それぞれ配列番号１５２、１５４、及び１５６と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号２４２、２４４、及び２４６と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－３、それぞれ配列番号２４８、２５０、及び２５２と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－４、それぞれ配列番号２５４、２５６、及び２５８と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－５、それぞれ配列番号２６０、２６２、及び２６４と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－６、それぞれ配列番号２６６、２６８、及び２７０と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－７、それぞれ配列番号２７８、２８０、及び２８２と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ２－４０、それぞれ配列番号２９０、２９２、及び２９４と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ４－１、それぞれ配列番号２９６、２９８、及び３００と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ６－２１、それぞれ配列番号３０２、３０４、及び３０６と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ６Ｄ－４１、もしくはそれぞれ

配列番号３０８、３１０、及び３１２と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ７－３－Ｇｌｕ８１の軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、
ｃ．それぞれ配列番号１６４、１６６、及び１６８と示されるｘｉ１Ｅ４ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３２０、３２２、及び３２４と示されるｘｉ１Ｅ４ＬＣのＣＤＲ３、軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、
ｄ．それぞれ配列番号１７０、１７２、及び１７４と示されるｚｕ１Ｅ４ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３３２、３３４、及び３３６と示されるｚｕ１Ｅ４ＬＣ－ＣＸＸＡの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、
ｅ．それぞれ配列番号２１２、２１４、及び２１６と示されるｘｉ１６６Ｂ３ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３８６、３８８、及び３９０と示されるｘｉ１６６Ｂ３ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、または
ｆ．それぞれ配列番号２１８、２２０、及び２２２と示されるｚｕ１６６Ｂ３ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３９８、４００、及び４０２と示されるｚｕ１６６Ｂ３ＬＣ－ＣＸＸＡの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、を含む、項目１９に記載の免疫グロブリン。

（項目２１）
ｘｉ１－５５－２ＨＣ（配列番号５６）のアミノ酸２０～１３９と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ１－５５－２ＬＣ（配列番号１０８）のアミノ酸２０～１２９と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、を含む、項目１６～１８のいずれか一項に記載の免疫グロブリン。

（項目２２）
それぞれ配列番号１５８、１６０、及び１６２と示されるｘｉ１－５５－２ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３１４、３１６、及び３１８と示されるｘｉ１－５５－２ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３を含む、項目２１に記載の免疫グロブリン。

（項目２３）
ａ．ｘｉ３３Ｏ１１ＨＣ（配列番号６２）のアミノ酸２０～１４２と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ３３Ｏ１１ＬＣ（配列番号１１６）のアミノ酸２０～１３１と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、
ｂ．ｚｕ３３Ｏ１１ＨＣ（配列番号６４）のアミノ酸２０～１４５と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＡ（配列番号１２０）もしくはｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＩ（配列番号１２２）のアミノ酸２０～１３１と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、
ｃ．ｘｉ３２４Ｏ５ＨＣ（配列番号６６）のアミノ酸２０～１３７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ３２４Ｏ５ＬＣ（配列番号１２４）のアミノ酸２０～１２７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、
ｄ．ｘｉ１７８Ｆ１６ＨＣ（配列番号６８）のアミノ酸２０～１３７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ１７８Ｆ１６ＬＣ（配列番号１２６）のアミノ酸２０～１２７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、
ｅ．ｘｉ２３７Ｎ１８ＨＣ（配列番号７０）のアミノ酸２０～１３２と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ２３７Ｎ１８ＬＣ（配列番号１２８）のアミノ酸２０～１２７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、または
ｆ．ｘｉ３８３Ｉ１８ＨＣ（配列番号７２）のアミノ酸２０～１３７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ３８３Ｉ１８ＬＣ（配列番号１３０）のアミノ酸２０～１２７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、を含む、項目１６～１８のいずれか一項に記載の免疫グロブリン。

（項目２４）
ａ．それぞれ配列番号１７６、１７８、及び１８０と示されるｘｉ３３Ｏ１１ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３３８、３４０、及び３４２中で示されるｘｉ３３Ｏ１１ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、
ｂ．それぞれ配列番号１８２、１８４、及び１８６と示されるｚｕ３３Ｏ１１ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３５０、３５２、及び３５４と示されるｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＡ、もしくはそれぞれ配列番号３５６、３５８、及び３６０と示されるｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＩの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、
ｃ．それぞれ配列番号１８８、１９０、及び１９２と示されるｘｉ３２４Ｏ５ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３６２、３６４、及び３６６として示されるｘｉ３２４Ｏ５ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、
ｄ．それぞれ配列番号１９４、１９６、及び１９８と示されるｘｉ１７８Ｆ１６ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３６８、３７０、及び３７２と示されるｘｉ１７８Ｆ１６ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、
ｅ．それぞれ配列番号２００、２０２、及び２０４と示されるｘｉ２３７Ｎ１８ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３７４、３７６、及び３７８と示されるｘｉ２３７Ｎ１８ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、または
ｆ．それぞれ配列番号２０６、２０８、及び２１０と示されるｘｉ３８３Ｉ１８ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３８０、３８２、及び３８４と示されるｘｉ３８３Ｉ１８ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、を含む、項目２３に記載の免疫グロブリン。
（項目２５）
項目１６～２４のいずれか一項に記載の免疫グロブリンを含み、前記８０位のシステインがチオール反応性化合物に抱合され、前記チオール反応性化合物がチオール反応基を含む、抱合型免疫グロブリン。
（項目２６）
前記チオール反応性化合物が機能性剤を更に含む、項目２５に記載の抱合型免疫グロブリン。
（項目２７）
前記機能性剤が、フルオロフォア、蛍光色素、ポリペプチド、免疫グロブリン、抗生物質、核酸、放射性核種、化学リンカー、小分子、キレート剤、脂質、または薬物を含む、項目２６に記載の抱合型免疫グロブリン。
（項目２８）
対象における癌の治療方法であって、前記対象に薬学的有効量の抱合型メソテリン免疫グロブリンを投与することを含み、前記抱合型メソテリン免疫グロブリンが、
項目２３～２４のいずれか一項に記載の免疫グロブリンと、
チオール反応基、リンカー、及び機能性剤を含むチオール反応性化合物と、を含む、方法。
（項目２９）
前記機能性剤がオーリスタチンＦである、項目２８に記載の方法。
（項目３０）
第１の重鎖可変領域及び第１の軽鎖可変領域を含む第１の抱合型免疫グロブリンであって、前記第１の軽鎖可変領域が、８０位のシステイン（「Ｃｙｓ８０^{1}」）を有し、前記Ｃｙｓ８０^{1}が、第１のチオール反応基を含む第１のチオール反応性化合物に抱合される、第１の抱合型免疫グロブリンと、
第２の重鎖可変領域及び第２の軽鎖可変領域を含む第２の抱合型免疫グロブリンであって、前記第２の軽鎖可変領域が、８０位のシステイン（「Ｃｙｓ８０^{2}」）を有し、前記Ｃｙｓ８０^{2}が、第２のチオール反応基を含む第２のチオール反応性化合物に抱合される

、第２の抱合型免疫グロブリンと、を含む、抗原結合分子。
（項目３１）
Ｃｙｓ８０[1]、Ｃｙｓ８０[2]、またはそれらの両方が、不対である、項目３０に記載の抗原結合分子。
（項目３２）
前記第１の免疫グロブリンの８３位のアミノ酸、前記第２の免疫グロブリンの８３位のアミノ酸、またはそれらの両方が、Ｐｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸残基である、項目３０または３１に記載の抗原結合分子。
（項目３３）
前記第１のチオール反応性化合物が第１の機能性剤を更に含むか、前記第２のチオール反応性化合物が第２の機能性剤を更に含むか、またはそれらの両方である、項目３０～３２のいずれか一項に記載の抗原結合分子。
（項目３４）
前記第１の免疫グロブリン、第２の免疫グロブリン、またはそれらの両方が、Ｆａｂである、項目３０～３３のいずれか一項に記載の抗原結合分子。
（項目３５）
抱合型免疫グロブリン中で使用するための軽鎖可変領域であって、前記軽鎖可変領域が、アミノ酸８０位のシステイン（「Ｃｙｓ８０」）と、アミノ酸８３位のＰｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸残基と、を有し、前記Ｃｙｓ８０が不対である、軽鎖可変領域。
（項目３６）
前記軽鎖可変領域が、Ｃｙｓ８０－Ｘａａ$_1$－Ｘａａ$_2$－Ｘａａ$_3$モチーフを有し、Ｘａａ$_3$が、Ｐｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外の任意のアミノ酸である、項目３５に記載の軽鎖可変領域。
（項目３７）
項目１６～２４のいずれか一項に記載の免疫グロブリンをコードする核酸分子。
（項目３８）
項目３７に記載の核酸分子を含む、宿主細胞。

【図面の簡単な説明】
【００１３】
要約及び以下の発明を実施するための形態は、添付の図面と併読することでより理解が深まる。開示される方法、抱合型免疫グロブリン、抗原結合分子、免疫グロブリン、及び軽鎖可変領域を例解する目的で、例示的な実施形態を図面に示すが、これらの方法、抱合型免疫グロブリン、抗原結合分子、免疫グロブリン、及び軽鎖可変領域は、開示される特定の実施形態に限定されない。
【００１４】
【図１Ａ】ウサギ及びヒト軽鎖配列のアラインメントを示す。（Ａ）ウサギに由来する生殖細胞系Ｖκ配列（ＩＧＫＶ１Ｓ２、Ｘ０２３３６）及びヒトに由来する生殖細胞系Ｖκ配列（ＩＧＫＶ１－５、Ｚ００００１）のアラインメント。矢印は、ウサギ配列におけるＣｙｓ８０（Ｋａｂａｔ付番またはＣｈｏｔｈｉａ付番のいずれかに従う）を示す。（Ｂ）ウサギに由来する生殖細胞系Ｃκ配列（ＩＧＫＣ１、Ｋ０１３６０）及びヒトに由来する生殖細胞系Ｃκ配列（ＩＧＫＣ、Ｊ００２４１）のアラインメント。矢印は、ウサギ配列におけるＣｙｓ１７１（ＥＵ付番）を示す。
【図１Ｂ】ウサギ及びヒト軽鎖配列のアラインメントを示す。（Ａ）ウサギに由来する生殖細胞系Ｖκ配列（ＩＧＫＶ１Ｓ２、Ｘ０２３３６）及びヒトに由来する生殖細胞系Ｖκ配列（ＩＧＫＶ１－５、Ｚ００００１）のアラインメント。矢印は、ウサギ配列におけるＣｙｓ８０（Ｋａｂａｔ付番またはＣｈｏｔｈｉａ付番のいずれかに従う）を示す。（Ｂ）ウサギに由来する生殖細胞系Ｃκ配列（ＩＧＫＣ１、Ｋ０１３６０）及びヒトに由来す

る生殖細胞系Ｃκ配列（ＩＧＫＣ、Ｊ００２４１）のアラインメント。矢印は、ウサギ配列におけるＣｙｓ１７１（ＥＵ付番）を示す。
【図２Ａ】（Ａ）Ｃｙｓ８０－Ｃｙｓ１７１ジスルフィド結合を示すウサギｍＡｂ、（Ｂ）ヒトｍＡｂ、及び（Ｃ）不対Ｃｙｓ８０を示すウサギ－ヒトキメラｍＡｂの構造モデルを示す。
【図２Ｂ】（Ａ）Ｃｙｓ８０－Ｃｙｓ１７１ジスルフィド結合を示すウサギｍＡｂ、（Ｂ）ヒトｍＡｂ、及び（Ｃ）不対Ｃｙｓ８０を示すウサギ－ヒトキメラｍＡｂの構造モデルを示す。
【図２Ｃ】（Ａ）Ｃｙｓ８０－Ｃｙｓ１７１ジスルフィド結合を示すウサギｍＡｂ、（Ｂ）ヒトｍＡｂ、及び（Ｃ）不対Ｃｙｓ８０を示すウサギ－ヒトキメラｍＡｂの構造モデルを示す。
【図３】ウサギ生殖細胞系Ｖκファミリーのアラインメントを例解する。８０位の残基が矢印によって示される。
【図４】（Ａ）厳しい条件（２０ｍＭのＤＴＴ、６０℃、５分）を使用して還元した場合、及び（Ｂ）穏やかな条件（１００μＭのＤＴＴ、２２℃、３０分）を使用して還元した場合の例示的なｘｉ１５５Ｄ５軽鎖の質量分析を例解する。
【図５】ｘｉ１５５Ｄ５安定性の例示的なＳＥ－ＨＰＬＣ解析を例解する。（Ａ）－８０℃で保管したｘｉ１５５Ｄ５の安定性。（Ｂ）３７℃で１週間保管したｘｉ１５５Ｄ５の安定性。凝集体または分解産物の形成の増加は極めて少量しか観察されなかった。Ｙ軸はｍＡＵであり、ｘ軸は保持時間（分）である。
【図６】Ｃｙｓ８０をキャップしているシステインが穏やかな還元条件（５ｍＭのシステインを含む緩衝液で１６時間、続いてシステイン不含Ｔｒｉｓ含有緩衝液で６０時間洗浄；全てのインキュベーションを４℃で実行）によって除去され得ることを示す、例示的なキャップ除去実験を示す。キャップ除去の前（Ａ）と後（Ｂ）のｘｉ１５５Ｄ５の質量は、それぞれ１４５，４６４及び１４５，２２１Ｄａであった。差（２４３Ｄａ）はシステイン約２個に相当した。
【図７】キャップ除去されたＣｙｓ８０がマレイミド－ＰＥＧ２－ビオチンに抱合され得ることを示す、例示的な抱合実験を示す。（Ａ）還元されたｘｉ１５５Ｄ５（予測質量２３，３９９Ｄａ）の軽鎖は、２３，３８４Ｄａの質量を有し、（Ｂ）マレイミド－ＰＥＧ２－ビオチンによるインキュベーション後、産物の９４％が５２６Ｄａの質量増加（２３，９１０Ｄａ）を示した。アスタリスクは非軽鎖ピークを意味する。
【図８】最も相同であるヒト生殖細胞系可変ドメインと整列させたウサギ１５５Ｄ５　Ｖκ及びＶＨ配列を表す。Ｋａｂａｔ付番に基づくフレームワーク領域（ＦＷＲ）及び相補性決定領域（ＣＤＲ）を、配列の上に明らかにする。Ｃｈｏｔｈｉａ付番に基づくＣＤＲは下線で示す。ＫａｂａｔのＣＤＲ２のＣ末端側半分はＣｈｏｔｈｉａ付番ではＣＤＲを見なされず、これは斜体で示す。
【図９】ｚｕ１５５Ｄ５－１の例示的な標準のタンパク質Ａ精製を例解する。ｚｕ１５５Ｄ５－１はキャップ化されていることが分かり（Ａ）、これは、キャップ除去後（Ｂ）の質量がキャッピングシステイン約２個相当の２３３Ｄａ変化したことを証拠とする。
【図１０】キメラ化ｘｉ１５５Ｄ５の例示的な構造モデルを例解する。Ｃｙｓ８０近接性を決定するためのモデリングを図２のように実施した。ｘｉ１５５Ｄ５とｚｕ１５５Ｄ５－１とで異なる残基をハイライトして示し、各々のＣｙｓ８０までの距離を測定した。（Ａ）残基Ｖａｌ１１、Ａｌａ１４、Ｇｌｙ１７、Ｔｈｒ１８；（Ｂ）Ｌｙｓ６３；（Ｃ）Ｔｈｒ７６、Ｇｌｙ７７、Ｖａｌ７８、Ａｌａ８３；ならびに（Ｄ）Ｇｌｕ１０３及びＬｅｕ１０４が、Ｌｙｓ６３（１８Å）以外、Ｃｙｓ８０の１１Å以内であった。これらの残基をＣｙｓ８０の存在下でウサギアミノ酸に戻した。
【図１１】１５５Ｄ５、１Ｅ４、１６６Ｂ３、及び３３Ｏ１１軽鎖配列の例示的なヒト化ｍＡｂを例解する。
【図１２】（Ａ～Ｄ）は免疫付与した動物由来の血清のフローサイトメトリースクリーニング、（Ｅ）は免疫付与した動物由来の血清のＥＬＩＳＡスクリーニングを示す。（Ａ～

Ｄ）細胞を、示す希釈での免疫後採血の血清と共にインキュベートした（Ａ：１：１０００で希釈した免疫後採血のウサギ１血清、Ｂ：１：５０００で希釈した免疫後採血のウサギ１血清、Ｃ：１：１０００で希釈した免疫後採血のウサギ２、及び＜ｔ１／＞Ｄ：１：５０００で希釈した免疫後採血のウサギ２血清）。ヒトＭＳＬＮ（＋ＭＳＬＮ）を一過性に発現している細胞からのシグナル及びＭＳＬＮ陰性細胞（－ＭＳＬＮ）からのシグナルを示す。（Ｅ）ＥＬＩＳＡプレートに、４℃で一晩かけて１μｇ／ｍＬのヒトＭＳＬＮをコーティングし、０．０１％のＴｗｅｅｎ（ＰＢＳＴ）を含むＰＢＳ中１％のＢＳＡを使用して室温で２時間ブロックした。ブロックした後で緩衝液を除去し、免疫前及び免疫後の採血の連続希釈した試料をウェルに加えた。プレートを室温で２時間インキュベートした後、ＰＢＳＴで３回洗浄した。ＨＲＰ抱合型ヤギ抗ウサギ抗体をブロッキング緩衝液に添加し、１時間インキュベートした。プレートを３回洗浄し、ＴＭＢ基質を添加した。反応を停止させ、吸光度を４５０ｎｍで測定した。

【図１３】マレイミド－ＰＥＧ２－オーリスタチンＦ（ＡｕＦ）をＣｙｓ８０に抱合させる前と後のデコンボリューションした質量分析の例示的なタンパク質ピークを示す。

【図１４】（Ａ）は、ＭＳＬＮ陰性Ａ４３１細胞に対するＭＳＬＮ－ＡｕＦ　Ｃｙｓ８０抱合型ｍＡｂの細胞毒性、（Ｂ）は、ＭＳＬＮ陽性Ａ４３１－ＭＳＬＮ細胞に対するＭＳＬＮ－ＡｕＦ　Ｃｙｓ８０抱合型ｍＡｂの細胞毒性を例解する。

【図１５】異なる治療群にわたる平均腫瘍体積を示す。

【図１６】（Ａ）は、異なる治療群にわたる平均Ａ４３１－ＭＳＬＮ（左側）腫瘍体積、（Ｂ）は、Ａ４３１についての異なる治療群にわたる平均腫瘍体積（右側）を示す。

【図１７Ａ】例示的なｘｉ１５５Ｄ５－８００ＣＷ抱合型抗体のＳＤＳ－ＰＡＧＥ解析を示す。（Ａ）ｍｗｍ、分子量マーカー；レーン１、ｘｉ１５５Ｄ５、未抱合、未還元；レーン２、ｘｉ１５５Ｄ５、ｘｉ１５５Ｄ５－８００ＣＷ、未還元；レーン３、ブランク；レーン４、未抱合のｘｉ１５５Ｄ５、還元済み；レーン５、ｘｉ１５５Ｄ５、ｘｉ１５５Ｄ５－８００ＣＷ、還元済み。全てのレーンがクマシー染色した５μｇのタンパク質を含む。（Ｂ）ＩＶＩＳシステムで撮像した、Ａと同じゲル。結果は、ＩＲＤｙｅ　８００ＣＷがｘｉ１５５Ｄ５の軽鎖上でのみ抱合されることを示した。ｘｉ１５５Ｄ５－８００ＣＷのＥＬＩＳＡ解析により、ＣＡ９への完全結合が保持されたことが示された（データ割愛）。

【図１７Ｂ】例示的なｘｉ１５５Ｄ５－８００ＣＷ抱合型抗体のＳＤＳ－ＰＡＧＥ解析を示す。（Ａ）ｍｗｍ、分子量マーカー；レーン１、ｘｉ１５５Ｄ５、未抱合、未還元；レーン２、ｘｉ１５５Ｄ５、ｘｉ１５５Ｄ５－８００ＣＷ、未還元；レーン３、ブランク；レーン４、未抱合のｘｉ１５５Ｄ５、還元済み；レーン５、ｘｉ１５５Ｄ５、ｘｉ１５５Ｄ５－８００ＣＷ、還元済み。全てのレーンがクマシー染色した５μｇのタンパク質を含む。（Ｂ）ＩＶＩＳシステムで撮像した、Ａと同じゲル。結果は、ＩＲＤｙｅ　８００ＣＷがｘｉ１５５Ｄ５の軽鎖上でのみ抱合されることを示した。ｘｉ１５５Ｄ５－８００ＣＷのＥＬＩＳＡ解析により、ＣＡ９への完全結合が保持されたことが示された（データ割愛）。

【図１８】例示的なＤｙｅＩＲ　８００ＣＷ抱合型抗体（ｘｉ１５５Ｄ５－８００ＣＷ）の腫瘍特異的局在を例示する。ヒトｃｏｌｏ２０５（Ａ～Ｄ）及びＨＴ－２９（Ｅ～Ｈ）細胞をヌードマウスに移植し、後にこのマウスにｘｉ１５５Ｄ５－８００ＣＷを注射した。蛍光シグナル（橙赤色）を、０時間（Ａ及びＥ）、４時間（Ｂ及びＦ）、２４時間（Ｃ及びＧ）、ならびに７２時間（Ｄ及びＨ）を含む様々な時間でモニタリングした（０～７２時間、右脇腹のみ示す）。腎臓（Ｋ）及び腫瘍（Ｔ）のおよその位置を示す。

【図１９】ｘｉ１５５Ｄ５／ｘｉ１－５５－２二価／二重特異性抗原結合分子の例示的な精製を例解する。ゲル濾過クロマトグラフィーグラフは、ｘｉ１５５Ｄ５／ｘｉ１－５５－２二価／二重特異性抗原結合分子（「ｂｉＦａｂ」と称される）に対応するピークを示す（Ａ）。画分の分子サイズをＳＤＳ－ＰＡＧＥによって解析した（Ｂ）。ｘｉ１５５Ｄ５／ｘｉ１－５５－２二価／二重特異性抗原結合分子（ｂｉＦａｂ）を含む画分をプールし、質量を質量分析によって決定した（Ｃ）。

【図２０】例示的なｘｉ１５５Ｄ５／ｘｉ１－５５－２二価／二重特異性抗原結合分子（ｂｉＦａｂ）の二重特異性を例解する。ビオチン化ヒトＣＡ９をストレプトアビジンＯｃｔｅｔバイオセンサ先端部に捕捉した。化合物を第１の矢印（「化合物」）によって示す通りに添加した後、結合させた。続いて、可溶性ヒトＴＥＭ－１（第２の矢印；「ＴＥＭ－１」）を添加し、捕捉したＣＡ９／化合物複合体へのその結合を測定した。可溶性ＴＥＭ－１の捕捉を示す応答シフト（二重矢印）は、ｘｉ１５５Ｄ５／ｘｉ１－５５－２二価／二重特異性抗原結合分子（ｂｉＦａｂ）でのみ観察された。

【図２１】ｘｉ３３Ｏ１１－Ａβ（１－１６）Ｃｙｓ８０抱合型ｍＡｂ及びｘｉ１－５５－２－Ａβ（１－１６）Ｃｙｓ８０抱合型ｍＡｂのＳＤＳ－ＰＡＧＥ解析を例解する。ｍＡｂ－ＤＢＣＯをペプチドＡβ（１－１６）と抱合させる前（Ｂ）と後（Ａ）の産物を示す。ＭＷは分子量マーカーである。ＬＣは軽鎖である。

【図２２Ａ】ｘｉ１－５５－２及びｘｉ３３Ｏ１１親軽鎖（ＬＣ）（それぞれ、Ａ及びＢ）、ｘｉ１－５５－２－ＤＢＣＯ　Ｃｙｓ８０抱合型ＬＣ及びｘｉ３３Ｏ１１－ＤＢＣＯ　Ｃｙｓ８０抱合型ＬＣ（それぞれ、Ｃ及びＤ、ｒｅｓｐｅｃｔｉｖｅｌｙ）、ならびにｘｉ１－５５－２－Ａβ（１－１６）Ｃｙｓ８０抱合型ＬＣ及びｘｉ３３Ｏ１１－Ａβ（１－１６）Ｃｙｓ８０抱合型ＬＣ（それぞれ、Ｅ及びＦ）の例示的な質量分析を例解する。

【図２２Ｂ】ｘｉ１－５５－２及びｘｉ３３Ｏ１１親軽鎖（ＬＣ）（それぞれ、Ａ及びＢ）、ｘｉ１－５５－２－ＤＢＣＯ　Ｃｙｓ８０抱合型ＬＣ及びｘｉ３３Ｏ１１－ＤＢＣＯ　Ｃｙｓ８０抱合型ＬＣ（それぞれ、Ｃ及びＤ、ｒｅｓｐｅｃｔｉｖｅｌｙ）、ならびにｘｉ１－５５－２－Ａβ（１－１６）Ｃｙｓ８０抱合型ＬＣ及びｘｉ３３Ｏ１１－Ａβ（１－１６）Ｃｙｓ８０抱合型ＬＣ（それぞれ、Ｅ及びＦ）の例示的な質量分析を例解する。

【図２２ＣＤ】ｘｉ１－５５－２及びｘｉ３３Ｏ１１親軽鎖（ＬＣ）（それぞれ、Ａ及びＢ）、ｘｉ１－５５－２－ＤＢＣＯ　Ｃｙｓ８０抱合型ＬＣ及びｘｉ３３Ｏ１１－ＤＢＣＯ　Ｃｙｓ８０抱合型ＬＣ（それぞれ、Ｃ及びＤ、ｒｅｓｐｅｃｔｉｖｅｌｙ）、ならびにｘｉ１－５５－２－Ａβ（１－１６）Ｃｙｓ８０抱合型ＬＣ及びｘｉ３３Ｏ１１－Ａβ（１－１６）Ｃｙｓ８０抱合型ＬＣ（それぞれ、Ｅ及びＦ）の例示的な質量分析を例解する。

【図２２ＥＦ】ｘｉ１－５５－２及びｘｉ３３Ｏ１１親軽鎖（ＬＣ）（それぞれ、Ａ及びＢ）、ｘｉ１－５５－２－ＤＢＣＯ　Ｃｙｓ８０抱合型ＬＣ及びｘｉ３３Ｏ１１－ＤＢＣＯ　Ｃｙｓ８０抱合型ＬＣ（それぞれ、Ｃ及びＤ、ｒｅｓｐｅｃｔｉｖｅｌｙ）、ならびにｘｉ１－５５－２－Ａβ（１－１６）Ｃｙｓ８０抱合型ＬＣ及びｘｉ３３Ｏ１１－Ａβ（１－１６）Ｃｙｓ８０抱合型ＬＣ（それぞれ、Ｅ及びＦ）の例示的な質量分析を例解する。

【図２３】抗原結合分子を生成するための例示的なスキームを例解する。ウサギ由来の免疫グロブリンをパパインによって分解して、Ｆａｂを生成することができる。第１のＦａｂは、マレイミド－ＤＢＣＯと共にインキュベートすることができ、第２のＦａｂは、マレイミド－アジドと共にインキュベートすることができる。第１及び第２のＦａｂを組み合わせて、二重特異性Ｆａｂ－Ｆａｂ結合分子を形成することができる。ＳＰＡＡＣは、歪促進アルキン－アジド抱合である。

【発明を実施するための形態】

【００１５】

開示される方法、抱合型免疫グロブリン、抗原結合分子、免疫グロブリン、及び軽鎖可変領域は、本開示の一部を形成する添付の図面に関連して、次の詳細な説明を参照することによってより容易に理解され得る。開示される方法、抱合型免疫グロブリン、抗原結合分子、免疫グロブリン、及び軽鎖可変領域は、本明細書に記載されかつ／または示される具体的な実施形態に限定されないこと、ならびに本明細書で使用される専門用語が、特定の実施形態を例として説明することを目的とするにすぎず、特許請求される方法、抱合型免疫グロブリン、抗原結合分子、免疫グロブリン、及び軽鎖可変領域を限定することは意

図されないことを理解されたい。

【００１６】

別途定めのない限り、可能性のある作用機構もしくは作用機序または改善の理由に関するいずれの説明も、例示的であることを意図するにすぎず、開示される方法、抱合型免疫グロブリン、抗原結合分子、免疫グロブリン、及び軽鎖可変領域は、示唆されるいずれのかかる作用機構もしくは作用機序または改善の理由の正確さまたは不正確さによっても拘束されるものではない。

【００１７】

本文書全体を通して、説明は、抱合型免疫グロブリン、抗原結合分子、免疫グロブリン、及び軽鎖可変領域、ならびにそれを生成する方法に言及するものである。本開示が、抱合型免疫グロブリン、抗原結合分子、免疫グロブリン、または軽鎖可変領域に関連する特徴または実施形態を説明または特許請求している場合、かかる特徴または実施形態は、それを生成する方法にも等しく適用可能である。同様に、本開示が、抱合型免疫グロブリン、抗原結合分子、免疫グロブリン、または軽鎖可変領域を生成する方法に関連する特徴または実施形態を説明または特許請求している場合、かかる特徴または実施形態は、抱合型免疫グロブリン、抗原結合分子、免疫グロブリン、または軽鎖可変領域にも等しく適用可能である。

【００１８】

特定の数値への言及は、文脈上そうでないとする明確な指示がない限り、少なくともその特定の値を含む。値の範囲が表されているとき、別の実施形態は、一方の特定値から、及び／または他方の特定値までを含む。更に、範囲で述べられる値への言及は、その範囲内のありとあらゆる値を含む。全ての範囲は、境界値を含み、組み合わせ可能である。

【００１９】

「約」という先行詞の使用によって、値が近似値として表されているとき、その特定値は、別の実施形態を形成することが理解されよう。

【００２０】

明確さのために別個の実施形態の文脈において本明細書に記載される、開示される方法、抱合型免疫グロブリン、抗原結合分子、免疫グロブリン、及び軽鎖可変領域のある特定の特徴はまた、単一の実施形態において組み合わせて提供されてもよいことを理解されたい。これとは逆に、簡潔さのために単一の実施形態の文脈において記載される、開示される方法、抱合型免疫グロブリン、抗原結合分子、免疫グロブリン、及び軽鎖可変領域の種々の特徴はまた、別個にまたは任意の部分的組み合わせにおいて提供されてもよい。

【００２１】

本明細書で使用されるとき、単数形「ａ」、「ａｎ」、及び「ｔｈｅ」は、複数形を含む。

【００２２】

「～を含む（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）」という用語は、「～から本質的になる（ｃｏｎｓｉｓｔｉｎｇ　ｅｓｓｅｎｔｉａｌｌｙ　ｏｆ）」及び「～からなる（ｃｏｎｓｉｓｔｉｎｇ　ｏｆ）」という用語によって包含される例を含むことを意図し、同様に、「～から本質的になる」という用語は、「～からなる」という用語によって包含される例を含むことを意図する。

【００２３】

本説明の態様に関連する種々の用語が、本明細書及び特許請求の範囲全体を通して使用される。かかる用語は、別途指定されない限り、当該技術分野で通例の意味を与えられるものとする。他の具体的に定義される用語は、本明細書に提供される定義と一致する様態で解釈されるものとする。

【００２４】

数的範囲、カットオフ、または具体的な値を参照して使用されるときの「約」という用語は、列挙された値が、列挙された値から最大１０％と同量だけ異なり得ることを示して使用される。故に、「約」という用語は、指定値からの±１０％以下の変動、±５％以下

の変動、±１％以下の変動、±０．５％以下の変動、または±０．１％以下の変動を包含して使用される。

【００２５】

本明細書で使用されるとき、「生体試料」という用語は、インビボまたはインビトロで得られた生体組織または流体由来の試料を含めて、対象から得られた試料を指す。かかる試料は、体液（例えば、血液、血漿、血清、乳、髄液、腹水、または尿）、ヒトを含む哺乳動物から単離された臓器、組織、画分、及び細胞であり得るが、これらに限定されない。生体試料にはまた、対象から得られた試料の切片（例えば、臓器または組織の切片部分）が含まれ得る。生体試料にはまた、対象から得られた試料の抽出物、例えば、生体液（例えば、血液または尿）からの抗原が含まれ得る。

【００２６】

「キャッピングシステイン」という用語は、軽鎖可変領域のＣｙｓ８０とのジスルフィド結合を形成する、溶液からの遊離システインを指す。

【００２７】

「キメラ化」、「キメラ」、「キメラ抗体」という用語及び同様の用語は、１つの源または種からの重鎖可変領域及び軽鎖可変領域、即ち抗原結合領域と、異なる源または種に由来する重鎖定常領域及び軽鎖定常領域の少なくとも一部分とを含む、免疫グロブリンを指す。これらの部分は、従来技法によって化学的に一緒に連結されるか（例えば合成）、または遺伝子工学技法を用いて連続ポリペプチドとして調製されてもよい（例えば、キメラ抗体のタンパク質部分をコードするＤＮＡを発現させて、連続ポリペプチド鎖を産出してもよい）。例示的なキメラ免疫グロブリンには、ウサギ可変領域及びヒト定常領域を含むものが含まれる。かかるウサギ／ヒトキメラ免疫グロブリンは、ウサギ免疫グロブリン可変領域をコードするＤＮＡセグメント及びヒト免疫グロブリン定常領域をコードするＤＮＡセグメントを含む、発現された免疫グロブリン遺伝子の産物である。本開示によって包含される「キメラ免疫グロブリン」の他の形態は、そのクラスまたはサブクラスが元の免疫グロブリンのクラスまたはサブクラスから修飾または変更された、キメラ免疫グロブリンである（「クラススイッチ免疫グロブリン」とも称される）。本開示全体を通して、キメラ免疫グロブリンは、「ｘｉ」と表記される。本明細書で、「キメラ免疫グロブリン」及び同様の用語は、抗体を生成するために用いられるプロセスではなく、その免疫グロブリン（ｉｍｍｕｎｇｌｏｂｕｌｉｎ）の配列を指す。

【００２８】

本明細書で使用されるとき、「Ｃｙｓ８０」は、リーダー配列不在の軽鎖可変領域に対して軽鎖可変領域のアミノ酸８０位におけるシステイン残基を指す。例えば、表２５に開示される軽鎖可変領域は、１９アミノ酸（５７ヌクレオチドによってコードされる）リーダー配列を含む。「Ｃｙｓ８０」は、リーダー配列が存在するときにはアミノ酸９９位で、及びリーダー配列が不在であるときにはアミノ酸８０位で生じる。Ｃｙｓ８０付番は、Ｋａｂａｔ／Ｃｈｏｔｈｉａ付番系に基づく。

【００２９】

「キャップ除去」という用語は、免疫グロブリンの天然の鎖内及び鎖間ジスルフィドの破壊を最小限にする条件下での、本明細書に提供される方法を用いたキャッピングシステインの除去を指す。

【００３０】

「～に由来する免疫グロブリン」という用語は、ウサギ免疫グロブリンの少なくともＣＤＲ領域を有する、免疫グロブリン、またはその部分を指す。「～に由来する免疫グロブリン」には、ウサギ／ヒトキメラまたはヒト化ウサギ免疫グロブリンが含まれる。免疫グロブリンをウサギから得るときに認容される変動レベルは、例えば、Ｕｎｉｔｅｄ Ｓｔａｔｅｓ Ａｄｏｐｔｅｄ Ｎａｍｅｓ Ｃｏｕｎｓｅｌ（ＵＳＡＮ）ｏｆ ｔｈｅ Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｍｅｄｉｃａｌ Ａｓｓｏｃｉａｔｉｏｎ（ＡＭＡ）によって決定することができる。

【００３１】

本明細書で使用されるとき、「機能性剤」は、治療的特性、診断的特性、または他の機能的特性（複数可）を有する薬剤を指す。本開示の範囲内に該当する種々の機能性剤が、本明細書の他の箇所に記載される。

【００３２】

「ヒト化」、「ヒト化免疫グロブリン」という用語及び同様の用語は、可変領域全体にわたるアミノ酸の配列が、ヒト可変領域に相同性を有する配列に変更される、ウサギ由来の免疫グロブリンを指す。例示的なヒト化免疫グロブリンは、フレームワーク領域（ＦＷＲ）及び／またはＣＤＲ全体にわたる残基が、ヒト免疫グロブリンに相同な配列に置き換えられる、ウサギ可変ドメインを含むことができる。いくつかの事例では、ウサギ免疫グロブリンのＦＷＲ残基は、対応するヒト残基には置き換えられない。代替的に、「ヒト化」、「ヒト化免疫グロブリン」及び同様の用語は、ＦＷＲ及び／またはＣＤＲ全体にわたる残基が、ウサギ免疫グロブリンに相同な配列に置き換えられた、ヒト由来の免疫グロブリンを指すことができる。例えば、ヒト化免疫グロブリンは、ヒト免疫グロブリンの超可変領域からの残基が、所望の特異性、親和性、及び能力を有するウサギ免疫グロブリンの超可変領域からの残基に置き換えられている、ヒト免疫グロブリンであり得る。更に、ヒト化免疫グロブリンは、レシピエント免疫グロブリンにもドナー免疫グロブリンにも見られない残基を含み得る。これらの修飾は、免疫グロブリン性能を更に改良するために行われる。一般に、ヒト化免疫グロブリンは、少なくとも１つ、典型的には２つの可変ドメインの実質的に全てを含むことになり、ここで超可変ループの全てまたは実質的に全ては、非ヒト免疫グロブリンのそれらに対応し、ＦＷＲの全てまたは実質的に全ては、ヒト免疫グロブリン配列のそれらである。ヒト化免疫グロブリンはまた、任意に、免疫グロブリン定常領域（Ｆｃ）の少なくとも一部分、典型的には、ヒト免疫グロブリンの定常領域の少なくとも一部分を含むことができる。例えば、Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ，Ｌ．，ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ　３３２（１９８８）３２３－３２７、及びＮｅｕｂｅｒｇｅｒ，Ｍ．Ｓ．，ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ　３１４（１９８５）２６８－２７０を参照されたい。本開示全体を通して、「ヒト化免疫グロブリン」は、「ｚｕ」と表記される。本明細書で、「ヒト化免疫グロブリン」及び同様の用語は、免疫グロブリンを生成するために用いられるプロセスではなく、その免疫グロブリンの配列を指す。

【００３３】

「ドナー免疫グロブリン」という用語は、その可変領域、ＣＤＲ、またはそれらの他の機能的断片もしくは類似体のアミノ酸配列をヒト化免疫グロブリンに与え、それによって、ヒト化免疫グロブリンにドナー免疫グロブリンの抗原特異性及び中和活性特性を提供する、非ヒト免疫グロブリンを指す。

【００３４】

「レシピエント免疫グロブリン」という用語は、その重鎖及び／もしくは軽鎖フレームワーク領域ならびに／またはその重鎖及び／もしくは軽鎖定常領域のアミノ酸配列をヒト化免疫グロブリンに提供する、ドナー免疫グロブリンに異種性の免疫グロブリンを指す。レシピエント免疫グロブリンは、任意の哺乳動物に由来してよい。好ましい実施形態では、レシピエント免疫グロブリンは、ヒトにおいて非免疫原性である。好ましくは、レシピエント免疫グロブリンは、ヒト免疫グロブリンである。

【００３５】

「ヒト化」は、ヒト化免疫グロブリンを生成するプロセスを指し、イン・シリコヒト化、種／宿主ＣＤＲのヒト免疫グロブリン中への導入操作、対応するヒトフレームワーク領域に合致させるためのキメラ免疫グロブリンのフレームワーク領域残基の置換等を含むが、これらに限定されない、上記の特性を有するヒト化免疫グロブリンを生成するための任意のプロセスを含む。

【００３６】

「疎水性アミノ酸」は、Ｅｉｓｅｎｂｅｒｇ，１９８４，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１７９：１２５－１４２の標準化コンセンサス疎水性尺度に従って、ゼロよりも大きい疎水性を示すアミノ酸を指す。遺伝子コードによる疎水性アミノ酸には、Ｐｒｏ（Ｐ）、Ｉｌｅ

（Ｉ）、Ｐｈｅ（Ｆ）、Ｖａｌ（Ｖ）、Ｌｅｕ（Ｌ）、Ｔｒｐ（Ｗ）、Ｍｅｔ（Ｍ）、Ａｌａ（Ａ）、Ｇｌｙ（Ｇ）、及びＴｙｒ（Ｙ）が含まれる。

【００３７】

本明細書で使用される「免疫グロブリン」は、カッパ及びラムダ軽鎖ならびにアルファ、ガンマ、デルタ、イプシロン、及びミュー重鎖を含む、免疫グロブリン遺伝子によって実質的にコードされる１つ以上のポリペプチドからなるタンパク質を指す。完全長免疫グロブリン「軽鎖」（約２５Ｋｄまたは２１４個のアミノ酸）は、ＮＨ２末端の可変領域遺伝子（約１１０個のアミノ酸）及びＣＯＯＨ末端のカッパまたはラムダ定常領域遺伝子によってコードされる。完全長免疫グロブリン「重鎖」（約５０Ｋｄまたは４４６個のアミノ酸）は同様に、可変領域遺伝子（約１１６アミノ酸）及び他方の前述の定常領域遺伝子のうちの１つ、例えば、ガンマ（約３３０個のアミノ酸をコードする）によってコードされる。「免疫グロブリン」には、（ａ）免疫グロブリンポリペプチド、即ち、特定の抗原（例えば、ＭＳＬＮ、ＣＡ９、ＴＥＭ１等）に特異的に結合する抗原結合部位を含有する、別途明記されない限り、全ての免疫グロブリンアイソタイプ（ＩｇＧ、ＩｇＡ、ＩｇＥ、ＩｇＭ、ＩｇＤ、及びＩｇＹ）、クラス（例えばＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ１、ＩｇＡ２）、サブクラス、及び各アイソタイプの種々の単量体及び重合体型を含む、免疫グロブリンファミリーのポリペプチド、ならびに（ｂ）抗原（例えば、ＭＳＬＮ、ＣＡ９、ＴＥＭ１等）に免疫特異的に結合する、かかる免疫グロブリンポリペプチドの保存的に置換された変異型が含まれる。免疫グロブリンは、例えば、Ｈａｒｌｏｗ＆Ｌａｎｅ，Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，１９８８）に一般に記載される。

【００３８】

本明細書に開示される免疫グロブリンの１つの形態は、抗体の基本的な構造単位を構成する。例えば、抗体は、四量体を含み、免疫グロブリン鎖の２つの同一の対からなることができ、各対が１つの軽鎖及び１つの重鎖を有する。一般に、各対において、軽鎖及び重鎖可変領域は一緒に、抗原への結合に関与し、定常領域は、抗体のエフェクター機能に関与する。

【００３９】

抗体に加えて、免疫グロブリンは、例えば、Ｆｖ、Ｆａｂ、$(Fab')_2$及びＦｖ断片などの免疫グロブリンの抗原結合断片または部分、ならびに、例を挙げると１本鎖免疫グロブリン（ｓｃＦＶ及びｓｃＦａｂ）、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、線形抗体、及び多重特異性抗体などの、代替の抗体形式を含む、多様な他の形態で存在し得る。例えば、Ｊａｍｅｓ Ｄ．Ｍａｒｋｓ，Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ，Ｃｈａｐｔｅｒ ２，Ｏｘｆｏｒｄ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｐｒｅｓｓ（１９９５）（Ｃａｒｌ Ｋ．Ｂｏｒｒｅｂａｅｃｋ，Ｅｄ．）を参照されたい。

【００４０】

本明細書で使用されるとき、「免疫特異的に」という用語は、免疫グロブリンが生成された対象である抗原に特異的に結合し、かつ他のペプチドまたはタンパク質には特異的に結合しない、免疫グロブリンの能力を指す。免疫グロブリンが生成された対象である抗原に免疫特異的に結合する免疫グロブリンは、他のポリペプチドもしくはタンパク質に結合しないことがあり得るか、または、例えば、免疫測定法、ＢＩＡｃｏｒｅ、または当該技術分野で既知の他のアッセイによって決定するとき、免疫グロブリンが生成された対象である抗原よりも他のポリペプチドもしくはタンパク質に対してより低い結合親和性で結合し得る。免疫グロブリンは、限定されないが、放射免疫測定法（ＲＩＡ）及び酵素結合免疫吸着測定法（ＥＬＩＳＡ）などの実験技法を用いて決定するとき、それがいずれの交差反応性抗原に対してよりも、免疫グロブリンが生成された対象である抗原に対してより高い結合親和性で結合する場合、当該抗原に免疫特異的に結合する（抗体特異性に関する考察については、例えば、Ｐａｕｌ，ｅｄ．，Ｆｕｎｄａｍｅｎｔａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，２ｎｄ ｅｄ．，Ｒａｖｅｎ Ｐｒｅｓｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，ｐａｇｅｓ ３３

２－３３６（１９８９）を参照されたい。）。
【００４１】
本明細書で使用される「リンカー」は、免疫グロブリンを（不対Ｃｙｓ８０上のチオール反応基を介して）機能性剤に連結するためのスペーサーを指し、これは直鎖であっても分岐鎖であってもよい。かかるリンカーは、切断可能（例えば、酸不安定性またはプロテアーゼ切断可能）であっても切断不可能であってもよい。
【００４２】
「モノクローナル抗体」という用語は、いずれの真核細胞もしくは原核細胞クローン、またはファージクローンも含む、単一細胞クローンに由来する抗体を指し、それが産生される方法は指していない。モノクローナル抗体は、特定のエピトープに対して単一の結合特異性及び親和性を示す。「モノクローナル抗体」という用語は、ハイブリドーマ技術により産生される抗体に限定されない。
【００４３】
「天然」は、免疫グロブリンの由来となる種からの野生型免疫グロブリン配列を指す。例えば、免疫グロブリンの由来となる種からの軽鎖可変領域にＣｙｓ８０が存在する実施形態において、Ｃｙｓ８０は、天然軽鎖可変領域に存在すると言われる。
【００４４】
本明細書で使用されるとき、「同一性パーセント」及び同様の用語は、２つ以上の核酸、ポリヌクレオチド、タンパク質、またはポリペプチド間の配列関係を説明して使用され、（ａ）参照配列、（ｂ）比較ウィンドウ、（ｃ）配列同一性、及び（ｄ）配列同一性百分率を含む用語の文脈において、それらと併せて理解される。
（ａ）「参照配列」は、配列比較のための基準として使用される規定配列である。参照配列は、指定配列の部分集合またはその全体、例えば、完全長ｃＤＮＡもしくは遺伝子配列のセグメント、または完全なｃＤＮＡもしくは遺伝子配列であり得る。ポリペプチドに関して、参照ポリペプチド配列の例示的な長さとしては、少なくとも約１６アミノ酸、少なくとも約２０アミノ酸、少なくとも約２５アミノ酸、少なくとも約３５アミノ酸、少なくとも約５０アミノ酸、または少なくとも約１００アミノ酸が挙げられる。核酸に関して、参照核酸配列の例示的な長さとしては、少なくとも約５０ヌクレオチド、少なくとも約６０ヌクレオチド、少なくとも約７５ヌクレオチド、少なくとも約１００ヌクレオチド、または少なくとも約３００ヌクレオチド、またはそれらの前後もしくはそれらの間の任意の整数が挙げられる。
（ｂ）「比較ウィンドウ」は、ポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列の連続かつ指定のセグメントへの言及を含み、ここにおいて、ポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列が参照配列と比較され得、比較ウィンドウ内のポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列の一部分は、２つの配列を最適にアライメントするために、参照配列（付加、置換、または欠失を含まない）と比較して、付加、置換、または欠失（即ち、ギャップ）を含んでもよい。例示的な比較ウィンドウは、少なくとも２０の連続したヌクレオチドまたはアミノ酸長であり得、任意に、３０、４０、５０、１００、またはそれよりも長くてもよい。当業者は、ポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列におけるギャップの組み込みに起因した、参照配列に対する紛らわしく高い類似性を回避するために、ギャップペナルティが典型的に導入され、合致の数から減算されることを理解する。
（ｃ）比較目的で配列をアライメントする方法は、当該技術分野で周知である。比較目的での配列の最適なアライメントは、Ｓｍｉｔｈ ａｎｄ Ｗａｔｅｒｍａｎ，Ａｄｖ．Ａｐｐｌ．Ｍａｔｈ．，２：４８２，１９８１の局所相同性アルゴリズムによって、Ｎｅｅｄｌｅｍａｎ ａｎｄ Ｗｕｎｓｃｈ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，４８：４４３，１９７０の相同性アライメントアルゴリズムによって、Ｐｅａｒｓｏｎ ａｎｄ Ｌｉｐｍａｎ，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８：２４４４，１９８８の類似性検索法によって、Ｉｎｔｅｌｌｉｇｅｎｅｔｉｃｓ（Ｍｏｕｎｔａｉｎ Ｖｉｅｗ，Ｃａｌｉｆ．）によるＰＣ／ＧｅｎｅプログラムにおけるＣＬＵＳＴＡＬ、Ｗｉｓｃｏｎｓｉｎ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ Ｓｏｆｔｗａｒｅ Ｐａｃｋａｇｅ、Ｇｅｎｅｔｉｃｓ Ｃｏｍ

puter Group（GCG）（7 Science Dr.，Madison，Wis.，USA）におけるGAP、BESTFIT、BLAST、FASTA、及びTFASTAプログラムを含むが、これらに限定されない、これらのアルゴリズムのコンピュータによる実装によって、実施されてもよい。CLUSTALプログラムは、Higgins and Sharp，Gene，73：237－244，1988、Corpet，et al.，Nucleic Acids Research，16：881－90，1988、Huang，et al.，Computer Applications in the Biosciences，8：1－6，1992、及びPearson，et al.，Methods in Molecular Biology，24：7－331，1994によって詳細に説明されている。データベース類似性検索に使用され得るBLASTファミリーのプログラムには、ヌクレオチドデータベース配列に対するヌクレオチド問い合わせ配列のためのBLASTN、タンパク質データベース配列に対するヌクレオチド問い合わせ配列のためのBLASTX、タンパク質データベース配列に対するタンパク質問い合わせ配列のためのBLASTP、ヌクレオチドデータベース配列に対するタンパク質問い合わせ配列のためのTBLASTN、及びヌクレオチドデータベース配列に対するヌクレオチド問い合わせ配列のためのTBLASTXが含まれる。Current Protocols in Molecular Biology，Chapter 19，Ausubel，et al.，Eds.，Greene Publishing and Wiley－Interscience，New York，1995を参照されたい。上記のプログラムの新たなバージョンまたは全く新たなプログラムが今後入手可能となることは間違いなく、これらが本開示と共に使用されてもよい。

（d）「同一性パーセント」は、比較ウィンドウにわたって最適にアライメントされた２つの配列を比較することによって決定される値を意味し、ここにおいて、比較ウィンドウ内のポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列の一部分は、２つの配列を最適にアライメントするために、参照配列（付加、置換、または欠失を含まない）と比較して、付加、置換、または欠失（即ち、ギャップ）を含んでもよい。百分率は、両方の配列内で同一の核酸塩基またはアミノ酸残基が生じる位置の数を決定して合致した位置の数を得、合致した位置の数を、比較ウィンドウ内の位置の総数で割り、その結果に１００を掛けて配列同一性の百分率を得ることによって算出される。

【００４５】

「薬学的有効量」は、対象を治療する免疫グロブリンの量を指す。

【００４６】

「極性アミノ酸」は、生理的ｐＨで非荷電であるが、２個の原子により共有される電子対がそれらの原子のうちの一方により接近して保有される少なくとも１つの結合を有する、側鎖を有する親水性アミノ酸を指す。遺伝子コードによる極性アミノ酸には、Ａｓｎ（Ｎ）、Ｇｌｎ（Ｑ）Ｓｅｒ（Ｓ）、及びＴｈｒ（Ｔ）が含まれる。

【００４７】

本明細書で使用される「対象」という用語は、ヒトまたは非ヒト生物を指す。故に、本明細書に記載の方法、免疫グロブリン、及び抱合型免疫グロブリンは、ヒト疾患及び病態ならびに獣医学的疾患及び病態の両方に適用可能である。対象は、「患者」、即ち、疾疾患または病態のために医療ケアを受けている生きたヒトまたは非ヒト生物であり得るか、あるいは病理の徴候または特定の病態の存在／不在について調査されている、定義された疾病を持たないヒトまたは非ヒト生物であり得る。

【００４８】

「置換する」は、１個のアミノ酸残基を別のアミノ酸残基に置き換えることを指す。「置換する」には、例えば、アミノ酸残基をコードする１つ以上のＤＮＡ塩基対におけるミスセンス変異、または１個のアミノ酸を別のアミノ酸と交換するためのタンパク質の操作が含まれる。

【００４９】

本明細書で使用されるとき、「治療する」及び同様の用語は、疾患症状の重症度及び／

または頻度を低減すること、疾患の症状及び／または該症状の根本的な原因を排除すること、疾患の症状及び／またはそれらの根本的な原因の頻度または尤度を低減すること、ならびに疾患によって直接的であれ間接的であれ引き起こされる損傷を改善または修復することを指す。例示的な疾患には、がんが含まれるが、これらに限定されない。

【００５０】

「チオール反応性基」は、システインにおけるチオール基と共有結合を形成することができる試薬または基を指す。

【００５１】

「不対Ｃｙｓ８０」は、分子内または分子間ジスルフィド結合に関与しないチオール官能基を有する、免疫グロブリンに存在するＣｙｓ８０を指す。例えば、「不対Ｃｙｓ８０」のチオール官能基は、Ｃｙｓ１７１とのジスルフィド結合に関与しない。

【００５２】

本明細書で使用されるとき、「～と９０％同一」とは、参照品目（例えば、生物学的配列）と少なくとも９０％同一、９１％同一、９２％同一、９３％同一、９４％同一、９５％同一、９６％同一、９７％同一、９８％同一、９９％同一、または１００％同一であることを包含する。

【００５３】

本開示全体を通して次の略号が使用される：抗体薬物抱合体（ＡＤＣ）、薬物対抗体（ＤＡＲ）、フレームワーク領域（ＦＷＲ）、相補性決定領域（ＣＤＲ）、炭酸脱水酵素ＩＸ（ＣＡ９）、メソテリン（ＭＳＬＮ）、オーリスタチンＦ（ＡｕＦ）、可変重領域（ＶＨ）、可変軽領域（ＶＬ）、可変カッパ（Ｖκ）、ウサギ（Ｒｂ、ｒａｂｂ）、ガンマ定常領域（Ｃγ）、カッパ定常領域（Ｃκ）、モノクローナル抗体（ｍＡｂ）、アミノ酸８０位のシステイン（Ｃｙｓ８０）。

【００５４】

抱合型免疫グロブリンの生成

抱合型免疫グロブリンの生成方法が本明細書で開示され、本方法は、

ウサギに由来する免疫グロブリンの軽鎖可変領域におけるアミノ酸８０位のシステイン（「Ｃｙｓ８０」）をキャップ除去することであって、免疫グロブリンが重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む、キャップ除去することと、

チオール反応性化合物をＣｙｓ８０に抱合させることであって、チオール反応性化合物がチオール反応基を含む、抱合させることと、を含む。

【００５５】

好適な軽鎖可変領域には、例えば、カッパ軽鎖可変領域が含まれる。開示の免疫グロブリン軽鎖可変領域はウサギに由来する。一部の実施形態では、Ｃｙｓ８０は、ウサギ免疫グロブリンの天然の軽鎖可変領域中に存在し得る。Ｃｙｓ８０を有する軽鎖可変領域が由来し得る例示的なウサギには、アナウサギ（Ｏｒｙｃｔｏｌａｇｕｓ　ｃｕｎｉｃｕｌｕｓ）が含まれるが、これに限定されない。一部の態様では、例えば、軽鎖可変領域は、ニュージーランドホワイト（ＮＺＷ）ウサギに由来し得る。他の態様では、軽鎖可変領域は、ｂ９ウサギに由来し得る。

【００５６】

免疫グロブリンの軽鎖可変領域中のＣｙｓ８０をキャップ除去する例示的な方法は、免疫グロブリンを還元緩衝液と共にインキュベートした後、免疫グロブリンを酸化緩衝液共にインキュベートすることを含む。還元緩衝液は、１つ以上の還元剤を含む。好適な還元剤には、例えば、システイン（Ｌ－システイン及びＤ－システインを含む）、２－メルカプトエチルアミン、Ｔｒｉｓ（２－カルボキシエチル）ホスフィン、２－メルカプトエタンスルホン酸、２－メルカプトプロピオン酸、またはそれらの組み合わせが含まれる。好ましい実施形態では、還元緩衝液は、システインなどの弱い還元剤を含み得る。還元剤の濃度は、約０．２ｍＭ～約１００ｍＭ、約１ｍＭ～約１００ｍＭ、約２ｍＭ～約１００ｍＭ、約５ｍＭ～約１００ｍＭ、約１０ｍＭ～約１００ｍＭ、約２０ｍＭ～約１００ｍＭ、約４０ｍＭ～約１００ｍＭ、約５０ｍＭ～約１００ｍＭ、約０．２ｍＭ～約９０ｍＭ、約

０．２ｍＭ～約８０ｍＭ、約０．２ｍＭ～約７０ｍＭ、約０．２ｍＭ～約５０ｍＭ、約０．２ｍＭ～約３０ｍＭ、約０．２ｍＭ～約２５ｍＭ、約０．２ｍＭ～約１０ｍＭ、または約０．２ｍＭ～約５ｍＭであり得る。還元剤の濃度は、約０．２ｍＭであり得る。還元剤の濃度は、約１ｍＭであり得る。還元剤の濃度は、約２ｍＭであり得る。還元剤の濃度は、約５ｍＭであり得る。還元剤の濃度は、約１０ｍＭであり得る。還元剤の濃度は、約１５ｍＭであり得る。還元剤の濃度は、約２０ｍＭであり得る。還元剤の濃度は、約２５ｍＭであり得る。還元剤の濃度は、約３０ｍＭであり得る。還元剤の濃度は、約４０ｍＭであり得る。還元剤の濃度は、約５０ｍＭであり得る。還元剤の濃度は、約６０ｍＭであり得る。還元剤の濃度は、約７０ｍＭであり得る。還元剤の濃度は、約８０ｍＭであり得る。還元剤の濃度は、約９０ｍＭであり得る。還元剤の濃度は、約１００ｍＭであり得る。

【００５７】

一部の実施形態では、例えば、還元剤は、約２ｍＭ～約１０ｍＭのシステインを含み得る。一部の実施形態では、還元剤は、約２ｍＭ～約１０ｍＭのＤ－システインを含み得る。一部の実施形態では、還元剤は、約２ｍＭ～約１０ｍＭのＬ－システインを含み得る。一部の実施形態では、還元剤は、約１０ｍＭ～約１００ｍＭの２－メルカプトエチルアミンを含み得る。一部の実施形態では、還元剤は、約０．２ｍＭ～約５ｍＭのＴｒｉｓ（２－カルボキシエチル）ホスフィンを含み得る。一部の実施形態では、還元剤は、約２ｍＭ～約２０ｍＭの２－メルカプトエタンスルホン酸を含み得る。一部の実施形態では、還元剤は、約２ｍＭ～約２０ｍＭの２－メルカプトプロピオン酸を含み得る。

【００５８】

還元緩衝液は、緩衝剤、例えば、リン酸ナトリウム、リン酸カリウム、ＭＯＰＳ、ＨＥＰＥＳ、ホウ酸ナトリウム、ホウ酸カリウム、またはそれらの任意の組み合わせを更に含むことができる。好適な緩衝剤濃度には、約１０ｍＭ～約１００ｍＭ、約１５ｍＭ～約１００ｍＭ、約２０ｍＭ～約１００ｍＭ、約３０ｍＭ～約１００ｍＭ、約３５ｍＭ～約１００ｍＭ、約４０ｍＭ～約１００ｍＭ、約６０ｍＭ～約１００ｍＭ、約８０ｍＭ～約１００ｍＭ、約１０ｍＭ～約９０ｍＭ、約１０ｍＭ～約８０ｍＭ、約１０ｍＭ～約６０ｍＭ、約１０ｍＭ～約４０ｍＭ、約１０ｍＭ～約３０ｍＭ、または約１０ｍＭ～約２０ｍＭが含まれるが、これらに限定されない。

【００５９】

一部の実施形態では、例えば、還元緩衝液は、約１０ｍＭ～約１００ｍＭのリン酸ナトリウムを含有し得る。一部の実施形態では、還元緩衝液は、約１０ｍＭ～約１００ｍＭのリン酸カリウムを含有し得る。一部の実施形態では、還元緩衝液は、約１０ｍＭ～約１００ｍＭのＭＯＰＳを含有し得る。一部の実施形態では、還元緩衝液は、約１０ｍＭ～約１００ｍＭのＨＥＰＥＳを含有し得る。一部の実施形態では、還元緩衝液は、約１０ｍＭ～約１００ｍＭのホウ酸ナトリウムを含有し得る。一部の実施形態では、還元緩衝液は、約１０ｍＭ～約１００ｍＭのホウ酸カリウムを含有し得る。

【００６０】

還元緩衝液はまた、ＥＤＴＡ（エチレンジアミン四酢酸塩）、ＤＴＰＡ（ジエチレントリアミン五酢酸）、またはそれらの組み合わせが含まれるがこれらに限定されないキレート剤を含有し得る。キレート剤の好適な濃度には、約１０ｍＭ～約１００ｍＭ、約１０ｍＭ～約８０ｍＭ、約１０ｍＭ～約６０ｍＭ、約１０ｍＭ～約４０ｍＭ、約１０ｍＭ～約３０ｍＭ、約１０ｍＭ～約２０ｍＭ、約２０ｍＭ～約１００ｍＭ、約３０ｍＭ～約１００ｍＭ、約４０ｍＭ～約１００ｍＭ、約５０ｍＭ～約１００ｍＭ、約６０ｍＭ～約１００ｍＭ、または約８０ｍＭ～約１００ｍＭが含まれる。

【００６１】

還元緩衝液の好適なｐＨ範囲には、約６．８～約８．０が含まれる。一部の実施形態では、還元緩衝液のｐＨは約６．８である。一部の実施形態では、還元緩衝液のｐＨは約６．９である。一部の実施形態では、還元緩衝液のｐＨは約７．０である。一部の実施形態では、還元緩衝液のｐＨは約７．１である。一部の実施形態では、還元緩衝液のｐＨは約７．２である。一部の実施形態では、還元緩衝液のｐＨは約７．３である。一部の実施形

態では、還元緩衝液のｐＨは約７．４である。一部の実施形態では、還元緩衝液のｐＨは約７．５である。一部の実施形態では、還元緩衝液のｐＨは約７．６である。一部の実施形態では、還元緩衝液のｐＨは約７．７である。一部の実施形態では、還元緩衝液のｐＨは約７．８である。一部の実施形態では、還元緩衝液のｐＨは約７．９である。一部の実施形態では、還元緩衝液のｐＨは約８．０である。

【００６２】

免疫グロブリンは、約１２時間～約９６時間、約１８時間～約９６時間、約２４時間～約９６時間、約３０時間～約９６時間、約３６時間～約９６時間、約４２時間～約９６時間、約４８時間～約９６時間、約５４時間～約９６時間、約６０時間～約９６時間、約１２時間～約９０時間、約１２時間～約８４時間、約１２時間～約７８時間、約１２時間～約７２時間、約１２時間～約６６時間、約１２時間～約６０時間、約１２時間～約５４時間、約１２時間～約４８時間、約１２時間～約４２時間、約１２時間～約３６時間、または約１２時間～約３０時間、還元緩衝液と共にインキュベートされ得る。一部の実施形態では、免疫グロブリンは、約１２時間、還元緩衝液と共にインキュベートされ得る。一部の実施形態では、免疫グロブリンは、約１８時間、還元緩衝液と共にインキュベートされ得る。一部の実施形態では、免疫グロブリンは、約２４時間、還元緩衝液と共にインキュベートされ得る。一部の実施形態では、免疫グロブリンは、約３０時間、還元緩衝液と共にインキュベートされ得る。一部の実施形態では、免疫グロブリンは、約３６時間、還元緩衝液と共にインキュベートされ得る。一部の実施形態では、免疫グロブリンは、約４２時間、還元緩衝液と共にインキュベートされ得る。一部の実施形態では、免疫グロブリンは、約４８時間、還元緩衝液と共にインキュベートされ得る。一部の実施形態では、免疫グロブリンは、約５４時間、還元緩衝液と共にインキュベートされ得る。一部の実施形態では、免疫グロブリンは、約６０時間、還元緩衝液と共にインキュベートされ得る。一部の実施形態では、免疫グロブリンは、約６６時間、還元緩衝液と共にインキュベートされ得る。一部の実施形態では、免疫グロブリンは、約７２時間、還元緩衝液と共にインキュベートされ得る。一部の実施形態では、免疫グロブリンは、約７８時間、還元緩衝液と共にインキュベートされ得る。一部の実施形態では、免疫グロブリンは、約８４時間、還元緩衝液と共にインキュベートされ得る。一部の実施形態では、免疫グロブリンは、約９０時間、還元緩衝液と共にインキュベートされ得る。一部の実施形態では、免疫グロブリンは、約９６時間、還元緩衝液と共にインキュベートされ得る。一部の実施形態では、免疫グロブリンは、９６時間超、還元緩衝液と共にインキュベートされ得る。

【００６３】

好適な酸化緩衝液には、Ｔｒｉｓ系緩衝液、グルタミン系緩衝液、アルギニン系緩衝液、または他のアミノ酸系もしくは１級アミン系緩衝液が含まれるが、これらに限定されない。酸化緩衝液の濃度は、約２０ｍＭ～約１００ｍＭ、約４０ｍＭ～約１００ｍＭ、約６０ｍＭ～約１００ｍＭ、約８０ｍＭ～約１００ｍＭ、約２０ｍＭ～約８０ｍＭ、約２０ｍＭ～約６０ｍＭ、または約２０ｍＭ～約４０ｍＭであり得る。酸化緩衝液の濃度は、約２０ｍＭであり得る。酸化緩衝液の濃度は、約２５ｍＭであり得る。酸化緩衝液の濃度は、約３０ｍＭであり得る。酸化緩衝液の濃度は、約４０ｍＭであり得る。酸化緩衝液の濃度は、約５０ｍＭであり得る。酸化緩衝液の濃度は、約６０ｍＭであり得る。酸化緩衝液の濃度は、約７０ｍＭであり得る。酸化緩衝液の濃度は、約８０ｍＭであり得る。酸化緩衝液の濃度は、約９０ｍＭであり得る。還元剤の濃度は、約１００ｍＭであり得る。

【００６４】

免疫グロブリンは、約２４時間～約９６時間、約３０時間～約９６時間、約３６時間～約９６時間、約４２時間～約９６時間、約４８時間～約９６時間、約５４時間～約９６時間、約６０時間～約９６時間、約２４時間～約９０時間、約２４時間～約８４時間、約２４時間～約７８時間、約２４時間～約７２時間、約２４時間～約６６時間、約２４時間～約６０時間、約２４時間～約５４時間、約２４時間～約４８時間、約２４時間～約４２時間、または約２４時間～約３６時間、酸化緩衝液と共にインキュベートされ得る。一部の実施形態では、免疫グロブリンは、約２４時間、酸化緩衝液と共にインキュベートされ得

る。一部の実施形態では、免疫グロブリンは、約３０時間、酸化緩衝液と共にインキュベートされ得る。一部の実施形態では、免疫グロブリンは、約３６時間、酸化緩衝液と共にインキュベートされ得る。一部の実施形態では、免疫グロブリンは、約４２時間、酸化緩衝液と共にインキュベートされ得る。一部の実施形態では、免疫グロブリンは、約４８時間、酸化緩衝液と共にインキュベートされ得る。一部の実施形態では、免疫グロブリンは、約５４時間、酸化緩衝液と共にインキュベートされ得る。一部の実施形態では、免疫グロブリンは、約６０時間、酸化緩衝液と共にインキュベートされ得る。一部の実施形態では、免疫グロブリンは、約６６時間、酸化緩衝液と共にインキュベートされ得る。一部の実施形態では、免疫グロブリンは、約７２時間、酸化緩衝液と共にインキュベートされ得る。一部の実施形態では、免疫グロブリンは、約７８時間、酸化緩衝液と共にインキュベートされ得る。一部の実施形態では、免疫グロブリンは、約８４時間、酸化緩衝液と共にインキュベートされ得る。一部の実施形態では、免疫グロブリンは、約９０時間、酸化緩衝液と共にインキュベートされ得る。一部の実施形態では、免疫グロブリンは、約９６時間、酸化緩衝液と共にインキュベートされ得る。一部の実施形態では、免疫グロブリンは、９６時間超、酸化緩衝液と共にインキュベートされ得る。

【００６５】

酸化緩衝液の好適なｐＨ範囲には、約７．５～約９．０が含まれる。一部の実施形態では、酸化緩衝液のｐＨは、約７．５であり得る。一部の実施形態では、酸化緩衝液のｐＨは、約７．６であり得る。一部の実施形態では、酸化緩衝液のｐＨは、約７．７であり得る。一部の実施形態では、酸化緩衝液のｐＨは、約７．８であり得る。一部の実施形態では、酸化緩衝液のｐＨは、約７．９であり得る。一部の実施形態では、酸化緩衝液のｐＨは、約８．０であり得る。一部の実施形態では、酸化緩衝液のｐＨは、約８．１であり得る。一部の実施形態では、酸化緩衝液のｐＨは、約８．２であり得る。一部の実施形態では、酸化緩衝液のｐＨは、約８．３である。一部の実施形態では、酸化緩衝液のｐＨは、約８．４である。一部の実施形態では、酸化緩衝液のｐＨは、約８．５である。一部の実施形態では、酸化緩衝液のｐＨは、約８．６である。一部の実施形態では、酸化緩衝液のｐＨは、約８．７である。一部の実施形態では、酸化緩衝液のｐＨは、約８．８である。一部の実施形態では、酸化緩衝液のｐＨは、約８．９である。一部の実施形態では、酸化緩衝液のｐＨは、約９．０である。

【００６６】

本方法は、免疫グロブリンを基質上に固定してから還元緩衝液と共にインキュベートし、酸化緩衝液と共にインキュベートした後、免疫グロブリンを基質から溶出させることを更に含み得る。好適な基質には、免疫グロブリンが結合し溶出され得る任意の表面、例えば、タンパク質Ａ、タンパク質Ｇ、タンパク質Ｌ、抗Ｆａｂ抗体、抗Ｆｃ抗体、抗Ｍａｂ系アフィニティ担体、及び強カチオン交換樹脂が含まれるが、これらに限定されない。一部の実施形態では、基質は、タンパク質Ａであり得る。一部の実施形態では、基質は、タンパク質Ｇであり得る。一部の実施形態では、基質は、タンパク質Ｌであり得る。一部の実施形態では、基質は、抗Ｆａｂ抗体であり得る。一部の実施形態では、基質は、抗Ｆｃ抗体を含み得る。一部の実施形態では、基質は、抗ＭＡｂを含み得る。一部の実施形態では、基質は、強カチオン交換樹脂を含み得る。

【００６７】

開示される免疫グロブリンのキャップ除去方法は、基質を平衡化すること、免疫グロブリンを基質に固定すること、基質上に固定した免疫グロブリンを還元緩衝液と共にインキュベートしてキャッピング基を除去すること、基質上に固定した免疫グロブリンを酸化緩衝液と共にインキュベートすること、免疫グロブリンを基質から溶出させること、及び免疫グロブリンを中和することを含み得る。

【００６８】

当業者であれば、免疫グロブリンを基質から溶出させるための緩衝液、濃度、ｐＨ、及び時間が、少なくとも部分的にはその基質によって決まることになることを認識し得る。例えば、基質がタンパク質Ａである実施形態では、免疫グロブリンは、グリシン（例えば

、ｐＨ２．９の０．１Ｍ）を使用してタンパク質Ａから溶出させることができる。一部の実施形態では、溶出は、ｐＨが低い緩衝液中で行われ得る。

【００６９】

免疫グロブリンの中和は、免疫グロブリンを、Ｔｒｉｓ系緩衝液、リン酸ナトリウム系緩衝液、またはリン酸カリウム系緩衝液（本明細書では「中和緩衝液」と称する）中でインキュベートすることを含み得る。中和緩衝液は、約０．５Ｍ～約２Ｍの濃度、及び約８．０～約９．５のｐＨを有し得る。

【００７０】

抱合は、チオール反応性化合物を溶解液中に溶解させること、及び溶解させたチオール反応性化合物を抱合緩衝液中で免疫グロブリンと共にインキュベートすることによって行われ得る。

【００７１】

マレイミド系化合物を含むがこれに限定されない水溶性チオール反応性化合物のための好適な溶解液には、有機水混和性溶媒、例えば、ジメチルスルホキシド（ＤＭＳＯ）が含まれる。水溶性チオール反応性化合物のための好適な溶解液には、水または緩衝水溶液、例えば、ｐＨ７．２のリン酸緩衝生理食塩水（１×ＰＢＳ）が含まれるが、これらに限定されない。

【００７２】

チオール反応性化合物の好適な濃度には、約５ｍＭ～約１００ｍＭ、約１０ｍＭ～約１００ｍＭ、約２５ｍＭ～約１００ｍＭ、約４０ｍＭ～約１００ｍＭ、約５５ｍＭ～約１００ｍＭ、約７０ｍＭ～約１００ｍＭ、約１０ｍＭ～約９０ｍＭ、約１０ｍＭ～約７５ｍＭ、約１０ｍＭ～約６０ｍＭ、約１０ｍＭ～約５０ｍＭ、約１０ｍＭ～約４０ｍＭ、または約１０ｍＭ～約３０ｍＭが含まれる。一部の実施形態では、チオール反応性化合物の濃度は、約１０ｍＭであり得る。一部の実施形態では、チオール反応性化合物の濃度は、約２０ｍＭであり得る。一部の実施形態では、チオール反応性化合物の濃度は、約３０ｍＭであり得る。一部の実施形態では、チオール反応性化合物の濃度は、約４０ｍＭであり得る。一部の実施形態では、チオール反応性化合物の濃度は、約５０ｍＭであり得る。一部の実施形態では、チオール反応性化合物の濃度は、約６０ｍＭであり得る。一部の実施形態では、チオール反応性化合物の濃度は、約７０ｍＭであり得る。一部の実施形態では、チオール反応性化合物の濃度は、約８０ｍＭであり得る。一部の実施形態では、チオール反応性化合物の濃度は、約９０ｍＭであり得る。一部の実施形態では、チオール反応性化合物の濃度は、約１００ｍＭであり得る。

【００７３】

免疫グロブリンの好適な濃度には、約０．１ｍｇ／ｍｌ～約２０ｍｇ／ｍｌ、約０．５ｍｇ／ｍｌ～約２０ｍｇ／ｍｌ、約１ｍｇ／ｍｌ～約２０ｍｇ／ｍｌ、約５ｍｇ／ｍｌ～約２０ｍｇ／ｍｌ、約１０ｍｇ／ｍｌ～約２０ｍｇ／ｍｌ、約０．１ｍｇ／ｍｌ～約１５ｍｇ／ｍｌ、約０．１ｍｇ／ｍｌ～約１２ｍｇ／ｍｌ、約０．１ｍｇ／ｍｌ～約１０ｍｇ／ｍｌ、約０．１ｍｇ／ｍｌ～約５ｍｇ／ｍｌ、または約０．１ｍｇ／ｍｌ～約２ｍｇ／ｍｌが含まれる。一部の実施形態では、免疫グロブリンの濃度は、約０．１ｍｇ／ｍｌであり得る。一部の実施形態では、免疫グロブリンの濃度は、約０．５ｍｇ／ｍｌであり得る。一部の実施形態では、免疫グロブリンの濃度は、約１ｍｇ／ｍｌであり得る。一部の実施形態では、免疫グロブリンの濃度は、約２ｍｇ／ｍｌであり得る。一部の実施形態では、免疫グロブリンの濃度は、約５ｍｇ／ｍｌであり得る。一部の実施形態では、免疫グロブリンの濃度は、約１０ｍｇ／ｍｌであり得る。一部の実施形態では、免疫グロブリンの濃度は、約１５ｍｇ／ｍｌであり得る。一部の実施形態では、免疫グロブリンの濃度は、約２０ｍｇ／ｍｌであり得る。

【００７４】

チオール反応性化合物：免疫グロブリンの好適な割合は、約３：１～２０：１である。一部の実施形態では、チオール反応性化合物：免疫グロブリンの割合は、３：１である。一部の実施形態では、チオール反応性化合物：免疫グロブリンの割合は、４：１である。

一部の実施形態では、チオール反応性化合物：免疫グロブリンの割合は、５：１である。一部の実施形態では、チオール反応性化合物：免疫グロブリンの割合は、６：１である。一部の実施形態では、チオール反応性化合物：免疫グロブリンの割合は、７：１である。一部の実施形態では、チオール反応性化合物：免疫グロブリンの割合は、８：１である。一部の実施形態では、チオール反応性化合物：免疫グロブリンの割合は、９：１である。一部の実施形態では、チオール反応性化合物：免疫グロブリンの割合は、１０：１である。一部の実施形態では、チオール反応性化合物：免疫グロブリンの割合は、１１：１である。一部の実施形態では、チオール反応性化合物：免疫グロブリンの割合は、１２：１である。一部の実施形態では、チオール反応性化合物：免疫グロブリンの割合は、１３：１である。一部の実施形態では、チオール反応性化合物：免疫グロブリンの割合は、１４：１である。一部の実施形態では、チオール反応性化合物：免疫グロブリンの割合は、１５：１である。一部の実施形態では、チオール反応性化合物：免疫グロブリンの割合は、１６：１である。一部の実施形態では、チオール反応性化合物：免疫グロブリンの割合は、１７：１である。一部の実施形態では、チオール反応性化合物：免疫グロブリンの割合は、１８：１である。一部の実施形態では、チオール反応性化合物：免疫グロブリンの割合は、１９：１である。一部の実施形態では、チオール反応性化合物：免疫グロブリンの割合は、２０：１である。

【００７５】

インキュベーションは、例を挙げると、１×ＰＢＳ、ｐＨ７．２のリン酸ナトリウム、リン酸カリウム、ホウ酸ナトリウム、及びＨＥＰＥＳなどを含むいくつかの好適な抱合緩衝液中で行われ得る。抱合緩衝液の濃度には、約５ｍＭ～約１００ｍＭ、約１０ｍＭ～約１００ｍＭ、約２０ｍＭ～約１００ｍＭ、約３０ｍＭ～約１００ｍＭ、約４５ｍＭ～約１００ｍＭ、約６０ｍＭ～約１００ｍＭ、約７５ｍＭ～約１００ｍＭ、約１０ｍＭ～約９０ｍＭ、約１０ｍＭ～約７５ｍＭ、約１０ｍＭ～約６０ｍＭ、約１０ｍＭ～約４５ｍＭ、または約１０ｍＭ～約３０ｍＭが含まれる。一部の実施形態では、抱合緩衝液の濃度は、約１０ｍＭであり得る。一部の実施形態では、抱合緩衝液の濃度は、約２０ｍＭであり得る。一部の実施形態では、抱合緩衝液の濃度は、約３０ｍＭであり得る。一部の実施形態では、抱合緩衝液の濃度は、約４０ｍＭであり得る。一部の実施形態では、抱合緩衝液の濃度は、約５０ｍＭであり得る。一部の実施形態では、抱合緩衝液の濃度は、約６０ｍＭであり得る。一部の実施形態では、抱合緩衝液の濃度は、約７０ｍＭであり得る。一部の実施形態では、抱合緩衝液の濃度は、約８０ｍＭであり得る。一部の実施形態では、抱合緩衝液の濃度は、約９０ｍＭであり得る。一部の実施形態では、抱合緩衝液の濃度は、約１００ｍＭであり得る。

【００７６】

抱合緩衝液は、塩化ナトリウムを更に含み得る。塩化ナトリウムの好適な濃度には、約０ｍＭ～約５００ｍＭ、約２５ｍＭ～約５００ｍＭ、約５０ｍＭ～約５００ｍＭ、約７５ｍＭ～約５００ｍＭ、約１００ｍＭ～約５００ｍＭ、約１５０ｍＭ～約５００ｍＭ、約２００ｍＭ～約５００ｍＭ、約２５０ｍＭ～約５００ｍＭ、約３００ｍＭ～約５００ｍＭ、約３５０ｍＭ～約５００ｍＭ、約４００ｍＭ～約５００ｍＭ、約０ｍＭ～約４００ｍＭ、約０ｍＭ～約３５０ｍＭ、約０ｍＭ～約３００ｍＭ、約０ｍＭ～約２５０ｍＭ、約０ｍＭ～約２００ｍＭ、約０ｍＭ～約１５０ｍＭ、約０ｍＭ～約１００ｍＭ、約０ｍＭ～約５０ｍＭ、または約０ｍＭ～約２５ｍＭが含まれる。一部の実施形態では、塩化ナトリウムの濃度は、約２５ｍＭであり得る。一部の実施形態では、塩化ナトリウムの濃度は、約５０ｍＭであり得る。一部の実施形態では、塩化ナトリウムの濃度は、約７５ｍＭであり得る。一部の実施形態では、塩化ナトリウムの濃度は、約１００ｍＭであり得る。一部の実施形態では、塩化ナトリウムの濃度は、約１５０ｍＭであり得る。一部の実施形態では、塩化ナトリウムの濃度は、約２００ｍＭであり得る。一部の実施形態では、塩化ナトリウムの濃度は、約２５０ｍＭであり得る。一部の実施形態では、塩化ナトリウムの濃度は、約３００ｍＭであり得る。一部の実施形態では、塩化ナトリウムの濃度は、約３５０ｍＭであり得る。一部の実施形態では、塩化ナトリウムの濃度は、約４００ｍＭであり得る。一

部の実施形態では、塩化ナトリウムの濃度は、約５００ｍＭであり得る。
【００７７】
抱合緩衝液のｐＨは、約６．５～約８．５であり得る。一部の実施形態では、抱合緩衝液のｐＨは、約６．５であり得る。一部の実施形態では、抱合緩衝液のｐＨは、約６．６であり得る。一部の実施形態では、抱合緩衝液のｐＨは、約６．７であり得る。一部の実施形態では、抱合緩衝液のｐＨは、約６．８であり得る。一部の実施形態では、抱合緩衝液のｐＨは、約６．９であり得る。一部の実施形態では、抱合緩衝液のｐＨは、約７．０であり得る。一部の実施形態では、抱合緩衝液のｐＨは、約７．１であり得る。一部の実施形態では、抱合緩衝液のｐＨは、約７．２であり得る。一部の実施形態では、抱合緩衝液のｐＨは、約７．３であり得る。一部の実施形態では、抱合緩衝液のｐＨは、約７．４であり得る。一部の実施形態では、抱合緩衝液のｐＨは、約７．５であり得る。一部の実施形態では、抱合緩衝液のｐＨは、約７．６であり得る。一部の実施形態では、抱合緩衝液のｐＨは、約７．７であり得る。一部の実施形態では、抱合緩衝液のｐＨは、約７．８であり得る。一部の実施形態では、抱合緩衝液のｐＨは、約７．９であり得る。一部の実施形態では、抱合緩衝液のｐＨは、約８．０であり得る。一部の実施形態では、抱合緩衝液のｐＨは、約８．１であり得る。一部の実施形態では、抱合緩衝液のｐＨは、約８．２であり得る。一部の実施形態では、抱合緩衝液のｐＨは、約８．３であり得る。一部の実施形態では、抱合緩衝液のｐＨは、約８．４であり得る。一部の実施形態では、抱合緩衝液のｐＨは、約８．５であり得る。
【００７８】
抱合緩衝液中のチオール反応性化合物の溶解性を助長するために、抱合緩衝液中の有機水混和性溶媒の最終濃度は、約０％～約２０％、約２％～約２０％、約５％～約２０％、約８％～約２０％、約１１％～約２０％、約１６％～約２０％、約０％～約１８％、約０％～約１５％、約０％～約１２％、約０％～約１０％、約０％～約８％、約０％～約６％、または約０％～約２％であってもよい。
【００７９】
抱合緩衝液は、抱合緩衝液中のチオール反応性化合物の溶解度を助長するためにプロピレングリコールを更に含み得る。プロピレングリコールの好適な濃度には、約１０％～約５０％、約２０％～約５０％、約３０％～約５０％、約４０％～約５０％、約１０％～約４０％、約１０％～約３０％、または約１０％～約２０％が含まれる。一部の実施形態では、プロピレングリコールの濃度は、約１０％であり得る。一部の実施形態では、プロピレングリコールの濃度は、約２０％であり得る。一部の実施形態では、プロピレングリコールの濃度は、約３０％であり得る。一部の実施形態では、プロピレングリコールの濃度は、約４０％であり得る。一部の実施形態では、プロピレングリコールの濃度は、約５０％であり得る。
【００８０】
抱合緩衝液は、抱合緩衝液中の抱合型免疫グロブリンの溶解度を助長するために非イオン性界面活性剤を更に含み得る。例示的な非イオン性界面活性剤には、ポリソルベート－２０またはポリソルベート－８０が含まれるが、これらに限定されない。非イオン性界面活性剤の好適な濃度には、約０％～約１％、約０．１％～約１％、約０．３％～約１％、約０．５％～約１％、約０．７％～約１％、約０％～約０．８％、約０％～約０．６％、約０％～約０．４％、または約０％～約０．２％が含まれる。一部の実施形態では、非イオン性界面活性剤の濃度は、約０．１％であり得る。一部の実施形態では、非イオン性界面活性剤の濃度は、約０．２％であり得る。一部の実施形態では、非イオン性界面活性剤の濃度は、約０．３％であり得る。一部の実施形態では、非イオン性界面活性剤の濃度は、約０．４％であり得る。一部の実施形態では、非イオン性界面活性剤の濃度は、約０．５％であり得る。一部の実施形態では、非イオン性界面活性剤の濃度は、約０．６％であり得る。一部の実施形態では、非イオン性界面活性剤の濃度は、約０．７％であり得る。一部の実施形態では、非イオン性界面活性剤の濃度は、約０．８％であり得る。一部の実施形態では、非イオン性界面活性剤の濃度は、約０．９％であり得る。一部の実施形態で

は、非イオン性界面活性剤の濃度は、約１．０％であり得る。

【００８１】

インキュベーションは、約２時間～約４８時間、約６時間～約４８時間、約１２時間～約４８時間、約２４時間～約４８時間、約３０時間～約４８時間、約３６時間～約４８時間、約４２時間～約４８時間、約２時間～約４２時間、約２時間～約３６時間、約２時間～約３０時間、約２時間～約２４時間、約２時間～約１８時間、約２時間～約１２時間、または約２時間～約６時間行われ得る。一部の実施形態では、インキュベーションは、２時間行われ得る。一部の実施形態では、インキュベーションは、６時間行われ得る。一部の実施形態では、インキュベーションは、１２時間行われ得る。一部の実施形態では、インキュベーションは、１８時間行われ得る。一部の実施形態では、インキュベーションは、２４時間行われ得る。一部の実施形態では、インキュベーションは、３０時間行われ得る。一部の実施形態では、インキュベーションは、３６時間行われ得る。一部の実施形態では、インキュベーションは、４２時間行われ得る。一部の実施形態では、インキュベーションは、４８時間行われ得る。

【００８２】

インキュベーションの温度は、約１８℃～約３７℃、約２０℃～約３７℃、約２２℃～約３７℃、約２４℃～約３７℃、約２６℃～約３７℃、約２８℃～約３７℃、約３０℃～約３７℃、約３２℃～約３７℃、約３４℃～約３７℃、約１８℃～約３４℃、約１８℃～約３２℃、約１８℃～約３０℃、約１８℃～約２８℃、約１８℃～約２６℃、または約１８℃～約２４℃であり得る。一部の実施形態では、インキュベーションは１８℃で行われ得る。一部の実施形態では、インキュベーションは２０℃で行われ得る。一部の実施形態では、インキュベーションは２２℃で行われ得る。一部の実施形態では、インキュベーションは２４℃で行われ得る。一部の実施形態では、インキュベーションは２６℃で行われ得る。一部の実施形態では、インキュベーションは２８℃で行われ得る。一部の実施形態では、インキュベーションは３０℃で行われ得る。一部の実施形態では、インキュベーションは３２℃で行われ得る。一部の実施形態では、インキュベーションは３４℃で行われ得る。一部の実施形態では、インキュベーションは３７℃で行われ得る。

【００８３】

組み込まれていないチオール反応性化合物は、Ｇ－２５樹脂、Ｇ－５０樹脂、Ｂｉｏｇｅｌ　Ｐ１、または排除限界範囲が５，０００～１０，０００Ｄａである他の樹脂を含むがこれらに限定されないいくつかの好適な樹脂を使用する脱塩クロマトグラフィーによって、抱合型免疫グロブリンから分離することができる。クロマトグラフィーは、規模に応じてカラム形式またはスピンカラム形式で行われ得る。脱塩に好適な緩衝液には、例えば、１×ＰＢＳ、リン酸ナトリウム、リン酸カリウム、ホウ酸ナトリウムが含まれる。あるいは、ＨＥＰＥＳ系緩衝液を１×ＰＢＳで置き換えてもよい。

【００８４】

例示的な実施形態では、抱合は、マレイミド系チオール反応性化合物をチオール反応性化合物の最終濃度１０ｍＭで１００％のジメチルスルホキシド（ＤＭＳＯ）中に溶解させることによって行うことができる。次に、溶解したチオール反応性化合物を、免疫グロブリンと共に、チオール反応性化合物：免疫グロブリン５：１のモル比にてｐＨ７．２の１×ＰＢＳ中免疫グロブリン濃度５ｍｇ／ｍｌでインキュベートし得る。インキュベーションは、２２℃で２４時間行われ得る。組み込まれていないチオール反応性化合物は、Ｇ－２５樹脂を１×ＰＢＳの泳動用緩衝液として使用する脱塩クロマトグラフィーによって抱合型免疫グロブリンから除去され得る。

【００８５】

好ましくは、チオール反応性化合物は、チオール反応基を介してＣｙｓ８０に抱合される。チオール反応基には、ハロアセチル、マレイミド、アジリジン、アクリロイル、アリール化剤、ビニルスルホン、ピリジルジスルフィド、ＴＮＢチオール、及びジスルフィド還元剤が含まれる。一部の実施形態では、チオール反応基は、マレイミドを含み得る。一部の実施形態では、チオール反応基は、ハロアセチルを含み得る。一部の実施形態では、

チオール反応基は、アジリジンを含み得る。一部の実施形態では、チオール反応基は、アクリロイルを含み得る。一部の実施形態では、チオール反応基は、アリール化剤を含み得る。一部の実施形態では、チオール反応基は、ビニルスルホンを含み得る。一部の実施形態では、チオール反応基は、ピリジルジスルフィドを含み得る。一部の実施形態では、チオール反応基は、ＴＮＢチオールを含み得る。一部の実施形態では、チオール反応基は、ジスルフィド還元剤を含み得る。

【００８６】

チオール反応基は、チオールのＳ－アルキル化によって反応して安定したチオエーテル産物を生成することができる、ヨードアセトアミド、マレイミド、ハロゲン化ベンジル、及びブロモメチルケトンを含む、いくつかの好適な試薬に由来し得る。

【００８７】

チオール反応基はリンカーに結合し得る。リンカーは、切断可能でないリンカーまたは切断可能なリンカーであり得る。例示的なリンカーには、例えば、ジスルフィド含有リンカー、アセタール系リンカー、及びケタール系リンカーが含まれる。一部の態様では、リンカーは、切断可能でないリンカーであり得る。好適な切断可能でないリンカーには、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）またはアルキルが含まれるが、これらに限定されない。一部の実施形態では、リンカーは、ＰＥＧを含み得る。一部の態様では、リンカーは、切断可能なリンカーであり得る。好適な切断可能なリンカーには、例えば、バリン－シトルリン－パラアミノベンジルが含まれる。一部の態様では、リンカーは、ジスルフィド含有リンカーであり得る。一部の態様では、リンカーは、アセタール系リンカーであり得る。一部の態様では、リンカーは、ケタール計リンカーであり得る。チオール反応基に共有結合するリンカーの例は、例えば、米国公開第２０１４００５０７４６号で提供されている。

【００８８】

チオール反応性化合物は、機能性剤を更に含み得る。好適な機能性剤には、例えば、フルオロフォア、蛍光色素、ポリペプチド、免疫グロブリン、抗生物質、核酸、放射性核種、化学リンカー、小分子、キレート剤、脂質、及び薬物が含まれる。一部の態様では、機能性剤は、フルオロフォアを含み得る。一部の態様では、機能性剤は、蛍光色素を含み得る。一部の態様では、機能性剤は、ポリペプチドを含み得る。一部の態様では、機能性剤は、免疫グロブリンを含み得る。一部の態様では、機能性剤は、抗生物質を含み得る。一部の態様では、機能性剤は、核酸（ＤＮＡまたはＲＮＡなど）を含み得る。一部の態様では、機能性剤は、放射性核種を含み得る。一部の態様では、機能性剤は、化学リンカー（例えば、例えば、ジベンジルシクロオクチン（ＤＢＣＯ）またはアジド）を含み得る。一部の態様では、機能性剤は、小分子を含み得る。一部の態様では、機能性剤は、キレート剤（例えば、中でも、ＤＯＴＡ、ＣＨＸ－Ａ」－ＤＴＰＡ、ＮＯＴＡ）を含み得る。一部の態様では、機能性剤は、脂質を含み得る。一部の態様では、機能性剤は、薬物を含み得る。一部の態様では、機能性剤は、先に挙げた機能性剤のうちのいずれかの組み合わせを含み得る。

【００８９】

チオール反応性化合物（即ち、第１のチオール反応性化合物）は、第２のチオール反応性化合物に結合し、第２のチオール反応性化合物は、第２の重鎖可変領域及び第２の軽鎖可変領域を有する第２の免疫グロブリンに結合し、第２の軽鎖可変領域は、アミノ酸８０位のシステイン（「Ｃｙｓ８０^{2}」）を有し、第２のチオール反応性化合物は、Ｃｙｓ８０^{2}に結合した第２のチオール反応基を含む。例えば、第１のチオール反応性化合物及び第２のチオール反応性化合物は、第１及び第２の化学リンカーを、それぞれ第１及び第２の機能性剤として有し得る。第１及び第２の化学リンカーは、例えば、クリック化学を含むいくつかの好適な手法によって互いに結合し得る。

【００９０】

好ましい実施形態では、Ｃｙｓ８０は不対であり得る。Ｃｙｓ８０を不対にするための好適な手段には、例えば、Ｃｙｓ８０を有する軽鎖可変領域を、１７１位のシステイン以

外のアミノ酸残基を有する定常ドメインによってキメラ化することを含む。

【００９１】

開示される方法は、キメラ化免疫グロブリンに対して行うことができる。このため、一部の実施形態では、免疫グロブリンはキメラ化免疫グロブリンであり得る。免疫グロブリンがキメラ化される実施形態では、抱合型免疫グロブリンを生成するための方法は、キメラ化免疫グロブリンの軽鎖可変領域におけるＣｙｓ８０をキャップ除去することであって、キメラ化免疫グロブリンが重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む、キャップ除去することと、チオール反応性化合物をＣｙｓ８０に抱合させることであって、チオール反応性化合物がチオール反応基を含む、抱合させることと、を含み得る。

【００９２】

あるいは、開示される方法は、キャップ除去の前に免疫グロブリンをキメラ化することを更に含み得る。例えば、抱合型免疫グロブリンの生成方法は、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む免疫グロブリンをキメラ化することであって、軽鎖可変領域がＣｙｓ８０を有するキメラ化することと、Ｃｙｓ８０をキャップ除去することと、チオール反応性化合物をＣｙｓ８０に抱合させることであって、チオール反応性化合物がチオール反応基を含む抱合させることと、を含み得る。

【００９３】

開示される方法は、ヒト化免疫グロブリンに対して行うことができる。このため、一部の実施形態では、免疫グロブリンはヒト化免疫グロブリンであり得る。免疫グロブリンがヒト化される実施形態では、抱合型免疫グロブリンを生成するための方法は、ヒト化免疫グロブリンの軽鎖可変領域におけるＣｙｓ８０をキャップ除去することであって、ヒト化免疫グロブリンが重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む、キャップ除去することと、チオール反応性化合物をＣｙｓ８０に抱合させることであって、チオール反応性化合物がチオール反応基を含む、抱合させることと、を含み得る。

【００９４】

あるいは、開示される方法は、キャップ除去の前に免疫グロブリンをヒト化することを更に含み得る。例えば、抱合型免疫グロブリンの生成方法は、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む免疫グロブリンをヒト化することであって、軽鎖可変領域がＣｙｓ８０を有するキメラ化することと、Ｃｙｓ８０をキャップ除去することと、チオール反応性化合物をＣｙｓ８０に抱合させることであって、チオール反応性化合物がチオール反応基を含む抱合させることと、を含み得る。

【００９５】

本方法は、８３位のアミノ酸を、Ｐｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸残基で置換することを更に含み得る。一部の態様では、本方法は、軽鎖可変領域の８３位のフェニルアラニンをアラニンで置換することを含み得る（「Ａｌａ８３」）。一部の態様では、本方法は、軽鎖可変領域の８３位のフェニルアラニンをバリンで置換することを含み得る（「Ｖａｌ８３」）。一部の態様では、本方法は、軽鎖可変領域の８３位のフェニルアラニンをイソロイシンで置換することを含み得る（「Ｉｌｅ８３」）。一部の態様では、本方法は、軽鎖可変領域の８３位のフェニルアラニンをトレオニンで置換することを含み得る（「Ｔｈｒ８３」）。一部の態様では、本方法は、軽鎖可変領域の８３位のフェニルアラニンをアルギニンで置換することを含み得る（「Ａｒｇ８３」）。一部の態様では、本方法は、軽鎖可変領域の８３位のフェニルアラニンをアスパラギンで置換することを含み得る（「Ａｓｎ８３」）。一部の態様では、本方法は、軽鎖可変領域の８３位のフェニルアラニンをアスパラギン酸（「Ａｓｐ８３」）で置換することを含み得る。一部の態様では、本方法は、軽鎖可変領域の８３位のフェニルアラニンをグルタミン酸（「Ｇｌｕ８３」）で置換することを含み得る。一部の態様では、本方法は、軽鎖可変領域の８３位のフェニルアラニンをグルタミンで置換することを含み得る（「Ｇｌｎ８３」）。一部の態様では、本方法は、軽鎖可変領域の８３位のフェニルアラニンをグリシンで置換することを含み得る（「Ｇｌｙ８３」）。一部の態様では、本方法は、軽鎖可変領域の８３位のフェニルアラニンをヒスチジンで置換することを含み得る（「Ｈｉｓ８３」）。一部の態様

では、本方法は、軽鎖可変領域の８３位のフェニルアラニンをロイシンで置換することを含み得る（「Ｌｅｕ８３」）。一部の態様では、本方法は、軽鎖可変領域の８３位のフェニルアラニンをメチオニンで置換することを含み得る（「Ｍｅｔ８３」）。一部の態様では、本方法は、軽鎖可変領域の８３位のフェニルアラニンをプロリンで置換することを含み得る（「Ｐｒｏ８３」）。一部の態様では、本方法は、軽鎖可変領域の８３位のフェニルアラニンをセリンで置換することを含み得る（「Ｓｅｒ８３」）。一部の態様では、本方法は、軽鎖可変領域の８３位のフェニルアラニンをトリプトファンで置換することを含み得る（「Ｔｒｐ８３」）。一部の態様では、本方法は、軽鎖可変領域の８３位のフェニルアラニンをチロシンで置換することを含み得る（「Ｔｙｒ８３」）。一部の実施形態では、本方法は、８３位のアミノ酸を、アラニン、バリン、イソロイシン、またはトレオニンを含むがこれらに限定されない極性または疎水性アミノ酸で置換することを更に含み得る。

【００９６】

開示されるキャップ除去法と組み合わせたアミノ酸８３位のＰｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸残基は、免疫グロブリンの凝集を減少させ、そのＣｙｓ８０抱合効率を増加させ得る。開示される方法によって達成される好適な免疫グロブリン凝集には、例えば、約５％未満、約７％未満、約１０％未満、約１２％未満、約１５％未満、約１７％未満、約２０％未満、約２２％、または約２５％未満が含まれる。開示される方法によって達成される好適な抱合効率には、例えば、約７０％超、約７３％超、約７６％超、約７９％超、約８２％超、約８５％超、約８８％超、約９１％超、約９４％超、約９７％、または約９９％超が含まれる。

【００９７】

抗原結合分子の生成方法

第１の抱合型免疫グロブリンを第２の抱合型免疫グロブリンと共にインキュベートして抗原結合分子を生成することを含む、抗原結合分子の生成方法も本明細書で提供され、

第１の抱合型免疫グロブリンは、第１の重鎖可変領域及び第１の軽鎖可変領域を含み、第１の軽鎖可変領域は、８０位のシステイン（「Ｃｙｓ８０^{1}」）を有し、Ｃｙｓ８０^{1}は、第１のチオール反応基を含む第１のチオール反応性化合物に抱合され、

第２の抱合型免疫グロブリンは、第２の重鎖可変領域及び第２の軽鎖可変領域を含み、第２の軽鎖可変領域は、８０位のシステイン（「Ｃｙｓ８０^{2}」）を有し、Ｃｙｓ８０^{2}は、第２のチオール反応基を含む第２のチオール反応性化合物に抱合される。

【００９８】

抗原結合分子には、多価及び／または他特異性抗原結合分子が含まれる。例えば、抗原結合分子には、単一特異性または二重特異性である二価、三価、及び四価の抗原結合分子が含まれる。一部の態様では、抗原結合分子は、二価であり単一特異性であり得る。一部の態様では、抗原結合分子は、二価であり二重特異性であり得る。一部の態様では、抗原結合分子は、三価であり単一特異性であり得る。一部の態様では、抗原結合分子は、三価であり二重特異性であり得る。一部の態様では、抗原結合分子は、四価であり単一特異性であり得る。一部の態様では、抗原結合分子は、四価であり二重特異性であり得る。一部の態様では、原子価は四価より大きくてもよい。一部の態様では、特異性は二重特異性より大きくてもよい。

【００９９】

Ｃｙｓ８０^{1}、Ｃｙｓ８０^{2}、またはそれらの両方は、不対であり得る。Ｃｙｓ８０を不対にするための好適な手段には、例えば、Ｃｙｓ８０を有する軽鎖可変領域を、１７１位のシステイン以外のアミノ酸残基を有する定常ドメインによってキメラ化することを含む。

【０１００】

一部の態様では、本方法は、Ｃｙｓ８０^{1}をキャップ除去することを更に含み得る。一部の態様では、本方法は、Ｃｙｓ８０^{2}をキャップ除去することを更に含み得る。他の態様では、本方法は、Ｃｙｓ８０^{1}及びＣｙｓ８０^{2}をキャップ除去することを更に含み得

る。

【０１０１】

キャップ除去は、第１の免疫グロブリン、第２の免疫グロブリン、またはそれらの両方を、還元緩衝液と共にインキュベートし、次いで第１の免疫グロブリン、第２の免疫グロブリン、またはそれらの両方を、酸化緩衝液と共にインキュベートすることを含み得る。抗原結合分子の生成方法の一部の態様では、キャップ除去は、第１の免疫グロブリン、第２の免疫グロブリン、またはそれらの両方を基質上に固定してから還元緩衝液共にインキュベートし、酸化緩衝液と共にインキュベートした後、第１の免疫グロブリン、第２の免疫グロブリン、またはそれらの両方を基質から溶出させることを更に含み得る。

【０１０２】

還元緩衝液、酸化緩衝液、濃度、ｐＨ、時間、及び基質を含む、好適なキャップ除去及び抱合条件は、「抱合型免疫グロブリンの生成」と題した節で開示され、本明細書において等しく適用可能である。

【０１０３】

一部の態様では、本方法は、第１のチオール反応性化合物を$Cys80^1$に抱合させることを更に含み得、第１のチオール反応性化合物は第１のチオール反応基を含む。一部の態様では、本方法は、第２のチオール反応性化合物を$Cys80^2$に抱合させることを更に含み得、第２のチオール反応性化合物は第２のチオール反応基を含む。更に他の態様では、本方法は、第１のチオール反応性化合物を$Cys80^1$に抱合させること、及び第２のチオール反応性化合物を$Cys80^2$に抱合させることを更に含み得、第１のチオール反応性化合物は第１のチオール反応基を含み、第２のチオール反応性化合物は第２のチオール反応基を含む。

【０１０４】

本方法は、キャップ除去と抱合との両方を更に含み得る。例えば、本方法は、インキュベーションステップの前に、

$Cys80^1$、$Cys80^2$、またはそれらの両方をキャップ除去することと、

第１のチオール反応性化合物を$Cys80^1$に抱合させること、第２のチオール反応性化合物を$Cys80^2$に抱合させること、またはそれらの両方を行うことと、を更に含み得、第１のチオール反応性化合物は第１のチオール反応基を含み、第２のチオール反応性化合物は第２のチオール反応基を含む。

【０１０５】

第１の免疫グロブリン、第２の免疫グロブリン、またはそれらの両方は、キメラ化され得る。これとは逆に、本方法は、第１の免疫グロブリンをキメラ化すること、第２の免疫グロブリンをキメラ化すること、または第１の免疫グロブリンと第２の免疫グロブリンとの両方をキメラ化することを更に含み得る。例えば、限定的ではなく、本方法は、インキュベーションステップの前に、

$Cys80^1$を含む第１の免疫グロブリンをキメラ化して、第１のキメラ免疫グロブリンを生成することと、

$Cys80^2$を含む第２の免疫グロブリンをキメラ化して、第２のキメラ免疫グロブリンを生成することと、

$Cys80^1$、$Cys80^2$、またはそれらの両方をキャップ除去することと、

第１のチオール反応性化合物を$Cys80^1$に抱合させること、第２のチオール反応性化合物を$Cys80^2$に抱合させこと、またはそれらの両方を行うことと、を更に含み、第１のチオール反応性化合物は第１のチオール反応基を含み、第２のチオール反応性化合物は第２のチオール反応基を含む。

【０１０６】

第１の免疫グロブリン、第２の免疫グロブリン、またはそれらの両方は、ヒト化され得る。これとは逆に、本方法は、第１の免疫グロブリンをヒト化すること、第２の免疫グロブリンをヒト化すること、または第１の免疫グロブリンと第２の免疫グロブリンとの両方をヒト化することを更に含み得る。例えば、限定的ではなく、本方法は、インキュベーシ

ョンステップの前に、
Ｃｙｓ８０^{1}を含む第１の免疫グロブリンをヒト化して、第１のヒト化免疫グロブリンを生成することと、
Ｃｙｓ８０^{2}を含む第２の免疫グロブリンをヒト化して、第２のヒト化免疫グロブリンを生成することと、
前記Ｃｙｓ８０^{1}、Ｃｙｓ８０^{2}、またはそれらの両方をキャップ除去することと、
第１のチオール反応性化合物をＣｙｓ８０^{1}に抱合させること、第２のチオール反応性化合物をＣｙｓ８０^{2}に抱合させこと、またはそれらの両方を行うことと、を更に含み、第１のチオール反応性化合物は第１のチオール反応基を含み、第２のチオール反応性化合物は第２のチオール反応基を含む。

【０１０７】
好ましくは、第１及び第２のチオール反応性化合物は、第１のチオール反応基及び第２のチオール反応基を介して、それぞれＣｙｓ８０^{1}及びＣｙｓ８０^{2}に抱合される。好適なチオール反応基には、ハロアセチル、マレイミド、アジリジン、アクリロイル、アリール化剤、ビニルスルホン、ピリジルジスルフィド、ＴＮＢチオール、及びジスルフィド還元剤が含まれる。一部の実施形態では、第１のチオール反応基、第２のチオール反応基、またはそれらの両方は、マレイミドを含み得る。一部の実施形態では、第１のチオール反応基、第２のチオール反応基、またはそれらの両方は、ハロアセチルを含み得る。一部の実施形態では、第１のチオール反応基、第２のチオール反応基、またはそれらの両方は、アジリジンを含み得る。一部の実施形態では、第１のチオール反応基、第２のチオール反応基、またはそれらの両方は、アクリロイルを含み得る。一部の実施形態では、第１のチオール反応基、第２のチオール反応基、またはそれらの両方は、アリール化剤を含み得る。一部の実施形態では、第１のチオール反応基、第２のチオール反応基、またはそれらの両方は、ビニルスルホンを含み得る。一部の実施形態では、第１のチオール反応基、第２のチオール反応基、またはそれらの両方は、ピリジルジスルフィドを含み得る。一部の実施形態では、第１のチオール反応基、第２のチオール反応基、またはそれらの両方は、ＴＮＢチオールを含み得る。一部の実施形態では、第１のチオール反応基、第２のチオール反応基、またはそれらの両方は、ジスルフィド還元剤を含み得る。

【０１０８】
第１のチオール反応基、第２のチオール反応基、またはそれらの両方は、リンカーに結合し得る。一部の態様では、第１のチオール反応基は、リンカー（「第１のリンカー」）に結合し得る。一部の態様では、第２のチオール反応基は、リンカー（「第２のリンカー」）に結合し得る。更に他の態様では、第１のチオール反応基は第１のリンカーに結合し得、第２のチオール反応基は第２のリンカーに結合し得る。好適な第１及び第２のリンカーは、切断可能でないリンカーまたは切断可能なリンカーであり得る。例示的な第１及び第２のリンカーには、例えば、ジスルフィド含有リンカー、アセタール系リンカー、及びケタール系リンカーが含まれる。一部の態様では、第１のリンカー、第２のリンカー、またはそれらの両方は、切断可能でないリンカーであり得る。好適な切断可能でないリンカーには、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）またはアルキルが含まれるが、これらに限定されない。一部の実施形態では、第１のリンカー、第２のリンカー、またはそれらの両方は、ＰＥＧを含み得る。一部の態様では、第１のリンカー、第２のリンカー、またはそれらの両方は、切断可能なリンカーであり得る。好適な切断可能なリンカーには、例えば、バリン－シトルリン－パラアミノベンジルが含まれる。一部の態様では、第１のリンカー、第２のリンカー、またはそれらの両方は、ジスルフィド含有リンカーであり得る。一部の態様では、第１のリンカー、第２のリンカー、またはそれらの両方は、アセタール系リンカーであり得る。一部の態様では、第１のリンカー、第２のリンカー、またはそれらの両方は、ケタール系リンカーであり得る。チオール反応基に共有結合するリンカーの例は、例えば、米国公開第２０１４／００５０７４６号で提供されている。

【０１０９】
第１のチオール反応性化合物、第２のチオール反応性化合物、またはそれらの両方は、

機能性剤を更に含み得る。一部の態様では、第１のチオール反応性化合物は、機能性剤（「第１の機能性剤」）を更に含み得る。一部の態様では、第２のチオール反応性化合物は、機能性剤（「第２の機能性剤」）を更に含み得る。更に他の態様では、第１のチオール反応性化合物は第１の機能性剤を更に含み得、第２のチオール反応性化合物は第２の機能性剤を更に含み得る。

【０１１０】

好適な機能性剤には、例えば、化学リンカーが含まれる。好ましくは、第１のチオール反応性化合物の化学リンカー（「第１の化学リンカー」）及び第２のチオール反応性化合物の化学リンカー（「第２の化学リンカー」）は、結合し得る。例えば、限定することを意図しないが、第１または第２の化学リンカーのうちの一方がジベンジルシクロオクチン（ＤＢＣＯ）であり、それらのうちのもう一方がアジドであり得る。一部の実施形態では、例えば、第１の化学リンカーがＤＢＣＯであり、第２の化学リンカーがアジドであり得る。これとは逆に、第１の化学リンカーがアジドであり、第２の化学リンカーがＤＢＣＯであり得る。ＤＢＣＯとアジドとは結合することができ、これが第１の免疫グロブリンと第２の免疫グロブリンとの抱合をもたらす。例えば、第１の免疫グロブリン及び第２の免疫グロブリンは、クリック化学によって互いに抱合することができる。

【０１１１】

例示的な実施形態では、チオール反応性化合物は、マレイミド－ＰＥＧ４－アジド及びマレイミド－ＰＥＧ４－ジベンゾシクロオクチンを含み得る。一部の態様では、例えば、第１のチオール反応性化合物はマレイミド－ＰＥＧ４－アジドであり得、第２のチオール反応性化合物はマレイミド－ＰＥＧ４－ジベンゾシクロオクチンであり得る。一部の態様では、第１のチオール反応性化合物はマレイミド－ＰＥＧ４－ジベンゾシクロオクチンであり得、第２のチオール反応性化合物はマレイミド－ＰＥＧ４－アジドであり得る。

【０１１２】

第１の免疫グロブリン、第２の免疫グロブリン、またはそれらの両方は、Ｆａｂであり得る。一部の実施形態では、第１の免疫グロブリンはＦａｂ（「第１のＦａｂ」）であり得る。一部の実施形態では、第２の免疫グロブリンはＦａｂ（「第２のＦａｂ」）であり得る。更に他の実施形態では、第１の免疫グロブリンは第１のＦａｂであり得、第２の免疫グロブリンは第２のＦａｂであり得る。

【０１１３】

一部の実施形態では、本方法は、インキュベーションの前に、第１のＦａｂ、第２のＦａｂ、またはそれらの両方を生成することを含む。Ｆａｂの好適な生成技法は、当該技術分野で既知であり、例えば、免疫グロブリンを全てまたは部分的に分解してＦａｂを産生させるか、または免疫グロブリンをＦａｂとして組換えによって発現させることを含む。例えば、抗原結合分子の生成方法は、インキュベーションの前に、

第１の免疫グロブリン、第２の免疫グロブリン、またはそれらの両方をパパインによって分解して、第１のＦａｂ、第２のＦａｂ、または第１及び第２のＦａｂを生成することであって、第１の免疫グロブリンが第１の重鎖及び第１の軽鎖を含み、第１の軽鎖が８０位のシステイン（「$Cys80^1$」）を有し、第２の免疫グロブリンが第２の重鎖及び第１の軽鎖を含み、第２の軽鎖が８０位のシステイン（「$Cys80^2$」）を有する、生成すること、あるいは

第１の重鎖と８０位のシステイン（$Cys80^1$）とを有する第１の軽鎖を含む第１のＦａｂを組換えによって発現させること、第２の重鎖と８０位のシステイン（$Cys80^2$）を有する第２の軽鎖とを含む第２のＦａｂを組換えによって発現させること、またはそれらの両方を行うこと、

ならびに$Cys80^1$の第１のＦａｂを第１のチオール反応性化合物に抱合させて第１の抱合型Ｆａｂを生成すること、$Cys80^2$の第２のＦａｂを第２のチオール反応性化合物に抱合させて第２の抱合型Ｆａｂを生成すること、またはそれらの両方を行うこと、を更に含み得る。

【０１１４】

抗原結合分子の生成方法は、第１の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸をＰｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸残基で置換することを更に含み得る。抗原結合分子の生成方法は、第２の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸をＰｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸残基で置換することを更に含み得る。抗原結合分子の生成方法は、第１の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸をＰｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸残基で置換すること、及び第２の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸をＰｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸残基で置換することを更に含み得る。

【０１１５】

一部の態様では、本方法は、第１の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸、第２の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸、または第１の軽鎖可変領域及び第２の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸を、アラニン（「Ａｌａ８３」）、バリン（「Ｖａｌ８３」）、イソロイシン（「Ｉｌｅ８３」）、トレオニン（「Ｔｈｒ８３」）、アルギニン（「Ａｒｇ８３」）、アスパラギン（「Ａｓｎ８３」）、アスパラギン酸（「Ａｓｐ８３」）、グルタミン酸（「Ｇｌｕ８３」）、グルタミン（「Ｇｌｎ８３」）、グリシン（「Ｇｌｙ８３」）、ヒスチジン（「Ｈｉｓ８３」）、ロイシン（「Ｌｅｕ８３」）、メチオニン（「Ｍｅｔ８３」）、プロリン（「Ｐｒｏ８３」）、セリン（「Ｓｅｒ８３」）、トリプトファン（「Ｔｒｐ８３」）、またはチロシン（「Ｔｙｒ８３」）で置換することを含み得る。

【０１１６】

第１の軽鎖可変領域における８３位のアミノ酸は、第２の軽鎖可変領域における８３位のアミノ酸と同じであり得る。これとは逆に、第１の軽鎖可変領域における８３位のアミノ酸は、第２の軽鎖可変領域における８３位の極性または疎水性アミノ酸とは異なり得る。第１の軽鎖可変領域におけるＰｈｅ、Ｌｙｓ、もしくはＣｙｓ以外の８３位のアミノ酸、及び／または第２の軽鎖可変領域におけるＰｈｅ、Ｌｙｓ、もしくはＣｙｓ以外の８３位のアミノ酸は、アラニン、バリン、イソロイシン、またはトレオニンを含むがこれらに限定されない、極性または疎水性アミノ酸であり得る。一部の態様では、本方法は、第１の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸、第２の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸、または第１の軽鎖可変領域及び第２の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸をバリン（「Ｖａｌ８３」）で置換することを含み得る。一部の態様では、本方法は、第１の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸、第２の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸、または第１の軽鎖可変領域及び第２の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸をイソロイシン（「Ｉｌｅ８３」）で置換することを含み得る。一部の態様では、本方法は、第１の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸、第２の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸、または第１の軽鎖可変領域及び第２の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸をトレオニン（「Ｔｈｒ８３」）で置換することを含み得る。第１の軽鎖可変領域における８３位の極性または疎水性アミノ酸は、第２の軽鎖可変領域における８３位の極性または疎水性アミノ酸とは同じであっても異なってもよい。

【０１１７】

好適な軽鎖可変領域には、例えば、カッパ軽鎖可変領域が含まれる。一部の実施形態では、Ｃｙｓ８０[1]、Ｃｙｓ８０[2]、またはそれらの両方は、天然の軽鎖可変領域に存在し得る。第１の軽鎖可変領域及び第２の軽鎖可変領域はウサギに由来する。第１の軽鎖可変領域、第２の軽鎖可変領域、またはそれらの両方が由来し得る例示的なウサギには、アナウサギが含まれるが、これに限定されない。一部の態様では、例えば、軽鎖可変領域（複数可）はニュージーランドホワイト（ＮＺＷ）ウサギに由来し得る。他の態様では、軽鎖可変領域（複数可）はｂ９ウサギに由来し得る。

【０１１８】

抱合型免疫グロブリンの免疫グロブリン成分

重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む免疫グロブリンが本明細書で開示され、この軽鎖可変領域は、８０位のシステイン（「Ｃｙｓ８０」）と、８３位のＰｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸とを有する。

【０１１９】

好適な軽鎖可変領域には、例えば、カッパ軽鎖可変領域が含まれる。軽鎖可変領域はウ

サギに由来する。一部の実施形態では、Ｃｙｓ８０は、ウサギ免疫グロブリンの天然の軽鎖可変領域中に存在し得る。Ｃｙｓ８０を有する軽鎖可変領域が由来し得る例示的なウサギには、アナウサギ（Ｏｒｙｃｔｏｌａｇｕｓ　ｃｕｎｉｃｕｌｕｓ）が含まれるが、これに限定されない。一部の態様では、例えば、軽鎖可変領域は、ニュージーランドホワイト（ＮＺＷ）ウサギに由来し得る。他の態様では、軽鎖可変領域は、ｂ９ウサギに由来し得る。

【０１２０】

８３位のＰｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸には、アラニン（「Ａｌａ８３」）、バリン（「Ｖａｌ８３」）、イソロイシン（「Ｉｌｅ８３」）、トレオニン（「Ｔｈｒ８３」）、アルギニン（「Ａｒｇ８３」）、アスパラギン（「Ａｓｎ８３」）、アスパラギン酸（「Ａｓｐ８３」）、グルタミン酸（「Ｇｌｕ８３」）、グルタミン（「Ｇｌｎ８３」）、グリシン（「Ｇｌｙ８３」）、ヒスチジン（「Ｈｉｓ８３」）、ロイシン（「Ｌｅｕ８３」）、メチオニン（「Ｍｅｔ８３」）、プロリン（「Ｐｒｏ８３」）、セリン（「Ｓｅｒ８３」）、トリプトファン（「Ｔｒｐ８３」）、またはチロシン（「Ｔｙｒ８３」）が含まれる。

【０１２１】

一部の実施形態では、８３位のＰｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸は、アラニン、バリン、イソロイシン、またはトレオニンを含むがこれらに限定されない、極性または疎水性アミノ酸であり得る。一部の態様では、８３位のＰｈｅ以外の極性または疎水性アミノ酸は、アラニン（「Ａｌａ８３」）である。一部の態様では、８３位のＰｈｅ以外の極性または疎水性アミノ酸は、バリン（「Ｖａｌ８３」）である。一部の態様では、８３位のＰｈｅ以外の極性または疎水性アミノ酸は、イソロイシン（「Ｉｌｅ８３」）である。一部の態様では、８３位のＰｈｅ以外の極性または疎水性アミノ酸は、トレオニン（「Ｔｈｒ８３」）である。

【０１２２】

Ｃｙｓ８０は不対であり得る。例えば、Ｃｙｓ８０を有する軽鎖可変領域は、１７１位のシステイン以外のアミノ酸残基を有する定常ドメインによってキメラされ得る。

【０１２３】

好ましくは、Ｃｙｓ８０はキャップ除去される。

【０１２４】

一部の実施形態では、免疫グロブリンはキメラ化され得る。他の実施形態では、免疫グロブリンはヒト化され得る。

【０１２５】

一部の実施形態では、開示される免疫グロブリンは、ヒトＣＡ９に免疫特異的に結合する。一部の実施形態では、ヒトＣＡ９に免疫特異的に結合する免疫グロブリンは、

ａ．ｘｉ１５５Ｄ５ＨＣ（配列番号５２）のアミノ酸２０～１４１と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ１５５Ｄ５ＬＣ（配列番号７８）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｂ．ｚｕ１５５Ｄ５ＨＣ（配列番号５４）のアミノ酸２０～１４４と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－３（配列番号８４）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－４（配列番号８６）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－５（配列番号８８）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－６（配列番号９０）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－７（配列番号９２）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ２－４０（配列番号９６）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ４－１（配列番号１００）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ６－２１（配列番号１０２）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ６Ｄ－４１（配列番号１０４）、もしくはｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ７－３－Ｇｌｕ８１（配列番号１０６）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｃ．ｘｉ１Ｅ４ＨＣ（配列番号５８）のアミノ酸２０～１３８と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ１Ｅ４ＬＣ（配列番号１１０）のア

ミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、
ｄ．ｚｕ１Ｅ４ＨＣ（配列番号６０）のアミノ酸２０～１４０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｚｕ１Ｅ４ＬＣ－ＣＸＸＡ（配列番号１１４）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、
ｅ．ｘｉ１６６Ｂ３ＨＣ（配列番号７４）のアミノ酸２０～１４２と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ１６６Ｂ３ＬＣ（配列番号１３２）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、または
ｆ．ｚｕ１６６Ｂ３ＨＣ（配列番号７６）のアミノ酸２０～１４５と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｚｕ１６６Ｂ３ＬＣ－ＣＸＸＡ（配列番号１３６）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、を含む。

【０１２６】

一部の実施形態では、ヒトＣＡ９に免疫特異的に結合する免疫グロブリンは、
ａ．ｘｉ１５５Ｄ５ＨＣ（配列番号５２）のアミノ酸２０～１４１と示される重鎖可変領域、及びｘｉ１５５Ｄ５ＬＣ（配列番号７８）のアミノ酸２０～１３０と示される軽鎖可変領域、
ｂ．ｚｕ１５５Ｄ５ＨＣ（配列番号５４）のアミノ酸２０～１４４と示される重鎖可変領域、及びｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－３（配列番号８４）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－４（配列番号８６）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－５（配列番号８８）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－６（配列番号９０）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－７（配列番号９２）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ２－４０（配列番号９６）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ４－１（配列番号１００）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ６－２１（配列番号１０２）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ６Ｄ－４１（配列番号１０４）、もしくはｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ７－３－Ｇｌｕ８１（配列番号１０６）のアミノ酸２０～１３０と示される軽鎖可変領域、
ｃ．ｘｉ１Ｅ４ＨＣ（配列番号５８）のアミノ酸２０～１３８と示される重鎖可変領域、及びｘｉ１Ｅ４ＬＣ（配列番号１１０）のアミノ酸２０～１３０と示される軽鎖可変、
ｄ．ｚｕ１Ｅ４ＨＣ（配列番号６０）のアミノ酸２０～１４０と示される重鎖可変領域、及びｚｕ１Ｅ４ＬＣ－ＣＸＸＡ（配列番号１１４）のアミノ酸２０～１３０と示される軽鎖可変領域、
ｅ．ｘｉ１６６Ｂ３ＨＣ（配列番号７４）のアミノ酸２０～１４２と示される重鎖可変領域、及びｘｉ１６６Ｂ３ＬＣ（配列番号１３２）のアミノ酸２０～１３０と示される軽鎖可変領域、または
ｆ．ｚｕ１６６Ｂ３ＨＣ（配列番号７６）のアミノ酸２０～１４５と示される重鎖可変領域、及びｚｕ１６６Ｂ３ＬＣ－ＣＸＸＡ（配列番号１３６）のアミノ酸２０～１３０と示される軽鎖可変領域、を含む。

【０１２７】

一部の実施形態では、ヒトＣＡ９に免疫特異的に結合する免疫グロブリンは、
ａ．それぞれ配列番号１４６、１４８、及び１５０と示される、ｘｉ１５５Ｄ５ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号２２４、２２６、及び２２８と示される、ｘｉ１５５Ｄ５ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、
ｂ．それぞれ配列番号１５２、１５４、及び１５６と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号２４２、２４４、及び２４６と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－３、それぞれ配列番号２４８、２５０、及び２５２と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－４、それぞれ配列番号２５４、２５６、及び２５８と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－５、それぞれ配列番号２６０、２６２、及び２６４と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－６、それぞれ配列番号２６６、２６８、及び２７０と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－７、それぞれ配列番号２７８、２８０、及び２８２と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ２－４０、それぞれ配列番号２９０、２９２、及び２９４と示

されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ４－１、それぞれ配列番号２９６、２９８、及び３００と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ６－２１、それぞれ配列番号３０２、３０４、及び３０６と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ６Ｄ－４１、もしくはそれぞれ配列番号３０８、３１０、及び３１２と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ７－３－Ｇｌｕ８１の軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、

ｃ．それぞれ配列番号１６４、１６６、及び１６８と示されるｘｉ１Ｅ４ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびそれぞれ配列番号３２０、３２２、及び３２４と示されるｘｉ１Ｅ４ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、

ｄ．それぞれ配列番号１７０、１７２、及び１７４と示されるｚｕ１Ｅ４ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３３２、３３４、及び３３６と示されるｚｕ１Ｅ４ＬＣ－ＣＸＸＡの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、

ｅ．それぞれ配列番号２１２、２１４、及び２１６と示されるｘｉ１６６Ｂ３ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３８６、３８８、及び３９０と示されるｘｉ１６６Ｂ３ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、または

ｆ．それぞれ配列番号２１８、２２０、及び２２２と示されるｚｕ１６６Ｂ３ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３９８、４００、及び４０２と示されるｚｕ１６６Ｂ３ＬＣ－ＣＸＸＡの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、を含む。

【０１２８】

一部の実施形態では、開示される免疫グロブリンは、ヒトＴＥＭ１に免疫特異的に結合する。一部の実施形態では、ヒトＴＥＭ１に免疫特異的に結合する免疫グロブリンは、ｘｉ１－５５－２ＨＣ（配列番号５６）のアミノ酸２０～１３９と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ１－５５－２ＬＣ（配列番号１０８）のアミノ酸２０～１２９と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。

【０１２９】

一部の実施形態では、ヒトＴＥＭ１に免疫特異的に結合する免疫グロブリンは、ｘｉ１－５５－２ＨＣ（配列番号５６）のアミノ酸２０～１３９に示される重鎖可変領域、及びｘｉ１－５５－２ＬＣ（配列番号１０８）のアミノ酸２０～１２９に示される軽鎖可変領域を含む。

【０１３０】

一部の実施形態では、ヒトＴＥＭ１に免疫特異的に結合する免疫グロブリンは、それぞれ配列番号１５８、１６０、及び１６２と示されるｘｉ１－５５－２ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３１４、３１６、及び３１８と示されるｘｉ１－５５－２ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３を含む。

【０１３１】

一部の実施形態では、開示される免疫グロブリンは、ヒトメソテリンに免疫特異的に結合する。一部の実施形態では、ヒトメソテリンに免疫特異的に結合する免疫グロブリンは、

ａ．ｘｉ３３Ｏ１１ＨＣ（配列番号６２）のアミノ酸２０～１４２と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ３３Ｏ１１ＬＣ（配列番号１１６）のアミノ酸２０～１３１と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｂ．ｚｕ３３Ｏ１１ＨＣ（配列番号６４）のアミノ酸２０～１４５と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＡ（配列番号１２０）もしくはｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＩ（配列番号１２２）のアミノ酸２０～１３１と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｃ．ｘｉ３２４Ｏ５ＨＣ（配列番号６６）のアミノ酸２０～１３７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ３２４Ｏ５ＬＣ（配列番号１２４）のアミノ酸２０～１２７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可

変領域、
ｄ．ｘｉ１７８Ｆ１６ＨＣ（配列番号６８）のアミノ酸２０～１３７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ１７８Ｆ１６ＬＣ（配列番号１２６）のアミノ酸２０～１２７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、
ｅ．ｘｉ２３７Ｎ１８ＨＣ（配列番号７０）のアミノ酸２０～１３２と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ２３７Ｎ１８ＬＣ（配列番号１２８）のアミノ酸２０～１２７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、または
ｆ．ｘｉ３８３Ｉ１８ＨＣ（配列番号７２）のアミノ酸２０～１３７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ３８３Ｉ１８ＬＣ（配列番号１３０）のアミノ酸２０～１２７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、を含む。

【０１３２】

一部の実施形態では、ヒトメソテリンに免疫特異的に結合する免疫グロブリンは、
ａ．ｘｉ３３Ｏ１１ＨＣ（配列番号６２）のアミノ酸２０～１４２と示される重鎖可変領域、及びｘｉ３３Ｏ１１ＬＣ（配列番号１１６）のアミノ酸２０～１３１と示される軽鎖可変領域、
ｂ．ｚｕ３３Ｏ１１ＨＣ（配列番号６４）のアミノ酸２０～１４５と示される重鎖可変領域、及びｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＡ（配列番号１２０）もしくはｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＩ（配列番号１２２）のアミノ酸２０～１３１と示される軽鎖可変領域、
ｃ．ｘｉ３２４Ｏ５ＨＣ（配列番号６６）のアミノ酸２０～１３７と示される重鎖可変領域、及びｘｉ３２４Ｏ５ＬＣ（配列番号１２４）のアミノ酸２０～１２７と示される軽鎖可変領域、
ｄ．ｘｉ１７８Ｆ１６ＨＣ（配列番号６８）のアミノ酸２０～１３７と示される重鎖可変領域、及びｘｉ１７８Ｆ１６ＬＣ（配列番号１２６）のアミノ酸２０～１２７と示される軽鎖可変領域、
ｅ．ｘｉ２３７Ｎ１８ＨＣ（配列番号７０）のアミノ酸２０～１３２と示される重鎖可変領域、及びｘｉ２３７Ｎ１８ＬＣ（配列番号１２８）のアミノ酸２０～１２７と示される軽鎖可変領域、または
ｆ．ｘｉ３８３Ｉ１８ＨＣ（配列番号７２）のアミノ酸２０～１３７と示される重鎖可変領域、及びｘｉ３８３Ｉ１８ＬＣ（配列番号１３０）のアミノ酸２０～１２７と示される軽鎖可変領域、を含む。

【０１３３】

一部の実施形態では、ヒトメソテリンに免疫特異的に結合する免疫グロブリンは、
ａ．それぞれ配列番号１７６、１７８、及び１８０と示されるｘｉ３３Ｏ１１ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３３８、３４０、及び３４２と示されるｘｉ３３Ｏ１１ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、
ｂ．それぞれ配列番号１８２、１８４、及び１８６と示されるｚｕ３３Ｏ１１ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３５０、３５２、及び３５４と示されるｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＡ、またはそれぞれ配列番号３５６、３５８、及び３６０と示されるｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＩの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、
ｃ．それぞれ配列番号１８８、１９０、及び１９２と示されるｘｉ３２４Ｏ５ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３６２、３６４、及び３６６として示されるｘｉ３２４Ｏ５ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、
ｄ．それぞれ配列番号１９４、１９６、及び１９８と示されるｘｉ１７８Ｆ１６ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３６８、３７０、及び３７２と示されるｘｉ１７８Ｆ１６ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、
ｅ．それぞれ配列番号２００、２０２、及び２０４と示されるｘｉ２３７Ｎ１８ＨＣの

重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３７４、３７６、及び３７８と示されるｘｉ２３７Ｎ１８ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、または

ｆ．それぞれ配列番号２０６、２０８、及び２１０と示されるｘｉ３８３Ｉ１８ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３８０、３８２、及び３８４と示されるｘｉ３８３Ｉ１８ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、を含む。

【０１３４】

抱合型免疫グロブリン

８０位のシステインがチオール反応性化合物に抱合され、チオール反応性化合物がチオール反応基を含む、本明細書に開示される免疫グロブリンのうちのいずれかを含む抱合型免疫グロブリンも、本明細書に開示される。

【０１３５】

一部の実施形態では、抱合型免疫グロブリンは、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む免疫グロブリンを含み、軽鎖可変領域は、Ｃｙｓ８０と、８３位のＰｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸とを含み、Ｃｙｓ８０は、チオール反応性化合物に抱合され、チオール反応性化合物は、チオール反応基を含む。一部の実施形態では、軽鎖可変領域は、Ｃｙｓ８０と、８３位のＰｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外の極性または疎水性アミノ酸とを有し得る。

【０１３６】

免疫グロブリンは、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む。好適な軽鎖可変領域には、例えば、カッパ軽鎖可変領域が含まれる。軽鎖可変領域はウサギに由来する。一部の実施形態では、Ｃｙｓ８０は、ウサギ免疫グロブリンの天然の軽鎖可変領域中に存在し得る。Ｃｙｓ８０を有する軽鎖可変領域が由来し得る例示的なウサギには、アナウサギ（Ｏｒｙｃｔｏｌａｇｕｓ　ｃｕｎｉｃｕｌｕｓ）が含まれるが、これに限定されない。一部の態様では、例えば、軽鎖可変領域は、ニュージーランドホワイト（ＮＺＷ）ウサギに由来し得る。他の態様では、軽鎖可変領域は、ｂ９ウサギに由来し得る。

【０１３７】

軽鎖可変領域は、Ｃｙｓ８０と、８３位のＰｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸とを有し得る。８３位のＰｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸には、アラニン（「Ａｌａ８３」）、バリン（「Ｖａｌ８３」）、イソロイシン（「Ｉｌｅ８３」）、トレオニン（「Ｔｈｒ８３」）、アルギニン（「Ａｒｇ８３」）、アスパラギン（「Ａｓｎ８３」）、アスパラギン酸（「Ａｓｐ８３」）、グルタミン酸（「Ｇｌｕ８３」）、グルタミン（「Ｇｌｎ８３」）、グリシン（「Ｇｌｙ８３」）、ヒスチジン（「Ｈｉｓ８３」）、ロイシン（「Ｌｅｕ８３」）、メチオニン（「Ｍｅｔ８３」）、プロリン（「Ｐｒｏ８３」）、セリン（「Ｓｅｒ８３」）、トリプトファン（「Ｔｒｐ８３」）、またはチロシン（「Ｔｙｒ８３」）が含まれる。一部の実施形態では、軽鎖可変領域は、Ｃｙｓ８０と、８３位のＰｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外の極性または疎水性アミノ酸とを有し得る。好適な極性または疎水性アミノ酸には、アラニン、バリン、イソロイシン、またはトレオニンが含まれるが、これらに限定されない。一部の態様では、８３位のＰｈｅ以外の極性または疎水性アミノ酸は、アラニン（「Ａｌａ８３」）である。一部の態様では、８３位のＰｈｅ以外の極性または疎水性アミノ酸は、バリン（「Ｖａｌ８３」）である。一部の態様では、８３位のＰｈｅ以外の極性または疎水性アミノ酸は、イソロイシン（「Ｉｌｅ８３」）である。一部の態様では、８３位のＰｈｅ以外の極性または疎水性アミノ酸は、トレオニン（「Ｔｈｒ８３」）である。

【０１３８】

Ｃｙｓ８０は不対であり得る。例えば、Ｃｙｓ８０を有する軽鎖可変領域は、１７１位のシステイン以外のアミノ酸残基を有する定常ドメインによってキメラされ得る。

【０１３９】

好ましくは、Ｃｙｓ８０はキャップ除去される。

【０１４０】
一部の実施形態では、免疫グロブリンはキメラ化され得る。他の実施形態では、免疫グロブリンはヒト化され得る。
【０１４１】
好ましくは、チオール反応性化合物は、チオール反応基を介してＣｙｓ８０に抱合される。チオール反応基には、ハロアセチル、マレイミド、アジリジン、アクリロイル、アリール化剤、ビニルスルホン、ピリジルジスルフィド、ＴＮＢチオール、及びジスルフィド還元剤が含まれる。一部の実施形態では、チオール反応基は、マレイミドを含み得る。一部の実施形態では、チオール反応基は、ハロアセチルを含み得る。一部の実施形態では、チオール反応基は、アジリジンを含み得る。一部の実施形態では、チオール反応基は、アクリロイルを含み得る。一部の実施形態では、チオール反応基は、アリール化剤を含み得る。一部の実施形態では、チオール反応基は、ビニルスルホンを含み得る。一部の実施形態では、チオール反応基は、ピリジルジスルフィドを含み得る。一部の実施形態では、チオール反応基は、ＴＮＢチオールを含み得る。一部の実施形態では、チオール反応基は、ジスルフィド還元剤を含み得る。
【０１４２】
チオール反応基はリンカーに結合し得る。リンカーは、切断可能でないリンカーまたは切断可能なリンカーであり得る。例示的なリンカーには、例えば、ジスルフィド含有リンカー、アセタール系リンカー、及びケタール系リンカーが含まれる。一部の態様では、リンカーは、切断可能でないリンカーであり得る。好適な切断可能でないリンカーには、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）またはアルキルが含まれるが、これらに限定されない。一部の実施形態では、リンカーは、ＰＥＧを含み得る。一部の態様では、リンカーは、切断可能なリンカーであり得る。好適な切断可能なリンカーには、例えば、バリン－シトルリン－パラアミノベンジルが含まれる。一部の態様では、リンカーは、ジスルフィド含有リンカーであり得る。一部の態様では、リンカーは、アセタール系リンカーであり得る。一部の態様では、リンカーは、ケタール計リンカーであり得る。チオール反応基に共有結合するリンカーの例は、例えば、米国公開第２０１４００５０７４６号で提供されている。
【０１４３】
チオール反応性化合物は、機能性剤を更に含み得る。好適な機能性剤には、例えば、フルオロフォア、蛍光色素、ポリペプチド、免疫グロブリン、抗生物質、核酸、放射性核種、化学リンカー、小分子、キレート剤、脂質、及び薬物が含まれる。一部の態様では、機能性剤は、フルオロフォアを含み得る。一部の態様では、機能性剤は、蛍光色素を含み得る。一部の態様では、機能性剤は、ポリペプチドを含み得る。一部の態様では、機能性剤は、免疫グロブリンを含み得る。一部の態様では、機能性剤は、抗生物質を含み得る。一部の態様では、機能性剤は、核酸（ＤＮＡまたはＲＮＡなど）を含み得る。一部の態様では、機能性剤は、放射性核種を含み得る。一部の態様では、機能性剤は、化学リンカー（例えば、例えば、ジベンジルシクロオクチン（ＤＢＣＯ）またはアジド）を含み得る。一部の態様では、機能性剤は、小分子を含み得る。一部の態様では、機能性剤は、キレート剤（例えば、中でも、ＤＯＴＡ、ＣＨＸ－Ａ」－ＤＴＰＡ、ＮＯＴＡ）を含み得る。一部の態様では、機能性剤は、脂質を含み得る。一部の態様では、機能性剤は、薬物を含み得る。一部の態様では、機能性剤は、先に挙げた機能性剤のうちのいずれかの組み合わせを含み得る。
【０１４４】
したがって、開示される抱合型免疫グロブリンには、免疫グロブリン－フルオロフォアＣｙｓ８０抱合体、免疫グロブリン－蛍光色素Ｃｙｓ８０抱合体、免疫グロブリン－ポリペプチドＣｙｓ８０抱合体、免疫グロブリン－免疫グロブリンＣｙｓ８０抱合体、免疫グロブリン－抗生物質Ｃｙｓ８０抱合体、免疫グロブリン－核酸Ｃｙｓ８０抱合体、免疫グロブリン－放射性核種Ｃｙｓ８０抱合体、免疫グロブリン－化学リンカーＣｙｓ８０抱合体、免疫グロブリン－小分子Ｃｙｓ８０抱合体、免疫グロブリン－キレート剤Ｃｙｓ８０

抱合体、免疫グロブリン－脂質Ｃｙｓ８０抱合体、及び免疫グロブリン－薬物Ｃｙｓ８０抱合体が含まれる。

【０１４５】

免疫グロブリン本明細書に開示される免疫グロブリンのいずれかは、本明細書に開示される機能性剤のうちのいずれかに抱合され得る。例えば、抱合型免疫グロブリンは、ヒトＣＡ９に免疫特異的に結合する免疫グロブリンと、フルオロフォア、蛍光色素、ポリペプチド、免疫グロブリン、抗生物質、核酸、放射性核種、化学リンカー、小分子、キレート剤、脂質、または薬物とを含み得る。一部の実施形態では、抱合型免疫グロブリンは、ＣＡ９－フルオロフォアＣｙｓ８０抱合体である。一部の実施形態では、抱合型免疫グロブリンは、ＣＡ９－蛍光色素Ｃｙｓ８０抱合体である。一部の実施形態では、抱合型免疫グロブリンは、ＣＡ９－ポリペプチドＣｙｓ８０抱合体である。一部の実施形態では、抱合型免疫グロブリンは、ＣＡ９－免疫グロブリンＣｙｓ８０抱合体である。一部の実施形態では、抱合型免疫グロブリンは、ＣＡ９－抗生物質Ｃｙｓ８０抱合体である。一部の実施形態では、抱合型免疫グロブリンは、ＣＡ９－核酸Ｃｙｓ８０抱合体である。一部の実施形態では、抱合型免疫グロブリンは、ＣＡ９－放射性核種Ｃｙｓ８０抱合体である。一部の実施形態では、抱合型免疫グロブリンは、ＣＡ９－化学リンカーＣｙｓ８０抱合体である。一部の実施形態では、抱合型免疫グロブリンは、ＣＡ９－小分子Ｃｙｓ８０抱合体である。一部の実施形態では、抱合型免疫グロブリンは、ＣＡ９－キレート剤Ｃｙｓ８０抱合体である。一部の実施形態では、抱合型免疫グロブリンは、ＣＡ９－脂質Ｃｙｓ８０抱合体である。一部の実施形態では、抱合型免疫グロブリンは、ＣＡ９－薬物Ｃｙｓ８０抱合体である。

【０１４６】

上記の機能性剤のうちのいずれかにＣｙｓ８０で抱合され得るヒトＣＡ９に免疫特異的に結合する好適な免疫グロブリンは、

ａ．ｘｉ１５５Ｄ５ＨＣ（配列番号５２）のアミノ酸２０～１４１と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ１５５Ｄ５ＬＣ（配列番号７８）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｂ．ｚｕ１５５Ｄ５ＨＣ（配列番号５４）のアミノ酸２０～１４４と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－３（配列番号８４）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－４（配列番号８６）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－５（配列番号８８）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－６（配列番号９０）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－７（配列番号９２）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ２－４０（配列番号９６）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ４－１（配列番号１００）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ６－２１（配列番号１０２）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ６Ｄ－４１（配列番号１０４）、もしくはｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ７－３－Ｇｌｕ８１（配列番号１０６）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｃ．ｘｉ１Ｅ４ＨＣ（配列番号５８）のアミノ酸２０～１３８と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ１Ｅ４ＬＣ（配列番号１１０）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｄ．ｚｕ１Ｅ４ＨＣ（配列番号６０）のアミノ酸２０～１４０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｚｕ１Ｅ４ＬＣ－ＣＸＸＡ（配列番号１１４）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｅ．ａ　ｘｉ１６６Ｂ３ＨＣ（配列番号７４）のアミノ酸２０～１４２と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域及びｘｉ１６６Ｂ３ＬＣ（配列番号１３２）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｆ．ａ　ｚｕ１６６Ｂ３ＨＣ（配列番号７６）のアミノ酸２０～１４５と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域及びｚｕ１６６Ｂ３ＬＣ－ＣＸＸＡ（

配列番号１３６）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｇ．ｘｉ１５５Ｄ５ＨＣ（配列番号５２）のアミノ酸２０～１４１と示される重鎖可変領域、及びｘｉ１５５Ｄ５ＬＣ（配列番号７８）のアミノ酸２０～１３０と示される軽鎖可変領域、

ｈ．ｚｕ１５５Ｄ５ＨＣ（配列番号５４）のアミノ酸２０～１４４と示される重鎖可変領域、及びｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－３（配列番号８４）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－４（配列番号８６）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－５（配列番号８８）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－６（配列番号９０）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－７（配列番号９２）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ２－４０（配列番号９６）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ４－１（配列番号１００）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ６－２１（配列番号１０２）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ６Ｄ－４１（配列番号１０４）、もしくはｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ７－３－Ｇｌｕ８１（配列番号１０６）のアミノ酸２０～１３０と示される軽鎖可変領域、

ｉ．ｘｉ１Ｅ４ＨＣ（配列番号５８）のアミノ酸２０～１３８と示される重鎖可変領域、及びｘｉ１Ｅ４ＬＣ（配列番号１１０）のアミノ酸２０～１３０と示される軽鎖可変、

ｊ．ｚｕ１Ｅ４ＨＣ（配列番号６０）のアミノ酸２０～１４０と示される重鎖可変領域、及びｚｕ１Ｅ４ＬＣ－ＣＸＸＡ（配列番号１１４）のアミノ酸２０～１３０と示される軽鎖可変領域、

ｋ．ｘｉ１６６Ｂ３ＨＣ（配列番号７４）のアミノ酸２０～１４２と示される重鎖可変領域、及びｘｉ１６６Ｂ３ＬＣ（配列番号１３２）のアミノ酸２０～１３０と示される軽鎖可変領域、

ｌ．ｚｕ１６６Ｂ３ＨＣ（配列番号７６）のアミノ酸２０～１４５と示される重鎖可変領域、及びｚｕ１６６Ｂ３ＬＣ－ＣＸＸＡ（配列番号１３６）のアミノ酸２０～１３０と示される軽鎖可変領域、

ｍ．それぞれ配列番号１４６、１４８、及び１５０と示される、ｘｉ１５５Ｄ５ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号２２４、２２６、及び２２８と示される、ｘｉ１５５Ｄ５ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、

ｎ．それぞれ配列番号１５２、１５４、及び１５６と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号２４２、２４４、及び２４６と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－３、それぞれ配列番号２４８、２５０、及び２５２と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－４、それぞれ配列番号２５４、２５６、及び２５８と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－５、それぞれ配列番号２６０、２６２、及び２６４と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－６、それぞれ配列番号２６６、２６８、及び２７０と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－７、それぞれ配列番号２７８、２８０、及び２８２と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ２－４０、それぞれ配列番号２９０、２９２、及び２９４と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ４－１、それぞれ配列番号２９６、２９８、及び３００と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ６－２１、それぞれ配列番号３０２、３０４、及び３０６と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ６Ｄ－４１、もしくはそれぞれ配列番号３０８、３１０、及び３１２と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ７－３－Ｇｌｕ８１の軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、

ｏ．それぞれ配列番号１６４、１６６、及び１６８と示されるｘｉ１Ｅ４ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、ならびにそれぞれ配列番号３２０、３２２、及び３２４と示されるｘｉ１Ｅ４ＬＣのＣＤＲ３、軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、

ｐ．それぞれ配列番号１７０、１７２、及び１７４と示されるｚｕ１Ｅ４ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３３２、３３４、及び３３６と示されるｚｕ１Ｅ４ＬＣ－ＣＸＸＡの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、

ｑ．それぞれ配列番号２１２、２１４、及び２１６と示されるｘｉ１６６Ｂ３ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３８６、３８８、及び３９０と示されるｘｉ１６６Ｂ３ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、または

ｒ．それぞれ配列番号２１８、２２０、及び２２２と示されるｚｕ１６６Ｂ３ＨＣの重

鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３９８、４００、及び４０２と示されるｚｕ１６６Ｂ３ＬＣ－ＣＸＸＡの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、を含む。

【０１４７】

抱合型免疫グロブリンは、ヒトＴＥＭ１に免疫特異的に結合する免疫グロブリンと、フルオロフォア、蛍光色素、ポリペプチド、免疫グロブリン、抗生物質、核酸、放射性核種、化学リンカー、小分子、キレート剤、脂質、または薬物とを含み得る。一部の実施形態では、抱合型免疫グロブリンは、ＴＥＭ１－フルオロフォアＣｙｓ８０抱合体である。一部の実施形態では、抱合型免疫グロブリンは、ＴＥＭ１－蛍光色素Ｃｙｓ８０抱合体である。一部の実施形態では、抱合型免疫グロブリンは、ＴＥＭ１－ポリペプチドＣｙｓ８０抱合体である。一部の実施形態では、抱合型免疫グロブリンは、ＴＥＭ１－免疫グロブリンＣｙｓ８０抱合体である。一部の実施形態では、抱合型免疫グロブリンは、ＴＥＭ１－抗生物質Ｃｙｓ８０抱合体である。一部の実施形態では、抱合型免疫グロブリンは、ＴＥＭ１－核酸Ｃｙｓ８０抱合体である。一部の実施形態では、抱合型免疫グロブリンは、ＴＥＭ１－放射性核種Ｃｙｓ８０抱合体である。一部の実施形態では、抱合型免疫グロブリンは、ＴＥＭ１－化学リンカーＣｙｓ８０抱合体である。一部の実施形態では、抱合型免疫グロブリンは、ＴＥＭ１－小分子Ｃｙｓ８０抱合体である。一部の実施形態では、抱合型免疫グロブリンは、ＴＥＭ１－キレート剤Ｃｙｓ８０抱合体である。一部の実施形態では、抱合型免疫グロブリンは、ＴＥＭ１－脂質Ｃｙｓ８０抱合体である。一部の実施形態では、抱合型免疫グロブリンは、ＴＥＭ１－薬物Ｃｙｓ８０抱合体である。

【０１４８】

上記の機能性剤のうちのいずれかにＣｙｓ８０で抱合され得るヒトＴＥＭ１に免疫特異的に結合する好適な免疫グロブリンは、

ａ．ｘｉ１－５５－２ＨＣ（配列番号５６）のアミノ酸２０～１３９と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ１－５５－２ＬＣ（配列番号１０８）のアミノ酸２０～１２９と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｂ．ｘｉ１－５５－２ＨＣ（配列番号５６）のアミノ酸２０～１３９と示される重鎖可変領域、及びｘｉ１－５５－２ＬＣ（配列番号１０８）のアミノ酸２０～１２９と示される軽鎖可変領域、または

ｃ．それぞれ配列番号１５８、１６０、及び１６２と示されるｘｉ１－５５－２ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３１４、３１６、及び３１８と示されるｘｉ１－５５－２ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、を含む。

【０１４９】

抱合型免疫グロブリンは、ヒトＭＳＬＮに免疫特異的に結合する免疫グロブリンと、フルオロフォア、蛍光色素、ポリペプチド、免疫グロブリン、抗生物質、核酸、放射性核種、化学リンカー、小分子、キレート剤、脂質、または薬物とを含み得る。一部の実施形態では、抱合型免疫グロブリンは、ＭＳＬＮ－フルオロフォアＣｙｓ８０抱合体である。一部の実施形態では、抱合型免疫グロブリンは、ＭＳＬＮ－蛍光色素Ｃｙｓ８０抱合体である。一部の実施形態では、抱合型免疫グロブリンは、ＭＳＬＮ－ポリペプチドＣｙｓ８０抱合体である。一部の実施形態では、抱合型免疫グロブリンは、ＭＳＬＮ－免疫グロブリンＣｙｓ８０抱合体である。一部の実施形態では、抱合型免疫グロブリンは、ＭＳＬＮ－抗生物質Ｃｙｓ８０抱合体である。一部の実施形態では、抱合型免疫グロブリンは、ＭＳＬＮ－核酸Ｃｙｓ８０抱合体である。一部の実施形態では、抱合型免疫グロブリンは、ＭＳＬＮ－放射性核種Ｃｙｓ８０抱合体である。一部の実施形態では、抱合型免疫グロブリンは、ＭＳＬＮ－化学リンカーＣｙｓ８０抱合体である。一部の実施形態では、抱合型免疫グロブリンは、ＭＳＬＮ－小分子Ｃｙｓ８０抱合体である。一部の実施形態では、抱合型免疫グロブリンは、ＭＳＬＮ－キレート剤Ｃｙｓ８０抱合体である。一部の実施形態では、抱合型免疫グロブリンは、ＭＳＬＮ－脂質Ｃｙｓ８０抱合体である。一部の実施形態

では、抱合型免疫グロブリンは、ＭＳＬＮ－薬物Ｃｙｓ８０抱合体である。
【０１５０】
上記の機能性剤のうちのいずれかにＣｙｓ８０で抱合され得るヒトＭＳＬＮに免疫特異的に結合する好適な免疫グロブリンは、
ａ．ｘｉ３３Ｏ１１ＨＣ（配列番号６２）のアミノ酸２０～１４２と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ３３Ｏ１１ＬＣ（配列番号１１６）のアミノ酸２０～１３１と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、
ｂ．ｚｕ３３Ｏ１１ＨＣ（配列番号６４）のアミノ酸２０～１４５と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＡ（配列番号１２０）もしくはｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＩ（配列番号１２２）のアミノ酸２０～１３１と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、
ｃ．ｘｉ３２４Ｏ５ＨＣ（配列番号６６）のアミノ酸２０～１３７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ３２４Ｏ５ＬＣ（配列番号１２４）のアミノ酸２０～１２７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、
ｄ．ｘｉ１７８Ｆ１６ＨＣ（配列番号６８）のアミノ酸２０～１３７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ１７８Ｆ１６ＬＣ（配列番号１２６）のアミノ酸２０～１２７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、
ｅ．ｘｉ２３７Ｎ１８ＨＣ（配列番号７０）のアミノ酸２０～１３２と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ２３７Ｎ１８ＬＣ（配列番号１２８）のアミノ酸２０～１２７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、
ｆ．ｘｉ３８３Ｉ１８ＨＣ（配列番号７２）のアミノ酸２０～１３７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ３８３Ｉ１８ＬＣ（配列番号１３０）のアミノ酸２０～１２７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、
ｇ．ｘｉ３３Ｏ１１ＨＣ（配列番号６２）のアミノ酸２０～１４２と示される重鎖可変領域、及びｘｉ３３Ｏ１１ＬＣ（配列番号１１６）のアミノ酸２０～１３１と示される軽鎖可変領域、
ｈ．ｚｕ３３Ｏ１１ＨＣ（配列番号６４）のアミノ酸２０～１４５と示される重鎖可変領域、及びｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＡ（配列番号１２０）もしくはｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＩ（配列番号１２２）のアミノ酸２０～１３１と示される軽鎖可変領域、
ｉ．ｘｉ３２４Ｏ５ＨＣ（配列番号６６）のアミノ酸２０～１３７と示される重鎖可変領域、及びｘｉ３２４Ｏ５ＬＣ（配列番号１２４）のアミノ酸２０～１２７と示される軽鎖可変領域、
ｊ．ｘｉ１７８Ｆ１６ＨＣ（配列番号６８）のアミノ酸２０～１３７と示される重鎖可変領域、及びｘｉ１７８Ｆ１６ＬＣ（配列番号１２６）のアミノ酸２０～１２７と示される軽鎖可変領域、
ｋ．ｘｉ２３７Ｎ１８ＨＣ（配列番号７０）のアミノ酸２０～１３２と示される重鎖可変領域、及びｘｉ２３７Ｎ１８ＬＣ（配列番号１２８）のアミノ酸２０～１２７と示される軽鎖可変領域、
ｌ．ｘｉ３８３Ｉ１８ＨＣ（配列番号７２）のアミノ酸２０～１３７と示される重鎖可変領域、及びｘｉ３８３Ｉ１８ＬＣ（配列番号１３０）のアミノ酸２０～１２７と示される軽鎖可変領域、
ｍ．それぞれ配列番号１７６、１７８、及び１８０と示されるｘｉ３３Ｏ１１ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３３８、３４０、及び３４２中で示されるｘｉ３３Ｏ１１ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、
ｎ．それぞれ配列番号１８２、１８４、及び１８６と示されるｚｕ３３Ｏ１１ＨＣの重

鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３５０、３５２、及び３５４と示されるｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＡ、もしくはそれぞれ配列番号３５６、３５８、及び３６０と示されるｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＩの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、

ｏ．それぞれ配列番号１８８、１９０、及び１９２と示されるｘｉ３２４Ｏ５ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３６２、３６４、及び３６６として示されるｘｉ３２４Ｏ５ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、

ｐ．それぞれ配列番号１９４、１９６、及び１９８と示されるｘｉ１７８Ｆ１６ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３６８、３７０、及び３７２と示されるｘｉ１７８Ｆ１６ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、

ｑ．それぞれ配列番号２００、２０２、及び２０４と示されるｘｉ２３７Ｎ１８ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３７４、３７６、及び３７８と示されるｘｉ２３７Ｎ１８ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、または

ｒ．それぞれ配列番号２０６、２０８、及び２１０と示されるｘｉ３８３Ｉ１８ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３８０、３８２、及び３８４と示されるｘｉ３８３Ｉ１８ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、を含む。

【０１５１】

一部の実施形態では、ヒトＭＳＬＮに免疫特異的に結合する免疫グロブリンは、オーリスタチンなどの小分子抗腫瘍薬に抱合され得る。一部の態様では、機能性剤はオーリスタチンＦ（ＡｕＦ）であり得る。このため、開示される抱合型免疫グロブリンは、ヒトＭＳＬＮに免疫特異的に結合する上で開示した免疫グロブリンのうちのいずれかを含み、この免疫グロブリンは、オーリスタチンＦ（ＭＳＬＮ－ＡｕＦ　Ｃｙｓ８０抱合体）に抱合される。

【０１５２】

２つの軽鎖可変領域を含む実施形態では、抱合型免疫グロブリンは、２：１の免疫グロブリン：機能性剤比を有し得、各軽鎖は、Ｃｙｓ８０で抱合された機能性剤を有する。

【０１５３】

抗原結合分子

第１の重鎖可変領域及び第１の軽鎖可変領域を含む第１の抱合型免疫グロブリンであって、第１の軽鎖可変領域が、８０位のシステイン（「$Cys80^1$」）を有し、$Cys80^1$が、第１のチオール反応基を含む第１のチオール反応性化合物に抱合される、第１の抱合型免疫グロブリンと、

第２の重鎖可変領域及び第２の軽鎖可変領域を含む第２の抱合型免疫グロブリンであって、第２の軽鎖可変領域が、８０位のシステイン（「$Cys80^2$」）を有し、$Cys80^2$が、第２のチオール反応基を含む第２のチオール反応性化合物に抱合される、第２の抱合型免疫グロブリンと、を含む抗原結合分子が本明細書で更に開示提供される。

【０１５４】

第１の抱合型免疫グロブリン及び第２の抱合型免疫グロブリンは、本明細書に開示される抱合型免疫グロブリンのうちのいずれか一つであり得る。

【０１５５】

好適な軽鎖可変領域には、例えば、カッパ軽鎖可変領域が含まれる。第１の軽鎖可変領域及び第２の軽鎖可変領域はウサギに由来する。一部の実施形態では、$Cys80^1$、$Cys80^2$、またはそれらの両方は、ウサギ免疫グロブリンの不活性な軽鎖可変領域中に存在し得る。第１の軽鎖可変領域、第２の軽鎖可変領域、またはそれらの両方が由来し得る例示的なウサギには、アナウサギが含まれるが、これに限定されない。一部の態様では、例えば、軽鎖可変領域（複数可）はニュージーランドホワイト（ＮＺＷ）ウサギに由来し得る。他の態様では、軽鎖可変領域（複数可）はｂ９ウサギに由来し得る。

【０１５６】

Ｃｙｓ８０[1]、Ｃｙｓ８０[2]、またはそれらの両方は、不対であり得る。Ｃｙｓ８０[1]及び／またはＣｙｓ８０[2]を不対にするための好適な手段には、例えば、Ｃｙｓ８０を有する軽鎖可変領域（第１の軽鎖可変領域、第２の軽鎖可変領域、またはそれらの両方）を、１７１位のシステイン以外のアミノ酸残基を有する定常ドメインによってキメラ化することが含まれる。

【０１５７】

第１の免疫グロブリン、第２の免疫グロブリン、またはそれらの両方は、キメラ化され得る。一部の実施形態では、第１の免疫グロブリンはキメラ化され得る。一部の実施形態では、第２の免疫グロブリンはキメラ化され得る。一部の実施形態では、第１の免疫グロブリン及び第２の免疫グロブリンはキメラ化され得る。

【０１５８】

第１の免疫グロブリン、第２の免疫グロブリン、またはそれらの両方は、ヒト化され得る。一部の実施形態では、第１の免疫グロブリンはヒト化され得る。一部の実施形態では、第２の免疫グロブリンはヒト化され得る。一部の実施形態では、第１の免疫グロブリン及び第２の免疫グロブリンはヒト化され得る。

【０１５９】

一部の実施形態では、第１の免疫グロブリンがキメラ化され、第２の免疫グロブリンはヒト化され得る。一部の実施形態では、第１の免疫グロブリンがヒト化され、第２の免疫グロブリンはキメラ化され得る。

【０１６０】

第１の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸は、８３位のアミノ酸がＰｈｅである場合、Ｐｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸であり得る。第２の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸は、８３位のアミノ酸がＰｈｅである場合、Ｐｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸であり得る。第１の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸は、８３位のアミノ酸がＰｈｅである場合、Ｐｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸であり、第２の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸は、８３位のアミノ酸がＰｈｅである場合、Ｐｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸である。第１の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸及び／または第２の軽鎖可変領域は、アラニン（「Ａｌａ８３」）、バリン（「Ｖａｌ８３」）、イソロイシン（「Ｉｌｅ８３」）、トレオニン（「Ｔｈｒ８３」）、アルギニン（「Ａｒｇ８３」）、アスパラギン（「Ａｓｎ８３」）、アスパラギン酸（「Ａｓｐ８３」）、グルタミン酸（「Ｇｌｕ８３」）、グルタミン（「Ｇｌｎ８３」）、グリシン（「Ｇｌｙ８３」）、ヒスチジン（「Ｈｉｓ８３」）、ロイシン（「Ｌｅｕ８３」）、メチオニン（「Ｍｅｔ８３」）、プロリン（「Ｐｒｏ８３」）、セリン（「Ｓｅｒ８３」）、トリプトファン（「Ｔｒｐ８３」）、またはチロシン（「Ｔｙｒ８３」）であり得る。第１の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸は、第２の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸と同じであることができる。これとは逆に、第１の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸は、第２の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸とは異なることができる。

【０１６１】

一部の実施形態では、第１の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸は、８３位のアミノ酸がＰｈｅである場合、Ｐｈｅ以外の極性または疎水性残基であり得る。一部の実施形態では、第２の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸は、８３位のアミノ酸がＰｈｅである場合、Ｐｈｅ以外の極性または疎水性残基であり得る。一部の実施形態では、第１の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸は、８３位のアミノ酸がＰｈｅである場合、Ｐｈｅ以外の極性または疎水性残基であり、第２の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸は、８３位のアミノ酸がＰｈｅである場合、Ｐｈｅ以外の極性または疎水性残基であり得る。好適な極性または疎水性アミノ酸には、アラニン、バリン、イソロイシン、またはトレオニンが含まれるが、これらに限定されない。一部の態様では、第１の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸、第２の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸、または第１の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸及び第２の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸は、アラニン（「Ａｌａ８３」）であり得る。一部の態様では、第１の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸、第２の軽鎖可変領域の８３位のアミ

ノ酸、または第１の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸及び第２の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸は、バリン（「Ｖａｌ８３」）であり得る。一部の態様では、第１の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸、第２の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸、または第１の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸及び第２の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸は、イソロイシン（「Ｉｌｅ８３」）であり得る。一部の態様では、第１の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸、第２の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸、または第１の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸及び第２の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸は、トレオニン（「Ｔｈｒ８３」）であり得る。第１の軽鎖可変領域における８３位の極性または疎水性アミノ酸は、第２の軽鎖可変領域における８３位の極性または疎水性アミノ酸と同じであっても異なってもよい。

【０１６２】

第１の免疫グロブリン及び第２の免疫グロブリンは、同じ抗原に結合し得る。一部の態様では、第１の免疫グロブリン及び第２の免疫グロブリンは、同じ抗原の同じエピトープに結合し得る。他の態様では、第１の免疫グロブリン及び第２の免疫グロブリンは、同じ抗原の異なるエピトープに結合し得る。一部の実施形態では、例えば、第１の免疫グロブリン及び第２の免疫グロブリンは、ヒトＣＡ９に免疫特異的に結合する免疫グロブリンであり得、第１の免疫グロブリン、第２の免疫グロブリン、またはそれらの両方が、フルオロフォア、蛍光色素、ポリペプチド、免疫グロブリン、抗生物質、核酸、放射性核種、化学リンカー、小分子、キレート剤、脂質、または薬物のうちのいずれか一つに抱合される。一部の実施形態では、第１の免疫グロブリン及び第２の免疫グロブリンは、ヒトＴＥＭ１に免疫特異的に結合する免疫グロブリンであり得、第１の免疫グロブリン、第２の免疫グロブリン、またはそれらの両方が、フルオロフォア、蛍光色素、ポリペプチド、免疫グロブリン、抗生物質、核酸、放射性核種、化学リンカー、小分子、キレート剤、脂質、または薬物のうちのいずれか一つに抱合される。一部の実施形態では、第１の免疫グロブリン及び第２の免疫グロブリンは、ヒトＭＳＬＮに免疫特異的に結合する免疫グロブリンであり得、第１の免疫グロブリン、第２の免疫グロブリン、またはそれらの両方が、フルオロフォア、蛍光色素、ポリペプチド、免疫グロブリン、抗生物質、核酸、放射性核種、化学リンカー、小分子、キレート剤、脂質、または薬物のうちのいずれか一つに抱合される。

【０１６３】

第１の免疫グロブリン及び第２の免疫グロブリンは、異なる抗原に結合し得る。一部の実施形態では、例えば、第１の抱合型免疫グロブリンは、ヒトＣＡ９に免疫特異的に結合する免疫グロブリンであり得、ヒトＣＡ９に結合する第１の免疫グロブリンは、フルオロフォア、蛍光色素、ポリペプチド、免疫グロブリン、抗生物質、核酸、放射性核種、化学リンカー、小分子、キレート剤、脂質、または薬物のうちのいずれか一つに抱合され、一方、第２の免疫グロブリンは、ヒトＴＥＭ１またはヒトＭＳＬＮに免疫特異的に結合する免疫グロブリンであり得る。かかる実施形態では、第２の免疫グロブリンは、フルオロフォア、蛍光色素、ポリペプチド、免疫グロブリン、抗生物質、核酸、放射性核種、化学リンカー、小分子、キレート剤、脂質、または薬物のうちのいずれか一つに抱合され得る。一部の実施形態では、第１の抱合型免疫グロブリンは、ヒトＴＥＭ１に免疫特異的に結合する免疫グロブリンであり得、免疫グロブリンは、フルオロフォア、蛍光色素、ポリペプチド、免疫グロブリン、抗生物質、核酸、放射性核種、化学リンカー、小分子、キレート剤、脂質、または薬物のうちのいずれか一つに抱合され、一方、第２の免疫グロブリンは、ヒトＣＡ９またはヒトＭＳＬＮに免疫特異的に結合する免疫グロブリンであり得る。かかる実施形態では、第２の免疫グロブリンは、フルオロフォア、蛍光色素、ポリペプチド、免疫グロブリン、抗生物質、核酸、放射性核種、化学リンカー、小分子、キレート剤、脂質、または薬物のうちのいずれか一つに抱合され得る。一部の実施形態では、第１の抱合型免疫グロブリンは、ヒトＭＳＬＮに免疫特異的に結合する免疫グロブリンであり得、免疫グロブリンは、フルオロフォア、蛍光色素、ポリペプチド、免疫グロブリン、抗生物質、核酸、放射性核種、化学リンカー、小分子、キレート剤、脂質、または薬物のうちのいずれか一つに抱合され、一方、第２の免疫グロブリンは、ヒトＣＡ９またはヒトＴＥＭ

１に免疫特異的に結合する免疫グロブリンであり得る。かかる実施形態では、第２の免疫グロブリンは、フルオロフォア、蛍光色素、ポリペプチド、免疫グロブリン、抗生物質、核酸、放射性核種、化学リンカー、小分子、キレート剤、脂質、または薬物のうちのいずれか一つに抱合され得る。

【０１６４】

好適なチオール反応基には、ハロアセチル、マレイミド、アジリジン、アクリロイル、アリール化剤、ビニルスルホン、ピリジルジスルフィド、ＴＮＢチオール、及びジスルフィド還元剤が含まれる。一部の実施形態では、第１のチオール反応基、第２のチオール反応基、またはそれらの両方は、マレイミドを含み得る。一部の実施形態では、第１のチオール反応基、第２のチオール反応基、またはそれらの両方は、ハロアセチルを含み得る。一部の実施形態では、第１のチオール反応基、第２のチオール反応基、またはそれらの両方は、アジリジンを含み得る。一部の実施形態では、第１のチオール反応基、第２のチオール反応基、またはそれらの両方は、アクリロイルを含み得る。一部の実施形態では、第１のチオール反応基、第２のチオール反応基、またはそれらの両方は、アリール化剤を含み得る。一部の実施形態では、第１のチオール反応基、第２のチオール反応基、またはそれらの両方は、ビニルスルホンを含み得る。一部の実施形態では、第１のチオール反応基、第２のチオール反応基、またはそれらの両方は、ピリジルジスルフィドを含み得る。一部の実施形態では、第１のチオール反応基、第２のチオール反応基、またはそれらの両方は、ＴＮＢチオールを含み得る。一部の実施形態では、第１のチオール反応基、第２のチオール反応基、またはそれらの両方は、ジスルフィド還元剤を含み得る。

【０１６５】

第１のチオール反応基、第２のチオール反応基、またはそれらの両方は、リンカーに結合し得る。一部の態様では、第１のチオール反応基は、リンカー（「第１のリンカー」）に結合し得る。一部の態様では、第２のチオール反応基は、リンカー（「第２のリンカー」）に結合し得る。更に他の態様では、第１のチオール反応基は第１のリンカーに結合し得、第２のチオール反応基は第２のリンカーに結合し得る。好適な第１及び第２のリンカーは、切断可能でないリンカーまたは切断可能なリンカーであり得る。例示的な第１及び第２のリンカーには、例えば、ジスルフィド含有リンカー、アセタール系リンカー、及びケタール系リンカーが含まれる。一部の態様では、第１のリンカー、第２のリンカー、またはそれらの両方は、切断可能でないリンカーであり得る。好適な切断可能でないリンカーには、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）またはアルキルが含まれるが、これらに限定されない。一部の実施形態では、第１のリンカー、第２のリンカー、またはそれらの両方は、ＰＥＧを含み得る。一部の態様では、第１のリンカー、第２のリンカー、またはそれらの両方は、切断可能なリンカーであり得る。好適な切断可能なリンカーには、例えば、バリン－シトルリン－パラアミノベンジルが含まれる。一部の態様では、第１のリンカー、第２のリンカー、またはそれらの両方は、ジスルフィド含有リンカーであり得る。一部の態様では、第１のリンカー、第２のリンカー、またはそれらの両方は、アセタール系リンカーであり得る。一部の態様では、第１のリンカー、第２のリンカー、またはそれらの両方は、ケタール系リンカーであり得る。チオール反応基に共有結合するリンカーの例は、例えば、米国公開第２０１４００５０７４６号で提供されている。

【０１６６】

第１のチオール反応性化合物、第２のチオール反応性化合物、またはそれらの両方は、機能性剤を更に含み得る。一部の態様では、第１のチオール反応性化合物は、機能性剤（「第１の機能性剤」）を更に含み得る。一部の態様では、第２のチオール反応性化合物は、機能性剤（「第２の機能性剤」）を更に含み得る。更に他の態様では、第１のチオール反応性化合物は第１の機能性剤を更に含み得、第２のチオール反応性化合物は第２の機能性剤を更に含み得る。

【０１６７】

好適な機能性剤には、例えば、化学リンカーが含まれる。好ましくは、第１のチオール反応性化合物の化学リンカー（「第１の化学リンカー」）及び第２のチオール反応性化合

物の化学リンカー（「第２の化学リンカー」）は、結合し得る。例えば、限定することを意図しないが、第１または第２の化学リンカーのうちの一方がジベンジルシクロオクチン（ＤＢＣＯ）であり、それらのうちのもう一方がアジドであり得る。一部の実施形態では、例えば、第１の化学リンカーがＤＢＣＯであり、第２の化学リンカーがアジドであり得る。これとは逆に、第１の化学リンカーがアジドであり、第２の化学リンカーがＤＢＣＯであり得る。ＤＢＣＯとアジドとは結合することができるため、第１の免疫グロブリンと第２の免疫グロブリンとの抱合がもたらされる。例えば、第１の免疫グロブリン及び第２の免疫グロブリンは、クリック化学によって互いに抱合することができる。

【０１６８】

例示的な実施形態では、チオール反応性化合物は、マレイミド－ＰＥＧ４－アジド及びマレイミド－ＰＥＧ４－ジベンゾシクロオクチンを含み得る。一部の態様では、例えば、第１のチオール反応性化合物はマレイミド－ＰＥＧ４－アジドであり得、第２のチオール反応性化合物はマレイミド－ＰＥＧ４－ジベンゾシクロオクチンであり得る。一部の態様では、第１のチオール反応性化合物はマレイミド－ＰＥＧ４－ジベンゾシクロオクチンであり得、第２のチオール反応性化合物はマレイミド－ＰＥＧ４－アジドであり得る。このため、第１のチオール反応性化合物は、第２のチオール反応性化合物とは異なり得る。

【０１６９】

第１の免疫グロブリン、第２の免疫グロブリン、またはそれらの両方は、Ｆａｂであり得る。一部の実施形態では、第１の免疫グロブリンはＦａｂ（「第１のＦａｂ」）であり得る。一部の実施形態では、第２の免疫グロブリンはＦａｂ（「第２のＦａｂ」）であり得る。更に他の実施形態では、第１の免疫グロブリンは第１のＦａｂであり得、第２の免疫グロブリンは第２のＦａｂであり得る。

【０１７０】

対象における癌の治療方法

薬学的有効量の抱合型メソテリン免疫グロブリンを対象に投与することを含む、対象における癌の治療方法も本明細書で開示され、抱合型メソテリン免疫グロブリンは、

本明細書に開示される抱合型メソテリン免疫グロブリンのうちのいずれかと、

チオール反応基、リンカー、及び機能性剤を含むチオール反応性化合物と、を含む。

【０１７１】

開示される抱合型免疫グロブリンに関する特質、特徴、及び実施形態のいずれも、開示される癌の治療方法において使用される抱合型免疫グロブリンに等しく適用可能であることを理解されたい。したがって、開示される方法は、薬学的有効量の抱合型メソテリン免疫グロブリンを対象に投与することを含み得、抱合型メソテリン免疫グロブリンは、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、軽鎖可変領域は、８０位のシステイン（「Ｃｙｓ８０」）及び８３位のＰｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸を有し、Ｃｙｓ８０は、チオール反応性化合物に抱合され、チオール反応性化合物は、チオール反応基、リンカー、及び機能性剤を含む。一部の実施形態では、８３位のＰｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸は、極性または疎水性アミノ酸である。

【０１７２】

好ましくは、癌は、メソテリンを発現している癌である。一部の実施形態では、開示される方法において使用するための抱合型抗体は、

ａ．ｘｉ３３Ｏ１１ＨＣ（配列番号６２）のアミノ酸２０～１４２と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ３３Ｏ１１ＬＣ（配列番号１１６）のアミノ酸２０～１３１と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｂ．ｚｕ３３Ｏ１１ＨＣ（配列番号６４）のアミノ酸２０～１４５と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＡ（配列番号１２０）もしくはｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＩ（配列番号１２２）のアミノ酸２０～１３１と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｃ．ｘｉ３２４Ｏ５ＨＣ（配列番号６６）のアミノ酸２０～１３７と少なくとも９０％

同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ３２４Ｏ５ＬＣ（配列番号１２４）のアミノ酸２０～１２７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｄ．ｘｉ１７８Ｆ１６ＨＣ（配列番号６８）のアミノ酸２０～１３７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ１７８Ｆ１６ＬＣ（配列番号１２６）のアミノ酸２０～１２７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｅ．ｘｉ２３７Ｎ１８ＨＣ（配列番号７０）のアミノ酸２０～１３２と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ２３７Ｎ１８ＬＣ（配列番号１２８）のアミノ酸２０～１２７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、または

ｆ．ｘｉ３８３Ｉ１８ＨＣ（配列番号７２）のアミノ酸２０～１３７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ３８３Ｉ１８ＬＣ（配列番号１３０）のアミノ酸２０～１２７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、を含む。

【０１７３】

抗体（ａ）～（ｆ）は、オーリスタチンなどの抗腫瘍薬を機能性剤として有するものを含むがこれに限定されない、いくつかの好適なチオール反応性化合物に抱合され得る。このため、一部の実施形態では、本方法は、薬学的有効量の抱合型免疫グロブリンを対象に投与することを含み得、抱合型免疫グロブリンは、オーリスタチンＦを含むチオール反応性化合物に各々抱合される免疫グロブリン（ａ）～（ｆ）のうちの１つ以上を含み、チオール反応性化合物は、Ｃｙｓ８０で免疫グロブリンの軽鎖可変領域に抱合される。

【０１７４】

一部の実施形態では、開示される方法において使用するための抱合型抗体は、

ａ．ｘｉ３３Ｏ１１ＨＣ（配列番号６２）のアミノ酸２０～１４２と示される重鎖可変領域、及びｘｉ３３Ｏ１１ＬＣ（配列番号１１６）のアミノ酸２０～１３１と示される軽鎖可変領域、

ｂ．ｚｕ３３Ｏ１１ＨＣ（配列番号６４）のアミノ酸２０～１４５と示される重鎖可変領域、及びｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＡ（配列番号１２０）もしくはｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＩ（配列番号１２２）のアミノ酸２０～１３１と示される軽鎖可変領域、

ｃ．ｘｉ３２４Ｏ５ＨＣ（配列番号６６）のアミノ酸２０～１３７と示される重鎖可変領域、及びｘｉ３２４Ｏ５ＬＣ（配列番号１２４）のアミノ酸２０～１２７と示される軽鎖可変領域、

ｄ．ｘｉ１７８Ｆ１６ＨＣ（配列番号６８）のアミノ酸２０～１３７と示される重鎖可変領域、及びｘｉ１７８Ｆ１６ＬＣ（配列番号１２６）のアミノ酸２０～１２７と示される軽鎖可変領域、

ｅ．ｘｉ２３７Ｎ１８ＨＣ（配列番号７０）のアミノ酸２０～１３２と示される重鎖可変領域、及びｘｉ２３７Ｎ１８ＬＣ（配列番号１２８）のアミノ酸２０～１２７と示される軽鎖可変領域、または

ｆ．ｘｉ３８３Ｉ１８ＨＣ（配列番号７２）のアミノ酸２０～１３７と示される重鎖可変領域、及びｘｉ３８３Ｉ１８ＬＣ（配列番号１３０）のアミノ酸２０～１２７と示される軽鎖可変領域、を含む。

【０１７５】

抗体（ａ）～（ｆ）は、オーリスタチンなどの抗腫瘍薬を機能性剤として有するものを含むがこれに限定されない、いくつかの好適なチオール反応性化合物に抱合され得る。このため、一部の実施形態では、本方法は、薬学的有効量の抱合型免疫グロブリンを対象に投与することを含み得、抱合型免疫グロブリンは、オーリスタチンＦを含むチオール反応性化合物に各々抱合される免疫グロブリン（ａ）～（ｆ）のうちの１つ以上を含み、チオール反応性化合物は、Ｃｙｓ８０で免疫グロブリンの軽鎖可変領域に抱合される。

【０１７６】

一部の実施形態では、開示される方法において使用するための抱合型抗体は、
ａ．それぞれ配列番号１７６、１７８、及び１８０と示されるｘｉ３３Ｏ１１ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３３８、３４０、及び３４２中で示されるｘｉ３３Ｏ１１ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、
ｂ．それぞれ配列番号１８２、１８４、及び１８６と示されるｚｕ３３Ｏ１１ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３５０、３５２、及び３５４と示されるｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＡ、もしくはそれぞれ配列番号３５６、３５８、及び３６０と示されるｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＩの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、
ｃ．それぞれ配列番号１８８、１９０、及び１９２と示されるｘｉ３２４Ｏ５ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３６２、３６４、及び３６６として示されるｘｉ３２４Ｏ５ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、
ｄ．それぞれ配列番号１９４、１９６、及び１９８と示されるｘｉ１７８Ｆ１６ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３６８、３７０、及び３７２と示されるｘｉ１７８Ｆ１６ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、
ｅ．それぞれ配列番号２００、２０２、及び２０４と示されるｘｉ２３７Ｎ１８ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３７４、３７６、及び３７８と示されるｘｉ２３７Ｎ１８ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、または
ｆ．それぞれ配列番号２０６、２０８、及び２１０と示されるｘｉ３８３Ｉ１８ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３８０、３８２、及び３８４と示されるｘｉ３８３Ｉ１８ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、を含み得る。

【０１７７】

抗体（ａ）～（ｆ）は、オーリスタチンなどの抗腫瘍薬を機能性剤として有するものを含むがこれに限定されない、いくつかの好適なチオール反応性化合物に抱合され得る。このため、一部の実施形態では、本方法は、薬学的有効量の抱合型免疫グロブリンを対象に投与することを含み得、抱合型免疫グロブリンは、オーリスタチンＦを含むチオール反応性化合物に各々抱合される免疫グロブリン（ａ）～（ｆ）のうちの１つ以上を含み、チオール反応性化合物は、Ｃｙｓ８０で免疫グロブリンの軽鎖可変領域に抱合される。

【０１７８】

癌の検出方法

対象における癌の検出方法も本明細書で開示される。一部の実施形態では、本方法は、対象に対して行うことができる。例えば、開示される方法は、薬学的有効量の抱合型免疫グロブリンを対象に投与することを含み得、抱合型免疫グロブリンは、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、軽鎖可変領域は、８０位のシステイン（「Ｃｙｓ８０」）及び８３位のＰｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸を有し、Ｃｙｓ８０は、チオール反応性化合物に抱合され、チオール反応性化合物は、チオール反応基、リンカー、及び機能性剤を含む。一部の実施形態では、８３位のＰｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸は、極性または疎水性である。

【０１７９】

代替的に、本方法は、対象から得た生体試料に対して行うことができる。例えば、本方法は、生体試料を抱合型免疫グロブリンと接触させることを含み得、抱合型免疫グロブリンは、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、軽鎖可変領域は、８０位のシステイン（「Ｃｙｓ８０」）及び８３位のＰｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸を有し、Ｃｙｓ８０は、チオール反応性化合物に抱合され、チオール反応性化合物は、チオール反応基、リンカー、及び機能性剤を含む。８３位のＰｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸は、極性または疎水性である。一部の実施形態では、本方法はエクスビボで行われ得る。一部の実施形態では、本方法はインビボで行われ得る。

【０１８０】

機能性剤は、フルオロフォアまたは蛍光色素である。

【０１８１】

免疫グロブリン本明細書に開示される免疫グロブリンのうちのいずれも、フルオロフォアまたは蛍光色素に抱合され得、開示される癌の検出方法において使用することができる。一部の実施形態では、癌は、ＣＡ９を発現している癌であり、抱合型免疫グロブリンは、ＣＡ９－フルオロフォアＣｙｓ８０抱合体またはＣＡ９－蛍光色素Ｃｙｓ８０抱合体であり、

ａ．ｘｉ１５５Ｄ５ＨＣ（配列番号５２）のアミノ酸２０～１４１と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ１５５Ｄ５ＬＣ（配列番号７８）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｂ．ｚｕ１５５Ｄ５ＨＣ（配列番号５４）のアミノ酸２０～１４４と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－３（配列番号８４）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－４（配列番号８６）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－５（配列番号８８）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－６（配列番号９０）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－７（配列番号９２）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ２－４０（配列番号９６）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ４－１（配列番号１００）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ６－２１（配列番号１０２）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ６Ｄ－４１（配列番号１０４）、もしくはｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ７－３－Ｇｌｕ８１（配列番号１０６）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｃ．ｘｉ１Ｅ４ＨＣ（配列番号５８）のアミノ酸２０～１３８と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ１Ｅ４ＬＣ（配列番号１１０）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｄ．ｚｕ１Ｅ４ＨＣ（配列番号６０）のアミノ酸２０～１４０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｚｕ１Ｅ４ＬＣ－ＣＸＸＡ（配列番号１１４）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｅ．ａ　ｘｉ１６６Ｂ３ＨＣ（配列番号７４）のアミノ酸２０～１４２と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域及びｘｉ１６６Ｂ３ＬＣ（配列番号１３２）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｆ．ａ　ｚｕ１６６Ｂ３ＨＣ（配列番号７６）のアミノ酸２０～１４５と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域及びｚｕ１６６Ｂ３ＬＣ－ＣＸＸＡ（配列番号１３６）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｇ．ｘｉ１５５Ｄ５ＨＣ（配列番号５２）のアミノ酸２０～１４１と示される重鎖可変領域、及びｘｉ１５５Ｄ５ＬＣ（配列番号７８）のアミノ酸２０～１３０と示される軽鎖可変領域、

ｈ．ｚｕ１５５Ｄ５ＨＣ（配列番号５４）のアミノ酸２０～１４４と示される重鎖可変領域、及びｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－３（配列番号８４）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－４（配列番号８６）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－５（配列番号８８）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－６（配列番号９０）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－７（配列番号９２）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ２－４０（配列番号９６）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ４－１（配列番号１００）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ６－２１（配列番号１０２）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ６Ｄ－４１（配列番号１０４）、もしくはｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ７－３－Ｇｌｕ８１（配列番号１０６）のアミノ酸２０～１３０と示される軽鎖可変領域、

ｉ．ｘｉ１Ｅ４ＨＣ（配列番号５８）のアミノ酸２０～１３８と示される重鎖可変領域、及びｘｉ１Ｅ４ＬＣ（配列番号１１０）のアミノ酸２０～１３０と示される軽鎖可変、

ｊ．ｚｕ１Ｅ４ＨＣ（配列番号６０）のアミノ酸２０～１４０と示される重鎖可変領域、及びｚｕ１Ｅ４ＬＣ－ＣＸＸＡ（配列番号１１４）のアミノ酸２０～１３０と示される

軽鎖可変領域、
ｋ．ｘｉ１６６Ｂ３ＨＣ（配列番号７４）のアミノ酸２０～１４２と示される重鎖可変領域、及びｘｉ１６６Ｂ３ＬＣ（配列番号１３２）のアミノ酸２０～１３０と示される軽鎖可変領域、
ｌ．ｚｕ１６６Ｂ３ＨＣ（配列番号７６）のアミノ酸２０～１４５と示される重鎖可変領域、及びｚｕ１６６Ｂ３ＬＣ－ＣＸＸＡ（配列番号１３６）のアミノ酸２０～１３０と示される軽鎖可変領域、
ｍ．それぞれ配列番号１４６、１４８、及び１５０と示される、ｘｉ１５５Ｄ５ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号２２４、２２６、及び２２８と示される、ｘｉ１５５Ｄ５ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、
ｎ．それぞれ配列番号１５２、１５４、及び１５６と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号２４２、２４４、及び２４６と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－３、それぞれ配列番号２４８、２５０、及び２５２と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－４、それぞれ配列番号２５４、２５６、及び２５８と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－５、それぞれ配列番号２６０、２６２、及び２６４と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－６、それぞれ配列番号２６６、２６８、及び２７０と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－７、それぞれ配列番号２７８、２８０、及び２８２と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ２－４０、それぞれ配列番号２９０、２９２、及び２９４と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ４－１、それぞれ配列番号２９６、２９８、及び３００と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ６－２１、それぞれ配列番号３０２、３０４、及び３０６と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ６Ｄ－４１、もしくはそれぞれ配列番号３０８、３１０、及び３１２と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ７－３－Ｇｌｕ８１の軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、
ｏ．それぞれ配列番号１６４、１６６、及び１６８と示されるｘｉ１Ｅ４ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、ならびにそれぞれ配列番号３２０、３２２、及び３２４と示されるｘｉ１Ｅ４ＬＣのＣＤＲ３、軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、
ｐ．それぞれ配列番号１７０、１７２、及び１７４と示されるｚｕ１Ｅ４ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３３２、３３４、及び３３６と示されるｚｕ１Ｅ４ＬＣ－ＣＸＸＡの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、
ｑ．それぞれ配列番号２１２、２１４、及び２１６と示されるｘｉ１６６Ｂ３ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３８６、３８８、及び３９０と示されるｘｉ１６６Ｂ３ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、または
ｒ．それぞれ配列番号２１８、２２０、及び２２２と示されるｚｕ１６６Ｂ３ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３９８、４００、及び４０２と示されるｚｕ１６６Ｂ３ＬＣ－ＣＸＸＡの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、を含む。

【０１８２】

一部の実施形態では、癌は、ＴＥＭ１を発現している癌であり、抱合型免疫グロブリンは、ＴＥＭ１－フルオロフォアＣｙｓ８０抱合体またはＴＥＭ１－蛍光色素Ｃｙｓ８０抱合体であり、
ａ．ｘｉ１－５５－２ＨＣ（配列番号５６）のアミノ酸２０～１３９と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ１－５５－２ＬＣ（配列番号１０８）のアミノ酸２０～１２９と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、
ｂ．ｘｉ１－５５－２ＨＣ（配列番号５６）のアミノ酸２０～１３９と示される重鎖可変領域、及びｘｉ１－５５－２ＬＣ（配列番号１０８）のアミノ酸２０～１２９と示される軽鎖可変領域、または
ｃ．それぞれ配列番号１５８、１６０、及び１６２と示されるｘｉ１－５５－２ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３１４、３１６、及び３１８と示されるｘｉ１－５５－２ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、を

含む。

【０１８３】

一部の実施形態では、癌は、ＭＳＬＮを発現している癌であり、抱合型免疫グロブリンは、ＭＳＬＮ－フルオロフォアＣｙｓ８０抱合体またはＭＳＬＮ－蛍光色素Ｃｙｓ８０抱合体であり、

ａ．ｘｉ３３Ｏ１１ＨＣ（配列番号６２）のアミノ酸２０～１４２と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ３３Ｏ１１ＬＣ（配列番号１１６）のアミノ酸２０～１３１と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｂ．ｚｕ３３Ｏ１１ＨＣ（配列番号６４）のアミノ酸２０～１４５と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＡ（配列番号１２０）もしくはｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＩ（配列番号１２２）のアミノ酸２０～１３１と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｃ．ｘｉ３２４Ｏ５ＨＣ（配列番号６６）のアミノ酸２０～１３７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ３２４Ｏ５ＬＣ（配列番号１２４）のアミノ酸２０～１２７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｄ．ｘｉ１７８Ｆ１６ＨＣ（配列番号６８）のアミノ酸２０～１３７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ１７８Ｆ１６ＬＣ（配列番号１２６）のアミノ酸２０～１２７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｅ．ｘｉ２３７Ｎ１８ＨＣ（配列番号７０）のアミノ酸２０～１３２と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ２３７Ｎ１８ＬＣ（配列番号１２８）のアミノ酸２０～１２７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｆ．ｘｉ３８３Ｉ１８ＨＣ（配列番号７２）のアミノ酸２０～１３７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ３８３Ｉ１８ＬＣ（配列番号１３０）のアミノ酸２０～１２７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｇ．ｘｉ３３Ｏ１１ＨＣ（配列番号６２）のアミノ酸２０～１４２と示される重鎖可変領域、及びｘｉ３３Ｏ１１ＬＣ（配列番号１１６）のアミノ酸２０～１３１と示される軽鎖可変領域、

ｈ．ｚｕ３３Ｏ１１ＨＣ（配列番号６４）のアミノ酸２０～１４５と示される重鎖可変領域、及びｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＡ（配列番号１２０）もしくはｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＩ（配列番号１２２）のアミノ酸２０～１３１と示される軽鎖可変領域、

ｉ．ｘｉ３２４Ｏ５ＨＣ（配列番号６６）のアミノ酸２０～１３７と示される重鎖可変領域、及びｘｉ３２４Ｏ５ＬＣ（配列番号１２４）のアミノ酸２０～１２７と示される軽鎖可変領域、

ｊ．ｘｉ１７８Ｆ１６ＨＣ（配列番号６８）のアミノ酸２０～１３７と示される重鎖可変領域、及びｘｉ１７８Ｆ１６ＬＣ（配列番号１２６）のアミノ酸２０～１２７と示される軽鎖可変領域、

ｋ．ｘｉ２３７Ｎ１８ＨＣ（配列番号７０）のアミノ酸２０～１３２と示される重鎖可変領域、及びｘｉ２３７Ｎ１８ＬＣ（配列番号１２８）のアミノ酸２０～１２７と示される軽鎖可変領域、

ｌ．ｘｉ３８３Ｉ１８ＨＣ（配列番号７２）のアミノ酸２０～１３７と示される重鎖可変領域、及びｘｉ３８３Ｉ１８ＬＣ（配列番号１３０）のアミノ酸２０～１２７と示される軽鎖可変領域、

ｍ．それぞれ配列番号１７６、１７８、及び１８０と示されるｘｉ３３Ｏ１１ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３３８、３４０、及び３４２中で示されるｘｉ３３Ｏ１１ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、

ｎ．それぞれ配列番号１８２、１８４、及び１８６と示されるｚｕ３３Ｏ１１ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３５０、３５２、及び３５４と示されるｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＡ、もしくはそれぞれ配列番号３５６、３５８、及び３６０と示されるｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＩの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、

ｏ．それぞれ配列番号１８８、１９０、及び１９２と示されるｘｉ３２４Ｏ５ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３６２、３６４、及び３６６として示されるｘｉ３２４Ｏ５ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、

ｐ．それぞれ配列番号１９４、１９６、及び１９８と示されるｘｉ１７８Ｆ１６ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３６８、３７０、及び３７２と示されるｘｉ１７８Ｆ１６ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、

ｑ．それぞれ配列番号２００、２０２、及び２０４と示されるｘｉ２３７Ｎ１８ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３７４、３７６、及び３７８と示されるｘｉ２３７Ｎ１８ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、または

ｒ．それぞれ配列番号２０６、２０８、及び２１０と示されるｘｉ３８３Ｉ１８ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３８０、３８２、及び３８４と示されるｘｉ３８３Ｉ１８ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、を含む。

【０１８４】

免疫グロブリンへの抱合のための例示的なフルオロフォアには、例えば、ＩＲＤｙｅ－８００ＣＷが含まれる。

【０１８５】

本方法は、抱合型免疫グロブリンを対照に投与すること、または生体試料を抱合型免疫グロブリンと接触させること、及びそれぞれ対象もしくは生体試料中に存在する抱合型免疫グロブリンと抗原（ＣＡ９、ＴＥＭ１、またはＭＳＬＮ）との結合を検出することを含み得る。好適な検出方法には、例えば、蛍光撮像が含まれる。抱合型免疫グロブリンと抗原との結合の検出（例えば、蛍光シグナルの発光による）は、癌を示す。

【０１８６】

薬学的組成物

薬学的組成物も本明細書で提供される。一部の実施形態では、薬学的組成物は、本明細書に開示される免疫グロブリンのうちのいずれかを含み得る。一部の実施形態では、薬学的組成物は、本明細書に開示される抱合型免疫グロブリンのうちのいずれかを含み得る。

【０１８７】

本明細書に記載の治療または診断方法に従う抱合型免疫グロブリンの投与は、当該技術分野で既知のいずれの方法によってもよい。

【０１８８】

抱合型免疫グロブリンにおいて使用するための軽鎖可変領域

抱合型免疫グロブリンにおいて使用するための軽鎖可変領域が本明細書で提供され、軽鎖可変領域は、システインａｔアミノ酸８０位のシステイン（「Ｃｙｓ８０」）と、アミノ酸８３位のＰｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸残基とを有し、Ｃｙｓ８０は、不対である。一部の実施形態では、８３位のＰｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸は、極性または疎水性である。

【０１８９】

好ましい実施形態では、軽鎖は、Ｃｙｓ８０－Ｘａａ$_1$－Ｘａａ$_2$－Ｘａａ$_3$モチーフを有し、Ｘａａ$_3$は、Ｐｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸である。

【０１９０】

好適な軽鎖可変領域には、例えば、カッパ軽鎖可変領域が含まれる。軽鎖可変領域はウサギに由来する。一部の実施形態では、Ｃｙｓ８０は、ウサギ免疫グロブリンの天然の軽鎖可変領域中に存在し得る。Ｃｙｓ８０を有する軽鎖可変領域が由来し得る例示的なウサ

ギには、アナウサギ（Ｏｒｙｃｔｏｌａｇｕｓ　ｃｕｎｉｃｕｌｕｓ）が含まれるが、これに限定されない。一部の態様では、例えば、軽鎖可変領域は、ニュージーランドホワイト（ＮＺＷ）ウサギに由来し得る。他の態様では、軽鎖可変領域は、ｂ９ウサギに由来し得る。

【０１９１】

Ｃｙｓ８０は、キャップ除去され得、分子内または分子間ジスルフィド結合に関与し得るか、またはキャッピングシステインを有し得る。

【０１９２】

一部の実施形態では、軽鎖可変領域はキメラ化され得る。他の実施形態では、軽鎖可変領域はヒト化され得る。

【０１９３】

軽鎖可変領域は、

ａ．ｘｉ１５５Ｄ５ＬＣ（配列番号７８）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｂ．ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－３（配列番号８４）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－４（配列番号８６）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－５（配列番号８８）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－６（配列番号９０）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－７（配列番号９２）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ２－４０（配列番号９６）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ４－１（配列番号１００）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ６－２１（配列番号１０２）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ６Ｄ－４１（配列番号１０４）；またはｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ７－３－Ｇｌｕ８１（配列番号１０６）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｃ．ｘｉ１Ｅ４ＬＣ（配列番号１１０）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｄ．ｚｕ１Ｅ４ＬＣ－ＣＸＸＡ（配列番号１１４）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｅ．ａ　ｘｉ１６６Ｂ３ＬＣ（配列番号１３２）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｆ．ａ　ｚｕ１６６Ｂ３ＬＣ－ＣＸＸＡ（配列番号１３６）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｇ．ｘｉ１－５５－２ＬＣ（配列番号１０８）のアミノ酸２０～１２９と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｈ．ｘｉ３３Ｏ１１ＬＣ（配列番号１１６）のアミノ酸２０～１３１と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｉ．ｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＡ（配列番号１２０）またはｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＩ（配列番号１２２）のアミノ酸２０～１３１と少なくとも９０％同一であるアミノ酸を有する軽鎖可変領域、

ｊ．ｘｉ３２４Ｏ５ＬＣ（配列番号１２４）のアミノ酸２０～１２７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｋ．ｘｉ１７８Ｆ１６ＬＣ（配列番号１２６）のアミノ酸２０～１２７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｌ．ｘｉ２３７Ｎ１８ＬＣ（配列番号１２８）のアミノ酸２０～１２７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、または

ｍ．ｘｉ３８３Ｉ１８ＬＣ（配列番号１３０）のアミノ酸２０～１２７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、を含み得るか、それらから成り得るか、または実質的にそれらから成り得る。

【０１９４】

免疫グロブリンをコードする核酸分子及びそれを含む宿主細胞

上で開示される免疫グロブリンのうちのいずれかをコードする核酸分子も本明細書で提供される。一部の実施形態では、核酸分子は、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む免疫

グロブリンをコードし、軽鎖可変領域は、８０位のシステイン（「Ｃｙｓ８０」）及び８３位のＰｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸を有する。一部の実施形態では、８３位のＰｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸は、極性または疎水性である。

【０１９５】

開示される核酸分子は、ヒトＣＡ９に免疫特異的に結合し得る免疫グロブリンをコードすることができる。一部の実施形態では、核酸分子は、

ａ．ｘｉ１５５Ｄ５ＨＣ（配列番号５２）のアミノ酸２０～１４１と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ１５５Ｄ５ＬＣ（配列番号７８）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｂ．ｚｕ１５５Ｄ５ＨＣ（配列番号５４）のアミノ酸２０～１４４と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－３（配列番号８４）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－４（配列番号８６）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－５（配列番号８８）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－６（配列番号９０）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－７（配列番号９２）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ２－４０（配列番号９６）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ４－１（配列番号１００）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ６－２１（配列番号１０２）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ６Ｄ－４１（配列番号１０４）、もしくはｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ７－３－Ｇｌｕ８１（配列番号１０６）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｃ．ｘｉ１Ｅ４ＨＣ（配列番号５８）のアミノ酸２０～１３８と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ１Ｅ４ＬＣ（配列番号１１０）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｄ．ｚｕ１Ｅ４ＨＣ（配列番号６０）のアミノ酸２０～１４０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｚｕ１Ｅ４ＬＣ－ＣＸＸＡ（配列番号１１４）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｅ．ｘｉ１６６Ｂ３ＨＣ（配列番号７４）のアミノ酸２０～１４２と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ１６６Ｂ３ＬＣ（配列番号１３２）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、または

ｆ．ｚｕ１６６Ｂ３ＨＣ（配列番号７６）のアミノ酸２０～１４５と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｚｕ１６６Ｂ３ＬＣ－ＣＸＸＡ（配列番号１３６）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、をコードする。

【０１９６】

一部の実施形態では、核酸分子は、

ａ．ｘｉ１５５Ｄ５ＨＣ（配列番号５２）のアミノ酸２０～１４１と示される重鎖可変領域、及びｘｉ１５５Ｄ５ＬＣ（配列番号７８）のアミノ酸２０～１３０と示される軽鎖可変領域、

ｂ．ｚｕ１５５Ｄ５ＨＣ（配列番号５４）のアミノ酸２０～１４４と示される重鎖可変領域、及びｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－３（配列番号８４）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－４（配列番号８６）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－５（配列番号８８）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－６（配列番号９０）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－７（配列番号９２）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ２－４０（配列番号９６）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ４－１（配列番号１００）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ６－２１（配列番号１０２）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ６Ｄ－４１（配列番号１０４）、もしくはｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ７－３－Ｇｌｕ８１（配列番号１０６）のアミノ酸２０～１３０と示される軽鎖可変領域、

ｃ．ｘｉ１Ｅ４ＨＣ（配列番号５８）のアミノ酸２０～１３８と示される重鎖可変領域、及びｘｉ１Ｅ４ＬＣ（配列番号１１０）のアミノ酸２０～１３０と示される軽鎖可変、

ｄ．ｚｕ１Ｅ４ＨＣ（配列番号６０）のアミノ酸２０～１４０と示される重鎖可変領域

、及びｚｕ１Ｅ４ＬＣ－ＣＸＸＡ（配列番号１１４）のアミノ酸２０～１３０と示される軽鎖可変領域、

ｅ．ｘｉ１６６Ｂ３ＨＣ（配列番号７４）のアミノ酸２０～１４２と示される重鎖可変領域、及びｘｉ１６６Ｂ３ＬＣ（配列番号１３２）のアミノ酸２０～１３０と示される軽鎖可変領域、または

ｆ．ｚｕ１６６Ｂ３ＨＣ（配列番号７６）のアミノ酸２０～１４５と示される重鎖可変領域、及びｚｕ１６６Ｂ３ＬＣ－ＣＸＸＡ（配列番号１３６）のアミノ酸２０～１３０と示される軽鎖可変領域、をコードする。

【０１９７】

一部の実施形態では、核酸分子は、

ａ．それぞれ配列番号１４６、１４８、及び１５０と示される、ｘｉ１５５Ｄ５ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号２２４、２２６、及び２２８と示される、ｘｉ１５５Ｄ５ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、

ｂ．それぞれ配列番号１５２、１５４、及び１５６と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号２４２、２４４、及び２４６と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－３、それぞれ配列番号２４８、２５０、及び２５２と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－４、それぞれ配列番号２５４、２５６、及び２５８と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－５、それぞれ配列番号２６０、２６２、及び２６４と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－６、それぞれ配列番号２６６、２６８、及び２７０と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－７、それぞれ配列番号２７８、２８０、及び２８２と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ２－４０、それぞれ配列番号２９０、２９２、及び２９４と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ４－１、それぞれ配列番号２９６、２９８、及び３００と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ６－２１、それぞれ配列番号３０２、３０４、及び３０６と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ６Ｄ－４１、もしくはそれぞれ配列番号３０８、３１０、及び３１２と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ７－３－Ｇｌｕ８１の軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、

ｃ．それぞれ配列番号１６４、１６６、及び１６８と示されるｘｉ１Ｅ４ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、ならびにそれぞれ配列番号３２０、３２２、及び３２４と示されるｘｉ１Ｅ４ＬＣのＣＤＲ３、軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、

ｄ．それぞれ配列番号１７０、１７２、及び１７４と示されるｚｕ１Ｅ４ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３３２、３３４、及び３３６と示されるｚｕ１Ｅ４ＬＣ－ＣＸＸＡの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、

ｅ．それぞれ配列番号２１２、２１４、及び２１６と示されるｘｉ１６６Ｂ３ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３８６、３８８、及び３９０と示されるｘｉ１６６Ｂ３ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、または

ｆ．それぞれ配列番号２１８、２２０、及び２２２と示されるｚｕ１６６Ｂ３ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３９８、４００、及び４０２と示されるｚｕ１６６Ｂ３ＬＣ－ＣＸＸＡの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、をコードする。

【０１９８】

開示される核酸分子は、ヒトＴＥＭ１に免疫特異的に結合し得る免疫グロブリンをコードし得る。一部の実施形態では、核酸分子は、ｘｉ１－５５－２ＨＣ（配列番号５６）のアミノ酸２０～１３９と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ１－５５－２ＬＣ（配列番号１０８）のアミノ酸２０～１２９と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域をコードする。一部の実施形態では、核酸分子は、ｘｉ１－５５－２ＨＣ（配列番号５６）のアミノ酸２０～１３９と示される重鎖可変領域、及びｘｉ１－５５－２ＬＣ（配列番号１０８）のアミノ酸２０～１２９と示される軽鎖可変領域をコードする。一部の実施形態では、核酸分子は、それぞれ配列番号１５８、１６０、及び１６２と示されるｘｉ１－５５－２ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３１４、３１６、及び３１８と示されるｘ

ｉ１－５５－２ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３をコードする。

【０１９９】

開示される核酸分子は、ヒトＭＳＬＮに免疫特異的に結合し得る免疫グロブリンをコードすることができる。一部の実施形態では、核酸分子は、

ａ．ｘｉ３３Ｏ１１ＨＣ（配列番号６２）のアミノ酸２０～１４２と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ３３Ｏ１１ＬＣ（配列番号１１６）のアミノ酸２０～１３１と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｂ．ｚｕ３３Ｏ１１ＨＣ（配列番号６４）のアミノ酸２０～１４５と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＡ（配列番号１２０）もしくはｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＩ（配列番号１２２）のアミノ酸２０～１３１と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｃ．ｘｉ３２４Ｏ５ＨＣ（配列番号６６）のアミノ酸２０～１３７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ３２４Ｏ５ＬＣ（配列番号１２４）のアミノ酸２０～１２７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｄ．ｘｉ１７８Ｆ１６ＨＣ（配列番号６８）のアミノ酸２０～１３７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ１７８Ｆ１６ＬＣ（配列番号１２６）のアミノ酸２０～１２７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、

ｅ．ｘｉ２３７Ｎ１８ＨＣ（配列番号７０）のアミノ酸２０～１３２と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ２３７Ｎ１８ＬＣ（配列番号１２８）のアミノ酸２０～１２７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、または

ｆ．ｘｉ３８３Ｉ１８ＨＣ（配列番号７２）のアミノ酸２０～１３７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ３８３Ｉ１８ＬＣ（配列番号１３０）のアミノ酸２０～１２７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、をコードする。

【０２００】

一部の実施形態では、核酸分子は、

ａ．ｘｉ３３Ｏ１１ＨＣ（配列番号６２）のアミノ酸２０～１４２と示される重鎖可変領域、及びｘｉ３３Ｏ１１ＬＣ（配列番号１１６）のアミノ酸２０～１３１と示される軽鎖可変領域、

ｂ．ｚｕ３３Ｏ１１ＨＣ（配列番号６４）のアミノ酸２０～１４５と示される重鎖可変領域、及びｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＡ（配列番号１２０）もしくはｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＩ（配列番号１２２）のアミノ酸２０～１３１と示される軽鎖可変領域、

ｃ．ｘｉ３２４Ｏ５ＨＣ（配列番号６６）のアミノ酸２０～１３７と示される重鎖可変領域、及びｘｉ３２４Ｏ５ＬＣ（配列番号１２４）のアミノ酸２０～１２７と示される軽鎖可変領域、

ｄ．ｘｉ１７８Ｆ１６ＨＣ（配列番号６８）のアミノ酸２０～１３７と示される重鎖可変領域、及びｘｉ１７８Ｆ１６ＬＣ（配列番号１２６）のアミノ酸２０～１２７と示される軽鎖可変領域、

ｅ．ｘｉ２３７Ｎ１８ＨＣ（配列番号７０）のアミノ酸２０～１３２と示される重鎖可変領域、及びｘｉ２３７Ｎ１８ＬＣ（配列番号１２８）のアミノ酸２０～１２７と示される軽鎖可変領域、または

ｆ．ｘｉ３８３Ｉ１８ＨＣ（配列番号７２）のアミノ酸２０～１３７と示される重鎖可変領域、及びｘｉ３８３Ｉ１８ＬＣ（配列番号１３０）のアミノ酸２０～１２７と示される軽鎖可変領域、をコードする。

【０２０１】

一部の実施形態では、核酸分子は、

ａ．それぞれ配列番号１７６、１７８、及び１８０と示されるｘｉ３３Ｏ１１ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３３８、３４０、及び３４２中で示されるｘｉ３３Ｏ１１ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、
ｂ．それぞれ配列番号１８２、１８４、及び１８６と示されるｚｕ３３Ｏ１１ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３５０、３５２、及び３５４と示されるｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＡ、もしくはそれぞれ配列番号３５６、３５８、及び３６０と示されるｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＩの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、
ｃ．それぞれ配列番号１８８、１９０、及び１９２と示されるｘｉ３２４Ｏ５ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３６２、３６４、及び３６６として示されるｘｉ３２４Ｏ５ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、
ｄ．それぞれ配列番号１９４、１９６、及び１９８と示されるｘｉ１７８Ｆ１６ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３６８、３７０、及び３７２と示されるｘｉ１７８Ｆ１６ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、
ｅ．それぞれ配列番号２００、２０２、及び２０４と示されるｘｉ２３７Ｎ１８ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３７４、３７６、及び３７８と示されるｘｉ２３７Ｎ１８ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、または
ｆ．それぞれ配列番号２０６、２０８、及び２１０と示されるｘｉ３８３Ｉ１８ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３８０、３８２、及び３８４と示されるｘｉ３８３Ｉ１８ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、をコードする。

【０２０２】

開示される核酸分子のうちのいずれかを含む宿主細胞も開示される。好適な宿主細胞には、例を挙げると、哺乳動物細胞、細菌細胞、酵母細胞、昆虫細胞が含まれるが、これらに限定されない。

【０２０３】

本明細書に開示される実施形態の一部を更に説明するために以下の実施例が提供される。実施例は、開示される実施形態を例解するものあり、限定するようには意図されない。

【実施例】

【０２０４】

実施例１－例示的な方法

ヒトＴＥＭ１に特異的なウサギｍＡｂの生成（エンドシアリン／ＣＤ２４８）

ウサギの免疫付与：ヒトＴＥＭ１（ｈＴＥＭ１）に特異的なウサギｍＡｂを生成するために、可溶性ヒトエンドシアリン細胞外ドメイン－マウスＦｃ融合タンパク質を調製した（「マウスＩｇＧ２ｂ　Ｆｃに融合させたヒトエンドシアリン／ＴＥ　Ｍ１細胞外ドメイン」）。ｈＴＥＭ１の細胞外ドメインは、エンテロキナーゼ切断部位、続いてＩｇＧ２ｂ　Ｆｃガンマ断片を含むｐＥＦ６－ＥＫ－ＩｇＧ２ｂにインフレームＥｃｏＲＩ／ＨｐａＩでクローニングした。ＣＨＯ－Ｋ１細胞をこの構築物でトランスフェクトし、５μｇ／ｍＬのブラストサイジンを用いて選択した。分泌されたＴＥＭ１－Ｆｃを４～１２％のＰＡＧＥゲル上で電気泳動させ、クマシー染色した後、バンドを切り取った。ゲルのスライスを完全／不完全アジュバント中で乳化させ、３～４週毎に４回ニュージーランドホワイトウサギに注射した。ＥＬＩＳＡで評定した場合にｈＴＥＭ１に対して最高の力価を示すウサギの脾臓を、ハイブリドーマ生成用に採取した。

【０２０５】

ハイブリドーマの生成：以下のように融合を行った：免疫付与したウサギの脾臓細胞（１．５～３×10^8）及び融合パートナー２４０Ｅ　１－１－２を、無血清培地中３７℃の５０％　ＰＥＧ　４０００（ＥＭ　Ｓｃｉｅｎｃｅ、Ｃｈｅｒｒｙ　Ｈｉｌｌ，ＮＪ）を用いて２：１の割合で融合させた。細胞を、１５％のＦＣＳを含む培地中１ウェル当たり約２×10^5の脾臓細胞で４８ウェルマイクロタイタープレートにプレーティングした

。７２時間後、ヒポキサンチン－アミノプテリン－チミジン（ＨＡＴ）を添加した。培地は５～６日毎に交換した。上清を、ＴＥＭ１－Ｆｃをコーティングしたプレートを使用してＴＥＭ－１に特異的な抗体の存在についてＥＬＩＳＡによってスクリーニングし、マウスＦｃに対してカウンタースクリーニングした。ハイブリドーマ由来の上清をｈＴＥＭ１反応性についてＥＬＩＳＡによってスクリーニングし、クローン１－５５－２を組換えクローニング用に選択した。

【０２０６】

抗ｈＴＥＭ１　１－５５－２軽鎖及び重鎖可変領域の増幅：ＲＮＡを、ＲＮｅａｓｙミニキット（Ｑｉａｇｅｎ、Ｖａｌｅｎｃｉａ，ＣＡ）を使用してウサギハイブリドーマ１－５５－２から単離した。２μｇのＲＮＡを、Ｐｌａｔｉｎｕｍ　Ｔａｑ　Ｈｉｇｈ　Ｆｉｄｅｌｉｔｙ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）によるＳｕｐｅｒＳｃｒｉｐｔ　ＩＩＩ　Ｏｎｅ－Ｓｔｅｐ　ＲＴ－ＰＣＲ　Ｓｙｓｔｅｍを用いるＲＴ－ＰＣＲに使用した。ウサギ可変重鎖及び完全長軽鎖遺伝子断片を、それぞれ、プライマー対Ｎ０２９３７／Ｎ０２８９８及びＮ０２９３７／Ｎ０２３４７を使用して増幅させた（表１）。ＲＴ－ＰＣＲ増幅のサイクルパラメータは、５５℃で３０分、９４℃で２分、（９４℃で１５秒、５５℃で３０秒、６８℃で１秒）の３０サイクル、６８℃で２分であった。

【０２０７】

これらのＰＣＲ産物を続いて２回目のＰＣＲで使用し、プライマー対Ｎ０２４１６／Ｎ０２７６１及びＮ０２４１７／Ｎ０２７６４を使用してキメラウサギ／ヒトＩｇＧの生成に適した断片を増幅させた（表１）。２回目のＰＣＲのサイクルパラメータは、９４℃で２分、（９４℃で３０秒、５５℃で３０秒、６８℃で１分）の３０サイクル、６８℃で２分であった。

【表１】

表１．ＲＴ－ＰＣＲ及び抗ｈＴＥＭ１　１－５５－２のクローニングに使用するプライマー

プライマーＩＤ	プライマー配列	断片
N02937	ＧＡＴＣＡＡＧＣＴＴＧＣＣＧＣＣＡＣＣＡＴＧＧＧＣＴＧＧＴＣＣＴＧＣＡＴＣＡＴＣＣＴＧＴＴＴＣＴＧＧＴＧＧＣＧＧＣＣＧＣＣＡＣＣＧＧＣＧＴＧＣＡＣＴＣＣ（配列番号１）	ウサギＶＨ
N02898	ＧＴＧＣＣＴＴＴＧＧＣＴＧＧＣＣＴＧＡＲＧＡＧＡＹＧＧＴＧＡＣＣＡＧＧＧＴＧＣＣ（配列番号２）	ウサギＶＨ
N02937	ＧＡＴＣＡＡＧＣＴＴＧＣＣＧＣＣＡＣＣＡＴＧＧＧＣＴＧＧＴＣＣＴＧＣＡＴＣＡＴＣＣＴＧＴＴＴＣＴＧＧＴＧＧＣＧＧＣＣＧＣＣＡＣＣＧＧＣＧＴＧＣＡＣＴＣＣ（配列番号３）	ウサギＬＣ
N02347	ＧＡＴＣＧＧＣＧＣＧＣＣＴＣＡＣＴＴＧＣＣＧＧＧＧＣＴＣＣＧＧ（配列番号４）	ウサギＬＣ
N02416	ＧＣＣＡＣＣＧＧＣＧＴＧＣＡＣＴＣＣＣＡＧＴＣＧＧＴＧＲＡＧＧＡＧＴＣＣＲＧＧＧＧ（配列番号５）	ｘｉ　ｒｂ－ｈｕ　ＨＣ
N02761	ＧＧＧＣＣＣＴＴＧＧＴＧＧＡＴＧＣＴＧＡＲＧＡＧＡＹＧＧＴＧＡＣＣＡＧＧＧＴＧＣＣ（配列番号６）	ｘｉ　ｒｂ－ｈｕ　ＨＣ
N02417	ＧＣＣＡＣＣＧＧＣＧＴＧＣＡＣＴＣＣＧＡＧＣＴＣＧＴＧＡＴＧＡＣＣＣＡＧＡＣＴＣＣＡ（配列番号７）	ｘｉ　ｒｂ－ｈｕ　ＬＣ
N02764	ＡＧＣＣＡＣＡＧＴＴＣＧＴＴＴＧＡＣＳＡＣＣＡＣＣＴＣＧＧＴＣＣＣ（配列番号８）	ｘｉ　ｒｂ－ｈｕ　ＬＣ

【０２０８】

次に、ＰＣＲ産物をアガロースゲル中の電気泳動によって分離させた。分子サイズがＶＬ及びＶＨ産物に適正であるＰＣＲ産物を、ＱＩＡｑｕｉｃｋ（登録商標）Ｇｅｌ　Ｅｘｔｒａｃｔｉｏｎ　Ｋｉｔ（Ｑｉａｇｅｎ、Ｖａｌｅｎｃｉａ，ＣＡ）によって精製し、下記のようにクローニングした。

【０２０９】

ヒトＣＡ９に特異的なウサギｍＡｂの生成

ウサギの免疫付与：ヒトＣＡ９に特異的なウサギ抗体を生成するために、ヒトＣＡ９細胞外ドメイン（「ヒトＣＡ９細胞外ドメイン」または「ＣＡ９－ＥＣＤ」）を組み換えによって生成した。２頭のｂ９ウサギにＣＡ９－ＥＣＤを使用して免疫付与した。端的には、ウサギに、２１日毎に抗原を皮下注射した。各ウサギに、最初の注射で４００μｇのＣ

Ａ９－ＥＣＤ及びフロイト完全アジュバント（ＦＣＡ）を、次のブーストで２００μｇのＣＡ９－ＥＣＤ及びフロイト不完全アジュバント（ＦＩＡ）を投与した。抗体力価試験のため、免疫前の採血及び試験採血を行った。

【０２１０】

免疫前及び免疫後の採血を、本明細書に記載のように酵素結合免疫吸着検査法（ＥＬＩＳＡ）を使用してＣＡ９結合について試験した。採血を連続希釈し、ＣＡ９－ＥＣＤタンパク質でコーティングしたマイクロプレートに添加した。４回の注射の後で力価が１：１５，０００に達したとき、ウサギに４００μｇのＣＡ９－ＥＣＤをアジュバントなしで静脈内注射して最後のブーストを行った。ウサギの脾臓を最終ブーストの１週間後に採取した。最大１００ｍＬの放血を抗凝血剤の存在下で採取し、脾臓由来のリンパ球及びリンパ節を各ウサギから単離した。

【０２１１】

ハイブリドーマの生成：ウサギ脾細胞を素早く解凍し、室温で５分間、１２００ｒｐｍで遠沈させ、１００μｇ／ｍＬのＤＮａｓｅを含有する１０％のＦＢＳを加えたｃＩＭＤＭ中に再懸濁させた。細胞を、３７℃で少なくとも１時間、２．５μｇ／ｍＬのヤマゴボウマイトジェンによって刺激した。刺激後、細胞を、室温で５分間、１２００ｒｐｍで遠沈させ、新たな培地中に再懸濁させた。細胞数及び生存を決定した。

【０２１２】

融合パートナー細胞ＣＢＦ７を解凍し、注入の前に１週間、５％のCO_2と共に３７℃で培養した。適量のウサギ脾細胞及び融合パートナー細胞ＣＢＦ７を、５０ｍＬの試験管中で所望の割合（１：１．５５～１：４）で混合した。細胞の混合物を、室温で５分間、１０００ｒｐｍで遠沈させ、４℃の氷冷した２０ｍＬのＣｙｔｏＰｕｌｓｅ　Ｆｕｓｉｏｎ　Ｍｅｄｉｕｍ（ＣＰＦＭ　Ｆｏｒｍｕｌａ　Ｃ：ＣｙｔｏＰｕｌｓｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ＃ＬＣＭ－Ｃ）で２回洗浄した。細胞を、10^6細胞／ｍＬになるようにＣＰＦＭ中に再懸濁させた。

【０２１３】

融合にはＣｙｔｏＰｕｌｓｅ細胞融合装置ＣＥＥＦ－５０（ＣｙｔｏＰｕｌｓｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ）を使用した。適切な体積の細胞を融合チャンバに移動させ、高電圧接続を作動させて融合を行った。融合後、細胞を、５分間室温のチャンバ内でインキュベートし、Ｐｏｓｔ－Ｆｕｓｉｏｎ　Ｍｅｄｉｕｍ（グルタミン酸塩、ピルビン酸塩、非必須アミノ酸、β－メルカプトエタノール、ペニシリン、ストレプトマイシンを含有するが、Ｐｈｅｎｏｌ　Ｒｅｄを含有しない、１０％のＦＢＳを伴うＲＰＭＩ１６４０）中に穏やかに再懸濁させた後、フラスコに移した。チャンバを同体積の融合後培地によって洗浄して、更なる細胞を得た。細胞を、２５分間室温で、続いて３７℃、５％のCO_2で一晩、インキュベートした。

【０２１４】

融合の１日後に、細胞を、事前に温めた播種培地（１倍のヒポキサンチン－アミノプテリン－チミジンを含有する１０％のＦＢＳを加えたｃＩＭＤＭ）中で所望の密度（３５，０００細胞／ｍＬ）に希釈し、９６ウェルマイクロプレートに２００μＬ／ウェルでプレーティングした。プレートを、３７℃、５％のCO_2でインキュベートし、３～４週間、毎週新たな培地を投入した。

【０２１５】

抗ＣＡ９　ｍＡｂのスクリーニング：ウサギ脾細胞由来のＢ細胞を融合パートナー細胞ＣＢＦ７に融合させて、本明細書に記載のようにハイブリドーマを生成した。細胞プレーティングの４週間後、個々のハイブリドーマ培養からの上清を採取し、ＣＡ９特異的ＥＬＩＳＡを使用してスクリーニングした。アッセイプレート（Ｇｒｅｉｎｅｒ　Ｂｉｏ－Ｏｎｅ　Ｈｉｇｈ　Ｂｉｎｄｉｎｇ　３８４ウェル透明プレート、カタログ＃６５５０８１）に、１μｇ／ｍｌのＣＡ９　ＥＣＤを一晩かけて４℃でコーティングし、１倍のアッセイ緩衝液（０．０５％のＴｗｅｅｎ－２０を含む、１％のＢＳＡを加えたＰＢＳ）でブロックした。次に、２５μＬ／ウェルの上清及び対照を、ブロックしたプレートに添加し、

４℃で一晩インキュベートした。アッセイプレートを３回洗浄し、アッセイ緩衝液中で１：１０，０００にて希釈した２５μＬ／ウェルの二次抗体（ＨＲＰ抱合型ヤギ抗マウスＩｇＧ、Ｊａｃｋｓｏｎ＃１１５－０３５－１４６）をプレートに添加した。１時間室温でインキュベートした後、アッセイプレートを３回洗浄し、２５μＬ／ウェルのＴＭＢ　Ｓｕｂｓｔｒａｔｅ（ＫＰＬ＃５２－０００－０４）をプレートに添加した。５分間室温でインキュベートした後、２５μＬ／ウェルの１倍の停止液（１：１０のH_2SO_4、ＶＷＲ＃ＥＭ－ＳＸ１２４４－７５）を添加した。Ｐａｒａｄｉｇｍ（Ｂｅｃｋｍａｎ）プレートリーダを使用して、４５０ｎｍでの試料吸光を測定した。一次スクリーニングからの陽性ヒットを、第２のＣＡ９特異的ＥＬＩＳＡによって確認した。

【０２１６】

クローニング及び突然変異生成

ＣＡ９及びｈＴＥＭ１　ｍＡｂのＶＨ及びＶκ領域の増幅：目的のウサギｍＡｂを分泌しているハイブリドーマ細胞を溶解させてＲＮＡを抽出した。次に、ＲＮＡを、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（ＲＴ－ＰＣＲ）法の使用による可変カッパ（Ｖκ）及び重鎖可変（ＶＨ）領域のＤＮＡ増幅に使用した。１００～１０，０００個の培養ハイブリドーマ細胞を、氷冷したＰＢＳで洗浄し、１００μＬのＬｙｓｉｓ／Ｂｉｎｄｉｎｇ　Ｓｏｌｕｔｉｏｎ（Ａｍｂｉｏｎ、８５４０Ｇ５）を添加してピペッティングすることによって溶解させた。溶解した細胞を氷上で素早く凍結させた。Ａｍｂｉｏｎ　ＲＮＡｑｕｅｏｕｓ　Ｋｉｔを製造業者の手順に従って用い、ＲＮＡを単離した。表２に挙げるプライマーを各反応に使用して、約５ｎｇのＲＮＡを１回目のＲＴ－ＰＣＲに供した。

【表２】

表２．１回目のＲＴ－ＰＣＲに使用したプライマー

Ｒａｂｂ．ＶＨＡ１．Ｆ	５'－ＣＡＧＴＣＧＣＴＧＣＴＣＧＡＧＴＣＣＧＧＧＧＧＴ－３' （配列番号９）
Ｒａｂｂ．ＶＨＢ１．Ｆ	５'－ＣＴＣＴＧＧＣＡＣＡＧＧＡＧＣＴＣ－３' （配列番号１０）
Ｒａｂｂ．ＩｇＭ＿ＣＨ１．Ｒ	５'－ＧＧＡＧＡＣＧＡＧＣＧＧＧＴＡＣＡＧＡＧＴ－３' （配列番号１１）
Ｒａｂｂ．ＩｇＧ＿Ｈｉｎｇｅ．Ｒ	５'－ＣＧＴＧＧＧＣＴＴＧＣＴＧＣＡＴＧＴＣＧ－３' （配列番号１２）
Ｒａｂｂ．Ｖκ．Ｆ	５'－ＧＴＧＡＴＧＡＣＣＣＡＧＡＣＴＣＣＡ－３' （配列番号１３）
Ｒａｂｂ．Ｖκ１Ｂ４．Ｒ	５'－ＡＣＡＧＴＣＡＣＣＣＣＴＡＴＴＧＡＡＧＣＴＣＴＧＧ－３' （配列番号１４）
Ｒａｂｂ．Ｖκ２Ｂ４．Ｒ	５'－ＧＣＡＧＴＣＡＣＣＣＣＴＧＴＴＧＡＡＧＣＴＣＴＧ－３' （配列番号１５）

【０２１７】

ＲＴ－ＰＣＲ増幅のサイクルパラメータは、５５℃で３０分、９５℃で２分、（９４℃で１分、５４℃で５０秒、６８℃で１．５分）の３０サイクル、６８℃で１０分であった

。

【０２１８】

１回目のＲＴ－ＰＣＲからの産物を、表３に挙げるプライマーを使用して、重鎖及び軽鎖に対する個別の反応における２回目のＰＣＲ増幅に供した。

【表３】

表３．２回目のＰＣＲ増幅に使用したプライマー

重鎖	
ｌｄｒ－Ｒａｂｂ．ＶＨＡ１．Ｆ	ｇｃｃａｃｃｇｇｃｇｔｇｃａｃｔｃｃＣＡＧＴＣＧＧＴＧＲＡＧＧＡＧＴＣＣＲＧＧＧＧ（配列番号１６）
Ｒ－Ｒｂ－ＶＨ１－ｈｕ－ガンマ	ｇｇｇｃｃｃｔｔｇｇｔｇｇａｔｇｃＴＧＡＲＧＡＧＡＹＧＧＴＧＡＣＣＡＧＧＧＴＧＣＣ（配列番号１７）
軽鎖	
ｌｄｒ－Ｒａｂｂ．Ｖκ．Ｆ	ｇｃｃａｃｃｇｇｃｇｔｇｃａｃｔｃｃＧＡＧＣＴＣＧＴＧＡＴＧＡＣＣＣＡＧＡＣＴＣＣＡ（配列番号１８）
Ｒ－Ｒｂ－Ｖκ１ｍ－ｈｕ－カッパ	ａｇｃｃａｃａｇｔｔｃｇＴＴＴＧＡＴＣＴＣＣＡＧＣＴＣＧＧＴＣＣＣ（配列番号１９）
Ｒ－Ｒｂ－Ｖκ２－ｈｕ－カッパ	ａｇｃｃａｃａｇｔｔｃｇＴＴＴＧＡＴＴＴＣＣＡＣＡＴＴＧＧＴＧＣＣ（配列番号２０）
Ｒ－Ｒｂ－Ｖκ３－ｈｕ－カッパ	ａｇｃｃａｃａｇｔｔｃｇＴＴＴＧＡＣＳＡＣＣＡＣＣＴＣＧＧＴＣＣＣ（配列番号２１）

【０２１９】

２回目のＰＣＲ増幅のサイクルパラメータは、９５℃で５分、（９４℃で１分、５４℃で５０秒、６８℃で１．５分）の４０サイクル、６８℃で１０分、４℃の浸漬であった。

【０２２０】

次に、ＰＣＲ産物をアガロースゲル上の電気泳動によって分離させた。分子サイズがＶＬ及びＶＨ産物に適正であるＰＣＲ産物を、ＱＩＡｑｕｉｃｋ（登録商標）Ｇｅｌ　Ｅｘｔｒａｃｔｉｏｎ　Ｋｉｔ（Ｑｉａｇｅｎ、Ｖａｌｅｎｃｉａ，ＣＡ）によって精製し、断片を、ＩｎＦｕｓｉｏｎ　ＨＤ　Ｃｌｏｎｉｎｇ　Ｋｉｔ（Ｃｌｏｎｔｅｃｈ）を使用して、ヒトガンマ（Ｃγ）またはカッパ（Ｃκ）定常領域を含む発現プラスミドにサブクローニングした。全てのクローンの配列決定を行い、挿入の存在及び忠実度を確認した。

【０２２１】

遺伝子合成：ヒト化ＶＨドメイン、ならびにｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－１、－ｈｕＶＫ１－３９、－ｈｕＶＫ２－４０、－ｈｕＶＫ３－１１、－ｈｕＶＫ４－１、－ｈｕＶＫ５－２、－ｈｕＶＫ６－２１、－ｈｕＶＫ６Ｄ－４１、－ｈｕＶＫ７－３、ｚｕ１Ｅ４ＬＣ－１、及びｚｕ１６６Ｂ３ＬＣ－１　Ｖκドメインを、ヒト細胞中の発現に対してコドン最適化し、ＤＮＡ　２．０によって合成した。可変ドメインを、Ｋｏｚａｋ配列及びＩｇリーダー配列を用いて合成し、サブクローニングベクター内のクローニング部位と相同である

５’末端及び３’末端の１５塩基対を含めた。断片を、ＤＮＡ２．０ベクターから切り出した後、ＩｎＦｕｓｉｏｎ　ＨＤ　Ｃｌｏｎｉｎｇ　Ｋｉｔを使用して、ヒトＣγまたはＣκ領域を含む発現プラスミドにサブクローニングした。全てのクローンの配列決定を行い、挿入の存在及び忠実度を確認した。

【０２２２】

ＱｕｉｋＣｈａｎｇｅ：コドン最適化したＶκドメインの突然変異生成を、ＳｔｒａｔａｇｅｎｅのＱｕｉｋＣｈａｎｇｅ　ＸＬを製造業者のプロトコルに従って使用し行った。全てのクローンの配列決定を行い、突然変異の存在を確認した。

【０２２３】

細胞培養

トランスフェクション及び安定した細胞株生成：トランスフェクションの１日前に、２９３Ｆ細胞を撹拌フラスコ中の２９３ＦｒｅｅＳｔｙｌｅ培地（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）に６．０×１０^{5}細胞／ｍＬで播種し、１２５ｒｐｍで撹拌しながら、３７℃、８％のCO_2でインキュベートした。トランスフェクションの日に、細胞を１×１０^{6}細胞／ｍＬで上記のように播種した。ＰＥＩ（２５ｋＤａ、線形；Ｐｏｌｙｓｃｉｅｎｃｅｓ）またはＥｘｐｉＦｅｃｔａｍｉｎｅ（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を使用して、細胞をトランスフェクトした。ＰＥＩトランスフェクションのため、トランスフェクトする細胞１ｍＬ当たり１６６．７ｎｇのＨＣプラスミド、１６６．７ｎｇのＬＣプラスミド、２．２μｇのＰＥＩ、及び５０μＬのＯｐｔｉＰｒｏ（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を、２２℃で１５分間インキュベートした。ＤＮＡ：ＰＥＩ混合物を、回転させながら細胞に添加し、１２５ｒｐｍで撹拌しながら３７℃、８％のCO_2でインキュベートした。４８～７２ｈ時間後、細胞に、最終濃度１０ｇ／ＬのＹｅａｓｔｏｌａｔｅ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）、５ｍＭの吉草酸（Ｓｉｇｍａ　Ａｌｄｒｉｃｈ）、及び１：１００のＣＤ　Ｌｉｐｉｄ　Ｃｏｎｃｅｎｔｒａｔｅ（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を与えた。

【０２２４】

ＥｘｐｉＦｅｃｔａｍｉｎｅでトランスフェクトする細胞１ｍＬに対して、３３３．３ｎｇのＨＣプラスミド及び３３３．３ｎｇのＬＣプラスミドを５０μＬのＯｐｔｉ－ＭＥＭ（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）中で１０分間インキュベートした。同様に、２．６７μＬのＥｘｐｉＦｅｃｔａｍｉｎｅを５０μＬのＯｐｔｉ－ＭＥＭ中でインキュベートした。ＥｘｐｉＦｅｃｔａｍｉｎｅ溶液をＤＮＡ混合物に添加し、２２℃で３０分間インキュベートした。ＤＮＡ：ＥｘｐｉＦｅｃｔａｍｉｎｅ混合物を、回転させながら細胞に添加し、１２５ｒｐｍで撹拌しながら３７℃、８％のCO_2でインキュベートした。翌日、細胞１ｍＬ当たり３μＬのエンハンサー１及び３０μＬのエンハンサー２をトランスフェクションに加え、細胞密度に応じて更に７または１０日間インキュベーションを続けた。

【０２２５】

トランスフェクションの１～３日後に、５μｇ／ｍＬのラストサイジン及び４００μｇ／ｍＬのゼオシン（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を含むＴ７５フラスコ中で３ｍＬのトランスフェクタントを１２ｍＬのＤＭＥＭに添加することによって、抗体を発現している安定したプールを選択した。薬物抵抗性細胞を集密状態まで成長させた後、培地をＦｒｅｅＳｔｙｌｅ　２９３発現培地で置き換えた。２４時間または４８時間後、フラスコを叩いて細胞を物理的に除去した後（トリプシン処理が原因で生存能力が低下、データ割愛）、１２５ｍＬ撹拌フラスコ中の３０ｍＬのＦｒｅｅＳｔｙｌｅ　２９３発現培地に６×１０^{5}細胞／ｍＬで播種した。培養物を、１２５ｒｐｍで撹拌しながら８％のCO_2中３７℃でインキュベートした。

【０２２６】

ｍＡｂ産生：安定したプールからの抗体産生を、以下の２種類の方法のうちの一方によって行った。

１。安定してトランスフェクトした細胞株プールを、０．６～１×１０^{6}細胞／ｍＬで２９３ＦｒｅｅＳｔｙｌｅ培地に播種した。培養物が１×１０^{6}細胞／ｍＬの密度に達した２日後、本明細書に記載のように培養物に給餌するか、または

２。安定してトランスフェクトした細胞株プールを、Ｂｅｃｋｍａｎ　Ａｌｌｅｇｒａ６遠心分離機中で５分間１０００ｒｐｍにて遠心分離させた。上清を除去し、細胞を、２．８Ｌ撹拌フラスコ中０．５～０．８×１０^{6}細胞／ｍＬで１Ｌのｅｘｐｉ２９３培地（Ｇｉｂｃｏ）中に再懸濁させた。細胞を、１２５ｒｐｍで撹拌しながら３７℃、８％のＣＯ－$_{2}$－でインキュベートした。

【０２２７】

両方法について、培養物を、細胞生存能力が約５０％に下降するときに応じて７～１０日間、１２５ｒｐｍで撹拌しながら８％のＣＯ$_{2}$中３７℃でインキュベートし、低下が生じたら、培養物をＢｅｃｋｍａｎ　ＪＬＡ８．１０００ロータ中８０００ｒｐｍで１時間遠心分離させた。続いて、上清を、０．２μｍのＰＥＳフィルタを通して濾過し、４℃または－２０℃で精製まで保管した。

【０２２８】

ｍＡｂ精製

タンパク質Ａ親和性クロマトグラフィーによる抗体精製：ＡＫＴＡ　Ｅｘｐｌｏｒｅｒ（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）を使用して、タンパク質Ａカラム（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）を、１０カラム体積（ＣＶ）の２０ｍＭのリン酸ナトリウム、１０ｍＭのＥＤＴＡ、ｐＨ７．２と平衡化した。続いて試料を充填した後、１０ＣＶの平衡化緩衝液によって未結合物質を洗浄した。試料を、５ＣＶの０．１Ｍのグリシン、ｐＨ２．９を使用して溶出させた。ｍＡｂ含有部分をプールし、ＭＷＣＯ　２０Ｋ　Ｓｌｉｄｅ－Ａ－Ｌｙｚｅｒ（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を使用してダルベッコリン酸緩衝液（ＤＰＢＳ）中で透析した。

【０２２９】

システインキャップ除去：ＡＫＴＡ　Ｅｘｐｌｏｒｅｒ（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）を使用して、タンパク質Ａカラム（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）を１０ＣＶの２０ｍＭのリン酸ナトリウム、１０ｍＭのＥＤＴＡ、ｐＨ７．２（平衡化緩衝液）と平衡化した。続いて試料を充填した後、１０ＣＶの平衡化緩衝液によって未結合物質を洗浄した。カラムを、１６ＣＶの２０ｍＭのリン酸ナトリウム、１０ｍＭのＥＤＴＡ、５ｍＭのシステイン、ｐＨ７．２によって、４℃で１６時間、０．５ｍＬ／分で洗浄して、キャッピング基を除去した。次にカラムを、６０ＣＶの２０ｍＭのＴｒｉｓ、ｐＨ７．５によって、４℃で６０時間、０．５ｍＬ／分で洗浄した。試料を、５ＣＶの０．１Ｍのグリシ、ｐＨ２．９を使用して溶出させ、５％体積の２ＭのＴｒｉｓ、ｐＨ９．０を使用して即座に中和した。ｍＡｂ含有部分をプールし、ＭＷＣＯ　２０Ｋ　Ｓｌｉｄｅ－Ａ－Ｌｙｚｅｒ（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を使用してＤＰＢＳ中で透析した。

【０２３０】

ＬＣ－ＭＳ／ＭＳシステイニル化及びジスルフィド結合マッピング解析

Ｚｅｂａ脱塩スピンカラム（Ｔｈｅｒｍｏ－Ｆｉｓｈｅｒ）を使用して、ｍＡｂの緩衝液を５０ｍＭの重炭酸アンモニウム緩衝液、ｐＨ７．８に交換した。濃度を１ｍｇ／ｍＬに調整し、ＲａｐｉＧｅｓｔ（Ｗａｔｅｒｓ）を０．１％まで添加した。次に、ｍＡｂを４時間３７℃でＧｌｕ－Ｃ（Ｎｅｗ　Ｅｎｇｌａｎｄ　ＢｉｏＬａｂｓ）（２５：１ｗ／ｗ）によって分解した後、１８時間３７℃でＡｓｐ－Ｎ（Ｎｅｗ　Ｅｎｇｌａｎｄ　ＢｉｏＬａｂｓ）（２５：１ｗ／ｗ）によって分解した。分解後、５％のトリフルオロ酢酸（ＴＦＡ）を０．５％まで添加し、９０分間３７℃でインキュベートした。試料を１３，０００ｒｐｍで３０分間遠心分離させて、ペレットを除去し、第２のイオン化相においてＭＳ^{E}法を使用するＬＣ－ＭＳ／ＭＳによって解析した。ＭＳ^{E}法は、第２のイオン化相で一定の電圧ではなく勾配のある電圧を使用して、より完全なイオンプロファイルを生成する。試料を、Ｗａｔｅｒｓ　Ａｃｑｕｉｔｙ　ＵＰＬＣ及びＱ－Ｔｏｆ　Ｐｒｅｍｉｅｒ質量分析計を使用して解析する。試料を、Ｗａｔｅｒｓ　ＢＥＨ　３００　Ｃ１８、孔径

１．７μｍ、２．１×１００ｍｍに注射し、０．０５ｍＬ／分で、９７％の移動相Ａ（H_2O中０．１％のギ酸）における３分の平衡化、５５分の線形勾配（３～４５％の移動相Ｂ（アセトニトリル中０．１％のギ酸））、５分の線形勾配（４５％～９０％の移動相Ｂ）、５分の無勾配相（９０％の移動相Ｂ）、５分の線形勾配（９０％～３％の移動相Ｂ）、及び９７％の移動相Ａにおける５分の再平衡化によってカラムから溶出させた。Ｑ－Ｔｏｆ質量分析計を、陽イオン、検出範囲２００～２０００ｍ／ｚのＶモードで実行した。ソースパラメータは、キャピラリー電圧３．０ｋＶ、サンプリングコーン電圧４０Ｖ、ソース温度１２０℃、脱溶媒和温度２５０℃、脱溶媒和ガス流量６００Ｌ／時間であった。Ｌｏｃｋｓｐｒａｙ質量参照基準はｇｌｕ－ｆｉｂであった。MS^E法は、収集時間３～７０分、データ範囲２００～２０００ｍ／ｚ、スキャン時間１．５秒、エクスプレッション低エネルギー６Ｖ、勾配高エネルギー１０～３０Ｖであった。

【０２３１】

抗体凝集を、Ａｇｉｌｅｎｔ　１１００を使用するサイズ排除高速液体クロマトグラフィー法（ＳＥＣ－ＨＰＬＣ）によって解析した。ｍＡｂをＤＰＢＳ中１ｍｇ／ｍＬに希釈した。抗体（２０μＬ）を、ＴＳＫｇｅｌ　ＳｕｐｅｒＳＷガードカラム（４．６ｍｍ×３．５ｃｍ、孔径４μｍ、Ｔｏｓｏｈ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）、続いてＴＳＫｇｅｌ　ＳｕｐｅｒＳＷ３０００カラム（４．６ｍｍ×３０ｃｍ、孔径４μｍ）に注射し、０．１５ＭのＮａＣｌ及び０．０５％のNaN_3を含む０．１ＭのＰＢＳによって、ｐＨ７．４で、２０分間０．３ｍＬ／分の流量でカラムから溶出させた。データは全てＡｇｉｌｅｎｔ　ＣｈｅｍＳｔａｔｉｏｎソフトウェアを使用して解析した。凝集パーセントを［$PA_{凝集}$／$PA_{総}$］＊１００として計算し、式中、ＰＡは統合ピーク面積であった。

【０２３２】

マレイミド－ビオチン：ｍＡｂ抱合体のＵＰＬＣ／ＥＳＩ－ＭＳ解析

精製した抗体をＤＰＢＳ中１ｍｇ／ｍＬに希釈した（試料は、１．０ｍｇ／ｍＬ未満の場合、元の濃度のままにした）。マレイミド－ＰＥＧ２－ビオチン（（ｍａｌ）－ＰＥＧ２－Ｂｉｏｔｉｎ）（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）をＤＰＢＳに溶解させて２０ｍＭの原液を得て、ＤＰＢＳ中１ｍＭに希釈した。Ｍａｌ－ＰＥＧ２－Ｂｉｏｔｉｎを、１ｍＬのキャップ除去したｍＡｂに５：１の抱合比で添加し、２時間穏やかに回転させながら２２℃でインキュベートした。Ｚｅｂａ脱塩スピンカラムを使用して、反応物を脱塩した。続いて、ＰＮＧａｓｅ　Ｆ（Ｎｅｗ　Ｅｎｇｌａｎｄ　ＢｉｏＬａｂｓ）を使用して、ｍＡｂを脱グリコシル化した。Ｇ７緩衝液（１０μＬ）及びＰＮＧａｓｅ　Ｆ（２μＬ）をｍＡｂ（９０μＬ）に添加した。反応物を、Ｄｉｓｃｏｖｅｒ　Ｍｉｃｒｏｗａｖｅ（ＣＥＭ）中で２サイクル：１）マイクロ波電力１０Ｗ、３７℃、１０分、続く５分の休止、及び２）マイクロ波電力２Ｗ、３７℃、１０分）かけてインキュベートした。試料の一部をジチオスレイトール（ＤＴＴ）の添加によって最終濃度２０ｍＭに還元した後、３分間６０℃でインキュベートした。

【０２３３】

次に試料を、Ｗａｔｅｒｓ　Ａｃｑｕｉｔｙ　ＵＰＬＣ及びＱ－Ｔｏｆ　Ｐｒｅｍｉｅｒ質量分析計を使用して解析する。試料（各々０．５～２μｇ）を、６５℃のＭａｓｓＰｒｅｐ脱塩マイクロカラムに注射し、０．０５ｍＬ／分で、９５％の移動相Ａにおける５分の平衡化、１０分の勾配（５～９０％のＢ）、及び９５％の移動相Ａにおける１０分の再平衡化によってカラムから溶出させた。移動相Ａは水中０．１％のギ酸であった。移動相Ｂはアセトニトリル中０．１％のギ酸であった。Ｑ－Ｔｏｆ質量分析計を、陽イオン、検出範囲５００～４０００ｍ／ｚのＶモードで実行した。ソースパラメータは、キャピラリー電圧２．２５ｋＶ（完全抗体）～２．５０ｋＶ（参照抗体）、サンプリングコーン電圧６５．０Ｖ（完全抗体）または５０．０Ｖ（還元抗体）、ソース温度１００℃、脱溶媒和温度２５０℃、脱溶媒和ガス流量５５０Ｌ／時間であった。タンパク質ピークを、ＭａｓｓＬｙｎｘ　ＭａｘＥｎｔ　１関数を使用してデコンボリューションした。抱合効率を、デコンボリューションした質量スペクトルの［$I_{ビオチン化}$／（$I_{ビオチン化}$＋$I_{未修飾}$）］＊１００として計算し、式中、Ｉは質量ピーク強度であった。

【０２３４】
ｍＡｂ：抗原親和性のＢＩＡｃｏｒｅ解析
抗体濃度を調整して、抗原への結合時に３０～４０ＲＵのシグナルを生成するようにした。標準的なタンパク質Ａ親和性クロマトグラフィーまたはキャップ除去法によって精製したヒト化ｍＡｂを、１０μＬ／分の流量で１分間、ＢＩＡｃｏｒｅ　Ｔ１００（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）上で抗ヒトＩｇＧセンサ上に注射した。ＨＢＳ－Ｐ緩衝液を５０μＬ／分の流量で１分間注射してセンサ表面を洗浄した。捕捉したｍＡｂへの抗体会合を記録するため、一連の漸増濃度の抗原を５０μＬ／分の流量で６０秒間注射した。抗原の解離を同じ流量で３０分間モニタリングした。３ＭのＭｇＣｌ$_2$を３０μＬ／分の流量で１分間、続いて３０秒間注射して、センサ表面を元に戻した。センサグラムを、１：１ラングミュア結合モデルを使用してＢｉａｃｏｒｅ　Ｔ１００　Ｅｖａｌｕａｔｉｏｎ　Ｓｏｆｔｗａｒｅによって解析した。
【０２３５】
二価／二重特異性Ｆａｂ調製
ｍＡｂ由来のＦａｂ断片を、固定化パパインを使用して個別に調製した後、純粋なＦａｂ断片を、タンパク質Ａクロマトグラフィーを使用してＦｃ／未分解ｍＡｂから単離した。ＮＨＳ－マレイミド及びアジド－ＰＥＧ４－アミンをＤＭＳＯ中で１時間モル比１：１にて組み合わせて、マレイミド－ＰＥＧ４－アジドを合成した。Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ緩衝液を添加して未反応のＮＨＳをクエンチし、ホモ二量体化を防止した。Ｆａｂを、マレイミド－ＰＥＧ４－アジドまたはマレイミド－ＰＥＧ４－ジベンゾシクロオクチン（ＤＢＣＯ）のいずれかにマレイミド：Ｆａｂのモル比５：１で抱合させ、２２℃で４時間反応させた。修飾したＦａｂ断片をＤＰＢＳ中で各々２回脱塩して全ての未反応産物を除去し、Ｆａｂ断片を最終濃度２ｍｇ／ｍＬ、モル比１：１で組み合わせ、２２℃で一晩、二量体を形成させた。反応をＳＤＳ－ＰＡＧＥで解析し、二量体化効率を２０％と予測した。二量体調製物を、Ｓ－２００ゲル濾過クロマトグラフィーによって未反応の単量体から精製した。
【０２３６】
二価／二重特異性Ｏｃｔｅｔアッセイ
ビオチン化ヒトＣＡ９をストレプトアビジンＢｉｏｓｅｎｓｏｒ先端部（Ｐａｌｌ）上に４分間捕捉した。ＰＢＳ中で２分間インキュベートした後、先端部を二価／二重特異性Ｆａｂ、ｍＡｂのみ、またはＦａｂのみと共に５分間インキュベートした。ＰＢＳ中で２分間インキュベートした後、先端部をヒトエンドシアリン／ＴＥＭ－１と共に５分間インキュベートした。最後に、先端部をＰＢＳ中で更に２分間インキュベートした。先端部への会合及び解離タンパク質を、期間中常に測定した。
【０２３７】
実施例２－Ｃｙｓ８０抱合
目的
薬物対抗体比（ＤＡＲ）が明確に定義されている均一な製品をするためには、部位特異的抱合技術が望ましい。アナウサギに由来するものなどのウサギｍＡｂのＶκドメインは、８０位のシステイン（「Ｃｙｓ８０」と称される）（図１Ａ）を含んでもよく、Ｃκ領域は、１７１位のシステイン（「Ｃｙｓ１７１」）（図１Ｂ）を含んでもよい。コンピュータ上のモデリングによると、Ｃｙｓ８０及びＣｙｓ１７１は、２個のＳ原子が約１．６Å離れていることが予測されるため、ジスルフィド結合を形成している可能性があると予測された（図２Ａ）。ヒトｍＡｂは、８０位のプロリン、セリン、またはアラニン残基（図１Ａ）、及び１７１位のセリン（図１Ｂ）を有するため、可変領域と定常領域との間にジスルフィド結合は存在しない（図２Ｂ）。
【０２３８】
ウサギまたはヒトＶκ及びＣκ配列に最も近い結晶構造を、ＢＬＡＳＴ　ｐｄｂデータベースを使用して特定し、１５５Ｄ５　ｍＡｂ構造のモデリング用の鋳型として使用した。モデルを、Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ　Ｓｔｕｄｉｏの「Ｂｕｉｌｄ　Ｈｏｍｏｌｏｇｙ　Ｍ

ｏｄｅｌｓ」ツール（Ａｃｃｅｌｒｙｓ）を使用して生成した。総エネルギーが最も小さいモデルを選択し、ＣＨＡＲＭｍ力場によって分類し、エネルギーを、「Ｍｉｎｉｍｉｚｅ」ツールを使用した２回のエネルギー最小化によって更に最小化した。次に、「Ｍｏｄｅｌ　Ａｎｔｉｂｏｄｙ　Ｌｏｏｐｓ」ツールを使用して、ＣＤＲループを精緻化した。総エネルギーが最も小さいモデルを選択し、ＣＨＡＲＭｍ力場によって分類し、エネルギーを上記のように更に最小化した。Ｃｙｓ８０及びＣｙｓ１７１（図２Ａ）の接近性により、これらのシステインが、ジスルフィド結合を形成している可能性があると予測された。「Ｂｕｉｌｄ　Ｍｕｔａｎｔｓ」ツールを使用してこのジスルフィド結合を表した。

【０２３９】

ジスルフィド結合は、二次及び三次構造の一体性の維持に不可欠であり、また同様にして抗体の生物学的活性に必須であるため、予測されたＣｙｓ８０－Ｃｙｓ１７１結合が実際に存在するかどうかを証明することが重要であった。このため特別な実験を実施したところ、ウサギｍＡｂがかかる結合を含んだことがはっきりと示された（表４）。

【表４】

表４．Ｃｙｓ８０－Ｃｙｓ１７１ジスルフィド結合の存在の実証

ペプチド配列（位置）	予測された質量（Ｄａ）－	観察された質量（Ｄａ）
ＤＣＴＹＮＬＳＳＴＬＳＬＴＫ（１７０～１８３）（配列番号２２）	1545.7465	観測なし
ＦＴＬＴＩＴＧＶＱＣＤ（７１～８１）（配列番号２３）	1197.582	観測なし
ＤＣＴＹＮＬＳＳＴＬＳＬＴＫ＝ＦＴＬＴＩＴＧＶＱＣＤ（配列番号２２）（配列番号２３）（上記の通りジスルフィド結合したペプチド）	2741.3285	2740.2659

ウサギ１５５Ｄ５　ＭＡｂ（ＮＺＷウサギ由来）のＧｌｕ－Ｃ／Ａｓｐ－Ｎ分解に対してＬＣ－ＭＳ／ＭＳ解析を行った。ジスルフィド結合したｃｙｓ８０－ｃｙｓ１７１に対応する質量のみが見い出され、これにより、ｃｙｓ８０がウサギＩｇＧ中でｃｙｓ１７１とジスルフィド結合を形成することが示された。１－５５－２　ｍＡｂ（ｂ９ウサギ由来）を使用して同様の解析を行った。

【０２４０】

種－ヒトキメラ化ｍＡｂは、ｉ）ｍＡｂが生成された種に由来する可変領域と、ｉｉ）ヒト定常領域との間の融合を通して作製される。このプロセスがキメラ化と呼ばれる。ヒト化ｍＡｂは、ｍＡｂが生成される宿主と同じ種に由来する、抗原結合に必要な残基を除いて、主にヒト可変領域及び定常領域によって作製される。このプロセスはヒト化と呼ばれる。ｍＡｂがアナウサギ種に属する宿主において生成されたヒトキメラ化またはヒト化ｍＡｂを操作するために、定常ドメイン全体及び可変領域の大半（ヒト化の場合）をヒト可変配列及びヒト定常配列で遺伝子的に代置した。キメラ化またはヒト化の後、Ｖκ中のＣｙｓ８０はＣκ中の１７１位とジスルフィド結合を形成することはもはやなく（図２Ｃ）、したがって不対である。

【０２４１】

生殖細胞系ＮＺＷウサギＶκファミリーは、図３に示すように８０位のシステインを有する（ＣＤＲ領域は欠失し、フレームワーク（ＦＷＲ）１、２、及び３は整列した）。

【０２４２】

８０位の不対システインの発見及び特性評価

全てＣｙｓ８０を含み、実施例１に記載した通りに生成した、１５５Ｄ５及び１Ｅ４（

抗ＣＡ９）、１－５５－２（抗ｈＴＥＭ１）、ならびに３３Ｏ１１（抗ＭＳＬＮ）のウサギ定常領域を、本明細書の他の箇所に記載する通りにＩｇＧ１κのヒト定常領域で代置して、ウサギ／ヒトキメラ化ｍＡｂを生成した。具体的には、１５５Ｄ５のウサギＶＨ定常領域をヒトＣγ領域に融合させてｘｉ１５５Ｄ５ＨＣを生成し、１５５Ｄ５のウサギＶκ領域をヒトＣκ領域に融合させてｘｉ１５５Ｄ５ＬＣを生成した。Ｃｙｓ８０が不対であるウサギ／ヒトキメラ化１５５Ｄ５　ｍＡｂは、本明細書ではｘｉ１５５Ｄ５と称する。

【０２４３】

１－５５－２のＶＨ領域をヒトＣγ領域に融合させてｘｉ１－５５－２Ｈを生成し、１－５５－２のウサギＶκ領域をヒトＣκ領域に融合させてｘｉ１－５５－２ＬＣを生成した。Ｃｙｓ８０が不対であるウサギ／ヒトキメラ化１－５５－２　ｍＡｂは、本明細書ではｘｉ１－５５－２と称する。

【０２４４】

１Ｅ４のウサギＶＨ定常領域をヒトＣγ領域に融合させてｘｉ１Ｅ４ＨＣを生成し、１Ｅ４のウサギＶκ領域をヒトＣκ領域に融合させてｘｉ１Ｅ４ＬＣを生成した。Ｃｙｓ８０が不対であるウサギ／ヒトキメラ化１Ｅ４　ｍＡｂは、本明細書ではｘｉ１Ｅ４と称する。

【０２４５】

３３Ｏ１１のウサギＶＨ定常領域をヒトＣγ領域に融合させてｘｉ３３Ｏ１１ＨＣを生成し、３３Ｏ１１のウサギＶκ領域をヒトＣκ領域に融合させてｘｉ３３Ｏ１１ＬＣを生成した。Ｃｙｓ８０が不対であるウサギ／ヒトキメラ化３３Ｏ１１　ｍＡｂ（ｘｉ３３Ｏ１１）は、本明細書ではｘｉ３３Ｏ１１と称する。

【０２４６】

キメラ化中にＣｙｓ１７１をＳｅｒ１７１で置換したため、キメラ化抗体（ｘｉ１５５Ｄ５、ｘｉ１－５５－２、ｘｉ１Ｅ４、及びｘｉ３３Ｏ１１）は、Ｖκ中の８０位の不対システイン（「Ｃｙｓ８０」と称される）を含んだ。厳しい条件（５分間６０℃で２０ｍＭのＤＴＴ）を用いて還元すると、タンパク質Ａで精製したｍＡｂ　ｘｉ１５５Ｄ５軽鎖の分子量（質量）は２３，３８２Ｄａであった（図４Ａ）。しかしながら、穏やかな還元（１００μＭ　ＤＴＴ、ＲＴ、３０分）に供すると、質量は１２０Ｄａ増加した（図４Ｂ）。この質量増加は、Ｃｙｓ８０が「キャッピング」システインと称される遊離システインとジスルフィド結合を形成している可能性を示唆する。「システイニル化」と呼ばれる反応から生じるこの分子構造は、「キャップ化」Ｃｙｓ８０と称される。この仮説を確認するために、ｘｉ１５５Ｄ５　ｍＡｂをＡｓｐ－Ｎ及びＧｌｕ－Ｃによって分解し、ペプチドの質量を解析した。残基７１～Ｃｙｓ８０（ＦＴＬＴＩＴＧＶＱＣ）（配列番号２４）に対応するペプチド断片の質量分析により、分子量が１１９Ｄａ増加したこと（表５）が示されたため、Ｃｙｓ８０がキャップ化されていることが確認された。

【表５】

表５．ｘｉ１５５Ｄ５ペプチド７１－Ｃｙｓ８０断片の質量分析

ペプチド配列	断片質量(Ｄａ)	観察された質量（Ｄａ）	Δ質量（Ｄａ）
ＦＴＬＴＩＴＧＶＱＣ（配列番号２４）	1082.555	1201.5544	118.9994
ＴＬＴＩＴＧＶＱＣ（配列番号２５）	935.4866	1054.4946	119.008
ＬＴＩＴＧＶＱＣ（配列番号２６）	834.4389	953.4397	119.0008
ＴＩＴＧＶＱＣ（配列番号２７）	721.3549	840.3552	119.0003
ＩＴＧＶＱＣ（配列番号２８）	620.3072	739.3067	118.9995
ＴＧＶＱＣ（配列番号２９）	507.2231	626.2235	119.0004
ＧＶＱＣ（配列番号３０）	405.47	525.1809	119.7109
ＱＣ（配列番号３１）	249.28	369.0883	119.8083

【０２４７】

Ｃｙｓ８０－Ｃｙｓ１７１ジスルフィド結合の欠如により、抗体の不安定性、抗原結合の破断、またはそれらの両方が生じた可能性があったため、抗体安定性及び抗原結合試験を実施した。ｘｉ１５５Ｄ５の安定性を、ＳＥ－ＨＰＬＣアッセイを使用して試験した。このアッセイは、Ｃｙｓ８０－Ｃｙｓ１７１ジスルフィド結合の欠如が、凝集（可能性のある分子間Ｃｙｓ８０－Ｃｙｓ８０結合に起因する）または分解（プロテアーゼへの感受性の増加に起因する）に繋がったかどうかを試験する。１×ＰＢＳ中１ｍｇ／ｍＬの精製した抗体を－８０℃または３７℃で１週間保管した。１０μＬのｘｉ１５５Ｄ５を、移動相としての０．１Ｍのリン酸ナトリウム、０．１５ＭのＮａＣｌ、０．０５％のNaN_3と共に、インラインＴＳＫｇｅｌ　４．６ｍｍ×３．５ｃｍガードカラムを備え付けたＳｕｐｅｒＳＷ３０００カラム（ＴＯＳＯＨ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、４．６ｍｍ×３０ｃｍ、粒径４μｍ）に０．３ｍＬ／分の流量で注射した。２つの保管条件の間で凝集の顕著な変化は観察されなかった（図５Ａ及び５Ｂ）。凝集レベルは、３～４％であったため、典型的なヒトＩｇＧ１の正常範囲内であった（データ割愛）。分解産物は、いずれの保管条件下でもほとんどまたは全く観察されなかった（図５）。これらの結果により、Ｃｙｓ８０－Ｃｙｓ１７１ジスルフィド結合を欠くｘｉ１５５Ｄ５は、試験した保管条件下で安定したタンパク質であることが示唆される。

【０２４８】

キメラ化、したがってＣｙｓ８０－Ｃｙｓ１７１ジスルフィド結合の喪失が、抗原結合の喪失に繋がる構造摂動をもたらすかどうかを決定するために、表面プラズモン共鳴による１５５Ｄ５、ｘｉ１５５Ｄ５、１－５５－２、及びｘｉ１－５５－２というｍＡｂの結合親和性を評価した。ＨＢＳ－ＥＰを泳動緩衝液として使用して、ビオチン化リガンド（１－５５－２にはビオチン－ｈＴＥＭ１、１５５Ｄ５にはビオチン－ＣＡ９）を、コーティングしたビオチンＣＡＰ　ＢＩＡｃｏｒｅチップ（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ、Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，ＮＪ）に捕捉した。最終抗原捕捉レベルは、ビオチン－ＴＥＭ１及び

ビオチン－ＣＡ９について、それぞれ、１３０ＲＵ及び２８０ＲＵであった。抗体の連続希釈（０～５０ｎＭの１２０μＬ）を、リガンドをコーティングしたチップに通した。解離を２５分間観察した。チップ表面を、６ＭのＧｕＨＣｌ、２５０ｍＭのＮａＯＨによって再生成した。センサグラムを二重参照し、動態パラメータを、ＢＩＡＥｖａｌｕａｔｉｏｎｓソフトウェア（バージョン４．１）を使用して決定した。２つの異なるｍＡｂのキメラ化に起因する結合親和性の喪失は、ほとんどまたはまったく観察されず（表６）、これは、Ｃｙｓ８０－Ｃｙｓ１７１ジスルフィド結合の欠如が結合領域の破断に繋がらないことを示唆する。

【表６】

表６．キメラ化及びウサギｍＡｂの運動定数

ｍＡｂ	k_a ($M^{-1}sec^{-1}$)	k_d (sec^{-1})	K_D (M)
１－５５－２	3.7×10^{6}	5.8×10^{-5}	1.5×10^{-11}
ｘｉ１－５５－２	1.5×10^{6}	7.1×10^{-5}	4.6×10^{-11}
１５５Ｄ５	5.1×10^{5}	2.1×10^{-5}	4.1×10^{-11}
ｘｉ１５５Ｄ５	4.6×10^{5}	2.4×10^{-5}	5.1×10^{-11}

【０２４９】

機能性剤抱合のためのＣｙｓ８０の可用性評価

Ｃｙｓ８０－Ｃｙｓ１７１ジスルフィド結合の欠如が構造摂動に繋がらないことを立証した後、キャッピングシステインをチオール反応性化合物で代置する可能性を探った。チオール反応基はリンカーに結合することができ、リンカーは、今度は、本明細書では「機能性剤」と称する診断または治療的に有用な分子に結合し得る。機能性剤には、フルオロフォア、蛍光色素、ポリペプチド、免疫グロブリン、抗生物質、核酸、放射性核種、化学リンカー、小分子（化学療法剤など）、キレート剤、脂質、及び薬物が含まれ得る。

【０２５０】

キャッピングシステインを機能性剤で置換するために、まずキャッピングシステインを除去した。精製したｍＡｂを還元条件に露出させることで、Ｃｙｓ８０とキャッピングシステインとの間のジスルフィド結合を破壊することができ、これは本明細書では「キャップ除去」と称される。しかしながら、準最適な還元条件、例えば、厳しい還元条件も、鎖間及び鎖内ジスルフィド結合を破壊し、それによりｍＡｂの構造及び活性を損なうことができる。したがって、穏やかな還元を使用するキャッピングシステインの除去、続くキャッピングシステインの除去を可能にしながらもＡｂ構造及び活性を改変しないＴｒｉｓ含有緩衝液による再酸化を伴う、キャップ除去法を開発した。まず、還元グルタチオン、システイン、ＴＣＥＰ、及びＤＴＴを含むいくつかの還元剤を評価した。グルタチオンは、キャッピングシステインを効率的に除去しなかった（データ割愛）。ＤＴＴとＴＣＥＰとの両方はキャッピングシステインを効率的に除去したが、より高い濃度により、鎖間ジスルフィド、及び恐らくいくらかの鎖内ジスルフィドもほぼ完全に破壊された（データ割愛）。穏やかな還元剤システインはキャッピングシステインを効率的に除去し、かつ限られた鎖間破壊が観察されただけであった。再酸化を、リン酸緩衝駅、Ｔｒｉｓ緩衝液、及び強酸化剤$CuSO_4$を使用して検査した。破断された鎖間ジスルフィドの再酸化はリン酸緩衝液では観察されず、一方で$CuSO_4$は、ジスルフィドを効率的かつ急速に再形成したが、Ｔｒｉｓと比較したその固有の毒性に起因して更に評価することはなかった。最適化した条件は、原料からの連続精製及びキャップ除去が可能となるようにカラム形式に適合させた。この方法により、抗体をタンパク質Ａ樹脂に結合させ、流量を制限した（０．５ｍＬ／分）、５ｍＭのシステインを含有する緩衝液と共に１６時間インキュベートし、Ｃｙｓ８０－システインジスルフィド結合を還元（破壊）した後、システイン不含Ｔｒｉｓ含有緩衝液で６０時間洗浄して、この処理によって放出されたシステインを除去し、あらゆる還元された鎖間ジスルフィド結合を再酸化した。次に、ｍＡｂを、ｐＨが低いグリシン緩衝液中で溶出させた。キャップ除去法をｘｉ１５５Ｄ５に適用した例示的な実験に

おいて、未還元の精製されたｍＡｂの質量を決定したところ、２つの遊離システインと同等の質量減少によって示される通り、約９９％のｍＡｂがキャップ除去されたことが分かった（図６Ａ及び６Ｂ）。遊離チオールアッセイにより、ｍＡｂ当たり２つのチオール基の存在を確認し、これは効率的な再酸化（データ割愛）も示した（データ割愛）。

【０２５１】

キャップ除去されたＣｙｓ８０はマレイミドに抱合され得る

システインは、非極性側鎖を有するα－アミノ酸である（チオール；－ＳＨ）。不対システイン中の減少したチオール側鎖は、式$H_2C_2(CO)_2NH$を有する化学化合物であるマレイミドなどの求電子分子と反応し得る求核剤として作用し得る。マレイミド中の求電子二重結合は、システイン上に見い出される求核チオール基と容易に反応して、安定した炭素－硫黄チオエーテル結合を形成する。チオール側鎖の非極性は、周囲の残基に応じて、システインに化学的修飾に必要な溶媒曝露を妨げ得る疎水性特性をシステインに授けことがある。加えて、それが位置するペプチドの二次構造との関連におけるシステインの位置は、チオール反応性分子のアクセスを更に妨げ得る。Ｃｙｓ８０がキャップ除去後にチオール反応性分子と反応し得るかどうかを決定するための実験的試験を行った。キャップ除去したｘｉ１５５Ｄ５を、本明細書の他の箇所に記載のようにマレイミド－ＰＥＧ２－ビオチンと共にインキュベートした。質量分析により、機能性剤の質量に対応する５２６Ｄａの分子質量の増加（図７）が示唆する通り、９４％のｍＡｂがマレイミド－ＰＥＧ２－ビオチンと抱合したことが示された。各軽鎖が抱合したことが分かった（単一の質量ピーク、図７）、マレイミド－ＰＥＧ２－ビオチン対ｘｉ１５５Ｄ５比は、２：１と均一に等しかった。１つのマレイミド－ＰＥＧ２－ビオチンは、キメラ化ｍＡｂ中の２つの軽鎖の各々におけるＣｙｓ８０（$Cys80^1$及び$Cys80^2$）に抱合された。

【０２５２】

これらの結果により、Ｃｙｓ８０及びＣｙｓ１７１が、ウサギｍＡｂのＶκ及びＣκ領域を結ぶジスルフィド結合を形成することが示された。ウサギｍＡｂがキメラ化されている場合は、Ｃｙｓ１７１を、ヒトＣκ領域に存在するＳｅｒ１７１で置換した。この置換により、Ｃｙｓ８０－Ｃｙｓ１７１ジスルフィド結合が無効となった。このジスルフィド架橋の喪失が結果として得られたキメラ化ｍＡｂの構造的安定性及び活性に与える影響を親ウサギｍＡｂと比較して評価すると、キメラ化ｍＡｂが安定性かつ活性であることが認められた。キメラ化ｍＡｂにおいて不対のままであった$Cys80^1$と$Cys80^2$との両方が、遊離システイン（キャッピングシステイン）によってキャップされたことが分かった。続いて、結果として得られたキメラｍＡｂの構造的安定性及び活性を維持しながらキャッピングシステインを除去する方法（キャップ除去）を開発した。加えて、機能性剤対ｍＡｂ比が２：１に等しい、マレイミド－ＰＥＧ２－ビオチンに抱合されたｍＡｂの高い収率が達成されたことを示した。

【０２５３】

ウサギｍＡｂのヒト化

キメラ化ｍＡｂは、ヒトに投与される場合、免疫原性であり得るため、ウサギ配列をＶκ及びＶＨ領域においてヒト配列で置換することによって、ウサギｍＡｂをヒト化することが望ましい。ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖ／ｉｇｂｌａｓｔ／のＢＬＡＳＴ検索をヒト可変ドメインデータベースに対して使用してｍＡｂ　１５５Ｄ５のアミノ酸配列を解析し、ウサギ配列との相同性が最も高いヒト配列を特定した。ＩＧＨＶ３－６４＊０４及びＩＧＫＶ１－５＊０３を使用するとウサギ残基置換の数が最小となるため、これらをヒト化に最良な配列として特定した（図８）。

【０２５４】

Ｋａｂａｔ及びＣｈｏｔｈｉａのＣＤＲＨ１、Ｃｈｏｔｈｉａ のＣＤＲＨ２、ＣＤＲＨ３、ＣＤＲＬ１、ＣＤＲＬ２、及びＣＤＲＬ３と識別される抗原結合ドメインに対応する１５５Ｄ５配列をヒトＩＧＨＶ３－６４＊０４またはＩＧＫＶ１－５＊０３のフレームワーク（ＦＷＲ）領域に挿入して、ｚｕ１５５Ｄ５－１という名称のヒト化１５５Ｄ５　ｍＡｂを生成した（表７及び表８）。

【０２５５】
１５５Ｄ５ＬＣ（ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ）のヒト化中に、Ｃｙｓ８０を維持し、これはヒトカッパ配列がＣｙｓ１７１ではなくＳｅｒ１７１を有するため不対であった。ｚｕ１５５Ｄ５－１を産出し標準的なタンパク質Ａ精製を使用して精製したところ、キャップ除去後にキャッピングシステイン約２個に相当する２３３Ｄａの質量変化があったことから明らかなように、キャップ化されていることが分かった（図９）。ｘｉ１５５Ｄ５で観察されたように、ｚｕ１５５Ｄ５－１も１００％に近い効率でキャップ除去することができた（表９）。しかしながら、キャップ除去により、ｘｉ１５５Ｄ５では１４％のみであった凝集が大量（７０％）に生じた。ｚｕ１５５Ｄ５－１をマレイミド－ＰＥＧ２－ビオチンと反応させると０％の抱合が観察されたが、ｘｉ１５５Ｄ５は９３％抱合された（表９）。これらの結果は、１）８０位にシステインを有することが、必要ではあるものの機能性剤の部位特異的抱合を可能にするのに十分でないこと；及び２）一部の条件下では、Ｃｙｓ８０に対して抱合を試みることで、薬物製造性可能性と相容れない高い凝集が生じ得ることを示唆するため、予期しないものであった。しかしながら、ｘｉ１５５Ｄ５を特性評価した開示の研究により、少なくとも一部の条件下ではＣｙｓ８０に対する機能性剤の抱合が極めて効率的であり得ることが示されたため、次に、Ｃｙｓ８０周辺の残基がどのようにして抱合効率に影響し得るのかを調査した。続いて、キメラ化ｘｉ１５５Ｄ５の構造モデルを生成すると（図１０）、残基Ｖａｌ１１、Ａｌａ１４、Ｇｌｙ１７、Ｔｈｒ１８、Ｌｙｓ６３、Ｔｈｒ７６、Ｇｌｙ７７、Ｖａｌ７８、Ａｌａ８３、Ｇｌｕ１０３、及びＬｅｕ１０４がＣｙｓ８０に近接近（１８Å以内）しているため、その抱合効率に影響している可能性があり得ることが示された。

【０２５６】
ＦＷＲ１を２バージョン（ＦＷＲ１ａ～ｂ）、ＦＷＲ２を１バージョン、ＦＷＲ３を３バージョン（ＦＷＲ３ａ～ｃ）、及びＦＷＲ４を２バージョン（ＦＷＲ４ａ～ｂ）、前述の残基（表７）に基づいて設計した。

【表７】

表７．ヒトＶκファミリーＩＧＫＶ１－５に由来するフレームワークのバージョン

ヒトＶκファミリー	ＦＷＲバージョンコード	ＦＷＲ１	ＦＷＲ２	ＦＷＲ３	ＦＷＲ４
ＩＧＫＶ１－５	Ａ	DIQMTQSPST**L**SA **S**VG**DR**VTITC（配列番号３２）	WYQQKPGKAP KLLIY（配列番号３３）	GVPSRFSGSGSGTEFTL TI**SSL**QCDDFATYYC（配列番号３４）	FGGGT**KV**EIK（配列番号３５）
ＩＧＫＶ１－５	Ｂ	DIQMTQSPST**V**SA **A**VG**GT**VTITC（配列番号３６）	該当なし	GVPSRFSGSGSGTEFTL TI**TGV**QCDDFATYYC（配列番号３７）	FGGGT**E**LEIK（配列番号３８）
ＩＧＫＶ１－５	Ｃ	該当なし	該当なし	GVPSRF**K**GSGSGTEFT LTI**TGV**QCDDAATYYC（配列番号３９）	該当なし

太字の残基は、フレームワーク変異型間の差異を示す。ｎ／ａは該当なしである。

【０２５７】
これらのフレームワークと、Ｃｙｓ８０－Ｘａａ$_1$－Ｘａａ$_2$－Ｐｈｅ８３（Ｃ－Ｘ－Ｘ－ＦまたはＣＸＸＦとも称される）またはＣｙｓ８０－Ｘａａ$_1$－Ｘａａ$_2$－Ａｌａ８

３（Ｃ－Ｘ－Ｘ－ＡまたはＣＸＸＡとも称される）のいずれかとの組み合わせを含む一連のヒト化１５５Ｄ５変異型を生成した。この「Ｘａａ」または「Ｘ」は８１位及び８２位のアミノ酸を示す（表８）。

【表８】

表８．ヒトＶκファミリーＩＧＫＶ１－５に由来するヒト化１５５Ｄ５変異型

ｍＡｂ名	ＦＷＲの組み合わせ	ａａ　８０－８３
ｚｕ１５５Ｄ５－１	ＦＷＲ１ａ、ＦＷＲ２ａ、ＦＷＲ３ａ、ＦＷＲ４ａ	ＣＸＸＦ
ｚｕ１５５Ｄ５－２	ＦＷＲ１ａ、ＦＷＲ２ａ、ＦＷＲ３ｂ、ＦＷＲ４ａ	ＣＸＸＦ
ｚｕ１５５Ｄ５－３	ＦＷＲ１ａ、ＦＷＲ２ａ、ＦＷＲ３ａ、ＦＷＲ４ａ	ＣＸＸＡ
ｚｕ１５５Ｄ５－４	ＦＷＲ１ａ、ＦＷＲ２ａ、ＦＷＲ３ｂ、ＦＷＲ４ａ	ＣＸＸＡ
ｚｕ１５５Ｄ５－５	ＦＷＲ１ａ、ＦＷＲ２ａ、ＦＷＲ３ｃ、ＦＷＲ４ａ	ＣＸＸＡ
ｚｕ１５５Ｄ５－６	ＦＷＲ１ｂ、ＦＷＲ２ａ、ＦＷＲ３ｂ、ＦＷＲ４ａ	ＣＸＸＡ
ｚｕ１５５Ｄ５－７	ＦＷＲ１ａ、ＦＷＲ２ａ、ＦＷＲ３ｂ、ＦＷＲ４ｂ	ＣＸＸＡ

【０２５８】

使用するＦＷＲのバージョンに関係なく、Ｃ－Ｘ－Ｘ－Ｆモチーフを有するヒト化ｍＡｂは高い凝集（キャップ除去後）及び低い抱合を示したことが観察された（表９）。これとは逆に、Ｃ－Ｘ－Ｘ－Ａモチーフを含む５個のｍＡｂ変異型のうち４個は、ＦＷＲのバージョンに関係なく、高いパーセントの抱合効率（８０％以上）及び１８％未満の低い凝集（キャップ除去後）を示した（表９）。ｚｕ１５５Ｄ５－４は、キャップ除去後に低いパーセントの抱合効率及び高い凝集を呈した外れ値である。ｚｕ１５５Ｄ５－４抗体がキャップ除去とは無関係に凝集する傾向を有し、これが観察された結果の主因であり得ることを記載しておく。これらのデータによって、Ｐｈｅ８３が、キャップ除去後の高い凝集に関与し、Ｃｙｓ８０の抱合を助長しないことが示唆された。

【表９】

表９．ｚｕ１５５Ｄ５の異なる変異型と比較したｘｉ１５５Ｄ５の凝集レベル及び抱合効率

	凝集体%				
ｍＡｂ名	ＰｒｏＡ	キャップ除去	キャップ除去%	抱合%	ａａ８０－８３
ｘｉ１５５Ｄ５	ＮＤ	14.20%	100.00%	93.90%	ＣＸＸＡ
ｚｕ１５５Ｄ５－１	1.10%	70.10%	100.00%	0.00%	ＣＸＸＦ
ｚｕ１５５Ｄ５－２	10.10%	44.50%	100.00%	0.00%	ＣＸＸＦ
ｚｕ１５５Ｄ５－３	0.00%	17.30%	100.00%	80.10%	ＣＸＸＡ
ｚｕ１５５Ｄ５－４	10.80%	28.30%	100.00%	25.90%	ＣＸＸＡ
ｚｕ１５５Ｄ５－５	7.40%	13.30%	100.00%	86.90%	ＣＸＸＡ
ｚｕ１５５Ｄ５－６	1.60%	6.70%	100.00%	88.20%	ＣＸＸＡ
ｚｕ１５５Ｄ５－７	4.90%	12.30%	100.00%	89.30%	ＣＸＸＡ

太字は、Ｃ－Ｘ－Ｘ－Ｆモチーフ及び値が抱合仕様を満たしていないことを示す。

【０２５９】

下流プロセス最適化の開始点として２５％以下の凝集を達成することにより、発酵パラメータ、精製条件、及び薬物製剤化の更なる最適化が、５％以下というより望ましい凝集レベルを達成し得ることが望ましい。７０％以上の抱合効率を達成して、製品の無駄、商品原価を最低限に抑え、製品の均一性を最大限にすることも望ましい。これ以降、本調査は、ウサギｍＡｂのヒト化方法に適用するようにルールを予測することによって、これらの使用を満たし、また超えることに重点を置く。

【０２６０】

１５５Ｄ５－１を、親配列と最も相同であるヒト生殖細胞系配列の利用を伴う以下の標準的技法によって生成した。この技法のため、ヒトＶκサブファミリーＩＧＫＶ１－５を、同一性パーセントが７０．５％であり（データ割愛）、Ｐｈｅ８３を含むヒト化１５５Ｄ５に使用した。同一性パーセントが類似している（データ割愛）代替的なＶκサブファミリーもＰｈｅ８３を含んだ（図８）。この残基は、Ｃｙｓ８０抱合効率に悪影響を与え、高い凝集の引き起こすように見受けられるため、他のヒトＶκファミリーにおけるＰｈｅ８３の存否を評価した（しかし、これらのＶκファミリーで見い出される最高の同一性はより低いため（６８．４％）、典型的にはヒト化１５５Ｄ５に使用されない）。ＧＫＶ４、ＩＧＫＶ５、及びＩＧＫＶ７を除いた全てのヒトＶκファミリーは複数のサブファミリーを有し、サブファミリーは全てそれらのファミリーの中で整列した（データ割愛）。余剰な配列を除去した後には、配列は、ＩＧＫＶ－４、－５、－６、－６Ｄ、及び－７ファミリーの各々について１つのみ残り、これをヒト化に使用することができた。ファミリーＩＧＫＶ－１、－２、及び－３については、コンセンサスと相同性が最も高いサブファミリーを１５５Ｄ５をヒト化するためのフレームワークとして選択した。予備解析によっ

て、これらのＶκファミリーの一部はＰｈｅ８３を含み、他のファミリーは含まなかったことが示された（及び表１０）。

【０２６１】

これらのＶκファミリーとの関連におけるＰｈｅ８３の存否の影響を研究するために、１５５Ｄ５のＣＤＲ領域を、ヒトフレームワークＩＧＫＶ１－３９＊０１、ＩＧＫＶ２－４０＊０１、ＩＧＫＶ３－１１＊０１、ＩＧＫＶ４－１＊０１、ＩＧＫＶ５－２＊０１、ＩＧＫＶ６－２１＊０１、ＩＧＫＶ６Ｄ－４１＊０１、及びＩＧＫＶ７－３＊０１に遺伝学的に移植した。残基２０にＮ－結合型グリコシル化部位を含むＩＧＫＶ５－２＊０１　Ａｓｎ２０、及びそのＴｈｒ２０変異型は、前者は不均一性に起因して質量分析によって解析することができず、後者は十分に発現されなかったため、この解析には含めなかった。ＩＧＫＶ７－３＊０１　Ａｓｎ８１は、質量分析によって解析することができなかったため解析に含めなかった。しかしながら、変異型ＩＧＫＶ７－３＊０１－Ｇｌｕ８１は解析に含めた。以下の結果は本解析から得たものである（表１０）。

１．ｈｕＩＧＫＶ１－３９配列を有しＰｈｅ８３を含むヒト化ｍＡｂはキャップ除去後に０～２６％の凝集増加を示し、抱合効率は、境界域で許容可能であった（６８％）が、２５％超の凝集は許容可能ではなかった。

２．ｈｕＩＧＫＶ２－４０配列を有するヒト化ｍＡｂはヒト生殖細胞系Ｖａｌ８３を含み、このｍＡｂは、キャップ除去後の２５％未満の凝集（１１％）及び７０％超の抱合効率（９２％）を示した。これらのパラメータは許容可能なものであり、ヒト生殖細胞系Ｖａｌ８３がＣｙｓ８０との対形成を助長して、Ｃｙｓ８０抱合を可能にすることを示唆した。

３．ｈｕＩＧＫＶ３－１１配列を有するヒト化ｍＡｂはヒト生殖細胞系Ｐｈｅ８３を含み、凝集は２５％を下回ったが、抱合効率は５５％であったため、７０％超という基準は満たさなかった。

４．ｈｕＩＧＫＶ４－１配列を有するヒト化ｍＡｂはヒト生殖細胞系Ｖａｌ８３を含み、このｍＡｂは、キャップ除去後の２５％未満の凝集（６％）及び７０％超の抱合効率（８２％）を示した。これらのパラメータは許容可能なものであり、ｈｕＩＧＫＶ２－４０配列で見られたように、ヒトＶａｌ８３がＣｙｓ８０との対形成を助長して、Ｃｙｓ８０抱合を可能にすることを示唆した。

５．ｈｕＩＧＫＶ６－２１配列を有するヒト化ｍＡｂまたはｈｕＩＧＫＶ６Ｄ－４１配列を有するヒト化ｍＡｂは共に、ヒト生殖細胞系Ａｌａ８３を含み、これらのｍＡｂは、キャップ除去後の２５％未満の凝集及び７０％超の抱合効率を示した。これらのパラメータは許容可能なものであり、ｘｉ１５５Ｄ５で見られたように、ヒト生殖細胞系Ａｌａ８３がＣｙｓ８０との対形成を助長して、Ｃｙｓ８０抱合を可能にすることを示唆した。

６．ｈｕＩＧＫＶ７－３－Ｇｌｕ８１配列を有するヒト化ｍＡｂはヒト生殖細胞系Ｔｈｒ８３を含み、このｍＡｂは、キャップ除去後の２５％未満の凝集（６％）及びほぼ１００％の抱合効率を示した。これらのパラメータは許容可能なものであり、ヒト生殖細胞系Ｔｈｒ８３がＣｙｓ８０との対形成を助長して、Ｃｙｓ８０抱合を可能にすることを示唆した。

【表１０】

表１０.種々のヒトＶκサブファミリーを使用して生成したｚｕ１５５Ｄ５の異なる変異型の凝集レベル及び抱合効率

		凝集体%			
ヒト化ｍＡｂ	ａａ８０－８３	ＰｒｏＡ	キャップ除去	キャップ除去%	抱合%
ｚｕ１５５Ｄ５－１（ｈｕＶＫ１－５）	ＣＸＸＦ	1.10%	70.10%	100.00%	0.00%
ｚｕ１５５Ｄ５－ｈｕＶＫ１－３９	ＣＸＸＦ	0.00%	26.00%	100.00%	68.70%
ｚｕ１５５Ｄ５－ｈｕＶＫ２－４０	ＣＸＸＶ	9.60%	11.70%	100.00%	92.70%
ｚｕ１５５Ｄ５－ｈｕＶＫ３－１１	ＣＸＸＦ	6.20%	16.50%	100.00%	55.00%
ｚｕ１５５Ｄ５－ｈｕＶＫ４－１	ＣＸＸＶ	0.00%	6.30%	100.00%	82.70%
ｚｕ１５５Ｄ５－ｈｕＶＫ６－２１	ＣＸＸＡ	13.80%	15.00%	61.70%	81.50%
ｚｕ１５５Ｄ５－ｈｕＶＫ６Ｄ－４１	ＣＸＸＡ	9.30%	11.90%	62.00%	79.80%
ｚｕ１５５Ｄ５－ｈｕＶＫ７－３－Ｇ１ｕ８１	ＣＸＸＴ	0.00%	6.30%	100.00%	100.00%

太字は、Ｃ－Ｘ－Ｘ－Ｆモチーフ及び値が抱合仕様を満たしていないことを示す。

【０２６２】

これらの結果は、８３位がフェニルアラニンに占有されるとＣｙｓ８０抱合効率に悪影響を及ぼすという発見を裏付け、またアラニンに加えてバリン及びトレオニンでＰｈｅ８３を置き換えることで、Ｃｙｓ８０抱合が可能となることを示す。

【０２６３】

他のｍＡｂとの関連において、Ｐｈｅ８３がキャップ除去後の高い凝集の誘発に関与し、Ｃｙｓ８０の抱合を助長しないことを確認するために、１Ｅ４（抗ＣＡ９）、１６６Ｂ３（抗ＣＡ９）、及び３３Ｏ１１（抗ＭＳＬＮ）のヒト化ｍＡｂ変異型を、Ｃ－Ｘ－Ｘ－ＦまたはＣ－Ｘ－Ｘ－Ａのいずれかを含むように生成した。

【０２６４】

Ｃ－Ｘ－Ｘ－Ｆモチーフを有するモノクローナル抗体変異型は、抱合仕様は満たしたが凝集仕様を満たさず、一方でＣ－Ｘ－Ｘ－Ａを有するヒト化ｍＡｂ変異型は全て、２５％未満の凝集及び７０％超の抱合効率を示した（表１１及び１２）。これらの研究は、Ｃ－Ｘ－Ｘ－（ｎｏｎ）ＦまたはＫが、抱合仕様の充足を可能にするモチーフであることを示す。

【表１１】

表１１．Ｃ－Ｘ－Ｘ－ＦモチーフとＣ－Ｘ－Ｘ－Ａ及びＣ－Ｘ－Ｘ－Ｉモチーフとを比較する、ヒト化ｍＡｂの異なる変異型の抱合レベル及び抱合効率

	凝集体%			
ヒト化ｍＡｂ	ＰｒｏＡ	キャップ除去	キャップ除去%	抱合%
ｚｕ１５５Ｄ５－ＣＸＸＦ（ｚｕ１５５Ｄ５－１）	1.10%	70.10%	100.00%	0.00%
ｚｕ１５５Ｄ５－ＣＸＸＡ（ｚｕ１５５Ｄ５－３）	0.00%	17.30%	100.00%	80.10%
ｚｕ１６６Ｂ３－ＣＸＸＦ	22.10%	51.50%	77.70%	34.70%
ｚｕ１６６Ｂ３－ＣＸＸＡ	2.30%	6.90%	100.00%	89.90%
ｚｕ３３Ｏ１１－ＣＸＸＦ	2.10%	27.50%	100.00%	76.10%
ｚｕ３３Ｏ１１－ＣＸＸＡ	1.50%	4.30%	100.00%	93.20%
ｚｕ３３Ｏ１１－ＣＸＸＩ	1.40%	4.30%	100.00%	100.00%

太字は、Ｃ－Ｘ－Ｘ－Ｆモチーフ及び値が抱合仕様を満たしていないことを示す。

【表１２】

表１２．Ｃ－Ｘ－Ｘ－ＦモチーフとＣ－Ｘ－Ｘ－（ｎｏｎ）ＦまたはＫモチーフとを比較する、ｚｕ１Ｅ４　ｍＡｂの異なる変異型の抱合レベル及び抱合効率

	タンパク質Ａ		キャップ除去				倍数増加
抗体	凝集体%	単量体%	凝集体%	単量体%	キャップ除去%	抱合%	凝集
１Ｅ４－ＣＸＸＧ	7.10%	93.00%	ＮＤ＊	ＮＤ＊	ＮＤ＊	ＮＤ＊	
１Ｅ４－ＣＸＸＡ	13.20%	86.80%	21.90%	78.10%	100.00%	71.00%	1.66
１Ｅ４－ＣＸＸＬ	8.30%	91.70%	13.10%	86.90%	100.00%	88.30%	1.59
１Ｅ４－ＣＸＸＶ	12.10%	87.90%	18.00%	82.00%	100.00%	95.60%	1.49
１Ｅ４－ＣＸＸＰ	11.60%	88.40%	23.30%	76.70%	100.00%	87.50%	2.01
１Ｅ４－ＣＸＸＭ	10.70%	89.30%	17.60%	82.40%	100.00%	91.10%	1.65
１Ｅ４－ＣＸＸＦ	22.10%	77.90%	47.20%	52.80%	77.70%	43.60%	2.14
１Ｅ４－ＣＸＸＹ	7.20%	92.80%	16.40%	83.70%	100.00%	90.90%	2.28
１Ｅ４－ＣＸＸＷ	11.50%	88.50%	19.50%	80.50%	100.00%	89.80%	1.7
１Ｅ４－ＣＸＸＳ	9.90%	90.10%	14.60%	85.40%	100.00%	97.20%	1.48
１Ｅ４－ＣＸＸＴ	7.10%	92.90%	11.70%	88.40%	100.00%	97.20%	1.64
１Ｅ４－ＣＸＸＮ	7.30%	92.70%	13.40%	86.70%	100.00%	96.60%	1.82
１Ｅ４－ＣＸＸＱ	11.10%	88.90%	12.80%	87.20%	100.00%	93.40%	1.15
１Ｅ４－ＣＸＸＤ	10.60%	89.40%	14.90%	85.10%	100.00%	73.00%	1.4
１Ｅ４－ＣＸＸＥ	7.80%	92.20%	13.20%	86.80%	100.00%	70.60%	1.69
１Ｅ４－ＣＸＸＫ	8.40%	91.70%	15.10%	84.90%	50.00%	43.70%	1.81
１Ｅ４－ＣＸＸＲ	12.60%	87.40%	20.50%	79.50%	100.00%	87.10%	1.63
１Ｅ４－ＣＸＸＨ	11.20%	88.80%	16.30%	83.70%	100.00%	83.70%	1.45

太字は、Ｃ－Ｘ－Ｘ－ＦモチーフおよびＣ－Ｘ－Ｘ－Ｋモチーフならびに値が凝集仕様または抱合仕様を満たしていないことを示す。

【０２６５】

ｈｕＩＧＫＶ１－７生殖細胞系サブファミリーに属するＶκ配列で見られるＡｌａ８３、Ｖａｌ８３、及びＴｈｒ８３に加えて、Ｉｌｅ８３も、ｈｕＩＧＫＶ１生殖細胞系ファミリーにおいて稀ではあるが見られる。Ａｌａ８３、Ｖａｌ８３、及びＴｈｒ８３はＣｙ

ｓ８０抱合を助長することが既に分かっているため（表９、及び表１１）、Ｉｌｅ８３が、Ｃｙｓ８０抱合の観点から好ましい残基なのか好ましくない残基なのかは未定のままであった。よって、Ｃｙｓ８０－Ｘａａ$_1$－Ｘａａ$_2$－Ｉｌｅ８３（Ｃ－Ｘ－Ｘ－ＩまたはＣＸＸＩとも称される）モチーフを含む３３Ｏ１１のヒト化ｍＡｂ変異型を生成すると、これは、試験した以前のＣ－Ｘ－Ｘ－（ｎｏｎ）Ｆモチーフと一致する、２５％未満の凝集及び７０％超の抱合効率を示した（表１１）。この結果により、Ａｌａ８３、Ｖａｌ８３、及びＴｈｒ８３に加えて、Ｉｌｅ８３も、Ｐｈｅ８３を置き換えて、抱合仕様を満たすと同時にＣｙｓ８０抱合を可能にすることができるという発見が裏付けられる。

【０２６６】

開示の研究により、キメラ化ウサギｍＡｂは、上で考察したように開示のキャップ除去法を適用した後でのみＣｙｓ８０の部位特異的抱合に好適であるが、Ｃ－Ｘ－Ｘ－Ｆモチーフまたは Ｃ－Ｘ－Ｘ－Ｋモチーフを有するヒト化ウサギｍＡｂは、キャップ除去後の高い凝集及び／または低い抱合効率に起因してかかる修飾に十分に好適ではないことが示される。Ｃｙｓ８０周囲の残基がこの現象において役割を果たし得ると仮定した。Ｖκ領域は１００個超の残基を含むため、重要な周囲残基とＣｙｓ８０との相互作用を理解するには、実験的試験と併せて構造モデリングを使用することが求められた。Ｃｙｓ８０に近接近している残基の中でも特にＰｈｅ８３がＣｙｓ８０抱合効率に悪影響を与えたことを発見した。ヒトＶκ配列はアラニン、トレオニン、バリン、及びイソロイシンを含む８３位の他のアミノ酸も含み得るにもかかわらず、ウサギｍＡｂの全てが、伝統的なヒト化手段を使用してヒト化した後でＰｈｅ８３を含んだ（図１１）ことも観察された。これらのＶκファミリーをヒト化に使用したとき、アミノ酸残基（抱合のために単一のＣｙｓを得るという目的に起因して試験しなかったＣｙｓを除く）がＣｙｓ８０抱合を助長したのに対し、Ｐｈｅ８３及びＬｙｓ８３は、高い凝集及び／または低い抱合効率などの、ヒト化ｍＡｂに望ましくない特性を授けるのに十分であることを確認した。

【０２６７】

これらの結果により、Ｃｙｓ８０での抱合時にはＣ－Ｘ－Ｘ－Ｆモチーフ及びＣ－Ｘ－Ｘ－Ｋモチーフを避けるべきであることが示唆される。Ｃ－Ｘ－Ｘ－（ｎｏｔ）ＦまたはＫモチーフ、例えば、モチーフＣ－Ｘ－Ｘ－Ａ、Ｃ－Ｘ－Ｘ－Ｔ、Ｃ－Ｘ－Ｘ－Ｖ、及びＣ－Ｘ－Ｘ－Ｉを、Ｐｈｅ８３の置換によって使用することは、所望の抱合仕様を満たしたキメラ化及びヒト化ｍＡｂを生成した。

【０２６８】

ｘｉ１５５Ｄ５の親和性及びヒト化変異型

ｘｉ１５５Ｄ５及びヒト化変異型を、標準的なタンパク質Ａクロマトグラフィーまたはキャップ除去法によって精製し、それらの親和性を、ＢＩＡｃｏｒｅを使用して解析した（表１３）。キメラ１５５Ｄ５とヒト化１５５Ｄ５とのＫＤの差は２倍未満であり、２つの異なる方法によって精製した試料間の差はわずかであった。

【表１３】

表１３．ヒト化及びキメラ１５５Ｄ５　ｍＡｂの抗原結合のＢＩＡｃｏｒｅ解析

	ＰｒｏＡ			キャップ除去		
抗体	ｋａ（１／Ｍｓ）	ｋｄ（１／ｓ）	ＫＤ（Ｍ）	ｋａ（１／Ｍｓ）	ｋｄ（１／ｓ）	ＫＤ（Ｍ）
ｘｉ１５５Ｄ５	4.58Ｅ＋05	1.49Ｅ－04	3.24Ｅ－10			
ｚｕ１５５Ｄ５－１	1.01Ｅ＋06	4.95Ｅ－04	4.98Ｅ－10	7.70Ｅ＋05	3.55Ｅ－04	5.00Ｅ－10
ｚｕ１５５Ｄ５－２	6.63Ｅ＋05	3.76Ｅ－04	5.69Ｅ－10	4.58Ｅ＋05	2.70Ｅ－04	5.89Ｅ－10
ｚｕ１５５Ｄ５－３	7.27Ｅ＋05	4.01Ｅ－04	5.62Ｅ－10	7.26Ｅ＋05	3.51Ｅ－04	5.07Ｅ－10
ｚｕ１５５Ｄ５－４	5.77Ｅ＋05	3.82Ｅ－04	6.64Ｅ－10	6.41Ｅ＋05	3.78Ｅ－04	5.90Ｅ－10
ｚｕ１５５Ｄ５－５	5.87Ｅ＋05	3.73Ｅ－04	6.39Ｅ－10	5.72Ｅ＋05	2.73Ｅ－04	4.78Ｅ－10
ｚｕ１５５Ｄ５－６	8.98Ｅ＋05	4.77Ｅ－04	5.33Ｅ－10	5.58Ｅ＋05	3.19Ｅ－04	5.68Ｅ－10
ｚｕ１５５Ｄ５－７	8.69Ｅ＋05	4.58Ｅ－04	5.34Ｅ－10	4.85Ｅ＋05	3.19Ｅ－04	6.80Ｅ－10

【０２６９】

実施例３－メソテリン－オーリスタチン抱合型モノクローナル抗体の生成

メソテリン（ＭＳＬＮ）は、ある特定の卵巣腫瘍、肺腫瘍、膵臓腫瘍、及び中皮腫を含む癌において発現される細胞表面タンパク質である。ＭＳＬＮを標的化する薬剤の効能を改善するために、デノボ抗ＭＳＬＮウサギモノクローナル抗体（ｍＡｂ）を開発し、続いて遺伝子操作し、Ｃｙｓ８０でオーリスタチンＦ（ＡｕＦ）と抱合させて、ＭＳＬＮ－ＡｕＦ抱合型ｍＡｂのパネルを生成した。

【０２７０】

ウサギ抗ＭＳＬＮ　ｍＡｂの生成及び特性評価

Ａｌｄｅｖｒｏｎ（Ｇｅｒｍａｎｙ）にて、ヒトＭＳＬＮタンパク質（「ＭＳＬＮ」）をコードするプラスミドＤＮＡを使用してニュージーランドウサギ（Ｏｒｙｃｔｏｌａｇｕｓ　Ｃｕｎｉｃｕｌｕｓ）に免疫付与した。５２日目に動物の血清を採取し、後で、ヒトＭＳＬＮを一過性に発現している哺乳動物細胞を使用するフローサイトメトリーによってＭＳＬＮ結合について試験した。図１２－Ｄは、両方の動物に由来する血清がＭＳＬＮ結合抗体を含んだことを示す。後にＥＬＩＳＡアッセイによってこの結果を確認した（図１２Ｅ）。次に、動物を屠殺し、血液からのＰＢＭＣ、ならびに脾臓及びリンパ節からのリンパ球を採取し、凍結保存した。

【０２７１】

事前に凍結させたリンパ節からのリンパ球を正常に戻し、ＤＮａｓｅ　Ｉ及びヤマゴボウマイトジェンによって３７℃／５％のCO_2で１時間処理した。細胞を計数し、ＣＤ１５４を発現しているＣＨＯ－Ｋ１細胞をフィーダー細胞として事前に播種しておいた３８４ウェルプレート中の１０％のウシ胎仔血清（ＦＢＳ）及びサイトカイン（１０．５ｎｇ／ｍＬのＩＬ－２及びＩＬ－２１）を含む完全ＩＭＤＭ培地に、５細胞／４０μＬ／ウェ

ルで播種した。１週間後、上記と同じ培地を２０μＬ／ウェルで添加して細胞に給餌した。播種から２週間後、Ｂ細胞培養上清をスクリーニング用に採取して、ヒトＭＳＬＮに対する特異的反応性を有するクローンを特定した。今後のＲＮＡ単離及び遺伝子増幅のために、細胞を含んだプレートを凍結させて－８０℃で保管した。Ｂ細胞培養上清を、まず、ウサギＩｇＧ　ＦＲＥＴアッセイによってＩｇＧ産出についてスクリーニングした。ＩｇＧを産出しているクローン（５，７７５）を選択し、ＥＬＩＳＡを使用してスクリーニングして、ヒトＭＳＬＮへの結合を決定した（第１のスクリーニング）。抗ＭＳＬＮ反応性クローンの一部を、ＭＳＬＮに対する反応性について再試験（第２のスクリーニング）したが、対照抗原（ヒトＣＤ７３）に対しては行わなかった。５個のｍＡｂを選択し、これらを表１４に示す。

【表１４】

表１４．ヒトＭＳＬＮに対して特異的反応性を有するクローン

ウサギｍＡｂ名	第１のスクリーニング読み値（光学密度）		第２のスクリーニング読み値（光学密度）	
	ＩｇＧ産出	抗ＭＳＬＮ反応性	抗ＭＳＬＮ反応性	抗ＣＤ７３反応性
３３Ｏ１１	0.524	0.2821	0.5039	0.0818
１７８Ｆ１６	1.534	0.9661	1.879	0.1411
２３７Ｎ１８	0.586	0.362	0.6683	0.0918
３２４Ｏ５	2.207	1.3982	2.218	0.0801
３８３Ｉ１８	0.586	0.249	0.2965	0.0744

【０２７２】

選択されたｍＡｂを含むプレートを解凍し、ＲＮＡｑｕｅｏｕｓ　Ｋｉｔ（Ａｍｂｉｏｎ）を使用して、Ｂ細胞を溶解させＲＮＡを単離した。これらのＲＮＡを使用してＲＴ－ＰＣＲ反応を引き起こし、抗体可変領域を増幅した。結果として得られたＤＮＡの配列決定を行い、プライマーを、製造業者（Ｃｌｏｎｔｅｃｈ、Ｍｏｕｎｔａｉｎ　Ｖｉｅｗ，ＣＡ）の説明の通り、ＩｎＦｕｓｉｏｎ　ＨＤ（登録商標）クローニングシステムと互換性を有するように設計した。可変領域ＰＣＲ断片を、ヒトガンマ定常領域またはカッパ定常領域のいずれかを含む発現プラスミドにクローニングした。これらのプラスミドを、ＦｒｅｅＳｔｙｌｅ　２９３発現システム（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を使用してトランスフェクトし、本明細書の他の箇所に記載する通りにｍＡｂを産出した。

【０２７３】

ＭＳＬＮ－ＡｕＦ　Ｃｙｓ８０抱合型ｍＡｂの生成及び特性評価

キメラ化ｍＡｂを、実施例２に開示したように生成し、ここでは、ｘｉ３３Ｏ１１が５個の抗ＭＳＬＮ　ｍＡｂのうちの１個であり、他の４個のｍＡｂは同方法に従ってキメラ化した。よって、これらの抗ＭＳＬＮ　ｍＡｂは、不対Ｃｙｓ８０、具体的にはモチーフＣ－Ｘ－Ｘ－Ａを含む。これらは、本明細書ではｘｉ３２４Ｏ５、ｘｉ１７８Ｆ１６、ｘｉ２３７Ｎ１８、ｘｉ３３Ｏ１１、及びｘｉ３８３Ｉ１８と称する。

【０２７４】

これらを産出した後、選択した５個のキメラ化ｍＡｂを、以下の方法に従ってオーリスタチンＦ（ＡｕＦ）に抱合させて、ＭＳＬＮ－ＡｕＦ　Ｃｙｓ８０抱合型ｍＡｂを生成した。

【０２７５】

「キャップ除去」による抗体精製：ウサギ／ヒトｍＡｂのキャップ除去は、Ｃｙｓ８０への抱合に必要なステップである。ＡＫＴＡ　Ｅｘｐｌｏｒｅｒ（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃ

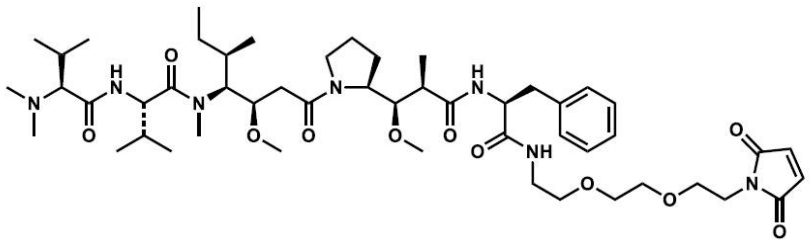
ａｒｅ）を使用して、タンパク質Ａカラム（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）を１０ＣＶの２０ｍＭのリン酸ナトリウム、１０ｍＭのＥＤＴＡ、ｐＨ７．２と平衡化した。続いて試料を充填した後、１０ＣＶの平衡化緩衝液によって未結合物質を洗浄した。カラムを、１６ＣＶの２０ｍＭのリン酸ナトリウム、１０ｍＭのＥＤＴＡ、５ｍＭのシステイン、ｐＨ７．２によって、１６時間０．５ｍＬ／分で洗浄した。次にカラムを、６０ＣＶの２０ｍＭのＴｒｉｓ、ｐＨ７．５によって、６０時間０．５ｍＬ／分で洗浄した。試料を、５ＣＶの０．１Ｍのグリシン、ｐＨ２．９を使用して溶出させた。ｍＡｂ含有部分をプールし、ＭＷＣＯ　２０Ｋ　Ｓｌｉｄｅ－Ａ－Ｌｙｚｅｒ（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を使用してＤＰＢＳ中で透析した。タンパク質回収をＢＣＡアッセイによって決定した。

【０２７６】

オーリスタチンＦ抱合：精製しキャップ除去した、Ｃ－Ｘ－Ｘ－Ａモチーフを含むキメラ化ＭＳＬＮ－ｍＡｂを、マレイミド－ＰＥＧ２－オーリスタチンＦ（ｍａｌ－ＰＥＧ２－ＡｕＦ）（構造式は以下に示す）と共にインキュベートし、１×ＰＢＳ中最終抗体濃度５ｍｇ／ｍＬ、モル比５：１（ＡｕＦ：ＭＡｂ）のＤＭＳＯ（Ｃｏｎｃｏｒｔｉｓ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ、Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ）中１０ｍＭの原液から希釈した。抱合を２２℃で２時間行った。未反応のｍａｌ－ＰＥＧ２－ＡｕＦを、１×ＰＢＳを泳動緩衝液として使用して、２６／１０脱塩カラム（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）を取り付けたＡＫＴＡ　ＦＰＬＣ上で脱塩精製することにより除去した。抗体含有部分をプールし、タンパク質濃度をＢＣＡアッセイによって決定した。

マレイミド－ＰＥＧ２－オーリスタチンＦ：

【化１】



【０２７７】

ＵＰＬＣ／ＥＳＩ－ＭＳ解析：ＤＴＴを２０ｍＭの最終濃度になるまで添加して試料を還元した後、３時間６０℃でインキュベートした。次に、Ｗａｔｅｒｓ　Ａｃｑｕｉｔｙ　ＵＰＬＣ及びＱ－Ｔｏｆ　Ｐｒｅｍｉｅｒ質量分析計を使用して試料を解析した。試料（各々０．５～２μｇ）を、６５℃のＭａｓｓＰｒｅｐ脱塩マイクロカラムに注射し、０．０５ｍＬ／分で、９５％の移動相Ａにおける５分の平衡化、１０分の勾配（５～９０％のＢ）、及び９５％の移動相Ａにおける１０分の再平衡化によってカラムから溶出させた。移動相Ａは水中０．１％のギ酸であった。移動相Ｂはアセトニトリル中０．１％のギ酸であった。Ｑ－Ｔｏｆ質量分析計を、陽イオン、検出範囲５００～４０００ｍ／ｚのＶモードで実行した。ソースパラメータは、キャピラリー電圧２．２５ｋＶ（完全抗体）～２．５０ｋＶ（参照抗体）、サンプリングコーン電圧６５．０Ｖ（完全抗体）または５０．０Ｖ（還元抗体）、ソース温度１００℃、脱溶媒和温度２５０℃、脱溶媒和ガス流量５５０Ｌ／時間であった。タンパク質ピークを、ＭａｓｓＬｙｎｘ　ＭａｘＥｎｔ　１関数を使用してデコンボリューションした。代表的な解析を図１３に示す。典型的には、９０％以上の抱合型ｍＡｂは、抗体対機能性剤比が２であり、各キメラ化抗ＭＳＬＮ　ｍＡｂが、$Cys80^{1}$及び$Cys80^{2}$の各々に抱合したＡｕＦ分子を担持したことを示す。

【０２７８】

インビボの細胞毒性

Ａ４３１－ＭＳＬＮは、ヒトＭＳＬＮを安定して発現する、Ａ４３１細胞（ＡＴＣＣ（登録商標）ＣＲＬ－１５５５（商標））由来の細胞である。Ａ４３１－ＭＳＬＮ細胞を、継代培養し、１０％のＦＢＳを含むＲＰＭＩ培地中、１０，０００細胞／ウェル／１００

μＬで９６ウェルプレートに播種し、３７℃、５％のCO_2で６時間インキュベートした。ＭＳＬＮ－ＡｕＦ　Ｃｙｓ８０抱合型ｍＡｂを、２ｍＬのディープウェル希釈プレートにおいて１：４で連続希釈した。希釈した化合物（１００μＬ）を、０．２８～７５μｇ／ｍＬの最終濃度で細胞プレートに加えた。Ｍａｌ－ＰＥＧ２－ＡｕＦを、抱合型ｍＡｂの等モル濃度で使用した。例えば、１０μｇ／ｍＬのＭＳＬＮ－ＡｕＦ　Ｃｙｓ８０抱合型ｍＡｂ（ＤＡＲ＝２）は、０．１４μｇ／ｍＬのｍａｌ－ＰＥＧ２－ＡｕＦと等しい。プレートを、更に４８時間、３７℃、５％のCO_2でインキュベートした。培地を廃棄し、プレートをＤＰＢＳ２００μＬで１回洗浄し、０．２％のクリスタルバイオレット溶液５０μＬを用いて１５分間２２℃で染色した後、水道水でしっかりと洗浄した。プレートを空気乾燥させ、クリスタルバイオレットを１％のＳＤＳ溶液２００μＬによって溶解させた。比色光学密度を５７０ｎｍで決定した。エクセルを使用して、細胞数を光学密度から外挿し、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍ　６を使用して、細胞毒性パーセントをプロットした。

【０２７９】

ＭＳＬＮ陰性Ａ４３１細胞をＭＳＬＮ－ＡｕＦ　Ｃｙｓ８０抱合型ｍＡｂで処理した場合、顕著な細胞毒性は観察されず、一方、ｍａｌ－ＰＥＧ２－ＡｕＦは、試験した最高濃度でのみ細胞毒性であった（図１４Ａ）。ＭＳＬＮ陽性Ａ４３１－ＭＳＬＮ細胞をＭＳＬＮ－ＡｕＦ　Ｃｙｓ８０抱合型ｍＡｂで処理した場合には、顕著な細胞毒性が観察された。用量応答曲線（図１４Ｂ）に基づくと、ＭＳＬＮ－ＡｕＦ　Ｃｙｓ８０抱合型ｍＡｂは、中等度の細胞毒性－ｘｉ３２４Ｏ５－ＡｕＦ及びｘｉ１７８Ｆ１６－ＡｕＦ、ならびに高度の細胞毒性－ｘｉ２３７Ｎ１８－ＡｕＦ、ｘｉ３３Ｏ１１－ＡｕＦ、及びｘｉ３８３Ｉ１８－ＡｕＦという２つの群に分類され得る。

【０２８０】

インビボ評価－ＭＳＬＮ－ＡｕＦ　Ｃｙｓ８０抱合型ｍＡｂの初期選択

効能が高く毒性が低い化合物をいくつか選択する目的で、ＭＳＬＮ－ＡｕＦ　Ｃｙｓ８０抱合型ｍＡｂのインビボの効能を、ＭＳＬＮを発現している腫瘍に対して試験した。

【０２８１】

Ａ４３１－ＭＳＬＮ細胞を、細胞培養中で増殖させ、無血清成長培地に懸濁させ、Ｍａｔｒｉｇｅｌ（商標）と１：１で混合し、５百万個の細胞／０．２ｍＬ／マウスを、無胸腺ＮＣｒ　ｎｕ／ｎｕマウスに皮下（ｓ．ｃ．）移植した。腫瘍体積を、キャリパー測定値（ｍｍ）によって、楕円球体のための式：長さ×幅^2／２＝体積（mm^3）を使用して決定した。腫瘍体積が１００～２５０mm^3であった場合、マウスを治療群に無作為化した。動物の体重及び主要サイズを週に２回記録した。本研究の全体的な設計を表１５に要約する。ＭＳＬＮ－ＡｕＦ　Ｃｙｓ８０抱合型ｍＡｂを静脈内（ｉ．ｖ．）投与し、Ｑ７Ｄを合計２回の投薬で無作為化日（１日目）に開始した。

【表１５】

表１５．試験設計

群	マウスの数	治療	用量（ｍｇ／ｋｇ）	レジメン
１	８	生理食塩水	０	Ｑ７Ｄ×２
２	８	ｘｉ３３Ｏ１１－ＡｕＦ	１０	Ｑ７Ｄ×２
３	８	ｘｉ３２４Ｏ５－ＡｕＦ	１０	Ｑ７Ｄ×２
４	８	ｘｉ１７８Ｆ１６－ＡｕＦ	１０	Ｑ７Ｄ×２
５	８	ｘｉ２３７Ｎ１８－ＡｕＦ	１０	Ｑ７Ｄ×２
６	８	ｘｉ３８３Ｉ１８－ＡｕＦ	１０	Ｑ７Ｄ×２
７	８	ｍａｌ－ＰＥＧ２－ＡｕＦ	１０	Ｑ７Ｄ×２

【０２８２】
図１５は、移植から１８日目までの異なる治療群にわたる平均腫瘍体積を示す。この１８日目は、生理食塩水で治療した群の８頭の動物のうち３頭を全身腫瘍組織量の高さ及び／または腫瘍潰瘍化が原因で安楽死させなければならなかった日であった。移植から４日目は、マウスを異なる治療群に無作為化した日であり、平均腫瘍体積は全ての群にわたって１５７～１６０mm^3であった。この日、ＭＳＬＮ－ＡｕＦ　Ｃｙｓ８０抱合型ｍＡｂの１回目の用量を投与し、続いて２回目の用量は１１日目に投与した。
【０２８３】
１８日目の腫瘍体積が生理食塩水で治療した群と比較して２０％以下であったことから明らかであるように、全てのＭＳＬＮ－ＡｕＦ　Ｃｙｓ８０抱合型ｍＡｂが抗腫瘍応答を示した（表１６）。対照的に、ｍａｌ－ＰＥＧ２－ＡｕＦは抗腫瘍応答を示さなかった。
【表１６】

表１６．生理食塩水群と比較した腫瘍体積のパーセント

治療	生理食塩水群と比較した腫瘍体積%	１８日目の研究中動物の数
生理食塩水	１００%	8
ｘｉ３３Ｏ１１－ＡｕＦ	４%	8
ｘｉ３２４Ｏ５－ＡｕＦ	１１%	6
ｘｉ１７８Ｆ１６－ＡｕＦ	７%	6
ｘｉ２３７Ｎ１８－ＡｕＦ	６%	6
ｘｉ３８３Ｉ１８－ＡｕＦ	７%	6
ｍａｌ－ＰＥＧ２－ＡｕＦ	１０９%	7

【０２８４】
毒性も、４日目と比較して１８日目に体重減少（各群の試験中動物の平均体重を基準とする）があるかどうかを観察すること、及び死亡した動物または瀕死の動物がいるかどうかを観察することによって評価した（表１７）。ｘｉ３２４Ｏ５－ＡｕＦ治療群では、１１%の体重減少が生存動物及び２頭の死亡／瀕死動物において観察された。ｘｉ１７８Ｆ１６－ＡｕＦ、ｘｉ２３７Ｎ１８－ＡｕＦ、及びｘｉ３８３Ｉ１８－ＡｕＦ治療群では、顕著な体重減少は観察されなかったが、１頭または２頭の死亡／瀕死動物が観察された。他の治療群は全て、体重減少を示さず、また死亡／瀕死動物もなかった。
【表１７】

表１７．総毒性の評定

治療	４日目と比較した１８日目の体重変化%	１８日目に死亡していたマウスまたは瀕死であったマウスの数
生理食塩水	１０６%	0
ｘｉ３３Ｏ１１－ＡｕＦ	１０２%	0
ｘｉ３２４Ｏ５－ＡｕＦ	８９%	2
ｘｉ１７８Ｆ１６－ＡｕＦ	１０４%	1
ｘｉ２３７Ｎ１８－ＡｕＦ	９６%	2
ｘｉ３８３Ｉ１８－ＡｕＦ	１０７%	1
ｍａｌ－ＰＥＧ２－ＡｕＦ	１１１%	0

【０２８５】
抗腫瘍応答及び最低毒性に基づいて、ｍＡｂであるｘｉ３３Ｏ１１－ＡｕＦ及びｘｉ２３７Ｎ１８－ＡｕＦを更なる評価のために選択した。
【０２８６】
ＭＳＬＮ－ＡｕＦ　Ｃｙｓ８０抱合型ｍＡｂによって媒介される抗腫瘍活性の標的特異性の評定
本研究に使用した方法は、上記の方法（インビボ評価－ＭＳＬＮ－ＡｕＦ　Ｃｙｓ８０抱合型ｍＡｂの初期選択）と同じであった。４日目に各マウスの左脇腹に移植したＡ４３１－ＭＳＬＮ細胞に加えて、１日目にＭＳＬＮ陰性Ａ４３１細胞を同じマウスの反対側（右）の脇腹に移植した。前者の細胞は、後者よりも早く腫瘍を成長させたため３日後に移植して、両脇腹にある腫瘍の体積が同様であるときに試験薬の１回目の用量を投与できるようにした。本研究の全体的な設計を表１８に要約する。
【表１８】
表１８．試験設計

群	マウスの数	治療	用量（ｍｇ／ｋｇ）	レジメン
１	８	生理食塩水	０	Ｑ７Ｄ×２
２	８	ｘｉ３３Ｏ１１－ＡｕＦ	１０	Ｑ７Ｄ×２
３	８	ｘｉ２３７Ｎ１８－ＡｕＦ	１０	Ｑ７Ｄ×２
４	８	ｘｉ１－５５－２－ＡｕＦ	１０	Ｑ７Ｄ×２
５	８	ｍａｌ－ＰＥＧ２－ＡｕＦ	０．１４	Ｑ７Ｄ×２

【０２８７】
ＭＳＬＮ陽性腫瘍：図１６Ａは、移植から１８日目までの異なる治療群にわたる平均腫瘍体積を示す。この１８日目は、生理食塩水で治療した群の８頭の動物のうち４頭を全身腫瘍組織量の高さ及び／または腫瘍潰瘍化が原因で安楽死させなければならなかった日であった。移植から４日目は、マウスを異なる治療群に無作為化した日であり、平均Ａ４３１－ＭＳＬＮ腫瘍体積は全ての群にわたって１６９～１７８ｍｍ^{3}であった。この日、ＭＳＬＮ－ＡｕＦ　Ｃｙｓ８０抱合型ｍＡｂの１回目の用量を投与し、続いて２回目の用量は１１日目に投与した。
【０２８８】
ｘｉ３３Ｏ１１－ＡｕＦは、生理食塩水で治療した群と比較して１８日目に腫瘍体積を１２％に減少させた抗腫瘍応答を媒介した（表１９）。ｘｉ２３７Ｎ１８－ＡｕＦ、生理食塩水で治療した群と比較して腫瘍体積を２４％に減少させた抗腫瘍応答を媒介した（表１９）。対応のない両側ｔ検定は、それぞれ０．０００３９及び０．００１９７のｐ値を示し、生理食塩水で治療した群と比較したこれらの抗腫瘍応答が統計的に有意であったことを示唆した。対照的に、エンドシアリン／ＴＥＭ１を標的化するｍａｌ－ＰＥＧ２－ＡｕＦまたはｘｉ１－５５－２－ＡｕＦは、有意な抗腫瘍応答を示さなかった。

【表１９】

表１９．生理食塩水群と比較したＡ４３１－ＭＳＬＮ腫瘍体積のパーセント

治療	生理食塩水群と比較した１８日目の腫瘍体積%	１８日目の試験中マウスの数
生理食塩水	100%	6
xi33O11-AuF	12%	5
xi237N18-AuF	24%	6
xi1-55-2-AUF	106%	5
mal-PEG2-AuF	104%	8

【０２８９】

ＭＳＬＮ陰性腫瘍：図１６Ｂは、移植から２１日目までの異なる治療群にわたる平均腫瘍体積を示す。この日は、上記のように、Ａ４３１－ＭＳＬＮの移植から１８日目であり、移植から７日目は、マウスを異なる治療群に無作為化した日であり、平均Ａ４３１腫瘍体積は全ての群にわたって１７４～１８４mm^3であった。ｘｉ３３Ｏ１１－ＡｕＦは、生理食塩水で治療した群と比較して２１日目に腫瘍体積を７８％に減少させた抗腫瘍応答を媒介した（表２０）。ｘｉ２３７Ｎ１８－ＡｕＦ　Ｃｙｓ８０抱合型ｍＡｂは、生理食塩水で治療した群と比較して２１日目に腫瘍体積を６４％に減少させた抗腫瘍応答を媒介した（表２０）。対応のない両側ｔ検定は、それぞれ０．３１７及び０．０９１のｐ値を示し、生理食塩水で治療した群と比較したこれらの抗腫瘍応答が統計的に有意でなかったことを示唆した。これらの応答は、ｍａｌ－ＰＥＧ２－ＡｕＦまたはｘｉ１－５５－２－ＡｕＦで観察された応答と類似していた。

【表２０】

表２０．生理食塩水群と比較したＡ４３１（ＭＳＬＮ陰性）腫瘍体積のパーセント

治療	生理食塩水群と比較した２１日目の腫瘍体積%	２１日目の試験中マウスの数
生理食塩水	１００%	6
ｘｉ３３Ｏ１１－ＡｕＦ	７８%	5
ｘｉ２３７Ｎ１８－ＡｕＦ	６４%	6
ｘｉ１－５５－２－ＡＵＦ	７６%	5
ｍａｌ－ＰＥＧ２－ＡｕＦ	７８%	8

【０２９０】

毒性も、７日目と比較してＡ４３１細胞移植から２１日目に体重減少があるかどうかを観察すること、及び死亡した動物または瀕死の動物がいるかどうかを観察することによって評価した（表２１）。治療群のいずれにおいても１０％以上の体重減少は観察されなかった。ｘｉ３３Ｏ１１－ＡｕＦ治療群及びｘｉ２３７Ｎ１８－ＡｕＦ治療群の両方において２件の死亡が観察された。

【表２１】

表２１．総毒性の評定

治療	７日目と比較した２１日目の体重変化％	２１日目に死亡していたマウスまたは瀕死であったマウスの数
生理食塩水	１００％	0
ｘｉ３３Ｏ１１－ＡｕＦ	９７％	2
ｘｉ２３７Ｎ１８－ＡｕＦ	９２％	2
ｘｉ１－５５－２－ＡＵＦ	１０７％	0
ｍａｌ－ＰＥＧ２－ＡｕＦ	１０３％	0

【０２９１】

結論

ＭＳＬＮ－ＡｕＦ　Ｃｙｓ８０抱合型ｍＡｂを生成し、インビトロの細胞毒性及びインビボの抗腫瘍活性に基づいてスクリーニングした。インビトロの細胞毒性解析により、これらの化合物が、ＭＳＬＮ陰性腫瘍細胞ではなくＭＳＬＮ陽性腫瘍細胞を標的化し殺滅していたことが示された。

【０２９２】

試験した全てのＭＳＬＮ－ＡｕＦ　Ｃｙｓ８０抱合型ｍＡｂは抗腫瘍活性を有し、その一部は他よりも毒性である可能性があるように見受けられた。この毒性の性質を更に特性評価することはなかった。インビボで試験したＭＳＬＮ－ＡｕＦ　Ｃｙｓ８０抱合型ｍＡｂの両方が、ＭＳＬＮ陽性腫瘍を標的化し、その成長を阻害できたことが観察されたが、反対側の脇腹のＭＳＬＮ陰性腫瘍に対しては、顕著な効果は観察されなかった。ｘｉ２３７Ｎ１８の毒性プロファイルは両研究において類似していた一方、ｘｉ３３Ｏ１１－ＡｕＦ治療は、第１の研究では毒性を示さなかったが、第２の研究では２件の死亡と関連付けられた。この毒性の性質を更に特性評価することはなかったが、ｘｉ３３Ｏ１１－ＡｕＦで治療したマウスは依然として大型のＭＳＬＮ陰性腫瘍を反対側の脇腹に担持していた故に第１の研究における動物よりも不健康であったため、これらのマウスは、ＭＳＬＮ陽性腫瘍に対する大規模な腫瘍細胞溶解の影響により感受性であった可能性がある。

【０２９３】

実施例４－抗体－蛍光色素抱合体の生成

Ｃ－Ｘ－Ｘ－Ａモチーフを含むｘｉ１５５Ｄ５　ｍＡｂを８００ＣＷ色素（ＬＩ－ＣＯＲ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、Ｌｉｎｃｏｌｎ，ＮＥ）に抱合させて、２個の色素分子が$Cys80_1$及び$Cys80_2$に抱合されたｘｉ１５５Ｄ５－８００ＣＷ　Ｃｙｓ８０抱合型ｍＡｂを生成した。

【０２９４】

８００ＣＷのＣｙｓ８０への抱合を、マレイミド－$(CH_2)_2$－８００ＣＷ（ＬｉＣｏｒ）を使用して行った。ここでは、$(CH_2)_2$はアルキルリンカーである。端的には、マレイミド－$(CH_2)_2$－８００ＣＷを最終濃度１０ｍＭで１００％のＤＭＳＯに溶解させた。マレイミド－$(CH_2)_2$－８００ＣＷを、色素：ＭＡｂのモル比５：１でｘｉ１５５Ｄ５（１×ＰＢＳ中５ｍｇ／ｍｌ）に添加し、室温で４時間インキュベートした。組み込まれていない色素を、ＰＤ－１０カラム（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ）での脱塩によって除去した。ｘｉ１５５Ｄ５－８００ＣＷを、Ｓｕｐｅｒｄｅｘ　７５でのサイズ排除クロマトグラフィーによって更に精製した。空隙量物質をプールし、アリコートし、使用まで－８０で凍結させた。還元したｘｉ１５５Ｄ５－８００ＣＷのＳＤＳ－ＰＡＧＥ及び撮像解析により、色素が、重鎖ではなく軽鎖のみにおいて抱合されたことが示された（図１７）。

【０２９５】

雌のＮＣＲヌードマウスの右後肢に、ｃｏｌｏ２０５ヒト腫瘍細胞またはＨＴ－２９ヒ

ト腫瘍細胞のいずれかを皮下注射した。腫瘍成長をキャリパー測定によってモニタリングした。腫瘍体積が２００～３００mm^{3}であったときに、ｘｉ１５５Ｄ５－８００ＣＷを、０．１ｍｇ／２００μＬ／マウスで尾膜（ｔａｉｌ　ｖｅｉｌ）を通して注射した。蛍光生体撮像によってｘｉ１５５Ｄ５－８００ＣＷ分布をモニタリングするために、動物を、イソフルオラン（ｉｓｏｆｌｕｏｒａｎｅ）／O_2を使用した麻酔チャンバに動物が無意識となるまで約３～４分間入れた。動物を、ＩＶＩＳ（登録商標）Ｌｕｍｉｎａ　ＩＩ－Ｋｉｎｅｔｉｃ計器（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ、Ｗａｌｔｈａｍ，ＭＡ）において励起７４５及び発光８４０の蛍光設定を使用して撮像した。背側、右側、腹側、左側の画像を、図１８に示すように異なる時点で撮影した。各連続画像の後、動物に、１００％の酸素フラッシュ、続いて通常の空気を与えながら回復チャンバで意識を回復させた。

【０２９６】

ｃｏｌｏ２０５モデルまたはＨＴ－２９モデルを使用すると、ｘｉ１５５Ｄ５－８００ＣＷがヒト腫瘍を効率的に標的化したことが観察され、これは、その蛍光シグナルの腫瘍特異的局在によって示される通りである（図１８）。

【０２９７】

これらの結果により、Ｃ－Ｘ－Ｘ－（ｎｏｔ）Ｆ、Ｋ、またはＣモチーフを含むｍＡｂが色素に抱合され得ること、及び抱合されたｍＡｂを使用して腫瘍状態を特定しモニタリングし得ることが示された。

【０２９８】

実施例５－二価／二重特異性抗原結合分子の生成

Ｃ－Ｘ－Ｘ－（ｎｏｔ）Ｆ、Ｋ、またはＣモチーフを含むｍＡｂがパパインによって分解されるか、またはＦａｂ断片として組み換えによって発現されると、このｍＡｂは、ＦａｂがＶκ領域を１つしか含まないため、１つの不対Ｃｙｓ８０を含むことになる。直交抱合化学を使用すると、Ｃｙｓ８０を含むＦａｂを使用して、例を挙げると、２つのリガンド（サイトカイン、ケモカイン）、２つの膜受容体、またはリガンド／受容体の組み合わせを含む、２つの独立した疾患関連標的を標的化するために利用され得る、二価／二重特異性Ｆａｂ－Ｆａｂなどの化学的に抱合された二価／二重特異性抗原結合分子を生成することができる。

【０２９９】

一例として、Ｆａｂは、限定的パパイン分解、続いてタンパク質Ａクロマトグラフィーを使用してＦｃ断片及び未分解ｍＡｂを除去することで、ｘｉ１５５Ｄ５及びｘｉ１－５５－２から生成した。Ｆａｂは完全にキャップ除去されていることが、質量分析を使用して示された（データ割愛）。続いて、ｘｉ１５５Ｄ５及びｘｉ１－５５－２　Ｆａｂを、それぞれマレイミド－ＰＥＧ４－ジベンジルシクロオクチン（ＤＢＣＯ）及びマレイミド－ＰＥＧ４－アジドを使用して別々に抱合させた。未抱合化合物を脱塩クロマトグラフィーによって除去し、質量分析によってＣｙｓ８０部位の完全占有を確認した（データ割愛）。次に、ｘｉ１５５Ｄ５－マレイミド－ＰＥＧ４－ＤＢＣＯ及びｘｉ１－５５－２－マレイミド－ＰＥＧ４－アジド断片を、１６時間２２℃のＰＢＳ中のインキュベーションによる銅を含まない歪促進クリック化学を介して互いに抱合させた。抱合された産物を、ゲル濾過クロマトグラフィーの使用によって分画し（図１９Ａ）、異なる種を、その予期される分子サイズに基づくＳＤＳ－ＰＡＧＥによって特定した（図１９Ｂ）。ｘｉ１５５Ｄ５／ｘｉ１－５５－２二価／二重特異性抗原結合分子を含む分画をプールし、ｘｉ１５５Ｄ５／ｘｉ１－５５－２二価／二重特異性抗原結合分子同一性を、その予期される質量（９５，９３９Ｄａ、図１９Ｃ）に基づく質量分析によって確認した。

【０３００】

ｘｉ１５５Ｄ５／ｘｉ１－５５－２二価／二重特異性抗原結合分子の二重特異性を、逆サンドイッチアッセイを使用するバイオレイヤーインフェロメトリー（ｂｉｏｌａｙｅｒ　ｉｎｆｅｒｏｍｅｔｒｙ）（ＢＬＩ）解析によって確認した。この解析により、固定したヒトＣＡ９への結合（ｘｉ１５５Ｄ５　Ｆａｂ部分による結合）、続く可溶性ＴＥＭ－１の結合（ｘｉ１－５５－２　Ｆａｂ部分による結合）が示された（図２０）。予測通り

、ｘｉ１５５Ｄ５　ｍＡｂ、ｘｉ１５５Ｄ５　Ｆａｂ、及びｘｉ１５５Ｄ５／ｘｉ１－５５－２二価／二重特異性抗原結合分子は、固定したＣＡ９に結合した。ＣＡ９固定化ｘｉ１５５Ｄ５／ｘｉ１－５５－２二価／二重特異性抗原結合分子のみが、観察された更なる応答シフトによって示されるようにヒトエンドシアリン／ＴＥＭ－１にも結合することができた（図２０、二重矢印）。表面プラズモン共鳴により、ＣＡ９またはＴＥＭ－１へのｘｉ１５５Ｄ５／ｘｉ１－５５－２の親和性が、それぞれ同じであったかまたはわずかに減少したことが示された（表２２）。

【０３０１】

これらの結果により、１）Ｃ－Ｘ－Ｘ－（ｎｏｔ）Ｆを含むｍＡｂが、抗体断片またはＦａｂなどのポリペプチドに抱合され得ること、及び２）Ｃ－Ｘ－Ｘ－（ｎｏｔ）Ｆを含む、異なる特異性の２個のｍＡｂまたはＦａｂが直交して抱合されるときに、二価／二重特異性化合物が生成され得ることが示される。

【表２２】

表２２．ｘｉ１５５Ｄ５／ｘｉ１－５５－２二価／二重特異性抗原結合分子のＣＡ９及びＴＥＭ－１への親和性

抗体	フローセル	リガンド	ｋａ（１／Ｍｓ）	ｋｄ（１／ｓ）	Ｒｍａｘ（ＲＵ）	ＫＤ（Ｍ）	Ｃｈｉ²（ＲＵ²）
ｘｉ１－５５－２（Ｆａｂ）	Ｆｃ３	ＴＥＭ１－Ｆｃ	8.62Ｅ＋05	3.29Ｅ－04	37.9	3.82Ｅ－10	6.42
	Ｆｃ４	ＴＥＭ１－Ｆｃ	8.65Ｅ＋05	3.26Ｅ－04	38	3.76Ｅ－10	5.89
二価／二重特異性	Ｆｃ３	ＴＥＭ１－Ｆｃ	8.29Ｅ＋05	2.57Ｅ－04	79.7	3.10Ｅ－10	6.65
	Ｆｃ４	ＴＥＭ１－Ｆｃ	1.02Ｅ＋06	1.89Ｅ－04	96.8	1.85Ｅ－10	31.6
ｘｉ１５５Ｄ５（Ｆａｂ）	Ｆｃ３	ＣＡ９	5.72Ｅ＋05	2.19Ｅ－05	65.1	3.83Ｅ－11	8.86
	Ｆｃ４	ＣＡ９	5.19Ｅ＋05	2.59Ｅ－05	63.9	4.99Ｅ－11	8.24
二価／二重特異性	Ｆｃ３	ＣＡ９	3.22Ｅ＋05	3.91Ｅ－05	130.2	1.21Ｅ－10	31.3
	Ｆｃ４	ＣＡ９	2.94Ｅ＋05	4.40Ｅ－05	131.8	1.50Ｅ－10	24.3

【０３０２】

実施例６－抗体－ペプチド抱合体の生成

Ｃ－Ｘ－Ｘ－Ａモチーフを含むｘｉ３３Ｏ１１及びｘｉ１－５５－２　ｍＡｂをアジド修飾ペプチドＡβ（１～１６）（配列番号４０）に抱合させた（表２３）。

【表２３】

表２３．Ａβ（１～１６）ペプチド配列

ペプチド名	配列	質量（Ｄａ）	親タンパク質
Ａβ（１～１６）	ＮＨ２－ＤＡＥＦＲＨＤＳＧＹＥＶＨＨＱＫ（ＰＥＧ８－Ｎ３）－ＣＯＯＨ（配列番号４０）	２４０４	ヒトアミロイドーベータペプチドＡＣＣＥＳＳＩＯＮ　１ＢＡ６＿Ａ

【０３０３】

ペプチドＡβ（１～１６）のＣｙｓ８０への抱合を、２ステップの抱合手順を使用して行い、ここでは、Ｃｙｓ８０をまずマレイミドージベンジルシクロオクチン（ｍａｌ－ＤＢＣＯ）と抱合させた。次に、アジド修飾ペプチドＡβ（１～１６）を、銅を含まない歪促進クリック化学を使用してＤＢＣＯ修飾ｍＡｂに抱合させた。端的には、ｍＡｂ（２０ｍｇｓ）を、ｍａｌ－ＤＢＣＯ（Ｃｌｉｃｋ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　Ｔｏｏｌｓ、カタログＡ１０８）と共に、１×ＤＰＢＳ中２２℃で１６時間、ｍａｌ－ＤＢＣＯ：ＭＡｂモル比５：１でインキュベートした。１×ＤＰＢＳを泳動緩衝液として用いてＨｉＰｒｅｐ２６／１０カラムを使用する脱塩クロマトグラフィーによって、組み込まれていないｍａｌ－ＤＢＣＯを抱合されたｍＡｂから除去した。１００％の抱合効率（未抱合軽鎖の証拠なし）が、ＬＣ－ＭＳにより両方のｍＡｂについて確認された（図２１及び表２４）。各ｍＡｂ（各々５０μＬ、それぞれ９５μｇ及び７０μｇのｘｉ１－５５－２及びｘｉ３３Ｏ１１）を、ペプチドＡβ（１－１６）と共に、１×ＤＰＢＳ中ペプチド：ＭＡｂモル比２０：１で、２２℃で１６時間インキュベートした。抱合をＳＤＳ－ＰＡＧＥによって解析した。試料を、２０ｍＭのＤＴＴを還元剤として用い、分離前に１０分間７５℃に加熱する還元条件に通した。

【０３０４】

ＳＤＳ－ＰＡＧＥの解析により、検出可能な未抱合型軽鎖を伴わないペプチド－抱合型軽鎖移行の遅延が示され、これにより効率的な抱合が示された（図２１）。重鎖運動性の変化は観察されなかった。次に、０．５ｍｌのＺｅｂａ　４０ｋ　ＭＷＣＯ脱塩スピンカラム（Ｔｈｅｒｍｏ－Ｆｉｓｈｅｒ）を使用して抱合の脱塩を行い、未抱合のペプチドを除去し、ＬＣ－ＭＳによって解析した。質量分析（図２２Ａ～Ｆ）により、ペプチドが８５％～１００％の効率でｘｉ１－５５－２及びｘｉ３３Ｏ１１の軽鎖に抱合されたことが示された（表２４）。

【０３０５】

これらの結果により、Ｃ－Ｘ－Ｘ－（ｎｏｔ）Ｆ、Ｋ、またはＣモチーフを含むｍＡｂが、ペプチドに効率的に抱合され得ることが示された。

【表２４】

表２４．抱合の要約

	ＤＢＣＯ	ＤＢＣＯ－ペプチド Ａβ（１－１６）
予測Δ質量	＋４２９　Ｄａ	＋２８３３　Ｄａ
ｘｉ１－５５－２測定Δ質量	＋４２５　Ｄａ	＋２８２９　Ｄａ
抱合効率	１００％	１００％
ｘｉ３３Ｏ１１測定Δ質量	＋４３２　Ｄａ	＋２８３４　Ｄａ
抱合効率	１００％	８５％

【表２５－１】

表２５．モノクローナル抗体及び対応するＬＣ及びＨＣ

ｍＡｂ名	ＬＣ名	ＨＣ名
１－５５－２	１－５５－２ＬＣ	１－５５－２ＨＣ
ｘｉ１－５５－２	ｘｉ１－５５－２ＬＣ（配列番号１０８）	ｘｉ１－５５－２ＨＣ（配列番号５６）
１５５Ｄ５	１５５Ｄ５ＬＣ	１５５Ｄ５ＨＣ
ｘｉ１５５Ｄ５	ｘｉ１５５Ｄ５ＬＣ（配列番号７８）	ｘｉ１５５Ｄ５ＨＣ（配列番号５２）
ｚｕ１５５Ｄ５－１	ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－１（配列番号８０）	ｚｕ１５５Ｄ５ＨＣ（配列番号５４）
ｚｕ１５５Ｄ５－２	ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－２（配列番号８２）	ｚｕ１５５Ｄ５ＨＣ（配列番号５４）
ｚｕ１５５Ｄ５－３	ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－３（配列番号８４）	ｚｕ１５５Ｄ５ＨＣ（配列番号５４）
ｚｕ１５５Ｄ５－４	ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－４（配列番号８６）	ｚｕ１５５Ｄ５ＨＣ（配列番号５４）
ｚｕ１５５Ｄ５－５	ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－５（配列番号８８）	ｚｕ１５５Ｄ５ＨＣ（配列番号５４）
ｚｕ１５５Ｄ５－６	ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－６（配列番号９０）	ｚｕ１５５Ｄ５ＨＣ（配列番号５４）
ｚｕ１５５Ｄ５－７	ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－７（配列番号９２）	ｚｕ１５５Ｄ５ＨＣ（配列番号５４）
ｚｕ１５５Ｄ５－ｈｕＶＫ１－３９	ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ１－３９（配列番号９４）	ｚｕ１５５Ｄ５ＨＣ（配列番号５４）
ｚｕ１５５Ｄ５－ｈｕＶＫ２－４０	ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ２－４０（配列番号９６）	ｚｕ１５５Ｄ５ＨＣ（配列番号５４）
ｚｕ１５５Ｄ５－ｈｕＶＫ３－１１	ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ３－１１（配列番号９８）	ｚｕ１５５Ｄ５ＨＣ（配列番号５４）
ｚｕ１５５Ｄ５－ｈｕＶＫ４－１	ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ４－１（配列番号１００）	ｚｕ１５５Ｄ５ＨＣ（配列番号５４）
ｚｕ１５５Ｄ５－ｈｕＶＫ６－２１	ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ６－２１	ｚｕ１５５Ｄ５ＨＣ（配列番号５４）

【表２５－２】

	（配列番号１０２）	
ｚｕ１５５Ｄ５－ｈｕＶＫ６Ｄ－４１	ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ６Ｄ－４１（配列番号１０４）	ｚｕ１５５Ｄ５ＨＣ（配列番号５４）
ｚｕ１５５Ｄ５－ｈｕＶＫ７－３－Ｇｌｕ８１	ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ７－３－Ｇｌｕ８１（配列番号１０６）	ｚｕ１５５Ｄ５ＨＣ（配列番号５４）
ｘｉ１Ｅ４	ｘｉ１Ｅ４ＬＣ（配列番号１１０）	ｘｉ１Ｅ４ＨＣ（配列番号５８）
ｚｕ１Ｅ４－ＣＸＸＦ	ｚｕ１Ｅ４ＬＣ－ＣＸＸＦ（配列番号１１２）	ｚｕ１Ｅ４ＨＣ（配列番号６０）
ｚｕ１Ｅ４－ＣＸＸＡ	ｚｕ１Ｅ４ＬＣ－ＣＸＸＡ（配列番号１１４）	ｚｕ１Ｅ４ＨＣ（配列番号６０）
ｘｉ１６６Ｂ３	ｘｉ１６６Ｂ３ＬＣ（配列番号１３２）	ｘｉ１６６Ｂ３ＨＣ（配列番号７４）
ｚｕ１６６Ｂ３－ＣＸＸＦ	ｚｕ１６６Ｂ３ＬＣ－ＣＸＸＦ（配列番号１３４）	ｚｕ１６６Ｂ３ＨＣ（配列番号７６）
ｚｕ１６６Ｂ３－ＣＸＸＡ	ｚｕ１６６Ｂ３ＬＣ－ＣＸＸＡ（配列番号１３６）	ｚｕ１６６Ｂ３ＨＣ（配列番号７６）
ｘｉ３３Ｏ１１	ｘｉ３３Ｏ１１ＬＣ（配列番号１１６）	ｘｉ３３Ｏ１１ＨＣ（配列番号６２）
ｚｕ３３Ｏ１１－ＣＸＸＦ	ｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＦ（配列番号１１８）	ｚｕ３３Ｏ１１ＨＣ（配列番号６４）
ｚｕ３３Ｏ１１－ＣＸＸＡ	ｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＡ（配列番号１２０）	ｚｕ３３Ｏ１１ＨＣ（配列番号６４）
ｚｕ３３Ｏ１１－ＣＸＸＩ	ｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＩ（配列番号１２２）	ｚｕ３３Ｏ１１ＨＣ（配列番号６４）
ｘｉ３２４Ｏ５	ｘｉ３２４Ｏ５ＬＣ（配列番号１２４）	ｘｉ３２４Ｏ５ＨＣ（配列番号６６）
ｘｉ１７８Ｆ１６	ｘｉ１７８Ｆ１６ＬＣ（配列番号１２６）	ｘｉ１７８Ｆ１６ＨＣ（配列番号６８）

【表２５－３】

ｘｉ２３７Ｎ１８	ｘｉ２３７Ｎ１８ＬＣ （配列番号１２８）	ｘｉ２３７Ｎ１８ＨＣ （配列番号７０）
ｘｉ３８３Ｉ１８	ｘｉ３８３Ｉ１８ＬＣ （配列番号１３０）	ｘｉ３８３Ｉ１８ＨＣ （配列番号７２）

【表２６－１】

表２６．配列

クローン名（種－アイソタイプ）（抗原）	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
ヒトTEM－1／エンドシアリン／CD248	ATGCTGCTGCTGGCCTGTTGCTG	MLLRLLLAWAAAG	1－51	NA	NA
	GCCTGGGGCGGCCGCAGGGCCC	PTLGQDPWAAEPR			
	ACACTGGGCCAGGACCCCTGG	AACGPSSCYALFP			
	GCTGCTGAGCCCCCGTGCCGCC	RRRTFLEAWRACR			
	TGCGGCCCCCAGCAGCTGCTAC	ELGGDLATPRTPE			
	GCTCTCTTCCCACGGCGCCGC	EAQRVDSLVGAGP			
	ACCTTCCTGGAGGCCTGGCGG	ASRLLWIGLQRQA			
	GCCTGCCGCGAGCTGGGGGGC	RQCQLQRPLRGFT			
	GACCTGGCCACTCCTCGGACC	WTTGDQDTAFTNW			
	CCCGAGGAGGCCCAGCGTGTG	AQPASGGPCPAQR			
	GACAGCCTGGGTGGGTGCGGGC	CVALEASGEHRWL			
	CCAGCCAGCCGGCTGCTGTGG	EGSCTLAVDGYLC			
	ATCGGGGCTGCAGCGGGCAGGCC	QFGFEGACPALQD			
	CGGCAATGCCAGCTGCAGCGC	EAGQAGPAVYTTP			
	CCACTGCGCGGGCTTCACGTGG	FHLVSTEFEWLPF			
	ACCACAGGGGACCAGGACACG	GSVAAVQCQAGRG			
	GCTTTCACCAACTGGGCCCAG	ASLLCVKQPEGGV			
	CCAGCCTCTGGAGGCCCCCTGC	GWSRAGPLCLGTG			

【表２６－２】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	c DNA位置 リーダー	c DNA位置 可変ドメイン	c DNA位置 可変ドメイン
	CCGGCCCCAGCGCTGTGTGGCC	CSPDNGGCEHECV			
	CTGGAGGCAAGTGGCGAGCAC	EEVDGHVSCRCTE			
	CGCTGGCTGGAGGGCTCGTGC	GFRLAADGRSCED			
	ACGCCTGGCTGTCGACGGCTAC	PCAQAPCEQQCEP			
	CTGTGCCAGTTTGGCTTCGAG	GGPQGYSCHCRLG			
	GGCGCCTGCCCGGCGCTGCAA	FRPAEDDPHRCVD			
	GATGAGGCGGGGCCAGGCCGGC	TDECQIAGVCQQM			
	CCAGCCCGTGTATACCACGCCCC	CVNYVGGFECYCS			
	TTCCCACCCTGGTCTCCACAGAG	EGHELEADGISCS			
	TTTGAGTGGCTGCCCCTTCGGC	PAGAMGAQASQDL			
	TCTGTGGCCCGCTGTGCAGTGC	GDELLDDGEDEED			
	CAGGCTGGCAGGGGAGCCTCT	EDEAWKAFNGGWT			
	CTGCTCTGCGTGAAGCAGCCT	EMPGILWMEPTQP			
	GAGGGAGGTGTGGGCTGGTCA	PDFALAYRPSFPE			
	CGGGCTGGGCCCCCTGTGCCTG	DREPQIPYPEPTW			
	GGGACTGGCTGCAGCCCCTGAC	PPPLSAPRVPYHS			
	AACGGGGGGCTGCGAACACACGAA	SVLSVTRPVVVSA			
	TGTGTGGAGGAGGTGGATGGT	THPTLPSAHQPPV			
	CACGTGTCCTGCCGCTGCACT	IPATHPALSRDHQ			

【表２６－３】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	c DNA位置 リーダー	c DNA位置 可変ドメイン	c DNA位置 可変ドメイン
	GAGGGCTTCCGGCTGGCAGCA	IPVIAANYPDLPS			
	GACGGGCGCAGTTGCGAGGAC	AYQPGILSVSHSA			
	CCCTGTGCCCAGGCTCCGTGC	QPPAHQPPMISTK			
	GAGCAGCAGTGTGAGCCCGGT	YPELFPAHQSPMF			
	GGGCCACAAGGCTACAGCTGC	PDTRVAGTQTTTH			
	CACTGTCGCCTGGGTTTCCGG	LPGIPPNHAPLVT			
	CCAGCGGAGGATGATCCGCCAC	TLGAQLPPQAPDA			
	CGCTGTGTGGACACAGATGAG	LVLRTQATQLPII			
	TGCCAGATTGCCGGTGTGTGC	PTAQPSLTTTSRS			
	CAGCAGATGTGTGTCAACTAC	PVSPAHQISVPAA			
	GTTGGTGGCTTCGAGTGTTAT	TQPAALPTLLPSQ			
	TGTAGCGAGGGACATGAGCTG	SPTNQTSPISPTH			
	GAGGCTGATGGCATCAGCTGC	PHSKAPQIPREDG			
	AGCCCCTGCAGGGGCCATGGGT	PSPKLALWLPSPA			
	GCCCCAGGCTTCCCAGGACCTC	PTAAPTALGEAGL			
	GGAGATGAGTTGCTGGATGAC	AEHSQRDDRWLLV			
	GGGGAGGATGAGGAAGATGAA	ALLVPTCVFLVVL			
	GACGAGGCCTGGAAGGCCTTC	LALGIVYCTRCGP			
	AACGGTGGCTGGACGGAGATG	HAPNKRITDCYRW			

【表２６－４】

クローン名（種－アイソタイプ）（抗原）	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	CCTGGGGATCCTGTGGATGGAG CCTACGGCAGCCCGCCTGACTTT GCCCCTGGCCTATAGACCGAGC TTCCCCAGAGGACAGAGAGCCA CAGATACCCCTACCCCGGAGCCCC ACCTGGCCACCCCCCGCTCAGT GCCCCCCAGGGTCCCCCTACCAC TCCTCAGTGCTCTCCGTCACC CGGCCTGTGGTGGTCTCTCTGCC ACGCATCCCCACACTGCCTTCT GCCCACCCAGCCTCCTGTGATC CCTGCCACACACCCCAGCTTTG TCCCCGTGACCACCAGATCCCC GTGATCGCAGCCAACTATCCA GATCTGCCTTCTGCCTACCAA CCCGGTATTCTCTCTCTGTCTCT CATTCAGCACAGCCTCCTGCC CACCAGCCCCCCTATGATCTCA ACCAAATATCCGGAGCTCTTC	V I H A G S K S P T E P M P P R G S L T G V Q T C R T S V * （配列番号４２）			

10

20

30

40

【表２６－５】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	CCTGCCCACCAGTCCCCCATG				
	TTTCCAGACACCCGGGTCGCT				
	GGCACCCCAGACCACCACTCAT				
	TTGCCCTGGAATCCCACCTAAC				
	CATGCCCCCTCTGGTCACCACC				
	CTCGGTGCCCAGCTACCCCCCT				
	CAAGCCCCCAGATGCCCCTTGTC				
	CTCAGAACCCCAGGCCACCCCAG				
	CTTCCCCATTATCCCCAACTGCC				
	CAGCCCCTCTCTGACCACCACC				
	TCCAGGTCCCCCTGTGTCTCCT				
	GCCCCATCAAATCTCTGTGCCT				
	GCTGCCCACCCCAGCCCCGCAGCC				
	CTCCCCCACCCCTCCTGCCCCTCT				
	CAGAGCCCCCCACTAACCCAGACC				
	TCACCCCATCAGCCCCTACACAT				
	CCCCCATTCCCAAAGCCCCCCCAA				
	ATCCCCAAGGGAAGATGGCCCCC				
	AGTCCCCAAGTTGGCCCCTGTGG				

【表２６－６】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	CTGCCCCTCACCAGCTCCCACA GCAGCCCCCAACAGCCCCTGGGGG GAGGCTGGTCTTGCCGAGCAC AGCCCAGAGGGATGACCGGTGG CTGCTGGTGGCACACTCCTGGTG CCAACGTGTGTCTTTTTGGTG GTCCTGCTTGCACTGGGCATC GTGTACTGCACCCGCTGTGGC CCCCATGCACCCCAACAAGCGC ATCACTGACTGCTATCGCTGG GTCATCCATGCTGGGAGCAAG AGCCCCAACAGAACCCCATGCCC CCCAGGGGGCAGCCTCACAGGG GTGCAGACCTGCAGAACCAGC GTGTGA (配列番号４１)				
ヒトエンドシアリン／マウスＩｇＧ２ｂ	ATGCTGCTGCTGCGCCTGTTGCTG GCCTGGGGCGGCCGCAGGGCCC ACACTGGGGCCAGGACCCCTGG	MLLRLLLAWAAAG PTLGQDPWAAEPR AACGPSSCYALFP	1－51	NA	NA

【表２６－７】

クローン名（種－アイソタイプ）（抗原）	DNA配列	アミノ酸配列	c DNA位置 リーダー	c DNA位置 可変ドメイン	c DNA位置 可変ドメイン
Fcに融合したTEM1細胞外ドメイン	GCTGCTGAGCCCCCGTGCCGCC	RRRTFLEAWRACR			
	TGCGGCCCCCAGCAGCTGCTAC	ELGGDLATPRTPE			
	GCTCTCTTCCCACGGCGCCGCC	EAQRVDSLVGAGP			
	ACCTTCCTGGAGGCCCTGGCGG	ASRLLWIGLQRQA			
	GCCTGCCGCGAGCTGGGGGGGC	RQCQLQRPLRGFT			
	GACCTGGCCCACTCCCTCGGACC	WTTGDQDTAFTNW			
	CCCGAGGAGGCCCCAGCGTGTG	AQPASGGPCPAQR			
	GACAGCCTGGTGGTGCGGGC	CVALEASGEHRWL			
	CCAGCCAGCCGGCTGCTGTGG	EGSCTLAVDGYLC			
	ATCGGGCTGCAGCGGCAGGCC	QFGFEGACPALQD			
	CGGCAATGCCAGCTGCAGCGC	EAGQAGPAVYTTP			
	CCACTGCGCGGCTTCACGTGG	FHLVSTEFEWLPF			
	ACCACAGGGGGACCAGGACACG	GSVAAVQCQAGRG			
	GCTTTCACCAACTGGGCCCAG	ASLLCVKQPEGGV			
	CCAGCCTCTGGAGGCCCCCTGC	GWSRAGPLCLGTG			
	CCGGCCCAGCGCTGTGTGGCC	CSPDNGGCEHECV			
	CTGGAGGCAAGTGGCGAGCAC	EEVDGHVSCRCTE			
	CGCTGGCTGGAGGGCTCGTGC	GFRLAADGRSCED			
	ACGCCTGGCCTGTCGACGGCTAC	PCAQAPCEQQCEP			

【表２６－８】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	c DNA位置 リーダー	c DNA位置 可変ドメイン	c DNA位置 可変ドメイン
	CTGTGCCAGTTTGGCTTCGAG	GGPQGYSCHCRLG			
	GGCGCCTGCCCGGCGCTGCAA	FRPAEDDPHRCVD			
	GATGAGGCGGGCCAGGCCGGC	TDECQIAGVCQQM			
	CCAGCCGTGTATACCACGCCC	CVNYVGGFECYCS			
	TTCCACCTGGTCTCCACAGAG	EGHELEADGISCS			
	TTTGAGTGGCTGCCCTTCGGC	PAGAMGAQASQDL			
	TCTGTGGCCGCTGTGCAGTGC	GDELLDDGEDEED			
	CAGGCTGGCAGGGGAGCCTCT	EDEAWKAFNGGWT			
	CTGCTCTGCGTGAAGCAGCCT	EMPGILWMEPTQP			
	GAGGGAGGTGTGGGCTGGTCA	PDFALAYRPSFPE			
	CGGGCTGGGGCCCCTGTGCCTG	DREPQIPYPEPTW			
	GGGACTGGCTGCAGCCCCTGAC	PPPLSAPRVPYHS			
	AACGGGGGGCTGCGAACACGAA	SVLSVTRPVVVSA			
	TGTGTGGAGGAGGTGGATGGT	THPTLPSAHQPPV			
	CACGTGTCCTGCCGCTGCACT	IPATHPALSRDHQ			
	GAGGGCTTCCGGGCTGGCAGCA	IPVIAANYPDLPS			
	GACGGGCGCAGTTGCGAGGAC	AYQPGILSVSHSA			
	CCCTGTGCCCAGGCTCCGTGC	QPPAHQPPMISTK			
	GAGCAGCAGTGTGAGCCCGGT	YPELFPAHQSPMF			

10

20

30

40

【表２６－９】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	GGGCCACACAAGGCTACAGCTGC	PDTRVAGTQTTTH			
	CACTGTCGCCTGGGGTTTCCGG	LPGIPPNHAPLVT			
	CCAGCGGAGGATGATCCGCAC	TLGAQLPPQAPDA			
	CGCTGTGTGGACACAGATGAG	LVLRTQATQLPII			
	TGCCAGATTGCCGGTGTGTGC	PTAQPSLTTTSRS			
	CAGCAGATGTGTGTCAACTAC	PVSPAHQISVPAA			
	GTTGGTGGCTTCGAGTGTTAT	TQPAALPTLLPSQ			
	TGTAGCGAGGGACATGAGCTG	SPTNQTSPISPTH			
	GAGGCTGATGGCATCAGCTGC	PHSKAPQIPREDG			
	AGCCCTGCAGGGGCCATGGGT	PSPKLALWLPSPA			
	GCCCAGGCTTCCCAGGACCTC	PTAAPTALGEAGL			
	GGAGATGAGTTGCTGGATGAC	AEHSQRDDRVNDD			
	GGGGAGGATGAGGAAGATGAA	DDKEPSGPISTIN			
	GACGAGGCCTGGAAGGCCTTC	PSPPSKESHKSPA			
	AACGGTGGCTGGACGGAGATG	PNLEGGPSVFIFP			
	CCTGGGATCCTGTGGATGGAG	PNIKDVLMISLTP			
	CCTACGCAGCCGCCTGACTTT	KVTCVVVDVSEDD			
	GCCCTGGCCTATAGACCGAGC	PDVQISWFVNNVE			
	TTCCCAGAGGACAGAGAGCCA	VHTAQTQTHREDY			

【表２６－１０】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	c DNA位置 リーダー	c DNA位置 可変ドメイン	c DNA位置 可変ドメイン
	CAGATACCCTACCCGGAGCCC	NSTIRVVSTLPIQ			
	ACCTGGCCACCCCCGCTCAGT	HQDWMSGKEFKCK			
	GCCCCCCAGGGGTCCCCCTACCAC	VNNKDLPSPIERT			
	TCCTCAGTGCTCTCCGTCACC	ISKIKGLVRAPQV			
	CGGCCTGTGGTGGTCTCTGCC	YILPPPAEQLSRK			
	ACGCATCCCCACACTGCCTTCT	DVSLTCLVVGFNP			
	GCCCACCAGCCTCCTGTGATC	GDISVEWTSNGHT			
	CCTGCCACACACCCAGCTTTG	EENYKDTAPVLDS			
	TCCCGTGACCACCAGATCCCC	DGSYFIYSKLNMK			
	GTGATCGCCAGCCAACTATCCA	TSKWEKTDSFSCN			
	GATCTGCCTTCTGCCTACCAA	VRHEGLKNYYLKK			
	CCCGGTATTCTCTCTGTCTCT	TISRSPGK* (配列番号４４)			
	CATTCAGCACAGCCCTCCTGCC				
	CACCAGCCCCCCTATGATCTCA				
	ACCAAATATCCGGAGCTCTTC				
	CCTGCCCACCAGTCCCCCCATG				
	TTTCCAGACACCCGGGTCGCT				
	GGCACCCAGACCACCACTCAT				
	TTGCCTGGAATCCCACCCTAAC				

【表２６－１１】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	CATGCCCCTCTGGTCACCACC				
	CTCGGTGCCCAGCTACCCCCCT				
	CAAGCCCCAGATGCCCTTGTC				
	CTCAGAACCCAGGCCACCCAG				
	CTTCCCATTATCCCAACTGCC				
	CAGCCCTCTCTGACCACCACC				
	TCCAGGTCCCCTGTGTCTCCT				
	GCCCATCAAATCTCTGTGCCT				
	GCTGCCACCCCAGCCCGCAGCC				
	CTCCCCACCCCTCCTGCCCTCT				
	CAGAGCCCCCACTAACCAGACC				
	TCACCCATCAGCCCCTACACAT				
	CCCCATTCCAAAGCCCCCCAA				
	ATCCCCAAGGGAAGATGGCCCC				
	AGTCCCCAAGTTGGCCCCTGTGG				
	CTGCCCTCACCAGCTCCCACA				
	GCAGCCCCCAACAGCCCCTGGGG				
	GAGGCTGGTCTTGCCGAGCAC				
	AGCCAGAGGGATGACCGGGTT				

【表２６－１２】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	AACGACGACGACAAAGAG				
	CCCAGCGGGACCAATTTCAACA				
	ATCAACCCCTCTCCTCCATCC				
	AAGGAGTCTCACAAAAGCCCA				
	GCTCCTAACCTCGAGGGTGGA				
	CCATCCGTCTTCATCTTCCCT				
	CCAAATATCAAGGATGTACTC				
	ATGATCTCCCTGACACCCAAG				
	GTCACGTGTGTGGTGGTGGAT				
	GTGAGCGAGGATGACCCAGAC				
	GTCCAGATCAGCTGGTTTGTG				
	AACAACGTGGAAGTACACACA				
	GCYCAGACACAAACCCATAGA				
	GAGGATTACAACAGTACTATC				
	CGGGTGGTCAGCACCCTCCCC				
	ATCCAGCACCAGGACTGGATG				
	AGTGGCAAGGAGTTCAAATGC				
	AAGGTCAACAACAAAGACCTC				
	CCATCACCCATCGAGAGAACC				

【表２６－１３】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	ATCTCAAAAAATTAAAGGGCTA GTCAGAGCTCCACAAGTATAC ATCTTGCCGCCACCAGCAGAG CAGTTGTCCAGGAAAGATGTC AGTCTCACTTGCCTGGTCGTG GGCTTCAACCCTGGAGACATC AGTGTGGAGTGGACCAGCAAT GGGCATACAGAGGAGAACTAC AAGGACACCGCACCAGTCCTG GACTCTGACGGTTCTTACTTC ATATATAGCAAGCTCAATATG AAAACAAGCAAGTGGGAGAAA ACAGATTCCTTCTCATGCAAC GTGAGACACGAGGGTCTGAAA AATTACTACCTGAAGAAGACC ATCTCCCGGTCTCCGGGTAAA TGA (配列番号４３)				

【表２６－１４】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
ヒトCA9	ATGGCACCACACTGTGCCCCAAGC	MAPLCPSPWLPLL	1－111	NA	NA
	CCATGGCCTGCCACACTGCCTGATC	IPAPAPGLTVQLL			
	CCAGCACCACAGCACCAGGACTG	LSLLLLVPVHPQR			
	ACCGTGCAGCTGCCTGCTGAGC	LPRMQEDSPLGGG			
	CTGCCTGCCTGGTGGCCCCGTG	SSGEDDPLGEEDL			
	CACCCCCCAGCGGCCTGCCCCCGG	PSEEDSPREEDPP			
	ATGCAGGAGGACAGCCCCCCCTG	GEEDLPGEEDLPG			
	GGCGGCGGCAGCAGCGGCGAG	EEDLPEVKPKSEE			
	GACGACCCCCCCTGGGCGAGGAG	EGSLKLEDLPTVE			
	GACCTGCCCCAGCGAGGAGGAC	APGDPQEPQNNAH			
	AGCCCCCCGGGAGGAGGACCCCC	RDKEGDDQSHWRY			
	CCCGGAGAAGAGGACCCTGCCC	GGDPPWPRVSPAC			
	GGCGAGGGAGGACCCTGCCAGGA	AGRFQSPVDIRPQ			
	GAGGAGGACCCTGCCAGAGGTG	LAAFCPALRPLEL			
	AAGCCCAAAGAGCGAGGAGGAG	LGFQLPPLPELRL			
	GGAAGCCTGAAGCCTGGAGGAC	RNNGHSVQLTLPP			
	CTGCCCAACCCGTGGAGGCACCCA	GLEMALGPGREYR			
	GGCGACCCCACAGGAGCCCCCAG	ALQLHLHWGAAGR			
	AACAACGGCCCCACCCGGGACAAG	PGSEHTVEGHRFP			

【表２６－１５】

クローン名（種－アイソタイプ）（抗原）	DNA配列	アミノ酸配列	c DNA位置 リーダー	c DNA位置 可変ドメイン	c DNA位置 可変ドメイン
	GAGGGCGACGACCAGAGCCAC	AEIHVVHLSTAFA			
	TGGAGATACGGAGGCGACCCA	RVDEALGRPGGLA			
	CCATGGCCACGGGTGAGCCCA	VLAAFLEEGPEEN			
	GCATGCGCAGGACGGTTCCAG	SAYEQLLSRLEEI			
	AGCCCCGTGGACATCCGGCCC	AEEGSETQVPGLD			
	CAGCTGGCCGCCTTCTGCCCC	ISALLPSDFSRYF			
	GCCCTGCGGCCCCTGGAGCTG	QYEGSLTTPPCAQ			
	CTGGGCTTCCAGCTGCCCCCC	GVIWTVFNQTVML			
	CTGCCCGAGCTGCGGCTGCGG	SAKQLHTLSDTLW			
	AACAACGGCCACAGCGTGCAG	GPGDSRLQLNFRA			
	CTGACCCCTGCCCCCGGCCTG	TQPLNGRVIEASF			
	GAGATGGGCCCCTGGGCCCCGGC	PAGVDSSPRAAEP			
	CGGGAGTACCCGGGCCCCTGCAG	VQLNSCLAAGDIL			
	CTGCACCCTGCACTGGGGCGCC	ALVFGLLFAVTSV			
	GCCGGCCCGGCCCCGGCAGCGAG	AFLVQMRRRQHRRG			
	CACACCGTGGAGGGACACAGG	TKGGVSYRPAEVA			
	TTCCCAGCAGAGATCCACGTG	ETGA*			
	GTGCACCCTGAGCACCGCATTC	(配列番号４６)			
	GCAAGGGTGGACGAGGCACTG				

10

20

30

40

【表２６－１６】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	GGAAGGCCAGGAGGACTGGCA				
	GTGCTGGCAGCCTTCCTGGAG				
	GAGGGACCAGAGGAGAACAGC				
	GCATACGAGCAGCTGCTGAGC				
	CGGCTGGAGGAGATCGCAGAG				
	GAGGGAAGCGAGACCCAGGTG				
	CCAGGCCTGGACATCAGCGCA				
	CTGCTGCCAAGCGACTTCAGC				
	CGGTACTTCCAGTACGAGGGC				
	AGCCTGACCACCCCCCCTGC				
	GCCCAGGGCGTGATCTGGACC				
	GTGTTCAACCAGACCGTGATG				
	CTGAGCGCCAAAGCAGCTGCAC				
	ACCCTGAGCGACACCCTGTGG				
	GGACCAGGCGACAGCCGGCTG				
	CAGCTGAACTTCAGGGGCAACC				
	CAGCCCCTGAACGGAAGAGTG				
	ATCGAGGCAAGCTTCCCAGCA				
	GGAGTGGACAGCAGCCCAAGG				

【表２６－１７】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	GCAGCAGAGCCAGTGCAGCTG AACAGCTGCCTGGCAGCAGGC GACATCCTGGCACTGGTGTTC GGACTGCTGTTCGCAGTGACC AGCGTGGCCTTCCTGGTGCAG ATGCGGCGGCAGCACCGGCGG GGCACCAAGGGCGGCGTGAGC TACCGGCCCCGCCGAGGTGGCC GAGACCGGGCGCCTGA (配列番号４５)				
ヒトCA9 細胞外ドメイン	ATGGGCTGGAGCTGCATCATC CTGTTCCTGGTGGCAACCGCA ACCGGAGTGCACAGCCAGAGG CTGCCACGGATGCAGGAGGAC AGCCCCCCTGGGGCGGCAGC AGCGGCGAGGACGACCCCCCTG GGCGAGGAGGACCTGCCCCAGC GAGGAGGACAGCCCCAAGGGAG GAGGACCCCACCAGGAGAGGAG	MGWSCIILFLVAT ATGVHSQRLPRMQ EDSPLGGGSSGED DPLGEEDLPSEED SPREEDPPGEEDL PGEEDLPGEEDLP EVKPKSEEEGSLK LEDLPTVEAPGDP QEPQNNAHRDKEG	1－57	NA	NA

10

20

30

40

【表２６－１８】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	c DNA位置 リーダー	c DNA位置 可変ドメイン	c DNA位置 可変ドメイン
	GACCTGCCTGGCGAGGAGGAC	DDQSHWRYGGDPP			
	CTGCCTGGGGAGGAGGACCTG	WPRVSPACAGRFQ			
	CCAGAGGTGAAGCCAAAGAGC	SPVDIRPQLAAFC			
	GAAGAGGAGGGAAGCCTGAAG	PALRPLELLGFQL			
	CTGGAGGACCTGCCAACCGTG	PPLPELRLRNNGH			
	GAGGCACCAGGCGACCCACAG	SVQLTLPPGLEMA			
	GAGCCCCAGAACAACGCCCAC	LGPGREYRALQLH			
	CGGGACAAGGAGGGCGACGAC	LHWGAAGRPGSEH			
	CAGAGCCACTGGAGATACGGA	TVEGHRFPAEIHV			
	GGCGACCCCACCATGGCCACGG	VHLSTAFARVDEA			
	GTGAGCCCCAGCATGCGCAGGA	LGRPGGLAVLAAF			
	CGGTTCCAGAGCCCCCGTGGAC	LEEGPEENSAYEQ			
	ATCCGGCCCCCAGCTGGCCGCC	LLSRLEEIAEEGS			
	TTCTGCCCCCGCCCCTGCGGCCC	ETQVPGLDISALL			
	CTGGAGCTGCTGGGGCTTCCAG	PSDFSRYFQYEGS			
	CTGCCCCCCCCTGCCCCGAGCTG	LTTPPCAQGVIWT			
	CGGCTGCGGAACAACGGCCAC	VFNQTVMLSAKQL			
	AGCGTGCAGCTGACCCCTGCCC	HTLSDTLWGPGDS			
	CCCGGCCTGGAGATGGCCCTG	RLQLNFRATQPLN			

【表２６－１９】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	GGCCCCGGCCGGGAGTACCGG GCCCTGCAGCTGCACCTGCAC TGGGGCGCCGCCGGCCCC GGCAGCGAGCACACCGTGGAG GGACACAGGTTCCCAGCAGAG ATCCACGTGGTGCACCTGAGC ACCGCATTCGCAAGGGTGGAC GAGGCACTGGGAAGGCCAGGA GGACTGGCAGTGCTGGCAGCC TTCCTGGAGGAGGGACCAGAG GAGAACAGCGCATACGAGCAG CTGCTGAGCCGGCTGGAGGAG ATCGCAGAGGGAAGCGAG ACCCAGGTGCCAGGCCTGGAC ATCAGCGCACTGCTGCCAAGC GACTTCAGCCGGTACTTCCAG TACGAGGGCAGCCTGACCACC CCCCCCTGCGCCCAGGGCGTG ATCTGGACCGTGTTCAACCAG	GRVIEASFPAGVD SSPRAAEPVQLNS CLAGHHHHHH＊ (配列番号４８)			

【表２６－２０】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
MSLN	ACCGTGATGCTGAGGCGCAAAG CAGCTGCACACCCTGAGCGAC ACCCTGTGGGGACCAGGCGAC AGCCGGCTGCAGCTGAACTTC AGGGCAACCCCAGCCCCCTGAAC GGAAGAGTGATCGAGGCAAGC TTCCCAGCAGGAGTGGACAGC AGCCCAAGGGCAGCAGAGCCA GTGCAGCTGAACAGCTGCCTG GCCGGCCACCACCACCACCAC CACTGA (配列番号４７)	MGWSCIILFLVAT ATGVHSEVEKTAC PSGKKAREIDESL IFYKKWELEACVD AALLATQMDRVNA IPFTYEQLDVLKH KLDELYPQGYPES	1－57	NA	NA

【表２６－２１】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	c DNA位置 リーダー	c DNA位置 可変ドメイン	c DNA位置 可変ドメイン
	TGCGTGGATGCGGGCCCCTGCTG	V I Q H L G Y L F L K M S			
	GCCACCCCAGATGGACCGCGTG	P E D I R K W N V T S L E			
	AACGCCATCCCCCTTCACCTAC	T L K A L L E V N K G H E			
	GAGCAGCTGGACGTCCTAAAG	M S P Q V A T L I D R F V			
	CATAAACTGGATGAGCTCTAC	K G R G Q L D K D T L D T			
	CCACAAGGTTACCCCGAGTCT	L T A F Y P G Y L C S L S			
	GTGATCCAGCACCTGGGCTAC	P E E L S S V P P S S I W			
	CTCTTCCTCAAGATGAGCCCT	A V R P Q D L D T C D P R			
	GAGGACATTCGCAAGTGGAAT	Q L D V L Y P K A R L A F			
	GTGACGTCCCTGGAGACCCTG	Q N M N G S E Y F V K I Q			
	AAGGCTTTGCTTGAAGTCAAC	S F L G G A P T E D L K A			
	AAAGGGCACGAAATGAGTCCT	L S Q Q N V S M D L A T F			
	CAGGTGGCCACCCTGATCGAC	M K L R T D A V L P L T V			
	CGCTTTGTGAAGGGAAGGGGC	A E V Q K L L G P H V E G			
	CAGCTAGACAAAGACACCCTA	L K A E E R H R P V R D W			
	GACACCCTGACCGCCTTCTAC	I L R Q R Q D D L D T L G			
	CCTGGGTACCTGTGCTCCCTC	L G L Q G G I P N G Y L V			
	AGCCCCGAGGAGCTGAGCTCC	L D L S M Q E A L S G T P			
	GTGCCCCCCAGCATCTGG	C L L G P G P V L T V L A			

【表２６－２２】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	GCGGTCAGGGCCCCAGGACCTG GACACGTGTGACCCAAGGCAG CTGGACGTCCTCTATCCCAAG GCCCGCCTTGCTTTCCAGAAC ATGAACGGGTCCGAATACTTC GTGAAGATCCAGTCCTTCCTG GGTGGGGCCCCCACGGAGGAT TTGAAGGCGCTCAGTCAGCAG AATGTGAGCATGGACTTGGCC ACGTTCATGAAGCTGCGGACG GATGCGGTGCTGCCGTTGACT GTGGCTGAGGTGCAGAAACTT CTGGGACCCCCACGTGGAGGGC CTGAAGGCGGAGGAGCGGCAC CGCCCGGTGCGGGACTGGATC CTACGGCAGCGGCAGGACGAC CTGGACACGCTGGGGGCTGGGG CTACAGGGCGGCATCCCCAAC GGCTACCTGGTCCTAGACCTC	LLLASTLA* (配列番号５０)			

10

20

30

40

【表２６－２３】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	c DNA位置 リーダー	c DNA位置 可変ドメイン	c DNA位置 可変ドメイン
	AGCATGCAAGAGGCCCCTCTCG GGGACGGCCCCTGCCCTCCTAGGA CCTGGACCTGTTCTCACCGTC CTGGCACTGCTCCTAGCCTCC ACCCTGGCCTGA (配列番号４９)				
xi155D 5HC (ウサギVh －ヒトIgG 1) (ヒトCA 9)	ATGGGCTGGTCCTGCATCATC CTGTTTCTGGTGGCCACCGCC ACCGGCGTGCACAGCCAGTCG GTGAAGGAGTCCGGGGGTCGC CTGGTCACGCCTGGGGACACCC CTGACACTCACCTGCACAGTC TCTGGATTCTCCCTCAATAGC TATGCGATGATCTGGGTCCGC CAGGCTCCCAGGGGAGGGGCTG GAATACATCGGGATTCATTACT ACTGGTGGTACCACACATACTAC GCGAGCTGGGCAAAAGGCCGA TTCACCATCTCCAGAACCTCG	MGWSCIILFLVAT ATGVHSQSVKESG GRLVTPGTPLTLT CTVSGFSLNSYAM IWVRQAPGEGLEY IGFITTGGTTYYA SWAKGRFTISRTS TTVDLKLTRPTTE DTATYFCARDRVK SYDDYGDLDAFEP WGPGTLVTISSAS TKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCL	1－57	58－423	424－1416

【表２６－２４】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	ACCACGGTGGATCTGAAGCTC	VKDYFPEPVTVSW			
	ACCCGTCCGACAACCGAGGAC	NSGALTSGVHTFP			
	ACGGCCACCCTATTTCTGTGCC	AVLQSSGLYSLSS			
	AGAGATCGGGTTAAAAGCTAC	VVTVPSSSLGTQT			
	GATGACTATGGTGATTTAGAT	YICNVNHKPSNTK			
	GCTTTCGAGCCCCTGGGGCCCCA	VDKKVEPKSCDKT			
	GGCACCCCTGGTCACCATCTCC	HTCPPCPAPELLG			
	TCAGCATCCACCAAGGGGCCCCA	GPSVFLFPPKPKD			
	TCGGTCTTCCCCCCTGGCACCCC	TLMISRTPEVTCV			
	TCCTCCAAGAGCACCCTCTGGG	VVDVSHEDPEVKF			
	GGCACAGCGGCCCCTGGGCTGC	NWYVDGVEVHNAK			
	CTGGTCAAGGACTACTTCCCCC	TKPREEQYNSTYR			
	GAACCGGTGACGGTGTCGTGG	VVSVLTVLHQDWL			
	AACTCAGGCGCCCTGACCAGC	NGKEYKCKVSNKA			
	GGCGTGCACACCTTCCCGGCT	LPAPIEKTISKAK			
	GTCCTACAGTCCTCAGGACTC	GQPREPQVYTLPP			
	TACTCCCCTCAGCAGCGTGGTG	SRDELTKNQVSLT			
	ACCGTGCCCCTCCAGCAGCTTG	CLVKGFYPSDIAV			
	GGCACCCCAGACCCTACATCTGC	EWESNGQPENNYK			

【表２６－２５】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	AACGTGAATCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAAA GTTGAGCCCAAATCTTGTGAC AAAACTCACACATGCCCACCG TGCCCAGCACCTGAACTCCTG GGGGGACCGTCAGTCTTCCTC TTCCCCCCAAAACCCAAGGAC ACCCTCATGATCTCCCGGACC CCTGAGGTCACATGCGTGGTG GTGGACGTGAGCCACGAAGAC CCTGAGGTCAAGTTCAACTGG TACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCG CGGGAGGAGCAGTACAACAGC ACGTACCGTGTGGTCAGCGTC CTCACCGTCCTGCACCAGGAC TGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GCCCTCCCAGCCCCCATCGAG	TTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLS PGK* (配列番号５２)			

【表２６－２６】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	AAAACCATCTCCAAAGCCAAA GGGCAGCCCCGAGAACCACAG GTGTACACCCTGCCCCCATCC CGGGATGAGCTGACCAAGAAC CAGGTCAGCCTGACCTGCCTG GTCAAAGGCTTCTATCCCAGC GACATCGCCGTGGAGTGGGAG AGCAATGGGCAGCCGGAGAAC AACTACAAGACCACGCCTCCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCC TTCTTCTTATATTCAAAGCTC ACCGTGGACAAGAGCAGGTGG CAGCAGGGGAACGTCTTCTCA TGCTCCGTGATGCATGAGGCT CTGCACAACCACTACACGCAG AAGAGCCTCTCCCTGTCTCCC GGGAAATGA (配列番号５１)				

【表２６－２７】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
zu155D5HC (ヒトVh－ヒトIgG1) (ヒトCA9)	ATGGGTTGGAGTTGCATCATT	MGWSCIILFLVAT	1－57	58－432	433－1425
	CTGTTCCTGGTGGCCACAGCT	ATGVHSQVQLVES			
	ACTGGCGTGCACTCACAGGTG	GGGLVQPGGSLRL			
	CAGCTGGTGGAGTCCGGAGGA	SCSASGFSLNSYA			
	GGACTGGTGCAGCCAGGTGGC	MIWVRQAPGKGLE			
	TCTCTGCGACTGTCTTGTAGT	YIGFITTGGTTYY			
	GCTTCAGGGCTTTTCCCTGAAC	ADSVKGRFTISRD			
	AGCTACGCTATGATCTGGGTC	NSKNTLYLQMNSL			
	AGGCAGGCACCTGGCAAGGGC	RAEDTAVYYCARD			
	CTGGAATATATCGGATTCATT	RVKSYDDYGDLDA			
	ACCACAGGAGGGACTACCTAC	FEPWGQGTLVTVS			
	TATGCCGACTCCGTGAAGGGG	SASTKGPSVFPLA			
	AGATTCACTATCTCTCGCGAT	PSSKSTSGGTAAL			
	AACAGTAAGAATACCCTGTAC	GCLVKDYFPEPVT			
	CTGCAGATGAATAGCCTGAGA	VSWNSGALTSGVH			
	GCAGAGGACACAGCCGTGTAC	TFPAVLQSSGLYS			
	TATTGCGCCAGGGATCGGGTG	LSSVVTVPSSSLG			
	AAATCTTACGACGATTATGGA	TQTYICNVNHKPS			
	GACCTGGATGCTTTCGAACCA	NTKVDKKVEPKSC			

【表２６－２８】

クローン名（種－アイソタイプ）（抗原）	DNA配列	アミノ酸配列	c DNA位置 リーダー	c DNA位置 可変ドメイン	c DNA位置 可変ドメイン
	TGGGGACAGGGGACCCTGGTG	DKTHTCPPCPAPE			
	ACAGTGTCCAGCGCATCCACC	LLGGPSVFLFPPK			
	AAGGGCCCATCGGTCTTCCCC	PKDTLMISRTPEV			
	CTGGCACCCTCCTCCAAGAGC	TCVVVDVSHEDPE			
	ACCTCTGGGGGCACAGCGGCC	VKFNWYVDGVEVH			
	CTGGGCTGCCTGGTCAAGGAC	NAKTKPREEQYNS			
	TACTTCCCCGAACCGGTGACG	TYRVVSVLTVLHQ			
	GTGTCGTGGAACTCAGGCGCC	DWLNGKEYKCKVS			
	CTGACCAGCGGCGTGCACACC	NKALPAPIEKTIS			
	TTCCCGGCTGTCCTACAGTCC	KAKGQPREPQVYT			
	TCAGGACTCTACTCCCTCAGC	LPPSRDELTKNQV			
	AGCGTGGTGACCGTGCCCTCC	SLTCLVKGFYPSD			
	AGCAGCTTGGGCACCCAGACC	IAVEWESNGQPEN			
	TACATCTGCAACGTGAATCAC	NYKTTPPVLDSDG			
	AAGCCCAGCAACACCAAGGTG	SFFLYSKLTVDKS			
	GACAAGAAAGTTGAGCCCAAA	RWQQGNVFSCSVM			
	TCTTGTGACAAAACTCACACA	HEALHNHYTQKSL			
	TGCCCACCGTGCCCAGCACCT	SLSPGK*（配列番号５４）			
	GAACTCCTGGGGGGACCGTCA				

10

20

30

40

【表２６－２９】

クローン名（種－アイソタイプ）（抗原）	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	GTCTTCCTCTTCCCCCCCAAAA				
	CCCAAGGACACCCTCATGATC				
	TCCCGGACCCCCTGAGGTCACA				
	TGCGTGGTGGTGGACGTGAGC				
	CACGAAGACCCTGAGGTCAAG				
	TTCAACTGGTACGTGGACGGC				
	GTGGAGGTGCATAATGCCAAG				
	ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAG				
	TACAACAGCACGTACCGTGTG				
	GTCAGCGTCCTCACCGTCCTG				
	CACCAGGACTGGCTGAATGGC				
	AAGGAGTACAAGTGCAAGGTC				
	TCCAACAAAGCCCTCCCAGCC				
	CCCATCGAGAAAACCATCTCC				
	AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGA				
	GAACCACAGGTGTACACCCTG				
	CCCCCATCCCGGGATGAGCTG				
	ACCAAGAACCAGGTCAGCCTG				
	ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTC				

【表２６－３０】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	TATCCCAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAACTACAAGACC ACGCCTCCCGTGCTGGACTCC GACGGCTCCTTCTTCTTATAT TCAAAGCTCACCGTGGACAAG AGCAGGTGGCAGCAGGGGAAC GTCTTCTCATGCTCCGTGATG CATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCC CTGTCTCCGGGAAATGA (配列番号５３)				
xi1－55－2HC (ウサギVh－ヒトIgG1) (ヒトTEM1)	ATGGGCTGGTCCTGCATCATC CTGTTTCTGGTGGCCACCGCC ACCGGCGTGCACTCCCAGTCG GTGGAGGAGTCCGGGGGAGAC CTGGTCAAGCCTGAGGGATCC CTGACACTCACCTGCACAGCC TCTGGATTCTCCTTCAGTAGC	MGWSCIILFLVAT ATGVHSQSVEESG GDLVKPEGSLTLT CTASGFSFSSSYW GCWVRQAPGKGPE WIACIYGGSSSGTT YYPNWAKGRFSIS	1－57	58－417	418－1410

【表２６－３１】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	c DNA位置 リーダー	c DNA位置 可変ドメイン	c DNA位置 可変ドメイン
	AGCTACTGGGGATGCTGGGTC	KTSSTTVTLQMAS			
	CGCCAGGCTCCAGGGAAGGGG	LTAADTATYFCAR			
	CCTGAGTGGATCGCATGCATT	VTNGGDWDFKLWG			
	TATGGTGGTAGTAGTGGTACC	PGTLVTISSASTK			
	ACTTATTACCCGAACTGGGCG	GPSVFPLAPSSKS			
	AAAGGCCGATTCTCCATCTCC	TSGGTAALGCLVK			
	AAAACCTCGTCGACCACGGTG	DYFPEPVTVSWNS			
	ACTCTGCAAATGGCCAGTCTG	GALTSGVHTFPAV			
	ACAGCCGCGGACACGGCCACC	LQSSGLYSLSSVV			
	TATTTCTGTGCGAGAGTGACT	TVPSSSLGTQTYI			
	AATGGTGGTGATTGGGATTTT	CNVNHKPSNTKVD			
	AAATTGTGGGGCCCAGGCACC	KKVEPKSCDKTHT			
	CTGGTCACCATCTCCTCAGCA	CPPCPAPELLGGP			
	TCCACCAAGGGCCCATCGGTC	SVFLFPPKPKDTL			
	TTCCCCCTGGCACCCTCCTCC	MISRTPEVTCVVV			
	AAGAGCACCTCTGGGGGCACA	DVSHEDPEVKFNW			
	GCGGCCCTGGGGCTGCCTGGTC	YVDGVEVHNAKTK			
	AAGGACTACTTCCCCGAACCG	PREEQYNSTYRVV			
	GTGACGGTGTCGTGGAACTCA	SVLTVLHQDWLNG			

10

20

30

40

【表２６－３２】

クローン名（種－アイソタイプ）（抗原）	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	GGCGCCCTGACCAGCGGCGTG	KEYKCKVSNKALP			
	CACACCTTCCCGGCTGTCCTA	APIEKTISKAKGQ			
	CAGTCCTCAGGACTCTACTCC	PREPQVYTLPPSR			
	CTCAGCAGCGTGGTGACCGTG	DELTKNQVSLTCL			
	CCCTCCAGCAGCTTGGGCACC	VKGFYPSDIAVEW			
	CAGACCTACATCTGCAACGTG	ESNGQPENNYKTT			
	AATCACAAGCCCAGCAACACC	PPVLDSDGSFFLY			
	AAGGTGGACAAGAAAGTTGAG	SKLTVDKSRWQQG			
	CCCAAATCTTGTGACAAAACT	NVFSCSVMHEALH			
	CACACATGCCCACCGTGCCCA	NHYTQKSLSLSPG			
	GCACCTGAACTCCTGGGGGGA	K*			
	CCGTCAGTCTTCCTCTTCCCC	(配列番号５６)			
	CCAAAACCCAAGGACACCCTC				
	ATGATCTCCCGGACCCCTGAG				
	GTCACATGCGTGGTGGACGAC				
	GTGAGCCACGAAGACCCTGAG				
	GTCAAGTTCAACTGGTACGTG				
	GACGGCGTGGAGGTGCATAAT				
	GCCAAGACAAAGCCGCGGGAG				

【表２６－３３】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	GAGCAGTACAACAGCACGTAC				
	CGTGTGGTCAGCGTCCTCACC				
	GTCCTGCACCAGGACTGGCTG				
	AATGGCAAGGAGTACAAGTGC				
	AAGGTCTCCAACAAAGCCCTC				
	CCAGCCCCCATCGAGAAAACC				
	ATCTCCAAAGCCAAAGGGCAG				
	CCCCGAGAACCACAGGTGTAC				
	ACCCTGCCCCCATCCCGGGAT				
	GAGCTGACCAAGAACCAGGTC				
	AGCCTGACCTGCCTGGTCAAA				
	GGCTTCTATCCCAGCGACATC				
	GCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT				
	GGGCAGCCGGAGAACAACTAC				
	AAGACCACGCCTCCCGTGCTG				
	GACTCCGACGGCTCCTTCTTC				
	TTATATTCAAAGCTCACCGTG				
	GACAAGAGCAGGTGGCAGCAG				
	GGGAACGTCTTCTCATGCTCC				

【表２６－３４】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	GTGATGCATGAGGCTCTGCAC AACCACTACACGGCAGAAGAGC CTCTCCCTGTCTCCCGGGAAA TGA (配列番号５５)				
xi1E4HC (ウサギVh－ヒトIgG1) (ヒトCA9)	ATGGGCTGGTCCTGCATCATC CTGTTTCTGGTGGCCACCGCC ACCGGCGTGCACAGCCAGTCG GTGGAGGAGTCCAGGGGGTCGC CTGGTCACGCCTGGGGACACCC CTGACACTCACCTGCACAGTC TCTGGAATCGACCTCAGTAAT TATGCAATGACCTGGGTCCGC CAGGCTCCAGGGAAGGGGCTG GAATGGATCGGAATCATTAGT AGTAATGATAAGACATGGTAC GCGAGCTGGGTGAAAGGCCGG TTCACCATCTCAAAAACCTCG TCGACCACGGTGGATCTGAAA	MGWSCIILFLVAT ATGVHSQSVEESR GRLVTPGTPLTLT CTVSGIDLSNYAM TWVRQAPGKGLEW IGIISSNDKTWYA SWVKGRFTISKTS STTVDLKMTSLTT EDTATYFCARAAM PGGLKNAFDPWGP GTLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSG	1－57	58－414	415－1407

【表２６－３５】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	c DNA位置 リーダー	c DNA位置 可変ドメイン	c DNA位置 可変ドメイン
	ATGACCAGTCTGACAACCGAG	ALTSGVHTFPAVL			
	GACACGGCCACCTATTTCTGT	QSSGLYSLSSVVT			
	GCCAGAGCTGCTATGCCTGGT	VPSSSLGTQTYIC			
	GGTTTAAAGAATGCTTTCGAT	NVNHKPSNTKVDK			
	CCCTGGGGCCCAGGCACCCTG	KVEPKSCDKTHTC			
	GTCACCGTCTCTTCAGCATCC	PPCPAPELLGGPS			
	ACCAAGGGCCCATCGGTCTTC	VFLFPPKPKDTLM			
	CCCCTGGCACCCTCCTCCAAG	ISRTPEVTCVVVD			
	AGCACCTCTGGGGGCACAGCG	VSHEDPEVKFNWY			
	GCCCTGGGCTGCCTGGTCAAG	VDGVEVHNAKTKP			
	GACTACTTCCCCGAACCGGTG	REEQYNSTYRVVS			
	ACGGTGTCGTGGAACTCAGGC	VLTVLHQDWLNGK			
	GCCCTGACCAGCGGCGTGCAC	EYKCKVSNKALPA			
	ACCTTCCCCGGCTGTCCTACAG	PIEKTISKAKGQP			
	TCCTCAGGACTCTACTCCCTC	REPQVYTLPPSRD			
	AGCAGCGTGGTGACCGTGCCC	ELTKNQVSLTCLV			
	TCCAGCAGCTTGGGCACCCAG	KGFYPSDIAVEWE			
	ACCTACATCTGCAACGTGAAT	SNGQPENNYKTTP			
	CACAAGCCCAGCAACACCAAG	PVLDSDGSFFLYS			

【表２６－３６】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	c DNA位置 リーダー	c DNA位置 可変ドメイン	c DNA位置 可変ドメイン
	GTGGACAAGAAAGTTGAGCCC AAATCTTGTGACAAAACTCAC ACATGCCCACCGTGCCCAGCA CCTGAACTCCTGGGGGGACCG TCAGTCTTCCTCTTCCCCCCCA AAACCCAAGGACACCCTCATG ATCTCCCGGACCCCTGAGGTC ACATGCGTGGTGGTGGACGTG AGCCACGAAGACCCTGAGGTC AAGTTCAACTGGTACGTGGAC GGCGTGGAGGTGCATAATGCC AAGACAAAGCCGCGGGAGGAG CAGTACAACAGCACGTACCGT GTGGTCAGCGTCCTCACCGTC CTGCACCAGGACTGGCTGAAT GGCAAGGAGTACAAGTGCAAG GTCTCCAACAAAGCCCTCCCA GCCCCCATCGAGAAAACCATC TCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC	KLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK * (配列番号５８)			

【表２６－３７】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
zu1E4H C (ヒトVh－	CGAGAACCACACAGGTGTACACC CTGCCCCCCATCCCCGGGATGAG CTGACCAAGAACCAGGTCAGC CTGACCTGCCTGGTCAAAGGC TTCTATCCCAGCGACATCGCC GTGGAGTGGGAGAGCAATGGG CAGCCGGAGAACAACTACAAG ACCACGCCTCCCGTGCTGGAC TCCGACGGCTCCTTCTTCTTA TATTCAAAGCTCACCGTGGAC AAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGTG ATGCATGAGGCTCTGCACAAC CACTACACGCAGAAGAGCCTC TCCCTGTCTCCCGGGAAATGA (配列番号５７) ATGGGCTGGTCCTGCATCATC CTGTTTCTGGTGGCCACCGCC ACCGGCGTGCACAGCGAGGTC	MGWSCIILFLVAT ATGVHSEVQLLES GGGLVQPGGSLRL	1－57	58－420	421－1413

【表２６－３８】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
ヒトIgG1) (ヒトCA9)	CAGCTGCTGGAATCAGGGGGA	SCAASGIDLSNYA			
	GGACTGGTGCAGCCCGGAGGG	MTWVRQAPGKGLE			
	TCACTGCGACTGTCTTGTGCC	WVGIISSNDKTWY			
	GCTTCAGGCATTGATCTGTCT	ADSVKGRFTISRD			
	AACTACGCTATGACTTGGGTG	NSKNTLYLQMNSL			
	AGGCAGGCACCCGGCAAGGGA	RAEDTAVYYCAKA			
	CTGGAGTGGGTCGGAATCATT	AMPGGLKNAFDPW			
	AGCTCCAATGACAAGACCTGG	GQGTLVTVSSAST			
	TACGCCGATTCAGTGAAAGGC	KGPSVFPLAPSSK			
	CGGTTCACCATCTCTAGAGAC	STSGGTAALGCLV			
	AACAGTAAGAATACACTGTAT	KDYFPEPVTVSWN			
	CTGCAGATGAACAGCCTGCGG	SGALTSGVHTFPA			
	GCAGAAGATACAGCCGTCTAC	VLQSSGLYSLSSV			
	TATTGCGCTAAAGCCGCTATG	VTVPSSSLGTQTY			
	CCTGGCGGACTGAAGAACGCA	ICNVNHKPSNTKV			
	TTTGATCCTTGGGGACAGGGA	DKKVEPKSCDKTH			
	ACTCTGGTCACCGTCTCATCT	TCPPCPAPELLGG			
	GCATCCACCAAGGGCCCATCG	PSVFLFPPKPKDT			
	GTCTTCCCCCTGGCACCCTCC	LMISRTPEVTCVV			

【表２６－３９】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	TCCAAGAGCACCTCTGGGGGC	VDVSHEDPEVKFN			
	ACAGCGGCCCTGGGCCTGCCTG	WYVDGVEVHNAKT			
	GTCAAGGACTACTTCCCCGAA	KPREEQYNSTYRV			
	CCGGTGACGGTGTCGTGGAAC	VSVLTVLHQDWLN			
	TCAGGCGCCCTGACCAGCGGC	GKEYKCKVSNKAL			
	GTGCACACCTTCCCGGCTGTC	PAPIEKTISKAKG			
	CTACAGTCCTCAGGACTCTAC	QPREPQVYTLPPS			
	TCCCTCAGCAGCGTGGTGACC	RDELTKNQVSLTC			
	GTGCCCTCCAGCAGCTTGGGC	LVKGFYPSDIAVE			
	ACCCAGACCTACATCTGCAAC	WESNGQPENNYKT			
	GTGAATCACAAGCCCAGCAAC	TPPVLDSDGSFFL			
	ACCAAGGTGGACAAGAAAGTT	YSKLTVDKSRWQQ			
	GAGCCCAAATCTTGTGACAAA	GNVFSCSVMHEAL			
	ACTCACACATGCCCACCGTGC	HNHYTQKSLSLSP			
	CCAGCACCTGAACTCCTGGGG	GK*			
	GGACCGTCAGTCTTCCTCTTC	(配列番号６０)			
	CCCCCAAAACCCAAGGACACC				
	CTCATGATCTCCCGGACCCCT				
	GAGGTCACATGCGTGGTGGTG				

【表２６－４０】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	GACGTGAGCCACGAAGACCCT				
	GAGGTCAAGTTCAACTGGTAC				
	GTGGACGGCGTGGAGGTGCAT				
	AATGCCAAGACAAAGCCGCGG				
	GAGGAGCAGTACAACAGCACG				
	TACCGTGTGGTCAGCGTCCTC				
	ACCGTCCTGCACCAGGACTGG				
	CTGAATGGCAAGGAGTACAAG				
	TGCAAGGTCTCCAACAAAGCC				
	CTCCCAGCCCCCATCGAGAAA				
	ACCATCTCCAAAGCCAAAGGG				
	CAGCCCCGAGAACCACACAGGTG				
	TACACCCTGCCCCCATCCCGG				
	GATGAGCTGACCAAGAACCAG				
	GTCAGCCTGACCTGCCTGGTC				
	AAAGGCTTCTATCCCAGCGAC				
	ATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC				
	AATGGGCAGCCGGAGAACAAC				
	TACAAGACCACGCCTCCCGTG				

【表２６－４１】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	CTGGACTCCGACGGCTCCTTC TTCTTATATTCAAAGCTCACC GTGGACAAGAGCAGGTGGCAG CAGGGGAACGTCTTCTCATGC TCCGTGATGCATGAGGCTCTG CACAACCACTACACGCAGAAG AGCCTCTCCCTGTCTCCGGG AAATGA (配列番号５９)				
xi330 1HC (ウサギVh －ヒトIgG 1) (ヒトMSL N)	ATGGGGCTGGTCCTGCATCATC CTGTTTCTGGTGGCCACCGCC ACCGGCGTGCACTCCCAGTCG GTGGAGGAGTCCGGGGGTCGC CTGGTCACGCCTGGGGACACCC CTGACACTCACCTGCACCGTC TCTGGAATCTCCCCTCAGTAGC GATGCAATAAGCTGGGTCCGC CAGGCTCCAGGGAAGGGGCTC GAATACATCGGAATCATTAAT	MGWSCIILFLVAT ATGVHSQSVEESG GRLVTPGTPLTLT CTVSGISLSSDAI SWVRQAPGKGLEY IGIINGGGNTYYA SWAKGRFTISKTS TTVDLKITSPTTE DTATYFCARGIQH GGGNSDYYYYGMD	1－57	58－426	427－1419

【表２６－４２】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	c DNA位置 リーダー	c DNA位置 可変ドメイン	c DNA位置 可変ドメイン
	GGTGGTGGTAACACATACTAC	LWGPGTLVTVSSA			
	GCGAGCTGGGCGAAAGGCCGA	STKGPSVFPLAPS			
	TTCACCATCTCCAAAACCTCG	SKSTSGGTAALGC			
	ACCACGGTGGATCTGAAAATC	LVKDYFPEPVTVS			
	ACCAGTCCGACAACCGAGGAC	WNSGALTSGVHTF			
	ACGGCCACCCTATTTCTGTGCC	PAVLQSSGLYSLS			
	AGAGGCATTTCAACATGGTGGT	SVVTVPSSSLGTQ			
	GGTAATAGTGATTATTATTAT	TYICNVNHKPSNT			
	TACGGCATGGACCTCTGGGGC	KVDKKVEPKSCDK			
	CCAGGCACCCCTGGTCACTGTC	THTCPPCPAPELL			
	TCTTCAGCATCCACCAAGGGC	GGPSVFLFPPKPK			
	CCATCGGTCTTCCCCCCTGGCA	DTLMISRTPEVTC			
	CCCTCCTCCAAGAGCACCTCT	VVVDVSHEDPEVK			
	GGGGGCACAGCGGCCCTGGGC	FNWYVDGVEVHNA			
	TGCCTGGTCAAGGACTACTTC	KTKPREEQYNSTY			
	CCCGAACCGGTGACGGTGTCG	RVVSVLTVLHQDW			
	TGGAACTCAGGCGCCCTGACC	LNGKEYKCKVSNK			
	AGCGGCGTGCACACCTTCCCG	ALPAPIEKTISKA			
	GCTGTCCTACAGTCCTCAGGA	KGQPREPQVYTLP			

【表２６－４３】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	CTCTACTCCCTCAGCAGCGTG	PSRDELTKNQVSL			
	GTGACCGTGCCCTCCAGCAGC	TCLVKGFYPSDIA			
	TTGGGCACCCAGACCTACATC	VEWESNGQPENNY			
	TGCAACGTGAATCACAAGCCC	KTTPPVLDSDGSF			
	AGCAACACCAAGGTGGACAAG	FLYSKLTVDKSRW			
	AAAGTTGAGCCCAAATCTTGT	QQGNVFSCSVMHE			
	GACAAAACTCACACATGCCCA	ALHNHYTQKSLSL			
	CCGTGCCCAGCACCTGAACTC	SPGK* (配列番号６２)			
	CTGGGGGGACCGTCAGTCTTC				
	CTCTTCCCCCCAAAACCCAAG				
	GACACCCTCATGATCTCCCGG				
	ACCCCTGAGGTCACATGCGTG				
	GTGGTGGACGTGAGCCACGAA				
	GACCCTGAGGTCAAGTTCAAC				
	TGGTACGTGGACGGCGTGGAG				
	GTGCATAATGCCAAGACAAAG				
	CCGCGGGAGGAGCAGTACAAC				
	AGCACGTACCGTGTGGTCAGC				
	GTCCTCACCGTCCTGCACCAG				

【表２６－４４】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	GACTGGCTGAATGGCAAGGAG				
	TACAAGTGCAAGGTCTCCAAC				
	AAAGCCCTCCCAGCCCCCATC				
	GAGAAAACCATCTCCAAAGCC				
	AAAGGGCAGCCCCGAGAACCA				
	CAGGTGTACACCCTGCCCCCA				
	TCCCGGGATGAGCTGACCAAG				
	AACCAGGTCAGCCTGACCTGC				
	CTGGTCAAAGGCTTCTATCCC				
	AGCGACATCGCCGTGGAGTGG				
	GAGAGCAATGGGCAGCCGGAG				
	AACAACTACAAGACCACGCCT				
	CCCGTGCTGGACTCCGACGGC				
	TCCTTCTTCTTATATTCAAAG				
	CTCACCGTGGACAAGAGCAGG				
	TGGCAGCAGGGGAACGTCTTC				
	TCATGCTCCGTGATGCATGAG				
	GCTCTGCACAACCACTACACG				
	CAGAAGAGCCTCTCCCTGTCT				

【表２６－４５】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	CCCGGGAAATGA (配列番号６１)				
zu330 1HC (ヒトVh－ヒトIgG1) (ヒトMSLN)	ATGGGCTGGTCCTGCATCATC	MGWSCIILFLVAT	1－57	58－435	436－1428
	CTGTTTCTGGTGGCCACCGCC	ATGVHSEVQLVES			
	ACCGGCGTGCACAGCGAAGTC	GGGLVQPGGSLRL			
	CAACTGGTGGAAAGCGGGGGA	SCAASGISLSSDA			
	GGACTGGTGCAGCCGGGCGGA	ISWVRQAPGKGLE			
	TCCCTCCGGCTGTCATGTGCT	YIGIINGGGNTYY			
	GCATCGGGAATTTCCCTCTCC	ASWAKGRFTISRH			
	TCCGACGCGATTAGCTGGGTC	NSKNTLYLQMNSL			
	AGACAGGCCCCCGGAAAGGGG	RAEDTAVYYCARG			
	CTGGAGTACATCGGTATCATC	IQHGGGNSDYYYY			
	AACGGCGGCGGAAACACCTAC	GMDLWGQGTLVTV			
	TACGCCTCCTGGGCCAAGGGC	SSASTKGPSVFPL			
	CGCTTCACCATCTCGCGGCAT	APSSKSTSGGTAA			
	AATTCCAAGAACACTCTGTAC	LGCLVKDYFPEPV			
	TTGCAAATGAACTCCCTGAGG	TVSWNSGALTSGV			
	GCCGAGGACACCGCCGTGTAC	HTFPAVLQSSGLY			
	TACTGCGCGCCGGCATCCAG	SLSSVVTVPSSSL			

【表２６－４６】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	c DNA位置 リーダー	c DNA位置 可変ドメイン	c DNA位置 可変ドメイン
	CACGGTGGTGGAAACAGCGAC	GTQTYICNVNHKP			
	TACTACTATGGGATGGAT	SNTKVDKKVEPKS			
	CTGTGGGGCCAGGGAACTCTT	CDKTHTCPPCPAP			
	GTGACCGTGTCGTCAGCATCC	ELLGGPSVFLFPP			
	ACCAAGGGCCCATCGGTCTTC	KPKDTLMISRTPE			
	CCCCTGGCACCCTCCTCCAAG	VTCVVVDVSHEDP			
	AGCACCTCTGGGGGCACAGCG	EVKFNWYVDGVEV			
	GCCCTGGGCTGCCTGGTCAAG	HNAKTKPREEQYN			
	GACTACTTCCCCGAACCGGTG	STYRVVSVLTVLH			
	ACGGTGTCGTGGAACTCAGGC	QDWLNGKEYKCKV			
	GCCCTGACCAGCGGCGTGCAC	SNKALPAPIEKTI			
	ACCTTCCCGGCTGTCCTACAG	SKAKGQPREPQVY			
	TCCTCAGGACTCTACTCCCTC	TLPPSRDELTKNQ			
	AGCAGCGTGGTGACCGTGCCC	VSLTCLVKGFYPS			
	TCCAGCAGCTTGGGCACCCAG	DIAVEWESNGQPE			
	ACCTACATCTGCAACGTGAAT	NNYKTTPPVLDSD			
	CACAAGCCCAGCAACACCAAG	GSFFLYSKLTVDK			
	GTGGACAAGAAAGTTGAGCCC	SRWQQGNVFSCSV			
	AAATCTTGTGACAAAACTCAC	MHEALHNHYTQKS			

【表２６－４７】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	ACATGCCCACCGTGCCCAGCA CCTGAACTCCTGGGGGGACCG TCAGTCTTCCTCTTCCCCCCA AAACCCAAGGACACCCTCATG ATCTCCCGGACCCCTGAGGTC ACATGCGTGGTGGTGGACGTG AGCCACGAAGACCCTGAGGTC AAGTTCAACTGGTACGTGGAC GGCGTGGAGGTGCATAATGCC AAGACAAAGCCGCGGGAGGAG CAGTACAACAGCACGTACCGT GTGGTCAGCGTCCTCACCGTC CTGCACCAGGACTGGCTGAAT GGCAAGGAGTACAAGTGCAAG GTCTCCAACAAAGCCCTCCCA GCCCCCATCGAGAAAACCATC TCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACC CTGCCCCCATCCCGGGATGAG	LSLSPGK* (配列番号６４)			

10

20

30

40

【表２６－４８】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
xi3240 5HC (ウサギVh －ヒトIgG 1)	CTGACCAAGAACCAGGTCAGC CTGACCTGCCTGGTCAAAGGC TTCTATCCCAGCGACATCGCC GTGGAGTGGGAGAGCAATGGG CAGCCGGAGAACAACTACAAG ACCACGCCTCCCGTGCTGGAC TCCGACGGCTCCTTCTTCTTA TATTCAAAGCTCACCGTGGAC AAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGTG ATGCATGAGGCTCTGCACAAC CACTACACGCAGAAGAGCCTC TCCCTGTCTCCCGGGAAATGA (配列番号６３) ATGGGCTGGTCCTGCATCATC CTGTTTCTGGTGGCCACCGCC ACCGGCGTGCACTCCCAGTCG CTGGAGGAGTCCGGGGGTCGC CTGGTCACGCCTGGGACACCC	MGWSCIILFLVAT ATGVHSQSLEESG GRLVTPGTPLTLT CTASGFSLSNYAM TWVRQAPGKGLEY	1－57	58－411	412－1404

10

20

30

40

【表２６－４９】

クローン名（種－アイソタイプ）（抗原）	DNA配列	アミノ酸配列	c DNA位置 リーダー	c DNA位置 可変ドメイン	c DNA位置 可変ドメイン
（ヒトMSLN）	CTGACACTCACCTGCACAGCC	IGIISTGGITYYM			
	TCTGGATTCTCCCTCAGTAAC	DSAKGRFTISRTS			
	TATGCAATGACCTGGGTCCGC	TTVDLKMTSLTTE			
	CAGGCTCCAGGGAAGGGGCTA	DTATYFCGRNAGG			
	GAATACATCGGAATCATTAGT	SYIFYYFDLWGQG			
	ACTGGCGGTATCACATACTAT	TLVTVSSASTKGP			
	ATGGACTCGGCAAAAGGCCGA	SVFPLAPSSKSTS			
	TTCACCATCTCCAGAACCTCG	GGTAALGCLVKDY			
	ACCACGGTGGATCTGAAAATG	FPEPVTVSWNSGA			
	ACCAGTCTGACAACCGAGGAC	LTSGVHTFPAVLQ			
	ACGGCCACCCTATTTCTGTGGC	SSGLYSLSSVVTV			
	AGAAATGCCTGGTGGTAGTTAT	PSSSLGTQTYICN			
	ATTTTCTATTATTTTGACTTG	VNHKPSNTKVDKK			
	TGGGGCCAAGGCACCCTGGTC	VEPKSCDKTHTCP			
	ACTGTCTCTTCAGCATCCACC	PCPAPELLGGPSV			
	AAGGGCCCATCGGTCTTCCCC	FLFPPKPKDTLMI			
	CTGGCACCCCTCCTCCAAGAGC	SRTPEVTCVVVDV			
	ACCTCTGGGGGGCACAGCGGCC	SHEDPEVKFNWYV			
	CTGGGCCTGCCTGGTCAAGGAC	DGVEVHNAKTKPR			

【表２６－５０】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	TACTTCCCCGAACCGGTGACG	EEQYNSTYRVVSV			
	GTGTCGTGGAACTCAGGCGCC	LTVLHQDWLNGKE			
	CTGACCAGCGGCGTGCACACC	YKCKVSNKALPAP			
	TTCCCGGCTGTCCTACAGTCC	IEKTISKAKGQPR			
	TCAGGACTCTACTCCCTCAGC	EPQVYTLPPSRDE			
	AGCGTGGTGACCGTGCCCTCC	LTKNQVSLTCLVK			
	AGCAGCTTGGGCACCCAGACC	GFYPSDIAVEWES			
	TACATCTGCAACGTGAATCAC	NGQPENNYKTTPP			
	AAGCCCAGCAACACCAAGGTG	VLDSDGSFFLYSK			
	GACAAGAAAGTTGAGCCCAAA	LTVDKSRWQQGNV			
	TCTTGTGACAAAACTCACACA	FSCSVMHEALHNH			
	TGCCCACCGTGCCCAGCACCT	YTQKSLSLSPGK*			
	GAACTCCTGGGGGGACCGTCA	(配列番号６６)			
	GTCTTCCTCTTCCCCCCAAAAA				
	CCCAAGGACACCCTCATGATC				
	TCCCGGACCCCTGAGGTCACA				
	TGCGTGGTGGTGGACGTGAGC				
	CACGAAGACCCTGAGGTCAAG				
	TTCAACTGGTACGTGGACGGC				

【表２６－５１】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	GTGGAGGTGCATAATGCCAAG				
	ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAG				
	TACAACAGCACGTACCGTGTG				
	GTCAGCGTCCTCACCGTCCTG				
	CACCAGGACTGGCTGAATGGC				
	AAGGAGTACAAGTGCAAGGTC				
	TCCAACAAAGCCCTCCCAGCC				
	CCCATCGAGAAAACCATCTCC				
	AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGA				
	GAACCACAGGTGTACACCCTG				
	CCCCCATCCCGGGATGAGCTG				
	ACCAAGAACCAGGTCAGCCTG				
	ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTC				
	TATCCCAGCGACATCGCCGTG				
	GAGTGGGAGAGCAATGGGCAG				
	CCGGAGAACAACTACAAGACC				
	ACGCCTCCCCGTGCTGGACTCC				
	GACGGCTCCTTCTTCTTATAT				
	TCAAAGCTCACCGTGGACAAG				

【表２６－５２】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	AGCAGGTGGCAGCAGGGGAAC GTCTTCTCATGCTCCGTGATG CATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCC CTGTCTCCGGGAAATGA (配列番号６５)				
xi178F 16HC (ウサギVh －ヒトIgG 1) (ヒトMSL N)	ATGGGCTGGTCCTGCATCATC CTGTTTCTGGTGGCCACCGCC ACCGGCGTGCACTCCCAGTCG TTGGAGGAGTCCGGGGGTCGC CTGGTCACGCCTGGGACACCC CTGACACTCACCTGCACAGCC TCTGGATTCTCCCTCAGTAAC TATGCAATGACCTGGGTCCGC CAGGCTCCCAGGGAAGGGGCTA GAATACATCGGAATCATTAGT ACTGGCGGTATCACACTACTAT ATGGACTCGGCAAAAGGCCGA TTCACCATCTCCAGAACCTCG	MGWSCIILFLVAT ATGVHSQSLEESG GRLVTPGTPLTLT CTASGFSLSNYAM TWVRQAPGKGLEY IGIISTGGITYYM DSAKGRFTISRTS TTVDLKMTSLTTE DTATYFCGRNAGG SYIFYYFDLWGQG TLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDY	1－57	58－411	412－1404

【表２６－５３】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	ACCACGGTGGATCTGAAAATG	FPEPVTVSWNSGA			
	ACCAGTCTGACAACCGAGGAC	LTSGVHTFPAVLQ			
	ACGGCCACCCTATTTCTGTGGC	SSGLYSLSSVVTV			
	AGAAATGCTGGTGGTAGTTAT	PSSSLGTQTYICN			
	ATTTTCTATTATTCGACTTG	VNHKPSNTKVDKK			
	TGGGGCCAAGGGACCCTCGTC	VEPKSCDKTHTCP			
	ACTGTCTCTTCAGCATCCACC	PCPAPELLGGPSV			
	AAGGGCCCATCGGTCTTCCCC	FLFPPKPKDTLMI			
	CTGGCACCCCTCCTCCAAGAGC	SRTPEVTCVVVDV			
	ACCTCTGGGGGCACAGCGGCC	SHEDPEVKFNWYV			
	CTGGGCTGCCTGGTCAAGGAC	DGVEVHNAKTKPR			
	TACTTCCCCGAACCGGTGACG	EEQYNSTYRVVSV			
	GTGTCGTGGAACTCAGGCGCC	LTVLHQDWLNGKE			
	CTGACCAGCGGCGTGCACACC	YKCKVSNKALPAP			
	TTCCCGGCTGTCCTACAGTCC	IEKTISKAKGQPR			
	TCAGGACTCTACTCCCTCAGC	EPQVYTLPPSRDE			
	AGCGTGGTGACCGTGCCCTCC	LTKNQVSLTCLVK			
	AGCAGCTTGGGCACCCAGACC	GFYPSDIAVEWES			
	TACATCTGCAACGTGAATCAC	NGQPENNYKTTPP			

【表２６－５４】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	AAGCCCAGCAACACCAAGGTG GACAAGAAAGTTGAGCCCAAA TCTTGTGACAAAACTCACACA TGCCCACCGTGCCCAGCACCT GAACTCCTGGGGGGACCGTCA GTCTTCCTCTTCCCCCCAAAA CCCAAGGACACCCTCATGATC TCCCGGACCCCTGAGGTCACA TGCGTGGTGGTGGACGTGAGC CACGAAGACCCTGAGGTCAAG TTCAACTGGTACGTGGACGGC GTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAG TACAACAGCACGTACCGTGTG GTCAGCGTCCTCACCGTCCTG CACCAGGACTGGCTGAATGGC AAGGAGTACAAGTGCAAGGTC TCCAACAAAGCCCTCCCAGCC CCCATCGAGAAAACCATCTCC	VLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK* (配列番号６８)			

10

20

30

40

【表２６－５５】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
xi237N 18HC	AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGA GAACCACAGGTGTACACCCTG CCCCCATCCCGGGATGAGCTG ACCAAGAACCAGGTCAGCCTG ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTC TATCCCAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAACTACAAGACC ACGCCTCCCGTGCTGGACTCC GACGGCTCCTTCTTCTTATAT TCAAAGCTCACCGTGGACAAG AGCAGGTGGCAGCAGGGGAAC GTCTTCTCATGCTCCGTGATG CATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCC CTGTCTCCCGGGAAATGA (配列番号６７) ATGGGCTGGTCCTGCATCATC CTGTTTCTGGTGGCCACCGCC	MGWSCIILFLVAT ATGVHSQSLEESG	1－57	58－396		397－1389

10

20

30

40

【表２６－５６】

クローン名（種－アイソタイプ）（抗原）	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
（ウサギVh－ヒトIgG1）（ヒトMSLN）	ACCGGGCGTGCACTCCCAGTCG	GRLVAPGTPLTLT			
	CTGGAGGAGTCCGGGGGTCGC	CTVSGFSLSSYHM			
	CTGGTCGCGCCTGGGACACCC	SWVRQAPGEGLEW			
	CTGACACTCACCTGCACAGTC	IGGITAMSRTYYA			
	TCTGGATTCTCCCTCAGTAGT	SWAKGRFTISKTS			
	TACCACATGAGCTGGGTCCGC	TTVHLKITSPTTE			
	CAGGCTCCAGGGGGAGGGGCTG	DTATYFCAREPGF			
	GAATGGATCGGAGGCATTACT	VSNIWGPGTLVTV			
	GCTATGAGTCGCACATACTAC	SLASTKGPSVFPL			
	GCGAGCTGGGCGAAAGGCCGA	APSSKSTSGGTAA			
	TTCACCATCTCCAAAACCTCG	LGCLVKDYFPEPV			
	ACCACGGTCCATCTGAAAATC	TVSWNSGALTSGV			
	ACCAGTCCGACAACCGAGGAC	HTFPAVLQSSGLY			
	ACGGCCACCCTATTTCTGTGCC	SLSSVVTVPSSSL			
	AGGGAACCCTGGTTTTGTTAGT	GTQTYICNVNHKP			
	AACATCTGGGGGCCCCAGGCACC	SNTKVDKKVEPKS			
	CTGGTCACCGTCTCCTTAGCA	CDKTHTCPPCPAP			
	TCCACCCAAGGGCCCCATCGGTC	ELLGGPSVFLFPP			
	TTCCCCCCTGGCACCCTCCTCC	KPKDTLMISRTPE			

【表２６－５７】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	AAGAGCACCTCTGGGGGCACA	VTCVVVDVSHEDP			
	GCGGCCCTGGGCTGCCTGGTC	EVKFNWYVDGVEV			
	AAGGACTACTTCCCCGAACCG	HNAKTKPREEQYN			
	GTGACGGTGTCGTGGAACTCA	STYRVVSVLTVLH			
	GGCGGCCCTGACCAGCGGCGTG	QDWLNGKEYKCKV			
	CACACCTTCCCGGCTGTCCTA	SNKALPAPIEKTI			
	CAGTCCTCAGGACTCTACTCC	SKAKGQPREPQVY			
	CTCAGCAGCGTGGTGACCGTG	TLPPSRDELTKNQ			
	CCCTCCAGCAGCTTGGGCACC	VSLTCLVKGFYPS			
	CAGACCTACATCTGCAACGTG	DIAVEWESNGQPE			
	AATCACAAGCCCAGCAACACC	NNYKTTPPVLDSD			
	AAGGTGGACAAGAAAGTTGAG	GSFFLYSKLTVDK			
	CCCAAATCTTGTGACAAAACT	SRWQQGNVFSCSV			
	CACACATGCCCACCGTGCCCA	MHEALHNHYTQKS			
	GCACCTGAACTCCTGGGGGGA	LSLSPGK* (配列番号７０)			
	CCGTCAGTCTTCCTCTTCCCC				
	CCAAAACCCAAGGACACCCTC				
	ATGATCTCCCGGACCCCTGAG				
	GTCACATGCGTGGTGGTGGAC				

【表２６－５８】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	GTGAGCCACGAAGACCCTGAG				
	GTCAAGTTCAACTGGTACGTG				
	GACGGCGTGGAGGTGCATAAT				
	GCCAAGACAAAGCCGCGGGAG				
	GAGCAGTACAACAGCACGTAC				
	CGTGTGGTCAGCGTCCTCACC				
	GTCCTGCACCAGGACTGGCTG				
	AATGGCAAGGAGTACAAGTGC				
	AAGGTCTCCAACAAAGCCCTC				
	CCAGCCCCCATCGAGAAAACC				
	ATCTCCAAAGCCAAAGGGCAG				
	CCCCGAGAACCACAGGTGTAC				
	ACCCTGCCCCCATCCCGGGAT				
	GAGCTGACCAAGAACCAGGTC				
	AGCCTGACCTGCCTGGTCAAA				
	GGCTTCTATCCCAGCGACATC				
	GCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT				
	GGGCAGCCGGAGAACAACTAC				
	AAGACCACGCCTCCCGTGCTG				

【表２６－５９】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	GACTCCGACGGCTCCTTCTTC TTATATTCAAAGCTCACCGTG GACAAGAGCAGGTGGCAGCAG GGGAACGTCTTCTCATGCTCC GTGATGCATGAGGCTCTGCAC AACCACTACACGCAGAAGAGC CTCTCCCTGTCTCCGGGAAA TGA (配列番号６９)				
xi383I 18HC (ウサギVh －ヒトIgG 1) (ヒトMSL N)	ATGGGCTGGTCCTGCATCATC CTGTTTCTGGTGGCCACCGCC ACCGGCGTGCACTCCCAGTCG GTGGAGGAGTCCGGGGGTCGC CTGGTCACGCCTGGGGACACCC CTGACACTCACCTGCACAGTC TCTGGATTCTCCCTCAGTAGC TATGCAATGGGCTGGGTCCGC CAGGCTCCAGGGGAGGGGCTG GAATGGATCGGAACCATTAGT	MGWSCIILFLVAT ATGVHSQSVEESG GRLVTPGTPLTLT CTVSGFSLSSYAM GWVRQAPGEGLEW IGTISTGGITYYA SWAKGRFTISKTS TTVDLKITSPTTE DTATYFCARVGSS GYLFYFFNLWGQG	1－57	58－411	412－1404

【表２６－６０】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	c DNA位置 リーダー	c DNA位置 可変ドメイン	c DNA位置 可変ドメイン
	ACTGGTGGTATTACATACTAC	TLVTVSSASTKGP			
	GCGAGCTGGGCGAAAGGCCGA	SVFPLAPSSKSTS			
	TTCACCATCTCCAAAACCTCG	GGTAALGCLVKDY			
	ACCACGGTGGATCTGAAAATC	FPEPVTVSWNSGA			
	ACCAGTCCGACAACCGAGGAC	LTSGVHTFPAVLQ			
	ACGGCCACCCTATTTCTGTGCC	SSGLYSLSSVVTV			
	AGAGTGGGTAGTAGTGGTTAT	PSSSLGTQTYICN			
	CTTTTCTACTTCTTTAACTTG	VNHKPSNTKVDKK			
	TGGGGCCAAGGCACCCTCGTC	VEPKSCDKTHTCP			
	ACTGTCTCTCCTCAGCATCCACC	PCPAPELLGGPSV			
	AAGGGCCCATCGGTCTTCCCC	FLFPPKPKDTLMI			
	CTGGCACCCCTCCTCCAAGAGC	SRTPEVTCVVVDV			
	ACCTCTCTGGGGGGCACAGCGGCC	SHEDPEVKFNWYV			
	CTGGGGCTGCCTGGTCAAGGAC	DGVEVHNAKTKPR			
	TACTTCCCCCGAACCGGTGACG	EEQYNSTYRVVSV			
	GTGTCGTGGAACTCAGGCGCC	LTVLHQDWLNGKE			
	CTGACCAGCGGCGTGCACACC	YKCKVSNKALPAP			
	TTCCCCGGCTGTCCTACAGTCC	IEKTISKAKGQPR			
	TCAGGACTCTACTCCCTCAGC	EPQVYTLPPSRDE			

【表２６－６１】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	AGCGTGGTGACCGTGCCCTCC	LTKNQVSLTCLVK			
	AGCAGCTTGGGCACCCAGACC	GFYPSDIAVEWES			
	TACATCTGCAACGTGAATCAC	NGQPENNYKTTPP			
	AAGCCCAGCAACACCAAGGTG	VLDSDGSFFLYSK			
	GACAAGAAAGTTGAGCCCAAA	LTVDKSRWQQGNV			
	TCTTGTGACAAAACTCACACA	FSCSVMHEALHNH			
	TGCCCACCGTGCCCAGCACCT	YTQKSLSLSPGK*			
	GAACTCCTGGGGGGACCGTCA	(配列番号７２)			
	GTCTTCCTCTTCCCCCCAAAAA				
	CCCAAGGACACCCTCATGATC				
	TCCCGGACCCCCTGAGGTCACA				
	TGCGTGGTGGTGGACGTGAGC				
	CACGAAGACCCCTGAGGTCAAG				
	TTCAACTGGTACGTGGACGGC				
	GTGGAGGTGCATAATGCCAAG				
	ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAG				
	TACAACAGCACGTACCGTGTG				
	GTCAGCGTCCTCACCGTCCTG				
	CACCAGGACTGGCTGAATGGC				

【表２６－６２】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	AAGGAGTACAAGTGCAAGGTC TCCAACAAAGCCCTCCCAGCC CCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGA GAACCACAGGTGTACACCCTG CCCCCATCCCGGGATGAGCTG ACCAAGAACCAGGTCAGCCTG ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTC TATCCCAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAACTACAAGACC ACGCCTCCCGTGCTGGACTCC GACGGCTCCTTCTTCTTATAT TCAAAGCTCACCGTGGACAAG AGCAGGTGGCAGCAGGGGAAC GTCTTCTCATGCTCCGTGATG CATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCC CTGTCTCCCGGGAAATGA				

10

20

30

40

【表２６－６３】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	(配列番号７１)				
xi166B3HC (ウサギVh－ヒトIgG1) (ヒトCA9)	ATGGGCTGGTCCTGCATCATC	MGWSCIILFLVAT	1－57	58－426	427－1419
	CTGTTTCTGGTGGCCCACCGCC	ATGVHSQSVKESR			
	ACCGGCGTGCACAGCCAGTCG	GRLVTPGTPLTLT			
	GTGAAGGAGTCCAGGGGTCGC	CTVSGFSLSRYTL			
	CTGGTCACGCCTGGGGACACCC	IWVRQAPGKGLEW			
	CTGACACTCACCTGCACAGTC	IGIIDSSSSAYYA			
	TCTGGATTCTCCCTCAGTAGG	RWAKGRFTISKTS			
	TATACATTGATCTGGGTCCGC	TTVDLKITSPTTE			
	CAGGCTCCAGGGAAGGGGCTG	DTATYFCARDRVL			
	GAATGGATCGGAATCATAGAT	SYDDYGDLPDGFD			
	AGTAGTAGTGCATACTAC	PWGPGTLVTVSSA			
	GCGAGGGTGGGGCGAAAGGCCGA	STKGPSVFPLAPS			
	TTCACCATCTCCAAAACCTCG	SKSTSGGTAALGC			
	ACCACGGTGGATCTGAAAATC	LVKDYFPEPVTVS			
	ACCAGTCCGACAACCGAGGAC	WNSGALTSGVHTF			
	ACGGCCACCCTATTTCTGTGCC	PAVLQSSGLYSLS			

【表２６－６４】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	AGAGACAGAGTCCTAAGCTAC	SVVTVPSSSLGTQ			
	GATGACTATGGTGATTTGCCC	TYICNVNHKPSNT			
	GATGGTTTCGATCCCTGGGGC	KVDKKVEPKSCDK			
	CCAGGCACCCTGGTCACCGTC	THTCPPCPAPELL			
	TCCTCAGCATCCACCAAGGGC	GGPSVFLFPPKPK			
	CCATCGGTCTTCCCCCTGGCA	DTLMISRTPEVTC			
	CCCTCCTCCAAGAGCACCTCT	VVVDVSHEDPEVK			
	GGGGGCACAGCGGCCCTGGGC	FNWYVDGVEVHNA			
	TGCCTGGTCAAGGACTACTTC	KTKPREEQYNSTY			
	CCCGAACCGGTGACGGTGTCG	RVVSVLTVLHQDW			
	TGGAACTCAGGCGCCCTGACC	LNGKEYKCKVSNK			
	AGCGGCGTGCACACCTTCCCG	ALPAPIEKTISKA			
	GCTGTCCTACAGTCCTCAGGA	KGQPREPQVYTLP			
	CTCTACTCCCTCAGCAGCGTG	PSRDELTKNQVSL			
	GTGACCGTGCCCTCCAGCAGC	TCLVKGFYPSDIA			
	TTGGGCACCCAGACCTACATC	VEWESNGQPENNY			
	TGCAACGTGAATCACAAGCCC	KTTPPVLDSDGSF			
	AGCAACACCAAGGTGGACAAG	FLYSKLTVDKSRW			
	AAAGTTGAGCCCAAATCTTGT	QQGNVFSCSVMHE			

【表２６－６５】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	GACAAAACTCACACATGCCCA CCGTGCCCAGCACCTGAACTC CTGGGGGGACCGTCAGTCTTC CTCTTCCCCCCAAAACCCAAG GACACCCTCATGATCTCCCGG ACCCCTGAGGTCACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGCCACGAA GACCCTGAGGTCAAGTTCAAC TGGTACGTGGACGGCGTGGAG GTGCATAATGCCAAGACAAAG CCGCGGGAGGAGCAGTACAAC AGCACGTACCGTGTGGTCAGC GTCCTCACCGTCCTGCACCAG GACTGGCTGAATGGCAAGGAG TACAAGTGCAAGGTCTCCAAC AAAGCCCTCCCAGCCCCCATC GAGAAAACCATCTCCAAAGCC AAAGGGCAGCCCCGAGAACCA CAGGTGTACACCCTGCCCCCA	ALHNHYTQKSLSL SPGK* (配列番号７４)			

【表２６－６６】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
zu166B3HC (ヒトVh－ヒトIgG	TCCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGACCTGC CTGGTCAAAGGCTTCTATCCC AGCGACATCGCCGTGGAGTGG GAGAGCAATGGGCAGCCGGAG AACAACTACAAGACCACGCCT CCCGTGCTGGACTCCGACGGC TCCTTCTTCTTATATTCAAAG CTCACCGTGGACAAGAGCAGG TGGCAGCAGGGGAACGTCTTC TCATGCTCCGTGATGCATGAG GCTCTGCACAACCACTACACG CAGAAGAGCCTCTCCCTGTCT CCCGGGAAATGA (配列番号７３) ATGGGGCTGGTCCTGCATCATC CTGTTTCTGGTGGCCACCGCC ACCGGCGTGCACAGCGAAGTG CAGCTGGTCGAATCTGGAGGA	MGWSCIILFLVAT ATGVHSEVQLVES GGGLVQPGGSLRL SCAASGFSLSRYT	1－57	58－435	436－1428

【表２６－６７】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
1) (ヒトCA 9)	GGACTGGTGCAGCCTGGAGGG	LIWVRQAPGKGLE			
	AGCCTGAGACTGAGTTGCGCA	WVSIIDSSSSAYY			
	GCAAGCGGGGTTTAGCCTGTCC	ADSVKGRFTISRD			
	CGATACACCCTGATCTGGGTG	NAKNSLYLQMNSL			
	AGACAGGCCCCCGGCAAGGGA	RAEDTAVYYCARD			
	CTGGAGTGGGTCTCTATCATT	RVLSYDDYGDLPD			
	GACAGCTCCTCTAGTGCCTAC	GFDPWGQGTLVTV			
	TATGCTGATAGTGTGAAGGGC	SSASTKGPSVFPL			
	AGGTTCACCATTTCACGCGAC	APSSKSTSGGTAA			
	AACGGCTAAAAAATAGCCCTGTAT	LGCLVKDYFPEPV			
	CTGCAGATGAACTCCCCTGCGG	TVSWNSGALTSGV			
	GCAGAAGACACAGCCGTGTAC	HTFPAVLQSSGLY			
	TATTGCGCACGGGGATAGAGTC	SLSSVVTVPSSSL			
	CTGAGCTACGACGATTATGGG	GTQTYICNVNHKP			
	GACCTGCCCTGACGGCTTTGAT	SNTKVDKKVEPKS			
	CCTTGGGGACAGGGAACTCTG	CDKTHTCPPCPAP			
	GTGACAGTGAGCAGCGCATCC	ELLGGPSVFLFPP			
	ACCAAGGGCCCCATCGGTCTTC	KPKDTLMISRTPE			
	CCCCTGGCACCCTCCTCCAAG	VTCVVVDVSHEDP			

【表２６－６８】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	c DNA位置 リーダー	c DNA位置 可変ドメイン	c DNA位置 可変ドメイン
	AGCACCTCTGGGGGCACAGCG	EVKFNWYVDGVEV			
	GCCCTGGGCTGCCTGGTCAAG	HNAKTKPREEQYN			
	GACTACTTCCCCGAACCGGTG	STYRVVSVLTVLH			
	ACGGTGTCGTGGAACTCAGGC	QDWLNGKEYKCKV			
	GCCCTGACCAGCGGCGTGCAC	SNKALPAPIEKTI			
	ACCTTCCCGGCTGTCCTACAG	SKAKGQPREPQVY			
	TCCTCAGGACTCTACTCCCTC	TLPPSRDELTKNQ			
	AGCAGCGTGGTGACCGTGCCC	VSLTCLVKGFYPS			
	TCCAGCAGCTTGGGCACCCAG	DIAVEWESNGQPE			
	ACCTACATCTGCAACGTGAAT	NNYKTTPPVLDSD			
	CACAAGCCCAGCAACACCAAG	GSFFLYSKLTVDK			
	GTGGACAAGAAAGTTGAGCCC	SRWQQGNVFSCSV			
	AAATCTTGTGACAAAACTCAC	MHEALHNHYTQKS			
	ACATGCCCACCGTGCCCAGCA	LSLSPGK* (配列番号７６)			
	CCTGAACTCCTGGGGGGACCG				
	TCAGTCTTCCTCTTCCCCCCA				
	AAACCCAAGGACACCCTCATG				
	ATCTCCCGGACCCCTGAGGTC				
	ACATGCGTGGTGGTGGACGTG				

【表２６－６９】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	AGCCACGAAGACCCTGAGGTC				
	AAGTTCAACTGGTACGTGGAC				
	GGCGTGGAGGTGCATAATGCC				
	AAGACAAAGCCGCGGGAGGAG				
	CAGTACAACAGCACGTACCGT				
	GTGGTCAGCGTCCTCACCGTC				
	CTGCACCAGGACTGGCTGAAT				
	GGCAAGGAGTACAAGTGCAAG				
	GTCTCCAACAAAGCCCTCCCA				
	GCCCCCATCGAGAAAACCATC				
	TCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC				
	CGAGAACCACAGGTGTACACC				
	CTGCCCCCATCCCGGGATGAG				
	CTGACCAAGAACCAGGTCAGC				
	CTGACCTGCCTGGTCAAAGGC				
	TTCTATCCCAGCGACATCGCC				
	GTGGAGTGGGAGAGCAATGGG				
	CAGCCGGAGAACAACTACAAG				
	ACCACGCCTCCCGTGCTGGAC				

【表２６－７０】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	TCCGACGGCTCCTTCTTCTTA TATTCAAAGCTCACCGTGGAC AAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGTG ATGCATGAGGCTCTGCACAAC CACTACACGCAGAAGAGCCTC TCCCTGTCTCCGGGAAATGA (配列番号７５)				
xi155D 5LC (ウサギVk －ヒトカッパ) (ヒトCA ９)	ATGGGGCTGGTCCTGCATCATC CTGTTTCTGGTGGCCACCGCC ACCGGCGTGCACAGCGAGCTC GTGATGACCCAGACTCCATCC TCCGTGTCTGCAGCTGTGGGA GGCACAGTCACCATCAATTGC CAGGCCAGTCAGAGCATTAGT AGCTACTTAGCCTGGTATCAG CAGAAACCAGGGCAGCCTCCC AAGCTCCTGATCTATGCA TCCACTCTGGGGTCTGGGGTC	MGWSCIILFLVATATGVHS ELVMTQTPSSVSAAVGGTV TINCQASQSISSYLAWYQQ KPGQPPKLLIYYASTLASG VPSRFKGSGSGTEFTLTIT GVQ**CDDA**ATYYCLGVYGYS FDDGIAFGGGTELEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC* (配列番号７８)	1－57	58－390	391－714

10

20

30

40

【表２６－７１】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	CCATCGGCGGTTCAAAGGCAGT				
	GGCTCTGGGACAGAGTTCACT				
	CTCACCATCACCGGCGTGCAG				
	TGTGACGATGCTGCCACTTAC				
	TACTGTCTAGGTGTTTATGGT				
	TATAGTTTTGATGATGGTATT				
	GCTTTCGGCGGAGGGACCGAG				
	CTGGAGATCAAACGAACTGTG				
	GCTGCACCATCTGTCTTCATC				
	TTCCCGCCATCTGATGAGCAG				
	TTGAAATCTGGAACTGCCTCT				
	GTTGTGTGCCTGCTGAATAAC				
	TTCTATCCCAGAGAGGCCAAA				
	GTACAGTGGAAGGTGGATAAC				
	GCCCTCCAATCGGGTAACTCC				
	CAGGAGAGTGTCACAGAGCAG				
	GACAGCAAGGACAGCACCTAC				
	AGCCTCAGCAGCACCCTGACG				
	CTGAGCAAAGCAGACTACGAG				

【表２６－７２】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	AAACACAAAGTCTACGCCTGC GAAGTCACCCATCAGGGCCTG AGCTCGCCCGTCACAAAGAGC TTCAACAGGGGAGAGTGTTGA (配列番号７７)				
z u 1 5 5 D 5 L C － 1 (ヒトＶｋ－ヒトカッパ) (ヒト	ATGGGGTGGTCTTGCATCATT CTGTTCCTGGTGGCAACCGCC ACAGGTGTGCACTCCGACATC CAGATGACTCAGAGTCCATCA ACCCTGTCCGCTAGCGTGGGA GATAGAGTGACTATCACCTGT CAGGCCTCTCAGAGTATTTCC AGCTACCTGGCTTGGTATCAG CAGAAGCCAGGCAAAGCACCC AAGCTGCTGATCTACTATGCT AGTACACTGGCATCAGGAGTG CCTTCCCGCTTCTCAGGTTCC GGCAGCGGAACTGAGTTTACA CTGACTATTTCTAGTCTGCAG	MGWSCIILFLVATATGVHS DIQMTQSPSTLSASVGDRV TITCQASQSISSYLAWYQQ KPGKAPKLLIYYASTLASG VPSRFSGSGSGTEFTLTIS SLQ**CDDF**ATYYCLGVYGYS FDDGIAFGGGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC* (配列番号８０)	1－57	58－390	391－714

【表２６－７３】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	TGCGACGATTTCGCTACCTAC				
	TATTGCCTGGGGGGTGTACGGT				
	TATTCTTTCGACGATGGCATC				
	GCATTTGGCGGAGGGACAAAA				
	GTGGAGATTAAGAGGACTGTG				
	GCCGCTCCCAGTGTGTTCATT				
	TTTCCCCCTAGCGACGAACAG				
	CTGAAAAGCGGGACAGCCTCT				
	GTGGTGTGTCTGCTGAACAAT				
	TTTTACCCTCGGGAGGCCAAA				
	GTGCAGTGGAAGGTGGATAAC				
	GCTCTGCAGTCTGGCAATAGT				
	CAGGAGTCAGTGACCGAACAG				
	GACTCCAAAGATAGCACATAT				
	TCTCTGTCATCCACCCTGACA				
	CTGTCCAAGGCAGACTACGAG				
	AAGCACAAAGTGTATGCCTGC				
	GAAGTGACTCATCAGGGCCTG				
	AGCTCTCCCGTGACCAAGAGC				

【表２６－７４】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	TTTAACAGGGGAGAATGTTGA (配列番号７９)				
zu155D5LC－2 (ヒトVk－ヒトカッパ) (ヒトCA9)	ATGGGGTGGTCTTGCATCATT CTGTTCCTGGTGGCAACCGCC ACAGGTGTGCACTCCGACATC CAGATGACTCAGAGTCCATCA ACCCTGTCCGCTAGCGTGGGA GATAGAGTGACTATCACCTGT CAGGCCTCTCAGAGTATTTCC AGCTACCTGGCTTGGTATCAG CAGAAGCCAGGCAAAGCACCC AAGCTGCTGATCTACTATGCT AGTACACTGGCATCAGGAGTG CCTTCCCGCTTCTCAGGTTCC GGCAGCGGGAACTGAGTTTACA CTGACTATTACTGGTGTGCAG TGCGACGATTTCGCTACCTAC TATTGCCTGGGGGGTGTACGGT TATTCTTTCGACGATGGCATC	MGWSCIILFLVATATGVHS DIQMTQSPSTLSASVGDRV TITCQASQSISSYLAWYQQ KPGKAPKLLIYYASTLASG VPSRFSGSGSGTEFTLTIT GVQ**CDDF**ATYYCLGVYGYS FDDGIAFGGGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC* (配列番号８２)	1－57	58－390	391－714

【表２６－７５】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	GCATTTGGCGGAGGGACAAAA GTGGAGATTAAGAGGACTGTG GCCGCTCCCAGTGTGTTCATT TTTCCCCCTAGCGACGAACAG CTGAAAAGCGGGACAGCCTCT GTGGTGTGTCTGCTGAACAAT TTTTACCCCTCGGGAGGCCAAA GTGCAGTGGAAGGTGGATAAC GCTCTGCAGTCTGGCAATAGT CAGGAGTCAGTGACCGAACAG GACTCCAAAGATAGCACATAT TCTCTGTCATCCACCCTGACA CTGTCCAAGGCAGACTACGAG AAGCACAAAGTGTATGCCTGC GAAGTGACTCATCAGGGCCTG AGCTCTCCCGTGACCAAGAGC TTTAACAGGGGAGAATGTTGA (配列番号８１)				

【表２６－７６】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
zu155D5LC－3 (ヒトVk－ヒトカッパ) (ヒトCA9)	ATGGGGTCTTGCATCATT CTGTTCCTGGTGGCAACCGCC ACAGGTGTGCACTCCGACATC CAGATGACTCAGAGTCCATCA ACCCTGTCCGCTAGCGTGGGA GATAGAGTGACTATCACCTGT CAGGCCTCTCAGAGTATTTCC AGCTACCTGGCTTGGTATCAG CAGAAGCCAGGCAAAGCACCC AAGCTGCTGATCTACTATGCT AGTACACTGGCATCAGGAGTG CCTTCCCGCTTCTCAGGTTCC GGCAGCGGAACTGAGTTTACA CTGACTATTTCTAGTCTGCAG TGCGACGATGCCGCTACCTAC TATTGCCTGGGGGGTGTACGGT TATTCTTTCGACGATGGCATC GCATTTGGCGGAGGGACAAAA GTGGAGATTAAGAGGACTGTG	MGWSCIILFLVATATGVHS DIQMTQSPSTLSASVGDRV TITCQASQSISSYLAWYQQ KPGKAPKLLIYYASTLASG VPSRFSGSGSGTEFTLTIS SLQ**CDDA**ATYYCLGVYGYS FDDGIAFGGGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC* (配列番号８４)	1－57	58－390	391－714

【表２６－７７】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	GCCGCTCCCAGTGTGTTCATT TTTCCCCCTAGCGACGAACAG CTGAAAAGCGGGACAGCCTCT GTGGTGTGTCTGCTGAACAAT TTTTACCCTCGGGAGGCCAAA GTGCAGTGGAAGGTGGATAAC GCTCTGCAGTCTGGCAATAGT CAGGAGTCAGTGACCGAACAG GACTCCAAAGATAGCACATAT TCTCTGTCATCCACCCTGACA CTGTCCAAGGCAGACTACGAG AAGCACAAAGTGTATGCCTGC GAAGTGACTCATCAGGGCCTG AGCTCTCCCGTGACCAAGAGC TTTAACAGGGGAGAATGTTGA (配列番号８３)				

【表２６－７８】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
zu155D5LC－4 (ヒトVk－ヒトカッパ) (ヒトCA9)	ATGGGGGTGGTCTTGCATCATT CTGTTCCTGGTGGCAACCGCC ACAGGTGTGCACTCCGACATC CAGATGACTCAGAGTCCATCA ACCCTGTCCGCTAGCGTGGGA GATAGAGTGACTATCACCTGT CAGGCCTCTCAGAGTATTTCC AGCTACCTGGCTTGGTATCAG CAGAAGCCAGGCAAAGCACCC AAGCTGCTGATCTACTATGCT AGTACACTGGCATCAGGAGTG CCTTCCCGCTTCTCAGGTTCC GGCAGCGGAACTGAGTTTACA CTGACTATTACTGGTGTGCAG TGCGACGATGCCGCTACCTAC TATTGCCTGGGGGGTGTACGGT TATTCTTTCGACGATGGCATC GCATTTGGCGGAGGGACAAAA GTGGAGATTAAGAGGACTGTG	MGWSCIILFLVATATGVHS DIQMTQSPSTLSASVGDRV TITCQASQSISSYLAWYQQ KPGKAPKLLIYYASTLASG VPSRFSGSGSGTEFTLTIT GVQ**CDDA**ATYYCLGVYGYS FDDGIAFGGGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC* (配列番号８６)	1－57	58－390	391－714

【表２６－７９】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	GCCGCTCCCAGTGTGTTCATT TTTCCCCCTAGCGACGAACAG CTGAAAAGCGGGACAGCCTCT GTGGTGTGTCTGCTGAACAAT TTTTACCCTCGGGAGGCCAAA GTGCAGTGGAAGGTGGATAAC GCTCTGCAGTCTGGCAATAGT CAGGAGTCAGTGACCGAACAG GACTCCAAAGATAGCACATAT TCTCTGTCATCCACCCTGACA CTGTCCAAGGCAGACTACGAG AAGCACAAAGTGTATGCCTGC GAAGTGACTCATCAGGGCCTG AGCTCTCCCGTGACCAAGAGC TTTAACAGGGGAGAATGTTGA (配列番号８５)				

【表２６－８０】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
zu155D5LC－5 (ヒトVk－ヒトカッパ) (ヒトCA9)	ATGGGGTGGTCTTGCATCATT CTGTTCCTGGTGGCAACCGCC ACAGGTGTGCACTCCGACATC CAGATGACTCAGAGTCCATCA ACCCTGTCCGCTAGCGTGGGA GATAGAGTGACTATCACCTGT CAGGCCTCTCAGAGTATTTCC AGCTACCTGGCTTGGTATCAG CAGAAGCCAGGCAAAGCACCC AAGCTGCTGATCTACTATGCT AGTACACTGGCATCAGGAGTG CCTTCCCGCTTCAAAGGTTCC GGCAGCGGAACTGAGTTTACA CTGACTATTACTGGTGTGCAG TGCGACGATGCCGCTACCTAC TATTGCCTGGGGGGTGTACGGT TATTCTTTCGACGATGGCATC GCATTTGGCGGAGGGACAAAA GTGGAGATTAAGAGGACTGTG	MGWSCIILFLVATATGVHS DIQMTQSPSTLSASVGDRV TITCQASQSISSYLAWYQQ KPGKAPKLLIYYASTLASG VPSRFKGSGSGTEFTLTIT GVQ**CDDA**ATYYCLGVYGYS FDDGIAFGGGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC* (配列番号８８)	1－57	58－390	391－714

10

20

30

40

【表２６－８１】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	GCCGCTCCCAGTGTGTTCATT TTTCCCCCTAGCGACGAACAG CTGAAAAGCGGGACAGCCTCT GTGGTGTGTCTGCTGAACAAT TTTTACCCCTCGGGAGGCCAAA GTGCAGTGGAAGGTGGATAAC GCTCTGCAGTCTGGCAATAGT CAGGAGTCAGTGACCGAACAG GACTCCAAAGATAGCACATAT TCTCTGTCATCCACCCTGACA CTGTCCAAGGCAGACTACGAG AAGCACAAAGTGTATGCCTGC GAAGTGACTCATCAGGGCCTG AGCTCTCCCGTGACCAAGAGC TTTAACAGGGGAGAATGTTGA (配列番号８７)				

【表２６－８２】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
zu155D5LC－6 (ヒトVk－ヒトカッパ) (ヒトCA9)	ATGGGGTGGTCTTGCATCATT CTGTTCCTGGTGGCAACCGCC ACAGGTGTGCACTCCGACATC CAGATGACTCAGAGTCCATCA ACCGTGTCCGCTGCAGTGGGA GGTACAGTGACTATCACCTGT CAGGCCTCTCAGAGTATTTCC AGCTACCTGGCTTGGTATCAG CAGAAGCCAGGCAAAGCACCC AAGCTGCTGATCTACTATGCT AGTACACTGGCATCAGGAGTG CCTTCCCGCTTCTCAGGTTCC GGCAGCGGAACTGAGTTTACA CTGACTATTACTGGTGTGCAG TGCGACGATGCCGCTACCTAC TATTGCCTGGGGGGTGTACGGT TATTCTTTCGACGATGGCATC GCATTTGGCGGAGGGACAAAA GTGGAGATTAAGAGGACTGTG	MGWSCIILFLVATATGVHS DIQMTQSPSTVSAAVGGTV TITCQASQSISSYLAWYQQ KPGKAPKLLIYYASTLASG VPSRFSGSGSGTEFTLTIT GVQ**CDDA**ATYYCLGVYGYS FDDGIAFGGGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC* (配列番号９０)	1－57	58－390	391－714

10

20

30

40

【表２６－８３】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	GCCGCTCCCAGTGTGTTCATT TTTCCCCCTAGCGACGAACAG CTGAAAAGCGGGACAGCCTCT GTGGTGTGTCTGCTGAACAAT TTTTACCCCTCGGGAGGCCAAA GTGCAGTGGAAGGTGGATAAC GCTCTGCAGTCTGGCAATAGT CAGGAGTCAGTGACCGAACAG GACTCCAAAGATAGCACATAT TCTCTGTCATCCACCCTGACA CTGTCCAAGGCAGACTACGAG AAGCACAAAGTGTATGCCTGC GAAGTGACTCATCAGGGCCTG AGCTCTCCCGTGACCAAGAGC TTTAACAGGGGAGAATGTTGA (配列番号８９)				

【表２６－８４】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
zu155D5LC－7 (ヒトVk－ヒトカッパ) (ヒトCA9)	ATGGGGGTGGTCTTGCATCATT CTGTTCCTGGTGGCAACCGCC ACAGGTGTGCACTCCGACATC CAGATGACTCAGAGTCCATCA ACCCTGTCCGCTAGCGTGGGA GATAGAGTGACTATCACCTGT CAGGCCTCTCAGAGTATTTCC AGCTACCTGGCTTGGTATCAG CAGAAGCCAGGCAAAGCACCC AAGCTGCTGATCTACTATGCT AGTACACTGGCATCAGGAGTG CCTTCCCGCTTCTCAGGTTCC GGCAGCGGAACTGAGTTTACA CTGACTATTACTGGTGTGCAG TGCGACGATGCCGCTACCTAC TATTGCCTGGGGGGTGTACGGT TATTCTTTCGACGATGGCATC GCATTTGGCGGAGGGACAGAG CTGGAGATTAAGAGGACTGTG	MGWSCIILFLVATATGVHS DIQMTQSPSTLSASVGDRV TITCQASQSISSYLAWYQQ KPGKAPKLLIYYASTLASG VPSRFSGSGSGTEFTLTIT GVQ**CDDA**ATYYCLGVYGYS FDDGIAFGGGTELEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC* (配列番号９２)	1－57	58－390	391－714

10

20

30

40

【表２６－８５】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	GCCGCTCCCAGTGTGTTCATT TTTCCCCCTAGCGACGAACAG CTGAAAAGCGGGACAGCCTCT GTGGTGTGTCTGCTGAACAAT TTTTACCCTCGGGAGGCCAAA GTGCAGTGGAAGGTGGATAAC GCTCTGCAGTCTGGCAATAGT CAGGAGTCAGTGACCGAACAG GACTCCAAAGATAGCACATAT TCTCTGTCATCCACCCTGACA CTGTCCAAGGCAGACTACGAG AAGCACAAAGTGTATGCCTGC GAAGTGACTCATCAGGGCCTG AGCTCTCCCGTGACCAAGAGC TTTAACAGGGGAGAATGTTGA (配列番号９１)				

【表２６－８６】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
zu155D5LC－hu VK1－39 (ヒトVk－ヒトカッパ) (ヒトCA9)	ATGGGCTGGTCCTGCATCATC CTGTTTCTGGTGGCCACCGCC ACCGGCGTGCACAGCGACATT CAGATGACTCAGTCCCCCTCC TCCCTTTCGGCCTCCGTCGGC GACCGCGTGACCATTACCTGT CAAGCCAGCCAGTCCATCTCC TCCTACTTGGCCTGGTACCAA CAGAAGCCAGGAAAAGCTCCT AAGCTGCTCATCTACGCCGCC TCCACTCTGGCGTCTGGTGTC CCGTCACGGTTCAGCGGGTCC GGATCAGGAACTGACTTCACC CTGACGATCAGCCTCCAG TGCGAGGATTTTGCGACCTAC TACTGCCTGGGGGGTGTATGGT TACTCGTTCGACGATGGAATC GCATTCGGCTCGGGCACCAAG GTGGAAATCAAACGAACTGTG	MGWSCIILFLVATATGVHS DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCQASQSISSYLAWYQQ KPGKAPKLLIYYASTLASG VPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQ**CEDF**ATYYCLGVYGYS FDDGIAFGSGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC* (配列番号９４)	1－57	58－390	391－714

10

20

30

40

【表２６－８７】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	GCTGCACCATCTGTCTTCATC TTCCCGCCATCTGATGAGCAG TTGAAATCTGGAACTGCCTCT GTTGTGTGCCTGCTGAATAAC TTCTATCCCAGAGAGGCCAAA GTACAGTGGAAGGTGGATAAC GCCCTCCAATCGGGTAACTCC CAGGAGAGTGTCACAGAGCAG GACAGCAAGGACAGCACCTAC AGCCTCAGCAGCACCCTGACG CTGAGCAAAGCAGACTACGAG AAACACAAAGTCTACGCCTGC GAAGTCACCCATCAGGGCCTG AGCTCGCCCGTCACAAAGAGC TTCAACAGGGGAGAGTGTTGA (配列番号９３)				

【表２６－８８】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
zu155D5LC－hu VK2－40 (ヒトVk－ヒトカッパ) (ヒトCA9)	ATGGGCTGGTCCTGCATCATC	MGWSCIILFLVATATGVHS	1－57	58－390	391－714
	CTGTTTCTGGTGGCCACCGCC	DIVMTQTPLSLPVTPGEPA			
	ACCGGCGTGCACAGCGACATT	SISCQASQSISSYLAWYLQ			
	GTGATGACCCAGACTCCTCTC	KPGQSPQLLIYYASTLASG			
	TCCCTGCCCGTGACTCCTGGA	VPDRFSGSGSGTDFTLKIS			
	GAACCCGCCTCGATCTCATGT	RVE**CEDV**GVYYCLGVYGYS			
	CAAGCGTCGCAGAGCATCTCC	FDDGIAFGSGTKVEIKRTV			
	TCATACTTGGCTTGGTACCTC	AAPSVFIFPPSDEQLKSGT			
	CAAAAGCCGGGCCAGAGCCCA	ASVVCLLNNFYPREAKVQW			
	CAGCTTCTGATCTATTACGCC	KVDNALQSGNSQESVTEQD			
	TCCACCCCTGGCCTCGGGCGTG	SKDSTYSLSSTLTLSKADY			
	CCGGATCGGTTTTTCCGGTTCT	EKHKVYACEVTHQGLSSPV			
	GGAAGCGGGAACCGACTTCACC	TKSFNRGEC*			
	CTGAAAATCTCCCGCGTGGAG	(配列番号９６)			
	TGCGAGGACGTGGGCGTGTAC				
	TACTGCCTGGGGAGTCTACGGG				
	TACTCCTTCGATGACGGCATT				
	GCATTCGGGGTCCGGTACCAAG				
	GTCGAAATCAAACGAACTGTG				

【表２６－８９】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	GCTGCACCATCTGTCTTCATC TTCCCGCCATCTGATGAGCAG TTGAAATCTGGAACTGCCTCT GTTGTGTGCCTGCTGAATAAC TTCTATCCCAGAGAGGCCAAA GTACAGTGGAAGGTGGATAAC GCCCTCCAATCGGGTAACTCC CAGGAGAGTGTCACAGAGCAG GACAGCAAGGACAGCACCTAC AGCCTCAGCAGCACCCTGACG CTGAGCAAAGCAGACTACGAG AAACACAAAGTCTACGCCTGC GAAGTCACCCATCAGGGCCTG AGCTCGCCCGTCACAAAGAGC TTCAACAGGGGAGAGTGTTGA (配列番号９５)				

【表２６－９０】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
zu155D5LC－hu VK3－11 (ヒトVk－ヒトカッパ) (ヒトCA9)	ATGGGCTGGTCCTGCATCATC CTGTTTCTGGTGGCCACCGCC ACCGGCGTGCACAGCGAAATT GTGCTCACTCAATCCCCTGCC ACCCTTTCCTTGTCCCCCGGC GAAAGAGCCACTCTGTCATGT CAAGCCAGCCAGTCGATCTCC TCTTACCTGGCTTGGTACCAG CAGAAGCCAGGACAGGCACCG CGCCTGCTGATCTACTACGCG TCGACCCCTCGCCTCGGGAATC CCGGCCCGGTTCAGCGGATCA GGCTCCGGTACCGACTTCACT CTGACCATTAGCTCCCTGGAG TGCGAGGACTTCGCGGTGTAT TACTGCCTGGGGGGTGTACGGC TACTCCTTCGATGACGGAATC GCCTTTGGGAGCGGTACCAAG GTCGAGATCAAACGAACTGTG	MGWSCIILFLVATATGVHS EIVLTQSPATLSLSPGERA TLSCQASQSISSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYYASTLASG IPARFSGSGSGTDFTLTIS SLE**CEDF**AVYYCLGVYGYS FDDGIAFGSGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC* (配列番号９８)	1－57	58－390	391－714

【表２６－９１】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	GCTGCACCATCTGTCTTCATC TTCCCGCCATCTGATGAGCAG TTGAAATCTGGAACTGCCTCT GTTGTGTGCCTGCTGAATAAC TTCTATCCCAGAGAGGCCAAA GTACAGTGGAAGGTGGATAAC GCCCTCCAATCGGGTAACTCC CAGGAGAGTGTCACAGAGCAG GACAGCAAGGACAGCACCTAC AGCCTCAGCAGCACCCTGACG CTGAGCAAAGCAGACTACGAG AAACACAAAGTCTACGCCTGC GAAGTCACCCATCAGGGCCTG AGCTCGCCCGTCACAAAGAGC TTCAACAGGGGAGAGTGTTGA (配列番号９７)				

【表２６－９２】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
zu155D5LC－huVK4－1 (ヒトVk－ヒトカッパ) (ヒトCA9)	ATGGGCTGGTCCTGCATCATC	MGWSCIILFLVATATGVHS	1－57	58－390	391－714
	CTGTTTCTGGTGGCCACCGCC	DIVMTQSPDSLAVSLGERA			
	ACCGGCGTGCACAGCGATATC	TINCQASQSISSYLAWYQQ			
	GTGATGACCCAAAGCCCTGAC	KPGQPPKLLIYYASTLASG			
	TCCCTTGCCGTGTCACTCGGA	VPDRFSGSGSGTDFTLTIS			
	GAACGCGCCACCATCAACTGT	SLQ**CEDV**AVYYCLGVYGYS			
	CAAGCGTCGCAGTCCATCTCC	FDDGIAFGSGTKVEIKRTV			
	TCATACCTGGCCTGGTATCAG	AAPSVFIFPPSDEQLKSGT			
	CAGAAACCGGGGCAGCCGCCA	ASVVCLLNNFYPREAKVQW			
	AAGCTGCTGATCTACTACGCT	KVDNALQSGNSQESVTEQD			
	TCCACTCTGGGCCTCCGGCGTG	SKDSTYSLSSTLTLSKADY			
	CCCGATCGGTTCTCCGGATCG	EKHKVYACEVTHQGLSSPV			
	GGCTCCGGCACCGACTTTACT	TKSFNRGEC*			
	CTGACCATTAGCAGCCTCCAG	(配列番号１００)			
	TGCGAGGACGTGGCGGTGTAC				
	TACTGCTTGGGGTGTCTACGGA				
	TACTCCTTCGACGACGGGGATC				
	GCATTCGGTTCGGGGAACCAAG				
	GTCGAGATTAAACGAACTGTG				

【表２６－９３】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	GCTGCACCATCTGTCTTCATC TTCCCGCCATCTGATGAGCAG TTGAAATCTGGAACTGCCTCT GTTGTGTGCCTGCTGAATAAC TTCTATCCCAGAGAGGCCAAA GTACAGTGGAAGGTGGATAAC GCCCTCCAATCGGGTAACTCC CAGGAGAGTGTCACAGAGCAG GACAGCAAGGACAGCACCTAC AGCCTCAGCAGCACCCTGACG CTGAGCAAAGCAGACTACGAG AAACACAAAGTCTACGCCTGC GAAGTCACCCATCAGGGCCTG AGCTCGCCCGTCACAAAGAGC TTCAACAGGGGAGAGTGTTGA (配列番号９９)				

【表２６－９４】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
zu155D5LC－hu VK6－21 (ヒトVk－ヒトカッパ) (ヒトCA9)	ATGGGCTGGTCCTGCATCATC	MGWSCIILFLVATATGVHS	1－57	58－390	391－714
	CTGTTTCTGGTGGCCACCGCC	EIVLTQSPDFQSVTPKEKV			
	ACCGGGCGTGCACAGCGAAATC	TITCQASQSISSYLAWYQQ			
	GTCTTGACCCAAAGCCCTGAC	KPDQSPKLLIKYASTLASG			
	TTCCAATCCGTGACCCCCAAG	VPSRFSGSGSGTDFTLTIN			
	GAAAAGGTCACCATCACGTGT	SLE**CEDA**ATYYCLGVYGYS			
	CAGGCCTCCCAGTCAATTTCC	FDDGIAFGSGTKVEIKRTV			
	TCGTACCTTGCGTGGTACCAG	AAPSVFIFPPSDEQLKSGT			
	CAGAAGCCAGACCAGTCCCCG	ASVVCLLNNFYPREAKVQW			
	AAGCTCCTGATTAAGTACGCA	KVDNALQSGNSQESVTEQD			
	TCCACCCCTGGCTAGCGGAGTG	SKDSTYSLSSTLTLSKADY			
	CCGAGCCCGGTTCTCGGGATCC	EKHKVYACEVTHQGLSSPV			
	GGCTCTGGAACTGACTTCACT	TKSFNRGEC*			
	CTGACCATCAACTCGCTCGAG	(配列番号１０２)			
	TGCGAAGATGCCGCCACTTAC				
	TATTGCCTGGGGGGTGTACGGG				
	TACTCATTTGACGATGGCATC				
	GCCTTCGGCTCCGGTACCAAA				
	GTGGAGATCAAACGAACTGTG				

【表２６－９５】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	GCTGCACCATCTGTCTTCATC TTCCCGCCATCTGATGAGCAG TTGAAATCTGGAACTGCCTCT GTTGTGTGCCTGCTGAATAAC TTCTATCCCAGAGAGGCCAAA GTACAGTGGAAGGTGGATAAC GCCCTCCAATCGGGTAACTCC CAGGAGAGTGTCACAGAGCAG GACAGCAAGGACAGCACCTAC AGCCTCAGCAGCACCCTGACG CTGAGCAAAGCAGACTACGAG AAACACAAAGTCTACGCCTGC GAAGTCACCCATCAGGGCCTG AGCTCGCCCGTCACAAAGAGC TTCAACAGGGGAGAGTGTTGA (配列番号１０１)				
ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ６Ｄ－４	ATGGGCTGGTCCTGCATCATC CTGTTTCTGGTGGCCACCGCC ACCGGCGTGCACAGCGACGTC	MGWSCIILFLVATATGVHS DVVMTQSPAFLSVTPGEKV TITCQASQSISSYLAWYQQ KPDQAPKLLIKYASTLASG	1－57	58－390	391－714

【表２６－９６】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
1 (ヒトVk－ヒトカッパ) (ヒトCA9)	GTGATGACTCAAAGCCCCGCA TTCCTTTCCGTGACTCCTGGA GAAAAGGTCACCATCACCTGT CAAGCCAGCCAGTCCATTTCG TCCTACTTGGCCTGGTATCAG CAGAAGCCAGACCAGGCCCCG AAGCTGCTGATTAAGTACGCC TCCACCCTGGCCAGCGGAGTG CCGTCACGGTTCTCCGGGTCC GGCTCAGGAACCGACTTCACG TTCACCATCTCGTCCCTCGAG TGCGAAGATGCTGCCGACTTAC TACTGCCTGGGGCGTGTACGGT TACTCGTTTTGATGACGGCATC GCGTTCGGGGTCTGGAACCAAA GTGGAGATCAAACGAACTGTG GCTGCACCATCTGTCTTCATC TTCCCGCCATCTGATGAGCAG TTGAAATCTGGAACTGCCTCT	VPSRFSGSGSGTDFTFTIS SLE**CEDA**ATYYCLGVYGYS FDDGIAFGSGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC* (配列番号１０４)			

10

20

30

40

【表２６－９７】

クローン名（種－アイソタイプ）（抗原）	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	GTTGTGTGGCCTGCTGAATAAC TTCTATCCCAGAGAGGCCAAA GTACAGTGGAAGGTGGATAAC GCCCTCCAATCGGGTAACTCC CAGGAGAGTGTCACAGAGCAG GACAGCAAGGACAGCACCTAC AGCCTCAGCAGCACCCTGACG CTGAGCAAAGCAGACTACGAG AAACACAAAGTCTACGCCTGC GAAGTCACCCATCAGGGCCTG AGCTCGCCCGTCACAAAGAGC TTCAACAGGGGAGAGTGTTGA （配列番号１０３）				

【表２６－９８】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
zu155D5LC－hu VK7－3－Glu81 (ヒトVk－ヒトカッパ) (ヒトCA9)	ATGGGCTGGTCCTGCATCATC CTGTTTCTGGTGGCCACCGCC ACCGGCGTGCACAGCGATATC GTCCTCACTCAATCCCCCGCT TCACTCGCCGTGTCCCCTGGT CAACGCGCCACCATTACGTGT CAGGCGTCCCAGTCCATTTCG AGCTACCTTGCATGGTACCAG CAGAAGCCTGGACAGCCCCCG AAACTGCTGATCTATTACGCC TCCACCTTGGCCTCGGGAGTG CCAGCGCGGTTTAGCGGTTCG GGCTCCGGCACTGACTTCACT CTGACCATCAACCCCGGTGGAG TGCGAAGATACCGCCAACTAC TACTGCCTGGGGGGTGTACGGA TACTCATTCGACGACGGGGATC GCCTTCGGAAGCGGCACCAAG GTCGAAATCAAACGAACTGTG	MGWSCIILFLVATATGVHS DIVLTQSPASLAVSPGQRA TITCQASQSISSYLAWYQQ KPGQPPKLLIYYASTLASG VPARFSGSGSGTDFTLTIN PVE**CEDT**ANYYCLGVYGYS FDDGIAFGSGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC* (配列番号１０６)	1－57	58－390	391－714

10

20

30

40

【表２６－９９】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	GCTGCACCATCTGTCTTCATC TTCCCGCCATCTGATGAGCAG TTGAAATCTGGAACTGCCTCT GTTGTGTGCCTGCTGAATAAC TTCTATCCCAGAGAGGCCAAA GTACAGTGGAAGGTGGATAAC GCCCTCCAATCGGGTAACTCC CAGGAGAGTGTCACAGAGCAG GACAGCAAGGACAGCACCTAC AGCCTCAGCAGCACCCTGACG CTGAGCAAAGCAGACTACGAG AAACACAAAGTCTACGCCTGC GAAGTCACCCATCAGGGCCTG AGCTCGCCCGTCACAAAGAGC TTCAACAGGGGAGAGTGTTGA (配列番号１０５)				

【表２６－１００】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
xi1－55－2LC (ウサギVk－ヒトカッパ) (ヒトTEM1)	ATGGGCTGGTCCTGCATCATC CTGTTTCTGGTGGCCACCGCC ACCGGCGTGCACTCCGAGCTC GTGATGACCCAGACTCCAGCC TCTGTGGAGGTAGCTGTGGGA GGCACAGTCACCATCAAGTGC CAGGCCAGTCAGAGCATTAAT ACCTACTTAGCCTGGTATCAG CAGAAACCAGGGCAGCCTCCC AAGCTCCTGATCTACAGGGCA TCCACTCTGGCATCTGGGGTC CCATCGCGGTTCAAAGGCAGT GGATCTGGGACAGAGTTCACT CTCACCATTAGCGACCTGGAG TGTGCCGATGCTGCCACTTAC TACTGTCAACAGAGTGTTCGT GTTATTGATGTTGATAATACT TTCGGCGGAGGGACCGAGGTG GTGGTCAAACGAACTGTGGCT	MGWSCIILFLVATATGVHS ELVMTQTPASVEVAVGGTV TIKCQASQSINTYLAWYQQ KPGQPPKLLIYRASTLASG VPSRFKGSGSGTEFTLTIS DLE**CADA**ATYYCQQSVRVI DVDNTFGGGTEVVVKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYSLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC* (配列番号１０８)	1－57	58－387	388－711

【表２６－１０１】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	GCACCATCTGTCTTCATCTTC CCGCCATCTGATGAGCAGTTG AAATCTGGAACTGCCTCTGTT GTGTGCCTGCTGAATAACTTC TATCCCAGAGAGGCCAAAGTA CAGTGGAAGGTGGATAACGCC CTCCAATCGGGTAACTCCCAG GAGAGTGTCACAGAGCAGGAC AGCAAGGACAGCACCTACAGC CTCAGCAGCACCCTGACGCTG AGCAAAGCAGACTACGAGAAA CACAAAGTCTACGCCTGCGAA GTCACCCATCAGGGCCTGAGC TCGCCCGTCACAAAGAGCTTC AACAGGGGGAGAGTGTTGA (配列番号１０７)				

【表２６－１０２】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
xi1E4LC (ウサギVk－ヒトカッパ) (ヒトCA9)	ATGGGCTGGTCCTGCATCATC CTGTTTCTGGTGGCCACCGCC ACCGGCGTGCACAGCGAGCTC GTGATGACCCAGACTCCATCC TACACGTCTGCAGCTGTGGGA GACACAGTCACCATCAAGTGC CAGGCCAGTCAGACCATTGGT GGTAGCGACTTATCCTGGTAT CAGCAGAAACCAGGGCAGCCT CCCAAACTCCTGATCTGGTAT GCAACCAATCTGCCATCTGGG GTCCCATCGCGGTTCAGTGGC AGTAGATCTGGGACAGAGTAC ACTCTCACCATCAGCGGCGTG CAGTGTGAGGATGCTGCCACC TACTACTGTCTAGGTGGTTAT GCTGCTGCTTCTTACAGAACT GCTTTCGGCGGAGGGACCGAG GTGGTCGTCAAACGAACTGTG	MGWSCIILFLVATATGVHS ELVMTQTPSYTSAAVGDTV TIKCQASQTIGGSDLSWYQ QKPGQPPKLLIWYATNLPS GVPSRFSGSRSGTEYTLTI SGVQ**CEDA**ATYYCLGGYAA ASYRTAFGGGTEVVVKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC* (配列番号１１０)	1－57	58－390	391－714

10

20

30

40

【表２６－１０３】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
zu1E4L C－CXXF (ヒトVk－	GCTGCACCATCTGTCTTCATC TTCCCGCCATCTGATGAGCAG TTGAAATCTGGAACTGCCTCT GTTGTGTGCCTGCTGAATAAC TTCTATCCCAGAGAGGCCAAA GTACAGTGGAAGGTGGATAAC GCCCTCCAATCGGGTAACTCC CAGGAGAGTGTCACAGAGCAG GACAGCAAGGACAGCACCTAC AGCCTCAGCAGCACCCTGACG CTGAGCAAAGCAGACTACGAG AAACACAAAGTCTACGCCTGC GAAGTCACCCATCAGGGCCTG AGCTCGCCCGTCACAAAGAGC TTCAACAGGGGAGAGTGTTGA (配列番号１０９)	MGWSCIILFLVAT ATGVHSDIQMTQS PSFLSASVGDRVT	1－57	58－390	391－714

【表２６－１０４】

クローン名（種－アイソタイプ）（抗原）	DNA配列	アミノ酸配列	c DNA位置 リーダー	c DNA位置 可変ドメイン	c DNA位置 可変ドメイン
ヒトカッパ）（ヒトCA９）	CAGATGACCCAGAGCCCTTCC	ITCQASQTIGGSD			
	TTCCTGTCAGCCAGCGTCGGG	LSWYQQKPGKAPK			
	GATAGAGTCACAATCACTTGC	LLIYYATNLPSGV			
	CAGGCCAGCCAGACCATTGGC	PSRFSGSGSGTDF			
	GGGAGCGACCTGTCCTGGTAC	TLTISSLQCEDFA			
	CAGCAGAAGCCCCGGAAAAGCC	TYYCLGGYAAASY			
	CCTAAGCTGCTGATCTACTAT	RTAFGGGTKVEIK			
	GCTACAAACCTGCCATCTGGC	RTVAAPSVFIFPP			
	GTGCCCAGCCGGTTCTCTGGA	SDEQLKSGTASVV			
	AGTGGCTCAGGGACTGACTTT	CLLNNFYPREAKV			
	ACCCTGACAATTAGCTCCCTG	QWKVDNALQSGNS			
	CAGTGCGAGGATTTCGCCACC	QESVTEQDSKDST			
	TACTATTGTCTGGGGGGCTAT	YSLSSTLTLSKAD			
	GCCGGCCAAGCTACCGCACC	YEKHKVYACEVTH			
	GCCTTCGGAGGAGGAACTAAA	QGLSSPVTKSFNR			
	GTGGAAATCAAACGAACTGTG	GEC*			
	GCTGCACCATCTGTCTTCATC	（配列番号１１２）			
	TTCCCGCCATCTGATGAGCAG				
	TTGAAATCTGGAACTGCCTCT				

【表２６－１０５】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	GTTGTGTGGCCTGCTGAATAAC TTCTATCCCAGAGAGGCCAAA GTACAGTGGAAGGTGGATAAC GCCCTCCAATCGGGTAACTCC CAGGAGAGTGTCACAGAGGCAG GACAGCAAGGACAGCACCTAC AGCCTCAGCAGCACCCTGACG CTGAGCAAAGCAGACTACGAG AAACACAAAGTCTACGCCTGC GAAGTCACCCATCAGGGCCTG AGCTCGCCCGTCACAAAGAGC TTCAACAGGGGAGAGTGTTGA (配列番号１１１)				
ｚｕ１Ｅ４ＬＣ－ＣＸＸＡ（ヒトＶｋ－ヒトカッパ）（ヒトＣＡ９）	ATGGGGCTGGTCCTGCATCATC CTGTTTCTGGTGGCCCACCGCC ACCGGGCGTGCACAGCGATATT CAGATGACTCAGAGCCCCTTCC TTCCTGTCCGCTTCCGTCGGG GATCGGGTCACAATCACTTGC	MGWSCIILFLVAT ATGVHSDIQMTQS PSFLSASVGDRVT ITCQASQTIGGSD LSWYQQKPGKAPK LLIYYATNLPSGV	1－57	58－390	391－714

【表２６－１０６】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	CAGGCCTCACAGACTATTGGC	PSRFSGSGSGTDF			
	GGGAGCGACCTGTCCTGGTAC	TLTISSLQCEDAA			
	CAGCAGAAGCCCGGAAAAGCA	TYYCLGGYAAASY			
	CCTAAGCTGCTGATCTACTAT	RTAFGGGTKVEIK			
	GCCACAAACCTGCCATCTGGC	RTVAAPSVFIFPP			
	GTGCCCAGCCGGTTCTCTGGA	SDEQLKSGTASVV			
	AGTGGCTCAGGGACTGACTTT	CLLNNFYPREAKV			
	ACCCTGACAATTAGCTCCCTG	QWKVDNALQSGNS			
	CAGTGCGAGGATGCCGCTACC	QESVTEQDSKDST			
	TACTATTGTCTGGGGGGCTAC	YSLSSTLTLSKAD			
	GCCGCCGCTTCATACAGGACC	YEKHKVYACEVTH			
	GCCTTCGGAGGAGGAACTAAA	QGLSSPVTKSFNR			
	GTGGAAATCAAACGAACTGTG	GEC* (配列番号１１４)			
	GCTGCACCATCTGTCTTCATC				
	TTCCCGCCATCTGATGAGCAG				
	TTGAAATCTGGAACTGCCTCT				
	GTTGTGTGCCTGCTGAATAAC				
	TTCTATCCCAGAGAGGCCAAA				
	GTACAGTGGAAGGTGGATAAC				

【表２６－１０７】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	GCCCTCCAATCGGGTAACTCC CAGGAGAGTGTCACAGAGCAG GACAGCAAGGACAGCACCTAC AGCCTCAGCAGCACCCTGACG CTGAGCAAAGCAGACTACGAG AAACACAAAGTCTACGCCTGC GAAGTCACCCATCAGGGCCTG AGCTCGCCCGTCACAAAGAGC TTCAACAGGGGAGAGTGTTGA (配列番号１１３)				
xi330 1LC (ウサギVk －ヒトカッパ) (ヒトMSLN)	ATGGGCTGGTCCTGCATCATC CTGTTTTCTGGTGGCCACCGCC ACCGGCGTGCACTCCGAAGTG TTGATGACCCAGACTCCATCC TCCGTGTCTGCAGCTGTGGGA GACACAGTCACCATCAAGTGC CAGGCCAGTCAGAGCATTAGT AGTGTCTTGTCCTGGTATCAG CAGAAACCAGGGCAGCCTCCC	MGWSCIILFLVAT ATGVHSEVLMTQT PSSVSAAVGDTVT IKCQASQSISSVL SWYQQKPGQPPKL LIYLASTLASGVP SRFSGSRSGTEFT LTISDLECDDAAT YYCQTNYGTSSSN	1－57	58－393	394－717

【表２６－１０８】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	AAGCTCCTGATCTATCTGGCA	YGFAFGGGTEVVV			
	TCCACTCTGGCATCTGGGGTC	KRTVAAPSVFIFP			
	CCATCGCGGTTCAGCGGCAGT	PSDEQLKSGTASV			
	AGATCTGGGACAGAGTTCACT	VCLLNNFYPREAK			
	CTCACCATCAGCGACCTGGAG	VQWKVDNALQSGN			
	TGTGACGATGCTGCCACTTAC	SQESVTEQDSKDS			
	TACTGTCAAACCAATTATGGT	TYSLSSTLTLSKA			
	ACTAGTAGTAGTAATTATGGT	DYEKHKVYACEVT			
	TTTGCTTTCGGCGGAGGGACC	HQGLSSPVTKSFN			
	GAGGTGGTCGTCAAACGAACT	RGEC*			
	GTGGCTGCACCATCTGTCTTC	(配列番号１１６)			
	ATCTTCCCGCCATCTGATGAG				
	CAGTTGAAATCTGGAACTGCC				
	TCTGTTGTGTGCCTGCTGAAT				
	AACTTCTATCCCAGAGAGGCC				
	AAAGTACAGTGGAAGGTGGAT				
	AACGCCCTCCAATCGGGTAAC				
	TCCCAGGAGAGTGTCACAGAG				
	CAGGACAGCAAGGACAGCACC				

【表２６－１０９】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	TACAGCCTCAGCAGCACCCTG ACGCTGAGCAAAGCAGACTAC GAGAAACACAAAGTCTACGCC TGCGAAGTCACCCATCAGGGC CTGAGCTCGCCCGTCACAAAG AGCTTCAACAGGGGAGAGTGT TGA (配列番号１１５)				
z u 3 3 O 1 1 L C － C X X F (ヒトＶｋ－ ヒトカッパ) (ヒトＭＳＬ Ｎ)	ATGGGCTGGTCCTGCATCATC CTGTTTTCTGGTGGCCACCGCC ACCGGCGTGCACAGCGACATT CAGATGACCCAGTCCCCCAAGC TCGCTGTCCGCCTCCGTGGGC GACCGCGTGACCATCACGTGC CAGGCGTCCCAGTCAATTAGC AGCGTGCTCTCCTGGTACCAA CAGAAGCCGGGGAAAGCACCC AAGCTGCTGATCTACTTGGCC TCCACTCTGGCCTCGGGAGTG	MGWSCIILFLVAT ATGVHSDIQMTQS PSSLSASVGDRVT ITCQASQSISSVL SWYQQKPGKAPKL LIYLASTLASGVP SRFSGSGSGTDFT LTISSLQCEDFAT YYCQTNYGTSSSN YGFAFGGGTKVEI KRTVAAPSVFIFP	1－57	58－393	394－717

10

20

30

40

【表２６－１１０】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	CCTTCACGGTTCTCCGGATCG	PSDEQLKSGTASV			
	GGATCTGGTACTGATTTCACC	VCLLNNFYPREAK			
	CTCACCATCTCGAGCCTTCAG	VQWKVDNALQSGN			
	TGCGAGGACTTCGCTACTTAC	SQESVTEQDSKDS			
	TATTGTCAAACCAACTACGGA	TYSLSSTLTLSKA			
	ACCTCCAGCTCCAACTACGGC	DYEKHKVYACEVT			
	TTTGCCTTCGGTGGCGGGACC	HQGLSSPVTKSFN			
	AAGGTCGAAATCAAACGAACT	RGEC*			
	GTGGCTGCACCATCTGTCTTC	(配列番号１１８)			
	ATCTTCCCCGCCATCTGATGAG				
	CAGTTGAAATCTGGAACTGCC				
	TCTGTTGTGTGCCTGCTGAAT				
	AACTTCTATCCCAGAGAGGCC				
	AAAGTACAGTGGAAGGTGGAT				
	AACGCCCTCCAATCGGGTAAC				
	TCCCAGGAGAGTGTCACAGAG				
	CAGGACAGCAAGGACAGCACC				
	TACAGCCTCAGCAGCACCCTG				
	ACGCTGAGCAAAGCAGACTAC				

【表２６－１１１】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	GAGAAACACAAAGTCTACGCC TGCGAAGTCACCCATCAGGGC CTGAGCTCGCCCGTCACAAAG AGCTTCAACAGGGGAGAGTGT TGA (配列番号１１７)				
zu33O1 1LC－CX XA (ヒトVk－ ヒトカッパ) (ヒトMSL N)	ATGGGCTGGTCCTGCATCATC CTGTTTTCTGGTGGCCACCGCC ACCGGCGTGCACAGCGACATT CAGATGACCCAGTCCCCAAGC TCGCTGTCCGCCTCCGTGGGC GACCGCGTGACCATCACGTGC CAGGCGTCCCAGTCAATTAGC AGCGTGCTCTCCTGGTACCAA CAGAAGCCGGGGAAAGCACCC AAGCTGCTGATCTACTTGGCC TCCACTCTGGCCTCGGGAGTG CCTTCACGGTTCTCCGGATCG GGATCTGGTACTGATTTCACC	MGWSCIILFLVAT ATGVHSDIQMTQS PSSLSASVGDRVT ITCQASQSISSVL SWYQQKPGKAPKL LIYLASTLASGVP SRFSGSGSGTDFT LTISSLQCEDAAT YYCQTNYGTSSSN YGFAFGGGTKVEI KRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAK	1－57	58－393	394－717

10

20

30

40

【表２６－１１２】

クローン名（種－アイソタイプ）（抗原）	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	CTCACCATCTCGAGCCTTCAG TGCGAGGACGCCGCTACTTAC TATTGTCAAACCAACTACGGA ACCTCCAGCTCCAACTACGGC TTTGCCTTCGGTGGCGGGACC AAGGTCGAAATCAAACGAACT GTGGCTGCACCATCTGTCTTC ATCTTCCCGCCATCTGATGAG CAGTTGAAATCTGGAACTGCC TCTGTTGTGTGCCTGCTGAAT AACTTCTATCCCAGAGAGGCC AAAGTACAGTGGAAGGTGGAT AACGCCCTCCAATCGGGTAAC TCCCAGGAGAGTGTCACAGAG CAGGACAGCAAGGACAGCACC TACAGCCTCAGCAGCACCCTG ACGCTGAGCAAAGCAGACTAC GAGAAACACAAAGTCTACGCC TGCGAAGTCACCCATCAGGGC	VQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFN RGEC* (配列番号１２０)			

【表２６－１１３】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	CTGAGCTCGCCCGTCACAAAG AGCTTCAACAGGGGAGAGTGT TGA (配列番号１１９)				
zu33O1 1LC－CX XI (ヒトVk－ ヒトカッパ) (ヒトMSL N)	ATGGGCTGGTCCTGCATCATC CTGTTTTCTGGTGGCCACCGCC ACCGGCGTGCACAGCGACATT CAGATGACCCAGTCCCCAAGC TCGCTGTCCGCCTCCGTGGGC GACCGCGTGACCATCACGTGC CAGGCGTCCCAGTCAATTAGC AGCGTGCTCTCCTGGTACCAA CAGAAGCCGGGGAAAGCACCC AAGCTGCTGATCTACTTGGCC TCCACTCTGGCCTCGGGAGTG CCTTCACGGTTCTCCGGATCG GGATCTGGTACTGATTTCACC CTCACCATCTCGAGCCTTCAG TGCGAGGACATCGCTACTTAC	MGWSCIILFLVAT ATGVHSDIQMTQS PSSLSASVGDRVT ITCQASQSISSVL SWYQQKPGKAPKL LIYLASTLASGVP SRFSGSGSGTDFT LTISSLQCEDIAT YYCQTNYGTSSSN YGFAFGGGTKVEI KRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDS	1－57	58－393	394－717

【表２６－１１４】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	c DNA位置 リーダー	c DNA位置 可変ドメイン	c DNA位置 可変ドメイン
	TATTGTCAAACCAACTACGGA ACCTCCAGCTCCAACTACGGC TTTGCCTTCGGTGGCGGGACC AAGGTCGAAATCAAACGAACT GTGGCTGCACCATCTGTCTTC ATCTTCCCGCCATCTGATGAG CAGTTGAAATCTGGAACTGCC TCTGTTGTGTGCCTGCTGAAT AACTTCTATCCCAGAGAGGCC AAAGTACAGTGGAAGGTGGAT AACGCCCTCCAATCGGGTAAC TCCCAGGAGAGTGTCACAGAG CAGGACAGCAAGGACAGCACC TACAGCCTCAGCAGCACCCTG ACGCTGAGCAAAGCAGACTAC GAGAAACACAAAGTCTACGCC TGCGAAGTCACCCATCAGGGC CTGAGCTCGCCCGTCACAAAG AGCTTCAACAGGGGAGAGTGT	TYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFN RGEC* (配列番号１２２)			

【表２６－１１５】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	TGA (配列番号１２１)				
xi3240 5LC (ウサギVk －ヒトカッパ) (ヒトMSLN)	ATGGGCTGGTCCTGCATCATC	MGWSCIILFLVAT	1－57	58－381	382－705
	CTGTTTCTGGTGGCCACCGCC	ATGVHSAFELTQT			
	ACCGGCGTGCACTCCGCATTC	PSSVEAAVGGTVT			
	GAATTGACCCAGACTCCATCC	IKCQASQSIYSYL			
	TCCGTGGAGGCAGCTGTGGGA	AWYQQKPGQPPKL			
	GGCACAGTCACCATCAAGTGC	LIYSASTLASGVS			
	CAGGCCAGTCAGAGCATTTAC	SRFRGSGSGTEYT			
	AGTTATTTAGCCTGGTATCAG	LTISDLECADAAT			
	CAGAAACCAGGGCAGCCTCCC	YYCQTYYYDIVTST			
	AAGCTCCTGATCTATTCTGCA	FGGGTEVVVKRTV			
	TCCACTCTGGCATCTGGGGTC	AAPSVFIFPPSDE			
	TCATCGCGGGTTCAGAGGGCAGT	QLKSGTASVVCLL			
	GGATCTGGGACAGAATACACT	NNFYPREAKVQWK			
	CTCACCATCAGCGACCTGGAG	VDNALQSGNSQES			
	TGTGCCGATGCTGCCACTTAC	VTEQDSKDSTYSL			
	TACTGTCAAAACCTATTATGAT	SSTLTLSKADYEK			

【表２６－１１６】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	ATTGTTACTAGTACTTTCGGC GGAGGGACCGAGGTGGTCGTC AAACGAACTGTGGCTGCACCA TCTGTCTTCATCTTCCCGCCA TCTGATGAGCAGTTGAAATCT GGAACTGCCTCTGTTGTGTGC CTGCTGAATAACTTCTATCCC AGAGAGGCCAAAGTACAGTGG AAGGTGGATAACGCCCTCCAA TCGGGTAACTCCCAGGAGAGT GTCACAGAGCAGGACAGCAAG GACAGCACCTACAGCCTCAGC AGCACCCTGACGCTGAGCAAA GCAGACTACGAGAAACACAAA GTCTACGCCTGCGAAGTCACC CATCAGGGCCTGAGCTCGCCC GTCACAAAGAGCTTCAACAGG GGAGAGTGTTGA (配列番号１２３)	HKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC * (配列番号１２４)			

10

20

30

40

【表２６－１１７】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
xi178F16LC (ウサギVk－ヒトカッパ) (ヒトMSLN)	ATGGGCTGGTCCTGCATCATC	MGWSCIILFLVAT	1－57	58－381	382－705
	CTGTTTCTGGTGGCCACCGCC	ATGVHSAFELTQT			
	ACCGGCGTGCACTCCGCATTC	PSSVEAAVGGTVT			
	GAATTGACCCAGACTCCATCC	IKCQASQSIYSYL			
	TCCGTGGAGGCAGCTGTGGGA	AWYQQKPGQPPKL			
	GGCACAGTCACCATCAAGTGC	LIYSASTLASGVS			
	CAGGCCAGTCAGAGCATTTAC	SRFRGSGSGTEYI			
	AGTTATTTAGCCTGGTATCAG	LTISDLECADAAT			
	CAGAAACCAGGGCAGCCTCCC	YYCQTYYYDIVTST			
	AAGCTCCTGATCTATTCTGCA	FGGGTEVVVKRTV			
	TCCACTCTGGCATCTGGGGTC	AAPSVFIFPPSDE			
	TCATCGCGGTTCAGAGGCAGT	QLKSGTASVVCLL			
	GGATCTGGGACAGAATACATT	NNFYPREAKVQWK			
	CTCACCATCAGCGGACCTGGAG	VDNALQSGNSQES			
	TGTGCCGATGCTGCCACTTAC	VTEQDSKDSTYSL			
	TACTGTCAAAACCTATTATGAT	SSTLTLSKADYEK			
	ATTGTTACTAGTACTTTCGGC	HKVYACEVTHQGL			
	GGAGGGACCGAGGTGGTGGTC	SSPVTKSFNRGEC			
	AAACGAACTGTGGCTGCACCA	*			

【表２６－１１８】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	TCTGTCTTCATCTTCCCGCCA TCTGATGAGCAGTTGAAATCT GGAACTGCCTCTGTTGTGTGC CTGCTGAATAACTTCTATCCC AGAGAGGCCAAAGTACAGTGG AAGGTGGATAACGCCCTCCAA TCGGGTAACTCCCAGGAGAGT GTCACAGAGCAGGACAGCAAG GACAGCACCTACAGCCTCAGC AGCACCCTGACGCTGAGCAAA GCAGACTACGAGAAACACAAA GTCTACGCCTGCGAAGTCACC CATCAGGGCCTGAGCTCGCCC GTCACAAAGAGCTTCAACAGG GGAGAGTGTTGA (配列番号１２５)	(配列番号１２６)			
xi237N 18LC (ウサギVk	ATGGGCTGGTCCTGCATCATC CTGTTTCTGGTGGCCACCGCC ACCGGCGTGCACTCCGCCGTC	MGWSCIILFLVAT ATGVHSAVVLTQT ASPVSGVVGGTVT	1－57	58－381	382－705

【表２６－１１９】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	c DNA位置 リーダー	c DNA位置 可変ドメイン	c DNA位置 可変ドメイン
－ヒトカッパ) (ヒトMSLN)	GTGCTGACCCAGACTGCATCC	IKCQASQNIYSNL			
	CCCGTGTCTGGAGTTGTGGGA	AWYQQKPGQRPKL			
	GGCACAGTCACCATCAAGTGC	LMYDASTLASGVP			
	CAGGCCAGTCAGAACATTTAC	SRFKGSGSGTQFT			
	AGCAATTTAGCCTGGTATCAG	LTISDLECADAAT			
	CAGAAACCAGGGCAGCCGTCCC	YYCQSISSVDNNV			
	AAGCTCCTGATGTATGATGCA	FGGGTEVVVKRTV			
	TCCACTCTGGCATCTGGGGTC	AAPSVFIFPPSDE			
	CCATCGCCGGTTCAAAGGCAGT	QLKSGTASVVCLL			
	GGATCTGGGACACAGTTCACT	NNFYPREAKVQWK			
	CTCACCATCAGCGACCTGGAG	VDNALQSGNSQES			
	TGTGCCGATGCTGCCACTTAC	VTEQDSKDSTYSL			
	TACTGTCAAAGTATTAGTAGT	SSTLTLSKADYEK			
	GTTGACAATAATGTTTTTCGGC	HKVYACEVTHQGL			
	GGAGGGACCGAGGTGGTGGTC	SSPVTKSFNRGEC			
	AAACGAACTGTGGCTGCACCA	*			
	TCTGTCTTCATCTTCCCGCCA	(配列番号１２８)			
	TCTGATGAGCAGTTGAAATCT				
	GGAACTGCCTCTGTTGTGTGC				

【表２６－１２０】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	CTGCTGAATAACTTCTATCCC AGAGAGGCCAAAGTACAGTGG AAGGTGGATAACGCCCTCCAA TCGGGTAACTCCCAGGAGAGT GTCACAGAGCAGGACAGCAAG GACAGCACCTACAGCCTCAGC AGCACCCTGACGCTGAGCAAA GCAGACTACGAGAAACACAAA GTCTACGCCTGCGAAGTCACC CATCAGGGCCTGAGCTCGCCC GTCACAAAGAGCTTCAACAGG GGAGAGTGTTGA (配列番号１２７)				
xi383I 18LC (ウサギVk －ヒトカッパ) (ヒトMSL	ATGGGGCTGGTCCTGCATCATC CTGTTTCTGGTGGCCACCGCC ACCGGGCGTGCACTCCGTATTC GAATTGACCCAGACTCCATCC CCCGTGTCTGCAGCTGTGGGA GGCACAGTCACCATCAGGTGC	MGWSCIILFLVAT ATGVHSVFELTQT PSPVSAAVGGTVT IRCQASQNIKSYL AWYQQKPGQPPKL LIYEASILASGVS	1－57	58－381	382－705

【表２６－１２１】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
N)	CAGGCCAGTCAGAACATTAAG	SRFKGSGSGTEFT			
	AGCTACTTAGCCTGGTATCAG	LTISDLECADAAT			
	CAGAAACCAGGGCAGCCTCCC	YYCQSYYAASSNA			
	AAACTCCTGATCTATGAAGCA	FGGGTEVVVKRTV			
	TCCATTCTGGCATCTGGGGTC	AAPSVFIFPPSDE			
	TCATCGCGGTTCAAAGGCAGT	QLKSGTASVVCLL			
	GGATCTGGGACAGAGTTCACT	NNFYPREAKVQWK			
	CTCACCATCAGCGACCTGGAG	VDNALQSGNSQES			
	TGTGCCGATGCTGCCACTTAC	VTEQDSKDSTYSL			
	TACTGTCAAAGCTATTATGCT	SSTLTLSKADYEK			
	GCTAGTAGTAATGCTTTCGGC	HKVYACEVTHQGL			
	GGAGGGACCGAGGTGGTGGTC	SSPVTKSFNRGEC			
	AAACGAACTGTGGCTGCACCA	*			
	TCTGTCTTCATCTTCCCGCCA	(配列番号１３０)			
	TCTGATGAGCAGTTGAAATCT				
	GGAACTGCCTCTGTTGTGTGC				
	CTGCTGAATAACTTCTATCCC				
	AGAGAGGCCAAAGTACAGTGG				
	AAGGTGGATAACGCCCTCCAA				

【表２６－１２２】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
xi166B3LC (ウサギVk－ヒトカッパ) (ヒトCA9)	TCGGGTAACTCCCAGGAGAGT GTCACAGAGCAGGACAGCAAG GACAGCACCTACAGCCTCAGC AGCACCCTGACGCTGAGCAAA GCAGACTACGAGAAACACAAA GTCTACGCCTGCGAAGTCACC CATCAGGGCCTGAGCTCGCCC GTCACAAAGAGCTTCAACAGG GGAGAGTGTTGA (配列番号１２９)	MGWSCIILFLVAT ATGVHSELVMTQT PSSVSAAVGGTVT INCQASQSISNYL SWYQQKPGQPPKL LIFAASKLASWVP KRFSGSRSGIEYT LTISGVQCDDAAT YFCLGVYSISTDD	1－57	58－390	391－714

【表２６－１２３】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	c DNA位置 リーダー	c DNA位置 可変ドメイン	c DNA位置 可変ドメイン
	AAGCTCCTGATCTTTGCTGCA	GAAFGGGTEVVVK			
	TCCAAACTGGCATCTTGGGTC	RTVAAPSVFIFPP			
	CCAAAGCGGTTCAGTGGCAGC	SDEQLKSGTASVV			
	AGATCTGGGATAGAATACACT	CLLNNFYPREAKV			
	CTCACCATTAGCGGCGTGCAG	QWKVDNALQSGNS			
	TGTGACGATGCTGCCACTTAC	QESVTEQDSKDST			
	TTCTGTCTAGGAGTTTATAGT	YSLSSTLTLSKAD			
	ATTAGTACTGATGATGGAGCT	YEKHKVYACEVTH			
	GCTTTCGGCGGAGGGACCGAG	QGLSSPVTKSFNR			
	GTGGTCGTCAAACGAACTGTG	GEC* (配列番号１３２)			
	GCTGCACCATCTGTCTTCATC				
	TTCCCGCCATCTGATGAGCAG				
	TTGAAATCTGGAACTGCCTCT				
	GTTGTGTGCCTGCTGAATAAC				
	TTCTATCCCAGAGAGGCCAAA				
	GTACAGTGGAAGGTGGATAAC				
	GCCCTCCAATCGGGTAACTCC				
	CAGGAGAGTGTCACAGAGGAC				
	GACAGCAAGGACAGCACCTAC				

【表２６－１２４】

クローン名（種－アイソタイプ）（抗原）	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	AGCCTCAGCAGCACCCTGACG CTGAGCAAAGCAGACTACGAG AAACACAAAGTCTACGCCTGC GAAGTCACCCATCAGGGCCTG AGCTCGCCCGTCACAAAGAGC TTCAACAGGGGAGAGTGTTGA （配列番号１３１）				
zu166B3LC－CXXF（ヒトVk－ヒトカッパ）（ヒトCA9）	ATGGGCTGGTCCTGCATCATC CTGTTTCTGGTGGCCACCGCC ACCGGCGTGCACAGCGATATT CAGATGACCCAGTCTCCTTCC TCCCTGTCCGCTTCCGTCGGC GATAGAGTCACAATCACTTGC CAGGCTTCCCAGAGCATCAGC AACTACCTGTCCTGGTATCAG CAGAAGCCCGGCAAAGCACCT AAGCTGCTGATCTACGCCGCT TCTAAACTGGCAAGCGGAGTG CCAAGCCGGTTCTCTGGAAGT	MGWSCIILFLVAT ATGVHSDIQMTQS PSSLSASVGDRVT ITCQASQSISNYL SWYQQKPGKAPKL LIYAASKLASGVP SRFSGSGSGTDFT LTISSLQCEDFAT YYCLGVYSISTDD GAAFGGGTKVEIK RTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVV	1－57	58－390	391－714

【表２６－１２５】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	GGGTCAGGAACTGACTTTACC	CLLNNFYPREAKV			
	CTGACAATTAGCTCCCCTGCAG	QWKVDNALQSGNS			
	TGCGAGGATTTCGCTACCTAC	QESVTEQDSKDST			
	TATTGTCTGGGCGTCTATTCA	YSLSSTLTLSKAD			
	ATCTCAACTGACGACGGAGCC	YEKHKVYACEVTH			
	GCATTCGGAGGGGGCACCAAA	QGLSSPVTKSFNR			
	GTGGAAATCAAACGAACTGTG	GEC*			
	GCTGCACCATCTGTCTTCATC	(配列番号１３４)			
	TTCCCGCCATCTGATGAGCAG				
	TTGAAATCTGGAACTGCCTCT				
	GTTGTGTGCCTGCTGAATAAC				
	TTCTATCCCAGAGAGGCCAAA				
	GTACAGTGGAAGGTGGATAAC				
	GCCCTCCAATCGGGTAACTCC				
	CAGGAGAGTGTCACAGAGCAG				
	GACAGCAAGGACAGCACCTAC				
	AGCCTCAGCAGCACCCTGACG				
	CTGAGCAAAGCAGACTACGAG				
	AAACACAAAGTCTACGCCTGC				

【表２６－１２６】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	GAAGTCACCCATCAGGGCCTG AGCTCGCCCGTCACAAAGAGC TTCAACAGGGGAGAGTGTTGA (配列番号１３３)				
zu166B3LC－CXXA (ヒトVk－ヒトカッパ) (ヒトCA9)	ATGGGCTGGTCCTGCATCATC CTGTTTTCTGGTGGCCACCGCC ACCGGCGTGCACAGCGATATT CAGATGACCCAGAGCCCTTCC TCCCTGTCCGCTAGTGTCGGG GATAGAGTGACCATTACTTGC CAGGCCAGCCAGAGCATTAGC AACTACCTGTCCTGGTATCAG CAGAAGCCCGGCAAAGCTCCT AAGCTGCTGATCTACGCCGCT TCTAAACTGGCAAGCGGAGTG CCAAGCCGGTTCTCTGGAAGT GGGTCAGGAACTGACTTTACC CTGACAATTAGCTCCCTGCAG TGCGAGGATGCAGCCACCTAC	MGWSCIILFLVAT ATGVHSDIQMTQS PSSLSASVGDRVT ITCQASQSISNYL SWYQQKPGKAPKL LIYAASKLASGVP SRFSGSGSGTDFT LTISSLQCEDAAT YYCLGVYSISTDD GAAFGGGTKVEIK RTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVV CLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDST	1－57	58－390	391－714

【表２６－１２７】

クローン名（種－アイソタイプ）（抗原）	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	TATTGTCTGGGCGTCTACTCA ATCTCAACCGACGGAGCT GCTTTTGGAGGGGGCACTAAG GTGGAAATCAAACGAACTGTG GCTGCACCATCTGTCTTCATC TTCCCGCCATCTGATGAGCAG TTGAAATCTGGAACTGCCTCT GTTGTGTGCCTGCTGAATAAC TTCTATCCCAGAGAGGCCAAA GTACAGTGGAAGGTGGATAAC GCCCTCCAATCGGGTAACTCC CAGGAGAGTGTCACAGAGCAG GACAGCAAGGACAGCACCTAC AGCCTCAGCAGCACCCTGACG CTGAGCAAAGCAGACTACGAG AAACACAAAGTCTACGCCTGC GAAGTCACCCATCAGGGCCTG AGCTCGCCCGTCACAAAGAGC TTCAACAGGGGAGAGTGTTGA	YSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNR GEC* （配列番号１３６）			

10

20

30

40

【表２６－１２８】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	(配列番号１３５)				
ヒトガンマ鎖 定常領域	GCATCCACCAAGGGCCCATCG	ASTKGPSVFPLAP	NA	NA	1—993
	GTCTTCCCCCTGGCACCCTCC	SSKSTSGGTAALG			
	TCCAAGAGCACCTCTGGGGGC	CLVKDYFPEPVTV			
	ACAGCGGCCCTGGGCTGCCTG	SWNSGALTSGVHT			
	GTCAAGGACTACTTCCCCGAA	FPAVLQSSGLYSL			
	CCGGTGACGGTGTCGTGGAAC	SSVVTVPSSSLGT			
	TCAGGCGCCCTGACCAGCGGC	QTYICNVNHKPSN			
	GTGCACACCTTCCCGGCTGTC	TKVDKKVEPKSCD			
	CTACAGTCCTCAGGACTCTAC	KTHTCPPCPAPEL			
	TCCCTCAGCAGCGTGGTGACC	LGGPSVFLFPPKP			
	GTGCCCTCCAGCAGCTTGGGC	KDTLMISRTPEVT			
	ACCCAGACCTACATCTGCAAC	CVVVDVSHEDPEV			
	GTGAATCACAAGCCCAGCAAC	KFNWYVDGVEVHN			
	ACCAAGGTGGACAAGAAAGTT	AKTKPREEQYNST			
	GAGCCCAAATCTTGTGACAAA	YRVVSVLTVLHQD			
	ACTCACACATGCCCACCGTGC	WLNGKEYKCKVSN			

【表２６－１２９】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	c DNA位置 リーダー	c DNA位置 可変ドメイン	c DNA位置 可変ドメイン
	CCAGCACCTGAACTCCTGGGG	KALPAPIEKTISK			
	GGACCGTCAGTCTTCCTCTTC	AKGQPREPQVYTL			
	CCCCCAAAACCCAAGGACACC	PPSRDELTKNQVS			
	CTCATGATCTCCCGGACCCCT	LTCLVKGFYPSDI			
	GAGGTCACATGCGTGGTGGTG	AVEWESNGQPENN			
	GACGTGAGCCACGAAGACCCT	YKTTPPVLDSDGS			
	GAGGTCAAGTTCAACTGGTAC	FFLYSKLTVDKSR			
	GTGGACGGCGTGGAGGTGCAT	WQQGNVFSCSVMH			
	AATGCCAAGACAAAGCCGCGG	EALHNHYTQKSLS			
	GAGGAGCAGTACAACAGCACG	LSPGK* (配列番号１３８)			
	TACCGTGTGGTCAGCGTCCTC				
	ACCGTCCTGCACCAGGACTGG				
	CTGAATGGCAAGGAGTACAAG				
	TGCAAGGTCTCCAACAAAGCC				
	CTCCCAGCCCCCCATCGAGAAA				
	ACCATCTCCAAAGCCAAAGGG				
	CAGCCCCGAGAACCACAGGTG				
	TACACCCTGCCCCCATCCCGG				
	GATGAGCTGACCAAGAACCAG				

【表２６－１３０】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
ヒトカッパ鎖 定常領域	GTCAGCCTGACCTGCCTGGTC AAAGGCTTCTATCCCAGCGAC ATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC AATGGGCAGCCGGAGAACAAC TACAAGACCACGCCTCCCGTG CTGGACTCCGACGGCTCCTTC TTCTTATATTCAAAGCTCACC GTGGACAAGAGCAGGTGGCAG CAGGGGAACGTCTTCTCATGC TCCGTGATGCATGAGGCTCTG CACAACCACTACACGCAGAAG AGCCTCTCCCTGTCTCCGGG AAATGA (配列番号１３７) CGAACTGTGGCTGCACCATCT GTCTTCATCTTCCCGCCATCT GATGAGCAGTTGAAATCTGGA ACTGCCTCTGTTGTGTGCCTG CTGAATAACTTCTATCCCAGA	RTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVV CLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDST	NA	NA	1－324

10

20

30

40

【表２６－１３１】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	GAGGCCAAAGTACAGTGGAAG GTGGATAACGCCCTCCAATCG GGTAACTCCCAGGAGAGTGTC ACAGAGCAGGACAGCAAGGAC AGCACCTACAGCCTCAGCAGC ACCCTGACGCTGAGCAAAGCA GACTACGAGAAACACAAAGTC TACGCCTGCGAAGTCACCCAT CAGGGCCTGAGCTCGCCCGTC ACAAAGAGCTTCAACAGGGGA GAGTGTTGA (配列番号１３９)	YSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNR GEC* (配列番号１４０)			
ウサギガンマ鎖定常領域	GGGCAACCTAAGGCTCCATCA GTCTTCCCCACTGGCCCCCTGC TGCGGGGACACACCCAGCTCC ACGGTGACCCTGGGCTGCCTG GTCAAAGGCTACCTCCCGGAG CCAGTGACCGTGACCTGGAAC TCGGGCACCCTCACCAATGGG	GQPKAPSVFPLAP CCGDTPSSTVTLG CLVKGYLPEPVTV TWNSGTLTNGVRT FPSVRQSSGLYSL SSVVSVTSSSQPV TCNVAHPATNTKV	NA	NA	1−972

10

20

30

40

【表２６－１３２】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	GTACGGCACCTTCCCGTCCGTCC	DKTVAPSTCSKPT			
	CGGCAGTCCTCAGGCCTCTAC	CPPPELLGGPSVF			
	TCGCTGAGCAGCGTGGTGAGC	IFPPKPKDTLMIS			
	GTGACCTCAAGCAGCCAGCCCC	RTPEVTCVVVDVS			
	GTCACCTGCAACGTGGCCCAC	QDDPEVQFTWYIN			
	CCAGCCACCAACACCAAAGTG	NEQVRTARPPLRE			
	GACAAGACCGTTGCACCCTCG	QQFNSTIRVVSTL			
	ACATGCAGCAAGCCCACGTGC	PITHQDWLRGKEF			
	CCACCCCCCTGAACTCCTGGGG	KCKVHNKALPAPI			
	GGACCGTCTGTCTTCATCTTC	EKTISKARGQPLE			
	CCCCCAAAACCCAAGGACACC	PKVYTMGPPREEL			
	CTCATGATCTCACGCACCCCC	SSRSVSLTCMING			
	GAGGTCACATGCGTGGTGGTG	FYPSDISVEWEKN			
	GACGTGAGCCAGGATGACCCC	GKAEDNYKTTPAV			
	GAGGTGCAGTTCACATGGTAC	LDSDGSYFLYNKL			
	ATAAACAACGAGGCAGGTGCGC	SVPTSEWQRGDVF			
	ACCGCCCCGGCCGCCGCTACGG	TCSVMHEALHNHY			
	GAGCAGCAGTTCAACAGCACG	TQKSISRSPGK*			
	ATCCGCGTGGTCAGCACCCTC	(配列番号１４２)			

【表２６－１３３】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	cDNA位置 リーダー	cDNA位置 可変ドメイン	cDNA位置 可変ドメイン
	CCCATCACGCACCAGGACTGG				
	CTGAGGGGGCAAGGAGTTCAAG				
	TGCAAAGTCCACAACAAGGCA				
	CTCCCGGCCCCCATCGAGAAA				
	ACCATCTCCAAAGCCAGAGGG				
	CAGCCCCTGGAGCCGAAGGTC				
	TACACCATGGGCCCTCCCCGG				
	GAGGAGCTGAGCAGCAGGTCG				
	GTCAGCCTGACCTGCATGATC				
	AACGGCTTCTACCCCTTCCGAC				
	ATCTCGGTGGAGTGGGAGAAG				
	AACGGGAAGGCAGAGGACAAC				
	TACAAGACCACGCCCGGCCGTG				
	CTGGACAGCGACGGCTCCTAC				
	TTCCTCTACAACAAGCTCTCA				
	GTGCCCACGAGTGAGTGGCAG				
	CGGGGCGACGTCTTCACCTGC				
	TCCGTGATGCACGAGGCCTTG				
	CACAACCACTACACGCAGAAG				

【表２６－１３４】

クローン名 (種－アイソタイプ) (抗原)	DNA配列	アミノ酸配列	c DNA位置 リーダー	c DNA位置 可変ドメイン	c DNA位置 可変ドメイン
	TCCATCTCCCCGCTCTCCGGGGT AAATGA (配列番号１４１)				
ウサギカッパ 鎖定常領域	GGTGATCCAGTTGCACCTACT GTCCTCATCTTCCCACCATCT GCTGATCTTGTGGCAACTGGA ACAGTCACCATCGTGTGTGTG GCGAATAAATACTTTCCCGAT GTCACCGTCACCTGGGAGGTG GATGGCACCCACCCAAACAACT GGCATCGAGAACAGTAAAACA CCGCAGAATTCTGCAGATTGT ACCTACAACCTCAGCAGCACT CTGACACTGACCAGCACACAG TACAACAGCCACAAAGAGTAC ACCTGCAAGGTGACCCAGGGC ACGACCTCAGTCGTCCAGAGC TTCAATAGGGGGTGACTGTTAG (配列番号１４３)	GDPVAPTVLIFPP SADLVATGTVTIV CVANKYFPDVTVT WEVDGTTQTTGIE NSKTPQNSADCTY NLSSTLTLTSTQY NSHKEYTCKVTQG TTSVVQSFNRGDC ＊ (配列番号１４４)	NA	NA	1－315

【表２７－１】

表２７。
ＣＤＲ配列

クローン名（種－アイソタイプ）（抗原）	ＣＤＲ１　ＤＮＡ配列	ＣＤＲ１アミノ酸配列	ＣＤＲ２　ＤＮＡ配列	ＣＤＲ２アミノ酸配列	ＣＤＲ３　ＤＮＡ配列	ＣＤＲ３アミノ酸配列
ｘｉ１１５５Ｄ５ＨＣ（ウサギＶｈ－ヒトＩｇＧ１）（ヒトＣＡ９）	ＧＧＡＴＴＣＴＣＣＣＴＣＡＡＴＡＧＣＴＡＴＧＣＧ（配列番号１４５）	ＧＦＳＬＮＳＹＡ（配列番号１４６）	ＡＴＴＡＣＴＡＣＴＧＧＴＧＧＴＡＣＣＡＣＡ（配列番号１４７）	ＩＴＴＧＧＴＴ（配列番号１４８）	ＧＡＴＣＧＧＧＧＴＴＡＡＡＡＧＣＴＡＣＧＡＴＧＡＣＴＡＴＧＧＴＧＡＴＴＴＡＧＡＴＧＣＴＴＴＣＧＡＧＣＣＣ（配列番号１４９）	ＤＲＶＫＳＹＤＤＹＧＤＬＤＡＦＥＰＷＧＰ（配列番号１５０）
ｚｕ１５５Ｄ５ＨＣ（ヒトＶｈ－ヒトＩｇＧ１）（ヒトＣＡ９）	ＧＧＣＴＴＴＴＣＣＣＴＧＡＡＣＡＧＣＴＡＣＧＣＴ（配列番号１５１）	ＧＦＳＬＮＳＹＡ（配列番号１５２）	ＡＴＴＡＣＣＡＣＡＧＧＡＧＧＧＡＣＴＡＣＣ（配列番号１５３）	ＩＴＴＧＧＴＴ（配列番号１５４）	ＧＡＴＣＧＧＧＧＴＧＡＡＡＴＣＴＴＡＣＧＡＣＧＡＴＴＡＴＧＧＡＧＡＣＣＴＧＧＡＴＧＣＴＴＴＣＧＡＡＣＣＡ（配列番号１５５）	ＤＲＶＫＳＹＤＤＹＧＤＬＤＡＦＥＰＷＧＰ（配列番号１５６）
ｘｉ１－５５－２ＨＣ（ウサギＶ	ＧＧＡＴＴＣＴＣＣＴＴＣＡＧＴＡＧＣＡＧＣＴＡＣ	ＧＦＳＦＳＳＳＹ（配列番号１５８）	ＡＴＴＴＡＴＧＧＴＧＧＧＴＡＧＴＡＧＴＧＧＴ	ＩＹＧＧＳＳＧＴＴ（配列番号１６０）	ＧＴＧＡＣＴＡＡＴＧＧＴＧＧＴＧＡＴＴＧＧＧＡＴＴＴＴ	ＶＴＮＧＧＤＷＤＦＫＬ（配列番号１６２）

10

20

30

40

【表２７－２】

クローン名（種－アイソタイプ）（抗原）	CDR1 DNA配列	CDR1アミノ酸配列	CDR2 DNA配列	CDR2アミノ酸配列	CDR3 DNA配列	CDR3アミノ酸配列
h－ヒトIgG1）（ヒトTEM1）	（配列番号１５７）		ACCACT（配列番号１５９）	０）	AAATTG（配列番号１６１）	２）
xi1E4 HC（ウサギVh－ヒトIgG1）（ヒトCA９）	GGAATCGACCTCAGTAATTATGCA（配列番号１６３）	GIDLSNYA（配列番号１６４）	ATTAGTAGTAATGATAAGACA（配列番号１６５）	ISSNDKT（配列番号１６６）	GCTGCTATGCCTGGTGGTTTAAAGAATGCTTTCGATCCC（配列番号１６７）	AAMPGGLKNAFDP（配列番号１６８）
zu1E4 HC（ヒトVh－ヒトIgG1）（ヒトCA９）	GGCATTGATCTGTCTAACTACGCT（配列番号１６９）	GIDLSNYA（配列番号１７０）	ATTAGCTCCAATGACAAGACC（配列番号１７１）	ISSNDKT（配列番号１７２）	GCCGCTATGCCTGGCGGAACTGAAGAACGCATTTGATCCT（配列番号１７３）	AAMPGGLKNAFDP（配列番号１７４）

【表２７－３】

クローン名（種－アイソタイプ）（抗原）	CDR1 DNA配列	CDR1アミノ酸配列	CDR2 DNA配列	CDR2アミノ酸配列	CDR3 DNA配列	CDR3アミノ酸配列
xi330 11HC（ウサギV h－ヒトI gG1）（ヒトMS LN）	GGAATCTCC CTCAGTAGC GATGCA（配列番号175）	GISLSSDA（配列番号176）	ATTAATG GTGGTGG TAACACA（配列番号177）	INGGGNT（配列番号178）	GGCATTCAA CATGGTGGT GGTAATAGT GATTATTAT TATTACGGC ATGGACCTC（配列番号179）	GIQHGGG NSDYYYY GMDL（配列番号180）
zu330 11HC（ヒトVh－ヒトIg G1）（ヒトMS LN）	GGAATTTCC CTCTCCTCC GACGCG（配列番号181）	GISLSSDA（配列番号182）	ATCAACG GCGGCGG AAACACC（配列番号183）	INGGGNT（配列番号184）	GGCATCCAG CACGGTGGT GGAAACAGC GACTACTAC TACTATGGG ATGGATCTG（配列番号185）	GIQHGGG NSDYYYY GMDL（配列番号186）
xi324 05HC（ウサギV h－ヒトI gG1）	GGATTCTCC CTCAGTAAC TATGCA（配列番号187）	GFSLSNYA（配列番号188）	ATTAGTA CTGGCGG TATCACA（配列番号189）	ISTGGIT（配列番号190）	AATGCTGGT GGTAGTTAT ATTTTCTAT TATTTTGAC TTG	NAGGSYI FYYFDL（配列番号192）

【表２７－４】

クローン名（種－アイソタイプ）（抗原）	CDR1 DNA配列	CDR1アミノ酸配列	CDR2 DNA配列	CDR2アミノ酸配列	CDR3 DNA配列	CDR3アミノ酸配列
（ヒトMSLN）					（配列番号１９１）	
xi178F16HC（ウサギV h－ヒトIgG1）（ヒトMSLN）	GGATTCTCCCTCAGTAACTATGCA（配列番号１９３）	GFSLSNYA（配列番号１９４）	ATTAGTACTGGCGGTATCACA（配列番号１９５）	ISTGGIT（配列番号１９６）	AATGCTGGTGGTAGTTATATTTCTCTATTATTTCGACTTG（配列番号１９７）	NAGGGSYIFYYFDL（配列番号１９８）
xi237N18HC（ウサギV h－ヒトIgG1）（ヒトMSLN）	GGATTCTCCCTCAGTAGTTACCAC（配列番号１９９）	GFSLSSYH（配列番号２００）	ATTACTGCTATGAGTCGCACA（配列番号２０１）	ITAMSRT（配列番号２０２）	GAACCTGGGTTTGTTAGTAACATC（配列番号２０３）	EPGFVSNI（配列番号２０４）
xi383I18HC（ウサギV	GGATTCTCCCTCAGTAGCTATGCA	GFSLSSYA（配列番号２０６）	ATTAGTACTGGTGGTATTACA	ISTGGIT（配列番号２０８）	GTGGGGTAGTAGTAGTGGTTATCTTTCTAC	VGSSGYLFYFFNL（配列番号２１

【表２７－５】

クローン名（種－アイソタイプ）（抗原）	CDR1 DNA配列	CDR1アミノ酸配列	CDR2 DNA配列	CDR2アミノ酸配列	CDR3 DNA配列	CDR3アミノ酸配列
h－ヒトIgG1）（ヒトMSLN）	（配列番号２０５）		（配列番号２０７）		TTCTTTAACTTG（配列番号２０９）	０）
xi166B3HC（ウサギVh－ヒトIgG1）（ヒトCA９）	GGATTCTCCCTCAGTAGGTATACA（配列番号２１１）	GFSLSRYT（配列番号２１２）	ATAGATAGTAGTAGTAGCA（配列番号２１３）	IDSSSSA（配列番号２１４）	GACAGAGTCCTAAGCTACGATGACTATTTGGGTGATTTGCCCGATGGGTTTCGATCCC（配列番号２１５）	DRVLSYDDYGDLPDGFDP（配列番号２１６）
zu166B3HC（ヒトVh－ヒトIgG1）（ヒトCA９）	GGGTTTAGCCTGTCCCGATACACC（配列番号２１７）	GFSLSRYT（配列番号２１８）	ATTGACAGCTCCTCCTCAGTGCC（配列番号２１９）	IDSSSSA（配列番号２２０）	GATAGAGTCCTGAGCTACGACGATTATGGGGACCTGCCCTGACGGCTTTGATCCT（配列番号２２１）	DRVLSYDDYGDLPDGFDP（配列番号２２２）
xi155	CAGAGCATT	QSISSY	TATGCAT	YAS	CTAGGTGTT	LGVYGYS

【表２７－６】

クローン名（種－アイソタイプ）（抗原）	CDR1 DNA配列	CDR1アミノ酸配列	CDR2 DNA配列	CDR2アミノ酸配列	CDR3 DNA配列	CDR3アミノ酸配列
D5LC（ウサギVk－ヒトカッパ）（ヒトCA9）	AGTAGCTAC（配列番号223）	（配列番号224）	CC（配列番号225）	（配列番号226）	TATGGTTAT AGTTTTGAT GATGGTATT GCT（配列番号227）	FDDGIA（配列番号228）
zu155D5LC－1（ヒトVk－ヒトカッパ）（ヒトCA9）	CAGAGTATT TCCAGCTAC（配列番号229）	QSISSY（配列番号230）	TATGCTA GT（配列番号231）	YAS（配列番号232）	CTGGGGGGTG TACGGGTTAT TCTTTCGAC GATGGGCATC GCA（配列番号233）	LGVYGYS FDDGIA（配列番号234）
zu155D5LC－2（ヒトVk－ヒトカッ	CAGAGTATT TCCAGCTAC（配列番号235）	QSISSY（配列番号236）	TATGCTA GT（配列番号237）	YAS（配列番号238）	CTGGGGGGTG TACGGGTTAT TCTTTCGAC GATGGCATC GCA	LGVYGYS FDDGIA（配列番号240）

【表２７－７】

クローン名（種－アイソタイプ）（抗原）	CDR1 DNA配列	CDR1アミノ酸配列	CDR2 DNA配列	CDR2アミノ酸配列	CDR3 DNA配列	CDR3アミノ酸配列
パ）（ヒトCA9）					（配列番号２３９）	
zu155 D5LC－3（ヒトVk－ヒトカッパ）（ヒトCA9）	CAGAGTATT TCCAGCTAC （配列番号２４１）	QSISSY （配列番号２４２）	TATGCTA GT （配列番号２４３）	YAS （配列番号２４４）	CTGGGGGGTG TACGGTTTAT TCTTTCGAC GATGGCATC GCA （配列番号２４５）	LGVYGYS FDDGIA （配列番号２４６）
zu155 D5LC－4（ヒトVk－ヒトカッパ）（ヒトCA9）	CAGAGTATT TCCAGCTAC （配列番号２４７）	QSISSY （配列番号２４８）	TATGCTA GT （配列番号２４９）	YAS （配列番号２５０）	CTGGGGGGTG TACGGTTTAT TCTTTCGAC GATGGCATC GCA （配列番号２５１）	LGVYGYS FDDGIA （配列番号２５２）

【表２７－８】

クローン名（種－アイソタイプ）（抗原）	CDR1 DNA配列	CDR1アミノ酸配列	CDR2 DNA配列	CDR2アミノ酸配列	CDR3 DNA配列	CDR3アミノ酸配列
zu155D5LC－5（ヒトVk－ヒトカッパ）（ヒトCA9）	CAGAGTATTTCCAGCTAC（配列番号２５３）	QSISSY（配列番号２５４）	TATGCTAGT（配列番号２５５）	YAS（配列番号２５６）	CTGGGGGGTGTACGGTTATTCTTTCGACGATGGGCATCGCA（配列番号２５７）	LGVYGYSFDDGIA（配列番号２５８）
zu155D5LC－6（ヒトVk－ヒトカッパ）（ヒトCA9）	CAGAGTATTTCCAGCTAC（配列番号２５９）	QSISSY（配列番号２６０）	TATGCTAGT（配列番号２６１）	YAS（配列番号２６２）	CTGGGGGGTGTACGGTTATTCTTTCGACGATGGGCATCGCA（配列番号２６３）	LGVYGYSFDDGIA（配列番号２６４）
zu155D5LC－7	CAGAGTATTTCCAGCTAC（配列番号２６５）	QSISSY（配列番号２６６）	TATGCTAGT（配列番号２６７）	YAS（配列番号２６８）	CTGGGGGGTGTACGGTTATTCTTTCGAC	LGVYGYSFDDGIA（配列番号２７

【表２７－９】

クローン名（種－アイソタイプ）（抗原）	CDR1 DNA配列	CDR1アミノ酸配列	CDR2 DNA配列	CDR2アミノ酸配列	CDR3 DNA配列	CDR3アミノ酸配列
（ヒトVk－ヒトカッパ）（ヒトCA９）			７）		GATGGGCATC GCA （配列番号２６９）	０）
zu155D5LC－huVK1－39（ヒトVk－ヒトカッパ）（ヒトCA９）	CAGTCCATC TCCTCCTAC （配列番号２７１）	QSISSY （配列番号２７２）	TACGCCT CC （配列番号２７３）	YAS （配列番号２７４）	CTGGGGGGTG TATGGTTAC TCGTTCGAC GATGGAATC GCA （配列番号２７５）	LGVYGYS FDDGIA （配列番号２７６）
zu155D5LC－huVK2－40（ヒトVk	CAGAGCATC TCCTCATAC （配列番号２７７）	QSISSY （配列番号２７８）	TACGCCT CC （配列番号２７９）	YAS （配列番号２８０）	CTGGGAGTC TACGGGTAC TCCTTCGAT GACGGCATT GCA	LGVYGYS FDDGIA （配列番号２８２）

【表２７－１０】

クローン名（種－アイソタイプ）（抗原）	CDR1 DNA配列	CDR1アミノ酸配列	CDR2 DNA配列	CDR2アミノ酸配列	CDR3 DNA配列	CDR3アミノ酸配列
－ヒトカッパ）（ヒトCA9）					（配列番号２８１）	
zu155D5LC－huVK3－11（ヒトVk－ヒトカッパ）（ヒトCA9）	CAGTCGATCTCCTCTTAC（配列番号２８３）	QSISSY（配列番号２８４）	TACGCGTCG（配列番号２８５）	YAS（配列番号２８６）	CTGGGGGGTGTACGGGCTACTCCTTCGATGACGGGAATCGCC（配列番号２８７）	LGVYGYSFDDGIA（配列番号２８８）
zu155D5LC－huVK4－1（ヒトVk－ヒトカッパ）（ヒトCA9）	CAGTCCATCTCCTCATAC（配列番号２８９）	QSISSY（配列番号２９０）	TACGCTTCC（配列番号２９１）	YAS（配列番号２９２）	TTGGGGTGTCTACGGGATACTCCTTCGACGACGGGATCGCA（配列番号２９３）	LGVYGYSFDDGIA（配列番号２９４）

【表２７－１１】

クローン名（種－アイソタイプ）（抗原）	CDR1 DNA配列	CDR1アミノ酸配列	CDR2 DNA配列	CDR2アミノ酸配列	CDR3 DNA配列	CDR3アミノ酸配列
9）						
zu155D5LC－huVK6－21（ヒトVk－ヒトカッパ）（ヒトCA9）	CAGTCAATTTCCTCGTAC（配列番号２９５）	QSISSY（配列番号２９６）	TACGCATCC（配列番号２９７）	YAS（配列番号２９８）	CTGGGGGGTGTACGGGTACTCATTTGACGATGGCATCGCC（配列番号２９９）	LGVYGYSFDDGIA（配列番号３００）
zu155D5LC－huVK6D－41（ヒトVk－ヒトカッパ）（ヒトCA9）	CAGTCCATTTCGTCCTAC（配列番号３０１）	QSISSY（配列番号３０２）	TACGCCTCC（配列番号３０３）	YAS（配列番号３０４）	CTGGGGCGTGTACGGGTTACTCGTTTGATGACGGGCATCGCG（配列番号３０５）	LGVYGYSFDDGIA（配列番号３０６）

【表２７－１２】

クローン名（種－アイソタイプ）（抗原）	CDR1 DNA配列	CDR1アミノ酸配列	CDR2 DNA配列	CDR2アミノ酸配列	CDR3 DNA配列	CDR3アミノ酸配列
zu155D5LC－huVK7－3－G1u81（ヒトVk－ヒトカッパ）（ヒトCA9）	CAGTCCATTTCGAGCTAC（配列番号３０７）	QSISSY（配列番号３０８）	TACGCCTCC（配列番号３０９）	YAS（配列番号３１０）	CTGGGGGGTGTACGGATACTCATTCGACGACGGGATCGCC（配列番号３１１）	LGVYGYSFDDGIA（配列番号３１２）
xi1－55－2LC（ウサギVk－ヒトカッパ）（ヒトTEM1）	CAGAGCATTAATACCTAC（配列番号３１３）	QSINTY（配列番号３１４）	AGGGCATCC（配列番号３１５）	RAS（配列番号３１６）	CAACAGAGTGTTCGTGTTATTGATGTTGATAATACT（配列番号３１７）	QQSVRVIDVDNT（配列番号３１８）
xi1E4LC	CAGACCATTGGTGGTAGC	QTIGGSD（配列番号３２）	TATGCAACC	YAT（配列番号３２）	CTAGGTGGGTTATGCTGCT	LGGYAAASYRTA

【表２７－１３】

クローン名（種－アイソタイプ）（抗原）	CDR1 DNA配列	CDR1アミノ酸配列	CDR2 DNA配列	CDR2アミノ酸配列	CDR3 DNA配列	CDR3アミノ酸配列
（ウサギVk－ヒトカッパ）（ヒトCA９）	GAC（配列番号３１９）	０）	（配列番号３２１）	２）	GCTTCTTACAGAACTGCT（配列番号３２３）	（配列番号３２４）
zu1E4 LC－CXXF（ヒトVk－ヒトカッパ）（ヒトCA９）	CAGACCATTGGCGGGGAGCGAC（配列番号３２５）	QTIGGSD（配列番号３２６）	TATGCTACA（配列番号３２７）	YAT（配列番号３２８）	CTGGGGGGGCTATGCCGCCGCAAGCTACCGCACCGCCC（配列番号３２９）	LGGYAAASYRTA（配列番号３３０）
zu1E4 LC－CXXA（ヒトVk－ヒトカッパ）	CAGACCATTGGCGGGGAGCGAC（配列番号３３１）	QTIGGSD（配列番号３３２）	TATGCTACA（配列番号３３３）	YAT（配列番号３３４）	CTGGGGGGGCTATGCCGCCGCAAGCTACCGCACCGCCC（配列番号３３５）	LGGYAAASYRTA（配列番号３３６）

【表２７－１４】

クローン名（種－アイソタイプ）（抗原）	CDR1 DNA配列	CDR1アミノ酸配列	CDR2 DNA配列	CDR2アミノ酸配列	CDR3 DNA配列	CDR3アミノ酸配列
（ヒトCA9）						
xi330 11LC（ウサギVk－ヒトカッパ）（ヒトMSLN）	CAGAGCATTAGTAGTGTC（配列番号337）	QSISSV（配列番号338）	CTGGCATCC（配列番号339）	LAS（配列番号340）	CAAACCAATTATGGTACTAGTAGTAATTATGGTTTGCT（配列番号341）	QTNYGTSSSNYGFA（配列番号342）
zu330 11LC－CXXF（ヒトVk－ヒトカッパ）（ヒトMSLN）	CAGTCAATTAGCAGCGGTG（配列番号343）	QSISSV（配列番号344）	TTGGCCTCC（配列番号345）	LAS（配列番号346）	CAAACCAACTACGGAACCTCCAGCTCCAACTACGGCTTGCC（配列番号347）	QTNYGTSSSNYGFA（配列番号348）
zu330 11LC－	CAGTCAATTAGCAGCGGTG	QSISSV（配列番号35	TTGGCCTCC	LAS（配列番号35	CAAACCAACTACGGAACC	QTNYGTSSSNYGFA

【表２７－１５】

クローン名（種－アイソタイプ）（抗原）	CDR1 DNA配列	CDR1アミノ酸配列	CDR2 DNA配列	CDR2アミノ酸配列	CDR3 DNA配列	CDR3アミノ酸配列
CXXA（ヒトVk－ヒトカッパ）（ヒトMSLN）	（配列番号３４９）	０）	（配列番号３５１）	２）	TCCAGCTCC AACTACGGGC TTTGCC （配列番号３５３）	（配列番号３５４）
zu330 11LC－CXXI（ヒトVk－ヒトカッパ）（ヒトMSLN）	CAGTCAATT AGCAGCGTG （配列番号３５５）	QSISSV （配列番号３５６）	TTGGCCT CC （配列番号３５７）	LAS （配列番号３５８）	CAAACCAAC TACGGAACC TCCAGCTCC AACTACGGC TTTGCC （配列番号３５９）	QTNYGTS SSNYGFA （配列番号３６０）
xi324 O5LC（ウサギVk－ヒトカッパ）	CAGAGCATT TACAGTTAT （配列番号３６１）	QSIYSY （配列番号３６２）	TCTGCAT CC （配列番号３６３）	SAS （配列番号３６４）	CAAACCTAT TATGATATT GTTACTAGT ACT （配列番号３６５）	QTYYDIV TST （配列番号３６６）

【表２７－１６】

クローン名（種－アイソタイプ）（抗原）	CDR1 DNA配列	CDR1アミノ酸配列	CDR2 DNA配列	CDR2アミノ酸配列	CDR3 DNA配列	CDR3アミノ酸配列
（ヒトMSLN）						
xi178F16LC（ウサギV－ヒトカッパ）（ヒトMSLN）	CAGAGCATTTACAGTTAT（配列番号３６７）	QSIYSY（配列番号３６８）	TCTGCATCC（配列番号３６９）	SAS（配列番号３７０）	CAAACCTATTATGATATTGTTACTAGTACT（配列番号３７１）	QTYYDIVTST（配列番号３７２）
xi237N18LC（ウサギV－ヒトカッパ）（ヒトMSLN）	CAGAACATTTACAGCAAT（配列番号３７３）	QNIYSN（配列番号３７４）	GATGCATCC（配列番号３７５）	DAS（配列番号３７６）	CAAAGTATTAGTAGTGTTGACAATAATGTT（配列番号３７７）	QSISSVDNNV（配列番号３７８）
xi383I18LC（ウサギV）	CAGAACATTAAGAGCTAC（配列番号３７９）	QNIKSY（配列番号３８０）	GAAGCATCC（配列番号３８１）	EAS（配列番号３８２）	CAAAGCTATTATGCTGCTAGTAATAGT（配列番号３８３）	QSYYAASSNA（配列番号３８４）

【表２７－１７】

クローン名（種－アイソタイプ）（抗原）	CDR1 DNA配列	CDR1アミノ酸配列	CDR2 DNA配列	CDR2アミノ酸配列	CDR3 DNA配列	CDR3アミノ酸配列
k－ヒトカッパ（ヒトMSLN）			1）		GCT（配列番号３８３）	4）
xi166B3LC（ウサギVk－ヒトカッパ）（ヒトCA9）	CAGAGCATTAGTAACTAC（配列番号３８５）	QSISNY（配列番号３８６）	GCTGCATCC（配列番号３８７）	AAS（配列番号３８８）	CTAGGAGTTTATAGTATTAGTGATGGAGCTGCT（配列番号３８９）	LGVYSISTDDGAA（配列番号３９０）
zu166B3LC－CXXF（ヒトVk－ヒトIgG1）（ヒトCA9）	CAGAGCATCAGCAACTAC（配列番号３９１）	QSISNY（配列番号３９２）	GCCGCTTCT（配列番号３９３）	AAS（配列番号３９４）	CTGGGGCGTCTATTCAATCTCAACTGACGACGGAGCCGCA（配列番号３９５）	LGVYSISTDDGAA（配列番号３９６）

【表２７－１８】

クローン名（種－アイソタイプ）（抗原）	CDR1 DNA配列	CDR1アミノ酸配列	CDR2 DNA配列	CDR2アミノ酸配列	CDR3 DNA配列	CDR3アミノ酸配列
zu166B3LC－CXXA（ヒトVk－ヒトIgG1）（ヒトCA9）	CAGAGCATCAGCAACTAC（配列番号397）	QSISNY（配列番号398）	GCCGCTTCT（配列番号399）	AAS（配列番号400）	CTGGGCGTCTATTCAACTGACGACGGAGCCGCA（配列番号401）	LGVYSISTDDGAA（配列番号402）

【０３０６】

当業者であれば、多数の変更及び修正が本発明の好ましい実施形態になされ得ること、

及びかかる変更及び修正が本発明の趣旨から逸脱することなく成され得ることを理解するであろう。したがって、添付の特許請求の範囲が、本発明の趣旨及び範囲内に入る、かかる等価の変形の全てを網羅することが意図される。

実施形態

以下の実施形態は、前述の説明を置き換えるかまたはそれに優先するのではなく、それを補足することを意図するものである。

実施形態１。抱合型免疫グロブリンの生成方法であって、

ウサギに由来する免疫グロブリンの軽鎖可変領域におけるアミノ酸８０位のシステイン（「Ｃｙｓ８０」）をキャップ除去することであって、免疫グロブリンが重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む、キャップ除去することと、

チオール反応性化合物をＣｙｓ８０に抱合させることであって、チオール反応性化合物がチオール反応基を含む、抱合させることと、を含む、方法。

実施形態２。軽鎖可変領域がカッパ軽鎖可変領域である、実施形態１に記載の方法。

実施形態３。軽鎖可変領域がアナウサギに由来する、実施形態１または２に記載の方法。

実施形態４。軽鎖可変領域が、ＩＧＫＶ－１ファミリーのヒトカッパ軽鎖可変領域である、実施形態１または２に記載の方法。

実施形態５。免疫グロブリンを還元緩衝液と共にインキュベートし、次いで免疫グロブリンを酸化緩衝液と共にインキュベートすることを含む、実施形態１～４のいずれか一つに記載の方法。

実施形態６。免疫グロブリンを、基質上に固定してから還元緩衝液と共にインキュベートし、酸化緩衝液と共にインキュベートした後、免疫グロブリンを基質から溶出させることを更に含む、実施形態５に記載の方法。

実施形態７。基質がタンパク質Ａを含む、実施形態６に記載の方法。

実施形態８。チオール反応基がマレイミドまたはハロアセチルである、実施形態１～７のいずれか１つに記載の方法。

実施形態９。チオール反応基がリンカーに結合する、実施形態１～８のいずれか一つに記載の方法。

実施形態１０。リンカーが切断可能でないリンカーまたは切断可能なリンカーである、実施形態９に記載の方法。

実施形態１１。リンカーが、ジスルフィド含有リンカー、アセタール系リンカー、またはケタール系リンカーである、実施形態１０に記載の方法。

実施形態１２。チオール反応性化合物が機能性剤に結合する、実施形態１～１１のいずれか一つに記載の方法。

実施形態１３。機能性剤が、フルオロフォア、蛍光色素、ポリペプチド、免疫グロブリン、抗生物質、核酸、放射性核種、化学リンカー、小分子、キレート剤、脂質、または薬物を含む、実施形態１２に記載の方法。

実施形態１４。チオール反応性化合物が、第２のチオール反応性化合物に結合し、第２のチオール反応性化合物が、第２の重鎖可変領域及び第２の軽鎖可変領域を有する第２の免疫グロブリンに結合し、第２の軽鎖可変領域が、アミノ酸８０位のシステイン（「Ｃｙｓ８０^{2}」）を有し、第２のチオール反応性化合物が、Ｃｙｓ８０^{2}に結合した第２のチオール反応基を含む、実施形態１～１３のいずれか一つに記載の方法。

実施形態１５。チオール反応性化合物が、クリック化学によって第２のチオール反応性化合物に結合する、実施形態１４に記載の方法。

実施形態１６。Ｃｙｓ８０が不対である、実施形態１～１５のいずれか一つに記載の方法。

実施形態１７。免疫グロブリンがキメラ化免疫グロブリンである、実施形態１～１６のいずれか一つに記載の方法。

実施形態１８。免疫グロブリンを、キャップ除去の前にキメラ化することを更に含む、実施形態１～１６のいずれか一つに記載の方法。

実施形態１９。免疫グロブリンがヒト化免疫グロブリンである、実施形態１～１６のいず

れか一つに記載の方法。
実施形態２０。免疫グロブリンをヒト化することを更に含む、実施形態１～１６のいずれか一つに記載の方法。
実施形態２１。８３位のアミノ酸を、Ｐｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸残基で置換することを更に含む、実施形態１～２０のいずれか一つに記載の方法。
実施形態２２。Ｐｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸残基が、極性または疎水性残基である、実施形態２１に記載の方法。
実施形態２３。抗原結合分子の生成方法であって、第１の抱合型免疫グロブリンを第２の抱合型免疫グロブリンと共にインキュベートして、抗原結合分子を生成することを含み、
第１の抱合型免疫グロブリンが、第１の重鎖可変領域及び第１の軽鎖可変領域を含み、第１の軽鎖可変領域が、８０位のシステイン（「$Cys80^1$」）を有し、$Cys80^1$が、第１のチオール反応基を含む第１のチオール反応性化合物に抱合され、
第２の免疫グロブリンが、第２の重鎖可変領域及び第２の軽鎖可変領域を含み、第２の軽鎖可変領域が、８０位のシステイン（「$Cys80^2$」）を有し、$Cys80^2$が、第２のチオール反応基を含む第２のチオール反応性化合物に抱合される、方法。
実施形態２４。$Cys80^1$、$Cys80^2$、またはそれらの両方が、不対である、実施形態２３に記載の方法。
実施形態２５。インキュベーションステップの前に、
$Cys80^1$、$Cys80^2$、またはそれらの両方をキャップ除去することと、
第１のチオール反応性化合物を$Cys80^1$に抱合させること、第２のチオール反応性化合物を$Cys80^2$に抱合させこと、またはそれらの両方を行うことと、を更に含み、第１のチオール反応性化合物が第１のチオール反応基を含み、第２のチオール反応性化合物が第２のチオール反応基を含む、実施形態２３または２４に記載の方法。
実施形態２６。キャップ除去が、第１の免疫グロブリン、第２の免疫グロブリン、またはそれらの両方を、還元緩衝液と共にインキュベートし、次いで第１の免疫グロブリン、第２の免疫グロブリン、またはそれらの両方を、酸化緩衝液と共にインキュベートすることを含む、実施形態２３～２５のいずれか一つに記載の方法。
実施形態２７。第１の免疫グロブリン、第２の免疫グロブリン、またはそれらの両方を基質上に固定してから還元緩衝液と共にインキュベートし、酸化緩衝液と共にインキュベートした後、第１の免疫グロブリン、第２の免疫グロブリン、またはそれらの両方を基質から溶出させることを更に含む、実施形態２６に記載の方法。
実施形態２８。基質がタンパク質Ａを含む、実施形態２７に記載の方法。
実施形態２９。第１の免疫グロブリン、第２の免疫グロブリン、またはそれらの両方が、キメラ化される、実施形態２３～２８のいずれか一つに記載の方法。
実施形態３０。第１の免疫グロブリン、第２の免疫グロブリン、またはそれらの両方を、キャップ除去の前にキメラ化することを更に含む、実施形態２３～２８のいずれか一つに記載の方法。
実施形態３１。第１の免疫グロブリン、第２の免疫グロブリン、またはそれらの両方が、ヒト化される、実施形態２３～２８のいずれか一つに記載の方法。
実施形態３２。第１の免疫グロブリン、第２の免疫グロブリン、またはそれらの両方を、ヒト化することを更に含む、実施形態２３～２８のいずれか一つに記載の方法。
実施形態３３。第１のチオール反応基、第２のチオール反応基、またはそれらの両方が、マレイミドまたはハロアセチルである、実施形態２３～３２のいずれか一つに記載の方法。
実施形態３４。第１のチオール反応性化合物が第１のリンカーに結合するか、第２のチオール反応性化合物が第２のリンカーに結合するか、あるいはそれらの両方である、実施形態２３～３３のいずれか一つに記載の方法。
実施形態３５。第１のリンカー、第２のリンカー、またはそれらの両方が、切断可能でないリンカーまたは切断可能なリンカーである、実施形態３４に記載の方法。
実施形態３６。第１のリンカー、第２のリンカー、またはそれらの両方が、ジスルフィド

含有リンカー、アセタール系リンカー、またはケタール系リンカーである、実施形態３５に記載の方法。
実施形態３７。第１のチオール反応性化合物が第１の機能性剤を更に含むか、第２のチオール反応性化合物が第２の機能性剤を含むか、あるいはそれらの両方である、実施形態２３～３６のいずれか一つに記載の方法。
実施形態３８。第１の機能性剤、第２の機能性剤、またはそれらの両方が、化学リンカーである、実施形態３７に記載の方法。
実施形態３９。第１のチオール反応性化合物が、マレイミド－ＰＥＧ４－アジドまたはマレイミド－ＰＥＧ４－ジベンゾシクロオクチンである、実施形態３８に記載の方法。
実施形態４０。第２のチオール反応性化合物が、マレイミド－ＰＥＧ４－ジベンゾシクロオクチンまたはマレイミド－ＰＥＧ４－アジドである、実施形態３８または３９に記載の方法。
実施形態４１。第１の免疫グロブリン及び第２の免疫グロブリンが、クリック化学によって互いに抱合する、実施形態２３～４０のいずれか一つに記載の方法。
実施形態４２。第１の免疫グロブリンが第１のＦａｂであるか、第２の免疫グロブリンが第２のＦａｂであるか、あるいはそれらの両方である、実施形態２３～４１のいずれか一つに記載の方法。
実施形態４３。第１の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸を、Ｐｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸残基で置換すること、第２の軽鎖可変領域の８３位のアミノ酸を、Ｐｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸残基で置換すること、あるいはその両方を行うことを更に含む、実施形態２３～４２のいずれか一項に記載の方法。
実施形態４４。Ｐｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸残基が、極性または疎水性残基である、実施形態４３に記載の方法。
実施形態４５。第１の軽鎖可変領域、第２の軽鎖可変領域、またはそれらの両方が、アナウサギに由来する、実施形態２３～４４のいずれか一つに記載の方法。
実施形態４６。実施形態２３～４５のいずれか一つに記載の方法に従って産出される抗原結合分子。
実施形態４７。重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む免疫グロブリンであって、軽鎖可変領域が、８０位のシステイン（「Ｃｙｓ８０」）と、８３位のＰｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸と、を有する、免疫グロブリン。
実施形態４８。軽鎖可変領域がカッパ軽鎖可変領域である、実施形態４７に記載の免疫グロブリン。
実施形態４９。軽鎖可変領域がアナウサギに由来する、実施形態４７または４８に記載の免疫グロブリン。
実施形態５０。Ｐｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸が、極性または疎水性アミノ酸である、実施形態４７～４９のいずれか一つに記載の免疫グロブリン。
実施形態５１。Ｃｙｓ８０が不対である、実施形態４７～５０のいずれか一つに記載の免疫グロブリン。
実施形態５２。Ｃｙｓ８０がキャップ除去される、実施形態４７～５１のいずれか一つに記載の免疫グロブリン。
実施形態５３。免疫グロブリンがキメラ化される、実施形態４７～５２のいずれか一つに記載の免疫グロブリン。
実施形態５４。免疫グロブリンがヒト化される、実施形態４７～５３のいずれか一つに記載の免疫グロブリン。
実施形態５５。免疫グロブリンが、ヒトＣＡ９に免疫特異的に結合する、実施形態４７～５４のいずれか一つに記載の免疫グロブリン。
実施形態５６。
ａ．ｘｉ１５５Ｄ５ＨＣ（配列番号５２）のアミノ酸２０～１４１と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ１５５Ｄ５ＬＣ（配列番号７８）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変

領域、
ｂ．ｚｕ１５５Ｄ５ＨＣ（配列番号５４）のアミノ酸２０～１４４と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－３（配列番号８４）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－４（配列番号８６）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－５（配列番号８８）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－６（配列番号９０）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－７（配列番号９２）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ２－４０（配列番号９６）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ４－１（配列番号１００）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ６－２１（配列番号１０２）、ｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ６Ｄ－４１（配列番号１０４）、もしくはｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ７－３－Ｇｌｕ８１（配列番号１０６）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、
ｃ．ｘｉ１Ｅ４ＨＣ（配列番号５８）のアミノ酸２０～１３８と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ１Ｅ４ＬＣ（配列番号１１０）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、
ｄ．ｚｕ１Ｅ４ＨＣ（配列番号６０）のアミノ酸２０～１４０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｚｕ１Ｅ４ＬＣ－ＣＸＸＡ（配列番号１１４）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、
ｅ．ｘｉ１６６Ｂ３ＨＣ（配列番号７４）のアミノ酸２０～１４２と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ１６６Ｂ３ＬＣ（配列番号１３２）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、または
ｆ．ｚｕ１６６Ｂ３ＨＣ（配列番号７６）のアミノ酸２０～１４５と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｚｕ１６６Ｂ３ＬＣ－ＣＸＸＡ（配列番号１３６）のアミノ酸２０～１３０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、を含む、実施形態５５に記載の免疫グロブリン。
実施形態５７。
ａ．それぞれ配列番号１４６、１４８、及び１５０と示される、ｘｉ１５５Ｄ５ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号２２４、２２６、及び２２８と示される、ｘｉ１５５Ｄ５ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、
ｂ．それぞれ配列番号１５２、１５４、及び１５６と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号２４２、２４４、及び２４６と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－３、それぞれ配列番号２４８、２５０、及び２５２と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－４、それぞれ配列番号２５４、２５６、及び２５８と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－５、それぞれ配列番号２６０、２６２、及び２６４と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－６、それぞれ配列番号２６６、２６８、及び２７０と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－７、それぞれ配列番号２７８、２８０、及び２８２と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ２－４０、それぞれ配列番号２９０、２９２、及び２９４と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ４－１、それぞれ配列番号２９６、２９８、及び３００と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ６－２１、それぞれ配列番号３０２、３０４、及び３０６と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ６Ｄ－４１、もしくはそれぞれ配列番号３０８、３１０、及び３１２と示されるｚｕ１５５Ｄ５ＬＣ－ｈｕＶＫ７－３－Ｇｌｕ８１の軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、
ｃ．それぞれ配列番号１６４、１６６、及び１６８と示されるｘｉ１Ｅ４ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、ならびにそれぞれ配列番号３２０、３２２、及び３２４と示されるｘｉ１Ｅ４ＬＣのＣＤＲ３、軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、
ｄ．それぞれ配列番号１７０、１７２、及び１７４と示されるｚｕ１Ｅ４ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３３２、３３４、及び３３６と示されるｚｕ１Ｅ４ＬＣ－ＣＸＸＡの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、
ｅ．それぞれ配列番号２１２、２１４、及び２１６と示されるｘｉ１６６Ｂ３ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３８６、３８８、及び

３９０と示されるｘｉ１６６Ｂ３ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、または
ｆ．それぞれ配列番号２１８、２２０、及び２２２と示されるｚｕ１６６Ｂ３ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３９８、４００、及び４０２と示されるｚｕ１６６Ｂ３ＬＣ－ＣＸＸＡの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、を含む、実施形態５６に記載の免疫グロブリン。
実施形態５８。免疫グロブリンが、ヒトＴＥＭ１に免疫特異的に結合する、実施形態４６～５４のいずれか一つに記載の免疫グロブリン。
実施形態５９。
ｘｉ１－５５－２ＨＣ（配列番号５６）のアミノ酸２０～１３９と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ１－５５－２ＬＣ（配列番号１０８）のアミノ酸２０～１２９と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、を含む、実施形態５８に記載の免疫グロブリン。
実施形態６０。
それぞれ配列番号１５８、１６０、及び１６２と示されるｘｉ１－５５－２ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３１４、３１６、及び３１８と示されるｘｉ１－５５－２ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３を含む、実施形態５９に記載の免疫グロブリン。
実施形態６１。免疫グロブリンが、ヒトメソテリンに免疫特異的に結合する、実施形態４６～５４のいずれか一つに記載の免疫グロブリン。
実施形態６２。
ａ．ｘｉ３３Ｏ１１ＨＣ（配列番号６２）のアミノ酸２０～１４２と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ３３Ｏ１１ＬＣ（配列番号１１６）のアミノ酸２０～１３１と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、
ｂ．ｚｕ３３Ｏ１１ＨＣ（配列番号６４）のアミノ酸２０～１４５と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＡ（配列番号１２０）もしくはｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＩ（配列番号１２２）のアミノ酸２０～１３１と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、
ｃ．ｘｉ３２４Ｏ５ＨＣ（配列番号６６）のアミノ酸２０～１３７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ３２４Ｏ５ＬＣ（配列番号１２４）のアミノ酸２０～１２７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、
ｄ．ｘｉ１７８Ｆ１６ＨＣ（配列番号６８）のアミノ酸２０～１３７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ１７８Ｆ１６ＬＣ（配列番号１２６）のアミノ酸２０～１２７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、
ｅ．ｘｉ２３７Ｎ１８ＨＣ（配列番号７０）のアミノ酸２０～１３２と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ２３７Ｎ１８ＬＣ（配列番号１２８）のアミノ酸２０～１２７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、または
ｆ．ｘｉ３８３Ｉ１８ＨＣ（配列番号７２）のアミノ酸２０～１３７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及びｘｉ３８３Ｉ１８ＬＣ（配列番号１３０）のアミノ酸２０～１２７と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、実施形態６１に記載の免疫グロブリン。
実施形態６３。
ａ．それぞれ配列番号１７６、１７８、及び１８０と示されるｘｉ３３Ｏ１１ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３３８、３４０、及び３４２中で示されるｘｉ３３Ｏ１１ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、
ｂ．それぞれ配列番号１８２、１８４、及び１８６と示されるｚｕ３３Ｏ１１ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３５０、３５２、及び

３５４と示されるｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＡ、もしくはそれぞれ配列番号３５６、３５８、及び３６０と示されるｚｕ３３Ｏ１１ＬＣ－ＣＸＸＩの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、

ｃ．それぞれ配列番号１８８、１９０、及び１９２と示されるｘｉ３２４Ｏ５ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３６２、３６４、及び３６６として示されるｘｉ３２４Ｏ５ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、

ｄ．それぞれ配列番号１９４、１９６、及び１９８と示されるｘｉ１７８Ｆ１６ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３６８、３７０、及び３７２と示されるｘｉ１７８Ｆ１６ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、

ｅ．それぞれ配列番号２００、２０２、及び２０４と示されるｘｉ２３７Ｎ１８ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３７４、３７６、及び３７８と示されるｘｉ２３７Ｎ１８ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、または

ｆ．それぞれ配列番号２０６、２０８、及び２１０と示されるｘｉ３８３Ｉ１８ＨＣの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、ならびにそれぞれ配列番号３８０、３８２、及び３８４と示されるｘｉ３８３Ｉ１８ＬＣの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３、を含む、実施形態６２に記載の免疫グロブリン。

実施形態６４。

実施形態４６～６３のいずれか一つに記載の免疫グロブリンを含み、８０位のシステインがチオール反応性化合物に抱合され、チオール反応性化合物がチオール反応基を含む、抱合型免疫グロブリン。

実施形態６５。チオール反応基がマレイミドまたはハロアセチルである、実施形態６４に記載の抱合型免疫グロブリン。

実施形態６６。チオール反応基がリンカーに結合する、実施形態６４または６５に記載の抱合型免疫グロブリン。

実施形態６７。リンカーが切断可能でないリンカーまたは切断可能なリンカーである、実施形態６６に記載の抱合型免疫グロブリン。

実施形態６８。リンカーが、ジスルフィド含有リンカー、アセタール系リンカー、またはケタール系リンカーである、実施形態６７に記載の抱合型免疫グロブリン。

実施形態６９。チオール反応性化合物が機能性剤を更に含む、実施形態６４～６８に記載の抱合型免疫グロブリン。

実施形態７０。機能性剤が、フルオロフォア、蛍光色素、ポリペプチド、免疫グロブリン、抗生物質、核酸、放射性核種、化学リンカー、小分子、キレート剤、脂質、または薬物を含む、実施形態６９に記載の抱合型免疫グロブリン。

実施形態７１。機能性剤がオーリスタチンＦである、実施形態７０に記載の抱合型免疫グロブリン。

実施形態７２。抱合型免疫グロブリンが、２：１の免疫グロブリン：機能性剤比を有する、実施形態６９～７１のいずれか一つに記載の抱合型免疫グロブリン。

実施形態７３。対象における癌の治療方法であって、対象に薬学的有効量の抱合型メソテリン免疫グロブリンを投与することを含み、抱合型メソテリン免疫グロブリンが、

実施形態６１～６３のいずれか一つに記載の免疫グロブリンと、

チオール反応基、リンカー、及び機能性剤を含むチオール反応性化合物と、を含む、方法。

実施形態７４。機能性剤がオーリスタチンＦである、実施形態７３に記載の方法。

実施形態７５。癌が、メソテリンを発現している癌である、実施形態７３または７４に記載の方法。

実施形態７６。

第１の重鎖可変領域及び第１の軽鎖可変領域を含む第１の抱合型免疫グロブリンであって、第１の軽鎖可変領域が８０位のシステイン（「Ｃｙｓ８０[1]」）を有し、Ｃｙｓ８０[1]が、抱合型ｔｏ第１のチオール反応基を含む第１のチオール反応性化合物に抱合される

、第１の抱合型免疫グロブリンと、
第２の重鎖可変領域及び第２の軽鎖可変領域を含む第２の抱合型免疫グロブリンであって、第２の軽鎖可変領域が、８０位のシステイン（「Ｃｙｓ８０^{2}」）を有し、Ｃｙｓ８０^{2}が、第２のチオール反応基を含む第２のチオール反応性化合物に抱合される、第２の抱合型免疫グロブリンと、を含む、抗原結合分子。
実施形態７７。第１の軽鎖可変領域、第２の軽鎖可変領域、またはそれらの両方が、アナウサギに由来する、実施形態７６に記載の抗原結合分子。
実施形態７８。Ｃｙｓ８０^{1}、Ｃｙｓ８０^{2}、またはそれらの両方が、不対である、実施形態７６または７７に記載の抗原結合分子。
実施形態７９。第１の免疫グロブリン、第２の免疫グロブリン、またはそれらの両方が、キメラ化される、実施形態７６～７８のいずれか一つに記載の抗原結合分子。
実施形態８０。第１の免疫グロブリン、第２の免疫グロブリン、またはそれらの両方が、ヒト化される、実施形態７６～７８のいずれか一つに記載の抗原結合分子。
実施形態８１。第１の免疫グロブリンの８３位のアミノ酸配、第２の免疫グロブリンの８３位のアミノ酸、またはそれらの両方が、Ｐｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸残基である、実施形態７６～８０のいずれか一つに記載の抗原結合分子。
実施形態８２。Ｐｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸残基が、極性または疎水性残基である、実施形態８１に記載の抗原結合分子。
実施形態８３。第１の免疫グロブリン及び第２の免疫グロブリンが、異なる抗原に結合する、実施形態７６～８２のいずれか一つに記載の抗原結合分子。
実施形態８４。第１のチオール反応基、第２のチオール反応基、またはそれらの両方が、マレイミドまたはハロアセチルである、実施形態７６～８３のいずれか一つに記載の抗原結合分子。
実施形態８５。第１のチオール反応性化合物が第１のリンカーを更に含むか、第２のチオール反応性化合物が第２のリンカーを更に含むか、あるいはそれらの両方である、実施形態７６～８４のいずれか一つに記載の抗原結合分子。
実施形態８６。第１のリンカー、第２のリンカー、またはそれらの両方が、切断可能なリンカーまたは切断可能でないリンカーである、実施形態８５に記載の抗原結合分子。
実施形態８７。第１のリンカー、第２のリンカー、またはそれらの両方が、ジスルフィド含有リンカー、アセタール系リンカー、またはケタール系リンカーである、実施形態８６に記載の抗原結合分子。
実施形態８８。第１のチオール反応性化合物が第１の機能性剤を更に含むか、第２のチオール反応性化合物が第２の機能性剤を更に含むか、あるいはそれらの両方である、実施形態７６～８７のいずれか一つに記載の抗原結合分子。
実施形態８９。第１の機能性剤、第２の機能性剤、またはそれらの両方が、化学リンカーである、実施形態８８に記載の抗原結合分子。
実施形態９０。第１のチオール反応性化合物、第２のチオール反応性化合物、またはそれらの両方が、マレイミド－ＰＥＧ４－アジドまたはマレイミド－ＰＥＧ４－ジベンゾシクロオクチンである、実施形態７６～８９のいずれか一つに記載の抗原結合分子。
実施形態９１。第１のチオール反応性化合物が、第２のチオール反応性化合物とは異なる、実施形態７６～９０のいずれか一つに記載の抗原結合分子。
実施形態９２。第１の免疫グロブリン、第２の免疫グロブリン、またはそれらの両方が、Ｆａｂである、実施形態７６～９１のいずれか一項に記載の抗原結合分子。
実施形態９３。抱合型免疫グロブリン中で使用するための軽鎖可変領域であって、軽鎖可変領域が、アミノ酸８０位のシステイン（「Ｃｙｓ８０」）と、アミノ酸８３位のＰｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外のアミノ酸残基と、を有し、Ｃｙｓ８０が不対である、軽鎖可変領域。
実施形態９４。軽鎖可変領域が、Ｃｙｓ８０－Ｘａａ$_{1}$－Ｘａａ$_{2}$－Ｘａａ$_{3}$モチーフを有し、Ｘａａ$_{3}$が、Ｐｈｅ、Ｌｙｓ、またはＣｙｓ以外の任意のアミノ酸である、実施形態９３に記載の軽鎖可変領域。

実施形態９５。軽鎖可変領域がアナウサギに由来する、実施形態９３または９４に記載の軽鎖可変領域。
実施形態９６。軽鎖可変領域がキメラ化される、実施形態９３～９５のいずれか一つに記載の軽鎖可変領域。
実施形態９７。軽鎖可変領域がヒト化される、実施形態９３～９５のいずれか一つに記載の軽鎖可変領域。
実施形態９８。実施形態４７～６３のいずれか一つに記載の免疫グロブリンをコードする核酸分子。
実施形態９９。実施形態９８に記載の核酸分子を含む宿主細胞。

【図１Ａ】

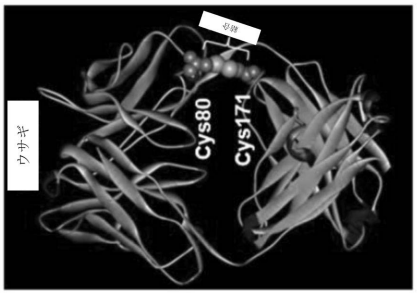


【図１Ｂ】



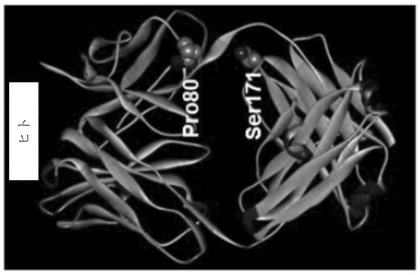
【図２Ａ】

【図２Ａ】



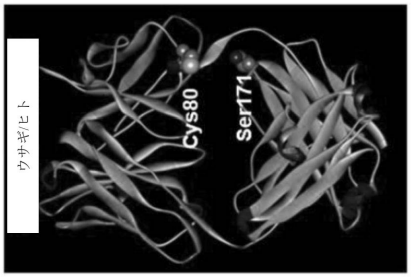
【図２Ｂ】

【図２Ｂ】



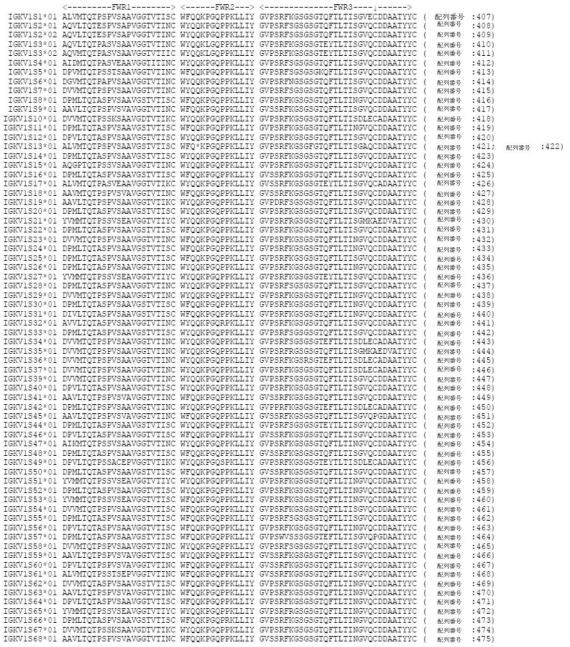
【図２Ｃ】

【図２Ｃ】



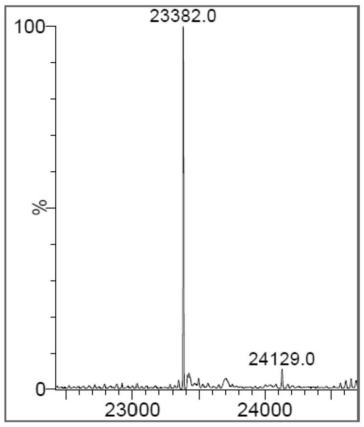
【図３】

【図３】

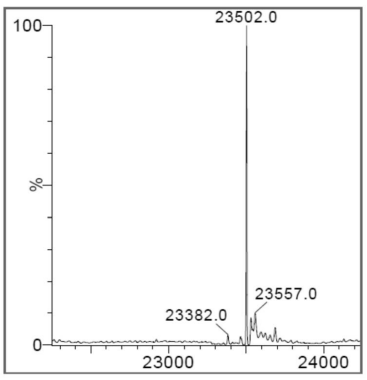


【図４】

【図４Ａ】

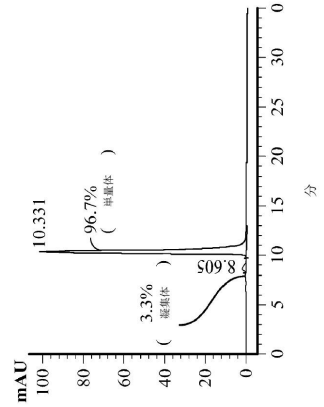


【図４Ｂ】

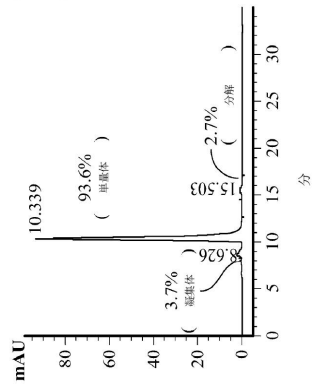


【図５】

【図５Ａ】

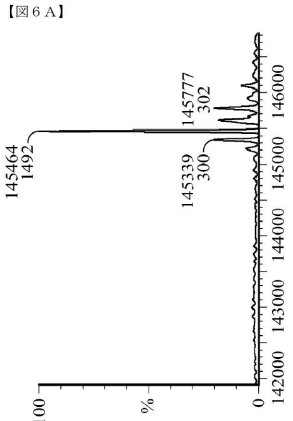


【図５Ｂ】

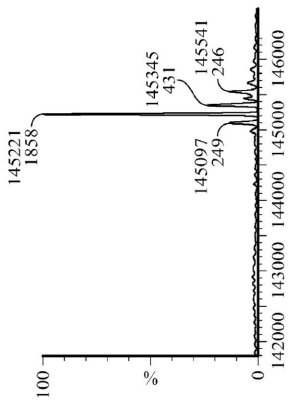


【図６】

【図６Ａ】

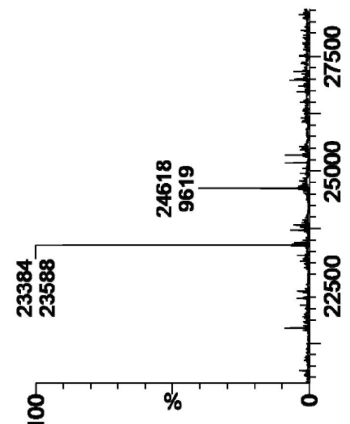


【図６Ｂ】

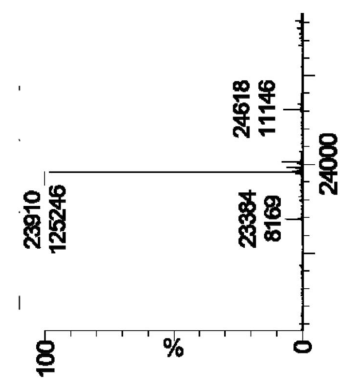


【図７】

【図７Ａ】

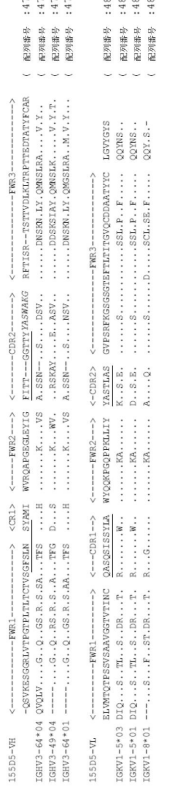


【図７Ｂ】



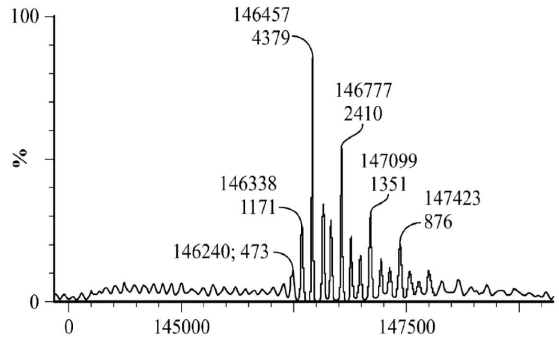
【図８】

【図８】

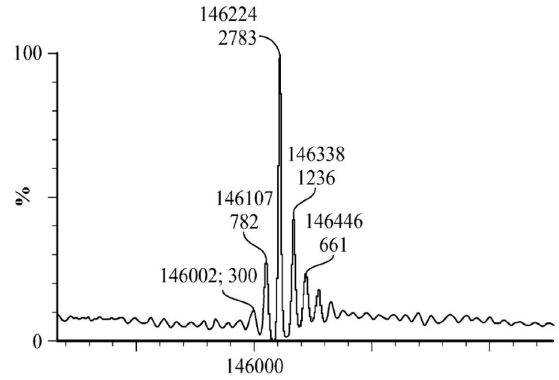


【図９】

【図９Ａ】

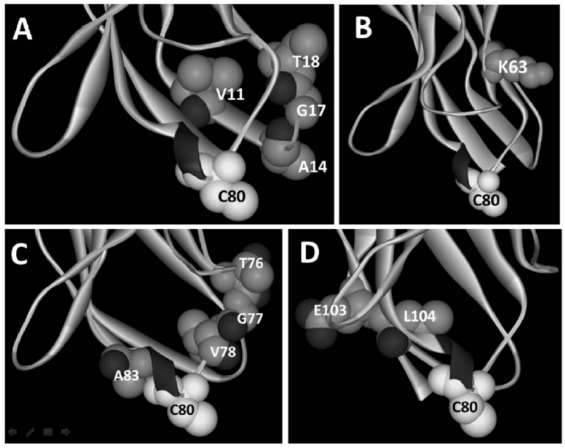


【図９Ｂ】



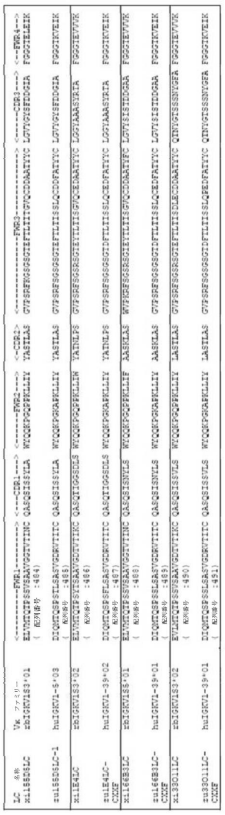
【図１０】

【図１０】



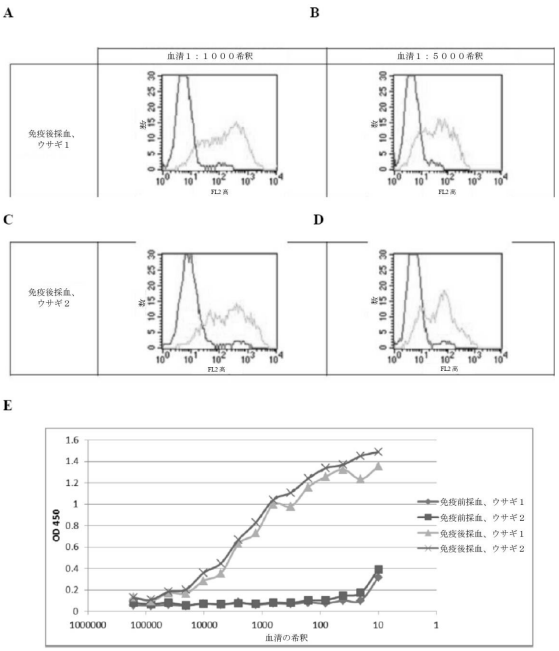
【図１１】

【図１１】



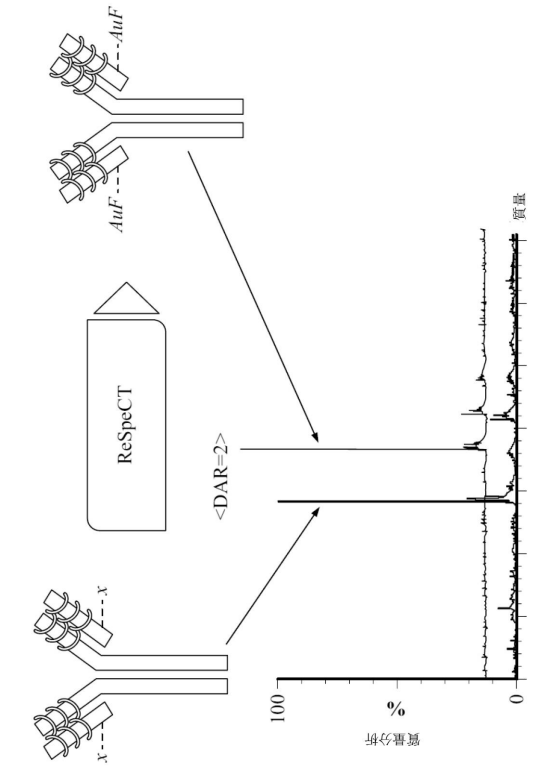
【図１２】

【図１２】



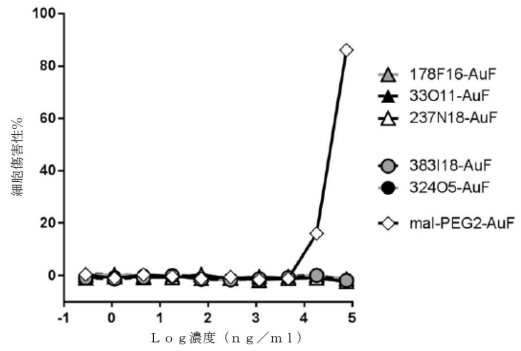
【図１３】

【図１３】

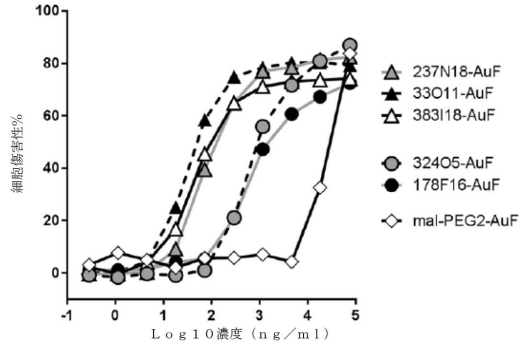


【図１４】

【図１４Ａ】

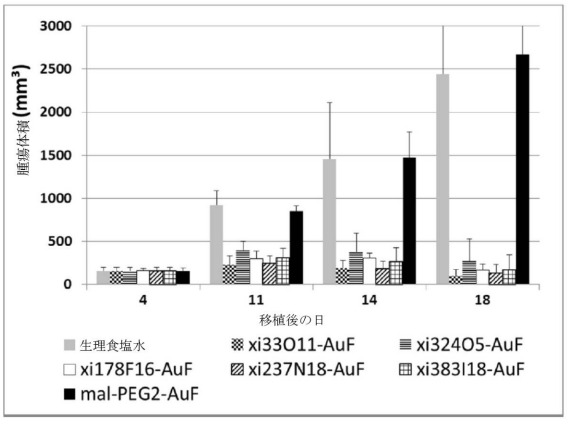


【図１４Ｂ】



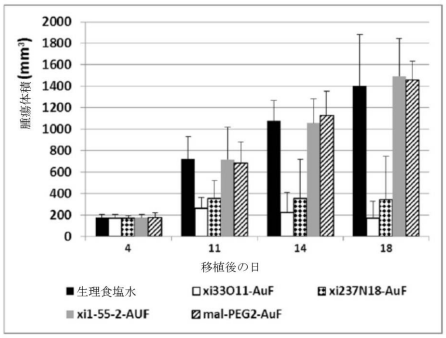
【図１５】

【図１５】

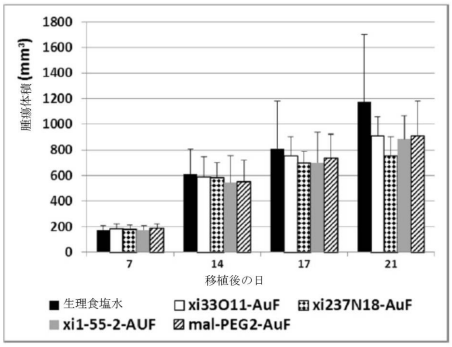


【図１６】

【図１６Ａ】

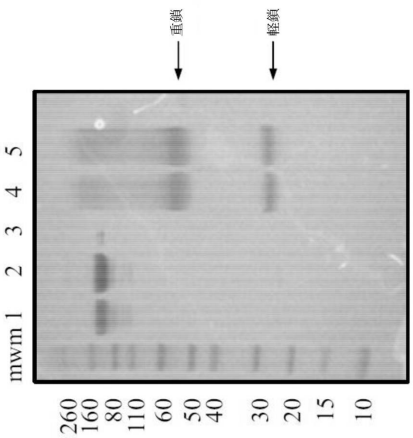


【図１６Ｂ】



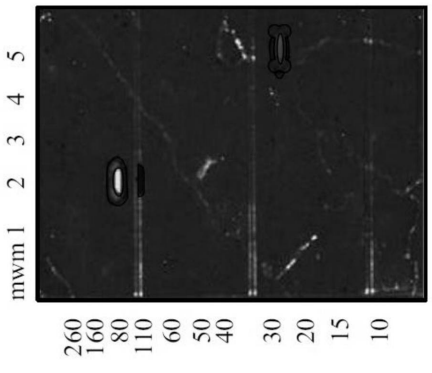
【図１７Ａ】

【図１７Ａ】



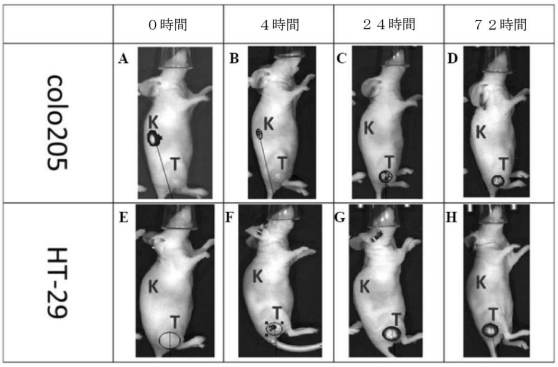
【図１７Ｂ】

【図１７Ｂ】



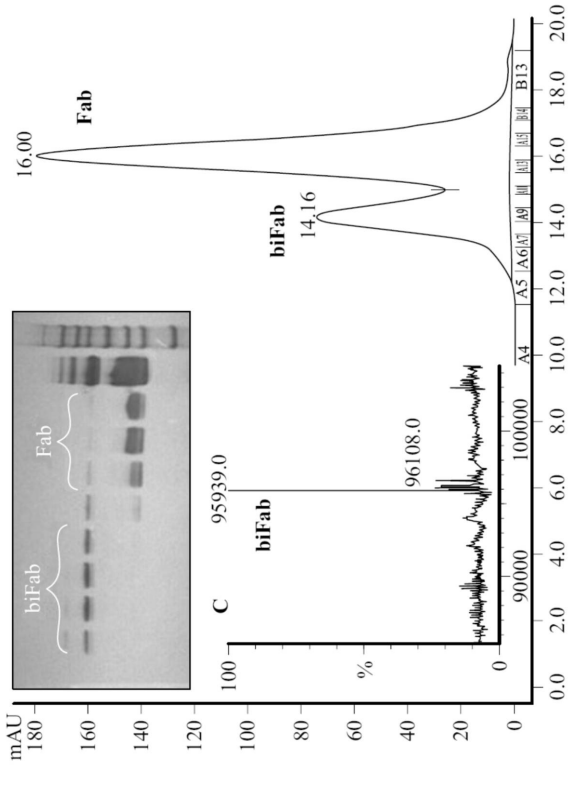
【図１８】

【図１８】



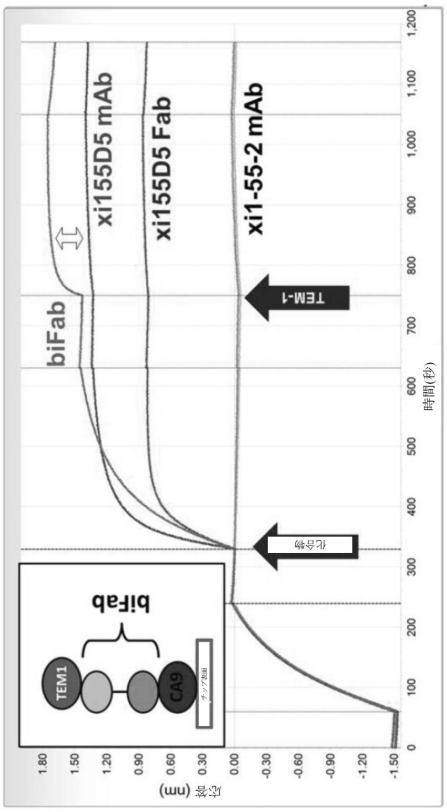
【図１９】

【図１９】

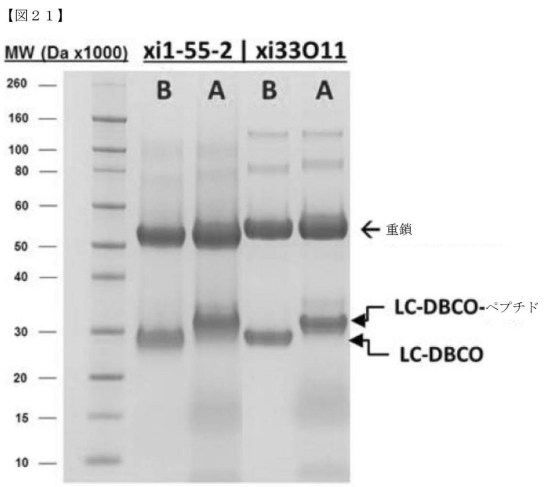


【図２０】

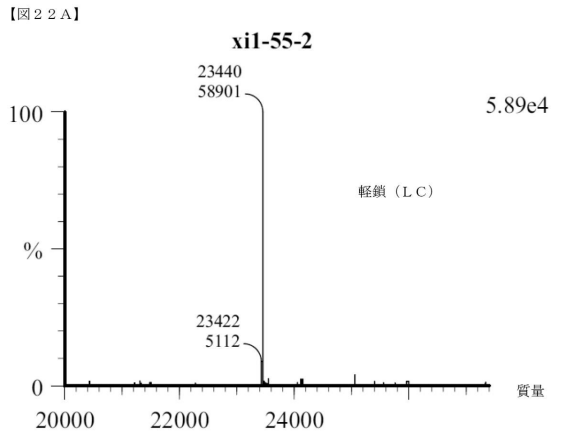
【図２０】



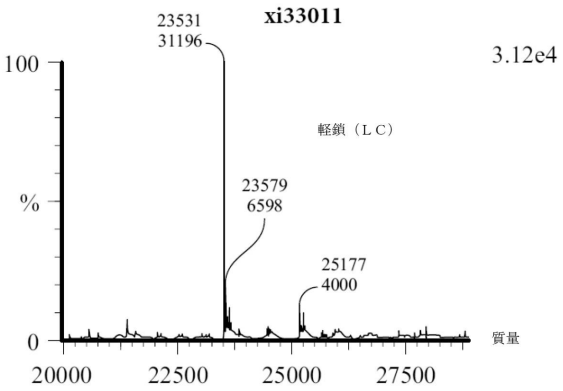
【図２１】



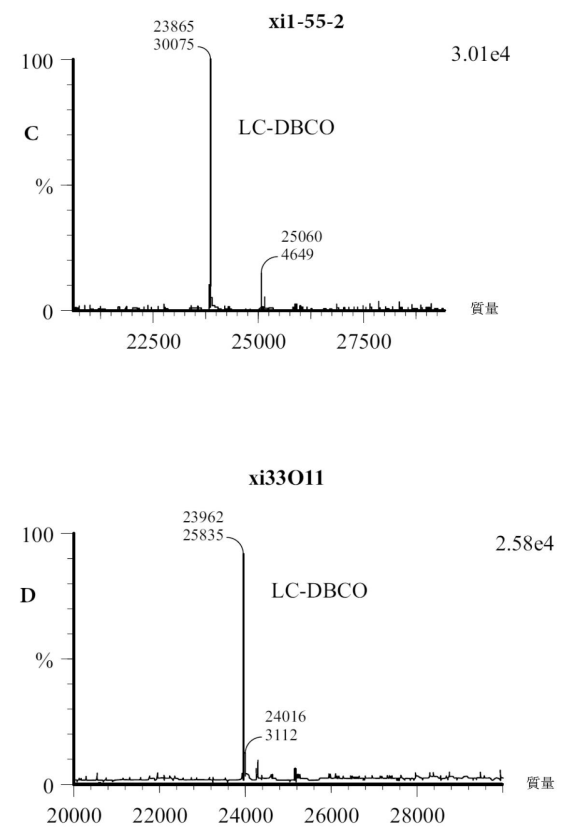
【図２２Ａ】



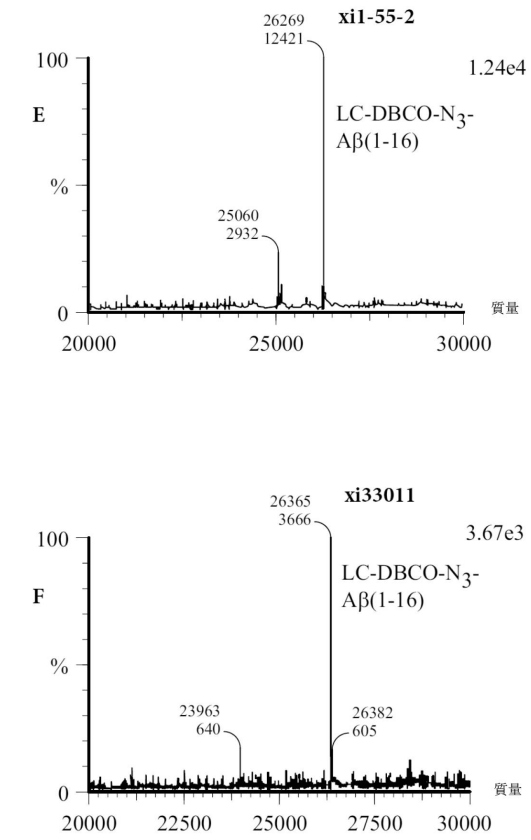
【図２２Ｂ】



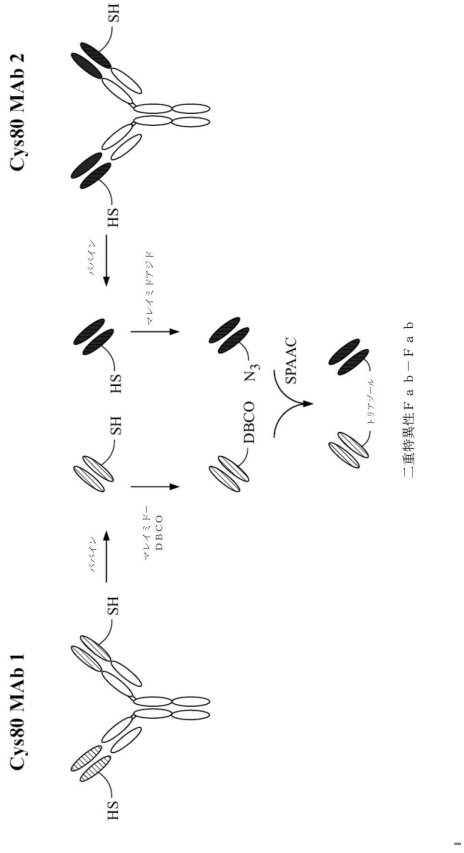
【図２２ＣＤ】



【図２２ＥＦ】



【図２３】



【配列表】

0006823606000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.　　FI
　　C07K　16/28

(72)発明者　グラッソ，　ルイージ
　　アメリカ合衆国　ペンシルベニア　１９０１０，　ブリンマー，　バーバラ　レーン　４０３
(72)発明者　スパイデル，　ジャレッド
　　アメリカ合衆国　ペンシルベニア　１９３３５，　ダウニングタウン，　ワイルドブライアー　ロード　１００
(72)発明者　クライン，　ジェイムズ　ブラッドフォード
　　アメリカ合衆国　ペンシルベニア　１９５４３，　モーガンタウン，　レナピー　ドライブ　２９
(72)発明者　アルボーン，　アール
　　アメリカ合衆国　ペンシルベニア　１９４２２，　ブルー　ベル，　ホウィットパン　ヒルズ　２１０５

審査官　中野　あい

(56)参考文献　特表２０１３－５３４５２０（ＪＰ，Ａ）
　　特表２０１０－５２８５８９（ＪＰ，Ａ）
　　特表２００７－５２０９９１（ＪＰ，Ａ）

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
　　Ｃ１２Ｎ　１５／００－１５／９０
　　ＪＳＴＰｌｕｓ／ＪＭＥＤＰｌｕｓ／ＪＳＴ７５８０（ＪＤｒｅａｍＩＩＩ）
　　ＣＡｐｌｕｓ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＥＭＢＡＳＥ／ＢＩＯＳＩＳ／ＷＰＩＤＳ（ＳＴＮ）