(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2013-539364
(P2013-539364A)
(43)公表日　平成25年10月24日(2013.10.24)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	ZNAA	4B024
C12N 1/21	(2006.01)	C12N	1/21		4B064
C12N 1/19	(2006.01)	C12N	1/19		4B065
C12N 5/10	(2006.01)	C12N	5/00	102	4C084
C07K 16/46	(2006.01)	C07K	16/46		4C085

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 293 頁）　最終頁に続く

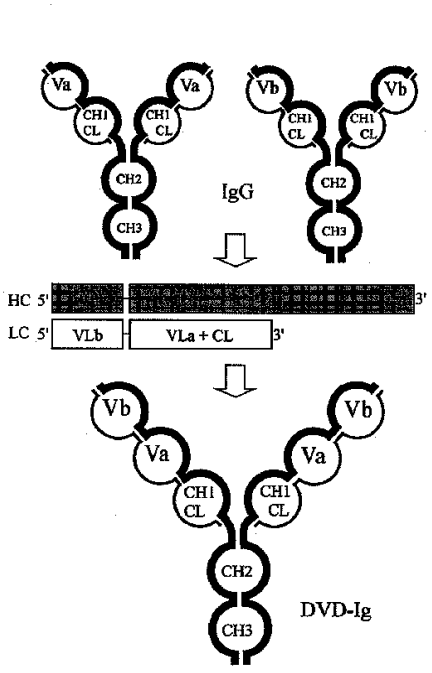
(21)出願番号　特願2013-526152 (P2013-526152)
(86)(22)出願日　平成23年8月25日 (2011.8.25)
(85)翻訳文提出日　平成25年4月16日 (2013.4.16)
(86)国際出願番号　PCT/US2011/049147
(87)国際公開番号　WO2012/027570
(87)国際公開日　平成24年3月1日 (2012.3.1)
(31)優先権主張番号　61/377,117
(32)優先日　平成22年8月26日 (2010.8.26)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　512212195
アッヴィ・インコーポレイテッド
アメリカ合衆国、イリノイ・６００６４、ノース・シカゴ、ノース・ワウキガン・ロード・１
(74)代理人　110001173
特許業務法人川口國際特許事務所
(72)発明者　ガユール，タリク
アメリカ合衆国、マサチユーセツツ・０１７４６、ホリストン、ワシントン・ストリート・１０１４
(72)発明者　ザルフエルト，ヨツヘン・ゲー
アメリカ合衆国、マサチユーセツツ・０１５３６、ノース・グラフトン、オールド・ウエストボロ・ロード・１７７
最終頁に続く

(54)【発明の名称】二重可変ドメイン免疫グロブリンおよびその使用

(57)【要約】
改変多価および多重特異的結合タンパク質、製造方法ならびに疾患の予防、診断および／または治療におけるそれらの使用が提供される。

Figure 1



【特許請求の範囲】
【請求項１】
２つの抗原に結合することが可能であり、ならびに第一および第二のポリペプチド鎖を含む結合タンパク質であって、前記第一のポリペプチド鎖は第一のＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎを含み、ここで
ＶＤ１は第一の重鎖可変ドメインであり、
ＶＤ２は第二の重鎖可変ドメインであり、
Ｃは重鎖定常ドメインであり、
Ｘ１はＣＨ１ではないことを条件とするリンカーであり、
Ｘ２はＦｃ領域であり、ならびに
前記第二のポリペプチド鎖は第二のＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎを含み、ここで
ＶＤ１は第一の軽鎖可変ドメインであり、
ＶＤ２は第二の軽鎖可変ドメインであり、
Ｃは軽鎖定常ドメインであり、
Ｘ１はリンカーであり、
Ｘ２はＦｃ領域を含まず、ならびに
ｎは０または１であり、ならびに結合タンパク質はＴＮＦおよびＮＧＦ；ＴＮＦおよびＳＯＳＴ；ＴＮＦおよびＰＧＥ２；またはＴＮＦおよびＬＰＡに結合することが可能であり、
ここで、
（ａ）第一および第二の重鎖可変ドメイン間のＸ１はＡＳＴＫＧＰ（配列番号２１）であり、ならびに第一および第二の軽鎖可変ドメイン間のＸ１はＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰ（配列番号１４）であり、
（ｂ）第一および第二の重鎖可変ドメイン間のＸ１はＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰ（配列番号２２）であり、ならびに第一および第二の軽鎖可変ドメイン間のＸ１はＴＶＡＡＰ（配列番号１３）であり、または
（ｃ）第一および第二の重鎖可変ドメイン間のＸ１はＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰ（配列番号２２）であり、ならびに第一および第二の軽鎖可変ドメイン間のＸ１はＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰ（配列番号１４）である
結合タンパク質。
【請求項２】
２つの第一のポリペプチド鎖および２つの第二のポリペプチド鎖を含む、請求項１に記載の結合タンパク質。
【請求項３】
２つの抗原に結合することが可能であり、ならびに４つのポリペプチド鎖を含む結合タンパク質であって、２つのポリペプチド鎖はＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎを含み、ここで
ＶＤ１は第一の重鎖可変ドメインであり、
ＶＤ２は第二の重鎖可変ドメインであり、
Ｃは重鎖定常ドメインであり、
Ｘ１はＣＨ１ではないことを条件とするリンカーであり、
Ｘ２はＦｃ領域であり、
ならびにｎは１であり、
２つのポリペプチド鎖はＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎを含み、ここで
ＶＤ１は第一の軽鎖可変ドメインであり、
ＶＤ２は第二の軽鎖可変ドメインであり、
Ｃは軽鎖定常ドメインであり、
Ｘ１はリンカーであり、
Ｘ２はＦｃ領域を含まず、ならびに

ｎは０または１であり、結合タンパク質はＴＮＦおよびＮＧＦ、ＴＮＦおよびＳＯＳＴ、ＴＮＦおよびＰＧＥ２またはＴＮＦおよびＬＰＡに結合することが可能であり、
ここで、
（ａ）第一および第二の重鎖可変ドメイン間のＸ１はＡＳＴＫＧＰ（配列番号２１）であり、ならびに第一および第二の軽鎖可変ドメイン間のＸ１はＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰ（配列番号１４）であり、
（ｂ）第一および第二の重鎖可変ドメイン間のＸ１はＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰ（配列番号２２）であり、ならびに第一および第二の軽鎖可変ドメイン間のＸ１はＴＶＡＡＰ（配列番号１３）であり、または
（ｃ）第一および第二の重鎖可変ドメイン間のＸ１はＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰ（配列番号２２）であり、ならびに第一および第二の軽鎖可変ドメイン間のＸ１はＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰ（配列番号１４）である
結合タンパク質。
【請求項４】
２つの抗原に結合することが可能であり、４つのポリペプチド鎖を含む結合タンパク質であって、２つのポリペプチド鎖はＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎを含み、ここで
ＶＤ１は第一の重鎖可変ドメインであり、
ＶＤ２は第二の重鎖可変ドメインであり、
Ｃは重鎖定常ドメインであり、
Ｘ１はＣＨ１ではないことを条件とするリンカーであり、
Ｘ２はＦｃ領域であり、ならびに
ｎは０または１であり、ならびに
２つのポリペプチド鎖はＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎを含み、ここで
ＶＤ１は第一の軽鎖可変ドメインであり、
ＶＤ２は第二の軽鎖可変ドメインであり、
Ｃは軽鎖定常ドメインであり、
Ｘ１はリンカーであり、
Ｘ２はＦｃ領域を含まず、ならびに
ｎは０または１であり、
結合タンパク質はＴＮＦ、ＮＧＦ、ＳＯＳＴ、ＰＧＥ２またはＬＰＡに結合することが可能であり、ならびに
ここで、
（ａ）第一および第二の重鎖可変ドメイン間のＸ１はＡＳＴＫＧＰ（配列番号２１）であり、ならびに第一および第二の軽鎖可変ドメイン間のＸ１はＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰ（配列番号１４）であり、
（ｂ）第一および第二の重鎖可変ドメイン間のＸ１はＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰ（配列番号２２）であり、ならびに第一および第二の軽鎖可変ドメイン間のＸ１はＴＶＡＡＰ（配列番号１３）であり、または
（ｃ）第一および第二の重鎖可変ドメイン間のＸ１はＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰ（配列番号２２）であり、ならびに第一および第二の軽鎖可変ドメイン間のＸ１はＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰ（配列番号１４）である
結合タンパク質。
【請求項５】
重鎖可変ドメインの少なくとも１つが、配列番号２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、４４または４６のいずれか１つからの３つのＣＤＲ配列を含み、ならびに軽鎖可変ドメインの少なくとも１つが、配列番号２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、４３、４５または４７のいずれか１つからの３つのＣＤＲ配列を含む、請求項１、３または４に記載の結合タンパク質。
【請求項６】

ＶＤ１およびＶＤ２重鎖可変ドメインが、配列番号２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、４４または４６のアミノ酸配列を独立して含み、ならびにＶＤ１およびＶＤ２軽鎖可変ドメインが、配列番号２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、４３、４５または４７のアミノ酸配列を独立して含む、請求項１、３または４に記載の結合タンパク質。

【請求項７】

Ｆｃ領域が可変配列Ｆｃ領域である、請求項１、３または４に記載の結合タンパク質。

【請求項８】

Ｆｃ領域が、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ、ＩｇＭ、ＩｇＥまたはＩｇＤから得られる、請求項１、３または４に記載の結合タンパク質。

【請求項９】

第一の親抗体もしくはその抗原結合部分、または第二の親抗体もしくはその抗原結合部分によって示される少なくとも１つの所望の特性を有する、請求項１、３または４に記載の結合タンパク質。

【請求項１０】

所望の特性が、抗原特異性、抗原に対する親和性、効力、生物学的機能、エピトープ認識、安定性、可溶性、生産効率、免疫原性、薬物動態、生物学的利用率、組織交差反応性、またはオルソロガス抗原結合性である、請求項９に記載の結合タンパク質。

【請求項１１】

表面プラズモン共鳴によって測定された場合に、少なくとも約$10^{2}M^{-1}s^{-1}$；少なくとも約$10^{3}M^{-1}s^{-1}$；少なくとも約$10^{4}M^{-1}s^{-1}$；少なくとも約$10^{5}M^{-1}s^{-1}$；または少なくとも約$10^{6}M^{-1}s^{-1}$の、抗原への結合速度定数（Ｋｏｎ）を有する、請求項１、３または４に記載の結合タンパク質。

【請求項１２】

表面プラズモン共鳴によって測定された場合に、最大約$10^{-3}s^{-1}$；最大約$10^{-4}s^{-1}$；最大約$10^{-5}s^{-1}$；または最大約$10^{-6}s^{-1}$の、抗原への解離速度定数（Ｋｏｆｆ）を有する、請求項１、３または４に記載の結合タンパク質。

【請求項１３】

表面プラズモン共鳴によって測定された場合に、抗原に対して、最大約10^{-7}Ｍ；最大約10^{-8}Ｍ；最大約10^{-9}Ｍ；最大約10^{-10}Ｍ；最大約10^{-11}Ｍ；最大約10^{-12}Ｍ；または最大10^{-13}Ｍの解離定数（K_D）を有する、請求項１、３または４に記載の結合タンパク質。

【請求項１４】

請求項１、３または４に記載の結合タンパク質を含み、免疫接着分子、造影剤、治療剤または細胞毒性剤をさらに含む、結合タンパク質複合体。

【請求項１５】

造影剤が、放射性標識、酵素、蛍光標識、発光標識、生物発光標識、磁気標識またはビオチンである、請求項１４に記載の結合タンパク質複合体。

【請求項１６】

放射性標識が、^{3}H、^{14}C、^{35}S、^{90}Y、^{99}Tc、^{111}In、^{125}I、^{131}I、^{177}Lu、^{166}Hoまたは^{153}Smである、請求項１５に記載の結合タンパク質複合体。

【請求項１７】

治療剤または細胞毒性剤が、代謝抑制剤、アルキル化剤、抗生物質、増殖因子、サイトカイン、抗血管新生剤、抗有糸分裂剤、アントラサイクリン、トキシンまたはアポトーシス剤である、請求項１４に記載の結合タンパク質複合体。

【請求項１８】

結晶化された結合タンパク質である、請求項１、３または４に記載の結合タンパク質。

【請求項１９】

結晶が担体を含まない医薬徐放結晶である、請求項１８に記載の結合タンパク質。

【請求項２０】
請求項５に記載の結合タンパク質アミノ酸配列をコードする単離された核酸。
【請求項２１】
請求項２０に記載の単離された核酸を含むベクター。
【請求項２２】
ｐｃＤＮＡ、ｐＴＴ、ｐＴＴ３、ｐＥＦＢＯＳ、ｐＢＶ、ｐＪＶ、ｐｃＤＮＡ３．１ ＴＯＰＯ、ｐＥＦ６ ＴＯＰＯ、ｐＢＪまたはｐＨｙｂＥである、請求項２１に記載のベクター。
【請求項２３】
請求項２１に記載のベクターを含む宿主細胞。
【請求項２４】
原核細胞である、請求項２３に記載の宿主細胞。
【請求項２５】
Ｅ．コリ（Ｅ．ｃｏｌｉ）である、請求項２４に記載の宿主細胞。
【請求項２６】
真核細胞である、請求項２３に記載の宿主細胞。
【請求項２７】
真核細胞が、原生生物細胞、動物細胞、植物細胞、哺乳動物細胞、鳥類細胞、昆虫細胞または酵母細胞である、請求項２６に記載の宿主細胞。
【請求項２８】
哺乳動物細胞がＣＨＯ細胞である、請求項２７に記載の宿主細胞。
【請求項２９】
哺乳動物細胞がＣＯＳ細胞である、請求項２７に記載の宿主細胞。
【請求項３０】
酵母細胞がサッカロミセス・セレビシアエ（Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ）である、請求項２７に記載の宿主細胞。
【請求項３１】
結合タンパク質を産生するのに十分な条件下で、請求項２３から３０のいずれか一項に記載の宿主細胞を培地中において培養することを含む、結合タンパク質を生産する方法。
【請求項３２】
生産された結合タンパク質の５０％－７５％が、二重特異的四価結合タンパク質である、請求項３１に記載の方法。
【請求項３３】
生産された結合タンパク質の７５％－９０％が、二重特異的四価結合タンパク質である、請求項３１に記載の方法。
【請求項３４】
生産された結合タンパク質の９０％－９５％が、二重特異的四価結合タンパク質である、請求項３１に記載の方法。
【請求項３５】
請求項３１に記載の方法に従って生産された結合タンパク質。
【請求項３６】
請求項１から１９または３５のいずれか一項に記載の結合タンパク質および医薬として許容される担体を含む医薬組成物。
【請求項３７】
少なくとも１つの追加の治療剤をさらに含む、請求項３６に記載の医薬組成物。
【請求項３８】
追加の治療剤が、造影剤、細胞毒性剤、血管新生阻害剤；キナーゼ阻害剤；共刺激分子遮断剤；接着分子遮断剤；抗サイトカイン抗体またはその機能的断片；メトトレキサート；シクロスポリン；ラパマイシン；ＦＫ５０６；検出可能な標識またはレポーター；ＴＮＦアンタゴニスト；抗リウマチ薬；筋肉弛緩剤、麻酔薬、非ステロイド系抗炎症薬（ＮＳ

ＡＩＤ）、鎮痛剤、麻酔、鎮静剤、局所麻酔剤、神経筋肉遮断剤、抗微生物剤、抗乾癬剤、コルチコステロイド、アナボリックステロイド、エリスロポエチン、免疫化剤、免疫グロブリン、免疫抑制剤、成長ホルモン、ホルモン置換薬、放射性医薬、抗うつ剤、抗精神病薬、刺激物質、喘息薬、βアゴニスト、吸入用ステロイド、エピネフリンまたは類似体、サイトカインまたはサイトカインアンタゴニストである、請求項３７に記載の医薬組成物。

【請求項３９】

治療が達成されるように、請求項１から１９または３５のいずれか一項に記載の結合タンパク質を対象に投与することによって、対象の疾病または疾患を治療する方法。

【請求項４０】

疾患が、関節リウマチ、骨関節炎、若年性慢性関節炎、化膿性関節炎、ライム関節炎、乾癬性関節炎、反応性関節炎、脊椎関節症、全身性紅斑性狼瘡、クローン病、潰瘍性大腸炎、炎症性腸疾患、インシュリン依存性糖尿病、甲状腺炎、喘息、アレルギー性疾患、乾癬、皮膚炎、強皮症、移植片対宿主病、臓器移植拒絶、臓器移植に関連する急性または慢性免疫疾患、サルコイドーシス、アテローム性動脈硬化症、播種性血管内凝固、川崎病、バセドウ病、ネフローゼ症候群、慢性疲労症候群、ウェゲナー肉芽腫症、ヘノッホ・シェーライン紫斑症、腎臓の顕微鏡的血管炎、慢性活動性肝炎、ブドウ膜炎、敗血症性ショック、毒素性ショック症候群、敗血症症候群、悪液質、感染性疾患、寄生性疾患、急性横断性脊髄炎、ハンチントン舞踏病、パーキンソン病、アルツハイマー病、発作、原発性胆汁性肝硬変、溶血性貧血、悪性腫瘍、心不全、心筋梗塞、アジソン病、孤発性の、多内分泌腺機能低下症候群Ｉ型および多内分泌腺機能低下症候群ＩＩ型、シュミット症候群、成人（急性）呼吸促迫症候群、脱毛症、円形脱毛症、血清反応陰性関節炎、関節炎、ライター病、乾癬性関節炎、潰瘍性大腸性関節炎、腸疾患性滑膜炎、クラミジア、エルシニアおよびサルモネラ関連関節炎、脊椎関節症、アテローム性疾患／アテローム性動脈硬化症、アトピー性アレルギー、自己免疫性水疱性疾患、尋常性天疱瘡、落葉状天疱瘡、類天疱瘡、線状ＩｇＡ病、自己免疫性溶血性貧血、クームス陽性溶血性貧血、後天性悪性貧血、若年性悪性貧血、筋痛性脳脊髄炎／ロイヤルフリー病、慢性粘膜皮膚カンジダ症、巨細胞性動脈炎、原発性硬化性肝炎、突発性自己免疫性肝炎、後天性免疫不全症候群、後天性免疫不全関連疾患、Ｂ型肝炎、Ｃ型肝炎、分類不能型免疫不全症（分類不能型原発性低γグロブリン血症）、拡張型心筋症、女性不妊症、卵巣機能不全、早期卵巣機能不全、繊維性肺疾患、突発性間質性肺炎、炎症後間質性肺疾患、間質性肺炎、結合組織疾患関連間質性肺疾患、混合性結合組織疾患関連肺疾患、全身性硬化症関連間質性肺疾患、関節リウマチ関連間質性肺疾患、全身性紅斑性狼瘡関連肺疾患、皮膚筋炎／多発性筋炎関連肺疾患、シェーグレン病関連肺疾患、強直性脊椎炎関連肺疾患、血管炎性びまん性肺疾患（ｖａｓｃｕｌｉｔｉｃ ｄｉｆｆｕｓｅ ｌｕｎｇ ｄｉｓｅａｓｅ）、ヘモシデローシス関連肺疾患、薬物によって誘導された間質性肺疾患、繊維症、放射性繊維症、閉塞性細気管支炎、慢性好酸球性肺炎、リンパ球浸潤性肺疾患、感染後間質性肺疾患、通風関節炎、自己免疫性肝炎、１型自己免疫性肝炎（古典的自己免疫性またはルポイド肝炎）、２型自己免疫性肝炎（抗ＬＫＭ抗体肝炎）、自己免疫媒介性低血糖症、黒色表皮腫を伴うＢ型インシュリン抵抗性、副甲状腺機能低下症、臓器移植に関連する急性免疫疾患、臓器移植に関連する慢性免疫疾患、変形性関節症、原発性硬化性胆管炎、１型乾癬、２型乾癬、特発性白血球減少症、自己免疫性好中球減少症、腎臓病ＮＯＳ、糸球体腎炎、腎臓の顕微鏡的血管炎、ライム病、円板状紅斑性狼瘡、男性不妊症特発性またはＮＯＳ、精子自己免疫、多発性硬化症（すべてのサブタイプ）、交感性眼炎、結合組織疾患に続発する肺高血圧症、グッドパスチャー症候群、結節性多発動脈炎の肺症状、急性リウマチ熱、リウマチ性脊椎炎、スチル病、全身性硬化症、シェーグレン症候群、高安病／動脈炎、自己免疫性血小板減少症、特発性血小板減少症、自己免疫性甲状腺疾患、甲状腺機能亢進症、甲状腺腫自己免疫性甲状腺機能低下症（橋本病）、萎縮性自己免疫性甲状腺機能低下症、原発性粘液水腫（ｐｒｉｍａｒｙ ｍｙｘｏｅｄｅｍａ）、水晶体起因性ブドウ膜炎、原発性血管炎、白斑急性肝疾患、慢性肝疾患、アルコール性肝硬変、アルコール誘発性肝障害、胆汁うっ滞（ｃｈ

ｏｌｅｏｓａｔａｔｉｓ）、特異体質性肝疾患、薬物誘発性肝炎、非アルコール性脂肪性肝炎、アレルギーおよび喘息、Ｂ群連鎖球菌（ＧＢＳ）感染、うつ病および統合失調症などの精神障害、Ｔｈ２型およびＴｈ１型によって媒介される疾病、急性および慢性疼痛、ならびに、肺癌、乳癌、胃癌、膀胱癌、大腸癌、膵臓癌、卵巣癌、前立腺癌および腎臓癌および造血性悪性病変（白血病およびリンパ腫）などの癌、無βリポタンパク質血症、先端チアノーゼ、急性および慢性寄生性または感染性プロセス、急性白血病、急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）、急性または慢性細菌感染、急性膵炎、急性腎不全、腺癌、心房（ａｅｒｉａｌ）異所性拍動、ＡＩＤＳ認知症複合、アルコール誘発性肝炎、アレルギー性結膜炎、アレルギー性接触性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、同種移植拒絶、α－１－アンチトリプシン欠乏症、筋萎縮性側索硬化症、貧血、狭心症、前角細胞変性、抗ｃｄ３治療、抗リン脂質症候群、抗受容体過敏症反応（ａｎｔｉ－ｒｅｃｅｐｔｏｒ　ｈｙｐｅｒｓｅｎｓｉｔｉｖｉｔｙ　ｒｅａｃｔｉｏｎｓ）、大動脈（ａｏｒｄｉｃ）および動脈瘤、大動脈解離、動脈性高血圧、動脈硬化症、動静脈瘻、運動失調、心房細動（持続的または発作性）、心房粗動、房室ブロック、Ｂ細胞リンパ腫、骨移植拒絶、骨髄移植（ＢＭＴ）拒絶、脚ブロック、バーキットリンパ腫、火傷、心不整脈、心機能不全症候群（ｃａｒｄｉａｃ　ｓｔｕｎ　ｓｙｎｄｒｏｍｅ）、心臓腫瘍、心筋症、心肺バイパス炎症反応、軟骨移植拒絶、小脳皮質変性、小脳疾患、無秩序なまたは多巣性心房頻脈、化学療法関連疾患、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、慢性アルコール症、慢性炎症性病変、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）、慢性サリチル酸中毒、結腸直腸癌、うっ血性心不全、結膜炎、接触性皮膚炎、肺性心、冠動脈疾患、クロイツフェルトーヤコブ病、培養陰性敗血症、嚢胞性繊維症、サイトカイン療法関連疾患、ボクサー脳、脱髄性疾患、デング出血熱、皮膚炎、皮膚科学的症状、糖尿病、真性糖尿病、糖尿病性動脈硬化疾患、瀰漫性レビー小体病、拡張型うっ血性心筋症、大脳基底核の疾患、中年のダウン症候群、中枢神経ドーパミン受容体を遮断する薬物によって誘発された薬物誘発性運動疾患、薬物感受性、湿疹、脳脊髄炎、心内膜炎、内分泌疾患、喉頭蓋炎、エプスタインーバーウイルス感染、紅痛症、垂体外路および小脳疾患、家族性血球貪食性リンパ組織球症（ｆａｍｉｌｉａｌ　ｈｅｍａｔｏｐｈａｇｏｃｙｔｉｃ　ｌｙｍｐｈｏｈｉｓｔｉｏｃｙｔｏｓｉｓ）、致死的胸腺移植組織拒絶、フリードライヒ失調症、機能的末梢動脈疾患、真菌性敗血症、ガス壊疽、胃潰瘍、いずれかの臓器または組織の移植片拒絶、グラム陰性敗血症、グラム陽性敗血症、細胞内生物に起因する肉芽腫、有毛細胞白血病、ハラーホルデン・スパッツ病、橋本甲状腺炎、枯草熱、心臓移植拒絶、血色素症、血液透析、溶血性尿毒症症候群／血栓溶解血小板減少紫斑病、出血、Ａ型肝炎、ヒス束不整脈、ＨＩＶ感染／ＨＩＶ神経障害、ホジキン病、運動過剰疾患、過敏症反応、過敏性肺炎、高血圧、運動低下疾患、視床下部－下垂体－副腎皮質系評価、特発性アジソン病、特発性肺繊維症、抗体媒介性細胞毒性、無力症、乳児脊髄性筋萎縮症、大動脈の炎症、Ａ型インフルエンザ、電離放射線曝露、虹彩毛様体炎／ブドウ膜炎／視神経炎、虚血再灌流障害、虚血性発作、若年性関節リウマチ、若年性脊髄性筋萎縮症、カポジ肉腫、腎移植拒絶、レジオネラ、リーシュマニア症、ハンセン病、皮質脊髄系の病変、脂肪血症（ｌｉｐｅｄｅｍａ）、肝臓移植拒絶、リンパ浮腫（ｌｙｍｐｈｅｄｅｒｍａ）、マラリア、悪性リンパ腫、悪性組織球増殖症、悪性黒色腫、髄膜炎、髄膜炎菌血症（ｍｅｎｉｎｇｏｃｏｃｃｅｍｉａ）、代謝性／特発性、偏頭痛、ミトコンドリア多系疾患（ｍｉｔｏｃｈｏｎｄｒｉａｌ　ｍｕｌｔｉ．ｓｙｓｔｅｍ　ｄｉｓｏｒｄｅｒ）、混合性結合組織病、モノクローナル高ガンマグロブリン血症、多発性骨髄腫、多系統変性（メンセル・デジェリーヌートーマス・シャイードレーガーおよびマシャドージョセフ）、重症筋無力症、マイコバクテリウム・アビウム・イントラセルラーレ、マイコバクテリウム・チュバキュロシス、骨髄形成異常、真菌虚血疾患、上咽頭癌、新生児慢性肺疾患、腎炎、ネフローゼ、神経変性疾患、神経原性Ｉ筋萎縮、好中球減少性発熱、非ホジキンリンパ腫、腹部大動脈およびその分枝の閉塞、閉塞性動脈疾患、ｏｋｔ３療法、精巣炎／精巣上体炎、精巣炎／精管復元術処置、臓器肥大、骨粗鬆症、膵臓移植拒絶、膵癌、腫瘍随伴性症候群／悪性腫瘍の高カルシウム血症、副甲状腺移植拒絶、骨盤内炎症性疾患、通年性鼻炎、心膜疾患、

末梢アテローム硬化性疾患、末梢血管疾患、腹膜炎、悪性貧血、ニューモシスチス・カリニ肺炎、肺炎、ＰＯＥＭＳ症候群（多発神経炎、臓器肥大、内分泌疾患、単クローン性γグロブリン血症および皮膚変化症候群（ｓｋｉｎ　ｃｈａｎｇｅｓ　ｓｙｎｄｒｏｍｅ））、灌流後症候群（ｐｏｓｔ　ｐｅｒｆｕｓｉｏｎ　ｓｙｎｄｒｏｍｅ）、ポンプ後症候群（ｐｏｓｔ　ｐｕｍｐ　ｓｙｎｄｒｏｍｅ）、心筋梗塞後開心術症候群、子癇前症、進行性核上性麻痺、原発性肺高血圧、放射線療法、レイノー現象および病、レイノー病、レフサム病、規則的なＱＲＳ幅の狭い頻脈症（ｒｅｇｕｌａｒ　ｎａｒｒｏｗ　ＱＲＳ　ｔａｃｈｙｃａｒｄｉａ）、腎血管性高血圧、再灌流障害、拘束型心筋症、肉腫、強皮症、老年性舞踏病、レビー小体型の老年性認知症、血清反応陰性関節炎、ショック、鎌形赤血球貧血症、皮膚同種異系移植拒絶、皮膚変化症候群、小腸移植拒絶、固形腫瘍、固有不整脈（ｓｐｅｃｉｆｉｃ　ａｒｒｙｔｈｍｉａｓ）、脊髄性運動失調、脊髄小脳変性、連鎖球菌性筋炎、小脳の構造的病変、亜急性硬化性全脳炎、湿疹、心血管系の梅毒、全身性アナフィラキシー、全身性炎症反応症候群、全身性発症若年性関節リウマチ、Ｔ細胞またはＦＡＢＡＬＬ、毛細血管拡張症、閉塞性血栓血管炎、血小板減少症、毒性、移植、外傷／出血、ＩＩＩ型過敏症反応、ＩＶ型過敏症、不安定狭心症、尿毒症、尿路性敗血症、じんましん、心臓弁膜症、静脈瘤、血管炎、静脈疾患、静脈血栓症、心室細動、ウイルスおよび真菌感染、ウイルス性脳炎（ｖｉｔａｌ　ｅｎｃｅｐｈａｌｉｔｉｓ）／無菌性髄膜炎、ウイルス関連血球貪食症候群、ウェルニッケ－コルサコフ症候群、ウィルソン病、いずれかの臓器または組織の異種移植拒絶、急性冠症候群、急性特発性多発性神経炎、急性炎症性脱髄性多発神経根神経障害、急性虚血、成人スチル病、アナフィラキシー、抗リン脂質抗体症候群、再生不良性貧血、アトピー性湿疹、アトピー性皮膚炎、自己免疫性皮膚炎、連鎖球菌感染に伴う自己免疫異常、自己免疫性腸症、自己免疫性難聴、自己免疫性リンパ増殖症候群（ＡＬＰＳ）、自己免疫性心筋炎、自己免疫性早期卵巣不全、眼瞼炎、気管支拡張症、水疱性類天疱瘡、心血管疾患、劇症型抗リン脂質症候群、セリアック病、頚部脊椎症、慢性虚血、瘢痕性類天疱瘡、多発性硬化症のリスクを有する臨床的孤発症候群（ｃｉｓ）、小児発症精神障害、涙嚢炎、皮膚筋炎、糖尿病性網膜症、椎間板ヘルニア、椎間板脱出、薬物誘発免疫性溶血性貧血、子宮内膜症、眼内炎、上強膜炎、多形性紅斑、重症型多形性紅斑、妊娠性類天疱瘡、ギラン・バレー症候群（ＧＢＳ）、枯草熱、ヒューズ症候群、特発性パーキンソン病、特発性間質性肺炎、ＩｇＥ媒介性アレルギー、免疫性溶血性貧血、封入体筋炎、感染性眼炎症疾患、炎症性脱髄疾患、炎症性心疾患、炎症性腎疾患、ＩＰＦ／ＵＩＰ、虹彩炎、角膜炎、乾性角結膜炎、クスマウル病またはクスマウル－マイヤー病、ランドリー麻痺、ランゲルハンス細胞性組織球症、網状皮斑、黄斑変性、顕微鏡的多発性血管炎、モルブス・ベヒテレフ（ｍｏｒｂｕｓ　ｂｅｃｈｔｅｒｅｖ）、運動ニューロン疾患、粘膜性類天疱瘡、多臓器不全、骨髄異形成症候群、心筋炎、神経根障害、神経障害、非Ａ非Ｂ型肝炎、視神経炎、骨溶解、卵巣癌、小関節性ＪＲＡ、末梢動脈閉塞疾患（ＰＡＯＤ）、末梢血管疾患（ＰＶＤ）、末梢動脈疾患（ＰＡＤ）、静脈炎、結節性多発性動脈炎（または結節性動脈周囲炎）、多発性軟骨炎、リウマチ性多発性筋痛、白毛症、多関節性ＪＲＡ、多内分泌欠損症候群、多発性筋炎、ポンプ後症候群、
原発性パーキンソニズム、前立腺癌および直腸癌および造血性悪性病変（白血病およびリンパ腫）、前立腺炎、赤芽球癆、原発性副腎不全、再発性視神経脊髄炎、再狭窄、リウマチ性心疾患、ｓａｐｈｏ（滑膜炎、アクネ、膿疱症、骨過形成および骨髄炎）、強皮症、続発性アミロイドーシス、ショック肺、強膜炎、坐骨神経痛、二次性副腎不全、シリコーン関連結合組織病、スネドン－ウィルキンソン皮膚症、強直性脊椎炎、スティーブンス・ジョンソン症候群（ＳＪＳ）、全身性炎症反応症候群、側頭動脈炎、トキソプラスマ性網膜炎、中毒性表皮剥離症、横断性脊髄炎、ＴＲＡＰＳ（腫瘍壊死因子受容体）、１型アレルギー反応、ＩＩ型糖尿病、通常型間質性肺炎（ＵＩＰ）、春季結膜炎、ウイルス性網膜炎、フォークト・小柳・原田症候群（ＶＫＨ症候群）、滲出型黄斑変性または創傷治癒である、請求項３９に記載の方法。

【請求項４１】

対象への投与が、皮下、筋肉内、静脈内、関節内、気管支内、腹腔内、嚢内、軟骨内、

腔内（ｉｎｔｒａｃａｖｉｔｙ）、腔内（ｉｎｔｒａｃｅｌｉａｌ）、小脳内、脳室内、結腸内、頸管内、胃内、肝臓内、心筋内、骨内、骨盤内、心膜内、腹腔内、胸膜内、前立腺内、肺内、結腸内、腎臓内、網膜内、脊髄内、滑膜内、胸腔内、子宮内、膀胱内、ボーラス、膣、直腸、口内、舌下、鼻内または経皮である、請求項４０に記載の方法。

【請求項４２】

２つの抗原に結合することが可能な結合タンパク質を生成する方法であって、

ａ）第一の抗原に結合することが可能な第一の親抗体またはその抗原結合部分を得るステップ、

ｂ）第二の抗原に結合することが可能な第二の親抗体またはその抗原結合部分を得るステップ、

ｃ）ＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎを含む第一および第三のポリペプチド鎖を構築するステップであり、ここで

ＶＤ１は前記第一の親抗体またはその抗原結合部分から得られた第一の重鎖可変ドメインであり、

ＶＤ２は前記第二の親抗体またはその抗原結合部分から得られた第二の重鎖可変ドメインであり、

Ｃは重鎖定常ドメインであり、

Ｘ１はＣＨ１ではないことを条件とするリンカーであり、

Ｘ２はＦｃ領域であり、ならびに

ｎは０または１であるステップ、および

ｄ）ＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎを含む第二および第四のポリペプチド鎖を構築するステップであり、ここで

ＶＤ１は前記第一の親抗体またはその抗原結合部分から得られた第一の軽鎖可変ドメインであり、

ＶＤ２は前記第二の親抗体またはその抗原結合部分から得られた第二の軽鎖可変ドメインであり、

Ｃは軽鎖定常ドメインであり、

Ｘ１はリンカーであり、

Ｘ２はＦｃ領域を含まず、ならびに

ｎは０または１であるステップ、ならびに

ｅ）２つの抗原に結合することが可能な結合タンパク質が生成されるように、前記第一、第二、第三および第四のポリペプチド鎖を発現させるステップ

を含み、

結合タンパク質は、ＴＮＦ、ＮＧＦ、ＳＯＳＴ、ＰＧＥ２またはＬＰＡに結合することが可能であり、ここで

（ａ）第一および第二の重鎖可変ドメイン間のＸ１はＡＳＴＫＧＰ（配列番号２１）であり、ならびに第一および第二の軽鎖可変ドメイン間のＸ１はＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰ（配列番号１４）であり、

（ｂ）第一および第二の重鎖可変ドメイン間のＸ１はＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰ（配列番号２２）であり、ならびに第一および第二の軽鎖可変ドメイン間のＸ１はＴＶＡＡＰ（配列番号１３）であり、または

（ｃ）第一および第二の重鎖可変ドメイン間のＸ１はＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰ（配列番号２２）であり、ならびに第一および第二の軽鎖可変ドメイン間のＸ１はＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰ（配列番号１４）である、方法。

【請求項４３】

結合タンパク質が、ＴＮＦおよびＮＧＦ；ＴＮＦおよびＳＯＳＴ；ＴＮＦおよびＰＧＥ２；またはＴＮＦおよびＬＰＡに結合することが可能である、請求項４２に記載の方法。

【請求項４４】

重鎖可変ドメインの少なくとも１つが、配列番号２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、４４または４６のいずれか１つからの３つのＣＤＲ配列を含み、ならびに

軽鎖可変ドメインの少なくとも１つが、配列番号２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、４３、４５または４７のいずれか１つからの３つのＣＤＲ配列を含む、請求項４３に記載の方法。

【請求項４５】

ＶＤ１およびＶＤ２重鎖可変ドメインが、配列番号２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、４４または４６のアミノ酸配列を独立して含み、ならびにＶＤ１およびＶＤ２軽鎖可変ドメインが、配列番号２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、４３、４５または４７のアミノ酸配列を独立して含む、請求項４３に記載の方法。

【請求項４６】

イムノアッセイによって試験試料中の少なくとも１つの抗原またはその断片の存在を決定するための方法であって、イムノアッセイは、試験試料を少なくとも１つの結合タンパク質および少なくとも１つの検出可能な標識と接触させるステップを含み、

少なくとも１つの結合タンパク質は、請求項１から１９または３５のいずれか一項に記載の結合タンパク質を含む、方法。

【請求項４７】

（ｉ）第一の複合体を形成するために、試験試料を、抗原またはその断片上のエピトープに結合する少なくとも１つの結合タンパク質と接触させるステップ、

（ｉｉ）第二の複合体を形成するために、前記第一の複合体を、結合タンパク質または、結合タンパク質に結合しない抗原もしくはその断片上のエピトープに結合する少なくとも１つの検出可能な標識と接触させるステップ、および

（ｉｉｉ）第二の複合体における検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて、試験試料中の抗原またはその断片の存在を検出するステップであって、抗原またはその断片の存在が、検出可能な標識によって発生したシグナルに直接的に相関するステップ

をさらに含む、

請求項４６に記載の方法。

【請求項４８】

（ｉ）第一の複合体を形成するために、試験試料を、抗原またはその断片上のエピトープに結合する少なくとも１つの結合タンパク質と接触させるステップ、

（ｉｉ）第二の複合体を形成するために、前記第一の複合体を、結合タンパク質への結合について抗原またはその断片と競合する少なくとも１つの検出可能な標識と接触させるステップ、および

（ｉｉｉ）第二の複合体における検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて、試験試料中の抗原またはその断片の存在を検出するステップであって、抗原またはその断片の存在が、検出可能な標識によって発生したシグナルに間接的に相関するステップ

をさらに含む、

請求項４６に記載の方法。

【請求項４９】

請求項４６から４８のいずれか一項に記載の方法であって、試験試料が患者由来であり、方法が、患者の治療的／予防的処置の効力を診断、予後診断または評価することをさらに含み、ならびに

方法が、患者の治療的／予防的処置の効力を評価することをさらに含む場合、効力を改善するために必要な、患者の治療的／予防的処置を改変することを場合によってさらに含む、方法。

【請求項５０】

自動化システムまたは半自動化システムにおける使用に適合される、請求項４６から４８のいずれか一項に記載の方法。

【請求項５１】

試料中の１を超える抗原の存在を決定する、請求項４６から４８のいずれか一項に記載の方法。

【請求項５２】

イムノアッセイによって試験試料中の抗原またはその断片の量または濃度を決定する方法であって、イムノアッセイは、（ａ）少なくとも１つの結合タンパク質および少なくとも１つの検出可能な標識を用い、ならびに（ｂ）検出可能な標識によって発生したシグナルを抗原もしくはその断片を含む対照または較正物質と比較することを含み、

較正物質は、場合によって一連の較正物質の一部であり、較正物質の各々は、他の一連の較正物質と抗原またはその断片の濃度が異なり、

少なくとも１つの結合タンパク質は、請求項１から１９または３５のいずれか一項に記載の結合タンパク質を含む、方法。

【請求項５３】

（ｉ）第一の複合体を形成するために、試験試料を、抗原またはその断片上のエピトープに結合する少なくとも１つの結合タンパク質と接触させるステップ、

（ｉｉ）第二の複合体を形成するために、前記第一の複合体を、結合タンパク質に結合しない抗原またはその断片上のエピトープに結合する少なくとも１つの検出可能な標識と接触させるステップ、および

（ｉｉｉ）第二の複合体における検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて、試験試料中の抗原またはその断片の量または濃度を決定するステップであって、抗原またはその断片の量または濃度が、検出可能な標識によって発生したシグナルに直接的に比例するステップをさらに含む、

請求項５２に記載の方法。

【請求項５４】

（ｉ）第一の複合体を形成するために、試験試料を、抗原またはその断片上のエピトープに結合する少なくとも１つの結合タンパク質と接触させるステップ、

（ｉｉ）第二の複合体を形成するために、前記複合体を、前記結合タンパク質への結合について抗原またはその断片と競合する少なくとも１つの検出可能な標識と接触させるステップ、および

（ｉｉｉ）第二の複合体における検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて、試験試料中の抗原またはその断片の量および濃度を決定するステップであって、抗原またはその断片の存在が、検出可能な標識によって発生したシグナルと間接的に比例するステップをさらに含む、請求項５２に記載の方法。

【請求項５５】

請求項５２から５４のいずれか一項に記載の方法であって、試験試料が患者由来であり、方法が、患者の治療的／予防的処置の効力を診断、予後診断または評価することをさらに含み、ならびに

方法が、患者の治療的／予防的処置の効力を評価することをさらに含む場合、効力を改善するために必要な、患者の治療的／予防的処置を改変することを場合によってさらに含む、方法。

【請求項５６】

自動化システムまたは半自動化システムにおける使用に適合される、請求項５２から５４のいずれか一項に記載の方法。

【請求項５７】

試料中の１を超える抗原の量または濃度を決定する、請求項５２から５４のいずれか一項に記載の方法。

【請求項５８】

（ａ）抗原またはその断片について試験試料をアッセイするための説明書、および

（ｂ）請求項１から１９または３５のいずれか一項に記載の結合タンパク質を含む少なくとも１つの結合タンパク質

を含む、抗原またはその断片の存在、量または濃度について試験試料をアッセイするためのキット。

【請求項５９】

第一および第二の軽鎖可変ドメイン間の（Ｘ１）ｎがＣＬではない、請求項１、３また

は４に記載の結合タンパク質。
【請求項６０】
第一および第二の軽鎖可変ドメイン間の（Ｘ１）ｎがＣＬではない、請求項４２に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本出願は、その全体内容が参照により本明細書に組み込まれている、２０１０年８月２６日に出願した米国仮出願第６１／３７７，１１７号の優先権を主張する通常出願である。
【０００２】
多価および多重特異的な結合タンパク質、それらの製造方法、特に、急性および慢性炎症疾患、癌、ならびにその他の疾病の診断、予防および／または治療におけるそれらの使用が提供される。
【背景技術】
【０００３】
２つまたはそれ以上の抗原に結合することが可能な多重特異的抗体などの改変タンパク質が、本分野において公知である。このような多重特異的結合タンパク質は、細胞融合、化学的連結または組み換えＤＮＡ技術を用いて作製することが可能である。
【０００４】
二特異的抗体は、二特異的抗体の所望される特異性を有するマウスモノクローナル抗体（ｍＡｂ）を発現する２つの異なるハイブリドーマ細胞株の体細胞融合に基づき、クアドローマ技術（Ｍｉｌｓｔｅｉｎ，Ｃ．ａｎｄ　Ａ．Ｃ．Ｃｕｅｌｌｏ（１９８３）Ｎａｔｕｒｅ　３０５（５９３４）：５３７－４０参照）を用いて作製されてきた。得られたハイブリッド－ハイブリドーマ（またはクアドローマ）細胞株内で２つの異なる免疫グロブリン（Ｉｇ）重鎖と軽鎖がランダムに対合するために、最大１０個の異なるＩｇ種が生成され、そのうち１つだけが機能的な二特異的抗体である。誤対合された副産物の存在および大幅に減少した産生率は、複雑な精製操作が必要とされることを意味している。
【０００５】
二特異的抗体は、２つの異なるｍＡｂの化学的連結によっても生産することが可能である（Ｓｔａｅｒｚ，Ｕ．Ｄ．，ｅｔ　ａｌ．（１９８５）Ｎａｔｕｒｅ　３１４（６０１２）：６２８－３１参照）。このアプローチは、均一な調製を与えない。他のアプローチは、２つの異なるｍＡｂまたはより小さな抗体断片の化学的連結を使用してきた（Ｂｒｅｎｎａｎ，Ｍ．，ｅｔ　ａｌ．（１９８５）Ｓｃｉｅｎｃｅ　２２９（４７０８）：８１－３参照）。
【０００６】
二特異的抗体を作製するための別の方法は、２つの親抗体をヘテロ二機能的クロスリンカーと対結合させることであるが、クロスリンカーの親抗体との反応が部位指定的でないので、得られた二特異的抗体には著しい分子不均一性があるという問題がある。二特異的抗体のより均一な調製物を得るために、２つの異なるＦａｂ断片が、部位指定された様式で、それらのヒンジシステイン残基において化学的に架橋されてきた（Ｇｌｅｎｎｉｅ，Ｍ．Ｊ．，ｅｔ　ａｌ．（１９８７）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１３９（７）：２３６７－７５参照）。しかし、この方法は、Ｆａｂ’２断片をもたらし、完全なＩｇＧ分子をもたらさない。
【０００７】
多岐にわたる他の組み換え二特異的抗体フォーマットが開発されている（Ｋｒｉａｎｇｋｕｍ，Ｊ．，ｅｔ　ａｌ．（２００１）Ｂｉｏｍｏｌ．Ｅｎｇ．１８（２）：３１－４０参照）。それらのうち、直列型一本鎖Ｆｖ分子およびダイアボディならびにこれらの様々な誘導体が、最も広く使用されている。一般に、これらの分子の構築は、異なる抗原を認識する２つの一本鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）断片から始まる（Ｅｃｏｎｏｍｉｄｅｓ，Ａ．Ｎ

．，ｅｔ　ａｌ．（２００３）Ｎａｔ．Ｍｅｄ．９（１）：４７－５２参照）。直列型ｓｃＦｖ分子（ｔａＦｖ）は、２つのｓｃＦｖ分子を付加的ペプチドリンカーと単に接続する単純なフォーマットである。これらの直列型ｓｃＦｖ分子中に存在する２つのｓｃＦｖ断片は、別個の折り畳み実体を形成する。２つのｓｃＦｖ断片および最大６３個の残基の長さを有するリンカーを接続するために、様々なリンカーを使用することが可能である（Ｎａｋａｎｉｓｈｉ，Ｋ．，ｅｔ　ａｌ．（２００１）Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１９：４２３－７４参照）。親ｓｃＦｖ断片は、通常、細菌内で、可溶性形態で発現されることができるが、直列型ｓｃＦｖ分子は、細菌中で不溶性凝集物を形成することがしばしば観察される。したがって、可溶性直列型ｓｃＦｖ分子を作製するために、一般に、再折り畳みプロトコールまたは哺乳動物発現系の使用が適用される。最近の研究において、トランスジェニックウサギおよびウシによる、ＣＤ２８および抗悪性黒色腫関連プロテオグリカンに対して誘導された直列型ｓｃＦｖのインビボ発現が報告された（Ｇｒａｃｉｅ，Ｊ．Ａ．，ｅｔ　ａｌ．（１９９９）Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｉｎｖｅｓｔ．１０４（１０）：１３９３－４０１参照）。この構築物では、２つのｓｃＦｖ分子は、ＣＨ１リンカーによって接続され、二特異的抗体の最大１００ｍｇ／Ｌの血清濃度が見出された。細菌中での可溶性発現を可能とするために、ドメイン順序の変動、または変動する長さもしくは柔軟性を有する中央リンカーを使用することを含む様々な戦略が使用された。現在、いくつかの研究が、極めて短いＡｌａ３リンカーまたはグリシン／セリンが豊富な長いリンカーを用いた、細菌中での可溶性直列型ｓｃＦｖ分子の発現が報告されている（Ｌｅｕｎｇ，Ｂ．Ｐ．，ｅｔ　ａｌ．（２０００）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１６４（１２）：６４９５－５０２；Ｉｔｏ，Ａ．，ｅｔ　ａｌ．（２００３）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１７０（９）：４８０２－９；Ｋａｒｎｉ，Ａ．，ｅｔ　ａｌ．（２００２）Ｊ．Ｎｅｕｒｏｉｍｍｕｎｏｌ．１２５（１－２）：１３４－４０参照）。別の最近の研究では、細菌中で、可溶性および活性形態で産生された分子を濃縮するために、３または６個の残基の長さを有する無作為化された中央リンカーを含有する直列型ｓｃＦｖレパートリーのファージディスプレイが使用された。このアプローチは、６アミノ酸残基のリンカーを有する直列型ｓｃＦｖ分子の単離をもたらした（Ａｒｎｄｔ，Ｍ．ａｎｄ　Ｊ．Ｋｒａｕｓｓ（２００３）Ｍｅｔｈｏｄｓ　ＭｏＩ．Ｂｉｏｌ．２０７：３０５－２１参照）。このリンカー配列が、直列型ｓｃＦｖ分子の可溶性発現に対する一般的な解決策であるかどうかは不明である。それにも関わらず、この研究は、部位指定突然変異導入と組み合わせた直列型ｓｃＦｖ分子のファージディスプレイが、これらの分子（これらの分子は、細菌内で、活性形態で発現され得る。）を濃縮するための強力なツールであることを示した。

【０００８】

二特異的ダイアボディ（Ｄｂ）は、発現のためにダイアボディフォーマットを使用する。ダイアボディは、ＶＨおよびＶＬドメインを接続するリンカーの長さを、約５残基まで減少させることによってｓｃＦｖ断片から作製される（Ｐｅｉｐｐ，Ｍ．ａｎｄ　Ｔ．Ｖａｌｅｒｉｕｓ（２００２）Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．Ｔｒａｎｓ．３０（４）：５０７－１１参照。）。リンカーサイズのこの減少は、ＶＨおよびＶＬドメインの交差対合による２つのポリペプチド鎖の二量体化を促進する。二特異的ダイアボディは、構造ＶＨＡ－ＶＬＢおよびＶＨＢ－ＶＬＡ（ＶＨ－ＶＬ配置）またはＶＬＡ－ＶＨＢおよびＶＬＢ－ＶＨＡ（ＶＬ－ＶＨ配置）のいずれかとともに、２つのポリペプチド鎖を同一細胞内で発現させることによって作製される。異なる様々な二特異的ダイアボディが過去に作製されており、それらの多くは、細菌中で、可溶性形態で発現される。しかしながら、最近の比較研究は、可変ドメインの方向性が、活性な結合部位の発現および形成に影響を与え得ることを示している（Ｍａｃｋ，Ｍ．ｅｔ　ａｌ．（１９９５）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　９２（１５）：７０２１－５参照）。それにもかかわらず、細菌中での可溶性発現は、直列型ｓｃＦｖ分子に比べて重要な利点を示す。しかしながら、２つの異なるポリペプチド鎖が単一の細胞内で発現されるので、活性なヘテロ二量体とともに、不活性なホモ二量体が産生され得る。これにより、二特異的ダイアボディの均一な調製物を得るために、さらなる精製ステップの実施が必要となる。二特異的ダイアボディの生

成を強制する１つのアプローチは、ノブ・イントゥ・ホールダイアボディの作製である（Ｈｏｌｌｉｇｅｒ，Ｐ．，Ｔ．Ｐｒｏｓｐｅｒｏ，ａｎｄ Ｇ．Ｗｉｎｔｅｒ（１９９３）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９０（１４）：６４４４－８．１８参照）。このアプローチは、ＨＥＲ２およびＣＤ３に対して誘導された二特異的ダイアボディに対して示された。Ｖａｌ３７をＰｈｅと交換し、Ｌｅｕ４５をＴｒｐと交換することによって、ＶＨドメイン中に大きなノブが導入され、抗ＨＥＲ２または抗ＣＤ３可変ドメインのいずれかにおいて、Ｐｈｅ９８をＭｅｔに変異させ、Ｔｒｙ８７をＡｌａに変異させることによって、ＶＬドメイン中に相補的な穴が作製された。このアプローチを使用することによって、二特異的ダイアボディの産生は、親ダイアボディによる７２％からノブ・イントゥ・ホールダイアボディによる９０％超まで増加し得る。重要なことに、産生率は、これらの変異の結果として、僅かに減少したに過ぎなかった。しかしながら、いくつかの構築物に対して抗原結合活性の低下が観察された。したがって、このかなり精巧なアプローチは、変化されていない結合活性を有するヘテロ二量体分子を産生する変異を同定するために、様々な構築物の分析を必要とする。さらに、このようなアプローチは、定常領域に免疫グロブリン配列の変異的修飾を必要とし、このため、抗体配列の非原型および非天然形態を作製し、これは、増加した免疫原性、乏しいインビボ安定性および望ましくない薬物動態をもたらし得る。

【０００９】

一本鎖ダイアボディ（ｓｃＤｂ）は、二特異的ダイアボディ様分子の形成を改善するための別の戦略である（Ｈｏｌｌｉｇｅｒ，Ｐ．ａｎｄ Ｇ．Ｗｉｎｔｅｒ（１９９７）Ｃａｎｃｅｒ Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒ．４５（３－４）：１２８－３０；Ｗｕ，Ａ．Ｍ．，ｅｔ ａｌ（１９９６）Ｉｍｍｕｎｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ．２（１）：ｐ．２１－３６参照）。二特異的一本鎖ダイアボディは、２つのダイボディ形成ポリペプチド鎖を、約１５アミノ酸残基の長さを有する追加の中央リンカーと接続することによって作製される。したがって、単量体の一本鎖ダイアボディ（５０－６０ｋＤａ）に対応する分子量を有するすべての分子が二特異的である。二特異的一本鎖ダイアボディは、細菌中において、可溶性および活性な形態で発現され、精製された分子の大半が単量体として存在することが、いくつかの研究によって示されている（Ｈｏｌｌｉｇｅｒ，Ｐ．ａｎｄ Ｇ．Ｗｉｎｔｅｒ（１９９７）Ｃａｎｃｅｒ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒ．４５（３－４）：１２８－３０；Ｗｕ，Ａ．Ｍ．，ｅｔ ａｌ．（１９９６）Ｉｍｍｕｎｏｔｅｃｈｎｏｌ．２（１）：２１－３６；Ｐｌｕｃｋｔｈｕｎ，Ａ．ａｎｄ Ｐ．Ｐａｃｋ（１９９７）Ｉｍｍｕｎｏｔｅｃｈｎｏｌ．３（２）：８３－１０５；Ｒｉｄｇｗａｙ，Ｊ．Ｂ．，ｅｔ ａｌ．（１９９６）Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇｉｎ．９（７）：６１７－２１参照）。したがって、一本鎖ダイアボディは、直列型ｓｃＦｖ（すべての単量体は二特異的である。）とダイアボディ（細菌中での可溶性発現）の利点を併有している。

【００１０】

より最近に、ダイアボディは、ジーダイアボディと名づけられた、よりＩｇ様の分子を作製するためにＦｃに融合されている（Ｌｕ，Ｄ．，ｅｔ ａｌ．（２００４）Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７９（４）：２８５６－６５）。さらに、ＩｇＧの重鎖中に２つのＦａｂリピートを含み、４つの抗原分子に結合することが可能な多価の抗体構築物が記載されている（ＷＯ０１７７３４２Ａ１およびＭｉｌｌｅｒ，Ｋ．，ｅｔ ａｌ．（２００３）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１７０（９）：４８５４－６１参照）。

【先行技術文献】

【特許文献】

【００１１】

【特許文献１】国際公開第２００１／０７７３４２号

【非特許文献】

【００１２】

【非特許文献１】Ｍｉｌｓｔｅｉｎ，Ｃ．ａｎｄ Ａ．Ｃ．Ｃｕｅｌｌｏ（１９８３）Ｎ

ａｔｕｒｅ　３０５（５９３４）：５３７－４０
【非特許文献２】Ｓｔａｅｒｚ，Ｕ．Ｄ．，ｅｔ　ａｌ．（１９８５）Ｎａｔｕｒｅ　３１４（６０１２）：６２８－３１
【非特許文献３】Ｂｒｅｎｎａｎ，Ｍ．，ｅｔ　ａｌ．（１９８５）Ｓｃｉｅｎｃｅ　２２９（４７０８）：８１－３
【非特許文献４】Ｇｌｅｎｎｉｅ，Ｍ．Ｊ．，ｅｔ　ａｌ．（１９８７）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１３９（７）：２３６７－７５
【非特許文献５】Ｋｒｉａｎｇｋｕｍ，Ｊ．，ｅｔ　ａｌ．（２００１）Ｂｉｏｍｏｌ．Ｅｎｇ．１８（２）：３１－４０
【非特許文献６】Ｅｃｏｎｏｍｉｄｅｓ，Ａ．Ｎ．，ｅｔ　ａｌ．（２００３）Ｎａｔ．Ｍｅｄ．９（１）：４７－５２
【非特許文献７】Ｎａｋａｎｉｓｈｉ，Ｋ．，ｅｔ　ａｌ．（２００１）Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１９：４２３－７４
【非特許文献８】Ｇｒａｃｉｅ，Ｊ．Ａ．，ｅｔ　ａｌ．（１９９９）Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｉｎｖｅｓｔ．１０４（１０）：１３９３－４０１
【非特許文献９】Ｌｅｕｎｇ，Ｂ．Ｐ．，ｅｔ　ａｌ．（２０００）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１６４（１２）：６４９５－５０２
【非特許文献１０】Ｉｔｏ，Ａ．，ｅｔ　ａｌ．（２００３）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１７０（９）：４８０２－９
【非特許文献１１】Ｋａｒｎｉ，Ａ．，ｅｔ　ａｌ．（２００２）Ｊ．Ｎｅｕｒｏｉｍｍｕｎｏｌ．１２５（１－２）：１３４－４０
【非特許文献１２】Ａｒｎｄｔ，Ｍ．ａｎｄ　Ｊ．Ｋｒａｕｓｓ（２００３）Ｍｅｔｈｏｄｓ　ＭｏＩ．Ｂｉｏｌ．２０７：３０５－２１
【非特許文献１３】Ｐｅｉｐｐ，Ｍ．ａｎｄ　Ｔ．Ｖａｌｅｒｉｕｓ（２００２）Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．Ｔｒａｎｓ．３０（４）：５０７－１１
【非特許文献１４】Ｍａｃｋ，Ｍ．ｅｔ　ａｌ．（１９９５）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　９２（１５）：７０２１－５
【非特許文献１５】Ｈｏｌｌｉｇｅｒ，Ｐ．，Ｔ．Ｐｒｏｓｐｅｒｏ，ａｎｄ　Ｇ．Ｗｉｎｔｅｒ（１９９３）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　９０（１４）：６４４４－８．１８
【非特許文献１６】Ｈｏｌｌｉｇｅｒ，Ｐ．ａｎｄ　Ｇ．Ｗｉｎｔｅｒ（１９９７）Ｃａｎｃｅｒ　Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒ．４５（３－４）：１２８－３０
【非特許文献１７】Ｗｕ，Ａ．Ｍ．，ｅｔ　ａｌ（１９９６）Ｉｍｍｕｎｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ．２（１）：ｐ．２１－３６
【非特許文献１８】Ｐｌｕｃｋｔｈｕｎ，Ａ．ａｎｄ　Ｐ．Ｐａｃｋ（１９９７）Ｉｍｍｕｎｏｔｅｃｈｎｏｌ．３（２）：８３－１０５
【非特許文献１９】Ｒｉｄｇｗａｙ，Ｊ．Ｂ．，ｅｔ　ａｌ．（１９９６）Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｅｎｇｉｎ．９（７）：６１７－２１
【非特許文献２０】Ｌｕ，Ｄ．，ｅｔ　ａｌ．（２００４）Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７９（４）：２８５６－６５
【非特許文献２１】Ｍｉｌｌｅｒ，Ｋ．，ｅｔ　ａｌ．（２００３）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１７０（９）：４８５４－６１

【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【００１３】
本分野において、２つまたはそれ以上の抗原に結合することが可能な改善された多価結合タンパク質に対する要求が存在する。米国特許出願第１１／５０７，０５０号は、二重可変ドメイン免疫グロブリン（ＤＶＤ－Ｉｇ（商標））と呼ばれる、高い親和性で２つまたはそれ以上の抗原に結合することが可能な結合タンパク質の新規ファミリーを提供する。２つまたはそれ以上の抗原に結合することが可能な新規結合タンパク質も提供される。

【課題を解決するための手段】
【００１４】
２つまたはそれ以上の抗原に結合することが可能な多価結合タンパク質が提供される。高い親和性で、２つまたはそれ以上の抗原に結合することが可能な結合タンパク質の新規ファミリーも提供される。
【００１５】
一実施形態において、ポリペプチド鎖を含む結合タンパク質であって、ポリペプチド鎖はＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎ（ＶＤ１は第一の可変ドメインであり、ＶＤ２は第二の可変ドメインであり、Ｃは定常ドメインであり、Ｘ１はアミノ酸またはポリペプチドを表し、Ｘ２はＦｃ領域を表し、ｎは０または１である。）を含む、結合タンパク質が提供される。一実施形態において、結合タンパク質中のＶＤ１およびＶＤ２は、重鎖可変ドメインである。別の実施形態において、重鎖可変ドメインは、マウス重鎖可変ドメイン、ヒト重鎖可変ドメイン、ＣＤＲ移植された重鎖可変ドメインまたはヒト化重鎖可変ドメインである。さらに別の実施形態において、ＶＤ１およびＶＤ２は、同一の抗原に結合することができる。別の実施形態において、ＶＤ１およびＶＤ２は、異なる抗原に結合することができる。さらに別の実施形態において、Ｃは、重鎖定常ドメインである。例えば、Ｘ１はリンカーである（但し、Ｘ１はＣＨ１ではない。）。例えば、Ｘ１は、ＡＫＴＴＰＫＬＥＥＧＥＦＳＥＡＲ（配列番号１）；ＡＫＴＴＰＫＬＥＥＧＥＦＳＥＡＲＶ（配列番号２）；ＡＫＴＴＰＫＬＧＧ（配列番号３）；ＳＡＫＴＴＰＫＬＧＧ（配列番号４）；ＳＡＫＴＴＰ（配列番号５）；ＲＡＤＡＡＰ（配列番号６）；ＲＡＤＡＡＰＴＶＳ（配列番号７）；ＲＡＤＡＡＡＡＧＧＰＧＳ（配列番号８）；ＲＡＤＡＡＡＡ（G_4S）$_4$（配列番号９）；ＳＡＫＴＴＰＫＬＥＥＧＥＦＳＥＡＲＶ（配列番号１０）；ＡＤＡＡＰ（配列番号１１）；ＡＤＡＡＰＴＶＳＩＦＰＰ（配列番号１２）；ＴＶＡＡＰ（配列番号１３）；ＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰ（配列番号１４）；ＱＰＫＡＡＰ（配列番号１５）；ＱＰＫＡＡＰＳＶＴＬＦＰＰ（配列番号１６）；ＡＫＴＴＰＰ（配列番号１７）；ＡＫＴＴＰＰＳＶＴＰＬＡＰ（配列番号１８）；ＡＫＴＴＡＰ（配列番号１９）；ＡＫＴＴＡＰＳＶＹＰＬＡＰ（配列番号２０）；ＡＳＴＫＧＰ（配列番号２１）；ＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰ（配列番号２２）；ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ（配列番号２３）；ＧＥＮＫＶＥＹＡＰＡＬＭＡＬＳ（配列番号２４）；ＧＰＡＫＥＬＴＰＬＫＥＡＫＶＳ（配列番号２５）；またはＧＨＥＡＡＡＶＭＱＶＱＹＰＡＳ（配列番号２６）である。一実施形態において、Ｘ２は、Ｆｃ領域である。別の実施形態において、Ｘ２は、バリアントＦｃ領域である。
【００１６】
一実施形態において、本明細書に開示されている結合タンパク質はポリペプチド鎖を含み、ポリペプチド鎖はＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎ（ＶＤ１は第一の重鎖可変ドメインであり、ＶＤ２は第二の重鎖可変ドメインであり、Ｃは重鎖定常ドメインであり、Ｘ１はＣＨ１ではないことを条件とするリンカーであり、Ｘ２はＦｃ領域である。）を含む。
【００１７】
一実施形態において、結合タンパク質中のＶＤ１およびＶＤ２は、軽鎖可変ドメインである。一実施形態において、軽鎖可変ドメインは、マウス軽鎖可変ドメイン、ヒト軽鎖可変ドメイン、ＣＤＲ移植された軽鎖可変ドメインまたはヒト化軽鎖可変ドメインである。一実施形態において、ＶＤ１およびＶＤ２は、同一の抗原に結合することができる。別の実施形態において、ＶＤ１およびＶＤ２は、異なる抗原に結合することができる。一実施形態において、Ｃは、軽鎖定常ドメインである。別の実施形態において、Ｘ１はリンカーである（但し、Ｘ１はＣＬではない。）。一実施形態において、Ｘ１は、ＡＫＴＴＰＫＬＥＥＧＥＦＳＥＡＲ（配列番号１）；ＡＫＴＴＰＫＬＥＥＧＥＦＳＥＡＲＶ（配列番号２）；ＡＫＴＴＰＫＬＧＧ（配列番号３）；ＳＡＫＴＴＰＫＬＧＧ（配列番号４）；ＳＡＫＴＴＰ（配列番号５）；ＲＡＤＡＡＰ（配列番号６）；ＲＡＤＡＡＰＴＶＳ（配列番号７）；ＲＡＤＡＡＡＡＧＧＰＧＳ（配列番号８）；ＲＡＤＡＡＡＡ（G_4S）$_4$（配列番号

９）；ＳＡＫＴＴＰＫＬＥＥＧＥＦＳＥＡＲＶ（配列番号１０）；ＡＤＡＡＰ（配列番号１１）；ＡＤＡＡＰＴＶＳＩＦＰＰ（配列番号１２）；ＴＶＡＡＰ（配列番号１３）；ＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰ（配列番号１４）；ＱＰＫＡＡＰ（配列番号１５）；ＱＰＫＡＡＰＳＶＴＬＦＰＰ（配列番号１６）；ＡＫＴＴＰＰ（配列番号１７）；ＡＫＴＴＰＰＳＶＴＰＬＡＰ（配列番号１８）；ＡＫＴＴＡＰ（配列番号１９）；ＡＫＴＴＡＰＳＶＹＰＬＡＰ（配列番号２０）；ＡＳＴＫＧＰ（配列番号２１）；ＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰ（配列番号２２）；ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ（配列番号２３）；ＧＥＮＫＶＥＹＡＰＡＬＭＡＬＳ（配列番号２４）；ＧＰＡＫＥＬＴＰＬＫＥＡＫＶＳ（配列番号２５）；またはＧＨＥＡＡＡＶＭＱＶＱＹＰＡＳ（配列番号２６）である。一実施形態において、結合タンパク質は、Ｘ２を含まない。

【００１８】

一実施形態において、可変重鎖および可変軽鎖はどちらも同じリンカーを含む。別の実施形態において、可変重鎖および可変軽鎖は異なるリンカーを含む。別の実施形態において、可変重鎖および可変軽鎖はどちらも短い（約６アミノ酸の）リンカーを含む。別の実施形態において、可変重鎖および可変軽鎖はどちらも長い（６アミノ酸を超える）リンカーを含む。別の実施形態において、可変重鎖は短いリンカーを含み、可変軽鎖は長いリンカーを含む。別の実施形態において、可変重鎖は長いリンカーを含み、可変軽鎖は短いリンカーを含む。

【００１９】

一実施形態において、本明細書において開示されている結合タンパク質はポリペプチド鎖を含み、前記ポリペプチド鎖はＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎ（ＶＤ１は第一の軽鎖可変ドメインであり、ＶＤ２は第二の軽鎖可変ドメインであり、Ｃは軽鎖定常ドメインであり、Ｘ１はリンカーであり（但し、ＣＬではない。）、Ｘ２はＦｃ領域を含まない。）を含む。

【００２０】

別の実施形態において、２つのポリペプチド鎖を含む結合タンパク質であって、第一のポリペプチド鎖はＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎ（ＶＤ１は第一の重鎖可変ドメインであり、ＶＤ２は第二の重鎖可変ドメインであり、Ｃは重鎖定常ドメインであり、Ｘ１はＣＨ１ではないことを条件とするリンカーであり、Ｘ２はＦｃ領域である。）を含み、前記第二のポリペプチド鎖はＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎ（ＶＤ１は第一の軽鎖可変ドメインであり、ＶＤ２は第二の軽鎖可変ドメインであり、Ｃは軽鎖定常ドメインであり、Ｘ１はリンカーであり（場合によってはＣＬではない。）、Ｘ２はＦｃ領域を含まない。）を含む、結合タンパク質が提供される。特定の実施形態において、結合タンパク質（すなわち、二重可変ドメイン免疫グロブリン（ＤＶＤ－Ｉｇ）は４つのポリペプチド鎖を含み、第一の２つのポリペプチド鎖は、それぞれ、ＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎ（ＶＤ１は第一の重鎖可変ドメインであり、ＶＤ２は第二の重鎖可変ドメインであり、Ｃは重鎖定常ドメインであり、Ｘ１はＣＨ１ではないことを条件とするリンカーであり、Ｘ２はＦｃ領域である。）を含み；ならびに第二の２つのポリペプチド鎖は、それぞれ、ＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎ（ＶＤ１は第一の軽鎖可変ドメインであり、ＶＤ２は第二の軽鎖可変ドメインであり、Ｃは軽鎖定常ドメインであり、Ｘ１はリンカーであり（場合によってはＣＬではない。）、Ｘ２はＦｃ領域を含まない。）を含む。このような結合タンパク質は、４つの抗原結合部位を有する。

【００２１】

別の実施形態において、本明細書に開示されている結合タンパク質は、１つまたは複数の標的に結合することが可能である。したがって、いくつかの実施形態において、結合タンパク質は、少なくとも２種の標的に結合することができる少なくとも２種の可変ドメイン配列（例えば、ＶＤ１およびＶＤ２）を含む。いくつかの実施形態において、ＶＤ１およびＶＤ２は、独立して選択される。よって、いくつかの実施形態において、ＶＤ１およびＶＤ２は同じ配列番号を含み、他の実施形態において、ＶＤ１およびＶＤ２は異なる配列番号を含む。

【００２２】
別の実施形態において、本明細書に開示されている結合タンパク質は、１つまたは複数の標的に結合することができる。一実施形態において、標的は、サイトカイン、細胞表面タンパク質、酵素または受容体である。別の実施形態において、結合タンパク質は、１つまたは複数の標的の生物学的機能を調節することができる。別の実施形態において、結合タンパク質は、１つまたは複数の標的を中和することができる。いくつかの実施形態において、結合タンパク質は、サイトカインに結合することができる。いくつかの実施形態において、サイトカインは、リンホカイン、モノカイン、ポリペプチドホルモン、受容体または腫瘍マーカーである。いくつかの実施形態において、ＤＶＤ－Ｉｇは、以下：腫瘍壊死因子（ＴＮＦ）、神経成長因子（ＮＧＦ）、スクレロスチン（ＳＯＳＴ）、プロスタグランジンＥ２（ＰＧＥ２）、リゾホスファチジン酸（ＬＰＡ）の２つまたはそれ以上に結合することができる（表２も参照）。特定の実施形態において、結合タンパク質は、ＴＮＦ（配列２）およびＮＧＦ；ＴＮＦ（配列３）およびＮＧＦ；ＴＮＦ（配列４）およびＮＧＦ；ＴＮＦ（配列５）およびＮＧＦ；ＴＮＦ（配列６）およびＮＧＦ；ＴＮＦ（配列２）およびＳＯＳＴ；ＴＮＦ（配列３）およびＳＯＳＴ；ＴＮＦ（配列４）およびＳＯＳＴ；ＴＮＦ（配列５）およびＳＯＳＴ；ＴＮＦ（配列６）およびＳＯＳＴ；ＴＮＦ（配列２）およびＰＧＥ２；ＴＮＦ（配列３）およびＰＧＥ２；ＴＮＦ（配列４）およびＰＧＥ２；ＴＮＦ（配列５）およびＰＧＥ２；ＴＮＦ（配列６）およびＰＧＥ２；ＴＮＦ（配列１）およびＬＰＡ；ＴＮＦ（配列２）およびＬＰＡ；ＴＮＦ（配列３）およびＬＰＡ；ＴＮＦ（配列４）およびＬＰＡ；ＴＮＦ（配列５）およびＬＰＡ；またはＴＮＦ（配列６）およびＬＰＡに結合することができる。一実施形態において、ＤＶＤ－Ｉｇは、短いリンカーを含む１つまたは複数のＶＨ鎖、および長いリンカーを含む１つまたは複数のＶＬ鎖を含む。一実施形態において、ＤＶＤ－Ｉｇは、長いリンカーを含む１つまたは複数のＶＨ鎖、および短いリンカーを含む１つまたは複数のＶＬ鎖を含む。一実施形態において、－Ｉｇは、長いリンカーを含む１つまたは複数のＶＨ鎖、および長いリンカーを含む１つまたは複数のＶＬ鎖を含む。

【００２３】
一実施形態において、ＴＮＦ（配列２）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号５２または配列番号５４の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号５３または配列番号５５の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列２）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号５２の重鎖アミノ酸配列および配列番号５３の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列２）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号５４の重鎖アミノ酸配列および配列番号５５の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００２４】
一実施形態において、ＴＮＦ（配列３）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号５６または配列番号５８の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号５７または配列番号５９の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列３）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号５６の重鎖アミノ酸配列および配列番号５７の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列３）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号５８の重鎖アミノ酸配列および配列番号５９の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００２５】
一実施形態において、ＴＮＦ（配列４）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号６０または配列番号６２の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号６１または配列番号６３の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列４）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号６０の重鎖アミノ酸配列および配列番号６１の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列４）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号６２の重鎖アミノ酸配列および配列番号６３の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００２６】
一実施形態において、ＴＮＦ（配列５）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号６４または配列番号６６の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号６５または配列番号６７の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列５）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号６４の重鎖アミノ酸配列および配列番号６５の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列５）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号６６の重鎖アミノ酸配列および配列番号６７の軽鎖アミノ酸配列を含む。
【００２７】
一実施形態において、ＴＮＦ（配列６）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号６８または配列番号７０の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号６９または配列番号７１の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列６）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号６８の重鎖アミノ酸配列および配列番号６９の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列６）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号７０の重鎖アミノ酸配列および配列番号７１の軽鎖アミノ酸配列を含む。
【００２８】
一実施形態において、ＴＮＦ（配列２）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号７２または配列番号７４の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号７３または配列番号７５の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列２）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号７２の重鎖アミノ酸配列および配列番号７３の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列２）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号７４の重鎖アミノ酸配列および配列番号７５の軽鎖アミノ酸配列を含む。
【００２９】
一実施形態において、ＴＮＦ（配列３）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号７６または配列番号７８の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号７７または配列番号７９の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列３）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号７６の重鎖アミノ酸配列および配列番号７７の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列３）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号７８の重鎖アミノ酸配列および配列番号７９の軽鎖アミノ酸配列を含む。
【００３０】
一実施形態において、ＴＮＦ（配列４）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号８０または配列番号８２の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号８１または配列番号８３の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列４）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号８０の重鎖アミノ酸配列および配列番号８１の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列４）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号８２の重鎖アミノ酸配列および配列番号８３の軽鎖アミノ酸配列を含む。
【００３１】
一実施形態において、ＴＮＦ（配列５）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号８４または配列番号８６の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号８５または配列番号８７の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列５）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号８４の重鎖アミノ酸配列および配列番号８５の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列５）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号８６の重鎖アミノ酸配列および配列番号８７の軽鎖アミノ酸配列を含む。
【００３２】
一実施形態において、ＴＮＦ（配列６）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タ

ンパク質は、配列番号８８または配列番号９０の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号８９または配列番号９１の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列６）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号８８の重鎖アミノ酸配列および配列番号８９の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列６）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号９０の重鎖アミノ酸配列および配列番号９１の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００３３】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列２）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号９２または配列番号９４の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号９３または配列番号９５の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列２）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号９２の重鎖アミノ酸配列および配列番号９３の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列２）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号９４の重鎖アミノ酸配列および配列番号９５の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００３４】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列３）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号９６または配列番号９８の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号９７または配列番号９９の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列３）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号９６の重鎖アミノ酸配列および配列番号９７の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列３）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号９８の重鎖アミノ酸配列および配列番号９９の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００３５】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列４）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１００または配列番号１０２の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号１０１または配列番号１０３の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列４）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１００の重鎖アミノ酸配列および配列番号１０１の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列４）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号１０２の重鎖アミノ酸配列および配列番号１０３の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００３６】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列５）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１０４または配列番号１０６の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号１０５または配列番号１０７の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列５）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１０４の重鎖アミノ酸配列および配列番号１０５の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列５）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号１０６の重鎖アミノ酸配列および配列番号１０７の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００３７】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列６）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１０８または配列番号１１０の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号１０９または配列番号１１１の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列６）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１０８の重鎖アミノ酸配列および配列番号１０９の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列６）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号１１０の重鎖アミノ酸配列および配列番号１１１の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００３８】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列１）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１１２または配列番号１１４の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号１１３または配列番号１１５の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列１）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１１２の重鎖アミノ酸配列および配列番号１１３の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列１）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号１１４の重鎖アミノ酸配列および配列番号１１５の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００３９】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列２）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１１６または配列番号１１８の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号１１７または配列番号１１９の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列２）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１１６の重鎖アミノ酸配列および配列番号１１７の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列２）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号１１８の重鎖アミノ酸配列および配列番号１１９の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００４０】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列３）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１２０または配列番号１２２の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号１２１または配列番号１２３の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列３）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１２０の重鎖アミノ酸配列および配列番号１２１の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列３）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号１２２の重鎖アミノ酸配列および配列番号１２３の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００４１】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列４）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１２４または配列番号１２６の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号１２５または配列番号１２７の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列４）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１２４の重鎖アミノ酸配列および配列番号１２５の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列４）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号１２６の重鎖アミノ酸配列および配列番号１２７の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００４２】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列５）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１２８または配列番号１３０の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号１２９または配列番号１３１の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列５）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１２８の重鎖アミノ酸配列および配列番号１２９の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列５）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号１３０の重鎖アミノ酸配列および配列番号１３１の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００４３】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列６）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１３２または配列番号１３４の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号１３３または配列番号１３５の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列６）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１３２の重鎖アミノ酸配列および配列番号１３３の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列６）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号１３４の重鎖アミノ酸配列および配列番号１３５の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００４４】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列２）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１３６または配列番号１３８の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号１

３７または配列番号１３９の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列２）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１３６の重鎖アミノ酸配列および配列番号１３７の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列２）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号１３８の重鎖アミノ酸配列および配列番号１３９の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００４５】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列３）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１４０または配列番号１４２の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号１４１または配列番号１４３の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列３）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１４０の重鎖アミノ酸配列および配列番号１４１の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列３）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号１４２の重鎖アミノ酸配列および配列番号１４３の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００４６】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列４）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１４４または配列番号１４６の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号１４５または配列番号１４７の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列４）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１４４の重鎖アミノ酸配列および配列番号１４５の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列４）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号１４６の重鎖アミノ酸配列および配列番号１４７の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００４７】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列５）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１４８または配列番号１５０の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号１４９または配列番号１５１の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列５）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１４８の重鎖アミノ酸配列および配列番号１４９の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列５）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号１５０の重鎖アミノ酸配列および配列番号１５１の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００４８】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列６）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１５２または配列番号１５４の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号１５３または配列番号１５５の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列６）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１５２の重鎖アミノ酸配列および配列番号１５３の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列６）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号１５４の重鎖アミノ酸配列および配列番号１５５の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００４９】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列２）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１５６または配列番号１５８の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号１５７または配列番号１５９の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列２）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１５６の重鎖アミノ酸配列および配列番号１５７の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列２）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号１５８の重鎖アミノ酸配列および配列番号１５９の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００５０】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列３）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１６０または配列番号１６２の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号１６１または配列番号１６３の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（

配列３）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１６０の重鎖アミノ酸配列および配列番号１６１の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列３）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号１６２の重鎖アミノ酸配列および配列番号１６３の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００５１】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列４）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１６４または配列番号１６６の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号１６５または配列番号１６７の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列４）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１６４の重鎖アミノ酸配列および配列番号１６５の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列４）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号１６６の重鎖アミノ酸配列および配列番号１６７の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００５２】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列５）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１６８または配列番号１７０の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号１６９または配列番号１７１の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列５）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１６８の重鎖アミノ酸配列および配列番号１６９の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列５）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号１７０の重鎖アミノ酸配列および配列番号１７１の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００５３】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列６）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１７２または配列番号１７４の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号１７３または配列番号１７５の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列６）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１７２の重鎖アミノ酸配列および配列番号１７３の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列６）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号１７４の重鎖アミノ酸配列および配列番号１７５の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００５４】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列２）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１７６または配列番号１７８の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号１７７または配列番号１７９の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列２）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１７６の重鎖アミノ酸配列および配列番号１７７の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列２）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号１７８の重鎖アミノ酸配列および配列番号１７９の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００５５】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列３）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１８０または配列番号１８２の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号１８１または配列番号１８３の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列３）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１８０の重鎖アミノ酸配列および配列番号１８１の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列３）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号１８２の重鎖アミノ酸配列および配列番号１８３の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００５６】
一実施形態において、ＴＮＦ（配列４）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１８４または配列番号１８６の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号１８５または配列番号１８７の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列４）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１８４の重鎖アミノ酸配列および配列番号１８５の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列４）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号１８６の重鎖アミノ酸配列および配列番号１８７の軽鎖アミノ酸配列を含む。
【００５７】
一実施形態において、ＴＮＦ（配列５）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１８８または配列番号１９０の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号１８９または配列番号１９１の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列５）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１８８の重鎖アミノ酸配列および配列番号１８９の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列５）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号１９０の重鎖アミノ酸配列および配列番号１９１の軽鎖アミノ酸配列を含む。
【００５８】
一実施形態において、ＴＮＦ（配列６）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１９２または配列番号１９４の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号１９３または配列番号１９５の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列６）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１９２の重鎖アミノ酸配列および配列番号１９３の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列６）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号１９４の重鎖アミノ酸配列および配列番号１９５の軽鎖アミノ酸配列を含む。
【００５９】
一実施形態において、ＴＮＦ（配列１）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１９６または配列番号１９８の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号１９７または配列番号１９９の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列１）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号１９６の重鎖アミノ酸配列および配列番号１９７の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列１）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号１９８の重鎖アミノ酸配列および配列番号１９９の軽鎖アミノ酸配列を含む。
【００６０】
一実施形態において、ＴＮＦ（配列２）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２００または配列番号２０２の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号２０１または配列番号２０３の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列２）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２００の重鎖アミノ酸配列および配列番号２０１の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列２）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号２０２の重鎖アミノ酸配列および配列番号２０３の軽鎖アミノ酸配列を含む。
【００６１】
一実施形態において、ＴＮＦ（配列３）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２０４または配列番号２０６の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号２０５または配列番号２０７の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列３）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２０４の重鎖アミノ酸配列および配列番号２０５の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列３）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し

、配列番号２０６の重鎖アミノ酸配列および配列番号２０７の軽鎖アミノ酸配列を含む。
【００６２】
一実施形態において、ＴＮＦ（配列４）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２０８または配列番号２１０の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号２０９または配列番号２１１の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列４）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２０８の重鎖アミノ酸配列および配列番号２０９の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列４）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号２１０の重鎖アミノ酸配列および配列番号２１１の軽鎖アミノ酸配列を含む。
【００６３】
一実施形態において、ＴＮＦ（配列５）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２１２または配列番号２１４の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号２１３または配列番号２１５の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列５）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２１２の重鎖アミノ酸配列および配列番号２１３の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列５）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号２１４の重鎖アミノ酸配列および配列番号２１５の軽鎖アミノ酸配列を含む。
【００６４】
一実施形態において、ＴＮＦ（配列６）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２１６または配列番号２１８の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号２１７または配列番号２１９の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列６）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２１６の重鎖アミノ酸配列および配列番号２１７の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列６）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号２１８の重鎖アミノ酸配列および配列番号２１９の軽鎖アミノ酸配列を含む。
【００６５】
一実施形態において、ＴＮＦ（配列２）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２２０または配列番号２２２の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号２２１または配列番号２２３の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列２）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２２０の重鎖アミノ酸配列および配列番号２２１の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列２）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号２２２の重鎖アミノ酸配列および配列番号２２３の軽鎖アミノ酸配列を含む。
【００６６】
一実施形態において、ＴＮＦ（配列３）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２２４または配列番号２２６の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号２２５または配列番号２２７の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列３）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２２４の重鎖アミノ酸配列および配列番号２２５の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列３）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号２２６の重鎖アミノ酸配列および配列番号２２７の軽鎖アミノ酸配列を含む。
【００６７】
一実施形態において、ＴＮＦ（配列４）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２２８または配列番号２３０の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号２２９または配列番号２３１の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列４）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２２８の重鎖アミノ酸配列および配列番号２２９の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列４）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号２３０の重鎖アミノ酸配列および配列番号２３１の軽鎖アミノ酸配列を含む。
【００６８】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列５）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２３２または配列番号２３４の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号２３３または配列番号２３５の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列５）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２３２の重鎖アミノ酸配列および配列番号２３３の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列５）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号２３４の重鎖アミノ酸配列および配列番号２３５の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００６９】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列６）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２３６または配列番号２３８の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号２３７または配列番号２３９の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列６）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２３６の重鎖アミノ酸配列および配列番号２３７の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列６）およびＮＧＦに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号２３８の重鎖アミノ酸配列および配列番号２３９の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００７０】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列２）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２４０または配列番号２４２の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号２４１または配列番号２４３の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列２）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２４０の重鎖アミノ酸配列および配列番号２４１の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列２）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号２４２の重鎖アミノ酸配列および配列番号２４３の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００７１】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列３）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２４４または配列番号２４６の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号２４５または配列番号２４７の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列３）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２４４の重鎖アミノ酸配列および配列番号２４５の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列３）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号２４６の重鎖アミノ酸配列および配列番号２４７の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００７２】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列４）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２４８または配列番号２５０の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号２４９または配列番号２５１の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列４）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２４８の重鎖アミノ酸配列および配列番号２４９の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列４）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号２５０の重鎖アミノ酸配列および配列番号２５１の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００７３】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列５）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２５２または配列番号２５４の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号２５３または配列番号２５５の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列５）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２５２の重鎖アミノ酸配列および配列番号２５３の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列５）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号２５４の重鎖アミノ酸配列および配列番号２５５の軽鎖アミノ酸配列を

含む。

【００７４】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列６）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２５６または配列番号２５８の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号２５７または配列番号２５９の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列６）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２５６の重鎖アミノ酸配列および配列番号２５７の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列６）およびＳＯＳＴに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号２５８の重鎖アミノ酸配列および配列番号２５９の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００７５】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列２）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２６０または配列番号２６２の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号２６１または配列番号２６３の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列２）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２６０の重鎖アミノ酸配列および配列番号２６１の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列２）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号２６２の重鎖アミノ酸配列および配列番号２６３の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００７６】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列３）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２６４または配列番号２６６の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号２６５または配列番号２６７の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列３）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２６４の重鎖アミノ酸配列および配列番号２６５の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列３）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号２６６の重鎖アミノ酸配列および配列番号２６７の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００７７】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列４）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２６８または配列番号２７０の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号２６９または配列番号２７１の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列４）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２６８の重鎖アミノ酸配列および配列番号２６９の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列４）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号２７０の重鎖アミノ酸配列および配列番号２７１の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００７８】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列５）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２７２または配列番号２７４の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号２７３または配列番号２７５の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列５）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２７２の重鎖アミノ酸配列および配列番号２７３の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列５）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号２７４の重鎖アミノ酸配列および配列番号２７５の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００７９】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列６）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２７６または配列番号２７８の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号２７７または配列番号２７９の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（

配列６）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２７６の重鎖アミノ酸配列および配列番号２７７の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列６）およびＰＧＥ２に結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号２７８の重鎖アミノ酸配列および配列番号２７９の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００８０】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列１）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２８０または配列番号２８２の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号２８１または配列番号２８３の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列１）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２８０の重鎖アミノ酸配列および配列番号２８１の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列１）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号２８２の重鎖アミノ酸配列および配列番号２８３の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００８１】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列２）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２８４または配列番号２８６の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号２８５または配列番号２８７の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列２）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２８４の重鎖アミノ酸配列および配列番号２８５の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列２）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号２８６の重鎖アミノ酸配列および配列番号２８７の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００８２】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列３）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２８８または配列番号２９０の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号２８９または配列番号２９１の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列３）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２８８の重鎖アミノ酸配列および配列番号２８９の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列３）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号２９０の重鎖アミノ酸配列および配列番号２９１の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００８３】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列４）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２９２または配列番号２９４の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号２９３または配列番号２９５の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列４）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２９２の重鎖アミノ酸配列および配列番号２９３の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列４）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号２９４の重鎖アミノ酸配列および配列番号２９５の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００８４】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列５）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２９６または配列番号２９８の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号２９７または配列番号２９９の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列５）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号２９６の重鎖アミノ酸配列および配列番号２９７の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列５）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号２９８の重鎖アミノ酸配列および配列番号２９９の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００８５】

一実施形態において、ＴＮＦ（配列６）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号３００または配列番号３０２の重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号３０１または配列番号３０３の軽鎖アミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＴＮＦ（配列６）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、配列番号３００の重鎖ア

ミノ酸配列および配列番号３０１の軽鎖アミノ酸配列を含む。別の実施形態において、ＴＮＦ（配列６）およびＬＰＡに結合することが可能な結合タンパク質は、逆の配向を有し、配列番号３０２の重鎖アミノ酸配列および配列番号３０３の軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００８６】

別の実施形態において、結合タンパク質はポリペプチド鎖を含み、前記ポリペプチド鎖はＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎ（ＶＤ１は第一の親抗体またはその抗原結合部分から得られた第一の重鎖可変ドメインであり、ＶＤ２は第二の親抗体またはその抗原結合部分から得られた第二の重鎖可変ドメインであり、Ｃは重鎖定常ドメインであり、（Ｘ１）ｎはＣＨ１ではないことを条件とするリンカーであり、前記（Ｘ１）ｎは存在しまたは存在せず、前記（Ｘ２）ｎはＦｃ領域であり、（Ｘ２）ｎは存在するまたは存在しない。）を含む、結合タンパク質を提供する。一実施形態において、Ｆｃ領域は結合タンパク質に存在しない。

【００８７】

別の実施形態において、結合タンパク質はポリペプチド鎖を含み、前記ポリペプチド鎖はＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎ（ＶＤ１は第一の親抗体またはその抗原結合部分から得られた第一の軽鎖可変ドメインであり、ＶＤ２は第二の親抗体またはその抗原結合部分から得られた第二の軽鎖可変ドメインであり、Ｃは軽鎖定常ドメインであり、（Ｘ１）ｎはリンカーであり（但し、ＣＬではない。）、前記（Ｘ１）ｎは存在しまたは存在せず、（Ｘ２）ｎはＦｃ領域を含まず、前記（Ｘ２）ｎは存在するまたは存在しない。）を含む、結合タンパク質を提供する。一実施形態において、（Ｘ２）ｎは結合タンパク質に存在しない。

【００８８】

別の実施形態において、結合タンパク質は第一および第二のポリペプチド鎖を含み、前記第一のポリペプチド鎖は第一のＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎ（ＶＤ１は第一の親抗体またはその抗原結合部分から得られた第一の重鎖可変ドメインであり、ＶＤ２は第二の親抗体またはその抗原結合部分から得られた第二の重鎖可変ドメインであり、Ｃは重鎖定常ドメインであり、（Ｘ１）ｎはＣＨ１ではないことを条件とするリンカーであり、（Ｘ１）ｎは存在しまたは存在せず、（Ｘ２）ｎはＦｃ領域であり、前記（Ｘ２）ｎは存在するまたは存在しない。）を含み、前記第二のポリペプチド鎖は第二のＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎ（ＶＤ１は第一の親抗体またはその抗原結合部分から得られた第一の軽鎖可変ドメインであり、ＶＤ２は第二の親抗体またはその抗原結合部分から得られた第二の軽鎖可変ドメインであり、Ｃは軽鎖定常ドメインであり、（Ｘ１）ｎはリンカーであり（場合によってはＣＬではない。）、前記（Ｘ１）ｎは存在しまたは存在せず、前記（Ｘ２）ｎはＦｃ領域を含まず、（Ｘ２）ｎは存在するまたは存在しない。）を含む。別の実施形態において、結合タンパク質は２つの第一のポリペプチド鎖および２つの第二のポリペプチド鎖を含む。さらに別の実施形態において、（Ｘ２）ｎは第二のポリペプチド鎖に存在しない。さらに別の実施形態において、Ｆｃ領域は、第一のポリペプチドに存在する場合、固有配列のＦｃ領域またはバリアント配列のＦｃ領域である。さらに別の実施形態において、Ｆｃ領域は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ、ＩｇＭ、ＩｇＥまたはＩｇＤから得られる。

【００８９】

別の実施形態において、結合タンパク質は、４つのポリペプチド鎖を含み、第一および第三のポリペプチド鎖はＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎ（ＶＤ１は第一の親抗体またはその抗原結合部分から得られた第一の重鎖可変ドメインであり、ＶＤ２は第二の親抗体またはその抗原結合部分から得られた第二の重鎖可変ドメインであり、Ｃは重鎖定常ドメインであり、（Ｘ１）ｎはＣＨ１ではないことを条件とするリンカーであり、前記（Ｘ１）ｎは存在しまたは存在せず、（Ｘ２）ｎはＦｃ領域であり、前記（Ｘ２）ｎは存在するまたは存在しない。）を含み、第二および第四のポリペプチド鎖はＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎ（ＶＤ１は第一の親抗体またはその抗原結合部分から得られた第一の軽鎖可変ドメインであり、ＶＤ２は第二の親抗体またはその抗原結合部分

から得られた第二の軽鎖可変ドメインであり、Ｃは軽鎖定常ドメインであり、（Ｘ１）ｎはリンカーであり（場合によってはＣＬではない。）、前記（Ｘ１）ｎは存在しまたは存在せず、（Ｘ２）ｎはＦｃ領域を含まず、前記（Ｘ２）ｎは存在するまたは存在しない。）を含む、２つの抗原に結合することが可能なＤＶＤ－Ｉｇである。

【００９０】

親抗体を予め選択することによってＤＶＤ－Ｉｇ結合タンパク質を作製する方法も提供される。一実施形態において、２つの抗原に結合することが可能な二重可変ドメイン免疫グロブリンを作製する方法は、前記第一および前記第二の抗原に結合することが可能な二重可変ドメイン免疫グロブリンが生成されるように、ａ）第一の抗原に結合することが可能な第一の親抗体またはその抗原結合部分を得るステップ、ｂ）第二の抗原に結合することが可能な第二の親抗体またはその抗原結合部分を得るステップ、ｃ）ＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎ（ＶＤ１は第一の親抗体またはその抗原結合部分から得られた第一の重鎖可変ドメインであり、ＶＤ２は前記第二の親抗体またはその抗原結合部分から得られた第二の重鎖可変ドメインであり、Ｃは重鎖定常ドメインであり、（Ｘ１）ｎはＣＨ１ではないことを条件とするリンカーであり、前記（Ｘ１）ｎは存在しまたは存在せず、（Ｘ２）ｎはＦｃ領域であり、前記（Ｘ２）ｎは存在するまたは存在しない。）を含む第一および第三のポリペプチド鎖を構築するステップ、ｄ）ＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎ（ＶＤ１は前記第一の親抗体またはその抗原結合部分から得られた第一の軽鎖可変ドメインであり、ＶＤ２は前記第二の親抗体またはその抗原結合部分から得られた第二の軽鎖可変ドメインであり、Ｃは軽鎖定常ドメインであり、（Ｘ１）ｎはリンカーであり（場合によってはＣＬではない。）、前記（Ｘ１）ｎは存在しまたは存在せず、（Ｘ２）ｎはＦｃ領域を含まず、前記（Ｘ２）ｎは存在するまたは存在しない。）を含む第二および第四のポリペプチド鎖を構築するステップならびにｅ）前記第一、第二、第三および第四のポリペプチド鎖を発現させるステップを含む。

【００９１】

さらに別の実施形態において、前記第一および前記第二の抗原に結合することが可能であり所望の特性を有する二重可変ドメイン免疫グロブリンが生成されるように、ａ）第一の抗原に結合することが可能であり二重可変ドメイン免疫グロブリンによって示される少なくとも１つの所望の特性を有する第一の親抗体またはその抗原結合部分を得るステップ、ｂ）第二の抗原に結合することが可能であり二重可変ドメイン免疫グロブリンによって示される少なくとも１つの所望の特性を有する第二の親抗体またはその抗原結合部分を得るステップ、ｃ）ＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎ（ＶＤ１は前記第一の親抗体またはその抗原結合部分から得られた第一の重鎖可変ドメインであり、ＶＤ２は前記第二の親抗体またはその抗原結合部分から得られた第二の重鎖可変ドメインであり、Ｃは重鎖定常ドメインであり、（Ｘ１）ｎはＣＨ１ではないことを条件とするリンカーであり、前記（Ｘ１）ｎは存在しまたは存在せず、（Ｘ２）ｎはＦｃ領域であり、前記（Ｘ２）ｎは存在するまたは存在しない。）を含む第一および第三のポリペプチド鎖を構築するステップ、ｄ）ＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎ（ＶＤ１は前記第一の親抗体またはその抗原結合部分から得られた第一の軽鎖可変ドメインであり、ＶＤ２は前記第二の親抗体またはその抗原結合部分から得られた第二の軽鎖可変ドメインであり、Ｃは軽鎖定常ドメインであり、（Ｘ１）ｎはリンカーであり（場合によってはＣＬではない。）、前記（Ｘ１）ｎは存在しまたは存在せず、（Ｘ２）ｎはＦｃ領域を含まず、前記（Ｘ２）ｎは存在するまたは存在しない。）を含む第二および第四のポリペプチド鎖を構築するステップならびにｅ）前記第一、第二、第三および第四のポリペプチド鎖を発現させるステップを含む、２つの抗原に結合することが可能であり所望の特性を有する二重可変ドメイン免疫グロブリンを作製する方法が提供される。

【００９２】

一実施形態において、本明細書において開示されている第一および第二のポリペプチド鎖のＶＤＩは、同じ親抗体またはその抗原結合部分から得られる。別の実施形態において、本明細書において開示されている第一および第二のポリペプチド鎖のＶＤＩは、異なる

親抗体またはその抗原結合部分から得られる。別の実施形態において、本明細書において開示されている第一および第二のポリペプチド鎖のＶＤ２は、同じ親抗体またはその抗原結合部分から得られる。別の実施形態において、本明細書において開示されている第一および第二のポリペプチド鎖のＶＤ２は、異なる親抗体またはその抗原結合部分から得られる。

【００９３】

一実施形態において、第一の親抗体またはその抗原結合部分および第二の親抗体またはその抗原結合部分は同じ抗体である。別の実施形態において、第一の親抗体またはその抗原結合部分および第二の親抗体またはその抗原結合部分は異なる抗体である。

【００９４】

一実施形態において、第一の親抗体またはその抗原結合部分は第一の抗原に結合し、第二の親抗体またはその抗原結合部分は第二の抗原に結合する。特定の実施形態において、第一および第二の抗原は同じ抗原である。別の実施形態において、親抗体は同じ抗原上の異なるエピトープに結合する。別の実施形態において、第一および第二の抗原は異なる抗原である。別の実施形態において、第一の親抗体またはその抗原結合部分は、第二の親抗体またはその抗原結合部分が第二の抗原に結合する効力と異なる効力で第一の抗原に結合する。さらに別の実施形態において、第一の親抗体またはその抗原結合部分は、第二の親抗体またはその抗原結合部分が第二の抗原に結合する親和性と異なる親和性で第一の抗原に結合する。

【００９５】

別の実施形態において、第一の親抗体またはその抗原結合部分および第二の親抗体またはその抗原結合部分は、ヒト抗体、ＣＤＲ移植された抗体またはヒト化抗体である。一実施形態において、抗原結合部分は、Ｆａｂ断片、Ｆ（ａｂ’）$_2$断片、ヒンジ領域においてジスルフィド架橋によって連結された２つのＦａｂ断片を含む二価断片、ＶＨおよびＣＨ１ドメインを含むＦｄ断片、抗体の単一アームのＶＬおよびＶＨドメインを含むＦｖ断片、ｄＡｂ断片、単離された相補性決定領域（ＣＤＲ）、一本鎖抗体またはダイアボディである。

【００９６】

別の実施形態において、結合タンパク質は、第一の親抗体もしくはその抗原結合部分または第二の親抗体もしくはその抗原結合部分によって示される少なくとも１つの所望の特性を有する。あるいは、第一の親抗体もしくはその抗原結合部分または第二の親抗体もしくはその抗原結合部分は、二重可変ドメイン免疫グロブリンによって示される少なくとも１つの所望の特性を有する。一実施形態において、所望の特性は、１つまたは複数の抗体パラメーターから選択される。別の実施形態において、抗体パラメーターは、抗原特異性、抗原に対する親和性、効力、生物学的機能、エピトープ認識、安定性、可溶性、生産効率、免疫原性、薬物動態、生物学的利用率、組織交差反応性またはオルソロガス抗原結合性である。一実施形態において、結合タンパク質は多価である。別の実施形態において、結合タンパク質は多重特異的である。本明細書に記載されている多価および／または多重特異的結合タンパク質は、特に治療的見地から望ましい特性を有する。例えば、多価および／または多重特異的結合タンパク質は、（１）抗体が結合する抗原を発現している細胞によって、二価抗体より速く内部に取り込まれる（および／または異化される）；（２）アゴニスト抗体であり；および／または（３）多価抗体が結合することができる抗原を発現している細胞の細胞死および／またはアポトーシスを誘導し得る。多価および／または多重特異的結合タンパク質の少なくとも１つの抗原結合特異性を提供する「親抗体」は、抗体が結合する抗原を発現している細胞によって内部に取り込まれ（および／または異化される）抗体であり得、および／またはアゴニスト、細胞死誘導および／またはアポトーシス誘導抗体であり得、本明細書に記載されている多価および／または多重特異的結合タンパク質は、これらの特性の１つまたは複数の改善を示し得る。さらに、本明細書に記載されているように、多価結合タンパク質として構築された場合、親抗体は、これらの特性のいずれか１つまたは複数を欠如し得るが、ここに述べられているようにして構築された

とき、これらの特性は付与され得る。

【００９７】

別の実施形態において、結合タンパク質は、表面プラズモン共鳴によって測定された場合に、少なくとも$10^{2}M^{-1}s^{-1}$；少なくとも$10^{3}M^{-1}s^{-1}$；少なくとも$10^{4}M^{-1}s^{-1}$；少なくとも$10^{5}M^{-1}s^{-1}$；および少なくとも$10^{6}M^{-1}s^{-1}$のうちの１つまたは複数の標的への結合速度定数（Ｋｏｎ）を有する。一実施形態において、結合タンパク質は、表面プラズモン共鳴によって測定された場合に、$10^{2}M^{-1}s^{-1}$と$10^{3}M^{-1}s^{-1}$の間、$10^{3}M^{-1}s^{-1}$と$10^{4}M^{-1}s^{-1}$の間、$10^{4}M^{-1}s^{-1}$と$10^{5}M^{-1}s^{-1}$の間、または$10^{5}M^{-1}s^{-1}$と$10^{6}M^{-1}s^{-1}$の間の、１つまたは複数の標的に対する結合速度定数（Ｋｏｎ）を有する。

【００９８】

別の実施形態において、結合タンパク質は、表面プラズモン共鳴によって測定された場合に、最大約$10^{-3}s^{-1}$；最大約$10^{-4}s^{-1}$；最大約$10^{-5}s^{-1}$；および最大約$10^{-6}s^{-1}$のうちの１つまたは複数の標的への解離速度定数（Ｋｏｆｆ）を有する。一実施形態において、結合タンパク質は、表面プラズモン共鳴によって測定された場合に、$10^{-3}s^{-1}$から$10^{-4}s^{-1}$の、$10^{-4}s^{-1}$から$10^{-5}s^{-1}$の、または$10^{-5}s^{-1}$から$10^{-6}s^{-1}$の間の、１つまたは複数の標的に対する解離速度定数（K_{off}）を有する。

【００９９】

別の実施形態において、結合タンパク質は、最大約$10^{-7}M$；最大約$10^{-8}M$；最大約$10^{-9}M$；最大約$10^{-10}M$；最大約$10^{-11}M$；最大約$10^{-12}M$および最大$10^{-13}M$のうちの１つまたは複数の標的への解離定数（K_D）を有する。一実施形態において、結合タンパク質は、$10^{-7}M$から$10^{-8}M$の；$10^{-8}M$から$10^{-9}M$の；$10^{-9}M$から$10^{-10}M$の；$10^{-10}M$から$10^{-11}M$の；$10^{-11}M$から$10^{-12}M$の；または$10^{-12}M$から$10^{-13}M$のその標的に対する解離定数（K_D）を有する。

【０１００】

別の実施形態において、上記結合タンパク質は作用物質をさらに含む複合体であり、前記作用物質は、免疫接着分子、造影剤、治療剤または細胞毒性剤である。一実施形態において、造影剤は、放射性標識、酵素、蛍光標識、発光標識、生物発光標識、磁気標識またはビオチンである。別の実施形態において、放射性標識は、^{3}H、^{14}C、^{35}S、^{90}Y、^{99}Tc、^{111}In、^{125}I、^{131}I、^{177}Lu、^{166}Hoまたは^{153}Smである。さらに別の実施形態において、治療剤または細胞毒性剤は、代謝抑制剤、アルキル化剤、抗生物質、成長因子、サイトカイン、抗血管新生剤、抗有糸分裂剤、アントラサイクリン、トキシンまたはアポトーシス剤である。

【０１０１】

別の実施形態において、本明細書に記載されている結合タンパク質は結晶化された結合タンパク質であり、結晶として存在する。一実施形態において、この結晶は、無担体医薬徐放結晶である。さらに別の実施形態において、結晶化された結合タンパク質は、前記結合タンパク質の可溶性対応物より大きなインビボ半減期を有する。さらに別の実施形態において、結晶化された結合タンパク質は生物学的活性を保持する。

【０１０２】

別の実施形態において、本明細書に記載されている結合タンパク質はグリコシル化される。例えば、グリコシル化は、ヒトグリコシル化パターンである。

【０１０３】

本明細書に開示されている結合タンパク質のいずれか１つをコードする単離された核酸も提供される。さらなる実施形態は、本明細書に開示されている単離された核酸を含むベクターを提供し、前記ベクターは、ｐｃＤＮＡ；ｐＴＴ（Ｄｕｒｏｃｈｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ２００２，Ｖｏｌ ３０，Ｎｏ．２）；ｐＴＴ３（さらなる多重クローニング部位を有するｐＴＴ；ｐＥＦＢＯＳ（Ｍｉｚ

ｕｓｈｉｍａ，Ｓ．ａｎｄ Ｎａｇａｔａ，Ｓ．，（１９９０）Ｎｕｃｌｅｉｃ ａｃｉｄｓ Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｖｏｌ１８，ＮＯ．１７）；ｐＢＶ；ｐＪＶ；ｐｃＤＮＡ３．１ＴＯＰＯ、ｐＥＦ６ＴＯＰＯまたはｐＢＪである。一実施形態において、ベクターは、米国特許出願第６１／０２１，２８２号に開示されているベクターである。

【０１０４】

別の態様において、宿主細胞は、本明細書に開示されたベクターで形質転換される。一実施形態において、宿主細胞は原核細胞である。別の実施形態において、宿主細胞はＥ．コリ（Ｅ．ｃｏｌｉ）である。関連する実施形態において、宿主細胞は真核細胞である。別の実施形態において、真核細胞は、原生生物細胞、動物細胞、植物細胞または真菌細胞である。さらに別の実施形態において、宿主細胞は、これらに限定されないが、ＣＨＯ、ＣＯＳ；ＮＳ０、ＳＰ２、ＰＥＲ．Ｃ６を含む哺乳動物細胞；またはサッカロミセス・セレビシアエ（Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ）などの真菌細胞；またはＳｆ９などの昆虫細胞である。

【０１０５】

一実施形態において、異なる特異性を有する２つまたはそれ以上のＤＶＤ－Ｉｇは、単一の組み換え宿主細胞中で生産される。例えば、抗体の混合物の発現は、Ｏｌｉｇｏｃｌｏｎｉｃｓ（商標）（Ｍｅｒｕｓ Ｂ．Ｖ．，Ｔｈｅ Ｎｅｔｈｅｒｌａｎｄｓ）米国特許第７，２６２，０２８号；第７，４２９，４８６号と呼ばれている。

【０１０６】

結合タンパク質を産生するのに十分な条件下で、同じく本明細書に開示されている宿主細胞のいずれか１つを培地中において培養することを含む、本明細書に開示されている結合タンパク質を生産する方法も提供される。一実施形態において、この方法によって生産された結合タンパク質の５０％から７５％が、二重特異的四価結合タンパク質である。特定の実施形態において、この方法によって生産された結合タンパク質の７５％から９０％が、二重特異的四価結合タンパク質である。特定の実施形態において、生産された結合タンパク質の９０％から９５％が、二重特異的四価結合タンパク質である。

【０１０７】

一実施形態は、結合タンパク質の放出のための組成物を提供し、この組成物は製剤を含み、該製剤は、本明細書に開示されている結晶化された結合タンパク質および成分ならびに少なくとも１つのポリマー性担体を含む。例えば、ポリマー担体は、：ポリ（アクリル酸）、ポリ（シアノアクリラート）、ポリ（アミノ酸）、ポリ（無水物）、ポリ（デプシペプチド）、ポリ（エステル）、ポリ（乳酸）、ポリ（乳酸グリコール酸共重合体）またはＰＬＧＡ、ポリ（ｂ－ヒドロキシブチラート）、ポリ（カプロラクトン）、ポリ（ジオキサノン）；ポリ（エチレングリコール）、ポリ（（ヒドロキシプロピル）メタクリルアミド、ポリ［（オルガノ）ホスファゼン］、ポリ（オルトエステル）、ポリ（ビニルアルコール）、ポリ（ビニルピロリドン）、無水マレイン酸－アルキルビニルエーテル共重合体、プルロニックポリオール、アルブミン、アルギナート、セルロースおよびセルロース誘導体、コラーゲン、フィブリン、ゼラチン、ヒアルロン酸、オリゴ糖、グリカミノグリカン、硫酸化された多糖、これらの混合物および共重合体である。例えば、いくつかの実施形態において、成分は、アルブミン、ショ糖、トレハロース、ラクチトール、ゼラチン、ヒドロキシプロピル－β－シクロデキストリン、メトキシポリエチレングリコールまたはポリエチレングリコールである。別の実施形態は、本明細書に開示された組成物の有効量を哺乳動物に投与するステップを含む哺乳動物を治療する方法を提供する。

【０１０８】

本明細書に開示された結合タンパク質および医薬として許容される担体を含む医薬組成物も提供される。さらなる実施形態において、この医薬組成物は、疾患を治療するための少なくとも１つの追加の治療剤を含む。例えば、追加の薬剤は、治療剤、造影剤、細胞毒性剤、血管新生阻害剤（抗ＶＥＧＦ抗体またはＶＥＧＦ－トラップが含まれるが、これらに限定されない。）、キナーゼ阻害剤（ＫＤＲおよびＴＩＥ－２阻害剤が含まれるが、これらに限定されない。）、共刺激分子遮断剤（抗Ｂ７．１、抗Ｂ７．２、ＣＴＬＡ４－Ｉ

ｇ、抗ＣＤ２０が含まれるが、これらに限定されない。）、接着分子遮断剤（抗ＬＦＡ－１抗体、抗Ｅ／Ｌセレクチン抗体、小分子阻害剤が含まれるが、これらに限定されない。）、抗サイトカイン抗体またはその機能的断片（抗ＩＬ－１８、抗ＴＮＦおよび抗ＩＬ－６／サイトカイン受容体抗体が含まれるが、これらに限定されない。）、メトトレキサート、シクロスポリン、ラパマイシン、ＦＫ５０６；検出可能な標識またはレポーター、ＴＮＦアンタゴニスト、抗リウマチ薬、筋肉弛緩剤、麻酔薬、非ステロイド系抗炎症薬（ＮＳＡＩＤ）、鎮痛剤、麻酔、鎮静剤、局所麻酔、神経筋肉遮断剤、抗微生物剤、抗乾癬剤、コルチコステロイド、アナボリックステロイド、エリスロポエチン、免疫化、免疫グロブリン、免疫抑制剤、成長ホルモン、ホルモン置換薬、放射性薬剤、抗うつ剤、抗精神病薬、刺激物質、喘息薬、βアゴニスト、吸引用ステロイド、エピネフリンまたは類似体、サイトカインまたはサイトカインアンタゴニストである。

【０１０９】

本明細書に開示されている結合タンパク質によって結合されることができる標的または複数の標的が有害である疾患に罹患しているヒト対象を治療する方法であり、ヒト対象中の標的または複数の標的の活性が阻害され、１つまたは複数の症状が緩和され、または治療が達成されるように、本明細書に開示されている結合タンパク質をヒト対象に投与することを含む、前記方法も提供される。例えば、疾患は、関節炎、骨関節炎、若年性慢性関節炎、化膿性関節炎、ライム関節炎、乾癬性関節炎、反応性関節炎、脊椎関節症、全身性紅斑性狼瘡、クローン病、潰瘍性大腸炎、炎症性腸疾患、インシュリン依存性糖尿病、甲状腺炎、喘息、アレルギー性疾患、乾癬、皮膚炎、強皮症、移植片対宿主病、臓器移植拒絶、臓器移植に関連する急性または慢性免疫疾患、サルコイドーシス、アテローム性動脈硬化症、播種性血管内凝固、川崎病、バセドウ病、ネフローゼ症候群、慢性疲労症候群、ウェゲナー肉芽腫症、ヘノッホ・シェーライン紫斑症、腎臓の顕微鏡的血管炎、慢性活動性肝炎、ブドウ膜炎、敗血症性ショック、毒素性ショック症候群、敗血症症候群、悪液質、感染性疾患、寄生性疾患、後天性免疫不全症候群、急性横断性脊髄炎、ハンチントン舞踏病、パーキンソン病、アルツハイマー病、発作、原発性胆汁性肝硬変、溶血性貧血、悪性腫瘍、心不全、心筋梗塞、アジソン病、孤発性の、多内分泌腺機能低下症候群Ｉ型および多内分泌腺機能低下症候群ＩＩ型、シュミット症候群、成人（急性）呼吸促迫症候群、脱毛症、円形脱毛症、血清反応陰性関節炎、関節炎、ライター病、乾癬性関節炎、潰瘍性大腸性関節炎、腸疾患性滑膜炎、クラミジア、エルシニアおよびサルモネラ関連関節炎、脊椎関節症、アテローム性疾患／アテローム性動脈硬化症、アトピー性アレルギー、自己免疫性水疱性疾患、尋常性天疱瘡、落葉状天疱瘡、類天疱瘡、線状ＩｇＡ病、自己免疫性溶血性貧血、クームス陽性溶血性貧血、後天性悪性貧血、若年性悪性貧血、筋痛性脳脊髄炎／ロイヤルフリー病、慢性粘膜皮膚カンジダ症、巨細胞性動脈炎、原発性硬化性肝炎、突発性自己免疫性肝炎、後天性免疫不全症候群、後天性免疫不全関連疾患、Ｂ型肝炎、Ｃ型肝炎、分類不能型免疫不全症（分類不能型原発性低γグロブリン血症）、拡張型心筋症、女性不妊症、卵巣機能不全、早期卵巣機能不全、繊維性肺疾患、突発性間質性肺炎、炎症後間質性肺疾患、間質性肺炎、結合組織疾患関連間質性肺疾患、混合性結合組織疾患関連肺疾患、全身性硬化症関連間質性肺疾患、関節リウマチ関連間質性肺疾患、全身性紅斑性狼瘡関連肺疾患、皮膚筋炎／多発性筋炎関連肺疾患、シェーグレン病関連肺疾患、強直性脊椎炎関連肺疾患、血管炎性びまん性肺疾患（ｖａｓｃｕｌｉｔｉｃ　ｄｉｆｆｕｓｅ　ｌｕｎｇ　ｄｉｓｅａｓｅ）、ヘモシデローシス関連肺疾患、薬物によって誘導された間質性肺疾患、繊維症、放射性繊維症、閉塞性細気管支炎、慢性好酸球性肺炎、リンパ球浸潤性肺疾患、感染後間質性肺疾患、通風関節炎、自己免疫性肝炎、１型自己免疫性肝炎（古典的自己免疫性またはルポイド肝炎）、２型自己免疫性肝炎（抗ＬＫＭ抗体肝炎）、自己免疫媒介性低血糖症、黒色表皮腫を伴うＢ型インシュリン抵抗性、副甲状腺機能低下症、臓器移植に関連する急性免疫疾患、臓器移植に関連する慢性免疫疾患、変形性関節症、原発性硬化性胆管炎、１型乾癬、２型乾癬、特発性白血球減少症、自己免疫性好中球減少症、腎臓病ＮＯＳ、糸球体腎炎、腎臓の顕微鏡的血管炎、ライム病、円板状紅斑性狼瘡、男性不妊症特発性またはＮＯＳ、精子自己免疫、多発性硬化症（すべてのサブタイプ）

、交感性眼炎、結合組織疾患に続発する肺高血圧症、グッドパスチャー症候群、結節性多発動脈炎の肺症状、急性リウマチ熱、リウマチ性脊椎炎、スチル病、全身性硬化症、シェーグレン症候群、高安病／動脈炎、自己免疫性血小板減少症、特発性血小板減少症、自己免疫性甲状腺疾患、甲状腺機能亢進症、甲状腺腫自己免疫性甲状腺機能低下症（橋本病）、萎縮性自己免疫性甲状腺機能低下症、原発性粘液水腫（ｐｒｉｍａｒｙ　ｍｙｘｏｅｄｅｍａ）、水晶体起因性ブドウ膜炎、原発性血管炎、白斑急性肝疾患、慢性肝疾患、アルコール性肝硬変、アルコール誘発性肝障害、胆汁うっ滞（ｃｈｏｌｅｏｓａｔａｔｉｓ）、特異体質性肝疾患、薬物誘発性肝炎、非アルコール性脂肪性肝炎、アレルギーおよび喘息、Ｂ群連鎖球菌（ＧＢＳ）感染、精神障害（例えば、うつ病および統合失調症）、Ｔｈ２型およびＴｈ１型によって媒介される疾病、急性および慢性疼痛（疼痛の様々な形態）、ならびに、肺癌、乳癌、胃癌、膀胱癌、大腸癌、膵臓癌、卵巣癌、前立腺癌および腎臓癌および造血性悪性病変（白血病およびリンパ腫）などの癌、無βリポタンパク質血症、先端チアノーゼ、急性および慢性寄生性または感染性プロセス、急性白血病、急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）、急性または慢性細菌感染、急性膵炎、急性腎不全、腺癌、心房（ａｅｒｉａｌ）異所性拍動、ＡＩＤＳ認知症複合、アルコール誘発性肝炎、アレルギー性結膜炎、アレルギー性接触性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、同種移植拒絶、α－１－アンチトリプシン欠乏症、筋萎縮性側索硬化症、貧血、狭心症、前角細胞変性、抗ｃｄ３治療、抗リン脂質症候群、抗受容体過敏症反応（ａｎｔｉ－ｒｅｃｅｐｔｏｒ　ｈｙｐｅｒｓｅｎｓｉｔｉｖｉｔｙ　ｒｅａｃｔｉｏｎｓ）、大動脈（ａｏｒｄｉｃ）および動脈瘤、大動脈解離、動脈性高血圧、動脈硬化症、動静脈瘻、運動失調、心房細動（持続的または発作性）、心房粗動、房室ブロック、Ｂ細胞リンパ腫、骨移植拒絶、骨髄移植（ＢＭＴ）拒絶、脚ブロック、バーキットリンパ腫、火傷、心不整脈、心機能不全症候群（ｃａｒｄｉａｃ　ｓｔｕｎ　ｓｙｎｄｒｏｍｅ）、心臓腫瘍、心筋症、心肺バイパス炎症反応、軟骨移植拒絶、小脳皮質変性、小脳疾患、無秩序なまたは多巣性心房頻脈、化学療法関連疾患、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、慢性アルコール症、慢性炎症性病変、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）、慢性サリチル酸中毒、結腸直腸癌、うっ血性心不全、結膜炎、接触性皮膚炎、肺性心、冠動脈疾患、クロイツフェルトーヤコブ病、培養陰性敗血症、嚢胞性繊維症、サイトカイン療法関連疾患、ボクサー脳、脱髄性疾患、デング出血熱、皮膚炎、皮膚科学的症状、糖尿病、真性糖尿病、糖尿病性動脈硬化疾患、瀰漫性レビー小体病、拡張型うっ血性心筋症、大脳基底核の疾患、中年のダウン症候群、中枢神経ドーパミン受容体を遮断する薬物によって誘発された薬物誘発性運動疾患、薬物感受性、湿疹、脳脊髄炎、心内膜炎、内分泌疾患、喉頭蓋炎、エプスタインーバーウイルス感染、紅痛症、垂体外路および小脳疾患、家族性血球貪食性リンパ組織球症（ｆａｍｉｌｉａｌ　ｈｅｍａｔｏｐｈａｇｏｃｙｔｉｃ　ｌｙｍｐｈｏｈｉｓｔｉｏｃｙｔｏｓｉｓ）、致死的胸腺移植組織拒絶、フリードライヒ失調症、機能的末梢動脈疾患、真菌性敗血症、ガス壊疽、胃潰瘍、糸球体腎炎、いずれかの臓器または組織の移植片拒絶、グラム陰性敗血症、グラム陽性敗血症、細胞内生物に起因する肉芽腫、有毛細胞白血病、ハラーホルデン・スパッツ病、橋本甲状腺炎、枯草熱、心臓移植拒絶、血色素症、血液透析、溶血性尿毒症症候群／血栓溶解血小板減少紫斑病、出血、肝炎（Ａ型）、ヒス束不整脈、ＨＩＶ感染／ＨＩＶ神経障害、ホジキン病、運動過剰疾患、過敏症反応、過敏性肺炎、高血圧、運動低下疾患、視床下部－下垂体－副腎皮質系評価、特発性アジソン病、特発性肺繊維症、抗体媒介性細胞毒性、無力症、乳児脊髄性筋萎縮症、大動脈の炎症、Ａ型インフルエンザ、電離放射線曝露、虹彩毛様体炎／ブドウ膜炎／視神経炎、虚血再灌流障害、虚血性発作、若年性関節リウマチ、若年性脊髄性筋萎縮症、カポジ肉腫、腎移植拒絶、レジオネラ、リーシュマニア症、ハンセン病、皮質脊髄系の病変、脂肪血症（ｌｉｐｅｄｅｍａ）、肝臓移植拒絶、リンパ浮腫（ｌｙｍｐｈｅｄｅｒｍａ）、マラリア、悪性リンパ腫、悪性組織球増殖症、悪性黒色腫、髄膜炎、髄膜炎菌血症（ｍｅｎｉｎｇｏｃｏｃｃｅｍｉａ）、代謝性／特発性疾患、偏頭痛、ミトコンドリア多系疾患（ｍｉｔｏｃｈｏｎｄｒｉａｌ　ｍｕｌｔｉ．ｓｙｓｔｅｍ　ｄｉｓｏｒｄｅｒ）、混合性結合組織病、モノクローナル高ガンマグロブリン血症、多発性骨髄腫、多系統

変性（メンセル・デジェリーヌ－トーマス・シャイ－ドレーガーおよびマシャド－ジョセフ）、重症筋無力症、マイコバクテリウム・アビウム・イントラセルラーレ、マイコバクテリウム・チュバキュロシス、骨髄形成異常、心筋梗塞、真菌虚血疾患、上咽頭癌、新生児慢性肺疾患、腎炎、ネフローゼ、神経変性疾患、神経原性Ｉ筋萎縮、好中球減少性発熱、非ホジキンリンパ腫、腹部大動脈およびその分枝の閉塞、閉塞性動脈疾患、ｏｋｔ３療法、精巣炎／精巣上体炎、精巣炎／精管復元術処置、臓器肥大、骨粗鬆症、膵臓移植拒絶、膵癌、腫瘍随伴性症候群／悪性腫瘍の高カルシウム血症、副甲状腺移植拒絶、骨盤内炎症性疾患、通年性鼻炎、心膜疾患、末梢アテローム硬化性疾患、末梢血管疾患、腹膜炎、悪性貧血、ニューモシスチス・カリニ肺炎、肺炎、ＰＯＥＭＳ症候群（多発神経炎、臓器肥大、内分泌疾患、単クローン性γグロブリン血症および皮膚変化症候群（ｓｋｉｎ ｃｈａｎｇｅｓ ｓｙｎｄｒｏｍｅ））、灌流後症候群（ｐｏｓｔ ｐｅｒｆｕｓｉｏｎ ｓｙｎｄｒｏｍｅ）、ポンプ後症候群（ｐｏｓｔ ｐｕｍｐ ｓｙｎｄｒｏｍｅ）、心筋梗塞後開心術症候群、子癇前症、進行性核上性麻痺、原発性肺高血圧、放射線療法、レイノー現象および病、レイノー病、レフサム病、規則的なＱＲＳ幅の狭い頻脈症（ｒｅｇｕｌａｒ ｎａｒｒｏｗ ＱＲＳ ｔａｃｈｙｃａｒｄｉａ）、腎血管性高血圧、再灌流障害、拘束型心筋症、肉腫、強皮症、老年性舞踏病、レビー小体型の老年性認知症、血清反応陰性関節炎、ショック、鎌形赤血球貧血症、皮膚同種異系移植拒絶、皮膚変化症候群、小腸移植拒絶、固形腫瘍、固有不整脈（ｓｐｅｃｉｆｉｃ ａｒｒｙｔｈｍｉａｓ）、脊髄性運動失調、脊髄小脳変性、連鎖球菌性筋炎、小脳の構造的病変、亜急性硬化性全脳炎、湿疹、心血管系の梅毒、全身性アナフィラキシー、全身性炎症反応症候群、全身性発症若年性関節リウマチ、Ｔ細胞またはＦＡＢＡＬＬ、毛細血管拡張症、閉塞性血栓血管炎、血小板減少症、毒性、移植、外傷／出血、ＩＩＩ型過敏症反応、ＩＶ型過敏症、不安定狭心症、尿毒症、尿路性敗血症、じんましん、心臓弁膜症、静脈瘤、血管炎、静脈疾患、静脈血栓症、心室細動、ウイルスおよび真菌感染、ウイルス性脳炎（ｖｉｔａｌ ｅｎｃｅｐｈａｌｉｔｉｓ）／無菌性髄膜炎、ウイルス関連血球貪食症候群、ウェルニッケ－コルサコフ症候群、ウィルソン病、いずれかの臓器または組織の異種移植拒絶、急性冠症候群、急性特発性多発性神経炎、急性炎症性脱髄性多発神経根神経障害、急性虚血、成人スチル病、円形脱毛症、アナフィラキシー、抗リン脂質抗体症候群、再生不良性貧血、アテローム性動脈硬化症、アトピー性湿疹、アトピー性皮膚炎、自己免疫性皮膚炎、連鎖球菌感染に伴う自己免疫異常、自己免疫性腸症、自己免疫性難聴、自己免疫性リンパ増殖症候群（ＡＬＰＳ）、自己免疫性心筋炎、自己免疫性早期卵巣不全、眼瞼炎、気管支拡張症、水疱性類天疱瘡、心血管疾患、劇症型抗リン脂質症候群、セリアック病、頚部脊椎症、慢性虚血、瘢痕性類天疱瘡、多発性硬化症のリスクを有する臨床的孤発症候群（ｃｉｓ）、結膜炎、小児発症精神障害、慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）、涙嚢炎、皮膚筋炎、糖尿病性網膜症、真性糖尿病、椎間板ヘルニア、椎間板脱出、薬物誘発免疫性溶血性貧血、心内膜炎、子宮内膜症、眼内炎、上強膜炎、多形性紅斑、重症型多形性紅斑、妊娠性類天疱瘡、ギラン・バレー症候群（ＧＢＳ）、枯草熱、ヒューズ症候群、特発性パーキンソン病、特発性間質性肺炎、ＩｇＥ媒介性アレルギー、免疫性溶血性貧血、封入体筋炎、感染性眼炎症疾患、炎症性脱髄疾患、炎症性心疾患、炎症性腎疾患、ＩＰＦ／ＵＩＰ、虹彩炎、角膜炎、乾性角結膜炎（ｋｅｒａｔｏｊｕｎｔｉｖｉｔｉｓ ｓｉｃｃａ）、クスマウル病またはクスマウル－マイヤー病、ランドリー麻痺、ランゲルハンス細胞性組織球症、網状皮斑、黄斑変性、顕微鏡的多発性血管炎、モルブス・ベヒテレフ（ｍｏｒｂｕｓ ｂｅｃｈｔｅｒｅｖ）、運動ニューロン疾患、粘膜性類天疱瘡、多臓器不全、重症筋無力症、骨髄異形成症候群、心筋炎、神経根障害、神経障害、非Ａ非Ｂ型肝炎、視神経炎、骨溶解、卵巣癌、小関節性ＪＲＡ、末梢動脈閉塞疾患（ＰＡＯＤ）、末梢血管疾患（ＰＶＤ）、末梢動脈疾患（ＰＡＤ）、静脈炎、結節性多発性動脈炎（または結節性動脈周囲炎）、多発性軟骨炎、リウマチ性多発性筋痛、白毛症、多関節性ＪＲＡ、多内分泌欠損症候群、多発性筋炎、リウマチ性多発性筋痛（ＰＭＲ）、ポンプ後症候群、原発性パーキンソニズム、前立腺癌および直腸癌および造血性悪性病変（白血病およびリンパ腫）、前立腺炎、赤芽球癆、原発性副腎不全、再発性視神経脊髄炎、再狭窄、リウマチ性心疾患、ｓａｐｈｏ（

滑膜炎、アクネ、膿疱症、骨過形成および骨髄炎）、強皮症、続発性アミロイドーシス、ショック肺、強膜炎、坐骨神経痛、坐骨神経痛、シリコーン関連結合組織病、スネドン－ウィルキンソン皮膚症、強直性脊椎炎、スティーブンス・ジョンソン症候群（ＳＪＳ）、全身性炎症反応症候群、側頭動脈炎、トキソプラスマ性網膜炎、中毒性表皮剥離症、横断性脊髄炎、ＴＲＡＰＳ（腫瘍壊死因子受容体）、１型アレルギー反応、ＩＩ型糖尿病、じんましん、通常型間質性肺炎（ＵＩＰ）、血管炎、春季結膜炎、ウイルス性網膜炎、フォークト・小柳・原田症候群（ＶＫＨ症候群）、滲出型黄斑変性、創傷治癒、エルシニアおよびサルモネラ関連関節症を含む群から選択される。

【０１１０】

一実施形態において、本明細書に開示された組成物および方法で治療または診断され得る疾患には、乳房、結腸、直腸、肺、中咽頭、下咽頭、食道、胃、膵臓、肝臓、胆嚢および胆管、小腸、尿路（腎臓、膀胱および尿路上皮を含む）、女性生殖路（子宮頚部、子宮および卵巣ならびに絨毛癌および妊娠性絨毛性疾患を含む）、男性生殖路（前立腺、精嚢、精巣および生殖細胞腫瘍を含む）、内分泌腺（甲状腺、副腎および下垂体を含む）および皮膚の癌腫ならびに血管腫、悪性黒色腫、肉腫（骨および軟部組織から生じるものならびにカポジ肉腫を含む）、脳、神経、眼および髄膜の腫瘍（星状膠細胞腫、神経膠腫、神経膠芽細胞腫、網膜芽細胞腫、神経腫、神経芽細胞腫、シュワン細胞腫および髄膜腫を含む）、白血病などの造血性悪性病変から生じる固形腫瘍およびリンパ腫（ホジキンリンパ腫および非ホジキンリンパ腫の両方）を含む原発性および転移性の癌が含まれるが、これらに限定されない。

【０１１１】

本明細書に開示されたＤＶＤ－Ｉｇは、以下の疾患：急性冠症候群、急性特発性多発性神経炎、急性炎症性脱髄性多発神経根神経障害、急性虚血、成人スチル病、円形脱毛症、アナフィラキシー、抗リン脂質抗体症候群、再生不良性貧血、アテローム性動脈硬化症、アトピー性湿疹、アトピー性皮膚炎、自己免疫性皮膚炎、連鎖球菌感染に伴う自己免疫異常、自己免疫性難聴、自己免疫性リンパ増殖症候群（ＡＬＰＳ）、自己免疫性心筋炎、自己免疫性血小板減少（ＡＩＴＰ）、眼瞼炎、気管支拡張症、水疱性類天疱瘡、心血管疾患、劇症型抗リン脂質症候群、セリアック病、頚部脊椎症、慢性虚血、瘢痕性類天疱瘡、多発性硬化症のリスクを有する臨床的孤発症候群（ＣＩＳ）、結膜炎、小児発症精神障害、慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）、涙嚢炎、皮膚筋炎、糖尿病性網膜症、真性糖尿病、椎間板ヘルニア、椎間板脱出、薬物誘発免疫性溶血性貧血、心内膜炎、子宮内膜症、眼内炎、上強膜炎、多形性紅斑、重症型多形性紅斑、妊娠性類天疱瘡、ギラン・バレー症候群（ＧＢＳ）、枯草熱、ヒューズ症候群、特発性パーキンソン病、特発性間質性肺炎、ＩｇＥ媒介性アレルギー、免疫性溶血性貧血、封入体筋炎、感染性眼炎症疾患、炎症性脱髄疾患、炎症性心疾患、炎症性腎疾患、ＩＰＦ／ＵＩＰ、虹彩炎、角膜炎、乾性角結膜炎（ｋｅｒａｔｏｊｕｎｔｉｖｉｔｉｓ　ｓｉｃｃａ）、クスマウル病またはクスマウル－マイヤー病、ランドリー麻痺、ランゲルハンス細胞性組織球症、網状皮斑、黄斑変性、悪性病変、顕微鏡的多発性血管炎、モルブス・ベヒテレフ（ｍｏｒｂｕｓ　ｂｅｃｈｔｅｒｅｖ）、運動ニューロン疾患、粘膜性類天疱瘡、多臓器不全、重症筋無力症、骨髄異形成症候群、心筋炎、神経根障害、神経障害、非Ａ非Ｂ型肝炎、視神経炎、骨溶解、卵巣癌、小関節性ＪＲＡ、末梢動脈閉塞疾患（ＰＡＯＤ）、末梢血管疾患（ＰＶＤ）、末梢動脈疾患（ＰＡＤ）、静脈炎、結節性多発性動脈炎（または結節性動脈周囲炎）、多発性軟骨炎、リウマチ性多発性筋痛、白毛症、多関節性ＪＲＡ、多内分泌欠損症候群、多発性筋炎、リウマチ性多発性筋痛（ＰＭＲ）、ポンプ後症候群、原発性パーキンソニズム、前立腺癌および直腸癌および造血性悪性病変（白血病およびリンパ腫）、前立腺炎、赤芽球癆、原発性副腎不全、再発性視神経脊髄炎、再狭窄、リウマチ性心疾患、ＳＡＰＨＯ（滑膜炎、アクネ、膿疱症、骨過形成および骨髄炎）、強皮症、続発性アミロイドーシス、ショック肺、強膜炎、坐骨神経痛、坐骨神経痛、シリコーン関連結合組織病、スネドン－ウィルキンソン皮膚症、強直性脊椎炎、スティーブンス・ジョンソン症候群（ＳＪＳ）、全身性炎症反応症候群、側頭動脈炎、トキソプラスマ性網膜炎、中毒性表皮剥離症、横断性脊髄炎、ＴＲＡ

ＰＳ（腫瘍壊死因子受容体）、１型アレルギー反応、ＩＩ型糖尿病、じんましん、通常型間質性肺炎（ＵＩＰ）、血管炎、春季結膜炎、ウイルス性網膜炎、フォークト・小柳・原田症候群（ＶＫＨ症候群）、滲出型黄斑変性ならびに創傷治癒の１つまたは複数を治療することもできる。

【０１１２】

一実施形態において、本明細書に開示された結合タンパク質またはその抗原結合部分は、単独でまたは放射線療法および／もしくは他の化学療法剤と組み合わせて使用される場合、癌を治療するためにまたは本明細書に記載されている腫瘍からの転移の予防において使用される。

【０１１３】

別の態様において、本明細書に論述されているような第二の作用物質の投与前、投与と同時または投与後に、本明細書に開示されている結合タンパク質のいずれか１つを投与するステップを含む、疾患に罹患している患者を治療する方法が提供される。特定の実施形態において、第二の作用物質は、ブデノシド、上皮増殖因子、コルチコステロイド、シクロスポリン、スルファサラジン、アミノサリチラート、６－メルカプトプリン、アザチオプリン、メトロニダゾール、リポキシゲナーゼ阻害剤、メサラミン、オルサラジン、バルサラジド、抗酸化剤、トロンボキサン阻害剤、ＩＬ－１受容体アンタゴニスト、抗ＩＬ－１βｍＡｂ、抗ＩＬ－６またはＩＬ－６受容体ｍＡｂ、増殖因子、エラスターゼ阻害剤、ピリジニル－イミダゾール化合物、ＴＮＦ、ＬＴ、ＩＬ－１、ＩＬ－２、ＩＬ－６、ＩＬ－７、ＩＬ－８、ＩＬ－１２、ＩＬ－１３、ＩＬ－１５、ＩＬ－１６、ＩＬ－１８、ＩＬ－２３、ＥＭＡＰ－ＩＩ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＦＧＦおよびＰＤＧＦの抗体またはアゴニスト、ＣＤ２、ＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ８、ＣＤ－１９、ＣＤ２５、ＣＤ２８、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＣＤ４５、ＣＤ６９、ＣＤ９０またはこれらのリガンドの抗体、メトトレキサート、シクロスポリン、ＦＫ５０６、ラパマイシン、ミコフェノラート・モフェチル、レフルノミド、ＮＳＡＩＤ、イブプロフェン、コルチコステロイド、プレドニゾロン、ホスホジエステラーゼ阻害剤、アデノシンアゴニスト、抗血栓剤、補体阻害剤、アドレナリン作動薬、ＩＲＡＫ、ＮＩＫ、ＩＫＫ、ｐ３８、ＭＡＰキナーゼ阻害剤、ＩＬ－１β変換酵素阻害剤、ＴＮＦα変換酵素阻害剤、Ｔ細胞シグナル伝達阻害剤、メタロプロテイナーゼ阻害剤、スルファサラジン、アザチオプリン、６－メルカプトプリン、アンギオテンシン変換酵素阻害剤、可溶性サイトカイン受容体、可溶性ｐ５５ＴＮＦ受容体、可溶性ｐ７５ＴＮＦ受容体、ｓＩＬ－１ＲＩ、ｓＩＬ－１ＲＩＩ、ｓＩＬ－６Ｒ、抗炎症性サイトカイン、ＩＬ－４、ＩＬ－１０、ＩＬ－１１、ＩＬ－１３またはＴＧＦβである。

【０１１４】

好ましい実施形態において、本明細書に開示されている医薬組成物は、非経口、皮下、筋肉内、静脈内、関節内、気管支内、腹腔内、嚢内、軟骨内、腔内（ｉｎｔｒａｃａｖｉｔｙ）、腔内（ｉｎｔｒａｃｅｌｉａｌ）、小脳内、脳室内、結腸内、頸管内、胃内、肝臓内、心筋内、骨内、骨盤内、心膜内、腹腔内、胸膜内、前立腺内、肺内、結腸内、腎臓内、網膜内、脊髄内、滑膜内、胸腔内、子宮内、膀胱内、ボーラス、膣、直腸、口内、舌下、鼻内および経皮から選択される少なくとも１つの様式によって、患者に投与される。

【０１１５】

一実施形態において、本明細書に開示された少なくとも１つの結合タンパク質に対する少なくとも１つの抗イディオタイプ抗体が提供される。抗イディオタイプ抗体には、本明細書に開示された結合タンパク質中に取り込むことができる、重鎖もしくは軽鎖またはそのリガンド結合部分の少なくとも１つの相補性決定領域（ＣＤＲ）、重鎖または軽鎖可変領域、重鎖または軽鎖定常領域、フレームワーク領域またはそのいずれかの一部など（これらに限定されない。）、免疫グロブリン分子の少なくとも一部を含むいずれかのタンパク質またはペプチド含有分子が含まれる。

【図面の簡単な説明】

【０１１６】

【図１】図１Ａは、二重可変ドメイン免疫グロブリン（ＤＶＤ－Ｉｇ）構築物の模式図で

あり、２つの親抗体からＤＶＤ－Ｉｇを作製するための戦略を示す図である。図１Ｂは、構築物ＤＶＤ１－Ｉｇ、ＤＶＤ２－Ｉｇ、ならびにハイブリドーマクローン２Ｄ１３．Ｅ３（抗ＩＬ－１α）および１３Ｆ５．Ｇ５（抗ＩＬ－１β）由来の２つのキメラ単一特異的抗体の模式図である。

【発明を実施するための形態】

【０１１７】

２つまたはそれ以上の抗原に結合することが可能な多価および／または多重特異的結合タンパク質が提供される。具体的には、二重可変ドメイン免疫グロブリン（ＤＶＤ－Ｉｇ）およびその医薬組成物ならびにこのようなＤＶＤ－Ｉｇを作製するための核酸、組み換え発現ベクターおよび宿主細胞が提供される。インビトロまたはインビボのいずれかで、特異的抗原を検出するために本明細書において提供されるＤＶＤ－Ｉｇを使用する方法も提供される。

【０１１８】

本明細書に別段の定義がなければ、本明細書で使用される科学および技術用語は、当業者によって一般的に理解される意味を有するものとする。しかしながら、何らかの曖昧さが伏在している場合には、用語の意味および範囲は明確であるべきであり、本明細書中に付与されている定義は、すべての辞書または本明細書外の定義に優越する。さらに、文脈上別段の必要がなければ、単数形の用語は複数形を含むものとし、複数形の用語は単数を含むものとする。本願において、「または」の使用は、別段の記載がなければ、「および／または」を意味する。さらに、「含んでいる」という用語ならびに「含む」および「含まれた」などのその他の形式の使用は、限定的なものではない。また、「要素」または「成分」などの用語は、別段の記載がなければ、１つのユニットを含む要素および成分ならびに１より多いサブユニットを含む要素および成分をともに包含する。

【０１１９】

一般的に、本明細書に記載されている細胞および組織培養、分子生物学、免疫学、微生物学、遺伝学ならびにタンパク質および核酸化学およびハイブリッド形成に関連して使用される命名法およびこれらの技術は、周知のものであり、本分野において一般的に使用されている。一般に、本明細書において提供される方法および技術は、別段の記載がなければ、本分野において周知の慣用方法に従い、ならびに本明細書を通じて引用および論述されている様々な一般的参考文献およびより具体的な参考文献中に記載されているように、実施することができる。酵素反応および精製技術は、製造業者の説明書に従って、本分野で一般的に遂行されているように、または本明細書に記載されているように、実施される。本明細書に記載されている分析化学、合成有機化学および医薬品化学および薬化学に関して使用される命名法、ならびに本明細書に記載されている分析化学、合成有機化学および医薬品化学および薬化学の実験室操作および技術は、周知のものであり、本分野で一般的に使用されているものである。化学合成、化学分析、医薬の調製、調合、および送達、および患者の治療に対しては、標準的な技術を使用し得る。

【０１２０】

いくつかの用語を以下に定義する。

【０１２１】

本明細書において使用される「ポリペプチド」という用語は、アミノ酸のあらゆるポリマー鎖を表す。「ペプチド」および「タンパク質」という用語は、ポリペプチドという用語と互換的に使用され、同じく、アミノ酸のポリマー鎖を表す。「ポリペプチド」という用語は、固有または人工のタンパク質、タンパク質断片およびタンパク質配列のポリペプチド類似体を包含する。ポリペプチドは、単量体または多量体であり得る。本明細書における「ポリペプチド」の使用は、別段文脈上矛盾しない限り、ポリペプチドならびにその断片およびバリアント（バリアントの断片を含む）を包含するものとする。抗原性ポリペプチドでは、ポリペプチドの断片は、ポリペプチドの少なくとも１つの連続したまたは非線形エピトープを場合によって含有する。少なくとも１つのエピトープ断片の正確な境界は、本分野における通常の技術を使用して確認され得る。断片は、少なくとも約５個の連

続したアミノ酸（少なくとも約１０個の連続したアミノ酸、少なくとも約１５個の連続したアミノ酸または少なくとも約２０個の連続したアミノ酸など）を含む。ポリペプチドのバリアントは、本明細書に記載されている通りである。

【０１２２】

「単離されたタンパク質」または「単離されたポリペプチド」という用語は、その由来起源または由来源のために、その固有の状態において当該タンパク質またはポリペプチドとともに存在する天然に随伴される成分を伴わないタンパク質またはポリペプチドであり、同じ種に由来する他のタンパク質を実質的に含まず、異なる種から得られた細胞によって発現され、または天然には存在しない。したがって、化学的に合成されたポリペプチド、またはポリペプチドが本来由来する細胞とは異なる細胞系の中で合成されたポリペプチドは、それに本来付随している成分から「単離」されている。タンパク質は、本分野で周知のタンパク質精製技術を使用し、単離によって、本来付随している成分が実質的に存在しないようにすることもできる。

【０１２３】

本明細書において使用される「回収する」という用語は、例えば、本分野で周知のタンパク質精製技術を使用して、単離によって、ポリペプチドなどの化学種を、本来付随する成分を実質的に含まないようにする方法を表す。

【０１２４】

本明細書において使用される「生物学的活性」とは、分子の１つまたは複数の固有の生物学的特性（インビボで見られるように天然に存在するものであっても、組み換え手段によって提供される、または可能にされるものであっても）を表す。生物学的特性には、受容体に結合すること；細胞増殖の誘導、細胞増殖を阻害すること、他のサイトカインの誘導、アポトーシスの誘導および酵素活性が含まれるが、これらに限定されない。生物学的活性は、Ｉｇ分子の活性も含む。

【０１２５】

第二の化学種との抗体、タンパク質またはペプチドの相互作用に関して、本明細書において使用される「特異的結合」または「特異的に結合する」という用語は、相互作用が、化学種、例えば、抗体上の特定の構造（例えば、抗原決定基またはエピトープ）の存在に依存し、例えば、抗体がタンパク質一般ではなく、特異的なタンパク質構造を認識し、結合することを意味する。抗体がエピトープ「Ａ」に対して特異的であれば、標識された「Ａ」および抗体を含有する反応中での、エピトープＡを含有する分子（すなわち、標識されていない遊離のＡ）の存在は、抗体に結合した、標識されたＡの量を減少させる。

【０１２６】

本明細書において使用される「抗体」という用語は、４つのポリペプチド鎖（２つの重（Ｈ）鎖および２つの軽（Ｌ）鎖）から構成されるあらゆる免疫グロブリン（Ｉｇ）分子またはＩｇ分子の本質的なエピトープ結合特性を保持したすべての機能的断片、変異体、バリアントまたはこれらの誘導体を広く表すものとする。このような変異体、バリアントまたは誘導体抗体のフォーマットは、本分野において公知である。これらの非限定的な実施形態は、以下に論述されている。

【０１２７】

完全長の抗体において、各重鎖は、重鎖可変領域（本明細書において、ＨＣＶＲまたはＶＨと略称される。）および重鎖定常領域から構成される。重鎖定常領域は、３つのドメインＣＨ１、ＣＨ２およびＣＨ３から構成される。各軽鎖は、軽鎖可変領域（本明細書において、ＬＣＶＲまたはＶＬと略称される。）および軽鎖定常領域から構成される。軽鎖定常領域は、１つのドメインＣＬから構成される。ＶＨおよびＶＬ領域は、より保存された領域（フレームワーク領域（ＦＲ）と称される。）が散在された超可変領域（相補性決定領域（ＣＤＲ）と称される。）へ、さらに細分割することが可能である。各ＶＨおよびＶＬは、ＦＲ１、ＣＤＲ１、ＦＲ２、ＣＤＲ２、ＦＲ３、ＣＤＲ３、ＦＲ４の順で、アミノ末端からカルボキシ末端に配置された３つのＣＤＲおよび４つのＦＲから構成される。免疫グロブリン分子は、あらゆる種類（例えば、ＩｇＧ、ＩｇＥ、ＩｇＭ、ＩｇＤ、Ｉｇ

ＡおよびＩｇＹ）、クラス（例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ１およびＩｇＡ２）またはサブクラスであり得る。

【０１２８】

「Ｆｃ領域」という用語は、無傷の抗体のパパイン消化によって生成され得る、免疫グロブリン重鎖のＣ末端領域を定義するために使用される。Ｆｃ領域は、固有配列のＦｃ領域またはバリアントＦｃ領域であり得る。免疫グロブリンのＦｃ領域は、一般に、２つの定常ドメイン（ＣＨ２ドメインおよびＣＨ３ドメイン）を含み、場合によって、ＣＨ４ドメインを含む。抗体エフェクター機能を変化させるために、Ｆｃ部分中のアミノ酸残基を置換することが、本分野において周知である（Ｗｉｎｔｅｒ，ｅｔ　ａｌ．米国特許第５，６４８，２６０号および第５，６２４，８２１号）。抗体のＦｃ部分は、いくつかの重要なエフェクター機能、例えば、サイトカイン誘導、ＡＤＣＣ、食作用、補体依存性細胞傷害（ＣＤＣ）および抗体の半減期／排除速度および抗原－抗体複合体を媒介する。いくつかの事例において、これらのエフェクター機能は、治療用抗体のために望ましいが、別の事例では、治療目的に応じて、必要でない場合があり得、または有害である場合さえあり得る。ある種のヒトＩｇＧアイソタイプ、特に、ＩｇＧ１およびＩｇＧ３は、それぞれ、ＦｃγＲおよび補体Ｃ１ｑへの結合を介して、ＡＤＣＣおよびＣＤＣを媒介する。新生児Ｆｃ受容体（ＦｃＲｎ）は、抗体の循環半減期を決定する重要な成分である。さらに別の実施形態において、少なくとも１つのアミノ酸残基は、抗体のエフェクター機能が変化されるように、抗体の定常領域、例えば、抗体のＦｃ領域において置換されている。免疫グロブリンの２つの同一の重鎖の二量体化は、ＣＨ３ドメインの二量体化によって媒介され、ヒンジ領域内のジスルフィド結合によって安定化される（Ｈｕｂｅｒ　ｅｔ　ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ；２６４：４１５－２０；Ｔｈｉｅｓ　ｅｔ　ａｌ　１９９９　Ｊ　ＭｏＩ　Ｂｉｏｌ；２９３：６７－７９．）。重鎖－重鎖ジスルフィド結合を防止するための、ヒンジ領域内のシステイン残基の変異は、ＣＨ３ドメインの二量体化を不安定化させる。ＣＨ３二量体化にとって必要とされる残基が同定されている（Ｄａｌｌ’Ａｃｑｕａ　１９９８　Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　３７：９２６６－７３．）。したがって、一価の半Ｉｇを生成することが可能である。興味深いことに、これらの一価の半Ｉｇ分子は、ＩｇＧおよびＩｇＡ両サブクラスに対して、天然に見出されている（Ｓｅｌｉｇｍａｎ　１９７８　Ａｎｎ　Ｉｍｍｕｎｏｌ　１２９：８５５－７０；Ｂｉｅｗｅｎｇａ　ｅｔ　ａｌ　１９８３　Ｃｌｉｎ　Ｅｘｐ　Ｉｍｍｕｎｏｌ　５１：３９５－４００）。ＦｃＲｎ：ＩｇＦｃ領域の化学量論は、２：１であることが決定されており（Ｗｅｓｔ　ｅｔ　ａｌ．２０００　Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　３９：９６９８－７０８）、半Ｆｃは、ＦｃＲｎ結合を媒介するのに十分である（Ｋｉｍ　ｅｔ　ａｌ　１９９４　Ｅｕｒ　Ｊ　Ｉｍｍｕｎｏｌ；２４：５４２－５４８．）。ＣＨ３二量体化にとって重要な残基がＣＨ３ｂシート構造の内部界面上に位置しているのに対して、ＦｃＲｎ結合に必要とされる領域は、ＣＨ２－ＣＨ３ドメインの外側界面に位置しているので、ＣＨ３ドメインの二量体化を崩壊させるための変異は、そのＦｃＲＮ結合に対して、より大きな悪影響を有さない可能性がある。しかしながら、半Ｉｇ分子は、通常の抗体よりサイズが小さいので、組織透過においてある種の利点を有し得る。一実施形態において、少なくとも１つのアミノ酸残基は、重鎖の二量体化が破壊されて、半ＤＶＤＩｇ分子をもたらすように、結合タンパク質の定常領域、例えば、Ｆｃ領域において置換されている。ＩｇＧの抗炎症活性は、ＩｇＧＦｃ断片のＮ結合グリカンのシアリル化に完全に依存する。抗炎症活性での正確なグリカンの必要性が決定されており、その結果適当なＩｇＧ１　Ｆｃ断片が作製され得、それによって効力が大いに増強された完全な組み換えシアリル化ＩｇＧ１　Ｆｃが得られる（Ａｎｔｈｏｎｙ，Ｒ．Ｍ．，ｅｔ　ａｌ．（２００８）Ｓｃｉｅｎｃｅ　３２０：３７３－３７６）。

【０１２９】

本明細書において使用される抗体の「抗原結合部分」（または単に「抗体部分」）という用語は、抗原に特異的に結合する能力を保持する、抗体の１つまたは複数の断片を表す。抗体の抗原結合機能は、完全長抗体の断片によって実行可能であることは示されている

。このような抗体の実施形態は、二特異的、二重特異的または多重特異的フォーマットでもあり得、２つまたはそれ以上の異なる抗原に特異的に結合する。抗体の「抗原結合部分」という用語に包含される結合断片の例には、（ｉ）Ｆａｂ断片（ＶＬ、ＶＨ、ＣＬおよびＣＨ１ドメインからなる一価断片）、（ｉｉ）Ｆ（ａｂ’）$_2$断片（ヒンジ領域において、ジスルフィド架橋によって連結された２つのＦａｂ断片を含む二価断片）、（ｉｉｉ）ＶＨおよびＣＨ１ドメインからなるＦｄ断片、（ｉｖ）抗体の単一アームのＶＬおよびＶＨドメインからなるＦｖ断片、（ｖ）単一の可変ドメインを含むｄＡｂ断片（Ｗａｒｄ ｅｔ ａｌ．（１９８９）Ｎａｔｕｒｅ ３４１：５４４－５４６、Ｗｉｎｔｅｒ ｅｔ ａｌ．，ＰＣＴ公開ＷＯ９０／０５１４４Ａ１）および（ｖｉ）単離された相補性決定領域（ＣＤＲ）が含まれる。さらに、Ｆｖ断片の２つのドメインであるＶＬおよびＶＨは別個の遺伝子によってコードされているが、これらは、ＶＬおよびＶＨ領域が対合して一価分子を形成している単一のタンパク質鎖として、これらの作製を可能とする合成リンカーによって、組み換え法を用いて連結することが可能である（一本鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）として知られている。例えば、Ｂｉｒｄ ｅｔ ａｌ．（１９８８）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４２：４２３－４２６；およびＨｕｓｔｏｎ ｅｔ ａｌ．（１９８８）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ８５：５８７９－５８８３を参照）。このような一本鎖抗体も、抗体の「抗原結合部分」という用語に包含されるものとする。ダイアボディなどの一本鎖抗体の他の形態も包含される。ダイアボディは、ＶＨおよびＶＬドメインが一本鎖ポリペプチド鎖上に発現されているが、同一鎖上にある２つのドメイン間での対合を可能とするには短すぎるリンカーを使用することにより、両ドメインを別の鎖の相補的ドメインと対合するように強制し、２つの抗原結合部位を作出する二価の二特異的抗体である（例えば、Ｈｏｌｌｉｇｅｒ，Ｐ．，ｅｔ ａｌ．（１９９３）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ９０：６４４４－６４４８；Ｐｏｌｊａｋ，Ｒ．Ｊ．，ｅｔ ａｌ．（１９９４）Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ２：１１２１－１１２３を参照）。このような抗体結合部分は、本分野において公知である（Ｋｏｎｔｅｒｍａｎｎ ａｎｄ Ｄｕｂｅｌ ｅｄｓ．，Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ（２００１）Ｓｐｒｉｎｇｅｒ－Ｖｅｒｌａｇ．Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ．７９０ ｐｐ．（ＩＳＢＮ３－５４０－４１３５４－５）。さらに、一本鎖抗体も、相補的軽鎖ポリペプチドと一緒に、抗原結合領域の対を形成する直列Ｆｖセグメントの対を含む「直鎖抗体」（ＶＨ－ＣＨ１－ＶＨ－ＣＨ１）に含まれる（Ｚａｐａｔａ ｅｔ ａｌ．Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇ．８（１０）：１０５７－１０６２（１９９５）；および米国特許第５，６４１，８７０号）。

【０１３０】

本明細書を通じて、「多価結合タンパク質」という用語は、２つまたはそれ以上の抗原結合部位を含む結合タンパク質を表すために使用される。一実施形態において、多価結合タンパク質は、３つまたはそれ以上の抗原結合部位を有するように改変され、一般に、天然に存在しない抗体である。「多重特異的結合タンパク質」という用語は、２つまたはそれ以上の関連する標的または無関係な標的に結合することが可能な結合タンパク質を表す。本明細書において提供される二重可変ドメイン（ＤＶＤ）結合タンパク質は、２つまたはそれ以上の抗原結合部位を含み、四価または多価結合タンパク質である。ある種の実施形態において、結合タンパク質は、単一特異的であり得（すなわち、１つの抗原に結合することができる。）、または多重特異的（すなわち、２つまたはそれ以上の抗原に結合することができる。）であり得る。２つの重鎖ポリペプチドおよび２つの軽鎖ポリペプチドを含むＤＶＤ結合タンパク質は、ＤＶＤ－Ｉｇと表される。ＤＶＤ－Ｉｇの各半分は、重鎖ポリペプチドおよび軽鎖ポリペプチドおよび２つの抗原結合部位を含む。各結合部位は、重鎖可変ドメインおよび軽鎖可変ドメインを含み、計６ＣＤＲが抗原結合部位あたりの抗原結合に関与する。

【０１３１】

本明細書に使用される「二特異的抗体」という用語は、クアドローマ技術（Ｍｉｌｓｔｅｉｎ，Ｃ．ａｎｄ Ａ．Ｃ．Ｃｕｅｌｌｏ，Ｎａｔｕｒｅ，１９８３．３０５（５９３４）：ｐ．５３７－４０参照）によって、２つの異なるモノクローナル抗体の化学的連結

によって（Ｓｔａｅｒｚ，Ｕ．Ｄ．，ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，１９８５．３１４（６０１２）：ｐ．６２８－３１参照）、またはノブ・イントゥ・ホールもしくはＦｃ領域中に変異を導入する類似のアプローチによって（Ｈｏｌｌｉｇｅｒ，Ｐ．，Ｔ．Ｐｒｏｓｐｅｒｏ，ａｎｄ　Ｇ．Ｗｉｎｔｅｒ，Ｐｒｏｃ　Ｎａｔｌ　Ａｃａｄ　Ｓｃｉ　ＵＳＡ，１９９３．９０（１４）：ｐ．６４４４－８．１８参照）作製され、そのうち１つのみが機能的な二特異的抗体である複数の異なる免疫グロブリン種をもたらす、完全長抗体を表す。分子機能によって、二特異的抗体は、その２つの結合アーム（ＨＣ／ＬＣの１つの対）の１つの上に存在する１つの抗原（またはエピトープ）に結合し、その第二のアーム（ＨＣ／ＬＣの異なる対）の上に存在する異なる抗原（またはエピトープ）に結合する。この定義によって、二特異的抗体は、（特異性およびＣＤＲ配列の両者において）２つの異なる抗原結合アームを有し、それが結合する各抗原に対して一価である。

【０１３２】

本明細書において使用される「二重特異的抗体」という用語は、その２つの結合アーム（ＨＣ／ＬＣの対）の各々の中に存在する２つの異なる抗原（またはエピトープ）に結合することが可能な完全長抗体を表す（ＰＣＴ公開ＷＯ０２／０２７７３参照）。したがって、二重特異的結合タンパク質は、同一の特異性と同一のＣＤＲ配列を有する２つの同一の抗原結合アームを有し、これが結合する各抗原に対して二価である。

【０１３３】

結合タンパク質の「機能的抗原結合部位」とは、標的抗原に結合することが可能な部位である。抗原結合部位の抗原結合親和性は、必ずしも、当該抗原結合部位が由来する親抗体と同程度に強力であるとは限らないが、抗原に結合する能力は、抗原への抗体結合を評価するための公知の様々な方法のいずれか１つを用いて測定可能でなければならない。さらに、本明細書において、多価抗体の抗原結合部位の各々の抗原結合親和性は、定量的に同一である必要はない。

【０１３４】

「サイトカイン」という用語は、１つの細胞集団によって放出され、細胞間媒介物質として別の細胞集団に対して作用するタンパク質に対する包括的用語である。このようなサイトカインの例は、リンホカイン、モノカインおよび伝統的なポリペプチドホルモンである。サイトカインに含まれるのは、ヒト成長ホルモン、Ｎメチオニルヒト成長ホルモンおよびウシ成長ホルモンなどの成長ホルモン；副甲状腺ホルモン；チロキシン；インシュリン；プロインシュリン；リラキシン；プロリラキシン；卵胞刺激ホルモン（ＦＳＨ）、甲状腺刺激ホルモン（ＴＳＨ）および黄体形成ホルモン（ＬＨ）などの糖タンパク質ホルモン；肝細胞増殖因子；繊維芽細胞増殖因子；プロラクチン；胎盤性ラクトゲン；腫瘍壊死因子－αおよび－β；ミュラー管抑制物質；マウス性腺刺激ホルモン関連ペプチド；インヒビン；アクチビン；血管内皮細胞増殖因子；インテグリン；トロンボポエチン（ＴＰＯ）；ＮＧＦ－αなどの神経細胞増殖因子；血小板増殖因子；胎盤増殖因子、ＴＧＦ－αおよびＴＧＦ－βなどのトランスフォーミング増殖因子（ＴＧＦ）；インシュリン様増殖因子－１および－１１；エリスロポエチン（ＥＰＯ）；骨誘導因子；インターフェロン－α、－βおよび－γなどのインターフェロン；マクロファージ－ＣＳＦ（Ｍ－ＣＳＦ）などのコロニー刺激因子（ＣＳＦ）；顆粒球マクロファージ－ＣＳＦ（ＧＭ－ＣＳＦ）；および顆粒球－ＣＳＦ（Ｇ－ＣＳＦ）；ＩＬ－１、ＩＬ－２、ＩＬ－３、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－６、ＩＬ－７、ＩＬ－８、ＩＬ－９、ＩＬ－１０、ＩＬ－１１、ＩＬ－１２、ＩＬ－１３、ＩＬ－１５、ＩＬ－１８、ＩＬ－２１、ＩＬ－２２、ＩＬ－２３、ＩＬ－３３などのインターロイキン（ＩＬ）；ＴＮＦ－αまたはＴＮＦ－βなどの腫瘍壊死因子；ならびにＬＩＦおよびキットリガンド（ＫＬ）を含む他のポリペプチド因子である。本明細書において使用される、サイトカインという用語には、天然源からまたは組み換え細胞培養から得られるタンパク質および固有配列のサイトカインの生物学的に活性な均等物が含まれる。

【０１３５】

「リンカー」という用語は、ペプチド結合によって連結された２つまたはそれ以上のア

ミノ酸残基を含むポリペプチドを表し、１つまたは複数の抗原結合部分を連結するために使用される。このようなリンカーポリペプチドは、本分野において周知である（例えば、Ｈｏｌｌｉｇｅｒ，Ｐ．，ｅｔ　ａｌ．（１９９３）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　９０：６４４４－６４４８；Ｐｏｌｊａｋ，ＲＪ．，ｅｔ　ａｌ．（１９９４）Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ　２：１１２１－１１２３参照）。典型的なリンカーには、ＡＫＴＴＰＫＬＥＥＧＥＦＳＥＡＲ（配列番号１）；ＡＫＴＴＰＫＬＥＥＧＥＦＳＥＡＲＶ（配列番号２）；ＡＫＴＴＰＫＬＧＧ（配列番号３）；ＳＡＫＴＴＰＫＬＧＧ（配列番号４）；ＳＡＫＴＴＰ（配列番号５）；ＲＡＤＡＡＰ（配列番号６）；ＲＡＤＡＡＰＴＶＳ（配列番号７）；ＲＡＤＡＡＡＡＧＧＰＧＳ（配列番号８）；ＲＡＤＡＡＡＡ（G_4S）$_4$（配列番号９）；ＳＡＫＴＴＰＫＬＥＥＧＥＦＳＥＡＲＶ（配列番号１０）；ＡＤＡＡＰ（配列番号１１）；ＡＤＡＡＰＴＶＳＩＦＰＰ（配列番号１２）；ＴＶＡＡＰ（配列番号１３）；ＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰ（配列番号１４）；ＱＰＫＡＡＰ（配列番号１５）；ＱＰＫＡＡＰＳＶＴＬＦＰＰ（配列番号１６）；ＡＫＴＴＰＰ（配列番号１７）；ＡＫＴＴＰＰＳＶＴＰＬＡＰ（配列番号１８）；ＡＫＴＴＡＰ（配列番号１９）；ＡＫＴＴＡＰＳＶＹＰＬＡＰ（配列番号２０）；ＡＳＴＫＧＰ（配列番号２１）；ＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰ（配列番号２２）；ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ（配列番号２３）；ＧＥＮＫＶＥＹＡＰＡＬＭＡＬＳ（配列番号２４）；ＧＰＡＫＥＬＴＰＬＫＥＡＫＶＳ（配列番号２５）；およびＧＨＥＡＡＡＶＭＱＶＱＹＰＡＳ（配列番号２６）が含まれるが、これらに限定されない。

【０１３６】

「免疫グロブリン定常ドメイン」は、重鎖または軽鎖定常ドメインを表す。ヒトＩｇＧ重鎖および軽鎖定常ドメインアミノ酸配列は、本分野において公知である。

【０１３７】

本明細書において使用される「モノクローナル抗体」または「ｍＡｂ」という用語は、実質的に均一な抗体の集団から得られた抗体を表す。すなわち、該集団を構成する各抗体は、僅かな量で存在する可能性がある天然に存在する変異を除いて同一である。モノクローナル抗体は、高度に特異的であり、単一の抗原に対して誘導される。さらに、異なる決定基（エピトープ）に対して誘導された異なる抗体を典型的に含むポリクローナル抗体調製物と異なり、各ｍＡｂ抗体は、抗原上の単一の決定基に対して誘導される。「モノクローナル」という修飾語は、いずれかの特定の方法によって、抗体を産生することを要求するものと解釈すべきではない。

【０１３８】

本明細書において使用される「ヒト抗体」という用語は、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列に由来する可変領域および定常領域を有する抗体を含むものとする。本明細書において提供されるヒト抗体は、例えば、ＣＤＲ、特にＣＤＥ３中に、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列によってコードされないアミノ酸残基（例えば、インビトロでのランダムな突然変異導入もしくは部位特異的突然変異導入によって、またはインビボでの体細胞変異によって導入された変異）を含み得る。しかしながら、本明細書において使用される「ヒト抗体」という用語は、マウスなどの別の哺乳動物種の生殖系列に由来するＣＤＲ配列がヒトフレームワーク配列上に移植された抗体を含まないものとする。

【０１３９】

本明細書において使用される「組み換えヒト抗体」という用語は、宿主細胞中に形質移入された組み換え発現ベクターを用いて発現された抗体（以下のＩＩ節Ｃでさらに記載されている。）、組み換えコンビナトリアルヒト抗体ライブラリーから単離された抗体（Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ　Ｈ．Ｒ．，（１９９７）ＴＩＢ　Ｔｅｃｈ．１５：６２－７０；Ａｚｚａｚｙ　Ｈ．，ａｎｄ　Ｈｉｇｈｓｍｉｔｈ　Ｗ．Ｅ．，（２００２）Ｃｌｉｎ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．３５：４２５－４４５；Ｇａｖｉｌｏｎｄｏ　Ｊ．Ｖ．，ａｎｄ　Ｌａｒｒｉｃｋ　Ｊ．Ｗ．（２００２）ＢｉｏＴｅｃｈｎｉｑｕｅｓ　２９：１２８－１４５；Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ　Ｈ．，ａｎｄ　Ｃｈａｍｅｓ　Ｐ．（２０００）Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　Ｔｏｄａｙ　２１：３７１－３７８）、ヒト免疫グロブリン遺伝子に対して遺伝

子導入されている動物（例えば、マウス）から単離された抗体（Ｔａｙｌｏｒ，Ｌ．Ｄ．，ｅｔ　ａｌ．（１９９２）Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．２０：６２８７－６２９５；Ｋｅｌｌｅｒｍａｎｎ　Ｓ－Ａ．，ａｎｄ　Ｇｒｅｅｎ　Ｌ．Ｌ．（２００２）Ｃｕｒｒｅｎｔ　Ｏｐｉｎｉｏｎ　ｉｎ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　１３：５９３－５９７；Ｌｉｔｔｌｅ　Ｍ．ｅｔ　ａｌ（２０００）Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　Ｔｏｄａｙ　２１：３６４－３７０参照）またはヒト免疫グロブリン遺伝子配列の、他のＤＮＡ配列へのスプライシングを含む他のいずれかの手段によって調製され、発現され、作製され、もしくは単離された抗体など、組み換え手段によって調製され、発現され、作製され、もしくは単離されたすべてのヒト抗体を含むものとする。このような組み換えヒト抗体は、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列に由来する可変領域および定常領域を有する。しかしながら、ある種の実施形態において、このような組み換えヒト抗体は、インビトロ突然変異導入（または、ヒトＩｇ配列に対して遺伝子導入された動物が使用される場合には、インビボ体細胞突然変異導入）に供され、したがって、組み換え抗体のＶＨおよびＶＬ領域のアミノ酸配列は、ヒト生殖系列ＶＨおよびＶＬ配列に由来し、これらの配列に関連しつつも、インビボで、ヒト抗体生殖系列レパートリー内には、天然に存在しない場合があり得る配列である。

【０１４０】

「親和性成熟された」抗体とは、変化を有しない親抗体と比べて、抗体の１つまたは複数のＣＤＲ中に、抗原に対する抗体の親和性の改善をもたらす１つまたは複数の変化を有する抗体である。典型的な親和性成熟された抗体は、標的抗原に対してｎＭの親和性を有し、またはｐＭの親和性さえ有する。親和性成熟された抗体は、本分野において公知の操作によって産生される。「Ｍａｒｋｓ　ｅｔ　ａｌ．ＢｉｄｌＴｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　１０：７７９－７８３（１９９２）」は、ＶＨおよびＶＬドメインシャッフリングによる親和性成熟を記載している。ＣＤＲおよび／またはフレームワーク残基の無作為な突然変異導入は、Ｂａｒｂａｓ　ｅｔ　ａｌ．ＰｒｏｃＮａｔ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ，ＵＳＡ　９１：３８０９－３８１３（１９９４）；Ｓｃｈｉｅｒ　ｅｔ　ａｌ．Ｇｅｎｅ　１６９：１４７－１５５（１９９５）；Ｙｅｌｔｏｎ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５５：１９９４－２００４（１９９５）；Ｊａｃｋｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５４（７）：３３１０－９（１９９５）；およびＨａｗｋｉｎｓ　ｅｔ　ａｌ，Ｊ．ＭｏＩ．Ｂｉｏｌ．２２６：８８９－８９６（１９９２）によって記載されており、活性増強アミノ酸残基による選択的突然変異導入位置、接触または過剰変異位置での選択的突然変異は、米国特許第６９１４１２８Ｂ１号に記載されている。

【０１４１】

「キメラ抗体」という用語は、ヒト定常領域に連結されたマウス重鎖および軽鎖可変領域を有する抗体など、ある種に由来する重鎖および軽鎖可変領域配列ならびに別の種に由来する定常領域配列を含む抗体を表す。

【０１４２】

「ＣＤＲ移植された抗体」という用語は、マウスＣＤＲの１つまたは複数（例えば、ＣＤＲ３）がヒトＣＤＲ配列で置換されているマウス重鎖および軽鎖可変領域を有する抗体など、ある種に由来する重鎖および軽鎖可変領域配列を含むが、ＶＨおよび／またはＶＬのＣＤＲ領域の１つまたは複数の配列が、別の種のＣＤＲ配列と置換されている抗体を表す。

【０１４３】

「ヒト化抗体」という用語は、ヒト以外の種（例えば、マウス）由来の重鎖および軽鎖可変領域配列を含むが、ＶＨおよび／またはＶＬ配列の少なくとも一部が、より「ヒト類似に」、すなわち、ヒト生殖系列可変配列により類似するように改変された抗体を表す。ヒト化抗体の１つの種類は、ヒトＣＤＲ配列がヒト以外のＶＨおよびＶＬ配列中に導入されて、対応する非ヒトＣＤＲ配列が置換されているＣＤＲ移植された抗体である。「ヒト化抗体」も、目的の抗原に免疫特異的に結合し、ヒト抗体のアミノ酸配列を実質的に有するフレームワーク（ＦＲ）領域および非ヒト抗体のアミノ酸配列を実質的に有する相補的

決定領域（ＣＤＲ）を含む抗体またはそのバリアント、誘導体、類似体もしくは断片である。ＣＤＲに関して、本明細書において使用される「実質的に」という用語は、非ヒト抗体ＣＤＲのアミノ酸配列に対して、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％または少なくとも９９％同一のアミノ酸配列を有するＣＤＲを表す。ヒト化抗体は、少なくとも１つの、典型的には２つの可変ドメイン（Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、ＦａｂＣ、Ｆｖ）のすべてを実質的に含み、ＣＤＲ領域のすべてまたは実質的にすべては非ヒト免疫グロブリン（すなわち、ドナー抗体）のものに対応し、フレームワーク領域のすべてまたは実質的にすべてが、ヒト免疫グロブリンコンセンサス配列のものである。一実施形態において、ヒト化抗体は、免疫グロブリン、典型的にはヒト免疫グロブリンの定常領域（Ｆｃ）の少なくとも一部を含む。いくつかの実施形態において、ヒト化抗体は、軽鎖と、重鎖の少なくとも可変ドメインの両方を含有する。この抗体は、重鎖のＣＨ１、ヒンジ、ＣＨ２、ＣＨ３およびＣＨ４領域も含み得る。いくつかの実施形態において、ヒト化抗体は、ヒト化軽鎖のみを含有する。いくつかの実施形態において、ヒト化抗体は、ヒト化重鎖のみを含有する。特定の実施形態において、ヒト化抗体は、軽鎖のヒト化可変ドメインおよび／またはヒト化重鎖のみを含有する。

【０１４４】

「Ｋａｂａｔ番号」、「Ｋａｂａｔ定義」および「Ｋａｂａｔ標識」という用語は、本明細書において、互換的に使用される。本分野において認められているこれらの用語は、抗体またはその抗原結合部分の重鎖および軽鎖可変領域中の他のアミノ酸残基に比べて、より可変的な（すなわち、超可変的な）アミノ酸残基に付番するシステムを表す（Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．（１９７１）Ａｎｎ．ＮＹ Ａｃａｄ，Ｓｃｉ．１９０：３８２－３９１およびＫａｂａｔ，Ｅ．Ａ．，ｅｔ ａｌ．（１９９１）Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，Ｆｉｆｔｈ Ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ，ＮＩＨ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ ＮＯ．９１－３２４２）。重鎖可変領域の場合、超可変領域は、ＣＤＲ１に対するアミノ酸位置３１から３５、ＣＤＲ２に対するアミノ酸位置５０から６５およびＣＤＲ３に対するアミノ酸位置９５から１０２にわたる。軽鎖可変領域の場合、超可変領域は、ＣＤＲ１に対するアミノ酸位置２４から３４、ＣＤＲ２に対するアミノ酸位置５０から５６およびＣＤＲ３に対するアミノ酸位置８９から９７にわたる。

【０１４５】

本明細書で使用される「ＣＤＲ」という用語は、抗体可変配列内の相補性決定領域を表す。重鎖および軽鎖の各可変領域中には３つのＣＤＲが存在し、これらは、各可変領域に対して、ＣＤＲ１、ＣＤＲ２およびＣＤＲ３と表記される。本明細書において使用される「ＣＤＲセット」という用語は、抗原に結合することが可能な単一の可変領域中に存在する３つのＣＤＲの群を表す。これらのＣＤＲの正確な境界は、異なる系に従って、異なって定義されてきた。Ｋａｂａｔによって記載された系（Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ（Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，Ｍｄ．（１９８７）ａｎｄ（１９９１））は、抗体のいずれの可変領域に対しても適用可能な明瞭な残基付番系を提供するのみならず、３つのＣＤＲを定義する正確な残基境界を提供する。これらのＣＤＲは、ＫａｂａｔＣＤＲと称され得る。Ｃｈｏｔｈｉａおよび共同研究者（Ｃｈｏｔｈｉａ＆Ｌｅｓｋ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１９６：９０１－９１７（１９８７）およびＣｈｏｔｈｉａ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３４２：８７７－８８３（１９８９））は、ＫａｂａｔＣＤＲ内のある種の亜部分が、アミノ酸配列のレベルで大きな多様性を有するにも関わらず、ほぼ同一のペプチド骨格立体構造を採ることを見出した。これらの亜部分は、Ｌ１、Ｌ２およびＬ３またはＨ１、Ｈ２およびＨ３（「Ｌ」および「Ｈ」は、それぞれ、軽鎖および重鎖領域を表記する。）と表記される。これらの領域は、ＣｈｏｔｈｉａＣＤＲと称される場合があり、これは、ＫａｂａｔＣ

ＤＲと重複する境界を有する。ＫａｂａｔＣＤＲと重複するＣＤＲを定義する他の境界が、Ｐａｄｌａｎ（ＦＡＳＥＢ Ｊ．９：１３３－１３９（１９９５））およびＭａｃＣａｌｌｕｍ（Ｊ Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ ２６２（５）：７３２－４５（１９９６））によって記載されている。さらに別のＣＤＲ境界定義が、上記系の１つに厳格に従わない場合があり得るが、それにも関わらず、ＫａｂａｔＣＤＲと重複するが、これらは、特定の残基または残基の群またはさらにはＣＤＲ全体が、抗原結合に著しい影響を与えないという予測または実験的な発見に照らして、短縮または延長され得る。本明細書に使用されている方法は、これらの系のいずれかに従って定義されたＣＤＲを使用し得るが、ある種の実施形態は、ＫａｂａｔまたはＣｈｏｔｈｉａによって定義されたＣＤＲを使用する。

【０１４６】

本明細書で使用される「フレームワーク」または「フレームワーク配列」という用語は、ＣＤＲを差し引いた可変領域の残りの配列を表す。ＣＤＲ配列の正確な定義は、異なる系によって決定され得るので、フレームワーク配列の意義は、これに対応して、異なる解釈に供せられる。６つのＣＤＲ（軽鎖のＣＤＲ－Ｌ１、－Ｌ２および－Ｌ３ならびに重鎖のＣＤＲ－Ｈ１、－Ｈ２および－Ｈ３）は、軽鎖および重鎖上のフレームワーク領域も、各鎖上の４つの亜領域（ＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３およびＦＲ４）に分割し、ＣＤＲ１はＦＲ１とＦＲ２の間に位置し、ＣＤＲ２はＦＲ２とＦＲ３の間に、ＣＤＲ３はＦＲ３とＦＲ４の間に位置する。他者によって表記されるように、ＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３またはＦＲ４として特定の亜領域を特定せずに、フレームワーク領域は、天然に存在する単一の免疫グロブリン鎖の可変領域内の組み合わされたＦＲを表す。本明細書において使用される、１つのＦＲは、４つの亜領域の１つを表し、複数のＦＲは、フレームワーク領域を構成する４つの亜領域の２つまたはそれ以上を表す。

【０１４７】

本明細書において使用される「生殖系列抗体遺伝子」または「遺伝子断片」という用語は、特定の免疫グロブリンの発現のために遺伝的再編成および変異をもたらす成熟プロセスを経ていない非リンパ系細胞によってコードされる免疫グロブリン配列を表す。（例えば、Ｓｈａｐｉｒｏ ｅｔ ａｌ．，Ｃｒｉｔ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２２（３）：１８３－２００（２００２）；Ｍａｒｃｈａｌｏｎｉｓ ｅｔ ａｌ．，Ａｄｖ Ｅｘｐ Ｍｅｄ Ｂｉｏｌ．４８４：１３－３０（２００１）参照）。本明細書において提供される様々な実施形態によって提供される利点の１つは、生殖系列抗体遺伝子は、成熟した抗体遺伝子より、種内の個体に特徴的な必須のアミノ酸配列構造を保存する傾向がより大きく、このため、その種において治療的に使用された場合に、外来源に由来するものと認識される可能性がより低いという認識から生じる。

【０１４８】

本明細書において使用される「中和」という用語は、結合タンパク質が抗原に特異的に結合すると、抗原の生物学的活性を相殺することを表す。一実施形態において、中和結合タンパク質はサイトカインに結合し、少なくとも約２０％、４０％、６０％、８０％、８５％またはそれ以上、その生物学的活性を低下させる。

【０１４９】

「活性」という用語は、２つまたはそれ以上の抗原に対する結合タンパク質の結合特異性および親和性などの活性を含む。

【０１５０】

「エピトープ」という用語には、免疫グロブリンまたはＴ細胞受容体に特異的に結合することができる、あらゆるポリペプチド決定基が含まれる。ある種の実施形態において、エピトープ決定基は、アミノ酸、糖側鎖、ホスホリルまたはスルホリルなどの分子の化学的に活性な表面基を含み、ある種の実施形態において、特異的な三次元構造的特徴および／または特異的な電荷特徴を有し得る。エピトープとは、抗体によって結合される抗原の領域である。ある種の実施形態において、抗体が、タンパク質および／または高分子の複雑な混合物中で、その標的抗原を認識する場合に、抗体は抗原を特異的に結合するといわれている。抗体が交差競合する（一方が他方の結合または調節作用を妨げる）場合、抗体

は「同じエピトープに結合する」といわれている。さらに、エピトープの構造上の定義（重複、類似、同一）は有益であるが、機能上の定義は、構造上（結合）および機能上（調節、競合）のパラメーターを包含するので、しばしばより重要である。

【０１５１】

本明細書において使用される「表面プラズモン共鳴」という用語は、例えば、ＢＩＡｃｏｒｅ（登録商標）システム（ＢＩＡｃｏｒｅ Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ ＡＢ（ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅの会社）、Ｕｐｐｓａｌａ、ＳｗｅｄｅｎおよびＰｉｓｃａｔａｗａｙ、ＮＪ）を用いて、バイオセンサーマトリックス内のタンパク質濃度の変化を検出することによって、リアルタイムな生物特異的相互作用の分析を可能とする光学現象を表す。さらなる記載については、Ｊｏｎｓｓｏｎ，Ｕ．，ｅｔ ａｌ．（１９９３）Ａｎｎ．Ｂｉｏｌ．Ｃｌｉｎ．５１：１９－２６；Ｊｏｎｓｓｏｎ，Ｕ．，ｅｔ ａｌ．（１９９１）Ｂｉｏｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ １１：６２０－６２７；Ｊｏｈｎｓｓｏｎ，Ｂ．，ｅｔ ａｌ．（１９９５）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｒｅｃｏｇｎｉｔ．８：１２５－１３１；およびＪｏｈｎｎｓｏｎ，Ｂ．，ｅｔ ａｌ．（１９９１）Ａｎａｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．１９８：２６８－２７７を参照されたい。

【０１５２】

本明細書において使用される「Ｋｏｎ」という用語は、例えば、本分野で知られている抗体／抗原複合体を形成する、結合タンパク質（例えば、抗体）と抗原の結合についての結合速度（ｏｎ ｒａｔｅ）定数を表すものとする。「Ｋｏｎ」は、「結合速度（ａｓｓｏｃｉａｔｉｏｎ ｒａｔｅ）定数」または「ｋａ」という用語によっても知られ、これらは本明細書において互換的に使用される。抗体とその標的抗原の結合速度または抗体と抗原間での複合体形成の速度を示しているこの値は、以下の方程式によっても示される：

抗体（「Ａｂ」）＋抗原（「Ａｇ」）’→Ａｂ－Ａｇ

【０１５３】

本明細書において使用される「Ｋｏｆｆ」という用語は、結合タンパク質（例えば、抗体）の、例えば、本分野で知られている抗体／抗原複合体からの解離についての解離速度（ｏｆｆ ｒａｔｅ）定数または「解離速度（ｄｉｓｓｏｃｉａｔｉｏｎ ｒａｔｅ）定数」を表すものとする。この値は、抗体のその標的抗原からの解離速度またはＡｂ－Ａｇ複合体の遊離抗体および抗原への経時的な分離を示し、以下の方程式によって示される：

Ａｂ＋Ａｇ←Ａｂ－Ａｇ

【０１５４】

本明細書において使用される「Ｋｄ」という用語は、「平衡解離定数」を表すものとし、平衡状態での滴定測定においてまたは解離速度定数（ｋｏｆｆ）を結合速度定数（ｋｏｎ）で割ることによって得られた値を表す。結合速度定数、解離速度定数および平衡解離定数は、抗体と抗原の結合親和性を表すために使用される。結合および解離速度定数を決定する方法は本分野において周知である。蛍光を基礎とする技術の使用は、高い感度を提供し、平衡状態で生理的緩衝液中の試料を調べることができる。ＢＩＡｃｏｒｅ（登録商標）（生体分子相互作用分析）アッセイなどの他の実験的アプローチおよび機器を使用することが可能である（例えば、ＢＩＡｃｏｒｅ Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ ＡＢ，ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ社，Ｕｐｐｓａｌａ，Ｓｗｅｄｅｎから入手可能な機器）。さらに、Ｓａｐｉｄｙｎｅ Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ（Ｂｏｉｓｅ，Ｉｄａｈｏ）から入手可能なＫｉｎＥｘＡ（登録商標）（動態排除アッセイ）アッセイも使用することが可能である。

【０１５５】

「標識」および「検出可能な標識」は、例えば、抗体および分析物などの特異的結合対のメンバー間での反応を検出可能にするために、抗体または分析物などの特異的結合パートナーに結合した部分を意味し、そのように標識された特異的結合パートナー、例えば抗体および分析物は「検出可能に標識された」と呼ばれる。したがって、本明細書において使用される「標識された結合タンパク質」という用語は、結合タンパク質の同定を与える標識が取り込まれたタンパク質を表す。一実施形態において、標識は、視覚または計測手

段によって検出可能な信号を生成することができる、検出可能なマーカーであり、例えば、放射性標識されたアミノ酸の取り込み、または印を付けたアビジン（例えば、光学的方法または比色分析法によって検出することができる、蛍光マーカーまたは酵素活性を含有するストレプトアビジン）によって検出することができるビオチン部分のポリペプチドへの付着である。ポリペプチド用の標識の例には、以下の放射性同位体または放射性核種（例えば、^{3}Ｈ、^{14}Ｃ、^{35}Ｓ、^{90}Ｙ、^{99}Ｔｃ、^{111}Ｉｎ、^{125}Ｉ、^{131}Ｉ、^{177}Ｌｕ、^{166}Ｈｏまたは^{153}Ｓｍ）；色原体、蛍光標識（例えば、ＦＩＴＣ、ローダミン、ランタニドリン光体）；酵素的標識（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、ルシフェラーゼ、アルカリホスファターゼ）；化学発光マーカー；ビオチニル基、二次レポーターによって認識される所定のポリペプチドエピトープ（例えば、ロイシンジッパー対配列、二次抗体に対する結合部位、金属結合ドメイン、エピトープタグ）；およびガドリニウムキレートなどの磁気作用物質が含まれるが、これらに限定されない。イムノアッセイに一般に使用される標識の代表例には、光を生じる部分、例えばアクリジニウム化合物および蛍光を生じる部分、例えばフルオレセインが含まれる。他の標識は本明細書に記載されている。この関連で、部分自体が検出可能に標識され得るが、さらに別の部分との反応後に検出可能にされ得る。「検出可能に標識された」の使用は、後者のタイプの検出可能な標識化を包含するものとする。

【０１５６】

「複合体」という用語は、第二の化学部分（治療剤または細胞毒性剤など）に化学的に連結された抗体などの結合タンパク質を表す。本明細書において、「作用物質」という用語は、化学的化合物、化学的化合物の混合物、生物学的高分子または生物由来物質から作製された抽出物を表記するために使用される。一実施形態において、治療剤または細胞毒性剤には、百日咳毒素、タキソール、サイトカラシンＢ、グラミシジンＤ、臭化エチジウム、エメチン、マイトマイシン、エトポシド、テノポシド、ビンクリスチン、ビンブラスチン、コルヒチン、ドキソルビシン、ダウノルビシン、ジヒドロキシアントラシンジオン、ミトキサントロン、ミトラマイシン、アクチノマイシンＤ、１－デヒドロテストステロン、グルココルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロールおよびピューロマイシンならびにこれらの類似体または相同体が含まれるが、これらに限定されるものではない。イムノアッセイとの関連において使用される場合、連結抗体は、検出抗体として使用される検出可能に標識された抗体であってよい。

【０１５７】

本明細書において使用される「結晶」および「結晶化された」という用語は、結晶の形態で存在する結合タンパク質（例えば、抗体）またはその抗原結合部分を表す。結晶は、物質の固体状態の一形態であり、これは、非晶質の固体状態または液体の結晶状態などの他の形態とは異なる。結晶は、原子、イオン、分子（例えば、抗体などのタンパク質）または分子集合体（例えば、抗原／抗体複合体）の規則的な反復する三次元配列から構成される。これらの三次元配列は、本分野においてよく理解されている特異的な数学的関係に従って整列されている。結晶中で反復されている基礎的単位または構築ブロックは、非対称単位と呼ばれる。所定の十分に整えられた結晶的対称性に合致する配置での非対称単位の反復は、結晶の「単位格子」を与える。すべての三次元中での規則的な転換による単位格子の反復は、結晶を与える。Ｇｉｅｇｅ，Ｒ．ａｎｄ Ｄｕｃｒｕｉｘ，Ａ．Ｂａｒｒｅｔｔ，Ｃｒｙｓｔａｌｌｉｚａｔｉｏｎ ｏｆ Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ ａｎｄ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ，ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈ，２ｎｄ ｅａ．，ｐｐ．２０１－１６，Ｏｘｆｏｒｄ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｐｒｅｓｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，（１９９９）を参照されたい。

【０１５８】

「ポリヌクレオチド」という用語は、２つまたはそれ以上のヌクレオチド（リボヌクレオチドもしくはデオキシヌクレオチドのいずれかまたはヌクレオチドのいずれかのタイプの修飾された形態）のポリマー形態を意味する。本用語は、ＤＮＡの一本鎖および二本鎖形態を含む。

【０１５９】
「単離されたポリペプチド」という用語は、（例えば、ゲノム、ｃＤＮＡもしくは合成起源またはこれらのいくつかの組合せの）ポリヌクレオチドを意味するものとし、その起源のために、「単離されたポリヌクレオチド」は、「単離されたポリヌクレオチド」が本来その中でともに見出されるポリヌクレオチドの全部または一部と会合していない、本来連結されていないポリヌクレオチドに作用可能に連結されている、またはより大きな配列の一部として本来存在しない、ことを意味する。
【０１６０】
「ベクター」という用語は、核酸分子に連結されている別の核酸を輸送することができる該核酸分子を表すものとする。ベクターの１つの種類は「プラスミド」であり、これは、その中にさらなるＤＮＡセグメントを連結し得る環状二本鎖ＤＮＡループを表す。ベクターの別の種類はウイルスベクターであり、ここで、追加のＤＮＡセグメントはウイルスゲノム中に連結され得る。ある種のベクターは、当該ベクターがその中に導入された宿主細胞中で自律的複製を行うことができる（例えば、細菌の複製起点を有する細菌ベクターおよびエピソーム哺乳動物ベクター）。他のベクター（例えば、非エピソーム哺乳動物ベクター）は、宿主細胞中へ導入されて、宿主細胞のゲノム中に組み込まれることが可能であり、これにより、宿主ゲノムとともに複製される。さらに、ある種のベクターは、それらが作用可能に連結されている遺伝子の発現を誘導することが可能である。このようなベクターは、本明細書において、「組み換え発現ベクター」（または単に、「発現ベクター」）と称される。一般に、組み換えＤＮＡ技術において有用な発現ベクターは、しばしば、プラスミドの形態である。プラスミドは、最も一般的に使用されるベクターの形態であるので、本明細書において、「プラスミド」および「ベクター」は互換的に使用され得る。しかしながら、実施形態は、均等な機能を果たす、ウイルスベクターなどの（例えば、複製欠損レトロウイルス、アデノウイルスおよびアデノ随伴ウイルス）発現ベクターのような他の形態を含む。
【０１６１】
「作用可能に連結された」という用語は、記載された成分をそれらを所期の様式で機能させることができる関係にある併置状態を表す。コード配列に対して「作用可能に連結された」制御配列は、制御配列と適合的な条件下で、コード配列の発現が達成されるように連結されている。「作用可能に連結された」配列は、目的の遺伝子と連続する発現調節配列および目的の遺伝子を調節するように、トランスにてまたは離れて作用する発現調節配列の両方を含む。本明細書において使用される「発現調節配列」という用語は、連結されているコード配列の発現およびプロセッシングに影響を与えるために必要であるポリヌクレオチド配列を表す。発現調節配列には、適切な転写開始、終結、プロモーターおよびエンハンサー配列；スプライシングおよびポリアデニル化シグナルなどの効率的なＲＮＡプロセッシングシグナル；細胞質ｍＲＮＡを安定化させる配列；翻訳効率を増強する配列（すなわち、Ｋｏｚａｋコンセンサス配列）；タンパク質の安定性を増強する配列；および所望であれば、タンパク質分泌を増強させる配列が含まれる。このような調節配列の性質は、宿主生物に応じて異なる。原核生物では、このような調節配列は、一般に、プロモーター、リボソーム結合部位および転写終結配列を含む。真核生物では、一般に、このような調節配列には、プロモーターおよび転写終結配列が含まれ得る。「調節配列」という用語は、その存在が発現およびプロセッシングに不可欠である成分を含むものとし、その存在が有利である追加の成分、例えば、リーダー配列および融合対配列も含むことが可能である。
【０１６２】
「形質転換」とは、外来ＤＮＡが宿主細胞に入るすべてのプロセスを表す。形質転換は、本分野で周知の様々な方法を用いて、自然の条件または人工の条件下で起こり得る。形質転換は、原核または真核宿主細胞中へ外来核酸配列を挿入するためのいずれかの公知の方法に依拠し得る。本方法は、形質転換されている宿主細胞に基づいて選択され、ウイルス感染、電気穿孔、リポフェションおよび粒子照射を含み得るが、これらに限定されない

。このような「形質転換された」細胞には、挿入されたＤＮＡが、自律的に複製するプラスミドとして、または宿主染色体の一部として、その中で複製することできる安定に形質転換された細胞が含まれる。これらには、挿入されたＤＮＡまたはＲＮＡを、限られた時間にわたって一過性に発現する細胞も含まれる。

【０１６３】

「組み換え宿主細胞」（または単に、「宿主細胞」）という用語は、外来ＤＮＡがその中に導入されている細胞を表すものとする。一実施形態において、宿主細胞は、例えば米国特許第７，２６２，０２８号に記載されている宿主細胞のように、２つまたはそれ以上の（例えば、複数の）、抗体をコードする核酸を含む。このような用語は、当該細胞を表すのみならず、このような細胞の子孫も表すものとする。突然変異または環境的な影響のために、後続の世代中にある種の修飾が生じ得るので、このような子孫は、実際には親細胞と同一でないことがあり得るが、本明細書において使用される「宿主細胞」という用語の範囲になお含まれる。一実施形態において、宿主細胞には、生物のいずれかの界から選択される原核および真核細胞が含まれる。別の実施形態において、真核細胞には、原生生物、真菌、植物および動物細胞が含まれる。別の実施形態において、宿主細胞には、原核細胞株Ｅ．コリ；哺乳動物細胞株ＣＨＯ、ＨＥＫ２９３、ＣＯＳ、ＮＳ０、ＳＰ２およびＰＥＲ．Ｃ６；昆虫細胞株Ｓｆ９および真菌細胞サッカロミセス・セレビシアエが含まれるが、これらに限定されるものではない。

【０１６４】

組み換えＤＮＡ、オリゴヌクレオチド合成および組織培養および形質転換（例えば、電気穿孔、リポフェクション）に対しては標準的な技術が使用され得る。酵素反応および精製技術は、製造業者の説明書に従って、または本分野で一般的に遂行されているように、または本明細書に記載されているように、実施され得る。一般に、先述の技術および手順は、本分野で周知の慣用的な方法に従い、ならびに本明細書を通じて引用および論述されている様々な一般的参考文献およびより具体的な参考文献中に記載されているように、実施し得る。例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋ ｅｔ ａｌ．Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ（２ｄ ｅｄ．，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ，Ｎ．Ｙ．（１９８９））を参照されたい。

【０１６５】

本分野において公知である「トランスジェニック生物」とは、導入遺伝子を含有する細胞を有する生物を表し、生物中に導入された導入遺伝子（または生物の子孫）は、生物中に自然に発現されていないポリペプチドを発現する。「導入遺伝子」とは、細胞のゲノム中に安定におよび作用可能に組み込まれているＤＮＡ構築物であり、この細胞からトランスジェニック生物が発達し、トランスジェニック生物の１つまたは複数の細胞種または組織中で、コードされた遺伝子産物の発現を誘導する。

【０１６６】

「制御する」または「調節する」という用語は互換的に使用され、本明細書において使用される場合、目的の分子の活性（例えば、サイトカインの生物学的活性）の変化または変更を表す。調節は、目的の分子の一定の活性または機能の規模の増加または減少であり得る。分子の典型的な活性および機能には、結合特性、酵素活性、細胞受容体活性化およびシグナル伝達が含まれるが、これらに限定されない。

【０１６７】

これに対応して、「調節物質」という用語は、目的の分子の活性または機能（例えば、サイトカインの生物学的活性）を変化または変更させることが可能な化合物である。例えば、調節物質は、調節物質の不存在下で観察される活性または機能の規模と比べて、分子のある種の活性または機能の規模の増加または減少を引き起こし得る。ある種の実施形態において、調節物質は、分子の少なくとも１つの活性または機能の規模を減少させる阻害剤である。典型的な阻害剤には、タンパク質、ペプチド、抗体、ペプチバディ、炭水化物または小有機分子が含まれるが、これらに限定されるものではない。ペプチバディは、例

えば、ＷＯ０１／８３５２５に記載されている。

【０１６８】

「アゴニスト」という用語は、目的分子と接触したときに、アゴニストの不存在下で観察される活性または機能の規模と比べて、分子のある種の活性または機能の規模の増加を引き起こす調節物質を表す。興味深い特定のアゴニストには、ポリペプチド、核酸、炭水化物または抗原に結合する他のすべての分子が含まれるが、これらに限定されるものではない。

【０１６９】

「アンタゴニスト」または「阻害剤」という用語は、目的分子と接触したときに、アンタゴニストの不存在下で観察される活性または機能の規模と比べて、分子のある種の活性または機能の規模の減少を引き起こす調節物質を表す。興味深い具体的なアンタゴニストには、抗原の生物学的または免疫学的活性を遮断または調節するアンタゴニストが含まれる。抗原のアンタゴニストおよび阻害剤には、タンパク質、核酸、炭水化物または抗原に結合する他のすべての分子が含まれ得るが、これらに限定されるものではない。

【０１７０】

本明細書において使用される「有効量」という用語は、疾患もしくはその１つもしくはそれ以上の症候の重度および／または持続時間を低下もしくは軽減し、疾患の進行を抑制し、疾患の退行を引き起こし、疾患に伴う１つもしくはそれ以上の症候の再発、発達、発症もしくは進行を予防し、疾患を検出し、または別の療法（例えば、予防的または治療的剤）の予防的または治療的効果を増強もしくは改善するのに十分である療法の量を表す。

【０１７１】

「患者」および「対象」は、霊長類（例えば、ヒト、サルおよびチンパンジー）、非霊長類（例えば、ウシ、ブタ、ラクダ、ラマ、ウマ、ヤギ、ウサギ、ヒツジ、ハムスター、モルモット、ネコ、イヌ、ラット、マウス、クジラ）を含む哺乳動物、鳥（例えば、アヒルまたはガチョウ）およびサメなどの動物を表すために本明細書において互換的に使用され得る。好ましくは、患者または対象は、疾患、障害もしくは状態について治療もしくは評価されているヒト、疾患、障害もしくは状態のリスクがあるヒト、疾患、障害もしくは状態を有するヒトおよび／または疾患、障害もしくは状態について治療されているヒトなどのヒトである。

【０１７２】

本明細書で使用される「試料」という用語は、最も広義で使用される。本明細書において使用される「生物学的試料」は、生物または生物であったものから得られた物質のいずれかの量を含むが、これらに限定されない。このような生物には、ヒト、マウス、ラット、サル、イヌ、ウサギおよびその他の動物が含まれるが、これらに限定されない。このような物質には、血液（例えば、全血）、血漿、血清、尿、羊水、滑液、内皮細胞、白血球、単球、他の細胞、臓器、組織、骨髄、リンパ節および脾臓が含まれるが、これらに限定されない。

【０１７３】

「成分（ｃｏｍｐｏｎｅｎｔ）」、「複数の成分（ｃｏｍｐｏｎｅｎｔｓ）」および「少なくとも１つの成分」は、本明細書に記載されている方法または本分野において知られている他の方法による、患者の尿、血清または血漿試料などの試験試料のアッセイ用のキット中に含めることが可能である捕捉抗体、検出または連結抗体、対照、較正物質、一連の較正物質、感受性パネル、容器、緩衝液、希釈液、塩、酵素、酵素の補因子、検出試薬、前処理試薬／溶液、基質（例えば、溶液として）、停止溶液などを一般に表す。したがって、本開示との関連で、「少なくとも１つの成分」、「成分（ｃｏｍｐｏｎｅｎｔ）」および「複数の成分（ｃｏｍｐｏｎｅｎｔｓ）」は、抗分析物（例えば、抗ポリペプチド）抗体との結合などにより固体支持体上に場合によって固定化されたポリペプチドなどの分析物を含む組成物などの上記のポリペプチドまたは他の分析物を含み得る。いくつかの成分は、溶液中に存在するまたはアッセイで使用するための再構成用に凍結乾燥させることが可能である。

【０１７４】
「対照」は、分析物を含まない（「陰性対照」）または分析物を含む（「陽性対照」）ことが知られている組成物を表す。陽性対照は、既知の濃度の分析物を含み得る。「対照」、「陽性対照」および「較正物質」は、既知の濃度の分析物を含む組成物を表すために本明細書において互換的に使用され得る。「陽性対照」は、アッセイ性能特性を確立するために使用することが可能であり、試薬（例えば、分析物）の完全性の有用な指標である。
【０１７５】
「所定のカットオフ」および「所定のレベル」は、所定のカットオフ／レベルに対してアッセイの結果を比較することにより診断／予後診断／治療的効力の結果を評価するために使用されるアッセイのカットオフ値を一般に表し、所定のカットオフ／レベルは様々な臨床的パラメーター（例えば、疾患の重症度、進行／非進行／改善など）にすでにつながっておりまたは関連している。本開示は例示的な所定のレベルを提供し得るが、カットオフ値はイムノアッセイの性質（例えば、使用される抗体など）に応じて様々となり得ることが周知である。さらに、本明細書における開示を他のイムノアッセイに適合させて、本開示を基礎とする他のイムノアッセイについてのイムノアッセイ特異的なカットオフ値を得ることは、当業者の通常の技術の範囲内に十分にある。所定のカットオフ／レベルの正確な値はアッセイ間で様々となり得るが、（もしあれば）本明細書に記載されている相関は一般に適用可能であるはずである。
【０１７６】
本明細書に記載されている診断アッセイにおいて使用される「前処理試薬」、例えば、溶解、沈殿および／または可溶化試薬は、あらゆる細胞を溶解するものおよび／または試験試料中に存在するあらゆる分析物を可溶化するものである。前処理は、本明細書でさらに記載されるように、すべての試料に必要というわけでない。とりわけ、分析物（例えば、目的のポリペプチド）の可溶化は、試料中に存在するあらゆる内在性結合タンパク質からの分析物の放出を伴い得る。前処理試薬は均一（分離ステップを必要としない）または不均一（分離ステップを必要とする）であり得る。不均一前処理試薬を使用すると、アッセイの次のステップに進行する前に任意の沈殿した分析物結合タンパク質は試験試料から除去される。
【０１７７】
本明細書に記載されているイムノアッセイおよびキットとの関連で「品質管理試薬」には、較正物質、対照および感受性パネルが含まれるが、これらに限定されない。「較正物質」または「標準物質」は、抗体または分析物などの分析物の濃度を内挿するための較正（標準）曲線を確立するために典型的に（例えば複数など、１つまたは複数）使用される。あるいは、所定の陽性／陰性カットオフ近くにある単一の較正物質を使用することが可能である。「感受性パネル」を含むように、複数の較正物質（すなわち、２つ以上の較正物質または様々な量の（複数の）較正物質）を組み合わせて使用することが可能である。
【０１７８】
「リスク」は、現在または将来のある時点で特定の事象が起こる可能性または確率を表す。「リスク層別」は、医師が、特定の疾患、障害または状態を発症する低度、中程度、高度または最も高度のリスクに患者を分類することを可能にする一連の既知の臨床的リスク因子を表す。
【０１７９】
特異的結合対（例えば、抗原（またはその断片）および抗体（またはその抗原反応性断片））のメンバー間の相互作用との関連で「特異的な」および「特異性」は、相互作用の選択的な反応性を表す。「に特異的に結合する」という語句および類縁の語句は、分析物（またはその断片）に特異的に結合し、他の実体に特異的に結合しない抗体（またはその抗原反応性断片）の能力を表す。
【０１８０】
「特異的結合パートナー」は、特異的結合対のメンバーである。特異的結合対は、化学

的または物理的な手段を介して互いに特異的に結合する２つの異なる分子を含む。したがって、一般的なイムノアッセイの抗原および抗体の特異的結合対に加えて、他の特異的結合対は、ビオチンおよびアビジン（またはストレプトアビジン）、炭水化物およびレクチン、相補的なヌクレオチド配列、エフェクターおよび受容体分子、補因子および酵素、酵素阻害剤および酵素などを含み得る。さらに、特異的結合対は、元の特異的結合メンバーの類似体、例えば、分析物類似体であるメンバーを含み得る。免疫反応性特異的結合メンバーには、単離または組み換えで産生された抗原、抗原断片およびモノクローナル抗体およびポリクローナル抗体を含む抗体ならびにその複合体、断片およびバリアント（バリアントの断片を含む）が含まれる。

【０１８１】

本明細書において使用される「バリアント」は、アミノ酸の付加（例えば、挿入）、欠失または保存的置換によってアミノ酸配列が所与のポリペプチド（例えば、ＩＬ－１８、ＢＮＰ、ＮＧＡＬもしくはＨＩＶポリペプチドまたは抗ポリペプチド抗体）と異なるが、所与のポリペプチドの生物活性を保持するポリペプチドを意味する（例えば、バリアントＩＬ－１８はＩＬ－１８との結合について抗ＩＬ－１８抗体と競合することができる）。アミノ酸の保存的置換、すなわち特性が類似する（例えば、親水性ならびに荷電領域の程度および分布）異なるアミノ酸とのアミノ酸の置き換えは、微小変化が典型的に関与すると本分野で認識されている。これらの微小変化は、本分野で理解されているように、アミノ酸のヒドロパシーインデックスを考慮することにより部分的に特定することが可能である（例えば、Ｋｙｔｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１５７：１０５－１３２（１９８２）参照）。アミノ酸のヒドロパシーインデックスは、この疎水性および荷電の考慮を基礎とする。ヒドロパシーインデックスの類似したアミノ酸を置換することが可能であり、これらのアミノ酸はタンパク質の機能を依然として保持することが本分野において知られている。一態様において、±２のヒドロパシーインデックスを有するアミノ酸が置換される。アミノ酸の親水性は、生物学的機能を保持するタンパク質となる置換を明らかにするために使用することも可能である。ペプチドとの関連でアミノ酸の親水性を考慮すると、抗原性および免疫原性とよく相関することが報告されている有用な尺度である、そのペプチドの最大の局所平均親水性の計算が可能となる（例えば、米国特許第４，５５４，１０１号参照）。本分野で理解されているように、類似した親水性値を有するアミノ酸の置換は、生物活性、例えば免疫原性を保持するペプチドをもたらし得る。一態様において、互いに±２以内の親水性値を有するアミノ酸を用いて置換が行われる。アミノ酸のヒドロパシーインデックスと疎水性値はどちらもそのアミノ酸の特定の側鎖によって影響を受ける。この観察に一致して、生物学的機能と適合するアミノ酸置換は、アミノ酸、特に、疎水性、親水性、荷電、サイズおよび他の特性によって明らかにされるこれらのアミノ酸の側鎖の相対的類似性に依存することが理解されている。「バリアント」は、タンパク質分解、リン酸化または他の翻訳後修飾などによって異なる形でプロセシングされているが、その生物活性または抗原反応性、例えばＩＬ－１８に結合する能力を保持するポリペプチドまたはその断片を示すために使用することも可能である。本明細書における「バリアント」の使用は、別段文脈上矛盾しない限り、バリアントの断片を包含するものとする。

【０１８２】

Ｉ．結合タンパク質の作製

１つまたは複数の標的に結合することが可能な二重可変ドメイン結合タンパク質およびこれを作製する方法が提供される。一実施形態において、結合タンパク質はポリペプチド鎖を含み、前記ポリペプチド鎖はＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎ（ＶＤ１は第一の可変ドメインであり、ＶＤ２は第二の可変ドメインであり、Ｃは定常ドメインであり、Ｘ１はアミノ酸またはポリペプチドを表し、Ｘ２はＦｃ領域を表し、ｎは０または１である。）を含む。結合タンパク質は、様々な技術を用いて作製することが可能である。発現ベクター、宿主細胞および結合タンパク質を作製する方法が提供される。

【０１８３】

Ａ．親モノクローナル抗体の作製

本明細書において提供される結合タンパク質の可変ドメインは、目的の抗原に結合することができるポリクローナルおよびｍＡｂなど、親抗体から取得することが可能である。これらの抗体は、天然に存在し得、または組み換え技術によって作製され得る。

【０１８４】

ｍＡｂは、ハイブリドーマ、組み換えおよびファージディスプレイ技術またはこれらの組合せの使用など、本分野で公知の多様な技術を用いて調製することが可能である。例えば、ｍＡｂは、本分野において公知であり、例えば、Ｈａｒｌｏｗ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，２ｎｄ ｅｄ．１９８８）；Ｈａｍｍｅｒｌｉｎｇ，ｅｔ ａｌ．，ｉｎ：Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｔ－ＣｅＩｌ Ｈｙｂｒｉｄｏｍａｓ ５６３－６８１（Ｅｌｓｅｖｉｅｒ，Ｎ．Ｙ．，１９８１）に教示されているものなど、ハイブリドーマ技術を用いて作製することが可能である。本明細書において使用される「モノクローナル抗体」という用語は、ハイブリドーマ技術を通じて産生された抗体に限定されない。「モノクローナル抗体」という用語は、あらゆる真核、原核またはファージクローンなど、単一のクローンに由来する抗体を表し、それが産生される方法によらない。ハイブリドーマは、実施例１において、以下に記載されているように、選択され、クローニングされ、頑強なハイブリドーマ増殖、高い抗体産生および所望の抗体特性など、所望の特性についてさらにスクリーニングされる。ハイブリドーマは、培養され、同系の動物中で、免疫系を欠く動物（例えば、ヌードマウス）中で、インビボで、または細胞培養中で、インビトロで増殖され得る。ハイブリドーマを選択し、クローニングし、増殖させる方法は、当業者に周知である。特定の実施形態において、ハイブリドーマはマウスハイブリドーマである。別の実施形態において、ハイブリドーマは、ラット、ヒツジ、ブタ、ヤギ、ウシまたはウマなど、非ヒト非マウス種の中で産生される。別の実施形態において、ハイブリドーマは、ヒト非分泌性骨髄腫が、特異的抗原に結合することが可能な抗体を発現するヒト細胞と融合されているヒトハイブリドーマである。

【０１８５】

また、組み換えｍＡｂは、米国特許第５，６２７，０５２号、ＰＣＴ公開ＷＯ９２／０２５５１およびＢａｂｃｏｃｋ，Ｊ．Ｓ．ｅｔ ａｌ．（１９９６）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９３：７８４３－７８４８に記載されているように、選択リンパ球抗体法（ＳＬＡＭ；ｓｅｌｅｃｔｅｄ ｌｙｍｐｈｏｃｙｔｅ ａｎｔｉｂｏｄｙ ｍｅｔｈｏｄ）として本分野で呼ばれている手法を用いて、単一の単離されたリンパ球から作製される。この方法では、目的の抗体を分泌する単一細胞、例えば、免疫された動物に由来するリンパ球が同定され、重鎖および軽鎖可変領域ｃＤＮＡが、逆転写酵素－ＰＣＲによって細胞から救出され、これらの可変領域は、次いで、ＣＯＳまたはＣＨＯ細胞などの哺乳動物宿主細胞中で、適切な免疫グロブリン定常領域（例えば、ヒト定常領域）に関連して発現することが可能である。増幅された免疫グロブリン配列で形質移入され、インビボで選択されたリンパ球に由来する宿主細胞は、次いで、例えば、目的の抗原に対する抗体を発現する細胞を単離するために、形質移入された細胞をパニングすることによって、インビトロで、さらに分析および選択を行うことが可能である。増幅された免疫グロブリン配列は、さらに、ＰＣＴ公開ＷＯ９７／２９１３１およびＰＣＴ公開ＷＯ００／５６７７２に記載されているものなど、インビトロでのアフィニティー成熟方法によるなど、インビトロで操作することが可能である。

【０１８６】

モノクローナル抗体は、目的の抗原を有するヒト免疫グロブリン遺伝子座のいくつかまたはすべてを含む非ヒト動物を免疫することによっても産生される。一実施形態において、非ヒト動物は、ＸＥＮＯＭＯＵＳＥトランスジェニックマウス（ヒト免疫グロブリン遺伝子座の巨大断片を含み、マウス抗体産生を欠失している改変されたマウス系統）である。例えば、Ｇｒｅｅｎ ｅｔ ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ ７：１３－２１

（１９９４）ならびに米国特許第５，９１６，７７１号、第５，９３９，５９８号、第５，９８５，６１５号、第５，９９８，２０９号、第６，０７５，１８１号、第６，０９１，００１号、第６，１１４，５９８号および第６，１３０，３６４号を参照されたい。１９９１年７月２５日に公開されたＷＯ９１／１０７４１、１９９４年２月３日に公開されたＷＯ９４／０２６０２、ともに１９９６年１０月３１日に公開されたＷＯ９６／３４０９６およびＷＯ９６／３３７３５、１９９８年４月２３日に公開されたＷＯ９８／１６６５４、１９９８年６月１１日に公開されたＷＯ９８／２４８９３、１９９８年１１月１２日に公開されたＷＯ９８／５０４３３、１９９９年９月１０日に公開されたＷＯ９９／４５０３１、１９９９年１０月２１日に公開されたＷＯ９９／５３０４９、２０００年２月２４日に公開されたＷＯ　００　０９５６０および２０００年６月２９日に公開されたＷＯ００／０３７５０４も参照されたい。ＸＥＮＯＭＯＵＳＥトランスジェニックマウスは、完全なヒト抗体の成人様ヒトレパートリーを産生し、抗原特異的ヒトモノクローナル抗体を生成する。ＸＥＮＯＭＯＵＳＥトランスジェニックマウスは、ヒト重鎖遺伝子座およびｘ軽鎖遺伝子座のメガ塩基サイズの生殖系列配置ＹＡＣ断片の導入を通じて、ヒト抗体レパートリーの約８０％を含有する。Ｍｅｎｄｅｚ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ　Ｇｅｎｅｔｉｃｓ　１５：１４６－１５６（１９９７）、Ｇｒｅｅｎ　ａｎｄ　Ｊａｋｏｂｏｖｉｔｓ　Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１８８：４８３－４９５（１９９８）を参照されたい。

【０１８７】

親抗体を作製するために、インビトロ法も使用することが可能であり、抗体ライブラリーは、所望の結合特異性を有する抗体を同定するためにスクリーニングされる。組み換え抗体ライブラリーのこのようなスクリーニングの方法は、本分野において周知であり、例えば、Ｌａｄｎｅｒ　ｅｔ　ａｌ．米国特許第５，２２３，４０９号；Ｋａｎｇ　ｅｔ　ａｌ．ＰＣＴ公開ＷＯ９２／１８６１９；Ｄｏｗｅｒ　ｅｔ　ａｌ．ＰＣＴ公開ＷＯ９１／１７２７１；Ｗｉｎｔｅｒ　ｅｔ　ａｌ．ＰＣＴ公開ＷＯ９２／２０７９１；Ｍａｒｋｌａｎｄ　ｅｔ　ａｌ．ＰＣＴ公開ＷＯ９２／１５６７９；Ｂｒｅｉｔｌｉｎｇ　ｅｔ　ａｌ．ＰＣＴ公開ＷＯ９３／０１２８８；ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙ　ｅｔ　ａｌ．ＰＣＴ公開ＷＯ９２／０１０４７；Ｇａｒｒａｒｄ　ｅｔ　ａｌ．ＰＣＴ公開ＷＯ９２／０９６９０；Ｆｕｃｈｓ　ｅｔ　ａｌ．（１９９１）Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　９：１３７０－１３７２；Ｈａｙ　ｅｔ　ａｌ．（１９９２）Ｈｕｍ　Ａｎｔｉｂｏｄ　Ｈｙｂｒｉｄｏｍａｓ　３：８１－８５；Ｈｕｓｅ　ｅｔ　ａｌ．（１９８９）Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４６：１２７５－１２８１；ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ（１９９０）３４８：５５２－５５４；Ｇｒｉｆｆｉｔｈｓ　ｅｔ　ａｌ．（１９９３）ＥＭＢＯ　Ｊ　１２：７２５－７３４；Ｈａｗｋｉｎｓ　ｅｔ　ａｌ．（１９９２）Ｊ　Ｍｏｌ　Ｂｉｏｌ　２２６：８８９－　８９６；Ｃｌａｃｋｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．（１９９１）Ｎａｔｕｒｅ　３５２：６２４－６２８；Ｇｒａｍ　ｅｔ　ａｌ．（１９９２）ＰＮＡＳ　８９：３５７６－３５８０；Ｇａｒｒａｄ　ｅｔ　ａｌ．（１９９１）Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　９：１３７３－１３７７；Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ　ｅｔ　ａｌ．（１９９１）Ｎｕｃ　Ａｃｉｄ　Ｒｅｓ　１９：４１３３－４１３７；およびＢａｒｂａｓ　ｅｔ　ａｌ（１９９１）ＰＮＡＳ　８８：７９７８－７９８２、米国特許出願公開第２００３０１８６３７４号およびＰＣＴ公開ＷＯ９７／２９１３１に記載されている方法が含まれる。

【０１８８】

親抗体は、本分野で公知の様々なファージディスプレイ法を用いて作製することも可能である。ファージディスプレイ法では、機能的抗体ドメインは、これらをコードしているポリヌクレオチド配列を担持するファージ粒子の表面上にディスプレイされる。特に、このようなファージは、レパートリーまたはコンビナトリアル抗体ライブラリー（例えば、ヒトまたはマウス）から発現される抗原結合ドメインをディスプレイするために使用することが可能である。目的の抗原に結合する抗原結合ドメインを発現するファージは、抗原を用いて、例えば、標識された抗原または固体表面もしくはビーズに結合もしくは捕捉された抗原を用いて、選択または同定することが可能である。これらの方法で使用されるフ

ァージは、典型的には、ファージ遺伝子ＩＩＩまたは遺伝子ＶＩＩＩタンパク質のいずれかに組み換え的に融合されたＦａｂ、Ｆｖまたはジスルフィドで安定化されたＦｖ抗体ドメインとともにファージから発現されたｆｄおよびＭ１３結合ドメインを含む糸状ファージである。ファージディスプレイ法の例には、Ｂｒｉｎｋｍａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ１８２：４１－５０（１９９５）；Ａｍｅｓ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ １８４：１７７－１８６（１９９５）；Ｋｅｔｔｌｅｂｏｒｏｕｇｈ ｅｔ ａｌ．，Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２４：９５２－９５８（１９９４）；Ｐｅｒｓｉｃ ｅｔ ａｌ．，Ｇｅｎｅ １８７ ９－１８（１９９７）；Ｂｕｒｔｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ａｄｖａｎｃｅｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ ５７：１９１－２８０（１９９４）；ＰＣＴ出願ＰＣＴ／ＧＢ９１／０１１３４；ＰＣＴ公開ＷＯ９０／０２８０９；ＷＯ９１／１０７３７；ＷＯ９２／０１０４７；ＷＯ９２／１８６１９；ＷＯ９３／１１２３６；ＷＯ９５／１５９８２；ＷＯ９５／２０４０１；ならびに米国特許第５，６９８，４２６号；第５，２２３，４０９号；第５，４０３，４８４号；第５，５８０，７１７号；第５，４２７，９０８号；第５，７５０，７５３号；第５，８２１，０４７号；第５，５７１，６９８号；第５，４２７，９０８号；第５，５１６，６３７号；第５，７８０，２２５号；第５，６５８，７２７号；第５，７３３，７４３号および第５，９６９，１０８号に開示されているものが含まれる。

【０１８９】

本明細書において参考文献に記載されているように、ファージ選択後、ヒト抗体または他の所望されるすべての抗原結合断片を含む完全な抗体を作製するために、ファージから得た抗体コード領域を単離および使用し、例えば、以下に詳述されているように、哺乳動物細胞、昆虫細胞、植物細胞、酵母および細菌など、あらゆる所望の宿主中で発現させることが可能である。例えば、ＰＣＴ公開ＷＯ９２／２２３２４；Ｍｕｌｌｉｎａｘ ｅｔ ａｌ．，ＢｉｏＴｅｃｈｎｉｑｕｅｓ １２（６）：８６４－８６９（１９９２）；およびＳａｗａｉ ｅｔ ａｌ．，ＡＪＲＩ ３４：２６－３４（１９９５）；およびＢｅｔｔｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４０：１０４１－１０４３（１９８８）に開示されている方法などの本分野で公知の方法を用いて、Ｆａｂ、Ｆａｂ’およびＦ（ａｂ’）２断片を組み換え的に産生するための技術も使用することが可能である。一本鎖Ｆｖおよび抗体を作製するために使用することが可能な技術の例には、米国特許第４，９４６，７７８号および第５，２５８，４９８号；Ｈｕｓｔｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ ２０３：４６－８８（１９９１）；Ｓｈｕ ｅｔ ａｌ．，ＰＮＡＳ ９０：７９９５－７９９９（１９９３）；ならびにＳｋｅｒｒａ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４０：１０３８－１０４０（１９８８）に記載されているものが含まれる。

【０１９０】

ファージディスプレイによる組み換え抗体ライブラリーのスクリーニングに代えて、巨大なコンビナトリアルライブラリーをスクリーニングするための本分野で公知の他の方法を、親抗体の同定のために適用することが可能である。代替的発現系の１つの種類は、ＳｚｏｓｔａｋおよびＲｏｂｅｒｔｓによるＰＣＴ公開ＷＯ９８／３１７００ならびにＲｏｂｅｒｔｓ，Ｒ．Ｗ．ａｎｄ Ｓｚｏｓｔａｋ，Ｊ．Ｗ．（１９９７）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９４，１２２９７－１２３０２に記載されているような、組み換え抗体ライブラリーがＲＮＡ－タンパク質融合物として発現されるものである。この系において、ピューロマイシン、ペプチジルアクセプター抗生物質をそれらの３’末端に担持する合成ｍＲＮＡのインビトロ翻訳によって、ｍＲＮＡおよびこれがコードするペプチドまたはタンパク質の間に共有結合的融合物が作製される。したがって、特異的なｍＲＮＡは、コードされているペプチドまたはタンパク質、例えば抗体またはその一部の特性（抗体またはその一部の、二重特異性抗原への結合など）に基づいて、ｍＲＮＡの複雑な混合物（例えば、コンビナトリアルライブラリー）から濃縮することが可能である。このようなライブラリーのスクリーニングから回収された、抗体またはその一部をコードする核酸配列は、本明細書に記載されているような組み換え手段によって（例えば、哺乳

動物宿主細胞中で）発現されることが可能であり、さらに、最初に選択された配列中に変異が導入されているｍＲＮＡ－ペプチド融合物のスクリーニングのさらなるラウンドによって、または本明細書に記載されているように、組み換え抗体のインビトロでの親和性成熟のためのその他の方法によって、さらなる親和性成熟に供することが可能である。

【０１９１】

別のアプローチにおいて、親抗体は、本分野で公知の酵母ディスプレイ法を用いて作製することも可能である。酵母ディスプレイ法では、抗体ドメインを酵母細胞壁に繋留し、これらを酵母の表面上にディスプレイするために、遺伝学的な方法が使用される。特に、このような酵母は、レパートリーまたはコンビナトリアル抗体ライブラリー（例えば、ヒトまたはマウス）から発現される抗原結合ドメインをディスプレイするために使用することが可能である。親抗体を作製するために使用することが可能な酵母ディスプレイ法の例には、Ｗｉｔｔｒｕｐ，ｅｔ　ａｌ．米国特許第６，６９９，６５８号に開示されているものが含まれる。

【０１９２】

本明細書に記載されている抗体は、ＣＤＲ移植されたおよびヒト化された親抗体を作製するために、さらに修飾を施すことが可能である。ＣＤＲ移植された親抗体は、ヒト抗体由来の重鎖および軽鎖可変領域配列を含み、V_Hおよび／またはV_LのＣＤＲ領域の１つまたは複数が、目的の抗原に結合することが可能なマウス抗体のＣＤＲ配列と置換される。あらゆるヒト抗体から得られるフレームワーク配列が、ＣＤＲ移植のためのテンプレートとしての役割を果たし得る。しかしながら、このようなフレームワーク上への直鎖の置換は、しばしば、抗原への結合親和性を若干喪失させる。元のマウス抗体に対して、ヒト抗体がより相同であるほど、ヒトフレームワークとマウスＣＤＲの組合せは、親和性を低下させ得るＣＤＲ中の歪みを導入する可能性がより低くなる。したがって、一実施形態において、ＣＤＲ以外のマウス可変フレームワークを置換するために選択されたヒト可変フレームワークは、マウス抗体可変領域フレームワークと少なくとも６５％の配列同一性を有する。一実施形態において、ＣＤＲを除くヒトおよびマウス可変領域は、少なくとも７０％の配列同一性を有する。特定の実施形態において、ＣＤＲを除くヒトおよびマウス可変領域は、少なくとも７５％の配列同一性を有する。別の実施形態において、ＣＤＲを除くヒトおよびマウス可変領域は、少なくとも８０％の配列同一性を有する。このような抗体を作製する方法は、本分野において公知である（ＥＰ２３９，４００；ＰＣＴ公開ＷＯ９１／０９９６７；米国特許第５，２２５，５３９号；米国特許第５，５３０，１０１号；および第５，５８５，０８９号参照）、ベニアリング（ｖｅｎｅｅｒｉｎｇ）またはリサーフェシング（ｒｅｓｕｒｆａｃｉｎｇ）（ＥＰ５９２，１０６；ＥＰ５１９，５９６；Ｐａｄｌａｎ，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　２８（４／５）：４８９－４９８（１９９１）；Ｓｔｕｄｎｉｃｋａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ　７（６）：８０５－８１４（１９９４）；Ｒｏｇｕｓｋａ　ｅｔ　ａｌ．，ＰＮＡＳ　９１：９６９－９７３（１９９４）），およびチェーンシャッフリング（米国特許第５，５６５，３５２号）；および抗イディオタイプ抗体。

【０１９３】

ヒト化抗体は、非ヒト種に由来する１つまたは複数の相補性決定領域（ＣＤＲ）と、ヒト免疫グロブリン分子由来のフレームワーク領域とを有する所望の抗原に結合する非ヒト種抗体から得られる抗体分子である。公知のヒトＩｇ配列は、開示されている。例えば、ｗｗｗ．ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖ／ｅｎｔｒｅｚ－／ｑｕｅｒｙ．ｆｃｇｉ；ｗｗｗ．ａｔｃｃ．ｏｒｇ／ｐｈａｇｅ／ｈｄｂ．ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ｓｃｉｑｕｅｓｔ．ｃｏｍ／；ｗｗｗ．ａｂｃａｍ．ｃｏｍ／；ｗｗｗ．ａｎｔｉｂｏｄｙｒｅｓｏｕｒｃｅ．ｃｏｍ／ｏｎｌｉｎｅｃｏｍｐ．ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ｐｕｂｌｉｃ．ｉａｓｔａｔｅ．ｅｄｕ／．ａｂｏｕｔ．ｐｅｄｒｏ／ｒｅｓｅａｒｃｈ＿ｔｏｏｌｓ．ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ｍｇｅｎ．ｕｎｉ－ｈｅｉｄｅｌｂｅｒｇ．ｄｅ／ＳＤ／ＩＴ／ＩＴ．ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ｗｈｆｒｅｅｍａｎ．ｃｏｍ／ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ／ＣＨ－０５／ｋｕｂｙ０５．ｈｔｍ；ｗｗｗ．ｌｉｂｒａｒｙ．ｔｈｉｎｋｑｕｅｓｔ．ｏｒｇ／１２４２９／Ｉｍ

mune／Antibody.html；www.hhmi.org／grants／lectures／1996／vlab／；www.path.cam.ac.uk／.about.mrc7／m－ikeimages.html；www.antibodyresource.com／；mcb.harvard.edu／BioLinks／Immunology.html.www.immunologylink.com／；pathbox.wustl.edu／.about.hcenter／index.－html；www.biotech.ufl.edu／.about.hcl／；www.pebio.com／pa／340913／340913.html－；www.nal.usda.gov／awic／pubs／antibody／；www.m.ehime－u.acjp／.about.yasuhito－／Elisa.html；www.biodesign.com／table.asp；www.icnet.uk／axp／facs／davies／lin－ks.html；www.biotech.ufl.edu／.about.fccl／protocol.html；www.isac－net.org／sites_geo.html；aximtl.imt.uni－marburg.de／.about.rek／AEP－Start.html；baserv.uci.kun.nl／.about.jraats／linksl.html；www.recab.uni－hd.de／immuno.bme.nwu.edu／；www.mrc－cpe.cam.ac.uk／imt－doc／pu－blic／INTRO.html；www.ibt.unam.mx／vir／V_mice.html；imgt.cnusc.fr：8104／；www.biochem.ucl.ac.uk／.about.martin／abs／index.html；antibody.bath.ac.uk／；abgen.cvm.tamu.edu／lab／wwwabgen.html；www.unizh.ch／.about.honegger／AHOseminar／Slide01.html；www.cryst.bbk.ac.uk／.about.ubcg07s／；www.nimr.mrc.ac.uk／CC／ccaewg／ccaewg.htm；www.path.cam.ac.uk／.about.mrc7／humanisation／TAHHP.html；www.ibt.unam.mx／vir／structure／stat_aim.html；www.biosci.missouri.edu／smithgp／index.html；www.cryst.bioc.cam.ac.uk／.abo－ut.fmolina／Web－pages／Pept／spottech.html；www.jerini.de／fr roducts.htm；www.patents.ibm.com／ibna.html。Kabat et al.，Sequences of Proteins of Immunological Interest，U.S.Dept.Health（１９８３）。このような導入された配列は、免疫原性を低下させるために、または結合、親和性、結合速度、解離速度、結合力、特異性、半減期もしくは本分野で公知の他のいずれかの適切な特性を減少、増強もしくは修飾するために使用することが可能である。

【０１９４】

ヒトフレームワーク領域中のフレームワーク残基は、抗原結合を変化させるために、例えば抗原結合を改善させるために、ＣＤＲドナー抗体由来の対応する残基で置換され得る。これらのフレームワーク置換は、本分野で周知の方法によって、例えば、抗原結合にとって重要なフレームワーク残基を同定するために、ＣＤＲとフレームワーク残基の相互作用をモデリングすることによって、および特定の位置における異常なフレームワーク残基を同定するための配列比較によって同定される。（例えば、Ｑｕｅｅｎ ｅｔ ａｌ．，米国特許第５，５８５，０８９号；Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３３２：３２３（１９８８）を参照されたい。）。三次元免疫グロブリンモデルが一般的に利用可能であり、当業者によく知られている。選択された候補免疫グロブリン配列が採り得る三次元立体構造を図式および表示するコンピュータプログラムを利用可能である。これらのディスプレイの検査は、候補免疫グロブリン配列の機能における残基の推定され

る役割の分析、すなわち、候補免疫グロブリンがその抗原に結合する能力に影響を与える残基の分析を可能とする。このようにして、ＦＲ残基は、所望される抗体特性（標的抗原に対して増加された親和性など）が達成されるように、コンセンサスおよび輸入配列から選択され、組み合わせることが可能である。一般に、ＣＤＲ残基は、抗原結合に影響を与えることに直接、および最も実質的に関与する。抗体は、Ｊｏｎｅｓ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３２１：５２２（１９８６）；Ｖｅｒｈｏｅｙｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２３９：１５３４（１９８８））、Ｓｉｍｓ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５１：２２９６（１９９３）；Ｃｈｏｔｈｉａ ａｎｄ Ｌｅｓｋ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１９６：９０１（１９８７）、Ｃａｒｔｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．８９：４２８５（１９９２）；Ｐｒｅｓｔａ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５１：２６２３（１９９３）、Ｐａｄｌａｎ，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ ２８（４／５）：４８９－４９８（１９９１）；Ｓｔｕｄｎｉｃｋａ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ ７（６）：８０５－８１４（１９９４）；Ｒｏｇｕｓｋａ．ｅｔ ａｌ．，ＰＮＡＳ ９１：９６９－９７３（１９９４）；ＰＣＴ公開ＷＯ９１／０９９６７，ＰＣＴ／：ＵＳ９８／１６２８０、ＵＳ９６／１８９７８、ＵＳ９１／０９６３０、ＵＳ９１／０５９３９、ＵＳ９４／０１２３４、ＧＢ８９／０１３３４、ＧＢ９１／０１１３４、ＧＢ９２／０１７５５；ＷＯ９０／１４４４３、ＷＯ９０／１４４２４、ＷＯ９０／１４４３０、ＥＰ２２９２４６、ＥＰ５９２，１０６；ＥＰ５１９，５９６、ＥＰ２３９，４００、米国特許第５，５６５，３３２号、第５，７２３．３２３号、第５，９７６，８６２号、第５，８２４，５１４号、第５，８１７，４８３号、第５８１４４７６号、第５７６３１９２号、第５７２３３２３号、第５，７６６８８６号、第５，７１４，３５２号、第６，２０４，０２３号、第６，１８０，３７０号、第５，６９３，７６２号、第５，５３０，１０１号、第５，５８５，０８９号、第５，２２５，５３９号；第４，８１６，５６７号に記載されているものなどの（但し、これらに限定されない。）、本分野で公知の様々な技術を用いてヒト化することが可能である。

【０１９５】

Ｂ．親モノクローナル抗体を選択するための基準

一実施形態において、ＤＶＤ－Ｉｇ分子において所望される少なくとも１つまたは複数の特性を有する親抗体が選択される。一実施形態において、所望の特性は、１つまたは複数の抗体パラメーターから選択される。別の実施形態において、抗体パラメーターは、抗原特異性、抗原に対する親和性、効力、生物学的機能、エピトープ認識、安定性、可溶性、生産効率、免疫原性、薬物動態、生物学的利用率、組織交差反応性またはオルソロガス抗原結合性である。

【０１９６】

Ｂ１．抗原に対する親和性

治療用ｍＡｂの所望の親和性は、抗原の性質および所望の治療的エンドポイントに依存し得る。一実施形態において、サイトカイン－サイトカイン受容体相互作用を遮断するとモノクローナル抗体は高い親和性を有し（Ｋｄ＝０．０１－０．５０ｐＭ）、したがって相互作用は通常高い親和性の相互作用である（例えば、＜ｐＭ－＜ｎＭの範囲）。このような場合、その標的に対するｍＡｂの親和性は、その受容体に対するサイトカイン（リガンド）の親和性と等しくまたはこれより良好であるはずである。その一方で、親和性が低い（＞ｎＭの範囲）ｍＡｂは、例えば、循環中の潜在的に病原性のあるタンパク質を排除する際に治療的に有効であり得、例えば、Ａ－βアミロイドの循環中の種に結合し、これを隔離し排除するモノクローナル抗体である。他の場合において、部位特異的突然変異導入によって既存の高親和性ｍＡｂの親和性を低減することまたはその標的に対する親和性が低いｍＡｂを使用することは、潜在的な副作用、例えば高親和性ｍＡｂがその意図する標的をすべて隔離／中和する可能性があることを回避するために使用することが可能であり、それによって、標的とされたタンパク質の（複数の）機能を完全に除去／排除する。この筋書において、低親和性ｍＡｂは、疾患の症状（病的または過剰産生レベル）に関与

する可能性がある標的の一部を隔離／中和し得、それによって、標的の一部がその正常な（複数の）生理的機能を果たし続けることを可能にする。したがって、Ｋｄを低減して用量を調整することおよび／または副作用を低減することが可能であり得る。親ｍＡｂの親和性は、細胞表面分子を適切に標的として所望の治療結果を達成することに役割を果たし得る。例えば、標的が、高密度で癌細胞上に、低密度で正常細胞上に発現している場合、低親和性ｍＡｂは、正常細胞より腫瘍細胞上で多数の標的に結合し、この結果ＡＤＣＣまたはＣＤＣを介して腫瘍細胞が排除され、したがって低親和性ｍＡｂは治療的に望ましい効果を有し得る。したがって、所望の親和性を有するｍＡｂを選択することは、可溶性標的と表面標的の両方で重要であり得る。

【０１９７】

そのリガンドとの相互作用後の受容体を通じたシグナル伝達は、受容体－リガンド相互作用の親和性に依存し得る。同様に、表面受容体に対するｍＡｂの親和性は、細胞内シグナル伝達の性質およびｍＡｂがアゴニストまたはアンタゴニストシグナルを送達し得るかどうかを決定できることが考えられる。ｍＡｂによって媒介されるシグナル伝達の、親和性を基礎とする性質は、その副作用プロファイルの影響を有し得る。したがって、治療用モノクローナル抗体の所望の親和性および所望の機能は、インビトロおよびインビボ実験によって注意深く決定される必要がある。

【０１９８】

結合タンパク質（例えば、抗体）の所望のＫｄは、所望の治療結果に応じて実験的に決定され得る。一実施形態において、（特定の抗原に対する親和性（Ｋｄ）が、同じ抗原に対するＤＶＤ－Ｉｇの所望の親和性と等しくまたはこれより良好である）親抗体が選択される。抗原結合親和性および動態は、Ｂｉａｃｏｒｅまたは別の類似の技術によって評価される。一実施形態において、各親抗体は、最大約10^{-7}Ｍ；最大約10^{-8}Ｍ；最大約10^{-9}Ｍ；最大約10^{-10}Ｍ；最大約10^{-11}Ｍ；最大約10^{-12}Ｍ；または最大10^{-13}Ｍの、その抗原に対する解離定数（Ｋｄ）を有する。ＶＤ１が得られる第一の親抗体およびＶＤ２が得られる第二の親抗体は、それぞれの抗原に対する類似したまたは異なる親和性（K_D）を有し得る。各親抗体は、表面プラズモン共鳴によって測定された場合に、少なくとも約$10^{2}M^{-1}s^{-1}$；少なくとも約$10^{3}M^{-1}s^{-1}$；少なくとも約$10^{4}M^{-1}s^{-1}$；少なくとも約$10^{5}M^{-1}s^{-1}$；または少なくとも約$10^{6}M^{-1}s^{-1}$の、その抗原に対する結合速度定数（Ｋｏｎ）を有する。ＶＤ１が得られる第一の親抗体およびＶＤ２が得られる第二の親抗体は、それぞれの抗原に対する類似したまたは異なる結合速度定数（Ｋｏｎ）を有し得る。一実施形態において、各親抗体は、表面プラズモン共鳴によって測定された場合に、最大約$10^{-3}s^{-1}$；最大約$10^{-4}s^{-1}$；最大約$10^{-5}s^{-1}$；および最大約$10^{-6}s^{-1}$の、その抗原に対する解離速度定数（Ｋｏｆｆ）を有する。ＶＤ１が得られる第一の親抗体およびＶＤ２が得られる第二の親抗体は、それぞれの抗原に対する類似したまたは異なる解離速度定数（Ｋｏｆｆ）を有し得る。

【０１９９】

Ｂ２．効力

親モノクローナル抗体の所望の親和性／効力は、所望の治療結果に依存する。例えば、受容体－リガンド（Ｒ－Ｌ）相互作用では、親和性（ｋｄ）は、Ｒ－Ｌ　ｋｄと等しくまたはこれより良好である（ｐＭの範囲）。循環中の病的なタンパク質の単純な排除では、ｋｄは低いｎＭの範囲であり得、例えば、循環中のＡ－βペプチドの様々な種の排除である。さらに、ｋｄは、標的が同じエピトープを複数コピー発現するかどうかにも依存し、例えば、Ａβオリゴマー中の立体構造エピトープを標的とするｍＡｂである。

【０２００】

ＶＤＩおよびＶＤ２が同じ抗原であるが別個のエピトープに結合する場合、ＤＶＤ－Ｉｇは、同じ抗原について４つの結合部位を含有し、したがって、ＤＶＤ－Ｉｇの結合力が増加し、それにより見かけのｋｄが増加している。一実施形態において、ＤＶＤ－Ｉｇにおいて所望されるものと等しくまたはこれより低いＫｄを有する親抗体が選択される。親

ｍＡｂの親和性の考慮は、ＤＶＤ－Ｉｇが４つまたはそれ以上の同一の抗原結合部位を含有するかどうかにも依存し得る（すなわち、単一のｍＡｂ由来のＤＶＤ－Ｉｇ）。この場合、見かけのｋｄは、結合力により、ｍＡｂより大きくなる。このようなＤＶＤ－Ｉｇは、表面受容体の架橋に使用され、中和効力を増加させ、病的なタンパク質の排除を増強することなどが可能である。

【０２０１】

一実施形態において、（特定の抗原に対する中和効力が、同じ抗原に対するＤＶＤ－Ｉｇの所望の中和潜在力と等しくまたはこれより良好である）親抗体が選択される。中和効力は、標的依存的バイオアッセイによって評価することが可能であり、このバイオアッセイにおいて、適当なタイプの細胞が標的刺激に反応して測定可能なシグナル（すなわち、増殖またはサイトカイン産生）を生じさせ、ｍＡｂによる標的中和が用量依存的な形でシグナルを低減し得る。

【０２０２】

Ｂ３．生物学的機能

モノクローナル抗体は、潜在的にいくつかの機能を果たすことができる。これらの機能のいくつかが表１に列挙されている。これらの機能は、インビトロアッセイ（例えば、細胞を基礎とするアッセイおよび生化学的アッセイ）とインビボ動物モデルの両方によって評価することが可能である。

【０２０３】

【表１】

表 1: 治療用抗体のいくつかの潜在的な適用例

標的(クラス)	作用機序(標的)
可溶性(サイトカイン、他)	活性の中和(例えば、サイトカイン) 排除の増強(例えば、Aβオリゴマー) 半減期の増加(例えば、GLP1)
細胞表面(受容体、他)	アゴニスト(例えば、GLP1R;EPOR など) アンタゴニスト(例えば、インテグリンなど) 細胞毒性(CD20 など)
タンパク質沈着物	排除/分解の増強(例えば、アミロイド沈着物であるAβプラーク)

【０２０４】

表１中で本明細書の実施例において記載されている別個の機能を有するｍＡｂは、所望の治療結果を達成するように選択することが可能である。２つまたはそれ以上の選択された親モノクローナル抗体は、次いで、単一のＤＶＤ－Ｉｇ分子中で２つの別個の機能を果たすためにＤＶＤ－Ｉｇフォーマットにおいて使用することが可能である。例えば、ＤＶＤ－Ｉｇは、特定のサイトカインの機能を中和する親ｍＡｂを選択し、病的なタンパク質の排除を増強する親ｍＡｂを選択することによって生成され得る。同様に、２つの異なる細胞表面受容体を認識する２つの親モノクローナル抗体（一方のｍＡｂは１つの受容体に対してアゴニスト機能を有し、他方のｍＡｂは異なる受容体に対してアンタゴニスト機能を有する）を選択することができる。各々別個の機能を有するこれら２つの選択されたモノクローナル抗体は、（単一分子中で、選択されたモノクローナル抗体の２つの別個の機能（アゴニストおよびアンタゴニスト）を有する）単一のＤＶＤ－Ｉｇ分子を構築するために使用することが可能である。同様に、（それぞれの受容体リガンド（例えば、ＥＧＦおよびＩＧＦ）の結合を各々遮断する）細胞表面受容体に対する２つのアンタゴニストモノクローナル抗体は、ＤＶＤ－Ｉｇフォーマットにおいて使用することが可能である。逆に言うと、アンタゴニスト抗受容体ｍＡｂ（例えば、抗ＥＧＦＲ）および中和性抗可溶性媒介物質（例えば、抗ＩＧＦ１／２）ｍＡｂは、ＤＶＤ－Ｉｇを作製するために選択することが可能である。

【０２０５】
Ｂ４．エピトープ認識
タンパク質の異なる領域は、異なる機能を果たし得る。例えば、サイトカインの特定の領域は、サイトカイン受容体と相互作用して受容体活性化を引き起こすが、タンパク質の他の領域は、サイトカインの安定化に必要であり得る。この場合において、サイトカイン上の（複数の）受容体相互作用領域に特異的に結合するｍＡｂを選択し、それによってサイトカイン－受容体相互作用を遮断することができる。いくつかの場合、例えば複数のリガンドに結合する特定のケモカイン受容体において、１つのリガンドのみと相互作用するエピトープ（ケモカイン受容体上の領域）に結合するｍＡｂが選択され得る。他の場合において、モノクローナル抗体は、タンパク質の生理機能に直接関与しない標的上のエピトープに結合し得るが、ｍＡｂとこれらの領域の結合は、生理機能に干渉し（立体障害）またはタンパク質が機能できないようにタンパク質の立体構造を変化させ得る（（リガンドが結合しないように受容体の立体構造を変化させる）複数のリガンドを有する受容体に対するｍＡｂ）。サイトカインとその受容体の結合を遮断しないがシグナル伝達を遮断する抗サイトカインモノクローナル抗体も同定されている（例えば、抗ＩＬ－１８ｍＡｂである１２５－２Ｈ）。
【０２０６】
エピトープおよびｍＡｂ機能の例には、受容体－リガンド（Ｒ－Ｌ）相互作用の遮断（Ｒ－相互作用部位に結合する中和性ｍＡｂ）、Ｒ－結合が減少しまたはなくなる立体障害が含まれるが、これらに限定されない。Ａｂは、受容体結合部位以外の部位で標的に結合することができるが、立体構造変化を誘導し機能を消失させ（例えば、Ｘｏｌａｉｒ）、Ｒに結合するがシグナル伝達を遮断することにより、依然として受容体結合および標的の機能に干渉する。
【０２０７】
一実施形態において、親ｍＡｂは、最大限の効力で適当なエピトープを標的とすることが必要である。このようなエピトープはＤＶＤ－Ｉｇ中に保存されているべきである。ｍＡｂの結合エピトープは、共結晶構造分析、ｍＡｂ－抗原複合体の限定的タンパク質溶解プラス質量分析ペプチドマッピング（Ｌｅｇｒｏｓ Ｖ．ｅｔ ａｌ ２０００ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｃｉ．９：１００２－１０）、ファージディスプレイペプチドライブラリー（Ｏ’Ｃｏｎｎｏｒ ＫＨ ｅｔ ａｌ ２００５ Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｍｅｔｈｏｄｓ．２９９：２１－３５）ならびに突然変異導入（Ｗｕ Ｃ．ｅｔ ａｌ．２００３ Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ １７０：５５７１－７）を含むいくつかのアプローチによって決定することが可能である。
【０２０８】
Ｂ５．物理化学的特性および医薬的特性
抗体を用いた治療的処置は、（典型的に大きい分子量の結果として質量ベースの効力が低いことにより）しばしば数ｍｇ／ｋｇの高用量の投与をしばしば必要とする。患者遵守に適応させ、慢性疾患療法および外来患者治療に十分に向けさせるため、治療用ｍＡｂの皮下（ｓ．ｃ．）または筋内（ｉ．ｍ．）投与が望ましい。例えば、ｓ．ｃ．投与に最大限望ましい容量は約１．０ｍＬであり、したがって、＞１００ｍｇ／ｍＬの濃度が、用量あたりの注射の数を制限するために望ましい。一実施形態において、治療用抗体は一用量で投与される。しかし、このような製剤の開発は、タンパク質間相互作用（例えば、免疫原性リスクを潜在的に増加させる凝集）ならびにプロセシングおよび送達の間の制限（例えば、粘性）によって拘束される。結果として、臨床効力に必要である大きな量および関連する開発の拘束が、抗体製剤の潜在性の完全な利用および高用量の投与計画におけるｓ．ｃ．投与を制限している。タンパク質分子およびタンパク質溶液の物理化学的特性および医薬的特性、例えば、安定性、可溶性および粘性の特徴が最も重要であることが明らかである。
【０２０９】
Ｂ５．１．安定性

「安定な」抗体製剤は、この中の抗体が、保存時にこの物理的安定性および／または化学的安定性および／または生物活性を本質的に保持しているものである。安定性は、選択された期間で、選択された温度において測定することが可能である。一実施形態において、製剤中の抗体は、室温（約３０℃）もしくは４０℃で少なくとも１カ月間、および／または約２－８℃で少なくとも１年間、少なくとも２年間安定である。さらに、一実施形態において、製剤は、製剤の凍結（例えば、－７０℃に）および融解後に安定であり、これは以下で「凍結／融解サイクル」と呼ばれる。別の例において、「安定な」製剤は、タンパク質の約１０％未満および約５％未満が製剤中の凝集物として存在するものであり得る。

【０２１０】

インビトロで様々な温度において長い期間安定なＤＶＤ－Ｉｇが望ましい。インビトロで高い温度、例えば４０℃において２－４週間安定な親ｍＡｂを迅速にスクリーニングし、次いで安定性を評価することによって、これを達成することができる。２－８℃で保存する間、タンパク質は、少なくとも１２カ月間、例えば少なくとも２４カ月間の安定性を示す。安定性（単量体完全分子の％）は、陽イオン交換クロマトグラフィー、サイズ排除クロマトグラフィー、ＳＤＳ－ＰＡＧＥ、ならびに生物活性試験などの様々な技術を使用して評価することが可能である。共有結合および立体構造的修飾を分析するために使用され得る分析技術のより包括的なリストについて、Ｊｏｎｅｓ，Ａ．Ｊ．Ｓ．（１９９３）Ａｎａｌｙｔｉｃａｌ ｍｅｔｈｏｄｓ ｆｏｒ ｔｈｅ ａｓｓｅｓｓｍｅｎｔ ｏｆ ｐｒｏｔｅｉｎ ｆｏｒｍｕｌａｔｉｏｎｓ ａｎｄ ｄｅｌｉｖｅｒｙ ｓｙｓｔｅｍｓ．Ｉｎ：Ｃｌｅｌａｎｄ，Ｊ．Ｌ．；Ｌａｎｇｅｒ，Ｒ．，ｅｄｉｔｏｒｓ．Ｆｏｒｍｕｌａｔｉｏｎ ａｎｄ ｄｅｌｉｖｅｒｙ ｏｆ ｐｅｐｔｉｄｅｓ ａｎｄ ｐｒｏｔｅｉｎｓ，１ｓｔ ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｗａｓｈｉｎｇｔｏｎ，ＡＣＳ，ｐｇ．２２－４５；およびＰｅａｒｌｍａｎ，Ｒ．；Ｎｇｕｙｅｎ，Ｔ．Ｈ．（１９９０）Ａｎａｌｙｓｉｓ ｏｆ ｐｒｏｔｅｉｎ ｄｒｕｇｓ．Ｉｎ：Ｌｅｅ，Ｖ．Ｈ．，ｅｄｉｔｏｒ．Ｐｅｐｔｉｄｅ ａｎｄ ｐｒｏｔｅｉｎ ｄｒｕｇ ｄｅｌｉｖｅｒｙ，１ｓｔ ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，ｐｇ．２４７－３０１を参照されたい。

【０２１１】

不均一性および凝集形成：抗体の安定性は、製剤が、凝集物として存在するＧＭＰ抗体材料において約１０％未満、一実施形態において約５％未満、別の実施形態において約２％未満または一実施形態において０．５％から１．５％以下の範囲内を示し得るようなものであり得る。サイズ排除クロマトグラフィーは、タンパク質凝集物の検出において感度がよく、再現性があり非常に頑強な方法である。

【０２１２】

低い凝集レベルに加えて、抗体は、一実施形態において、化学的に安定でなければならない。化学的安定性は、イオン交換クロマトグラフィー（例えば、陽イオンまたは陰イオン交換クロマトグラフィー）、疎水性相互作用クロマトグラフィーまたは等電点電気泳動もしくはキャピラリー電気泳動などの他の方法によって決定され得る。例えば、抗体の化学的安定性は、２－８℃で少なくとも１２カ月の保存後に、保存試験前の抗体溶液と比較した場合に、陽イオン交換クロマトグラフィーにおいて非修飾抗体を表しているピークが、２０％以下、一実施形態において１０％以下または別の実施形態において５％以下増加し得るようなものであり得る。

【０２１３】

一実施形態において、親抗体は、構造的な完全性；正確なジスルフィド結合形成および正確なフォールディングを示す：抗体の二次または三次構造の変化による化学的不安定性は、抗体活性に影響し得る。例えば、抗体の活性によって示される安定性は、２－８℃で少なくとも１２カ月の保存後に、保存試験前の抗体溶液と比較した場合に、抗体の活性が、５０％以下、一実施形態において３０％以下もしくは１０％以下もまたは一実施形態において５％もしくは１％以下低下し得るようなものであり得る。適切な抗原結合アッセイ

は、抗体活性を決定するために使用することが可能である。

【０２１４】

Ｂ５．２．可溶性

ｍＡｂの「可溶性」は、正確にフォールディングされた単量体ＩｇＧの生産に相関する。したがって、ＩｇＧの可溶性は、ＨＰＬＣによって評価され得る。例えば、可溶性（単量体）ＩｇＧは、ＨＰＬＣクロマトグラフで単一ピークを生じるが、不溶性のもの（例えば、多量体および凝集したもの）は、複数のピークを生じる。当業者は、したがって、通常のＨＰＬＣ技術を使用してＩｇＧの可溶性の増大または低下を検出することができる。可溶性を分析するために使用され得る分析技術のより包括的なリストについて、（Ｊｏｎｅｓ，Ａ．Ｇ．Ｄｅｐ．Ｃｈｅｍ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｅｎｇ．，Ｕｎｉｖ．Ｃｏｌｌ．Ｌｏｎｄｏｎ，Ｌｏｎｄｏｎ，ＵＫ．Ｅｄｉｔｏｒ（ｓ）：Ｓｈａｍｌｏｕ，Ｐ．Ａｙａｚｉ．Ｐｒｏｃｅｓｓ．Ｓｏｌｉｄ－Ｌｉｑ．Ｓｕｓｐｅｎｓｉｏｎｓ（１９９３），９３－１１７．Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒ：Ｂｕｔｔｅｒｗｏｒｔｈ－Ｈｅｉｎｅｍａｎｎ，Ｏｘｆｏｒｄ，ＵＫ ａｎｄ Ｐｅａｒｌｍａｎ，Ｒｏｄｎｅｙ；Ｎｇｕｙｅｎ，Ｔｕｅ Ｈ，Ａｄｖａｎｃｅｓ ｉｎ Ｐａｒｅｎｔｅｒａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ（１９９０），４（Ｐｅｐｔ．Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ），２４７－３０１を参照されたい）。治療用ｍＡｂの可溶性は、十分な投与にしばしば必要とされる高濃度への製剤化にとって重要である。本明細書において概略を述べるように、＞１００ｍｇ／ｍＬの可溶性が、効率的な抗体投与に適応させるために必要とされ得る。例えば、抗体の可溶性は、初期の研究相において約５ｍｇ／ｍＬ以上、一実施形態において進行したプロセス科学段階で約２５ｍｇ／ｍＬ以上または一実施形態において約１００ｍｇ／ｍＬ以上または一実施形態において約１５０ｍｇ／ｍＬ以上であり得る。タンパク質分子の固有の特性がタンパク質溶液の物理化学的特性、例えば安定性、可溶性、粘性に重要であることは、当業者に明らかである。しかし、当業者は、幅広い様々な賦形剤が、最終的なタンパク質製剤の特徴に有益な影響を及ぼす添加剤として使用され得ることを理解する。これらの賦形剤は、（ｉ）液体溶媒、共溶媒（例えば、エタノールなどのアルコール）；（ｉｉ）緩衝剤（例えば、リン酸、酢酸、クエン酸、アミノ酸緩衝液）；（ｉｉｉ）糖および糖アルコール（例えば、スクロース、トレハロース、フルクトース、ラフィノース、マンニトール、ソルビトール、デキストラン）；（ｉｖ）界面活性剤（例えば、ポリソルベート２０、４０、６０、８０、ポロキサマー）；（ｖ）等張性修飾物質（例えば、ＮａＣｌなどの塩、糖、糖アルコール）；ならびに（ｖｉ）他（例えば、保存剤、キレート化剤、抗酸化剤、キレート化物質（例えば、ＥＤＴＡ）、生分解性ポリマー、担体分子（例えば、ＨＳＡ、ＰＥＧ）を含み得る。

【０２１５】

粘性は、抗体製造および抗体プロセシング（例えば、ダイアフィルトレーション／限外濾過）、充填－仕上げプロセス（ポンピング局面、濾過局面）ならびに送達局面（注入可能性、洗練された装置送達）に関して非常に重要なパラメーターである。低粘性は、高濃度を有する抗体の液体溶液を可能とする。このことは、同じ用量が小容量で投与され得ることを可能とする。小注射容量は、注射の感覚において痛みが少ない利点を備え、溶液は、患者における注射時に痛みを減らすために必ずしも等張性である必要はない。抗体溶液の粘性は、１００（１／ｓ）抗体溶液の剪断速度において粘性が、２００ｍＰａ ｓ未満であり、一実施形態において１２５ｍＰａ ｓ未満であり、別の実施形態において７０ｍＰａ ｓ未満であり、さらに別の実施形態において２５ｍＰａ ｓ未満でありまたはさらに１０ｍＰａ ｓ未満であるようなものであり得る。

【０２１６】

Ｂ５．３．生産効率

チャイニーズハムスター卵巣細胞（ＣＨＯ）などの哺乳動物細胞中で効率的に発現されるＤＶＤ－Ｉｇの生成は、一実施形態において、哺乳動物細胞中でそれ自体効率的に発現される２つの親モノクローナル抗体を必要とする。安定哺乳動物系統（すなわち、ＣＨＯ）からの生産収率は、約０．５ｇ／Ｌを上回り、一実施形態において約１ｇ／Ｌを上回り

、別の実施形態において約２－約５ｇ／Ｌまたはそれ以上の範囲であるべきである（Ｋｉｐｒｉｙａｎｏｖ ＳＭ，Ｌｉｔｔｌｅ Ｍ．１９９９ Ｍｏｌ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．１２：１７３－２０１；Ｃａｒｒｏｌｌ Ｓ，Ａｌ－Ｒｕｂｅａｉ Ｍ．２００４ Ｅｘｐｅｒｔ Ｏｐｉｎ Ｂｉｏｌ Ｔｈｅｒ．４：１８２１－９）。

【０２１７】

哺乳動物細胞中における抗体およびＩｇ融合タンパク質の生産は、いくつかの因子によって影響を受ける。強力なプロモーター、エンハンサーおよび選択マーカーの取り込みによる発現ベクターの工学的作製は、組み込まれたベクターコピーからの目的の遺伝子の転写を最大にすることができる。高レベルの遺伝子転写を許容するベクター組み込み部位の同定は、ベクターからのタンパク質発現を増大させることができる（Ｗｕｒｍ ｅｔ ａｌ，２００４，Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，２００４，Ｖｏｌ／Ｉｓｓ／Ｐｇ．２２／１１（１３９３－１３９８））。さらに、生産のレベルは、抗体の重鎖および軽鎖の比率ならびにタンパク質集合および分泌のプロセスにおける様々なステップによって影響される（Ｊｉａｎｇ ｅｔ ａｌ．２００６，Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ Ｐｒｏｇｒｅｓｓ，Ｊａｎ－Ｆｅｂ ２００６，ｖｏｌ．２２，ｎｏ．１，ｐ．３１３－８）。

【０２１８】

Ｂ６．免疫原性

治療用ｍＡｂの投与は、免疫応答の特定の発生（すなわち、治療用ｍＡｂに対する内在性抗体の形成）をもたらし得る。免疫原性を誘発する可能性がある潜在的な要素は、親モノクローナル抗体の選択の間に分析すべきであり、ＤＶＤ－Ｉｇ構築前に親モノクローナル抗体を最適化するために、このようなリスクを低減するステップをとることが可能である。マウス由来の抗体は、患者において高度に免疫原性であることが分かっている。マウス可変領域およびヒト定常領域からなるキメラ抗体の生成は、治療用抗体の免疫原性を低減する論理的な次のステップを提示する（Ｍｏｒｒｉｓｏｎ ａｎｄ Ｓｃｈｌｏｍ，１９９０）。あるいは、免疫原性は、Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，１９８８により治療用抗体について記載されているように、マウスＣＤＲ配列をヒト抗体フレームワークに移すこと（再成形／ＣＤＲ移植／ヒト化）によって低減することが可能である。別の方法は、「再表面化」または「ベニヤ化」と呼ばれ、げっ歯類可変軽および重ドメインから開始し、表面到達可能なフレームワークアミノ酸のみがヒトのものに変化しているが、ＣＤＲおよび埋まっているアミノ酸は親げっ歯類抗体由来のままである（Ｒｏｇｕｓｋａ ｅｔ ａｌ．，１９９６）。別のタイプのヒト化において、ＣＤＲ全体を移植する代わりに、１つの技術は、抗体とその標的の結合に関与するＣＤＲ残基のサブセットとして定義される「特異性決定領域」（ＳＤＲ）のみを移植する（Ｋａｓｈｍｉｒｉ ｅｔ ａｌ．，２００５）。これは、抗体－標的複合体の入手可能な三次元構造の分析または（どれが標的と相互作用するかを決定するための）抗体ＣＤＲ残基の突然変異分析によるＳＤＲの同定を必要とする。あるいは、完全なヒト抗体は、マウス、キメラまたはヒト化抗体と比較して低減された免疫原性を有し得る。

【０２１９】

治療用抗体の免疫原性を低減する別のアプローチは、免疫原性であることが予測されているある特定の配列の除去である。１つのアプローチにおいて、最初の生成物をヒトにおいて生物学的に試験し、受け入れられないほど免疫原性であることが分かった後に、Ｂ細胞エピトープがマッピングされ、次いで免疫検出を回避するために変化され得る。別のアプローチは、潜在的なＴ細胞エピトープを予測し除去する方法を使用する。ＭＨＣタンパク質に結合する潜在性を有する生物学的治療薬のペプチド配列をスキャンおよび同定する計算方法が開発されている（Ｄｅｓｍｅｔ ｅｔ ａｌ．，２００５）。あるいは、ヒト樹状細胞を基礎とする方法は、潜在的なタンパク質アレルゲン中のＣＤ４$^{+}$Ｔ細胞エピトープを同定するために使用することが可能である（Ｓｔｉｃｋｌｅｒ ｅｔ ａｌ．，２００５；Ｓ．Ｌ．Ｍｏｒｒｉｓｏｎ ａｎｄ Ｊ．Ｓｃｈｌｏｍ，Ｉｍｐｏｒｔａｎｔ Ａｄｖ．Ｏｎｃｏｌ．（１９９０），ｐｐ．３－１８；Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ，Ｌ．，Ｃｌ

ａｒｋ，Ｍ．，Ｗａｌｄｍａｎｎ，Ｈ．ａｎｄ Ｗｉｎｔｅｒ，Ｇ．「Ｒｅｓｈａｐｉｎｇ ｈｕｍａｎ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ｆｏｒ ｔｈｅｒａｐｙ．」Ｎａｔｕｒｅ（１９８８）３３２：３２３－３２７；Ｒｏｇｕｓｋａ－Ｍ－Ａ，Ｐｅｄｅｒｓｅｎ－Ｊ－Ｔ，Ｈｅｎｒｙ－Ａ－Ｈ，Ｓｅａｒｌｅ－Ｓ－Ｍ，Ｒｏｊａ－Ｃ－Ｍ，Ａｖｅｒｙ－Ｂ，Ｈｏｆｆｅｅ－Ｍ，Ｃｏｏｋ－Ｓ，Ｌａｍｂｅｒｔ－Ｊ－Ｍ，Ｂｌａｔｔｌｅｒ－Ｗ－Ａ，Ｒｅｅｓ－Ａ－Ｒ，Ｇｕｉｌｄ－Ｂ－Ｃ．Ａ ｃｏｍｐａｒｉｓｏｎ ｏｆ ｔｗｏ ｍｕｒｉｎｅ ｍＡｂｓ ｈｕｍａｎｉｚｅｄ ｂｙ ＣＤＲ－ｇｒａｆｔｉｎｇ ａｎｄ ｖａｒｉａｂｌｅ ｄｏｍａｉｎ ｒｅｓｕｒｆａｃｉｎｇ．Ｐｒｏｔｅｉｎ ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ，｛Ｐｒｏｔｅｉｎ－Ｅｎｇ｝，１９９６，ｖｏｌ．９，ｐ．８９５－９０４；Ｋａｓｈｍｉｒｉ－Ｓｙｅｄ－Ｖ－Ｓ，Ｄｅ－Ｐａｓｃａｌｉｓ－Ｒｏｂｅｒｔｏ，Ｇｏｎｚａｌｅｓ－Ｎｏｒｅｅｎ－Ｒ，Ｓｃｈｌｏｍ－Ｊｅｆｆｒｅｙ．ＳＤＲ ｇｒａｆｔｉｎｇ－－ａ ｎｅｗ ａｐｐｒｏａｃｈ ｔｏ ａｎｔｉｂｏｄｙ ｈｕｍａｎｉｚａｔｉｏｎ．Ｍｅｔｈｏｄｓ（Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ Ｃａｌｉｆ．），｛Ｍｅｔｈｏｄｓ｝，Ｍａｙ ２００５，ｖｏｌ．３６，ｎｏ．１，ｐ．２５－３４；Ｄｅｓｍｅｔ－Ｊｏｈａｎ，Ｍｅｅｒｓｓｅｍａｎ－Ｇｅｅｒｔ，Ｂｏｕｔｏｎｎｅｔ－Ｎａｔｈａｌｉｅ，Ｐｌｅｔｉｎｃｋｘ－Ｊｕｒｇｅｎ，Ｄｅ－Ｃｌｅｒｃｑ－Ｋｒｉｓｔａ，Ｄｅｂｕｌｐａｅｐ－Ｍａｊａ，Ｂｒａｅｃｋｍａｎ－Ｔｅｓｓａ，Ｌａｓｔｅｒｓ－Ｉｇｎａｃｅ．Ａｎｃｈｏｒ ｐｒｏｆｉｌｅｓ ｏｆ ＨＬＡ－ｓｐｅｃｉｆｉｃ ｐｅｐｔｉｄｅｓ：ａｎａｌｙｓｉｓ ｂｙ ａ ｎｏｖｅｌ ａｆｆｉｎｉｔｙ ｓｃｏｒｉｎｇ ｍｅｔｈｏｄ ａｎｄ ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ ｖａｌｉｄａｔｉｏｎ．Ｐｒｏｔｅｉｎｓ，２００５，ｖｏｌ．５８，ｐ．５３－６９；Ｓｔｉｃｋｌｅｒ－Ｍ－Ｍ，Ｅｓｔｅｌｌ－Ｄ－Ａ，Ｈａｒｄｉｎｇ－Ｆ－Ａ．ＣＤ４＋ Ｔ－ｃｅｌｌ ｅｐｉｔｏｐｅ ｄｅｔｅｒｍｉｎａｔｉｏｎ ｕｓｉｎｇ ｕｎｅｘｐｏｓｅｄ ｈｕｍａｎ ｄｏｎｏｒ ｐｅｒｉｐｈｅｒａｌ ｂｌｏｏｄ ｍｏｎｏｎｕｃｌｅａｒ ｃｅｌｌｓ．Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒａｐｙ ２０００，ｖｏｌ．２３，ｐ．６５４－６０）。

【０２２０】

Ｂ７．インビボ効力

所望のインビボ効力を有するＤＶＤ－Ｉｇ分子を生成するために、組み合わせて得られた場合に同様に所望のインビボ効力を有するｍＡｂを生成および選択することが重要である。しかし、いくつかの場合において、ＤＶＤ－Ｉｇは、２つの別々のｍＡｂを組み合わせて達成することができないインビボ効力を示し得る。例えば、ＤＶＤ－Ｉｇは、２つの標的を近接させることができ、このことは、２つの別々のｍＡｂを組み合わせて達成することができない活性につながる。さらなる望ましい生物学的機能は、Ｂ３節において本明細書に記載されている。ＤＶＤ－Ｉｇ分子において望ましい特徴を有する親抗体は、薬物動態ｔ$_{1/2}$；組織分布；可溶性対細胞表面標的；および標的濃度－可溶性／密度－表面などの因子に基づいて選択することが可能である。

【０２２１】

Ｂ８．インビボ組織分布

所望のインビボ組織分布を有するＤＶＤ－Ｉｇ分子を生成するために、一実施形態において、類似の所望のインビボ組織分布プロファイルを有する親ｍＡｂが選択されなければならない。あるいは、二重特異的標的化戦略の機構に基づいて、ある時には、組み合わせて得られた場合に同様に所望されるインビボ組織分布を有する親ｍＡｂを選択することが必要とされないことがある。例えば、ＤＶＤ－Ｉｇの場合において、１つの結合成分は、特定の部位へとＤＶＤ－Ｉｇを標的化し、それによって第二の結合成分が同じ標的部位へと移動する。例えば、ＤＶＤ－Ｉｇの一方の結合特異性は膵臓（島細胞）を標的とすることができ、他方の特異性は、ＧＬＰ１を膵臓へと移動させてインシュリンを誘導することができる。

【０２２２】

Ｂ９．アイソタイプ

アイソタイプ、エフェクター機能および循環半減期を含むがこれらに限定されない所望の特性を有するＤＶＤ－Ｉｇ分子を生成するために、一実施形態において、治療有用性および所望の治療的エンドポイントに応じて適当なＦｃエフェクター機能を有する親ｍＡｂが選択される。５つの主要な重鎖のクラスまたはアイソタイプが存在し、これらのいくつかは複数のサブタイプを有し、これらは抗体分子のエフェクター機能を決定する。これらのエフェクター機能は抗体分子のヒンジ領域、ＣＨ２およびＣＨ３ドメインにある。しかし、抗体分子の他の部分中の残基も同様にエフェクター機能に対する作用を有し得る。ヒンジ領域Ｆｃエフェクター機能には、（ｉ）抗体依存性細胞傷害、（ｉｉ）補体（Ｃｌｑ）結合、活性化および補体依存性細胞傷害（ＣＤＣ）、（ｉｉｉ）食作用／抗原－抗体複合体の排除ならびに（ｉｖ）いくつかの場合におけるサイトカイン放出が含まれる。抗体分子のこれらのＦｃエフェクター機能は、Ｆｃ領域と１組のクラス特異的細胞表面受容体との相互作用を通じて媒介される。ＩｇＧ１アイソタイプの抗体は最も活性であるが、ＩｇＧ２およびＩｇＧ４は、最小限のエフェクター機能を有するまたはエフェクター機能を有さない。ＩｇＧ抗体のエフェクター機能は、構造的に相同な細胞Ｆｃ受容体のタイプ（およびサブタイプ）（ＦｃｇＲ１、ＦｃｇＲＩＩおよびＦｃｇＲＩＩＩ）との相互作用を通じて媒介される。ＩｇＧ１のこれらのエフェクター機能は、（ＦｃｇＲおよびＣｌｑ結合に必要とされる）下方のヒンジ領域（例えば、Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ）中の特定のアミノ酸残基を変異させることによって除去することが可能である。Ｆｃ領域、特にＣＨ２－ＣＨ３ドメイン中のアミノ酸残基も、抗体分子の循環半減期を決定する。このＦｃ機能は、Ｆｃ領域と（酸性リソソームから一般循環へと戻る抗体分子の再循環に関与する）新生児Ｆｃ受容体（ＦｃＲｎ）の結合を通じて媒介される。

【０２２３】

ｍＡｂが活性または不活性アイソタイプを有するべきかどうかは、抗体について所望される治療的エンドポイントに依存する。アイソタイプの用法および所望の治療結果のいくつかの例が以下に列挙されている：

ａ）所望のエンドポイントが可溶性サイトカインの機能的中和である場合、不活性アイソタイプが使用され得る；

ｂ）所望の結果が病的なタンパク質の排除である場合、活性アイソタイプが使用され得る；

ｃ）所望の結果がタンパク質凝集物の排除である場合、活性アイソタイプが使用され得る；

ｄ）所望の結果が表面受容体をアンタゴナイズすることである場合、不活性アイソタイプが使用される（Ｔｙｓａｂｒｉ、ＩｇＧ４；ＯＫＴ３、変異ＩｇＧｌ）；

ｅ）所望の結果が標的細胞を除去することである場合、活性アイソタイプが使用される（Ｈｅｒｃｅｐｔｉｎ，ＩｇＧ１（および増強されたエフェクター機能を有する）；および

ｆ）所望の結果が、ＣＮＳに入ることなく循環からタンパク質を排除することである場合、ＩｇＭアイソタイプが使用され得る（例えば、循環中のＡｂペプチド種の排除）。

親ｍＡｂのＦｃエフェクター機能は、本分野において周知である様々なインビトロ方法によって決定することが可能である。

【０２２４】

論じられているように、アイソタイプの選択およびそれによるエフェクター機能は、所望の治療的エンドポイントに依存する。循環中の標的の単純な中和、例えば受容体－リガンド相互作用の遮断が所望される場合において、エフェクター機能は必要とされないことがある。このような場合において、（エフェクター機能を消失させる）抗体のＦｃ領域におけるアイソタイプまたは変異が望ましい。標的細胞の消失、例えば腫瘍細胞の消失が治療的エンドポイントである他の場合において、（エフェクター機能を増強する）Ｆｃ領域におけるアイソタイプまたは変異または脱フコシル化が望ましい（Ｐｒｅｓｔａ　ＧＬ，Ａｄｖ．Ｄｒｕｇ　Ｄｅｌｉｖｅｒｙ　Ｒｅｖ．５８：６４０－６５６，２００６；Ｓａｔｏｈ　Ｍ．，Ｉｉｄａ　Ｓ．，Ｓｈｉｔａｒａ　Ｋ．Ｅｘｐｅｒｔ　Ｏｐｉｎｉｏｎ　Ｂｉｏｌ．Ｔｈｅｒ．６：１１６１－１１７３，２００６）。同様に、治療有用性に応じ

て、抗体分子の循環半減期は、Ｆｃ領域中に特定の変異を導入することにより抗体－ＦｃＲｎ相互作用を調節することによって短縮／延長することが可能である（Ｄａｌｌ’Ａｃｑｕａ ＷＦ，Ｋｉｅｎｅｒ ＰＡ，Ｗｕ Ｈ．Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２８１：２３５１４－２３５２４，２００６；Ｐｅｔｋｏｖａ ＳＢ．，Ａｋｉｌｅｓｈ Ｓ．，Ｓｐｒｏｕｌｅ ＴＪ．ｅｔ ａｌ．Ｉｎｔｅｒｎａｔ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１８：１７５９－１７６９，２００６；Ｖａｃｃａｒｏ Ｃ．，Ｂａｗｄｏｎ Ｒ．，Ｗａｎｊｉｅ Ｓ ｅｔ ａｌ．ＰＮＡＳ １０３：１８７０９－１８７１４，２００７）。

【０２２５】

正常な治療用ｍＡｂの異なるエフェクター機能に影響する様々な残基について公開されている情報は、ＤＶＤ－Ｉｇについて確認する必要があり得る。ＤＶＤ－Ｉｇフォーマットにおいて、モノクローナル抗体エフェクター機能の調節について同定されているもの以外の追加の（異なる）Ｆｃ領域残基が重要である可能性があり得る。

【０２２６】

全体的に、どのＦｃエフェクター機能（アイソタイプ）が最終的なＤＶＤ－Ｉｇフォーマットにおいて重要となるかに関する決定は、疾患兆候、治療標的、所望の治療的エンドポイントおよび安全性の考慮に依存する。以下のものを含むが、これらに限定されない例示の適当な重鎖および軽鎖定常領域が以下に列挙されている：

ＩｇＧ１－アロタイプ：Ｇ１ｍｚ
ＩｇＧ１変異体－Ａ２３４、Ａ２３５
ＩｇＧ２－アロタイプ：Ｇ２ｍ（ｎ－）
κ－Ｋｍ３
λ

【０２２７】

Ｆｃ受容体およびＣ１ｑ研究：細胞膜上にある任意の過剰産生された標的との抗体の複合体化による望ましくない抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ＡＤＣＣ）および補体依存性細胞傷害（ＣＤＣ）の可能性は、（例えば、Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ）ヒンジ領域変異によって阻止することが可能である。ＦｃｇＲ結合が、ＩｇＧ１ヒンジ領域上の重複部位内で起こると考えられるので、ｍＡｂのＩｇＧ１ヒンジ領域に存在するこれらの置換されたアミノ酸は、ｍＡｂとヒトＦｃ受容体（ＦｃＲｎではない）の結合の減弱をもたらすことが予想される。ｍＡｂのこの特徴は、野生型ＩｇＧを含有する抗体より改善された安全性プロファイルにつながり得る。ｍＡｂとヒトＦｃ受容体の結合は、細胞株（例えば、ＴＨＰ－１、Ｋ５６２）およびＦｃｇＲＩＩｂ（または他のＦｃｇＲ）を発現する改変ＣＨＯ細胞株を使用したフローサイトメトリー実験によって決定することが可能である。ＩｇＧ１対照モノクローナル抗体に比較して、ｍＡｂはＦｃｇＲＩおよびＦｃｇＲＩＩａへの結合の低下を示すが、ＦｃｇＲＩＩｂへの結合は影響を受けない。抗原／ＩｇＧ免疫複合体によるＣ１ｑの結合および活性化は、続いての炎症および／または免疫制御応答を伴う古典的補体カスケードを誘発する。ＩｇＧ上のＣ１ｑ結合部位は、ＩｇＧヒンジ領域内の残基に局在している。増加している濃度のｍＡｂとＣ１ｑの結合は、Ｃ１ｑＥＬＩＳＡによって評価された。この結果は、野生型対照ＩｇＧ１の結合に比較して予想されるように、ｍＡｂがＣ１ｑに結合できないことを示している。全体的に、Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａヒンジ領域変異は、ｍＡｂとＦｃｇＲＩ、ＦｃｇＲＩＩａおよびＣ１ｑの結合を阻止するが、ｍＡｂとＦｃｇＲＩＩｂの相互作用に影響しない。このデータは、インビボにおいて、変異体Ｆｃを有するｍＡｂが、阻害型のＦｃｇＲＩＩｂと正常に相互作用するが、活性化型のＦｃｇＲＩおよびＦｃｇＲＩＩａ受容体またはＣ１ｑと相互作用しそうにないことを示唆している。

【０２２８】

ヒトＦｃＲｎ結合：新生児受容体（ＦｃＲｎ）は、胎盤を横切るＩｇＧの輸送に関与し、ＩｇＧ分子の異化半減期を調節する。効力を改善するため、投与量もしくは頻度を低減するためまたは標的への局在化を改善するために抗体の最終的な半減期を増加させることが望ましい可能性がある。あるいは、この逆を行う、すなわち、全身曝露を低減するため

または標的対非標的結合率を改善するために抗体の最終的な半減期を低下させることが有利である可能性がある。ＩｇＧとこのサルベージ受容体であるＦｃＲｎとの相互作用を調整することは、ＩｇＧの最終的な半減期を増加または低下させる方法を提供する。ＩｇＧを含む循環中のタンパク質は、流体相においてミクロピノサイトーシス（ｍｉｃｒｏｐｉｎｏｃｙｔｏｓｉｓ）を通じて血管内皮の細胞などの特定の細胞により採取される。ＩｇＧは、エンドソームにおいて僅かに酸性の条件下（ｐＨ６．０－６．５）でＦｃＲｎに結合することができ、細胞表面へと再循環することができ、この細胞表面においてほぼ中性の条件下（ｐＨ７．０－７．４）で放出される。ＦｃＲｎ８０、１６、１７上のＦｃ領域結合部位のマッピングは、種にわたって保存されている２つのヒスチジン残基Ｈｉｓ３１０およびＨｉｓ４３５が、この相互作用のｐＨ依存性に関与することを示した。ファージディスプレイ技術を使用して、ＦｃＲｎへの結合を増加させ、マウスＩｇＧの半減期を延長するマウスＦｃ領域変異が同定された（Ｖｉｃｔｏｒ，Ｇ．ｅｔ　ａｌ．；Ｎａｔｕｒｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ（１９９７），１５（７），６３７－６４０を参照）。ｐＨ７．４ではなくｐＨ６．０においてＦｃＲｎに対するヒトＩｇＧの結合親和性を増加させるＦｃ領域変異も同定されている（Ｄａｌｌ’Ａｃｑｕａ　Ｗｉｌｌｉａｍ　Ｆ，ｅｔ　ａｌ．，Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ（２００２），１６９（９），５１７１－８０を参照）。さらに、１つの場合において、類似した結合のｐＨ依存的増加（最大で２７倍）もアカゲザルＦｃＲｎで観察され、これは、親ＩｇＧと比較してアカゲザルにおける血清半減期の２倍の増加をもたらした（Ｈｉｎｔｏｎ，Ｐａｕｌ　Ｒ．ｅｔ　ａｌ．，Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ（２００４），２７９（８），６２１３－６２１６を参照）。これらの知見は、Ｆｃ領域とＦｃＲｎの相互作用を調整することによって、抗体治療薬の血漿半減期の延長が実現可能であることを示す。逆に言うと、ＦｃＲｎとの相互作用を弱めるＦｃ領域変異は、抗体半減期を低減することができる。

【０２２９】

Ｂ．１０　薬物動態（ＰＫ）

所望の薬物動態プロファイルを有するＤＶＤ－Ｉｇ分子を生成するために、一実施形態において、同様に所望の薬物動態プロファイルを有する親ｍＡｂが選択される。１つの考慮事項は、モノクローナル抗体に対する免疫原性応答（すなわち、ＨＡＨＡ、ヒト抗ヒト抗体応答；ＨＡＣＡ、ヒト抗キメラ抗体応答）がこれらの治療剤の薬物動態をさらに複雑にしていることである。一実施形態において、最小限の免疫原性を有するまたは免疫原性を有さないモノクローナル抗体がＤＶＤ－Ｉｇ分子の構築に使用され、この結果得られたＤＶＤ－Ｉｇも最小限の免疫原性を有するまたは免疫原性を有さない。ｍＡｂのＰＫを決定するいくつかの因子には、ｍＡｂの固有の特性（ＶＨアミノ酸配列）；免疫原性；ＦｃＲｎ結合およびＦｃ機能が含まれるがこれらに限定されない。

【０２３０】

げっ歯類におけるＰＫプロファイルは、カニクイザルおよびヒトにおけるモノクローナル抗体のＰＫプロファイルとよく相関する（またはこれを近似的に予測する）ので、選択された親モノクローナル抗体のＰＫプロファイルは、げっ歯類において容易に決定することが可能である。ＰＫプロファイルは、実施例１．２．２．３．Ａ節に記載されているように決定される。

【０２３１】

所望のＰＫ特徴（および本明細書において論じられている他の所望の機能特性）を有する親モノクローナル抗体が選択された後、ＤＶＤ－Ｉｇが構築される。ＤＶＤ－Ｉｇ分子は２つの親モノクローナル抗体由来の２つの抗原結合ドメインを含有するので、ＤＶＤ－ＩｇのＰＫ特性は同様に評価される。したがって、ＤＶＤ－ＩｇのＰＫ特性を決定しつつ、２つの親モノクローナル抗体に由来する両方の抗原結合ドメインの機能性を基礎としてＰＫプロファイルを決定するＰＫアッセイを使用することが可能である。ＤＶＤ－ＩｇのＰＫプロファイルは、実施例１．２．２．３．Ａ節に記載されているように決定することが可能である。ＤＶＤ－ＩｇのＰＫプロファイルに影響し得る追加の因子には、抗原結合

ドメイン（ＣＤＲ）配向；リンカーのサイズ；およびＦｃ／ＦｃＲｎ相互作用が含まれる。親抗体のＰＫ特徴は、以下のパラメーター：吸収、分布、代謝および排泄の評価によって評価することが可能である。

【０２３２】

吸収：今日まで、治療用モノクローナル抗体の投与は、非経口経路を介するものである（例えば、静脈内［ＩＶ］、皮下［ＳＣ］または筋内［ＩＭ］）。間質腔からのＳＣまたはＩＭ投与後の全身循環へのｍＡｂの吸収は主としてリンパ経路を介している。飽和可能な前全身的タンパク質分解は、血管外投与後の変化しやすい絶対的生物学的利用率をもたらし得る。通常、モノクローナル抗体の用量の増加に伴う絶対的生物学的利用率の増加が、高い用量での飽和したタンパク質分解能力に起因して観察され得る。リンパ液が血管系にゆっくりと排出されるためｍＡｂの吸収プロセスは通常非常に遅く、吸収の持続時間は数時間から数日にかけて行われ得る。ＳＣ投与後のモノクローナル抗体の絶対的生物学的利用率は一般に５０％から１００％の範囲である。ＤＶＤ－Ｉｇ構築物によって標的化された血液脳関門での輸送を媒介する構造の場合において、血漿中の循環時間は、ＣＮＳコンパートメントへの脳血管関門（ＢＢＢ）での改善された細胞間輸送に起因して減少してもよく、この場合、ＤＶＤ－Ｉｇは、遊離して、その第二の抗原認識部位を介した相互作用を可能にする。

【０２３３】

分布：ＩＶ投与後、モノクローナル抗体は（急速な分布相から開始し、この後遅い排除相となる）二相の血清（または血漿）濃度－時間プロファイルに通常従う。一般に、二重指数関数的薬物動態モデルは、この種の薬物動態プロファイルを最もよく表す。ｍＡｂについての中心区画（Ｖｃ）における分布の容量は、血漿容量（２－３リットル）と通常等しくまたはこれより僅かに大きい。血清（血漿）濃度－時間曲線の分布相は長い吸収部分によってマスクされるので、血清（血漿）濃度対時間プロファイルにおける明確な二相パターンは、ＩＭまたはＳＣなどの他の非経口投与経路で明らかでない可能性がある。物理化学的特性、部位特異的および標的配向性受容体によって媒介される取り込み、組織の結合能力およびｍＡｂ用量を含む多数の因子がｍＡｂの生体分布に影響を及ぼす可能性がある。これらの因子のいくつかは、ｍＡｂの生体分布における非線形性に寄与し得る。

【０２３４】

代謝および排泄：分子サイズのために、完全なモノクローナル抗体は、腎臓を介して尿中に排泄されない。これらは代謝（例えば、異化）によって主として不活性化される。ＩｇＧを基礎とする治療用モノクローナル抗体の場合、半減期は通常数時間または１－２日から２０日を超える範囲である。ｍＡｂの排除は、ＦｃＲｎ受容体に対する親和性、ｍＡｂの免疫原性、ｍＡｂのグリコシル化の程度、タンパク質分解に対するｍＡｂの感受性および受容体によって媒介される排除を含むがこれらに限定されない多数の因子によって影響され得る。

【０２３５】

Ｂ．１１　ヒトおよびｔｏｘ種に対する組織交差反応性パターン

同一の染色パターンは、潜在的なヒト毒性をｔｏｘ種において評価することが可能であることを示唆している。ｔｏｘ種は、非関連毒性が研究される動物である。

【０２３６】

個々の抗体は、２つの基準を満たすように選択される。（１）抗体標的の知られている発現に適した組織染色。（２）同じ臓器由来のヒトとｔｏｘ種の組織間での類似した染色パターン。

【０２３７】

基準１：免疫化および／または抗体選択は、組み換えまたは合成された抗原（タンパク質、炭水化物または他の分子）を典型的に使用する。非関連抗原に対する天然の対応物およびカウンタースクリーンへの結合はしばしば治療用抗体のスクリーニング漏斗の一部である。しかし、数多くの抗原に対するスクリーニングはしばしば実際的でない。したがって、すべての主要臓器由来のヒト組織を用いた組織交差反応性研究は、あらゆる非関連抗

原に対する抗体の望ましくない結合を除外するのに役立つ。

【０２３８】

基準２：ヒトおよびｔｏｘ種の組織を用いた比較組織交差反応性研究（カニクイザル、イヌ、場合によるとげっ歯類など、同じ３６または３７種の組織がヒト研究と同様に試験される）は、ｔｏｘ種の選択を検証する助けとなる。凍結組織切片における典型的な組織交差反応性研究において、治療用抗体は、低レベルの相互作用（非特異的結合、類似した抗原への低レベルの結合、低レベルの電荷を基礎とする相互作用など）のいずれかを基礎とする、公知の抗原への予測された結合および／またはより低度の組織への結合を示し得る。いずれの場合においても、最適な毒性学的動物種は、ヒトおよび動物組織に対する最も高度の同時の結合を示すものである。

【０２３９】

組織交差反応性研究は、ＥＣ ＣＰＭＰ Ｇｕｉｄｅｌｉｎｅ ＩＩＩ／５２７１／９４「Ｐｒｏｄｕｃｔｉｏｎ ａｎｄ ｑｕａｌｉｔｙ ｃｏｎｔｒｏｌ ｏｆ ｍＡｂｓ」および１９９７ ＵＳ ＦＤＡ／ＣＢＥＲ「Ｐｏｉｎｔｓ ｔｏ Ｃｏｎｓｉｄｅｒ ｉｎ ｔｈｅ Ｍａｎｕｆａｃｔｕｒｅ ａｎｄ Ｔｅｓｔｉｎｇ ｏｆ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｐｒｏｄｕｃｔｓ ｆｏｒ Ｈｕｍａｎ Ｕｓｅ」を含む適切な規制ガイドラインに従っている。剖検または生検において得られたヒト組織の凍結切片（５μｍ）はオブジェクトグラス上で固定し乾燥させた。アビジン－ビオチン系を使用して組織切片のペルオキシダーゼ染色が行われた。ＦＤＡ’ｓ Ｇｕｉｄａｎｃｅ「Ｐｏｉｎｔｓ ｔｏ Ｃｏｎｓｉｄｅｒ ｉｎ ｔｈｅ Ｍａｎｕｆａｃｔｕｒｅ ａｎｄ Ｔｅｓｔｉｎｇ ｏｆ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｐｒｏｄｕｃｔｓ ｆｏｒ Ｈｕｍａｎ Ｕｓｅ」。関連する参考文献には、Ｃｌａｒｋｅ Ｊ ２００４，Ｂｏｏｎ Ｌ．２００２ａ，Ｂｏｏｎ Ｌ ２００２ｂ，Ｒｙａｎ Ａ １９９９が含まれる。

【０２４０】

組織交差反応性研究は２つの段階でしばしば行われ、第一段階は、１名のヒトドナーから得られた３２種の組織（典型的に、副腎、胃腸管、前立腺、膀胱、心臓、骨格筋、血液細胞、腎臓、皮膚、骨髄、肝臓、脊髄、乳房、肺、脾臓、小脳、リンパ節、精巣、大脳皮質、卵巣、胸腺、結腸、膵臓、甲状腺、内皮、副甲状腺、尿管、眼、下垂体、子宮、ファロピウス管および胎盤）の凍結切片を含む。第二段階において、完全な交差反応性研究が、３名の無関係な成人から得られた（副腎、血液、血管、骨髄、小脳、大脳、子宮頚部、食道、眼、心臓、腎臓、大腸、肝臓、肺、リンパ節、乳房乳腺、卵巣、卵管、膵臓、副甲状腺、末梢神経、下垂体、胎盤、前立腺、唾液腺、皮膚、小腸、脊髄、脾臓、胃、横紋筋、精巣、胸腺、甲状腺、扁桃、尿管、膀胱および子宮を含む）最大３８種の組織を用いて行われる。研究は、典型的に最小限で２つの用量レベルにおいて行われる。

【０２４１】

治療用抗体（すなわち、試験品）およびアイソタイプ適合対照抗体は、アビジン－ビオチン複合体（ＡＢＣ）検出のためにビオチン化することが可能である；他の検出方法は、ＦＩＴＣで（または別の方法で）標識された試験品の三次抗体検出または未標識の試験品を標識された抗ヒトＩｇＧで予め複合体化することを含み得る。

【０２４２】

簡潔に述べると、剖検または生検において得られたヒト組織の凍結切片（約５μｍ）はオブジェクトグラス上で固定し乾燥させる。アビジン－ビオチン系を使用して組織切片のペルオキシダーゼ染色が行われる。最初に（予め複合体化する検出系の場合において）、試験品は、二次ビオチン化抗ヒトＩｇＧとともにインキュベートされ、免疫複合体となる。試験品の最終濃度が２および１０μｇ／ｍＬの免疫複合体はオブジェクトグラス上の組織切片に添加され、次いで組織切片はアビジン－ビオチン－ペルオキシダーゼキットを用いて３０分間反応させた。その後、ペルオキシダーゼ反応の基質であるＤＡＢ（３，３’－ジアミノベンジジン）が組織染色のために４分間適用された。抗原－セファロースビーズは、陽性対照組織切片として使用される。

【０２４３】
あらゆる特異的染色が、問題の標的抗原の公知の発現を基礎として、予想される（例えば、抗原発現と一致する）または予想されない反応性であると判定される。特異的と判定されたあらゆる染色が、強度および頻度についてスコア化される。抗原または血清競合または遮断研究は、観察された染色が特異的であるか非特異的であるかを決定することにおいてさらに補助することができる。
【０２４４】
２つの選択された抗体が選択基準－適当な組織染色、ヒトと毒性学的動物の特定の組織間での染色の適合を満たすことが分かった場合、これらをＤＶＤ－Ｉｇ生成に選択することが可能である。
【０２４５】
組織交差反応性研究は最終的なＤＶＤ－Ｉｇ構築物を用いて繰り返さなければならず、しかしこれらの研究は本明細書において概略を述べる同じプロトコールに従うが、あらゆる結合が２つの親抗体のいずれにも由来し得、あらゆる説明されない結合が複雑な抗原競合研究を用いて確認される必要があるため、これらは評価がより複雑である。
【０２４６】
２つの親抗体が（１）予想されない組織交差反応性の知見の欠如および（２）対応するヒトと毒性学的動物の組織間の組織交差反応性の知見の適当な類似性について選択される場合、ＤＶＤ－Ｉｇのような多重特異的分子を用いた組織交差反応性研究の複雑な企てが大いに単純化されることは容易に明らかである。
【０２４７】
Ｂ．１２　特異性および選択性
所望の特異性および選択性を有するＤＶＤ－Ｉｇ分子を生成するために、同様に所望の特異性および選択性プロファイルを有する親ｍＡｂを生成および選択する必要がある。
【０２４８】
（各抗原について各々２つの）４つまたはそれ以上の結合部位のため、ＤＶＤ－Ｉｇを用いた特異性および選択性についての結合研究は複雑であり得る。簡潔に述べると、ＤＶＤ－Ｉｇを用いたＥＬＩＳＡ、ＢＩＡｃｏｒｅ、ＫｉｎＥｘＡまたは他の相互作用研究を使用する結合研究は、１つ、２つまたはそれ以上の抗原とＤＶＤ－Ｉｇ分子の結合をモニタリングする必要がある。ＢＩＡｃｏｒｅ技術は、複数の抗原の順次的な独立した結合を分解することが可能であるが、ＥＬＩＳＡを含むより伝統的な方法またはＫｉｎＥｘＡのようなより現代的な技術は可能でない。したがって、各親抗体の注意深い特徴付けは重要である。個々の各抗体が特異性について特徴付けられた後、ＤＶＤ－Ｉｇ分子における個々の結合部位の特異性保持の確認は大いに単純化される。
【０２４９】
組み合わせてＤＶＤ－Ｉｇにする前に２つの親抗体が特異性について選択された場合、ＤＶＤ－Ｉｇの特異性の決定の複雑な企てが大いに単純化されることは容易に明らかである。
【０２５０】
抗原－抗体相互作用研究は、ＥＬＩＳＡ（酵素結合免疫吸着検定法）、質量分析、化学的架橋、光散乱を用いたＳＥＣ、平衡透析、ゲル浸透、限外濾過、ゲルクロマトグラフィー、大帯域分析的ＳＥＣ、微小分離超遠心（沈降平衡）、分光法、滴定微小熱量測定、（分析的超遠心機における）沈降平衡、（分析的超遠心機における）沈降速度、（ＢＩＡｃｏｒｅを含む）表面プラズモン共鳴を含む多数の古典的なタンパク質間相互作用研究を含めて、多数の形態をとり得る。関連する参考文献には、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ Ｉｎｃ．によって出版された「Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｃｉｅｎｃｅ」，Ｊｏｈｎ Ｅ．Ｃｏｌｉｇａｎ，Ｂｅｎ Ｍ．Ｄｕｎｎ，Ｄａｖｉｄ Ｗ．Ｓｐｅｉｃｈｅｒ，Ｐａｕｌ Ｔ，Ｗｉｎｇｆｉｅｌｄ（ｅｄｓ．）Ｖｏｌｕｍｅ ３，ｃｈａｐｔｅｒｓ １９ ａｎｄ ２０およびこれらの中に含まれる参考文献ならびにＪｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ Ｉｎｃ．によって出版された「

Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ」，Ｊｏｈｎ Ｅ．Ｃｏｌｉｇａｎ，Ｂａｒｂａｒａ Ｅ．Ｂｉｅｒｅｒ，Ｄａｖｉｄ Ｈ．Ｍａｒｇｕｌｉｅｓ，Ｅｔｈａｎ Ｍ．Ｓｈｅｖａｃｈ，Ｗａｒｒｅｎ Ｓｔｒｏｂｅｒ（ｅｄｓ．）およびこの中に含まれる参考文献が含まれる。

【０２５１】

全血におけるサイトカイン放出：ｍＡｂとヒト血液細胞の相互作用は、サイトカイン放出アッセイによって調べることが可能である（Ｗｉｎｇ，Ｍ．Ｇ．Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ（１９９５），２（４），１８３－１９０；Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ Ｉｎｃ．によって出版された「Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ」，Ｓ．Ｊ．Ｅｎｎａ，Ｍｉｃｈａｅｌ Ｗｉｌｌｉａｍｓ，Ｊｏｈｎ Ｗ．Ｆｅｒｋａｎｙ，Ｔｅｒｒｙ Ｋｅｎａｋｉｎ，Ｐａｕｌ Ｍｏｓｅｒ，（ｅｄｓ．）；Ｍａｄｈｕｓｕｄａｎ，Ｓ．Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ（２００４），１０（１９），６５２８－６５３４；Ｃｏｘ，Ｊ．Ｍｅｔｈｏｄｓ（２００６），３８（４），２７４－２８２；Ｃｈｏｉ，Ｉ．Ｅｕｒｏｐｅａｎ Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ（２００１），３１（１），９４－１０６）。簡潔に述べると、様々な濃度のｍＡｂが、ヒト全血とともに２４時間インキュベートされる。試験される濃度は、患者における典型的な血液レベル（１００ｎｇ／ｍｌ－１００μｇ／ｍｌを含むがこれらに限定されない）を模倣している最終濃度を含む広い範囲をカバーしているべきである。インキュベーション後、上清および細胞溶解物がＩＬ－１Ｒα、ＴＮＦ－α、ＩＬ－１ｂ、ＩＬ－６およびＩＬ－８の存在について分析された。ｍＡｂについて生成されたサイトカイン濃度プロファイルは、陰性ヒトＩｇＧ対照および陽性ＬＰＳまたはＰＨＡ対照によって産生されたプロファイルと比較された。細胞上清と細胞溶解物の両方から得られたｍＡｂによって示されるサイトカインプロファイルは、対照ヒトＩｇＧと同等であった。一実施形態において、モノクローナル抗体は、ヒト血液細胞と相互作用して炎症性サイトカインを自発的に放出しない。

【０２５２】

（各抗原について各々２つの）４つまたはそれ以上の結合部位のため、ＤＶＤ－Ｉｇについてのサイトカイン放出研究は複雑である。簡潔に述べると、本明細書に記載されているサイトカイン放出研究は、全血または他の細胞系に対するＤＶＤ－Ｉｇ分子全体の効果を測定するが、分子のどの部分がサイトカイン放出を引き起こすかを分解することができる。いくつかの共精製細胞成分がそれ自体サイトカイン放出を引き起こす可能性があるため、サイトカイン放出が検出された後、ＤＶＤ－Ｉｇ調製物の純度が確認されなければならない。純度が問題点とならない場合、（Ｆｃ部分の除去、結合部位の分離などを含むがこれらに限定されない）ＤＶＤ－Ｉｇの断片化、結合部位突然変異導入または他の方法が、あらゆる観察結果を逆重畳積分するために使用される必要があり得る。組み合わせてＤＶＤ－Ｉｇにする前に２つの親抗体がサイトカイン放出の欠如について選択された場合、この複雑な企てが大いに単純化されることは容易に明らかである。

【０２５３】

Ｂ．１３　毒性学的研究のための他の種との交差反応性

一実施形態において、適当なｔｏｘ種、例えばカニクイザルに対する十分な交差反応性を有する個々の抗体が選択される。親抗体は、オルソロガス種標的（すなわち、カニクイザル）に結合し、適当な応答（調節、中和、活性化）を惹起することが必要である。一実施形態において、オルソロガス種標的に対する交差反応性（親和性／効力）は、ヒト標的の１０倍以内であるべきである。実際に、親抗体は、マウス、ラット、イヌ、サル（および他の非ヒト霊長類）ならびに疾患モデル種（すなわち、喘息モデルのヒツジ）を含む複数の種について評価される。親モノクローナル抗体のｔｏｘ種に対する許容可能な交差反応性は、同じ種におけるＤＶＤ－Ｉｇ－Ｉｇの将来の毒性学的研究を可能にする。この理由で、２つの親モノクローナル抗体は、通常のｔｏｘ種について許容可能な交差反応性を有するべきであり、それによって同じ種におけるＤＶＤ－Ｉｇの毒性学的研究が可能になる。

【０２５４】
親ｍＡｂは、特異的な標的に結合することができる、本分野において周知の様々なｍＡｂから選択され得る。これらには、抗ＴＮＦ抗体（米国特許第６，２５８，５６２号）、抗ＩＬ－１２および／または抗ＩＬ－１２ｐ４０抗体（米国特許第６，９１４，１２８号）；抗ＩＬ－１８抗体（ＵＳ２００５／０１４７６１０Ａ１）、抗Ｃ５、抗ＣＢＬ、抗ＣＤ１４７、抗ｇｐ１２０、抗ＶＬＡ－４、抗ＣＤ１１ａ、抗ＣＤ１８、抗ＶＥＧＦ、抗ＣＤ４０Ｌ、抗ＣＤ４０（例えば、ＷＯ２００７１２４２９９参照）、抗Ｉｄ、抗ＩＣＡＭ－１、抗ＣＸＣＬ１３、抗ＣＤ２、抗ＥＧＦＲ、抗ＴＧＦ－β２、抗ＨＧＦ、抗ｃＭｅｔ、抗ＤＬＬ－４、抗ＮＰＲ１、抗ＰＬＧＦ、抗ＥｒｂＢ３、抗Ｅ－セレクチン、抗第ＶＩＩ因子、抗Ｈｅｒ２／ｎｅｕ、抗Ｆｇｐ、抗ＣＤ１１／１８、抗ＣＤ１４、抗ＩＣＡＭ－３、抗ＲＯＮ、抗ＣＤ－１９、抗ＣＤ８０（例えば、ＷＯ２００３０３９４８６参照）、抗ＣＤ４、抗ＣＤ３、抗ＣＤ２３、抗β２－インテグリン、抗α４β７、抗ＣＤ５２、抗ＨＬＡＤＲ、抗ＣＤ２２（例えば、米国特許第５，７８９，５５４参照）、抗ＣＤ２０、抗ＭＩＦ、抗ＣＤ６４（ＦｃＲ）、抗ＴＣＲαβ、抗ＣＤ２、抗ＨｅｐＢ、抗ＣＡ１２５、抗ＥｐＣＡＭ、抗ｇｐ１２０、抗ＣＭＶ、抗ｇｐＩＩｂＩＩＩａ、抗ＩｇＥ、抗ＣＤ２５、抗ＣＤ３３、抗ＨＬＡ、抗ＩＧＦ－１，２、抗ＩＧＦＲ、抗ＶＮＲインテグリン、抗ＩＬ－１α、抗ＩＬ－１β、抗ＩＬ－１受容体、抗ＩＬ－２受容体、抗ＩＬ－４、抗ＩＬ－４受容体、抗ＩＬ－５、抗ＩＬ－５受容体、抗ＩＬ－６、抗ＩＬ－６Ｒ、ＲＡＮＫＬ、ＮＧＦ、ＤＫＫ、αＶβ３、抗ＩＬ－１７Ａ、抗ＩＬ－８、抗ＩＬ－９、抗ＩＬ－１３、抗ＩＬ－１３受容体、抗ＩＬ－１７および抗ＩＬ－２３；ＩＬ－２３ｐ１９（Ｐｒｅｓｔａ ＬＧ．２００５ Ｓｅｌｅｃｔｉｏｎ，ｄｅｓｉｇｎ，ａｎｄ ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ ｏｆ ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ Ｊ Ａｌｌｅｒｇｙ Ｃｌｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌ．１１６：７３１－６およびｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｐａｔｈ．ｃａｍ．ａｃ．ｕｋ／～ｍｒｃ７／ｈｕｍａｎｉｓａｔｉｏｎ／ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ．ｈｔｍｌ参照）が含まれるが、これらに限定されるものではない。
【０２５５】
親ｍＡｂは、使用が認可された、臨床試験中のまたは臨床的用途のために開発中の様々な治療用抗体からも選択され得る。このような治療用抗体には、リツキシマブ（Ｒｉｔｕｘａｎ（登録商標），ＩＤＥＣ／Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ／Ｒｏｃｈｅ）（例えば、米国特許第５，７３６，１３７号参照）、非ホジキンリンパ腫を治療するために認可されたキメラ抗ＣＤ２０抗体；ＨｕＭａｘ－ＣＤ２０、Ｇｅｎｍａｂによって現在開発中の抗ＣＤ２０、米国特許第５，５００，３６２号に記載されている抗ＣＤ２０抗体、ＡＭＥ－１３３（Ａｐｐｌｉｅｄ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｅｖｏｌｕｔｉｏｎ）、ｈＡ２０（Ｉｍｍｕｎｏｍｅｄｉｃｓ，Ｉｎｃ．）、ＨｕｍａＬＹＭ（Ｉｎｔｒａｃｅｌ）およびＰＲＯ７０７６９（「Ｉｍｍｕｎｏｇｌｏｂｕｌｉｎ Ｖａｒｉａｎｔｓ ａｎｄ Ｕｓｅｓ Ｔｈｅｒｅｏｆ」と題されたＰＣＴ／ＵＳ２００３／０４０４２６）、トラスツズマブ（Ｈｅｒｃｅｐｔｉｎ（登録商標）、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）（例えば、米国特許第５，６７７，１７１号参照）、乳癌を治療するために認可されたヒト化抗Ｈｅｒ２／ｎｅｕ抗体；ペルツズマブ（ｒｈｕＭａｂ－２Ｃ４、Ｏｍｎｉｔａｒｇ（登録商標））、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈによって現在開発中；米国特許第４，７５３，８９４号に記載されている抗Ｈｅｒ２抗体；セツキシマブ（Ｅｒｂｉｔｕｘ（登録商標）、Ｉｍｃｌｏｎｅ）（米国特許第４，９４３，５３３号；ＰＣＴ ＷＯ９６／４０２１０）、様々な癌に対する臨床試験中のキメラ抗ＥＧＦＲ抗体；ＡＢＸ－ＥＧＦ（米国特許第６，２３５，８８３号）、Ａｂｇｅｎｉｘ－Ｉｍｍｕｎｅｘ－Ａｍｇｅｎによって現在開発中；ＨｕＭａｘ－ＥＧＦｒ（Ｕ．Ｓ．Ｓｅｒ．ＮＯ．１０／１７２，３１７）、Ｇｅｎｍａｂによって現在開発中；４２５、ＥＭＤ５５９００、ＥＭＤ６２０００およびＥＭＤ７２０００（Ｍｅｒｃｋ ＫＧａＡ）（米国特許第５，５５８，８６４号；Ｍｕｒｔｈｙ ｅｔ ａｌ．１９８７，Ａｒｃｈ Ｂｉｏｃｈｅｍ Ｂｉｏｐｈｙｓ．２５２（２）：５４９－６０；Ｒｏｄｅｃｋ ｅｔ ａｌ．，１９８７，Ｊ Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｃｈｅｍ．３５（４）：３１５－２０；Ｋｅｔｔｌｅｂｏｒｏｕｇｈ ｅｔ ａｌ．，１９９１，Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇ．４（７）：７７３

－８３）；ＩＣＲ６２（Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ ｏｆ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ）（ＰＣＴ ＷＯ９５／２００４５；Ｍｏｄｊｔａｈｅｄｉ ｅｔ ａｌ．，１９９３，Ｊ．Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｐｈｙｓ．１９９３，２２（１－３）：１２９－４６；Ｍｏｄｊｔａｈｅｄｉ ｅｔ ａｌ．，１９９３，Ｂｒ Ｊ Ｃａｎｃｅｒ．１９９３，６７（２）：２４７－５３；Ｍｏｄｊｔａｈｅｄｉ ｅｔ ａｌ，１９９６，Ｂｒ Ｊ Ｃａｎｃｅｒ．７３（２）：２２８－３５；Ｍｏｄｊｔａｈｅｄｉ ｅｔ ａｌ，２００３，Ｉｎｔ Ｊ Ｃａｎｃｅｒ，１０５（２）：２７３－８０）；ＴｈｅｒａＣＩＭ ｈＲ３（ＹＭ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｃａｎａｄａ ａｎｄ Ｃｅｎｔｒｏ ｄｅ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉａ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ，Ｃｕｂａ（米国特許第５，８９１，９９６号；米国特許第６，５０６，８８３号；Ｍａｔｅｏ ｅｔ ａｌ，１９９７，Ｉｍｍｕｎｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，３（１）：７１－８１）；ｍＡｂ－８０６（Ｌｕｄｗｉｇ Ｉｎｓｔｉｔｕｅ ｆｏｒ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ，Ｍｅｍｏｒｉａｌ Ｓｌｏａｎ－Ｋｅｔｔｅｒｉｎｇ）（Ｊｕｎｇｂｌｕｔｈ ｅｔ ａｌ．２００３，Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ．１００（２）：６３９－４４）；ＫＳＢ－１０２（ＫＳ Ｂｉｏｍｅｄｉｘ）；ＭＲ１－１（ＩＶＡＸ，Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｃａｎｃｅｒ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ）（ＰＣＴ ＷＯ０１６２９３１Ａ２）；およびＳＣ１０Ｏ（Ｓｃａｎｃｅｌｌ）（ＰＣＴ ＷＯ０１／８８１３８）；アレムツズマブ（Ｃａｍｐａｔｈ（登録商標）、Ｍｉｌｌｅｎｉｕｍ）、Ｂ細胞慢性リンパ性白血病の治療に対して現在認可されているヒト化ｍＡｂ；ムロモナブ－ＣＤ３（ＯｒｔｈｏｃｌｏｎｅＯＫＴ３（登録商標））、Ｏｒｔｈｏ Ｂｉｏｔｅｃｈ／Ｊｏｈｎｓｏｎ＆Ｊｏｈｓｏｎによって開発された抗ＣＤ３抗体、イブリツモマブ・チウキセタン（Ｚｅｖａｌｉｎ（登録商標））、ＩＤＥＣ／ＳｃｈｅｒｉｎｇＡＧによって開発された抗ＣＤ２０抗体、ゲムツズマブ・オゾガマイシン（Ｍｙｌｏｔａｒｇ（登録商標））、Ｃｅｌｌｔｅｃｈ／Ｗｙｅｔｈによって開発された抗ＣＤ３３（ｐ６７タンパク質）抗体、アレファセプト（Ａｍｅｖｉｖｅ（登録商標））、Ｂｉｏｇｅｎによって開発された抗ＬＦＡ－３Ｆｃ融合、Ｃｅｎｔｏｃｏｒ／Ｌｉｌｌｙによって開発されたアブシキシマブ（ＲｅｏＰｒｏ（登録商標））、Ｎｏｖａｒｔｉｓによって開発されたバシリキシマブ（Ｓｉｍｕｌｅｃｔ（登録商標））、Ｍｅｄｉｍｍｕｎｅによって開発されたパリジズマブ（Ｓｙｎａｇｉｓ（登録商標））、インフリキシマブ（Ｒｅｍｉｃａｄｅ（登録商標））、Ｃｅｎｔｏｃｏｒによって開発された抗ＴＮＦα抗体、アダリムマブ（Ｈｕｍｉｒａ（登録商標））、Ａｂｂｏｔｔによって開発された抗ＴＮＦα抗体、Ｈｕｍｉｃａｄｅ（登録商標）、Ｃｅｌｌｔｅｃｈによって開発された抗ＴＮＦα抗体、ゴリムマブ（ＣＮＴＯ－１４８）、Ｃｅｎｔｏｃｏｒによって開発された完全ヒトＴＮＦ抗体、エタネルセプト（Ｅｎｂｒｅｌ（登録商標））、Ｉｍｍｕｎｅｘ／Ａｍｇｅｎによって開発されたｐ７５ＴＮＦ受容体Ｆｃ融合、レネルセプト、Ｒｏｃｈｅによって以前に開発されたｐ５５ＴＮＦ受容体Ｆｃ融合、ＡＢＸ－ＣＢＬ、Ａｂｇｅｎｉｘによって開発されている抗体ＣＤ１４７抗体、ＡＢＸ－ＩＬ８、Ａｂｇｅｎｉｘによって開発されている抗ＩＬ８抗体、ＡＢＸ－Ｍａｌ、Ａｂｇｅｎｉｘによって開発されている抗ＭＵＣ１８抗体、ペムツモマブ（Ｒ１５４９，９０Ｙ－ｍｕＨＭＦＧｌ）、Ａｎｔｉｓｏｍａによって開発中の抗ＭＵＣ１、Ｔｈｅｒｅｘ（Ｒ１５５０）、Ａｎｔｉｓｏｍａによって開発されている抗ＭＵＣ１抗体、Ａｎｔｉｓｏｍａによって開発されているＡｎｇｉｏＭａｂ（ＡＳ１４０５）、Ａｎｔｉｓｏｍａによって開発されているＨｕＢＣ－１、Ａｎｔｉｓｏｍａによって開発されているＴｈｉｏｐｌａｔｉｎ（ＡＳ１４０７）、Ａｎｔｅｇｒｅｎ（登録商標）（ナタリズマブ）、Ｂｉｏｇｅｎによって開発されている抗α－４－β－１（ＶＬＡ－４）およびα－４－β－７－抗体、ＶＬＡ－１ｍＡｂ、Ｂｉｏｇｅｎによって開発されている抗ＶＬＡ－１インテグリン抗体、ＬＴＢＲｍＡｂ、Ｂｉｏｇｅｎによって開発されている抗リンホトキシンβ受容体（ＬＴＢＲ）抗体、ＣＡＴ－１５２、Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙによって開発されている抗ＴＧＦ－β２抗体、ＡＢＴ８７４（Ｊ６９５）、Ａｂｂｏｔｔによって開発されている抗ＩＬ－１２ｐ４０抗体、ＣＡＴ－１９２、Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ Ａｎｔｉｂｏｄｙ ＴｅｃｈｎｏｌｏｇｙおよびＧｅｎｚｙｍｅによって開発されている抗ＴＧＦβ１抗体

、ＣＡＴ－２１３、Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙによって開発されている抗エオタキシン１抗体、Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ Ａｎｔｉｂｏｄｙ ＴｅｃｈｎｏｌｏｇｙおよびＨｕｍａｎ Ｇｅｎｏｍｅ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ Ｉｎｃ．によって開発されているＬｙｍｐｈｏＳｔａｔ－Ｂ（登録商標）抗Ｂｌｙｓ抗体、ＴＲＡＩＬ－Ｒ１ｍＡｂ、Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ Ａｎｔｉｂｏｄｙ ＴｅｃｈｎｏｌｏｇｙおよびＨｕｍａｎ Ｇｅｎｏｍｅ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ Ｉｎｃ．によって開発されている抗ＴＲＡＩＬ－Ｒ１抗体、Ａｖａｓｔｉｎ（登録商標）ベバシズマブ、ｒｈｕＭＡｂ－ＶＥＧＦ）、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈによって開発されている抗ＶＥＧＦ抗体、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈによって開発されている抗ＨＥＲ受容体ファミリー抗体、抗組織因子（ＡＴＦ）、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈによって開発されている抗組織因子抗体、Ｘｏｌａｉｒ（登録商標）（オマリズマブ）、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈによって開発されている抗ＩｇＥ抗体、Ｒａｐｔｉｖａ（登録商標）（エフェリズマブ）、ＧｅｎｅｎｔｅｃｈおよびＸｏｍａによって開発されている抗ＣＤ１１ａ抗体、ＭＬＮ－０２抗体（旧ＬＤＰ－０２）、ＧｅｎｅｎｔｅｃｈおよびＭｉｌｌｅｎｉｕｍ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓによって開発されている、ＨｕＭａｘ ＣＤ４、Ｇｅｎｍａｂによって開発されている抗ＣＤ４抗体、ＨｕＭａｘ－ＩＬ１５、ＧｅｎｍａｂおよびＡｍｇｅｎによって開発されている抗ＩＬ１５抗体、ＧｅｎｍａｂおよびＭｅｄａｒｅｘによって開発されているＨｕＭａｘ－Ｉｎｆｌａｍ、ＨｕＭａｘ－Ｃａｎｃｅｒ、ＧｅｎｍａｂおよびＭｄａｒｅｘおよびＯｘｆｏｒｄ ＧｃｏＳｃｉｅｎｃｅｓによって開発されている抗ヘパラナーゼＩ抗体、ＧｅｎｍａｂおよびＡｍｇｅｎによって開発されているＨｕＭａｘ－Ｌｙｍｐｈｏｍａ、Ｇｅｎｍａｂによって開発されているＨｕＭａｘ－ＴＡＣ、ＩＤＥＣ－１３１およびＩＤＥＣ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓによって開発されている抗ＣＤ４０Ｌ抗体、ＩＤＥＣ－１５１（クレノリキシマブ）、ＩＤＥＣ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓによって開発されている抗ＣＤ４抗体、ＩＤＥＣ－１１４、ＩＤＥＣ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓによって開発されている抗ＣＤ８０抗体、ＩＤＥＣ－１５２、ＩＤＥＣ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓによって開発されている抗ＣＤ２３、ＩＤＥＣ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓによって開発されている抗マクロファージ遊走因子（ＭＩＦ）抗体、ＢＥＣ２、Ｉｍｃｌｏｎｅによって開発されている抗イディオタイプ抗体、ＩＭＣ－１Ｃ１１、Ｉｍｃｌｏｎｅによって開発されている抗ＫＤＲ抗体、ＤＣ１０１、Ｉｍｃｌｏｎｅによって開発されている抗ｆｌｋ－１抗体、Ｉｍｃｌｏｎｅによって開発されている抗ＶＥカドヘリン抗体、ＣＥＡ－Ｃｉｄｅ（登録商標）（ラベツズマブ）、Ｉｍｍｕｎｏｍｅｄｉｃｓによって開発されている抗癌胎児抗原（ＣＥＡ）抗体、ＬｙｍｐｈｏＣｉｄｅ（登録商標）（エプラツズマブ）、Ｉｍｍｕｎｏｍｅｄｉｃｓによって開発されている抗ＣＤ２２抗体、Ｉｍｍｕｎｏｍｅｄｉｃｓによって開発されているＡＦＰ－Ｃｉｄｅ、Ｉｍｍｕｎｏｍｅｄｉｃｓによって開発されているＭｙｅｌｏｍａＣｉｄｅ、Ｉｍｍｕｎｏｍｅｄｉｃｓによって開発されているＬｋｏＣｉｄｅ、Ｉｍｍｕｎｏｍｅｄｉｃｓによって開発されているＰｒｏｓｔａＣｉｄｅ、ＭＤＸ－０１０、Ｍｅｄａｒｅｘによって開発されている抗ＣＴＬＡ４抗体、ＭＤＸ－０６０、Ｍｅｄａｒｅｘによって開発されている抗ＣＤ３０抗体、Ｍｅｄａｒｅｘによって開発されているＭＤＸ－０７０、Ｍｅｄａｒｅｘによって開発されているＭＤＸ－０１８、Ｏｓｉｄｅｍ（登録商標）（ＩＤＭ－Ｉ）ならびにＭｅｄａｒｅｘおよびＩｍｍｕｎｏ－Ｄｅｓｉｇｎｅｄ Ｍｏｌｅｃｕｌｅｓによって開発されている抗Ｈｅｒ２抗体、ＨｕＭａｘ（登録商標）－ＣＤ４、ＭｅｄａｒｅｘおよびＧｅｎｍａｂによって開発されている抗ＣＤ４抗体、ＨｕＭａｘ－ＩＬ１５、ＭｅｄａｒｅｘおよびＧｅｎｍａｂによって開発されている抗ＩＬ１５抗体、ＣＮＴＯ１４８、ＭｅｄａｒｅｘおよびＣｅｎｔｏｃｏｒ／Ｊ＆Ｊによって開発されている抗ＴＮＦα抗体、ＣＮＴＯ１２７５、ＣｅｎｔｏｃｏｒＪ＆Ｊによって開発されている抗サイトカイン抗体、ＭＯＲ１０１およびＭＯＲ１０２、ＭｏｒｐｈｏＳｙｓによって開発されている抗細胞間接着分子－１（ＩＣＡＭ－Ｉ）（ＣＤ５４）抗体、ＭＯＲ２０１、ＭｏｒｐｈｏＳｙｓによって開発されている抗繊維芽細胞増殖因子受容体受容体３（ＦＧＦＲ－３）抗体、Ｎｕｖｉｏｎ（登録商標）（ビシリズマブ）、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｄｅｓｉｇｎ Ｌａｂｓによって開発されている抗Ｃ

Ｄ３抗体、ＨｕＺＡＦ（登録商標）、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｄｅｓｉｇｎ Ｌａｂｓによって開発されている抗γインターフェロン抗体、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｄｅｓｉｇｎ Ｌａｂｓによって開発されている抗α５β１インテグリン、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｄｅｓｉｇｎ Ｌａｂｓによって開発されている抗ＩＬ－１２、ＩＮＧ－１、Ｘｏｍａによって開発されている抗Ｅｐ－ＣＡＭ抗体、ＧｅｎｅｎｔｅｃｈおよびＮｏｖａｒｔｉｓによって開発されたＸｏｌａｉｒ（登録商標）（オマリズマブ）ヒト化抗ＩｇＥ抗体ならびにＭＬＮ０１、Ｘｏｍａによって開発されている抗β２インテグリン抗体が含まれるが、これらに限定されるものではない。別の実施形態において、治療薬には、ＫＲＮ３３０（Ｋｉｒｉｎ）；ｈｕＡ３３抗体（Ａ３３、Ｌｕｄｗｉｇ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ ｆｏｒ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ）；ＣＮＴＯ ９５（αＶインテグリン、Ｃｅｎｔｏｃｏｒ）；ＭＥＤＩ－５２２（αＶβ３インテグリン、Ｍｅｄｉｍｍｕｎｅ）；ボロシキシマブ（αＶβ１インテグリン、Ｂｉｏｇｅｎ／ＰＤＬ）；ヒトｍＡｂ２１６（Ｂ細胞グリコシル化エピトープ、ＮＣＩ）；ＢｉＴＥ ＭＴ１０３（二重特異的ＣＤ１９ｘＣＤ３、Ｍｅｄｉｍｍｕｎｅ）；４Ｇ７ｘＨ２２（二重特異的Ｂ細胞ｘＦｃγＲ１、Ｍｅｄａｒｅｘ／Ｍｅｒｃｋ ＫＧａ）；ｒＭ２８（二重特異的ＣＤ２８ｘＭＡＰＧ、米国特許第ＥＰ１４４４２６８号）；ＭＤＸ４４７（ＥＭＤ ８２６３３）（二重特異的ＣＤ６４ｘＥＧＦＲ、Ｍｅｄａｒｅｘ）；カツマキソマブ（リムバブ）（二重特異的ＥｐＣＡＭｘ 抗ＣＤ３、Ｔｒｉｏｎ／Ｆｒｅｓ）；エルツマキソマブ（二重特異的ＨＥＲ２／ＣＤ３、Ｆｒｅｓｅｎｉｕｓ Ｂｉｏｔｅｃｈ）；オレゴボマブ（ＯｖａＲｅｘ）（ＣＡ－１２５、ＶｉＲｅｘｘ）；Ｒｅｎｃａｒｅｘ（登録商標）（ＷＸ Ｇ２５０）（炭酸脱水酵素ＩＸ、Ｗｉｌｅｘ）；ＣＮＴＯ ８８８（ＣＣＬ２、Ｃｅｎｔｏｃｏｒ）；ＴＲＣ１０５（ＣＤ１０５（エンドグリン）、Ｔｒａｃｏｎ）；ＢＭＳ－６６３５１３（ＣＤ１３７アゴニスト，Ｂｒｙｓｔｏｌ Ｍｙｅｒｓ Ｓｑｕｉｂｂ）；ＭＤＸ－１３４２（ＣＤ１９、Ｍｅｄａｒｅｘ）；シプリズマブ（ＭＥＤＩ－５０７）（ＣＤ２、Ｍｅｄｉｍｍｕｎｅ）；オファツムマブ（Ｈｕｍａｘ－ＣＤ２０）（ＣＤ２０、Ｇｅｎｍａｂ）；リツキシマブ（Ｒｉｔｕｘａｎ）（ＣＤ２０、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）；ベルツズマブ（ｈＡ２０）（ＣＤ２０、Ｉｍｍｕｎｏｍｅｄｉｃｓ）；エプラツズマブ（ＣＤ２２、Ａｍｇｅｎ）；ルミリキシマブ（ＩＤＥＣ １５２）（ＣＤ２３、Ｂｉｏｇｅｎ）；ムロモナブ－ＣＤ３（ＣＤ３、Ｏｒｔｈｏ）；ＨｕＭ２９１（ＣＤ３ｆｃ受容体、ＰＤＬ Ｂｉｏｐｈａｒｍａ）；ＨｅＦｉ－１，ＣＤ３０，ＮＣＩ）；ＭＤＸ－０６０（ＣＤ３０、Ｍｅｄａｒｅｘ）；ＭＤＸ－１４０１（ＣＤ３０、Ｍｅｄａｒｅｘ）；ＳＧＮ－３０（ＣＤ３０、Ｓｅａｔｔｌｅ Ｇｅｎｅｎｔｉｃｓ）；ＳＧＮ－３３（リンツズマブ）（ＣＤ３３、Ｓｅａｔｔｌｅ Ｇｅｎｅｎｔｉｃｓ）；ザノリムマブ（ＨｕＭａｘ－ＣＤ４）（ＣＤ４、Ｇｅｎｍａｂ）；ＨＣＤ１２２（ＣＤ４０、Ｎｏｖａｒｔｉｓ）；ＳＧＮ－４０（ＣＤ４０、Ｓｅａｔｔｌｅ Ｇｅｎｅｎｔｉｃｓ）；Ｃａｍｐａｔｈ１ｈ（アレムツズマブ）（ＣＤ５２、Ｇｅｎｚｙｍｅ）；ＭＤＸ－１４１１（ＣＤ７０、Ｍｅｄａｒｅｘ）；ｈＬＬ１（ＥＰＢ－１）（ＣＤ７４．３８、Ｉｍｍｕｎｏｍｅｄｉｃｓ）；ガリキシマブ（ＩＤＥＣ－１４４）（ＣＤ８０、Ｂｉｏｇｅｎ）；ＭＴ２９３（ＴＲＣ０９３／Ｄ９３）（切断されたコラーゲン、Ｔｒａｃｏｎ）；ＨｕＬｕｃ６３（ＣＳ１、ＰＤＬ Ｐｈａｒｍａ）；イピリムマブ（ＭＤＸ－０１０）（ＣＴＬＡ４、Ｂｒｙｓｔｏｌ Ｍｙｅｒｓ Ｓｑｕｉｂｂ）；トレメリミムマブ（チシリムマブ、ＣＰ－６７５，２）（ＣＴＬＡ４、Ｐｆｉｚｅｒ）；ＨＧＳ－ＥＴＲ１（マパツムマブ）（ＤＲ４ ＴＲＡＩＬ－Ｒ１アゴニスト、Ｈｕｍａｎ Ｇｅｎｏｍｅ Ｓｃｉｅｎｃｅ ／Ｇｌａｘｏ Ｓｍｉｔｈ Ｋｌｉｎｅ）；ＡＭＧ－６５５（ＤＲ５、Ａｍｇｅｎ）；アポマブ（ＤＲ５、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）；ＣＳ－１００８（ＤＲ５、Ｄａｉｉｃｈｉ Ｓａｎｋｙｏ）；ＨＧＳ－ＥＴＲ２（レクサツムマブ）（ＤＲ５ ＴＲＡＩＬ－Ｒ２アゴニスト、ＨＧＳ）；セツキシマブ（Ｅｒｂｉｔｕｘ）（ＥＧＦＲ、Ｉｍｃｌｏｎｅ）；ＩＭＣ－１１Ｆ８（ＥＧＦＲ、Ｉｍｃｌｏｎｅ）；ニモツズマブ（ＥＧＦＲ、ＹＭ Ｂｉｏ）；パニツムマブ（Ｖｅｃｔａｂｉｘ）（ＥＧＦＲ、Ａｍｇｅｎ）；ザルツムマブ（ＨｕＭａｘＥＧＦｒ）（ＥＧＦＲ、Ｇｅｎｍａｂ）；ＣＤＸ－１１０（ＥＧＦＲｖＩＩＩ、ＡＶＡＮＴ Ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ）；アデカツムマブ（ＭＴ

２０１）（Ｅｐｃａｍ、Ｍｅｒｃｋ）；エドレコロマブ（Ｐａｎｏｒｅｘ、１７－１Ａ）（Ｅｐｃａｍ、Ｇｌａｘｏ／Ｃｅｎｔｏｃｏｒ）；ＭＯＲＡｂ－００３（葉酸受容体ａ、Ｍｏｒｐｈｏｔｅｃｈ）；ＫＷ－２８７１（ガングリオシドＧＤ３、Ｋｙｏｗａ）；ＭＯＲＡｂ－００９（ＧＰ－９、Ｍｏｒｐｈｏｔｅｃｈ）；ＣＤＸ－１３０７（ＭＤＸ－１３０７）（ｈＣＧｂ、Ｃｅｌｌｄｅｘ）；トラスツズマブ（Ｈｅｒｃｅｐｔｉｎ）（ＨＥＲ２、Ｃｅｌｌｄｅｘ）；ペルツズマブ（ｒｈｕＭＡｂ　２Ｃ４）（ＨＥＲ２（ＤＩ）、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）；アポリズマブ（ＨＬＡ－ＤＲβ鎖、ＰＤＬ　Ｐｈａｒｍａ）；ＡＭＧ－４７９（ＩＧＦ－１Ｒ、Ａｍｇｅｎ）；抗ＩＧＦ－１Ｒ　Ｒ１５０７（ＩＧＦ１－Ｒ、Ｒｏｃｈｅ）；ＣＰ　７５１８７１（ＩＧＦ１－Ｒ、Ｐｆｉｚｅｒ）；ＩＭＣ－Ａ１２（ＩＧＦ１－Ｒ、Ｉｍｃｌｏｎｅ）；ＢＩＩＢ０２２（ＩＧＦ－１Ｒ、Ｂｉｏｇｅｎ）；ＭｉＫ－β－１（ＩＬ－２Ｒｂ（ＣＤ１２２）、Ｈｏｆｆｍａｎ　ＬａＲｏｃｈｅ）；ＣＮＴＯ　３２８（ＩＬ６、Ｃｅｎｔｏｃｏｒ）；抗ＫＩＲ（１－７Ｆ９）（キラー細胞Ｉｇ様受容体（ＫＩＲ）、Ｎｏｖｏ）；Ｈｕ３Ｓ１９３（Ｌｅｗｉｓ（ｙ）、Ｗｙｅｔｈ，Ｌｕｄｗｉｇ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ　ｏｆ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ）；ｈＣＢＥ－１１（ＬＴβＲ、Ｂｉｏｇｅｎ）；ＨｕＨＭＦＧ１（ＭＵＣ１、Ａｎｔｉｓｏｍａ／ＮＣＩ）；ＲＡＶ１２（Ｎ結合炭水化物エピトープ、Ｒａｖｅｎ）；ＣＡＬ（副甲状腺ホルモン関連タンパク質（ＰＴＨ－ｒＰ）、Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ　ｏｆ　Ｃａｌｉｆｏｒｎｉａ）；ＣＴ－０１１（ＰＤ１、ＣｕｒｅＴｅｃｈ）；ＭＤＸ－１１０６（ｏｎｏ－４５３８）（ＰＤ１、Ｍｅｄａｒｅｘ／Ｏｎｏ）；ＭＡｂ　ＣＴ－０１１（ＰＤ１、Ｃｕｒｅｔｅｃｈ）；ＩＭＣ－３Ｇ３（ＰＤＧＦＲａ、Ｉｍｃｌｏｎｅ）；バビツキシマブ（ホスファチジルセリン、Ｐｅｒｅｇｒｉｎｅ）；ｈｕＪ５９１（ＰＳＭＡ、Ｃｏｒｎｅｌｌ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｆｏｕｎｄａｔｉｏｎ）；ｍｕＪ５９１（ＰＳＭＡ，Ｃｏｒｎｅｌｌ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｆｏｕｎｄａｔｉｏｎ）；ＧＣ１００８（ＴＧＦｂ（汎性）阻害剤（ＩｇＧ４）、Ｇｅｎｚｙｍｅ）；インフリキシマブ（Ｒｅｍｉｃａｄｅ）（ＴＮＦａ、Ｃｅｎｔｏｃｏｒ）；Ａ２７．１５（トランスフェリン受容体、Ｓａｌｋ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ，ＩＮＳＥＲＮ　ＷＯ　２００５／１１１０８２）；Ｅ２．３（トランスフェリン受容体、Ｓａｌｋ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ）；ベバシズマブ（Ａｖａｓｔｉｎ）（ＶＥＧＦ、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）；ＨｕＭＶ８３３（ＶＥＧＦ、Ｔｓｕｋｕｂａ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｌａｂ－ＷＯ／２０００／０３４３３７，Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ　ｏｆ　Ｔｅｘａｓ）；ＩＭＣ－１８Ｆ１（ＶＥＧＦＲ１、Ｉｍｃｌｏｎｅ）；ＩＭＣ－１１２１（ＶＥＧＦＲ２、Ｉｍｃｌｏｎｅ）が含まれる。

【０２５６】

Ｃ．結合タンパク質分子の構築

二重可変ドメイン免疫グロブリン（ＤＶＤ－Ｉｇ）分子は、２つの異なる親モノクローナル抗体由来の２つの異なる軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）が、組み換えＤＮＡ技術によって、直接または短いリンカーを介して直列に連結され、その後に軽鎖定常ドメインが続くように設計される。同様に、重鎖は、直列に連結された２つの異なる重鎖可変ドメイン（ＶＨ）の後に、定常ドメインＣＨ１およびＦｃ領域（図１Ａ）を含む。

【０２５７】

可変ドメインは、本明細書に記載されている方法のいずれか１つによって作製された親抗体から得られた組み換えＤＮＡ技術を用いて取得することが可能である。一実施形態において、可変ドメインは、マウス重鎖または軽鎖可変ドメインである。別の実施形態において、可変ドメインは、ＣＤＲ移植されたまたはヒト化された可変重鎖または軽鎖ドメインである。一実施形態において、可変ドメインは、ヒト重鎖または軽鎖可変ドメインである。

【０２５８】

一実施形態において、第一および第二の可変ドメインは、組み換えＤＮＡ技術を用いて、互いに直接連結されている。別の実施形態において、可変ドメインは、リンカー配列を介して連結されている。一実施形態において、２つの可変ドメインが連結されている。３つまたはそれ以上の可変ドメインも、直接またはリンカー配列を介して連結され得る。可

変ドメインは、同じ抗原に結合し得、または異なる抗原に結合し得る。本明細書において提供されるＤＶＤ－Ｉｇ分子は、１つの免疫グロブリン可変ドメインおよび受容体のリガンド結合ドメイン、酵素の活性ドメインなどの１つの非免疫グロブリン可変ドメインを含み得る。ＤＶＤ－Ｉｇ分子は、２つまたはそれ以上の非Ｉｇドメインも含み得る。

【０２５９】

リンカー配列は、単一のアミノ酸またはポリペプチド配列であり得る。一実施形態において、リンカー配列は、ＡＫＴＴＰＫＬＥＥＧＥＦＳＥＡＲ（配列番号１）；ＡＫＴＴＰＫＬＥＥＧＥＦＳＥＡＲＶ（配列番号２）；ＡＫＴＴＰＫＬＧＧ（配列番号３）；ＳＡＫＴＴＰＫＬＧＧ（配列番号４）；ＳＡＫＴＴＰ（配列番号５）；ＲＡＤＡＡＰ（配列番号６）；ＲＡＤＡＡＰＴＶＳ（配列番号７）；ＲＡＤＡＡＡＡＧＧＰＧＳ（配列番号８）；ＲＡＤＡＡＡＡ（$G_4S)_4$（配列番号９）；ＳＡＫＴＴＰＫＬＥＥＧＥＦＳＥＡＲＶ（配列番号１０）；ＡＤＡＡＰ（配列番号１１）；ＡＤＡＡＰＴＶＳＩＦＰＰ（配列番号１２）；ＴＶＡＡＰ（配列番号１３）；ＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰ（配列番号１４）；ＱＰＫＡＡＰ（配列番号１５）；ＱＰＫＡＡＰＳＶＴＬＦＰＰ（配列番号１６）；ＡＫＴＴＰＰ（配列番号１７）；ＡＫＴＴＰＰＳＶＴＰＬＡＰ（配列番号１８）；ＡＫＴＴＡＰ（配列番号１９）；ＡＫＴＴＡＰＳＶＹＰＬＡＰ（配列番号２０）；ＡＳＴＫＧＰ（配列番号２１）；ＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰ（配列番号２２）；ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ（配列番号２３）；ＧＥＮＫＶＥＹＡＰＡＬＭＡＬＳ（配列番号２４）；ＧＰＡＫＥＬＴＰＬＫＥＡＫＶＳ（配列番号２５）；またはＧＨＥＡＡＡＶＭＱＶＱＹＰＡＳ（配列番号２６）である。リンカー配列の選択は、いくつかのＦａｂ分子の結晶構造分析に基づいている。Ｆａｂまたは抗体分子構造中の可変ドメインとＣＨ１／ＣＬ定常ドメインの間には、天然の柔軟な連結が存在する。この天然の連結は、Ｖドメインの Ｃ末端由来の４－６残基およびＣＬ／ＣＨ１ドメインのＮ末端由来の４－６残基によって構成される約１０から１２個のアミノ酸残基を含む。本明細書において提供されるＤＶＤＩｇは、それぞれ、ＤＶＤ－Ｉｇの軽鎖および重鎖中のリンカーとしてＣＬまたはＣＨ１のＮ末端の５から６アミノ酸残基、または１１から１２アミノ酸残基を用いて作製された。ＣＬまたはＣＨ１ドメインのＮ末端残基、特に最初の５から６個のアミノ酸残基は、強い二次構造なしにループ立体構造を採り、したがって、２つの可変ドメイン間の柔軟なリンカーとして作用することが可能である。ＣＬまたはＣＨ１ドメインのＮ末端残基は、Ｉｇ配列の一部であるので、可変ドメインの天然の伸長であり、したがって、リンカーおよび連結から生じ得るいずれの免疫原性を、大きな程度まで最小限に抑える。

【０２６０】

他のリンカー配列は、ＣＬ／ＣＨ１ドメインのあらゆる長さのあらゆる配列を含み得るが、ＣＬ／ＣＨ１ドメインのすべての残基は含まない。例えば、ＣＬ／ＣＨ１ドメインの最初の５から１２個のアミノ酸残基；軽鎖リンカーは、ＣκまたはＣλに由来することが可能であり；ならびに重鎖リンカーは、Ｃγ１、Ｃγ２、Ｃγ３、Ｃγ４、Ｃα１、Ｃα２、Ｃδ、ＣεおよびＣμを含む、いずれかのアイソタイプのＣＨ１に由来することが可能である。リンカー配列は、Ｉｇ様タンパク質（例えば、ＴＣＲ、ＦｃＲ、ＫＩＲ）、Ｇ／Ｓを基礎とする配列（例えば、Ｇ４Ｓ（配列番号２７）またはＧ４Ｓリピート）；ヒンジ領域に由来する配列および他のタンパク質から得られる他の天然配列などの他のタンパク質からも由来し得る。

【０２６１】

一実施形態において、定常ドメインは、組み換えＤＮＡ技術を用いて、２つの連結された可変ドメインに連結されている。一実施形態において、連結された重鎖可変ドメインを含む配列は、重鎖定常ドメインに連結され、連結された軽鎖可変ドメインを含む配列は、軽鎖定常ドメインに連結される。一実施形態において、定常ドメインは、それぞれ、ヒト重鎖定常ドメインおよびヒト軽鎖定常ドメインである。一実施形態において、重鎖は、Ｆｃ領域にさらに連結されている。Ｆｃ領域は、固有配列のＦｃ領域またはバリアントＦｃ領域であり得る。別の実施形態において、Ｆｃ領域は、ヒトＦｃ領域である。別の実施形態において、Ｆｃ領域には、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ、ＩｇＭ

、ＩｇＥまたはＩｇＤから得られるＦｃ領域が含まれる。

【０２６２】

別の実施形態において、２つの重鎖ポリペプチドおよび２つの軽鎖ポリペプチドは組み合わされて、ＤＶＤ－Ｉｇ分子を形成する。表２は、疾患の治療、例えば癌の治療に有用な標的の例示的な抗体のＶＨおよびＶＬ領域のアミノ酸配列を列挙している。一実施形態において、ＤＶＤ　Ｉｇは、あらゆる配向における、表２に列挙されたＶＨおよび／またはＶＬ領域の少なくとも２つを含む。いくつかの実施形態において、ＶＤ１およびＶＤ２は独立して選択される。よって、いくつかの実施形態において、ＶＤ１およびＶＤ２は同じ配列番号を含み、他の実施形態において、ＶＤ１およびＶＤ２は異なる配列番号を含む。

【０２６３】

以下に与えられるＶＨおよびＶＬドメイン配列は、当該技術分野において知られているまたは当該技術分野において知られている方法を用いて容易に識別され得る相補性決定領域（ＣＤＲ）およびフレームワーク配列を含む。いくつかの実施形態において、１つまたは複数のこれらのＣＤＲおよび／またはフレームワーク配列は、同じ抗原に結合する、当該技術分野において知られている結合タンパク質由来の他のＣＤＲおよび／またはフレームワーク配列によって、機能を損なうことなく置換される。

【０２６４】

【表２】

表 **2: DVD-Ig** を生成するための抗体の **VH** および **VL** 領域のアミノ酸配列のリスト

配列番号	**ABT** 固有 **ID**	タンパク質領域	配列 **12345678901234567890123456789012345678**
28	AB017VH	VH TNF（配列 1）	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQA PGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLY LQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLVTVS S
29	AB017VL	VL TNF（配列 1）	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQKP GKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIKR
30	AB020VH	VH NGF	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLIGYDLNWIRQP PGKGLEWIGIIWGDGTTDYNSAVKSRVTISKDTSKNQFSL KLSSVTAADTAVYYCARGGYWYATSYYFDYWGQGTLVTVS S
31	AB020VL	VL NGF	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISNNLNWYQQKP GKAPKLLIYYTSRFHSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQP EDIATYYCQQEHTLPYTFGQGTKLEIKR
32	AB022VH	VH SOST	EVQLQQSGPELVTPGASVKISCKASGYTFTDHYMSWVKQS HGKSLEWIGDINPYSGETTYNQKFKGTATLTVDKSSSIAY MEIRGLTSEDSAVYYCARDDYDASPFAYWGQGTLVTVSA
33	AB022VH	VL SOST	DVQMIQSPSSLSASLGDIVTMTCQASQGTSINLNWFQQKP GKAPKLLIYGSSNLEDGVPSRFSGSRYGTDFTLTISSLED EDLATYFCLQHSYLPYTFGGGTKLEIKR
34	AB048VH	VH PGE2	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTKYWLGWVRQA PGQGLEWMGDIYPGYDYTHYNEKFKDRVTLTTDTSTSTAY MELRSLRSDDTAVYYCARSDGSSTYWGQGTLVTVSS
35	AB048VL	VL PGE2	DVLMTQTPLSLPVTPGEPASISCTSSQNIVHSNGNTYLEW YLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYCFQVSHVPYTFGGGTKVEIKR
36	AB213VH	VH TNF（配列 2）	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTDYGVNWVRQP PGKGLEWLGMIWGDGSTDYDSTLKSRLSISKDNSKSQIFL KMNSLQTDDTARYYCAREWHHGPVAYWGQGTLVTVSA
37	AB213VL	VL TNF（配列 2）	DIVMTQSHKFMSTTVGDRVSITCKASQAVSSAVAWYQQKP GQSPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSVTDFTLTIHNLQA EDLALYYCQQHYSTPFTFGSGTKLEIKR
38	AB214VH	VH TNF（配列 3）	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFIFSNHWMNWVRQS PEKGLEWVAEIRSKSINSATHYAESVKGRFTISRDDSKSA VYLQMTDLRTEDTGVYYCSRNYYGSTYDYWGQGTTLTVSS
39	AB214VL	VL TNF（配列 3）	DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQFVGSSIHWYQQRT NGSPRLLIKYASESMSGIPSRFSGSGSGTDFTLSINTVES EDIADYYCQESHSWPFTFGSGTNLEVKR
40	AB215VH	VH TNF（配列 4）	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQA PGNGLEWVAFMSYDGSNKYAKDSVKGRFTISRDNSKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGT TVTVSS
41	AB215VL	VL TNF（配列 4）	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKP GQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEP EDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKR
42	AB216VH	VH LPA	QVQLQQSGAELVRPGTSVKVSCKASGYGFINYLIEWIKQR PGQGLEWIGLINPGSDYTNYNENFKGKATLTADKSSSTAY MHLSSLTSEDSAVYFCARRFGYYGSGNYFDYWGQGTTLTV SS
43	AB216VL	VL LPA	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCTSGQSLVHINGNTYLHW YLQKPGQSPKLLIYKVSNLFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDLGVYFCSQSTHFPFTFGTGTKLEIKR

配列番号	ABT 固有 ID	タンパク質領域	配列 1234567890123456789012345678901234567890123456
44	AB217VH	VH TNF (配列5)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYDMHWVRQA PGKGLEWVAVIWSDGSIKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCAREVESAMGGFYYNGMDVWGQGTT VTVSS
45	AB217VL	VL TNF (配列5)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRIDLGWYQQKP GKAPKRLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTEFIFTISSLQP EDFASYYCLQHKSYPLTFGGGTKVEIKR
46	AB218VH	VH TNF (配列6)	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTVSRNYMSWVRQA PGKGLEWVSVIYSGDRTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARGEGGFDYWGQGTLVTVSS
47	AB218VL	VL TNF (配列6)	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKP GQAPRLLIHGASIRATGLPARFSGSGSGTEFTLTISSLQS EDFAVYYCQQYNYWWTFGQGTKVEIKR

【０２６５】

特異的な標的に結合することができる特異的ＤＶＤ－Ｉｇ分子の詳細な説明およびこれを作製する方法は、以下の実施例の部に記載されている。

【０２６６】

Ｄ．結合タンパク質の作製

本明細書において提供される結合タンパク質は、本分野で公知の多数のいずれかによって作製され得る。例えば、宿主細胞からの発現において、重鎖および軽鎖をコードする発現ベクターは、標準的な技術によって、宿主細胞中に形質移入される。「形質移入」という用語の様々な形態は、原核または真核宿主細胞中への外来ＤＮＡの導入のために一般に使用される多様な技術、例えば、電気穿孔、リン酸カルシウム沈殿、ＤＥＡＥ－デキストラン形質移入などを包含するものとする。原核または真核宿主細胞のいずれの中でも、本明細書において提供される結合タンパク質を発現することは可能であるが、真核細胞（特に、哺乳動物細胞）は、原核細胞に比べて、適切に折り畳まれ、免疫学的に活性な結合タンパク質を集合および分泌する傾向がより大きいので、結合タンパク質は真核細胞、例えば哺乳動物宿主細胞中で発現される。

【０２６７】

組み換え結合タンパク質を発現するための典型的な哺乳動物宿主細胞には、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ細胞）（Ｕｒｌａｕｂ ａｎｄ Ｃｈａｓｉｎ，（１９８０）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ７７：４２１６－４２２０に記載されており、例えばＲ．Ａ．Ｋａｕｆｍａｎ ａｎｄ Ｐ．Ａ．Ｓｈａｒｐ（１９８２）Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１５９：６０１－６２１に記載されているようにＤＨＦＲ選択可能マーカーとともに使用されるｄｈｆｒ－ＣＨＯ細胞を含む。）、ＮＳ０骨髄腫細胞、ＣＯＳ細胞、ＳＰ２細胞およびＰＥＲ．Ｃ６細胞が含まれる。結合タンパク質をコードする組み換え発現ベクターが哺乳動物宿主細胞中に導入されると、宿主細胞中で結合タンパク質の発現を可能とするのに十分な期間にわたってまたは、宿主細胞がその中で増殖されている培地中への結合タンパク質の分泌を可能とするのに十分な期間にわたって宿主細胞を培養することによって、結合タンパク質が産生される。結合タンパク質は、標準的なタンパク質精製方法を用いて、培地から回収することが可能である。

【０２６８】

組み換え発現用の典型的なシステムにおいて、リン酸カルシウムによって媒介された形質移入によって、重鎖および軽鎖の両方をコードする組み換え発現ベクターが、ｄｈｆｒ－ＣＨＯ細胞中に導入される。組み換え発現ベクター内で、重鎖および軽鎖遺伝子は、遺伝子の転写の高いレベルを誘導するために、各々、ＣＭＶエンハンサー／ＡｄＭＰＬプロモーター制御要素へ作用可能に連結されている。組み換え発現ベクターは、メトトレキサート選択／増幅を用いて、ベクターで形質移入されたＣＨＯ細胞の選択を可能とするＤＨＦＲ遺伝子も担持する。選択された形質転換体宿主細胞は、重鎖および軽鎖の発現を可能

とするために培養され、完全な状態の結合タンパク質が培地から回収される。組み換え発現ベクターを調製し、宿主細胞を形質移入し、形質転換体を選択し、宿主細胞を培養し、培地から結合タンパク質を回収するために、標準的な分子生物学的技術が使用される。さらに、結合タンパク質が合成されるまで、適切な培地中で、宿主細胞を培養することによって、結合タンパク質を合成する方法が提供される。本方法は、培地から結合タンパク質を単離することをさらに含むことが可能である。

【０２６９】

ＤＶＤ－Ｉｇの重要な特徴は、ＤＶＤ－Ｉｇが、慣用の抗体として、類似の様式で産生および精製され得ることである。ＤＶＤ－Ｉｇの産生は、定常領域のいずれの配列修飾もなく、またはいずれの種類の化学的修飾もなく、所望される二重特異的活性を有する均一な単一の主産物をもたらす。「二特異的」、「多重特異的」および「多重特異的多価」完全長結合タンパク質を作製するための他の以前に記載された方法は、単一の主要産物をもたらさず、代わりに、集合した不活性な単一特異的、多重特異的、多価の完全長結合タンパク質と、異なる結合部位の組合せを有する多価完全長結合タンパク質との混合物の細胞内産生または分泌された産生をもたらす。例として、Ｍｉｌｌｅｒ ａｎｄ Ｐｒｅｓｔａ（ＰＣＴ公開ＷＯ２００１／０７７３４２（Ａ１））に記載されている設計に基づいて、重鎖および軽鎖の１６の可能な組合せが存在する。その結果、タンパク質の僅か６．２５％が、所望の活性形態であり、他の１５の可能な組合せと比較して単一の主産物または単一の主要産物としてではないと思われる。典型的には、大規模な製造において使用される標準的クロマトグラフィー技術を用いて、タンパク質の所望の完全に活性な形態を、タンパク質の不活性なおよび部分的に活性な形態から分離することは、未だ実証されていない。

【０２７０】

驚くべきことに、「二重特異的多価完全長結合タンパク質」の設計は、主として、所望される「二重特異的多価完全長結合タンパク質」へ集合する二重可変ドメイン軽鎖および二重可変ドメイン重鎖をもたらす。

【０２７１】

集合され、発現された二重可変ドメイン免疫グロブリン分子の少なくとも５０％、少なくとも７５％および少なくとも９０％が、所望される二重特異的四価タンパク質である。本実施形態は、特に、市販の利用を強化する。したがって、単一の細胞中で二重可変ドメイン軽鎖および二重可変ドメイン重鎖を発現し、「二重特異的四価完全長結合タンパク質」の単一の主要産物をもたらす方法が提供される。

【０２７２】

単一の細胞中で二重可変ドメイン軽鎖および二重可変ドメイン重鎖を発現し、「二重特異的四価完全長結合タンパク質」の「主要産物」をもたらす方法であって、ここで、「主要産物」は、二重可変ドメイン軽鎖および二重可変ドメイン重鎖を含むすべての集合されたタンパク質の５０％を上回る方法が提供される。

【０２７３】

単一の細胞中で二重可変ドメイン軽鎖および二重可変ドメイン重鎖を発現し、「二重特異的四価完全長結合タンパク質」の単一の「主要産物」をもたらす方法であって、ここで、「主要産物」は、二重可変ドメイン軽鎖および二重可変ドメイン重鎖を含むすべての集合されたタンパク質の７５％を上回る方法が提供される。

【０２７４】

単一の細胞中で二重可変ドメイン軽鎖および二重可変ドメイン重鎖を発現し、「二重特異的四価完全長結合タンパク質」の単一の「主要産物」をもたらす方法であって、ここで、「主要産物」は、二重可変ドメイン軽鎖および二重可変ドメイン重鎖を含むすべての集合されたタンパク質の９０％を上回る方法が提供される。

【０２７５】

ＩＩ．誘導体化された結合タンパク質

一実施形態は、標識された結合タンパク質を提供し、ここで、結合タンパク質は、別の

機能的分子（例えば、別のペプチドまたはタンパク質）へ誘導体化され、または連結される。例えば、標識された結合タンパク質は、別の抗体（例えば、二特異的抗体またはダイアボディ）、検出可能作用物質、細胞毒性剤、薬剤および／または別の分子（ストレプトアビジンコア領域またはポリヒスチジンタグなど）との、結合タンパク質の会合を媒介可能なタンパク質もしくはペプチドなどの１つまたは複数の他の分子実体へ、（化学的カップリング、遺伝的融合、非共有会合またはその他によって）本明細書において提供される結合タンパク質を機能的に連結することによって誘導することが可能である。

【０２７６】

本明細書において提供される結合タンパク質を誘導体化し得る有用な検出可能作用物質には、蛍光化合物が含まれる。典型的な蛍光検出可能作用物質には、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアナート、ローダミン、５－ジメチルアミン－１－ナフタレンスルホニルクロリド、フィコエリトリンなどが含まれる。結合タンパク質は、アルカリホスファターゼ、西洋ワサビペルオキシダーゼ、グルコースオキシダーゼなどの検出可能な酵素でも誘導体化され得る。結合タンパク質が検出可能な酵素で誘導体化される場合には、検出可能な反応産物を生成させるために、本酵素が使用するさらなる試薬を添加することによって抗体が検出される。例えば、検出可能作用物質西洋ワサビペルオキシダーゼが存在する場合には、過酸化水素およびジアミノベンジジンの添加は、検出可能な発色した反応産物をもたらす。結合タンパク質は、ビオチンを用いて誘導体化し、アビジンまたはストレプトアビジン結合の間接的な測定を通じても検出され得る。

【０２７７】

別の実施形態は、結晶化された結合タンパク質ならびにこのような結晶を含む製剤および組成物を提供する。一実施形態において、結晶化された結合タンパク質は、結合タンパク質の可溶性対応物より大きなインビボ半減期を有する。別の実施形態において、結合タンパク質は、結晶化後の生物活性を保持する。

【０２７８】

結晶化された結合タンパク質は、本分野で公知の方法に従って、およびＷＯ０２０７２６３６に開示されているように産生され得る。

【０２７９】

別の実施形態は、結合タンパク質またはその抗原結合部分が１つまたは複数の炭水化物残基を含む、グリコシル化された結合タンパク質を提供する。新生インビボタンパク質産生は、翻訳後修飾として知られるさらなるプロセッシングを経ることがあり得る。特に、糖（グリコシル）残基は、酵素的に付加され得る（グリコシル化として知られる方法）。共有結合されたオリゴ糖側鎖を有する得られたタンパク質は、グリコシル化されたタンパク質または糖タンパク質として知られる。抗体は、Ｆｃドメイン中、および可変ドメイン中に１つまたは複数の炭水化物残基を有する糖タンパク質である。Ｆｃドメイン中の炭水化物残基は、抗体の抗原結合または半減期に対する効果を最小限に抑えながら、Ｆｃドメインのエフェクター機能に対して重要な効果を有する（Ｒ．Ｊｅｆｆｅｒｉｓ，Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．Ｐｒｏｇ．２１（２００５），ｐｐ．１１－１６）。これに対して、可変ドメインのグリコシル化は、抗体の抗原結合活性に対して影響を及ぼし得る。可変ドメイン中のグリコシル化は、おそらくは、立体的な妨害のために、抗体結合親和性に対して負の影響を有し得（Ｃｏ，Ｍ．Ｓ．，ｅｔ　ａｌ．，ＭｏＩ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．（１９９３）３０：１３６１－１３６７）または抗原に対する増加した親和性をもたらし得る（Ｗａｌｌｉｃｋ，Ｓ．Ｃ．，ｅｔ　ａｌ．，Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．（１９８８）１６８：１０９９－１１０９；Ｗｒｉｇｈｔ，Ａ．，ｅｔ　ａｌ．，ＥＭＢＯ　Ｊ．（１９９１）１０：２７１７　２７２３）。

【０２８０】

一態様は、結合タンパク質のＯ結合型またはＮ結合型グリコシル化部位が変異されているグリコシル化部位変異体を作製することに関する。当業者は、標準的な周知の技術を用いて、このような変異体を作製することが可能である。生物学的活性を保持するが、増加または減少した結合活性を有するグリコシル化部位変異体が、他の実施形態である。

【０２８１】
さらに別の実施形態において、結合タンパク質またはその抗原結合部分のグリコシル化は修飾される。例えば、無グリコシル化結合タンパク質を作製することが可能である（すなわち、結合タンパク質は、グリコシル化を欠如する。）。グリコシル化は、例えば、抗原に対する結合タンパク質の親和性を増加させるために改変することが可能である。このような炭水化物修飾は、例えば、結合タンパク質配列内のグリコシル化の１つまたは複数の部位を変化させることによって達成することが可能である。例えば、それによって、当該部位のグリコシル化を除去するために、１つまたは複数の可変領域グリコシル化部位の除去をもたらす１つまたは複数のアミノ酸置換を施すことが可能である。このような無グリコシル化は、抗原に対する結合タンパク質の親和性を増加させ得る。このようなアプローチは、ＰＣＴ公開ＷＯ２００３０１６４６６Ａ２ならびに米国特許第５，７１４，３５０号および第６，３５０，８６１号に、さらに詳しく記載されている。

【０２８２】
これに加えてまたはこれに代えて、フコシル残基の減少した量を有する低フコシル化結合タンパク質（Ｋａｎｄａ，Ｙｕｔａｋａ ｅｔ ａｌ．，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ（２００７），１３０（３），３００－３１０参照。）または増加した二分岐ＧｌｃＮＡｃ構造を有する結合タンパク質など、グリコシル化の変化した種類を有する修飾された結合タンパク質を作製することが可能である。このような変化されたグリコシル化パターンは、抗体のＡＤＣＣ能力を増加させることが示されている。このような炭水化物修飾は、例えば、変化したグリコシル化機構を有する宿主細胞中で結合タンパク質を発現させることによって達成することが可能である。変化したグリコシル化機構を有する細胞は本分野において記載されており、その中で、組み換え結合タンパク質を発現させることによって、変化したグリコシル化を有する結合タンパク質を産生するための宿主細胞として使用することができる。例えば、Ｓｈｉｅｌｄｓ，Ｒ．Ｌ．ｅｔ ａｌ．（２００２）Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７７：２６７３３－２６７４０；Ｕｍａｎａ ｅｔ ａｌ．（１９９９）Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．１７：１７６－１および欧州特許ＥＰ１，１７６，１９５；ＰＣＴ公開ＷＯ０３／０３５８３５；ＷＯ９９／５４３４２８０を参照されたい。

【０２８３】
タンパク質グリコシル化は、対象のタンパク質のアミノ酸配列およびその中でタンパク質が発現される宿主細胞に依存する。異なる生物は、異なるグリコシル化酵素（例えば、グリコシル転移酵素およびグリコシダーゼ）を産生し得、利用可能な異なる基質（ヌクレオチド糖）を有し得る。このような要因のために、タンパク質グリコシル化パターンおよびグリコシル残基の組成は、タンパク質がその中で発現されている宿主系に応じて異なり得る。グリコシル残基には、グルコース、ガラクトース、マンノース、フコース、ｎ－アセチルグルコサミンおよびシアル酸が含まれ得るが、これらに限定されない。一実施形態において、グリコシル化された結合タンパク質は、グリコシル化パターンがヒトであるように、グリコシル残基を含む。

【０２８４】
異なるタンパク質グリコシル化は異なるタンパク質特性をもたらし得ることが、当業者に公知である。例えば、酵母などの微生物宿主中で産生され、酵母内在経路を用いてグリコシル化された治療用タンパク質の効力は、ＣＨＯ細胞株などの哺乳動物細胞中で発現された同じタンパク質の効力と比べて低下され得る。また、このような糖タンパク質は、ヒトにおいて免疫原性であり得、投与後に、減少したインビボ半減期を示し得る。ヒトおよび他の動物中の特異的な受容体は、特異的なグリコシル残基を認識し得、血流からのタンパク質の迅速な除去を促進し得る。他の有害な効果は、タンパク質の折り畳み、溶解度、プロテアーゼに対する感受性、運搬、輸送、区画化、分泌、他のタンパク質または因子による認識、抗原性またはアレルゲン性の変化が含まれ得る。したがって、当業者は、グリコシル化の特異的な組成およびパターン、例えば、ヒト細胞中または意図される対象動物の種特異的細胞中で産生されるものと同一または少なくとも類似のグリコシル化組成およ

びパターンを有する治療タンパク質を選択し得る。

【０２８５】

宿主細胞のものとは異なるグリコシル化されたタンパク質を発現することは、異種グリコシル化酵素を発現するために宿主細胞を遺伝的に修飾することによって達成され得る。本分野で公知の技術を使用して、当業者は、ヒトタンパク質グリコシル化を呈する結合タンパク質またはその抗原結合部分を作製し得る。例えば、酵母株中で産生されたグリコシル化されたタンパク質（糖タンパク質）が、動物細胞、特にヒト細胞のものと同一のタンパク質グリコシル化を呈するように（米国特許出願第２００４００１８５９０号および第２００２０１３７１３４号ならびにＰＣＴ公開ＷＯ２００５１００５８４Ａ２）、酵母株は、天然に存在しないグリコシル化酵素を発現するように遺伝的に修飾されている。

【０２８６】

結合タンパク質に加えて、ある種の実施形態は、このような結合タンパク質に対して特異的な抗イディオタイプ（抗Ｉｄ）抗体にも関する。抗Ｉｄ抗体は、別の抗体の抗原結合領域と一般的に付随する固有の決定基を認識する抗体である。抗Ｉｄは、結合タンパク質またはそのＣＤＲ含有領域で動物を免疫化することによって調製することが可能である。免疫された動物は、免疫結合タンパク質のイディオタイプ決定基を認識し、これに応答し、抗Ｉｄ抗体を産生する。ＤＶＤ－Ｉｇ分子に取り込まれる２つまたはそれ以上の親抗体に対する抗イディオタイプ抗体を生成し、各親抗体のイディオタイプに特異的な抗イディオタイプ抗体がＤＶＤ－Ｉｇの状況でイディオタイプ（例えば、抗原結合部位）をやはり認識することを実証するために、本分野で十分認識されている方法（例えば、ＢＩＡｃｏｒｅ、ＥＬＩＳＡ）によって結合研究を確認することが易しい可能性があることは容易に明らかである。ＤＶＤ－Ｉｇの２つまたはそれ以上の抗原結合部位の各々に特異的な抗イディオタイプ抗体は、患者血清中のヒトＤＶＤ－ＩｇのＤＶＤ－Ｉｇ濃度を測定するための理想的な試薬を提供する；ＤＶＤ－Ｉｇ濃度アッセイは、固相（例えば、ＢＩＡｃｏｒｅチップ、ＥＬＩＳＡプレートなど）に被覆された第一の抗原結合領域に対する抗体を用いる（濯ぎ用緩衝液で濯ぎ、血清試料とともにインキュベートし、もう一度すすぎステップを行い、最終的に（結合反応の定量化のための酵素でこれ自体標識されている）別の抗原結合部位に対する別の抗イディオタイプ抗体とともにインキュベートする）「サンドイッチアッセイＥＬＩＳＡフォーマット」を使用して確立することが可能である。一実施形態において、２つを超える異なる結合部位を有するＤＶＤ－Ｉｇの場合、２つの最も外側の結合部位（定常領域から最も遠位および近位）に対する抗イディオタイプ抗体は、ヒト血清中のＤＶＤ－Ｉｇ濃度を決定する助けとなるだけでなく、インビボでの分子の完全性も示す。各抗Ｉｄ抗体は、さらに別の動物における免疫応答を誘導して、いわゆる抗抗Ｉｄ抗体を産生する「免疫原」として使用することも可能である。

【０２８７】

さらに、ライブラリーのメンバー宿主細胞がバリアントグリコシル化パターンを有する目的のタンパク質を産生するように、様々なグリコシル化酵素を発現するように遺伝学的に改変された宿主細胞のライブラリーを用いて、目的のタンパク質を発現させ得ることが、当業者によって理解されている。次いで、当業者は、特定の新規グリコシル化パターンを有する目的のタンパク質を選択および単離し得る。次に、実施者は、特定の新規なグリコシル化パターンを有する対象とするタンパク質を選択および単離してもよい。一実施形態において、特に選択された新規グリコシル化パターンを有するタンパク質は、改善または改変された生物学的特性を示す。

【０２８８】

ＩＩＩ．ＤＶＤ－Ｉｇの使用

本明細書において提供される結合タンパク質は２つまたはそれ以上の抗原に結合することができるので、本発明の結合タンパク質は、酵素結合免疫吸着検定法（ＥＬＩＳＡ）、ラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）または組織免疫組織化学など慣用のイムノアッセイを用いて、（例えば、血清または血漿などの生物学的試料中で）抗原を検出するために使用することが可能である。ＤＶＤ－Ｉｇは、結合したまたは結合していないＤＶＤ－Ｉｇの検

出を促進するために、検出可能な物質で直接または間接的に標識される。適切な検出可能な物質には、様々な酵素、補欠分子族、蛍光物質、発光物質および放射性物質が含まれる。適切な酵素の例には、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、β－ガラクトシダーゼまたはアセチルコリンエステラーゼが含まれる。適切な補欠分子族複合体の例には、ストレプトアビジン／ビオチンおよびアビジン／ビオチンが含まれる。適切な蛍光物質の例には、ウンベリフェロン、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアナート、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミンフルオレセイン、ダンシルクロリドまたはフィコエリトリンが含まれる。発光物質の例には、ルミノールが含まれる；および適切な放射性材料の例には、^{3}Ｈ、^{14}Ｃ、^{35}Ｓ、^{90}Ｙ、^{99}Ｔｃ、^{111}Ｉｎ、^{125}Ｉ、^{131}Ｉ、^{177}Ｌｕ、^{166}Ｈｏまたは^{153}Ｓｍが含まれる。

【０２８９】

一実施形態において、結合タンパク質は、インビトロおよびインビボの両者で、抗原の活性を中和することが可能である。したがって、このようなＤＶＤ－Ｉｇは、例えば、抗原を含有する細胞培地中で、ヒト対象中で、結合タンパク質が交差反応する抗原を有するその他の哺乳動物対象中で、抗原活性を阻害するために使用することが可能である。別の実施形態において、抗原活性が有害である疾病または疾患に罹患している対象中の抗原活性を低下させる方法が提供される。いくつかの実施形態において、結合タンパク質は、治療目的のために、ヒト対象に投与することができる。

【０２９０】

本明細書において使用される「抗原活性が有害である疾患」という用語は、本疾患に罹患している対象中での抗原の存在が、疾患の病態生理の原因であることがまたは疾患の悪化に寄与している因子であることが示されており、または疑われている疾病およびその他の疾患を含むものとする。したがって、抗原活性が有害である疾患は、抗原活性の低下が疾患の症候および／または進行を緩和することが予測される疾患である。このような疾患は、例えば、本疾患に罹患している患者の生物学的液体中の抗原濃度の増加（例えば、対象の血清、血漿、滑液中などの抗原の濃度の増加）によって明らかとされ得る。本明細書において提供される結合タンパク質で治療することが可能な疾患の非限定的な例には、以下に、および医薬組成物に関するセクションに論述されている疾患が含まれる。

【０２９１】

本明細書において提供されるＤＶＤ－Ｉｇは、１つの抗原または複数の抗原に結合し得る。このような抗原には、参照により本明細書に組み込まれる以下のデータベースに列記されている標的が含まれるが、これらに限定されるものではない。これらの標的データベースには、以下のものが含まれる。

治療の標的（ｈｔｔｐ：／／ｘｉｎ．ｃｚ３．ｎｕｓ．ｅｄｕ．ｓｇ／ｇｒｏｕｐ／ｃｊｔｔｄ／ｔｔｄ．ａｓｐ）；

サイトカインおよびサイトカイン受容体（ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｃｙｔｏｋｉｎｅｗｅｂｆａｃｔｓ．ｃｏｍ／、ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｃｏｐｅｗｉｔｈｃｙｔｏｋｉｎｅｓ．ｄｅ／ｃｏｐｅ．ｃｇｉおよびｈｔｔｐ：／／ｃｍｂｉ．ｂｊｍｕ．ｅｄｕ．ｃｎ／ｃｍｂｉｄａｔａ／ｃｇｆ／ＣＧＦ＿Ｄａｔａｂａｓｅ／ｃｙｔｏｋｉｎｅ．ｍｅｄｉｃ．ｋｕｍａｍｏｔｏ－ｕ．ａｃ．ｊｐ／ＣＦＣ／ｉｎｄｅｘＲ．ｈｔｍｌ）；

ケモカイン（ｈｔｔｐ：／／ｃｙｔｏｋｉｎｅ．ｍｅｄｉｃ．ｋｕｍａｍｏｔｏ－ｕ．ａｃ．ｊｐ／ＣＦＣ／ＣＫ／Ｃｈｅｍｏｋｉｎｅ．ｈｔｍｌ）；

ケモカイン受容体およびＧＰＣＲ（ｈｔｔｐ：／／ｃｓｐ．ｍｅｄｉｃ．ｋｕｍａｍｏｔｏ－ｕ．ａｃ．ｊｐ／ＣＳＰ／Ｒｅｃｅｐｔｏｒ．ｈｔｍｌ、ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｇｐｃｒ．ｏｒｇ／７ｔｍ／）；

嗅覚受容体（ｈｔｔｐ：／／ｓｅｎｓｅｌａｂ．ｍｅｄ．ｙａｌｅ．ｅｄｕ／ｓｅｎｓｅｌａｂ／ＯＲＤＢ／ｄｅｆａｕｌｔ．ａｓｐ）；

受容体（ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｉｕｐｈａｒ－ｄｂ．ｏｒｇ／ｉｕｐｈａｒ－ｒｄ／ｌｉｓｔ／ｉｎｄｅｘ．ｈｔｍ）；

癌標的（ｈｔｔｐ：／／ｃｇｅｄ．ｈｇｃ．ｊｐ／ｃｇｉ－ｂｉｎ／ｉｎｐｕｔ．ｃｇｉ）；
潜在的な抗体標的として分泌されるタンパク質（ｈｔｔｐ：／／ｓｐｄ．ｃｂｉ．ｐｋｕ．ｅｄｕ．ｃｎ／）；
タンパク質キナーゼ（ｈｔｔｐ：／／ｓｐｄ．ｃｂｉ．ｐｋｕ．ｅｄｕ．ｃｎ／）ならびに
ヒトＣＤマーカー（ｈｔｔｐ：／／ｃｏｎｔｅｎｔ．ｌａｂｖｅｌｏｃｉｔｙ．ｃｏｍ／ｔｏｏｌｓ／６／１２２６／ＣＤ＿ｔａｂｌｅ＿ｆｉｎａｌ＿ｌｏｃｋｅｄ．ｐｄｆ）および（Ｚｏｌａ Ｈ，２００５ ＣＤ ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ ２００５：ｈｕｍａｎ ｃｅｌｌ ｄｉｆｆｅｒｅｎｔｉａｔｉｏｎ ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ Ｂｌｏｏｄ，１０６：３１２３－６）。

【０２９２】

ＤＶＤ－Ｉｇは、効力／安全を増強し、および／または患者の対象範囲を増加させるために、２つの異なる標的を同時に遮断するための治療剤として有用である。このような標的は、可溶性標的（ＴＮＦ）および細胞表面受容体標的（ＶＥＧＦＲおよびＥＧＦＲ）が含まれ得る。このような標的は、癌療法のために腫瘍細胞とＴ細胞（Ｈｅｒ２とＣＤ３）との間に、または自己免疫疾患または移植のために自己反応性細胞およびエフェクター細胞の間に、またはある所定の疾病において疾病を引き起こす細胞を除去するためにいずれかの標的細胞とエフェクター細胞の間に、再誘導された細胞障害を誘導するために使用することも可能である。

【０２９３】

さらに、同一受容体上の２つの異なるエピトープを標的とするように設計されている場合には、ＤＶＤ－Ｉｇは、受容体のクラスタリングおよび活性化を惹起するために使用することが可能である。これは、アゴニストおよびアンタゴニスト作用を有する抗ＧＰＣＲ治療剤を作製する上で有用性を有し得る。この場合には、ＤＶＤ－Ｉｇは、クラスタリング／シグナル伝達（２つの細胞表面分子）またはシグナル伝達（１つの分子上）のために、１つの細胞上に存在する２つの異なるエピトープ（ループ領域および細胞外ドメイン上のエピトープの両方を含む）を標的とするために使用することが可能である。同様に、ＤＶＤ－Ｉｇ分子は、ＣＴＬＡ－４連結、およびＣＴＬＡ－４細胞外ドメインの２つの異なるエピトープ（または同一エピトープの２コピー）を標的として免疫応答の下方制御をもたらすことによる負のシグナルを惹起するように設計することが可能である。ＣＴＬＡ－４は、多数の免疫学的疾患の治療的処置に対して、臨床的に妥当性が確認された標的である。ＣＴＬＡ－４／Ｂ７相互作用は、細胞周期の進行、ＩＬ－２産生および活性化に続くＴ細胞の増殖を弱化することによって、Ｔ細胞活性化を負に制御し、ＣＴＬＡ－４（ＣＤ１５２）の拘束は、Ｔ細胞の活性化を下方制御し、免疫寛容の誘導を促進する。しかしながら、ＣＴＬＡ－４の活性化は連結を必要とするので、アゴニスト性抗体によるＣＴＬＡ－４の拘束によって、Ｔ細胞の活性化を弱化するという戦略は成功を収めていない。ＣＴＬＡ－４／Ｂ７の分子相互作用は、結晶構造分析によって示されたように（Ｓｔａｍｐｅｒ ２００１ Ｎａｔｕｒｅ ４１０：６０８）、「歪んだジッパー」配列である。しかしながら、抗ＣＴＬＡ－４ｍＡｂを含む、現在利用可能なＣＴＬＡ－４結合試薬はいずれも、連結特性を有しない。この問題に対処するために、いくつかの試みが行われてきた。１つの事例では、細胞要素が結合された一本鎖抗体が作製され、マウス中での同種異系拒絶を著しく阻害した（Ｈｗａｎｇ ２００２ ＪＩ １６９：６３３）。別の事例では、人工のＡＰＣ表面に連結された、ＣＬＴＡ－４に対する一本鎖抗体が作製され、Ｔ細胞応答を弱化させることが示された（Ｇｒｉｆｆｉｎ ２０００ ＪＩ １６４：４４３３）。いずれの事例でも、人工の系内に近接して配置された膜結合型抗体によって、ＣＴＬＡ－４連結が達成された。これらの実験は、ＣＴＬＡ－４の負のシグナル伝達を引き起こすことによる免疫の下方制御という概念に対する証明を与えるが、これらの報告で使用された試薬は、治療的用途には適していない。この目的のために、ＣＴＬＡ－４細胞外ドメインの２つの異なるエピトープ（または同一エピトープの２コピー）を標的とするＤＶＤ－

Ｉｇ分子を使用することによって、ＣＴＬＡ－４連結が達成され得る。論拠は、ＩｇＧの２つの結合部位を貫く距離（約１５０から１７０Å）が、ＣＴＬＡ－４の活性な連結（２個のＣＴＬＡ－４ホモ二量体間で３０から５０Å）には大きすぎるということである。しかしながら、ＤＶＤ－Ｉｇ（１つのアーム）上の２つの結合部位間の距離はずっと短く、３０から５０Åの範囲にあるので、ＣＴＬＡ－４の適切な連結を可能とする。

【０２９４】

同様に、ＤＶＤ－Ｉｇは、細胞表面受容体複合体の２つの異なる要素を標的とすることが可能である（例えば、ＩＬ－１２Ｒαおよびβ）。さらに、ＤＶＤ－Ｉｇは、標的可溶性タンパク質／病原体の迅速な排除を誘導するために、ＣＲ１および可溶性タンパク質／病原体を標的とすることが可能である。

【０２９５】

さらに、本明細書において提供されるＤＶＤ－Ｉｇは、細胞内送達（内部移行受容体および細胞内分子を標的化すること）、脳内への送達（血液脳関門を横切るために、トランスフェリン受容体および中枢神経系疾患媒介物質を標的化すること）など、組織特異的な送達（増強された局所ＰＫにより、より高い効力および／またはより低い毒性を得るために、組織マーカーおよび疾病媒介物質を標的とすること）のために使用することが可能である。ＤＶＤ－Ｉｇは、その抗原の非中和エピトープへの結合を介して特異的な位置へ抗原を送達するための担体タンパク質としての役割も果たすことができ、抗原の半減期を増加させることが可能である。さらに、ＤＶＤ－Ｉｇは、患者中に植え込まれた医療用具に物理的に連結され、またはこれらの医療用具を標的とするように設計することが可能である（Ｂｕｒｋｅ，Ｓａｎｄｒａ Ｅ．；Ｋｕｎｔｚ，Ｒｉｃｈａｒｄ Ｅ．；Ｓｃｈｗａｒｔｚ，Ｌｅｗｉｓ Ｂ．，Ｚｏｔａｒｏｌｉｍｕｓ ｅｌｕｔｉｎｇ ｓｔｅｎｔｓ．Ａｄｖａｎｃｅｄ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｒｅｖｉｅｗｓ（２００６），５８（３），４３７－４４６；Ｓｕｒｆａｃｅ ｃｏａｔｉｎｇｓ ｆｏｒ ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ ａｃｔｉｖａｔｉｏｎ ａｎｄ ｆｕｎｃｔｉｏｎａｌｉｚａｔｉｏｎ ｏｆ ｍｅｄｉｃａｌ ｄｅｖｉｃｅｓ，Ｈｉｌｄｅｂｒａｎｄ，Ｈ．Ｆ．；Ｂｌａｎｃｈｅｍａｉｎ，Ｎ．；Ｍａｙｅｒ，Ｇ．；Ｃｈａｉ，Ｆ．；Ｌｅｆｅｂｖｒｅ，Ｍ．；Ｂｏｓｃｈｉｎ，Ｆ．，Ｓｕｒｆａｃｅ ａｎｄ Ｃｏａｔｉｎｇｓ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ（２００６），２００（２２－２３），６３１８－６３２４；Ｄｒｕｇ／ｄｅｖｉｃｅ ｃｏｍｂｉｎａｔｉｏｎｓ ｆｏｒ ｌｏｃａｌ ｄｒｕｇ ｔｈｅｒａｐｉｅｓ ａｎｄ ｉｎｆｅｃｔｉｏｎ ｐｒｏｐｈｙｌａｘｉｓ，Ｗｕ，Ｐｅｎｇ；Ｇｒａｉｎｇｅｒ，Ｄａｖｉｄ Ｗ．，Ｂｉｏｍａｔｅｒｉａｌｓ（２００６），２７（１１），２４５０－２４６７；Ｍｅｄｉａｔｉｏｎ ｏｆ ｔｈｅ ｃｙｔｏｋｉｎｅ ｎｅｔｗｏｒｋ ｉｎ ｔｈｅ ｉｍｐｌａｎｔａｔｉｏｎ ｏｆ ｏｒｔｈｏｐｅｄｉｃ ｄｅｖｉｃｅｓ．，Ｍａｒｑｕｅｓ，Ａ．Ｐ．；Ｈｕｎｔ，Ｊ．Ａ．；Ｒｅｉｓ，Ｒｕｉ Ｌ．，Ｂｉｏｄｅｇｒａｄａｂｌｅ Ｓｙｓｔｅｍｓ ｉｎ Ｔｉｓｓｕｅ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ ａｎｄ Ｒｅｇｅｎｅｒａｔｉｖｅ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ（２００５），３７７－３９７参照）。要約すれば、医療用インプラントの部位へ、細胞の適切な種類を誘導することは、正常な組織機能の治癒および回復を促進し得る。あるいは、用具に連結されたＤＶＤ－Ｉｇ、または用具を標的とするＤＶＤ－Ｉｇによって、装置の植え込み時に放出される媒介物質（サイトカインが含まれるが、これに限定されない。）の阻害も提供される。例えば、封鎖された動脈をきれいにし、心筋への血流を改善するために、介入的心臓病学において、長年にわたってステントが使用されている。しかしながら、伝統的な地金ステントは、一部の患者に、再狭窄（治療された領域中の動脈が再び狭くなること）を引き起こすことが知られており、血液凝固を引き起こし得る。最近、抗ＣＤ３４抗体によって被覆されたステントが記載されており、これは、再狭窄を軽減し、血液全体を循環している内皮前駆細胞（ＥＰＣ）を捕捉することによって、血液凝固の発生を予防する。内皮細胞は、血管に整列している細胞であり、血液が滑らかに流れるようにしている。ＥＰＣは、ステントの硬い表面に付着して滑らかな層を形成し、この層は、治癒を促進するのみならず、従来ステントの使用に付随してきた合併症である再狭窄および血液凝固を予防する（Ａｏｊｉ

ｅｔ ａｌ．２００５ Ｊ Ａｍ Ｃｏｌｌ Ｃａｒｄｉｏｌ．４５（１０）：１５７４－９）。ステントを必要としている患者に対する結果を改善させることに加えて、心血管バイパス手術を必要としている患者に対しても改善が示唆されている。例えば、抗ＥＰＣ抗体で被覆された人工血管導管（人工動脈）は、バイパス手術移植のために、患者の足または腕からの動脈を使用する必要性をなくする。これは、手術および麻酔時間を短縮し、それにより、冠動脈手術死を低下させる。ＤＶＤ－Ｉｇは、細胞動員を促進するために、植え込まれた装置上に被覆された、細胞表面マーカー（ＣＤ３４など）およびタンパク質（または、タンパク質、脂質および多糖を含む（但し、これらに限定されない。）あらゆる種類のエピトープ）に結合するように設計されている。このようなアプローチは、一般的に、他の医療用インプラントに対しても適用することが可能である。あるいは、ＤＶＤ－Ｉｇは、医療用具上に被覆することも可能であり、植え込まれた時に、（またはすでに充填されたＤＶＤ－Ｉｇの老朽化および変性など、さらなる新鮮なＤＶＤ－Ｉｇを必要とし得るすべての他の要請に応じて）用具からすべてのＤＶＤ－Ｉｇを放出し、装置は、新鮮なＤＶＤ－Ｉｇを患者に全身投与することによって、最充填することが可能であり、この場合、ＤＶＤ－Ｉｇは、結合部位の１セットで目的標的（サイトカイン、細胞表面マーカー（ＣＤ３４など）など）に結合し、結合部位の他のセットで装置上に被覆された標的（タンパク質、あらゆる種類のエピトープ（脂質、多糖およびポリマーを含むが、これらに限定されない。）に結合するように設計されている。この技術は、被覆されたインプラントの有用性を拡張するという利点を有している。

【０２９６】

Ａ．様々な疾病におけるＤＶＤ－Ｉｇの使用

本明細書において提供されるＤＶＤ－Ｉｇ分子は、様々な疾病を治療するための治療分子としても有用である。このような分子は、特定の疾病に関与する１つまたは複数の標的に結合し得る。様々な疾病におけるこのような標的の例が、以下に記載されている。

【０２９７】

Ａ１．ヒト自己免疫および炎症性応答

Ｃ５、ＣＣＬ１（Ｉ－３０９）、ＣＣＬ１１（エオタキシン）、ＣＣＬ１３（ｍｃｐ－４）、ＣＣＬ１５（ＭＩＰ－１ｄ）、ＣＣＬ１６（ＨＣＣ－４）、ＣＣＬ１７（ＴＡＲＣ）、ＣＣＬ１８（ＰＡＲＣ）、ＣＣＬ１９、ＣＣＬ２（ｍｃｐ－１）、ＣＣＬ２０（ＭＩＰ－３ａ）、ＣＣＬ２１（ＭＩＰ－２）、ＣＣＬ２３（ＭＰＩＦ－１）、ＣＣＬ２４（ＭＰＩＦ－２／エオタキシン－２）、ＣＣＬ２５（ＴＥＣＫ）、ＣＣＬ２６、ＣＣＬ３（ＭＩＰ－１ａ）、ＣＣＬ４（ＭＩＰ－１ｂ）、ＣＣＬ５（ＲＡＮＴＥＳ）、ＣＣＬ７（ｍｃｐ－３）、ＣＣＬ８（ｍｃｐ－２）、ＣＸＣＬ１、ＣＸＣＬ１０（ＩＰ－１０）、ＣＸＣＬＩｌ（Ｉ－ＴＡＣ／ＩＰ－９）、ＣＸＣＬ１２（ＳＤＦ１）、ＣＸＣＬ１３、ＣＸＣＬ１４、ＣＸＣＬ２、ＣＸＣＬ３、ＣＸＣＬ５（ＥＮＡ－７８／ＬＩＸ）、ＣＸＣＬ６（ＧＣＰ－２）、ＣＸＣＬ９、ＩＬ１３、ＩＬ８、ＣＣＬ１３（ｍｃｐ－４）、ＣＣＲ１、ＣＣＲ２、ＣＣＲ３、ＣＣＲ４、ＣＣＲ５、ＣＣＲ６、ＣＣＲ７、ＣＣＲ８、ＣＣＲ９、ＣＸ３ＣＲ１、ＩＬ８ＲＡ、ＸＣＲ１（ＣＣＸＣＲ１）、ＩＦＮＡ２、ＩＬ１０、ＩＬ１３、ＩＬ１７Ｃ、ＩＬ１Ａ、ＩＬ１Ｂ、ＩＬ１Ｆ１０、ＩＬ１Ｆ５、ＩＬ１Ｆ６、ＩＬ１Ｆ７、ＩＬ１Ｆ８、ＩＬ１Ｆ９、ＩＬ２２、ＩＬ５、ＩＬ８、ＩＬ９、ＬＴＡ、ＬＴＢ、ＭＩＦ、ＳＣＹＥ１（内皮単球活性化サイトカイン）、ＳＰＰ１、ＴＮＦ、ＴＮＦＳＦ５、ＩＦＮＡ２、ＩＬ１０ＲＡ、ＩＬ１０ＲＢ、ＩＬ１３、ＩＬ１３ＲＡ１、ＩＬ５ＲＡ、ＩＬ９、ＩＬ９Ｒ、ＡＢＣＦ１、ＢＣＬ６、Ｃ３、Ｃ４Ａ、ＣＥＢＰＢ、ＣＲＰ、ＩＣＥＢＥＲＧ、ＩＬ１Ｒ１、ＩＬ１ＲＮ、ＩＬ８ＲＢ、ＬＴＢ４Ｒ、ＴＯＬＬＩＰ、ＦＡＤＤ、ＩＲＡＫ１、ＩＲＡＫ２、ＭＹＤ８８、ＮＣＫ２、ＴＮＦＡＩＰ３、ＴＲＡＤＤ、ＴＲＡＦ１、ＴＲＡＦ２、ＴＲＡＦ３、ＴＲＡＦ４、ＴＲＡＦ５、ＴＲＡＦ６、ＡＣＶＲ１、ＡＣＶＲ１Ｂ、ＡＣＶＲ２、ＡＣＶＲ２Ｂ、ＡＣＶＲＬ１、ＣＤ２８、ＣＤ３Ｅ、ＣＤ３Ｇ、ＣＤ３Ｚ、ＣＤ６９、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＣＮＲ１、ＣＴＬＡ４、ＣＹＳＬＴＲ１、ＦＣＥＲ１Ａ、ＦＣＥＲ２、ＦＣＧＲ３Ａ、ＧＰＲ４４、ＨＡＶＣＲ２、ＯＰＲＤ１、Ｐ２ＲＸ７、ＴＬＲ２、ＴＬＲ３、ＴＬＲ４、ＴＬＲ５、ＴＬＲ６、ＴＬＲ７、ＴＬＲ８、

ＴＬＲ９、ＴＬＲ１０、ＢＬＲ１、ＣＣＬ１、ＣＣＬ２、ＣＣＬ３、ＣＣＬ４、ＣＣＬ５、ＣＣＬ７、ＣＣＬ８、ＣＣＬ１１、ＣＣＬ１３、ＣＣＬ１５、ＣＣＬ１６、ＣＣＬ１７、ＣＣＬ１８、ＣＣＬ１９、ＣＣＬ２０、ＣＣＬ２１、ＣＣＬ２２、ＣＣＬ２３、ＣＣＬ２４、ＣＣＬ２５、ＣＣＲ１、ＣＣＲ２、ＣＣＲ３、ＣＣＲ４、ＣＣＲ５、ＣＣＲ６、ＣＣＲ７、ＣＣＲ８、ＣＣＲ９、ＣＸ３ＣＬ１、ＣＸ３ＣＲ１、ＣＸＣＬ１、ＣＸＣＬ２、ＣＸＣＬ３、ＣＸＣＬ５、ＣＸＣＬ６、ＣＸＣＬ１０、ＣＸＣＬ１１、ＣＸＣＬ１２、ＣＸＣＬ１３、ＣＸＣＲ４、ＧＰＲ２、ＳＣＹＥ１、ＳＤＦ２、ＸＣＬ１、ＸＣＬ２、ＸＣＲ１、ＡＭＨ、ＡＭＨＲ２、ＢＭＰＲｌＡ、ＢＭＰＲ１Ｂ、ＢＭＰＲ２、Ｃ１９ｏｒｆ１０（ＩＬ２７ｗ）、ＣＥＲ１、ＣＳＦ１、ＣＳＦ２、ＣＳＦ３、ＤＫＦＺｐ４５１Ｊ０１１８、ＦＧＦ２、ＧＦＩ１、ＩＦＮＡ１、ＩＦＮＢ１、ＩＦＮＧ、ＩＧＦ１、ＩＬ１Ａ、ＩＬ１Ｂ、ＩＬ１Ｒ１、ＩＬ１Ｒ２、ＩＬ２、ＩＬ２ＲＡ、ＩＬ２ＲＢ、ＩＬ２ＲＧ、ＩＬ３、ＩＬ４、ＩＬ４Ｒ、ＩＬ５、ＩＬ５ＲＡ、ＩＬ６、ＩＬ６Ｒ、ＩＬ６ＳＴ、ＩＬ７、ＩＬ８、ＩＬ８ＲＡ、ＩＬ８ＲＢ、ＩＬ９、ＩＬ９Ｒ、ＩＬ１０、ＩＬ１０ＲＡ、ＩＬ１０ＲＢ、ＩＬ１１、ＩＬ１１ＲＡ、ＩＬ１２Ａ、ＩＬ１２Ｂ、ＩＬ１２ＲＢ１、ＩＬ１２ＲＢ２、ＩＬ１３、ＥＬ１３ＲＡ１、ＩＬ１３ＲＡ２、ＩＬ１５、ＩＬ１５ＲＡ、ＩＬ１６、ＩＬ１７、ＩＬ１７Ｒ、ＩＬ１８、ＩＬ１８Ｒ１、ＩＬ１９、ＩＬ２０、ＫＩＴＬＧ、ＬＥＰ、ＬＴＡ、ＬＴＢ、ＬＴＢ４Ｒ、ＬＴＢ４Ｒ２、ＬＴＢＲ、ＭＩＦ、ＮＰＰＢ、ＰＤＧＦＢ、ＴＢＸ２１、ＴＤＧＦ１、ＴＧＦＡ、ＴＧＦＢ１、ＴＧＦＢ１Ｉ１、ＴＧＦＢ２、ＴＧＦＢ３、ＴＧＦＢＩ、ＴＧＦＢＲ１、ＴＧＦＢＲ２、ＴＧＦＢＲ３、ＴＨ１Ｌ、ＴＮＦ、ＴＮＦＲＳＦ１Ａ、ＴＮＦＲＳＦ１Ｂ、ＴＮＦＲＳＦ７、ＴＮＦＲＳＦ８、ＴＮＦＲＳＦ９、ＴＮＦＲＳＦ１１Ａ、ＴＮＦＲＳＦ２１、ＴＮＦＳＦ４、ＴＮＦＳＦ５、ＴＮＦＳＦ６、ＴＮＦＳＦ１１、ＶＥＧＦ、ＺＦＰＭ２およびＲＮＦ１１０（ＺＮＦ１４４）など、多くのタンパク質が、一般的な自己免疫および炎症性応答に関与していると推定されている。一態様において、本明細書に列記されている標的の１つまたは複数に結合することが可能なＤＶＤ－Ｉｇが提供される。

【０２９８】

炎症性疾患を治療するために以下の標的の対に結合することが可能なＤＶＤ　Ｉｇが想定される：ＴＮＦおよびＩＬ－１７Ａ；ＴＮＦおよびＲＡＮＫＬ；ＴＮＦおよびＶＥＧＦ；ＴＮＦおよびＳＯＳＴ（配列１）；ＴＮＦおよびＤＫＫ；ＴＮＦおよびαＶβ３；ＴＮＦおよびＮＧＦ；ＴＮＦおよびＩＬ－２３ｐ１９；ＴＮＦおよびＩＬ－６；ＴＮＦおよびＳＯＳＴ（配列２）；ＴＮＦおよびＩＬ－６Ｒ；ＴＮＦおよびＣＤ－２０；ＴＮＦおよびＬＰＡ；ＴＮＦおよびＰＧＥ２；ＩｇＥおよびＩＬ－１３（配列１）；ＩＬ－１３（配列１）およびＩＬ２３ｐ１９；ＩｇＥおよびＩＬ－４；ＩｇＥおよびＩＬ－９（配列１）；ＩｇＥおよびＩＬ－９（配列２）；ＩｇＥおよびＩＬ－１３（配列２）；ＩＬ－１３（配列１）およびＩＬ－９（配列１）；ＩＬ－１３（配列１）およびＩＬ－４；ＩＬ－１３（配列１）およびＩＬ－９（配列２）；ＩＬ－１３（配列２）およびＩＬ－９（配列１）；ＩＬ－１３（配列２）およびＩＬ－４；ＩＬ－１３（配列２）およびＩＬ－２３ｐ１９；ＩＬ－１３（配列２）およびＩＬ－９（配列２）；ＩＬ－６ＲおよびＶＥＧＦ；ＩＬ－６ＲおよびＩＬ－１７Ａ；ＩＬ－６ＲおよびＲＡＮＫＬ；ＩＬ－１７ＡおよびＩＬ－１β（配列１）；ＩＬ－１β（配列１）およびＲＡＮＫＬ；ＩＬ－１β（配列１）およびＶＥＧＦ；ＲＡＮＫＬおよびＣＤ－２０；ＩＬ－１αおよびＩＬ－１β（配列１）；ＩＬ－１αおよびＩＬ－１β（配列２）（実施例２．１から２．４０を参照）。

【０２９９】

Ａ２．喘息

アレルギー性喘息は、好酸球増加症、杯細胞異形成、上皮細胞の変化、気道過敏症（ＡＨＲ）ならびにＴｈ２およびＴｈ１サイトカイン発現ならびに上昇した血清ＩｇＥレベルの存在によって特徴付けられる。気道炎症が、喘息の発病の基礎を成す中心的な因子であることは、現在では広く受け入れられており、Ｔ細胞、Ｂ細胞、好酸球、肥満細胞およびマクロファージなどの炎症性細胞と、サイトカインおよびケモカインなどの分泌されるこれらの媒介物質の複雑な相互作用が関与している。コルチコステロイドは、今日、喘息に

対する最も重要な抗炎症性治療であるが、それらの作用機序は非特異的であり、特に、若い患者集団では、安全性についての懸念が存在する。したがって、より特異的で、標的化された治療の開発が必要とされる。マウス中のＩＬ－１３が、好酸球性炎症とは独立に、ＡＨＲ、粘膜の過剰分泌および気道繊維症など、喘息の特徴の多くを模倣するという、証拠が増加している。（Ｆｉｎｏｔｔｏ ｅｔ ａｌ．，Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ（２００５），１７（８），９９３－１００７；Ｐａｄｉｌｌａ ｅｔ ａｌ．，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ（２００５），１７４（１２），８０９７－８１０５）。

【０３００】

ＩＬ－１３は、喘息を伴う病的応答を引き起こす上で中心的な役割を有すると推定されている。肺でのＩＬ－１３の効果を抑制するための抗ＩＬ－１３ｍＡｂ療法の開発は、喘息のための新規治療としてかなりの有望性を与える、刺激的な新しいアプローチである。しかしながら、異なる免疫学的経路の他の媒介物質も喘息の発病に関与しており、ＩＬ－１３に加えて、これらの媒介物質を遮断することは、さらなる治療的利点を与え得る。このような標的対には、ＩＬ－１３および腫瘍壊死因子－α（ＴＮＦ－α）などの炎症促進性サイトカインが含まれるが、これに限定されるものではない。ＴＮＦ－αは、喘息における炎症性応答を増幅し得、疾病の重度と関連し得る（ＭｃＤｏｎｎｅｌｌ，ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｇｒｅｓｓ ｉｎ Ｒｅｓｐｉｒａｔｏｒｙ Ｒｅｓｅａｒｃｈ（２００１），３１（Ｎｅｗ Ｄｒｕｇｓ ｆｏｒ Ａｓｔｈｍａ，Ａｌｌｅｒｇｙ ａｎｄ ＣＯＰＤ），２４７－２５０）。これは、ＩＬ－１３およびＴＮＦ－αの両方を遮断し、特に、重い気道疾病において、有益な効果を有し得ることを示唆する。別の実施形態において、ＤＶＤ－Ｉｇは、標的であるＩＬ－１３およびＴＮＦαに結合し、喘息を治療するために使用される。

【０３０１】

炎症およびＡＨＲをともに評価することができる、ＯＶＡによって誘導された喘息マウスモデルなどの動物モデルが本分野において公知であり、様々なＤＶＤ－Ｉｇ分子が喘息を治療する能力を測定するために使用し得る。喘息を研究するための動物モデルは、Ｃｏｆｆｍａｎ，ｅｔ ａｌ．，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ（２００５），２０１（１２），１８７５－１８７９；Ｌｌｏｙｄ，ｅｔ ａｌ．，Ａｄｖａｎｃｅｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ（２００１），７７，２６３－２９５；Ｂｏｙｃｅ ｅｔ ａｌ．，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ（２００５），２０１（１２），１８６９－１８７３；およびＳｎｉｂｓｏｎ，ｅｔ ａｌ．，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｔｈｅ Ｂｒｉｔｉｓｈ Ｓｏｃｉｅｔｙ ｆｏｒ Ａｌｌｅｒｇｙ ａｎｄ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ（２００５），３５（２），１４６－５２に開示されている。これらの標的対の定型的な安全性評価に加えて、免疫抑制の程度に対する特異的検査が保証され、最高の標的対を選択する上で役立ち得る（Ｌｕｓｔｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｔｏｘｉｃｏｌｏｇｙ（１９９４），９２（１－３），２２９－４３；Ｄｅｓｃｏｔｅｓ，ｅｔ ａｌ．，Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔｓ ｉｎ ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ ｓｔａｎｄａｒｄｉｚａｔｉｏｎ（１９９２），７７ ９９－１０２；Ｈａｒｔ ｅｔ ａｌ．，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ａｌｌｅｒｇｙ ａｎｄ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ（２００１），１０８（２），２５０－２５７参照）。

【０３０２】

本明細書で開示されている論拠に基づいて、ならびに効力および安全性のための同じ評価モデルを使用して、ＤＶＤ－Ｉｇ分子が結合することができ、喘息を治療するために有用であり得る他の標的対を決定し得る。一実施形態において、ＩＬ－１βは、喘息における炎症応答にも関与が推定されているので、このような標的には、ＩＬ－１３およびＩＬ－１βが含まれ；ＩＬ－１３およびＩＬ－９など、炎症に関与しているＩＬ－１３およびサイトカインおよびケモカイン；ＩＬ－１３およびＩＬ－４；ＩＬ－１３およびＩＬ－５；ＩＬ－１３およびＩＬ－２５；ＩＬ－１３およびＴＡＲＣ；ＩＬ－１３およびＭＤＣ；

ＩＬ－１３およびＭＩＦ；ＩＬ－１３およびＴＧＦ－β；ＩＬ－１３およびＬＨＲアゴニスト；ＩＬ－１３およびＣＬ２５；ＩＬ－１３およびＳＰＲＲ２ａ；ＩＬ－１３およびＳＰＲＲ２ｂ；ならびにＩＬ－１３およびＡＤＡＭ８が含まれるが、これらに限定されるものではない。喘息に関与している１つまたは複数の標的に結合することが可能なＤＶＤ－Ｉｇも提供される。いくつかの実施形態において、標的は、ＰＧＤ２、ＣＳＦ１（ＭＣＳＦ）、ＣＳＦ２（ＧＭ－ＣＳＦ）、ＣＳＦ３（ＧＣＳＦ）、ＦＧＦ２、ＩＦＮＡ１、ＩＦＮＢ１、ＩＦＮＧ、ヒスタミンおよびヒスタミン受容体、ＩＬ１Ａ、ＩＬ１Ｂ、ＩＬ２、ＩＬ３、ＩＬ４、ＩＬ５、ＩＬ６、ＩＬ７、ＩＬ８、ＩＬ９、ＩＬ１０、ＩＬ１１、ＩＬ１２Ａ、ＩＬ１２Ｂ、ＩＬ１３、ＩＬ１４、ＩＬ１５、ＩＬ１６、ＩＬ１７、ＩＬ１８、ＩＬ１９、ＫＴＩＬＧ、ＰＤＧＦＢ、ＩＬ２ＲＡ、ＩＬ４Ｒ、ＩＬ５ＲＡ、ＩＬ８ＲＡ、ＩＬ８ＲＢ、ＩＬ１２ＲＢ１、ＩＬ１２ＲＢ２、ＩＬ１３ＲＡ１、ＩＬ１３ＲＡ２、ＩＬ１８Ｒ１、ＴＳＬＰ、ＣＣＬ１、ＣＣＬ２、ＣＣＬ３、ＣＣＬ４、ＣＣＬ５、ＣＣＬ７、ＣＣＬ８、ＣＣＬ１３、ＣＣＬ１７、ＣＣＬ１８、ＣＣＬ１９、ＣＣＬ２０、ＣＣＬ２２、ＣＣＬ２４，ＣＸ３ＣＬ１、ＣＸＣＬ１、ＣＸＣＬ２、ＣＸＣＬ３、ＸＣＬ１、ＣＣＲ２、ＣＣＲ３、ＣＣＲ４、ＣＣＲ５、ＣＣＲ６、ＣＣＲ７、ＣＣＲ８、ＣＸ３ＣＲ１、ＧＰＲ２、ＸＣＲ１、ＦＯＳ、ＧＡＴＡ３、ＪＡＫ１、ＪＡＫ３、ＳＴＡＴ６、ＴＢＸ２１、ＴＧＦＢ１、ＴＮＦ、ＴＮＦＳＦ６、ＹＹ１、ＣＹＳＬＴＲ１、ＦＣＥＲ１Ａ、ＦＣＥＲ２、ＬＴＢ４Ｒ、ＴＢ４Ｒ２、ＬＴＢＲ、ＰＧＤ２またはキチナーゼである。

【０３０３】

Ａ３．関節リウマチ

全身性疾患である関節リウマチ（ＲＡ）は、関節の滑液中の慢性的炎症反応によって特徴付けられ、軟骨の変性と隣接する関節骨を伴う。ＴＮＦ、ケモカインおよび成長因子など、多くの炎症促進性サイトカインが、罹患した関節中に発現されている。抗ＴＮＦ抗体またはｓＴＮＦＲ融合タンパク質の、ＲＡのマウスモデルへの全身投与は、抗炎症性および関節保護的であることが示された。ＲＡ患者中のＴＮＦの活性が、静脈内に投与されたインフリキシマブ（キメラ抗ＴＮＦｍＡＢ）で遮断された臨床的調査（Ｈａｒｒｉｍａｎ Ｇ，Ｈａｒｐｅｒ ＬＫ，Ｓｃｈａｉｂｌｅ ＴＦ．１９９９ Ｓｕｍｍａｒｙ ｏｆ ｃｌｉｎｉｃａｌ ｔｒｉａｌｓ ｉｎ ｒｈｅｕｍａｔｏｉｄ ａｒｔｈｒｉｔｉｓ ｕｓｉｎｇ ｉｎｆｌｉｘｉｍａｂ，ａｎ ａｎｔｉ－ＴＮＦａｌｐｈａ ｔｒｅａｔｍｅｎｔ．Ａｎｎ Ｒｈｅｕｍ Ｄｉｓ ５８ Ｓｕｐｐｌ １：１６１－４）は、ＴＮＦがＩＬ－６、ＩＬ－８、ＭＣＰ－１およびＶＥＧＦ産生、免疫および炎症性細胞の関節中への動員、血管新生ならびにマトリックスメタロプロテイナーゼ－１および－３の血液レベルの低下を制御するという証拠を提供した。関節リウマチにおける炎症性経路をより深く理解することによって、関節リウマチに関与する他の治療標的の同定に結びついた。過去、インターロイキン－６アンタゴニスト（Ｃｈｕｇａｉ、Ｒｏｃｈｅによって開発されたＩＬ－６受容体抗体ＭＲＡ、Ｎｉｓｈｉｍｏｔｏ，Ｎｏｒｉｈｉｒｏ ｅｔ ａｌ．，Ａｒｔｈｒｉｔｉｓ＆Ｒｈｅｕｍａｔｉｓｍ（２００４），５０（６），１７６１－１７６９参照）、ＣＴＬＡ４Ｉｇ（アダタセプト、Ｇｅｎｏｖｅｓｅ Ｍｃ ｅｔ ａｌ ２００５ Ａｂａｔａｃｅｐｔ ｆｏｒ ｒｈｅｕｍａｔｏｉｄ ａｒｔｈｒｉｔｉｓ ｒｅｆｒａｃｔｏｒｙ ｔｏ ｔｕｍｏｒ ｎｅｃｒｏｓｉｓ ｆａｃｔｏｒ ａｌｐｈａ ｉｎｈｉｂｉｔｉｏｎ．Ｎ Ｅｎｇｌ Ｊ Ｍｅｄ．３５３：１１１４－２３．）、および抗Ｂ細胞療法（リツキシマブ、Ｏｋａｍｏｔｏ Ｈ，Ｋａｍａｔａｎｉ Ｎ．２００４ Ｒｉｔｕｘｉｍａｂ ｆｏｒ ｒｈｅｕｍａｔｏｉｄ ａｒｔｈｒｉｔｉｓ．Ｎ Ｅｎｇｌ Ｊ Ｍｅｄ．３５１：１９０９）などの有望な治療が、無作為化された対照臨床試験においてすでに検査されてきた。インターロイキン－１５（治療用抗体ＨｕＭａｘ－ＩＬ＿１５、ＡＭＧ７１４、Ｂａｓｌｕｎｄ，Ｂｏ ｅｔ ａｌ．，Ａｒｔｈｒｉｔｉｓ＆Ｒｈｅｕｍａｔｉｓｍ（２００５），５２（９），２６８６－２６９２）、インターロイキン－１７およびインターロイキン－１８など、他のサイトカインが同定され、動物モデルにおいて有益であることが示されており、これらの作用物質の臨床試験が現在進行中である。抗ＴＮＦおよび別の媒介物質を組み合わせた二重特異的抗体療法は、臨床的効

力および／または患者の対象範囲を増大させる上で大きな可能性を秘めている。例えば、ＴＮＦとＶＥＧＦ（いずれも、ＲＡの病態生理学に関与している。）の両方を遮断することは、炎症および血管新生を根絶することができる可能性を秘めている。ＴＮＦおよびＩＬ－１８；ＴＮＦおよびＩＬ－１２；ＴＮＦおよびＩＬ－２３；ＴＮＦおよびＩＬ－１β；ＴＮＦおよびＭＩＦ；ＴＮＦおよびＩＬ－１７；ならびにＴＮＦおよびＩＬ－１５を含む（但し、これらに限定されない。）、ＲＡに関与している標的の他の対を、特異的ＤＶＤＩｇで遮断することも想定される。これらの標的対の定型的な安全性評価に加えて、免疫抑制の程度に対する特異的検査が保証され、最高の標的対を選択する上で役立ち得る（Ｌｕｓｔｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｔｏｘｉｃｏｌｏｇｙ（１９９４），９２（１－３），２２９－４３；Ｄｅｓｃｏｔｅｓ，ｅｔ ａｌ．，Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔｓ ｉｎ ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ ｓｔａｎｄａｒｄｉｚａｔｉｏｎ（１９９２），７７ ９９－１０２；Ｈａｒｔ ｅｔ ａｌ．，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ａｌｌｅｒｇｙ ａｎｄ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ（２００１），１０８（２），２５０－２５７参照）。ＤＶＤＩｇ分子が関節リウマチの治療に対して有用であるかどうかは、コラーゲンによって誘導された関節炎マウスモデルなど、前臨床動物ＲＡモデルを用いて評価することが可能である。他の有用なモデルも本分野において周知である（Ｂｒａｎｄ ＤＤ．，Ｃｏｍｐ Ｍｅｄ．（２００５）５５（２）：１１４－２２参照）。ヒトおよびマウスオルソログに対する親抗体の交差反応性（例えば、ヒトおよびマウスＴＮＦ、ヒトおよびマウスＩＬ－１５などに対する反応性）を基礎として、「適合代理抗体」由来ＤＶＤ－Ｉｇ分子を用いてマウスＣＩＡモデルにおける妥当性確認研究を行うことが可能である；簡潔に述べると、２つ（またはそれ以上）のマウス標的特異的抗体を基礎とするＤＶＤ－Ｉｇは、ヒトＤＶＤ－Ｉｇ構築に使用される親ヒトまたはヒト化抗体の特徴に可能な限り適合し得る（類似した親和性、類似した中和効力、類似した半減期など）。

【０３０４】

Ａ４．ＳＬＥ

ＳＬＥの免疫病原性の特徴は、ポリクローナルＢ細胞活性化であり、これは、高グロブリン血症、自己抗体産生および免疫複合体形成をもたらす。基本的な異常は、全般的なＴ細胞の調節不全のために、Ｔ細胞が禁じられたＢ細胞クローンを抑制できないことであるように見受けられる。さらに、ＢおよびＴ細胞の相互作用は、第二のシグナルを開始する、ＩＬ－１０ならびにＣＤ４０とＣＤ４０ＬおよびＢ７およびＣＤ２８とＣＴＬＡ－４などの同時刺激分子などのいくつかのサイトカインによって促進される。これらの相互作用は、免疫複合体およびアポトーシス材料の損傷された食細胞の排除とともに、生じた組織傷害によって免疫応答を永続化させる。以下の標的がＳＬＥに関与し得、治療的介入のためのＤＶＤ－Ｉｇアプローチのために使用できる可能性を秘めている。Ｂ細胞標的化療法：ＣＤ－２０、ＣＤ－２２、ＣＤ－１９、ＣＤ２８、ＣＤ４、ＣＤ８０、ＨＬＡ－ＤＲＡ、ＩＬ１０、ＩＬ２、ＩＬ４、ＴＮＦＲＳＦ５、ＴＮＦＲＳＦ６、ＴＮＦＳＦ５、ＴＮＦＳＦ６、ＢＬＲ１、ＨＤＡＣ４、ＨＤＡＣ５、ＨＤＡＣ７Ａ、ＨＤＡＣ９、ＩＣＯＳＬ、ＩＧＢＰ１、ＭＳ４Ａ１、ＲＧＳ１、ＳＬＡ２、ＣＤ８１、ＩＦＮＢ１、ＩＬ１０、ＴＮＦＲＳＦ５、ＴＮＦＲＳＦ７、ＴＮＦＳＦ５、ＡＩＣＤＡ、ＢＬＮＫ、ＧＡＬＮＡＣ４Ｓ－６ＳＴ、ＨＤＡＣ４、ＨＤＡＣ５、ＨＤＡＣ７Ａ、ＨＤＡＣ９、ＩＬ１０、ＩＬ１１、ＩＬ４、ＩＮＨＡ、ＩＮＨＢＡ、ＫＬＦ６、ＴＮＦＲＳＦ７、ＣＤ２８、ＣＤ３８、ＣＤ６９、ＣＤ８０、ＣＤ８３、ＣＤ８６、ＤＰＰ４、ＦＣＥＲ２、ＩＬ２ＲＡ、ＴＮＦＲＳＦ８、ＴＮＦＳＦ７、ＣＤ２４、ＣＤ３７、ＣＤ４０、ＣＤ７２、ＣＤ７４、ＣＤ７９Ａ、ＣＤ７９Ｂ、ＣＲ２、ＩＬ１Ｒ２、ＩＴＧＡ２、ＩＴＧＡ３、ＭＳ４Ａ１、ＳＴ６ＧＡＬ１、ＣＤ１Ｃ、ＣＨＳＴ１０、ＨＬＡ－Ａ、ＨＬＡ－ＤＲＡおよびＮＴ５Ｅ；同時刺激シグナル：ＣＴＬＡ４またはＢ７．１／Ｂ７．２；Ｂ細胞生存の阻害：ＢｌｙＳ、ＢＡＦＦ；補体不活化：Ｃ５；サイトカイン調節。中心的な原理は、いずれかの組織中の総合的な生物応答は、炎症促進性サイトカインまたは抗炎症性サイトカインの局所レベル間のバランスの結果であるということである（Ｓｆｉｋａｋｉｓ ＰＰ ｅｔ ａｌ ２００５ Ｃｕｒｒ Ｏｐｉｎ Ｒｈｅｕｍａｔｏｌ １７：５５０－７参照）。ＳＬＥは、血清

ＩＬ－４、ＩＬ－６、ＩＬ－１０の文献に報告された上昇を伴う、Ｔｈ２によって誘導される疾病であると考えられる。いくつかの実施形態において、ＤＶＤ　Ｉｇは ＩＬ－４、ＩＬ－６、ＩＬ－１０、ＩＮＦ－α、またはＴＮＦ－αに結合することが可能である。本明細書で論述されている標的の組合せは、多数の狼瘡前臨床モデル中で検査することが可能なＳＬＥに対して治療的な効力を増強する（Ｐｅｎｇ　ＳＬ（２００４）Ｍｅｔｈｏｄｓ　Ｍｏｌ　Ｍｅｄ．；１０２：２２７－７２参照）。ヒトおよびマウスオルソログに対する親抗体の交差反応性（例えば、ヒトおよびマウスＣＤ２０、ヒトおよびマウスインターフェロンαなどに対する反応性）を基礎として、「適合代理抗体」由来ＤＶＤ－Ｉｇ分子を用いてマウスループスモデルにおける妥当性確認研究を行うことが可能である；簡潔に述べると、２つ（またはそれ以上）のマウス標的特異的抗体を基礎とするＤＶＤ－Ｉｇは、ヒトＤＶＤ－Ｉｇ構築に使用される親ヒトまたはヒト化抗体の特徴に可能な限り適合し得る（類似した親和性、類似した中和効力、類似した半減期など）。

【０３０５】

Ａ５．多発性硬化症

多発性硬化症（ＭＳ）は、主に病因が不明である複雑なヒト自己免疫型疾病である。神経系を通じたミエリン塩基性タンパク質（ＭＢＰ）の免疫学的破壊が、多発性硬化症の主要な病因である。ＭＳは、ＣＤ４＋およびＣＤ８＋Ｔ細胞による浸潤を伴う複雑な病変の疾病であり、中枢神経系内の応答の疾病である。サイトカイン、反応性窒素種および同時刺激分子の中枢神経系中での発現はすべて、ＭＳにおいて記載されている。主に検討すべきであるのは、自己免疫の発達に寄与する免疫学的機序である。特に、Ｔｈ１およびＴｈ２細胞などの他のＴ細胞のバランス／調節を補助する、抗原発現、サイトカインおよび白血病相互作用ならびに調節性Ｔ細胞は、治療標的の同定のための重要な領域である。

【０３０６】

ＩＬ－１２は、ＡＰＣによって産生される炎症促進性サイトカインであり、Ｔｈ１エフェクター細胞の分化を促進する。ＩＬ－１２は、ＭＳ患者およびＥＡＥに罹患した動物中の発達している病変中で産生される。以前、ＩＬ－１２経路中の妨害がげっ歯類中のＥＡＥを効果的に抑制すること、およびコモンマモセット中のミエリン誘発性ＥＡＥモデル中で、抗ＩＬ－１２ｍＡｂを用いたＩＬ－１２ｐ４０のインビボ中和が有益な効果を有することが示された。

【０３０７】

ＴＷＥＡＫは、中枢神経系（ＣＮＳ）中で恒常的に発現されるＴＮＦファミリーのメンバーであり、細胞の種類に応じて炎症促進性、増殖性またはアポトーシス効果を有する。その受容体Ｆｎ１４は、内皮細胞、反応性星状膠細胞および神経細胞によって、中枢神経系中で発現されている。ＴＷＥＡＫおよびＦＮ１４ｍＲＮＡ発現は、実験的自己免疫脳脊髄炎（ＥＡＥ）の間に、脊髄中で増加した。ミエリン乏突起膠細胞糖タンパク質（ＭＯＧ）によってＣ５７ＢＬ／６マウス中に誘導されたＥＡＥにおける抗ＴＷＥＡＫ抗体治療は、マウスが初回刺激相後に治療された場合に、疾病の重度および白血球の浸潤の低下をもたらした。

【０３０８】

一実施形態は、１つまたは複数、例えば２つの標的に結合することができるＤＶＤ　Ｉｇ分子に関する。いくつかの実施形態において、標的は、ＩＬ－１２、ＴＷＥＡＫ、ＩＬ－２３、ＣＸＣＬ１３、ＣＤ４０、ＣＤ４０Ｌ、ＩＬ－１８、ＶＥＧＦ、ＶＬＡ－４、ＴＮＦ、ＣＤ４５ＲＢ、ＣＤ２００、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＦＧＦ、Ｃ５、ＣＤ５２またはＣＣＲ２である。一実施形態には、ＭＳの治療に対して有益な治療剤としての二重特異的抗ＩＬ－１２／ＴＷＥＡＫＤＶＤＩｇが含まれる。

【０３０９】

ＭＳを治療するためのＤＶＤ－Ｉｇ分子の有用性を評価するためのいくつかの動物モデルが、本分野において公知である（Ｓｔｅｉｎｍａｎ　Ｌ，ｅｔ　ａｌ．，（２００５）Ｔｒｅｎｄｓ　Ｉｍｍｕｎｏｌ．２６（１１）：５６５－７１；Ｌｕｂｌｉｎ　ＦＤ．，ｅｔ　ａｌ．，（１９８５）Ｓｐｒｉｎｇｅｒ　Ｓｅｍｉｎ　Ｉｍｍｕｎｏｐａｔｈｏｌ

．８（３）：１９７－２０８；Ｇｅｎａｉｎ ＣＰ，ｅｔ ａｌ．，（１９９７）Ｊ Ｍｏｌ Ｍｅｄ．７５（３）：１８７－９７；Ｔｕｏｈｙ ＶＫ，ｅｔ ａｌ．，（１９９９）Ｊ Ｅｘｐ Ｍｅｄ．１８９（７）：１０３３－４２；Ｏｗｅｎｓ Ｔ，ｅｔ ａｌ．，（１９９５）Ｎｅｕｒｏｌ Ｃｌｉｎ．１３（１）：５１－７３；および’ｔ Ｈａｒｔ ＢＡ，ｅｔ ａｌ．，（２００５）Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ １７５（７）：４７６１－８参照）。ヒトおよび動物種オルソログに対する親抗体の交差反応性（例えば、ヒトおよびマウスＩＬ－１２、ヒトおよびマウスＴＷＥＡＫなどに対する反応性）を基礎として、「適合代理抗体」由来ＤＶＤ－Ｉｇ分子を用いてマウスＥＡＥモデルにおける妥当性確認研究を行うことが可能である；簡潔に述べると、２つ（またはそれ以上）のマウス標的特異的抗体を基礎とするＤＶＤ－Ｉｇは、ヒトＤＶＤ－Ｉｇ構築に使用される親ヒトまたはヒト化抗体の特徴に可能な限り適合し得る（類似した親和性、類似した中和効力、類似した半減期など）。同じ概念は他の非げっ歯類種の動物モデルに当てはまり、「適合代理抗体」由来ＤＶＤ－Ｉｇは予期される薬理学および場合によると安全性研究のために選択される。これらの標的対の定型的な安全性評価に加えて、免疫抑制の程度に対する特異的検査が保証され、最高の標的対を選択する上で役立ち得る（Ｌｕｓｔｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｔｏｘｉｃｏｌｏｇｙ（１９９４），９２（１－３），２２９－４３；Ｄｅｓｃｏｔｅｓ，ｅｔ ａｌ．，Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔｓ ｉｎ ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ ｓｔａｎｄａｒｄｉｚａｔｉｏｎ（１９９２），７７ ９９－１０２；Ｊｏｎｅｓ Ｒ．２０００ Ｒｏｖｅｌｉｚｕｍａｂ（ＩＣＯＳ Ｃｏｒｐ）．ＩＤｒｕｇｓ．３（４）：４４２－６）参照）。

【０３１０】

Ａ６．敗血症

敗血症の病態生理は、グラム陰性生物（リポ多糖［ＬＰＳ］、リピドＡ、エンドトキシン）およびグラム陽性生物（リポテイコ酸、ペプチドグリカン）の両方の外膜成分によって開始される。これらの外膜成分は、単球の表面上のＣＤ１４受容体に結合することが可能である。最近記載されたトール様受容体によって、シグナルは、その後、細胞へと伝達され、炎症促進性サイトカインである腫瘍壊死因子α（ＴＮＦ－α）およびインターロイキン－１（ＩＬ－１）の最終的な産生をもたらす。圧倒的な炎症性応答および免疫応答は、敗血症性ショックの本質的な特徴であり、敗血症によって誘導される組織損傷、多臓器不全および死亡の病因において中心的な役割を果たす。サイトカイン、特に、腫瘍壊死因子（ＴＮＦ）およびインターロイキン（ＩＬ－１）は、敗血症性ショックの極めて重要な媒介物質であることが示されている。これらのサイトカインは、組織に対して直接的な毒性効果を有しており、ホスホリパーゼＡ２も活性化させる。これらの効果および他の効果は、血小板活性化因子、酸化窒素合成酵素活性の促進、好中球による組織浸潤の促進および好中球活性の促進の増加した濃度をもたらす。

【０３１１】

敗血症および敗血症性ショックの治療は、なお臨床的な難問であり、炎症性応答を標的とした生物学的応答修飾物質（すなわち、抗ＴＮＦ、抗ＭＩＦ）を用いた最近の前向き臨床試験は、若干の臨床的有益性を示したに過ぎなかった。最近、免疫抑制の付随期間を逆転させることを目指した治療法に関心が移っている。実験動物および重病の患者における研究は、リンパ系臓器およびいくつかの実質組織の増加したアポトーシスが、この免疫抑制、アネルギーおよび臓器系機能不全に寄与することを示している。敗血症症候群の間、リンパ球アポトーシスは、ＩＬ－２の不存在によってまたはグルココルチコイド、グランザイムもしくはいわゆる「死亡（ｄｅａｔｈ）」サイトカイン：腫瘍壊死因子αまたはＦａｓリガンドの放出によって引き金を引かれ得る。アポトーシスは、Ｂｃｌ－２ファミリーのアポトーシス促進性のメンバーおよびアポトーシス抑制性のメンバーによって影響を受け得る、細胞質および／またはミトコンドリアのカスパーゼの自己活性化を介して進行する。実験動物では、アポトーシスの阻害剤を用いた治療はリンパ系細胞のアポトーシスを抑制することができるのみならず、予後も改善し得る。抗アポトーシス作用物質を用いた臨床試験は、主にそれらの投与および組織標的化に伴う技術的困難さが原因で、実現性

が低いままであるが、リンパ球アポトーシスの阻害は、敗血症患者に対する魅力的な治療の標的である。同様に、炎症性媒介物質およびアポトーシス媒介物質の両方を標的とする二重特異的作用物質は、さらなる有益性を有し得る。一実施形態は、敗血症に関与する１つまたは複数の標的、一実施形態では２つの標的に結合することが可能なＤＶＤ　Ｉｇに関する。いくつかの実施形態において、標的は、ＴＮＦ、ＩＬ－１、ＭＩＦ、ＩＬ－６、ＩＬ－８、ＩＬ－１８、ＩＬ－１２、ＩＬ－２３、ＦａｓＬ、ＬＰＳ、トール様受容体、ＴＬＲ－４、組織因子、ＭＩＰ－２、ＡＤＯＲＡ２Ａ、ＣＡＳＰ１、ＣＡＳＰ４、ＩＬ－１０、ＩＬ－１Ｂ、ＮＦＫＢ１、ＰＲＯＣ、ＴＮＦＲＳＦ１Ａ、ＣＳＦ３、ＣＣＲ３、ＩＬ１ＲＮ、ＭＩＦ、ＮＦＫＢ１、ＰＴＡＦＲ、ＴＬＲ２、ＴＬＲ４、ＧＰＲ４４、ＨＭＯＸ１、ミッドカイン、ＩＲＡＫ１、ＮＦＫＢ２、ＳＥＲＰＩＮＡ１、ＳＥＲＰＩＮＥ１またはＴＲＥＭ１である。敗血症に対するこのようなＤＶＤＩｇの効力は、本分野において公知の前臨床動物モデルにおいて評価することが可能である（Ｂｕｒａｓ　ＪＡ，ｅｔ　ａｌ．，（２００５）Ｎａｔ　Ｒｅｖ　Ｄｒｕｇ　Ｄｉｓｃｏｖ．４（１０）：８５４－６５およびＣａｌａｎｄｒａ　Ｔ，ｅｔ　ａｌ，（２０００）Ｎａｔ　Ｍｅｄ．６（２）：１６４－７０参照）。

【０３１２】

Ａ７．神経疾患

Ａ７．１．神経変性疾患

神経変性疾患は、通常、それらが年齢依存性である場合においては慢性でありまたは急性（例えば、脳卒中、外傷性脳損傷、脊髄損傷など）である。神経変性疾患は、神経細胞機能の進行性の喪失（神経細胞死、脱ミエリン化）、運動性の喪失および記憶の喪失によって特徴付けられる。慢性神経変性疾患（例えば、アルツハイマー病）の基礎を成す機序として明らかになりつつある知見は、複雑な病因を示しており、それらの発達および進行に、様々な要因、例えば、年齢、血糖状態、アミロイド産生および多量体化、ＲＡＧＥ（ＡＧＥに対する受容体）に結合する後天的糖化終末産物（ＡＧＥ）の蓄積、増加した脳の酸化的ストレス、減少した脳の血流、炎症性サイトカインおよびケモカインの放出を含む神経炎症、神経細胞の機能不全およびミクログリアの活性化が寄与していることが認められている。したがって、これらの慢性神経変性疾患は、複数の細胞種および媒介物質の間で複雑な相互作用を示す。このような疾病に対する治療戦略は限られており、非特異的な抗炎症剤（例えば、コルチコステロイド、ＣＯＸ阻害剤）または神経細胞の喪失および／またはシナプス機能を抑制するための作用物質で炎症プロセスを遮断することが大部分を占める。これらの治療は、疾病の進行を停止させることができない。最近の研究は、可溶性Ａ－ｂペプチド（Ａ－ｂオリゴマー形態）に対する抗体などのより標的化された療法が、疾病の進行を停止させるのに役立つことができるのみならず、記憶を維持するのにも役立ち得ることを示唆している。これらの予備的な観察は、２以上の疾病媒介物質を標的とする特異的な療法（例えば、Ａ－ｂおよび炎症促進性サイトカイン（ＴＮＦなど））が、単一の疾病機序を標的化する場合に観察されたものより、慢性神経変性疾患に対して、ずっと優れた治療的効果を提供し得ることを示唆している（例えば、可溶性Ａ－バロン）（ＣＥ．Ｓｈｅｐｈｅｒｄ，ｅｔ　ａｌ，Ｎｅｕｒｏｂｉｏｌ　Ａｇｉｎｇ．２００５　Ｏｃｔ　２４；Ｎｅｌｓｏｎ　ＲＢ．，Ｃｕｒｒ　Ｐｈａｒｍ　Ｄｅｓ．２００５；１１：３３３５；Ｗｉｌｌｉａｍ　Ｌ．Ｋｌｅｉｎ．；Ｎｅｕｒｏｃｈｅｍ　Ｉｎｔ．２００２；４１：３４５；Ｍｉｃｈｅｌｌｅ　Ｃ　Ｊａｎｅｌｓｉｎｓ，ｅｔ　ａｌ．，Ｊ　Ｎｅｕｒｏｉｎｆｌａｍｍａｔｉｏｎ．２００５；２：２３；Ｓｏｌｏｍａｎ　Ｂ．，Ｃｕｒｒ　Ａｌｚｈｅｉｍｅｒ　Ｒｅｓ．２００４；１：１４９；Ｉｇｏｒ　Ｋｌｙｕｂｉｎ，ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔ　Ｍｅｄ．２００５；１１：５５６－６１；Ａｒａｎｃｉｏ　Ｏ，ｅｔ　ａｌ．，ＥＭＢＯ　Ｊｏｕｒｎａｌ（２００４）１－１０；Ｂｏｒｎｅｍａｎｎ　ＫＤ，ｅｔ　ａｌ．，Ａｍ　Ｊ　Ｐａｔｈｏｌ．２００１；１５８：６３；Ｄｅａｎｅ　Ｒ，ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔ　Ｍｅｄ．２００３；９：９０７－１３；およびＥｌｉｅｚｅｒ　Ｍａｓｌｉａｈ，ｅｔ　ａｌ．，Ｎｅｕｒｏｎ．２００５；４６：８５７参照）。

【０３１３】

本明細書において提供されるＤＶＤ－Ｉｇ分子は、アルツハイマー病などの慢性神経変性疾患に関与する１つまたは複数の標的に結合することが可能である。このような標的には、ＡＤの発病に関与すると推定されている任意の媒介物質（可溶性または細胞表面）、例えば、ＡＧＥ（Ｓ１００Ａ、アムホテリン）、炎症促進性サイトカイン（例えば、ＩＬ－１）、ケモカイン（例えば、ＭＣＰ１）、神経再生を阻害する分子（例えば、Ｎｏｇｏ、ＲＧＭ－Ａ）、神経突起の成長を増強する分子（ニューロトロフィン）、脳血液関門での輸送を媒介し得る分子（例えば、トランスフェリン受容体、インスリン受容体またはＲＡＧＥ）が含まれるが、これらに限定されない。ＤＶＤ－Ｉｇ分子の効力は、アミロイド前駆体タンパク質またはＲＡＧＥを過剰発現し、アルツハイマー病様の症候を発症するトランスジェニックマウスなどの前臨床動物モデルで妥当性を確認することが可能である。さらに、ＤＶＤ－Ｉｇ分子を構築し、動物モデルで効力について検査することが可能であり、ヒト患者での検査のために、最良の治療的ＤＶＤ－Ｉｇを選択することができる。ＤＶＤ－Ｉｇ分子は、パーキンソン病などの他の神経変性疾患の治療のためにも使用することが可能である。α－シニュクレインが、パーキンソン病に関与している。α－シヌクレインおよび炎症性媒介物質（ＴＮＦ、ＩＬ－１、ＭＣＰ－１など）を標的とすることができるＤＶＤ－Ｉｇは、パーキンソン病に対する有効な治療であることを証明することが可能であり、また想定される。

【０３１４】

Ａ７．２　神経細胞の再生および脊髄損傷

病的機序の知見の増大にかかわらず、脊髄損傷（ＳＣＩ）は、なお、多大な損害を与える症状であり、高い医学的な要求を特徴とする医学的な適応症である。多くの脊髄損傷は、挫傷または圧迫傷害であり、通常、一次損傷に続いて、最初の損傷を悪化させ、病変部位の著しい拡大（特には、１０倍超）をもたらす二次的な損傷機序（炎症媒介物質、例えば、サイトカインおよびケモカイン）が起こる。ＳＣＩにおけるこれらの原発および続発性の機序は、他の手段、例えば発作によって引き起こされた脳損傷における機序と極めて類似している。満足する治療は存在せず、メチルプレドニゾロン（ＭＰ）の高用量ボーラス注射は、損傷から８時間後という狭い時間枠内で使用される唯一の療法である。しかしながら、この治療は、顕著な機能的回復が全くなしに、続発性損傷を予防することのみを目的としている。明瞭な効果の欠如ならびにその後の感染症を伴う免疫抑制および重い組織病理学的な筋肉の変化などの重い副作用に対して大きな批判が為されている。内在性の再生能を刺激する他の薬物、生物学または小分子は認可されていないが、有望な治療原理および薬物候補が、近年、ＳＣＩの動物モデルにおいて有効性を示している。多くの場合、ヒトＳＣＩにおける機能的回復の欠如は、病変部位における、瘢痕組織中、ミエリン中および損傷を伴う細胞上における神経突起の増殖を阻害する因子によって引き起こされる。このような因子は、ミエリン随伴タンパク質ＮｏｇｏＡ、ＯＭｇｐおよびＭＡＧ、ＲＧＭＡ、瘢痕随伴ＣＳＰＧ（コンドロイチン硫酸プロテオグリカン）および反応性星状膠細胞に対する阻害因子（一部のセマホリンおよびエフリン）である。しかしながら、病変部位では、増殖阻害分子が見出されるのみならず、ニューロトロフィン、ラミニンＬ１およびその他のような神経突起成長刺激因子も見出される。阻害的な影響の低下が、バランスを、増殖阻害から増殖促進へとシフトさせ得るので、神経突起成長阻害分子および神経突起成長促進分子のこの協調は、ＮｏｇｏＡまたはＲＧＭＡのような単一の因子を遮断することが、げっ歯類ＳＣＩモデルにおいて著しい機能回復をもたらしたことを説明し得る。しかしながら、単一の神経突起成長阻害分子を遮断することによって観察された回復は完全ではなかった。より速く、より顕著な回復を達成するためには、２つの神経突起成長阻害分子（例えば、ＮｏｇｏおよびＲＧＭＡ）を遮断するまたは神経突起成長阻害分子を遮断し、神経突起成長増強分子の機能を増強するか（例えば、Ｎｏｇｏおよびニューロトロフィン）、または神経突起成長阻害分子（例えば、Ｎｏｇｏ）および炎症促進性分子（例えば、ＴＮＦ）を遮断することが、望ましい場合があり得る（ＭｃＧｅｅ　ＡＷ，ｅｔ　ａｌ．（２００３），Ｔｒｅｎｄｓ　Ｎｅｕｒｏｓｃｉ．２６：１９３；Ｍａｒｃｏ　Ｄｏｍｅｎｉｃｏｎｉ，ｅｔ　ａｌ．（２００５），Ｊ　Ｎｅｕｒｏｌ　Ｓｃｉ．２３３：

４３；Ｍｉｌａｎ Ｍａｋｗａｎａｌ，ｅｔ ａｌ．（２００５），ＦＥＢＳ Ｊ．２７２：２６２８；Ｂａｒｒｙ Ｊ．Ｄｉｃｋｓｏｎ（２００２），Ｓｃｉｅｎｃｅ．２９８：１９５９；Ｆｅｌｉｃｉａ Ｙｕ Ｈｓｕａｎ Ｔｅｎｇ，ｅｔ ａｌ（２００５）．，Ｊ Ｎｅｕｒｏｓｃｉ Ｒｅｓ．７９：２７３；Ｔａｒａ Ｋａｒｎｅｚｉｓ，ｅｔ ａｌ．（２００４），Ｎａｔｕｒｅ Ｎｅｕｒｏｓｃｉｅｎｃｅ ７，７３６；Ｇａｎｇ Ｘｕ，ｅｔ ａｌ．（２００４），Ｊ．Ｎｅｕｒｏｃｈｅｍ．９１；１０１８参照）。

【０３１５】

一態様において、ＮｇＲおよびＲＧＭＡ；ＮｏｇｏＡおよびＲＧＭＡ；ＭＡＧおよびＲＧＭＡ；ＯＭＧｐおよびＲＧＭＡ；ＲＧＭＡおよびＲＧＭＢ；ＣＳＰＧおよびＲＧＭＡ；アグレカン、ミッドカイン、ニューロカン、ベルシカン、ホスファカン、Ｔｅ３８およびＴＮＦ－α；樹状突起および軸索の出芽を促進する抗体と組み合わされたＡβ球状体（ｇｌｏｂｕｌｏｍｅｒ）特異的抗体などの標的対に結合することが可能なＤＶＤ－Ｉｇが提供される。樹状突起の病変は、ＡＤの極めて早期の兆候であり、ＮＯＧＯＡが樹状突起の成長を制限することが知られている。ａｂのこのような種類を、ＳＣＩ候補（ミエリンタンパク質）Ａｂのいずれかと組み合わせることが可能である。他のＤＶＤ－Ｉｇ標的は、ＮｇＲ－ｐ７５、ＮｇＲ－Ｔｒｏｙ、ＮｇＲ－Ｎｏｇｏ６６（Ｎｏｇｏ）、ＮｇＲ－Ｌｉｎｇｏ、Ｌｉｎｇｏ－Ｔｒｏｙ、Ｌｉｎｇｏ－ｐ７５、ＭＡＧまたはＯｍｇｐのあらゆる組合せを含み得る。さらに、標的には、神経突起の阻害に関与すると推定されているすべての媒介物質（可溶性または細胞表面）、例えば、Ｎｏｇｏ、Ｏｍｐｇ、ＭＡＧ、ＲＧＭＡ、セマフォリン、エフリン、可溶性Ａ－ｂ、炎症促進性サイトカイン（例えば、ＩＬ－１）、ケモカイン（例えば、ＭＩＰ１ａ）、神経再生を阻害する分子も含まれ得る。抗ｎｏｇｏ／抗ＲＧＭＡまたは類似のＤＶＤ－Ｉｇ分子の効力は、脊髄損傷の前臨床動物モデルにおいて、妥当性を確認することが可能である。さらに、これらのＤＶＤ－Ｉｇ分子を構築し、動物モデルで効力について検査することが可能であり、ヒト患者での検査のために、最良の治療的ＤＶＤ－Ｉｇを選択することができる。さらに、単一の受容体、例えば３つのリガンドＮｏｇｏ、ＯｍｐｇおよびＭＡＧに結合するＮｏｇｏ受容体ならびにＡ－ｂおよびＳ１００Ａに結合するＲＡＧＥ上の２つの異なるリガンド結合部位を標的とするＤＶＤ－Ｉｇ分子を構築することが可能である。さらに、神経突起成長阻害剤、例えば、ｎｏｇｏおよびｎｏｇｏ受容体は、多発性硬化症のような免疫学的疾患において神経再生を抑制する上でも役割を果たす。ｎｏｇｏ－ｎｏｇｏ受容体の相互作用の阻害は、多発性硬化症の動物モデルの回復を増強させることが示されている。したがって、１つの免疫媒介物質、例えば、ＩＬ－１２のようなサイトカイン、および神経突起成長阻害分子、例えば、ｎｏｇｏまたはＲＧＭの機能を遮断することができるＤＶＤ－Ｉｇ分子は、免疫または神経突起成長阻害剤分子のみを遮断するより、より速く、より大きな効力を与え得る。

【０３１６】

一般に、抗体は、脳血液関門（ＢＢＢ）を効率的および適切な様式で横切らない。しかしながら、ある種の神経疾患（例えば、脳卒中、外傷性脳傷害、多発性硬化症など）では、ＢＢＢが損なわれる場合があり、ＤＶＤ－Ｉｇおよび抗体の脳内への増加した浸透を許容する。ＢＢＢの漏出が起こらない他の神経症状では、グルコースおよびアミノ酸担体などの担体媒介性輸送体ならびにＢＢＢの血管内皮における受容体媒介性トランスサイトーシス媒介細胞構造／受容体を含む内在性輸送系の標的化を使用することができ、これにより、ＤＶＤ－ＩｇのトランスＢＢＢ輸送が可能になる。このような輸送を可能にするＢＢＢでの構造には、限定されないが、インスリン受容体、トランスフェリン受容体、ＬＲＰおよびＲＡＧＥが含まれる。さらに、戦略は、低分子量の薬物、ナノ粒子および核酸を含む、ＣＮＳへ潜在的薬物を輸送するためのシャトルとしてＤＶＤ－Ｉｇを使用することも可能である（Ｃｏｌｏｍａ，ＭＪ．ｅｔ ａｌ．（２０００）Ｐｈａｒｍ Ｒｅｓ．１７（３）：２６６－７４；Ｂｏａｄｏ，ＲＪ．ｅｔ ａｌ．（２００７）Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇ．Ｃｈｅｍ．１８（２）：４４７－５５）。

【０３１７】

Ａ８．腫瘍疾患

モノクローナル抗体療法が、癌に対する重要な治療法として登場している（ｖｏｎ Ｍｅｈｒｅｎ，Ｍ．，ｅｔ ａｌ．（２００３）Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｍｅｄ．５４：３４３－６９）。抗体は、アポトーシス、再誘導された細胞毒性、リガンド－受容体相互作用の妨害を誘導し、または新生物表現型にとって重大なタンパク質の発現を抑制することによって、抗腫瘍効果を発揮し得る。さらに、抗体は、腫瘍微小環境の成分を標的とすることが可能であり、腫瘍に付随する脈管構造の形成など不可欠な構造を擾乱する。抗体は、そのリガンドが増殖因子である受容体（上皮増殖因子受容体など）を標的とすることも可能である。したがって、抗体は、細胞増殖を刺激する天然のリガンドが標的とされる腫瘍細胞へ結合することを阻害する。あるいは、抗体は、抗イディオタイプネットワーク、補体媒介性細胞傷害または抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ）を誘導し得る。２つの別個の腫瘍媒介物質を標的とする二重特異的結合タンパク質の使用は、単一特異的療法に比べて、さらなる有利さを与えるものと思われる。

【０３１８】

別の実施形態において、ＤＶＤ－Ｉｇは、ＶＥＧＦおよびホスファチジルセリン；ＶＥＧＦおよびＥｒｂＢ３；ＶＥＧＦおよびＰＬＧＦ；ＶＥＧＦおよびＲＯＢＯ４；ＶＥＧＦおよびＢＳＧ２；ＶＥＧＦおよびＣＤＣＰ１；ＶＥＧＦおよびＡＮＰＥＰ；ＶＥＧＦおよびｃ－ＭＥＴ；ＨＥＲ－２およびＥＲＢ３；ＨＥＲ－２およびＢＳＧ２；ＨＥＲ－２およびＣＤＣＰ１；ＨＥＲ－２およびＡＮＰＥＰ；ＥＧＦＲおよびＣＤ６４；ＥＧＦＲおよびＢＳＧ２；ＥＧＦＲおよびＣＤＣＰ１；ＥＧＦＲおよびＡＮＰＥＰ；ＩＧＦ１ＲおよびＰＤＧＦＲ；ＩＧＦ１ＲおよびＶＥＧＦ；ＩＧＦ１ＲおよびＣＤ２０；ＣＤ２０およびＣＤ７４；ＣＤ２０およびＣＤ３０；ＣＤ２０およびＤＲ４；ＣＤ２０およびＶＥＧＦＲ２；ＣＤ２０およびＣＤ５２；ＣＤ２０およびＣＤ４；ＨＧＦおよびｃ－ＭＥＴ；ＨＧＦおよびＮＲＰ１；ＨＧＦおよびホスファチジルセリン；ＥｒｂＢ３およびＩＧＦ１Ｒ；ＥｒｂＢ３およびＩＧＦ１、２；ｃ－ＭｅｔおよびＨｅｒ－２；ｃ－ＭｅｔおよびＮＲＰ１；ｃ－ＭｅｔおよびＩＧＦ１Ｒ；ＩＧＦ１、２およびＰＤＧＦＲ；ＩＧＦ１、２およびＣＤ２０；ＩＧＦ１、２およびＩＧＦ１Ｒ；ＩＧＦ２およびＥＧＦＲ；ＩＧＦ２およびＨＥＲ２；ＩＧＦ２およびＣＤ２０；ＩＧＦ２およびＶＥＧＦ；ＩＧＦ２およびＩＧＦ１Ｒ；ＩＧＦ１およびＩＧＦ２；ＰＤＧＦＲａおよびＶＥＧＦＲ２；ＰＤＧＦＲａおよびＰＬＧＦ；ＰＤＧＦＲａおよびＶＥＧＦ；ＰＤＧＦＲａおよびｃ－Ｍｅｔ；ＰＤＧＦＲａおよびＥＧＦＲ；ＰＤＧＦＲｂおよびＶＥＧＦＲ２；ＰＤＧＦＲｂおよびｃ－Ｍｅｔ；ＰＤＧＦＲｂおよびＥＧＦＲ；ＲＯＮおよびｃ－Ｍｅｔ；ＲＯＮおよびＭＳＰ；ＲＯＮおよびＣＤＣＰ１；ＶＧＦＲ１およびＰＬＧＦ；ＶＧＦＲ１およびＲＯＮ；ＶＧＦＲ１およびＥＧＦＲ；ＶＧＦＲ２およびＰＬＧＦ；ＶＧＦＲ２およびＮＲＰ１；ＶＧＦＲ２およびＲＯＮ；ＶＧＦＲ２およびＤＬＬ４；ＶＧＦＲ２およびＥＧＦＲ；ＶＧＦＲ２およびＲＯＢＯ４；ＶＧＦＲ２およびＣＤ５５；ＬＰＡおよびＳ１Ｐ；ＥＰＨＢ２およびＲＯＮ；ＣＴＬＡ４およびＶＥＧＦ；ＣＤ３およびＥＰＣＡＭ；ＣＤ４０およびＩＬ６；ＣＤ４０およびＩＧＦ；ＣＤ４０およびＣＤ５６；ＣＤ４０およびＣＤ７０；ＣＤ４０およびＶＥＧＦＲ１；ＣＤ４０およびＤＲ５；ＣＤ４０およびＤＲ４；ＣＤ４０およびＡＰＲＩＬ；ＣＤ４０およびＢＣＭＡ；ＣＤ４０およびＲＡＮＫＬ；ＣＤ２８およびＭＡＰＧ；ＣＤ８０およびＣＤ４０；ＣＤ８０およびＣＤ３０；ＣＤ８０およびＣＤ３３；ＣＤ８０およびＣＤ７４；ＣＤ８０およびＣＤ２；ＣＤ８０およびＣＤ３；ＣＤ８０およびＣＤ１９；ＣＤ８０およびＣＤ４；ＣＤ８０およびＣＤ５２；ＣＤ８０およびＶＥＧＦ；ＣＤ８０およびＤＲ５；ＣＤ８０およびＶＥＧＦＲ２；ＣＤ２２およびＣＤ２０；ＣＤ２２およびＣＤ８０；ＣＤ２２およびＣＤ４０；ＣＤ２２およびＣＤ２３；ＣＤ２２およびＣＤ３３；ＣＤ２２およびＣＤ７４；ＣＤ２２およびＣＤ１９；ＣＤ２２およびＤＲ５；ＣＤ２２およびＤＲ４；ＣＤ２２およびＶＥＧＦ；ＣＤ２２およびＣＤ５２；ＣＤ３０およびＣＤ２０；ＣＤ３０およびＣＤ２２；ＣＤ３０およびＣＤ２３；ＣＤ３０およびＣＤ４０；ＣＤ３０およびＶＥＧＦ；ＣＤ３０およびＣＤ７４；ＣＤ３０およびＣＤ１９；ＣＤ３０およびＤＲ５；ＣＤ３０およびＤＲ４；ＣＤ３０およびＶＥＧＦＲ２；ＣＤ３０およびＣＤ５２；ＣＤ３０およびＣＤ４；ＣＤ１３８およびＲＡＮＫＬ；ＣＤ３３およびＦＴＬ３；ＣＤ３３およびＶＥ

ＧＦ；ＣＤ３３およびＶＥＧＦＲ２；ＣＤ３３およびＣＤ４４；ＣＤ３３およびＤＲ４；ＣＤ３３およびＤＲ５；ＤＲ４およびＣＤ１３７；ＤＲ４およびＩＧＦ１、２；ＤＲ４およびＩＧＦ１Ｒ；ＤＲ４およびＤＲ５；ＤＲ５およびＣＤ４０；ＤＲ５およびＣＤ１３７；ＤＲ５およびＣＤ２０；ＤＲ５およびＥＧＦＲ；ＤＲ５およびＩＧＦ１、２；ＤＲ５およびＩＧＦＲ、ＤＲ５およびＨＥＲ－２ならびにＥＧＦＲおよびＤＬＬ４に結合することができる。他の標的の組合せには、ＥＧＦ／ｅｒｂ－２／ｅｒｂ－３ファミリーの１つまたは複数のメンバーが含まれる。ＤＶＤＩｇが結合し得る、腫瘍疾患に関与する他の標的（１つまたは複数）には、ＣＤ５２、ＣＤ２０、ＣＤ１９、ＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ８、ＢＭＰ６、ＩＬ１２Ａ、ＩＬ１Ａ、ＩＬ１Ｂ、ＩＬ２、ＩＬ２４、ＩＮＨＡ、ＴＮＦ、ＴＮＦＳＦ１０、ＢＭＰ６、ＥＧＦ、ＦＧＦ１、ＦＧＦ１０、ＦＧＦ１１、ＦＧＦ１２、ＦＧＦ１３、ＦＧＦ１４、ＦＧＦ１６、ＦＧＦ１７、ＦＧＦ１８、ＦＧＦ１９、ＦＧＦ２、ＦＧＦ２０、ＦＧＦ２１、ＦＧＦ２２、ＦＧＦ２３、ＦＧＦ３、ＦＧＦ４、ＦＧＦ５、ＦＧＦ６、ＦＧＦ７、ＦＧＦ８、ＦＧＦ９、ＧＲＰ、ＩＧＦ１、ＩＧＦ２、ＩＬ１２Ａ、ＩＬ１Ａ、ＩＬ１Ｂ、ＩＬ２、ＩＮＨＡ、ＴＧＦＡ、ＴＧＦＢ１、ＴＧＦＢ２、ＴＧＦＢ３、ＶＥＧＦ、ＣＤＫ２、ＦＧＦ１０、ＦＧＦ１８、ＦＧＦ２、ＦＧＦ４、ＦＧＦ７、ＩＧＦ１Ｒ、ＩＬ２、ＢＣＬ２、ＣＤ１６４、ＣＤＫＮ１Ａ、ＣＤＫＮ１Ｂ、ＣＤＫＮ１Ｃ、ＣＤＫＮ２Ａ、ＣＤＫＮ２Ｂ、ＣＤＫＮ２Ｃ、ＣＤＫＮ３、ＧＮＲＨ１、ＩＧＦＢＰ６、ＩＬ１Ａ、ＩＬ１Ｂ、ＯＤＺ１、ＰＡＷＲ、ＰＬＧ、ＴＧＦＢ１Ｉ１、ＡＲ、ＢＲＣＡ１、ＣＤＫ３、ＣＤＫ４、ＣＤＫ５、ＣＤＫ６、ＣＤＫ７、ＣＤＫ９、Ｅ２Ｆ１、ＥＧＦＲ、ＥＮＯ１、ＥＲＢＢ２、ＥＳＲ１、ＥＳＲ２、ＩＧＦＢＰ３、ＩＧＦＢＰ６、ＩＬ２、ＩＮＳＬ４、ＭＹＣ、Ｎ０Ｘ５、ＮＲ６Ａ１、ＰＡＰ、ＰＣＮＡ、ＰＲＫＣＱ、ＰＲＫＤ１、ＰＲＬ、ＴＰ５３、ＦＧＦ２２、ＦＧＦ２３、ＦＧＦ９、ＩＧＦＢＰ３、ＩＬ２、ＩＮＨＡ、ＫＬＫ６、ＴＰ５３、ＣＨＧＢ、ＧＮＲＨ１、ＩＧＦ１、ＩＧＦ２、ＩＮＨＡ、ＩＮＳＬ３、ＩＮＳＬ４、ＰＲＬ、ＫＬＫ６、ＳＨＢＧ、ＮＲ１Ｄ１、ＮＲ１Ｈ３、ＮＲ１Ｉ３、ＮＲ２Ｆ６、ＮＲ４Ａ３、ＥＳＲ１、ＥＳＲ２、ＮＲ０Ｂ１、ＮＲ０Ｂ２、ＮＲ１Ｄ２、ＮＲ１Ｈ２、ＮＲ１Ｈ４、ＮＲ１Ｉ２、ＮＲ２Ｃ１、ＮＲ２Ｃ２、ＮＲ２Ｅ１、ＮＲ２Ｅ３、ＮＲ２Ｆ１、ＮＲ２Ｆ２、ＮＲ３Ｃ１、ＮＲ３Ｃ２、ＮＲ４Ａ１、ＮＲ４Ａ２、ＮＲ５Ａ１、ＮＲ５Ａ２、ＮＲ６Ａ１、ＰＧＲ、ＲＡＲＢ、ＦＧＦ１、ＦＧＦ２、ＦＧＦ６、ＫＬＫ３、ＫＲＴ１、ＡＰＯＣ１、ＢＲＣＡ１、ＣＨＧＡ、ＣＨＧＢ、ＣＬＵ、ＣＯＬ１Ａ１、ＣＯＬ６Ａ１、ＥＧＦ、ＥＲＢＢ２、ＥＲＫ８、ＦＧＦ１、ＦＧＦ１０、ＦＧＦ１１、ＦＧＦ１３、ＦＧＦ１４、ＦＧＦ１６、ＦＧＦ１７、ＦＧＦ１８、ＦＧＦ２、ＦＧＦ２０、ＦＧＦ２１、ＦＧＦ２２、ＦＧＦ２３、ＦＧＦ３、ＦＧＦ４、ＦＧＦ５、ＦＧＦ６、ＦＧＦ７、ＦＧＦ８、ＦＧＦ９、ＧＮＲＨ１、ＩＧＦ１、ＩＧＦ２、ＩＧＦＢＰ３、ＩＧＦＢＰ６、ＩＬ１２Ａ、ＩＬ１Ａ、ＩＬ１Ｂ、ＩＬ２、ＩＬ２４、ＩＮＨＡ、ＩＮＳＬ３、ＩＮＳＬ４、ＫＬＫ１０、ＫＬＫ１２、ＫＬＫ１３、ＫＬＫ１４、ＫＬＫ１５、ＫＬＫ３、ＫＬＫ４、ＫＬＫ５、ＫＬＫ６、ＫＬＫ９、ＭＭＰ２、ＭＭＰ９、ＭＳＭＢ、ＮＴＮ４、ＯＤＺ１、ＰＡＰ、ＰＬＡＵ、ＰＲＬ、ＰＳＡＰ、ＳＥＲＰＩＮＡ３、ＳＨＢＧ、ＴＧＦＡ、ＴＩＭＰ３、ＣＤ４４、ＣＤＨ１、ＣＤＨ１０、ＣＤＨ１９、ＣＤＨ２０、ＣＤＨ７、ＣＤＨ９、ＣＤＨ１、ＣＤＨ１０、ＣＤＨ１３、ＣＤＨ１８、ＣＤＨ１９、ＣＤＨ２０、ＣＤＨ７、ＣＤＨ８、ＣＤＨ９、ＲＯＢＯ２、ＣＤ４４、ＩＬＫ、ＩＴＧＡ１、ＡＰＣ、ＣＤ１６４、ＣＯＬ６Ａ１、ＭＴＳＳ１、ＰＡＰ、ＴＧＦＢ１Ｉ１、ＡＧＲ２、ＡＩＧ１、ＡＫＡＰ１、ＡＫＡＰ２、ＣＡＮＴ１、ＣＡＶ１、ＣＤＨ１２、ＣＬＤＮ３、ＣＬＮ３、ＣＹＢ５、ＣＹＣ１、ＤＡＢ２ＩＰ、ＤＥＳ、ＤＮＣＬ１、ＥＬＡＣ２、ＥＮＯ２、ＥＮＯ３、ＦＡＳＮ、ＦＬＪ１２５８４、ＦＬＪ２５５３０、ＧＡＧＥＢ１、ＧＡＧＥＣ１、ＧＧＴ１、ＧＳＴＰ１、ＨＩＰ１、ＨＵＭＣＹＴ２Ａ、ＩＬ２９、Ｋ６ＨＦ、ＫＡＩ１、ＫＲＴ２Ａ、ＭＩＢ１、ＰＡＲＴ１、ＰＡＴＥ、ＰＣＡ３、ＰＩＡＳ２、ＰＩＫ３ＣＧ、ＰＰＩＤ、ＰＲ１、ＰＳＣＡ、ＳＬＣ２Ａ２、ＳＬＣ３３Ａ１、ＳＬＣ４３Ａ１、ＳＴＥＡＰ、ＳＴＥＡＰ２、ＴＰＭ１、ＴＰＭ２、ＴＲＰＣ６、ＡＮＧＰＴ１、ＡＮＧＰＴ２、ＡＮＰＥＰ、ＥＣＧＦ１、ＥＲＥＧ、ＦＧＦ１、ＦＧＦ２、ＦＩＧＦ、ＦＬＴ１、ＪＡＧ１、ＫＤＲ、ＬＡＭＡ５、ＮＲＰ１、ＮＲＰ２、ＰＧＦ、ＰＬＸＤＣ１

、ＳＴＡＢ１、ＶＥＧＦ、ＶＥＧＦＣ、ＡＮＧＰＴＬ３、ＢＡＩ１、ＣＯＬ４Ａ３、ＩＬ８、ＬＡＭＡ５、ＮＲＰ１、ＮＲＰ２、ＳＴＡＢ１、ＡＮＧＰＴＬ４、ＰＥＣＡＭ１、ＰＦ４、ＰＲＯＫ２、ＳＥＲＰＩＮＦ１、ＴＮＦＡＩＰ２、ＣＣＬ１１、ＣＣＬ２、ＣＸＣＬ１、ＣＸＣＬ１０、ＣＸＣＬ３、ＣＸＣＬ５、ＣＸＣＬ６、ＣＸＣＬ９、ＩＦＮＡ１、ＩＦＮＢ１、ＩＦＮＧ、ＩＬ１Ｂ、ＩＬ６、ＭＤＫ、ＥＤＧ１、ＥＦＮＡ１、ＥＦＮＡ３、ＥＦＮＢ２、ＥＧＦ、ＥＰＨＢ４、ＦＧＦＲ３、ＨＧＦ、ＩＧＦ１、ＩＴＧＢ３、ＰＤＧＦＡ、ＴＥＫ、ＴＧＦＡ、ＴＧＦＢ１、ＴＧＦＢ２、ＴＧＦＢＲ１、ＣＣＬ２、ＣＤＨ５、ＣＯＬ１８Ａ１、ＥＤＧ１、ＥＮＧ、ＩＴＧＡＶ、ＩＴＧＢ３、ＴＨＢＳ１、ＴＨＢＳ２、ＢＡＤ、ＢＡＧ１、ＢＣＬ２、ＣＣＮＡ１、ＣＣＮＡ２、ＣＣＮＤ１、ＣＣＮＥ１、ＣＣＮＥ２、ＣＤＨ１（Ｅ－カドヘリン）、ＣＤＫＮ１Ｂ（ｐ２７Ｋｉｐ１）、ＣＤＫＮ２Ａ（ｐ１６ＩＮＫ４ａ）、ＣＯＬ６Ａ１、ＣＴＮＮＢ１（ｂ－カテニン）、ＣＴＳＢ（カテプシンＢ）、ＥＲＢＢ２（Ｈｅｒ－２）、ＥＳＲ１、ＥＳＲ２、Ｆ３（ＴＦ）、ＦＯＳＬ１（ＦＲＡ－１）、ＧＡＴＡ３、ＧＳＮ（ゲルソリン）、ＩＧＦＢＰ２、ＩＬ２ＲＡ、ＩＬ６、ＩＬ６Ｒ、ＩＬ６ＳＴ（糖タンパク質１３０）、ＩＴＧＡ６（ａ６インテグリン）、ＪＵＮ、ＫＬＫ５、ＫＲＴ１９、ＭＡＰ２Ｋ７（ｃ－Ｊｕｎ）、ＭＫＩ６７（Ｋｉ－６７）、ＮＧＦＢ（ＮＧＦ）、ＮＧＦＲ、ＮＭＥ１（ＮＭ２３Ａ）、ＰＧＲ、ＰＬＡＵ（ｕＰＡ）、ＰＴＥＮ、ＳＥＲＰＩＮＢ５（マスピン）、ＳＥＲＰＩＮＥ１（ＰＡＩ－１）、ＴＧＦＡ、ＴＨＢＳ１（トロンボスポンジン－１）、ＴＩＥ（Ｔｉｅ－１）、ＴＮＦＲＳＦ６（Ｆａｓ）、ＴＮＦＳＦ６（ＦａｓＬ）、ＴＯＰ２Ａ（トポイソメラーゼＩｉａ）、ＴＰ５３、ＡＺＧＰ１（亜鉛－ａ－糖タンパク質）、ＢＰＡＧ１（プレクチン）、ＣＤＫＮ１Ａ（ｐ２１Ｗａｐ１／Ｃｉｐ１）、ＣＬＤＮ７（クラウジン－７）、ＣＬＵ（クラステリン）、ＥＲＢＢ２（Ｈｅｒ－２）、ＦＧＦ１、ＦＬＲＴ１（フィブロネクチン）、ＧＡＢＲＰ（ＧＡＢＡａ）、ＧＮＡＳ１、ＩＤ２、ＩＴＧＡ６（ａ６インテグリン）、ＩＴＧＢ４（ｂ４インテグリン）、ＫＬＦ５（ＧＣ　Ｂｏｘ　ＢＰ）、ＫＲＴ１９（ケラチン１９）、ＫＲＴＨＢ６（毛髪特異的タイプＩＩ型ケラチン）、ＭＡＣＭＡＲＣＫＳ、ＭＴ３（メタロチオネクチン－ＩＩＩ）、ＭＵＣ１（ムチン）、ＰＴＧＳ２（ＣＯＸ－２）、ＲＡＣ２（ｐ２１Ｒａｃ２）、Ｓ１００Ａ２、ＳＣＧＢ１Ｄ２（リポフィリンＢ）、ＳＣＧＢ２Ａ１（マンマグロビン２）、ＳＣＧＢ２Ａ２（マンマグロビン１）、ＳＰＲＲ１Ｂ（Ｓｐｒ１）、ＴＨＢＳ１、ＴＨＢＳ２、ＴＨＢＳ４およびＴＮＦＡＩＰ２（Ｂ９４）、ＲＯＮ、ｃ－Ｍｅｔ、ＣＤ６４、ＤＬＬ４、ＰＬＧＦ、ＣＴＬＡ４、ホスファチジルセリン、ＲＯＢＯ４、ＣＤ８０、ＣＤ２２、ＣＤ４０、ＣＤ２３、ＣＤ２８、ＣＤ８０、ＣＤ５５、ＣＤ３８、ＣＤ７０、ＣＤ７４、ＣＤ３０、ＣＤ１３８、ＣＤ５６、ＣＤ３３、ＣＤ２、ＣＤ１３７、ＤＲ４、ＤＲ５、ＲＡＮＫＬ、ＶＥＧＦＲ２、ＰＤＧＦＲ、ＶＥＧＦＲ１、ＭＴＳＰ１、ＭＳＰ、ＥＰＨＢ２、ＥＰＨＡ１、ＥＰＨＡ２、ＥｐＣＡＭ、ＰＧＥ２、ＮＫＧ２Ｄ、ＬＰＡ、ＤＩＰ、ＡＰＲＩＬ、ＢＣＭＡ、ＭＡＰＧ、ＦＬＴ３、ＰＤＧＦＲα、ＰＤＧＦＲβ、ＲＯＰ１、ＰＳＭＡ、ＰＳＣＡ、ＳＣＤ１またはＣＤ５９が含まれるが、これらに限定されるものではない。

【０３１９】

ＩＶ．医薬組成物

本明細書に開示された結合タンパク質および医薬として許容される担体を含む医薬組成物も提供される。本明細書に開示された結合タンパク質を含む医薬組成物は、疾患を診断し、検出し、もしくはモニタリングし、疾患または１つもしくはそれ以上のその症候を予防し、治療し、管理し、もしくは軽減する上で、および／または研究において使用されるが、これらに限定されない。特定の実施形態において、組成物は、１つまたは複数の本明細書に開示された結合タンパク質を含む。別の実施形態において、医薬組成物は、１つまたは複数の結合タンパク質、および疾患を治療するための、本明細書において提供される結合タンパク質以外の１つまたは複数の予防または治療剤を含む。一実施形態において、予防剤または治療剤は、疾患または１つもしくはそれ以上のその症候の予防、治療、管理または軽減に有用であることが知られており、または疾患または１つもしくはそれ以上のその症候の予防、治療、管理または軽減においてこれまで使用されており、もしくは現在

使用されている。これらの実施形態に従えば、組成物は、担体、希釈剤または賦形剤をさらに含み得る。

【０３２０】

本明細書において提供される結合タンパク質は、対象に投与するのに適した医薬組成物中に取り込ませることが可能である。典型的には、医薬組成物は、結合タンパク質および医薬として許容される担体を含む。本明細書において使用される「医薬として許容される担体」には、生理的に適合性がある、あらゆる溶媒、分散媒、コーティング、抗菌剤および抗真菌剤、等張剤および吸収遅延剤などが含まれる。医薬として許容される担体の例には、水、生理的食塩水、リン酸緩衝化された生理的食塩水、デキストロース、グリセロール、エタノールなどの１つまたは複数およびこれらの組合せが含まれる。いくつかの実施形態において、等張剤、例えば、糖、マニトール、ソルビトールなどの多価アルコールまたは塩化ナトリウムが組成物中に含まれる。医薬として許容される担体は、結合タンパク質または抗原結合部分の保存期間または有効性を増強する、湿潤剤または乳化剤、防腐剤または緩衝剤などの補助物質の微量をさらに含み得る。

【０３２１】

様々な送達系が公知であり、例えば、リポソーム、微粒子、ミクロカプセル、結合タンパク質または抗原結合断片を発現することができる組み換え細胞、受容体によって媒介されるエンドサイトーシス（例えば、Ｗｕ　ａｎｄ　Ｗｕ，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２６２：４４２９－４４３２（１９８７）参照）、レトロウイルスまたは他のベクターの一部としての核酸の構築物などに封入して、本明細書において提供される１つもしくはそれ以上の結合タンパク質または１つもしくはそれ以上の結合タンパク質および疾患または１つもしくはそれ以上のその症候を予防し、管理し、治療し、もしくは軽減するのに有用な予防剤または治療剤の組合せを投与するために使用することが可能である。予防剤または治療剤を投与する方法には、非経口投与（例えば、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内および皮下）、硬膜外投与、腫瘍内投与および粘膜投与（例えば、鼻内および経口経路）が含まれるが、これらに限定されない。さらに、例えば、吸入装置または噴霧器およびエアロゾル化剤を加えた製剤の使用によって、経肺投与を使用することが可能である。例えば、米国特許第６，０１９，９６８号；第５，９８５，３２０号；第５，９８５，３０９号；第５，９３４，２７２号；第５，８７４，０６４号；第５，８５５，９１３号；第５，２９０，５４０号；および第４，８８０，０７８号；ならびにＰＣＴ公開ＷＯ９２／１９２４４；ＷＯ９７／３２５７２；ＷＯ９７／４４０１３；ＷＯ９８／３１３４６；およびＷＯ９９／６６９０３を参照されたい。一実施形態において、結合タンパク質、組合せ療法または本明細書に開示された組成物は、ＡｌｋｅｒｍｅｓＡＩＲ（登録商標）経肺薬物送達技術（Ａｌｋｅｒｍｅｓ，Ｉｎｃ．，Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ，Ｍａｓｓ．）を用いて投与される。特定の実施形態において、本明細書に開示された予防剤または治療剤は、筋肉内、静脈内、腫瘍内、経口、鼻内、経肺または皮下投与される。予防剤または治療剤は、あらゆる都合のよい経路によって、例えば、注入もしくはボーラス注射によって、上皮または粘膜皮下の裏打ち（例えば、口粘膜、直腸および腸粘膜など）を通じた吸収によって投与され得、生物学的に活性な他の作用物質と一緒に投与され得る。投与は、全身または局所であり得る。

【０３２２】

一実施形態において、インビトロにおける抗体と連結したカーボンナノチューブ（ＣＮＴ）と腫瘍細胞の特異的結合、その後の近赤外（ＮＩＲ）光を用いたこれらの高度に特異的な除去は、腫瘍細胞を標的にするために使用することが可能である。例えば、ビオチン化極性脂質は、安定した生体適合性非細胞毒性ＣＮＴ分散物を調製するために使用することが可能であり、次いでこの分散物は、１つまたは複数の腫瘍抗原（例えば、ＣＤ２２）に対する１つまたは２つの異なるｎｅｕｔｒａｌｉｔｅアビジン誘導体化ＤＶＤ－Ｉｇに付着される（Ｃｈａｋｒａｖａｒｔｙ，Ｐ．ｅｔ　ａｌ．（２００８）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　１０５：８６９７－８７０２）。

【０３２３】

特定の実施形態において、治療を必要としている部位へ局所的に、本明細書において提供される予防剤または治療剤を投与することが望ましい場合があり得る。これは、例えば、局所的注入によって、注射によって、またはインプラントの手段によって達成され得るが、これらに限定されるものではなく、前記インプラントは、シアラスチック（ｓｉａｌａｓｔｉｃ）膜、ポリマー、繊維性マトリックス（例えば、Ｔｉｓｓｕｅｌ（登録商標））またはコラーゲンマトリックスなどの、膜およびマトリックスを含む多孔性または非多孔性材料である。一実施形態において、本明細書において提供される１つまたは複数の結合タンパク質の有効量は、疾患またはその症候を予防し、治療し、管理し、および／または軽減するために、対象の罹患した部位へ局所的に投与される。別の実施形態において、本明細書において提供される１つまたは複数の結合タンパク質の有効量は、疾患または１つもしくはそれ以上のその症候を予防し、治療し、管理し、および／または軽減するために、本明細書において提供される結合タンパク質以外の１つまたは複数の治療薬（例えば、１つまたは複数の予防剤または治療剤）の有効量と組み合わせて、罹患した部位へ局所的に投与される。

【０３２４】

別の実施形態において、予防剤または治療剤は、調節された放出系または徐放系に入れて送達することが可能である。一実施形態において、調節された放出または徐放を達成するためにポンプを使用し得る（Ｌａｎｇｅｒ，上記；Ｓｅｆｔｏｎ，１９８７，ＣＲＣ Ｃｒｉｔ．Ｒｅｆ．Ｂｉｏｍｅｄ．Ｅｎｇ．１４：２０；Ｂｕｃｈｗａｌｄ ｅｔ ａｌ，１９８０，Ｓｕｒｇｅｒｙ ８８：５０７；Ｓａｕｄｅｋ ｅｔ ａｌ．，１９８９，Ｎ．Ｅｎｇｌ．Ｊ．Ｍｅｄ．３２１：５７４参照）。別の実施形態において、本明細書において提供される治療薬の調節された放出または徐放を達成するために、ポリマー材料を使用することが可能である。（例えば、Ｍｅｄｉｃａｌ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ ｏｆ Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｒｅｌｅａｓｅ，Ｌａｎｇｅｒ ａｎｄ Ｗｉｓｅ（ｅｄｓ．），ＣＲＣ Ｐｒｅｓ．，Ｂｏｃａ Ｒａｔｏｎ，Ｆｌａ．（１９７４）；Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｄｒｕｇ Ｂｉｏａｖａｉｌａｂｉｌｉｔｙ，Ｄｒｕｇ Ｐｒｏｄｕｃｔ Ｄｅｓｉｇｎ ａｎｄ Ｐｅｒｆｏｒｍａｎｃｅ，Ｓｍｏｌｅｎ ａｎｄ Ｂａｌｌ（ｅｄｓ．），Ｗｉｌｅｙ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９８４）；Ｒａｎｇｅｒ ａｎｄ Ｐｅｐｐａｓ，１９８３，Ｊ．，Ｍａｃｒｏｍｏｌ．Ｓｃｉ．Ｒｅｖ．Ｍａｃｒｏｍｏｌ．Ｃｈｅｍ．２３：６１を参照されたい。Ｌｅｖｙ ｅｔ ａｌ．，１９８５，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２２８：１９０；Ｄｕｒｉｎｇ ｅｔ ａｌ．，１９８９，Ａｎｎ．Ｎｅｕｒｏｌ．２５：３５１；Ｈｏｗａｒｄ ｅｔ ａｌ．，１９８９，Ｊ．Ｎｅｕｒｏｓｕｒｇ．７１：１０５）；米国特許第５，６７９，３７７号；米国特許第５，９１６，５９７号；米国特許第５，９１２，０１５号；米国特許第５，９８９，４６３号；米国特許第５，１２８，３２６号；ＰＣＴ公開ＷＯ９９／１５１５４；およびＰＣＴ公開ＷＯ９９／２０２５３も参照されたい。徐放製剤中で使用されるポリマーの例には、ポリ（２－ヒドロキシエチルメタクリラート）、ポリ（メチルメタクリラート）、ポリ（アクリル酸）、ポリ（エチレン－コビニルアセタート）、ポリ（メタクリル酸）、ポリグリコリド（ＰＬＧ）、ポリ無水物、ポリ（Ｎ－ビニルピロリドン）、ポリ（ビニルアルコール）、ポリアクリルアミド、ポリ（エチレングリコール）、ポリラクチド（ＰＬＡ）、ポリ（ラクチド－コ－グリコリド）（ＰＬＧＡ）およびポリオルトエステルが含まれるが、これらに限定されるものではない。一実施形態において、徐放製剤中で使用されるポリマーは、不活性であり、溶脱可能な不純物を含まず、保存時に安定であり、無菌であり、生物分解性である。さらに別の実施形態において、調節された放出系または徐放系は、予防剤または治療剤の近くに配置されて、全身投薬量の一部のみを必要とするようにすることができる（例えば、Ｇｏｏｄｓｏｎ，ｉｎ Ｍｅｄｉｃａｌ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ ｏｆ Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｒｅｌｅａｓｅ，ｓｕｐｒａ，ｖｏｌ．２，ｐｐ．１１５－１３８（１９８４）参照）。

【０３２５】

徐放系は、Ｌａｎｇｅｒ（１９９０，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４９：１５２７－１５３３）

による概説中に論述されている。本明細書において提供される１つまたは複数の治療剤を含む徐放製剤を作製するために、当業者に公知のあらゆる技術を使用することが可能である。例えば、米国特許第４，５２６，９３８号、ＰＣＴ公開ＷＯ９１／０５５４８、ＰＣＴ公開ＷＯ９６／２０６９８、Ｎｉｎｇ ｅｔ ａｌ．，１９９６，“Ｉｎｔｒａｔｕｍ ｏｒａｌ Ｒａｄｉｏｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒａｐｙ ｏｆ ａ Ｈｕｍａｎ Ｃｏｌｏｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｘｅｎｏｇｒａｆｔ Ｕｓｉｎｇ ａ Ｓｕｓｔａｉｎｅｄ－Ｒｅｌｅａｓｅ Ｇｅｌ，”Ｒａｄｉｏｔｈｅｒａｐｙ＆Ｏｎｃｏｌｏｇｙ ３９：１７９－１８９，Ｓｏｎｇ ｅｔ ａｌ．，１９９５，“Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｍｅｄｉａｔｅｄ Ｌｕｎｇ Ｔａｒｇｅｔｉｎｇ ｏｆ Ｌｏｎｇ－Ｃｉｒｃｕｌａｔｉｎｇ Ｅｍｕｌｓｉｏｎｓ，”ＰＤＡ Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅ＆Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ５０：３７２－３９７，Ｃｌｅｅｋ ｅｔ ａｌ．，１９９７，“Ｂｉｏｄｅｇｒａｄａｂｌｅ Ｐｏｌｙｍｅｒｉｃ Ｃａｒｒｉｅｒｓ ｆｏｒ ａ ｂＦＧＦ Ａｎｔｉｂｏｄｙ ｆｏｒ Ｃａｒｄｉｏｖａｓｃｕｌａｒ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎ，”Ｐｒｏ．Ｌｎｔ’ｌ．Ｓｙｍｐ．Ｃｏｎｔｒｏｌ．Ｒｅｌ．Ｂｉｏａｃｔ．Ｍａｔｅｒ．２４：８５３－８５４およびＬａｍ ｅｔ ａｌ．，１９９７，“Ｍｉｃｒｏｅｎｃａｐｓｕｌａｔｉｏｎ ｏｆ Ｒｅｃｏｍｂｉｎａｎｔ Ｈｕｍａｎｉｚｅｄ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｙ ｆｏｒ Ｌｏｃａｌ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ，”Ｐｒｏｃ．ｌｎｔ’ｌ．Ｓｙｍｐ．Ｃｏｎｔｒｏｌ Ｒｅｌ．Ｂｉｏａｃｔ．Ｍａｔｅｒ．２４：７５９－７６０を参照されたい。

【０３２６】

組成物が予防剤または治療剤をコードする核酸である特定の実施形態において、適切な核酸発現ベクターの一部として、核酸を構築し、例えば、レトロウイルスベクター（米国特許第４，９８０，２８６号）の使用によって、または直接の注射によって、または微粒子照射（例えば、遺伝子銃；Ｂｉｏｌｉｓｔｉｃ，Ｄｕｐｏｎ）の使用によって、核酸が細胞内となるように核酸を投与し、または脂質もしくは細胞表面受容体もしくは形質移入剤でコーティングし、または核内に入ることが知られているホメオボックス様ペプチドに連結して核酸を投与することによって（例えば、Ｊｏｌｉｏｔ ｅｔ ａｌ．，１９９１，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８８：１８６４－１８６８参照）、核酸がコードしている予防剤または治療剤の発現を促進するために、核酸をインビボで投与することが可能である。あるいは、相同的組み換えによる発現のために、核酸を細胞内に導入し、宿主細胞ＤＮＡ内に取り込むことが可能である。

【０３２７】

本明細書において提供される医薬組成物は、その予定された投与経路と適合的であるように製剤化される。投与の経路の例には、非経口、例えば、静脈内、皮内、皮下、経口、鼻内（例えば、吸入）、経皮（例えば、局所）、経粘膜および直腸投与が含まれるが、これらに限定されない。特異的な実施形態において、組成物は、ヒトへの静脈内、皮下、筋肉内、経口、鼻内または局所投与に適合された医薬組成物として、定型的な手法に従って製剤化される。典型的には、静脈内投与のための組成物は、無菌の等張水性緩衝液中の溶液である。必要な場合には、組成物は、可溶化剤および注射の部位における痛みを和らげるための局所麻酔剤（リグノカムンｌｉｇｎｏｃａｍｎｅ）なども含み得る。

【０３２８】

本明細書において提供される組成物が局所的に投与されるべき場合には、組成物は、軟膏、クリーム、経皮パッチ、ローション、ゲル、シャンプー、スプレー、エアロゾル、溶液、エマルジョンの形態でまたは当業者に周知の他の形態で製剤化することが可能である。例えば、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ ａｎｄ Ｉｎｔｒｏｄｕｃｔｉｏｎ ｔｏ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ，１９ｔｈ ｅｄ．，Ｍａｃｋ Ｐｕｂ．Ｃｏ．，Ｅａｓｔｏｎ，Ｐａ．（１９９５）を参照されたい。一実施形態において、噴霧不能な局所剤形の場合には、局所適用に適合性のある担体または１つもしくはそれ以上の賦形剤を含み、水より大きな動粘性係数を有する粘性ないし半固体または固体の形態が使用される。適切な製剤は、所

望であれば、滅菌され、または、例えば、浸透圧などの様々な特性に影響を及ぼすための補助剤（例えば、防腐剤、安定化剤、湿潤剤、緩衝剤または塩）と混合された、溶液、懸濁液、エマルジョン、クリーム、軟膏（ｏｉｎｔｍｅｎｔ）、粉末、リニメント剤、軟膏（ｓａｌｖｅ）など（これらに限定されない）を含む。他の適切な局所剤形には、一実施形態において、固体または液体不活性担体と組み合わされた活性成分が、加圧された揮発性物質（例えば、フレオンなどの気体状噴射剤）との混合物中または搾り出し瓶中に梱包されている噴霧可能なエアロゾル調製物が含まれる。所望であれば、医薬組成物および剤形に、加湿剤または湿潤剤も添加することが可能である。このような追加の成分の例は、本分野において周知である。

【０３２９】

本明細書において提供される方法が組成物の鼻内投与を含む場合には、組成物は、エアロゾル形態、スプレー、ミスト中に、または点鼻薬の形態で製剤化することが可能である。特に、予防剤または治療剤は、適切な噴射剤（例えば、ジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、二酸化炭素またはその他の適切な気体）を用いて、加圧されたパックまたは噴霧器からエアロゾルスプレー提示の形態で都合よく送達することが可能である。加圧されたエアロゾルの場合には、投薬単位は、定量された量を送達するためのバルブを付与することによって決定され得る。化合物とラクトースまたはデンプンなどの適切な粉末基剤との粉末混合物を含有する、吸入装置またはガス注入装置で使用するためのカプセルおよびカートリッジ（例えば、ゼラチンから構成される。）を製剤化し得る。

【０３３０】

方法が経口投与を含む場合、錠剤、カプセル、カシェ剤、ゲルキャップ、溶液、懸濁液などの形態で、組成物を経口的に製剤化することが可能である。錠剤またはカプセルは、従来の手段によって、結合剤（例えば、予めゼラチン化されたトウモロコシデンプン、ポリビニルピロリドンまたはヒドロキシプロピルメチルセルロース）；充填剤（例えば、ラクトース、微結晶セルロースまたはリン酸水素カルシウム）；潤滑剤（例えば、ステアリン酸マグネシウム、タルクまたはシリカ）；崩壊剤（例えば、イモデンプンまたはグリコール酸デンプンナトリウム）；または湿潤剤（例えば、ラウリル硫酸ナトリウム）などの、医薬として許容される賦形剤とともに調製することが可能である。錠剤は、本分野において周知な方法によって被覆され得る。経口投与用の液体調製物は、溶液、シロップもしくは懸濁液の形態（これらに限定されない。）を採り得、または、使用前に、水もしくは他の適切なビヒクルを用いて構成するための乾燥製品として与えられ得る。このような液体調製物は、慣用の手段によって、懸濁剤（例えば、ソルビトールシロップ、セルロース誘導体または硬化食用脂肪）；乳化剤（例えば、レシチンまたはアカシア）；非水性ビヒクル（例えば、アーモンド油、油状エステル、エチルアルコールまたは分画された植物油）；および防腐剤（例えば、ｐ－ヒドロキシ安息香酸メチルもしくはプロピルまたはソルビン酸）などの医薬として許容される添加物とともに調製され得る。調製物は、適宜、緩衝液塩、着香剤、着色剤および甘味剤も含有し得る。経口投与用調製物は、予防剤または治療剤の遅い放出、調節された放出または徐放のために、適切に製剤化され得る。

【０３３１】

本明細書において提供される方法は、例えば、吸入装置または噴霧器の使用、エアロゾル化剤とともに製剤化された組成物の使用によって、経肺投与を含み得る。例えば、米国特許第６，０１９，９６８号；第５，９８５，３２０号；第５，９８５，３０９号；第５，９３４，２７２号；第５，８７４，０６４号；第５，８５５，９１３号；第５，２９０，５４０号；および第４，８８０，０７８号；ならびにＰＣＴ公開ＷＯ９２／１９２４４；ＷＯ９７／３２５７２；ＷＯ９７／４４０１３；ＷＯ９８／３１３４６；およびＷＯ９９／６６９０３を参照されたい。特定の実施形態において、本明細書において提供される結合タンパク質、組合せ療法および／または組成物は、ＡｌｋｅｒｍｅｓＡＩＲ（登録商標）経肺薬物送達技術（Ａｌｋｅｒｍｅｓ，Ｉｎｃ．Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ，Ｍａｓ．）を用いて投与される。

【０３３２】
本明細書において提供される方法は、注射による（例えば、ボーラス注射または連続的注入による）非経口投与のために製剤化された組成物の投与を含み得る。注射用製剤は、添加された防腐剤とともに、単位剤形で（例えば、アンプルまたは複数投薬容器に入れて）与え得る。組成物は、油性または水性ビヒクル中の懸濁液、溶液またはエマルジョンなどの形態を採り得、懸濁剤、安定化剤および／または分散剤などの処方剤を含有し得る。あるいは、活性成分は、使用前に適切なビヒクル（例えば、発熱物質を含まない無菌水）で構成するための粉末形態であり得る。
【０３３３】
方法は、さらに、デポ調製物として製剤化された組成物の投与を含み得る。このような長期作用製剤は、（例えば、皮下または筋肉内への）植え込みによって、または筋肉内注射によって投与され得る。したがって、例えば、組成物は、適切なポリマー材料もしくは疎水性材料（例えば、許容される油中のエマルジョンとして）またはイオン交換樹脂とともに、または難溶性誘導体として（例えば、難溶性塩として）調合され得る。
【０３３４】
いくつかの実施形態において、方法は、中性または塩形態として製剤化された組成物の投与を包含する。医薬として許容される塩には、塩酸、リン酸、酢酸、シュウ酸、酒石酸などに由来するものなどの陰イオンとともに形成された塩、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化アンモニウム、水酸化カルシウム、水酸化第二鉄、イソプロピルアミン、トリエチルアミン、２－エチルアミノエタノール、ヒスチジン、プロカインなどに由来するものなど、陽イオンとともに形成された塩が含まれる。
【０３３５】
一般的には、組成物の成分は、別個に、または単位剤形中に（例えば、活性剤の量を示した注射器またはにおい袋など、密閉された容器中の凍結乾燥された乾燥粉末または無水濃縮物として）一緒に混合されて供給される。投与の様式が注入である場合には、組成物は、医薬等級の無菌水または生理的食塩水を含有する注入瓶を用いて分配することが可能である。投与の様式が注射による場合には、注射用の無菌水または生理的食塩水の注射器は、投与前に成分が混合され得るように提供することが可能である。
【０３３６】
いくつかの実施形態において、本明細書において提供される予防剤もしくは治療剤の１つもしくはそれ以上または本発明の医薬組成物が、薬剤の量を示した注射器またはにおい袋など、密閉された容器中に梱包されることも提供する。一実施形態において、本明細書において提供される予防剤もしくは治療剤の１つもしくはそれ以上または医薬組成物は、密閉された容器中の凍結乾燥された乾燥無菌粉末または無水濃縮物として供給され、対象に投与するための適切な濃度になるように（例えば、水または生理的食塩水で）再構成することができる。一実施形態において、本明細書において提供される予防剤もしくは治療剤の１つもしくはそれ以上または医薬組成物は、少なくとも５ｍｇ、少なくとも１０ｍｇ、少なくとも１５ｍｇ、少なくとも２５ｍｇ、少なくとも３５ｍｇ、少なくとも４５ｍｇ、少なくとも５０ｍｇ、少なくとも７５ｍｇまたは少なくとも１００ｍｇの単位投薬量で、密封された容器中の凍結乾燥された乾燥無菌粉末として供給される。本明細書において提供される凍結乾燥された予防もしくは治療剤または医薬組成物は、その元の容器中で、２℃と８℃の間で保存されるべきであり、本明細書において提供される予防剤もしくは治療剤または医薬組成物は、再構成後、１週以内、例えば５日以内、７２時間以内、４８時間以内に、２４時間以内に、１２時間以内に、６時間以内に、５時間以内に、３時間以内に、または１時間以内に投与されるべきである。別の実施形態において、本明細書において提供される予防剤もしくは治療剤の１つもしくはそれ以上または本発明の医薬組成物は、薬剤の量および濃度を示す密閉された容器中に、液体形態で供給される。一実施形態において、投与された組成物の液体形態は、少なくとも０．２５ｍｇ／ｍｌ、少なくとも０．５ｍｇ／ｍｌ、少なくとも１ｍｇ／ｍｌ、少なくとも２．５ｍｇ／ｍｌ、少なくとも５ｍｇ／ｍｌ、少なくとも８ｍｇ／ｍｌ、少なくとも１０ｍｇ／ｍｌ、少なくとも１５ｍｇ

／ｋｇ、少なくとも２５ｍｇ／ｍｌ、少なくとも５０ｍｇ／ｍｌ、少なくとも７５ｍｇ／ｍｌまたは少なくとも１００ｍｇ／ｍｌで、密封された容器中に供給される。液体形態は、その元の容器中で、２℃と８℃の間で保存されるべきである。

【０３３７】

本明細書において提供される結合タンパク質は、非経口投与に適した医薬組成物中に取り込ませることが可能である。一実施形態において、結合タンパク質または抗原結合部分は、０．１－２５０ｍｇ／ｍＬの結合タンパク質を含有する注射可能溶液として調製される。注射可能溶液は、フリント容器または琥珀色の容器、注射器または予め充填されたシリンジ中の液体または凍結乾燥された剤形から構成され得る。緩衝液は、ｐＨ５．０から７．０（最適にはｐＨ６．０）のＬ－ヒスチジン（１－５０ｍＭ）、最適には５－１０ｍＭであり得る。他の適切な緩衝液には、コハク酸ナトリウム、クエン酸ナトリウム、リン酸ナトリウムまたはリン酸カリウムが含まれるが、これらに限定されない。０－３００ｍＭの濃度に（最適には、液体剤形に対して１５０ｍＭ）の溶液の毒性を修飾するために、塩化ナトリウムを使用することが可能である。凍結乾燥された剤形に対して、凍結保護剤、主に、０－１０％のスクロース（最適には、０．５－１．０％）を含めることが可能である。他の適切な凍結保護剤には、トレハロースおよびラクトースが含まれる。凍結乾燥された剤形に対して、充填剤、主に、１－１０％のマニトール（最適には、２－４％）を含めることが可能である。液体および凍結乾燥された両剤形において、安定化剤、主に１－５０ｍＭのＬ－メチオニン（最適には、５－１０ｍＭ）を使用することが可能である。他の適切な充填剤には、グリシン、アルギニンが含まれ、０－０．０５％のポリソルベート－８０（最適には、０．００５－０．０１％）として含めることが可能である。さらなる界面活性剤には、ポリソルベート２０およびＢＲＩＪ界面活性剤が含まれるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態において、本明細書において提供される結合タンパク質を含む医薬組成物は、非経口投与用の注射可能な溶液として調製され、治療用タンパク質（例えば、抗体）の吸収または分散を増加させるために使用されるものなど、アジュバントとして有用な作用物質をさらに含むことが可能である。特に有用なアジュバントは、Ｈｙｌｅｎｅｘ（登録商標）（組み換えヒトヒアルロニダーゼ）などのヒアルロニダーゼである。注射可能な溶液中へのヒアルロニダーゼの添加は、非経口投与、特に皮下投与後に、ヒト生物学的利用可能性を改善する。痛みおよび不快感がより小さく、注射部位反応の発生を最小限に抑えながら、より大きな注射部位容量（すなわち、１ｍＬより大きい）も可能である（ＷＯ２００４０７８１４０およびＵＳ２００６１０４９６８を参照）。

【０３３８】

本明細書において提供される組成物は、様々な形態であり得る。これらには、例えば、液体溶液（例えば、注射可能な溶液および注入可能な溶液）など、分散液または懸濁液、錠剤、丸薬、粉末、リポソームおよび坐薬などの、液体、半固体および固体剤形が含まれる。選択された形態は、予定される投与の様式および治療用途に依存する。典型的な組成物は、他の抗体を用いたヒトの受動免疫に対して使用される組成物と同様の組成物など、注射可能溶液または注入可能溶液の形態である。投与の選択された様式は、非経口（例えば、静脈内、皮下、腹腔内、筋肉内）である。一実施形態において、結合タンパク質は、静脈内注入または注射によって投与される。別の実施形態において、結合タンパク質は、筋肉内注入または皮下注射によって投与される。

【０３３９】

治療組成物は、典型的には、製造および保存の条件下で、無菌および安定でなければならない。組成物は、溶液、ミクロエマルジョン、分散液、リポソームまたは高薬物濃度に適したその他の秩序化された構造として製剤化することが可能である。無菌注射可能溶液は、本明細書に列記されている成分の１つまたは組合せを加えた適切な溶媒中に、必要な量で活性な化合物（すなわち、抗体、抗体部分）を取り込ませた後、必要に応じて、濾過滅菌を行うことによって調製することが可能である。一般的に、分散液は、塩基性分散溶媒および本明細書に列記されたものから得られる必要なその他の成分を含有する無菌ビヒクル中に活性化合物を取り込ませることによって調製される。無菌注射可能溶液の調製の

ための凍結乾燥された無菌粉末の場合には、調製の方法は、予め滅菌濾過されたその溶液から、あらゆる追加の所望される成分を加えた活性成分の粉末を与える真空乾燥および粉末乾燥である。溶液の適切な流動性は、例えば、レシチンなどのコーティング材料を使用することによって、分散液の場合に必要な粒径を維持することによって、および界面活性剤を使用することによって維持することができる。注射可能組成物の延長された吸収は、吸収を遅延させる薬剤、例えば、モノステアリン酸塩およびゼラチンを組成物中に含めることによって実現することができる。

【０３４０】

本明細書において提供される結合タンパク質は、本分野で公知の様々な方法によって投与することが可能であるが、多くの治療用途において、一実施形態では、投与経路／様式は皮下注射、静脈内注射または注入である。当業者によって理解されるように、投与の経路および／または様式は、所望される結果に応じて変動する。ある種の実施形態において、活性化合物は、インプラント、経皮パッチおよび微小封入された送達系を含む徐放製剤など、迅速な放出に対して化合物を保護する担体とともに調製され得る。エチレン酢酸ビニル、ポリ無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステルおよびポリ乳酸など、生物分解可能な生物適合性ポリマーを使用することが可能である。このような製剤の多くの調製方法は、特許が付与されているまたは一般的に当業者に公知である。例えば、Ｓｕｓｔａｉｎｅｄ ａｎｄ Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｒｅｌｅａｓｅ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｊ．Ｒ．Ｒｏｂｉｎｓｏｎ，ｅｄ．，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９７８を参照されたい。

【０３４１】

ある種の実施形態において、本明細書において提供される結合タンパク質は、例えば、不活性希釈剤または同化可能な食用担体とともに経口投与され得る。また、化合物（および、所望であれば、その他の成分）は、硬いもしくは軟い殻のゼラチンカプセル中に封入され、錠剤へと圧縮され、または患者の食事中に直接取り込ませ得る。経口治療投与の場合、化合物は、賦形剤とともに取り込まれ、摂取可能な錠剤、口腔錠、トローチ、カプセル、エリキシル、懸濁液、シロップ、ウェハースなどの形態で使用され得る。非経口投与以外によって本明細書において提供される化合物を投与するために、その不活化を妨げるための物質で化合物を被覆し、またはその不活化を妨げるための物質とともに化合物を同時投与することが必要であり得る。

【０３４２】

補助的活性化合物も、組成物中に取り込ませることが可能である。ある種の実施形態において、本明細書において提供される結合タンパク質は、本明細書において提供される結合タンパク質とともに疾患を治療するのに有用である、１つまたは複数のさらなる治療剤とともに共製剤化され、および／または同時投与される。例えば、本明細書において提供される結合タンパク質は、他の錠剤に結合する１つまたは複数のさらなる抗体（例えば、他のサイトカインに結合する抗体または細胞表面分子に結合する抗体）とともに共製剤化され、および／または同時投与され得る。さらに、本明細書において提供される１つまたは複数の結合タンパク質は、先述の治療剤の２つまたはそれ以上と組み合わせて使用され得る。このような組合せ療法は、投与される治療剤のより低い投薬量を有利に使用し得るので、様々な単独療法に伴って生じ得る毒性または合併症が回避される。

【０３４３】

ある種の実施形態において、結合タンパク質は、本分野で公知の半減期延長ビヒクルに連結される。このようなビヒクルには、Ｆｃドメイン、ポリエチレングリコールおよびデキストランが含まれるが、これらに限定されない。このようなビヒクルは、例えば、米国出願第０９／４２８，０８２号および公開されたＰＣＴ出願ＷＯ９９／２５０４４に記載されている。

【０３４４】

特定の実施形態において、本明細書において提供される結合タンパク質または別の予防剤もしくは治療剤をコードする核酸配列は、遺伝子治療によって、疾患または１つもしく

はそれ以上のその症候を治療し、予防し、管理し、または軽減するために投与される。遺伝子治療は、発現された核酸または発現可能な核酸の、対象への投与によって実行される治療を表す。本実施形態において、核酸は、予防的効果または治療的効果を媒介する、コードされたそれらの結合タンパク質または予防剤もしくは治療剤を産生する。

【０３４５】

本分野で利用可能な遺伝子治療のためのあらゆる方法を使用することが可能である。遺伝子治療の方法の一般的な概説については、Ｇｏｌｄｓｐｉｅｌ ｅｔ ａｌ．，１９９３，Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｐｈａｒｍａｃｙ １２：４８８－５０５；Ｗｕ ａｎｄ Ｗｕ，１９９１，Ｂｉｏｔｈｅｒａｐｙ ３：８７－９５；Ｔｏｌｓｔｏｓｈｅｖ，１９９３，Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．Ｔｏｘｉｃｏｌ．３２：５７３－５９６；Ｍｕｌｌｉｇａｎ，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２６０：９２６－９３２（１９９３）；およびＭｏｒｇａｎ ａｎｄ Ａｎｄｅｒｓｏｎ，１９９３，Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．６２：１９１－２１７；Ｍａｙ，１９９３，ＴＩＢＴＥＣＨ １１（５）：１５５－２１５を参照されたい。使用可能な組み換えＤＮＡ技術の分野で一般的に知られた方法は、Ａｕｓｕｂｅｌ ｅｔ ａｌ．（ｅｄｓ．），Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，ＮＹ（１９９３）；およびＫｒｉｅｇｌｅｒ，Ｇｅｎｅ Ｔｒａｎｓｆｅｒ ａｎｄ Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ，Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｓｔｏｃｋｔｏｎ Ｐｒｅｓｓ，ＮＹ（１９９０）に記載されている。遺伝子治療の様々な方法の詳細な記述は、ＵＳ２００５００４２６６４Ａ１に開示されている。

【０３４６】

本明細書において提供される結合タンパク質は、結合タンパク質によって認識される標的が有害である様々な疾病を治療する上で有用である。このような疾病には、関節リウマチ、骨関節炎、若年性慢性関節炎、化膿性関節炎、ライム関節炎、乾癬性関節炎、反応性関節炎、脊椎関節症、全身性紅斑性狼瘡、クローン病、潰瘍性大腸炎、炎症性腸疾患、インシュリン依存性糖尿病、甲状腺炎、喘息、アレルギー性疾患、乾癬、皮膚炎、強皮症、移植片対宿主病、臓器移植拒絶、臓器移植に関連する急性または慢性免疫疾患、サルコイドーシス、アテローム性動脈硬化症、播種性血管内凝固、川崎病、バセドウ病、ネフローゼ症候群、慢性疲労症候群、ウェゲナー肉芽腫症、ヘノッホ・シェーライン紫斑症、腎臓の顕微鏡的血管炎、慢性活動性肝炎、ブドウ膜炎、敗血症性ショック、毒素性ショック症候群、敗血症症候群、悪液質、感染性疾患、寄生性疾患、後天性免疫不全症候群、急性横断性脊髄炎、ハンチントン舞踏病、パーキンソン病、アルツハイマー病、発作、原発性胆汁性肝硬変、溶血性貧血、悪性腫瘍、心不全、心筋梗塞、アジソン病、孤発性の、多内分泌腺機能低下症候群Ｉ型および多内分泌腺機能低下症候群ＩＩ型、シュミット症候群、成人（急性）呼吸促迫症候群、脱毛症、円形脱毛症、血清反応陰性関節炎、関節炎、ライター病、乾癬性関節炎、潰瘍性大腸性関節炎、腸疾患性滑膜炎、クラミジア、エルシニアおよびサルモネラ関連関節炎、脊椎関節症、アテローム性疾患／アテローム性動脈硬化症、アトピー性アレルギー、自己免疫性水疱性疾患、尋常性天疱瘡、落葉状天疱瘡、類天疱瘡、線状ＩｇＡ病、自己免疫性溶血性貧血、クームス陽性溶血性貧血、後天性悪性貧血、若年性悪性貧血、筋痛性脳脊髄炎／ロイヤルフリー病、慢性粘膜皮膚カンジダ症、巨細胞性動脈炎、原発性硬化性肝炎、突発性自己免疫性肝炎、後天性免疫不全症候群、後天性免疫不全関連疾患、Ｂ型肝炎、Ｃ型肝炎、分類不能型免疫不全症（分類不能型原発性低γグロブリン血症）、拡張型心筋症、女性不妊症、卵巣機能不全、早期卵巣機能不全、繊維性肺疾患、突発性間質性肺炎、炎症後間質性肺疾患、間質性肺炎、結合組織疾患関連間質性肺疾患、混合性結合組織疾患関連肺疾患、全身性硬化症関連間質性肺疾患、関節リウマチ関連間質性肺疾患、全身性紅斑性狼瘡関連肺疾患、皮膚筋炎／多発性筋炎関連肺疾患、シェーグレン病関連肺疾患、強直性脊椎炎関連肺疾患、血管炎性びまん性肺疾患（ｖａｓｃｕｌｉｔｉｃ ｄｉｆｆｕｓｅ ｌｕｎｇ ｄｉｓｅａｓｅ）、ヘモシデローシス関連肺疾患、薬物によって誘導された間質性肺疾患、繊維症、放射性繊維症、閉塞性細気管支炎、慢性好酸球性肺炎、リンパ球浸潤性肺疾患、感染後間質性肺疾患、通風関節炎、自己免疫

性肝炎、１型自己免疫性肝炎（古典的自己免疫性またはルポイド肝炎）、２型自己免疫性肝炎（抗ＬＫＭ抗体肝炎）、自己免疫媒介性低血糖症、黒色表皮腫を伴うＢ型インシュリン抵抗性、副甲状腺機能低下症、臓器移植に関連する急性免疫疾患、臓器移植に関連する慢性免疫疾患、変形性関節症、原発性硬化性胆管炎、１型乾癬、２型乾癬、特発性白血球減少症、自己免疫性好中球減少症、腎臓病ＮＯＳ、糸球体腎炎、腎臓の顕微鏡的血管炎、ライム病、円板状紅斑性狼瘡、男性不妊症特発性またはＮＯＳ、精子自己免疫、多発性硬化症（すべてのサブタイプ）、交感性眼炎、結合組織疾患に続発する肺高血圧症、グッドパスチャー症候群、結節性多発動脈炎の肺症状、急性リウマチ熱、リウマチ性脊椎炎、スチル病、全身性硬化症、シェーグレン症候群、高安病／動脈炎、自己免疫性血小板減少症、特発性血小板減少症、自己免疫性甲状腺疾患、甲状腺機能亢進症、甲状腺腫自己免疫性甲状腺機能低下症（橋本病）、萎縮性自己免疫性甲状腺機能低下症、原発性粘液水腫（ｐｒｉｍａｒｙ　ｍｙｘｏｅｄｅｍａ）、水晶体起因性ブドウ膜炎、原発性血管炎、白斑急性肝疾患、慢性肝疾患、アルコール性肝硬変、アルコール誘発性肝障害、胆汁うっ滞（ｃｈｏｌｅｏｓａｔａｔｉｓ）、特異体質性肝疾患、薬物誘発性肝炎、非アルコール性脂肪性肝炎、アレルギーおよび喘息、Ｂ群連鎖球菌（ＧＢＳ）感染、精神障害（例えば、うつ病および統合失調症）、Ｔｈ２型およびＴｈ１型によって媒介される疾病、急性および慢性疼痛（疼痛の様々な形態）、ならびに、肺癌、乳癌、胃癌、膀胱癌、大腸癌、膵臓癌、卵巣癌、前立腺癌および腎臓癌および造血性悪性病変（白血病およびリンパ腫）などの癌、無βリポタンパク質血症、先端チアノーゼ、急性および慢性寄生性または感染性プロセス、急性白血病、急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）、急性または慢性細菌感染、急性膵炎、急性腎不全、腺癌、心房（ａｅｒｉａｌ）異所性拍動、ＡＩＤＳ認知症複合、アルコール誘発性肝炎、アレルギー性結膜炎、アレルギー性接触性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、同種移植拒絶、α－１－アンチトリプシン欠乏症、筋萎縮性側索硬化症、貧血、狭心症、前角細胞変性、抗ｃｄ３治療、抗リン脂質症候群、抗受容体過敏症反応（ａｎｔｉ－ｒｅｃｅｐｔｏｒ　ｈｙｐｅｒｓｅｎｓｉｔｉｖｉｔｙ　ｒｅａｃｔｉｏｎｓ）、大動脈（ａｏｒｄｉｃ）および動脈瘤、大動脈解離、動脈性高血圧、動脈硬化症、動静脈瘻、運動失調、心房細動（持続的または発作性）、心房粗動、房室ブロック、Ｂ細胞リンパ腫、骨移植拒絶、骨髄移植（ＢＭＴ）拒絶、脚ブロック、バーキットリンパ腫、火傷、心不整脈、心機能不全症候群（ｃａｒｄｉａｃ　ｓｔｕｎ　ｓｙｎｄｒｏｍｅ）、心臓腫瘍、心筋症、心肺バイパス炎症反応、軟骨移植拒絶、小脳皮質変性、小脳疾患、無秩序なまたは多巣性心房頻脈、化学療法関連疾患、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、慢性アルコール症、慢性炎症性病変、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）、慢性サリチル酸中毒、結腸直腸癌、うっ血性心不全、結膜炎、接触性皮膚炎、肺性心、冠動脈疾患、クロイツフェルトーヤコブ病、培養陰性敗血症、嚢胞性繊維症、サイトカイン療法関連疾患、ボクサー脳、脱髄性疾患、デング出血熱、皮膚炎、皮膚科学的症状、糖尿病、真性糖尿病、糖尿病性動脈硬化疾患、瀰漫性レビー小体病、拡張型うっ血性心筋症、大脳基底核の疾患、中年のダウン症候群、中枢神経ドーパミン受容体を遮断する薬物によって誘発された薬物誘発性運動疾患、薬物感受性、湿疹、脳脊髄炎、心内膜炎、内分泌疾患、喉頭蓋炎、エプスタインーバーウイルス感染、紅痛症、垂体外路および小脳疾患、家族性血球貪食性リンパ組織球症（ｆａｍｉｌｉａｌ　ｈｅｍａｔｏｐｈａｇｏｃｙｔｉｃ　ｌｙｍｐｈｏｈｉｓｔｉｏｃｙｔｏｓｉｓ）、致死的胸腺移植組織拒絶、フリードライヒ失調症、機能的末梢動脈疾患、真菌性敗血症、ガス壊疽、胃潰瘍、糸球体腎炎、いずれかの臓器または組織の移植片拒絶、グラム陰性敗血症、グラム陽性敗血症、細胞内生物に起因する肉芽腫、有毛細胞白血病、ハラーホルデン・スパッツ病、橋本甲状腺炎、枯草熱、心臓移植拒絶、血色素症、血液透析、溶血性尿毒症症候群／血栓溶解血小板減少紫斑病、出血、肝炎（Ａ型）、ヒス束不整脈、ＨＩＶ感染／ＨＩＶ神経障害、ホジキン病、運動過剰疾患、過敏症反応、過敏性肺炎、高血圧、運動低下疾患、視床下部－下垂体－副腎皮質系評価、特発性アジソン病、特発性肺繊維症、抗体媒介性細胞毒性、無力症、乳児脊髄性筋萎縮症、大動脈の炎症、Ａ型インフルエンザ、電離放射線曝露、虹彩毛様体炎／ブドウ膜炎／視神経炎、虚血再灌流障害、虚血性発作、若年性関節リウ

マチ、若年性脊髄性筋萎縮症、カポジ肉腫、腎移植拒絶、レジオネラ、リーシュマニア症、ハンセン病、皮質脊髄系の病変、脂肪血症（ｌｉｐｅｄｅｍａ）、肝臓移植拒絶、リンパ浮腫（ｌｙｍｐｈｅｄｅｒｍａ）、マラリア、悪性リンパ腫、悪性組織球増殖症、悪性黒色腫、髄膜炎、髄膜炎菌血症（ｍｅｎｉｎｇｏｃｏｃｃｅｍｉａ）、代謝性／特発性、偏頭痛、ミトコンドリア多系疾患（ｍｉｔｏｃｈｏｎｄｒｉａｌ ｍｕｌｔｉ．ｓｙｓｔｅｍ ｄｉｓｏｒｄｅｒ）、混合性結合組織病、モノクローナル高ガンマグロブリン血症、多発性骨髄腫、多系統変性（メンセル・デジェリーヌ－トーマス・シャイ－ドレーガーおよびマシャド－ジョセフ）、重症筋無力症、マイコバクテリウム・アビウム・イントラセルラーレ、マイコバクテリウム・チュバキュロシス、骨髄形成異常、心筋梗塞、真菌血疾患、上咽頭癌、新生児慢性肺疾患、腎炎、ネフローゼ、神経変性疾患、神経原性Ｉ筋萎縮、好中球減少性発熱、非ホジキンリンパ腫、腹部大動脈およびその分枝の閉塞、閉塞性動脈疾患、ｏｋｔ３療法、精巣炎／精巣上体炎、精巣炎／精管復元術処置、臓器肥大、骨粗鬆症、膵臓移植拒絶、膵癌、腫瘍随伴性症候群／悪性腫瘍の高カルシウム血症、副甲状腺移植拒絶、骨盤内炎症性疾患、通年性鼻炎、心膜疾患、末梢アテローム硬化性疾患、末梢血管疾患、腹膜炎、悪性貧血、ニューモシスチス・カリニ肺炎、肺炎、ＰＯＥＭＳ症候群（多発神経炎、臓器肥大、内分泌疾患、単クローン性γグロブリン血症および皮膚変化症候群（ｓｋｉｎ ｃｈａｎｇｅｓ ｓｙｎｄｒｏｍｅ））、灌流後症候群（ｐｏｓｔ ｐｅｒｆｕｓｉｏｎ ｓｙｎｄｒｏｍｅ）、ポンプ後症候群（ｐｏｓｔ ｐｕｍｐ ｓｙｎｄｒｏｍｅ）、心筋梗塞後開心術症候群、子癇前症、進行性核上性麻痺、原発性肺高血圧、放射線療法、レイノー現象および病、レイノー病、レフサム病、規則的なＱＲＳ幅の狭い頻脈症（ｒｅｇｕｌａｒ ｎａｒｒｏｗ ＱＲＳ ｔａｃｈｙｃａｒｄｉａ）、腎血管性高血圧、再灌流障害、拘束型心筋症、肉腫、強皮症、老年性舞踏病、レビー小体型の老年性認知症、血清反応陰性関節炎、ショック、鎌形赤血球貧血症、皮膚同種異系移植拒絶、皮膚変化症候群、小腸移植拒絶、固形腫瘍、固有不整脈（ｓｐｅｃｉｆｉｃ ａｒｒｙｔｈｍｉａｓ）、脊髄性運動失調、脊髄小脳変性、連鎖球菌性筋炎、小脳の構造的病変、亜急性硬化性全脳炎、湿疹、心血管系の梅毒、全身性アナフィラキシー、全身性炎症反応症候群、全身性発症若年性関節リウマチ、Ｔ細胞またはＦＡＢＡＬＬ、毛細血管拡張症、閉塞性血栓血管炎、血小板減少症、毒性、移植、外傷／出血、ＩＩＩ型過敏症反応、ＩＶ型過敏症、不安定狭心症、尿毒症、尿路性敗血症、じんましん、心臓弁膜症、静脈瘤、血管炎、静脈疾患、静脈血栓症、心室細動、ウイルスおよび真菌感染、ウイルス性脳炎（ｖｉｔａｌ ｅｎｃｅｐｈａｌｉｔｉｓ）／無菌性髄膜炎、ウイルス関連血球貪食症候群、ウェルニッケ－コルサコフ症候群、ウィルソン病、いずれかの臓器または組織の異種移植拒絶が含まれるが、これらに限定されない（Ｐｅｒｉｔｔ ｅｔ ａｌ．ＰＣＴ公開ＷＯ２００２０９７０４８Ａ２，Ｌｅｏｎａｒｄ ｅｔ ａｌ．，ＰＣＴ公開ＷＯ９５２４９１８Ａ１およびＳａｌｆｅｌｄ ｅｔ ａｌ．，ＰＣＴ公開ＷＯ００／５６７７２Ａ１参照）。

【０３４７】

本明細書において提供されるＤＶＤ－Ｉｇは、以下の疾患：急性冠症候群、急性特発性多発性神経炎、急性炎症性脱髄性多発神経根神経障害、急性虚血、成人スチル病、円形脱毛症、アナフィラキシー、抗リン脂質抗体症候群、再生不良性貧血、アテローム性動脈硬化症、アトピー性湿疹、アトピー性皮膚炎、自己免疫性皮膚炎、連鎖球菌感染に伴う自己免疫異常、自己免疫性難聴、自己免疫性リンパ増殖症候群（ＡＬＰＳ）、自己免疫性心筋炎、自己免疫性血小板減少（ＡＩＴＰ）、眼瞼炎、気管支拡張症、水疱性類天疱瘡、心血管疾患、劇症型抗リン脂質症候群、セリアック病、頚部脊椎症、慢性虚血、瘢痕性類天疱瘡、多発性硬化症のリスクを有する臨床的孤発症候群（ＣＩＳ）、結膜炎、小児発症精神障害、慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）、涙嚢炎、皮膚筋炎、糖尿病性網膜症、真性糖尿病、椎間板ヘルニア、椎間板脱出、薬物誘発免疫性溶血性貧血、心内膜炎、子宮内膜症、眼内炎、上強膜炎、多形性紅斑、重症型多形性紅斑、妊娠性類天疱瘡、ギラン・バレー症候群（ＧＢＳ）、枯草熱、ヒューズ症候群、特発性パーキンソン病、特発性間質性肺炎、ＩｇＥ媒介性アレルギー、免疫性溶血性貧血、封入体筋炎、感染性眼炎症疾患、炎症性脱髄

疾患、炎症性心疾患、炎症性腎疾患、ＩＰＦ／ＵＩＰ、虹彩炎、角膜炎、乾性角結膜炎（ｋｅｒａｔｏｊｕｎｔｉｖｉｔｉｓ　ｓｉｃｃａ）、クスマウル病またはクスマウル－マイヤー病、ランドリー麻痺、ランゲルハンス細胞性組織球症、網状皮斑、黄斑変性、悪性病変、顕微鏡的多発性血管炎、モルブス・ベヒテレフ（ｍｏｒｂｕｓ　ｂｅｃｈｔｅｒｅｖ）、運動ニューロン疾患、粘膜性類天疱瘡、多臓器不全、重症筋無力症、骨髄異形成症候群、心筋炎、神経根障害、神経障害、非Ａ非Ｂ型肝炎、視神経炎、骨溶解、卵巣癌、小関節性ＪＲＡ、末梢動脈閉塞疾患（ＰＡＯＤ）、末梢血管疾患（ＰＶＤ）、末梢動脈疾患（ＰＡＤ）、静脈炎、結節性多発性動脈炎（または結節性動脈周囲炎）、多発性軟骨炎、リウマチ性多発性筋痛、白毛症、多関節性ＪＲＡ、多内分泌欠損症候群、多発性筋炎、リウマチ性多発性筋痛（ＰＭＲ）、ポンプ後症候群、原発性パーキンソニズム、前立腺癌および直腸癌および造血性悪性病変（白血病およびリンパ腫）、前立腺炎、赤芽球癆、原発性副腎不全、再発性視神経脊髄炎、再狭窄、リウマチ性心疾患、ＳＡＰＨＯ（滑膜炎、アクネ、膿疱症、骨過形成および骨髄炎）、強皮症、続発性アミロイドーシス、ショック肺、強膜炎、坐骨神経痛、二次性副腎不全、シリコーン関連結合組織病、スネドン－ウィルキンソン皮膚症、強直性脊椎炎、スティーブンス・ジョンソン症候群（ＳＪＳ）、全身性炎症反応症候群、側頭動脈炎、トキソプラスマ性網膜炎、中毒性表皮剥離症、横断性脊髄炎、ＴＲＡＰＳ（腫瘍壊死因子受容体）、１型アレルギー反応、ＩＩ型糖尿病、じんましん、通常型間質性肺炎（ＵＩＰ）、血管炎、春季結膜炎、ウイルス性網膜炎、フォークト・小柳・原田症候群（ＶＫＨ症候群）、滲出型黄斑変性、ならびに創傷治癒の１つまたは複数を治療することもできる。

【０３４８】

本明細書において提供される結合タンパク質は、自己免疫疾患、特に、関節リウマチ、脊椎炎、アレルギー、自己免疫性糖尿病、自己免疫性ブドウ膜炎など、炎症を伴う自己免疫疾患に罹患しているヒトを治療するために使用することが可能である。一実施形態において、結合タンパク質またはその抗原結合部分は、関節リウマチ、クローン病、多発性硬化症、インシュリン依存性糖尿病および乾癬を治療するために使用される。

【０３４９】

一実施形態において、本明細書において提供される組成物および方法で治療または診断され得る疾患には、乳房、結腸、直腸、肺、中咽頭、下咽頭、食道、胃、膵臓、肝臓、胆嚢および胆管、小腸、尿路（腎臓、膀胱および尿路上皮を含む）、女性生殖路（子宮頚部、子宮および卵巣ならびに絨毛癌および妊娠性絨毛性疾患を含む）、男性生殖路（前立腺、精嚢、精巣および生殖細胞腫瘍を含む）、内分泌腺（甲状腺、副腎および下垂体を含む）および皮膚の癌腫ならびに血管腫、悪性黒色腫、肉腫（骨および軟部組織から生じるものならびにカポジ肉腫を含む）、脳、神経、眼および髄膜の腫瘍（星状膠細胞腫、神経膠腫、神経膠芽細胞腫、網膜芽細胞腫、神経腫、神経芽細胞腫、シュワン細胞腫および髄膜腫を含む）、白血病などの造血性悪性病変から生じる固形腫瘍およびリンパ腫（ホジキンリンパ腫および非ホジキンリンパ腫の両方）を含む原発性および転移性の癌が含まれるが、これらに限定されない。

【０３５０】

一実施形態において、本明細書において提供される結合タンパク質またはその抗原結合部分は、単独でまたは放射線療法および／もしくは他の化学療法剤と組み合わせて使用される場合、癌を治療するためにまたは本明細書に記載されている腫瘍からの転移の予防において使用される。

【０３５１】

本明細書において提供される結合タンパク質またはその抗原結合部分は、抗腫瘍剤、放射線療法、化学療法（ＤＮＡアルキル化剤、シスプラチン、カルボプラチン、抗チューブリン剤、パクリタキセル、ドセタキセル、タキソール、ドキソルビシン、ゲムシタビン、ジェムザール、アントラサイクリン、アドリアマイシン、トポイソメラーゼＩ阻害剤、トポイソメラーゼＩＩ阻害剤、５－フルオロウラシル（５－ＦＵ）、ロイコボリン、イリノテカン、受容体チロシンキナーゼ阻害剤（例えば、エルロチニブ、ゲフィチニブ）、ＣＯ

Ｘ－２阻害剤（例えば、セレコキシブ）、キナーゼ阻害剤およびｓｉＲＮＡなど）を含むがこれらに限定されない作用因子と組み合わせることが可能である。

【０３５２】

本明細書において提供される結合タンパク質は、様々な疾病の治療において有用な１つまたは複数の追加の治療剤とともに投与することも可能である。

【０３５３】

本明細書において提供される結合タンパク質は、このような疾病を治療するために、単独で、または組み合わせて使用することが可能である。結合タンパク質は、単独で、または追加の作用物質、例えば治療剤と組み合わせて使用することが可能であり、前記追加の作用物質は、その意図される目的に対して、当業者によって選択されることを理解すべきである。例えば、追加の作用物質は、本明細書に開示された結合タンパク質によって治療されている疾病または症状を治療するのに有用であると本分野で認識されている治療剤とすることが可能である。追加の作用物質は、治療組成物に有益な属性を付与する作用物質、例えば、組成物の粘性に影響を与える作用物質とすることも可能である。

【０３５４】

本明細書において提供される組合せは、それらの意図される目的に対して有用な組合せであることをさらに理解すべきである。以下に記されている作用物質は、例示を目的とするものであって、限定を意図するものではない。本明細書において提供される組合せは、結合タンパク質および以下のリストから選択される少なくとも１つの追加の作用物質であり得る。当該組合せにおいて、形成された組成物がその意図される機能を実行することが可能であれば、組合せは、２以上の追加の作用物質、例えば、２または３個の追加の作用物質を含むこともできる。

【０３５５】

自己免疫疾患および炎症性疾患を治療するための組合せは、ＮＳＡＩＤとも称される非ステロイド性抗炎症薬（イブプロフェンのような薬物が含まれる。）である。他の組合せは、プレドニゾロンなどのコルチコステロイドである。ステロイド使用の周知の副作用は、本明細書において提供されるＤＶＤ　Ｉｇと組み合わせて患者を治療するときに必要とされるステロイド用量を徐々に減らすことによって、低減することが可能であり、または除去することさえ可能である。本明細書において提供される結合タンパク質とともに組み合わせることが可能な関節リウマチに対する治療剤の非限定的な例には、以下のもの：サイトカイン抑制性抗炎症薬（ＣＳＡＩＤ）；その他のヒトサイトカインまたは成長因子（例えば、ＴＮＦ、ＬＴ、ＩＬ－１、ＩＬ－２、ＩＬ－３、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－６、ＩＬ－７、ＩＬ－８、ＩＬ－１５、ＩＬ－１６、ＩＬ－１８、ＩＬ－２１、ＩＬ－２３、インターフェロン、ＥＭＡＰ－ＩＩ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＦＧＦおよびＰＤＧＦ）に対する抗体またはこれらのアンタゴニストが含まれる。本明細書において提供される結合タンパク質またはその抗原結合部分は、ＣＤ２、ＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ８、ＣＤ２５、ＣＤ２８、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＣＤ４５、ＣＤ６９、ＣＤ８０（Ｂ７．１）、ＣＤ８６（Ｂ７．２）、ＣＤ９０、ＣＴＬＡまたはＣＤ１５４を含むこれらのリガンド（ｇｐ３９またはＣＤ４０Ｌ）などの細胞表面分子に対する抗体と組み合わせることが可能である。

【０３５６】

治療剤の組合せは、異なる点で、自己免疫およびこれに続く炎症カスケードを干渉し得る。例には、キメラ、ヒト化またはヒトＴＮＦ抗体、アダリムマブ（ＰＣＴ公開ＷＯ９７／２９１３１）、ＣＡ２（Ｒｅｍｉｃａｄｅ（商標））、ＣＤＰ５７１、および可溶性ｐ５５またはｐ７５ＴＮＦ受容体、これらの誘導体、（ｐ７５ＴＮＦＲＩｇＧ（Ｅｎｂｒｅｌ（商標））またはｐ５５ＴＮＦＲ１ｇＧ（Ｌｅｎｅｒｃｅｐｔ）およびＴＮＦα変換酵素（ＴＡＣＥ）阻害剤などのようなＴＮＦアンタゴニストが含まれる。同様にＩＬ－１阻害剤（インターロイキン－１変換酵素阻害剤、ＩＬ－１ＲＡなど）は、同じ理由のために有効であり得る。他の組合せには、インターロイキン１１が含まれる。さらに別の組合せには、ＩＬ－１２機能と平行して、ＩＬ－１２機能に依存して、またはＩＬ－１２と協調して作用し得る自己免疫応答の中心的プレーヤーが含まれる。特には、ＩＬ－１８抗体ま

たは可溶性ＩＬ－１８受容体またはＩＬ－１８結合タンパク質などのＩＬ－１８アンタゴニストである。ＩＬ－１２およびＩＬ－１８は、重複しているが、異なる機能を有しており、両者に対するアンタゴニストの組合せは、最も有効であり得ることが示されている。さらに別の組合せは、非枯渇性抗ＣＤ４阻害剤である。さらに別の組合せには、抗体、可溶性受容体または拮抗性リガンドを含む、共同刺激経路ＣＤ８０（Ｂ７．１）またはＣＤ８６（Ｂ７．２）のアンタゴニストが含まれる。

【０３５７】

本明細書において提供される結合タンパク質は、メトトレキサート、６－ＭＰ、アザチオプリンスルファサラジン、メサラジン、オルサラジン、クロロキニン／ヒドロキシクロロキン、ペニシラミン、金チオリンゴ酸塩（筋肉内および経口）、アザチオプリン、コルヒチン、コルチコステロイド（経口、吸入および局所注射）、β－２アドレナリン作動性受容体アゴニスト（サルブタモール、テルブタリン、サルメテラール）、キサンチン（テオフィリン、アミノフィリン）、クロモグリカート、ネドクロミル、ケトチフェン、イプラトロピウムおよびオキシトロピウム、シクロスポリン、ＦＫ５０６、ラパマイシン、ミコフェノラート・モフェチル、レフルノミド、ＮＳＡＩＤ、例えば、イブプロフェン、プレドニゾロンなどのコルチコステロイド、ホスホジエステラーゼ阻害剤、アデノシンアゴニスト、抗血栓剤、補体阻害剤、アドレナリン作用薬、ＴＮＦαまたはＩＬ－１などの炎症促進性サイトカインによるシグナル伝達を妨害する作用物質（例えば、ＩＲＡＫ、ＮＩＫ、ＩＫＫ、ｐ３８またはＭＡＰキナーゼ阻害剤）、ＩＬ－１β変換酵素阻害剤、ＴＮＦα変換酵素（ＴＡＣＥ）阻害剤、キナーゼ阻害剤などのＴ細胞シグナル伝達阻害剤、メタロプロテイナーゼ阻害剤、スルファサラジン、アザチオプリン、６－メルカプトプリン、アンギオテンシン変換酵素阻害剤、可溶性サイトカイン受容体およびそれらの誘導体（例えば、可溶性ｐ５５またはｐ７５ＴＮＦ受容体および誘導体ｐ７５ＴＮＦＲＩｇＧ（Ｅｎｂｒｅｌ（商標）およびｐ５５ＴＮＦＲＩｇＧ（Ｌｅｎｅｒｃｅｐｔ））、ｓＩＬ－ＩＲ１、ｓＩＬ－１ＲＩＩ、ｓＩＬ－６Ｒ）、炎症抑制性サイトカイン（例えば、ＩＬ－４、ＩＬ－１０、ＩＬ－１１、ＩＬ－１３およびＴＧＦβ）、セレコキシブ、葉酸、硫酸ヒドロキシクロロキン、ロフェコキシブ、エタネルセプト、インフリキシマブ、ナプロキセン、バルデコキシブ、スルファサラジン、メチルプレドニゾロン、メロキシカム、酢酸メチルプレドニゾロン、金チオリンゴ酸ナトリウム、アスピリン、トリムシノロン・アセトニド、プロポキシフェンナプシラート／ａｐａｐ、フォラート、ナブメトン、ジクロフェナク、ピロキシカム、エトドラク、ジクロフェナクナトリウム、オキサプロジン、塩酸オキシコドン、ヒドロコドン二酒石酸塩／ａｐａｐ、ジクロフェナクナトリウム／ミソプロストール、フェンタニル、アナキンラ、ヒト組み換え、塩酸トラマドール、サルサラート、スリンダク、シアノコバラミン／ｆａ／ピリドキシン、アセトアミノフェン、アレンドロナートナトリウム、プレドニゾロン、硫酸モルヒネ、塩酸リドカイン、インドメタシン、硫酸グルコサミン／コンドロイチン、塩酸アミトリプチリン、スルファジアジン、塩酸オキシコドン／アセトアミノフェン、塩酸オロパタジン、ミソプロストール、ナプロキセンナトリウム、オメプラゾール、シクロホスファミド、リツキシマブ、ＩＬ－１ＴＲＡＰ、ＭＲＡ、ＣＴＬＡ４－ＩＧ、ＩＬ－１８ＢＰ、抗ＩＬ－１８、抗ＩＬ１５、ＢＩＲＢ－７９６、ＳＣＩＯ－４６９、ＶＸ－７０２，ＡＭＧ－５４８、ＶＸ７４０、ロフルミラスト、ＩＣ－４８５、ＣＤＣ－８０１およびメソプラムなどの作用物質とも組み合わされ得る。組合せには、メトトレキサートまたはレフルノミドが含まれ、中度または重度の関節リウマチの症例では、シクロスポリンが含まれる。

【０３５８】

関節リウマチを治療するために、結合タンパク質と組み合わせて使用することも可能な非限定的な追加の作用物質には、以下の非ステロイド性抗炎症薬（ＮＳＡＩＤｓ）；サイトカイン抑制性抗炎症薬（ＣＳＡＩＤｓ）；ＣＤＰ－５７１／ＢＡＹ－１０－３３５６（ヒト化された抗ＴＮＦα抗体；Ｃｅｌｌｔｅｃｈ／Ｂａｙｅｒ）；ｃＡ２／インフリキシマブ（キメラ抗ＴＮＦα抗体；Ｃｅｎｔｏｃｏｒ）；７５ｋｄＴＮＦＲ－ＩｇＧ／エタネルセプト（７５ｋＤＴＮＦ受容体－ＩｇＧ融合タンパク質；イムネックス；例えば、Ａｒ

ｔｈｒｉｔｉｓ＆Ｒｈｅｕｍａｔｉｓｍ（１９９４）Ｖｏｌ．３７，Ｓ２９５；Ｊ．Ｉｎｖｅｓｔ．Ｍｅｄ．（１９９６）Ｖｏｌ．４４，２３５Ａを参照；５５ｋｄＴＮＦ－ＩｇＧ（５５ｋＤＴＮＦ受容体－ＩｇＧ融合タンパク質；Ｈｏｆｆｍａｎｎ－ＬａＲｏｃｈｅ）；ＩＤＥＣ－ＣＥ９．１／ＳＢ２１０３９６（抗原刺激された（ｐｒｉｍａｔｉｚｅｄ）非枯渇性抗ＣＤ４抗体；ＩＤＥＣ／ＳｍｉｔｈＫｌｉｎｅ；例えば、Ａｒｔｈｒｉｔｉｓ＆Ｒｈｅｕｍａｔｉｓｍ（１９９５）Ｖｏｌ．３８，Ｓ１８５を参照；ＤＡＢ４８６－ＩＬ－２および／またはＤＡＢ３８９－ＩＬ－２（ＩＬ－２融合タンパク質；Ｓｅｒａｇｅｎ；例えば、Ａｒｔｈｒｉｔｉｓ＆Ｒｈｅｕｍａｔｉｓｍ（１９９３）Ｖｏｌ．３６，１２２３）参照；抗Ｔａｃ（ヒト化抗ＩＬ－２Ｒα；Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｄｅｓｉｇｎ Ｌａｂｓ／Ｒｏｃｈｅ）；ＩＬ－４（抗炎症性サイトカイン；ＤＮＡＸ／Ｓｃｈｅｒｉｎｇ）；ＩＬ－１０（ＳＣＨ５２０００；組み換えＩＬ－１０、抗炎症性サイトカイン；ＤＮＡＸ／Ｓｃｈｅｒｉｎｇ）；ＩＬ－４；ＩＬ－１０および／またはＩＬ－４アゴニスト（例えば、アゴニスト抗体）；ＩＬ－１ＲＡ（ＩＬ－１受容体アンタゴニスト；Ｓｙｎｅｒｇｅｎ／Ａｍｇｅｎ）；アナキンラ（Ｋｉｎｅｒｅｔ（登録商標）／Ａｍｇｅｎ）；ＴＮＦ－ｂｐ／ｓ－ＴＮＦ（可溶性ＴＮＦ結合タンパク質；例えば、Ａｒｔｈｒｉｔｉｓ＆Ｒｈｅｕｍａｔｉｓｍ（１９９６）Ｖｏｌ．３９，Ｎｏ．９（補遺），Ｓ２８４参照；Ａｍｅｒ．Ｊ．Ｐｈｙｓｉｏｌ．－Ｈｅａｒｔ ａｎｄ Ｃｉｒｃｕｌａｔｏｒｙ Ｐｈｙｓｉｏｌｏｇｙ（１９９５）Ｖｏｌ．２６８，ｐｐ．３７－４２）；Ｒ９７３４０１（ホスホジエステラーゼＩＶ型阻害剤；例えば、Ａｒｔｈｒｉｔｉｓ＆Ｒｈｅｕｍａｔｉｓｍ（１９９６）Ｖｏｌ．３９，Ｎｏ．９（補遺），Ｓ２８２参照；ＭＫ－９６６（ＣＯＸ－２阻害剤；例えば、Ａｒｔｈｒｉｔｉｓ＆Ｒｈｅｕｍａｔｉｓｍ（１９９６）Ｖｏｌ．３９，Ｎｏ．９（補遺），Ｓ８１参照）；Ｉｌｏｐｒｏｓｔ（例えば、Ａｒｔｈｒｉｔｉｓ＆Ｒｈｅｕｍａｔｉｓｍ（１９９６）Ｖｏｌ．３９，Ｎｏ．９（補遺），Ｓ８２参照）；メトトレキサート；サリドマイド（例えば、Ａｒｔｈｒｉｔｉｓ＆Ｒｈｅｕｍａｔｉｓｍ（１９９６）Ｖｏｌ．３９，Ｎｏ．９（補遺），Ｓ２８２参照）およびサリドマイド関連薬（例えば、Ｃｅｌｇｅｎ）；レフノミド（抗炎症性およびサイトカイン阻害剤；例えば、Ａｒｔｈｒｉｔｉｓ＆Ｒｈｅｕｍａｔｉｓｍ（１９９６）Ｖｏｌ．３９，Ｎｏ．９（補遺），Ｓ１３１；Ｉｎｆｌａｍｍａｔｉｏｎ Ｒｅｓｅａｒｃｈ（１９９６）Ｖｏｌ．４５，ｐｐ．１０３－１０７参照）；トラネキサム酸（プラスミノーゲン活性化の阻害剤；例えば、Ａｒｔｈｒｉｔｉｓ＆Ｒｈｅｕｍａｔｉｓｍ（１９９６）Ｖｏｌ．３９，Ｎｏ．９（補遺），Ｓ２８４参照）；Ｔ－６１４（サイトカイン阻害剤；例えば、Ａｒｔｈｒｉｔｉｓ＆Ｒｈｅｕｍａｔｉｓｍ（１９９６）Ｖｏｌ．３９，Ｎｏ．９（補遺），Ｓ２８２参照）；プロスタグランジンＥ１（例えば、Ａｒｔｈｒｉｔｉｓ＆Ｒｈｅｕｍａｔｉｓｍ（１９９６）Ｖｏｌ．３９，Ｎｏ．９（補遺），Ｓ２８２参照）；Ｔｅｎｉｄａｐ（非ステロイド性抗炎症薬；例えば、Ａｒｔｈｒｉｔｉｓ＆Ｒｈｅｕｍａｔｉｓｍ（１９９６）Ｖｏｌ．３９，Ｎｏ．９（補遺），Ｓ２８０参照）；ナプロキセン（非ステロイド性抗炎症薬；例えば、Ｎｅｕｒｏ Ｒｅｐｏｒｔ（１９９６）Ｖｏｌ．７，ｐｐ．１２０９－１２１３参照）；メロキシカム（非ステロイド性抗炎症薬）；イブプロフェン（非ステロイド性抗炎症薬）；ピロキシカム（非ステロイド性抗炎症薬）；ジクロフェナク（非ステロイド性抗炎症薬）；インドメタシン（非ステロイド性抗炎症薬）；スルファサラジン（例えば、Ａｒｔｈｒｉｔｉｓ＆Ｒｈｅｕｍａｔｉｓｍ（１９９６）Ｖｏｌ．３９，Ｎｏ．９（補遺），Ｓ２８１参照）；アザチオプリン（例えば、Ａｒｔｈｒｉｔｉｓ＆Ｒｈｅｕｍａｔｉｓｍ（１９９６）Ｖｏｌ．３９，Ｎｏ．９（補遺），Ｓ２８１参照）；ＩＣＥ阻害剤（酵素インターロイキン１β変換酵素の阻害剤）；ｚａｐ－７０および／またはｌｃｋ阻害剤（チロシンキナーゼｚａｐ－７０またはｌｃｋの阻害剤）；ＶＥＧＦ阻害剤および／またはＶＥＧＦ－Ｒ阻害剤（血管内皮細胞増殖因子または血管内皮細胞増殖因子受容体の阻害剤；血管新生の阻害剤）；コルチコステロイド抗炎症薬（例えば、ＳＢ２０３５８０）；ＴＮＦ－コンベルターゼ阻害剤；抗ＩＬ－１２抗体；抗ＩＬ－１８抗体；インターロイキン－１１（例えば、Ａｒｔｈｒｉｔｉｓ＆Ｒｈｅｕｍａｔｉｓｍ（１９９６）Ｖｏｌ．３９，Ｎｏ．９（補遺），Ｓ２９６参照）；インターロイキン－１３（例えば、Ａｒｔ

ｈｒｉｔｉｓ＆Ｒｈｅｕｍａｔｉｓｍ（１９９６）Ｖｏｌ．３９，Ｎｏ．９（補遺），Ｓ３０８参照）；インターロイキン－１７阻害剤（例えば、Ａｒｔｈｒｉｔｉｓ＆Ｒｈｅｕｍａｔｉｓｍ（１９９６）Ｖｏｌ．３９，Ｎｏ．９（補遺），Ｓ１２０参照）；金；ペニシラミン；クロロキン；クロラムブシル；ヒドロキシクロロキン；シクロスポリン；シクロホスファミド；全リンパ系照射；抗胸腺細胞グロブリン；抗体ＣＤ４抗体；ＣＤ５トキシン；経口投与されたペプチドおよびコラーゲン；ロベンザリト二ナトリウム；サイトカイン制御作用物質（ＣＲＡ）ＨＰ２２８およびＨＰ４６６（Ｈｏｕｇｈｔｅｎ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ，Ｉｎｃ．）；ＩＣＡＭ－Ｉアンチセンスホスホロチオアートオリゴデオキシヌクレオチド（ＩＳＩＳ２３０２；Ｉｓｉｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ，Ｉｎｃ．）；可溶性補体受容体１（ＴＰ１０；Ｔ Ｃｅｌｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｉｎｃ．）；プレドニゾン；オルゴテイン；グリコサミノグリカンポリサルファート；ミノサイクリン；抗ＩＬ２Ｒ抗体；マウスおよび植物脂質（魚および植物種子脂肪酸；例えば、ＤｅＬｕｃａ ｅｔ ａｌ．（１９９５）Ｒｈｅｕｍ．Ｄｉｓ．Ｃｌｉｎ．Ｎｏｒｔｈ Ａｍ．Ｊ，：７５９－７７７参照）；アウラノフィン；フェニルブタゾン；メクロフェナミン酸；フルフェナミン酸；静脈内免疫グロブリン；ジレウトン；アザリビジン；ミコフェノール酸（ＲＳ－６１４４３）；タクロリムス（ＦＫ－５０６）；シロリムス（ラパマイシン）；アミプリロース（テラフェクチン）；クラドリビン（２－クロロデオキシアデノシン）；メトトレキサート；ｂｃｌ－２阻害剤（Ｂｒｕｎｃｋｏ，Ｍｉｌａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｍｅｄｉｃｉｎａｌ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ（２００７），５０（４），６４１－６６２）；抗ウイルス剤および免疫調節剤が含まれるが、これらに限定されるものではない。

【０３５９】

一実施形態において、結合タンパク質またはその抗原結合部分は、関節リウマチの治療用の以下の作用物質の１つと組み合わせて投与される。ＫＤＲの小分子阻害剤、Ｔｉｅ－２の小分子阻害剤；メトトレキサート；プレドニゾン；セレコキシブ；葉酸；硫酸ヒドロキシクロロキン；ロフェコキシブ；エタネルセプト；インフリキシマブ；レフルノミド；ナプロキセン；バルデコキシブ；スルファサラジン；メチルプレドニゾロン；イブプロフェン；メロキシカム；酢酸メチルプレドニゾロン、金チオリンゴ酸ナトリウム；アスピリン；アザチオプリン；トリアムシノロン・アセトニド；プロプキシフェン・ナプシラート／ａｐａｐ；フォラート；ナブメトン；ジクロフェナク；ピロキシカム；エトドラク；ジクロフェナクナトリウム；オキサプロジン、塩酸オキシコドン、重酒石酸ヒドロコドン／ａｐａｐ；ジクロフェナクナトリウム／ミソプロストール；フェンタニル；アナキンラ、ヒト組み換え；塩酸トラマドール；サルサラート；スリンダク；シアノコバラミン／ｆａ／ピリドキシン；アセトアミノフェン；アレンドロナートナトリウム；プレドニゾロン；硫酸モルヒネ；塩酸リドカイン；インドメタシン；硫酸グルコサミン／コンドロイチン；シクロスポリン；塩酸アミトリプチリン；スルファジアジン；塩酸オキシコドン／アセトアミノフェン；塩酸オロパタジン；ミソプロストール；ナプロキセンナトリウム；オメプラゾール；ミコフェノラート・モフェチル；シクロホスファミド；リツキシマブ、ＩＬ－１ＴＲＡＰ；ＭＲＡ；ＣＴＬＡ４－ＩＧ；ＩＬ－１８ＢＰ；ＩＬ－１２／２３；抗ＩＬ－１８；抗ＩＬ－１５；ＢＩＲＢ－７９６；ＳＣＩＯ－４６９；ＶＸ－７０２；ＡＭＧ－５４８；ＶＸ７４０；ロフルミラスト；ＩＣ－４８５；ＣＤＣ－８０１およびメソプラム。

【０３６０】

本明細書において提供される結合タンパク質とともに組み合わせることが可能な炎症性腸疾患に対する治療剤の非限定的な例には、以下のもの：ブデノシド；上皮成長因子；コルチコステロイド；シクロスポリン；スルファサラジン；アミノサリチラート；６－メルカプトプリン；アザチオプリン；メトロニダゾール；リポキシゲナーゼ阻害剤；メサラミン；オルサラジン；バルサラジド；抗酸化剤；トロンボキサン阻害剤；ＩＬ－１受容体アンタゴニスト；抗ＩＬ－１βｍＡｂ；抗ＩＬ－６ｍＡｂ；成長因子；エラスターゼ阻害剤；ピリジニル－イミダゾール化合物；他のヒトサイトカインまたは成長因子（例えば、ＴＮＦ、ＬＴ、ＩＬ－１、ＩＬ－２、ＩＬ－６、ＩＬ－７、ＩＬ－８、ＩＬ－１５、ＩＬ－

１６、ＩＬ－１７、ＩＬ－１８、ＥＭＡＰ－ＩＩ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＦＧＦおよびＰＤＧＦ）に対する抗体またはこれらのアンタゴニストが含まれる。本明細書において提供される結合タンパク質またはその抗原結合部分は、ＣＤ２、ＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ８、ＣＤ２５、ＣＤ２８、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＣＤ４５、ＣＤ６９、ＣＤ９０これらのリガンドなどの細胞表面分子に対する抗体と組み合わせることが可能である。本明細書において提供される結合タンパク質またはその抗原結合部分は、メトトレキサート、シクロスポリン、ＦＫ５０６、ラパマイシン、ミコフェノラート・モフェチル、レフルノミド、ＮＳＡＩＤ、例えば、イブプロフェン、プレドニゾロンなどのコルチコステロイド、ホスホジエステラーゼ阻害剤、アデノシンアゴニスト、抗血栓剤、補体阻害剤、アドレナリン作用薬、ＴＮＦαまたはＩＬ－１などの炎症促進性サイトカインによるシグナル伝達を妨害する作用物質（例えば、ＩＲＡＫ、ＮＩＫ、ＩＫＫ、ｐ３８またはＭＡＰキナーゼ阻害剤）、ＩＬ－１β変換酵素阻害剤、ＴＮＦα変換酵素阻害剤、キナーゼ阻害剤などのＴ細胞シグナル伝達阻害剤、メタロプロテイナーゼ阻害剤、スルファサラジン、アザチオプリン、６－メルカプトプリン、アンギオテンシン変換酵素阻害剤、可溶性サイトカイン受容体およびそれらの誘導体（例えば、可溶性ｐ５５またはｐ７５ＴＮＦ受容体、ｓＩＬ－１ＲＩ、ｓＩＬ－１ＲＩＩ、ｓＩＬ－６Ｒ）および炎症抑制性サイトカイン（例えば、ＩＬ－４、ＩＬ－１０、ＩＬ－１１、ＩＬ－１３およびＴＧＦβ）およびｂｃｌ－２阻害剤などの作用物質とも組み合わされ得る。

【０３６１】

結合タンパク質を組み合わせることが可能な、クローン病に対する治療剤の例には、以下のもの：ＴＮＦアンタゴニスト、例えば、抗ＴＮＦ抗体、アダリムマブ（ＰＣＴ公開第９７／２９１３１号；ＨＵＭＩＲＡ）、ＣＡ２（ＲＥＭＩＣＡＤＥ）、ＣＤＰ５７１、ＴＮＦＲ－Ｉｇ構築物、（ｐ７５ＴＮＦＲＩｇＧ（ＥＮＢＲＥＬ）およびｐ５５ＴＮＦＲＩｇＧ（ＬＥＮＥＲＣＥＰＴ））阻害剤およびＰＤＥ４阻害剤が含まれる。本明細書において提供される結合タンパク質またはその抗原結合部分は、コルチコステロイド、例えば、ブデノシドおよびデキサメタゾンと組み合わせることが可能である。本明細書において提供される結合タンパク質またはこれらの抗原結合部分は、スルファサラジン、５－アミノサリチル酸およびオルサラジンなどの作用物質、ならびにＩＬ－１などの炎症促進性サイトカインの合成または作用を妨害する作用物質（例えば、ＩＬ－１β変換酵素阻害剤およびＩＬ－１ｒａ）とも組み合わされ得る。本明細書において提供される結合タンパク質またはその抗原結合部分は、Ｔ細胞シグナル伝達阻害剤、例えば、チロシンキナーゼ阻害剤６－メルカプトプリンとともに使用され得る。本明細書において提供される結合タンパク質またはその抗原結合部分は、ＩＬ－１１と組み合わせることが可能である。本明細書において提供される結合タンパク質またはその抗原結合部分は、メサラミン、プレドニゾン、アザチオプリン、メルカプトプリン、インフリキシマブ、コハク酸メチルプレドニゾロンナトリウム、ジフェノキシラート／硫酸アトロピン、塩酸ロペラミド、メトトレキサート、オメプラゾール、フォラート、シプロフロキサシン／デキストロース－水、重酒石酸ヒドロコドン／ａｐａｐ、テトラサイクリン塩酸塩、フルオシノニド、メトロニダゾール、チメロサール／ホウ酸、コレスチラミン／スクロース、塩酸シプロフロキサシン、硫酸ヒヨスチアミン、塩酸メペリジン、塩酸ミダゾラム、塩酸オキシコドン／アセトアミノフェン、塩酸プロメタジン、リン酸ナトリウム、スルファメトキサゾール／トリメトプリム、セレコキシブ、ポリカルボフィル、ナプシル酸プロポキシフェン、ヒドロコルチゾン、マルチビタミン、バルサラジド二ナトリウム、リン酸コデイン／アセトアミノフェン（ａｐａｐ）、塩酸コレセベラム、シアノコバラミン、葉酸、レボフロキサシン、メチルプレドニソロン、ナタリズマブおよびインターフェロンγと組み合わせることが可能である。

【０３６２】

本明細書において提供される結合タンパク質と組み合わせることが可能な、多発性硬化症のための治療剤の非限定的な例には、以下のもの：コルチコステロイド；プレドニゾロン；メチルプレドニゾロン；アザチオプリン；シクロホスファミド；シクロスポリン；メトトレキサート；４－アミノピリジン；チザニジン；インターフェロン－β１ａ（ＡＶＯ

ＮＥＸ；Ｂｉｏｇｅｎ）；インターフェロン－β１ｂ（ＢＥＴＡＳＥＲＯＮ；Ｃｈｉｒｏｎ／Ｂｅｒｌｅｘ）；インターフェロンα－ｎ３）（Ｉｎｔｅｒｆｅｒｏｎ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ／Ｆｕｊｉｍｏｔｏ）、インターフェロン－α（Ａｌｆａ Ｗａｓｓｅｒｍａｎｎ／Ｊ＆Ｊ）、インターフェロン－β１Ａ－ＩＦ（Ｓｅｒｏｎｏ／Ｉｎｈａｌｅ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ）、ＰＥＧインターフェロンα２ｂ（Ｅｎｚｏｎ／Ｓｃｈｅｒｉｎｇ－Ｐｌｏｕｇｈ）、コポリマー１（Ｃｏｐ－１；ＣＯＰＡＸＯＮＥ；Ｔｅｖａ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｉｎｄｕｓｔｒｉｅｓ，Ｉｎｃ．）；高圧酸素；静脈内免疫グロブリン；クラブリビン；他のヒトサイトカインまたは成長因子（例えば、ＴＮＦ、ＬＴ、ＩＬ－１、ＩＬ－２、ＩＬ－６、ＩＬ－７、ＩＬ－８、ＩＬ－２３、ＩＬ－１５、ＩＬ－１６、ＩＬ－１８、ＥＭＡＰ－ＩＩ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＦＧＦおよびＰＤＧＦ）およびそれらの受容体に対する抗体またはこれらのアンタゴニストが含まれる。本明細書において提供される結合タンパク質は、ＣＤ２、ＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ８、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２５、ＣＤ２８、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＣＤ４５、ＣＤ６９、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＣＤ９０またはこれらのリガンドなどの細胞表面分子に対する抗体と組み合わせることが可能である。本明細書において提供される結合タンパク質は、メトトレキサート、シクロスポリン、ＦＫ５０６、ラパマイシン、ミコフェノラート・モフェチル、レフルノミド、ＮＳＡＩＤ、例えば、イブプロフェン、プレドニゾロンなどのコルチコステロイド、ホスホジエステラーゼ阻害剤、アデノシンアゴニスト、抗血栓剤、補体阻害剤、アドレナリン作用薬、ＴＮＦαまたはＩＬ－１などの炎症促進性サイトカインによるシグナル伝達を妨害する作用物質（例えば、ＩＲＡＫ、ＮＩＫ、ＩＫＫ、ｐ３８またはＭＡＰキナーゼ阻害剤）、ＩＬ－１β変換酵素阻害剤、ＴＡＣＥ阻害剤、キナーゼ阻害剤などのＴ細胞シグナル伝達阻害剤、メタロプロテイナーゼ阻害剤、スルファサラジン、アザチオプリン、６－メルカプトプリン、アンギオテンシン変換酵素阻害剤、可溶性サイトカイン受容体およびそれらの誘導体（例えば、可溶性ｐ５５またはｐ７５ＴＮＦ受容体、ｓＩＬ－１ＲＩ、ｓＩＬ－１ＲＩＩ、ｓＩＬ－６Ｒ）、炎症抑制性サイトカイン（例えば、ＩＬ－４、ＩＬ－１０、ＩＬ－１３およびＴＧＦβ）およびｂｃｌ－２阻害剤などの作用物質とも組み合わされ得る。

【０３６３】

本明細書において提供される結合タンパク質を組み合わせることが可能な、多発性硬化症のための治療剤の例には、インターフェロン－β、例えば、ＩＦＮβ１ａおよびＩＦＮβ１ｂ；コパキソン（ｃｏｐａｘｏｎｅ）、コルチコステロイド、カスパーゼ阻害剤、例えばカスパーゼ－１の阻害剤、ＩＬ－１阻害剤、ＴＮＦ阻害剤ならびにＣＤ４０リガンドおよびＣＤ８０に対する抗体が含まれる。

【０３６４】

本明細書において提供される結合タンパク質は、アレムツズマブ、ドロナビノール、ユニメド、ダクリズマブ、ミトキサントロン、塩酸キサリプロデン、ファムプリジン、酢酸グラチラマー、ナタリズマブ、シンナビドール、ａ－イムノカインＮＮＳＯ３、ＡＢＲ－２１５０６２、ＡｎｅｒｇｉＸ．ＭＳ、ケモカイン受容体アンタゴニスト、ＢＢＲ－２７７８、カラグアリン、ＣＰＩ－１１８９、ＬＥＭ（リポソーム封入されたミトキサントロン）、ＴＨＣ．ＣＢＤ（カンナビノイドアゴニスト）ＭＢＰ－８２９８、メソプラム（ＰＤＥ４阻害剤）、ＭＮＡ－７１５、抗ＩＬ－６受容体抗体、ニューロバックス、ピルフェニドンアロトラップ１２５８（ＲＤＰ－１２５８）、ｓＴＮＦ－Ｒ１、タラムパネル、テリフルノミド、ＴＧＦ－β２、チプリモチド、ＶＬＡ－４アンタゴニスト（例えば、ＴＲ－１４０３５、ＶＬＡ４Ｕｌｔｒａｈａｌｅｒ、Ａｎｔｅｇｒａｎ－ＥＬＡＮ／Ｂｉｏｇｅｎ）、インターフェロンγアンタゴニスト、ＩＬ－４アゴニストなどの作用物質とも組み合わされ得る。

【０３６５】

本明細書において提供される結合タンパク質と組み合わせることが可能な、狭心症のための治療剤の非限定的な例には、以下のもの：アスピリン、ニトログリセリン、イソソルバイド・モノニトラート、コハク酸メトプロロール、アテノロール、酒石酸メトプロロー

ル、ベシル酸アムロジピン、塩酸ジルチアゼム、硝酸イソソルビド、重硫酸クロピドグレル、ニフェジピン、アトロバスタチンカルシウム、塩化カリウム、フロセミド、シンバスタチン、塩酸ベラパミル、ジゴキシン、塩酸プロプラノロール、カルベジロール、リシノプリル、スピロノラクトン、ヒドロクロロチアジド、マレイン酸エナラプリル、ナドロール、ラミプリル、エノキサパリンナトリウム、ヘパリンナトリウム、バルサルタン、塩酸ソタロール、フェノフィブラート、エゼチミブ、ブメタニド、ロサルタンカリウム、リシノプリル／ヒドロクロロチアジド、フェロジピン、カプトプリル、フマル酸ビソプロロールが含まれる。

【０３６６】

本明細書において提供される結合タンパク質と組み合わせることが可能な、強直性脊椎炎のための治療剤の非限定的な例には、以下のもの：イブプロフェン、ジクロフェナクおよびミソプロストール、ナプロキセン、メロキシカム、インドメタシン、ジクロフェナク、セレコキシブ、ロフェコキシブ、スルファサラジン、メトトレキサート、アザチオプリン、ミノサイクリン、プレドニゾン、エタネルセプト、インフリキシマブが含まれる。

【０３６７】

本明細書において提供される結合タンパク質と組み合わせることが可能な、喘息のための治療剤の非限定的な例には、以下のもの：アルブテロール、サルメテロール／フルチカゾン、モンテルカストナトリウム、プロピオン酸フルチカゾン、ブデソニド、プレドニゾン、キシナホ酸サルメテロール、塩酸レバルブテロール、硫酸アルブテロール／イプラトロピウム、リン酸プレドニゾロンナトリウム、トリアムシノロン・アセトニド、二プロピオン酸ベクロメタゾン、イプラトロピウム臭化物、アジスロマイシン、酢酸ピルブテロール、プレドニゾロン、テオフィリン無水物、コハク酸メチルプレドニゾロンナトリウム、クラリスロマイシン、ザフィルルカスト、フマル酸フォルモテロール、インフルエンザウイルスワクチン、メチルプレドニゾロン、アミノキシシリン三水和物、フルニソリド、アレルギー注射、クロモリンナトリウム、塩酸フェキソフェナジン、フルニソリド／メントール、アモキシシリン／クラブラナート、レボフロキサシン、吸入補助装置、グアイフェネシン、リン酸デキサメタゾンナトリウム、塩酸マキシフロキサシン、ドキシサイクリン水和物（ｈｙｃｌａｔｅ）、グアイフェネシン／ｄ－メトルファン、ｐ－エフェドリン／ｃｏｄ／クロルフェニル、ガチフロキサシン、塩酸セチリジン、フロ酸モメタゾン、キシナホ酸サルメテロール、ベンゾナタート、セファレキシン、ｐｅ／ヒドロコドン／クロルフェニル、塩酸セチリジン／シュードエフェドリン、フェニレフリン／ｃｏｄ／プロメタジン、コデイン／プロメタジン、セフプロジル、デキサメタゾン、グアイフェネシン／シュードエフェドリン、クロルフェニラミン／ヒドロコドン、ネドクロミルナトリウム、硫酸テルブタリン、エピネフリン、メチルプレドニゾロン、硫酸メタプロテレノールが含まれる。

【０３６８】

本明細書において提供される結合タンパク質と組み合わせることができる、ＣＯＰＤに対する治療剤の非限定的な例には、以下のもの：硫酸アルブテロール／イプラトロピウム、イプラトロピウムブロミド、サルメテロール／フルチカゾン、アルブテロール、キシナホ酸サルメテロール、プロピオン酸フルチカゾン、プレドニゾン、テオフィリン無水物、コハク酸メチルプレドニゾロンナトリウム、モンテルカストナトリウム、ブデソニド、フマル酸フォルモテロール、トリアムシノロン・アセトニド、レボフロキサシン、グアイフェネシン、アジスロマイシン、ジプロピオン酸ベクロメタゾン、塩酸レバルブテロール、フルニソリド、セフトリアキソンナトリウム、アミノキシシリン三水和物、ガチフロキサシン、ザフィルルカスト、アモキシシリン／クラブラナート、フルニソリド／メントール、クロルフェニラミン／ヒドロコドン、硫酸メタプロテレノール、メチルプレドニゾロン、フロ酸モメタゾン、ｐ－エフェドリン／ｃｏｄ／クロロフェニル、酢酸ピルブテロール、ｐ－エフェドリン／ロラタジン、硫酸テルブタリン、チオトロピウムブロミド、（Ｒ，Ｒ）－フォルモテロール、ＴｇＡＡＴ、シロミラスト、ロフルミラストが含まれる。

【０３６９】

本明細書において提供される結合タンパク質と組み合わせることができる、ＨＣＶに対する治療剤の非限定的な例には、以下のもの：インターフェロン－α－２ａ、インターフェロン－α－２ｂ、インターフェロン－αｃｏｎ１、インターフェロン－α－ｎ１、ＰＥＧ化されたインターフェロン－α－２ａ、ＰＥＧ化されたインターフェロン－α－２ｂ、リバビリン、Ｐｅｇインターフェロンα－２ｂ＋リバビリン、ウルソデオキシコール酸、グリシルリジン酸、チマルファシン、マキサミン、ＶＸ－４９７および以下の標的：ＨＣＶポリメラーゼ、ＨＣＶプロテアーゼ、ＨＣＶヘリカーゼ、ＨＣＶＩＲＥＳ（配列内リボソーム進入部位）への介入を通じて、ＨＣＶを治療するために使用されるあらゆる化合物が含まれる。

【０３７０】

本明細書において提供される結合タンパク質と組み合わせることができる、特発性肺繊維症のための治療剤の非限定的な例には、以下のもの：プレドニゾン、アザチオプリン、アルブテロール、コルヒチン、硫酸アルブテロール、ジゴキシン、γインターフェロン、コハク酸メチルプレドニゾロンナトリウム、ロラゼパム、フロセミド、リシノプリル、ニトログリセリン、スピロノラクトン、シクロホスファミド、イプラトロピウムブロミド、アクチノマイシンｄ、アルテプラーゼ、プロピオン酸フルチカゾン、レボフロキサシン、硫酸メタプロテレノール、硫酸モルヒネ、塩酸オキシコドン、塩化カリウム、トリアムシノロン・アセトニド、タクロリムス無水物、カルシウム、インターフェロン－α、メトトレキサート、ミコフェノラート・モフェチル、インターフェロン－γ－１βが含まれる。

【０３７１】

本明細書において提供される結合タンパク質と組み合わせることができる、心筋梗塞のための治療剤の非限定的な例には、以下のもの：アスピリン、ニトログリセリン、酒石酸メトプロロール、エノキサパリンナトリウム、ヘパリンナトリウム、重硫酸クロピドグレル、カルベジロール、アテノロール、硫酸モルヒネ、コハク酸メトプロロール、ワルファリンナトリウム、リシノプリル、一硝酸イソソルビド、ジゴキシン、フロセミド、シンバスタチン、ラミプリル、テネクテプラーゼ、マレイン酸エナラプリル、トルセミド、レタバーゼ、ロサルタンカリウム、塩酸キナプリル／ｍａｇ　ｃａｒｂ、ブメタニド、アルテプラーゼ、エナラプリラート、塩酸アミオダロン、塩酸チロフィバンｍ－水和物、塩酸ジルチアゼム、カプトプリル、イルベサルタン、バルサルタン、塩酸プロプラノロール、フォシノプリルナトリウム、塩酸リドカイン、エプチフィバチド、セファゾリンナトリウム、硫酸アトロピン、アミノカプロン酸、スピロノラクトン、インターフェロン、塩酸ソタロール、塩化カリウム、ドキュセートナトリウム、塩酸ドブタミン、アルプラゾラム、プラバスタチンナトリウム、アトロバスタチンカルシウム、塩酸ミダゾラム、塩酸メペリジン、二硝酸イソソルビド、エピネフリン、塩酸ドーパミン、ビバリルジン、ロスバスタチン、エゼチミブ／シンバスタチン、アバシミブ、カリポリドが含まれる。

【０３７２】

本明細書において提供される結合タンパク質と組み合わせることが可能な、乾癬のための治療剤の非限定的な例には、以下のもの：ＫＤＲの小分子阻害剤、Ｔｉｅ－２の小分子阻害剤、カルシポトリエン、プロピオン酸クロベタゾール、トリアムシノロン・アセトニド、プロピオン酸ハロベタゾール、タザロテン、メトトレキサート、フルオシノニド、増強された（ａｕｇｍｅｎｔｅｄ）二プロピオン酸ベタメタゾン、フルオシノロン・アセトニド、アシトレチン、タールシャンプー、吉草酸ベタメタゾン、フロ酸モメタゾン、ケトコナゾール、パラモキシン／フルオシノロン、吉草酸ヒドロコルチゾン、フルランドレノリド、尿素、ベタメタゾン、プロピオン酸クロベタゾール／皮膚軟化剤（ｅｍｏｌｌ）、プロピオン酸フルチカゾン、アジスロマイシン、ヒドロコルチゾン、保湿処方、葉酸、デソニド、ピメクロリムス、コールタール、二酢酸ジフロラゾン、葉酸エタネルセプト、乳酸、メトキサレン、ｈｃ／次没食子酸ビスマス（ｂｉｓｍｕｔｈ　ｓｕｂｇａｌ）／酸化亜鉛（ｚｎｏｘ）／ｒｅｓｏｒ、酢酸メチルプレドニゾロン、プレドニゾロン、日焼け止め、ハルシノニド、サリチル酸、アンスラリン、ピバル酸クロコルトロン、石炭抽出物、コールタール／サリチル酸、コールタール／サリチル酸／硫黄、デスオキシメタゾン、ジ

アゼパム、皮膚軟化剤、フルオシノニド／皮膚軟化剤、鉱物油／ひまし油／ｎａ　ｌａｃｔ、鉱物油／落花生油、石油／ミリスチン酸イソプロピル、ソラーレン、サリチル酸、石鹸／トリブロムサラン、チメロサール／ホウ酸、セレコキシブ、インフリキシマブ、シクロスポリン、アレファセプト、エファリズマブ、タクロリムス、ピメクロリムス、ＰＵＶＡ、ＵＶＢ、スルファサラジンが含まれる。

【０３７３】

本明細書において提供される結合タンパク質と組み合わせることができる、乾癬性関節炎のための治療剤の非限定的な例には、以下のもの：メトトレキサート、エタネルセプト、ロフェコキシブ、セレコキシブ、葉酸、スルファサラジン、ナプロキセン、レフルノミド、酢酸メチルプレドニゾロン、インドメタシン、硫酸ヒロドキシクロロキン、プレドニゾン、スリンダク、増強された二プロピオン酸ベタメタゾン、インフリキシマブ、メトトレキサート、フォラート、トリアムシノロン・アセトニド、ジクロフェナク、ジメチルスルホキシド、ピロキシカム、ジクロフェナクナトリウム、ケトプロフェン、メロキシカム、メチルプレドニゾロン、ナブメトン、トルメチンナトリウム、カルシポトリエン、シクロスポリン、ジクロフェナクナトリウム／ミソプロストール、フルオシノニド、硫酸グルコサミン、金チオリンゴ酸ナトリウム、二酒石酸ヒドロコドン／アセトアミノフェン、イブプロフェン、リセドロン酸ナトリウム、スルファジアジン、チオグアニン、バルデコキシブ、アレファセプト、エファリズマブおよびｂｃｌ－２阻害剤が含まれる。

【０３７４】

本明細書において提供される結合タンパク質と組み合わせることが可能な、再狭窄のための治療剤の非限定的な例には、以下のもの：シロリムス、パクリタキセル、エベロリムス、タクロリムス、ゾタロリムス、アセトアミノフェンが含まれる。

【０３７５】

本明細書において提供される結合タンパク質と組み合わせることが可能な、坐骨神経痛のための治療剤の非限定的な例には、以下のもの：二酒石酸ヒドロコドン／アセトアミノフェン、ロフェコキシブ、塩酸シクロベンザプリン、メチルプレドニゾロン、ナプロキセン、イブプロフェン、塩酸オキシコドン／アセトアミノフェン、セレコキシブ、バルデコキシブ、酢酸メチルプレドニゾロン、プレドニゾロン、リン酸コデイン／アセトアミノフェン、塩酸トラマドール／アセトアミノフェン、メタキサロン、メロキシカム、メトカルバモール、塩酸リドカイン、ジクロフェナクナトリウム、ギャバペンチン、デキサメタゾン、カリソプロドール、ケトロラク・トロメタミン、インドメタシン、アセトアミノフェン、ジアゼパム、ナブメタオン、塩酸オキシコドン、塩酸チザニジン、ジクロフェナクナトリウム／ミソプロストール、ナプシル酸プロポキシフェン／アセトアミノフェン、ａｓａ／ｏｘｙｃｏｄ／コキシコドンｔｅｒ、イブプロフェン／重酒石酸ヒドロコドン、塩酸トラマドール、エトドラク、塩酸プロポキシフェン、塩酸アミトリプチリン、カリソプロドール／リン酸コデイン／ａｓａ、硫酸モルヒネ、マルチビタミン、ナプロキセンナトリウム、クエン酸オルフェナドリン、テマゼパムが含まれる。

【０３７６】

本明細書において提供される結合タンパク質と組み合わせることが可能な、ＳＬＥ（狼瘡）のための治療剤の例には、以下のもの：ＮＳＡＩＤ、例えば、ジクロフェナク、ナプロキセン、イブプロフェン、ピロキシカム、インドメタシン；ＣＯＸ２阻害剤、例えば、セレコキシブ、ロフェコキシブ、バルデコキシブ；抗マラリア剤、例えば、ヒドロキシクロロキン；ステロイド、例えば、プレドニゾン、プレドニゾロン、ブデノシド、デキサメタゾン；細胞障害剤、例えば、アザチオプリン、シクロホスファミド、ミコフェノラート・モフェチル、メトトレキサート；ＰＤＥ４の阻害剤またはプリン合成阻害剤、例えば、Ｃｅｌｌｃｅｐｔが含まれる。本明細書において提供される結合タンパク質は、スルファサラジン、５－アミノサリチル酸、オルサラジン、イムランなどの作用物質、ならびにＩＬ－１などの炎症促進性サイトカインの合成、産生または作用を妨害する作用物質、例えば、ＩＬ－１β変換酵素阻害剤およびＩＬ－１ｒａのようなカスパーゼ阻害剤とも組み合わされ得る。本明細書において提供される結合タンパク質は、また、Ｔ細胞シグナル伝達

阻害剤、例えば、チロシンキナーゼ阻害剤；またはＴ細胞活性化分子を標的とする分子、例えば、ＣＴＬＡ－４－ＩｇＧまたは抗Ｂ７抗体ファミリー抗体、抗ＰＤ－１ファミリー抗体とともに使用され得る。本明細書において提供される結合タンパク質は、ＩＬ－１１または抗サイトカイン抗体、例えば、ホノトリズマブ（抗ＩＦＮｇ抗体）、または抗受容体受容体抗体、例えば、抗ＩＬ－６受容体抗体およびＢ細胞表面分子に対する抗体と組み合わせることが可能である。本明細書において提供される結合タンパク質またはその抗原結合部分は、また、ＬＪＰ３９４（アベチムス（ａｂｅｔｉｍｕｓ））（Ｂ細胞を枯渇させ、または不活化する作用物質）、例えば、リツキシマブ（抗ＣＤ２０抗体）、リンホスタット－Ｂ（抗ＢｌｙＳ抗体）、ＴＮＦアンタゴニスト、例えば、抗ＴＮＦ抗体、アダリムマブ（ＰＣＴ公開ＷＯ９７／２９１３１；ＨＵＭＩＲＡ）、ＣＡ２（ＲＥＭＩＣＡＤＥ）、ＣＤＰ５７１、ＴＮＦＲ－Ｉｇ構築物（ｐ７５ＴＮＦＲＩｇＧ（ＥＮＢＲＥＬ）およびｐ５５ＴＮＦＲＩｇＧ（ＬＥＮＥＲＣＥＰＴ））およびｂｃｌ－２阻害剤（トランスジェニックマウスにおけるｂｃｌ－２過剰発現が狼瘡様表現型をもたらすことが実証されており（Ｍａｒｑｕｉｎａ，Ｒｅｇｉｎａ ｅｔ ａｌ．，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ（２００４），１７２（１１），７１７７－７１８５参照）、したがって阻害が治療効果を有すると予想されるので）とともに使用され得る。

【０３７７】

本明細書において提供される医薬組成物は、本明細書において提供される結合タンパク質の「治療的有効量」または「予防的有効量」を含み得る。「治療的有効量」は、所望の治療的結果を達成するための投薬量で、および所望の治療的結果を達成するために必要な期間にわたって有効な量を表す。結合タンパク質の治療的有効量は、当業者によって決定され得、病状、年齢、性別および個体の体重ならびに結合タンパク質が個体内で所望の応答を惹起する能力などの因子に従って変動し得る。治療的有効量は、結合タンパク質または抗原結合部分のあらゆる毒性効果または有害効果が、治療的に有益な効果によって凌駕される量でもある。「予防的有効量」は、所望の予防的結果を達成するために必要な投薬量で、および所望の予防的結果を達成するために必要な期間にわたって有効な量を表す。典型的には、疾病のより初期段階の前にまたは疾病のより初期段階において、予防的投薬が患者に使用されるので、予防的有効量は、治療的有効量より少ない。

【０３７８】

投薬計画は、最適な所望の応答（例えば、治療的応答または予防的応答）を与えるように調整され得る。例えば、単一のボーラスを投与することができ、複数の分割された用量を経時的に投与することができ、または、治療状況の緊急性によって示されるように、用量を比例的に減少もしくは増加させ得る。投与の容易さおよび投薬量の均一性のために、投薬単位形態で非経口組成物を製剤化することが特に有利である。本明細書において使用される投薬単位形態は、治療されるべき哺乳動物患者に対する統一された投薬として適した、物理的に分離された単位を表し、各単位は、必要とされる医薬担体とともに、所望される治療効果を生じるように計算された活性化合物の所定量を含有する。本明細書において提供される投薬単位形態に対する規格は、（ａ）活性化合物の特有の特徴および達成されるべき具体的な治療効果または予防効果ならびに（ｂ）個体における過敏症の治療用のこのような活性化合物を配合する分野に固有の制約によって規定され、これらに直接依存する。

【０３７９】

本明細書において提供される結合タンパク質の治療的または予防的有効量に対する典型的な非限定的範囲は、０．１－２０ｍｇ／ｋｇ、例えば１－１０ｍｇ／ｋｇである。緩和されるべき症状の種類および重度に応じて、投薬量の値が変化し得ることに注意すべきである。いずれかの具体的な患者に対して、個体の要求に従って、組成物の投与を行いまたは監督している者の専門的判断に従って、特異的投薬計画を経時的に調整すべきこと、および、本明細書に記載されている投薬量の範囲は典型的なものに過ぎず、特許請求の範囲に記載されている組成物の範囲または実施に限定することを意図したものではないことをさらに理解すべきである。

【０３８０】
Ｖ．診断
本明細書における開示は、診断の適用例も提供する。これは、以下でさらに明らかにされる。
【０３８１】
Ａ．アッセイの方法
本開示は、本明細書に記載されている少なくとも１つのＤＶＤ－Ｉｇを使用して試験試料中の分析物（またはその断片）の存在、量または濃度を決定する方法も提供する。本分野において知られているあらゆる適切なアッセイは、この方法において使用することが可能である。例として、サンドイッチイムノアッセイ（例えば、放射性同位体検出（ラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ））および酵素検出（エンザイムイムノアッセイ（ＥＩＡ）または酵素結合免疫吸着検定法（ＥＬＩＳＡ）（例えば、Ｑｕａｎｔｉｋｉｎｅ ＥＬＩＳＡアッセイ、Ｒ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｍｉｎｎｅａｐｏｌｉｓ，ＭＮ））を含むモノクローナル、ポリクローナルおよび／もしくはＤＶＤ－Ｉｇサンドイッチイムノアッセイまたはそのあらゆるバリエーション（例えば、モノクローナル／ＤＶＤ－Ｉｇ、ＤＶＤ－Ｉｇ／ポリクローナルなど））、競合阻害イムノアッセイ（例えば、順向および逆向）、蛍光偏光イムノアッセイ（ＦＰＩＡ）、酵素増幅イムノアッセイ技術（ＥＭＩＴ）、生物発光共鳴エネルギー移動（ＢＲＥＴ）および均一系化学発光アッセイなどのイムノアッセイが含まれるが、これらに限定されない。予め活性化されたプロテインチップアレイなど、ＳＥＬＤＩを基礎とするイムノアッセイにおいて、目的の分析物（またはその断片）に特異的に結合する捕捉試薬は、質量分析プローブの表面に付着している。分析物（またはその断片）は、次いで、バイオチップ上で特異的に捕捉され、捕捉された分析物（またはその断片）は、質量分析によって検出される。あるいは、分析物（またはその断片）は、捕捉試薬から溶出させ、伝統的なＭＡＬＤＩ（マトリックス支援レーザー脱離／イオン化）またはＳＥＬＤＩによって検出することが可能である。化学発光微粒子イムノアッセイ、特にＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標）自動分析器（Ａｂｂｏｔｔ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ａｂｂｏｔｔ Ｐａｒｋ，ＩＬ）を使用するものは、好ましいイムノアッセイの例である。
【０３８２】
（尿、血液、血清および血漿および他の体液を収集し、取り扱い、処理する）本分野において周知である方法は、例えば、本明細書に記載されているＤＶＤ－Ｉｇが免疫診断試薬としておよび／または分析物イムノアッセイキットにおいて使用される場合、本開示の実施において使用される。試験試料は、抗体、抗原、ハプテン、ホルモン、薬物、酵素、受容体、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、オリゴヌクレオチドおよび／またはポリヌクレオチドなど、目的の分析物に加えてさらなる部分を含み得る。例えば、試料は、対象から得られた全血試料であり得る。試験試料、特に全血は、本明細書に記載されているイムノアッセイの前に、例えば前処理試薬を用いて処理されることが必要でありまたは所望され得る。前処理が必要でない場合（例えば、ほとんどの尿試料）においても、前処理は場合によって（例えば、商業的プラットホームでのレジメンの一部として）行うことが可能である。
【０３８３】
前処理試薬は、本発明のイムノアッセイおよびキットとの使用に適したあらゆる試薬であり得る。前処理は、（ａ）１つまたは複数の溶媒（例えば、メタノールおよびエチレングリコール）および場合によって塩、（ｂ）１つまたは複数の溶媒および塩および場合によって洗浄剤、（ｃ）洗浄剤または（ｄ）洗浄剤および塩を場合によって含む。前処理試薬は本分野において公知であり、このような前処理は、例えば、Ａｂｂｏｔｔ ＴＤｘ、ＡｘＳＹＭ（登録商標）およびＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標）分析器（Ａｂｂｏｔｔ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ａｂｂｏｔｔ Ｐａｒｋ，ＩＬ）でのアッセイに使用されるように、文献中に記載されているように（例えば、Ｙａｔｓｃｏｆｆ ｅｔ ａｌ．，Ａｂｂｏｔｔ ＴＤｘ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ａｓｓａｙ Ｅｖａｌ

ｕａｔｅｄ ｆｏｒ Ｍｅａｓｕｒｉｎｇ Ｃｙｃｌｏｓｐｏｒｉｎｅ ｉｎ Ｗｈｏｌｅ Ｂｌｏｏｄ，Ｃｌｉｎ．Ｃｈｅｍ．３６：１９６９－１９７３（１９９０）およびＷａｌｌｅｍａｃｑ ｅｔ ａｌ．，Ｅｖａｌｕａｔｉｏｎ ｏｆ ｔｈｅ Ｎｅｗ Ａｘ ＳＹＭ Ｃｙｃｌｏｓｐｏｒｉｎｅ Ａｓｓａｙ：Ｃｏｍｐａｒｉｓｏｎ ｗｉｔｈ ＴＤｘ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ｗｈｏｌｅ Ｂｌｏｏｄ ａｎｄ ＥＭＩＴ Ｃｙｃｌｏｓｐｏｒｉｎｅ Ａｓｓａｙｓ，Ｃｌｉｎ．Ｃｈｅｍ．４５：４３２－４３５（１９９９）を参照）および／または市販されているものを使用することが可能である。さらに、前処理は、（前処理に関する教示についてその全体が参照により組み込まれる。）Ａｂｂｏｔｔの米国特許第５，１３５，８７５号、欧州特許公開第０ ４７１ ２９３号、２００６年１２月２９日に出願された米国仮特許出願第６０／８７８，０１７号および米国特許出願公開第２００８／００２０４０１号に記載されているように行うことが可能である。前処理試薬は、不均一剤または均一剤であり得る。

【０３８４】

不均一前処理試薬を使用する場合、前処理試薬は、試料中に存在する分析物結合タンパク質（例えば、分析物またはその断片に結合することができるタンパク質）を沈殿させる。このような前処理ステップは、沈殿した分析物結合タンパク質から、前処理剤を試料に添加することによって形成された混合物の上清を分離することによって、あらゆる分析物結合タンパク質を除去することを含む。このようなアッセイにおいて、あらゆる結合タンパク質が存在しない混合物の上清はアッセイにおいて使用され、捕捉ステップへと直接進行する。

【０３８５】

均一前処理試薬を使用する場合、このような分離ステップは存在しない。試験試料の混合物および前処理試薬全体は、分析物（またはその断片）の標識された特異的結合パートナー（標識された抗分析物抗体（またはその抗原反応性断片）など）と接触させる。このようなアッセイに使用される前処理試薬は、第一の特異的結合パートナーによる捕捉前または捕捉の間に、前処理された試験試料混合物中で典型的に希釈される。このような希釈にも関わらず、特定の量の前処理試薬は、捕捉の間、試験試料混合物中に依然として存在する（または残存する）。ある種の実施形態に従って、標識された特異的結合パートナーは、ＤＶＤ－Ｉｇ（またはその断片、バリアントもしくはバリアントの断片）であり得る。

【０３８６】

不均一フォーマットにおいて、試験試料が対象から得られた後、第一の混合物が調製される。混合物は、分析物（またはその断片）および第一の特異的結合パートナーについて評価されている試験試料を含有し、第一の特異的結合パートナーおよび試験試料中に含有されているあらゆる分析物は、第一特異的結合パートナー－分析物複合体を形成する。好ましくは、第一の特異的結合パートナーは、抗分析物抗体またはその断片である。第一の特異的結合パートナーは、本明細書に記載されているＤＶＤ－Ｉｇ（またはその断片、バリアントもしくはバリアントの断片）であり得る。混合物を形成するために試験試料および第一の特異的結合パートナーが添加される順序は重要でない。好ましくは、第一の特異的結合パートナーは、固相上に固定化されている。（第一の特異的結合パートナー、場合によって第二の特異的結合パートナーについて）イムノアッセイにおいて使用される固相は、磁気粒子、ビーズ、試験管、マイクロタイタープレート、キュベット、膜、足場分子、フィルム、濾紙、ディスクおよびチップなど（但し、これらに限定されない）、本分野において知られているあらゆる固相であり得る。

【０３８７】

第一特異的結合パートナー－分析物複合体を含有する混合物が形成された後、本分野において知られているあらゆる技術を使用して、あらゆる非結合分析物が複合体から除去される。例えば、非結合分析物は、洗浄によって除去することが可能である。しかし、望ましくは、第一の特異的結合パートナーは、試験試料中に存在するすべての分析物が第一の特異的結合パートナーによって結合されるように、試験試料中に存在するあらゆる分析物

より過度に存在する。

【０３８８】

あらゆる非結合分析物が除去された後、第二の特異的結合パートナーが混合物に添加されて、第一特異的結合パートナー－分析物－第二特異的結合パートナー複合体を形成する。第二の特異的結合パートナーは、好ましくは、（第一の特異的結合パートナーによって結合される分析物上のエピトープと異なる）分析物上のエピトープに結合する抗分析物抗体である。さらに、また好ましくは、第二の特異的結合パートナーは、上記に記載されている検出可能な標識で標識されまたはこの標識を含有する。第二の特異的結合パートナーは、本明細書に記載されているＤＶＤ－Ｉｇ（またはその断片、バリアントもしくはバリアントの断片）であり得る。

【０３８９】

本分野において公知であるあらゆる適切な検出可能な標識が使用され得る。例えば、検出可能な標識は、放射性標識（３Ｈ、１２５Ｉ、３５Ｓ、１４Ｃ、３２Ｐおよび３３Ｐなど）、酵素標識（西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリ性ペルオキシダーゼ、グルコース６－リン酸デヒドロゲナーゼなど）、化学発光標識（アクリジニウムエステル、チオエステルまたはスルホンアミド；ルミノール、イソルミノール、フェナンスリジニウムエステルなど）、蛍光標識（フルオレセインなど（例えば、５－フルオレセイン、６－カルボキシフルオレセイン、３’６－カルボキシフルオレセイン、５（６）－カルボキシフルオレセイン、６－ヘキサクロロ－フルオレセイン、６－テトラクロロフルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネートなど））、ローダミン、フィコビリンタンパク質、Ｒ－フィコエリトリン、量子ドット（例えば、硫化亜鉛キャップ付加セレン化カドミウム）、温度測定標識または免疫ポリメラーゼ連鎖反応標識であり得る。標識の導入、標識化手順および標識の検出は、Ｐｏｌａｋ ａｎｄ Ｖａｎ Ｎｏｏｒｄｅｎ，Ｉｎｔｒｏｄｕｃｔｉｏｎ ｔｏ Ｉｍｍｕｎｏｃｙｔｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，２ｎｄ ｅｄ．，Ｓｐｒｉｎｇｅｒ Ｖｅｒｌａｇ，Ｎ．Ｙ．（１９９７）およびＭｏｌｅｃｕｌａｒ Ｐｒｏｂｅｓ，Ｉｎｃ．，Ｅｕｇｅｎｅ，Ｏｒｅｇｏｎによって出版されたハンドブックとカタログの組合せであるＨａｕｇｌａｎｄ，Ｈａｎｄｂｏｏｋ ｏｆ Ｆｌｕｏｒｅｓｃｅｎｔ Ｐｒｏｂｅｓ ａｎｄ Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｃｈｅｍｉｃａｌｓ（１９９６）に見出される。蛍光標識は、ＦＰＩＡにおいて使用することが可能である（例えば、米国特許第５，５９３，８９６号、第５，５７３，９０４号、第５，４９６，９２５号、第５，３５９，０９３号および第５，３５２，８０３号を参照）。アクリジニウム化合物は、均一系または不均一系化学発光アッセイにおいて検出可能な標識として使用することが可能である（例えば、Ａｄａｍｃｚｙｋ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔ．１６：１３２４－１３２８（２００６）；Ａｄａｍｃｚｙｋ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔ．４：２３１３－２３１７（２００４）；Ａｄａｍｃｚｙｋ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔ．１４：３９１７－３９２１（２００４）；およびＡｄａｍｃｚｙｋ ｅｔ ａｌ．，Ｏｒｇ．Ｌｅｔｔ．５：３７７９－３７８２（２００３）を参照）。

【０３９０】

好ましいアクリジニウム化合物は、アクリジニウム－９－カルボキサミドである。アクリジニウム９－カルボキサミドを調製する方法は、Ｍａｔｔｉｎｇｌｙ，Ｊ．Ｂｉｏｌｕｍｉｎ．Ｃｈｅｍｉｌｕｍｉｎ．６：１０７－１１４（１９９１）；Ａｄａｍｃｚｙｋ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．６３：５６３６－５６３９（１９９８）；Ａｄａｍｃｚｙｋ ｅｔ ａｌ．，Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ ５５：１０８９９－１０９１４（１９９９）；Ａｄａｍｃｚｙｋ ｅｔ ａｌ．，Ｏｒｇ．Ｌｅｔｔ．１：７７９－７８１（１９９９）；Ａｄａｍｃｚｙｋ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍ．１１：７１４－７２４（２０００）；Ｍａｔｔｉｎｇｌｙ ｅｔ ａｌ．，Ｉｎ Ｌｕｍｉｎｅｓｃｅｎｃｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ：Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ；Ｄｙｋｅ，Ｋ．Ｖ．Ｅｄ．；ＣＲＣ Ｐｒｅｓｓ：Ｂｏｃａ Ｒａｔｏｎ，ｐｐ．７７－１０５（２００２）；Ａｄａｍｃｚｙｋ ｅｔ ａｌ．，

Ｏｒｇ．Ｌｅｔｔ．５：３７７９－３７８２（２００３）；ならびに米国特許第５，４６８，６４６号、第５，５４３，５２４号および第５，７８３，６９９号に記載されている。別の好ましいアクリジニウム化合物は、アクリジニウム－９－カルボキシレートアリールエステルである。アクリジニウム－９－カルボキシレートアリールエステルの例は、１０－メチル－９－（フェノキシカルボニル）アクリジニウムフルオロスルホネート（Ｃａｙｍａｎ Ｃｈｅｍｉｃａｌ，Ａｎｎ Ａｒｂｏｒ，ＭＩから入手可能）である。アクリジニウム－９－カルボキシレートアリールエステルを調製する方法は、ＭｃＣａｐｒａ ｅｔ ａｌ．，Ｐｈｏｔｏｃｈｅｍ．Ｐｈｏｔｏｂｉｏｌ．４：１１１１－２１（１９６５）；Ｒａｚａｖｉ ｅｔ ａｌ．，Ｌｕｍｉｎｅｓｃｅｎｃｅ １５：２４５－２４９（２０００）；Ｒａｚａｖｉ ｅｔ ａｌ．，Ｌｕｍｉｎｅｓｃｅｎｃｅ １５：２３９－２４４（２０００）；および米国特許第５，２４１，０７０号に記載されている。アクリジニウム－９－カルボキシレートアリールエステルおよびその使用に関するさらなる詳細は、ＵＳ２００８－０２４８４９３に示されている。

【０３９１】

（例えば、上記に記載されているアクリジニウムまたは他の化学発光剤を使用する）化学発光アッセイは、Ａｄａｍｃｚｙｋ ｅｔ ａｌ．，Ａｎａｌ．Ｃｈｉｍ．Ａｃｔａ ５７９（１）：６１－６７（２００６）に記載されている方法に従って行うことが可能である。あらゆる適切なアッセイフォーマットが使用され得るが、マイクロプレートケミルミノメーター（Ｍｉｔｈｒａｓ ＬＢ－９４０，Ｂｅｒｔｈｏｌｄ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ Ｕ．Ｓ．Ａ．，ＬＬＣ，Ｏａｋ Ｒｉｄｇｅ，ＴＮ）は、小容量の複数試料のアッセイを迅速に行うことを可能とする。

【０３９２】

化学発光アッセイ用の混合物を形成するために試験試料および（複数の）特異的結合パートナーが添加される順序は重要でない。第一の特異的結合パートナーがアクリジニウム化合物などの化学発光剤で検出可能に標識される場合、検出可能に標識された第一の特異的結合パートナー－分析物複合体が形成する。あるいは、第二の特異的結合パートナーが使用され、第二の特異的結合パートナーがアクリジニウム化合物などの化学発光剤で検出可能に標識される場合、検出可能に標識された第一の特異的結合パートナー－分析物－第二の特異的結合パートナー複合体が形成する。標識されていても標識されていなくても、あらゆる非結合の特異的結合パートナーは、洗浄などの本分野において知られているあらゆる技術を使用して、混合物から除去することが可能である。

【０３９３】

過酸化水素は、上記に記載されているアクリジニウム化合物の添加前、添加と同時または添加後に、混合物中においてその場で生成され、または混合物に提供もしくは供給され得る（例えば、過酸化水素を含有することが知られている１つまたは複数の緩衝液または他の溶液である過酸化水素の供給源）。過酸化水素は、当業者に明らかであるようないくつかの方法においてその場で生成され得る。

【０３９４】

少なくとも１つの塩基溶液を試料に同時にまたはその後添加すると、分析物の存在の指標となる検出可能なシグナル、すなわち、化学発光シグナルが発生する。塩基溶液は、少なくとも１つの塩基を含有し、１０以上、好ましくは１２以上のｐＨを有する。塩基溶液の例には、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化カルシウム、水酸化アンモニウム、水酸化マグネシウム、炭酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、水酸化カルシウム、炭酸カルシウムおよび炭酸水素カルシウムが含まれるが、これらに限定されない。試料に添加される塩基溶液の量は、塩基溶液の濃度に依存する。使用される塩基溶液の濃度を基礎として、当業者は、試料に添加する塩基溶液の量を容易に決定することができる。

【０３９５】

発生した化学発光シグナルは、当業者に知られている通常の技術を使用して検出することが可能である。発生したシグナルの強度を基礎として、試料中の分析物の量を定量することが可能である。具体的には、試料中の分析物の量は、発生したシグナルの強度に比例

する。存在する分析物の量は、発生した光の量を分析物の標準曲線と比較するまたは基準標準物質と比較することによって定量することが可能である。標準曲線は、既知の濃度の分析物の段階希釈物または溶液を使用して、質量分析、重量測定法および本分野において公知である他の技術によって生成することが可能である。化学発光剤としてのアクリジニウム化合物の使用を強調して上記に記載したが、当業者は、この記載を他の化学発光剤の使用に容易に適合させることができる。

【０３９６】

分析物イムノアッセイは、サンドイッチフォーマットなど（但し、これらに限定されない。）、本分野において知られているあらゆるフォーマットを使用して一般に行うことが可能である。具体的には、１つのイムノアッセイフォーマットにおいて、少なくとも２つの結合タンパク質が、試料中のヒト分析物などの分析物またはその断片を分離および定量するために使用される。より具体的には、少なくとも２つの結合タンパク質は、分析物（またはその断片）上の異なるエピトープに結合して、「サンドイッチ」と呼ばれる免疫複合体を形成する。一般に、イムノアッセイにおいて、１つまたは複数の結合タンパク質は、試験試料中の分析物（またはその断片）を捕捉するために使用することが可能であり（これらの結合タンパク質は１つまたは複数の「捕捉」抗体と頻繁に呼ばれる。）、１つまたは複数の結合タンパク質は、検出可能な（すなわち、定量可能な）標識をサンドイッチに結合させるために使用することが可能である（これらの結合タンパク質は、１つまたは複数の「検出抗体」、１つまたは複数の「複合体」と頻繁に呼ばれる。）。したがって、サンドイッチイムノアッセイフォーマットの状況において、本明細書に記載されているＤＶＤ－Ｉｇ（またはその断片、バリアントもしくはバリアントの断片）は、捕捉抗体、検出抗体または両方として使用することが可能である。例えば、分析物（またはその断片）上の第一のエピトープに結合することができるドメインを有する１つのＤＶＤ－Ｉｇは、捕捉抗体として使用することが可能であり、および／または分析物（またはその断片）上の第二のエピトープに結合することができるドメインを有する別のＤＶＤ－Ｉｇは、検出抗体として使用することが可能である。この関連で、分析物（またはその断片）上の第一のエピトープに結合することができる第一のドメインおよび分析物（またはその断片）上の第二のエピトープに結合することができる第二のドメインを有するＤＶＤ－Ｉｇは、検出抗体および／または捕捉抗体として使用することが可能である。あるいは、第一の分析物（またはその断片）上のエピトープに結合することができる第一のドメインおよび第二の分析物（またはその断片）上のエピトープに結合することができる第二のドメインを有する１つのＤＶＤ－Ｉｇは、捕捉抗体および／または（２つまたはそれ以上の分析物を検出し、場合によって定量する）検出抗体として使用することが可能である。単量体の形態および（ホモマーまたはヘテロマーであり得る）二量体／多量体の形態など、分析物が２つ以上の形態で試料中に存在する可能性がある場合、単量体の形態でのみ曝露されるエピトープに結合することができるドメインを有する１つのＤＶＤ－Ｉｇおよび二量体／多量体の形態の異なる部分でエピトープに結合することができるドメインを有する別のＤＶＤ－Ｉｇは、捕捉抗体および／または検出抗体として使用することが可能であり、それによって、異なる形態の所与の分析物の検出および場合による定量化を可能にする。さらに、単一のＤＶＤ－Ｉｇ内でおよび／またはＤＶＤ－Ｉｇ間で親和性に相違があるＤＶＤ－Ｉｇを使用することは、結合力の利点をもたらし得る。本明細書に記載されているイムノアッセイの状況において、ＤＶＤ－Ｉｇの構造内に１つまたは複数のリンカーを組み込むことが一般に助けになりまたは所望され得る。存在する場合、最適には、リンカーは、内部ドメインによるエピトープの結合ならびに外部ドメインによる別のエピトープの結合を可能にするために十分な長さおよび構造的柔軟性を有するべきである。この関連で、ＤＶＤ－Ｉｇが２つの異なる分析物と結合することができ、一方の分析物が他方より大きい場合、大きい方の分析物が外部ドメインによって結合されることが望ましい。

【０３９７】

一般的に言うと、分析物（またはその断片）について試験される（例えば、含有することが疑われる）試料は、少なくとも１つの捕捉抗体（または複数の抗体）および少なくと

も１つの検出抗体（例えば、捕捉および／または検出抗体が複数の抗体を含む場合のように、第二の検出抗体または第三の検出抗体またはさらに連続した番号の抗体であり得る）と、同時にまたは順次あらゆる順序で接触させることが可能である。例えば、試験試料は、第一に少なくとも１つの捕捉抗体と接触させ、次いで（順次）少なくとも１つの検出抗体と接触させることが可能である。あるいは、試験試料は、第一に少なくとも１つの検出抗体と接触させ、次いで（順次）少なくとも１つの捕捉抗体と接触させることが可能である。さらに別の代替法において、試験試料は、捕捉抗体および検出抗体と同時に接触させることが可能である。

【０３９８】

サンドイッチアッセイフォーマットにおいて、分析物（またはその断片）を含有することが疑われる試料は、第一の抗体／分析物複合体の形成を可能にする条件下で、少なくとも１つの第一の捕捉抗体と第一に接触させる。２つ以上の捕捉抗体が使用される場合、２つまたはそれ以上の捕捉抗体を含む第一の捕捉抗体／分析物複合体が形成される。サンドイッチアッセイにおいて、抗体、すなわち、好ましくは、少なくとも１つの捕捉抗体は、試験試料中で予想される分析物（またはその断片）の最大量より過剰なモル量で使用される。例えば、緩衝液（例えば微粒子コーティング緩衝液）ｍＬあたり約５μｇから約１ｍｇの抗体が使用され得る。

【０３９９】

１つだけの結合タンパク質による結合が必要とされるため、小さな分析物を測定するためにしばしば使用される競合阻害イムノアッセイは、順次的および古典的フォーマットを含む。順次的競合阻害イムノアッセイにおいて、目的の分析物に対する捕捉抗体は、マイクロタイタープレートのウェルまたは他の固体支持体上に被覆される。目的の分析物を含有する試料がウェルに添加される場合、目的の分析物は捕捉抗体に結合する。洗浄後、既知の量の標識された（例えば、ビオチンまたは西洋ワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰ））分析物がウェルに添加される。酵素標識の基質は、シグナルを発生させることが必要である。ＨＲＰに適した基質の例は、３，３’，５，５’－テトラメチルベンジジン（ＴＭＢ）である。洗浄後、標識された分析物によって発生したシグナルは測定され、試料中の分析物の量に逆比例する。古典的競合阻害イムノアッセイにおいて、目的の分析物に対する抗体は、固体支持体（例えば、マイクロタイタープレートのウェル）上に被覆される。しかし、順次的競合阻害イムノアッセイと異なり、試料および標識された分析物はウェルに同時に添加される。試料中のあらゆる分析物が、捕捉抗体への結合について、標識された分析物と競合する。洗浄後、標識された分析物によって発生したシグナルは測定され、試料中の分析物の量に逆比例する。

【０４００】

場合によって、試験試料を少なくとも１つの捕捉抗体（例えば、第一の捕捉抗体）と接触させる前に、少なくとも１つの捕捉抗体は、試験試料からの第一の抗体／分析物（またはその断片）複合体の分離を促進する固体支持体に結合することが可能である。捕捉抗体が結合する基質は、試料からの捕捉抗体－分析物複合体の分離を促進するあらゆる適切な固体支持体または固相であり得る。

【０４０１】

例として、マイクロタイタープレートなどのプレートのウェル、試験管、多孔性ゲル（例えば、シリカゲル、アガロース、デキストランまたはゼラチン）、ポリマーフィルム（例えば、ポリアクリルアミド）、ビーズ（例えば、ポリスチレンビーズまたは磁気ビーズ）、フィルター／膜のストリップ（例えば、ニトロセルロースまたはナイロン）、微粒子（例えば、ラテックス粒子、磁化可能な微粒子（例えば、酸化第二鉄または酸化クロムコアおよびホモまたはヘテロポリマーコートおよび約１－１０ミクロンの半径を有する微粒子）が含まれる。基質は、抗原に結合するための適切な表面親和性および検出抗体による到達を可能にするために十分な多孔性を有する適切な多孔性材料を含み得る。水和状態のゼラチン性材料が使用され得るが、微小多孔性材料が一般的に好ましい。好ましくは、このような多孔性基質は、厚さが約０．０１から約０．５ｍｍ、好ましくは約０．１ｍｍの

シートの形態である。孔サイズはかなり様々であり得るが、好ましくは孔サイズは約０．０２５から約１５ミクロン、より好ましくは約０．１５から約１５ミクロンである。このような基質の表面は、抗体と基質の共有結合を引き起こす化学的プロセスによって活性化することが可能である。一般に疎水性の力を介する吸着による、抗原または抗体と基質の不可逆的結合が生じ、あるいは、抗体を基質に共有結合させるために、このような結合が分析物に結合する抗体の能力を干渉しないという条件で、化学的カップリング剤または他の手段を使用することが可能である。あるいは、抗体は、ストレプトアビジン（例えば、ＤＹＮＡＬ（登録商標）Ｍａｇｎｅｔｉｃ Ｂｅａｄｓ，Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ）またはビオチン（例えば、Ｐｏｗｅｒ－Ｂｉｎｄ（商標）－ＳＡ－ＭＰストレプトアビジンコーティング微粒子（Ｓｅｒａｄｙｎ，Ｉｎｄｉａｎａｐｏｌｉｓ，ＩＮ）を使用する）または抗種特異的モノクローナル抗体で予めコーティングされている微粒子と結合することが可能である。必要な場合、基質は、抗体上の様々な官能基との反応性を可能にするために誘導体化し得る。このような誘導体化は特定のカップリング剤の使用を必要とし、このカップリング剤の例には、無水マレイン酸、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミドおよび１－エチル－３－（３－ジメチルアミノプロピル）カルボジイミドが含まれるが、これらに限定されない。所望される場合、各々が（複数の）分析物に特異的である抗体（またはその断片）などの１つまたは複数の捕捉試薬は、様々な物理的またはアドレス可能な場所において（例えば、バイオチップの配置などにおいて）固相に付着させることが可能である（例えば、米国特許第６，２２５，０４７号；国際特許出願公開ＷＯ９９／５１７７３；米国特許第６，３２９，２０９号；国際特許出願公開ＷＯ００／５６９３４および米国特許第５，２４２，８２８号を参照）。捕捉試薬が固体支持体としての質量分析プローブに付着している場合、プローブに結合した分析物の量は、レーザー脱離イオン化質量分析によって検出することが可能である。あるいは、単一のカラムは、１つまたは複数の捕捉試薬で誘導体化された様々なビーズで充填することが可能であり、それによって単一の場所において分析物を捕捉する（抗体誘導体化、ビーズベースの技術、例えばＬｕｍｉｎｅｘ（Ａｕｓｔｉｎ，ＴＸ）のｘＭＡＰ技術を参照）。

【０４０２】

分析物（またはその断片）についてアッセイされている試験試料が少なくとも１つの捕捉抗体（例えば、第一の捕捉抗体）と接触した後、第一の抗体（または複数の抗体）－分析物（またはその断片）複合体の形成を可能にするために、混合物はインキュベートされる。インキュベーションは、約４．５から約１０．０のｐＨ、約２℃から約４５℃の温度で、少なくとも約１分から約１８時間、好ましくは約１から約２４分、最も好ましくは約４から約１８分間実施することが可能である。本明細書に記載されているイムノアッセイは、１つのステップ（試験試料、少なくとも１つの捕捉抗体および少なくとも１つの検出抗体がすべて、反応容器に順次または同時に添加されることを意味する。）または２つのステップ、３つのステップなど２つ以上のステップで行うことが可能である。

【０４０３】

（第一のまたは複数の）捕捉抗体／分析物（またはその断片）複合体の形成後、次いで、この複合体は、（第一のまたは複数の）捕捉抗体／分析物（またはその断片）／第二の検出抗体複合体の形成を可能にする条件下で、少なくとも１つの検出抗体と接触させる。明瞭にするために「第二の」抗体（例えば、第二の検出抗体）と見出しをつけているが、実際、複数の抗体が捕捉および／または検出に使用される場合、少なくとも１つの検出抗体は、イムノアッセイにおいて使用される第二、第三、第四などの抗体であり得る。捕捉抗体／分析物（またはその断片）複合体が２つ以上の検出抗体と接触する場合、（第一のまたは複数の）捕捉抗体／分析物（またはその断片）／（複数の）検出抗体複合体が形成される。捕捉抗体（例えば、第一の捕捉抗体）と同様に、少なくとも１つの（例えば第二およびあらゆるその後の）検出抗体が捕捉抗体／分析物（またはその断片）複合体と接触する場合、上記に記載されているものと同様の条件下でのインキュベーションの時間が、（第一のまたは複数の）捕捉抗体／分析物（またはその断片）／（第二のまたは複数の）検出抗体複合体の形成に必要である。好ましくは、少なくとも１つの検出抗体は、検出可

能な標識を含有する。検出可能な標識は、（第一のまたは複数の）捕捉抗体／分析物（またはその断片）／（第二のまたは複数の）検出抗体複合体の形成前に、形成と同時にまたは形成後に、少なくとも１つの検出抗体（例えば、第二の検出抗体）に結合することが可能である。本分野において知られているあらゆる検出可能な標識が使用され得る（Ｐｏｌａｋ　ａｎｄ　Ｖａｎ　Ｎｏｏｒｄｅｎ（１９９７）およびＨａｕｇｌａｎｄ（１９９６）の参考文献の論述を含めて上記の論述を参照）。

【０４０４】

検出可能な標識は、直接またはカップリング剤を介して抗体に結合することが可能である。使用することが可能であるカップリング剤の例は、Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ，Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ，ＭＯから市販されているＥＤＡＣ（１－エチル－３－（３－ジメチルアミノプロピル）カルボジイミド、塩酸塩）である。使用することが可能である他のカップリング剤は、本分野において公知である。検出可能な標識を抗体に結合させる方法は、本分野において公知である。さらに、ＣＰＳＰ－アクリジニウムエステル（すなわち、９－［Ｎ－トシル－Ｎ－（３－カルボキシプロピル）］－１０－（３－スルホプロピル）アクリジニウムカルボキサミド）またはＳＰＳＰ－アクリジニウムエステル（すなわち、Ｎ１０－（３－スルホプロピル）－Ｎ－（３－スルホプロピル）－アクリジニウム－９－カルボキサミド）など、抗体への検出可能な標識のカップリングを促進する末端基をすでに含有する多数の検出可能な標識を購入または合成することが可能である。

【０４０５】

（第一のまたは複数の）捕捉抗体／分析物／（第二のまたは複数の）検出抗体複合体は、標識の定量前に試験試料の残りから分離することが可能であるが、分離する必要はない。例えば、少なくとも１つの捕捉抗体（例えば、第一の捕捉抗体）は、ウェルまたはビーズなどの固体支持体に結合しており、分離は、固体支持体との接触から（試験試料の）流体を除去することによって達成することが可能である。あるいは、少なくとも第一の捕捉抗体が固体支持体に結合している場合、これは、第一の（複数の）抗体／分析物／第二の（複数の）抗体複合体を形成するために、分析物含有試料および少なくとも１つの第二の検出抗体と同時に接触させることが可能であり、その後、固体支持体との接触から流体（試験試料）を除去する。少なくとも１つの第一の捕捉抗体が固体支持体に結合していない場合、（第一のまたは複数の）捕捉抗体／分析物／（第二のまたは複数の）検出抗体複合体は、標識の量の定量のために試験試料から取り出す必要はない。

【０４０６】

標識された捕捉抗体／分析物／検出抗体複合体（例えば、第一の捕捉抗体／分析物／第二の検出抗体複合体）の形成後、本分野において知られている技術を使用して複合体中の標識の量が定量される。例えば、酵素標識が使用される場合、標識された複合体は、色の発生などの定量可能な反応を与える標識の基質と反応する。標識が放射性標識である場合、標識は、シンチレーションカウンターなどの適当な手段を使用して定量される。標識が蛍光標識である場合、標識は、（「励起波長」として知られている）１つの色の光で標識を刺激し、刺激に反応して標識によって放出される（「放出波長」として知られている）別の光を検出することによって定量される。標識が化学発光標識である場合、標識は、放出された光を視覚的にまたはルミノメーター、Ｘ線フィルム、高速写真フィルム、ＣＣＤカメラなどを使用することにより検出することによって定量される。複合体中の標識の量が定量化された後、試験試料中の分析物またはその断片の濃度が、既知の濃度の分析物またはその断片の段階希釈物を使用して生成された標準曲線の使用などの適当な手段によって決定される。分析物またはその断片の段階希釈物を使用する以外に、標準曲線は、重量測定法、質量分析および本分野において公知である他の技術によって生成することが可能である。

【０４０７】

ＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標）分析器を使用する化学発光微粒子アッセイにおいて、複合体希釈物のｐＨは約６．０＋／－０．２であるべきであり、微粒子コーティング緩衝液はおよそ室温で（すなわち、約１７から約２７℃で）維持されるべきであり、微粒子コ

ーティング緩衝液のｐＨは約６．５＋／－０．２であるべきであり、微粒子希釈物のｐＨは約７．８＋／－０．２であるべきである。固体は、好ましくは、約０．１５％未満、約０．１４％未満、約０．１３％未満、約０．１２％未満または（約０．１０％未満などの）約０．１１％未満などの約０．２％未満である。

【０４０８】

ＦＰＩＡは、競合的結合イムノアッセイの原理を基礎としている。蛍光標識された化合物は、直線偏光によって励起されると、回転速度と逆比例する偏向の程度を有する蛍光を放出する。蛍光標識されたトレーサー－抗体複合体が直線偏光によって励起されると、蛍光体は光が吸収される時間と光が放出される時間との間の回転が制約されるので、放出された光は高度に偏向したままとなる。「遊離」トレーサー化合物（すなわち、抗体に結合していない化合物）が直線偏光によって励起されると、その回転は、競合的結合イムノアッセイにおいて産生される対応するトレーサー－抗体複合体よりはるかに速い。ＦＰＩＡは、特別な取り扱いおよび廃棄を必要とする放射性物質が存在しないため、ＲＩＡより有利である。さらに、ＦＰＩＡは、容易および迅速に行うことが可能である均一系アッセイである。

【０４０９】

上記を考慮して、試験試料における分析物（またはその断片）の存在、量または濃度を決定する方法が提供される。この方法は、（ｉ）（ｉ’）抗体、分析物に結合することができる抗体の断片、分析物に結合することができる抗体のバリアント、分析物に結合することができる抗体のバリアントの断片および分析物に結合することができるＤＶＤ－Ｉｇ（またはその断片、バリアントもしくはバリアントの断片）の少なくとも１つならびに（ｉｉ’）少なくとも１つの検出可能な標識を使用し、（ｉｉ）試験試料において分析物（またはその断片）の存在、量または濃度の直接的または間接的な指標として検出可能な標識によって発生したシグナルを、対照または較正物質において分析物（またはその断片）の存在、量または濃度の直接的または間接的な指標として発生したシグナルと比較することを含むアッセイによって、分析物（またはその断片）について試験試料をアッセイするステップを含む。較正物質は、場合によって一連の較正物質の一部であり、較正物質の各々は、分析物の濃度によって他の較正物質と異なる。

【０４１０】

この方法は、（ｉ）第一の特異的結合パートナー／分析物（またはその断片）複合体を形成するように、抗体、分析物に結合することができる抗体の断片、分析物に結合することができる抗体のバリアント、分析物に結合することができる抗体のバリアントの断片および分析物に結合することができるＤＶＤ－Ｉｇ（またはその断片、バリアントもしくはバリアントの断片）を含む分析物（またはその断片）の少なくとも１つの第一の特異的結合パートナーと試験試料を接触させるステップ、（ｉｉ）第一の特異的結合パートナー／分析物（またはその断片）／第二の特異的結合パートナー複合体を形成するように、検出可能に標識された抗分析物抗体、分析物に結合することができる抗分析物抗体の検出可能に標識された断片、分析物に結合することができる抗分析物抗体の検出可能に標識されたバリアント、分析物に結合することができる抗分析物抗体のバリアントの検出可能に標識された断片および検出可能に標識されたＤＶＤ－Ｉｇ（またはその断片、バリアントもしくはバリアントの断片）を含む分析物（またはその断片）の少なくとも１つの第二の特異的結合パートナーと第一の特異的結合パートナー／分析物（またはその断片）複合体を接触させるステップならびに（ｉｉｉ）（ｉｉ）において形成された第一の特異的結合パートナー／分析物（またはその断片）／第二の特異的結合パートナー複合体において、検出可能な標識によって発生したシグナルを検出または測定することにより、試験試料における分析物の存在、量または濃度を決定するステップを含み得る。分析物（またはその断片）の少なくとも１つの第一の特異的結合パートナーおよび／または分析物（またはその断片）の少なくとも１つの第二の特異的結合パートナーが、本明細書に記載されているＤＶＤ－Ｉｇ（またはその断片、バリアントもしくはバリアントの断片）である方法が好まれ得る。

【０４１１】
あるいは、この方法は、抗体、分析物に結合することができる抗体の断片、分析物に結合することができる抗体のバリアント、分析物に結合することができる抗体のバリアントの断片およびＤＶＤ－Ｉｇ（またはその断片、バリアントもしくはバリアントの断片）を含む分析物（またはその断片）の少なくとも１つの第一の特異的結合パートナーと試験試料を接触させるステップならびに少なくとも１つの第一の特異的結合パートナーへの結合について分析物（またはその断片）と競合することができ、検出可能に標識された分析物、第一の特異的結合パートナーに結合することができる分析物の検出可能に標識された断片、第一の特異的結合パートナーに結合することができる分析物の検出可能に標識されたバリアント、または第一の特異的結合パートナーに結合することができる分析物のバリアントの検出可能に標識された断片である少なくとも１つの第二の特異的結合パートナーと試験試料を同時にまたは順次どちらかの順序で接触させるステップを含み得る。試験試料中に存在するあらゆる分析物（またはその断片）および少なくとも１つの第二の特異的結合パートナーは、第一の特異的結合パートナー／分析物（またはその断片）複合体および第一の特異的結合パートナー／第二の特異的結合パートナー複合体をそれぞれ形成するために互いに競合する。この方法は、（ｉｉ）において形成された第一の特異的結合パートナー／第二の特異的結合パートナー複合体において、検出可能な標識によって発生したシグナルを検出または測定することにより、試験試料における分析物の存在、量または濃度を決定するステップをさらに含み、第一の特異的結合パートナー／第二の特異的結合パートナー複合体において、検出可能な標識によって発生したシグナルは、試験試料における分析物の量または濃度に逆比例する。

【０４１２】
上記の方法は、試験試料が得られた患者の治療的／予防的処置の効力を診断、予後診断または評価するステップをさらに含み得る。この方法が、試験試料が得られた患者の治療的／予防的処置の効力を評価するステップをさらに含む場合、この方法は、効力を改善するために必要な、患者の治療的／予防的処置の改変を加えるステップを場合によってさらに含む。この方法は、自動化システムまたは半自動化システムにおける使用に適合させることが可能である。

【０４１３】
アッセイの方法（およびそのためのキット）に関して、市販されている抗分析物抗体または文献に記載されている抗分析物を産生する方法を使用することが可能であり得る。様々な抗体の商業的供給者には、Ｓａｎｔａ Ｃｒｕｚ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ Ｉｎｃ．（Ｓａｎｔａ Ｃｒｕｚ，ＣＡ）、ＧｅｎＷａｙ Ｂｉｏｔｅｃｈ，Ｉｎｃ．（Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ）およびＲ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ（ＲＤＳ；Ｍｉｎｎｅａｐｏｌｉｓ，ＭＮ）が含まれるが、これらに限定されない。

【０４１４】
一般に、例えば、疾患または疾患のリスクを検出するために、分析物またはその断片について試験試料をアッセイした後に得られた結果をどちらに評価するかに対するベンチマークとして、所定のレベルが使用され得る。一般に、このような比較を行う際に、分析物の存在、量または濃度が疾患、障害もしくは状態の特定の段階もしくはエンドポイントまたは特定の臨床徴候とつながり得るまたは関連し得るように、適当な条件下で十分な回数特定のアッセイを実行することによって、所定のレベルが得られる。典型的に、所定のレベルは、基準対象（または対象の集団）のアッセイを用いて得られる。測定された分析物は、その断片、その分解産物および／またはその酵素的切断産物を含み得る。

【０４１５】
特に、疾患の進行および／または治療をモニタリングするために使用される所定のレベルに対して、分析物またはその断片の量または濃度は、「変化していない」、「好ましい」（または「好ましいように変化している」）または「好ましくない」（または「好ましくないように変化している」）可能性がある。「上昇している」または「増加している」は、典型的なもしくは正常なレベルもしくは範囲（例えば、所定のレベル）より高いまた

は別の基準レベルもしくは範囲（例えば、初期のまたはベースライン試料）より高い、試験試料における量または濃度を表す。「低下している」または「低減している」という用語は、典型的なもしくは正常なレベルもしくは範囲（例えば、所定のレベル）より低いまたは別の基準レベルもしくは範囲（例えば、初期のまたはベースライン試料）より低い、試験試料における量または濃度を表す。「変化している」という用語は、典型的なもしくは正常なレベルもしくは範囲（例えば、所定のレベル）を超えてまたは別の基準レベルもしくは範囲（例えば、初期のまたはベースライン試料）を超えて変化している（増加しているまたは減少している）、試料における量または濃度を表す。

【０４１６】

分析物の典型的なまたは正常なレベルまたは範囲は、標準的な慣習に従って定義される。分析物のレベルはある場合において非常に低いので、いわゆる変化したレベルまたは変化は、典型的なもしくは正常なレベルもしくは範囲または基準レベルもしくは範囲と比較して（実験エラーまたは試料の変動によって説明することが不可能である）任意の正味の変化が存在する場合に起こったと見なされ得る。したがって、特定の試料において測定されるレベルは、いわゆる正常な対象から得られた類似の試料において決定されたレベルまたはレベルの範囲と比較される。この文脈において、「正常な対象」は、例えば検出可能な疾患を有さない個体であり、「正常な」（「対照」と称されることもある）患者または集団は、例えばそれぞれ検出可能な疾患を示さないものである。さらに、分析物がヒト集団の大部分において通常高レベルで見出されない場合を考慮すると、「正常な対象」は、実質的に検出可能な分析物の量または濃度の増加または上昇を有さない個体と見なすことが可能であり、「正常な」（「対照」と称されることもある）患者または集団は、実質的に検出可能な分析物の量または濃度の増加または上昇を示さないものである。「見かけ上正常な対象」は、分析物が未だ評価されておらずまたは現在のところ評価中であるものである。分析物のレベルは、分析物が正常で検出不能である（例えば、正常レベルが０または正常集団の約２５から７５パーセンタイルの範囲内である）が、試験試料において検出されるときならびに分析物が試験試料中に正常レベルより高く存在するときに「上昇している」と言われる。したがって、とりわけ、本開示は、特定の疾患、障害または状態を有するまたは有するリスクがある対象をスクリーニングする方法を提供する。アッセイの方法は、他のマーカーのアッセイなどをも含み得る。

【０４１７】

したがって、本明細書に記載されている方法は、対象が所与の疾患、障害または状態を有するまたはこれらを発症するリスクがあるか否かを決定するために使用することも可能である。具体的には、このような方法は、

（ａ）対象から得られた試験試料における分析物（またはその断片）の濃度または量を（例えば、本明細書に記載されている方法または本分野において知られている方法を使用して）決定するステップおよび

（ｂ）ステップ（ａ）において決定された分析物（またはその断片）の濃度または量を所定のレベルと比較するステップを含み得、ステップ（ａ）において決定された分析物の濃度または量が所定のレベルに対して好ましい場合、対象は、所与の疾患、障害または状態を有さずまたはこれらのリスクがないと決定される。しかし、ステップ（ａ）において決定された分析物の濃度または量が所定のレベルに対して好ましくない場合、対象は、所与の疾患、障害または状態を有するまたはこれらのリスクがあると決定される。

【０４１８】

さらに、対象における疾患の進行をモニタリングする方法が本明細書において提供される。最適には、この方法は、

（ａ）対象から得られた試験試料における分析物の濃度または量を決定するステップ、

（ｂ）対象から得られた後の試験試料における分析物の濃度または量を決定するステップおよび

（ｃ）ステップ（ｂ）において決定された分析物の濃度または量をステップ（ａ）において決定された分析物の濃度または量と比較するステップを含み、ステップ（ｂ）において

決定された濃度または量が、ステップ（ａ）において決定された分析物の濃度または量と比較して変化していないまたは好ましくない場合、対象における疾患は継続、進行または悪化していると決定される。比較すると、ステップ（ｂ）において決定された分析物の濃度または量が、ステップ（ａ）において決定された分析物の濃度または量と比較して好ましい場合、対象における疾患は消失、退行または改善していると決定される。

【０４１９】

場合によって、この方法は、ステップ（ｂ）において決定された分析物の濃度または量を、例えば、所定のレベルと比較するステップをさらに含む。さらに、場合によって、この方法は、比較が、ステップ（ｂ）において決定された分析物の濃度または量が、例えば、所定のレベルに対して好ましくないように変化していることを示す場合、１つまたは複数の医薬組成物で対象をしばらくの間治療するステップを含む。

【０４２０】

またさらに、この方法は、１つまたは複数の医薬組成物で治療を受けている対象において治療をモニタリングするために使用することが可能である。具体的には、このような方法は、対象が１つまたは複数の医薬組成物を投与される前に対象から得られた第一の試験試料を提供することを含む。次に、対象から得られた第一の試験試料における分析物の濃度または量が（例えば、本明細書に記載されている方法または本分野において知られている方法を使用して）決定される。分析物の濃度または量が決定された後、場合によって、分析物の濃度または量は、次いで所定のレベルと比較される。第一の試験試料において決定された分析物の濃度または量が所定のレベルより低い場合、対象は１つまたは複数の医薬組成物で治療されない。しかし、第一の試験試料において決定された分析物の濃度または量が所定のレベルより高い場合、対象は１つまたは複数の医薬組成物でしばらくの間治療される。対象が１つまたは複数の医薬組成物で治療される期間は、当業者によって決定され得る（例えば、期間は約７日から約２年、好ましくは約１４日から約１年であり得る。）。

【０４２１】

１つまたは複数の医薬組成物での治療の経過の間、次いで第二およびその後の試験試料が対象から得られる。試験試料の番号および前記試験試料が対象から得られる時期は重要でない。例えば、第二の試験試料は、対象が１つまたは複数の医薬組成物を最初に投与された７日後に得ることが可能であり、第三の試験試料は、対象が１つまたは複数の医薬組成物を最初に投与された２週間後に得ることが可能であり、第四の試験試料は、対象が１つまたは複数の医薬組成物を最初に投与された３週間後に得ることが可能であり、第五の試験試料は、対象が１つまたは複数の医薬組成物を最初に投与された４週間後に得ることが可能である、などとなる。

【０４２２】

第二またはその後の試験試料の各々が対象から得られた後、第二およびその後の試験試料において決定される分析物の濃度または量が（例えば、本明細書に記載されている方法または本分野において知られている方法を使用して）決定される。第二およびその後の試験試料の各々において決定される分析物の濃度または量は、次いで第一の試験試料（例えば、所定のレベルと元々場合によって比較された試験試料）において決定される分析物の濃度または量と比較される。ステップ（ｃ）において決定された分析物の濃度または量が、ステップ（ａ）において決定された分析物の濃度または量と比較して好ましい場合、対象における疾患は消失、退行または改善していると決定され、対象はステップ（ｂ）の１つまたは複数の医薬組成物を投与され続けるべきである。しかし、ステップ（ｃ）において決定された濃度または量が、ステップ（ａ）において決定された分析物の濃度または量と比較して変化していないまたは好ましくない場合、対象における疾患は継続、進行または悪化していると決定され、対象はステップ（ｂ）において対象に投与されたより高い濃度の１つもしくはそれ以上の医薬組成物で治療されるべきでありまたは対象はステップ（ｂ）において対象に投与された１つもしくはそれ以上の医薬組成物と異なる１つもしくはそれ以上の医薬組成物で治療されるべきである。具体的には、対象は、対象が前記対象の

分析物レベルを減少または低下させるために以前に受けていた１つまたは複数の医薬組成物と異なる１つまたは複数の医薬組成物で治療することが可能である。

【０４２３】

一般に、反復試験が行われ得るアッセイ（例えば、疾患進行および／または治療に対する応答のモニタリング）の場合、第二およびその後の試験試料は、第一の試験試料が対象から得られた後のある時期に得られる。具体的には、対象の第二の試験試料は、第一の試験試料が対象から得られた数分、数時間、数日、数週間または数年後に得ることが可能である。例えば、第二の試験試料は、対象から第一の試験試料が得られた約１分、約５分、約１０分、約１５分、約３０分、約４５分、約６０分、約２時間、約３時間、約４時間、約５時間、約６時間、約７時間、約８時間、約９時間、約１０時間、約１１時間、約１２時間、約１３時間、約１４時間、約１５時間、約１６時間、約１７時間、約１８時間、約１９時間、約２０時間、約２１時間、約２２時間、約２３時間、約２４時間、約２日、約３日、約４日、約５日、約６日、約７日、約２週間、約３週間、約４週間、約５週間、約６週間、約７週間、約８週間、約９週間、約１０週間、約１１週間、約１２週間、約１３週間、約１４週間、約１５週間、約１６週間、約１７週間、約１８週間、約１９週間、約２０週間、約２１週間、約２２週間、約２３週間、約２４週間、約２５週間、約２６週間、約２７週間、約２８週間、約２９週間、約３０週間、約３１週間、約３２週間、約３３週間、約３４週間、約３５週間、約３６週間、約３７週間、約３８週間、約３９週間、約４０週間、約４１週間、約４２週間、約４３週間、約４４週間、約４５週間、約４６週間、約４７週間、約４８週間、約４９週間、約５０週間、約５１週間、約５２週間、約１．５年、約２年、約２．５年、約３．０年、約３．５年、約４．０年、約４．５年、約５．０年、約５．５年、約６．０年、約６．５年、約７．０年、約７．５年、約８．０年、約８．５年、約９．０年、約９．５年または約１０．０年後の時期に対象から得ることが可能である。

【０４２４】

疾患の進行をモニタリングするために使用するとき、上記のアッセイは、急性状態に罹患している対象における疾患の進行をモニタリングするために使用することが可能である。救急状態としても知られている急性状態は、例えば心血管系または排泄系が関与する、生命を脅かす急性の疾患または他の救急医学状態を表す。典型的に、救急状態は、病院を基礎とする設備（救急処置室、集中治療室、外傷センターまたは他の緊急医療設備が含まれるが、これらに限定されない。）における急性の医学的介入または医療補助者もしくは他の分野を基礎とする医療関係者による管理を必要とする状態を表す。救急状態の場合、反復モニタリングが、短い時間枠内で、すなわち、数分、数時間または数日（例えば、約１分、約５分、約１０分、約１５分、約３０分、約４５分、約６０分、約２時間、約３時間、約４時間、約５時間、約６時間、約７時間、約８時間、約９時間、約１０時間、約１１時間、約１２時間、約１３時間、約１４時間、約１５時間、約１６時間、約１７時間、約１８時間、約１９時間、約２０時間、約２１時間、約２２時間、約２３時間、約２４時間、約２日、約３日、約４日、約５日、約６日または約７日）で一般に行われ、同様に最初のアッセイは、短い時間枠内に、例えば、疾患または状態の発症の約数分、数時間または数日以内に一般に行われる。

【０４２５】

アッセイは、慢性または非急性状態に罹患している対象における疾患の進行をモニタリングするために使用することも可能である。非救急または非急性状態は、例えば心血管系および／または排泄系が関与する、生命を脅かす急性の疾患または他の救急医学状態以外の状態を表す。典型的に、非急性状態は、長期または慢性の持続期間の状態を含む。非救急状態の場合、反復モニタリングが、長い時間枠内で、例えば、数時間、数日、数週間、数カ月または数年（例えば、約１時間、約２時間、約３時間、約４時間、約５時間、約６時間、約７時間、約８時間、約９時間、約１０時間、約１１時間、約１２時間、約１３時間、約１４時間、約１５時間、約１６時間、約１７時間、約１８時間、約１９時間、約２０時間、約２１時間、約２２時間、約２３時間、約２４時間、約２日、約３日、約４日、

約５日、約６日、約７日、約２週間、約３週間、約４週間、約５週間、約６週間、約７週間、約８週間、約９週間、約１０週間、約１１週間、約１２週間、約１３週間、約１４週間、約１５週間、約１６週間、約１７週間、約１８週間、約１９週間、約２０週間、約２１週間、約２２週間、約２３週間、約２４週間、約２５週間、約２６週間、約２７週間、約２８週間、約２９週間、約３０週間、約３１週間、約３２週間、約３３週間、約３４週間、約３５週間、約３６週間、約３７週間、約３８週間、約３９週間、約４０週間、約４１週間、約４２週間、約４３週間、約４４週間、約４５週間、約４６週間、約４７週間、約４８週間、約４９週間、約５０週間、約５１週間、約５２週間、約１．５年、約２年、約２．５年、約３．０年、約３．５年、約４．０年、約４．５年、約５．０年、約５．５年、約６．０年、約６．５年、約７．０年、約７．５年、約８．０年、約８．５年、約９．０年、約９．５年または約１０．０年）で一般に行われ、同様に最初のアッセイは、長い時間枠内に、例えば、疾患または状態の発症の約数時間、数日、数週間、数カ月または数年以内に一般に行われる。

【０４２６】

さらに、上記のアッセイは、対象から得られた第一の試験試料を使用して行うことが可能であり、第一の試験試料は、尿、血清または血漿などの１つの供給源から得られる。場合によって、上記アッセイは、次いで、対象から得られた第二の試験試料を使用して反復することが可能であり、第二の試験試料は、別の供給源から得られる。例えば、第一の試験試料が尿から得られた場合、第二の試験試料は、血清または血漿から得ることが可能である。第一の試験試料および第二の試験試料を使用してアッセイから得られた結果は、比較することが可能である。この比較は、対象における疾患または状態の状況を評価するために使用することが可能である。

【０４２７】

さらに、本開示は、所与の疾患、障害または状態に罹患しやすいまたは罹患している対象が治療から利益を得るかどうかを決定する方法にも関する。特に、本開示は、分析物に伴う診断方法および製品に関する。したがって、本明細書に記載されている「対象における疾患の治療のモニタリング」の方法は、さらに最適には治療の候補を選択または同定することも包含し得る。

【０４２８】

したがって、特定の実施形態において、本開示は、所与の疾患、障害または状態を有するまたはこれらのリスクがある対象が治療の候補であるかどうかを決定する方法も提供する。一般に、対象は、所与の疾患、障害もしくは状態のいくつかの症状を経験している者または所与の疾患、障害もしくは状態を有するもしくはこれらのリスクがあると現実に診断されている者および／または本明細書に記載されている分析物もしくはその断片の好ましくない濃度もしくは量を示す者である。

【０４２９】

この方法は、本明細書に記載されているアッセイを場合によって含み、このアッセイにおいて、分析物は、１つもしくはそれ以上の医薬組成物での（例えば、特に分析物が関与する作用機序に関連する医薬品での）、免疫抑制療法でのもしくは免疫吸収療法による対象の治療の前後で評価され、または分析物はこのような治療後に評価され、分析物の濃度もしくは量が所定のレベルに対して比較される。治療後に観察される分析物の好ましくない濃度または量は、対象が、さらにまたは続けて治療を受けることから利益を得ないことを確認するが、治療後に観察される分析物の好ましい濃度または量は、対象が、さらにまたは続けて治療を受けることから利益を得ることを確認する。この確認は、臨床研究の管理および改善された患者ケアの提供を補助する。

【０４３０】

本明細書において論じられている所与の疾患、障害または状態を評価するために使用されるときに本明細書における特定の実施形態は有利であるが、このアッセイおよびキットは、他の疾患、障害または状態において分析物を評価するために使用することが可能であることは言うまでもない。アッセイの方法は、他のマーカーのアッセイなどをも含み得る

。

【０４３１】

アッセイの方法は、所与の疾患、障害または状態を軽減する化合物を同定するために使用することも可能である。例えば、分析物を発現する細胞は、候補化合物と接触させることが可能である。化合物と接触した細胞における分析物の発現のレベルは、本明細書に記載されているアッセイの方法を使用して、対照細胞におけるレベルと比較することが可能である。

【０４３２】

Ｂ．キット

試験試料における分析物（またはその断片）の存在、量または濃度について試験試料をアッセイするためのキットも提供される。キットは、分析物（またはその断片）について試験試料をアッセイするための少なくとも１つの成分および分析物（またはその断片）について試験試料をアッセイするための説明書を含む。分析物（またはその断片）について試験試料をアッセイするための少なくとも１つの成分は、場合によって固相に固定化されている抗分析物ＤＶＤ－Ｉｇ（またはその断片、バリアントもしくはバリアントの断片）を含む組成物を含み得る。

【０４３３】

キットは、イムノアッセイ、例えば化学発光微粒子イムノアッセイにより分析物について試験試料をアッセイするための少なくとも１つの成分およびイムノアッセイ、例えば化学発光微粒子イムノアッセイにより分析物について試験試料をアッセイするための説明書を含み得る。例えば、キットは、抗分析物モノクローナル／ポリクローナル抗体（または分析物に結合することができるその断片、分析物に結合することができるそのバリアントもしくは分析物に結合することができるバリアントの断片）または抗分析物ＤＶＤ－Ｉｇ（またはその断片、バリアントもしくはバリアントの断片）（これらのどちらかが検出可能に標識され得る。）など、分析物の少なくとも１つの特異的結合パートナーを含み得る。この代わりにまたはこれに加えて、キットは、抗分析物モノクローナル／ポリクローナル抗体（または分析物に結合することができるその断片、分析物に結合することができるそのバリアントもしくは分析物に結合することができるバリアントの断片）または抗分析物ＤＶＤ－Ｉｇ（またはその断片、バリアントもしくはバリアントの断片）（これらのどちらかが固体支持体上に固定化され得る。）への結合について試験試料中のあらゆる分析物と競合することができる、検出可能に標識された分析物（または抗分析物モノクローナル／ポリクローナル抗体もしくは抗分析物ＤＶＤ－Ｉｇ（またはその断片、バリアントもしくはバリアントの断片）に結合することができるその断片）を含み得る。キットは、較正物質または対照、例えば単離または精製された分析物を含み得る。キットは、アッセイを行うための少なくとも１つの容器（例えば、管、マイクロタイタープレートまたはストリップ（これらは、例えば、第一の特異的結合パートナーですでに被覆され得る。））および／またはアッセイ緩衝液もしくは洗浄緩衝液などの緩衝液（これらのどちらか１つは濃縮溶液として提供することが可能である。）、検出可能な標識（例えば、酵素標識）用の基質溶液または停止溶液を含み得る。好ましくは、キットは、アッセイを行うために必要なすべての成分、すなわち、試薬、標準物質、緩衝液、希釈液などを含む。説明書は、紙の形態またはディスク、ＣＤ、ＤＶＤなどのコンピュータ可読形態であり得る。

【０４３４】

抗分析物抗体もしくは抗分析物ＤＶＤ－Ｉｇなどのあらゆる抗体またはトレーサーは、蛍光体、放射性部分、酵素、ビオチン／アビジン標識、発色団、化学発光標識など、本明細書に記載されている検出可能な標識を取り込むことができ、またはキットは検出可能な標識化を実施するための試薬を含み得る。抗体、較正物質および／または対照は、別々の容器に入れて提供することまたは適当なアッセイフォーマットに、例えば、マイクロタイタープレートに予め分注することが可能である。

【０４３５】

場合によって、キットは品質管理成分（例えば、感受性パネル、較正物質および陽性対

照）を含む。品質管理試薬の調製は本分野において周知であり、様々な免疫診断製品のインサートシートに記載されている。感受性パネルのメンバーは、場合によって、アッセイの性能特性を確立するために使用され、さらに場合によって、イムノアッセイキットの試薬の完全性およびアッセイの標準化の有用な指標となる。

【０４３６】

キットは、緩衝液、塩、酵素、酵素の補因子、酵素の基質、検出試薬など、診断アッセイを行うまたは品質管理の評価を促進するために必要な他の試薬も場合によって含み得る。試験試料の単離および／または処理用の緩衝液および溶液（例えば、前処理試薬）などの他の成分もキットに含まれ得る。キットは１つまたは複数の他の対照をさらに含み得る。キットの１つまたは複数の成分は凍結乾燥させることが可能であり、この場合キットは凍結乾燥された成分の再構成に適した試薬をさらに含み得る。

【０４３７】

場合によって、キットの様々な成分は必要に応じて適切な容器、例えばマイクロタイタープレートに入れて提供される。キットは試料を保持または保存するための容器（例えば、尿試料用の容器またはカートリッジ）をさらに含み得る。適当である場合、キットは、場合によって、反応ベッセル、混合ベッセルおよび試薬または試験試料の調製を促進する他の成分も含有し得る。キットは、シリンジ、ピペット、鉗子、計量スプーンなど、試験試料を得ることを補助するための１つまたは複数の器具も含み得る。

【０４３８】

検出可能な標識が少なくとも１つのアクリジニウム化合物である場合、キットは、少なくとも１つのアクリジニウム－９－カルボキサミド、少なくとも１つのアクリジニウム－９－カルボキシレートアリールエステルまたはこれらのあらゆる組合せを含み得る。検出可能な標識が少なくとも１つのアクリジニウム化合物である場合、キットは、過酸化水素の供給源、例えば緩衝液、溶液および／または少なくとも１つの塩基溶液も含み得る。所望される場合、キットは、磁気粒子、ビーズ、試験管、マイクロタイタープレート、キュベット、膜、足場分子、フィルム、濾紙、ディスクまたはチップなどの固相を含有し得る。

【０４３９】

Ｃ．キットおよび方法の適合

本明細書に記載されているイムノアッセイなどのアッセイによって試験試料における分析物の存在、量または濃度を決定するキット（またはその成分）ならびに方法は、例えば、米国特許第５，０８９，４２４号および第５，００６，３０９号に記載され、例えば、Ａｂｂｏｔｔ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ（Ａｂｂｏｔｔ　Ｐａｒｋ，ＩＬ）によってＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標）として商業的に販売されている（固相が微粒子を含むものを含めて）様々な自動化システムおよび半自動化システムにおける使用に適合させることが可能である。

【０４４０】

非自動化システム（例えば、ＥＬＩＳＡ）と比較した自動化または半自動化システム間のいくつかの相違には、第一の特異的結合パートナー（例えば、抗分析物モノクローナル／ポリクローナル抗体（またはその断片、そのバリアントもしくはそのバリアントの断片）または抗分析物ＤＶＤ－Ｉｇ（またはその断片、そのバリアントもしくはそのバリアントの断片））が付着している（どちらにしても、サンドイッチ形成および分析物の反応性が影響され得る）基質ならびに捕捉、検出および／または場合によるあらゆる洗浄ステップの長さおよびタイミングが含まれる。ＥＬＩＳＡなどの非自動化フォーマットは、試料および捕捉試薬との比較的長いインキュベーション時間（例えば、約２時間）を必要とし得るが、自動化または半自動化フォーマット（例えば、ＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標）、Ａｂｂｏｔｔ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ）は、比較的短いインキュベーション時間（例えば、ＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標）で約１８分）を有し得る。同様に、ＥＬＩＳＡなどの非自動化フォーマットは、比較的長いインキュベーション時間（例えば、約２時間）、連結試薬などの検出抗体をインキュベートし得るが、自動化または半自動化フォーマ

ット（例えば、ＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標））は、比較的短いインキュベーション時間（例えば、ＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標）で約４分）を有し得る。

【０４４１】

Ａｂｂｏｔｔ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓから入手可能な他のプラットホームには、ＡｘＳＹＭ（登録商標）、ＩＭｘ（登録商標）（例えば、米国特許第５，２９４，４０４号を参照）、ＰＲＩＳＭ（登録商標）、ＥＩＡ（ビーズ）およびＱｕａｎｔｕｍ（商標）ＩＩならびに他のプラットホームが含まれるが、これらに限定されない。さらに、アッセイ、キットおよびキットの成分は、他のフォーマットにおいて、例えば、電気化学的または他の携帯もしくはポイントオブケアアッセイシステムで使用することが可能である。本開示は、例えば、サンドイッチイムノアッセイを行う商業的Ａｂｂｏｔｔ　Ｐｏｉｎｔ　ｏｆ　Ｃａｒｅ（ｉ－ＳＴＡＴ（登録商標）、Ａｂｂｏｔｔ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ）電気化学的イムノアッセイシステムに適用可能である。免疫センサーならびに単回使用試験装置におけるこれらの製造および操作方法は、例えば、米国特許第５，０６３，０８１号、米国特許出願公開第２００３／０１７０８８１号、米国特許出願公開第２００４／００１８５７７号、米国特許出願公開第２００５／００５４０７８号および米国特許出願公開第２００６／０１６０１６４号に記載されている。

【０４４２】

特に、Ｉ－ＳＴＡＴ（登録商標）システムへの分析物アッセイの適合に関して、以下の構成が好ましい。金の電流測定用作用電極の対および銀－塩化銀基準電極を有する微細加工シリコンチップが製造される。作用電極の１つで、抗分析物モノクローナル／ポリクローナル抗体（またはその断片、そのバリアントもしくはそのバリアントの断片）または抗分析物ＤＶＤ－Ｉｇ（またはその断片、そのバリアントもしくはそのバリアントの断片）が固定化されたポリスチレンビーズ（直径０．２ｍｍ）が、電極上のパターン化されたポリビニルアルコールのポリマーコーティングに付着している。このチップは集まって、イムノアッセイに適した流体工学フォーマットを有するＩ－ＳＴＡＴ（登録商標）カートリッジになる。カートリッジの試料保持チャンバーの壁の一部に、抗分析物モノクローナル／ポリクローナル抗体（または分析物に結合することができるその断片、そのバリアントもしくはそのバリアントの断片）または抗分析物ＤＶＤ－Ｉｇ（または分析物に結合することができるその断片、そのバリアントもしくはそのバリアントの断片）（これらのどちらかが検出可能に標識され得る。）など、分析物の特異的結合パートナーを含む層が存在する。ｐ－アミノフェノールリン酸を含む水性試薬がカートリッジの流体ポーチ内にある。

【０４４３】

操作の際に、分析物を含有することが疑われる試料が試験カートリッジの保持チャンバーに添加され、カートリッジはＩ－ＳＴＡＴ（登録商標）リーダーに挿入される。分析物の特異的結合パートナーが試料中に溶解した後、カートリッジ内のポンプエレメントが、チップを含有する導管に試料を押し入れる。ここで、これは振動してサンドイッチの形成を促進する。アッセイの最後から２番目のステップにおいて、流体がポーチから押し出され、導管に入ってチップの試料を洗浄し、廃棄チャンバーに入る。アッセイの最後のステップにおいて、アルカリホスファターゼ標識は、ｐ－アミノフェノールリン酸と反応してリン酸基を切断し、遊離したｐ－アミノフェノールを作用電極において電気化学的に酸化させる。測定された電流を基礎として、リーダーは、埋め込まれたアルゴリズムおよび工場で決定された較正曲線によって、試料における分析物の量を計算することができる。

【０４４４】

本明細書に記載されている方法およびキットは、イムノアッセイを実施するための他の試薬および方法を必然的に包含することはさらに言うまでもない。例えば、本分野において知られているような様々な緩衝液ならびに／または例えば洗浄に、複合体希釈液、微粒子希釈液および／もしくは較正物質希釈液として使用されるように容易に調製されもしくは最適化され得るような様々な緩衝液が包含される。例示的な複合体希釈液は、特定のキット（Ａｂｂｏｔｔ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ａｂｂｏｔｔ　Ｐａｒｋ，ＩＬ）にお

いて使用され、２－（Ｎ－モルホリノ）エタンスルホン酸（ＭＥＳ）、塩、タンパク質遮断剤、抗微生物剤および洗浄剤を含有するＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標）複合体希釈液である。例示的な較正物質希釈液は、特定のキット（Ａｂｂｏｔｔ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ａｂｂｏｔｔ　Ｐａｒｋ，ＩＬ）において使用され、ＭＥＳ、他の塩、タンパク質遮断剤および抗微生物剤を含有する緩衝液を含むＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標）ヒト較正物質希釈液である。さらに、２００８年１２月３１日に出願された米国特許出願第６１／１４２，０４８号に記載されているように、改善されたシグナルの発生は、例えばＩ－Ｓｔａｔカートリッジフォーマットにおいて、シグナル増幅物質としてシグナル抗体に連結された核酸配列を使用して得ることが可能である。

【実施例】

【０４４５】

実施例１：ＤＶＤ－Ｉｇの設計、構築、および分析

実施例１．１：親抗体およびＤＶＤ－Ｉｇを特定し、特徴付けるために使用させるアッセイ

以下のアッセイは、別段の記載がない限り、親抗体およびＤＶＤ－Ｉｇを特定し、特徴付けるために、実施例全体で使用された。

【０４４６】

実施例１．１．１：親抗体およびＤＶＤ－Ｉｇのそれらの（複数の）標的抗原の結合および親和性を決定するために使用されるアッセイ

実施例１．１．１．Ａ：直接結合ＥＬＩＳＡ

所望の標的抗原に結合する抗体をスクリーニングするための酵素結合免疫吸着検定法を以下のように行った。リン酸緩衝生理食塩水（１０×ＰＢＳ、Ａｂｂｏｔｔ　Ｂｉｏｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｃｅｎｔｅｒ，Ｍｅｄｉａ　Ｐｒｅｐ＃　ＭＰＳ－０７３，Ｗｏｒｃｅｓｔｅｒ，ＭＡ）中の所望の標的抗原（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｍｉｎｎｅａｐｏｌｉｓ，ＭＮ）または所望の標的抗原細胞外ドメイン／ＦＣ融合タンパク質（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｍｉｎｎｅａｐｏｌｉｓ，ＭＮ）またはモノクローナルマウス抗ポリヒスチジン抗体（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ　＃　ＭＡＢ０５０，Ｍｉｎｎｅａｐｏｌｉｓ，ＭＮ）の１０μｇ／ｍＬの１００μＬ／ウェルで、一晩４℃にて、Ｈｉｇｈ　ｂｉｎｄ　ＥＬＩＳＡプレート（Ｃｏｒｎｉｎｇ　Ｃｏｓｔａｒ　＃３３６９，Ａｃｔｏｎ，ＭＡ）を被覆した。０．０２％Ｔｗｅｅｎ　２０を含むＰＢＳでプレートを４回洗浄した。室温で１／２時間、３００μＬ／ウェルのブロッキング溶液（無脂肪ドライミルク粉末、様々な小売業者、ＰＢＳ中に２％になるように希釈）の添加によってプレートをブロッキングした。ブロッキング後、０．０２％Ｔｗｅｅｎ　２０を含むＰＢＳでプレートを４回洗浄した。

【０４４７】

あるいは、上記モノクローナルマウス抗ポリヒスチジン抗体で被覆されたＥＬＩＳＡプレートに、ヒスチジン（Ｈｉｓ）タグ化された所望の標的抗原（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｍｉｎｎｅａｐｏｌｉｓ，ＭＮ）の１０μｇ／ｍＬの１００μＬ／ウェルを添加し、室温にて１時間インキュベートした。０．０２％Ｔｗｅｅｎ２０を含むＰＢＳでウェルを４回洗浄した。

【０４４８】

上述のようにブロッキング溶液中に希釈された抗体またはＤＶＤ－Ｉｇ調製物１００μＬを、上述のように調製された、所望の標的抗原プレートまたは所望の標的抗原／ＦＣ融合プレートまたは抗ポリヒスチジン抗体／Ｈｉｓタグ化された所望の標的抗原プレートに添加し、室温にて１時間インキュベートした。０．０２％Ｔｗｅｅｎ２０を含むＰＢＳでウェルを４回洗浄した。

【０４４９】

所望の標的抗原プレートまたは抗ポリヒスチジン抗体／ヒスチジンタグ化された所望の標的抗原プレートの各ウェルに、ヤギ抗ヒトＩｇＧ－ＦＣ特異的ＨＲＰ連結抗体（Ｓｏｕｔｈｅｒｎ　Ｂｉｏｔｅｃｈ　＃　２０４０－０５，Ｂｉｒｍｉｎｇｈａｍ，ＡＬ）１０ｎｇ／ｍＬの１００μＬを添加した。あるいは、所望の標的抗原／ＦＣ融合プレートの各

ウェルに、ヤギ抗ヒトＩｇＧ－カッパ軽鎖特異的ＨＲＰ連結抗体（Ｓｏｕｔｈｅｒｎ Ｂｉｏｔｅｃｈ ＃ ２０６０－０５ Ｂｉｒｍｉｎｇｈａｍ，ＡＬ）１０ｎｇ／ｍＬの１００μＬを添加し、室温で１時間インキュベートした。０．０２％Ｔｗｅｅｎ ２０を含むＰＢＳでプレートを４回洗浄した。

【０４５０】

各ウェルに、改良されたＴＭＢ溶液１００μＬ（Ｎｅｏｇｅｎ Ｃｏｒｐ．＃３０８１７７，Ｋ Ｂｌｕｅ，Ｌｅｘｉｎｇｔｏｎ，ＫＹ）を添加し、室温にて１０分間インキュベートした。１Ｎ硫酸５０μＬの添加によって、反応を停止させた。４５０ｎｍの波長で、プレートを分光学的に読み取った。

【０４５１】

表３は、直接結合アッセイに用いた抗原のリストを含む。

【０４５２】

表４は、直接結合ＥＬＩＳＡアッセイにおいて試験された、それらの抗体およびＤＶＤ－Ｉｇ構築物についてのＥＣ５０（ｎＭ）として表された結合データを含む。

【０４５３】

直接結合ＥＬＩＳＡでは、おそらく標的抗原上の抗体結合部位が「マスクされていた」ため、または抗原がプラスチック表面に被膜されたときに「歪んでいた」ために、結合が観察されない場合もあった。ＤＶＤ－Ｉｇがその標的に結合することができないのは、直接結合ＥＬＩＳＡフォーマットによるＤＶＤ－Ｉｇに負わされた立体的制限に起因する場合もある。直接結合ＥＬＩＳＡフォーマットにおいて結合しなかった親抗体およびＤＶＤ－Ｉｇは、ＦＡＣＳ、Ｂｉａｃｏｒｅまたはバイオアッセイなどの他のＥＬＩＳＡフォーマットにおいては標的抗原に結合した。また、ＤＶＤ－Ｉｇの非結合も、前に示されたように、ＤＶＤ－Ｉｇの２つの可変ドメイン間のリンカー長を調整することにより回復された。

【０４５４】

実施例１．１．１．Ｂ：捕捉ＥＬＩＳＡ

抗ヒトＦｃ抗体（ＰＢＳ中５μｇ／ｍｌ、Ｊａｃｋｓｏｎ Ｉｍｍｕｎｏｒｅｓｅａｒｃｈ，Ｗｅｓｔ Ｇｒｏｖｅ，ＰＡ）とともに、ＥＬＩＳＡプレート（Ｎｕｎｃ，ＭａｘｉＳｏｒｐ，Ｒｏｃｈｅｓｔｅｒ，ＮＹ）を一晩４℃にてインキュベートする。洗浄緩衝液（０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０を含むＰＢＳ）中でプレートを３回洗浄し、ブロッキング緩衝液（１％ＢＳＡを含むＰＢＳ）中において、２５℃にて１時間ブロッキングする。ウェルを３回洗浄し、０．１％ＢＳＡを含むＰＢＳ中の各抗体またはＤＶＤ－Ｉｇの連続希釈をウェルに添加し、１時間２５℃にてインキュベートする。ウェルを３回洗浄し、ビオチン化された抗原（２ｎＭ）をプレートに添加し、１時間２５℃にてインキュベートする。ウェルを３回洗浄し、次に、ストレプトアビジン－ＨＲＰ（ＫＰＬ ＃４７４－３０００，Ｇａｉｔｈｅｒｓｂｕｒｇ，ＭＤ）とともに、１時間２５℃にてインキュベートする。ウェルを３回洗浄し、ウェルあたりＵＬＴＲＡ－ＴＭＢ ＥＬＩＳＡ（Ｐｉｅｒｃｅ，Ｒｏｃｋｆｏｒｄ，ＩＬ）の１００μＬを添加する。発色後、１Ｎ ＨＣＬを用いて反応を停止させ、４５０ｎＭでの吸光度を測定する。

【０４５５】

実施例１．１．１．Ｃ：ＢＩＡｃｏｒｅ技術を用いた親和性測定

【０４５６】

【表３】

表 **3: Biacore** 分析に用いた試薬

アッセイ	抗原	製造業者の記号表示	製造業者	カタログ#
	NGF	組換えヒトβ-NGF	R&D systems	256-GF
	TNFα	組換えヒト TNF-α/TNFSF1A	R&D systems	210-TA
	SOST	組換えヒト SOST	R&D systems	1406-ST

ECD = 細胞外ドメイン
/FC = 抗原/IgG FC ドメイン融合タンパク質

【０４５７】

ＢＩＡＣＯＲＥ法：

ＢＩＡＣＯＲＥアッセイ（Ｂｉａｃｏｒｅ，Ｉｎｃ，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，ＮＪ）は、結合（ｏｎ－ｒａｔｅ）定数および解離（ｏｆｆ－ｒａｔｅ）定数の反応速度測定を用いて抗体またはＤＶＤ－Ｉｇの親和性を測定する。標的抗原（例えば、精製された組み換え標的抗原）への抗体またはＤＶＤ－Ｉｇの結合は、Ｂｉａｃｏｒｅ（登録商標）１０００または３０００装置（Ｂｉａｃｏｒｅ（登録商標）ＡＢ，Ｕｐｐｓａｌａ，Ｓｗｅｄｅｎ）により、２５℃で稼働しているＨＢＳ－ＥＰ（１０ｍＭのＨＥＰＥＳ［ｐＨ７．４］、１５０ｍＭのＮａＣｌ、３ｍＭのＥＤＴＡ、および０．００５％サーファクタントＰ２０）を用いて表面プラズモン共鳴に基づく測定によって決定される。すべての化学物質は、Ｂｉａｃｏｒｅ（登録商標）ＡＢ（Ｕｐｐｓａｌａ，Ｓｗｅｄｅｎ）から入手し、または他には本明細書に記載される別の供給元から入手した。例えば、１０ｍＭ酢酸ナトリウム（ｐＨ４．５）中に希釈された、約５０００ＲＵのヤギ抗マウスＩｇＧ、（Ｆｃγ）、断片特異的なポリクローナル抗体（Ｐｉｅｒｃｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ Ｉｎｃ，Ｒｏｃｋｆｏｒｄ，ＩＬ）は、製造業者の使用説明書に従って標準的なアミンカップリングキットおよび２５μｇ／ｍｌでの操作を用いてＣＭ５研究等級のバイオセンサーチップ全体に直接固定化される。バイオセンサー表面上の未反応部分をエタノールアミンを用いてブロックする。フローセル２および４において修飾されたカルボキシメチルデキストラン表面を反応表面として使用する。フローセル１および３におけるヤギ抗マウスＩｇＧなしの未修飾のカルボキシメチルデキストランを基準表面として使用する。反応速度分析のために、Ｂｉａｅｖａｌｕａｔｉｏｎ ４．０．１ソフトウェアを用いて、８個すべての注入物の結合および解離相に対して、１：１ラングミュア（Ｌａｎｇｍｕｉｒ）結合モデルから誘導された速度方程式を同時にフィッティングさせた（グローバルフィット分析を使用）。ヤギ抗マウスＩｇＧ特異的反応表面の全体で捕捉するために、ＨＥＰＥＳ緩衝生理食塩水中に、精製された抗体またはＤＶＤ－Ｉｇ試料を希釈する。リガンドとして捕捉されるべき抗体またはＤＶＤ－Ｉｇ（２５μｇ／ｍｌ）を５μｌ／分の流速で反応マトリックス全体に注入する。結合速度定数および解離結合定数のk_{on}（$M^{-1}s^{-1}$）およびk_{off}（s^{-1}）は、２５μｌ／分の連続的流速下で決定される。１０－２００ｎＭの範囲の異なる抗原濃度にて速度論結合測定を行うことによって速度定数を導く。次に、以下の式：$K_D = k_{off} / k_{on}$によって、速度論的速度定数から抗体またはＤＶＤ－Ｉｇおよび標的抗原間の反応の平衡解離定数（Ｍ）を計算する。結合を時間の関数として記録し、速度論的速度定数を計算する。このアッセイでは、$10^6 M^{-1}s^{-1}$程度に速い速度定数、および$10^{-6} s^{-1}$程度に遅い解離定数を測定することができる。

【０４５８】

【表４】

表 **4:** 親抗体および **DVD** 構築物の **BIACORE** 分析

親抗体または **DVD-Ig ID**	**N** 末端可変ドメイン **(VD)**	**C** 末端可変ドメイン **(VD)**	k_{on} **(M-1s-1)**	k_{off} **(s-1)**	K_D **(M)**
AB213	TNF (配列 2)		3.23E+06	1.08E-04	3.35E-11
AB022	SOST		9.68E+06	3.96E-04	4.08E-11
DVD1454	SOST		1.00E+07	8.60E-04	8.40E-11
DVD1454		TNF (配列 2)	2.30E+05	4.90E-05	2.10E-10
AB213	TNF (配列 2)		3.23E+06	1.08E-04	3.35E-11
AB020	NGF		6.06E+05	4.08E-06	6.73E-12
DVD1460	NGF		2.30E+06	2.00E-06	8.50E-13
DVD1460		TNF (配列 2)	1.40E+05	3.60E-05	2.60E-10
AB213	TNF (配列 2)		3.23E+06	1.08E-04	3.35E-11
DVD1466	LPA	TNF (配列 2)	1.60E+05	6.30E-05	3.90E-10
AB017	TNF (配列 1)		1.61E+06	1.29E-04	7.99E-11
DVD1471	TNF (配列 1)	LPA	2.20E+06	3.80E-05	1.80E-11
DVD1472	LPA	TNF (配列 1)	2.90E+05	1.60E-04	5.50E-10
AB217	TNF (配列 5)		1.85E+06	5.04E-05	2.72E-11
DVD1473	TNF (配列 5)	PGE2	2.60E+06	4.40E-05	1.70E-11
AB217	TNF (配列 5)		1.85E+06	5.04E-05	2.72E-11
AB022	SOST		9.68E+06	3.96E-04	4.08E-11
DVD1475	TNF (配列 5)		2.70E+06	3.60E-05	1.30E-11
DVD1475		SOST	8.10E+05	7.30E-04	9.00E-10
AB217	TNF (配列 5)		1.85E+06	5.04E-05	2.72E-11
AB020	NGF		6.06E+05	4.08E-06	6.73E-12
DVD1477	TNF (配列 5)		2.50E+06	3.80E-05	1.50E-11
DVD1477		NGF	1.60E+05	<1.0E-06	<6.3E-12
DVD1478	NGF		2.40E+06	6.00E-06	2.50E-12
DVD1478		TNF (配列 5)	1.50E+05	1.50E-05	1.00E-10
AB217	TNF (配列 5)		1.85E+06	5.04E-05	2.72E-11
DVD1479	TNF (配列 5)	LPA	2.40E+06	4.10E-05	1.70E-11
DVD1480	LPA	TNF (配列 5)	1.30E+05	3.40E-05	2.60E-10
AB218	TNF (配列 6)		1.79E+06	5.15E-05	2.88E-11
DVD1481	TNF (配列 6)	PGE2	2.60E+06	2.40E-05	8.90E-12
DVD1482	PGE2	TNF (配列 6)	1.60E+05	1.50E-05	9.20E-11
AB218	TNF (配列 6)		1.79E+06	5.15E-05	2.88E-11
AB022	SOST		9.68E+06	3.96E-04	4.08E-11
DVD1483	TNF (配列 6)		2.80E+06	3.30E-05	1.20E-11
DVD1483		SOST	1.10E+06	8.30E-04	7.80E-10
AB218	TNF (配列 6)		1.79E+06	5.15E-05	2.88E-11
AB020	NGF		6.06E+05	4.08E-06	6.73E-12
DVD1485	TNF (配列 6)		2.10E+06	3.60E-05	1.70E-11
DVD1485		NGF	1.00E+05	<1.0E-06	<1.0E-11
AB218	TNF (配列 6)		1.79E+06	5.15E-05	2.88E-11
DVD1487	TNF (配列 6)	LPA	1.80E+06	2.60E-05	1.40E-11
DVD1488	LPA	TNF (配列 6)	2.30E+05	1.90E-05	8.40E-11

親抗体または DVD-Ig ID	N 末端可変ドメイン (VD)	C 末端可変ドメイン (VD)	k_{on} (M-1s-1)	k_{off} (s-1)	K_D (M)
AB213	TNF (配列 2)		3.23E+06	1.08E-04	3.35E-11
DVD1490	PGE2	TNF (配列 2)	5.00E+05	6.10E-05	1.2E-10
AB213	TNF (配列 2)		3.23E+06	1.08E-04	3.35E-11
AB022	SOST		9.68E+06	3.96E-04	4.08E-11
DVD1495	TNF (配列 2)		2.50E+06	5.40E-05	2.10E-11
DVD1495		SOST	4.40E+04	9.50E-04	2.20E-08
AB213	TNF (配列 2)		3.23E+06	1.08E-04	3.35E-11
AB020	NGF		6.06E+05	4.08E-06	6.73E-12
DVD1502	NGF		2.50E+06	<1.0E-06	<4.0E-13
DVD1502		TNF (配列 2)	1.80E+05	5.50E-05	3.00E-10
AB213	TNF (配列 2)		3.23E+06	1.08E-04	3.35E-11
DVD1508	LPA	TNF (配列 2)	2.50E+05	5.00E-05	2.00E-10
AB017	TNF (配列 1)		1.61E+06	1.29E-04	7.99E-11
DVD1514	LPA	TNF (配列 1)	3.30E+05	6.70E-05	2.00E-10
AB217	TNF (配列 5)		1.85E+06	5.04E-05	2.72E-11
DVD1515	TNF (配列 5)	PGE2	3.10E+06	3.70E-05	1.20E-11
AB217	TNF (配列 5)		1.85E+06	5.04E-05	2.72E-11
AB022	SOST		9.68E+06	3.96E-04	4.08E-11
DVD1517	TNF (配列 5)		2.60E+06	4.70E-05	1.80E-11
DVD1517		SOST	8.90E+04	5.00E-04	5.50E-09
AB217	TNF (配列 5)		1.85E+06	5.04E-05	2.72E-11
AB020	NGF		6.06E+05	4.08E-06	6.73E-12
DVD1519	TNF (配列 5)		2.10E+06	4.20E-05	2.00E-11
DVD1519		NGF	1.10E+05	<1.0E-06	<1.0E-11
DVD1520	NGF		2.70E+06	9.30E-06	3.40E-12
DVD1520		TNF (配列 5)	1.10E+06	4.40E-06	3.80E-12
AB218	TNF (配列 6)		1.79E+06	5.15E-05	2.88E-11
DVD1523	TNF (配列 6)	PGE2	2.20E+06	2.00E-05	9.10E-12
DVD1524	PGE2	TNF (配列 6)	1.00E+05	1.70E-06	1.70E-11
AB218	TNF (配列 6)		1.79E+06	5.15E-05	2.88E-11
AB022	SOST		9.68E+06	3.96E-04	4.08E-11
DVD1525	TNF (配列 6)		2.00E+06	3.00E-05	1.50E-11
DVD1525		SOST	9.10E+04	8.90E-04	9.80E-09
AB218	TNF (配列 6)		1.79E+06	5.15E-05	2.88E-11
AB020	NGF		6.06E+05	4.08E-06	6.73E-12
DVD1527	TNF (配列 6)		2.30E+06	4.00E-05	1.70E-11
DVD1527		NGF	1.00E+05	<1.0E-06	<1.0E-11
DVD1528	NGF		2.40E+06	7.30E-06	3.00E-12
DVD1528		TNF (配列 6)	1.70E+05	9.40E-06	5.60E-11
AB218	TNF (配列 6)		1.79E+06	5.15E-05	2.88E-11
DVD1529	TNF (配列 6)	LPA	2.50E+06	2.60E-05	1.00E-11
DVD1530	LPA	TNF (配列 6)	8.70E+04	1.60E-06	1.90E-11

【０４５９】

実施例１．１．２：親抗体およびＤＶＤ－Ｉｇの機能的活性を決定するために使用されるアッセイ

実施例１．１．２．Ａ：サイトカインバイオアッセイ

標的サイトカインまたは成長因子生物活性を阻害または中和する抗サイトカインまたは抗成長因子親抗体もしくは抗サイトカインまたは抗成長因子配列を含むＤＶＤ－Ｉｇの能力は、抗体またはＤＶＤ－Ｉｇの阻害可能性を決定することにより分析される。例えば、ＩＬ－４を媒介したＩｇＥ産生を阻害する抗ＩＬ－４抗体の能力を用いることができる。例えば、ヒト未感作Ｂ細胞をそれぞれ末梢血から単離し、フィコール－パック密度遠心分離によって軟膜を単離し、その後、ヒトｓＩｇＤ　ＦＩＴＣ標識されたヤギＦ（ａｂ）２抗体に特異的なＭＡＣＳビーズ（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃｈ、Ｂｅｒｇｉｓｃｈ　Ｇｌａｄｂａｃｈ、Ｇｅｒｍａｎｙ）、続く抗ＦＩＴＣ　ＭＡＣＳビーズを用いた磁気分離により単離した。磁気的に分類された未感作Ｂ細胞は、ＸＶ１５中に3×10^5個の細胞／ｍｌに調整され、プレートの中心に６×６アレイの９６ウェルプレートのウェルあたり１００μｌを播種し、３７℃にて１０日間の培養中、５％CO_2の存在下、ウェルを満たしたＰＢＳによって取り囲まれた。試験されるべき抗体ごとに１プレートを各々調製し、誘導していない対照および誘導される対照、ならびに７μｇ／ｍｌから開始し、５０μｌの４倍濃縮の前希釈に添加された２９ｎｇ／ｍｌの最終濃度まで３倍希釈して行う抗体力価の５点測定の繰り返しの各３ウェルを含む。ＩｇＥ産生を誘導するために、各５０μｌの２０ｎｇ／ｍｌのｒｈＩＬ－４＋最終濃度０．５μｇ／ｍｌの抗ＣＤ４０モノクローナル抗体（Ｎｏｖａｒｔｉｓ、Ｂａｓｅｌ、Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）を各ウェルに添加し、標準のサンドイッチＥＬＩＳＡ法によって培養期間の終わりにＩｇＥ濃度を決定した。

【０４６０】

実施例１．１．２．Ｂ：サイトカイン放出アッセイ

サイトカイン放出を引き起こす親抗体またはＤＶＤ－Ｉｇの能力を分析する。３人の健常ドナーから静脈穿刺によってバキュテナー管に末梢血を採取する。全血をＲＰＭＩ－１６４０培地を用いて１：５に希釈し、２４ウェル組織培養プレートに０．５ｍＬ／ウェルで播種する。抗サイトカイン抗体（例えば、抗ＩＬ－４）をＲＰＭＩ－１６４０中に希釈し、０．５ｍＬ／ウェルでプレートに入れ、最終濃度を２００、１００、５０、１０、および１μｇ／ｍＬにする。培養プレート中の全血の最終希釈は１：１０である。ＬＰＳおよびＰＨＡを添加し、サイトカイン放出の正の対照として、２μｇ／ｍＬおよび５μｇ／ｍＬの最終濃度にてウェルを分ける。ポリクローナルヒトＩｇＧを負の対照抗体として用いる。実験は２点測定で行う。３７℃、５％CO_2にてプレートをインキュベートする。２４時間後、ウェルの内容物を試験管に移し、５分間、１２００ｒｐｍにて遠心する。細胞不含の上清を回収し、サイトカインアッセイ用に凍結する。プレートおよびこれらの管に残った細胞を０．５ｍＬの溶解液で溶解し、－２０℃に置き、融解する。０．５ｍＬの培地を加え（体積を細胞不含の上清試料と同じレベルにするため）、細胞調製物を回収し、サイトカインアッセイ用に凍結する。細胞不含の上清および細胞溶解物は、ＥＬＩＳＡによって、サイトカインレベルについて、例えば、ＩＬ－８、ＩＬ－６、ＩＬ－１β、ＩＬ－１ＲＡ、またはＴＮＦ－αのレベルについてアッセイされる。

【０４６１】

実施例１．１．２．Ｃ：サイトカイン交差反応性研究

他のサイトカインと交差反応する、目的（複数の）サイトカインに対する抗サイトカイン親抗体またはＤＶＤ－Ｉｇの能力を分析する。親抗体またはＤＶＤ－ＩｇをＢｉａｃｏｒｅバイオセンサーマトリックスに固定化する。抗ヒトＦｃ　ｍＡｂは、最初に、デキストランマトリックス上のカルボキシル基を１００ｍＭのＮ－ヒドロキシスクシンイミド（ＮＨＳ）および４００ｍＭのＮ－エチル－Ｎ’－（３－ジメチルアミノプロピル）－カルボジイミド塩酸塩（ＥＤＣ）を用いて活性化することによって、デキストランマトリックスに遊離アミン基を介して共有結合される。酢酸ナトリウム（ｐＨ４．５）に希釈された、２５μｇ／ｍＬの濃度の各抗体またはＤＶＤ－Ｉｇ調製物の約５０μＬを、活性化されたバイオセンサーの全体に注入し、タンパク質の遊離アミンを、活性化されたカルボキシル基に直接結合させる。典型的には、５０００共鳴単位（ＲＵ）を固定化する。未反応の

マトリックスＥＤＣ－エステルは、１Ｍエタノールアミンの注入により不活性化される。第二のフローセルは、標準のアミンカップリングキットを用いて、ヒトＩｇＧ１／Ｋを固定化することによって、基準標準物質として調製される。ＳＰＲ測定はＣＭバイオセンサーチップを用いて行われる。バイオセンサー表面上で分析されるべきすべての抗原は、０．０１％のＰ２０を含むＨＢＳ－ＥＰ泳動緩衝液中に希釈される。

【０４６２】

サイトカイン結合特異性を調べるために、目的の過剰のサイトカイン（１００ｎＭ、例えば、可溶性組み換えヒト）は、抗サイトカイン親抗体またはＤＶＤ－Ｉｇを固定化したバイオセンサー表面の全体に注入される（５分の接触時間）。目的のサイトカインの注入前および直後に、ＨＢＳ－ＥＰ緩衝液を単独で各フローセルに流す。基準と、サイトカイン注入の完了後の約３０秒に対応する時点との間のシグナルの正味の差異は、最終の結合値を表すために採用される。再度、共鳴を共鳴単位で測定する。結合事象が観察される場合には、次の試料の注入前に１０ｍＭのＨＣｌを用いてバイオセンサーマトリックスを再生し、それ以外は、泳動緩衝液をマトリックスの全体に注入した。また、ヒトサイトカイン（例えば、ＩＬ－１α、ＩＬ－１β、ＩＬ－２、ＩＬ－３、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－６、ＩＬ－７、ＩＬ－８、ＩＬ－９、ＩＬ－１０、ＩＬ－１１、ＩＬ－１２、ＩＬ－１３、ＩＬ－１５、ＩＬ－１６、ＩＬ－１７、ＩＬ－１８、ＩＬ－１９、ＩＬ－２０、ＩＬ－２２、ＩＬ－２３、ＩＬ－２７、ＴＮＦ－α、ＴＮＦ－βおよびＩＦＮ－γ）は、任意の非特異的な結合バックグラウンドを記録するために、固定化されたマウスＩｇＧ１／Ｋ基準表面の全体に同時に注入される。基準および反応表面を調製することによって、Ｂｉａｃｏｒｅは、屈折率変化および注入ノイズの大部分を取り除くために、反応表面データから基準表面データを自動的に差し引くことができる。このようにして、抗サイトカイン抗体またはＤＶＤ－Ｉｇの結合反応に起因する真の結合応答を解明することができる。

【０４６３】

固定化された抗サイトカイン抗体の全体に目的のサイトカインを注入した場合、有意な結合が観察される。１０ｍＭのＨＣｌによる再生は、すべての非共有的に結合したタンパク質を完全に除去する。センサーグラムの試験は、可溶性サイトカインに結合する、固定化された抗サイトカイン抗体またはＤＶＤ－Ｉｇが強力であり、強固であることを示す。目的のサイトカインを用いた場合に予想される結果を確認した後、残りの組み換えヒトサイトカイン集団は、各抗体またはＤＶＤ－Ｉｇについて別々に試験される。各注入サイクルについてサイトカインに結合または未結合の抗サイトカイン抗体またはＤＶＤ－Ｉｇの量を記録する。３つの独立した実験からの結果を用いて、各抗体またはＤＶＤ－Ｉｇの特異性プロファイルを決定する。目的のサイトカインに結合することが予想される抗体またはＤＶＤ－Ｉｇ、および任意の他のサイトカインに結合しない抗体またはＤＶＤ－Ｉｇを選択する。

【０４６４】

実施例１．１．２．Ｄ：組織交差反応性

組織交差反応性研究は３段階で行い、第一段階においては３２組織の連結切片が含まれ、第二段階においては最大３８組織が含まれ、第三段階においては以下に記載される３名の無関係な成人由来の追加組織が含まれる。研究は、典型的には、２つの投薬レベルにて行われる。

【０４６５】

段階１：ヒト組織（剖検または生検で得られた１名のヒトドナー由来の３２組織（典型的には：副腎、消化管、前立腺、膀胱、心臓、骨格筋、血球、腎臓、皮膚、骨髄、肝臓、脊髄、乳房、肺、脾臓、小脳、リンパ節、睾丸、大脳皮質、卵巣、胸腺、結腸、膵臓、甲状腺、内皮、副甲状腺、尿管、眼、下垂体、子宮、卵管および胎盤））の連結切片（約５μｍ）を固定し、オブジェクトグラス上で乾燥させる。組織切片のペルオキシダーゼ染色は、アビジンビオチン系を用いて行われる。

【０４６６】

段階２：ヒト組織（剖検または生検で得られた３人の無関係な成人由来の３８組織（副

腎、血液、血管、骨髄、小脳、大脳、頸部、食道、眼、心臓、腎臓、大腸、肝臓、肺、リンパ節、乳房乳腺、卵巣、卵管、膵臓、副甲状腺、末梢神経、下垂体、胎盤、前立腺、唾液腺、皮膚、小腸、脊髄、脾臓、胃、横紋筋、睾丸、胸腺、甲状腺、扁桃腺、尿管、膀胱、および子宮を含む））の連結切片（約５μｍ）を固定し、オブジェクトグラス上で乾燥させる。組織切片のペルオキシダーゼ染色は、アビジン－ビオチン系を用いて行われる。

【０４６７】

段階３：カニクイザル組織（剖検または生検で得られた３匹の無関係な成熟サル由来の３８組織（副腎、血液、血管、骨髄、小脳、大脳、頸部、食道、眼、心臓、腎臓、大腸、肝臓、肺、リンパ節、乳房乳腺、卵巣、卵管、膵臓、副甲状腺、末梢神経、下垂体、胎盤、前立腺、唾液腺、皮膚、小腸、脊髄、脾臓、胃、横紋筋、睾丸、胸腺、甲状腺、扁桃腺、尿管、膀胱、および子宮を含む））の連結切片（約５μｍ）を固定し、オブジェクトグラス上で乾燥させる。組織切片のペルオキシダーゼ染色は、アビジン－ビオチン系を用いて行われる。

【０４６８】

抗体またはＤＶＤ－Ｉｇを二次ビオチン化抗ヒトＩｇＧとともにインキュベートし、免疫複合体となる。最終濃度が２および１０μｇ／ｍＬの抗体またはＤＶＤ－Ｉｇである免疫複合体は、オブジェクトグラス上の組織切片に添加され、次に、組織切片を３０分間、アビジン－ビオチンペルオキシダーゼキットを用いて反応させる。その後、ペルオキシダーゼ反応の基質であるＤＡＢ（３，３’－ジアミノベンジジン）を４分間、組織染色に適用する。抗原－セファロースビーズを正の対照組織切片として使用する。標的抗原およびヒト血清ブロッキング研究は追加対照としての役割を果たす。最終濃度が２および１０μｇ／ｍＬの抗体またはＤＶＤ－Ｉｇである免疫複合体は、標的抗原（最終濃度１００μｇ／ｍｌ）またはヒト血清（最終濃度１０％）とともに３０分間プレインキュベートされ、次に、オブジェクトグラス上の組織切片に添加され、その後、組織切片は、３０分間、アビジン－ビオチン－ペルオキシダーゼキットを用いて反応させる。その後、ペルオキシダーゼ反応の基質であるＤＡＢ（３，３’－ジアミノベンジジン）を４分間、組織染色に適用する。

【０４６９】

任意の特異的染色は、問題となっている標的抗原の既知の発現に基づいて、予想される反応性（例えば、抗原発現と一致する）または予想されない反応性のいずれかであると判断される。特異的であると判断された任意の染色は、強度および頻度について記録される。段階２（ヒト組織）と段階３（カニクイザル組織）との間の組織染色は、類似であるまたは異なっていると判断される。

【０４７０】

実施例１．１．２．Ｄ：ｈｕＴＮＦαの中和ｈｕＴＮＦαの中和

半コンフルエントな密度になるまでＬ９２９細胞を増殖させ、０．０５％トリプシン（Ｇｉｂｃｏ＃２５３００）を用いて回収した。ＰＢＳで細胞を洗浄し、計数し、４μｇ／ｍＬのアクチノマイシンＤを含むアッセイ培地中に１Ｅ６細胞／ｍＬで再懸濁した。５０μＬの体積および５Ｅ４細胞／ウェルで９６ウェルプレート（Ｃｏｓｔａｒ＃３５９９）に細胞を播種した。アッセイ培地中に４倍濃度になるようにＤＶＤ－Ｉｇ商標および対照ＩｇＧを希釈し、１：３連続希釈物を調製した。アッセイ培地中に４００ｐｇ／ｍＬになるようにｈｕＴＮＦαを希釈した。１：２の希釈スキームで、抗体試料（２００μＬ）をｈｕＴＮＦα（２００μＬ）に添加し、室温で０．５時間インキュベートした。

【０４７１】

１００ｐｇ／ｍＬのｈｕＴＮＦαおよび２５ｎＭから０．０００１４ｎＭのＤＶＤ－Ｉｇ商標の最終濃度に対して、ＤＶＤ－Ｉｇ商標／ｈｕＴＮＦα溶液を１００μＬで播種された細胞に添加した。３７℃にて５％CO_2で２０時間、プレートをインキュベートした。生存率を定量するために、ウェルから１００μＬを取り除き、１０μＬのＷＳＴ－Ｉ試薬（Ｒｏｃｈｅ　ｃａｔ＃１１６４４８０７００１）を添加した。プレートをアッセイ条件下で３．５時間インキュベートし、５００×ｇで遠心し、ＥＬＩＳＡプレート（Ｃｏｓ

ｔａｒ　ｃａｔ＃３３６９）に７５μＬの上清を移した。Ｓｐｅｃｔｒｏｍａｘ　１９０ＥＬＩＳＡプレートリーダー上でＯＤ４２０から６００ｎｍでプレートを読み取った。いくつかのアッセイからの平均ＥＣ５０は表５に含められる。

【０４７２】

【表５】

表 **5: huTNF**α**親抗体および DVD-Ig 構築物を用いた huTNF**α**中和アッセイ**

親抗体または DVD-Ig ID	N 末端可変ドメイン (VD)	C 末端可変ドメイン (VD)	N 末端 VD TNFα 中和アッセイ EC50 nM	C 末端 VD TNFα 中和アッセイ EC50 nM
AB017	TNF (配列 1)		0.0461	
AB213	TNF (配列 2)		0.124	
AB217	TNF (配列 5)		0.0762	
AB218	TNF (配列 6)		0.045	
DVD1448	PGE2	TNF (配列 2)	-	1.388
DVD1454	SOST	TNF (配列 2)	-	0.951
DVD1466	LPA	TNF (配列 2)	-	29.92
DVD1471	TNF (配列 1)	LPA	0.0153	-
DVD1472	LPA	TNF (配列 1)	-	0.732
DVD1473	TNF (配列 5)	PGE2	0.011	-
DVD1474	PGE2	TNF (配列 5)	-	0.273
DVD1475	TNF (配列 5)	SOST	0.002	-
DVD1476	SOST	TNF (配列 5)	-	0.139
DVD1477	TNF (配列 5)	NGF	0.009	-
DVD1478	NGF	TNF (配列 5)	-	0.329
DVD1479	TNF (配列 5)	LPA	0.012	-
DVD1480	LPA	TNF (配列 5)	-	0.183
DVD1481	TNF (配列 6)	PGE2	0.011	-
DVD1482	PGE2	TNF (配列 6)	-	1.453
DVD1483	TNF (配列 6)	SOST	0.012	-
DVD1484	SOST	TNF (配列 6)	-	0.219
DVD1485	TNF (配列 6)	NGF	0.011	-
DVD1486	NGF	TNF (配列 6)	-	0.363
DVD1487	TNF (配列 6)	LPA	0.007	-
DVD1488	LPA	TNF (配列 6)	-	0.894
DVD1490	PGE2	TNF (配列 2)	-	0.283
DVD1495	TNF (配列 2)	SOST	0.0038	-
DVD1496	SOST	TNF (配列 2)	-	0.085
DVD1501	TNF (配列 2)	NGF	0.1952	-
DVD1502	NGF	TNF (配列 2)	-	0.4596
DVD1507	TNF (配列 2)	LPA	0.1327	-
DVD1508	LPA	TNF (配列 2)	-	0.234
DVD1514	LPA	TNF (配列 1)	-	0.407
DVD1516	PGE2	TNF (配列 5)	-	8.709
DVD1517	TNF (配列 5)	SOST	0.0012	-
DVD1518	SOST	TNF (配列 5)	-	0.89
DVD1519	TNF (配列 5)	NGF	0.0079	-

親抗体または DVD-Ig ID	N 末端可変ドメイン (VD)	C 末端可変ドメイン (VD)	N 末端 VD TNFα 中和アッセイ EC50 nM	C 末端 VD TNFα 中和アッセイ EC50 nM
DVD1520	NGF	TNF (配列 5)	-	7.21
DVD1522	LPA	TNF (配列 5)	-	4.179
DVD1524	PGE2	TNF (配列 6)	-	0.963
DVD1525	TNF (配列 6)	SOST	0.0029	-
DVD1526	SOST	TNF (配列 6)	-	0.059
DVD1527	TNF (配列 6)	NGF	0.0029	-
DVD1528	NGF	TNF (配列 6)	-	0.197
DVD1530	LPA	TNF (配列 6)	-	0.571

【０４７３】

Ｎ末端またはＣ末端位置のいずれかにおけるＡＢ０１７、ＡＢ２１３、ＡＢ２１７、およびＡＢ２１８からのＶＤを含むすべてのＤＶＤ－Ｉｇタンパク質は、ＴＮＦａ阻害アッセイにおいて中和を示した。

【０４７４】

実施例１．１．２．Ｅ：ＴＦ－１細胞増殖バイオアッセイにおけるＮＧＦの阻害

ＲＰＭＩ １６４０（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）＋１０％ウシ胎仔血清（Ｈｙｃｌｏｎｅ）＋Ｌ－グルタミン（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）＋ｒｈｕ ＧＭ－ＣＳＦ（Ｒ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ）中でＴＦ－１細胞を培養した。ＴＦ－１細胞を１×１０^{5}細胞／ｍＬでＲＰＭＩ １６４０＋Ｌグルタミン中で血清を２４時間枯渇させ、一晩３７℃にて５％ＣＯ$_{2}$でインキュベートした。実験の当日、１００μＬ体積＋アッセイ培地（ＲＰＭＩ－１６４０＋Ｌ－グルタミン＋４％ＦＢＳ）中の２．５×１０^{4}細胞／ウェルにて、不透明な壁の９６ウェルプレートにＴＦ－１細胞を播種した。ＮＧＦ／ＤＶＤ－Ｉｇまたは抗体を細胞に添加することによって細胞を刺激した。ＤＶＤ－Ｉｇ^{商標}および対照ＩｇＧをアッセイ培地に４倍濃度に希釈し、連続した１：５希釈を行った。ｈｕＮＧＦをアッセイ培地において８ｎｇ／ｍＬに希釈した。２ｎｇ／ｍＬ ｈｕＮＧＦおよび２５ｎＭから０．０００００３ｎＭ ＤＶＤ－ＩＧ^{商標}の最終濃度に対して、ＤＶＤ－Ｉｇ^{商標}（５０μＬ）およびｈｕＮＧＦ（５０μＬ）溶液をプレート添加した。７２時間、３７℃にて５％ＣＯ$_{2}$でプレートをインキュベートした。生存率を定量するために、Ｃｅｌｌ Ｔｉｔｅｒ Ｇｌｏキット（Ｐｒｏｍｅｇａカタログ＃ＴＢ２８８）を用いた（製造業者の使用説明書に従って１００μｌの溶液を各ウェルに添加した）。Ｓｐｅｃｔｒｏｍａｘ １９０ＥＬＩＳＡプレートリーダー上で発光を測定することによってプレートを読み込んだ。いくつかのアッセイからの平均ＥＣ５０は表６に含められる。

【０４７５】

【表６】

表 6: NGF 親抗体および DVD-Ig 構築物を用いた NGF 阻害アッセイ

親抗体または DVD-Ig ID	N 末端可変ドメイン (VD)	C 末端可変ドメイン (VD)	N 末端 VD NGF 中和アッセイ EC50 nM	C 末端 VD NGF 中和アッセイ EC50 nM
AB020	NGF		0.003	
DVD1460	NGF	TNF (配列 2)	1.695	-
DVD1477	TNF (配列 5)	NGF	-	0.038
DVD1478	NGF	TNF (配列 5)	0.019	-
DVD1485	TNF (配列 6)	NGF	-	0.053
DVD1486	NGF	TNF (配列 6)	0.076	-
DVD1501	TNF (配列 2)	NGF	-	ND
DVD1502	NGF	TNF (配列 2)	0.028	-
DVD1519	TNF (配列 5)	NGF	-	1.946
DVD1520	NGF	TNF (配列 5)	0.025	-
DVD1527	TNF (配列 6)	NGF	-	0.350
DVD1528	NGF	TNF (配列 6)	0.018	-

【０４７６】

Ｎ末端またはＣ末端位置のいずれかにおけるＡＢ０２０からのＶＤを含むすべてのＤＶＤ－Ｉｇタンパク質は、ＮＧＦ阻害アッセイにおいて中和を示した。

【０４７７】

実施例１．２．２．Ｆ：Ｗｎｔ－１／ルシフェラーゼ二重安定ＨＥＫクローン＃１４におけるスクレロスチン活性の阻害

ＨＥＫ２９３Ａ細胞をＴｏｐＦｌａｓｈプラスミド（ＴＣＦレポータープラスミド、Ｃｅｌｌ　Ｓｉｇｎａｌｉｎｇカタログ＃２１－１７０、ロット＃２６２１７）を用いて安定にトランスフェクトし、Ｗｎｔ－１レンチウイルス（Ｏｒｉｇｅｎｅカタログ＃ＳＣ３０３６４４）を用いて感染し、ルシフェラーゼおよびＷｎｔ－１を共発現するクローンを得た。アッセイの当日に８０－９０％コンフルエントになるまでＴ７５フラスコ中で、１つの二重安定クローン（＃１４）を培地：１０％限定ＦＢＳ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎカタログ＃２６１４０－０７９）、ペニシリン－ストレプトマイシン（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎカタログ＃１５１４０－１２２）、Ｌ－グルタミン（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎカタログ＃２５０３０－０８１　最終２ｍＭ）、ピルビン酸ナトリウム（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎカタログ＃１１３６０－０７０　最終１ｍＭ）および５μｇ／ｍｌプロマイシン（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎカタログ＃ａｎｔ－ｐｒ－１）を含むＤＭＥＭ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ　カタログ＃１１９６５－０９２）に維持された。アッセイは、アッセイ培地：プロマイシンを含まない培地で行われる。ヒトスクレロスチン（Ａｂｂｏｔｔ　ＰＲ－１２６１０６９　ロット＃１７６９５３６　１．０６ｍｇ／ｍＬ）を１０μｌに分注し、－８０℃にて凍結保存した。１日目に、クローン＃１４細胞は、側面が黒色であり、底が透明な組織培養処理された９６ウェルプレート（Ｃｏｓｔａｒ　＃３６０３）における５０μｌアッセイ培地中でウェルあたり１０，０００細胞にて播種され、３７℃にて一晩（２０から２４時間）インキュベートされた。２日目に、スクレロスチンストックをアッセイ培地において２００ｎＭ（４倍）に希釈する。抗スクレロスチン抗体をアッセイ培地において４倍（典型的には６００ｎＭ）に希釈した。培地を除き、５０μｌ／ウェルの新鮮なアッセイ培地と置き換えた。次に、細胞を２００ｎＭ（４倍）のスクレロスチン２５μｌと共に１時間インキュベートした。次いで、抗スクレロスチン抗体（４倍濃度、２５μｌ）を細胞に添加し

、プレートを一晩、３７℃（２０から２４時間）にてインキュベートした。最終体積は１００μｌであった。３日目、２００μｌのＰＢＳで細胞を１回洗浄した（ＲＴ）。Ｐｒｏｍｅｇａルシフェラーゼキット＃Ｅ１５０１を細胞溶解に用い、ルシフェラーゼを読み込んだ。簡単に述べると、５倍の細胞溶解試薬（Ｐｒｏｍｅｇａ、カタログ＃Ｅ１５３Ａ）をｍｉｌｌｉＱ水で１倍に希釈し、２０μｌを各ウェルに添加した。完全な溶解を確認するために、プレートを５００ｒｐｍで２０分間回転させた。１００μｌのルシフェラーゼアッセイ試薬（１バイアルのカタログ＃Ｅ１５１Ａ基質＋１０ｍｌのカタログ＃Ｅ１５２Ａアッセイ緩衝液）を各ウェルに添加した。ＴｏｐＣｏｕｎｔ機器（Ｐｒｏｍｅｇａ：ルシフェラーゼ９６、アッセイ１７：１ｓｅｃ／ウェル読み込み）上でプレートを読み込んだ。表７は、１５０ｎＭのＳＯＳＴを阻害することができたそれらの抗体またはＤＶＤ－Ｉｇを表す。

【０４７８】

【表７】

表 7: SOST 親抗体および DVD-Ig 構築物を用いた SOST 阻害アッセイ

親抗体または DVD-Ig ID	N 末端可変ドメイン (VD)	C 末端可変ドメイン (VD)	N 末端 VD SOST 中和アッセイ	C 末端 VD SOST 中和アッセイ
AB022	SOST		+	
DVD1454	TNF (配列 4)	SOST		-
DVD1475	TNF (配列 5)	SOST		+
DVD1476	SOST	TNF (配列 5)	+	
DVD1483	TNF (配列 6)	SOST		+-
DVD1484	SOST	TNF (配列 6)	+	
DVD1495	TNF (配列 2)	SOST		-
DVD1496	SOST	TNF (配列 2)	+	
DVD1517	TNF (配列 5)	SOST		-
DVD1518	SOST	TNF (配列 5)	+	
DVD1526	SOST	TNF (配列 6)	+	

【０４７９】

Ｎ末端またはＣ末端位置のいずれかにおけるＡＢ０２２からのＶＤを含むすべてのＤＶＤ－Ｉｇタンパク質は、ＳＯＳＴ阻害アッセイにおいて中和を示した。

【０４８０】

実施例１．１．２．Ｇ：インビトロでの腫瘍受容体モノクローナル抗体またはＤＶＤ－Ｉｇの増殖阻害効果

Ｄ－ＰＢＳ－ＢＳＡ（０．１％ＢＳＡを含むダルベッコのリン酸緩衝生理的食塩水）の２０μＬ中に希釈された腫瘍受容体モノクローナル抗体またはＤＶＤ－Ｉｇを１８０μＬ中の０．０１μｇ／ｍＬから１００μｇ／ｍＬの最終濃度のヒト腫瘍細胞に添加する。３７℃にて、加湿された５％CO_2雰囲気中において、３日間、プレートをインキュベートする。腫瘍増殖阻害の割合を決定するために、製造業者の使用説明書（Ｐｒｏｍｅｇａ，Ｍａｄｉｓｏｎ，ＷＩ）に従って、ＭＴＳ試薬を用いて各ウェル中の生細胞数を定量する。抗体処理なしのウェルは０％阻害の対照として使用されるのに対して、細胞なしのウェルは１００％阻害を示すと考えられる。

【０４８１】

実施例１．１．２．Ｈ：インビトロにおける親またはＤＶＤ－Ｉｇ抗体の殺腫瘍効果

殺腫瘍活性について、腫瘍細胞上の標的抗原に結合する親抗体またはＤＶＤ－Ｉｇを分

析することができる。要約すると、親抗体またはＤＶＤ－ＩｇをＤ－ＰＢＳ－ＢＳＡ（０．１％ＢＳＡを含むダルベッコのリン酸緩衝生理食塩水）に希釈し、最終濃度を０．０１μｇ／ｍＬ－１００μｇ／ｍＬ２００μＬにしてヒト腫瘍細胞に添加する。３７℃にて、加湿された５％CO_2雰囲気において３日間、プレートをインキュベートする。各ウェル中の生細胞数は、製造業者の使用説明書（Ｐｒｏｍｅｇａ，Ｍａｄｉｓｏｎ，ＷＩ）に従って、ＭＴＳ試薬を用いて定量され、腫瘍増殖阻害の割合を決定する。抗体処理していないウェルは０％阻害の対照として用いられ、細胞を含まないウェルは１００％阻害を示すものと考えられる。

【０４８２】

アポトーシスの評価について、カスパーゼ－３の活性化が以下のプロトコールによって決定される：９６ウェルプレート中の抗体処理された細胞を２０分間撹拌しながら室温にて、１２０μｌの１×溶解緩衝液（１．６７ｍＭのＨｅｐｅｓ、ｐＨ７．４、７ｍＭのＫＣｌ、０．８３ｍＭの$MgCl_2$、０．１１ｍＭのＥＤＴＡ、０．１１ｍＭのＥＧＴＡ、０．５７％のＣＨＡＰＳ、１ｍＭのＤＴＴ、１×プロテアーゼインヒビターカクテルタブレット；ＥＤＴＡ不含；Ｒｏｃｈｅ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ，Ｎｕｔｌｅｙ，ＮＪ）に溶解させる。細胞溶解後、８０μｌのカスパーゼ－３の反応緩衝液（４８ｍＭのＨｅｐｅｓ、ｐＨ７．５、２５２ｍＭスクロース、０．１％ＣＨＡＰＳ、４ｍＭのＤＴＴ、および２０μＭのＡｃ－ＤＥＶＤ－ＡＭＣ基質；Ｂｉｏｍｏｌ Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｌａｂｓ，Ｉｎｃ．，Ｐｌｙｍｏｕｔｈ Ｍｅｅｔｉｎｇ，ＰＡ）を添加し、プレートを２時間３７℃でインキュベートする。以下の設定：励起＝３６０／４０、発光＝４６０／４０を用いて、１４２０ＶＩＣＴＯＲ Ｍｕｌｔｉｌａｂｅｌ Ｃｏｕｎｔｅｒ（Ｐｅｒｋｉｎ Ｅｌｍｅｒ Ｌｉｆｅ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｄｏｗｎｅｒｓ Ｇｒｏｖｅ，ＩＬ）上でプレートを読む。アイソタイプ抗体の対照を用いて処理された細胞と比較した、抗体を用いて処理された細胞の蛍光ユニットの増加は、アポトーシスを示す。

【０４８３】

実施例１．１．２．Ｉ：親抗体およびＤＶＤ－Ｉｇ構築物による細胞増殖の阻害

５％ウシ胎仔血清が補足されたＲＰＭＩ培地中、９６ウェルディッシュに１００μＬ中の２，０００細胞／ウェルでＵ８７－ＭＧヒト神経膠腫瘍細胞を播種し、３７℃にて５％CO_2で一晩インキュベートする。翌日、抗体またはＤＶＤ－Ｉｇ（０．０１３ｎＭから１３３ｎＭの投薬量範囲）の連続希釈で細胞を処理し、３７℃にて加湿された５％CO_2雰囲気中で５日間インキュベートする。製造業者の使用説明書に従って、ＡＴＰｌｉｔｅキット（Ｐｅｒｋｉｎ Ｅｌｍｅｒ，Ｗａｌｔｈａｍ，ＭＡ）を用いてＡＴＰレベルを評価することによって、細胞の生存／増殖を間接的に測定する。

【０４８４】

実施例１．１．２．Ｊ：ＶＥＧＦ親抗体およびＤＶＤ－Ｉｇ構築物は$VEGF_{165}$のＶＥＧＦＲ１との相互作用を妨げる

ＥＬＩＳＡプレート（Ｎｕｎｃ、ＭａｘｉＳｏｒｐ、Ｒｏｃｈｅｓｔｅｒ、ＮＹ）を組み換えＶＥＧＦＲ１細胞外ドメイン－Ｆｃ融合タンパク質（５μｇ／ｍｌ、Ｒ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ、Ｍｉｎｎｅａｐｏｌｉｓ，ＭＮ）を含む１００μｌのＰＢＳと共に４℃にて一晩インキュベートする。プレートを洗浄緩衝液（０．０５％Ｔｗｅｅｎ ２０を含むＰＢＳ）で３回洗浄し、ブロッキング緩衝液（１％ＢＳＡを含むＰＢＳ）中で２５℃にて１時間ブロッキングする。０．１％ ＢＳＡを含むＰＢＳ中の各抗体／ＤＶＤ－Ｉｇの連続希釈物を２ｎＭビオチニル化されたＶＥＧＦ（５０μｌ）と共に２５℃にて１時間インキュベートする。次に、抗体／ＤＶＤ－Ｉｇ－ビオチニル化されたＶＥＧＦ混合物（１００μｌ）をＶＥＧＦＲ１－Ｆｃ被覆されたウェルに添加し、２５℃にて１０分間インキュベートする。ウェルを３回洗浄し、次に、ストレプトアビジン－ＨＲＰ（ＫＰＬ ＃４７４－３０００、Ｇａｉｔｈｅｒｓｂｕｒｇ，ＭＤ）（１００μｌ）と共に２５℃にて１時間インキュベートする。ウェルを３回洗浄し、ＵＬＴＲＡ－ＴＭＢ ＥＬＩＳＡ（Ｐｉｅｒｃｅ，Ｒｏｃｋｆｏｒｄ，ＩＬ）の１００μｌをウェルあたり添加する。発色後、１ＮＨＣｌを用いて反応を停止させ、４５０ｎｍでの吸光度を測定する。

【０４８５】

実施例１．１．２．Ｋ：インビトロでの親抗体またはＤＶＤ－Ｉｇ構築物による受容体リン酸化の阻害

１８０μＬの無血清培地（ＤＭＥＭ＋０．１％ＢＳＡ）中に４０，０００細胞／ウェルで９６ウェルプレートにヒト癌腫細胞を播種し、３７℃にて５％CO_2で一晩インキュベートする。１００μＬ／ウェルの受容体捕捉Ａｂ（４μｇ／ｍＬの最終濃度）でＣｏｓｔａｒ　ＥＩＡプレート（Ｌｏｗｅｌｌ，ＭＡ）を被覆し、振とうしながら室温にて一晩インキュベートする。翌日、受容体抗体で被覆されたＥＬＩＳＡプレートを洗浄し（ＰＢＳＴ＝ＰＢＳ、ｐＨ７．２から７．４中の０．０５％Ｔｗｅｅｎ　２０で３回）、振とう装置上で室温にて２時間ブロッキングするために、２００μＬのブロッキング溶液（ＰＢＳ、ｐＨ７．２から７．４中の１％ＢＳＡ、０．０５％NaN_3）を添加する。ヒト腫瘍細胞を抗体またはＤＶＤ－Ｉｇおよびリガンドと同時にインキュベートする。Ｄ－ＰＢＳ－ＢＳＡ（０．１％ＢＳＡを含むダルベッコのリン酸緩衝生理的食塩水）中に希釈されたモノクローナル抗体またはＤＶＤ－Ｉｇを０．０１μｇ／ｍＬから１００μｇ／ｍＬの最終濃度のヒト癌腫細胞に添加する。１から１００ｎｇ／ｍＬの濃度で（２００μＬ）、増殖因子を細胞に同時に添加し、３７℃にて加湿された５％CO_2雰囲気において細胞を１時間インキュベートする。１２０μｌ／ウェルの冷細胞抽出緩衝液（１０ｍＭのＴｒｉｓ、ｐＨ７．４、１００ｍＭのＮａＣｌ、１ｍＭのＥＤＴＡ、１ｍＭのＥＧＴＡ、１ｍＭのＮａＦ、１ｍＭオルトバナジン酸ナトリウム、１％Ｔｒｉｔｏｎ　Ｘ－１００、１０％グリセロール、０．１％ＳＤＳおよびプロテアーゼ阻害剤カクテル）に細胞を溶解し、振とうしながら４℃にて２０分間インキュベートする。ＥＬＩＳＡプレートに細胞可溶化液（１００μＬ）を添加し、穏やかに振とうしながら４℃にて一晩インキュベートする。翌日、ＥＬＩＳＡプレートを洗浄し、１００μｌ／ウェルのｐＴｙｒ－ＨＲＰ検出Ａｂを添加し（ｐ－ＩＧＦ１Ｒ　ＥＬＩＳＡキット、Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍ　＃ＤＹＣ１７７０，Ｍｉｎｎｅａｐｏｌｉｓ，ＭＮ）、暗所において２５℃にて２時間、プレートをインキュベートする。製造業者の使用説明書に従って、リン酸化を決定するためにプレートを発色させる。

【０４８６】

実施例１．１．２．Ｌ：ＶＥＧＦ親抗体およびＤＶＤ－Ｉｇ構築物によるＶＥＧＦＲ２（ＫＤＲ）リン酸化の阻害

ヒトＶＥＧＦＲ２（ＫＤＲ）を発現するＮＩＨ３Ｔ３細胞を９６ウェルプレートにおいて１０％ＦＢＳが補足されたＤＭＥＭ（１００μｌ）中で２０，０００個の細胞／ウェルで播種する。翌日、細胞をＤＭＥＭで２回洗浄し、ＦＢＳを含まないＤＭＥＭ中で３時間血清を枯渇させた。０．１％ＢＳＡを含むＤＭＥＭに希釈された抗ＶＥＧＦ親抗体またはＤＶＤ－Ｉｇ（６７ｎＭ、６．７ｎＭおよび０．６７ｎＭの最終濃度）を組み換えヒト$VEGF_{165}$（５０ｎｇ／ｍｌ）と共に２５℃にて１時間プレインキュベートする。次に、これらの抗体／ＤＶＤ－ＩｇおよびＶＥＧＦ混合物を細胞に添加し、プレートを３７℃にて加湿した５％CO_2雰囲気中で１０分間インキュベートする。細胞を氷冷ＰＢＳで２回洗浄し、０．１％ＮＰ４０が補足された細胞溶解緩衝液（Ｃｅｌｌ　Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ，Ｂｏｓｔｏｎ，ＭＡ）の１００μｌ／ウェルを添加することによって溶解する。２点測定のサンプルをプールし、１７０μｌを予め抗ＶＥＧＦＲ２抗体（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ，ＡＦ３５７，Ｍｉｎｎｅａｐｏｌｉｓ，ＭＮ）を被覆したＥＬＩＳＡプレートのウェルに添加し、穏やかに振とうしながら２５℃にて２時間インキュベートする。ウェルを洗浄緩衝液（０．０５％Ｔｗｅｅｎ　２０を含むＰＢＳ）で５回洗浄し、ビオチニル化された抗ホスホチロシン抗体（４Ｇ１０；Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ，Ｂｉｌｌｅｒｉｃａ，ＭＡ）の１：２０００希釈物の５０μｌと共に２５℃にて１時間インキュベートする。ウェルを０．０５％Ｔｗｅｅｎ　２０を含むＰＢＳで５回洗浄した後、ストレプトアビジン－ＨＲＰ（ＫＰＬ，＃４７４－３０００，Ｇａｉｔｈｅｒｓｂｕｒｇ，ＭＤ）と共に２５℃にて１時間インキュベートする。ウェルをストレプトアビジン－ＨＲＰ（ＫＰＬ，＃４７４－３０００，Ｇａｉｔｈｅｒｓｂｕｒｇ，ＭＤ）で３回洗浄する。ウェルを０．０５％Ｔ

ｗｅｅｎ　２０を含むＰＢＳで３回洗浄し、ＵＬＴＲＡ－ＴＭＢ　ＥＬＩＳＡ（Ｐｉｅｒｃｅ，Ｒｏｃｋｆｏｒｄ，ＩＬ）１００μｌをウェルあたり添加する。発色後、１Ｎ　ＨＣｌを用いて反応を停止させ、４５０ｎＭでの吸光度を測定する。

【０４８７】

実施例１．１．２．Ｍ：ヒト癌皮下脇腹異種移植片の増殖に対するＤＶＤ－Ｉｇの有効性

Ａ－４３１ヒト上皮癌細胞を組織培養フラスコにおいて９９％生存率、８５％コンフルエントになるまでインビトロで増殖させた。研究０日目に、１９から２５ｇのＳＣＩＤ雌性マウス（Ｃｈａｒｌｅｓ　Ｒｉｖｅｒｓ　Ｌａｂｓ，Ｗｉｌｍｉｎｇｔｏｎ，ＭＡ）の右脇腹に1×10^{6}個のヒト腫瘍細胞（１：１マトリゲル）を皮下注射する。マウスを約２００から３２０mm^{3}の平均腫瘍容積を有するマウスの群にサイズ適合させた後、ヒトＩｇＧ対照またはＤＶＤ－Ｉｇの投与（ＩＰ，ＱＤ，３×／週）を開始した。腫瘍細胞注入から約１０日後から腫瘍を週２回測定する。

【０４８８】

実施例１．１．２．Ｎ：フローサイトメトリーによって評価されるヒト腫瘍細胞株の表面へのモノクローナル抗体の結合

目的の細胞表面抗原を過剰発現している安定な細胞株またはヒト腫瘍細胞株を組織培養フラスコから回収し、５％ウシ胎児血清を含むリン酸緩衝生理食塩水ＰＢＳ（ＰＢＳ／ＦＢＳ）に再懸濁させた。染色前に、ヒト腫瘍細胞は、ＰＢＳ／ＦＣＳ中の５μｇ／ｍｌの（１００μｌ）ヒトＩｇＧとともに氷上でインキュベートされた。$1-5\times10^{5}$個の細胞は、ＰＢＳ／ＦＢＳ中の抗体またはＤＶＤ－Ｉｇ（２μｇ／ｍＬ）とともに３０－６０分間、氷上でインキュベートされた。細胞を２回洗浄し、１００μｌのヤギ抗ヒトＩｇＧ、Ｆｃγ－フィコエリトリン（ＰＢＳ中に１：２００に希釈）（Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ，Ｗｅｓｔ　Ｇｒｏｖｅ，ＰＡ，Ｃａｔ．＃１０９－１１６－１７０）を添加した。氷上で３０分のインキュベーション後、細胞を２回洗浄し、ＰＢＳ／ＦＢＳに再懸濁した。Ｂｅｃｔｏｎ　Ｄｉｃｋｉｎｓｏｎ　ＦＡＣＳＣａｌｉｂｕｒ（Ｂｅｃｔｏｎ　Ｄｉｃｋｉｎｓｏｎ，Ｓａｎ　Ｊｏｓｅ，ＣＡ）を用いて蛍光を測定した。

【０４８９】

実施例１．１．２．Ｏ：フローサイトメトリーによって評価されるヒト腫瘍細胞株の表面への親受容体抗体およびＤＶＤ－Ｉｇ構築物の結合

細胞表面受容体を過剰発現する安定な細胞株またはヒト腫瘍細胞株を組織培養フラスコから回収し、１％ウシ胎仔血清を含むダルベッコのリン酸緩衝生理的食塩水（ＤＰＢＳ）（ＤＰＢＳ／ＦＣＳ）中に再懸濁する。氷上で３０から６０分間、ＤＰＢＳ／ＦＣＳにおいて、抗体またはＤＶＤ－Ｉｇ（１０μｇ／ｍＬ）の１００μＬと共に１から5×10^{5}細胞をインキュベートする。細胞を２回洗浄し、５０μｌのヤギ抗ヒトＩｇＧ－フィコエリトリン（ＤＰＢＳ／ＢＳＡ中で１：５０希釈）（Ｓｏｕｔｈｅｒｎ　Ｂｉｏｔｅｃｈ　Ａｓｓｏｃｉａｔｅｓ，Ｂｉｒｍｉｎｇｈａｍ，ＡＬカタログ＃２０４０－０９）を添加する。氷上での３０から４５分のインキュベート後、細胞を２回洗浄し、ＤＰＢＳ／ＦＣＳ中の１２５μＬ／ウェルの１％ホルムアルデヒド中に再懸濁する。Ｂｅｃｔｏｎ　Ｄｉｃｋｉｎｓｏｎ　ＬＳＲＩＩ（Ｂｅｃｔｏｎ　Ｄｉｃｋｉｎｓｏｎ，Ｓａｎ　Ｊｏｓｅ，ＣＡ）を用いて、蛍光を測定した。

【０４９０】

実施例１．２：目的のヒト抗原に対する親モノクローナル抗体の生成

目的のヒト抗原およびそのバリアントに結合し、中和することができる親マウスｍＡｂを次のように得る。

【０４９１】

実施例１．２．Ａ：目的のヒト抗原を用いたマウスの免疫化

完全フロイントアジュバントまたはＩｍｍｕｎｏｅａｓｙアジュバント（Ｑｉａｇｅｎ，Ｖａｌｅｎｃｉａ，ＣＡ）と混合された組み換え精製ヒト抗原（例えば、ＩＧＦ１、２）の２０μｇを５匹の６－８週齢のＢａｌｂ／Ｃ、５匹のＣ５７Ｂ／６マウス、および５

匹のＡＪマウスに１日目に皮下注射する。２４日目、３８日目、および４９日目に、不完全フロイントアジュバントまたはＩｍｍｕｎｏｅａｓｙアジュバントと混合された組み換え精製ヒト抗原バリアントの２０μｇを同じマウスに皮下注射する。８４日目または１１２日目または１４４日目に、目的の組み換え精製ヒト抗原の１μｇをマウスに静脈内注射する。

【０４９２】

実施例１．２．Ｂ：ハイブリドーマの生成

実施例１．２．Ａに記載された免疫されたマウスから得た脾細胞は、ハイブリドーマを生成するために、Ｋｏｈｌｅｒ，Ｇ．ａｎｄ Ｍｉｌｓｔｅｉｎ（１９７５）Ｎａｔｕｒｅ，２５６：４９５に記載の確立された方法に従って、ＳＰ２／Ｏ－Ａｇ－１４細胞と５：１の比で融合される。融合生成物は、ウェルあたり２．５×10^6個の脾細胞の密度で９６ウェルプレート内のアザセリンおよびヒポキサンチンを含む選択培地に置かれる。融合の７－１０日後、肉眼で見られるハイブリドーマのコロニーを観察する。ハイブリドーマのコロニーを含む各ウェルからの上清は、目的の抗原に対する抗体（実施例１．１．１．Ａに記載される）の存在について、ＥＬＩＳＡによって試験される。次に、抗原特異的活性を示す上清は、活性（実施例１．１．２のアッセイに記載される）、例えば、実施例１．１．２．Ｉに記載されるバイオアッセイなどのバイオアッセイにおいて目的の抗原を中和する能力について試験される。

【０４９３】

実施例１．２．Ｃ：目的のヒト標的抗原に対する親モノクローナル抗体の同定および特徴付け

実施例１．２．Ｃ．１：活性を中和する親モノクローナル抗体の分析

ハイブリドーマ上清は、目的の抗原に結合し、実施例１．２．Ａおよび１．２．Ｂに従って生成され、さらに、目的の抗原のバリアント（「抗原バリアント」）に結合することができる親抗体の存在についてアッセイされる。次に、両方のアッセイに陽性である抗体を含む上清は、それらの抗原中和効力について、例えば、実施例１．１．２．Ｉのサイトカインバイオアッセイにおいて試験される。１０００ｐＭ未満、ある実施形態では１００ｐＭ未満のバイオアッセイにおけるIC_{50}値を有する抗体を生成するハイブリドーマをスケールアップし、限界希釈によってクローニングする。ハイブリドーマ細胞は、１０％の低ＩｇＧウシ胎児血清（Ｈｙｃｌｏｎｅ ＃ＳＨ３０１５１，Ｌｏｇａｎ，ＵＴ）を含む培地に増殖させる。平均して２５０ｍＬの各ハイブリドーマ上清（クローン集団由来）を回収し、Ｈａｒｌｏｗ，Ｅ．ａｎｄ Ｌａｎｅ，Ｄ．１９８８“Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ”に記載されるようにプロテインＡアフィニティークロマトグラフィーによって濃縮および精製する。ｍＡｂの標的抗原の活性を阻害する、精製されたｍＡｂの能力は、例えば、実施例１．１．２．Ｉに記載されるサイトカインバイオアッセイを用いて決定される。

【０４９４】

実施例１．２．Ｃ．２：目的のカニクイザル標的抗原に対する親モノクローナル抗体交差反応性の分析

本明細書に記載されている選択されたｍＡｂが目的のカニクイザル抗原を認識するかどうかを決定するために、組み換えカニクイザル標的抗原を用いて、ＢＩＡＣＯＲＥ分析を本明細書に記載される（実施例１．１．１．Ｇ）ように実施する。さらにまた、サイトカインバイオアッセイ（実施例１．１．２．Ｉ）において、目的の組み換えカニクイザル抗原に対するｍＡｂの中和効力を測定することができる。良好なサル交差反応性を有するｍＡｂ（ある実施形態では、ヒト抗原に対する５倍以内の反応性）が将来の特徴付けのために選択される。

【０４９５】

実施例１．２．Ｄ：各マウス抗ヒトモノクローナル抗体についての可変領域のアミノ酸配列の決定

組み換え抗ヒトマウスｍＡｂのｃＤＮＡの単離、発現および特徴付けは以下のように行

われる。各アミノ酸配列の決定について、約１×１０^{6}個のハイブリドーマ細胞を遠心分離によって単離し、製造業者の使用説明書に従って処理し、トリゾール（Ｔｒｉｚｏｌ）（Ｇｉｂｃｏ　ＢＲＬ／Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ）を用いて総ＲＮＡを単離する。総ＲＮＡは、製造業者の使用説明書を通じて、ＳｕｐｅｒＳｃｒｉｐｔ　Ｆｉｒｓｔ－Ｓｔｒａｎｄ　Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ　Ｓｙｓｔｅｍ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ）を用いて第一鎖ＤＮＡ合成に供される。オリゴ（ｄＴ）を用いて、ポリ（Ａ）＋ＲＮＡについて選択するために第一鎖合成をプライムする。次に、第一鎖ｃＤＮＡ産物は、マウスの免疫グロブリン可変領域の増幅用に設計されたプライマー（Ｉｇ－プライマーセット、Ｎｏｖａｇｅｎ，Ｍａｄｉｓｏｎ，ＷＩ）を用いたＰＣＲによって増幅される。ＰＣＲ産物をアガロースゲル上で分離し、切り出し、精製し、次に、ＴＯＰＯクローニングキットを用いてｐＣＲ２．１－ＴＯＰＯベクター（インビトロゲン（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）、カリフォルニア州カールスバッド）にサブクローニングし、およびＴＯＰ１０の化学的にコンピーテントな大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ）に形質転換される。コロニーＰＣＲは、挿入物を含むクローンを特定するために形質転換体に対して実施される。プラスミドＤＮＡは、ＱＩＡｐｒｅｐミニプレップキット（Ｑｉａｇｅｎ，Ｖａｌｅｎｃｉａ，ＣＡ）を用いて挿入物を含むクローンから単離される。プラスミド中の挿入物は、両鎖について配列決定され、Ｍ１３フォワードおよびｍ１３リバースプライマー（Ｆｅｒｍｅｎｔａｓ　Ｌｉｆｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｈａｎｏｖｅｒ　ＭＤ）を用いて、可変重鎖または可変軽鎖のＤＮＡ配列を決定する。ｍＡｂの可変重鎖および可変軽鎖の配列を特定する。ある実施形態では、次のステップの進行（ヒト化）のためのリードｍＡｂ集団についての選択基準は以下を含む：

抗体は、いずれのＮ結合のグリコシル化部位（ＮＸＳ）も含有しないが、ＣＨ２における標準のものを除く。

抗体は、すべての抗体における通常のシステインに加えて、いずれの追加のシステインを含有しない。

抗体配列は、ＶＨおよびＶＬについて最も近いヒト生殖細胞系配列と整列され、いずれの通常でないアミノ酸は、他の天然のヒト抗体における出現について照合される。

Ｎ末端のグルタミン（Ｑ）は、抗体の活性に影響を及ぼさなければ、グルタミン酸（Ｅ）に変更される。これは、Ｑの環化による異質性（ｈｅｔｅｒｏｇｅｎｅｉｔｙ）を減少させることになる。

効果的なシグナル配列の切断は質量分析によって確認される。これは、ＣＯＳ細胞または２９３細胞材料とともに行うことができる。

タンパク質配列は、活性の喪失を導き得るＡｓｎの脱アミド化の危険性について確認される。

抗体は低レベルの凝集を有する。

抗体の可溶性は、＞５－１０ｍｇ／ｍｌ（研究相における）；＞２５ｍｇ／ｍｌ。

抗体は、動的光散乱（ＤＬＳ）による通常のサイズ（５－６ｎｍ）を有する。

抗体は、低電荷異質性を有する。

抗体は、サイトカイン放出を欠如する（実施例１．１．２．Ｂ参照）。

抗体は、意図されるサイトカインに対する特異性を有する（実施例１．１．２．Ｃ参照）。

抗体は、予期せぬ組織交差反応性を欠如する（実施例１．１．２．Ｄ参照）。

抗体は、ヒトとカニクイザルの組織交差反応性との間に類似性を有する（実施例１．１．２．Ｄ参照）。

【０４９６】

実施例１．２．２：組み換えヒト化親抗体

実施例１．２．２．１：組み換えキメラ抗ヒト親抗体の構築および発現

マウス抗ヒト親ｍＡｂの重鎖定常領域をコードするＤＮＡは、細菌における相同組み換えによる２つのヒンジ領域のアミノ酸変異を含むヒトＩｇＧ１定常領域をコードするｃＤ

ＮＡ断片によって置換される。これらの変異は、２３４位（ＥＵ番号付け）のロイシンからアラニンの変更であり、２３５位のロイシンからアラニンの変更である（Ｌｕｎｄ　ｅｔ　ａｌ．，１９９１，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１４７：２６５７）。これらの抗体の各々の軽鎖定常領域は、ヒトκ定常領域によって置換される。全長のキメラ抗体は、ｐＢＯＳ発現プラスミドにキメラ重鎖および軽鎖のｃＤＮＡリガンドの同時の形質移入によってＣＯＳ細胞において一時的に発現される（Ｍｉｚｕｓｈｉｍａ　ａｎｄ　Ｎａｇａｔａ，Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　１９９０，Ｖｏｌ　１８，ｐｇ５３２２）。組み換えキメラ抗体を含む細胞上清は、プロテインＡセファロースクロマトグラフィーによって精製され、結合した抗体は酸性緩衝液の添加によって溶出される。抗体は中和され、ＰＢＳ中で透析される。

【０４９７】

キメラｍＡｂをコードする重鎖ｃＤＮＡは、そのキメラ軽鎖ｃＤＮＡとともに（両者はｐＢＯＳベクターにおいて連結されている）ＣＯＳ細胞内に同時に形質移入される。組み換えキメラ抗体を含む細胞上清は、プロテインＡセファロースクロマトグラフィーによって精製され、結合した抗体は酸性緩衝液の添加によって溶出される。抗体は中和され、ＰＢＳ中で透析される。

【０４９８】

次に、精製されたキメラ抗ヒト親ｍＡｂは、例えば、実施例１．１．１．Ｇおよび１．１．２．Ｂに記載されるＩｇＥのサイトカイン誘導によるＩｇＥの生成を阻害するために、それらの結合する能力（Ｂｉａｃｏｒｅによる）および機能的活性について試験される。親ハイブリドーマｍＡｂの活性を維持するキメラｍＡｂは、将来の進行のために選択される。

【０４９９】

実施例１．２．２．２：ヒト化抗ヒト親抗体の構築および発現

実施例１．２．２．２．Ａ：ヒト抗体フレームワークの選択

各マウスの可変重鎖および可変軽鎖の遺伝子配列は、ベクターＮＴＩソフトウェアを用いて、４４個のヒト免疫グロブリン生殖細胞系列の可変重鎖または４６個の生殖細胞系列の可変軽鎖配列（ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖ／ｉｇｂｌａｓｔ／ｒｅｔｒｉｅｖｅｉｇ．ｈｔｍｌ．にてＮＣＢＩ　Ｉｇ　Ｂｌａｓｔウェブサイトから導かれる）に対して別々に整列される。

【０５００】

ヒト化は、アミノ酸配列ホモロジー、ＣＤＲクラスター分析、発現されたヒト抗体のうちの使用頻度、およびヒト抗体の結晶構造に関する入手可能な情報に基づいている。抗体結合、ＶＨ－ＶＬ対、および他の因子に対する可能な効果を考慮すると、マウス残基はヒト残基に変異され、この場合、若干の例外はあるが、マウスおよびヒトのフレームワーク残基は異なっている。さらなるヒト化戦略は、ヒト生殖細胞系列の抗体配列またはそれらのサブグループの分析に基づいて設計され、それは、マウス抗体の可変領域の実際のアミノ酸配列に対して高い程度のホモロジー、すなわち、配列類似性を有していた。

【０５０１】

ホモロジーモデリングは、抗体結合部位の構造、ＣＤＲに不可欠であることが予測されるマウス抗体の配列に特有の残基を特定するために用いられる。ホモロジーモデリングは計算法であり、それにより、近似の三次元座標がタンパク質のために作製される。初期座標およびそれらのさらなる修正のための誘導の情報源は、三次元座標が知られている第二のタンパク質、基準タンパク質、第一のタンパク質の配列に関連している配列である。２つのタンパク質の配列間の関係は、基準タンパク質と座標が所望されているタンパク質、標的タンパク質の間の対応を生じさせるために使用される。基準タンパク質および標的タンパク質の一次配列は、基準タンパク質から標的タンパク質に直接移される２つのタンパク質の初期部分の座標とともに整列される。例えば、残基変異、挿入または欠失に基づく、２つのタンパク質のミスマッチ部分についての座標は、すでに移動されたモデル座標との一貫性を確かめるために精緻化された包括的構造の鋳型およびエネルギーから構築され

る。この計算されたタンパク質構造は、さらに精緻化されてもよくまたはモデリング研究に直接使用されてもよい。モデル構造の質は、基準および標的タンパク質が関連するコンテンションの精度、および配列アラインメントが構築される正確さによって決定される。

【０５０２】

マウスｍＡｂについて、ＢＬＡＳＴ検索および目視検査の組合せを用いて、適切な基準構造を特定する。基準と標的アミノ酸配列との間の２５％の配列同一性は、ホモロジーモデリング実行を試みるために必要最小限であると考えられる。配列アラインメントは手動で構築され、モデル座標はジャッカル（Ｊａｃｋａｌ）プログラムを用いて作り出される（Ｐｅｔｒｅｙ，Ｄ．ｅｔ　ａｌ．（２００３）Ｐｒｏｔｅｉｎｓ　５３（Ｓｕｐｐｌ．６）：４３０－４３５参照）。

【０５０３】

選択された抗体のマウスおよびヒトフレームワーク領域の一次配列は、有意な同一性を有する。異なっている残基位置は、マウス抗体の観察された結合有効性を保持するために、ヒト化配列におけるマウス残基を包含する候補対象である。ヒト配列とマウス配列との間で異なるフレームワーク残基のリストを手動で構築する。表８はこの研究のために選択されたフレームワーク配列を示す。

【０５０４】

【表８】

表 **8:** ヒト **IgG** 重鎖定常ドメインおよび軽鎖定常ドメインの配列

タンパク質	配列番号	配列
		123456789**0**123456789**0**123456789**0**123456789**0**1
野生型 hIgG1 定常領域	**48**	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE*LL*GGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
変異体 hIgG1 定常領域	**49**	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE*AA*GGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
Igκ 定常領域	**50**	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
Igλ 定常領域	**51**	QPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAW KADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHR SYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

【０５０５】

所定のフレームワーク残基が抗体の結合特性に影響を及ぼす可能性は、ＣＤＲ残基へのその残基の近接に依存する。したがって、モデル構造を用いると、マウス配列とヒト配列との間で異なる残基は、ＣＤＲ中の任意の原子からのそれらの残基の距離に従って位置付けられる。任意のＣＤＲ原子の４．５Åの範囲に入るそれらの残基が最重要なものとして特定され、ヒト化抗体へのマウス残基の保持（すなわち、復帰突然変異）についての候補対象に推奨される。

【０５０６】

インシリコで構築されたヒト化抗体は、オリゴヌクレオチドを用いて構築される。各可変領域のｃＤＮＡについて、各々６０－８０ヌクレオチドのうちの６オリゴヌクレオチドは、各オリゴヌクレオチドの５’末端および／または３’末端で２０ヌクレオチドまで互いに重複するように設計される。アニーリング反応では、すべての６オリゴヌクレオチドを組合せ、ボイルし、ｄＮＴＰの存在下でアニーリングする。ＤＮＡポリメラーゼＩ、ラージ（クレノウ）断片（Ｎｅｗ Ｅｎｇｌａｎｄ Ｂｉｏｌａｂｓ #Ｍ０２１０，Ｂｅｖｅｒｌｅｙ，ＭＡ）を添加して、重複しているオリゴヌクレオチド間の約４０ｂｐギャップを埋める。修飾されたｐＢＯＳベクター（Ｍｉｚｕｓｈｉｍａ，Ｓ．ａｎｄ Ｎａｇａｔａ，Ｓ．（１９９０）Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．１８：１７）のマルチクローニングサイトに相補的な突出している配列を含む２つの最外部プライマーを用いて、完全な可変領域遺伝子を増幅するためにＰＣＲを行う。各ｃＤＮＡアセンブリ由来のＰＣＲ産物をアガロースゲル上で分離し、予測される可変領域ｃＤＮＡサイズに対応するバンドを切り出し、精製する。可変重領域は、細菌において相同組み換えによって、２つのヒンジ領域のアミノ酸変異を含むヒトＩｇＧ１定常領域をコードするｃＤＮＡ断片にフレームを合わせて挿入される。これらの変異は、２３４位（ＥＵ番号付け）のロイシンからアラニンへの変更、２３５位のロイシンからアラニンへの変更である（Ｌｕｎｄ ｅｔ ａｌ．（１９９１）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１４７：２６５７）。可変軽鎖領域は、相同組み換えによってヒトκ定常領域とともにフレームを合わせて挿入される。細菌コロニーを単離し、プラスミドＤＮＡを抽出する。ｃＤＮＡ挿入物を全体として配列決定する。各抗体に対応する正しいヒト化重鎖および軽鎖をＣＯＳ細胞に同時に形質移入し、全長ヒト化抗ヒト抗体を一時的に生成する。組み換えキメラ抗体を含む細胞上清をプロテインＡセファロースクロマトグラフィーによって精製し、結合した抗体を酸性緩衝液の添加によって溶出する。抗体を中和し、ＰＢＳ中で透析する。

【０５０７】

実施例１．２．２．３：ヒト化抗体の特徴付け

機能的活性を阻害するための精製されたヒト化抗体の能力は、例えば、実施例１．１．２．Ａに記載されるようにサイトカインバイオアッセイを用いて決定される。組み換えヒト抗原に対するヒト化抗体の結合親和性は、実施例１．１．１．Ｂに記載されるように表面プラズモン共鳴（Ｂｉａｃｏｒｅ（登録商標））測定を用いて決定される。ヒト化抗体のバイオアッセイからのIC_{50}値および親和性を位置付ける。親ハイブリドーマｍＡｂの活性を完全に維持するヒト化ｍＡｂは、将来の進行のための候補対象として選択される。上位２－３の最も有益なヒト化ｍＡｂをさらに特徴付ける。

【０５０８】

実施例１．２．２．３．Ａ：ヒト化抗体の薬物動態分析

薬物動態研究は、Ｓｐｒａｇｕｅ－Ｄａｗｌｅｙラットおよびカニクイザルにおいて行われる。雄性および雌性のラットならびにカニクイザルは、４ｍｇ／ｋｇのｍＡｂの単回投薬で静脈内または皮下に投薬され、抗原捕捉ＥＬＩＳＡを用いて試料を分析し、薬物動態パラメーターを非コンパートメント分析によって決定する。要約すると、ヤギ抗ビオチン抗体（５ｍｇ／ｍｌ、４℃、一晩）を用いてＥＬＩＳＡプレートを被覆し、Ｓｕｐｅｒｂｌｏｃｋ（Ｐｉｅｒｃｅ）を用いてブロックし、１０％ＳｕｐｅｒｂｌｏｃｋのＴＴＢＳ中の５０ｎｇ／ｍｌのビオチン化ヒト抗原とともに室温で２時間インキュベートする。血清試料を連続的に希釈し（ＴＴＢＳ中の０．５％血清、１０％Ｓｕｐｅｒｂｌｏｃｋ）およびプレート上で３０分間、室温にてインキュベートする。ＨＲＰ標識されたヤギ抗ヒト抗体を用いて検出を行い、４パラメーターのロジスティックフィットを用いて、標準曲線の助けにより濃度を決定する。薬物動態パラメーターに関する値は、ＷｉｎＮｏｎｌｉｎソフトウェア（Ｐｈａｒｓｉｇｈｔ Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ，Ｍｏｕｎｔａｉｎ Ｖｉｅｗ，ＣＡ）を用いて、非コンパートメントモデルによって決定される。良好な薬物動態プロファイルを有するヒト化ｍＡｂ（Ｔ１／２は８－１３日またはそれより良好であり、低クリアランスおよび優れた生物学的利用率は５０－１００％である）を選択する。

【０５０９】

実施例１．２．２．３．Ｂ：ヒト化モノクローナル抗体の物理化学的およびインビトロでの安定性分析

サイズ排除クロマトグラフィー

水を用いて抗体を２．５ｍｇ／ｍＬに希釈し、２０ｍＬをＴＳＫゲルＧ３０００ＳＷＸＬカラム（Ｔｏｓｏｈ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ、カタログ＃ｋ５５３９－０５ｋ）を用いてＳｈｉｍａｄｚｕ　ＨＰＬＣシステム上で分析する。２１１ｍＭ硫酸ナトリウム、９２ｍＭリン酸ナトリウム、ｐＨ７．０を用いて、流速０．３ｍＬ／分にて試料をカラムから溶出する。ＨＰＬＣシステムの操作条件は以下の通りである：

移動相：２１１ｍＭのNa_2SO_4、９２ｍＭのNa_2HPO_4＊$7H_2O$、ｐＨ７．０

勾配：アイソクラチック

流速：０．３ｍＬ／分

検出波長：２８０ｎｍ

オートサンプラー冷却装置温度：４℃

カラムオーブン温度：周囲

実行時間：５０分

表９は、上記プロトコルにより測定したモノマー（予想される分子量を有する非凝集タンパク質）％として表される親抗体およびＤＶＤ－Ｉｇ構築物の純度データを含む。

【０５１０】

【表９】

表 **9:** サイズ排除クロマトグラフィーによって測定された親抗体および **DVD-Ig** 構築物の純度

親抗体または **DVD-Ig ID**	**N** 末端可変ドメイン **(VD)**	**C** 末端可変ドメイン **(VD)**	単量体**%(**純度**)**
AB017	TNF (配列 1)		97.5
AB020	NGF		88.2
AB022	SOST		93.2
AB048	PGE2		100
AB213	TNF (配列 2)		100
AB214	TNF (配列 3)		100
AB215	TNF (配列 4)		99.9
AB216	LPA		100
AB217	TNF (配列 5)		100
AB218	TNF (配列 6)		100
DVD1448	PGE2	TNF (配列 2)	76.4
DVD1454	SOST	TNF (配列 2)	88.8
DVD1460	NGF	TNF (配列 2)	87.6
DVD1466	LPA	TNF (配列 2)	100
DVD1471	TNF (配列 1)	LPA	90.5
DVD1472	LPA	TNF (配列 1)	96.8
DVD1473	TNF (配列 5)	PGE2	94.4
DVD1474	PGE2	TNF (配列 5)	67.9
DVD1475	TNF (配列 5)	SOST	91.6
DVD1476	SOST	TNF (配列 5)	76.7
DVD1477	TNF (配列 5)	NGF	96.7
DVD1478	NGF	TNF (配列 5)	89.2
DVD1479	TNF (配列 5)	LPA	95.3
DVD1480	LPA	TNF (配列 5)	100
DVD1481	TNF (配列 6)	PGE2	97.5
DVD1482	PGE2	TNF (配列 6)	80.7
DVD1483	TNF (配列 6)	SOST	90.8
DVD1484	SOST	TNF (配列 6)	76
DVD1485	TNF (配列 6)	NGF	89.9
DVD1486	NGF	TNF (配列 6)	92.2
DVD1487	TNF (配列 6)	LPA	90.9
DVD1488	LPA	TNF (配列 6)	100
DVD1490	PGE2	TNF (配列 2)	97.2
DVD1495	TNF (配列 2)	SOST	98.8
DVD1496	SOST	TNF (配列 2)	72.8
DVD1502	NGF	TNF (配列 2)	96.2
DVD1508	LPA	TNF (配列 2)	100
DVD1513	TNF (配列 1)	LPA	73.9
DVD1514	LPA	TNF (配列 1)	96.3
DVD1515	TNF (配列 5)	PGE2	97.2

親抗体または DVD-Ig ID	N 末端可変ドメイン (VD)	C 末端可変ドメイン (VD)	単量体%(純度)
DVD1517	TNF (配列 5)	SOST	95.4
DVD1518	SOST	TNF (配列 5)	78.4
DVD1519	TNF (配列 5)	NGF	100
DVD1520	NGF	TNF (配列 5)	95.2
DVD1523	TNF (配列 6)	PGE2	97.5
DVD1524	PGE2	TNF (配列 6)	98.1
DVD1525	TNF (配列 6)	SOST	96.5
DVD1526	SOST	TNF (配列 6)	70.5
DVD1527	TNF (配列 6)	NGF	98.2
DVD1528	NGF	TNF (配列 6)	93.3
DVD1529	TNF (配列 6)	LPA	81.3
DVD1530	LPA	TNF (配列 6)	100

【０５１１】

ＳＤＳ－ＰＡＧＥ

還元条件下および非還元条件下でドデシル硫酸ナトリウム－ポリアクリルアミドゲル電気泳動（ＳＤＳ－ＰＡＧＥ）によって抗体を分析する。Ａｄａｌｉｍｕｍａｂ（ロットＡＦＰ０４Ｃ）を対照として用いる。還元条件について、１００ｍＭのＤＴＴを含む２×トリスグリシンＳＤＳ－ＰＡＧＥ試料緩衝液（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、カタログ＃ＬＣ２６７６、ロット＃１３２３２０８）と１：１で試料を混合し、６０℃で３０分間加熱する。非還元条件について、試料緩衝液と１：１で試料を混合し、１００℃で５分間加熱する。還元試料（１０ｍｇ／レーン）を１２％プレキャストのトリス－グリシンゲル（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、カタログ＃ＥＣ６００５ｂｏｘ、ロット＃６１１１０２１）上に装填し、非還元試料（１０ｍｇ／レーン）を８％－１６％プレキャストのトリス－グリシンゲル（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、カタログ＃ＥＣ６０４５ｂｏｘ、ロット＃６１１１０２１）上に装填する。ＳｅｅＢｌｕｅ　Ｐｌｕｓ　２（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、カタログ＃ＬＣ５９２５、ロット＃１３５１５４２）を分子量マーカーとして用いる。ゲルをＸＣｅｌｌ　ＳｕｒｅＬｏｃｋミニセルゲルボックス（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、カタログ＃ＥＩ０００１）に入れ、最初に、ゲル内の試料を積層するために電圧７５を加え、次にダイフロント（ｄｙｅ　ｆｒｏｎｔ）がゲルの底に到達するまで定電圧１２５にしてタンパク質を分離する。使用される泳動緩衝液は１×トリスグリシンＳＤＳ緩衝液であり、１０×トリスグリシンＳＤＳ緩衝液（ＡＢＣ、ＭＰＳ－７９－０８０１０６）から調製される。コロイド状青色染色（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、カタログ＃４６－７０１５、４６－７０１６）を用いてゲルを一晩染色し、バックグラウンドを除くためにＭｉｌｌｉ－Ｑ水で脱染する。次に、Ｅｐｓｏｎ　Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎスキャナー（モデル１６８０、Ｓ／Ｎ　ＤＡＳＸ００３６４１）を用いて、染色されたゲルをスキャンする。

【０５１２】

沈降速度分析

３つの標準的な２セクターのカーボン・エポンセンターピースの各々の試料チャンバー内に抗体を装填する。これらのセンターピースは１．２ｃｍの光路長を有し、サファイアウィンドウで構築される。基準緩衝液に関してはＰＢＳを使用し、各チャンバーは１４０μＬを含む。Ｂｅｃｋｍａｎ　ＰｒｏｔｅｏｍｅＬａｂ　ＸＬ－Ｉ分析用超遠心分離機（シリアル＃ＰＬ１０６Ｃ０１）の４ホール（ＡＮ－６０Ｔｉ）ローターを用いて、すべての試料を同時に試験する。

【０５１３】

実行条件をプログラムし、ＰｒｏｔｅｏｍｅＬａｂ（ｖ５．６）を用いて遠心分離制御

を行う。試料およびローターは、分析前の１時間（２０．０±０．１℃）熱平衡化させる。適切なセル装填の確認を３０００ｒｐｍで行い、１回のスキャンを各ウェルについて記録する。沈降速度条件は以下の通りである：

試料細胞体積：４２０ｍＬ
基準細胞体積：４２０ｍＬ
温度：２０℃
ローター速度：３５，０００ｒｐｍ
時間：８：００時間
ＵＶ波長：２８０ｎｍ
半径刻み幅：０．００３ｃｍ
データ回収：信号加算平均なしの１ステップあたり１データポイント
スキャン総数：１００

【０５１４】

完全な抗体のＬＣ－ＭＳ分子量測定

完全な抗体の分子量をＬＣ－ＭＳによって分析する。水を用いて各抗体を約１ｍｇ／ｍＬに希釈する。タンパク質マイクロトラップ（Ｍｉｃｈｒｏｍ Ｂｉｏｒｅｓｏｕｒｃｅｓ，Ｉｎｃ、カタログ＃００４／２５１０９／０３）を備えた１１００ＨＰＬＣ（Ａｇｉｌｅｎｔ）システムを用いて、脱塩し、試料の５ｍｇをＡＰＩ Ｑｓｔａｒパルサーｉ質量分析計（Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）に導入する。短い勾配を用いて試料を溶出する。勾配は、移動相Ａ（ＨＰＬＣ水中の０．０８％ＴＦＡ、０．０２％ＴＦＡ）および移動相Ｂ（アセトニトリル中の０．０８％ＦＡおよび０．０２％ＴＦＡ）を用いて、５０ｍＬ／分の流速にて勾配を実行する。質量分析計は、４．５キロボルトの噴霧電圧で操作され、スキャン範囲は２０００から３５００の質量対電荷比である。

【０５１５】

抗体軽鎖および重鎖のＬＣ－ＭＳ分子量測定

抗体軽鎖（ＬＣ）、重鎖（ＨＣ）および脱グリコシル化されたＨＣの分子量測定をＬＣ－ＭＳによって分析する。水を用いて抗体を１ｍｇ／ｍＬに希釈し、試料は、最終濃度が１０ｍＭのＤＴＴを用いて、３０分間、３７℃でＬＣおよびＨＣに還元される。抗体を脱グリコシル化するために、１００ｍｇの抗体は、１００ｍＬの全体積中の２ｍＬのＰＮＧａｓｅ Ｆ、５ｍＬの１０％Ｎ－オクチルグルコシドとともに、一晩３７℃にてインキュベートされる。脱グリコシル化後、最終濃度が１０ｍＭのＤＴＴを用いて、試料を３０分間、３７℃にて還元する。Ｃ４カラム（Ｖｙｄａｃ、カタログ＃２１４ＴＰ５１１５、Ｓ／Ｎ０６０２０６５３７２０４０６９）を備えたＡｇｉｌｅｎｔ １１００ＨＰＬＣシステムを用いて脱塩し、試料（５ｍｇ）をＡＰＩ Ｑｓｔａｒパルサーｉ質量分析計（Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）に導入する。短い勾配を用いて試料を溶出する。勾配は、移動相Ａ（ＨＰＬＣ水中の０．０８％ＦＡ、０．０２％ＴＦＡ）および移動相Ｂ（アセトニトリル中の０．０８％ＦＡおよび０．０２％ＴＦＡ）を用いて、５０ｍＬ／分の流速にて勾配を実行する。質量分析計は、４．５キロボルトの噴霧電圧で操作され、スキャン範囲は８００から３５００の質量対電荷比である。

【０５１６】

ペプチドマッピング

７５ｍＭ重炭酸アンモニウム中の最終濃度が６Ｍの塩酸グアニジンを用いて抗体を１５分間、室温にて変性させる。変性試料は、最終濃度が１０ｍＭのＤＴＴを用いて、３７℃、６０分間還元させ、次に、暗所にて３７℃、３０分間、５０ｍＭヨード酢酸（ＩＡＡ）を用いてアルキル化される。アルキル化後、４リットルの１０ｍＭ重炭酸アンモニウムに対して、一晩４℃で試料を透析する。透析された試料は、１０ｍＭ重炭酸アンモニウム、ｐＨ７．８を用いて１ｍｇ／ｍＬに希釈され、１００ｍｇの抗体は、１：２０（ｗ／ｗ）トリプシン／Ｌｙｓ－Ｃ：抗体の比でトリプシン（Ｐｒｏｍｅｇａ、カタログ＃Ｖ５１１１）またはＬｙｓ－Ｃ（Ｒｏｃｈｅ、カタログ＃１１ ０４７ ８２５ ００１）を用いて３７℃で４時間消化される。消化物は、１ＮのＨＣｌを１ｍＬ用いてクエンチされる。

質量分析計検出を用いたペプチドマッピングについて、４０ｍＬの消化物は、Ａｇｉｌｅｎｔ　１１００ＨＰＬＣシステムを備えた、Ｃ１８カラム（Ｖｙｄａｃ、カタログ＃２１８ＴＰ５１、Ｓ／Ｎ　ＮＥ９６０６　１０．３．５）上で逆相高速液体クロマトグラフィー（ＲＰＨＰＬＣ）によって分離される。ペプチドの分離は、移動相Ａ（ＨＰＬＣ等級の水中の０．０２％ＴＦＡおよび０．０８％ＦＡ）および移動相Ｂ（アセトニトリル中の０．０２％ＴＦＡおよび０．０８％ＦＡ）を使用する勾配を用いて、５０ｍＬ／分の流速にて実行する。ＡＰＩ　ＱＳＴＡＲ　Ｐｕｌｓａｒ　ｉ質量分析計は、４．５キロボルトの噴霧電圧のポジティブモードで操作され、スキャン範囲は８００から２５００の質量対電荷比である。

【０５１７】

ジスルフィド結合マッピング

抗体を変性するために、１００ｍＬの抗体は、１００ｍＭ重炭酸アンモニウム中の８Ｍグアニジン－ＨＣｌの３００ｍＬと混合される。ｐＨをチェックして、ｐＨが７から８の間であることを確認し、最終濃度が６Ｍのグアニジン－ＨＣｌ中で１５分間、室温にて試料を変性させる。一部の変性試料（１００ｍＬ）をＭｉｌｌｉ－Ｑ水で６００ｍＬに希釈し、最終のグアニジン－ＨＣｌ濃度を１Ｍとする。試料（２２０ｍｇ）は、１：５０のトリプシン：抗体または１：５０のＬｙｓ－Ｃ：抗体（ｗ／ｗ）の比（４．４ｍｇ酵素：２２０ｍｇ試料）でトリプシン（Ｐｒｏｍｅｇａ、カタログ＃Ｖ５１１１、ロット＃２２２６５９０１）またはＬｙｓ－Ｃ（Ｒｏｃｈｅ、カタログ＃１１０４７８２５００１、ロット＃１２８０８０００）を用いて３７℃で約１６時間消化される。さらに５ｍｇのトリプシンまたはＬｙｓ－Ｃを試料に添加し、消化をさらに２時間、３７℃で進行させる。各試料に１ｍＬのＴＦＡを添加することによって消化を停止させる。消化された試料は、Ａｇｉｌｅｎｔ　ＨＰＬＣシステム上のＣ１８カラム（Ｖｙｄａｃ、カタログ＃２１８ＴＰ５１、Ｓ／Ｎ　ＮＥ０２０６３０－４－１Ａ）を用いてＲＰＨＰＬＣによって分離される。分離は、移動相Ａ（ＨＰＬＣ等級の水中の０．０２％ＴＦＡおよび０．０８％ＦＡ）および移動相Ｂ（アセトニトリル中の０．０２％ＴＦＡおよび０．０８％ＦＡ）を用いて、ペプチドマッピングについて使用されたものと同じ勾配で５０ｍＬ／分の流速にて実行する。ＨＰＬＣの操作条件は、ペプチドマッピングについて使用された条件と同じである。ＡＰＩ　ＱＳＴＡＲ　Ｐｕｌｓａｒ　ｉ質量分析計は、４．５キロボルトの噴霧電圧のポジティブモードで操作され、スキャン範囲は８００から２５００の質量対電荷比である。ジスルフィド結合は、ペプチドの実測されたＭＷと、ジスルフィド結合によって連結されたトリプシンまたはＬｙｓ－Ｃペプチドの予測されたＭＷとを合致させることによって割り当てられる。

【０５１８】

遊離スルフヒドリル決定

抗体中の遊離システインを定量するために使用される方法は、特徴的な発色生成物である５－チオ－（２－ニトロ安息香酸）（ＴＮＢ）を生じさせる、エルマン試薬である５，５¢－ジチオ－ビス（２－ニトロ安息香酸）（ＤＴＮＢ）とスルフヒドリル基（ＳＨ）の反応に基づいている。反応は、式：

ＤＴＮＢ　＋　ＲＳＨ（登録商標）ＲＳ－ＴＮＢ　＋　ＴＮＢ－　＋　Ｈ＋

において説明される。

【０５１９】

ＴＮＢ－の吸光度は、Ｃａｒｙ　５０分光光度計を用いて、４１２ｎｍで測定される。吸光度曲線は、遊離ＳＨ標準として２メルカプトエタノール（ｂ－ＭＥ）の希釈を用いてプロットし、タンパク質中の遊離スルフヒドリル基の濃度は、試料の４１２ｎｍでの吸光度から決定される。

【０５２０】

ｂ－ＭＥ標準ストックは、最終濃度が０．１４２ｍＭになるように、ＨＰＬＣ等級の水を用いて１４．２Ｍのｂ－ＭＥを連続希釈することによって調製される。次に、各濃度について３点測定の標準を調製する。アミコンウルトラ１０，０００ＭＷＣＯ遠心フィルタ

ー（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ、カタログ＃ＵＦＣ８０１０９６、ロット＃Ｌ３ＫＮ５２５１）を用いて抗体を１０ｍｇ／ｍＬに濃縮し、緩衝液をアダリムマブについて使用した処方緩衝液（５．５７ｍＭリン酸一水素ナトリウム、８．６９ｍＭリン酸二水素ナトリウム、１０６．６９ｍＭのＮａＣｌ、１．０７ｍＭクエン酸ナトリウム、６．４５ｍＭクエン酸、６６．６８ｍＭマンニトール、ｐＨ５．２、０．１％（ｗ／ｖ）Ｔｗｅｅｎ）に交換する。試料をシェーカー上で室温にて２０分間混合する。次に、１８０ｍＬの１００ｍＭのＴｒｉｓ緩衝液、ｐＨ８．１を各試料に添加し、標準は、１０ｍＭリン酸緩衝液、ｐＨ８．１中の２ｍＭのＤＴＮＢを３００ｍＬ添加する。完全に混合した後、Ｃａｒｙ　５０分光光度計上で４１２ｎｍの吸光度について試料および標準を測定する。遊離ＳＨの量とｂ－ＭＥ標準のOD_{412}ｎｍをプロットすることによって、標準曲線を得る。試料の遊離ＳＨ含有量は、ブランクを差し引いた後、この曲線に基づいて計算される。

【０５２１】

弱い陽イオン交換クロマトグラフィー

１０ｍＭリン酸ナトリウム、ｐＨ６．０を用いて抗体を１ｍｇ／ｍＬに希釈する。電荷異質性は、ＷＣＸ－１０　ＰｒｏＰａｃ分析用カラム（Ｄｉｏｎｅｘ、カタログ＃０５４９９３、Ｓ／Ｎ０２７２２）を備えたＳｈｉｍａｄｚｕ　ＨＰＬＣシステムを用いて分析される。試料を８０％移動相Ａ（１０ｍＭリン酸ナトリウム、ｐＨ６．０）および２０％移動相Ｂ（１０ｍＭリン酸ナトリウム、５００ｍＭのＮａＣｌ、ｐＨ６．０）においてカラムに充填し、１．０ｍＬ／分の流速で溶出する。

【０５２２】

オリゴ糖プロファイリング

抗体のＰＮＧａｓｅ　Ｆ処理後に放出されるオリゴ糖は、２－アミノベンズアミド（２－ＡＢ）標識試薬を用いて誘導される。蛍光標識されたオリゴ糖は、順相の高速液体クロマトグラフィー（ＮＰＨＰＬＣ）によって分離され、異なる形態のオリゴ糖は、保持時間に基づいて、既知の標準と比較して特徴付けられる。

【０５２３】

抗体を最初にＰＮＧａｓｅ　Ｆを用いて消化し、重鎖のＦｃ部分からＮ結合のオリゴ糖を切断する。２ｍＬのＰＮＧａｓｅ　Ｆおよび３ｍＬの１０％Ｎ－オクチルグルコシドとともに５００ｍＬエッペンドルフチューブに抗体（２００ｍｇ）を入れる。リン酸緩衝生理食塩水を添加し、最終体積を６０ｍＬにする。７００ＲＰＭに設定したエッペンドルフのサーモミキサー中で一晩３７℃にて試料をインキュベートする。また、Ａｄａｌｉｍｕｍａｂ（ロットＡＦＰ０４Ｃ）を対照としてＰＮＧａｓｅ　Ｆを用いて消化する。

【０５２４】

ＰＮＧａｓｅ　Ｆ処理後、７５０ＲＰＭに設定されたエッペンドルフのサーモミキサー中で９５℃、５分間、試料をインキュベートしてタンパク質を沈殿させ、次に、２分間、１０，０００ＲＰＭでエッペンドルフの遠心分離機に試料を置き、沈殿したタンパク質を沈降させる。オリゴ糖を含む上清を５００ｍＬのエッペンドルフチューブに移し、スピード－ｖａｃ中、６５℃で乾燥させる。

【０５２５】

Ｐｒｏｚｙｍｅから購入される２ＡＢ標識キット（カタログ＃ＧＫＫ－４０４、ロット＃１３２０２６）を用いて、オリゴ糖を２ＡＢで標識する。製造業者の使用説明書に従って標識試薬を調製する。酢酸（１５０ｍＬ、キットにおいて提供される）をＤＭＳＯバイアル（キットにおいて提供される）に添加し、溶液を数回、上下にピペッティングすることによって混合する。酢酸／ＤＭＳＯ混合物（１００ｍＬ）を２－ＡＢ色素のバイアル（使用直前）に移し、色素が完全に溶解するまで混合する。次に、色素溶液を還元剤（キットにおいて提供される）のバイアルに添加し、十分に混合に混合する（標識試薬）。標識試薬（５ｍＬ）を各々乾燥させたオリゴ糖試料バイアルに添加し、完全に混合する。６５℃で７００－８００ＲＰＭに設定されたエッペンドルフのサーモミキサーに反応バイアルを置き、２時間反応させる。

【０５２６】

標識反応後、Ｐｒｏｚｙｍｅから入手されるＧｌｙｃｏＣｌｅａｎｓカートリッジ（カタログ＃ＧＫＩ－４７２６）を用いて過剰の蛍光色素を取り除く。試料を添加前、カートリッジを１ｍＬのｍｉｌｌｉ－Ｑ水で洗浄し、その後、１ｍＬの３０％酢酸溶液で５回洗浄する。試料を添加直前に、１ｍＬのアセトニトリル（Ｂｕｒｄｉｃｋ　ａｎｄ　Ｊａｃｋｓｏｎ、カタログ＃ＡＨ０１５－４）をカートリッジに添加する。

【０５２７】

すべてのアセトニトリルがカートリッジを通過した後、新たに洗浄したディスクの中心に試料をスポット状に置き、ディスク上に１０分間吸着させる。１ｍＬのアセトニトリルを用いてディスクを洗浄し、続いて、１ｍＬの９６％アセトニトリルで５回洗浄する。カートリッジを１．５ｍＬのエッペンドルフチューブ上に置き、２－ＡＢ標識されたオリゴ糖をｍｉｌｌｉ　Ｑ水の３回の洗浄（各洗浄あたり４００ｍＬ）により溶出させる。

【０５２８】

Ｓｈｉｍａｄｚｕ　ＨＰＬＣシステムに連結させたＧｌｙｃｏｓｅｐ　Ｎ　ＨＰＬＣ（カタログ＃ＧＫＩ－４７２８）カラムを用いてオリゴ糖を分離する。Ｓｈｉｍａｄｚｕ　ＨＰＬＣシステムは、システムコントローラー、脱気装置、二重ポンプ、試料冷却器を備えたオートサンプラーおよび蛍光検出器からなっていた。

【０５２９】

高温での安定性

抗体の緩衝液は、５．５７ｍＭリン酸一水素ナトリウム、８．６９ｍＭリン酸二水素ナトリウム、１０６．６９ｍＭのＮａＣｌ、１．０７ｍＭクエン酸ナトリウム、６．４５ｍＭクエン酸、６６．６８ｍＭマンニトール、０．１％（ｗ／ｖ）Ｔｗｅｅｎ、ｐＨ５．２；または１０ｍＭヒスチジン、１０ｍＭメチオニン、４％マンニトール、ｐＨ５．９のいずれかであり、Ａｍｉｃｏｎ超遠心フィルターを用いる。適切な緩衝液を用いて、抗体の最終濃度を２ｍｇ／ｍＬに調整する。次に、抗体溶液を濾過滅菌し、０．２５ｍＬのアリコートを無菌条件下で調製する。アリコートを－８０℃、５℃、２５℃または４０℃で１、２または３週間放置する。インキュベーション期間の終わりに、サイズ排除クロマトグラフィーおよびＳＤＳ－ＰＡＧＥによって試料を分析する。

【０５３０】

安定性試料は、還元条件下および非還元条件下でＳＤＳ－ＰＡＧＥによって分析される。使用される手法は、本明細書に記載されたものと同じである。コロイド状青色染色（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、カタログ＃４６－７０１５、４６－７０１６）を用いてゲルを一晩染色させ、バックグラウンドが透明になるまでＭｉｌｌｉ－Ｑ水で脱染される。次に、Ｅｐｓｏｎ　Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎスキャナー（モデル１６８０、Ｓ／Ｎ　ＤＡＳＸ００３６４１）を用いて、染色されたゲルをスキャンする。高い感度を得るために、銀染色キット（Ｏｗｌ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を用いて同じゲルを銀染色し、製造業者によって提供される推奨の手順を用いる。

【０５３１】

動的走査蛍光定量法

最終濃度が１ｍｇ／ｍｌになるように、１０ｍＭクエン酸塩、１０ｍＭリン酸緩衝液、ｐＨ６．０中でＤＶＤ－Ｉｇを透析した。各ＤＶＤ－Ｉｇについて３点測定を行った。各試料について、２７μｌのＤＶＤを９６ウェルプレートのウェルに添加し、３μｌの４倍希釈されたＳＹＰＲＯ　Ｏｒａｎｇｅ色素（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）とともに混合した。この色素を５０００倍の濃度でＤＭＳＯに供給し、水中の４倍の作業濃度に希釈した。プレートを３０秒間遠心分離し、色素およびタンパク質の両方がウェルの底に沈んだことを確認し、完全な混合をピペットチップによる穏やかな吸引によって確かめた。次に、プレートを粘着フィルムで密封した。

【０５３２】

温度による蛍光強度の変化を測定するためにリアルタイムＰＣＲ（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ，７５００シリーズ）を用いた。約０．５℃／分の温度ランプ速度にて２５℃から９５℃までプレートを加熱し、ＴＡＭＲＡフィルターを用いて発光蛍光を

回収した。Ｍｉｃｒｏｓｏｆｔ　Ｅｘｃｅｌにデータをエクスポートし、各ＤＶＤ－Ｉｇについて温度対蛍光をプロットした。サーモグラムが基準値の蛍光を超えて生じる温度として、融解の開始に気づいた。ＳＹＰＲＯ　Ｏｒａｎｇｅは疎水性色素であり、変性タンパク質分子における露出された疎水性残基に選択的に結合する。よって、変性温度の開始は、蛍光の増加によって測定した場合、ＤＶＤ－Ｉｇの熱安定性の指標となる。ＤＶＤ－Ｉｇについての変性温度を表１０に見出すことができる。

【０５３３】

【表１０】

表 10: 動的走査蛍光定量法によって決定された親抗体および CDR をグラフトした DVD-Ig 構築物の熱安定性

親抗体または DVD-Ig ID	N 末端可変ドメイン (VD)	C 末端可変ドメイン (VD)	融解開始 (ランク) (℃)
DVD1244	TNF (配列 1)	LPA	51.3
DVD1248	TNF (配列 5)	SOST	54.0
DVD1249	SOST	TNF (配列 5)	54.3
DVD1256	TNF (配列 6)	SOST	56
DVD1257	SOST	TNF (配列 6)	57
DVD1258	TNF (配列 6)	NGF	59.5
DVD1259	NGF	TNF (配列 6)	51.7
DVD1261	LPA	TNF (配列 6)	54.7
DVD1475	TNF (配列 5)	SOST	49.0
DVD1476	SOST	TNF (配列 5)	53.0
DVD1483	TNF (配列 6)	SOST	52.7
DVD1484	SOST	TNF (配列 6)	49.3
DVD1485	TNF (配列 6)	NGF	54.7
DVD1488	LPA	TNF (配列 6)	52.3
DVD1513	TNF (配列 1)	LPA	50.7
DVD1518	SOST	TNF (配列 5)	52.7
DVD1525	TNF (配列 6)	SOST	55.3
DVD1526	SOST	TNF (配列 6)	52.7
DVD1527	TNF (配列 6)	NGF	55.7
DVD1528	NGF	TNF (配列 6)	47.3

【０５３４】

大部分のＤＶＤ－Ｉｇでは変性温度が＞５０を示した。ＤＶＤ－Ｉｇプロファイルは親抗体で観察されたプロファイルに類似している。

【０５３５】

安定性決定

１５ｍＭ　Ｈｉｓ、ｐＨ６．０中でＤＶＤ－Ｉｇ候補を透析した。これに続いて、３０Ｋカットオフを有するセントリコン（ｃｅｎｔｒｉｃｏｎ）中でそれらを最大５０μｌに濃縮した。溶解性は、４℃にて保存後に沈殿がないことによって視覚的に確認され、２８０ｎｍのＵＶ吸収測定によって定量的に決定された。

【０５３６】

【表１１】

表 11: DVD-Ig 構築物の可溶性

親抗体または DVD-Ig ID	N 末端可変ドメイン (VD)	C 末端可変ドメイン (VD)	可溶性(ランク) 15mM His、pH6	
			外観	mg/ml
DVD1244	TNF (配列 1)	LPA	透明	>62
DVD1248	TNF (配列 5)	SOST	透明	>103
DVD1249	SOST	TNF (配列 5)	透明	>115
DVD1256	TNF (配列 6)	SOST	透明	>95
DVD1257	SOST	TNF (配列 6)	透明	>80
DVD1258	TNF (配列 6)	NGF	透明	>125
DVD1259	NGF	TNF (配列 6)	透明	>92
DVD1261	LPA	TNF (配列 6)	透明	>52
DVD1475	TNF (配列 5)	SOST	ppt	84
DVD1476	SOST	TNF (配列 5)	透明	>78
DVD1483	TNF (配列 6)	SOST	透明	>97
DVD1484	SOST	TNF (配列 6)	透明	>78
DVD1485	TNF (配列 6)	NGF	ppt	26
DVD1488	LPA	TNF (配列 6)	透明	>27
DVD1513	TNF (配列 1)	LPA	透明	>81
DVD1518	SOST	TNF (配列 5)	透明	>21
DVD1525	TNF (配列 6)	SOST	透明	>107
DVD1526	SOST	TNF (配列 6)	ppt	32
DVD1527	TNF (配列 6)	NGF	ppt	51
DVD1528	NGF	TNF (配列 6)	ppt	59

【０５３７】

大部分のＤＶＤ－Ｉｇは透明な外観を示し、２５ｍｇ／ｌを超えて濃縮することができた。このＤＶＤ－Ｉｇプロファイルは親抗体について観察されたものと類似している。

【０５３８】

実施例１．２．２．３．Ｃ：ヒト癌異種移植の増殖における、ヒト化モノクローナル抗体単独または化学療法との併用における有効性

ヒト癌細胞を組織培養フラスコ内で９９％生存率、８５％コンフルエントになるようインビトロで培養する。１９から２５グラムのＳＣＩＤ雌性または雄性マウス（Ｃｈａｒｌｅｓ　Ｒｉｖｅｒｓ　Ｌａｂｓ）に耳標を付け、剪毛する。次に、マウスは、実験０日目に０．２ｍｌの2×10^{6}ヒト腫瘍細胞（１：１マトリゲル）を右側腹部の皮下に接種される。マウスを約１５０から２００mm^{3}の平均腫瘍体積を有する別個のケージのマウスにサイズ適合した後に、ビヒクル（ＰＢＳ）、ヒト化抗体の投与（ＩＰ、Ｑ３Ｄ／週）、および／または化学療法を開始する。接種後の約１０日目から腫瘍をノギスで１週間に２回測定し、次式、$V=L\times W^{2}/2$（Ｖ：体積、mm^{3}；Ｌ：長さ、ｍｍ；Ｗ：幅、ｍｍ）に従って腫瘍体積を計算する。ビヒクルまたはアイソタイプ対照ｍＡｂのみを投与された動物における腫瘍と比べて、ｍＡｂ単独または化学療法との併用で処理した動物において腫瘍体積の減少が観察される。

【０５３９】

実施例１．２．２．３．Ｄ：ＦＡＣＳを基礎とする再誘導された細胞傷害（ｒＣＴＬ）アッセイ

予め凍結させた単離された末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）から、負の選択濃縮カラム（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｍｉｎｎｅａｐｏｌｉｓ，ＭＮ；Ｃａｔ．＃ＨＴＣＣ－５２５）

によってヒトＣＤ３＋Ｔ細胞を単離した。フラスコ（ｖｅｎｔ　ｃａｐ，Ｃｏｒｎｉｎｇ，Ａｃｔｏｎ，ＭＡ）中でＴ細胞を４日間刺激し、Ｄ－ＰＢＳ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ）中の１０μｇ／ｍＬの抗ＣＤ３（ＯＫＴ－３，ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ，Ｉｎｃ．，Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ）および２μｇ／ｍＬの抗ＣＤ２８（ＣＤ２８．２，ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ，Ｉｎｃ．，Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ）で被覆し、Ｌ－グルタミン、５５ｍＭのβ－ＭＥ、ペニシリン／ストレプトマイシン、１０％ＦＢＳを加えた完全ＲＰＭＩ１６４０培地（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ）中の３０Ｕ／ｍＬのＩＬ－２（Ｒｏｃｈｅ）中で培養した。次に、アッセイに使用する前に、３０Ｕ／ｍＬのＩＬ－２中でＴ細胞を一晩休息させた。製造業者の使用説明書に従って、ＤｏＨＨ２またはＲａｊｉ標的細胞をＰＫＨ２６（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ，Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ，ＭＯ）で標識した。ｒＣＴＬアッセイを通じて、Ｌ－グルタミンおよび１０％ＦＢＳ（Ｈｙｃｌｏｎｅ，Ｌｏｇａｎ，ＵＴ）を含むＲＰＭＩ１６４０培地（フェノールなし、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ）を使用した。（Ｄｒｅｉｅｒ　ｅｔ　ａｌ．（２００２）Ｉｎｔ　Ｊ　Ｃａｎｃｅｒ　１００：６９０を参照）。

【０５４０】

１０：１のＥ：Ｔ比を与えるために、それぞれ、９６ウェルプレート（Ｃｏｓｔａｒ＃３７９９，Ａｃｔｏｎ，ＭＡ）中の10^5および10^4細胞／ウェルの最終細胞濃度で、エフェクターＴ細胞（Ｅ）および標的（Ｔ）を播種した。濃度依存的滴定曲線を得るために、ＤＶＤ－Ｉｇ分子を希釈した。一晩のインキュベーション後、細胞を沈降させ、Ｄ－ＰＢＳ中に０．１％ＢＳＡ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ）、０．１％アジ化ナトリウムおよび０．５μｇ／ｍＬヨウ化プロピジウム（ＢＤ）を含むＦＡＣＳ緩衝液中に再懸濁する前に、Ｄ－ＰＢＳを用いて１回洗浄した。ＦＡＣＳ　Ｃａｎｔｏ　ＩＩ装置（Ｂｅｃｔｏｎ　Ｄｉｃｋｉｎｓｏｎ，Ｓａｎ　Ｊｏｓｅ，ＣＡ）にＦＡＣＳデータを収集し、Ｆｌｏｗｊｏ（Ｔｒｅｅｓｔａｒ）において解析した。パーセント特異的溶解を測定するために、パーセント総標的（対照、無処置）によって除した、ＤＶＤ－Ｉｇ処理された試料中の生きた標的のパーセントを計算した。Ｐｒｉｓｍ（Ｇｒａｐｈｐａｄ）でＩＣ５０を計算した。

【０５４１】

再誘導された毒性についてＣＤ３／ＣＤ２０　ＤＶＤ－Ｉｇを試験し、ＩＣ５０＝３２５ｐＭのインビトロ腫瘍死滅を示した。このＣＤ３／ＣＤ２０　ＤＶＤ－Ｉｇの配列は、米国特許出願公開第２００７００７１６７５号において開示された。

【０５４２】

実施例１．４：ＤＶＤ－Ｉｇの生成

２つの抗原に結合することができるＤＶＤ－Ｉｇ分子は、２つの親モノクローナル抗体を用いて構築され、１つはヒト抗原Ａに対し、他方はヒト抗原Ｂに対し、本明細書に記載されるように選択される。

【０５４３】

実施例１．４．１：２つのリンカー長を有するＤＶＤ－Ｉｇの生成

ＡＤＣＣ／ＣＤＣエフェクター機能を排除するために、２３４および２３５に変異を有するγ１　Ｆｃを含む定常領域を用いる。４種の抗Ａ／Ｂ　ＤＶＤ－Ｉｇ構築物を生成する：２つは短いリンカーを有し、２つは長いリンカーを有し、各々は２つの異なるドメイン配向にある：V_A-V_B-CおよびV_B-V_A-C（表１１を参照）。リンカー配列は、ヒトＣ１／ＣｋまたはＣＨ１ドメインのＮ末端配列から誘導され、以下の通りである：

ＤＶＤＡＢ構築物について：

軽鎖（抗Ａがλを有する場合）：短いリンカー：ＱＰＫＡＡＰ（配列番号１５）；長いリンカー：ＱＰＫＡＡＰＳＶＴＬＦＰＰ（配列番号１６）。

軽鎖（抗Ａがκを有する場合）：短いリンカー：ＴＶＡＡＰ（配列番号１３）；長いリンカー：ＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰ（配列番号１４）。

重鎖（γ１）：短いリンカー：ＡＳＴＫＧＰ（配列番号２１）；長いリンカー：ＡＳＴ

ＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰ（配列番号２２）。
ＤＶＤＢＡ構築物について：
軽鎖（抗Ｂがλである場合）：短いリンカー：ＱＰＫＡＡＰ（配列番号１５）；長いリンカー：ＱＰＫＡＡＰＳＶＴＬＦＰＰ（配列番号１６）。
軽鎖（抗Ｂがｋである場合）：短いリンカー：ＴＶＡＡＰ（配列番号１３）；長いリンカー：ＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰ（配列番号１４）。
重鎖（γ１）：短いリンカー：ＡＳＴＫＧＰ（配列番号２１）；長いリンカー：ＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰ（配列番号２２）。

【０５４４】

重鎖および軽鎖構築物をｐＢＯＳ発現ベクターにサブクローニングし、ＣＯＳ細胞において発現させ、その後、プロテインＡクロマトグラフィーによって精製する。精製された物質は、ＳＤＳ－ＰＡＧＥおよびＳＥＣ分析に供される。

【０５４５】

表１２は、各抗Ａ／Ｂ　ＤＶＤ－Ｉｇタンパク質を発現するために使用された重鎖および軽鎖の構築物を記載する。

【０５４６】

【表１２】

表 12:抗 A/B DVD-Ig 構築物

DVD-Ig タンパク質	重鎖構築物	軽鎖構築物
DVDABSL	DVDABHC-SL	DVDABLC-SL
DVDABLL	DVDABHC-LL	DVDABLC-LL
DVDBASL	DVDBAHC-SL	DVDBALC-SL
DVDBALL	DVDBAHC-LL	DVDBALC-LL

【０５４７】

実施例１．４．２：ＤＶＤＡＢＳＬおよびＤＶＤＡＢＬＬのためのＤＮＡ構築物の分子クローニング

重鎖構築物ＤＶＤＡＢＨＣ－ＬＬおよびＤＶＤＡＢＨＣ－ＳＬを生成するために、Ａ抗体のＶＨドメインは、特異的プライマー（３’プライマーはそれぞれＳＬ／ＬＬ構築物に対する短い／長い線状配列を含む）を用いてＰＣＲ増幅される；一方、Ｂ抗体のＶＨドメインは、特異的プライマー（５’プライマーはそれぞれＳＬ／ＬＬ構築物に対する短い／長い線状配列を含む）を用いて増幅される。両方のＰＣＲ反応は、標準的なＰＣＲ技術および手法に従って行われる。２つのＰＣＲ産物をゲルで精製し、その後の重複ＰＣＲ反応のための重複鋳型としてともに使用する。重複ＰＣＲ産物は、標準的な相同組み換えアプローチを用いることによって、ＳｒｆＩおよびＳａｌＩによって二重消化されたｐＢＯＳ－ｈＣγ１，ｚ非ａ－哺乳類用発現ベクター（Ａｂｂｏｔｔ）にサブクローニングされる。

【０５４８】

軽鎖構築物ＤＶＤＡＢＬＣ－ＬＬおよびＤＶＤＡＢＬＣ－ＳＬを生成するために、Ａ抗体のＶＬドメインは、特異的プライマー（３’プライマーはそれぞれＳＬ／ＬＬ構築物に対する短い／長い線状配列を含む）を用いてＰＣＲ増幅される；一方、Ｂ抗体のＶＬドメインは、特異的プライマー（５’プライマーはそれぞれＳＬ／ＬＬ構築物に対する短い／長い線状配列を含む）を用いて増幅される。両方のＰＣＲ反応は、標準的なＰＣＲ技術および手法に従って行われる。２つのＰＣＲ産物をゲルで精製し、標準的なＰＣＲ条件を用いて、その後の重複ＰＣＲ反応のための重複鋳型としてともに使用する。重複ＰＣＲ産物

は、標準的な相同組み換えアプローチを用いることによって、ＳｒｆＩおよびＮｏｔＩによって二重消化されたｐＢＯＳ－ｈＣｋ哺乳類用発現ベクター（Ａｂｂｏｔｔ）にサブクローニングされる。類似のアプローチを用いて、以下に説明されるＤＶＤＢＡＳＬおよびＤＶＤＢＡＬＬを生成させた。

【０５４９】

実施例１．４．３：ＤＶＤＢＡＳＬおよびＤＶＤＢＡＬＬのためのＤＮＡ構築物の分子クローニング

重鎖構築物ＤＶＤＢＡＨＣ－ＬＬおよびＤＶＤＢＡＨＣ－ＳＬを生成するために、抗体ＢのＶＨドメインは、特異的プライマー（３’プライマーはそれぞれＳＬ／ＬＬ構築物に対する短い／長い線状配列を含む）を用いてＰＣＲ増幅される；一方、抗体ＡのＶＨドメインは、特異的プライマー（５’プライマーはそれぞれＳＬ／ＬＬ構築物に対する短い／長い線状配列を含む）を用いて増幅される。両方のＰＣＲ反応は、標準的なＰＣＲ技術および手法に従って行われる。２つのＰＣＲ産物をゲルで精製し、標準的なＰＣＲ条件を用いて、その後の重複ＰＣＲ反応のために重複鋳型としてともに使用する。重複ＰＣＲ産物は、標準的な相同組み換えアプローチを用いることによって、ＳｒｆＩおよびＳａｌＩによって二重消化されたｐＢＯＳ－ｈＣγ１，ｚ非ａ－哺乳類用発現ベクター（Ａｂｂｏｔｔ）にサブクローニングされる。

【０５５０】

軽鎖構築物ＤＶＤＢＡＬＣ－ＬＬおよびＤＶＤＢＡＬＣ－ＳＬを生成するために、抗体ＢのＶＬドメインは、特異的プライマー（３’プライマーはそれぞれＳＬ／ＬＬ構築物に対する短い／長い線状配列を含む）を用いてＰＣＲ増幅される；一方、抗体ＡのＶＬドメインは、特異的プライマー（５’プライマーはそれぞれＳＬ／ＬＬ構築物に対する短い／長い線状配列を含む）を用いて増幅される。両方のＰＣＲ反応は、標準的なＰＣＲ技術および手法に従って行われる。２つのＰＣＲ産物をゲルで精製し、標準的なＰＣＲ条件を用いて、その後の重複ＰＣＲ反応のために重複鋳型としてともに使用する。重複ＰＣＲ産物は、標準的な相同組み換えアプローチを用いることによって、ＳｒｆＩおよびＮｏｔＩによって二重消化されたｐＢＯＳ－ｈＣｋ哺乳類用発現ベクター（Ａｂｂｏｔｔ）にサブクローニングされる。

【０５５１】

実施例１．４．４：追加のＤＶＤ－Ｉｇの構築および発現

実施例１．４．４．１：ＤＶＤ－Ｉｇベクター構築物の調製

ＤＶＤ－Ｉｇに取り込むために、特異的な抗原またはそれらのエピトープを認識する特異的抗体についての親抗体アミノ酸配列が、上述したハイブリドーマの調製によって得ることができ、または既知の抗体タンパク質もしくは核酸を配列決定することによって得ることができる。さらに、既知の配列は文献から得ることができる。これらの配列は、標準的なＤＮＡ合成または増幅技術を用いて核酸を合成するために使用することができ、標準的な組み換えＤＮＡ技術を用いて、細胞において発現させるために、発現ベクターに所望の抗体断片を組み入れることができる。

【０５５２】

例えば、核酸コドンは、アミノ酸配列から決定され、オリゴヌクレオチドＤＮＡは、Ｂｌｕｅ Ｈｅｒｏｎ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，Ｉｎｃ．（ｗｗｗ．ｂｌｕｅｈｅｒｏｎｂｉｏ．ｃｏｍ）Ｂｏｔｈｅｌｌ，ＷＡ ＵＳＡで合成された。オリゴヌクレオチドは、３００－２，０００塩基対の二本鎖ＤＮＡ断片に組み入れられ、プラスミドベクターにクローニングされ、配列が確認された。クローニングされた断片は、酵素処理を用いて組み入れられ、完全な遺伝子を得て、発現ベクターにサブクローニングされた。（７，３０６，９１４；７，２９７，５４１；７，２７９，１５９；７，１５０，９６９；２００８０１１５２４３；２００８０１０２４７５；２００８００８１３７９；２００８００７５６９０；２００８００６３７８０；２００８００５０５０６；２００８００３８７７７；２００８００２２４２２；２００７０２８９０３３；２００７０２８７１７０；２００７０２５４３３８；２００７０２４３１９４；２００７０２２５２２７；２００７０２０

７１７１；２００７０１５０９７６；２００７０１３５６２０；２００７０１２８１９０；２００７０１０４７２２；２００７００９２４８４；２００７００３７１９６；２００７００２８３２１；２００６０１７２４０４；２００６０１６２０２６；２００６０１５３７９１；２００３０２１５４５８；２００３０１５７６４３を参照）。

【０５５３】

親抗体およびＤＶＤ－Ｉｇクローニングのために一群のｐＨｙｂＥベクター（米国特許出願第６１／０２１，２８２号）を用いた。ｐＪＰ１８３由来のＶ１；ｐＨｙｂＥ－ｈＣｇ１，ｚ，非ａ　Ｖ２は、野生型の定常領域を有する抗体およびＤＶＤ重鎖をクローニングするために使用された。ｐＪＰ１９１由来のＶ２；ｐＨｙｂＥ－ｈＣｋ　Ｖ２は、κ定常領域を有する抗体およびＤＶＤ軽鎖をクローニングするために使用された。ｐＪＰ１９２由来のＶ３；ｐＨｙｂＥ－ｈＣ１　Ｖ２は、λ定常領域を有する抗体およびＤＶＤ軽鎖をクローニングするために使用された。λシグナルペプチドおよびκ定常領域とともに構築されたＶ４は、λ－κハイブリッドＶドメインを有するＤＶＤ軽鎖をクローニングするために使用された。κシグナルペプチドおよびλ定常領域とともに構築されたＶ５は、κ－λハイブリッドＶドメインを有するＤＶＤ軽鎖をクローニングするために使用された。ｐＪＰ１８３由来のＶ７；ｐＨｙｂＥ－ｈＣｇ１，ｚ，非ａ　Ｖ２は、（２３４、２３５ＡＡ）変異定常領域を有する抗体およびＤＶＤ重鎖をクローニングするために使用された。

【０５５４】

表１３に関して、親抗体ならびにＤＶＤ－Ｉｇ　ＶＨおよびＶＬ鎖のクローニングに多数のベクターを用いた。

【０５５５】

【表１３】

表 **13:** 親抗体および **DVD-Ig** をクローニングするために使用されたベクター

ID	重鎖ベクター	軽鎖ベクター
DVD1447	V1	V2
DVD1448	V1	V2
DVD1449	V1	V2
DVD1450	V1	V2
DVD1451	V1	V2
DVD1452	V1	V2
DVD1453	V1	V2
DVD1454	V1	V2
DVD1455	V1	V2
DVD1456	V1	V2
DVD1457	V1	V2
DVD1468	V1	V2
DVD1459	V1	V2
DVD1460	V1	V2
DVD1461	V1	V2
DVD1462	V1	V2
DVD1463	V1	V2
DVD1464	V1	V2
DVD1465	V1	V2
DVD1466	V1	V2
DVD1467	V1	V2
DVD1468	V1	V2
DVD1469	V1	V2
DVD1470	V1	V2
DVD1471	V1	V2
DVD1472	V1	V2
DVD1473	V1	V2
DVD1474	V1	V2
DVD1475	V1	V2
DVD1476	V1	V2
DVD1477	V1	V2
DVD1478	V1	V2
DVD1479	V1	V2
DVD1480	V1	V2
DVD1481	V1	V2
DVD1482	V1	V2
DVD1483	V1	V2
DVD1484	V1	V2
DVD1485	V1	V2
DVD1486	V1	V2
DVD1487	V1	V2
DVD1488	V1	V2
DVD1489	V1	V2
DVD1490	V1	V2

ID	重鎖ベクター	軽鎖ベクター
DVD1491	V1	V2
DVD1492	V1	V2
DVD1493	V1	V2
DVD1494	V1	V2
DVD1495	V1	V2
DVD1496	V1	V2
DVD1497	V1	V2
DVD1498	V1	V2
DVD1499	V1	V2
DVD1500	V1	V2
DVD1501	V1	V2
DVD1502	V1	V2
DVD1503	V1	V2
DVD1504	V1	V2
DVD1505	V1	V2
DVD1506	V1	V2
DVD1507	V1	V2
DVD1508	V1	V2
DVD1509	V1	V2
DVD1510	V1	V2
DVD1511	V1	V2
DVD1512	V1	V2
DVD1513	V1	V2
DVD1514	V1	V2
DVD1515	V1	V2
DVD1516	V1	V2
DVD1517	V1	V2
DVD1518	V1	V2
DVD1519	V1	V2
DVD1520	V1	V2
DVD1521	V1	V2
DVD1522	V1	V2
DVD1523	V1	V2
DVD1524	V1	V2
DVD1525	V1	V2
DVD1526	V1	V2
DVD1527	V1	V2
DVD1528	V1	V2
DVD1529	V1	V2
DVD1530	V1	V2
DVD1531	V1	V2
DVD1532	V1	V2
DVD1533	V1	V2
DVD1534	V1	V2
DVD1535	V1	V2
DVD1536	V1	V2

ID	重鎖ベクター	軽鎖ベクター
DVD1537	V1	V2
DVD1538	V1	V2
DVD1539	V1	V2
DVD1540	V1	V2
DVD1541	V1	V2
DVD1542	V1	V2
DVD1543	V1	V2
DVD1544	V1	V2
DVD1545	V1	V2
DVD1546	V1	V2
DVD1547	V1	V2
DVD1548	V1	V2
DVD1549	V1	V2
DVD1550	V1	V2
DVD1551	V1	V2
DVD1552	V1	V2
DVD1553	V1	V2
DVD1554	V1	V2
DVD1555	V1	V2
DVD1556	V1	V2
DVD1557	V1	V2
DVD1558	V1	V2
DVD1559	V1	V2
DVD1560	V1	V2
DVD1561	V1	V2
DVD1562	V1	V2
DVD1563	V1	V2
DVD1564	V1	V2
DVD1565	V1	V2
DVD1566	V1	V2
DVD1567	V1	V2
DVD1568	V1	V2
DVD1569	V1	V2
DVD1570	V1	V2
DVD1571	V1	V2
DVD1572	V1	V2

【０５５６】

実施例１．４．４．２：２９３細胞における形質移入および発現

基準抗体およびＤＶＤ－Ｉｇの発現は、対応する軽鎖（ＬＣ）核酸および重鎖（ＨＣ）核酸を含むプラスミドを用いてＨＥＫ２９３（ＥＢＮＡ）細胞に一時的に同時に形質移入することによって達成された。ＨＥＫ２９３（ＥＢＮＡ）細胞は、CO_2インキュベーター（８％CO_2、１２５ＲＰＭ、３７℃）中で振とうしているフラスコ（２Ｌ　Ｃｏｒｎｉｎｇ，カタログ＃４３１１９８）の０．５Ｌ規模にて新鮮な２９３培地（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｒｌｓｂａｄ　ＣＡ）において増殖させた。培養物が1×10^6個の細胞／ｍｌの密度に到達したとき、形質移入複合体を用いて細胞に形質移入した。形質移入複合体は、最初に１５０μｇのＬＣ－プラスミドおよび１００μｇのＨＣ－プラスミドを一緒に２５ｍｌの新鮮な培地中で混合し、次に５００ｕｌのＰＥＩ保存溶液（［保存溶液：

１ｍｇ／ｍｌ（ｐＨ７．０）直鎖状２５ｋＤａのＰＥＩ、Ｐｏｌｙｓｃｉｅｎｃｅｓ、カタログ＃２３９６６］の添加によって調製された。形質移入複合体は反転によって混合され、細胞培養物に添加される前に室温にて１０分間インキュベートさせた。形質移入後、CO_2インキュベーター（８％CO_2、１２５ＲＰＭ、３７℃）中で培養を継続した。形質移入の２４時間後、２５ｍｌの１０％トリプトンＮ１溶液（Ｏｒｇａｎｏ Ｔｅｃｈｎｉｅ，Ｌａ Ｃｏｕｒｎｅｕｖｅ Ｆｒａｎｃｅ、カタログ＃１９５５３）を培養物に補足した。形質移入の９日後、遠心分離（１６，０００ｇ、１０分）によって培養物から細胞を取り除き、残った上清を滅菌濾過（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ ＨＶ Ｄｕｒａｐｏｒｅ Ｓｔｅｒｉｃｕｐ，０．４５ｕｍ）し、精製ステップの開始まで４℃に置いた。

【０５５７】

各抗体またはＤＶＤ－Ｉｇは、ＭａｂＳｅｌｅｃｔ ＳｕＲｅ樹脂（ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）を含む使い捨ての１ｍｌ充填カラム（Ｏｒｏｃｈｅｍ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓによってパックされた）を用いて個別に精製された。カラムをＰＢＳ中で予め平衡化し、次に、回収した０．５５Ｌの試料を一晩（１５時間）、１ｍｌ／分にてローディングし、フロースルーを供給溶液に戻して再循環させた。ローディングステップ後、２０ｍｌのＰＢＳを用いてカラムを洗浄し、タンパク質は、溶出緩衝液［５０ｍＭクエン酸、ｐＨ３．５］を４ｍｌ／分にて供給し、０．２ｍｌの１．５ＭのＴｒｉｓ、ｐＨ８．２（最終ｐＨを約６．０にする）をすでに含む管に画分（１ｍｌ）を回収することによって溶出された。抗体を含む画分は、クロマトグラムに基づいて集め、最終保存緩衝液［１０ｍＭクエン酸、１０ｍＭのNa_2HPO_4、ｐＨ６．０］に透析された。透析後、試料を０．２２ｕｍのＳｔｅｒｉｆｌｉｐ（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ）に通して濾過し、タンパク質の濃度を吸光度［Ｈｅｗｌｅｔｔ Ｐａｃｋａｒｄ ８４５３ ダイオードアレイ分光光度計］によって決定した。ＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析は、最終純度を評価し、適切なサイズの重鎖および軽鎖バンドの存在を確認し、有意量の遊離（すなわち、複合化されていない）軽鎖（非還元試料における）がないことを確かめるために分析試料（還元および非還元の両方）について行われた。

【０５５８】

表１４は、２９３細胞における１リットルあたりのミリグラムで表される親抗体またはＤＶＤ－Ｉｇ構築物についての収率データを含む。

【０５５９】

【表１４】

表 **14: 293** 細胞における親抗体および **DVD-Ig** 構築物の一時的発現収量

親抗体または **DVD-Ig ID**	**N** 末端可変ドメイン **(VD)**	**C** 末端可変ドメイン **(VD)**	発現収量 **(mg/L)**
DVD1447	TNF (配列 2)	PGE2	0.014
DVD1448	PGE2	TNF (配列 2)	1.06
DVD1453	TNF (配列 2)	SOST	0.05
DVD1454	SOST	TNF (配列 2)	0.184
DVD1459	TNF (配列 2)	NGF	0
DVD1460	NGF	TNF (配列 2)	0.24
DVD1465	TNF (配列 2)	LPA	0
DVD1466	LPA	TNF (配列 2)	0
DVD1471	TNF (配列 1)	LPA	0.34
DVD1472	LPA	TNF (配列 1)	0.66
DVD1473	TNF (配列 5)	PGE2	0.14
DVD1474	PGE2	TNF (配列 5)	2
DVD1475	TNF (配列 5)	SOST	21.4
DVD1476	SOST	TNF (配列 5)	18.2
DVD1477	TNF (配列 5)	NGF	3.6
DVD1478	NGF	TNF (配列 5)	1.32
DVD1479	TNF (配列 5)	LPA	1.6
DVD1480	LPA	TNF (配列 5)	6
DVD1481	TNF (配列 6)	PGE2	3
DVD1482	PGE2	TNF (配列 6)	5.6
DVD1483	TNF (配列 6)	SOST	21.8
DVD1484	SOST	TNF (配列 6)	19.8
DVD1485	TNF (配列 6)	NGF	8.4
DVD1486	NGF	TNF (配列 6)	2.1
DVD1487	TNF (配列 6)	LPA	2.6
DVD1488	LPA	TNF (配列 6)	8.6
DVD1489	TNF (配列 2)	PGE2	0
DVD1490	PGE2	TNF (配列 2)	0.6
DVD1495	TNF (配列 2)	SOST	2.2
DVD1496	SOST	TNF (配列 2)	5
DVD1501	TNF (配列 2)	NGF	0.056
DVD1502	NGF	TNF (配列 2)	2.4
DVD1507	TNF (配列 2)	LPA	0.05
DVD1508	LPA	TNF (配列 2)	3.28
DVD1513	TNF (配列 1)	LPA	17.72
DVD1514	LPA	TNF (配列 1)	0.8
DVD1515	TNF (配列 5)	PGE2	1
DVD1516	PGE2	TNF (配列 5)	4.98
DVD1517	TNF (配列 5)	SOST	3.54

親抗体または DVD-Ig ID	N 末端可変ドメイン (VD)	C 末端可変ドメイン (VD)	発現収量 (mg/L)
DVD1518	SOST	TNF (配列 5)	8.78
DVD1519	TNF (配列 5)	NGF	0.4
DVD1520	NGF	TNF (配列 5)	0.86
DVD1521	TNF (配列 5)	LPA	0
DVD1522	LPA	TNF (配列 5)	1.34
DVD1523	TNF (配列 6)	PGE2	2
DVD1524	PGE2	TNF (配列 6)	2.56
DVD1525	TNF (配列 6)	SOST	23.8
DVD1526	SOST	TNF (配列 6)	14.6
DVD1527	TNF (配列 6)	NGF	11
DVD1528	NGF	TNF (配列 6)	11.6
DVD1529	TNF (配列 6)	LPA	5.2
DVD1530	LPA	TNF (配列 6)	5.2

【０５６０】
実施例１．４．５：Ａ／Ｂ　ＤＶＤ　Ｉｇの特徴付けおよび誘導選択
抗Ａ／Ｂ　ＤＶＤ－Ｉｇの結合親和性は、タンパク質Ａおよびタンパク質Ｂに対して、Ｂｉａｃｏｒｅで分析される。Ｂｉａｃｏｒｅによる多重結合研究によってＤＶＤ－Ｉｇの四価特性を調べる。一方、タンパク質Ａおよびタンパク質Ｂに対するＤＶＤ－Ｉｇの中和効力は、それぞれ、本明細書中に記載されるバイオアッセイによって評価される。元の親ｍＡｂの親和性および可能性を最も保持しているＤＶＤ－Ｉｇ分子は、各ｍＡｂについて、本願明細書に記載された詳細な物理化学的および生物分析的（ラットＰＫ）特徴付けに関して選択される。分析の収集に基づいて、最終の誘導ＤＶＤ－Ｉｇは、安定なＣＨＯ細胞株の開発に進められ、ＣＨＯ誘導材料は、安定性、カニクイザルにける薬物動態および有効性研究、ならびにプレフォーミュレーション活性において採用される。
【０５６１】
実施例２：二重可変ドメイン免疫グロブリン（ＤＶＤ－Ｉｇ）の生成および特徴付け
既知のアミノ酸配列を有する親抗体を用いた二重可変ドメイン免疫グロブリン（ＤＶＤ－Ｉｇ）は、ＤＶＤ－Ｉｇ可変重鎖およびＤＶＤ－Ｉｇ可変軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド断片を合成し、実施例１．４．４．１に従ってｐＨｙｂＣ－Ｄ２ベクターにその断片をクローニングすることによって生成された。ＤＶＤ－Ｉｇ構築体は、実施例１．４．４．２に記載される２９３細胞にクローニングされ、発現された。標準的な方法に従ってＤＶＤ－Ｉｇタンパク質を精製した。機能的特徴付けは、示された実施例１．１．１および１．１．２に記載された方法に従って決定された。本明細書に開示されているＤＶＤ－ＩｇについてのＤＶＤ－Ｉｇ　ＶＨ鎖およびＶＬ鎖を以下に与える。
【０５６２】
実施例２．１：リンカーセット２を有するＴＮＦ（配列２）およびＮＧＦ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成
【０５６３】

【表１５】
表 15

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 **12345678901234567890123456789012345**
52	**DVD1459H**	AB213VH	AB020VH	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTDYGVN WVRQPPGKGLEWLGMIWGDGSTDYDSTLKSRLSIS KDNSKSQIFLKMNSLQTDDTARYYCAREWHHGPVA YWGQGTLVTVSA**ASTKGP**QVQLQESGPGLVKPSET LSLTCTVSGFSLIGYDLNWIRQPPGKGLEWIGIIW GDGTTDYNSAVKSRVTISKDTSKNQFSLKLSSVTA ADTAVYYCARGGYWYATSYYFDYWGQGTLVTVSS
53	**DVD1459L**	AB213VL	AB020VL	DIVMTQSHKFMSTTVGDRVSITCKASQAVSSAVAW YQQKPGQSPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSVTD FTLTIHNLQAEDLALYYCQQHYSTPFTFGSGTKLE IKR**TVAAPSVFIFPP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQSISNNLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRFH SGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQ EHTLPYTFGQGTKLEIKR
54	**DVD1460H**	AB020VH	AB213VH	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLIGYDLN WIRQPPGKGLEWIGIIWGDGTTDYNSAVKSRVTIS KDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGGYWYATS YYFDYWGQGTLVTVSS**ASTKGP**QVQLKESGPGLVA PSQSLSITCTVSGFSLTDYGVNWVRQPPGKGLEWL GMIWGDGSTDYDSTLKSRLSISKDNSKSQIFLKMN SLQTDDTARYYCAREWHHGPVAYWGQGTLVTVSA
55	**DVD1460L**	AB020VL	AB213VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISNNLNW YQQKPGKAPKLLIYYTSRFHSGVPSRFSGSGSGTD FTFTISSLQPEDIATYYCQQEHTLPYTFGQGTKLE IKR**TVAAPSVFIFPP**DIVMTQSHKFMSTTVGDRVS ITCKASQAVSSAVAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRH TGVPDRFTGSGSVTDFTLTIHNLQAEDLALYYCQQ HYSTPFTFGSGTKLEIKR

【０５６４】
実施例２．２：リンカーセット２を有するＴＮＦ（配列３）およびＮＧＦ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成
【０５６５】

【表１６】

表 16

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 **12345678901234567890123456789012345**
56	**DVD1461H**	AB214VH	AB020VH	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFIFSNHWMN WVRQSPEKGLEWVAEIRSKSINSATHYAESVKGRF TISRDDSKSAVYLQMTDLRTEDTGVYYCSRNYYGS TYDYWGQGTTLTVSS**ASTKGP**QVQLQESGPGLVKP SETLSLTCTVSGFSLIGYDLNWIRQPPGKGLEWIG IIWGDGTTDYNSAVKSRVTISKDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCARGGYWYATSYYFDYWGQGTLVTV SS
57	**DVD1461L**	AB214VL	AB020VL	DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQFVGSSIHW YQQRTNGSPRLLIKYASESMSGIPSRFSGSGSGTD FTLSINTVESEDIADYYCQESHSWPFTFGSGTNLE VKR**TVAAPSVFIFPP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQSISNNLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRFH SGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQ EHTLPYTFGQGTKLEIKR
58	**DVD1462H**	AB020VH	AB214VH	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLIGYDLN WIRQPPGKGLEWIGIIWGDGTTDYNSAVKSRVTIS KDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGGYWYATS YYFDYWGQGTLVTVSS**ASTKGP**EVKLEESGGGLVQ PGGSMKLSCVASGFIFSNHWMNWVRQSPEKGLEWV AEIRSKSINSATHYAESVKGRFTISRDDSKSAVYL QMTDLRTEDTGVYYCSRNYYGSTYDYWGQGTTLTV SS
59	**DVD1462L**	AB020VL	AB214VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISNNLNW YQQKPGKAPKLLIYYTSRFHSGVPSRFSGSGSGTD FTFTISSLQPEDIATYYCQQEHTLPYTFGQGTKLE IKR**TVAAPSVFIFPP**DILLTQSPAILSVSPGERVS FSCRASQFVGSSIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESM SGIPSRFSGSGSGTDFTLSINTVESEDIADYYCQE SHSWPFTFGSGTNLEVKR

【０５６６】

実施例２．２３：リンカーセット２を有するＴＮＦ（配列４）およびＮＧＦ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０５６７】

【表１７】

表 17

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 **12345678901234567890123456789012345**
60	**DVD1463H**	AB215VH	AB020VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMH WVRQAPGNGLEWVAFMSYDGSNKYAKDSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAG GNYYYYGMDVWGQGTTVTVSS**ASTKGP**QVQLQESG PGLVKPSETLSLTCTVSGFSLIGYDLNWIRQPPGK GLEWIGIIWGDGTTDYNSAVKSRVTISKDTSKNQF SLKLSSVTAADTAVYYCARGGYWYATSYYFDYWGQ GTLVTVSS
61	**DVD1463L**	AB215VL	AB020VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAW YQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTD FTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKV DIKR**TVAAPSVFIFPP**DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSISNNLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRF HSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQ QEHTLPYTFGQGTKLEIKR
62	**DVD1464H**	AB020VH	AB215VH	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLIGYDLN WIRQPPGKGLEWIGIIWGDGTTDYNSAVKSRVTIS KDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGGYWYATS YYFDYWGQGTLVTVSS**ASTKGP**QVQLVESGGGVVQ PGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGNGLEWV AFMSYDGSNKYAKDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQ GTTVTVSS
63	**DVD1464L**	AB020VL	AB215VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISNNLNW YQQKPGKAPKLLIYYTSRFHSGVPSRFSGSGSGTD FTFTISSLQPEDIATYYCQQEHTLPYTFGQGTKLE IKR**TVAAPSVFIFPP**EIVLTQSPATLSLSPGERAT LSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRA TGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQ RSNWPPFTFGPGTKVDIKR

【０５６８】

実施例２．４：リンカーセット２を有するＴＮＦ（配列５）およびＮＧＦ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０５６９】

【表１８】

表 18

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 **12345678901234567890123456789012345**
64	**DVD1477H**	AB217VH	AB020VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYDMH WVRQAPGKGLEWVAVIWSDGSIKYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREVESAMG GFYYNGMDVWGQGTTVTVSS**ASTKGP**QVQLQESGP GLVKPSETLSLTCTVSGFSLIGYDLNWIRQPPGKG LEWIGIIWGDGTTDYNSAVKSRVTISKDTSKNQFS LKLSSVTAADTAVYYCARGGYWYATSYYFDYWGQG TLVTVSS
65	**DVD1477L**	AB217VL	AB020VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRIDLGW YQQKPGKAPKRLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTE FIFTISSLQPEDFASYYCLQHKSYPLTFGGGTKVE IKR**TVAAPSVFIFPP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQSISNNLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRFH SGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQ EHTLPYTFGQGTKLEIKR
66	**DVD1478H**	AB020VH	AB217VH	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLIGYDLN WIRQPPGKGLEWIGIIWGDGTTDYNSAVKSRVTIS KDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGGYWYATS YYFDYWGQGTLVTVSS**ASTKGP**QVQLVESGGGVVQ PGRSLRLSCAASGFTFSSYDMHWVRQAPGKGLEWV AVIWSDGSIKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCAREVESAMGGFYYNGMDVWGQG TTVTVSS
67	**DVD1478L**	AB020VL	AB217VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISNNLNW YQQKPGKAPKLLIYYTSRFHSGVPSRFSGSGSGTD FTFTISSLQPEDIATYYCQQEHTLPYTFGQGTKLE IKR**TVAAPSVFIFPP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQGIRIDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASTLQ SGVPSRFSGSGSGTEFIFTISSLQPEDFASYYCLQ HKSYPLTFGGGTKVEIKR

【０５７０】

実施例２．５：リンカーセット２を有するＴＮＦ（配列６）およびＮＧＦ－Ｉｇの生成

【０５７１】

【表１９】
表 19

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 12345678901234567890123456789012345
68	**DVD1485H**	AB218VH	AB020VH	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTVSRNYMS WVRQAPGKGLEWVSVIYSGDRTYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGEGGFDYW GQGTLVTVSS**ASTKGP**QVQLQESGPGLVKPSETLS LTCTVSGFSLIGYDLNWIRQPPGKGLEWIGIIWGD GTTDYNSAVKSRVTISKDTSKNQFSLKLSSVTAAD TAVYYCARGGYWYATSYYFDYWGQGTLVTVSS
69	**DVD1485L**	AB218VL	AB020VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAW YQQKPGQAPRLLIHGASIRATGLPARFSGSGSGTE FTLTISSLQSEDFAVYYCQQYNYWWTFGQGTKVEI KR**TVAAPSVFIFPP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQSISNNLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRFHS GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQE HTLPYTFGQGTKLEIKR
70	**DVD1486H**	AB020VH	AB218VH	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLIGYDLN WIRQPPGKGLEWIGIIWGDGTTDYNSAVKSRVTIS KDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGGYWYATS YYFDYWGQGTLVTVSS**ASTKGP**EVQLVESGGGLIQ PGGSLRLSCAASGFTVSRNYMSWVRQAPGKGLEWV SVIYSGDRTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARGEGGFDYWGQGTLVTVSS
71	**DVD1486L**	AB020VL	AB218VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISNNLNW YQQKPGKAPKLLIYYTSRFHSGVPSRFSGSGSGTD FTFTISSLQPEDIATYYCQQEHTLPYTFGQGTKLE IKR**TVAAPSVFIFPP**EIVMTQSPATLSVSPGERAT LSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIHGASIRA TGLPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQ YNYWWTFGQGTKVEIKR

【０５７２】
実施例２．６：リンカーセット２を有するＴＮＦ（配列２）およびＳＯＳＴ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成
【０５７３】

【表２０】

表20

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 **12345678901234567890123456789012345**
72	**DVD1453H**	AB213VH	AB022VH	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTDYGVN WVRQPPGKGLEWLGMIWGDGSTDYDSTLKSRLSIS KDNSKSQIFLKMNSLQTDDTARYYCAREWHHGPVA YWGQGTLVTVSA**ASTKGP**EVQLQQSGPELVTPGAS VKISCKASGYTFTDHYMSWVKQSHGKSLEWIGDIN PYSGETTYNQKFKGTATLTVDKSSSIAYMEIRGLT SEDSAVYYCARDDYDASPFAYWGQGTLVTVSA
73	**DVD1453L**	AB213VL	AB022VL	DIVMTQSHKFMSTTVGDRVSITCKASQAVSSAVAW YQQKPGQSPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSVTD FTLTIHNLQAEDLALYYCQQHYSTPFTFGSGTKLE IKR**TVAAPSVFIFPP**DVQMIQSPSSLSASLGDIVT MTCQASQGTSINLNWFQQKPGKAPKLLIYGSSNLE DGVPSRFSGSRYGTDFTLTISSLEDEDLATYFCLQ HSYLPYTFGGGTKLEIKR
74	**DVD1454H**	AB022VH	AB213VH	EVQLQQSGPELVTPGASVKISCKASGYTFTDHYMS WVKQSHGKSLEWIGDINPYSGETTYNQKFKGTATL TVDKSSSIAYMEIRGLTSEDSAVYYCARDDYDASP FAYWGQGTLVTVSA**ASTKGP**QVQLKESGPGLVAPS QSLSITCTVSGFSLTDYGVNWVRQPPGKGLEWLGM IWGDGSTDYDSTLKSRLSISKDNSKSQIFLKMNSL QTDDTARYYCAREWHHGPVAYWGQGTLVTVSA
75	**DVD1454L**	AB022VL	AB213VL	DVQMIQSPSSLSASLGDIVTMTCQASQGTSINLNW FQQKPGKAPKLLIYGSSNLEDGVPSRFSGSRYGTD FTLTISSLEDEDLATYFCLQHSYLPYTFGGGTKLE IKR**TVAAPSVFIFPP**DIVMTQSHKFMSTTVGDRVS ITCKASQAVSSAVAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRH TGVPDRFTGSGSVTDFTLTIHNLQAEDLALYYCQQ HYSTPFTFGSGTKLEIKR

【０５７４】

実施例２．７：リンカーセット２を有するＴＮＦ（配列３）およびＳＯＳＴ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０５７５】

【表２１】

表21

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 12345678901234567890123456789012345
76	**DVD1455H**	AB214VH	AB022VH	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFIFSNHWMN WVRQSPEKGLEWVAEIRSKSINSATHYAESVKGRF TISRDDSKSAVYLQMTDLRTEDTGVYYCSRNYYGS TYDYWGQGTTLTVSS**ASTKGP**EVQLQQSGPELVTP GASVKISCKASGYTFTDHYMSWVKQSHGKSLEWIG DINPYSGETTYNQKFKGTATLTVDKSSSIAYMEIR GLTSEDSAVYYCARDDYDASPFAYWGQGTLVTVSA
77	**DVD1455L**	AB214VL	AB022VL	DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQFVGSSIHW YQQRTNGSPRLLIKYASESMSGIPSRFSGSGSGTD FTLSINTVESEDIADYYCQESHSWPFTFGSGTNLE VKR**TVAAPSVFIFPP**DVQMIQSPSSLSASLGDIVT MTCQASQGTSINLNWFQQKPGKAPKLLIYGSSNLE DGVPSRFSGSRYGTDFTLTISSLEDEDLATYFCLQ HSYLPYTFGGGTKLEIKR
78	**DVD1456H**	AB022VH	AB214VH	EVQLQQSGPELVTPGASVKISCKASGYTFTDHYMS WVKQSHGKSLEWIGDINPYSGETTYNQKFKGTATL TVDKSSSIAYMEIRGLTSEDSAVYYCARDDYDASP FAYWGQGTLVTVSA**ASTKGP**EVKLEESGGGLVQPG GSMKLSCVASGFIFSNHWMNWVRQSPEKGLEWVAE IRSKSINSATHYAESVKGRFTISRDDSKSAVYLQM TDLRTEDTGVYYCSRNYYGSTYDYWGQGTTLTVSS
79	**DVD1456L**	AB022VL	AB214VL	DVQMIQSPSSLSASLGDIVTMTCQASQGTSINLNW FQQKPGKAPKLLIYGSSNLEDGVPSRFSGSRYGTD FTLTISSLEDEDLATYFCLQHSYLPYTFGGGTKLE IKR**TVAAPSVFIFPP**DILLTQSPAILSVSPGERVS FSCRASQFVGSSIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESM SGIPSRFSGSGSGTDFTLSINTVESEDIADYYCQE SHSWPFTFGSGTNLEVKR

【０５７６】

実施例２．８：リンカーセット２を有するＴＮＦ（配列４）およびＳＯＳＴ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０５７７】

【表２２】

表 22

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 1234567890123456789012345678901234 5
80	**DVD1457H**	AB215VH	AB022VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMH WVRQAPGNGLEWVAFMSYDGSNKYAKDSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAG GNYYYYGMDVWGQGTTVTVSS**ASTKGP**EVQLQQSG PELVTPGASVKISCKASGYTFTDHYMSWVKQSHGK SLEWIGDINPYSGETTYNQKFKGTATLTVDKSSSI AYMEIRGLTSEDSAVYYCARDDYDASPFAYWGQGT LVTVSA
81	**DVD1457L**	AB215VL	AB022VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAW YQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTD FTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKV DIKR**TVAAPSVFIFPP**DVQMIQSPSSLSASLGDIV TMTCQASQGTSINLNWFQQKPGKAPKLLIYGSSNL EDGVPSRFSGSRYGTDFTLTISSLEDEDLATYFCL QHSYLPYTFGGGTKLEIKR
82	**DVD1458H**	AB022VH	AB215VH	EVQLQQSGPELVTPGASVKISCKASGYTFTDHYMS WVKQSHGKSLEWIGDINPYSGETTYNQKFKGTATL TVDKSSSIAYMEIRGLTSEDSAVYYCARDDYDASP FAYWGQGTLVTVSA**ASTKGP**QVQLVESGGGVVQPG RSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGNGLEWVAF MSYDGSNKYAKDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGT TVTVSS
83	**DVD1458L**	AB022VL	AB215VL	DVQMIQSPSSLSASLGDIVTMTCQASQGTSINLNW FQQKPGKAPKLLIYGSSNLEDGVPSRFSGSRYGTD FTLTISSLEDEDLATYFCLQHSYLPYTFGGGTKLE IKR**TVAAPSVFIFPP**EIVLTQSPATLSLSPGERAT LSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRA TGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQ RSNWPPFTFGPGTKVDIKR

【０５７８】

実施例２．９：リンカーセット２を有するＴＮＦ（配列５）およびＳＯＳＴ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０５７９】

【表２３】

表 23

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 **12345678901234567890123456789012345**
84	**DVD1475H**	AB217VH	AB022VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYDMH WVRQAPGKGLEWVAVIWSDGSIKYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREVESAMG GFYYNGMDVWGQGTTVTVSS**ASTKGP**EVQLQQSGP ELVTPGASVKISCKASGYTFTDHYMSWVKQSHGKS LEWIGDINPYSGETTYNQKFKGTATLTVDKSSSIA YMEIRGLTSEDSAVYYCARDDYDASPFAYWGQGTL VTVSA
85	**DVD1475L**	AB217VL	AB022VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRIDLGW YQQKPGKAPKRLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTE FIFTISSLQPEDFASYYCLQHKSYPLTFGGGTKVE IKR**TVAAPSVFIFPP**DVQMIQSPSSLSASLGDIVT MTCQASQGTSINLNWFQQKPGKAPKLLIYGSSNLE DGVPSRFSGSRYGTDFTLTISSLEDEDLATYFCLQ HSYLPYTFGGGTKLEIKR
86	**DVD1476H**	AB022VH	AB217VH	EVQLQQSGPELVTPGASVKISCKASGYTFTDHYMS WVKQSHGKSLEWIGDINPYSGETTYNQKFKGTATL TVDKSSSIAYMEIRGLTSEDSAVYYCARDDYDASP FAYWGQGTLVTVSA**ASTKGP**QVQLVESGGGVVQPG RSLRLSCAASGFTFSSYDMHWVRQAPGKGLEWVAV IWSDGSIKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCAREVESAMGGFYYNGMDVWGQGTT VTVSS
87	**DVD1476L**	AB022VL	AB217VL	DVQMIQSPSSLSASLGDIVTMTCQASQGTSINLNW FQQKPGKAPKLLIYGSSNLEDGVPSRFSGSRYGTD FTLTISSLEDEDLATYFCLQHSYLPYTFGGGTKLE IKR**TVAAPSVFIFPP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQGIRIDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASTLQ SGVPSRFSGSGSGTEFIFTISSLQPEDFASYYCLQ HKSYPLTFGGGTKVEIKR

【０５８０】

実施例２．１０：リンカーセット２を有するＴＮＦ（配列６）およびＳＯＳＴ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０５８１】

【表２４】
表24

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 12345678901234567890123456789012345
88	**DVD1483H**	AB218VH	AB022VH	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTVSRNYMS WVRQAPGKGLEWVSVIYSGDRTYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGEGGFDYW GQGTLVTVSS**ASTKGP**EVQLQQSGPELVTPGASVK ISCKASGYTFTDHYMSWVKQSHGKSLEWIGDINPY SGETTYNQKFKGTATLTVDKSSSIAYMEIRGLTSE DSAVYYCARDDYDASPFAYWGQGTLVTVSA
89	**DVD1483L**	AB218VL	AB022VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAW YQQKPGQAPRLLIHGASIRATGLPARFSGSGSGTE FTLTISSLQSEDFAVYYCQQYNYWWTFGQGTKVEI KR**TVAAPSVFIFPP**DVQMIQSPSSLSASLGDIVTM TCQASQGTSINLNWFQQKPGKAPKLLIYGSSNLED GVPSRFSGSRYGTDFTLTISSLEDEDLATYFCLQH SYLPYTFGGGTKLEIKR
90	**DVD1484H**	AB022VH	AB218VH	EVQLQQSGPELVTPGASVKISCKASGYTFTDHYMS WVKQSHGKSLEWIGDINPYSGETTYNQKFKGTATL TVDKSSSIAYMEIRGLTSEDSAVYYCARDDYDASP FAYWGQGTLVTVSA**ASTKGP**EVQLVESGGGLIQPG GSLRLSCAASGFTVSRNYMSWVRQAPGKGLEWVSV IYSGDRTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCARGEGGFDYWGQGTLVTVSS
91	**DVD1484L**	AB022VL	AB218VL	DVQMIQSPSSLSASLGDIVTMTCQASQGTSINLNW FQQKPGKAPKLLIYGSSNLEDGVPSRFSGSRYGTD FTLTISSLEDEDLATYFCLQHSYLPYTFGGGTKLE IKR**TVAAPSVFIFPP**EIVMTQSPATLSVSPGERAT LSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIHGASIRA TGLPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQ YNYWWTFGQGTKVEIKR

【０５８２】
実施例２．１１：リンカーセット２を有するＴＮＦ（配列２）およびＰＧＥ２の生成
【０５８３】

【表２５】

表 25

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 **12345678901234567890123456789012345678901234**
92	**DVD1447H**	AB213VH	AB048VH	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTDYGV NWVRQPPGKGLEWLGMIWGDGSTDYDSTLKSRLS ISKDNSKSQIFLKMNSLQTDDTARYYCAREWHHG PVAYWGQGTLVTVSA**ASTKGP**EVQLVQSGAEVKK PGASVKVSCKASGYTFTKYWLGWVRQAPGQGLEW MGDIYPGYDYTHYNEKFKDRVTLTTDTSTSTAYM ELRSLRSDDTAVYYCARSDGSSTYWGQGTLVTVS S
93	**DVD1447L**	AB213VL	AB048VL	DIVMTQSHKFMSTTVGDRVSITCKASQAVSSAVA WYQQKPGQSPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSV TDFTLTIHNLQAEDLALYYCQQHYSTPFTFGSGT KLEIKR**TVAAPSVFIFPP**DVLMTQTPLSLPVTPG EPASISCTSSQNIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPQ LLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVE AEDVGVYYCFQVSHVPYTFGGGTKVEIKR
94	**DVD1448H**	AB048VH	AB213VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTKYWL GWVRQAPGQGLEWMGDIYPGYDYTHYNEKFKDRV TLTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARSDGS STYWGQGTLVTVSS**ASTKGP**QVQLKESGPGLVAP SQSLSITCTVSGFSLTDYGVNWVRQPPGKGLEWL GMIWGDGSTDYDSTLKSRLSISKDNSKSQIFLKM NSLQTDDTARYYCAREWHHGPVAYWGQGTLVTVS A
95	**DVD1448L**	AB048VL	AB213VL	DVLMTQTPLSLPVTPGEPASISCTSSQNIVHSNG NTYLEWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFS GSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQVSHVPYT FGGGTKVEIKR**TVAAPSVFIFPP**DIVMTQSHKFM STTVGDRVSITCKASQAVSSAVAWYQQKPGQSPK LLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSVTDFTLTIHNLQ AEDLALYYCQQHYSTPFTFGSGTKLEIKR

【０５８４】

実施例２．１２：リンカーセット２を有するＴＮＦ（配列３）およびＰＧＥ２　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０５８５】

【表２６】

表26

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 12345678901234567890123456789012345
96	**DVD1449H**	AB214VH	AB048VH	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFIFSNHWMN WVRQSPEKGLEWVAEIRSKSINSATHYAESVKGRF TISRDDSKSAVYLQMTDLRTEDTGVYYCSRNYYGS TYDYWGQGTTLTVSS**ASTKGP**EVQLVQSGAEVKKP GASVKVSCKASGYTFTKYWLGWVRQAPGQGLEWMG DIYPGYDYTHYNEKFKDRVTLTTDTSTSTAYMELR SLRSDDTAVYYCARSDGSSTYWGQGTLVTVSS
97	**DVD1449L**	AB214VL	AB048VL	DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQFVGSSIHW YQQRTNGSPRLLIKYASESMSGIPSRFSGSGSGTD FTLSINTVESEDIADYYCQESHSWPFTFGSGTNLE VKR**TVAAPSVFIFPP**DVLMTQTPLSLPVTPGEPAS ISCTSSQNIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPQLLIYK VSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCFQVSHVPYTFGGGTKVEIKR
98	**DVD1450H**	AB048VH	AB214VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTKYWLG WVRQAPGQGLEWMGDIYPGYDYTHYNEKFKDRVTL TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARSDGSSTY WGQGTLVTVSS**ASTKGP**EVKLEESGGGLVQPGGSM KLSCVASGFIFSNHWMNWVRQSPEKGLEWVAEIRS KSINSATHYAESVKGRFTISRDDSKSAVYLQMTDL RTEDTGVYYCSRNYYGSTYDYWGQGTTLTVSS
99	**DVD1450L**	AB048VL	AB214VL	DVLMTQTPLSLPVTPGEPASISCTSSQNIVHSNGN TYLEWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQVSHVPYTFGG GTKVEIKR**TVAAPSVFIFPP**DILLTQSPAILSVSP GERVSFSCRASQFVGSSIHWYQQRTNGSPRLLIKY ASESMSGIPSRFSGSGSGTDFTLSINTVESEDIAD YYCQESHSWPFTFGSGTNLEVKR

【０５８６】

実施例２．１３：リンカーセット２を有するＴＮＦ（配列４）およびＰＧＥ２　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０５８７】

【表２７】
表27

配列番号	DVD可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 12345678901234567890123456789012345
100	**DVD1451H**	AB215VH	AB048VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMH WVRQAPGNGLEWVAFMSYDGSNKYAKDSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAG GNYYYYGMDVWGQGTTVTVSS**ASTKGP**EVQLVQSG AEVKKPGASVKVSCKASGYTFTKYWLGWVRQAPGQ GLEWMGDIYPGYDYTHYNEKFKDRVTLTTDTSTST AYMELRSLRSDDTAVYYCARSDGSSTYWGQGTLVT VSS
101	**DVD1451L**	AB215VL	AB048VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAW YQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTD FTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKV DIKR**TVAAPSVFIFPP**DVLMTQTPLSLPVTPGEPA SISCTSSQNIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPQLLIY KVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVG VYYCFQVSHVPYTFGGGTKVEIKR
102	**DVD1452H**	AB048VH	AB215VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTKYWLG WVRQAPGQGLEWMGDIYPGYDYTHYNEKFKDRVTL TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARSDGSSTY WGQGTLVTVSS**ASTKGP**QVQLVESGGGVVQPGRSL RLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGNGLEWVAFMSY DGSNKYAKDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGTTVT VSS
103	**DVD1452L**	AB048VL	AB215VL	DVLMTQTPLSLPVTPGEPASISCTSSQNIVHSNGN TYLEWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQVSHVPYTFGG GTKVEIKR**TVAAPSVFIFPP**EIVLTQSPATLSLSP GERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYD ASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAV YYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKR

【０５８８】
実施例２．１４：リンカーセット２を有するＴＮＦ（配列５）およびＰＧＥ２　ＤＶＤ－Ｉｇの生成
【０５８９】

【表２８】
表28

配列番号	DVD可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 **12345678901234567890123456789012345**
104	**DVD1473H**	AB217VH	AB048VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYDMH WVRQAPGKGLEWVAVIWSDGSIKYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREVESAMG GFYYNGMDVWGQGTTVTVSS**ASTKGP**EVQLVQSGA EVKKPGASVKVSCKASGYTFTKYWLGWVRQAPGQG LEWMGDIYPGYDYTHYNEKFKDRVTLTTDTSTSTA YMELRSLRSDDTAVYYCARSDGSSTYWGQGTLVTV SS
105	**DVD1473L**	AB217VL	AB048VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRIDLGW YQQKPGKAPKRLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTE FIFTISSLQPEDFASYYCLQHKSYPLTFGGGTKVE IKR**TVAAPSVFIFPP**DVLMTQTPLSLPVTPGEPAS ISCTSSQNIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPQLLIYK VSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCFQVSHVPYTFGGGTKVEIKR
106	**DVD1474H**	AB048VH	AB217VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTKYWLG WVRQAPGQGLEWMGDIYPGYDYTHYNEKFKDRVTL TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARSDGSSTY WGQGTLVTVSS**ASTKGP**QVQLVESGGGVVQPGRSL RLSCAASGFTFSSYDMHWVRQAPGKGLEWVAVIWS DGSIKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCAREVESAMGGFYYNGMDVWGQGTTVTV SS
107	**DVD1474L**	AB048VL	AB217VL	DVLMTQTPLSLPVTPGEPASISCTSSQNIVHSNGN TYLEWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQVSHVPYTFGG GTKVEIKR**TVAAPSVFIFPP**DIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQGIRIDLGWYQQKPGKAPKRLIYA ASTLQSGVPSRFSGSGSGTEFIFTISSLQPEDFAS YYCLQHKSYPLTFGGGTKVEIKR

【０５９０】
実施例２．１５：リンカーセット２を有するＴＮＦ（配列６）およびＰＧＥ２　ＤＶＤ－Ｉｇの生成
【０５９１】

【表２９】

表29

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 12345678901234567890123456789012345
108	**DVD1481H**	AB218VH	AB048VH	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTVSRNYMS WVRQAPGKGLEWVSVIYSGDRTYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGEGGFDYW GQGTLVTVSS**ASTKGP**EVQLVQSGAEVKKPGASVK VSCKASGYTFTKYWLGWVRQAPGQGLEWMGDIYPG YDYTHYNEKFKDRVTLTTDTSTSTAYMELRSLRSD DTAVYYCARSDGSSTYWGQGTLVTVSS
109	**DVD1481L**	AB218VL	AB048VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAW YQQKPGQAPRLLIHGASIRATGLPARFSGSGSGTE FTLTISSLQSEDFAVYYCQQYNYWWTFGQGTKVEI KR**TVAAPSVFIFPP**DVLMTQTPLSLPVTPGEPASI SCTSSQNIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPQLLIYKV SNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVY YCFQVSHVPYTFGGGTKVEIKR
110	**DVD1482H**	AB048VH	AB218VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTKYWLG WVRQAPGQGLEWMGDIYPGYDYTHYNEKFKDRVTL TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARSDGSSTY WGQGTLVTVSS**ASTKGP**EVQLVESGGGLIQPGGSL RLSCAASGFTVSRNYMSWVRQAPGKGLEWVSVIYS GDRTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCARGEGGFDYWGQGTLVTVSS
111	**DVD1482L**	AB048VL	AB218VL	DVLMTQTPLSLPVTPGEPASISCTSSQNIVHSNGN TYLEWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQVSHVPYTFGG GTKVEIKR**TVAAPSVFIFPP**EIVMTQSPATLSVSP GERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIHG ASIRATGLPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAV YYCQQYNYWWTFGQGTKVEIKR

【０５９２】

実施例２．１６：リンカーセット２を有するＴＮＦ（配列２）およびＬＰＡ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０５９３】

【表３０】

表 30

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 **12345678901234567890123456789012345**
112	**DVD1465H**	AB213VH	AB216VH	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTDYGVN WVRQPPGKGLEWLGMIWGDGSTDYDSTLKSRLSIS KDNSKSQIFLKMNSLQTDDTARYYCAREWHHGPVA YWGQGTLVTVSA**ASTKGP**QVQLQQSGAELVRPGTS VKVSCKASGYGFINYLIEWIKQRPGQGLEWIGLIN PGSDYTNYNENFKGKATLTADKSSSTAYMHLSSLT SEDSAVYFCARRFGYYGSGNYFDYWGQGTTLTVSS
113	**DVD1465L**	AB213VL	AB216VL	DIVMTQSHKFMSTTVGDRVSITCKASQAVSSAVAW YQQKPGQSPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSVTD FTLTIHNLQAEDLALYYCQQHYSTPFTFGSGTKLE IKR**TVAAPSVFIFPP**DVVMTQTPLSLPVSLGDQAS ISCTSGQSLVHINGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYK VSNLFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGV YFCSQSTHFPFTFGTGTKLEIKR
114	**DVD1466H**	AB216VH	AB213VH	QVQLQQSGAELVRPGTSVKVSCKASGYGFINYLIE WIKQRPGQGLEWIGLINPGSDYTNYNENFKGKATL TADKSSSTAYMHLSSLTSEDSAVYFCARRFGYYGS GNYFDYWGQGTTLTVSS**ASTKGP**QVQLKESGPGLV APSQSLSITCTVSGFSLTDYGVNWVRQPPGKGLEW LGMIWGDGSTDYDSTLKSRLSISKDNSKSQIFLKM NSLQTDDTARYYCAREWHHGPVAYWGQGTLVTVSA
115	**DVD1466L**	AB216VL	AB213VL	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCTSGQSLVHINGN TYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNLFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHFPFTFGT GTKLEIKR**TVAAPSVFIFPP**DIVMTQSHKFMSTTV GDRVSITCKASQAVSSAVAWYQQKPGQSPKLLIYW ASTRHTGVPDRFTGSGSVTDFTLTIHNLQAEDLAL YYCQQHYSTPFTFGSGTKLEIKR

【０５９４】

実施例２．１７：リンカーセット２を有するＴＮＦ（配列３）およびＬＰＡ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０５９５】

【表３１】

表31

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 **12345678901234567890123456789012345**
116	**DVD1467H**	AB214VH	AB216VH	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFIFSNHWMN WVRQSPEKGLEWVAEIRSKSINSATHYAESVKGRF TISRDDSKSAVYLQMTDLRTEDTGVYYCSRNYYGS TYDYWGQGTTLTVSS**ASTKGP**QVQLQQSGAELVRP GTSVKVSCKASGYGFINYLIEWIKQRPGQGLEWIG LINPGSDYTNYNENFKGKATLTADKSSSTAYMHLS SLTSEDSAVYFCARRFGYYGSGNYFDYWGQGTTLT VSS
117	**DVD1467L**	AB214VL	AB216VL	DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQFVGSSIHW YQQRTNGSPRLLIKYASESMSGIPSRFSGSGSGTD FTLSINTVESEDIADYYCQESHSWPFTFGSGTNLE VKR**TVAAPSVFIFPP**DVVMTQTPLSLPVSLGDQAS ISCTSGQSLVHINGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYK VSNLFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGV YFCSQSTHFPFTFGTGTKLEIKR
118	**DVD1468H**	AB216VH	AB214VH	QVQLQQSGAELVRPGTSVKVSCKASGYGFINYLIE WIKQRPGQGLEWIGLINPGSDYTNYNENFKGKATL TADKSSSTAYMHLSSLTSEDSAVYFCARRFGYYGS GNYFDYWGQGTTLTVSS**ASTKGP**EVKLEESGGGLV QPGGSMKLSCVASGFIFSNHWMNWVRQSPEKGLEW VAEIRSKSINSATHYAESVKGRFTISRDDSKSAVY LQMTDLRTEDTGVYYCSRNYYGSTYDYWGQGTTLT VSS
119	**DVD1468L**	AB216VL	AB214VL	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCTSGQSLVHINGN TYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNLFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHFPFTFGT GTKLEIKR**TVAAPSVFIFPP**DILLTQSPAILSVSP GERVSFSCRASQFVGSSIHWYQQRTNGSPRLLIKY ASESMSGIPSRFSGSGSGTDFTLSINTVESEDIAD YYCQESHSWPFTFGSGTNLEVKR

【０５９６】

実施例２．１８：リンカーセット２を有するＴＮＦ（配列４）およびＬＰＡ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０５９７】

【表３２】

表 32

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 12345678901234567890123456789012345
120	**DVD1469H**	AB215VH	AB216VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMH WVRQAPGNGLEWVAFMSYDGSNKYAKDSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAG GNYYYYGMDVWGQGTTVTVSS**ASTKGP**QVQLQQSG AELVRPGTSVKVSCKASGYGFINYLIEWIKQRPGQ GLEWIGLINPGSDYTNYNENFKGKATLTADKSSST AYMHLSSLTSEDSAVYFCARRFGYYGSGNYFDYWG QGTTLTVSS
121	**DVD1469L**	AB215VL	AB216VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAW YQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTD FTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKV DIKR**TVAAPSVFIFPP**DVVMTQTPLSLPVSLGDQA SISCTSGQSLVHINGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIY KVSNLFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLG VYFCSQSTHFPFTFGTGTKLEIKR
122	**DVD1470H**	AB216VH	AB215VH	QVQLQQSGAELVRPGTSVKVSCKASGYGFINYLIE WIKQRPGQGLEWIGLINPGSDYTNYNENFKGKATL TADKSSSTAYMHLSSLTSEDSAVYFCARRFGYYGS GNYFDYWGQGTTLTVSS**ASTKGP**QVQLVESGGGVV QPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGNGLEW VAFMSYDGSNKYAKDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWG QGTTVTVSS
123	**DVD1470L**	AB216VL	AB215VL	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCTSGQSLVHINGN TYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNLFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHFPFTFGT GTKLEIKR**TVAAPSVFIFPP**EIVLTQSPATLSLSP GERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYD ASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAV YYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKR

【０５９８】

実施例２．１９：リンカーセット２を有するＴＮＦ（配列１）およびＬＰＡ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０５９９】

【表３３】

表 33

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 12345678901234567890123456789012345
124	**DVD1471H**	AB017VH	AB216VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMH WVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTA SSLDYWGQGTLVTVSS**ASTKGP**QVQLQQSGAELVR PGTSVKVSCKASGYGFINYLIEWIKQRPGQGLEWI GLINPGSDYTNYNENFKGKATLTADKSSSTAYMHL SSLTSEDSAVYFCARRFGYYGSGNYFDYWGQGTTL TVSS
125	**DVD1471L**	AB017VL	AB216VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAW YQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVE IKR**TVAAPSVFIFPP**DVVMTQTPLSLPVSLGDQAS ISCTSGQSLVHINGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYK VSNLFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGV YFCSQSTHFPFTFGTGTKLEIKR
126	**DVD1472H**	AB216VH	AB017VH	QVQLQQSGAELVRPGTSVKVSCKASGYGFINYLIE WIKQRPGQGLEWIGLINPGSDYTNYNENFKGKATL TADKSSSTAYMHLSSLTSEDSAVYFCARRFGYYGS GNYFDYWGQGTTLTVSS**ASTKGP**EVQLVESGGGLV QPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEW VSAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLV TVSS
127	**DVD1472L**	AB216VL	AB017VL	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCTSGQSLVHINGN TYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNLFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHFPFTFGT GTKLEIKR**TVAAPSVFIFPP**DIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYA ASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVAT YYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIKR

【０６００】

実施例２．２０：リンカーセット２を有するＴＮＦ（配列５）およびＬＰＡ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０６０１】

【表３４】
表34

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 **12345678901234567890123456789012345**
128	**DVD1479H**	AB217VH	AB216VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYDMH WVRQAPGKGLEWVAVIWSDGSIKYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREVESAMG GFYYNGMDVWGQGTTVTVSS**ASTKGP**QVQLQQSGA ELVRPGTSVKVSCKASGYGFINYLIEWIKQRPGQG LEWIGLINPGSDYTNYNENFKGKATLTADKSSSTA YMHLSSLTSEDSAVYFCARRFGYYGSGNYFDYWGQ GTTLTVSS
129	**DVD1479L**	AB217VL	AB216VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRIDLGW YQQKPGKAPKRLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTE FIFTISSLQPEDFASYYCLQHKSYPLTFGGGTKVE IKR**TVAAPSVFIFPP**DVVMTQTPLSLPVSLGDQAS ISCTSGQSLVHINGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYK VSNLFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGV YFCSQSTHFPFTFGTGTKLEIKR
130	**DVD1480H**	AB216VH	AB217VH	QVQLQQSGAELVRPGTSVKVSCKASGYGFINYLIE WIKQRPGQGLEWIGLINPGSDYTNYNENFKGKATL TADKSSSTAYMHLSSLTSEDSAVYFCARRFGYYGS GNYFDYWGQGTTLTVSS**ASTKGP**QVQLVESGGGVV QPGRSLRLSCAASGFTFSSYDMHWVRQAPGKGLEW VAVIWSDGSIKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAREVESAMGGFYYNGMDVWGQ GTTVTVSS
131	**DVD1480L**	AB216VL	AB217VL	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCTSGQSLVHINGN TYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNLFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHFPFTFGT GTKLEIKR**TVAAPSVFIFPP**DIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQGIRIDLGWYQQKPGKAPKRLIYA ASTLQSGVPSRFSGSGSGTEFIFTISSLQPEDFAS YYCLQHKSYPLTFGGGTKVEIKR

【０６０２】
実施例２．２１：リンカーセット２を有するＴＮＦ（配列６）およびＬＰＡ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成
【０６０３】

【表３５】

表35

配列番号	DVD可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 12345678901234567890123456789012345
132	**DVD1487H**	AB218VH	AB216VH	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTVSRNYMS WVRQAPGKGLEWVSVIYSGDRTYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGEGGFDYW GQGTLVTVSS**ASTKGP**QVQLQQSGAELVRPGTSVK VSCKASGYGFINYLIEWIKQRPGQGLEWIGLINPG SDYTNYNENFKGKATLTADKSSSTAYMHLSSLTSE DSAVYFCARRFGYYGSGNYFDYWGQGTTLTVSS
133	**DVD1487L**	AB218VL	AB216VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAW YQQKPGQAPRLLIHGASIRATGLPARFSGSGSGTE FTLTISSLQSEDFAVYYCQQYNYWWTFGQGTKVEI KR**TVAAPSVFIFPP**DVVMTQTPLSLPVSLGDQASI SCTSGQSLVHINGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKV SNLFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVY FCSQSTHFPFTFGTGTKLEIKR
134	**DVD1488H**	AB216VH	AB218VH	QVQLQQSGAELVRPGTSVKVSCKASGYGFINYLIE WIKQRPGQGLEWIGLINPGSDYTNYNENFKGKATL TADKSSSTAYMHLSSLTSEDSAVYFCARRFGYYGS GNYFDYWGQGTTLTVSS**ASTKGP**EVQLVESGGGLI QPGGSLRLSCAASGFTVSRNYMSWVRQAPGKGLEW VSVIYSGDRTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCARGEGGFDYWGQGTLVTVSS
135	**DVD1488L**	AB216VL	AB218VL	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCTSGQSLVHINGN TYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNLFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHFPFTFGT GTKLEIKR**TVAAPSVFIFPP**EIVMTQSPATLSVSP GERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIHG ASIRATGLPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAV YYCQQYNYWWTFGQGTKVEIKR

【０６０４】

実施例２．２２：リンカーセット３を有するＴＮＦ（配列２）およびＮＧＦ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０６０５】

【表３６】
表 36

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 **12345678901234567890123456789012345**
136	**DVD1501H**	AB213VH	AB020VH	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTDYGVN WVRQPPGKGLEWLGMIWGDGSTDYDSTLKSRLSIS KDNSKSQIFLKMNSLQTDDTARYYCAREWHHGPVA YWGQGTLVTVSA**ASTKGPSVFPLAP**QVQLQESGPG LVKPSETLSLTCTVSGFSLIGYDLNWIRQPPGKGL EWIGIIWGDGTTDYNSAVKSRVTISKDTSKNQFSL KLSSVTAADTAVYYCARGGYWYATSYYFDYWGQGT LVTVSS
137	**DVD1501L**	AB213VL	AB020VL	DIVMTQSHKFMSTTVGDRVSITCKASQAVSSAVAW YQQKPGQSPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSVTD FTLTIHNLQAEDLALYYCQQHYSTPFTFGSGTKLE IKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ SISNNLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRFHSGVPSRF SGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQEHTLPYT FGQGTKLEIKR
138	**DVD1502H**	AB020VH	AB213VH	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLIGYDLN WIRQPPGKGLEWIGIIWGDGTTDYNSAVKSRVTIS KDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGGYWYATS YYFDYWGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**QVQLKE SGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTDYGVNWVRQPP GKGLEWLGMIWGDGSTDYDSTLKSRLSISKDNSKS QIFLKMNSLQTDDTARYYCAREWHHGPVAYWGQGT LVTVSA
139	**DVD1502L**	AB020VL	AB213VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISNNLNW YQQKPGKAPKLLIYYTSRFHSGVPSRFSGSGSGTD FTFTISSLQPEDIATYYCQQEHTLPYTFGQGTKLE IKR**TVAAP**DIVMTQSHKFMSTTVGDRVSITCKASQ AVSSAVAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRHTGVPDRF TGSGSVTDFTLTIHNLQAEDLALYYCQQHYSTPFT FGSGTKLEIKR

【０６０６】
実施例２．２３：リンカーセット３を有するＴＮＦ（配列３）およびＮＧＦ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成
【０６０７】

【表３７】

表 37

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 12345678901234567890123456789012345
140	**DVD1503H**	AB214VH	AB020VH	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFIFSNHWMN WVRQSPEKGLEWVAEIRSKSINSATHYAESVKGRF TISRDDSKSAVYLQMTDLRTEDTGVYYCSRNYYGS TYDYWGQGTTLTVSS**ASTKGPSVFPLAP**QVQLQES GPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLIGYDLNWIRQPPG KGLEWIGIIWGDGTTDYNSAVKSRVTISKDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCARGGYWYATSYYFDYWG QGTLVTVSS
141	**DVD1503L**	AB214VL	AB020VL	DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQFVGSSIHW YQQRTNGSPRLLIKYASESMSGIPSRFSGSGSGTD FTLSINTVESEDIADYYCQESHSWPFTFGSGTNLE VKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ SISNNLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRFHSGVPSRF SGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQEHTLPYT FGQGTKLEIKR
142	**DVD1504H**	AB020VH	AB214VH	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLIGYDLN WIRQPPGKGLEWIGIIWGDGTTDYNSAVKSRVTIS KDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGGYWYATS YYFDYWGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**EVKLEE SGGGLVQPGGSMKLSCVASGFIFSNHWMNWVRQSP EKGLEWVAEIRSKSINSATHYAESVKGRFTISRDD SKSAVYLQMTDLRTEDTGVYYCSRNYYGSTYDYWG QGTTLTVSS
143	**DVD1504L**	AB020VL	AB214VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISNNLNW YQQKPGKAPKLLIYYTSRFHSGVPSRFSGSGSGTD FTFTISSLQPEDIATYYCQQEHTLPYTFGQGTKLE IKR**TVAAP**DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQ FVGSSIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESMSGIPSRF SGSGSGTDFTLSINTVESEDIADYYCQESHSWPFT FGSGTNLEVKR

【０６０８】

実施例２．２４：リンカーセット３を有するＴＮＦ（配列４）およびＮＧＦ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０６０９】

【表３８】

表 38

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 12345678901234567890123456789012345
144	**DVD1505H**	AB215VH	AB020VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMH WVRQAPGNGLEWVAFMSYDGSNKYAKDSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAG GNYYYYGMDVWGQGTTVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**Q VQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLIGYDLNW IRQPPGKGLEWIGIIWGDGTTDYNSAVKSRVTISK DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGGYWYATSY YFDYWGQGTLVTVSS
145	**DVD1505L**	AB215VL	AB020VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAW YQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTD FTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKV DIKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS QSISNNLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRFHSGVPSR FSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQEHTLPY TFGQGTKLEIKR
146	**DVD1506H**	AB020VH	AB215VH	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLIGYDLN WIRQPPGKGLEWIGIIWGDGTTDYNSAVKSRVTIS KDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGGYWYATS YYFDYWGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**QVQLVE SGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAP GNGLEWVAFMSYDGSNKYAKDSVKGRFTISRDNSK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYY GMDVWGQGTTVTVSS
147	**DVD1506L**	AB020VL	AB215VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISNNLNW YQQKPGKAPKLLIYYTSRFHSGVPSRFSGSGSGTD FTFTISSLQPEDIATYYCQQEHTLPYTFGQGTKLE IKR**TVAAP**EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQ SVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARF SGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPF TFGPGTKVDIKR

【０６１０】

実施例２．２５：リンカーセット３を有するＴＮＦ（配列５）およびＮＧＦ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０６１１】

【表３９】

表 39

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 **12345678901234567890123456789012345**
148	**DVD1519H**	AB217VH	AB020VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYDMH WVRQAPGKGLEWVAVIWSDGSIKYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREVESAMG GFYYNGMDVWGQGTTVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**QV QLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLIGYDLNWI RQPPGKGLEWIGIIWGDGTTDYNSAVKSRVTISKD TSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGGYWYATSYY FDYWGQGTLVTVSS
149	**DVD1519L**	AB217VL	AB020VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRIDLGW YQQKPGKAPKRLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTE FIFTISSLQPEDFASYYCLQHKSYPLTFGGGTKVE IKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ SISNNLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRFHSGVPSRF SGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQEHTLPYT FGQGTKLEIKR
150	**DVD1520H**	AB020VH	AB217VH	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLIGYDLN WIRQPPGKGLEWIGIIWGDGTTDYNSAVKSRVTIS KDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGGYWYATS YYFDYWGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**QVQLVE SGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYDMHWVRQAP GKGLEWVAVIWSDGSIKYYADSVKGRFTISRDNSK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREVESAMGGFYYNG MDVWGQGTTVTVSS
151	**DVD1520L**	AB020VL	AB217VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISNNLNW YQQKPGKAPKLLIYYTSRFHSGVPSRFSGSGSGTD FTFTISSLQPEDIATYYCQQEHTLPYTFGQGTKLE IKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ GIRIDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASTLQSGVPSRF SGSGSGTEFIFTISSLQPEDFASYYCLQHKSYPLT FGGGTKVEIKR

【０６１２】

実施例２．２６：リンカーセット３を有するＴＮＦ（配列６）およびＮＧＦ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０６１３】

【表４０】

表 40

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 **12345678901234567890123456789012345**
152	**DVD1527H**	AB218VH	AB020VH	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTVSRNYMS WVRQAPGKGLEWVSVIYSGDRTYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGEGGFDYW GQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**QVQLQESGPGLV KPSETLSLTCTVSGFSLIGYDLNWIRQPPGKGLEW IGIIWGDGTTDYNSAVKSRVTISKDTSKNQFSLKL SSVTAADTAVYYCARGGYWYATSYYFDYWGQGTLV TVSS
153	**DVD1527L**	AB218VL	AB020VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAW YQQKPGQAPRLLIHGASIRATGLPARFSGSGSGTE FTLTISSLQSEDFAVYYCQQYNYWWTFGQGTKVEI KR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS ISNNLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRFHSGVPSRFS GSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQEHTLPYTF GQGTKLEIKR
154	**DVD1528H**	AB020VH	AB218VH	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLIGYDLN WIRQPPGKGLEWIGIIWGDGTTDYNSAVKSRVTIS KDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGGYWYATS YYFDYWGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**EVQLVE SGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTVSRNYMSWVRQAP GKGLEWVSVIYSGDRTYYADSVKGRFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGEGGFDYWGQGTLV TVSS
155	**DVD1528L**	AB020VL	AB218VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISNNLNW YQQKPGKAPKLLIYYTSRFHSGVPSRFSGSGSGTD FTFTISSLQPEDIATYYCQQEHTLPYTFGQGTKLE IKR**TVAAP**EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQ SVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIHGASIRATGLPARF SGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYNYWWTF GQGTKVEIKR

【０６１４】

実施例２．２７：リンカーセット３を有するＴＮＦ（配列２）およびＳＯＳＴ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０６１５】

【表４１】

表41

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 **12345678901234567890123456789012345**
156	**DVD1495H**	AB213VH	AB022VH	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTDYGVN WVRQPPGKGLEWLGMIWGDGSTDYDSTLKSRLSIS KDNSKSQIFLKMNSLQTDDTARYYCAREWHHGPVA YWGQGTLVTVSA**ASTKGPSVFPLAP**EVQLQQSGPE LVTPGASVKISCKASGYTFTDHYMSWVKQSHGKSL EWIGDINPYSGETTYNQKFKGTATLTVDKSSSIAY MEIRGLTSEDSAVYYCARDDYDASPFAYWGQGTLV TVSA
157	**DVD1495L**	AB213VL	AB022VL	DIVMTQSHKFMSTTVGDRVSITCKASQAVSSAVAW YQQKPGQSPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSVTD FTLTIHNLQAEDLALYYCQQHYSTPFTFGSGTKLE IKR**TVAAP**DVQMIQSPSSLSASLGDIVTMTCQASQ GTSINLNWFQQKPGKAPKLLIYGSSNLEDGVPSRF SGSRYGTDFTLTISSLEDEDLATYFCLQHSYLPYT FGGGTKLEIKR
158	**DVD1496H**	AB022VH	AB213VH	EVQLQQSGPELVTPGASVKISCKASGYTFTDHYMS WVKQSHGKSLEWIGDINPYSGETTYNQKFKGTATL TVDKSSSIAYMEIRGLTSEDSAVYYCARDDYDASP FAYWGQGTLVTVSA**ASTKGPSVFPLAP**QVQLKESG PGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTDYGVNWVRQPPGK GLEWLGMIWGDGSTDYDSTLKSRLSISKDNSKSQI FLKMNSLQTDDTARYYCAREWHHGPVAYWGQGTLV TVSA
159	**DVD1496L**	AB022VL	AB213VL	DVQMIQSPSSLSASLGDIVTMTCQASQGTSINLNW FQQKPGKAPKLLIYGSSNLEDGVPSRFSGSRYGTD FTLTISSLEDEDLATYFCLQHSYLPYTFGGGTKLE IKR**TVAAP**DIVMTQSHKFMSTTVGDRVSITCKASQ AVSSAVAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRHTGVPDRF TGSGSVTDFTLTIHNLQAEDLALYYCQQHYSTPFT FGSGTKLEIKR

【０６１６】

実施例２．２８：リンカーセット３を有するＴＮＦ（配列３）およびＳＯＳＴ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０６１７】

【表４２】

表 42

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 12345678901234567890123456789012345
160	**DVD1497H**	AB214VH	AB022VH	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFIFSNHWMN WVRQSPEKGLEWVAEIRSKSINSATHYAESVKGRF TISRDDSKSAVYLQMTDLRTEDTGVYYCSRNYYGS TYDYWGQGTTLTVSS**ASTKGPSVFPLAP**EVQLQQS GPELVTPGASVKISCKASGYTFTDHYMSWVKQSHG KSLEWIGDINPYSGETTYNQKFKGTATLTVDKSSS IAYMEIRGLTSEDSAVYYCARDDYDASPFAYWGQG TLVTVSA
161	**DVD1497L**	AB214VL	AB022VL	DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQFVGSSIHW YQQRTNGSPRLLIKYASESMSGIPSRFSGSGSGTD FTLSINTVESEDIADYYCQESHSWPFTFGSGTNLE VKR**TVAAP**DVQMIQSPSSLSASLGDIVTMTCQASQ GTSINLNWFQQKPGKAPKLLIYGSSNLEDGVPSRF SGSRYGTDFTLTISSLEDEDLATYFCLQHSYLPYT FGGGTKLEIKR
162	**DVD1498H**	AB022VH	AB214VH	EVQLQQSGPELVTPGASVKISCKASGYTFTDHYMS WVKQSHGKSLEWIGDINPYSGETTYNQKFKGTATL TVDKSSSIAYMEIRGLTSEDSAVYYCARDDYDASP FAYWGQGTLVTVSA**ASTKGPSVFPLAP**EVKLEESG GGLVQPGGSMKLSCVASGFIFSNHWMNWVRQSPEK GLEWVAEIRSKSINSATHYAESVKGRFTISRDDSK SAVYLQMTDLRTEDTGVYYCSRNYYGSTYDYWGQG TTLTVSS
163	**DVD1498L**	AB022VL	AB214VL	DVQMIQSPSSLSASLGDIVTMTCQASQGTSINLNW FQQKPGKAPKLLIYGSSNLEDGVPSRFSGSRYGTD FTLTISSLEDEDLATYFCLQHSYLPYTFGGGTKLE IKR**TVAAP**DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQ FVGSSIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESMSGIPSRF SGSGSGTDFTLSINTVESEDIADYYCQESHSWPFT FGSGTNLEVKR

【０６１８】

実施例２．２９：リンカーセット３を有するＴＮＦ（配列４）およびＳＯＳＴ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０６１９】

【表４３】

表43

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 12345678901234567890123456789012345
164	**DVD1499H**	AB215VH	AB022VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMH WVRQAPGNGLEWVAFMSYDGSNKYAKDSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAG GNYYYYGMDVWGQGTTVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**E VQLQQSGPELVTPGASVKISCKASGYTFTDHYMSW VKQSHGKSLEWIGDINPYSGETTYNQKFKGTATLT VDKSSSIAYMEIRGLTSEDSAVYYCARDDYDASPF AYWGQGTLVTVSA
165	**DVD1499L**	AB215VL	AB022VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAW YQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTD FTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKV DIKR**TVAAP**DVQMIQSPSSLSASLGDIVTMTCQAS QGTSINLNWFQQKPGKAPKLLIYGSSNLEDGVPSR FSGSRYGTDFTLTISSLEDEDLATYFCLQHSYLPY TFGGGTKLEIKR
166	**DVD1500H**	AB022VH	AB215VH	EVQLQQSGPELVTPGASVKISCKASGYTFTDHYMS WVKQSHGKSLEWIGDINPYSGETTYNQKFKGTATL TVDKSSSIAYMEIRGLTSEDSAVYYCARDDYDASP FAYWGQGTLVTVSA**ASTKGPSVFPLAP**QVQLVESG GGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGN GLEWVAFMSYDGSNKYAKDSVKGRFTISRDNSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGM DVWGQGTTVTVSS
167	**DVD1500L**	AB022VL	AB215VL	DVQMIQSPSSLSASLGDIVTMTCQASQGTSINLNW FQQKPGKAPKLLIYGSSNLEDGVPSRFSGSRYGTD FTLTISSLEDEDLATYFCLQHSYLPYTFGGGTKLE IKR**TVAAP**EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQ SVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARF SGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPF TFGPGTKVDIKR

【０６２０】

実施例２．３０：リンカーセット３を有するＴＮＦ（配列５）およびＳＯＳＴ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０６２１】

【表４４】

表44

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 **12345678901234567890123456789012345**
168	**DVD1517H**	AB217VH	AB022VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYDMH WVRQAPGKGLEWVAVIWSDGSIKYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREVESAMG GFYYNGMDVWGQGTTVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**EV QLQQSGPELVTPGASVKISCKASGYTFTDHYMSWV KQSHGKSLEWIGDINPYSGETTYNQKFKGTATLTV DKSSSIAYMEIRGLTSEDSAVYYCARDDYDASPFA YWGQGTLVTVSA
169	**DVD1517L**	AB217VL	AB022VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRIDLGW YQQKPGKAPKRLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTE FIFTISSLQPEDFASYYCLQHKSYPLTFGGGTKVE IKR**TVAAP**DVQMIQSPSSLSASLGDIVTMTCQASQ GTSINLNWFQQKPGKAPKLLIYGSSNLEDGVPSRF SGSRYGTDFTLTISSLEDEDLATYFCLQHSYLPYT FGGGTKLEIKR
170	**DVD1518H**	AB022VH	AB217VH	EVQLQQSGPELVTPGASVKISCKASGYTFTDHYMS WVKQSHGKSLEWIGDINPYSGETTYNQKFKGTATL TVDKSSSIAYMEIRGLTSEDSAVYYCARDDYDASP FAYWGQGTLVTVSA**ASTKGPSVFPLAP**QVQLVESG GGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYDMHWVRQAPGK GLEWVAVIWSDGSIKYYADSVKGRFTISRDNSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCAREVESAMGGFYYNGMD VWGQGTTVTVSS
171	**DVD1518L**	AB022VL	AB217VL	DVQMIQSPSSLSASLGDIVTMTCQASQGTSINLNW FQQKPGKAPKLLIYGSSNLEDGVPSRFSGSRYGTD FTLTISSLEDEDLATYFCLQHSYLPYTFGGGTKLE IKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ GIRIDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASTLQSGVPSRF SGSGSGTEFIFTISSLQPEDFASYYCLQHKSYPLT FGGGTKVEIKR

【０６２２】

実施例２．３１：リンカーセット３を有するＴＮＦ（配列６）およびＳＯＳＴ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０６２３】

【表４５】

表45

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 **12345678901234567890123456789012345**
172	**DVD1525H**	AB218VH	AB022VH	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTVSRNYMS WVRQAPGKGLEWVSVIYSGDRTYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGEGGFDYW GQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**EVQLQQSGPELV TPGASVKISCKASGYTFTDHYMSWVKQSHGKSLEW IGDINPYSGETTYNQKFKGTATLTVDKSSSIAYME IRGLTSEDSAVYYCARDDYDASPFAYWGQGTLVTV SA
173	**DVD1525L**	AB218VL	AB022VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAW YQQKPGQAPRLLIHGASIRATGLPARFSGSGSGTE FTLTISSLQSEDFAVYYCQQYNYWWTFGQGTKVEI KR**TVAAP**DVQMIQSPSSLSASLGDIVTMTCQASQG TSINLNWFQQKPGKAPKLLIYGSSNLEDGVPSRFS GSRYGTDFTLTISSLEDEDLATYFCLQHSYLPYTF GGGTKLEIKR
174	**DVD1526H**	AB022VH	AB218VH	EVQLQQSGPELVTPGASVKISCKASGYTFTDHYMS WVKQSHGKSLEWIGDINPYSGETTYNQKFKGTATL TVDKSSSIAYMEIRGLTSEDSAVYYCARDDYDASP FAYWGQGTLVTVSA**ASTKGPSVFPLAP**EVQLVESG GGLIQPGGSLRLSCAASGFTVSRNYMSWVRQAPGK GLEWVSVIYSGDRTYYADSVKGRFTISRDNSKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCARGEGGFDYWGQGTLVTV SS
175	**DVD1526L**	AB022VL	AB218VL	DVQMIQSPSSLSASLGDIVTMTCQASQGTSINLNW FQQKPGKAPKLLIYGSSNLEDGVPSRFSGSRYGTD FTLTISSLEDEDLATYFCLQHSYLPYTFGGGTKLE IKR**TVAAP**EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQ SVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIHGASIRATGLPARF SGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYNYWWTF GQGTKVEIKR

【０６２４】

実施例２．３２：リンカーセット３を有するＴＮＦ（配列２）およびＰＧＥ２の生成

【０６２５】

【表４６】

表46

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 1234567890123456789012345678901234
176	**DVD1489H**	AB213VH	AB048VH	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTDYGV NWVRQPPGKGLEWLGMIWGDGSTDYDSTLKSRLS ISKDNSKSQIFLKMNSLQTDDTARYYCAREWHHG PVAYWGQGTLVTVSA**ASTKGPSVFPLAP**EVQLVQ SGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTKYWLGWVRQA PGQGLEWMGDIYPGYDYTHYNEKFKDRVTLTTDT STSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARSDGSSTYWGQ GTLVTVSS
177	**DVD1489L**	AB213VL	AB048VL	DIVMTQSHKFMSTTVGDRVSITCKASQAVSSAVA WYQQKPGQSPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSV TDFTLTIHNLQAEDLALYYCQQHYSTPFTFGSGT KLEIKR**TVAAP**DVLMTQTPLSLPVTPGEPASISC TSSQNIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPQLLIYKVS NRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVY YCFQVSHVPYTFGGGTKVEIKR
178	**DVD1490H**	AB048VH	AB213VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTKYWL GWVRQAPGQGLEWMGDIYPGYDYTHYNEKFKDRV TLTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARSDGS STYWGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**QVQLKES GPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTDYGVNWVRQPP GKGLEWLGMIWGDGSTDYDSTLKSRLSISKDNSK SQIFLKMNSLQTDDTARYYCAREWHHGPVAYWGQ GTLVTVSA
179	**DVD1490L**	AB048VL	AB213VL	DVLMTQTPLSLPVTPGEPASISCTSSQNIVHSNG NTYLEWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFS GSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQVSHVPYT FGGGTKVEIKR**TVAAP**DIVMTQSHKFMSTTVGDR VSITCKASQAVSSAVAWYQQKPGQSPKLLIYWAS TRHTGVPDRFTGSGSVTDFTLTIHNLQAEDLALY YCQQHYSTPFTFGSGTKLEIKR

【０６２６】

実施例２．３３：リンカーセット３を有するＴＮＦ（配列３）およびＰＧＥ２　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０６２７】

【表４７】

表47

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 12345678901234567890123456789012345
180	**DVD1491H**	AB214VH	AB048VH	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFIFSNHWMN WVRQSPEKGLEWVAEIRSKSINSATHYAESVKGRF TISRDDSKSAVYLQMTDLRTEDTGVYYCSRNYYGS TYDYWGQGTTLTVSS**ASTKGPSVFPLAP**EVQLVQS GAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTKYWLGWVRQAPG QGLEWMGDIYPGYDYTHYNEKFKDRVTLTTDTSTS TAYMELRSLRSDDTAVYYCARSDGSSTYWGQGTLV TVSS
181	**DVD1491L**	AB214VL	AB048VL	DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQFVGSSIHW YQQRTNGSPRLLIKYASESMSGIPSRFSGSGSGTD FTLSINTVESEDIADYYCQESHSWPFTFGSGTNLE VKR**TVAAP**DVLMTQTPLSLPVTPGEPASISCTSSQ NIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSG VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQVS HVPYTFGGGTKVEIKR
182	**DVD1492H**	AB048VH	AB214VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTKYWLG WVRQAPGQGLEWMGDIYPGYDYTHYNEKFKDRVTL TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARSDGSSTY WGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**EVKLEESGGGL VQPGGSMKLSCVASGFIFSNHWMNWVRQSPEKGLE WVAEIRSKSINSATHYAESVKGRFTISRDDSKSAV YLQMTDLRTEDTGVYYCSRNYYGSTYDYWGQGTTL TVSS
183	**DVD1492L**	AB048VL	AB214VL	DVLMTQTPLSLPVTPGEPASISCTSSQNIVHSNGN TYLEWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQVSHVPYTFGG GTKVEIKR**TVAAP**DILLTQSPAILSVSPGERVSFS CRASQFVGSSIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESMSG IPSRFSGSGSGTDFTLSINTVESEDIADYYCQESH SWPFTFGSGTNLEVKR

【０６２８】

実施例２．３４：リンカーセット３を有するＴＮＦ（配列４）およびＰＧＥ２　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０６２９】

【表４８】
表48

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 **12345678901234567890123456789012345**
184	**DVD1493H**	AB215VH	AB048VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMH WVRQAPGNGLEWVAFMSYDGSNKYAKDSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAG GNYYYYGMDVWGQGTTVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**E VQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTKYWLGW VRQAPGQGLEWMGDIYPGYDYTHYNEKFKDRVTLT TDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARSDGSSTYW GQGTLVTVSS
185	**DVD1493L**	AB215VL	AB048VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAW YQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTD FTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKV DIKR**TVAAP**DVLMTQTPLSLPVTPGEPASISCTSS QNIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFS GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQV SHVPYTFGGGTKVEIKR
186	**DVD1494H**	AB048VH	AB215VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTKYWLG WVRQAPGQGLEWMGDIYPGYDYTHYNEKFKDRVTL TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARSDGSSTY WGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**QVQLVESGGGV VQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGNGLE WVAFMSYDGSNKYAKDSVKGRFTISRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVW GQGTTVTVSS
187	**DVD1494L**	AB048VL	AB215VL	DVLMTQTPLSLPVTPGEPASISCTSSQNIVHSNGN TYLEWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQVSHVPYTFGG GTKVEIKR**TVAAP**EIVLTQSPATLSLSPGERATLS CRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATG IPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRS NWPPFTFGPGTKVDIKR

【０６３０】
実施例２．３５：リンカーセット３を有するＴＮＦ（配列５）およびＰＧＥ２　ＤＶＤ－Ｉｇの生成
【０６３１】

【表４９】

表49

配列番号	DVD可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 12345678901234567890123456789012345
188	**DVD1515H**	AB217VH	AB048VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYDMH WVRQAPGKGLEWVAVIWSDGSIKYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREVESAMG GFYYNGMDVWGQGTTVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**EV QLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTKYWLGWV RQAPGQGLEWMGDIYPGYDYTHYNEKFKDRVTLTT DTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARSDGSSTYWG QGTLVTVSS
189	**DVD1515L**	AB217VL	AB048VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRIDLGW YQQKPGKAPKRLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTE FIFTISSLQPEDFASYYCLQHKSYPLTFGGGTKVE IKR**TVAAP**DVLMTQTPLSLPVTPGEPASISCTSSQ NIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSG VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQVS HVPYTFGGGTKVEIKR
190	**DVD1516H**	AB048VH	AB217VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTKYWLG WVRQAPGQGLEWMGDIYPGYDYTHYNEKFKDRVTL TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARSDGSSTY WGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**QVQLVESGGGV VQPGRSLRLSCAASGFTFSSYDMHWVRQAPGKGLE WVAVIWSDGSIKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREVESAMGGFYYNGMDVWG QGTTVTVSS
191	**DVD1516L**	AB048VL	AB217VL	DVLMTQTPLSLPVTPGEPASISCTSSQNIVHSNGN TYLEWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQVSHVPYTFGG GTKVEIKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQGIRIDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASTLQSG VPSRFSGSGSGTEFIFTISSLQPEDFASYYCLQHK SYPLTFGGGTKVEIKR

【０６３２】

実施例２．３６：リンカーセット３を有するＴＮＦ（配列６）およびＰＧＥ２　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０６３３】

【表５０】

表 50

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 1234567890123456789012345678901234 5
192	**DVD1523H**	AB218VH	AB048VH	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTVSRNYMS WVRQAPGKGLEWVSVIYSGDRTYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGEGGFDYW GQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**EVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKASGYTFTKYWLGWVRQAPGQGLEW MGDIYPGYDYTHYNEKFKDRVTLTTDTSTSTAYME LRSLRSDDTAVYYCARSDGSSTYWGQGTLVTVSS
193	**DVD1523L**	AB218VL	AB048VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAW YQQKPGQAPRLLIHGASIRATGLPARFSGSGSGTE FTLTISSLQSEDFAVYYCQQYNYWWTFGQGTKVEI KR**TVAAP**DVLMTQTPLSLPVTPGEPASISCTSSQN IVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQVSH VPYTFGGGTKVEIKR
194	**DVD1524H**	AB048VH	AB218VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTKYWLG WVRQAPGQGLEWMGDIYPGYDYTHYNEKFKDRVTL TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARSDGSSTY WGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**EVQLVESGGGL IQPGGSLRLSCAASGFTVSRNYMSWVRQAPGKGLE WVSVIYSGDRTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGEGGFDYWGQGTLVTVSS
195	**DVD1524L**	AB048VL	AB218VL	DVLMTQTPLSLPVTPGEPASISCTSSQNIVHSNGN TYLEWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQVSHVPYTFGG GTKVEIKR**TVAAP**EIVMTQSPATLSVSPGERATLS CRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIHGASIRATG LPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYN YWWTFGQGTKVEIKR

【０６３４】

実施例２．３７：リンカーセット３を有するＴＮＦ（配列２）およびＬＰＡ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０６３５】

【表５１】
表51

配列番号	DVD可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 **12345678901234567890123456789012345**
196	**DVD1507H**	AB213VH	AB216VH	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTDYGVN WVRQPPGKGLEWLGMIWGDGSTDYDSTLKSRLSIS KDNSKSQIFLKMNSLQTDDTARYYCAREWHHGPVA YWGQGTLVTVSA**ASTKGPSVFPLAP**QVQLQQSGAE LVRPGTSVKVSCKASGYGFINYLIEWIKQRPGQGL EWIGLINPGSDYTNYNENFKGKATLTADKSSSTAY MHLSSLTSEDSAVYFCARRFGYYGSGNYFDYWGQG TTLTVSS
197	**DVD1507L**	AB213VL	AB216VL	DIVMTQSHKFMSTTVGDRVSITCKASQAVSSAVAW YQQKPGQSPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSVTD FTLTIHNLQAEDLALYYCQQHYSTPFTFGSGTKLE IKR**TVAAP**DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCTSGQ SLVHINGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNLFSG VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQST HFPFTFGTGTKLEIKR
198	**DVD1508H**	AB216VH	AB213VH	QVQLQQSGAELVRPGTSVKVSCKASGYGFINYLIE WIKQRPGQGLEWIGLINPGSDYTNYNENFKGKATL TADKSSSTAYMHLSSLTSEDSAVYFCARRFGYYGS GNYFDYWGQGTTLTVSS**ASTKGPSVFPLAP**QVQLK ESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTDYGVNWVRQP PGKGLEWLGMIWGDGSTDYDSTLKSRLSISKDNSK SQIFLKMNSLQTDDTARYYCAREWHHGPVAYWGQG TLVTVSA
199	**DVD1508L**	AB216VL	AB213VL	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCTSGQSLVHINGN TYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNLFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHFPFTFGT GTKLEIKR**TVAAP**DIVMTQSHKFMSTTVGDRVSIT CKASQAVSSAVAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRHTG VPDRFTGSGSVTDFTLTIHNLQAEDLALYYCQQHY STPFTFGSGTKLEIKR

【０６３６】
実施例２．３８：リンカーセット３を有するＴＮＦ（配列３）およびＬＰＡ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成
【０６３７】

【表５２】
表 52

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 1234567890123456789012345678901234 5
200	**DVD1509H**	AB214VH	AB216VH	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFIFSNHWMN WVRQSPEKGLEWVAEIRSKSINSATHYAESVKGRF TISRDDSKSAVYLQMTDLRTEDTGVYYCSRNYYGS TYDYWGQGTTLTVSS**ASTKGPSVFPLAP**QVQLQQS GAELVRPGTSVKVSCKASGYGFINYLIEWIKQRPG QGLEWIGLINPGSDYTNYNENFKGKATLTADKSSS TAYMHLSSLTSEDSAVYFCARRFGYYGSGNYFDYW GQGTTLTVSS
201	**DVD1509L**	AB214VL	AB216VL	DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQFVGSSIHW YQQRTNGSPRLLIKYASESMSGIPSRFSGSGSGTD FTLSINTVESEDIADYYCQESHSWPFTFGSGTNLE VKR**TVAAP**DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCTSGQ SLVHINGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNLFSG VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQST HFPFTFGTGTKLEIKR
202	**DVD1510H**	AB216VH	AB214VH	QVQLQQSGAELVRPGTSVKVSCKASGYGFINYLIE WIKQRPGQGLEWIGLINPGSDYTNYNENFKGKATL TADKSSSTAYMHLSSLTSEDSAVYFCARRFGYYGS GNYFDYWGQGTTLTVSS**ASTKGPSVFPLAP**EVKLE ESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFIFSNHWMNWVRQS PEKGLEWVAEIRSKSINSATHYAESVKGRFTISRD DSKSAVYLQMTDLRTEDTGVYYCSRNYYGSTYDYW GQGTTLTVSS
203	**DVD1510L**	AB216VL	AB214VL	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCTSGQSLVHINGN TYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNLFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHFPFTFGT GTKLEIKR**TVAAP**DILLTQSPAILSVSPGERVSFS CRASQFVGSSIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESMSG IPSRFSGSGSGTDFTLSINTVESEDIADYYCQESH SWPFTFGSGTNLEVKR

【０６３８】
実施例２．３９：リンカーセット３を有するＴＮＦ（配列４）およびＬＰＡ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成
【０６３９】

【表５３】

表 53

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 12345678901234567890123456789012345
204	**DVD1511H**	AB215VH	AB216VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMH WVRQAPGNGLEWVAFMSYDGSNKYAKDSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAG GNYYYYGMDVWGQGTTVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**Q VQLQQSGAELVRPGTSVKVSCKASGYGFINYLIEW IKQRPGQGLEWIGLINPGSDYTNYNENFKGKATLT ADKSSSTAYMHLSSLTSEDSAVYFCARRFGYYGSG NYFDYWGQGTTLTVSS
205	**DVD1511L**	AB215VL	AB216VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAW YQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTD FTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKV DIKR**TVAAP**DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCTSG QSLVHINGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNLFS GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQS THFPFTFGTGTKLEIKR
206	**DVD1512H**	AB216VH	AB215VH	QVQLQQSGAELVRPGTSVKVSCKASGYGFINYLIE WIKQRPGQGLEWIGLINPGSDYTNYNENFKGKATL TADKSSSTAYMHLSSLTSEDSAVYFCARRFGYYGS GNYFDYWGQGTTLTVSS**ASTKGPSVFPLAP**QVQLV ESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQA PGNGLEWVAFMSYDGSNKYAKDSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYY YGMDVWGQGTTVTVSS
207	**DVD1512L**	AB216VL	AB215VL	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCTSGQSLVHINGN TYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNLFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHFPFTFGT GTKLEIKR**TVAAP**EIVLTQSPATLSLSPGERATLS CRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATG IPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRS NWPPFTFGPGTKVDIKR

【０６４０】

実施例２．４０：リンカーセット３を有するＴＮＦ（配列１）およびＬＰＡ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０６４１】

【表５４】

表 54

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 **12345678901234567890123456789012345**
208	**DVD1513H**	AB017VH	AB216VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMH WVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTA SSLDYWGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**QVQLQQ SGAELVRPGTSVKVSCKASGYGFINYLIEWIKQRP GQGLEWIGLINPGSDYTNYNENFKGKATLTADKSS STAYMHLSSLTSEDSAVYFCARRFGYYGSGNYFDY WGQGTTLTVSS
209	**DVD1513L**	AB017VL	AB216VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAW YQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVE IKR**TVAAP**DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCTSGQ SLVHINGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNLFSG VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQST HFPFTFGTGTKLEIKR
210	**DVD1514H**	AB216VH	AB017VH	QVQLQQSGAELVRPGTSVKVSCKASGYGFINYLIE WIKQRPGQGLEWIGLINPGSDYTNYNENFKGKATL TADKSSSTAYMHLSSLTSEDSAVYFCARRFGYYGS GNYFDYWGQGTTLTVSS**ASTKGPSVFPLAP**EVQLV ESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQA PGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNA KNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDY WGQGTLVTVSS
211	**DVD1514L**	AB216VL	AB017VL	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCTSGQSLVHINGN TYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNLFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHFPFTFGT GTKLEIKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYN RAPYTFGQGTKVEIKR

【０６４２】

実施例２．４１：リンカーセット３を有するＴＮＦ（配列５）およびＬＰＡ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０６４３】

【表５５】

表55

配列番号	DVD可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 12345678901234567890123456789012345
212	**DVD1521H**	AB217VH	AB216VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYDMH WVRQAPGKGLEWVAVIWSDGSIKYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREVESAMG GFYYNGMDVWGQGTTVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**QV QLQQSGAELVRPGTSVKVSCKASGYGFINYLIEWI KQRPGQGLEWIGLINPGSDYTNYNENFKGKATLTA DKSSSTAYMHLSSLTSEDSAVYFCARRFGYYGSGN YFDYWGQGTTLTVSS
213	**DVD1521L**	AB217VL	AB216VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRIDLGW YQQKPGKAPKRLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTE FIFTISSLQPEDFASYYCLQHKSYPLTFGGGTKVE IKR**TVAAP**DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCTSGQ SLVHINGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNLFSG VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQST HFPFTFGTGTKLEIKR
214	**DVD1522H**	AB216VH	AB217VH	QVQLQQSGAELVRPGTSVKVSCKASGYGFINYLIE WIKQRPGQGLEWIGLINPGSDYTNYNENFKGKATL TADKSSSTAYMHLSSLTSEDSAVYFCARRFGYYGS GNYFDYWGQGTTLTVSS**ASTKGPSVFPLAP**QVQLV ESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYDMHWVRQA PGKGLEWVAVIWSDGSIKYYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREVESAMGGFYYN GMDVWGQGTTVTVSS
215	**DVD1522L**	AB216VL	AB217VL	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCTSGQSLVHINGN TYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNLFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHFPFTFGT GTKLEIKR**TVAAP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQGIRIDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASTLQSG VPSRFSGSGSGTEFIFTISSLQPEDFASYYCLQHK SYPLTFGGGTKVEIKR

【０６４４】

実施例２．４２：リンカーセット３を有するＴＮＦ（配列６）およびＬＰＡ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０６４５】

【表５６】

表 56

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 **12345678901234567890123456789012345**
216	**DVD1529H**	AB218VH	AB216VH	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTVSRNYMS WVRQAPGKGLEWVSVIYSGDRTYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGEGGFDYW GQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**QVQLQQSGAELV RPGTSVKVSCKASGYGFINYLIEWIKQRPGQGLEW IGLINPGSDYTNYNENFKGKATLTADKSSSTAYMH LSSLTSEDSAVYFCARRFGYYGSGNYFDYWGQGTT LTVSS
217	**DVD1529L**	AB218VL	AB216VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAW YQQKPGQAPRLLIHGASIRATGLPARFSGSGSGTE FTLTISSLQSEDFAVYYCQQYNYWWTFGQGTKVEI KR**TVAAP**DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCTSGQS LVHINGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNLFSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTH FPFTFGTGTKLEIKR
218	**DVD1530H**	AB216VH	AB218VH	QVQLQQSGAELVRPGTSVKVSCKASGYGFINYLIE WIKQRPGQGLEWIGLINPGSDYTNYNENFKGKATL TADKSSSTAYMHLSSLTSEDSAVYFCARRFGYYGS GNYFDYWGQGTTLTVSS**ASTKGPSVFPLAP**EVQLV ESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTVSRNYMSWVRQA PGKGLEWVSVIYSGDRTYYADSVKGRFTISRDNSK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGEGGFDYWGQGTL VTVSS
219	**DVD1530L**	AB216VL	AB218VL	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCTSGQSLVHINGN TYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNLFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHFPFTFGT GTKLEIKR**TVAAP**EIVMTQSPATLSVSPGERATLS CRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIHGASIRATG LPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYN YWWTFGQGTKVEIKR

【０６４６】

実施例２．４３：リンカーセット４を有するＴＮＦ（配列２）およびＮＧＦ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０６４７】

【表５７】

表57

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 **12345678901234567890123456789012345**
220	**DVD1543H**	AB213VH	AB020VH	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTDYGVN WVRQPPGKGLEWLGMIWGDGSTDYDSTLKSRLSIS KDNSKSQIFLKMNSLQTDDTARYYCAREWHHGPVA YWGQGTLVTVSA**ASTKGPSVFPLAP**QVQLQESGPG LVKPSETLSLTCTVSGFSLIGYDLNWIRQPPGKGL EWIGIIWGDGTTDYNSAVKSRVTISKDTSKNQFSL KLSSVTAADTAVYYCARGGYWYATSYYFDYWGQGT LVTVSS
221	**DVD1543L**	AB213VL	AB020VL	DIVMTQSHKFMSTTVGDRVSITCKASQAVSSAVAW YQQKPGQSPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSVTD FTLTIHNLQAEDLALYYCQQHYSTPFTFGSGTKLE IKR**TVAAPSVFIFPP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQSISNNLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRFH SGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQ EHTLPYTFGQGTKLEIKR
222	**DVD1544H**	AB020VH	AB213VH	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLIGYDLN WIRQPPGKGLEWIGIIWGDGTTDYNSAVKSRVTIS KDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGGYWYATS YYFDYWGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**QVQLKE SGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTDYGVNWVRQPP GKGLEWLGMIWGDGSTDYDSTLKSRLSISKDNSKS QIFLKMNSLQTDDTARYYCAREWHHGPVAYWGQGT LVTVSA
223	**DVD1544L**	AB020VL	AB213VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISNNLNW YQQKPGKAPKLLIYYTSRFHSGVPSRFSGSGSGTD FTFTISSLQPEDIATYYCQQEHTLPYTFGQGTKLE IKR**TVAAPSVFIFPP**DIVMTQSHKFMSTTVGDRVS ITCKASQAVSSAVAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRH TGVPDRFTGSGSVTDFTLTIHNLQAEDLALYYCQQ HYSTPFTFGSGTKLEIKR

【０６４８】

実施例２．４４：リンカーセット４を有するＴＮＦ（配列３）およびＮＧＦ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０６４９】

【表５８】

表 58

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 12345678901234567890123456789012345
224	**DVD1545H**	AB214VH	AB020VH	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFIFSNHWMN WVRQSPEKGLEWVAEIRSKSINSATHYAESVKGRF TISRDDSKSAVYLQMTDLRTEDTGVYYCSRNYYGS TYDYWGQGTTLTVSS**ASTKGPSVFPLAP**QVQLQES GPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLIGYDLNWIRQPPG KGLEWIGIIWGDGTTDYNSAVKSRVTISKDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCARGGYWYATSYYFDYWG QGTLVTVSS
225	**DVD1545L**	AB214VL	AB020VL	DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQFVGSSIHW YQQRTNGSPRLLIKYASESMSGIPSRFSGSGSGTD FTLSINTVESEDIADYYCQESHSWPFTFGSGTNLE VKR**TVAAPSVFIFPP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQSISNNLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRFH SGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQ EHTLPYTFGQGTKLEIKR
226	**DVD1546H**	AB020VH	AB214VH	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLIGYDLN WIRQPPGKGLEWIGIIWGDGTTDYNSAVKSRVTIS KDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGGYWYATS YYFDYWGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**EVKLEE SGGGLVQPGGSMKLSCVASGFIFSNHWMNWVRQSP EKGLEWVAEIRSKSINSATHYAESVKGRFTISRDD SKSAVYLQMTDLRTEDTGVYYCSRNYYGSTYDYWG QGTTLTVSS
227	**DVD1546L**	AB020VL	AB214VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISNNLNW YQQKPGKAPKLLIYYTSRFHSGVPSRFSGSGSGTD FTFTISSLQPEDIATYYCQQEHTLPYTFGQGTKLE IKR**TVAAPSVFIFPP**DILLTQSPAILSVSPGERVS FSCRASQFVGSSIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESM SGIPSRFSGSGSGTDFTLSINTVESEDIADYYCQE SHSWPFTFGSGTNLEVKR

【０６５０】

実施例２．４５：リンカーセット４を有するＴＮＦ（配列４）およびＮＧＦ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０６５１】

【表５９】

表 59

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 12345678901234567890123456789012345
228	**DVD1547H**	AB215VH	AB020VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMH WVRQAPGNGLEWVAFMSYDGSNKYAKDSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAG GNYYYYGMDVWGQGTTVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**Q VQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLIGYDLNW IRQPPGKGLEWIGIIWGDGTTDYNSAVKSRVTISK DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGGYWYATSY YFDYWGQGTLVTVSS
229	**DVD1547L**	AB215VL	AB020VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAW YQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTD FTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKV DIKR**TVAAPSVFIFPP**DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSISNNLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRF HSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQ QEHTLPYTFGQGTKLEIKR
230	**DVD1548H**	AB020VH	AB215VH	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLIGYDLN WIRQPPGKGLEWIGIIWGDGTTDYNSAVKSRVTIS KDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGGYWYATS YYFDYWGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**QVQLVE SGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAP GNGLEWVAFMSYDGSNKYAKDSVKGRFTISRDNSK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYY GMDVWGQGTTVTVSS
231	**DVD1548L**	AB020VL	AB215VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISNNLNW YQQKPGKAPKLLIYYTSRFHSGVPSRFSGSGSGTD FTFTISSLQPEDIATYYCQQEHTLPYTFGQGTKLE IKR**TVAAPSVFIFPP**EIVLTQSPATLSLSPGERAT LSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRA TGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQ RSNWPPFTFGPGTKVDIKR

【０６５２】

実施例２．４６：リンカーセット４を有するＴＮＦ（配列５）およびＮＧＦ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０６５３】

【表６０】

表 60

配列番号	**DVD** 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 **12345678901234567890123456789012345**
232	**DVD1561H**	AB217VH	AB020VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYDMH WVRQAPGKGLEWVAVIWSDGSIKYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREVESAMG GFYYNGMDVWGQGTTVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**QV QLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLIGYDLNWI RQPPGKGLEWIGIIWGDGTTDYNSAVKSRVTISKD TSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGGYWYATSYY FDYWGQGTLVTVSS
233	**DVD1561L**	AB217VL	AB020VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRIDLGW YQQKPGKAPKRLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTE FIFTISSLQPEDFASYYCLQHKSYPLTFGGGTKVE IKR**TVAAPSVFIFPP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQSISNNLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRFH SGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQ EHTLPYTFGQGTKLEIKR
234	**DVD1562H**	AB020VH	AB217VH	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLIGYDLN WIRQPPGKGLEWIGIIWGDGTTDYNSAVKSRVTIS KDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGGYWYATS YYFDYWGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**QVQLVE SGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYDMHWVRQAP GKGLEWVAVIWSDGSIKYYADSVKGRFTISRDNSK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREVESAMGGFYYNG MDVWGQGTTVTVSS
235	**DVD1562L**	AB020VL	AB217VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISNNLNW YQQKPGKAPKLLIYYTSRFHSGVPSRFSGSGSGTD FTFTISSLQPEDIATYYCQQEHTLPYTFGQGTKLE IKR**TVAAPSVFIFPP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQGIRIDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASTLQ SGVPSRFSGSGSGTEFIFTISSLQPEDFASYYCLQ HKSYPLTFGGGTKVEIKR

【０６５４】

実施例２．４７：リンカーセット４を有するＴＮＦ（配列６）およびＮＧＦ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０６５５】

【表６１】

表61

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 **12345678901234567890123456789012345**
236	**DVD1569H**	AB218VH	AB020VH	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTVSRNYMS WVRQAPGKGLEWVSVIYSGDRTYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGEGGFDYW GQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**QVQLQESGPGLV KPSETLSLTCTVSGFSLIGYDLNWIRQPPGKGLEW IGIIWGDGTTDYNSAVKSRVTISKDTSKNQFSLKL SSVTAADTAVYYCARGGYWYATSYYFDYWGQGTLV TVSS
237	**DVD1569L**	AB218VL	AB020VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAW YQQKPGQAPRLLIHGASIRATGLPARFSGSGSGTE FTLTISSLQSEDFAVYYCQQYNYWWTFGQGTKVEI KR**TVAAPSVFIFPP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQSISNNLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRFHS GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQE HTLPYTFGQGTKLEIKR
238	**DVD1570H**	AB020VH	AB218VH	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLIGYDLN WIRQPPGKGLEWIGIIWGDGTTDYNSAVKSRVTIS KDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGGYWYATS YYFDYWGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**EVQLVE SGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTVSRNYMSWVRQAP GKGLEWVSVIYSGDRTYYADSVKGRFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGEGGFDYWGQGTLV TVSS
239	**DVD1570L**	AB020VL	AB218VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISNNLNW YQQKPGKAPKLLIYYTSRFHSGVPSRFSGSGSGTD FTFTISSLQPEDIATYYCQQEHTLPYTFGQGTKLE IKR**TVAAPSVFIFPP**EIVMTQSPATLSVSPGERAT LSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIHGASIRA TGLPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQ YNYWWTFGQGTKVEIKR

【０６５６】

実施例２．４８：リンカーセット４を有するＴＮＦ（配列２）およびＳＯＳＴ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０６５７】

【表６２】
表62

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 12345678901234567890123456789012345
240	**DVD1537H**	AB213VH	AB022VH	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTDYGVN WVRQPPGKGLEWLGMIWGDGSTDYDSTLKSRLSIS KDNSKSQIFLKMNSLQTDDTARYYCAREWHHGPVA YWGQGTLVTVSA**ASTKGPSVFPLAP**EVQLQQSGPE LVTPGASVKISCKASGYTFTDHYMSWVKQSHGKSL EWIGDINPYSGETTYNQKFKGTATLTVDKSSSIAY MEIRGLTSEDSAVYYCARDDYDASPFAYWGQGTLV TVSA
241	**DVD1537L**	AB213VL	AB022VL	DIVMTQSHKFMSTTVGDRVSITCKASQAVSSAVAW YQQKPGQSPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSVTD FTLTIHNLQAEDLALYYCQQHYSTPFTFGSGTKLE IKR**TVAAPSVFIFPP**DVQMIQSPSSLSASLGDIVT MTCQASQGTSINLNWFQQKPGKAPKLLIYGSSNLE DGVPSRFSGSRYGTDFTLTISSLEDEDLATYFCLQ HSYLPYTFGGGTKLEIKR
242	**DVD1538H**	AB022VH	AB213VH	EVQLQQSGPELVTPGASVKISCKASGYTFTDHYMS WVKQSHGKSLEWIGDINPYSGETTYNQKFKGTATL TVDKSSSIAYMEIRGLTSEDSAVYYCARDDYDASP FAYWGQGTLVTVSA**ASTKGPSVFPLAP**QVQLKESG PGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTDYGVNWVRQPPGK GLEWLGMIWGDGSTDYDSTLKSRLSISKDNSKSQI FLKMNSLQTDDTARYYCAREWHHGPVAYWGQGTLV TVSA
243	**DVD1538L**	AB022VL	AB213VL	DVQMIQSPSSLSASLGDIVTMTCQASQGTSINLNW FQQKPGKAPKLLIYGSSNLEDGVPSRFSGSRYGTD FTLTISSLEDEDLATYFCLQHSYLPYTFGGGTKLE IKR**TVAAPSVFIFPP**DIVMTQSHKFMSTTVGDRVS ITCKASQAVSSAVAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRH TGVPDRFTGSGSVTDFTLTIHNLQAEDLALYYCQQ HYSTPFTFGSGTKLEIKR

【０６５８】
実施例２．４９：リンカーセット４を有するＴＮＦ（配列３）およびＳＯＳＴ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成
【０６５９】

【表６３】

表63

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 12345678901234567890123456789012345
244	**DVD1539H**	AB214VH	AB022VH	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFIFSNHWMN WVRQSPEKGLEWVAEIRSKSINSATHYAESVKGRF TISRDDSKSAVYLQMTDLRTEDTGVYYCSRNYYGS TYDYWGQGTTLTVSS**ASTKGPSVFPLAP**EVQLQQS GPELVTPGASVKISCKASGYTFTDHYMSWVKQSHG KSLEWIGDINPYSGETTYNQKFKGTATLTVDKSSS IAYMEIRGLTSEDSAVYYCARDDYDASPFAYWGQG TLVTVSA
245	**DVD1539L**	AB214VL	AB022VL	DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQFVGSSIHW YQQRTNGSPRLLIKYASESMSGIPSRFSGSGSGTD FTLSINTVESEDIADYYCQESHSWPFTFGSGTNLE VKR**TVAAPSVFIFPP**DVQMIQSPSSLSASLGDIVT MTCQASQGTSINLNWFQQKPGKAPKLLIYGSSNLE DGVPSRFSGSRYGTDFTLTISSLEDEDLATYFCLQ HSYLPYTFGGGTKLEIKR
246	**DVD1540H**	AB022VH	AB214VH	EVQLQQSGPELVTPGASVKISCKASGYTFTDHYMS WVKQSHGKSLEWIGDINPYSGETTYNQKFKGTATL TVDKSSSIAYMEIRGLTSEDSAVYYCARDDYDASP FAYWGQGTLVTVSA**ASTKGPSVFPLAP**EVKLEESG GGLVQPGGSMKLSCVASGFIFSNHWMNWVRQSPEK GLEWVAEIRSKSINSATHYAESVKGRFTISRDDSK SAVYLQMTDLRTEDTGVYYCSRNYYGSTYDYWGQG TTLTVSS
247	**DVD1540L**	AB022VL	AB214VL	DVQMIQSPSSLSASLGDIVTMTCQASQGTSINLNW FQQKPGKAPKLLIYGSSNLEDGVPSRFSGSRYGTD FTLTISSLEDEDLATYFCLQHSYLPYTFGGGTKLE IKR**TVAAPSVFIFPP**DILLTQSPAILSVSPGERVS FSCRASQFVGSSIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESM SGIPSRFSGSGSGTDFTLSINTVESEDIADYYCQE SHSWPFTFGSGTNLEVKR

【０６６０】

実施例２．５０：リンカーセット４を有するＴＮＦ（配列４）およびＳＯＳＴ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０６６１】

【表６４】

表64

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 12345678901234567890123456789012345
248	**DVD1541H**	AB215VH	AB022VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMH WVRQAPGNGLEWVAFMSYDGSNKYAKDSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAG GNYYYYGMDVWGQGTTVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**E VQLQQSGPELVTPGASVKISCKASGYTFTDHYMSW VKQSHGKSLEWIGDINPYSGETTYNQKFKGTATLT VDKSSSIAYMEIRGLTSEDSAVYYCARDDYDASPF AYWGQGTLVTVSA
249	**DVD1541L**	AB215VL	AB022VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAW YQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTD FTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKV DIKR**TVAAPSVFIFPP**DVQMIQSPSSLSASLGDIV TMTCQASQGTSINLNWFQQKPGKAPKLLIYGSSNL EDGVPSRFSGSRYGTDFTLTISSLEDEDLATYFCL QHSYLPYTFGGGTKLEIKR
250	**DVD1542H**	AB022VH	AB215VH	EVQLQQSGPELVTPGASVKISCKASGYTFTDHYMS WVKQSHGKSLEWIGDINPYSGETTYNQKFKGTATL TVDKSSSIAYMEIRGLTSEDSAVYYCARDDYDASP FAYWGQGTLVTVSA**ASTKGPSVFPLAP**QVQLVESG GGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGN GLEWVAFMSYDGSNKYAKDSVKGRFTISRDNSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGM DVWGQGTTVTVSS
251	**DVD1542L**	AB022VL	AB215VL	DVQMIQSPSSLSASLGDIVTMTCQASQGTSINLNW FQQKPGKAPKLLIYGSSNLEDGVPSRFSGSRYGTD FTLTISSLEDEDLATYFCLQHSYLPYTFGGGTKLE IKR**TVAAPSVFIFPP**EIVLTQSPATLSLSPGERAT LSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRA TGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQ RSNWPPFTFGPGTKVDIKR

【０６６２】

実施例２．５１：リンカーセット４を有するＴＮＦ（配列５）およびＳＯＳＴ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０６６３】

【表６５】

表65

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 12345678901234567890123456789012345
252	**DVD1559H**	AB217VH	AB022VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYDMH WVRQAPGKGLEWVAVIWSDGSIKYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREVESAMG GFYYNGMDVWGQGTTVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**EV QLQQSGPELVTPGASVKISCKASGYTFTDHYMSWV KQSHGKSLEWIGDINPYSGETTYNQKFKGTATLTV DKSSSIAYMEIRGLTSEDSAVYYCARDDYDASPFA YWGQGTLVTVSA
253	**DVD1559L**	AB217VL	AB022VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRIDLGW YQQKPGKAPKRLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTE FIFTISSLQPEDFASYYCLQHKSYPLTFGGGTKVE IKR**TVAAPSVFIFPP**DVQMIQSPSSLSASLGDIVT MTCQASQGTSINLNWFQQKPGKAPKLLIYGSSNLE DGVPSRFSGSRYGTDFTLTISSLEDEDLATYFCLQ HSYLPYTFGGGTKLEIKR
254	**DVD1560H**	AB022VH	AB217VH	EVQLQQSGPELVTPGASVKISCKASGYTFTDHYMS WVKQSHGKSLEWIGDINPYSGETTYNQKFKGTATL TVDKSSSIAYMEIRGLTSEDSAVYYCARDDYDASP FAYWGQGTLVTVSA**ASTKGPSVFPLAP**QVQLVESG GGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYDMHWVRQAPGK GLEWVAVIWSDGSIKYYADSVKGRFTISRDNSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCAREVESAMGGFYYNGMD VWGQGTTVTVSS
255	**DVD1560L**	AB022VL	AB217VL	DVQMIQSPSSLSASLGDIVTMTCQASQGTSINLNW FQQKPGKAPKLLIYGSSNLEDGVPSRFSGSRYGTD FTLTISSLEDEDLATYFCLQHSYLPYTFGGGTKLE IKR**TVAAPSVFIFPP**DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQGIRIDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASTLQ SGVPSRFSGSGSGTEFIFTISSLQPEDFASYYCLQ HKSYPLTFGGGTKVEIKR

【０６６４】

実施例２．５２：リンカーセット４を有するＴＮＦ（配列６）およびＳＯＳＴ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０６６５】

【表６６】

表66

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 **12345678901234567890123456789012345**
256	**DVD1567H**	AB218VH	AB022VH	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTVSRNYMS WVRQAPGKGLEWVSVIYSGDRTYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGEGGFDYW GQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**EVQLQQSGPELV TPGASVKISCKASGYTFTDHYMSWVKQSHGKSLEW IGDINPYSGETTYNQKFKGTATLTVDKSSSIAYME IRGLTSEDSAVYYCARDDYDASPFAYWGQGTLVTV SA
257	**DVD1567L**	AB218VL	AB022VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAW YQQKPGQAPRLLIHGASIRATGLPARFSGSGSGTE FTLTISSLQSEDFAVYYCQQYNYWWTFGQGTKVEI KR**TVAAPSVFIFPP**DVQMIQSPSSLSASLGDIVTM TCQASQGTSINLNWFQQKPGKAPKLLIYGSSNLED GVPSRFSGSRYGTDFTLTISSLEDEDLATYFCLQH SYLPYTFGGGTKLEIKR
258	**DVD1568H**	AB022VH	AB218VH	EVQLQQSGPELVTPGASVKISCKASGYTFTDHYMS WVKQSHGKSLEWIGDINPYSGETTYNQKFKGTATL TVDKSSSIAYMEIRGLTSEDSAVYYCARDDYDASP FAYWGQGTLVTVSA**ASTKGPSVFPLAP**EVQLVESG GGLIQPGGSLRLSCAASGFTVSRNYMSWVRQAPGK GLEWVSVIYSGDRTYYADSVKGRFTISRDNSKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCARGEGGFDYWGQGTLVTV SS
259	**DVD1568L**	AB022VL	AB218VL	DVQMIQSPSSLSASLGDIVTMTCQASQGTSINLNW FQQKPGKAPKLLIYGSSNLEDGVPSRFSGSRYGTD FTLTISSLEDEDLATYFCLQHSYLPYTFGGGTKLE IKR**TVAAPSVFIFPP**EIVMTQSPATLSVSPGERAT LSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIHGASIRA TGLPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQ YNYWWTFGQGTKVEIKR

【０６６６】

実施例２．５３：リンカーセット４を有するＴＮＦ（配列２）およびＰＧＥ２の生成

【０６６７】

【表６７】
表67

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 **1234567890123456789012345678901234**
260	**DVD1531H**	AB213VH	AB048VH	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTDYGV NWVRQPPGKGLEWLGMIWGDGSTDYDSTLKSRLS ISKDNSKSQIFLKMNSLQTDDTARYYCAREWHHG PVAYWGQGTLVTVSA**ASTKGPSVFPLAP**EVQLVQ SGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTKYWLGWVRQA PGQGLEWMGDIYPGYDYTHYNEKFKDRVTLTTDT STSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARSDGSSTYWGQ GTLVTVSS
261	**DVD1531L**	AB213VL	AB048VL	DIVMTQSHKFMSTTVGDRVSITCKASQAVSSAVA WYQQKPGQSPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSV TDFTLTIHNLQAEDLALYYCQQHYSTPFTFGSGT KLEIKR**TVAAPSVFIFPP**DVLMTQTPLSLPVTPG EPASISCTSSQNIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPQ LLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVE AEDVGVYYCFQVSHVPYTFGGGTKVEIKR
262	**DVD1532H**	AB048VH	AB213VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTKYWL GWVRQAPGQGLEWMGDIYPGYDYTHYNEKFKDRV TLTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARSDGS STYWGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**QVQLKES GPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTDYGVNWVRQPP GKGLEWLGMIWGDGSTDYDSTLKSRLSISKDNSK SQIFLKMNSLQTDDTARYYCAREWHHGPVAYWGQ GTLVTVSA
263	**DVD1532L**	AB048VL	AB213VL	DVLMTQTPLSLPVTPGEPASISCTSSQNIVHSNG NTYLEWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFS GSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQVSHVPYT FGGGTKVEIKR**TVAAPSVFIFPP**DIVMTQSHKFM STTVGDRVSITCKASQAVSSAVAWYQQKPGQSPK LLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSVTDFTLTIHNLQ AEDLALYYCQQHYSTPFTFGSGTKLEIKR

【０６６８】
実施例２．５４：リンカーセット４を有するＴＮＦ（配列３）およびＰＧＥ２　ＤＶＤ－Ｉｇの生成
【０６６９】

【表６８】
表68

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 **12345678901234567890123456789012345**
264	**DVD1533H**	AB214VH	AB048VH	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFIFSNHWMN WVRQSPEKGLEWVAEIRSKSINSATHYAESVKGRF TISRDDSKSAVYLQMTDLRTEDTGVYYCSRNYYGS TYDYWGQGTTLTVSS**ASTKGPSVFPLAP**EVQLVQS GAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTKYWLGWVRQAPG QGLEWMGDIYPGYDYTHYNEKFKDRVTLTTDTSTS TAYMELRSLRSDDTAVYYCARSDGSSTYWGQGTLV TVSS
265	**DVD1533L**	AB214VL	AB048VL	DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQFVGSSIHW YQQRTNGSPRLLIKYASESMSGIPSRFSGSGSGTD FTLSINTVESEDIADYYCQESHSWPFTFGSGTNLE VKR**TVAAPSVFIFPP**DVLMTQTPLSLPVTPGEPAS ISCTSSQNIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPQLLIYK VSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCFQVSHVPYTFGGGTKVEIKR
266	**DVD1534H**	AB048VH	AB214VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTKYWLG WVRQAPGQGLEWMGDIYPGYDYTHYNEKFKDRVTL TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARSDGSSTY WGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**EVKLEESGGGL VQPGGSMKLSCVASGFIFSNHWMNWVRQSPEKGLE WVAEIRSKSINSATHYAESVKGRFTISRDDSKSAV YLQMTDLRTEDTGVYYCSRNYYGSTYDYWGQGTTL TVSS
267	**DVD1534L**	AB048VL	AB214VL	DVLMTQTPLSLPVTPGEPASISCTSSQNIVHSNGN TYLEWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQVSHVPYTFGG GTKVEIKR**TVAAPSVFIFPP**DILLTQSPAILSVSP GERVSFSCRASQFVGSSIHWYQQRTNGSPRLLIKY ASESMSGIPSRFSGSGSGTDFTLSINTVESEDIAD YYCQESHSWPFTFGSGTNLEVKR

【０６７０】
実施例２．５５：リンカーセット４を有するＴＮＦ（配列４）およびＰＧＥ２　ＤＶＤ－Ｉｇの生成
【０６７１】

【表６９】
表69

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 **12345678901234567890123456789012345**
268	**DVD1535H**	AB215VH	AB048VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMH WVRQAPGNGLEWVAFMSYDGSNKYAKDSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAG GNYYYYGMDVWGQGTTVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**E VQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTKYWLGW VRQAPGQGLEWMGDIYPGYDYTHYNEKFKDRVTLT TDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARSDGSSTYW GQGTLVTVSS
269	**DVD1535L**	AB215VL	AB048VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAW YQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTD FTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKV DIKR**TVAAPSVFIFPP**DVLMTQTPLSLPVTPGEPA SISCTSSQNIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPQLLIY KVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVG VYYCFQVSHVPYTFGGGTKVEIKR
270	**DVD1536H**	AB048VH	AB215VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTKYWLG WVRQAPGQGLEWMGDIYPGYDYTHYNEKFKDRVTL TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARSDGSSTY WGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**QVQLVESGGGV VQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGNGLE WVAFMSYDGSNKYAKDSVKGRFTISRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVW GQGTTVTVSS
271	**DVD1536L**	AB048VL	AB215VL	DVLMTQTPLSLPVTPGEPASISCTSSQNIVHSNGN TYLEWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQVSHVPYTFGG GTKVEIKR**TVAAPSVFIFPP**EIVLTQSPATLSLSP GERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYD ASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAV YYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKR

【０６７２】
実施例２．５６：リンカーセット４を有するＴＮＦ（配列５）およびＰＧＥ２　ＤＶＤ－Ｉｇの生成
【０６７３】

【表７０】

表 70

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 **12345678901234567890123456789012345**
272	**DVD1557H**	AB217VH	AB048VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYDMH WVRQAPGKGLEWVAVIWSDGSIKYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREVESAMG GFYYNGMDVWGQGTTVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**EV QLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTKYWLGWV RQAPGQGLEWMGDIYPGYDYTHYNEKFKDRVTLTT DTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARSDGSSTYWG QGTLVTVSS
273	**DVD1557L**	AB217VL	AB048VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRIDLGW YQQKPGKAPKRLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTE FIFTISSLQPEDFASYYCLQHKSYPLTFGGGTKVE IKR**TVAAPSVFIFPP**DVLMTQTPLSLPVTPGEPAS ISCTSSQNIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPQLLIYK VSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCFQVSHVPYTFGGGTKVEIKR
274	**DVD1558H**	AB048VH	AB217VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTKYWLG WVRQAPGQGLEWMGDIYPGYDYTHYNEKFKDRVTL TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARSDGSSTY WGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**QVQLVESGGGV VQPGRSLRLSCAASGFTFSSYDMHWVRQAPGKGLE WVAVIWSDGSIKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREVESAMGGFYYNGMDVWG QGTTVTVSS
275	**DVD1558L**	AB048VL	AB217VL	DVLMTQTPLSLPVTPGEPASISCTSSQNIVHSNGN TYLEWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQVSHVPYTFGG GTKVEIKR**TVAAPSVFIFPP**DIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQGIRIDLGWYQQKPGKAPKRLIYA ASTLQSGVPSRFSGSGSGTEFIFTISSLQPEDFAS YYCLQHKSYPLTFGGGTKVEIKR

【０６７４】

実施例２．５７：リンカーセット４を有するＴＮＦ（配列６）およびＰＧＥ２　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０６７５】

【表７１】
表71

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 **12345678901234567890123456789012345**
276	**DVD1565H**	AB218VH	AB048VH	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTVSRNYMS WVRQAPGKGLEWVSVIYSGDRTYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGEGGFDYW GQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**EVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKASGYTFTKYWLGWVRQAPGQGLEW MGDIYPGYDYTHYNEKFKDRVTLTTDTSTSTAYME LRSLRSDDTAVYYCARSDGSSTYWGQGTLVTVSS
277	**DVD1565L**	AB218VL	AB048VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAW YQQKPGQAPRLLIHGASIRATGLPARFSGSGSGTE FTLTISSLQSEDFAVYYCQQYNYWWTFGQGTKVEI KR**TVAAPSVFIFPP**DVLMTQTPLSLPVTPGEPASI SCTSSQNIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPQLLIYKV SNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVY YCFQVSHVPYTFGGGTKVEIKR
278	**DVD1566H**	AB048VH	AB218VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTKYWLG WVRQAPGQGLEWMGDIYPGYDYTHYNEKFKDRVTL TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARSDGSSTY WGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**EVQLVESGGGL IQPGGSLRLSCAASGFTVSRNYMSWVRQAPGKGLE WVSVIYSGDRTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGEGGFDYWGQGTLVTVSS
279	**DVD1566L**	AB048VL	AB218VL	DVLMTQTPLSLPVTPGEPASISCTSSQNIVHSNGN TYLEWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQVSHVPYTFGG GTKVEIKR**TVAAPSVFIFPP**EIVMTQSPATLSVSP GERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIHG ASIRATGLPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAV YYCQQYNYWWTFGQGTKVEIKR

【０６７６】
実施例２．５８：リンカーセット４を有するＴＮＦ（配列２）およびＬＰＡ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成
【０６７７】

【表７２】
表 72

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 **12345678901234567890123456789012345**
280	**DVD1549H**	AB213VH	AB216VH	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTDYGVN WVRQPPGKGLEWLGMIWGDGSTDYDSTLKSRLSIS KDNSKSQIFLKMNSLQTDDTARYYCAREWHHGPVA YWGQGTLVTVSA**ASTKGPSVFPLAP**QVQLQQSGAE LVRPGTSVKVSCKASGYGFINYLIEWIKQRPGQGL EWIGLINPGSDYTNYNENFKGKATLTADKSSSTAY MHLSSLTSEDSAVYFCARRFGYYGSGNYFDYWGQG TTLTVSS
281	**DVD1549L**	AB213VL	AB216VL	DIVMTQSHKFMSTTVGDRVSITCKASQAVSSAVAW YQQKPGQSPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSVTD FTLTIHNLQAEDLALYYCQQHYSTPFTFGSGTKLE IKR**TVAAPSVFIFPP**DVVMTQTPLSLPVSLGDQAS ISCTSGQSLVHINGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYK VSNLFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGV YFCSQSTHFPFTFGTGTKLEIKR
282	**DVD1550H**	AB216VH	AB213VH	QVQLQQSGAELVRPGTSVKVSCKASGYGFINYLIE WIKQRPGQGLEWIGLINPGSDYTNYNENFKGKATL TADKSSSTAYMHLSSLTSEDSAVYFCARRFGYYGS GNYFDYWGQGTTLTVSS**ASTKGPSVFPLAP**QVQLK ESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTDYGVNWVRQP PGKGLEWLGMIWGDGSTDYDSTLKSRLSISKDNSK SQIFLKMNSLQTDDTARYYCAREWHHGPVAYWGQG TLVTVSA
283	**DVD1550L**	AB216VL	AB213VL	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCTSGQSLVHINGN TYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNLFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHFPFTFGT GTKLEIKR**TVAAPSVFIFPP**DIVMTQSHKFMSTTV GDRVSITCKASQAVSSAVAWYQQKPGQSPKLLIYW ASTRHTGVPDRFTGSGSVTDFTLTIHNLQAEDLAL YYCQQHYSTPFTFGSGTKLEIKR

【０６７８】
実施例２．５９：リンカーセット４を有するＴＮＦ（配列３）およびＬＰＡ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成
【０６７９】

【表７３】

表 73

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 12345678901234567890123456789012345
284	**DVD1551H**	AB214VH	AB216VH	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFIFSNHWMN WVRQSPEKGLEWVAEIRSKSINSATHYAESVKGRF TISRDDSKSAVYLQMTDLRTEDTGVYYCSRNYYGS TYDYWGQGTTLTVSS**ASTKGPSVFPLAP**QVQLQQS GAELVRPGTSVKVSCKASGYGFINYLIEWIKQRPG QGLEWIGLINPGSDYTNYNENFKGKATLTADKSSS TAYMHLSSLTSEDSAVYFCARRFGYYGSGNYFDYW GQGTTLTVSS
285	**DVD1551L**	AB214VL	AB216VL	DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQFVGSSIHW YQQRTNGSPRLLIKYASESMSGIPSRFSGSGSGTD FTLSINTVESEDIADYYCQESHSWPFTFGSGTNLE VKR**TVAAPSVFIFPP**DVVMTQTPLSLPVSLGDQAS ISCTSGQSLVHINGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYK VSNLFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGV YFCSQSTHFPFTFGTGTKLEIKR
286	**DVD1552H**	AB216VH	AB214VH	QVQLQQSGAELVRPGTSVKVSCKASGYGFINYLIE WIKQRPGQGLEWIGLINPGSDYTNYNENFKGKATL TADKSSSTAYMHLSSLTSEDSAVYFCARRFGYYGS GNYFDYWGQGTTLTVSS**ASTKGPSVFPLAP**EVKLE ESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFIFSNHWMNWVRQS PEKGLEWVAEIRSKSINSATHYAESVKGRFTISRD DSKSAVYLQMTDLRTEDTGVYYCSRNYYGSTYDYW GQGTTLTVSS
287	**DVD1552L**	AB216VL	AB214VL	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCTSGQSLVHINGN TYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNLFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHFPFTFGT GTKLEIKR**TVAAPSVFIFPP**DILLTQSPAILSVSP GERVSFSCRASQFVGSSIHWYQQRTNGSPRLLIKY ASESMSGIPSRFSGSGSGTDFTLSINTVESEDIAD YYCQESHSWPFTFGSGTNLEVKR

【０６８０】

実施例２．６０：リンカーセット４を有するＴＮＦ（配列４）およびＬＰＡ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０６８１】

【表７４】
表 74

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 **12345678901234567890123456789012345**
288	**DVD1553H**	AB215VH	AB216VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMH WVRQAPGNGLEWVAFMSYDGSNKYAKDSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAG GNYYYYGMDVWGQGTTVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**Q VQLQQSGAELVRPGTSVKVSCKASGYGFINYLIEW IKQRPGQGLEWIGLINPGSDYTNYNENFKGKATLT ADKSSSTAYMHLSSLTSEDSAVYFCARRFGYYGSG NYFDYWGQGTTLTVSS
289	**DVD1553L**	AB215VL	AB216VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAW YQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTD FTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKV DIKR**TVAAPSVFIFPP**DVVMTQTPLSLPVSLGDQA SISCTSGQSLVHINGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIY KVSNLFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLG VYFCSQSTHFPFTFGTGTKLEIKR
290	**DVD1554H**	AB216VH	AB215VH	QVQLQQSGAELVRPGTSVKVSCKASGYGFINYLIE WIKQRPGQGLEWIGLINPGSDYTNYNENFKGKATL TADKSSSTAYMHLSSLTSEDSAVYFCARRFGYYGS GNYFDYWGQGTTLTVSS**ASTKGPSVFPLAP**QVQLV ESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQA PGNGLEWVAFMSYDGSNKYAKDSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYY YGMDVWGQGTTVTVSS
291	**DVD1554L**	AB216VL	AB215VL	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCTSGQSLVHINGN TYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNLFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHFPFTFGT GTKLEIKR**TVAAPSVFIFPP**EIVLTQSPATLSLSP GERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYD ASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAV YYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKR

【０６８２】
実施例２．６１：リンカーセット４を有するＴＮＦ（配列１）およびＬＰＡ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成
【０６８３】

【表７５】

表 75

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 1234567890123456789012345678901234 5
292	**DVD1555H**	AB017VH	AB216VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMH WVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTA SSLDYWGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**QVQLQQ SGAELVRPGTSVKVSCKASGYGFINYLIEWIKQRP GQGLEWIGLINPGSDYTNYNENFKGKATLTADKSS STAYMHLSSLTSEDSAVYFCARRFGYYGSGNYFDY WGQGTTLTVSS
293	**DVD1555L**	AB017VL	AB216VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAW YQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVE IKR**TVAAPSVFIFPP**DVVMTQTPLSLPVSLGDQAS ISCTSGQSLVHINGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYK VSNLFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGV YFCSQSTHFPFTFGTGTKLEIKR
294	**DVD1556H**	AB216VH	AB017VH	QVQLQQSGAELVRPGTSVKVSCKASGYGFINYLIE WIKQRPGQGLEWIGLINPGSDYTNYNENFKGKATL TADKSSSTAYMHLSSLTSEDSAVYFCARRFGYYGS GNYFDYWGQGTTLTVSS**ASTKGPSVFPLAP**EVQLV ESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQA PGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNA KNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDY WGQGTLVTVSS
295	**DVD1556L**	AB216VL	AB017VL	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCTSGQSLVHINGN TYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNLFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHFPFTFGT GTKLEIKR**TVAAPSVFIFPP**DIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYA ASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVAT YYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIKR

【０６８４】

実施例２．６２：リンカーセット４を有するＴＮＦ（配列５）およびＬＰＡ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成

【０６８５】

【表７６】
表 76

配列番号	DVD 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 12345678901234567890123456789012345
296	**DVD1563H**	AB217VH	AB216VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYDMH WVRQAPGKGLEWVAVIWSDGSIKYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREVESAMG GFYYNGMDVWGQGTTVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**QV QLQQSGAELVRPGTSVKVSCKASGYGFINYLIEWI KQRPGQGLEWIGLINPGSDYTNYNENFKGKATLTA DKSSSTAYMHLSSLTSEDSAVYFCARRFGYYGSGN YFDYWGQGTTLTVSS
297	**DVD1563L**	AB217VL	AB216VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRIDLGW YQQKPGKAPKRLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTE FIFTISSLQPEDFASYYCLQHKSYPLTFGGGTKVE IKR**TVAAPSVFIFPP**DVVMTQTPLSLPVSLGDQAS ISCTSGQSLVHINGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYK VSNLFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGV YFCSQSTHFPFTFGTGTKLEIKR
298	**DVD1564H**	AB216VH	AB217VH	QVQLQQSGAELVRPGTSVKVSCKASGYGFINYLIE WIKQRPGQGLEWIGLINPGSDYTNYNENFKGKATL TADKSSSTAYMHLSSLTSEDSAVYFCARRFGYYGS GNYFDYWGQGTTLTVSS**ASTKGPSVFPLAP**QVQLV ESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYDMHWVRQA PGKGLEWVAVIWSDGSIKYYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREVESAMGGFYYN GMDVWGQGTTVTVSS
299	**DVD1564L**	AB216VL	AB217VL	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCTSGQSLVHINGN TYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNLFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHFPFTFGT GTKLEIKR**TVAAPSVFIFPP**DIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQGIRIDLGWYQQKPGKAPKRLIYA ASTLQSGVPSRFSGSGSGTEFIFTISSLQPEDFAS YYCLQHKSYPLTFGGGTKVEIKR

【０６８６】
実施例２．６３：リンカーセット４を有するＴＮＦ（配列６）およびＬＰＡ　ＤＶＤ－Ｉｇの生成
【０６８７】

【表７７】

表 77

配列番号	**DVD** 可変ドメイン名	外部可変ドメイン名	内部可変ドメイン名	配列 **12345678901234567890123456789012345**
300	**DVD1571H**	AB218VH	AB216VH	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTVSRNYMS WVRQAPGKGLEWVSVIYSGDRTYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGEGGFDYW GQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAP**QVQLQQSGAELV RPGTSVKVSCKASGYGFINYLIEWIKQRPGQGLEW IGLINPGSDYTNYNENFKGKATLTADKSSSTAYMH LSSLTSEDSAVYFCARRFGYYGSGNYFDYWGQGTT LTVSS
301	**DVD1571L**	AB218VL	AB216VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAW YQQKPGQAPRLLIHGASIRATGLPARFSGSGSGTE FTLTISSLQSEDFAVYYCQQYNYWWTFGQGTKVEI KR**TVAAPSVFIFPP**DVVMTQTPLSLPVSLGDQASI SCTSGQSLVHINGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKV SNLFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVY FCSQSTHFPFTFGTGTKLEIKR
302	**DVD1572H**	AB216VH	AB218VH	QVQLQQSGAELVRPGTSVKVSCKASGYGFINYLIE WIKQRPGQGLEWIGLINPGSDYTNYNENFKGKATL TADKSSSTAYMHLSSLTSEDSAVYFCARRFGYYGS GNYFDYWGQGTTLTVSS**ASTKGPSVFPLAP**EVQLV ESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTVSRNYMSWVRQA PGKGLEWVSVIYSGDRTYYADSVKGRFTISRDNSK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGEGGFDYWGQGTL VTVSS
303	**DVD1572L**	AB216VL	AB218VL	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCTSGQSLVHINGN TYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNLFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHFPFTFGT GTKLEIKR**TVAAPSVFIFPP**EIVMTQSPATLSVSP GERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIHG ASIRATGLPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAV YYCQQYNYWWTFGQGTKVEIKR

【０６８８】

実施例２．６４：親抗体およびＤＶＤ－Ｉｇ配列をクローニングするために用いられたクローニングベクター配列

【０６８９】

【表７８】

表 78

配列番号	ベクター名	ヌクレオチド配列 12345678901234567890123456789012345678901234567890
304	V1	GCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGC ACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCC GAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCAC ACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTG GTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTG AATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCT TGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGG GGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATC TCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCC AAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGC GTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC AAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAA GCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGC GAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTC TATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAAC AACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTC TACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTC TCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGC CTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGAGCGGCCGCTCGAGGCCGGCAAGGCCGG ATCCCCCGACCTCGACCTCTGGCTAATAAAGGAAATTTATTTTCATTGCAA TAGTGTGTTGGAATTTTTTGTGTCTCTCACTCGGAAGGACATATGGGAGGG CAAATCATTTGGTCGAGATCCCTCGGAGATCTCTAGCTAGAGGATCGATCC CCGCCCCGGACGAACTAAACCTGACTACGACATCTCTGCCCCTTCTTCGCG GGGCAGTGCATGTAATCCCTTCAGTTGGTTGGTACAACTTGCCAACTGGGC CCTGTTCCACATGTGACACGGGGGGGGACCAAACACAAAGGGGTTCTCTGA CTGTAGTTGACATCCTTATAAATGGATGTGCACATTTGCCAACACTGAGTG GCTTTCATCCTGGAGCAGACTTTGCAGTCTGTGGACTGCAACACAACATTG CCTTTATGTGTAACTCTTGGCTGAAGCTCTTACACCAATGCTGGGGGACAT GTACCTCCCAGGGGCCCAGGAAGACTACGGGAGGCTACACCAACGTCAATC AGAGGGGCCTGTGTAGCTACCGATAAGCGGACCCTCAAGAGGGCATTAGCA ATAGTGTTTATAAGGCCCCCTTGTTAACCCTAAACGGGTAGCATATGCTTC CCGGGTAGTAGTATATACTATCCAGACTAACCCTAATTCAATAGCATATGT TACCCAACGGGAAGCATATGCTATCGAATTAGGGTTAGTAAAAGGGTCCTA AGGAACAGCGATATCTCCCACCCCATGAGCTGTCACGGTTTTATTTACATG GGGTCAGGATTCCACGAGGGTAGTGAACCATTTTAGTCACAAGGGCAGTGG CTGAAGATCAAGGAGCGGGCAGTGAACTCTCCTGAATCTTCGCCTGCTTCT TCATTCTCCTTCGTTTAGCTAATAGAATAACTGCTGAGTTGTGAACAGTAA GGTGTATGTGAGGTGCTCGAAAACAAGGTTTCAGGTGACGCCCCCAGAATA AAATTTGGACGGGGGGTTCAGTGGTGGCATTGTGCTATGACACCAATATAA CCCTCACAAACCCCTTGGGCAATAAATACTAGTGTAGGAATGAAACATTCT GAATATCTTTAACAATAGAAATCCATGGGGTGGGGACAAGCCGTAAAGACT GGATGTCCATCTCACACGAATTTATGGCTATGGGCAACACATAATCCTAGT GCAATATGATACTGGGGTTATTAAGATGTGTCCCAGGCAGGGACCAAGACA GGTGAACCATGTTGTTACACTCTATTTGTAACAAGGGGAAAGAGAGTGGAC GCCGACAGCAGCGGACTCCACTGGTTGTCTCTAACACCCCCGAAAATTAAA CGGGGCTCCACGCCAATGGGGCCCATAAACAAAGACAAGTGGCCACTCTTT TTTTTGAAATTGTGGAGTGGGGGCACGCGTCAGCCCCCACACGCCGCCCTG CGGTTTTGGACTGTAAAATAAGGGTGTAATAACTTGGCTGATTGTAACCCC GCTAACCACTGCGGTCAAACCACTTGCCCACAAAACCACTAATGGCACCCC GGGGAATACCTGCATAAGTAGGTGGGCGGGCCAAGATAGGGGCGCGATTGC TGCGATCTGGAGGACAAATTACACACACTTGCGCCTGAGCGCCAAGCACAG GGTTGTTGGTCCTCATATTCACGAGGTCGCTGAGAGCACGGTGGGCTAATG TTGCCATGGGTAGCATATACTACCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCC TAATCTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCAT

10 20 30 40

配列番号	ベクター名	ヌクレオチド配列 12345678901234567890123456789012345678901234567890123456789012345678901
		ATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCT GGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCCTAA TCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATCTGTATCCGGGTAGCATATG CTATCCTAATAGAGATTAGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGG TAGCATATACTACCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCCTAATCTATAT CTGGGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCT AATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATA TGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTG GGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAAT CTGTATCCGGGTAGCATATGCTATCCTCATGATAAGCTGTCAAACATGAGA ATTTTCTTGAAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAA TGTCATGATAATAATGGTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAA TGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTA TCCGCTCATGAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAG GAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTGC GGCATTTTGCCTTCCTGTTTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAA AGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCT CAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAAT GATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTGTTGA CGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTT GGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGT AAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAA CTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCA CAACATGGGGGATCATGTAACTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAA TGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGCAGCAATGGC AACAACGTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCG GCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCT GCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGG TGAGCGTGGGTCTCGCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCC CTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGA ACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTA ACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAACTTCA TTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGAC CAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGA AAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTG CTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTTGCCGGATCA AGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGAT ACCAAATACTGTTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAA CTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGC TGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATA GTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACA GCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGA GCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCC GGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGG AAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGA GCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGC CAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCA CATGTTCTTTCCTGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGC CTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGA GTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCC CGCGCGTTGGCCGATTCATTAATGCAGCTGGCACGACAGGTTTCCCGACTG GAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTA GGCACCCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAAT TGTGAGCGGATAACAATTTCACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACGC CAAGCTCTAGCTAGAGGTCGAGTCCCTCCCCAGCAGGCAGAAGTATGCAAA GCATGCATCTCAATTAGTCAGCAACCATAGTCCCGCCCCTAACTCCGCCCA TCCCGCCCCTAACTCCGCCCAGTTCCGCCCATTCTCCGCCCCATGGCTGAC TAATTTTTTTTATTTATGCAGAGGCCGAGGCCGCCTCGGCCTCTGAGCTAT TCCAGAAGTAGTGAGGAGGCTTTTTTGGAGGCCTAGGCTTTTGCAAAAAGC

10 20 30 40

配列番号	ベクター名	ヌクレオチド配列 12345678901234567890123456789012345678901
		TTTGCAAAGATGGATAAAGTTTTAAACAGAGAGGAATCTTTGCAGCTAATG GACCTTCTAGGTCTTGAAAGGAGTGGGAATTGGCTCCGGTGCCCGTCAGTG GGCAGAGCGCACATCGCCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGG CAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGA TGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATAT AAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAG AACACAGGTAAGTGCCGTGTGTGGTTCCCGCGGGCCTGGCCTCTTTACGGG TTATGGCCCTTGCGTGCCTTGAATTACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGAT TCTTGATCCCGAGCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTCGAGGCCTTG CGCTTAAGGAGCCCCTTCGCCTCGTGCTTGAGTTGAGGCCTGGCCTGGGCG CTGGGGCCGCCGCGTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGC TTTCGATAAGTCTCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCTGCGACGCT TTTTTTCTGGCAAGATAGTCTTGTAAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGG TATTTCGGTTTTTGGGGCCGCGGGCGGCGACGGGGCCCGTGCGTCCCAGCG CACATGTTCGGCGAGGCGGGGCCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACG GGGGTAGTCTCAAGCTGGCCGGCCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCGCC GTGTATCGCCCCGCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCCCGGTCGGCACCAGTTGC GTGAGCGGAAAGATGGCCGCTTCCCGGCCCTGCTGCAGGGAGCTCAAAATG GAGGACGCGGCGCTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGTCACCCACACAAAGGAA AAGGGCCTTTCCGTCCTCAGCCGTCGCTTCATGTGACTCCACGGAGTACCG GGCGCCGTCCAGGCACCTCGATTAGTTCTCGAGCTTTTGGAGTACGTCGTC TTTAGGTTGGGGGGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTG GGTGGAGACTGAAGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGA ATTTGCCCTTTTTGAGTTTGGATCTTGGTTCATTCTCAAGCCTCAGACAGT GGTTCAAAGTTTTTTTCTTCCATTTCAGGTGTCGTGAGGAATTCTCTAGAG ATCCCTCGACCTCGAGATCCATTGTGCCCGGGCGCCACCATGGAGTTTGGG CTGAGCTGGCTTTTTCTTGTCGCGATTTTAAAAGGTGTCCAGTGC
305	V2	ACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTG AAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGA GAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCC CAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGC AGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCC TGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAAC AGGGGAGAGTGTTGAGCGGCCGCTCGAGGCCGGCAAGGCCGGATCCCCCGA CCTCGACCTCTGGCTAATAAAGGAAATTTATTTTCATTGCAATAGTGTGTT GGAATTTTTTGTGTCTCTCACTCGGAAGGACATATGGGAGGGCAAATCATT TGGTCGAGATCCCTCGGAGATCTCTAGCTAGAGGATCGATCCCCGCCCCGG ACGAACTAAACCTGACTACGACATCTCTGCCCCTTCTTCGCGGGGCAGTGC ATGTAATCCCTTCAGTTGGTTGGTACAACTTGCCAACTGGGCCCTGTTCCA CATGTGACACGGGGGGGGACCAAACACAAAGGGGTTCTCTGACTGTAGTTG ACATCCTTATAAATGGATGTGCACATTTGCCAACACTGAGTGGCTTTCATC CTGGAGCAGACTTTGCAGTCTGTGGACTGCAACACAACATTGCCTTTATGT GTAACTCTTGGCTGAAGCTCTTACACCAATGCTGGGGGACATGTACCTCCC AGGGGCCCAGGAAGACTACGGGAGGCTACACCAACGTCAATCAGAGGGGCC TGTGTAGCTACCGATAAGCGGACCCTCAAGAGGGCATTAGCAATAGTGTTT ATAAGGCCCCCTTGTTAACCCTAAACGGGTAGCATATGCTTCCCGGGTAGT AGTATATACTATCCAGACTAACCCTAATTCAATAGCATATGTTACCCAACG GGAAGCATATGCTATCGAATTAGGGTTAGTAAAAGGGTCCTAAGGAACAGC GATATCTCCCACCCCATGAGCTGTCACGGTTTTATTTACATGGGGTCAGGA TTCCACGAGGGTAGTGAACCATTTTAGTCACAAGGGCAGTGGCTGAAGATC AAGGAGCGGGCAGTGAACTCTCCTGAATCTTCGCCTGCTTCTTCATTCTCC TTCGTTTAGCTAATAGAATAACTGCTGAGTTGTGAACAGTAAGGTGTATGT GAGGTGCTCGAAAACAAGGTTTCAGGTGACGCCCCCAGAATAAAATTTGGA CGGGGGGTTCAGTGGTGGCATTGTGCTATGACACCAATATAACCCTCACAA ACCCCTTGGGCAATAAATACTAGTGTAGGAATGAAACATTCTGAATATCTT TAACAATAGAAATCCATGGGGTGGGGACAAGCCGTAAAGACTGGATGTCCA TCTCACACGAATTTATGGCTATGGGCAACACATAATCCTAGTGCAATATGA TACTGGGGTTATTAAGATGTGTCCCAGGCAGGGACCAAGACAGGTGAACCA TGTTGTTACACTCTATTTGTAACAAGGGGAAAGAGAGTGGACGCCGACAGC

配列番号	ベクター名	ヌクレオチド配列 12345678901234567890123456789012345678901234567890
		AGCGGACTCCACTGGTTGTCTCTAACACCCCCGAAAATTAAACGGGGCTCC ACGCCAATGGGGCCCATAAACAAAGACAAGTGGCCACTCTTTTTTTTGAAA TTGTGGAGTGGGGGCACGCGTCAGCCCCCACACGCCGCCCTGCGGTTTTGG ACTGTAAAATAAGGGTGTAATAACTTGGCTGATTGTAACCCCGCTAACCAC TGCGGTCAAACCACTTGCCCACAAAACCACTAATGGCACCCCGGGGAATAC CTGCATAAGTAGGTGGGCGGGCCAAGATAGGGGCGCGATTGCTGCGATCTG GAGGACAAATTACACACACTTGCGCCTGAGCGCCAAGCACAGGGTTGTTGG TCCTCATATTCACGAGGTCGCTGAGAGCACGGTGGGCTAATGTTGCCATGG GTAGCATATACTACCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCCTAATCTATA TCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCC TAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCAT AGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCT GGGTAGTATATGCTATCCTAATCTGTATCCGGGTAGCATATGCTATCCTAA TAGAGATTAGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCATATA CTACCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGC ATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATAT CTGGGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCT AATTTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATA TGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATCTGTATCCG GGTAGCATATGCTATCCTCATGATAAGCTGTCAAACATGAGAATTTTCTTG AAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGAT AATAATGGTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGG AACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCAT GAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTAT GAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTGCGGCATTTTG CCTTCCTGTTTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGA AGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGG TAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCAC TTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTGTTGACGCCGGGCA AGAGCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTA CTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATT ATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCT GACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGG GGATCATGTAACTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCAT ACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGCAGCAATGGCAACAACGTT GCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATT AATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGC CCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGG GTCTCGCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTAT CGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAG ACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAACTGTCAGA CCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAACTTCATTTTTAATT TAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCC TTAACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAA AGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAAC AAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACC AACTCTTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATAC TGTTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGC ACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAG TGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGA TAAGGCGCAGCGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTT GGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGA AAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGG CAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTG GTATCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATT TTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGC GGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTT TCCTGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTG AGCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAG

10 20 30 40

配列番号	ベクター名	ヌクレオチド配列 12345678901234567890123456789012345678901
		CGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTG GCCGATTCATTAATGCAGCTGGCACGACAGGTTTCCCGACTGGAAAGCGGG CAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCCA GGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGG ATAACAATTTCACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACGCCAAGCTCTA GCTAGAGGTCGAGTCCCTCCCCAGCAGGCAGAAGTATGCAAAGCATGCATC TCAATTAGTCAGCAACCATAGTCCCGCCCCTAACTCCGCCCATCCCGCCCC TAACTCCGCCCAGTTCCGCCCATTCTCCGCCCCATGGCTGACTAATTTTTT TTATTTATGCAGAGGCCGAGGCCGCCTCGGCCTCTGAGCTATTCCAGAAGT AGTGAGGAGGCTTTTTTGGAGGCCTAGGCTTTTGCAAAAAGCTTTGCAAAG ATGGATAAAGTTTTAAACAGAGAGGAATCTTTGCAGCTAATGGACCTTCTA GGTCTTGAAAGGAGTGGGAATTGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCG CACATCGCCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGGCAATTGAAC CGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTA CTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGT AGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACACAGGT AAGTGCCGTGTGTGGTTCCCGCGGGCCTGGCCTCTTTACGGGTTATGGCCC TTGCGTGCCTTGAATTACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGATTCTTGATCC CGAGCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTCGAGGCCTTGCGCTTAAGG AGCCCCTTCGCCTCGTGCTTGAGTTGAGGCCTGGCCTGGGCGCTGGGGCCG CCGCGTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGCTTTCGATAA GTCTCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCTGCGACGCTTTTTTTCTG GCAAGATAGTCTTGTAAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGGTATTTCGGT TTTTGGGGCCGCGGGCGGCGACGGGGCCCGTGCGTCCCAGCGCACATGTTC GGCGAGGCGGGGCCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACGGGGGTAGTC TCAAGCTGGCCGGCCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCGCCGTGTATCGC CCCGCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCCCGGTCGGCACCAGTTGCGTGAGCGGA AAGATGGCCGCTTCCCGGCCCTGCTGCAGGGAGCTCAAAATGGAGGACGCG GCGCTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGTCACCCACACAAAGGAAAAGGGCCTT TCCGTCCTCAGCCGTCGCTTCATGTGACTCCACGGAGTACCGGGCGCCGTC CAGGCACCTCGATTAGTTCTCGAGCTTTTGGAGTACGTCGTCTTTAGGTTG GGGGGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTGGGTGGAGAC TGAAGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGAATTTGCCCT TTTTGAGTTTGGATCTTGGTTCATTCTCAAGCCTCAGACAGTGGTTCAAAG TTTTTTTCTTCCATTTCAGGTGTCGTGAGGAATTCTCTAGAGATCCCTCGA CCTCGAGATCCATTGTGCCCGGGCGCACCATGGACATGCGCGTGCCCGCCC AGCTGCTGGGCCTGCTGCTGCTGTGGTTCCCCGGCTCGCGATGC
306	V3	CAACCCAAGGCTGCCCCCTCGGTCACTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAG CTTCAAGCCAACAAGGCCACACTGGTGTGTCTCATAAGTGACTTCTACCCG GGAGCCGTGACAGTGGCCTGGAAGGCAGATAGCAGCCCCGTCAAGGCGGGA GTGGAGACCACCACACCCTCCAAACAAAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGC AGCTACCTGAGCCTGACGCCTGAGCAGTGGAAGTCCCACAGAAGCTACAGC TGCCAGGTCACGCATGAAGGGAGCACCGTGGAGAAGACAGTGGCCCCTACA GAATGTTCATGAGCGGCCGCTCGAGGCCGGCAAGGCCGGATCCCCCGACCT CGACCTCTGGCTAATAAAGGAAATTTATTTTCATTGCAATAGTGTGTTGGA ATTTTTTGTGTCTCTCACTCGGAAGGACATATGGGAGGGCAAATCATTTGG TCGAGATCCCTCGGAGATCTCTAGCTAGAGGATCGATCCCCGCCCCGGACG AACTAAACCTGACTACGACATCTCTGCCCCTTCTTCGCGGGGCAGTGCATG TAATCCCTTCAGTTGGTTGGTACAACTTGCCAACTGGGCCCTGTTCCACAT GTGACACGGGGGGGGACCAAACACAAAGGGGTTCTCTGACTGTAGTTGACA TCCTTATAAATGGATGTGCACATTTGCCAACACTGAGTGGCTTTCATCCTG GAGCAGACTTTGCAGTCTGTGGACTGCAACACAACATTGCCTTTATGTGTA ACTCTTGGCTGAAGCTCTTACACCAATGCTGGGGGACATGTACCTCCCAGG GGCCCAGGAAGACTACGGGAGGCTACACCAACGTCAATCAGAGGGGCCTGT GTAGCTACCGATAAGCGGACCCTCAAGAGGGCATTAGCAATAGTGTTTATA AGGCCCCCTTGTTAACCCTAAACGGGTAGCATATGCTTCCCGGGTAGTAGT ATATACTATCCAGACTAACCCTAATTCAATAGCATATGTTACCCAACGGGA AGCATATGCTATCGAATTAGGGTTAGTAAAAGGGTCCTAAGGAACAGCGAT ATCTCCCACCCCATGAGCTGTCACGGTTTTATTTACATGGGGTCAGGATTC

配列番号	ベクター名	ヌクレオチド配列 12345678901234567890123456789012345678901234567890
		CACGAGGGTAGTGAACCATTTTAGTCACAAGGGCAGTGGCTGAAGATCAAG
		GAGCGGGCAGTGAACTCTCCTGAATCTTCGCCTGCTTCTTCATTCTCCTTC
		GTTTAGCTAATAGAATAACTGCTGAGTTGTGAACAGTAAGGTGTATGTGAG
		GTGCTCGAAAACAAGGTTTCAGGTGACGCCCCCAGAATAAAATTTGGACGG
		GGGGTTCAGTGGTGGCATTGTGCTATGACACCAATATAACCCTCACAAACC
		CCTTGGGCAATAAATACTAGTGTAGGAATGAAACATTCTGAATATCTTTAA
		CAATAGAAATCCATGGGGTGGGGACAAGCCGTAAAGACTGGATGTCCATCT
		CACACGAATTTATGGCTATGGGCAACACATAATCCTAGTGCAATATGATAC
		TGGGGTTATTAAGATGTGTCCCAGGCAGGGACCAAGACAGGTGAACCATGT
		TGTTACACTCTATTTGTAACAAGGGGAAAGAGAGTGGACGCCGACAGCAGC
		GGACTCCACTGGTTGTCTCTAACACCCCCGAAAATTAAACGGGGCTCCACG
		CCAATGGGGCCCATAAACAAAGACAAGTGGCCACTCTTTTTTTTGAAATTG
		TGGAGTGGGGGCACGCGTCAGCCCCCACACGCCGCCCTGCGGTTTTGGACT
		GTAAAATAAGGGTGTAATAACTTGGCTGATTGTAACCCCGCTAACCACTGC
		GGTCAAACCACTTGCCCACAAAACCACTAATGGCACCCCGGGGAATACCTG
		CATAAGTAGGTGGGCGGGCCAAGATAGGGGCGCGATTGCTGCGATCTGGAG
		GACAAATTACACACACTTGCGCCTGAGCGCCAAGCACAGGGTTGTTGGTCC
		TCATATTCACGAGGTCGCTGAGAGCACGGTGGGCTAATGTTGCCATGGGTA
		GCATATACTACCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCCTAATCTATATCT
		GGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCCTAA
		TCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCATAGG
		CTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGG
		TAGTATATGCTATCCTAATCTGTATCCGGGTAGCATATGCTATCCTAATAG
		AGATTAGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCATATACTA
		CCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATA
		TGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTG
		GGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAAT
		TTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGC
		TATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATCTGTATCCGGGT
		AGCATATGCTATCCTCATGATAAGCTGTCAAACATGAGAATTTTCTTGAAG
		ACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGATAAT
		AATGGTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAAC
		CCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAG
		ACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAG
		TATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTGCGGCATTTTGCCT
		TCCTGTTTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGA
		TCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAA
		GATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTT
		TAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTGTTGACGCCGGGCAAGA
		GCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTC
		ACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATG
		CAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGAC
		AACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGA
		TCATGTAACTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACC
		AAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGCAGCAATGGCAACAACGTTGCG
		CAAACTATTAACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAAT
		AGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGCCCT
		TCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTC
		TCGCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGT
		AGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACA
		GATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCA
		AGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAACTTCATTTTTAATTTAA
		AAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCCTTA
		ACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGG
		ATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAA
		AAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACCAAC
		TCTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGT
		TCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACC
		GCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGG

配列番号	ベクター名	ヌクレオチド配列 12345678901234567890123456789012345678901
		CGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAA GGCGCAGCGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGA GCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAG CGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAG GGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTA TCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTT GTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGC CTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTTTCC TGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGC TGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGA GGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCC GATTCATTAATGCAGCTGGCACGACAGGTTTCCCGACTGGAAAGCGGGCAG TGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCCAGGC TTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGATA ACAATTTCACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACGCCAAGCTCTAGCT AGAGGTCGAGTCCCTCCCCAGCAGGCAGAAGTATGCAAAGCATGCATCTCA ATTAGTCAGCAACCATAGTCCCGCCCCTAACTCCGCCCATCCCGCCCCTAA CTCCGCCCAGTTCCGCCCATTCTCCGCCCCATGGCTGACTAATTTTTTTTA TTTATGCAGAGGCCGAGGCCGCCTCGGCCTCTGAGCTATTCCAGAAGTAGT GAGGAGGCTTTTTTGGAGGCCTAGGCTTTTGCAAAAAGCTTTGCAAAGATG GATAAAGTTTTAAACAGAGAGGAATCTTTGCAGCTAATGGACCTTCTAGGT CTTGAAAGGAGTGGGAATTGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCAC ATCGCCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGGCAATTGAACCGG TGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTG GCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGTAGT CGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACACAGGTAAG TGCCGTGTGTGGTTCCCGCGGGCCTGGCCTCTTTACGGGTTATGGCCCTTG CGTGCCTTGAATTACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGATTCTTGATCCCGA GCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTCGAGGCCTTGCGCTTAAGGAGC CCCTTCGCCTCGTGCTTGAGTTGAGGCCTGGCCTGGGCGCTGGGGCCGCCG CGTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGCTTTCGATAAGTC TCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCTGCGACGCTTTTTTTCTGGCA AGATAGTCTTGTAAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGGTATTTCGGTTTT TGGGGCCGCGGGCGGCGACGGGGCCCGTGCGTCCCAGCGCACATGTTCGGC GAGGCGGGGCCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACGGGGGTAGTCTCA AGCTGGCCGGCCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCGCCGTGTATCGCCCC GCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCCCGGTCGGCACCAGTTGCGTGAGCGGAAAG ATGGCCGCTTCCCGGCCCTGCTGCAGGGAGCTCAAAATGGAGGACGCGGCG CTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGTCACCCACACAAAGGAAAAGGGCCTTTCC GTCCTCAGCCGTCGCTTCATGTGACTCCACGGAGTACCGGGCGCCGTCCAG GCACCTCGATTAGTTCTCGAGCTTTTGGAGTACGTCGTCTTTAGGTTGGGG GGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTGGGTGGAGACTGA AGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGAATTTGCCCTTTT TGAGTTTGGATCTTGGTTCATTCTCAAGCCTCAGACAGTGGTTCAAAGTTT TTTTCTTCCATTTCAGGTGTCGTGAGGAATTCTCTAGAGATCCCTCGACCT CGAGATCCATTGTGCCCGGGCGCCACCATGACTTGGACCCCACTCCTCTTC CTCACCCTCCTCCTCCACTGCACAGGAAGCTTATCG
307	V4	ACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTG AAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGA GAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCC CAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGC AGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCC TGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAAC AGGGGAGAGTGTTGAGCGGCCGCTCGAGGCCGGCAAGGCCGGATCCCCCGA CCTCGACCTCTGGCTAATAAAGGAAATTTATTTTCATTGCAATAGTGTGTT GGAATTTTTTGTGTCTCTCACTCGGAAGGACATATGGGAGGGCAAATCATT TGGTCGAGATCCCTCGGAGATCTCTAGCTAGAGGATCGATCCCCGCCCCGG ACGAACTAAACCTGACTACGACATCTCTGCCCCTTCTTCGCGGGGCAGTGC ATGTAATCCCTTCAGTTGGTTGGTACAACTTGCCAACTGGGCCCTGTTCCA

配列番号	ベクター名	ヌクレオチド配列 12345678901234567890123456789012345678901234567890
		CATGTGACACGGGGGGGGACCAAACACAAAGGGGTTCTCTGACTGTAGTTG ACATCCTTATAAATGGATGTGCACATTTGCCAACACTGAGTGGCTTTCATC CTGGAGCAGACTTTGCAGTCTGTGGACTGCAACACAACATTGCCTTTATGT GTAACTCTTGGCTGAAGCTCTTACACCAATGCTGGGGGACATGTACCTCCC AGGGGCCCAGGAAGACTACGGGAGGCTACACCAACGTCAATCAGAGGGGCC TGTGTAGCTACCGATAAGCGGACCCTCAAGAGGGCATTAGCAATAGTGTTT ATAAGGCCCCCTTGTTAACCCTAAACGGGTAGCATATGCTTCCCGGGTAGT AGTATATACTATCCAGACTAACCCTAATTCAATAGCATATGTTACCCAACG GGAAGCATATGCTATCGAATTAGGGTTAGTAAAAGGGTCCTAAGGAACAGC GATATCTCCCACCCCATGAGCTGTCACGGTTTTATTTACATGGGGTCAGGA TTCCACGAGGGTAGTGAACCATTTTAGTCACAAGGGCAGTGGCTGAAGATC AAGGAGCGGGCAGTGAACTCTCCTGAATCTTCGCCTGCTTCTTCATTCTCC TTCGTTTAGCTAATAGAATAACTGCTGAGTTGTGAACAGTAAGGTGTATGT GAGGTGCTCGAAAACAAGGTTTCAGGTGACGCCCCCAGAATAAAATTTGGA CGGGGGGTTCAGTGGTGGCATTGTGCTATGACACCAATATAACCCTCACAA ACCCCTTGGGCAATAAATACTAGTGTAGGAATGAAACATTCTGAATATCTT TAACAATAGAAATCCATGGGGTGGGGACAAGCCGTAAAGACTGGATGTCCA TCTCACACGAATTTATGGCTATGGGCAACACATAATCCTAGTGCAATATGA TACTGGGGTTATTAAGATGTGTCCCAGGCAGGGACCAAGACAGGTGAACCA TGTTGTTACACTCTATTTGTAACAAGGGGAAAGAGAGTGGACGCCGACAGC AGCGGACTCCACTGGTTGTCTCTAACACCCCCGAAAATTAAACGGGGCTCC ACGCCAATGGGGCCCATAAACAAAGACAAGTGGCCACTCTTTTTTTTGAAA TTGTGGAGTGGGGGCACGCGTCAGCCCCCACACGCCGCCCTGCGGTTTTGG ACTGTAAAATAAGGGTGTAATAACTTGGCTGATTGTAACCCCGCTAACCAC TGCGGTCAAACCACTTGCCCACAAAACCACTAATGGCACCCCGGGGAATAC CTGCATAAGTAGGTGGGCGGGCCAAGATAGGGGCGCGATTGCTGCGATCTG GAGGACAAATTACACACACTTGCGCCTGAGCGCCAAGCACAGGGTTGTTGG TCCTCATATTCACGAGGTCGCTGAGAGCACGGTGGGCTAATGTTGCCATGG GTAGCATATACTACCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCCTAATCTATA TCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCC TAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCAT AGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCT GGGTAGTATATGCTATCCTAATCTGTATCCGGGTAGCATATGCTATCCTAA TAGAGATTAGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCATATA CTACCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGC ATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATAT CTGGGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCT AATTTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATA TGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATCTGTATCCG GGTAGCATATGCTATCCTCATGATAAGCTGTCAAACATGAGAATTTTCTTG AAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGAT AATAATGGTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGG AACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCAT GAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTAT GAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTGCGGCATTTTG CCTTCCTGTTTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGA AGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGG TAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCAC TTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTGTTGACGCCGGGCA AGAGCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTA CTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATT ATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCT GACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGG GGATCATGTAACTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCAT ACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGCAGCAATGGCAACAACGTT GCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATT AATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGC CCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGG GTCTCGCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTAT

10 20 30 40

配列番号	ベクター名	ヌクレオチド配列 123456789**0**123456789**0**123456789**0**123456789**0**123456789**0**1
		CGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAG ACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAACTGTCAGA CCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAACTTCATTTTTAATT TAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCC TTAACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAA AGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAAC AAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACC AACTCTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATAC TGTTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGC ACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAG TGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGA TAAGGCGCAGCGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTT GGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGA AAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGG CAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTG GTATCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATT TTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGC GGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTT TCCTGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTG AGCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAG CGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTG GCCGATTCATTAATGCAGCTGGCACGACAGGTTTCCCGACTGGAAAGCGGG CAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCCA GGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGG ATAACAATTTCACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACGCCAAGCTCTA GCTAGAGGTCGAGTCCCTCCCCAGCAGGCAGAAGTATGCAAAGCATGCATC TCAATTAGTCAGCAACCATAGTCCCGCCCCTAACTCCGCCCATCCCGCCCC TAACTCCGCCCAGTTCCGCCCATTCTCCGCCCCATGGCTGACTAATTTTTT TTATTTATGCAGAGGCCGAGGCCGCCTCGGCCTCTGAGCTATTCCAGAAGT AGTGAGGAGGCTTTTTTGGAGGCCTAGGCTTTTGCAAAAAGCTTTGCAAAG ATGGATAAAGTTTTAAACAGAGAGGAATCTTTGCAGCTAATGGACCTTCTA GGTCTTGAAAGGAGTGGGAATTGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCG CACATCGCCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGGCAATTGAAC CGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTA CTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGT AGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACACAGGT AAGTGCCGTGTGTGGTTCCCGCGGGCCTGGCCTCTTTACGGGTTATGGCCC TTGCGTGCCTTGAATTACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGATTCTTGATCC CGAGCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTCGAGGCCTTGCGCTTAAGG AGCCCCTTCGCCTCGTGCTTGAGTTGAGGCCTGGCCTGGGCGCTGGGGCCG CCGCGTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGCTTTCGATAA GTCTCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCTGCGACGCTTTTTTTCTG GCAAGATAGTCTTGTAAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGGTATTTCGGT TTTTGGGGCCGCGGGCGGCGACGGGGCCCGTGCGTCCCAGCGCACATGTTC GGCGAGGCGGGGCCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACGGGGGTAGTC TCAAGCTGGCCGGCCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCGCCGTGTATCGC CCCGCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCCCGGTCGGCACCAGTTGCGTGAGCGGA AAGATGGCCGCTTCCCGGCCCTGCTGCAGGGAGCTCAAAATGGAGGACGCG GCGCTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGTCACCCACACAAAGGAAAAGGGCCTT TCCGTCCTCAGCCGTCGCTTCATGTGACTCCACGGAGTACCGGGCGCCGTC CAGGCACCTCGATTAGTTCTCGAGCTTTTGGAGTACGTCGTCTTTAGGTTG GGGGGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTGGGTGGAGAC TGAAGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGAATTTGCCCT TTTTGAGTTTGGATCTTGGTTCATTCTCAAGCCTCAGACAGTGGTTCAAAG TTTTTTTCTTCCATTTCAGGTGTCGTGAGGAATTCTCTAGAGATCCCTCGA CCTCGAGATCCATTGTGCCCGGGCGCACCATGACTTGGACCCCACTCCTCT TCCTCACCCTCCTCCTCCACTGCACAGGAAGCTTATCG
308	V5	CAACCCAAGGCTGCCCCCTCGGTCACTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAG CTTCAAGCCAACAAGGCCACACTGGTGTGTCTCATAAGTGACTTCTACCCG

配列番号	ベクター名	ヌクレオチド配列 12345678901234567890123456789012345678901
		GGAGCCGTGACAGTGGCCTGGAAGGCAGATAGCAGCCCCGTCAAGGCGGGA GTGGAGACCACCACACCCTCCAAACAAAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGC AGCTACCTGAGCCTGACGCCTGAGCAGTGGAAGTCCCACAGAAGCTACAGC TGCCAGGTCACGCATGAAGGGAGCACCGTGGAGAAGACAGTGGCCCCTACA GAATGTTCATGAGCGGCCGCTCGAGGCCGGCAAGGCCGGATCCCCCGACCT CGACCTCTGGCTAATAAAGGAAATTTATTTTCATTGCAATAGTGTGTTGGA ATTTTTTGTGTCTCTCACTCGGAAGGACATATGGGAGGGCAAATCATTTGG TCGAGATCCCTCGGAGATCTCTAGCTAGAGGATCGATCCCCGCCCCGGACG AACTAAACCTGACTACGACATCTCTGCCCCTTCTTCGCGGGGCAGTGCATG TAATCCCTTCAGTTGGTTGGTACAACTTGCCAACTGGGCCCTGTTCCACAT GTGACACGGGGGGGGACCAAACACAAAGGGGTTCTCTGACTGTAGTTGACA TCCTTATAAATGGATGTGCACATTTGCCAACACTGAGTGGCTTTCATCCTG GAGCAGACTTTGCAGTCTGTGGACTGCAACACAACATTGCCTTTATGTGTA ACTCTTGGCTGAAGCTCTTACACCAATGCTGGGGGACATGTACCTCCCAGG GGCCCAGGAAGACTACGGGAGGCTACACCAACGTCAATCAGAGGGGCCTGT GTAGCTACCGATAAGCGGACCCTCAAGAGGGCATTAGCAATAGTGTTTATA AGGCCCCCTTGTTAACCCTAAACGGGTAGCATATGCTTCCCGGGTAGTAGT ATATACTATCCAGACTAACCCTAATTCAATAGCATATGTTACCCAACGGGA AGCATATGCTATCGAATTAGGGTTAGTAAAAGGGTCCTAAGGAACAGCGAT ATCTCCCACCCCATGAGCTGTCACGGTTTTATTTACATGGGGTCAGGATTC CACGAGGGTAGTGAACCATTTTAGTCACAAGGGCAGTGGCTGAAGATCAAG GAGCGGGCAGTGAACTCTCCTGAATCTTCGCCTGCTTCTTCATTCTCCTTC GTTTAGCTAATAGAATAACTGCTGAGTTGTGAACAGTAAGGTGTATGTGAG GTGCTCGAAAACAAGGTTTCAGGTGACGCCCCCAGAATAAAATTTGGACGG GGGGTTCAGTGGTGGCATTGTGCTATGACACCAATATAACCCTCACAAACC CCTTGGGCAATAAATACTAGTGTAGGAATGAAACATTCTGAATATCTTTAA CAATAGAAATCCATGGGGTGGGGACAAGCCGTAAAGACTGGATGTCCATCT CACACGAATTTATGGCTATGGGCAACACATAATCCTAGTGCAATATGATAC TGGGGTTATTAAGATGTGTCCCAGGCAGGGACCAAGACAGGTGAACCATGT TGTTACACTCTATTTGTAACAAGGGGAAAGAGAGTGGACGCCGACAGCAGC GGACTCCACTGGTTGTCTCTAACACCCCCGAAAATTAAACGGGGCTCCACG CCAATGGGGCCCATAAACAAAGACAAGTGGCCACTCTTTTTTTTGAAATTG TGGAGTGGGGGCACGCGTCAGCCCCCACACGCCGCCCTGCGGTTTTGGACT GTAAAATAAGGGTGTAATAACTTGGCTGATTGTAACCCCGCTAACCACTGC GGTCAAACCACTTGCCCACAAAACCACTAATGGCACCCCGGGGAATACCTG CATAAGTAGGTGGGCGGGCCAAGATAGGGGCGCGATTGCTGCGATCTGGAG GACAAATTACACACACTTGCGCCTGAGCGCCAAGCACAGGGTTGTTGGTCC TCATATTCACGAGGTCGCTGAGAGCACGGTGGGCTAATGTTGCCATGGGTA GCATATACTACCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCCTAATCTATATCT GGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCCTAA TCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCATAGG CTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGG TAGTATATGCTATCCTAATCTGTATCCGGGTAGCATATGCTATCCTAATAG AGATTAGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCATATACTA CCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATA TGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTG GGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAAT TTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGC TATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATCTGTATCCGGGT AGCATATGCTATCCTCATGATAAGCTGTCAAACATGAGAATTTTCTTGAAG ACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGATAAT AATGGTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAAC CCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAG ACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAG TATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTGCGGCATTTTGCCT TCCTGTTTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGA TCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAA GATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTT TAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTGTTGACGCCGGGCAAGA

10 20 30 40

配列番号	ベクター名	ヌクレオチド配列 12345678901234567890123456789012345678901
		GCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTC ACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATG CAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGAC AACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGA TCATGTAACTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACC AAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGCAGCAATGGCAACAACGTTGCG CAAACTATTAACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAAT AGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGCCCT TCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTC TCGCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGT AGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACA GATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCA AGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAACTTCATTTTTAATTTAA AAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCCTTA ACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGG ATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAA AAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACCAAC TCTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGT TCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACC GCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGG CGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAA GGCGCAGCGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGA GCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAG CGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAG GGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTA TCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTT GTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGC CTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTTTCC TGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGC TGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGA GGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCC GATTCATTAATGCAGCTGGCACGACAGGTTTCCCGACTGGAAAGCGGGCAG TGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCCAGGC TTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGATA ACAATTTCACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACGCCAAGCTCTAGCT AGAGGTCGAGTCCCTCCCCAGCAGGCAGAAGTATGCAAAGCATGCATCTCA ATTAGTCAGCAACCATAGTCCCGCCCCTAACTCCGCCCATCCCGCCCCTAA CTCCGCCCAGTTCCGCCCATTCTCCGCCCCATGGCTGACTAATTTTTTTTA TTTATGCAGAGGCCGAGGCCGCCTCGGCCTCTGAGCTATTCCAGAAGTAGT GAGGAGGCTTTTTTGGAGGCCTAGGCTTTTGCAAAAAGCTTTGCAAAGATG GATAAAGTTTTAAACAGAGAGGAATCTTTGCAGCTAATGGACCTTCTAGGT CTTGAAAGGAGTGGGAATTGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCAC ATCGCCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGGCAATTGAACCGG TGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTG GCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGTAGT CGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACACAGGTAAG TGCCGTGTGTGGTTCCCGCGGGCCTGGCCTCTTTACGGGTTATGGCCCTTG CGTGCCTTGAATTACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGATTCTTGATCCCGA GCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTCGAGGCCTTGCGCTTAAGGAGC CCCTTCGCCTCGTGCTTGAGTTGAGGCCTGGCCTGGGCGCTGGGGCCGCCG CGTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGCTTTCGATAAGTC TCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCTGCGACGCTTTTTTTCTGGCA AGATAGTCTTGTAAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGGTATTTCGGTTTT TGGGGCCGCGGGCGGCGACGGGGCCCGTGCGTCCCAGCGCACATGTTCGGC GAGGCGGGGCCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACGGGGGTAGTCTCA AGCTGGCCGGCCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCGCCGTGTATCGCCCC GCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCCCGGTCGGCACCAGTTGCGTGAGCGGAAAG ATGGCCGCTTCCCGGCCCTGCTGCAGGGAGCTCAAAATGGAGGACGCGGCG CTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGTCACCCACACAAAGGAAAAGGGCCTTTCC

配列番号	ベクター名	ヌクレオチド配列 12345678901234567890123456789012345678901234567890
		GTCCTCAGCCGTCGCTTCATGTGACTCCACGGAGTACCGGGCGCCGTCCAG GCACCTCGATTAGTTCTCGAGCTTTTGGAGTACGTCGTCTTTAGGTTGGGG GGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTGGGTGGAGACTGA AGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGAATTTGCCCTTTT TGAGTTTGGATCTTGGTTCATTCTCAAGCCTCAGACAGTGGTTCAAAGTTT TTTTCTTCCATTTCAGGTGTCGTGAGGAATTCTCTAGAGATCCCTCGACCT CGAGATCCATTGTGCCCGGGCGCCACCATGGACATGCGCGTGCCCGCCCAG CTGCTGGGCCTGCTGCTGCTGTGGTTCCCCGGCTCGCGATGC
309	V7	GCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGC ACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCC GAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCAC ACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTG GTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTG AATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCT TGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCCGCGGGG GGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATC TCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCC AAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGC GTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC AAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAA GCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGC GAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTC TATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAAC AACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTC TACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTC TCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGC CTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGAGCGGCCGCTCGAGGCCGGCAAGGCCGG ATCCCCCGACCTCGACCTCTGGCTAATAAAGGAAATTTATTTTCATTGCAA TAGTGTGTTGGAATTTTTTGTGTCTCTCACTCGGAAGGACATATGGGAGGG CAAATCATTTGGTCGAGATCCCTCGGAGATCTCTAGCTAGAGGATCGATCC CCGCCCCGGACGAACTAAACCTGACTACGACATCTCTGCCCCTTCTTCGCG GGGCAGTGCATGTAATCCCTTCAGTTGGTTGGTACAACTTGCCAACTGGGC CCTGTTCCACATGTGACACGGGGGGGGACCAAACACAAAGGGGTTCTCTGA CTGTAGTTGACATCCTTATAAATGGATGTGCACATTTGCCAACACTGAGTG GCTTTCATCCTGGAGCAGACTTTGCAGTCTGTGGACTGCAACACAACATTG CCTTTATGTGTAACTCTTGGCTGAAGCTCTTACACCAATGCTGGGGGACAT GTACCTCCCAGGGGCCCAGGAAGACTACGGGAGGCTACACCAACGTCAATC AGAGGGGCCTGTGTAGCTACCGATAAGCGGACCCTCAAGAGGGCATTAGCA ATAGTGTTTATAAGGCCCCCTTGTTAACCCTAAACGGGTAGCATATGCTTC CCGGGTAGTAGTATATACTATCCAGACTAACCCTAATTCAATAGCATATGT TACCCAACGGGAAGCATATGCTATCGAATTAGGGTTAGTAAAAGGGTCCTA AGGAACAGCGATATCTCCCACCCCATGAGCTGTCACGGTTTTATTTACATG GGGTCAGGATTCCACGAGGGTAGTGAACCATTTTAGTCACAAGGGCAGTGG CTGAAGATCAAGGAGCGGGCAGTGAACTCTCCTGAATCTTCGCCTGCTTCT TCATTCTCCTTCGTTTAGCTAATAGAATAACTGCTGAGTTGTGAACAGTAA GGTGTATGTGAGGTGCTCGAAAACAAGGTTTCAGGTGACGCCCCCAGAATA AAATTTGGACGGGGGGTTCAGTGGTGGCATTGTGCTATGACACCAATATAA CCCTCACAAACCCCTTGGGCAATAAATACTAGTGTAGGAATGAAACATTCT GAATATCTTTAACAATAGAAATCCATGGGGTGGGGACAAGCCGTAAAGACT GGATGTCCATCTCACACGAATTTATGGCTATGGGCAACACATAATCCTAGT GCAATATGATACTGGGGTTATTAAGATGTGTCCCAGGCAGGGACCAAGACA GGTGAACCATGTTGTTACACTCTATTTGTAACAAGGGGAAAGAGAGTGGAC GCCGACAGCAGCGGACTCCACTGGTTGTCTCTAACACCCCCGAAAATTAAA CGGGGCTCCACGCCAATGGGGCCCATAAACAAAGACAAGTGGCCACTCTTT TTTTTGAAATTGTGGAGTGGGGGCACGCGTCAGCCCCCACACGCCGCCCTG CGGTTTTGGACTGTAAAATAAGGGTGTAATAACTTGGCTGATTGTAACCCC GCTAACCACTGCGGTCAAACCACTTGCCCACAAAACCACTAATGGCACCCC GGGGAATACCTGCATAAGTAGGTGGGCGGGCCAAGATAGGGGCGCGATTGC

10 20 30 40

配列番号	ベクター名	ヌクレオチド配列 12345678901234567890123456789012345678901234567890
		TGCGATCTGGAGGACAAATTACACACACTTGCGCCTGAGCGCCAAGCACAG
		GGTTGTTGGTCCTCATATTCACGAGGTCGCTGAGAGCACGGTGGGCTAATG
		TTGCCATGGGTAGCATATACTACCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCC
		TAATCTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCAT
		ATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCT
		GGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCCTAA
		TCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATCTGTATCCGGGTAGCATATG
		CTATCCTAATAGAGATTAGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGG
		TAGCATATACTACCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCCTAATCTATAT
		CTGGGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCT
		AATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATA
		TGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTG
		GGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAAT
		CTGTATCCGGGTAGCATATGCTATCCTCATGATAAGCTGTCAAACATGAGA
		ATTTTCTTGAAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAA
		TGTCATGATAATAATGGTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAA
		TGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTA
		TCCGCTCATGAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAG
		GAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTGC
		GGCATTTTGCCTTCCTGTTTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAA
		AGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCT
		CAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAAT
		GATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTGTTGA
		CGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTT
		GGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGT
		AAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAA
		CTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCA
		CAACATGGGGGATCATGTAACTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAA
		TGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGCAGCAATGGC
		AACAACGTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCG
		GCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCT
		GCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGG
		TGAGCGTGGGTCTCGCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCC
		CTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGA
		ACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTA
		ACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAACTTCA
		TTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGAC
		CAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGA
		AAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTG
		CTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTTGCCGGATCA
		AGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGAT
		ACCAAATACTGTTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAA
		CTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGC
		TGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATA
		GTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACA
		GCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGA
		GCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCC
		GGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGG
		AAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGA
		GCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGC
		CAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCA
		CATGTTCTTTCCTGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGC
		CTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGA
		GTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCC
		CGCGCGTTGGCCGATTCATTAATGCAGCTGGCACGACAGGTTTCCCGACTG
		GAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTA
		GGCACCCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAAT
		TGTGAGCGGATAACAATTTCACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACGC
		CAAGCTCTAGCTAGAGGTCGAGTCCCTCCCCAGCAGGCAGAAGTATGCAAA

配列番号	ベクター名	ヌクレオチド配列 12345678901234567890123456789012345678901234567890
		GCATGCATCTCAATTAGTCAGCAACCATAGTCCCGCCCCTAACTCCGCCCA TCCCGCCCCTAACTCCGCCCAGTTCCGCCCATTCTCCGCCCCATGGCTGAC TAATTTTTTTTATTTATGCAGAGGCCGAGGCCGCCTCGGCCTCTGAGCTAT TCCAGAAGTAGTGAGGAGGCTTTTTTGGAGGCCTAGGCTTTTGCAAAAAGC TTTGCAAAGATGGATAAAGTTTTAAACAGAGAGGAATCTTTGCAGCTAATG GACCTTCTAGGTCTTGAAAGGAGTGGGAATTGGCTCCGGTGCCCGTCAGTG GGCAGAGCGCACATCGCCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGG CAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGA TGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATAT AAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAG AACACAGGTAAGTGCCGTGTGTGGTTCCCGCGGGCCTGGCCTCTTTACGGG TTATGGCCCTTGCGTGCCTTGAATTACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGAT TCTTGATCCCGAGCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTCGAGGCCTTG CGCTTAAGGAGCCCCTTCGCCTCGTGCTTGAGTTGAGGCCTGGCCTGGGCG CTGGGGCCGCCGCGTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGC TTTCGATAAGTCTCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCTGCGACGCT TTTTTTCTGGCAAGATAGTCTTGTAAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGG TATTTCGGTTTTTGGGGCCGCGGGCGGCGACGGGGCCCGTGCGTCCCAGCG CACATGTTCGGCGAGGCGGGGCCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACG GGGGTAGTCTCAAGCTGGCCGGCCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCGCC GTGTATCGCCCCGCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCCCGGTCGGCACCAGTTGC GTGAGCGGAAAGATGGCCGCTTCCCGGCCCTGCTGCAGGGAGCTCAAAATG GAGGACGCGGCGCTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGTCACCCACACAAAGGAA AAGGGCCTTTCCGTCCTCAGCCGTCGCTTCATGTGACTCCACGGAGTACCG GGCGCCGTCCAGGCACCTCGATTAGTTCTCGAGCTTTTGGAGTACGTCGTC TTTAGGTTGGGGGGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTG GGTGGAGACTGAAGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGA ATTTGCCCTTTTTGAGTTTGGATCTTGGTTCATTCTCAAGCCTCAGACAGT GGTTCAAAGTTTTTTTCTTCCATTTCAGGTGTCGTGAGGAATTCTCTAGAG ATCCCTCGACCTCGAGATCCATTGTGCCCGGGCGCCACCATGGAGTTTGGG CTGAGCTGGCTTTTTCTTGTCGCGATTTTAAAAGGTGTCCAGTGC

【０６９０】

本開示は、分子生物学および薬物送達の分野で周知の技術全体を、参照により組み込む。これらの技術には、以下の文献に記載されている技術が含まれるが、これに限定されるものではない。

【表７９】

参考文献

Ausubel et al. (eds.), Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley &Sons, NY (1993);

Ausubel, F.M. et al. eds., Short Protocols In Molecular Biology (4th Ed. 1999) John Wiley & Sons, NY. (ISBN 0-471-32938-X).

Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance, Smolen and Ball (eds.), Wiley, New York (1984);

Giege, R. and Ducruix, A. Barrett, Crystallization of Nucleic Acids and Proteins, a Practical Approach, 2nd ea., pp. 20 1-16, Oxford University Press, New York, New York, (1999);

Goodson, in Medical Applications of Controlled Release, vol. 2, pp. 115-138 (1984);

Hammerling, et al., in: Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981;

Harlow et al. , Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988);

Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987) and (1991);

Kabat, E.A., *et al.* (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242;

Kontermann and Dubel eds., Antibody Engineering (2001) Springer-Verlag. New York. 790 pp. (ISBN 3-540-41354-5).

Kriegler, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY (1990);

Lu and Weiner eds., Cloning and Expression Vectors for Gene Function Analysis (2001) BioTechniques Press. Westborough, MA. 298 pp. (ISBN 1-881299-21-X).

Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), CRC Pres., Boca Raton, Fla. (1974);

Old, R.W. & S.B. Primrose, Principles of Gene Manipulation: An Introduction To Genetic Engineering (3d Ed. 1985) Blackwell Scientific Publications, Boston. Studies in Microbiology; V.2:409 pp. (ISBN 0-632-01318-4).

Sambrook, J. et al. eds., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2d Ed. 1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY. Vols. 1-3. (ISBN 0-87969-309-6).

Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978

Winnacker, E.L. From Genes To Clones: Introduction To Gene Technology (1987) VCH Publishers, NY (translated by Horst Ibelgaufts). 634 pp. (ISBN 0-89573-614-4).

【０６９１】

参照による援用

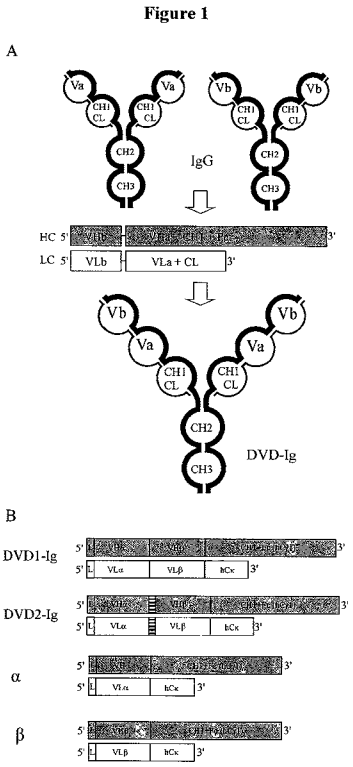
本出願を通して引用されてもよい、すべての引用される参考資料（参考文献、特許、特許出願およびウェブサイトを含む）の内容は、これによって、これらの参考資料がそこに記載されているかのように、いずれかの目的で参考資料の全体を参照することにより明確に援用される。本開示の実施は、別段の記載がない限り、当該技術分野において周知である免疫学、分子生物学および細胞生物学の従来技術を使用する。

【０６９２】

均等

本開示は、その精神または本質的な特徴から逸脱せずに他の具体的な形態において体現されもよい。したがって、前述の実施形態は、限定するというよりはむしろ、すべての点において例示していると考えるべきである。よって、本開示の範囲は、前述の記載によるというよりはむしろ、添付される特許請求の範囲によって示され、したがって、特許請求の範囲の意味および均等の範囲内にあるすべての変更は本明細書に包含されることが意図される。

【図１】



【配列表】
2013539364000001.app
【手続補正書】
【提出日】平成24年5月21日(2012.5.21)
【手続補正１】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】全文
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
少なくとも１つの標的に結合することが可能な結合タンパク質であって、２つのポリペプチド鎖を含み、第一のポリペプチド鎖は、第一のＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎを含み、ここで
ＶＤ１は第一の重鎖可変ドメインであり、
ＶＤ２は第二の重鎖可変ドメインであり、
Ｃは重鎖定常ドメインであり、
Ｘ１は第一のＣＨ１ではないことを条件とするリンカーであり、
Ｘ２はＦｃ領域であり、
ｎは０または１であり、ならびに
第二のポリペプチド鎖は、第二のＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎを含み、ここで
ＶＤ１は第一の軽鎖可変ドメインであり、
ＶＤ２は第二の軽鎖可変ドメインであり、
Ｃは軽鎖定常ドメインであり、
Ｘ１は第二のＣＨ１ではないことを条件とするリンカーであり、
Ｘ２はＦｃ領域を含まず、
ｎは０または１であり、ならびに
結合タンパク質はＴＮＦおよびＮＧＦに結合することが可能であり、ここでＴＮＦに結合する重鎖可変ドメインは、それぞれ、配列番号２８、３６、３８、４０、４４または４６からの少なくとも１つのＣＤＲを含み、および／またはＴＮＦに結合する軽鎖可変ドメインは、それぞれ、配列番号２９、３７、３９、４１、４５または４７からの少なくとも１つのＣＤＲを含み、および／またはＮＧＦに結合する重鎖可変ドメインは、配列番号３０からの少なくとも１つのＣＤＲを含み、および／またはＮＧＦに結合する軽鎖可変ドメインは、配列番号３１からの少なくとも１つのＣＤＲを含み、
結合タンパク質はＴＮＦおよびＳＯＳＴに結合することが可能であり、ここでＴＮＦに結合する重鎖可変ドメインは、それぞれ、配列番号２８、３６、３８、４０、４４または４６からの少なくとも１つのＣＤＲを含み、および／またはＴＮＦに結合する軽鎖可変ドメインは、それぞれ、配列番号２９、３７、３９、４１、４５または４７からの少なくとも１つのＣＤＲを含み、および／またはＳＯＳＴに結合する重鎖可変ドメインは、配列番号３２からの少なくとも１つのＣＤＲを含み、および／またはＳＯＳＴに結合する軽鎖可変ドメインは、配列番号３３からの少なくとも１つのＣＤＲを含み、
結合タンパク質はＴＮＦおよびＰＧＥ２に結合することが可能であり、ここでＴＮＦに結合する重鎖可変ドメインは、それぞれ、配列番号２８、３６、３８、４０、４４または４６からの少なくとも１つのＣＤＲを含み、および／またはＴＮＦに結合する軽鎖可変ドメインは、それぞれ、配列番号２９、３７、３９、４１、４５または４７からの少なくとも１つのＣＤＲを含み、および／またはＰＧＥ２に結合する重鎖可変ドメインは、配列番号３４からの少なくとも１つのＣＤＲを含み、および／またはＰＧＥ２に結合する軽鎖可変ドメインは、配列番号３５からの少なくとも１つのＣＤＲを含み、または
結合タンパク質はＴＮＦおよびＬＰＡに結合することが可能であり、ここでＴＮＦに結合

する重鎖可変ドメインは、それぞれ、配列番号２８、３６、３８、４０、４４または４６からの少なくとも１つのＣＤＲを含み、および／またはＴＮＦに結合する軽鎖可変ドメインは、それぞれ、配列番号２９、３７、３９、４１、４５または４７からの少なくとも１つのＣＤＲを含み、および／またはＬＰＡに結合する重鎖可変ドメインは、配列番号４２からの少なくとも１つのＣＤＲを含み、および／またはＬＰＡに結合する軽鎖可変ドメインは、配列番号４３からの少なくとも１つのＣＤＲを含み、
（ａ）第一および第二の重鎖可変ドメイン間のＸ１はＡＳＴＫＧＰ（配列番号２１）であり、ならびに第一および第二の軽鎖可変ドメイン間のＸ１はＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰ（配列番号１４）であり、
（ｂ）第一および第二の重鎖可変ドメイン間のＸ１はＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰ（配列番号２２）であり、ならびに第一および第二の軽鎖可変ドメイン間のＸ１はＴＶＡＡＰ（配列番号１３）であり、または
（ｃ）第一および第二の重鎖可変ドメイン間のＸ１はＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰ（配列番号２２）であり、ならびに第一および第二の軽鎖可変ドメイン間のＸ１はＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰ（配列番号１４）である
結合タンパク質。
【請求項２】
２つの第一のポリペプチド鎖および２つの第二のポリペプチド鎖を含む、請求項１に記載の結合タンパク質。
【請求項３】
少なくとも１つの標的に結合することが可能な結合タンパク質であって、４つのポリペプチド鎖を含み、２つのポリペプチド鎖はＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎを含み、ここで
ＶＤ１は第一の重鎖可変ドメインであり、
ＶＤ２は第二の重鎖可変ドメインであり、
Ｃは重鎖定常ドメインであり、
Ｘ１は第一のＣＨ１ではないことを条件とするリンカーであり、
Ｘ２はＦｃ領域であり、
ｎは０または１であり、ならびに
２つのポリペプチド鎖はＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎを含み、ここで
ＶＤ１は第一の軽鎖可変ドメインであり、
ＶＤ２は第二の軽鎖可変ドメインであり、
Ｃは軽鎖定常ドメインであり、
Ｘ１は第二のＣＨ１ではないことを条件とするリンカーであり、
Ｘ２はＦｃ領域を含まず、
ｎは０または１であり、ならびに
結合タンパク質はＴＮＦおよびＮＧＦに結合することが可能であり、ここでＴＮＦに結合する重鎖可変ドメインは、それぞれ、配列番号２８、３６、３８、４０、４４または４６からの少なくとも１つのＣＤＲを含み、および／またはＴＮＦに結合する軽鎖可変ドメインは、それぞれ、配列番号２９、３７、３９、４１、４５または４７からの少なくとも１つのＣＤＲを含み、および／またはＮＧＦに結合する重鎖可変ドメインは、配列番号３０からの少なくとも１つのＣＤＲを含み、および／またはＮＧＦに結合する軽鎖可変ドメインは、配列番号３１からの少なくとも１つのＣＤＲを含み、
結合タンパク質はＴＮＦおよびＳＯＳＴに結合することが可能であり、ここでＴＮＦに結合する重鎖可変ドメインは、それぞれ、配列番号２８、３６、３８、４０、４４または４６からの少なくとも１つのＣＤＲを含み、および／またはＴＮＦに結合する軽鎖可変ドメインは、それぞれ、配列番号２９、３７、３９、４１、４５または４７からの少なくとも１つのＣＤＲを含み、および／またはＳＯＳＴに結合する重鎖可変ドメインは、配列番号３２からの少なくとも１つのＣＤＲを含み、および／またはＳＯＳＴに結合する軽鎖可変ドメインは、配列番号３３からの少なくとも１つのＣＤＲを含み、

結合タンパク質はＴＮＦおよびＰＧＥ２に結合することが可能であり、ここでＴＮＦに結合する重鎖可変ドメインは、それぞれ、配列番号２８、３６、３８、４０、４４または４６からの少なくとも１つのＣＤＲを含み、および／またはＴＮＦに結合する軽鎖可変ドメインは、それぞれ、配列番号２９、３７、３９、４１、４５または４７からの少なくとも１つのＣＤＲを含み、および／またはＰＧＥ２に結合する重鎖可変ドメインは、配列番号３４からの少なくとも１つのＣＤＲを含み、および／またはＰＧＥ２に結合する軽鎖可変ドメインは、配列番号３５からの少なくとも１つのＣＤＲを含み、または
結合タンパク質はＴＮＦおよびＬＰＡに結合することが可能であり、ここでＴＮＦに結合する重鎖可変ドメインは、それぞれ、配列番号２８、３６、３８、４０、４４または４６からの少なくとも１つのＣＤＲを含み、および／またはＴＮＦに結合する軽鎖可変ドメインは、それぞれ、配列番号２９、３７、３９、４１、４５または４７からの少なくとも１つのＣＤＲを含み、および／またはＬＰＡに結合する重鎖可変ドメインは、配列番号４２からの少なくとも１つのＣＤＲを含み、および／またはＬＰＡに結合する軽鎖可変ドメインは、配列番号４３からの少なくとも１つのＣＤＲを含み、
（ａ）第一および第二の重鎖可変ドメイン間のＸ１はＡＳＴＫＧＰ（配列番号２１）であり、ならびに第一および第二の軽鎖可変ドメイン間のＸ１はＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰ（配列番号１４）であり、
（ｂ）第一および第二の重鎖可変ドメイン間のＸ１はＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰ（配列番号２２）であり、ならびに第一および第二の軽鎖可変ドメイン間のＸ１はＴＶＡＡＰ（配列番号１３）であり、または
（ｃ）第一および第二の重鎖可変ドメイン間のＸ１はＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰ（配列番号２２）であり、ならびに第一および第二の軽鎖可変ドメイン間のＸ１はＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰ（配列番号１４）である
結合タンパク質。
【請求項４】
削除
【請求項５】
ＶＤ１および／もしくはＶＤ２重鎖可変ドメインが、それぞれ、配列番号２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、４４もしくは４６からの３つのＣＤＲを含み、ならびに／またはＶＤ１および／もしくはＶＤ２軽鎖可変ドメインが、それぞれ、配列番号２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、４３、４５もしくは４７からの３つのＣＤＲを含む、請求項１または３に記載の結合タンパク質。
【請求項６】
ＶＤ１およびＶＤ２重鎖可変ドメインが、それぞれ、配列番号２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、４４または４６からの３つのＣＤＲを含み、ＶＤ１およびＶＤ２軽鎖可変ドメインが、それぞれ、配列番号２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、４３、４５または４７からの３つのＣＤＲを含む、請求項１または３に記載の結合タンパク質。
【請求項７】
Ｆｃ領域が可変配列Ｆｃ領域である、請求項１または３に記載の結合タンパク質。
【請求項８】
Ｆｃ領域が、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ、ＩｇＭ、ＩｇＥまたはＩｇＤから得られる、請求項１または３に記載の結合タンパク質。
【請求項９】
削除
【請求項１０】
削除
【請求項１１】
表面プラズモン共鳴によって測定された場合に、少なくとも約$10^{2}M^{-1}s^{-1}$；少なくとも約$10^{3}M^{-1}s^{-1}$；少なくとも約$10^{4}M^{-1}s^{-1}$；少なくとも約10^{5}

$M^{-1}s^{-1}$；または少なくとも約$10^{6}M^{-1}s^{-1}$の、少なくとも１つの標的への結合速度定数（K_{on}）を有する、請求項１または３に記載の結合タンパク質。
【請求項１２】
表面プラズモン共鳴によって測定された場合に、最大約$10^{-3}s^{-1}$；最大約$10^{-4}s^{-1}$；最大約$10^{-5}s^{-1}$；または最大約$10^{-6}s^{-1}$の、少なくとも１つの標的への解離速度定数（K_{off}）を有する、請求項１または３に記載の結合タンパク質。
【請求項１３】
表面プラズモン共鳴によって測定された場合に、少なくとも１つの標的に対して、最大約$10^{-7}M$；最大約$10^{-8}M$；最大約$10^{-9}M$；最大約$10^{-10}M$；最大約$10^{-11}M$；最大約$10^{-12}M$；または最大$10^{-13}M$の解離定数（K_{D}）を有する、請求項１または３に記載の結合タンパク質。
【請求項１４】
請求項１または３に記載の結合タンパク質を含み、免疫接着分子、造影剤、治療剤または細胞毒性剤をさらに含む、結合タンパク質複合体。
【請求項１５】
造影剤が、放射性標識、酵素、蛍光標識、発光標識、生物発光標識、磁気標識またはビオチンである、請求項１４に記載の結合タンパク質複合体。
【請求項１６】
放射性標識が、^{3}H、^{14}C、^{35}S、^{90}Y、^{99}Tc、^{111}In、^{125}I、^{131}I、^{177}Lu、^{166}Hoまたは^{153}Smである、請求項１５に記載の結合タンパク質複合体。
【請求項１７】
治療剤または細胞毒性剤が、代謝抑制剤、アルキル化剤、抗生物質、増殖因子、サイトカイン、抗血管新生剤、抗有糸分裂剤、アントラサイクリン、トキシンまたはアポトーシス剤である、請求項１４に記載の結合タンパク質複合体。
【請求項１８】
結晶化された結合タンパク質である、請求項１または３に記載の結合タンパク質。
【請求項１９】
削除
【請求項２０】
請求項１、３、６１または６２に記載の結合タンパク質アミノ酸配列をコードする単離された核酸。
【請求項２１】
請求項２０に記載の単離された核酸を含むベクター。
【請求項２２】
ｐｃＤＮＡ、ｐＴＴ、ｐＴＴ３、ｐＥＦＢＯＳ、ｐＢＶ、ｐＪＶ、ｐｃＤＮＡ３．１ ＴＯＰＯ、ｐＥＦ６　ＴＯＰＯ、ｐＢＪまたはｐＨｙｂＥである、請求項２１に記載のベクター。
【請求項２３】
請求項２１に記載のベクターを含む宿主細胞。
【請求項２４】
原核細胞である、請求項２３に記載の宿主細胞。
【請求項２５】
原核細胞がＥ．コリ（Ｅ．ｃｏｌｉ）である、請求項２４に記載の宿主細胞。
【請求項２６】
真核細胞である、請求項２３に記載の宿主細胞。
【請求項２７】
真核細胞が、原生生物細胞、動物細胞、植物細胞、哺乳動物細胞、鳥類細胞、昆虫細胞または酵母細胞である、請求項２６に記載の宿主細胞。
【請求項２８】

哺乳動物細胞がＣＨＯ細胞である、請求項２７に記載の宿主細胞。
【請求項２９】
哺乳動物細胞がＣＯＳ細胞である、請求項２７に記載の宿主細胞。
【請求項３０】
酵母細胞がＳ．セレビシアエ（Ｓ．　ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ）である、請求項２７に記載の宿主細胞。
【請求項３１】
結合タンパク質を産生するのに十分な条件下で、請求項２３から３０に記載の宿主細胞を培地中において培養することを含む、結合タンパク質を生産する方法。
【請求項３２】
削除
【請求項３３】
削除
【請求項３４】
削除
【請求項３５】
請求項３１に記載の方法に従って生産された結合タンパク質。
【請求項３６】
請求項１、３、６１または６２に記載の結合タンパク質および医薬として許容される担体を含む医薬組成物。
【請求項３７】
少なくとも１つの追加の治療剤をさらに含む、請求項３６に記載の医薬組成物。
【請求項３８】
追加の治療剤が、造影剤、細胞毒性剤、血管新生阻害剤；キナーゼ阻害剤；共刺激分子遮断剤；接着分子遮断剤；抗サイトカイン抗体またはその機能的断片；メトトレキサート；シクロスポリン；ラパマイシン；ＦＫ５０６；検出可能な標識またはレポーター；ＴＮＦアンタゴニスト；抗リウマチ薬；筋肉弛緩剤、麻酔薬、非ステロイド系抗炎症薬（ＮＳＡＩＤ）、鎮痛剤、麻酔剤、鎮静剤、局所麻酔剤、神経筋肉遮断剤、抗微生物剤、抗乾癬剤、コルチコステロイド、アナボリックステロイド、エリスロポエチン、免疫化剤、免疫グロブリン、免疫抑制剤、成長ホルモン、ホルモン置換薬、放射性医薬、抗うつ剤、抗精神病薬、刺激物質、喘息薬、βアゴニスト、吸入用ステロイド、エピネフリンまたは類似体、サイトカインまたはサイトカインアンタゴニストである、請求項３７に記載の医薬組成物。
【請求項３９】
治療が達成されるように対象に結合タンパク質を投与することによって疾患または障害について対象を治療するための医薬の製造における、請求項１、３、６１または６２に記載の結合タンパク質の使用。
【請求項４０】
疾患が、関節リウマチ、骨関節炎、若年性慢性関節炎、化膿性関節炎、ライム関節炎、乾癬性関節炎、反応性関節炎、脊椎関節症、全身性紅斑性狼瘡、クローン病、潰瘍性大腸炎、炎症性腸疾患、インシュリン依存性糖尿病、甲状腺炎、喘息、アレルギー性疾患、乾癬、皮膚炎、強皮症、移植片対宿主病、臓器移植拒絶、臓器移植に関連する急性または慢性免疫疾患、サルコイドーシス、アテローム性動脈硬化症、播種性血管内凝固、川崎病、バセドウ病、ネフローゼ症候群、慢性疲労症候群、ウェゲナー肉芽腫症、ヘノッホ・シェーライン紫斑症、腎臓の顕微鏡的血管炎、慢性活動性肝炎、ブドウ膜炎、敗血症性ショック、毒素性ショック症候群、敗血症症候群、悪液質、感染性疾患、寄生性疾患、後天性免疫不全症候群、急性横断性脊髄炎、ハンチントン舞踏病、パーキンソン病、アルツハイマー病、発作、原発性胆汁性肝硬変、溶血性貧血、悪性腫瘍、心不全、アジソン病、孤発性の、多内分泌腺機能低下症候群Ｉ型および多内分泌腺機能低下症候群ＩＩ型、シュミット症候群、成人（急性）呼吸促迫症候群、脱毛症、円形脱毛症、関節炎、ライター病、乾癬

性関節炎、潰瘍性大腸性関節炎、腸疾患性滑膜炎、クラミジア、エルシニアおよびサルモネラ関連関節炎、アテローム性疾患／アテローム性動脈硬化症、アトピー性アレルギー、自己免疫性水疱性疾患、尋常性天疱瘡、落葉状天疱瘡、類天疱瘡、線状ＩｇＡ病、自己免疫性溶血性貧血、クームス陽性溶血性貧血、後天性悪性貧血、若年性悪性貧血、筋痛性脳脊髄炎／ロイヤルフリー病、慢性粘膜皮膚カンジダ症、巨細胞性動脈炎、原発性硬化性肝炎、突発性自己免疫性肝炎、後天性免疫不全関連疾患、Ｂ型肝炎、Ｃ型肝炎、分類不能型免疫不全症（分類不能型原発性低γグロブリン血症）、拡張型心筋症、女性不妊症、卵巣機能不全、早期卵巣機能不全、繊維性肺疾患、突発性間質性肺炎、炎症後間質性肺疾患、間質性肺炎、結合組織疾患関連間質性肺疾患、混合性結合組織疾患関連肺疾患、全身性硬化症関連間質性肺疾患、関節リウマチ関連間質性肺疾患、全身性紅斑性狼瘡関連肺疾患、皮膚筋炎／多発性筋炎関連肺疾患、シェーグレン病関連肺疾患、強直性脊椎炎関連肺疾患、血管炎性びまん性肺疾患（ｖａｓｃｕｌｉｔｉｃ　ｄｉｆｆｕｓｅ　ｌｕｎｇ　ｄｉｓｅａｓｅ）、ヘモシデローシス関連肺疾患、薬物によって誘導された間質性肺疾患、繊維症、放射性繊維症、閉塞性細気管支炎、慢性好酸球性肺炎、リンパ球浸潤性肺疾患、感染後間質性肺疾患、通風関節炎、自己免疫性肝炎、１型自己免疫性肝炎（古典的自己免疫性またはルポイド肝炎）、２型自己免疫性肝炎（抗ＬＫＭ抗体肝炎）、自己免疫媒介性低血糖症、黒色表皮腫を伴うＢ型インシュリン抵抗性、副甲状腺機能低下症、臓器移植に関連する急性免疫疾患、臓器移植に関連する慢性免疫疾患、変形性関節症、原発性硬化性胆管炎、１型乾癬、２型乾癬、特発性白血球減少症、自己免疫性好中球減少症、腎臓病ＮＯＳ、糸球体腎炎、腎臓の顕微鏡的血管炎、ライム病、円板状紅斑性狼瘡、男性不妊症特発性またはＮＯＳ、精子自己免疫、多発性硬化症（すべてのサブタイプ）、交感性眼炎、結合組織疾患に続発する肺高血圧症、グッドパスチャー症候群、結節性多発動脈炎の肺症状、急性リウマチ熱、リウマチ性脊椎炎、スチル病、全身性硬化症、シェーグレン症候群、高安病／動脈炎、自己免疫性血小板減少症、特発性血小板減少症、自己免疫性甲状腺疾患、甲状腺機能亢進症、甲状腺腫自己免疫性甲状腺機能低下症（橋本病）、萎縮性自己免疫性甲状腺機能低下症、原発性粘液水腫（ｐｒｉｍａｒｙ　ｍｙｘｏｅｄｅｍａ）、水晶体起因性ブドウ膜炎、原発性血管炎、白斑急性肝疾患、慢性肝疾患、アルコール性肝硬変、アルコール誘発性肝障害、胆汁うっ滞（ｃｈｏｌｅｏｓａｔａｔｉｓ）、特異体質性肝疾患、薬物誘発性肝炎、非アルコール性脂肪性肝炎、アレルギーおよび喘息、Ｂ群連鎖球菌（ＧＢＳ）感染、精神障害、うつ病、統合失調症、Ｔｈ２型およびＴｈ１型によって媒介される疾病、急性および慢性疼痛、癌、肺癌、乳癌、胃癌、膀胱癌、大腸癌、膵臓癌、卵巣癌、前立腺癌、腎臓癌、造血性悪性病変、白血病、リンパ腫、無βリポタンパク質血症（ａｂｅｔａｌｉｐｏｐｒｏｔｅｍｉａ）、先端チアノーゼ、急性および慢性寄生性または感染性プロセス、急性白血病、急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）、急性または慢性細菌感染、急性膵炎、急性腎不全、腺癌、心房（ａｅｒｉａｌ）異所性拍動、ＡＩＤＳ認知症複合、アルコール誘発性肝炎、アレルギー性結膜炎、アレルギー性接触性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、同種移植拒絶、α－１－アンチトリプシン欠乏症、筋萎縮性側索硬化症、貧血、狭心症、前角細胞変性、抗ｃｄ３治療、抗リン脂質症候群、抗受容体過敏症反応（ａｎｔｉ－ｒｅｃｅｐｔｏｒ　ｈｙｐｅｒｓｅｎｓｉｔｉｖｉｔｙ　ｒｅａｃｔｉｏｎｓ）、大動脈（ａｏｒｄｉｃ）および動脈瘤、大動脈解離、動脈性高血圧、動脈硬化症、動静脈瘻、運動失調、心房細動（持続的または発作性）、心房粗動、房室ブロック、Ｂ細胞リンパ腫、骨移植拒絶、骨髄移植（ＢＭＴ）拒絶、脚ブロック、バーキットリンパ腫、火傷、心不整脈、心機能不全症候群（ｃａｒｄｉａｃ　ｓｔｕｎ　ｓｙｎｄｒｏｍｅ）、心臓腫瘍、心筋症、心肺バイパス炎症反応、軟骨移植拒絶、小脳皮質変性、小脳疾患、無秩序なまたは多巣性心房頻脈、化学療法関連疾患、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、慢性アルコール症、慢性炎症性病変、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）、慢性サリチル酸中毒、結腸直腸癌、うっ血性心不全、結膜炎、接触性皮膚炎、肺性心、冠動脈疾患、クロイツフェルトーヤコブ病、培養陰性敗血症、嚢胞性繊維症、サイトカイン療法関連疾患、ボクサー脳、脱髄性疾患、デング出血熱、皮膚炎、皮膚科学的症状、糖尿病、真性糖尿病、糖尿病性動脈硬化疾患、瀰漫性レビ

ー小体病、拡張型うっ血性心筋症、大脳基底核の疾患、中年のダウン症候群、中枢神経ドーパミン受容体を遮断する薬物によって誘発された薬物誘発性運動疾患、薬物感受性、湿疹、脳脊髄炎、心内膜炎、内分泌疾患、喉頭蓋炎、エプスタインーバーウイルス感染、紅痛症、垂体外路および小脳疾患、家族性血球貪食性リンパ組織球症（ｆａｍｉｌｉａｌ ｈｅｍａｔｏｐｈａｇｏｃｙｔｉｃ ｌｙｍｐｈｏｈｉｓｔｉｏｃｙｔｏｓｉｓ）、致死的胸腺移植組織拒絶、フリードライヒ失調症、機能的末梢動脈疾患、真菌性敗血症、ガス壊疽、胃潰瘍、糸球体腎炎、いずれかの臓器または組織の移植片拒絶、グラム陰性敗血症、グラム陽性敗血症、細胞内生物に起因する肉芽腫、有毛細胞白血病、ハラーホルデン・スパッツ病、橋本甲状腺炎、枯草熱、心臓移植拒絶、血色素症、血液透析、溶血性尿毒症症候群／血栓溶解血小板減少紫斑病、出血、Ａ型肝炎、ヒス束不整脈、ＨＩＶ感染／ＨＩＶ神経障害、ホジキン病、運動過剰疾患、過敏症反応（ｈｙｐｅｒｓｅｎｓｉｔｉｔｙ）、過敏性肺炎、高血圧、運動低下疾患、視床下部－下垂体－副腎皮質系評価、特発性アジソン病、特発性肺繊維症、抗体媒介性細胞毒性、無力症、乳児脊髄性筋萎縮症、大動脈の炎症、Ａ型インフルエンザ、電離放射線曝露、虹彩毛様体炎／ブドウ膜炎／視神経炎、虚血再灌流障害、虚血性発作、若年性関節リウマチ、若年性脊髄性筋萎縮症、カポジ肉腫、腎移植拒絶、レジオネラ、リーシュマニア症、ハンセン病、皮質脊髄系の病変、脂肪血症（ｌｉｐｅｄｅｍａ）、肝臓移植拒絶、リンパ浮腫（ｌｙｍｐｈｅｄｅｒｍａ）、マラリア、悪性リンパ腫（ｍａｌｉｇｎａｍｔ）、悪性組織球増殖症、悪性黒色腫、髄膜炎、髄膜炎菌血症（ｍｅｎｉｎｇｏｃｏｃｃｅｍｉａ）、代謝性／特発性、偏頭痛、ミトコンドリア多系疾患（ｍｉｔｏｃｈｏｎｄｒｉａｌ ｍｕｌｔｉ．ｓｙｓｔｅｍ ｄｉｓｏｒｄｅｒ）、混合性結合組織病、モノクローナル高ガンマグロブリン血症、多発性骨髄腫、多系統変性（メンセル・デジェリーヌートーマス・シャイードレーガーおよびマシャドージョセフ）、マイコバクテリウム・アビウム・イントラセルラーレ、マイコバクテリウム・チュバキュロシス、骨髄形成異常、心筋梗塞、真菌虚血疾患、上咽頭癌、新生児慢性肺疾患、腎炎、ネフローゼ、神経変性疾患、神経原性筋萎縮、好中球減少性発熱、非ホジキンリンパ腫、腹部大動脈およびその分枝の閉塞、閉塞性動脈疾患、ｏｋｔ３療法、精巣炎／精巣上体炎、精巣炎／精管復元術処置、臓器肥大、骨粗鬆症、膵臓移植拒絶、膵癌、腫瘍随伴性症候群／悪性腫瘍の高カルシウム血症、副甲状腺移植拒絶、骨盤内炎症性疾患、通年性鼻炎、心膜疾患、末梢アテローム硬化性（ａｔｈｅｒｏｓｃｌｅｒｏｔｉｃ）疾患、末梢血管疾患、腹膜炎、悪性貧血、ニューモシスチス・カリニ肺炎、肺炎、ＰＯＥＭＳ症候群（多発神経炎、臓器肥大、内分泌疾患、単クローン性γグロブリン血症および皮膚変化症候群（ｓｋｉｎ ｃｈａｎｇｅｓ ｓｙｎｄｒｏｍｅ））、灌流後症候群（ｐｏｓｔ ｐｅｒｆｕｓｉｏｎ ｓｙｎｄｒｏｍｅ）、ポンプ後症候群（ｐｏｓｔ ｐｕｍｐ ｓｙｎｄｒｏｍｅ）、心筋梗塞後開心術症候群、子癇前症、進行性核上性麻痺、原発性肺高血圧、放射線療法、レイノー現象および病、レイノー病、レフサム病、規則的なＱＲＳ幅の狭い頻脈症（ｒｅｇｕｌａｒ ｎａｒｒｏｗ ＱＲＳ ｔａｃｈｙｃａｒｄｉａ）、腎血管性高血圧、再灌流障害、拘束型心筋症、肉腫、強皮症、老年性舞踏病、レビー小体型の老年性認知症、血清反応陰性関節炎、ショック、鎌形赤血球貧血症、皮膚同種異系移植拒絶、皮膚変化症候群、小腸移植拒絶、固形腫瘍、固有不整脈（ｓｐｅｃｉｆｉｃ ａｒｒｙｔｈｍｉａｓ）、脊髄性運動失調、脊髄小脳変性、連鎖球菌性筋炎、小脳の構造的病変、亜急性硬化性全脳炎、湿疹、心血管系の梅毒、全身性アナフィラキシー、全身性炎症反応症候群、全身性発症若年性関節リウマチ、Ｔ細胞またはＦＡＢＡＬＬ、毛細血管拡張症、閉塞性血栓血管炎、血小板減少症、毒性、移植、外傷／出血、ＩＩＩ型過敏症反応、ＩＶ型過敏症、不安定狭心症、尿毒症、尿路性敗血症、心臓弁膜症、静脈瘤、血管炎、静脈疾患、静脈血栓症、心室細動、ウイルスおよび真菌感染、ウイルス性脳炎（ｖｉｔａｌ ｅｎｃｅｐｈａｌｉｔｉｓ）／無菌性髄膜炎、ウイルス関連血球貪食症候群、ウェルニッケーコルサコフ症候群、ウィルソン病、いずれかの臓器または組織の異種移植拒絶、急性冠症候群、急性特発性多発性神経炎、急性炎症性脱髄性多発神経根神経障害、急性虚血、成人スチル病、アナフィラキシー、抗リン脂質抗体症候群、再生不良性貧血、アトピー性湿疹、アトピー性皮膚炎、自己免疫性皮膚炎、連鎖球菌感染に伴う自己免疫異常、自

己免疫性腸症、自己免疫性難聴、自己免疫性リンパ増殖症候群（ＡＬＰＳ）、自己免疫性心筋炎、自己免疫性早期卵巣不全、眼瞼炎、気管支拡張症、水疱性類天疱瘡、心血管疾患、劇症型抗リン脂質症候群、セリアック病、頚部脊椎症、慢性虚血、瘢痕性類天疱瘡、多発性硬化症のリスクを有する臨床的孤発症候群（ｃｉｓ）、小児発症精神障害、涙嚢炎、皮膚筋炎、糖尿病性網膜症、椎間板ヘルニア、椎間板脱出、薬物誘発免疫性溶血性貧血、子宮内膜症、眼内炎、上強膜炎、多形性紅斑、重症型多形性紅斑、妊娠性類天疱瘡、ギラン・バレー症候群（ＧＢＳ）、ヒューズ症候群、特発性パーキンソン病、特発性間質性肺炎、ＩｇＥ媒介性アレルギー、免疫性溶血性貧血、封入体筋炎、感染性眼炎症疾患、炎症性脱髄疾患、炎症性心疾患、炎症性腎疾患、ＩＰＦ／ＵＩＰ、虹彩炎、角膜炎、乾性角結膜炎（ｋｅｒａｔｏｊｕｎｔｉｖｉｔｉｓ）、クスマウル病またはクスマウル－マイヤー病、ランドリー麻痺、ランゲルハンス細胞性組織球症、網状皮斑、黄斑変性、顕微鏡的多発性血管炎、モルブス・ベヒテレフ（ｍｏｒｂｕｓ　ｂｅｃｈｔｅｒｅｖ）、運動ニューロン疾患、粘膜性類天疱瘡、多臓器不全、重症筋無力症、骨髄異形成症候群、心筋炎、神経根障害、神経障害、非Ａ非Ｂ型肝炎、視神経炎、骨溶解、小関節性ＪＲＡ、末梢動脈閉塞疾患（ＰＡＯＤ）、末梢血管疾患（ＰＶＤ）、末梢動脈疾患（ＰＡＤ）、静脈炎、結節性多発性動脈炎（または結節性動脈周囲炎）、多発性軟骨炎、白毛症、多関節性ＪＲＡ、多内分泌欠損症候群、多発性筋炎、リウマチ性多発性筋痛（ＰＭＲ）、原発性パーキンソニズム、前立腺炎、赤芽球癆、原発性副腎不全、再発性視神経脊髄炎、再狭窄、リウマチ性心疾患、ｓａｐｈｏ（滑膜炎、アクネ、膿疱症、骨過形成および骨髄炎）、続発性アミロイドーシス、ショック肺、強膜炎、坐骨神経痛、二次性副腎不全、シリコーン関連結合組織病、スネドン－ウィルキンソン皮膚症、強直性脊椎炎、スティーブンス・ジョンソン症候群（ＳＪＳ）、側頭動脈炎、トキソプラスマ性網膜炎、中毒性表皮剥離症、横断性脊髄炎、ＴＲＡＰＳ（腫瘍壊死因子受容体）、１型アレルギー反応、ＩＩ型糖尿病、じんましん、通常型間質性肺炎（ＵＩＰ）、脈管炎、春季結膜炎、ウイルス性網膜炎、フォークト・小柳・原田症候群（ＶＫＨ症候群）、滲出型黄斑変性または創傷治癒である、請求項３９に記載の使用。

【請求項４１】

対象への投与が、皮下、筋肉内、静脈内、関節内、気管支内、腹腔内、嚢内、軟骨内、腔内（ｉｎｔｒａｃａｖｉｔｙ）、腔内（ｉｎｔｒａｃｅｌｉａｌ）、小脳内、脳室内、結腸内、頸管内、胃内、肝臓内、心筋内、骨内、骨盤内、心膜内、腹腔内、胸膜内、前立腺内、肺内、結腸内、腎臓内、網膜内、脊髄内、滑膜内、胸腔内、子宮内、膀胱内、ボーラス、膣、直腸、口内、舌下、鼻内または経皮である、請求項４０に記載の使用。

【請求項４２】

少なくとも１つの標的に結合することが可能な結合タンパク質を生成する方法であって、

ａ）第一の親抗体またはその結合部分を得るステップ、

ｂ）第二の親抗体またはその結合部分を得るステップ、

ｃ）請求項１、３、６１または６２に記載のポリペプチド鎖を構築するステップ、および

ｄ）少なくとも１つの標的を結合することが可能な結合タンパク質が生成されるように、ポリペプチド鎖を発現させるステップ

を含む、方法。

【請求項４３】

ＶＤ１および／もしくはＶＤ２重鎖可変ドメインが、それぞれ、配列番号２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、４４もしくは４６からの３つのＣＤＲを含み、ならびに／またはＶＤ１および／もしくはＶＤ２軽鎖可変ドメインが、それぞれ、配列番号２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、４３、４５または４７からの３つのＣＤＲを含む、請求項４２に記載の方法。

【請求項４４】

ＶＤ１およびＶＤ２重鎖可変ドメインが、それぞれ、配列番号２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、４４または４６からの３つのＣＤＲを含み、ならびにＶＤ１

およびＶＤ２軽鎖可変ドメインが、それぞれ、配列番号２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、４３、４５または４７からの３つのＣＤＲを含む、請求項４３に記載の方法。

【請求項４５】

ＶＤ１および／もしくはＶＤ２重鎖可変ドメインが、それぞれ、配列番号２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、４４もしくは４６を含み、ならびに／またはＶＤ１および／もしくはＶＤ２軽鎖可変ドメインは、それぞれ、配列番号２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、４３、４５もしくは４７を含む、請求項４３に記載の方法。

【請求項４６】

イムノアッセイによって試験試料中の少なくとも１つの標的またはその断片の存在を決定するための方法であって、イムノアッセイは、試験試料を少なくとも１つの結合タンパク質および少なくとも１つの検出可能な標識と接触させるステップを含み、
少なくとも１つの結合タンパク質は、請求項１、３、６１または６２に記載の結合タンパク質を含む、方法。

【請求項４７】

（ｉ）第一の複合体を形成するために、試験試料を、標的またはその断片上のエピトープに結合する少なくとも１つの結合タンパク質と接触させるステップ、
（ｉｉ）第二の複合体を形成するために、前記第一の複合体を、結合タンパク質または、結合タンパク質に結合しない標的もしくはその断片上のエピトープに結合する少なくとも１つの検出可能な標識と接触させるステップ、および
（ｉｉｉ）第二の複合体における検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて、試験試料中の標的またはその断片の存在を検出するステップであって、標的またはその断片の存在が、検出可能な標識によって発生したシグナルに直接的に相関するステップ
をさらに含む、請求項４６に記載の方法。

【請求項４８】

（ｉ）第一の複合体を形成するために、試験試料を、標的またはその断片上のエピトープに結合する少なくとも１つの結合タンパク質と接触させるステップ、
（ｉｉ）第二の複合体を形成するために、前記第一の複合体を、結合タンパク質への結合について標的またはその断片と競合する少なくとも１つの検出可能な標識と接触させるステップ、および
（ｉｉｉ）第二の複合体における検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて、試験試料中の標的またはその断片の存在を検出するステップであって、標的またはその断片の存在が、検出可能な標識によって発生したシグナルに間接的に相関するステップ
をさらに含む、請求項４６に記載の方法。

【請求項４９】

請求項４６から４８に記載の方法であって、試験試料が患者由来であり、方法が、患者の治療的／予防的処置の効力を診断、予後診断または評価することをさらに含み、ならびに
方法が、患者の治療的／予防的処置の効力を評価することをさらに含む場合、効力を改善するために必要な、患者の治療的／予防的処置を改変することを場合によってさらに含む、方法。

【請求項５０】

自動化システムまたは半自動化システムにおける使用に適合される、請求項４６から４８に記載の方法。

【請求項５１】

試料中の１を超える標的の存在を決定する、請求項４６から４８に記載の方法。

【請求項５２】

イムノアッセイによって試験試料中の標的またはその断片の量または濃度を決定する方法であって、イムノアッセイは、（ａ）少なくとも１つの結合タンパク質および少なくとも１つの検出可能な標識を用い、ならびに（ｂ）検出可能な標識によって発生したシグナ

ルを標的もしくはその断片を含む対照または較正物質と比較するステップを含み、
較正物質は、場合によって一連の較正物質の一部であり、較正物質の各々は、他の一連の較正物質と標的またはその断片の濃度が異なり、
少なくとも１つの結合タンパク質は、請求項１、３、６１または６２に記載の結合タンパク質を含む、方法。
【請求項５３】
（ｉ）第一の複合体を形成するために、試験試料を、標的またはその断片上のエピトープに結合する少なくとも１つの結合タンパク質と接触させるステップ、
（ｉｉ）第二の複合体を形成するために、前記第一の複合体を、結合タンパク質に結合しない標的またはその断片上のエピトープに結合する少なくとも１つの検出可能な標識と接触させるステップ、および
（ｉｉｉ）第二の複合体における検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて、試験試料中の標的またはその断片の量または濃度を決定するステップであって、標的またはその断片の量または濃度が、検出可能な標識によって発生したシグナルに直接的に比例するステップをさらに含む、請求項５２に記載の方法。
【請求項５４】
（ｉ）第一の複合体を形成するために、試験試料を、標的またはその断片上のエピトープに結合する少なくとも１つの結合タンパク質と接触させるステップ、
（ｉｉ）第二の複合体を形成するために、前記第一の複合体を、結合タンパク質への結合について標的またはその断片と競合する少なくとも１つの検出可能な標識と接触させるステップ、および
（ｉｉｉ）第二の複合体における検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて、試験試料中の標的またはその断片の量および濃度を決定するステップであって、標的またはその断片の存在が、検出可能な標識によって発生したシグナルと間接的に比例するステップをさらに含む、請求項５２に記載の方法。
【請求項５５】
請求項５２から５４に記載の方法であって、試験試料が患者由来であり、方法が、患者の治療的／予防的処置の効力を診断、予後診断または評価することをさらに含み、ならびに
方法が、患者の治療的／予防的処置の効力を評価することをさらに含む場合、効力を改善するために必要な、患者の治療的／予防的処置を改変することを場合によってさらに含む、方法。
【請求項５６】
自動化システムまたは半自動化システムにおける使用に適合される、請求項５２から５４に記載の方法。
【請求項５７】
試料中の１を超える標的の量または濃度を決定する、請求項５２から５４に記載の方法。
【請求項５８】
（ａ）標的またはその断片について試験試料をアッセイするための説明書、および
（ｂ）請求項１または３に記載の結合タンパク質を含む少なくとも１つの結合タンパク質を含む、標的またはその断片の存在、量または濃度について試験試料をアッセイするためのキット。
【請求項５９】
第一および第二の軽鎖可変ドメイン間の（Ｘ１）ｎがＣＬではない、請求項１、３、６１または６２に記載の結合タンパク質。
【請求項６０】
第一および第二の軽鎖可変ドメイン間の（Ｘ１）ｎがＣＬではない、請求項４２に記載の方法。
【請求項６１】

少なくとも１つの標的に結合することが可能な結合タンパク質であって、
２つのポリペプチド鎖を含み、第一のポリペプチド鎖は、ＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎを含み、ここで
ＶＤ１は第一の重鎖可変ドメインであり、
ＶＤ２は第二の重鎖可変ドメインであり、
Ｃは重鎖定常ドメインであり、
Ｘ１は第一のＣＨ１ではないことを条件とするリンカーであり、
Ｘ２はＦｃ領域であり、ｎは０または１であり、ならびに
第二のポリペプチド鎖は、ＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎを含み、ここで
ＶＤ１は第一の軽鎖可変ドメインであり、
ＶＤ２は第二の軽鎖可変ドメインであり、
Ｃは軽鎖定常ドメインであり、
Ｘ１は第二のＣＨ１ではないことを条件とするリンカーであり、
Ｘ２はＦｃ領域を含まず、
ｎは０または１であり、
（ａ）第一および第二の重鎖可変ドメイン間のＸ１はＡＳＴＫＧＰ（配列番号２１）であり、ならびに第一および第二の軽鎖可変ドメイン間のＸ１はＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰ（配列番号１４）であり、
（ｂ）第一および第二の重鎖可変ドメイン間のＸ１はＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰ（配列番号２２）であり、ならびに第一および第二の軽鎖可変ドメイン間のＸ１はＴＶＡＡＰ（配列番号１３）であり、または
（ｃ）第一および第二の重鎖可変ドメイン間のＸ１はＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰ（配列番号２２）であり、ならびに第一および第二の軽鎖可変ドメイン間のＸ１はＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰ（配列番号１４）であり、ならびに
結合タンパク質はＴＮＦおよびＮＧＦ、ＴＮＦおよびＳＯＳＴ、ＴＮＦおよびＰＧＥ２またはＴＮＦおよびＬＰＡに結合し、ならびに
さらに、結合タンパク質は
（ａ）ＴＮＦに結合し、および表面プラズモン共鳴によって測定された場合に、少なくとも１つの標的に対して最大約１．６０×１０$^{-4}$ｓ$^{-1}$の解離速度定数（K_{off}）を有し、および／もしくは最大約１．００×１０$^{-10}$Ｍの解離定数（K_D）を有し、
（ｂ）ＮＧＦに結合し、および表面プラズモン共鳴によって測定された場合に、少なくとも１つの標的に対して最大約９．３０×１０$^{-6}$ｓ$^{-1}$の解離速度定数（K_{off}）を有し、および／もしくは最大１．００×１０$^{-11}$Ｍの解離定数（K_D）を有し、ならびに／または
（ｃ）ＳＯＳＴに結合し、および表面プラズモン共鳴によって測定された場合に、少なくとも１つの標的に対して最大約９．５０×１０$^{-4}$ｓ$^{-1}$の解離速度定数（K_{off}）を有し、および／もしくは最大約２．２０×１０$^{-8}$Ｍの解離定数（K_D）を有する
結合タンパク質。
【請求項６２】
少なくとも１つの標的に結合することが可能な結合タンパク質であって、
４つのポリペプチド鎖を含み、２つのポリペプチド鎖は、ＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎを含み、ここで
ＶＤ１は第一の重鎖可変ドメインであり、
ＶＤ２は第二の重鎖可変ドメインであり、
Ｃは重鎖定常ドメインであり、
Ｘ１は第一のＣＨ１ではないことを条件とするリンカーであり、
Ｘ２はＦｃ領域であり、
ｎは０または１であり、
２つのポリペプチド鎖は、ＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎを含み、ここ

で
ＶＤ１は第一の軽鎖可変ドメインであり、
ＶＤ２は第二の軽鎖可変ドメインであり、
Ｃは軽鎖定常ドメインであり、
Ｘ１は第二のＣＨ１ではないことを条件とするリンカーであり、
Ｘ２はＦｃ領域を含まず、
ｎは０または１であり、ならびに
（ａ）第一および第二の重鎖可変ドメイン間のＸ１はＡＳＴＫＧＰ（配列番号２１）であり、第一および第二の軽鎖可変ドメイン間のＸ１はＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰ（配列番号１４）であり、
（ｂ）第一および第二の重鎖可変ドメイン間のＸ１はＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰ（配列番号２２）であり、第一および第二の軽鎖可変ドメイン間のＸ１はＴＶＡＡＰ（配列番号１３）であり、または
（ｃ）第一および第二の重鎖可変ドメイン間のＸ１はＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰ（配列番号２２）であり、第一および第二の軽鎖可変ドメイン間のＸ１はＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰ（配列番号１４）であり、
結合タンパク質はＴＮＦおよびＮＧＦ、ＴＮＦおよびＳＯＳＴ、ＴＮＦおよびＰＧＥ２またはＴＮＦおよびＬＰＡに結合し、ならびに
さらに、結合タンパク質は
（ａ）ＴＮＦに結合し、および表面プラズモン共鳴によって測定された場合に、少なくとも１つの標的に対して最大約１．６０×１０$^{-4}$ｓ$^{-1}$の解離速度定数（K_{off}）を有し、および／もしくは最大約１．００×１０$^{-10}$Ｍの解離定数（K_D）を有し、
（ｂ）ＮＧＦに結合し、および表面プラズモン共鳴によって測定された場合に、少なくとも１つの標的に対して最大約９．３０×１０$^{-6}$ｓ$^{-1}$の解離速度定数（K_{off}）を有し、および／もしくは１．００×１０$^{-11}$Ｍ未満の解離定数（K_D）を有し、ならびに／または
（ｃ）ＳＯＳＴに結合し、および表面プラズモン共鳴によって測定された場合に、少なくとも１つの標的に対して最大約９．５０×１０$^{-4}$ｓ$^{-1}$の解離速度定数（K_{off}）を有し、および／もしくは最大約２．２０×１０$^{-8}$Ｍの解離定数（K_D）を有する
結合タンパク質。
【請求項６３】
ＶＤ１および／もしくはＶＤ２重鎖可変ドメインが、存在する場合、それぞれ、配列番号２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、４４もしくは４６からの３つのＣＤＲを含み、ならびに／またはＶＤ１および／もしくはＶＤ２軽鎖可変ドメインが、存在する場合、それぞれ、配列番号２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、４３、４５もしくは４７からの３つのＣＤＲを含む、請求項６１または６２に記載の結合タンパク質。
【請求項６４】
ＶＤ１およびＶＤ２重鎖可変ドメインが、存在する場合、それぞれ、配列番号２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、４４または４６からの３つのＣＤＲを含み、ならびにＶＤ１およびＶＤ２軽鎖可変ドメインが、存在する場合、それぞれ、配列番号２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、４３、４５または４７からの３つのＣＤＲを含む、請求項６１または６２に記載の結合タンパク質。
【請求項６５】
ＶＤ１および／もしくはＶＤ２重鎖可変ドメインが、存在する場合、それぞれ、配列番号２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、４４もしくは４６を含み、ならびに／またはＶＤ１および／もしくはＶＤ２軽鎖可変ドメインが、存在する場合、それぞれ、配列番号２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、４３、４５もしくは４７を含む、請求項１、３、６１または６２に記載の結合タンパク質。
【請求項６６】

ＶＤ１およびＶＤ２重鎖可変ドメインが、存在する場合、それぞれ、配列番号２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、４４または４６を含み、ならびにＶＤ１およびＶＤ２軽鎖可変ドメインが、存在する場合、それぞれ、配列番号２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、４３、４５または４７を含む、請求項１、３、６１または６２に記載の結合タンパク質。

【請求項６７】

ＴＮＦおよびＮＧＦに結合し、ＴＮＦに結合する重鎖可変ドメインが、それぞれ、配列番号２８、３６、３８、４０、４４もしくは４６からの３つのＣＤＲを含み、ならびにＴＮＦに結合する軽鎖可変ドメインが、それぞれ、配列番号２９、３７、３９、４１、４５もしくは４７からの３つのＣＤＲを含み、および／またはＮＧＦに結合する重鎖可変ドメインが、配列番号３０からの３つのＣＤＲを含み、ならびにＮＧＦに結合する軽鎖可変ドメインが、配列番号３１からの３つのＣＤＲを含み、

ＴＮＦおよびＳＯＳＴに結合し、ＴＮＦに結合する重鎖可変ドメインが、それぞれ、配列番号２８、３６、３８、４０、４４もしくは４６からの３つのＣＤＲを含み、ならびにＴＮＦに結合する軽鎖可変ドメインが、それぞれ、配列番号２９、３７、３９、４１、４５もしくは４７からの３つのＣＤＲを含み、および／またはＳＯＳＴに結合する重鎖可変ドメインが、配列番号３２からの３つのＣＤＲを含み、ＳＯＳＴに結合する軽鎖可変ドメインが、配列番号３３からの３つのＣＤＲを含み、

ＴＮＦおよびＰＧＥ２に結合し、ＴＮＦに結合する重鎖可変ドメインが、それぞれ、配列番号２８、３６、３８、４０、４４もしくは４６からの３つのＣＤＲを含み、ならびにＴＮＦに結合する軽鎖可変ドメインが、それぞれ、配列番号２９、３７、３９、４１、４５もしくは４７からの３つのＣＤＲを含み、および／またはＰＧＥ２に結合する重鎖可変ドメインが、配列番号３４からの３つのＣＤＲを含み、ＰＧＥ２に結合する軽鎖可変ドメインが、配列番号３５からの３つのＣＤＲを含み、または

ＴＮＦおよびＬＰＡに結合し、ＴＮＦに結合する重鎖可変ドメインが、それぞれ、配列番号２８、３６、３８、４０、４４もしくは４６からの３つのＣＤＲを含み、ならびにＴＮＦに結合する軽鎖可変ドメインが、それぞれ、配列番号２９、３７、３９、４１、４５もしくは４７からの３つのＣＤＲを含み、および／またはＬＰＡに結合する重鎖可変ドメインが、配列番号４２からの３つのＣＤＲを含み、ＬＰＡに結合する軽鎖可変ドメインが、配列番号４３からの３つのＣＤＲを含む、

請求項１、３、６１または６２に記載の結合タンパク質。

【請求項６８】

ＤＶＤ１４４７（配列番号９２および９３を含む）；ＤＶＤ１４４８（配列番号９４および９５を含む）；

ＤＶＤ１４４９（配列番号９６および９７を含む）；ＤＶＤ１４５０（配列番号９８および９９を含む）；

ＤＶＤ１４５１（配列番号１００および１０１を含む）；ＤＶＤ１４５２（配列番号１０２および１０３を含む）；

ＤＶＤ１４５３（配列番号７２および７３を含む）；ＤＶＤ１４５４（配列番号７４および７５を含む）；

ＤＶＤ１４５５（配列番号７６および７７を含む）；ＤＶＤ１４５６（配列番号７８および７９を含む）；

ＤＶＤ１４５７（配列番号８０および８１を含む）；ＤＶＤ１４５８（配列番号８２および８３を含む）；

ＤＶＤ１４５９（配列番号５２および５３を含む）；ＤＶＤ１４６０（配列番号５４および５５を含む）；

ＤＶＤ１４６１（配列番号５６および５７を含む）；ＤＶＤ１４６２（配列番号５８および５９を含む）；

ＤＶＤ１４６３（配列番号６０および６１を含む）；ＤＶＤ１４６４（配列番号６２および６３を含む）；

ＤＶＤ１４６５（配列番号１１２および１１３を含む）；ＤＶＤ１４６６（配列番号１１４および１１５を含む）；
ＤＶＤ１４６７（配列番号１１６および１１７を含む）；ＤＶＤ１４６８（配列番号１１８および１１９を含む）；
ＤＶＤ１４６９（配列番号１２０および１２１を含む）；ＤＶＤ１４７０（配列番号１２２および１２３を含む）；
ＤＶＤ１４７１（配列番号１２４および１２５を含む）；ＤＶＤ１４７２（配列番号１２６および１２７を含む）；
ＤＶＤ１４７３（配列番号１０４および１０５を含む）；ＤＶＤ１４７４（配列番号１０６および１０７を含む）；
ＤＶＤ１４７５（配列番号８４および８５を含む）；ＤＶＤ１４７６（配列番号８６および８７を含む）；
ＤＶＤ１４７７（配列番号６４および６５を含む）；ＤＶＤ１４７８（配列番号６６および６７を含む）；
ＤＶＤ１４７９（配列番号１２８および１２９を含む）；ＤＶＤ１４８０（配列番号１３０および１３１を含む）；
ＤＶＤ１４８１（配列番号１０８および１０９を含む）；ＤＶＤ１４８２（配列番号１１０および１１１を含む）；
ＤＶＤ１４８３（配列番号８８および８９を含む）；ＤＶＤ１４８４（配列番号９０および９１を含む）；
ＤＶＤ１４８５（配列番号６８および６９を含む）；ＤＶＤ１４８６（配列番号７０および７１を含む）；
ＤＶＤ１４８７（配列番号１３２および１３３を含む）；ＤＶＤ１４８８（配列番号１３４および１３５を含む）；
ＤＶＤ１４８９（配列番号１７６および１７７を含む）；ＤＶＤ１４９０（配列番号１７８および１７９を含む）；
ＤＶＤ１４９１（配列番号１８０および１８１を含む）；ＤＶＤ１４９２（配列番号１８２および１８３を含む）；
ＤＶＤ１４９３（配列番号１８４および１８５を含む）；ＤＶＤ１４９４（配列番号１８６および１８７を含む）；
ＤＶＤ１４９５（配列番号１５６および１５７を含む）；ＤＶＤ１４９６（配列番号１５８および１５９を含む）；
ＤＶＤ１４９７（配列番号１６０および１６１を含む）；ＤＶＤ１４９８（配列番号１６２および１６３を含む）；
ＤＶＤ１４９９（配列番号１６４および１６５を含む）；ＤＶＤ１５００（配列番号１６６および１６７を含む）；
ＤＶＤ１５０１（配列番号１３６および１３７を含む）；ＤＶＤ１５０２（配列番号１３８および１３９を含む）；
ＤＶＤ１５０３（配列番号１４０および１４１を含む）；ＤＶＤ１５０４（配列番号１４２および１４３を含む）；
ＤＶＤ１５０５（配列番号１４４および１４５を含む）；ＤＶＤ１５０６（配列番号１４６および１４７を含む）；
ＤＶＤ１５０７（配列番号１９６および１９７を含む）；ＤＶＤ１５０８（配列番号１９８および１９９を含む）；
ＤＶＤ１５０９（配列番号２００および２０１を含む）；ＤＶＤ１５１０（配列番号２０２および２０３を含む）；
ＤＶＤ１５１１（配列番号２０４および２０５を含む）；ＤＶＤ１５１２（配列番号２０６および２０７を含む）；
ＤＶＤ１５１３（配列番号２０８および２０９を含む）；ＤＶＤ１５１４（配列番号２１０および２１１を含む）；

ＤＶＤ１５１５（配列番号１８８および１８９を含む）；ＤＶＤ１５１６（配列番号１９０および１９１を含む）；
ＤＶＤ１５１７（配列番号１６８および１６９を含む）；ＤＶＤ１５１８（配列番号１７０および１７１を含む）；
ＤＶＤ１５１９（配列番号１４８および１４９を含む）；ＤＶＤ１５２０（配列番号１５０および１５１を含む）；
ＤＶＤ１５２１（配列番号２１２および２１３を含む）；ＤＶＤ１５２２（配列番号２１４および２１５を含む）；
ＤＶＤ１５２３（配列番号１９２および１９３を含む）；ＤＶＤ１５２４（配列番号１９４および１９５を含む）；
ＤＶＤ１５２５（配列番号１７２および１７３を含む）；ＤＶＤ１５２６（配列番号１７４および１７５を含む）；
ＤＶＤ１５２７（配列番号１５２および１５３を含む）；ＤＶＤ１５２８（配列番号１５４および１５５を含む）；
ＤＶＤ１５２９（配列番号２１６および２１７を含む）；ＤＶＤ１５３０（配列番号２１８および２１９を含む）；
ＤＶＤ１５３１（配列番号２６０および２６１を含む）；ＤＶＤ１５３２（配列番号２６２および２６３を含む）；
ＤＶＤ１５３３（配列番号２６４および２６５を含む）；ＤＶＤ１５３４（配列番号２６６および２６７を含む）；
ＤＶＤ１５３５（配列番号２６８および２６９を含む）；ＤＶＤ１５３６（配列番号２７０および２７１を含む）；
ＤＶＤ１５３７（配列番号２４０および２４１を含む）；ＤＶＤ１５３８（配列番号２４２および２４３を含む）；
ＤＶＤ１５３９（配列番号２４４および２４５を含む）；ＤＶＤ１５４０（配列番号２４６および２４７を含む）；
ＤＶＤ１５４１（配列番号２４８および２４９を含む）；ＤＶＤ１５４２（配列番号２５０および２５１を含む）；
ＤＶＤ１５４３（配列番号２２０および２２１を含む）；ＤＶＤ１５４４（配列番号２２２および２２３を含む）；
ＤＶＤ１５４５（配列番号２２４および２２５を含む）；ＤＶＤ１５４６（配列番号２２６および２２７を含む）；
ＤＶＤ１５４７（配列番号２２８および２２９を含む）；ＤＶＤ１５４８（配列番号２３０および２３１を含む）；
ＤＶＤ１５４９（配列番号２８０および２８１を含む）；ＤＶＤ１５５０（配列番号２８２および２８３を含む）；
ＤＶＤ１５５１（配列番号２８４および２８５を含む）；ＤＶＤ１５５２（配列番号２８６および２８７を含む）；
ＤＶＤ１５５３（配列番号２８８および２８９を含む）；ＤＶＤ１５５４（配列番号２９０および２９１を含む）；
ＤＶＤ１５５５（配列番号２９２および２９３を含む）；ＤＶＤ１５５６（配列番号２９４および２９５を含む）；
ＤＶＤ１５５７（配列番号２７２および２７３を含む）；ＤＶＤ１５５８（配列番号２７４および２７５を含む）；
ＤＶＤ１５５９（配列番号２５２および２５３を含む）；ＤＶＤ１５６０（配列番号２５４および２５５を含む）；
ＤＶＤ１５６１（配列番号２３２および２３３を含む）；ＤＶＤ１５６２（配列番号２３４および２３５を含む）；
ＤＶＤ１５６３（配列番号２９６および２９７を含む）；ＤＶＤ１５６４（配列番号２９８および２９９を含む）；

ＤＶＤ１５６５（配列番号２７６および２７７を含む）；ＤＶＤ１５６６（配列番号２７８および２７９を含む）；
ＤＶＤＩ５６７（配列番号２５６および２５７を含む）；ＤＶＤＩ５６８（配列番号２５８および２５９を含む）；
ＤＶＤ１５６９（配列番号２３６および２３７を含む）；ＤＶＤ１５７０（配列番号２３８および２３９を含む）；
ＤＶＤ１５７１（配列番号３００および３０１を含む）；またはＤＶＤ１５７２（配列番号３０２および３０３を含む）
である、請求項１、３、６、２４または７７から８０に記載の結合タンパク質。
【請求項６９】
ＨｕＴＮＦα中和アッセイで測定された場合に、最大２９．９２ｎＭでのＥＣ$_{50}$で、ＴＮＦを中和する、請求項１、３、６１または６２に記載の結合タンパク質。
【請求項７０】
ＮＧＦ阻害アッセイで測定された場合に、最大１．９４６ｎＭのＥＣ$_{50}$で、ＮＧＦを阻害する、請求項１、３、６１または６２に記載の結合タンパク質。
【請求項７１】
ＳＯＳＴ阻害アッセイで測定された場合、ＳＯＳＴを阻害する、請求項１、３、６１または６２に記載の結合タンパク質。
【手続補正書】
【提出日】平成25年4月23日(2013.4.23)
【手続補正１】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】全文
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
第一および第二のポリペプチド鎖を含む結合タンパク質であって、各々のポリペプチド鎖は独立に、ＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎを含み、ここで
ＶＤ１は第一の可変ドメインであり、
ＶＤ２は第二の可変ドメインであり、
Ｃは定常ドメインであり、
Ｘ１はＣＨ１ではないことを条件とするリンカーであり、
Ｘ２はＦｃ領域であり、
ｎは０または１であり、ならびに
（ａ）第一および第二の可変ドメイン間のＸ１はＡＳＴＫＧＰ（配列番号２１）またはＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰ（配列番号１４）であり、
（ｂ）第一および第二の可変ドメイン間のＸ１はＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰ（配列番号２２）またはＴＶＡＡＰ（配列番号１３）であり；または
（ｃ）第一および第二の可変ドメイン間のＸ１はＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰ（配列番号２２）またはＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰ（配列番号１４）であり、ならびに
第一および第二のポリペプチド鎖上のＶＤ１ドメインは、第一の機能的標的結合部位を形成し、ならびに第一および第二のポリペプチド鎖上のＶＤ２ドメインは、第二の機能的標的結合部位を形成し、ならびに
（ａ）結合タンパク質が腫瘍壊死因子（ＴＮＦ）および神経成長因子（ＮＧＦ）に結合することが可能であり、ここで
（ｉ）ＴＮＦの機能的標的結合部位を形成する可変ドメインは、
配列番号２８からの３つのＣＤＲおよび配列番号２９からの３つのＣＤＲ、
配列番号３６からの３つのＣＤＲおよび配列番号３７からの３つのＣＤＲ、
配列番号３８からの３つのＣＤＲおよび配列番号３９からの３つのＣＤＲ、

配列番号４０からの３つのＣＤＲおよび配列番号４１からの３つのＣＤＲ、
配列番号４４からの３つのＣＤＲおよび配列番号４５からの３つのＣＤＲ、もしくは
配列番号４６からの３つのＣＤＲおよび配列番号４７からの３つのＣＤＲ
を含み、および／または
（ｉｉ）ＮＧＦの機能的標的結合部位を形成する可変ドメインは、
配列番号３０からの３つのＣＤＲおよび配列番号３１からの３つのＣＤＲ
を含み、
（ｂ）結合タンパク質がＴＮＦおよびスクレロスチン（ＳＯＳＴ）に結合することが可能であり、ここで
（ｉ）ＴＮＦの機能的標的結合部位を形成する可変ドメインは、
配列番号２８からの３つのＣＤＲおよび配列番号２９からの３つのＣＤＲ、
配列番号３６からの３つのＣＤＲおよび配列番号３７からの３つのＣＤＲ、
配列番号３８からの３つのＣＤＲおよび配列番号３９からの３つのＣＤＲ、
配列番号４０からの３つのＣＤＲおよび配列番号４１からの３つのＣＤＲ、
配列番号４４からの３つのＣＤＲおよび配列番号４５からの３つのＣＤＲ、もしくは
配列番号４６からの３つのＣＤＲおよび配列番号４７からの３つのＣＤＲ
を含み、および／または
（ｉｉ）ＳＯＳＴの機能的標的結合部位を形成する可変ドメインは、
配列番号３２からの３つのＣＤＲおよび配列番号３３からの３つのＣＤＲ
を含み、
（ｃ）結合タンパク質がＴＮＦおよびプロスタグランジンＥ２（ＰＧＥ２）に結合することが可能であり、ここで
（ｉ）ＴＮＦの機能的標的結合部位を形成する可変ドメインは、
配列番号２８からの３つのＣＤＲおよび配列番号２９からの３つのＣＤＲ、
配列番号３６からの３つのＣＤＲおよび配列番号３７からの３つのＣＤＲ、
配列番号３８からの３つのＣＤＲおよび配列番号３９からの３つのＣＤＲ、
配列番号４０からの３つのＣＤＲおよび配列番号４１からの３つのＣＤＲ、
配列番号４４からの３つのＣＤＲおよび配列番号４５からの３つのＣＤＲ、もしくは
配列番号４６からの３つのＣＤＲおよび配列番号４７からの３つのＣＤＲ
を含み、および／または
（ｉｉ）ＰＧＥ２の機能的標的結合部位を形成する可変ドメインは、
配列番号３４からの３つのＣＤＲおよび配列番号３５からの３つのＣＤＲ
を含み、
または、
（ｄ）結合タンパク質がＴＮＦおよびリゾホスファチジン酸（ＬＰＡ）に結合することが可能であり、ここで
（ｉ）ＴＮＦの機能的標的結合部位を形成する可変ドメインは、
配列番号２８からの３つのＣＤＲおよび配列番号２９からの３つのＣＤＲ、
配列番号３６からの３つのＣＤＲおよび配列番号３７からの３つのＣＤＲ、
配列番号３８からの３つのＣＤＲおよび配列番号３９からの３つのＣＤＲ、
配列番号４０からの３つのＣＤＲおよび配列番号４１からの３つのＣＤＲ、
配列番号４４からの３つのＣＤＲおよび配列番号４５からの３つのＣＤＲ、もしくは
配列番号４６からの３つのＣＤＲおよび配列番号４７からの３つのＣＤＲ
を含み、および／または
（ｉｉ）ＬＰＡについて機能的標的結合部位を形成する可変ドメインは、
配列番号４２からの３つのＣＤＲおよび配列番号４３からの３つのＣＤＲ
を含む
結合タンパク質。
【請求項２】
第一および第二のポリペプチド鎖を含む結合タンパク質であって、各々のポリペプチド

鎖は独立に、ＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎを含み、ここで
ＶＤ１は第一の可変ドメインであり、
ＶＤ２は第二の可変ドメインであり、
Ｃは定常ドメインであり、
Ｘ１はＣＨ１ではないことを条件とするリンカーであり、
Ｘ２はＦｃ領域であり、
ｎは０または１であり、ならびに
（ａ）第一および第二の可変ドメイン間のＸ１はＡＳＴＫＧＰ（配列番号２１）またはＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰ（配列番号１４）であり、
（ｂ）第一および第二の可変ドメイン間のＸ１はＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰ（配列番号２２）またはＴＶＡＡＰ（配列番号１３）であり、または
（ｃ）第一および第二の可変ドメイン間のＸ１はＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰ（配列番号２２）またはＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰ（配列番号１４）であり、ならびに
第一および第二のポリペプチド鎖上のＶＤ１ドメインは、第一の機能的標的結合部位を形成し、ならびに第一および第二のポリペプチド鎖上のＶＤ２ドメインは、第二の機能的標的結合部位を形成し、ならびに
（ａ）結合タンパク質が腫瘍壊死因子（ＴＮＦ）および神経成長因子（ＮＧＦ）に結合することが可能であり、ここで
（ｉ）ＴＮＦの機能的標的結合部位を形成する可変ドメインは、配列番号２８、２９、３６－４１および４４－４７からなる群から選択される配列を含み、および／または
（ｉｉ）ＮＧＦの機能的標的結合部位を形成する可変ドメインは、配列番号３０および／または配列番号３１を含み、
（ｂ）結合タンパク質がＴＮＦおよびスクレロスチン（ＳＯＳＴ）に結合することが可能であり、ここで
（ｉ）ＴＮＦの機能的標的結合部位を形成する可変ドメインは、配列番号２８、２９、３６－４１および４４－４７からなる群から選択される配列を含み、および／または
（ｉｉ）ＳＯＳＴの機能的標的結合部位を形成する可変ドメインは、配列番号３２および／または配列番号３３を含み、
（ｃ）結合タンパク質がＴＮＦおよびプロスタグランジンＥ２（ＰＧＥ２）に結合することが可能であり、ここで
（ｉ）ＴＮＦの機能的標的結合部位を形成する可変ドメインは、配列番号２８、２９、３６－４１および４４－４７からなる群から選択される配列を含み、および／または
（ｉｉ）ＰＧＥ２の機能的標的結合部位を形成する可変ドメインは、配列番号３４および／または配列番号３５を含み、
または
（ｄ）結合タンパク質がＴＮＦおよびリゾホスファチジン酸（ＬＰＡ）に結合することが可能であり、ここで
（ｉ）ＴＮＦの機能的標的結合部位を形成する可変ドメインは、配列番号２８、２９、３６－４１および４４－４７からなる群から選択される配列を含み、および／または
（ｉｉ）ＬＰＡの機能的標的結合部位を形成する可変ドメインは、配列番号４２および／または配列番号４３を含む
結合タンパク質。
【請求項３】
第一のポリペプチド鎖は第一のＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎを含み、ここで
ＶＤ１は第一の重鎖可変ドメインであり、
ＶＤ２は第二の重鎖可変ドメインであり、
Ｃは重鎖定常ドメインであり、
Ｘ１はＣＨ１ではないことを条件とするリンカーであり、
Ｘ２はＦｃ領域であり、

ｎは０または１であり、ならびに
　第二のポリペプチド鎖は第二のＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎを含み、ここで
ＶＤ１は第一の軽鎖可変ドメインであり、
ＶＤ２は第二の軽鎖可変ドメインであり、
Ｃは軽鎖定常ドメインであり、
Ｘ１はＣＨ１ではないことを条件とするリンカーであり、
Ｘ２はＦｃ領域を含まず、
ｎは０または１であり、
第一および第二のポリペプチド鎖上のＶＤ１ドメインは、第一の機能的標的結合部位を形成し、ならびに第一および第二のポリペプチド鎖上のＶＤ２ドメインは、第二の機能的標的結合部位を形成する
請求項１または２に記載の結合タンパク質。
【請求項４】
　（ａ）結合タンパク質がＴＮＦおよびＮＧＦに結合することができ、ここで
（ｉ）ＴＮＦの機能的標的結合部位を形成する可変ドメインは、
　配列番号２８および配列番号２９；
　配列番号３６および配列番号３７；
　配列番号３８および配列番号３９；
　配列番号４０および配列番号４１；
　配列番号４４および配列番号４５；もしくは
　配列番号４６および配列番号４７
を含み、ならびに
（ｉｉ）ＮＧＦの機能的標的結合部位を形成する可変ドメインは、
　配列番号３０および配列番号３１
を含み、
（ｂ）結合タンパク質がＴＮＦおよびＳＯＳＴに結合することが可能であり、ここで
（ｉ）ＴＮＦの機能的標的結合部位を形成する可変ドメインは、
　配列番号２８および配列番号２９；
　配列番号３６および配列番号３７；
　配列番号３８および配列番号３９；
　配列番号４０および配列番号４１；
　配列番号４４および配列番号４５；もしくは
　配列番号４６および配列番号４７
を含み、ならびに
（ｉｉ）ＳＯＳＴの機能的標的結合部位を形成する可変ドメインは、
　配列番号３２および配列番号３３
を含み、
（ｃ）結合タンパク質がＴＮＦおよびＰＧＥ２に結合することが可能であり、ここで
（ｉ）ＴＮＦの機能的標的結合部位を形成する可変ドメインは、
　配列番号２８および配列番号２９；
　配列番号３６および配列番号３７；
　配列番号３８および配列番号３９；
　配列番号４０および配列番号４１；
　配列番号４４および配列番号４５；もしくは
　配列番号４６および配列番号４７
を含み、ならびに
（ｉｉ）ＰＧＥ２の機能的標的結合部位を形成する可変ドメインは、
　配列番号３４および配列番号３５
を含み、

または、
（ｄ）結合タンパク質がＴＮＦおよびＬＰＡに結合することが可能であり、ここで
（ｉ）ＴＮＦの機能的標的結合部位を形成する可変ドメインは、
配列番号２８および配列番号２９；
配列番号３６および配列番号３７；
配列番号３８および配列番号３９；
配列番号４０および配列番号４１；
配列番号４４および配列番号４５；もしくは
配列番号４６および配列番号４７
を含み、ならびに
（ｉｉ）ＬＰＡの機能的標的結合部位を形成する可変ドメインは、
配列番号４２および配列番号４３
を含む、
請求項１から３のいずれか一項に記載の結合タンパク質。
【請求項５】
２つの第一のポリペプチド鎖および２つの第二のポリペプチド鎖を含み、４つの機能的結合部位を形成する、請求項１から４のいずれか一項に記載の結合タンパク質。
【請求項６】
（ａ）結合タンパク質がＴＮＦおよびＮＧＦに結合することが可能であり、ならびに表面プラズモン共鳴によって測定された場合に、最大約３．００×１０$^{-10}$Ｍの解離定数（K_D）でＴＮＦに結合することが可能であり、および／もしくは表面プラズモン共鳴によって測定された場合に、最大約３．４０×１０$^{-12}$Ｍの解離定数（K_D）でＮＧＦに結合することが可能であり、
（ｂ）結合タンパク質がＴＮＦおよびＳＯＳＴに結合することが可能であり、ならびに表面プラズモン共鳴によって測定された場合に、最大約２．１０×１０$^{-10}$Ｍの解離定数（K_D）でＴＮＦに結合することが可能であり、および／もしくは表面プラズモン共鳴によって測定された場合に、最大約２．２０×１０$^{-8}$Ｍの解離定数（K_D）でＳＯＳＴに結合することが可能であり、
（ｃ）結合タンパク質がＴＮＦおよびＰＧＥ２に結合することが可能であり、ならびに表面プラズモン共鳴によって測定された場合に、最大約９．２０×１０$^{-11}$Ｍの解離定数（K_D）でＴＮＦに結合することが可能であり、または
（ｄ）結合タンパク質がＴＮＦおよびＬＰＡに結合することが可能であり、ならびに表面プラズモン共鳴によって測定された場合に、最大約５．５×１０$^{-10}$Ｍの解離定数（K_D）でＴＮＦに結合することが可能である、
請求項１から５のいずれか一項に記載の結合タンパク質。
【請求項７】
（ａ）Ｘ１が、配列番号１から２７のいずれか１つであり、
（ｂ）Ｘ１が、ＣＬではなく、
（ｃ）（Ｘ１）ｎが、（Ｘ１）０であり、および／または（Ｘ２）ｎが、（Ｘ２）０であり、
（ｄ）Ｆｃ領域が可変配列Ｆｃ領域であり、
（ｅ）Ｆｃ領域が、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ、ＩｇＭ、ＩｇＥまたはＩｇＤから得られるＦｃ領域であり、および／または
（ｆ）結合タンパク質が、結晶化された結合タンパク質である
請求項１から６のいずれか一項に記載の結合タンパク質。
【請求項８】
請求項１から７のいずれか一項に記載の結合タンパク質を含む結合タンパク質複合体であって、結合タンパク質複合体が免疫接着分子、造影剤、治療剤、または細胞毒性剤をさらに含み、
造影剤が、場合によって放射性標識、酵素、蛍光標識、発光標識、生物発光標識、磁気標

識およびビオチンから成る群から選択され、
放射性標識が、場合によって^{3}Ｈ、^{14}Ｃ、^{35}Ｓ、^{90}Ｙ、^{99}Ｔｃ、^{111}Ｉｎ、^{125}Ｉ、^{131}Ｉ、^{177}Ｌｕ、^{166}Ｈｏおよび^{153}Ｓｍから成る群から選択され、および／または
治療剤または細胞毒性剤が、場合によって代謝抑制剤、アルキル化剤、抗生物質、増殖因子、サイトカイン、抗血管新生剤、抗有糸分裂剤、アントラサイクリン、トキシンおよびアポトーシス剤から成る群から選択される、結合タンパク質複合体。
【請求項９】
請求項１から７のいずれか一項に記載の結合タンパク質アミノ酸配列をコードする単離された核酸。
【請求項１０】
請求項９に記載の単離された核酸を含むベクターであって、場合によってｐｃＤＮＡ、ｐＴＴ、ｐＴＴ３、ｐＥＦＢＯＳ、ｐＢＶ、ｐＪＶ、ｐｃＤＮＡ３．１　ＴＯＰＯ、ｐＥＦ６　ＴＯＰＯ、ｐＢＪおよびｐＨｙｂＥから成る群から選択されるベクター。
【請求項１１】
請求項１０に記載のベクターを含む宿主細胞であって、場合によって、原核細胞、Ｅ．コリ（Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ　ｃｏｌｉ）、真核細胞、原生生物細胞、動物細胞、植物細胞、真菌細胞、酵母細胞、Ｓｆ９細胞、哺乳動物細胞、鳥類細胞、昆虫細胞、ＣＨＯ細胞およびＣＯＳ細胞から成る群から選択される宿主細胞。
【請求項１２】
結合タンパク質を産生するのに十分な条件下で、請求項１１に記載の宿主細胞を培地中において培養することを含む、結合タンパク質を生産する方法。
【請求項１３】
請求項１から７に記載の結合タンパク質、および医薬として許容される担体を含む医薬組成物。
【請求項１４】
請求項１３に記載の医薬組成物であって、少なくとも１つの追加の治療剤を含み、追加の治療剤が、場合によって、造影剤、細胞毒性剤、血管新生阻害剤；キナーゼ阻害剤；共刺激分子遮断剤；接着分子遮断剤；抗サイトカイン抗体またはその機能的断片；メトトレキサート；シクロスポリン；ラパマイシン；ＦＫ５０６；検出可能な標識またはレポーター；ＴＮＦアンタゴニスト；抗リウマチ薬；筋肉弛緩剤、麻酔薬、非ステロイド系抗炎症薬（ＮＳＡＩＤ）、鎮痛剤、麻酔、鎮静剤、局所麻酔剤、神経筋肉遮断剤、抗微生物剤、抗乾癬剤、コルチコステロイド、アナボリックステロイド、エリスロポエチン、免疫化剤、免疫グロブリン、免疫抑制剤、成長ホルモン、ホルモン置換薬、放射性医薬、抗うつ剤、抗精神病薬、刺激物質、喘息薬、βアゴニスト、吸入用ステロイド、エピネフリンまたは類似体、サイトカインまたはサイトカインアンタゴニストである、医薬組成物。
【請求項１５】
対象に結合タンパク質を投与することによって疾患または障害について対象を治療するための医薬の製造における、請求項１から７のいずれか一項に記載の結合タンパク質の使用。
【請求項１６】
疾患が、関節リウマチ、骨関節炎、若年性慢性関節炎、化膿性関節炎、ライム関節炎、乾癬性関節炎、反応性関節炎、脊椎関節症、全身性紅斑性狼瘡、クローン病、潰瘍性大腸炎、炎症性腸疾患、インシュリン依存性糖尿病、甲状腺炎、喘息、アレルギー性疾患、乾癬、皮膚炎、強皮症、移植片対宿主病、臓器移植拒絶、臓器移植に関連する急性または慢性免疫疾患、サルコイドーシス、アテローム性動脈硬化症、播種性血管内凝固、川崎病、バセドウ病、ネフローゼ症候群、慢性疲労症候群、ウェゲナー肉芽腫症、ヘノッホ・シェーライン紫斑症、腎臓の顕微鏡的血管炎、慢性活動性肝炎、ブドウ膜炎、敗血症性ショック、毒素性ショック症候群、敗血症症候群、悪液質、感染性疾患、寄生性疾患、後天性免疫不全症候群、急性横断性脊髄炎、ハンチントン舞踏病、パーキンソン病、アルツハイマ

ー病、発作、原発性胆汁性肝硬変、溶血性貧血、悪性腫瘍、心不全、アジソン病、孤発性の、多内分泌腺機能低下症候群Ｉ型および多内分泌腺機能低下症候群ＩＩ型、シュミット症候群、成人（急性）呼吸促迫症候群、脱毛症、円形脱毛症、関節炎、ライター病、乾癬性関節炎、潰瘍性大腸性関節炎、腸疾患性滑膜炎、クラミジア、エルシニアおよびサルモネラ関連関節炎、アテローム性疾患／アテローム性動脈硬化症、アトピー性アレルギー、自己免疫性水疱性疾患、尋常性天疱瘡、落葉状天疱瘡、類天疱瘡、線状ＩｇＡ病、自己免疫性溶血性貧血、クームス陽性溶血性貧血、後天性悪性貧血、若年性悪性貧血、筋痛性脳脊髄炎／ロイヤルフリー病、慢性粘膜皮膚カンジダ症、巨細胞性動脈炎、原発性硬化性肝炎、突発性自己免疫性肝炎、後天性免疫不全関連疾患、Ｂ型肝炎、Ｃ型肝炎、分類不能型免疫不全症（分類不能型原発性低γグロブリン血症）、拡張型心筋症、女性不妊症、卵巣機能不全、早期卵巣機能不全、繊維性肺疾患、突発性間質性肺炎、炎症後間質性肺疾患、間質性肺炎、結合組織疾患関連間質性肺疾患、混合性結合組織疾患関連肺疾患、全身性硬化症関連間質性肺疾患、関節リウマチ関連間質性肺疾患、全身性紅斑性狼瘡関連肺疾患、皮膚筋炎／多発性筋炎関連肺疾患、シェーグレン病関連肺疾患、強直性脊椎炎関連肺疾患、血管炎性びまん性肺疾患（ｖａｓｃｕｌｉｔｉｃ ｄｉｆｆｕｓｅ ｌｕｎｇ ｄｉｓｅａｓｅ）、ヘモシデローシス関連肺疾患、薬物によって誘導された間質性肺疾患、繊維症、放射性繊維症、閉塞性細気管支炎、慢性好酸球性肺炎、リンパ球浸潤性肺疾患、感染後間質性肺疾患、通風関節炎、自己免疫性肝炎、１型自己免疫性肝炎（古典的自己免疫性またはルポイド肝炎）、２型自己免疫性肝炎（抗ＬＫＭ抗体肝炎）、自己免疫媒介性低血糖症、黒色表皮腫を伴うＢ型インシュリン抵抗性、副甲状腺機能低下症、臓器移植に関連する急性免疫疾患、臓器移植に関連する慢性免疫疾患、変形性関節症、原発性硬化性胆管炎、１型乾癬、２型乾癬、特発性白血球減少症、自己免疫性好中球減少症、腎臓病ＮＯＳ、糸球体腎炎、腎臓の顕微鏡的血管炎、ライム病、円板状紅斑性狼瘡、男性不妊症特発性またはＮＯＳ、精子自己免疫、多発性硬化症（すべてのサブタイプ）、交感性眼炎、結合組織疾患に続発する肺高血圧症、グッドパスチャー症候群、結節性多発動脈炎の肺症状、急性リウマチ熱、リウマチ性脊椎炎、スチル病、全身性硬化症、シェーグレン症候群、高安病／動脈炎、自己免疫性血小板減少症、特発性血小板減少症、自己免疫性甲状腺疾患、甲状腺機能亢進症、甲状腺腫自己免疫性甲状腺機能低下症（橋本病）、萎縮性自己免疫性甲状腺機能低下症、原発性粘液水腫（ｐｒｉｍａｒｙ ｍｙｘｏｅｄｅｍａ）、水晶体起因性ブドウ膜炎、原発性血管炎、白斑急性肝疾患、慢性肝疾患、アルコール性肝硬変、アルコール誘発性肝障害、胆汁うっ滞（ｃｈｏｌｅｏｓａｔａｔｉｓ）、特異体質性肝疾患、薬物誘発性肝炎、非アルコール性脂肪性肝炎、アレルギーおよび喘息、Ｂ群連鎖球菌（ＧＢＳ）感染、精神障害、うつ病、統合失調症、Ｔｈ２型およびＴｈ１型によって媒介される疾病、急性および慢性疼痛、疼痛、癌、肺癌、乳癌、胃癌、膀胱癌、大腸癌、膵臓癌、卵巣癌、前立腺癌、腎臓癌、造血性悪性病変、白血病、リンパ腫、無βリポタンパク質血症、先端チアノーゼ、急性および慢性寄生性または感染性プロセス、急性白血病、急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）、急性または慢性細菌感染、急性膵炎、急性腎不全、腺癌、心房（ａｅｒｉａｌ）異所性拍動、ＡＩＤＳ認知症複合、アルコール誘発性肝炎、アレルギー性結膜炎、アレルギー性接触性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、同種移植拒絶、α－１－アンチトリプシン欠乏症、筋萎縮性側索硬化症、貧血、狭心症、前角細胞変性、抗ｃｄ３治療、抗リン脂質症候群、抗受容体過敏症反応（ａｎｔｉ－ｒｅｃｅｐｔｏｒ ｈｙｐｅｒｓｅｎｓｉｔｉｖｉｔｙ ｒｅａｃｔｉｏｎｓ）、大動脈（ａｏｒｄｉｃ）および動脈瘤、大動脈解離、動脈性高血圧、動脈硬化症、動静脈瘻、運動失調、心房細動（持続的または発作性）、心房粗動、房室ブロック、Ｂ細胞リンパ腫、骨移植拒絶、骨髄移植（ＢＭＴ）拒絶、脚ブロック、バーキットリンパ腫、火傷、心不整脈、心機能不全症候群（ｃａｒｄｉａｃ ｓｔｕｎ ｓｙｎｄｒｏｍｅ）、心臓腫瘍、心筋症、心肺バイパス炎症反応、軟骨移植拒絶、小脳皮質変性、小脳疾患、無秩序なまたは多巣性心房頻脈、化学療法関連疾患、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、慢性アルコール症、慢性炎症性病変、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）、慢性サリチル酸中毒、結腸直腸癌、うっ血性心不全、結膜炎、接触性皮膚炎、肺性心、冠

動脈疾患、クロイツフェルトーヤコブ病、培養陰性敗血症、嚢胞性繊維症、サイトカイン療法関連疾患、ボクサー脳、脱髄性疾患、デング出血熱、皮膚炎、皮膚科学的症状、糖尿病、真性糖尿病、糖尿病性動脈硬化疾患、瀰漫性レビー小体病、拡張型うっ血性心筋症、大脳基底核の疾患、中年のダウン症候群、中枢神経ドーパミン受容体を遮断する薬物によって誘発された薬物誘発性運動疾患、薬物感受性、湿疹、脳脊髄炎、心内膜炎、内分泌疾患、喉頭蓋炎、エプスタインーバーウイルス感染、紅痛症、垂体外路および小脳疾患、家族性血球貪食性リンパ組織球症（ｆａｍｉｌｉａｌ　ｈｅｍａｔｏｐｈａｇｏｃｙｔｉｃ　ｌｙｍｐｈｏｈｉｓｔｉｏｃｙｔｏｓｉｓ）、致死的胸腺移植組織拒絶、フリードライヒ失調症、機能的末梢動脈疾患、真菌性敗血症、ガス壊疽、胃潰瘍、糸球体腎炎、いずれかの臓器または組織の移植片拒絶、グラム陰性敗血症、グラム陽性敗血症、細胞内生物に起因する肉芽腫、有毛細胞白血病、ハラーホルデン・スパッツ病、橋本甲状腺炎、枯草熱、心臓移植拒絶、血色素症、血液透析、溶血性尿毒症症候群／血栓溶解血小板減少紫斑病、出血、Ａ型肝炎、ヒス束不整脈、ＨＩＶ感染／ＨＩＶ神経障害、ホジキン病、運動過剰疾患、過敏症反応、過敏性肺炎、高血圧、運動低下疾患、視床下部－下垂体－副腎皮質系評価、特発性アジソン病、特発性肺繊維症、抗体媒介性細胞毒性、無力症、乳児脊髄性筋萎縮症、大動脈の炎症、Ａ型インフルエンザ、電離放射線曝露、虹彩毛様体炎／ブドウ膜炎／視神経炎、虚血再灌流障害、虚血性発作、若年性関節リウマチ、若年性脊髄性筋萎縮症、カポジ肉腫、腎移植拒絶、レジオネラ、リーシュマニア症、ハンセン病、皮質脊髄系の病変、脂肪血症（ｌｉｐｅｄｅｍａ）、肝臓移植拒絶、リンパ浮腫（ｌｙｍｐｈｅｄｅｒｍａ）、マラリア、悪性リンパ腫、悪性組織球増殖症、悪性黒色腫、髄膜炎、髄膜炎菌血症（ｍｅｎｉｎｇｏｃｏｃｃｅｍｉａ）、代謝性／特発性、偏頭痛、ミトコンドリア多系疾患（ｍｉｔｏｃｈｏｎｄｒｉａｌ　ｍｕｌｔｉ．ｓｙｓｔｅｍ　ｄｉｓｏｒｄｅｒ）、混合性結合組織病、モノクローナル高ガンマグロブリン血症、多発性骨髄腫、多系統変性（メンセル・デジェリーヌートーマス・シャイードレーガーおよびマシャドージョセフ）、マイコバクテリウム・アビウム・イントラセルラーレ、マイコバクテリウム・チュバキュロシス、骨髄形成異常、心筋梗塞、真菌虚血疾患、上咽頭癌、新生児慢性肺疾患、腎炎、ネフローゼ、神経変性疾患、神経原性筋萎縮、好中球減少性発熱、非ホジキンリンパ腫、腹部大動脈およびその分枝の閉塞、閉塞性動脈疾患、ｏｋｔ３療法、精巣炎／精巣上体炎、精巣炎／精管復元術処置、臓器肥大、骨粗鬆症、膵臓移植拒絶、膵癌、腫瘍随伴性症候群／悪性腫瘍の高カルシウム血症、副甲状腺移植拒絶、骨盤内炎症性疾患、通年性鼻炎、心膜疾患、末梢アテローム硬化性疾患、末梢血管疾患、腹膜炎、悪性貧血、ニューモシスチス・カリニ肺炎、肺炎、ＰＯＥＭＳ症候群（多発神経炎、臓器肥大、内分泌疾患、単クローン性γグロブリン血症および皮膚変化症候群（ｓｋｉｎ　ｃｈａｎｇｅｓ　ｓｙｎｄｒｏｍｅ））、灌流後症候群（ｐｏｓｔ　ｐｅｒｆｕｓｉｏｎ　ｓｙｎｄｒｏｍｅ）、ポンプ後症候群（ｐｏｓｔ　ｐｕｍｐ　ｓｙｎｄｒｏｍｅ）、心筋梗塞後開心術症候群、子癇前症、進行性核上性麻痺、原発性肺高血圧、放射線療法、レイノー現象および病、レイノー病、レフサム病、規則的なＱＲＳ幅の狭い頻脈症（ｒｅｇｕｌａｒ　ｎａｒｒｏｗ　ＱＲＳ　ｔａｃｈｙｃａｒｄｉａ）、腎血管性高血圧、再灌流障害、拘束型心筋症、肉腫、強皮症、老年性舞踏病、レビー小体型の老年性認知症、血清反応陰性関節炎、ショック、鎌形赤血球貧血症、皮膚同種異系移植拒絶、皮膚変化症候群、小腸移植拒絶、固形腫瘍、固有不整脈（ｓｐｅｃｉｆｉｃ　ａｒｒｙｔｈｍｉａｓ）、脊髄性運動失調、脊髄小脳変性、連鎖球菌性筋炎、小脳の構造的病変、亜急性硬化性全脳炎、湿疹、心血管系の梅毒、全身性アナフィラキシー、全身性炎症反応症候群、全身性発症若年性関節リウマチ、Ｔ細胞またはＦＡＢＡＬＬ、毛細血管拡張症、閉塞性血栓血管炎、血小板減少症、毒性、移植、外傷／出血、ＩＩＩ型過敏症反応、ＩＶ型過敏症、不安定狭心症、尿毒症、尿路性敗血症、心臓弁膜症、静脈瘤、血管炎、静脈疾患、静脈血栓症、心室細動、ウイルスおよび真菌感染、ウイルス性脳炎（ｖｉｔａｌ　ｅｎｃｅｐｈａｌｉｔｉｓ）／無菌性髄膜炎、ウイルス関連血球貪食症候群、ウェルニッケーコルサコフ症候群、ウィルソン病、いずれかの臓器または組織の異種移植拒絶、急性冠症候群、急性特発性多発性神経炎、急性炎症性脱髄性多発神経根神経障害、急性虚血、成人スチル病、アナフィラキシー、抗リン

脂質抗体症候群、再生不良性貧血、アトピー性湿疹、アトピー性皮膚炎、自己免疫性皮膚炎、連鎖球菌感染に伴う自己免疫異常、自己免疫性腸症、自己免疫性難聴、自己免疫性リンパ増殖症候群（ＡＬＰＳ）、自己免疫性心筋炎、自己免疫性早期卵巣不全、眼瞼炎、気管支拡張症、水疱性類天疱瘡、心血管疾患、劇症型抗リン脂質症候群、セリアック病、頚部脊椎症、慢性虚血、瘢痕性類天疱瘡、多発性硬化症のリスクを有する臨床的孤発症候群（ｃｉｓ）、小児発症精神障害、涙嚢炎、皮膚筋炎、糖尿病性網膜症、椎間板ヘルニア、椎間板脱出、薬物誘発免疫性溶血性貧血、子宮内膜症、眼内炎、上強膜炎、多形性紅斑、重症型多形性紅斑、妊娠性類天疱瘡、ギラン・バレー症候群（ＧＢＳ）、ヒューズ症候群、特発性パーキンソン病、特発性間質性肺炎、ＩｇＥ媒介性アレルギー、免疫性溶血性貧血、封入体筋炎、感染性眼炎症疾患、炎症性脱髄疾患、炎症性心疾患、炎症性腎疾患、ＩＰＦ／ＵＩＰ、虹彩炎、角膜炎、乾性角結膜炎（ｋｅｒａｔｏｊｕｎｔｉｖｉｔｉｓ）、クスマウル病またはクスマウル－マイヤー病、ランドリー麻痺、ランゲルハンス細胞性組織球症、網状皮斑、黄斑変性、顕微鏡的多発性血管炎、モルブス・ベヒテレフ（ｍｏｒｂｕｓ　ｂｅｃｈｔｅｒｅｖ）、運動ニューロン疾患、粘膜性類天疱瘡、多臓器不全、骨髄異形成症候群、心筋炎、神経根障害、神経障害、非Ａ非Ｂ型肝炎、視神経炎、骨溶解、小関節性ＪＲＡ、末梢動脈閉塞疾患（ＰＡＯＤ）、末梢血管疾患（ＰＶＤ）、末梢動脈疾患（ＰＡＤ）、静脈炎、結節性多発性動脈炎（または結節性動脈周囲炎）、多発性軟骨炎、白毛症、多関節性ＪＲＡ、多内分泌欠損症候群、多発性筋炎、リウマチ性多発性筋痛（ＰＭＲ）、原発性パーキンソニズム、前立腺炎、赤芽球癆、原発性副腎不全、再発性視神経脊髄炎、再狭窄、リウマチ性心疾患、ｓａｐｈｏ（滑膜炎、アクネ、膿疱症、骨過形成および骨髄炎）、続発性アミロイドーシス、ショック肺、強膜炎、坐骨神経痛、二次性副腎不全、シリコーン関連結合組織病、スネドン－ウィルキンソン皮膚症、強直性脊椎炎、スティーブンス・ジョンソン症候群（ＳＪＳ）、側頭動脈炎、トキソプラスマ性網膜炎、中毒性表皮剥離症、横断性脊髄炎、ＴＲＡＰＳ（腫瘍壊死因子受容体）、１型アレルギー反応、ＩＩ型糖尿病、じんましん、通常型間質性肺炎（ＵＩＰ）、脈管炎、春季結膜炎、ウイルス性網膜炎、フォークト・小柳・原田症候群（ＶＫＨ症候群）、滲出型黄斑変性または創傷治癒である、請求項１５に記載の使用。

【請求項１７】

医薬が、皮下、筋肉内、静脈内、関節内、気管支内、腹腔内、嚢内、軟骨内、腔内（ｉｎｔｒａｃａｖｉｔａｒｙ）、腔内（ｉｎｔｒａｃｅｌｉａｌ）、小脳内、脳室内、結腸内、頸管内、胃内、肝臓内、心筋内、骨内、骨盤内、心膜内、腹腔内、胸膜内、前立腺内、肺内、直腸内、腎臓内、網膜内、髄腔内、滑膜内、胸腔内、子宮内、膀胱内、ボーラス、膣、直腸、口内、舌下、鼻内または経皮用に製剤化される、請求項１５に記載の使用。

【請求項１８】

イムノアッセイによって試験試料中の少なくとも１つの標的またはその断片の存在、量または濃度を決定するためのインビトロ方法であって、

イムノアッセイは、試験試料を少なくとも１つの結合タンパク質および少なくとも１つの検出可能な標識と接触させるステップを含み、

少なくとも１つの結合タンパク質は、請求項１から７のいずれか一項に記載の結合タンパク質を含む、方法。

【請求項１９】

（ｉ）第一の複合体を形成するために、試験試料を、標的またはその断片上のエピトープに結合する少なくとも１つの結合タンパク質と接触させるステップ、

（ｉｉ）第二の複合体を形成するために、前記第一の複合体を、結合タンパク質に結合するか又は結合タンパク質によっては結合されない標的またはその断片上のエピトープに結合する、少なくとも１つの検出可能な標識と接触させるステップ、および

（ｉｉｉ）第二の複合体における検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて、試験試料中の標的またはその断片の存在、量または濃度を検出するステップであって、標的またはその断片の存在、量または濃度が、検出可能な標識によって発生したシグナルに直接的に相関するステップ、

をさらに含む、
請求項１８に記載の方法。
【請求項２０】
（ｉ）第一の複合体を形成するために、試験試料を、標的またはその断片上のエピトープに結合する少なくとも１つの結合タンパク質と接触させるステップ、
（ｉｉ）第二の複合体を形成するために、前記第一の複合体を、結合タンパク質への結合について標的またはその断片と競合する少なくとも１つの検出可能な標識と接触させるステップ、および
（ｉｉｉ）第二の複合体における検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて、試験試料中の標的またはその断片の存在、量または濃度を検出するステップであって、標的またはその断片の存在、量または濃度が、検出可能な標識によって発生したシグナルと間接的に相関するステップ、
をさらに含む、請求項１８に記載の方法。
【請求項２１】
請求項１８から２０のいずれか一項に記載の方法であって、試験試料が患者由来であり、
（ａ）方法が、患者の治療的／予防的処置の効力を診断、予測または評価することをさらに含み、
方法が、患者の治療的／予防的処置の効力を評価することをさらに含む場合、効力を改善するために必要な、患者の治療的／予防的処置を改変することを場合によってさらに含み、
（ｂ）方法が、自動化システムまたは半自動化システムにおける使用に適合され、および／または
（ｃ）方法が、試料中の１を超える標的の存在、量または濃度を決定する、
方法。
【請求項２２】
（ａ）標的またはその断片について試験試料をアッセイするための説明書、および
（ｂ）請求項１から７のいずれか一項に記載の結合タンパク質を含む少なくとも１つの結合タンパク質
を含む、標的またはその断片の存在、量または濃度についてインビトロで試験試料をアッセイするためのキット。
【請求項２３】
請求項１から７のいずれか一項に記載の結合タンパク質であって：
ＤＶＤ１４４７（配列番号９２および９３を含む）；ＤＶＤ１４４８（配列番号９４および９５を含む）；
ＤＶＤ１４４９（配列番号９６および９７を含む）；ＤＶＤ１４５０（配列番号９８および９９を含む）；
ＤＶＤ１４５１（配列番号１００および１０１を含む）；ＤＶＤ１４５２（配列番号１０２および１０３を含む）；
ＤＶＤ１４５３（配列番号７２および７３を含む）；ＤＶＤ１４５４（配列番号７４および７５を含む）；
ＤＶＤ１４５５（配列番号７６および７７を含む）；ＤＶＤ１４５６（配列番号７８および７９を含む）；
ＤＶＤ１４５７（配列番号８０および８１を含む）；ＤＶＤ１４５８（配列番号８２および８３を含む）；
ＤＶＤ１４５９（配列番号５２および５３を含む）；ＤＶＤ１４６０（配列番号５４および５５を含む）；
ＤＶＤ１４６１（配列番号５６および５７を含む）；ＤＶＤ１４６２（配列番号５８および５９を含む）；
ＤＶＤ１４６３（配列番号６０および６１を含む）；ＤＶＤ１４６４（配列番号６２およ

び６３を含む）；
ＤＶＤ１４６５（配列番号１１２および１１３を含む）；ＤＶＤ１４６６（配列番号１１４および１１５を含む）；
ＤＶＤ１４６７（配列番号１１６および１１７を含む）；ＤＶＤ１４６８（配列番号１１８および１１９を含む）；
ＤＶＤ１４６９（配列番号１２０および１２１を含む）；ＤＶＤ１４７０（配列番号１２２および１２３を含む）；
ＤＶＤ１４７１（配列番号１２４および１２５を含む）；ＤＶＤ１４７２（配列番号１２６および１２７を含む）；
ＤＶＤ１４７３（配列番号１０４および１０５を含む）；ＤＶＤ１４７４（配列番号１０６および１０７を含む）；
ＤＶＤ１４７５（配列番号８４および８５を含む）；ＤＶＤ１４７６（配列番号８６および８７を含む）；
ＤＶＤ１４７７（配列番号６４および６５を含む）；ＤＶＤ１４７８（配列番号６６および６７を含む）；
ＤＶＤ１４７９（配列番号１２８および１２９を含む）；ＤＶＤ１４８０（配列番号１３０および１３１を含む）；
ＤＶＤ１４８１（配列番号１０８および１０９を含む）；ＤＶＤ１４８２（配列番号１１０および１１１を含む）；
ＤＶＤ１４８３（配列番号８８および８９を含む）；ＤＶＤ１４８４（配列番号９０および９１を含む）；
ＤＶＤ１４８５（配列番号６８および６９を含む）；ＤＶＤ１４８６（配列番号７０および７１を含む）；
ＤＶＤ１４８７（配列番号１３２および１３３を含む）；ＤＶＤ１４８８（配列番号１３４および１３５を含む）；
ＤＶＤ１４８９（配列番号１７６および１７７を含む）；ＤＶＤ１４９０（配列番号１７８および１７９を含む）；
ＤＶＤ１４９１（配列番号１８０および１８１を含む）；ＤＶＤ１４９２（配列番号１８２および１８３を含む）；
ＤＶＤ１４９３（配列番号１８４および１８５を含む）；ＤＶＤ１４９４（配列番号１８６および１８７を含む）；
ＤＶＤ１４９５（配列番号１５６および１５７を含む）；ＤＶＤ１４９６（配列番号１５８および１５９を含む）；
ＤＶＤ１４９７（配列番号１６０および１６１を含む）；ＤＶＤ１４９８（配列番号１６２および１６３を含む）；
ＤＶＤ１４９９（配列番号１６４および１６５を含む）；ＤＶＤ１５００（配列番号１６６および１６７を含む）；
ＤＶＤ１５０１（配列番号１３６および１３７を含む）；ＤＶＤ１５０２（配列番号１３８および１３９を含む）；
ＤＶＤ１５０３（配列番号１４０および１４１を含む）；ＤＶＤ１５０４（配列番号１４２および１４３を含む）；
ＤＶＤ１５０５（配列番号１４４および１４５を含む）；ＤＶＤ１５０６（配列番号１４６および１４７を含む）；
ＤＶＤ１５０７（配列番号１９６および１９７を含む）；ＤＶＤ１５０８（配列番号１９８および１９９を含む）；
ＤＶＤ１５０９（配列番号２００および２０１を含む）；ＤＶＤ１５１０（配列番号２０２および２０３を含む）；
ＤＶＤ１５１１（配列番号２０４および２０５を含む）；ＤＶＤ１５１２（配列番号２０６および２０７を含む）；
ＤＶＤ１５１３（配列番号２０８および２０９を含む）；ＤＶＤ１５１４（配列番号２１

０および２１１を含む）；
ＤＶＤ１５１５（配列番号１８８および１８９を含む）；ＤＶＤ１５１６（配列番号１９０および１９１を含む）；
ＤＶＤ１５１７（配列番号１６８および１６９を含む）；ＤＶＤ１５１８（配列番号１７０および１７１を含む）；
ＤＶＤ１５１９（配列番号１４８および１４９を含む）；ＤＶＤ１５２０（配列番号１５０および１５１を含む）；
ＤＶＤ１５２１（配列番号２１２および２１３を含む）；ＤＶＤ１５２２（配列番号２１４および２１５を含む）；
ＤＶＤ１５２３（配列番号１９２および１９３を含む）；ＤＶＤ１５２４（配列番号１９４および１９５を含む）；
ＤＶＤ１５２５（配列番号１７２および１７３を含む）；ＤＶＤ１５２６（配列番号１７４および１７５を含む）；
ＤＶＤ１５２７（配列番号１５２および１５３を含む）；ＤＶＤ１５２８（配列番号１５４および１５５を含む）；
ＤＶＤ１５２９（配列番号２１６および２１７を含む）；ＤＶＤ１５３０（配列番号２１８および２１９を含む）；
ＤＶＤ１５３１（配列番号２６０および２６１を含む）；ＤＶＤ１５３２（配列番号２６２および２６３を含む）；
ＤＶＤ１５３３（配列番号２６４および２６５を含む）；ＤＶＤ１５３４（配列番号２６６および２６７を含む）；
ＤＶＤ１５３５（配列番号２６８および２６９を含む）；ＤＶＤ１５３６（配列番号２７０および２７１を含む）；
ＤＶＤ１５３７（配列番号２４０および２４１を含む）；ＤＶＤ１５３８（配列番号２４２および２４３を含む）；
ＤＶＤ１５３９（配列番号２４４および２４５を含む）；ＤＶＤ１５４０（配列番号２４６および２４７を含む）；
ＤＶＤ１５４１（配列番号２４８および２４９を含む）；ＤＶＤ１５４２（配列番号２５０および２５１を含む）；
ＤＶＤ１５４３（配列番号２２０および２２１を含む）；ＤＶＤ１５４４（配列番号２２２および２２３を含む）；
ＤＶＤ１５４５（配列番号２２４および２２５を含む）；ＤＶＤ１５４６（配列番号２２６および２２７を含む）；
ＤＶＤ１５４７（配列番号２２８および２２９を含む）；ＤＶＤ１５４８（配列番号２３０および２３１を含む）；
ＤＶＤ１５４９（配列番号２８０および２８１を含む）；ＤＶＤ１５５０（配列番号２８２および２８３を含む）；
ＤＶＤ１５５１（配列番号２８４および２８５を含む）；ＤＶＤ１５５２（配列番号２８６および２８７を含む）；
ＤＶＤ１５５３（配列番号２８８および２８９を含む）；ＤＶＤ１５５４（配列番号２９０および２９１を含む）；
ＤＶＤ１５５５（配列番号２９２および２９３を含む）；ＤＶＤ１５５６（配列番号２９４および２９５を含む）；
ＤＶＤ１５５７（配列番号２７２および２７３を含む）；ＤＶＤ１５５８（配列番号２７４および２７５を含む）；
ＤＶＤ１５５９（配列番号２５２および２５３を含む）；ＤＶＤ１５６０（配列番号２５４および２５５を含む）；
ＤＶＤ１５６１（配列番号２３２および２３３を含む）；ＤＶＤ１５６２（配列番号２３４および２３５を含む）；
ＤＶＤ１５６３（配列番号２９６および２９７を含む）；ＤＶＤ１５６４（配列番号２９

８および２９９を含む）；
ＤＶＤ１５６５（配列番号２７６および２７７を含む）；ＤＶＤ１５６６（配列番号２７８および２７９を含む）；
ＤＶＤ１５６７（配列番号２５６および２５７を含む）；ＤＶＤ１５６８（配列番号２５８および２５９を含む）；
ＤＶＤ１５６９（配列番号２３６および２３７を含む）；ＤＶＤ１５７０（配列番号２３８および２３９を含む）；
ＤＶＤ１５７１（配列番号３００および３０１を含む）；およびＤＶＤ１５７２（配列番号３０２および３０３を含む）
のいずれか１つを含む、結合タンパク質。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 11/49147

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(8) - A61K 39/00; C07K 16/00 (2011.01)
USPC - 424/136.1; 530/388.15
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)
IPC(8) - A61K 39/00; C07K 16/00 (2011.01)
USPC - 424/136.1; 530/388.15

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 practicable, search terms used)
PubWEST(PGPB,USPT,USOC,EPAB,JPAB); Google Scholar: binding, antibod$, antigen, polypep$, peptid$, protein, oligopept$, immunog$, tnf, tnf$, ngf, ngfb, nerve growth factor, fc, linker, cdr, heavy, variable, TVAPP, TVAPP$, ASTKGPS$.
GenCore 6.3: SEQ ID NO:21, 14, 28-31

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2009/0215992 A1 (WU, et al.) 27 August 2009 (27.08.2009) para [0013]; [0015]-[0018]; [0024]-[0029]; [0031]-[0032]; [0052]; [0072]; [0073]; [0110]; [0126]; [0198]; [0209]-[0210]	1-4, 7-30, 59
X	US 2009/0311253 A1 (GHAYUR, et al.) 17 December 2009 (17.12.2009) para [0012]; [0015]; [0018]; [0019]; [0105]; [0160]; [0250]; Table 2; SEQ ID NO: 14, 21, 32, 33, 36, 37.	1, 5-6

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐

* 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 application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
13 March 2012 (13.03.2012)	21 MAR 2012
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201	Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2009)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 11/49147

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.: 31-41, 46-58
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:
This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1.

Group I+: claims 1-30, 59, drawn to a binding protein capable of binding two antigens and that comprises a first and a second polypeptide chain, wherein said first polypeptide chain comprises a first VD1-(X1)n-VD2-C(X2)n. The first invention is restricted to X1, X2 of SEQ ID NO:21, 14, 28-31. Should an additional fee(s) be paid, Applicant is invited to elect an additional SEQ ID NO(s) to be searched. Claims searched will depend on Applicant's election.

----------continued on first blank sheet attached hereto----------

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 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.:
1-30, 59, restricted to SEQ ID NO:21, 14, 28-31

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 SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 11/49147

********** Supplemental Box **********

continuation of Box No. III: Observations where unity of invention is lacking

Group II: claims 42-45, 60, drawn to a method for generating a binding protein capable of binding two antigens by
a) obtaining a first parent antibody or antigen binding portion thereof, capable of binding a first antigen;
b) obtaining a second parent antibody or antigen binding portion thereof, capable of binding a second antigen;
c) constructing first and third polypeptide chains comprising VDI-(XI)n-VD2-C-(X2)n,
d) constructing second and fourth polypeptide chains comprising VDI-(XI)nVD2-C-(X2)n,
e) expressing the first, second, third and fourth polypeptide chains such that a binding protein capable of binding two antigens is generated.

The inventions listed as Groups I+ and II do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

The inventions of Group I+ do not include the inventive concept of a method for generating a binding protein capable of binding two antigens, as required by Group II.

The inventions of Group I+ share the technical feature of a binding protein of claim 1. However, this shared technical feature does not represent a contribution over prior art as being anticipated by US 2009/0215992 A1 to Wu et al. (hereinafter "Wu") that teaches a binding protein capable of binding two antigens and that comprises a first and a second polypeptide chain (para [0017]), wherein said first polypeptide chain comprises a first VD1-(X1)n-VD2-C-(X2)n (para [0013] and [0017]), wherein
VD1 is a first heavy chain variable domain (para [0013]);
VD2 is a second heavy chain variable domain (para [0013]);
C is a heavy chain constant domain (para [0013]);
X1 is a linker with the proviso that it is not CH1 (para [0013]); and
X2 is an Fc region (para [0013]); and
wherein said second polypeptide chain comprises a second VD1-(X1)n-VD2-C-(X2)n (para [0016]-[0017]), wherein
VD1 is a first light chain variable domain (para [0016]);
VD2 is a second light chain variable domain (para [0016]);
C is a light chain constant domain (para [0016]);
X1 is a linker (para [0016]);
X2 does not comprise an Fc region (para [0016]); and
wherein n is 0 or 1 (para [0110]), and
wherein the binding protein is capable of binding TNF and NGF (para [0018] and [0072]); wherein:
(a) X1 between the first and second heavy chain variable domains is ASTKGP (SEQ ID NO: 21) (para [0013]), and X1 between the first and second light chain variable domains is TVAAPSVFIFPP (SEQ ID NO: 14) (para [0016] and [0073]). As said method would have been obvious to one of ordinary skill in the art at the time of the invention, this cannot be considered a special technical feature that would otherwise unify the groups.

Another special technical feature of the inventions listed as Group I+ is X1 of the specific amino acids sequence recited therein. The inventions do not share a special technical feature, because 1) no significant structural similarities can readily be ascertained among the sequences, and 2) Wu discloses that X1 between the first and second heavy chain variable domains is ASTKGP (SEQ ID NO: 21) (para [0013]), and X1 between the first and second light chain variable domains is TVAAPSVFIFPP (SEQ ID NO: 14) (para [0016] and [0073]). Without a shared special technical feature, the inventions lack unity with one another.

Another special technical feature of the inventions listed as Group I+ is CDRs of the specific amino acids sequence recited therein. The inventions do not share a special technical feature, because 1) no significant structural similarities can readily be ascertained among the sequences, and 2) US 2003/0092059 A1 to Salfeld, et al discloses the claimed SEQ ID NO: 28 (SEQ ID NO: 2, 100% identity) and US 2009/0304693 A1 to GHAYUR, et al. discloses the claimed SEQ ID NO: 29 (SEQ ID NO 35, 100% identity). Without a shared special technical feature, the inventions lack unity with one another.

Groups I+ and II therefore lack unity under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		FI			テーマコード（参考）
C12P 21/02	*(2006.01)*	C12P	21/02	C	4H045
A61P 43/00	*(2006.01)*	A61P	43/00	111	
A61P 29/00	*(2006.01)*	A61P	29/00	101	
A61P 19/02	*(2006.01)*	A61P	19/02		
A61P 17/06	*(2006.01)*	A61P	29/00		
A61P 37/08	*(2006.01)*	A61P	17/06		
A61P 17/00	*(2006.01)*	A61P	37/08		
A61P 1/04	*(2006.01)*	A61P	17/00		
A61P 3/10	*(2006.01)*	A61P	1/04		
A61P 11/06	*(2006.01)*	A61P	3/10		
A61P 37/06	*(2006.01)*	A61P	11/06		
A61P 9/10	*(2006.01)*	A61P	37/06		
A61P 5/14	*(2006.01)*	A61P	9/10		
A61P 13/12	*(2006.01)*	A61P	5/14		
A61P 35/00	*(2006.01)*	A61P	13/12		
A61P 7/02	*(2006.01)*	A61P	35/00		
A61P 1/16	*(2006.01)*	A61P	7/02		
A61P 31/04	*(2006.01)*	A61P	1/16		
A61P 33/00	*(2006.01)*	A61P	31/04		
A61P 25/16	*(2006.01)*	A61P	33/00		
A61P 25/28	*(2006.01)*	A61P	25/16		
A61P 25/14	*(2006.01)*	A61P	25/28		
A61P 9/00	*(2006.01)*	A61P	25/14		
A61P 31/12	*(2006.01)*	A61P	9/00		
A61P 25/00	*(2006.01)*	A61P	31/12		
A61P 7/00	*(2006.01)*	A61P	25/00		
A61P 15/00	*(2006.01)*	A61P	7/00		
A61P 27/02	*(2006.01)*	A61P	15/00		
A61P 9/14	*(2006.01)*	A61P	27/02		
A61P 3/00	*(2006.01)*	A61P	9/14		
A61P 5/00	*(2006.01)*	A61P	3/00		
A61P 11/00	*(2006.01)*	A61P	5/00		
A61P 9/12	*(2006.01)*	A61P	11/00		
A61P 19/00	*(2006.01)*	A61P	9/12		
A61K 39/395	*(2006.01)*	A61P	19/00		
A61K 51/00	*(2006.01)*	A61K	39/395	N	
A61K 49/04	*(2006.01)*	A61K	39/395	V	
A61K 49/00	*(2006.01)*	A61K	49/02	A	
A61K 45/00	*(2006.01)*	A61K	49/04	Z	
G01N 33/53	*(2006.01)*	A61K	49/00	C	
G01N 33/543	*(2006.01)*	A61K	49/00	A	
		A61K	45/00		
		G01N	33/53	D	
		G01N	33/543	595	

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AL,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,R

S,SE,SI,SK,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,IS,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,QA,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

(72)発明者　マクファーソン，マイケル・ジエイ
アメリカ合衆国、マサチユーセツツ・０１４３１、アツシユビー、ピルズベリー・ロード・２８７

Ｆターム(参考) 4B024 AA01 BA61 CA01 CA09 CA10 CA11 CA20 DA02 DA06 DA12
EA04 GA11 HA01
4B064 AG26 CA02 CA06 CA19 CC24 DA01
4B065 AA26X AA80X AA90X AA90Y AB01 AC14 BA01 CA24 CA44
4C084 AA19 MA02 NA05 ZB262 ZB352 ZC412
4C085 AA14 AA15 AA16 AA33 BB33 BB34 BB35 BB36 BB37 BB42
CC23 EE01 EE03 HH03 HH07 HH11 HH13 KA04 KA05 KA27
KA28 KA29
4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 CA40 DA75 EA20 FA74

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	JP2013539364A5	公开(公告)日	2014-11-27
申请号	JP2013526152	申请日	2011-08-25
[标]申请(专利权)人(译)	阿布维公司		
申请(专利权)人(译)	AVVI公司		
[标]发明人	ガユールタリク ザルフエルトヨツヘンゲー マクフアーソンマイケルジエイ		
发明人	ガユール,タリク ザルフエルト,ヨツヘン·ゲー マクフアーソン,マイケル·ジエイ		
IPC分类号	C12N15/09 C12N1/21 C12N1/19 C12N5/10 C07K16/46 C12P21/02 A61P43/00 A61P29/00 A61P19/02 A61P17/06 A61P37/08 A61P17/00 A61P1/04 A61P3/10 A61P11/06 A61P37/06 A61P9/10 A61P5/14 A61P13/12 A61P35/00 A61P7/02 A61P1/16 A61P31/04 A61P33/00 A61P25/16 A61P25/28 A61P25/14 A61P9/00 A61P31/12 A61P25/00 A61P7/00 A61P15/00 A61P27/02 A61P9/14 A61P3/00 A61P5/00 A61P11/00 A61P9/12 A61P19/00 A61K39/395 A61K51/00 A61K49/04 A61K49/00 A61K45/00 G01N33/53 G01N33/543		
CPC分类号	A61K2039/505 A61P1/04 A61P1/16 A61P3/00 A61P3/10 A61P5/00 A61P5/14 A61P7/00 A61P7/02 A61P9/00 A61P9/10 A61P9/12 A61P9/14 A61P11/00 A61P11/06 A61P13/12 A61P15/00 A61P17/00 A61P17/06 A61P19/00 A61P19/02 A61P21/02 A61P23/00 A61P23/02 A61P25/00 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/18 A61P25/20 A61P25/24 A61P25/28 A61P27/02 A61P29/00 A61P31/00 A61P31/04 A61P31/12 A61P33/00 A61P35/00 A61P37/04 A61P37/06 A61P37/08 A61P43/00 C07K16/18 C07K16/22 C07K16/241 C07K2317/24 C07K2317/626 C07K2317/64 C07K2317/76 G01N33/53 Y02A50/386 Y02A50/41 Y02A50/412 Y02A50/53 Y02A50/58 A61K39/3955 A61K45/06 C07K2317/31 C07K2317/52 C07K2317/56 C07K2317/565 C07K2317/92 G01N33/6854		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A C12N1/21 C12N1/19 C12N5/00.102 C07K16/46 C12P21/02.C A61P43/00.111 A61P29/00.101 A61P19/02 A61P29/00 A61P17/06 A61P37/08 A61P17/00 A61P1/04 A61P3/10 A61P11/06 A61P37/06 A61P9/10 A61P5/14 A61P13/12 A61P35/00 A61P7/02 A61P1/16 A61P31/04 A61P33/00 A61P25/16 A61P25/28 A61P25/14 A61P9/00 A61P31/12 A61P25/00 A61P7/00 A61P15/00 A61P27/02 A61P9/14 A61P3/00 A61P5/00 A61P11/00 A61P9/12 A61P19/00 A61K39/395.N A61K39/395.V A61K49/02.A A61K49/04.Z A61K49/00.C A61K49/00.A A61K45/00 G01N33/53.D G01N33/543.595		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/BA61 4B024/CA01 4B024/CA09 4B024/CA10 4B024/CA11 4B024/CA20 4B024/DA02 4B024/DA06 4B024/DA12 4B024/EA04 4B024/GA11 4B024/HA01 4B064/AG26 4B064/CA02 4B064/CA06 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/DA01 4B065/AA26X 4B065/AA80X 4B065/AA90X 4B065/AA90Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA01 4B065/CA24 4B065/CA44 4C084/AA19 4C084/MA02 4C084/NA05 4C084/ZB262 4C084/ZB352 4C084/ZC412 4C085/AA14 4C085/AA15 4C085/AA16 4C085/AA33 4C085/BB33 4C085/BB34 4C085/BB35 4C085/BB36 4C085/BB37 4C085/BB42 4C085/CC23 4C085/EE01 4C085/EE03 4C085/HH03 4C085/HH07 4C085/HH11 4C085/HH13 4C085/KA04 4C085/KA05 4C085/KA27 4C085/KA28 4C085/KA29 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA75 4H045/EA20 4H045/FA74		
优先权	61/377117 2010-08-26 US		
其他公开文献	JP2013539364A		

摘要(译)

提供了修饰的多价和多特异性结合蛋白，制备方法及其在疾病的预防，诊断和/或治疗中的用途。