

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2009-518025

(P2009-518025A)

(43) 公表日 平成21年5月7日(2009.5.7)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 Z N A A	4 B O 2 4
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 Y	4 B O 6 4
A 6 1 K 47/34 (2006.01)	A 6 1 K 47/34	4 B O 6 5
A 6 1 K 47/42 (2006.01)	A 6 1 K 47/42	4 C O 7 6
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	4 C O 8 4
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 130 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2008-543894 (P2008-543894)	(71) 出願人	502197046
(86) (22) 出願日	平成18年12月5日 (2006.12.5)		ドマンティス リミテッド
(85) 翻訳文提出日	平成20年8月1日 (2008.8.1)		イギリス国 ティーダブリュ8 9ジーエ
(86) 国際出願番号	PCT/GB2006/004565		ス ミドルセックス, プレントフォード,
(87) 国際公開番号	W02007/066109		グレート ウェスト ロード 980
(87) 国際公開日	平成19年6月14日 (2007.6.14)	(74) 代理人	100091096
(31) 優先権主張番号	60/742, 992		弁理士 平木 祐輔
(32) 優先日	平成17年12月6日 (2005.12.6)	(74) 代理人	100096183
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 石井 貞次
		(74) 代理人	100118773
			弁理士 藤田 節
		(74) 代理人	100111741
			弁理士 田中 夏夫
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 細胞表面標的に対して結合特異性を有する二重特異性リガンドおよびその使用方法

(57) 【要約】

第1細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む第1ポリペプチドドメインと、第2細胞表面標的に対する結合部位を含む第2ポリペプチドドメインとを含むリガンドであって、ここで標的はそれぞれ異なり、且つ同一の細胞上に存在する、上記リガンドが開示される。いくつかの実施形態において、記載されるリガンドは、毒素をさらに含む。他の実施形態において、本発明のリガンドは、さらに半減期延長部分を含む。これらのリガンドを用いた方法も同様に開示される。特に、癌治療のためのこれらのリガンドの使用が開示される。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

第1細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む第1ポリペプチドドメインと、第2細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む第2ポリペプチドドメインとを含むリガンドであって、ここで

第1細胞表面標的と第2細胞表面標的とは異なり、且つ第1細胞表面標的と第2細胞表面標的とは1つの病原細胞上に存在し；

該リガンドは、該病原細胞上の第1細胞表面標的および第2細胞表面標的に結合し；また該リガンドは該病原細胞によってインターナライズされる、
上記リガンド。

10

【請求項 2】

リガンドが病原細胞によって選択的にインターナライズされる、請求項 1 に記載のリガンド。

【請求項 3】

リガンドが、単一陽性細胞または正常細胞によっては実質的にインターナライズされない、請求項 1 または 2 に記載のリガンド。

【請求項 4】

リガンドが病原細胞に選択的に結合する、請求項 1 ～ 3 のいずれか1項に記載のリガンド。

【請求項 5】

第1ポリペプチドドメインが第1細胞表面標的に低親和性で結合し、且つ第2ポリペプチドドメインが第2細胞表面標的に低親和性で結合する、請求項 1 ～ 4 のいずれか1項に記載のリガンド。

20

【請求項 6】

第1ポリペプチドドメインと第2ポリペプチドドメインが、表面プラズモン共鳴で測定される約10 μ M～約10nMの親和性(KD)で、各々の細胞表面標的にそれぞれ結合する、請求項 5 に記載のリガンド。

【請求項 7】

リガンドが約1pM～約150nMの濃度で存在する場合に、該リガンドが病原細胞に選択的に結合する、請求項 4 に記載のリガンド。

30

【請求項 8】

第1細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む第1ポリペプチドドメインと、第2細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む第2ポリペプチドドメインが、それぞれ第1免疫グロブリン単一可変ドメインと、第2免疫グロブリン単一可変ドメインである、請求項 1 ～ 7 のいずれか1項に記載のリガンド。

【請求項 9】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインおよび/または第2免疫グロブリン単一可変ドメインが V_{HH} である、請求項 8 に記載のリガンド。

【請求項 10】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインと第2免疫グロブリン単一可変ドメインが、ヒト V_H 、ヒト V_L からなる群から独立して選択される、請求項 8 に記載のリガンド。

40

【請求項 11】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインが、CD38、CD138、癌胎児性抗原(CEA)、CD56、血管内皮成長因子(VEGF)、上皮成長因子受容体(EGFR)、およびHER2からなる群から選択される細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む、請求項 8 または10に記載のリガンド。

【請求項 12】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインと第2免疫グロブリン単一可変ドメインとが同一の細胞表面標的には結合しない条件で、第2免疫グロブリン単一可変ドメインが、CD38、CD138、CEA、CD56、VEGF、EGFR、およびHER2からなる群から選択される細胞表面標的に対し

50

て結合特異性を有する結合部位を含む、請求項11に記載のリガンド。

【請求項 1 3】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインが、CD 38に結合し、且つ：DOM11-14 (配列番号(SEQ ID NO:)242)、DOM11-22 (配列番号246)、DOM11-23 (配列番号247)、DOM11-25 (配列番号249)、DOM11-26 (配列番号250)、DOM11-27 (配列番号251)、DOM 11-29 (配列番号253)、DOM11-3 (配列番号234)、DOM11-30 (配列番号254)、DOM11-31 (配列番号255)、DOM11-32 (配列番号256)、DOM11-36 (配列番号260)、DOM11-4 (配列番号235)、DOM11-43 (配列番号266)、DOM11-44 (配列番号267)、DOM11-45 (配列番号268)、DOM11-5 (配列番号236)、DOM11-7 (配列番号238)、DOM11-1 (配列番号232)、DOM11-10 (配列番号241)、DOM11-16 (配列番号243)、DOM11-2 (配列番号233)、DOM11-20 (配列番号244)、DOM11-21 (配列番号245)、DOM11-24 (配列番号248)、DOM11-28 (配列番号252)、DOM11-33 (配列番号257)、DOM11-34 (配列番号258)、DOM11-35 (配列番号259)、DOM11-37 (配列番号261)、DOM11-38 (配列番号262)、DOM11-39 (配列番号293)、DOM11-41 (配列番号264)、DOM11-42 (配列番号265)、DOM11-6 (配列番号237)、DOM11-8 (配列番号239)、およびDOM11-9 (配列番号240)からなる群から選択される抗CD38ドメイン抗体(dAb)と、CD38に対する結合において競合する、請求項11または12に記載のリガンド。

10

【請求項 1 4】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインが、CD 38に結合し、且つ：DOM 11-3-1 (配列番号269)、DOM 11-3-2 (配列番号270)、DOM 11-3-3 (配列番号271)、DOM 11-3-4 (配列番号272)、DOM 11-3-6 (配列番号273)、DOM 11-3-9 (配列番号274)、DOM 11-3-10 (配列番号275)、DOM 11-3-11 (配列番号276)、DOM 11-3-14 (配列番号277)、DOM 11-3-15 (配列番号278)、DOM 11-3-17 (配列番号279)、DOM 11-3-19 (配列番号280)、DOM 11-3-20 (配列番号281)、DOM 11-3-21 (配列番号282)、DOM 11-3-22 (配列番号283)、DOM 11-3-23 (配列番号284)、DOM 11-3-24 (配列番号285)、DOM 11-3-25 (配列番号286)、DOM 11-3-26 (配列番号287)、DOM 11-3-27 (配列番号288)、DOM 11-3-28 (配列番号289)、DOM 11-30-1 (配列番号290)、DOM 11-30-2 (配列番号291)、DOM 11-30-3 (配列番号292)、DOM 11-30-5 (配列番号293)、DOM 11-30-6 (配列番号294)、DOM 11-30-7 (配列番号295)、DOM 11-30-8 (配列番号296)、DOM 11-30-9 (配列番号297)、DOM 11-30-10 (配列番号298)、DOM 11-30-11 (配列番号299)、DOM 11-30-12 (配列番号300)、DOM 11-30-13 (配列番号301)、DOM 11-30-14 (配列番号302)、DOM 11-30-15 (配列番号303)、DOM 11-30-16 (配列番号304)、およびDOM 11-30-17 (配列番号305)からなる群から選択される抗CD38ドメイン抗体(dAb)と、CD38に対する結合において競合する、請求項11または12に記載のリガンド。

20

30

【請求項 1 5】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインが：DOM11-14 (配列番号242)、DOM11-22 (配列番号246)、DOM11-23 (配列番号247)、DOM11-25 (配列番号249)、DOM11-26 (配列番号250)、DOM11-27 (配列番号251)、DOM 11-29 (配列番号253)、DOM11-3 (配列番号234)、DOM11-30 (配列番号254)、DOM11-31 (配列番号255)、DOM11-32 (配列番号256)、DOM11-36 (配列番号260)、DOM11-4 (配列番号235)、DOM11-43 (配列番号266)、DOM11-44 (配列番号267)、DOM11-45 (配列番号268)、DOM11-5 (配列番号236)、DOM11-7 (配列番号238)、DOM11-1 (配列番号232)、DOM11-10 (配列番号241)、DOM11-16 (配列番号243)、DOM11-2 (配列番号233)、DOM11-20 (配列番号244)、DOM11-21 (配列番号245)、DOM11-24 (配列番号248)、DOM11-28 (配列番号252)、DOM11-33 (配列番号257)、DOM11-34 (配列番号258)、DOM11-35 (配列番号259)、DOM11-37 (配列番号261)、DOM11-38 (配列番号262)、DOM11-39 (配列番号293)、DOM11-41 (配列番号264)、DOM11-42 (配列番号265)、DOM11-6 (配列番号237)、DOM11-8 (配列番号239)、およびDOM11-9 (配列番号240)からなる群から選択されるdAbのアミノ酸配列と少なくとも約90%のアミノ酸配列類似性を有するアミノ酸配列を含む、請求項13に記載のリガンド。

40

【請求項 1 6】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインが：DO

50

M 11-3-1 (配列番号269)、DOM 11-3-2 (配列番号270)、DOM 11-3-3 (配列番号271)、DOM 11-3-4 (配列番号272)、DOM 11-3-6 (配列番号273)、DOM 11-3-9 (配列番号274)、DOM 11-3-10 (配列番号275)、DOM 11-3-11 (配列番号276)、DOM 11-3-14 (配列番号277)、DOM 11-3-15 (配列番号278)、DOM 11-3-17 (配列番号279)、DOM 11-3-19 (配列番号280)、DOM 11-3-20 (配列番号281)、DOM 11-3-21 (配列番号282)、DOM 11-3-22 (配列番号283)、DOM 11-3-23 (配列番号284)、DOM 11-3-24 (配列番号285)、DOM 11-3-25 (配列番号286)、DOM 11-3-26 (配列番号287)、DOM 11-3-27 (配列番号288)、DOM 11-3-28 (配列番号289)、DOM 11-30-1 (配列番号290)、DOM 11-30-2 (配列番号291)、DOM 11-30-3 (配列番号292)、DOM 11-30-5 (配列番号293)、DOM 11-30-6 (配列番号294)、DOM 11-30-7 (配列番号295)、DOM 11-30-8 (配列番号296)、DOM 11-30-9 (配列番号297)、DOM 11-30-10 (配列番号298)、DOM 11-30-11 (配列番号299)、DOM 11-30-12 (配列番号300)、DOM 11-30-13 (配列番号301)、DOM 11-30-14 (配列番号302)、DOM 11-30-15 (配列番号303)、DOM 11-30-16 (配列番号304)、およびDOM 11-30-17 (配列番号305)からなる群から選択されるdAbのアミノ酸配列と少なくとも約90%のアミノ酸配列類似性を有するアミノ酸配列を含む、請求項13に記載のリガンド。

【請求項17】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインが、CD 138に結合し、且つ：DOM12-1 (配列番号306)、DOM12-15 (配列番号317)、DOM12-17 (配列番号318)、DOM12-19 (配列番号320)、DOM12-2 (配列番号307)、DOM12-20 (配列番号321)、DOM12-21 (配列番号322)、DOM12-22 (配列番号323)、DOM12-3 (配列番号308)、DOM12-33 (配列番号334)、DOM12-39 (配列番号340)、DOM12-4 (配列番号309)、DOM12-40 (配列番号341)、DOM12-41 (配列番号342)、DOM12-42 (配列番号343)、DOM12-44 (配列番号345)、DOM12-46 (配列番号347)、DOM12-6 (配列番号311)、DOM12-7 (配列番号312)、DOM12-10 (配列番号315)、DOM12-11 (配列番号316)、DOM12-18 (配列番号319)、DOM12-23 (配列番号324)、DOM12-24 (配列番号325)、DOM12-25 (配列番号326)、DOM12-26 (配列番号327)、DOM12-27 (配列番号328)、DOM12-28 (配列番号329)、DOM12-29 (配列番号330)、DOM12-30 (配列番号331)、DOM12-31 (配列番号332)、DOM12-32 (配列番号333)、DOM12-34 (配列番号335)、DOM12-35 (配列番号336)、DOM12-36 (配列番号337)、DOM12-37 (配列番号338)、DOM12-38 (配列番号339)、DOM12-43 (配列番号344)、DOM12-45 (配列番号346)、DOM12-5 (配列番号310)、DOM12-8 (配列番号313)、およびDOM12-9 (配列番号314)からなる群から選択される抗CD138ドメイン抗体(dAb)と、CD138に対する結合において競合する、請求項11または12に記載のリガンド。

【請求項18】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインが、CD 138に結合し、且つ：DOM 12-45-1 (配列番号348)、DOM 12-45-2 (配列番号349)、DOM 12-45-3 (配列番号350)、DOM 12-45-4 (配列番号351)、DOM 12-45-5 (配列番号352)、DOM 12-45-6 (配列番号353)、DOM 12-45-8 (配列番号354)、DOM 12-45-9 (配列番号355)、DOM 12-45-10 (配列番号356)、DOM 12-45-11 (配列番号357)、DOM 12-45-12 (配列番号358)、DOM 12-45-13 (配列番号359)、DOM 12-45-14 (配列番号360)、DOM 12-45-15 (配列番号361)、DOM 12-45-16 (配列番号362)、DOM 12-45-17 (配列番号363)、DOM 12-45-18 (配列番号364)、DOM 12-45-19 (配列番号365)、DOM 12-45-20 (配列番号366)、DOM 12-45-21 (配列番号367)、DOM 12-45-22 (配列番号368)、DOM 12-45-23 (配列番号369)、DOM 12-45-24 (配列番号370)、DOM 12-45-25 (配列番号371)、DOM 12-45-26 (配列番号372)、DOM 12-45-27 (配列番号373)、DOM 12-45-28 (配列番号374)、DOM 12-45-29 (配列番号375)、DOM 12-45-30 (配列番号376)、DOM 12-45-31 (配列番号377)、DOM 12-45-32 (配列番号378)、DOM 12-45-33 (配列番号379)、DOM 12-45-34 (配列番号380)、DOM 12-45-35 (配列番号381)、DOM 12-45-36 (配列番号382)、DOM 12-45-37 (配列番号383)、およびDOM 12-45-38 (配列番号384)からなる群から選択される抗CD138ドメイン抗体(dAb)と、CD138に対する結合において競合する、請求項11または12に記載のリガンド。

【請求項19】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインが：DOM12-1（配列番号306）、DOM12-15（配列番号317）、DOM12-17（配列番号318）、DOM12-19（配列番号320）、DOM12-2（配列番号307）、DOM12-20（配列番号321）、DOM12-21（配列番号322）、DOM12-22（配列番号323）、DOM12-3（配列番号308）、DOM12-33（配列番号334）、DOM12-39（配列番号340）、DOM12-4（配列番号309）、DOM12-40（配列番号341）、DOM12-41（配列番号342）、DOM12-42（配列番号343）、DOM12-44（配列番号345）、DOM12-46（配列番号347）、DOM12-6（配列番号311）、DOM12-7（配列番号312）、DOM12-10（配列番号315）、DOM12-11（配列番号316）、DOM12-18（配列番号319）、DOM12-23（配列番号324）、DOM12-24（配列番号325）、DOM12-25（配列番号326）、DOM12-26（配列番号327）、DOM12-27（配列番号328）、DOM12-28（配列番号329）、DOM12-29（配列番号330）、DOM12-30（配列番号331）、DOM12-31（配列番号332）、DOM12-32（配列番号333）、DOM12-34（配列番号335）、DOM12-35（配列番号336）、DOM12-36（配列番号337）、DOM12-37（配列番号338）、DOM12-38（配列番号339）、DOM12-43（配列番号344）、DOM12-45（配列番号346）、DOM12-5（配列番号310）、DOM12-8（配列番号313）、およびDOM12-9（配列番号314）からなる群から選択されるdAbのアミノ酸配列と少なくとも約90%のアミノ酸配列類似性を有するアミノ酸配列を含む、請求項17に記載のリガンド。

10

【請求項20】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインが：DOM12-45-1（配列番号348）、DOM12-45-2（配列番号349）、DOM12-45-3（配列番号350）、DOM12-45-4（配列番号351）、DOM12-45-5（配列番号352）、DOM12-45-6（配列番号353）、DOM12-45-8（配列番号354）、DOM12-45-9（配列番号355）、DOM12-45-10（配列番号356）、DOM12-45-11（配列番号357）、DOM12-45-12（配列番号358）、DOM12-45-13（配列番号359）、DOM12-45-14（配列番号360）、DOM12-45-15（配列番号361）、DOM12-45-16（配列番号362）、DOM12-45-17（配列番号363）、DOM12-45-18（配列番号364）、DOM12-45-19（配列番号365）、DOM12-45-20（配列番号366）、DOM12-45-21（配列番号367）、DOM12-45-22（配列番号368）、DOM12-45-23（配列番号369）、DOM12-45-24（配列番号370）、DOM12-45-25（配列番号371）、DOM12-45-26（配列番号372）、DOM12-45-27（配列番号373）、DOM12-45-28（配列番号374）、DOM12-45-29（配列番号375）、DOM12-45-30（配列番号376）、DOM12-45-31（配列番号377）、DOM12-45-32（配列番号378）、DOM12-45-33（配列番号379）、DOM12-45-34（配列番号380）、DOM12-45-35（配列番号381）、DOM12-45-36（配列番号382）、DOM12-45-37（配列番号383）、およびDOM12-45-38（配列番号384）からなる群から選択されるdAbのアミノ酸配列と少なくとも約90%のアミノ酸配列類似性を有するアミノ酸配列を含む、請求項17に記載のリガンド。

20

30

【請求項21】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインが、CEAに結合し、且つ：DOM13-1（配列番号385）、DOM13-12（配列番号393）、DOM13-13（配列番号394）、DOM13-14（配列番号395）、DOM13-15（配列番号396）、DOM13-16（配列番号397）、DOM13-17（配列番号398）、DOM13-18（配列番号399）、DOM13-19（配列番号400）、DOM13-2（配列番号386）、DOM13-20（配列番号401）、DOM13-21（配列番号402）、DOM13-22（配列番号403）、DOM13-23（配列番号404）、DOM13-24（配列番号405）、DOM13-25（配列番号406）、DOM13-26（配列番号407）、DOM13-27（配列番号408）、DOM13-28（配列番号409）、DOM13-29（配列番号410）、DOM13-3（配列番号387）、DOM13-30（配列番号411）、DOM13-31（配列番号412）、DOM13-32（配列番号413）、DOM13-33（配列番号414）、DOM13-34（配列番号415）、DOM13-35（配列番号416）、DOM13-36（配列番号417）、DOM13-37（配列番号418）、DOM13-4（配列番号388）、DOM13-42（配列番号419）、DOM13-43（配列番号420）、DOM13-44（配列番号421）、DOM13-45（配列番号422）、DOM13-46（配列番号423）、DOM13-47（配列番号424）、DOM13-48（配列番号425）、DOM13-49（配列番号426）、DOM13-5（配列番号389）、DOM13-50（配列番号427）、DOM13-51（配列番号428）、DOM13-52（配列番号429）、DOM13-53（配列番号430）、DOM13-54（配列番号431）、DOM13-55（配列番号432）、DOM13-56（配列番号433）、DOM13-57（配列番号434）、DOM13-58（配列番号435）、DOM13-59（配列番号436）、DOM13-

40

50

6 (配列番号390)、DOM13-60 (配列番号437)、DOM13-61 (配列番号438)、DOM13-62 (配列番号439)、DOM13-63 (配列番号440)、DOM13-64 (配列番号441)、DOM13-65 (配列番号442)、DOM13-66 (配列番号443)、DOM13-67 (配列番号444)、DOM13-68 (配列番号445)、DOM13-69 (配列番号446)、DOM13-7 (配列番号391)、DOM13-70 (配列番号447)、DOM13-71 (配列番号448)、DOM13-72 (配列番号449)、DOM13-73 (配列番号450)、DOM13-74 (配列番号451)、DOM13-75 (配列番号452)、DOM13-76 (配列番号453)、DOM13-77 (配列番号454)、DOM13-78 (配列番号455)、DOM13-79 (配列番号456)、DOM13-8 (配列番号392)、DOM13-80 (配列番号457)、DOM13-81 (配列番号458)、DOM13-82 (配列番号459)、DOM13-83 (配列番号460)、DOM13-84 (配列番号461)、DOM13-85 (配列番号462)、DOM13-86 (配列番号463)、DOM13-87 (配列番号464)、DOM13-88 (配列番号465)、DOM13-89 (配列番号466)、DOM13-90 (配列番号467)、DOM13-91 (配列番号468)、DOM13-92 (配列番号469)、DOM13-93 (配列番号470)、DOM13-94 (配列番号471)、およびDOM13-95 (配列番号472)からなる群から選択される抗CEAドメイン抗体(dAb)と、CEAに対する結合において競合する、請求項11または12に記載のリガンド。 10

【請求項 2 2】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインが、CEAに結合し、且つ：DOM 13-25-3 (配列番号473)、DOM 13-25-23 (配列番号474)、DOM 13-25-27 (配列番号475)、およびDOM 13-25-80 (配列番号476)からなる群から選択される抗CEAドメイン抗体(dAb)と、CEAに対する結合において競合する、請求項11または12に記載のリガンド。 20

【請求項 2 3】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインが：DOM13-1 (配列番号385)、DOM13-12 (配列番号393)、DOM13-13 (配列番号394)、DOM13-14 (配列番号395)、DOM13-15 (配列番号396)、DOM13-16 (配列番号397)、DOM13-17 (配列番号398)、DOM13-18 (配列番号399)、DOM13-19 (配列番号400)、DOM13-2 (配列番号386)、DOM13-20 (配列番号401)、DOM13-21 (配列番号402)、DOM13-22 (配列番号403)、DOM13-23 (配列番号404)、DOM13-24 (配列番号405)、DOM13-25 (配列番号406)、DOM13-26 (配列番号407)、DOM13-27 (配列番号408)、DOM13-28 (配列番号409)、DOM13-29 (配列番号410)、DOM13-3 (配列番号387)、DOM13-30 (配列番号411)、DOM13-31 (配列番号412)、DOM13-32 (配列番号413)、DOM13-33 (配列番号414)、DOM13-34 (配列番号415)、DOM13-35 (配列番号416)、DOM13-36 (配列番号417)、DOM13-37 (配列番号418)、DOM13-4 (配列番号388)、DOM13-42 (配列番号419)、DOM13-43 (配列番号420)、DOM13-44 (配列番号421)、DOM13-45 (配列番号422)、DOM13-46 (配列番号423)、DOM13-47 (配列番号424)、DOM13-48 (配列番号425)、DOM13-49 (配列番号426)、DOM13-5 (配列番号389)、DOM13-50 (配列番号427)、DOM13-51 (配列番号428)、DOM13-52 (配列番号429)、DOM13-53 (配列番号430)、DOM13-54 (配列番号431)、DOM13-55 (配列番号432)、DOM13-56 (配列番号433)、DOM13-57 (配列番号434)、DOM13-58 (配列番号435)、DOM13-59 (配列番号436)、DOM13-6 (配列番号390)、DOM13-60 (配列番号437)、DOM13-61 (配列番号438)、DOM13-62 (配列番号439)、DOM13-63 (配列番号440)、DOM13-64 (配列番号441)、DOM13-65 (配列番号442)、DOM13-66 (配列番号443)、DOM13-67 (配列番号444)、DOM13-68 (配列番号445)、DOM13-69 (配列番号446)、DOM13-7 (配列番号391)、DOM13-70 (配列番号447)、DOM13-71 (配列番号448)、DOM13-72 (配列番号449)、DOM13-73 (配列番号450)、DOM13-74 (配列番号451)、DOM13-75 (配列番号452)、DOM13-76 (配列番号453)、DOM13-77 (配列番号454)、DOM13-78 (配列番号455)、DOM13-79 (配列番号456)、DOM13-8 (配列番号392)、DOM13-80 (配列番号457)、DOM13-81 (配列番号458)、DOM13-82 (配列番号459)、DOM13-83 (配列番号460)、DOM13-84 (配列番号461)、DOM13-85 (配列番号462)、DOM13-86 (配列番号463)、DOM13-87 (配列番号464)、DOM13-88 (配列番号465)、DOM13-89 (配列番号466)、DOM13-90 (配列番号467)、DOM13-91 (配列番号468)、DOM13-92 (配列番号469)、DOM13-93 (配列番号470)、DOM13-94 (配列番号471)、およびDOM13-95 (配列番号472)からなる群から選択されるdAbのアミノ酸配列と少なくとも約90%のアミノ酸配列類似性を有するアミノ酸配列を含む、請求項21に記載のリ 30 40 50

ガンド。

【請求項 2 4】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインが：DOM 13-25-3 (配列番号473)、DOM 13-25-23 (配列番号474)、DOM 13-25-27 (配列番号475)、およびDOM 13-25-80 (配列番号476)からなる群から選択されるdAbのアミノ酸配列と少なくとも約90%のアミノ酸配列類似性を有するアミノ酸配列を含む、請求項21に記載のリガンド。

【請求項 2 5】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインが、CD 56に結合し、且つ：DOM14-1 (配列番号477)、DOM14-10 (配列番号481)、DOM14-100 (配列番号540)、DOM14-11 (配列番号482)、DOM14-12 (配列番号483)、DOM14-13 (配列番号484)、DOM14-14 (配列番号485)、DOM14-15 (配列番号486)、DOM14-16 (配列番号487)、DOM14-17 (配列番号488)、DOM14-18 (配列番号489)、DOM14-19 (配列番号490)、DOM14-2 (配列番号478)、DOM14-20 (配列番号491)、DOM14-21 (配列番号492)、DOM14-22 (配列番号493)、DOM14-23 (配列番号494)、DOM14-24 (配列番号495)、DOM14-25 (配列番号496)、DOM14-26 (配列番号497)、DOM14-27 (配列番号498)、DOM14-28 (配列番号499)、DOM14-3 (配列番号479)、DOM14-31 (配列番号500)、DOM14-32 (配列番号501)、DOM14-33 (配列番号502)、DOM14-34 (配列番号503)、DOM14-35 (配列番号504)、DOM14-36 (配列番号505)、DOM14-37 (配列番号506)、DOM14-38 (配列番号507)、DOM14-39 (配列番号508)、DOM14-4 (配列番号480)、DOM14-40 (配列番号509)、DOM14-41 (配列番号510)、DOM14-42 (配列番号511)、DOM14-43 (配列番号512)、DOM14-44 (配列番号513)、DOM14-45 (配列番号514)、DOM14-46 (配列番号515)、DOM14-47 (配列番号516)、DOM14-48 (配列番号517)、DOM14-49 (配列番号518)、DOM14-50 (配列番号519)、DOM14-51 (配列番号520)、DOM14-52 (配列番号521)、DOM14-53 (配列番号522)、DOM14-54 (配列番号523)、DOM14-55 (配列番号524)、DOM14-56 (配列番号525)、DOM14-57 (配列番号526)、DOM14-58 (配列番号527)、DOM14-59 (配列番号528)、DOM14-60 (配列番号529)、DOM14-61 (配列番号530)、DOM14-62 (配列番号531)、DOM14-63 (配列番号532)、DOM14-64 (配列番号533)、DOM14-65 (配列番号534)、DOM14-66 (配列番号535)、DOM14-67 (配列番号536)、DOM14-70 (配列番号539)、DOM14-68 (配列番号537)、およびDOM14-69 (配列番号538)からなる群から選択される抗CD56ドメイン抗体(dAb)と、CD56に対する結合において競合する、請求項11または12に記載のリガンド。

【請求項 2 6】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインが：DOM14-1 (配列番号477)、DOM14-10 (配列番号481)、DOM14-100 (配列番号540)、DOM14-11 (配列番号482)、DOM14-12 (配列番号483)、DOM14-13 (配列番号484)、DOM14-14 (配列番号485)、DOM14-15 (配列番号486)、DOM14-16 (配列番号487)、DOM14-17 (配列番号488)、DOM14-18 (配列番号489)、DOM14-19 (配列番号490)、DOM14-2 (配列番号478)、DOM14-20 (配列番号491)、DOM14-21 (配列番号492)、DOM14-22 (配列番号493)、DOM14-23 (配列番号494)、DOM14-24 (配列番号495)、DOM14-25 (配列番号496)、DOM14-26 (配列番号497)、DOM14-27 (配列番号498)、DOM14-28 (配列番号499)、DOM14-3 (配列番号479)、DOM14-31 (配列番号500)、DOM14-32 (配列番号501)、DOM14-33 (配列番号502)、DOM14-34 (配列番号503)、DOM14-35 (配列番号504)、DOM14-36 (配列番号505)、DOM14-37 (配列番号506)、DOM14-38 (配列番号507)、DOM14-39 (配列番号508)、DOM14-4 (配列番号480)、DOM14-40 (配列番号509)、DOM14-41 (配列番号510)、DOM14-42 (配列番号511)、DOM14-43 (配列番号512)、DOM14-44 (配列番号513)、DOM14-45 (配列番号514)、DOM14-46 (配列番号515)、DOM14-47 (配列番号516)、DOM14-48 (配列番号517)、DOM14-49 (配列番号518)、DOM14-50 (配列番号519)、DOM14-51 (配列番号520)、DOM14-52 (配列番号521)、DOM14-53 (配列番号522)、DOM14-54 (配列番号523)、DOM14-55 (配列番号524)、DOM14-56 (配列番号525)、DOM14-57 (配列番号526)、DOM14-58 (配列番号527)、DOM14-59 (配列番号528)、DOM14-60 (配列番号529)、DOM14-61 (配列番号530)、DOM14-62 (配列番号531)、DOM14-63 (配列番号532)、DOM14-64 (配列番号533)、DOM14-65 (配列番号534)、DOM14-66 (配列番号535)、DOM14-67 (配列番号536)、DOM14-70 (配列番号539)、DOM14-68 (配列番号537)、およびDOM14-69 (配列番号538)からなる群から選択される抗CD56ドメイン抗体(dAb)と、CD56に対する結合において競合する、請求項11または12に記載のリガンド。

M14-67 (配列番号536)、DOM14-70 (配列番号539)、DOM14-68 (配列番号537)、およびDOM14-69 (配列番号538)からなる群から選択されるdAbのアミノ酸配列と少なくとも約90%のアミノ酸配列類似性を有するアミノ酸配列を含む、請求項25に記載のリガンド。

【請求項 27】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインが、CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含み；且つ第2免疫グロブリン単一可変ドメインが、CD138、CEA、CD56、VEGF、EGFR、およびHER2からなる群から選択される細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む、請求項8～26のいずれか1項に記載のリガンド。

【請求項 28】

第2免疫グロブリン単一可変ドメインが、CD138に対して結合特異性を有する結合部位を含む、請求項27に記載のリガンド。

10

【請求項 29】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインが、CD138に対して結合特異性を有する結合部位を含み；且つ第2免疫グロブリン単一可変ドメインが、CD38、CEA、CD56、VEGF、EGFRおよびHER2からなる群から選択される細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む、請求項8～26のいずれか1項に記載のリガンド。

【請求項 30】

第2免疫グロブリン単一可変ドメインが、CEAに対して結合特異性を有する結合部位を含む、請求項29に記載のリガンド。

【請求項 31】

20

第1免疫グロブリン単一可変ドメインが、CEAに対して結合特異性を有する結合部位を含み；且つ第2免疫グロブリン単一可変ドメインが、CD38、CD138、CEA、VEGF、EGFRおよびHER2からなる群から選択される細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む、請求項8～26のいずれか1項に記載のリガンド。

【請求項 32】

第2免疫グロブリン単一可変ドメインが、CD56に対して結合特異性を有する結合部位を含む、請求項31に記載のリガンド。

【請求項 33】

リガンドが毒素をさらに含む、請求項1～32のいずれか1項に記載のリガンド。

【請求項 34】

30

毒素が表面活性毒素である、請求項33に記載のリガンド。

【請求項 35】

表面活性毒素が、遊離基発生剤または放射性核種を含む、請求項34に記載のリガンド。

【請求項 36】

毒素が、細胞毒素、表面活性毒素、遊離基発生剤、代謝拮抗剤、タンパク質、ポリペプチド、ペプチド、光活性剤、アンチセンス化合物、化学療法薬、放射性核種または細胞内抗体である、請求項35に記載のリガンド。

【請求項 37】

リガンドが、半減期延長部分をさらに含む、請求項1～36のいずれか1項に記載のリガンド。

40

【請求項 38】

半減期延長部分が、ポリアルキレングリコール部分、血清アルブミンもしくはそのフラグメント、トランスフェリン受容体もしくはそのトランスフェリン結合部分、またはin vivo半減期を高めるポリペプチドに対する結合部位を含む抗体もしくは抗体フラグメントである、請求項37に記載のリガンド。

【請求項 39】

半減期延長部分がポリエチレングリコール部分である、請求項38に記載のリガンド。

【請求項 40】

半減期延長部分が、血清アルブミンまたは新生児Fc受容体に対する結合部位を含む抗体もしくは抗体フラグメントである、請求項39に記載のリガンド。

50

【請求項 4 1】

抗体または抗体フラグメントが抗体フラグメントであり、且つ該抗体フラグメントが、免疫グロブリン単一可変ドメインである、請求項38に記載のリガンド。

【請求項 4 2】

免疫グロブリン単一可変ドメインが：DOM7m-16（配列番号541）、DOM7m-12（配列番号542）、DOM7m-26（配列番号543）、DOM7r-1（配列番号544）、DOM7r-3（配列番号545）、DOM7r-4（配列番号546）、DOM7r-5（配列番号547）、DOM7r-7（配列番号548）、DOM7r-8（配列番号549）、DOM7h-2（配列番号550）、DOM7h-3（配列番号551）、DOM7h-4（配列番号552）、DOM7h-6（配列番号553）、DOM7h-1（配列番号555）、DOM7h-7（配列番号477）、DOM7h-8（配列番号564）、DOM7r-13（配列番号565）、DOM7r-14（配列番号566）、DOM7h-22（配列番号557）、DOM7h-23（配列番号558）、DOM7h-24（配列番号559）、DOM7h-25（配列番号560）、DOM7h-26（配列番号561）、DOM7h-21（配列番号562）、DOM7h-27（配列番号563）、DOM7r-15（配列番号567）、DOM7r-16（配列番号568）、DOM7r-17（配列番号569）、DOM7r-18（配列番号570）、DOM7r-19（配列番号571）、DOM7r-20（配列番号572）、DOM7r-21（配列番号573）、DOM7r-22（配列番号574）、DOM7r-23（配列番号575）、DOM7r-24（配列番号576）、DOM7r-25（配列番号577）、DOM7r-26（配列番号578）、DOM7r-27（配列番号579）、DOM7r-28（配列番号580）、DOM7r-29（配列番号581）、DOM7r-30（配列番号582）、DOM7r-31（配列番号583）、DOM7r-32（配列番号584）、およびDOM7r-33（配列番号585）からなる群から選択されるdAbと、ヒト血清アルブミンに対する結合において競合する、請求項41に記載のリガンド。

【請求項 4 3】

免疫グロブリン単一可変ドメインが：DOM7m-16（配列番号541）、DOM7m-12（配列番号542）、DOM7m-26（配列番号543）、DOM7r-1（配列番号544）、DOM7r-3（配列番号545）、DOM7r-4（配列番号546）、DOM7r-5（配列番号547）、DOM7r-7（配列番号548）、DOM7r-8（配列番号549）、DOM7h-2（配列番号550）、DOM7h-3（配列番号551）、DOM7h-4（配列番号552）、DOM7h-6（配列番号553）、DOM7h-1（配列番号555）、DOM7h-7（配列番号477）、DOM7h-8（配列番号564）、DOM7r-13（配列番号565）、DOM7r-14（配列番号566）、DOM7h-22（配列番号557）、DOM7h-23（配列番号558）、DOM7h-24（配列番号559）、DOM7h-25（配列番号560）、DOM7h-26（配列番号561）、DOM7h-21（配列番号562）、DOM7h-27（配列番号563）、DOM7r-15（配列番号567）、DOM7r-16（配列番号568）、DOM7r-17（配列番号569）、DOM7r-18（配列番号570）、DOM7r-19（配列番号571）、DOM7r-20（配列番号572）、DOM7r-21（配列番号573）、DOM7r-22（配列番号574）、DOM7r-23（配列番号575）、DOM7r-24（配列番号576）、DOM7r-25（配列番号577）、DOM7r-26（配列番号578）、DOM7r-27（配列番号579）、DOM7r-28（配列番号580）、DOM7r-29（配列番号581）、DOM7r-30（配列番号582）、DOM7r-31（配列番号583）、DOM7r-32（配列番号584）、およびDOM7r-33（配列番号585）からなる群から選択されるdAbのアミノ酸配列と少なくとも90%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むヒト血清アルブミンと結合する、請求項42に記載のリガンド。

【請求項 4 4】

第1細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む第1ポリペプチドドメイン、第2細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む第2ポリペプチドドメイン、および少なくとも1つの毒素部分を含むリガンドであって；ここで第1細胞表面標的と第2細胞表面標的とは異なり、且つ第1細胞表面標的と第2細胞表面標的とは1つの病原細胞上に存在し；該リガンドは、該病原細胞上の第1細胞表面標的および第2細胞表面標的に約 10^{-6} M～約 10^{-12} Mの結合力で結合し、また該リガンドは該病原細胞によってインターナライズされる、上記リガンド。

【請求項 4 5】

リガンドが病原細胞に選択的にインターナライズされる、請求項44に記載のリガンド。

【請求項 4 6】

リガンドが、単一陽性細胞または正常細胞には実質的にインターナライズされない、請求項44または45に記載のリガンド。

【請求項 4 7】

10

20

30

40

50

リガンドが病原細胞に選択的に結合する、請求項44～46のいずれか1項に記載のリガンド。

【請求項48】

毒素部分が、細胞毒素、表面活性毒素、遊離基発生剤、代謝拮抗剤、タンパク質、ポリペプチド、ペプチド、光活性剤、アンチセンス化合物、化学療法薬、放射性核種または細胞内抗体を含む、請求項44～47のいずれか1項に記載のリガンド。

【請求項49】

毒素部分が表面活性毒素を含む、請求項44～47のいずれか1項に記載のリガンド。

【請求項50】

表面活性毒素が、遊離基発生剤または放射性核種を含む、請求項49に記載のリガンド。

10

【請求項51】

第1ポリペプチドドメインが第1細胞表面標的に低親和性で結合し、第2ポリペプチドドメインが第2細胞表面標的に低親和性で結合する、請求項44～50のいずれか1項に記載のリガンド。

【請求項52】

第1ポリペプチドドメインと第2ポリペプチドドメインが、表面プラズモン共鳴で測定される約10 μ M～約10nMの親和性(KD)で、各々の細胞表面標的とそれぞれ結合する、請求項51に記載のリガンド。

【請求項53】

リガンドが約1pM～約150nMの濃度で存在する場合、該リガンドが病原細胞に選択的に結合する、請求項47に記載のリガンド。

20

【請求項54】

第1細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む第1ポリペプチドドメインと、第2細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む第2ポリペプチドドメインが、それぞれ、第1免疫グロブリン単一可変ドメイン、および第2免疫グロブリン単一可変ドメインである、請求項44～53のいずれか1項に記載のリガンド。

【請求項55】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインおよび/または第2免疫グロブリン単一可変ドメインが V_{HH} である、請求項54に記載のリガンド。

【請求項56】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインと第2免疫グロブリン単一可変ドメインが、ヒト V_H 、およびヒト V_L からなる群から独立して選択される、請求項54に記載のリガンド。

30

【請求項57】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインが、CD38、CD138、癌胎児性抗原(CEA)、CD56、血管内皮成長因子(VEGF)、上皮成長因子受容体(EGFR)、およびHER2からなる群から選択される細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む、請求項54または56に記載のリガンド。

【請求項58】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインと第2免疫グロブリン単一可変ドメインとが同一の細胞表面標的には結合しない条件で、第2免疫グロブリン単一可変ドメインが、CD38、CD138、CEA、CD56、VEGF、EGFRおよびHER2からなる群から選択される細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む、請求項57に記載のリガンド。

40

【請求項59】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインが、CD38に結合し、且つ：DOM11-14 (配列番号261)、DOM11-22 (配列番号262)、DOM11-23 (配列番号9)、DOM11-25 (配列番号263)、DOM11-26 (配列番号264)、DOM11-27 (配列番号265)、DOM11-29 (配列番号266)、DOM11-3 (配列番号1)、DOM11-30 (配列番号2)、DOM11-31 (配列番号267)、DOM11-32 (配列番号7)、DOM11-36 (配列番号268)、DOM11-4 (配列番号269)、DOM11-43 (配列番号270)、DOM11-44 (配列番号271)、DOM11-45 (配列番号272)、DOM11-5 (配列番号273)、DOM11-7 (配列番号3)、DOM11-1 (配列番号274)、DOM11-10 (配列番号275)、DOM11

50

-16(配列番号276)、DOM11-2(配列番号277)、DOM11-20 (配列番号278)、DOM11-21(配列番号279)、DOM11-24(配列番号6)、DOM11-28 (配列番号280)、DOM11-33 (配列番号281)、DOM11-34 (配列番号282)、DOM11-35 (配列番号283)、DOM11-37 (配列番号8)、DOM11-38 (配列番号4)、DOM11-39 (配列番号5)、DOM11-41 (配列番号284)、DOM11-42 (配列番号285)、DOM11-6 (配列番号286)、DOM11-8 (配列番号287)、およびDOM11-9 (配列番号288)からなる群から選択される抗CD38ドメイン抗体(dAb)と、CD38に対する結合において競合する、請求項54または56に記載のリガンド。

【請求項60】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインが、CD38に結合し、且つ：DOM 11-3-1 (配列番号269)、DOM 11-3-2 (配列番号270)、DOM 11-3-3 (配列番号271)、DOM 11-3-4 (配列番号272)、DOM 11-3-6 (配列番号273)、DOM 11-3-9 (配列番号274)、DOM 11-3-10 (配列番号275)、DOM 11-3-11 (配列番号276)、DOM 11-3-14 (配列番号277)、DOM 11-3-15 (配列番号278)、DOM 11-3-17 (配列番号279)、DOM 11-3-19 (配列番号280)、DOM 11-3-20 (配列番号281)、DOM 11-3-21 (配列番号282)、DOM 11-3-22 (配列番号283)、DOM 11-3-23 (配列番号284)、DOM 11-3-24 (配列番号285)、DOM 11-3-25 (配列番号286)、DOM 11-3-26 (配列番号287)、DOM 11-3-27 (配列番号288)、DOM 11-3-28 (配列番号289)、DOM 11-30-1 (配列番号290)、DOM 11-30-2 (配列番号291)、DOM 11-30-3 (配列番号292)、DOM 11-30-5 (配列番号293)、DOM 11-30-6 (配列番号294)、DOM 11-30-7 (配列番号295)、DOM 11-30-8 (配列番号296)、DOM 11-30-9 (配列番号297)、DOM 11-30-10 (配列番号298)、DOM 11-30-11 (配列番号299)、DOM 11-30-12 (配列番号300)、DOM 11-30-13 (配列番号301)、DOM 11-30-14 (配列番号302)、DOM 11-30-15 (配列番号303)、DOM 11-30-16 (配列番号304)、およびDOM 11-30-17 (配列番号305)からなる群から選択される抗CD38ドメイン抗体(dAb)と、CD38に対する結合において競合する、請求項54または56に記載のリガンド。

【請求項61】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインが：DOM11-14 (配列番号261)、DOM11-22 (配列番号262)、DOM11-23 (配列番号9)、DOM11-25 (配列番号263)、DOM11-26 (配列番号264)、DOM11-27 (配列番号265)、DOM 11-29(配列番号266)、DOM11-3(配列番号1)、DOM11-30 (配列番号2)、DOM11-31(配列番号267)、DOM11-32(配列番号7)、DOM11-36(配列番号268)、DOM11-4 (配列番号269)、DOM11-43(配列番号270)、DOM11-44 (配列番号271)、DOM11-45(配列番号272)、DOM11-5(配列番号273)、DOM11-7(配列番号3)、DOM11-1(配列番号274)、DOM11-10(配列番号275)、DOM11-16(配列番号276)、DOM11-2(配列番号277)、DOM11-20 (配列番号278)、DOM11-21(配列番号279)、DOM11-24(配列番号6)、DOM11-28 (配列番号280)、DOM11-33 (配列番号281)、DOM11-34 (配列番号282)、DOM11-35 (配列番号283)、DOM11-37 (配列番号8)、DOM11-38 (配列番号4)、DOM11-39 (配列番号5)、DOM11-41 (配列番号284)、DOM11-42 (配列番号285)、DOM11-6 (配列番号286)、DOM11-8 (配列番号287)、およびDOM11-9 (配列番号288)からなる群から選択されるdAbのアミノ酸配列と少なくとも約90%のアミノ酸配列類似性を有するアミノ酸配列を含む、請求項59に記載のリガンド。

【請求項62】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインが：DOM 11-3-1 (配列番号269)、DOM 11-3-2 (配列番号270)、DOM 11-3-3 (配列番号271)、DOM 11-3-4 (配列番号272)、DOM 11-3-6 (配列番号273)、DOM 11-3-9 (配列番号274)、DOM 11-3-10 (配列番号275)、DOM 11-3-11 (配列番号276)、DOM 11-3-14 (配列番号277)、DOM 11-3-15 (配列番号278)、DOM 11-3-17 (配列番号279)、DOM 11-3-19 (配列番号280)、DOM 11-3-20 (配列番号281)、DOM 11-3-21 (配列番号282)、DOM 11-3-22 (配列番号283)、DOM 11-3-23 (配列番号284)、DOM 11-3-24 (配列番号285)、DOM 11-3-25 (配列番号286)、DOM 11-3-26 (配列番号287)、DOM 11-3-27 (配列番号288)、DOM 11-3-28 (配列番号289)、DOM 11-30-1 (配列番号290)、DOM 11-30-2 (配列番号291)、DOM 11-30-3 (配列番号292)、DOM 11-30-5 (配列番号293)、DOM 11-30-6 (配列番号294)、DOM 11-30-7 (配列番号295)

、DOM 11-30-8 (配列番号296)、DOM 11-30-9 (配列番号297)、DOM 11-30-10 (配列番号298)、DOM 11-30-11 (配列番号299)、DOM 11-30-12 (配列番号300)、DOM 11-30-13 (配列番号301)、DOM 11-30-14 (配列番号302)、DOM 11-30-15 (配列番号303)、DOM 11-30-16 (配列番号304)、およびDOM 11-30-17 (配列番号305)からなる群から選択されるdAbのアミノ酸配列と少なくとも約90%のアミノ酸配列類似性を有するアミノ酸配列を含む、請求項59に記載のリガンド。

【請求項 6 3】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインが、CD 138に結合し、且つ：DOM12-1 (配列番号289)、DOM12-15 (配列番号290)、DOM12-17 (配列番号11)、DOM12-19 (配列番号291)、DOM12-2 (配列番号292)、DOM12-20 (配列番号293)、DOM12-21 (配列番号294)、DOM12-22 (配列番号295)、DOM12-3 (配列番号296)、DOM12-33 (配列番号297)、DOM12-39 (配列番号298)、DOM12-4 (配列番号299)、DOM12-40 (配列番号300)、DOM12-41 (配列番号301)、DOM12-42 (配列番号302)、DOM12-44 (配列番号303)、DOM12-46 (配列番号304)、DOM12-6 (配列番号305)、DOM12-7 (配列番号306)、DOM12-10 (配列番号307)、DOM12-11 (配列番号308)、DOM12-18 (配列番号309)、DOM12-23 (配列番号310)、DOM12-24 (配列番号311)、DOM12-25 (配列番号312)、DOM12-26 (配列番号12)、DOM12-27 (配列番号313)、DOM12-28 (配列番号314)、DOM12-29 (配列番号315)、DOM12-30 (配列番号316)、DOM12-31 (配列番号317)、DOM12-32 (配列番号318)、DOM12-34 (配列番号319)、DOM12-35 (配列番号320)、DOM12-36 (配列番号321)、DOM12-37 (配列番号322)、DOM12-38 (配列番号323)、DOM12-43 (配列番号324)、DOM12-45 (配列番号310)、DOM12-5 (配列番号325)、DOM12-8 (配列番号326)、およびDOM12-9 (配列番号327)からなる群から選択される抗CD138ドメイン抗体(dAb)と、CD138に対する結合において競合する、請求項54または56に記載のリガンド。

【請求項 6 4】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインが、CD 138に結合し、且つ：DOM 12-45-1 (配列番号348)、DOM 12-45-2 (配列番号349)、DOM 12-45-3 (配列番号350)、DOM 12-45-4 (配列番号351)、DOM 12-45-5 (配列番号352)、DOM 12-45-6 (配列番号353)、DOM 12-45-8 (配列番号354)、DOM 12-45-9 (配列番号355)、DOM 12-45-10 (配列番号356)、DOM 12-45-11 (配列番号357)、DOM 12-45-12 (配列番号358)、DOM 12-45-13 (配列番号359)、DOM 12-45-14 (配列番号360)、DOM 12-45-15 (配列番号361)、DOM 12-45-16 (配列番号362)、DOM 12-45-17 (配列番号363)、DOM 12-45-18 (配列番号364)、DOM 12-45-19 (配列番号365)、DOM 12-45-20 (配列番号366)、DOM 12-45-21 (配列番号367)、DOM 12-45-22 (配列番号368)、DOM 12-45-23 (配列番号369)、DOM 12-45-24 (配列番号370)、DOM 12-45-25 (配列番号371)、DOM 12-45-26 (配列番号372)、DOM 12-45-27 (配列番号373)、DOM 12-45-28 (配列番号374)、DOM 12-45-29 (配列番号375)、DOM 12-45-30 (配列番号376)、DOM 12-45-31 (配列番号377)、DOM 12-45-32 (配列番号378)、DOM 12-45-33 (配列番号379)、DOM 12-45-34 (配列番号380)、DOM 12-45-35 (配列番号381)、DOM 12-45-36 (配列番号382)、DOM 12-45-37 (配列番号383)、およびDOM 12-45-38 (配列番号384)からなる群から選択される抗CD138ドメイン抗体(dAb)と、CD138に対する結合において競合する、請求項54または56に記載のリガンド。

【請求項 6 5】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインが：DOM12-1 (配列番号289)、DOM12-15 (配列番号290)、DOM12-17 (配列番号11)、DOM12-19 (配列番号291)、DOM12-2 (配列番号292)、DOM12-20 (配列番号293)、DOM12-21 (配列番号294)、DOM12-22 (配列番号295)、DOM12-3 (配列番号296)、DOM12-33 (配列番号297)、DOM12-39 (配列番号298)、DOM12-4 (配列番号299)、DOM12-40 (配列番号300)、DOM12-41 (配列番号301)、DOM12-42 (配列番号302)、DOM12-44 (配列番号303)、DOM12-46 (配列番号304)、DOM12-6 (配列番号305)、DOM12-7 (配列番号306)、DOM12-10 (配列番号307)、DOM12-11 (配列番号308)、DOM12-18 (配列番号309)、DOM12-23 (配列番号310)、DOM12-24 (配列番号311)、DOM12-25 (配列番号312)、DOM12-26 (配列番号12)、DOM12-27 (配列番号313)、D

OM12-28 (配列番号314)、DOM12-29 (配列番号315)、DOM12-30 (配列番号316)、DOM12-31 (配列番号317)、DOM12-32 (配列番号318)、DOM12-34 (配列番号319)、DOM12-35 (配列番号320)、DOM12-36 (配列番号321)、DOM12-37 (配列番号322)、DOM12-38 (配列番号323)、DOM12-43 (配列番号324)、DOM12-45 (配列番号310)、DOM12-5 (配列番号325)、DOM12-8 (配列番号326)、およびDOM12-9 (配列番号327)からなる群から選択されるdAbのアミノ酸配列と少なくとも約90%のアミノ酸配列類似性を有するアミノ酸配列を含む、請求項63に記載のリガンド。

【請求項66】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインが：DOM 12-45-1 (配列番号348)、DOM 12-45-2 (配列番号349)、DOM 12-45-3 (配列番号350)、DOM 12-45-4 (配列番号351)、DOM 12-45-5 (配列番号352)、DOM 12-45-6 (配列番号353)、DOM 12-45-8 (配列番号354)、DOM 12-45-9 (配列番号355)、DOM 12-45-10 (配列番号356)、DOM 12-45-11 (配列番号357)、DOM 12-45-12 (配列番号358)、DOM 12-45-13 (配列番号359)、DOM 12-45-14 (配列番号360)、DOM 12-45-15 (配列番号361)、DOM 12-45-16 (配列番号362)、DOM 12-45-17 (配列番号363)、DOM 12-45-18 (配列番号364)、DOM 12-45-19 (配列番号365)、DOM 12-45-20 (配列番号366)、DOM 12-45-21 (配列番号367)、DOM 12-45-22 (配列番号368)、DOM 12-45-23 (配列番号369)、DOM 12-45-24 (配列番号370)、DOM 12-45-25 (配列番号371)、DOM 12-45-26 (配列番号372)、DOM 12-45-27 (配列番号373)、DOM 12-45-28 (配列番号374)、DOM 12-45-29 (配列番号375)、DOM 12-45-30 (配列番号376)、DOM 12-45-31 (配列番号377)、DOM 12-45-32 (配列番号378)、DOM 12-45-33 (配列番号379)、DOM 12-45-34 (配列番号380)、DOM 12-45-35 (配列番号381)、DOM 12-45-36 (配列番号382)、DOM 12-45-37 (配列番号383)、およびDOM 12-45-38 (配列番号384)からなる群から選択されるdAbのアミノ酸配列と少なくとも約90%のアミノ酸配列類似性を有するアミノ酸配列を含む、請求項63に記載のリガンド。

【請求項67】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインがCEAに結合し、且つ：DOM13-1 (配列番号328)、DOM13-12 (配列番号329)、DOM13-13 (配列番号330)、DOM13-14 (配列番号331)、DOM13-15 (配列番号332)、DOM13-16 (配列番号333)、DOM13-17 (配列番号334)、DOM13-18 (配列番号335)、DOM13-19 (配列番号336)、DOM13-2 (配列番号337)、DOM13-20 (配列番号338)、DOM13-21 (配列番号339)、DOM13-22 (配列番号340)、DOM13-23 (配列番号341)、DOM13-24 (配列番号342)、DOM13-25 (配列番号13)、DOM13-26 (配列番号343)、DOM13-27 (配列番号344)、DOM13-28 (配列番号345)、DOM13-29 (配列番号346)、DOM13-3 (配列番号347)、DOM13-30 (配列番号348)、DOM13-31 (配列番号349)、DOM13-32 (配列番号350)、DOM13-33 (配列番号351)、DOM13-34 (配列番号352)、DOM13-35 (配列番号353)、DOM13-36 (配列番号354)、DOM13-37 (配列番号355)、DOM13-4 (配列番号356)、DOM13-42 (配列番号357)、DOM13-43 (配列番号358)、DOM13-44 (配列番号359)、DOM13-45 (配列番号360)、DOM13-46 (配列番号361)、DOM13-47 (配列番号362)、DOM13-48 (配列番号363)、DOM13-49 (配列番号364)、DOM13-5 (配列番号365)、DOM13-50 (配列番号366)、DOM13-51 (配列番号367)、DOM13-52 (配列番号368)、DOM13-53 (配列番号369)、DOM13-54 (配列番号370)、DOM13-55 (配列番号371)、DOM13-56 (配列番号372)、DOM13-57 (配列番号14)、DOM13-58 (配列番号15)、DOM13-59 (配列番号16)、DOM13-6 (配列番号373)、DOM13-60 (配列番号374)、DOM13-61 (配列番号375)、DOM13-62 (配列番号376)、DOM13-63 (配列番号377)、DOM13-64 (配列番号17)、DOM13-65 (配列番号18)、DOM13-66 (配列番号378)、DOM13-67 (配列番号379)、DOM13-68 (配列番号380)、DOM13-69 (配列番号381)、DOM13-7 (配列番号382)、DOM13-70 (配列番号383)、DOM13-71 (配列番号384)、DOM13-72 (配列番号385)、DOM13-73 (配列番号386)、DOM13-74 (配列番号19)、DOM13-75 (配列番号387)、DOM13-76 (配列番号388)、DOM13-77 (配列番号389)、DOM13-78 (配列番号390)、DOM13-79 (配列番号391)、DOM13-8 (配列番号392)、DOM13-80 (配列番号393)、DOM13-81 (配列番号394)、DOM13-82 (配列番号395)、DOM13-83 (配列番号396)、DOM13-84 (配列番号397)、DOM13-85 (配列番号398)、DOM13-86 (配列番号399)、DOM13-87 (配列番号40

0)、DOM13-88 (配列番号401)、DOM13-89 (配列番号402)、DOM13-90 (配列番号403)、DOM13-91 (配列番号404)、DOM13-92 (配列番号405)、DOM13-93 (配列番号20)、DOM13-94 (配列番号406)、およびDOM13-95 (配列番号21)からなる群から選択される抗CEAドメイン抗体(dAb)と、CEAに対する結合において競合する、請求項54または56に記載のリガンド。

【請求項68】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインがCEAに結合し、且つ：DOM 13-25-3 (配列番号473)、DOM 13-25-23 (配列番号474)、DOM 13-25-27 (配列番号475)、およびDOM 13-25-80 (配列番号476)からなる群から選択される抗CEAドメイン抗体(dAb)と、CEAに対する結合において競合する、請求項54または56に記載のリガンド。

【請求項69】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインが：DOM13-1 (配列番号328)、DOM13-12 (配列番号329)、DOM13-13 (配列番号330)、DOM13-14 (配列番号331)、DOM13-15 (配列番号332)、DOM13-16 (配列番号333)、DOM13-17 (配列番号334)、DOM13-18 (配列番号335)、DOM13-19 (配列番号336)、DOM13-2 (配列番号337)、DOM13-20 (配列番号338)、DOM13-21 (配列番号339)、DOM13-22 (配列番号340)、DOM13-23 (配列番号341)、DOM13-24 (配列番号342)、DOM13-25 (配列番号13)、DOM13-26 (配列番号343)、DOM13-27 (配列番号344)、DOM13-28 (配列番号345)、DOM13-29 (配列番号346)、DOM13-3 (配列番号347)、DOM13-30 (配列番号348)、DOM13-31 (配列番号349)、DOM13-32 (配列番号350)、DOM13-33 (配列番号351)、DOM13-34 (配列番号352)、DOM13-35 (配列番号353)、DOM13-36 (配列番号354)、DOM13-37 (配列番号355)、DOM13-4 (配列番号356)、DOM13-42 (配列番号357)、DOM13-43 (配列番号358)、DOM13-44 (配列番号359)、DOM13-45 (配列番号360)、DOM13-46 (配列番号361)、DOM13-47 (配列番号362)、DOM13-48 (配列番号363)、DOM13-49 (配列番号364)、DOM13-5 (配列番号365)、DOM13-50 (配列番号366)、DOM13-51 (配列番号367)、DOM13-52 (配列番号368)、DOM13-53 (配列番号369)、DOM13-54 (配列番号370)、DOM13-55 (配列番号371)、DOM13-56 (配列番号372)、DOM13-57 (配列番号14)、DOM13-58 (配列番号15)、DOM13-59 (配列番号16)、DOM13-6 (配列番号373)、DOM13-60 (配列番号374)、DOM13-61 (配列番号375)、DOM13-62 (配列番号376)、DOM13-63 (配列番号377)、DOM13-64 (配列番号17)、DOM13-65 (配列番号18)、DOM13-66 (配列番号378)、DOM13-67 (配列番号379)、DOM13-68 (配列番号380)、DOM13-69 (配列番号381)、DOM13-7 (配列番号382)、DOM13-70 (配列番号383)、DOM13-71 (配列番号384)、DOM13-72 (配列番号385)、DOM13-73 (配列番号386)、DOM13-74 (配列番号19)、DOM13-75 (配列番号387)、DOM13-76 (配列番号388)、DOM13-77 (配列番号389)、DOM13-78 (配列番号390)、DOM13-79 (配列番号391)、DOM13-8 (配列番号392)、DOM13-80 (配列番号393)、DOM13-81 (配列番号394)、DOM13-82 (配列番号395)、DOM13-83 (配列番号396)、DOM13-84 (配列番号397)、DOM13-85 (配列番号398)、DOM13-86 (配列番号399)、DOM13-87 (配列番号400)、DOM13-88 (配列番号401)、DOM13-89 (配列番号402)、DOM13-90 (配列番号403)、DOM13-91 (配列番号404)、DOM13-92 (配列番号405)、DOM13-93 (配列番号20)、DOM13-94 (配列番号406)、およびDOM13-95 (配列番号21)からなる群から選択されるdAbのアミノ酸配列と少なくとも約90%のアミノ酸配列類似性を有するアミノ酸配列を含む、請求項67に記載のリガンド。

【請求項70】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインが：DOM 13-25-3 (配列番号473)、DOM 13-25-23 (配列番号474)、DOM 13-25-27 (配列番号475)、およびDOM 13-25-80 (配列番号476)からなる群から選択されるdAbのアミノ酸配列と少なくとも約90%のアミノ酸配列類似性を有するアミノ酸配列を含む、請求項67に記載のリガンド。

【請求項71】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインが、CD56に結合し、且つ：DOM14-1 (配列番号477)、DOM14-10 (配列番号481)、DOM14-100 (配列番号540)、DOM14-11 (配列番号482)、DOM14-12 (配列番号483)、DOM14-13 (配列番号484)

10

20

30

40

50

、DOM14-14 (配列番号485)、DOM14-15 (配列番号486)、DOM14-16 (配列番号487)、DOM14-17 (配列番号488)、DOM14-18 (配列番号489)、DOM14-19 (配列番号490)、DOM14-2 (配列番号478)、DOM14-20 (配列番号491)、DOM14-21 (配列番号492)、DOM14-22 (配列番号493)、DOM14-23 (配列番号494)、DOM14-24 (配列番号495)、DOM14-25 (配列番号496)、DOM14-26 (配列番号497)、DOM14-27 (配列番号498)、DOM14-28 (配列番号499)、DOM14-3 (配列番号479)、DOM14-31 (配列番号500)、DOM14-32 (配列番号501)、DOM14-33 (配列番号502)、DOM14-34 (配列番号503)、DOM14-35 (配列番号504)、DOM14-36 (配列番号505)、DOM14-37 (配列番号506)、DOM14-38 (配列番号507)、DOM14-39 (配列番号508)、DOM14-4 (配列番号480)、DOM14-40 (配列番号509)、DOM14-41 (配列番号510)、DOM14-42 (配列番号511)、DOM14-43 (配列番号512)、DOM14-44 (配列番号513)、DOM14-45 (配列番号514)、DOM14-46 (配列番号515)、DOM14-47 (配列番号516)、DOM14-48 (配列番号517)、DOM14-49 (配列番号518)、DOM14-50 (配列番号519)、DOM14-51 (配列番号520)、DOM14-52 (配列番号521)、DOM14-53 (配列番号522)、DOM14-54 (配列番号523)、DOM14-55 (配列番号524)、DOM14-56 (配列番号525)、DOM14-57 (配列番号526)、DOM14-58 (配列番号527)、DOM14-59 (配列番号528)、DOM14-60 (配列番号529)、DOM14-61 (配列番号530)、DOM14-62 (配列番号531)、DOM14-63 (配列番号532)、DOM14-64 (配列番号533)、DOM14-65 (配列番号534)、DOM14-66 (配列番号535)、DOM14-67 (配列番号536)、DOM14-70 (配列番号539)、DOM14-68 (配列番号537)、およびDOM14-69 (配列番号538)からなる群から選択される抗CD56ドメイン抗体(dAb)と、CD56に対する結合において競合する、請求項54または56に記載のリガンド。

10

【請求項72】

20

第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインが：DOM14-1 (配列番号477)、DOM14-10 (配列番号481)、DOM14-100 (配列番号540)、DOM14-11 (配列番号482)、DOM14-12 (配列番号483)、DOM14-13 (配列番号484)、DOM14-14 (配列番号485)、DOM14-15 (配列番号486)、DOM14-16 (配列番号487)、DOM14-17 (配列番号488)、DOM14-18 (配列番号489)、DOM14-19 (配列番号490)、DOM14-2 (配列番号478)、DOM14-20 (配列番号491)、DOM14-21 (配列番号492)、DOM14-22 (配列番号493)、DOM14-23 (配列番号494)、DOM14-24 (配列番号495)、DOM14-25 (配列番号496)、DOM14-26 (配列番号497)、DOM14-27 (配列番号498)、DOM14-28 (配列番号499)、DOM14-3 (配列番号479)、DOM14-31 (配列番号500)、DOM14-32 (配列番号501)、DOM14-33 (配列番号502)、DOM14-34 (配列番号503)、DOM14-35 (配列番号504)、DOM14-36 (配列番号505)、DOM14-37 (配列番号506)、DOM14-38 (配列番号507)、DOM14-39 (配列番号508)、DOM14-4 (配列番号480)、DOM14-40 (配列番号509)、DOM14-41 (配列番号510)、DOM14-42 (配列番号511)、DOM14-43 (配列番号512)、DOM14-44 (配列番号513)、DOM14-45 (配列番号514)、DOM14-46 (配列番号515)、DOM14-47 (配列番号516)、DOM14-48 (配列番号517)、DOM14-49 (配列番号518)、DOM14-50 (配列番号519)、DOM14-51 (配列番号520)、DOM14-52 (配列番号521)、DOM14-53 (配列番号522)、DOM14-54 (配列番号523)、DOM14-55 (配列番号524)、DOM14-56 (配列番号525)、DOM14-57 (配列番号526)、DOM14-58 (配列番号527)、DOM14-59 (配列番号528)、DOM14-60 (配列番号529)、DOM14-61 (配列番号530)、DOM14-62 (配列番号531)、DOM14-63 (配列番号532)、DOM14-64 (配列番号533)、DOM14-65 (配列番号534)、DOM14-66 (配列番号535)、DOM14-67 (配列番号536)、DOM14-70 (配列番号539)、DOM14-68 (配列番号537)、およびDOM14-69 (配列番号538)からなる群から選択されるdAbのアミノ酸配列と少なくとも約90%のアミノ酸配列類似性を有するアミノ酸配列を含む、請求項71に記載のリガンド。

30

40

【請求項73】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインが、CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含み；且つ第2免疫グロブリン単一可変ドメインが、CD138、CEA、CD56、VEGF、EGFRおよびHER2からなる群から選択される細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む、請求項54～72のいずれか1項に記載のリガンド。

【請求項74】

第2免疫グロブリン単一可変ドメインが、CD138に対して結合特異性を有する結合部位を含む、請求項73に記載のリガンド。

50

【請求項 7 5】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインが、CD138に対して結合特異性を有する結合部位を含み；且つ第2免疫グロブリン単一可変ドメインが、CD38、CEA、CD56、VEGF、EGFRおよびHER2からなる群から選択される細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む、請求項54～72のいずれか1項に記載のリガンド。

【請求項 7 6】

第2免疫グロブリン単一可変ドメインが、CEAに対して結合特異性を有する結合部位を含む、請求項75に記載のリガンド。

【請求項 7 7】

第1免疫グロブリン単一可変ドメインが、CEAに対して結合特異性を有する結合部位を含み；且つ第2免疫グロブリン単一可変ドメインが、CD38、CD138、CEA、VEGF、EGFRおよびHER2からなる群から選択される細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む、請求項54～72のいずれか1項に記載のリガンド。 10

【請求項 7 8】

第2免疫グロブリン単一可変ドメインが、CD56に対して結合特異性を有する結合部位を含む、請求項77に記載のリガンド。

【請求項 7 9】

リガンドが、半減期延長部分をさらに含む、請求項44～78のいずれか1項に記載のリガンド。

【請求項 8 0】

半減期延長部分が、ポリアルキレングリコール部分、血清アルブミンもしくはそのフラグメント、トランスフェリン受容体もしくはそのトランスフェリン結合部分、またはin vivo半減期を高めるポリペプチドに対する結合部位を含む抗体もしくは抗体フラグメントである、請求項79に記載のリガンド。 20

【請求項 8 1】

半減期延長部分がポリエチレングリコール部分である、請求項80に記載のリガンド。

【請求項 8 2】

半減期延長部分が、血清アルブミンまたは新生児Fc受容体に対する結合部位を含む抗体もしくは抗体フラグメントである、請求項80に記載のリガンド。

【請求項 8 3】

抗体または抗体フラグメントが抗体フラグメントであり、且つ該抗体フラグメントが、免疫グロブリン単一可変ドメインである、請求項80に記載のリガンド。 30

【請求項 8 4】

免疫グロブリン単一可変ドメインが：DOM7m-16（配列番号541）、DOM7m-12（配列番号542）、DOM7m-26（配列番号543）、DOM7r-1（配列番号544）、DOM7r-3（配列番号545）、DOM7r-4（配列番号546）、DOM7r-5（配列番号547）、DOM7r-7（配列番号548）、DOM7r-8（配列番号549）、DOM7h-2（配列番号550）、DOM7h-3（配列番号551）、DOM7h-4（配列番号552）、DOM7h-6（配列番号553）、DOM7h-1（配列番号555）、DOM7h-7（配列番号477）、DOM7h-8（配列番号564）、DOM7r-13（配列番号565）、DOM7r-14（配列番号566）、DOM7h-22（配列番号557）、DOM7h-23（配列番号558）、DOM7h-24（配列番号559）、DOM7h-25（配列番号560）、DOM7h-26（配列番号561）、DOM7h-21（配列番号562）、DOM7h-27（配列番号563）、DOM7r-15（配列番号567）、DOM7r-16（配列番号568）、DOM7r-17（配列番号569）、DOM7r-18（配列番号570）、DOM7r-19（配列番号571）、DOM7r-20（配列番号572）、DOM7r-21（配列番号573）、DOM7r-22（配列番号574）、DOM7r-23（配列番号575）、DOM7r-24（配列番号576）、DOM7r-25（配列番号577）、DOM7r-26（配列番号578）、DOM7r-27（配列番号579）、DOM7r-28（配列番号580）、DOM7r-29（配列番号581）、DOM7r-30（配列番号582）、DOM7r-31（配列番号583）、DOM7r-32（配列番号584）、およびDOM7r-33（配列番号585）からなる群から選択されるdAbとヒト血清アルブミンに対する結合において競合する、請求項83に記載のリガンド。 40

【請求項 8 5】

免疫グロブリン単一可変ドメインが：DOM7m-16（配列番号541）、DOM7m-12（配列番号54 50

2)、DOM7m-26 (配列番号543)、DOM7r-1 (配列番号544)、DOM7r-3 (配列番号545)、DOM7r-4 (配列番号546)、DOM7r-5 (配列番号547)、DOM7r-7 (配列番号548)、DOM7r-8 (配列番号549)、DOM7h-2 (配列番号550)、DOM7h-3 (配列番号551)、DOM7h-4 (配列番号552)、DOM7h-6 (配列番号553)、DOM7h-1 (配列番号555)、DOM7h-7 (配列番号477)、DOM7h-8 (配列番号564)、DOM7r-13 (配列番号565)、DOM7r-14 (配列番号566)、DOM7h-22 (配列番号557)、DOM7h-23 (配列番号558)、DOM7h-24 (配列番号559)、DOM7h-25 (配列番号560)、DOM7h-26 (配列番号561)、DOM7h-21 (配列番号562)、DOM7h-27 (配列番号563)、DOM7r-15 (配列番号567)、DOM7r-16 (配列番号568)、DOM7r-17 (配列番号569)、DOM7r-18 (配列番号570)、DOM7r-19 (配列番号571)、DOM7r-20 (配列番号572)、DOM7r-21 (配列番号573)、DOM7r-22 (配列番号574)、DOM7r-23 (配列番号575)、DOM7r-24 (配列番号576)、DOM7r-25 (配列番号577)、DOM7r-26 (配列番号578)、DOM7r-27 (配列番号579)、DOM7r-28 (配列番号580)、DOM7r-29 (配列番号581)、DOM7r-30 (配列番号582)、DOM7r-31 (配列番号583)、DOM7r-32 (配列番号584)、およびDOM7r-33 (配列番号585)からなる群から選択されるdAbのアミノ酸配列と少なくとも90%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むヒト血清アルブミンと結合する、請求項84に記載のリガンド。

10

【請求項 8 6】

治療または診断において使用するための、請求項 1～85のいずれか1項に記載のリガンド。

【請求項 8 7】

癌の治療において使用するための、請求項 1～85のいずれか1項に記載のリガンド。

20

【請求項 8 8】

癌の治療用医薬の製造における、請求項 1～85のいずれか1項に記載のリガンドの使用。

【請求項 8 9】

毒素を細胞に対して内部送達する方法であって、該細胞を請求項44～85のいずれか1項に記載のリガンドと接触させるステップを含み、ここでリガンドがインターナライズされ、毒素が内部送達される、上記方法。

【請求項 9 0】

癌の治療方法であって、治療上有効な量の請求項 1～85のいずれか1項に記載のリガンドを、投与を必要とする対象に投与するステップを含む、上記方法。

30

【請求項 9 1】

癌が多発性骨髄腫である、請求項90に記載の方法。

【請求項 9 2】

癌が肺癌である、請求項91に記載の方法。

【請求項 9 3】

請求項 1～85のいずれか1項に記載のリガンドと、生理的に許容可能な担体とを含む組成物。

【請求項 9 4】

組成物が、静脈内、筋肉内、腹腔内、動脈内、髄腔内、関節内、または皮下投与用のビヒクルを含む、請求項93に記載の組成物。

40

【請求項 9 5】

組成物が、経肺、鼻腔内、腔内、または直腸内投与用のビヒクルを含む、請求項93に記載の組成物。

【請求項 9 6】

請求項93に記載の組成物を含む、薬物送達デバイス。

【請求項 9 7】

薬物送達デバイスが、非経口送達デバイス、静脈内送達デバイス、筋肉内送達デバイス、腹腔内送達デバイス、経皮送達デバイス、経肺送達デバイス、動脈内送達デバイス、髄腔内送達デバイス、関節内送達デバイス、皮下送達デバイス、鼻腔内送達デバイス、腔内送達デバイス、および直腸内送達デバイスからなる群から選択される、請求項96に記載の

50

薬物送達デバイス。

【請求項 98】

デバイスが、シリンジ、経皮送達デバイス、カプセル剤、錠剤、ネブライザー、吸入器、アトマイザー、エアロゾライザー、噴霧器、ドライパウダー吸入器、定量吸入器、定量スプレイヤー、定量噴霧器、定量アトマイザー、カテーテルからなる群から選択される、請求項96に記載の薬物送達デバイス。

【請求項 99】

癌細胞を正常細胞よりも選択的に殺傷する医薬の製造における、請求項1～85のいずれか1項に記載のリガンドの使用。

【請求項 100】

治療剤を細胞内に送達するための医薬の製造における、請求項1～85のいずれか1項に記載のリガンドの使用。

【請求項 101】

細胞内のカテプシンBコンパートメントに治療剤を送達するための医薬の製造における、請求項1～85のいずれか1項に記載のリガンドの使用。

【請求項 102】

リガンドを細胞内のカテプシンBコンパートメントに局在化させるための医薬の製造における、請求項1～85のいずれか1項に記載のリガンドの使用。

【請求項 103】

請求項1～85のいずれか1項に記載のリガンドをコードする、単離された核酸または組換え核酸。

【請求項 104】

請求項103に記載の組換え核酸を含むベクター。

【請求項 105】

請求項103に記載の組換え核酸または請求項104に記載のベクターを含む、宿主細胞。

【請求項 106】

請求項105に記載の宿主細胞を前記核酸またはベクターの発現に好適な条件下に維持することによってリガンドが産生されるステップを含む、リガンドを産生する方法。

【請求項 107】

リガンドを単離するステップをさらに含む、請求項106に記載の方法。

【請求項 108】

治療上有効な量の請求項1～85のいずれか1項に記載のリガンドと化学療法剤とを、投与を必要とする対象に投与するステップを含み、ここで該化学療法剤は低用量で投与される、癌の治療方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願

本出願は、2005年12月6日に提出された米国出願第60/742,992号の利益を請求し、その教示内容は全て参照により本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【0002】

発明の背景

癌を治療および診断するためのアプローチは、抗体または抗体フラグメントを疾患組織に向けさせることを含み、ここで上記の抗体または抗体フラグメントは、疾患部位に対する診断剤または治療剤を目標とし得る。癌細胞のような病原細胞は、正常細胞と比べると特定の標的を過剰発現し、あるいは異なる標的を発現することが示されている。例えば、多発性骨髄腫（骨髄中の形質細胞の増殖によって特徴付けられるB細胞悪性腫瘍）においては、抗原CD38、CD138およびCD56が、全て高発現している。これらの標的に結合する抗体は、癌の治療および診断において有用である。

10

20

30

40

50

【0003】

ハーセプチン(HERCEPTIN)(登録商標)(トラスツズマブ(Trastuzumab))及びリツキサン(RITUXAN)(登録商標)(リツキシマブ(rituximab))(いずれもGenentech, S. San Franciscoから入手)は、それぞれ、乳癌および非ホジキンリンパ腫の治療に成功裏に用いられている。リツキサン(RITUXAN)(登録商標)は、CD20に対する遺伝子操作されたキメラのマウス/ヒトモノクローナル抗体である。ハーセプチン(HERCEPTIN)(登録商標)は、ヒト上皮成長因子受容体2(HER2) 癌原遺伝子の細胞外ドメインに対して選択的に結合する組換えDNA由来のヒト化モノクローナル抗体である。ハーセプチンの標的であるHER-2/neu(c-erb B-2としても知られる)は、これらの障害を有する患者サブセットの乳房の腫瘍、卵巣腫瘍、胃腫瘍および前立腺腫瘍にて発現される上皮成長因子(EGF)受容体ファミリーのメンバーの1つである、タンパク質のチロシンキナーゼ活性を有する185 kDaの膜貫通受容体である。この受容体は、正常な成人の組織中では緩やかに発現されるが、上皮性固形悪性腫瘍に強く関連し、約25~35%のヒトの胃癌、肺癌、前立腺癌および乳癌においては過剰発現される。

【0004】

モノクローナル抗体を含む現在の治療は、典型的には、一集団全体にわたって異なり、あるいは一集団全体にわたってもしくは一個体内で疾患が広がる間に変化し、進化しそして変異する、単一の限定された標的に対応している。また、単一の抗体またはドメインは恐らく患者内の腫瘍細胞の全てを認識することはないが、抗体またはドメインを組み合わせれば極めてより有効となるだろう。さらに、交差反応性は抗体の問題となり得る。臨床目的のために抗CEA抗体を使用することの主な欠点の1つは、これらの抗体が、一部の明らかに正常な成人の組織との交差反応を生じることである。これまでの研究により、CEAの異なる免疫原性形態に対して惹起された大部分の従来型の過免疫抗血清が、多数の様々な種類の癌のほかに、正常な個体の正常な結腸粘膜、脾臓、肝臓、肺、汗腺、多形核白血球および単球中に見られるCEA関連抗原と交差反応することが示されている。

【0005】

従って、病原状態(例えば癌)を治療するための改良された薬剤が必要とされている。

【発明の開示】

【課題を解決するための手段】

【0006】

発明の概要

本発明は、1つの細胞上に存在する2つの細胞表面標的に結合するリガンドに関する。例えば、このリガンドは、第1細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む第1ポリペプチドドメインと、第2細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む第2ポリペプチドドメインとを含み得る。好ましくは、第1ポリペプチドドメイン(例えば、免疫グロブリン単一可変ドメイン)は第1細胞表面標的に低親和性で結合し、また第2ポリペプチドドメイン(免疫グロブリン単一可変ドメイン)は第2細胞表面標的に低親和性で結合する。

【0007】

本明細書中に記載および例示されるように、このようなリガンドは、第1細胞表面標的と第2細胞表面標的の両方を含む二重陽性細胞に対して選択的に結合し得る。従って、所望の細胞表面抗原に低親和性で結合するポリペプチド(例えば、抗体および抗体の抗原結合フラグメント)は、本明細書に記載されるとおりリガンドへとフォーマットして、二重陽性細胞に選択的に結合し得る薬剤を提供することができる。

【0008】

本発明のリガンドは、幾つかの利点を提供する。例えば、本明細書に記載されるとおり、2つの異なる細胞表面標的に結合する本発明のリガンドは、1つの細胞の表面上の2つの標的に結合するとこの細胞にインターナライズされ得る。従って、本発明のリガンドは、治療剤(例えば毒素)を、第1細胞表面標的と第2細胞表面標的を発現する二重陽性細胞(例えば癌細胞)に送達するために用いることができる。本発明のリガンドは二重陽性細胞に

選択的に結合することができるため、このリガンドを用いて、単一陽性細胞に治療剤を送達することから生じ得る可能性のある望ましくない影響(例えば、免疫抑制などの副作用)を回避することができる。

【0009】

本発明のリガンドは、両方とも正常細胞上に存在するが、病原細胞上ではより高いレベルで存在する細胞表面標的に結合し得る。このような状況において、このリガンドは、病原細胞に対する治療剤(例えば毒素)を病原細胞に優先的に送達するために使用することができる。例えば、病原細胞上で細胞表面標的がより高いレベルで存在することによって、正常細胞に結合してインターナライズされるよりも多くのリガンドが、当該病原細胞に結合してインターナライズされるだろう。このようにして、有効量の毒素を病原細胞に優先的に送達することができる。

10

【0010】

さらに、本明細書に記載されるとおり、本発明のリガンドは、所望のin vivo血清半減期を有するように調整し得る。このように、本発明のリガンドは、治療剤の一般的な毒性(例えば、癌を治療するために用いられる細胞毒素)を制御し、低減し、または除去するために使用することができる。

【0011】

通常、リガンドが結合する細胞表面標的は両方とも1つの病原細胞上に存在するが、正常細胞上では両方は存在しない。本明細書中で示すとおり、このような状況において、本発明のリガンドは、両方の細胞表面標的を含む病原細胞に対する選択的結合を生じさせる濃度で(リガンドが単一陽性の正常細胞には実質的に結合しない濃度で)使用することができる。

20

【0012】

特定の正常細胞は、本発明のリガンドが結合する、細胞表面に存在する細胞表面標的を両方とも有し得るが、これらの標的は、より高いレベルで病原細胞(例えば癌細胞)の表面上に存在している。好ましくは、細胞表面標的は両方とも、正常細胞の表面上には実質的に存在しない。これらの状況において、本発明のリガンドは、両方の細胞表面標的を含む病原細胞への選択的結合を生じる濃度で(このリガンドが低レベルの細胞表面標的を含む正常細胞には実質的に結合しない濃度で)使用することができる。

【0013】

1つの態様において、本発明のリガンドは、第1細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む第1ポリペプチドドメインと、第2細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む第2ポリペプチドドメインとを含み、ここで第1細胞表面標的と第2細胞表面標的とは異なり、且つ第1細胞表面標的と第2細胞表面標的とは1つの病原細胞上に存在し、リガンドは病原細胞上で第1細胞表面標的および第2細胞表面標的と結合し、さらにこのリガンドは病原細胞によってインターナライズされる。

30

【0014】

好ましくは、本発明のリガンドは病原細胞によって優先的にインターナライズされる。例えば、本発明のリガンドは、単一陽性細胞または正常細胞には実質的にインターナライズされず、または1つの病原細胞に選択的に結合する。いくつかの実施形態において、本発明のリガンドは、このリガンドが約1pM～約150nMの濃度で存在する場合に、病原細胞に選択的に結合する。

40

【0015】

いくつかの実施形態において、第1ポリペプチドドメインは第1細胞表面標的に低親和性で結合し、且つ第2ポリペプチドドメインは第2細胞表面標的に低親和性で結合する。例えば、第1ポリペプチドドメインと第2ポリペプチドドメインは、表面プラズモン共鳴で測定される約10 μ M～約10nMの親和性(KD)で、各々の細胞表面標的にそれぞれ結合することができる。

【0016】

好適な実施形態において、第1細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含

50

む第1ポリペプチドドメインと、第2細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む第2ポリペプチドドメインは、それぞれ、第1免疫グロブリン単一可変ドメインと、第2免疫グロブリン単一可変ドメインである。例えば、第1免疫グロブリン単一可変ドメインおよび/または第2免疫グロブリン単一可変ドメインは V_{HH} であってよく、あるいは、第1免疫グロブリン単一可変ドメインと第2免疫グロブリン単一可変ドメインは、独立して、ヒト V_H およびヒト V_L からなる群から選択することができる。

【0017】

さらに特定の実施形態において、第1免疫グロブリン単一可変ドメインは、CD38、CD138、癌胎児性抗原(CEA)、CD56、血管内皮成長因子(VEGF)、上皮成長因子受容体(EGFR)、およびHER2からなる群から選択される細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む。いくつかの実施形態において、第1免疫グロブリン単一可変ドメインと第2免疫グロブリン単一可変ドメインとが同一の細胞表面標的とは結合しない条件で、第2免疫グロブリン単一可変ドメインは、CD38、CD138、CEA、CD56、VEGF、EGFRおよびHER2からなる群から選択される細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む。

【0018】

特定の実施形態において、第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインは、CD38に結合し、且つ：DOM11-14 (配列番号(SEQ ID NO:)242)、DOM11-22 (配列番号246)、DOM11-23 (配列番号247)、DOM11-25 (配列番号249)、DOM11-26 (配列番号250)、DOM11-27 (配列番号251)、DOM 11-29 (配列番号253)、DOM11-3 (配列番号234)、DOM11-30 (配列番号254)、DOM11-31 (配列番号255)、DOM11-32 (配列番号256)、DOM11-36 (配列番号260)、DOM11-4 (配列番号235)、DOM11-43 (配列番号266)、DOM11-44 (配列番号267)、DOM11-45 (配列番号268)、DOM11-5 (配列番号236)、DOM11-7 (配列番号238)、DOM11-1 (配列番号232)、DOM11-10 (配列番号241)、DOM11-16 (配列番号243)、DOM11-2 (配列番号233)、DOM11-20 (配列番号244)、DOM11-21 (配列番号245)、DOM11-24 (配列番号248)、DOM11-28 (配列番号252)、DOM11-33 (配列番号257)、DOM11-34 (配列番号258)、DOM11-35 (配列番号259)、DOM11-37 (配列番号261)、DOM11-38 (配列番号262)、DOM11-39 (配列番号293)、DOM11-41 (配列番号264)、DOM11-42 (配列番号265)、DOM11-6 (配列番号237)、DOM11-8 (配列番号239)、およびDOM11-9 (配列番号240)からなる群から選択される抗CD38ドメイン抗体(dAb)と、CD38に対する結合において競合する。

【0019】

他の実施形態において、第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインは、CD38に結合し、且つ：DOM 11-3-1 (配列番号269)、DOM 11-3-2 (配列番号270)、DOM 11-3-3 (配列番号271)、DOM 11-3-4 (配列番号272)、DOM 11-3-6 (配列番号273)、DOM 11-3-9 (配列番号274)、DOM 11-3-10 (配列番号275)、DOM 11-3-11 (配列番号276)、DOM 11-3-14 (配列番号277)、DOM 11-3-15 (配列番号278)、DOM 11-3-17 (配列番号279)、DOM 11-3-19 (配列番号280)、DOM 11-3-20 (配列番号281)、DOM 11-3-21 (配列番号282)、DOM 11-3-22 (配列番号283)、DOM 11-3-23 (配列番号284)、DOM 11-3-24 (配列番号285)、DOM 11-3-25 (配列番号286)、DOM 11-3-26 (配列番号287)、DOM 11-3-27 (配列番号288)、DOM 11-3-28 (配列番号289)、DOM 11-30-1 (配列番号290)、DOM 11-30-2 (配列番号291)、DOM 11-30-3 (配列番号292)、DOM 11-30-5 (配列番号293)、DOM 11-30-6 (配列番号294)、DOM 11-30-7 (配列番号295)、DOM 11-30-8 (配列番号296)、DOM 11-30-9 (配列番号297)、DOM 11-30-10 (配列番号298)、DOM 11-30-11 (配列番号299)、DOM 11-30-12 (配列番号300)、DOM 11-30-13 (配列番号301)、DOM 11-30-14 (配列番号302)、DOM 11-30-15 (配列番号303)、DOM 11-30-16 (配列番号304)、およびDOM 11-30-17 (配列番号305)からなる群から選択される抗CD38ドメイン抗体(dAb)と、CD38に対する結合において競合する。

【0020】

特定の実施形態において、第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインは：DOM11-14 (配列番号242)、DOM11-22 (配列番号246)、DOM11-23 (配列番号247)、DOM11-25 (配列番号249)、DOM11-26 (配列番号250)、DOM11-27 (配列番号

251)、DOM 11-29 (配列番号253)、DOM11-3 (配列番号234)、DOM11-30 (配列番号254)、DOM11-31 (配列番号255)、DOM11-32 (配列番号256)、DOM11-36 (配列番号260)、DOM11-4 (配列番号235)、DOM11-43 (配列番号266)、DOM11-44 (配列番号267)、DOM11-45 (配列番号268)、DOM11-5 (配列番号236)、DOM11-7 (配列番号238)、DOM11-1 (配列番号232)、DOM11-10 (配列番号241)、DOM11-16 (配列番号243)、DOM11-2 (配列番号233)、DOM11-20 (配列番号244)、DOM11-21 (配列番号245)、DOM11-24 (配列番号248)、DOM11-28 (配列番号252)、DOM11-33 (配列番号257)、DOM11-34 (配列番号258)、DOM11-35 (配列番号259)、DOM11-37 (配列番号261)、DOM11-38 (配列番号262)、DOM11-39 (配列番号293)、DOM11-41 (配列番号264)、DOM11-42 (配列番号265)、DOM11-6 (配列番号237)、DOM11-8 (配列番号239)、およびDOM11-9 (配列番号240)からなる群から選択されるdAbのアミノ酸配列と少なくとも約90%のアミノ酸配列類似性を有するアミノ酸配列を含む、

他の実施形態において、第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインは：DOM 11-3-1 (配列番号269)、DOM 11-3-2 (配列番号270)、DOM 11-3-3 (配列番号271)、DOM 11-3-4 (配列番号272)、DOM 11-3-6 (配列番号273)、DOM 11-3-9 (配列番号274)、DOM 11-3-10 (配列番号275)、DOM 11-3-11 (配列番号276)、DOM 11-3-14 (配列番号277)、DOM 11-3-15 (配列番号278)、DOM 11-3-17 (配列番号279)、DOM 11-3-19 (配列番号280)、DOM 11-3-20 (配列番号281)、DOM 11-3-21 (配列番号282)、DOM 11-3-22 (配列番号283)、DOM 11-3-23 (配列番号284)、DOM 11-3-24 (配列番号285)、DOM 11-3-25 (配列番号286)、DOM 11-3-26 (配列番号287)、DOM 11-3-27 (配列番号288)、DOM 11-3-28 (配列番号289)、DOM 11-30-1 (配列番号290)、DOM 11-30-2 (配列番号291)、DOM 11-30-3 (配列番号292)、DOM 11-30-5 (配列番号293)、DOM 11-30-6 (配列番号294)、DOM 11-30-7 (配列番号295)、DOM 11-30-8 (配列番号296)、DOM 11-30-9 (配列番号297)、DOM 11-30-10 (配列番号298)、DOM 11-30-11 (配列番号299)、DOM 11-30-12 (配列番号300)、DOM 11-30-13 (配列番号301)、DOM 11-30-14 (配列番号302)、DOM 11-30-15 (配列番号303)、DOM 11-30-16 (配列番号304)、およびDOM 11-30-17 (配列番号305)からなる群から選択されるdAbのアミノ酸配列と少なくとも約90%のアミノ酸配列類似性を有するアミノ酸配列を含む。

【0021】

他の実施形態において、第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインは、CD138に結合し、且つ：DOM12-1 (配列番号289)、DOM12-15 (配列番号290)、DOM12-17 (配列番号11)、DOM12-19 (配列番号291)、DOM12-2 (配列番号292)、DOM12-20 (配列番号293)、DOM12-21 (配列番号294)、DOM12-22 (配列番号295)、DOM12-3 (配列番号296)、DOM12-33 (配列番号297)、DOM12-39 (配列番号298)、DOM12-4 (配列番号299)、DOM12-40 (配列番号300)、DOM12-41 (配列番号301)、DOM12-42 (配列番号302)、DOM12-44 (配列番号303)、DOM12-46 (配列番号304)、DOM12-6 (配列番号305)、DOM12-7 (配列番号306)、DOM12-10 (配列番号307)、DOM12-11 (配列番号308)、DOM12-18 (配列番号309)、DOM12-23 (配列番号310)、DOM12-24 (配列番号311)、DOM12-25 (配列番号312)、DOM12-26 (配列番号12)、DOM12-27 (配列番号313)、DOM12-28 (配列番号314)、DOM12-29 (配列番号315)、DOM12-30 (配列番号316)、DOM12-31 (配列番号317)、DOM12-32 (配列番号318)、DOM12-34 (配列番号319)、DOM12-35 (配列番号320)、DOM12-36 (配列番号321)、DOM12-37 (配列番号322)、DOM12-38 (配列番号323)、DOM12-43 (配列番号324)、DOM12-45 (配列番号310)、DOM12-5 (配列番号325)、DOM12-8 (配列番号326)、およびDOM12-9 (配列番号327)からなる群から選択される抗CD138ドメイン抗体(dAb)と、CD138に対する結合において競合する。

【0022】

特定の実施形態において、第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインは、CD138に結合し、且つ：DOM 12-45-1 (配列番号348)、DOM 12-45-2 (配列番号349)、DOM 12-45-3 (配列番号350)、DOM 12-45-4 (配列番号351)、DOM 12-45-5 (配列番号352)、DOM 12-45-6 (配列番号353)、DOM 12-45-8 (配列番号354)、DOM 12-45-9 (配列番号355)、DOM 12-45-10 (配列番号356)、DOM 12-45-11 (配列番号357)、DOM 1

2-45-12 (配列番号358)、DOM 12-45-13 (配列番号359)、DOM 12-45-14 (配列番号360)、DOM 12-45-15 (配列番号361)、DOM 12-45-16 (配列番号362)、DOM 12-45-17 (配列番号363)、DOM 12-45-18 (配列番号364)、DOM 12-45-19 (配列番号365)、DOM 12-45-20 (配列番号366)、DOM 12-45-21 (配列番号367)、DOM 12-45-22 (配列番号368)、DOM 12-45-23 (配列番号369)、DOM 12-45-24 (配列番号370)、DOM 12-45-25 (配列番号371)、DOM 12-45-26 (配列番号372)、DOM 12-45-27 (配列番号373)、DOM 12-45-28 (配列番号374)、DOM 12-45-29 (配列番号375)、DOM 12-45-30 (配列番号376)、DOM 12-45-31 (配列番号377)、DOM 12-45-32 (配列番号378)、DOM 12-45-33 (配列番号379)、DOM 12-45-34 (配列番号380)、DOM 12-45-35 (配列番号381)、DOM 12-45-36 (配列番号382)、DOM 12-45-37 (配列番号383)、およびDOM 12-45-38 (配列番号384)からなる群から選択される抗CD138ドメイン抗体(dAb)と、CD138に対する結合において競合する。

【0023】

他の実施形態において、第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインは：DOM12-1 (配列番号289)、DOM12-15 (配列番号290)、DOM12-17 (配列番号11)、DOM12-19 (配列番号291)、DOM12-2 (配列番号292)、DOM12-20 (配列番号293)、DOM12-21 (配列番号294)、DOM12-22 (配列番号295)、DOM12-3 (配列番号296)、DOM12-33 (配列番号297)、DOM12-39 (配列番号298)、DOM12-4 (配列番号299)、DOM12-40 (配列番号300)、DOM12-41 (配列番号301)、DOM12-42 (配列番号302)、DOM12-44 (配列番号303)、DOM12-46 (配列番号304)、DOM12-6 (配列番号305)、DOM12-7 (配列番号306)、DOM12-10 (配列番号307)、DOM12-11 (配列番号308)、DOM12-18 (配列番号309)、DOM12-23 (配列番号310)、DOM12-24 (配列番号311)、DOM12-25 (配列番号312)、DOM12-26 (配列番号12)、DOM12-27 (配列番号313)、DOM12-28 (配列番号314)、DOM12-29 (配列番号315)、DOM12-30 (配列番号316)、DOM12-31 (配列番号317)、DOM12-32 (配列番号318)、DOM12-34 (配列番号319)、DOM12-35 (配列番号320)、DOM12-36 (配列番号321)、DOM12-37 (配列番号322)、DOM12-38 (配列番号323)、DOM12-43 (配列番号324)、DOM12-45 (配列番号310)、DOM12-5 (配列番号325)、DOM12-8 (配列番号326)、およびDOM12-9 (配列番号327)からなる群から選択されるdAbのアミノ酸配列と少なくとも約90%のアミノ酸配列類似性を有するアミノ酸配列を含む。

【0024】

特定の実施形態において、第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインは：DOM 12-45-1 (配列番号348)、DOM 12-45-2 (配列番号349)、DOM 12-45-3 (配列番号350)、DOM 12-45-4 (配列番号351)、DOM 12-45-5 (配列番号352)、DOM 12-45-6 (配列番号353)、DOM 12-45-8 (配列番号354)、DOM 12-45-9 (配列番号355)、DOM 12-45-10 (配列番号356)、DOM 12-45-11 (配列番号357)、DOM 12-45-12 (配列番号358)、DOM 12-45-13 (配列番号359)、DOM 12-45-14 (配列番号360)、DOM 12-45-15 (配列番号361)、DOM 12-45-16 (配列番号362)、DOM 12-45-17 (配列番号363)、DOM 12-45-18 (配列番号364)、DOM 12-45-19 (配列番号365)、DOM 12-45-20 (配列番号366)、DOM 12-45-21 (配列番号367)、DOM 12-45-22 (配列番号368)、DOM 12-45-23 (配列番号369)、DOM 12-45-24 (配列番号370)、DOM 12-45-25 (配列番号371)、DOM 12-45-26 (配列番号372)、DOM 12-45-27 (配列番号373)、DOM 12-45-28 (配列番号374)、DOM 12-45-29 (配列番号375)、DOM 12-45-30 (配列番号376)、DOM 12-45-31 (配列番号377)、DOM 12-45-32 (配列番号378)、DOM 12-45-33 (配列番号379)、DOM 12-45-34 (配列番号380)、DOM 12-45-35 (配列番号381)、DOM 12-45-36 (配列番号382)、DOM 12-45-37 (配列番号383)、およびDOM 12-45-38 (配列番号384)からなる群から選択されるdAbのアミノ酸配列と少なくとも約90%のアミノ酸配列類似性を有するアミノ酸配列を含む。

【0025】

他の実施形態において、第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインは、CEAに結合し、且つ：DOM13-1 (配列番号328)、DOM13-12 (配列番号329)、DOM13-13 (配列番号330)、DOM13-14 (配列番号331)、DOM13-15 (配列番号332)、DOM13-16 (配列番号333)、DOM13-17 (配列番号334)、DOM13-18 (配列番号335)、DOM13-19 (

配列番号336)、DOM13-2 (配列番号337)、DOM13-20 (配列番号338)、DOM13-21 (配列番号339)、DOM13-22 (配列番号340)、DOM13-23 (配列番号341)、DOM13-24 (配列番号342)、DOM13-25 (配列番号13)、DOM13-26 (配列番号343)、DOM13-27 (配列番号344)、DOM13-28 (配列番号345)、DOM13-29 (配列番号346)、DOM13-3 (配列番号347)、DOM13-30 (配列番号348)、DOM13-31 (配列番号349)、DOM13-32 (配列番号350)、DOM13-33 (配列番号351)、DOM13-34 (配列番号352)、DOM13-35 (配列番号353)、DOM13-36 (配列番号354)、DOM13-37 (配列番号355)、DOM13-4 (配列番号356)、DOM13-42 (配列番号357)、DOM13-43 (配列番号358)、DOM13-44 (配列番号359)、DOM13-45 (配列番号360)、DOM13-46 (配列番号361)、DOM13-47 (配列番号362)、DOM13-48 (配列番号363)、DOM13-49 (配列番号364)、DOM13-5 (配列番号365)、DOM13-50 (配列番号366)、DOM13-51 (配列番号367)、DOM13-52 (配列番号368)、DOM13-53 (配列番号369)、DOM13-54 (配列番号370)、DOM13-55 (配列番号371)、DOM13-56 (配列番号372)、DOM13-57 (配列番号14)、DOM13-58 (配列番号15)、DOM13-59 (配列番号16)、DOM13-6 (配列番号373)、DOM13-60 (配列番号374)、DOM13-61 (配列番号375)、DOM13-62 (配列番号376)、DOM13-63 (配列番号377)、DOM13-64 (配列番号17)、DOM13-65 (配列番号18)、DOM13-66 (配列番号378)、DOM13-67 (配列番号379)、DOM13-68 (配列番号380)、DOM13-69 (配列番号381)、DOM13-7 (配列番号382)、DOM13-70 (配列番号383)、DOM13-71 (配列番号384)、DOM13-72 (配列番号385)、DOM13-73 (配列番号386)、DOM13-74 (配列番号19)、DOM13-75 (配列番号387)、DOM13-76 (配列番号388)、DOM13-77 (配列番号389)、DOM13-78 (配列番号390)、DOM13-79 (配列番号391)、DOM13-8 (配列番号392)、DOM13-80 (配列番号393)、DOM13-81 (配列番号394)、DOM13-82 (配列番号395)、DOM13-83 (配列番号396)、DOM13-84 (配列番号397)、DOM13-85 (配列番号398)、DOM13-86 (配列番号399)、DOM13-87 (配列番号400)、DOM13-88 (配列番号401)、DOM13-89 (配列番号402)、DOM13-90 (配列番号403)、DOM13-91 (配列番号404)、DOM13-92 (配列番号405)、DOM13-93 (配列番号20)、DOM13-94 (配列番号406)、およびDOM13-95 (配列番号21)からなる群から選択される抗CEAドメイン抗体(dAb)と、CEAに対する結合において競合する。

【0026】

特定の実施形態において、第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインは、CEAに結合し、且つ：DOM13-25-3 (配列番号473)、DOM13-25-23 (配列番号474)、DOM13-25-27 (配列番号475)、およびDOM13-25-80 (配列番号476)からなる群から選択される抗CEAドメイン抗体(dAb)と、CEAに対する結合において競合する。

【0027】

他の実施形態において、第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインは：DOM13-1 (配列番号328)、DOM13-12 (配列番号329)、DOM13-13 (配列番号330)、DOM13-14 (配列番号331)、DOM13-15 (配列番号332)、DOM13-16 (配列番号333)、DOM13-17 (配列番号334)、DOM13-18 (配列番号335)、DOM13-19 (配列番号336)、DOM13-2 (配列番号337)、DOM13-20 (配列番号338)、DOM13-21 (配列番号339)、DOM13-22 (配列番号340)、DOM13-23 (配列番号341)、DOM13-24 (配列番号342)、DOM13-25 (配列番号13)、DOM13-26 (配列番号343)、DOM13-27 (配列番号344)、DOM13-28 (配列番号345)、DOM13-29 (配列番号346)、DOM13-3 (配列番号347)、DOM13-30 (配列番号348)、DOM13-31 (配列番号349)、DOM13-32 (配列番号350)、DOM13-33 (配列番号351)、DOM13-34 (配列番号352)、DOM13-35 (配列番号353)、DOM13-36 (配列番号354)、DOM13-37 (配列番号355)、DOM13-4 (配列番号356)、DOM13-42 (配列番号357)、DOM13-43 (配列番号358)、DOM13-44 (配列番号359)、DOM13-45 (配列番号360)、DOM13-46 (配列番号361)、DOM13-47 (配列番号362)、DOM13-48 (配列番号363)、DOM13-49 (配列番号364)、DOM13-5 (配列番号365)、DOM13-50 (配列番号366)、DOM13-51 (配列番号367)、DOM13-52 (配列番号368)、DOM13-53 (配列番号369)、DOM13-54 (配列番号370)、DOM13-55 (配列番号371)、DOM13-56 (配列番号372)、DOM13-57 (配列番号14)、DOM13-58 (配列番号15)、DOM13-59 (配列番号16)、DOM13-6 (配列番号373)、DOM13-60 (配列番号374)、DOM13-61 (配列番号375)、DOM13-62 (配列番号376)、DOM13-63 (配列番号377)、DOM13-64 (配列番号17)、DOM13-65 (配列番号18)、DOM13-66 (配列番号378)、DOM13-67 (配列番号379)、DOM13-68 (配列番号380)、DOM13-69 (配

列番号381)、DOM13-7 (配列番号382)、DOM13-70 (配列番号383)、DOM13-71 (配列番号384)、DOM13-72 (配列番号385)、DOM13-73 (配列番号386)、DOM13-74 (配列番号19)、DOM13-75 (配列番号387)、DOM13-76 (配列番号388)、DOM13-77 (配列番号389)、DOM13-78 (配列番号390)、DOM13-79 (配列番号391)、DOM13-8 (配列番号392)、DOM13-80 (配列番号393)、DOM13-81 (配列番号394)、DOM13-82 (配列番号395)、DOM13-83 (配列番号396)、DOM13-84 (配列番号397)、DOM13-85 (配列番号398)、DOM13-86 (配列番号399)、DOM13-87 (配列番号400)、DOM13-88 (配列番号401)、DOM13-89 (配列番号402)、DOM13-90 (配列番号403)、DOM13-91 (配列番号404)、DOM13-92 (配列番号405)、DOM13-93 (配列番号20)、DOM13-94 (配列番号406)、およびDOM13-95 (配列番号21)からなる群から選択されるdAbのアミノ酸配列と少なくとも約90%のアミノ酸配列類似性を有するアミノ酸配列を含む。

10

【0028】

特定の実施形態において、第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインは：DOM 13-25-3 (配列番号473)、DOM 13-25-23 (配列番号474)、DOM 13-25-27 (配列番号475)、およびDOM 13-25-80 (配列番号476)からなる群から選択されるdAbのアミノ酸配列と少なくとも約90%のアミノ酸配列類似性を有するアミノ酸配列を含む。

【0029】

他の実施形態において、第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインは、CD56に結合し、且つ：DOM14-1 (配列番号477)、DOM14-10 (配列番号481)、DOM14-100 (配列番号540)、DOM14-11 (配列番号482)、DOM14-12 (配列番号483)、DOM14-13 (配列番号484)、DOM14-14 (配列番号485)、DOM14-15 (配列番号486)、DOM14-16 (配列番号487)、DOM14-17 (配列番号488)、DOM14-18 (配列番号489)、DOM14-19 (配列番号490)、DOM14-2 (配列番号478)、DOM14-20 (配列番号491)、DOM14-21 (配列番号492)、DOM14-22 (配列番号493)、DOM14-23 (配列番号494)、DOM14-24 (配列番号495)、DOM14-25 (配列番号496)、DOM14-26 (配列番号497)、DOM14-27 (配列番号498)、DOM14-28 (配列番号499)、DOM14-3 (配列番号479)、DOM14-31 (配列番号500)、DOM14-32 (配列番号501)、DOM14-33 (配列番号502)、DOM14-34 (配列番号503)、DOM14-35 (配列番号504)、DOM14-36 (配列番号505)、DOM14-37 (配列番号506)、DOM14-38 (配列番号507)、DOM14-39 (配列番号508)、DOM14-4 (配列番号480)、DOM14-40 (配列番号509)、DOM14-41 (配列番号510)、DOM14-42 (配列番号511)、DOM14-43 (配列番号512)、DOM14-44 (配列番号513)、DOM14-45 (配列番号514)、DOM14-46 (配列番号515)、DOM14-47 (配列番号516)、DOM14-48 (配列番号517)、DOM14-49 (配列番号518)、DOM14-50 (配列番号519)、DOM14-51 (配列番号520)、DOM14-52 (配列番号521)、DOM14-53 (配列番号522)、DOM14-54 (配列番号523)、DOM14-55 (配列番号524)、DOM14-56 (配列番号525)、DOM14-57 (配列番号526)、DOM14-58 (配列番号527)、DOM14-59 (配列番号528)、DOM14-60 (配列番号529)、DOM14-61 (配列番号530)、DOM14-62 (配列番号531)、DOM14-63 (配列番号532)、DOM14-64 (配列番号533)、DOM14-65 (配列番号534)、DOM14-66 (配列番号535)、DOM14-67 (配列番号536)、DOM14-70 (配列番号539)、DOM14-68 (配列番号537)、およびDOM14-69 (配列番号538)からなる群から選択される抗CD56ドメイン抗体(dAb)と、CD56に対する結合において競合する。

20

30

【0030】

他の実施形態において、第1免疫グロブリン単一可変ドメインまたは第2免疫グロブリン単一可変ドメインは：DOM14-1 (配列番号477)、DOM14-10 (配列番号481)、DOM14-100 (配列番号540)、DOM14-11 (配列番号482)、DOM14-12 (配列番号483)、DOM14-13 (配列番号484)、DOM14-14 (配列番号485)、DOM14-15 (配列番号486)、DOM14-16 (配列番号487)、DOM14-17 (配列番号488)、DOM14-18 (配列番号489)、DOM14-19 (配列番号490)、DOM14-2 (配列番号478)、DOM14-20 (配列番号491)、DOM14-21 (配列番号492)、DOM14-22 (配列番号493)、DOM14-23 (配列番号494)、DOM14-24 (配列番号495)、DOM14-25 (配列番号496)、DOM14-26 (配列番号497)、DOM14-27 (配列番号498)、DOM14-28 (配列番号499)、DOM14-3 (配列番号479)、DOM14-31 (配列番号500)、DOM14-32 (配列番号501)、DOM14-33 (配列番号502)、DOM14-34 (配列番号503)、DOM14-35 (配列番号504)、DOM14-36 (配列番号505)、DOM14-37 (配列番号506)、DOM14-38 (配列番号507)、DOM14-39 (配列番号508)、DOM14-4 (配列番号480)、DOM14-40 (配列番号509)、DOM14-41 (配列番号510)、DOM14-42 (配列番号511)、DOM14-43 (配列番号512)、DOM14-44 (配列番号513)、DOM14-45 (配列番号514)、DOM14-46 (配列番号515)、DOM14-47 (配列番号516)、DOM14-48 (配列番号517)、DOM14-49 (配列番号518)、DOM14-50 (配列番号519)、DOM14-51 (配列番号520)、DOM14-52 (配列番号521)、DOM14-53 (配列番号522)、DOM14-54 (配列番号523)、DOM14-55 (配列番号524)、DOM14-56 (配列番号525)、DOM14-57 (配列番号526)、DOM14-58 (配列番号527)、DOM14-59 (配列番号528)、DOM14-60 (配列番号529)、DOM14-61 (配列番号530)、DOM14-62 (配列番号531)、DOM14-63 (配列番号532)、DOM14-64 (配列番号533)、DOM14-65 (配列番号534)、DOM14-66 (配列番号535)、DOM14-67 (配列番号536)、DOM14-70 (配列番号539)、DOM14-68 (配列番号537)、およびDOM14-69 (配列番号538)からなる群から選択される抗CD56ドメイン抗体(dAb)と、CD56に対する結合において競合する。

40

50

4-37 (配列番号506)、DOM14-38 (配列番号507)、DOM14-39 (配列番号508)、DOM14-4 (配列番号480)、DOM14-40 (配列番号509)、DOM14-41 (配列番号510)、DOM14-42 (配列番号511)、DOM14-43 (配列番号512)、DOM14-44 (配列番号513)、DOM14-45 (配列番号514)、DOM14-46 (配列番号515)、DOM14-47 (配列番号516)、DOM14-48 (配列番号517)、DOM14-49 (配列番号518)、DOM14-50 (配列番号519)、DOM14-51 (配列番号520)、DOM14-52 (配列番号521)、DOM14-53 (配列番号522)、DOM14-54 (配列番号523)、DOM14-55 (配列番号524)、DOM14-56 (配列番号525)、DOM14-57 (配列番号526)、DOM14-58 (配列番号527)、DOM14-59 (配列番号528)、DOM14-60 (配列番号529)、DOM14-61 (配列番号530)、DOM14-62 (配列番号531)、DOM14-63 (配列番号532)、DOM14-64 (配列番号533)、DOM14-65 (配列番号534)、DOM14-66 (配列番号535)、DOM14-67 (配列番号536)、DOM14-70 (配列番号539)、DOM14-68 (配列番号537)、およびDOM14-69 (配列番号538)からなる群から選択されるdAbのアミノ酸配列と少なくとも約90%のアミノ酸配列類似性を有するアミノ酸配列を含む。

【0031】

さらに特定の実施形態において、第1免疫グロブリン単一可変ドメインはCD38に対して結合特異性を有する結合部位を含み、また第2免疫グロブリン単一可変ドメインは、CD138、CEA、CD56、VEGF、EGFRおよびHER2からなる群から選択される細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む。特定の実施形態において、第2免疫グロブリン単一可変ドメインは、CD138に対して結合特異性を有する結合部位を含む。

【0032】

別の実施形態において、第1免疫グロブリン単一可変ドメインは、CD138に対して結合特異性を有する結合部位を含み、また第2免疫グロブリン単一可変ドメインは、CD38、CEA、CD56、VEGF、EGFRおよびHER2からなる群から選択される細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む。特定の実施形態において、第2免疫グロブリン単一可変ドメインは、CEAに対して結合特異性を有する結合部位を含む。

【0033】

他の実施形態において、第1免疫グロブリン単一可変ドメインは、CEAに対して結合特異性を有する結合部位を含み、また第2免疫グロブリン単一可変ドメインは、CD38、CD138、CEA、VEGF、EGFRおよびHER2からなる群から選択される細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む。特定の実施形態において、第2免疫グロブリン単一可変ドメインは、CD56に対して結合特異性を有する結合部位を含む。

【0034】

所望の場合、本発明のリガンドは、さらに毒素(例えば表面活性毒素)を含んでいてもよい。この表面活性毒素は、遊離基発生剤または放射性核種を含み得る。

【0035】

いくつかの実施形態において、本発明のリガンドは、半減期延長部分(例えば、ポリアルキレングリコール部分、血清アルブミンもしくはそのフラグメント、トランスフェリン受容体もしくはそのトランスフェリン結合部分)、またはin vivo半減期を高めるポリペプチドに対する結合部位を含む抗体もしくは抗体フラグメントをさらに含む。いくつかの実施形態において、上記の半減期延長部分は、ポリエチレングリコール部分である。

【0036】

他の実施形態において、半減期延長部分は、血清アルブミンまたは新生児Fc受容体に対する結合部位を含む抗体または抗体フラグメント(例えば、免疫グロブリン単一可変ドメイン)である。

【0037】

特定の実施形態において、半減期延長部分は：DOM7m-16 (配列番号541)、DOM7m-12 (配列番号542)、DOM7m-26 (配列番号543)、DOM7r-1 (配列番号544)、DOM7r-3 (配列番号545)、DOM7r-4 (配列番号546)、DOM7r-5 (配列番号547)、DOM7r-7 (配列番号548)、DOM7r-8 (配列番号549)、DOM7h-2 (配列番号550)、DOM7h-3 (配列番号551)、DOM7h-4 (配列番号552)、DOM7h-6 (配列番号553)、DOM7h-1 (配列番号555)、DOM7h-7 (配列番号477)、DOM7h-8 (配列番号564)、DOM7r-13 (配列番号565)、DOM7r-14 (配列番号566)、DOM7h-22 (配列番

号557)、DOM7h-23 (配列番号558)、DOM7h-24 (配列番号559)、DOM7h-25 (配列番号560)、DOM7h-26 (配列番号561)、DOM7h-21 (配列番号562)、DOM7h-27 (配列番号563)、DOM7r-15 (配列番号567)、DOM7r-16 (配列番号568)、DOM7r-17 (配列番号569)、DOM7r-18 (配列番号570)、DOM7r-19 (配列番号571)、DOM7r-20 (配列番号572)、DOM7r-21 (配列番号573)、DOM7r-22 (配列番号574)、DOM7r-23 (配列番号575)、DOM7r-24 (配列番号576)、DOM7r-25 (配列番号577)、DOM7r-26 (配列番号578)、DOM7r-27 (配列番号579)、DOM7r-28 (配列番号580)、DOM7r-29 (配列番号581)、DOM7r-30 (配列番号582)、DOM7r-31 (配列番号583)、DOM7r-32 (配列番号584)、およびDOM7r-33 (配列番号585)からなる群から選択されるdAbと、ヒト血清アルブミンに対する結合において競合する免疫グロブリン単一可変ドメインである。

10

【0038】

別の実施形態において、半減期延長部分は、ヒト血清アルブミンと結合し、且つ：DOM7m-16 (配列番号541)、DOM7m-12 (配列番号542)、DOM7m-26 (配列番号543)、DOM7r-1 (配列番号544)、DOM7r-3 (配列番号545)、DOM7r-4 (配列番号546)、DOM7r-5 (配列番号547)、DOM7r-7 (配列番号548)、DOM7r-8 (配列番号549)、DOM7h-2 (配列番号550)、DOM7h-3 (配列番号551)、DOM7h-4 (配列番号552)、DOM7h-6 (配列番号553)、DOM7h-1 (配列番号555)、DOM7h-7 (配列番号477)、DOM7h-8 (配列番号564)、DOM7r-13 (配列番号565)、DOM7r-14 (配列番号566)、DOM7h-22 (配列番号557)、DOM7h-23 (配列番号558)、DOM7h-24 (配列番号559)、DOM7h-25 (配列番号560)、DOM7h-26 (配列番号561)、DOM7h-21 (配列番号562)、DOM7h-27 (配列番号563)、DOM7r-15 (配列番号567)、DOM7r-16 (配列番号568)、DOM7r-17 (配列番号569)、DOM7r-18 (配列番号570)、DOM7r-19 (配列番号571)、DOM7r-20 (配列番号572)、DOM7r-21 (配列番号573)、DOM7r-22 (配列番号574)、DOM7r-23 (配列番号575)、DOM7r-24 (配列番号576)、DOM7r-25 (配列番号577)、DOM7r-26 (配列番号578)、DOM7r-27 (配列番号579)、DOM7r-28 (配列番号580)、DOM7r-29 (配列番号581)、DOM7r-30 (配列番号582)、DOM7r-31 (配列番号583)、DOM7r-32 (配列番号584)、およびDOM7r-33 (配列番号585)からなる群から選択されるdAbのアミノ酸配列と少なくとも90%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、免疫グロブリン単一可変ドメインである。

20

【0039】

別の態様において、本発明のリガンドは、第1細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む第1ポリペプチドドメイン、第2細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む第2ポリペプチドドメイン、および少なくとも1つの毒素部分を含み；ここで、第1細胞表面標的と第2細胞表面標的とは異なり、且つ第1細胞表面標的と第2細胞表面標的とは1つの病原細胞上に存在し；ここで該リガンドは、病原細胞上で第1細胞表面標的および第2細胞表面標的に約 10^{-6} M～約 10^{-12} Mの結合力で結合し；また該リガンドは、上記の病原細胞によってインターナライズされる。本明細書に記載されるとおり、上記の毒素は表面活性毒素であり得る。この表面活性毒素は、遊離基発生剤または放射性核種を含むことができる。

30

【0040】

好ましくは、本発明のリガンドは、病原細胞により優先的にインターナライズされる。例えば、本発明のリガンドは、単一陽性細胞または正常細胞には実質的にインターナライズされず、あるいは、病原細胞に選択的に結合する。いくつかの実施形態において、本発明のリガンドは、これが約1pM～約150nMの濃度で存在する場合に病原細胞に選択的に結合する。

40

【0041】

本発明はまた、治療または診断において使用するためのリガンド、また本明細書に記載される疾患(例えば、癌、多発性骨髄腫、肺癌)の治療用医薬の製造のためのリガンドの使用にも関する。

【0042】

本発明はまた、正常細胞よりも選択的に癌細胞を殺傷する医薬の製造のためのリガンドの使用にも関する。

50

【0043】

本発明はまた、治療剤を細胞内に送達するための医薬の製造のためのリガンドの使用にも関する。

【0044】

本発明はまた、細胞内のカテプシンBコンパートメントに治療剤を送達するための医薬の製造のためのリガンドの使用にも関する。

【0045】

本発明はまた、リガンドを細胞内のカテプシンBコンパートメントに局在化させるための医薬の製造のためのリガンドの使用にも関する。

【0046】

本発明はまた、投与を必要とする対象に治療上有効な量の本発明のリガンドを投与するステップを含む、疾患の治療方法にも関する。いくつかの実施形態において、上記の疾患は癌、例えば多発性骨髄腫または肺癌(例えば、小細胞肺癌)である。

【0047】

本発明はまた、細胞を本発明のリガンドと接触させるステップを含む、細胞に対して治療剤(例えば毒素)を内部送達する方法にも関する。

【0048】

本発明はまた、本発明のリガンドと、生理的に許容可能な担体とを含む組成物(例えば医薬組成物)にも関する。いくつかの実施形態において、この組成物は、静脈内、筋肉内、腹腔内、動脈内、髄腔内、関節内、または皮下投与用のビヒクルを含む。他の実施形態において、この組成物は、経肺、鼻腔内、腔内、または直腸内投与用のビヒクルを含む。

【0049】

本発明はまた、本発明の組成物を含む、薬物送達デバイスにも関する。いくつかの実施形態において、この薬物送達デバイスは、非経口送達デバイス、静脈内送達デバイス、筋肉内送達デバイス、腹腔内送達デバイス、経皮送達デバイス、経肺送達デバイス、動脈内送達デバイス、髄腔内送達デバイス、関節内送達デバイス、皮下送達デバイス、鼻腔内送達デバイス、腔内送達デバイス、および直腸内送達デバイスからなる群から選択される。他の実施形態において、上記の薬物送達デバイスは、シリンジ、経皮送達デバイス、カプセル剤、錠剤、ネブライザー、吸入器、アトマイザー、エアロゾライザー、噴霧器、ドライパウダー吸入器、定量吸入器、定量スプレーヤー、定量噴霧器、定量アトマイザーおよびカテーテルからなる群から選択される。

【0050】

本発明はまた、本発明のリガンドをコードする単離された核酸または組換え核酸、ならびに本発明の組換え核酸を含むベクターおよび本発明の組換え核酸またはベクターを含む宿主細胞にも関する。本発明はまた、本発明の宿主細胞を、本発明の核酸またはベクターの発現に好適な条件下に維持し、これによってリガンドが産生されるステップを含む、リガンドを産生する方法にも関する。いくつかの実施形態において、この方法は、本発明のリガンドを単離するステップをさらに含む。

【0051】

いくつかの実施形態において、本発明のリガンドは、細胞表面標的を含有する細胞によってインターナライズされる。例えば、本発明のリガンド(例えば、二重陽性細胞または病原細胞に結合するリガンド)の少なくとも約40%、または少なくとも約50%、または少なくとも約60%、または少なくとも約70%、または少なくとも約80%、または少なくとも約90%または実質的に全ては、細胞によってインターナライズされる。

【0052】

本発明はまた、本明細書に開示されるドメイン抗体、およびこれを含むリガンドおよびフォーマットにも関する。本発明はまた、本明細書に開示されるドメイン抗体をコードする単離された核酸または組換え核酸、およびこの組換え核酸を含むベクター、およびこの組換え核酸またはベクターを含む宿主細胞にも関する。本発明はまた、本発明の宿主細胞を本発明の核酸またはベクターの発現に好適な条件下に維持し、これにより本明細書に開

10

20

30

40

50

示されるdAbまたはこのようなdAbを含むリガンドもしくはフォーマットが産生されるステップを含む、本明細書に開示されるdAbまたはこのようなdAbを含むリガンドもしくはフォーマットの産生方法にも関する。いくつかの実施形態において、この方法は、本発明のリガンドを単離するステップをさらに含む。

【発明を実施するための最良の形態】

【0053】

本明細書では、明確かつ簡潔な明細書を記載できるような方式で実施形態を記載したが、本発明から逸脱することなく実施形態を様々に組み合わせ、または分離させてよいことを意図するものであり、またこのように理解されるものとする。

【0054】

本明細書で用いられる「リガンド」という用語は、第1細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む第1ポリペプチドドメインと第2細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む第2ポリペプチドドメインとを含むポリペプチドを指す。本明細書に記載されるとおり、上記の第1細胞表面標的と第2細胞表面標的とは同一ではない(すなわち、異なる標的(例えば、タンパク質)である)が、いずれも1つの細胞(例えば、病原細胞)上に存在する(例えば、共発現する)。本発明のリガンドは、上記の第1細胞表面標的と第2細胞表面標的とを含む細胞に、1つの標的のみを含む細胞よりも強く(例えば、高い結合力で)結合する。従って、本発明のリガンドは、第1細胞表面標的と第2細胞表面標的とを含む細胞に対して選択的に結合することができる。

【0055】

本発明のリガンドは、いずれも正常細胞上に存在するが、病原細胞上にはより高いレベルで存在する細胞表面標的に結合し得る。このような状況において、上記のリガンドは、治療剤(例えば毒素)を病原細胞に選択的に送達するために使用することができる。例えば、病原細胞上に高レベルで細胞表面標的が存在することにより、正常細胞に結合しインターナライズされるよりも多くのリガンドが病原細胞に結合し、インターナライズされるだろう。このようにして、有効量の毒素を病原細胞に優先的に送達することができる。

【0056】

好ましくは、本発明によるリガンドは、異なる結合特異性を有する免疫グロブリン可変ドメインを含むが、同じ特異性を有する可変ドメイン対は含まない。好ましくは、細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む各ドメインは、所望の細胞表面標的(例えば、受容体タンパク質などの膜タンパク質)に対して結合特異性を有する、免疫グロブリン単一可変ドメイン(例えば、免疫グロブリン単一重鎖可変ドメイン(例えば V_H 、 V_{HH})免疫グロブリン単一軽鎖可変ドメイン(例えば V_L))である。細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む各ポリペプチドドメインはまた、結合ドメインが、その細胞表面標的に対して結合特異性を有するような適切な型式で、所望の細胞表面標的に対して結合特異性を有する、抗体または抗体フラグメント(例えば、免疫グロブリン単一可変ドメイン)の、一個または複数の相補性決定領域(CDR)を含むこともできる。例えば、適切なタンパク質の足場または骨格、例えば、アフィボディ、SpA足場、LDL受容体クラスAドメイン、またはEGFドメインに、CDRをグラフト化することができる。さらに、本リガンドは、本明細書に記載したように二価(ヘテロ二価)または多価(ヘテロ多価)であってよい。このように、「リガンド」は、それぞれのdAbが異なる細胞表面標的と結合する、2個のdAbを含むポリペプチドを含む。リガンドはまた、本明細書に記載したように、適切な型式、例えば、抗体型式(例えば、IgG様型式、scFv、Fab、Fab'、 $(Fab')_2$)で、あるいは適切なタンパク質の足場または骨格、例えば、アフィボディ、SpA足場、LDL受容体クラスAドメイン、EGFドメイン、アビメルおよび多重特異性リガンドで、異なる細胞表面標的(またはdAbのCDR)に結合する、少なくとも2個のdAbを含むポリペプチドも含む。細胞表面標的(すなわち、第1または第2細胞表面標的)に対して結合特異性を有する結合部位を含むポリペプチドドメインはまた、所望の標的との結合部位を含むタンパク質ドメイン(例えば、アフィボディ、SpAドメイン、LDL受容体クラスAドメイン、アビメルから選択

10

20

30

40

50

される（例えば、米国特許出願公開第2005/0053973号、同第2005/0089932号、同第2005/0164301号参照）から選択されるタンパク質ドメイン）であってよい。

【0057】

本明細書で用いられる「標的」という語句は、結合部位を有するポリペプチドドメインが結合できる生物学的分子（例えば、ペプチド、ポリペプチド、タンパク質、脂質、炭水化物）を指す。標的は、例えば、細胞内標的（例えば、細胞内タンパク質標的）または細胞表面標的（例えば、膜タンパク質、受容体タンパク質）であってよい。好ましくは、標的は、細胞表面タンパク質などの細胞表面標的である。好適には、第1細胞表面標的と第2細胞表面標的とは、両方とも1つの病原細胞（例えば、癌細胞、腫瘍細胞）上に存在する。例えば、第1細胞表面標的と第2細胞表面標的は、1つの細胞（例えば、病原細胞）上で共発現することができる。第1細胞表面標的と第2細胞表面標的とは、特定の正常細胞上で個別に存在する可能性があり、また病原細胞上で両方とも存在し得る（例えば、癌細胞上で共発現し、腫瘍細胞上で共発現する）。

10

【0058】

特定の好適な標的（例えば特定の第1細胞表面標的および特定の第2細胞表面標的）は、両方とも正常細胞上に存在する可能性がある。このような状況において、上記の標的は正常細胞上では低レベルで発現するが、例えば、病原細胞上では高レベルで発現する。例えば、第1細胞表面標的と第2細胞表面標的は、正常細胞上でのレベルより少なくとも約2、約3、約4、約5、約6、約7、約8、約9、または少なくとも約10倍高いレベルで病原細胞上に存在し得る。細胞上の標的のレベル（例えば、細胞表面上の標的の量）は、抗体結合およびフローサイトメトリーなどの、様々な好適な方法を用いて測定することができる。

20

【0059】

本明細書で用いられる「病原細胞」という用語は、病原状態（例えば、癌）の生成をもたらし得る、あるいは病原状態の生成の原因となる変化した細胞生理を有する細胞を指す。病原細胞は、例えば、細胞の分裂、増殖、分化、老化および/または死の正常な細胞プロセスを調節不全にする1つ以上の変異を内部に含む細胞であり得る。特定の病原細胞としては、例えば、癌腫細胞、リンパ腫細胞、骨髄腫細胞、肉腫細胞等の癌細胞が挙げられる。

【0060】

「免疫グロブリン単一可変ドメイン」という語句は、抗体可変領域（ V_H 、 V_{HH} 、 V_L ）を指し、この領域は、他のVドメインとは独立して、標的、抗原、またはエピトープに特異的に結合する。しかし、その用語を本明細書で使用する場合、免疫グロブリン単一可変ドメインは、他の可変領域または可変ドメインを伴う型式（例えば、ヘテロ多量体）で存在してもよく、その場合、当該他の領域またはドメインは、単一免疫グロブリン可変ドメインによる抗原結合には必要とされない（すなわち、免疫グロブリン単一可変ドメインは、追加の可変ドメインとは独立して抗原に結合する）。各「免疫グロブリン単一可変ドメイン」は、単離された抗体単一可変ドメインポリペプチドだけでなく、抗体単一可変ドメインポリペプチド配列の一個または複数の単量体を含む、大型のポリペプチドも包含する。「ドメイン抗体」すなわち「dAb」は、本明細書中でその用語が使用されるとき、「免疫グロブリン単一可変ドメイン」ポリペプチドと同じである。本明細書で使用する免疫グロブリン単一可変ドメインポリペプチドは、哺乳動物、好ましくはヒトの免疫グロブリン単一可変ドメインポリペプチドを指すが、げっ歯類（例えば、国際公開公報第00/29004号に開示されるもの、その内容全体を参照により本明細書に組み込む）またはラクダ科の V_{HH} dAbも含む。本明細書で用いられるラクダ科dAbは、ラクダ、ラマ、アルパカ、ヒトコブラクダ、およびグアナコを含む種に由来し、重鎖抗体を含むが天然には軽鎖（ V_{HL} ）を持たない、免疫グロブリン単一可変ドメインポリペプチドである。同様のdAbは、テンジクザメなど、他の種に由来する一本鎖抗体について得ることができる。好ましいリガンドは、少なくとも2個の異なる免疫グロブリン単一可変ドメインポリペプチド、または少なくとも2個の異なるdAbを含む。

30

40

50

【0061】

本明細書で用いられる「選択的に結合する」という語句は、本発明のリガンドが、単一陽性細胞よりも二重陽性細胞に選択的に結合する能力を指す。例えば、本発明のリガンドは、二重陽性細胞には結合することができるが、単一陽性細胞には実質的に結合しない。リガンドは、単一陽性細胞に対する結合量が、同じ結合条件下での二重陽性細胞に対する結合の約25%、約24%、約23%、約22%、約21%、約20%、約19%、約18%、約17%、約16%、約15%、約14%、約13%、約12%、約11%、約10%、約9%、約8%、約7%、約6%、約5%、約4%、約3%、約2%または約1%にすぎない場合、単一陽性細胞には「実質的に結合していない」。選択的結合は、例えば、リガンドの親和性および結合力ならびにリガンドの濃度によって影響され得る。当業者であれば、適切な細胞結合アッセイにおけるリガンドの滴定などの任意の好適な方法を用いて、本発明のリガンドが二重陽性細胞を選択的に結合する適切な条件を決定することができる。

10

【0062】

本明細書で用いられる「二重陽性」という用語は、本発明のリガンドが結合する2つの異なる細胞表面標的(異なる標的種)を含む細胞を指す。本発明のリガンドは、二重陽性細胞に高い結合力で結合する。本明細書で用いられる、「単一陽性」という用語は、本発明のリガンドが結合する1つの細胞表面標的のみを含む細胞を指す。

【0063】

本明細書で用いられる「インターナライズする」、「インターナライズされた」、および「インターナライズ」ならびに関連の変形語は、リガンドが第1細胞表面標的および第2細胞表面標的に結合すると細胞内に取り込まれる細胞プロセス(例えば、エンドサイトーシス)を指す。インターナライズは、リガンド誘導性の細胞表面標的クラスターリングに続くクラスリン被覆ピットエンドサイトーシスによって媒介され得る。一旦取り込まれると、リガンドは細胞のリソソームコンパートメントに送達され、ここでカテプシンBなどの細胞酵素が該リガンドの一部(複数)を切断する(例えば、リンカーを切断してリガンドから毒素を放出させる)ことができる。

20

【0064】

「親和性」および「結合力」は、結合相互作用の強度を説明する業界用語である。本発明のリガンドに関して、結合力は、細胞上の標的(例えば、第1細胞表面標的および第2細胞表面標的)とリガンドとの結合の全体強度を指す。結合力は、個々の標的に対する個々の親和性の合計を超える。

30

【0065】

本明細書で用いられる「毒素部分(毒素 moiety)」は、毒素を含む部分を指す。毒素は、細胞生理に有害な作用を及ぼし、またはこれを変化させる(例えば、細胞壊死、アポトーシスを引き起こし、または細胞分裂を阻害する)薬剤である。

【0066】

本明細書で用いられる「用量」という用語は、所定の時間間隔にわたり、全てを一回(単位用量)または2回またはそれ以上の投与回数で、対象に投与するリガンドの量を指す。例えば、用量は、一日(24時間)(一日量)、2日、1週間、2週間、3週間、または一ヵ月またはそれ以上にわたって(例えば、1回投与または2回またはそれ以上の投与回数によって)対象に投与する、リガンド(例えば、CEAと結合する免疫グロブリン単一可変ドメインと、CD56と結合する免疫グロブリン単一可変ドメインを含むリガンド)の量を指しうる。用量相互間の間隔は、任意の所望の時間量であってよい。

40

【0067】

本明細書で用いられる「相補的」は、2個の免疫グロブリンドメインが、同族の対または基を形成する構造ファミリーに属し、あるいはそのようなファミリーに由来し、この特徴を保持する場合を指す。例えば、抗体の V_H ドメインと V_L ドメインは相補的である。2個の V_H ドメインは相補的ではなく、2個の V_L ドメインも相補的ではない。相補的ドメインは、免疫グロブリンスーパーファミリーの他のメンバー、例えば、T細胞受容体の V_α および V_β (または γ および δ)ドメインにも見出しうる。人工的なドメイン、例え

50

ば、エピトープに結合するように設計されていない限り、エピトープに結合しないタンパク質の足場をベースとするドメインは非相補的である。同様に、（例えば）免疫グロブリンドメインおよびフィブロネクチンドメインをベースとする２個のドメインも相補的ではない。

【0068】

本明細書で用いられる「免疫グロブリン」は、抗体分子に特徴的な免疫グロブリンフォールドを保持し、２つのβシートと、通常は保存されているジスルフィド結合とを含むポリペプチドファミリーを指す。免疫グロブリンスーパーファミリーのメンバーは、*in vivo*での細胞および非細胞相互作用の多くの態様に関与し、それらには、免疫系（例えば、抗体、T細胞受容体分子など）での広範囲にわたる役割、細胞接着（例えば、ICAM分子）、および細胞内シグナル伝達（例えば、PDGF受容体などの受容体分子）への関与が含まれる。本発明は、結合ドメインを有する全ての免疫グロブリンスーパーファミリー分子に適用することができる。好ましくは、本発明は抗体に関する。

【0069】

本明細書で用いられる「ドメイン」は、タンパク質の残りの部分とは独立した、三次構造を保持する折り畳まれたタンパク質構造を指す。一般的に、ドメインはタンパク質の別個の機能的特性を担い、多くの場合、そのタンパク質残部および／またはそのドメイン残部の機能を喪失することなく、付加し、除去し、または他のタンパク質に移すことができる。単一抗体可変ドメインは、抗体可変ドメインに特徴的な配列を含む、折り畳まれたポリペプチドドメインを意味する。従って、それには、完全抗体可変ドメイン、また修飾された可変ドメイン、例えば、一個または複数のループが、抗体可変ドメインには特徴的でない配列で置換されている修飾された可変ドメイン、または切断されている、またはN末端もしくはC末端伸長を含む抗体可変ドメイン、同様に全長ドメインの少なくとも部分的な結合活性および特異性を保持する、可変ドメインの折り畳まれたフラグメントが含まれる。このようにして、各リガンドは、少なくとも２個の異なるドメインを含む。

【0070】

「レパートリー」 多様な変異体、例えば、一次配列が異なるポリペプチド変異体のコレクション。本発明で使用するライブラリーは、少なくとも1000メンバーを含むポリペプチドのレパートリーを包含する。

【0071】

「ライブラリー」 ライブラリーという用語は、異種のポリペプチドまたは核酸の混合物を指す。ライブラリーは、それぞれが単一のポリペプチドもしくは核酸配列を有するメンバーから構成される。この点で、ライブラリーはレパートリーと同義である。ライブラリー中に存在する多様性は、ライブラリーメンバー間の配列差異による。ライブラリーは、ポリペプチドまたは核酸の単純な混合物の形を取り、あるいは核酸ライブラリーで形質転換した生物または細胞、例えば、細菌、ウイルス、動物、または植物細胞などの形を取りうる。好ましくは、各個体生物または細胞は、唯一のまたは限定された数のライブラリーメンバーを含む。有利には、核酸がコードするポリペプチドが発現されるように、発現ベクター中に核酸を組み込む。従って、好ましい態様では、ライブラリーは宿主生物の集団の形を取ってよく、各生物は一個または複数の発現ベクターのコピーを含み、そのベクターは、発現して対応するポリペプチドメンバーを産生し得る核酸形で、ライブラリーの一メンバーを含む。従って、宿主生物の集団は、遺伝子的に多様なポリペプチド変異体の大型レパートリーをコードできる可能性を有している。

【0072】

本明細書で用いられる、抗体は、自然に抗体を産生する任意の種から得たか、または組換えDNA技術によって作出したかどうか、血清、B細胞、ハイブリドーマ、トランスフェクトーマ（transfectomas）、酵母、または細菌から単離したかどうかに関わらず、IgG、IgM、IgA、IgD、もしくはIgE、またはフラグメント（例えば、Fab、F(ab')₂、Fv、ジスルフィド結合Fv、scFv、閉鎖高次構造多重特異性抗体、ジスルフィド結合scFv、ディアボディ）を指す。

【0073】

本明細書に記載される「抗原」は、本発明による結合ドメインが結合する分子である。典型的には、抗原には抗体リガンドが結合し、in vivoで抗体応答を上昇させることができる。抗原は、ポリペプチド、タンパク質、核酸、または他の分子でありうる。一般的に、本発明による二重特異性リガンドは、2つの特定の標的（例えば抗原）に対する標的特異性について選択される。従来の抗体およびそのフラグメントの場合には、可変ループ（L1、L2、L3およびH1、H2、H3）によって定義される抗体結合部位が、抗原と結合することができる。

【0074】

「エピトープ」は、従来的には免疫グロブリンV_H/V_L対が結合する構造単位である。エピトープは、抗体の最小結合部位を定義し、従って抗体の特異性の標的を示す。単一ドメイン抗体の場合には、エピトープは、単離の際に可変ドメインが結合する構造単位を表す。

【0075】

「ユニバーサルフレームワーク」は、Kabatが定義（「Sequences of Proteins of Immunological Interest」、米国保健社会福祉省）したように、配列に保存されている抗体領域に対応する単一抗体フレームワーク配列、あるいはChothiaおよびLesk, J. Mol. Biol. 196:910-917(1987)が定義したように、ヒト生殖細胞系列免疫グロブリンレパートリーまたは構造に対応する単一抗体フレームワーク配列を指す。本発明は、単一フレームワーク、またはそのようなフレームワークのセットの使用を提供するが、この使用によって超可変領域単独での変動にもかかわらず、実質的にあらゆる結合特異性の誘導が可能になることが判明している。

【0076】

「半減期」という語句は、例えば、リガンドの分解、および／または自然のメカニズムによる二重特異性リガンドのクリアランスもしくは隔離により、リガンドの血清濃度がin vivoで50%減少するのにかかる時間を指す。本発明のリガンドは、in vivoで安定化しており、分解および／またはクリアランスまたは隔離に抵抗する分子と結合することによって、それらの半減期は長くなっている。典型的には、そのような分子は、in vivoでそれ自体の半減期が長い、天然のタンパク質である。半減期が増長された分子に特異的ではない類似のリガンドよりも、リガンドの機能的活性がin vivoで長時間持続すると、そのリガンドの半減期は増長される。従って、HSAおよび2個の標的分子に特異的なリガンドは、HSAに対する特異性が存在しない、すなわちHSAには結合しないが別の分子には結合する同じリガンドと比較される。例えば、リガンドは細胞の第3標的に結合しうる。典型的には、半減期は、10%、20%、30%、40%、50%、またはそれ以上増長される。2×、3×、4×、5×、10×、20×、30×、40×、50×、またはそれ以上の範囲で半減期の増長が可能である。あるいは、またはさらに、30×、40×、50×、60×、70×、80×、90×、100×、150×までの範囲の半減期の増長も可能である。

【0077】

本明細書で言及する「競合する」という用語は、第2標的がその同族の標的結合ドメインに結合する場合、第1標的とその同族の標的結合ドメインとの結合が阻害されることを意味する。例えば、例として結合ドメインを物理的に阻止し、または標的に対するその親和性または結合力が減少するように、結合ドメインの構造または環境を変化させることによって、結合を立体的に阻害しうる。

【0078】

本明細書で用いられる、「低ストリンジェンシー」、「中ストリンジェンシー」、「高ストリンジェンシー」、または「極高ストリンジェンシー条件」という用語は、核酸ハイブリダイゼーションおよび洗浄の条件について記載している。ハイブリダイゼーション反応を実施する指針は、Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6に見出すことができ、その全体を参照により本明細書に組み込

10

20

30

40

50

む。水系および非水系法については、この文献に記載されており、いずれも使用することができる。本明細書で言及する特異的ハイブリダイゼーション条件は以下の通りである：

(1) 約45℃の6×塩化ナトリウム／クエン酸ナトリウム(SSC)での低ストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件、続いて少なくとも50℃の0.2×SSC、0.1%SDSによる2回の洗浄(低ストリンジェンシー条件では、洗浄温度を55℃に高めることもできる)、(2) 約45℃の6×SSCでの中ストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件、続いて60℃の0.2×SSC、0.1%SDSによる一回または複数回の洗浄；(3) 約45℃の6×SSCでの高ストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件、続いて65℃の0.2×SSC、0.1%SDSによる一回または複数の洗浄、また好ましくは(4) 極高ストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件は、65℃の0.5Mリン酸ナトリウム、7%SDSと、続いて65℃の0.2×SSC、1%SDSによる一回または複数回の洗浄である。極高ストリンジェンシー条件(4)が好適な条件であり、特に明記しない限り使用すべき条件である。

【0079】

本明細書に開示した配列に、類似しまたは相同する(例えば、少なくとも約70%の配列同一性)配列も本発明の一部である。いくつかの実施形態では、アミノ酸レベルでの配列同一性は、約80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%以上でありうる。核酸レベルでは、その配列同一性は約70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%以上でありうる。あるいは、核酸セグメントが、その鎖の相補鎖に、選択的ハイブリダイゼーション条件(例えば、極高ストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件)下でハイブリダイズした場合、実質的同一性が存在する。核酸は、細胞全体、細胞ライセート、または部分的に精製された形態、または実質的に純粋な形態で存在しうる。

【0080】

2配列間の「相同性」または「配列同一性」または「類似性」(本明細書ではこれらの用語を互換的に使用する)の計算は、以下のように実施される。最適な比較を目的として配列を整列させる(例えば、最適に整列させるために、第1および第2アミノ酸または核酸配列の一方または両方にギャップを入れてもよく、そして比較を目的として非相同配列を無視することもできる)。好ましい実施形態では、比較を目的として整列させる参照配列の長さは、参照配列の長さの少なくとも30%、好ましくは少なくとも40%、より好ましくは少なくとも50%であり、さらにより好ましくは少なくとも60%であり、さらにより好ましくは少なくとも70%、80%、90%、または100%である。次いで、対応するアミノ酸位置またはヌクレオチド位置の、アミノ酸残基またはヌクレオチドを比較する。第1配列中の位置が、第2配列の対応する位置のものと同一アミノ酸残基またはヌクレオチドによって占有されている場合、これらの分子はその位置で同一である(本明細書で用いられる、アミノ酸または核酸「相同性」は、アミノ酸または核酸「同一性」に等しい)。2配列間の%同一性は、2配列を最適に整列させるために導入する必要があるギャップ数および各ギャップ長を考慮して、それらの配列が共有する同一位置数の関数である。

【0081】

本明細書で定義する、アミノ酸およびヌクレオチド配列の整列、および相同性、類似性もしくは同一性は、アルゴリズムBLAST 2 Sequencesを使用し、デフォルトパラメーターを用いて調製し定量することが好ましい(Tatusova, T. A.ら, FEMS Microbiol Lett, 174:187-188 (1999))。あるいは、配列整列には、パラメーターをデフォルト値に設定してBLASTアルゴリズム(バージョン2.0)を使用する。BLAST(Basic Local Alignment Search Tool)は、blastp、blastn、blastx、tblastn、およびtblastxというプログラムによって使用される発見的探索アルゴリズムであり、これらのプログラムは、KarlinおよびAltschul, 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87(6):2264-8の統計的方法を使用する知見に重要性を置いている。

【0082】

特に明記しない限り、本明細書で使用する全ての技術用語および科学用語は、一般に（例えば、細胞培養、分子遺伝学、核酸化学、ハイブリダイゼーション技術、および生化学で）当業者に理解されている意味と同じ意味を有する。分子的、遺伝子的、および生化学的方法（一般的に、Sambrookら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第2版, (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. およびAusubelら、Short Protocols in Molecular Biology (1999)第4版, John Wiley & Sons, Inc.を参照されたい。それらを参照により本明細書に組み込む）および化学的方法には標準的技術が使用される。

【0083】

本発明は、1つの細胞上に存在する2つの細胞表面標的に結合するリガンドに関する。例えば、本発明のリガンドは、第1細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む第1ポリペプチドドメインと、第2細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む第2ポリペプチドドメインを含み得る。好ましくは、第1ポリペプチドドメイン(例えば、免疫グロブリン単一可変ドメイン)は、上記の第1細胞表面標的に低親和性で結合し、上記の第2ポリペプチドドメイン(免疫グロブリン単一可変ドメイン)は、上記の第2細胞表面標的に低親和性で結合する。

【0084】

本明細書に記載および例示されたとおり、このようなリガンドは、第1細胞表面標的と第2細胞表面標的の両方を含む二重陽性細胞に選択的に結合し得る。従って、所望の細胞表面抗原に低親和性で結合するポリペプチド（例えば、抗体および抗体の抗原結合フラグメント）は、本明細書に記載のとおり、リガンドへと型式化して二重陽性細胞に選択的に結合し得る薬剤を提供することができる。

【0085】

本発明のリガンドは、幾つかの利点を提供する。例えば、本明細書に記載のとおり、2つの異なる細胞表面標的に結合するリガンドは、細胞表面上の2つの標的に結合すると、細胞内にインターナライズされ得る。従って、本発明のリガンドは、治療剤（例えば毒素）を第1細胞表面標的と第2細胞表面標的とを発現する二重陽性細胞（例えば癌細胞）に送達するために使用することができる。本発明のリガンドは二重陽性細胞に選択的に結合することができるので、単一陽性細胞への治療剤の送達から生じ得る、可能性のある好ましくない影響(例えば、免疫抑制などの副作用)は、本発明のリガンドを使用して回避することができる。

【0086】

本発明のリガンドは、両方とも正常細胞上に存在するが、病原細胞上にはより高いレベルで存在する細胞表面標的に結合し得る。このような状況において、このリガンドは、治療剤(例えば毒素)を病原細胞に選択的に送達するために使用することができる。例えば、病原細胞上のより高レベルの細胞表面標的によって、正常細胞に結合してインターナライズされるよりも多くのリガンドが該病原細胞に結合してインターナライズされる。このように、有効量の毒素を病原細胞に選択的に送達することができる。

【0087】

さらに、本明細書に記載のとおり、本発明のリガンドは、所望のin vivo血清半減期を有するように調整することができる。このように、本発明のリガンドは、癌の治療に使用するための細胞毒素などの治療剤の一般的な毒性を抑制し、低下させ、または除去するために使用することができる。

【0088】

一般的には、リガンドが結合する細胞表面標的は両方とも1つの病原細胞上に存在するが、正常細胞上には両方は存在しない。本明細書に示すように、このような状況において、本発明のリガンドは、両方の細胞表面標的を含む病原細胞に対する選択的結合を生じる濃度で(リガンドが単一陽性正常細胞には実質的に結合しない濃度で)使用することができる。

10

20

30

40

50

【0089】

特定の正常細胞は、本発明のリガンドが結合する、細胞表面に存在する細胞表面標的を両方有し得るが、これらの標的は、病原細胞(例えば、癌細胞)の表面上にはより高いレベルで存在する。好ましくは、細胞表面標的は両方とも、正常細胞の表面上には実質的に存在しない。これらの状況において、本発明のリガンドは、両方の細胞表面標的を含む病原細胞に対する選択的結合を生じる濃度で(リガンドが低レベルの細胞表面標的を含む正常細胞には実質的に結合しない濃度で)使用することができる。

【0090】

好ましいリガンドは、第1細胞表面標的に対して結合特異性を有する第1免疫グロブリン単一可変ドメインと、第2細胞表面標的に対して結合特異性を有する第2免疫グロブリン単一可変ドメインとを含む。好ましい実施形態において、第1免疫グロブリン単一可変ドメインは、CD38、CD138、癌胎児性抗原(CEA)、CD56、血管内皮成長因子(VEGF)、上皮成長因子受容体(EGFR)およびHER2からなる群から選択される細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む。特に好ましい実施形態において、上記第1免疫グロブリン単一可変ドメインと上記第2免疫グロブリン単一可変ドメインとが同一の細胞表面標的とは結合しない条件で、第2免疫グロブリン単一可変ドメインは、CD38、CD138、CEA、CD56、VEGF、EGFR、およびHER2からなる群から選択される細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む。

【0091】

本発明のリガンドは、本明細書に記載したように型式化することができ、例えば、本発明のリガンドは、*in vivo*血清半減期に合わせて型式化することができる。必要に応じて、本リガンドには、さらに、本明細書に記載した毒素または毒素部分を含めることができる。いくつかの実施形態では、本リガンドは、遊離基発生剤(例えば、セレン含有毒素)または放射性核種などの表面活性毒素を含む。他の実施形態では、毒素または毒素部分は、細胞内標的に対して結合特異性を有する結合部位を含む、ポリペプチドドメイン(例えばdAb)である。

10

20

【表 1】

リガンドの標的特異性

第 1 の細胞表面標的	疾患	第 2 の細胞表面標的の バリエーション
CD38	癌 (例えば多発性骨髄腫)	CD138 CD56
CD138	癌 (例えば多発性骨髄腫)	CD38 CD56
CD138	癌 (例えば肺癌、小細胞肺癌)	CD56 CEA
CD56	癌 (例えば肺癌、小細胞肺癌)	CD138 CEA
EGFR	癌 (例えば肺癌、小細胞肺癌、乳癌、結腸直腸癌)	HER2/neu VEGF
VEGF	癌 (例えば、転移性癌、腫瘍の血管新生)	EGFR HER2

10

20

30

【 0 0 9 2 】

当業者であれば、表1に提供される標的の組み合わせおよび実施例に提供される標的の組み合わせが、本発明による使用のための好適な組み合わせの単なる例を示すに過ぎないと理解するだろう。

40

【表 2】

標的	他の名称	機能	参考文献/受託番号
CD38	T10 ADP-リボシルシクラーゼ/環状 ADP-リボースヒドロラーゼ	CD38 は、細胞および組織（特に白血球）において広く発現している、新規な多機能外酵素である。CD38 はまた、細胞接着、シグナル伝達およびカルシウムシグナリングにおいても機能する。	Ferrero E J. <i>Leukoc. Biol.</i> 1999 65:151 Genebank 受託番号 : P28907
CD56	Leu-19, NKH1, 神経細胞接着分子、NCAM	特定の細胞種において同種親和性接着を媒介する	Thiery JP <i>et al. Proc Natl Acad Sci U S A</i> 1982 79:6737 Genebank 受託番号 : P13592
CD138	ヘパラン硫酸プロテオグリカン ; シンデカン-1	シンデカン は、細胞結合、細胞シグナリングおよび細胞骨格形成を媒介し、またシンデカン受容体は、HIV-1 tat タンパク質のインターナライズに必要とされる	<i>J Biol Regul Homeost Agents</i> , 2002 Apr-Jun;16(2):152-5 Genebank 受託番号 : P18827
CEA	癌胎児性抗原	複合体の免疫反応性糖タンパク質	Duffy, M.J., <i>Clin Chem.</i> 2001 Apr;47(4):624-30 Genebank 受託番号 : P06731
EGFR	受容体チロシンキナーゼの ErbB ファミリー	受容体チロシンキナーゼは、細胞の成長、分化および生存の重要なメディエーターである	Baselga and Mendelsohn <i>Pharmac. Ther.</i> 64:127-154 (1994). Genebank 受託番号 : AAB19486
HER2	ヘレグリン 2 EC 2.7.1.112 p185erbB2 C-erbB-2 NEU 癌原遺伝子 チロシンキナーゼ型細胞表面受容体 HER2 MLN 19	ニューレグリン-受容体複合体の必須成分であるが、ニューレグリンは単独ではこの標的と相互作用しない。GP30 は、この受容体の潜在的なリガンドである。EGF、TGF- α およびアンフィレグリンによっては活性化されない。	<i>Science</i> 230 (4730), 1132-1139 (1985) Genebank 受託番号 : NP_004439
VEGF	血管透過性因子	血管新生の誘導因子	Genebank 受託番号 : NP_001020537

リガンドの型式

本発明のリガンドは、本明細書に記載したように、二重特異性リガンドとして型式化することができる。このリガンドは、国際公開公報第03/002609号に記載されるように、多重特異性リガンドとしても型式化することが可能であり、この文献の教示全体を参照により本明細書に組み込む。そのような二重特異性リガンドは、異なる結合特異性を有する免疫グロブリン単一可変ドメインを含む。そのような二重特異性リガンドは、重鎖および軽鎖ドメインの組合せを含むことができる。例えば、二重特異性リガンドには、 V_H ドメインと V_L ドメインを含めてよく、両ドメインは（例えば、 Gly_4Ser など、適切なリンカーを使用して） $scFv$ の形で互いに連結することも、あるいは二重特異性抗体またはその抗原結合フラグメント（例えば、 $F(ab')_2$ フラグメント）に型式化することもできる。二重特異性リガンドは、抗原またはエピトープに協同的に結合する従来の2本鎖抗体抗原結合部位を形成する、相補的 V_H/V_L 対を含まない。その代わり、本二重型式リガンドは、それらの V ドメインが、異なる結合特異性を有する V_H/V_L 相補対を含む。

【0094】

さらに、所望の場合には、二重特異性リガンドに、一個または複数の C_H または C_L ドメインを含めてよい。所望の場合には、ヒンジ領域ドメインも含めてよい。ドメインのそのような組合せは、例えば、 IgG または IgM などの天然抗体、またはそのフラグメント、例えば、 Fv 、 $scFv$ 、 Fab 、または $F(ab')_2$ 分子を模倣しうる。他の構造、例えば、 V_H 、 V_L 、 C_H1 、および C_L ドメインを含む、 IgG 分子の単一アームも想定される。好ましくは、本発明の二重特異性リガンドは、2個の可変ドメインしか含まないが、同じタンパク質に、いくつかのそのようなリガンドと一緒に組み込むことができ、例えば、 IgG 、または多量体免疫グロブリン、例えば IgM に、2個のそのようなリガンドを組み込むことができる。あるいは、別の実施形態では、複数の二重特異性リガンドを組み合わせることで多量体を作成する。例えば、異なる2個の二重特異性リガンドを組み合わせ、四重特異性分子を作成する。本発明の方法に従って産生した二重特異性リガンドの軽鎖および重鎖可変領域は、同じポリペプチド鎖であってもよく、または別法として、異なるポリペプチド鎖であってもよいことは、当業者なら理解されよう。異なるポリペプチド鎖にそれらの可変領域がある場合、次いでリンカー、一般的に、フレキシブルリンカー（ポリペプチド鎖など）、化学的架橋基、または当技術分野で公知の他の任意の方法によってこれらを連結してよい。

【0095】

リガンドは、二重もしくは多重特異的抗体または抗体フラグメントとして、または二重もしくは多重特異的非抗体構造に型式化することができる。構造に、抗原に対して結合特異性を付与するために、抗体可変ドメインまたはそのCDRの一個もしくは複数を組み込むことができる、任意の好適なポリペプチド構造も適切な型式に含まれる。様々な適切な抗体型式が、当技術分野で公知であり、例えば、二重特異性 IgG 様型式〔例えば、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、一本鎖抗体、抗体重鎖および/または軽鎖ヘテロ二量体、前記のいずれかの抗原結合フラグメント〔例えば、 Fv フラグメント（例えば、一本鎖 $Fv(scFv)$ 、ジスルフィド結合した Fv ）、 Fab フラグメント、 Fab' フラグメント、 $F(ab')_2$ フラグメント〕、単一可変ドメイン（例えば、 V_H 、 V_L 、 V_{HH} ）、 dAb 〕、ならびに前記のいずれかの改変した異形〔例えば、ポリアルキレングリコール（例えば、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、ポリブチレングリコール）を共有結合的に取付けることによって改変した、または他の適切なポリマー〕が知られている。PEG化された単一可変ドメインおよび dAb 、その適切な調製方法、PEG化された単一可変ドメインおよび dAb 単量体および多量体のin vivo半減期の増長、適切なPEG、好ましい流体力学PEGサイズ、ならびにPEG化された単一可変ドメインおよび dAb 単量体および多量体の好ましい流体力学サイズに関して、米国を指定した2003年6月30日出願PCT/GB03/002804（国際公開公報第2004/081026号）を参照されたい。上記部分を含む、PCT/GB03/00280

4（国際公開公報第2004/081026号）の教示全体を参照により本明細書に組み込む。

【0096】

本リガンドは、 $(Gly_4Ser)_n$ 、[式中、 $n=1\sim 8$ 、例えば、2、3、4、5、6、または7]などの適切なリンカーを使用し、型式化することができる。必要に応じて、 C_H2 および C_H3 ドメインの片方または両方、ならびに場合によりヒンジ領域を含む抗体Fc領域に、dAb単量体、二量体、および三量体を含むリガンドを連結することができる。例えば、単一ヌクレオチド配列としてFc領域に連結させたりガンドをコードするベクターは、そのようなポリペプチドを調製するために使用することができる。

【0097】

リガンドおよびdAb単量体は、組み合わせ、かつ／または非抗体マルチリガンド構造に型式化して、多価複合体を形成することもでき、この複合体によって標的分子が同じエпитープと結合し、それによって優れた結合力が提供される。例えば、SpAなどの天然の細菌の受容体をCDRをグラフト化するための足場として使用して、一個または複数のエпитープに特異的に結合するリガンドを生成することができる。この手順の詳細は、米国特許第5,831,012号に記載されている。他の適切な足場には、フィブロネクチンおよびアフィボディをベースとする足場が含まれる。適切な手順の詳細は、国際公開公報第98/58965号に記載されている。他の好適な足場には、van den Beukenら、J. Mol. Biol. 310:591-601 (2001)が記載したリボカリン (lipocallin) およびCTL A4、ならびに例えば細菌性GroELの環構造または他のシャペロンポリペプチドを基礎とする、国際公開公報第00/69907号 (Medical Research Council) に記載されているものなどの足場が含まれる。タンパク質の足場は組み合わせてよく、例えば、CDRをCTL A4足場にグラフト化し、免疫グロブリン V_H または V_L ドメインと共に使用してリガンドを形成してよい。同様に、フィブロネクチン、リボカリンおよび他の足場も組み合わせる。

【0098】

任意の望ましい型式を調製する様々な適切な方法が、当技術分野で公知である。例えば、抗体鎖および型式（例えば、二重特異性IgG様型式、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、一本鎖抗体、ホモ二量体、ならびに抗体重鎖および／または軽鎖ヘテロ二量体）は、適切な発現構築物の発現および／または適切な細胞（例えば、上記の型式をコードする組換え構築物を含む、ハイブリドーマ、ヘテロハイブリドーマ、組換え宿主細胞）の培養によって調製することができる。さらに、型式、例えば、抗体または抗体鎖の抗原結合フラグメント（例えば、二重特異的結合フラグメント、例えば、Fvフラグメント [例えば、一本鎖Fv (scFv)、ジスルフィド結合したFv]、Fabフラグメント、Fab'フラグメント、 $F(ab')_2$ フラグメント]、は、適切な発現構築物の発現、または例えばパパインもしくはペプシンを用いた抗体の酵素消化によって調製することができる。

【0099】

本リガンドは、例えば、国際公開公報第03/002609号に記載されているような多重特異性リガンドとして型式化することができ、その教示全体を参照により本明細書に組み込む。そのような多重特異性リガンドは、一個以上のエпитープ結合特異性を有する。一般的に、多重特異性リガンドは、2個またはそれ以上の、dAbなどのエпитープ結合ドメイン、またはエпитープへの結合部位を含む非抗体タンパク質ドメイン、例えば、アフィボディ、SpAドメイン、LDL受容体クラスAドメイン、EGFドメイン、アビメルを含む。本明細書に記載したように、多重特異性リガンドは、さらに型式化することもできる。

【0100】

いくつかの実施形態では、本リガンドはIgG様型式である。そのような型式は、従来のIgG分子の4鎖構造（2本の重鎖および2本の軽鎖）を有し、その際、可変領域（ V_H およびまたは V_L ）の一つまたは複数が、所望の特異性のdAbまたは単一可変ドメイ

10

20

30

40

50

ンで置換されている。好ましくは、可変領域（2つの V_H 領域および2つの V_L 領域）のそれぞれは、dAbまたは単一可変ドメインで置換されている。IgG様型式に含まれる（1つまたは複数の）dAbまたは単一可変ドメインは、同じ特異性または異なる特異性を有することができる。いくつかの実施形態では、IgG様型式は四価であり、一重、二重、三重、または四重特異性を有することができる。例えば、IgG様型式は、単一特異性を有することができ、同じ特異性を有する4個のdAbを含み；二重特異性を有することができ、同じ特異性を有する3個のdAbと、異なる特異性を有する別のdAbを含み；二重特異性を有することができ、同じ特異性を有する2個のdAbと、共通だが異なる特異性を有する2個のdAbを含み；三重特異性を有することができ、同じ特異性を有する第1および第2 dAbと、異なる特異性を有する第3 dAbと、第1、第2、および第3 dAbとは異なる特異性を有する第4 dAbとを含み；または四重特異性を有することができ、それぞれ異なる特異性を有する4個のdAbを含む。IgG様型式〔例えば、Fab、F(ab')₂、Fab'、Fv、scFv〕の抗原結合フラグメントは、調製することができる。

10

【0101】

本発明のリガンドは、第2免疫グロブリン単一可変ドメインに直接融合している、第1免疫グロブリン単一可変ドメインを含む融合タンパク質として型式化することができる。所望の場合には、そのような型式に、さらに、半減期延長部分を含めることができる。例えば、本リガンドは、血清アルブミンに結合している免疫グロブリン単一可変ドメインに、直接融合している第2免疫グロブリン単一可変ドメインに、直接融合している第1免疫グロブリン単一可変ドメインを含むことができる。

20

【0102】

一般的に、細胞表面標的に対して結合特異性を有する結合部位を含むポリペプチドドメインの配向、および本リガンドがリンカーを含むかどうかは、設計の選択の問題である。しかし、いくつかの配向は、リンカーがあろうとなかろうと、他の配向よりも高い結合特性を提供しうる。本発明は、全配向（例えば、dAb1ーリンカーーdAb2、dAb2ーリンカーーdAb1）を包含し、そして所望の結合特性を提供する配向を含むリガンドは、スクリーニングによって容易に同定することができる。

【0103】

半減期が延長された型式

本明細書に開示したリガンドおよびdAb単量体は、それらのin vivo血清半減期が延長されるように型式化することができる。増長したin vivo半減期は、免疫グロブリン、特に抗体、より特には、dAbなどの小サイズの抗体フラグメントのin vivoでの適用で有用である。そのようなフラグメント（Fvs、ジスルフィド結合したFvs、Fabs、scFvs、dAb）は、身体から急速に除去され、それが臨床への適用を制限しかねない。

30

【0104】

リガンドは、抗体の大型抗原結合フラグメント、または大型の流体力学サイズの抗体として、型式化（例えば、Fab、Fab'、F(ab)₂、F(ab')₂、IgG、scFvとして型式化）することができる。リガンドはまた、例えば、ポリアルキレングリコール基（例えば、ポリエチレングリコール（PEG）基、ポリプロピレングリコール、ポリブチレングリコール）、血清アルブミン、トランスフェリン、トランスフェリン受容体もしくは少なくともそのトランスフェリン結合ポーション、抗体Fc領域を結合させることによって、または抗体ドメインへのコンジュゲーションによって、大型の流体力学サイズになるように型式化することもできる。いくつかの実施形態では、本リガンドはPEG化されている。好ましくは、PEG化されたリガンドは、PEG化されていない同じリガンドと、実質的に同じ結合力を有して、二重陽性細胞と結合する。例えば、本リガンドは、CD38と結合するdAbおよびCD138と結合する第2のdAbと結合するdAbを含むPEG化されたリガンドであってよく、ここでこのリガンドは、未ペグ化形リガンドの結合力のわずかに約1000倍、好ましくはわずかに約100倍、より好ましくはわずかに

40

50

約10倍という異なる結合力で、あるいはその未ペグ化形に比べて実質的に変化していない結合力で、CD38 + CD138 + 細胞と結合する。PEG化された単一可変ドメインおよびdAb、その適切な調製方法、PEG化された単一可変ドメインおよびdAb単量体および多量体のin vivo半減期の増長、適切なPEG、PEGの好ましい流体力学サイズ、およびPEG化された単一可変ドメインおよびdAb単量体および多量体の好ましい流体力学サイズに関して、米国を指定した2003年6月30日出願PCT/GB03/002804（国際公開公報第2004/081026号）を参照されたい。上記部分を含む、PCT/GB03/002804（国際公開公報第2004/081026号）の教示全体を参照により本明細書に組み込む。

【0105】

本発明のリガンド（例えば、dAb単量体および多量体）の流体力学サイズは、当技術分野で周知の方法を使用し定量することができる。例えば、ゲル濾過クロマトグラフィーを使用し、リガンドの流体力学サイズを定量することができる。架橋したアガロスマトリックスなど、リガンドの流体力学サイズを定量するための適切なゲル濾過マトリックスは、よく知られており、容易に入手することができる。

【0106】

リガンド型式のサイズ（例えば、dAb単量体に結合されたPEG部分のサイズ）は、所望の適用に応じて様々であってよい。例えば、リガンドが循環を出て末梢組織に入るようにするつもりなら、血流からの血管外遊走を促進するために、本リガンドの流体力学サイズを低く抑えることが望ましい。あるいは、リガンドを長時間体循環に残存させるのが望ましい場合、例えば、Ig様タンパク質として型式化し、または30～60kDaのPEG部分（例えば、直鎖または分枝鎖の30～40kDaのPEG、例えば、2個の20kDaのPEG部分）を付加することによって、リガンドのサイズを増大させることができる。リガンド型式のサイズは、所望のin vivo血清半減期が達成されるように、例えば、毒素への曝露を抑制し、かつ／または毒物の副作用を低減するように調整することができる。

【0107】

本明細書に記載したように、リガンドを、in vivo半減期を増長する抗原またはエピトープに結合する結合ドメインにコンジュゲートし、または連結させることによって、リガンドの流体力学サイズおよびその血清半減期を増長させることもできる。例えば、本リガンド（例えば、dAb単量体）は、抗血清アルブミンまたは抗新生仔Fc受容体抗体または抗体フラグメント（例えば、抗SAまたは抗新生仔Fc受容体dAb、Fab、Fab'またはscFv）、または抗SAアフィボディまたは抗新生仔Fc受容体アフィボディにコンジュゲートし、または連結することができる。

【0108】

本発明によるリガンドに使用するのに好適なアルブミン、アルブミンフラグメント、またはアルブミン変異体の例は、国際公開公報第2005/077042号A2に記載されており、その全体を参照により本明細書に組み込む。特に、以下のアルブミン、アルブミンフラグメント、またはアルブミン変異体を本発明で使用するすることができる：

配列番号1：国際公開公報第2005/077042号A2に開示（この配列を参照により本開示に明確に組み込む）、

国際公開公報第2005/077042号A2の配列番号1のアミノ酸1～387を含み、またはそれのみからなるアルブミンフラグメントまたは変異体、

以下のものからなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、アルブミン、またはそのフラグメントもしくは変異体：（a）国際公開公報第2005/077042号A2の配列番号1のアミノ酸54～61；（b）国際公開公報第2005/077042号A2の配列番号1のアミノ酸76～89；（c）国際公開公報第2005/077042号A2の配列番号1のアミノ酸92～100；（d）国際公開公報第2005/077042号A2の配列番号1のアミノ酸170～176；（e）国際公開公報第2005/077042号A2の配列番号1のアミノ酸247～252；（f）国際公開公報第2005/0

10

20

30

40

50

77042号A2の配列番号1のアミノ酸266～277；(g)国際公開公報第2005/077042号A2の配列番号1のアミノ酸280～288；(h)国際公開公報第2005/077042号A2の配列番号1のアミノ酸362～368；(i)国際公開公報第2005/077042号A2の配列番号1のアミノ酸439～447(j)国際公開公報第2005/077042号A2の配列番号1のアミノ酸462～475；(k)国際公開公報第2005/077042号A2の配列番号1のアミノ酸478～486；および(1)国際公開公報第2005/077042号A2の配列番号1のアミノ酸560～566。

【0109】

本発明によるリガンドに使用するのに好適なアルブミン、フラグメントおよび類似体の他の例は、国際公開公報第03/076567号A2に記載されており、その全体を参照により本明細書に組み込む。特に、以下のアルブミン、フラグメントまたは変異体を本発明で使用する事ができる：

国際公開公報第03/076567号A2に記載されているヒト血清アルブミン、例えば、図3に記載のもの（この配列情報は参照により本開示に明確に組み込む）、

式分子量が66,500の585アミノ酸の単一非グリコシル化ポリペプチド鎖からなるヒト血清アルブミン(HA) (Melounら, FEBS Letters 58:136 (1975); Behrensら, Fed. Proc. 34:591 (1975); Lawnら, Nucleic Acids Research 9:6102-6114 (1981); Minghettiら, J. Biol. Chem. 261:6747 (1986)を参照)、

Weitkampら, Ann. Hum. Genet. 37:219 (1973)に記載されている、アルブミンの多形変異体、または類似体、またはフラグメント、

欧州特許第322094号に記載されている、アルブミンフラグメントまたは変異体、例えば、HA(1-373)、HA(1-388)、HA(1-389)、HA(1-369)、およびHA(1-419)、ならびに1～369および1～419のフラグメント、

欧州特許第399666号に記載されている、アルブミンフラグメントまたは変異体、例えば、HA(1-177)およびHA(1-200)、ならびにHA(1-X)フラグメント(Xは178～199の任意の数字)。

【0110】

(一個または複数の)半減期延長部分(例えば、アルブミン、トランスフェリン、ならびにそのフラグメントおよび類似体)を本発明のリガンドで使用する場合、任意の適切な方法を使用し、例えば、融合タンパク質をコードする単一ヌクレオチド構築物を使用して(この場合、上記の融合タンパク質は、半減期延長部分が細胞表面標的結合部分のN末端またはC末端に位置する単一ポリペプチド鎖としてコードされる)、標的結合部分(例えば、dAbまたは抗体フラグメント)への直接融合によって、これをリガンドにコンジュゲートすることができる。あるいは、部分間にペプチドリンカー、例えば、国際公開公報第03/076567号A2または同第2004/003019号に記載されているペプチドリンカーを使用することによってコンジュゲートさせることができる(本発明での使用例を提供するため、これらのリンカーの開示を参照により本開示に組み込む)。

【0111】

典型的には、in vivo血清半減期を高めるポリペプチドは、in vivoで天然に生じ、生物(例えばヒト)から望ましくない物質を除去する内在性機序による分解または除去に抵抗性を示すポリペプチドである。例えば、in vivo血清半減期を高めるポリペプチドは、細胞外マトリックスタンパク質、血液に見られるタンパク質；血液脳関門もしくは神経組織に見られるタンパク質；腎臓、肝臓、肺、心臓、皮膚、もしくは骨に局在するタンパク質；ストレスタンパク質、疾患特異的タンパク質、またはFc輸送に参与するタンパク質から選択することができる。

【0112】

in vivo血清半減期を高める好適なポリペプチドには、例えば、トランスフェリン受容体特異的リガンドー神経医薬品融合タンパク質(米国特許第5,977,307号を参照

10

20

30

40

50

、その教示を参照により本明細書に組み込む)、脳毛細血管内皮細胞受容体、トランスフェリン、トランスフェリン受容体(例えば、可溶性トランスフェリン受容体)、インスリン、インスリン様成長因子1(IGF1)受容体、インスリン様成長因子2(IGF2)受容体、インスリン受容体、血液凝固因子X、 α 1-アンチトリプシン、およびHNF1 α が含まれる。血清半減期を高める好適なポリペプチドにはまた、 α -1糖タンパク(オロソムコイド; AAG)、 α -1抗キモトリプシン(ACIT)、 α -1ミクログロブリン(タンパク質HC; AIM)、アンチトロンビンIII(AT III)、アポリポプロテインA-1(Apo A-1)、アポリポプロテインB(Apo B)、セルロプラスミン(Cp)、補体成分C3(C3)、補体成分C4(C4)、C1エステラーゼインヒビター(C1 INH)、C-反応性タンパク質(CRP)、フェリチン(FER)、ヘモペキシン(HPX)、リポタンパク質(a)(Lp(a))、マンノース結合タンパク質(MBP)、ミオグロビン(My o)、プレアルブミン(トランスサイレチン; PAL)、レチノール結合タンパク質(RBP)、およびリウマチ因子(RF)も含まれる。

10

【0113】

好適な細胞外マトリックスタンパク質には、例えば、コラーゲン、ラミニン、インテグリン、およびフィブロネクチンが含まれる。コラーゲンは、主要な細胞外マトリックスタンパク質である。例えば、骨、皮膚、腱、靱帯、角膜、内臓に見られるI型コラーゲン(身体コラーゲンの90%を占める)、あるいは軟骨、椎間板、脊索、および眼の硝子体液に見られるII型コラーゲンなど、身体の様々な部分で見られる約15種類のコラーゲン分子が現在公知である。

20

【0114】

好適な血液タンパク質には、例えば、血漿タンパク質(例えば、フィブリン、 α -2マクログロブリン、血清アルブミン、フィブリノーゲン(例えば、フィブリノーゲンA、フィブリノーゲンB)、血清アミロイドProtein A、ハプトグロビン、プロフィリン、ユビキチン、ウテログロブリンおよび β -2-ミクログロブリン)、酵素および酵素阻害薬(例えば、プラスミノゲン、リゾチーム、シスタチンC、 α -1-アンチトリプシン、および膵臓トリプシン阻害薬)、免疫系タンパク質、例えば、免疫グロブリンタンパク質(例えば、IgA、IgD、IgE、IgG、IgM、免疫グロブリン軽鎖(κ/λ))、輸送タンパク質(例えば、レチノール結合タンパク質、 α -1ミクログロブリン)、ディフェンシン(例えば、 β -ディフェンシン1、好中球ディフェンシン1、好中球ディフェンシン2、および好中球ディフェンシン3)などが含まれる。

30

【0115】

血液脳関門または神経組織に見られる好適なタンパク質には、例えば、メラノコルチン受容体、ミエリン、アスコルビン酸トランスポーターなどが含まれる。

【0116】

in vivo血清半減期を高めるのに好適なポリペプチドには、腎臓に局在するタンパク質(例えば、ポリシスチン、IV型コラーゲン、有機アニオントランスポーターK1、ヘイマン(Heymann)抗原)、肝臓に局在するタンパク質(例えば、アルコールデヒドロゲナーゼ、G250)、肺に局在するタンパク質(例えば、IgAに結合する分泌成分)、心臓に局在するタンパク質(例えば、拡張型心筋症に関連するHSP27)、皮膚に局在するタンパク質(例えば、ケラチン);骨特異的タンパク質、例えば、骨形成活性を示すタンパク質のトランスフォーミング増殖因子 β スーパーファミリーのサブセットである形態形成タンパク質(BMP)(例えば、BMP-2、BMP-4、BMP-5、BMP-6、BMP-7、BMP-8);腫瘍特異的タンパク質(例えば、栄養膜抗原、ハーセプチン受容体、エストロゲン受容体、カテプシン(例えば、肝臓および脾臓に見られるカテプシンB))も含まれる。

40

【0117】

好適な疾患特異的タンパク質には、例えば、LAG-3(リンパ球活性化遺伝子)、オステオプロテジェリンリガンド(OPGL; Nature 402, 304-309 (1999) 参照)、OX40(活性化したT細胞で発現され、ヒトT細胞白血病ウイルスI型(HTLV-I)産

50

生細胞で特異的に上方調節される T N F 受容体ファミリーのメンバー；Immunol. 165 (1):263-70 (2000)参照)を含む、活性化した T 細胞でのみ発現される抗原が含まれる。好適な疾患特異的タンパク質には、例えば、C G 6 5 1 2 ショウジョウバエ、ヒトパラブレギン(paraplegin)、ヒト F t s H、ヒト A F G 3 L 2、マウス f t s Hを含むメタロプロテアーゼ（関節炎／癌に関連する）；および酸性線維芽細胞増殖因子（F G F－1）、塩基性線維芽細胞増殖因子（F G F－2）、血管内皮増殖因子／血管透過性因子（V E G F／V P F）、トランスフォーミング増殖因子－ α （T G F α ）を含む血管新生増殖因子；腫瘍壊死因子－ α （T N F－ α ）、アンジオゲニン、インターロイキン－3（I L－3）、インターロイキン－8（I L－8）、血小板由来内皮増殖因子（P D－E C G F）、胎盤増殖因子（P L G F）、ミッドカイン血小板由来増殖因子－B B（P D G F）、およびフラクタルカインも含まれる。

10

【0118】

in vivo血清半減期を高める好適なポリペプチドには、ヒートショックタンパク質（H S P）などのストレスタンパク質も含まれる。H S Pは、通常細胞内に見られる。それらが細胞外で見られる場合、それは細胞が死滅しその中身が漏出したことを示す指標である。このプログラムされていない細胞死（壊死）は、外傷、疾患、または損傷の結果として生じ、細胞外H S Pは、免疫系からの応答を誘発する。細胞外H S Pとの結合によって、結果的に本発明の組成物を疾患部位に局在化させることができる。

【0119】

F c 輸送に関与する好適なタンパク質には、例えば、ブランベル（Brambell）受容体（F c R Bとしても知られている）が含まれる。このF c受容体は2つの機能を有し、そのどちらも潜在的に送達に有用である。その機能は、（1）母から子へ胎盤を超えてI g Gを輸送すること（2）分解からI g Gを保護し、それにより血清半減期を延長することである。受容体がエンドソームからI g Gを再生させると考えられる（Holligerら, Nat Biotechnol 15(7):632-6 (1997)参照）。

20

【0120】

薬物動態分析法およびリガンド半減期の定量法については、当業者なら精通しているであろう。詳細は、Kenneth, A.ら: Chemical Stability of Pharmaceuticals: A Handbook for Pharmacists、およびPetersら, Pharmacokinetic analysis: A Practical Approach (1996)に見出さる。“Pharmacokinetics”, M Gibaldi & D Perron, Marcel Dekker出版、第2概説特別版（1982）も参考文献であり、この文献は、 t_{α} および t_{β} 半減期などの薬物動態パラメーターならびに曲線下面積（A U C）などについて記載している。

30

【0121】

毒素部分または毒素を含むリガンド

本発明はまた、毒素部分または毒素を含むリガンドにも関する。好適な毒素部分には、毒素（例えば、表面活性毒素、細胞毒素）が含まれる。毒素部分または毒素は、任意の適切な方法を使用し、リガンドに連結し、またはコンジュゲートすることができる。例えば、毒素部分または毒素は、直接に、または適切なリンカーを通じて、リガンドと共有結合させることができる。好適なリンカーには、切断不可能または切断可能なリンカー、例えば、細胞酵素（例えば、細胞エステラーゼ、カテプシンBなどの細胞プロテアーゼ）用の切断部位を含むp H切断可能リンカーを含めてよい。そのような切断可能リンカーは、リガンドをインターナライズさせた後、毒素部分または毒素を放出できるリガンドを調製するために使用することができる。

40

【0122】

コンジュゲーション

毒素部分または毒素と、リガンドとを連結しまたはコンジュゲートするために、様々な方法を使用することができる。選択される特定の方法は、連結しまたはコンジュゲートされる毒素部分または毒素と、リガンドとに依存する。必要に応じて、リガンドと、毒素部分または毒素とを連結するために、末端官能基を含むリンカーを使用することができる。一般的に、反応性官能基を含む（または反応性官能基を含むように改変されている）毒

50

素部分または毒素をリンカーと反応させ、または直接リガンドと反応させることによって、コンジュゲートさせることができる。共有結合は、適切な条件下で第2化学基と反応して共有結合を形成することができる化学部分または官能基を含む（または含むように改変されている）毒素部分または毒素を反応させることによって形成される。

【0123】

多くの好適な反応化学基の組合せが当技術分野で公知であり、例えば、アミン基と求電子基（例えば、トシレート、メシレート、ハロ（クロロ、ブロモ、フルオロ、ヨード）、N-ヒドロキシスクシンイミジルエステル（NHS）など）とを反応させることができる。チオールは、マレイミド、ヨードアセチル、アクリロリル、ピリジルジスルフィド、5-チオール-2-ニトロ安息香酸チオール（TNB-チオール）などと反応させることができる。アルデヒド官能基は、アミンまたはヒドラジド含有分子と結合させることができ、そしてアジド基は、三価亜リン酸基と反応させて、ホスホロアミデートまたはホスホリミド（phosphorimide）連鎖を形成することができる。活性化基を分子にを導入する好適な方法は、当技術分野で公知である（参照、例えば、Hermanson, G. T., Bioconjugate Techniques, Academic Press: San Diego, CA (1996)参照）。

【0124】

本明細書に記載のとおり、毒素をコンジュゲートさせた本発明のリガンドは、適切なリガンドを反応化学基または官能基を含む毒素と反応させることによって産生することができる。例えば、一次アミン残基、カルボキシ基およびシステイン残基を介してコンジュゲーションを達成することができる。設計されたシステイン残基は、毒素コンジュゲーションのための部位として一定の利点を提供する。なぜならば、不對システイン残基（例えば、リガンドへと設計されたシステイン残基）を介した毒素のコンジュゲーションは、部位特異的コンジュゲーションを達成する方法を提供し、コンジュゲーションが抗原結合機能に干渉する可能性を低下させるからである。例えば、この不對システインをdAbのカルボキシ末端に組み込んで、部位特異的チオールコンジュゲーションのための残基を提供することができる。さらに、二重特異性リガンド中の、天然のシステイン残基ではない特異的溶媒接触可能部位を変異させて、毒素を結合させるためのシステインとすることができる。二重特異性リガンド中の溶媒接触可能残基は、リガンドの結晶構造解析などの当技術分野で公知の方法を用いて決定することができる。例えば、VκダミーdAb（配列番号679）の溶解した結晶構造を用いて、残基Val-15、Pro-40、Gly-41、Ser-56、Gly-57、Ser-60、Pro-80、Glu-81、Gln-100、Lys-107およびArg-108が溶媒接触可能であると同定されている。したがって、本明細書に記載の二重特異性リガンド上の対応する位置にある残基は、毒素コンジュゲーションのためのシステイン残基への変異の潜在的な候補である。

【0125】

チオールコンジュゲート物は、任意の好適な方法（例えば、ジスルフィド結合を形成するための周知の方法またはマレイミド、ヨードアセチル、アクリロリル、ピリジルジスルフィド、5-チオール-2-ニトロ安息香酸チオール（TNB-チオール）等のチオール反応基を用いた反応による方法）を用いて調製することができる。

【0126】

特定の実施形態において、毒素または毒素部分は、アミン反応性化学基または官能基を利用することにより（例えば、リガンドと毒素のNHSエステルとを反応させることにより）非部位特異的な形式でリガンドに結合させることができる。

【0127】

好適なコンジュゲーションは部位特異的コンジュゲーション、例えば、システイン、アミノ末端またはカルボキシ末端におけるコンジュゲーションである。アミノ末端コンジュゲーションは、任意の好適な方法（例えば、EP 0 822 199 B1に記載の方法）を用いて達成することができる。例えば、還元アルキル化条件下で（例えば、水素化ホウ素ナトリウム、シアノホウ化水素ナトリウム、ホウ酸ジメチルアミン(dimethdylamine borate)、ホウ酸トリメチルアミンまたはホウ酸ピリジンの存在下で)、本発明のリガンドのアミノ末端のα-アミノ基を選択的に活性化させるために好適なpH（例えばpH 4.0~6.0）において

、リガンドをアミン反応性毒素または毒素部分と反応させて、毒素をこの α -アミノに結合させることにより、リガンド毒素コンジュゲート物を得ることができる。

【0128】

適切な毒素部分および毒素には、例えば、メイタンシノイド（例えば、メイタンシノール、例えば、DM1、DM4）、タキサン、カリチエアミシン、デュオカルマイシン、またはその誘導体が含まれる。メイタンシノイドは、例えば、メイタンシノールまたはメイタンシノール類似体であってよい。メイタンシノール類似体の例には、修飾された芳香環（例えば、C-19-デクロロ、C-20-デメトキシ、C-20-アシルオキシ）を有するもの、および他の位置に修飾を有するもの（例えば、C-9-CH₃、C-14-アルコキシメチル、C-14-ヒドロキシメチルまたはアセロキシメチル、C-15-ヒドロキシ/アシルオキシ、C-15-メトキシ、C-18-N-デメチル、4, 5-デオキシ）が含まれる。メイタンシノールおよびメイタンシノール類似体は、例えば、米国特許第5, 208, 020号および同第6, 333, 410号に記載されており、その内容を参照により本明細書に組み込む。メイタンシノールは、例えば、N-スクシンイミジル3-(2-ピリジルジチオ)プロプリオネート（N-スクシンイミジル4-(2-ピリジルジチオ)ペンタノエートまたはSPPとしても知られている）、4-スクシンイミジルーオキシカルボニル-a-(2-ピリジルジチオ)-トルエン（SMPT）、N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)ブチラート（SDPB）、2イミノチオラン、またはS-アセチルコハク酸無水物を使用し、抗体および抗体フラグメントに結合させることができる。タキサンは、例えば、タキソール、タキソテル、または新規なタキサン（例えば国際公開公報第01/38318号を参照）でありうる。カリチエアミシンは、例えば、プロモ-複合体カリチエアミシン（例えば、 α 、 β 、または γ プロモ-複合体）、ヨード-複合体カリチエアミシン（例えば、 α 、 β 、または γ ヨード-複合体）、あるいはそれらの類似体および模倣体でありうる。プロモ-複合体カリチエアミシンには、I1-BR、I2-BR、I3-BR、I4-BR、J1-BR、J2-BR、およびK1-BRが含まれる。ヨード-複合体カリチエアミシンには、I1-I、I2-I、I3-I、J1-I、J2-I、L1-I、およびK1-BRが含まれる。カリチエアミシン、ならびにその変異体、類似体、および模倣体は、例えば、米国特許第4, 970, 198号、同第5, 264, 586号、同第5, 550, 246号、同第5, 712, 374号、および同第5, 714, 586号に記載されており、その内容を参照により本明細書に組み込む。デュオカルマイシン類似体（例えば、KW-2189、DC88、DC89CBI-TMI、およびその誘導体）は、例えば、米国特許第5, 070, 092号、同第5, 187, 186号、同第5, 641, 780号、同第5, 641, 780号、同第4, 923, 990号、および同第5, 101, 038号に記載されており、その内容を参照により本明細書に組み込む。

【0129】

他の毒素の例には、限定するものではないが、代謝拮抗物質（例えば、メトトレキサート、6-メルカプトプリン、6-チオグアニン、シタラビン、5-フルオロウラシルデカルバジン（decarbazine）、アルキル化剤（例えば、メクロレタミン、チオエパ（thioepa）クロランブシル、CC-1065（米国特許第5, 475, 092号、同第5, 585, 499号、同第5, 846, 545号参照）、メルファラン、カルムスチン（BSNU）およびロムスチン（CCNU）、シクロホスファミド、ブスルファン、ジプロモマンニトール、ストレプトゾトシン、マイトマイシンC、およびシス-ジクロロジアミン白金（II）（DDP）シスプラチン）、アントラサイクリン（例えば、ダウノルビシン（旧ダウノマイシン）およびドキソルビシン）、抗生物質（例えば、ダクチノマイシン（旧アクチノマイシン）、ブレオマイシン、ミトラマイシン、マイトマイシン、ピューロマイシン、アントラマイシン（AMC））、デュオカルマイシン、ならびにそれらの類似体または誘導体、ならびに抗有糸分裂剤（例えば、ビンクリスチン、ビンブラスチン、タキソール、アウリスタチン（auristatin）（例えばアウリスタチンE）およびメイタンシノイド、ならびにそれらの類似体または同等物が含まれる。

【0130】

毒素は、表面活性毒素、例えば、遊離基発生剤（例えば、セレン含有毒素部分）である毒素、または放射性核種含有部分であってもよい。好適な放射性核種含有部分には、例えば、放射性ヨウ素（ ^{131}I または ^{125}I ）、イットリウム（ ^{90}Y ）、ルテチウム（ ^{177}Lu ）、アクチニウム（ ^{225}Ac ）、プラセオジミウム、アスタチン（ ^{211}At ）、レニウム（ ^{186}Re ）、ビスマス（ ^{212}Bi または ^{213}Bi ）、インジウム（ ^{111}In ）、テクネチウム（ $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ）、リン（ ^{32}P ）、ロジウム（ ^{188}Rh ）、硫黄（ ^{35}S ）、炭素（ ^{14}C ）、トリチウム（ ^3H ）、クロム（ ^{51}Cr ）、塩素（ ^{36}Cl ）、コバルト（ ^{57}Co または ^{58}Co ）、鉄（ ^{59}Fe ）、セレン（ ^{75}Se ）、またはガリウム（ ^{67}Ga ）を含む部分が含まれる。

10

【0131】

毒素は、細菌源、例えば、ジフテリア毒素、シュードモナス外毒素（PE）のタンパク質、ポリペプチド、またはペプチドであってよく、そして毒素としての使用に植物タンパク質、例えば、リシン（RTA）A鎖、リボソーム不活性化タンパク質（RIP）ゲロニン、ヨウシュヤマゴボウ抗ウイルスタンパク質、サボリン、およびドデカンドロン（dodecandron）が企図される。

【0132】

特定の標的タンパク質の生成を担うmRNAに結合し、無能にし、分解を促進し、または産生を妨げるように設計した核酸のアンチセンス化合物を毒素として使用することもできる。アンチセンス化合物には、アンチセンスRNAまたはDNA、一本鎖または二本鎖オリゴヌクレオチド、またはそれらの類似体が含まれ、これらは、個々のmRNA種と特異的にハイブリダイズし、mRNA種の転写および／またはRNAプロセッシング、および／またはコードされたポリペプチドの翻訳を妨げ、それによりそれぞれのコードされたポリペプチドの量を減少させることができる。Chingら, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 86: 10006-10010 (1989); Broderら, Ann. Int. Med. 113: 604-618 (1990); Loreauら, F EBS Letters 274: 53-56 (1990)。有用なアンチセンス治療剤には、例えば、Veglin（商標）（VasGene）およびOGX-011（Oncogenix）が含まれる。

20

【0133】

毒素は、光活性剤であってもよい。適切な光活性剤には、ポルフィリンベースの物質、例えば、ポルフィマーナトリウム、緑色ポルフィリン、クロリンE6、ヘマトポルフィリン誘導体自体、フタロシアニン、エチオブルプリン（etiopurpurin）、テキサフリン（texaphrin）などが含まれる。

30

【0134】

毒素は、細胞内標的に結合するdAbなど、細胞内標的に結合する抗体または抗体フラグメント（例えば細胞内抗体）であってよい。そのような抗体または抗体フラグメント（dAb）は、所定の細胞下コンパートメントまたは標的を対象とすることができる。例えば、それらの抗体または抗体フラグメント（dAb）は、erbB2、EGFR、BCR-ABL、p21Ras、カスパーゼ3、カスパーゼ7、Bcl-2、p53、サイクリンE、ATF-1/CREB、HPV16E7、HP1、IV型コラゲナーゼ、カテプシンL、同様にKontermann, R.E., Methods, 34:163-170 (2004)に記載されているものから選択した細胞内標的と結合することができ、その全体を参照により本明細書に組み込む。

40

【0135】

CD38に結合するポリペプチドドメイン

本発明は、CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含むポリペプチドドメイン（例えばdAb）を提供する。好適な実施形態において、このポリペプチドドメイン（例えばdAb）は、CD38に低親和性で結合する。好ましくは、上記のポリペプチドドメインは、表面プラズモン共鳴で測定される約 $10\mu\text{M}$ ～約 10nM の K_d でCD38に結合する。例えば、本発明のポリペプチドドメインは、約 $10\mu\text{M}$ ～約 300 nM 、または約 $10\mu\text{M}$ ～約 400 nM の親和性でCD38に結合することができる。特定の実施形態において、本発明のポリペプチドドメインは、約 300 nM ～約 10nM または 200 nM ～約 10nM の親和性でCD38に結合する。

50

【0136】

いくつかの実施形態において、CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインは：DOM11-14（配列番号39）、DOM11-22（配列番号40）、DOM11-23（配列番号32）、DOM11-25（配列番号41）、DOM11-26（配列番号42）、DOM11-27（配列番号43）、DOM 11-29（配列番号44）、DOM11-3（配列番号30）、DOM11-30（配列番号31）、DOM11-31（配列番号45）、DOM11-32（配列番号36）、DOM11-36（配列番号46）、DOM11-4（配列番号47）、DOM11-43（配列番号48）、DOM11-44（配列番号49）、DOM11-45（配列番号50）、DOM11-5（配列番号51）、DOM11-7（配列番号33）、DOM11-1（配列番号52）、DOM11-10（配列番号53）、DOM11-16（配列番号54）、DOM11-2（配列番号55）、DOM11-20（配列番号56）、DOM11-21（配列番号57）、DOM11-24（配列番号38）、DOM11-28（配列番号58）、DOM11-33（配列番号59）、DOM11-34（配列番号60）、DOM11-35（配列番号61）、DOM11-37（配列番号37）、DOM11-38（配列番号34）、DOM11-39（配列番号35）、DOM11-41（配列番号62）、DOM11-42（配列番号63）、DOM11-6（配列番号64）、DOM11-8（配列番号65）、およびDOM11-9（配列番号66）からなる群から選択されるdAbと、CD38に対する結合において競合する。

【0137】

他の実施形態において、CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインは：DOM 11-3-1（配列番号269）、DOM 11-3-2（配列番号270）、DOM 11-3-3（配列番号271）、DOM 11-3-4（配列番号272）、DOM 11-3-6（配列番号273）、DOM 11-3-9（配列番号274）、DOM 11-3-10（配列番号275）、DOM 11-3-11（配列番号276）、DOM 11-3-14（配列番号277）、DOM 11-3-15（配列番号278）、DOM 11-3-17（配列番号279）、DOM 11-3-19（配列番号280）、DOM 11-3-20（配列番号281）、DOM 11-3-21（配列番号282）、DOM 11-3-22（配列番号283）、DOM 11-3-23（配列番号284）、DOM 11-3-24（配列番号285）、DOM 11-3-25（配列番号286）、DOM 11-3-26（配列番号287）、DOM 11-3-27（配列番号288）、DOM 11-3-28（配列番号289）、DOM 11-30-1（配列番号290）、DOM 11-30-2（配列番号291）、DOM 11-30-3（配列番号292）、DOM 11-30-5（配列番号293）、DOM 11-30-6（配列番号294）、DOM 11-30-7（配列番号295）、DOM 11-30-8（配列番号296）、DOM 11-30-9（配列番号297）、DOM 11-30-10（配列番号298）、DOM 11-30-11（配列番号299）、DOM 11-30-12（配列番号300）、DOM 11-30-13（配列番号301）、DOM 11-30-14（配列番号302）、DOM 11-30-15（配列番号303）、DOM 11-30-16（配列番号304）、およびDOM 11-30-17（配列番号305）からなる群から選択されるdAbと、CD38に対する結合において競合する。

【0138】

いくつかの実施形態において、CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインは：DOM11-14（配列番号261）、DOM11-22（配列番号262）、DOM11-23（配列番号9）、DOM11-25（配列番号263）、DOM11-26（配列番号264）、DOM11-27（配列番号265）、DOM 11-29（配列番号266）、DOM11-3（配列番号1）、DOM11-30（配列番号2）、DOM11-31（配列番号267）、DOM11-32（配列番号7）、DOM11-36（配列番号268）、DOM11-4（配列番号269）、DOM11-43（配列番号270）、DOM11-44（配列番号271）、DOM11-45（配列番号272）、DOM11-5（配列番号273）、DOM11-7（配列番号3）、DOM11-1（配列番号274）、DOM11-10（配列番号275）、DOM11-16（配列番号276）、DOM11-2（配列番号277）、DOM11-20（配列番号278）、DOM11-21（配列番号279）、DOM11-24（配列番号6）、DOM11-28（配列番号280）、DOM11-33（配列番号281）、DOM11-34（配列番号282）、DOM11-35（配列番号283）、DOM11-37（配列番号8）、DOM11-38（配列番号4）、DOM11-39（配列番号5）、DOM11-41（配列番号284）、DOM11-42（配列番号285）、DOM11-6（配列番号286）、DOM11-8（配列番号287）、およびDOM11-9（配列番号288）からなる群から選択されるdAbのアミノ酸配列と、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0139】

他の実施形態において、CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインは：DOM 11-3-1（配列番号269）、DOM 11-3-2（配列番号270）、DOM 11-3

-3 (配列番号271)、DOM 11-3-4 (配列番号272)、DOM 11-3-6 (配列番号273)、DOM 11-3-9 (配列番号274)、DOM 11-3-10 (配列番号275)、DOM 11-3-11 (配列番号276)、DOM 11-3-14 (配列番号277)、DOM 11-3-15 (配列番号278)、DOM 11-3-17 (配列番号279)、DOM 11-3-19 (配列番号280)、DOM 11-3-20 (配列番号281)、DOM 11-3-21 (配列番号282)、DOM 11-3-22 (配列番号283)、DOM 11-3-23 (配列番号284)、DOM 11-3-24 (配列番号285)、DOM 11-3-25 (配列番号286)、DOM 11-3-26 (配列番号287)、DOM 11-3-27 (配列番号288)、DOM 11-3-28 (配列番号289)、DOM 11-30-1 (配列番号290)、DOM 11-30-2 (配列番号291)、DOM 11-30-3 (配列番号292)、DOM 11-30-5 (配列番号293)、DOM 11-30-6 (配列番号294)、DOM 11-30-7 (配列番号295)、DOM 11-30-8 (配列番号296)、DOM 11-30-9 (配列番号297)、DOM 11-30-10 (配列番号298)、DOM 11-30-11 (配列番号299)、DOM 11-30-12 (配列番号300)、DOM 11-30-13 (配列番号301)、DOM 11-30-14 (配列番号302)、DOM 11-30-15 (配列番号303)、DOM 11-30-16 (配列番号304)、およびDOM 11-30-17 (配列番号305)からなる群から選択されるdAbのアミノ酸配列と、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0140】

いくつかの実施形態において、CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインは、本明細書に開示されるdAbのいずれかと、CD38に対する結合において競合する。

【0141】

好適な実施形態において、CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインは、DOM11-3 (配列番号234)、DOM11-30 (配列番号254)、DOM11-7 (配列番号238)、DOM11-38 (配列番号262)、DOM11-39 (配列番号263)、DOM11-24 (配列番号248)、DOM11-32 (配列番号256)、DOM11-37 (配列番号261)、およびDOM11-23 (配列番号247)からなる群から選択される。

【0142】

他の好適な実施形態において、CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインは、DOM11-3-1 (配列番号269)、DOM11-3-2 (配列番号270)、DOM11-3-6 (配列番号273)、DOM11-3-10 (配列番号275)、DOM11-3-15 (配列番号278)、DOM11-3-20 (配列番号281)、DOM11-3-23 (配列番号284)、およびDOM11-3-26 (配列番号287)からなる群から選択される。

【0143】

他の好適な実施形態において、CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインは、DOM11-30-1 (配列番号290)、DOM11-30-2 (配列番号291)、DOM11-30-9 (配列番号297)、DOM11-3-15 (配列番号303)、およびDOM11-30-16 (配列番号304)からなる群から選択される。

【0144】

CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインは、任意の好適な免疫グロブリン可変ドメインを含んでいてよく、また好ましくは、ヒト可変ドメインまたはヒトフレームワーク領域を含有する可変ドメインを含む。特定の実施形態において、CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインは、本明細書に記載されるユニバーサルフレームワークを含む。

【0145】

本発明のユニバーサルフレームワークは、ヒト生殖細胞系列DPK1、DPK2、DPK3、DPK4、DPK5、DPK6、DPK7、DPK8、DPK9、DPK10、DPK12、DPK13、DPK15、DPK16、DPK18、DPK19、DPK20、DPK21、DPK22、DPK23、DPK24、DPK25、DPK26またはDPK28免疫グロブリン遺伝子セグメントによってコードされるフレームワークアミノ酸配列を含むフレームワークなどのV_Lフレームワーク(V_λまたはV_κ)であってよい。所望の場合、本発明のV_Lフレームワークは、ヒト生殖細胞系列J_κ 1、J_κ 2、J_κ 3、J_κ 4、またはJ_κ 5免疫グロブリン遺伝子セグメ

ントによってコードされるフレームワークアミノ酸配列をさらに含み得る。

【0146】

他の実施形態において、本発明のユニバーサルフレームワークは、ヒト生殖細胞系列DP4、DP7、DP8、DP9、DP10、DP31、DP33、DP38、DP45、DP46、DP47、DP49、DP50、DP51、DP53、DP54、DP65、DP66、DP67、DP68またはDP69免疫グロブリン遺伝子セグメントによってコードされるフレームワークアミノ酸配列を含むフレームワークなどのV_Hフレームワークであってよい。所望の場合、本発明のV_Hフレームワークは、ヒト生殖細胞系列J_H1、J_H2、J_H3、J_H4、J_H4b、J_H5およびJ_H6免疫グロブリン遺伝子セグメントによってコードされるフレームワークアミノ酸配列をさらに含み得る。

【0147】

特定の実施形態において、CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインは、ヒト生殖細胞系列抗体遺伝子セグメントによってコードされる、対応するフレームワーク領域のアミノ酸配列と同一のアミノ酸配列を含む1つ以上のフレームワーク領域を含み、あるいは、1つ以上の上記のフレームワーク領域のアミノ酸配列は、ヒト生殖細胞系列抗体遺伝子セグメントによってコードされる上記の対応するフレームワーク領域のアミノ酸配列と比較して5個以下のアミノ酸差異を集合的に含む。

【0148】

他の実施形態において、CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインFW1、FW2、FW3およびFW4のアミノ酸配列は、ヒト生殖細胞系列抗体遺伝子セグメントによってコードされる、対応するフレームワーク領域のアミノ酸配列と同一であり、あるいは、FW1、FW2、FW3およびFW4のアミノ酸配列は、ヒト生殖細胞系列抗体遺伝子セグメントによってコードされる対応するフレームワーク領域のアミノ酸配列と比較し10個以下のアミノ酸差異を集合的に含む。

【0149】

他の実施形態において、CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインはFW1、FW2およびFW3領域を含み、このFW1、FW2およびFW3領域のアミノ酸配列は、ヒト生殖細胞系列抗体遺伝子セグメントによってコードされる対応するフレームワーク領域のアミノ酸配列と同一である。

【0150】

特定の実施形態において、CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインは、DPK9 V_Lフレームワーク、またはDP47、DP45およびDP38からなる群から選択されるV_Hフレームワークを含む。CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインは、プロテインA、プロテインLおよびプロテインGなどの一般的なリガンドに対する結合部位を含み得る。

【0151】

特定の実施形態では、CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含むポリペプチドドメインは、実質的に、凝集に対して耐性がある。例えば、いくつかの実施形態では、生理食塩水、緩衝生理食塩水、クエン酸緩衝生理食塩水、水、乳濁液、および、これらの溶媒のいずれかなど、常法に従って薬物製剤に使用される溶媒に含まれたリガンドまたはdAbの1~5mg/ml、5~10mg/ml、10~20mg/ml、20~50mg/ml、50~100mg/ml、100~200mg/ml、または200~500mg/ml溶液を、FDAに認可されている賦形剤など、許容される賦形剤と共に、約22℃、22~25℃、25~30℃、30~37℃、37~40℃、40~50℃、50~60℃、60~70℃、70~80℃、15~20℃、10~15℃、5~10℃、2~5℃、0~2℃、-10℃~0℃、-20℃~-10℃、-40℃~-20℃、-60℃~-40℃、または-80℃~-60℃で、およその時間、例えば、10分間、1時間、8時間、24時間、2日間、3日間、4日間、1週間、2週間、3週間、1ヵ月、2ヵ月、3ヵ月、4ヵ月、6ヵ月、1年間、または2年間維持した場合、CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含むポリペプチドドメインの約10%未満、約9%未満、約8%未満、約7%未満、約6%未満、約5%未満、約4%未満、約3%未満、約2%未満、または

10

20

30

40

50

約 1 %未満が凝集する。

【0152】

凝集は、任意の適切な方法を使用し、例えば、顕微鏡、目視検査による溶液の濁度を評価、または分光法、または他の任意の適切な方法によって評価することができる。好ましくは、動的光散乱によって凝集を評価する。凝集に耐性を示す、CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含むポリペプチドドメインによって、いくつかの利点を得られる。例えば、CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含むようなポリペプチドドメインは、大腸菌など、適切な生物学的産生系を使用し発現することによって、可溶性タンパク質として容易に高収量で産生でき、そして凝集と活性消失を減少させて、従来のポリペプチドよりも高濃度で製剤化し、かつ／または貯蔵することができる。

10

【0153】

さらに、凝集に耐性を示す、CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含むポリペプチドドメインは、他の抗原結合またはエピトープ結合ポリペプチド（例えば、従来の抗体）よりも安価に産生することができる。例えば、一般的に、インビボでの適用を意図した抗原結合またはエピトープ結合ポリペプチドの調製には、凝集したポリペプチドを除去する過程（例えばゲル濾過）が含まれる。そのような凝集の除去が不首尾に終わると、結果としてインビボでの適用に不適切な調製物がもたらされる。例えば、アンタゴニストとして作用するように意図した抗原結合ポリペプチドが凝集すると、その標的抗原が架橋し、またはクラスター化するように誘発されて、アゴニストとして機能する可能性があるからである。タンパク質の凝集はまた、それらを投与する対象で免疫応答を誘発することによって、治療用ポリペプチドの効力も低減させうる。

20

【0154】

それに反して、本発明のCD38に対して結合特異性を有する結合部位を含む、凝集耐性ポリペプチドドメインは、凝集を除去する工程ステップを含める必要がなく、インビボで適用するために調製することができ、そしてポリペプチドの凝集によって生じる前記短所を有することなく、インビボでの適用に使用することができる。

【0155】

いくつかの実施形態では、CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含むポリペプチドドメインは、温度（ T_s ）に加熱し、温度（ T_c ）に冷却した場合、可逆的にアンホールドし、その際、 T_s は、CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含むポリペプチドドメインの融解温度（ T_m ）より高く、かつ T_c は、CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含むポリペプチドドメインの融解温度よりも低い。例えば、CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含むポリペプチドドメインを 80°C に加熱し、ほぼ室温に冷却すると、可逆的にアンホールドしうる。可逆的にアンホールドするポリペプチドは、アンホールドすると機能を失うが、リホールドすると機能は回復する。そのようなポリペプチドは、アンホールドされると凝集するポリペプチド、または不適切にリホールドされるポリペプチド（ミスホールドされるポリペプチド）、すなわち機能が回復しないポリペプチドと区別される。

30

【0156】

ポリペプチドのアンホールディングおよびリホールディングは、例えば、任意の適切な方法を使用し、ポリペプチド構造を直接的または間接的に検出することによって、評価することができる。例えば、ポリペプチド構造は、円二色性（CD）（例えば、遠紫外CD、近紫外CD）、蛍光（例えば、トリプトファン側鎖の蛍光）、タンパク質分解への感受性、核磁気共鳴（NMR）によって、あるいは適切なホールディングに依存するポリペプチド機能（例えば、標的リガンドとの結合、一般的リガンドとの結合）を検出しまたは測定することによって、検出することができる。一例では、ポリペプチドのアンホールディングは、結合機能（例えば、一般的リガンドおよび／または標的リガンドへの結合、基質への結合）の喪失が、ポリペプチドがアンホールドされていることを示す、機能アッセイを使用し評価する。

40

【0157】

50

CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含むポリペプチドドメインのアンホールディングおよびリホールディングの程度は、アンホールディング曲線または変性曲線を使用し定量することができる。アンホールディング曲線は、縦軸に温度を、横軸にホールドされたポリペプチドの相対的濃度をプロットすることによって作成できる。ホールドされた、CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含むポリペプチドドメインの相対的濃度は、任意の適切な方法（例えば、CD、蛍光、結合アッセイ）を使用し、直接的または間接的に定量することができる。例えば、CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含むポリペプチドドメイン溶液を調製し、その溶液の楕円率をCDによって定量することができる。得られた楕円率値は、ホールドされたりガンドの相対的濃度（例えば、dAb単量体）が100%であることを示す。次いで、溶液中のCD38に対して結合特異性を有する結合部位を含むポリペプチドドメインは、溶液の温度を徐々に上昇させることによってアンホールドされ、適切な増分（例えば、温度がそれぞれ1度上昇した後）で楕円率を定量する。次いで、溶液中のCD38に対して結合特異性を有する結合部位を含むポリペプチドドメインは、溶液の温度を徐々に減少させることによってリホールドされ、適切な増分で楕円率を定量する。それらのデータをプロットして、アンホールディング曲線およびリホールディング曲線を作成することができる。アンホールディングおよびリホールディング曲線は、CD38分子に対して結合特異性を有する結合部位を含むポリペプチドドメインがホールドされるポーション、CD38分子に対して結合特異性を有する結合部位を含むポリペプチドドメインが、様々な程度にアンホールドされるアンホールディング／リホールディング移行期、およびCD38に対して結合特異性を有する結合部位を含むポリペプチドドメインがアンホールドされる部分を含む、特徴的なS字形をしている。リホールディング曲線のy軸切片は、回復したCD38に対して結合特異性を有する結合部位を含む、リホールドされたポリペプチドドメインの相対量である。少なくとも約50%、または少なくとも約60%、または少なくとも約70%、または少なくとも約75%、または少なくとも約80%、または少なくとも約85%、または少なくとも約90%、または少なくとも約95%の回復は、本リガンドまたはdAb単量体が可逆的にアンホールドされることを示している。

【0158】

好ましい実施形態では、CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含むポリペプチドドメインのアンホールディングの可逆性は、CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含むポリペプチドドメイン溶液を調製し、熱アンホールディング曲線およびリホールディング曲線をプロットすることによって定量する。CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含むポリペプチドドメイン溶液は、任意の好適な溶媒、CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含むポリペプチドドメインを溶解するのに適したpH {例えば、等電点(pI)より約3単位上または下のpH}の水性緩衝液を用いて調製することができる。CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含むポリペプチドドメイン溶液は、アンホールディング／ホールドが検出されるように十分濃縮する。例えば、本リガンドまたはdAb単量体溶液は、約0.1 μ M～約100 μ M、または好ましくは約1 μ M～約10 μ Mでありうる。

【0159】

CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含むポリペプチドドメインの融解温度(T_m)が分かっている場合、 T_m よりも約10度低い温度($T_m - 10$)に溶液を加熱し、楕円率または蛍光（例えば、200 nm～250 nmでの遠紫外CDスキャン、235 nmまたは225 nmでの固定波長CD；298 nmで励起させた300～450 nmのトリプトファン蛍光発光スペクトル）によってホールドングを評価し、100%相対的ホールド済みリガンドまたはdAb単量体を得ることができる。次いで、所定の増分（例えば、約0.1～約1度の上昇）で、 T_m よりも少なくとも10度高い温度($T_m + 10$)に溶液を加熱し、各増分で楕円率または蛍光を定量する。次いで、所定の増分で少なくとも $T_m - 10$ まで冷却することによって、CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含むポリペプチドドメインをリホールドし、楕円率または蛍光を各増分で定量する。CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含むポリペプチドドメインの融解温度が不明な場合

、約25℃～約100℃まで徐々に加熱することによって、溶液をアンホールドし、次いで少なくとも約25℃まで徐々に冷却することによってリホールドでき、それぞれの加熱および冷却増分で楕円率または蛍光を定量する。得られたデータをプロットして、アンホールディング曲線およびリホールディング曲線を作成することができ、その際、リホールディング曲線のy軸切片は、回復したリホールド済みタンパク質の相対量である。いくつかの実施形態では、CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含むポリペプチドドメインは、ラクダ科免疫グロブリン可変ドメイン、あるいはラクダ科生殖系列抗体遺伝子セグメントがコードする免疫グロブリン可変ドメインに特有の、一個または複数のフレームワークアミノ酸を含まない。

【0160】

好ましくは、CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含むポリペプチドドメインは、大腸菌またはピキア属（例えば、P. パストリス（*P. pastoris*））で発現させた場合、少なくとも約0.5 mg/Lの量で分泌される。他の好ましい実施形態では、CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含むポリペプチドドメインは、大腸菌またはピキア属（例えば、P. パストリス）で発現させた場合、少なくとも約0.75 mg/L、少なくとも約1 mg/L、少なくとも約4 mg/L、少なくとも約5 mg/L、少なくとも約10 mg/L、少なくとも約15 mg/L、少なくとも約20 mg/L、少なくとも約25 mg/L、少なくとも約30 mg/L、少なくとも約35 mg/L、少なくとも約40 mg/L、少なくとも約45 mg/L、または少なくとも約50 mg/L、または少なくとも約100 mg/L、または少なくとも約200 mg/L、または少なくとも約300 mg/L、または少なくとも約400 mg/L、または少なくとも約500 mg/L、または少なくとも約600 mg/L、または少なくとも約700 mg/L、または少なくとも約800 mg/L、少なくとも約900 mg/L、または少なくとも約1 g/Lの量で分泌される。他の好ましい実施形態では、CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含むポリペプチドドメインは、大腸菌またはピキア属（例えば、P. パストリス）で発現させた場合、少なくとも約1 mg/L～少なくとも約1 g/L、少なくとも約1 mg/L～少なくとも約750 mg/L、少なくとも約100 mg/L～少なくとも約1 g/L、少なくとも約200 mg/L～少なくとも約1 g/L、少なくとも約300 mg/L～少なくとも約1 g/L、少なくとも約400 mg/L～少なくとも約1 g/L、少なくとも約500 mg/L～少なくとも約1 g/L、少なくとも約600 mg/L～少なくとも約1 g/L、少なくとも約700 mg/L～少なくとも約1 g/L、または少なくとも約900 mg/L～少なくとも約1 g/Lの量で分泌される。本明細書に記載したCD38に対して結合特異性を有する結合部位を含むポリペプチドドメインは、大腸菌またはピキア属（例えば、P. パストリス）で発現させた場合、分泌させることができるが、合成化学的方法、あるいは大腸菌またはピキア属を使用しない生物学的生成法など、任意の適切な方法を使用し、これらを産生することもできる。

【0161】

CD138に結合するポリペプチドドメイン

本発明は、CD138に対して結合特異性を有する結合部位を含むポリペプチドドメイン（例えばdAb）を提供する。好適な実施形態において、本発明のポリペプチドドメインは、CD138に低親和性で結合する。好ましくは、本発明のポリペプチドドメインは、表面プラズモン共鳴で測定される約10 μM～約10 nMの K_d でCEAに結合する。例えば、本発明のポリペプチドドメインは、約10 μM～約300 nM、または約10 μM～約400 nMの親和性でCD138に結合することができる。特定の実施形態において、本発明のポリペプチドドメインは、約300 nM～約10 nMまたは200 nM～約10 nMの親和性でCD138に結合する。

【0162】

いくつかの実施形態において、CD138に対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインは：DOM12-1（配列番号70）、DOM12-15（配列番号71）、DOM12-17（配列番号68）、DOM12-19（配列番号72）、DOM12-2（配列番号73）、DOM12-20（配列番号7

10

20

30

40

50

4)、DOM12-21 (配列番号75)、DOM12-22 (配列番号76)、DOM12-3 (配列番号77)、DOM12-33 (配列番号78)、DOM12-39 (配列番号79)、DOM12-4 (配列番号80)、DOM12-40 (配列番号81)、DOM12-41 (配列番号82)、DOM12-42 (配列番号83)、DOM12-44 (配列番号84)、DOM12-46 (配列番号85)、DOM12-6 (配列番号86)、DOM12-7 (配列番号87)、DOM12-10 (配列番号88)、DOM12-11 (配列番号89)、DOM12-18 (配列番号90)、DOM12-23 (配列番号91)、DOM12-24 (配列番号92)、DOM12-25 (配列番号93)、DOM12-26 (配列番号94)、DOM12-27 (配列番号95)、DOM12-28 (配列番号96)、DOM12-29 (配列番号97)、DOM12-30 (配列番号98)、DOM12-31 (配列番号99)、DOM12-32 (配列番号100)、DOM12-34 (配列番号101)、DOM12-35 (配列番号102)、DOM12-36 (配列番号103)、DOM12-37 (配列番号104)、DOM12-38 (配列番号105)、DOM12-43 (配列番号106)、DOM12-45 (配列番号107)、DOM12-5 (配列番号108)、DOM12-8 (配列番号109)、およびDOM12-9 (配列番号110)からなる群から選択されるdAbと、CD138に対する結合において競合する。

【0163】

いくつかの実施形態において、CD138に対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインは：DOM 12-45-1 (配列番号348)、DOM 12-45-2 (配列番号349)、DOM 12-45-3 (配列番号350)、DOM 12-45-4 (配列番号351)、DOM 12-45-5 (配列番号352)、DOM 12-45-6 (配列番号353)、DOM 12-45-8 (配列番号354)、DOM 12-45-9 (配列番号355)、DOM 12-45-10 (配列番号356)、DOM 12-45-11 (配列番号357)、DOM 12-45-12 (配列番号358)、DOM 12-45-13 (配列番号359)、DOM 12-45-14 (配列番号360)、DOM 12-45-15 (配列番号361)、DOM 12-45-16 (配列番号362)、DOM 12-45-17 (配列番号363)、DOM 12-45-18 (配列番号364)、DOM 12-45-19 (配列番号365)、DOM 12-45-20 (配列番号366)、DOM 12-45-21 (配列番号367)、DOM 12-45-22 (配列番号368)、DOM 12-45-23 (配列番号369)、DOM 12-45-24 (配列番号370)、DOM 12-45-25 (配列番号371)、DOM 12-45-26 (配列番号372)、DOM 12-45-27 (配列番号373)、DOM 12-45-28 (配列番号374)、DOM 12-45-29 (配列番号375)、DOM 12-45-30 (配列番号376)、DOM 12-45-31 (配列番号377)、DOM 12-45-32 (配列番号378)、DOM 12-45-33 (配列番号379)、DOM 12-45-34 (配列番号380)、DOM 12-45-35 (配列番号381)、DOM 12-45-36 (配列番号382)、DOM 12-45-37 (配列番号383)、およびDOM 12-45-38 (配列番号384)からなる群から選択されるdAbと、CD138に対する結合において競合する。

【0164】

いくつかの実施形態において、CD138に対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインは：DOM12-1 (配列番号289)、DOM12-15 (配列番号290)、DOM12-17 (配列番号11)、DOM12-19 (配列番号291)、DOM12-2 (配列番号292)、DOM12-20 (配列番号293)、DOM12-21 (配列番号294)、DOM12-22 (配列番号295)、DOM12-3 (配列番号296)、DOM12-33 (配列番号297)、DOM12-39 (配列番号298)、DOM12-4 (配列番号299)、DOM12-40 (配列番号300)、DOM12-41 (配列番号301)、DOM12-42 (配列番号302)、DOM12-44 (配列番号303)、DOM12-46 (配列番号304)、DOM12-6 (配列番号305)、DOM12-7 (配列番号306)、DOM12-10 (配列番号307)、DOM12-11 (配列番号308)、DOM12-18 (配列番号309)、DOM12-23 (配列番号310)、DOM12-24 (配列番号311)、DOM12-25 (配列番号312)、DOM12-26 (配列番号313)、DOM12-27 (配列番号314)、DOM12-28 (配列番号315)、DOM12-29 (配列番号316)、DOM12-30 (配列番号317)、DOM12-31 (配列番号318)、DOM12-32 (配列番号319)、DOM12-34 (配列番号320)、DOM12-35 (配列番号321)、DOM12-36 (配列番号322)、DOM12-37 (配列番号323)、DOM12-38 (配列番号324)、DOM12-43 (配列番号325)、DOM12-45 (配列番号326)、DOM12-5 (配列番号327)、DOM12-8 (配列番号328)、およびDOM12-9 (配列番号329)からなる群から選択されるdAbのアミノ酸配列と、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0165】

いくつかの実施形態において、CD138に対して結合特異性を有する結合部位を含む本発

明のポリペプチドドメインは：DOM 12-45-1（配列番号348）、DOM 12-45-2（配列番号349）、DOM 12-45-3（配列番号350）、DOM 12-45-4（配列番号351）、DOM 12-45-5（配列番号352）、DOM 12-45-6（配列番号353）、DOM 12-45-8（配列番号354）、DOM 12-45-9（配列番号355）、DOM 12-45-10（配列番号356）、DOM 12-45-11（配列番号357）、DOM 12-45-12（配列番号358）、DOM 12-45-13（配列番号359）、DOM 12-45-14（配列番号360）、DOM 12-45-15（配列番号361）、DOM 12-45-16（配列番号362）、DOM 12-45-17（配列番号363）、DOM 12-45-18（配列番号364）、DOM 12-45-19（配列番号365）、DOM 12-45-20（配列番号366）、DOM 12-45-21（配列番号367）、DOM 12-45-22（配列番号368）、DOM 12-45-23（配列番号369）、DOM 12-45-24（配列番号370）、DOM 12-45-25（配列番号371）、DOM 12-45-26（配列番号372）、DOM 12-45-27（配列番号373）、DOM 12-45-28（配列番号374）、DOM 12-45-29（配列番号375）、DOM 12-45-30（配列番号376）、DOM 12-45-31（配列番号377）、DOM 12-45-32（配列番号378）、DOM 12-45-33（配列番号379）、DOM 12-45-34（配列番号380）、DOM 12-45-35（配列番号381）、DOM 12-45-36（配列番号382）、DOM 12-45-37（配列番号383）、およびDOM 12-45-38（配列番号384）からなる群から選択されるdAbのアミノ酸配列と、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0166】

いくつかの実施形態において、CD138に対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインは、本明細書に開示されるdAbのいずれかと、CD138に対する結合において競合する。

【0167】

好適な実施形態において、CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインは、DOM 12-45（配列番号346）、DOM12-17（配列番号318）、およびDOM 12-26（配列番号327）からなる群から選択される。

【0168】

他の好適な実施形態において、CD38に対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインは、DOM 12-45-1（配列番号348）、DOM12-45-2（配列番号349）、およびDOM 12-45-5（配列番号352）からなる群から選択される。

【0169】

CD138に対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインは、任意の好適な免疫グロブリン可変ドメインを含んでもよく、好ましくは、ヒト可変ドメインまたはヒトフレームワーク領域を含む可変ドメインを含む。特定の実施形態において、CD138に対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインは、本明細書に記載されるユニバーサルフレームワークを含む。

【0170】

特定の実施形態において、CD138に対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインは、上記のCD38に対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインのように、凝集に抵抗し、可逆的にアンフォールドし、および/またはフレームワーク領域を含み、さらに分泌される。

【0171】

CEAに結合するポリペプチドドメイン

本発明は、CEAに対して結合特異性を有する結合部位を含むポリペプチドドメイン（例えばdAb）を提供する。好適な実施形態において、本発明のポリペプチドドメインは、CEAに低親和性で結合する。好ましくは、本発明のポリペプチドドメインは、表面プラズモン共鳴で測定される約10 μ M～約10nMの K_d でCEAに結合する。例えば、本発明のポリペプチドドメインは、約10 μ M～約300 nM、または約10 μ M～約400 nMの親和性でCEAに結合することができる。特定の実施形態において、本発明のポリペプチドドメインは、約300 nM～約10 nMまたは200 nM～約10nMの親和性でCEAに結合する。

【0172】

いくつかの実施形態において、CEAに対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインは：DOM13-1（配列番号385）、DOM13-12（配列番号393）、DOM13-13（配列番号394）、DOM13-14（配列番号395）、DOM13-15（配列番号3396）、DOM13-16（配列番号397）、DOM13-17（配列番号398）、DOM13-18（配列番号399）、DOM13-19（配列番号400）、DOM13-2（配列番号386）、DOM13-20（配列番号401）、DOM13-21（配列番号402）、DOM13-22（配列番号403）、DOM13-23（配列番号404）、DOM13-24（配列番号3405）、DOM13-25（配列番号406）、DOM13-26（配列番号407）、DOM13-27（配列番号408）、DOM13-28（配列番号409）、DOM13-29（配列番号410）、DOM13-3（配列番号387）、DOM13-30（配列番号411）、DOM13-31（配列番号412）、DOM13-32（配列番号413）、DOM13-33（配列番号414）、DOM-13-34（配列番号415）、DOM13-35（配列番号416）、DOM13-36（配列番号417）、DOM13-37（配列番号418）、DOM13-4（配列番号388）、DOM13-42（配列番号419）、DOM13-43（配列番号420）、DOM13-44（配列番号421）、DOM13-45（配列番号422）、DOM13-46（配列番号423）、DOM13-47（配列番号424）、DOM13-48（配列番号425）、DOM13-49（配列番号426）、DOM13-5（配列番号389）、DOM13-50（配列番号427）、DOM13-51（配列番号428）、DOM13-52（配列番号429）、DOM13-53（配列番号430）、DOM13-54（配列番号431）、DOM13-55（配列番号432）、DOM13-56（配列番号433）、DOM13-57（配列番号434）、DOM13-58（配列番号435）、DOM13-59（配列番号436）、DOM13-6（配列番号390）、DOM13-60（配列番号437）、DOM13-61（配列番号438）、DOM13-62（配列番号439）、DOM13-63（配列番号440）、DOM13-64（配列番号441）、DOM13-65（配列番号442）、DOM13-66（配列番号443）、DOM13-67（配列番号444）、DOM13-68（配列番号445）、DOM13-69（配列番号446）、DOM13-7（配列番号391）、DOM13-70（配列番号447）、DOM13-71（配列番号3448）、DOM13-72（配列番号449）、DOM13-73（配列番号450）、DOM13-74（配列番号451）、DOM13-75（配列番号452）、DOM13-76（配列番号453）、DOM13-77（配列番号454）、DOM13-78（配列番号455）、DOM13-79（配列番号456）、DOM13-8（配列番号392）、DOM13-80（配列番号457）、DOM13-81（配列番号458）、DOM13-82（配列番号459）、DOM13-83（配列番号460）、DOM13-84（配列番号461）、DOM13-85（配列番号462）、DOM13-86（配列番号463）、DOM13-87（配列番号464）、DOM13-88（配列番号465）、DOM13-89（配列番号466）、DOM13-90（配列番号467）、DOM13-91（配列番号468）、DOM13-92（配列番号469）、DOM13-93（配列番号470）、DOM13-94（配列番号471）、およびDOM13-95（配列番号472）からなる群から選択されるdAbと、CEAに対する結合において競合する。

【0173】

特定の実施形態において、CEAに対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインは：DOM 13-25-3（配列番号473）、DOM 13-25-23（配列番号474）、DOM 13-25-27（配列番号475）、およびDOM 13-25-80（配列番号476）からなる群から選択されるdAbと、CEAに対する結合において競合する。

【0174】

いくつかの実施形態において、CEAに対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインは：DOM13-1（配列番号385）、DOM13-12（配列番号393）、DOM13-13（配列番号394）、DOM13-14（配列番号395）、DOM13-15（配列番号3396）、DOM13-16（配列番号397）、DOM13-17（配列番号398）、DOM13-18（配列番号399）、DOM13-19（配列番号400）、DOM13-2（配列番号386）、DOM13-20（配列番号401）、DOM13-21（配列番号402）、DOM13-22（配列番号403）、DOM13-23（配列番号404）、DOM13-24（配列番号3405）、DOM13-25（配列番号406）、DOM13-26（配列番号407）、DOM13-27（配列番号408）、DOM13-28（配列番号409）、DOM13-29（配列番号410）、DOM13-3（配列番号387）、DOM13-30（配列番号411）、DOM13-31（配列番号412）、DOM13-32（配列番号413）、DOM13-33（配列番号414）、DOM-13-34（配列番号415）、DOM13-35（配列番号416）、DOM13-36（配列番号417）、DOM13-37（配列番号418）、DOM13-4（配列番号388）、DOM13-42（配列番号419）、DOM13-43（配列番号420）、DOM13-44（配列番号421）、DOM13-45（配列番号422）、DOM13-46（配列番号423）、DOM13-47（配列番号424）、DOM13-48（配列番号425）、DOM13-49（配列番号426）、DOM13-5（配列番号389）、DOM13-50（配列番号427）、DOM13-51（配列番号428）、DOM13-52（配列番号429）、DOM13-

53 (配列番号430)、DOM13-54 (配列番号431)、DOM13-55 (配列番号432)、DOM13-56 (配列番号433)、DOM13-57 (配列番号434)、DOM13-58 (配列番号435)、DOM13-59 (配列番号436)、DOM13-6 (配列番号390)、DOM13-60 (配列番号437)、DOM13-61 (配列番号438)、DOM13-62 (配列番号439)、DOM13-63 (配列番号440)、DOM13-64 (配列番号441)、DOM13-65 (配列番号442)、DOM13-66 (配列番号443)、DOM13-67 (配列番号444)、DOM13-68 (配列番号445)、DOM13-69 (配列番号446)、DOM13-7 (配列番号391)、DOM13-70 (配列番号447)、DOM13-71 (配列番号3448)、DOM13-72 (配列番号449)、DOM13-73 (配列番号450)、DOM13-74 (配列番号451)、DOM13-75 (配列番号452)、DOM13-76 (配列番号453)、DOM13-77 (配列番号454)、DOM13-78 (配列番号455)、DOM13-79 (配列番号456)、DOM13-8 (配列番号392)、DOM13-80 (配列番号457)、DOM13-81 (配列番号458)、DOM13-82 (配列番号459)、DOM13-83 (配列番号460)、DOM13-84 (配列番号461)、DOM13-85 (配列番号462)、DOM13-86 (配列番号463)、DOM13-87 (配列番号464)、DOM13-88 (配列番号465)、DOM13-89 (配列番号466)、DOM13-90 (配列番号467)、DOM13-91 (配列番号468)、DOM13-92 (配列番号469)、DOM13-93 (配列番号470)、DOM13-94 (配列番号471)、およびDOM13-95 (配列番号472)からなる群から選択されるdAbのアミノ酸配列と、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0175】

他の実施形態において、CEAに対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインは：DOM 13-25-3 (配列番号473)、DOM 13-25-23 (配列番号474)、DOM 13-25-27 (配列番号475)、およびDOM 13-25-80 (配列番号476)からなる群から選択されるdAbのアミノ酸配列と、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0176】

好適な実施形態において、CEAに対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインは、DOM13-25 (配列番号80)、DOM13-57 (配列番号81)、DOM13-58 (配列番号82)、DOM13-59 (配列番号83)、DOM13-64 (配列番号84)、DOM13-65 (配列番号85)、DOM13-74 (配列番号86)、DOM13-93 (配列番号87)、およびDOM13-95 (配列番号88)からなる群から選択される。いくつかの実施形態において、CEAに対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインは、本明細書に開示されるdAbのいずれかと、CEAに対する結合において競合する。

【0177】

CEAに対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインは、任意の好適な免疫グロブリン可変ドメインを含んでいてもよく、好ましくは、ヒト可変ドメインまたはヒトフレームワーク領域を含む可変ドメインを含む。特定の実施形態において、CEAに対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインは、本明細書に記載されるユニバーサルフレームワークを含む。

【0178】

特定の実施形態において、CEAに対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインは、上記のCD38に対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインのように、凝集に抵抗し、可逆的にアンフォールドし、および/またはフレームワーク領域を含み、さらに分泌される。

【0179】

CD56に結合するポリペプチドドメイン

本発明は、CD56に対して結合特異性を有する結合部位を含むポリペプチドドメイン(例えばdAb)を提供する。好適な実施形態において、本発明のポリペプチドドメインは、CD56に低親和性で結合する。好ましくは、本発明のポリペプチドドメインは、表面プラズモン

共鳴で測定される約10 μ M～約10nMの K_d でCD56に結合する。例えば、本発明のポリペプチドドメインは、約10 μ M～約300 nM、または約10 μ M～約400 nMの親和性でCD56に結合することができる。特定の実施形態において、本発明のポリペプチドドメインは、約300 nM～約10nMまたは200 nM～約10nMの親和性でCD56に結合する。

【0180】

いくつかの実施形態において、CD56に対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインは：DOM14-1（配列番号477）、DOM14-10（配列番号481）、DOM14-100（配列番号540）、DOM14-11（配列番号482）、DOM14-12（配列番号483）、DOM14-13（配列番号484）、DOM14-14（配列番号485）、DOM14-15（配列番号486）、DOM14-16（配列番号487）、DOM14-17（配列番号488）、DOM14-18（配列番号489）、DOM14-19（配列番号490）、DOM14-2（配列番号478）、DOM14-20（配列番号491）、DOM14-21（配列番号492）、DOM14-22（配列番号493）、DOM14-23（配列番号494）、DOM14-24（配列番号495）、DOM14-25（配列番号496）、DOM14-26（配列番号497）、DOM14-27（配列番号498）、DOM14-28（配列番号499）、DOM14-3（配列番号479）、DOM14-31（配列番号500）、DOM14-32（配列番号501）、DOM14-33（配列番号502）、DOM14-34（配列番号503）、DOM14-35（配列番号504）、DOM14-36（配列番号505）、DOM14-37（配列番号506）、DOM14-38（配列番号507）、DOM14-39（配列番号508）、DOM14-4（配列番号480）、DOM14-40（配列番号509）、DOM14-41（配列番号510）、DOM14-42（配列番号511）、DOM14-43（配列番号512）、DOM14-44（配列番号513）、DOM14-45（配列番号514）、DOM14-46（配列番号515）、DOM14-47（配列番号516）、DOM14-48（配列番号517）、DOM14-49（配列番号518）、DOM14-50（配列番号519）、DOM14-51（配列番号520）、DOM14-52（配列番号521）、DOM14-53（配列番号522）、DOM14-54（配列番号523）、DOM14-55（配列番号524）、DOM14-56（配列番号525）、DOM14-57（配列番号526）、DOM14-58（配列番号527）、DOM14-59（配列番号528）、DOM14-60（配列番号529）、DOM14-61（配列番号530）、DOM14-62（配列番号531）、DOM14-63（配列番号532）、DOM14-64（配列番号533）、DOM14-65（配列番号534）、DOM14-66（配列番号535）、DOM14-67（配列番号536）、DOM14-70（配列番号539）、DOM14-68（配列番号537）、およびDOM14-69（配列番号538）からなる群から選択されるdAbと、CD56に対する結合において競合する。

【0181】

いくつかの実施形態において、CD56に対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインは：DOM14-1（配列番号477）、DOM14-10（配列番号481）、DOM14-100（配列番号540）、DOM14-11（配列番号482）、DOM14-12（配列番号483）、DOM14-13（配列番号484）、DOM14-14（配列番号485）、DOM14-15（配列番号486）、DOM14-16（配列番号487）、DOM14-17（配列番号488）、DOM14-18（配列番号489）、DOM14-19（配列番号490）、DOM14-2（配列番号478）、DOM14-20（配列番号491）、DOM14-21（配列番号492）、DOM14-22（配列番号493）、DOM14-23（配列番号494）、DOM14-24（配列番号495）、DOM14-25（配列番号496）、DOM14-26（配列番号497）、DOM14-27（配列番号498）、DOM14-28（配列番号499）、DOM14-3（配列番号479）、DOM14-31（配列番号500）、DOM14-32（配列番号501）、DOM14-33（配列番号502）、DOM14-34（配列番号503）、DOM14-35（配列番号504）、DOM14-36（配列番号505）、DOM14-37（配列番号506）、DOM14-38（配列番号507）、DOM14-39（配列番号508）、DOM14-4（配列番号480）、DOM14-40（配列番号509）、DOM14-41（配列番号510）、DOM14-42（配列番号511）、DOM14-43（配列番号512）、DOM14-44（配列番号513）、DOM14-45（配列番号514）、DOM14-46（配列番号515）、DOM14-47（配列番号516）、DOM14-48（配列番号517）、DOM14-49（配列番号518）、DOM14-50（配列番号519）、DOM14-51（配列番号520）、DOM14-52（配列番号521）、DOM14-53（配列番号522）、DOM14-54（配列番号523）、DOM14-55（配列番号524）、DOM14-56（配列番号525）、DOM14-57（配列番号526）、DOM14-58（配列番号527）、DOM14-59（配列番号528）、DOM14-60（配列番号529）、DOM14-61（配列番号530）、DOM14-62（配列番号531）、DOM14-63（配列番号532）、DOM14-64（配列番号533）、DOM14-65（配列番号534）、DOM14-66（配列番号535）、DOM14-67（配列番号536）、DOM14-70（配列番号539）、DOM14-68（配列番号537）、およびDOM14-69（配列番号538）からなる群から選択されるdAbのアミノ酸配列と、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91

%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0182】

好適な実施形態において、CD56に対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインは：DOM14-23（配列番号494）、DOM14-48（配列番号517）、DOM14-56（配列番号525）、DOM14-57（配列番号526）、DOM14-62（配列番号531）、DOM14-63（配列番号532）、DOM14-68（配列番号537）、およびDOM14-70（配列番号539）からなる群から選択される。いくつかの実施形態において、CD56に対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインは、本明細書に開示されるdAbのいずれかと、CD56に対する結合において競合する。

10

【0183】

CD56に対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインは、任意の好適な免疫グロブリン可変ドメインを含んでいてもよく、好ましくは、ヒト可変ドメインまたはヒトフレームワーク領域を含む可変ドメインを含む。特定の実施形態において、CD56に対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインは、本明細書に記載されるユニバーサルフレームワークを含む。

【0184】

特定の実施形態において、CD56に対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインは、上記のCD38に対して結合特異性を有する結合部位を含む本発明のポリペプチドドメインのように、凝集に抵抗し、可逆的にアンフォールドし、および/またはフレームワーク領域を含み、さらに分泌される。

20

【0185】

血清アルブミンに結合するdAb単量体を含むリガンド

本発明のリガンドは、血清アルブミン(SA)に1nM~500 μM(すなわち、 1×10^{-9} ~ 5×10^{-4})、好ましくは100nM~10 μMの K_d で結合するdAb単量体をさらに含み得る。好ましくは、抗血清アルブミンdAbを含むリガンドについて、その標的に対する本発明のリガンドの結合(例えば、表面プラズモン共鳴によって(例えばBiaCoreを用いて)測定した K_d および/または K_{off})は、血清アルブミン(SA)に対する結合より1~100000倍(好ましくは100~100000、さらに好ましくは1000~100000、または10000~100000倍)強い。好ましくは、上記の血清アルブミンはヒト血清アルブミン(HSA)である。1つの実施形態において、第1のdAb(すなわちdAb単量体)は、血清アルブミン(SA)(例えば、ヒト血清アルブミン(HSA))に、約50、好ましくは70、そしてさらに好ましくは100、150または200 nMの K_d で結合する。

30

【0186】

特定の実施形態において、血清アルブミン(SA)に結合する上記のdAb単量体は、上記のCD38に結合するdAb単量体のように、凝集に抵抗し、可逆的にアンフォールドし、および/またはフレームワーク領域を含む。

【0187】

特定の実施形態において、血清アルブミンに結合する抗体の抗原結合フラグメントは、ヒト血清アルブミンに結合するdAbである。特定の実施形態において、上記のdAbはヒト血清アルブミンに結合し：DOM7m-16（配列番号541）、DOM7m-12（配列番号542）、DOM7m-26（配列番号543）、DOM7r-1（配列番号544）、DOM7r-3（配列番号545）、DOM7r-4（配列番号546）、DOM7r-5（配列番号547）、DOM7r-7（配列番号548）、DOM7r-8（配列番号549）、DOM7h-2（配列番号550）、DOM7h-3（配列番号551）、DOM7h-4（配列番号552）、DOM7h-6（配列番号553）、DOM7h-1（配列番号555）、DOM7h-7（配列番号477）、DOM7h-8（配列番号564）、DOM7r-13（配列番号565）、DOM7r-14（配列番号566）、DOM7h-22（配列番号557）、DOM7h-23（配列番号558）、DOM7h-24（配列番号559）、DOM7h-25（配列番号560）、DOM7h-26（配列番号561）、DOM7h-21（配列番号562）、DOM7h-27（配列番号563）、DOM7r-15（配列番号567）、DOM7r-16（配列番号568）、DOM7r-17（配列番号569）、DOM7r-18（配列番号570）、DOM7r-19（配列

40

50

番号571)、DOM7r-20 (配列番号572)、DOM7r-21 (配列番号573)、DOM7r-22 (配列番号574)、DOM7r-23 (配列番号575)、DOM7r-24 (配列番号576)、DOM7r-25 (配列番号577)、DOM7r-26 (配列番号578)、DOM7r-27 (配列番号579)、DOM7r-28 (配列番号580)、DOM7r-29 (配列番号581)、DOM7r-30 (配列番号582)、DOM7r-31 (配列番号583)、DOM7r-32 (配列番号584)、およびDOM7r-33 (配列番号585)からなる群から選択されるdAbと、アルブミンに対する結合において競合する。

【0188】

特定の実施形態において、本発明のdAbはヒト血清アルブミンに結合し、且つ：DOM7m-16 (配列番号541)、DOM7m-12 (配列番号542)、DOM7m-26 (配列番号543)、DOM7r-1 (配列番号544)、DOM7r-3 (配列番号545)、DOM7r-4 (配列番号546)、DOM7r-5 (配列番号547)、DOM7r-7 (配列番号548)、DOM7r-8 (配列番号549)、DOM7h-2 (配列番号550)、DOM7h-3 (配列番号551)、DOM7h-4 (配列番号552)、DOM7h-6 (配列番号553)、DOM7h-1 (配列番号555)、DOM7h-7 (配列番号477)、DOM7h-8 (配列番号564)、DOM7r-13 (配列番号565)、DOM7r-14 (配列番号566)、DOM7h-22 (配列番号557)、DOM7h-23 (配列番号558)、DOM7h-24 (配列番号559)、DOM7h-25 (配列番号560)、DOM7h-26 (配列番号561)、DOM7h-21 (配列番号562)、DOM7h-27 (配列番号563)、DOM7r-15 (配列番号567)、DOM7r-16 (配列番号568)、DOM7r-17 (配列番号569)、DOM7r-18 (配列番号570)、DOM7r-19 (配列番号571)、DOM7r-20 (配列番号572)、DOM7r-21 (配列番号573)、DOM7r-22 (配列番号574)、DOM7r-23 (配列番号575)、DOM7r-24 (配列番号576)、DOM7r-25 (配列番号577)、DOM7r-26 (配列番号578)、DOM7r-27 (配列番号579)、DOM7r-28 (配列番号580)、DOM7r-29 (配列番号581)、DOM7r-30 (配列番号582)、DOM7r-31 (配列番号583)、DOM7r-32 (配列番号584)、およびDOM7r-33 (配列番号585)からなる群から選択されるdAbのアミノ酸配列と、少なくとも約80%、または少なくとも約85%、または少なくとも約90%、または少なくとも約95%、または少なくとも約96%、または少なくとも約97%、または少なくとも約98%、または少なくとも約99%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0189】

例えば、ヒト血清アルブミンに結合するdAbは、DOM7h-2 (配列番号550)、DOM7h-3 (配列番号551)、DOM7h-4 (配列番号552)、DOM7h-6 (配列番号553)、DOM7h-1 (配列番号554)、DOM7h-7 (配列番号555)、DOM7h-8 (配列番号564)、DOM7r-13 (配列番号565)、DOM7r-14 (配列番号566)、DOM7h-22 (配列番号557)、DOM7h-23 (配列番号558)、DOM7h-24 (配列番号559)、DOM7h-25 (配列番号560)、DOM7h-26 (配列番号561)、DOM7h-21 (配列番号562)、およびDOM7h-27 (配列番号563)と、少なくとも約90%、または少なくとも約95%、または少なくとも約96%、または少なくとも約97%、または少なくとも約98%、または少なくとも約99%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み得る。

【0190】

アミノ酸配列同一性は、好ましくは好適な配列アラインメントアルゴリズムおよび初期パラメータ、例えばBLAST P (KarlinおよびAltschul, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87(6):2264-2268 (1990))を用いて決定する。

【0191】

さらに特定の実施形態において、本発明のdAbは、ヒト血清アルブミンに結合し、且つDOM7h-2 (配列番号550)、DOM7h-3 (配列番号551)、DOM7h-4 (配列番号552)、DOM7h-6 (配列番号553)、DOM7h-1 (配列番号554)、DOM7h-7 (配列番号555)、DOM7h-8 (配列番号564)、DOM7r-13 (配列番号565)、およびDOM7r-14 (配列番号566)からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するV_KdAb、または：DOM7h-22 (配列番号557)、DOM7h-23 (配列番号558)、DOM7h-24 (配列番号559)、DOM7h-25 (配列番号560)、DOM7h-26 (配列番号561)、DOM7h-21 (配列番号562)、DOM7h-27 (配列番号563)からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するV_HdAbである。他の実施形態において、血清アルブミンに結合する抗体の抗原結合フラグメントは、ヒト血清アルブミンと結合し、且つ上のアミノ酸配列のいずれかのCDRを含むdAbである。

【0192】

血清アルブミンに結合する好適なラクダ化 V_{HH} としては、国際公開公報第2004/041862号 (Ablynx N.V.) および本明細書に開示される、配列A(配列番号586)、配列B(配列番号587)、配列C(配列番号588)、配列D(配列番号589)、配列E(配列番号590)、配列F(配列番号591)、配列G(配列番号592)、配列H(配列番号593)、配列I(配列番号594)、配列J(配列番号595)、配列K(配列番号596)、配列L(配列番号597)、配列M(配列番号598)、配列N(配列番号599)、配列O(配列番号600)、配列P(配列番号601)、配列Q(配列番号602)の V_{HH} が挙げられる。特定の実施形態において、上記のラクダ化 V_{HH} はヒト血清アルブミンに結合し、且つ配列番号586~602のいずれか1つと少なくとも約80%、または少なくとも約85%、または少なくとも約90%、または少なくとも約95%、または少なくとも約96%、または少なくとも約97%、または少なくとも約98%、または少なくとも約99%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。アミノ酸配列同一性は、好ましくは好適な配列アラインメントアルゴリズムおよび初期パラメータ、例えばBLAST P (KarlinおよびAltschul, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87(6):2264-2268 (1990))を用いて決定する。

10

【0193】

いくつかの実施形態において、本発明のリガンドは、本明細書に開示される抗血清アルブミンdAbのいずれかと、血清アルブミン(例えば、ヒト血清アルブミン)に対する結合において競合する抗血清アルブミンdAbを含む。

【0194】

核酸分子、ベクターおよび宿主細胞

本発明はまた、本明細書に記載されるリガンド(二重特異性リガンドおよび多重特異性リガンド)をコードする単離された核酸および/または組換え核酸の分子も提供する。

20

【0195】

特定の実施形態において、本発明の単離された核酸および/または組換え核酸は：DOM11-14 (配列番号242)、DOM11-22 (配列番号246)、DOM11-23 (配列番号247)、DOM11-25 (配列番号249)、DOM11-26 (配列番号250)、DOM11-27 (配列番号251)、DOM 11-29 (配列番号253)、DOM11-3 (配列番号234)、DOM11-30 (配列番号254)、DOM11-31 (配列番号255)、DOM11-32 (配列番号256)、DOM11-36 (配列番号260)、DOM11-4 (配列番号235)、DOM11-43 (配列番号266)、DOM11-44 (配列番号267)、DOM11-45 (配列番号268)、DOM11-5 (配列番号236)、DOM11-7 (配列番号238)、DOM11-1 (配列番号232)、DOM11-10 (配列番号241)、DOM11-16 (配列番号243)、DOM11-2 (配列番号233)、DOM11-20 (配列番号244)、DOM11-21 (配列番号245)、DOM11-24 (配列番号248)、DOM11-28 (配列番号252)、DOM11-33 (配列番号257)、DOM11-34 (配列番号258)、DOM11-35 (配列番号259)、DOM11-37 (配列番号261)、DOM11-38 (配列番号262)、DOM11-39 (配列番号293)、DOM11-41 (配列番号264)、DOM11-42 (配列番号265)、DOM11-6 (配列番号237)、DOM11-8 (配列番号239)、DOM11-9 (配列番号240)、DOM12-1 (配列番号306)、DOM12-15 (配列番号317)、DOM12-17 (配列番号318)、DOM12-19 (配列番号320)、DOM12-2 (配列番号307)、DOM12-20 (配列番号321)、DOM12-21 (配列番号322)、DOM12-22 (配列番号323)、DOM12-3 (配列番号308)、DOM12-33 (配列番号334)、DOM12-39 (配列番号340)、DOM12-4 (配列番号309)、DOM12-40 (配列番号341)、DOM12-41 (配列番号342)、DOM12-42 (配列番号343)、DOM12-44 (配列番号345)、DOM12-46 (配列番号347)、DOM12-6 (配列番号311)、DOM12-7 (配列番号312)、DOM12-10 (配列番号315)、DOM12-11 (配列番号316)、DOM12-18 (配列番号319)、DOM12-23 (配列番号324)、DOM12-24 (配列番号325)、DOM12-25 (配列番号326)、DOM12-26 (配列番号327)、DOM12-27 (配列番号328)、DOM12-28 (配列番号329)、DOM12-29 (配列番号330)、DOM12-30 (配列番号331)、DOM12-31 (配列番号332)、DOM12-32 (配列番号333)、DOM12-34 (配列番号335)、DOM12-35 (配列番号336)、DOM12-36 (配列番号337)、DOM12-37 (配列番号338)、DOM12-38 (配列番号339)、DOM12-43 (配列番号344)、DOM12-45 (配列番号346)、DOM12-5 (配列番号310)、DOM12-8 (配列番号313)、DOM12-9 (配列番号314)、DOM13-1 (配列番号385)、DOM13-12 (配列番号393)、DOM13-13 (配列番号394)、DOM13-14 (配列番号395)、DOM13-15 (配列番号396)、DOM13-16 (配列番号397)、DOM13-17 (配列番号398)、DOM13-18 (配列番号399)、DOM13-19 (配列番号400)、DOM13-2 (配列番号386)、DOM13-20 (配列番号401)、DOM13-21 (配列番号4

30

40

50

02)、DOM13-22 (配列番号403)、DOM13-23 (配列番号404)、DOM13-24 (配列番号3405)、DOM13-25 (配列番号406)、DOM13-26 (配列番号407)、DOM13-27 (配列番号408)、DOM13-28 (配列番号409)、DOM13-29 (配列番号410)、DOM13-3 (配列番号387)、DOM13-30 (配列番号411)、DOM13-31 (配列番号412)、DOM13-32 (配列番号413)、DOM13-33 (配列番号414)、DOM13-34 (配列番号415)、DOM13-35 (配列番号416)、DOM13-36 (配列番号417)、DOM13-37 (配列番号418)、DOM13-4 (配列番号388)、DOM13-42 (配列番号419)、DOM13-43 (配列番号420)、DOM13-44 (配列番号421)、DOM13-45 (配列番号422)、DOM13-46 (配列番号423)、DOM13-47 (配列番号424)、DOM13-48 (配列番号425)、DOM13-49 (配列番号426)、DOM13-5 (配列番号389)、DOM13-50 (配列番号427)、DOM13-51 (配列番号428)、DOM13-52 (配列番号429)、DOM13-53 (配列番号430)、DOM13-54 (配列番号431)、DOM13-55 (配列番号432)、DOM13-56 (配列番号433)、DOM13-57 (配列番号434)、DOM13-58 (配列番号435)、DOM13-59 (配列番号436)、DOM13-6 (配列番号390)、DOM13-60 (配列番号437)、DOM13-61 (配列番号438)、DOM13-62 (配列番号439)、DOM13-63 (配列番号440)、DOM13-64 (配列番号441)、DOM13-65 (配列番号442)、DOM13-66 (配列番号443)、DOM13-67 (配列番号444)、DOM13-68 (配列番号445)、DOM13-69 (配列番号446)、DOM13-7 (配列番号391)、DOM13-70 (配列番号447)、DOM13-71 (配列番号448)、DOM13-72 (配列番号449)、DOM13-73 (配列番号450)、DOM13-74 (配列番号451)、DOM13-75 (配列番号452)、DOM13-76 (配列番号453)、DOM13-77 (配列番号454)、DOM13-78 (配列番号455)、DOM13-79 (配列番号456)、DOM13-8 (配列番号392)、DOM13-80 (配列番号457)、DOM13-81 (配列番号458)、DOM13-82 (配列番号459)、DOM13-83 (配列番号460)、DOM13-84 (配列番号461)、DOM13-85 (配列番号462)、DOM13-86 (配列番号463)、DOM13-87 (配列番号464)、DOM13-88 (配列番号465)、DOM13-89 (配列番号466)、DOM13-90 (配列番号467)、DOM13-91 (配列番号468)、DOM13-92 (配列番号469)、DOM13-93 (配列番号470)、DOM13-94 (配列番号471)、DOM13-95 (配列番号472)、DOM14-1 (配列番号477)、DOM14-10 (配列番号481)、DOM14-100 (配列番号540)、DOM14-11 (配列番号482)、DOM14-12 (配列番号483)、DOM14-13 (配列番号484)、DOM14-14 (配列番号485)、DOM14-15 (配列番号486)、DOM14-16 (配列番号487)、DOM14-17 (配列番号488)、DOM14-18 (配列番号489)、DOM14-19 (配列番号490)、DOM14-2 (配列番号478)、DOM14-20 (配列番号491)、DOM14-21 (配列番号492)、DOM14-22 (配列番号493)、DOM14-23 (配列番号494)、DOM14-24 (配列番号495)、DOM14-25 (配列番号496)、DOM14-26 (配列番号497)、DOM14-27 (配列番号498)、DOM14-28 (配列番号499)、DOM14-3 (配列番号479)、DOM14-31 (配列番号500)、DOM14-32 (配列番号501)、DOM14-33 (配列番号502)、DOM14-34 (配列番号503)、DOM14-35 (配列番号504)、DOM14-36 (配列番号505)、DOM14-37 (配列番号506)、DOM14-38 (配列番号507)、DOM14-39 (配列番号508)、DOM14-4 (配列番号480)、DOM14-40 (配列番号509)、DOM14-41 (配列番号510)、DOM14-42 (配列番号511)、DOM14-43 (配列番号512)、DOM14-44 (配列番号513)、DOM14-45 (配列番号514)、DOM14-46 (配列番号515)、DOM14-47 (配列番号516)、DOM14-48 (配列番号517)、DOM14-49 (配列番号518)、DOM14-50 (配列番号519)、DOM14-51 (配列番号520)、DOM14-52 (配列番号521)、DOM14-53 (配列番号522)、DOM14-54 (配列番号523)、DOM14-55 (配列番号524)、DOM14-56 (配列番号525)、DOM14-57 (配列番号526)、DOM14-58 (配列番号527)、DOM14-59 (配列番号528)、DOM14-60 (配列番号529)、DOM14-61 (配列番号530)、DOM14-62 (配列番号531)、DOM14-63 (配列番号532)、DOM14-64 (配列番号533)、DOM14-65 (配列番号534)、DOM14-66 (配列番号535)、DOM14-67 (配列番号536)、DOM14-70 (配列番号539)、DOM14-68 (配列番号537)、およびDOM14-69 (配列番号538)からなる群から選択されるアミノ酸配列と、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%相同なアミノ酸配列を含む、本明細書に記載されるリガンドをコードするヌクレオチド配列を含む。

【0196】

特定の実施形態において、本発明の単離された核酸および/または組換え核酸は、本明細書に記載されるリガンドをコードするヌクレオチド配列を含み、ここで上記のヌクレオ

10

20

30

40

50

チド配列は：DOM11-14 (配列番号10)、DOM11-22 (配列番号11)、DOM11-23 (配列番号3)、DOM11-25 (配列番号12)、DOM11-26 (配列番号13)、DOM11-27 (配列番号14)、DOM 11-29 (配列番号15)、DOM11-3 (配列番号1)、DOM11-30 (配列番号2)、DOM11-31 (配列番号16)、DOM 11-32 (配列番号7)、DOM11-36 (配列番号17)、DOM11-4 (配列番号18)、DOM11-43 (配列番号19)、DOM11-44 (配列番号20)、DOM11-45 (配列番号21)、DOM11-5 (配列番号22)、DOM11-7 (配列番号4)、DOM11-1 (配列番号23)、DOM11-10 (配列番号24)、DOM11-16 (配列番号25)、DOM 11-2 (配列番号26)、DOM11-20 (配列番号27)、DOM11-21 (配列番号28)、DOM11-24 (配列番号9)、DOM11-28 (配列番号29)、DOM11-33 (配列番号30)、DOM11-34 (配列番号31)、DOM 11-35 (配列番号32)、DOM11-37 (配列番号8)、DOM11-38 (配列番号5)、DOM11-39 (配列番号6)、DOM11-41 (配列番号33)、DOM11-42 (配列番号34)、DOM11-6 (配列番号35)、DOM11-8 (配列番号36)、DOM11-9 (配列番号37)、DOM12-1 (配列番号41)、DOM12-15 (配列番号42)、DOM12-17 (配列番号39)、DOM12-19 (配列番号43)、DOM12-2 (配列番号44)、DOM12-20 (配列番号45)、DOM12-21 (配列番号46)、DOM12-22 (配列番号47)、DOM12-3 (配列番号48)、DOM12-33 (配列番号49)、DOM12-39 (配列番号50)、DOM12-4 (配列番号51)、DOM12-40 (配列番号52)、DOM12-41 (配列番号53)、DOM12-42 (配列番号54)、DOM12-44 (配列番号55)、DOM12-46 (配列番号56)、DOM12-6 (配列番号57)、DOM12-7 (配列番号58)、DOM12-10 (配列番号59)、DOM12-11 (配列番号60)、DOM12-18 (配列番号61)、DOM12-23 (配列番号62)、DOM12-24 (配列番号63)、DOM12-25 (配列番号64)、DOM12-26 (配列番号40)、DOM12-27 (配列番号65)、DOM12-28 (配列番号66)、DOM12-29 (配列番号67)、DOM12-30 (配列番号68)、DOM12-31 (配列番号69)、DOM12-32 (配列番号70)、DOM12-34 (配列番号71)、DOM 12-35 (配列番号72)、DOM12-36 (配列番号73)、DOM12-37 (配列番号74)、DOM12-38 (配列番号75)、DOM12-43 (配列番号76)、DOM12-45 (配列番号38)、DOM12-5 (配列番号77)、DOM12-8 (配列番号78)、DOM12-9 (配列番号79)、DOM13-1 (配列番号89)、DOM13-12 (配列番号90)、DOM13-13 (配列番号91)、DOM13-14 (配列番号92)、DOM13-15 (配列番号93)、DOM 13-16 (配列番号94)、DOM13-17 (配列番号95)、DOM13-18 (配列番号96)、DOM13-19 (配列番号97)、DOM13-2 (配列番号98)、DOM13-20 (配列番号99)、DOM13-21 (配列番号100)、DOM13-22 (配列番号101)、DOM13-23 (配列番号102)、DOM13-24 (配列番号103)、DOM13-25 (配列番号80)、DOM13-26 (配列番号104)、DOM13-27 (配列番号105)、DOM13-28 (配列番号106)、DOM13-29 (配列番号104)、DOM13-3 (配列番号108)、DOM13-30 (配列番号109)、DOM 13-31 (配列番号110)、DOM13-32 (配列番号111)、DOM13-33 (配列番号112)、DOM 13-34 (配列番号113)、DOM13-35 (配列番号114)、DOM13-36 (配列番号115)、DOM13-37 (配列番号116)、DOM13-4 (配列番号117)、DOM13-42 (配列番号118)、DOM13-43 (配列番号119)、DOM 13-44 (配列番号120)、DOM13-45 (配列番号121)、DOM13-46 (配列番号122)、DOM13-47 (配列番号123)、DOM13-48 (配列番号124)、DOM13-49 (配列番号125)、DOM13-5 (配列番号126)、DOM13-50 (配列番号127)、DOM13-51 (配列番号128)、DOM13-52 (配列番号129)、DOM 13-53 (配列番号130)、DOM13-54 (配列番号131)、DOM13-55 (配列番号132)、DOM13-56 (配列番号133)、DOM13-57 (配列番号81)、DOM13-58 (配列番号82)、DOM13-59 (配列番号83)、DOM13-6 (配列番号134)、DOM13-60 (配列番号135)、DOM13-61 (配列番号136)、DOM13-62 (配列番号137)、DOM13-63 (配列番号138)、DOM13-64 (配列番号84)、DOM13-65 (配列番号85)、DOM13-66 (配列番号139)、DOM13-67 (配列番号140)、DOM13-68 (配列番号141)、DOM13-69 (配列番号142)、DOM13-7 (配列番号143)、DOM13-70 (配列番号144)、DOM13-71 (配列番号145)、DOM13-72 (配列番号146)、DOM13-73 (配列番号147)、DOM13-74 (配列番号86)、DOM13-75 (配列番号148)、DOM13-76 (配列番号149)、DOM13-77 (配列番号150)、DOM13-78 (配列番号151)、DOM13-79 (配列番号152)、DOM13-8 (配列番号153)、DOM13-80 (配列番号154)、DOM13-81 (配列番号155)、DOM13-82 (配列番号156)、DOM13-83 (配列番号157)、DOM13-84 (配列番号158)、DOM13-85 (配列番号159)、DOM13-86 (配列番号160)、DOM13-87 (配列番号161)、DOM13-88 (配列番号162)、DOM13-89 (配列番号163)、DOM13-90 (配列番号164)、DOM13-91 (配列番号165)、DOM13-92 (配列番号166)、DOM13-93 (配列番号87)、DOM13-94 (配列番号167)、DOM13-95 (配列番号88)、DOM14-1 (配列番号176)、DOM 14-10 (配列番号177)、DOM14-100 (配列番号178)、DOM14-11 (配列番号179)、DOM14-12

(配列番号180)、DOM14-13 (配列番号181)、DOM14-14 (配列番号182)、DOM14-15 (配列番号183)、DOM14-16 (配列番号184)、DOM14-17 (配列番号185)、DOM14-18 (配列番号186)、DOM14-19 (配列番号187)、DOM14-2 (配列番号188)、DOM14-20 (配列番号189)、DOM14-21 (配列番号190)、DOM14-22 (配列番号191)、DOM14-23 (配列番号168)、DOM14-24 (配列番号192)、DOM14-25 (配列番号193)、DOM14-26 (配列番号194)、DOM14-27 (配列番号195)、DOM14-28 (配列番号196)、DOM14-3 (配列番号197)、DOM14-31 (配列番号198)、DOM14-32 (配列番号199)、DOM14-33 (配列番号200)、DOM14-34 (配列番号201)、DOM14-35 (配列番号202)、DOM14-36 (配列番号203)、DOM14-37 (配列番号204)、DOM14-38 (配列番号205)、DOM14-39 (配列番号206)、DOM14-4 (配列番号207)、DOM14-40 (配列番号208)、DOM14-41 (配列番号209)、DOM14-42 (配列番号210)、DOM14-43 (配列番号211)、DOM14-44 (配列番号212)、DOM14-45 (配列番号213)、DOM14-46 (配列番号214)、DOM14-47 (配列番号215)、DOM14-48 (配列番号169)、DOM14-49 (配列番号216)、DOM14-50 (配列番号217)、DOM14-51 (配列番号218)、DOM14-52 (配列番号219)、DOM14-53 (配列番号220)、DOM14-54 (配列番号221)、DOM14-55 (配列番号222)、DOM14-56 (配列番号170)、DOM14-57 (配列番号171)、DOM14-58 (配列番号223)、DOM14-59 (配列番号224)、DOM14-60 (配列番号225)、DOM14-61 (配列番号226)、DOM14-62 (配列番号172)、DOM14-63 (配列番号173)、DOM14-64 (配列番号227)、DOM14-65 (配列番号228)、DOM14-66 (配列番号229)、DOM14-67 (配列番号230)、DOM14-70 (配列番号175)、DOM14-68 (配列番号174)、およびDOM14-69 (配列番号231)からなる群から選択されるヌクレオチド配列と、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%のヌクレオチド配列同一性を有する。

【0197】

本発明はまた、本発明の組換え核酸分子を含むベクターも提供する。特定の実施形態において、ベクターは、本発明の組換え核酸に機能しうる形で連結された一個または複数の発現制御要素または配列を含む発現ベクターである。本発明はまた、本発明の組換え核酸分子またはベクターを含む組換え宿主細胞も提供する。好適なベクター（例えば、プラスミド、ファージミド）、発現制御要素、宿主細胞、および本発明の組換え宿主細胞を製造する方法は、当技術分野で周知であり、例をさらに本明細書に記載する。

【0198】

好適な発現ベクターには、いくつかの成分、例えば、複製起点、選択マーカー遺伝子、一個または複数の発現制御要素、例えば、転写制御要素（例えば、プロモーター、エンハンサー、ターミネーター）、および／または一個または複数の翻訳シグナル、シグナル配列、またはリーダー配列などを含めることができる。発現制御要素、およびもしも存在するならばシグナル配列は、ベクターまたは他の供給源によって提供され得る。例えば、抗体鎖をコードするクローン化した核酸の転写および／または翻訳制御配列は、直接発現用を使用することができる。

【0199】

所望の宿主細胞中で発現させるためにプロモーターを提供することができる。プロモーターは、構成的であり、または誘導的でありうる。例えば、プロモーターは、核酸の転写を導くように、抗体、抗体鎖、またはその一部分をコードする核酸に機能しうる形で連結することができる。種々の好適なプロモーターが、原核生物宿主（例えば、大腸菌用のlac、tac、T3、T7プロモーター）および真核生物宿主（例えば、サルウイルス40初期または後期プロモーター、ラウス肉腫ウイルス末端反復配列プロモーター、サイトメガロウイルスプロモーター、アデノウイルス後期プロモーター）用に入手可能である。

【0200】

さらに、典型的には、発現ベクターは、ベクターを有する宿主細胞を選択するための選択マーカーを含み、複製可能な発現ベクターの場合には複製起点も含む。抗生物質抵抗性または薬物抵抗性を付与する産生物をコードする遺伝子が一般的な選択マーカーであり、原核生物（例えば、ラクタマーゼ遺伝子（アンピシリン抵抗性）、テトラサイクリン抵抗

性にはT e t 遺伝子) および真核生物細胞 (例えば、ネオマイシン (G 4 1 8 またはジェネテシン)、g p t (マイコフェノール酸)、アンピシリン、またはハイグロマイシン抵抗性遺伝子) に使用しうる。ジヒドロ葉酸還元酵素マーカー遺伝子によって、様々な宿主で、メトトレキサートによる選択が可能になる。宿主の栄養要求性マーカー (例えば、L E U 2、U R A 3、H I S 3) の遺伝子産物をコードする遺伝子は、酵母で選択マーカーとして使用されることが多い。ウイルスベクター (例えば、バキュロウイルス) またはファージベクター、およびレトロウイルスベクターなど、宿主細胞のゲノム中に組み込むことができるベクターの使用も企図される。哺乳動物細胞および原核細胞 (大腸菌)、昆虫細胞 (ドロソフィラ・スクニエデル (*Drosophila Schnieder*) S 2 細胞、S f 9) および酵母 (P. メタノリカ (*P. methanolica*)、P. パストリス、出芽酵母 (*S. cerevisiae*)) での発現に好適な発現ベクターは当技術分野で周知である。

10

【0201】

好適な宿主細胞は、細菌細胞、例えば、大腸菌、枯草菌および／または他の好適な細菌を含む原核細胞；真核細胞、例えば、真菌細胞または酵母細胞 (例えば、ピキア・パストリス (*Pichia pastoris*)、アスペルギルス (*Aspergillus*) 属、サッカロミセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*)、スキゾサッカロミセス・ポムベ (*Schizosaccharomyces pombe*)、アカパンカビ (*Neurospora crassa*))、または他の低級真核細胞および高級真核生物細胞、例えば、昆虫 (例えば、ドロソフィラ・スクニエデル S 2 細胞、S f 9 昆虫細胞 (国際公開公報第 9 4 / 2 6 0 8 7 号 (0' Connor))、哺乳動物 (例えば、C O S 細胞、例えば、C O S - 1 (A T T C 受託番号 C R L - 1 6 5 0) および C O S - 7 (A T T C 受託番号 C R L - 1 6 5 1)、C H O {例えば、A T T C 受託番号 C R L - 9 0 9 6、C H O D G 4 4 (Urlaub, G. および Chasin, LA., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77(7):4216-4220 (1980))、2 9 3 (A T T C 受託番号 C R L - 1 5 7 3)、H e L a (A T T C 受託番号 C C L - 2)、C V 1 (A T T C 受託番号 C C L - 7 0)、W O P (Dailey, L. ら, J. Virol., 54:739-749 (1985、3 T 3、2 9 3 T (Pear, W. S. ら, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 90:8392-8396 (1993))、N S 0 細胞、S P 2 / 0、H u T 7 8 細胞など)、あるいは植物 (例えば、タバコ) に由来する細胞でありうる。(例えば、Ausubel, F.M. ら編. Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Associates and John Wiley & Sons Inc. (1993)を参照されたい)。いくつかの実施形態では、宿主細胞は、単離された宿主細胞であり、多細胞生物 (例えば、植物または動物) の一部ではない。好ましい実施形態では、宿主細胞は非ヒト宿主細胞である。

20

30

【0202】

本発明はまた、本発明のリガンド (例えば、二重特異性リガンド、多重特異性リガンド) を産生する方法であって、本発明の組換え核酸を含む組換え宿主細胞をその組換え核酸の発現に適切な条件下で維持し、それによって組換え核酸が発現しリガンドが産生されるステップを含む上記方法も提供する。いくつかの実施形態では、本方法は、前記リガンドを単離するステップをさらに含む。

【0203】

免疫グロブリンをベースとするリガンドの調製

本発明によるリガンド (例えば、二重特異性リガンド、多重特異性リガンド) は、s c F v、「ファージ」抗体、および他の設計された抗体分子を調製するために、抗体工学の分野で使用される、既に確立された技術に従って調製することができる。抗体を調製する技術は、例えば、以下の概説およびその概説中で引用されている参考文献に記載されている: Winter & Milstein, (1991) Nature 349:293-299; Pluckthun (1992) Immunological Reviews 13 0:151-188; Wright ら, (1992) Crit. Rev. Immunol. 12:125-168; Holliger, P. & Winter, G. (1993) Curr. Opin. Biotechnol. 4, 446-449; Carter ら, (1995) J. Hematother. 4, 463-470; Chester, K.A. & Hawkins, R.E. (1995) Trends Biotechnol. 13, 294-300; Hoogenboom, H.R. (1997) Nat. Biotechnol. 15, 125-126; Fearon, D. (1997) Nat. Biotechnol. 15, 618-619; Pluckthun, A. & Pack, P. (1997) Immunotechnology 3, 83-105; Carter, P. & Merchant, A.M. (1997) Curr. Opin. Biotechnol. 8, 449-45

40

50

4; Holliger, P. & Winter, G. (1997) 癌 Immunol. Immunother. 45,128-130。

【0204】

所望の特異性を有する抗体可変ドメインの選択に用いられる好適な技術には、当技術分野で公知のライブラリーおよび選択手順が使用される。ヒトB細胞から収集した、再構成されたV遺伝子を使用する天然ライブラリー (Marksら, (1991) J. Mol. Biol., 222: 581; Vaughanら, (1996) Nature Biotech., 14: 309) が、当業者によく知られている。合成ライブラリー (Hoogenboom & Winter (1992) J. Mol. Biol., 227: 381; Barbasら, (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89: 4457; Nissimら, (1994) EMBO J., 13: 692; Griffithsら, (1994) EMBO J., 13: 3245; De Kruifら, (1995) J. Mol. Biol., 248: 97) は、通常はPCRを使用して、免疫グロブリンV遺伝子をクローニングすることによって調製される。PCR過程中的エラーは、高度のランダム化をもたらしかねない。V_Hおよび/またはV_Lライブラリーは、標的抗原またはエピトープに対して別々に選択することが可能であり、その場合、単一ドメイン結合は、そのために直接、または一緒になって選択される。

【0205】

ライブラリーベクター系

本発明における使用に好適な様々な選択系が、当技術分野で公知である。このような系の例を以下に記載する。

【0206】

バクテリオファージλ発現系は、バクテリオファージプラークまたは溶原菌のコロニーとして直接スクリーニングすることができる。どちらも、先に記載されており (Huseら, (1989) Science, 246: 1275; CatonおよびKoprowski (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 87; Mullinaxら, (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 87: 8095; Perssonら, (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 88: 2432)、本発明において役立つ。このような発現系は、ライブラリーの10⁶個までの異なるメンバーをスクリーニングすることには使用できるが、実際には、大きい数(10⁶個を超えるメンバー)のスクリーニングには適さない。ライブラリー構築における特定の用途は、核酸が、それが発現するポリペプチドに連結できるようにする選択ディスプレイ系である。本明細書で用いられる選択ディスプレイ系は、適切なディスプレイ手段により、一般のものおよび/または標的に結合することによってライブラリーの個々のメンバーを選択できるようにする系である。

【0207】

大型ライブラリーから所望のメンバーを単離するための選択プロトコルは、ファージディスプレイ技術に代表されるように、当技術分野で公知である。線維状バクテリオファージの表面に多様なペプチド配列を提示させるこのような系 (Scott および Smith (1990) Science, 249: 386) は、標的抗原に結合する特異的抗体フラグメントをin vitroで選択し増幅するための抗体フラグメント(および、それらをコードするヌクレオチド配列)のライブラリーを作出するのに有用であることが証明されている (McCaffertyら、国際公開公報第92/01047号)。可変領域をコードするヌクレオチド配列は、リーダーシグナルをコードする遺伝子フラグメントに連結され、そのリーダーシグナルは、それらのヌクレオチド配列を大腸菌の細胞膜周辺腔に導き、その結果、生じた抗体フラグメントが、バクテリオファージの表面に、典型的には、バクテリオファージコートタンパク質(例えば、pIIIまたはpVII)との融合体として提示される。あるいは、抗体フラグメントは、λファージカプシド(ファージボディ)の外部に提示される。ファージをベースにしたディスプレイ系の利点は、これらが生物系であるため、選択したライブラリーメンバーを含むファージを細菌細胞中で増殖させるだけで、選択したライブラリーメンバーを増幅することができるということである。さらに、ポリペプチドライブラリーのメンバーをコードするヌクレオチド配列は、ファージまたはファージミドベクター上に含まれているので、配列決定、発現、およびそれに続く遺伝子操作が比較的容易である。

【0208】

バクテリオファージ抗体ディスプレイライブラリーおよびλファージ発現ライブラリー

の構築方法は、当技術分野で周知である (McCaffertyら, (1990) Nature, 348: 552; Kangら, (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 88: 4363; Clacksonら, (1991) Nature, 352: 624; Lowmanら, (1991) Biochemistry, 30: 10832; Burtonら, (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 88: 10134; Hoogenboomら, (1991) Nucleic Acids Res., 19: 4133; Changら, (1991) J. Immunol., 147: 3610; Breitlingら, (1991) Gene, 104: 147; Marksら, (1991) 上記; Barbasら, (1992) 上記; Hawkins and Winter (1992) J. Immunol., 22: 867; Marksら, 1992, J. Biol. Chem., 267: 16007; Lernerら, (1992) Science, 258: 1313、参照により本明細書に組み込む)。

【0209】

特に有利な手法は、s c F v ファージライブラリーの使用であった (Hustonら, 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 85: 5879-5883; Chaudharyら, (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 87: 1066-1070; McCaffertyら, (1990) 上記; Clacksonら, (1991) Nature, 352: 624; Marksら, (1991) J. Mol. Biol., 222: 581; Chiswellら, (1992) Trends Biotechnol., 10: 80; Marksら, (1992) J. Biol. Chem., 267)。バクテリオファージコートタンパク質上に提示される s c F v ライブラリーの様々な実施形態が記載されている。ファージディスプレイ手法の改良点も知られており、例えば、国際公開公報第 96/06213 号および同第 92/01047 号 (Medical Research Councilら) および同第 97/08320 号 (Morphosys) に記載されている。これらを参照により本明細書に組み込む。

【0210】

ポリペプチドライブラリーを生成するための他のシステムには、ライブラリーメンバーを *in vitro* 合成するための無細胞酵素機構の使用が含まれる。1つの方法においては、RNA 分子は、標的に対する選択と PCR 増幅の交互ラウンドによって選択される (Tuerk and Gold (1990) Science, 249: 505; Ellington and Szostak (1990) Nature, 346: 818)。所定のヒト転写因子に結合する DNA 配列を同定するために、類似の技術も使用し得る (Thiesen and Bach (1990) Nucleic Acids Res., 18: 3203; Beaudry and Joyce (1992) Science, 257: 635; 国際公開公報第 92/05258 号および同第 92/14843 号)。同様に、大型ライブラリーを生成する方法として、*in vitro* 翻訳を使用しポリペプチドを合成することができる。通常は安定化させたポリソーム複合体を含むこれらの方法は、国際公開公報第 88/08453 号、同第 90/05785 号、同第 90/07003 号、同第 91/02076 号、同第 91/05058 号、および同第 92/02536 号に詳述されている。ファージをベースとしない代替のディスプレイ系、例えば、国際公開公報第 95/22625 号および同第 95/11922 号 (Affymax) に開示されているディスプレイ系などは、ポリソームを使用して選択用ポリペプチドを提示させる。

【0211】

さらに別の技術カテゴリーは、遺伝子とその遺伝子産物との連結を可能にする人工コンパートメントでのレパートリーの選択を含む。例えば、油中水型エマルジョンにより形成されたマイクロカプセル中で望ましい遺伝子産物をコードする核酸を選択できる選択系は、国際公開公報第 99/02671 号、同第 00/40712 号および Tawfik & Griffiths (1998) Nature Biotechnol 16(7), 652-6 に記載されている。所望の活性を有する遺伝子産物をコードする遺伝因子をマイクロカプセル中にコンパートメント化し、次いで転写および/または翻訳して、それらのそれぞれの遺伝子産物 (RNA またはタンパク質) をマイクロカプセル中に産生させる。続いて、所望の活性を有する遺伝子産物を産生する遺伝因子を選別する。様々な手段により所望の活性を検出することにより、この手法によって目的の遺伝子産物を選択する。

【0212】

ライブラリーの構築

選択用のライブラリーは、上記の技術など、当技術分野で公知の技術を用いて構築し、または市販業者から購入することができる。本発明で有用なライブラリーは、例えば、国際公開公報第 99/20749 号に記載されている。ベクター系を選択し、目的のポリペ

プチドをコードする一つまたは複数の核酸配列をライブラリーベクター中にクローン化したならば、発現の前に変異誘発を行うことによって、クローン化した分子内で多様なポリペプチドを産生することができ、あるいは上記のように、変異誘発、そして追加の選択ラウンドを実施する前に、コードされたタンパク質を発現させ、選択することができる。構造的に最適化したポリペプチドをコードする核酸配列の変異誘発は、標準的分子法によって実施する。特に役立つのは、ポリメラーゼ連鎖反応、すなわちPCR (MullisおよびFaloona (1987) *Methods Enzymol.*, 155: 335、参照により本明細書に組み込む) である。熱安定性DNA依存性DNAポリメラーゼが触媒する複数サイクルのDNAの複製を使用して目的の標的配列を増幅するPCRは、当技術分野で周知である。様々な抗体ライブラリーの構築が、Winterら, (1994) *Ann. Rev. Immunology* 12, 433-55、およびその中で引用された参考文献に記載されている。

10

【0213】

PCRは、鋳型DNA (少なくとも1 fg、より有用には1~1000 ng)、および少なくとも25 pmolのオリゴヌクレオチドプライマーを用いて実施する。プライマープールが、極めて異種であるときは、大量のプライマーを使用するのが有利であろう。各配列は、プール分子のほんの小さな画分によって表され、量が後の増幅サイクルを制限するようになるからである。典型的な反応混合物には、DNA 2 μ l、オリゴヌクレオチドプライマー25 pmol、10 $\times$ PCR緩衝液1 (Perkin-Elmer, Foster City, CA) 2.5 μ l、1.25 μ M dNTP 0.4 μ l、Taq DNAポリメラーゼ (Perkin Elmer, Foster City, CA) 0.15 μ l (または2.5単位)、および全量を25 μ lとする脱イオン水が含まれる。鉱油で被覆し、プログラム可能なサーマルサイクラーを使用し、PCRを実施する。PCRサイクルの各ステップの時間の長さおよび温度、ならびにサイクル数は、実際のストリンジェンシー要件に従って調整される。アニーリング温度およびタイミングはどちらも、プライマーが鋳型にアニールされると期待され、かつミスマッチの程度が許容される効率によって決定する。明らかに、核酸分子を同時に増幅して変異誘発した場合、少なくとも合成の第一のラウンドでミスマッチが必要である。プライマーのアニーリング条件のストリンジェンシーを最適化する能力は、当技術分野の通常の技術を有する者の知識の十分に範囲内にある。30 $^{\circ}$ C~72 $^{\circ}$ Cのアニーリング温度が使用される。鋳型分子の初期変性は、通常、92 $^{\circ}$ C~99 $^{\circ}$ Cで4分間行い、続いて、変性 (94~99 $^{\circ}$ Cで15秒~1分間)、アニーリング (上述したように決定した温度、1~2分間)、および延長 (72 $^{\circ}$ Cで1~5分、増幅産生物の長さによる) からなるサイクルを20~40回行う。最終延長は、通常は72 $^{\circ}$ Cで4分間であり、4 $^{\circ}$ Cでの不定 (0~24時間) ステップが続くであろう。

20

30

【0214】

単一可変ドメインの組合せ

本発明で有用なドメインは、一度選択したならば、共有結合法および非共有結合法を含む、当技術分野で公知の様々な方法によって組み合わせることができる。好ましい方法は、例えば、scFv分子に関連して記載されているように (Birdら, (1988) *Science* 242:423-426)、ポリペプチドリンカーの使用を含む。好適なリンカーの考察は、Birdら, *Science* 242, 423-426; Hudsonら, *Journal Immunol Methods* 231 (1999) 177-189; Hudsonら, *Proc Nat Acad Sci USA* 85, 5879-5883に提供されている。リンカーは、2個の単一ドメインの相互作用を可能にするように、柔軟であることが好ましい。リンカーの一例は、(Gly₄ Ser)_n (式中、n=1~8、例えば、2、3、4、5または7) リンカーである。ディアボディに使用される、柔軟性が低いリンカーも使用することができる (Holligerら, (1993) *Proc Nat Acad Sci USA* 90:6444-6448)。1つの実施形態において、使用するリンカーは、免疫グロブリンヒンジ領域ではない。

40

【0215】

可変ドメインは、リンカー以外の方法を使用して組み合わせることもできる。例えば、天然のまたは設計されたシステイン残基を通じて得られるジスルフィド橋の使用を、V_H-V_H、V_L-V_L、またはV_H-V_L二量体を安定化させるために利用することができ

50

(Reiterら, (1994) タンパク質 Eng. 7:697-704)、または可変ドメイン間の界面をリモデリングして、「適合」を高め、それによって相互作用の安定性を高めることによって、二量体を安定化させることもできる (Ridgewayら, (1996) タンパク質 Eng. 7:617-621; Zhuら, (1997) タンパク質 Science 6:781-788)。免疫グロブリンの可変ドメイン、特に抗体 V_H ドメインを連結し、または安定させる他の技術も適宜利用できる。

【0216】

リガンドの特徴づけ

二重特異性リガンドの細胞への結合、または各結合ドメインの各特異的標的への結合は、当業者によく知られた方法 (例えば E L I S A) によって試験することができる。本発明の好ましい実施形態では、結合は、モノクローナルファージ E L I S A を使用して試験される。ファージ E L I S A は、任意の好適な手順に従って実施することができる。例示的なプロトコルを以下に記載する。

【0217】

各選択ラウンドで産生されたファージ集団と、選択した抗原またはエピトープとの結合を E L I S A によってスクリーニングし、「ポリクローナル」ファージ抗体を同定することができる。次いで、これらの集団の単一の感染細菌コロニーから得たファージを E L I S A によってスクリーニングし、「モノクローナル」ファージ抗体を同定することができる。可溶性抗体フラグメントと、抗原またはエピトープとの結合をスクリーニングするのも望ましく、これも、例えば、C 末端または N 末端タグに対する試薬を使用して、E L I S A によって行うことができる (例えば、Winterら, (1994) Ann. Rev. Immunology 12, 433-55 およびその中で引用された参考文献を参照)。

【0218】

選択したファージモノクローナル抗体の多様性は、P C R 産生物のゲル電気泳動によって (Marksら, 1991、上記; Nissimら, 1994、上記)、プローブによって (Tomlinsonら, 1992) J. Mol. Biol. 227, 776)、またはベクター D N A の配列決定によって評価することもできる。

【0219】

リガンドの構造

各可変ドメインを、例えば、本明細書に記載したようにファージディスプレイ技術を用いて V 遺伝子レポーターから選択した場合、これらの可変ドメインは、ユニバーサルフレームワーク領域を含み、その結果、本明細書に定義した特定の一般的な二重特異性リガンドは可変ドメインを認識できるようになる。ユニバーサルフレームワーク、一般的リガンドなどの使用は、国際公開公報第 99/20749 号に記載されている。

【0220】

V 遺伝子レポーターを使用した場合、ポリペプチド配列の変異は、可変ドメインの構造的ループ内に位置するのが好ましい。各可変ドメインとその相補対との相互作用を増強するために、片方の可変ドメインのポリペプチド配列を、D N A シャッフリングまたは変異によって変化させてもよい。D N A シャッフリングは、当技術分野で公知であり、例えば、Stemmer, 1994, Nature 370: 389-391 および米国特許第 6, 297, 053 号に教示されている。それらの両方を参照により本明細書に組み込む。変異誘発の他の方法は当業者に周知である。

【0221】

一般に、二重特異性リガンドの選択、調製、および型式化に必要とされる核酸分子およびベクター構築物は、標準的実験マニュアル、例えば、Sambrookら, (1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, USA に記載されているように、構築し、操作することができる。

【0222】

本発明に有用な核酸の操作は、通常、組換えベクター中で行われる。本明細書で用いられる、ベクターは、発現および/または複製させるため異種 D N A を細胞中に導入するために用いられる別個の成分を指す。そのようなベクターを選択し、または構築し、続いて

使用するための方法は、通常の当業者に周知である。細菌プラスミド、バクテリオファージ、人工染色体、およびエピソードベクターを含む多数のベクターが、公的に入手可能である。このようなベクターは、単純クローニングおよび変異誘発に使用することが可能であり、あるいは遺伝子発現ベクターを利用する。本発明による使用のためのベクターは、所望のサイズの、典型的には長さ0.25キロベース(kb)～40kb以上のポリペプチドコード配列を収容するために選択されうる。in vitroでのクローニング操作後、適切な宿主細胞を上記のベクターで形質転換する。各ベクターは様々な機能成分を含むが、この機能成分には、通常、クローニング(または「ポリリンカー」)部位、複製起点、および少なくとも一個の選択マーカー遺伝子が含まれる。所与のベクターが発現ベクターである場合、さらに一個または複数のエンハンサー成分、プロモーター、転写停止配列、およびシグナル配列の含まれ、それぞれは、本発明による二重特異性リガンドをコードする遺伝子に作動的に連結されるように、クローニング部位の付近に位置付けられる。

10

【0223】

クローニングベクターおよび発現ベクターは、通常、一個または複数の選択した宿主細胞中でベクターが複製できるようにする核酸配列を含む。典型的には、クローニングベクターでは、この配列は、宿主の染色体DNAとは独立してベクターが複製できるようにするものであり、複製起点すなわち自律的に配列を複製する配列を含む。このような配列は、様々な細菌、酵母、およびウイルスでよく知られている。プラスミドpBR322の複製起点は、ほとんどのグラム陰性菌に好適であり、2μmのプラスミド起点は酵母に適し、様々なウイルス起点(例えば、SV40、アデノウイルス)は、哺乳動物細胞におけるクローニングベクターに有用である。一般的に、これらのベクターを、高レベルのDNAを複製できる哺乳動物細胞(例えばCOS細胞)中で使用するのであれば、哺乳動物用の発現ベクターに複製起点は必要ではない。

20

【0224】

有利には、クローニングベクターまたは発現ベクターは、選択マーカーとも呼ばれる選択遺伝子を含みうる。この遺伝子は、選択培地中で増殖する形質転換宿主細胞の生存または増殖に必要なタンパク質をコードする。従って、選択遺伝子を含むベクターで形質転換されなかった宿主細胞は上記の培地中で生存しない。典型的な選択遺伝子は、抗生物質および他の毒素、例えば、アンピシリン、ネオマイシン、メトトレキサート、またはテトラサイクリンに対する抵抗性を付与するタンパク質をコードし、栄養要求性欠失を補完し、または成長培地中で得られない重要な栄養分を供給する。

30

【0225】

本発明による二重特異性リガンドをコードするベクターの複製は、最も好都合には大腸菌で実施されるので、大腸菌選択マーカー、例えば、抗生物質アンピシリンに対して抵抗性を付与するβ-ラクタマーゼ遺伝子が役立つ。これらは、pBR322プラスミドまたはpUCプラスミド(例えばpUC18またはpUC19)などの大腸菌プラスミドから得ることができる。

【0226】

発現ベクターは、通常、宿主生物に認識され、目的のコード配列に機能しうる形で連結されるプロモーターを含む。このようなプロモーターは、誘導的または構成的でありうる。「機能しうる形で連結される」という用語は、記載される成分が、その意図した方法で機能するのを可能にする関係にある並置を指す。コード配列に「機能しうる形で連結された」制御配列は、制御配列に適合した条件下で、コード配列が発現されるようにライゲートされる。

40

【0227】

原核生物宿主で使用するのに好適なプロモーターには、例えば、β-ラクタマーゼおよびラクトースプロモーター系、アルカリホスファターゼ、トリプトファン(trp)プロモーター系; およびtacプロモーターなどのハイブリッドプロモーターが含まれる。細菌系で使用するためのプロモーターには、一般的に、コード配列に機能しうる形で連結したShine-Delgarno配列も含まれる。

50

【0228】

好ましいベクターは、ポリペプチドライブラリーのメンバーに対応するヌクレオチド配列の発現を可能にする発現ベクターである。従って、第1および／または第2抗原またはエピトープによる選択は、ポリペプチドライブラリーのメンバーを発現する単一クローンの別々の増殖および発現によって、あるいは任意の選択ディスプレイ系の使用によって実施することができる。上記のとおり、好ましい選択ディスプレイ系は、バクテリオファージディスプレイである。このように、ファージまたはファージミドベクター（例えば、p I T 1またはp I T 2）を使用することができる。本発明で有用なリーダー配列には、p e l B、s t I I、o m p A、p h o A、b l a、およびp e l Aが含まれる。1つの例は、大腸菌複製起点（二本鎖複製用）と、さらにファージ複製起点（一本鎖DNA産生用）を含むファージミドベクターである。このようなベクターの操作および発現は、当技術分野で周知である（上掲のHoogenboom and Winter (1992); Nissimら, (1994)）。手短に言えば、ベクターは、ファージミドに選択性を付与するβ-ラクタマーゼ遺伝子および発現カセットの上流にl a cプロモーターを含み、この発現カセットは、（N末端からC末端にかけて）p e l Bリーダー配列（発現したポリペプチドを細胞膜周辺腔に導く）、マルチクロニング部位（ライブラリーメンバーのヌクレオチドバージョンのクロニング用）、任意により一個または複数のペプチドタグ（検出用）、任意により一個または複数のT A G終止コドンおよびファージタンパク質p I I I Iからなる。従って、様々な大腸菌のサブレッサー株および非サブレッサー株を使用して、またグルコース、イソプロピルチオールβ-D-ガラクトシド（I P T G）；またはV C S M 1 3などのヘルパーファージを加えることによって、ベクターは、発現しないプラスミドとして複製し、大量のポリペプチドライブラリーのメンバーのみを生成し、またはその一部が表面にポリペプチド-p I I I I融合体の少なくとも一個のコピーを含むファージを産生することができる。

【0229】

本発明による二重特異性リガンドをコードするベクターの構築には、従来のライゲーション技術が用いられる。単離したベクターまたはDNAフラグメントを切断し、仕立て、必要なベクターを生成するのに望ましい形態で再ライゲートする。必要に応じて、構築したベクター中に正確な配列が存在するかどうかを確認するための分析を公知の方式で実施することができる。発現ベクターを構築し、in vitroで転写産物を調製し、宿主細胞中にDNAを導入し、発現および機能を評価する分析を実施するのに好適な方法は当業者には公知である。サンプル中の遺伝子配列の存在を検出し、またはその増幅および／または発現を従来法、例えば、DNA、RNA、またはタンパク質のサザン分析またはノーザン分析、ウェスタンブロットティング、ドットブロットティング；核酸またはタンパク質分子のi n s i t uハイブリダイゼーション、免疫細胞化学、または配列分析によって定量する。所望の場合には、これらの方法をどのように改変してよいか、当業者なら容易に想像がつくであろう。

【0230】

骨格

骨格は、上記のように、免疫グロブリン分子ベースであっても、または起源が非免疫グロブリンであってもよい。二重特異性リガンドの各ドメインは、異なる骨格であってもよい。本明細書に定義するように、好ましい免疫グロブリン骨格は、少なくとも（i）抗体のC L（κまたはλサブクラス）ドメイン；または（i i）抗体重鎖のC H 1ドメインを含む免疫グロブリン分子；抗体重鎖のC H 1およびC H 2ドメインを含む免疫グロブリン分子；抗体重鎖のC H 1、C H 2、およびC H 3ドメインを含む免疫グロブリン分子；あるいは抗体のC L（κまたはλサブクラス）ドメインと併せてサブセット（i i）のいずれかから選択した骨格の任意の一つまたは複数を含む。ヒンジ領域ドメインを含めてもよい。ドメインのこのような組合せは、例えば、天然抗体、例えば、I g GもしくはI g M、またはそのフラグメント、例えば、F v、s c F v、F a b、またはF（a b'）₂分子を模倣しうる。当業者であれば、このリストが包括的なものではないことを理解されよう。

【0231】

タンパク質の足場

各結合ドメインは、タンパク質の足場と、一個または複数のCDRとを含み、このCDRはドメインと、一個または複数のエピトープとの特異的相互作用に参与する。有利には、本発明によるエピトープ結合ドメインは、3個のCDRを含む。好適なタンパク質の足場には、免疫グロブリンドメインをベースとする足場、フィブロネクチンをベースとする足場、アフィボディをベースとする足場、CTLA4をベースとする足場、GroELなどのシャペロンをベースとする足場、リボカリンをベースとする足場、および細菌Fc受容体SpAおよびSpDをベースとする足場からなる群から選択される足場のいずれが含まれる。当業者であれば、このリストが包括的なものではないことを理解されよう。

10

【0232】

リガンド構築で使用する足場主鎖高次構造の選択

免疫グロブリンスーパーファミリーのメンバーは全て、そのポリペプチド鎖について類似の折り畳みを共有する。例えば、抗体は、その一次配列の点で高度に多様ではあるが、配列および結晶構造を比較すると、予測に反して、抗体の6個の抗原結合ループのうち5個(H1、H2、L1、L2、L3)が、限定した数の主鎖高次構造または限界構造を取ることが判明した(ChothiaおよびLesk (1987) J. Mol. Biol., 196: 901; Chothiaら, (1989) Nature, 342: 877)。従って、ループ長および主残基の分析から、大半のヒト抗体で見出されたH1、H2、L1、L2、およびL3の主鎖高次構造を予測できるようになった(Chothiaら, (1992) J. Mol. Biol., 227: 799; Tomlinsonら, (1995) EMBO J., 14: 4628; Williamsら, (1996) J. Mol. Biol., 264: 220)。H3領域は、配列、長さ、および構造の点で、(Dセグメントの使用によって)さらに一段と多様ではあるが、短いループ長のためにやはり限られた数の主鎖高次構造を形成し、この高次構造は、上記のループおよび抗体フレームワーク中の重要な位置における特定の残基の長さおよび存在、または残基の種類に依存する(Martinら, (1996) J. Mol. Biol., 263: 800; Shiraiら, (1996) FEBS Letters, 399: 1)。

20

【0233】

リガンドおよび/または結合ドメインのライブラリーを設計することが可能であり、その際、そのメンバーの主鎖高次構造を確実に知るために、特定のループ長および主残基が選択されている。有利には、上述したように、それらが機能性ではないという確率を最小限に抑えるために、これらは、天然に見出された免疫グロブリンスーパーファミリー分子の実際の高次構造である。生殖細胞系列V遺伝子セグメントは、抗体またはT細胞受容体ライブラリーを構築するための1つの好適な基礎フレームワークとしての機能を果たし、他の配列もまた役立つ。変異は低い頻度で起こる可能性があり、その結果、少数の機能性メンバーが、その機能に影響を及ぼさない主鎖高次構造の変化を有する。

30

【0234】

標準的な構造理論は、リガンドがコードする異なる主鎖高次構造の数を評価すること、二重特異性リガンド配列をベースとする主鎖高次構造を予測すること、および限界構造に影響を及ぼさない多様化用の残基を選択することにも役立つ。ヒトV_Kドメインでは、L1ループが、4つの限界構造の1つを採ることができ、L2ループは、単一の限界構造を有し、かつヒトV_Kドメインの90%は、L3ループについて4つまたは5つの限界構造の1つを採り(Tomlinsonら(1995) 上掲)、このように、V_Kドメイン単独中で、異なる限界構造を組み合わせて、様々な異なる主鎖高次構造を作出できることが知られている。V_Lドメインが、L1、L2、およびL3ループについて様々な範囲の限界構造をコードし、V_KおよびV_Lドメインが、H1とH2ループについていくつかの限界構造をコードできる任意のV_Hドメインと、対を形成できると仮定した場合、これらの5ループについて観察される限界構造の組合せ数は膨大である。これは、主鎖高次構造の多様性の発生が、広範囲の結合特異性の生成に不可欠であり得ることを示唆している。しかし、単一の既知の主鎖高次構造をベースとする抗体ライブラリーを構築することによって、予想に反し

40

50

て、主鎖高次構造における多様性が、実質的に全ての抗原を標的とするのに十分な多様性を生み出すのに必要ではないことが判明している。さらに驚くべきことに、上記の単一的主鎖高次構造は、コンセンサス構造でなくともよく、単一の天然高次構造は、ライブラリー全体の基礎として使用することができる。このように、好ましい態様においては、本発明のリガンドは、単一の既知の主鎖高次構造を有する。

【0235】

選択される単一的主鎖高次構造は、当該免疫グロブリンスーパーファミリー型分子の中で一般的なものが好ましい。非常に多くの天然分子を観察してその高次構造を採用する場合、高次構造は一般的なものである。従って、本発明の好ましい態様においては、免疫グロブリンドメインの各結合ループに関する異なる主鎖高次構造の自然発生は別に考慮し、次いで異なるループについて主鎖高次構造の望ましい組合せを有する天然の可変ドメインを選択する。もし一つも得られなければ、最も近い同等物を選択してよい。所望の主鎖高次構造をコードする生殖細胞系列遺伝子セグメントを選択することによって、異なるループについて望ましい主鎖高次構造の組合せを作出するのが好ましい。選択した生殖細胞系列遺伝子セグメントが自然に頻繁に発現されることがさらに好ましく、全ての天然生殖細胞系列遺伝子セグメント中で、それらが最も頻繁に発現されるのが最も好ましい。

【0236】

リガンド（例えば、 $d s-d A b$ ）またはそのライブラリーの設計では、6個の抗原結合ループのそれぞれについて、異なる主鎖高次構造の発生が別々に考えられるであろう。H1、H2、L1、L2、およびL3については、天然分子の抗原結合ループの20%～100%で採用される所与の高次構造を選択する。典型的には、その観察される発生率は35%を超え（すなわち35%～100%）、理想的には50%を超え、さらに65%を超える。大多数のH3ループは限界構造を有しないので、実際に限界構造を提示するループの中から一般的な主鎖高次構造を選択するのが好ましい。従って、ループそれぞれについては、最も頻繁に天然レパートリー中に観察される高次構造を選択する。ヒト抗体では、各ループの最も一般的な限界構造（CS）は以下のものである：H1-CS1（発現レパートリーの79%）、H2-CS3（46%）、 V_{κ} のL1-CS2（39%）、L2-CS1（100%）、 V_{κ} のL3-CS1（36%）（計算によると $\kappa:\lambda$ 比は70:30と推定される、Hoodら、(1967) Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 48: 133）。限界構造を有するH3ループについては、残基94～残基101の塩橋を有する7残基のCDR3長（Kabat et al. (1991) Sequences of proteins of immunological interest, U.S. Department of Health and Human Services）が最も一般的と思われる。EMBLデータライブラリーには、この高次構造を形成するために必要とされるH3長および主残基と共に少なくとも16個のヒト抗体配列があり、そして抗体モデリングの基礎として使用し得るタンパク質データバンクには少なくとも2個の結晶構造がある（2cgrおよび1tet）。この限界構造の組合せで最も頻繁に発現される生殖細胞系列遺伝子セグメントは、 V_H セグメント3-23（DP-47）、 J_H セグメントJH4b、 V_{κ} セグメントO2/O12（DPK9）、および J_{κ} セグメント $J_{\kappa}1$ である。 V_H セグメントDP45およびDP38も好適である。従って、これらのセグメントは、所望の単一主鎖高次構造を有するライブラリーを構築するための基礎として組み合わせ使用することができる。

【0237】

別法として、単離において、結合ループのそれぞれについての様々な主鎖高次構造の自然発生率に基づいて単一主鎖高次構造を選択する代わりに、単一主鎖高次構造を選択するための基礎として、主鎖高次構造の組合せの自然発生率を利用する。例えば抗体の場合には、抗原結合ループの任意の2、3、4、5個、または全6個について、限界構造の組合せの自然な発生率を定量することができる。ここで、選択される高次構造は、天然抗体の中でも一般的なものであるのが好ましく、天然レパートリー中で最も頻繁に観察されるのが最も好ましい。従って、ヒト抗体では、例えば、5個の抗原結合ループ、H1、H2、L1、L2、およびL3の天然の組合せを考える場合、最も多い限界構造の組合せを定量

し、次いで単一主鎖高次構造を選択する基礎として、H 3 ループに最も一般的な高次構造と組み合わせる。

【0238】

限界配列の多様化

数個の既知の主鎖高次構造、または好ましくは単一の既知の主鎖高次構造を選択すれば、構造のおよび／または機能的多様性を有するレパートリーを生成するために分子の各結合部位を変えることによって、本発明で使用する二重特異性リガンド（例えば、d s - d A b）またはライブラリーを構築することができる。これは、変異体がその構造および／またはその機能において十分な多様性を有することによって該変異体が様々な活性を提供できるように生成されることを意味する。

10

【0239】

典型的には、所望の多様性は、選択する分子を一つまたは複数の位置で変えることによって生じさせる。変更対象の位置はランダムに選択することが可能であり、あるいは好適に選択する。その後、常アミノ酸を任意のアミノ酸または天然もしくは合成したその類似体と置換して莫大な数の変異体を生成するランダム化によって、あるいは常アミノ酸を一個もしくは複数の所定のアミノ酸サブセットと置換してより限られた数の変異体を生成することのいずれかによって、変異を達成することができる。

【0240】

このような多様性を導入するための様々な方法が報告されている。エラーブローン P C R (Hawkinsら, (1992) J. Mol. Biol., 226: 889)、化学的変異誘発 (Dengら, (1994) J. Biol. Chem., 269: 9533) または細菌ミューテーター株 (Lowら, (1996) J. Mol. Biol., 260: 359) を使用して、分子をコードする遺伝子中にランダム変異を導入することができる。選択した位置を変異させる方法もまた、当技術分野で周知であり、例えば、P C R の使用に関わらず、不適合オリゴヌクレオチドまたは縮重オリゴヌクレオチドの使用が挙げられる。例えば、抗原結合ループへの変異を標的とすることによって、数個の合成抗体ライブラリーが作出されている。種々の新規な結合特異性を作出するために、ヒト破傷風トキシイド結合 F a b の H 3 領域がランダム化されている (Barbasら, (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89: 4457)。ランダムまたは H 3 および L 3 領域を生殖細胞系列 V 遺伝子セグメントに付加して、未変異フレームワーク領域を含む大型ライブラリーが生成されている (Hoogenboom & Winter (1992) J. Mol. Biol., 227: 381; Barbasら, (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89: 4457; Nissimら, (1994) EMBO J., 13: 692; Griffithsら, (1994) EMBO J., 13: 3245; De Kruifら, (1995) J. Mol. Biol., 248: 97)。このような多様化は、他方の抗原結合ループの一部または全てを含むように広がっている (Cramerら, (1996) Nature Med., 2: 100; Riechmannら, (1995) Bio/Technology, 13: 475; Morphosys、国際公開公報第 9 7 / 0 8 3 2 0 号、上掲)。

20

30

【0241】

ループのランダム化は、H 3 単独についてはおよそ 10^{15} 以上の構造が、また他の 5 個のループについても同様に多数の変異体を作出する可能性を有しているので、現在の形質転換技術を使用し、あるいは無細胞系を使用したとしても、全ての可能な組合せを表すライブラリーを生成するのは実現不可能である。例えば、現在まで構築された最大ライブラリーの 1 つにおいて、 6×10^{10} の異なる抗体が生成されているが、これはこの設計のライブラリーの潜在的多様性のほんの一部である (Griffithsら (1994) 上掲)。

40

【0242】

二重特異性リガンド分子の各ドメインの所望の機能の作出または修飾に直接関与する残基のみが多様化されるのが好ましい。多くの分子では、各ドメインの機能は標的に結合することであり、従って分子の全体的なパッキングまたは選択した主鎖高次構造の維持に不可欠な残基の変化を回避しつつ、多様性は標的結合部位に集中させるべきである。

【0243】

抗体ドメインに適用する際の限界配列の多様化

抗体をベースとするリガンド（例えば、d s - d A b）の場合には、各標的への結合部

50

位はほとんどの場合抗原結合部位である。従って、抗原結合部位におけるこれらの残基のみを変更することが好ましい。これらの残基は、ヒト抗体レパートリーにおいて極めて多様であり、高分解能抗体／抗原複合体中で接触することが知られている。例えば、L2では、天然抗体中で位置50および53が多様であることが知られており、その抗原と接触することが観察されている。対照的に従来手法は、本発明に用いられるライブラリー中で2つの残基が多様化されるのと比較して、Kabatら（1991、上掲）によって定義される対応する相補性決定領域（CDR1）の残基全て、およそ7残基が多様化されていたであろう。これは、様々な抗原結合特異性を作成するのに必要とされる機能的多様性の点で著しい改善を示している。

【0244】

自然において、抗体の多様性は、未処理の（naive）一次レパートリー（いわゆる生殖細胞系列および接合部の多様性）を作成するための生殖細胞系列V、D、およびJ遺伝子セグメントの体細胞組換え、ならびに得られた再編成V遺伝子の体細胞の高頻度変異という2つの過程の結果である。ヒト抗体配列の分析によって、一次レパートリーの多様性は抗原結合部位の中央部に集中しているのに対して、体細胞の高頻度変異は一次レパートリー中に高度に保存されている抗原結合部位の周囲領域に多様性を広げることが示されている（Tomlinsonら、（1996）J. Mol. Biol., 256: 813、参照）。この相補性は、おそらく、配列空間を探索するための効率的な戦略として進化したのであり、明らかに抗体に特有であるが、他のポリペプチドレパートリーにも容易に当てはまりうる。多様な残基は、標的結合部位を形成する残基のサブセットである。標的結合部位中の様々な（重複を含む）残基のサブセットは、所望の場合には選択中の異なる段階で多様化する。

【0245】

抗体レパートリーの場合には、抗原結合部位の全てではなく数個の残基が多様化されている、最初の「未処理の」レパートリーを作成することができる。この意味において、本明細書で用いられる「未処理の」という用語は、予め決定された標的を持たない抗体分子を指す。免疫系がまだ多様な抗原刺激によって攻撃されていない胎児および新生児個体の場合のように、これらの分子は、免疫の多様化を受けていない個体の免疫グロブリン遺伝子によってコードされた分子に似ている。次いで、様々な抗原またはエпитープに対して、このレパートリーを選択する。その後、必要な場合は、最初のレパートリーで多様化させた領域の外側に、さらなる多様性を導入することができる。機能、特異性、または親和性を改変するために、この成熟レパートリーを選択することができる。

【0246】

抗原結合部位の残基の一部または全てが多様である二重特異性リガンドを構築するための結合ドメインの未処理のレパートリーは、当技術分野で公知である（国際公開公報第2004/058821号、同第2004/003019号、および同第03/002609号参照）。生殖細胞系列V遺伝子セグメントで多様な（生殖細胞系列の多様性）、または組換え過程中に多様化（接合部の多様性）した、抗原結合部位の中央部の残基に限定される多様性を有し、「一次」ライブラリーは、天然の一次レパートリーを模倣する。多様化される残基としては、限定するものではないが、H50、H52、H52a、H53、H55、H56、H58、H95、H96、H97、H98、L50、L53、L91、L92、L93、L94、およびL96が挙げられる。「体細胞性」ライブラリーでは、多様性は、組換え過程中に多様化された残基（接合部の多様性）、または高度に体細胞的に変異した残基に限定される。多様化される残基としては、限定するものではないが、H31、H33、H35、H95、H96、H97、H98、L30、L31、L32、L34、およびL96が挙げられる。これらのライブラリーにおける多様化に好適な上記の全ての残基は、一個または複数の抗体－抗原複合体として接触することが知られている。両ライブラリーでは、抗原結合部位の残基の全てが変化するわけではないため、そうなることを望む場合は、残りの残基を変えることによって、選択中にさらなる多様性を組み込む。これらの残基（または、抗原結合部位を含む追加の残基）のいずれかの任意のサブセットを使用して、抗原結合部位の最初のかつ／またはそれに続く多様化を行うことができ

ることは当業者には明らかであろう。

【0247】

本発明で用いるライブラリーの構築では、通常、選択した位置の多様化は、多数の可能なアミノ酸（全20またはそのサブセット）をその位置に組み込むことができるように、ポリペプチド配列を特定するコード配列を変化させることによって、核酸レベルで達成される。IUPAC命名法を使用すると、最も汎用なコドンは、全アミノ酸およびTAG終止コドンをコードするNNKである。NNKコドンは、必要とされる多様性を導入するために使用するために好適に用いられる。NNNコドンを含め、さらなる終止コドンTGAおよびTAAの産生をもたらす同じ末端を実現する他のコドンも役立つ。

【0248】

ヒト抗体の抗原結合部位の側鎖多様性の特徴は、特定のアミノ酸残基に好都合な顕著な偏りである。V_H、V_K、およびV_L領域のそれぞれにおける10箇所の最も多様な位置のアミノ酸の組成を合計した場合、側鎖多様性の76%以上は、7個の異なる残基のみから得られるが、これらはセリン（24%）、チロシン（14%）、アスパラギン（11%）、グリシン（9%）、アラニン（7%）、アスパラギン酸（6%）、およびトレオニン（6%）である。主鎖に柔軟性を付与し得る親水性残基および小残基へのこの偏りは、おそらく、広い範囲の抗原またはエピトープに結合する素因となる表面の進化を反映し、必要とされる、一次レパートリーにおいて抗体が入り混じった状態を説明するのに役立つ。

【0249】

このアミノ酸分布を模倣するのは好ましいので、多様であるべき位置のアミノ酸分布は、抗体の抗原結合部位に見られるものを模倣するのが好ましい。様々な標的抗原に対する特定のポリペプチド（単なる抗体ポリペプチドではない）の選択を可能とするアミノ酸置換におけるこのような偏りは、任意のポリペプチドレパートリーに容易に適用される。多様であるべき位置のアミノ酸分布を偏らせる様々な方法（トリヌクレオチド変異誘発の使用を含む、国際公開公報第97/08320号を参照）があり、その中で好ましい方法は、合成が容易であることから、従来の縮重コドンの使用である。縮重コドンの全ての組合せ（各位置において等しい割合で一重、二重、三重、および四重の縮退を有する）によってコードされるアミノ酸のプロファイルと、天然アミノ酸の使用とを比較することによって、最も代表的なコドンを計算することができる。コドン（AGT）（AGC）T、（AGT）（AGC）Cおよび（AGT）（AGC）（CT） — すなわち、IUPAC命名法を使用すると、それぞれDVT、DVCおよびDVY — は、所望のアミノ酸プロファイルに最も近いものである。それらは、22%セリンおよび11%チロシン、アスパラギン、グリシン、アラニン、アスパラギン酸、トレオニン、およびシステインをコードする。従って、ライブラリーは、多様化した位置のそれぞれにおいてDVT、DVC、またはDVYコドンのいずれかを使用して構築される。

【0250】

治療用および診断用組成物および使用

本発明は、本発明のリガンドと、製薬上許容される担体、希釈剤、または賦形剤とを含む組成物、ならびに本発明のリガンドまたは組成物を使用する治療法および診断法を提供する。本発明の方法によるリガンドは、in vivoでの治療および予防用途、in vivoでの診断用途などに使用しうる。

【0251】

本発明のリガンドの治療的および予防的使用には、ヒトなどのレシピエント哺乳動物に、本発明によるリガンドを投与することが含まれる。本リガンドは、高い結合力で標的に結合する。いくつかの実施形態では、本リガンドは、例えば、腫瘍細胞株の殺傷を媒介するための細胞障害性T細胞の動員において、2つの標的の架橋を行うことができる。

【0252】

均質性が少なくとも90~95%の実質上純粋なリガンド（例えば、ds-dAb）が、哺乳動物への投与に好ましく、特に哺乳動物がヒトである場合、医薬使用には均質性98~99

10

20

30

40

50

%以上の均質性が最も好ましい。一旦、部分的にまたは所望の均質性に精製すれば、本リガンドを、診断的に、または治療的に（体外を含む）、あるいはアッセイ手順、免疫蛍光染色等の開発および実施に使用することができる（Lefkovite and Pernis, (1979 and 1981) Immunological Methods, Volumes I and II, Academic Press, NY）。

【0253】

例えば、本発明のリガンドは、典型的には、疾患状態の予防、抑制、または治療に使用される。例えば、リガンドは、慢性炎症性疾患、アレルギー性過敏症、癌、細菌またはウイルス感染、自己免疫疾患（限定するものではないが、I型糖尿病、喘息、多発性硬化症、リウマチ性関節炎、若年性関節リウマチ、乾癬性関節炎、脊椎関節症（例えば、強直性脊椎炎）、全身性エリテマトーデス、炎症性腸疾患（例えば、クローン病、潰瘍性大腸炎）、重症筋無力症およびベーチェット症候群）、乾癬、子宮内膜症、および腹部癒着（例えば腹部手術後）が含まれる）を治療し、抑制し、または予防するために投与することができる。

【0254】

本リガンドは、感染性病原体に感染した細胞が、未感染細胞よりも高いレベルの細胞表面標的を含み、または感染細胞に存在しない一種または複数の細胞表面標的（例えば、感染性病原体（例えば、細菌、ウイルス）によってコードされるタンパク質）を含む感染症の治療に特に有用である。

【0255】

細胞外標的に結合し得る本発明によるリガンドは、細胞内に取り込まれ、治療剤を送達することができる（例えば、細胞内標的に結合するdAbを送達する）。さらに、リガンドは、特異的に細胞内標的に結合できるそれぞれの結合ドメイン（例えば、dAb単量体）を細胞内状況に送達できる手段を提供する。この戦略には、例えば、細胞内でリガンドが依然として機能性を維持できるようにする物理的特性を有する結合ドメインが必要である。あるいは、最終目的の細胞内コンパートメントが酸化している場合、首尾よく折り畳まれたリガンドは、ジスルフィドフリー（無ジスルフィド）である必要はない。

【0256】

本出願においては、「予防」という用語は、疾患が誘発される前に、本防御性組成物を投与することを含む。「抑制」は、誘発性事象後ではあるが、疾患の臨床的出現の前に、本組成物を投与することを指す。「治療」は、疾患症状が現れた後に、本防御性組成物を投与することを含む。治療には、疾患に伴う症状を寛解し、さらに疾患の発症を予防または遅延させ、そしてさらに疾患症状の重症度または頻度を軽減することも含まれる。

【0257】

「癌」という用語は、典型的には、調節不全の細胞の増殖または生存によって特徴付けられる哺乳動物の生理的状态をさす。癌の例として、限定するものではないが、癌腫、リンパ腫、芽細胞腫、肉腫、および白血病およびリンパ系腫瘍が挙げられる。さらに特定の癌の例としては、扁平上皮癌（例えば、上皮扁平上皮癌）、肺癌（例えば、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、肺扁平上皮癌）、腹膜癌、肝細胞癌；胃腸癌を含む、胃癌（gastric）または胃癌（stomach）；膀胱癌、神経膠芽腫、子宮頸癌、卵巣癌、肝臓癌、膀胱癌、肝細胞癌、乳癌、大腸癌、直腸癌、直腸結腸癌、多発性骨髄腫、慢性骨髄性白血病、急性骨髄性白血病、子宮内膜癌または子宮癌、唾液腺癌、腎臓（kidney）癌または腎臓（renal）癌、前立腺癌、外陰部癌、甲状腺癌、肝癌、肛門癌、陰茎癌、頭頸部癌などが挙げられる。

【0258】

疾患（例えば癌）の予防、治療、または抑制において本発明のリガンドの効力を評価するために使用し得る動物モデル系は入手可能である。好適な癌モデルとしては、例えば、動物モデルにおけるヒト癌の異種移植モデルおよび正所性モデル、例えば、SCID-hu骨髄腫モデル（Epstein J, および Yaccoby, S., Methods Mol Med. 113:183-90 (2005), Tasone Pら, Clin Cancer Res. 11(11):4251-8 (2005))、ヒト肺癌マウスモデル（例えば、Meuwissen R および Berns A, Genes Dev. 19(6):643-64 (2005))、および転移性癌マ

ウスモデル（例えば、Kubota T., J Cell Biochem. 56(1):4-8 (1994)）が挙げられる。

【0259】

一般的に、本発明のリガンドは、薬理的に適切な担体と共に精製された形態で利用される。典型的には、これらの担体には、水性またはアルコール性／水溶液、乳液、または懸濁液（例えば、生理食塩水および／または緩衝化媒体）が含まれる。非経口ビヒクルとしては、塩化ナトリウム溶液、ブドウ糖添加リンゲル液、ブドウ糖と塩化ナトリウムならびに乳酸リンゲル液が挙げられる。ポリペプチド複合体を懸濁液で保持する必要がある場合は、好適な生理学的に許容されるアジュバントは、増粘剤（例えば、カルボキシメチルセルロース、ポリビニルピロリドン、ゼラチン、およびアルギン酸塩）から選択しうる。

【0260】

静脈内ビヒクルとしては、液体栄養補充液および電解質補充液、例えば、ブドウ糖添加リンゲル液をベースとする補液が挙げられる。防腐剤および他の添加物、例えば、抗菌剤、酸化防止剤、キレート剤および不活性ガスも含めてよい（Mack (1982) Remington's Pharmaceutical Sciences, 第16版）。徐放製剤を含む、様々な好適な製剤を使用することができる。

【0261】

本発明のリガンドは、別々に投与する組成物として、または他の薬剤と組み合わせて使用してもよい。本リガンドは、一種または複数の追加の治療剤または活性剤と共に投与し、または製剤化することができる。追加の治療剤と共にリガンドを投与する場合、本リガンドは、追加の薬剤の投与の前に、同時に、または後に投与することができる。一般的に、本リガンドおよび追加の薬剤は、治療効果の重複がもたらされる方式で投与される。本発明のリガンドと共に投与しまたは製剤化できる追加の薬剤としては、例えば、様々な免疫治療薬、例えば、シルコスポリン (cylcosporine)、メトトレキサート、アドリアマイシン、またはシスプラチン、抗生物質、抗真菌剤、抗ウイルス剤、および免疫毒素が挙げられる。例えば、肺炎症または呼吸器疾患を予防し、抑制し、または治療するためにアンタゴニストを投与する場合、以下のものと共に投与することができる：ホスホジエステラーゼ阻害薬（例えば、ホスホジエステラーゼ4の阻害薬）、気管支拡張薬（例えば、 β 2-アゴニスト、抗コリン作動薬 (anticholinergics)、テオフィリン）、短時間作用性 β -アゴニスト（例えば、アルブテロール、サルブタモール、バンブテロール、フェノテロール、イソエテリン (isoetherine)、イソプロテレノール、レバルブテロール、メタプロテレノール、ピルブテロール、テルブタリン、およびトルンラート (tornlate)）、長時間作用性 β -アゴニスト（例えば、フォルモテロールおよびサルメテロール）、短時間作用性抗コリン作動薬（例えば、臭化イプラトロピウムおよび臭化オキシトロピウム）、長時間作用性抗コリン作動薬（例えば、チオトロピウム）、テオフィリン（例えば、短時間作用性製剤、長時間作用性製剤）、吸入ステロイド（例えば、ベクロメタゾン、ベクロメタゾン、ブデソニド、フルニソリド、プロピオン酸フルチカゾンおよびトリアムシノロン）、経口ステロイド（例えば、メチルプレドニゾロン、プレドニゾロン、プレドニゾンおよびプレドニゾン）、短時間作用性 β -アゴニストと抗コリン作動薬の組み合わせ（例えば、アルブテロール／サルブタモール／イプラトロピウム、およびフェノテロール／イプラトロピウム）、長時間作用性 β -アゴニストと吸入ステロイドの組み合わせ（例えば、サルメテロール／フルチカゾン、およびフォルモテロール／ブデソニド）および粘液溶解薬（例えば、エルドステイン、アセチルシステイン、ブロムヘキシシン (bromheksin)、カルボシステイン、グイアフエネシン (guaifenesin)、およびヨウ化グリセロール）。

【0262】

本発明のリガンドは、（例えば、癌を治療するために）、サイトカイン、鎮痛薬／解熱剤、制吐薬、および化学療法剤などの様々な好適な共治療剤と共に同時投与することができる。

【0263】

好適な共治療剤にはサイトカインが含まれ、サイトカインとしては、限定するものでは

10

20

30

40

50

ないが、リンフォカイン、腫瘍壊死因子、腫瘍壊死因子様サイトカイン、リンホトキシン、インターフェロン、マクロファージ炎症性タンパク質、顆粒球単球コロニー刺激因子、インターロイキン（限定するものではないが、インターロイキン-1、インターロイキン-2、インターロイキン-6、インターロイキン-12、インターロイキン-15、インターロイキン-18が挙げられる）が挙げられ；増殖因子としては、限定するものではないが（例えば、成長ホルモン、インスリン様成長因子1および2（IGF-1およびIGF-2）、顆粒球コロニー刺激因子（GCSF）、血小板由来成長因子（PDGF）、上皮細胞増殖因子（EGF）が挙げられ；また赤血球新生刺激剤としては、例えば、組換えヒトエリスロポエチン（エポエチンアルファ）、EPO、ホルモンのアゴニスト、ホルモンのアンタゴニスト（例えば、フルタミド、タモキシフェン、酢酸ロイプロリド（ルプロン））、およびステロイド（例えば、デキサメタゾン、レチノイド、ベタメタゾン、コルチゾール、コルチゾン、プレドニゾン、デヒドロテストステロン、グルココルチコイド、鉱質コルチコイド、エストロゲン、テストステロン、プロゲステン）が挙げられる。

10

【0264】

鎮痛薬／解熱剤としては、限定するものではないが、例えば、アスピリン、アセトアミノフェン、イブプロフェン、ナプロキセンナトリウム、塩酸ブプレノルフィン、塩酸プロポキシフェン、プロポキシフェンナブシレート、塩酸メペリジン、塩酸ヒドロモルフォン、硫酸モルヒネ、塩酸オキシコドン、リン酸コデイン、重酒石酸ジヒドロコデイン、塩酸ペンタゾシン、重酒石酸ヒドロコドン、酒石酸レボルファノール、ジフルニサル、サリチル酸トロールアミン、塩酸ナルブフィン、メフェナム酸、酒石酸ブトルファノール、サリチル酸コリン、ブタルビタール、クエン酸フェニルトロキサミン、クエン酸ジフェンヒドラミン、メトトリメプラジン、塩酸シンナメドリン、メプロバメートなどが挙げられる。

20

【0265】

嘔気および嘔吐を予防し、または治療するために制吐薬を同時投与することも可能であり、例えば、好適な制吐薬としては、塩酸メクリジン、ナビロン、プロクロルペラジン、ジメンヒドリナート、塩酸プロメタジン、チエチルペラジン、スコポラミンなどが挙げられる。

【0266】

その用語が本明細書で用いられる化学療法剤としては、限定するものではないが、例えば、抗微小管薬、例えば、タキソール（パクリタキセル）、タキソテール（ドセタキセル）；アルキル化剤、例えば、シクロホスファミド、カルムスチン、ロムスチン、およびクロランブシル；細胞傷害性抗生物質、例えば、ダクチノマイシン、ドキシソルビシン、マイトマイシン-C、およびブレオマイシン；代謝拮抗物質、例えば、シタラビン、ゲムシタチン（gemcitatin）、メトトレキサート、および5-フルオロウラシル；抗縮腫薬、例えば、ピンカアルカロイドピンクリスチン、例えば、エトポシド、ビンブラスチン、およびピンクリスチン；他には、例えば、シスプラチン、ダカルバジン、プロカルバジン、およびヒドロキシ尿素；およびそれらの組合せが挙げられる。

30

【0267】

本発明のリガンドを別の治療剤と組み合わせて使用して、癌を治療することができる。例えば、本発明のリガンドは、化学療法剤と組み合わせて投与することができる。有利には、このような治療方法においては、有効に投与する必要がある化学療法剤の量は減らしてもよい。このように、本発明は、それを必要とする患者に、治療上有効な量の本発明のリガンドと化学療法剤を投与するステップを含む癌の治療法であって、化学療法剤を低用量で投与する方法を提供する。一般的に、本発明のリガンドと同時投与する化学療法剤の量は、通常患者に投与される化学療法剤単独の用量の約80%、または約70%、または約60%、または約50%、または約40%、または約30%、または約20%、または約10%未満である。従って、化学療法剤が、有害または望ましくない副作用を引き起こし、その副作用が低用量で減少し、または除去され得る場合、同時治療は特に有利である。

40

【0268】

医薬組成物は、本発明のリガンドと一緒に様々な細胞傷害剤または他の薬剤の「カクテ

50

ル」を含むことが可能であり、あるいは投与前にそれらがプールされていたか否かに関わらず、異なった特異性を有する本発明によるリガンド（例えば、異なる標的抗原またはエピトープを使用して選択したリガンド）の組合せさえ含むことができる。

【0269】

本発明による医薬組成物の投与経路は、任意の好適な経路であってよく、例えば、通常の当業者に周知の経路のいずれかであってよい。治療としては、限定するものではないが免疫療法が挙げられ、標準的技術によって、本発明のリガンドを任意の患者に投与することができる。投与は、非経口、静脈内、筋肉内、腹腔内、経皮、くも膜下腔内、関節内、経肺などの任意の適切な方式、または同様に適切に（例えばカテーテルによる）直接注入によるものであってよい。投薬量および投与頻度は、患者の年齢、性別、および状態、他の薬物の同時投与、対抗適応および臨床医が考慮すべき他のパラメーターに依存する。投与は、示唆したとおり、局所的であっても（例えば、肺投与による肺への局所送達（例えば鼻腔内投与）、または腫瘍への直接局所注射）または全身的であってもよい。

【0270】

本発明のリガンドは、保存用に凍結乾燥し、使用前に好適な担体中で再構成することができる。この技術は、従来の免疫グロブリンで有効なことが示されており、当技術分野で公知の凍結乾燥および再構成技術を利用することができる。凍結乾燥および再構成は、様々な程度の抗体活性の喪失を招く恐れがあり（例えば、従来の免疫グロブリンでは、IgM抗体は、IgG抗体よりも活性喪失が高い傾向がある）、補正するために使用レベルを上方修正する必要があるかもしれないことは当業者なら理解されよう。

【0271】

本リガンドを含む組成物は、予防的および／または治療的処置を行うために投与することができる。特定の治療用途においては、選択した細胞集団の少なくとも部分的な阻害、抑制、調節、死滅を達成するのに十分な量、または他のいくつかの測定可能なパラメーターを「治療上有効な用量」として定義する。この用量を実現するのに必要な量は、疾患の重症度および全般的な患者の健康状態に依存するが、一般的に、体重1キログラムあたり0.005～5.0mgの範囲のリガンドであり、0.05～2.0mg/kgの用量がより一般的に使用されている。予防的用途には、疾患の発症を予防し、阻害し、または遅らせるために（例えば、寛解もしくは静止状態を維持し、または急性期を予防するために）、本発明のリガンドまたはそのカクテルを含む組成物も、同様の用量、またはわずかに低い用量で投与し得る。熟練の臨床医なら、疾患の治療、抑制、または予防に好適な投薬間隔を決定することができるであろう。疾患を治療し、抑制し、または予防するためにリガンドを投与する場合、一日当たり4回まで、週2回、週1回、2週間毎に1回、月1回、または2ヵ月毎に1回、例えば、約10μg/kg～約80mg/kg、約100μg/kg～約80mg/kg、約1mg/kg～約80mg/kg、約1mg/kg～約70mg/kg、約1mg/kg～約60mg/kg、約1mg/kg～約50mg/kg、約1mg/kg～約40mg/kg、約1mg/kg～約30mg/kg、約1mg/kg～約20mg/kg、約1mg/kg～約10mg/kg、約10μg/kg～約10mg/kg、約10μg/kg～約5mg/kg、約10μg/kg～約2.5mg/kg、約1mg/kg、約2mg/kg、約3mg/kg、約4mg/kg、約5mg/kg、約6mg/kg、約7mg/kg、約8mg/kg、約9mg/kg、または約10mg/kgの用量で投与することができる。特定の実施形態において、慢性炎症性疾患を治療し、抑制し、または予防するために、本二重特異性リガンドを2週間毎に1回または月1回、約10μg/kg～約10mg/kg（例えば、約10μg/kg、約100μg/kg、約1mg/kg、約2mg/kg、約3mg/kg、約4mg/kg、約5mg/kg、約6mg/kg、約7mg/kg、約8mg/kg、約9mg/kg、または約10mg/kg）の用量で投与する。

【0272】

特定の実施形態では、本発明のリガンドは、in vivoで二重陽性細胞に対する選択的結合が得られる用量で投与する。本明細書に記載される二重陽性細胞に対する選択的結合は

、本明細書のリガンドが約1 pM～約150 nMの濃度で用いられる場合に達成し得る。約1 pM～約150 nMの本発明のリガンドの血清濃度を達成するのに十分な用量を投与することができる。熟練の医師であれば、このような血清濃度を達成するのに適切な用量は、例えば、リガンドを滴定し、リガンド血清濃度をモニタリングすることによって決定できよう。所望の薬剤血清濃度を達成するための治療剤を投与するステップを含む治療レジメンは、当技術分野で、特に腫瘍学の分野において一般的である。

【0273】

本明細書に記載される組成物を使用して実施する治療すなわち療法は、治療前に存在するそのような症状と比べて、あるいはこのような組成物または他の好適な制御によって治療していない個体（ヒトまたはモデル動物）でのそのような症状に比べて、一つまたは複数の症状が（例えば、少なくとも10%、または臨床評価尺度の少なくとも一点で）減少した場合、「有効である」と考えられる。症状は、標的とする疾患または障害に応じて明らかに変化するが、通常熟練の臨床医または技術者であれば測定することができる。そのような症状は、例えば、疾患または障害の一つまたは複数の生化学的指標レベル（例えば、疾患と相関する酵素もしくは代謝産物のレベル、罹患細胞数など）のモニタリング、身体的兆候（例えば、炎症、腫瘍サイズなど）のモニタリング、あるいは認められた臨床評価尺度、例えば、（多発性硬化症についての）総合障害度評価尺度、アービン炎症性腸疾患質問表（32点評価によって腸機能、全身症状、社会的機能、および感情の状態に関して生活の質を評価する。スコア範囲は32～224であり、スコアが高いほど、生活の質も高いことを示唆する）、リウマチ性関節炎尺度の生活の質、または本分野で公知の他の認められている臨床評価尺度によって測定することができる。所与の臨床尺度において少なくとも10%または一点もしくは複数の点で、疾患または障害の症状が持続的に（例えば、一日以上、好ましくは長く）減少することは、治療が「有効である」ことを示唆する。同様に、本明細書に記載の組成物を使用して実施する予防法も、一種または複数の症状の発症もしくは重症度が、該組成物を用いて治療していない類似の個体（ヒトまたは動物モデル）のそのような症状と比べて、遅延し、低減し、または消滅した場合、「有効」である。

【0274】

本発明によるリガンドを含む組成物は、哺乳動物中で選択した標的細胞集団の改変、不活性化、死滅、または除去を助ける予防および治療の設定で使用しうる。さらに、本リガンドおよび本明細書に記載したポリペプチドの選択したレパートリーは、異質細胞コレクションから標的細胞集団を、体外で、またはin vitro選択的に死滅させ、激滅させ、あるいは効果的に除去するために使用してよい。標準的技術に従って、哺乳動物の血液と、本リガンド（例えば抗体）、細胞表面受容体またはその結合タンパク質とを体外で組み合わせ、それによって望ましくない細胞を死滅させ、あるいは血液から除去して哺乳動物に戻すことができる。

【実施例】

【0275】

本明細書に記載される実施例において、CD38はDOM11とも呼ばれ、CD138はDOM12とも呼ばれ、CEAはDOM13とも呼ばれ、またCD56はDOM14とも呼ばれる。

【0276】

CD38、CD138、CEAまたはCD56に結合するdAbの選択とスクリーニング

哺乳動物細胞中でFc融合タンパク質として発現させた抗原を用いてドメイン抗体(dAb)を選択した。プロテインG(Dynal製)および抗ヒトFc(Novagen製)の電磁ビーズ上で交互に捕捉されるCD38、CD138、CEAおよびCD56に対するdAbのライブラリを用いて3ラウンドの選択を実施した。選択の産物を、ELISAのラウンド2および3において、ファージとしておよび可溶性dAbとしての特異性について同種抗原上で試験したが、非同種抗原上での試験は行わなかった。可溶性ELISAについて、VkのdAbは全てプロテインLと架橋した。各抗原について可溶性ELISA陽性クローンをシークエンスし、上記の選択から多様な産物が得られることを示した。

【0277】

dAb陽性クローンを決定するための結合アッセイ

ELISA陽性クローンを50ml培養液中で発現させ、プロテインA(V_Hクローン)またはプロテインL(V_kクローン)上で適切に精製した。簡単に言えば、上記のdAbをコードするファージ発現プラスミド(pDOM5)をHB2151大腸菌に形質転換させ、この細胞を50 µg/mlカルベニシリンと5%グルコースを含有するTYEプレート上にプレーティングし、37°Cで一晩インキュベートした。上記dAbの、培養上清中への発現は、以下の方法による自己誘導を用いて行った。以下の成分を250mlバッフルフラスコに加えた：50mlのTB、100 µg/mlカルベニシリン、1滴の消泡剤A204(Sigma製)、Overnight Express Autoinduction Kit(Novagen製)の1mlの溶液1、2.5mlの溶液2および0.05mlの溶液3、ならびに上記の形質転換した大腸菌細胞から得た単一コロニー。このフラスコをMilliwrap PTFEメンブレンで覆い、250rpm、30°Cで48時間、培養物を増殖させタンパク質を発現させた。プロテインAまたはプロテインLを用いて、タンパク質を培養上清から直接精製した。

10

【0278】

dAbは全て、以下の方法を用いて、抗原陽性細胞株および抗原陰性細胞株上でFACSによって解析した。

【0279】

FACSによる細胞結合の測定は、以下のとおりに行った：細胞を250gで5分間遠心分離し、成長培地を除去した。これらの細胞を、4°Cにおいて、FACSインキュベーションバッファ中で 2×10^6 細胞/mlの密度で再懸濁した。上記の細胞を、FACSインキュベーションバッファ中で4°Cで15分間インキュベートすることによって遮断した。50 µlの、一次抗体(抗CD38 FITC、抗CD138 FITCまたはmIgG1 FITC コンジュゲート化アイソタイプ対照(全てBD Biosciences製)の2x原液；またはdAbを、FACSインキュベーションバッファ中の細胞に添加し、4°Cで30～60分間インキュベートした。次いで、この細胞をFACSインキュベーションバッファ中で1回洗浄した。100 µlの二次抗体(ウサギ抗Vk)をFACSインキュベーションバッファ中の細胞に添加し、4°Cで30～60分間インキュベートした。この細胞をFACSインキュベーションバッファ中で1回洗浄した。次いで、100 µlの1x 三次抗体をFACSインキュベーションバッファ中の細胞に添加し、4°Cで30～60分間インキュベートした(dAbに関しては、この三次抗体は抗ウサギFITC(Sigma製)である)。この細胞を、FACSインキュベーションバッファ中で2回洗浄した。細胞ペレットを、200 µl FACSインキュベーションバッファ + 生存細胞マーカー(BD Viaprobe製)中に再懸濁した。次いで、この細胞をフローサイトメトリーで分析した。

20

30

【0280】

表3に記載の細胞株をFACS分析に使用した。これらの細胞株の表現型はFACSによって決定した。リガンドの結合特異性を評価するために好適な表現型を有する好適な細胞は、American Type Culture Collection(例えば、受託番号CCL-155, CRL 9068, CCL-86, CRL1929, TIB 196, CRL 1730, CRL2408, HTB 173, HTB 119, CRL 5834)およびDeutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH(例えば、受託番号ACC50, ACC 31)などの細胞寄託機関から入手することができる。

【表 3】

FACS 分析に用いた細胞株の表現型

細胞株	FACS により決定された 表現型
RPMI8226	CD138+ CD31- CD38+ CD56+
OPM2	CD138+ CD38+
NCIH929	CD138+ CD31- CD38+ CD56+
RAJI	CD83+ CD138-
SUPB15	CD138- CD31+ CD38+ CD56-
U266	CD138+ CD31+ (低発現) CD38+ (低発現) CD56-
Huvec	CD138+ CD31+ CD38- CD56-
CCRF-CEM	CD38- CD138- CEA- CD56-
K299	CD38- CD138- CD56- CEA-
NK92MI	CEA- CD56+

10

20

30

40

NCI-H146	CEA(極めて弱い + ve) CD56+
NCI-H69	CEA + CD56 +
NCI-H647	CEA- CD56- NCA+ CD138+

10

【 0 2 8 1 】

結果

この研究では、CD36、CD38、CD138、CEAおよびCD56に対してそれぞれ優れた結合特性を有するとして、ドメイン抗体(dAb)DOM11-3、DOM11-30、DOM12-45、DOM13-25およびDOM14-23をFACS分析によって同定した。図1A～1Hを参照。

【表 4】

FACS 分析による抗 CD38 および抗 CD138 dAb の特性

	RPMI	SUPB	HUVEC	K299
	CD38+/138+	CD38+/CD138-	CD38-/CD138+	CD38-/138-
抗 CD38				
DOM11-3	√	√	X	X
DOM11-7	√	√	X	X
DOM11-23	√			
DOM11-24	√			X
DOM11-30	√			X
DOM11-32	√			X
DOM11-37	√			
DOM11-38	√			X
DOM11-39	√			X
抗-CD138				
DOM12-17	√		√	X
DOM12-26	√		√	(√)
DOM12-45	√		√	X

√ = dAb 結合する

x = dAb 結合せず

【 0 2 8 2 】

BIACORE 分析

FACS陽性クローンとして同定した抗CD38、抗CEAおよび抗CD56dAbを、以下の手順を用いてBiacoreでさらに分析した。1:1 EDC/NHS(水に溶解した0.4M 1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)-カルボジイミド；水に溶解した0.1M N-ヒドロキシスクシンイミド)を流速5μL/分で、接触時間10分間でフラッシュすることによってCM5チップ表面を活性化させた。CD38を、流速5μL/分の酢酸バッファー(pH4)中で、500nMで固定化し、これをレゾナンスユニット(RU)が500~1000(低密度)になるまで繰り返した。CEAとCD56とを、酢酸バッファー(pH4.5)中で結合させた。任意の過剰な反応基は、CM5チップ上に1M エタノールアミン-HClを流す(再び流速5μL/分で7分間)ことによって失活させた。抗CD38、抗CEAおよび抗CD56のdAbの親和性は、上記のbiacore上で測定した。各標的について、100~200nMの範

囲内の親和性で結合するdAbが見出された。図2は、Biacoreで親和性について測定した2種類の抗CD38 dAb(DOM11-30とDOM11-3)から得た結果を示す。DOM11-30は150nMの親和性(K_D)を有し、DOM11-2は250nMの親和性を有していた。

【0283】

抗CD38dAbのエピトープマッピング

2種類の抗CD38dAbがCD38上の異なるエピトープに結合するか否かを決定するため、エピトープマッピングを行った。このアッセイは、中密度(～2000のRU)でコーティングしたチップを用いて上記のとおりBIAcore上で行った。CD38は、上記のとおり中密度でCM5チップ上にコーティングした。共注入機能を用いて、第1の抗CD38dAbを濃度500nMで注入した。第1の抗CD38dAbと第2の抗CD38dAbの両方を同じ濃度(500nM)で共注入した。両dAbは異なるエピトープに結合するため、第2の注入の間のRUは、第1のdAbの結合レベルを超えて増大する。

【0284】

この結果は、抗CD38 dAbであるDOM113、DOM11-30およびDOM11-23が、CD38上の異なるエピトープに結合することを示した。図3A～3Dを参照。

【表 5】

抗 CEA dAb の特性

dAb	LS174-T	H69	biacore	H647 (CEA-/NCA+)
DOM13-25	++	++	親和性 100-200nM	-
DOM13-57	-	+ (極めて 弱い)	NT	-
DOM13-58	+ (弱い)	+	結合する -低親和性	-
DOM13-59	+ (弱い)	+	親和性 400-800nM	-
DOM13-64	NT	NT	結合する -低親和性	-
DOM13-65	+	+	結合する -低親和性	-
DOM13-74	+	+	親和性 100-200nM	-
DOM13-93	+	+	結合する -低親和性	-
DOM13-95	+	+	結合する -低親和性	-

++ 強い結合

+ 結合する

- 結合せず

NT 試験せず

10

20

30

【表 6】

抗 CD56 dAb の特性

dAb	H82	H69	biacore
DOM14-23	+ (二量体として)	ND	親和性 100-200nM
DOM14-48	-	++	結合する-低親和性
DOM14-56	-	~+	結合する-低親和性
DOM14-57	-	+	結合せず
DOM14-62	-	~+	結合せず
DOM14-63	-	++	親和性 100nM
DOM14-68	+	++	結合せず
DOM14-70	+	+	親和性 500-800nM

++ 強い結合

+ 結合する

- 結合せず

【0285】

抗CD38 dAbと抗CD138 dAbを含むリガンド

CD38またはCD138に結合する低親和性dAbは同定されている。これらのdAbを直列融合によって連結し、FACSにより抗原発現細胞に対して特異的に結合する二重特異性dAb(リガンド)を作製した。dAbは全て大腸菌中で発現させ、プロテインLアガロースを用いて精製し、その後、必要な場合はリソースSカチオン交換クロマトグラフィーを行った。

【0286】

dAbは全て、単量体として抗原発現細胞株に結合することが示されたが、抗原陰性細胞株に対する結合は示されなかった。抗CD38dAbと抗CD138dAbを直列融合として組み合わせ、その結合について、上記のとおり二重陽性細胞株および二重陰性細胞株上でFACSによって試験した。最適な二重特異性dAbの組み合わせは、DOM11-3/DOM12-45とDOM11-30/DOM12-45であった。最適濃度(25~50nM)において、これらの組み合わせは、二重陽性細胞株(CD38+/CD138+)に対しては強く結合したが、単一陽性細胞株または陰性細胞株に対しては結合しなかった。図4A~4D参照。

【0287】

インターナライズ

方法

細胞を、RPMI1640+10% FCS(インターナライズバッファー)中で1回洗浄した。細胞ペレットを所要量のインターナライズバッファー中に再懸濁し、適当な数のチューブに分けた(50μl/チューブ)。上記の細胞をインターナライズバッファー中で15分間インキュベートしてブロッキングした。次いで、50μlの、プレミックスした一次抗体と二次抗体(dAb + ウサギ抗Vk)の2x 原液をインターナライズバッファー中の細胞に添加し、4℃で60分間インキュベートした。この細胞をインターナライズバッファー中で1回洗浄した。100μlの1x 三次抗体(抗ウサギFITC)をインターナライズバッファー中の細胞に添加し、4℃で30~60分間インキュベートした。

【0288】

上記の細胞を、インターナライズバッファー中で1回洗浄した。関連のサンプルを37℃

で1.5時間インキュベートし、インターナライズさせた。2セットの複製サンプルを、ポリペプチドとして4℃で保持した。

【0289】

表面に結合したdAbとインターナライズされたdAbとを識別するために、4℃でのみインキュベートした細胞のサンプルと、37℃でインキュベートした細胞のサンプルとを酸洗浄し、細胞表面のdAbだけを除去した。その後この細胞を酸洗浄バッファー中で2回洗浄し、次いでリン酸緩衝生理食塩水(PBS)中で2回洗浄した。上記の細胞を200 μl PBS + 10 μl B D Viaprobe中に再懸濁し、フローサイトメトリーで分析した。4℃でのみインキュベートした(細胞表面に結合させた)場合と、37℃でインキュベートして酸洗浄処理を行った(インターナライズした)場合とを比較し、その標識細胞の割合をFACSによって評価した。共焦点顕微鏡法の別法としては、上記の細胞を4%パラホルムアルデヒド溶液中に固定し、カバースリップ上にマウントする。

10

【0290】

結果

抗CD38/抗CD138二重特異性リガンド(DOM11-3/DOM12-45とDOM11-30/DOM12-45)はいずれもCD38+細胞株Raji上でインターナライズされることが、FACSおよび共焦点顕微鏡によって示された。図5A～5Cは、CD38陽性細胞株がDOM11-3/DOM12-45で標識された(500nM、Zeiss LSM510 META共焦点顕微鏡にてFITC染色で可視化した)ことを示す。インターナライズは、37℃における耐酸化性蛍光として示された。

20

【0291】

抗CD38/抗CD138二重特異性リガンド、DOM11-3/DOM12-45およびDOM11-30/DOM12-45もまた、二重発現多発性骨髄腫細胞株OPM2(DSMZ ACC50)上でインターナライズされることが示されている。図6Aおよび6B参照。

【表7】

インターナライズされた二重特異性 dAb の割合の決定

	DOM11-3/ DOM12-45	DOM11-30/ DOM12-45	DOM14-23/ DOM12-45	Vk ダミー
% インターナライズ	76%	8%	43%	0.2%

30

【0292】

細胞内局在

この研究では、上記のインターナライズされた二重特異性dAbの細胞内局在を調査した。

【0293】

方法

簡単に言えば、上記のインターナライズされた二重特異性dAb(ds-dAb)の細胞内局在を調査した。Raji(CD38+)細胞によってインターナライズされた上記のdAbを、使用説明書(Serotec社)に従いマジックレッドで対比染色した。マジックレッドはリソソームコンパートメントに局在するカテプシンBのためのマーカーである。DOM11-30/DOM12-45とDOM11-3/DOM12-45は両方とも共局在することが、このマーカーで示されている。

40

【0294】

結果

図7は、Raji細胞上のCD38/CD138の共局在をリソソームマーカーであるカテプシンBを用いて示し、共焦点顕微鏡で可視化した。DOM11-30/DOM12-45とDOM11-3/DOM12-45は両方と

50

も、このマーカーで共局在を示している。

【0295】

これらの結果は、リガンドがリソソームコンパートメントにインターナライズされ得ることを示し、この場合このリガンドは、例えば、タンパク質分解による切断(カテプシンB切断)によって処理され、毒素を放出し得る。

【0296】

二重特異性リガンド-ポリエチレングリコール(PEG)コンジュゲート

方法

抗CD38/抗CD138二重特異性リガンドであるDOM11-3/DOM12-45とDOM11-30/DOM12-45を、5 K、20K、30Kまたは40K PEGのいずれかを用いて、C末端システイン残基でペグ化した。本発明のdAbのC末端における改変されたシステインは、MAL-PEGの部位特異的結合を可能とする。

【0297】

本発明のdAbタンパク質溶液に、グリセロールを最終濃度20%(v/v)まで加え、またジチオスレイトールを5 mMまで加えた。この溶液を室温で20分間インキュベートし、表面のチオール基を還元させた。サンプルの量は、遠心濃縮器(Vivascience)(4,500 rpm)を用いて2.5 mlまで低減した。上記のタンパク質溶液は、還元剤を除去するため、PD-10カラム(Amersham製)を用いてバッファー交換した。このPD-10カラムは、25mlのカップリングバッファー(20 mM BIS-Tris(pH 6.5)、5 mM EDTAおよび10%グリセロール[v/v])で平衡させ、その後2.5 mlの還元タンパク質を添加した。このタンパク質溶液を樹脂床に完全に通液させ、その後さらに3.5 mlのカップリングバッファーを添加してdAbを溶出させた。次いで、このタンパク質はすぐに結合した。タンパク質濃度(mg/ml)は、280 nmでの吸光度を測定することによって決定した。タンパク質量は、mg/mlからモル濃度へと変換した。3モル過剰のMAL-PEGを加えた。室温で一晩反応を進めた。このサンプルは、PD-10脱塩カラムを用いてバッファー交換し、結合していないMAL-PEGを除去した。dAbの結合およびインターナライズについて、上記のとおりペグ化したサンプルのFACS分析を行った。

【0298】

結果

この結果は、ペグ化された場合、二重特異性リガンドは、ペグ化されていない二重特異性リガンドと同程度に、その標的に結合することを示している。特に抗CD38/抗CD138二重特異性リガンド、DOM11-30/DOM12-45に対してより大きなPEGを用いた場合、多少結合の低下が見られた。さらに、抗CD38(DOM11)のペグ化形は、ペグ化されていないリガンドと同程度にOPM2多発性骨髄腫細胞にインターナライズされた(図8A~8E参照)。

【0299】

抗CD38/抗CD138二重特異性リガンド-毒素コンジュゲート

抗CD38/抗CD138、(DOM11-3/DOM12-45)二重特異性リガンドの調製

抗CD38/抗CD138(DOM11-3/DOM12-45)二重特異性リガンドを大腸菌中で発現させ、プロテインLアガロースを用いて精製し、その後リソースSカチオン交換クロマトグラフィーを行った。陰性対照として使用するため、Vkダミー/Vkダミーホモ二量体も発現させて精製した。

【0300】

抗CD38/抗CD138 (DOM11-3/12-45)への毒素-セレンのコンジュゲーション

3炭素酸または3炭素アミンリンカーを用いて、抗CD38/抗CD138二重特異性リガンドにセレンをコンジュゲートさせた(米国特許第5,783,454号参照。この文献の教示内容は参照により本明細書に組み込まれる)。概して、各抗CD38/抗CD138二重特異性リガンドには、それぞれ2つのセレン分子が結合する。

【0301】

セレンをコンジュゲートさせた二重特異性リガンドのインターナライズ

OPM2細胞によるセレンをコンジュゲートさせたdAbのインターナライズを、上記のとおりFACSによって検証した。セレンをコンジュゲートさせた抗CD38/抗CD138(DOM11-3/DOM12

-45)二重特異性リガンドは、セレンをコンジュゲートさせていないdAbと同程度にインターナライズされたが、セレンをコンジュゲートさせていないVkダミー-dAbまたはセレンをコンジュゲートさせたVkダミー-dAbは、いずれもインターナライズされなかった。図9A～9D参照。

【0302】

抗CD38/抗CD138殺細胞アッセイ

アポトーシスおよび細胞死に対する二重特異性リガンド-セレンコンジュゲートの効果を測定するため、アネキシンV alexa-fluor 488とヨウ化プロピジウム(PI)を用いた二重染色を行った(Vybrant Apoptosis assay kit#2, Molecular Probes製)。1 x 10⁵のOPM2 CD38/CD138陽性多発性骨髄腫細胞(ATCC)またはCD138/CD38抗原陰性細胞を、セレンとコンジュゲートしている二重特異性dAbまたはVkダミー、およびセレンとコンジュゲートしていない二重特異性dAbまたはVkダミーと共に、24時間インキュベートした。陽性対照として、細胞を、μM カンプトテシン(Sigma製)と共に6時間インキュベートした。処理後、上記の細胞をFACSバッファーで洗浄し、使用説明書に従ってアネキシンVとヨウ化プロピジウムとを含有する結合バッファー中に再懸濁した。15分間のインキュベーション後、アポトーシスを起こした細胞の集団および死細胞の集団の存在について、FACSによって細胞をアッセイした(図10に示す)。

【0303】

図10に示される結果は、二重特異性抗CD38/抗CD138dAbへのセレンのコンジュゲーションが、二重陽性(CD38+/CD138+)細胞の選択的殺細胞をもたらしたことを示す。セレンとコンジュゲートしていない二重特異性dAbと比較すると、CD38とCD138の両方を発現している多発性骨髄腫細胞上でのアポトーシスの増大が観察された。さらに、上記のアポトーシスの増大は、CD38とCD138の両方を発現していた多発性骨髄腫細胞に特異的であった。CD38/CD138陽性細胞株またはCD38/CD138陰性細胞株のいずれかにて、セレンとコンジュゲートした陰性対照dAbを用いた場合には、アポトーシスの増大は見られなかった。

【0304】

細胞の生存に対するリガンド-セレンコンジュゲートの効果を測定するため、1 x 10⁵のOPM2(CD38+/CD138+)多発性骨髄腫細胞を分析した。Raji細胞(CD38陽性/CD138陰性)またはCD138-/CD38-陰性細胞を、上記のとおり、セレンとコンジュゲートしている二重特異性リガンドまたはVkダミー、およびセレンへのコンジュゲートしていない二重特異性リガンドまたはVkダミーと共に24時間インキュベートした。細胞を洗浄し、ヨウ化プロピジウムで染色して、FACSによって細胞の生存を測定した。この結果は、二重特異性リガンドへのセレンのコンジュゲーションが、二重陽性多発性骨髄腫細胞における細胞生存率の減少をもたらしたが、単一陽性細胞株および二重陰性細胞株は影響を受けなかったことを示す。図11参照。

【0305】

一部の研究においては、コンジュゲートしている二重特異性リガンドまたはVkダミー、およびコンジュゲーションしていない二重特異性リガンドまたはVkダミーを、細胞と共に24～96時間インキュベートした。

【0306】

抗CD138dAbと抗CD56dAbを含むリガンド

CD138またはCD56に結合する低親和性dAbは同定されている。その後、このdAb DOM12-45とDOM14-23とを連結して、FACSによって標的発現細胞に特異的に結合する二重特異性dAbが作出されている。dAbは全て大腸菌中で発現させ、プロテインL アガロースを用いて精製し、その後、必要な場合にはリソースSカチオン交換クロマトグラフィーを行った。

【0307】

抗CD138/抗CD56二重特異性リガンド(DOM12-45/DOM14-23)は直列融合として作製されている。このリガンドは、多発性骨髄腫を治療するための抗CD38/抗CD138リガンドの代替的な組み合わせである。FACSによって、二重陽性細胞株(CD138+/CD56+)には強く結合するが、単一陽性細胞株または陰性細胞株には強く結合しないことが示されている。DOM14-23/D

OM12-45は、二重陽性多発性骨髄腫細胞株OPM2にてインターナライズされることが示されている(表7参照)。

【0308】

抗CEA dAbと抗CD56 dAbを含むリガンド

CEAまたはCD56に結合する低親和性dAbは同定されている。これらのdAb(DOM13-25とDOM14-23)を連結して、FACSによって標的発現細胞に特異的に結合する二重特異性dAbが作出されている。dAbは全て大腸菌中で発現させ、プロテインLアガロースを用いて精製し、その後、必要な場合はリソースSカチオン交換クロマトグラフィーを行った。

【0309】

抗CEA/抗CD56二重特異性リガンド(DOM13-25/DOM14-23)は直列融合として作製されている。このリガンドは、小細胞肺癌を治療するために使用することができる。FACSによって、二重陽性細胞株(CEA+/CD56+であるH69小細胞肺癌)には強く結合するが、単一陽性細胞株または陰性細胞株には強く結合しないことが示された。さらに、DOM13-25とDOM14-23をVkダミー(CD38、CD138、CEAまたはCD56とは結合しない生殖細胞系アミノ酸配列を含むdAb)と組み合わせた。Vkダミーと組み合わせた場合にはいずれのdAbもH69細胞に対して顕著な結合を示さず、二重特異性dAbとして一緒に組み合わせた場合のみH69細胞に対して有効に結合した。

【0310】

抗CEA dAbと抗CD56 dAb(DOM13/DOM14)を含むリガンド

方法

抗CEA dAbであるDOM13-25と抗CD56 dAbであるDOM14-23とを、直列融合として型式化した。このリガンドは、小細胞肺癌の治療に適応される。FACSによって、二重抗原陽性細胞株(H69小細胞肺癌、ATCC)には強く結合するが、単一抗原陽性細胞株または抗原陰性細胞株には強く結合しないことが示されている。さらに、DOM13-25とDOM14-23をVkダミーと組み合わせた。Vkダミーと組み合わせた場合にはいずれのdAbもH69細胞に対して顕著な結合を示さず、二重標的dAbとして一緒に組み合わせた場合のみH69細胞に対して有効に結合する。

【0311】

親和性成熟した抗CD38(DOM11)dAb

抗CD38dAb DOM11-3とDOM11-30について、エラープローンPCRによって親和性成熟ライブラリを作出した。CD38-Fc抗原にて3ラウンドの選択を行った。ラウンド2およびラウンド3で得られたdAbは、ファージELISAにより、続いて可溶性ELISAによって特異的に結合することが示された(上記のとおり)。最初のスクリーニングはBIAcoreで行い(前記のとおり)、次にFACSにより行った。

【0312】

抗原に対して高められた結合を示した幾つかのクローンを、BIAcoreおよびFACSによって同定した。表8と表9は、親dAbならびに幾つかの親和性成熟した抗CD38dAb(DOM11-3-1、DOM11-3-2、DOM11-30-1、DOM11-30-2、DOM11-30-3、およびDOM11-30-4)について観察された親和性(KD)を示す。

【0313】

DOM 11-30に由来する親和性成熟したdAbは、約10倍以下の高められた結合親和性を示した。

【表 8】

クローン	KD (nM)
DOM11-3	330-500
DOM11-3-1	62
DOM11-3-2	130-160

【表 9】

クローン	KD (nM)
DOM11-30	190-230
DOM11-30-1	19
DOM11-30-2	62-76
DOM11-30-3	86-93
DOM11-30-4	78-89

【0314】

親和性成熟した抗CD138dAb

抗CD138dAb DOM12-45について、エラーブローンPCRによって親和性成熟ライブラリを作出した。CD138-Fc抗原にて3ラウンドの選択を行った。ラウンド2およびラウンド3で得られたdAbは、ファージELISAにより、続いて可溶性ELISAによって特異的に結合することが示された。最初のスクリーニングはFACSによって行った。抗原に対して高められた結合を示すリードクローンがFACSにおいて同定された。親和性成熟dAbは、約10倍以下の高められた結合親和性を示した。

【0315】

親和性成熟した抗CD38/抗CD138二重特異性リガンド

抗CD38dAbと抗CD138dAbを二重発現ベクター中にクローニングすることにより、抗CD38および抗CD138親和性成熟dAbを組み合わせて二重特異性リガンドを作出した。上記の単量体の高められた親和性が、上記の二重特異性リガンドの高められた結合親和性に反映されているのか否かを決定するため、様々な親和性成熟した抗CD38dAbを抗CD138dAb DOM12-45と組み合わせ、様々な親和性成熟した抗CD138dAbを抗CD38dAbと組み合わせ、また様々な親和性成熟した抗CD38dAbを親和性成熟した抗CD138dAbと組み合わせた。二重特異性リガンドは全て大腸菌中で発現させ、プロテインLアガロースを用いて精製し、その後、必要な場合はリソースSカチオン交換クロマトグラフィーを行った。この二重特異性リガンドの結合親和性は、上記のとおりFACSで評価した。この研究においては、EC50を決定するために様々な濃度を用いた。上記の組み合わせの一部の結果を図25に示す。

【0316】

この発明は、その好適な実施形態について特に示され且つ記載されているが、当業者には、添付の特許請求の範囲に包含される本発明の範囲から逸脱することなく本発明の形態および詳細の様々な変更を行うことが可能であると理解されるだろう。

【図面の簡単な説明】

10

20

30

40

50

【0317】

【図1】図1A～1Hは、CD38、CD138、CEAまたはCD56に結合するドメイン抗体(dAb)の結合特異性を示す蛍光ヒストグラムである。図1Aと1Bは、CD38に結合するdAb(DOM11-3およびDOM11-30)が、CD38+細胞(RPMI細胞)には結合するが、CD38-細胞(K299細胞)には結合しないことを示す。図1Cと1Dは、CD138に結合するdAb(DOM12-45)が、CD138+細胞(RPMI細胞)には結合するが、CD138-細胞(K299細胞)には結合しないことを示す。図1Eと1Fは、CEAに結合するdAb(DOM13-25)が、CEA+細胞(H69細胞)には結合するが、CEA-細胞(CHO細胞)には結合しないことを示す。図1Gと1Hは、CD56に結合するdAb(DOM14-23)が、CD56+細胞(H69細胞)には結合するが、CD56-細胞(CHO細胞)には結合しないことを示す。

【図2】図2は、表面プラズモン共鳴によって測定される、CD38に結合するdAb(DOM11-3とDOM11-30)の結合および解離を表すセンソグラムである。DOM11-3の親和性(K_D)は250 nMと測定され、DOM11-30の親和性は150 nMと測定された。

【図3】図3A～3Dは、CD38に結合するdAb(DOM11-3、DOM11-30およびDOM11-23)が、CD38上の異なるエピトープに結合することを示すセンソグラムである。CD38を表面プラズモン共鳴チップ上に固定化し、第1の抗CD38dAbをその表面上に流し(第1の矢印)、次に第2のdAbをその表面上に流した(第2の矢印)。これらの図は、DOM11-30が、既にDOM11-3を結合させたCD38に結合し(図3A)、DOM11-23が、既にDOM11-30を結合させたCD38(図3B)に結合し、またDOM11-3が、既にDOM11-23を結合させたCD38に結合した(図3C)ことを示し、これらのdAbが、CD38抗原上の異なるエピトープに結合することを示す。対照的に、既にDOM11-30を結合させたCD38上にDOM11-30を流しても、結合が高まることはなかった。

【図4】図4A～4Dは、CD38およびCD138に結合したリガンド(DOM11-3/DOM12-45)(50nM)が、二重陽性RPMI82265細胞(CD38+/CD138+)に選択的に結合したことを示す蛍光ドットプロットである。DOM11-3/DOM12-45は、単一陽性Raji細胞(CD38+/CD138-)もしくはH647細胞(CD38-/CD138+)、または二重陰性細胞(CCRF-CEM)には実質的に結合しなかった。

【図5】図5A～5Cは、Raji(CD38+)細胞株が、CD38およびCD138(DOM11-3/DOM12-45)に結合したリガンド(500nM)で標識されたことを示す顕微鏡写真である。このリガンドは、二次試薬と三次試薬(FITC標識されたもの)、そして共焦点顕微鏡(Zeiss LSM510 μ META)を用いて可視化した。細胞は、リガンドのインターナライズを妨げるために4℃で保持し、あるいはインターナライズを可能とするために37℃で保持した。図5Aと5Bは、DOM11-3/DOM12-45がRaji細胞に結合したが、図5B中で耐酸性の蛍光が見られないことによって示されるように、4℃では実質的にインターナライズされなかったことを示す。対照的に、図5Cは37℃における耐酸性の蛍光を示し、DOM11-3/DOM12-45がインターナライズされたことを示している。

【図6】図6A～6Bは、CD38およびCD138(DOM11-3/DOM12-45)に結合したリガンドが、二重陽性骨髓腫細胞株(OPM2、CD38+/CD138+)に結合したことを示す蛍光ヒストグラムである。OPM2細胞は、図5A～5Cに記載のとおり、4℃または37℃においてDOM11-3/DOM12-45で処理した。37℃において耐酸性の蛍光が検出され、リガンドがインターナライズされたことを示している。対照的に、4℃においては、あるいはCD38またはCD138に結合しないdAb(Vkダミー)で処理した細胞中では、極めてわずかな耐酸性の蛍光しか検出されず、上記のリガンドまたはdAbがインターナライズされなかったことを示唆している。

【図7】図7は、Raji細胞中の、CD38およびCD138(DOM11-3/DOM12-45)に結合したリガンド(緑色蛍光)とリソソームマーカーであるカテプシンB(赤色蛍光)との共局在化を共焦点顕微鏡によって示す一連の顕微鏡写真である。共局在化したリガンドとカテプシンBは、オーバーレイパネル中で黄色蛍光として示される。

【図8】図8A～8Eは、5K(図8B)、20K(図8C)、30K(図8D)または40K(図8E)の直鎖PEGでペグ化した、CD38およびCD138に結合したリガンド(DOM11-3/DOM12-45; da-dAb)が、37℃において、ペグ化していないリガンド(図8A)とほぼ同程度にインターナライズされたことを示す蛍光ヒストグラムである。これらの図は、各リガンドの37℃における耐酸性の蛍光を示し、これらのリガンドがインターナライズされたことを示す。

【図9】図9A～9Dは、CD38およびCD138に結合し、且つ毒素(セレン)を含むリガンド(DOM1

10

20

30

40

50

1-3/DOM12-45-Se)が、毒素を含んでいない対応のリガンド(DOM11-3/DOM12-45)と同程度にOPM2細胞にインターナライズされたことを示す蛍光ヒストグラムである。これらの図は、37℃における、DOM11-3/DOM12-45-SeとDOM11-3/DOM12-45の耐酸性の蛍光を示し、これらのリガンドがインターナライズされたことを示している。対照的に、CD38またはCD138と結合しなかったリガンド(Vkダミー/VkダミーおよびVkダミー/Vkダミー-Se)は、細胞に結合せず、またはインターナライズされなかった。

【図10】図10は、カンプトテシン；CD38およびCD138に結合し、且つ毒素(セレン)を含むリガンド(DOM11-3/DOM12-45-Se)；CD38およびCD138に結合したリガンド(DOM11-3/DOM12-45)；CD38およびCD138には結合しなかったが毒素(セレン)は含むリガンド(Vkd Se)；ならびにCD38およびCD138に結合しなかったリガンド(Vkd)を導入した、OPM2 MM細胞株(CD38+/CD138+)およびCD38またはCD138を発現しなかった細胞(抗原-ve細胞株)のアポトーシスを示すヒストグラムである。結果は、DOM11-3/DOM12-45-Seが二重陽性OPM2 MM細胞株のアポトーシスを選択的に誘導したが、カンプトテシンは両方の細胞株のアポトーシスを誘導し、またDOM11-3/DOM12-45、Vkd SeおよびVkdは、いずれの細胞株のアポトーシスも誘導しなかったことを示す。

【図11】図11は、CD38およびCD138に結合し、且つ毒素(セレン)を含むリガンド(DOM11-3/DOM12-45-Se；38/138 Se)は、二重陽性OPM2細胞(CD38+/CD138+)の細胞死(細胞生存の減少)を選択的に誘導するが、単一陽性Raji細胞(CD38+/CD138-)または二重陰性CEM細胞(CD38-/CD138-)の細胞死は誘導しないことを示すヒストグラムである。毒素を含まない対応のリガンド(DOM11-3/DOM12-45；38/138 -)、CD38またはCD138に結合しないリガンド(VKD/VKD-)、およびCD38またはCD138には結合しないが毒素(セレン)は含むリガンド(VKD/VKD Se)は、これらの細胞株のいずれの細胞生存も減少させなかった。

【図12】図12は、CEAおよびCD56に結合したリガンド(DOM14-23/DOM13-25)は二重陽性H69細胞(CEA+/CD56+)に結合したが、CD56には結合したがCEAには結合しなかったリガンド(DOM14-23/Vkダミー)およびCEAには結合したがCD56には結合しなかったリガンド(Vkダミー/DOM13-25)は、H69細胞に結合しなかったことを示す蛍光ヒストグラムである。Vkダミーは、CEAまたはCD56に結合しないdAbである。

【図13A】図13Aは、幾つかのヒト抗CD38dAbのヌクレオチド配列を示す。

【図13B】図13Bは、幾つかのヒト抗CD38dAbのヌクレオチド配列を示す。

【図13C】図13Cは、幾つかのヒト抗CD38dAbのヌクレオチド配列を示す。

【図13D】図13Dは、幾つかのヒト抗CD38dAbのヌクレオチド配列を示す。

【図13E】図13Eは、幾つかのヒト抗CD38dAbのヌクレオチド配列を示す。

【図13F】図13Fは、幾つかのヒト抗CD38dAbのヌクレオチド配列を示す。

【図13G】図13Gは、幾つかのヒト抗CD38dAbのヌクレオチド配列を示す。

【図14A】図14Aは、幾つかのヒト抗CD138dAbのヌクレオチド配列を示す。

【図14B】図14Bは、幾つかのヒト抗CD138dAbのヌクレオチド配列を示す。

【図14C】図14Cは、幾つかのヒト抗CD138dAbのヌクレオチド配列を示す。

【図14D】図14Dは、幾つかのヒト抗CD138dAbのヌクレオチド配列を示す。

【図14E】図14Eは、幾つかのヒト抗CD138dAbのヌクレオチド配列を示す。

【図14F】図14Fは、幾つかのヒト抗CD138dAbのヌクレオチド配列を示す。

【図14G】図14Gは、幾つかのヒト抗CD138dAbのヌクレオチド配列を示す。

【図15A】図15Aは、幾つかのヒト抗CEAdAbのヌクレオチド配列を示す。

【図15B】図15Bは、幾つかのヒト抗CEAdAbのヌクレオチド配列を示す。

【図15C】図15Cは、幾つかのヒト抗CEAdAbのヌクレオチド配列を示す。

【図15D】図15Dは、幾つかのヒト抗CEAdAbのヌクレオチド配列を示す。

【図15E】図15Eは、幾つかのヒト抗CEAdAbのヌクレオチド配列を示す。

【図15F】図15Fは、幾つかのヒト抗CEAdAbのヌクレオチド配列を示す。

【図15G】図15Gは、幾つかのヒト抗CEAdAbのヌクレオチド配列を示す。

【図15H】図15Hは、幾つかのヒト抗CEAdAbのヌクレオチド配列を示す。

【図15I】図15Iは、幾つかのヒト抗CEAdAbのヌクレオチド配列を示す。

- 【図 1 5 J】図15Jは、幾つかのヒト抗CEAdAbのヌクレオチド配列を示す。
- 【図 1 5 K】図15Kは、幾つかのヒト抗CEAdAbのヌクレオチド配列を示す。
- 【図 1 5 L】図15Lは、幾つかのヒト抗CEAdAbのヌクレオチド配列を示す。
- 【図 1 5 M】図15Mは、幾つかのヒト抗CEAdAbのヌクレオチド配列を示す。
- 【図 1 5 N】図15Nは、幾つかのヒト抗CEAdAbのヌクレオチド配列を示す。
- 【図 1 5 O】図15Oは、幾つかのヒト抗CEAdAbのヌクレオチド配列を示す。
- 【図 1 6 A】図16Aは、幾つかのヒト抗CD56dAbのヌクレオチド配列を示す。
- 【図 1 6 B】図16Bは、幾つかのヒト抗CD56dAbのヌクレオチド配列を示す。
- 【図 1 6 C】図16Cは、幾つかのヒト抗CD56dAbのヌクレオチド配列を示す。
- 【図 1 6 D】図16Dは、幾つかのヒト抗CD56dAbのヌクレオチド配列を示す。 10
- 【図 1 6 E】図16Eは、幾つかのヒト抗CD56dAbのヌクレオチド配列を示す。
- 【図 1 6 F】図16Fは、幾つかのヒト抗CD56dAbのヌクレオチド配列を示す。
- 【図 1 6 G】図16Gは、幾つかのヒト抗CD56dAbのヌクレオチド配列を示す。
- 【図 1 6 H】図16Hは、幾つかのヒト抗CD56dAbのヌクレオチド配列を示す。
- 【図 1 6 I】図16Iは、幾つかのヒト抗CD56dAbのヌクレオチド配列を示す。
- 【図 1 6 J】図16Jは、幾つかのヒト抗CD56dAbのヌクレオチド配列を示す。
- 【図 1 6 K】図16Kは、幾つかのヒト抗CD56dAbのヌクレオチド配列を示す。
- 【図 1 7 A】図17Aは、幾つかのヒト抗CD38dAbのアミノ酸配列を示す。
- 【図 1 7 B】図17Bは、幾つかのヒト抗CD38dAbのアミノ酸配列を示す。
- 【図 1 7 C】図17Cは、幾つかのヒト抗CD38dAbのアミノ酸配列を示す。 20
- 【図 1 7 D】図17Dは、幾つかのヒト抗CD38dAbのアミノ酸配列を示す。
- 【図 1 7 E】図17Eは、幾つかのヒト抗CD38dAbのアミノ酸配列を示す。
- 【図 1 7 F】図17Fは、幾つかのヒト抗CD38dAbのアミノ酸配列を示す。
- 【図 1 8 A】図18Aは、幾つかのヒト抗CD138dAbのアミノ酸配列を示す。
- 【図 1 8 B】図18Bは、幾つかのヒト抗CD138dAbのアミノ酸配列を示す。
- 【図 1 8 C】図18Cは、幾つかのヒト抗CD138dAbのアミノ酸配列を示す。
- 【図 1 8 D】図18Dは、幾つかのヒト抗CD138dAbのアミノ酸配列を示す。
- 【図 1 8 E】図18Eは、幾つかのヒト抗CD138dAbのアミノ酸配列を示す。
- 【図 1 8 F】図18Fは、幾つかのヒト抗CD138dAbのアミノ酸配列を示す。
- 【図 1 9 A】図19Aは、幾つかのヒト抗CEAdAbのアミノ酸配列を示す。 30
- 【図 1 9 B】図19Bは、幾つかのヒト抗CEAdAbのアミノ酸配列を示す。
- 【図 1 9 C】図19Cは、幾つかのヒト抗CEAdAbのアミノ酸配列を示す。
- 【図 1 9 D】図19Dは、幾つかのヒト抗CEAdAbのアミノ酸配列を示す。
- 【図 1 9 E】図19Eは、幾つかのヒト抗CEAdAbのアミノ酸配列を示す。
- 【図 1 9 F】図19Fは、幾つかのヒト抗CEAdAbのアミノ酸配列を示す。
- 【図 1 9 G】図19Gは、幾つかのヒト抗CEAdAbのアミノ酸配列を示す。
- 【図 2 0 A】図20Aは、幾つかのヒト抗CD56dAbのアミノ酸配列を示す。
- 【図 2 0 B】図20Bは、幾つかのヒト抗CD56dAbのアミノ酸配列を示す。
- 【図 2 0 C】図20Cは、幾つかのヒト抗CD56dAbのアミノ酸配列を示す。
- 【図 2 0 D】図20Dは、幾つかのヒト抗CD56dAbのアミノ酸配列を示す。 40
- 【図 2 0 E】図20Eは、幾つかのヒト抗CD56dAbのアミノ酸配列を示す。
- 【図 2 1 A】図21Aは、マウス血清アルブミン(MSA)に結合する3種類のV κ のアミノ酸配列のアラインメントである。整列したアミノ酸配列は、DOM7m-16 (配列番号541)とも呼ばれるMSA16、DOM7m-12 (配列番号542)とも呼ばれるMSA12、およびDOM7m-26 (配列番号543)とも呼ばれるMSA26を指定するV κ に由来する。
- 【図 2 1 B】図21Bは、ラット血清アルブミン(RSA)に結合する6種類のV κ のアミノ酸配列のアラインメントである。整列したアミノ酸配列は、DOM7r-1(配列番号544)、DOM7r-3 (配列番号545)、DOM7r-4 (配列番号546)、DOM7r-5 (配列番号547)、DOM7r-7 (配列番号548)、およびDOM7r-8 (配列番号549)を指定するV κ に由来する。
- 【図 2 1 C】図21Cは、ヒト血清アルブミン(HSA)に結合する6種類のV κ のアミノ酸配列の 50

アラインメントである。整列したアミノ酸配列は、DOM7h-2 (配列番号550)、DOM7h-3 (配列番号551)、DOM7h-4 (配列番号552)、DOM7h-6 (配列番号553)、DOM7h-1 (配列番号554)、およびDOM7h-7 (配列番号555)を指定するV κ に由来する。

【図 2 1 D】図21Dは、ヒト血清アルブミンとコンセンサス配列(配列番号556)に結合する7種類のV $_H$ のアミノ酸配列のアラインメントである。整列した配列は、DOM7h-22 (配列番号557)、DOM7h-23 (配列番号558)、DOM7h-24 (配列番号559)、DOM7h-25 (配列番号560)、DOM7h-26 (配列番号561)、DOM7h-21 (配列番号562)、およびDOM7h-27 (配列番号563)を指定するV $_H$ に由来する。

【図 2 1 E】図21Eは、ヒト血清アルブミンとラット血清アルブミンに結合する3種類のV κ のアミノ酸配列のアラインメントである。整列したアミノ酸配列は、DOM7h-8 (配列番号564)、DOM7r-13 (配列番号565)、およびDOM7r-14 (配列番号566)を指定するV κ に由来する。

10

【図 2 2】図22は、ラット血清アルブミン(RSA)に結合するV κ のアミノ酸配列の説明図である。例示される配列は、DOM7r-15 (配列番号567)、DOM7r-16 (配列番号568)、DOM7r-17 (配列番号569)、DOM7r-18 (配列番号570)、DOM7r-19 (配列番号571)を指定するV κ に由来する。

【図 2 3 A】図23Aは、ラット血清アルブミン(RSA)に結合するV $_H$ のアミノ酸配列の説明図である。例示される配列は、DOM7r-20 (配列番号572)、DOM7r-21 (配列番号573)、DOM7r-22 (配列番号574)、DOM7r-23 (配列番号575)、DOM7r-24 (配列番号576)、DOM7r-25 (配列番号577)、DOM7r-26 (配列番号578)、DOM7r-27 (配列番号579)、DOM7r-28 (配列番号580)、DOM7r-29 (配列番号581)、DOM7r-30 (配列番号582)、DOM7r-31 (配列番号583)、DOM7r-32 (配列番号584)、およびDOM7r-33 (配列番号585)を指定するV $_H$ に由来する。

20

【図 2 3 B】図23Bは、ラット血清アルブミン(RSA)に結合するV $_H$ のアミノ酸配列の説明図である。例示される配列は、DOM7r-20 (配列番号572)、DOM7r-21 (配列番号573)、DOM7r-22 (配列番号574)、DOM7r-23 (配列番号575)、DOM7r-24 (配列番号576)、DOM7r-25 (配列番号577)、DOM7r-26 (配列番号578)、DOM7r-27 (配列番号579)、DOM7r-28 (配列番号580)、DOM7r-29 (配列番号581)、DOM7r-30 (配列番号582)、DOM7r-31 (配列番号583)、DOM7r-32 (配列番号584)、およびDOM7r-33 (配列番号585)を指定するV $_H$ に由来する。

【図 2 4】図24は、WO 2004/041862に開示される、マウス血清アルブミンに結合する幾つかのラクダ化 V $_{HH}$ のアミノ酸配列を示す。配列A (配列番号586)、配列B (配列番号587)、配列C (配列番号588)、配列D (配列番号589)、配列E (配列番号590)、配列F (配列番号591)、配列G (配列番号592)、配列H (配列番号593)、配列I (配列番号594)、配列J (配列番号595)、配列K (配列番号596)、配列L (配列番号597)、配列M (配列番号598)、配列N (配列番号599)、配列O (配列番号600)、配列P (配列番号601)、配列Q (配列番号602)。

30

【図 2 5】図25は、OMP2多発性骨髄腫細胞における、dAbの組み合わせについての細胞結合アッセイを表すグラフである。EC50は、DOM 11-3-1/Dom 12-45-2については13.81、DOM 11-3-15/DOM 12-45-2については16.73、DOM 11-3-20/ DOM 12-45-2については11.88、DOM 11-3-23/ DOM 12-45-2については11.0、またDOM 11-3/ DOM 12-45については44.35であった。

40

【図 2 6 A】図26Aは、幾つかの親和性成熟ヒト抗CD38dAbの核酸配列を示す。

【図 2 6 B】図26Bは、幾つかの親和性成熟ヒト抗CD38dAbの核酸配列を示す。

【図 2 6 C】図26Cは、幾つかの親和性成熟ヒト抗CD38dAbの核酸配列を示す。

【図 2 6 D】図26Dは、幾つかの親和性成熟ヒト抗CD38dAbの核酸配列を示す。

【図 2 7 A】図27Aは、幾つかの親和性成熟ヒト抗CD38dAbの核酸配列を示す。

【図 2 7 B】図27Bは、幾つかの親和性成熟ヒト抗CD38dAbの核酸配列を示す。

【図 2 7 C】図27Cは、幾つかの親和性成熟ヒト抗CD38dAbの核酸配列を示す。

【図 2 8 A】図28Aは、幾つかの親和性成熟ヒト抗CD138dAbの核酸配列を示す。

【図 2 8 B】図28Bは、幾つかの親和性成熟ヒト抗CD138dAbの核酸配列を示す。

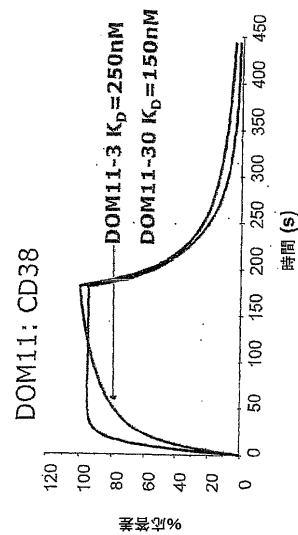
【図 2 8 C】図28Cは、幾つかの親和性成熟ヒト抗CD138dAbの核酸配列を示す。

【図 2 8 D】図28Dは、幾つかの親和性成熟ヒト抗CD138dAbの核酸配列を示す。

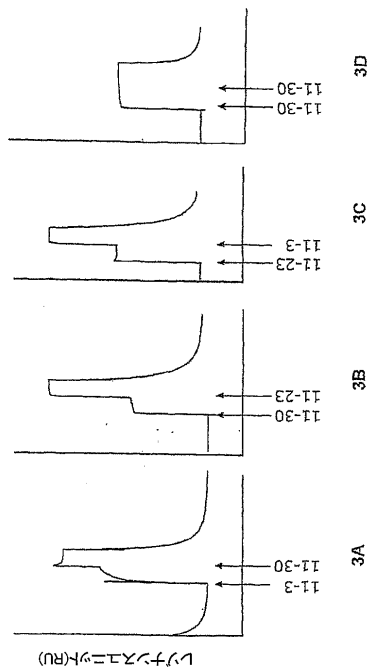
50

【図31C】図31Cは、幾つかのヒトdAbのアミノ酸配列および/または核酸配列を説明する。DOM14-3A dAbのアミノ酸配列のC末端における3個のアラニン残基(AAA)は、実際のdAbのアミノ酸配列の一部ではないが、クローニング部位によってコードされる。

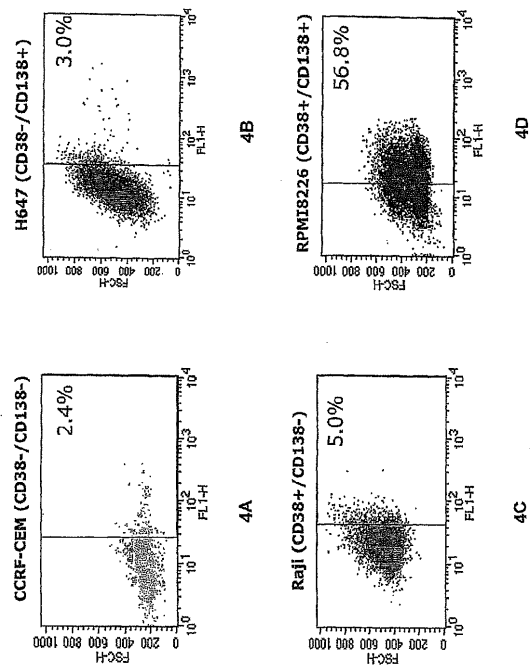
【図 2】



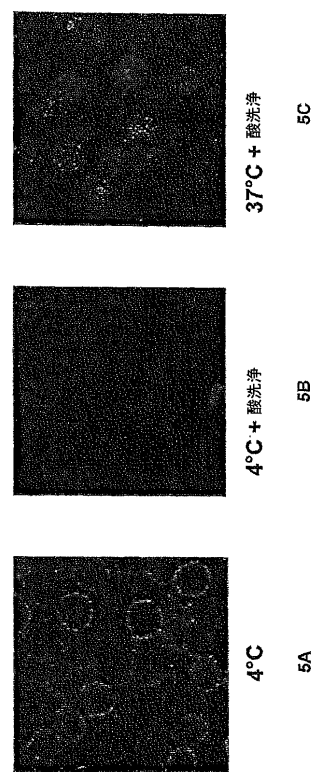
【図 3】



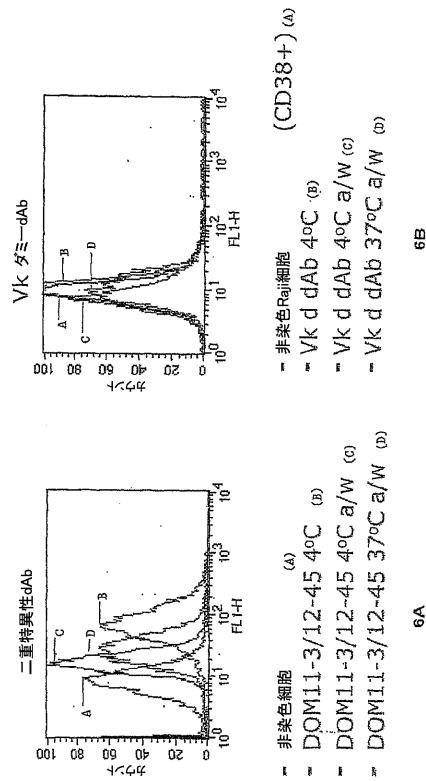
【図 4】



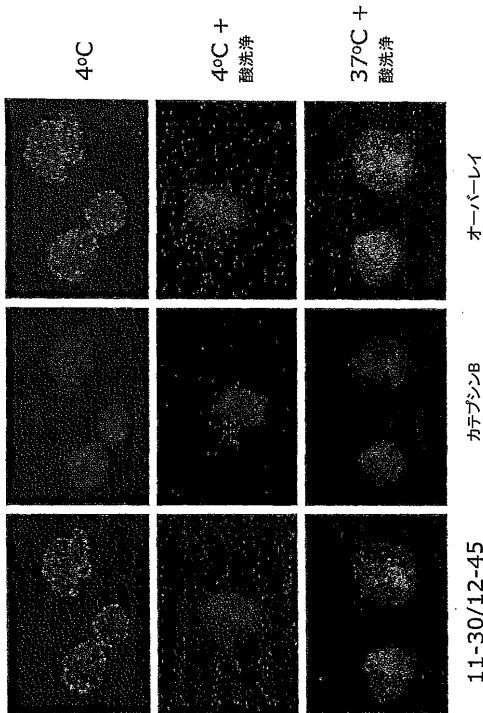
【図 5】



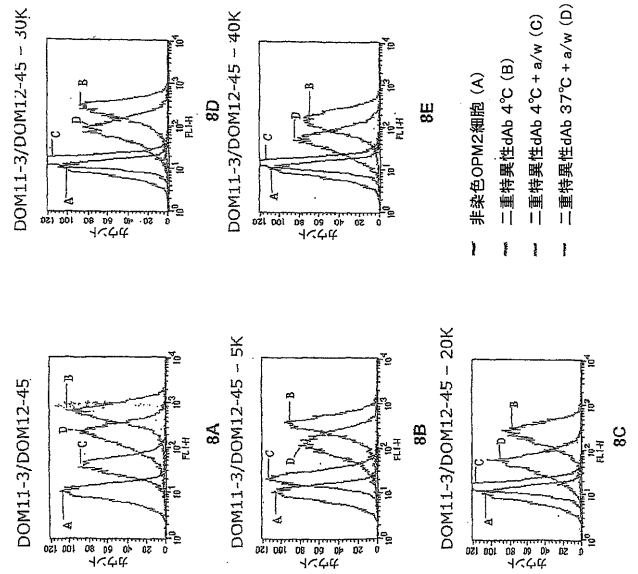
【図 6】



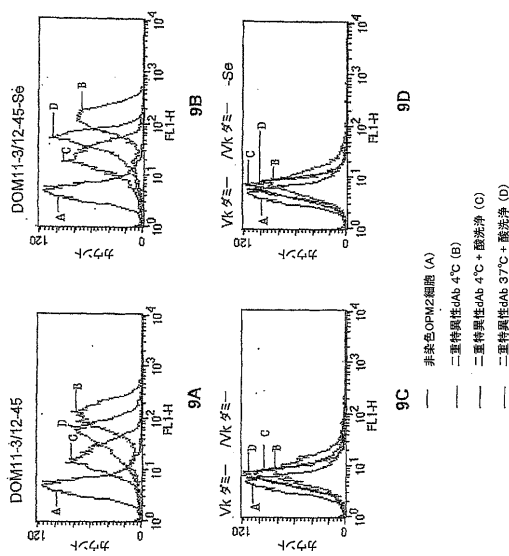
【図 7】



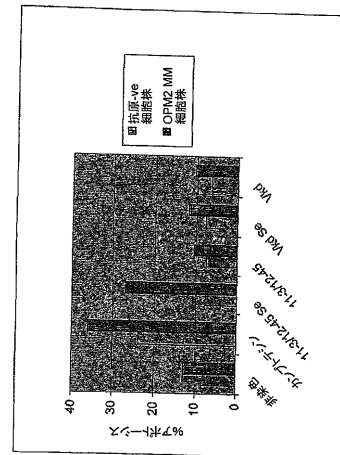
【図 8】



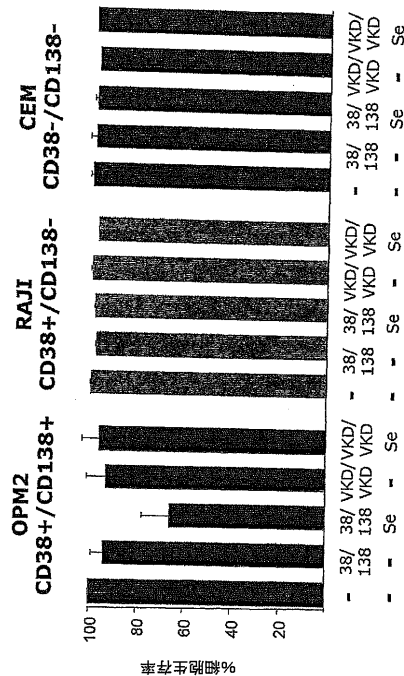
【図 9】



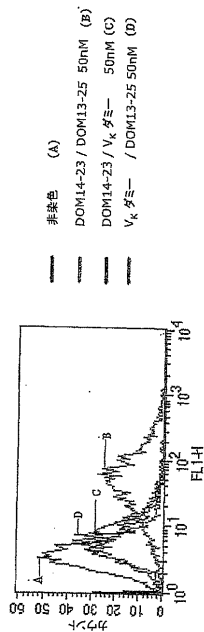
【図 10】



【図 1 1】



【図 1 2】



【図 1 3 A】

>DOM11-3A (SEQ ID NO:1)
 GACATCCAGA TGACCCAGTC TCATCCTCC CTGCTGCAAT CTGTAGGAGA CCGTGTACCC
 ATCAGTTGCC GGGCAAGTCA GAGATTGAT TCTGTTTAA GTTGGTACCA GCAGAAACCA
 GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATTAT ACGTCCGTT TGCAGAGTG GGTCCCATCA
 CGTTTCAGTG GCACTGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
 GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG TGGGATATGT TTCTTTGAC GTTCGGCCAA
 GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACG-

>DOM11-30 (SEQ ID NO:2)
 GACATCCAGA TGACCCAGTC TCATCCTCC CTGCTGCAAT CTGTAGGAGA CCGTGTACCC
 ATCAGTTGCC GGGCAAGTCA GAGATTGAT TCTGTTTAA GTTGGTACCA GCAGAAACCA
 GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATTAT ACTTCATTT TGCAGAGTG GGTCCCATCA
 CGTTTCAGTG GCACTGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
 GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG GGGAGGATGT TCCCTGCGAC GTTCGGCCAA
 GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

>DOM11-23A (SEQ ID NO:3)
 GACATCCAGA TGACCCAGTC TCATCCTCC CTGCTGCAAT CTGTAGGAGA CCGTGTACCC
 ATCAGTTGCC GGGCAAGTCA GAGATTGAT TCTGTTTAA GTTGGTACCA GCAGAAACCA
 GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATTAT TCTTCCGTT TGCAGAGTG GGTCCCATCA
 CGTTTCAGTG GCACTGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
 GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG TATGATTAT GCGCTTTTAC GTTCGGCCAA
 GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACG-

>DOM11-7A (SEQ ID NO:4)
 GACATCCAGA TGACCCAGTC TCATCCTCC CTGCTGCAAT CTGTAGGAGA CCGTGTACCC
 ATCAGTTGCC GGGCAAGTCA GAGATTGAT TCTGTTTAA GTTGGTACCA GCAGAAACCA
 GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATTAT ACGTCCGTT TGCAGAGTG GGTCCCATCA
 CGTTTCAGTG GCACTGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
 GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG GTTGGGATGT TCTGCTTATC GTTCGGCCAA
 GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACG-

>DOM11-38 (SEQ ID NO:5)
 GACATCCAGA TGACCCAGTC TCATCCTCC CTGCTGCAAT CTGTAGGAGA CCGTGTACCC
 ATCAGTTGCC GGGCAAGTCA GAGATTGAT TCTGTTTAA GTTGGTACCA GCAGAAACCA
 GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATTAT ACGTCCGTT TGCAGAGTG GGTCCCATCA
 CGTTTCAGTG GCACTGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
 GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG AGCTTTGGGA ATCTCTGAC GTTCGGCCAA
 GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

>DOM11-39 (SEQ ID NO:6)
 GACATCCAGA TGACCCAGTC TCATCCTCC CTGCTGCAAT CTGTAGGAGA CCGTGTACCC
 ATCAGTTGCC GGGCAAGTCA GAGATTGAT TCTGTTTAA GTTGGTACCA GCAGAAACCA
 GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATTAT ACTTCATTT TGCAGAGTG GGTCCCATCA
 CGTTTCAGTG GCACTGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
 GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG CATAGGATTT GGCCTGCGAC GTTCGGCCAA
 GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

【図 1 3 B】

>DOM11-32 (SEQ ID NO:7)
 GACATCCAGA TGACCCAGTC TCATCCTCC CTGCTGCAAT CTGTAGGAGA CCGTGTACCC
 ATCAGTTGCC GGGCAAGTCA GTGATTGAT TCTGTTTAA GTTGGTACCA GCAGAAACCA
 GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATTAT GTTCCGTT TGCAGAGTG GGTCCCATCA
 CGTTTCAGTG GCACTGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
 GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG CATAGGATTT GGCCTGCGAC GTTCGGCCAA
 GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

>DOM11-37 (SEQ ID NO:8)
 GACATCCAGA TGACCCAGTC TCATCCTCC CTGCTGCAAT CTGTAGGAGA CCGTGTACCC
 ATCAGTTGCC GGGCAAGTCA GAGATTGAT TCTGTTTAA GTTGGTACCA GCAGAAACCA
 GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATTAT GTTCCGTT TGCAGAGTG GGTCCCATCA
 CGTTTCAGTG GCACTGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
 GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG TGGGATCTTT TTCTGCGAC GTTCGGCCAA
 GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

>DOM11-24 (SEQ ID NO:9)
 GACATCCAGA TGACCCAGTC TCATCCTCC CTGCTGCAAT CTGTAGGAGA CCGTGTACCC
 ATCAGTTGCC GGGCAAGTCA GAGATTGAT TCTGTTTAA GTTGGTACCA GCAGAAACCA
 GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATTAT TCTTCCGTT TGCAGAGTG GGTCCCATCA
 CGTTTCAGTG GCACTGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
 GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG TATCATAGG GGCCTTACAC GTTCGGCCAA
 GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

DOM11-14 (SEQ ID NO:10)
 GACATCCAGA TGACCCAGTC TCATCCTCC CTGCTGCAAT CTGTAGGAGA CCGTGTACCC
 ATCAGTTGCC GGGCAAGTCA GAGATTGAT TCTGTTTAA GTTGGTACCA GCAGAAACCA
 GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATTAT GTTCCGTT TGCAGAGTG GGTCCCATCA
 CGTTTCAGTG GCACTGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
 GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTGATCAG TATCATAGG GGCCTGAGAC GTTCGGCCAA
 GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

>DOM11-22A (SEQ ID NO:11)
 GACATCCAGA TGACCCAGTC TCATCCTCC CTGCTGCAAT CTGTAGGAGA CCGTGTACCC
 ATCAGTTGCC GGGCAAGTCA GAGATTGAT TCTGTTTAA GTTGGTACCA GCAGAAACCA
 GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATTAT TCTTCCGTT TGCAGAGTG GGTCCCATCA
 CGTTTCAGTG GCACTGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
 GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG TATCATAGG ATCTTATATC GTTCGGCCAA
 GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

>DOM11-25 (SEQ ID NO:12)
 GACATCCAGA TGACCCAGTC TCATCCTCC CTGCTGCAAT CTGTAGGAGA CCGTGTACCC
 ATCAGTTGCC GGGCAAGTCA GTTATTGAG GGTATTAT TCTGTTTAA GTTGGTACCA GCAGAAACCA
 GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATTAT ACTTCGCGT TGCAGAGTG GGTCCCATCA
 CGTTTCAGTG GCACTGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
 GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG GCTTATCTGG TCTGCTGAC GTTCGGCCAA
 GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

>D0M11-9A (SEQ ID NO:37)
GACATCAAGA TCCAGGCTCC TCCATCTCTC CTGTTTGCAT CTGTAGAGAA CGGTGTACC
ATCACTTGCC GGCGAAGTCA GAGTATTGGG CGTTATATAT ATTGGTACCA GCAGAAACCA
GGGAAAGGCC CTAGTGCTCT GATCTAATAT GTTCTTCAT CTGAAGGTGG GTTGCAACAT
CTTCCTGAGC CCAATGCTCT TGCGACAACT TTCACTCTCA CACTAGAGCG TGTCCAACT
GAGATATTG TTAAGTACTA CTCTCAACG TGTTTTCGGG GCGCTTGATC GTTCGSCAA
GGACCAACG TGGAAACCA AC--

【 図 1 4 B 】

+DMM12-2 (SEQ ID NO:144)
 GACATCCAGA TACACACGAT TCCATCTCAT CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
 ATCATCTTCT GGAACAGCTT GCTATTATTC AGAATATTC TTGTGTATCA GCAGAAACCA
 GCGAAGAGCC CTTAGCTCTC GACTATATCT TCTTCTTTCT TGCAGAACTG GGTCTTCATCA
 CCGTTTAGTG GCACTGGGATC TGGGACAGAT TCACTCTCA CCAATCAATC GTTCGAACTT
 GAGATTTTTC TCACTACTA CTCTCAACAG CCGTTTTCGGT ATCTCATAGC GTTACGCCAA
 GCGACCAAGG TGGAAATACA ACGG

>DOM12-20 (SEQ ID NO:45)

GACATCCAGA TCAACACGATG TCCATCCATCGT CTGTCTGCGT CTGTAGAGGA CCGTGTCCACC
ATCATCTGCC GGGCAACATCA GACTATCTGT AAGAGATTATG ATTGTAGTACA GGAGAAATCCA
CGGAAAGCCG CTAACTCTCT GACATATCTG CTGCGCAAGT TCGAAGAACT GCGGTCCTACA
CTTTTCAGTG CTAGCTGGATC TGGGCACAGT TTCATCTCTA CCATCAGCAGC TCTGCAACCT
GAGATATTTG CTAGCTACTA CTGTCAACAG CTCTGTGATC CTCCTTATAC TCTGTGGCCAA
GGACACCAAG GCGAAATCAA ACGG

>DML1-21 (SBQ ID No:46)
GACATCTAGA TGACCACTGCT CCAATCCTCT CTGTCTGCTAT CTGTAGGAGA CCGTGTGACC
ATCATCATGCC GGGCACTCTA GAGATATTAG AAGCGTTTAT GTGGTGATCA GCGAGAACCA
GGGAAAGGCC CTAACTACTCT GATCTATCGG SCGTGCTAT TGCAGATCTT GCGGTCATCA
CGTTTTCAGTG TGGCTGGATC TGGGACAGAT TTCATCTCTA CCATTATGAG TCTGCAACCT
GAGATATTTG TACGTACTACT CTGTCAACAG CTTTTCATG CGCCTTGAG CTGTGGCCAA
GGGACCAAGG TAGHAATAA ACGG

>DML12.22 (SEQ ID No:47):

```

GACATCCAGA TCCACCGACT TCACATCTCC CTCTCTGCAT CTGTAGAGGA CCGTGTACC
ATCACTTGC  GGCGAATCTA GGAGTTCAT  AGGCTTTAC TTGTGTACA GAGAAACCA
GGGAAGACCG CTAAGCTCTC GATCTATAGT GGTTCACAT CTGAAATGG GGTTCCTACA
CGTTTACGCT CGCTGGGATC TTGGACAGAT TTCACTTAT CCACACGAC CTCGCAACCT
GAGATATTTG TCACTACTA CTGTCAACAC CGTTATCTGC AGCTTCATAC TTGTGGCCAA
GAGGACCGAG TGGAAATCA ACGG

```

>D0M12.3 (SHE ID NO:48)
 GACATCCAGA TGACCCAGTC TCATCTCTCG CTGTCTCATG CTGTAGAGAGA CGTGTCACC
 ATCACTTGGCC GGGCAAGTCA GCATATTGTG CTAAGGTATC TGTGTATACA CGAGAACACA
 GGGAGAGGCC CTAGTGTGCT GATCATATTAT AGTTCCAAAGT TCACAAATGG GGTCCCATCA
 CTTTTCAGAC CTTTTCAGATC TGGGACAAAT TTTCATCTAT CCGAGAGAC CTGCGAACCT
 GAGATATTTG CTACCTACTA CTGTCAACAG CGAGTATTCT AGCCTCATAT GTTTCGGCCA
 GGGACCAAGG TGGAAATACA ACGG

YDMM2-23 (SBE ID No: 49):

GACATCGATCGG CAGACGACGTC TCATCCCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTACCC
ATCATCTGCC GGGCAAGTCA GTCATATCTT AAGCGGTATC GGTGTAGTCA GGGAAACACA
GGGAAGTCCC CTAACTCTCT GATCTATGCT TCCTCCGTGT TCGAAGATGG GGTTCGCATCA
CGTTTCAGTG CAGTCGGATC TGGGACAGAT TCTATCTCTCA CCATCAGCAG CTCGCAACCT
GAGATATTTG CTAGCTACTA CTGTCAACAG AATGTGCTTA TCCCTTTTAC GTTCGGCCAA
GGGACCAAG TGGAAATCAA ACGG

【図 14 D】

*DMM12-46 (SEQ ID NO:56)
 GACATCCGAA TGAATCATGT TCACTCTCC CTGTCTGCAT CTGTGAGAGR CGGTGTACCC
 CATCTATTGC CGGACRAGTCA GAGATATTGG CAGCATTTAC ATTGTGTACR GCAGAAACCA
 GGGAAAGACG CTAAGTCTCT GATCTACTAT ACTTCATT TTGCAAGATGG GTTGCCATCA
 CTTTCAAGTG CAGTCGGATC TGAGACGAT TCACTCATR CACTGACGAG GGTTCACCAT
 GAGATTTAGT CTAGCTATCA CTGTCAACG AATCATAGGC GTCTCTATAC TTCTGCGCCA
 GGGACRAGTG TGGGAATCAA AGCG

>DNML2.6 (SEQ ID NO:57)

GCATCTACGA TGGCAAGTC TCCATCTCTC CTGCTGTCAT CTGTAGAGAA CGGTGTCTACC
ATCCATTGCC ATCCAGCACTA GAAATATGAT AGGAGGTTAC TTTGTGTACCA GCGAAGAACCA
GGGAAGAGCC CTATGCTGCT GATCATATGT TCTTCGAGT TCGAAGGAG GTCTCCCATCA
CTTTTCAAGC CTGAGTCGAC TGGGAGACAT TCTCATCTCA CATACAGAG TGTGCAACT
GAGATATTTG CTACATCTCA CTGTCAACAG AGGATTATG ATCTCTCATC GTTCGCCAA
GGACCAAGG TGGAATAACA ACAG

>D0M1.2.7 (SEQ ID NO:58)
GACGTCTCAGA TGTACCAAGCTC TCATCTCTCC CTGTCTGTGACT CTGTAGAGGA CCGTGTGCACC
ATCACTTGTCC GGGCAAGTCA GGAATTTGGG AGGAATTAT TGTGTGTACCA GCAGAAACCA
GGGAAGATCC CTAGCTGTCT GATCATATAT ATGATTCGGGT TCGAATAGAG GGTCCTCATAG
CTTTTAGTAC CTAGCTGTGAT TGGACAGAT TTATCTATCT CCAACAGAG TGTGCAATCT
GAGATTTAG CTACCTACTA CTGTCAACAG CTTCTGGCTA ATCTCTTTAT TGTCTGCCNA
GAGCCCAAG TGGAAATCAA ACGG

+D0M12-10 (SEQ ID NO:10)
 GACATCTGAA TGACCGAGT TGCATCTGCT CTGTCTGCA CTGTAGAGGA CGGTGTACCC
 ATACCTTCGAA GCGGAACTCA GGATATTGCT GGGAGGTTAC ATTGTGACCA GCGAAACACA
 GGGAAAGGCC CTAACTGCTT GATCATATAG GTCTTCAAGT CCATAGAGTG GGTCCCATCA
 CTTTTCAGT CAGCTGGATC TGCGACATAG TCACTCTAT CCAATGAGAG TTCTGAACTC
 GAGAGCTTGT CTACGACTCA CTGTCAACAG AAGCGCGGCG ACSCCTCATAC GTTCCGCGAA
 CCGGCTGAGT TGGAAATCA ACGG

5'DOM12-11 (SBO ID No:60):
 GACATCCAGG TCGCCACGATG TCACATCCCT CTGTCTGCAT CTGTAGAGGA CCGTGTCACT
 ATCACTTGCC GGGCAGATCT GTCATCATAT AGGCGTTTAG GGTGTGATCA CGGCACACAA
 GGGAAAGATG GATCATCTCTT GATCTCGGGT TTTCCGAGT GTCGACATG CGTCCACATC
 GTTTTACGTT CCACTGATAT CAGTCAGATG TTCACTCTCA CCACTACGAG TCTGCAACCT
 GAGATATTGT CTACGATCTA CTGTGTGCAC GCGCAGGCT TGCCTTATAC TGTGGCGCAA
 GGGACATGAG TGGAAATACA ACAG

>D0M12-18 (SEQ ID NO:61)
GACATCGAAGA TGACCCAGGT TCCATCTCCC CTGCTGCAT CTGTAGGAGA CGGTGTACAC
ATCACTTCCC GGGCAGCTCA GTGTATATAT AGGCGTTTAT CTGTGTACCA GGCAGAACCC
GGGAAACCCC CTACGTCTCT GATCTATCAT CATTCGAGAT TCGCAAAATGG GCGCCATCAT
CGTTTACGAT CGACTGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGACG TCTGCACCT
GAGATTTTTG CTAGTACTCA CTGTCAACAG ACGCGTATTA GGCCCTATAT CTGTGGCCAA
GGGACAGACG TGGAAATCAA ACGG

【図 14 F】

>D0K12.2 (SEQ ID NO:66)
 CAGACACAGA TGACCGATCT TCCATCTGCT CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTGACC
 ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GATGATTTGG AAGCGGTAA GGTGTATACA CCGAAGAACCA
 GGGAAAGAGC CTATAGCTCT GATCTATTAT TCTCTCCGGT TGCAGAAAGC GGTGCCATCA
 CGTTTACAGA GCGATGGTCT TGGGACAGAT GCATCTATCA CCAATGACAG TCTGGCAAGT
 GAGATGATCT TACGTATCA CTGTCAACAG TCTAGGACAG ATCTCTCATG TCTGGCCAA
 GGGACCAACG TGGGAATCA ACGG

>DM12-31 (SEQ ID No.69):

```
AGCTCTACA TGAACCAAGCT TCACTGCTCT CTGTCTGCTCT CTGTGAGAGA CGGTGTTCAC
GATCATTTGG GGGCAAGTCA GCTTTATCTGT AAGAGGTTAC GTTGTGTACCA GCGAGAAACCA
GGGAGAAAGCC CTAAAGCTCT GATCTATCAT TGTCTGCAAT TGGAAAGTGT GGTGTCCATCA
GCTTTTCAAG CTGGAGTGATC TGGGACAGAT TTCACTATCA CACATACAGC TCTGCAACAT
GAAGATTTTC CTACTGTACT CTGTCAACAG GGCATATGCT GCGCTTTTGT GTTGTGCCAA
GGGACACRAG TGGAAATCA ACGG
```

>D0M12-32 (SEQ ID NO:70)
GACATCCGA GTCACACAGCT CCGACCTCTCG CTGTCTGTGCAT CTGTGAGAGCA CGTGTTCTACC
ATCACTTTGCC GGGCAGAGTCA GCGGATTTCAT AATAGGTTTAT CTTTGTTACCA GCGGAAACCA
GGGAAGAGGCC CTGAGTGCATC GTATCATATCG GCGTCCCAAT TGCBAAGTGC GTTGCCACAT
CTGTTTACCG GCAATGTGCTC TGGGACAGAT TTATCATCTG CCAATGAGCA GTTCCCACT
GAGATTATTG TCAGCTACTA CTGTCAACAG ACTAGTTATA GGCCCTATAC GTTGTGGCAG
GGGACATTTG GCGGATTCAG ACGG

>DQ12.34 [SEQ ID NO:71]
GACATCCAGC TGGACCAAGTC TCCATCTCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGAGGA CGGTGTACC
ATCATCTGCC TGAGCATGCA GAAATTAAT GAGCTTTAT TGTGTACCA GCGAAACCA
GGGAAGACCT CAGCTGCTCT GATCTACAT TGTCCCGGT TCGAATGCG GGTCCGCATCA
CGTTTACGC CTGATGCTGT TGGGACGAT TCACTCTCA CACATGACG TCTGCAACT
GAGATTTTG CTACTACTA CTGTCAACG AAGTATGAC GCTCTTATC TGTCCGCAG
GGGACCAATG GTTATCAAC ACGG

+D0M12-35 (SEQ ID NO:72)
 GACATCATCA TACACCAAGCT TCCATCTCTCC CTGCTCTGCAT CTGTAGGAGA CGGTGTGACC
 ATCATCTTGGC GGGCAAGTCA GAATATTGGG CGGAAGTTAA GGTGTGATCA GCGAAGAACG
 GGGAAAGTCA GATCTGCTCT GATCTATGAG AAGCTCGCGT TCGAAAGATG GGTCCCATCA
 CTTTTCAGTG CAGATGTGCT TGGGACAGAT TCACTCATCA CATCATAGCG TCTGCAACT
 GAGAAATTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG AATTGTCAT TGCCTTCTAC STTCCGCGAA
 GGGACCAATG TGGAAATCA ACAG

>DML12-36 (SEQ ID NO: 73):

```
GACATCCAGC  TGACCAAGCTC  TCCATCTCTC  CFTGTCTGCAT  CTGTAGAGAGA  CGGTGTACCC  
GACATCTGCC  TGAGCATGATCA  GAAATATTAG  CAGCGCTTTAC  TGTGTATATCA  CGAGAAACCA  
GGGAAGAGCCC  CTAGATGCTCT  GATCATTTCC  AGCGTCCGGT  TCCAGAAAGTG  GFTCTGCATCA  
CGTTTTCAGC  CTAAGTTCATC  TGGGACAGAT  TCACTCATCA  CAGTAAGAGCG  TCTCTCAACCT  
GAGAGATTGTC  CTACGTACTTA  CTGTACACAG  AGGCATACGT  CGCCCATATC  GTTCTGCGCCA  
GAGCAGGAGCA  AAGGACAGCA  ACGG
```

【図 15 A】

>D0ML3-25 (SEQ ID NO:80)
 GACATCTGAC TGACCCAACTC TCATCATCTCC CTGCTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCTACC
 ATCATCTTCC GATGACATCA GAGTATTTGGT CCGTGTGTAA GTTGTGTATCA GCAGAAACCA
 GGGAGAGAGC CTAGCTGATC GATCTATCAT GTTTCTCCGCT TCAAGAAAGTG GTTCCCATCA
 CTTTTCAGCT CCAAGTGATC TGGGACACAG TTATCTATCA CACATCAAGG CTGTGACACT
 GAGATATTTG TACGATCTA CTGTCAACAG AATCTTGGCC CTCTTATAC GTTCTGGCCA
 GGACCTACGG TCGAGTAATCAA ACGG

>DML3-57 (SEQ ID NO:81)

GACTCTACGA TGACCAATCG TCCATCTCC CTGTCGCAT CTGTAGAGGA CCGTGTACC
ATCATTCTGG CCGGACAGCA GGGTATTAT TATCATTTAA GGTGTGTACCA GCAGAAACCA
GGGAAAGGCC CTAGAGTCAT GATCATCATC GGGTCATCT TCGAAATGCG GTTCCGACGA
CTTTTACAGC CTGAGTGATC TGGGACAGAT TTTTACTAT CCGTATGAGC TTCTGAACAT
GAGATTTTGT TCACTAATCA CTGTCAACAG ACTTGGAAAT GCCTTTGAC GTTCGCGCRA
GGACCAACCG TCGGAAATCA ACGG

-DMM13-58 (SEQ ID NO:82)
 GACATCTGCA TGGACCCATG TCATCTCTCC CTCTGTGCAT CFTGATGAGA CCGGTTCACC
 ATCATCTGCC GCGCAAGTCA GGGTATTGGT AATAGTTTAC GGTGGTATCA GAGAAACCA
 GGGAAAGGCC CTAGACTCTC GATCTAATTAT TCTTGCCATT GCATAGAGTG GGTCCCAACT
 CTTTGTGACG CCGACGGATC TGGCAGACAT TCTCATCTCA CCAACAGCG TGTCCCACT
 GAGATATTTG CTACATCTCA CTGTCAACAG ATTAGGACGA AGCCTTTTAC GTTCCGCCAA
 GCGACCAAGG TGGAAATCA ACAG

+D0M3.5-59 (SEQ ID NO:83)
 GACATCTGCA TGGACCGATCT TCACATCTCTC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CGGTGTACAC
 ATCACTTGGG CGCGAAGTCA GAAGATTATC ACGCAATTAC GTTGATATCA GCGAAGAACCA
 GGGAAAGCCCT CTAACTGCTCT GATCTATGGT GGCGTCCCAT TCGGTCATCAT GGTCCATCAT
 CTTTCTGAGC CAGCTGGATAT TGGGACAGAT TGCATCTCTA CCATTACAGC TCTGACAACCT
 GAGATTTTGG CTACGTACTA CTGTCTACAG ACGTGGGTGT GCCTCATGAC GTCTGGCCAA
 GCGACCAAGG TGGAAATACG ACGG

>D0M13-64 (SEQ ID NO:84)
 GATCATCCGAG TGGACCCAGTC TCATCTCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CGGTGTGACG
 ACATCTTGCC GGGACGACGA GTCATATTGG ACGCTGTGTA ATGTGGTATC GCAGAAACCG
 GGGAAAGCCG CTACGCTCTG GATCTATGCT TCTTCCGGTT GCGGTGATCA GTGCGTATCA
 CCGTTCAGCG CAGCTGGATG TGGACGACAT TCACTCTCA CAGTAGAGCG TGTGCACACG
 GAGAAATTGG CTGACACTCA CTGTCTACAG ATGAATAGGS TTCTCTATTC GTTCGCCCA
 GGGACGATGG TCGAATACA ACGG

>D0K13-65 (SEQ ID NO:85)
GACATCCATCA TGACCACTGCT TCATCTCTCC CTCTCTGCAT CTGTGGGAGA CGSTGTACAC
ATCATCTGCC TGCGCAAGTCA GTCTATTGGG ATGCTGTATT CGTGTGATCA GAGAAACCC
GGGAAGGACCC CTATGCTCTCT GATCATATCT GTCTCCGGTT TGCATAGATC GGTCCATCA
CTTGTCAGTG CTACAGTGATC TGATGACATC TTCACTCTTA CCATCAGAGC TCTGCAACCT
GAGATATATG CTAGTACTTA CTCTACACAC ATGCAAGCGTC CTCCTATTAC TGTGGGCAC
GGGCTTAGAG TCGAGTATCA ACGG

yD0M13-30 (SQS ID: No.109):
 GACATCCCA GTCACCGAT CCGATCTCTC CTGCTCTCAT CTGTAGGAGA CGGTGTCAAC
 GATCTCTGCC TGCGCAAGTCA GGATATTAAI CGTCAGTTAG TTGTGTATCA GCGAAGACCG
 GGGAGAGGCC CTAGACCTCT GATCTATATC CCGATCTCTGT TCGATCAAGTGG GCGTCCATCA
 CTTTTCAGTC CGGTCTGTAT TGGGACAGAT TCTACTCTCA GCACACAGAG GCGTCAACCT
 GAGATATATG CTACGTACTA CTGCTACACAG AAGTATGCTT ATCTCTTTAC CTGTGGCCAC
 GGGCATAGG TGGAATATCA ACGG

+DOM13-56 (SSQ ID:No.133)
 GACATCTCGA TGACCACCTG TCCATCTCCG CPGCTCGCAT CTGTAGGAGA CGGTGTCA
 ATCACTTGGC TGCGCAGATCA GTATATTATG GCTCATTTCG GTTGGTACCA GCANAAACC
 GGGAAAGGCC CTGACCTCTG GATCATCTGT TCTTCTCTGT CCAATAGATGG GGTGCCCATC
 CGTTTCACTG CAGCTGGATG TGGGACATAT TCACTCTCA TCCATYAGAC CTTCGACAC
 GAGATATTGT CTACAGTACTA CTGTCAACAS ACTTGGTCTT CTCTCATAC GTTGGGCCA
 GGGACCAAGG TGGAAATACA ACGG

【図 15 K】

>DML1-67 (SEQ ID No:140)
 GACATTCGAT TACACCGACT TCACCTCTCC CTGTCTGTGT CTGTAGAGGA CCGTGTACCC
 ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GTCTAATGTT CATTAATTAT TTTGTATACA GGAAGAAACCA
 GGGAAAGCCG CTAAGTCTCT GATCTACTCT CCGTCCCTCT TCCAAAGTGG GGTCCCAACT
 CGTTTCAAGT GTTCTGATCT TGGGACAGCT TTCACTCTA TCCAGACAGG TGTGCAACT
 GAAGATTGTT CTACACTACT CTCTCAACAG AAGTATATCA CGCCTATATC GTTTGGCAGA
 GGGACACAGG TGGAAATCAA ACGG

>DMM13-68 (SEQ ID No:141):
 GACMCACGAC TGAACCCAGCT TGCATCTCTC CTGCTGTGAT CTGTAGAGNA CCGGTGTCAAC
 ATCACTTGGC GGGCAGAGTCA GTCTATTGGG GTGCAGTTAA GGTGTGTACA GCAGAAACCA
 CGGAAGACCG CTAAGCTGCT GATCATCATG GTGGTCCAGT TGCAGAAATGG GGTTCACATA
 GGTTCAGTG CTAGCTGATC TGGGAGAGAT TGCATCTCA CCATCATAGG TCTGCAACCT
 GAGAGATTTG TACAGTACTA CTGTACACAG AATGGGCTC GTCTATTATC GTTCGGCCAA
 GGGACCAAGG TGGAAATCA ACGG

>DMM13-69 (SEQ ID NO:142)
GACGTCACTGA TGACCCAGCTG TCATCTCTCC CTGTCTGAGG GCGTGTGACC
ATCACTTGGC GGGCAAGTCA GTCTATTTCG ACCTCTTTAC GGTGTGTACA GAGAAACCA
GGGAAGGCC CTAAGTGCTT GATCATGACT TGTTCOSTGT TGCAAAATGG GGTGCCCATC
CGTTTGACG CGAGTGTCAT TGACGACAGT TGCTCTCTCA CACATACAG GGTGTGAACCT
GAGATTATTG CTAAGTACTA CTGACCAACG ACTTGGGTTC TGCTATGAC TGTGGCCAA
GGACCAACG TGGGAATCA ACGG

>DMM13.7 (SEQ ID NO:143)
 GACATCCAGGATGCACCCAGCTC TCATCTCTCT CTGTCGTACCT CTGTAGAGGA CCGGTGTCAAC
 ATCATTCTGCC GGGCAAGTCTA GTATTATTGCT GGTATGTTAA GGTGTGTACCA GCAGAAACCA
 GGGAAAGGCC CTAAGTCTCTG GATCTATATAG GTGTTCATCT TCGAAAGATGG GGTTCGCATCA
 CTTTTCAGAG CTGACGTGATC TGGGACAGAT TCTCATCTCA CCAATCAAGC TCTGCACACT
 GAGATATCTC CTACATCTA CTGTCAACAG ACTTGGGTGT CTCCTATAGC GTTCCGCCBAA
 GGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

+DMM13-70 (SEQ ID No:144)
 GACATCTCAAGA TGACCAAGCT TCACTCTCC CTCTCTGCAT CTGTAGAGAGA CCGTGTCAAC
 ATGACTTGGC GCGCAAGTCA GTCTGATTAG GGGCATTTAG TTTGTGTACCA GCAGAAACCA
 GGGAAAGCCC CTATGCTCTT GATCATATCA CGTCGCTCTT TCGAGAGAGG GTGTCCATCA
 CTTTTCACG CTGCTGATGC TGTGACAGAT TTCACTTCTA CACATCAGAG GTTCGCAACT
 GAGATTATCT CTAGCTACTA CTGTCAACAG GTTTATGAGA AGCCTTTTAC GTCTGGCCAA
 GGGACATAGG TGAAGATATC ACGG

>D0M13-71 (SRQ ID NO:145)
 GCACATCTCGGA TGAACCAAGTC TGCATTCTCC CTGCTCTGCAT CTGTAGAGGA CCGTGTGCAC
 ATCATCTTCGGA CGCGCGAGTCA GCGGATTTCAT GGTGCGCTTAC GGTGTATACCA GCAGAAACCA
 CGGGAATACGCC CTATCTCTCTCT GATCTATATCT CTCTCCAGT TCGAATAGAG GTTGCACATCA
 CTTTATGACCT CGCGGTGATC TGGGACAGAT TTCACTCTA CCAAGACAGG CTGCGGCGCT
 GAGATATTTG CTAAGCTACT CTACTCAACAG GTGGGTCAAG AGCTCTTATAC GTTCGCGCRA
 GCGACCTACGGT TGGAAATCA ACAG

【図 1 5 M】

>DML1-79 (SSQ ID:No:152)
GATCATCCGAA GGCACCGCTG TCGATCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CGGTGTCAAC
ATCACTTGGC GGSCAAGTCA NAATATTGGG GGTCTGTTAG TGTGGTACCA GCGAGAAACA
CGGGAAGGCC CTAAAGCTCT GATCTATCAT CGTCCGCCCT TCGAAGATGG GCGTCCATCA
CTCTCAAGTG GTCGGGATC TTGGACAGAT TTCTCATCA CCAATCAAGG TCTGTCAACT
GAAGTTTTC CTACGTACTA CTGTCAACAG AGAAGTGT TTCTCTATAC TGTTCGGCAA
GGGACCAAGG GGGATCAAA ACGG

>D0M13-8 (SEQ ID NO:153)
GACATCTGCG CAGCCAGCTC TCCATCTTCC CTGCTGTCAT CTGTAGAGGA CGGTGTCCAC
ATCATCTGCC GGGCAACGCA GHTTATTTGT ACTTCTTTAA NGTGTGTANCA GCAGAAACCA
GGGAAGAGCG CTACCTCTCT GATCATTTCT TTCTCCAGT TCCAAAGTGG GTTCTGCACT
CGTTTCAGTG TCGGAGTCTT TGGGACAGAT TCACTCTCA CATACAGTCA TTCTGCAACT
GAGATTTTTC CATCTACTCA CTGTCACACG ACGTGGNTTC GTCTCTATGC GTTCGGCCAA
TGGGAGTACG TGGGAATCAA ACGG

-D0M13-80 (SEQ ID NO:154):
 GACATCTGCA TGACCCAGTC TCCATCTCTC CTCTCTGCAT CTGTAGAGGA CGGTGTACC
 ATCATCTTGG CAGCCAGCTCA GAATATTGGG GGTGCTTTAG TGTGTZACCA GCAGAATACA
 GGGAAAGGCC CTAAGCTGCT TATCATATAT CGTCCGCCCT TCCAGAAATG GGTTCGTACA
 CTTTTCAGTC CGCTGAGTAT TGGGACAGAT TTCACTTAT CATACGAGG GTTCGAACCT
 GAGATATTTG CTACGATCA CTGTCAACAG CGTCATTAT CSCCTTTTAT GTTCGGCCAA
 GGGCCACAG TGGAATAACA ACGS

>D0M13-01 (SEQ ID NO:155):

```
GACNTCCAA  TGACCACGATC  TCCATCTCC  CTGTCTGCAT  CTGTGAGGAG  CGGTGTACGC  
ATCATCTGCC  CGGCACAGTCA  GAATATGGG  GGTGTTTAG  TGTGTGTACCA  GCAGAAACCA  
GGGAAAGGCC  CTAACTGCTCT  GATCTATAT  CCGTCCCTCT  CAAATGAGAG  GTTCCATCA  
CTTTTACGAC  CGATCGATCT  TGGGACAGT  TTCACTCTA  CCATGACGAG  TCTGCACATC  
GAGATTTTGT  CTACGTACTA  CTGTCAACG  CGTCAACGA  GTCTTATAC  GTTCGCGCAA  
GGGACCAAGC  TGGAAATACA  ACGG
```

>D0M1-82 (SEQ ID NO:156)
GACATCTGAC TGGACCGACTT TCATCTCTCC CTGTCTGCAT CTGTGAGAGA CCGTGTCAAC
ATCATTCTGCC GGGACATGCA GAATATTGGG GGTGTGTTAG TGTGTATACCA GCAJBARCC
GGGAAGACCG CTAAGCTCTCT GATCTATACT CCGTCOCCCT TCAAGAGTGG GTGCGTCACT
CTGTCTAGTG CTGCGTGATC TGGGACAGAT TCACTCATCA CCATCAAGTAC TCTGACAACCT
GAGATATTTG CTACTGACTA CTGTCAACAG AGGCATTCTG AGCCTTTGGAC GTTCGSCAAC
GGGACCAAGG TGGAAATACA ACGG

>D0M13-83 (SQD C2 NO:157)
 GACATCCACCA TGGACCCAGTC TCATATCTCTC CTCTCTGCAT CTGTAGGAGA CGGTGTGTCAC
 ATCACTTGCC GGGCAGATCA GATATATGGG GGTGTGTTAG TGTGTGATCCA GCAGAAACCT
 GGGAAAGCCG CTAACTGCTCT GATCTATCT CTACCTCCCT TCACAAGTGG GGTCCATCATC
 CTTCTTCAGC CAGCTGGATC TGGGACAGT TTCACTCAT CACATCAATG GTCGTAACCT
 GAGATGTTT CTAAGTACTA CTCTCAACAG CGTCTCAAGC TTCTCTATAC TGTGGGCAC
 gagaacaaag tggaaataca acgg

【図 15 N】

>DOM13-84 (SEQ ID NO:158)
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GAATATTGGG GGTGGTTTAA TGTGGTACCA GCAGAAACCA
GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATACT CGTCCCTCTT TGCAGAGTGG GGTCCCATCA
CGTTTCAGTG GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG AAGTTTAAGC AGCCTTATAC GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

>DOM13-85 (SEQ ID NO:159)
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GAATATTGGG GGTGGTTTAA TGTGGTACCA GCAGAAACCA
GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATACT CGTCCCTCTT TGCAGAGTGG GGTCCCATCA
CGTTTCAGTG GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG CGGTTAGTAG GTCCCTTTAC GTTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

>DOM13-86 (SEQ ID NO:160)
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GAATATTGGG GGTGGTTTAA TGTGGTACCA GCAGAAACCA
GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATACT CGTCCCTCTT TGCAGAGTGG GGTCCCATCA
CGTTTCAGTG GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG AGGGGTGTAT GTCCCTTTAC GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

>DOM13-87 (SEQ ID NO:161)
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GAATATTGGG GGTGGTTTAA TGTGGTACCA GCAGAAACCA
GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATACT CGTCCCTCTT TGCAGAGTGG GGTCCCATCA
CGTTTCAGTG GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG CGTGTCAAGC AGCCTTATAC GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

>DOM13-88 (SEQ ID NO:162)
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GAATATTGGG GGTGGTTTAA TGTGGTACCA GCAGAAACCA
GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATACT CGTCCCTCTT TGCAGAGTGG GGTCCCATCA
CGTTTCAGTG GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG GGGAGGCTTC GTCCCTATAC GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

>DOM13-89 (SEQ ID NO:163)
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GAATATTGGG GGTGGTTTAA TGTGGTACCA GCAGAAACCA
GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATACT AGTCCCAAGT TGCAGAGTGG GGTCCCATCA
CGTTTCAGTG GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG CGTAATTTTT GTCCCTATAC GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

【図 16 A】

>DOM14-23 (SEQ ID NO:168)
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GAATATTGGG GGTGGTTTAA TGTGGTACCA GCAGAAACCA
GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATACT CGTCCCTCTT TGCAGAGTGG GGTCCCATCA
CGTTTCAGTG GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG ATTGCGAGGT GTCCCTATAC GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

>DOM14-48 (SEQ ID NO:169)
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GAATATTGGG GGTGGTTTAA TGTGGTACCA GCAGAAACCA
GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATACT TGTCCCTCTT TGCAGAGTGG GGTCCCATCA
CGTTTCAGTG GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG CATCTACTAT GGCCTTAGAC GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

>DOM14-56 (SEQ ID NO:170)
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GAATATTGGG GGTGGTTTAA TGTGGTACCA GCAGAAACCA
GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATACT ACTTCCAGT TGCAGAGTGG GGTCCCATCA
CGTTTCAGTG GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG CAGGCGAAGT GGCCTTAGAC GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

>DOM14-57 (SEQ ID NO:171)
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GAATATTGGG GGTGGTTTAA TGTGGTACCA GCAGAAACCA
GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATACT TGTCCCTCTT TGCAGAGTGG GGTCCCATCA
CGTTTCAGTG GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG AGTCTCATTA GGCCTTTTAC GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

>DOM14-62 (SEQ ID NO:172)
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GAATATTGGG GGTGGTTTAA TGTGGTACCA GCAGAAACCA
GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATACT TGTCCCATTT TGCAGAGTGG GGTCCCATCA
CGTTTCAGTG GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG CTGCGAGTGT GGCCTTATAC GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

>DOM14-53 (SEQ ID NO:173)
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GAATATTGGG GGTGGTTTAA TGTGGTACCA GCAGAAACCA
GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATACT GCGTCCAGT TGCAGAGTGG GGTCCCATCA
CGTTTCAGTG GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG TATAGGGTGT TTCTCGTATC GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

【図 15 O】

>DOM13-90 (SEQ ID NO:164)
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GAATATTGGG AAGCAGTTAT TGTGGTACCA GCAGAAACCA
GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATACT CGTCCCTCTT TGCAGAGTGG GGTCCCATCA
CGTTTCAGTG GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG CATCTCTCTA GGCCTTTTAC GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

>DOM13-91 (SEQ ID NO:165)
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GAATATTGGG GGTGGTTTAA TGTGGTACCA GCAGAAACCA
GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATACT CGTCCCTCTT TGCAGAGTGG GGTCCCATCA
CGTTTCAGTG GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG ACTGTACTCT GGCCTTTTAC GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

>DOM13-92 (SEQ ID NO:166)
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GAATATTGGG GGTGGTTTAA TGTGGTACCA GCAGAAACCA
GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATACT CGTCCCATAG TGCAGAGTGG GGTCCCATCA
CGTTTCAGTG GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG TCGTGGGATC GTCCCTATAC GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

>DOM13-94 (SEQ ID NO:167)
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GAATATTGGG GGTGGTTTAA TGTGGTACCA GCAGAAACCA
GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATACT GCGTCCATTT TGCAGAGTGG GGTCCCATCA
CGTTTCAGTG GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG ATGCGGAATT TGCTCTGGAC GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

【図 16 B】

>DOM14-68 (SEQ ID NO:174)
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GAAGATTTGG GGGAGTTTAA CTGTGGTATCA GCAGAAACCA
GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATTTT AGTCCCATTT TGCAGAGTGG GGTCCCATCA
CGTTTCAGTG GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG AGGAGGCTTC GTCCCTATAC GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

>DOM14-70 (SEQ ID NO:175)
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GAAGATTTGG CAGTGGTTAA ATGTGGTATCA GCAGAAACCA
GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATTTG GGTTCGAGAT TGCAGAGTGG GGTCCCATCA
CGTTTCAGTG GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG GTTAGTAGGA ATCCTTTTAC GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

>DOM14-1 (SEQ ID NO:176)
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GCGATTTGGT TCGTTGGTAA AGTGGTATCA GCAGAAACCA
GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATATT GTTCCCGATT TGCAGAGTGG GGTCCCATCA
CGTTTCAGTG GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG CGTGGGTTTG GTCCCTATAC GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

>DOM14-10 (SEQ ID NO:177)
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GAATATTGGT TTGAGTTTAT CTGTGGTATCA GCAGAAACCA
GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATATT ACTTCCGTTT TGCAGAGTGG GGTCCCATCA
CGTTTCAGTG GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG AGGATTTGGC GGCCTTATAC GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

>DOM14-100 (SEQ ID NO:178)
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga ccggtgcacc
atcactttgcc gggcaagtca gacatttgg agctatttaa attggatata gcagaaacca
gggaaagccc ctaagctcct gatctatttg ggttccagat tgcagagtgg ggtcccatca
cgtttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccattcagcag tctgcaacct
gaagattttg ctacgtacta ctgtcaacag aggtttggc ggccttatac gttcggccaa
gggaccaagg tggaaatcaa acgg

>DOM14-11 (SEQ ID NO:179)
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GAATATTGGT TATGATTTTAA ATTGGTATCA GCAGAAACCA
GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATTGG GGTCCCTCTT TGCAGAGTGG GGTCCCATCA
CGTTTCAGTG GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG ACTTATAGCG GTCCCTTTTAC GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

【図 1 6 D】

>D0M14-18 (SEQ ID NO:1186)
GACATCAAGA TGAACCACTG TCATCATCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGAGGA CCGTGTCAAC
ATCATCTGCC GAGCACTCTC GTCTATTATG TGGTATTATG CTTAGTATCA GCAGAAACAAC
GGAAAGAGCG GAGAACTCTA GATCTATATG TGGTCCTGTT TGCACAACTT GCTCCATCA
CGTTTCAGTG GCAGCTGATC TGGGACAGAT TTCATCTCA CCATCAGCAG TCTGCACCT
GAAGATTATT CTAGCTACTA CTCATCAAG CAGGTTCTCT GTCTCTTTAC TCTCGGCGAA
GGACCAACAG TGGAAATACA ACG

DMDM1.4 (SEQ ID NO:187)
 GACATCCAGA TGACACGATG TCCACTCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTACCC
 ATCACTTCCC GGGCACTACA GTATTATGGT ACTGGCTGAG ATTGGTACCA GACGAACCA
 GGGAAAGGCC CTAGCTCTCT GATCATATGG GTTCTCTTGT TCGAAAGTGT GTTCCACCA
 CGTTTACAGG CGAGTGGATC TGGGACAGAG GTTATCTTCA CTATCAGGAG TCTGCACCT
 GAGAGATTGA CTACGTACTA CTGTCAACAG GCGTTTGGCG CGCTCATGAG GTTGCGCCA
 GGGACACAAG TGGATACAA ACGG

>DML1.42 (SEQ ID NO:198)
GAGATCCAGA TGACACCGATG TCATCCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CGGTGTACCC
ATCATCTGGC GGGACATGCA GATATTAGC GATGATGCTT GTGGTGACCA GAGAGAACCA
GGGAAGACCG CTAAGCTCTC GATGATGAT GTCTGCAATT TCGAAAGATGG GTGCTCCATCA
CGTTTACATG GCAATGGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCAATGACAC TCTGCAACCT
GAGAAATTGG CTACGTACTA CTGTACACAG ATTATTATTC GCGCTGTGAC TTGTCGCCCA
GGGACCAAGG GTGAATATCA ACGG

DMDM14.20 (SEQ ID NO:189)
GACATCCAGA TCCACCGCTC TCCATCTCTC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CGGTGTACCC
ATCACTTGYC GGGCAATCA GCAATATGTG GATTATTCAT CTTGGTGATCA GCGAAGAACA
GGGAAGACGC CTAAGCTCTG GATATTCACC GAATTCGAGG TGCAAGATGG GGGTCCATCA
CGTTTCAGCT GCGATGGATC TGGACACAGT TTCACCTCTCA CCATCTACAG CTCTGCAACT
GGAGATTTTG CTACGACTA CTGTACACAG CCGCGGATAT TGCTCATGAC TGTGCGCCA
GGGACCAAGG TAGAATCTA ACGG

D0ML4-21 (SEQ ID No:190)

GACATCACTGA TGACCGAGCTG TCATCTCCC CTGTCTGCAT CTGTAGAGGA CGTGTCTACC
ATCATCTGGCC GGGCAAGTCA GGAATATTGG GAGTATTATC AGGTGATATG CAGAAACATCA
GGGAAGACCGC CTAAGCTCTCT GATCATTTGG ACTTCACGTG TGCAGATAGG GGTCCACATCA
CGTTTCAGTG CAGCTGGGATC TGGGACAGAT TCTCATCTCA CCATCAGCAG CTCGCACTCT
GAGAAATTGT CTACTACTTA CTGTACACAG GAGGCGCGGA CCGTCTTTAT CTTCGCGCCA
GGGACCAATGG TGGAAATATTA ACGG

-DMM14-22 (SEQ ID NO:191)
 GAGTCACCA
 TGCACCGATC TCCATCTCTC TGTGTCGAT GTGTAGGAGA CCGTGTACCC
 ATCACTGTCC GGGCAAGTCA GAGATTTATTA GATTTATTACA GCGAAGAACCA
 GGGAAAGCCG CTAACGATCT GATCATTTAG GGGTCTCTCT TCGAAGATGAG GGTCCCTCA
 CTTTTCAGCG CAGCGGATAT TGGGACAGAT TTCACCTCTCA CCATACGAGC TTGTCGAACT
 GAGATTTATG CTACGTACTA CTGTCAACAG AGGGCGTATG GGCCCTTATAC GTTCGGCCAA
 GGGACCTTGG TGGAAATACA ACGG

【図 1 6 F】

>DML4-31 (SEQ ID NO:198)
GACATCTACG GGCACCACTG CCGACTCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTACCC
ATCATCTTGC GGGCAAGTCA GCCGATTGGG GATATATTAA TTGTGTACCA GCAGAAACCA
GGGAAAGCCG CTACATGCTC GATCATATGG TGCGTCCAAAT TGCAAAAGTG TGCTCCCATC
CGTTCTAGTG CAGCTGATCT TGGGACAGAT TTCACTATCA CCATCAGCAG TCTGCACAAT
GAGATTATTG TCACTGATCA CTGTCAACAG GCGCGTTTGG CTCTCATGAT GTTCGCCACA
GGGACACAGG TGGGATATCA ACGG

>DNM14-32 (SEQ ID NO:19):

```
GATCATCCGA  TGACCCAGCTG  TCAATCATCC  CTTGTTCGAT  CTGTAGGAGA  CGTTGTCACC  
AGCATCTTCC  TGACCAAGTCA  GCCATTGTT  GAGGCTCTAA  ATGTGACCA  GCAGAAACCA  
GGGAGAGCCC  CTAAGTGCTCT  GATCATATGT  AGGTCCTGTT  TCGAAGAGCT  TGCCCATCAT  
CTTTTGTAGC  CTAAGTGCTCT  TGGGACAGAT  TCTATCTGTA  CAATCAGGAG  TTGTCARCTT  
GAGATTTTGG  CTACCTGTACA  CTCTCAACG  TGGGGAGCAT  ATCTCTTCAG  GTTCCGCCAA  
GGGACCAAGG  TCGAAATACA  ACGG
```

+DMM14-33 (SEQ ID No:200)
 GACATCTGAC CAGCCACGCT TCCATCTCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGAGGA CGGTGTACCC
 ATCTCTGCC GGGCAAGTCA GCGTATTGAT TCGCGTTTAA TCGGTATACA GAGAAAGACA
 GGGAAAGGCC CTAAAGCTCT GATCTATTTT GTTGTCTATT TCGAAAGTGG GGTCCCATCA
 CTTTTCGAC CCGCTGGATC TGGGACAGAT TTGACTATCA CCATCATGAG CTGCGAACTC
 GAGAGTTTGG CTATCTACTA CTCTACACAC TATCTTATGC ATCTCTTCTA GTTGGCGTAA
 GGGACCAAG TGGAAATCAA ACGG

>DOM14-34 (SFG ID No: 2001):

GACATCATGCA TGCACCACTG TCCATCTCTC CTGCTGTCAT CTGTAGAGAGA CCGTGTCCAC
ATCATCTGCC GGGCAAGTCA GCCGATTATC TATCGCTTAG ATTGTGATCA GCGAGAACCA
GGGAAAGGCC CTAGACTCTCT GATCATATAG ATCTTCATT CTGCAAGATG GGTGCCCATC
CTTTTCAACC CTGAGCTGATC CGGGACAGAT TTCACTTCA CCATCAGAG TGTGCAACTC
GAGATTATG TCGATACTA CTGTCAACAG TGGTTTAGGT GGCCATCTAC GTTCGGCAA
GGGACACAGG TGAGATCA ACGG

>DM14-35 (SFQ ID NO:202):

```
GACATCTGCCA TGACCCGATC TCCTATCCGC CTGTCTGTCA CTGTAGGAGA CGGTGTCAAC  
ATCACTTGGG GCGCAGATCA GCGGATTTGG GATTTTTTAC TGTTGTATCA GCGAAGACCA  
GGGAAGACCG CTAGATCTCT GATCATATCT GCTCTCCGTC CTGAATAGTG GTTCCCTCAT  
CTGTCATCG CTGACGGATC TGCGACAGAT TTCACTTTCA CCAGACGAG TGTGCAACT  
GAGATTTTG CTAAGTACTA CTGTCAACAG AGCGTTTTF TTCTCTTCT GTTGGCCAA  
GGGACATGG TGGAATACA ACGG
```

>DML1-36 (SRQ ID NO:203)
GACATCCAGA TGCACCGACT TCATCTCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTACCC
ATCACTCCAG GGGACAGACA GCATATTGGT CAGAATTAA ATTGTATCA GCAGAACCA
GGGAAGCCCT CTAAGCTCTCT GATCTATTGG TGGTCGAGT TCAATAGAG GTCGTCCATCA
CGTTTCAGCA CAGCTGAGAT TGAGCAAGAT CACTTCTCA GCAGACGCG TCTGCAACCT
GAGATGTTT CTACGTACTA CTGCTACAGC CTTAGGTTTC CTCTCTTAC GTTCGCGAA
GAGCTAAGC TGAGAACTCA ACGG

【図 1 6 H】

AD0M14-62 (SEQ ID NO:210)

GCACATCCAGA TAGCCACGCT CACATCTCTC CTGTCTGCAT CTGTGGAGGA CGGTGTACCC
ATCATCTGCC CAGAGATCTCA GATATTATG CTCTGGTATA GGTTGGATGCA GCGAGAACCA
GCGAAGAACCG CAGAGCTCTT GATCTATTGG ACTTCGGAAT TCAAGAGTGT GCGTCCATCA
CGTTTCAGTG GCACTGGAGT TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCASCAG TCTTCAACCT
GAGAGATTGG TAGCATCTCA CTCTCAACAG GAGTTTGGAT TCGCTGTGAC GTTTCGCCCA
GAGGATATTTG TGGAAATCAA ACGG

▶DMM14-43 (SSB ID No.211):

AGATCTACGAG TACACCGACTG TCATCATCTCC TGTGTGCGAT CTGTGAGGAA CGGTGTGACC
ATTACTATGCC GGGCACTACA GGATATTGGG GATCATTTAT TTGTGTATCA GCAGAAACAAC
CGGAAAGCCCT CTAAAGTCTT GATCATATGTT AATTTCGCGC TGCATATGAT GTGTCCATCA
CTTTTACATG CTGAGCGGATC TGGGACAGT TTTACTCTCA CCAATCGACG TGTGCAACTT
GAGATATTTG CTGATCTACTA CTGTCAACAG GTTAGGGGGT TTCTCTGCAG GTTCCGCCAA
GGGACCAAGS TGGGATACA ACGG

>D0M14-44 (SEQ ID NO:212)
 GACATCTCAGA GTCACGACCTG TCATCATCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGAGGA CCGSTGTACC
 ATCACTTGCC GGGCGAATCA GATATTATG GATCTATTAT CTGTGTATCA GCGAARACA
 GGGAAAGCC CTAACTGCTT GATCTATGT ACTTATCTT CGTAAAGTG GGTCACATCA
 CTTTTCAGTG TCGAATCTAT TGGGACAGAT TTAATCTCA CAGTACACAG TCTGCAACT
 GAGATTTTG TCAGTACTA CTGTCAACAG TACTATGCT GTCTCTTTAC TGTGGCCAA
 GGCACCAAGT TGGAAATCAA ACGG

*DDML4.4 (SEQ ID NO: 213)
 GACATCCAGA TCGACACATC TCATCTCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGAGAA CCGTGTCAAC
 ATCACTTGGC GGGCAAGTCA GTCATTTGGG AGCATTTTAG CGTGTATCCA GCGAAGACCA
 GGGAAAGGCC CTAACTGTCCT GATCTATCTT GCGACCTTTT TGCAAAGTGG GTTCCCATCA
 CTTTTCAGAT CCGTGTGATC TTGGACAGAT TTCACTCTCA CATTAGAGAG CTTGCAACCT
 GAGATTTTGT CTACATCTA CTCTCAACAG CATTTTCGGT CGCCTAGAG CTTCGGCCAA
 GCGCAACAG TGGATATCAA ACGG

*D0M14-46 (SEQ ID NO: 214)
 GACATCTCGA TGGCCACGTC TCATCTCTCC CTGTCTGTCAT CTGTAGGACA CGTGTCTCAC
 ATCACTTCGGA TGCCCAAGTCA GTTTATTGGG CTTCATTTAG TCGATGACA CGAGAAACCA
 GGGAAAGCTT CCACATCTCT GATCTATAT AGTCGCGATT TCGAATGGG GGTCCCATCA
 GTCTTCATGG TCGCGATGAT TGGGACAGAT TTCACTACA CATTACGACA TGTGCAACT
 GAGATATTTG CTACTGACTA CTGTACACAG ATGSGCTCAT ATCTCTATAC TGTACGACAA
 GCGACCGAGG TGGAAATACA ACGG

>DOM14-47 (SEQ ID No:215)
GACATCATCGA TGCACCGAGTC TCATCTCTCC CTGTCTGTGCT CTGTGAGAGA CGGTGTTCACC
ATCACTGTGCC CGGCGAGTCGA GTCTATTTGGG GATATGTTAC TGTGTGACGA GCGAGAAATCA
GGGAGAAACCG CTATGCTCTCT GATCTATGAG AGTATCGGCT TCGAAGACGG GGTCCCAATCA
CGTTTCAGTG CTGACCTGATC TGGGAGACAT TTATCTCTCA CATCAGAGC TGTGCAAGCT
GAGATTTTG CTACGACTCA CTGTCAACAG GTGCGGACGT ATCTCTAGTAC TGTGTGGCCAA
GGGACAGTGG TGGAAATCAA ACGG

【図 16 J】

>NDM14-55 (SEQ ID NO:222)
 GACATCCAGA TCCACCACTG TCCATCTCC CTTGTGTGAT CTGTAGAGGA CCGTGTACCC
 ATCATGATGCC GGGCAATGCA GAGATATTAT GATTATTATA ATTGGATGTA GCGAAACAAC
 GGGAAAGGCC CTAAGTCTCT GATCTATTGG GGGTTCATT TCCAAAGTGA GGTGTCCATC
 CTTTTCAGTG GCGGTGGATG TGGGACAGAT TACTACTCA CCAACAGAGG TCTGCAACCT
 GAGATATTGT CTAGTACTCA TTGTCAACRG TGTGGCATTA GGCCTTATG GTTGTGGCCA
 GGGACCAARG TGGGAATCA ACGG

>DMDL4-58 (SEQ ID NO:223)
 GAGTCATCCA TGACACAGCG TCCATCTCCG CTGTCTGCAT CTGAGAGACA CCGTGTCAAC
 ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GCGATTGTAT GAAGTGTTAT CTGTGTACCA GCGAAGACCA
 GGGAGAGGCC CTAGATCTCT GATCTATTTT AAGTCCTTTT TCGAAGAGTG GTCCTTCATCA
 CTTTTCAGCG CTTAGCTTCA TGGGACAGAT TTCACTCTCA CATTGACAGG TTTCACACCT
 GAGATATTTG CTACATCTCA CTGTCAACAG TATACGGCGC ATCTCTTGAC GTTCGGCCAA
 GGGACCAAGG TGGAAATCTCA ACGG

DNM14-59 (SQ ID No: 224)

GACATCACTG TACCGACCGT TCCATCTCTC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CGGTCTCACC
ATCATCTGCC GGGCAATCTA GAGGATTCGT GGTGTTTAT CTCTGTGATCA GCGAAGAACA
GGGAAGCGCC CTAAGCTCTT GACTATCTGT ACTCTCTGT TCGAAGAATGG GGGTCATCACT
CGTTTCACTG TGGGATGATG TGGGACAGAT TACTCTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAGATTTTG CTAAGTATCA CTGTGCAACG GATTGTAGCT TCTCTAGGAC GTTGGCGCAA
GGGACCACTG TGGAAATCAA ACGG

>NM14-60 (SEQ ID NO: 225)
GATCTACGA TACGACGATC TCATCTCTCC CTGTCTGAT TCGAGTAGGA CCGTCTCACC
ATCACTTGCC GCGCGATGTA GAGGATTTCC GGGTTTGAT ATTGATGACA GAGAAACACA
GGGAAAGCCC CTAGCTCTCT GATCTATCTC GTGTCCTCAT TGCAGATAGG GCGTCCATCA
CGTTTGACCG CCGAGGATCA TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAACAG ATCGCAACTC
GAGGATTATG CTACGACTA CTGTCAACAG GATGTGATC CTCTCTTAC GTTCGGCCAA
GGGACACAGG TGGAAATACA ACGG

-DPM14.1 (SQB ID: No.226)
 GATCATCTGA GTCACCGAGT TCCATCTCTC CTGTCTGCA CTGTAGAGAA CCGTGTCAAC
 ATCACTTGGC GGGCAAGTCA GATATATTGT CAGATGTGA ATGAGTAGCA GCGAAGAACCA
 GGGAAAGCCC CTAAGCTCTCT GATCATACAG GCTTCGGGT CCGGTAGTCA GGTCTCCATCA
 GCTTTGACG CAGCTGGATC TGGGACACAG TTCACTCTCA CATACGACCA TCTGCAACCT
 GAGATATTTG CTAAGTACTA CTCGACCAAG TCTATGTGC ATCTTATAC GTTCGCGCAA
 GGGACAGAG TGGATATCA ACGS

>D0M14-64 (SQE ID:1227):

GAGCTGCGA GCGGACGAGT TCACATCTCC CTGTCTGACT CTGTGAGGAG CCGTGTGACC
ATCACTCTGCC GGGCAGAGTGA GAATATTGGT TCGCATATTG TGTGTGATCA GCGAGAACCA
GGGAGAACCT CTAAGCTCTCT GATCATINGC TCTTCGAGTT TGGTCAATGG GGTGCTCATCA
CGTTTACGCG CGTGAGTATC TGGAGCGAGT TATCATCTCA CCATACGACG TCTGCAACCC
GAGATTTTGT CTAAGTACTA CTGTCAACAG GTTAGCGTAC TCCTCTATAC GTTCCGCCAA
CGGCGTGAAG TGGAAATCA ACGG

【図 16 K】

>DOM14-65 (SEQ ID NO:228)
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCTCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAACC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GAATATTTGG ATGTATTAA AGTGGTATCA GCAGAAACCA
GGGAAGGCC CTAAGCTCCT GATCTATTAT TCTTCAAGT TGCAAAGTGG GTTCCCATCA
CGTTTCAGTG GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTAATCTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG AATCGTATGC GGCCTACTAC GTTCGSCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

>DOM14-66 (SEQ ID NO:229)
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCTCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAACC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GGGGATTTGG GTTGGTTAG ATTGGTATCA GCAGAAACCA
GGGAAGGCC CTAAGCTCCT GATCTATTAT TGCAAAGTGG GTTCCCATCA
CGTTTCAGTG GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTAATCTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG AAGGCTGCTT ATCTTTTAC GTTCGSCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

>DOM14-67 (SEQ ID NO:230)
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCTCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAACC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GGGGATTTGG CAGTGGTTAA ATTGGTATCA GCAGAAACCA
GGGAAGGCC CTAAGCTCCT GATCTATTAT GTTCCAGGT TGCAAAGTGG GGTUCCATCA
CGTTTCAGTG GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTAATCTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG TATTGCGAG TTCTCTTAT GTTCGSCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

>DOM14-69 (SEQ ID NO:231)
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCTCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAACC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GGAGATTTGG CAGTGGTTAA ATTGGTATCA GCAGAAACCA
GGGAAGGCC CTAAGCTCCT GATCTATTAT GTTCCAGGT TGCAAAGTGG GGTUCCATCA
CGTTTCAGTG GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTAATCTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG ACTCAGCTTA GGCCTAGTAC GTTCGSCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

【図 17 B】

>DOM11-21 (SEQ ID NO:245)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-PINDYLT-WYQQKPKGKAPKLLIY--LASR--LQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---YRVYF---TFGQGTKVEIKR

>DOM11-22 (SEQ ID NO:246)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-EIHDYLS-WYQQKPKGKAPKLLIY--LSRR--LQSGVPSRF
SGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---YHKYF---TFGQGTKVEIKR

>DOM11-23 (SEQ ID NO:247)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-SINVLIL-WYQQKPKGKAPKLLIY--SSSH--LQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---YRVYF---TFGQGTKVEIKR

>DOM11-24 (SEQ ID NO:248)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-EIHDYLS-WYQQKPKGKAPKLLIY--LSRR--LQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---YHGFY---TFGQGTKVEIKR

>DOM11-25 (SEQ ID NO:249)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-FIGRYLY-WYQQKPKGKAPKLLIY--DTSA--LQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---AYLGP---TFGQGTKVEIKR

>DOM11-26 (SEQ ID NO:250)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-SISRYLN-WYQQKPKGKAPKLLIY--MISR--LQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---NYLAF---TFGQGTKVEIKR

>DOM11-27 (SEQ ID NO:251)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-NILMSLS-WYQQKPKGKAPKLLIY--QASQ--LQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---HSGPF---TFGQGTKVEIKR

>DOM11-28 (SEQ ID NO:252)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-FIGRYLY-WYQQKPKGKAPKLLIY--DTSA--LQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---AYLGP---TFGQGTKVEIKR

>DOM11-29 (SEQ ID NO:253)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-SINVLIL-WYQQKPKGKAPKLLIY--SSSH--LQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---YHVPF---TFGQGTKVEIKR

>DOM11-30 (SEQ ID NO:254)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-KIENDLA-WYQQKPKGKAPKLLIY--YTSI--LQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---HRYEP---TFGQGTKVEIKR

>DOM11-31 (SEQ ID NO:255)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-VIGIDILQ-WYQQKPKGKAPKLLIY--RGSF--LHSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---RNKRF---TFGQGTKVEIKR

>DOM11-32 (SEQ ID NO:256)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-WIGDSIV-WYQQKPKGKAPKLLIY--FGSI--LQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---HKSPS---TFGQGTKVEIKR

>DOM11-33 (SEQ ID NO:257)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-RISTYLN-WYQQKPKGKAPKLLIY--RSSM--LQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---YSPFL---TFGQGTKVEIKR

>DOM11-34 (SEQ ID NO:258)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-NIKRYLY-WYQQKPKGKAPKLLIY--HIST--LQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---SFPAP---TFGQGTKVEIKR

【図 17 A】

ODR1配列は～で印を付け、ODR2配列は～で印を付け、
ODR3配列は～～で印を付けている

>DOM11-1 (SEQ ID NO: 232)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-SIRRYLT-WYQQKPKGKAPKLLIY--SASH--LQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---AYTAF---TFGQGTKVEIKR

>DOM11-2 (SEQ ID NO: 233)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-BIHDYLS-WYQQKPKGKAPKLLIY--LSRR--LQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---YGYTF---TFGQGTKVEIKR

>DOM11-3A (SEQ ID NO:234)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-MIDSRLS-WYQQKPKGKAPKLLIY--RTSV--LQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---WDMFPL---TFGQGTKVEIKR

>DOM11-4 (SEQ ID NO:235)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-PILPSLN-WYQQKPKGKAPKLLIY--SASS--LQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---HHSRF---TFGQGTKVEIKR

>DOM11-5 (SEQ ID NO: 236)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-MIRNYLT-WYQQKPKGKAPKLLIY--NASK--LQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---AHTAF---TFGQGTKVEIKR

>DOM11-6 (SEQ ID NO:237)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-RISHALR-WYQQKPKGKAPKLLIY--RASA--LQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---NRSVP---TFGQGTKVEIKR

>DOM11-7 (SEQ ID NO:238)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-YINTLIS-WYQQKPKGKAPKLLIY--AQSR--LQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---PAFRPY---TFGQGTKVEIKR

>DOM11-8 (SEQ ID NO:239)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-NIRRYLY-WYQQKPKGKAPKLLIY--NASH--LQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---IYLSF---TFGQGTKVEIKR

>DOM11-9 (SEQ ID NO:240)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-SIGRYLY-WYQQKPKGKAPKLLIY--NVSY--LQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---CFRPG---TFGQGTKVEIKR

>DOM11-10 (SEQ ID NO: 241)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-RIGRYLN-WYQQKPKGKAPKLLIY--WVSR--LQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---VHSFP---TFGQGTKVEIKR

>DOM11-14 (SEQ ID NO:242)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-BIGRLL-WYQQKPKGKAPKLLIY--AGSV--LQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---YHRFP---TFGQGTKVEIKR

>DOM11-16 (SEQ ID NO:243)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-PINWSLN-WYQQKPKGKAPKLLIY--LGSV--LQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---SGRGP---TFGQGTKVEIKR

>DOM11-20 (SEQ ID NO:244)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-YIGRWLN-WYQQKPKGKAPKLLIY--PASM--LQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---VHYDF---TFGQGTKVEIKR

【図 17 C】

>DOM11-35 (SEQ ID NO:259)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-HIGRMLN-WYQQKPKGKAPKLLIY--RASV--LQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---GRALF---TFGQGTKVEIKR

>DOM11-36 (SEQ ID NO:260)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-VIGSRLL-WYQQKPKGKAPKLLIY--RASR--LQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---YKLPF---TFGQGTKVEIKR

>DOM11-37 (SEQ ID NO:261)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-DIBGQLR-WYQQKPKGKAPKLLIY--PGSL--LQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---SHLFA---TFGQGTKVEIKR

>DOM11-38 (SEQ ID NO: 262)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-BISGCLN-WYQQKPKGKAPKLLIY--CTSV--LQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---RFGNPL---TFGQGTKVEIKR

>DOM11-39 (SEQ ID NO: 263)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-FIDGNLR-WYQQKPKGKAPKLLIY--FTSI--LQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---HKNWA---TFGQGTKVEIKR

>DOM11-41 (SEQ ID NO: 264)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-DIGTALL-WYQQKPKGKAPKLLIY--RGSN--LQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---YRYEP---TFGQGTKVEIKR

>DOM11-42 (SEQ ID NO: 265)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-PIQWNLN-WYQQKPKGKAPKLLIY--YSLS--LQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---REVFP---TFGQGTKVEIKR

>DOM11-43 (SEQ ID NO: 266)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-NIAWQLR-WYQQKPKGKAPKLLIY--ATSQ--LQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---TASFV---TFGQGTKVEIKR

>DOM11-44 (SEQ ID NO: 267)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-EIHDYLS-WYQQKPKGKAPKLLIY--LSRR--LQSGVPSRF
SGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---YHLGP---TFGQGTKVEIKR

>DOM11-45 (SEQ ID NO: 268)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-HIYNALR-WYQQKPKGKAPKLLIY--ASSK--LQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---HYSTF---TFGQGTKVEIKR

親和性成熟dAb

>DOM11-3-1 (SEQ ID NO: 269)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-NIDSRLS-WYQQKPKGKAPKLLIY--RASV--LQSGVPSRF
RSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---WDMFPL---SFGQGTKVEIKR

>DOM11-3-2 (SEQ ID NO:270)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-NIDSRLS-WYQQKPKGKAPKLLIY--RTSV--LQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---WDMFPL---SFGQGTKVEIKR

>DOM11-3-3 (SEQ ID NO: 271)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-NIDSRLS-WYQQKPKGKAPKLLIY--RTSV--LQSGVPSRF
SGSGSGTVFTLTISSLQPEDFATYYCQ---WDMFPL---APGQGTKVEIKR

【図 17 E】

DQML1-3-25 (SEQ ID NO: 286)
DQMTQSPSSLSASVDGRVITTCRASQ-NIDSRSL-WYQKFKGKAPKLLIY---RTSV---LQSGVPSRF
SGSGSGDTPTLTISSLQPEDPATYTCYQ---NDMFPL---TFQGGTKVKEIK

>DQML1-3-26 (SEQ ID NO: 287)
DQMTQSPSSLSASVDGRVITTCRASQ-NIDSRSL-WYQKFKGKAPKLLIY---RASV---LQSGVPSRF
SGSGSGDTPTLTISSLQPEDPATYTCYQ---NDMFPL---TFQGGTKVKEIK

>DQML1-3-27 (SEQ ID NO: 288)
DQMTQSPSSLSASVDGRVITTCRASQ-NIDSRSL-WYQKFKGKAPKLLIY---RTSV---LQSGVPSRF
SGSGSGTEPTLTITISSLQPEDPATYTCYQ---NDMFPL---TFQGGTKVKEIK

>DQML1-3-28 (SEQ ID NO: 289)
DQMTQSPSSLSASVDGRVITTCRASQ-NIDSRSL-WYQKFKGKAPKLLIY---RTSV---LQSGVPSRF
SGSGSGDTPTLTISSLQPEDPATYTCYQ---NDMFPL---TFQGGTKVKEIK

>DQML1-30-1 (SEQ ID NO: 290)
DQMTQSPSSLSASVDGRVITTCRASQ-KIENDLA-WYQKFKGKAPKLLIY---YTSI---LQSGVPSRF
SGSGSGDTPTLTISSLQPEDPATYTCYQ---RRYVPA---TFQGGTKVKEIK

>DQML1-30-2 (SEQ ID NO: 291)
DQMTQSPSSLSASVDGRVITTCRASQ-KIENDLA-WYQKFKGKAPKLLIY---YTSI---LQSGVPSRF
SGSGSGDTPTLTISSLQPEDPATYTCYQ---RRYVPA---TFQGGTKVKEIK

>DQML1-30-3 (SEQ ID NO: 292)
DQMTQSPSSLSASVDGRVITTCRASQ-KIENDLA-WYQKFKGKAPKLLIY---YTSI---LQSGVPSRF
SGSGSGDTPTLTISSLQPEDPATYTCYQ---RRYVPA---TFQGGTKVKEIK

>DQML1-30-5 (SEQ ID NO: 293)
DQMTQSPSSLSASVDGRVITTCRASQ-KIENDLA-WYQKFKGKAPKLLIY---YTSI---LQSGVPSRF
SGSGSGDTPTLTISSLQPEDPATYTCYQ---RRYVPA---TFQGGTKVKEIK

>DQML1-30-6 (SEQ ID NO: 294)
DQMTQSPSSLSASVDGRVITTCRASQ-KIENDLA-WYQKFKGKAPKLLIY---YTSI---LQSGVPSRF
SGSGSGDTPTLTISSLQPEDPATYTCYQ---RRYVPA---TFQGGTKVKEIK

>DQML1-30-7 (SEQ ID NO: 295)
DQMTQSPSSLSASVDGRVITTCRASQ-KIENDLA-WYQKFKGKAPKLLIY---YTSI---LQSGVPSRF
SGSGSGDTPTLTISSLQPEDPATYTCYQ---RRYVPA---TFQGGTKVKEIK

>DQML1-30-8 (SEQ ID NO: 296)
DQMTQSPSSLSASVDGRVITTCRASQ-KIENDLA-WYQKFKGKAPKLLIY---YTSI---LQSGVPSRF
SGSGSGDTPTLTISSLQPEDPATYTCYQ---RRYVPA---TFQGGTKVKEIK

>DQML1-30-9 (SEQ ID NO: 297)
DQMTQSPSSLSASVDGRVITTCRASQ-KIENDLA-WYQKFKGKAPKLLIY---YTSI---LQSGVPSRF
SGSGSGDTPTLTISSLQPEDPATYTCYQ---RRYVPA---TFQGGTKVKEIK

>DQML1-30-10 (SEQ ID NO: 298)
DQMTQSPSSLSASVDGRVITTCRASQ-KIENDLA-WYQKFKGKAPKLLIY---YTSI---LQSGVPSRF
SGSGSGDTPTLTISSLQPEDPATYTCYQ---RRYVPA---TFQGGTKVKEIK

>DQML1-30-11 (SEQ ID NO: 299)
DQMTQSPSSLSASVDGRVITTCRASQ-KIENDLA-WYQKFKGKAPKLLIY---YTSI---LQSGVPSRF
SGSGSGDTPTLTISSLQPEDPATYTCYQ---RRYVPA---TFQGGTKVKEIK

【図 18 A】

```

D0M1 配列は～で印を付け、CD2配列は～で印を付け、
CD3配列は～で印を付けている

>DQM12-1 (SEQ ID NO: 306)
DIQTQPSFSLASVGDVRVITTCRASQ-NIESWLR-WYQQKPKGAKPLLIIY---HSSR---LQSGVPSRF
SGSGSGDTFLTITSLIQPEDPATYYCQQ---SRVRFP---TFQGQTKVEIKR

>DQM12-2 (SEQ ID NO: 307)
DIQTQPSFSLASVGDVRVITTCRASQ-SISNML-WYQQKPKGAKPLLIIY---HSSF---LQSGVPSRF
SGSGSGDTFLTITSLIQPEDPATYYCQQ---RFRYPH---TFQGQTKVEIKR

>DQM12-3 (SEQ ID NO: 308)
DIQTQPSFSLASVGDVRVITTCRASQ-HIGRRLL-WYQQKPKGAKPLLIIY---YYSK---LQSGVPSRF
SGSGSGDTFLTITSLIQPEDPATYYCQQ---RTIQPF---TFQGQTKVEIKR

>DQM12-4 (SEQ ID NO: 309)
DIQTQPSFSLASVGDVRVITTCRASQ-WINDSL-WYQQKPKGAKPLLIIY---RSGG---LQSGVPSRF
SGSGSGDTFLTITSLIQPEDPATYYCQQ---FRNPF---TFQGQTKVEIKR

>DQM12-5 (SEQ ID NO:310)
DIQTQPSFSLASVGDVRVITTCRASQ-SIGRRIN-WYQQKPKGAKPLLIIY---RSTI---LQSGVPSRF
SGSGSGDTFLTITSLIQPEDPATYYCQQ---TSRVFY---TFQGQTKVEIKR

>DQM12-6 (SEQ ID NO:311)
DIQTQPSFSLASVGDVRVITTCRASQ-NIDRRLL-WYQQKPKGAKPLLIIY---GSSK---LQSGVPSRF
SGSGSGDTFLTITSLIQPEDPATYYCQQ---RIYDPI---TFQGQTKVEIKR

>DQM12-7 (SEQ ID NO:312)
DIQTQPSFSLASVGDVRVITTCRASQ-DIGRNLL-WYQQKPKGAKPLLIIY---YYSR---LQSGVPSRF
SGSGSGDTFLTITSLIQPEDPATYYCQQ---RSHNPF---TFQGQTKVEIKR

>DQM12-8 (SEQ ID NO:313)
DIQTQPSFSLASVGDVRVITTCRASQ-DIKKLL-WYQQKPKGAKPLLIIY---YSSR---LQSGVPSRF
SGSGSGDTFLTITSLIQPEDPATYYCQQ---RHDFP---TFQGQTKVEIKR

>DQM12-9 (SEQ ID NO:314)
DIQTQPSFSLASVGDVRVITTCRASQ-SIDRRLL-WYQQKPKGAKPLLIIY---RASL---LQSGVPSRF
SGSGSGDTFLTITSLIQPEDPATYYCQQ---TYARNP---TFQGQTKVEIKR

>DQM12-10 (SEQ ID NO:315)
DIQTQPSFSLASVGDVRVITTCRASQ-DIGSRL-WYQQKPKGAKPLLIIY---QASK---LQSGVPSRF
SGSGSGDTFLTITSLIQPEDPATYYCQQ---KKRQHP---TFQGQTKVEIKR

>DQM12-11 (SEQ ID NO:316)
DIQTQPSFSLASVGDVRVITTCRASQ-SIDRRIG-WYQQKPKGAKPLLIS---GSSR---LQSGVPSRF
SGSGSGDTFLTITSLIQPEDPATYYCQQ---ROELFY---TFQGQTKVEIKR

>DQM12-15 (SEQ ID NO:317)
DIQTQPSFSLASVGDVRVITTCRASQ-SISSYN-WYQQKPKGAKPELLIR---RGSLL---LQSGVPSRF
SGSGSGDTFLTITSLIQPEDPATYYCQQ---GHARFW---TFQGQTKVEIKR

>DQM12-17 (SEQ ID NO:318)
DIQTQPSFSLASVGDVRVITTCRASQ-SIGNULL-WYQQKPKGAKPLLIIY---YTSR---LQSGVPSRF
SGSGSGDTFLTITSLIQPEDPATYYCQQ---RPTHF---TFQGQTKVEIKR

```

【図 18 C】

>>>DML12-32 (SEQ ID NO:333)
DIQWQSPSSLSASVGDVRRVITCRASQ-RHNRLR-WYQQKPKGAKPILLY---AASK-LQSGVPSRF
SGSGSGDTPTLTISLQPEDPATTYCCQ---TGYRPH---TFQGQTKVEIKR

>>>DML12-33 (SEQ ID NO:334)
DIQWQSPSSLSASVGDVRRVITCRASQ-SIFKRLR-WYQQKPKGAKPILLY---ASSV-LQSGVPSRF
SGSGSGDTPTLTISLQPEDPATTYCCQ---BVALPY---TFQGQTKVEIKR

>>>DML12-34 (SEQ ID NO:335)
DIQWQSPSSLSASVGDVRRVITCRASQ-NINERLL-WYQQKPKGAKPILLY---HSSR-LQSGVPSRF
SGSGSGDTPTLTISLQPEDPATTYCCQ---YKGRFY---TFQGQTKVEIKR

>>>DML12-35 (SEQ ID NO:336)
DIQWQSPSSLSASVGDVRRVITCRASQ-NIGKRLR-WYQQKPKGAKPILLY---GTSR-LQSGVPSRF
SGSGSGDTPTLTISLQPEDPATTYCCQ---MHLPSQ---TFQGQTKVEIKR

>>>DML12-36 (SEQ ID NO:337)
DIQWQSPSSLSASVGDVRRVITCRASQ-DIERILL-WYQQKPKGAKPILLY---SFSR-LQSGVPSRF
SGSGSGDTPTLTISLQPEDPATTYCCQ---BHTSPH---TFQGQTKVEIKR

>>>DML12-37 (SEQ ID NO:338)
DIQWQSPSSLSASVGDVRRVITCRASQ-NITNRLR-WYQQKPKGAKPILLY---RSVV-LQSGVPSRF
SGSGSGDTPTLTISLQPEDPATTYCCQ---HNVQPH---TFQGQTKVEIKR

>>>DML12-38 (SEQ ID NO:339)
DIQWQSPSSLSASVGDVRRVITCRASQ-SIGIGLA-WYQQKPKGAKPILLY---MSGK-LQSGVPSRF
SGSGSGDTPTLTISLQPEDPATTYCCQ---QRHLRF---TFQGQTKVEIKR

>>>DML12-39 (SEQ ID NO:340)
DIQWQSPSSLSASVGDVRRVITCRASQ-PGIEHRL-WYQQKPKGAKPILLY---RASK-LQSGVPSRF
SGSGSGDTPTLTISLQPEDPATTYCCQ---LYKQPL---TFQGQTKVEIKR

>>>DML12-40 (SEQ ID NO:341)
DIQWQSPSSLSASVGDVRRVITCRASQ-PISEKLL-WYQQKPKGAKPILLY---GASK-LQSGVPSRF
SGSGSGDTPTLTISLQPEDPATTYCCQ---RFTNFH---TFQGQTKVEIKR

>>>DML12-41 (SEQ ID NO:342)
DIQWQSPSSLSASVGDVRRVITCRASQ-VIGKELA-WYQQKPKGAKPILLY---HYSR-LRSGVPSRF
SGSGSGDTPTLTISLQPEDPATTYCCQ---KVAYFF---TFQGQTKVEIKR

>>>DML12-42 (SEQ ID NO:343)
DIQWQSPSSLSASVGDVRRVITCRASQ-DIVTELK-WYQQKPKGAKPILLY---RSSR-LRSGVPSRF
SGSGSGDTPTLTISLQPEDPATTYCCQ---KLRFPI---TFQGQTKVEIKR

>>>DML12-43 (SEQ ID NO:344)
DIQWQSPSSLSASVGDVRRVITCRASQ-PISTSLV-WYQQKPKGAKPILLY---NASM-LQSGVPSRF
SGSGSGDTPTLTISLQPEDPATTYCCQ---SOTLEVV---TFQGQTKVEIKR

>>>DML12-44 (SEQ ID NO:345)
DIQWQSPSSLSASVGDVRRVITCRASQ-AIWRSLN-WYQQKPKGAKPILLY---RSSR-LQSGVPSRF
SGSGSGDTPTLTISLQPEDPATTYCCQ---YSHRFT---TFQGQTKVEIKR

>>>DML12-45 (SEQ ID NO:346)
DIQWQSPSSLSASVGDVRRVITCRASQ-DIGDERL-WYQQKPKGAKPILLY---HGSRL-LRSGVPSRF
SGSGSGDTPTLTISLQPEDPATTYCCQ---QWFRFY---TFQGQTKVEIKR

【図 18 E】

```
>DOM12-45-14 (SEQ ID No:360)
DIQWTQSPSLASASGVDRVITTCRASQ-DIGDRLR-WYQQQPKGAKPAILLY--HGSR--LESGVPSRF
SGSRSGDTFLTITLSSIQLEDPATYCYCQ--QWRFY---TFQGQTKVEIKR

>DOM12-45-15 (SEQ ID No:361)
DIQWTQSPSLASASGVDRVITTCRASQ-DIGDRLR-WYQQQPKGAKPAILLY--HGSR--LESGVPSRF
SGSRSGDTFLTITLSSIQLEDPATYCYCQ--QWRFY---TFQGQTKVEIKR

>DOM12-45-16 (SEQ ID No:362)
DIQWTQSPSLASASGVDRVITTCRASQ-DIGDRLR-WYQQQPKGAKPAILLY--HGSR--LESGVPSRF
SGSRSGDTFLTITLSSIQLEDPATYCYCQ--QWRFY---TFQGQTKVEIKR

>DOM12-45-17 (SEQ ID No:363)
DIQWTQSPSLASASGVDRVITTCRASQ-DIGDRLR-WYQQQPKGAKPAILLY--HGSR--LESGVPSRF
SGSRSGDTFLTITLSSIQLEDPATYCYCQ--QWRFY---TFQGQTKVEIKR

>DOM12-45-18 (SEQ ID No:364)
DIQWTQSPSLASASGVDRVITTCRASQ-DIGDRLR-WYQQQPKGAKPAILLY--HGSR--LESGVPSRF
RSGSRSGDTFLTITLSSIQLEDPATYCYCQ--QWRFY---TFQGQTKVEIKR

>DOM12-45-19 (SEQ ID No:365)
DIQWTQSPSLASASGVDRVITTCRASQ-DIGDRLR-WYQQQPKGAKPAILLY--HGSR--LESGVPSRF
SGSRSGDTFLTITLSSIQLEDPATYCYCQ--QWRFY---TFQGQTKVEIKR

>DOM12-45-20 (SEQ ID No:366)
DIQWTQSPSLASASGVDRVITTCRASQ-DIGDRLR-WYQQQPKGAKPAILLY--HGSR--LESGVPSRF
SGSRSGDTFLTITLSSIQLEDPATYCYCQ--QWRFY---TFQGQTKVEIKR

>DOM12-45-21 (SEQ ID No:367)
DIQWTQSPSLASASGVDRVITTCRASQ-DIGDRLR-WYQQQPKGAKPAILLY--HGSR--LESGVPSRF
SGSRSGDTFLTITLSSIQLEDPATYCYCQ--QWRFY---TFQGQTKVEIKR

>DOM12-45-22 (SEQ ID No:368)
DIQWTQSPSLASASGVDRVITTCRASQ-DIGDRLR-WYQQQPKGAKPAILLY--HGSR--LESGVPSRF
SGSRSGDTFLTITLSSIQLEDPATYCYCQ--QWRFY---TFQGQTKVEIKR

>DOM12-45-23 (SEQ ID No:369)
DIQWTQSPSLASASGVDRVITTCRASQ-DIGDRLR-WYQQQPKGAKPAILLY--HGSR--LESGVPSRF
SGSRSGDTFLTITLSSIQLEDPATYCYCQ--QWRFY---TFQGQTKVEIKR

>DOM12-45-24 (SEQ ID No:370)
DIQWTQSPSLASASGVDRVITTCRASQ-DIGDRLR-WYQQQPKGAKPAILLY--HGSR--LESGVPSRF
SGSRSGDTFLTITLSSIQLEDPATYCYCQ--QWRFY---TFQGQTKVEIKR

>DOM12-45-25 (SEQ ID No:371)
DIQWTQSPSLASASGVDRVITTCRASQ-DIGDRLR-WYQQQPKGAKPAILLY--HGSR--LESGVPSRF
SGSRSGDTFLTITLSSIQLEDPATYCYCQ--QWRFY---TFQGQTKVEIKR

>DOM12-45-26 (SEQ ID No:372)
DIQWTQSPSLASASGVDRVITTCRASQ-DIGDRLR-WYQQQPKGAKPAILLY--HGSR--LESGVPSRF
SGSRSGDTFLTITLSSIQLEDPATYCYCQ--QWRFY---TFQGQTKVEIKR

>DOM12-45-27 (SEQ ID No:373)
DIQWTQSPSLASASGVDRVITTCRASQ-DIGDRLR-WYQQQPKGAKPAILLY--HGSR--LESGVPSRF
SGSRSGDTFLTITLSSIQLEDPATYCYCQ--QWRFY---TFQGQTKVEIKR
```

【図 19 A】

CDR1配列は～で印を付け、CDR2配列は～～で印を付け、
CDR3配列は～～～で印を付けている

【図 19 C】

>DOM13-48 (SEQ ID NO:425)
DIQMTQSPSSLASAVGDRVTITCRASQ-DIKSHLR-WYQKPKGKAPKLLIY--TPSS--LQSGVPSRF
VSGSGTDFLTITSSLOPEDFATYVCOO~~~VSSTPY~~~TFGGGTKEIKR

【図 19 D】

>DOM13-49 (SEQ ID NO:426)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-EIGSHLR-WYQOKPGKAPKLLIY--QESQ--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---TWNSPM---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-50 (SEQ ID NO:427)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-EIGGNLV-WYQOKPGKAPKLLIY--AFSR--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---KFYYPF---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-51 (SEQ ID NO:428)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-RINMLV-WYQOKPGKAPKLLIY--AFSG--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---RRVPF---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-52 (SEQ ID NO:429)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-WIGNHLR-WYQOKPGKAPKLLIY--GSSR--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---TWNSPM---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-53 (SEQ ID NO:430)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-AIDHLR-WYQOKPGKAPKLLIY--HASS--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---TYRSPM---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-54 (SEQ ID NO:431)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-ALGSLR-WYQOKPGKAPKLLIY--XSEN--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---TWNSPM---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-55 (SEQ ID NO:432)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-IYGSRLR-WYQOKPGKAPKLLIY--SGST--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---TWNSPM---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-56 (SEQ ID NO:433)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-VINHLR-WYQOKPGKAPKLLIY--MSSY--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---TWNSPM---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-57 (SEQ ID NO:434)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-GIMYHLR-WYQOKPGKAPKLLIY--HGST--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---TWNSPM---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-58 (SEQ ID NO:435)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-GIGNSLR-WYQOKPGKAPKLLIY--YSSR--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---IKTKPF---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-59 (SEQ ID NO:436)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-KIMHLR-WYQOKPGKAPKLLIY--GGSH--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---TWNSPM---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-60 (SEQ ID NO:437)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-RIGHHLR-WYQOKPGKAPKLLIY--SASA--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---TWNSPM---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-61 (SEQ ID NO:438)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-RIGMLN-WYQOKPGKAPKLLIY--AASR--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---MLHPEV---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-62 (SEQ ID NO:439)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-RIGSKLL-WYQOKPGKAPKLLIY--CFSN--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---KFRSPS---TFGQGTKVEIKR

【図 19 F】

>DOM13-77 (SEQ ID NO:454)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-QIGHLR-WYQOKPGKAPKLLIY--QSSQ--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---TWNSPM---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-78 (SEQ ID NO:455)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-NIGRLV-WYQOKPGKAPKLLIY--TFSP--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---RVRAFY---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-79 (SEQ ID NO:456)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-NIGRLV-WYQOKPGKAPKLLIY--TFSP--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---RVSVPY---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-80 (SEQ ID NO:457)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-NIGRLV-WYQOKPGKAPKLLIY--TFSP--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---RWSPFY---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-81 (SEQ ID NO:458)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-NIGRLV-WYQOKPGKAPKLLIY--TFSP--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---RHTSYV---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-82 (SEQ ID NO:459)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-NIGRLV-WYQOKPGKAPKLLIY--TFSP--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---RHSEPM---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-83 (SEQ ID NO:460)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-NIGRLV-WYQOKPGKAPKLLIY--TFSP--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---RSKLPM---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-84 (SEQ ID NO:461)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-NIGRLV-WYQOKPGKAPKLLIY--TFSP--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---KPKQPY---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-85 (SEQ ID NO:462)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-NIGRLV-WYQOKPGKAPKLLIY--TFSP--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---KPSGPF---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-86 (SEQ ID NO:463)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-NIGRLV-WYQOKPGKAPKLLIY--TFSP--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---RAVTFP---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-87 (SEQ ID NO:464)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-NIGRLV-WYQOKPGKAPKLLIY--TFSP--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---RATQPY---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-88 (SEQ ID NO:465)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-NIGRLV-WYQOKPGKAPKLLIY--TFSP--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---RKAPPY---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-89 (SEQ ID NO:466)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-NIGVLN-WYQOKPGKAPKLLIY--ASSR--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---RRFPF---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-90 (SEQ ID NO:467)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-NIGQLD-WYQOKPGKAPKLLIY--CFFP--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---RASRPF---TFGQGTKVEIKR

【図 19 E】

DOM13-63 (SEQ ID NO:440)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-SIGRLV-WYQOKPGKAPKLLIY--TPPP--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---RYLAPF---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-64 (SEQ ID NO:441)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-SIGTLN-WYQOKPGKAPKLLIY--ASSR--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---MNRVPI---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-65 (SEQ ID NO:442)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-SIGMLS-WYQOKPGKAPKLLIY--AVSR--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---MQRPII---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-66 (SEQ ID NO:443)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-SIGWML-WYQOKPGKAPKLLIY--GASY--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---YFPAPL---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-67 (SEQ ID NO:444)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-SIGHML-WYQOKPGKAPKLLIY--TPSP--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---KYTPPY---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-68 (SEQ ID NO:445)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-SIGVLR-WYQOKPGKAPKLLIY--HGSQ--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---NWARPI---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-69 (SEQ ID NO:446)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-SIATSLR-WYQOKPGKAPKLLIY--HSSV--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---TWVVPF---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-70 (SEQ ID NO:447)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-SIGHLV-WYQOKPGKAPKLLIY--SPSS--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---VYKPPF---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-71 (SEQ ID NO:448)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-PIHQLR-WYQOKPGKAPKLLIY--TPSQ--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---VGKPPY---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-72 (SEQ ID NO:449)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-PIDRLV-WYQOKPGKAPKLLIY--VPSQ--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---ZHTPPY---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-73 (SEQ ID NO:450)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-PINMLN-WYQOKPGKAPKLLIY--ATSR--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---SWTPPY---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-74 (SEQ ID NO:451)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-PINMLS-WYQOKPGKAPKLLIY--NNST--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---YRKPYP---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-75 (SEQ ID NO:452)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-PIGMLV-WYQOKPGKAPKLLIY--TPSS--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---KYMPEH---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-76 (SEQ ID NO:453)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-QIGQLN-WYQOKPGKAPKLLIY--AGSR--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---NRQTPV---TFGQGTKVEIKR

【図 19 G】

>DOM13-91 (SEQ ID NO:468)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-NIGHMLR-WYQOKPGKAPKLLIY--TPSP--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---TATWPF---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-92 (SEQ ID NO:469)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-DIGRWLS-WYQOKPGKAPKLLIY--AGSQ--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---SWDPPT---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-93 (SEQ ID NO:470)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-DIGNML-WYQOKPGKAPKLLIY--YAST--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---MRDIPY---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-94 (SEQ ID NO:471)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-DIGNMLA-WYQOKPGKAPKLLIY--YASY--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---MRNLPR---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-95 (SEQ ID NO:472)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-DIGNMLA-WYQOKPGKAPKLLIY--YASY--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---LQAKPH---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-25-3 (SEQ ID NO:473)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-SIGPMLS-WYQOKPGKAPKLLIY--QVSR--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---NLAPPY---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-25-23 (SEQ ID NO:474)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-SIGPMLS-WYQOKPGKAPKLLIY--QVSR--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---NLAPPY---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-25-27 (SEQ ID NO:475)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-SIGPMLS-WYQOKPGKAPKLLIY--QVSR--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---NLAPPY---TFGQGTKVEIKR

>DOM13-25-80 (SEQ ID NO:476)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQ-SIGPMLS-WYQOKPGKAPKLLIY--QVSR--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---NLAPPY---TFGQGTKVEIKR

【図 20 A】

CDR1配列は～で印を付け、CDR2配列は～で印を付け、
CDR3配列は～で印を付けている

>DOM14-1 (SEQ ID NO: 477)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-PIGSLLE-WYQKPKGAKPKLLIY--NVSR--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---IYIRFG---TFQGTKEIIR

>DOM14-2 (SEQ ID NO: 478)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-HITDQLR-WYQKPKGAKPKLLIY--SASI--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---IYIRFG---TFQGTKEIIR

>DOM14-3 (SEQ ID NO: 479)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-HITDQLR-WYQKPKGAKPKLLIY--SASI--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---IYIRFG---TFQGTKEIIR

>DOM14-4 (SEQ ID NO: 480)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-ELGOWLN-WYQKPKGAKPKLLIY--WGSB--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---TSRPF---TFQGTKEIIR

>DOM14-10 (SEQ ID NO: 481)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-NIDLELS-WYQKPKGAKPKLLIY--FTSV--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---KIRRF---TFQGTKEIIR

>DOM14-11 (SEQ ID NO: 482)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-NIIDYLN-WYQKPKGAKPKLLIY--WSSL--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---TYRPF---TFQGTKEIIR

>DOM14-12 (SEQ ID NO: 483)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-FIDEWLV-WYQKPKGAKPKLLIY--RSSL--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---YRMPA---TFQGTKEIIR

>DOM14-13 (SEQ ID NO: 484)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-PLASRL-WYQKPKGAKPKLLIY--YGSV--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---TWAPFI---TFQGTKEIIR

>DOM14-14 (SEQ ID NO: 485)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-PIYKMLR-WYQKPKGAKPKLLIY--QASN--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---PAKWP---TFQGTKEIIR

>DOM14-15 (SEQ ID NO: 486)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-PINTSLN-WYQKPKGAKPKLLIY--GGSW--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---LYRSP---TFQGTKEIIR

>DOM14-16 (SEQ ID NO: 487)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-PHBNLD-WYQKPKGAKPKLLIY--GASM--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---GWVYQ---TFQGTKEIIR

>DOM14-17 (SEQ ID NO: 488)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-PIDTFUR-WYQKPKGAKPKLLIY--RASQ--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---WARSF---TFQGTKEIIR

>DOM14-18 (SEQ ID NO: 489)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-FIEWYLA-WYQKPKGAKPKLLIY--WGSV--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---RVARF---TFQGTKEIIR

【図 20 C】

>DOM14-35 (SEQ ID NO: 504)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-PIGDFLR-WYQKPKGAKPKLLIY--GAST--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---YQHPF---TFQGTKEIIR

>DOM14-36 (SEQ ID NO: 505)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-HIGQNLN-WYQKPKGAKPKLLIY--WGSN--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---LRFPL---TFQGTKEIIR

>DOM14-37 (SEQ ID NO: 506)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-DIGHYLD-WYQKPKGAKPKLLIY--MISN--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---RINWF---TFQGTKEIIR

>DOM14-38 (SEQ ID NO: 507)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-DIYGELS-WYQKPKGAKPKLLIY--FSSI--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---RSRPF---TFQGTKEIIR

>DOM14-39 (SEQ ID NO: 508)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-DIHGYLD-WYQKPKGAKPKLLIY--YASY--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---RYOHF---TFQGTKEIIR

>DOM14-40 (SEQ ID NO: 509)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-DINSRLS-WYQKPKGAKPKLLIY--YASY--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---WASHFI---TFQGTKEIIR

>DOM14-41 (SEQ ID NO: 510)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-DIGDHLL-WYQKPKGAKPKLLIY--GASQ--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---VRIYRF---TFQGTKEIIR

>DOM14-42 (SEQ ID NO: 511)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-DIDRWLR-WYQKPKGAKPKLLIY--WTSE--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---EFRMVF---TFQGTKEIIR

>DOM14-43 (SEQ ID NO: 512)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-DIGDHLL-WYQKPKGAKPKLLIY--GSSA--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---VRGPF---TFQGTKEIIR

>DOM14-44 (SEQ ID NO: 513)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-DISDYLK-WYQKPKGAKPKLLIY--WTSM--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---RYRRF---TFQGTKEIIR

>DOM14-45 (SEQ ID NO: 514)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-SIGKHLA-WYQKPKGAKPKLLIY--RASL--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---HRSFR---TFQGTKEIIR

>DOM14-46 (SEQ ID NO: 515)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-FIGLHIV-WYQKPKGAKPKLLIY--NTSD--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---MAHYF---TFQGTKEIIR

>DOM14-47 (SEQ ID NO: 516)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-SIGDMLL-WYQKPKGAKPKLLIY--GSSA--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---VRYRF---TFQGTKEIIR

>DOM14-48 (SEQ ID NO: 517)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-LIGKHLS-WYQKPKGAKPKLLIY--RSSV--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---HATSFR---TFQGTKEIIR

【図 20 B】

>DOM14-19 (SEQ ID NO: 490)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-YIGTALD-WYQKPKGAKPKLLIY--AVSL--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---APAFPM---TFQGTKEIIR

>DOM14-20 (SEQ ID NO: 491)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-HIGDYLA-WYQKPKGAKPKLLIY--PSSQ--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---RRYLFM---TFQGTKEIIR

>DOM14-21 (SEQ ID NO: 492)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-DIGEYLO-WYQKPKGAKPKLLIY--WTSM--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---BARTF---TFQGTKEIIR

>DOM14-22 (SEQ ID NO: 493)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-DINDYLS-WYQKPKGAKPKLLIY--WSSS--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---RAYRPTFG---QGTKEIIR

>DOM14-23 (SEQ ID NO: 494)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-DIFPFLN-WYQKPKGAKPKLLIY--RASI--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---IARSPR---TFQGTKEIIR

>DOM14-24 (SEQ ID NO: 495)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-DIEWLA-WYQKPKGAKPKLLIY--WGST--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---SKGTFY---TFQGTKEIIR

>DOM14-25 (SEQ ID NO: 496)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-DIDDWLR-WYQKPKGAKPKLLIY--WSSS--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---EKYRPF---TFQGTKEIIR

>DOM14-26 (SEQ ID NO: 497)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-DIQTWLS-WYQKPKGAKPKLLIY--RSSY--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---YDTLFG---TFQGTKEIIR

>DOM14-27 (SEQ ID NO: 498)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-XISGCLN-WYQKPKGAKPKLLIY--RGSH--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---DCDFPS---TFQGTKEIIR

>DOM14-28 (SEQ ID NO: 499)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-SIRKKLV-WYQKPKGAKPKLLIY--YTSY--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---YQHPF---TFQGTKEIIR

>DOM14-31 (SEQ ID NO: 500)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-PIGDMLN-WYQKPKGAKPKLLIY--GGSN--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---RRLAPF---TFQGTKEIIR

>DOM14-32 (SEQ ID NO: 501)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-PIDERLN-WYQKPKGAKPKLLIY--RRSF--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---WGHLPF---TFQGTKEIIR

>DOM14-33 (SEQ ID NO: 502)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-PIDSRM-WYQKPKGAKPKLLIY--TASY--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---YLMHPL---TFQGTKEIIR

>DOM14-34 (SEQ ID NO: 503)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-PIHYALD-WYQKPKGAKPKLLIY--STSI--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---WFRWPT---TFQGTKEIIR

【図 20 D】

>DOM14-49 (SEQ ID NO: 518)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-YIDKRLN-WYQKPKGAKPKLLIY--YASY--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---QFIHPL---TFQGTKEIIR

>DOM14-50 (SEQ ID NO: 519)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-VIGQMLN-WYQKPKGAKPKLLIY--QASG--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---SYVHFY---TFQGTKEIIR

>DOM14-51 (SEQ ID NO: 520)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-AIGNWLD-WYQKPKGAKPKLLIY--WGSB--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---RSSFPF---TFQGTKEIIR

>DOM14-52 (SEQ ID NO: 521)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-AIDMYLT-WYQKPKGAKPKLLIY--WASI--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---RKARPY---TFQGTKEIIR

>DOM14-53 (SEQ ID NO: 522)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-AIPWYLA-WYQKPKGAKPKLLIY--NASI--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---RAFSPL---TFQGTKEIIR

>DOM14-54 (SEQ ID NO: 523)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-AIWYTLN-WYQKPKGAKPKLLIY--GASQ--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---TBSFPY---TFQGTKEIIR

>DOM14-55 (SEQ ID NO: 524)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-TITDYLN-WYQKPKGAKPKLLIY--WGSI--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---SAHRPY---TFQGTKEIIR

>DOM14-56 (SEQ ID NO: 525)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-XIGSHLS-WYQKPKGAKPKLLIY--RTSQ--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---QAKSPF---TFQGTKEIIR

>DOM14-57 (SEQ ID NO: 526)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-QIDDYLN-WYQKPKGAKPKLLIY--WTSL--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---SAHRPF---TFQGTKEIIR

>DOM14-58 (SEQ ID NO: 527)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-QIDDRLS-WYQKPKGAKPKLLIY--FKSP--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---YQAHPL---TFQGTKEIIR

>DOM14-59 (SEQ ID NO: 528)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-RIAGCLS-WYQKPKGAKPKLLIY--RTSL--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---DCTFPR---TFQGTKEIIR

>DOM14-60 (SEQ ID NO: 529)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-RISGCLY-WYQKPKGAKPKLLIY--RGSH--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---DCDFPS---TFQGTKEIIR

>DOM14-61 (SEQ ID NO: 530)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-YIGQMLN-WYQKPKGAKPKLLIY--QASG--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---SYVHFY---TFQGTKEIIR

>DOM14-62 (SEQ ID NO: 531)
DIQWTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQ-MISYHLV-WYQKPKGAKPKLLIY--SSSN--LQSGVPSRFS
GSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQ---LASNPF---TFQGTKEIIR

【図 20E】

>DOM14-63 (SEQ ID NO:532)
DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQ-NIGSGLR-WYQKPGKAPKLLIY--HASK--LQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---YKVPFG---TFGQGTKVEIKR

>DOM14-64 (SEQ ID NO:533)
DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQ-NIGSHLL-WYQKPGKAPKLLIY--GSSS--LQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---YRLAPH---TFGQGTKVEIKR

>DOM14-65 (SEQ ID NO:534)
DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQ-NIGMYLK-WYQKPGKAPKLLIY--YSSS--LQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---NRMRPT---TFGQGTKVEIKR

>DOM14-66 (SEQ ID NO:535)
DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQ-GIDWYLS-WYQKPGKAPKLLIY--EGSN--LQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDSATYYCQ---RAAYFF---TFGQGTKVEIKR

>DOM14-67 (SEQ ID NO:536)
DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQ-GIGVALD-WYQKPGKAPKLLIY--MASR--LQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---YSELV---TFGQGTKVEIKR

>DOM14-68 (SEQ ID NO:537)
DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQ-EISGELT-WYQKPGKAPKLLIY--PSSI--LQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---TKLRPS---TFGQGTKVEIKR

>DOM14-69 (SEQ ID NO:538)
DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQ-EIGQWLN-WYQKPGKAPKLLIY--WGSR--LQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---TQLRPS---TFGQGTKVEIKR

>DOM14-70 (SEQ ID NO:539)
DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQ-EIGQWLN-WYQKPGKAPKLLIY--WGSR--LQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---VSRNPF---TFGQGTKVEIKR

>DOM14-100 (SEQ ID NO:540)
DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQ-SISGYLN-WYQKPGKAPKLLIY--AASS--LQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ---SYSTPS---TFGQGTKVEIKR

【図 21A】

マウス血清アルブミン(MSA)に対して選択されたV_K

Kabat番号	5	10	15	20	25	30	35
MSA16	DIQM	TQSP	SSLAS	VGDRV	ITCR	ASQSI	I XHKLW
MSA12	DIQM	TQSP	SSLAS	VGDRV	ITCR	ASQSI	F RHLW
MSA26	DIQM	TQSP	SSLAS	VGDRV	ITCR	ASQSI	Y YHLW

Kabat番号	40	45	50	55	60	65	70
MSA16	YQQK	P GKAP	KLLIY	GASRL	QSGVP	S RFSG	S GSGT D
MSA12	YQQK	P GKAP	KLLIY	AASRL	QSGVP	S RFSG	S GSGT D
MSA26	YQQK	P GKAP	KLLIY	KASTL	QSGVP	S RFSG	S GSGT D

Kabat番号	75	80	85	90	95	100	105
MSA16	FTLT	ISSLQ	PEDPAT	YYCQ	Q GARWP	QTFG	Q GTKV E
MSA12	FTLT	ISSLQ	PEDPAT	YYCQ	Q VALY	P KTFG	Q GTKV E
MSA26	FTLT	ISSLQ	PEDPAT	YYCQ	Q VRKV	P RTFG	Q GTKV E

Kabat番号	
MSA16	I K R SEQ ID NO:541
MSA12	I K R SEQ ID NO:542
MSA26	I K R SEQ ID NO:543

【図 21B】

ラット血清アルブミン(RSA)に対して選択されたV_K

Kabat番号	5	10	15	20	25	30	35	
<u>DOM7r-1</u>	DIQT	QSPS	LSAS	VGDRV	TITCR	ASQYI	GRYLR	W
<u>DOM7r-3</u>	DIQM	TQSPS	LSAS	VGDRV	TITCR	ASQYI	GRYLR	W
<u>DOM7r-4</u>	DIQM	TQSPS	LSAS	VGDRV	TITCR	ASQWI	GRYLR	W
<u>DOM7r-5</u>	DIQM	TQSPS	LSAS	VGDRV	TITCR	ASQYI	SRLRL	W
<u>DOM7r-7</u>	DIQM	TQSPS	LSAS	VGDRV	TITCR	ASQXI	GRYLR	W
<u>DOM7r-8</u>	DIQM	TQSPS	LSAS	VGDRV	TITCR	ASQWI	HRQLK	W

Kabat番号	40	45	50	55	60	65	70	
<u>DOM7r-1</u>	YQQK	P GKAP	KLLIY	DSSVL	QSGVP	S RFSG	S GSGT	D
<u>DOM7r-3</u>	YQQK	P GKAP	KLLIY	DSSVL	QSGVP	S RFSG	S GSGT	D
<u>DOM7r-4</u>	YQQK	P GKAP	KLLIY	NGSQL	QSGVP	S RFSG	S GSGT	D
<u>DOM7r-5</u>	YQQK	P GKAP	KLLIY	GA SVL	QSGIP	S RFSG	S GSGT	D
<u>DOM7r-7</u>	YQQK	P GKAP	KLLIY	DSSVL	QSGVP	S RFSG	S GSGT	D
<u>DOM7r-8</u>	YQQK	P GKAP	KLLIY	ASIL	QSGVP	S RFSG	S GSGT	D

Kabat番号	75	80	85	90	95	100	105	
<u>DOM7r-1</u>	FTLT	ISSLQ	PEDFA	TYYCQ	QRYRM	PYTFG	QGTKV	E
<u>DOM7r-3</u>	FTLT	ISSLQ	PEDFA	TYYCQ	QRYMQ	PYTFG	QGTKV	E
<u>DOM7r-4</u>	FTLT	ISSLQ	PEDFA	TYYCQ	QRYLQ	PYTFG	QGTKV	E
<u>DOM7r-5</u>	FTLT	ISSLQ	PEDFA	TYYCQ	QRYIT	PYTFG	QGTKV	E
<u>DOM7r-7</u>	FTLT	ISSLQ	PEDFA	TYYCQ	QRYSS	PYTFG	QGTKV	E
<u>DOM7r-8</u>	FTLT	ISSLQ	PEDFA	TYYCQ	QTFSP	STFG	QGTKV	E

Kabat番号	SEQ ID NO:544
<u>DOM7r-1</u>	I K R
<u>DOM7r-3</u>	I K R
<u>DOM7r-4</u>	I K R
<u>DOM7r-5</u>	V K R
<u>DOM7r-7</u>	I K R
<u>DOM7r-8</u>	I K R

【図 21C】

ヒト血清アルブミン(HSA)に対して選択されたV_K

Kabat番号	5	10	15	20	25	30	35																												
DOM7h-2	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	R	A	S	Q	X	I	A	T	Y	L	N	W
DOM7h-3	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	R	A	S	Q	W	I	D	T	G	L	A	W
DOM7h-4	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	R	A	S	Q	H	I	Y	S	H	L	A	W
DOM7h-6	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	R	A	S	Q	S	I	S	S	T	L	N	W
DOM7h-1	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	R	A	S	Q	S	I	S	S	T	L	N	W
DOM7h-7	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	R	A	S	Q	S	I	S	S	T	L	N	W

Kabat番号	40	45	50	55	60	65	70																												
DOM7h-2	Y	Q	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	L	I	Y	R	S	S	S	L	Q	S	A	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	V
DOM7h-3	Y	Q	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	L	I	Y	N	V	S	R	L	Q	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D
DOM7h-4	Y	Q	Q	R	P	G	K	A	P	K	L	L	I	Y	N	A	S	H	L	Q	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D
DOM7h-6	Y	Q	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	L	I	Y	R	L	S	V	L	Q	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D
DOM7h-1	Y	Q	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	L	I	Y	R	N	S	F	L	Q	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D
DOM7h-7	Y	Q	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	L	I	Y	R	N	S	Q	L	Q	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D

Kabat番号	75	80	85	90	95	100	105																											
DOM7h-2	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	T	Y	A	V	P	P	T	F	G	Q	G	T	K	V	E
DOM7h-3	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	V	I	G	D	P	Y	T	F	G	Q	G	T	K	V	E
DOM7h-4	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	T	Y	N	V	P	P	T	F	G	Q	G	T	K	V	E
DOM7h-6	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	T	Y	N	V	P	P	T	F	G	Q	G	T	K	V	E
DOM7h-1	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	T	Y	T	V	P	P	T	F	G	Q	G	T	K	V	E
DOM7h-7	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	T	Y	A	V	P	P	T	F	G	Q	G	T	K	V	E

Kabat番号	SEQ ID NO:550
DOM7h-2	I K R
DOM7h-3	I K R
DOM7h-4	I K R
DOM7h-6	I K R
DOM7h-1	I K R
DOM7h-7	I K R

【図 2 1 D】

ヒト血清アルブミン(HSA)に対して選択されたV_H

Kabat番号	5	10	15	20	25	30	35
<u>DOM7h-22</u>	EYQL	L	ESGG	G	LVQP	G	GSLLRLSCAASGPTFSKYWM
<u>DOM7h-23</u>	EYQL	L	ESGG	G	LVQP	G	GSLLRLSCAASGPTFYDYNM
<u>DOM7h-24</u>	EYQL	L	ESGG	G	LVQP	G	GSLLRLSCAASGPTFHYNNM
<u>DOM7h-25</u>	EYQL	L	ESGG	G	LVQP	G	GSLLRLSCAASGPTFWKYNM
<u>DOM7h-26</u>	EYQL	L	ESGG	G	LVQP	G	GSLLRLSCAASGPTFDYNNM
<u>DOM7h-21</u>	EYQL	L	ESGG	G	LVQP	G	GSLLRLSCAASGPTFDLYDM
<u>DOM7h-27</u>	EYQL	L	ESGG	G	LVQP	G	GSLLRLSCAASGPTFSDYRM
コンセンサス	EYQL	L	ESGG	G	LVQP	G	GSLLRLSCAASGPTFXKYNM

(SEQ ID NO:556)

Kabat番号	40	45	50	54	59	64	69
<u>DOM7h-22</u>	WVRQ	A	PGKG	L	EWVS	T	IDFMGRHTYYADSVKGRFT
<u>DOM7h-23</u>	WVRQ	A	PGKG	L	EWVS	T	ITRTGGVYYADSVKGRFT
<u>DOM7h-24</u>	WVRQ	A	PGKG	L	EWVS	T	ILPGGDVYYADSVKGRFT
<u>DOM7h-25</u>	WVRQ	A	PGKG	L	EWVS	T	ILGEGNNTYYADSVKGRFT
<u>DOM7h-26</u>	WVRQ	A	PGKG	L	EWVS	T	ILFPGDRTYYADSVKGRFT
<u>DOM7h-21</u>	WVRQ	A	PGKG	L	EWVS	T	IVHSGVRTYYADSVKGRFT
<u>DOM7h-27</u>	WVRQ	A	PGKG	L	EWVS	T	IISNGKFTYYADSVKGRFT

Kabat番号	74	79	82b	86	91	96	100a
<u>DOM7h-22</u>	SRDN	S	KNTL	Y	LQMN	S	LRAEDTAVVYCAKGRTSML
<u>DOM7h-23</u>	SRDN	S	KNTL	Y	LQMN	S	LRAEDTAVVYCAKQWPSYQ
<u>DOM7h-24</u>	SRDN	S	KNTL	Y	LQMN	S	LRAEDTAVVYCAKQDPDYM
<u>DOM7h-25</u>	SRDN	S	KNTL	Y	LQMN	S	LRAEDTAVVYCAKTM DYK
<u>DOM7h-26</u>	SRDN	S	KNTL	Y	LQMN	S	LRAEDTAVVYCAKQDPLYR
<u>DOM7h-21</u>	SRDN	S	KNTL	Y	LQMN	S	LRAEDTAVVYCAKQKQSYH
<u>DOM7h-27</u>	SRDN	S	KNTL	Y	LQMN	S	LRAEDTAVVYCAKQDWMYM

Kabat番号	100a	105	110
<u>DOM7h-22</u>	MKEK	F	DYWG
<u>DOM7h-23</u>	----	F	DYWG
<u>DOM7h-24</u>	----	F	DYWG
<u>DOM7h-25</u>	----	F	DYWG
<u>DOM7h-26</u>	----	F	DYWG
<u>DOM7h-21</u>	D----	F	DYWG
<u>DOM7h-27</u>	----	F	DYWG

SEQ ID NO:557
SEQ ID NO:558
SEQ ID NO:559
SEQ ID NO:560
SEQ ID NO:561
SEQ ID NO:562
SEQ ID NO:563

【図 2 2】

Kabat番号	5	10	15	20	25	30	35
<u>DOM7c-15</u>	DIQMT	QSPS	LSAS	V	GDRV	T	ITCRASQSI
<u>DOM7c-16</u>	DIQMT	QSPS	LSAS	V	GDRV	T	ITCRASQKI
<u>DOM7c-17</u>	DIQMT	QSPS	LSAS	V	GDRV	T	ITCRASQKI
<u>DOM7c-18</u>	DIQMT	QSPS	LSAS	V	GDRV	T	ITCRASQWI
<u>DOM7c-19</u>	DIQMT	QSPS	LSAS	V	GDRV	T	ITCRASQWI

Kabat番号	40	45	50	55	60	65	70
<u>DOM7c-15</u>	YQQK	P	GKAP	K	LLIY	R	TSWL
<u>DOM7c-16</u>	YQQK	P	GKAP	K	LLIY	N	SSIL
<u>DOM7c-17</u>	YQQK	P	GKAP	K	LLIY	N	SSIL
<u>DOM7c-18</u>	YQQK	P	GKAP	K	LLIY	N	SSIL
<u>DOM7c-19</u>	YQQK	P	GKAP	K	LLIY	N	SSIL

Kabat番号	75	80	85	90	95	100	105
<u>DOM7c-15</u>	FTLT	I	SSLQ	P	EDFA	T	YYCQ
<u>DOM7c-16</u>	FTLT	I	SSLQ	P	EDFA	T	YYCQ
<u>DOM7c-17</u>	FTLT	I	SSLQ	P	EDFA	T	YYCQ
<u>DOM7c-18</u>	FTLT	I	SSLQ	P	EDFA	T	YYCQ
<u>DOM7c-19</u>	FTLT	I	SSLQ	P	EDFA	T	YYCQ

Kabat番号	IXR	SEQ ID NO:567
<u>DOM7c-15</u>	IXR	SEQ ID NO:568
<u>DOM7c-16</u>	IXR	SEQ ID NO:569
<u>DOM7c-17</u>	IXR	SEQ ID NO:570
<u>DOM7c-18</u>	IXR	SEQ ID NO:571
<u>DOM7c-19</u>	IXR	SEQ ID NO:571

【図 2 1 E】

ヒト血清アルブミン(HSA)およびラット血清アルブミン(RSA)に対して選択されたV_K

Kabat番号	5	10	15	20	25	30	35
<u>DOM7h-8</u>	DIQMT	QSPS	LSAS	V	GDRV	T	ITCRASQSI
<u>DOM7c-13</u>	DIQMT	QSPS	LSAS	V	GDRV	T	ITCRASQSI
<u>DOM7c-14</u>	DIQMT	QSPS	LSAS	V	GDRV	T	ITCRASQSI

Kabat番号	40	45	50	55	60	65	70
<u>DOM7h-8</u>	YQQK	P	GKAP	K	LLIY	R	TSWL
<u>DOM7c-13</u>	YQQK	P	GKAP	K	LLIY	Q	ASRL
<u>DOM7c-14</u>	YQQK	P	GKAP	K	LLIY	Q	ASRL

Kabat番号	75	80	85	90	95	100	105
<u>DOM7h-8</u>	FTLT	I	SSLQ	P	EDFA	T	YYCQ
<u>DOM7c-13</u>	FTLT	I	SSLQ	P	EDFA	T	YYCQ
<u>DOM7c-14</u>	FTLT	I	SSLQ	P	EDFA	T	YYCQ

Kabat番号	IXR	SEQ ID NO:564
<u>DOM7h-8</u>	IXR	SEQ ID NO:565
<u>DOM7c-13</u>	IXR	SEQ ID NO:566
<u>DOM7c-14</u>	IXR	SEQ ID NO:566

【図 2 3 A】

Kabat番号	5	10	15	20	25	30	35
<u>DOM7c-20</u>	EYQL	L	ESGG	G	LVQP	G	GSLLRLSCAASGPTFWBYTMS
<u>DOM7c-21</u>	EYQL	L	ESGG	G	LVQP	G	GSLLRLSCAASGPTFWBYTMS
<u>DOM7c-22</u>	EYQL	L	ESGG	G	LVQP	G	GSLLRLSCAASGPTFWBYTMS
<u>DOM7c-23</u>	EYQL	L	ESGG	G	LVQP	G	GSLLRLSCAASGPTFWBYTMS
<u>DOM7c-24</u>	EYQL	L	ESGG	G	LVQP	G	GSLLRLSCAASGPTFWBYTMS
<u>DOM7c-25</u>	EYQL	L	ESGG	G	LVQP	G	GSLLRLSCAASGPTFWBYTMS
<u>DOM7c-26</u>	EYQL	L	ESGG	G	LVQP	G	GSLLRLSCAASGPTFWBYTMS
<u>DOM7c-27</u>	EYQL	L	ESGG	G	LVQP	G	GSLLRLSCAASGPTFWBYTMS
<u>DOM7c-28</u>	EYQL	L	ESGG	G	LVQP	G	GSLLRLSCAASGPTFWBYTMS
<u>DOM7c-29</u>	EYQL	L	ESGG	G	LVQP	G	GSLLRLSCAASGPTFWBYTMS
<u>DOM7c-30</u>	EYQL	L	ESGG	G	LVQP	G	GSLLRLSCAASGPTFWBYTMS
<u>DOM7c-31</u>	EYQL	L	ESGG	G	LVQP	G	GSLLRLSCAASGPTFWBYTMS
<u>DOM7c-32</u>	EYQL	L	ESGG	G	LVQP	G	GSLLRLSCAASGPTFWBYTMS
<u>DOM7c-33</u>	EYQL	L	ESGG	G	LVQP	G	GSLLRLSCAASGPTFWBYTMS

Kabat番号	40	45	50	54	59	64	69
<u>DOM7c-20</u>	WVRQ	A	PGKG	L	EWVS	T	ISPPGSTTYYADSVKGRFTI
<u>DOM7c-21</u>	WVRQ	A	PGKG	L	EWVS	T	ISPPGSTTYYADSVKGRFTI
<u>DOM7c-22</u>	WVRQ	A	PGKG	L	EWVS	T	ISPPGSTTYYADSVKGRFTI
<u>DOM7c-23</u>	WVRQ	A	PGKG	L	EWVS	T	ISPPGSTTYYADSVKGRFTI
<u>DOM7c-24</u>	WVRQ	A	PGKG	L	EWVS	T	ISPPGSTTYYADSVKGRFTI
<u>DOM7c-25</u>	WVRQ	A	PGKG	L	EWVS	T	ISPPGSTTYYADSVKGRFTI
<u>DOM7c-26</u>	WVRQ	A	PGKG	L	EWVS	T	ISPPGSTTYYADSVKGRFTI
<u>DOM7c-27</u>	WVRQ	A	PGKG	L	EWVS	T	ISPPGSTTYYADSVKGRFTI
<u>DOM7c-28</u>	WVRQ	A	PGKG	L	EWVS	T	ISPPGSTTYYADSVKGRFTI
<u>DOM7c-29</u>	WVRQ	A	PGKG	L	EWVS	T	ISPPGSTTYYADSVKGRFTI
<u>DOM7c-30</u>	WVRQ	A	PGKG	L	EWVS	T	ISPPGSTTYYADSVKGRFTI
<u>DOM7c-31</u>	WVRQ	A	PGKG	L	EWVS	T	ISPPGSTTYYADSVKGRFTI
<u>DOM7c-32</u>	WVRQ	A	PGKG	L	EWVS	T	ISPPGSTTYYADSVKGRFTI
<u>DOM7c-33</u>	WVRQ	A	PGKG	L	EWVS	T	ISPPGSTTYYADSVKGRFTI

Kabat番号	74	79	82	86	91	96	100
<u>DOM7c-20</u>	SRDN	S	KNTL	Y	LQMN	S	LRAEDTAVVYCAKGGKDF
<u>DOM7c-21</u>	SRDN	S	KNTL	Y	LQMN	S	LRAEDTAVVYCAKGLSFP
<u>DOM7c-22</u>	SRDN	S	KNTL	Y	LQMN	S	LRAEDTAVVYCAKGLSFP
<u>DOM7c-23</u>	SRDN	S	KNTL	Y	LQMN	S	LRAEDTAVVYCAKGLSFP
<u>DOM7c-24</u>	SRDN	S	KNTL	Y	LQMN	S	LRAEDTAVVYCAKGLSFP
<u>DOM7c-25</u>	SRDN	S	KNTL	Y	LQMN	S	LRAEDTAVVYCAKGLSFP
<u>DOM7c-26</u>	SRDN	S	KNTL	Y	LQMN	S	LRAEDTAVVYCAKGLSFP
<u>DOM7c-27</u>	SRDN	S	KNTL	Y	LQMN	S	LRAEDTAVVYCAKGLSFP
<u>DOM7c-28</u>	SRDN	S	KNTL	Y	LQMN	S	LRAEDTAVVYCAKGLSFP
<u>DOM7c-29</u>	SRDN	S	KNTL	Y	LQMN	S	LRAEDTAVVYCAKGLSFP
<u>DOM7c-30</u>	SRDN	S	KNTL	Y	LQMN	S	LRAEDTAVVYCAKGLSFP
<u>DOM7c-31</u>	SRDN	S	KNTL	Y	LQMN	S	LRAEDTAVVYCAKGLSFP
<u>DOM7c-32</u>	SRDN	S	KNTL	Y	LQMN	S	LRAEDTAVVYCAKGLSFP
<u>DOM7c-33</u>	SRDN	S	KNTL	Y	LQMN	S	LRAEDTAVVYCAKGLSFP

【図 23 B】

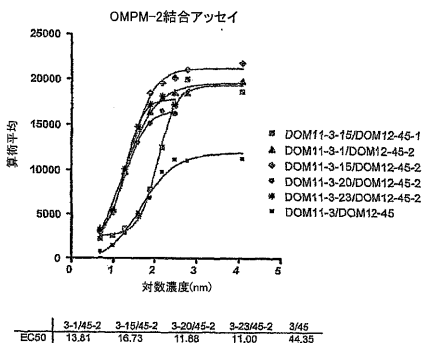
Kabat番号	10	10	11	
DOM7c-20	-	-	-	D Y W G Q G T L V T V S S
DOM7c-21	-	-	-	D Y W G Q G T L V T V S S
DOM7c-22	-	-	-	D Y W G Q G T L V T V S S
DOM7c-23	-	-	-	D Y W G Q G T L V T V S S
DOM7c-24	-	-	-	D Y W G Q G T L V T V S S
DOM7c-25	-	-	-	D Y W G Q G T L V T V S S
DOM7c-26	S F	-	-	D Y W G Q G T L V T V S S
DOM7c-27	L D G F	-	-	D Y W G Q G T L V T V S S
DOM7c-28	K F	-	-	D Y W G Q G T L V T V S S
DOM7c-29	T F	-	-	D Y W G Q G T L V T V S S
DOM7c-30	L Q F	-	-	D Y W G Q G T L V T V S S
DOM7c-31	-	-	-	D Y W G Q G T L V T V S S
DOM7c-32	-	-	-	D Y W G Q G T L V T V S S
DOM7c-33	-	-	-	D Y W G Q G T L V T V S S

SEO ID NO:572
SEO ID NO:573
SEO ID NO:574
SEO ID NO:575
SEO ID NO:576
SEO ID NO:577
SEO ID NO:578
SEO ID NO:579
SEO ID NO:580
SEO ID NO:581
SEO ID NO:582
SEO ID NO:583
SEO ID NO:584
SEO ID NO:585

【図 24】

配列	
A	抗マウス血清アルブミン (SEQ ID NO: 586)
B	(SEQ ID NO: 587)
C	(SEQ ID NO: 588)
D	(SEQ ID NO: 589)
E	(SEQ ID NO: 590)
F	(SEQ ID NO: 591)
G	(SEQ ID NO: 592)
H	(SEQ ID NO: 593)
I	(SEQ ID NO: 594)
J	(SEQ ID NO: 595)
K	(SEQ ID NO: 596)
L	(SEQ ID NO: 597)
M	(SEQ ID NO: 598)
N	(SEQ ID NO: 599)
O	(SEQ ID NO: 600)
P	(SEQ ID NO: 601)
Q	(SEQ ID NO: 602)

【図 25】



【図 26 A】

親和性成熟dAb

>DOM11-3-1 (SEQ ID NO: 603)

GACATCCAGA TGACCCAGTC TCATCTCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA CATATTGAT TCTCGTTTAA GTTGTATACA GCAGAAACCA
GGGAAGGCC CTAACTCTCT CATCTATAGG CGTCCGTTT TGCAAGTGG GGTCCCATCA
CTTTTCAAGT GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTITG CTACGTACTA CTGTCAACAG TGGGATATGT TTCTTTTGT GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

>DOM11-3-2 (SEQ ID NO: 604)

GACATCCAGA TGACCCAGTC TCATCTCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA CATATTGAT TCTCGTTTAA GTTGTATACA GCAGAAACCA
GGGAAGGCC CTAACTCTCT CATCTATAGG CGTCCGTTT TGCAAGTGG GGTCCCATCA
CTTTTCAAGT GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTITG CTACGTACTA CTGTCAACAG TGGGATATGT TTCTTTTGT GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

>DOM11-3-5 (SEQ ID NO: 605)

GACATCCAGA TGACCCAGTC TCATCTCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA CATATTGAT TCTCGTTTAA GTTGTATACA GCAGAAACCA
GGGAAGGCC CTAACTCTCT CATCTATAGG CGTCCGTTT TGCAAGTGG GGTCCCATCA
CTTTTCAAGT GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTITG CTACGTACTA CTGTCAACAG TGGGATATGT TTCTTTTGT GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

>DOM11-3-10 (SEQ ID NO: 606)

GACATCCAGA TGACCCAGTC TCATCTCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA CATATTGAT TCTCGTTTAA GTTGTATACA GCAGAAACCA
GGGAAGGCC CTAACTCTCT CATCTATAGG CGTCCGTTT TGCAAGTGG GGTCCCATCA
CTTTTCAAGT GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTITG CTACGTACTA CTGTCAACAG TGGGATATGT TTCTTTTGT GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

>DOM11-3-15 (SEQ ID NO: 607)

GACATCCAGA TGACCCAGTC TCATCTCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA CATATTGAT TCTCGTTTAA GTTGTATACA GCAGAAACCA
GGGAAGGCC CTAACTCTCT CATCTATAGG CGTCCGTTT TGCAAGTGG GGTCCCATCA
CTTTTCAAGT GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTITG CTACGTACTA CTGTCAACAG TGGGATATGT TTCTTTTGT GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

【図 2 6 C】

>DMM11-3-9 (SEQ ID NO: 513)
 GACATCCAGA TGACCACTGC TCACATCTCC CTGTCTGAGA CCGTGTACAG
 ATCACATGCG GGGCAAGTCA GAATATATAT TCTGTTTAA GTTGGTATCA GCAGAAACCA
 CGGAAAGGCC CTAAGCTGCT GATCATATAG ACATCGTFT TTCAAGATGAG GTGTCCCAAC
 GCTTTACAGT GAGCTGATCT TGGGACAATG CACATCATGC ATCGACAACG TCTGCAACT
 GAAGATTTCG CTACCTACTA CTGCAACAG TGGGATATGT TCTCTTTCAG GTTCCGCCAA
 GGGACCAATG TGGAAATCA ACGG

>DMDM1-3-11 (SEQ ID NO: 614)
GACATCCAGA TGACCCATGC TCACATCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTACCC
ATCACTTCCC GGGCAAGTCA GAAATATTGAT TCTCGTTTAA GTTGTGTACCA GCAGAAACCA
GGCAAGAGCCC CTAACTGCTCT GGTCTATAGG GCGTCGGTIT TCGAAGAGTGG GCGTCCATCA
CTTTTACGTC CGCTGATGAT TGGGACATGT TCACTCTTCA CCAATCAGAG CCGTCAACCT
GAGATTTTGT CTACGTACCA CTGTCAACAG GGTGATATGT TCTCTTTAGC GCGTCCGCA
GGACCAACGG TGGAAATCA ACGC

```
>XDOM11-3-14 (SEQ ID NO:615)
GACATCGAAGA TGACACGCTC TCATCTCTCC CTGTCGTCAT CTGTAGGAGA TCGTGTCAAC
ATCACTTGCCG GGGCGAGTCA GAATATGTAT GTTGTCTTAA GTTGTTACCA GCAGAAACCA
CGGAAAGGCC CTAAGCTGCT GATCTATAGG GCGTCGGTTT CCAAGTGGGG GGTCCGCAACCA
CGTTTCAGTG CGTTCATGAT TGGGACACAT TTCACTCTAT GCAGATGAGG TCTGTCAACT
GAAGATTTTC CTACGTACTA CTGTCAACAG GCGTAGATGT TTCCTTTGCG TCTCGGCCAA
GGGACACAAG TGGAATACAA ACGG
```

>NM011-3-17 (SEQ ID NO:615)
 GACATCGACA TGACCACTGC TCACATCTCC CTGTCTGCA CTGTAGGAGA CGGTGTACAC
 ATCATCAGCC GGGCAGATCA GAATATATGAT TTCTCTTTAA GTTGTGTACCA GGAGAAACCA
 GGGAAAGCCC CTAACTGCTC GATCATATAG GGGTCTGTAT TCGAAGATGG GGTCTCATCTA
 CGTTTTCAGT GCGCTGGATC TGGGACAGAT TCTCACTCTA CCATCAGACG TGTGCAGATC
 GAAATATTTG CTACATGACTA CTGTCAACAG TGGGATATGT TTCCTTTAGC GTTCGCGCGA
 GGGCAGAGG TGGAAATACA ACGG

>D0M11-3-19 (SEQ ID NO:617)
GACATCTACA TACCAACGTC TCCATCTCTC CTGCTGTCAT CTGTAGAGCA CCGTGTACAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GAATATATAT TCTGTTTAA GTTGTGTACCA GCAGAAACCA
GGGAAGAACG CTAAGCTGATC GATCATATAG TCTGTGCGTT TCCAAAGTGT GCGTCCATCA
CGTTTCAGTG GCGTGCATCT TGGGACAGAT TCACTCATCA CCATCAGAGC TTGCGCAACT
GAAGATTTCG TACGCTACTA CTGTCAACAG TGGGATATGT TCCCTTTCAG TGTGGCCAA
GGACACATGG TGGGAATACA ACGS

XD0013-3-21 (SEQ ID NO:618)
 GACCTCAAGA TGAACCAATGC CCATATCTCC CTGTCTGTCG GTGTGAGAGA CCGTGTCAAC
 ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GAATATTTGGT TCTCGTTTAA GTTGTTGACCA GCAGAAACCA
 GGGAGAACCC CTAACTCTCT GATCATATAG TGTCGTCATT TGCAGAAATGG GGTGACCAATCA
 CTTTGTAAGC CTGCTGGATC TGGGACAGAT TTCACTATCA CCAATCAGCA CTGTGCAATCA
 GAGATTTTG CTATATACCA CTGTCAACRC TGGGATATGT TTCCTTTGAC GTTGCAGCAA
 GGGACACAG TGGAAATCAA ACGG

【图 27 A】

>D0M11-30-1 (Seq ID NC_624)

GACATCCAGA TGCACGATC TCACATCTCC CTGTCTGCAT CTGTGTGGAG CGGTGTATCC
ATCTCTTGGC GGGCAAGTCT GAGATCTGAG AACTGATTAG CTTGATACCA GCAGAAACCA
GGGAAAGCCC CTAGCTGCTT GATCTATAT AATCTATT TTGAAATGCT GTGTCCATCA
CTTTCGAGC CTGACATGAT TGGGACAGT TTGACTATTA CCAATGAGCG TGTGCAACCT
GAAGTTTTC TACAGTACA CTGTCAACG GGGAGATGAT CCGCTGCAC GTTCGCCAA
GGACCAACG TGGAGATCAA ACGG

>DOK11-30-2 (SEQ ID NO:625)
 GACATCGACG TCCACGATG CCGATCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGAGGA CGSTGTAAAC
 ATCACTTGGC GGAACAGTCA GAGATTGAG AATGATTTAG TGTGGTACCA GCGAAGAACCA
 GGGAAAGACC CTAGCTGCTT GATCTATTAT ACTTCATTAT TCGAATGAG GGTCCCATCT
 CCGTTCAGTG CCGTCTGCTT TGGGACAGTA TCTACTCTCA CCAATGACGG TGTCCCACT
 GAAGTTTCT TCACTACTA CTGTCAACAG CGAGAGTAGT TSCCTGCGAC GTTCGCGCAA
 GGGACCAAGS TGGAAATCAA ACGG

>DOM11-30-9 (SEQ ID NO:626)
GACATCGAATCGACGACGATCC TCCATCATCC CTGTCTGCACT CTGTAGAGGA CCGTGTATACC
ATGATCTGGC GCGATCTCTA GAGCATGTAG AATGATTATG TCTGGTGAATG GGATGAACCA
CGGAAAGACCG CTAAGCTCCT GACATTAATT ACTTCCATTG TCGCAAAATG GGTGCCATCA
CGTTTCAGTG CGATGTGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAAGATTTG TACAGTCA CTCTCAACAG CGGAGTAGTG CGCTCTGCAG TCTGTGGCCAA
GGGNCNAGG TGGAAATCAA ACGG

>DMM11-30-15 (SEQ ID NO:627)
 GACACACAGT TACCAACAGTC TCCATCTCCCC CTCTCTGCGAT CTGTAGGACA CGGTGTAAACC
 ATCATCTGCC GGGCAGACCA GAGATGATGAG AATGATTGAT CTCTGGTACCA GCAGAAACCA
 GCGAAGACCC TCACTGCTCT GAGTCATATAT ATCTTTCATT TCGAAGACAG GGTCCATCA
 CAGTTCAGTG CAGATGAGAT TGGGACAGAT TTATCTCTCA CACATCAGCA TCTGCAACT
 GGATTTATTC TCAAGTATCA CTGTCAAGC CGAGGATGAT TGCCTGCGAC GTTCGGCCAA
 GGGACCAAGG TAAAGATCAAC ACGG

>D0M11-30-16 (SEQ ID no: 628)
 GACATACCA TGAACCACT TCACCTCTCC CTCTCTGCAT CTGTGGAGA CGGTETAACC
 ATGCACTCC GGCAGCTCA GAGATGTGAG AATGATGAT CTCTGGTACA GGAGAAACAA
 CCGGAAGGCC TGGATCTCT GATCATATAT ATCTTCATT TGGAAAGAG GCGTCCTCA
 CGTTTCAAT GCGATGATC TGGGACAGAT TCACTCTAA CACATGACAC TCTGCAACT
 CATTATTTC TACATCTAT CTGTCAACG CAGAGGTAT TGCCCTGCAC GTTCGSCCA
 GGGACAGG TGGGAATCAA ACGG

【図 28G】

>DOM12-45-37 ((SEQ ID NO: 675))
GACATCCAG TGACCCAGTC TCCATCTCTC CTGTCTGCAT CTGTGGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GGGATAGGT GATAGGTTAC GGTGGTATCA GCAGAAACCA
GGGAAGGCC CTAAGCTCTT GATCTATCAT GGGTCAGGT TGGAAAGTGG GGTCCCTTCA
CGTTTCAGTG GCAGTAGATC TGGGACAGAT TTCCGCTCTTA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG CAGTGGTTTC GACCTTATAC GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

>DOM12-45-38 ((SEQ ID NO: 676))
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCTCTC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTGG GATATAGGT GATAGGTTAC GGTGGTATCA GCAGAAACCA
GGGAAGGCC CTAAGCTCTT GATCTATCAT GGGTCAGGT TGGAAAGTGG GGTCCCAATCA
CGTTTCAGTG GCAGTAGATC TGGGACAGAT TTCACTCTTA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGCCAACAG CAGTGGTTTC GTCCCTATAC GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG

【図 29】

抗CD38/抗CD138(DOM11-3/DOM12-45) アミ/酸配列
DIQMTQSPFSLASVGDRTVITCRASQNIISRLVWYQKPKGKAPKLLIYETSVLQSGVPFRFSGSSG
TDFFLTIISLQPEDFATYYCQQQWFRPTTPGQGTKEIKR (SEQ ID NO: 677)
DIQMTQSPFSLASVGDRTVITCRASQIDGLRLKYQKPKAPKLLIYHSGSLISGVPFRFSGSSG
TDFFLTIISLQPEDFATYYCQQWFRPTTPGQGTKEIKR (SEQ ID NO: 677)

抗CD38/抗CD138(DOM11-3/DOM12-45) DNA配列
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTCCCTCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGTCAACCTCACTTG
CCGGCAAGTCAAGATATGATTTCTCTGTTAAGTITGGTACGACGAGAAACCGAGAAAGCCCTTAGGC
TCTGTGATCTATAGGACGTCCGATTTCGAAAGTGGGGTCCCAAGAGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGG
ACAGATTTCATCTCAACCATCAGCAGATCTCCCAACCTGAGAGATTTTCGACGTCTCACTGTCAAGTFS
GGATATGTTCCCTTTGACGTTGCGCCAAAGGACCAAGTGGAAATCAAACCTCGAGCGGTGAGCGG
GTTCAAGCGGAGTGGCAGCGCGGTGGCGGTCAAGTGGTGGCGAGGCGCGGTGGCGGTGAGCG
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTCCCTCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGTCAACCTCACTTG
CCGGCAAGTCAAGATATGAGTATGGTGAAGTTACGGTGGTATCAGCAGAAACCGAGAAAGCCCTTAGGC
TCTGTGATCTATAGGACGTCCGATTTCGAAAGTGGGGTCCCAAGATCTTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGG
ACAGATTTCATCTCAACCATCAGCAGTCTGCCAACCAGAGATTTTGTCTAGTACTACTGTCAACAGCA
GTGGTTTGTCTCTATACGTTTGGCCAAAGGACCAAGTGGAAATCAAACGG (SEQ ID NO: 678)

V_K ダミー アミ/酸配列
DIQMTQSPFSLASVGDRTVITCRASQISISYLNWYQKPKAPKLLIYASLSLQSGVPFRFSGSSG
TDFFLTIISLQPEDFATYYCQQSTSTPPTPGQGTKEIKR (SEQ ID NO: 679)

V_K ダミー DNA配列
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTCCCTCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGTCAACCTCACTTG
CCGGCAAGTCAAGATATGAGTATGATTTCTCTGTTAAGTITGGTACGACGAGAAACCGAGAAAGCCCTTAGGC
TCTGTGATCTATAGGACGTCCGATTTCGAAAGTGGGGTCCCAAGATCTTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGG
ACAGATTTCATCTCAACCATCAGCAGTCTGCCAACCAGAGATTTTGTCTAGTACTACTGTCAACAGAG
TTACAGTACCCCTAATAGTTTGGCCAAAGGACCAAGTGGAAATCAAACGG (SEQ ID NO: 680)

【図 31A】

ODR1配列は～で印を付け、ODR2配列は～で印を付け、
ODR3配列は～で印を付けている

DOM11-22A
DIQMTQSPFSLASVGDRTVITCRASQ~EIHLYL~WYQKPKGKAPKLLIY~LSSR~LQSGVPSR
FSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ~YHYLPF~TFGQGTKEIKR (SEQ ID NO: 685)

DOM11-23A
DIQMTQSPFSLASVGDRTVITCRASQ~SINRLI~WYQKPKGKAPKLLIY~SSSH~LQSGVPSR
FSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ~YHYLPF~TFGQGTKEIKR (SEQ ID NO: 686)

DOM11-4A
DIQMTQSPFSLASVGDRTVITCRASQ~PILFSN~WYQKPKGKAPKLLIY~SASS~LQSGVPSR
FSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ~HHSRPY~TFGQGTKEIKR (SEQ ID NO: 687)

DOM11-5A
DIQMTQSPFSLASVGDRTVITCRASQ~MIRNYL~WYQAPGKAPKLLIY~NASK~LQSGVPSR
FSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ~VHFDPF~TFGQGTKEIKR (SEQ ID NO: 688)

DOM11-7A
DIQMTQSPFSLASVGDRTVITCRASQ~YINTLS~WYQKPKGKAPKLLIY~AQSR~LQSGVPSR
FSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ~FAFRPF~TFGQGTKEIKR (SEQ ID NO: 689)

DOM11-10A
DIQMTQSPFSLASVGDRTVITCRASQ~RIGRYLN~WYQKPKGKAPKLLIY~WVSR~LQSGVPS
RFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ~VHSFPF~TFGQGTKEIKR (SEQ ID NO: 690)

DOM11-20A
DIQMTQSPFSLASVGDRTVITCRASQ~YIGRHL~WYQKPKGKAPKLLIY~FASM~LQSGVPSR
FSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ~VHFDPF~TFGQGTKEIKR (SEQ ID NO: 691)

DOM11-21 A
DIQMTQSPFSLASVGDRTVITCRASQ~PIHDYL~WYQKPKGKAPKLLIY~LASR~LQSGVPSR
FSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ~YHLPY~TFGQGTKEIKR (SEQ ID NO: 692)

DOM11-6A
DIQMTQSPFSLASVGDRTVITCRASQ~RISHALR~WYQKPKGKAPKLLIY~RASA~LQSGVPSR
FSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ~NRSVPF~TFGQGTKEIKR (SEQ ID NO: 693)

DOM11-9A
DIQMTQSPFSLASVGDRTVITCRASQ~NIRRYL~WYQKPKGKAPKLLIY~NASH~LQSGVPSR
FSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ~NYLSPF~TFGQGTKEIKR (SEQ ID NO: 694)

DOM11-9A
DIQMTQSPFSLASVGDRTVITCRASQ~SIGRNY~WYQKPKGKAPKLLIY~INVS~LQSGVPSR
FSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ~NFRGPF~TFGQGTKEIKR (SEQ ID NO: 695)

DOM12-43A
DIQMTQSPFSLASVGDRTVITCRASQ~PISTSLV~WYQKPKGKAPKLLIY~NASH~LQSGVPSR
FSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ~NYLRPF~TFGQGTKEIKR (SEQ ID NO: 696)

DOM14-3A
DIQMTQSPFSLASVGDRTVITCRASQ~HITDQLR~WYQKPKGKAPKLLIY~SASI~LQSGVPSR
FSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ~NYLRPF~TFGQGTKEIKR (SEQ ID NO: 697)

【図 30】

親和性成熟dAb、DNA配列

DOM13-25-3
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTCCCTCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GAGATATGAT TGGTCCGTGGTAAAGTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAGGCC CTAAGCTCTT GATCTATCAT GGGTCAGGT TCGGACAGAT TCCCTCTCA
CGTTTCAGTG GCAGTGGAT CTGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAGAT TCTGGCGCTCTCTTATACGTTTGGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG (SEQ ID NO: 681)

DOM13-25-23
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTCCCTCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GAGATATGAT TGGTCCGTGGTAAAGTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAGGCC CTAAGCTCTT GATCTATCAT GGGTCAGGT TCGGACAGAT TCCCTCTCA
CGTTTCAGTG GCAGTGGAT CTGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAGAT TCTGGCGCTCTCTTATACGTTTGGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG (SEQ ID NO: 682)

DOM13-25-27
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTCCCTCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GAGATATGAT TGGTCCGTGGTAAAGTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAGGCC CTAAGCTCTT GATCTATCAT GGGTCAGGT TCGGACAGAT TCCCTCTCA
CGTTTCAGTG GCAGTGGAT CTGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAGAT TCTGGCGCTCTCTTATACGTTTGGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG (SEQ ID NO: 683)

DOM13-25-80
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTCCCTCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GAGATATGAT TGGTCCGTGGTAAAGTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAGGCC CTAAGCTCTT GATCTATCAT GGGTCAGGT TCGGACAGAT TCCCTCTCA
CGTTTCAGTG GCAGTGGAT CTGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAGAT TCTGGCGCTCTCTTATACGTTTGGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG (SEQ ID NO: 684)

【図 31B】

>DOM11-22
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCTCTC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GAGATTAAT GTTCGGTTAA TTGGTATCA GCAGAAACCA
GGGAAGGCC CTAAGCTCTT GATCTATCTG TCTTCCCTTC TCGAAAGTGG GGTCCCATCA
CGTTTCAGTG GCAGTAGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG TATCAATAG ATCCCTTATAC GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG (SEQ ID NO: 698)

>DOM11-23
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCTCTC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GAGATTAAT GTTCGGTTAA TTGGTATCA GCAGAAACCA
GGGAAGGCC CTAAGCTCTT GATCTATCTG TCTTCCCTTC TCGAAAGTGG GGTCCCATCA
CGTTTCAGTG GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG TATCATTATA CCGCTTTTAC GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG (SEQ ID NO: 699)

>DOM11-4
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCTCTC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GCCTATTTTG TTTAGTTTAA ATTGGTATCA GCAGAAACCA
GGGAAGGCC CTAAGCTCTT GATCTATAGT GCGTCTCTGT TCGAAAGTGG GGTCTCATCA
CGTTTCAGTG GCAGTGGAT TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG GCGCATACCT CTCTTTTATC GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG (SEQ ID NO: 700)

>DOM11-5
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCTCTC CTATCTGCAT CCGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GATGATTAGG AATTATTATC TTGGTATCA GCAGAAACCA
GGGAAGGCC CTAAGCTCTT GATCTATAAT GCTTCCAAGT TCGAAAGTGG GGTCCCATCA
CGTTTCAGTG GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG GCGCATACCT CTCTTTTATC GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG (SEQ ID NO: 701)

>DOM11-7
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCTCTC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GTATATTAGG AGTATTATTA ATTGGTATCA GCAGAAACCA
GGGAAGGCC CTAAGCTCTT GATCTATGGC GATCCCGTT TCGAAAGTGG GGTCCCATCA
CGTTTCAGTG GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG TTTGCTTTTC GTCTTTATAC GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG (SEQ ID NO: 702)

>DOM11-10
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCTCTC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GCGGATTTGG AGTATTATTA ATTGGTATCA GCAGAAACCA
GGGAAGGCC CTAAGCTCTT GATCTATTTG GTTCCCGGT TCGAAAGTGG GGTCCCATCA
CGTTTCAGTG GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG GTGCATAGTT TCTCATGAC GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG (SEQ ID NO: 703)

>DOM11-20
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCTCTC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GTATATTGGC CGTCAATTAG TGTGTATCA GCAGAAACCA
GGGAAGGCC CTAAGCTCTT GATCTATTTT GCGTCAATGT TCGAAAGTGG GGTCCCATCA
CGTTTCAGTG GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG GTTCATTTTG ATCCCTTTATC GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG (SEQ ID NO: 704)

【図 3 1 C】

>DOM11-21
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GCCGATTAGT GATTATTAA CTGGGTATCA GCAGAAACCA
GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATTG GCGTCCCGTT TGCAAAGTGG GGTCCCATCA
CGTTTCAGTG GCAAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACCTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG AATCGTTCGG TGCCTTTAC GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG (SEQ ID NO: 705)

>DOM11-6
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GCCGATTAGT CATGCGTTAC GGTGGTATCA GCAGAAACCA
GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATCGT GCCTCCGCTT TGCAAAGTGG GGTCCCATCA
CGTTTCAGTG GCAAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACCTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG AATCGTTCGG TGCCTTTAC GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG (SEQ ID NO: 706)

>DOM11-8
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GAATATTCGT AGGTATTAG TTTGGTATCA GCAGAAACCA
GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATAAT GCGTCCCATI TGCAAAGTGG GGTCCCATCA
CGTTTCAGTG GCAAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACCTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG ATTTATCTT CTCCTTTAC GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG (SEQ ID NO: 707)

>DOM11-9
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GAGTATTGGG CGTTATATAT ATTGGTACCA GCAGAAACCA
GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATAAT GTTCCCTATT TGCAAAGTGG GGTCCCATCA
CGTTTCAGTG GCAAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACCTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG TGTTCGCGG GGCCTTGAC GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG (SEQ ID NO: 708)

>DOM12-43
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GCGGATTTC ACTAGTTAG TTTGGTACCA GCAGAAACCA
GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATAAT GCGTCCAATT TGCAAAGTGG GGTCCCATCA
CGTTTCAGTG GCAAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACCTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG TCGCAGACTC TCCTGTTAC GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG (SEQ ID NO: 709)

>DOM11-3
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ~NIDSRLS~WYQQKPKPKPKLLY~R~RTSV~LQSGVPSR
FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ~WDMFPL~TFGQGTKVEVKR
(SEQ ID NO: 710)

>DOM11-3
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CCGTGTCAAC
ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GAATATTGAT TCTCGTTTAA GTTGGTACCA GCAGAAACCA
GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATAGG ACGTCCGTT TGCAAAGTGG GGTCCCATCA
CGTTTCAGTG GCAAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACCTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT
GAAGATTTTG CTACGTACTA CTGTCAACAG TGGGATATGT TTCCTTTGAC GTTCGGCCAA
GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGG (SEQ ID NO: 711)

【配列表】

2009518025000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/GB2006/004565

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07K16/28 C07K16/30 A61K38/02		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, WPI Data, Sequence Search, EMBASE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	VALLERA DANIEL A ET AL: "A bispecific recombinant immunotoxin, DT2219, targeting human CD19 and CD22 receptors in a mouse xenograft model of B-cell leukemia/lymphoma." CLINICAL CANCER RESEARCH : AN OFFICIAL JOURNAL OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH 15 MAY 2005, vol. 11, no. 10, 15 May 2005 (2005-05-15), pages 3879-3888, XP002425289 ISSN: 1078-0432 page 3885 - page 3886 ----- -/--	1-108
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the International search		Date of mailing of the International search report
19 March 2007		17/04/2007
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax (+31-70) 340-3016		Authorized officer Wagner, René

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/GB2006/004565

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	SCHMIDT M ET AL: "A BIVALENT SINGLE-CHAIN ANTIBODY-TOXIN SPECIFIC FOR ERB-2 AND THE EGF RECEPTOR" INTERNATIONAL JOURNAL OF CANCER, NEW YORK, NY, US, vol. 65, no. 4, 8 February 1996 (1996-02-08), pages 538-546, XP000646380 ISSN: 0020-7136 page 538 page 549	11-108
P,X	WO 2006/099875 A (GENMAB AS [DK]; WEERS MICHEL DE [NL]; GRAUS YVO [NL]; OPRINS JUDITH [N]) 28 September 2006 (2006-09-28) paragraph [0098]	1-7, 44-53
A	WO 2004/032961 A (MERCK PATENT GMBH [DE]; KREYSCH HANS-GEORG [DE]) 22 April 2004 (2004-04-22) page 12, line 16 - line 17	1-108
P,X	IAN TOMLINSON: "Domantis Dual Targeting Domain antibodies shown to kill multiple myeloma cells and spare healthy cells" IBD ANTIBODY ENGINEERING 2005, [Online] 7 December 2005 (2005-12-07), XP002425290 Retrieved from the Internet: URL: http://www.domantis.com/IBC%20Tomlinson%2007_12_05%20for.pdf [retrieved on 2007-03-19] IBC's 16th International Conference on Antibody Engineering, San Diego, 5-8 December 2005	1-108
L	-& DOMANTIS: "DOMANTIS? DUAL TARGETING DOMAIN ANTIBODIES SHOWN TO KILL MULTIPLE MYELOMA CELLS AND SPARE HEALTHY CELLS" PRESS RELEASE, [Online] 7 December 2005 (2005-12-07), XP002428485 Retrieved from the Internet: URL: http://www.domantis.com/ [retrieved on 2007-03-19] To prove publication date of XP002425290 the whole document	
A	WO 2005/044858 A (ABLYNX N V [BE]; LAEREMANS TOON [BE]) 19 May 2005 (2005-05-19) the whole document	1-108
A	WO 2004/058820 A (DOMANTIS LTD [GB]; WINTER GREG [GB]; TOMLINSON IAN [GB]; IGNATOVICH OL) 15 July 2004 (2004-07-15) sequence 10	25

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/GB2006/004565

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2006099875	A	28-09-2006	NONE	
WO 2004032961	A	22-04-2004	AU 2003273964 A1	04-05-2004
			AU 2003276084 A1	04-05-2004
			BR 0315117 A	16-08-2005
			BR 0315123 A	16-08-2005
			CA 2501818 A1	22-04-2004
			CA 2501821 A1	22-04-2004
			WO 2004032960 A1	22-04-2004
			JP 2006505545 T	16-02-2006
			JP 2006505546 T	16-02-2006
			KR 20050057631 A	16-06-2005
			KR 20050062612 A	23-06-2005
			MX PA05003795 A	08-06-2005
			MX PA05003796 A	22-02-2006
			US 2006002920 A1	05-01-2006
			US 2006165685 A1	27-07-2006
WO 2005044858	A	19-05-2005	AU 2003283136 A1	26-05-2005
			US 2006228355 A1	12-10-2006
WO 2004058820	A	15-07-2004	AU 2003295139 A1	22-07-2004
			CA 2511959 A1	15-07-2004
			EP 1581559 A2	05-10-2005
			JP 2006524986 T	09-11-2006
			US 2006083747 A1	20-04-2006

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 K	45/00	(2006.01)	A 6 1 K	45/00	4 C 0 8 5	
A 6 1 K	47/48	(2006.01)	A 6 1 K	47/48	4 H 0 4 5	
A 6 1 P	29/00	(2006.01)	A 6 1 P	29/00		
A 6 1 P	37/08	(2006.01)	A 6 1 P	37/08		
A 6 1 P	31/04	(2006.01)	A 6 1 P	31/04		
A 6 1 P	31/12	(2006.01)	A 6 1 P	31/12		
A 6 1 P	37/04	(2006.01)	A 6 1 P	37/04		
A 6 1 P	3/10	(2006.01)	A 6 1 P	3/10		
A 6 1 P	11/06	(2006.01)	A 6 1 P	11/06		
A 6 1 P	25/00	(2006.01)	A 6 1 P	25/00		
A 6 1 P	19/02	(2006.01)	A 6 1 P	19/02		
A 6 1 P	17/06	(2006.01)	A 6 1 P	29/00	1 0 1	
A 6 1 P	37/02	(2006.01)	A 6 1 P	17/06		
A 6 1 P	1/04	(2006.01)	A 6 1 P	37/02		
A 6 1 P	21/04	(2006.01)	A 6 1 P	1/04		
A 6 1 P	17/00	(2006.01)	A 6 1 P	21/04		
A 6 1 P	15/00	(2006.01)	A 6 1 P	17/00		
A 6 1 P	35/02	(2006.01)	A 6 1 P	15/00		
C 0 7 K	16/28	(2006.01)	A 6 1 P	35/02		
C 0 7 K	16/22	(2006.01)	C 0 7 K	16/28		
C 0 7 K	16/32	(2006.01)	C 0 7 K	16/22		
C 0 7 K	14/765	(2006.01)	C 0 7 K	16/32		
C 0 7 K	14/705	(2006.01)	C 0 7 K	14/765		
C 0 7 K	16/18	(2006.01)	C 0 7 K	14/705		
C 1 2 N	1/15	(2006.01)	C 0 7 K	16/18		
C 1 2 N	1/19	(2006.01)	C 1 2 N	1/15		
C 1 2 N	1/21	(2006.01)	C 1 2 N	1/19		
C 1 2 N	5/10	(2006.01)	C 1 2 N	1/21		
C 1 2 P	21/02	(2006.01)	C 1 2 N	5/00	A	
			C 1 2 P	21/02	C	

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,NL,PL,PT,RO,SE,SI,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PG,PH,PL,PT,RO,RS,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,SV,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 デ アンジェリス, エレナ
イギリス国 シービー４ ０ダブリュジー ケンブリッジ, ケンブリッジ サイエンス パーク
3 1 5

(72)発明者 ホームズ, スティーブ
イギリス国 シービー４ ０ダブリュジー ケンブリッジ, ケンブリッジ サイエンス パーク
3 1 5

(72)発明者 トムリンソン, イアン, エム.
イギリス国 シービー４ ０ダブリュジー ケンブリッジ, ケンブリッジ サイエンス パーク
3 1 5

- (72)発明者 ホワン, エリック, イーチュン
イギリス国 シービー4 0 ダブリュジー ケンブリッジ, ケンブリッジ サイエンス パーク
3 1 5
- (72)発明者 ホールト, ルーシー, ジェイ.
イギリス国 シービー4 0 ダブリュジー ケンブリッジ, ケンブリッジ サイエンス パーク
3 1 5
- (72)発明者 エヴェレット, クレア, イー.
イギリス国 シービー4 0 ダブリュジー ケンブリッジ, ケンブリッジ サイエンス パーク
3 1 5

Fターム(参考) 4B024 AA01 AA11 BA38 BA40 BA44 BA63 CA04 CA05 CA06 CA07
CA09 CA10 DA06 EA04 FA02 FA07 FA10 GA11 GA19 HA03
HA08 HA14
4B064 AG01 AG20 AG24 AG26 AG30 AG31 CA02 CA19 CC24 CE11
CE12 DA01 DA05 DA13
4B065 AA26X AA93Y AB01 AC14 BA02 BA25 CA24 CA25 CA44 CA46
4C076 AA12 AA94 AA95 BB11 CC01 CC03 CC04 CC07 CC09 CC15
CC16 CC17 CC18 CC21 CC27 CC31 CC35 EE23M EE41M EE59M
FF11 FF31 FF68 FF70 GG41
4C084 AA19 AA23 MA02 MA17 MA66 NA10 NA12 NA14 ZA02 ZA59
ZA66 ZA68 ZA81 ZA89 ZA94 ZA96 ZB05 ZB08 ZB11 ZB13
ZB15 ZB26 ZB33 ZB35 ZC35
4C085 AA33 CC03 DD62 EE01 EE03 GG01
4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 BA70 BA72 CA40 CA41
CA42 DA50 DA70 DA75 DA83 DA86 EA20 EA28 EA50 FA72
FA74 GA23 GA26