

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 1 部門第 1 区分

【発行日】平成23年8月11日(2011.8.11)

【公表番号】特表2010-531145(P2010-531145A)

【公表日】平成22年9月24日(2010.9.24)

【年通号数】公開・登録公報2010-038

【出願番号】特願2010-513601(P2010-513601)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 0 7 K 16/00 (2006.01)

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 37/00 (2006.01)

C 1 2 P 21/08 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 0 7 K 16/00

A 6 1 K 39/395 Z

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 37/00

C 1 2 P 21/08

【手続補正書】

【提出日】平成23年6月20日(2011.6.20)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

イムノバインダーであって (i)  $V_H$  フレームワーク残基を含む重鎖可変領域もしくはそのフラグメント及び / 又は (i i)  $V_L$  フレームワーク残基を含む軽鎖可変領域もしくはそのフラグメントを含むイムノバインダーのエンジニアリング方法において：

A)  $V_H$  フレームワーク残基、 $V_L$  フレームワーク残基もしくは  $V_H$  及び  $V_L$  フレームワーク残基内で突然変異のための 1 もしくはそれより多くのアミノ酸位置を選択すること；及び  
B) 突然変異のために選択された 1 もしくはそれより多くのアミノ酸位置を突然変異させること

を含み、

a) 突然変異のために選択された 1 もしくはそれより多くのアミノ酸位置が重鎖可変領域のものである場合に、その突然変異は、以下のもの：

(a) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 でのグルタミン酸 (E) もしくはグルタミン (Q) ；

(b) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 6 でのグルタミン酸 (E) もしくはグルタミン (Q) ；

(c) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 でのトレオニン (T)、セリン (S) もしくはアラニン (A) ；

(d) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 10 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 9) でのアラニン (A)、トレオニン (T)、プロ

リン ( P )、バリン ( V ) もしくはアスパラギン酸 ( D ) ;

( e ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 2 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 1 ) でのロイシン ( L ) もしくはバリン ( V ) ;

( f ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 3 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 2 ) でのバリン ( V )、アルギニン ( R )、グルタミン ( Q )、メチオニン ( M ) もしくはリジン ( K ) ;

( g ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 4 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 3 ) でのアルギニン ( R )、メチオニン ( M )、グルタミン酸 ( E )、グルタミン ( Q ) もしくはリジン ( K ) ;

( h ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 9 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 8 ) でのロイシン ( L ) もしくはバリン ( V ) ;

( i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 2 0 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 9 ) でのアルギニン ( R )、トレオニン ( T )、リジン ( K ) もしくはアスパラギン ( N ) ;

( j ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 2 1 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 2 0 ) でのイソロイシン ( I )、フェニルアラニン ( F )、ロイシン ( L ) もしくはバリン ( V ) ;

( k ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 5 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 3 8 ) でのアルギニン ( R ) もしくはリジン ( K ) ;

( l ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 7 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 0 ) でのトレオニン ( T )、プロリン ( P )、バリン ( V )、アラニン ( A ) もしくはアルギニン ( R ) ;

( m ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 5 0 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 3 ) でのリジン ( K )、グルタミン ( Q )、ヒスチジン ( H ) もしくはグルタミン酸 ( E ) ;

( n ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 5 5 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 8 ) でのメチオニン ( M ) もしくはイソロイシン ( I ) ;

( o ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 7 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 6 6 ) でのリジン ( K ) もしくはアルギニン ( R ) ;

( p ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 8 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 6 7 ) でのアラニン ( A )、バリン ( V )、ロイシン ( L ) もしくはイソロイシン ( I ) ;

( q ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 8 2 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 1 ) でのグルタミン酸 ( E )、アルギニン ( R )、トレオニン ( T ) もしくはアラニン ( A ) ;

( r ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 8 6 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 5 ) でのトレオニン ( T )、セリン ( S )、イソロイシン ( I ) もしくはロイシン ( L ) ;

( s ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 8 7 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 6 ) でのアスパラギン酸 ( D )、セリン ( S )、アスパラギン ( N ) もしくはグリシン ( G ) ;

( t ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 8 9 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 8 ) でのアラニン ( A )、バリン ( V )、ロイシン ( L ) もしくはフェニルアラニン ( F ) ;

( u ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 9 0 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 9 ) でのフェニルアラニン ( F )、セリン ( S )、ヒスチジン ( H )、アスパラギン酸 ( D ) もしくはチロシン ( Y ) ;

(v) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 9 2 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 8 1 ) でのアスパラギン酸 ( D )、グルタミン ( Q ) もしくはグルタミン酸 ( E ) ;

(w) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 9 5 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 8 2 b ) でのグリシン ( G )、アスパラギン ( N )、トレオニン ( T ) もしくはセリン ( S ) ;

(x) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 9 8 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 8 4 ) でのトレオニン ( T )、アラニン ( A )、プロリン ( P )、フェニルアラニン ( F ) もしくはセリン ( S ) ;

(y) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 0 3 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 8 9 ) でのアルギニン ( R )、グルタミン ( Q )、バリン ( V )、イソロイシン ( I )、ロイシン ( L )、メチオニン ( M ) もしくはフェニルアラニン ( F ) ; 及び

(z) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 0 7 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 9 3 ) でのアスパラギン ( N )、セリン ( S ) もしくはアラニン ( A )

からなる群から選択される 1 もしくはそれより多くの置換を含み、並びに

b) 突然変異のために選択された 1 もしくはそれより多くのアミノ酸位置が軽鎖可変領域のものである場合に、その突然変異は、以下のもの :

( a a ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 でのロイシン ( L )、グルタミン ( Q )、セリン ( S )、アスパラギン酸 ( D )、グルタミン酸 ( E ) もしくはイソロイシン ( I ) ;

( b b ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 2 でのセリン ( S )、アラニン ( A )、プロリン ( P )、チロシン ( Y )、イソロイシン ( I ) もしくはトレオニン ( T ) ;

( c c ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 3 でのグルタミン ( Q )、バリン ( V )、トレオニン ( T ) もしくはイソロイシン ( I ) ;

( d d ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 でのバリン ( V )、ロイシン ( L )、イソロイシン ( I ) もしくはメチオニン ( M ) ;

( e e ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 でのセリン ( S )、グルタミン酸 ( E ) もしくはプロリン ( P ) ;

( f f ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 0 でのトレオニン ( T ) もしくはイソロイシン ( I ) ;

( g g ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 1 でのアラニン ( A ) もしくはバリン ( V ) ;

( h h ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 2 でのセリン ( S ) もしくはチロシン ( Y ) ;

( i i ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 4 でのトレオニン ( T )、セリン ( S ) もしくはアラニン ( A ) ;

( j j ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 8 でのセリン ( S ) もしくはアルギニン ( R ) ;

( k k ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 2 0 でのトレオニン ( T ) もしくはアラニン ( A ) ;

( l l ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 2 4 でのアルギニン ( R ) もしくはグルタミン ( Q ) ;

( m m ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 6 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 3 8 ) でのヒスチジン ( H ) もしくはグルタミン ( Q ) ;

( n n ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 7 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 3 9 ) でのリジン ( K )、アルギニン ( R ) もしくはイソロイシン ( I ) ;

( o o ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 5 0 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 2 ) でのリジン ( K )、アルギニン ( R )、グルタミン酸 ( E )、トレオニン ( T )、メチオニン ( M ) もしくはグルタミン ( Q ) ;

( p p ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 5 3 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 5 ) でのリジン ( K )、トレオニン ( T )、セリン ( S )、アスパラギン ( N )、グルタミン ( Q ) もしくはプロリン ( P ) ;

( q q ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 5 6 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 8 ) でのイソロイシン ( I ) もしくはメチオニン ( M ) ;

( r r ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 5 7 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 9 ) でのヒスチジン ( H )、セリン ( S )、フェニルアラニン ( F ) もしくはチロシン ( Y ) ;

( s s ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 4 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 5 8 ) でのイソロイシン ( I )、バリン ( V ) もしくはトレオニン ( T ) ;

( t t ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 8 2 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 6 6 ) でのアルギニン ( R )、グルタミン ( Q ) もしくはリジン ( K ) ;

( u u ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 9 1 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 3 ) でのロイシン ( L ) もしくはフェニルアラニン ( F ) ; 及び

( v v ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 9 2 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 4 ) でのグリシン ( G )、トレオニン ( T )、アスパラギン酸 ( D ) もしくはアラニン ( A ) ;

( x x ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 9 4 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 6 ) でのセリン ( S ) もしくはアスパラギン ( N ) ;

( y y ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 0 1 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 8 3 ) でのバリン ( V )、チロシン ( Y ) もしくはセリン ( S ) ; 及び

( z z ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 0 3 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 8 5 ) でのアスパラギン酸 ( D )、ヒスチジン ( H )、グルタミン酸 ( E )、フェニルアラニン ( F )、ロイシン ( L )、アラニン ( A )、トレオニン ( T )、バリン ( V )、セリン ( S )、グリシン ( G ) もしくはイソロイシン ( I )

からなる群から選択される 1 もしくはそれより多くの置換を含む、前記方法。

#### 【請求項 2】

請求項 1 に記載の方法において、突然変異のために選択された 1 もしくはそれより多くの重鎖アミノ酸位置が V H 1 a ファミリーの重鎖可変領域のものである場合に、その突然変異は、以下のもの :

( i ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 でのグルタミン酸 ( E ) もしくはグルタミン ( Q ) ;

( i i ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 6 でのグルタミン酸 ( E ) もしくはグルタミン ( Q ) ;

( i i i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 2 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 1 ) でのロイシン ( L ) もしくはバリン ( V ) ;

( i v ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 3 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 2 ) でのメチオニン ( M ) もしくはリジン ( K ) ;

( v ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 4 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 3 ) でのグルタミン酸 ( E ) 、グルタミン ( Q ) もしくはリジン ( K ) ;

( v i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 9 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 8 ) でのロイシン ( L ) もしくはバリン ( V ) ;

( v i i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 2 1 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 2 0 ) でのイソロイシン ( I ) もしくはバリン ( V ) ;

( v i i i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 9 0 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 9 ) でのフェニルアラニン ( F ) 、セリン ( S ) 、ヒスチジン ( H ) 、アスパラギン酸 ( D ) もしくはチロシン ( Y ) ;

( i x ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 9 2 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 8 1 ) でのアスパラギン酸 ( D ) 、グルタミン ( Q ) もしくはグルタミン酸 ( E ) ;

( x ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 9 5 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 8 2 b ) でのグリシン ( G ) 、アスパラギン ( N ) 、トレオニン ( T ) もしくはセリン ( S ) ; 及び

( x i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 9 8 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 8 4 ) でのトレオニン ( T ) 、アラニン ( A ) 、プロリン ( P ) 、フェニルアラニン ( F ) もしくはセリン ( S )

からなる群から選択される 1 もしくはそれより多くの置換を含む、前記方法。

### 【請求項 3】

請求項 1 に記載の方法において、突然変異のために選択された 1 もしくはそれより多くの重鎖アミノ酸位置が V H 1 b ファミリーの重鎖可変領域のものである場合に、その突然変異は、以下のもの：

( i ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 でのグルタミン酸 ( E ) もしくはグルタミン ( Q ) ;

( i i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 0 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 9 ) でのアラニン ( A ) 、トレオニン ( T ) 、プロリン ( P ) 、バリン ( V ) もしくはアスパラギン酸 ( D ) ;

( i i i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 2 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 1 ) でのロイシン ( L ) もしくはバリン ( V ) ;

( i v ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 3 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 2 ) でのリジン ( K ) 、バリン ( V ) 、アルギニン ( R ) 、グルタミン ( Q ) もしくはメチオニン ( M ) ;

( v ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 4 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 3 ) でのグルタミン酸 ( E ) 、リジン ( K ) 、アルギニン ( R ) もしくはメチオニン ( M ) ;

( v i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 2 0 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 9 ) でのアルギニン ( R ) 、トレオニン ( T ) 、リジン ( K ) もしくはアスパラギン ( N ) ;

( v i i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 2 1 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 2 0 ) でのイソロイシン ( I ) 、フェニルアラニン ( F ) 、バリン ( V ) もしくはロイシン ( L ) ;

( v i i i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 5 ( K a b a t ナ

ンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 38) でのアルギニン (R) もしくはリジン (K) ;

(ix) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 47 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 40) でのトレオニン (T)、プロリン (P)、バリン (V)、アラニン (A) もしくはアルギニン (R) ;

(x) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 50 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 43) でのリジン (K)、グルタミン (Q)、ヒスチジン (H) もしくはグルタミン酸 (E) ;

(xi) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 55 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 48) でのメチオニン (M) もしくはイソロイシン (I) ;

(xii) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 77 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 66) でのリジン (K) もしくはアルギニン (R) ;

(xiii) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 78 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 67) でのアラニン (A)、バリン (V)、ロイシン (L) もしくはイソロイシン (I) ;

(xiv) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 82 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 71) でのグルタミン酸 (E)、アルギニン (R)、トレオニン (T) もしくはアラニン (A) ;

(xv) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 86 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 75) でのトレオニン (T)、セリン (S)、イソロイシン (I) もしくはロイシン (L) ;

(xvi) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 87 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 76) でのアスパラギン酸 (D)、セリン (S)、アスパラギン (N) もしくはグリシン (G) ; 及び

(xvii) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 107 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 93) でのアスパラギン (N)、セリン (S) もしくはアラニン (A)

からなる群から選択される 1 もしくはそれより多くの置換を含む、前記方法。

#### 【請求項 4】

請求項 1 に記載の方法において、突然変異のために選択された 1 もしくはそれより多くの軽鎖アミノ酸位置が V 1 ファミリーの軽鎖可変領域のものである場合に、その突然変異は、以下のもの :

(i) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 でのアスパラギン酸 (D)、グルタミン酸 (E) もしくはイソロイシン (I) ;

(ii) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 3 でのグルタミン (Q)、バリン (V) もしくはイソロイシン (I) ;

(iii) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 でのバリン (V)、ロイシン (L)、イソロイシン (I) もしくはメチオニン (M) ;

(iv) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 24 でのアルギニン (R) もしくはグルタミン (Q) ;

(v) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 47 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 39) でのリジン (K)、アルギニン (R) もしくはイソロイシン (I) ;

(vi) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 50 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 42) でのリジン (K)、アルギニン (R)、グルタミン酸 (E)、トレオニン (T)、メチオニン (M) もしくはグルタミン (Q) ;

(v i i) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 5 7 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 9 ) でのヒスチジン ( H )、セリン ( S )、フェニルアラニン ( F ) もしくはチロシン ( Y ) ;

(v i i i) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 9 1 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 3 ) でのロイシン ( L ) もしくはフェニルアラニン ( F ) ; 及び

( i x) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 0 3 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 8 5 ) でのトレオニン ( T )、バリン ( V )、セリン ( S )、グリシン ( G ) もしくはイソロイシン ( I )

からなる群から選択される 1 もしくはそれより多くの置換を含む、前記方法。

【請求項 5】

請求項 1 に記載の方法において、突然変異のために選択された 1 もしくはそれより多くの軽鎖アミノ酸位置が V 3 ファミリーの軽鎖可変領域のものである場合に、その突然変異は、以下のもの :

( i) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 2 でのイソロイシン ( I ) もしくはトレオニン ( T ) ;

( i i) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 3 でのバリン ( V ) もしくはトレオニン ( T ) ;

( i i i) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 0 でのトレオニン ( T ) もしくはイソロイシン ( I ) ;

( i v) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 2 でのセリン ( S ) もしくはチロシン ( Y ) ;

( v) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 8 でのセリン ( S ) もしくはアルギニン ( R ) ;

( v i) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 2 0 でのトレオニン ( T ) もしくはアラニン ( A ) ;

( v i i) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 5 6 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 8 ) でのイソロイシン ( I ) もしくはメチオニン ( M ) ;

( v i i i) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 4 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 5 8 ) でのイソロイシン ( I )、バリン ( V ) もしくはトレオニン ( T ) ;

( i x) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 9 4 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 6 ) でのセリン ( S ) もしくはアスパラギン ( N ) ;

( x) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 0 1 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 8 3 ) でのフェニルアラニン ( F )、チロシン ( Y ) もしくはセリン ( S ) ; 及び

( x i) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 0 3 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 8 5 ) でのバリン ( V )、ロイシン ( L ) もしくはアラニン ( A )

からなる群から選択される 1 もしくはそれより多くの置換を含む、前記方法。

【請求項 6】

請求項 1 に記載の方法において、突然変異のために選択された 1 もしくはそれより多くの軽鎖アミノ酸位置が V 1 ファミリーの軽鎖可変領域のものである場合に、その突然変異は、以下のもの :

( i) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 でのロイシン ( L )、グルタミン ( Q )、セリン ( S ) もしくはグルタミン酸 ( E ) ;

( i i) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用

したアミノ酸位置 2 でのセリン (S)、アラニン (A)、プロリン (P)、イソロイシン (I) もしくはチロシン (Y) ;

( i i i ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 でのバリン (V)、メチオニン (M) もしくはロイシン (L) ;

( i v ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 でのセリン (S)、グルタミン酸 (E) もしくはプロリン (P) ;

( v ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 11 でのアラニン (A) もしくはバリン (V) ;

( v i ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 14 でのトレオニン (T)、セリン (S) もしくはアラニン (A) ;

( v i i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 46 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 38 ) でのヒスチジン (H) もしくはグルタミン (Q) ;

( v i i i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 53 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 45 ) でのリジン (K)、トレオニン (T)、セリン (S)、アスパラギン (N)、グルタミン (Q) もしくはプロリン (P) ;

( i x ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 82 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 66 ) でのアルギニン (R)、グルタミン (Q) もしくはリジン (K) ;

( x ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 92 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 74 ) でのグリシン (G)、トレオニン (T)、アスパラギン酸 (D) もしくはアラニン (A) ; 及び

( x i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 103 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 85 ) でのアスパラギン酸 (D)、バリン (V)、トレオニン (T)、ヒスチジン (H) もしくはグルタミン酸 (E) からなる群から選択される 1 もしくはそれより多くの置換を含む、前記方法。

#### 【請求項 7】

請求項 1 から 6 までのいずれか 1 項に記載の方法において、突然変異が、更に、以下のもの :

( i ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 12 でのセリン (S) ;

( i i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 103 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 85 ) でのセリン (S) ; 及び

( i i i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 144 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 103 ) でのセリン (S) もしくはトレオニン (T)

からなる群から選択される 1 もしくはそれより多くの重鎖置換を含む、前記方法。

#### 【請求項 8】

請求項 1 から 6 までのいずれか 1 項に記載の方法において、突然変異が、更に、以下の重鎖置換 :

( i ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 12 でのセリン (S) ;

( i i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 103 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 85 ) でのセリン (S) ; 及び

( i i i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 144 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 103 ) でのセリン (S) もしくはトレオニン (T)

を含む、前記方法。

#### 【請求項 9】

請求項 1 から 6 までのいずれか 1 項に記載の方法において、イムノバインダーが、s c



F v 抗体、全長免疫グロブリン、F a b フラグメント、D a b もしくはナノボディーである前記方法。

【請求項 1 0】

請求項 1 から 6 までのいずれか 1 項に記載の方法により製造されたイムノバインダー。

【請求項 1 1】

請求項 1 0 に記載のイムノバインダーであって、s c F v 抗体、全長免疫グロブリン、F a b フラグメント、D a b もしくはナノボディーである前記イムノバインダー。

【請求項 1 2】

請求項 1 0 又は 1 1 に記載のイムノバインダーと、製剤学的に認容性の担体とを含む組成物。

【請求項 1 3】

請求項 1 に記載の方法において、

a) 突然変異のために選択された 1 もしくはそれより多くのアミノ酸位置が V H 3 ファミリーの重鎖可変領域のものである場合に、その突然変異は、以下のもの：

( a ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 でのグルタミン ( Q ) もしくはグルタミン酸 ( E ) ；

( b ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 6 でのグルタミン ( Q ) もしくはグルタミン酸 ( E ) ；

( c ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 でのトレオニン ( T ) もしくはアラニン ( A ) ；

( d ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 0 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 9 ) でのトレオニン ( T ) 、プロリン ( P ) 、バリリン ( V ) もしくはアスパラギン酸 ( D ) ；

( e ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 2 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 1 ) でのロイシン ( L ) ；

( f ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 3 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 2 ) でのバリリン ( V ) 、アルギニン ( R ) 、グルタミン ( Q ) もしくはメチオニン ( M ) ；

( g ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 4 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 3 ) でのグルタミン酸 ( E ) 、アルギニン ( R ) 、メチオニン ( M ) もしくはグルタミン ( Q ) ；

( h ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 9 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 8 ) でのロイシン ( L ) ；

( i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 2 0 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 9 ) でのアルギニン ( R ) 、トレオニン ( T ) もしくはアスパラギン ( N ) ；

( j ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 2 1 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 2 0 ) でのイソロイシン ( I ) 、フェニルアラニン ( F ) もしくはロイシン ( L ) ；

( k ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 5 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 3 8 ) でのリジン ( K ) ；

( l ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 7 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 0 ) でのトレオニン ( T ) 、プロリン ( P ) 、バリリン ( V ) もしくはアルギニン ( R ) ；

( m ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 5 0 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 3 ) でのリジン ( K ) 、ヒスチジン ( H ) もしくはグルタミン酸 ( E ) ；

( n ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 5 5 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 8 ) でのイソロイシン ( I ) ；

( o ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 7 ( K a b a t ナンバリ

ングシステムを使用したアミノ酸位置 66) でのリジン (K) ;

(p) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 78 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 67) でのアラニン (A)、ロイシン (L) もしくはイソロイシン (I) ;

(q) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 82 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 71) でのグルタミン酸 (E)、トレオニン (T) もしくはアラニン (A) ;

(r) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 86 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 75) でのトレオニン (T)、セリン (S) もしくはロイシン (L) ;

(s) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 87 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 76) でのアスパラギン酸 (D)、アスパラギン (N) もしくはグリシン (G) ;

(t) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 89 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 78) でのアラニン (A)、バリン (V) もしくはフェニルアラニン (F) ; 及び

(u) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 90 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 79) でのフェニルアラニン (F)、セリン (S)、ヒスチジン (H) もしくはアスパラギン酸 (D) ;

(v) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 92 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 81) でのアスパラギン酸 (D) もしくはグルタミン (Q) ;

(w) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 95 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 82b) でのグリシン (G)、アスパラギン (N) もしくはトレオニン (T) ;

(x) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 98 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 84) でのトレオニン (T)、アラニン (A)、プロリン (P) もしくはフェニルアラニン (F) ;

(y) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 103 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 89) でのアルギニン (R)、グルタミン (Q)、イソロイシン (I)、ロイシン (L)、メチオニン (M) もしくはフェニルアラニン (F) ; 及び

(z) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 107 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 93) でのアスパラギン (N) もしくはセリン (S)

からなる群から選択される 1 もしくはそれより多くの置換を含み、並びに

b) 突然変異のために選択された 1 もしくはそれより多くのアミノ酸位置が軽鎖可変領域のものである場合に、その突然変異は、以下のもの :

(a a) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 でのロイシン (L)、セリン (S)、グルタミン酸 (E) もしくはイソロイシン (I) ;

(b b) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 2 でのアラニン (A)、プロリン (P)、イソロイシン (I)、チロシン (Y) もしくはトレオニン (T) ;

(c c) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 3 でのトレオニン (T)、バリン (V) もしくはイソロイシン (I) ;

(d d) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 でのバリン (V)、メチオニン (M)、ロイシン (L) もしくはイソロイシン (I) ;

(e e) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用

したアミノ酸位置 7 でのセリン ( S ) もしくはグルタミン酸 ( E ) ;

( f f ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 0 でのイソロイシン ( I ) ;

( g g ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 1 でのアラニン ( A ) ;

( h h ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 2 でのチロシン ( Y ) ;

( i i ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 4 でのトレオニン ( T ) もしくはセリン ( S ) ;

( j j ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 8 でのセリン ( S ) ;

( k k ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 2 0 でのアラニン ( A ) ;

( l l ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 2 4 でのグルタミン ( Q ) ;

( m m ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 6 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 3 8 ) でのヒスチジン ( H ) ;

( n n ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 7 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 3 9 ) でのアルギニン ( R ) もしくはイソロイシン ( I ) ;

( o o ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 5 0 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 2 ) でのリジン ( K ) 、グルタミン酸 ( E ) 、トレオニン ( T ) 、メチオニン ( M ) もしくはグルタミン ( Q ) ;

( p p ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 5 3 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 5 ) でのトレオニン ( T ) 、セリン ( S ) 、アスパラギン ( N ) 、グルタミン ( Q ) もしくはプロリン ( P ) ;

( q q ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 5 6 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 8 ) でのメチオニン ( M ) ;

( r r ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 5 7 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 9 ) でのヒスチジン ( H ) 、セリン ( S ) もしくはフェニルアラニン ( F ) ;

( s s ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 4 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 5 8 ) でのバリン ( V ) もしくはトレオニン ( T ) ;

( t t ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 8 2 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 6 6 ) でのアルギニン ( R ) もしくはグルタミン ( Q ) ;

( v v ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 9 1 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 3 ) でのフェニルアラニン ( F ) ;

( u u ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 9 2 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 4 ) でのグリシン ( G ) 、トレオニン ( T ) もしくはアスパラギン酸 ( D ) ;

( v v ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 9 4 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 6 ) でのアスパラギン ( N ) ;

( y y ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 0 1 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 8 3 ) でのチロシン ( Y ) もしくはセリン ( S ) ; 及び

( z z ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 0 3 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 8 5 ) でのバリン ( V ) 、セリン ( S ) 、グリシン ( G ) 、ロイシン ( L ) もしくはアラニン ( A ) 、トレオニン ( T ) 、ヒスチジン (

H)、グルタミン酸(E)もしくはイソロイシン(I)

からなる群から選択される1もしくはそれより多くの置換を含む、前記方法。

【請求項14】

請求項13に記載の方法において、突然変異のために選択された1もしくはそれより多くの重鎖アミノ酸位置がVH3ファミリーの重鎖可変領域のものである場合に、その突然変異は、以下のもの：

(i) AHoナンバリングシステムもしくはKabatatナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置1でのグルタミン(Q)；

(ii) AHoナンバリングシステムもしくはKabatatナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置6でのグルタミン(Q)；

(iii) AHoナンバリングシステムもしくはKabatatナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置7でのトレオニン(T)もしくはアラニン(A)；

(iv) AHoナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置89(Kabatatナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置78)でのアラニン(A)、バリン(V)もしくはフェニルアラニン(F)；及び

(v) AHoナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置103(Kabatatナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置89)でのアルギニン(R)、グルタミン(Q)、イソロイシン(I)、ロイシン(L)、メチオニン(M)もしくはフェニルアラニン(F)

からなる群から選択される1もしくはそれより多くの置換を含む、前記方法。

【請求項15】

請求項13に記載の方法において、突然変異のために選択された1もしくはそれより多くの重鎖アミノ酸位置がVH1aファミリーの重鎖可変領域のものである場合に、その突然変異は、以下のもの：

(i) AHoナンバリングシステムもしくはKabatatナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置1でのグルタミン酸(E)；

(ii) AHoナンバリングシステムもしくはKabatatナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置6でのグルタミン酸(E)；

(iii) AHoナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置12(Kabatatナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置11)でのロイシン(L)；

(iv) AHoナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置13(Kabatatナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置12)でのメチオニン(M)；

(v) AHoナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置14(Kabatatナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置13)でのグルタミン酸(E)もしくはグルタミン(Q)；

(vi) AHoナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置19(Kabatatナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置18)でのロイシン(L)；

(vii) AHoナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置21(Kabatatナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置20)でのイソロイシン(I)；

(viii) AHoナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置90(Kabatatナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置79)でのフェニルアラニン(F)、セリン(S)、ヒスチジン(H)もしくはアスパラギン酸(D)；

(ix) AHoナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置92(Kabatatナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置81)でのアスパラギン酸(D)もしくはグルタミン(Q)；

(x) AHoナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置95(Kabatatナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置82b)でのグリシン(G)、アスパラギン(N)もしくはトレオニン(T)；及び

(xi) AHoナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置98(Kabatatナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置84)でのトレオニン(T)、アラニン(A)、

プロリン ( P ) もしくはフェニルアラニン ( F )

からなる群から選択される 1 もしくはそれより多くの置換を含む、前記方法。

【請求項 16】

請求項 13 に記載の方法において、突然変異のために選択された 1 もしくはそれより多くの重鎖アミノ酸位置が V H 1 b ファミリーの重鎖可変領域のものである場合に、その突然変異は、以下のもの：

( i ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 でのグルタミン酸 ( E ) ；

( i i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 10 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 9 ) でのトレオニン ( T )、プロリン ( P )、バリン ( V ) もしくはアスパラギン酸 ( D ) ；

( i i i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 12 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 11 ) でのロイシン ( L ) ；

( i v ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 13 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 12 ) でのバリン ( V )、アルギニン ( R )、グルタミン ( Q ) もしくはメチオニン ( M ) ；

( v ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 14 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 13 ) でのグルタミン酸 ( E )、アルギニン ( R ) もしくはメチオニン ( M ) ；

( v i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 20 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 19 ) でのアルギニン ( R )、トレオニン ( T ) もしくはアスパラギン ( N ) ；

( v i i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 21 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 20 ) でのイソロイシン ( I )、フェニルアラニン ( F ) もしくはロイシン ( L ) ；

( v i i i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 45 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 38 ) でのリジン ( K ) ；

( i x ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 47 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 40 ) でのトレオニン ( T )、プロリン ( P )、バリン ( V ) もしくはアルギニン ( R ) ；

( x ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 50 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 43 ) でのリジン ( K )、ヒスチジン ( H ) もしくはグルタミン酸 ( E ) ；

( x i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 55 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 48 ) でのイソロイシン ( I ) ；

( x i i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 77 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 66 ) でのリジン ( K ) ；

( x i i i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 78 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 67 ) でのアラニン ( A )、ロイシン ( L ) もしくはイソロイシン ( I ) ；

( x i v ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 82 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 71 ) でのグルタミン酸 ( E )、トレオニン ( T ) もしくはアラニン ( A ) ；

( x v ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 86 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 75 ) でのトレオニン ( T )、セリン ( S ) もしくはロイシン ( L ) ；

( x v i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 87 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 76 ) でのアスパラギン酸 ( D )、アスパラギン ( N ) もしくはグリシン ( G ) ；及び

( x v i i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 107 ( K a b a t

ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 93) でのアスパラギン (N) もしくはセリン (S)

からなる群から選択される 1 もしくはそれより多くの置換を含む、前記方法。

【請求項 17】

請求項 13 から 16 までのいずれか 1 項に記載の方法において、突然変異のために選択された 1 もしくはそれより多くの軽鎖アミノ酸位置が V 1 ファミリーの軽鎖可変領域のものである場合に、その突然変異は、以下のもの：

(i) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 でのグルタミン酸 (E) もしくはイソロイシン (I) ；

(i i) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 3 でのバリン (V) もしくはイソロイシン (I) ；

(i i i) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 でのバリン (V)、ロイシン (L) もしくはイソロイシン (I) ；

(i v) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 24 でのグルタミン (Q) ；

(v) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 47 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 39) でのアルギニン (R) もしくはイソロイシン (I) ；

(v i) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 50 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 42) でのリジン (K)、グルタミン酸 (E)、トレオニン (T)、メチオニン (M) もしくはグルタミン (Q) ；

(v i i) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 57 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 49) でのヒスチジン (H)、セリン (S) もしくはフェニルアラニン (F) ；

(v i i i) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 91 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 73) でのフェニルアラニン (F) ；及び

(i x) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 103 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 85) でのバリン (V)、セリン (S)、グリシン (G) もしくはイソロイシン (I)

からなる群から選択される 1 もしくはそれより多くの置換を含む、前記方法。

【請求項 18】

請求項 13 から 16 までのいずれか 1 項に記載の方法において、突然変異のために選択された 1 もしくはそれより多くの軽鎖アミノ酸位置が V 3 ファミリーの軽鎖可変領域のものである場合に、その突然変異は、以下のもの：

(i) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 2 でのトレオニン (T) ；

(i i) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 3 でのトレオニン (T) ；

(i i i) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 10 でのイソロイシン (I) ；

(i v) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 12 でのチロシン (Y) ；

(v) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 18 でのセリン (S) ；

(v i) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 20 でのアラニン (A) ；

(v i i) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 56 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 48) でのメチオニン (M) ；

(v i i i) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 74 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 58) でのバリン (V) もしくはトレオニン

( T ) ;

( i x ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 9 4 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 6 ) でのアスパラギン ( N ) ;

( x ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 0 1 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 8 3 ) でのチロシン ( Y ) もしくはセリン ( S ) ; 及び

( x i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 0 3 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 8 5 ) でのロイシン ( L ) もしくはアラニン ( A )

からなる群から選択される 1 もしくはそれより多くの置換を含む、前記方法。

【請求項 1 9】

請求項 1 3 から 1 6 までのいずれか 1 項に記載の方法において、突然変異のために選択された 1 もしくはそれより多くの軽鎖アミノ酸位置が V 1 ファミリーの軽鎖可変領域のものである場合に、その突然変異は、以下のもの：

( i ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 でのロイシン ( L )、セリン ( S ) もしくはグルタミン酸 ( E ) ;

( i i ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 2 でのアラニン ( A )、プロリン ( P )、イソロイシン ( I ) もしくはチロシン ( Y ) ;

( i i i ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 でのバリン ( V ) もしくはメチオニン ( M ) ;

( i v ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 でのセリン ( S ) もしくはグルタミン酸 ( E ) ;

( v ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 1 でのアラニン ( A ) ;

( v i ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 4 でのトレオニン ( T ) もしくはセリン ( S ) ;

( v i i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 6 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 3 8 ) でのヒスチジン ( H ) ;

( v i i i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 5 3 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 5 ) でのトレオニン ( T )、セリン ( S )、アスパラギン ( N )、グルタミン ( Q ) もしくはプロリン ( P ) ;

( i x ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 8 2 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 6 6 ) でのアルギニン ( R ) もしくはグルタミン ( Q ) ;

( x ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 9 2 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 4 ) でのグリシン ( G )、トレオニン ( T ) もしくはアスパラギン酸 ( D ) ; 及び

( x i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 0 3 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 8 5 ) でのバリン ( V )、トレオニン ( T )、ヒスチジン ( H ) もしくはグルタミン酸 ( E )

からなる群から選択される 1 もしくはそれより多くの置換を含む、前記方法。

【請求項 2 0】

請求項 1 3 から 1 9 までのいずれか 1 項に記載の方法において、突然変異が、更に、以下のもの：

( i ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 2 でのセリン ( S ) ;

( i i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 0 3 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 8 5 ) でのセリン ( S ) ; 及び

( i i i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 4 4 ( K a b a t ナ

ンバリリングシステムを使用したアミノ酸位置 103) でのセリン (S) もしくはトレオニン (T)

からなる群から選択される 1 もしくはそれより多くの重鎖置換を含む、前記方法。

【請求項 21】

請求項 13 から 19 までのいずれか 1 項に記載の方法において、突然変異が、更に、以下の重鎖置換：

(i) A H o ナンバリリングシステムもしくは K a b a t ナンバリリングシステムを使用したアミノ酸位置 12 でのセリン (S) ；

(i i) A H o ナンバリリングシステムを使用したアミノ酸位置 103 ( K a b a t ナンバリリングシステムを使用したアミノ酸位置 85 ) でのセリン (S) ；及び

(i i i) A H o ナンバリリングシステムを使用したアミノ酸位置 144 ( K a b a t ナンバリリングシステムを使用したアミノ酸位置 103 ) でのセリン (S) もしくはトレオニン (T)

を含む、前記方法。

【請求項 22】

請求項 13 から 21 までのいずれか 1 項に記載の方法において、イムノバインダーが、s c F v 抗体、全長免疫グロブリン、F a b フラグメント、D a b もしくはナノボディーである前記方法。

【請求項 23】

請求項 13 から 21 までのいずれか 1 項に記載の方法により製造されたイムノバインダー。

【請求項 24】

請求項 23 に記載のイムノバインダーであって、s c F v 抗体、全長免疫グロブリン、F a b フラグメント、D a b もしくはナノボディーである前記イムノバインダー。

【請求項 25】

請求項 24 に記載のイムノバインダーと、製剤学的に認容性の担体とを含む組成物。

【請求項 26】

請求項 13 に記載の方法において、

a) 突然変異のために選択された 1 もしくはそれより多くのアミノ酸位置が V H 3 ファミリーの重鎖可変領域のものである場合に、その突然変異は、以下のもの：

(a) A H o ナンバリリングシステムもしくは K a b a t ナンバリリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 でのグルタミン (Q) もしくはグルタミン酸 (E) ；

(b) A H o ナンバリリングシステムもしくは K a b a t ナンバリリングシステムを使用したアミノ酸位置 6 でのグルタミン (Q) もしくはグルタミン酸 (E) ；

(c) A H o ナンバリリングシステムもしくは K a b a t ナンバリリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 でのトレオニン (T) ；

(d) A H o ナンバリリングシステムを使用したアミノ酸位置 10 ( K a b a t ナンバリリングシステムを使用したアミノ酸位置 9 ) でのトレオニン (T)、プロリン (P)、バリン (V) もしくはアスパラギン酸 (D) ；

(e) A H o ナンバリリングシステムを使用したアミノ酸位置 12 ( K a b a t ナンバリリングシステムを使用したアミノ酸位置 11 ) でのロイシン (L) ；

(f) A H o ナンバリリングシステムを使用したアミノ酸位置 13 ( K a b a t ナンバリリングシステムを使用したアミノ酸位置 12 ) でのバリン (V)、アルギニン (R)、グルタミン (Q) もしくはメチオニン (M) ；

(g) A H o ナンバリリングシステムを使用したアミノ酸位置 14 ( K a b a t ナンバリリングシステムを使用したアミノ酸位置 13 ) でのアルギニン (R) もしくはグルタミン酸 (E) ；

(h) A H o ナンバリリングシステムを使用したアミノ酸位置 19 ( K a b a t ナンバリリングシステムを使用したアミノ酸位置 18 ) でのロイシン (L) ；

(i) A H o ナンバリリングシステムを使用したアミノ酸位置 20 ( K a b a t ナンバリ



ングシステムを使用したアミノ酸位置 19) でのアスパラギン (N) ;

(j) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 21 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 20) でのイソロイシン (I) もしくはロイシン (L) ;

(k) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 45 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 38) でのリジン (K) ;

(l) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 47 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 40) でのアルギニン (R) ;

(m) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 50 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 43) でのリジン (K) ;

(n) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 55 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 48) でのイソロイシン (I) ;

(o) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 77 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 66) でのリジン (K) ;

(p) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 78 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 67) でのアラニン (A) ;

(q) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 82 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 71) でのグルタミン酸 (E) ;

(r) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 86 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 75) でのトレオニン (T) ;

(s) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 87 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 76) でのアスパラギン (N) ;

(t) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 89 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 78) でのバリン (V) ;

(u) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 90 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 79) でのフェニルアラニン (F)、セリン (S)、ヒスチジン (H) もしくはアスパラギン酸 (D) ;

(v) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 92 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 81) でのアスパラギン酸 (D) ;

(w) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 95 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 82 b) でのグリシン (G) ;

(x) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 98 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 84) でのフェニルアラニン (F) ;

(y) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 103 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 89) でのロイシン (L) ; 及び

(z) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 107 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 93) でのアスパラギン (N)

からなる群から選択される 1 もしくはそれより多くの置換を含み、並びに

b) 突然変異のために選択された 1 もしくはそれより多くのアミノ酸位置が軽鎖可変領域のものである場合に、その突然変異は、以下のもの :

(a a) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 でのグルタミン酸 (E) もしくはロイシン (L) ;

(b b) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 2 でのトレオニン (T) もしくはプロリン (P) ;

(c c) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 3 でのバリン (V) もしくはトレオニン (T) ;

(d d) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 でのロイシン (L) もしくはバリン (V) ;

(e e) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 でのセリン (S) ;

( f f ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 0 でのイソロイシン ( I ) ;

( g g ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 1 でのアラニン ( A ) ;

( h h ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 2 でのチロシン ( Y ) ;

( i i ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 4 でのトレオニン ( T ) ;

( j j ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 8 でのセリン ( S ) ;

( k k ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 2 0 でのアラニン ( A ) ;

( l l ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 2 4 でのグルタミン ( Q ) ;

( m m ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 6 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 3 8 ) でのヒスチジン ( H ) ;

( n n ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 7 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 3 9 ) でのアルギニン ( R ) ;

( o o ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 5 0 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 2 ) でのリジン ( K ) 、グルタミン酸 ( E ) 、トレオニン ( T ) 、メチオニン ( M ) もしくはグルタミン ( Q ) ;

( p p ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 5 3 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 5 ) でのトレオニン ( T ) 、セリン ( S ) 、アスパラギン ( N ) 、グルタミン ( Q ) もしくはプロリン ( P ) ;

( q q ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 5 6 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 8 ) でのメチオニン ( M ) ;

( r r ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 5 7 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 9 ) でのセリン ( S ) ; 及び

( s s ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 4 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 5 8 ) でのトレオニン ( T ) ;

( t t ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 8 2 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 6 6 ) でのアルギニン ( R ) ;

( u u ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 9 1 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 3 ) でのフェニルアラニン ( F ) ;

( v v ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 9 2 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 4 ) でのトレオニン ( T ) ;

( x x ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 9 4 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 6 ) でのアスパラギン ( N ) ;

( y y ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 0 1 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 8 3 ) でのセリン ( S ) ; 及び

( z z ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 0 3 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 8 5 ) でのアラニン ( A ) もしくはバリン ( V )

からなる群から選択される 1 もしくはそれより多くの置換を含む、前記方法。

#### 【請求項 2 7】

請求項 2 6 に記載の方法において、突然変異のために選択された 1 もしくはそれより多くの重鎖アミノ酸位置が V H 3 ファミリーの重鎖可変領域のものである場合に、その突然変異は、以下のもの：

( i ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 でのグルタミン ( Q ) ;

( i i ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 6 でのグルタミン ( Q ) ;

( i i i ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 でのトレオニン ( T ) ;

( i v ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 8 9 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 8 ) でのバリン ( V ) ; 及び

( v ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 0 3 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 8 9 ) でのロイシン ( L )  
 からなる群から選択される 1 もしくはそれより多くの置換を含む、前記方法。

【請求項 2 8】

請求項 2 6 に記載の方法において、突然変異のために選択された 1 もしくはそれより多くの重鎖アミノ酸位置が V H 1 a ファミリーの重鎖可変領域のものである場合に、その突然変異は、以下のもの :

( i ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 でのグルタミン酸 ( E ) ;

( i i ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 6 でのグルタミン酸 ( E ) ;

( i i i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 2 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 1 ) でのロイシン ( L ) ;

( i v ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 3 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 2 ) でのメチオニン ( M ) ;

( v ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 4 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 3 ) でのグルタミン酸 ( E ) ;

( v i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 9 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 8 ) でのロイシン ( L ) ;

( v i i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 2 1 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 2 0 ) でのイソロイシン ( I ) ;

( v i i i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 9 0 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 9 ) でのフェニルアラニン ( F ) 、セリン ( S ) 、ヒスチジン ( H ) もしくはアスパラギン酸 ( D ) ;

( i x ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 9 2 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 8 1 ) でのアスパラギン酸 ( D ) ;

( x ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 9 5 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 8 2 b ) でのグリシン ( G ) ; 及び

( x i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 9 8 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 8 4 ) でのフェニルアラニン ( F )  
 からなる群から選択される 1 もしくはそれより多くの置換を含む、前記方法。

【請求項 2 9】

請求項 2 6 に記載の方法において、突然変異のために選択された 1 もしくはそれより多くの重鎖アミノ酸位置が V H 1 b ファミリーの重鎖可変領域のものである場合に、その突然変異は、以下のもの :

( i ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 でのグルタミン酸 ( E ) ;

( i i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 0 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 9 ) でのトレオニン ( T ) 、プロリン ( P ) 、バリン ( V ) もしくはアスパラギン酸 ( D ) ;

( i i i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 2 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 1 ) でのロイシン ( L ) ;

( i v ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 3 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 2 ) でのバリン ( V ) 、アルギニン ( R ) 、グ

ルタミン (Q) もしくはメチオニン (M) ;

(v) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 4 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 3 ) でのアルギニン (R) ;

(v i) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 2 0 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 9 ) でのアスパラギン (N) ;

(v i i) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 2 1 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 2 0 ) でのロイシン (L) ;

(v i i i) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 5 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 3 8 ) でのリジン (K) ;

(i x) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 7 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 0 ) でのアルギニン (R) ;

(x) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 5 0 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 3 ) でのリジン (K) ;

(x i) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 5 5 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 8 ) でのイソロイシン (I) ;

(x i i) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 7 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 6 6 ) でのリジン (K) ;

(x i i i) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 8 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 6 7 ) でのアラニン (A) ;

(x i v) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 8 2 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 1 ) でのグルタミン酸 (E) ;

(x v) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 8 6 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 5 ) でのトレオニン (T) ;

(x v i) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 8 7 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 6 ) でのアスパラギン (N) ; 及び

(x v i i) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 0 7 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 9 3 ) でのアスパラギン (N)

からなる群から選択される 1 もしくはそれより多くの置換を含む、前記方法。

#### 【請求項 3 0】

請求項 2 6 から 2 9 までのいずれか 1 項に記載の方法において、突然変異のために選択された 1 もしくはそれより多くの軽鎖アミノ酸位置が V 1 ファミリーの軽鎖可変領域のものである場合に、その突然変異は、以下のもの :

(i) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 でのグルタミン酸 (E) ;

(i i) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 3 でのバリン (V) ;

(i i i) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 でのロイシン (L) ;

(i v) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 2 4 でのグルタミン (Q) ;

(v) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 7 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 3 9 ) でのアルギニン (R) ;

(v i) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 5 0 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 2 ) でのリジン (K)、グルタミン酸 (E)、トレオニン (T)、メチオニン (M) もしくはグルタミン (Q) ;

(v i i) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 5 7 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 9 ) でのセリン (S) ; 及び

(v i i i) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 9 1 ( K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 3 ) でのフェニルアラニン (F) ;

(i x) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 0 3 ( K a b a t ナン

バリングシステムを使用したアミノ酸位置 85) でのバリン (V)

からなる群から選択される 1 もしくはそれより多くの置換を含む、前記方法。

【請求項 31】

請求項 26 から 29 までのいずれか 1 項に記載の方法において、突然変異のために選択された 1 もしくはそれより多くの軽鎖アミノ酸位置が V 3 ファミリーの軽鎖可変領域のものである場合に、その突然変異は、以下のもの：

(i) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 2 でのトレオニン (T) ；

(i i) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 3 でのトレオニン (T) ；

(i i i) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 10 でのイソロイシン (I) ；

(i v) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 12 でのチロシン (Y) ；

(v) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 18 でのセリン (S) ；

(v i) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 20 でのアラニン (A) ；

(v i i) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 56 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 48) でのメチオニン (M) ；

(v i i i) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 74 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 58) でのトレオニン (T) ；

(i x) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 94 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 76) でのアスパラギン (N) ；

(x) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 101 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 83) でのセリン (S) ；及び

(x i) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 103 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 85) でのアラニン (A)

からなる群から選択される 1 もしくはそれより多くの置換を含む、前記方法。

【請求項 32】

請求項 26 から 29 までのいずれか 1 項に記載の方法において、突然変異のために選択された 1 もしくはそれより多くの軽鎖アミノ酸位置が V 1 ファミリーの軽鎖可変領域のものである場合に、その突然変異は、以下のもの：

(i) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 でのロイシン (L) ；

(i i) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 2 でのプロリン (P) ；

(i i i) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 4 でのバリン (V) ；

(i v) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 7 でのセリン (S) ；

(v) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 11 でのアラニン (A) ；

(v i) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 14 でのトレオニン (T) ；

(v i i) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 46 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 38) でのヒスチジン (H) ；

(v i i i) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 53 (K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 45) でのトレオニン (T)、セリン (S)、アスパラギン (N)、グルタミン (Q) もしくはプロリン (P) ；

( i x ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 8 2 ( K a b a t ナンバリングシステム)を使用したアミノ酸位置 6 6 ) でのアルギニン ( R ) ;

( x ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 9 2 ( K a b a t ナンバリングシステム)を使用したアミノ酸位置 7 4 ) でのトレオニン ( T ) ; 及び

( x i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 0 3 ( K a b a t ナンバリングシステム)を使用したアミノ酸位置 8 5 ) でのバリン ( V )

からなる群から選択される 1 もしくはそれより多くの置換を含む、前記方法。

【請求項 3 3】

請求項 2 6 から 3 2 までのいずれか 1 項に記載の方法において、突然変異が、更に、以下のもの：

( i ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 2 でのセリン ( S ) ;

( i i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 0 3 ( K a b a t ナンバリングシステム)を使用したアミノ酸位置 8 5 ) でのセリン ( S ) ; 及び

( i i i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 4 4 ( K a b a t ナンバリングシステム)を使用したアミノ酸位置 1 0 3 ) でのセリン ( S ) もしくはトレオニン ( T )

からなる群から選択される 1 もしくはそれより多くの重鎖置換を含む、前記方法。

【請求項 3 4】

請求項 2 6 から 3 2 までのいずれか 1 項に記載の方法において、突然変異が、更に、以下の重鎖置換：

( i ) A H o ナンバリングシステムもしくは K a b a t ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 2 でのセリン ( S ) ;

( i i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 0 3 ( K a b a t ナンバリングシステム)を使用したアミノ酸位置 8 5 ) でのセリン ( S ) ; 及び

( i i i ) A H o ナンバリングシステムを使用したアミノ酸位置 1 4 4 ( K a b a t ナンバリングシステム)を使用したアミノ酸位置 1 0 3 ) でのセリン ( S ) もしくはトレオニン ( T )

を含む、前記方法。

【請求項 3 5】

請求項 2 6 から 3 4 までのいずれか 1 項に記載の方法において、イムノバインダーが、s c F v 抗体、全長免疫グロブリン、F a b フラグメント、D a b もしくはナノボディーである前記方法。

【請求項 3 6】

請求項 2 6 から 3 4 までのいずれか 1 項に記載の方法により製造されたイムノバインダー。

【請求項 3 7】

請求項 3 6 に記載のイムノバインダーであって、s c F v 抗体、全長免疫グロブリン、F a b フラグメント、D a b もしくはナノボディーである前記イムノバインダー。

【請求項 3 8】

請求項 3 6 又は 3 7 に記載のイムノバインダーと、製剤学的に認容性の担体とを含む組成物。

【請求項 3 9】

重鎖 C D R 1、C D R 2 及び C D R 3 配列を含むイムノバインダーをエンジニアリングする方法において、前記重鎖 C D R 1、C D R 2 及び C D R 3 配列を重鎖フレームワーク足場中に挿入することを含み、前記重鎖フレームワーク足場が、図 9 ( 配列番号 1 )、図 1 0 ( 配列番号 2 )、図 1 1 ( 配列番号 3 )、配列番号 7、配列番号 8 もしくは配列番号 9 に示されるアミノ酸配列を含む前記方法。

【請求項 4 0】

請求項 3 9 に記載の方法において、前記の重鎖フレームワーク足場が、図 9 ( 配列番号

1) に示されるアミノ酸配列を含む前記方法。

【請求項 4 1】

請求項 3 9 に記載の方法において、前記の重鎖フレームワーク足場が、図 1 0 (配列番号 2) に示されるアミノ酸配列を含む前記方法。

【請求項 4 2】

請求項 3 9 に記載の方法において、前記の重鎖フレームワーク足場が、図 1 1 (配列番号 3) に示されるアミノ酸配列を含む前記方法。

【請求項 4 3】

軽鎖 C D R 1、C D R 2 及び C D R 3 配列を含むイムノバインダーをエンジニアリングする方法において、前記軽鎖 C D R 1、C D R 2 及び C D R 3 配列を軽鎖フレームワーク足場中に挿入することを含み、前記軽鎖フレームワーク足場が、図 1 2 (配列番号 4)、図 1 3 (配列番号 5)、図 1 4 (配列番号 6)、配列番号 1 0、配列番号 1 1 もしくは配列番号 1 2 に示されるアミノ酸配列を含む前記方法。

【請求項 4 4】

請求項 4 3 に記載の方法において、前記の軽鎖フレームワーク足場が、図 1 2 (配列番号 4) に示されるアミノ酸配列を含む前記方法。

【請求項 4 5】

請求項 4 3 に記載の方法において、前記の軽鎖フレームワーク足場が、図 1 3 (配列番号 5) に示されるアミノ酸配列を含む前記方法。

【請求項 4 6】

請求項 4 3 に記載の方法において、前記の軽鎖フレームワーク足場が、図 1 4 (配列番号 6) に示されるアミノ酸配列を含む前記方法。

【請求項 4 7】

請求項 4 3 から 4 6 までのいずれか 1 項に記載の方法において、イムノバインダーが s c F v 抗体である前記方法。

【請求項 4 8】

請求項 4 3 から 4 6 までのいずれか 1 項に記載の方法によりエンジニアリングされたイムノバインダー。

【請求項 4 9】

請求項 4 8 に記載のイムノバインダーであって、s c F v 抗体、全長免疫グロブリン、F a b フラグメント、D a b もしくはナノボディーである前記イムノバインダー。

【請求項 5 0】

図 9 (配列番号 1)、図 1 0 (配列番号 2) もしくは図 1 1 (配列番号 3) に示されるアミノ酸配列を含む単離された重鎖フレームワーク足場。

【請求項 5 1】

図 1 2 (配列番号 4)、図 1 3 (配列番号 5) もしくは図 1 4 (配列番号 6) に示されるアミノ酸配列を含む単離された軽鎖フレームワーク足場。