

(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2012-517818

(P2012-517818A)

(43) 公表日 平成24年8月9日 (2012. 8. 9)

(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 A	4 B O 2 4
C O 7 K 16/28 (2006.01)	C O 7 K 16/28 Z N A	4 B O 6 4
C O 7 K 16/46 (2006.01)	C O 7 K 16/46	4 B O 6 5
C 1 2 N 1/15 (2006.01)	C 1 2 N 1/15	4 C O 8 4
C 1 2 N 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/19	4 H O 4 5
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 179 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2011-550552 (P2011-550552)	(71) 出願人	397009934
(86) (22) 出願日	平成22年2月17日 (2010. 2. 17)		グラクソ グループ リミテッド
(85) 翻訳文提出日	平成23年10月12日 (2011. 10. 12)		GLAXO GROUP LIMITED
(86) 国際出願番号	PCT/EP2010/052005		イギリス ミドルセックス ユービー6
(87) 国際公開番号	W02010/094720		Oエヌエヌ グリーンフォード パークレ
(87) 国際公開日	平成22年8月26日 (2010. 8. 26)		ー アベニュー グラクソ ウェルカム
(31) 優先権主張番号	61/153, 746		ハウス (番地なし)
(32) 優先日	平成21年2月19日 (2009. 2. 19)		Glaxo Wellcome Hous
(33) 優先権主張国	米国 (US)		e, Berkeley Avenue G
(31) 優先権主張番号	61/241, 198		reenford, Middlesex
(32) 優先日	平成21年9月10日 (2009. 9. 10)		UB6 ONN, Great Brita
(33) 優先権主張国	米国 (US)		in
		(74) 代理人	100091096
			弁理士 平木 祐輔
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 改善された抗TNFR1ポリペプチド、抗体可変ドメインおよびアンタゴニスト

(57) 【要約】

本発明は、抗TNFR1ポリペプチド、抗体単一可変ドメイン (dAb)、アンタゴニストおよび多重特異性リガンド、ならびにこれらの方法および使用に関する。抗TNFR1ポリペプチド、抗体単一可変ドメイン (dAb)、アンタゴニストおよび多重特異性リガンドは、炎症性疾患 (関節炎またはCOPD等) の治療および／もしくは予防ならびに肺 (pulmonary) 投与、経口投与、患者の肺 (lung) 送達および消化管送達のために有用である。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

抗TNF α 受容体1型(TNFR1; p55)免疫グロブリン単一可変ドメインであって、DOM1h-574-156(配列番号1)、DOM1h-574-72(配列番号2)、DOM1h-574-109(配列番号3)、DOM1h-574-138(配列番号4)、DOM1h-574-162(配列番号5)またはDOM1h-574-180(配列番号6)のアミノ酸配列と少なくとも95%等しいアミノ酸配列を含む、単一可変ドメイン。

【請求項 2】

抗TNF α 受容体1型(TNFR1; p55)免疫グロブリン単一可変ドメインであって、前記単一可変ドメインは、以下の変異(Kabatによるナンバリング); 10

30位が、LもしくはFであり、

52位が、AもしくはTであり、

52a位が、DもしくはEであり、

54位が、AもしくはRであり、

57位が、R、KもしくはAであり、

60位が、D、S、TもしくはKであり、

61位が、E、HもしくはGであり、

62位が、AもしくはTであり、

100位は、R、G、N、K、Q、V、A、D、SもしくはVである、ならびに 20

101位は、A、Q、N、E、V、HもしくはKである

を1つまたは複数含む、DOM1h-574-14(配列番号10)の変異体である、単一可変ドメイン。

【請求項 3】

101位(Kabatによるナンバリング)にバリンを含む、抗TNF α 受容体1型(TNFR1; p55)免疫グロブリン重鎖単一可変ドメイン。

【請求項 4】

可変ドメインが請求項1に定義されている、請求項3に記載の単一可変ドメイン。

【請求項 5】

30G、44D、45P、55D、56R、94Iおよび98R(ナンバリングはKab 30
batによる)のうち1つまたは複数を含む、請求項1~4のいずれか1項に記載の単一可変ドメイン。

【請求項 6】

30G、44D、45P、55D、56R、94Iおよび98R(ナンバリングはKab 30
batによる)のうち1つまたは複数を含む抗TNF α 受容体1型(TNFR1; p55)免疫グロブリン単一可変ドメインであり、前記単一可変ドメインのアミノ酸配列はその他の点ではDOM1h-574(配列番号11; 図5)のアミノ酸配列と等しい、単一可変ドメイン。

【請求項 7】

45P、55D、56R、94Iおよび98R(ナンバリングはKab 40
batによる)を含む、請求項5または6に記載の免疫グロブリン単一可変ドメイン。

【請求項 8】

DOM1h-574-156(配列番号1)、DOM1h-574-72(配列番号2)、DOM1h-574-109(配列番号3)、DOM1h-574-132(配列番号7)、DOM1h-574-135(配列番号8)、DOM1h-574-138(配列番号4)、DOM1h-574-162(配列番号9)またはDOM1h-574-180(配列番号6)のアミノ酸配列と少なくとも95%等しいアミノ酸配列を含む、抗TNF α 受容体1型(TNFR1; p55)免疫グロブリン単一可変ドメイン。

【請求項 9】

DOM1h-574-109(配列番号3)、DOM1h-574-93(配列番号1 50

2)、DOM1h-574-123 (配列番号13)、DOM1h-574-125 (配列番号14)、DOM1h-574-126 (配列番号15) またはDOM1h-574-129 (配列番号16)、DOM1h-574-133 (配列番号17)、DOM1h-574-137 (配列番号18) またはDOM1h-574-160 (配列番号19) のアミノ酸配列と少なくとも94%等しいアミノ酸配列を含む、抗TNF α 受容体1型 (TNFR1; p55) 免疫グロブリン単一可変ドメイン。

【請求項10】

DOM1h-574-156 (配列番号1)、DOM1h-574-72 (配列番号2)、DOM1h-574-109 (配列番号3)、DOM1h-574-125 (配列番号14)、DOM1h-574-126 (配列番号15)、DOM1h-574-133 (配列番号17)、DOM1h-574-135 (配列番号8)、DOM1h-574-138 (配列番号4)、DOM1h-574-139 (配列番号20)、DOM1h-574-155 (配列番号21)、DOM1h-574-162 (配列番号5) またはDOM1h-574-180 (配列番号6) のアミノ酸配列と少なくとも95%等しいアミノ酸配列を含む、抗TNF α 受容体1型 (TNFR1; p55) 免疫グロブリン単一可変ドメイン。

【請求項11】

単一可変ドメインが、DOM1h-574-156 (配列番号22)、DOM1h-574-72 (配列番号23)、DOM1h-574-109 (配列番号109)、DOM1h-574-138 (配列番号25)、DOM1h-574-162 (配列番号26) またはDOM1h-574-180 (配列番号27) のヌクレオチド配列と少なくとも80%等しいヌクレオチド配列によりコードされる、ヒト、マウスまたはカニクイザルTNFR1に対して結合する抗TNF α 受容体1型 (TNFR1; p55) 免疫グロブリン単一可変ドメイン。

【請求項12】

単一可変ドメインが、表面プラズモン共鳴で測定した解離定数 (KD) 500 pM以下でヒトTNFR1に特異的に結合する結合部位を含む、請求項1～11のいずれか1項に記載の単一可変ドメイン。

【請求項13】

単一可変ドメインが、表面プラズモン共鳴で測定した解離速度定数 (Koff) $2 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 以下でヒトTNFR1に特異的に結合する結合部位を含む、請求項1～12のいずれか1項に記載の単一可変ドメイン。

【請求項14】

単一可変ドメインが、ヒト、カニクイザルおよび任意にイヌTNFR1に特異的に結合する、請求項1～13のいずれか1項に記載の単一可変ドメイン。

【請求項15】

単一可変ドメインが、マウスTNFR1と結合する、請求項14に記載の単一可変ドメイン。

【請求項16】

単一可変ドメインが、ヒト、カニクイザルおよび任意にイヌTNFR1のDOM1h-574-156 (配列番号1)、DOM1h-574-72 (配列番号2)、DOM1h-574-109 (配列番号3)、DOM1h-574-138 (配列番号4)、DOM1h-574-162 (配列番号5) またはDOM1h-574-180 (配列番号6) への結合を阻害する、請求項1～15のいずれか1項に記載の単一可変ドメイン。

【請求項17】

単一可変ドメインが、ヒト、マウス、カニクイザルおよび任意にイヌTNFR1のDOM1h-574-156 (配列番号1)、DOM1h-574-72 (配列番号2)、DOM1h-574-109 (配列番号3)、DOM1h-574-138 (配列番号4)、DOM1h-574-162 (配列番号5) またはDOM1h-574-180 (配列番号6) への結合を阻害する、請求項1～16のいずれか1項に記載の単一可変ドメイン

10

20

30

40

50

。

【請求項 18】

単一可変ドメインが、標準的 M R C 5 アッセイ法において T N F α 誘発性 I L - 8 分泌の阻害により測定した N D 5 0 約 5 n M 以下で T N F R 1 を中和する、請求項 1 ～ 1 7 のいずれか 1 項に記載の単一可変ドメイン。

【請求項 19】

単一可変ドメインが、標準的 L 9 2 9 アッセイ法において T N F α 誘発性細胞毒の阻害により測定した N D 5 0 約 1 5 0 n M 以下で T N F R 1 を中和する、請求項 1 ～ 1 8 のいずれか 1 項に記載の単一可変ドメイン。

【請求項 20】

単一可変ドメインが、標準的 カニクイザル K I アッセイ法において T N F α 誘発性 I L - 8 分泌の阻害により測定した N D 5 0 約 5 n M 以下で T N F R 1 を中和する、請求項 1 ～ 1 9 のいずれか 1 項に記載の単一可変ドメイン。

【請求項 21】

単一可変ドメインが、T N F R 1 の非競合阻害剤である、請求項 1 ～ 2 0 のいずれか 1 項に記載の単一可変ドメイン。

【請求項 22】

単一可変ドメインが、ヒト T N F R 1 のドメイン 1 に特異的に結合する、請求項 2 1 に記載の単一可変ドメイン。

【請求項 23】

単一可変ドメインが、ヒト T N F R 1 の P L A D ドメインに対して特異的である、請求項 2 1 または 2 2 に記載の単一可変ドメイン。

【請求項 24】

単一可変ドメインが、末端、任意に C 末端にシステイン残基を含む、請求項 1 ～ 2 3 のいずれか 1 項に記載の免疫グロブリン単一可変ドメイン。

【請求項 25】

単一可変ドメインが、ポリアルキレングリコール部分、任意にポリエチレングリコール部分に結合している、請求項 1 ～ 2 4 のいずれか 1 項に記載の免疫グロブリン単一可変ドメイン。

【請求項 26】

D O M 1 h - 5 7 4 - 1 5 6 (配列番号 1)、D O M 1 h - 5 7 4 - 7 2 (配列番号 2)、D O M 1 h - 5 7 4 - 1 0 9 (配列番号 3)、D O M 1 h - 5 7 4 - 1 3 8 (配列番号 4)、D O M 1 h - 5 7 4 - 1 6 2 (配列番号 5) または D O M 1 h - 5 7 4 - 1 8 0 (配列番号 6) のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸配列と等しいアミノ酸配列を含むか、または選択されたアミノ酸配列と 2 5 以下のアミノ酸位置が異なり、前記の選択されたアミノ酸配列の C D R 1 配列と少なくとも 5 0 % 等しい C D R 1 配列を有するアミノ酸配列を含む、抗 T N F α 受容体 1 型 (T N F R 1 ; p 5 5) 免疫グロブリン単一可変ドメイン。

【請求項 27】

D O M 1 h - 5 7 4 - 1 5 6 (配列番号 1)、D O M 1 h - 5 7 4 - 7 2 (配列番号 2)、D O M 1 h - 5 7 4 - 1 0 9 (配列番号 3)、D O M 1 h - 5 7 4 - 1 3 8 (配列番号 4)、D O M 1 h - 5 7 4 - 1 6 2 (配列番号 5) または D O M 1 h - 5 7 4 - 1 8 0 (配列番号 6) のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸配列と等しいアミノ酸配列を含むか、または選択されたアミノ酸配列と 2 5 以下のアミノ酸位置が異なり、前記の選択されたアミノ酸配列の C D R 2 配列と少なくとも 5 0 % 等しい C D R 2 配列を有するアミノ酸配列を含む、抗 T N F α 受容体 1 型 (T N F R 1 ; p 5 5) 免疫グロブリン単一可変ドメイン。

【請求項 28】

D O M 1 h - 5 7 4 - 1 5 6 (配列番号 1)、D O M 1 h - 5 7 4 - 7 2 (配列番号 2)、D O M 1 h - 5 7 4 - 1 0 9 (配列番号 3)、D O M 1 h - 5 7 4 - 1 3 8 (配列番号

10

20

30

40

50

号4)、DOM1h-574-162(配列番号5)またはDOM1h-574-180(配列番号6)のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸配列と等しいアミノ酸配列を含むか、または選択されたアミノ酸配列と25以下のアミノ酸位置が異なり、前記の選択されたアミノ酸配列のCDR3配列と少なくとも50%等しいCDR3配列を有するアミノ酸配列を含む、抗TNF α 受容体1型(TNFR1;p55)免疫グロブリン単一可変ドメイン。

【請求項29】

前記選択されたアミノ酸配列のCDR2配列と少なくとも50%等しいCDR2配列を含む、請求項26に記載の抗TNF α 受容体1型(TNFR1;p55)免疫グロブリン単一可変ドメイン。

10

【請求項30】

前記選択されたアミノ酸配列のCDR3配列と少なくとも50%等しいCDR3配列を含む、請求項26に記載の抗TNF α 受容体1型(TNFR1;p55)免疫グロブリン単一可変ドメイン。

【請求項31】

前記選択されたアミノ酸配列のCDR3配列と少なくとも50%等しいCDR3配列を含む、請求項27に記載の抗TNF α 受容体1型(TNFR1;p55)免疫グロブリン単一可変ドメイン。

【請求項32】

DOM1h-574-72(配列番号2)のCDR1配列と少なくとも50%等しいCDR1配列を含む、請求項31に記載の抗TNF α 受容体1型(TNFR1;p55)免疫グロブリン単一可変ドメイン。

20

【請求項33】

プロテアーゼ耐性抗TNF α 受容体1型(TNFR1;p55)免疫グロブリン単一可変ドメインであって、

(i)少なくとも10 μ g/mlプロテアーゼの濃度(c)、37℃で、少なくとも1時間の時間(t)、または

(ii)少なくとも40 μ g/mlプロテアーゼの濃度(c')、30℃で、少なくとも1時間の時間(t)

でインキュベート時にプロテアーゼ耐性であり、

30

DOM1h-574-126(配列番号15)またはDOM1h-574-133(配列番号17)のアミノ酸配列と少なくとも94%等しいアミノ酸配列を含み、任意選択として、101位(Kabatナンバリング)にバリンを含む、単一可変ドメイン。

【請求項34】

単一可変ドメインが、少なくとも50℃のT_mを有する、請求項1～33のいずれか1項に記載の単一可変ドメイン。

【請求項35】

請求項1～34のいずれか1項に記載の免疫グロブリン単一可変ドメインおよび抗体定常ドメイン、任意に抗体Fc領域、ここで任意にFcのN末端が可変ドメインのC末端に結合(任意に直接結合)している、を含むポリペプチド。

40

【請求項36】

請求項1～35のいずれか1項に記載の免疫グロブリン単一可変ドメインと、任意に血清アルブミン(SA)に特異的に結合する少なくとも1つの免疫グロブリン単一可変ドメインとを含む、多重特異性リガンド。

【請求項37】

抗SA単一可変ドメインが、DOM7h-11(配列番号28)、DOM7h-11-3(配列番号29)、DOM7h-11-12(配列番号30)、DOM7h-11-15(配列番号31)、DOM7h-14(配列番号32)、DOM7h-14-10(配列番号33)、DOM7h-14-18(配列番号34)またはDOM7m-16(配列番号35)の配列と少なくとも80%等しいアミノ酸配列を含む、請求項36に記載の多

50

重特異性リガンド。

【請求項 38】

リンカーが抗 TNFR1 単一可変ドメインと抗 SA 単一可変ドメイン間に提供され、アミノ酸配列 AST、任意に ASTSGPS を含む、請求項 36 または 37 に記載の多重特異性リガンド。

【請求項 39】

(i) DOM1h-574-156 (配列番号 1) のアミノ酸配列と少なくとも 93 % 等しいアミノ酸配列を含む抗 TNF α 受容体 1 型 (TNFR1 ; p55) 免疫グロブリン単一可変ドメインと、(ii) 血清アルブミン (SA) に特異的に結合する少なくとも 1 つの抗 SA 免疫グロブリン単一可変ドメインであって、DOM7h-11-3 (配列番号 29) の配列と少なくとも 80 % 等しいアミノ酸配列を含む抗 SA 単一可変ドメインと、(iii) 任意に、抗 TNFR1 単一可変ドメインと抗 SA 単一可変ドメイン間に提供されたリンカーであって、アミノ酸配列 AST、任意に ASTSGPS を含むリンカーを含む、多重特異性リガンド。

10

【請求項 40】

(i) DOM1h-574-156 (配列番号 1) のアミノ酸配列と少なくとも 93 % 等しいアミノ酸配列を含む抗 TNF α 受容体 1 型 (TNFR1 ; p55) 免疫グロブリン単一可変ドメインと、(ii) 血清アルブミン (SA) に特異的に結合する少なくとも 1 つの抗 SA 免疫グロブリン単一可変ドメインであって、DOM7h-14-10 (配列番号 33) の配列と少なくとも 80 % 等しいアミノ酸配列を含む抗 SA 単一可変ドメインと、(iii) 任意に、抗 TNFR1 単一可変ドメインと抗 SA 単一可変ドメイン間に提供されたリンカーであって、アミノ酸配列 AST、任意に ASTSGPS を含むリンカーを含む、多重特異性リガンド。

20

【請求項 41】

請求項 1 ~ 40 のいずれか 1 項に記載の単一可変ドメイン、ポリペプチドまたは多重特異性リガンドを含む、TNFR1 アンタゴニスト。

【請求項 42】

経口送達、患者の消化管送達、肺 (pulmonary) 送達、患者の肺 (lung) への送達または全身送達のための請求項 33 に記載の可変ドメインを含む、TNF α 受容体 1 型 (TNFR1 ; p55) アンタゴニスト。

30

【請求項 43】

アンタゴニストが、DOM1h-574-72 (配列番号 2)、DOM1h-574-109 (配列番号 3)、DOM1h-574-138 (配列番号 4)、DOM1h-574-156 (配列番号 1)、DOM1h-574-162 (配列番号 5) または DOM1h-574-180 (配列番号 6) の CDR1 配列と少なくとも 50 % 等しい CDR1 配列を有する、ヒト、マウスまたはカンクイザル TNFR1 と結合する TNF α 受容体 1 型 (TNFR1 ; p55) アンタゴニスト。

【請求項 44】

アンタゴニストが、DOM1h-574-72 (配列番号 2)、DOM1h-574-109 (配列番号 3)、DOM1h-574-138 (配列番号 4)、DOM1h-574-156 (配列番号 1)、DOM1h-574-162 (配列番号 5) または DOM1h-574-180 (配列番号 6) の CDR2 配列と少なくとも 50 % 等しい CDR2 配列を有する、ヒト、マウスまたはカンクイザル TNFR1 に結合する TNF α 受容体 1 型 (TNFR1 ; p55) アンタゴニスト。

40

【請求項 45】

アンタゴニストが、DOM1h-574-72 (配列番号 2)、DOM1h-574-109 (配列番号 3)、DOM1h-574-138 (配列番号 4)、DOM1h-574-156 (配列番号 1)、DOM1h-574-162 (配列番号 5) または DOM1h-574-180 (配列番号 6) の CDR3 配列と少なくとも 50 % 等しい CDR3 配列を有する、ヒト、マウスまたはカンクイザル TNFR1 に結合する、TNF α 受容体 1

50

型 (TNFR1 ; p 55) アンタゴニスト。

【請求項 46】

前記選択された配列の CDR2 配列と少なくとも 50% 等しい CDR2 配列を有する、請求項 43 に記載の TNF α 受容体 1 型 (TNFR1 ; p 55) アンタゴニスト。

【請求項 47】

前記選択された配列の CDR3 配列と少なくとも 50% 等しい CDR3 配列を有する、請求項 43 に記載の TNF α 受容体 1 型 (TNFR1 ; p 55) アンタゴニスト。

【請求項 48】

前記選択された配列の CDR3 配列と少なくとも 50% 等しい CDR3 配列を有する、請求項 46 に記載の TNF α 受容体 1 型 (TNFR1 ; p 55) アンタゴニスト。

10

【請求項 49】

前記選択された配列の CDR3 配列と少なくとも 50% 等しい CDR3 配列を有する、請求項 44 に記載の TNF α 受容体 1 型 (TNFR1 ; p 55) アンタゴニスト。

【請求項 50】

アンタゴニストが、DOM1h-574-72 (配列番号 2)、DOM1h-574-109 (配列番号 3)、DOM1h-574-138 (配列番号 4)、DOM1h-574-156 (配列番号 1)、DOM1h-574-162 (配列番号 5) および DOM1h-574-180 (配列番号 6) から選択される単一可変ドメインの CDR1、CDR2、および／または CDR3 配列を含む免疫グロブリン単一可変ドメインを含む、ヒト、マウスまたはカンクイザル TNFR1 に結合する TNF α 受容体 1 型 (TNFR1 ; p 55) アンタゴニスト。

20

【請求項 51】

炎症状態の治療および／または予防のための、請求項 41～50 のいずれか 1 項に記載の TNFR1 アンタゴニスト。

【請求項 52】

炎症状態の治療および／または予防のための医薬品の製造における、請求項 41～50 のいずれか 1 項に記載の TNFR1 アンタゴニストの使用。

【請求項 53】

前記状態が関節炎、多発性硬化症、炎症腸疾患および慢性閉塞性肺疾患からなる群から選択される、請求項 51 に記載のアンタゴニストまたは請求項 52 に記載の使用。

30

【請求項 54】

前記の関節炎が関節リウマチまたは若年性関節リウマチである、請求項 53 に記載のアンタゴニストまたは使用。

【請求項 55】

前記の炎症腸疾患がクローン病および潰瘍性大腸炎からなる群から選択される、請求項 53 に記載のアンタゴニストまたは使用。

【請求項 56】

前記の慢性閉塞性肺疾患が、慢性気管支炎、慢性閉塞気管支炎および気腫からなる群から選択される、請求項 53 に記載のアンタゴニストまたは使用。

40

【請求項 57】

前記の肺炎が細菌性肺炎である、請求項 53 に記載のアンタゴニストまたは使用。

【請求項 58】

前記の細菌性肺炎がブドウ球菌性肺炎である、請求項 57 に記載のアンタゴニストまたは使用。

【請求項 59】

呼吸疾患の治療および／または予防のための、請求項 41～50 のいずれか 1 項に記載の TNFR1 アンタゴニスト。

【請求項 60】

呼吸疾患の治療および／または予防のための医薬品の製造における、請求項 41～50 のいずれか 1 項に記載の TNFR1 アンタゴニストの使用。

50

【請求項 6 1】

前記呼吸疾患が、肺炎症、慢性閉塞性肺疾患、喘息、肺炎、過敏性肺炎、好酸球増加を伴う肺湿潤物、環境性肺疾患、肺炎、気管支拡張症、嚢胞性線維症、間質性肺疾患、原発性肺高血圧症、肺血栓塞栓症、胸膜障害、縦隔障害、隔膜障害、換気低下、過呼吸、睡眠時無呼吸、急性呼吸促迫症候群、中皮腫、肉腫、移植片拒絶、移植片対宿主病、肺癌、アレルギー性鼻炎、アレルギー、石綿症、アスペルギルス腫、アスペルギルス症、気管支拡張症、慢性気管支炎、肺気腫、好球性肺炎、特発性肺線維症、浸潤性肺炎球菌疾患、インフルエンザ、非結核性抗酸菌、胸水、塵肺症、ニューモシスチス症、肺炎、肺放線菌症、肺胞タンパク症、肺炭疽、肺水腫、肺塞栓症、肺炎症、肺ヒスチオサイトーシスX、肺高血圧、肺ノカルジア症、肺結核症、肺静脈の閉塞性疾患、リウマチ性肺疾患、サルコイドーシス、ウェゲナー肉芽腫症からなる群から選択された、請求項 5 9 に記載のアンタゴニスト、または請求項 6 0 に記載の使用。

10

【請求項 6 2】

NSICCTKCHKGTYLY、NSICCTKCHKGTYL、CRKNQYRHYWSENLF および NQYRHYWSENLFQCF からなる群から選択される TNFR1 のエピトープ配列の 1 つまたは複数を標的とする、請求項 1 ～ 5 0 のいずれか 1 項に記載の抗 TNFR1 アンタゴニスト、単一可変ドメイン、ポリペプチドまたは多重特異性リガンド。

【請求項 6 3】

請求項 5 1 ～ 6 2 のいずれか 1 項に指定の状態または疾患を治療および／または予防するための、NSICCTKCHKGTYLY、NSICCTKCHKGTYL、CRKNQYRHYWSENLF および NQYRHYWSENLFQCF からなる群から選択される TNFR1 のエピトープ配列の 1 つまたは複数を標的とする、請求項 6 2 に記載の抗 TNFR1 アンタゴニスト、単一可変ドメイン、ポリペプチドまたは多重特異性リガンド。

20

【請求項 6 4】

患者の NSICCTKCHKGTYLY、NSICCTKCHKGTYL、CRKNQYRHYWSENLF および NQYRHYWSENLFQCF からなる群から選択される TNFR1 のエピトープ配列の 1 つまたは複数を標的とする、請求項 1 ～ 5 0 のいずれか 1 項に記載の抗 TNFR1 アンタゴニスト、単一可変ドメイン、ポリペプチドまたは多重特異性リガンドを患者に投与することを含む、請求項 5 1 ～ 6 2 のいずれか 1 項に指定の患者の状態または疾患を治療および／または予防する方法。

30

【請求項 6 5】

核酸が、DOM1h-574-156（配列番号 1）、DOM1h-574-72（配列番号 2）、DOM1h-574-109（配列番号 3）、DOM1h-574-138（配列番号 4）、DOM1h-574-162（配列番号 5）または DOM1h-574-180（配列番号 6）のヌクレオチド配列と少なくとも 80% 等しいヌクレオチド配列を含み、核酸が TNFR1 に特異的に結合する、免疫グロブリン単一可変ドメインを含むポリペプチドをコードする単離、または組換え型核酸。

【請求項 6 6】

抗 TNF α 受容体 1 型（TNFR1；p55）免疫グロブリン単一可変ドメインおよび血清アルブミン（SA）に特異的に結合する少なくとも 1 つの免疫グロブリン単一可変ドメインを含む多重特異性リガンドであり、

40

（a）抗 TNFR1 単一可変ドメインは、DOM1h-574-156（配列番号 1）、DOM1m-15-12（配列番号 36）または DOM1m-21-23（配列番号 37）のアミノ酸配列と少なくとも 80% 等しいアミノ酸を含み、

（b）抗 SA 単一可変ドメインは、DOM7h-11-12（配列番号 30）または DOM7h-11-12dh（配列番号 38）のアミノ酸配列と少なくとも 80% 等しいアミノ酸を含み、

（c）リガンドは、前記可変ドメイン間にリンカーを含み、前記リンカーはアミノ酸配列 AS または AST を含む、

50

多重特異性リガンド。

【請求項 67】

DMS 5537（配列番号 39）、DMS 5538（配列番号 40）、DMS 5539（配列番号 41）または DMS 5540（配列番号 42）を含むまたはそれらからなる、多重特異性リガンド。

【請求項 68】

請求項 66 または 67 に記載の多重特異性リガンドをコードする核酸。

【請求項 69】

DMS 5537（配列番号 43）、DMS 5538（配列番号 44）、DMS 5539（配列番号 38）または DMS 5540（配列番号 9）のヌクレオチド配列と少なくとも 80% 等しいヌクレオチド配列を含む、核酸。

10

【請求項 70】

請求項 68 または 69 に記載の核酸を含む、ベクター。

【請求項 71】

請求項 70 に記載のベクターを含む、宿主細胞、任意に非ヒト胚細胞。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、抗腫瘍壊死因子 1（TNFR1、p55、CD120a、P60、TNF 受容体スーパーファミリーのメンバー 1A、TNFRSF1A、TNF α 受容体 1 型）ポリペプチド、免疫グロブリン（抗体）単一可変ドメインおよびこれらを含むアンタゴニストに関する。本発明はさらに、このような抗 TNFR1 リガンドを含むかまたは使用する、方法、用途、製剤、組成物および機器に関する。

20

【背景技術】

【0002】

TNFR1

TNFR1 は、リガンドに結合する細胞外領域と、内在性のシグナル伝達活性を欠くがシグナル伝達分子と結合可能な細胞内ドメインを含む膜貫通型受容体である。TNFR1 と結合 TNF との複合体は 3 つの TNFR1 鎖および 3 つの TNF 鎖を含む（Banner et al., Cell, 73 (3) 431-445 (1993)）。TNF リガンドは、3 つの TNFR1 鎖により結合している三量体として存在する（同書）。3 つの TNFR1 鎖は受容体リガンド複合体中で互いに凝集しており、この凝集は、TNFR1 媒介性シグナル伝達にとって必須である。実際、TNFR1 に結合する多価剤（抗 TNFR1 抗体等）は、TNF の不在下で TNFR1 凝集およびシグナル伝達を誘発し得、一般に TNFR1 アゴニストとして使用されている（例えば、Belka et al., EMBO, 14 (6) : 1156-1165 (1995) ; Mandik-Nayak et al., J. Immunol, 167 : 1920-1928 (2001) を参照のこと）。したがって、TNFR1 に結合する多価剤は、TNF α の TNFR1 への結合をブロックするとしても、TNFR1 のアンタゴニストとして一般に有効ではない。

30

40

【0003】

本段落の配列番号は WO 2006 038027 に使用されるナンバリングを表す。TNFR1 の細胞外領域は、13 個のアミノ酸のアミノ末端セグメント（配列番号 603 のアミノ酸 1~13（ヒト）；配列番号 604 のアミノ酸 1~13（マウス））、ドメイン 1（配列番号 603 のアミノ酸 14~53（ヒト）；配列番号 604 のアミノ酸 14~53（マウス））、ドメイン 2（配列番号 603 のアミノ酸 54~97（ヒト）；配列番号 604 のアミノ酸 54~97（マウス））、ドメイン 3（配列番号 603 のアミノ酸 98~138（ヒト）；配列番号 604 のアミノ酸 98~138（マウス））、およびドメイン 4（配列番号 603 のアミノ酸 139~167（ヒト）；配列番号 604 のアミノ酸 139~167（マウス））であり、これらの後に膜近位領域（配列番号 603 のアミノ酸 1

50

68～182（ヒト）；配列番号604のアミノ酸168～183（マウス））が続く（Banner et al., Cell 73（3）431～445（1993）およびLoetscher et al., Cell 61（2）351～359（1990）を参照のこと）。ドメイン2および3は結合リガンド（TNF β 、TNF α ）と接触する（Banner et al., Cell, 73（3）431～445（1993））。TNFR1の細胞外領域はプレリガンド結合会合ドメインまたはPLADドメイン（配列番号603のアミノ酸1～53（ヒト）；配列番号604のアミノ酸1～53（マウス））として称される領域も含む（米国政府、WO01/58953；Deng et al., Nature Medicine, doi: 10.1038/nm1304（2005））。TNFR1は、ドメイン4または膜近位領域（配列番号603のアミノ酸168～182；配列番号604のアミノ酸168～183）におけるTNFR1のタンパク質分解を含む過程を介してインビボで細胞表面から剥がれ、TNFR1の溶解形態を産生する。溶解性TNFR1は、TNF α への結合力を保持し、その結果、TNF α 活性の内生阻害剤として機能する。

10

【0004】

WO2006038027、WO2008149144およびWO2008149148は、抗TNFR1免疫グロブリン単一可変ドメインおよびこれらを含むアンタゴニストについて開示している。これらの文書は、TNF α に媒介される状態の治療および／または予防のためのこのようなドメインおよびアンタゴニストの使用についても開示している。WO2006038027は、TAR2h-205（WO2006038027における配列番号627）と呼ばれる免疫グロブリン単一可変ドメイン（dAb）について開示しており、これはヒトTNFR1に対して適度の効能を有する。

20

【先行技術文献】

【特許文献】

【0005】

【特許文献1】WO2006038027

【特許文献2】WO01/58953

【特許文献3】WO2008149144

【特許文献4】WO2008149148

【非特許文献】

30

【0006】

【非特許文献1】Banner et al., Cell, 73（3）431～445（1993）

【非特許文献2】Belka et al., EMBO, 14（6）：1156～1165（1995）

【非特許文献3】Mandik-Nayak et al., J. Immunol, 167：1920～1928（2001）

【非特許文献4】Loetscher et al., Cell 61（2）351～359（1990）

【非特許文献5】Deng et al., Nature Medicine, doi: 10.1038/nm1304（2005）

40

【発明の概要】

【0007】

改善された抗ヒトTNFR1免疫グロブリン単一可変ドメイン、アンタゴニスト、リガンドおよびこれらを含む生成物を提供することが望まれる。これらの目的は、試料中のヒトTNFR1を検出するために改善された診断試薬を提供すること、ならびにまたは代替的にヒトもしくは他の哺乳動物のTNFR1媒介性状態および疾患の治療および／もしくは予防のため改善された治療薬を提供することである。（TAR2h-205よりも）TNFR1、特にヒトTNFR1の強力な中和剤であり；ヒトTNFR1と少なくとも1つ
の他種（創薬および試験用モデルとして一般に使用される種、例えば、マウス、ラット、

50

イヌ、ブタまたは非ヒト霊長類等)由来のTNFR1間に交差反応性があり;プロテアーゼ(例えば、患者の体内で接近する可能性があるプロテアーゼ(トリプシン、キモトリプシン、ペプシンまたはロイコザイム等)に対して耐性であり;良好な薬物動態(例えば、好ましい半減期)を有し;ならびに/またはTNFR1、例えば、ヒトTNFR1への高い結合親和性を示す、抗TNFR1免疫グロブリン単一可変ドメイン、アンタゴニスト、リガンドおよびこれらを含む生成物を提供することが特に望ましい。本文中で、TAR2h-205は、DOM1h-574(配列番号11)と呼ぶ(図5も参照されたい)。

【0008】

本発明の様々な態様がこれらの所望の特性を満たす。

【0009】

1つの態様では、本発明は、DOM1h-574-72、DOM1h-574-109、DOM1h-574-138、DOM1h-574-156、DOM1h-574-162またはDOM1h-574-180のアミノ酸配列と少なくとも95%等しいアミノ酸配列を含む抗TNF α 受容体1型(TNFR1;p55)免疫グロブリン単一可変ドメインを提供する。

【0010】

1つの態様では、本発明は、抗TNF α 受容体1型(TNFR1;p55)免疫グロブリン単一可変ドメインを提供し、この単一可変ドメインは、以下の変異(Kabatによるナンバリング)を1つもしくは複数含む、DOM1h-574-14の変異体である:

30位は、LもしくはFである、

52位は、AもしくはTである、

52a位は、DもしくはEである、

54位は、AもしくはRである、

57位は、R、KもしくはAである、

60位は、D、S、TもしくはKである、

61位は、E、HもしくはGである、

62位は、AもしくはTである、

100位は、R、G、N、K、Q、V、A、D、SもしくはVである、ならびに

101位は、A、Q、N、E、V、HもしくはKである。

【0011】

任意選択として、単一可変ドメインは、以下の変異(Kabatによるナンバリング)を1つもしくは複数含む、DOM1h-574-14の変異体である:

30位は、LもしくはFである、

52位は、AもしくはTである、

52a位は、Dである、

54位は、Aである、

57位は、Rである、

60位は、D、SもしくはTである、

61位は、Hである、

62位は、Aである、

100位は、V、A、R、G、NもしくはKである、ならびに

101位は、E、V、K、A、QもしくはNである。

【0012】

1つの態様では、本発明は、101位(Kabatによるナンバリング)にバリンを含む抗TNF α 受容体1型(TNFR1;p55)免疫グロブリン重鎖単一可変ドメインを提供する。

【0013】

1つの態様では、本発明は、30G、44D、45P、55D、56R、94Iおよび98R(ナンバリングはKabatによる)のうち1つまたは複数を含む抗TNF α 受容体1型(TNFR1;p55)免疫グロブリン単一可変ドメインを提供し、この単一可変

10

20

30

40

50

ドメインのアミノ酸配列はその他の点ではDOM1h-574のアミノ酸配列と等しい。一実施形態では、可変ドメインは、ヒト、マウスまたはカニクイザルTNFR1と結合するために提供される。

【0014】

1つの態様では、本発明は、DOM1h-574-72、DOM1h-574-156、DOM1h-574-109、DOM1h-574-132、DOM1h-574-135、DOM1h-574-138、DOM1h-574-162またはDOM1h-574-180のアミノ酸配列と少なくとも95%等しいアミノ酸配列を含む抗TNF α 受容体1型(TNFR1; p55)免疫グロブリン単一可変ドメインを提供する。この態様は、細胞アッセイ法においてTNFR1(例えば、少なくともヒトTNFR1)の強力な中和剤である可変ドメインを提供する。

10

【0015】

1つの態様では、本発明は、DOM1h-574-109、DOM1h-574-93、DOM1h-574-123、DOM1h-574-125、DOM1h-574-126、DOM1h-574-129、DOM1h-574-133、DOM1h-574-137、またはDOM1h-574-160のアミノ酸配列と少なくとも94%等しいアミノ酸配列を含む抗TNF α 受容体1型(TNFR1; p55)免疫グロブリン単一可変ドメインを提供する。この態様は、タンパク質分解に対して安定な可変ドメインを提供する。

【0016】

1つの態様では、本発明は、DOM1h-574-72、DOM1h-574-109、DOM1h-574-125、DOM1h-574-126、DOM1h-574-133、DOM1h-574-135、DOM1h-574-138、DOM1h-574-139、DOM1h-574-155、DOM1h-574-156、DOM1h-574-162、またはDOM1h-574-180のアミノ酸配列と少なくとも95%等しいアミノ酸配列を含む抗TNF α 受容体1型(TNFR1; p55)免疫グロブリン単一可変ドメインを提供する。この態様は、ヒトTNFR1と高い親和性で結合し、任意にマウスTNFR1に対しても所望の親和性を示す可変ドメインを提供する。

20

【0017】

1つの態様では、本発明は、ヒト、マウスまたはカニクイザルTNFR1と結合する抗TNF α 受容体1型(TNFR1; p55)免疫グロブリン単一可変ドメインを提供し、この単一可変ドメインは、下表12に示すDOM1h-574を除くDOM1h配列の任意の1つのヌクレオチド配列と少なくとも80、85、90、95、96、97、98または99%等しいヌクレオチド配列によりコードされる。

30

【0018】

1つの態様では、本発明は、ヒト、マウスまたはカニクイザルTNFR1と結合する抗TNF α 受容体1型(TNFR1; p55)免疫グロブリン単一可変ドメインを提供し、この単一可変ドメインは、DOM1h-574-72、DOM1h-574-109、DOM1h-574-138、DOM1h-574-156、DOM1h-574-162またはDOM1h-574-180のヌクレオチド配列と少なくとも80、85、90、95、96、97、98または99%等しいヌクレオチド配列によりコードされる。

40

【0019】

1つの態様では、本発明は、DOM1h-574-72、DOM1h-574-109、DOM1h-574-138、DOM1h-574-156、DOM1h-574-162およびDOM1h-574-180のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸配列と等しいか、選択されたアミノ酸配列とアミノ酸位置が25以下異なり、選択されたアミノ酸配列のCDR1配列と少なくとも50%等しいCDR1配列を有するアミノ酸配列を含む抗TNF α 受容体1型(TNFR1; p55)免疫グロブリン単一可変ドメインを提供する。一実施形態では、免疫グロブリン単一可変ドメインは、選択されたアミノ酸配列のCDR2配列と少なくとも50%等しいCDR2配列を含む。一実施形態では、免疫グロブ

50

リン単一可変は、選択されたアミノ酸配列のCDR3配列と少なくとも50%等しいCDR3配列を含む。

【0020】

1つの態様では、本発明は、DOM1h-574-72、DOM1h-574-109、DOM1h-574-138、DOM1h-574-156、DOM1h-574-162およびDOM1h-574-180のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸配列と等しいか、選択されたアミノ酸配列とアミノ酸位置が25以下異なり、選択されたアミノ酸配列のCDR2配列と少なくとも50%等しいCDR2配列を有するアミノ酸配列を含む抗TNF α 受容体1型(TNFR1; p55)免疫グロブリン単一可変ドメインを提供する。一実施形態では、免疫グロブリン単一可変ドメインは、選択されたアミノ酸配列のCDR3配列と少なくとも50%等しいCDR3配列を含む。一実施形態では、免疫グロブリン単一可変ドメインは、DOM1h-574-72のCDR1配列と少なくとも50%等しいCDR1配列を含む。

10

【0021】

1つの態様では、本発明は、DOM1h-574-72、DOM1h-574-109、DOM1h-574-138、DOM1h-574-156、DOM1h-574-162およびDOM1h-574-180のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸配列と等しいか、選択されたアミノ酸配列とアミノ酸位置が25以下異なり、選択されたアミノ酸配列のCDR3配列と少なくとも50%等しいCDR3配列を有するアミノ酸配列を含む抗TNF α 受容体1型(TNFR1; p55)免疫グロブリン単一可変ドメインを提供する。

20

【0022】

1つの態様では、本発明は、プロテアーゼ耐性抗TNF α 受容体1型(TNFR1; p55)免疫グロブリン単一可変ドメインを提供し、この単一可変ドメインは、

(i) 少なくとも10 μ g/mlプロテアーゼの濃度(c)、37 $^{\circ}$ Cで、少なくとも1時間の時間(t);または

(ii) 少なくとも40 μ g/mlプロテアーゼの濃度(c'), 30 $^{\circ}$ Cで、少なくとも1時間の時間(t)

でインキュベート時にプロテアーゼ耐性であり、

ここで可変ドメインは、DOM1h-574-126またはDOM1h-574-133のアミノ酸配列と少なくとも94%等しいアミノ酸配列を含み、任意選択として、101位(Kabatナンバリング)にバリンを含む。

30

【0023】

1つの態様では、本発明は、本発明の免疫グロブリン単一可変ドメインおよび抗体定常ドメイン、任意に抗体Fc領域を含むポリペプチドに関し、ここで任意にFcのN末端が可変ドメインのC末端に結合(任意に直接結合)している。

【0024】

1つの態様では、本発明は、本発明の免疫グロブリン単一可変ドメインおよび任意に血清アルブミン(SA)に特異的に結合する少なくとも1つの免疫グロブリン単一可変ドメインを含む多重特異性リガンドに関する。驚くべきことに、本発明者らは、本発明による抗TNFR1単一可変ドメインの抗SA単一可変ドメインへの融合は、(抗TNFR1dAb単量体単独より)改善された半減期という利点を提供するが、TNFR1結合親和性(KD)改善という便益も付加するということを見出した。この所見は、従来技術においてこれまで開示されていない。一実施形態では、多重特異性リガンドは、本明細書に開示の「DMS」と標識した任意の構築物、例えば、DMS0111、0112、0113、0114、0115、0116、0117、0118、0121、0122、0123、0124、0132、0133、0134、0135、0136、0162、0163、0168、0169、0176、0177、0182、0184、0186、0188、0189、0190、0191、0192、5519、5520、5521、5522、5525および5527(配列番号:45~92)の任意の1つのアミノ酸配列から選

40

50

択されるアミノ酸配列であるかまたはそれらを含む。一実施形態では、多重特異性リガンドは、本明細書に開示の任意のDMSのヌクレオチド配列、例えば、DMS 0 1 1 1、0 1 1 2、0 1 1 3、0 1 1 4、0 1 1 5、0 1 1 6、0 1 1 7、0 1 1 8、0 1 2 1、0 1 2 2、0 1 2 3、0 1 2 4、0 1 3 2、0 1 3 3、0 1 3 4、0 1 3 5、0 1 3 6、0 1 6 2、0 1 6 3、0 1 6 8、0 1 6 9、0 1 7 6、0 1 7 7、0 1 8 2、0 1 8 4、0 1 8 6、0 1 8 8、0 1 8 9、0 1 9 0、0 1 9 1、0 1 9 2、5 5 1 9、5 5 2 0、5 5 2 1、5 5 2 2、5 5 2 5および5 5 2 7の任意の1つのヌクレオチド配列によりコードされたアミノ酸配列であるかまたはそれらを含む。一実施形態では、本発明は、抗TNFR1免疫グロブリン単一可変ドメインおよび抗SA単一可変ドメインを含む多重特異性リガンドをコードする核酸を提供し、この核酸は、本明細書に開示の任意のDMSのヌクレオチド配列、例えば、DMS 0 1 1 1、0 1 1 2、0 1 1 3、0 1 1 4、0 1 1 5、0 1 1 6、0 1 1 7、0 1 1 8、0 1 2 1、0 1 2 2、0 1 2 3、0 1 2 4、0 1 3 2、0 1 3 3、0 1 3 4、0 1 3 5、0 1 3 6、0 1 6 2、0 1 6 3、0 1 6 8、0 1 6 9、0 1 7 6、0 1 7 7、0 1 8 2、0 1 8 4、0 1 8 6、0 1 8 8、0 1 8 9、0 1 9 0、0 1 9 1、0 1 9 2、5 5 1 9、5 5 2 0、5 5 2 1、5 5 2 2、5 5 2 5および5 5 2 7の任意の1つのヌクレオチド配列を含む。このような核酸を含むベクター、ならびにこのようなベクターを含む宿主細胞（例えば、非ヒト宿主細胞）を提供する。

10

【0025】

1つの態様では、本発明は、以下を含む多重特異性リガンドを提供する、(i) DOM 1 h-574-156のアミノ酸配列と少なくとも93%等しい（任意に少なくとも94、95、96、97、98もしくは99%等しいか、または100%等しい）アミノ酸配列を含む抗TNF α 受容体1型（TNFR1；p55）免疫グロブリン単一可変ドメイン、(ii) 血清アルブミン（SA）に特異的に結合する少なくとも1つの抗SA免疫グロブリン単一可変ドメインであり、この抗SA単一可変ドメインは、DOM 7 h-11-3配列と少なくとも80%（任意に少なくとも85、90、95、96、97、98もしくは99%等しいか、または100%）等しいアミノ酸配列を含む、(iii) 任意にここでリンカーが抗TNFR1単一可変ドメインと抗SA単一可変ドメイン間に提供され、このリンカーはアミノ酸配列AST、任意にASTSGPSを含む。あるいは、リンカーはAS(G₄S)_nであり、式中nは、1、2、3、4、5、6、7または8、例えばAS(G₄S)₃である。

20

30

【0026】

1つの態様では、本発明は、以下を含む多重特異性リガンドを提供する、(i) DOM 1 h-574-156のアミノ酸配列と少なくとも93%等しい（任意に少なくとも94、95、96、97、98もしくは99%等しいか、または100%等しい）アミノ酸配列を含む抗TNF α 受容体1型（TNFR1；p55）免疫グロブリン単一可変ドメイン、(ii) 血清アルブミン（SA）に特異的に結合する少なくとも1つの抗SA免疫グロブリン単一可変ドメインであり、この抗SA単一可変ドメインは、DOM 7 h-14-10配列と少なくとも80%（任意に少なくとも85、90、95、96、97、98もしくは99%等しいか、または100%）等しいアミノ酸配列を含む、(iii) 任意にここでリンカーが抗TNFR1単一可変ドメインと抗SA単一可変ドメイン間に提供され、このリンカーはアミノ酸配列AST、任意にASTSGPSを含む。あるいは、リンカーはAS(G₄S)_nであり、式中nは、1、2、3、4、5、6、7または8、例えばAS(G₄S)₃である。

40

【0027】

1つの態様では、本発明は、先に述べた本発明のいずれかの態様の単一可変ドメイン、ポリペプチドまたは多重特異性リガンドを含むTNFR1アンタゴニストを提供する。

【0028】

1つの態様では、本発明は、経口送達、患者の消化管送達、肺（pulmonary）送達、患者の肺（lung）への送達または全身送達のための本発明のTNF α 受容体1型（TNFR1；p55）アンタゴニストを提供する。

50

【0029】

1つの態様では、本発明は、ヒト、マウスまたはカニクイザルTNFR1に結合するTNF α 受容体1型(TNFR1；p55)アンタゴニストを提供し、このアンタゴニストはDOM1h-574-72、DOM1h-574-109、DOM1h-574-138、DOM1h-574-156、DOM1h-574-162またはDOM1h-574-180のCDR1配列と少なくとも50%等しいCDR1配列を有する。

【0030】

1つの態様では、本発明は、ヒト、マウスまたはカニクイザルTNFR1に結合するTNF α 受容体1型(TNFR1；p55)アンタゴニストを提供し、このアンタゴニストは、DOM1h-574-72、DOM1h-574-109、DOM1h-574-138、DOM1h-574-156、DOM1h-574-162またはDOM1h-574-180のCDR2配列と少なくとも50%等しいCDR2配列を有する。

10

【0031】

1つの態様では、本発明は、ヒト、マウスまたはカニクイザルTNFR1に結合するTNF α 受容体1型(TNFR1；p55)アンタゴニストを提供し、このアンタゴニストは、DOM1h-574-72、DOM1h-574-109、DOM1h-574-138、DOM1h-574-156、DOM1h-574-162またはDOM1h-574-180のCDR3配列と少なくとも50%等しいCDR3配列を有する。

【0032】

1つの態様では、本発明は、ヒト、マウスまたはカニクイザルTNFR1に結合するTNF α 受容体1型(TNFR1；p55)アンタゴニストを提供し、このアンタゴニストはDOM1h-574-72、DOM1h-574-109、DOM1h-574-138、DOM1h-574-156、DOM1h-574-162およびDOM1h-574-180から選択される単一可変ドメインのCDR1、CDR2、および／またはCDR3配列を含む免疫グロブリン単一可変ドメインを含む。

20

【0033】

1つの態様では、本発明は、炎症状態の治療および／または予防のための本発明のTNFR1アンタゴニストを提供する。

【0034】

1つの態様では、本発明は、炎症状態の治療および／または予防のための医薬品の製造における本発明のTNFR1アンタゴニストの使用を提供する。

30

【0035】

1つの態様では、本発明のいずれかの態様の抗TNFR1アンタゴニスト、単一可変ドメイン、ポリペプチドまたは多重特異性リガンドは、NSICTKCHKGTLY、NSICTKCHKGTLY、CRKNQYRHYWSENLFおよびNQYRHYWSENLFQCFからなる群から選択されるTNFR1のエピトープ配列の1つまたは複数を標的とするために提供される。

【0036】

1つの態様では、本発明のいずれかの態様の抗TNFR1アンタゴニスト、単一可変ドメイン、ポリペプチドまたは多重特異性リガンドは、上述の任意の状態または疾患を治療および／または予防するためのNSICTKCHKGTLY、NSICTKCHKGTLY、CRKNQYRHYWSENLFおよびNQYRHYWSENLFQCFからなる群から選択されるTNFR1のエピトープ配列の1つまたは複数を標的とするために提供される。

40

【0037】

1つの態様では、本発明は、患者における上述の任意の状態または疾患を治療および／または予防する方法を提供し、この方法は、患者におけるNSICTKCHKGTLY、NSICTKCHKGTLY、CRKNQYRHYWSENLFおよびNQYRHYWSENLFQCFからなる群から選択されるTNFR1のエピトープ配列の1つまたは複数を標的とする本発明の抗TNFR1アンタゴニスト、単一可変ドメイン、ポリペ

50

チドまたは多重特異性リガンドを患者に投与することを含む。

【0038】

本発明の1つの態様では、抗TNF α 受容体1型(TNFR1; p55)免疫グロブリン単一可変ドメインおよび血清アルブミン(SA)に特異的に結合する少なくとも1つの免疫グロブリン単一可変ドメインを含む多重特異性リガンドを提供し、ここで

(a) 抗TNFR1単一可変ドメインは、DOM1h-574-156、DOM1m-15-12またはDOM1m-21-23のアミノ酸配列と少なくとも80% (任意に少なくとも85、90、95、96、97、98もしくは99%等しいか、または100%) 等しいアミノ酸を含む；ならびに

(b) 抗SA単一可変ドメインは、DOM7h-11-12またはDOM7h-11-12dhのアミノ酸配列と少なくとも80% (任意に少なくとも85、90、95、96、97、98もしくは99%等しいか、または100%) 等しいアミノ酸を含む；ならびに

(c) リガンドは、前記の可変ドメイン間にリンカーを含み、このリンカーはアミノ酸配列ASまたはASTを含む。本発明の別の態様は、DMS5537、DMS5538、DMS5539またはDMS5540を含むかまたはそれらからなる多重特異性リガンドを提供する。本発明の1つの態様では、多重特異性リガンドのいずれかをコードする核酸を提供する。本発明の別の態様は、DMS5537、DMS5538、DMS5539またはDMS5540のヌクレオチド配列と少なくとも80% (任意に少なくとも85、90、95、96、97、98もしくは99%等しいか、または100%) 等しいヌクレオチド配列を含む核酸を提供する。本発明はさらに、核酸を含むベクター、ならびにベクターを含む宿主細胞、任意に非ヒト胚細胞を提供する。

【図面の簡単な説明】

【0039】

【図1】 ナイーブ選択由来のdAbのヒトTNFR1に対するBIAcore結合。ビオチン化ヒトTNFR1をSA BIAcoreチップ上に被覆した。ナイーブ選択由来の4つの精製したdAb (DOM1h-509、DOM1h-510、DOM1h-549およびDOM1h-574) をヒトTNFR1上に注入して結合を測定した。各dAbに対応する曲線を矢印で示す。

【図2】 ナイーブ選択由来のdAbのヒトTNFR1に対するMRC5細胞アッセイ。ナイーブ選択由来の4つの精製したdAb (DOM1h-509、DOM1h-510、DOM1h-549およびDOM1h-574) および対照dAb (DOM1h-131-511) のTNF α 媒介性IL-8放出の機能的阻害について、MRC5細胞アッセイ法で解析した。記載のようにアッセイを実施し、各dAbに対応する曲線を矢印で示す。グラフは、観察された中和パーセンテージに対してdAb濃度をプロットしている (Graphpad Prismを使用)。

【図3】 ナイーブ選択由来のdAbのヒトTNFR1に対する受容体結合アッセイ。ナイーブ選択由来の4つの精製したdAb (DOM1h-509、DOM1h-510、DOM1h-549およびDOM1h-574) および陽性対照dAb (DOM1h-131-511) を受容体結合アッセイにおいてアッセイし、TNF α との競合を測定した。陽性対照dAbは、TNF α と競合して完全な阻害曲線を示すことが知られている。選択された抗TNFR1 dAbは、TNF α の受容体への結合を阻害しない。記載のようにアッセイを実施し、各dAbに対応する曲線を矢印で示す (Graphpad Prismを使用)。y軸上の「中和%」はTNF α 結合阻害を示す。

【図4】 ヒトTNFR1に対するエラープローン試験成熟 (error-prone test maturation) からのdAbのMRC5細胞アッセイ。ナイーブ選択由来の3つの精製したdAb (DOM1h-574-7、DOM1h-574-8およびDOM1h-574-10) および対照dAb (DOM1h-131-511) をMRC5細胞アッセイ法においてTNF α 媒介性IL-8放出の機能的阻害について解析した。記載のようにアッセイを実施し、各dAbに対応する曲線を矢印で示す。グラフは、観察さ

れた中和パーセンテージに対してdAb濃度をプロットしている（Graphpad Prismを使用）。図2に示す親DOM1h-574に比べ、これらのdAbは、MRC5細胞アッセイ法において増大した効能を示す。

【図5A】DOM1h-574のエラーブローンライブラリから同定されたdAbおよびそれらの続く組換え体のアミノ酸配列アライメント。改善されたDOM1h-574 dAbのエラーブローン試験成熟選択により、DOM1h-574-7、DOM1h-574-8、DOM1h-574-10、DOM1h-574-11、DOM1h-574-12およびDOM1h-574-13における親和性改善に關与する位置を特定した。これらの変異の組換え（V30G、G44D、L45P、G55D、H56RおよびK94I）によりDOM1h-574-14～DOM1h-574-19が得られた。DOM1h-574に対して特定の位置にアミノ酸に差がない場合は、「.」で示す。CDRは下線および太字で示す（第一の下線の配列はCDR1、第二の下線の配列はCDR2および第三の下線の配列はCDR3）。

【図5B】DOM1h-574のエラーブローンライブラリから同定されたdAbおよびそれらの続く組換え体のアミノ酸配列アライメント。改善されたDOM1h-574 dAbのエラーブローン試験成熟選択により、DOM1h-574-7、DOM1h-574-8、DOM1h-574-10、DOM1h-574-11、DOM1h-574-12およびDOM1h-574-13における親和性改善に關与する位置を特定した。これらの変異の組換え（V30G、G44D、L45P、G55D、H56RおよびK94I）によりDOM1h-574-14～DOM1h-574-19が得られた。DOM1h-574に対して特定の位置にアミノ酸に差がない場合は、「.」で示す。CDRは下線および太字で示す（第一の下線の配列はCDR1、第二の下線の配列はCDR2および第三の下線の配列はCDR3）。

【図5C】DOM1h-574のエラーブローンライブラリから同定されたdAbおよびそれらの続く組換え体のアミノ酸配列アライメント。改善されたDOM1h-574 dAbのエラーブローン試験成熟選択により、DOM1h-574-7、DOM1h-574-8、DOM1h-574-10、DOM1h-574-11、DOM1h-574-12およびDOM1h-574-13における親和性改善に關与する位置を特定した。これらの変異の組換え（V30G、G44D、L45P、G55D、H56RおよびK94I）によりDOM1h-574-14～DOM1h-574-19が得られた。DOM1h-574に対して特定の位置にアミノ酸に差がない場合は、「.」で示す。CDRは下線および太字で示す（第一の下線の配列はCDR1、第二の下線の配列はCDR2および第三の下線の配列はCDR3）。

【図6】ヒト、カニクイザル、イヌおよびマウス由来のTNFR1の細胞外ドメインのアミノ酸配列アライメント。アライメントによりヒトTNFR1およびマウスTNFR1間の配列保存が限られていることが強調される。ヒトECD TNFR1に対して特定の位置にアミノ酸に差がない場合は、「.」で示す。

【図7】Biacoreにより測定した、DOM1h-574-16およびDOM1h-131-206のイヌTNFR1への結合のモニタリング。Biacore SAチップをビオチン化イヌTNFR1で被覆した。続いて、精製したdAb DOM1h-574-16およびDOM1h-131-206、各100nMをイヌTNFR1上に注入した。トレース（trace）から、DOM1h-574-16では有意な結合が示され、対してDOM1h-131-206では限られた結合のみが観察されたことが明らかである。

【図8】Biacoreにより測定した、精製したDOM1h-574-16のマウスTNFR1への結合のモニタリング。Biacore SAチップをビオチン化マウスTNFR1で被覆した。続いて、精製したdAb DOM1h-574-16、1μMをマウスTNFR1上に注入した。トレースから、DOM1h-574-16のマウスTNFR1への結合がはっきりと示される。

【図9】マウスL929細胞アッセイにおけるDOM1h-574-16の機能活性。ア

クチノマイシンの存在下で、TNF α の細胞毒作用からマウスL929細胞を保護する能力を試験することにより、精製したDOM1h-574-16（黒線、三角）とマウスTNFR1との機能的交差反応性をアッセイした。陽性対照として、マウスTNFR1結合dAb、DOM1m-21-23（灰色線、四角）を含み、これらは活性であることが示された。グラフは、TNF α 活性の中和パーセンテージに対してdAb濃度をプロットしている（Graphpad Prismを使用）。実施例に記載のようにアッセイを実施した。

【図10】カニクイザルCYNOM-K1細胞アッセイにおけるDOM1h-574-16の機能活性。精製したDOM1h-574-16（灰色点線、三角）のカニクイザルTNFR1との機能的交差反応性を、TNF α への反応においてCYNOM-K1細胞からのIL-8放出を阻害する能力を試験することによりアッセイした。実施例に記載のようにアッセイを実施した。陽性対照として、DOM1h-131-511（黒線、四角）を含んだ。両dAbは完全な中和を示した。グラフは、TNF α 活性の中和パーセンテージに対してdAb濃度をプロットしている（Graphpad Prismを使用）。

【図11A】親和性成熟中に同定したDOM1h-574系統由来の最も強力なdAbのアミノ酸配列アライメント。MRC5細胞アッセイ法において最高効能のdAbのアミノ酸配列を親DOM1h-574、親和性成熟開始のために用いた鋳型（DOM1h-574-14）および増大した効力が同定された初期dAb（DOM1h-574-72）と共に列挙する。DOM1h-574に対して特定の位置にアミノ酸に差がない場合は、「.」で示す。CDRは下線および太字で示す（第一の下線の配列はCDR1、第二の下線の配列はCDR2および第三の下線の配列はCDR3）。

【図11B】親和性成熟中に同定したDOM1h-574系統由来の最も強力なdAbのアミノ酸配列アライメント。MRC5細胞アッセイ法において最高効能のdAbのアミノ酸配列を親DOM1h-574、親和性成熟開始のために用いた鋳型（DOM1h-574-14）および増大した効力が同定された初期dAb（DOM1h-574-72）と共に列挙する。DOM1h-574に対して特定の位置にアミノ酸に差がない場合は、「.」で示す。CDRは下線および太字で示す（第一の下線の配列はCDR1、第二の下線の配列はCDR2および第三の下線の配列はCDR3）。

【図11C】親和性成熟中に同定したDOM1h-574系統由来の最も強力なdAbのアミノ酸配列アライメント。MRC5細胞アッセイ法において最高効能のdAbのアミノ酸配列を親DOM1h-574、親和性成熟開始のために用いた鋳型（DOM1h-574-14）および増大した効力が同定された初期dAb（DOM1h-574-72）と共に列挙する。DOM1h-574に対して特定の位置にアミノ酸に差がない場合は、「.」で示す。CDRは下線および太字で示す（第一の下線の配列はCDR1、第二の下線の配列はCDR2および第三の下線の配列はCDR3）。

【図12A】親和性成熟中に同定したDOM1h-574系統由来の最もプロテアーゼに安定なdAbのアミノ酸配列アライメント。最もトリプシン消化耐性であることが示されたdAbのアミノ酸配列を親和性成熟後に同定した。アライメント目的のため、親dAb DOM1h-574も含んだ。DOM1h-574に対して特定の位置にアミノ酸に差がない場合は、「.」で示す。CDRは下線および太字で示す（第一の下線の配列はCDR1、第二の下線の配列はCDR2および第三の下線の配列はCDR3）。

【図12B】親和性成熟中に同定したDOM1h-574系統由来の最もプロテアーゼに安定なdAbのアミノ酸配列アライメント。最もトリプシン消化耐性であることが示されたdAbのアミノ酸配列を親和性成熟後に同定した。アライメント目的のため、親dAb DOM1h-574も含んだ。DOM1h-574に対して特定の位置にアミノ酸に差がない場合は、「.」で示す。CDRは下線および太字で示す（第一の下線の配列はCDR1、第二の下線の配列はCDR2および第三の下線の配列はCDR3）。

【図12C】親和性成熟中に同定したDOM1h-574系統由来の最もプロテアーゼに安定なdAbのアミノ酸配列アライメント。最もトリプシン消化耐性であることが示されたdAbのアミノ酸配列を親和性成熟後に同定した。アライメント目的のため、親dAb

10

20

30

40

50

DOM1h-574も含んだ。DOM1h-574に対して特定の位置にアミノ酸に差がない場合は、「.」で示す。CDRは下線および太字で示す（第一の下線の配列はCDR1、第二の下線の配列はCDR2および第三の下線の配列はCDR3）。

【図13A】詳細な特性決定のために選択したdAbのアミノ酸配列アライメント。アライメントには、詳細な特性決定のために選択した12のdAbならびにDOM1h-574（親dAb）および系統の特性決定のため早くから用いたDOM1h-574-16を含んだ。DOM1h-574に対して特定の位置にアミノ酸に差がない場合は、「.」で示す。CDRは下線および太字で示す（第一の下線の配列はCDR1、第二の下線の配列はCDR2および第三の下線の配列はCDR3）。

【図13B】詳細な特性決定のために選択したdAbのアミノ酸配列アライメント。アライメントには、詳細な特性決定のために選択した12のdAbならびにDOM1h-574（親dAb）および系統の特性決定のため早くから用いたDOM1h-574-16を含んだ。DOM1h-574に対して特定の位置にアミノ酸に差がない場合は、「.」で示す。CDRは下線および太字で示す（第一の下線の配列はCDR1、第二の下線の配列はCDR2および第三の下線の配列はCDR3）。

【図13C】詳細な特性決定のために選択したdAbのアミノ酸配列アライメント。アライメントには、詳細な特性決定のために選択した12のdAbならびにDOM1h-574（親dAb）および系統の特性決定のため早くから用いたDOM1h-574-16を含んだ。DOM1h-574に対して特定の位置にアミノ酸に差がない場合は、「.」で示す。CDRは下線および太字で示す（第一の下線の配列はCDR1、第二の下線の配列はCDR2および第三の下線の配列はCDR3）。

【図14】BIAcoreによるDOM1h-574-16およびDOM1h-131-511のエピトープマッピング。BIAcore SAチップをビオチン化ヒトTNFR1で被覆した。この表面全体にDOM1h-131-511およびDOM1h-574-16を注入した（各200nM、続いて再生注入（提示せず））。各dAbに対して結合したRU数（反応単位）を測定した。続いて、同一濃度のDOM1h-131-511を注入し、直後にDOM1h-574-16を注入した。はっきりと見られるように、DOM1h-574-16の第二の注入の結合単位数は第一の注入と同じであり、dAbは非競合エピトープと結合することを示す。

【図15】BIAcoreによるDOM1h-574-16およびMAB225（R&D Systems社）のエピトープマッピング。BIAcore SAチップをビオチン化ヒトTNFR1で被覆した。表面全体にDOM1h-574-16を注入して結合を定量化した。再生後（提示せず）、MAB225を注入し、続いてDOM1h-574-16を再注入した。DOM1h-574-16に対する結合レベルは、MAB225の不在下で見られたものに近似し、結合エピトープはMAB225と競合しないことを示す。

【図16】BIAcoreによるDOM1h-574-16およびmAbクローン4.12のエピトープマッピング。BIAcore SAチップをビオチン化ヒトTNFR1で被覆した。表面全体にクローン4.12（Invitrogen社、Zymed）を注入して結合を定量化した。再生後（提示せず）、DOM1h-574-16を注入し、続いてクローン4.12を再注入した。第二のクローン4.12注入にて観察された結合レベルは、DOM1h-574-16の不在下で観察されたレベルより約20%少ない。この結果は、ヒトTNFR1上の結合エピトープに対する競合は限られていることを示す。DOM1h-574-16およびクローン4.12はわずかに重複したエピトープを有し得る。注入直前直後のRUシグナルの跳躍は緩衝液の跳躍であり、これは差し引いていない。

【図17】BIAcoreによるDOM1h-574-16およびDOM1h-510のエピトープマッピング。BIAcore SAチップをビオチン化ヒトTNFR1で被覆した。表面全体にDOM1h-510を注入して結合を定量化した。続いて、DOM1h-574-16を注入してからDOM1h-510を再注入した。明らかに、第二のDOM1h-510注入は、はるかに弱い結合を示し、DOM1h-510が競合エピトープ

に結合していることを示す。

【図18】B I A c o r eによるDOM1h-574-16およびDOM1m-21-23のエピトープマッピング。B I A c o r e SAチップをビオチン化マウスTNFR1で被覆した。表面全体にDOM1h-574-16を注入して結合を定量化した。続いて、DOM1m-21-23を注入してからDOM1h-574-16を再注入した。第二の注入後のDOM1h-574-16の結合RU数はDOM1m-12-23の不在下で観察されたものに近似する。これは、マウスTNFR1上の結合エピトープはDOM1m-21-23とDOM1h-574-16で異なることを示す。

【図19】B I A c o r eによるTNFR1の線型ペプチド断片へのDOM1h-574-16のエピトープマッピング。4チャンネルのB I A c o r e SAチップを4つのビオチン化ペプチドの1つでそれぞれ被覆した。ペプチドは以下であった：1) Forte Bio上で結合を示さず、陰性対照としての役割を果たすヒトTNFR1のペプチド断片、A3 (SGSGND CPGPGQDTDCREC)、2) ドメイン-1ペプチドD2 (SGSGNS ICCTKCHKGTLYY)、3) ドメイン-3ペプチドD5 (SGSGCRKNQYRHYWSENLF) および4) 重複ドメイン-3ペプチドE5 (SGSGNQYRHYWSENLFQCF)。DOM1h-574-16 (2.5 μM) を全4つのペプチド上に流し、結合量を測定した。DOM1h-574-16の結合は対照ペプチドA3上で観察されず、対してdAbは3つの他のペプチドに結合した。図において、異なるペプチドに対応するトレースはペプチド識別子で示す。

【図20】B I A c o r eによるTNFR1の4つの線型ペプチド断片へのDOM1m-21-23の結合の評価。4チャンネルのB I A c o r e SAチップを4つのビオチン化ペプチドの1つでそれぞれ被覆した。ペプチドは以下であった：1) Forte Bio上でDOM1h-574-16への結合を示さず、陰性対照としての役割を果たすヒトTNFR1のペプチド断片、A3 (SGSGND CPGPGQDTDCREC)、2) ドメイン-1ペプチドD2 (SGSGNS ICCTKCHKGTLYY)、3) ドメイン-3ペプチドD5 (SGSGCRKNQYRHYWSENLF) および4) 重複ドメイン-3ペプチドE5 (SGSGNQYRHYWSENLFQCF)。DOM1m-21-23もこれらのペプチドに結合するかどうかを確立するために、DOM1m-21-23 (2.5 μM) を全4つのペプチドに注入した。図に見ることができるよう、DOM1m-21-23は4つのペプチドのいずれへの結合も示さなかった。曲線は互いに重なっている。

【図21】B I A c o r eによるTNFR1の線型ペプチド断片へのDOM1h-131-511のエピトープマッピング。4チャンネルのB I A c o r e SAチップを4つのビオチン化ペプチドの1つでそれぞれ被覆した。ペプチドは以下であった：1) Forte Bio上でDOM1h-574-16への結合を示さず陰性対照としての役割を果たすヒトTNFR1のペプチド断片、A3 (SGSGND CPGPGQDTDCREC)、2) ドメイン-1ペプチドD2 (SGSGNS ICCTKCHKGTLYY)、3) ドメイン-3ペプチドD5 (SGSGCRKNQYRHYWSENLF) および4) 重複ドメイン-3ペプチドE5 (SGSGNQYRHYWSENLFQCF)。DOM1h-131-511 (2.5 μM) を全4つのペプチド上に流し、結合量を測定した。図に見ることができるよう、DOM1h-131-511は4つのペプチドのいずれへの結合も示さなかった。曲線はほぼ重なり、矢印および対応するペプチド番号で示される。

【図22】マウス血清アルブミン(MSA)へのDOM0100-AlbudaB直列融合物の結合のB I A c o r e解析。EDC/NHS化学によりMSA (Sigma-Aldrich) を製造メーカーの説明書に従って用いて、B I A c o r e CM5チップ上に被覆した。続いて、抗TNFR1 dAb-リンカー-AlbudaB (N末端からC末端方向) からそれぞれなり、表6に特定されたDMS構築物を1 μMでMSA表面に注入し、結合をモニタリングした。B I A c o r eトレースに見ることができるよう、DMS0192およびDMS0188の全体の動態は最高であり、対してDMS0182およびDMS0184はMSAに対して最も弱い結合剤であった。各DMSクローンに対応

10

20

30

40

50

するB I A c o r eトレースを矢印で示す。

【図23】ヒト血清アルブミン(HSA)へのDMS0100-AlbudaB直列融合物の結合のB I A c o r e解析。EDC/NHS化学によりHSA(Sigma-Aldrich)を製造メーカーの説明書に従って用いて、B I A c o r e CM5チップ上に被覆した。続いて、それぞれ抗TNFR1 dAb-リンカー-AlbudaB(N末端からC末端方向)からなり、表6に特定されたDMS構築物を1 μ MでHSA表面に注入し、結合をモニタリングした。B I A c o r eトレースに見ることができるよう、DMS0189およびDMS0190の全体の動態は最高であり、対して図に示す他のDMSクローン(DMS0182、DMS0184、DMS0186およびDMS0188)は近似し、これらのHSAへの親和性は有意に弱かった。各DMSクローンに対応するB I A c o r eトレースを矢印で示す。

10

【図24】マウスにおけるDMS0100-AlbudaB融合物のPK。マウスにDMS0168(2.5mg/kg、静脈内)、DMS0169(2.5mg/kg、静脈内)またはDMS0182(10mg/kg、腹腔内)を投与した。各時点(0.17、1、4、12、24、48および96時間)でマウス3匹を屠殺し、それぞれDMS0100-AlbudaB融合物のレベルについて血清を解析した。各DMS0100-AlbudaB融合物の平均量を各時点で測定して時間に対してプロットした、DMS0168(灰色点線)、DMS0182(黒点線)およびDMS0169(黒線)(対応する線を矢印でも示す)。WinNonlin解析パッケージ(例えばバージョン5.1(Pharsight社、マウンテンビュー、カリフォルニア94040、米国から入手可能)のノンコンパートメント解析(NCA)を用いて、各分子の終末半減期を測定した。終末半減期は、DMS0182で5.9時間、DMS0168で15.4時間およびDMS0169で17.8時間であった。腹腔内投薬の故に、DMS0182曲線はDMS0168およびDMS0169で観察された形と異なる(示した曲線はB I A c o r eによる)。

20

【図25】生理食塩水およびDMS0169で処理中のTg197/hp55KIマウスの関節炎スコア。本試験に用いた遺伝子導入マウス系統は、Tg197(ヒトTNF α 過剰発現)とhp55(ヒトTNFR1のノックイン、p55としても知られている)の交配種であり、これは自然に関節炎を発現する。6週目から15週目まで、各群12匹のマウスを10mg/kgのDMS0169または生理食塩水のいずれかで週2回処理した。各週で、マウス1匹当たり後肢2本の関節の関節炎スコア、平均関節炎スコア、および標準誤差を測定し、マウス12匹を時間でプロットした。明らかに、DMS0169で処理した動物における関節炎の発現は少なかった。

30

【図26】生理食塩水およびDMS0169で処理中のTg197/hp55KIマウスの体重。本試験に用いた遺伝子導入マウス系統は、Tg197(ヒトTNF α 過剰発現)とhp55(ヒトTNFR1のノックイン、p55としても知られている)の交配種であり、これは自然に関節炎を発現する。6週目から15週目まで、各群12匹のマウスを10mg/kgのDMS0169または生理食塩水のいずれかで週2回処理した。各週でマウスを測定し、平均データをプロットした(エラーバーは、標準誤差を示す)。図から、DMS0169が生理食塩水で処理した動物に比べて、統計的に有意ではないが重い傾向にあることが明らかである。

40

【図27】生理食塩水およびDMS0169で処理後、15週目のTg197/hp55KIマウスの組織学および関節炎スコア。本試験に用いた遺伝子導入マウス系統は、Tg197(ヒトTNF α 過剰発現)とhp55(ヒトTNFR1のノックイン、p55としても知られている)の交配種であり、これは自然に関節炎を発現する。6週目から15週目まで、各群12匹のマウスを10mg/kgのDMS0169または生理食塩水のいずれかで週2回処理した。15週目、マウスを屠殺して関節炎スコア(黒棒)と関節の組織学(白棒)の両方をスコア化した(Keffeler et al., EMBO, J., 10, p4025 (1991))。各群は12匹の動物からなり、標準誤差を算出した。処理群間の差は統計的に有意であることが示される($p < 0.001$)。

50

【発明を実施するための形態】

【0040】

本明細書において本発明は実施形態を参照しながら簡明な明細書記述がなされるように記述されている。実施形態は、本発明を逸脱することなく種々に組み合わせまたは分離してしてもよいことは意図されており、また、理解されるべきである。

【0041】

別に定義されていなければ、本明細書に使われているすべての技術と科学の用語は、当業者（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、および生化学の分野）により共通に理解されているものと同じ意味を有する。標準的な技術は、分子、遺伝、および生化学の手法（一般的には、Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第2版 (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y. および Ausubel et al., Short Protocols in Molecular Biology (1999) 第4版, John Wiley & Sons, Inc. を参照されたい。これらは参照して本明細書に組み込まれる）および化学的手法で使われている。

【0042】

本明細書に記述されている免疫グロブリン単一可変ドメイン (dAb) は、相補性決定領域 (CDR1、CDR2 および CDR3) を含む。CDR と フレームワーク (FR) 領域の位置とナンバリング方式は、Kabata 等により決定されてきた (Kabata, E. A. et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第5版, U. S. Department of Health and Human Services, U. S. Government Printing Office (1991))。本明細書で開示している V_H と V_L (V_K) dAb の CDR (CDR1、CDR2、CDR3) のアミノ酸配列は、よく知られた Kabata のアミノ酸ナンバリング方式と CDR の定義に従えば当業者は容易にわかるであろう。Kabata のナンバリング方式に従って可変長、挿入を有する重鎖 CDR-H3 は、残基 H100 と H101 の間で K までの文字でナンバリングされる (すなわち、H100、H100A... H100K、H101)。あるいは、AbM または次の Contact 方法に従って、CDR は Chothia 方式を用いて決定してもよい (Chothia et al., (1989) Conformations of immunoglobulin hypervariable regions; Nature 342, p877-883)。適切な CDR 決定方法については <http://www.bioinf.org.uk/abs/> を参照。

【0043】

一旦各残基がナンバリングされれば、続く CDR 定義に適用できる (「-」は Kabata で示されるのと同じ残基番号を意味する) :

Kabata-配列多様性に基づいて最もよく使われる方法

(Kabata ナンバリングを使って) :

CDRH1 : 31-35 / 35A / 35B

CDRH2 : 50-65

CDRH3 : 95-102

CDRL1 : 24-34

CDRL2 : 50-56

CDRL3 : 89-97

【0044】

Chothia-構造的ループ領域の位置に基づく

(Chothia ナンバリングを使って) :

CDRH1 : 26-32

CDRH2 : 52-56

CDRH3 : 95-102

CDRL1 : 24-34

CDRL2 : 50-56

CDRL3 : 89-97

【0045】

AbM-KabatとChothiaの折衷

(Kabatナンバリングを使って) : (Chothiaナンバリングを使って) :

CDRH1 : 26-35 / 35A / 35B 26-35

CDRH2 : 50-58 -

CDRH3 : 95-102 -

CDRL1 : 24-34 -

CDRL2 : 50-56 -

CDRL3 : 89-97 -

10

【0046】

Contact-結晶構造と抗原との接触残基予測に基づく

(Kabatナンバリングを使って) : (Chothiaナンバリングを使って) :

CDRH1 : 30-35 / 35A / 35B 30-35

CDRH2 : 47-58 -

CDRH3 : 93-101 -

CDRL1 : 30-36 -

CDRL2 : 46-55 -

CDRL3 : 89-96 -

20

本明細書で使われている用語「腫瘍壊死因子受容体1 (TNFR1) アンタゴニスト」または「抗TNFR1アンタゴニスト」等は、TNFR1に結合しTNFR1の機能(すなわち、1つまたは複数の機能)を阻害し得る薬剤(例えば分子、化合物)を指す。例えば、TNFR1アンタゴニストはTNFR1へのTNF α の結合を阻害し、および/または、TNFR1に媒介されるシグナル伝達を阻害することができる。したがって、TNFR1媒介過程と細胞反応(例えば、標準的L929細胞毒アッセイにおけるTNF α 誘発性細胞死)はTNFR1アンタゴニストにより阻害され得る。

【0047】

本明細書で使われている「ペプチド」は、ペプチド結合で結合した約2~約50アミノ酸を指す。

30

【0048】

本明細書で使われている「ポリペプチド」は、ペプチド結合で結合した少なくとも約50アミノ酸を指す。ポリペプチドは通常三次構造を含み、折り畳まれて機能ドメインを形成している。

【0049】

本明細書で使われている「プロテアーゼ分解に耐性がある」ペプチドまたはポリペプチド(例えばドメイン抗体(dAb))は、プロテアーゼ活性好適条件下でプロテアーゼとインキュベートした場合プロテアーゼにより実質的に分解されない。プロテアーゼ活性好適温度(例えば37または50℃)で約1時間プロテアーゼとインキュベート後に、約25%以下、約20%以下、約15%以下、約14%以下、約13%以下、約12%以下、約11%以下、約10%以下、約9%以下、約8%以下、約7%以下、約6%以下、約5%以下、約4%以下、約3%以下、約2%以下、約1%以下のタンパク質がプロテアーゼにより分解される場合、または、実質的にタンパク質がプロテアーゼにより分解されない場合、ポリペプチド(例えばdAb)は実質的に分解されていないことになる。タンパク質分解は本明細書に記載の任意の適切な方法を用いて、例えば、SDS-PAGEにより、または機能的アッセイ(例えば、リガンド結合)により評価できる。

40

【0050】

本明細書で使われている「ディスプレイシステム」は、物理的、化学的または機能特性

50

等の所望特性を基準にして選択する目的で、ポリペプチドまたはペプチドのコレクションにアクセス可能なシステムを指す。ディスプレイシステムはポリペプチドまたはペプチドの適切なレパートリー（例えば、溶液の形で、適切な担体上に固定されて）であってもよい。また、ディスプレイシステムは、細胞発現システム（例えば、形質転換、感染、核酸導入、または形質導入等を行った細胞の核酸発現ライブラリ、および細胞表面へのコード化ポリペプチドのディスプレイ）あるいは、無細胞発現システム（例えば、エマルジョン分画とディスプレイ）を採用してもよい。代表的なディスプレイシステムでは、核酸のコード機能および核酸によりコードされたポリペプチドもしくはペプチドの物理的、化学的、および／または、機能特性を関連付ける。このようなディスプレイシステムが採用されると、所望の物理的、化学的、および／または、機能特性を有するポリペプチドまたはペプチドが選択でき、選択されたポリペプチドまたはペプチドをコードする核酸が容易に単離または回収できる。核酸のコード機能およびポリペプチドもしくはペプチドの物理的、化学的、および／または、機能特性を関連付ける多くのディスプレイシステムが当技術分野において知られており、例えば、バクテリオファージディスプレイ（ファージディスプレイ、例えばファージミッドディスプレイ）、リボソームディスプレイ、エマルジョン分画とディスプレイ、酵母ディスプレイ、ピューロマイシンディスプレイ、細菌ディスプレイ、プラスミド上のディスプレイ、共有結合ディスプレイ等（例えば、EP 0 436 597 (Dyax)、米国特許第6, 172, 197号 (McCafferty et al.)、米国特許第6, 489, 103号 (Griffiths et al.) 参照）がある。

10

20

【0051】

本明細書で使われている「レパートリー」は、アミノ酸配列の多様性で特徴付けられるポリペプチドまたはペプチドのコレクションを指す。レパートリーのそれぞれのメンバーは、共通の構造特性（例えば、共通のコア構造）、および／または共通の機能特性（例えば、共通のリガンド（例えば、リガンド属 (generic ligand) または標的リガンド、TNFR1）に結合する能力）等の共通の特徴を有し得る。

【0052】

本明細書で使われている「機能的」は、特異的結合活性等の生物学的活性を有するポリペプチドまたはペプチドの特徴を説明する。例えば、用語「機能的ポリペプチド」は、抗原結合部位により標的抗原に結合する抗体またはその抗原結合断片を含む。

30

【0053】

本明細書で使われている「リガンド属」は、所与のレパートリーの機能的メンバーの実質の一部（例えば、実質的に全部）に結合するリガンドを指す。リガンド属（例えば、共通リガンド属）は、メンバーが共通標的リガンドに対し結合特異性を持っていなくても、所与のレパートリーの多くのメンバーと結合可能である。通常、ポリペプチド上の機能的リガンド属結合部位が存在する（リガンド属に結合する能力で示されるように）と、ポリペプチドは正しく折り込まれ、機能する。リガンド属の適切な例には、超抗原や、レパートリーの機能的メンバーの実質の一部上に発現したエピトープに結合する抗体等を含む。

【0054】

「超抗原」は、これらタンパク質の標的リガンド結合部位から離れた部位で、免疫グロブリン超分子群のメンバーと相互作用するリガンド属を指す技術用語である。ブドウ球菌エンテロトキシンは、T細胞受容体と相互作用する超抗原の例である。抗体と結合する超抗原には、IgG定常領域と結合するプロテインG (Bjorck and Kronvall, J. Immunol., 133:969 (1984))、IgG定常領域およびV_Hドメインと結合するプロテインA (Forsgren and Sjoquist, J. Immunol., 97:822 (1966))、およびV_Lドメインと結合するプロテインL (Bjorck, J. Immunol., 140:1194 (1988)) が含まれる。

40

【0055】

本明細書で使われている「標的リガンド」は、ポリペプチドまたはペプチドが特異的に

50

または選択的に結合するリガンドを指す。例えば、ポリペプチドが抗体またはその抗原結合断片である場合、標的リガンドは、任意の所望の抗原またはエピトープであり得る。標的抗原への結合は、機能的ポリペプチドまたはペプチドに依存する。

【0056】

本明細書で使われている抗体は、天然に産生する抗体の任意の種から誘導されるものであろうと、または組換え型DNA技術により作製されるものであろうと；血清、B細胞、ハイブリドーマ、トランスフェクト細胞、酵母、またはバクテリアから単離されるものであろうと、IgG、IgM、IgA、IgDやIgE、または断片（例えば、Fab、F(ab')₂、Fv、ジスルフィド結合Fv、scFv、閉構造多重特異性抗体、ジスルフィド結合scFv、二重特異性抗体）を指す。

10

【0057】

本明細書で使われている「抗体フォーマット」、「フォーマットされた」またはその類似形は、その構造上の抗原に対する結合特異性を与えるために1つまたは複数の抗体可変ドメインが組み込まれている任意の適切なポリペプチド構造を指す。多様な好適抗体フォーマットが当技術分野において知られており、例えば、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、一本鎖抗体、二重特異性抗体、抗体重鎖、抗体軽鎖、抗体重鎖および／もしくは軽鎖のホモ二量体およびヘテロ二量体、上記いずれかの抗原結合断片（例えばFv断片（一本鎖Fv（scFv）、ジスルフィド結合Fv等）、Fab断片、Fab'断片、F(ab')₂断片）、単一抗体可変ドメイン（例えば、dAb、V_H、V_{HH}、V_L）、および上記いずれかの改変型（例えば、ポリエチレングリコール、または他の適切なポリマーやヒト化V_{HH}の共有結合による改変）がある。

20

【0058】

「免疫グロブリン単一可変ドメイン」という語句は、他のV領域またはドメインと独立に抗原またはエピトープに特異的に結合する抗体可変ドメイン（V_H、V_{HH}、V_L）を指す。免疫グロブリン単一可変ドメインは、他の可変部位または可変ドメインを伴ったフォーマット（例えば、ホモまたはヘテロ多量体）で存在してもよく、ここで単一免疫グロブリン可変ドメインによる抗原結合に他の領域またはドメインは必要でない（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独立に抗原に結合する）。「ドメイン抗体」または「dAb」は、本明細書でこの用語が使われる場合は、「免疫グロブリン単一可変ドメイン」と同じである。「単一免疫グロブリン可変ドメイン」は、本明細書でこの用語が使われる場合は、「免疫グロブリン単一可変ドメイン」と同じである。「単一抗体可変ドメイン」または「抗体単一可変ドメイン」は、本明細書でこの用語が使われる場合は、「免疫グロブリン単一可変ドメイン」と同じである。免疫グロブリン単一可変ドメインは、一実施形態では、ヒト抗体可変ドメインであるが、げっ歯類（例えば、WO 00/29004に開示されており、その内容全体は参照により本明細書に組み込まれる）、テンジクザメ、およびラクダ科動物のV_{HH} dAb等の他の種からの単一抗体可変ドメインも含有する。ラクダ科動物のV_{HH}は、ラクダ、ラマ、アルパカ、ヒトコブラクダおよびグアナコ等の種から得られた免疫グロブリン単一可変ドメインポリペプチドで、生来軽鎖が欠けている重鎖抗体を産生する。V_{HH}は、ヒト化可能である。

30

【0059】

「ドメイン」は、タンパク質の他とは独立に三次構造を有する折り畳みタンパク質構造である。一般的には、ドメインはタンパク質個々の機能特性に関与し、多くの場合、タンパク質、および／またはドメインの残りの機能を失うことなく他のタンパク質への付加、削除、または移動が可能である。「単一抗体可変ドメイン」は、抗体可変ドメインの配列特性を含む折り畳みポリペプチドドメインを意味する。したがって、これは、抗体可変ドメインおよび修飾可変ドメインの全体を含むが、例えば1つまたは複数のループが抗体可変ドメインの特徴でない配列により置換され、あるいは、切断された、またはNまたはC末端拡張を含む抗体可変ドメイン、ならびに、少なくとも全長ドメイン時の結合活性および特異性を保持している可変ドメインの折り畳み断片、により置換された場合が含まれる。

40

50

【0060】

用語「ライブラリ」は、異種ポリペプチド、または異種核酸の混合物を指す。ライブラリは、単一ポリペプチドまたは核酸配列を有するメンバーから構成されている。この点では、ライブラリはレパートリーの同義語である。ライブラリメンバー間の配列の差はライブラリに存在する多様性によるものである。ライブラリは、ポリペプチドまたは核酸の単純な混合物の形を取ってもよく、または、核酸のライブラリで形質転換した生物または細胞の形、例えばバクテリア、ウイルス、動物または植物等の形を取ってもよい。一実施形態では、各生物または細胞が、1つまたは限定された数のみのライブラリメンバーを含むようにする。一実施形態では、核酸は発現ベクター中に組み込まれ、核酸によりコードされたポリペプチドを発現させる。したがって、1つの態様では、ライブラリは、宿主生物の集団の形を取って、各生物が発現して対応するポリペプチドメンバーを産生する核酸の形でライブラリの単一メンバーを含有する発現ベクターの1つまたは複数のコピーを含んでもよい。このように、宿主生物の集団は、多様なポリペプチドの大きなレパートリーをコードする可能性を有している。

10

【0061】

「ユニバーサルフレームワーク」は、Kabatsの定義（“Sequences of Proteins of Immunological Interest”, US Department of Health and Human Services）による配列に保存されている抗体の領域に対応する単一抗体フレームワーク配列、または、ChothiaとLeskにより定義（（1987）J. Mol. Biol. 196:910-917）されているヒト生殖細胞系免疫グロブリンレパートリーもしくは構造に対応する単一抗体フレームワーク配列を指す。ライブラリおよびレパートリーは単一フレームワークまたは一連の当該フレームワークを使用し得る。これを使って超可変領域のみを変化させることにより実質的にほとんどの結合特異性を導出可能であることが明らかになっている。

20

【0062】

本明細書で使われている用語「用量」は、被験者に一度に全投与（単位用量）するか、または2回以上の回数にわけ一定の時間間隔で投与するリガンドの量を指す。例えば、用量は1日（24時間）（1日量）、2日、1週、2週、3週、または1ヶ月または2ヶ月以上にわたって（例えば、1回投与、または2回以上の投与で）で被験者に投与するリガンドの量（例えば、リガンドは、標的抗原に結合する免疫グロブリン単一可変ドメイン）を指してもよい。投与間隔は任意の所望間隔とすることができる。

30

【0063】

本明細書で使われている「流体力学的サイズ」は、水溶液中の分子の拡散から求めた分子（例えば、タンパク質分子、リガンド）の見かけ上の大きさを指す。溶液中のタンパク質の拡散または運動を適切に処理してタンパク質の見かけ上の大きさを導き出すことができ、この方式ではタンパク質粒子の大きさが「ストークス半径」または「流体力学的半径」として得られる。タンパク質の「流体力学的サイズ」は、質量と形状（立体配座）に依存する。すなわち、同じ分子質量の2つのタンパク質がその全立体配座に依存して異なる流体力学的サイズを持ち得るということである。

40

【0064】

本明細書で使われている用語「競合する」は、第一標的のその同種標的結合ドメインへの結合が、同種標的に対し特異的な第二結合ドメインが存在する場合に、阻害されることを意味する。例えば、結合ドメインの物理的ブロックにより、または標的に対する親和性やアビディティが低下するような結合ドメインの構造もしくは環境の変化により、結合が立体的に阻害され得る。競合的ELISA法および競合的BIACore法の実験により第一と第二の結合ドメインの間での競合を測定する方法の詳細については、WO2006038027を参照されたい。

【0065】

2つの配列間の「相同性」または「同一性」または「類似性」（本明細書ではこれらの

50

用語は同義的に使われている)の計算は次のように行う。最適な比較のために配列をアライメントする(例えば、最適なアライメントのために第1および第2の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導入することができ、また、比較のために非相同配列を無視することができる)。一実施形態では、比較のためにアライメントされる参照配列の長さは、その参照配列の長さの少なくとも30%、または少なくとも40%、または少なくとも50%、または少なくとも60%、または少なくとも70%、80%、90%、100%である。その後、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の配列のある位置が、第2の配列の対応する位置と同じアミノ酸残基またはヌクレオチドで占められている場合には、それらの分子はその位置で同一である(本明細書で使われているアミノ酸または核酸の「相同性」は、アミノ酸または核酸の「同一性」と同等である)。2つの配列間の同一性パーセントは、これら2つの配列の最適なアライメントのために導入する必要があるギャップの数および各ギャップの長さを考慮して、これらの配列により共有される同一位置の数の関数である。本明細書で定義されるアミノ酸およびヌクレオチド配列のアライメント、ならびに相同性、類似性または同一性は、デフォルトパラメーターを用いて、アルゴリズムBLAST2 Sequencesにより作製し、決定してもよい(Tatusova, T. A. et al., FEMS Microbiol Lett, 174:187-188 (1999))。

10

【0066】

1つの態様では、本発明は、DOM1h-574-72、DOM1h-574-109、DOM1h-574-138、DOM1h-574-156、DOM1h-574-162またはDOM1h-574-180のアミノ酸配列と少なくとも95、96、97、98または99%等しいアミノ酸配列を含む抗TNF α 受容体1型(TNFR1; p55)免疫グロブリン単一可変ドメインを提供する。一実施形態では、単一可変ドメインは、DOM1h-574-72、DOM1h-574-109、DOM1h-574-138、DOM1h-574-156、DOM1h-574-162、DOM1h-574-180、DOM1h-574-7、DOM1h-574-8、DOM1h-574-10、DOM1h-574-12、DOM1h-574-13、DOM1h-574-14、DOM1h-574-15、DOM1h-574-16、DOM1h-574-17、DOM1h-574-18またはDOM1h-574-19である。一実施形態では、この態様による可変ドメインは、本発明の他の任意の態様の特徴を1つまたは複数有し得、本文の開示により、(例えば本明細書の特許請求の範囲に組み込むために)このような特徴を組み合わせることができるものと解釈される。

20

30

【0067】

1つの態様では、本発明は、DOM1h-510、DOM1h-543またはDOM1h-549のアミノ酸配列と少なくとも95、96、97、98または99%等しいアミノ酸配列を含む抗TNF α 受容体1型(TNFR1; p55)免疫グロブリン単一可変ドメインを提供する。一実施形態では、単一可変ドメインは、DOM1h-510、DOM1h-543またはDOM1h-549である。一実施形態では、この態様による可変ドメインは、本発明の他の任意の態様の特徴を1つまたは複数有し得、本文の開示により、(例えば本明細書の特許請求の範囲に組み込むために)このような特徴を組み合わせることができるものと解釈される。

40

【0068】

1つの態様では、本発明は、抗TNF α 受容体1型(TNFR1; p55)免疫グロブリン単一可変ドメインを提供し、この単一可変ドメインは、以下の変異(Kabatによるナンバリング)を1つもしくは複数含む、DOM1h-574-14の変異体である：

- 30位は、LもしくはFである、
- 52位は、AもしくはTである、
- 52a位は、DもしくはEである、
- 54位は、AもしくはRである、

50

57位は、R、KもしくはAである、
60位は、D、S、TもしくはKである、
61位は、E、HもしくはGである、
62位は、AもしくはTである、
100位は、R、G、N、K、Q、V、A、D、SもしくはVである、ならびに
101位は、A、Q、N、E、V、HもしくはKである。

【0069】

この態様の一実施形態では、変異アミノ酸配列はDOM1h-574のアミノ酸配列と少なくとも98または99%等しい。一実施形態では、変異アミノ酸配列は、DOM1h-574-14のアミノ酸配列と等しいか、または少なくとも98もしくは99%等しい。一実施形態では、この態様による可変ドメインは、本発明の他の任意の態様の特徴を1つまたは複数有し得、本文の開示により、（例えば本明細書の特許請求の範囲に組み込むために）このような特徴を組み合わせることができるものと解釈される。

10

【0070】

1つの態様では、本発明は、101位（Kabatによるナンバリング）にバリンを含む抗TNF α 受容体1型（TNFR1；p55）免疫グロブリン重鎖単一可変ドメインを提供する。本発明者らは、驚くべきことに、V101はTNFR1（例えば、ヒトTNFR1）結合における高いKDと高頻度に関連していることを見出した。一実施形態では、この態様による可変ドメインは、本発明の他の任意の態様の特徴を1つまたは複数有し得、本文の開示により、（例えば本明細書の特許請求の範囲に組み込むために）このような特徴を組み合わせることができるものと解釈される。

20

【0071】

1つの態様では、本発明は、101位（Kabatによるナンバリング）にバリンを含む抗TNF α 受容体1型（TNFR1；p55）免疫グロブリン重鎖単一可変ドメインを提供する。本発明者らは、驚くべきことに、V101はタンパク質分解に対する安定性と高頻度に関連していることを見出した。タンパク質分解に対する安定性およびタンパク質分解に対して安定な免疫グロブリン単一可変ドメインの詳細については、WO2008149144およびWO2008149148（これらの開示全体は参照により本明細書に組み込まれる）で見つけることができ、これらは特に可変ドメインおよび他の抗TNFR1リガンド、アンタゴニストおよび結合ドメインのプロテアーゼ安定性を決定する試験を提示している。一実施形態では、この態様による可変ドメインは、本発明の他の任意の態様の特徴を1つまたは複数有し得、本文の開示により、（例えば本明細書の特許請求の範囲に組み込むために）このような特徴を組み合わせることができるものと解釈される。

30

【0072】

一実施形態では、いずれかの態様による単一可変ドメインは、30G、44D、45P、55D、56R、94Iおよび98R（ナンバリングはKabatによる）のうち1つまたは複数を含む。一実施形態では、可変ドメインは、45P、55D、56R、94Iおよび98R（ナンバリングはKabatによる）を含む。一実施形態では、可変ドメインは、55D、56R、94Iおよび98R（ナンバリングはKabatによる）を含む。一実施形態では、可変ドメインは、55D、94Iおよび98R（ナンバリングはKabatによる）を含む。一実施形態では、可変ドメインは、45P、55D、94Iおよび98R（ナンバリングはKabatによる）を含む。一実施形態では、可変ドメインは、30G、44D、55D、94Iおよび98R（ナンバリングはKabatによる）を含む。

40

【0073】

1つの態様では、本発明は、30G、44D、45P、55D、56R、94Iおよび98R（ナンバリングはKabatによる）のうち1つまたは複数を含む抗TNF α 受容体1型（TNFR1；p55）免疫グロブリン単一可変ドメインを提供し、この単一可変ドメインのアミノ酸配列はその他の点ではDOM1h-574のアミノ酸配列と等しい。一実施形態では、可変ドメインは、ヒト、マウスまたはカニクイザルTNFR1と結合す

50

るために提供される。一実施形態では、可変ドメインは、45P、55D、56R、94Iおよび98R（ナンバリングはKabataによる）を含む。一実施形態では、可変ドメインは、55D、56R、94Iおよび98R（ナンバリングはKabataによる）を含む。一実施形態では、可変ドメインは、55D、94Iおよび98R（ナンバリングはKabataによる）を含む。一実施形態では、可変ドメインは、45P、55D、94Iおよび98R（ナンバリングはKabataによる）を含む。一実施形態では、可変ドメインは、30G、44D、55D、94Iおよび98R（ナンバリングはKabataによる）を含む。

【0074】

1つの態様では、本発明は、DOM1h-574-72、DOM1h-574-156、DOM1h-574-109、DOM1h-574-132、DOM1h-574-135、DOM1h-574-138、DOM1h-574-162またはDOM1h-574-180のアミノ酸配列と等しいか、あるいは少なくとも95、96、97、98または99%等しいアミノ酸配列を含む抗TNF α 受容体1型（TNFR1；p55）免疫グロブリン単一可変ドメインを提供する。この態様は、細胞アッセイ法、例えば標準的MRC5アッセイ法において、TNF α 誘発性IL-8分泌の阻害により測定した；または標準的L929アッセイ法においてTNF α 誘発性細胞毒の阻害により測定した；標準的カニクイザルKIアッセイ法においてTNF α 誘発性IL-8分泌の阻害により測定した、TNFR1（例えば、少なくともヒトTNFR1）の強力な中和剤である可変ドメインを提供する。TNFR1アンタゴニストのための標準的アッセイの詳細については、当技術分野、例えばWO2006038027、WO2008149144およびWO2008149148において知られている。詳細については以下の実施例でも提示する。一実施形態では、本発明は、下表11に示すDOM1h-574を除くDOM1h可変ドメインの任意の1つのアミノ酸配列と少なくとも95、96、97、98または99%等しいアミノ酸配列を含む抗TNF α 受容体1型（TNFR1；p55）免疫グロブリン単一可変ドメインを提供する。一実施形態では、本発明は、DOM1h-574-89～DOM1h-574-179の任意の1つのアミノ酸配列と少なくとも95、96、97、98または99%等しいアミノ酸配列を含む抗TNF α 受容体1型（TNFR1；p55）免疫グロブリン単一可変ドメインを提供する。

【0075】

1つの態様では、本発明は、DOM1h-574-109、DOM1h-574-93、DOM1h-574-123、DOM1h-574-125、DOM1h-574-126またはDOM1h-574-129、DOM1h-574-133、DOM1h-574-137またはDOM1h-574-160のアミノ酸配列と等しいか、あるいは少なくとも94、95、96、97、98もしくは99%等しいアミノ酸配列を含む抗TNF α 受容体1型（TNFR1；p55）免疫グロブリン単一可変ドメインを提供する。この態様は、タンパク質分解に対して安定な可変ドメインを提供する。プロテアーゼ安定性に関しては、上の議論を参照されたい。

【0076】

1つの態様では、本発明は、DOM1h-574-72、DOM1h-574-109、DOM1h-574-125、DOM1h-574-126、DOM1h-574-133、DOM1h-574-135またはDOM1h-574-138、DOM1h-574-139、DOM1h-574-155、DOM1h-574-156、DOM1h-574-162またはDOM1h-574-180のアミノ酸配列と等しいか、あるいは少なくとも95、96、97、98または99%等しいアミノ酸配列を含む抗TNF α 受容体1型（TNFR1；p55）免疫グロブリン単一可変ドメインを提供する。この態様は、ヒトTNFR1と高い親和性で結合し、任意にマウスTNFR1に対しても所望の親和性を示す可変ドメインを提供する。

【0077】

単一可変ドメインは、例えば、TNFR1の非競合阻害剤である。一実施形態では、本

発明のいずれの態様の抗TNFR1単一可変も、（例えば、標準的な受容体結合アッセイ法において）TNFR1（例えば、ヒトTNFR1）に結合するが、TNF α のTNFR1への結合と競合または阻害しない（または実質的に競合もしくは阻害しない）。この実施形態では、1例では、可変ドメインはTNFR1、例えば、ヒトTNFR1のドメイン1に特異的に結合する。この実施形態では、1例では、可変ドメインはTNFR1、例えば、ヒトTNFR1のPLADに特異的に結合する。

【0078】

一実施形態では、本発明のいずれの態様の抗TNFR1単一可変ドメインも、

(i) 表面プラズモン共鳴で測定した解離定数(KD)が500 pM以下、400 pM以下、350 pM以下、300 pM以下、250 pM以下、200 pM以下、もしくは150 pM以下（または約500 pM以下、約400 pM以下、約350 pM以下、約300 pM以下、約250 pM以下、約200 pM以下、もしくは約150 pM以下）でヒトTNFR1に；または

(ii) 表面プラズモン共鳴で測定した解離定数(KD)が500 pM以下、400 pM以下、350 pM以下、300 pM以下、250 pM以下、200 pM以下、もしくは150 pM以下（または約500 pM以下、約400 pM以下、約350 pM以下、約300 pM以下、約250 pM以下、約200 pM以下、もしくは約150 pM以下）で非ヒト霊長類TNFR1（例えば、カニクイザル、アカゲザルもしくはヒヒTNFR1）に；または

(iii) 表面プラズモン共鳴で測定した解離定数(KD)が7 nM以下、6 nM以下、5 nM以下、4 nM以下、3 nM以下、2 nM以下、もしくは1 nM以下（または約7 nM以下、約6 nM以下、約5 nM以下、約4 nM以下、約3 nM以下、約2 nM以下、もしくは約1 nM以下）でマウスTNFR1に

特異的に結合する結合部位を含む。1例では、可変ドメインは(i)および(ii)；(i)および(iii)；(i)、(ii)および(iii)、または(ii)および(iii)により特異的に結合する。

【0079】

一実施形態では、本発明のいずれの態様の単一可変ドメインも、

(a) 表面プラズモン共鳴で測定した解離速度(off-rate)定数(Koff)が $2 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 以下、もしくは $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 以下、もしくは $1 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 以下（または約 $2 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 以下、もしくは約 $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 以下、もしくは約 $1 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 以下）でヒトTNFR1に；

(b) 表面プラズモン共鳴で測定した解離速度(off-rate)定数(Koff)が $2 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 以下、 $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 以下、もしくは $1 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 以下（または約 $2 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 以下、約 $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 以下、もしくは約 $1 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 以下）で非ヒト霊長類TNFR1（例えば、カニクイザル、アカゲザルまたはヒヒTNFR1）に；または

(c) 表面プラズモン共鳴で測定した解離速度(off-rate)定数(Koff)が $1 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 以下、もしくは $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 以下（または約 $1 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 以下、もしくは約 $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 以下）でマウスTNFR1に、

特異的に結合する結合部位を含む。1例では、可変ドメインは(a)および(b)；(a)および(c)；(a)、(b)および(c)、または(b)および(c)により特異的に結合する。

【0080】

一実施形態では、本発明のいずれの態様の単一可変ドメインも、

(a') 表面プラズモン共鳴で測定した会合速度(on-rate)定数(Kon)が $5 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 以上、 $1 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 以上、 $2 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 以上、 $3 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 以上、 $4 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 以上、もしくは $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 以上（または約 $5 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 以上、約 $1 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 以上、約 $2 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 以上、約 $3 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 以上、約 $4 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$

s^{-1} 以上、もしくは約 $5 \times 10^5 M^{-1} s^{-1}$ 以上)でヒトTNFR1に；

(b') 表面プラズモン共鳴で測定した会合速度 (on-rate) 定数 (Kon) が $5 \times 10^4 M^{-1} s^{-1}$ 以上、 $1 \times 10^5 M^{-1} s^{-1}$ 以上、 $2 \times 10^5 M^{-1} s^{-1}$ 以上、 $3 \times 10^5 M^{-1} s^{-1}$ 以上、 $4 \times 10^5 M^{-1} s^{-1}$ 以上、もしくは $5 \times 10^5 M^{-1} s^{-1}$ 以上 (または約 $5 \times 10^4 M^{-1} s^{-1}$ 以上、約 $1 \times 10^5 M^{-1} s^{-1}$ 以上、約 $2 \times 10^5 M^{-1} s^{-1}$ 以上、約 $3 \times 10^5 M^{-1} s^{-1}$ 以上、約 $4 \times 10^5 M^{-1} s^{-1}$ 以上、もしくは約 $5 \times 10^5 M^{-1} s^{-1}$ 以上)で非ヒト霊長類TNFR1 (例えば、カニクイザル、アカゲザルまたはヒヒTNFR1)に；または

(c') 表面プラズモン共鳴で測定した会合速度 (on-rate) 定数 (Kon) が $0.5 \times 10^5 M^{-1} s^{-1}$ 以上、 $1 \times 10^5 M^{-1} s^{-1}$ 以上、もしくは $2 \times 10^5 M^{-1} s^{-1}$ 以上 (または約 $0.5 \times 10^5 M^{-1} s^{-1}$ 以上、約 $1 \times 10^5 M^{-1} s^{-1}$ 以上、もしくは約 $2 \times 10^5 M^{-1} s^{-1}$ 以上)でマウスTNFR1に、特異的に結合する結合部位を含む。1例では、可変ドメインは、(a')および(b')；(a')および(c')；(a')、(b')および(c')、または(b')および(c')により特異的に結合する。

【0081】

一実施形態では、本発明のいずれの態様の単一可変ドメインも、ヒト、カニクイザルおよび任意にイヌTNFR1に特異的に結合する。特異的結合は、 $10 \mu M$ 以下の解離定数 K_d で表され、 $1 \mu M$ 以下の K_d も任意に選択可能である。抗原結合タンパク質の抗原、またはエピトープに対する特異的結合は、例えば、放射性免疫検定法 (RIA) 等のスクリーニング解析、および/または競合的結合アッセイ、ELISA等の酵素免疫測定法、およびサンドイッチ競合的アッセイ、およびこれらの様々な変種、を含む適切なアッセイによって測定可能である。1例では、可変ドメインはマウスTNFR1にも特異的に結合する。

【0082】

本発明のいずれかの態様の一実施形態では、単一可変ドメインは、例えば標準的細胞アッセイ法 (例えば、本明細書またはWO2006038027、WO2008149144もしくはWO2008149148に記載のもの)において、ヒト、カニクイザルおよび任意にイヌTNFR1のDOM1h-574-72、DOM1h-574-109、DOM1h-574-138、DOM1h-574-156、DOM1h-574-162またはDOM1h-574-180への結合を阻害する。本発明のいずれかの態様の一実施形態では、単一可変ドメインは、例えば標準的な受容体結合アッセイ (例えば、本明細書またはWO2006038027、WO2008149144もしくはWO2008149148に記載のもの)において、ヒト、マウス、カニクイザルおよび任意にイヌTNFR1のDOM1h-574-72、DOM1h-574-109、DOM1h-574-138、DOM1h-574-156、DOM1h-574-162またはDOM1h-574-180への結合を阻害する。1例では、これらの実施形態における「阻害する」とは、全阻害 (100%阻害)であっても実質的 (少なくとも90%、95%、98%、または99%)な阻害であってもよい。

【0083】

本発明のいずれかの態様の一実施形態では、抗TNFR1単一可変、アンタゴニスト、リガンドまたはポリペプチドは、標準的MRC5アッセイ法においてTNF α 誘発性IL-8分泌の阻害により測定したND50が5、4、3、2または1nM以下 (または約5、約4、約3、約2または約1nM以下)でTNFR1 (例えば、ヒトTNFR1)を中和する。

【0084】

本発明のいずれかの態様の一実施形態では、抗TNFR1単一可変、アンタゴニスト、リガンドまたはポリペプチドは、標準的L929アッセイ法においてTNF α 誘発性細胞毒の阻害により測定したND50が150、100、50、40、30もしくは20nM以下；または (約) 150~10nM；または (約) 150~20nM；または (約) 1

10

20

30

40

50

10～10 nM；または（約）110～20 nMでTNFR1（例えば、マウスTNFR1）を中和する。

【0085】

本発明のいずれかの態様の一実施形態では、抗TNFR1単一可変、アンタゴニスト、リガンドまたはポリペプチドは、標準的カニクイザルKIアッセイにおいてTNF α 誘発性IL-8分泌の阻害により測定したND50が5、4、3、2もしくは1 nM以下；または（約）5～（約）1 nMでTNFR1（例えば、カニクイザルTNFR1）を中和する。

【0086】

本発明のいずれかの態様の一実施形態では、単一可変ドメインは、末端、任意にC末端に、システイン残基を含む。例えば、システイン残基は、例えば、マレイミド結合を用いてPEGを可変ドメインに結合させるために使用できる（例えば、WO04081026を参照のこと）。本発明のいずれかの態様の一実施形態では、単一可変ドメインは、ポリアルキレングリコール部分、任意にポリエチレングリコール部分に結合している。適切なPEG部分ならびに接合方法および試験については、例えば、WO04081026を参照されたい。これらの開示は、（例えば以下の特許請求の範囲に含まれる特異性PEGの）開示を提供するために本明細書に組み込まれる。

【0087】

1つの態様では、本発明は、DOM1h-574-72、DOM1h-574-109、DOM1h-574-138、DOM1h-574-156、DOM1h-574-162およびDOM1h-574-180のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸配列と等しいか、あるいは選択されたアミノ酸配列とアミノ酸位置が25、20、15、10もしくは5以下異なり、選択されたアミノ酸配列のCDR1配列と等しいか、少なくとも50、60、70、80、90、95もしくは98%等しいCDR1配列を有するアミノ酸配列を含む抗TNF α 受容体1型（TNFR1；p55）免疫グロブリン単一可変ドメインを提供する。一実施形態では、免疫グロブリン単一可変ドメインは、選択されたアミノ酸配列のCDR3配列と等しいか、少なくとも50、60、70、80、90、95もしくは98%等しいCDR3配列を含む。

【0088】

1つの態様では、本発明は、DOM1h-574-72、DOM1h-574-109、DOM1h-574-138、DOM1h-574-156、DOM1h-574-162およびDOM1h-574-180のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸配列と同じか、あるいは選択されたアミノ酸配列とアミノ酸位置が25、20、15、10もしくは5以下異なり、選択されたアミノ酸配列のCDR2配列と等しいか、少なくとも50、60、70、80、90、95もしくは98%等しいCDR2配列を有するアミノ酸配列を含む抗TNF α 受容体1型（TNFR1；p55）免疫グロブリン単一可変ドメインを提供する。一実施形態では、免疫グロブリン単一可変ドメインは、選択されたアミノ酸配列のCDR2配列と等しいか、少なくとも50、60、70、80、90、95もしくは98%等しいCDR2配列を含む。さらに、または代替的に、一実施形態では、免疫グロブリン単一可変ドメインは、選択されたアミノ酸配列のCDR3配列と等しいか、少なくとも50、60、70、80、90、95もしくは98%等しいCDR3配列を含む。さらに、または代替的に、一実施形態では、免疫グロブリン単一可変ドメインは、選択されたアミノ酸配列のCDR1配列と等しいか、少なくとも50、60、70、80、90、95もしくは98%等しいCDR1配列を含む。

【0089】

1つの態様では、本発明は、DOM1h-574-72、DOM1h-574-109、DOM1h-574-138、DOM1h-574-156、DOM1h-574-162およびDOM1h-574-180のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸配列と等しいか、あるいは選択されたアミノ酸配列とアミノ酸位置が25、20、15、10もしくは5以下異なり、選択されたアミノ酸配列のCDR3配列と等しいか、少なくとも50

、60、70、80、90、95もしくは98%等しいCDR3配列を有するアミノ酸配列を含む抗TNF α 受容体1型(TNFR1; p55)免疫グロブリン単一可変ドメインを提供する。

【0090】

1つの態様では、本発明は、プロテアーゼ耐性抗TNF α 受容体1型(TNFR1; p55)免疫グロブリン単一可変ドメインを提供し、この単一可変ドメインは、

(i)少なくとも10 μ g/mlプロテアーゼの濃度(c)、37℃で、少なくとも1時間の時間(t);または

(ii)少なくとも40 μ g/mlプロテアーゼの濃度(c'), 30℃で、少なくとも1時間の時間(t)

でインキュベート時にプロテアーゼ耐性であり、

ここで可変ドメインは、DOM1h-574-126またはDOM1h-574-133のアミノ酸配列と少なくとも94、95、96、97、98または99%等しいアミノ酸配列を含み、任意選択として、101位(Kabatナンバリング)にバリンを含む。別の態様では、本発明は、プロテアーゼ耐性抗TNF α 受容体1型(TNFR1; p55)免疫グロブリン単一可変ドメインを提供し、この単一可変ドメインは、

(i)少なくとも10 μ g/mlプロテアーゼの濃度(c)、37℃で、少なくとも1時間の時間(t);または

(ii)少なくとも40 μ g/mlプロテアーゼの濃度(c'), 30℃で、少なくとも1時間の時間(t)

でインキュベート時にプロテアーゼ耐性であり、

ここで可変ドメインは、DOM1h-574、DOM1h-574-93、DOM1h-574-123、DOM1h-574-125、DOM1h-574-126、DOM1h-574-129、DOM1h-574-133、DOM1h-574-137またはDOM1h-574-160のアミノ酸配列と少なくとも70、75、80、85、90、91、92、93、94、95、96、97、98または99%等しいアミノ酸配列を含み、および任意選択として、101位(Kabatナンバリング)にバリンを含む。

【0091】

これらの態様の一実施形態では、プロテアーゼ耐性抗TNFR1可変ドメインは非競合可変ドメインである(すなわち、TNF α のTNFR1への結合を(実質的に)阻害しない)。非競合可変ドメインに関する上の議論(これらの実施形態にも適用される)を参照のこと。

【0092】

これらの態様の一実施形態では、濃度(cまたはc')は少なくとも100または1000 μ g/mlプロテアーゼである。一実施形態では、時間(t)は1、3もしくは24時間または一晩である。1例では、可変ドメインは、(i)および濃度(c)が10または100 μ g/mlプロテアーゼであり、時間(t)が1時間である条件下で耐性である。1例では、可変ドメインは、(ii)および濃度(c')が40 μ g/mlプロテアーゼであり、時間(t)が3時間である条件下で耐性である。一実施形態では、プロテアーゼはトリプシン、エラスターゼ、ロイコザイムおよびパンクレアチンから選択される。一実施形態では、プロテアーゼはトリプシンである。一実施形態では、可変ドメインはトリプシン耐性であり、エラスターゼ、ロイコザイムおよびパンクレアチンから選択される少なくとも1つの他のプロテアーゼに耐性である。一実施形態では、可変ドメインは、(i)または(ii)条件下でインキュベート後、TNFR1に特異的に結合する。一実施形態では、(i)または(ii)条件下でインキュベート後、ELISAで読みとった可変ドメインのOD₄₅₀は少なくとも0.404である。一実施形態では、(i)または(ii)条件下でインキュベート後、可変ドメインはプロテインAまたはプロテインLに特異的に結合する。一実施形態では、(i)または(ii)条件下でインキュベート後、可変ドメインはゲル電気泳動において実質的に単一のバンドを示す。一実施形態では、単一可変ドメインのT_mは少なくとも50℃である。プロテアーゼ耐性に関する詳細について

10

20

30

40

50

は、WO 2008 149 144 および WO 2008 149 148 で見つけることができる。

【0093】

1つの態様では、本発明は、本発明の免疫グロブリン単一可変ドメインおよびエフェクター基または抗体定常ドメイン、任意に抗体Fc領域（任意にFcのN末端が、可変ドメインのC末端に結合（任意に直接結合）している）を含むポリペプチドに関する。WO 04 05 88 20 に記載の任意の「エフェクター基」を本発明のこの態様に使用でき、WO 04 05 88 20 のエフェクター基の説明、およびその刊行物に開示されている可変ドメインへのそれらの結合方法は参照により明示的に本明細書に組み込まれ、（例えば、本明細書の特許請求の範囲に）使用できる本明細書の説明を提供する。一実施形態では、ポリペプチドは、DOM 1 h-574-16 または DOM 1 h-574-72 のFc融合物を含む。

10

【0094】

1つの態様では、本発明は、本発明の免疫グロブリン単一可変ドメインおよび任意に血清アルブミン（SA）に特異的に結合する少なくとも1つの免疫グロブリン単一可変ドメインを含む多重特異性リガンドに関する。驚くべきことに、本発明者らは、本発明による抗TNFR1単一可変ドメインの抗SA単一可変ドメインへの融合は、（抗TNFR1 dAb単量体単独より）改善された半減期という利点を提供するが、TNFR1結合親和性（KD）改善という便益も付加するということを見出した。この所見は、従来技術においてこれまで開示されていない。この観点から、本発明は、可変ドメイン単量体として提供時（すなわち、抗TNFR1可変ドメインがフォーマットされない、例えば、PEG化しないかまたは抗体定常領域（Fc領域等）に融合せず、任意の他のドメインに融合しない場合）、抗TNFR1免疫グロブリン単一可変ドメインよりも半減期が長く、TNFR1結合（例えば、ヒトTNFR1結合）におけるKDの低いリガンドを提供するため、本発明の抗TNFR1免疫グロブリン単一可変ドメインおよび抗SA（例えば、抗ヒトSA）免疫グロブリン単一可変ドメインを含む多重特異性リガンドを提供する。一実施形態では、多重特異性リガンドはTNFR1の単量体のKDより少なくとも2倍低いKDでTNFR1（例えば、ヒトTNFR1）に結合する。さらにまたは代替的に、一実施形態では、多重特異性リガンドは単量体の半減期の少なくとも5、10、20、30、40、50または100倍の半減期を有する。さらにまたは代替的に、一実施形態では、例えば抗SAドメインがヒトSAと動物由来のSA間で交差反応する場合、多重特異性リガンドは、ヒトにおいて、（例えばヒト志願者において経験的に測定するかまたは動物系（マウス、イヌおよび／または非ヒト霊長類（例えば、カニクイザル、ヒヒ、アカゲザル）等のリガンドの半減期から推定することにより、当業者が精通している従来技術を用いて算出される）少なくとも15、16、17、18、19、20、21、22、23、24または25日間の終末半減期を有する。

20

30

【0095】

本発明の多重特異性リガンドの一実施形態では、リガンドはTNFR1（例えば、ヒトTNFR1）、任意にTNFR1の媒介性シグナル伝達のアンタゴニストである。

【0096】

一実施形態では、本発明は、t β 半減期が2.5時間以上（または約2.5時間以上）の範囲内の本発明による可変ドメイン、多重特異性リガンドまたはアンタゴニストを提供する。一実施形態では、範囲の下端は3時間、4時間、5時間、6時間、7時間、10時間、11時間、または12時間（または約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約10時間、約11時間、もしくは約12時間）である。加えて、または代替的に、t β 半減期は21日間または25日間以内（または約21日間もしくは約25日間以内）である。一実施形態では、範囲の上端は12時間、24時間、2日間、3日間、5日間、10日間、15日間、19日間、20日間、21日間または22日間（または約12時間、約24時間、約2日間、約3日間、約5日間、約10日間、約15日間、約19日間、約20日間、約21日間もしくは約22日間）である。例えば、本発明による可変ドメ

40

50

インまたはアンタゴニストは12～60時間（または約12～約60時間）の範囲内の t_{β} 半減期を有する。さらなる一実施形態では、 t_{β} 半減期は12～48時間（または約12～約48時間）の範囲内に収まる。さらなる一実施形態では、 t_{β} 半減期は12～26時間（または約12～約26時間）の範囲内に収まる。

【0097】

2区画モデリング使用の代替法として、終末半減期を測定するために使用できる無隔壁モデリングの使用に当業者は精通するであろう（この観点から、本明細書で使われている用語「終末半減期」とは、無隔壁モデリングを用いて測定した終末半減期を意味する）。WinNonlin解析パッケージ、例えばバージョン5.1（Pharsight社、マウンテンビュー、カリフォルニア94040、米国から入手可能）を、例えば、この方法で曲線をモデリングするために使用できる。この場合、一実施形態では、単一可変ドメイン、多重特異性リガンドまたはアンタゴニストは、少なくとも（または少なくとも約）8時間、10時間、12時間、15時間、28時間、20時間、1日間、2日間、3日間、7日間、14日間、15日間、16日間、17日間、18日間、19日間、20日間、21日間、22日間、23日間、24日間または25日間の終末半減期を有する。一実施形態では、この範囲の上端は、24時間、48時間、60時間または72時間または120時間（または約24時間、約48時間、約60時間もしくは約72時間もしくは約120時間）である。例えば、終末半減期は、例えば、ヒトで8時間～60時間、または8時間～48時間または12～120時間（または約8時間～約60時間、もしくは約8時間～約48時間もしくは約12～約120時間）である。

【0098】

上の基準に加えて、または上の基準と代替的に、本発明による可変ドメインまたはアンタゴニストは、 $1\text{ mg} \cdot \text{min} / \text{ml}$ 以上（または約 $1\text{ mg} \cdot \text{min} / \text{ml}$ 以上）の範囲内のAUC値（曲線下面積）を有する。一実施形態では、範囲の下端は、5、10、15、20、30、100、200または300 $\text{ mg} \cdot \text{min} / \text{ml}$ （または約5、約10、約15、約20、約30、約100、約200もしくは約300 $\text{ mg} \cdot \text{min} / \text{ml}$ ）である。加えて、または代替的に、本発明による可変ドメイン、多重特異性リガンドまたはアンタゴニストは、最大（または最大約）600 $\text{ mg} \cdot \text{min} / \text{ml}$ の範囲内のAUCを有する。一実施形態では、範囲の上端は、500、400、300、200、150、100、75または50 $\text{ mg} \cdot \text{min} / \text{ml}$ （または約500、約400、約300、約200、約150、約100、約75もしくは約50 $\text{ mg} \cdot \text{min} / \text{ml}$ ）である。有益に可変ドメインまたはアンタゴニストは以下からなる群から選択される範囲のAUCを有する：15～150 $\text{ mg} \cdot \text{min} / \text{ml}$ 、15～100 $\text{ mg} \cdot \text{min} / \text{ml}$ 、15～75 $\text{ mg} \cdot \text{min} / \text{ml}$ 、および15～50 $\text{ mg} \cdot \text{min} / \text{ml}$ （または約15～約150 $\text{ mg} \cdot \text{min} / \text{ml}$ 、約15～約100 $\text{ mg} \cdot \text{min} / \text{ml}$ 、約15～約75 $\text{ mg} \cdot \text{min} / \text{ml}$ 、および約15～約50 $\text{ mg} \cdot \text{min} / \text{ml}$ ）。

【0099】

1つまたは複数の本明細書に引用した t_{α} 、 t_{β} および終末半減期ならびにAUCは、ヒトおよび／または動物（例えば、マウスまたは非ヒト霊長類、例えば、ヒヒ、アカゲザル、カニクイザル）において、PEG、あるいは血清アルブミン、例えばマウスおよび／またはヒト血清アルブミン（SA）に特異的に結合する単一可変ドメイン（または結合部分）のいずれかに結合した1つまたは複数の抗TNFR1単一可変ドメイン（または本明細書に定義した他の結合部分）を提供することにより得ることができる。PEGサイズは、少なくとも（または少なくとも約）20kDa、例えば、30、40、50、60、70または80kDaであり得る。一実施形態では、PEGは40kDa、例えば2×20kDa PEGである。一実施形態では、本明細書に引用した t_{α} 、 t_{β} および終末半減期またはAUCを得るため、抗SA免疫グロブリン単一可変ドメインに結合した抗TNFR1免疫グロブリン単一可変ドメインを含むアンタゴニストを提供する。一実施形態では、PEGは、40kDa、例えば2×20kDa PEGである。例えば、アンタゴニストは、わずか1つのこのような抗TNFR1可変ドメイン、例えばわずか1つの抗SA可

変ドメインに結合した1つのこのようなドメインを含む。一実施形態では、本明細書に引用した $t\alpha$ 、 $t\beta$ および終末半減期もしくはAUCを得るために、PEG、例えば、40～80kDa PEG、例えば、40kDa PEGに結合した抗TNFR1免疫グロブリン単一可変ドメインを含むアンタゴニストを提供する。例えば、アンタゴニストは、わずか1つのこのような抗TNFR1可変ドメイン、例えば40kDa PEGに結合した1つのこのようなドメインを含む。

【0100】

本発明の多重特異性リガンドの一実施形態では、リガンドは、DOM7h-11、DOM7h-11-3、DOM7h-11-12、DOM7h-11-15、DOM7h-14、DOM7h-14-10、DOM7h-14-18またはDOM7m-16の配列と等しいか、少なくとも80、85、90、91、92、93、94、95、96、97、98もしくは99%等しいアミノ酸配列を含む抗SA（例えば、HSA）単一可変ドメインを含む。代替的にまたは追加的に、一実施形態では、多重特異性リガンドは、抗TNFR1単一可変ドメインと抗SA単一可変ドメイン間に提供されたリンカーを含み、このリンカーはアミノ酸配列AST、任意にASTSGPSを含む。あるいは、リンカーはAS(G_4S)_nであり、式中nは、1、2、3、4、5、6、7または8、例えばAS(G_4S)₃である。例えば、リガンドは、(N末端からC末端方向で)DOM1h-574-16-AST-DOM7h-11；またはDOM1h-574-72-ASTSGPS-DOM7m-16；またはDOM1h-574-72-ASTSGPS-DOM7h-11-12を含む。

【0101】

1つの態様では、本発明は、以下を含む多重特異性リガンドを提供する、(i) DOM1h-574-156のアミノ酸配列と等しいか、少なくとも93、94、95、96、97、98もしくは99%等しいアミノ酸配列を含む抗TNF α 受容体1型(TNFR1；p55)免疫グロブリン単一可変ドメイン、(ii)抗血清アルブミン(SA)に特異的に結合する少なくとも1つの抗SA免疫グロブリン単一可変ドメインであり、この抗SA単一可変ドメインは、DOM7h-11-3の配列と等しいか、少なくとも80、85、90、91、92、93、94、95、96、97、98もしくは99%等しいアミノ酸配列を含む、および(iii)任意にここでリンカーが抗TNFR1単一可変ドメインと抗SA単一可変ドメイン間に提供され、このリンカーはアミノ酸配列AST、任意にASTSGPSを含む。あるいは、リンカーはAS(G_4S)_nであり、式中nは、1、2、3、4、5、6、7または8、例えばAS(G_4S)₃である。例えば、リガンドは、任意にASTまたはASTSGPSにより結合するDOM1h-574-156およびDOM7h-11-3を含む。あるいは、リンカーはAS(G_4S)_nであり、式中nは、1、2、3、4、5、6、7または8、例えばAS(G_4S)₃である。この例または態様では、リガンドは、患者への血管内、皮下、筋肉内、腹腔内または吸入投与用に任意に適用される。1例では、リガンドは、(投与前に、任意に希釈剤と混合する)乾燥粉末剤または凍結乾燥組成物として提供される。

【0102】

1つの態様では、本発明は、以下を含む多重特異性リガンドを提供する、(i) DOM1h-574-156のアミノ酸配列と等しいか、少なくとも93、94、95、96、97、98もしくは99%等しいアミノ酸配列を含む抗TNF α 受容体1型(TNFR1；p55)免疫グロブリン単一可変ドメイン、(ii)抗血清アルブミン(SA)に特異的に結合する少なくとも1つの抗SA免疫グロブリン単一可変ドメインであり、この抗SA単一可変ドメインは、DOM7h-14-10の配列と等しいか、少なくとも80、85、90、91、92、93、94、95、96、97、98もしくは99%等しいアミノ酸配列を含む、および(iii)任意にここでリンカーが抗TNFR1単一可変ドメインと抗SA単一可変ドメイン間に提供され、リンカーはアミノ酸配列AST、任意にASTSGPSを含む。あるいは、リンカーはAS(G_4S)_nであり、式中nは、1、2、3、4、5、6、7または8、例えばAS(G_4S)₃である。例えば、リガンドは、A

S TまたはA S T S G P Sにより任意に結合したD O M 1 h - 5 7 4 - 1 5 6およびD O M 7 h - 1 4 - 1 0を含む。あるいは、リンカーはA S (G ₄ S)_nであり、式中nは、1、2、3、4、5、6、7または8、例えばA S (G ₄ S)₃である。この例または態様では、リガンドは、任意に患者への血管内、皮下、筋肉内、腹腔内または吸入投与用に適応する。1例では、リガンドは、(投与前に、任意に希釈剤と混合する)乾燥粉末剤または凍結乾燥組成物として提供される。

【0103】

本発明は、本発明のいずれかの態様または実施形態の単一可変ドメイン、ポリペプチドまたは多重特異性リガンドを含むT N F R 1アンタゴニストを提供する。例えば、本発明のアンタゴニストまたは可変ドメインは、T N F R 1結合1価である。例えば、本発明のアンタゴニストまたは可変ドメインは、標準的S E C - M A L L Sにより測定した1価または実質的に1価である。実質的1価は、標準的S E C - M A L L Sにより測定した非1価形態で存在する可変ドメインまたはアンタゴニストが5、4、3、2または1%以下であることにより示される。

10

【0104】

一実施形態では、本発明のアンタゴニストは、第一および第二の抗T N F R 1免疫グロブリン単一可変ドメインを含み、この各可変ドメインは本発明のいずれかの態様または実施形態による。第一および第二の免疫グロブリン単一可変ドメインは、1例では同一である。別の例ではそれらは異なる。

【0105】

1例では、本発明のアンタゴニストまたはアンタゴニストにおける各抗T N F R 1単一可変ドメインのアミノ酸配列は、D O M 1 h - 5 7 4 - 1 6またはD O M 1 h - 5 7 4 - 7 2と同じアミノ酸配列である。

20

【0106】

1つの態様では、本発明は、経口送達、患者の消化管送達、肺(pulmonary)送達、患者の肺(lung)への送達または全身送達のための、本発明のいずれかの態様による、抗T N F R 1可変ドメインを含むT N F α受容体1型(T N F R 1; p 5 5)アンタゴニストを提供する。別の態様では、本発明は、経口送達のための医薬品の製造における本発明のいずれかの態様のT N F R 1アンタゴニストの使用を提供する。別の態様では、本発明は、患者の消化管送達のための医薬品の製造における本発明のいずれかの態様のT N F R 1アンタゴニストの使用を提供する。アンタゴニストまたは可変ドメインの1例は、トリプシン、エラスターゼおよび/またはパンクレアチン耐性である。

30

【0107】

1つの態様では、本発明は、肺送達のための医薬品の製造における本発明のいずれかの態様のT N F R 1アンタゴニストの使用を提供する。

【0108】

別の態様では、本発明は、患者の肺への送達のための医薬品の製造における本発明のいずれかの態様のT N F R 1アンタゴニストの使用を提供する。1例では、アンタゴニストまたは可変ドメインはロイコザイム耐性である。

【0109】

1つの態様では、本発明は、経口送達、あるいは患者の消化管または患者の肺(lung)もしくは肺(pulmonary)組織への医薬品の送達方法を提供し、この方法は、製薬的有効量の本発明のT N F R 1アンタゴニストを患者に投与することを含む。

40

【0110】

1つの態様では、本発明は、ヒト、マウスまたはカンクイザルT N F R 1に結合するT N F α受容体1型(T N F R 1; p 5 5)アンタゴニストを提供し、このアンタゴニストは、D O M 1 h - 5 7 4 - 7 2、D O M 1 h - 5 7 4 - 1 0 9、D O M 1 h - 5 7 4 - 1 3 8、D O M 1 h - 5 7 4 - 1 5 6、D O M 1 h - 5 7 4 - 1 6 2およびD O M 1 h - 5 7 4 - 1 8 0のC D R 1配列と等しいか、少なくとも50、60、70、80、90、95もしくは98%等しいC D R 1配列を有する。任意選択として、アンタゴニストは、選

50

択された配列のCDR2配列と等しいか、少なくとも50、60、70、80、90、95もしくは98%等しいCDR2配列も有する。任意選択として、さらにまたは代替的に、アンタゴニストは、選択された配列のCDR3配列と等しいか、少なくとも50、60、70、80、90、95もしくは98%等しいCDR3配列も有する。

【0111】

1つの態様では、本発明は、ヒト、マウスまたはカニクイザルTNFR1に結合するTNF α 受容体1型(TNFR1;p55)アンタゴニストを提供し、このアンタゴニストは、DOM1h-574-72、DOM1h-574-109、DOM1h-574-138、DOM1h-574-156、DOM1h-574-162およびDOM1h-574-180のCDR2配列と等しいか、少なくとも50、60、70、80、90、95もしくは98%等しいCDR2配列を有する。任意選択として、アンタゴニストは、選択された配列のCDR3配列と等しいか、少なくとも50、60、70、80、90、95もしくは98%等しいCDR3配列も有する。

10

【0112】

1つの態様では、本発明は、ヒト、マウスまたはカニクイザルTNFR1に結合するTNF α 受容体1型(TNFR1;p55)アンタゴニストを提供し、このアンタゴニストは、DOM1h-574-72、DOM1h-574-109、DOM1h-574-138、DOM1h-574-156、DOM1h-574-162およびDOM1h-574-180のCDR3配列と等しいか、少なくとも50、60、70、80、90、95もしくは98%等しいCDR3配列を有する。

20

【0113】

1つの態様では、本発明は、ヒト、マウスまたはカニクイザルTNFR1に結合するTNF α 受容体1型(TNFR1;p55)アンタゴニストを提供し、このアンタゴニストは、DOM1h-574-72、DOM1h-574-109、DOM1h-574-138、DOM1h-574-156、DOM1h-574-162およびDOM1h-574-180から選択される単一可変ドメインのCDR1、CDR2、および/またはCDR3配列を含む免疫グロブリン単一可変ドメインを含む。

【0114】

本発明は、炎症状態の治療および/または予防のためのいずれかの態様のTNFR1アンタゴニストを提供する。本発明は、炎症状態の治療および/または予防のための医薬品の製造におけるいずれかの態様のTNFR1アンタゴニストの使用を提供する。アンタゴニストまたは使用の一実施形態では、状態は、関節炎、多発性硬化症、炎症腸疾患および慢性閉塞性肺疾患からなる群から選択される。1例では、関節炎は、関節リウマチまたは若年性関節リウマチである。1例では、炎症腸疾患は、クローン病および潰瘍性大腸炎からなる群から選択される。1例では、慢性閉塞性肺疾患は、慢性気管支炎、慢性閉塞気管支炎および気腫からなる群から選択される。1例では、肺炎は細菌性肺炎である。1例では、細菌性肺炎はブドウ球菌性肺炎である。

30

【0115】

本発明は、呼吸疾患の治療および/または予防のためのいずれかの態様のTNFR1アンタゴニストを提供する。本発明は、呼吸疾患の治療および/または予防のための医薬品の製造におけるいずれかの態様のTNFR1アンタゴニストの使用を提供する。1例では、呼吸疾患は、肺炎症、慢性閉塞性肺疾患、喘息、肺炎、過敏性肺炎、好酸球増加を伴う肺湿潤物、環境性肺疾患、肺炎、気管支拡張症、嚢胞性線維症、間質性肺疾患、原発性肺高血圧症、肺血栓塞栓症、胸膜障害、縦隔障害、隔膜障害、換気低下、過呼吸、睡眠時無呼吸、急性呼吸促迫症候群、中皮腫、肉腫、移植片拒絶、移植片対宿主病、肺癌、アレルギー性鼻炎、アレルギー、石綿症、アスペルギルス腫、アスペルギルス症、気管支拡張症、慢性気管支炎、肺気腫、好球性肺炎、特発性肺線維症、浸潤性肺炎球菌疾患、インフルエンザ、非結核性抗酸菌、胸水、塵肺症、ニューモシスチス症、肺炎、肺放線菌症、肺炎球菌肺炎、肺炭疽、肺水腫、肺塞栓症、肺炎症、肺ヒスチオサイトーシスX、肺高血圧、肺ノカルジア症、肺結核症、肺静脈の閉塞性疾患、リウマチ性肺疾患、サルコイドーシ

40

50

ス、およびウェゲナー肉芽腫症からなる群から選択される。

【0116】

1つの態様では、本発明のいずれかの態様の抗TNFR1アンタゴニスト、単一可変ドメイン、ポリペプチドまたは多重特異性リガンドは、NSICCTKCHKGTLYL、NSICCTKCHKGTLYL、CRKNQYRHYWSENLFOおよびNQYRHYWSENLFQCFからなる群から選択されるTNFR1のエピトープ配列の1つまたは複数を標的とするために提供される。1例では、抗TNFR1アンタゴニスト、単一可変ドメイン、ポリペプチドまたは多重特異性リガンドは、NSICCTKCHKGTLYLを標的とするために提供される。1例では、抗TNFR1アンタゴニスト、単一可変ドメイン、ポリペプチドまたは多重特異性リガンドは、CRKNQYRHYWSENLFOを標的とするために提供される。1例では、抗TNFR1アンタゴニスト、単一可変ドメイン、ポリペプチドまたは多重特異性リガンドは、NQYRHYWSENLFQCFを標的とするために提供される。1例では、抗TNFR1アンタゴニスト、単一可変ドメイン、ポリペプチドまたは多重特異性リガンドは、CRKNQYRHYWSENLFOおよびNQYRHYWSENLFQCFを標的とするために提供される。1例では、抗TNFR1アンタゴニスト、単一可変ドメイン、ポリペプチドまたは多重特異性リガンドは、NSICCTKCHKGTLYL、CRKNQYRHYWSENLFOおよびNQYRHYWSENLFQCFを標的とするために提供される。1例では、抗TNFR1アンタゴニスト、単一可変ドメイン、ポリペプチドまたは多重特異性リガンドは、NSICCTKCHKGTLYL、CRKNQYRHYWSENLFOおよびNQYRHYWSENLFQCFを標的とするために提供される。1例では、このような標的は上述の任意の状態または疾患を治療および／または予防するためである。1つの態様では、本発明は、患者における上述の任意の状態または疾患を治療および／または予防する方法を提供し、この方法は、先に述べたいずれかの実施形態に記載のとおり、TNFR1のエピトープ配列の1つまたは複数を標的とする本発明の抗TNFR1アンタゴニスト、単一可変ドメイン、ポリペプチドまたは多重特異性リガンドを患者に投与することを含む。

【0117】

ポリペプチド、dAbおよびアンタゴニスト

ポリペプチド、リガンド、dAb、リガンドまたはアンタゴニストは、大腸菌またはピキア(Pichia)種(例えば、P. パストリス(pastoris))に発現し得る。一実施形態では、リガンドまたはdAb単量体は大腸菌またはピキア種(例えば、P. パストリス)中に発現時、少なくとも約0.5mg/Lの量で分泌される。本明細書に記載のリガンドおよびdAb単量体は、大腸菌またはピキア種(例えば、P. パストリス)中に発現時に分泌し得るが、それらは大腸菌またはピキア種を用いない任意の適切な方法(化学合成法または生物学的産生法等)を用いて産生し得る。

【0118】

一部の実施形態では、ポリペプチド、リガンド、dAb、リガンドまたはアンタゴニストはラクダ科免疫グロブリン可変ドメイン、またはラクダ科生殖系列抗体遺伝子セグメント、例えば108位、37位、44位、45位および／もしくは47位によりコードされる免疫グロブリン可変ドメインに独特な1つもしくは複数のフレームワークアミノ酸を含まない。一実施形態では、本発明の抗TNFR1可変ドメインは、Kababによる44位にG残基を含み、任意に他の位置、例えば37位または103位に1つまたは複数のラクダ科特異性アミノ酸を含む。

【0119】

本発明によるTNFR1のアンタゴニストは、1価であっても多価であってもよい。一部の実施形態では、アンタゴニストは1価であり、TNFR1と相互作用する1つの結合部位、本発明のポリペプチドまたはdAbにより提供された結合部位を含む。1価アンタゴニストは1つのTNFR1と結合し、受容体の活性化およびシグナル伝達に至り得る細

胞表面上のTNFR1の架橋または凝集を誘発しなくてもよい。

【0120】

他の実施形態では、TNFR1のアンタゴニストは多価である。TNFR1の多価アンタゴニストはTNFR1の特定の結合部位のコピーを2つ以上含んでもよく、TNFR1と結合する2つ以上の異なる結合部位、本発明のポリペプチドまたはdAbにより提供された少なくとも1つの結合部位を含んでもよい。例えば、本明細書に記載のように、TNFR1のアンタゴニストは、TNFR1と結合する本発明の特定のポリペプチドもしくはdAbのコピーを2つ以上、またはTNFR1と結合する本発明の異なるポリペプチドもしくはdAbを2つ以上含む二量体、三量体もしくは多量体であり得る。一実施形態では、TNFR1の多価アンタゴニストは標準的細胞アッセイ法においてTNFR1を実質的に刺激しない（TNFR1のアゴニストとして作用しない）（すなわち、アッセイ法において、1 nM、10 nM、100 nM、1 μM、10 μM、100 μM、1000 μMまたは5,000 μMの濃度で存在時、TNFα（100 pg/ml）により誘発されるTNFR1媒介性活性は約5%以下である）。

10

【0121】

特定の実施形態では、TNFR1の多価アンタゴニストはTNFR1の所望のエピトープまたはドメインの結合部位を2つ以上含む。例えば、TNFR1の多価アンタゴニストはTNFR1のドメイン1の同一エピトープに結合する結合部位を2つ以上含み得る。

【0122】

他の実施形態では、TNFR1の多価アンタゴニストは、TNFR1の異なるエピトープまたはドメインに結合する本発明のポリペプチドまたはdAbにより提供された結合部位を2つ以上含む。一実施形態では、このような多価アンタゴニストはWO2006038027に記載の標準的L929細胞毒アッセイまたは標準的HeLa IL-8アッセイにおいて約1 nM、または約10 nM、または約100 nM、または約1 μM、または約10 μMの濃度で存在時にTNFR1を刺激しない。

20

【0123】

TNFR1の他のアンタゴニストは、TNFαのTNFR1への結合を阻害しない。このようなリガンド（およびアンタゴニスト）は、試料中TNFR1と結合し検出するため、定量化もしくは測定するために使用することができ、TNFR1への結合について試料中TNFと競合しないため、診断薬としての用途を有し得る。したがって、試料中のTNFR1が存在するかどうか、またはTNFR1がどの程度存在するかについて正確に測定することができる。

30

【0124】

他の実施形態では、ポリペプチド、リガンド、dAbまたはアンタゴニストはTNFR1と結合し、標準的細胞アッセイ法においてTNFR1活性と $ND_{50} \leq 100$ nMで拮抗し、dAbは当該アッセイ法において ≤ 10 μMの濃度でTNFR1活性を $\leq 5\%$ 刺激する。

【0125】

具体的な実施形態では、ポリペプチド、リガンド、dAbまたはアンタゴニストは、標準的細胞アッセイ法において、TNFR1を実質的に刺激しない（TNFR1のアゴニストとして作用しない）（すなわち、当該アッセイ法において、1 nM、10 nM、100 nM、1 μM、10 μM、100 μM、1000 μMまたは5,000 μMの濃度で存在時、TNFα（100 pg/ml）により誘発されるTNFR1媒介性活性は約5%以下である）。

40

【0126】

特定の実施形態では、本発明のポリペプチド、リガンド、dAbまたはアンタゴニストは、有効量を投与時、慢性炎症性疾患モデルにおいて効果的である。一般に有効量は、約1 mg/kg～約10 mg/kg（例えば、約1 mg/kg、約2 mg/kg、約3 mg/kg、約4 mg/kg、約5 mg/kg、約6 mg/kg、約7 mg/kg、約8 mg/kg、約9 mg/kg、または約10 mg/kg）である。慢性炎症性疾患モデル（W

50

WO 2006038027に記載のものを参照のこと）はヒトにおける治療的有効性を予測することが当業者により認識されている。

【0127】

具体的な実施形態では、ポリペプチド、リガンド、dAbまたはアンタゴニストは、標準的マウスコラーゲン誘発性関節炎モデルにおいて効果的である（モデルの詳細については、WO 2006038027を参照のこと）。例えば、有効量のポリペプチド、リガンド、dAbまたはアンタゴニストの投与は、標準的マウスコラーゲン誘発性関節炎モデルにおいて4肢加重の平均関節炎スコアを、例えば、適切な対照に比べ約1～約16、約3～約16、約6～約16、約9～約16、または約12～約16減らし得る。別の例では、有効量のポリペプチド、リガンド、dAbまたはアンタゴニストの投与は、標準的マウスコラーゲン誘発性関節炎モデルにおいて、関節炎症状の発現を、例えば、適切な対照に比べ約1日間、約2日間、約3日間、約4日間、約5日間、約6日間、約7日間、約10日間、約14日間、約21日間または約28日間遅延化し得る。別の例では、有効量のポリペプチド、リガンド、dAbまたはアンタゴニストの投与により、標準的マウスコラーゲン誘発性関節炎モデルにおいて4肢加重の平均関節炎スコアは0～約3、約3～約5、約5～約7、約7～約15、約9～約15、約10～約15、約12～約15、または約14～約15となり得る。

【0128】

他の実施形態では、ポリペプチド、リガンド、dAbまたはアンタゴニストは、マウスΔAREの関節炎モデルにおいて効果的である（モデルの詳細についてはWO 2006038027を参照のこと）。例えば、有効量のポリペプチド、リガンド、dAbまたはアンタゴニストの投与は、マウスΔAREの関節炎モデルにおいて、平均関節炎スコアを、例えば、適切な対照に比べ約0.1～約2.5、約0.5～約2.5、約1～約2.5、約1.5～約2.5、または約2～約2.5減らし得る。別の例では、有効量のポリペプチド、リガンド、dAbまたはアンタゴニストの投与は、マウスΔAREの関節炎モデルにおいて、関節炎症状の発現を、例えば、適切な対照に比べ約1日間、約2日間、約3日間、約4日間、約5日間、約6日間、約7日間、約10日間、約14日間、約21日間または約28日間遅延化し得る。別の例では、有効量のポリペプチド、リガンド、dAbまたはアンタゴニストの投与は、マウスΔAREの関節炎モデルにおいて、平均関節炎スコアは0～約0.5、約0.5～約1、約1～約1.5、約1.5～約2、または約2～約2.5となり得る。

【0129】

他の実施形態では、ポリペプチド、リガンド、dAbまたはアンタゴニストは、マウスΔAREの炎症腸疾患（IBD）モデルにおいて効果的である（モデルの詳細についてはWO 2006038027を参照のこと）。例えば、有効量のポリペプチド、リガンド、dAbまたはアンタゴニストの投与は、マウスΔAREのIBDモデルにおいて、平均急性および／または慢性炎症スコアを、例えば、適切な対照に比べ約0.1～約2.5、約0.5～約2.5、約1～約2.5、約1.5～約2.5、または約2～約2.5減らし得る。別の例では、有効量のポリペプチド、リガンド、dAbまたはアンタゴニストの投与は、マウスΔAREのIBDモデルにおいて、IBD症状の発現を、例えば、適切な対照に比べ約1日間、約2日間、約3日間、約4日間、約5日間、約6日間、約7日間、約10日間、約14日間、約21日間または約28日間遅延化し得る。別の例では、有効量のポリペプチド、リガンド、dAbまたはアンタゴニストの投与は、マウスΔAREのIBDモデルにおいて、平均急性および／または慢性炎症スコアは0～約0.5、約0.5～約1、約1～約1.5、約1.5～約2、または約2～約2.5となり得る。

【0130】

他の実施形態では、ポリペプチド、リガンド、dAbまたはアンタゴニストは、マウスのデキストラン硫酸ナトリウム（DSS）誘発性IBDモデルにおいて効果的である（モデルの詳細についてはWO 2006038027を参照のこと）。例えば、有効量のポリペプチド、リガンド、dAbまたはアンタゴニストの投与は、マウスDSSのIBDモデ

ルにおいて、平均重症度スコアを、例えば、適切な対照に比べ約0.1～約2.5、約0.5～約2.5、約1～約2.5、約1.5～約2.5、または約2～約2.5減らし得る。別の例では、有効量のポリペプチド、リガンド、dAbまたはアンタゴニストの投与は、マウスDSSのIBDモデルにおいて、IBD症状の発現を、例えば、適切な対照に比べ約1日間、約2日間、約3日間、約4日間、約5日間、約6日間、約7日間、約10日間、約14日間、約21日間または約28日間遅延化し得る。別の例では、有効量のポリペプチド、リガンド、dAbまたはアンタゴニストの投与は、マウスDSSのIBDモデルにおいて、平均重症度スコアは0～約0.5、約0.5～約1、約1～約1.5、約1.5～約2、または約2～約2.5となり得る。

【0131】

具体的な実施形態では、ポリペプチド、リガンド、dAbまたはアンタゴニストは、マウス喫煙の慢性閉塞性肺疾患（COPD）モデルにおいて効果的である（モデルの詳細についてはWO2006038027およびWO2007049017を参照のこと）。例えば、有効量のリガンドの投与は、COPD症状の発現を適切な対照に比べ減らし得るかまたは遅延化し得る。

【0132】

TNFR1のアンタゴニスト（例えば、リガンド、抗体またはその結合タンパク質）の疾患に対する保護または疾患の治療における有効性をスクリーニングするために使用できる動物モデル系が入手可能である。感受性マウスにおける全身性エリテマトーデス（SLE）の試験方法は当技術分野において知られている（Knight et al. (1978) J. Exp. Med., 147: 1653; Reinersten et al. (1978) New Eng. J. Med., 299: 515）。重症筋無力症（MG）は、SJL/J雌マウスにおいて別の種由来の溶解性AchRタンパク質によって疾患を誘発することにより試験される（Lindstrom et al. (1988) Adv. Immunol., 42: 233）。関節炎は、感受性系統マウスにII型コラーゲンを注入することにより誘発される（Stuart et al. (1984) Ann. Rev. Immunol., 42: 233）。感受性ラットにマイコバクテリア熱ショックタンパク質を注入することによりアジュバント関節炎が誘発されるモデルについて記載されている（Van Eden et al. (1988) Nature, 331: 171）。甲状腺炎は、記載されているようにマウスにチログロブリンを投与して誘発される（Maron et al. (1980) J. Exp. Med., 152: 1115）。インシュリン依存性糖尿病（IDDM）は、Kanasawa et al. (1984) Diabetologia, 27: 113に記載されているもの等、ある系統のマウスにおいて自然に発現するかまたは誘発することができる。マウスおよびラットにおけるEAEは、ヒトのMSモデルとしての役割を果たす。このモデルでは、ミエリン塩基性タンパク質の投与により脱髄疾患が誘発される（Paterson (1986) Textbook of Immunopathology, Mischer et al., eds., Grune and Stratton, New York, pp. 179-213; McFarlin et al. (1973) Science, 179: 478; およびSato et al. (1987) J. Immunol., 138: 179を参照のこと）。

【0133】

一般的には、当該リガンド（例えば、アンタゴニスト）は、薬学的に適切なキャリアと共に精製形態で使用する。典型的に、これらのキャリアとしては、水性もしくはアルコール性／水溶液、エマルジョンまたは懸濁液、生理食塩水および／もしくは緩衝液を含む任意のものが挙げられる。非経口ビヒクルとしては、塩化ナトリウム溶液、リンガーデキストロース、デキストロースおよび塩化ナトリウムならびに乳酸リンガーが挙げられる。必要な場合、懸濁液中にポリペプチド複合体を保つため、生理学的に許容可能な適切なアジュバントを増粘剤（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

10

20

30

40

50

びアルギネート等)から選択できる。

【0134】

静脈内ビヒクルは、流体および栄養補充液および電解質補充液（リンガーデキストロースに基づくもの等）を含む。保存料および他の追加剤（抗菌剤、抗酸化剤、キレート剤および不活性気体等）も存在し得る（Mac k (1982) Remington's Pharmaceutical Sciences, 第16版）。徐放製剤を含む様々な適切な製剤を使用できる。

【0135】

本発明のリガンド（例えば、アンタゴニスト）は、他剤と別々に投与する組成物として用いても他剤と配合して用いてもよい。他剤としては、様々な免疫治療剤（シクロスポリン、メトトレキサート、アドリマイシンまたはシスプラチン等）、および免疫毒素を挙げることができる。医薬組成物は、投与前に貯蔵されていたかどうかを問わず、本発明のリガンドと併用した様々な細胞毒もしくは他剤の「混合物」を含んでもよいし、異なる特異性を有する本発明によるリガンド（異なる標的抗原またはエピトープを用いて選択されたリガンド等）の組み合わせさえも含んでよい。

【0136】

本発明による医薬組成物の投与経路は当業者に一般に知られている任意のものでよい。療法（免疫療法が挙げられるが、これに限定されない）において、標準的な技術に従い、本発明のその選択されたリガンドを任意の患者に投与できる。

【0137】

投与は、非経口、静脈内、筋肉内、腹腔内、皮下、経皮、経肺、または適切に、カテーテルによる直接注入を含む任意の適切な方法であってよい。投与量および投与頻度は、患者の年齢、性別および状態、他の薬剤の同時投与、禁忌ならびに臨床医が考慮する他の変数に依存する。投与は、適応があれば、局所投与（例えば、肺投与（例えば、鼻腔内投与）による肺への局所送達）であっても全身投与であってもよい。

【0138】

本発明のリガンドは、保存用に凍結乾燥して使用前に適切なキャリア中で再構成できる。この技術は有効であることが従来の免疫グロブリンで示されており、当技術分野で知られている凍結乾燥および再構成技術を用いてよい。凍結乾燥および再構成により様々な程度で抗体活性が損失する可能性があり（例えば従来の免疫グロブリンであるIgM抗体は、IgG抗体よりも活性損失度が大きい傾向がある）、これを補うために使用レベルを上方調整する必要がある場合があることが当業者により理解されるであろう。

【0139】

当該リガンド（例えば、アンタゴニスト）またはその混合物を含む組成物は、予防的および／または治療的処置において投与できる。ある治療的適応では、選択された細胞集団の少なくとも部分的な阻害、抑制、調節、死滅化、または他のいくつかの測定可能な変数を達成するための適量は、「治療的有效量」として定義する。この投与量に達するために必要な量は疾患の重症度および患者自体の免疫系の全体状態に依存するが、一般に0.005~10.0mgのリガンド、例えばdAbまたはアンタゴニスト/kg体重の範囲であり、0.05~2.0mg/kg/回の用量がより一般に使用される。予防的適応では、当該リガンドまたはその混合物を含む組成物は、疾患の発現を予防、阻害または遅延化するため（例えば、寛解もしくは静止状態を持続するため、または急性期を予防するため）類似したまたはわずかに低い投与量で投与してもよい。熟練臨床医は疾患を治療、抑制または予防するために適切な投薬間隔を決定できるであろう。慢性炎症性疾患を治療、抑制または予防するためにTNFR1のリガンド（例えば、アンタゴニスト）を投与時、1日当たり最大4回、週2回、週1回、隔週、月1回、または隔月で、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

10 mg/kg、約10 µg/kg～約10 mg/kg、約10 µg/kg～約5 mg/kg、約10 µg/kg～約2.5 mg/kg、約1 mg/kg、約2 mg/kg、約3 mg/kg、約4 mg/kg、約5 mg/kg、約6 mg/kg、約7 mg/kg、約8 mg/kg、約9 mg/kgまたは約10 mg/kgの用量で投与できる。具体的な実施形態では、慢性炎症性疾患を治療、抑制または予防するためにTNFR1のリガンド（例えば、アンタゴニスト）を隔週または月1回、約10 µg/kg～約10 mg/kg（例えば、約10 µg/kg、約100 µg/kg、約1 mg/kg、約2 mg/kg、約3 mg/kg、約4 mg/kg、約5 mg/kg、約6 mg/kg、約7 mg/kg、約8 mg/kg、約9 mg/kgまたは約10 mg/kg）の用量で投与する。

【0140】

本明細書に記載の組成物を用いて実施した治療または療法は、治療前に存在するこのような症状と比較して、またはこのような組成物で治療しない個体（ヒトまたはモデル動物）もしくは他の適切な対照のこのような症状と比較して、1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1点）低減した場合、「効果的」とみなされる。症状は当然、標的の疾患または障害に応じて変わるが、熟練臨床医または専門家により測定できる。このような症状は、例えば、疾患または障害の1つまたは複数の生化学的指標レベル（例えば、疾患と関連する酵素または代謝産物レベル、患部細胞数等）をモニタリングすることにより、物理的徴候（例えば、炎症、腫瘍サイズ等）をモニタリングすることにより、または承認された臨床評価尺度、例えば、拡大障害状態尺度（多発性硬化症向け）、アービン炎症腸疾患質問票（腸機能、全身症状、社会的機能および感情状態に関する生活の質を評価する32点評価、スコア範囲32～224点、スコアが高いほど良好な生活の質を示す）、生活の質関節リウマチ尺度、または当技術分野で知られている他の承認された臨床評価尺度により測定できる。疾患または障害症状の少なくとも10%または所与の臨床尺度の1点以上の持続した（例えば、1日以上、またはより長い）低減は、「効果的」治療の指標である。同様に、本明細書に記載の組成物を用いて実施した予防は、1つまたは複数の症状の発現または重症度がこの組成物で治療しない類似した個体（ヒトまたは動物モデル）のこのような症状と比較して遅延化、低減または根絶した場合、「効果的」である。

【0141】

本発明によるリガンド（例えば、アンタゴニスト）またはその混合物を含む組成物を、哺乳動物内で選択する標的細胞集団の改変、不活性化、死滅化または除去を補助するための予防的および治療的処置において使用できる。加えて、本明細書に記載のポリペプチドの選択されたレパートリーは、細胞のヘテロ集団由来の標的細胞集団を死滅させる、枯渇させるかあるいは効果的に除去するために体外またはインビトロで選択的に使用できる。哺乳動物由来の血液は、体外でリガンドと組み合わせ、それによって標準的な技術に従い哺乳動物に戻すために血液中の望ましくない細胞を死滅させるかあるいは除去できる。

【0142】

本発明によるリガンド（例えば、アンタゴニスト）を含む組成物は、哺乳動物内で選択する標的細胞集団の改変、不活性化、死滅化または除去を補助する予防的および治療的処置において使用できる。

【0143】

リガンド（例えば、抗TNFR1アンタゴニスト、dAb単量体）は、1つまたは複数の追加の治療薬または活性剤と共に投与およびまたは製剤化できる。リガンド（例えば、dAb）は、追加の治療薬と投与時、追加薬の投与前、投与と同時にまたは投与後に投与できる。一般的には、リガンドと追加薬は、治療効果の重複をもたらすように投与する。

【0144】

一実施形態では、本発明は、本発明によるTNFR1のポリペプチド、リガンド、dAbまたはアンタゴニストの治療的有効量または投与量を、それらが必要な哺乳動物へ投与することを含む慢性炎症性疾患を治療、抑制、または予防する方法である。

【0145】

一実施形態では、本発明は、本発明によるTNFR1のポリペプチド、リガンド、dAbまたはアンタゴニストの治療的有効量または投与量を、それらが必要な哺乳動物へ投与することを含む関節炎（例えば、関節リウマチ、若年性関節リウマチ、強直性脊椎炎、乾癬性関節炎）を治療、抑制、または予防する方法である。

【0146】

別の実施形態では、本発明は、本発明によるTNFR1のポリペプチド、リガンド、dAbまたはアンタゴニストの治療的有効量または投与量を、それらが必要な哺乳動物へ投与することを含む乾癬を治療、抑制、または予防する方法である。

【0147】

別の実施形態では、本発明は、本発明によるTNFR1のポリペプチド、リガンド、dAbまたはアンタゴニストの治療的有効量または投与量を、それらが必要な哺乳動物へ投与することを含む炎症腸疾患（例えば、クローン病、潰瘍性大腸炎）を治療、抑制、または予防する方法である。

【0148】

別の実施形態では、本発明は、本発明によるTNFR1のポリペプチド、リガンド、dAbまたはアンタゴニストの治療的有効量または投与量を、それらが必要な哺乳動物へ投与することを含む慢性閉塞性肺疾患（例えば、慢性気管支炎、慢性閉塞気管支炎、気腫）を治療、抑制、または予防する方法である。

【0149】

別の実施形態では、本発明は、本発明によるTNFR1のポリペプチド、リガンド、dAbまたはアンタゴニストの治療的有効量または投与量を、それらが必要な哺乳動物へ投与することを含む肺炎（例えば、細菌性肺炎（ブドウ球菌性肺炎等））を治療、抑制、または予防する方法である。

【0150】

本発明は、慢性閉塞性肺疾患、および肺炎に加えて他の肺疾患を治療、抑制、または予防する方法を提供する。本発明に従い治療、抑制または予防し得る他の肺疾患は、例えば、嚢胞性線維症および喘息（例えば、ステロイド耐性喘息）を含む。したがって、別の実施形態では、本発明は、本発明によるTNFR1のポリペプチド、リガンド、dAbまたはアンタゴニストの治療的有効量または投与量を、それらが必要な哺乳動物へ投与することを含む肺疾患（例えば、嚢胞性線維症、喘息）を治療、抑制、または予防する方法である。

【0151】

具体的な実施形態では、TNFR1のアンタゴニストは吸入（例えば、気管支内、鼻腔内または経口吸入、鼻腔内点滴）等の肺送達または全身送達（例えば、非経口、静脈内、筋肉内、腹腔内、皮下）で投与される。

【0152】

別の実施形態では、本発明は、本発明によるTNFR1のポリペプチド、リガンド、dAbまたはアンタゴニストの治療的有効量または投与量を、それらが必要な哺乳動物へ投与することを含む敗血性ショックを治療、抑制、または予防する方法である。

【0153】

本発明のさらなる態様では、本発明によるポリペプチド、リガンド、dAbもしくはTNFR1のアンタゴニストならびに薬学的に許容可能なキャリア、希釈剤もしくは賦形剤を含む組成物を提供する。

【0154】

さらに、本発明は、本発明によるポリペプチド、リガンド、dAbもしくはTNFR1のアンタゴニストまたは組成物を用いる疾患の治療方法を提供する。一実施形態では、疾患は癌または炎症性疾患、例えば関節リウマチ、喘息もしくはクローン病である。

【0155】

本発明のさらなる態様では、本発明によるポリペプチド、単一可変ドメイン、リガンドもしくはアンタゴニストならびに薬学的に許容可能なキャリア、希釈剤もしくは賦形剤を

10

20

30

40

50

含む組成物を提供する。

【0156】

具体的な実施形態では、ポリペプチド、リガンド、単一可変ドメイン、アンタゴニストまたは組成物は吸入（例えば、気管支内、鼻腔内または経口吸入、鼻腔内点滴）等の肺送達または全身送達（例えば、非経口、静脈内、筋肉内、腹腔内、皮下）で投与される。

【0157】

本発明のある態様では、本発明によるポリペプチド、単一可変ドメイン、リガンド、組成物、またはアンタゴニストを含む肺送達機器を提供する。この機器は、吸入器、または鼻腔内投与機器であってもよい。

【0158】

他の実施形態では、本明細書に記述されたいずれのリガンド（例えば、アンタゴニスト、または単一可変ドメイン）もポリアルキレングリコール部分、血清アルブミンまたはこれらの断片のような半減期延長部分、トランスフェリン受容体またはそのトランスフェリン結合部分、もしくはインビボで半減期を延長するポリペプチドのための結合部位を含む部分、をさらに含む。一部の実施形態では、半減期延長部分は、インビボで半減期を延長するポリペプチドのための結合部位を含む部分である。このポリペプチドは、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、およびアビマーからなる群から選ばれる。

【0159】

他の実施形態では、半減期延長部分は、ポリエチレングリコール部分である。一実施形態では、アンタゴニストは、ポリエチレングリコール部分（任意選択として、部分の大きさが約20～約50kDa、任意選択として約40kDa直鎖、または分岐PEGである）に結合している本発明の単一可変ドメインを含む（成分として含有を選択してもよい）。dAbと結合部分のPEG化に関する詳細についてはWO04081026を参照されたい。一実施形態では、アンタゴニストはPEGに結合したdAb単量体から成る。ここで、dAb単量体は本発明による単一可変ドメインである。このアンタゴニストは、炎症性疾患、肺疾患（例えば、喘息、インフルエンザ、またはCOPD）、または癌の治療用に提供されるが、任意選択で静脈内投与用としてもよい。

【0160】

他の実施形態では、半減期延長部分は抗体または抗体断片（例えば、免疫グロブリン単一可変ドメイン）で、血清アルブミンまたは新生児Fc受容体のための結合部位を含む。

【0161】

また、本発明は、本発明のリガンド（例えば、アンタゴニストまたは単一可変ドメイン）および生理学的に受容可能なキャリアを含む組成物（例えば、医薬組成物）に関する。一部の実施形態では、組成物は、静脈内、筋肉内、腹腔内、動脈内、硬腔内、関節内、皮下投与、肺、鼻腔内、腔、または直腸への投与、のためのビヒクルを含む。

【0162】

また、本発明は、本発明の組成物（例えば、医薬組成物）を含む薬剤送達機器に関する。一部の実施形態では、薬剤送達機器は、複数の治療的有効量のリガンドを含む。他の実施形態では、薬剤送達機器は、非経口送達機器、静脈内送達機器、筋肉内送達機器、腹腔内送達機器、経皮的送達機器、肺送達機器、動脈内送達機器、硬腔内送達機器、関節内送達機器、皮下送達機器、鼻腔内送達機器、腔送達機器、直腸内送達機器、注射器、経皮送達機器、カプセル、タブレット、噴霧器、吸引器、霧吹き、エアロゾル投与器、噴霧器（ミスター）、ドライパウダー吸入器、定量吸入器、定量噴霧器、定量噴霧器（定量ミスター）、定量霧吹き、およびカテーテル、からなる群より選択される。

【0163】

本発明のリガンド（例えば、単一可変ドメイン、アンタゴニストまたは多重特異性リガンド）は、本明細書に記載されているようなフォーマットにすることができる。例えば、本発明のリガンドはインビボ血清半減期を調整するフォーマットにできる。本明細書に記載されているように、必要に応じ、リガンドがさらに毒素、または毒素部分を含むことも

10

20

30

40

50

可能である。一部の実施形態では、リガンドは、フリーラジカル生成剤（例えば、セレンウム含有毒素）または放射性核種等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、細胞内標的に対し結合特異性のある結合部位を有するポリペプチドドメイン（例えば d A b）である。特定の実施形態では、リガンドは、T N F R 1（例えば、ヒト T N F R 1）に対する結合特異性を有する I g G 様フォーマットである。

【0164】

ある態様では、本発明は、本発明の単一可変ドメインを含む融合タンパク質を提供する。可変ドメインは、例えばペプチドやポリペプチド、またはタンパク質と融合できる。一実施形態では、可変ドメインは、例えばモノクローナル抗体等の抗体、または抗体断片と融合する。一般的に、融合は、単一核酸配列から融合産物を発現させるか、または、単一可変ドメインを含むポリペプチドを発現させ、次いで従来の技術を使って、このポリペプチドをより大きなタンパク質または抗体のフォーマットに組みあげることにより達成される。

【0165】

一実施形態では、免疫グロブリン単一可変ドメイン、アンタゴニスト、または融合タンパク質は、抗体定常ドメインを含む。一実施形態では、免疫グロブリン単一可変ドメイン、アンタゴニスト、または融合タンパク質は、抗体 F_C を含み、この場合、F_C の N 末端が可変ドメインの C 末端に結合（直接結合も任意選択できる）していることも任意に選択可能である。一実施形態では、免疫グロブリン単一可変ドメイン、アンタゴニスト、または融合タンパク質は、半減期延長部分を含む。半減期延長部分は、ポリエチレングリコール部分、血清アルブミンまたはその断片、トランスフェリン受容体またはそのトランスフェリン結合部、あるいはインビボ半減期を延長するポリペプチドのための結合部位を含む抗体または抗体断片であってもよい。半減期延長部分は、血清アルブミン、または新生児 F_C 受容体に対する結合部位を含む抗体もしくは抗体断片であってもよい。半減期延長部分は、d A b、抗体または抗体断片であってもよい。一実施形態では、免疫グロブリン単一可変ドメイン、アンタゴニスト、または融合タンパク質は、可変ドメイン（または、アンタゴニストもしくは融合タンパク質に含まれる可変ドメイン）がさらに、ポリアルキレングリコール部分を含むように作られている。ポリアルキレングリコール部分は、ポリエチレングリコール部分であってもよい。これ以上のことは後で議論される。

【0166】

1つの態様では、本発明は、下記のうちの1つまたは複数の内容（明確な下記の目的の2つ以上の組み合わせが本明細書に開示され、特許請求の範囲の対象となり得る）を提供するために、本発明のいずれかの態様または実施形態の単一可変ドメイン、タンパク質、ポリペプチド、アンタゴニスト、組成物、または機器を提供する：

（i）ヒト T N F R 1 との強力な結合（例えば、表面プラズモン共鳴で測定した 5 0 0 p M 以下、4 0 0 p M 以下、3 5 0 p M 以下、3 0 0 p M 以下、2 5 0 p M 以下、2 0 0 p M 以下、または 1 5 0 p M 以下（または約 5 0 0 p M 以下、約 4 0 0 p M 以下、約 3 5 0 p M 以下、約 3 0 0 p M 以下、約 2 5 0 p M 以下、約 2 0 0 p M 以下、もしくは約 1 5 0 p M 以下）の解離定数（K d）で）；

（i i）非ヒト霊長類 T N F R 1（例えば、カニクイザル、アカゲザルまたはヒヒ T N F R 1）との強力な結合（例えば、表面プラズモン共鳴で測定した 5 0 0 p M 以下、4 0 0 p M 以下、3 5 0 p M 以下、3 0 0 p M 以下、2 5 0 p M 以下、2 0 0 p M 以下、または 1 5 0 p M 以下（または約 5 0 0 p M 以下、約 4 0 0 p M 以下、約 3 5 0 p M 以下、約 3 0 0 p M 以下、約 2 5 0 p M 以下、約 2 0 0 p M 以下、もしくは約 1 5 0 p M 以下）の解離定数（K d）で）；

（i i i）ヒト T N F R 1 との強力な結合（例えば、表面プラズモン共鳴で測定した 5 0 0 p M 以下、4 0 0 p M 以下、3 5 0 p M 以下、3 0 0 p M 以下、2 5 0 p M 以下、2 0 0 p M 以下、もしくは 1 5 0 p M 以下（または約 5 0 0 p M 以下、約 4 0 0 p M 以下、約 3 5 0 p M 以下、約 3 0 0 p M 以下、約 2 5 0 p M 以下、約 2 0 0 p M 以下、もしくは約 1 5 0 p M 以下）の解離定数（K d）で）ならびに、非ヒト霊長類 T N F R 1（例えば

10

20

30

40

50

、カニクイザル、アカゲザルまたはヒヒTNFR1)との強力な結合(例えば、表面プラズモン共鳴で測定した500pM以下、400pM以下、350pM以下、300pM以下、250pM以下、200pM以下、または150pM以下(または約500pM以下、約400pM以下、約350pM以下、約300pM以下、約250pM以下、約200pM以下、もしくは約150pM以下)の解離定数(Kd)で)；

(iv) ヒト、カニクイザル、およびマウスTNFR1との強力な結合(例えば、ヒトTNFR1とは、表面プラズモン共鳴で測定した500pM以下、400pM以下、350pM以下、300pM以下、250pM以下、200pM以下、または150pM以下(または約500pM以下、約400pM以下、約350pM以下、約300pM以下、約250pM以下、約200pM以下、もしくは約150pM以下)の解離定数(Kd)で；カニクイザルTNFR1とは、表面プラズモン共鳴で測定した500pM以下、400pM以下、350pM以下、300pM以下、250pM以下、200pM以下、または150pM以下(または約500pM以下、約400pM以下、約350pM以下、約300pM以下、約250pM以下、約200pM以下、もしくは約150pM以下)の解離定数(Kd)で)；ならびに、マウスTNFR1とは、表面プラズモン共鳴で測定した7nM以下、6nM以下、5nM以下、4nM以下、3nM以下、2nM以下、または1nM以下(または約7nM以下、約6nM以下、約5nM以下、約4nM以下、約3nM以下、約2nM以下、もしくは約1nM以下)の解離定数(Kd)で)；

(v) 患者のヒトTNFR1に対する強力な中和、例えば、標準的MRC5アッセイ法においてTNF α 誘発性IL-8分泌の阻害により測定したND50が5、4、3、2または1nM以下(または約5、約4、約3、約2もしくは約1nM以下)でヒトTNFR1を中和する本発明の単一可変ドメイン、タンパク質、ポリペプチド、アンタゴニスト、リガンド、または組成物を用いた中和；

(vi) 患者のヒトTNFR1に対する強力な中和、例えば、標準的カニクイザルKIアッセイ法においてTNF α 誘発性IL-8分泌の阻害により測定したND50が5、4、3、2もしくは1nM以下；または(約)5～(約)1nMでカニクイザルTNFR1を中和する本発明の単一可変ドメイン、タンパク質、ポリペプチド、アンタゴニスト、または組成物を用いた中和；

(vii) 患者のヒトTNFR1に対する強力な中和、例えば、標準的L929アッセイ法においてTNF α 誘発性細胞毒の阻害により測定したND50が150、100、50、40、30もしくは20nM以下；または(約)150～10nM；または(約)150～20nM；または(約)110～10nM；または(約)110～20nMでマウスTNFR1を中和する本発明の単一可変ドメイン、タンパク質、ポリペプチド、アンタゴニスト、または組成物を用いた中和；

(viii) 患者のヒトTNFR1に対する強力な中和、例えば、標準的カニクイザルKIアッセイ法においてTNF α 誘発性IL-8分泌の阻害により測定したND50が5、4、3、2もしくは1nM以下；または(約)5～(約)1nMでカニクイザルTNFR1を中和し；ならびに標準的L929アッセイ法においてTNF α 誘発性細胞毒の阻害により測定したND50が150、100、50、40、30もしくは20nM以下；または(約)150～10nM；または(約)150～20nM；または(約)110～10nM；または(約)110～20nMでマウスTNFR1を中和する単一可変ドメイン、タンパク質、ポリペプチド、アンタゴニスト、または組成物を用いた中和；

(ix) 2種以上の霊長類TNFR1(任意選択として、ヒトとカニクイザル、および/またはアカゲザルTNFR1、および/またはヒヒTNFR1、例えば、ヒトとカニクイザルTNFR1)および任意でマウスTNFR1間の交差反応の提供；ならびに

(x) プロテアーゼ安定性の提供(任意選択として、トリプシン安定性)。

【0167】

1つの態様では、本発明は、直前の段落の(i)～(x)のうちの1つまたは複数を提供するために、本発明のいずれかの態様または実施形態の単一可変ドメイン、タンパク質、ポリペプチド、アンタゴニスト、リガンド、組成物、または機器の使用を提供する。ま

た、本発明は対応する方法も提供する。

【0168】

ここで、WO2006038027を参照するが、これは抗TNFR1免疫グロブリン単一可変ドメインを開示している。本文書の開示はその全体が本明細書に組み込まれ、特に使用、フォーマット、選択方法、製造法、製剤化方法、および抗TNFR単一可変ドメイン、リガンド、アンタゴニスト等のアッセイを提供する。これにより、これらの開示が、本明細書の特許請求の範囲に組み込まれる明確な記述を与えることを含め、本発明の内容に具体的かつ明確に適用できる。

【0169】

本発明の抗TNFR1は免疫グロブリン単一可変ドメインであり、任意選択として、ヒト可変ドメインであっても、またはヒトフレームワーク領域（例えばDP47またはDPK9フレームワーク領域）を含むか、もしくは、それから派生した可変ドメインである。特定の実施形態では、本明細書記載の可変ドメインはユニバーサルフレームワークを基準にしている。

【0170】

特定の実施形態では、TNFR1に対して結合特異性のある結合部位を有する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、凝集性に抵抗し、可逆的にアンフォールディングする（WO04101790を参照されたい。この教示は参照により本明細書に組み込まれる）。

【0171】

核酸分子、ベクターおよび宿主細胞

また、本発明は、本明細書記載のリガンド（単一可変ドメイン、融合タンパク質、ポリペプチド、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、および／または、組換え型の核酸分子を提供する。

【0172】

1つの態様では、本発明は、本発明による免疫グロブリン単一可変ドメインを含むポリペプチドをコードする単離、または組換え型核酸を提供する。一実施形態では、核酸はDOM1h-574-156、DOM1h-574-72、DOM1h-574-109、DOM1h-574-138、DOM1h-574-162またはDOM1h-574-180のヌクレオチド配列を含む。一実施形態では、核酸はDOM1h-574-156、DOM1h-574-72、DOM1h-574-109、DOM1h-574-132、DOM1h-574-135、DOM1h-574-138、DOM1h-574-162またはDOM1h-574-180のヌクレオチド配列を含む。一実施形態では、核酸はDOM1h-574-109、DOM1h-574-93、DOM1h-574-123、DOM1h-574-125、DOM1h-574-126またはDOM1h-574-129、DOM1h-574-133、DOM1h-574-137またはDOM1h-574-160のヌクレオチド配列を含む。一実施形態では、核酸はDOM1h-574-156、DOM1h-574-72、DOM1h-574-109、DOM1h-574-125、DOM1h-574-126、DOM1h-574-133、DOM1h-574-135またはDOM1h-574-138、DOM1h-574-139、DOM1h-574-155、DOM1h-574-162またはDOM1h-574-180のヌクレオチド配列を含む。一実施形態では、核酸はDOM1h-574-126またはDOM1h-574-133のヌクレオチド配列を含む。

【0173】

1つの態様では、本発明は単離された、または組換え型核酸を提供し、ここで核酸はDOM1h-574-156、DOM1h-574-72、DOM1h-574-109、DOM1h-574-138、DOM1h-574-162またはDOM1h-574-180のヌクレオチド配列に対し少なくとも80、85、90、95、98または99%等しいヌクレオチド配列を含み、また、核酸が、TNFR1に特異的に結合する免疫グロブリン単一可変ドメインを含むポリペプチドをコードする。1つの態様では、本発明は単

離された、または組換え型核酸を提供し、ここで核酸はDOM1h-574-156、DOM1h-574-72、DOM1h-574-109、DOM1h-574-132、DOM1h-574-135、DOM1h-574-138、DOM1h-574-162またはDOM1h-574-180のヌクレオチド配列に対し少なくとも80、85、90、95、98または99%等しいヌクレオチド配列を含み、また、核酸が、TNFR1に特異的に結合する免疫グロブリン単一可変ドメインを含むポリペプチドをコードする。1つの態様では、本発明は単離された、または組換え型核酸を提供し、ここで核酸はDOM1h-574-109、DOM1h-574-93、DOM1h-574-123、DOM1h-574-125、DOM1h-574-126またはDOM1h-574-129、DOM1h-574-133、DOM1h-574-137またはDOM1h-574-160のヌクレオチド配列に対し少なくとも80、85、90、95、98または99%等しいヌクレオチド配列を含み、また、核酸が、TNFR1に特異的に結合する免疫グロブリン単一可変ドメインを含むポリペプチドをコードする。1つの態様では、本発明は単離された、または組換え型核酸を提供し、ここで核酸はDOM1h-574-156、DOM1h-574-72、DOM1h-574-109、DOM1h-574-125、DOM1h-574-126、DOM1h-574-133、DOM1h-574-135またはDOM1h-574-138、DOM1h-574-139、DOM1h-574-155、DOM1h-574-162またはDOM1h-574-180のヌクレオチド配列に対し少なくとも80、85、90、95、98または99%等しいヌクレオチド配列を含み、また、核酸が、TNFR1に特異的に結合する免疫グロブリン単一可変ドメインを含むポリペプチドをコードする。1つの態様では、本発明は単離された、または組換え型核酸を提供し、ここで核酸はDOM1h-574-126またはDOM1h-574-133のヌクレオチド配列に対し少なくとも80、85、90、95、98または99%等しいヌクレオチド配列を含み、また、核酸が、TNFR1に特異的に結合する免疫グロブリン単一可変ドメインを含むポリペプチドをコードする。

10

20

【0174】

1つの態様では、本発明は、本発明の核酸を含むベクターを提供する。1つの態様では、本発明は、本発明の核酸、またはベクターを含む宿主細胞を提供する。核酸またはベクターの発現に適切な条件下で宿主細胞を維持し、それにより免疫グロブリン単一可変ドメインを含むポリペプチドが産生されることを含む、免疫グロブリン単一可変ドメインを含むポリペプチドを産生する方法が提供される。任意選択として、この方法がさらにポリペプチドを単離するステップを含み、また、任意選択として、標準的MRC5、L929またはカニクイザルK1アッセイにおいて、単離ポリペプチドよりも改善された親和性(KD)やTNFR1中和のND₅₀を有する変異体(例えば突然変異体)を産生するステップを含む。

30

【0175】

本明細書で「単離された」と呼んでいる核酸は、それらの元(例えば、細胞中に、またはライブラリのように核酸の混合物中にある状態)のゲノムDNAまたは細胞性RNAの核酸から分離された核酸であり、本明細書に記載された方法、または他の適切な方法により得られた核酸を含み、また、本質的に純粋な核酸、化学的合成により作られた核酸、生物学および化学的方法の組み合わせにより作られた核酸、および単離された組換え型核酸(例えば、Daugherty, B. L. et al., Nucleic Acids Res., 19(9): 2471-2476 (1991); Lewis, A. P. and J. S. Crowe, Gene, 101: 297-302 (1991)を参照のこと)を含む。

40

【0176】

本明細書で「組換え型」と呼んでいる核酸は、組換えDNA手法により作られた核酸であり、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)および/または制限酵素を使ってベクターにクローニングする等の人工組換え法による手順により生成した核酸を含む。

【0177】

50

特定の実施形態では、単離された、および／または組換え型核酸は本明細書に記載されたリガンドをコードするヌクレオチド配列を含み、リガンドは、本明細書で開示の TNFR1 に結合する dAb のアミノ酸配列、例えば、DOM1h-574-156、DOM1h-574-72、DOM1h-574-109、DOM1h-574-138、DOM1h-574-162 または DOM1h-574-180 に、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。ヌクレオチド配列の同一性は、選択した抗 TNFR1 dAb をコードするヌクレオチド配列全長にわたり決定可能である。

10

【0178】

また、本発明は、本発明の組換え型核酸分子を含むベクターを提供する。特定の実施形態では、ベクターは発現ベクターであり、本発明の組換え型核酸に機能的に連結された 1 つまたは複数の発現制御因子、または配列を含む。また、本発明は、本発明の組換え型核酸分子、またはベクターを含む組換え型宿主細胞を提供する。適切なベクター（例えば、プラスミド、ファージミド）、発現制御因子、宿主細胞および本発明の組換え型宿主細胞を産生する方法は当技術分野においてよく知られており、実施例を本明細書で詳述する。

【0179】

適切な発現ベクターはいくつかの成分、例えば、複製起点、選択可能なマーカー遺伝子、1 つもしくは複数の発現制御因子、転写調節因子（例えば、プロモーター、エンハンサー、ターミネーター）、ならびに／または 1 つもしく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、等を含むことが可能である。発現制御因子およびシグナル配列は、存在する場合、ベクターまたは他の供給源により提供できる。例えば、抗体鎖をコードするクローン核酸の転写、および／または翻訳調節配列は直接発現に使用できる。

20

【0180】

プロモーターは所望の宿主細胞での発現に供することができる。プロモーターは構成型であっても誘導型であってもよい。例えば、プロモーターは、抗体、抗体鎖、またはこれらの一部をコードする核酸に機能的に連結されていて、核酸を直接転写することができる。種々の適切なプロモーターが、原核生物宿主用（例えば、大腸菌用 lac、tac、T3、T7 プロモーター）および真核生物宿主用（例えば、サルウイルス 40 の初期や後期プロモーター、ラウス肉腫ウイルス末端反復プロモーター、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）として入手可能である。

30

【0181】

さらに、通常、発現ベクターはベクターを持っている宿主細胞を選別するために選択可能なマーカーを含み、さらに複製可能な発現ベクターの場合には、複製起点を含む。抗生物質耐性や薬剤耐性を与える産物をコードする遺伝子は、よく用いられる選択マーカーであり、原核生物細胞（例えば、ラクタマーゼ遺伝子（アンピシリン耐性）、テトラサイクリン耐性用 Tet 遺伝子）および真核生物細胞（例えば、ネオマイシン（G418 またはジェネテシン）、gpt（ミコフェノール酸）、アンピシリン、またはハイグロマイシン耐性遺伝子）で使用できる。ジヒドロ葉酸還元酵素マーカー遺伝子は、多様な宿主中のメトトレキサートの選択を可能とする。宿主の栄養要求性マーカー（例えば、LEU2、URA3、HIS3）の遺伝子産物をコードする遺伝子は、酵母の選択マーカーとして使われることが多い。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の使用、および、レトロウイルスベクターのような宿主細胞のゲノムへ統合可能なベクターの使用もまた意図されているものである。哺乳動物細胞および原核生物細胞（大腸菌）、昆虫細胞（ショウジョウバエ、シュナイダー S2 細胞、Sf9）および酵母（P. metathanolica、P. pastoris、S. cerevisiae）での発現に適切な発現ベクターは、当技術分野においてよく知られている。

40

【0182】

50

適切な宿主細胞は、大腸菌、枯草菌等の細菌性細胞、および／または他の適切な細菌を含む原核生物細胞であってもよく、また、真菌細胞や酵母細胞（例えば、ピキア・パストリス、アスペルギルス・エスピー（*Aspergillus* sp.）、サッカロミセス・セレビシエ（*Saccharomyces cerevisiae*）、シズサッカロミセス・ポンベ（*Schizosaccharomyces pombe*）、アカパンカビ（*Neurospora crassa*））、または他の下等真核細胞および昆虫由来（例えば、ショウジョウバエ *Schneider* S2細胞、Sf9昆虫細胞（WO94/26087（O'Connor））のような高等真核生物の細胞、哺乳動物（例えば、COS-1（ATCC寄託番号CRL-1650）およびCOS-7（ATCC寄託番号CRL-1651）等のCOS細胞、CHO（例えば、ATCC寄託番号CRL-9096、CHODG44（Urlaub, G. and Chasin, L.A., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 77(7):4216-4220（1980））、293（ATCC寄託番号CRL-1573）、HeLa（ATCC寄託番号CCL-2）、CV1（ATCC寄託番号CCL-70）、WOP（Daley, L., et al., *J. Virol.*, 54:739-749（1985））、3T3、293T（Pear, W. S., et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 90:8392-8396（1993））NS0細胞、SP2/0、HuT 78細胞等、または植物（例えば、たばこ）を含む真核生物細胞であってもよい（例えば、Ausubel, F. M. et al., eds. *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Associates and John Wiley & Sons Inc.（1993）を参照のこと）。一部の実施形態では、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。特定の実施形態では、宿主細胞は非ヒト宿主細胞である。

【0183】

また、本発明は、組換え核酸の発現に適切な条件下で、本発明の組換え核酸を含む組換え宿主細胞の維持を含み、これにより、組換え核酸が発現し、リガンドが産生される、本発明のリガンド（例えば、二重特性リガンド、多重特異性リガンド）の製造法を提供する。一部の実施態様では、この方法がさらにリガンドの単離を含む。

【0184】

本発明の実施形態に適用可能な開示詳細に関しては、WO2006038027を参照されたい。例えば、関連開示は、免疫グロブリン単一可変ドメインベースリガンドの調製、ライブラリベクターシステム、ライブラリ構築、単一可変ドメインの結合、リガンドの特性決定、リガンドの構造、骨格、タンパク質足場、正規配列（canonical sequence）の多様性、アッセイおよび治療と診断用組成物とその使用法、ならびに定義「機能的に連結された」、「ナイーブ」、「予防」、「抑制」、「治療」および「治療的有効量」に関する。

【0185】

フォーマット

半減期の延長は、免疫グロブリンのインビボ適用において有用である。サイズが小さい抗体では特に、また、抗体断片では殊更に有用である。このような断片（F_v、ジスルフィド結合F_v、F_{ab}、s c F_v、d Ab）は身体から急速な除去作用を受ける。このように、それが身体の大抵の部分に早く到達できて、素早く産生でき、容易に扱えても、インビボでの短い持続性だけのためにそのインビボでの適用には、限界があった。本発明の一実施態様では、インビボでのリガンドの半減期延長、および、その結果、体内でのリガンドの機能活性のより長い持続時間を提供することによりこの問題が解決されている。

【0186】

薬物動態解析およびリガンドの半減期の測定方法は当業者によく知られている。詳細については、Kenneth, A et al: *Chemical Stability*

y of Pharmaceuticals: A Handbook for PharmacistsおよびPeters et al, Pharmacokinetic analysis: A Practical Approach (1996)で見られるであろう。また、 t_{α} 、 t_{β} 半減期、曲線下面積 (AUC) 等の薬物動態パラメータについて記述されている次の文献を参照のこと: “Pharmacokinetics”, M Gibaldi & D Perron, published by Marcel Dekker, 改訂第2版 (1982)。半減期およびAUCの定義を上に表示する。

【0187】

一実施形態では、本発明は、15分以上の範囲の t_{α} 半減期を有する本発明によるリガンド (例えば、ポリペプチド、可変ドメイン、アンタゴニスト、多重特異性リガンド) またはリガンドを含む組成物を提供する。一実施形態では、前記範囲の下端が30分、45分、1時間、2時間、3時間、4時間、5時間、6時間、7時間、10時間、11時間、または12時間である。さらに追加して、または、その代わりに、本発明によるリガンドまたは組成物は、12時間までの範囲の t_{α} 半減期を有することになる。一実施形態では、前記範囲の上端が11、10、9、8、7、6、または5時間である。適切な範囲の実施例は、1～6時間、2～5時間、または3～4時間である。

【0188】

一実施形態では、本発明は、本発明による約2.5時間以上の範囲の t_{β} 半減期を有するリガンド (例えば、ポリペプチド、可変ドメイン、アンタゴニスト、多重特異性リガンド) またはリガンドを含む組成物を提供する。一実施形態では、前記範囲の下端が約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約10時間、約11時間、または約12時間である。さらに追加して、またはその代わりに、本発明によるリガンドまたは組成物が21日までの範囲の t_{β} 半減期を有する。一実施形態では、前記範囲の上端が約12時間、約24時間、約2日、約3日、約5日、約10日、約15日、または約20日である。一実施形態では、本発明によるリガンドまたは組成物は、約12～約60時間の範囲の t_{β} 半減期を有する。さらなる実施形態では、その範囲は、約12～約48時間の範囲である。またさらなる実施形態では、その範囲は約12～約26時間の範囲である。

【0189】

上記基準に追加して、またはその代わりに、本発明は、約 $1\text{ mg} \cdot \text{min} / \text{ml}$ 以上の範囲のAUC値 (曲線下面積) を有する本発明によるリガンドまたはリガンドを含む組成物を提供する。一実施形態では、前記範囲の下端が約5、約10、約15、約20、約30、約100、約200、または約300 $\text{mg} \cdot \text{min} / \text{ml}$ である。追加して、またはその代わりとして、本発明によるリガンドまたは組成物が約600 $\text{mg} \cdot \text{min} / \text{ml}$ までの範囲のAUCを有する。一実施形態では、前記範囲の上端が約500、約400、約300、約200、約150、約100、約75、または約50 $\text{mg} \cdot \text{min} / \text{ml}$ である。一実施形態では、本発明によるリガンドは、下記の事項からなる群から選ばれた範囲のAUCを有する: 約15～約150 $\text{mg} \cdot \text{min} / \text{ml}$ 、約15～約100 $\text{mg} \cdot \text{min} / \text{ml}$ 、約15～約75 $\text{mg} \cdot \text{min} / \text{ml}$ 、および約15～約50 $\text{mg} \cdot \text{min} / \text{ml}$ 。

【0190】

本発明のポリペプチドとdAb、およびこれらを含むアンタゴニストは、例えば、PEG基、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または少なくともそのトランスフェリン結合部、抗体Fc領域の付加により、または、抗体ドメインへの接合により、さらに大きな流体力学的サイズを持つようにフォーマットすることが可能である。例えば、より大きな抗体の抗原結合断片として、または抗体 (例えば、Fab、Fab'、 $F(ab)_2$ 、 $F(ab')_2$ 、IgG、scFvとしてフォーマットされた) としてフォーマットされたポリペプチドdAbおよびアンタゴニスト。

【0191】

本発明のリガンド (例えば、dAb単量体、多量体) の流体力学的サイズは、当技術分

10

20

30

40

50

野においてよく知られた方法により求めることができる。例えば、ゲル濾過クロマトグラフィを使ってリガンドの流体力学的サイズを求めてもよい。架橋アガロスマトリックスのようなリガンドの流体力学的サイズ測定に適したゲル濾過マトリックスはよく知られ、容易に入手可能である。

【0192】

リガンドフォーマットのサイズ（例えば、dAb単量体に結合したPEG部分のサイズ）は所望の用途に依存して変わり得る。例えば、リガンドが血液循環から抜け出て周辺細胞組織に入ることが意図されている場合、流体力学的サイズを小さく保ち、血流からの溢出を促進することが望ましい。あるいは、リガンドを体循環中に長時間残すことが望まれる場合は、例えばIg様タンパク質としてフォーマットすることにより、リガンドサイズを増大させることが可能である。

10

【0193】

インビボで半減期を延長する抗原またはエピトープを標的にすることによる半減期の延長

本明細書で記載されているように、本発明のTNFR1結合ポリペプチド、dAb、またはアンタゴニストを、インビボで半減期を延長する抗原またはエピトープに結合する結合ドメイン（例えば、抗体または抗体断片）に接合または会合させることにより、リガンドの流体力学的サイズおよびその血清中半減期も増加させることができる。例えば、TNFR1結合薬剤（例えばポリペプチド）は、抗血清アルブミンまたは抗新生児Fc受容体抗体または抗体断片、例えば抗SAまたは抗新生児Fc受容体dAb、Fab、Fab'、またはscFvに、あるいは、抗SAアフィボディまたは抗新生児Fc受容体アフィボディ、または抗SAアビマー、または、これに限定されるものではないが、以下に示す群から選択された足場を含む抗SA結合ドメインへ接合または結合することができる：CTLA-4、リポカリン、SpA、アフィボディ、アビマー、GroElおよびフィブロネクチン（これらの結合ドメインの開示については、WO2008096158を参照されたい。ここに示されたドメインと配列は参照により本明細書に組み込まれ、本明細書の開示の一部を形成する）。接合とは、血清アルブミンに結合する結合ドメインに結合（共有結合的あるいは非共有結合的に）した本発明のポリペプチド、dAb、またはアンタゴニストを含む組成物を指す。

20

【0194】

インビボでの血清中半減期を延長する適切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なリガンド神経医薬剤融合タンパク質（米国特許第5,977,307号を参照されたい。この中の教示は参照により本明細書に組み込まれる）、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）、インシュリン、インシュリン様成長因子1（IGF1）受容体、インシュリン様成長因子2（IGF2）受容体、インシュリン受容体、血液凝固第X因子、α1抗トリプシン、およびHNF1αが含まれる。さらに、血清中半減期を延長する適切なポリペプチドには、α1糖タンパク質（オロソムコイド；AAG）、α1アンチキモトリプシン（ACT）、α1ミクログロブリン（タンパク質HC；AIM）、アンチトロンビンIII（ATI）、アポリポタンパク質A-1（ApoA-1）、アポリポタンパク質B（ApoB）、セルロプラスミン（Cp）、補体成分C3（C3）、補体成分C4（C4）、C1エステラーゼ阻害剤（C1INH）、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（Myo）、プレアルブミン（トランスチレチン；PAL）、レチノール結合タンパク質（RBP）、およびリユーマチ因子（RF）が含まれる。

30

40

【0195】

細胞外マトリックスからの適切なタンパク質には、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、細胞外マトリックスの主要タンパク質である。約15の型のコラーゲン分子が現在知られており、身体の別々の

50

部位で見ついている。例えば、骨、皮膚、腱、靱帯、角膜、内臓器官で見つかった I 型コラーゲン（身体コラーゲンの 90% に達する）または、軟骨、椎間板、脊索、および眼球ガラス体液で見つかった II 型コラーゲン。

【0196】

血液からの適切なタンパク質には、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、フィブリノゲン（例えば、フィブリノゲン A、フィブリノゲン B）、血清アミロイドタンパク質 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剤（例えば、プラスミノゲン、リゾチーム、シスタチン C、 α 1 抗トリプシンおよび膵臓トリプシン阻害剤）、免疫グロブリンタンパク質（例えば、Ig A、Ig D、Ig E、Ig G、Ig M、免疫グロブリン軽鎖（ κ/λ ））等の免疫システムタンパク質、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）等が含まれる。

【0197】

血液脳関門または神経組織で認めらる適切なタンパク質には、例えば、メラノコルチン受容体、ミエリン、アスコルビン酸塩トランスポーター等が含まれる。

【0198】

また、インビボでの血清中半減期を延長する適切なポリペプチドには、腎臓に局在化したタンパク質（例えば、ポリシスチン、IV 型コラーゲン、有機アニオン輸送体 K1、ハイマン抗原）、肝臓に局在化したタンパク質（例えば、アルコール脱水素酵素、G250）、肺に局在化したタンパク質（例えば、Ig A に結合する分泌成分）、心臓に局在化したタンパク質（例えば、拡張型心筋症に関連した HSP27）、皮膚に局在化したタンパク質（例えば、ケラチン）、形質転換増殖因子 β スーパーファミリータンパク質（骨形成活性を示す（例えば、BMP-2、BMP-4、BMP-5、BMP-6、BMP-7、BMP-8））のサブセットである形態形成タンパク質（BMP）等の骨特異的タンパク質、腫瘍特異性タンパク質（例えば、トロホブラスト抗原、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、肝臓と脾臓で認められるカテプシン B））が含まれる。

【0199】

適切な疾患特異性タンパク質には、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（TNF 受容体ファミリーのメンバーで、活性化 T 細胞上で発現しヒト T 細胞白血病ウイルス I 型（HTLV-I）産生細胞中で特異的に発現上昇している; Immunol. 165 (1): 263-70 (2000) 参照）を含む活性 T 細胞上にのみ発現する抗原が含まれる。また、適切な疾患特異性タンパク質には、例えば、ショウジョウバエ CG6512、ヒトパラプレギン、ヒト FtsH、ヒト AFG3L2、マウス ftsH を含む金属プロテアーゼ（関節炎/癌に関連）；および血管新生増殖因子、例えば酸性線維芽細胞増殖因子（FGF-1）、塩基性線維芽細胞増殖因子（FGF-2）、血管内皮増殖因子/血管透過性因子（VEGF/VPF）、形質転換増殖因子 α （TGF α ）、腫瘍壊死因子 α （TNF α ）、アンギオジェニン、インターロイキン-3（IL-3）、インターロイキン-8（IL-8）、血小板由来内皮細胞増殖因子（PD-ECGF）、胎盤増殖因子（PLGF）、ミッドカイン血小板由来増殖因子 B（PDGF）、およびフラクタルカインも含まれる。

【0200】

また、インビボでの血清中半減期を延長する適切なポリペプチドには、熱ショックタンパク質（HSP）のようなストレスタンパク質も含まれる。HSP は、通常は、細胞内で見つかる。それが細胞外で見つかる場合は、細胞が死滅し内容物をはき出したという指標になる。このプログラムにない細胞の死（壊死）は外傷、疾患、傷害のとき起こり、細胞外 HSP は免疫系からの反応を誘発する。細胞外 HSP に対する結合により本発明の組成

10

20

30

40

50

物の疾患部位への局在化が生じる可能性がある。

【0201】

F_C 輸送にかかわる適切なタンパク質には、例えば、ブランベル (Brambell) 受容体 (F_CRBとしても知られている) が含まれる。このF_C 受容体は送達に潜在的に有用な2つの機能を有する。その機能は(1)胎盤経由で母から子供へIgGの移送、(2)IgGの分解からの保護と、その結果の血清中半減期の延長、である。受容体はエンドソームからIgGを再生利用すると考えられている(Holliger et al, Nat Biotechnol 15(7):632-6 (1997) 参照)。

【0202】

血清アルブミンに結合するdAb

一実施形態で本発明は、TNFR1に結合するリガンド、ポリペプチドまたはアンタゴニスト (例えば、抗TNFR1dAb (第一のdAb) を含む二重特異性リガンド) および血清アルブミン (SA) に結合する第二のdAbを提供し、第二のdAbが表面プラズモン共鳴で測定したKD値の、約1nM~約1、約2、約3、約4、約5、約10、約20、約30、約40、約50、約60、約70、約100、約200、約300、約400、もしくは約500μM (すなわち、 $\times 10^{-9}$ ~ 5×10^{-4} M)、または、約100nM~約10μM、または、約1~約5μM、または、約3~約70nM、または、約10nM~約1、約2、約3、約4、もしくは約5μMでSAに結合する。例えば、表面プラズモン共鳴により測定して約30~約70nMである。一実施形態では、第一のdAb (またはdAb単量体) はSA (例えば、HSA) と表面プラズモン共鳴で測定したKD値の約1、約50、約70、約100、約150、約200、約300nM、または、約1、約2、もしくは約3μMで結合する。一実施形態では、第一の抗SA dAbと第二のTNFR1に対するdAbを含む二重特異性リガンドに関して、第二のdAbのその標的に対する親和性 (例えば、BIACore等を使って表面プラズモン共鳴で測定したKDおよび/またはK_{off}) が、SAに対する第一のdAbの親和性の約1~約100000倍 (例えば、約100~約100000、または約1000~約100000、または約10000~約100000倍) である。一実施形態では、血清アルブミンは、ヒト血清アルブミン (HSA) である。例えば、第一のdAbはSAと約10μMの親和性で結合し、他方第二のdAbはその標的と約100pMの親和性で結合する。一実施形態では、血清アルブミンは、ヒト血清アルブミン (HSA) である。一実施形態では、第一のdAbはSA (例えばHSA) とKD値約50、例えば、約70、約100、約150、または約200nMで結合する。二重特異性リガンドの詳細については、WO03002609、WO04003019、WO2008096158およびWO04058821で見つけることができる。

【0203】

一実施形態で、本発明のリガンドは、表面プラズモン共鳴で測定してKD値約1nM~約1、約2、約3、約4、約5、約10、約20、約30、約40、約50、約60、約70、約100、約200、約300、約400、または約500μM (すなわち、 $\times 10^{-9}$ ~ 5×10^{-4} M)、または、約100nM~約10μM、または、約1~約5μM、または、約3~約70nM、または、約10nM~約1、約2、約3、約4、約5μMで血清アルブミン (SA) と結合するdAbを含む。例えば、表面プラズモン共鳴で測定して約30~約70nMである。一実施形態では、第一のdAb (またはdAb単量体) は、表面プラズモン共鳴で測定してKD値約1、約50、約70、約100、約150、約200、約300nMまたは約1、約2または約3μMでSA (例えば、HSA) と結合する。一実施形態では、第一および第二のdAbはリンカー、例えば1~4アミノ酸、または1~3のアミノ酸、または3を超えるアミノ酸、4、5、6、7、8、9、10、15、または20を超えるアミノ酸のリンカー、で結合されている。一実施形態では、より長いリンカー (アミノ酸が3を超える) が有効性 (アンタゴニストの1つあるいは両方のdAbのKD) を高めるために使われる。

【0204】

リガンドとアンタゴニストの具体的な実施形態では、dAbはヒト血清アルブミンに結合し、以下からなる群から選択されたdAbとアルブミンへの結合において競合する：DOM7h-11、DOM7h-11-3、DOM7h-11-12、DOM7h-11-15、DOM7h-14、DOM7h-14-10、DOM7h-14-18およびDOM7m-16。

【0205】

リガンドとアンタゴニストの具体的な実施形態では、dAbはヒト血清アルブミンに結合し、以下からなる群から選択されたdAbとアルブミンへの結合において競合する：

MSA-16、MSA-26（この配列の開示についてはWO04003019参照。この配列と対応する核酸は参照により本明細書に組み込まれ、本明細書の開示の一部を構成する）、

DOM7m-16（配列番号473）、DOM7m-12（配列番号474）、DOM7m-26（配列番号475）、DOM7r-1（配列番号476）、DOM7r-3（配列番号477）、DOM7r-4（配列番号478）、DOM7r-5（配列番号479）、DOM7r-7（配列番号480）、DOM7r-8（配列番号481）、DOM7h-2（配列番号482）、DOM7h-3（配列番号483）、DOM7h-4（配列番号：484）、DOM7h-6（配列番号：485）、DOM7h-1（配列番号：486）、DOM7h-7（配列番号487）、DOM7h-22（配列番号489）、DOM7h-23（配列番号490）、DOM7h-24（配列番号491）、DOM7h-25（配列番号492）、DOM7h-26（配列番号493）、DOM7h-21（配列番号494）、DOM7h-27（配列番号495）、DOM7h-8（配列番号496）、DOM7r-13（配列番号497）、DOM7r-14（配列番号498）、DOM7r-15（配列番号499）、DOM7r-16（配列番号500）、DOM7r-17（配列番号501）、DOM7r-18（配列番号502）、DOM7r-19（配列番号503）、DOM7r-20（配列番号504）、DOM7r-21（配列番号505）、DOM7r-22（配列番号506）、DOM7r-23（配列番号507）、DOM7r-24（配列番号508）、DOM7r-25（配列番号509）、DOM7r-26（配列番号510）、DOM7r-27（配列番号511）、DOM7r-28（配列番号512）、DOM7r-29（配列番号513）、DOM7r-30（配列番号514）、DOM7r-31（配列番号515）、DOM7r-32（配列番号516）、DOM7r-33（配列番号517）（この配列の開示についてはWO2007080392参照。この配列と対応する核酸は参照により本明細書に組み込まれ、本明細書の開示の一部を構成する。本項の配列番号はWO2007080392中に記載されている）、

dAb8（dAb10）、dAb10、dAb36、dAb7r20（DOM7r20）、dAb7r21（DOM7r21）、dAb7r22（DOM7r22）、dAb7r23（DOM7r23）、dAb7r24（DOM7r24）、dAb7r25（DOM7r25）、dAb7r26（DOM7r26）、dAb7r27（DOM7r27）、dAb7r28（DOM7r28）、dAb7r29（DOM7r29）、dAb7r29（DOM7r29）、dAb7r31（DOM7r31）、dAb7r32（DOM7r32）、dAb7r33（DOM7r33）、dAb7r33（DOM7r33）、dAb7h22（DOM7h22）、dAb7h23（DOM7h23）、dAb7h24（DOM7h24）、dAb7h25（DOM7h25）、dAb7h26（DOM7h26）、dAb7h27（DOM7h27）、dAb7h30（DOM7h30）、dAb7h31（DOM7h31）、dAb2（dAbs4、7、41）、dAb4、dAb7、dAb11、dAb12（dAb7m12）、dAb13（dAb15）、dAb15、dAb16（dAb21、dAb7m16）、dAb17、dAb18、dAb19、dAb21、dAb22、dAb23、dAb24、dAb25（dAb26、dAb7m26）、dAb27、dAb30（dAb35）、dAb31、dAb33、dAb34、dAb35、dAb38（dAb54）、dAb41、dAb46（dAbs4

10

20

30

40

50

7、52および56)、dAb47、dAb52、dAb53、dAb54、dAb55、dAb56、dAb7m12、dAb7m16、dAb7m26、dAb7r1(DOM7r1)、dAb7r3(DOM7r3)、dAb7r4(DOM7r4)、dAb7r5(DOM7r5)、dAb7r7(DOM7r7)、dAb7r8(DOM7r8)、dAb7r13(DOM7r13)、dAb7r14(DOM7r14)、dAb7r15(DOM7r15)、dAb7r16(DOM7r16)、dAb7r17(DOM7r17)、dAb7r18(DOM7r18)、dAb7r19(DOM7r19)、dAb7h1(DOM7h1)、dAb7h2(DOM7h2)、dAb7h6(DOM7h6)、dAb7h7(DOM7h7)、dAb7h8(DOM7h8)、dAb7h9(DOM7h9)、dAb7h10(DOM7h10)、dAb7h11(DOM7h11)、dAb7h12(DOM7h12)、dAb7h13(DOM7h13)、dAb7h14(DOM7h14)、dAb7p1(DOM7p1)、およびdAb7p2(DOM7p2)(この配列の開示についてはWO2008096158参照。この配列と対応する核酸は参照により本明細書に組み込まれ、本明細書の開示の一部を構成する)。代替名をdAbの後に括弧で示している。例えば、dAb8には代替名dAb10があり、表記はdAb8(dAb10)となる。

【0206】

特定の実施形態では、dAbはヒト血清アルブミンに結合し、DOM7h-11、DOM7h-11-3、DOM7h-11-12、DOM7h-11-15、DOM7h-14、DOM7h-14-10、DOM7h-14-18およびDOM7m-16からなる群から選択された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。

【0207】

特定の実施形態では、dAbはヒト血清アルブミンに結合し、下記からなる群から選択された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：

MSA-16、MSA-26、DOM7m-16(配列番号473)、DOM7m-12(配列番号474)、DOM7m-26(配列番号475)、DOM7r-1(配列番号476)、DOM7r-3(配列番号477)、DOM7r-4(配列番号478)、DOM7r-5(配列番号479)、DOM7r-7(配列番号480)、DOM7r-8(配列番号481)、DOM7h-2(配列番号482)、DOM7h-3(配列番号483)、DOM7h-4(配列番号484)、DOM7h-6(配列番号485)、DOM7h-1(配列番号486)、DOM7h-7(配列番号487)、DOM7h-22(配列番号489)、DOM7h-23(配列番号490)、DOM7h-24(配列番号491)、DOM7h-25(配列番号492)、DOM7h-26(配列番号493)、DOM7h-21(配列番号494)、DOM7h-27(配列番号495)、DOM7h-8(配列番号496)、DOM7r-13(配列番号497)、DOM7r-14(配列番号498)、DOM7r-15(配列番号499)、DOM7r-16(配列番号500)、DOM7r-17(配列番号501)、DOM7r-18(配列番号502)、DOM7r-19(配列番号503)、DOM7r-20(配列番号504)、DOM7r-21(配列番号505)、DOM7r-22(配列番号506)、DOM7r-23(配列番号507)、DOM7r-24(配列番号508)、DOM7r-25(配列番号509)、DOM7r-26(配列番号510)、DOM7r-27(配列番号511)、DOM7r-28(配列番号512)、DOM7r-29(配列番号513)、DOM7r-30(配列番号514)、DOM7r-31(配列番号515)、DOM7r-32(配列番号516)

、DOM7r-33（配列番号517）（本項の配列番号はWO2007080392中に記載されている）、

dAb8、dAb10、dAb36、dAb7r20、dAb7r21、dAb7r22、dAb7r23、dAb7r24、dAb7r25、dAb7r26、dAb7r27、dAb7r28、dAb7r29、dAb7r30、dAb7r31、dAb7r32、dAb7r33、dAb7h21、dAb7h22、dAb7h23、Ab7h24、Ab7h25、Ab7h26、dAb7h27、dAb7h30、dAb7h31、dAb2、dAb4、dAb7、dAb11、dAb12、dAb13、dAb15、dAb16、dAb17、dAb18、dAb19、dAb21、dAb22、dAb23、dAb24、dAb25、dAb26、dAb27、dAb30、dAb31、dAb33、dAb34、dAb35、dAb38、dAb41、dAb46、dAb47、dAb52、dAb53、dAb54、dAb55、dAb56、dAb7m12、dAb7m16、dAb7m26、dAb7r1、dAb7r3、dAb7r4、dAb7r5、dAb7r7、dAb7r8、dAb7r13、dAb7r14、dAb7r15、dAb7r16、dAb7r17、dAb7r18、dAb7r19、dAb7h1、dAb7h2、dAb7h6、dAb7h7、dAb7h8、dAb7h9、dAb7h10、dAb7h11、dAb7h12、dAb7h13、dAb7h14、dAb7p1、およびdAb7p2。

【0208】

例えば、ヒト血清アルブミンに結合するdAbは、DOM7h-11-3またはDOM7h-14-10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んでもよい。

【0209】

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482）、DOM7h-3（配列番号483）、DOM7h-4（配列番号484）、DOM7h-6（配列番号485）、DOM7h-1（配列番号486）、DOM7h-7（配列番号487）、DOM7h-8（配列番号496）、DOM7r-13（配列番号497）、DOM7r-14（配列番号498）、DOM7h-22（配列番号489）、DOM7h-23（配列番号490）、DOM7h-24（配列番号491）、DOM7h-25（配列番号492）、DOM7h-26（配列番号493）、DOM7h-21（配列番号494）もしくはDOM7h-27（配列番号495）（本項の配列番号はWO2007080392中に記載されている）、または、

dAb8、dAb10、dAb36、dAb7h21、dAb7h22、dAb7h23、Ab7h24、Ab7h25、Ab7h26、dAb7h27、dAb7h30、dAb7h31、dAb2、dAb4、dAb7、dAb11、dAb12、dAb13、dAb15、dAb16、dAb17、dAb18、dAb19、dAb21、dAb22、dAb23、dAb24、dAb25、dAb26、dAb27、dAb30、dAb31、dAb33、dAb34、dAb35、dAb38、dAb41、dAb46、dAb47、dAb52、dAb53、dAb54、dAb55、dAb56、dAb7h1、dAb7h2、dAb7h6、dAb7h7、dAb7h8、dAb7h9、dAb7h10、dAb7h11、dAb7h12、dAb7h13もしくはdAb7h14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んでもよい。

【0210】

特定の実施形態では、dAbはヒト血清アルブミンに結合し、下記からなる群から選択された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

10

20

30

40

50

列同一性を有するアミノ酸配列を含む：

DOM7h-2（配列番号482）、DOM7h-6（配列番号485）、DOM7h-1（配列番号486）、DOM7h-7（配列番号487）、DOM7h-8（配列番号496）、DOM7h-22（配列番号489）、DOM7h-23（配列番号490）、DOM7h-24（配列番号491）、DOM7h-25（配列番号492）、DOM7h-26（配列番号493）、DOM7h-21（配列番号494）、DOM7h-27（配列番号495）（本項の配列番号はWO2007080392中に記載されている）、

dAb7h21、dAb7h22、dAb7h23、Ab7h24、Ab7h25、Ab7h26、dAb7h27、dAb7h30、dAb7h31、dAb2、dAb4、dAb7、dAb38、dAb41、dAb7h1、dAb7h2、dAb7h6、dAb7h7、dAb7h8、dAb7h9、dAb7h10、dAb7h11、dAb7h12、dAb7h13、およびdAb7h14。

【0211】

さらに詳細な実施形態では、dAbは、ヒト血清アルブミンに結合し、下記からなる群から選択されたアミノ酸配列を有するV_KdAbである：

DOM7h-2（配列番号482）、DOM7h-6（配列番号485）、DOM7h-1（配列番号486）、DOM7h-7（配列番号487）、DOM7h-8（配列番号496）（本項の配列番号はWO2007080392中に記載されている）、

dAb2、dAb4、dAb7、dAb38、dAb41、dAb54、dAb7h1、dAb7h2、dAb7h6、dAb7h7、dAb7h8、dAb7h9、dAb7h10、dAb7h11、dAb7h12、dAb7h13およびdAb7h14。

【0212】

さらに詳細な実施形態では、dAbは、ヒト血清アルブミンに結合し、dAb7h30およびdAb7h31から選択されたアミノ酸配列を有するV_HdAbである。

【0213】

さらに詳細な実施形態では、dAbは、dAb7h11またはdAb7h14である。一例では、dAbはDOM7h-11-3である。別の例では、dAbはDOM7h-14-10である。

【0214】

他の実施形態では、dAb、リガンド、またはアンタゴニストはヒト血清アルブミンに結合し、前出のいずれかのアミノ酸配列の1つ、2つ、または3つのCDR、例えば、DOM7h-11-3、DOM7h-14-10、dAb7h11またはdAb7h14の1つ、2つ、または3つのCDRを含む。

【0215】

血清アルブミンに結合する適切なラクダ科動物V_{H H}としては、WO2004/041862（Ablynx N. V. 社）およびWO2007080392（これらに開示されているV_{H H}配列および対応する核酸は参照により本明細書に組み込まれ、本明細書の開示の一部を構成する）で開示されたものが含まれ、配列A（配列番号518）、配列B（配列番号519）、配列C（配列番号520）、配列D（配列番号521）、配列E（配列番号522）、配列F（配列番号523）、配列G（配列番号524）、配列H（配列番号525）、配列I（配列番号526）、配列J（配列番号527）、配列K（配列番号528）、配列L（配列番号529）、配列M（配列番号530）、配列N（配列番号531）、配列O（配列番号532）、配列P（配列番号533）、配列Q（配列番号534）がある。これらの配列番号はWO2007080392またはWO2004/041862（Ablynx N. V. 社）で引用されたものに対応する。特定の実施形態では、ラクダ科動物V_{H H}はヒト血清アルブミンに結合し、WO2007080392で開示されたALB1、または、配列番号518～534のいずれかと少なくとも約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

10

20

30

40

50

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。これらの配列番号は WO 2007080392 または WO 2004/041862 で引用されたものに対応する。

【0216】

一部の実施形態では、リガンドまたはアンタゴニストは、血清アルブミン（例えば、ヒト血清アルブミン）との結合を目指して本明細書で開示されたいずれかの抗血清アルブミンと競合する抗血清アルブミン dAb を含む。

【0217】

別の実施態様では、アンタゴニストまたはリガンドは、SA（例えば、ヒト SA）に対し特異的な結合部分を含み、ここで、この部分は WO 2008096158 で記載されているように非免疫グロブリン配列を含む。これらの結合部分、その製造法と選択法（例えば、多様なライブラリからの）および配列の開示は、参照により本明細書の開示の一部として本明細書に組み込まれる。

【0218】

半減期延長部分（例えばアルブミン）への接合

一実施形態では、1つまたは複数の半減期延長部分（例えば、アルブミン、トランスフェリンとそれらの断片および類似体）が、本発明の TNFR1 結合ポリペプチド、dAb またはアンタゴニストと接合または会合する。TNFR1 結合フォーマットでの使用のために適切なアルブミン、アルブミン断片、またはアルブミン変異体の実例は、WO 2005077042 に記載されており、この開示は参照により本明細書に組み込まれ本明細書の開示の一部を構成する。特に、下記のアブミン、アルブミン断片、またはアルブミン変異体は本発明に使用できる：

- ・配列番号 1（WO 2005077042 に記載。この配列は参照により明示的に本明細書に組み込まれる）；

- ・WO 2005077042 に記載の配列番号 1 のアミノ酸 1～387 を成分とするか、または含むアルブミン断片または変異体；

- ・アルブミン、または、これらのアルブミン断片もしくはアルブミン変異体で、次の配列からなる群より選択したアミノ酸配列を含む：（a）WO 2005077042 記載の配列番号 1 のアミノ酸 54～61；（b）WO 2005077042 記載の配列番号 1 のアミノ酸 76～89；（c）WO 2005077042 記載の配列番号 1 のアミノ酸 92～100；（d）WO 2005077042 記載の配列番号 1 のアミノ酸 170～176；（e）WO 2005077042 記載の配列番号 1 のアミノ酸 247～252；（f）WO 2005077042 記載の配列番号 1 のアミノ酸 266～277；（g）WO 2005077042 記載の配列番号 1 のアミノ酸 280～288；（h）WO 2005077042 記載の配列番号 1 のアミノ酸 362～368；（i）WO 2005077042 記載の配列番号 1 のアミノ酸 439～447；（j）WO 2005077042 記載の配列番号 1 のアミノ酸 462～475；（k）WO 2005077042 記載の配列番号 1 のアミノ酸 478～486；および（l）WO 2005077042 記載の配列番号 1 のアミノ酸 560～566。

【0219】

TNFR1 結合フォーマットでの使用のために適切なアルブミン、アルブミン断片、および類似体の実例は WO 03076567 に記載されている。この開示は参照により本明細書に組み込まれ、本明細書の開示の一部を構成する。特に、下記のアブミン、断片または変異体は本発明に使用できる：

- ・WO 03076567 記載のヒト血清アルブミン（この配列情報は参照により明示的に本明細書に組み込まれる）。図 3 に一例を示す；

- ・585 アミノ酸の単一非グル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）で分子式量 66、500（Meloun, et al., FEBS Letters 58:136（1975）；Behrens, et al., Fed. Proc. 34:591（1975）；Lawn, et al., Nuclei

10

20

30

40

50

c Acids Research 9:6102-6114 (1981); Minghetti, et al., J. Biol. Chem. 261:6747 (1986) 参照) ;

・アルブミンの多型変異体または類似体または断片 (Weitkamp, et al., Ann. Hum. Genet. 37:219 (1973) に記載されている) ;

・アルブミン断片または変異体 (EP 3 220 94 に記載されている)。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 と 1~419 の間の断片 ;

・アルブミン断片または変異体 (EP 3 996 66 に記載されている)。例えば、HA (1~177) および HA (1~200)、および、HA (1~X) 間の断片。ここで X は 178~199 の任意の数字。

【0220】

(1つまたは複数の) 半減期延長部分 (例えば、アルブミン、トランスフェリンとその断片および類似体) が、本発明の TNFR1 結合ポリペプチド、dAb およびアンタゴニストをフォーマットするために使われる場合は、TNFR1 結合部分 (例えば、抗 TNFR1 dAb) に任意の適切な方法を使って接合可能である。接合法としては、例えば、融合タンパク質をコードしている単一ヌクレオチド構築物を使って直接融合する等の方法があり、この場合、融合タンパク質は、TNFR1 結合部分の N または C 末端位置に半減期延長部分をもつ単一ポリペプチド鎖としてコードされている。あるいは、接合は、部分間でペプチドリinker を使って達成可能である。例えば、ペプチドリinker は、WO 03076567 または WO 2004003019 に記載されている (このリinker の開示は、参照により本開示に組み込まれ本発明での使用のための実例を提供する)。通常、インビボ血清中半減期を延長するポリペプチドは本来インビボで発生するもので、生体 (例えばヒト) から望ましくない物質を除く内因性機構による分解または除去に抵抗性をしめす。例えば、インビボで血清中半減期を延長するポリペプチドは、細胞外マトリックスからのタンパク質、血液の中で見つかったタンパク質、血液脳関門で見つかったタンパク質、または神経組織中、腎臓、肝臓、肺、心臓、皮膚または骨に局在化しているタンパク質、ストレスタンパク質、疾患特異性タンパク質、または、Fc 輸送に関わるタンパク質から選択可能である。

【0221】

本発明の本開示全体に記載の実施形態では、本発明のアンタゴニストまたはリガンド中の抗 TNFR1 単一可変ドメイン (「dAb」) を使用する代わりに、手慣れた受け取り側が、TNFR1 に結合する本発明の dAb の 1 つ以上、または全 3 つの CDR (例えば、適切なタンパク質足場や骨格上にグラフトした CDR、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) を含むポリペプチドまたはドメインを使用できるということが意図されている。したがって、本開示は全体として dAb の代わりにこのドメインを使ったアンタゴニストの開示を提供すると理解されるべきである (この点に関しては、タンパク質足場に基づく多様なライブラリの産生、ならびにこのようなライブラリ由来ドメインの選択および特性決定法の詳細について、WO 2008096158 を参照されたい。この開示は参照により組み込まれる)。

【0222】

したがって、一実施形態では、本発明のアンタゴニストは、TNFR1 または適切なフォーマットのこの dAb の相補性決定領域に特異的に結合する免疫グロブリン単一可変ドメインまたはドメイン抗体 (dAb) を含む。アンタゴニストはこの dAb からなる、または、基本的にこの dAb からなるポリペプチドであってもよい。アンタゴニストは、抗体フォーマット (例えば、IgG 様フォーマット、scFv、Fab、Fab'、F(ab')₂) 等の適切なフォーマットの dAb (または dAb の CDR) を含むポリペプチドであっても、TNFR1 に結合する dAb、および他の標的タンパク質、抗原、またはエピトープ (例えば血清アルブミン) に結合する第二の dAb を含む二重特異性リガンド

であってもよい。

【0223】

本発明によるポリペプチド、dAb、およびアンタゴニストは、当技術分野において知られている多様な適切な抗体フォーマットとしてフォーマットされていてもよい。これらの抗体フォーマットの例としては、次のものがある。IgG様フォーマット、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、一本鎖抗体、二重特性抗体、抗体重鎖、抗体軽鎖、抗体重鎖および／または軽鎖のホモ二量体とヘテロ二量体、前出のいずれかの抗原結合断片（例えば、F_V断片（例えば、単鎖F_V（s c F_V）、ジスルフィド結合F_V）、Fab断片、Fab'断片、F（ab'）₂断片）、単一可変ドメイン（例えばV_H、V_L）、dAb、および前出のいずれかの修飾バージョン（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）、または他の適切なポリマーの共有結合により修飾された）。

10

【0224】

一部の実施形態では、本発明は、IgG様フォーマットのリガンド（例えば、抗TNFR1アンタゴニスト）を提供する。このようなフォーマットは、通常のIgG分子4鎖構造（2つの重鎖と2つの軽鎖）を有し、1つまたは複数の可変領域（V_Hおよび／またはV_L）が本発明のdAbで置換されている。一実施形態では、各可変領域（2V_H領域と2V_L領域）はdAbまたは単一可変ドメインで置換されており、そのうちの少なくとも1つが本発明による抗TNFR1dAbである。IgG様フォーマットで含まれているdAbまたは単一可変ドメインは、同じ特異性でも異なる特異性でも持つことが可能である。一部の実施形態では、IgG様フォーマットは4価であり、1つ（抗TNFR1のみ）、2つ（例えば、抗TNFR1と抗SA）、3つ、または4つの特異性を有することが可能である。例えば、IgG様フォーマットは、モノ特異性であり、同じ特異性の4つのdAbを含む；二重特異性であり、同じ特異性の3つのdAbと、異なる特異性の別のdAbを含む；二重特異性であり、同じ特異性の2つのdAbと、共通するが異なる特異性を有する2つのdAbを含む；三重特異性であり、同じ特異性の第一のdAbおよび第二のdAbと、異なる特異性の第三のdAb、ならびに第一、第二および第三のdAbとは異なる特異性の第四のdAbを含む；または四重特異性であり、それぞれ異なる特異性の4つのdAbを含むことができる。IgG様フォーマット（例えば、Fab、F（ab'）₂、Fab'、Fv、s c F_V）の抗原結合断片は調製できる。一実施形態では、IgG様フォーマットまたは抗原結合断片はTNFR1に対して1価であり得る。補体活性化および／または抗体依存性細胞毒（ADCC）機能が所望される場合、リガンドは、IgG1様フォーマットであってよい。所望の場合、IgG様フォーマットは、Fc受容体との結合および／または補体との結合能を最小限に抑えるために変異定常領域（変異型IgG重鎖定常領域）を含んでよい（例えば、Winter et al.、英国特許第2,209,757 B号；Morrison et al.、WO89/07142；Morgan et al.、WO94/29351、1994年12月22日を参照のこと）。

20

30

【0225】

本発明のリガンド（例えば、ポリペプチド、dAbおよびアンタゴニスト）は第二の免疫グロブリン単一可変ドメインに直接融合した第一の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フォーマットし得る。所望の場合、このようなフォーマットは、さらに半減期延長部分を含み得る。例えば、リガンドは、血清アルブミンに結合する免疫グロブリン単一可変ドメインに直接融合した、第二の免疫グロブリン単一可変ドメインに直接融合した第一の免疫グロブリン単一可変ドメインを含み得る。

40

【0226】

一般的には、標的に対する結合特異性を有する結合部位のあるポリペプチドドメインの方向、およびリガンドがリンカーを含むかどうかは設計選択の問題である。しかしながら、いくつかの方向は、リンカーの有無を問わず、他の方向よりも優れた結合特性を提供し得る。本発明により包含されるすべての方向（例えば、dAb1ーリンカーーdAb2；

50

d A b 2-リンカー-d A b 1) は、所望の結合特性を提供する方向を含むリガンドであり、スクリーニングにより容易に特定できる。

【0227】

本発明によるポリペプチドおよび d A b (d A b 単量体、二量体および三量体を含む) は、C_H2ドメインと C_H3ドメインの一方または両方、および任意にヒンジ領域を含む抗体 Fc 領域に結合し得る。例えば、単一ヌクレオチド配列として Fc 領域に結合したリガンドをコードするベクターをこのようなポリペプチドを調製するために用いてよい。

【0228】

本発明はさらに、前述の d A b 単量体の二量体、三量体およびポリマーを提供する。

【実施例】

【0229】

抗 TNFR1 d A b のナイーブ選択

TNF 受容体 1 (p 55) のシグナル伝達を阻害するための 2 つの異なる機序について記載されている (WO 2006038027)。第一の機序は、TNF α のその受容体への結合と直接競合するエピトープにてドメイン抗体の TNFR1 への結合によるシグナル伝達の阻害からなる。この競合は、例えば受容体を固体支持体に被覆するインビトロ受容体結合アッセイ法において測定し得、受容体への結合におけるビオチン化 TNF α とドメイン抗体との競合を、例えばストレプトアビジン-HRP を用いて残りのビオチン化 TNF α 結合の測定値を介して測定する。競合 TNFR1 阻害剤は、TNF α シグナルを残さずに TNF α のその受容体への結合をブロックする。逆に、非競合 TNFR1 阻害剤は TNF α の受容体への結合に対してほとんど影響を与えず、 μ M 濃度の阻害 d A b の存在下でさえビオチン化 TNF α の継続した読み出しに至る。しかしながら、機能的細胞アッセイ法、例えば低レベルの TNF α (10~200 pg/ml、18 時間) で刺激時、IL-8 を放出するヒト MRC5 線維芽細胞系では、競合阻害剤と非競合阻害剤の両方とも、IL-8 分泌を用量依存的に減らす。後者は、細胞ベース系において両種類の阻害剤の機能活性を示す。したがって具体的な目的は細胞アッセイ法において TNFR1 に結合してその機能活性を阻害するドメイン抗体を単離することであったが、これらのドメイン抗体は TNF α の TNFR1 への結合と (実質的に) 競合すべきではない。

【0230】

非競合 TNFR1 結合 d A b を単離するため、このサブクラスの d A b を豊富にするように選択戦略を設計した。アプローチは、D o m a n t i s 社の 4 G および 6 G ナイーブファージライブラリ、4 G のための G A S 1 リーダー配列から発現する抗体単一可変ドメインを提示するファージライブラリ (WO 2005093074 を参照のこと) および追加で 6 G のための熱/冷却前選択 (WO 04101790 を参照のこと) の使用からなる。これらのファージライブラリを、第 1 ラウンドで、200 nM ビオチン化ヒト TNFR1 (R & D S y s t e m s 社、カタログ番号 636-R1/CF、E Z-L I N K N H S-L C-L C-B i o t i n (P i e r c e 社カタログ番号 21343) を製造メーカーの説明書に従って用いてビオチン化) でインキュベートし、続いてストレプトアビジン被覆磁気ビーズ上でプルダウンした。第 2 および第 3 ラウンドにて、ファージを TNFR1 (200 nM-第 2 ラウンド、75 nM-第 3 ラウンド) で前インキュベートし、次いでビオチン化 TNF α (P e p r o t e c h 社カタログ番号 300-01A) (200 nM-第 2 ラウンド、75 nM-第 3 ラウンド) で前インキュベートし、続いてストレプトアビジン被覆磁気ビーズ上でプルダウンした。全ラウンドにおいて、増幅前に、ビーズを洗浄して結合の弱いファージを除去し、結合ファージをトリプシン消化により溶離した。理論的には、TNF α の存在下で TNFR1 に結合できる d A b は、TNF α の競合物質をプルダウンせずに特に豊富化される。なぜなら、このエピトープは、TNF α の磁気ビーズへの結合に必要とされるからである。この実験設計を用いて、ファージ選択を 3 ラウンド行い、第 2 ラウンドと第 3 ラウンドの両方を p D O M 5 大腸菌発現ベクター中にクローン化し (P C T / E P 2008/067789; WO 2009/002882 を参照のこと)、続いて d A b 発現および B I A c o r e^{T M} 上に結合する TNFR1 結合につ

10

20

30

40

50

いてのスクリーングを行った。pDOM5ベクターは、pUC119ベクターである。タンパク質の発現はLacZプロモーターにより促進される。GAS1リーダー配列（WO2005/093074を参照のこと）は大腸菌の周辺質および培養上清への単離された、溶解性dAbの分泌を確実にする。dAbはこのベクター中でSalI/NotIにクローン化し、dAbのC末端にmycタグを付加する。結合dAbを50mL尺度で発現させ、機能的特性決定のために親和性精製した。これはMRC5細胞アッセイ（下記）におけるTNF α 媒介性シグナル伝達阻害の測定ならびに受容体結合アッセイ（下記）におけるTNF α のTNFR1への結合阻害からなる。6000上清スクリーニングにより、多くのTNFR1結合剤が得られた。しかしながら、大部分は、無関係なエピトープに結合して、その結果、細胞アッセイもしくは受容体結合アッセイのいずれにおいても活性を有さないか、または受容体結合アッセイにおいて示されるように競合するかのいずれかであった。それにもかかわらず、この大部分は、1) BIAcore上でTNFR1と結合する（図1）、2) MRC5細胞アッセイ法においてTNF α を阻害する（図2）、一方で3) 受容体結合アッセイにおいてTNF α 競合を示さない（図3）、dAbの配列解析により5つの独特なdAbが特定された（DOM1h-543データに関する図なし）。これら5つのdAbは以下であった：DOM1h-509、DOM1h-510、DOM1h-543、DOM1h-549およびDOM1h-574。

【0231】

選択されたdAbのエラーブローン変異導入による試験成熟

DOM1h-509、DOM1h-510、DOM1h-543、DOM1h-549およびDOM1h-574の成熟度を決定するために、Genemorph IIキット（Stratagene社（サンディエゴ、米国）カタログ番号200550）を製造メーカーの説明書に従って用いてdAb変異体のエラーブローンPCRライブラリを生成した。配列解析により、これらのライブラリの平均変異率はアミノ酸レベルで約2%であることが示された。これらのライブラリをファージベクターpDOM4中にクローン化し、ファージ上に発現させた。pDOM4は、線維状ファージ（fd）ディスプレイベクターであり、これはmycタグ付きfdベクターに基づき、タンパク質配列は、制限部位間でクローン化してタンパク質遺伝子III融合物を得ることができる。dAbをコードする遺伝子をSalI/NotI断片としてクローン化した。

【0232】

減量ビオチン化ヒトTNFR1（R&D Systems社）（50nM（第1ラウンド）、5nM（第2ラウンド）および0.5nM（第3ラウンド））とのインキュベートの連続3ラウンド中、改善された結合剤を選択した。3ラウンドの選択後、dAb遺伝子大腸菌発現ベクターpDOM5中にクローン化し、発現させ、結合動態の改善のため上清をBIAcoreによりスクリーニングした。全5つの親系統から誘導される変異型をスクリーニングした；DOM1h-574系統由来のdAbは、BIAcore上でスクリーニング時、解離率の有意な改善を示した。MRC5細胞アッセイ法において解離率が最も顕著に改善したdAbを精製して特性決定した（表1および図4）。最良のdAbは以下である：DOM1h-574-7、DOM1h-574-8、DOM1h-574-10、DOM1h-574-11、DOM1h-574-12およびDOM1h-574-13。これらのdAb評価から、本発明者らは判断力を働かせて親和性改善に特に関与し得る位置および変異を特定した：V30G、G44D、L45P、G55D、H56RおよびK94I（Kabatatナンバリング）。付加的な効果を模索し、本発明者らはこれらの特異的変異を単一dAb中に一体化した新規dAb変異型を生成した。DOM1h-574鑄型を用いて遺伝子操作した新規変異型は以下であった：DOM1h-574-14（G55D、H56RおよびK94I）、DOM1h-574-15（G55DおよびK94I）、DOM1h-574-16（L45P、G55D、H56RおよびK94I）、DOM1h-574-17（L45P、G55DおよびK94I）、DOM1h-574-18（V30G、G44D、G55D、H56RおよびK94I）およびDOM1h-574-19（V30G、G44D、G55DおよびK94I）（図5）。MRC5

細胞アッセイ法における効能および B I A c o r e 上の T N F R 1 親和性のためのこれらの変異型の特性決定により、さらなる改善を特定した（表 1）。最も強力な d A b は D O M 1 h - 5 7 4 - 1 6 であった。

【表 1】

DOM1h-574 親および有益な変異の組換えを介して試験成熟中に特定されて構築された d A b の M R C 5 細胞アッセイ法における B I A c o r e 親和性および効能の概要。DOM1h-574-16 は B I A c o r e 上の最高親和性と M R C 5 細胞アッセイ法における最高効能とを組み合わせる。値を測定しなかった場合、(ND) と示す。

	BIAcore K_D (nM)	MRC-5 EC_{50} (nM)
DOM1h-574-8	5.7	10
DOM1h-574-11	200	800
DOM1h-574-12	23	130
DOM1h-574-13	44	300
DOM1h-574-14	ND	ND
DOM1h-574-15	20	300
DOM1h-574-16	1.0	8
DOM1h-574-17	8.4	20
DOM1h-574-18	4.1	17
DOM1h-574-19	ND	140

10

20

EC_{50} 測定値を Graphpad Prism により測定した。DOM1h-574 の EC_{50} 測定値は、DOM1h-574-16 の EC_{50} 測定値の約 200 倍であると推定される。

【0233】

DOM1h-574-16 の種間交差反応

抗 T N F R 1 d A b の有意な利点は異種間の交差反応である。マウス、イヌ、カンクイザルおよびヒト間の T N F R 1 細胞外ドメイン配列の限られた保存（図 6）を考慮し、任意の抗体または単一可変ドメインが類似した親和性でこれら異種の T N F R 1 を認識することは例外的であろう。したがって、本発明者らは B I A c o r e 上でマウス T N F R 1（R&D Systems 社カタログ番号 425-R1-050/CF）、イヌ T N F R 1（R&D Systems 社カタログ番号 4017-TR-025/CF）およびヒト T N F R 1（R&D Systems 社）に対する DOM1h-574-16 の結合能を試験した。マウス実験において、E Z - L I N K N H S - L C - L C - B i o t i n（Pierce 社カタログ番号 21343）を製造メーカーの説明書に従って用いて T N F R 1 をビオチン化し、続いてビオチン化 T N F R 1 をストレプトアビジン被覆 B I A c o r e チップへ結合させた（マウス実験）。ヒトおよびイヌ T N F R 1 において、アミン結合した T N F R 1 を使った。続いて、DOM1h-574-16 をヒト、マウスおよびイヌ T N F R 1 上に注入し、B I A c o r e 上で結合をモニタリングした。異種への結合例を図 7 および 8 に示し、結果の概要を表 2 に示す。明らかに、DOM1h-574-16 は、本発明者らの先に記載された（WO2008149148）競合抗 T N F R 1 d A b DOM1h-131-206（マウス T N F R 1 への結合は事実上なく、イヌ T N F R 1 へは非常に弱い結合のみを示した）とは対照的に、異種の T N F R 1 へ高親和性結合を示した。

30

40

【表 2】

B i a c o r eにより測定した、DOM1h-131-206およびDOM1h-574-16のマウス、イヌおよびヒトTNFR1結合親和性。*=B I A c o r eにより測定するには不良すぎの親和性 (μ M超)

	マウス <i>TNFR1</i> (K_D)	イヌ <i>TNFR1</i> (K_D)	ヒト <i>TNFR1</i> (K_D)
DOM1h-131-206	ND*	500nM 超	0.47nM
DOM1h-574-16	20nM	20nM	1nM

B i o e y a l u a t i o n 3. 1パッケージを用いた推定データ

【0234】

10

次に、マウス細胞 (L929) のTNF α 媒介性細胞毒を阻害し、カニクイザル細胞 (CYNOM-K1) のTNF α 媒介性IL-8放出を阻害するDOM1h-574-16の効能を評価した。標準的マウスL929およびCYNOM-K1細胞アッセイの両方を、既報 (WO2006038027) および下記のとおり実施した。簡単に述べると、マウスL929細胞を100pg/mlマウスTNF α で、アクチノマイシンDの存在下、および用量範囲のDOM1h-574-16で一晩インキュベートした。18時間後、細胞生存能を確認してDOM1h-574-16濃度に対してプロットした。カニクイザルCYNOM-K1細胞アッセイ法において、用量範囲のDOM1h-574-16の存在下、細胞をTNF α (200pg/ml) で18時間刺激した。インキュベート後、培地を除去してIL-8レベルを測定した。中和パーセンテージをDOM1h-574-16濃度に対してプロットした。両細胞種類において、DOM1h-574-16はTNF α 媒介性作用を効果的に阻害できた。その効能はマウス標準的L929細胞ベースアッセイにおいて約250nM、カニクイザルCYNOM-K1アッセイにおいて約10nMであった (図9および10)。これらの結果は、細胞ベースアッセイにおいてDOM1h-574-16の機能的、種間交差反応性を示す。

20

【0235】

DOM1h-574の親和性成熟

本試験成熟および組み合わせ変異体の結果に基づき、さらなる親和性成熟の鋳型としてDOM1h-574-14を用いることを決定した。この特定のdAbは最も強力ではなかったが、生殖系列DP47フレームワークに比べていかなるフレームワーク変異も有さなかったために選択された。親和性成熟のため、DOM1h-574-14のCDRを以下のオリゴヌクレオチドを用いてCDRを増幅することにより無作為化した: AS1029およびAS339 (CDR1)、AS1030およびAS339 (CDR2) ならびにAS1031およびAS339 (CDR3)。以下のオリゴヌクレオチドの組み合わせを用いて各ライブラリの第二のPCR断片を作製した: AS1031'およびAS9 (CDR1)、AS1032およびAS9 (CDR2)、AS1033およびAS9 (CDR3)。SOE PCR (Horton et al., Gene, 77, p61 (1989)) を用いて、2つのCDR1 PCR生成物を組み合わせてCDR1ライブラリを作製し、CDR2生成物を組み合わせてCDR2ライブラリを作製し、CDR3生成物を組み合わせてCDR3ライブラリを作製した。すべての反応においてSOE生成物をネステッドプライマーAS639とAS65で増幅し、WO2006018650に記載のpIE2aA²ベクター中のSalI/NotIに連結させた。無作為化オリゴヌクレオチド (AS1029、AS1030およびAS1031) は固定位置 (大文字で示す、オリゴヌクレオチドの100%が指定のヌクレオチドをこの位置に有する) および混合したヌクレオチド組成物 (小文字で示す、オリゴヌクレオチドの85%がこの位置に優性ヌクレオチドを有し、15%が他の3つのヌクレオチド間に同等の分割を有する) からなる。DNA-ディスプレイ構築物pIE2aA²を用いて3つの異なるライブラリを調製した。ライブラリのアリコートを用いて大腸菌を形質転換して配列決定した。親クローンと比較して、親和性成熟ライブラリはCDR全体に多くの変異を含んだ。インビトロのエマルジョン中の区画化およびscArc DNA結合タンパク質を介したDNAディスプレイ

30

40

50

を用いて選択を実施した（WO2006018650を参照のこと）。計13ラウンドの選択を実行する間、ライブラリは別々に保った。20、20、10および10nMビオチン化ヒトTNFR1（R&D Systems社）の均衡選択の4ラウンド後、7ラウンドの解離速度（off-rate）選択を130nM非ビオチン化hTNFR1および5nMビオチン化hTNFR1の存在下で最大150分間行った。非標識hTNFR1は競合物質であった。選択は貯蔵したライブラリも用いて行った（貯蔵ライブラリのための選択、計14ラウンド）。選択過程中的ライブラリ適応度はリアルタイムPCRによりアッセイした。使用した方法の原理は以下のとおりである：qPCRによるポリクローナル集団適応度のインビトロタイテーションは、溶液状態におけるインビトロ発現反応後に表面結合抗原により捕獲したdAb-scArcタンパク質との複合体中のコード化DNA量を測定することによりポリクローナルdAb集団の平均親和性の半定量的測定値を提供する（遺伝型－表現型の関連なし）。回収したインプットDNAの分画が高いほど、ポリクローナルdAb集団はより強力である。適切な基準点は、親クローンの非関連抗原で被覆した非特異性表面への結合レベルであり、標的抗原で被覆した表面へ特異的結合するレベルである。異なる段階の選択中にDNA鋳型を回収し、0.1mg/ml RNA溶液で1.7nM濃度に希釈した。インビトロ発現反応を0.3μlの100mM酸化グルタチオン、0.05μlの340nM抗HA mAb 3F10（Roche社から入手）および0.5μlの1.7nM DNA鋳型を補充したEcoPro T7大腸菌抽出物10μl容積中で実施した。Strep ThermoFastプレートウェルをビオチン化hTNFR1標的抗原（0.1μlの30μMストック/ウェル）またはBSA陰性対照（0.1μlの2mg/mlストック/ウェル）で室温で1時間被覆し、続いて緩衝液C（10mMトリス、100mM KCl、0.05% Tween 20、5mM MgCl₂および0.1mM EDTA）で3回洗浄した。インビトロ発現反応を25℃で3時間インキュベートし、次いで緩衝液Cを用いて100μlに希釈し、先にビオチン化hTNFR1またはBSAで被覆したStrep ThermoFastプレートウェル（ABgene、英国）に2つの50μlアリコートとして適用し、室温でさらに1時間インキュベートし、緩衝液Cで3回洗浄して、結合していないDNAを除去した。オリゴヌクレオチドAS79およびAS80ならびにiQ SYBR Green Supermix（Bio-Rad Laboratories、カタログ番号170-8880）を製造メーカーの説明書に従って用いて結合DNA分子を増幅した。増幅サイクルは以下であった：2分94℃、続いて15秒94℃、30秒60℃および30秒72℃の40サイクル。DNA量をBioRad MiniOpticonリアルタイムPCR機械（Bio-Rad Laboratories、Hercules CA）上で定量化し、Bio-Rad Laboratoriesにより提供されたOpticon Monitorバージョン3.1.32（2005）ソフトウェアを用いて解析した。既知のDNA濃度の試料からの標準曲線は、500～5×10⁸分子/反応の範囲を網羅した。選択の第10ラウンドまで、各ラウンドが先行ラウンドより多くのDNAを回収するにつれライブラリ適応度は増したが、これは平均結合dAb数が増加したことを示唆した。この時点以降、リアルタイムPCRにより測定したDNA回収レベルに上昇は見られず、選択の追加ラウンドはdAb親和性においてさらなる改善を有意に生じなかったことが示唆された。第9および第14ラウンドの選択された集団をpDOM13ベクター中にクローン化し（WO2008/149148を参照のこと）、配列決定し、発現させて、未精製形態の解離速度定数をBiacoreでアッセイした。

【0236】

ライブラリの多様性は大いに低減し、Biacore dAb上清スクリーニングにより測定した改善された（2～3倍の）解離速度定数を示すいくつかのクローンが見出された。これらの改善されたdAbのDNAシーケンシングによりDOM1h-574-25～DOM1h-574-40を特定した。

【0237】

これらのdAbに基づき特定された有益な変異を下にCDRごとに分けて列挙する（K

10

20

30

40

50

a b a tによるナンバリング) :

C D R 1 : V 3 0 は、I、LまたはFに有益に変異している、

C D R 2 : S 5 2 は、AまたはTに有益に変異している、

N 5 2 a は、DまたはEに有益に変異している、

G 5 4 は、AまたはRに有益に変異している、

T 5 7 は、R、KまたはAに有益に変異している、

A 6 0 は、D、S、TまたはKに有益に変異している、

D 6 1 は、E、HまたはGに有益に変異している、

S 6 2 は、AまたはTに有益に変異している、

C D R 3 : E 1 0 0 は、Q、V、A、DまたはSに有益に変異している、

D 1 0 1 は、E、V、HまたはKに有益に変異している。

10

【0238】

第一に、クローンDOM1h-574-30、-31、-38および-39のCDR1+2をクローンDOM1h-574-25、-27、-28、-29および-32のCDR3とミニライブラリ中で組換えた。これらのdAbは、B i a c o r e 親和性の改善が最も大きいdAbを代表し、したがってこれらのdAbの組み合わせが親和性の向上した新規配列を特定する最適な機会であるため、これらのdAbを選択した。生成した組換えdAbはDOM1h-574-65~DOM1h-574-79およびDOM1h-574-84~DOM1h-574-88であり、このうちDOM1h-574-72 (配列番号2) が最も強力であった。続いて、-72を鋳型として用いて、アミノ酸変化を誘発してクローンDOM1h-574-89~DOM1h-574-93、DOM1h-574-109~DOM1h-574-149、およびDOM1h-574-151~DOM1h-574-180を産生することにより、個別のアミノ酸変異の有用性を評価するためにこのdAbを使用した。これらのクローンのほとんどを発現させ、精製して、B i a c o r e 上の結合、MRC5細胞アッセイ法における効能およびトリプシン消化耐性により測定したプロテアーゼ安定性についてアッセイした。プロテアーゼ安定性は、dAb 1mg/mlのPBS溶液を減量トリプシン (Promega社、V511Aトリプシン) とインキュベートすることにより測定した。5つの異なる濃度のトリプシン (34、17、8.5、4.25および2.13 μg/ml) ならびにトリプシンを欠く対照でインキュベートを実施した。37℃で3時間インキュベート後、ローディング色素を添加することによりタンパク質分解反応を停止し、LabChip 90システム (Caliper Life Sciences) 上で残った非切断dAb量を測定した。最も改善されたクローンの効能は、親和性成熟のために使用される開始dAbであるDOM1h-574-16の約30倍改善された。MRC5細胞アッセイ法において最も強力であったものは以下である: DOM1h-574-109、DOM1h-574-132、DOM1h-574-135、DOM1h-574-138、DOM1h-574-156、DOM1h-574-162およびDOM1h-574-180 (図11)。

20

30

【0239】

驚くべきことに、一方の親和性/効能の構造決定因子と他方のプロテアーゼ安定性は異なることを見出した。列挙した変異のほとんどは親和性をB i a c o r eにより測定したnM以下の範囲で改善した一方、トリプシン耐性も低減した (dAbのプロテアーゼ安定性を決定するために適したアッセイの詳細については、WO2008149143およびWO2008149148を参照のこと)。他方、変異D101V (Kabataナンバリング) は、dAb親和性が他に試験した任意の配列に比べて約2倍低減したにもかかわらず、最良のプロテアーゼ安定性と非常に高頻度に関連した。最もプロテアーゼ安定性のあるdAbは以下である: DOM1h-574-93、DOM1h-574-123、DOM1h-574-125、DOM1h-574-126、DOM1h-574-129、DOM1h-574-133、DOM1h-574-137およびDOM1h-574-160 (図12)。

40

【0240】

50

最も有望なDOM0100 dAbの特性決定

BIAcore結合およびMRC5細胞アッセイ効力データに基づき、12個のDOM0100 dAb部分集合をTNFR1への結合動態、細胞アッセイにおける効能および生物物理学的特性のさらなる特性決定のために選択した。これらすべての実験において、dAbを大腸菌中で発現させ、プロテインA streamlineを使用し、続いてPBS溶液中で透析して精製した。この特性決定のために用いた12個のdAbは以下であった：DOM1h-574-72、DOM1h-574-109、DOM1h-574-126、DOM1h-574-133、DOM1h-574-135、DOM1h-574-138、DOM1h-574-139、DOM1h-574-155、DOM1h-574-156、DOM1h-574-162およびDOM1h-574-180。ある実験において、DOM1h-574-16を参照として含んだ（図13）。 10

【0241】

結合特性DOM0100 dAb（抗TNFR1 dAb）

BIAcoreにより異なるdAbの会合および解離速度を測定し、このようにしてヒトTNFR1とマウスTNFR1の両方に対する結合親和性を確立した。実験を行い、それぞれの種のビオチン化TNFR1（R&D Systems社）を用いて、ストレプトアビジン被覆BIAcoreチップにカップリング後、濃度範囲のdAbを注入した。結果を表3に要約する。すべてのdAbがヒトTNFR1への高い結合親和性（ $KD < 350 \text{ pM}$ ）ならびにマウスTNFR1への良好な親和性（ $KD < 7 \text{ nM}$ ）を示す。ヒトTNFR1とマウスTNFR1間のdAb親和性差が約20倍であることはマウスTNFR1とヒトTNFR1間の限定的な配列相同を考慮すると非常に驚くべきことであり、受容体において高度に保存されたモチーフの標的化が示唆され得る。 20

【表3】

ヒトTNFR1とマウスTNFR1に対するDOM0100 dAbの会合および解離のBIAcore解析。最も強力な抗ヒトTNFR1 dAbは、最も強力な抗マウスTNFR1 dAbでもある傾向がある（例えばDOM1h-574-138およびDOM1h-574-156）。

DOM0100 dAb	ヒト			マウス		
	K_{on} ($\times 10^5 M^{-1} s^{-1}$)	K_{off} ($\times 10^{-5} s^{-1}$)	KD (pM)	K_{on} ($\times 10^5 M^{-1} s^{-1}$)	K_{off} ($\times 10^{-4} s^{-1}$)	KD (nM)
DOM1h-574-72	2.5	8.4	350	1.0	6.8	6.9
DOM1h-574-109	2.4	5.5	230	1.2	3.3	2.8
DOM1h-574-126	3.8	7.9	210	1.6	6.8	4.4
DOM1h-574-133	2.6	8.8	340	1.4	7.5	5.2
DOM1h-574-135	2.5	5.2	210	1.1	4.5	3.8
DOM1h-574-138	2.5	3.8	150	1.3	3.0	2.4
DOM1h-574-139	1.4	3.7	270	0.7	3.0	4.4
DOM1h-574-155	2.4	4.3	180	1.1	3.3	3.7
DOM1h-574-156	3.0	4.3	150	1.4	3.0	2.1
DOM1h-574-162	2.9	4.4	150	1.4	3.4	2.5
DOM1h-574-180	2.7	4.1	150	1.2	3.2	2.7

【0242】

DOM0100 dAbの生物物理学的特性

DOM0100 dAbの生物物理学的特性（プロテアーゼ安定性、熱安定性および溶液中状態等）についてさらに特性決定した。プロテアーゼ安定性は、dAb 1 mg/mlのPBS溶液を減量トリプシン（Promega社、V511Aトリプシン）とインキュベートすることにより測定した。5つの異なる濃度のトリプシン（34、17、8.5、4.25および2.13 $\mu g/ml$ ）ならびにトリプシンを欠く対照でインキュベートを実施した。37℃で3時間インキュベート後、ローディング色素を添加することにより 50

タンパク質分解反応を停止し、LabChip 90システム (Caliper Life Sciences) 上で残った非切断dAb量を測定した。量は、対照反応において存在する量のパーセンテージとして定量化した。これを表4に要約する。示差走査熱量測定 (DSC) 機器 (Microcal社、マサチューセッツ) を用いてDOM0100 dAbの熱安定性を測定した。dAb 1mg/mlのPBS溶液を機器中でインキュベートして融点を測定した。結果を表4に要約する。最終的に、サイズ排除クロマトグラフィーおよびマルチアングルレーザ光散乱 (SEC-MALLS) を用いてdAbの溶液中状態を測定した。dAbをSEC-MALLS 1mg/mlのPBS溶液に注入して主要ピークの質量を測定した。DOM0100 dAbは、それらの溶液中状態に基づき単量体または二量体のいずれか2群に分割できた。概要については表4を参照されたい。

10

【表4】

DOM0100 dAbの生物物理学的特性の概要。目的とするdAb特性の組み合わせは、受容体架橋およびそれに続くアゴニズムもしくは活性欠如を回避するための、高いトリプシン安定性、高い熱安定性および単量体溶液中状態である。34μg/mlトリプシンで37℃で3時間インキュベート後に残った活性を、t0の活性パーセンテージとして表に列挙する。融点 (T_m) をDSCにより測定し、溶液中状態をSEC-MALLSにより測定した。最もトリプシン安定しているdAb (DOM1h-574-133) は二量体であるため好ましくないことが表で示される。特性の最良の組み合わせを有するdAbは以下である: DOM1h-574-109、DOM1h-574-156およびDOM1h-574-162。値を測定しなかった場合、(ND) と示す。

20

DOM0100 dAb	トリプシン安定性 (残った活性%)	T _m °C	溶液中状態
DOM1h-574-72	15	56	単量体 (70%)
DOM1h-574-109	23	55.2	単量体 (70%)
DOM1h-574-125	ND	53.5/57.2	不良データ
DOM1h-574-126	50	55.4/59.6	不良データ
DOM1h-574-133	60	57.6/59.6	二量体 (90%)
DOM1h-574-135	5	51.5	単量体 (90%)
DOM1h-574-138	17	54/56.9	単量体/二量体均衡
DOM1h-574-139	2	52.1/55.1	不良データ
DOM1h-574-155	7	53	単量体 (75%)
DOM1h-574-156	12	55	単量体 (90%)
DOM1h-574-162	10	54.2	単量体 (90%)
DOM1h-574-180	5	53.2	単量体 (75%)

30

【0243】

DOM0100 dAbの機能的特性決定

DOM0100 dAbの機能活性および種間交差反応性について、下記のヒトMRC-5細胞アッセイ、マウスL929細胞系およびカニクイザルCYNOM-K1細胞系を用いて特性決定した。ヒトTNFR1シグナル伝達の機能的阻害のため、ヒト線維芽細胞系MRC-5を用量範囲のdAbでインキュベートしてから、200pg/ml TNFα (Peprotech社) (L929アッセイに用いた20pg/mlマウスTNFα (R&D Systems社) を除く) で18時間刺激した。この刺激後、培地を除去して、TNFαへの反応中に細胞により産生された、培地中IL-8レベルをABI8200 (Applied Biosystems社) を用いて測定した。dAbのIL-8分泌ブロック能は、dAbがいかにかうまくTNFR1媒介性シグナル伝達を阻害するかの機能的読み出しである。MRC5細胞アッセイ法における12個のDOM0100 dAbの試験結果を表5に示す。マウスL929細胞系を用いて機能的マウス交差反応性を決定し、12個のDOM0100 dAbによるTNFα誘発性細胞毒からの保護レベルを評価した。このアッセイでは、細胞を用量範囲のdAbで再インキュベートし、続いてアクチノマイシンの存在下でTNFαを刺激する。一晚インキュベート後、細胞の生存能を測

40

50

定し、dAb濃度に対してプロットする。DOM0100 dAbはTNF α 細胞毒から保護し、ND50値は20～40nMの範囲となった。ヒトMRC5細胞とマウスL929細胞間で観察されたDOM0100 dAbの効能差は、Biacoreにより測定した親和性差と類似した桁数である。

【0244】

最後に、CYNOM-K1細胞系を用いてdAbのカニクイザル交差反応性を試験した。簡単に述べると、dAbを平底細胞培養プレート中、CYNOM-K1細胞（ECACC 90071809）（ 5×10^3 細胞/ウェル）で37℃で1時間インキュベートした。組換えヒトTNF α （PeproTech社）を添加し（最終濃度200pg/ml）、プレートを18～20時間インキュベートした。次いで培養上清中に分泌されたIL-8レベルをDuoSet ELISA developmentシステム（R&D Systems社、カタログ番号DY208）を製造メーカーの説明書（文書番号750364.16バージョン11/08）に従って用いて測定した。IL-8分泌阻害パーセンテージに対してdAb濃度をプロットすることによりND50を測定した。DOM0100 dAbの結果を表5に示す。

【表5】

異種の細胞ベースアッセイにおけるDOM0100 dAb機能活性の概要。提示した値はすべてそれぞれの細胞アッセイ法において決定したND50値（nM）であり、NDは未測定を表す。MRC5アッセイにおけるDOM0100 dAb間差は制限されるが、マウスおよびカニクイザル細胞アッセイ法において観察されたものと同じ傾向があった。種全体で、DOM1h-574-156、DOM1h-574-109およびDOM1h-574-138は最も強力なdAbである。MRC5アッセイ法において、我々はS字形であると判断した曲線を採用した。これらの曲線の平均値を表に示す。

DOM0100dAb	ヒト	マウス	カニクイザル
	<i>MRC5</i>	<i>L929</i>	<i>CYNOM-K1</i>
	nM	nM	nM
DOM1h-574-72	2.7	46	2.3
DOM1h-574-109	1.8	63	1.6
DOM1h-574-125		35	1.2
DOM1h-574-126	1.9	35	1.2
DOM1h-574-133	2.1	110	1.7
DOM1h-574-135	1.8	47	1.5
DOM1h-574-138	1.4	23	1.2
DOM1h-574-139	1.1	28	1.8
DOM1h-574-155	2.1	67	1.6
DOM1h-574-156	0.9	22	ND
DOM1h-574-162	1.2	27	ND
DOM1h-574-180	1.9	34	ND

【0245】

DOM0100 dAbのエピトープマッピング

DOM0100 dAbのTNFR1上の結合エピトープが活性機序と相関し得るため、TNFR1中のどの残基がDOM0100 dAbにより認識されるかを確立するために複数の試みが行われた。2つの実験アプローチ：1) BIACoreエピトープ競合および2) 部分的に重複するペプチドを用いたペプチドスキャン、を選択してエピトープを確立した。

【0246】

1) BIACoreエピトープ競合：

TNFR1上の単一エピトープにおいて、2つの異なる抗体または抗体断片間で競合が存在するかを決定するための定性的アプローチは、BIACoreにより行い得る（Malmberg, J. Immunol. Methods 183, p7 (199

5))。この目的のため、ビオチン化TNFR1は、BIAcore SAチップ上に被覆し、続いて任意の競合抗体（断片）の不在下で異なるdAbまたは抗体を連続注入して各抗体結合レベルを確立する。続いて、同じ濃度の抗体（断片）を用いて反復注入するが、今度は抗体の注入直後に競合を決定する。結合抗体（断片）は、共鳴単位（RU）において定量化し、第二の抗体の存在および不在下で比較する。2つの抗体（断片）間で競合しない場合、RU結合数は他の抗体の存在および不在下で同一となる。逆に、競合する場合、第二の抗体（断片）注入中にRU結合はほとんどないかまたはない。DOM1h-574-16において、TNF α 競合dAb（DOM1h-131-511（WO2008149144を参照のこと））およびmAb（mAb225（R&D Systems社；カタログ番号MAB225））の存在および不在下で共鳴単位結合数は変化せず、記載のdAbおよびmAbにとって新規のエピトープを示す（図14および15）。TNFR1は、4つのシステイン豊富ドメインからなる多ドメイン受容体である。ドメイン2および3はTNF α 結合に関与し（Banner et al., Cell, 73, p431（1993））、対してプレリガンド会合ドメイン（PLAD）としても知られている第一ドメインは、TNF α 結合前に受容体の前会合を促進する（Chan et al., Science, vol 288, p2351（2000））。BIAcore上の既知のPLAD結合mAbクローン4.12（Invitrogen社、カタログ番号Zymed 33-0100により供給）との競合は非常に制限され、クローン4.12結合RU数は、DOM0100 dAb（DOM1h-574-16）の存在下で非存在下に比べて最大20%減少することを示す（図16）。これは、DOM1h-574-16により認識された大部分のエピトープはクローン4.12により認識されないことを示す。DOM1h-574-16との完全な競合を示したdAbは、選択中に単離された別のDOM0100 dAb：DOM1h-510のみであった（図17）。DOM0100 dAbがマウスTNFR1への交差反応結合を示すため、BIAcoreチップに被覆したマウスTNFR1上で同一実験を施行して、抗マウスTNFR1、非競合的dAb DOM1m-21-23と競合するかどうかを確立できた（WO2006038027を参照のこと）。際立つことに、DOM1m-21-23とDOM0100 dAb DOM1h-574-16間には競合が見られなかった（図18）。マウスと交差反応するDOM1h-574 dAbの独特な特性は、上記dAbまたは抗体（DOM1h-131-511、mAB225、クローン4.12およびDOM1m-21-23）が任意の有意なマウス／ヒト交差反応を示さないため、新規エピトープを認識する必要があることも強調する。

【0247】

2) TNFR1のペプチドスキャン

TNFR1上の任意の線型エピトープが本発明者らのDOM1h-574 dAb系統により認識されるかどうかを確立するため、15merペプチドスキャン（3残基でそれぞれ補正）を合成してTNFR1の完全な細胞外ドメインを覆った。これらのペプチドはそれぞれビオチン基を含み、これらはForteBio Octet機器（Menlo Park、カリフォルニア、米国）の異なるセンサーチップにカップリングするために使用した。ForteBio Octet機器は分子の相互作用のリアルタイム測定を可能とするバイオレイヤー インターフェロメトリー（Bio-Layer Interferometry（BLI））、非標識、バイオセンサー技術を用いる。Octet機器はバイオセンサーまで白色光を下に放ち、反射光を収集する。バイオセンサーチップに結合した分子数の変化はいずれも反射光のこの干渉パターンをシフトさせ、リアルタイムで測定される。本発明者らの実験では、各チップを異なるペプチドで被覆し、DOM1h-574-16 dAbでインキュベートしてdAbの各チップへの結合をモニタリングした。チップの大部分は確実な結合を示さなかった。3つのペプチドは、いかなる結合も示さない陰性対照ペプチドと共にBioForte Octet上で、ストレプトアビジン被覆BIAcoreチップにカップリングさせ、これらのペプチドに対するDOM1h-574-16、DOM1h-131-511およびDOM1m-21-23の結合を測定し

た（図19、20および21）。DOM0100 dAb（DOM1h-574-16）のみが任意の3つの特異性ペプチドへの結合を示し、残りのdAbはいずれの結合も示さなかった。陰性ペプチド対照上では、いずれのdAbに対する結合も観察されなかった。3つのTNFR1ペプチドは2群：1）ドメイン1に位置するペプチド1（NSICCTKCHKGTLYL）と、2）TNFR1のドメイン3で重複しているペプチド2（CRKNQYRHYWSENLF）および3（NQYRHYWSENLFQCF）に分割できた。特にペプチド1については、注目に値することに、一番最後の残基を除き、この配列はマウスとヒトTNFR1間で十分に保存されているTNFR1中の15の連続アミノ酸残基のストレッチのみに対応する（この保存されているストレッチは配列：NSICCTKCHKGTLYLを有する）。このエピトープへの結合はDOM1h-574系統において観察されたマウス交差反応性を説明する。

10

【0248】

インビボ半減期延長のためのDOM0100 dAbのフォーマット化

慢性炎症障害（例えばRAおよび乾癬等）の治療において有用であるDOM0100 dAbについて、dAbが全身に送達されて長期間活性化することが望ましい。これを達成するために多くの異なるアプローチ（例えばPEG部分のdAbへの付加、血清アルブミン結合dAb（AlbudaTM）との遺伝的融合物としてのdAb発現、またはIgGのFc部分との遺伝的融合を含む）が利用可能である。DOM0100（抗TNFR1）dAb DOM1h-574-16において、PEGとAlbuda融合物の両方を試験した。

20

【0249】

1）40K（40KDa）線型PEGとの接合による半減期延長

この目的のため、dAbのC末端に遊離システインを有するDOM1h-574-16の変異型を作製した（C末端のセリンをシステインに置換した）。大腸菌中で変異型を発現させ、プロテインA streamlineを用いて精製した。マレイミド化学（WO04081026を参照のこと）を用いて、40K線型PEG（DOWpharma社）をこのDOM1h-574-16変異型のC末端に接合させ、反応物をFPLCカラム上に流して清浄した。この分子をDMS0162と名付けた。PEG接合によるDMS0162の半減期延長効果をラットPK試験において評価した。3匹の雌Sprague-Dawleyラットに標的用量2.5mg/kgタンパク質を静脈内投与した。血液試料を投与後0.17、1、4、8、24、48、72、96、120および168時間にラットから採取し、アッセイして血中DMS0162量を測定した。DMS0162試料をTNFR1-捕獲およびヤギ抗hfAb検出ELISAで試験した。アッセイの生データを各血清試料中の薬剤濃度に変換した。各時点の平均μg/mL値を次いでノンコンパートメント解析（NCA）を用いてWinNonlin解析パッケージ、例えばバージョン5.1（Pharsight社、マウンテンビュー、カリフォルニア94040、米国から入手可能）で解析した。これらのデータにより、ラットにおけるDMS0162の平均終末半減期は20.4時間であった。

30

【0250】

2）AlbudaTMとの遺伝的融合を介した半減期延長

40

a）Albudaと融合した抗TNFR1 dAbの機能的特性決定

既に本発明者らはdAbのPK半減期をインビボで延長するためにアルブミン結合dAb（Albuda）との遺伝的融合の使用について記載済みである（例えば、WO04003019、WO2006038027、WO2008149148を参照のこと）。これらの融合の所望の態様は以下である：

1）Albudaの融合は、TNFR1結合dAbの結合親和性に実質的に影響を与えない、

2）異種由来のアルブミンに対するAlbudaの親和性は、PK半減期延長が期待できるものであるべきである。

【0251】

50

異なる Albu dAb と DOM1h-574-16 との対合を評価するために、表 6 に対合を列挙した（構築物は N 末端から C 末端方向で、抗 TNFR1 dAb（すなわち、DOM0100 dAb）-リンカー-Albu dAb-myc であった）。DMS0184 を除いたすべてが、検出目的のために恐らく使用し得る myc タグを C 末端に含む。【表 6】

MRC5 細胞アッセイ法における抗 TNFR1 dAb/Albu dAb 融合の BIAcore 解離速度変数および抗 TNFR1 dAb 効能。DMS0184 を除く列挙したすべての dAb/Albu dAb の C 末端に myc タグを含む。一部の場合、BIAcore により血清アルブミンへの結合が観察されず（NB）、他の場合では測定しなかった（ND）。MRC5 アッセイ法において、一部のデータは値を示すことを正当化する上で十分な頻度の測定を行わなかった（ND*）。

DMS	DOM0100 dAb N 末端 dAb	リンカー	Albu dAb C 末端 dAb	Koff MSA S ⁻¹	Koff HSA S ⁻¹	ND50 (MR C5) nM
DMS0182	DOM1h-574-16	AST	DOM7h-11	0.75	0.17	6
DMS0184	DOM1h-574-16	ASTSGPS	DOM7h-11	0.72	0.16	19
DMS0186	DOM1h-574-16	AST	DOM7h-11-12	0.08	0.12	20
DMS0188	DOM1h-574-16	ASTSGPS	DOM7h-11-12	0.08	0.12	17
DMS0189	DOM1h-574-16	AST	DOM7h-11-3	0.13	0.017	ND*
DMS0190	DOM1h-574-16	ASTSGPS	DOM7h-11-3	0.16	0.019	ND*
DMS0191	DOM1h-574-16	AST	DOM7m-16	0.11	NB	ND*
DMS0192	DOM1h-574-16	ASTSGPS	DOM7m-16	0.09	NB	ND*
DMS0163	DOM1h-574-16	ASTSGPS	DOM7h-11-15	0.0062	0.0024	12
DMS0168	DOM1h-574-72	ASTSGPS	DOM7m-16	ND	ND	16
DMS0169	DOM1h-574-72	ASTSGPS	DOM7h-11-12	ND	ND	2.7

【0252】

すべての Albu dAb の配列を以下に示す。DOM7h-11 および DOM7m-16 のヌクレオチドおよびアミノ酸配列については本明細書に開示している。

【0253】

発現および精製後、BIAcore 上ですべての構築物のマウス血清アルブミンとヒト血清アルブミンの両方への結合について試験した。解離速度（off-rate）を測定して Albu dAb 間の融合分子の半減期延長における適応性を識別するために用いた。リンカーは Albu dAb のアルブミンに対する親和性に対してほとんど影響を与えないのに対し、dAb とそれらのアルブミンの親和性間には有意差があった。マウス結合のために最良の Albu dAb は DOM7h-11-15 であり、DOM7m-16 および DOM7h-11-12 が続いた（図 22）。しかしながら、DOM7m-16 は、ヒトアルブミンに対して結合を示さず、対して DOM7h-11-15 と DOM7h-11-3 はヒトアルブミン結合において最良の対合であった（図 23）。アッセイ法には変動が見られたが、一般に、ヒト MRC-5 細胞アッセイ法における親和性には、DOM7h-11 系統の任意の Albu dAb との融合時、単量体 DOM1h-574-16 と同じ dAb において得られた ND50 値の低下は限られていた。しかしながら、DOM1h-574-72 との対合時および DOM7h-11-12 との比較時、Albu dAb DOM7m-16 の影響が見られた。DOM7m-16 対合は、MRC-5 細胞アッセイにおいて、融合物の抗 TNFR1 部分における効能を有意に低下し、これは同じ抗 TNFR1 dAb を DOM7h-11-12 と対合時には見られなかった。これらの結果は、DOM7h-11 系統由来の Albu dAb との対合の利点を強調する（例えば、抗血清アルブミン dAb は DOM7h-11 のアミノ酸配列と少なくとも 80、90 または 95% 等しいアミノ酸配列を有する）。

【0254】

b) 異なる DOM0100-Albu dAb 融合のためのマウスおよびラット PK

P E Gの代替法は、血清アルブミンを認識するドメイン抗体 (A l b u d A b) との遺伝的融合物としての D O M 0 1 0 0 d A b の発現である。このアプローチを評価するために、D O M 1 h - 5 7 4 - 1 6、アラニンセリントレオニン (A S T) リンカーおよび D O M 7 h - 1 1、続いて m y c タグ (D M S 0 1 8 2) からなる遺伝的構築物を作製した。この構築物を大腸菌発現ベクター p D O M 5 に連結させ、大腸菌株 H B 2 1 5 1 に形質転換して発現させた。固体支持体にカップリングしたプロテイン L を用いて D M S 0 1 8 2 を上清から精製してから、プロテイン A s t r e a m l i n e により任意の遊離単量体を除去した。D M S 0 1 8 2 を 3 匹の雌 S p r a g u e - D a w l e y ラットに用量 5 m g / k g で静脈内投与した。投与後 0. 1 7、1、4、8、2 4、4 8、7 2、9 6、1 2 0 および 1 6 8 時間に血液試料を採取した。血清試料を調製してから、これらを 3 つの別々の E L I S A において試験した：1) ウサギ抗ヒト κ 鎖検出を用いたヤギ抗 m y c 捕獲、2) T N F R 1 - F c 検出を用いたヤギ抗 m y c 捕獲および抗ヒト - F c / H R P を介した読み取り、ならびに 3) ヤギ抗 f A b 検出を用いた T N F R 1 捕獲および抗ヤギ H R P を介した読み取り。アッセイの生データを各血清試料中の薬剤濃度に変換した。各時点の平均 μ g / m L 値を次いでノンコンパートメント解析 (N C A) を用いて W i n N o n l i n 解析した。D M S 0 1 8 2 を 3 つの記載のアッセイで試験し平均終末半減期 5. 2 ~ 6. 4 時間であった。同じ D M S 0 1 8 2 を用いて P K 追加試験を行い、今回はマウスに 1 0 m g / k g 腹腔内投与した。マウス 3 匹を以下の各時点で出血させた：0. 1 7、1、4、1 2、2 4、4 8 および 9 6 時間。前述のアッセイ選択肢 2 を用いた血清解析により、マウスにおける D M S 0 1 8 2 の血清半減期は約 5. 9 時間であることが特定された (図 2 4)。明らかに A l b u d A b D O M 7 h - 1 1 の付加は、d A b の半減期を、これまでに遊離 d A b をマウスおよびラットに注入時に見られた半減期 (T 1 / 2 約 2 0 分、例えば、W O 0 4 0 0 3 0 1 9、W O 0 4 0 0 3 0 1 9 を参照のこと) よりも延長した。しかしながら、半減期のさらなる改善は有益である。ラットおよびマウスアルブミンの D O M 7 h - 1 1 の結合親和性試験により、D O M 1 h - 5 7 4 - 1 6 に融合時、B i a c o r e により測定した 1 μ M 超の親和性を特定した。したがって、これらの直列融合のために使用される A l b u d A b ならびにリンカーの両方を変化させた。異なる D O M 0 1 0 0 d A b (D O M 1 h - 5 7 4 - 7 2)、異なるリンカー (A S T S G P S)、2 つの異なる A l b u d A b (D O M 7 m - 1 6 および D O M 7 h - 1 1 - 1 2) (両方とも m y c タグが続く) からなる 2 つの新規遺伝的構築物、それぞれ D M S 0 1 6 8 および D M S 0 1 6 9 を作製した (構築物は N 末端から C 末端方向で、抗 T N F R 1 d A b (すなわち、D O M 0 1 0 0 d A b) - リンカー - A l b u d A b - m y c であった)。これらの構築物を p D O M 5 中にクローン化し、大腸菌中で発現させ、プロテイン L およびプロテイン A を用いて精製した。M S A への結合について両方を B I A c o r e 上で解析し、有意な改善を観察した (両構築物において約 2 0 0 n M のマウスアルブミン結合親和性に至る)。半減期延長に対する改善されたアルブミン結合の効果を決定するため、D M S 0 1 6 8 および D M S 0 1 6 9 をマウスに 2. 5 m g / k g 静脈内投与し、続いてマウス 3 匹を以下の各時点で出血させた：0. 1 7、1、4、8、2 4、4 8、9 6 および 1 6 8 時間。これら両分子の血清半減期は E L I S A ベース方法における血清中の融合タンパク質の定量化により測定した；D M S 0 1 6 8 において、ヤギ抗 m y c を捕獲のために使用し、続いて T N F R 1 - F c で検出し、抗ヒト - F c / H R P を介して読みとった。T N F R 1 - F c を用いて D M S 0 1 6 9 を捕獲し、続いてヤギ抗 F a b で検出し、抗ヤギ H R P を介して読みとった。この方法の他に、高密度のヒト T N F R 1 で被覆したチップへの結合を介した D M S 0 1 6 9 の B I A c o r e 定量化を用いてデータをプロットし、マウスの終末半減期を算出した。D M S 0 1 6 8 の終末半減期は 1 5. 4 時間 (E L I S A) であり、D M S 0 1 6 9 の終末半減期は 1 7. 8 時間 (E L I S A) または 2 2. 0 時間 (B i a c o r e 社) のいずれかであった (図 2 4)。これらの半減期は両方とも、D O M 0 1 0 0 d A b を D O M 7 h - 1 1 に融合時の半減期に比べて有意に延長し、A l b u d A b 融合物の終末半減期に対するアルブミンの増大した親和性の影響を強調する。

10

20

30

40

50

【0255】

DOM0100-AlbudAb融合物の機能的特性決定および生物物理学的特性

抗アルブミンdAbに融合した抗TNFR1 dAbの最適フォーマットを決定するため、単一抗TNFR1 dAbを取得し（DOM1h-574-72）、3つの異なるリンカー（AST、ASTSGPSおよびAS（GGGS）₃）を用いて4つの異なるAlbudAb（DOM7h-11-3、DOM7h-11-12、DOM7h-14-10およびDOM7h-14-18）と対合させた。これらの構築物はいずれもmycタグを含まなかった。全12の構築物を大腸菌中に発現させ、プロテインL後のプロテインA精製の2つのステップ過程を用いて精製し、発現レベルを定量化した。加えて、SEC-MALLSを用いて分子の溶液中状態を測定した。結果を表7に要約する。結果の解析によりいくつかの際立つ事項が観察された：1）DOM1h-574-72とDOM7h-11系統dAbとの対合ではDOM7h-14系統対合時に比べて発現レベルが有意に高かった、2）DOM7h-11対合では単量体溶液中状態が観察され、対してDOM7h-14対合では単量体/二量体の均衡に至った。単量体溶液中状態は、これらの分子は受容体架橋を誘発して、その結果、受容体を活性化（アゴニズム）かまたは阻害剤活性を中和する可能性が低いため、好ましい。さらに、単量体溶液中状態は、これらの分子はサイズ排除クロマトグラフィー（SEC）による解析時に凝集が少なく、より不純物のない傾向にあるため、開発観点からも望ましい。DOM7h-11 AlbudAbとの対合はDOM7h-14 AlbudAb対合に比べ、高い発現レベルおよび単量体溶液中状態の高いパーセンテージに至るといふ所見から、DOM7h-11対合の方が好ましい。

【表7】

発現と溶液中状態に最適なリンカーとAlbudAbの組み合わせを評価するために生成した融合分子の組み合わせの概要。3つの異なるリンカー、アミノ酸組成物により示される、AST、ASTSGPS、ならびにASおよび4つのグリシンと1つのセリンの3反復（AS（G₄S）₃）からなるグリシン-セリンリンカーを用いた。SEC-MALLSを用いて溶液中状態を決定し、単量体または単量体/二量体均衡のいずれかとして示した。いくつかのAlbudAb融合物の発現は低く、溶液中状態を決定するには不十分な材料であり、これらを（ND）と示す。

DMS	DOM0100 dAb	リンカー	AlbudAb	発現 (mg/l)	SEC-MALLS
DMS0111	DOM1h-574-72	AST	DOM7h-11-3	12	単量体 (95%)
DMS0112	DOM1h-574-72	AST	DOM7h-11-12	11	単量体 (95%)
DMS0113	DOM1h-574-72	AST	DOM7h-14-10	0	ND
DMS0114	DOM1h-574-72	AST	DOM7h-14-18	1	ND
DMS0115	DOM1h-574-72	ASTSGPS	DOM7h-11-3	26	単量体 (98%)
DMS0116	DOM1h-574-72	ASTSGPS	DOM7h-11-12	15	単量体
DMS0117	DOM1h-574-72	ASTSGPS	DOM7h-14-10	9	単量体/二量体均衡
DMS0118	DOM1h-574-72	ASTSGPS	DOM7h-14-18	3	単量体/二量体均衡
DMS0121	DOM1h-574-72	AS(G ₄ S) ₃	DOM7h-11-3	14	単量体 (98%)
DMS0122	DOM1h-574-72	AS(G ₄ S) ₃	DOM7h-11-12	12	単量体 (98%)
DMS0123	DOM1h-574-72	AS(G ₄ S) ₃	DOM7h-14-10	5	単量体/二量体均衡
DMS0124	DOM1h-574-72	AS(G ₄ S) ₃	DOM7h-14-18	7	単量体/二量体均衡

【0256】

さらに、精製した融合分子の親和性および効能を、それぞれBIAcore T100およびMRC5細胞アッセイを用いて測定した。BIAcore T100は、高感度のBIAcoreバージョンであり、理想的には高い親和性結合剤の決定に適している（Papalia et al., Anal Biochem. 359, p112 (2006)）。ビオチン化ヒトTNFR1をチップに被覆し、各12のAlbudAb融合物をこの表面上に4つの異なる濃度（2、10、50および250 nM）で通過させた。本目的は、対合が抗TNFR1 dAb（DOM1h-574-72）の標的に対する

結合親和性に対して任意の有意な効果を有するかどうか確立することである。下表 8 に見ることができるように、対合間およびそれらの B I A c o r e による親和性に対する効果に有意差はなかった。他の対合の 3 倍高い親和性を示した D O M 7 h - 1 4 - 1 8 対合 (D M S 0 1 1 8 および D M S 0 1 2 4) を除き、すべての組み合わせの親和性は類似した。しかし、驚くべきことに、すべての A l b u d A b 融合分子中の D O M 1 h - 5 7 4 - 7 2 にて、非融合 D O M 1 h - 5 7 4 - 7 2 d A b に比べ少なくとも 2 ~ 3 倍の親和性 (K D) 改善が観察された。この改善は、対合のために用いた A l b u d A b にかかわらず観察され、 D O M 7 h - 1 4 - 1 8 との対合で最も大きかった。異なる対合が抗 T N F R 1 d A b の機能活性に影響を与えるか確立するために用いた第二の実験は、 M R C 5 細胞アッセイであった (表 8)。 M R C 5 アッセイでは、より著しい対合間差が観察され、最良の効能は D O M 7 h - 1 1 - 3 および D O M 7 h - 1 1 - 1 2 対合において観察され、対して D O M 7 h - 1 4 - 1 0 (D M S 0 1 1 7) 対合は効力を有意に減少した。

【表 8】

3 つの異なるリンカーを用いた 4 つの異なる A l b u d A b との D O M 1 h - 5 7 4 - 7 2 の対合の B I A c o r e T 1 0 0 および M R C 5 解析。 D M S クローンの組成物については、表 7 を参照されたい。不十分な材料の故、すべての構築物の親和性定数を測定はしなかった (N D)。全体的に A l b u d A b 対合後、 B I A c o r e 上にて親和性にヒットは観察されなかった。 M R C 5 アッセイ法において、 D O M 7 h - 1 1 - 3 と D O M 7 h - 1 1 - 1 2 の対合で最も一致したデータが得られた。

DMS	BIAcore Kon ($M^{-1}s^{-1}$)	BIAcore koff (s^{-1})	BIAcore KD (nM)	MRC5 (ND50 nM)
DMS0111	3.7E+5	6.2E-5	0.17	1.6
DMS0112	4.0E+5	5.5E-5	0.14	1.3
DMS0114	ND	ND	ND	3.7
DMS0115	3.6E+5	5.8E-5	0.16	1.7
DMS0116	3.7E+5	5.4E-5	0.14	1.7
DMS0117	ND	ND	ND	25.9
DMS0118	6.4E+5	4.9E-5	0.076	1.4
DMS0121	3.0E+5	6.0E-5	0.2	1.8
DMS0122	ND	ND	ND	1.5
DMS0123	ND	ND	ND	5.0
DMS0124	4.5E+5	3.5E-5	0.077	1.9
DOM1h-574-72	2.0E+5	1.1E-4	0.53	2.7

【 0 2 5 7 】

両単量体 D O M 1 h - 5 7 4 抗 T N F R 1 d A b および A l b u d A b との対合の生物物理学的および機能的特性決定結果を用いて、5 つの融合分子の部分集合を構築し、発現させ、精製して、特性決定した。これら 5 つのそれぞれは以下の抗 T N F R 1 d A b の 1 つを含む： D O M 1 h - 5 7 4 - 1 0 9、 D O M 1 h - 5 7 4 - 1 3 8、 D O M 1 h - 5 7 4 - 1 5 6、 D O M 1 h - 5 7 4 - 1 6 2 および D O M 1 h - 5 7 4 - 1 8 0、それぞれ A S T リンカーを用いて D O M 7 h - 1 1 - 3 と対合した。構築物は、抗 T N F R 1 d A b であった (すなわち、N 末端から C 末端方向で D O M 0 1 0 0 d A b - リンカー - A l b u d A b、これらの構築物のいずれもタグを含まなかった)。発現した分子の溶液中状態について S E C - M A L L S 上で、熱安定性について D S C 上で、ヒト T N F R 1 およびマウス T N F R 1 に対する親和性について B I A c o r e 上で、ならびに機能活性について M R C 5 細胞アッセイ法で特性決定した。

【 0 2 5 8 】

これら 5 つの直列融合分子の生物物理学的的特性決定により、すべての融点が 5 5 ° C 超であり、溶液中単量体であることが示された (表 9)。高い融点は、分子の下流プロセッシング中および保存中の両方で有益である分子の増大した安定性の指標である。さらに、患者においてインビボ医薬品として機能時、分

解に対して感度を弱くすることにより分子の安定に有益であり得、その結果、その終末半減期が延長される。

【表 9】

半減期延長のためのDOM7h-11-3 Albu dAbと抗TNFR1 dAbとの好ましい組み合わせの概説。精製後、これらの融合分子の熱安定性(DSC)および溶液中状態(SEC-MALLS)を試験した。すべて単量体であり、DMS0133およびDMS0134の融点が最も高かった。

DMS	N末端からC末端方向で示した組成物	DSC(°C)	SEC-MALLS
DMS0132	DOM1h-574-109/AST/DOM7h-11-3	58.2/58.9	98%単量体
DMS0133	DOM1h-574-138/AST/DOM7h-11-3	59.0/59.4	98%単量体
DMS0134	DOM1h-574-156/AST/DOM7h-11-3	58.9/59.3	98%単量体
DMS0135	DOM1h-574-162/AST/DOM7h-11-3	58.0/58.7	98%単量体
DMS0136	DOM1h-574-180/AST/DOM7h-11-3	57.8/58.0	98%単量体

10

【0259】

BIAcoreによる抗TNFR1親和性の特性決定ならびにヒトMRC5および標準的マウスL929細胞アッセイにおける機能活性(表10)により、dAb間差が限定的であることが示された。しかしながら、融点、溶液中状態、発現、BIAcore、ヒトMRC5細胞アッセイおよび標準的マウスL929細胞アッセイから全データを総合した結果、DMS0133およびDMS0134が好ましい組み合わせとして明らかになった。これら2つの融点が最も高く、これらはヒト細胞およびマウス細胞の機能的アッセイにおいて最も強力な組み合わせに属す。細胞アッセイにおける機能活性は、好ましい分子決定のための主要な駆動体である。

20

【表 10】

5つの最良の抗TNFR1/Albu dAb融合分子の機能的特性決定および発現。精製後に発現レベルを測定した。親和性をBiacoreにより測定し、機能活性をヒトMRC5および標準的マウスL929細胞アッセイの両方で測定した。発現はDMS0132、DMS0135およびDMS0134において最良で、細胞アッセイにおいて最も強力な組み合わせはDMS0133、DMS0134およびDMS0135であった。

30

DMS	発現 (mg/l)	BIAcore Kon ($M^{-1}s^{-1}$)	BIAcore Koff (s^{-1})	BIAcore KD (nM)	MRC5 ND50 (nM)	L929 ND50 (nM)
DMS0132	12	1.9E+05	4.6E-05	0.25	1.04	6.8
DMS0133	6	3.6E-05	3.6E-05	0.20	0.99	4.2
DMS0134	9	1.9E+05	4.9E-05	0.26	0.96	6.52
DMS0135	11	1.8E+05	5.7E-05	0.32	1.17	5.9
DMS0136	3	1.9E+05	5.5E-05	0.30	1.97	5.4

【0260】

マウスの関節リウマチモデルにおけるDOM0100のインビボ有効性の実証

記載の抗TNFR1 dAbの活性は有用であり、疾患を改変し得ることを示すため、マウスの関節リウマチモデルを、DOM1h-574-72-ASTSGPS-DOM7h-11-12-mycタグ(N末端からC末端方向)に融合したDMS0169で処理した。このマウスモデルは、ヒトTNF α が過剰発現し(Tg197)、マウスTNFR1をコードする遺伝子がヒトTNFR1(hp55)遺伝子と置換されている遺伝子導入マウスモデルである。経時的に、これらのマウスは自然発生関節炎を発現し、これは処理中に関節サイズを測定することによりスコア化し(臨床スコア)、15週後に関節の組織学的解析を実施する(Keffeler et al., EMBO. J., 10, p4025 (1991))。加えて、マウスの全身の健康は週1回測定する体重から推測し得る。6週目以降、マウス12匹を週2回10mg/kgのDMS0169または週1回生理食塩水注射(対照群)のいずれかで処理した。6週目から15週目まで週1回、各マウスの臨床スコアと体重の両方をスコア化した(図25および26)。15週間後、マウ

40

50

スを屠殺して関節炎症の組織学的解析を行った（図27）。両臨床および組織学スコアに対するDMS0169の効果は非常に有意であり（ $p < 0.001$ ）、対してDMS0169で処理したマウスの体重は生理食塩水で処理した対照動物に比べて好ましく、関節リウマチにおけるDMS0169の治療的便益の可能性が示された。

【0261】

標準的細胞アッセイ

標準的MRC-5 IL-8放出アッセイ

以下のMRC-5細胞アッセイにおいて、ヒトTNFR1と結合するあるdAbの活性を評価した。アッセイはMRC-5細胞中のTNF α によるIL-8分泌の誘発に基づき、HUVEC中のIL-1によるIL-8誘発について説明しているAlceson, L. et al. Journal of Biological Chemistry 271:30517-30523 (1996)に記載の方法から適用される。HUVEC細胞系の代わりにMRC-5細胞を用いてヒトTNF α によるIL-8誘発を評価することによりdAb活性をアッセイした。簡単に述べると、MRC-5細胞(ATCC寄託番号CCL-171)をマイクロタイタープレート（ 5×10^3 細胞/ウェル）中にプレートし、プレートを用量範囲のdAbおよび固定量（200pg/ml）のヒトTNF α で一晩インキュベートした。インキュベート後、培養上清を吸引してIL-8 AB I 8200細胞検出アッセイ(FMAT)を用いてIL-8放出を測定した。IL-8 FMATアッセイには、R&D Systems社からの検出および捕獲試薬を用いた。ビーズ、ヤギ抗マウスIgG(H&L)被覆したポリスチレン粒子0.5%w/v 6~8 μ m(Spherotech社、カタログ番号MP-60-5)を、捕獲抗体マウスモノクローナル抗ヒトIL-8抗体(R&D Systems社、カタログ番号MAB208)で被覆した。検出のため、ビオチン化ヤギ抗ヒトIL-8抗体(R&D Systems社、カタログ番号BAF208)およびStreptavidin Alexafluor 647(Molecular Probes、カタログ番号S32357)を用いた。組換えヒトIL-8(R&D Systems社、カタログ番号208-IL)を標準として用いた。抗TNFR1 dAb活性は、TNF α のみでインキュベートした対照ウェルと比べて上清中へのIL-8分泌を低減した。

【0262】

標準的カニクイザルCYNOM-K1アッセイ

CYNOM-K1細胞アッセイにおいて、抗TNFR1 dAbの効能を試験した。簡単に述べると、dAbを平底細胞培養プレート中、CYNOM-K1細胞(ECACC 90071809)（ 5×10^3 細胞/ウェル）で37℃で1時間インキュベートした。組換えヒトTNF α (Peprotech社)を添加し（最終濃度200pg/ml）、プレートを18~20時間インキュベートした。次いで、DuoSet ELISA developmentシステム(R&D Systems社、カタログ番号DY208)を製造メーカーの説明書（文書番号750364.16バージョン11/08）に従って用いて、培養上清中で分泌したIL-8レベルを測定した。IL-8分泌の阻害パーセンテージに対してdAb濃度をプロットすることによりND50を測定した。

【0263】

標準的L929細胞毒アッセイ

抗TNFR1 dAbの、マウスL929線維芽細胞(ATCC CCL-1)上でTNF α の細胞毒活性を中和する能力についても試験した(Evans, T. (2000) Molecular Biotechnology 15, 243-248)。簡単に述べると、マイクロタイタープレート（ 1×10^4 細胞/ウェル）中にプレートしたL929細胞を抗TNFR1 dAb、100pg/ml TNF α および1 μ g/mlアクチノマイシンD(Sigma、プール、英国)で一晩インキュベートした。[3-(4,5-ジメチルチアゾール-2-イル)-5-(3-カルボキシメトキシフェニル)-2-(4-スルホフェニル)-2H-テトラゾリウム(Promega社、マディソン、米国)でインキュベート後、490nmで吸光度を読みとって細胞生存能を測定した。

抗TNFR1 dAb活性は、TNF α 単独の対照に比べて、TNF α 細胞毒を低減し、したがって吸光度は増大する。

【0264】

標準的な受容体結合アッセイ

受容体結合アッセイ法において、ヒトTNFR1に対するdAbの効能を測定した。このアッセイでTNF α のTNFR1への結合および溶解性dAbによるこの相互作用ブロック能を測定する。ヤギ抗ヒトIgG (H&L) で前被覆したビーズ上でTNFR1-Fc融合物を捕獲する。受容体被覆したビーズをTNF α (10 ng/ml)、dAb、ビオチン接合体抗TNF α およびStreptavidin-Alexafluor 647で黒色側面透明底384ウェルプレートでインキュベートした。6時間後、プレートをA

10

【0265】

ABI 8200解析ソフトウェアを用いてデータを解析した。濃度効果曲線および効力(EC₅₀)値をGraphPad Prismおよび可変傾斜のS字形用量反応曲線を用いて測定した。

【0266】

インビボ有効性試験のためのDOM7h-11-12との融合物の構築および精製

異なる抗TNFR1および対照dAbとインビボ有効性試験を実施するため、dAb間にAla-Ser-Thrリンカーを用いて異なるdAbのAlbudAb (抗血清アルブミンdAb) DOM7h-11-12の遺伝的融合物をクローン化した。この目的のために4つの構築物を作製した：DMS5537 (DOM1h-574-156-AST-DOM7h-11-12)、DMS5538 (VhD2-AST-DOM7h-11-12)、DMS5539 (DOM1m-15-12-AST-DOM7h-11-12dh) およびDMS5540 (DOM1m-21-23-AST-DOM7h-11-12)。

20

【0267】

これら4構築物のそれぞれの構築は以下のとおりである：

DMS5537：Vh dAb DOM1h-574-156をプライマーAS9およびZHT304を用いてDMS0126からPCR増幅した。Vk dAb DOM7h-11-12をプライマーPAS40およびAS65を用いてASTリンカーを添加し、pDOM5ベクター中のDMS0169 (タグなし) からPCR増幅した。反応生成物をSOE-PCRにより結合し、プライマーJAL102およびZHT327を用いて再増幅した。再増幅した反応生成物をNde I/Not Iで切断し、Nde I/Not I-切断pET30a (Merck) 中にクローン化する。発現のため、構築物を大腸菌株BL21 (DE3) に形質転換する (Novagen、カタログ番号69450)。

30

【0268】

DMS5538：Vh dAb VhD2、特異性抗原認識のないいわゆる「ダミーdAb」を、プライマーAS9およびZHT304を用いてPCR増幅した。Vk dAb DOM7h-11-12をプライマーPAS40およびAS65を用いてDMS0169タグなしからPCR増幅した。両生成物をゲル精製し、SOE-PCRを用いて再会合させる。プライマーJAL102およびZHT327を用いてSOE生成物を再増幅する。再増幅した反応生成物をNde IおよびNot I酵素で切断し、ゲル精製して、Nde IおよびNot I酵素で切断したpET30に連結する。発現のため、構築物を大腸菌株BL21 (DE3) に形質転換する。

40

【0269】

DMS5539：抗マウスTNFR1 Vk dAb DOM1m-15-12をプライマーAS9およびZHT334を用いてpDOM5/Vk (DOM1m-15-12) からPCR増幅した。抗TNFR1および抗アルブミンdAbであるDOM7h-11-12は両方ともVkであるため、DOM7h-11-12の標準的DNA脱ホモログ化ア

50

プローチを実施し、すなわちアミノ酸配列に影響を与えないサイレント変異をDNAレベルで導入した。これらの変異は、DNA増幅およびタンパク質発現中に相同組換えの機会を減らしプラスミド安定性を高める。加えて、DOM7h-11-12 dAbは、直列融合のプロテインLへの結合を減らして精製を促進するために12位のSerからProへの変異も含む。Vk DOM7h-11-12 S12P (DOM7h-11-12 dh S12P) の脱ホモログ化バージョンは、プライマーZHT333およびAS65を用いてpDOM5/Vk (DOM7h-11-12 dh) からPCR増幅する。両生成物をSOE-PCRによりゲル精製して再会合させる。SOE生成物は、プライマーZHT332+ZHT327を用いて再増幅する。反応生成物をNdeIおよびNotI酵素で切断し、ゲル精製して、NdeIおよびNotI酵素で切断したpET30に連結する。発現のため、構築物を大腸菌株BL21 (DE3) に形質転換する。

10

【0270】

DMS5540：抗マウスTNFR1 Vh dAb DOM1m-21-23 (WO 2006038027を参照のこと) は、プライマーAS9およびZHT335を用いてDMS0127からPCR増幅する。Vk dAb DOM7h-11-12は、プライマーPAS40およびAS65を用いてDMS0169からPCR増幅する。SOE-PCRにより両生成物をゲル精製して再会合させる。SOE生成物を、プライマーJAL102およびZHT327を用いて再増幅する。反応生成物をNdeIおよびNotI酵素で切断し、ゲル精製してNdeIおよびNotI酵素で切断したpET30に連結する。発現のため、構築物を大腸菌株BL21 (DE3) に形質転換する。

20

【0271】

次いで以下の条件を用いて、全4つの構築物を発酵槽内で発現させた：誘発後温度すべて27℃、0.025mM IPTGで誘発したDMS5540を除き、0.01mM IPTG。発酵はすべて、5Lの最小培地で高密度な細胞で行われた。

【0272】

プロテインLへのバッチ結合、続いて溶離、中和および第二のステップのプロテインAへのバッチ結合により上清から精製した。溶離したタンパク質の緩衝液をPBSに交換して機能的特性決定前に濃縮した。DMS5539をプロテインLにより精製してから、さらにSECにより精製して同時に緩衝液をPBSに交換した。次いですべての分子の内毒素を枯渇させた。

30

【表 1 1】

アミノ酸配列

DOM1h-574とDOM1h-574' はアミノ酸が1つ異なる (K a b a tのナンバリングによるアミノ酸98にて前者のRは後者のHである)。

>DOM1h-509

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYRMHWVRQAPGKSLEWVSSIDTRGSST
YYADPVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKAVTMFSPFFDYWGQGLTV
TVSS

10

>DOM1h-510

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFADYGMRWVRQAPGKGLEWVSSITRTGRVT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKWRNRHGEYLADF DYWGQGL
TLVTVSS

>DOM1h-543

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFMRYRMHWVRQAPGKGLEWVSSIDSNGSST
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDRTERS PVFDYWGQGLTV
TVSS

>DOM1h-549

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVDYEMHWVRQAPGKGLEWVSSISESGTTT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKRRFSASTFDYWGQGLTVT
VSS

20

>DOM1h-574 (配列番号 11)

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTGGHT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYTGRWEPFDYWGQGLTVT
VSS

>DOM1h-574'

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTGGHT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYTGHWEPFDYWGQGLTVT
VSS

30

>DOM1h-574-1

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTGGHT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYTGRWEPYDYWGQGLTVT
VSS

>DOM1h-574-2

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTGGHT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYTGRWEPFDYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-4

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTGGHT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYTGRWEPFEYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-7

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTGGHT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGLVT
VSS

10

>DOM1h-574-8

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGPEWVSQISNTGGHT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-9

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTGGHT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYMQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGLVT
VSS

20

>DOM1h-574-10

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGKYSMGWVRQAPGKDLEWVSQISNTGGHT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-11

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTGGHT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYTGRWEPFDHWGQGLVT
VSS

30

>DOM1h-574-12

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTGDHT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYTGRWEPFDYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-13

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTGDRT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYTGRWEPFDYWGQGLVT
VSS

40

>DOM1h-574-14 (配列番号 10)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTGDRT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-15

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTGDHT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-16

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGPEWVSQISNTGDRT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-17

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGPEWVSQISNTGDHT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-18

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGKYSMGWVRQAPGKDLEWVSQISNTGDRT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-19

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGKYSMGWVRQAPGKDLEWVSQISNTGDHT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-25

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTGDRT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFVYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-26

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTGDRT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFEYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-27

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTGDRT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWKPFYWGQGT LVT
VSS

10

20

30

40

>DOM1h-574-28

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTGDRT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-29

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTGDRT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWRPF EYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-30

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQIANTGDRR
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAAYYCAIYTGRWEPFDYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-31

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTADRT
YYAHSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFNYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-32

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTGDRT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWAPFEYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-33

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTGDRT
YYADSVKGRFTISRDN SKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFDNWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-35

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFITYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTGDRT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFQYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-36

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTGDRT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-37

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFFKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTGDRT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGT LVT
VSS

10

20

30

40

>DOM1h-574-38

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTGDRR
YYDDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-39

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTGDRR
YYADAVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-40

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTGDRT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFKYWGQGLVT
VSS

10

>DOM1h-574-53

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTGERR
YYADSVKGRFTISRDN PKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFEYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-54

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVNYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTGDRT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFEYWGQGLVT
VTS

20

>DOM1h-574-65

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQIANTGDRR
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFVYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-66

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQIANTGDRR
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWKPFYWGQGLVT
VSS

30

>DOM1h-574-67

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQIANTGDRR
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-68

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQIANTGDRR
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWRPFYWGQGLVT
VSS

40

>DOM1h-574-69

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQIANTGDRR
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWAPFEYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-70

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAVYTGRWEPFVYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-71

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWKPFYWGQGT LVT
VSS

10

>DOM1h-574-72 (配列番号 2)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-73

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWRPFYWGQGT LVT
VSS

20

>DOM1h-574-74

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWAPFEYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-75

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTGDRR
YYDDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFVYWGQGT LVT
VSS

30

>DOM1h-574-76

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTGDRR
YYDDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWKPFYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-77

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTGDRR
YYDDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGT LVT
VSS

40

>DOM1h-574-78

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTGDRR
YYDDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWRPF EYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-79

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTGDRR
YYDDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWAPF EYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-84

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTGDRR
YYADAVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFVYWGQGLVT
VSS

10

>DOM1h-574-85

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTGDRR
YYADAVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWKPF EYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-86

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTGDRR
YYADAVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPF EYWGQGLVT
VSS

20

>DOM1h-574-87

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTGDRR
YYADAVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWRPF EYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-88

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTGDRR
YYADAVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWAPF EYWGQGLVT
VSS

30

>DOM1h-574-90

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFLKFSGWVRQAPGKGLEWVSQIANTGDRR
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWAPF EYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-91

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFLKYSGWVRQAPGKGLEWVSQISNTADRT
YYAHSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWAPF EYWGQGLVT
VSS

40

>DOM1h-574-92

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFFKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTGDRR
YYDDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFVYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-93 (配列番号 12)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFLKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTGDRR
YYDDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFVYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-94

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQIANTGDRR
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAAYYCAIYTGRWPDFDYWGQGT LVT
VSS

10

>DOM1h-574-95

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQIANTGDRR
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAAYYCAIYTGRWPDFEYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-96

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWPDFDYWGQGT LVT
VSS

20

>DOM1h-574-97

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWPDFEYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-98

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTGDRR
YYDDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWPDFDYWGQGT LVT
VSS

30

>DOM1h-574-99

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTGDRR
YYDDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWPDFEYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-100

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGPEWVSQISAWGDR
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGT LVT
VSS

40

>DOM1h-574-101

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGPEWVSQISDGGQRT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-102

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGPEWVSQISDSGYRT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-103

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGPEWVSQISDGGTRT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGLVT
VSS

10

>DOM1h-574-104

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGPEWVSQISDKGTRT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-105

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGPEWVSQISETGRRT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGLVT
VSS

20

>DOM1h-574-106

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQINNTGSTT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-107

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGPEWVSQISNTADRT
YYAHSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGLVT
VSS

30

>DOM1h-574-108

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGPEWVSQISNTADRT
YYAHSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWAPFEYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-109 (配列番号 3)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYAHSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGLVT
VSS

40

>DOM1h-574-110

EVQLLES GGG LVQP GGS LRLSCAASGFTFVKYS MGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWAPFEYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-111

EVQLLES GGG LVQP GGS LRLSCAASGFTFVKYS MGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYDDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWRPF EYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-112

EVQLLES GGG LVQP GGS LRLSCAASGFTFVKYS MGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYTHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWAPFEYWGQGT LVT
VSS

10

>DOM1h-574-113

EVQLLES GGG LVQP GGS LRLSCAASGFTFVKYS MGWVRQAPGKGLEWVSQISNTADRR
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWAPFEYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-114

EVQLLES GGG LVQP GGS LRLSCAASGFTFVKYS MGWVRQAPGKGLEWVSQI LNTADRT
YYDHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWAPFEYWGQGT LVT
VSS

20

>DOM1h-574-115

EVQLLES GGG LVQP GGS LRLSCAASGFTFVKYS MGWVRQAPGKGLEWVSQISNTADRT
YYDHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWAPFEYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-116

EVQLLES GGG LVQP GGS LRLSCAASGFTFVKYS MGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRR
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWAPFEYWGQGT LVT
VSS

30

>DOM1h-574-117

EVQLLES GGG LVQP GGS LRLSCAASGFTFVKYS MGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRR
YYDHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWAPFEYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-118

EVQLLES GGG LVQP GGS LRLSCAASGFTFVKYS MGWVRQAPGKGLEWVSQISNTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAVYTGRWVSFEYWGQGT LVT
VSS

40

>DOM1h-574-119

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCALYTGRWVSFEYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-120

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAVYTGRWVPFEYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-121

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCALYTGRWVPFEYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-122

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQIANTADRR
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWAPFEYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-123 (配列番号 13)

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTADRR
YYADAVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFVYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-124

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTGDRR
YYAHAVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFVYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-125 (配列番号 14)

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQIANTADRR
YYADAVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFVYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-126 (配列番号 15)

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQIANTGDRR
YYAHAVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFVYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-127

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTADRR
YYAHAVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFVYWGQGT LVT
VSS

10

20

30

40

>DOM1h-574-128

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQIANTADRR
YYAHAVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFVYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-129 (配列番号 16)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQIVNTGDRR
YYADAVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFVYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-130

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQIANTGDRR
YYADAVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFVYWGQGLVT
VSS

10

>DOM1h-574-131

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYDHSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWAPFEYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-132 (配列番号 7)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYDHSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWRPFYWGQGLVT
VSS

20

>DOM1h-574-133 (配列番号 17)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYDHSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFVYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-134

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYSHSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGLVT
VSS

30

>DOM1h-574-135 (配列番号 8)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYTHSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-137 (配列番号 18)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYTDAV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFVYWGQGLVT
VSS

40

>DOM1h-574-138 (配列番号 4)

EVQLLES GGGVLVQPGGSLRLS CAASGFTFFKY SMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWAPFEYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-139 (配列番号 20)

EVQLLES GGGVLVQPGGSLRLS CAASGFTFLKY SMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWAPFEYWGQGLVT
VSS

10

>DOM1h-574-140

EVQLLES GGGVLVQPGGSLRLS CAASGFTFFKY SMGWVRQAPGKGLEWVSQIADTGDRR
YYDDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFVYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-141

EVQLLES GGGVLVQPGGSLRLS CAASGFTFFKY SMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRR
YYDDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFVYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-142

EVQLLES GGGVLVQPGGSLRLS CAASGFTFFKY SMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTGDRR
YYDHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFVYWGQGLVT
VSS

20

>DOM1h-574-143

EVQLLES GGGVLVQPGGSLRLS CAASGFTFFKY SMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTGDRR
YYDDAVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFVYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-144

EVQLLES GGGVLVQPGGSLRLS CAASGFTFFKY SMGWVRQAPGKGLEWVSQIADTADRR
YYDDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFVYWGQGLVT
VSS

30

>DOM1h-574-145

EVQLLES GGGVLVQPGGSLRLS CAASGFTFFKY SMGWVRQAPGKGLEWVSQIADTGDRR
YYDHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFVYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-146

EVQLLES GGGVLVQPGGSLRLS CAASGFTFFKY SMGWVRQAPGKGLEWVSQIADTGDRR
YYDDAVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFVYWGQGLVT
VSS

40

>DOM1h-574-147

EVQLLES GGGGLVQP GGS LRLSCAASGFT FVKY SMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWGPFVYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-148

EVQLLES GGGGLVQP GGS LRLSCAASGFT FVKY SMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFAYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-149

EVQLLES GGGGLVQP GGS LRLSCAASGFT FVKY SMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWGPFQYWGQGT LVT
VSS

10

>DOM1h-574-150

EVQLLES GGGGLVQP GGS LRLSCAASGFT FVKY SMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFQYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-151

EVQLLES GGGGLVQP GGS LRLSCAASGFT FVKY SMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWAPFEYWGQGT LVT
VSS

20

>DOM1h-574-152

EVQLLES GGGGLVQP GGS LRLSCAASGFT FVKY SMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWAPFQYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-153

EVQLLES GGGGLVQP GGS LRLSCAASGFT FVKY SMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFQYWGQGT LVT
VSS

30

>DOM1h-574-154

EVQLLES GGGGLVQP GGS LRLSCAASGFT FVKY SMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTGDRR
YYDHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWAPFEYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-155 (配列番号 21)

EVQLLES GGGGLVQP GGS LRLSCAASGFT FVKY SMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGT LVT
VSS

40

>DOM1h-574-156 (配列番号 1)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFFKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-157

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFLKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYDHSVKGRTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWRPFYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-158

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFFKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYDHSVKGRTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWRPFYWGQGLVT
VSS

10

>DOM1h-574-159

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFFKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYDHSVKGRTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFVYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-160 (配列番号 19)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFLKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYDHSVKGRTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFVYWGQGLVT
VSS

20

>DOM1h-574-161

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFLKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYSHSVKGRTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-162 (配列番号 5)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFFKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYSHSVKGRTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGLVT
VSS

30

>DOM1h-574-163

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFFKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYTHSVKGRTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-164

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFLKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYTHSVKGRTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGLVT
VSS

40

>DOM1h-574-165

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFFKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWAPFEYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-166

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFLKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWAPFEYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-167

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFLKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTGDRR
YYDHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWAPFEYWGQGLVT
VSS

10

>DOM1h-574-168

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFFKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTGDRR
YYDHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWAPFEYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-169

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQIADTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGLVT
VSS

20

>DOM1h-574-170

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFFKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYAHAVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-171

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQIADTADRT
YYDHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGLVT
VSS

30

>DOM1h-574-172

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQIADTADRT
YYDHAVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGLVT
VSS

>DOM1h-574-173

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQIADTADRR
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWAPFEYWGQGLVT
VSS

40

>DOM1h-574-174

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRR
YYAHAVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWAPFEYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-175

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQIADTADRR
YYAHAVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWAPFEYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-176

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRR
YYDHAVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWAPFEYWGQGT LVT
VSS

10

>DOM1h-574-177

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQIADTADRR
YYDHAVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWAPFEYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-178

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQIADTADRR
YYDHSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWAPFEYWGQGT LVT
VSS

20

>DOM1h-574-179

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFFKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRR
YYDDAVKGRFTITRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFVYWGQGT LVT
VSS

>DOM1h-574-180 (配列番号 6)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYAHAVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGT LVT
VSS

30

DOM1m-15-12 (配列番号 36)

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQYIHTSVQWYQQKPKAPKLLIYGSSRLHSGV
PSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQNHYSPTFYGQGTKVEIKR

DOM1m-21-23 (配列番号 37)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNRYSMGWL RQAPGKGLEWVSRI DSYGRGT
YYEDPVKGRFSISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKISQFGSNAFDYWGQGTQV
TVSS

40

>DMS0111 (配列番号 45)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGLVT
VSSASTDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRP IGTTL SWYQQKPGKAPKLLILWNS
RLQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEIKR

>DMS0112 (配列番号 46)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGLVT
VSSASTDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRP IGTML SWYQQKPGKAPKLLILFGS
RLQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEIKR

10

>DMS0113 (配列番号 47)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGLVT
VSSASTDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQWIGS QLSWYQQKPGKAPKLLIMWRS
SLQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCAQGLRHPKTFGQGTKVEIKR

>DMS0114 (配列番号 48)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGLVT
VSSASTDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQWIGS QLSWYQQKPGKAPKLLIMWRS
SLQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCAQGLMKPMTFGQGTKVEIKR

20

>DMS0115 (配列番号 49)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGLVT
VSSASTSGPSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRP IGTTL SWYQQKPGKAPKLLI
LWNSRLQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEI
KR

>DMS0116 (配列番号 50)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGLVT
VSSASTSGPSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRP IGTML SWYQQKPGKAPKLLI
LFGSRLQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEI
KR

30

>DMS0117 (配列番号 51)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGLVT
VSSASTSGPSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQWIGS QLSWYQQKPGKAPKLLI
MWRSSLQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCAQGLRHPKTFGQGTKVEI
KR

40

>DMS0118 (配列番号 52)

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFVKYS MGWVRQAPGKGLEWVSQISNTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGT LVT
VSSASTSGPSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQWIGS QLSWYQQKPGKAPKLLI
MWRSSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCAQGLMKPMTFGQGTKVEI
KR

>DMS0121 (配列番号 53)

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFVKYS MGWVRQAPGKGLEWVSQISNTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGT LVT
VSSASGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRPIGT TLSWYQQ
KPGKAPKLLILWNSRLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCAQAGTHPT
TFGQGTKVEIKR

10

>DMS0122 (配列番号 54)

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFVKYS MGWVRQAPGKGLEWVSQISNTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGT LVT
VSSASGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRPIGT MLSWYQQ
KPGKAPKLLILFGSRLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCAQAGTHPT
TFGQGTKVEIKR

20

>DMS0123 (配列番号 55)

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFVKYS MGWVRQAPGKGLEWVSQISNTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGT LVT
VSSASGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQWIGS QLSWYQQ
KPGKAPKLLIMWRSSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCAQGLRHPK
TFGQGTKVEIKR

>DMS0124 (配列番号 56)

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFVKYS MGWVRQAPGKGLEWVSQISNTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGT LVT
VSSASGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQWIGS QLSWYQQ
KPGKAPKLLIMWRSSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCAQGLMKPM
TFGQGTKVEIKR

30

>DMS0132 (配列番号 57)

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFVKYS MGWVRQAPGKGLEWVSQISNTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGT LVT
VSSASTDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRPIGT TLSWYQQKPGKAPKLLILWNS
RLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEIKR

>DMS0133 (配列番号 58)

40

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFFKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYAHSVKGRTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWAPFEYWGQGLVT
VSSASTDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRPITGTL SWYQQKPGKAPKLLILWNS
RLQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEIKR

>DMS0134 (配列番号 59)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFFKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYAHSVKGRTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGLVT
VSSASTDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRPITGTL SWYQQKPGKAPKLLILWNS
RLQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEIKR

10

>DMS0135 (配列番号 60)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFFKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYSHSVKGRTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGLVT
VSSASTDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRPITGTL SWYQQKPGKAPKLLILWNS
RLQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEIKR

>DMS0136 (配列番号 61)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYAHAVKGRTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGLVT
VSSASTDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRPITGTL SWYQQKPGKAPKLLILWNS
RLQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEIKR

20

>DMS0162 (配列番号 62)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGPEWVSQISNTGDRT
YYADSVKGRTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGLVT
VSC-40K linear PEG

>DMS0163 (配列番号 63)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGPEWVSQISNTGDRT
YYADSVKGRTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGLVT
VSSASTSGPSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRPITGTL SWYQQKPGKAPKLLI
LAFSRLQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEI
KRAAAEQKLISEEDLN

30

>DMS0163-タグなし (配列番号 64)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGPEWVSQISNTGDRT
YYADSVKGRTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGLVT
VSSASTSGPSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRPITGTL SWYQQKPGKAPKLLI
LAFSRLQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEI
KR

40

>DMS0168 (配列番号 65)

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTADRT
YYAHSVKGRTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGLVT
VSSASTSGPSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI IKHLKWKYQQKPGKAPKLLI
YGASRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQGARWPQTFGQGTKVEI
KRAAAEQKLI SEEDLN

>DMS0168-タグなし (配列番号 66)

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTADRT
YYAHSVKGRTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGLVT
VSSASTSGPSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI IKHLKWKYQQKPGKAPKLLI
YGASRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQGARWPQTFGQGTKVEI
KR

10

>DMS0169 (配列番号 67)

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTADRT
YYAHSVKGRTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGLVT
VSSASTSGPSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRPIGTMLS WYQQKPGKAPKLLI
LFGSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEI
KRAAAEQKLI SEEDLN

>DMS0169-タグなし (配列番号 68)

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTADRT
YYAHSVKGRTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGLVT
VSSASTSGPSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRPIGTMLS WYQQKPGKAPKLLI
LFGSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEI
KR

20

>DMS0176 (配列番号 69)

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGPEWVSQISNTGDRT
YYADSVKGRTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGLVT
VSSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRPIGTTL SWYQQKPGKAPKLLIWFGSRLQ
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEIKR

30

>DMS0177 (配列番号 70)

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGPEWVSQISNTGDRT
YYADSVKGRTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGLVT
VSSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQWIGS QLSWYQQKPGKAPKLLIMWRSSLQ
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCAQGAALPRTFGQGTKVEIKR

>DMS0182 (配列番号 71)

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGPEWVSQISNTGDRT
YYADSVKGRTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGLVT
VSSASTDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRPIGTTL SWYQQKPGKAPKLLIWFGS

40

RLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEIKRAA
AEQKLISEEDLN

>DMS0182-タグなし (配列番号 72)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGPEWVSQISNTGDRT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGLVT
VSSASTDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRP IGTTL SWYQQKPGKAPKLLIWFGS
RLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEIKR

>DMS0184 (配列番号 73)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGPEWVSQISNTGDRT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGLVT
VSSASTSGPSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRP IGTTL SWYQQKPGKAPKLLI
WFGSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEI
KR

10

>DMS0186 (配列番号 74)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGPEWVSQISNTGDRT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGLVT
VSSASTDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRP IGTML SWYQQKPGKAPKLLILFGS
RLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEIKRAA
AEQKLISEEDLN

20

>DMS0186-タグなし (配列番号 75)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGPEWVSQISNTGDRT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGLVT
VSSASTDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRP IGTML SWYQQKPGKAPKLLILFGS
RLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEIKR

>DMS0188 (配列番号 76)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGPEWVSQISNTGDRT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGLVT
VSSASTSGPSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRP IGTML SWYQQKPGKAPKLLI
LFGSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEI
KRAAAEQKLISEEDLN

30

>DMS0188-タグなし (配列番号 77)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGPEWVSQISNTGDRT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGLVT
VSSASTSGPSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRP IGTML SWYQQKPGKAPKLLI
LFGSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEI
KR

40

>DMS0189 (配列番号 78)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGPEWVSQISNTGDRT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGT LVT
VSSASTDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRP IGTTL SWYQQKPGKAPKLLILWNS
RLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEIKRAA
AEQKLISEEDLN

>DMS0189-タグなし (配列番号 79)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGPEWVSQISNTGDRT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGT LVT
VSSASTDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRP IGTTL SWYQQKPGKAPKLLILWNS
RLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEIKR

10

>DMS0190 (配列番号 80)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGPEWVSQISNTGDRT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGT LVT
VSSASTSGPSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRP IGTTL SWYQQKPGKAPKLLI
LWNSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEI
KRAAAEQKLISEEDLN

>DMS0190-タグなし (配列番号 81)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGPEWVSQISNTGDRT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGT LVT
VSSASTSGPSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRP IGTTL SWYQQKPGKAPKLLI
LWNSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEI
KR

20

>DMS0191 (配列番号 82)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGPEWVSQISNTGDRT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGT LVT
VSSASTDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI IKHLK WYQQKPGKAPKLLIYGAS
RLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCQQGTRWPQTFGQGTKVEIKRAA
AEQKLISEEDLN

30

>DMS0191-タグなし (配列番号 83)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGPEWVSQISNTGDRT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGT LVT
VSSASTDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI IKHLK WYQQKPGKAPKLLIYGAS
RLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCQQGTRWPQTFGQGTKVEIKR

>DMS0192 (配列番号 84)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGPEWVSQISNTGDRT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGT LVT
VSSASTSGPSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI IKHLK WYQQKPGKAPKLLI

40

YGASRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGARWPQTFGQGTKVEI
KRAAAEQKLISEEDLN

>DMS0192-タグなし (配列番号 85)

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKY SMGWVRQAPGKGP EWVSQISNTGDRT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWEPFDYWGQGLVT
VSSASTSGPSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI IKHLKWKYQQKPGKAPKLLI
YGASRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGARWPQTFGQGTKVEI
KR

10

>DMS5519 (配列番号 86)

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKY SMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGLVT
VSSASTSGPSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRP IGTMLSWYQQKPGKAPKLLI
LAFSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEI
KR

>DMS5520 (配列番号 87)

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKY SMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTGGHT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYTGHWEPFDYWGQGLVT
VSSASTSGPSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRP IGTMLSWYQQKPGKAPKLLI
LWNSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEI
KR

20

>DMS5521 (配列番号 88)

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKY SMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGLVT
VSSASTDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRP IGTMLSWYQQKPGKAPKLLILAFS
RLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEIKR

>DMS5522 (配列番号 89)

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKY SMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGLVT
VSSASTDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRP IGTMLSWYQQKPGKAPKLLILAFS
RLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEIKRAA
AEQKLISEEDLN

30

>DMS5522-タグなし (配列番号 90)

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKY SMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGLVT
VSSASTDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRP IGTMLSWYQQKPGKAPKLLILAFS
RLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEIKR

40

>DMS5525 (配列番号 91)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISNTGGHT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYTGHWEPFDYWGQGLVT
VSSASTSGPSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRP IGTMLSWYQQKPGKAPKLLI
LAFSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEI
KR

>DMS5527 (配列番号 92)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFFKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYAHSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGLVT
VSSASTSGPSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRP IGTMLSWYQQKPGKAPKLLI
LFGSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEI
KR

10

>DOM7h-11 (配列番号 28)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRP IGTTL SWYQQKPGKAPKLLIWFGSRLQSGV
PSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEIKR

>DOM7h-11-3 (配列番号 29)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRP IGTTL SWYQQKPGKAPKLLILWNSRLQSGV
PSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEIKR

20

>DOM7h-11-12 (配列番号 30)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRP IGTML SWYQQKPGKAPKLLILFGSRLQSGV
PSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEIKR

>DOM7h-11-15 (配列番号 31)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRP IGTML SWYQQKPGKAPKLLILAFSRLQSGV
PSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEIKR

>DOM7h-14 (配列番号 32)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQWIGSQLSWYQQKPGKAPKLLIMWRSSLQSGV
PSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCAQGAALPRTFGQGTKVEIKR

30

>DOM7h-14-10 (配列番号 33)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQWIGSQLSWYQQKPGKAPKLLIMWRSSLQSGV
PSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCAQGLRHPKTFGQGTKVEIKR

>DOM7h-14-18 (配列番号 34)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQWIGSQLSWYQQKPGKAPKLLIMWRSSLQSGV
PSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCAQGLMKPMTFGQGTKVEIKR

>DOM7m-16 (配列番号 35)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI I KHLK WYQQKPGKAPKLLIYGASRLQSGV
PSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCQGARWPQTFGQGTKVEIKR

40

DMS0127:

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNRYSMGWLRQAPGKGLEWVSRIDSYGRGT
YYEDPVKGRFSISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKISQFGSNAFDYWGQGTQV
TVSSASTSGPSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRP IGTMLSWYQQKPGKAPKLL
ILFGSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVE
IKR

DMS5537 (配列番号 39)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFFKYSMGWVRQAPGKGLEWVSQISDTADRT
YYAHSVKG RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIYTGRWVPFEYWGQGT LVT
VSSASTDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRP IGTMLSWYQQKPGKAPKLLILFGS
RLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEIKR

10

DMS5539 (配列番号 41)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQYIHTSVQWYQQKPGKAPKLLIYGSSRLHSGV
PSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQNHYS PFTYGGQGTKVEIKRASTD IQMT
QSPSSLPASVGDRVTITCRASRP IGTMLSWYQQKPGKAPKLLILFGSRLQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEIKR

DMS5538 (配列番号 40)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGVNVSHDSMTWVRQAPGKGLEWVSAIRGPNGST
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCASGARHADTERPPSQQTMPF
WGQGT LVTVSSASTDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRP IGTMLSWYQQKPGKAP
KLLILFGSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGT
KVEIKR

20

DMS5540 (配列番号 42)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNRYSMGWLRQAPGKGLEWVSRIDSYGRGT
YYEDPVKGRFSISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKISQFGSNAFDYWGQGTQV
TVSSASTDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRP IGTMLSWYQQKPGKAPKLLILFG
SRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCAQAGTHPTTFGQGTKVEIKR

30

【表 1 2】

ヌクレオチド配列

>DOM1h-509

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTAGTCAGTATAGGATGCATTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGAGTCTAGAGTGGGTCTCAAGTATTGATACTAGGGGTTTCGTCTACA
TACTACGCAGACCCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GAAAGCTGTGACGATGTTTTCTCCTTTTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTC
ACCGTCTCGAGC

10

>DOM1h-510

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGCTGATTATGGGATGCGTTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCATCTATTACGCGGACTGGTCGTGTTACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GAAATGGCGGAATCGGCATGGTGAGTATCTTGCTGATTTTGACTACTGGGGTCAGGGA
ACCCTGGTCACCGTCTCGAGC

20

>DOM1h-543

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTATGAGGTATAGGATGCATTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCATCGATTGATTCTAATGGTTCTAGTACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GAAAGATCGTACGGAGCGTTTCGCCGGTTTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTC
ACCGTCTCGAGC

>DOM1h-549

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTGCAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTGATTATGAGATGCATTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCATCTATTAGTGAGAGTGGTACGACGACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GAAACGTCGTTTTTCTGCTTCTACGTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

30

>DOM1h-574

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGGTCATACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC

40

GAAATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGA CTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574'

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGGTCATACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GAAATATACGGGTCATTGGGAGCCTTTTGA CTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

10

>DOM1h-574-1

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGGTCATACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GAAATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTATGA CTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

20

>DOM1h-574-2

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGGTCATACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GAAATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGA CTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-4

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGGTCATACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GAAATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGA GTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

30

>DOM1h-574-7

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGGTCATACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC

40

GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGA TACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-8

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGATGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGTCCAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGGTCATACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGA TACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACA
GTCTCGAGC

10

>DOM1h-574-9

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGGTCATACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATATCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATATGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGA TACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

20

>DOM1h-574-10

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGATCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGGTCATACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGA TACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-11

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTAGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGGTCATACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GAAATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGACCACTGGGGTCAGGGGACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

30

>DOM1h-574-12

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCATACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC

40

GAAATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-13

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCGTACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GAAATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

10

>DOM1h-574-14

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCGTACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

20

>DOM1h-574-15

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCATAACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-16

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGATGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCCAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCGTACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACA
GTCTCGAGC

30

>DOM1h-574-17

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGATGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCCAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCATAACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC

40

GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACA
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-18

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGGTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGATCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCGTACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

10

>DOM1h-574-19

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGGTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGATCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCATA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

20

>DOM1h-574-25

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCGTACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGCTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-26

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCGTACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

30

>DOM1h-574-27

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCGTACA
TACTACGCGGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC

40

GATATATACGGGTCGTTGGAAGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-28

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCGTACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

10

>DOM1h-574-29

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCGTACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGAGGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

20

>DOM1h-574-30

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTGCGAATACGGGTGATCGTAGA
TACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGCATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-31

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTAACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

30

>DOM1h-574-32

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC

40

GATATATACGGGTCGGTGGGCGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-33

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCGTACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACT
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGTGCCTTTTGACAACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

10

>DOM1h-574-35

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTATTACGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCGTACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTTCAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

20

>DOM1h-574-36

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTTGGTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCGTACA
TACTACGCGGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTTCAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-37

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCGTACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAAGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTTCAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

30

>DOM1h-574-38

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGATACGGGTGATCGTAGA
TACTACGATGACTCTGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC

40

GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-39

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCGTAGA
TACTACGCAGACGCGGTGAAGGGGCGGTTTACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

10

>DOM1h-574-40

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCGTACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTTACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTAAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

20

>DOM1h-574-53

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTAGTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGAGCGTAGA
TACTACGCAGACTCAGTGAAGGGCCGGTTTACCATCTCCCGCGACAATCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGGTGGGAGCCTTTTGAATACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-54

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAACTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCGTACA
TACTACGCGGACTCCGTGAAGGGCCGGTTTACCATCTCCCGCGACAATCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGGTGGGAGCCTTATGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCACGAGC

30

>DOM1h-574-65

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTGCGAATACGGGTGATCGTAGA
TACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGGTTTACCATCTCCCGCGATAATTCCAAGAACA
CACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC

40

GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGTCTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-66

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTGCGAATACGGGTGATCGTAGA
TACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGAAGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

10

>DOM1h-574-67

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTGCGAATACGGGTGATCGTAGA
TACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

20

>DOM1h-574-68

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTGCGAATACGGGTGATCGTAGA
TACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGAGGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-69

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTGCGAATACGGGTGATCGTAGA
TACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGGTGGGCGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

30

>DOM1h-574-70

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTGGAATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC

40

GGTATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGTCTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-71

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGAAGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

10

>DOM1h-574-72 (配列番号 23)

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

20

>DOM1h-574-73

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGAGGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-74

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGCGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

30

>DOM1h-574-75

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGGATACGGGTGATCGTAGA
TACTACGATGACTCTGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC

40

GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGTCTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-76

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCCCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACGGGTGATCGTAGA
TACTACGATGACTCTGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGAAGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

10

>DOM1h-574-77

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACGGGTGATCGTAGA
TACTACGATGACTCTGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

20

>DOM1h-574-78

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACGGGTGATCGTAGA
TACTACGATGACTCTGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGAGGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-79

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACGGGTGATCGTAGA
TACTACGATGACTCTGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGGTGGGCGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

30

>DOM1h-574-84

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGAATACGGGTGATCGTAGA
TACTACGCAGACGCGGTGAAGGGGCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC

40

GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGTCTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-85

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCGTAGA
TACTACGCAGACGCGGTGAAGGGGCGGTTACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGAAGCCTTTTGTAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

10

>DOM1h-574-86

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCCCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCGTAGA
TACTACGCAGACGCGGTGAAGGGGCGGTTACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAAGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGTAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

20

>DOM1h-574-87

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCGTAGA
TACTACGCAGACGCGGTGAAGGGGCGGTTACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGAGGCCTTTTGTAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-88

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCGTAGA
TACTACGCAGACGCGGTGAAGGGGCGGTTACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGCGCCTTTTGTAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

30

>DOM1h-574-90

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTTTGAAGTTTTTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTGCGAATACGGGTGATCGTAGA
TACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGGTTACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC

40

GATATATACGGGTCGGTGGGCGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-91

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTTTGAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGGTGGGCGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

10

>DOM1h-574-92

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTTTCAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGGATACGGGTGATCGTAGA
TACTACGATGACTCTGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGTCTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

20

>DOM1h-574-93

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTTTGAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGGATACGGGTGATCGTAGA
TACTACGATGACTCTGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGTCTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-94

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTTGAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTGCGAATACGGGTGATCGTAGA
TACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGCATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGGTGGCCCGACTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

30

>DOM1h-574-95

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTTGAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTGCGAATACGGGTGATCGTAGA
TACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGCATATTACTGTGC

40

GATATATACGGGTCGGTGGCCCGACTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-96

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGGTGGCCCGACTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

10

>DOM1h-574-97

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGGTGGCCCGACTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

20

>DOM1h-574-98

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGGATACGGGTGATCGTAGA
TACTACGATGACTCTGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGGTGGCCCGACTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-99

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGGATACGGGTGATCGTAGA
TACTACGATGACTCTGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGGTGGCCCGACTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

30

>DOM1h-574-100

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGATGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGTCCAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGGCCTGGGGTGACAGGACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC

40

GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-101

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAAGGTCCAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGACGGCGGTACAGAGGACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

10

>DOM1h-574-102

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGATGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAAGGTCCAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGACTCCGGTTACCGCACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-103

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAAGGTCCAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGACGGGGGTACGCGGACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

20

>DOM1h-574-104

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGATGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAAGGTCCAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGACAAGGGTACGCGCACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

30

>DOM1h-574-105

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGATGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAAGGTCCAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGAGACCGGTTCGAGGACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC

40

GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-106

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTAACAATACGGGTTTCGACCACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

10

>DOM1h-574-107

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCCAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

20

>DOM1h-574-108

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCCAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGGTGGGCGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-109 (配列番号 24)

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGGATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

30

>DOM1h-574-110

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGGATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC

40

GATATATACGGGTCGGTGGGCGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-111

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTCCGATACTGCTGATCGTACA
TACTACGATGACTCTGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCGAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGAGGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

10

>DOM1h-574-112

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTCCGATACTGCTGATCGTACA
TACTACACACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCGAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGGTGGGCGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

20

>DOM1h-574-113

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACTGCTGATCGCAGA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCGAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGGTGGGCGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-114

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACTGCTGATCGTACA
TACTACGATCACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCGAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGGTGGGCGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

30

>DOM1h-574-115

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACTGCTGATCGTACA
TACTACGATCACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCGAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC

40

GATATATACGGGTCGGTGGGCGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-116

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACTGCTGATCGTAGA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGGTGGGCGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

10

>DOM1h-574-117

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACTGCTGATCGTAGA
TACTACGATCACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGGTGGGCGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

20

>DOM1h-574-118

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGAATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GGTATATACTGGGCGTTGGGTGTCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-119

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGAATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GCTATATACTGGGCGTTGGGTGTCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

30

>DOM1h-574-120

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGAATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTTACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC

40

GGTATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-121

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACTGCTGATCGTAGA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GCTATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

10

>DOM1h-574-122

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTGCGAATACTGCTGATCGTAGA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGGTGGGCGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

20

>DOM1h-574-123

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACTGCTGATCGTAGA
TACTACGCAGACGCGGTGAAGGGGCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGGTGGGAGCCTTTTGTCTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-124

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCGGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACTGGGCGATCGTAGA
TACTACGCACACGCGGTGAAGGGGCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGGTGGGAGCCTTTTGTCTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

30

>DOM1h-574-125

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTGCGAATACTGCTGATCGTAGA
TACTACGCAGACGCGGTGAAGGGGCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC

40

GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGTCTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-126

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTGCGAATACGGGTGATCGTAGA
TACTACGCACACGCGGTGAAGGGGCGGTTACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGTCTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

10

>DOM1h-574-127

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTGGAATACTGCTGATCGTAGA
TACTACGCACACGCGGTGAAGGGGCGGTTACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGTCTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

20

>DOM1h-574-128

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTGCGAATACGGGTGATCGTAGA
TACTACGCACACGCGGTGAAGGGGCGGTTACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGTCTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-129

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTGTGAATACGGGTGATCGTAGA
TACTACGCAGACGCGGTGAAGGGGCGGTTACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGTCTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

30

>DOM1h-574-130

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTGCGAATACGGGTGATCGTAGA
TACTACGCAGACGCGGTGAAGGGGCGGTTACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC

40

GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGTCTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-131

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACTGCTGATCGTACA
TACTACGATCACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGCGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

10

>DOM1h-574-132

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACTGCTGATCGTACA
TACTACGATCACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGAGGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

20

>DOM1h-574-133

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACTGCTGATCGTACA
TACTACGATCACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGTCTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-134

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACTGCTGATCGTACA
TACTACTCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

30

>DOM1h-574-135

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACTGCTGATCGTACA
TACTACACACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC

40

GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-137

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACTGCTGATCGTACA
TACTACACAGACGCGGTGAAGGGGCGGTTACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGTCTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

10

>DOM1h-574-138 (配列番号 25)

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTTTCAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGGTGGGCGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

20

>DOM1h-574-139

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTTTGAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGGTGGGCGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-140

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTTTCAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTGCGGATACGGGTGATCGTAGA
TACTACGATGACTCTGTGAAGGGCCGGTTACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGTCTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

30

>DOM1h-574-141

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTTTCAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACTGCTGATCGTAGA
TACTACGATGACTCTGTGAAGGGCCGGTTACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC

40

GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGTCTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-142

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGCC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTTTCAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTCCGATACGGGTGATCGTAGA
TACTACGATCACTCTGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAACCTTTTGTCTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

10

>DOM1h-574-143

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTTTCAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTCCGATACGGGTGATCGTAGA
TACTACGATGACGCGGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGTCTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

20

>DOM1h-574-144

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTTTCAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTGCGGATACTGCTGATCGTAGA
TACTACGATGACTCTGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGTCTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

30

>DOM1h-574-145

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTTTCAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTGCGGATACTGCTGATCGTAGA
TACTACGATCACTCTGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGTCTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

40

>DOM1h-574-146

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTTTCAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTGCGGATACTGCTGATCGTAGA
TACTACGATGACGCGGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC

GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGTCTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-147

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGGGCCTTTTGTCTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

10

>DOM1h-574-148

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGTGCCTTTTGCCTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

20

>DOM1h-574-149

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGGACCTTTTCAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-150

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTCAGTACTGGGGTCAGGGAACCTCTGGTCACC
GTCTCGAGC

30

>DOM1h-574-151

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC

40

GATATATACGGGTCGTTGGGCGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-152

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGCGCCTTTTCAGTACTGGGGTCAGGGAACCTCTGGTCACC
GTCTCGAGC

10

>DOM1h-574-153

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGTGCCTTTTCAGTACTGGGGTCAGGGCACCTCTGGTCACC
GTCTCGAGC

20

>DOM1h-574-154

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACCGGTGATCGTAGA
TACTACGATCACTCTGTGAAGGGCCGGTTCATATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGGTGGGCGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-155

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTTTGAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

30

>DOM1h-574-156 (配列番号 22)

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTTTCAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC

40

GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-157

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTTTGAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTCCGATACTGCTGATCGTACA
TACTACGATCACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGAGGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

10

>DOM1h-574-158

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTTTCAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTCCGATACTGCTGATCGTACA
TACTACGATCACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGAGGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

20

>DOM1h-574-159

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTTTCAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTCCGATACTGCTGATCGTACA
TACTACGATCACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGTCTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-160

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTTTGAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTCCGATACTGCTGATCGTACA
TACTACGATCACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGTCTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

30

>DOM1h-574-161

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTTTGAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTCCGATACTGCTGATCGTACA
TACTACTCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC

40

GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-162 (配列番号 26)

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTTTCAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACTGCTGATCGTACA
TACTACTCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

10

>DOM1h-574-163

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTTTCAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACTGCTGATCGTACA
TACTACACACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

20

>DOM1h-574-164

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTTTGAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACTGCTGATCGTACA
TACTACACACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-165

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTTTCAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGCGCCTTTTGGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

30

>DOM1h-574-166

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTTTGAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC

40

GATATATACGGGTCGTTGGGCGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-167

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTTTGAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACCGGTGATCGTAGA
TACTACGATCACTCTGTGAAGGGCCGGTTCACTATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGGTGGGCGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

10

>DOM1h-574-168

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTTTCAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACCGGTGATCGTAGA
TACTACGATCACTCTGTGAAGGGCCGGTTCACTATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGGTGGGCGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

20

>DOM1h-574-169

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTTGAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGCGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-170

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTTTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACGCGGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

30

>DOM1h-574-171

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTGCAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTTGAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACTGCTGATCGTACA
TACTACGATCACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC

40

GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-172

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTCACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTGCGGATACTGCTGATCGTACA
TACTACGATCACGCGGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

10

>DOM1h-574-173

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTCACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTGCGGATACTGCTGATCGTAGA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGGTGGGCGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

20

>DOM1h-574-174

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTCACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACTGCTGATCGTAGA
TACTACGCACACGCGGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGGTGGGCGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-175

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTCACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTGCGGATACTGCTGATCGTAGA
TACTACGCACACGCGGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGGTGGGCGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

30

>DOM1h-574-176

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTCACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACTGCTGATCGTAGA
TACTACGATCACGCGGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC

40

GATATATACGGGTCGGTGGGCGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-177

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTGCGGATACTGCTGATCGTAGA
TACTACGATCACGCGGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGGTGGGCGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGGACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

10

>DOM1h-574-178

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTGCGGATACTGCTGATCGTAGA
TACTACGATCACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGGTGGGCGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

20

>DOM1h-574-179

GAGGTGCAGCTGCTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTTTCAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACTGCTGATCGTAGA
TACTACGATGACGCGGTGAAGGGCCGGTTCACCATCACCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGTCTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

>DOM1h-574-180 (配列番号 27)

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACGCGGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGC

30

DOM1m-15-12

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGTCA
CCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGTATATTACATACGAGTGACAGTGGTACCAGCAGAA
ACCAGGGAAAGCCCCTAAACTCCTGATCTATGGGTCGTCCAGGTTGCATAGTGGGGTC
CCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTC

40

TGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACTGTCAACAGAATCATTATAGTCCTTTTAC
GTACGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG

DOM1m-21-23

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTAATAGGTATAGTATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACGGATTGATTCTTATGGTCGTGGTACA
TACTACGAAGACCCCGTGAAGGGCCGGTTCAGCATCTCCCGCGACAATCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCCGTATATTACTGTGC
GAAAATTTCTCAGTTTGGGTCAAATGCGTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCAGGTC
ACCGTCTCGAGC

10

>DMS0111

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCCTGGTCACC
GTCTCGAGCGCTAGCACCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAT
CTGTAGGAGACCGTGTCAACATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCCGATTGGGACGACGTT
AAGTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCCTTTGGAATTCC
CGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCA
CTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACTGTGCGCAGGC
TGGGACGCATCCTACGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG

20

>DMS0112

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCCTGGTCACC
GTCTCGAGCGCTAGCACCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAT
CTGTAGGAGACCGTGTCAACATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCCGATTGGGACGATGTT
AAGTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCCTTGTGTTGGTTCC
CGGTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCA
CTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACTGTGCGCAGGC
TGGGACGCATCCTACGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG

30

>DMS0113

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATCCAAGAACA

40

CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGTAGTACTGGGGTCAGGGAACCCCTGGTCACC
GTCTCGAGCGCTAGCACCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAT
CTGTAGGAGACCGTGTCAACATCACTTGCCGGGCAAGTCAGTGGATTGGGTCTCAGTT
ATCTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCATGTGGCGTTCC
TCGTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCA
CTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACTGTGCTCAGGG
TTTGAGGCATCCTAAGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG

>DMS0114

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGTAGTACTGGGGTCAGGGAACCCCTGGTCACC
GTCTCGAGCGCTAGCACCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAT
CTGTAGGAGACCGTGTCAACATCACTTGCCGGGCAAGTCAGTGGATTGGGTCTCAGTT
ATCTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCATGTGGCGTTCC
TCGTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCA
CTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACTGTGCTCAGGG
TCTTATGAAGCCTATGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG

10

20

>DMS0115

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGTAGTACTGGGGTCAGGGAACCCCTGGTCACC
GTCTCGAGCGCTAGCACAGTGGTCCATCGGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCT
CCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGTCAACATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCCGAT
TGGGACGACGTTAAGTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATC
CTTTGGAATTCCCCTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTTCAGTGGCAGTGGATCTG
GGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTA
CTGTGCGCAGGCTGGGACGCATCCTACGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATC
AAACGG

30

>DMS0116

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGTAGTACTGGGGTCAGGGAACCCCTGGTCACC

40

GTCTCGAGCGCTAGCACCAGTGGTCCATCGGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCT
CCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGTCAACATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCCGAT
TGGGACGATGTTAAGTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATC
TTGTTTGGTTCCCGGTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTG
GGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTA
CTGTGCGCAGGCTGGGACGCATCCTACGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATC
AAACGG

>DMS0117

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTCACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGCGCTAGCACCAGTGGTCCATCGGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCT
CCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGTCAACATCACTTGCCGGGCAAGTCAGTGGAT
TGGGTCTCAGTTATCTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATC
ATGTGGCGTTCCCTCGTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTG
GGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTA
CTGTGCTCAGGGTTTGAGGCATCCTAAGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATC
AAACGG

10

20

>DMS0118

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTCACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGCGCTAGCACCAGTGGTCCATCGGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCT
CCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGTCAACATCACTTGCCGGGCAAGTCAGTGGAT
TGGGTCTCAGTTATCTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATC
ATGTGGCGTTCCCTCGTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTG
GGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTA
CTGTGCTCAGGGTCTTATGAAGCCTATGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATC
AAACGG

30

>DMS0121

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTCACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC

40

GTCTCGAGCGCTAGCGGTGGAGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCAGCGGCGGTGGCGGAT
CCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGT
CACCATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCCGATTGGGACGACGTTAAGTTGGTACCAGCAG
AAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCCTTTGGAATCCCGTTTGCAAAGTGGGG
TCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG
TCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACTGTGCGCAGGCTGGGACGCATCCTACG
ACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG

>DMS0122

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGCGCTAGCGGTGGAGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCAGCGGCGGTGGCGGAT
CCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGT
CACCATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCCGATTGGGACGATGTTAAGTTGGTACCAGCAG
AAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTTGTGTTGGTTCCCGGTTGCAAAGTGGGG
TCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG
TCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACTGTGCGCAGGCTGGGACGCATCCTACG
ACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG

10

20

>DMS0123

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGCGCTAGCGGTGGAGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCAGCGGCGGTGGCGGAT
CCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGT
CACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGTGGATTGGGTCTCAGTTATCTTGGTACCAGCAG
AAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCATGTGGCGTTCCTCGTTGCAAAGTGGGG
TCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG
TCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACTGTGCTCAGGGTTTGAGGCATCCTAAG
ACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG

30

>DMS0124

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC

40

GTCTCGAGCGCTAGCGGTGGAGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCAGCGGCGGTGGCGGAT
CCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGT
CACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGTGGATTGGGTCTCAGTTATCTTGGTACCAGCAG
AAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCATGTGGCGTTCCCTCGTTGCAAAGTGGGG
TCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG
TCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACTGTGCTCAGGGTCTTATGAAGCCTATG
ACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG

>DMS0132

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTCACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTCCGATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGCGCTAGCACCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAT
CTGTAGGAGACCGTGTCAACATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCCGATTGGGACGACGTT
AAGTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCCTTTGGAATTCC
CGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCA
CTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACTGTGCGCAGGC
TGGGACGCATCCTACGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG

10

20

>DMS0133

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTCACCTTTTTTCAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTCCGATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGGTGGGCGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGCGCTAGCACCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAT
CTGTAGGAGACCGTGTCAACATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCCGATTGGGACGACGTT
AAGTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCCTTTGGAATTCC
CGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCA
CTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACTGTGCGCAGGC
TGGGACGCATCCTACGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG

30

>DMS0134

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTCACCTTTTTTCAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTCCGATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGCGCTAGCACCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAT
CTGTAGGAGACCGTGTCAACATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCCGATTGGGACGACGTT

40

AAGTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCCTTTGGAATTCC
CGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCA
CTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACTGTGCGCAGGC
TGGGACGCATCCTACGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG

>DMS0135

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTTTCAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTCCGGATACTGCTGATCGTACA
TACTACTCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGCGCTAGCACCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAT
CTGTAGGAGACCGTGTCAACCATCACTTGCCGGGGCAAGTCGTCCGATTGGGACGACGTT
AAGTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCCTTTGGAATTCC
CGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCA
CTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACTGTGCGCAGGC
TGGGACGCATCCTACGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG

10

>DMS0136

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTCCGGATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACGCGGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGCGCTAGCACCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAT
CTGTAGGAGACCGTGTCAACCATCACTTGCCGGGGCAAGTCGTCCGATTGGGACGACGTT
AAGTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCCTTTGGAATTCC
CGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCA
CTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACTGTGCGCAGGC
TGGGACGCATCCTACGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG

20

30

>DMS0162

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGATGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGTCCAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCGTACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACA
GTCTCGTGT

40

>DMS0163

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGATGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGTCCAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCGTACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACA
GTCTCGAGCGCTAGCACCAGTGGTCCATCGGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCT
CCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGTACCATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCCGAT
TGGGACGATGTTAAGTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATC
CTTGCTTTTTTCCCGTTTGC AAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTG
GGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTA
CTGCGCGCAGGCTGGGACGCATCCTACGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATC
AAACGGGCGGCCGAGAACAAAACTCATCTCAGAAGAGGATCTGAAT

10

>DMS0163-タグなし

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGATGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGTCCAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCGTACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACA
GTCTCGAGCGCTAGCACCAGTGGTCCATCGGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCT
CCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGTACCATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCCGAT
TGGGACGATGTTAAGTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATC
CTTGCTTTTTTCCCGTTTGC AAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTG
GGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTA
CTGCGCGCAGGCTGGGACGCATCCTACGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATC
AAACGG

20

>DMS0168

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGCGCTAGCACCAGTGGTCCATCGGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCT
CCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGTACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCAT
TATTAAGCATTTAAAGTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATC
TATGGTGCATCCCGGTTGC AAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTG
GGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTA
CTGTCAACAGGGGGCTCGGTGGCCTCAGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATC
AAACGGGCGGCCGAGAACAAAACTCATCTCAGAAGAGGATCTGAAT

30

40

>DMS0168-タグなし

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTTCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGCGCTAGCACCAGTGGTCCATCGGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCT
CCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGTACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCAT
TATTAAGCATTTAAAGTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATC
TATGGTGCATCCCGGTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTG
GGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTA
CTGTCAACAGGGGGCTCGGTGGCCTCAGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATC
AAACGG

10

>DMS0169

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTTCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGCGCTAGCACCAGTGGTCCATCGGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCT
CCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGTACCATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCCGAT
TGGGACGATGTTAAGTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATC
TTGTTTGGTTCCCGGTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTG
GGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTA
CTGTGCGCAGGCTGGGACGCATCCTACGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATC
AAACGGGCGGCCGCAGAACAAAACTCATCTCAGAAGAGGATCTGAAT

20

>DMS0169-タグなし

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTTCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGCGCTAGCACCAGTGGTCCATCGGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCT
CCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGTACCATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCCGAT
TGGGACGATGTTAAGTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATC
TTGTTTGGTTCCCGGTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTG
GGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTA
CTGTGCGCAGGCTGGGACGCATCCTACGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATC
AAACGG

30

40

>DMS0176

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGATGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAAGGTCCAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCGTACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTACCATCTCCCGCGACAATCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTTCGTTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACA
GTCTCGAGCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAG
ACCGTGTCAACATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCCGATTGGGACGACGTTAAGTTGGTA
CCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTGGTTTGGTTCCCGGTTGCAA
AGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCA
TCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACTGTGCGCAGGCTGGGACGCA
TCCTACGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG

10

>DMS0177

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGATGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAAGGTCCAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCGTACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTACCATCTCCCGCGACAATCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTTCGTTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACA
GTCTCGAGCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAG
ACCGTGTCAACATCACTTGCCGGGCAAGTCAGTGGATTGGGTCTCAGTTATCTTGGTA
CCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCATGTGGCGTTCCCTCGTTGCAA
AGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCA
TCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACTGTGCTCAGGGTGCAGCGTT
GCCTAGGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG

20

>DMS0182

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGATGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAAGGTCCAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCGTACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTACCATCTCCCGCGACAATCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTTCGTTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACA
GTCTCGAGCGCTAGCACCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAT
CTGTAGGAGACCGTGTCAACATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCCGATTGGGACGACGTT
AAGTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTGGTTTGGTTCC
CGGTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCA
CTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACTGTGCGCAGGC
TGGGACGCATCCTACGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGGGCGGCC
GCAGAACAAAACTCATCTCAGAAGAGGATCTGAAT

30

>DMS0182-タグなし

40

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGATGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAAGGTCCAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCGTACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCCTGGTCACA
GTCTCGAGCGCTAGCACCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAT
CTGTAGGAGACCGTGTACCATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCCGATTGGGACGACGTT
AAGTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTGGTTTGGTTCC
CGGTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCA
CTCTACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACTGTGCGCAGGC
TGGGACGCATCCTACGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG

10

>DMS0184

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGATGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAAGGTCCAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCGTACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCCTGGTCACA
GTCTCGAGCGCTAGCACCGAGTGGTCCATCGGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCT
CCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGTACCATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCCGAT
TGGGACGACGTTAAGTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATC
TGGTTTGGTTCCCGGTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTG
GGACAGATTTCACTCTACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTA
CTGTGCGCAGGCTGGGACGCATCCTACGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATC
AAACGG

20

>DMS0186

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGATGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAAGGTCCAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCGTACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCCTGGTCACA
GTCTCGAGCGCTAGCACCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAT
CTGTAGGAGACCGTGTACCATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCCGATTGGGACGATGTT
AAGTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTTGTTTGGTTCC
CGGTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCA
CTCTACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACTGTGCGCAGGC
TGGGACGCATCCTACGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGGGCGGCC
GCAGAACAAAACTCATCTCAGAAGAGGATCTGAAT

30

>DMS0186-タグなし

40

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGATGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAAGGTCCAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCGTACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACA
GTCTCGAGCGCTAGCACCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAT
CTGTAGGAGACCGTGTCAACATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCCGATTGGGACGATGTT
AAGTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTTGTTTGGTTCC
CGGTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTTCAGTGGCAGTGGATCTEGGACAGATTTCA
CTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACTGTGCGCAGGC
TGGGACGCATCCTACGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG

10

>DMS0188

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGATGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAAGGTCCAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCGTACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACA
GTCTCGAGCGCTAGCACCGAGTGGTCCATCGGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCT
CCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGTCAACATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCCGAT
TGGGACGATGTTAAGTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATC
TTGTTTGGTTCCCGGTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTTCAGTGGCAGTGGATCTG
GGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTA
CTGTGCGCAGGCTGGGACGCATCCTACGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATC
AAACGGGCGGCCGCAGAACAAAACCTCATCTCAGAAGAGGATCTGAAT

20

>DMS0188-タグなし

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGATGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAAGGTCCAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCGTACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACA
GTCTCGAGCGCTAGCACCGAGTGGTCCATCGGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCT
CCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGTCAACATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCCGAT
TGGGACGATGTTAAGTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATC
TTGTTTGGTTCCCGGTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTTCAGTGGCAGTGGATCTG
GGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTA
CTGTGCGCAGGCTGGGACGCATCCTACGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATC
AAACGG

30

>DMS0189

40

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTTCGATGGGATGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAAGGTCCAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCGTACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACA
GTCTCGAGCGCTAGCACCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAT
CTGTAGGAGACCGTGTCAACCATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCCGATTGGGACGACGTT
AAGTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCCTTTGGAATTCC
CGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCA
CTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACTGTGCGCAGGC
TGGGACGCATCCTACGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGGGCGGCC
GCAGAACAAAACTCATCTCAGAAGAGGATCTGAAT

10

>DMS0189-タグなし

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTTCGATGGGATGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAAGGTCCAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCGTACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACA
GTCTCGAGCGCTAGCACCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAT
CTGTAGGAGACCGTGTCAACCATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCCGATTGGGACGACGTT
AAGTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCCTTTGGAATTCC
CGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCA
CTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACTGTGCGCAGGC
TGGGACGCATCCTACGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG

20

>DMS0190

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTTCGATGGGATGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAAGGTCCAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCGTACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACA
GTCTCGAGCGCTAGCACCGAGTGGTCCATCGGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCT
CCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGTCAACCATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCCGAT
TGGGACGACGTTAAGTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATC
CTTTGGAATTCCCGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTTCAGTGGCAGTGGATCTG
GGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTA
CTGTGCGCAGGCTGGGACGCATCCTACGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATC
AAACGGGCGGCCGAGAACAAAACTCATCTCAGAAGAGGATCTGAAT

30

>DMS0190-タグなし

40

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGTTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGATGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAAGGTCCAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCGTACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACA
GTCTCGAGCGCTAGCACCGAGTGGTCCATCGGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCT
CCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGTACCATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCCGAT
TGGGACGACGTTAAGTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATC
CTTTGGAATTCCCGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTG
GGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTA
CTGTGCGCAGGCTGGGACGCATCCTACGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATC
AAACGG

10

>DMS0191

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGTTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGATGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAAGGTCCAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCGTACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGCGCTAGCACCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAT
CTGTAGGAGACCGTGTACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTATTAAGCATTT
AAAGTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGGTGCATCC
CGGTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCA
CTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACTGTCAACAGGG
GACTCGGTGGCCTCAGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGGGCGGCC
GCAGAACAAAACTCATCTCAGAAGAGGATCTGAAT

20

>DMS0191-タグなし

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGTTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGATGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAAGGTCCAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGATCGTACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGCGCTAGCACCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAT
CTGTAGGAGACCGTGTACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTATTAAGCATTT
AAAGTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGGTGCATCC
CGGTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCA
CTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACTGTCAACAGGG
GACTCGGTGGCCTCAGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG

30

>DMS0192

40

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGATGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAAGGTCCAGAGTGGGTCTCACAGATTTGAATACGGGTGATCGTACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGCGCTAGCACCAGTGGTCCATCGGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCT
CCCTGTCTGCATCTGTAGGTGACCGTGTACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCAT
TATTAAGCATTTAAAGTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATC
TATGGTGCATCCCGGTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTG
GGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTA
CTGTCAACAGGGGGCTCGGTGGCCTCAGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATC
AAACGGGCGGCCGAGAACAAAACCTCATCTCAGAAGAGGATCTGAAT

10

>DMS0192-タグなし

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGATGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAAGGTCCAGAGTGGGTCTCACAGATTTGAATACGGGTGATCGTACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACGGGTCGTTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGCGCTAGCACCAGTGGTCCATCGGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCT
CCCTGTCTGCATCTGTAGGTGACCGTGTACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCAT
TATTAAGCATTTAAAGTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATC
TATGGTGCATCCCGGTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTG
GGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTA
CTGTCAACAGGGGGCTCGGTGGCCTCAGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATC
AAACGG

20

>DMS5519

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAAGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTGAATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGCGCTAGCACCAGTGGTCCATCGGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCT
CCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGTACCATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCCGAT
TGGGACGATGTTAAGTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATC
CTTGCTTTTTTCCCGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTG
GGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTA
CTGCGCGCAGGCTGGGACGCATCCTACGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATC
AAACGG

30

>DMS5520

40

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACGGGTGGTCATACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GAAATATACGGGTCATTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGCGCTAGCACCAGTGGTCCATCGGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCT
CCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGTACCATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCCGAT
TGGGACGACGTTAAGTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATC
CTTTGGAATTCCTCGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTG
GGACAGATTTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTA
CTGTGCGCAGGCTGGGACGCATCCTACGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATC
AAACGG

10

>DMS5521

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGCGCTAGCACCAGATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAT
CTGTAGGAGACCGTGTACCATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCCGATTGGGACGATGTT
AAGTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCCTTGCTTTTTTCC
CGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCA
CTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACTGCGCGCAGGC
TGGGACGCATCCTACGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG

20

>DMS5522

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTAAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCGAGCGCTAGCACCAGATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAT
CTGTAGGAGACCGTGTACCATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCCGATTGGGACGATGTT
AAGTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCCTTGCTTTTTTCC
CGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCA
CTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACTGCGCGCAGGC
TGGGACGCATCCTACGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGGGCGGCC
GCAGAACAAAACTCATCTCAGAAGAGGATCTGAAT

30

>DMS5522-タグなし

40

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCCTGGTCACC
GTCTCGAGCGCTAGCACCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAT
CTGTAGGAGACCGTGTCAACCATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCCGATTGGGACGATGTT
AAGTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCCTTGCTTTTTTCC
CGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCA
CTCTACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACTGCGCGCAGGC
TGGGACGCATCCTACGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG

10

>DMS5525

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGTTAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTGAATACTGGGTGGTCATACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GAAATATACGGGTCATTGGGAGCCTTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCCTGGTCACC
GTCTCGAGCGCTAGCACCGAGTGGTCCATCGGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCT
CCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGTCAACCATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCCGAT
TGGGACGATGTTAAGTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATC
CTTGCTTTTTTCCCCTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTG
GGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTA
CTGCGCGCAGGCTGGGACGCATCCTACGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATC
AAACGG

20

>DMS5527

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTTTCAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTTCGGATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCCTGGTCACC
GTCTCGAGCGCTAGCACCGAGTGGTCCATCGGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCT
CCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGTCAACCATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCCGAT
TGGGACGATGTTAAGTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATC
TTGTTTGGTTCCCCTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTG
GGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTA
CTGTGCGCAGGCTGGGACGCATCCTACGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATC
AAACGG

30

>DOM7h-11

40

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGTCA
CCATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCCGATTGGGACGACGTTAAGTTGGTACCAGCAGAA
ACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCTGGTTTGGTTCCCGGTTGCAAAGTGGGGTC
CCATCACGTTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTC
TGCAACCTGAAGATTTTGTCTACGTACTACTGTGCGCAGGCTGGGACGCATCCTACGAC
GTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG

>DOM7h-11-3

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGTCA
CCATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCCGATTGGGACGACGTTAAGTTGGTACCAGCAGAA
ACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCCTTTGGAATTCCCGTTTGGCAAAGTGGGGTC
CCATCACGTTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTC
TGCAACCTGAAGATTTTGTCTACGTACTACTGTGCGCAGGCTGGGACGCATCCTACGAC
GTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG

10

>DOM7h-11-12

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGTCA
CCATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCCGATTGGGACGATGTTAAGTTGGTACCAGCAGAA
ACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCCTTGTGTTTGGTTCCCGGTTGCAAAGTGGGGTC
CCATCACGTTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTC
TGCAACCTGAAGATTTTGTCTACGTACTACTGTGCGCAGGCTGGGACGCATCCTACGAC
GTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG

20

>DOM7h-11-15

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGTCA
CCATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCCGATTGGGACGATGTTAAGTTGGTACCAGCAGAA
ACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCCTTGCTTTTCCCGTTTGGCAAAGTGGGGTC
CCATCACGTTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTC
TGCAACCTGAAGATTTTGTCTACGTACTACTGTGCGCAGGCTGGGACGCATCCTACGAC
GTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG

>DOM7h-14

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGTCA
CCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGTGGATTGGGTCTCAGTTATCTTGGTACCAGCAGAA
ACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCATGTGGCGTTCCTCGTTGCAAAGTGGGGTC
CCATCACGTTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTC
TGCAACCTGAAGATTTTGTCTACGTACTACTGTGCTCAGGGTGCGGCGTTGCCTAGGAC
GTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG

30

>DOM7h-14-10

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGTCA
CCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGTGGATTGGGTCTCAGTTATCTTGGTACCAGCAGAA
ACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCATGTGGCGTTCCTCGTTGCAAAGTGGGGTC
CCATCACGTTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTC

40

TGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACTGTGCTCAGGGTTTGAGGCATCCTAAGAC
GTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG

>DOM7h-14-18

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGTCA
CCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGTGGATTGGGTCTCAGTTATCTTGGTACCAGCAGAA
ACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCATGTGGCGTTCCTCGTTGCAAAGTGGGGTC
CCATCACGTTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTC
TGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACTGTGCTCAGGGTCTTATGAAGCCTATGAC
GTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG

10

>DOM7m-16

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGTCA
CCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTATTAAGCATTTAAAGTGGTACCAGCAGAA
ACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCTATGGTGCATCCCGGTTGCAAAGTGGGGTC
CCATCACGTTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTC
TGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACTGTCAACAGGGGGCTCGGTGGCCTCAGAC
GTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG

20

VhD2:

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGAGTTAACGTTAGCCATGACTCTATGACCTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTATCAGCCATTCGGGGGCCTAACGGTAGCACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGTGACAATTCAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTATTGCGC
GAGTGGGGCTAGGCATGCGGATACGGAGCGGCCTCCGTGCGCAGCAGACCATGCCGTTT
TGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGC

DOM1m-21-23:

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTAATAGGTATAGTATGGGGTGGCTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCAGGATTGATTCTTATGGTCGTGGTACA
TACTACGAAGACCCCGTGAAGGGCCGGTTCAGCATCTCCCGCGACAATTCAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCCGTATATTACTGTGC
GAAAATTTCTCAGTTTGGGTCAAATGCGTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCAGGTC
ACCGTCTCGAGC

30

DOM1m-15-12:

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGTCA
CCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGTATATTATACAGTGTACAGTGGTACCAGCAGAA
ACCAGGGAAAGCCCCCTAACTCCTGATCTATGGGTGCTCCAGGTTGCATAGTGGGGTC
CCATCACGTTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTC

40

TGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACTGTCAACAGAATCATTATAGTCCTTTTAC
GTACGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG

DOM7h-11-12dh S12P:

GATATCCAGATGACGCAGTCTCCGAGCTCTCTGCCAGCGAGCGTTGGCGACCGTGTGA
CCATCACTTGCCGCGCTTCTCGTCCGATCGGTACCATGCTGTCTTGGTACCAGCAGAA
ACCAGGCAAAGCCCCGAAACTCCTGATCCTGTTCGGTTCTCGCCTGCAGTCTGGTGTA
CCGAGCCGTTTTCAGCGGTTCTGGTAGCGGCACCGACTTTACCCCTCACGATCTCTAGCC
TGCAGCCAGAGGATTTTCGCGACCTATTACTGTGCTCAGGCGGGTACCCACCCGACTAC
CTTCGGCCAGGGTACGAAGGTGGAAATCAAACGG

10

DMS0127:

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTAATAGGTATAGTATGGGGTGGCTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACGGATTGATTCTTATGGTCGTGGTACA
TACTACGAAGACCCCGTGAAGGGCCGGTTCAGCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCCGTATATTACTGTGC
GAAAATTTCTCAGTTTGGGTCAAATGCGTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCAGGTC
ACCGTCTCGAGCGCTAGCACCAAGTGGTCCATCGGACATCCAGATGACCCAGTCTCCAT
CCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGTCAACATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCC
GATTGGGACGATGTTAAGTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTG
ATCTTGTTTGGTTCCCGGTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGAT
CTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTA
CTACTGTGCGCAGGCTGGGACGCATCCTACGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAA
ATCAAACGG

20

DMS5537 (配列番号 43)

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTTTCAAGTATTCGATGGGGTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACAGATTTCCGATACTGCTGATCGTACA
TACTACGCACACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGC
GATATATACTGGGCGTTGGGTGCCTTTTGAGTACTGGGGTCAGGGAACCCCTGGTCACC
GTCTCGAGCGCTAGCACCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAT
CTGTAGGAGACCGTGTCAACATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCCGATTGGGACGATGTT
AAGTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTTGTTTGGTTCC
CGGTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCA
CTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACTGTGCGCAGGC
TGGGACGCATCCTACGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG

30

DMS5539 (配列番号 38)

GACATCCAGATGACCCAGAGCCCATCTAGCCTGTCTGCTTCTGTAGGTGACCGCGTTA
CTATTACCTGTCGTGCAAGCCAGTACATCCACACCTCTGTTCAAGTGGTATCAGCAGAA
ACCGGGTAAAGCGCCAAAACCTGCTGATTTACGGTTCTTCCCGTCTGCACAGCGGCGTT

40

CCATCTCGCTTCTCTGGCAGCGGTTCTGGTACGGATTTACGCTGACCATTAGCTCTC
TCCAGCCGGAAGACTTTGCCACGTACTACTGCCAGCAGAACCCTACTCTCCGTTTAC
CTACGGTCAGGGCACCAAGTGGAGATTAAACGTGCTAGCACCGATATCCAGATGACG
CAGTCTCCGAGCTCTCTGCCAGCGAGCGTTGGCGACCGTGTGACCATCACTTGCCGCG
CTTCTCGTCCGATCGGTACCATGCTGTCTTGGTACCAGCAGAAACCAGGCAAAGCCCC
GAAACTCCTGATCCTGTTTCGGTTCTCGCCTGCAGTCTGGTGTACCGAGCCGTTTTCAGC
GGTTCTGGTAGCGGCACCGACTTTACCCTCACGATCTCTAGCCTGCAGCCAGAGGATT
TCGCGACCTATTACTGTGCTCAGGCGGGTACCCACCCGACTACCTTCGGCCAGGGTAC
GAAGGTGGAAATCAAACGG

DMS5538 (配列番号 44)

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGAGTTAACGTTAGCCATGACTCTATGACCTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTATCAGCCATTCTGGGGGCCTAACGGTAGCACA
TACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGTGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCGGTATATTATTGCGC
GAGTGGGGCTAGGCATGCGGATACGGAGCGGCCTCCGTGCGAGCAGACCATGCCGTTT
TGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGCGCTAGCACCGACATCCAGATGACCC
AGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCGTGTCAACCATCACTTGCCGGGC
AAGTCGTCCGATTGGGACGATGTTAAGTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCT
AAGCTCCTGATCTTGTTTGGTTCCCGGTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTTCAGTG
GCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTT
TGCTACGTACTACTGTGCGCAGGCTGGGACGCATCCTACGACGTTTCGGCCAAGGGACC
AAGGTGGAAATCAAACGG

DMS5540 (配列番号 9)

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGTC
TCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTAATAGGTATAGTATGGGGTGGCTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCACGGATTGATTCTTATGGTCGTGGTACA
TACTACGAAGACCCCGTGAAGGGCCGGTTCAGCATCTCCCGCGACAATTCCAAGAACA
CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACCGCCGTATATTACTGTGC
GAAAATTTCTCAGTTTGGGTCAAATGCGTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCAGGTC
ACCGTCTCGAGCGCTAGCACCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTG
CATCTGTAGGAGACCGTGTCAACCATCACTTGCCGGGCAAGTCGTCCGATTGGGACGAT
GTTAAGTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTTGTTTGGT
TCCCGGTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATT
TCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACTGTGCGCA
GGCTGGGACGCATCCTACGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG

10

20

30

オリゴヌクレオチド配列

AS9: CAGGAAACAGCTATGACCATG
AS65: TTGTAAAACGACGGCCAGTG
AS339: TTCAGGCTGCGCAACTGTTG
AS639: CGCCAAGCTTGCATGCAAATTC
AS1029:
CCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTgtTaagtaTtcGatgggGTGGGTCCGCCAGG
AS1030:
TCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCAcagatttcgaatacgggtgatcgtacataC
ta CgcagactccgtgaagggcCGGTTCACCATCTCCC
AS1031:
GAGGACACCGCGGTATATTACTGTGCGatAtaTacgggtcgttgGgagccttttgact
aCT GGGGTCAGGGAACCTGGTC
AS1031': AAAGGTGAATCCGGAGGCTGCACAGG
AS1032: TGAGACCCACTCTAGACCCTTCCCTGGA
AS1033: CGCACAGTAATATAACCGCGGTGTCCTC
PAS40: TCAAGCGCTAGCACCGACATCCAGATGACCCAGTCTC

10

JAL102:
GGAATTCCATATGAAATACCTGCTGCCGACCGCTGCTGCTGGTCTGCTGCTCCTCGCT
GCCCAGCCGGCGATGGCCGAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGG

20

ZHT304: CATCTGGATGTCGGTGCTAGCGCTTGAGACGGTGACCAG

ZHT327:
GGTTAACCGCGGCCGCGAATTCGGATCCCTCGAGTCATTACCGTTTGATTTCCACCTT

ZHT332:
GGAATTCCATATGAAATACCTGCTGCCGACCGCTGCTGCTGGTCTGCTGCTCCTCGCT
GCCCAGCCGGCGATGGCCGACATCCAGATGACCCAGAGCCCA

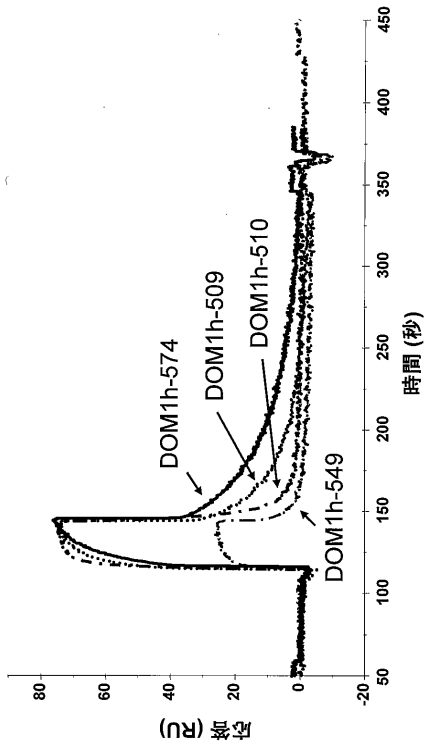
30

ZHT333: AAACGTGCTAGCACCGATATCCAGATGACGCAGTCTCC

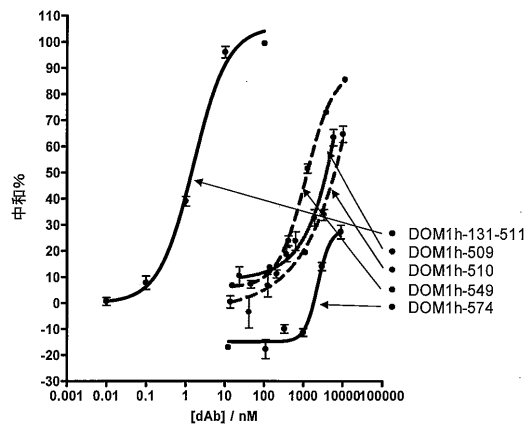
ZHT334: GGATATCGGTGCTAGCACGTTTAATCTCCACTTT

ZHT335: CATCTGGATGTCGGTGCTAGCGCTCGAGACGGT

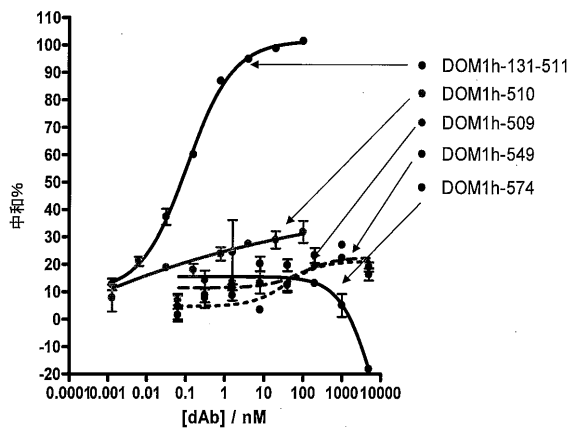
【図 1】



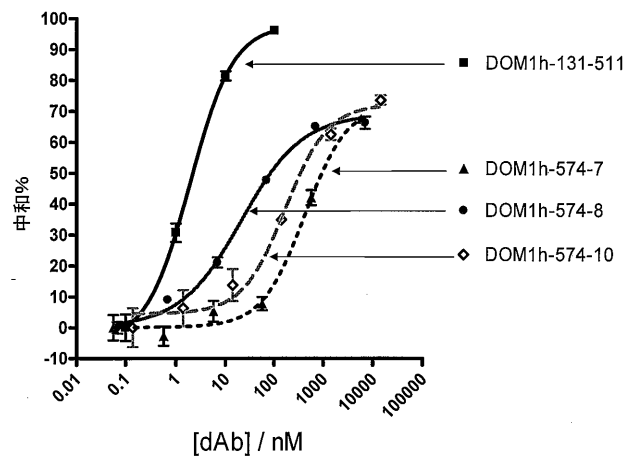
【図 2】



【図 3】



【図 4】



【図 5 A】

K a b a t 残基																			
DOM1h-574	E	V	Q	L	L	S	E	S	G	G	G	L	V	Q	P	G	S	L	R
DOM1h-574-10	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-11	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-12	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-13	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-14	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-15	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-16	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-17	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-18	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-19	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-20	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
K a b a t 残基																			
DOM1h-574	S	C	A	A	S	25	G	E	T	E	V	G	K	Z	S	M	G	V	Q
DOM1h-574-10	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-11	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-12	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-13	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-14	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-15	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-16	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-17	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-18	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-19	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-20	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

【図 5 C】

K a b a t 残基																			
DOM1h-574	E	V	Q	L	L	S	E	S	G	G	G	L	V	Q	P	G	S	L	R
DOM1h-574-10	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-11	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-12	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-13	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-14	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-15	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-16	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-17	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-18	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-19	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-20	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
K a b a t 残基																			
DOM1h-574	S	C	A	A	S	25	G	E	T	E	V	G	K	Z	S	M	G	V	Q
DOM1h-574-10	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-11	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-12	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-13	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-14	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-15	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-16	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-17	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-18	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-19	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-20	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

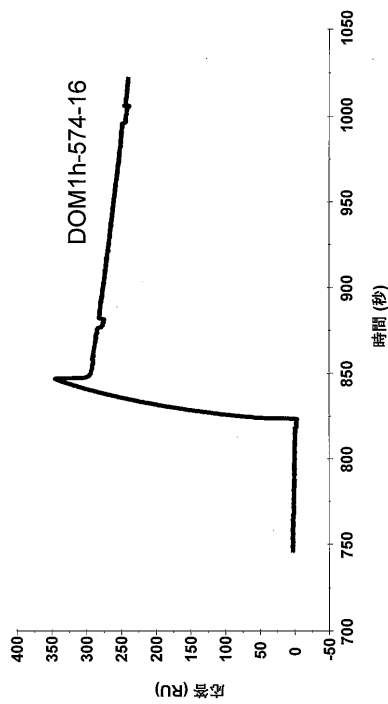
【図 5 B】

K a b a t 残基																			
DOM1h-574	E	V	Q	L	L	S	E	S	G	G	G	L	V	Q	P	G	S	L	R
DOM1h-574-10	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-11	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-12	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-13	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-14	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-15	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-16	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-17	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-18	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-19	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-20	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
K a b a t 残基																			
DOM1h-574	S	C	A	A	S	25	G	E	T	E	V	G	K	Z	S	M	G	V	Q
DOM1h-574-10	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-11	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-12	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-13	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-14	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-15	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-16	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-17	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-18	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-19	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
DOM1h-574-20	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

【図 6】

ヒトECD TNFR1	10.....20.....30.....40
カニクイザルECD TNFR1	MGLSTVPDLLLPVLLELLLVGIYPSGVIGLVPHLGDREKR
イヌECD TNFR1	...P...G.....A...LE...IS.TA...PRN.V..
マウスECD TNFR1	S.....
ヒトECD TNFR1	50.....60.....70.....80
カニクイザルECD TNFR1	DSVCPQGGKIYHPQNNISICCTKCHKGTLYLNDPCPGGQD
イヌECD TNFR1	V.....
マウスECD TNFR1	AIL.....DD.....V8...S...R..V
ヒトECD TNFR1	90.....100.....110.....120
カニクイザルECD TNFR1	CRECESGSGSFTASENHLRHCLSCSKCRKEMGQVEISSCTVD
イヌECD TNFR1	N.T.....Q.....N.....P...Y
マウスECD TNFR1	K.T.....Q.Y.Q...KT.....S.....P.QA.
ヒトECD TNFR1	130.....140.....150.....160
カニクイザルECD TNFR1	RDTVCGCRKNQYRHYWSENLPQCFNCSLCLNGTVHLSQCE
イヌECD TNFR1	Y.....T.....N.....QI..
マウスECD TNFR1	K.....KE...FQR.L...TH...VD...P.F...TIP.K.
ヒトECD TNFR1	170.....180.....190.....200
カニクイザルECD TNFR1	KQNTVCTCHAGFFLRENECVSCSNCKKSLLECTKLCPL-QI
イヌECD TNFR1	I.....H.....V.....NT...G.....PV
マウスECD TNFR1	T.....N.....S...P...H...NE...M.....PFL

【图 8】



【図 1 1 A】

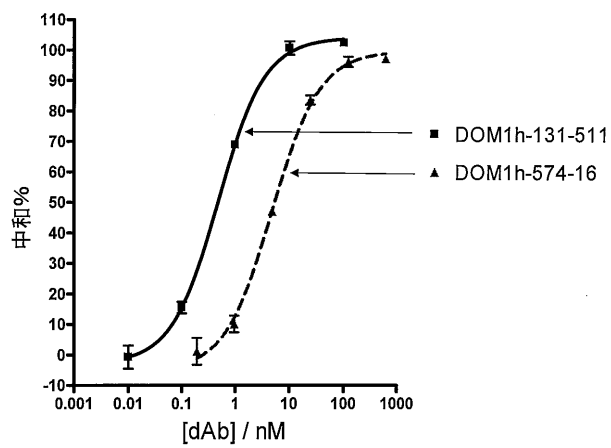


K a b a t 殘基

DOM1h-574
DOM1h-574-109
DOM1h-574-132
DOM1h-574-135
DOM1h-574-138
DOM1h-574-14
DOM1h-574-14
DOM1h-574-156
DOM1h-574-162
DOM1h-574-180
DOM1h-574-72

K a b a t 殘基

DOM1h-574
DOM1h-574-109
DOM1h-574-132
DOM1h-574-135
DOM1h-574-138
DOM1h-574-14
DOM1h-574-14
DOM1h-574-156
DOM1h-574-162
DOM1h-574-180
DOM1h-574-72



【 図 1 1 B 】

[illegible]

【図 1 1 C】

[illegible]

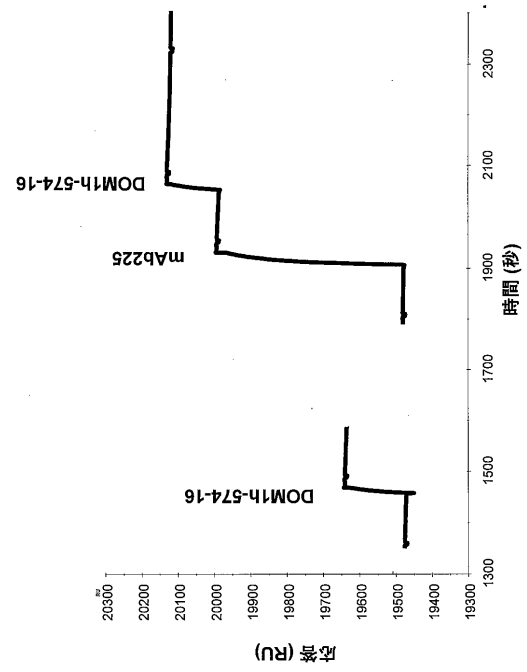
【図 1 2 A】

[illegible]

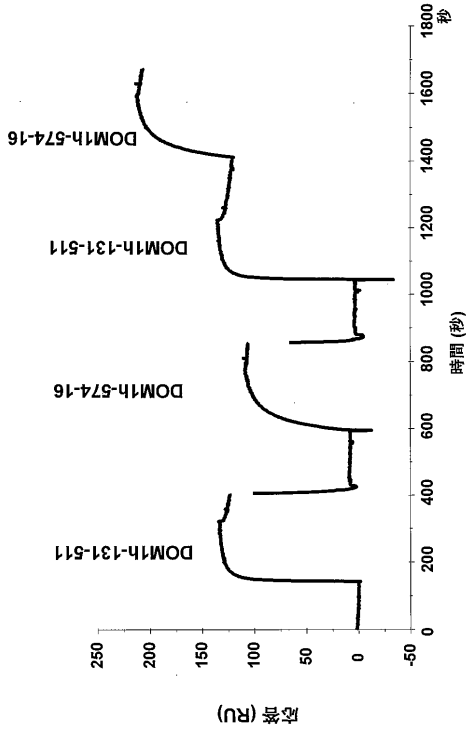
【図 1 2 B】

[illegible]

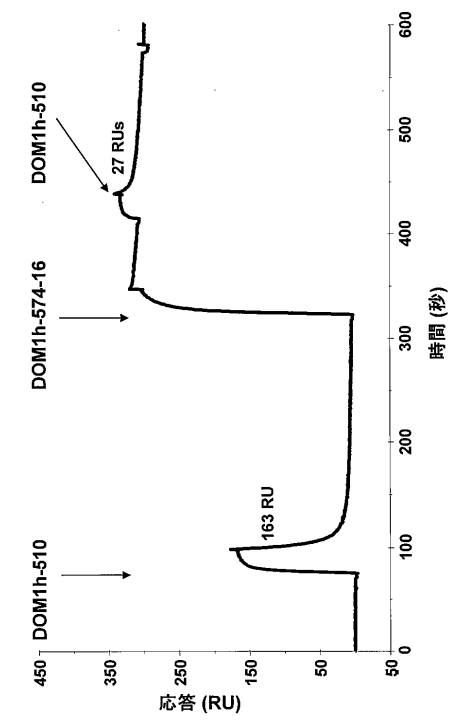
【図15】



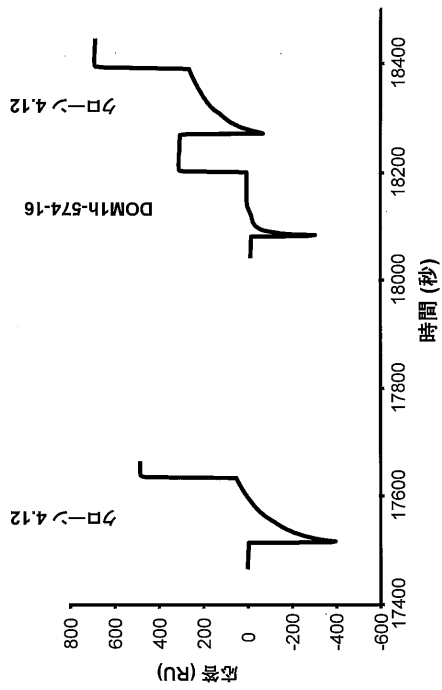
【図14】



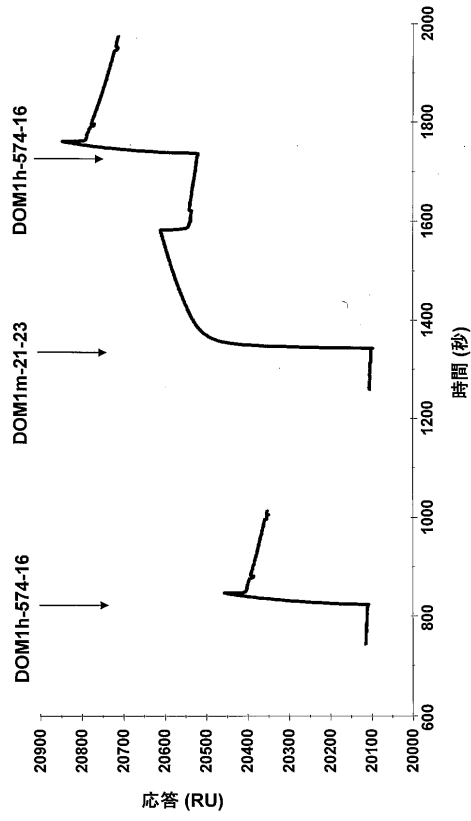
【図17】



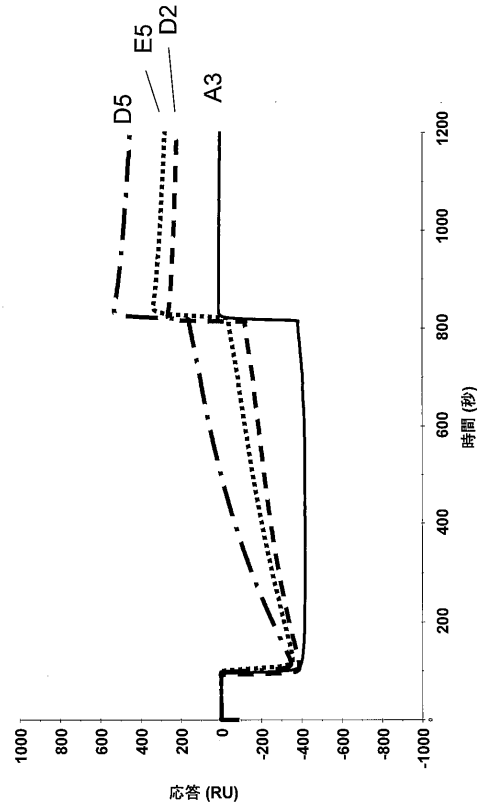
【図19】



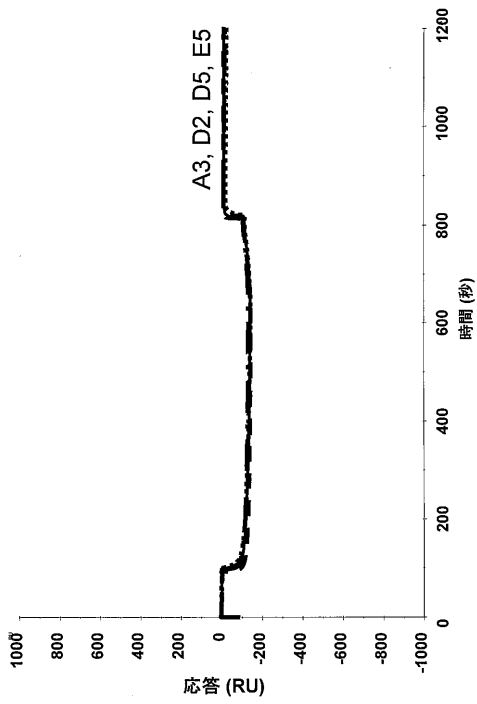
【図 18】



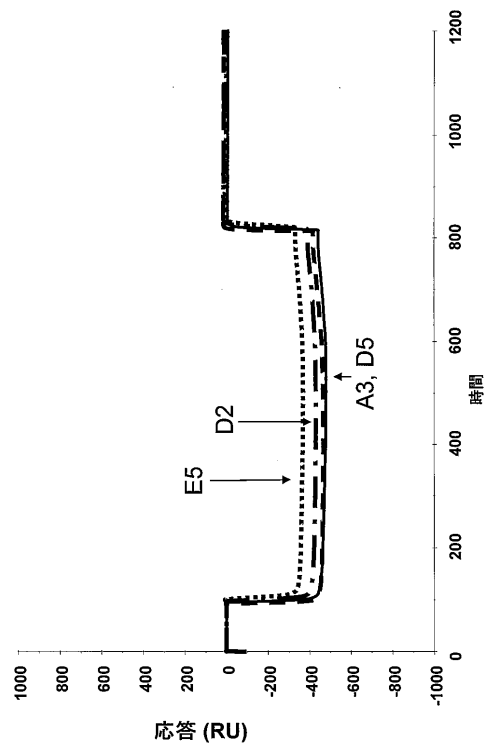
【図 19】



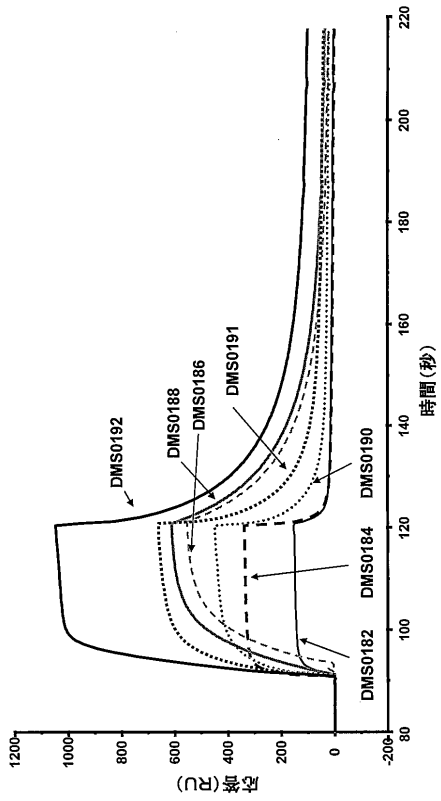
【図 20】



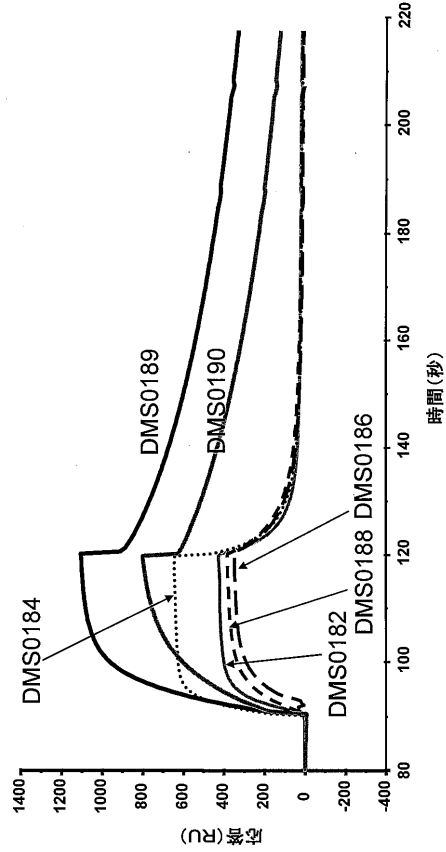
【図 21】



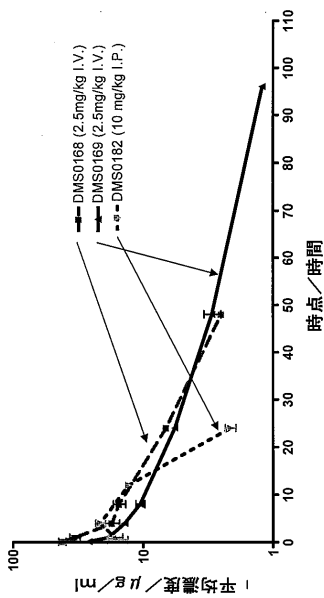
【図 2 2】



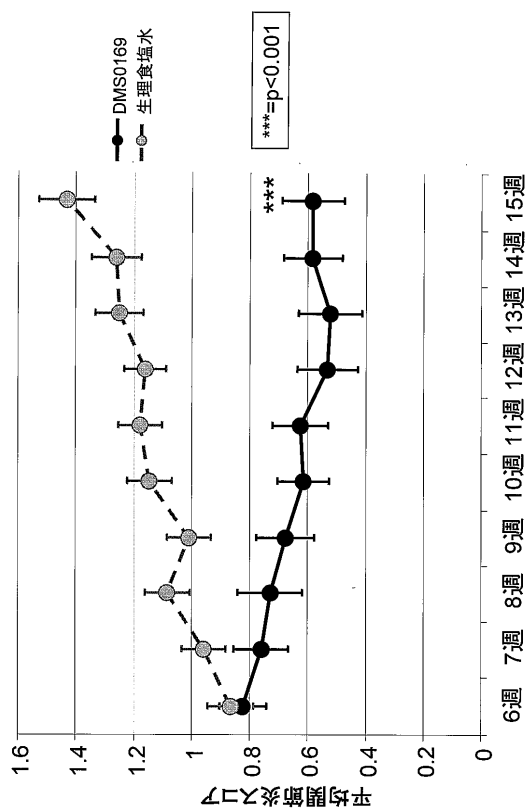
【図 2 3】



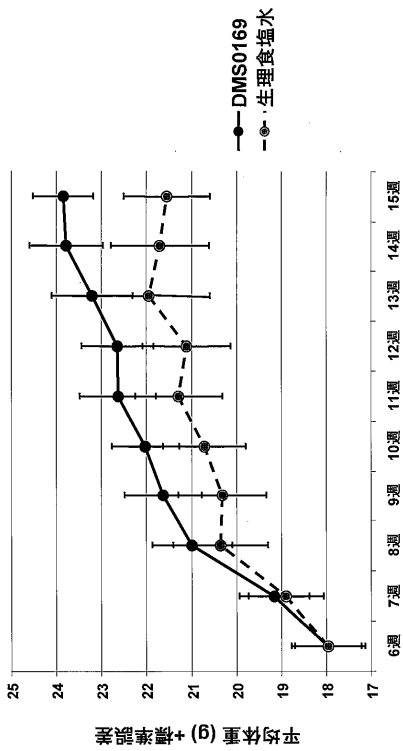
【図 2 4】



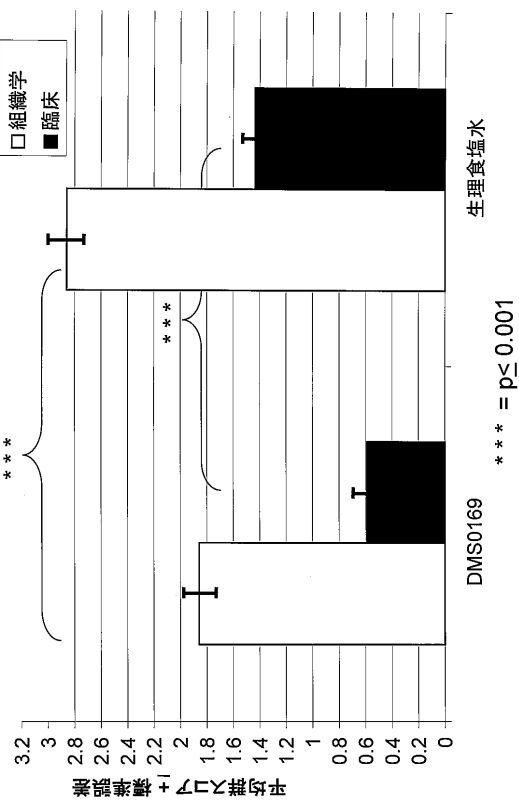
【図 2 5】



【図 2 6】



【図 2 7】



【配列表】

2012517818000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2010/052005

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07K16/28 A61K47/48 A61K39/395 A61K39/44 A61P37/00

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 A61K

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2006/038027 A2 (DOMANTIS LTD [GB]; BREWIS NEIL D [GB]; WOOLVEN BENJAMIN P [GB]; HOLMES) 13 April 2006 (2006-04-13) cited in the application paragraphs [0019], [0 20], [0 22] - [0025], [0 28], [0 31] - [0036], [0 61], [119], [126] - [0144], [158] paragraphs [0741], [744], [765], [766], [835], [856] claims 11, 152-156, 162-166, 174, 175, 203, 210, 214-241 ----- -/--	1,4,5,7, 8,10-32, 34-41, 43-71

☒ 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.

G document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

17 May 2010

Date of mailing of the international search report

08/11/2010

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel: (+31-70) 340-2040
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Bayer, Annette

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2010/052005

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2008/149148 A2 (DOMANTIS LTD [GB]; JESPER LAURENT [GB]; PUPECKA MALGORZATA [GB]; TOML) 11 December 2008 (2008-12-11) cited in the application page 3, line 5 - page 12, line 15 page 13, line 16 - page 14, line 25 page 17, line 4 - page 21, line 18 page 89, line 4 - page 97, line 3 claims 1-83; examples a, 1-15	1,4,5,7, 8,10-31, 34-41, 43-71
X	WO 2007/063308 A2 (DOMANTIS LTD [GB]; DREW PHILIP D [GB]; DE WILDT RUDOLF M T [GB]; TOMLI) 7 June 2007 (2007-06-07) the whole document, especially paragraphs 109-123, 127, 129, 133	1,4,5,7, 8,10-32, 34-41, 43-71
T	RUDIKOFF S ET AL: "Single amino acid substitution altering antigen-binding specificity" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES (PNAS), NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE, US LNKD-DOI:10.1073/PNAS.79.6.1979, vol. 79, 1 March 1982 (1982-03-01), pages 1979-1983, XP007901436 ISSN: 0027-8424 the whole document	
T	MACCALLUM R M ET AL: "Antibody-antigen interactions: Contact analysis and binding site topography" JOURNAL OF MOLECULAR BIOLOGY, LONDON, GB LNKD- DOI:10.1006/JMBI.1996.0548, vol. 262, no. 5, 1 January 1996 (1996-01-01), pages 732-745, XP002242391 ISSN: 0022-2836 the whole document	
T	VAJDOS F F ET AL: "Comprehensive Functional Maps of the Antigen-binding Site of an Anti-ErbB2 Antibody Obtained with Shotgun Scanning Mutagenesis" JOURNAL OF MOLECULAR BIOLOGY, LONDON, GB LNKD- DOI:10.1016/S0022-2836(02)00264-4, vol. 320, no. 2, 5 July 2002 (2002-07-05), pages 415-428, XP004449739 ISSN: 0022-2836 the whole document	

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2010/052005

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
T	WU HERREN ET AL: "Humanization of a murine monoclonal antibody by simultaneous optimization of framework and CDR residues" JOURNAL OF MOLECULAR BIOLOGY, vol. 294, no. 1, 19 November 1999 (1999-11-19), pages 151-162, XP002582261 ISSN: 0022-2836 the whole document	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2010/052005**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1, 4, 5, 7, 8, 10-31, 34-41, 43-71(all partially)

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/EP2010 /052005

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1, 4, 5, 7, 8, 10-31, 34-41, 43-71(all partially)

An anti-TNFR1 immunoglobulin single variable domain comprising the amino acid sequence of DOM1h-574-156 (SEQ ID NO: 1) and related subject-matter.

2. claims: 1, 4, 5, 7, 8, 10-32, 34-38, 41, 43-56(all partially)

An anti-TNFR1 immunoglobulin single variable domain comprising the amino acid sequence of DOM1h-574-72 (SEQ ID NO: 2) and related subject-matter.

3. claims: 1, 4, 5, 7-31, 34-38, 41, 43-65(all partially)

An anti-TNFR1 immunoglobulin single variable domain comprising the amino acid sequence of DOM1h-574-109 (SEQ ID NO: 3) and related subject-matter.

4. claims: 1, 4, 5, 7, 8, 10-31, 34-38, 41, 43-65(all partially)

An anti-TNFR1 immunoglobulin single variable domain comprising the amino acid sequence of DOM1h-574-138 (SEQ ID NO: 4) and related subject-matter.

5. claims: 1, 4, 5, 7, 8, 10-31, 34-38, 41, 43-65(all partially)

An anti-TNFR1 immunoglobulin single variable domain comprising the amino acid sequence of DOM1h-574-162 (SEQ ID NO: 5) and related subject-matter.

6. claims: 1, 4, 5, 7, 8, 10-31, 34-38, 41, 43-65(all partially)

An anti-TNFR1 immunoglobulin single variable domain comprising the amino acid sequence of DOM1h-574-180 (SEQ ID NO: 6) and related subject-matter.

7. claims: 2(completely); 5, 7, 12-15, 18-25, 34-38, 41, 51-64(partially)

An anti-TNFR1 immunoglobulin single variable domain as recited in present claim 2 and related subject-matter.

8. claims: 3(completely); 4, 5, 7, 12-15, 18-25, 34-38, 41, 51-64(partially)

International Application No. PCT/EP2010 /052005

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

An anti-TNFR1 immunoglobulin heavy chain single variable domain comprising valine at position 101 (numbering according to Kabat) and related subject-matter.

9. claims: 6(completely); 7, 12-15, 18-25, 34-38, 41, 51-64(partially)

An anti-TNFR1 immunoglobulin single variable domain as recited in present claim 6 and related subject-matter.

10. claims: 8, 12-15, 18-25, 34-38, 41, 51-64(all partially)

An anti-TNFR1 immunoglobulin single variable domain comprising the amino acid sequence of DOM1h-574-132 (SEQ ID NO: 7) and related subject-matter.

11. claims: 8, 10, 12-15, 18-25, 34-38, 41, 51-64(all partially)

An anti-TNFR1 immunoglobulin single variable domain comprising the amino acid sequence of DOM1h-574-135 (SEQ ID NO: 8) and related subject-matter.

12. claims: 9, 12-15, 18-25, 34-38, 41, 51-64(all partially)

An anti-TNFR1 immunoglobulin single variable domain comprising the amino acid sequence of DOM1h-574-93 (SEQ ID NO: 12) and related subject-matter.

13. claims: 9, 12-15, 18-25, 34-38, 41, 51-64(all partially)

An anti-TNFR1 immunoglobulin single variable domain comprising the amino acid sequence of DOM1h-574-123 (SEQ ID NO: 13) and related subject-matter.

14. claims: 9, 10, 12-15, 18-25, 34-38, 41, 51-64(all partially)

An anti-TNFR1 immunoglobulin single variable domain comprising the amino acid sequence of DOM1h-574-125 (SEQ ID NO: 14) and related subject-matter.

15. claims: 9, 10, 12-15, 18-25, 33-38, 41, 42, 51-64(all partially)

An anti-TNFR1 immunoglobulin single variable domain comprising the amino acid sequence of DOM1h-574-126 (SEQ ID NO: 15) and related subject-matter.

International Application No. PCT/EP2010 /052005

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

16. claims: 9, 12-15, 18-25, 34-38, 41, 51-64(all partially)

An anti-TNFR1 immunoglobulin single variable domain comprising the amino acid sequence of DOM1h-574-129 (SEQ ID NO: 16) and related subject-matter.

17. claims: 9, 10, 12-15, 18-25, 33-38, 41, 42, 51-64(all partially)

An anti-TNFR1 immunoglobulin single variable domain comprising the amino acid sequence of DOM1h-574-133 (SEQ ID NO: 17) and related subject-matter.

18. claims: 9, 12-15, 18-25, 34, 41, 51-64(all partially)

An anti-TNFR1 immunoglobulin single variable domain comprising the amino acid sequence of DOM1h-574-137 (SEQ ID NO: 18) and related subject-matter.

19. claims: 9, 12-15, 18-25, 34-38, 41, 51-64(all partially)

An anti-TNFR1 immunoglobulin single variable domain comprising the amino acid sequence of DOM1h-574-160 (SEQ ID NO: 19) and related subject-matter.

20. claims: 10, 12-15, 18-25, 34-38, 41, 51-64(all partially)

An anti-TNFR1 immunoglobulin single variable domain comprising the amino acid sequence of DOM1h-574-139 (SEQ ID NO: 20) and related subject-matter.

21. claims: 10, 12-15, 18-25, 34-38, 41, 51-64(all partially)

An anti-TNFR1 immunoglobulin single variable domain comprising the amino acid sequence of DOM1h-574-155 (SEQ ID NO: 21) and related subject-matter.

22. claims: 66-71(partially)

International Application No. PCT/EP2010 /052005

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

A multispecific ligand comprising an anti-TNFR1 immunoglobulin single variable domain and at least one immunoglobulin single variable domain that specifically binds serum albumin (SA), wherein a) the anti-TNFR1 single variable domain comprises an amino acid that is at least 80 % identical to the amino acid sequence of DOM1m-15-12 (SEQ ID NO: 36); and b) the anti-SA single variable domain comprises an amino acid that is at least 80 % identical to the amino acid sequence of DOM7h-11-12 (SEQ ID NO: 30) or DOM7h-11-12dh (SEQ ID NO: 38); and c) the ligand comprises a linker between said variable domains, the linker comprising the amino acid sequence AS or AST, and related-subject-matter.

23. claims: 66-71(partially)

A multispecific ligand comprising an anti-TNFR1 immunoglobulin single variable domain and at least one immunoglobulin single variable domain that specifically binds serum albumin (SA), wherein a) the anti-TNFR1 single variable domain comprises an amino acid that is at least 80 % identical to the amino acid sequence of DOM1m-21-23 (SEQ ID NO: 37); and b) the anti-SA single variable domain comprises an amino acid that is at least 80 % identical to the amino acid sequence of DOM7h-11-12 (SEQ ID NO: 30) or DOM7h-11-12dh (SEQ ID NO: 38); and c) the ligand comprises a linker between said variable domains, the linker comprising the amino acid sequence AS or AST, and related-subject-matter.

24. claims: 67-71(partially)

A multispecific ligand comprising or consisting of DMS5538 (SEQ ID NO: 40) and related subject-matter.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2010/052005

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2006038027	A2	13-04-2006	NONE
WO 2008149148	A2	11-12-2008	AR 066847 A1 16-09-2009
		AR 066848 A1 16-09-2009	
		AR 066850 A1 16-09-2009	
		AU 2008259514 A1 11-12-2008	
		AU 2008259515 A1 11-12-2008	
		AU 2008259516 A1 11-12-2008	
		AU 2008259590 A1 11-12-2008	
		CA 2683791 A1 11-12-2008	
		CA 2683823 A1 11-12-2008	
		CA 2688433 A1 11-12-2008	
		CA 2688434 A1 11-12-2008	
		CA 2688447 A1 11-12-2008	
		CA 2688456 A1 11-12-2008	
		CN 101802004 A 11-08-2010	
		CN 101778865 A 14-07-2010	
		CR 11194 A 28-06-2010	
		CR 11195 A 24-05-2010	
		EA 200901300 A1 30-06-2010	
		EA 200901491 A1 30-08-2010	
		EA 200901494 A1 30-06-2010	
		EP 2162465 A2 17-03-2010	
		EP 2162466 A2 17-03-2010	
		EP 2158218 A2 03-03-2010	
		EP 2162467 A2 17-03-2010	
		EP 2164867 A2 24-03-2010	
		EP 2162468 A2 17-03-2010	
		WO 2008149149 A2 11-12-2008	
		WO 2008149150 A2 11-12-2008	
		JP 2010529841 T 02-09-2010	
		JP 2010530220 T 09-09-2010	
		JP 2010530364 T 09-09-2010	
		KR 20100018040 A 16-02-2010	
		KR 20100021642 A 25-02-2010	
		KR 20100041746 A 22-04-2010	
		KR 20100040841 A 21-04-2010	
		PE 03222009 A1 20-04-2009	
		PE 07632009 A1 10-07-2009	
		PE 03232009 A1 20-04-2009	
		US 2009148437 A1 11-06-2009	
		US 2010266616 A1 21-10-2010	
		US 2010247515 A1 30-09-2010	
WO 2007063308	A2	07-06-2007	AU 2006321364 A1 07-06-2007
		CA 2632866 A1 07-06-2007	
		CN 101454344 A 10-06-2009	
		EA 200801170 A1 30-12-2008	
		EP 1957536 A2 20-08-2008	
		JP 2009519011 T 14-05-2009	
		KR 20080077238 A 21-08-2008	
		US 2009155283 A1 18-06-2009	

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/00 1 0 1	
A 6 1 K 38/00 (2006.01)	C 1 2 N 5/00 1 0 2	
A 6 1 P 1/04 (2006.01)	A 6 1 K 37/02	
A 6 1 P 9/12 (2006.01)	A 6 1 P 1/04	
A 6 1 P 11/02 (2006.01)	A 6 1 P 9/12	
A 6 1 P 11/06 (2006.01)	A 6 1 P 11/02	
A 6 1 P 11/00 (2006.01)	A 6 1 P 11/06	
A 6 1 P 19/02 (2006.01)	A 6 1 P 11/00	
A 6 1 P 25/00 (2006.01)	A 6 1 P 19/02	
A 6 1 P 31/16 (2006.01)	A 6 1 P 25/00 1 0 1	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 31/16	
A 6 1 P 37/08 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 37/08	
A 6 1 P 37/06 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	A 6 1 P 37/06	
	C 1 2 P 21/08	

(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, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, S K, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, I S, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE , PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(74)代理人 100118773

弁理士 藤田 節

(74)代理人 100122389

弁理士 新井 栄一

(74)代理人 100111741

弁理士 田中 夏夫

(72)発明者 ダッフィールド, スティーブン

イギリス国 シービー4 0ダブリュジー ケンブリッジシャー, ケンブリッジ, ケンブリッジ
サイエンス パーク 3 1 5, ドマンティス リミテッド

(72)発明者 エネバー, キャロリン

イギリス国 シービー4 0ダブリュジー ケンブリッジシャー, ケンブリッジ, ケンブリッジ
サイエンス パーク 3 1 5, ドマンティス リミテッド

(72)発明者 リュー, ハイチュン

イギリス国 シービー4 0ダブリュジー ケンブリッジシャー, ケンブリッジ, ケンブリッジ
サイエンス パーク 3 1 5, ドマンティス リミテッド

(72)発明者 シェーン, オリバー

イギリス国 シービー4 0ダブリュジー ケンブリッジシャー, ケンブリッジ, ケンブリッジ
サイエンス パーク 3 1 5, ドマンティス リミテッド

(72)発明者 セップ, アーミン

イギリス国 シービー4 0ダブリュジー ケンブリッジシャー, ケンブリッジ, ケンブリッジ
サイエンス パーク 3 1 5, ドマンティス リミテッド

(72)発明者 ストゥープ, アラート アドリアーン

イギリス国 シービー4 0 ダブリュジー ケンブリッジシャー, ケンブリッジ, ケンブリッジ
サイエンス パーク 3 1 5, ドマンティス リミテッド

F ターム(参考) 4B024 AA01 BA43 CA02 DA02 DA06 EA04
4B064 AG27 CA02 CA10 CA19 CC24 DA01
4B065 AA26X AA91Y AA98Y AB01 AC14 BA02 CA25 CA44
4C084 AA02 AA07 BA44 CA53 NA14 ZA022 ZA342 ZA422 ZA592 ZA612
ZA682 ZA962 ZB082 ZB112 ZB132 ZB152 ZB262 ZB332
4H045 AA11 AA30 BA10 BA41 BA42 BA57 DA76 EA22 EA23 EA28
EA29 FA74