

(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2016-522793

(P2016-522793A)

(43) 公表日 平成28年8月4日(2016.8.4)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07K 16/46 (2006.01)	C07K 16/46 ZNA	4B024
C12N 1/11 (2006.01)	C12N 1/11	4B064
C12N 1/19 (2006.01)	C12N 1/19	4B065
C12N 1/15 (2006.01)	C12N 1/15	4C084
C12N 1/21 (2006.01)	C12N 1/21	4C085

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 124 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2016-502847 (P2016-502847)
 (86) (22) 出願日 平成26年3月14日 (2014.3.14)
 (85) 翻訳文提出日 平成27年11月2日 (2015.11.2)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2014/028618
 (87) 国際公開番号 WO2014/144280
 (87) 国際公開日 平成26年9月18日 (2014.9.18)
 (31) 優先権主張番号 61/799,700
 (32) 優先日 平成25年3月15日 (2013.3.15)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

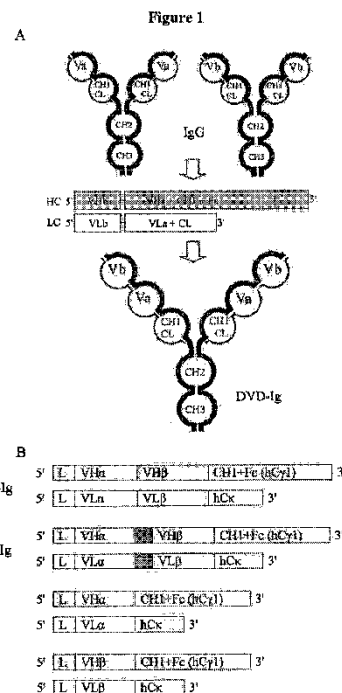
(71) 出願人 512212195
 アッヴィ・インコーポレイテッド
 アメリカ合衆国、イリノイ・60064、
 ノース・シカゴ、ノース・ワウキガン・ロ
 ード・1
 (74) 代理人 110001173
 特許業務法人川口国際特許事務所
 (72) 発明者 ガユール, タリク
 アメリカ合衆国、マサチューセッツ・01
 746、ホリストン、ワシントン・ストリ
 ート・1014
 (72) 発明者 グー, ジーリエ
 アメリカ合衆国、マサチューセッツ・01
 545、シュルーズベリー、クリムゾン・
 ドライブ・19

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 IL-1β および/または IL-17 に対して指向された二重特異的結合タンパク質

(57) 【要約】

IL-1 および/または IL-17 に結合する遺伝子操作された多価および多重特異的結合タンパク質、ならびに結合タンパク質を作製し、疾患の予防、診断および/または治療において結合タンパク質を使用する方法が提供される。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

それぞれ $VD1 - (X1)_n - VD2 - C - X2$ を独立して含む、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、

$VD1$ は、第一の変動ドメインであり、

$VD2$ は、第二の変動ドメインであり、

C は、定常ドメインであり、

$X1$ は、リンカーであり、但し、 $CH1$ ではなく、

$X2$ は、存在するまたは存在しない Fc 領域であり、

n は、0 または 1 であり、

10

第一および第二のポリペプチド鎖上の $VD1$ ドメインが、第一の機能的標的結合部位を形成し、第一および第二のポリペプチド鎖上の $VD2$ ドメインが、第二の機能的標的結合部位を形成し、結合タンパク質が、 $IL-1$ および $IL-17$ に結合することができ、

(i) $IL-1$ について機能的標的結合部位を形成する変動ドメインが、

配列番号 34 からの $CDR1 \sim 3$ と配列番号 35 からの $CDR1 \sim 3$ 、

配列番号 32 からの $CDR1 \sim 3$ と配列番号 33 からの $CDR1 \sim 3$ 、

配列番号 36 からの $CDR1 \sim 3$ と配列番号 37 からの $CDR1 \sim 3$ 、

配列番号 38 からの $CDR1 \sim 3$ と配列番号 39 からの $CDR1 \sim 3$ 、もしくは

配列番号 40 からの $CDR1 \sim 3$ と配列番号 41 からの $CDR1 \sim 3$

を含み、および / または

20

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 5.1×10^{-11} M の K_D で $IL-1$ に結合することができ、もしくは $IL-1$ 中和アッセイにおいて測定された場合に、最大約 2.563 nM の $IC50$ で $IL-1$ を阻害することができ、および / または

(ii) $IL-17$ について機能的標的結合部位を形成する変動ドメインが、

配列番号 44 からの $CDR1 \sim 3$ と配列番号 45 からの $CDR1 \sim 3$ 、

配列番号 42 からの $CDR1 \sim 3$ と配列番号 43 からの $CDR1 \sim 3$ 、もしくは

配列番号 46 からの $CDR1 \sim 3$ と配列番号 47 からの $CDR1 \sim 3$

を含み、および / または

30

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 4.8×10^{-12} M の K_D で $IL-17$ に結合することができ、もしくは $IL-17$ 中和アッセイにおいて測定された場合に、最大約 1.7 nM の $IC50$ で $IL-17$ を阻害することができる結合タンパク質。

【請求項 2】

それぞれ $VD1 - (X1)_n - VD2 - C - X2$ を独立して含む、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、

$VD1$ は、第一の変動ドメインであり、

$VD2$ は、第二の変動ドメインであり、

C は、定常ドメインであり、

$X1$ は、リンカーであり、但し、 $CH1$ ではなく、

$X2$ は、存在するまたは存在しない Fc 領域であり、

n は、0 または 1 であり、

40

第一および第二のポリペプチド鎖上の $VD1$ ドメインが、第一の機能的標的結合部位を形成し、第一および第二のポリペプチド鎖上の $VD2$ ドメインが、第二の機能的標的結合部位を形成し、結合タンパク質が、 $IL-1$ および $IL-17$ に結合することができ、

(i) $IL-1$ について機能的標的結合部位を形成する変動ドメインが、配列番号 32

~ 41 からなる群から選択される配列を含み、および / または結合タンパク質が、表面

プラズモン共鳴によって測定された場合に、最大約 5.1×10^{-11} M の K_D で $IL-$

1 に結合することができ、もしくは $IL-1$ 中和アッセイにおいて測定された場合に

、最大約 2.563 nM の $IC50$ で $IL-1$ を阻害することができ、および / または

50

(i i) I L - 17 について機能的標的結合部位を形成する可変ドメインが、配列番号 42 ~ 47 からなる群から選択される配列を含み、および / または結合タンパク質が、表面プラズモン共鳴によって測定された場合に、最大約 4.8×10^{-12} M の K_D で I L - 17 に結合することができ、もしくは I L - 17 中和アッセイにおいて測定された場合に、最大約 1.7 nM の IC50 で I L - 17 を阻害することができる結合タンパク質。

【請求項 3】

第一のポリペプチド鎖が、第一の V D 1 - (X 1) n - V D 2 - C - X 2 を含み、
 V D 1 は、第一の重鎖可変ドメインであり、
 V D 2 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、
 X 1 は、リンカーであり、但し、C H 1 ではなく、
 X 2 は、存在するまたは存在しない F c 領域であり、
 n は、0 または 1 であり、

10

第二のポリペプチド鎖が、第二の V D 1 - (X 1) n - V D 2 - C を含み、
 V D 1 は、第一の軽鎖可変ドメインであり、
 V D 2 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、
 X 1 は、リンカーであり、但し、C H 1 ではなく、
 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 V D 1 ドメインが、第一の機能的標的結合部位を形成し、第一および第二のポリペプチド鎖上の V D 2 ドメインが、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。

20

【請求項 4】

I L - 1 および I L - 17 に結合することができ、

(i) I L - 1 について機能的標的結合部位を形成する可変ドメインが、

- (1) 配列番号 32 および配列番号 33、
- (2) 配列番号 34 および配列番号 35、
- (3) 配列番号 36 および配列番号 37、
- (4) 配列番号 38 および配列番号 39、もしくは
- (5) 配列番号 40 および配列番号 21

30

を含み、および / または

(i i) I L - 17 について機能的標的結合部位を形成する可変ドメインが、

- (1) 配列番号 42 および配列番号 43、
- (2) 配列番号 44 および配列番号 45、もしくは
- (3 i) 配列番号 46 および配列番号 47

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、結合タンパク質が 4 つの機能的標的結合部位を含む、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。

40

【請求項 6】

X 1 が、配列番号 1 ~ 31 のいずれか 1 つである、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】

X 1 が C L ではない、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】

F c 領域が可変配列 F c 領域である、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。

【請求項 9】

F c 領域が、I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g A、I g M、I g E また

50

は I g D 由来の F c 領域である、請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載の結合タンパク質。

【請求項 10】

結晶化された結合タンパク質である、請求項 1 から 9 のいずれか一項に記載の結合タンパク質。

【請求項 11】

DVD 2 4 2 3 (配列番号 4 8 と 4 9 を含む。)、DVD 2 4 2 4 (配列番号 5 0 と 5 1 を含む。)、DVD 2 4 2 5 (配列番号 5 2 と 5 3 を含む。)、DVD 2 4 2 6 (配列番号 5 4 と 5 5 を含む。)、DVD 2 4 2 7 (配列番号 5 6 と 5 7 を含む。)、DVD 2 4 2 8 (配列番号 5 8 と 5 9 を含む。)、DVD 2 4 2 9 (配列番号 6 0 と 6 1 を含む。)、DVD 2 4 3 0 (配列番号 6 2 と 6 3 を含む。)、DVD 2 4 3 1 (配列番号 6 4 と 6 5 を含む。)、DVD 2 4 3 2 (配列番号 6 6 と 6 7 を含む。)、DVD 2 4 3 3 (配列番号 6 8 と 6 9 を含む。)、DVD 2 4 3 4 (配列番号 7 0 と 7 1 を含む。)、DVD 2 4 3 5 (配列番号 7 2 と 7 3 を含む。)、DVD 2 4 3 6 (配列番号 7 4 と 7 5 を含む。)、DVD 2 4 3 7 (配列番号 7 6 と 7 7 を含む。)、DVD 2 4 3 8 (配列番号 7 8 と 7 9 を含む。)、DVD 2 4 3 9 (配列番号 8 0 と 8 1 を含む。)、DVD 2 4 4 0 (配列番号 8 2 と 8 3 を含む。)、DVD 2 4 4 1 (配列番号 8 4 と 8 5 を含む。)、DVD 2 4 4 2 (配列番号 8 6 と 8 7 を含む。)、DVD 3 4 1 0 (配列番号 8 8 と 8 9 を含む。)、DVD 3 4 1 1 (配列番号 9 0 と 9 1 を含む。)、DVD 3 4 1 2 (配列番号 9 2 と 9 3 を含む。)、DVD 3 4 1 3 (配列番号 9 4 と 9 5 を含む。)、DVD 3 4 1 4 (配列番号 9 6 と 9 7 を含む。)、DVD 3 4 1 5 (配列番号 9 8 と 9 9 を含む。)、DVD 3 4 1 6 (配列番号 1 0 0 と 1 0 1 を含む。)、DVD 3 4 1 7 (配列番号 1 0 2 と 1 0 3 を含む。)、DVD 3 4 1 8 (配列番号 1 0 4 と 1 0 5 を含む。)、DVD 3 4 1 9 (配列番号 1 0 6 と 1 0 7 を含む。)、DVD 3 4 2 0 (配列番号 1 0 8 と 1 0 9 を含む。)、DVD 3 4 2 1 (配列番号 1 1 0 と 1 1 1 を含む。)、DVD 3 4 2 2 (配列番号 1 1 2 と 1 1 3 を含む。)、DVD 3 4 2 3 (配列番号 1 1 4 と 1 1 5 を含む。)、DVD 3 4 2 4 (配列番号 1 1 6 と 1 1 7 を含む。)、および DVD 3 4 2 5 (配列番号 1 1 8 と 1 1 9 を含む。)のいずれか 1 つを含む、IL - 1 および IL - 1 7 に結合することができる結合タンパク質。

10

20

30

【請求項 12】

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、請求項 1 から 11 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コンジュゲート。

【請求項 13】

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 12 に記載の結合タンパク質コンジュゲート。

【請求項 14】

放射性標識が、 ^3H 、 ^{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 13 に記載の結合タンパク質コンジュゲート。

40

【請求項 15】

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、トキシシンまたはアポトーシス剤である、請求項 12 に記載の結合タンパク質コンジュゲート。

【請求項 16】

請求項 1 から 11 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 17】

請求項 16 に記載の単離された核酸を含むベクター。

【請求項 18】

ベクターが、pcDNA、pTT、pTT3、pEFBOS、pBV、pJV、pcD

50

NA3.1 TOPO、pEF6、pHybE、TOPOまたはpBJである、請求項17に記載のベクター。

【請求項19】

請求項17に記載のベクターを含む宿主細胞。

【請求項20】

原核細胞、大腸菌、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細胞またはCOS細胞である、請求項19に記載の宿主細胞。

【請求項21】

結合タンパク質を産生するのに十分な条件下で、請求項19または20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22】

請求項1から11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23】

少なくとも1つの追加の治療剤をさらに含む、請求項22に記載の医薬組成物。

【請求項24】

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、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、イムノグロブリン、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、ベータアゴニスト、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23に記載の医薬組成物。

【請求項25】

請求項1から11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、疾患または障害について対象を治療する方法。

【請求項26】

障害が、関節炎、変形性関節症、若年性慢性関節炎、敗血症性関節炎、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、インスリン依存性糖尿病、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、ハンチントン舞蹈病、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グロブリン

10

20

30

40

50

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型インスリン抵抗性、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(choleos at at is)、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(疼痛の異なる形態)、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、-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(aortic)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、パーキットリンパ腫、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(PLL)、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-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-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 hematomphagocytic lymphohistiocytosis)、致命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

10

20

30

40

50

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、ハラールホルデン・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 (lip edema)、肝臓移植拒絶、リンパ浮腫 (lymph edema)、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 (meningococccemia)、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・チューバキュロシス、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 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、老年性舞蹈病、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 arrhythmias)、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、頸部脊椎症、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

10

20

30

40

50

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、I P F / U I P、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 bechtere v)、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 J R A、末梢動脈閉塞疾患 (P A O D)、末梢血管疾患 (P V D)、末梢動脈疾患 (P A D)、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 J R A、多内分泌欠損症候群、多発性筋炎、ポンプ

10

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、s a p h o (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、ステーブンス・ジョンソン症候群 (S J S)、全身性炎症反応症候群、側頭動脈炎、トキソプラズマ性網膜炎、中毒性表皮剥離症、横断性脊髄炎、T R A P S (腫瘍壊死因子受容体)、1型アレルギー反応、I I 型糖尿病、通常型間質性肺炎 (U I P)、春季結膜炎、ウイルス性網膜炎、フォクト・小柳・原田症候群 (V K H 症候群)、滲出型黄斑変性または創傷治癒である、請求項 2 5 に記載の方法。

20

【請求項 2 7】

結合タンパク質が、非経口、皮下、筋肉内、静脈内、関節内、気管支内、腹内、嚢内、軟骨内、腔内 (i n t r a c a v i t a r y)、腔内 (i n t r a c e l l i a l)、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、心臓周囲内、腹腔内、胸膜内、前立腺内、肺内、直腸内、腎臓内、網膜内、脊髄内、滑膜内、胸腔内、子宮内、膀胱内、ポラス、腔、直腸、口内、舌下、鼻内または経皮投与用に製剤化される、請求項 2 5 または 2 6 に記載の方法。

【請求項 2 8】

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方法であって、

30

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ことを含み、

少なくとも 1 つの結合タンパク質は、請求項 1 から 1 1 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 2 9】

(i) 試験試料を少なくとも 1 つの結合タンパク質と接触させること、ここで、結合タンパク質は、標的またはその断片上のエピトープに結合して、第一の複合体を形成する、

(i i) 複合体を少なくとも 1 つの検出可能な標識を接触させること、ここで、検出可能な標識は、結合タンパク質に結合するか、または結合タンパク質が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し、第二の複合体を形成する、および

40

(i i i) 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こと、ここで、標的またはその断片の存在、量または濃度は、検出可能な標識によって発生したシグナルと直接関連する、

をさらに含む、請求項 2 8 に記載の方法。

【請求項 3 0】

(i) 試験試料を少なくとも 1 つの結合タンパク質と接触させること、ここで、結合タンパク質は、標的またはその断片上のエピトープに結合して、第一の複合体を形成する、

(i i) 複合体を、少なくとも 1 つの検出可能な標識と接触させること、ここで、検出可能な標識は、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して、第二の

50

複合体を形成する、および

(i i i) 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こと、ここで、標的またはその断片の存在、量または濃度は、検出可能な標識によって発生したシグナルに間接的に関連する、

をさらに含む、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 31】

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む、

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さらに含む、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 32】

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 28 に記載の方法。

【請求項 33】

試験試料が患者由来であり、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、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 34】

(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 11 のいずれか一項に記載の結合タンパクを含む少なくとも 1 つの結合タンパク質

を含む、試料中の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 35】

それぞれ $VD1 - (X1)_n - VD2 - C - X2$ を独立して含む、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、

VD1 は、第一の変域ドメインであり、

VD2 は、第二の変域ドメインであり、

C は、定常ドメインであり、

X1 は、リンカーであり、

X2 は、存在するまたは存在しない Fc 領域であり、

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 ドメインが、第一の機能的標的結合部位を形成し、第一および第二のポリペプチド鎖上の VD2 ドメインが、第二の機能的標的結合部位を形成し、結合タンパク質が、IL-1 および IL-17 に結合することができ、

(i) IL-1 について機能的標的結合部位を形成する可変ドメインが、配列番号 32 ~ 41 からなる群から選択される配列を含み、

(i i) IL-17 について機能的標的結合部位を形成する可変ドメインが、配列番号 42 ~ 47 からなる群から選択される配列を含む結合タンパク質。

【請求項 36】

それぞれ $VD1 - (X1)_n - VD2 - C - X2$ を独立して含む、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、

VD1 は、第一の変域ドメインであり、

VD2 は、第二の変域ドメインであり、

C は、定常ドメインであり、

X1 は、リンカーであり、

X2 は、存在するまたは存在しない Fc 領域であり、

n は、0 または 1 であり、

10

20

30

40

50

第一および第二のポリペプチド鎖上のVD1ドメインが、第一の機能的標的結合部位を形成し、第一および第二のポリペプチド鎖上のVD2ドメインが、第二の機能的標的結合部位を形成し、結合タンパク質が、IL-1 およびIL-17に結合することができ、

- (i) IL-1 について機能的標的結合部位を形成する可変ドメインが、
 配列番号32からのCDR1~3と配列番号33からのCDR1~3、
 配列番号34からのCDR1~3と配列番号35からのCDR1~3、
 配列番号36からのCDR1~3と配列番号37からのCDR1~3、
 配列番号38からのCDR1~3と配列番号39からのCDR1~3、もしくは
 配列番号40からのCDR1~3と配列番号41からのCDR1~3、および/または
 (ii) IL-17について機能的標的結合部位を形成する可変ドメインが、
 配列番号42からのCDR1~3と配列番号43からのCDR1~3、
 配列番号44からのCDR1~3と配列番号45からのCDR1~3、もしくは
 配列番号46からのCDR1~3と配列番号47からのCDR1~3

を含む結合タンパク質。

【請求項37】

第一のポリペプチド鎖が、VD1-(X1)n-VD2-C-X2を含み、
 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、リンカーであり、
 X2は、存在するまたは存在しないFc領域であり、
 nは、0または1であり、

第二のポリペプチド鎖が、VD1-(X1)n-VD2-Cを含み、
 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、
 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ドメインが、第一の機能的標的結合部位を形成し、第一および第二のポリペプチド鎖上のVD2ドメインが、第二の機能的標的結合部位を形成する、請求項35または36に記載の結合タンパク質。

【請求項38】

(i) 表面プラズモン共鳴によって測定された場合に、最大約 5.1×10^{-11} Mの K_D でIL-1に結合することができ、もしくはIL-1中和アッセイにおいて測定された場合に、最大約2.563 nMのIC50でIL-1を阻害することができ、および/または

(ii) 表面プラズモン共鳴によって測定された場合に、最大約 4.8×10^{-12} Mの K_D でIL-17に結合することができ、もしくはIL-17中和アッセイにおいて測定された場合に、最大約1.7 nMのIC50でIL-17を阻害することができる、請求項35から37のいずれか一項に記載の結合タンパク質。

【請求項39】

- (i) IL-1 について機能的標的結合部位を形成する可変ドメインが
 (1) 配列番号32および配列番号33、
 (2) 配列番号34および配列番号35、
 (3) 配列番号36および配列番号37、
 (4) 配列番号38および配列番号39、または
 (5) 配列番号40および配列番号41

を含み、

- (ii) IL-17について機能的標的結合部位を形成する可変ドメインが
 (1) 配列番号42および配列番号43、

10

20

30

40

50

(2) 配列番号44および配列番号45、または

(3i) 配列番号46および配列番号47

を含む、請求項35から38のいずれか一項に記載の結合タンパク質。

【請求項40】

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および4つの機能的標的結合部位を含む、請求項35から39のいずれか一項に記載の結合タンパク質。

【請求項41】

X1が配列番号1~31のいずれか1つである、請求項35から40のいずれか一項に記載の結合タンパク質。

【請求項42】

X1が、CH1またはCLではない、請求項35から41のいずれか一項に記載の結合タンパク質。

【請求項43】

Fc領域が、可変配列Fc領域であり、および/またはFc領域が、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgM、IgEもしくはIgD由来のFc領域である、請求項35から42のいずれか一項に記載の結合タンパク質。

【請求項44】

(a)(i) 野生型ヒトIgG1重鎖配列、もしくは

(ii) 1つ以上のアミノ酸変化によって修飾されたヒトIgG1重鎖配列であって、任意選択により、前記変化は定常領域配列のアミノ酸位置234と235で置換を含み、任意選択により、前記変化は234と235位のロイシンのアラニンによる置換を含むヒトIgG重鎖配列

を含む重鎖定常領域、および/または

(b)(i) 野生型ヒトカッパー軽鎖定常領域配列、もしくは

(ii) 野生型ヒトラムダ軽鎖定常領域配列

を含む軽鎖定常領域

を含む、請求項35から43のいずれか一項に記載の結合タンパク質。

【請求項45】

結晶化された結合タンパク質である、請求項35から10のいずれか一項に記載の結合タンパク質。

【請求項46】

(i) IL-1 について機能的標的結合部位を形成する可変ドメインが、配列番号32からのCDR1~3と配列番号33からのCDR1~3を含み、

(ii) IL-17について機能的標的結合部位を形成する可変ドメインが、配列番号44からのCDR1~3と配列番号45からのCDR1~3を含む、

請求項35から45のいずれか一項に記載の結合タンパク質。

【請求項47】

(i) IL-1 について機能的標的結合部位を形成する可変ドメインが、配列番号32と配列番号33を含み、

(ii) IL-17について機能的標的結合部位を形成する可変ドメインが、配列番号44と配列番号45を含む、

請求項46に記載の結合タンパク質。

【請求項48】

1つのポリペプチド鎖上のX1が配列番号29を含み、他のポリペプチド鎖上のX1が配列番号30を含む、請求項46または47に記載の結合タンパク質。

【請求項49】

DVD3415(配列番号98と99を含む第一および第二のポリペプチド鎖を含有する。)を含む、請求項46から48のいずれか一項に記載の結合タンパク質。

【請求項50】

(i) 表面プラズモン共鳴によって測定された場合に、最大約 5.1×10^{-11} Mの

10

20

30

40

50

K_D で IL - 1 に結合することができ、もしくは IL - 1 中和アッセイにおいて測定された場合に、最大約 0.027 nM の IC50 で IL - 1 を阻害することができ、および/または

(ii) 表面プラズモン共鳴によって測定された場合に、最大約 4.8×10^{-12} M の K_D で IL - 17 に結合することができ、もしくは IL - 17 中和アッセイにおいて測定された場合に、最大約 0.091 nM の IC50 で IL - 17 を阻害することができる、請求項 46 から 49 のいずれか一項に記載の結合タンパク質。

【請求項 51】

(i) IL - 1 について機能的標的結合部位を形成する可変ドメインが、配列番号 34 からの CDR1 ~ 3 と配列番号 35 からの CDR1 ~ 3 を含み、

(ii) IL - 17 について機能的標的結合部位を形成する可変ドメインが、配列番号 44 からの CDR1 ~ 3 と配列番号 45 からの CDR1 ~ 3 を含む、請求項 35 から 45 のいずれか一項に記載の結合タンパク質。

【請求項 52】

(i) IL - 1 について機能的標的結合部位を形成する可変ドメインが、配列番号 34 と配列番号 35 を含み、

(ii) IL - 17 について機能的標的結合部位を形成する可変ドメインが、配列番号 44 と配列番号 45 を含む、請求項 51 に記載の結合タンパク質。

【請求項 53】

1つのポリペプチド鎖上の X1 が配列番号 29 を含み、他のポリペプチド鎖上の X1 が配列番号 30 を含む、請求項 51 または 52 に記載の結合タンパク質。

【請求項 54】

DVD3418 (配列番号 104 と 105 を含む第一および第二のポリペプチド鎖を含有する。) を含む、請求項 51 から 53 のいずれか一項に記載の結合タンパク質。

【請求項 55】

(i) 表面プラズモン共鳴によって測定された場合に、最大約 3.4×10^{-11} M の K_D で IL - 1 に結合することができ、もしくは IL - 1 中和アッセイにおいて測定された場合に、最大約 0.018 nM の IC50 で IL - 1 を阻害することができ、および/または

(ii) 表面プラズモン共鳴によって測定された場合に、最大約 4.8×10^{-12} M の K_D で IL - 17 に結合することができ、もしくは IL - 17 中和アッセイにおいて測定された場合に、最大約 0.068 nM の IC50 で IL - 17 を阻害することができる、請求項 51 から 54 のいずれか一項に記載の結合タンパク質。

【請求項 56】

DVD2423 (配列番号 48 と 49 を含む。)、

DVD2424 (配列番号 50 と 51 を含む。)、

DVD2425 (配列番号 52 と 53 を含む。)、

DVD2426 (配列番号 54 と 55 を含む。)、

DVD2427 (配列番号 56 と 57 を含む。)、

DVD2428 (配列番号 58 と 59 を含む。)、

DVD2429 (配列番号 60 と 61 を含む。)、

DVD2430 (配列番号 62 と 63 を含む。)、

DVD2431 (配列番号 64 と 65 を含む。)、

DVD2432 (配列番号 66 と 67 を含む。)、

DVD2433 (配列番号 68 と 69 を含む。)、

DVD2434 (配列番号 70 と 71 を含む。)、

DVD2435 (配列番号 72 と 73 を含む。)、

DVD2436 (配列番号 74 と 75 を含む。)、

DVD2437 (配列番号 76 と 77 を含む。)、

DVD2438 (配列番号 78 と 79 を含む。)、

10

20

30

40

50

DVD 2 4 3 9 (配列番号 8 0 と 8 1 を含む。)、
 DVD 2 4 4 0 (配列番号 8 2 と 8 3 を含む。)、
 DVD 2 4 4 1 (配列番号 8 4 と 8 5 を含む。)、
 DVD 2 4 4 2 (配列番号 8 6 と 8 7 を含む。)、
 DVD 3 4 1 0 (配列番号 8 8 と 8 9 を含む。)、
 DVD 3 4 1 1 (配列番号 9 0 と 9 1 を含む。)、
 DVD 3 4 1 2 (配列番号 9 2 と 9 3 を含む。)、
 DVD 3 4 1 3 (配列番号 9 4 と 9 5 を含む。)、
 DVD 3 4 1 4 (配列番号 9 6 と 9 7 を含む。)、
 DVD 3 4 1 5 (配列番号 9 8 と 9 9 を含む。)、
 DVD 3 4 1 6 (配列番号 1 0 0 と 1 0 1 を含む。)、
 DVD 3 4 1 7 (配列番号 1 0 2 と 1 0 3 を含む。)、
 DVD 3 4 1 8 (配列番号 1 0 4 と 1 0 5 を含む。)、
 DVD 3 4 1 9 (配列番号 1 0 6 と 1 0 7 を含む。)、
 DVD 3 4 2 0 (配列番号 1 0 8 と 1 0 9 を含む。)、
 DVD 3 4 2 1 (配列番号 1 1 0 と 1 1 1 を含む。)、
 DVD 3 4 2 2 (配列番号 1 1 2 と 1 1 3 を含む。)、
 DVD 3 4 2 3 (配列番号 1 1 4 と 1 1 5 を含む。)、
 DVD 3 4 2 4 (配列番号 1 1 6 と 1 1 7 を含む。)、および
 DVD 3 4 2 5 (配列番号 1 1 8 と 1 1 9 を含む。)
 のいずれか 1 つを含む、IL - 1 および IL - 1 7 に結合することができる結合タンパク質。

【請求項 5 7】

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、請求項 3 5 から 5 6 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コンジュゲート。

【請求項 5 8】

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 5 7 に記載の結合タンパク質コンジュゲート。

【請求項 5 9】

放射性標識が、 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{31}I 、 ^{177}Lu 、 ^{166}Ho または ^{153}Sm である、請求項 5 8 に記載の結合タンパク質コンジュゲート。

【請求項 6 0】

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 5 7 に記載の結合タンパク質コンジュゲート。

【請求項 6 1】

請求項 3 5 から 5 6 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 6 2】

請求項 6 1 に記載の単離された核酸を含むベクター。

【請求項 6 3】

p c D N A、p T T、p T T 3、p E F B O S、p B V、p J V、p c D N A 3 . 1 T O P O、p E F 6、p H y b E、T O P Oまたはp B Jを含む、請求項 6 2 に記載のベクター。

【請求項 6 4】

請求項 6 2 または 6 3 に記載のベクターを含む宿主細胞。

【請求項 6 5】

原核細胞、大腸菌、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、S f 9 細胞、哺乳動物細胞、鳥類細胞、昆虫細胞、C H O 細胞またはC O S 細胞であ

る、請求項 6 4 に記載の宿主細胞。

【請求項 6 6】

結合タンパク質を産生するのに十分な条件下で、請求項 6 4 または 6 5 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 6 7】

請求項 3 5 から 5 6 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 6 8】

少なくとも 1 つの追加の治療剤をさらに含む、請求項 6 7 に記載の医薬組成物。

【請求項 6 9】

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、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、イムノグロブリン、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、ベータアゴニスト、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 6 8 に記載の医薬組成物。

【請求項 7 0】

請求項 3 5 から 5 6 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疾患または障害について対象を治療する方法。

【請求項 7 1】

障害が、関節リウマチ、変形性関節症、若年性慢性関節炎、敗血症性関節炎、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、インスリン依存性糖尿病、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、パセドウ病、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、ハンチントン舞蹈病、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ガンマグロブリン血症)、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

10

20

30

40

50

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型インスリン抵抗性、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（choleostasis）、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（疼痛の異なる形態）、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（atrial）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、アルファ-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（antireceptor hypersensitivity reactions）、大動脈（aortic）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、パーキットリンパ腫、火傷、心不整脈、心機能不全症候群（cardiac stunned 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、無秩序なまたは多業性心房頻脈、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-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-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）、致命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、ハラールホルデン・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

10

20

30

40

50

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 (lymphedema)、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 (meningococciemia)、代謝性 / 特発性、偏頭痛、ミトコンドリア多系疾患 (mitochondrial multisystem 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・チューバキュロシス、骨髄形成異常、真菌虚血疾患、上咽頭癌、10
 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、okt 3 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、単クローン性ガンマ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)、20
 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、老年性舞蹈病、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 arrhythmias)、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、30
 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 (viral 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、頸部脊椎症、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40
 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 (PV 50

D)、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、原発性パーキンソンニズム、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、トキソプラズマ性網膜炎、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70に記載の方法。

10

【請求項72】

障害が、自己免疫疾患、喘息、関節リウマチ、変形性関節症、全身性エリテマトーデス(SLE)、多発性硬化症、敗血症、神経変性疾患または腫瘍性障害である、請求項70または71に記載の方法。

【請求項73】

結合タンパク質が、非経口、皮下、筋肉内、静脈内、関節内、気管支内、腹内、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、心臓周囲内、腹腔内、胸膜内、前立腺内、肺内、直腸内、腎臓内、網膜内、脊髄内、滑膜内、胸腔内、子宮内、膀胱内、ポラス、膈、直腸、口内、舌下、鼻内または経皮投与用に製剤化される、請求項70から72のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項74】

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、量または濃度を検出する方法であって、

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ことを含み、

少なくとも1つの結合タンパク質は、請求項35から56のいずれか一項に記載の結合タンパク質を含む、方法。

30

【請求項75】

(i)試験試料を少なくとも1つの結合タンパク質と接触させること、ここで、結合タンパク質は、標的またはその断片上のエピトープに結合して、第一の複合体を形成する、

(ii)複合体を、少なくとも1つの検出可能な標識と接触させること、ここで、検出可能な標識は、結合タンパク質に結合するか、または結合タンパク質が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して、第二の複合体を形成する、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こと、ここで、標的またはその断片の存在、量または濃度は、検出可能な標識によって発生したシグナルと直接的に相関する、

40

をさらに含む、請求項74に記載の方法。

【請求項76】

(i)試験試料を、少なくとも1つの結合タンパク質と接触させること、ここで、結合タンパク質は、標的またはその断片上のエピトープに結合して、第一の複合体を形成する、

(ii)複合体を、少なくとも1つの検出可能な標識を接触させること、ここで、検出可能な標識は、結合タンパク質に結合する標的もしくはその断片と競合して、第二の複合体を形成する、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

50

、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こと、ここで、標的またはその断片の存在、量または濃度は、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、

をさらに含む、請求項 7 4 に記載の方法。

【請求項 7 7】

(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 3 5 から 5 6 のいずれか一項に記載の結合タンパクを含む少なくとも 1 つの結合タンパク質を含む、試料中の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 7 8】

疾患または障害を治療するための医薬の製造における請求項 3 5 から 6 0 のいずれか一項に記載の結合タンパク質の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本出願は、2013年3月15日に提出した米国仮特許出願第61/799,700号の優先権を主張し、この出願はその全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0002】

IL-1 および/またはIL-17に結合する多価および多重特異的結合タンパク質、作製方法、ならびに急性および慢性炎症性疾患、癌および他の疾患の診断、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できる多重特異的結合タンパク質などの工学的に作製されたタンパク質が、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換えDNA技術を用いて作製することが可能である。当該技術分野において公知の多重特異的結合タンパク質の構造は様々に存在し、多数の構造および方法には明らかな不利益がある。

【0004】

二特異的抗体は、クアドローマ技術を用いて作製されてきた。しかしながら、この技術におけ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。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。しかしながら、このアプローチは、均一な調製を与えない。

【0005】

以前に使用された他のアプローチは、ヘテロ-二官能性クロスリンカーを有する2つの親抗体のカップリング、タンデムな一本鎖Fv分子、ダイアボディ、二特異的ダイアボディ、一本鎖ダイアボディおよびジ-ダイアボディの製造を含む。しかしながら、これらのアプローチのそれぞれは不利益を有する。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できる多価の抗体構築物が記載されている (PCT公開WO0177342およびMiller et al. (2003) J. Immunol. 170(9):4854-61参照)。

【0006】

米国特許第7,612,181号(その全体が参照により本明細書に組み込まれている。)は、二重可変ドメイン結合タンパク質(DVD-Ig結合タンパク質)また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、高親和性を有する2つ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なファミリーを提供する。DVD-Ig分子は、同じ分子または同時に2つの異なる分子上の2つの異なるエピトープに結合するために使用され得る結合タンパク質である。DVD-Ig分子は、N末端定常領域に融合した2つの可変ドメインで構成された固有の結合タンパク質である。可変ドメイ

10

20

30

40

50

ンは、互いに直接融合されてもよく、または各種の長さおよびアミノ酸組成を有する合成ペプチドリンカーを介して直接接続されてもよい。DVD-Ig結合タンパク質は、完全であり、機能的なFcドメインを用いて遺伝子操作され得て、適切なエフェクター機能を媒介することができる。DVD-Igフォーマットは、可変ドメイン対の選択の柔軟性、2つの抗原結合ドメインの配向およびこれらを連結するリンカーの長さに起因して、新たな治療法を提供することができる。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0007】

【特許文献1】国際公開第2001/077342号

【特許文献2】米国特許第7,612,181号明細書

【非特許文献】

【0008】

【非特許文献1】Miller 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】

【0009】

(発明の要旨)

種々の構造が当該技術分野において提供され、いくつかは利点と欠点を有するが、特定の構築物は、特定の標的に結合する特定の特性を有する多価結合タンパク質を調製するために必要とされる。さらに、新しい可変ドメイン配列は、結合タンパク質の特性をさらに改善することができる。例えば、自己免疫、炎症または神経障害を予防、診断および/または治療するために、IL-1ベータおよび/またはIL-17に対する良好なターゲティングおよび/またはそれらに対する結合の所望の有効性を示す構築物がなお必要とされる。したがって、IL-1 および/またはIL-17に結合することができる改善された多価結合タンパク質、および/またはIL-1 および/またはIL-17を中和することができる改善された多価結合タンパク質が当該技術分野において必要とされる。

【課題を解決するための手段】

【0010】

したがって、本明細書に、米国特許第7,612,181号(その全体が参照により本明細書に組み込まれている。)に開示されている結合タンパク質フレームワークを用い、特定の第一および第二のポリペプチド鎖を含有する二重可変ドメイン免疫グロブリンが開示され、第一および第二のポリペプチド鎖のそれぞれは、IL-1ベータおよび/またはIL-17などの標的に結合するための機能的結合部位を形成する配列(例えば、表1に列挙された配列から選択される配列)を含む第一および第二の可変ドメインを含む。いくつかの実施形態において、結合タンパク質の第一および第二のポリペプチド鎖はそれぞれ、VD1-(X1)n-VD2-C-X2を独立して含み、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、リンカーであり;X2は、存在するまたは存在しないFc領域であり;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、IL-1 またはIL-17について第一の機能的標的結合部位を形成し、第一および第二のポリペプチド鎖上のVD2ドメインは、IL-1 またはIL-17について第二の機能的標的結合部位を形成する。いくつかの実施形態において、Fcドメインは、1つのポリペプチド鎖上に存在し、他のポリペプチド鎖上には存在しない、または両方のポリペプチド鎖上に存在しない。いくつかの実施形態において、それぞれのポリペプチド鎖上の第一および第二の可変ドメインの配列(すなわち、VD1およびVD2)は、表1中の配列から選択され、機能的結合部位を形成する。いくつかの実施形態において、第一および第二の可変ドメインの配列はそれぞれ、表1に列挙された選択された配列から3つのCDR(すなわち、CDR1~3)を含有し、表1に示されるのと同じ順番で整列され、それによって、機能的結合

10

20

30

40

50

部位を形成する（すなわち、結合ドメインはそれらの標的抗原であるIL-1 またはIL-17に結合することができる。）。いくつかの実施形態において、第一および第二のポリペプチド鎖上の対形成した可変ドメイン配列（すなわち、第二の鎖上のVD1配列と対形成した第一の鎖上のVD1配列と第二の鎖上のVD2配列と対形成した第一の鎖上のVD2配列）は、標的IL-1ベータおよび/またはIL-17に結合するための機能的結合部位を形成する。いくつかの実施形態において、結合タンパク質は、IL-1ベータおよび/またはIL-17に結合することができ、改善された結合親和性および/または中和効力を有する。

【図面の簡単な説明】

【0011】

10

【図1】二重可変ドメイン(DVD)結合タンパク質構築物の模式図を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0012】

IL-1スーパーファミリーは、発熱、プロスタグランジン合成（例えば、線維芽細胞、筋肉細胞および内皮細胞における）、Tリンパ球活性化およびインターロイキン-2産生を含む、幅広い生物学的効果および生理学的効果を有する炎症性プロセスのメディエーターで構成される。IL-1スーパーファミリーの元のメンバーは、IL-1、IL-1およびIL-1受容体アンタゴニスト(IL-1Ra、IL-1RA、IL-1ra、IL-1R)である。IL-1およびIL-1は、感染に対する免疫防御に参与している炎症誘発性サイトカインである。IL-1とIL-1はともに、マクロファージ、単球および樹状細胞によって産生される。これらのサイトカインは、内皮細胞上の接着因子の発現を増大させ、感染部位への白血球の遊出および視床下部体温調節中枢の再設定を可能にし、発熱としてそれ自体現れる体温の上昇につながる。したがって、IL-1は、内因性発熱物質と呼ばれることが多い。IL-1はまた、造血発生の調節においても重要である。末梢組織におけるIL-1産生はまた、発熱を伴う痛覚過敏症（疼痛に対する感受性の増大）と関連している(Morganら、(2004)Brain Res.、1022(1-2):96-100)。IL-1は、疼痛を伴うシクロオキシゲナーゼ-2(COX-2)の発現を上方制御する。IL-1およびIL-1はまた、発熱の誘導、徐波睡眠、および好中球、TおよびBリンパ球の活性化、線維芽細胞増殖、ある種の細胞に対する細胞毒性、コラゲナーゼの誘導、肝急性期タンパク質の合成、およびコロニー刺激因子およびコラーゲン産生の増加を含む類似した生物学的特性を有する。

20

30

【0013】

インターロイキン17(IL-17、IL-17Aとも称する。)は、炎症部位で活性化T細胞によって分泌される20~30kDのホモ二量体糖タンパク質である。IL-17は、炎症部位への単球および好中球を動員するために様々な組織内で複数の接着分子、炎症性サイトカインおよびケモカインの産生を誘導することによって炎症誘発性サイトカインとして作用する。IL-17はまた、造血前駆細胞の成熟に重要な役割を果たす。IL-17の不適切なまたは過剰な産生は、関節リウマチ、喘息、狼瘡、同種移植片拒絶反応、他の炎症性または自己免疫性疾患および癌を含む様々な疾患または障害の病態と関連付けられる。

40

【0014】

本明細書において、IL-1および/またはIL-17に対する改善された結合タンパク質が開示されている。

【0015】

結合タンパク質

いくつかの実施形態において、それぞれVD1-(X1)n-VD2-C-X2を独立して含む、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が開示され、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、リンカーであり；X2は、存在するまたは存在しないFc領域であり；nは、第一および第二の鎖上で独立して0または1であり、第一および第二のポリペプ

50

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、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。いくつかの実施形態において、結合タンパク質は、IL-1 および/またはIL-17に結合することができる。いくつかの実施形態において、結合タンパク質は、一緒になって、IL-1 およびIL-17から選択される標的に結合することができる結合ドメインを形成する第一および第二のポリペプチド鎖（すなわち、第二の鎖上のVD1配列と対形成した第一の鎖上のVD1配列）を含む。いくつかの実施形態において、結合タンパク質は、VD1とVD2位置の両方でIL-1 に結合することができる。いくつかの実施形態において、結合タンパク質は、VD1とVD2位置の両方でIL-17に結合することができる。いくつかの実施形態において、結合タンパク質は、VD1位置でIL-1 に結合し、VD2位置でIL-17に結合することができる。いくつかの実施形態において、結合タンパク質、VD1位置でIL-17に結合することができ、VD2位置でIL-1 に結合することができる。

10

【0016】

本明細書に開示されている結合タンパク質は、第一および第二の標的抗原に結合することができるVD1およびVD2結合ドメインを含む。本明細書において使用するとき、VD1ドメインもしくはVD2ドメイン、またはVD1位置もしくはVD2位置は、1つのポリペプチド鎖上の可変ドメイン配列（例えば、VD1重鎖配列）または一緒になって機能的結合部位を形成する第一および第二のポリペプチド鎖上の可変ドメイン配列（例えば、VD1重鎖配列およびVD1軽鎖配列）のいずれかを意味してもよい。

20

【0017】

いくつかの実施形態において、VD1結合部位を形成するVD1配列は、表1中の対形成した配列（例えば、一緒になってIL-1 について結合部位を形成する表1中の配列番号32と33の対形成した配列）から選択される。いくつかの実施形態において、VD2結合部位を形成するVD2配列は、表1中の対形成した配列（例えば、一緒になってIL-1 について結合部位を形成する表1中の配列番号32と33の対形成した配列）から選択される。いくつかの実施形態において、VD1および/またはVD2配列は、表1から選択される配列のCDR1~3を含むが、異なる可変ドメインフレームワーク配列（例えば、CDR移植され、親和性成熟され、ヒト化され、ヒト化および復帰変異された可変ドメイン、または表1に開示された配列の他の機能的改変体）を有する。

30

【0018】

表1中の可変ドメインのCDR配列に下線を付す。それに関連して、配列番号32について、CDR1配列は、アミノ酸位置31~35で見出すことができ、CDR2配列は、アミノ酸位置50~66で見出すことができ、CDR3配列は、アミノ酸位置99~108で見出すことができる。配列番号33について、CDR1配列は、アミノ酸位置24~34で見出すことができ、CDR2配列は、アミノ酸位置50~56で見出すことができ、CDR3配列は、アミノ酸位置89~97で見出すことができる。配列番号34について、CDR1配列は、アミノ酸位置31~35で見出すことができ、CDR2配列は、アミノ酸位置50~66で見出すことができ、CDR3配列は、アミノ酸位置98~108で見出すことができる。配列番号35について、CDR1配列は、アミノ酸位置24~34で見出すことができ、CDR2配列は、アミノ酸位置50~56で見出すことができ、CDR3配列は、アミノ酸位置89~97で見出すことができる。配列番号36について、CDR1配列は、アミノ酸位置31~35で見出すことができ、CDR2配列は、アミノ酸位置50~65で見出すことができ、CDR3配列は、アミノ酸位置98~111で見出すことができる。配列番号37について、CDR1配列は、アミノ酸位置24~34で見出すことができ、CDR2配列は、アミノ酸位置50~56で見出すことができ、CDR3配列は、アミノ酸位置89~97で見出すことができる。配列番号38について、CDR1配列は、アミノ酸位置31~35で見出すことができ、CDR2配列は、アミノ酸位置50~65で見出すことができ、CDR3配列は、アミノ酸位置98~111で見出すことができる。配列番号39について、CDR1配列は、アミノ酸位置24~34で

40

50

見出すことができ、CDR2配列は、アミノ酸位置50～56で見出すことができ、CDR3配列は、アミノ酸位置89～97で見出すことができる。配列番号40について、CDR1配列は、アミノ酸位置31～35で見出すことができ、CDR2配列は、アミノ酸位置50～65で見出すことができ、CDR3配列は、アミノ酸位置98～111で見出すことができる。配列番号41について、CDR1配列は、アミノ酸位置24～34で見出すことができ、CDR2配列は、アミノ酸位置50～56で見出すことができ、CDR3配列は、アミノ酸位置89～97で見出すことができる。配列番号42について、CDR1配列は、アミノ酸位置31～35で見出すことができ、CDR2配列は、アミノ酸位置50～66で見出すことができ、CDR3配列は、アミノ酸位置99～110で見出すことができる。配列番号43について、CDR1配列は、アミノ酸位置24～34で見出すことができ、CDR2配列は、アミノ酸位置50～56で見出すことができ、CDR3配列は、アミノ酸位置89～97で見出すことができる。配列番号44について、CDR1配列は、アミノ酸位置31～35で見出すことができ、CDR2配列は、アミノ酸位置50～66で見出すことができ、CDR3配列は、アミノ酸位置99～115で見出すことができる。配列番号45について、CDR1配列は、アミノ酸位置24～34で見出すことができ、CDR2配列は、アミノ酸位置50～56で見出すことができ、CDR3配列は、アミノ酸位置89～97で見出すことができる。配列番号46について、CDR1配列は、アミノ酸位置31～35で見出すことができ、CDR2配列は、アミノ酸位置50～66で見出すことができ、CDR3配列は、アミノ酸位置99～115で見出すことができる。配列番号47について、CDR1配列は、アミノ酸位置24～34で見出すことができ、CDR2配列は、アミノ酸位置50～56で見出すことができ、CDR3配列は、アミノ酸位置89～97で見出すことができる。

10

20

【0019】

結合タンパク質が表1から選択される配列からのCDRを含む場合、CDRは、表1中の配列によって特定される順番で整列され、機能的結合部位を形成するために適切なフレームワーク配列によって分けられる。標的についての機能的結合部位(すなわち、IL-1またはIL-17についての結合部位)を形成する、表1から選択される対形成した配列またはこれらの配列からのCDRは、VD1またはVD2ドメインのいずれかで結合部位を形成するために、第一および第二のポリペプチド鎖上のVD1またはVD2位置のいずれかにおいて配置されてもよい。例えば、IL-1について結合部位を形成する、表1からの合致する重鎖および軽鎖可変ドメイン配列(例えば、配列番号34と35)は、IL-1についてのVD1結合部位を形成するために第一および第二のポリペプチド鎖上のVD1位置において配置され得る。別の例において、IL-1について結合部位を形成する、表1からの合致する重鎖および軽鎖配列(例えば、配列番号34と35)は、IL-1についてのVD2結合部位を形成するために第一および第二のポリペプチド鎖上のVD2位置において配置され得る。同じまたは異なる配列は、VD1とVD2の両方の位置を占めてもよい。例えば、配列番号34と35は、VD1位置およびVD2位置で結合ドメインを形成するために使用され得て、配列番号34と35は、VD1およびVD2位置の1つで結合ドメインを形成してもよく、一方、異なる配列対は、他の位置で結合ドメインを形成するために選択され得る。同様に、表1中の他の配列対のいずれかは、第一および第二のポリペプチド鎖上のVD1およびVD2位置のいずれかまたはそれらの両方における使用のために選択されてもよい。

30

40

【0020】

いくつかの実施形態において、結合タンパク質において(すなわち、VD1および/またはVD2位置で)IL-1についての機能的標的結合部位を形成する第一および第二のポリペプチド鎖上の可変ドメイン配列は、表1中の配列から選択される対形成した可変ドメイン配列またはこれらの配列からのCDR1～3を含むことができる。例えば、IL-1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32と配列番号33、配列番号34と配列番号35、配列番号36と配列番号37、配列番号38と配列番号39もしくは配列番号40と配列番号41またはこれらの対形成した可変ドメイン配

50

列からのCDR1～3を含むことができる。例えば、IL-1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、他の鎖上の配列番号33からのCDR1～3（すなわち、この配列からのアミノ酸24-34、50-56および89-97）と対形成した1つのポリペプチド鎖の配列番号32からのCDR1～3（すなわち、この配列からのアミノ酸31-35、50-66および99-108）を含むことができる。

【0021】

いくつかの実施形態において、結合タンパク質において（すなわち、VD1またはVD2位置で）IL-17についての機能的標的結合部位を形成する第一および第二のポリペプチド鎖上の可変ドメイン配列は、表1中の配列から選択される対形成した重鎖および軽鎖可変ドメイン配列またはこれらの選択された配列からのCDR1～3を含むことができる。例えば、IL-17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と配列番号43、配列番号44と配列番号45もしくは配列番号46と配列番号47またはこれらの選択された可変ドメイン配列からのCDR1～3を含むことができる。例えば、IL-17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、他の鎖上の配列番号43からのCDR1～3（すなわち、この配列からのアミノ酸24-34、50-56および89-97）と対形成した1つのポリペプチド鎖の配列番号42からのCDR1～3（すなわち、この配列からのアミノ酸31～35、50～66および99～110）を含むことができる。

10

【0022】

特定の実施形態において、IL-1ベータについて（すなわち、VD1またはVD2位置で）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CDR1～3と配列番号35からのCDR1～3（すなわち、VD1またはVD2位置で1つのポリペプチド鎖上に存在する配列番号34からのCDR1～3であって、同位置で他の鎖上の配列番号35からのCDR1～3と対形成され、それぞれの鎖上のCDRは、特定の順番で整列され、機能的結合部位を形成するための適切なフレームワーク配列によって分離されている。）を含む。一実施形態において、IL-17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44からのCDR1～3と配列番号45からのCDR1～3（すなわち、VD1またはVD2位置で1つのポリペプチド鎖上に存在する配列番号44からのCDR1～3であって、同位置で他の鎖上の配列番号45からのCDR1～3と対形成され、それぞれの鎖上のCDRは、特定の順番で整列され、機能的結合部位を形成するための適切なフレームワーク配列によって分離されている。）を含む。一実施形態において、結合タンパク質は、配列番号34からのCDR1～3と配列番号35からのCDR1～3を含むIL-1ベータについての機能的標的結合部位、および配列番号44からのCDR1～3と配列番号45からのCDR1～3を含むIL-17についての機能的標的結合部位を含む。一実施形態において、結合タンパク質は、配列番号34と配列番号35を含むIL-1ベータについての機能的標的結合部位（すなわち、VD1またはVD2結合ドメインのいずれか）および配列番号44と配列番号45を含むIL-17についての機能的標的結合部位（すなわち、VD2またはVD1結合ドメインのいずれか）を含む。一実施形態において、第一のポリペプチド鎖上のX1リンカーは配列番号29を含み、第二のポリペプチド鎖上のX1リンカーは配列番号30を含む。一実施形態において、結合タンパク質は、配列番号104を含む第一のポリペプチド鎖と配列番号105を含む第二のポリペプチド鎖を含む。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最大約 3.4×10^{-11} Mの K_D でIL-1に結合することができ、および/もしくはIL-1中和アッセイにおいて測定された場合に最大約0.018 nMのIC50でIL-1を阻害することができ、ならびに/または結合タンパク質は、表面プラズモン共鳴によって測定された場合に最大約 4.8×10^{-12} Mの K_D でIL-17に結合することができ、および/もしくはIL-17中和アッセイにおいて測定された場合に最大約0.068 nMのIC50でIL-17を阻害することができる。

20

30

40

【0023】

50

特定の実施形態において、IL-1ベータについて（すなわち、VD1またはVD2位置で）機能的標的結合部位を形成する可変ドメインが、配列番号32からのCDR1~3と配列番号33からのCDR1~3（すなわち、VD1またはVD2位置で1つのポリペプチド鎖上に存在する配列番号32からのCDR1~3であって、同位置で他の鎖上の配列番号33からのCDR1~3と対形成し、それぞれの鎖上のCDRは、特定の順番で整列され、機能的結合部位を形成するための適切なフレームワーク配列によって分離されている。）を含む結合タンパク質が開示される。一実施形態において、IL-17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44からのCDR1~3と配列番号45からのCDR1~3（すなわち、VD1またはVD2位置で1つのポリペプチド鎖上に存在する配列番号44からのCDR1~3であって、同位置で他の鎖上の配列番号45からのCDR1~3と対形成し、それぞれの鎖上のCDRは、特定の順番で整列され、機能的結合部位を形成するための適切なフレームワーク配列によって分離されている。）を含む。一実施形態において、結合タンパク質は、配列番号32からのCDR1~3と配列番号33からのCDR1~3を含むIL-1ベータについて機能的標的結合部位、および配列番号44からのCDR1~3と配列番号45からのCDR1~3を含むIL-17について機能的標的結合部位を含む。一実施形態において、結合タンパク質は、配列番号32と配列番号33を含むIL-1ベータについて機能的標的結合部位（すなわち、VD1またはVD2結合ドメインのいずれか）、および配列番号44と配列番号45を含むIL-17について機能的標的結合部位（すなわち、VD2またはVD1結合ドメイン）を含む。一実施形態において、第一のポリペプチド鎖上のX1リンカーは配列番号29を含み、第二のポリペプチド鎖上のX1リンカーは配列番号30を含む。一実施形態において、結合タンパク質は、配列番号98を含む第一のポリペプチド鎖、および配列番号99を含む第二のポリペプチド鎖を含む。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最大約 5.1×10^{-11} Mの K_D でIL-1に結合することができ、および/もしくはIL-1中和アッセイにおいて測定された場合に最大約0.027 nMのIC50でIL-1を阻害することができ、ならびに/または結合タンパク質は、表面プラズモン共鳴によって測定された場合に最大約 4.8×10^{-12} Mの K_D でIL-17に結合することができ、および/もしくはIL-17中和アッセイにおいて測定された場合に最大約0.091 nMのIC50でIL-17を阻害することができる。

【0024】

一実施形態において、結合タンパク質は、配列番号32からのCDR1~3と配列番号33からのCDR1~3を含むIL-1ベータについて機能的標的結合部位、および配列番号42からのCDR1~3と配列番号43からのCDR1~3を含むIL-17について機能的標的結合部位を含む。一実施形態において、結合タンパク質は、配列番号32と配列番号33を含むIL-1ベータについて機能的標的結合部位（すなわち、VD1またはVD2結合ドメインのいずれか）、および配列番号42と配列番号43を含むIL-17について機能的標的結合部位（すなわち、VD2またはVD1結合ドメイン）を含む。

【0025】

一実施形態において、結合タンパク質は、配列番号34からのCDR1~3と配列番号35からのCDR1~3を含むIL-1ベータについて機能的標的結合部位、および配列番号42からのCDR1~3と配列番号43からのCDR1~3を含むIL-17について機能的標的結合部位を含む。一実施形態において、結合タンパク質は、配列番号34と配列番号35を含むIL-1ベータについて機能的標的結合部位（すなわち、VD1またはVD2結合ドメインのいずれか）、および配列番号42と配列番号43を含むIL-17について機能的標的結合部位（すなわち、VD2またはVD1結合ドメイン）を含む。

【0026】

一実施形態において、結合タンパク質は、配列番号36からのCDR1~3と配列番号37からのCDR1~3を含むIL-1ベータについて機能的標的結合部位、および配列番号42からのCDR1~3と配列番号43からのCDR1~3を含むIL-17につい

10

20

30

40

50

て機能的標的結合部位を含む。一実施形態において、結合タンパク質は、配列番号36と配列番号37を含むIL-1ベータについて機能的標的結合部位（すなわち、VD1またはVD2結合ドメインのいずれか）、および配列番号42と配列番号43を含むIL-17について機能的標的結合部位（すなわち、VD2またはVD1結合ドメイン）を含む。

【0027】

一実施形態において、結合タンパク質は、配列番号38からのCDR1~3と配列番号39からのCDR1~3を含むIL-1ベータについて機能的標的結合部位、および配列番号42からのCDR1~3と配列番号43からのCDR1~3を含むIL-17について機能的標的結合部位を含む。一実施形態において、結合タンパク質は、配列番号38と配列番号39を含むIL-1ベータについて機能的標的結合部位（すなわち、VD1またはVD2結合ドメインのいずれか）、および配列番号42と配列番号43を含むIL-17について機能的標的結合部位（すなわち、VD2またはVD1結合ドメイン）を含む。

10

【0028】

一実施形態において、結合タンパク質は、配列番号40からのCDR1~3と配列番号41からのCDR1~3を含むIL-1ベータについて機能的標的結合部位、および配列番号42からのCDR1~3と配列番号43からのCDR1~3を含むIL-17について機能的標的結合部位を含む。一実施形態において、結合タンパク質は、配列番号40と配列番号41を含むIL-1ベータについて機能的標的結合部位（すなわち、VD1またはVD2結合ドメインのいずれか）、および配列番号42と配列番号43を含むIL-17について機能的標的結合部位（すなわち、VD2またはVD1結合ドメイン）を含む。

20

【0029】

一実施形態において、結合タンパク質は、配列番号36からのCDR1~3と配列番号37からのCDR1~3を含むIL-1ベータについて機能的標的結合部位、および配列番号44からのCDR1~3と配列番号45からのCDR1~3を含むIL-17について機能的標的結合部位を含む。一実施形態において、結合タンパク質は、配列番号36と配列番号37を含むIL-1ベータについて機能的標的結合部位（すなわち、VD1またはVD2結合ドメインのいずれか）、および配列番号44と配列番号45を含むIL-17について機能的標的結合部位（すなわち、VD2またはVD1結合ドメイン）を含む。

【0030】

一実施形態において、結合タンパク質は、配列番号38からのCDR1~3と配列番号39からのCDR1~3を含むIL-1ベータについて機能的標的結合部位、および配列番号44からのCDR1~3と配列番号45からのCDR1~3を含むIL-17について機能的標的結合部位を含む。一実施形態において、結合タンパク質は、配列番号38と配列番号39を含むIL-1ベータについて機能的標的結合部位（すなわち、VD1またはVD2結合ドメインのいずれか）、および配列番号44と配列番号45を含むIL-17について機能的標的結合部位（すなわち、VD2またはVD1結合ドメイン）を含む。

30

【0031】

一実施形態において、結合タンパク質は、配列番号40からのCDR1~3と配列番号41からのCDR1~3を含むIL-1ベータについて機能的標的結合部位、および配列番号44からのCDR1~3と配列番号45からのCDR1~3を含むIL-17について機能的標的結合部位を含む。一実施形態において、結合タンパク質は、配列番号40と配列番号41を含むIL-1ベータについて機能的標的結合部位（すなわち、VD1またはVD2結合ドメインのいずれか）、および配列番号44と配列番号45を含むIL-17について機能的標的結合部位（すなわち、VD2またはVD1結合ドメイン）を含む。

40

【0032】

一実施形態において、結合タンパク質は、配列番号32からのCDR1~3と配列番号33からのCDR1~3を含むIL-1ベータについて機能的標的結合部位、および配列番号46からのCDR1~3と配列番号47からのCDR1~3を含むIL-17について機能的標的結合部位を含む。一実施形態において、結合タンパク質は、配列番号32と配列番号33を含むIL-1ベータについて機能的標的結合部位（すなわち、VD1また

50

はVD2結合ドメインのいずれか)、および配列番号46と配列番号47を含むIL-17について機能的標的結合部位(すなわち、VD2またはVD1結合ドメイン)を含む。

【0033】

一実施形態において、結合タンパク質は、配列番号34からのCDR1~3と配列番号35からのCDR1~3を含むIL-1ベータについて機能的標的結合部位、および配列番号46からのCDR1~3と配列番号47からのCDR1~3を含むIL-17について機能的標的結合部位を含む。一実施形態において、結合タンパク質は、配列番号34と配列番号35を含むIL-1ベータについて機能的標的結合部位(すなわち、VD1またはVD2結合ドメインのいずれか)、および配列番号46と配列番号47を含むIL-17について機能的標的結合部位(すなわち、VD2またはVD1結合ドメイン)を含む。

10

【0034】

一実施形態において、結合タンパク質は、配列番号36からのCDR1~3と配列番号37からのCDR1~3を含むIL-1ベータについて機能的標的結合部位、および配列番号46からのCDR1~3と配列番号47からのCDR1~3を含むIL-17について機能的標的結合部位を含む。一実施形態において、結合タンパク質は、配列番号36と配列番号37を含むIL-1ベータについて機能的標的結合部位(すなわち、VD1またはVD2結合ドメインのいずれか)、および配列番号46と配列番号47を含むIL-17について機能的標的結合部位(すなわち、VD2またはVD1結合ドメイン)を含む。

【0035】

一実施形態において、結合タンパク質は、配列番号38からのCDR1~3と配列番号39からのCDR1~3を含むIL-1ベータについて機能的標的結合部位、および配列番号46からのCDR1~3と配列番号47からのCDR1~3を含むIL-17について機能的標的結合部位を含む。一実施形態において、結合タンパク質は、配列番号38と配列番号39を含むIL-1ベータについて機能的標的結合部位(すなわち、VD1またはVD2結合ドメインのいずれか)、および配列番号46と配列番号47を含むIL-17について機能的標的結合部位(すなわち、VD2またはVD1結合ドメイン)を含む。

20

【0036】

一実施形態において、結合タンパク質は、配列番号40からのCDR1~3と配列番号41からのCDR1~3を含むIL-1ベータについて機能的標的結合部位、および配列番号46からのCDR1~3と配列番号47からのCDR1~3を含むIL-17について機能的標的結合部位を含む。一実施形態において、結合タンパク質は、配列番号40と配列番号41を含むIL-1ベータについて機能的標的結合部位(すなわち、VD1またはVD2結合ドメインのいずれか)、および配列番号46と配列番号47を含むIL-17について機能的標的結合部位(すなわち、VD2またはVD1結合ドメイン)を含む。

30

【0037】

いくつかの実施形態において、上記される結合タンパク質は、第一および第二のポリペプチド鎖のそれぞれにあるX1リンカー、および2つの鎖の1つにあるX2Fc領域を含む。X1リンカーは、それぞれの鎖上に独立して存在するまたは存在しない(すなわち、nは、それぞれの鎖に0または1から独立して選択される。)。第一および第二のポリペプチド鎖上のX1リンカーは、存在する場合、同じまたは異なる配列を有することができる。一実施形態において、第一および第二のポリペプチド鎖上のX1は短い(「S」)(例えば、6アミノ酸またはそれより短い。)リンカーである。別の実施形態において、第一および第二のポリペプチド鎖上のX1は、長い(「L」)(例えば、6アミノ酸より大きい。)リンカーである。別の実施形態において、第一鎖上のX1は短いリンカーであり、第二の鎖上のX1は長いリンカーである。別の実施形態において、第一鎖上のX1は長いリンカーであり、第二の鎖上のX1は短いリンカーである。いくつかの実施形態において、第一および/または第二のポリペプチド鎖上のX1リンカーは、配列番号1~31のいずれか1つから独立して選択される。いくつかの実施形態において、結合タンパク質の第一および/または第二のポリペプチド鎖上のX1は、完全なCH1またはCLドメインではなく、これらのドメインの部分を含んでもよい。いくつかの実施形態において、第

40

50

一の鎖上の X 1 は C H 1 ではなく、第二の鎖上の X 1 は C L でない、または第一の鎖上の X 1 は C L でなく、第二の鎖上の X 1 は C H 1 ではない。いくつかの実施形態において、第一および/または第二のポリペプチド鎖上の X 1 リンカーの選択は、結合タンパク質の結合動態に影響を与え得る（例えば、G S ベースのリンカーを選択することにより、結合親和性および/または効力を有意に改善することができる。）。

【 0 0 3 8 】

いくつかの実施形態において、X 2 (F c 領域) は第一のポリペプチド鎖上に存在し、第二のポリペプチド鎖上に存在しないが、一方、他の実施形態において、X 2 は第二の鎖上に存在し、第一の鎖上に存在せず、または X 2 は第一と第二の鎖の両方に存在しない。いくつかの実施形態において、X 2 は、可変配列 F c 領域である。特定の実施形態において、F c 領域は、I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g A、I g M、I g E または I g D からの F c 領域である。いくつかの実施形態において、結合タンパク質は、結晶化結合タンパク質である。

10

【 0 0 3 9 】

いくつかの実施形態において、結合タンパク質の第一のポリペプチド鎖は、上記の通り、重鎖であり、第二のポリペプチド鎖は軽鎖である。第一のポリペプチド鎖が重鎖であり、第二のポリペプチド鎖が軽鎖である特定の実施形態において、X 1 は、それぞれの鎖上に独立して存在するまたは存在せず（すなわち、n は、それぞれの鎖上に 0 または 1 から独立して選択される。）、X 2 は、重鎖上に存在し、軽鎖上に存在しない。いくつかの実施形態において、結合タンパク質は、配列番号 1 ~ 3 1 のいずれか 1 つから独立して選択される重および/または軽ポリペプチド鎖上の X 1 リンカーを含む。

20

【 0 0 4 0 】

いくつかの実施形態において、上述した結合タンパク質のいずれかは、2 つの第一のポリペプチド鎖と 2 つの第二のポリペプチド鎖および 4 つの機能的結合部位を含むことができる。例えば、第一および第二のポリペプチド鎖は、2 つの機能的結合部位を (V D 1 と V D 2 位置で) 形成するために、結合タンパク質の 1 つのアーム上で対形成されてもよく、一方、第一および第二のポリペプチド鎖の第二のセットは、2 つのさらなる機能的結合部位を (V D 1 と V D 2 位置で) 形成するために、結合タンパク質の他のアーム上で対形成されてもよい。2 つのアームを有する 4 つの鎖構造の一例は図 1 に示され、それぞれのアームは、第一および第二のポリペプチド鎖と二つの機能的結合部位を含む。いくつかの実施形態において、第一および第二のアーム上の V D 1 と V D 2 位置での結合ドメインは同一である。他の実施形態において、第一および第二のアームは、V D 1 と V D 2 位置で異なるドメインを含有する。いくつかの実施形態において、V D 1 および V D 2 結合ドメインは、表 1 から選択される可変ドメイン配列を含むまたは選択された配列からの C D R を含む。

30

【 0 0 4 1 】

様々な実施形態において、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は、上記される通り、所望の親和性、例えば、高親和性または治療的に有用な親和性で I L - 1 および/または I L - 1 7 に結合することができる。いくつかの実施形態において、I L - 1 について（すなわち、V D 1 および/または V D 2 位置で）機能的標的結合部位を形成する可変ドメイン配列は、表 1 中の配列から選択される対形成した重鎖および軽鎖可変ドメイン配列を含むことができ、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 $5 \cdot 1 \times 10^{-11}$ M の K_D で I L - 1 に結合することができる、および/または I L - 1 中和アッセイにおいて測定された場合に最大約 $2 \cdot 563$ n M の I C 5 0 で I L - 1 を阻害することができる。例えば、I L - 1 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 3 2 と配列番号 3 3、配列番号 3 4 と配列番号 3 5、配列番号 3 6 と配列番号 3 7、配列番号 3 8 と配列番号 3 9 もしくは配列番号 4 0 と配列番号 4 1 またはそれらの対形成した可変ドメイン配列からの C D R 1 ~ 3 を含むことができる。いくつかの実施形態において、I L - 1 7 について（すなわち、V D 1 および/または V D 2 位置で）機能的標的結合部位を形成する可変ドメイン配列は、

40

50

表 1 中の配列から選択される対形成した重鎖および軽鎖可変ドメイン配列を含むことができ、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 4.8×10^{-12} M の K_D で IL - 17 に結合することができ、および / または IL - 17 中和アッセイにおいて測定された場合に最大約 1.7 nM の IC₅₀ で IL - 17 を阻害することができる。例えば、IL - 17 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 と配列番号 43、配列番号 44 と配列番号 45 もしくは配列番号 46 と配列番号 47、またはそれらの対形成した可変ドメイン配列からの CDR 1 ~ 3 を含むことができる。

【0042】

様々な実施形態において、第一および第二のポリペプチド鎖を有する結合タンパク質は、上記される通り、IL - 1 および / または IL - 17 に結合することができ、DVD 2423 (配列番号 48 と 49 を含む。) ; DVD 2424 (配列番号 50 と 51 を含む。) ; DVD 2425 (配列番号 52 と 53 を含む。) ; DVD 2426 (配列番号 54 と 55 を含む。) ; DVD 2427 (配列番号 56 と 57 を含む。) ; DVD 2428 (配列番号 58 と 59 を含む。) ; DVD 2429 (配列番号 60 と 61 を含む。) ; DVD 2430 (配列番号 62 と 63 を含む。) ; DVD 2431 (配列番号 64 と 65 を含む。) ; DVD 2432 (配列番号 66 と 67 を含む。) ; DVD 2433 (配列番号 68 と 69 を含む。) ; DVD 2434 (配列番号 70 と 71 を含む。) ; DVD 2435 (配列番号 72 と 73 を含む。) ; DVD 2436 (配列番号 74 と 75 を含む。) ; DVD 2437 (配列番号 76 と 77 を含む。) ; DVD 2438 (配列番号 78 と 79 を含む。) ; DVD 2439 (配列番号 80 と 81 を含む。) ; DVD 2440 (配列番号 82 と 83 を含む。) ; DVD 2441 (配列番号 84 と 85 を含む。) ; DVD 2442 (配列番号 86 と 87 を含む。) ; DVD 3410 (配列番号 88 と 89 を含む。) ; DVD 3411 (配列番号 90 と 91 を含む。) ; DVD 3412 (配列番号 92 と 93 を含む。) ; DVD 3413 (配列番号 94 と 95 を含む。) ; DVD 3414 (配列番号 96 と 97 を含む。) ; DVD 3415 (配列番号 98 と 99 を含む。) ; DVD 3416 (配列番号 100 と 101 を含む。) ; DVD 3417 (配列番号 102 と 103 を含む。) ; DVD 3418 (配列番号 104 と 105 を含む。) ; DVD 3419 (配列番号 106 と 107 を含む。) ; DVD 3420 (配列番号 108 と 109 を含む。) ; DVD 3421 (配列番号 110 と 111 を含む。) ; DVD 3422 (配列番号 112 と 113 を含む。) ; DVD 3423 (配列番号 114 と 115 を含む。) ; DVD 3424 (配列番号 116 と 117 を含む。) ; および DVD 3425 (配列番号 118 と 119 を含む。) のいずれか 1 つを含む。特定の実施形態において、結合タンパク質は、DVD 2424、DVD 2425、DVD 2426、DVD 2427、DVD 2428、DVD 2429、DVD 2430、DVD 3415 および DVD 3418 のいずれか 1 つを含む。特定の実施形態において、結合タンパク質は DVD 3415 または DVD 3418 を含む。DVD - Ig 結合タンパク質の構造および構成のさらなる例証については、以下の表 2 を参照されたい。

【0043】

様々な実施形態において、上記の結合タンパク質は、野生型および変異した配列から選択される定常領域のアミノ酸配列を含むことができる。いくつかの実施形態において、野生型ヒトカップー軽鎖定常領域配列が使用される。いくつかの実施形態において、野生型ヒトラムダ軽鎖定常領域配列が使用される。いくつかの実施形態において、野生型または変異したヒト IgG 重鎖定常領域配列が使用される。いくつかの実施形態において、野生型または変異したヒト IgG 1 重鎖定常領域配列が使用される。特定の実施形態において、変異した配列は、表 2 a に示されたものである。いくつか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、野生型ヒトカップー軽鎖定常領域配列を含む。いくつかの実施形態において、DVD 2423 - DVD 2442 は、野生型ヒトカップー軽鎖定常領域配列を含み、さらに、野生型ヒト重鎖 IgG 1 定常領域配列を含む。いくつかの実施形態において、DVD 3410 - DVD 3425 は、野生型ヒトカップー軽鎖定常

10

20

30

40

50

領域配列を含み、さらに、変異したヒト重鎖 I g G 1 定常領域配列（例えば、D V D 3 4 1 8 については表 2 b に示されている配列）を含む。

【 0 0 4 4 】

一実施形態において、ポリペプチド鎖が V D 1 - (X 1) n - V D 2 - C - X 2 を含み、V D 1 が第一の可変ドメインであり、V D 2 が第二の可変ドメインであり、C が定常ドメインであり、X 1 がアミノ酸またはポリペプチドを表し、X 2 が存在するまたは存在しない F c 領域を表し、n が 0 または 1 である、I L - 1 および / または I L - 1 7 に結合するポリペプチド鎖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、結合タンパク質における V D 1 および / または V D 2 は重鎖可変ドメインである。一実施形態において、結合タンパク質における V D 1 および / または V D 2 は軽鎖可変ドメインである。別の実施形態において、V D 1 および V D 2 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、V D 1 および V D 2 は、異なる抗原に結合することができる。さらなる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、X 1 はリンカーであり、ただし、X 1 は C H 1 ではない。

10

【 0 0 4 5 】

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、I L - 1 および / または I L - 1 7 に結合するポリペプチド鎖を含み、ポリペプチド鎖は V D 1 - (X 1) n - V D 2 - C - X 2 を含み、V D 1 は第一の重鎖可変ドメインであり、V D 2 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、X 1 はリンカーであり、X 2 は存在するまたは存在しない F c 領域である。一実施形態において、X 1 はリンカーであり、ただし、X 1 は C H 1 ではない。

20

【 0 0 4 6 】

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、I L - 1 および / または I L - 1 7 に結合するポリペプチド鎖を含み、ポリペプチド鎖は V D 1 - (X 1) n - V D 2 - C - X 2 を含み、V D 1 は第一の軽鎖可変ドメインであり、V D 2 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、X 1 はリンカーであり、X 2 は存在しない。一実施形態において、X 1 はリンカーであり、ただし、X 1 は C L ではない。

【 0 0 4 7 】

別の実施形態において、I L - 1 および / または I L - 1 7 に結合する結合タンパク質は、2つのポリペプチド鎖を含み、第一のポリペプチド鎖は V D 1 - (X 1) n - V D 2 - C - X 2 を含み、V D 1 が第一の重鎖可変ドメインであり、V D 2 が第二の重鎖可変ドメインであり、C が重鎖定常ドメインであり、X 1 が第一のリンカーであり、X 2 が F c 領域であり；第二のポリペプチド鎖は、V D 1 - (X 1) n - V D 2 - C を含み、V D 1 が第一の軽鎖可変ドメインであり、V D 2 が第二の軽鎖可変ドメインであり、C が軽鎖定常ドメインであり、X 1 が第二のリンカーであり、X 2 が存在しない（すなわち、第二のポリペプチド鎖上に F c が存在しない。）。いくつかの実施形態において、第一および第二のポリペプチド鎖上の X 1 は同一である。他の実施形態において、第一および第二のポリペプチド鎖上の X 1 は異なっている。いくつかの実施形態において、第一の X 1 は C H 1 ドメインではなく、および / または第二の X 1 は C L ドメインではない。一実施形態において、第一の X 1 と第二の X 1 は短い（例えば、6 アミノ酸）リンカーである。別の実施形態において、第一の X 1 と第二の X 1 は長い（例えば、6 アミノ酸より大きい。）リンカーである。別の実施形態において、第一の X 1 は短いリンカーであり、第二の X 1 は長いリンカーである。別の実施形態において、第一の X 1 は長いリンカーであり、第二の X 1 は短いリンカーである。

30

40

【 0 0 4 8 】

一実施形態において、本開示は、4つのポリペプチド鎖を含む二重可変ドメイン（D V D）結合タンパク質を提供し、第一の2つのポリペプチド鎖のそれぞれは V D 1 - (X 1) n - V D 2 - C - X 2 を含み、V D 1 が第一の重鎖可変ドメインであり、V D 2 が第二の重鎖可変ドメインであり、C が重鎖定常ドメインであり、X 1 が第一のリンカーであり

50

、X 2 が F c 領域であり；第二の 2 つのポリペプチド鎖のそれぞれは V D 1 - (X 1) n - V D 2 - C - X 2 を含み、V D 1 が第一の軽鎖可変ドメインであり、V D 2 が第二の軽鎖可変ドメインであり、C が軽鎖定常ドメインであり、X 1 が第二のリンカーであり、X 2 が存在しない（すなわち、第二の 2 つのポリペプチド鎖上に F c 領域が存在しない。）
 。このような D V D - I g の結合タンパク質は、4 つの抗原結合部位を有する。いくつかの実施形態では、最初の 2 つのポリペプチド鎖は同一であり、第 2 の 2 つのポリペプチド鎖は、D V D - I g 結合タンパク質の各アームに、2 つの標的結合部位を形成する第二のポリペプチド鎖の一方と対形成する第 1 のポリペプチド鎖の一方と同一である。いくつかの実施形態において、第一および第二のポリペプチド鎖上の X 1 は同一である。他の実施形態において、第一および第二のポリペプチド鎖上の X 1 は異なっている。いくつかの実施形態において、第一の X 1 は完全な C H 1 ドメインではなく、および / または第二の X 1 は完全な C L ドメインではない。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、I L - 1 および I L - 1 7 に結合することができる。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、いずれかの配向で I L - 1 および I L - 1 7 に結合することができる（すなわち、V D 1 位置で I L - 1 または I L - 1 7 のいずれかに結合することができ、V D 2 位置でも同様である。）少なくとも 2 つの可変ドメイン配列（例えば、V D 1 と V D 2）を含む。いくつかの実施形態において、V D 1 および V D 2 は、独立して選択される。したがって、いくつかの実施形態において、V D 1 および V D 2 は、同一の配列番号を含むことができ、他の実施形態において、V D 1 および V D 2 は、異なる配列番号を含むことができる。

10

20

【 0 0 4 9 】

一実施形態において、本開示は、それぞれ V D 1 - (X 1) n - V D 2 - C - X 2 を独立して含む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を提供し、V D 1 は第一の可変ドメインであり；V D 2 は第二の可変ドメインであり；C は定常ドメインであり；X 1 はリンカーであり、ただし、C H 1 ではなく；X 2 は 1 つのポリペプチド鎖上に存在し、他の鎖上に存在しない F c 領域であり；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 V D 1 ドメインは第一の機能的標的結合部位を形成し、第一および第二のポリペプチド鎖上の V D 2 ドメインは第二の機能的標的結合部位を形成し、結合タンパク質は I L - 1 および I L - 1 7 に結合することができ、(i) I L - 1 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 3 2 ~ 4 1 からなる群から選択される配列を含み、および / または結合タンパク質は、表面プラズモン共鳴によって測定された場合に最大約 $5 \cdot 1 \times 10^{-11}$ M もしくは最大約 $3 \cdot 4 \times 10^{-11}$ M の K_D で I L - 1 に結合することができ、または I L - 1 中和アッセイにおいて測定された場合に最大約 $2 \cdot 563$ nM もしくは最大約 $2 \cdot 067$ nM もしくは最大約 $1 \cdot 568$ nM もしくは最大約 $0 \cdot 424$ nM の I C 5 0 で I L - 1 を阻害することができ、および / または (i i) I L - 1 7 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 4 2 ~ 4 7 からなる群から選択される配列を含み、および / または結合タンパク質は、表面プラズモン共鳴によって測定された場合に最大約 $4 \cdot 8 \times 10^{-12}$ M の K_D で I L - 1 7 に結合することができ、または I L - 1 7 中和アッセイにおいて測定された場合に最大約 $1 \cdot 7$ nM もしくは最大約 $0 \cdot 863$ nM もしくは最大約 $0 \cdot 549$ nM の I C 5 0 で I L - 1 7 を阻害することができる。

30

40

【 0 0 5 0 】

一実施形態において、それぞれ V D 1 - (X 1) n - V D 2 - C - X 2 を独立して含む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が提供され、V D 1 は第一の可変ドメインであり；V D 2 は第二の可変ドメインであり；C は定常ドメインであり；X 1 はリンカーであり、ただし、C H 1 ではなく；X 2 は 1 つのポリペプチド鎖上に存在し、他の鎖上に存在しない F c 領域であり；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 V D 1 ドメインは第一の機能的標的結合部位を形成し、第一および第二のポリペプチド鎖上の V D 2 ドメインは第二の機能的標的結合部位を形成し、(a) 結合タンパク質は、I L - 1 および I L - 1 7 に結合することができ、(i) I L - 1 について

50

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CDR1~3と配列番号33からのCDR1~3、配列番号34からのCDR1~3と配列番号35からのCDR1~3、配列番号36からのCDR1~3と配列番号37からのCDR1~3、配列番号38からのCDR1~3と配列番号39からのCDR1~3、もしくは配列番号40からのCDR1~3と配列番号41からのCDR1~3を含み、および/もしくは結合タンパク質は、表面プラズモン共鳴によって測定された場合に最大約 5.1×10^{-11} Mもしくは最大約 3.4×10^{-11} Mの K_D でIL-1に結合することができ、もしくはIL-1中和アッセイにおいて測定された場合に最大約2.563 nMもしくは最大約2.067 nMもしくは最大約1.568 nMもしくは最大約0.424 nMのIC50でIL-1を阻害することができ、ならびに/または(ii)IL-17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CDR1~3と配列番号43からのCDR1~3；配列番号44からのCDR1~3と配列番号45からのCDR1~3；または配列番号46からのCDR1~3と配列番号47からのCDR1~3を含み、および/もしくは結合タンパク質は、表面プラズモン共鳴によって測定された場合に最大約 4.8×10^{-12} Mの K_D でIL-17に結合することができ、もしくはIL-17中和アッセイにおいて測定された場合に最大約1.7 nMもしくは最大約0.863 nMもしくは最大約0.549 nMのIC50でIL-17を阻害することができる。

【0051】

一実施形態において、結合タンパク質が提供され、第一のポリペプチド鎖は、第一のVD1-(X1)n-VD2-C-X2を含み、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はリンカーであり、ただし、CH1ではなく；X2はFc領域であり；nが0または1であり、第二のポリペプチド鎖は、第二のVD1-(X1)n-VD2-Cを含み、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、ただし、CH1ではなく；nは0または1であり；該鎖は、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、および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。

【0052】

一実施形態において、(a)結合タンパク質は、IL-1およびIL-17に結合することができ、(i)IL-1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、(1)配列番号32と配列番号33、(2)配列番号34と配列番号35、(3)配列番号36と配列番号37、(4)配列番号38と配列番号39、もしくは(5)配列番号40と配列番号41を含み、および/または(ii)IL-17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、(1)配列番号42と配列番号43、(2)配列番号44と配列番号45、または(3i)配列番号46と配列番号47を含む。

【0053】

一実施形態において、結合タンパク質は、配列番号34の外側可変ドメイン、配列番号29の外側と内側可変ドメインの間のリンカー、および配列番号44の内側可変ドメインを含む第一のポリペプチド鎖を含み；ならびに/または結合タンパク質は、配列番号35の外側可変ドメイン、配列番号30の外側と内側可変ドメインの間のリンカー、および配列番号45の内側可変ドメインを含む第二のポリペプチド鎖を含む。一実施形態において、結合タンパク質は、配列番号34の外側可変ドメイン、配列番号29の外側と内側可変ドメインの間のリンカー、および配列番号44の内側可変ドメインを含む第二のポリペプチド鎖を含み；ならびに/または結合タンパク質は、配列番号35の外側可変ドメイン、配列番号30の外側と内側可変ドメインの間のリンカー、および配列番号45の内側可変ドメインを含む第一のポリペプチド鎖を含む。特定の実施形態において、結合タンパク質は、配列番号104を含む第一のポリペプチド鎖および配列番号105を含む第二のポリペプチド鎖を含む。

【0054】

10

20

30

40

50

一実施形態において、結合タンパク質は、配列番号 32 の外側可変ドメイン、配列番号 29 の外側と内側可変ドメインの間のリンカー、および配列番号 44 の内側可変ドメインを含む第一のポリペプチド鎖を含み；ならびに/または結合タンパク質は、配列番号 33 の外側可変ドメイン、配列番号 30 の外側と内側可変ドメインの間のリンカー、および配列番号 45 の内側可変ドメインを含む第二のポリペプチド鎖を含む。一実施形態において、結合タンパク質は、配列番号 32 の外側可変ドメイン、配列番号 29 の外側と内側可変ドメインの間のリンカー、および配列番号 44 の内側可変ドメインを含む第二のポリペプチド鎖を含み；ならびに/または結合タンパク質は、配列番号 33 の外側可変ドメイン、配列番号 30 の外側と内側可変ドメインの間のリンカー、および配列番号 45 の内側可変ドメインを含む第一のポリペプチド鎖を含む。特定の実施形態において、結合タンパク質は、配列番号 98 を含む第一のポリペプチド鎖および配列番号 99 を含む第二のポリペプチド鎖を含む。

10

【0055】

一実施形態において、結合タンパク質は 2 つの第一のポリペプチド鎖と 2 つの第二のポリペプチド鎖を含み、結合タンパク質は 4 つの機能的標的結合部位を含む。

【0056】

一実施形態において、本開示は、IL-1 および IL-17 に結合することができる結合タンパク質を提供し、結合タンパク質は、DVD2423 (配列番号 48 と 49 の第一および第二のポリペプチド鎖を含む。)；DVD2424 (配列番号 50 と 51 を含む。)；DVD2425 (配列番号 52 と 53 を含む。)；DVD2426 (配列番号 54 と 55 を含む。)；DVD2427 (配列番号 56 と 57 を含む。)；DVD2428 (配列番号 58 と 59 を含む。)；DVD2429 (配列番号 60 と 61 を含む。)；DVD2430 (配列番号 62 と 63 を含む。)；DVD2431 (配列番号 64 と 65 を含む。)；DVD2432 (配列番号 66 と 67 を含む。)；DVD2433 (配列番号 68 と 69 を含む。)；DVD2434 (配列番号 70 と 71 を含む。)；DVD2435 (配列番号 72 と 73 を含む。)；DVD2436 (配列番号 74 と 75 を含む。)；DVD2437 (配列番号 76 と 77 を含む。)；DVD2438 (配列番号 78 と 79 を含む。)；DVD2439 (配列番号 80 と 81 を含む。)；DVD2440 (配列番号 82 と 83 を含む。)；DVD2441 (配列番号 84 と 85 を含む。)；DVD2442 (配列番号 86 と 87 を含む。)；DVD3410 (配列番号 88 と 89 を含む。)；DVD3411 (配列番号 90 と 91 を含む。)；DVD3412 (配列番号 92 と 93 を含む。)；DVD3413 (配列番号 94 と 95 を含む。)；DVD3414 (配列番号 96 と 97 を含む。)；DVD3415 (配列番号 98 と 99 を含む。)；DVD3416 (配列番号 100 と 101 を含む。)；DVD3417 (配列番号 102 と 103 を含む。)；DVD3418 (配列番号 104 と 105 を含む。)；DVD3419 (配列番号 106 と 107 を含む。)；DVD3420 (配列番号 108 と 109 を含む。)；DVD3421 (配列番号 110 と 111 を含む。)；DVD3422 (配列番号 112 と 113 を含む。)；DVD3423 (配列番号 114 と 115 を含む。)；DVD3424 (配列番号 116 と 117 を含む。)；および DVD3425 (配列番号 118 と 119 を含む。)のいずれか 1 つを含む。一実施形態において、結合タンパク質は、DVD3415 (配列番号 98 と 99 の第一および第二のポリペプチド鎖を含む。)または DVD3418 (配列番号 104 と 105 の第一および第二のポリペプチド鎖を含む。)である。

20

30

40

【0057】

別の実施形態において、結合タンパク質は、本明細書中の表 1 に示されるように、対形成した重鎖および軽鎖配列を含み、対形成した重鎖および軽鎖から機能的結合部位を形成する。

【0058】

重鎖、軽鎖、二本鎖または四本鎖の実施形態のいずれかは、

【0059】

50

【化 1】

AKTTPKLEEGEFSEAR

(配列番号 : 1); AKTTPKLEEGEFSEARV (配列番号 : 2); AKTTPKLG (配列番号 : 3); SAKTTPKLG (配列番号 : 4); SAKTTP (配列番号 : 5); RADAAP (配列番号 : 6); RADAAPT (配列番号 : 7); RADAAAAGGPGS (配列番号 : 8); RADAAAA(G₄S)₄ (配列番号 : 9); SAKTTPKLEEGEFSEARV (配列番号 : 10); ADAAP (配列番号 : 11); ADAAPT (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); AKTTP (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); or GHEAAAVMQVQYPAS (配列番号 : 26); TVAAPSVFIFPPTVAAPSVFIFPP (配列番号 : 27); ASTKGPSVFPLAPASTKGPSVFPLAP (配列番号 : 28); GGGGSGGGGS (配列番号 : 29); GGSGGGGSG (配列番号 : 30)

10

20

または G / S に基づく配列 (例えば、G₄S と G₄S リピート ; 配列番号 31) を含む少なくとも 1 つの X₁ リンカーを含み得る。一実施形態において、X₁ は、定常領域ではなく、CH 領域ではなく、および / または CL 領域ではない。一実施形態において、リンカーは、第一の鎖上の GGGGS₄ (配列番号 29) および / または第二の鎖上の GSGGGGS (配列番号 30) である。一実施形態において、リンカーは、第一の鎖上の GSGGGGS (配列番号 30) および / または第二の鎖上の GGGGS₄ (配列番号 29) である。

【0060】

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、Fc 領域は可変 Fc 領域である。さらに別の実施形態において、Fc 領域は、存在する場合、天然配列 Fc 領域またはバリエーション配列 Fc 領域である。さらに別の実施形態において、Fc 領域は、IgG₁ の Fc 領域、IgG₂ の Fc 領域、IgG₃ の Fc 領域、IgG₄ の Fc 領域、IgA の Fc 領域、IgM の Fc 領域、IgE の Fc 領域または IgD の Fc 領域である。

30

【0061】

結合タンパク質特性

ヒト治療薬として、例えば、抗炎症剤または神経学的薬剤として使用するための結合タンパク質の開発および生産は、所望の標的または複数の標的に結合することができる結合タンパク質の同定よりも多く必要とする場合がある。本明細書に開示されている結合タンパク質は、以下のカテゴリーの 1 つ以上において有益な特性を示す : (a) 内側と外側の両方の抗原結合ドメインについての結合反応速度 (結合速度、解離速度および親和性)、(b) 様々な生化学的および細胞バイオアッセイにおける有効性、(c) 関連する腫瘍モデルにおけるインビボ効力、(d) 薬物動態学的および薬力学的特性、(e) 選択された細胞株におけるタンパク質発現レベルを含む製造性、拡張性、翻訳後修飾、物理化学的特性、例えば、モノマー百分率、溶解性および安定性 (固有、凍結 / 融解、貯蔵安定性など)、(f) 製剤特性、(g) 潜在的な免疫原性リスク、(h) 毒性、ならびに (I) 結合モードおよび原子価。結合モードおよび原子価は、分子の結合特性および細胞効力に影響を及ぼす場合がある。

40

【0062】

50

本明細書に開示されている結合タンパク質は、VD1とVD2位置の両方に驚くほど高い結合親和性を含む、上記で列挙されたカテゴリーの一部またはそれぞれに有益な特性を示す。特定の実施形態において、上記で列挙されたカテゴリーの一部またはそれぞれに特に有益な特性を示す結合タンパク質は、配列番号104と配列番号105を含む第一および第二のポリペプチド鎖、または配列番号98と配列番号99を含む第一および第二のポリペプチド鎖を含有する。特定の実施形態において、結合タンパク質は、DVD3415またはDVD3418を含む。これらの結合タンパク質は、VD1とVD2位置の両方で驚くほど高い結合親和性を示すことが見出されている。表10を参照されたい。また、予期しないで、DVD3415およびDVD3418は、いくつかの実施形態において、1つ以上の特性の優れた組合せ、例えば、異なる可変ドメインおよび/またはリンカー配列を含む他の結合タンパク質と比較して、効果的な結合動態、改善された中和能力、高められたインビボでの有効性、優れた処方性、所望のグリコシル化パターン、有益な薬物動態プロファイルおよび宿主細胞における効率的な発現の1つ以上を示すことが見出された。

10

20

30

40

50

【0063】

例えば、予想外に、本明細書に開示されている多数の結合タンパク質は、それらの標的に、それらの個々の親抗体の両方におよそ匹敵する親和性で結合することが見出された。例えば、表3から6の親抗体と結合タンパク質の比較を参照されたい。これは、結合親和性の損失が、二重可変ドメイン結合構造の使用から先験的に予想され得たため、驚くべきことである。特に、配列番号104と配列番号105または配列番号98と配列番号99（例えば、DVD3415およびDVD3418）を含む結合タンパク質は、IL-1およびIL-17を標的とする異なる可変ドメインおよび/または異なるリンカー配列を含む他の結合タンパク質と比較して、それらの標的に対する優れた結合親和性を示すことが見出されている。例えば、配列番号104と配列番号105または配列番号98と配列番号99を含む結合タンパク質（例えば、DVD3415およびDVD3418）は、IL-1とIL-17の両方に驚くほど高い親和性で（例えば、それらの親抗体の親和性に匹敵する親和性で）結合し、一方、異なる可変ドメイン配列を用いる他の結合タンパク質は、それらの親抗体よりも小さい親和性で結合した。例えば、表6を参照されたい。さらに、驚くべきことに、DVD3415およびDVD3418などの結合タンパク質は、一緒にして、他の結合タンパク質の特性よりも優れている物理化学的特性を示す。例えば、結合タンパク質DVD3415およびDVD3418は、それらのIL-17結合ドメインにおいて脱アミド化部位を欠損するように遺伝子操作され、驚くべきことに、本明細書において開示されている他の結合タンパク質の特性よりも、またはDVD1274、DVD1275、DVD1601、DVD1602、DVD1631、DVD1661およびDVD1662などのIL-1およびIL-17を標的とする他のDVD-Ig結合タンパク質と比較して優れている特性の組合せを示す。例えば、表13を参照されたい。これらの有益な特性としては、優れた宿主細胞発現、IL-1とIL-17の両方に対する標的効力の保持、改善された溶解性、改善された安定性および処方性、他の抗原または非霊長類種由来のIL-1およびIL-17に対する交差反応性の減少、インビボ効力の改善、および免疫原性の減少（抗IL-1および抗IL-17抗体の二重投与と比較して、およびIL-17とTNFを標的とする結合タンパク質などの代替の結合タンパク質と比較して免疫原性の減少を含む。）が挙げられる。両方の結合タンパク質は、高濃度（例えば、25mg/mlより大きい液体製剤）で驚くほど安定している。両方の結合タンパク質はまた、他の種由来の抗原に対して、霊長類IL-1およびIL-17に対して選択的であり、霊長類IL-1およびIL-17に対する中和特性を示す。例えば、表14を参照されたい。

【0064】

いくつかの実施形態において、配列番号104と配列番号105または配列番号98と配列番号99を含む結合タンパク質（例えば、DVD3415およびDVD3418）は、例えば、25mg/mlより高くまで濃縮され得て、および/またはそれらの親抗体と同レベルまで濃縮され得る。いくつかの実施形態において、配列番号104と配列番号1

05または配列番号98と配列番号99を含む結合タンパク質（例えば、DVD3415およびDVD3418）は、本明細書に開示されている他の結合タンパク質と比較して、またはDVD1274、DVD1275、DVD1601、DVD1602、DVD1631、DVD1661などのIL-1およびIL-17を標的とする他のDVD-Ig結合タンパク質と比較して、長期の半減期、少なくとも中程度の血漿クリアランス、および/または（免疫原性の減少に貢献し得る。）生殖系列配列に対する有意な相同性を示す。例えば、表11と13を参照されたい。例えば、DVD3415および/またはDVD3418は、約20～40日（例えば、20、25、30、35もしくは40日、またはその間の任意の期間）の血清半減期を示すことができる。いくつかの実施形態において、DVD3415および/またはDVD3418は、IL-1およびIL-17を標的とする他のDVD-Ig結合タンパク質について観察されるものよりも低いクリアランス速度、例えば、0.1ml/時/kg体重未満の速度、または0.09、0.08、0.07、0.06、0.05ml/時/kg体重未満の速度（もしくはその間の任意の速度）を示す。

10

【0065】

いくつかの実施形態において、配列番号104と配列番号105または配列番号98と配列番号99を含む結合タンパク質（例えば、DVD3415およびDVD3418）は、本明細書に開示されている他の結合タンパク質と比較して、ならびに/またはIL-1およびIL-17を標的とする他の結合タンパク質と比較して、溶解性、粘性、凍結融解における安定性、および/もしくは熱ストレス中の他の有意な変化を含む驚くほど有益な物理化学的特性を示す。例えば、DVD3415および/またはDVD3418は、安定した高濃度の液体製剤における処方に適切であり得て、例えば、濃度は、液体製剤において15、20、25、30、35、40、45または50mg/mlより高い濃度（またはその間の任意の濃度）である。例えば、表12を参照されたい。いくつかの実施形態において、DVD3415および/またはDVD3418は、抗IL-1および抗IL-17抗体の二重の投与と比較して、および/またはIL-17およびTNFを標的とする結合タンパク質などの代替の結合タンパク質と比較して、インビボでの免疫原性の低減を示す。

20

【0066】

様々な実施形態において、配列番号104と配列番号105または配列番号98と配列番号99を含む結合タンパク質（例えば、DVD3415およびDVD3418）は、炎症、自己免疫または神経学的状態に関する他の治療と比較して、改善された特性、例えば、安全性の向上、安定性の増大、より大きな効力、炎症もしくは免疫応答の低減、またはインビボでのヒト治療特性における他の利益を示す。比較に適した治療は、例えば、小分子抗炎症剤もしくは神経性剤の投与、またはIL-1ベータに対する抗体単独もしくはIL-17に対する抗体と併用した投与、またはIL-1ベータおよびIL-17について他の可変ドメイン配列を含み、結合部位を形成するDVD-Ig結合タンパク質の投与を含むことができる。いくつかの実施形態において、DVD3415および/または3418は、自己免疫、炎症または神経学的状態についてのケア治療の現在の標準に対して改善された特性を示す。例えば、結合タンパク質は、改善された結合反応速度、優れたインビボでの治療効果、処方性の増大（凝集の減少および貯蔵安定性の改善を含む。）、薬物動態の改善、炎症もしくは免疫応答の低減、および/または宿主細胞発現レベルの増大を示すことができる。

30

40

【0067】

結合タンパク質の調製

別の態様において、本開示は、IL-1および/またはIL-17に結合する結合タンパク質を作製する方法を提供する。一実施形態では、IL-1および/またはIL-17に結合する結合タンパク質を作製する方法は、：a) IL-1および/またはIL-17に結合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) IL-1および/またはIL-17に結合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

50

ブ；c) 親抗体またはその抗原結合部分の可変ドメインの配列を決定するステップ；d) 本明細書に記載されている結合タンパク質のいずれかをコードする構築物（単数または複数）をそれらの可変ドメイン配列を用いて調製するステップ；ならびにe) IL-1 および/またはIL-17に結合する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。

【0068】

本明細書における実施形態のいずれかにおいて、存在する場合、VD1重鎖可変ドメイン、および存在する場合、軽鎖可変ドメインは、第一の親抗体またはその抗原結合部分由来であってもよく；存在する場合、VD2重鎖可変ドメイン、および存在する場合、軽鎖可変ドメインは、第二の親抗体またはその抗原結合部分由来であってもよい。第一および第二の親抗体は同じであってもよくまたは異なってもよい。

10

【0069】

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。一実施形態において、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。

20

【0070】

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、ヒト化抗体および/または親和性成熟された抗体である。

【0071】

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、結合タンパク質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つ以上の抗体パラメーターである。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グ抗原結合性である。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) タンパク質に結合するアゴニストであり；および/または(3) 多価結合タンパク質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つ以上の改善を示し得る。さらに、親抗体は、これらの特性の任意の1つ以上を欠損してもよいが、本明細書に記載されるように、多価結合タンパク質として構築された場合、これらの1つ以上を取得してもよい。例えば、異なるFc変異体は、FcR、C'結合を阻止し、または半減期を延長し得る。

30

40

【0072】

50

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、少なくとも約 $10^2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$; 少なくとも約 $10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$; 少なくとも約 $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$; 少なくとも約 $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$; または少なくとも約 $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ のうちの1つ以上の標的への結合速度定数 (K_{on}) 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、約 $10^2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ から約 $10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、約 $10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ から約 $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、約 $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ から約 $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、または約 $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ から約 $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ の、1つ以上の標的に対する結合速度定数 (K_{on}) を有する。

【0073】

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} ; または最大約 10^{-6} s^{-1} のうちの1つ以上の標的への解離速度定数 (K_{off}) 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、約 10^{-3} s^{-1} から約 10^{-4} s^{-1} の、約 10^{-4} s^{-1} から約 10^{-5} s^{-1} の、または約 10^{-5} s^{-1} から約 10^{-6} s^{-1} の間の、1つ以上の標的に対する解離速度定数 (K_{off}) を有する。

10

【0074】

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 または最大約 10^{-13} M のうちの1つ以上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、約 10^{-7} M から約 10^{-8} M の ; 約 10^{-8} M から約 10^{-9} M の ; 約 10^{-9} M から約 10^{-10} M の ; 約 10^{-10} M から約 10^{-11} M の ; 約 10^{-11} M から約 10^{-12} M の ; または約 10^{-12} M から約 10^{-13} M のその標的に対する解離定数 (K_d) を有する。

20

【0075】

別の実施形態において、結合タンパク質は、薬剤をさらに含むコンジュゲートである。一実施形態において、抗原は、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、 ^3H 、 ^{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。さらなる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、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、トキシソ、もしくはアポトーシス剤、または免疫抑制剤である。

30

【0076】

別の実施形態において、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。別の実施形態において、結晶化された結合タンパク質は、この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。

40

【0077】

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、グリコシル化パターンは、ヒトグリコシル化パターンである。

【0078】

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、ベクターは、pcDNA ; pTT (Durocher et al. (2002) Nucleic Acids Res. 30(2) ; pTT3 (追加の多重クローニング部位を有するpTT) ; pEFBOS (Mizushima and Nagata, (1990) Nucleic Acids Res. 18 : (17) ; pBV ;

50

pJV; pcDNA3.1 TOPO; pEF6 TOPO; pBOS; pHybE; または pBJ である。一実施形態において、ベクターは、米国特許公開第 20090239259 号に開示されているベクターである。

【0079】

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、例えば、大腸菌 (*E. coli*) である。別の実施形態において、宿主細胞は真核細胞、例えば、原生動物細胞、動物細胞、植物細胞または真菌細胞である。一実施形態において、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・セレビスシア (*Saccharomyces cerevisiae*) などの真菌細胞; または Sf9 などの昆虫細胞である。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結合タンパク質は、単一の組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、Oligoclomics (商標) (Merus B.V., The Netherlands) 米国特許第 7,262,028 号および第 7,429,486 号と呼ばれている。

10

【0080】

結合タンパク質を生産するのに十分な条件下で、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、結合タンパク質を生産する方法が本明細書に開示されている。一実施形態において、この方法によって生産される 50% から 75% の結合タンパク質は、二重特異的四価結合タンパク質 (例えば、DVD-Ig 結合タンパク質) である。別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。別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。

20

【0081】

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、結晶化された結合タンパク質、成分、および少なくとも 1 つのポリマー性担体を含む。一実施形態において、ポリマー担体は、ポリ(アクリル酸)、ポリ(シアノアクリレート)、ポリ(アミノ酸)、ポリ(無水物)、ポリ(デブシペプチド)、ポリ(エステル)、ポリ(乳酸)、ポリ(乳酸-co-グリコール酸) または PLGA、ポリ(b-ヒドロキシブチレート)、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、ブ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、硫酸化多糖またはこれらの混和物および共重合体である。一実施形態において、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-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。

30

【0082】

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工程を含む哺乳動物を治療する方法を提供する。

40

【0083】

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が提供される。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-Ig、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-

50

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 I L - 1 8、抗 T N F および抗 I L - 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、F K 5 0 6 ; 検出可能な標識またはレポーター、T N F 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 (N S A I D)、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、イムノグロブリン、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、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り得る。

10

【 0 0 8 4 】

治療および診断的使用

本明細書に開示されている結合部分によって結合され得る標的または複数の標的が有害である障害に罹患しているヒト対象を治療する方法であって、標的または複数の標的の活性が、ヒト対象において阻害され、1つ以上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方法が提供される。本明細書において提供されている結合タンパク質は、例えば、炎症と関連した疾患などの自己免疫疾患を患っているヒトを治療するために使用することができる。一実施形態において、本明細書において提供されている結合タンパク質またはその抗原結合部分は、喘息、アレルギー、アレルギー性肺疾患、アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎、炎症性膿疱性皮膚疾患、ベーチェット病、全身性若年性特発性関節炎、家族性地中海熱、新生児発症マルチシステム炎症性疾患、急性心不全、梗塞後のリモデリング、肺高血圧症、1型糖尿病、増殖性糖尿病網膜症、先天性高インスリン血症、シュニッツラー症候群、痛風フレア、壊疽性膿皮症、慢性閉塞性肺疾患 (C O P D)、線維症、嚢胞性線維症 (C F)、線維性肺疾患、特発性肺線維症、肝線維症、狼瘡、B型肝炎関連肝疾患および線維症、敗血症、全身性エリテマトーデス (S L E)、糸球体腎炎、炎症性皮膚疾患、乾癬、糖尿病、インスリン依存性糖尿病、H I V によって引き起こされる感染症、炎症性腸疾患 (I B D)、潰瘍性大腸炎 (U C)、クローン病 (C D)、関節リウマチ (R A)、変形性関節症 (O A)、多発性硬化症 (M S)、移植片対宿主病 (G V H D)、移植拒絶反応、虚血性心疾患 (I H D)、セリアック病、接触過敏症、アルコール性肝疾患、ベーチェット病、アテローム硬化性血管疾患、眼球表面の炎症性疾患またはライム病を治療するために使用される。

20

30

【 0 0 8 5 】

別の実施形態において、治療されるべき障害または状態は、例えば、H I V、ヒトライノウイルス、エンテロウイルス、コロナウイルス、ヘルペスウイルス、インフルエンザウイルス、パラインフルエンザウイルス、呼吸器合胞体ウイルスまたはアデノウイルスによって引き起こされる、ヒトにおけるウイルス感染によって生じる症状を含む。

【 0 0 8 6 】

本明細書において提供される結合タンパク質は、神経障害を治療するために用いることができる。一実施形態において、本明細書において提供される結合タンパク質またはその抗原結合部分は、神経再生および脊髄損傷を含む神経変性疾患および状態を治療するために用いられる。

40

【 0 0 8 7 】

一実施形態において、本明細書において開示されている組成物および方法を用いて治療または診断され得る疾患には、限定されないが、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 (子宮頸部、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、黒色腫、肉腫 (骨および軟部組織から生じるものおよびカボジ肉腫を含む。)、脳、神経、眼および髄

50

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（ホジキンリンパ腫と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挙げられる。

【 0 0 8 8 】

別の実施形態は、疾患または障害の治療における結合タンパク質の使用を提供し、疾患または障害は、関節リウマチ、変形性関節症、若年性慢性関節炎、敗血症性関節炎、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、インスリン依存性糖尿病、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、パセドウ病、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、ハンチントン舞蹈病、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、慢性粘膜炎皮膚カンジダ症、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型インスリン抵抗性、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（*choleostasis*）、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、疼痛の様々な形態、癌、肺癌、乳癌、胃癌、膀胱癌、大腸癌、膵臓癌、卵巣癌、前立腺癌、直腸癌、造血性悪性病変、白血病、リンパ腫、

10

20

30

40

50

無 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、- 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（aortic）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、パーキットリンパ腫、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-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-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 hemato phagocytic 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、ハラールホルデン・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、カボジ肉腫、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（lymphedema）、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（meningococemia）、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）、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・チューパキュロシス、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 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）、

10

20

30

40

50

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、老年性舞蹈病、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 arrhythmias)、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、失神、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F A B A L L、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、I I I型過敏症反応、I V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 (viral 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、頸部脊椎症、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、I g E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、I P F / U I P、虹彩炎、角膜炎、乾性角結膜炎 (keratoconjunctivitis 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、小関節性J R A、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J R A、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、s a p h o (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、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)、側頭動脈炎、トキソプラズマ性網膜炎、中毒性表皮剥離症、横断性脊髄炎、T R A P S (腫瘍壊死因子受容体)、1型アレルギー反応、I I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、フォクト・小柳・原田症候群 (VKH症候群)、滲出型黄斑変性、もしくは創傷治癒である。いくつか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のいずれか1つは、上記に列挙された障害を治療するために用いることができる。特定の実施形態において、本明細書において検討されている障害のいずれかを治療するために使用される結合タンパク質は、1つ以上のD V D 2 4 2 4 - 3 4 2 5である。特定の実施形態において、結合タンパク質は、D V D 2 4 2 4、D V D 2 4 2 5、D V D 2 4 2 6、D V D 2 4 2 7、D V D 2 4 2 8、D V D 2 4 2 9、D V D 2 4 3 0、D V D 3 4 1 5、またはD V D 3 4 1 8である。特定の実施形態において、結合タンパク質は、D V D 3 4 1 5またはD V D 3 4 1 8である。

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態において、結合タンパク質（例えば、DVD3418）を使用した障害の有効な治療は、血清または組織マーカーであるIL-6、PGE-2、G-CSF、CXCL-1、CXCL-5、MMP-3またはMMP-13のうちの1つ以上の発現の減少を測定することによって検出することができる。

【0089】

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、炎症、自己免疫疾患および/または神経障害を治療するために使用される。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、関節炎、関節リウマチ、乾癬性関節炎、強直性脊椎炎、軸性脊椎関節炎（axSpA）、ANCA血管炎、クローン病、若年性特発性関節炎、乾癬、潰瘍性大腸炎、腸ペーチェット病、リウマチ性多発筋痛またはドライアイを治療するために使用される。実施形態において、結合タンパク質は、関節炎を治療するために使用される。実施形態において、結合タンパク質は、関節リウマチを治療するために使用される。実施形態において、結合タンパク質は、乾癬性関節炎を治療するために使用される。一実施形態において、結合タンパク質は、強直性脊椎炎を治療するために使用される。いくつかの実施形態において、結合タンパク質はDVD2424-3425の1つ以上である。特定の実施形態において、結合タンパク質は、DVD2424、DVD2425、DVD2426、DVD2427、DVD2428、DVD2429、DVD2430、DVD3415またはDVD3418である。一実施形態において、結合タンパク質は、DVD3415またはDVD3418ある。

10

【0090】

いくつかの実施形態において、結合タンパク質（例えば、DVD3415またはDVD3418）は、抗TNF療法に耐性である慢性関節リウマチを治療するために使用され得る。例えば、IL-1 およびIL-17を標的とする結合タンパク質（例えば、DVD3415またはDVD3418）は、抗TNF抗体よりも長く循環中に持続することができる、それによってより長期間の治療効果を提供し、投与頻度の減少の可能性があるようにし、順に免疫応答を誘導する投与された薬剤の危険性を低減することができる。TNFの阻害は、IL-1 またはIL-17単独のいずれかの阻害よりも関節炎の動物モデルにおいて優れた治療上の利益を実証することができるが、驚くべきことに、IL-1 とIL-17の両方の二重阻害は、抗TNF単剤療法と比較して、特定の改善された治療結果を与えることができる。

20

30

【0091】

いくつかの実施形態において、結合タンパク質は、抗TNF抗体を投与することによって達成され得るものと比較して、関節リウマチと関連した炎症におけるより大きな減少、またはIL-1 およびIL-17に対する別々の抗体の二重投与後の阻害の総和によって達成されるものよりも大きな減少を生じさせ得る。炎症は、例えば、IL-6、CXCL-1、PGE-2、CXCL-5、G-CSFまたはMMP3発現のレベルを測定することによって評価され得る。いくつかの実施形態において、結合タンパク質は、TNF抗体を用いて、または単剤療法の組合せとして投与されるIL-1 とIL-17抗体を用いて達成され得るものより多くの量によって、炎症、軟骨損失、および/または骨破壊を減少させるために使用することができる。例えば、本明細書において開示されている結合タンパク質は、単独で投与した場合のIL-1 またはIL-17抗体のいずれかと比較して、マウスのコラーゲン誘導性関節炎（CIA）モデルにおいて炎症の減少を増大させることを示し得る。いくつかの実施形態において、結合タンパク質はまた、驚くべきことに、TNF非依存性に骨保護効果を提供することができる。したがって、結合タンパク質（例えば、DVD3415またはDVD3418）を用いた炎症性メディエーターの組合せを標的とすることにより、個々の単剤療法によって達成され得たものよりも、患者の症状をより完全に調節することができる。

40

【0092】

特定の実施形態において、結合タンパク質（例えば、DVD3415またはDVD3418）は、抗TNF抗体を用いた治療に耐性である患者集団における関節リウマチを治療

50

するために投与され得る。特定の実施形態において、結合タンパク質（例えば、DVD3415またはDVD3418）は、抗TNF療法に应答性でない可能性がある疾患の後期に関節リウマチを治療するために投与されてもよい（関節炎を有する特定の患者は、抗TNF剤または抗サイトカイン単剤療法を用いた治療に应答しない。）。いくつかの実施形態において、結合タンパク質（例えば、DVD3415またはDVD3418）は、TH1細胞におけるIFN-ガンマ産生の変化なしに、リウマチ性多発筋痛に関連したIL-1およびIL-17のレベルの上昇を低減させるために使用することができる。いくつかの実施形態において、結合タンパク質（例えば、DVD3418）は、ドライアイ患者の涙中に見出され、ドライアイに関連する炎症と関連付けられるIL-1およびIL-17の発現を減少させるために使用することができる。

10

【0093】

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、単独または放射線療法および/もしくは化学療法剤と組み合わせて使用されるいずれかの場合、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もしくは阻害において使用される。

【0094】

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、投与と同時にまたは投与後に、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つを投与する工程を含む、疾患に罹患している患者を治療する方法が提供される。一実施形態において、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-1 mAb、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または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に対する抗体、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uproフェン、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-1変換酵素阻害剤、TNF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、アンジ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TGFである。特定の実施形態において、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（intracellular）、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、心臓周囲内、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、ポラス、膻、直腸、口内、舌下、鼻内または経皮投与によって、患者に投与される。

20

30

40

【0095】

また、本明細書に開示されている結合タンパク質に対する抗イディオタイプ抗体も提供される。抗イディオタイプ抗体は、本明細書において提供される結合タンパク質に組み込むことができる、限定されないが、重鎖もしくは軽鎖の少なくとも1つの相補性決定領域（CDR）またはそのリガンド結合部分、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任意のその一部などの、免疫グロブリン分子の少なくと

50

も一部を含む任意のタンパク質またはペプチド含有分子を含む。

【0096】

試験試料におけるIL-1 および/またはIL-17もしくはその断片の存在、量または濃度を決定する方法が提供される。この方法は、免疫アッセイによって、抗原またはその断片について試験試料をアッセイすることを含む。免疫アッセイは、(i)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使用し、(ii)試験試料中の抗原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指標としての検出可能な標識によって生じるシグナルと、対照または校正因子における抗原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指標として生じるシグナルとを比較することを含む。校正因子は、場合によって、一連の校正因子の一部であり、この場合、校正因子のそれぞれは、抗原またはその断片の濃度によって、その一連の校正因子中の他の校正因子と異なっている。本方法は、(i)捕捉剤/抗原またはその断片の複合体を形成するために、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つの捕捉剤と接触させること、(ii)捕捉剤/抗原またはその断片/検出剤の複合体を形成するために、捕捉剤/抗原またはその断片の複合体を、検出可能な標識を含み、抗原またはその断片上のエピトープに結合し、捕捉剤に結合しない少なくとも1つの検出剤と接触させることおよび(iii)(ii)において形成された捕捉剤/抗原またはその断片/検出剤の複合体における検出可能な標識によって発生する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、量または濃度を決定することを含むことができ、少なくとも1つの捕捉剤および/または少なくとも1つの検出剤は少なくとも1つの結合タンパク質である。

10

20

【0097】

あるいは、本方法は、(i)捕捉剤/抗原またはその断片の複合体を形成するために、試験試料と、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つの捕捉剤とを接触させ、同時にまたはいずれかの順番で連続して、試験試料と、少なくとも1つの捕捉剤への結合に関して試験試料中の任意の抗原またはその断片と競合し得る、検出可能に標識された抗原またはその断片とを接触させ、試験試料中に存在する任意の抗原またはその断片および検出可能に標識された抗原は互いに競合し、それぞれ、捕捉剤/抗原またはその断片の複合体と捕捉剤/検出可能に標識された抗原またはその断片の複合体を形成することおよび(ii)(ii)において形成された捕捉剤/検出可能に標識された抗原またはその断片の複合体において検出可能な標識によって発生する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、量または濃度を決定することを含むことができ、少なくとも1つの捕捉剤は、少なくとも1つの結合タンパク質であり、捕捉剤/検出可能に標識された抗原またはその断片の複合体における検出可能な標識によって生じるシグナルは、試験試料中の抗原またはその断片の量または濃度に反比例する。

30

【0098】

試験試料は、患者由来であり得、この場合、本方法は、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工程をさらに含む得る。本方法が、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、この方法は、任意選択により、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ことをさらに含む。本方法は、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できる。したがって、本明細書に記載されている方法はまた、対象が、所与の疾患、障害または状態を有するまたはそれを発症する危険性があるか否かを判定するために使用することができる。具体的には、このような方法は、以下：

40

(a) 対象由来の試験試料中の、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当該技術分野において公知の方法を用いて)決定する工程；

(b) 工程(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と、予め決定されたレベルとを比較する工程を含むことができ、工程(a)において決定された分析物の濃度または量が予め決定されたレベルと比較して好ましい場合、対象は、所定の疾患、

50

障害または状態を有さないまたはその危険性がないと決定される。

しかしながら、工程（a）において決定された分析物の濃度または量が予め決定されたレベルと比較して好ましくない場合、対象は、所定の疾患、障害または状態を有するまたはその危険性があると決定される。

【0099】

さらに、対象における疾患の進行を監視する方法が本明細書に提供される。任意選択により、本方法は、以下：（a）分析物の対象由来の試験試料中の濃度または量を決定する工程；（b）分析物の対象由来の后者の試験試料中の濃度または量を決定する工程；および（c）工程（b）において決定された分析物の濃度または量と、工程（a）において決定された分析物の濃度または量とを比較することを含み、工程（b）において決定された濃度または量が変化しない場合または工程（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くない場合、対象における疾患は継続し、進行しまたは悪化していると判断される。比較して、工程（b）において決定された分析物の濃度または量が、工程（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中断し、軽減しまたは改善されたと判断される。

10

【0100】

任意選択により、本方法は、工程（b）において決定された分析物の濃度または量と、例えば、予め決定されたレベルとを比較することをさらに含む。さらに、任意選択により、例えば、工程（b）において決定された分析物の濃度または量が、予め決定されたレベルと比較して、不利に変更されたことを比較が示す場合、本方法は、ある期間、1つ以上の医薬組成物を用いて対象を治療することを含む。

20

【0101】

また、IL-1 および/またはIL-17またはその断片について試験試料をアッセイするキットが提供される。キットは、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少なくとも1つの成分、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指示書を含み、少なくとも1つの成分は、本明細書に開示されている結合タンパク質を含む少なくとも1つの組成物を含み、結合タンパク質は、任意選択により、検出可能に標識される。

【0102】

IL-1 および/またはIL-17に結合することができる多価および/または多重特異的結合タンパク質が提供される。二重可変ドメイン結合タンパク質または分子（DVD結合タンパク質またはDVD分子）または二重可変ドメイン免疫グロブリン（DVD-Ig（商標））タンパク質およびこれらの医薬組成物ならびに核酸、組換え発現ベクターおよびこのようなDVD-Ig結合タンパク質を作製するための宿主細胞もまた提供される。インビトロまたはインビボのいずれかにおいて、特定の抗原を検出するDVD-Ig結合タンパク質を使用する方法もまた提供される。

30

【0103】

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。何らかの曖昧さが伏在している場合には、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。文脈上別段の必要がなければ、単数形用語は複数形を含むものとし、複数形用語は単数を含むものとする。「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。「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。本明細書に開示されている任意の範囲は、他に記述がなければ、その範囲の終点を含むことが意図される。

40

【0104】

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

50

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。

【0105】

本開示がより容易に理解し得るように、特定の用語を以下に定義する。

【0106】

「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）から一般に構成される免疫グロブリン（Ig）分子またはIg分子のエピトープ結合特性を保持した機能的断片、変異体、バリエーションまたはこれらの誘導体を表すものとする。このような断片、変異体、バリエーション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。完全長の抗体の一実施形態において、各重鎖は、重鎖可変領域（VH）および重鎖定常領域（CH）から構成される。CH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（VL）および軽鎖定常領域（CL）から構成される。CLは単一のCLドメインから構成される。VHおよびVL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。一般に、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、IgA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。

【0107】

「二特異的抗体」という用語は、この2つの結合アーム（HC/LCの一对）の1つの上に1つの抗原（またはエピトープ）を結合し、この第二の結合アーム（HC/LCの異なる対）の上の異なる抗原（またはエピトープ）に結合する抗体を指す。二特異的抗体は、2つの異なる抗原結合アーム（特異性とCDR配列の両方における）を有し、それが結合するそれぞれの抗原について一価である。二特異的抗体には、クアドローマ技術（MilsteinおよびCuello（1983）Nature 305（5934）：537-40）によって、2つの異なるモノクローナル抗体の化学的コンジュゲーション（Staerz et al.（1985）Nature 314（6012）：628-31）によってまたはノブ・イントゥ・ホールもしくはFc領域中に突然変異を導入する同様のアプローチ（Holliger et al.（1993）Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90（14）：6444-6448）によって生成されるものが含まれる。

【0108】

「親和性成熟された」抗体または結合タンパク質とは、変化（単数または複数）を有しない親抗体または結合タンパク質と比べて、抗原に対する親和性の改善をもたらす、1つ以上のCDRまたはそのフレームワーク（FR）領域中に1つ以上の変化を有する抗体または結合タンパク質を意味する。典型的な親和性成熟された抗体または結合タンパク質は、標的抗原に対してナノモル濃度またはさらにピコモル濃度の親和性を有する。親和性成熟された抗体または結合タンパク質は、本技術分野において公知の手順によって産生されてもよい。例えば、Marksら（1992）BioTechnology 10：779-783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

10

20

30

40

50

et al. (1994) Proc Nat. Acad. Sci. USA 91:3809-3813; Schier et al. (1995) Gene 169:147-155; Yelton et al. (1995) J. Immunol. 155:1994-2004; Jackson et al. (1995) J. Immunol. 154(7):3310-9; Hawkins et al (1992) J. Mol. Biol. 226:889-896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突然変異は、米国特許第6,914,128号に記載されている。

【0109】

「CDR移植された」抗体または結合タンパク質という用語は、VHおよび/またはVLのCDR領域の1つ以上の配列が別の抗体または結合タンパク質のCDR配列で置換されている重鎖および軽鎖可変領域配列を含む抗体または結合タンパク質を指す。例えば、2つの抗体または結合タンパク質は、マウスCDRの1つ以上がヒト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または結合タンパク質などの異なる種由来であり得る。

10

【0110】

「ヒト化」抗体または結合タンパク質という用語は、ヒト以外の種由来の、より「ヒト類似に」、すなわち、ヒト生殖系列配列により類似するように改変された抗体または結合タンパク質を表す。ヒト化抗体または結合タンパク質の1つの種類は、非ヒトCDR配列がヒトのVHおよびVL配列中に導入されて、対応するヒトCDR配列が置換されているCDR移植された抗体または結合タンパク質である。ヒト化抗体または結合タンパク質はまた、ヒト抗体のアミノ酸配列を実質的に（例えば、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%の同一性で）有するフレームワーク領域（FR）配列と、非ヒト抗体のアミノ酸配列を実質的に有する少なくとも1つのCDRを含む抗体もしくは結合タンパク質のバリエーション、誘導体、類似体または断片を含む。ヒト化抗体または結合タンパク質は、CDR領域のすべてまたは実質的にすべての配列が非ヒト免疫グロブリン（すなわち、ドナー抗体）の配列に対応し、FR領域のすべてまたは実質的にすべての配列がヒト免疫グロブリンの配列である、少なくとも1つの可変ドメイン（Fab、Fab'、F(ab')₂、FabC、Fv）の実質的にすべてを含んでもよい。ヒト化抗体または結合タンパク質はまた、重鎖のCH1、ヒンジ、CH2、CH3およびCH4領域を含んでもよい。一実施形態において、ヒト化抗体または結合タンパク質はまた、Fc領域の少なくとも一部のヒト免疫グロブリンを含んでもよい。いくつかの実施形態において、ヒト化抗体または結合タンパク質は、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、ヒト化抗体または結合タンパク質は、ヒト化重鎖のみを含有する。いくつかの実施形態において、ヒト化抗体または結合タンパク質は、軽鎖のヒト化可変ドメインおよび/または重鎖のヒト化可変ドメインのみを含有する。いくつかの実施形態において、ヒト化抗体または結合タンパク質は、軽鎖、ならびに重鎖の少なくとも可変ドメインを含有する。いくつかの実施形態において、ヒト化抗体または結合タンパク質は、ヒト化重鎖および少なくとも軽鎖の可変ドメインを含有する。

20

30

40

【0111】

「二重可変ドメイン結合タンパク質」および「二重可変ドメイン免疫グロブリン」という用語は、米国特許第7,612,181合（その全体が、参照により本明細書に組み込まれている。）に記載されるように、その2つの結合アーム（例えば、HC/LCの一对）のそれぞれにおいて2つの可変ドメインを有する結合タンパク質を指し、それぞれが抗原に結合することができる。一実施形態において、それぞれの可変ドメインは、異なる抗原またはエピトープに結合する。別の実施形態において、それぞれの可変ドメインは、同じ抗原またはエピトープに結合する。別の実施形態において、二重可変ドメイン結合タンパク質は、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、それが結合するそれぞれの抗原に対して二価である。一実施形態において、DVD-I

50

g 結合タンパク質は、単一特異的であってもよく、すなわち、1つの抗原に結合することができまたは多重特異的であってもよく、すなわち、2つ以上の抗原に結合することができる。例えば、二重可変ドメイン結合タンパク質は、それぞれのアーム上に異なる特異性および/または異なるCDR配列を有する、2つ、3つまたは4つの異なる抗原結合アームを有してもよく、結合タンパク質は、それが結合するそれぞれの抗原について一価、二価または多価であってもよい。2つの重鎖DVDポリペプチドおよび2つの軽鎖DVDポリペプチドを含むDVD-Ig結合タンパク質は、DVD-Ig(商標)タンパク質と呼ばれる。一実施形態において、4本鎖DVD-Ig結合タンパク質の各半分は、重鎖DVDポリペプチド、軽鎖DVDポリペプチドおよび2つの抗原結合部位を含む。一実施形態において、それぞれの結合部位は、抗原結合部位あたりの抗原結合に關与する全6つのCDRを有する重鎖可変ドメインおよび軽鎖可変ドメインを含む。

10

【0112】

「抗イデオタイプ抗体」という用語は、別の抗体の抗原結合部位のアミノ酸配列に対して惹起された抗体を指す。抗イデオタイプ抗体は、抗原に対する免疫応答を増強するために投与され得る。

【0113】

「生物学的活性」という用語は、分子の1つ以上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。

20

【0114】

「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した場合、抗原の生物学的活性を相殺することを指す。一実施形態において、中和結合タンパク質は、抗原(例えば、サイトカイン)に結合し、少なくとも約20%、約40%、約60%、約80%、約85%、約90%、約95%または約100%(またはその間の任意のパーセンテージ)まで抗原の生物学的活性を低下させる。

【0115】

「特異性」という用語は、抗原に選択的に結合する結合タンパク質の能力を指す。

【0116】

「親和性」という用語は、結合タンパク質と抗原との間の相互作用の強さを指し、結合タンパク質のCDRの配列によって、ならびに抗原の性質、例えばそのサイズ、形状および/または電荷によって決定される。結合タンパク質は、負の副作用を最小限にしながら、所望の治療の評価項目を提供する親和性について選択することができる。親和性は、当業者に公知の方法(US20090311253参照)を用いて測定することができる。

30

【0117】

「効力」という用語は、所望の効果を達成するための結合タンパク質の能力を意味し、その治療有効性の測定である。効力は、当業者に公知の方法(US20090311253参照)を用いて評価することができる。

【0118】

「交差反応性」という用語は、惹起された標的以外の標的に結合する結合タンパク質の能力を指す。一般に、結合タンパク質は、適切に高い親和性でその標的組織(単数または複数)/抗原(単数または複数)に結合するが、非標的の正常組織に対して適切に低い親和性を示す。個々の結合タンパク質は、一般に、2つの基準を満たすように選択される。(1)抗体標的の既知の発現に適切な組織染色、および(2)同じ臓器からのヒトと毒性研究種(例えば、ラット、マウスまたはカニクイザル)組織の間の類似した染色パターン。交差反応性を評価するためのこれらの方法および他の方法は、当業者に公知である(例えば、US20090311253参照)。

40

【0119】

「生物学的機能」という用語は、結合タンパク質の特異的なインビトロまたはインビボ

50

における作用を意味する。結合タンパク質は、抗原のいくつかのクラスを対象とし、複数の作用機序を介して所望の治療結果を達成することができる。結合タンパク質は、可溶性タンパク質、細胞表面抗原ならびに細胞外タンパク質沈着物を対象にすることができる。結合タンパク質は、これらの標的の活性を作用させ、拮抗しまたは中和することができる。結合タンパク質は、これらが結合する標的のクリアランスを助けることができまたは細胞に結合したときに細胞毒性をもたらすことがある。2つ以上の抗体の部分は、単一の結合タンパク質分子において異なる機能を達成するために、多価フォーマットに組み込むことができる。生物学的機能を評価するために使用されるインビトロアッセイおよびインビボモデルは、当業者に知られている（例えば、US 20090311253 参照）。

【0120】

用語「安定な」結合タンパク質は、結合タンパク質が、保存時にその物理的安定性、化学的安定性および/または生物学的活性を本質的に保持しているものである。長期間にわたって、種々の温度にてインビトロで安定である多価結合タンパク質が望ましい。結合タンパク質を安定化し、種々の温度でこれらの安定性を評価する方法は、当業者に知られている（例えば、US 20090311253 参照）。

【0121】

「溶解性」という用語は、水性溶液中に分散させたままにするタンパク質の能力を意味する。水性製剤中のタンパク質の溶解性は、疎水性および親水性アミノ酸残基の適切な分布に依存し、したがって、溶解性は、正確に折り畳まれたタンパク質の生成と相関し得る。当業者は、日常的な HPLC 技術および当業者に公知の方法（例えば、US 20090311253 参照）を用いて、結合タンパク質の可溶性の増加または減少を検出することができる。

【0122】

結合タンパク質は、様々な宿主細胞を用いて生成されてもよく、またはインビトロで生成されてもよく、労力あたりの相対収率は「生成効率」を決定する。生成効率に影響を及ぼす因子には、限定されないが、宿主細胞型（原核生物または真核生物）、発現ベクターの選択、ヌクレオチド配列の選択および使用される方法が挙げられる。結合タンパク質生成に使用される材料および方法、ならびに生成効率の測定は、当業者に公知である（US 20090311253）。

【0123】

「免疫原性」という用語は、免疫応答を誘導する物質の能力を意味する。治療的結合タンパク質の投与は、免疫応答の特定の発生率をもたらし得る。多価形式の免疫原性を誘導し得る潜在的な要素は、親抗体の選択中に分析することができ、このような危険性を低下させるための工程は、多価結合タンパク質形式にこれらの配列を組み込む前に、親抗体を最適化するために採用することができる。抗体と結合タンパク質の免疫原性を減少させる方法は、当業者に公知である（US 20090311253）。

【0124】

「標識」および「検出可能な標識」という用語は、特異的結合対のメンバー間の反応（例えば、結合）を検出可能なものにするために、抗体/結合タンパク質またはその分析物などの特異的結合対のメンバーに結合させた部分を指す。特異的結合対の標識された部分は、「検出可能に標識されている」と呼ばれる。したがって、「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、 ^3H 、 ^{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

10

20

30

40

50

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。この関連で、部分自体が検出可能に標識され得ないが、さらに別の部分との反応後に検出可能にされ得る。

【0125】

「連結体」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結合タンパク質を表す。「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含む。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、ピンクリスチン、ピンラスチン、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。

10

20

【0126】

「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。

30

【0127】

「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。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。他のベクターにはRNAベクターが含まれる。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。ある種のベクターは、こ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

40

50

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、発現ベクターの他の形態もまた含まれ、例えば、同等の機能を果たすウイルスベクター（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）なども含まれる。一群の pHybE ベクター（例えば、米国特許第 8,187,836 号）は、親抗体および DVD 結合タンパク質のクローニングに使用され得る。pJP183 由来の V1；pHybE-hCg1, z, 非V2 は、抗体および野生型定常領域を有する DVD 重鎖をクローニングするために使用され得る。pJP191 由来の V2；pHybE-hCK V3 は、抗体および kappa 定常領域を有する DVD 軽鎖をクローニングするために使用され得る。pJP192 由来の V3；pHybE-hCI V2 は、抗体および lambda 定常領域を有する DVD 軽鎖をクローニングするために使用され得る。V4 は、ラムダシグナルペプチドおよび kappa 定常領域を用いて構築され、ラムダ-kappa 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得る。V5 は、kappaシグナルペプチドおよびラムダ定常領域を用いて構築され、kappa-lambda 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得る。pJP183 由来の V7；pHybE-hCg1, z, 非V2 は、抗体および (234、235AA) 突然変異定常領域を有する DVD 重鎖をクローニングするために使用され得る。

10

【0128】

「組換え宿主細胞」または「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。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。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、原核および真核細胞が含まれる。一実施形態において、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。

20

【0129】

「トランスフェクション」という用語は、宿主細胞への外因性核酸（例えば、DNA）を導入するために一般的に用いられる様々な技術を包含し、例えば、エレクトロポレーション、リン酸カルシウム沈殿、DEAE-デキストラントランスフェクションなどが挙げられる。

30

【0130】

「サイトカイン」という用語は、細胞間媒介物質として別の細胞集団に作用する 1 つの細胞集団から放出されるタンパク質を指す。「サイトカイン」という用語には、天然由来または組換え細胞培養物由来のタンパク質および天然配列のサイトカインの生物学的に活性な同等物が含まれる。

【0131】

「生物学的試料」という用語は、生物または生物であったものから得られた物質の量を指す。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。

40

【0132】

「成分」という用語は、組成物の要素を指す。診断キットに関連して、例えば、成分は、試験試料のアッセイ用のキットに含めることができる、捕捉抗体、検出またはコンジュゲート抗体、対照、校正因子、一連の校正因子、感受性パネル、容器、緩衝液、希釈剤、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）、停止液などであってもよい。したがって、「成分」は、例えば、抗分析物（例えば、抗ポリペプチド）抗体に結合させることによって、固体支持体上に固定されている、上記のポ

50

リペプチドまたは他の分析物を含めることができる。いくつかの成分は、溶液中にあってはよくまたはアッセイにおける使用として再構成するために凍結乾燥されてもよい。

【0133】

「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「校正物質」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。

【0134】

「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。

【0135】

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を指す。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（分離工程を必要としない）または不均一（分離工程を必要とする）であり得る。不均一前処理試薬を使用すると、アッセイの次の工程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。

【0136】

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、校正物質、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。「校正物質」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校正（標準）曲線を確立するために典型的に（例えば複数など、1つ以上）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校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、複数の校正物質（すなわち、2つ以上の校正物質または様々な量の（複数の）校正物質）を組み合わせ使用することが可能である。

【0137】

「特異的結合パートナー」という用語は、特異的結合対のメンバーを指す。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、抗原および抗体の特異的結合に加えて、他の特異的結合対は、ピ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、断片およびバリエーション（バリエーションの断片を含む）が含まれる。

【0138】

10

20

30

40

50

「Fc領域」という用語は、無傷の抗体または結合タンパク質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末端領域を指す。Fc領域は、固有配列のFc領域またはバリエーション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(例えば、米国特許第5,648,260号および第5,624,821号)。Fc領域は、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、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害(ADCC)、食作用、補体依存性細胞傷害(CDC)および抗体または結合タンパク質と抗原-抗体または抗原-結合タンパク質複合体の半減期/クリアランス速度を媒介する。いくつかの場合において、これらのエフェクター機能は、治療用の免疫グロブリンに対して望ましいが、他の場合において、治療目的に応じて、不要であるまたは有害でさえあり得る。

10

【0139】

結合タンパク質の「抗原結合部分」という用語は、抗原に特異的に結合する能力を保持する結合タンパク質の1つ以上の断片を指す。結合タンパク質の抗原結合部分は、完全長の結合タンパク質の断片、例えば、2つ以上の異なる抗原に特異的に結合する、二特異的、二重特異的または多重特異的フォーマットで行うことができる。結合タンパク質の「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) 抗体または結合タンパク質の単一アームの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)。このような一本鎖抗体または結合タンパク質も、抗体または結合タンパク質の「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。さらに、一本鎖抗体または結合タンパク質も、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」抗体または結合タンパク質(VH-CH1-VH-CH1)を含む。

20

30

【0140】

「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指す。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工学的に作製され、天然に存在しない可能性がある抗体である。「多重特異的結合タンパク質」という用語は、2つ以上の関連標的または非関連標的に結合することができる結合タンパク質を指す。一実施形態において、本明細書に提供される二重可変ドメイン(DVD)結合タンパク質は、2つ以上の抗原結合部位を含み、四価または多価の結合タンパク質である。

40

【0141】

「リンカー」という用語は、アミノ酸残基または2つのポリペプチド(例えば、2つのVHまたは2つのVLドメイン)に連結させて用いられるペプチド結合によって接続された2つ以上のアミノ酸残基を含むポリペプチドを指す。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 et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448; Poljak et al. (1994) Structure 2:1121-1123参照)。

【0142】

「Kabab番号」、「Kabab定義」および「Kabab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、

50

抗体もしくは結合タンパク質、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（Kabata et al. (1971) Ann. NY Acad. Sci. 190:382-391およびKabata 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。

10

【0143】

「CDR」という用語は、免疫グロブリン可変領域配列内の相補性決定領域を指す。重鎖および軽鎖可変領域のそれぞれについて、CDR1、CDR2およびCDR3と命名されている、重鎖および軽鎖の可変領域のそれぞれにおいて3つのCDRが存在する。「CDRセット」という用語は、抗原に結合することができる単一の可変領域中に生じる3つのCDR群を指す。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。Kabataによって記載された系（Kabataら(1987)および(1991)）は、抗体または結合タンパク質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、それぞれの重鎖または軽鎖配列における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、Kabata CDRと称され得る。Chothiaおよび共同研究者（Chothia and Lesk(1987) J. Mol. Biol. 196:901-917; Chothia et al. (1989) Nature 342:877-883）は、Kabata CDR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、Chothia CDRと称される場合があり、これは、Kabata CDRと重複する境界を有する。Kabata CDRと重複するCDRを定義する他の境界が、Padlan(1995) FASEB J. 9:133-139およびMacCallum(1996) J. Mol. Biol. 262(5):732-45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、Kabata CDR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、KabataまたはChothiaによって定義されたCDRを使用する。

20

30

【0144】

「エピトープ」という用語は、結合タンパク質、例えば、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、ポリペプチドおよび/または他の決定因子によって結合される抗原の領域を指す。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。一実施形態において、エピトープは、特異的結合パートナー上の相補的部位によって認識されおよび/またはそれに結合される抗原（またはその断片）の領域のアミノ酸残基を含む。抗原断片は1を超えるエピトープを含むことができる。ある種の実施形態において、結合タンパク質が、タンパク質および/または高分子の複雑な混合物中で、こ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。抗体または結合タンパク質が交差競合する（一方が他方の結合または調節作用を妨げる）場合、結合タンパク

40

50

質は「同じエピトープに結合する」。さらに、エピトープの構造上の定義（重複、類似、同一）は有益であり、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。タンパク質の異なる領域は、異なる機能を果たすことができる。例えば、サイトカインの特定の領域は、受容体活性をもたらすこのサイトカイン受容体と相互作用し、一方、このタンパク質の他の領域は、サイトカインを安定化するために必要とされ得る。サイトカインシグナル伝達の負の影響を排除するために、サイトカインは、受容体相互作用領域（単数または複数）に特異的に結合する結合タンパク質を用いて標的化され得て、それによってこの受容体の結合を阻止する。あるいは、結合タンパク質は、サイトカイン安定化に關与する領域を標的化され得て、それによって、分解のためのタンパク質を指定する。エピトープ認識を可視化し、モデル化する方法は、当業者に知られている（US 20090311253）。

10

【0145】

「薬物動態」という用語は、薬物が、生物によって、吸収され、分散され、代謝されおよび排泄されるプロセスを指す。所望の薬物動態プロファイルを有する多価結合タンパク質分子を生成するために、同様の所望の薬物動態プロファイルを有する親モノクローナル抗体が選択される。選択される親モノクローナル抗体のPKプロファイルは、当業者に公知の方法（US 20090311253参照）を用いて、げっ歯類において容易に決定することができる。

【0146】

「生物学的利用能」という用語は、投与後にその標的に到達する活性薬剤の量を指す。生物学的利用能は、安定性、溶解性、免疫原性および薬物動態を含む前述の特性のいくつかの関数であり、当業者に知られている方法（例えば、US 20090311253参照）を用いて評価することができる。

20

【0147】

「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指す。さらなる記載については、Jonsson et al. (1993) Ann. Biol. Clin. 51: 19-26を参照されたい。「 K_{on} 」という用語は、例えば、DVD-Ig / 抗原複合体を形成する、結合タンパク質（例えば、抗体またはDVD-Ig）と抗原の結合についての結合速度（on rate）定数を指す。「 K_{on} 」という用語はまた、本明細書において互換的に用いられ、「会合速度定数」または「 k_a 」を指す。この標的抗原への結合タンパク質の結合速度または結合タンパク質、例えば抗体、と抗原との間の複合体形成の速度を示すこの値はまた、以下の式によって示される。

30



【0148】

「 K_{off} 」という用語は、結合タンパク質（例えば、抗体またはDVD-Ig）の、例えば、本分野で知られているDVD-Ig / 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」を指す。この値は、以下の式によって示されるように、結合タンパク質、例えば抗体、のその標的抗原からの解離速度または遊離抗体と抗原への経時的なAb-Ag複合体の分離を示す。

40



【0149】

「 K_d 」および「平衡解離定数」という用語は、平衡状態での滴定測定においてまたは解離速度定数（ K_{off} ）を結合速度定数（ K_{on} ）で割ることによって得られた値を指す。会合速度定数、解離速度定数および平衡解離定数は、抗原への結合タンパク質（例えば、抗体またはDVD-Ig）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

50

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。

【0150】

「バリエーション」という用語は、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中の所与のポリペプチドとは異なるが、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指す (例えば、バリエーションIL-17抗体は、IL-17との結合について抗IL-17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關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、Kytte et al. (1982) J. Mol. Biol. 157: 105-132 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。タンパク質中の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、このタンパク質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關聯することが報告されている有用な尺度である、こ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す得る。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このアミノ酸の特定の側鎖によって影響を受ける。この觀察に一致して、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。「バリエーション」という用語は、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ッシングされているが、この生物活性または抗原反応性、例えばIL-17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含む。「バリエーション」という用語は、他に定義がなければ、バリエーションの断片を包含する。バリエーションは、野生型配列に対して約99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、89%、88%、87%、86%、85%、84%、83%、82%、81%、80%、79%、78%、77%、76%または75%同一であってもよい。

【0151】

結合タンパク質の生成

IL-1 および/またはIL-17に結合することができる結合タンパク質およびそれを作製する方法が提供される。結合タンパク質は、様々な技術を用いて生成することができる。発現ベクター、宿主細胞および結合タンパク質を生成する方法が提供され、他は当該技術分野において周知である。

【0152】

A. 結合タンパク質分子の構築

結合タンパク質は、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 C L が続くように設計され得る。同様に、重鎖は、直接的にまたはリンカーを介して、タンデムに連結された 2 つの異なる重鎖可変ドメイン (V H)、その後に定常ドメイン C H 1 および F c 領域を含む (図 1)。

【 0 1 5 3 】

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換え D N A 技術を用いて取得することが可能である。

【 0 1 5 4 】

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、リンカー配列の選択は、いくつかの F a b 分子の結晶構造分析に基づいている。F a b または抗体分子構造中の可変ドメインと C H 1 / C L 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 から 6 残基および C L / C H 1 ドメインの N 末端由来の 4 から 6 残基によって構成される約 1 0 から 1 2 個のアミノ酸残基を含む。D V D - I g 結合タンパク質は、それぞれ、軽鎖および重鎖中のリンカーとして C L または C H 1 の N 末端の 5 から 6 アミノ酸残基、または 1 1 から 1 2 アミノ酸残基を用いて作製された。C L または C H 1 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ることが可能であり、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。C L または C H 1 ドメインの N 末端残基は、これらが I g 配列の一部であるため、可変ドメインの天然の伸長である。したがって、これらの使用は、リンカーおよび接合分析物から潜在的に生じる任意の免疫原性を大幅に最小化する。

10

20

【 0 1 5 5 】

さらなる実施形態において、結合タンパク質は、

【 0 1 5 6 】

【 化 2 】

AKTTPKLEEGEFSEAR (配列番号 : 1);

AKTTPKLEEGEFSEARV (配列番号 : 2); AKTTPKLGG (配列番号 : 3);

SAKTPKLGG (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(G₄S)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

GHEAAVMQVQYPAS (配列番号 : 26); TVAAPSVFIFPPTVAAPSVFIFPP (配列番

号 : 27); ASTKGPSVFPLAPASTKGPSVFPLAP (配列番号 : 28); GGGGSGGGGS

(配列番号 : 29); GSGGGGSG (配列番号 : 30)

30

40

および G / S に基づく配列 (例えば、G₄S と G₄S リピート ; 配列番号 3 1) から選択される少なくとも 1 つの X 1 リンカーを含む。一実施形態において、結合タンパク質の 1 つのポリペプチド鎖上の X 1 は、配列番号 2 9 を含み、他のポリペプチド鎖上の X 1 は、配列番号 3 0 を含む。一実施形態において、X 2 は F c 領域である。別の実施形態において、X 2 はバリエーション F c 領域である。

【 0 1 5 7 】

他のリンカー配列は、C L / C H 1 ドメインのあらゆる長さのあらゆる配列を含み得る

50

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、C またはC に由来することが可能であり；ならびに重鎖リンカーは、C₁、C₂、C₃、C₄、C₁、C₂、C₃、C₄ およびC_μ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リピート；配列番号31）；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。

【0158】

一実施形態において、定常ドメインは、組換え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、DVD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領域またはバリエーション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。

【0159】

一実施形態において、抗体またはその機能的な抗原結合断片が開示され、IL-1βまたはIL-17に結合することができる機能的結合部位を有し、表1に列挙された対から選択される対形成したVHとVL配列、またはこれらのVHとVL領域のCDR領域を含む可変領域を有する抗体を含む。例えば、抗体またはその機能的な抗原結合断片は、IL-1βに結合することが可能であり、配列番号32と33を含む可変領域を有する。同様に、抗体またはその機能的な抗原結合断片は、IL-17に結合することができ、例えば、配列番号44と45または配列番号46と47を含む可変領域を有する。表1における残りの対を含む類似の抗体が開示されている。一実施形態において、抗原結合断片が標的抗原に結合することができる結合部位を形成するのに十分な可変配列を保持している上述の抗体の機能的な抗原結合断片が開示されている。例えば、抗原結合断片は、表1中の対形成したVHとVL配列、またはFcドメインを含むもしくは含まない全長VHとVL配列から取り出されるCDR領域を含んでもよい。機能的な抗原結合断片は、他の例のうち、ヒト化、完全ヒト、ラクダ化、単鎖、キメラ、合成、組換え、ハイブリッド、変異、逆変異もしくはCDR移植抗体、またはFab、F(ab')₂、Fv、scFv、Fd、dAb断片、VHH（ナノボディとも称される。）、または二特異的もしくは多重特異的抗体を含む抗原結合機能を保持する任意の他の抗体断片を含んでもよい。

【0160】

一実施形態において、表1中のものから選択される可変ドメインを含む結合タンパク質（例えば、二重可変ドメイン結合タンパク質）が開示されている。いくつかの実施形態において、結合タンパク質は、それぞれがVD1-(X1)_n-VD2-C-X2を含む第一および第二のポリペプチド鎖を含み、結合タンパク質の第一および第二の鎖は、一緒になって、2つの機能的結合部位を形成し、それらの結合部位はIL-1βおよび/またはIL-17に結合することができる。いくつかの実施形態において、VD1およびVD2配列は、独立して選択される（すなわち、VD1位置についてのVHとVL配列の選択は、VD2位置についての配列の選択に影響を与えず、逆の場合も同様である。）。一実施形態において、それぞれの機能的結合部位は、表1に列挙されている対から選択される対形成したVHとVL配列を含み（例えば、配列番号32と33の対形成したVHとVL配列は、IL-1βについて結合部位を形成する。）、またはこれらのVHとVL配列のCDR領域を含む。いくつかの実施形態において、第一の鎖は、位置VD1での第一のVH配列と位置VD2での第二のVH配列を含み、両者は、表1から選択され、またはVD1とVD2ドメインは、これらの選択されたVH配列からのCDR配列を含有し、

10

20

30

40

50

一方、第二の鎖は、位置VD1での第一のVL配列と位置VD2での第二のVL配列を含み、両者は、表1から選択され、またはVD1とVD2ドメインは、それらの選択されたVL配列からのCDR配列を含む。他の実施形態において、第一または第二の結合部位のVH-VL配置は、それぞれの鎖がVL配列に連結されたVH配列を含むように2つのポリペプチド鎖を横切って反転し、一方、2つの鎖は一緒になって、2つの機能的結合部位をなおも形成する。例えば、第一のポリペプチド鎖は、VD1位置でVH配列とVD2位置でVL配列を含んでもよく、一方、第二の鎖は、VD1位置で対形成したVL配列（第一の機能的結合部位を形成する。）とVD2位置で対形成したVH配列（第二の結合部位を形成する。）を含む。

【0161】

一実施形態において、2つの第一の鎖ポリペプチドと2つの第二の鎖ポリペプチドは、2つのアームと4つの結合部位を有するDVD-Ig結合タンパク質を形成するために組み合わせられる。2つのアームと4つの結合部位を有するDVD-Ig結合タンパク質構造の例を図1に示す。一実施形態において、DVD-Ig結合タンパク質は、VD1とVD2位置で、それぞれのアーム上に、任意の配向で、表1に列挙された、少なくとも1つの、または少なくとも2つの、少なくとも3つのまたは少なくとも4つのVHとVL配列対を含む。いくつかの実施形態において、結合部位を形成する配列対は、独立して選択される（例えば、1つのアーム上のVD1位置についてのVHとVL配列の選択は、他のアーム上のVD1位置についての配列の選択に影響を与えず、またはいずれかのアーム上のVD2位置についての配列の選択に影響を与えない。）。以下の表1に示されているVHとVL配列は、相補性決定領域（CDR）と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つ以上のフレームワーク配列は、例えば、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。

【0162】

別の実施形態において、2つの重鎖DVD-Igポリペプチドおよび2つの軽鎖DVD-Igポリペプチドは組み合わせられて、DVD-Ig結合タンパク質を形成する。表1A-1Cは、疾患の治療に有用な例示的な抗体の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、いずれかの配向における、表1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DVD-Igが提供される。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。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つ以上のこれらの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。

【0163】

10

20

30

【表 1】

表 1：多価結合タンパク質を含む結合タンパク質を生成するための
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
			1234567890123456789012345678901234567890
32	AB268VH	VH-IL1b (配列 1)	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSASGFI FSRYDMSWVRQA PGKGLEWVAYI SHGGAGTYYPDSVKGRFTISRDN SKNTLF LQMDSLRPEDTGVYFCARGGVTKGYFDVWGQGTPTVTVSS
33	AB268VL	VL-IL1b (配列 1)	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASGNIHNYLTWYQQTP GKAPKLLIYNAKTLADGVPSRFSGSGSDYFTFTISSLQP EDIATYYCQHFWSIPYTFGQGTKLQITR
34	AB269VH	VH-IL1b (配列 2)	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSASGFI FSRYDMSWVRQA PGKGLEWVAYI SHGGAGTYYPDSVKGRFTISRDN SKNTLF LQMDSLRAEDTAVYYCARGGVYKGYFDVWGQGTPTVTVSS
35	AB269VL	VL-IL1b (配列 2)	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASGNIHNYLTWYQQTP GKAPKLLIYNAKTLADGVPSRFSGSGSDYFTFTISSLQP EDIATYYCQHFWSIPYTFGQGTKLQITR
36	AB270VH	VH-IL1b (配列 3)	EVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGFSLSDYGVSWIRQP PGKGLEWLGLI WGGGDTYYNSPLKSRLTISKDN SKSQVSL KLSSVTAADTAVYYCAKQRTLWGYDLYGMDYWGQGT LVTV SS
37	AB270VL	VL-IL1b (配列 3)	DTQVTQSPSSLSASVGRVTITCITSTDIDVDMN WYQQKP GKPPKLLISQGN TLRPGVPSRFSSSGSGTDFTFT ISSLQP EDFATYYCLQSDNLPLTFGQGTKLEIKR
38	AB271VH	VH-IL1b (配列 4)	EVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGFSLSDYGVSWIRQP PGKGLEWLGLI WGGGDTYYNSPLKSRLTISKDN SKSQVSL KLSSVTAADTAVYYCAKQRTLWGYDLYGMDYWGQGT LVTV SS
39	AB271VL	VL-IL1b (配列 4)	DTVVTQSPAFLSVTPGKVTITCITSTDIDVDMN WYQQKP DQPPKLLISQGN TLRPGVPSRFSSSGSGTDFTFT ISSLEA EDAATYYCLQSDNLPLTFGQGTKLEIKR
40	AB272VH	VH-IL1b (配列 5)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTLSDYGVSWIRQA PGKGLEWLGLI WGGGDTYYNSPLKSRLTISKDN SKSTVYL QMNSLRAEDTAVYYCAKQRTLWGYDLYGMDYWGQGT LVTV SS

10

20

30

40

配列番号	ABT固有ID	タンパク質領域	配列 1234567890123456789012345678901234567890
41	AB272VL	VL-IL1b (配列 5)	ETT <u>VTQSPSSLSAS</u> VGDRVTITCITSTDIDVDMN <u>WYQ</u> QKP GKPPKLLIS <u>QGN</u> TLRPGVPSRFSSSGSGTDFTFTIS <u>SLQP</u> EDFATYY <u>CLQSD</u> NLPLTFGQGT <u>KLEIKR</u>
42	AB273VH	VH-IL17 (配列 1)	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV <u>SCKASGYTFTDY</u> EIHWVRQA PGQGLEW <u>MGVNDPESGGTFY</u> NQKFDGRVTLTAD <u>ESTSTAY</u> MELSSLRSEDTAVYYCT <u>RY</u> SKWDSFDGMDY <u>WGQ</u> TTVTVSS
43	AB273VL	VL-IL17 (配列 1)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASSGIISYIDWFQQKP GKAPKRLIYATFDLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTIS <u>SLQP</u> EDFATYYC <u>RQVGSYP</u> ETFGQGT <u>KLEIKR</u>
44	AB420VH	VH-IL17 (配列 2)	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV <u>SCKASGGSF</u> GGYIGWVRQA PGQGLEW <u>MGGITPFFGFADYAQ</u> KFQGRVTITAD <u>ESTTTAY</u> MELSGLTSDDTAVYYC <u>ARDPNEFWGGY</u> STHDFDS <u>WGQ</u> GT TVT <u>VSS</u>
45	AB420VL	VL-IL17 (配列 2)	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQDIGSELHWYQQKP DQPPKLLIKYASHSTSGVPSRFSGSGSGTDFTLT <u>INGLEA</u> EDAGTYYCHQTD <u>SLPYT</u> FGPGTKVDIKR
46	AB461VH	VH-IL17 (配列 3)	EVQLVQSGAEVKKPGESVKISCKASGGSFRSYGISWVRQA PGQGLEW <u>MGGITHFFGITDYA</u> QKFQGRVTITAD <u>ESTTTAY</u> MELSGLTSDDTAVYYC <u>AREP</u> NDFWGGYDTHDFDS <u>WGQ</u> GT TVT <u>VSS</u>
47	AB461VL	VL-IL17 (配列 3)	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQ <u>NIGSEL</u> HWYQQKP DQSPKLLIKYASHSISGVPSRFSGSGSGTDFTLT <u>INGLEA</u> EDAATYYCHQSDTL <u>PHT</u> FGQGT <u>KVDIKR</u>
	AB274VH	VH-IL17 (配列 4)	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV <u>SCKASGGSF</u> GGYIGWVRQA PGQGLEW <u>MGGITPFFGFADYAQ</u> KFQGRVTITAD <u>ESTTTAY</u> MELSGLTSDDTAVYYC <u>ARDPNEFWNGY</u> STHDFDS <u>WGQ</u> GT TVT <u>VSS</u>
	AB274VL	VL-IL-17 (配列 4)	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQDIGSELHWYQQKP DQPPKLLIKYASHSTSGVPSRFSGSGSGTDFTLT <u>INGLEA</u> EDAGTYYCHQTD <u>SLPYT</u> FGPGTKVDIKR

10

20

30

40

【0164】

表1に列挙されたそれぞれのVHとVL配列のCDR1～3に下線を付す。例えば、CDR1～3は、配列番号32について、アミノ酸位置31～35、50～66および99～108で下線を付される。特定の標的に結合することができる特定のDVD-Ig結合タンパク質、およびそれを作製する方法に関する詳細な説明は、本開示を通じて、および以下の実施例の部において提供される。

【0165】

50

B．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、DVD-Ig重鎖およびDVD-Ig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。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DVD-Ig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DVD-Ig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、DVD-Ig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ことが好ましい。

【0166】

DVD-Igタンパク質の組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、DVD-Ig重鎖およびDVD-Ig軽鎖の両方をコードする組換え発現ベクターが、dhfr-CHO細胞中に導入される。組換え発現ベクター内で、DVD-Ig重鎖および軽鎖配列は、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/AdMLPプロモーター制御要素へ作用可能に連結されている。組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。選択される形質転換体宿主細胞は、DVD-Ig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DVD-Igタンパク質が培地から回収される。組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DVD-Ig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。DVD-Igタンパク質が合成されるまで、適切な培地中で、本明細書において提供される宿主細胞を培養することによって、本明細書において提供されるDVD-Igタンパク質を合成する方法も提供される。本方法は、培地からDVD-Ig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。

【0167】

DVD-Ig結合タンパク質の重要な特徴は、DVD-Ig結合タンパク質が、慣用の抗体と類似の様式で産生および精製され得ることである。DVD-Ig結合タンパク質の産生は、定常領域の配列修飾、または化学的修飾を必要とせず、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、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得る。

【0168】

驚くべきことに、本明細書において提供される「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。

【0169】

いくつかの実施形態において、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、所望の二重特異的四価タンパク質であり、したがって、増大した商用的有用性を有する。したがって、様々な実施形態において、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。

【0170】

「二重特異的四価完全長結合タンパク質」の「主要産物」をもたらす単一細胞において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させる方法であって、「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%超であり、例えば、75%超および90%超である方法が提供される。

10

20

30

40

50

【0171】

結合タンパク質の使用

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。結合タンパク質は、結合したまたは結合していない抗体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、 α -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。発光物質の例は、ルミノールであり、適切な放射性材料の例には、 ^3H 、 ^{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。

10

【0172】

一実施形態において、本明細書に提供される結合タンパク質はインビトロとインビボの両方においてこれらの抗原標的の活性を中和することができる。したがって、このような結合タンパク質は、例えば、抗原を含有する細胞培地中で、ヒト対象中で、本明細書において提供される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。本明細書において提供される結合タンパク質は、治療目的のために、ヒト対象に投与することができる。

20

【0173】

「抗原活性が有害である障害」という用語は、障害に罹患している対象における抗原の存在が、障害の病態生理に関与しているまたは障害の悪化に寄与する因子のいずれかであるまたはそれが疑われることが示されている疾患および他の障害を含むことを意図する。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、および結合タンパク質の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。

30

【0174】

DVD-Ig結合タンパク質は、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。

40

【0175】

さらに、本明細書において提供されるDVD-Ig結合タンパク質は、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。また、DVD-Ig結合タンパク質は、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、さらに、抗原の半減期を増加させることもできる。さらに、DVD-Ig結合タンパク質は、患者に植え込まれた医療デバイスに物理的に連結されまたはこれ

50

らの医療デバイスを標的とするように設計され得る (Burke et al., (2006) *Advanced Drug Deliv. Rev.* 58 (3): 437 - 446; Hildebrand et al., (2006) *Surface and Coatings Technol.* 200 (22 - 23): 6318 - 6324; Drug/device combinations for local drug therapies and infection prophylaxis, Wu (2006) *Biomaterials* 27 (11): 2450 - 2467; Mediation of the cytokine network in the implantation of orthopedic devices., Marques (2005) *Biodegradable Systems in Tissue Engineer. Regen. Med.* 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、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。

【0176】

C. 様々な疾病における結合タンパク質の使用

本明細書において提供される結合タンパク質分子は、様々な疾患を治療するための治療分子としても有用であり、例えば、結合タンパク質によって認識される標的は有害である。このような結合タンパク質は、特定の疾患に關与する1つ以上の標的に結合することができる。IL-1 および/またはIL-17の阻害はまた、動物モデルにおける抗ウイルスワクチンを増大させるために使用され、HIVおよび他の感染症、例えば、ヒトライノウイルス、他のエンテロウイルス、コロナウイルス、ヘルペスウイルス、インフルエンザウイルス、パラインフルエンザウイルス、呼吸器合胞体ウイルスまたはアデノウイルスの治療に有益であり得る。

【0177】

開示を制限することなく、特定の疾患状態に關する追加情報が提供される。

【0178】

1. ヒト自己免疫および炎症性応答

IL-1 および/またはIL-17は、一般的な自己免疫および炎症反応に關与しており、例えば、喘息、アレルギー、アレルギー性肺疾患、アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、線維症、嚢胞性線維症(CF)、線維性肺疾患、特発性肺線維症、肝線維症、狼瘡、B型肝炎關連肝疾患および線維症、敗血症、全身性エリテマトーデス(SLE)、糸球体腎炎、炎症性皮膚疾患、乾癬、糖尿病、インスリン依存性糖尿病、炎症性腸疾患(IBD)、潰瘍性大腸炎(UC)、クローン病(CD)、関節リウマチ(RA)、変形性関節症(OA)、多発性硬化症(MS)、移植片対宿主病(GVHD)、移植拒絶反応、虚血性心疾患(IHD)、セリアック病、接触過敏症、アルコール性肝疾患、ベーチェット病、アテローム硬化性血管疾患、眼球表面の炎症性疾患またはライム病などが挙げられる。したがって、いくつか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、これらの状態を治療するために使用し得る。

【0179】

本明細書において提供される結合タンパク質はまた、神経疾患を治療するために使用することができる。一実施形態において、本明細書において提供される結合タンパク質またはその抗原結合部分は、神経変性疾患ならびに神経再生および脊髄損傷を伴う状態を治療するために使用される。

【0180】

2. 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。コルチコステロイドは、今日、喘息に対する最も重要な

10

20

30

40

50

抗炎症性治療であるが、こ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。

【0181】

IL-1 は、喘息と関連した病理学的応答を引き起こすのに重要な役割を有するものとして示唆されている。肺におけるIL-1 の作用を低減させるための抗IL-1 mAb療法の開発は、喘息の新規治療としてかなりの有望性を提供する魅力的な新しいアプローチである。しかしながら、示差的な免疫学的経路の他のメディエーターはまた、喘息病因に関与し、これらのメディエーターの遮断は、IL-1 に加えて、付加的な治療上の利点を提供する。このような標的対には、限定されないが、IL-1 および炎症誘発性サイトカイン、例えば、IL-17が挙げられる。IL-17が喘息の病因に関与しているという証拠が増えつつある。IL-17は、気道へ好中球を誘導し、喘息におけるヘルパーT2 (Th2)細胞媒介性好酸球性気道炎症を増大させる。最近の研究では、IL-17の阻害剤および他の多様な調節因子が、抗原誘発性気道炎症、気管支過敏性、および喘息の動物モデルにおけるTh2サイトカインレベルを低減することが示されている(概説については、ParkおよびLee (2010) *Respiratory Res.*, 11:78を参照されたい。)。したがって、いくつかの実施形態において、本明細書において開示されている結合タンパク質は、喘息を治療するために使用することができる。

10

【0182】

炎症およびAHRをと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、様々な結合タンパク質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. (2005) *J. Exp. Med.* 201(12):1875-1879; Lloyd et al. (2001) *Adv. Immunol.* 77, 263-295; Boyce et al. (2005) *J. Exp. Med.* 201(12):1869-1873; および Snibson et al. (2005) *J. Brit. Soc. Allergy Clin. Immunol.* 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. (1994) *Toxicol.* 92(1-3):229-43; Descotes et al. (1992) *Dev. Biol. Standard.* 77:99-102; Hart et al. (2001) *J. Allergy Clin. Immunol.* 108(2):250-257参照)。

20

30

【0183】

3. 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。多くの炎症促進性サイトカイン、ケモカインおよび増殖因子が、罹患した関節中に発現されている。最近の研究では、RAにおけるT細胞の関与がIL-17によってかなりの程度まで媒介されることを示す。動物研究では、著しく増加したIL-17の発現は、ヒトRAに似た関節病変を発症するマウスにおいて検出されたことが示されている。IL-17遮断の有益な効果はまた、該疾患の様々な動物モデルで観察された(概説については、Witowskiら、(2004) *Cell. Mol. Life Sci.* 61:567-579を参照されたい。)。結合タンパク質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 (2005) *Comp. Med.* 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」由来結合タンパク質分子を用いてマウ

40

50

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結合タンパク質は、ヒト結合タンパク質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（例えば、類似した親和性、類似した中和効力、類似した半減期など）。したがって、いくつか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、関節リウマチを治療するために使用され得る。

【0184】

4．変形性関節症

OAの発症、持続および進行は、IL-1が中枢的な役割を果たす機械的および生化学的経路の複雑なカスケードにより媒介される。IL-1 およびIL-1 は、単球、マクロファージおよび好中球だけでなく、軟骨細胞、滑膜線維芽細胞および破骨細胞などの関節組織の細胞によっても産生される（例えばDinarelloら（2009）Ann. Rev. Immunol. 27: 519-550を参照されたい。）。インビトロにおいて、IL-1は、軟骨細胞および滑膜細胞を刺激し、OAに繋がる軟骨破壊に關与するプロテナーゼを産生させる（例えば、Dayerら（1977）Science 195: 181-183；Dayerら（1984）Biochem. Pharmacol. 33: 2893-2899；McGuire-Goldringら（1984）Arthritis Rheum. 27: 654-662参照）、ならびに正常な硝子軟骨の細胞外マトリックス（ECM）の主成分であるプロテオグリカンとII型コラーゲンの合成を阻害することができる（例えば、Goldringら（1987）J. Biol. Chem. 262: 16724-16729；Goldringら（1988）J. Clin. Invest. 82: 2026-2037参照）。前臨床試験および臨床試験は、OAの病因におけるIL-1の証拠をさらに提供している。例えば、IL-1を動物の膝に関節内（ia）注射すると、白血球浸潤および軟骨損失を生じさせた（Pettipharら（1986）Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83: 8749-8753）。対照的に、IL-1アンタゴニストのia注射は、実験的OAの進行が有意に抑制された（例えば、Pelletierら（1997）Arthritis Rheum. 40: 1012-1019；Caronら（1996）Arthritis Rheum. 39: 1535-1544；Fernandesら（1999）Am. J. Pathol. 154: 11590-11690；Zhangら（2006）Biochem. Biophys. Res. Commun. 341: 202-208参照）。さらに、IL-1ノックアウト（KO）マウスは、これらの野生型対照と比較すると、外科的に誘発した軟骨損傷に対して耐性であることが判明した（Glassonら（2009）Osteoarthritis Cartilage, 18: 572-580）。

【0185】

IL-1 とIL-1 はともにヒトOA患者の滑膜、軟骨および滑液で発現される（例えば、Farahatら（1993）Ann. Rheum. Dis. 52: 870-875参照）。IL-1アンタゴニストとしてIL-1受容体アンタゴニストであるアナキンラ、IL-1受容体モノクローナル抗体であるAMG-108は、OA試験において症状と軟骨保護に関して多少の効果を示した（“Results from a Randomized Controlled Trial of AMG 108 (a fully human monoclonal antibody to IL-1R type I) in Patients With Osteoarthritis of the Knee” Cohenら、ACR2007）。したがって、いくつか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、変形性関節症を治療するために使用され得る。

【0186】

5．全身性エリテマトーデス（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。IL-17の有意なレベル増

加は、全身性エリテマトーデスの患者において検出されている (Morimotoら (2001) *Autoimmunity*, 34 (1): 19-25; Wongら (2008) *Clin Immunol*, 127 (3): 385-93)。IL-17は、SLEの病因において重要なサイトカインを表す。IL-17産生の増大は、SLEを有する患者において、および狼瘡様疾患を有する動物において示されている。動物モデルは、IL-17の遮断が狼瘡の出現を減少させることを実証している (概説については、Nalbantiら (2009) 157 (2): 209-215を参照されたい。)。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 などに対する反応性) を基礎として、「適合代理抗体」由来結合タンパク質分子を用いてマウスループ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結合タンパク質は、ヒト結合タンパク質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 (例えば、類似した親和性、類似した中和効力、類似した半減期など)。したがって、いくつか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、SLEを治療するために使用され得る。

10

【0187】

6. 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。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球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。MSにおいて、IL-17の発現増加は、脳病変と、血液および脳脊髄液から単離された単核細胞の両方において検出されている。IL-17産生細胞は、活性なMS病変において非常に富化しており、このサイトカインの中和は有益である可能性があることを示唆する (概説については、Witowskiら (2004) *Cell Mol Life Sci*, 61: 567-579を参照されたい。)。したがって、いくつか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、MSを治療するために使用され得る。

20

【0188】

MSを治療するための結合タンパク質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 et al. (2005) *Trends Immunol*, 26 (11): 565-71; Lublin et al. (1985) *Springer Semin Immunopathol*, 8 (3): 197-208; Genain et al. (1997) *J Mol Med*, 75 (3): 187-97; Tuohy et al. (1999) *J Exp Med*, 189 (7): 1033-42; Owens et al. (1995) *Neurol Clin*, 13 (1): 51-73; および Hart 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を基礎として、「適合代理抗体」由来結合タンパク質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結合タンパク質は、ヒト結合タンパク質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 (例えば、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」由来結合タンパク質は予期される薬理学および安全性研究のために選択され得る。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. (1994) *Toxicol*, 92 (1-3): 229-43; Descotes et al. (1992) *Devel Biol Stand*, 77: 99-102; Jones (2000) *IDrugs*, 3 (4): 44

30

40

50

2 - 6) 参照) 。

【 0 1 8 9 】

7 . 敗血症

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。サイトカインは、敗血症性ショックの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 A 2 も活性化させる。これらの効果および他の効果は、血小板活性化因子の濃度増加、一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をもたらす。敗血症の IL - 17 レベルおよび臨床予後は、負に相関することが示されている。IL - 17 A の中和は、敗血症患者の生存率を有意に向上させることができる (F l i e r l r a (2 0 0 8) F A S E B J . 2 2 : 2 1 9 8 - 2 2 0 5 を参照されたい。) 。

10

【 0 1 9 0 】

一実施形態は、例えば、IL - 1 および IL - 17 などの敗血症に関与する 1 つ以上の標的に結合することができる結合タンパク質に関する。敗血症を治療するためのこのような結合タンパク質の有効性は、当該技術分野で公知の前臨床動物モデルにおいて評価することができる (B u r a s r a (2 0 0 5) N a t . R e v . D r u g D i s c o v . 4 (1 0) : 8 5 4 - 6 5 および C a l a n d r a r a (2 0 0 0) N a t . M e d . 6 (2) : 1 6 4 - 7 0 を参照されたい。) 。したがって、いくつか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、敗血症を治療するために使用され得る。

20

【 0 1 9 1 】

8 . 神経疾患

a . 神経変性疾患

神経変性疾患は、通常、こ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。これらは、神経機能の進行性の喪失 (例えば、神経細胞死、軸索損失、神経炎性ジストロフィー、脱髄) 、運動能力の喪失および記憶喪失によって特徴付けられる。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。1 を超える疾患媒介物を標的とする特定の治療は、単一の疾患メカニズムを標的にして観察されるものよりも、慢性神経変性疾患のさらにより良好な治療効果を提供することができる (D e a n e r a (2 0 0 3) N a t u r e M e d . 9 : 9 0 7 - 1 3 ; および M a s l i a h r a (2 0 0 5) N e u r o n . 4 6 : 8 5 7 を参照されたい。) 。

30

【 0 1 9 2 】

本明細書において提供される結合タンパク質分子は、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 つ以上の標的に結合することが可能である。結合タンパク質分子の効力は、アミロイド前駆体タンパク質または R A G E 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、結合タンパク質分子を構築し、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、最良の治療的結合タンパク質を選択することができる。結合タンパク質分子は、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。

40

【 0 1 9 3 】

b . 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 (S C I) 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

50

ば、サイトカインおよびケモカイン)が起こる。IL-17は、神経炎症に寄与し、機能回復を妨げる、二次変性のメディエーターである。IL-17 KOマウスを用いた研究は、IL-17が、神経因性損傷後の神経炎症性応答および疼痛過敏症に寄与することを実証している(KimおよびMoalem-Taylor(2010) *J Pain*. 12(3):370-83)。IL-17欠損は、マウスにおける脊髄挫傷損傷後の運動機能回復および組織温存を向上させる(Hillら(2011) *Neurosci Lett*. 487(3):363-7)。したがって、いくつか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、神経再生および脊髄修復のために使用され得る。

【0194】

結合タンパク質分子の効力は、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、これらの結合タンパク質分子を構築し、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、最良の治療的結合タンパク質を選択することができる。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、結合タンパク質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、結合タンパク質のトランス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結合タンパク質を使用することも可能である(Coloma et al.(2000) *Pharm Res*. 17(3):266-74; Boado et al.(2007) *Bioconj Chem*. 18(2):447-55)。

【0195】

9. 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 et al.(2003) *Annu. Rev. Med*. 54:343-69)。2つの別個の腫瘍媒介物質を標的とする二重特異的抗体の使用は、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。IL-17は、おそらく血管新生を刺激することによって、腫瘍増殖を支持することが示唆されている。IL-17はまた、抗腫瘍免疫および腫瘍増殖の調節に重要な役割を果たす。

【0196】

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を用いて治療または診断され得る疾患には、限定されないが、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(子宮頸部、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(ホジキンリンパ腫と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挙げられる。

【0197】

一実施形態において、本明細書において提供される抗体または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。

10

20

30

40

50

【0198】

10. 遺伝子治療

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をコードする核酸配列または本明細書において提供される別の予防薬もしくは治療薬は、遺伝子治療を手段として、障害または1つ以上の症状を治療、予防、管理または改善するために投与される。遺伝子治療とは、発現されたまたは発現可能な核酸の対照への投与によって行われる治療を指す。この実施形態において、核酸は、予防効果または治療効果を媒介する本明細書において提供されるこれらによってコードされた抗体または予防薬もしくは治療薬を生成する。

【0199】

当該技術分野において利用可能である遺伝子治療のための方法のいずれかは、本明細書において提供される方法において使用され得る。遺伝子治療の方法に関する一般的な概説については、Goldspiehlら(1993) Clin. Pharmacy 12: 488-505; WuおよびWu(1991) Biotherapy 3: 87-95; Tolstoshev(1993) Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 32: 573-596; Mulligan(1993) Science 260: 926-932; MorganおよびAnderson(1993) Ann. Rev. Biochem. 62: 191-217; ならびにMay(1993) TIBTECH 11(5): 155-215を参照されたい。使用することができる組換えDNA技術の、当該技術分野において一般的に知られている方法は、Ausubelら(編集)、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説明は、米国特許出願公開第US20050042664号に開示されている。

【0200】

医薬組成物

様々な実施形態において、単独または予防薬、治療薬および/または医薬として許容される担体と組み合わせた、1つ以上の結合タンパク質を含む医薬組成物が提供される。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、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。単独または予防薬、治療薬および/または医薬として許容される担体と組み合わせた医薬組成物の製剤は、当業者に公知である(米国特許出願公開第20090311253A1)。

【0201】

本明細書において提供されている医薬組成物または予防薬もしくは治療薬を投与する方法には、限定されないが、非経口投与(例えば、皮内、筋内、腹腔内、静脈内および皮下)、硬膜外投与、腫瘍内投与、粘膜投与(例えば、鼻腔内および経口経路)および経肺投与(例えば、吸入器または噴霧器を用いて投与されるエアロゾル化合物)が挙げられる。特定の投与経路のための医薬組成物の製剤ならびに投与の様々な方法に必要な材料および技術が利用可能であり、当業者に公知である(例えば、米国特許出願公開第20090311253A1)。

【0202】

投与計画は、最適な所望の反応(例えば、治療的または予防的反応)を提供するように調整されてもよい。例えば、単回ボラスが投与されてもよく、いくつかに分割した用量は経時的に投与されてもよく、または用量は比例的に減少されてもよくもしくは治療状況の緊急性によって示されるように増加されてもよい。投与の容易性および投与量の均一性のために投薬単位形態において非経口組成物を処方することが特に有利である。「投薬単位

10

20

30

40

50

形態」という用語は、処置されるべき哺乳動物対象のための単位用量として適した物理的に別個の単位を指し；それぞれの単位は、必要とされる医薬的担体と共に所望の治療効果を生じるように計算された所定量の活性化合物を含有する。本明細書において提供される投薬単位形態の仕様は、(a) 活性化合物の固有の特性および達成されるべき特定の治療効果または予防効果および (b) 個体における感受性の処置のために、このような活性化合物の配合に関する当該技術分野における固有の制限、によって決定され、直接的に依存する。

【0203】

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な有効量についての例示的であり、非限定的な範囲は、0.1 ~ 20 mg / kg であり、例えば、1 ~ 10 mg / kg である。用量値は、緩和されるべき状態の種類および重症度によって変化し得ることに留意すべきである。いずれかの特定の対象について、特定の投薬処方、個々の必要性および組成物を投与しまたは投与を管理している者の専門的な判断に従って、経時的に調整されてもよく、本明細書において記載されている用量範囲は、単に例示的であり、請求される組成物の範囲または実施を制限することを意図していないことはさらに理解されるべきである。

10

【0204】

併用療法

本明細書において提供される結合タンパク質はまた、種々の疾患の治療に有用な1つ以上の追加の治療薬とともに投与することができ、追加の薬剤は、その意図される目的で当業者によって選択される。例えば、追加の薬剤は、本明細書において提供される抗体によって治療される疾患または状態の治療に有用であるとして当該技術分野において認識されている治療薬であり得る。組合せは、1を超える追加の薬剤、例えば、2つまたは3つの追加の薬剤を含むことができる。

20

【0205】

併用療法剤には、限定されないが、抗腫瘍剤、放射線療法、化学療法、例えば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、ドキシソルピシン、ゲムシタピン、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)、COX-2阻害剤(例えば、セレコキシブ)、キナーゼ阻害剤およびsiRNAが含まれる。

30

【0206】

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、イブプロフェンのような薬物を含む、NSAIDsとも称される非ステロイド性抗炎症薬(単数または複数)の添加を含んでもよい。他の組合せは、プレドニゾ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結合タンパク質と組み合わせる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またはその結合部分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：サイトカイン抑制抗炎症薬(単数または複数)(CSAID)；他のヒトサイトカインまたは増殖因子、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できる。

40

50

【0207】

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；したがって、以下の1つ以上が、本明細書に開示されている結合タンパク質と併用して投与されてもよい。例には、本明細書において開示される結合タンパク質、ならびにキメラ、ヒト化またはヒトTNF抗体、アダリムマブ（PCT公開第WO97/29131号）、CA2（Remicade（商標））、CDP571、可溶性p55もしくはp75TNF受容体、またはこれらの誘導体（p75TNFR1gG（Enbrel（商標））またはp55TNFR1gG（Lenercept）およびTNF変換酵素（TACE）阻害剤のようなTNFアンタゴニスト；または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）が挙げられる。他の組合せには、本明細書において開示される結合タンパク質およびインターロイキン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、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アンタゴニストが関連する。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、本明細書において開示される結合タンパク質と非枯渴性抗CD4阻害剤である。さらに他の組合せには、本明細書において開示される結合タンパク質と、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。

10

20

【0208】

本明細書において提供される結合タンパク質はまた、薬剤と併用されてもよく、例えば、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（penicillamine）、金チオリンゴ酸塩（筋内および経口）、アザチオプリン、コルヒチン（colchicine）、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、TNF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薬剤（例えば、IRAK、NIK、IKK、p38またはMAPキナーゼ阻害剤）、IL-1変換酵素阻害剤、TNF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これらの誘導体（例えば、可溶性p55またはp75TNF受容体または誘導体p75TNFR1gG（Enbrel（商標））およびp55TNFR1gG（Lenercept））、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-11、IL-13およびTGF β ）、セレコキシブ、葉酸、硫酸ヒドロキシクロロキニン、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、メチルプレドニゾン、メロキシカム、酢酸メチルプレドニゾン、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、プロボキシフェンナプシラート/papap、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/papap、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/fapap/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、プレドニゾン、硫酸モルヒネ、塩酸リドカイン、インドメタシン、硫

30

40

50

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、オメブラゾール、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せ得る。組合せは、メトトレキサートまたはレフルノミドを含み、中程度または重症の関節リウマチの症例においてはシクロスポリンを含む。

【0209】

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薬剤の1つと併用して投与される：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；プロブキシフェンナブシラート/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；アセトアミノエン；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；オメブラゾール；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；VX-740；ロフルミラスト；IC-485；CDC-801またはメソプラム。

【0210】

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：ブデノシド；上皮細胞増殖因子；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；リボ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-1 mAb；抗IL-6 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；他のヒトサイトカインまたは増殖因子、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抗体またはその抗原結合部分は、CD2、CD3、CD4、CD8、CD25、CD28、CD30、CD40、CD45、CD69、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できる。本明細書において提供される抗体またはその抗原結合部分はまた、メトトレキサート、シクロスポリン、FK506、ラバマイシン、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、TNF 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-1 変換酵素阻害剤、TNF 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

10

20

30

40

50

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これらの誘導体（例えば、可溶性 p 5 5 または p 7 5 TNF 受容体、s I L - 1 R I、s I L - 1 R I I、s I L - 6 R）または炎症抑制性サイトカイン（例えば、I L - 4、I L - 1 0、I L - 1 1、I L - 1 3 または T G F）または b c l - 2 阻害剤などの薬剤とも組み合わせられ得る。

【 0 2 1 1 】

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：TNF アントゴニスト、例えば、抗 TNF 抗体、アダリムマブ（P C T 公開第 W O 9 7 / 2 9 1 3 1 号；H U M I R A）、C A 2（R E M I C A D E）、C D P 5 7 1、TNF R - I g 構築物、（p 7 5 T N F R I g G（E N B R E L）または p 5 5 T N F R I g G（L E N E R C E P T））阻害剤または P D E 4 阻害剤が含まれる。本明細書において提供される抗体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できる。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また、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薬剤、ならびに I L - 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薬剤、例えば、I L - 1 変換酵素阻害剤または I L - 1 r a と組み合わせられ得る。本明細書において提供される抗体またはその抗原結合部分はまた、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 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、I L - 1 1 と組み合わせることができる。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、ジフェノキシレート / 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、フォレート、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 / a p a p、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、チメロサル / ホウ酸、コレステラミン / 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、バルサラジドニナトリウム、リン酸コデイン / アセトアミノフェン（a p a p）、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、メチルプレドニゾン、ナタリズマブまたはインターフェロンガンマと組み合わせることができる。

【 0 2 1 2 】

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多発性硬化症に対する治療剤の非限定的な例には、以下：コルチコステロイド；プレドニゾン；メチルプレドニゾン；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 - 1 a（A V O N E X；B i o g e n）；インターフェロン - 1 b（B E T A S E R O N；C h i r o n / B e r l e x）；インターフェロン - n 3（I n t e r f e r o n S c i e n c e s / F u j i m o t o）、インターフェロン - （A l f a W a s s e r m a n n / J & J）、インターフェロン - 1 A - I F（S e r o n o / I n h a l e T h e r a p e u t i c s）、P E G インターフェロン 2 b（E n z o n / S c h e r i n g - P l o u g h）、コポリマー 1（C o p - 1；C O P A X O N E；T e v a P h a r m a c e u t i c a l I n d u s t r i e s, I n c.）；高圧酸素；静脈内免疫グロブリン；クラブリピン；他のヒトサイトカインまたは増殖因子およびこれらの受容体（例えば、TNF、LT、I L - 1、I L - 2、I L - 6、I L - 7、I L - 8、I L - 2 3、I L - 1 5、I L - 1 6、I L - 1 8、E M A P - I I、G M - C S F、F G F または P D G F）に対する抗体もしくはアント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、C D 2、C D 3、C D 4、C D 8、C D 2 5、C D 2 8、C D 3 0、C D 4 0、C D 4 5、C D 6 9、C D 9 0 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できる。本明細書において提供される結合タンパク質はま

10

20

30

40

50

た、メトトレキサート、シクロスポリン、FK506、ラパマイシン、ミコフェノレート・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、TNF 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-1 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これらの誘導體（例えば、可溶性p55またはp75TNF受容体、sIL-1RI、sIL-1RII、sIL-6R）または炎症抑制性サイトカイン（例えば、IL-4、IL-10、IL-13またはTGF β ）またはbc1-2阻害剤などの薬剤と組み合わせられ得る。

10

【0213】

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 γ 、例えば、IFN γ 1aおよびIFN γ 1b；コパキソン、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。

【0214】

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喘息に対する治療剤の非限定的な例には、以下：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、リン酸プレドニゾンナトリウム、トリアムシノロンアセトニド、ニ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、プレドニゾン、テオフィリン無水物、コハク酸メチルプレドニゾンナトリウム、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、メチルプレドニゾン、アミノキシリリン三水和物、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(hydrate)、グアイフェネシン/d-メトルフアン、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、メチルプレドニゾン、硫酸メタプロテレノールが含まれる。

20

30

【0215】

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COPDに対する治療剤の非限定的な例には、以下：硫酸アルブテロール/イプラトロピウム、イプラトロピウムプロミド、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、アミノキシリリン三水和物、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、メチルプレドニゾン、フ

40

50

ロ酸モメタゾン、p - エフェドリン / c o d / クロロフェニル、酢酸ビルブテロール、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、T g A A T、シロミラスト、ロフルミラストが含まれる。

【0216】

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乾癬に対する治療剤の非限定的な例には、以下：K D Rの小分子阻害剤、T i e - 2の小分子阻害剤、カルシボトリエン、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 (a u g m e n t e d) ニ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、プラモキシシン / 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 (e m o l l)、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、h c / 次没食子酸ビスマス (b i s m u t h s u b g a l) / 酸化亜鉛 (z n o x) / r e s o r、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 / n a l a c t、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、石鹼 / トリプロムサラン、チメロサル / 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、P U V A、U V B、スルファサラジンが含まれる。

10

20

【0217】

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S L E (狼瘡) に対する治療剤の例には、以下：N S A I D、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；C O X 2 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；P D E 4の阻害剤またはプリン合成阻害剤、例えば、C e l l c e p t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また、薬剤と併用されてもよく、例えば、スルファサラジン、5 - アミノサリチル酸、オルサラジン、イムランならびにI L - 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、I L - 1 変換酵素阻害剤およびI L - 1 r aのようなカスパーゼ阻害剤とも組み合わせられ得る。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、C T L A - 4 - I g Gまたは抗B7抗体ファミリー抗体、抗P D - 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、I L - 11または抗サイトカイン抗体、例えば、ホノトリズマブ (抗I F N g抗体) または抗受容体受容体抗体、例えば、抗I L - 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できる。本明細書において提供される抗体またはその抗原結合部分はまた、L J P 3 9 4 (アベチムス)、B細胞を枯渇させまたは不活化する薬剤、例えば、リツキシマブ (抗C D 2 0抗体)、リンホスタット - B (抗B l y S抗体)、T N Fアンタゴニスト、例えば、抗T N F抗体、アダリムマブ (P C T公開第W O 9 7 / 2 9 1 3 1号；H U M I R A)、C A 2 (R E M I C A D E)、C D P 5 7 1、T N F R - I g構築物 (p 7 5 T N F R I g G (E N B R E L) およびp 5 5 T N F R I g G (L E N E R C E P T)) およびb c l - 2阻害剤 (トランスジェニックマウスにおけるb c l - 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いるためである (M a r q u i n a 参照)) とともに使用され得る。本明細書において提供される医薬組成物は、本明細書に

30

40

50

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、抗体または抗体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。

10

【0218】

診断

本明細書における開示はまた診断の適用例を提供し、限定されないが、診断アッセイ法、1つ以上の結合タンパク質を含む診断用キット、ならびに自動化および/または半自動化システムにおける使用のための方法およびキットの適応が含まれる。提供される方法、キットおよび適応は、個体における疾患または障害の検出、監視および/または治療に用いることができる。これは、以下でさらに明らかにされる。

【0219】

D. 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つの結合タンパク質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。例には、限定されないが、イムノアッセイおよび/または質量分析法を用いる方法が含まれる。

20

【0220】

本開示によって提供されるイムノアッセイは、とりわけ、サンドイッチイムノアッセイ、ラジオイムノアッセイ(RIA)、エンザイムイムノアッセイ(EIA)、酵素結合免疫吸着検定法(ELISA)、競合阻害イムノアッセイ、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を含む。

30

【0221】

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、イムノアッセイの例である。

【0222】

質量分析法を用いる方法は、本開示によって提供され、限定されないが、MALDI(マトリックス支援レーザー脱離/イオン化)またはSELDI(表面増強レーザー脱離/イオン化)が含まれる。

【0223】

イムノアッセイおよび質量分析法を用いて生物学的試験試料を回収し、操作し、処理しおよび分析するための方法は、本開示の実施において提供される(US 2009-0311253A1)。

40

【0224】

E. 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、固相上に固定されている、本明細書に開示されている結合タンパク質および/または抗分析物結合タンパク質(またはその

50

断片、バリエーションまたはそのバリエーションの断片)を含む組成物を含むことができる。

【0225】

任意選択により、キットは、単離されたまたは精製された分析物を含み得る、校正因子または対照を含むことができる。キットは、イムノアッセイおよび/または質量分析法によって、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つの成分を含むことができる。キット成分は、分析物、結合タンパク質および/または抗分析物結合タンパク質またはその断片を含み、任意選択により、当該分野で公知の任意の検出可能な標識を用いて標識されてもよい。本開示の実施において提供される構築のための材料および方法は、当業者に公知である(米国2009-0311253A1)。

【0226】

F. 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。

【0227】

Abbott Laboratoriesから入手可能な他のプラットフォームには、AxSYM(登録商標)、IMx(登録商標)(例えば、米国特許第5,294,404号を参照されたい)、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フォームが含まれるが、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、第7,419,821号、および第7,682,833号;ならびに米国特許公開第20040018577号、第20060160164号、およびUS20090311253に記載されている。

【0228】

本明細書に記載されている本方法の他の適切な改変および適合が明白であり、本明細書に開示されている範囲または実施形態から逸脱することなく、適切な均等物を用いてこれらを行い得ることは、当業者に容易に明確になる。ここに、ある種の実施形態を詳細に記載してきたが、例示のみを目的とし、限定することを意図したものではない、下記の実施例を参照することによって、本発明がより明確に理解される。

【実施例】

【0229】

[実施例1] 抗IL-1 および抗IL-17二重可変ドメイン(DVD)結合タンパク質の生成および特徴付け

2本鎖および4本鎖二重可変ドメイン(DVD)結合タンパク質は、親抗体からの可変ドメインを用いて、DVD-Ig結合タンパク質可変重鎖および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、従来知られている方法に従ってpHybC-D2ベクターに該断片をクローニングすることによって生成された。DVD-Ig結合タンパク質構築物は、当該技術分野において既知の方法に従って、293細胞にクローニングされ、そこで発現させ、精製された。DVD-Ig結合タンパク質についてのDVD VH鎖およびVL鎖を以下に提供する。表2の第1列に列挙された配列番号は、表のそれぞれの行において特定されたDVD-Ig結合タンパク質の全可変ドメインの配列を指す。表2の

10

20

30

40

50

最終列におけるそれぞれの行は、3つの配列番号を与える。第一の数は、外側可変ドメイン配列の配列番号を指し、第二の数は、リンカーの配列番号を指し、第三の数は、内側可変ドメイン配列の配列番号を指す。これらはともに、全DVD可変ドメイン配列（すなわち、VD1-X1-VD2を含む全DVD可変ドメイン）内に見出される。

【0230】

【表2】

表2:IL-1βおよびIL-17に結合するDVD-Ig結合タンパク質

配列番号	DVD-Ig可変ドメイン名	外側可変ドメイン名 (VD1)	リンカー	内側可変ドメイン名 (VD2)	配列番号式VD1-X1-VD2
48	DVD2423H	AB268VH	HG-短い	AB420VH	32-21-44
49	DVD2423L	AB268VL	LK-短い	AB420VL	33-13-45
50	DVD2424H	AB268VH	HG-短い	AB420VH	32-21-44
51	DVD2424L	AB268VL	LK-長い	AB420VL	33-14-45
52	DVD2425H	AB268VH	HG-長い	AB420VH	32-22-44
53	DVD2425L	AB268VL	LK-短い	AB420VL	33-13-45
54	DVD2426H	AB268VH	HG-長い	AB420VH	32-22-44
55	DVD2426L	AB268VL	LK-長い	AB420VL	33-14-45
56	DVD2427H	AB269VH	HG-短い	AB420VH	34-21-44
57	DVD2427L	AB269VL	LK-短い	AB420VL	35-13-45
58	DVD2428H	AB269VH	HG-短い	AB420VH	34-21-44
59	DVD2428L	AB269VL	LK-長い	AB420VL	35-14-45
60	DVD2429H	AB269VH	HG-長い	AB420VH	34-22-44
61	DVD2429L	AB269VL	LK-短い	AB420VL	35-13-45
62	DVD2430H	AB269VH	HG-長い	AB420VH	34-22-44
63	DVD2430L	AB269VL	LK-長い	AB420VL	35-14-45
64	DVD2431H	AB270VH	HG-短い	AB420VH	36-21-44
65	DVD2431L	AB270VL	LK-短い	AB420VL	37-13-45
66	DVD2432H	AB270VH	HG-短い	AB420VH	36-21-44
67	DVD2432L	AB270VL	LK-長い	AB420VL	37-14-45
68	DVD2433H	AB270VH	HG-長い	AB420VH	36-22-44
69	DVD2433L	AB270VL	LK-短い	AB420VL	37-13-45
70	DVD2434H	AB270VH	HG-長い	AB420VH	36-22-44
71	DVD2434L	AB270VL	LK-長い	AB420VL	37-14-45

10

20

30

40

50

72	DVD2435H	AB271VH	HG-短い	AB420VH	38-21-44
73	DVD2435L	AB271VL	LK-短い	AB420VL	39-13-45
74	DVD2436H	AB271VH	HG-短い	AB420VH	38-21-44
75	DVD2436L	AB271VL	LK-長い	AB420VL	39-14-45
76	DVD2437H	AB271VH	HG-長い	AB420VH	38-22-44
77	DVD2437L	AB271VL	LK-短い	AB420VL	39-13-45
78	DVD2438H	AB271VH	HG-長い	AB420VH	38-22-44
79	DVD2438L	AB271VL	LK-長い	AB420VL	39-14-45
80	DVD2439H	AB272VH	HG-短い	AB420VH	40-21-44
81	DVD2439L	AB272VL	LK-短い	AB420VL	41-13-45
82	DVD2440H	AB272VH	HG-短い	AB420VH	40-21-44
83	DVD2440L	AB272VL	LK-長い	AB420VL	41-14-45
84	DVD2441H	AB272VH	HG-長い	AB420VH	40-22-44
85	DVD2441L	AB272VL	LK-短い	AB420VL	41-13-45
86	DVD2442H	AB272VH	HG-長い	AB420VH	40-22-44
87	DVD2442L	AB272VL	LK-長い	AB420VL	41-14-45
88	DVD3410H	AB268VH	GS-H10	AB273VH	32-29-42
89	DVD3410L	AB268VL	GS-L10	AB273VL	33-30-43
90	DVD3411H	AB269VH	GS-H10	AB273VH	34-29-42
91	DVD3411L	AB269VL	GS-L10	AB273VL	35-30-43
92	DVD3412H	AB270VH	GS-H10	AB273VH	36-29-42
93	DVD3412L	AB270VL	GS-L10	AB273VL	37-30-43
94	DVD3413H	AB271VH	GS-H10	AB273VH	38-29-42
95	DVD3413L	AB271VL	GS-L10	AB273VL	39-30-43
96	DVD3414H	AB272VH	GS-H10	AB273VH	40-29-42
97	DVD3414L	AB272VL	GS-L10	AB273VL	41-30-43
98	DVD3415H	AB268VH	GS-H10	AB420VH	32-29-44
99	DVD3415L	AB268VL	GS-L10	AB420VL	33-30-45

10

20

30

40

100	DVD3416H	AB270VH	GS-H10	AB461VH	36-29-46
101	DVD3416L	AB270VL	GS-L10	AB461VL	37-30-47
102	DVD3417H	AB268VH	GS-H10	AB461VH	32-29-46
103	DVD3417L	AB268VL	GS-L10	AB461VL	33-30-47
104	DVD3418H	AB269VH	GS-H10	AB420VH	34-29-44
105	DVD3418L	AB269VL	GS-L10	AB420VL	35-30-45
106	DVD3419H	AB270VH	HG-短い	AB461VH	36-21-46
107	DVD3419L	AB270VL	LK-短い	AB461VL	37-13-47
108	DVD3420H	AB268VH	HG-短い	AB461VH	32-21-46
109	DVD3420L	AB268VL	LK-長い	AB461VL	33-14-47
110	DVD3421H	AB271VH	HG-短い	AB461VH	38-21-46
111	DVD3421L	AB271VL	LK-短い	AB461VL	39-13-47
112	DVD3422H	AB269VH	HG-短い	AB461VH	34-21-46
113	DVD3422L	AB269VL	LK-長い	AB461VL	35-14-47
114	DVD3423H	AB270VH	HG-短い	AB461VH	36-21-46
115	DVD3423L	AB270VL	LK-長い	AB461VL	37-14-47
116	DVD3424H	AB272VH	HG-短い	AB461VH	40-21-46
117	DVD3424L	AB272VL	LK-長い	AB461VL	41-14-47
118	DVD3425H	AB272VH	HG-長い	AB461VH	40-22-46
119	DVD3425L	AB272VL	LK-短い	AB461VL	41-13-47

10

20

30

40

【0231】

上記で列挙されたすべてのDVD-Ig結合タンパク質は、ヒト軽鎖カッパー定常領域を含むことができる。DVD2423-DVD2442はまた、ヒト重鎖野生型IgG1定常領域を含んでもよく、一方、DVD3410-DVD3425は、ヒトIgG1変異体(IgG1、z、non-amut(234,235))の重鎖定常領域を含んでもよい。これらの重鎖および軽鎖定常領域の配列を以下の表2aに示す。例えば、DVD3418は、ヒトIgG1変異体(IgG1、z、mut(234,235))からの重鎖定常領域とヒト軽鎖カッパー定常領域からの軽鎖定常領域をさらに含んでもよい(表2bを参照されたい。表2bは、DVD3418の第一および第二の鎖のアミノ酸配列を示し、CDR配列は下線を付され、X1リンカーは太字であり、イタリック体で潜在的な定常ドメイン配列を示し、重鎖上の変異した定常ドメインアミノ酸は太字であり、下線が付されている。)

【0232】

【表 3】

表 2 a : ヒト I g G 重鎖および軽鎖定常ドメイン

ブローチ	配列 番号	配列
		12345678901234567890123456789012345678901234567890123
野生型 hIgG1 定常領域		ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPE <u>LL</u> GGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNH YTQKSLSLSPGK
変異体 hIgG1 定常領域 (IgG1, z, non-a mut (234,235))		ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPE <u>AA</u> GGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNH YTQKSLSLSPGK
Ig カッパ - 定常領域		TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYLSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
Ig ラムダ 定常領域		QPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVE TTTTPSKQSNKYAASSYLSTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

10

20

【 0 2 3 3 】

30

【表 4】

表 2 b : 定常領域を有する DVD3418 に対するアミノ酸配列

DVD3418	配列番号	配列
		1234567890123456789012345678901234567890123
第一鎖		EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSASGFI FSRYDMSWVRQAPGKGLEWVAYISH GGAGTYYPDSVKGRFTISRDN SKNTLFLQMDSLRAEDTAVYYCARGGVYKGYF DVWGQGTPTVTVSS GGGSGGGGS EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGSGFG GYGIGWVRQAPGQGLEWMGGITPFFGFADYAQKFQGRVTITADESTTTAYMEL SGLTSDDTAVYYCARDPNEFWGGYYSTHDFDSWGQGTPTVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPE AA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHQKSLSLSP GK
第二鎖		DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASGNIHNYLTWYQQTPGKAPKLLIYNAKT LADGVPSRFSGSGSGTDYFTFTISSLPEDIATYYCQHFWSIPTFGQGTKLQI TR GGSGGGGS GEIVLTQSPDFQSVPKPKVITITCRASQDIGSELHWYQQKPDQ PPKLLIKYASHSTSGVPSRFSGSGSGTDFTLTINGLEAEADAGTYCHQTDSLP YTFGPGTKVDIKRTVAAPSVEIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC

10

20

30

【0234】

[実施例 2] 親抗体および DVD-Ig タンパク質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 2.1] IL-1 バイオアッセイおよび中和アッセイ

MRC5 細胞は、100 μl 体積でウェルあたり 1.5 ~ 2 × 10⁴ 細胞で播種され、37 °C、5% CO₂ で一晩インキュベートされた。20 μg/ml 作業ストックの抗体 (4 × 濃縮) は完全 MEM 培地中に調製された。8 点の連続希釈は、マーシュ希釈プレートにおいて完全 MEM 中で行われた (5 μg/ml ~ 0.0003 μg/ml)。75 μl / ウェルの各抗体希釈物は、96 ウェル V 底 (Costar # 3894) プレートに四重に添加され、75 μl の IL-1 の 200 pg/ml 溶液が添加された。対照ウェルは、75 μl の 200 pg/ml の IL-1 (4 × 濃縮) + 75 μl の MEM 培地を受け入れ、培地対照ウェルは 150 μl の培地を受け入れた。1 時間のインキュベーション後、100 μl の Ab / Ag 混合物は MRC5 細胞に添加された。全てのウェル体積は 200 μl に等しかった。次に、全てのプレート試薬は 1 × に濃縮された。16 ~ 20 時間のインキュベーション後、ウェル内容物 (150 μl) は、96 ウェル丸底プレート (Costar # 3799) に移され、-20 °C の冷凍庫に入れられた。上清は、ヒト IL-8 ELISA キット (R&D Systems、Minneapolis、MN) または

40

50

h I L - 8 化学発光キット (M D S) を用いて h I L - 8 レベルについて試験された。中和効力は、 I L - 1 単独の対照値と比較して、阻害パーセントを計算することによって決定された。結果を表 3 に示す。

【 0 2 3 5 】

【 表 5 】

表 3:IL-1 β 親抗体と DVD-Ig タンパク質を用いた IL-1 β 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 IL-1 β 中和アッセイ (IC50nM)
AB268	IL-1b (配列1)		0.012
AB269	IL-1b (配列2)		0.0009
AB270	IL-1b (配列3)		0.239
AB271	IL-1b (配列4)		0.301
AB272	IL-1b (配列5)		0.424
DVD2423	IL-1b (配列1)	IL-17 (配列2)	0.016
DVD2424	IL-1b (配列1)	IL-17 (配列2)	0.021
DVD2425	IL-1b (配列1)	IL-17 (配列2)	0.016
DVD2426	IL-1b (配列1)	IL-17 (配列2)	0.026
DVD2427	IL-1b (配列2)	IL-17 (配列2)	0.0003
DVD2428	IL-1b (配列2)	IL-17 (配列2)	0.0007
DVD2429	IL-1b (配列2)	IL-17 (配列2)	0.0009
DVD2430	IL-1b (配列2)	IL-17 (配列2)	0.0018
DVD2431	IL-1b (配列3)	IL-17 (配列2)	0.168
DVD2432	IL-1b (配列3)	IL-17 (配列2)	0.194
DVD2433	IL-1b (配列3)	IL-17 (配列2)	0.295
DVD2434	IL-1b (配列3)	IL-17 (配列2)	0.29800
DVD2435	IL-1b (配列4)	IL-17 (配列2)	0.273
DVD2436	IL-1b (配列4)	IL-17 (配列2)	0.191
DVD2437	IL-1b (配列4)	IL-17 (配列2)	0.22
DVD2438	IL-1b (配列4)	IL-17 (配列2)	0.182
DVD2439	IL-1b (配列5)	IL-17 (配列2)	0.115
DVD2440	IL-1b (配列5)	IL-17 (配列2)	0.222
DVD2441	IL-1b (配列5)	IL-17 (配列2)	0.16
DVD2442	IL-1b (配列5)	IL-17 (配列2)	0.21500
DVD3415	IL-1b (配列1)	IL-17 (配列2)	0.027
DVD3416	IL-1b (配列3)	IL-17 (配列3)	2.563
DVD3417	IL-1b (配列1)	IL-17 (配列3)	0.041
DVD3418	IL-1b (配列2)	IL-17 (配列2)	0.018
DVD3419	IL-1b (配列3)	IL-17 (配列3)	20.4
DVD3420	IL-1b (配列1)	IL-17 (配列3)	0.01
DVD3422	IL-1b (配列2)	IL-17 (配列3)	<0.04
DVD3423	IL-1b (配列3)	IL-17 (配列3)	1.568
DVD3425	IL-1b (配列5)	IL-17 (配列3)	2.067

10

20

30

40

50

【 0 2 3 6 】

N末端またはC末端位置のいずれかで A B 2 6 8、A b 2 6 9、A B 2 7 0、A B 2 7 1 または A B 2 7 2 からの V D を含有する全ての D V D - I g タンパク質は、M R C 5 I L - 1 中和アッセイにおいて中和を実証した。

【0237】

[実施例2.2] IL-17バイオアッセイおよび中和アッセイ

ヒトHS27細胞株(ATCC#CRL-1634)は、IL-17に応答してIL-6を分泌する。IL-17誘導性IL-6分泌は、抗IL-17抗体を中和することによって阻害される(例えば、J. Immunol. 155:5483-5486(1995)またはCytokine 9:794-800(1997)を参照されたい。)

【0238】

HS27細胞は、アッセイ培地(10%ウシ胎児血清(Gibco#26140)、4 mMのL-グルタミン、1 mMピルビン酸ナトリウム、ペニシリンG(100 U/500 ml)およびストレプトマイシン(100 µg/500 ml)を含むDMEM高グルコース培地(Gibco#11965)中で維持された。細胞がアッセイ当日に約80~90%コンフルエントになるまで、細胞はT150フラスコ中で増殖された。ヒトIL-17(R&D Systems、#317-IL/CF)は、Ca²⁺およびMg²⁺を含まない滅菌PBS中で再構成され、凍結保存され、使用のために新たに解凍され、アッセイ培地中で40 ng/ml(4x)に希釈された。抗体の連続希釈物は、別々のプレートにおいて作製され(4x濃縮)、40 ng/ml(4x)等量のヒトIL-17とともに混合され、37 °Cにて1時間インキュベートされた。HS27細胞(典型的には、50 µlアッセイ培地中に約20,000細胞)は、96ウェル平底組織培養プレート(Costar#3599)のそれぞれのウェルに添加され、次に、プレインキュベートされた抗体またはDVD-Igタンパク質+IL-17ミックスの50 µlを添加した。IL-17の最終濃度は10 ng/mlであった。細胞は、約24時間、37 °Cにてインキュベートされた。その後、培地の上清が回収された。IL-17中和のレベルは、製造業者の使用説明書に従って、市販のMeso Scale Discoveryキットを用いて、上清中のIL-6量を決定することによって測定された。IC50値は、抗体またはDVD-Igタンパク質対IL-6量可変勾配フィットの対数を用いて得られた。表4を参照されたい。

10

20

【0239】

【表 6】

表 4:IL-17 親抗体および DVD-Ig タンパク質を用いた IL-17 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)	C末端VD IL17 中和アッセイ(IC50 nM)
AB273	IL-17 (酉記列1)		0.031
AB274	IL-17 (酉記列4)		0.02
AB420	IL-17 (酉記列2)		0.018
AB461	IL-17 (酉記列3)		
DVD2423	IL-1b (酉記列1)	IL-17 (酉記列2)	1.092
DVD2424	IL-1b (酉記列1)	IL-17 (酉記列2)	0.077
DVD2425	IL-1b (酉記列1)	IL-17 (酉記列2)	0.221
DVD2426	IL-1b (酉記列1)	IL-17 (酉記列2)	0.071
DVD2427	IL-1b (酉記列2)	IL-17 (酉記列2)	0.771
DVD2428	IL-1b (酉記列2)	IL-17 (酉記列2)	0.065
DVD2429	IL-1b (酉記列2)	IL-17 (酉記列2)	0.305
DVD2430	IL-1b (酉記列2)	IL-17 (酉記列2)	0.056
DVD2431	IL-1b (酉記列3)	IL-17 (酉記列2)	0.805
DVD2432	IL-1b (酉記列3)	IL-17 (酉記列2)	0.079
DVD2433	IL-1b (酉記列3)	IL-17 (酉記列2)	0.125
DVD2434	IL-1b (酉記列3)	IL-17 (酉記列2)	0.055
DVD2435	IL-1b (酉記列4)	IL-17 (酉記列2)	0.863
DVD2436	IL-1b (酉記列4)	IL-17 (酉記列2)	0.042
DVD2437	IL-1b (酉記列4)	IL-17 (酉記列2)	0.12
DVD2438	IL-1b (酉記列4)	IL-17 (酉記列2)	0.032
DVD2439	IL-1b (酉記列5)	IL-17 (酉記列2)	0.549
DVD2440	IL-1b (酉記列5)	IL-17 (酉記列2)	0.055
DVD2441	IL-1b (酉記列5)	IL-17 (酉記列2)	0.087
DVD2442	IL-1b (酉記列5)	IL-17 (酉記列2)	0.043
DVD3415	IL-1b (酉記列1)	IL-17 (酉記列2)	0.091
DVD3416	IL-1b (酉記列3)	IL-17 (酉記列3)	0.16
DVD3417	IL-1b (酉記列1)	IL-17 (酉記列3)	0.37
DVD3418	IL-1b (酉記列2)	IL-17 (酉記列2)	0.068
DVD3419	IL-1b (酉記列3)	IL-17 (酉記列3)	1.7
DVD3420	IL-1b (酉記列1)	IL-17 (酉記列3)	0.36
DVD3422	IL-1b (酉記列2)	IL-17 (酉記列3)	0.063
DVD3423	IL-1b (酉記列3)	IL-17 (酉記列3)	0.05
DVD3425	IL-1b (酉記列5)	IL-17 (酉記列3)	0.098

10

20

30

40

【 0 2 4 0 】

N末端またはC末端位置のいずれかにおける AB 2 7 3、AB 4 2 0 または AB 4 6 1 からの VD を含有するすべての DVD - I g タンパク質は、HS 2 7 IL - 1 7 中和アッセイにおいて中和を示した。

【 0 2 4 1 】

[実施例 2 . 3] B I A c o r e 技術を用いた親和性測定

【 0 2 4 2 】

【表 7】

表 5: Biacore 分析に用いた試薬

抗原	供給業者による指定	供給業者	カタログ番号
IL-17	Recombinant Human IL-17	R&D systems	317-IL
IL-1b	Recombinant Human IL-1b	R&D systems	201-LB

【 0 2 4 3 】

10

B I A C O R E 法 :

B I A C O R E アッセイ (G E , H e a l t h c a r e P i s c a t a w a y , N J) は、結合 (o n - r a t e) 定数および解離 (o f f - r a t e) 定数の反応速度測定を用いて抗体または D V D - I g の親和性を決定した。標的抗原 (例えば、精製された組換え標的抗原) への抗体または D V D - I g タンパク質の結合は、B i a c o r e T 2 0 0 により、G E H e a l t h c a r e から 2 5 で稼働している H B S - E P + 緩衝液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た。すべての化学物質は、他に記載がなければ、G E H e a l t h c a r e から入手した。例えば、1 0 m M 酢酸ナトリウム (p H 4 . 5) 中に希釈された、約 5 0 0 0 R U のヤギ抗マウス I g G、(F c)、断片特異的なポリクローナル抗体 (P i e r c e B i o t e c h n o l o g y I n c , R o c k f o r d , I L) 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を用いて C M 5 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た。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した。フローセル 1 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した。速度定数は、0 . 8 ~ 1 0 0 n M の範囲の異なる抗原濃度で速度論的結合測定を行うことによって誘導された。結合は時間の関数として記録され、運動速度定数は計算された。このアッセイにおいて、結合速度は 5 分間評価され、解離は 1 0 分間モニターされた。速度論的スクリーニング分析のために、1 : 1 結合モデルから誘導された速度方程式は、B i a e v a l u a t i o n ソフトウェアを用いて、全ての注入物の結合および解離相に対して、(捕捉パリエーションを構成するために局所的に R m a x フィットによる

グローバルフィット分析を用いて) 同時にフィッティングさせた。ヤギ抗マウス I g G 特異的反応表面の全体で捕捉するために、H E P E S 緩衝生理食塩水中に、精製された抗体または D V D - I g タンパク質試料を希釈した。リガンドとして捕捉されるべき抗体または D V D - I g タンパク質を 5 μ l / 分の流速で反応マトリックス全体に注入した。結合速度定数および解離結合定数の $k_{o n}$ ($M^{-1} s^{-1}$) および $k_{o f f}$ (s^{-1}) は、5 0 μ l / 分の連続的流速下で決定された。0 . 8 ~ 1 0 0 n M の範囲の異なる抗原濃度にて速度論的結合測定を行うことによって速度定数を導いた。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した。このアッセイにおいて、結合速度は 5 分間評価され、解離は 1 0 分間モニターされた。表 6 を参照されたい。

20

30

【 0 2 4 4 】

40

【表 8】

表 6:親抗体および DVD-Ig タンパク質の 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)
AB268	IL-1b (配列1)		8.90E+05	2.10E-04	2.40E-10
AB269	IL-1b (配列2)		5.40E+05	1.10E-04	2.00E-10
AB270	IL-1b (配列3)		6.60E+06	5.30E-04	8.00E-11
AB271	IL-1b (配列4)		4.60E+06	5.10E-04	1.10E-10
AB272	IL-1b (配列5)		4.00E+06	5.60E-04	1.40E-10
AB273	IL-17 (配列1)		2.70E+06	1.30E-05	4.60E-12
AB274	IL_17 (配列4)		1.1E+06	8.2E-06	7.4E-12
AB420	IL-17 (配列2)		8.34E+06	1.74E-06	2.09E-13
AB461	IL-17 (配列3)		6.2E+06	5.3E-06	8.6E-13
DVD3415	IL-1b (配列1)		7.4E+05	3.8E-05	5.1E-11
DVD3415		IL-17 (配列2)	2.1E+05	<1e-06*	<4.8E-12
DVD3418	IL-1b (配列2)		5.4E+05	1.8E-05	3.4E-11
DVD3418		IL-17 (配列2)	2.1E+05	<1e-06*	<4.8E-12
DVD3416	IL-1b (配列3)		9.2E+06	8.8E-04	9.6E-11
DVD3416		IL-17 (配列3)	2.6E+05	5.7E-05	2.2E-10
DVD3417	IL-1b (配列1)		2.2E+06	2.4E-05	1.1E-11
DVD3417		IL-17 (配列3)	2.6E+05	8.3E-05	3.2E-10
DVD3419	IL-1b (配列3)		9.5E+06	8.9E-04	9.3E-11
DVD3419		IL_17 (配列3)	1.3E+05	5.7E-05	2.3E-10
DVD3422	IL-1b (配列2)		1.4E+06	2.0E-06	1.4E-12
DVD3422		IL-17 (配列3)	2.5E+05	5.7E-05	2.3E-10
DVD3423	IL-1b (配列3)		9.9E+06	8.5E-04	8.6E-11
DVD3423		IL-17 (配列3)	3.3E+05	6.8E-05	2.0E-10
DVD3425	IL-1b (配列5)		9.5E+06	1.1E-03	1.2E-10
DVD3425		IL-17 (配列3)	1.7E+05	3.2E-05	1.9E-10

10

20

30

【 0 2 4 5 】

B i a c o r e 技術によって特徴付けられた全ての DVD - I g タンパク質は結合を示した。すべての可変ドメインは、親抗体として類似した高親和性で結合する。

【 0 2 4 6 】

[実施例 3] 抗体および DVD - I g タンパク質の特徴付け

機能的活性を阻害するための精製された DVD - I g タンパク質の能力は、例えば、実施例 2 . 1 および 2 . 2 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た。組換えヒト抗原に対する DVD - I g タンパク質の結合親和性は、実施例 2 . 3 に記載されるように表面プラズモン共鳴 (B i a c o r e (登録商標)) 測定を用いて決定された。抗体および DVD - I g タンパク質のバイオアッセイからの $I C_{50}$ 値および親和性を位置付けた。親 m A b の活性をほぼ完全に維持する DVD - I g タンパク質は、将来の進行のための候補対象として選択された。最も有益な特性を示す上位 2 から 3 つの DVD - I g タンパク質はさらに特徴付けられた。

40

【 0 2 4 7 】

[実施例 3 . 1] ヒト化抗体または DVD - I g タンパク質の薬物動態分析

薬物動態研究は、 S p r a g u e - D a w l e y ラットおよびカニクイザルにおいて行

50

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、4 mg/kgのmAbまたはDVD-Igタンパク質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(5 mg/ml、4、一晚)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50 ng/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。

10

【0248】

【実施例3.2】 ヒト化モノクローナル抗体およびDVD-Igタンパク質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

水を用いて抗体またはDVD-Igタンパク質を2.5 mg/mLに希釈し、20 mLをTSKゲルG3000SWXLカラム(Tosoh Bioscience、カタログ#k5539-05k)を用いてShimadzu HPLCシステム上で分析した。211 mM硫酸ナトリウム、92 mMリン酸ナトリウム、pH 7.0を用いて、流速0.3 mL/分にて試料をカラムから溶出した。HPLCシステムの操作条件は以下の通りである：

20

移動相：211 mMの Na_2SO_4 、92 mMの $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、pH 7.0

勾配：アイソクラチック

流速：0.3 mL/分

検出波長：280 nm

オートサンプラー冷却装置温度：4

カラムオープン温度：周囲温度

実行時間：50分

30

【0249】

表7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タンパク質の純度データを含む。

【0250】

【表 9】

表7: 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タンパク質の純度

親抗体または DVD-Igの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)
AB268	IL-1b (配列1)		99
AB269	IL-1b (配列2)		99
AB270	IL-1b (配列3)		90.6
AB271	IL-1b (配列4)		95.5
AB272	IL-1b (配列5)		93.1
AB273	IL-17 (配列1)		100
AB420	IL-17 (配列2)		70.1
AB461	IL-17 (配列3)		92.9
DVD2423	IL-1b (配列1)	IL-17 (配列2)	96.1
DVD2424	IL-1b (配列1)	IL-17 (配列2)	97.2
DVD2425	IL-1b (配列1)	IL-17 (配列2)	97.1
DVD2426	IL-1b (配列1)	IL-17 (配列2)	96.4
DVD2427	IL-1b (配列2)	IL-17 (配列2)	99.1
DVD2428	IL-1b (配列2)	IL-17 (配列2)	99
DVD2429	IL-1b (配列2)	IL-17 (配列2)	99.2
DVD2430	IL-1b (配列2)	IL-17 (配列2)	98.1
DVD2431	IL-1b (配列3)	IL-17 (配列2)	88.8
DVD2432	IL-1b (配列3)	IL-17 (配列2)	89.9
DVD2433	IL-1b (配列3)	IL-17 (配列2)	93.4
DVD2434	IL-1b (配列3)	IL-17 (配列2)	95.4
DVD2435	IL-1b (配列4)	IL-17 (配列2)	93.7
DVD2436	IL-1b (配列4)	IL-17 (配列2)	94.3
DVD2437	IL-1b (配列4)	IL-17 (配列2)	96.9
DVD2438	IL-1b (配列4)	IL-17 (配列2)	91.2
DVD2439	IL-1b (配列5)	IL-17 (配列2)	92.9
DVD2440	IL-1B (配列5)	IL-17 (配列2)	93.8
DVD2441	IL-1b (配列5)	IL-17 (配列2)	96.1
DVD2442	IL-1b (配列5)	IL-17 (配列2)	94.2
DVD3410	IL-1b (配列1)	IL-17 (配列1)	98.5
DVD3411	IL-1b (配列2)	IL-17 (配列1)	100
DVD3412	IL-1b (配列3)	IL-17 (配列1)	92.7
DVD3413	IL-1b (配列4)	IL-17 (配列1)	96.1
DVD3414	IL-1b (配列5)	IL-17 (配列1)	97.6
DVD3415	IL-1b (配列1)	IL-17 (配列2)	96.6
DVD3416	IL-1b (配列3)	IL-17 (配列3)	89.3
DVD3417	IL-1b (配列1)	IL-17 (配列3)	93.2

10

20

30

40

DVD3418	IL-1b (配列2)	IL-17 (配列2)	99.2
DVD3419	IL-1b (配列3)	IL-17 (配列3)	97.2
DVD3420	IL-1b (配列1)	IL-17 (配列3)	98
DVD3421	IL-1b (配列4)	IL-17 (配列3)	93.7
DVD3422	IL-1b (配列2)	IL-17 (配列3)	98.3
DVD3423	IL-1b (配列3)	IL-17 (配列3)	91.5
DVD3424	IL-1b (配列5)	IL-17 (配列3)	92.7
DVD3425	IL-1b (配列5)	IL-17 (配列3)	94

【0251】

10

DVD-Igタンパク質は、大部分のDVD-Igタンパク質が90%を超えるモノマーを示す優れたSECプロファイルを示した。このDVD-Igタンパク質プロファイルは、親抗体について観察されたものと類似していた。

【0252】

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)によって抗体およびDVD-Igタンパク質を分析する。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、バックグラウンドが透明になるまで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。

20

30

【0253】

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またはDVD-Igタンパク質を装填する。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。

40

【0254】

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：

50

試料細胞体積：420 mL
 基準細胞体積：420 mL
 温度：20
 ローター速度：35,000 rpm
 時間：8:00時間
 UV波長：280 nm
 半径刻み幅：0.003 cm
 データ回収：信号加算平均なしの1工程あたり1データポイント
 スキャン総数：100

【0255】

完全な抗体のLC-MS分子量測定

完全な抗体およびDVD-Igタンパク質の分子量をLC-MSによって分析する。水を用いて各抗体またはDVD-Igタンパク質を約1 mg/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1100 HPLC(Agilent)システムを用いて、脱塩し、試料の5 mg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、50 mL/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。

【0256】

抗体およびDVD-Igタンパク質の軽鎖および重鎖のLC-MS分子量測定

抗体およびDVD-Igタンパク質の軽鎖(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。水を用いて抗体およびDVD-Igタンパク質を1 mg/mLに希釈し、試料は、最終濃度が10 mMのDTTを用いて、30分間、37 でLCおよびHCに還元される。抗体およびDVD-Igタンパク質を脱グリコシル化するために、100 mgの抗体またはDVD-Igタンパク質は、100 mLの全体積で、2 mLのPNGase F、5 mLの10% N-オクチルグルコシドとともに、一晚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10 mM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 1100 HPLCシステムを用いて脱塩し、試料(5 mg)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、50 mL/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。

【0257】

ペプチドマッピング

75 mM重炭酸アンモニウム中の最終濃度が6 Mの塩酸ゲアニジンを用いて抗体またはDVD-Igタンパク質を15分間、室温にて変性させる。変性試料は、最終濃度が10 mMのDTTを用いて、37、60分間還元させ、次に、暗所にて37、30分間、50 mM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10 mM重炭酸アンモニウムに対して、一晚4 で試料を透析する。透析された試料は、10 mM重炭酸アンモニウム、pH 7.8を用いて1 mg/mLに希釈され、100 mgの抗体またはDVD-Igタンパク質は、1:20(w/w)トリプシン/Lys-C:抗体またはDVD-Igタンパク質の比でトリプシン(Promega、カタログ# V5111)またはLys-C(Roche、カタログ# 11047825001)を

10

20

30

40

50

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 1100 HPLC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(RP HPLC)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。

10

【0258】

ジスルフィド結合マッピング

抗体を変性するために、100mLの抗体またはDVD-Igタンパク質は、300mLの100mM重炭酸アンモニウム中の8MグアニジンHCl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。一部の变性試料(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:抗体もしくはDVD-Igタンパク質または1:50のLys-C:抗体もしくはDVD-Igタンパク質(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RP HPLC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。

20

30

【0259】

遊離スルフヒドリル決定

抗体またはDVD-Igタンパク質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:

40



において説明される。

【0260】

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。

【0261】

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

50

を用いて14.2 M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10,000 MWC O遠心フィルター(Millipore、カタログ#UFC801096、ロット#L3KN5251)を用いて抗体またはDVD-Igタンパク質を10 mg/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(5.57 mMリン酸一水素ナトリウム、8.69 mMリン酸二水素ナトリウム、106.69 mMのNaCl、1.07 mMクエン酸ナトリウム、6.45 mMクエン酸、66.68 mMマンニトール、pH 5.2、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、180 mLの100 mMのTris緩衝液、pH 8.1を各試料に添加し、標準は、10 mMリン酸緩衝液、pH 8.1中の2 mMのDTNBを300 mL添加する。完全に混合した後、Cary 50分光光度計上で412 nm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OD₄₁₂ 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。

10

【0262】

弱い陽イオン交換クロマトグラフィー

10 mMリン酸ナトリウム、pH 6.0を用いて抗体またはDVD-Igタンパク質を1 mg/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(10 mMリン酸ナトリウム、pH 6.0)および20%移動相B(10 mMリン酸ナトリウム、500 mMのNaCl、pH 6.0)においてカラムに充填し、1.0 mL/分の流速で溶出する。

20

【0263】

オリゴ糖プロファイリング

抗体またはDVD-Igタンパク質の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。

【0264】

抗体またはDVD-Igタンパク質を最初に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。2 mLのPNGase Fおよび3 mLの10% N-オクチルグルコシドとともに500 mLエッペンドルフチューブに抗体またはDVD-Igタンパク質(200 mg)を入れる。リン酸緩衝生理食塩水を添加し、最終体積を60 mLにする。700 RPMに設定したエッペンドルフのサーモミキサー中で一晚37 °C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。

30

【0265】

PNGase F処理後、750 RPMに設定されたエッペンドルフのサーモミキサー中で95 °C、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、10,000 RPM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500 mLのエッペンドルフチューブに移し、スピード-vac中で、65 °Cで乾燥させる。

40

【0266】

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(150 mL、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、上下にピペティングすることによって混合する。酢酸/DMSO混合物(100 mL)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

50

試薬 (5 mL) 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。

【0267】

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。

【0268】

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。

【0269】

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。

【0270】

高温での安定性

抗体またはDVD-Igタンパク質の緩衝液は、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、抗体またはDVD-Igタンパク質の最終濃度を2mg/mLに調整する。次に、抗体またはDVD-Igタンパク質の溶液を濾過滅菌し、0.25mLのアリコートは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。

【0271】

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。

【0272】

動的走査蛍光光度法

DVD-Igタンパク質は、10mMクエン酸10mMリン酸緩衝液(pH6.0)中で透析され、1mg/mLの最終濃度を得た。3点測定は、それぞれのDVD-Igタンパク質について実施された。それぞれの試料について、27µLのDVD-Igタンパク質は、96ウェルプレートのウェルに添加され、3µLの4x希釈されたSYPROオレンジ色素(Invitrogen)とともに混合された。DMSO中に5000x濃縮で供給された色素を、水で4xの作業濃度に希釈した。プレートは、30秒間遠心分離され、色素とタンパク質の両方が、ウェルの底に沈殿することを確保し、完全な混合がピペッ

10

20

30

40

50

トチップにより穏やかな吸引によって確保された。次に、プレートは接着フィルムで密封された。

【0273】

リアルタイムPCR (Applied Biosciences、7500シリーズ) は、温度とともに蛍光強度の変化を測定するために使用された。プレートは、約0.5 /分の温度ランプ速度にて、25 から95 まで加熱され、発光蛍光は、TAMRAフィルターを用いて回収された。データは、Microsoft Excelにエクスポートされ、それぞれのDVD-Igタンパク質について温度対蛍光としてプロットされた。融解の開始は、サーモグラムがベースライン蛍光を超えて上昇する温度として記述された。SYPROオレンジは疎水性色素であり、アンフォールディングタンパク質分子中の露出された疎水性残基に優先的に結合する。したがって、アンフォールディング温度の開始は、蛍光の増加によって測定され、DVD-Igタンパク質の熱安定性の指標である。DVD-Igタンパク質のアンフォールディング温度は、表8に見出すことができる。

10

【0274】

【表10】

表8:動的走査蛍光光度法によって決定されたDVD-Igタンパク質の熱安定性

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)	T開始 (°C)
DVD3415	IL-1b (配列1)	IL-17 (配列2)	63.3
DVD3416	IL-1b (配列3)	IL-17 (配列3)	60.9
DVD3417	IL-1b (配列1)	IL-17 (配列3)	65.8
DVD3418	IL-1b (配列2)	IL-17 (配列2)	63.9
DVD3419	IL-1b (配列3)	IL-17 (配列3)	60.8
DVD3420	IL-1b (配列1)	IL-17 (配列3)	65.2
DVD3423	IL-1b (配列3)	IL-17 (配列3)	60.5
DVD3424	IL-1b (配列5)	IL-17 (配列3)	58.6
DVD3425	IL-1b (配列5)	IL-17 (配列3)	58.7
AB274	IL-17 (配列4)	NA	61
AB420	IL-17 (配列3)	NA	54

20

30

【0275】

大部分のDVD-Igタンパク質は、アンフォールディング温度 > 50 を示した。このDVD-Igタンパク質プロファイルは、親抗体について観察されたプロファイルと同様である。

【0276】

溶解度決定

DVD-Igタンパク質候補は、15mMのHis (pH6.0) 中で透析された。これに続いて、30Kカットオフを有するセントリコンにおいて50µlまでそれらを濃縮した。溶解度は、4 での保存後、沈殿が存在しないことによって視覚的に確認し、280nmでUV吸光度を測定することによって定量的に決定された。表9を参照されたい(「ppt」は沈殿を示す。)。

40

【0277】

【表 1 1】

表 9: DVD-Ig タンパク質の溶解度

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)	視覚的観察	溶解度 (mg/mL)
DVD3410	IL-1b (配列1)	IL-17 (配列1)	透明	>86.5
DVD3411	IL-1b (配列2)	IL-17 (配列1)	ppt	
DVD3412	IL-1b (配列3)	IL-17 (配列1)	ppt	
DVD3413	IL-1b (配列4)	IL-17 (配列1)	ppt	
DVD3414	IL-1b (配列5)	IL-17 (配列1)	ppt	
DVD3415	IL-1b (配列1)	IL-17 (配列2)	透明	>163.6
DVD3416	IL-1b (配列3)	IL-17 (配列3)	透明	>169.6
DVD3417	IL-1b (配列1)	IL-17 (配列3)	透明	>91.6
DVD3418	IL-1b (配列2)	IL-17 (配列2)	透明	>129.6
DVD3419	IL-1b (配列3)	IL-17 (配列3)	透明	>168.2
DVD3420	IL-1b (配列1)	IL-17 (配列3)	透明	>60.3
DVD3421	IL-1b (配列4)	IL-17 (配列3)	相分離	
DVD3422	IL-1b (配列2)	IL-17 (配列3)	透明	>35
DVD3423	IL-1b (配列3)	IL-17 (配列3)	透明	>149.6
DVD3424	IL-1b (配列5)	IL-17 (配列3)	透明	>142.7
DVD3425	IL-1b (配列5)	IL-17 (配列3)	透明	>136
AB274	IL-17 (配列4)	NA	透明	>65.5
AB420	IL-17 (配列2)	NA	透明	>181

10

20

30

40

50

【 0 2 7 8 】

大部分の DVD-Ig タンパク質は、透明な外観を示し、25 mg/ml を超えて濃縮され得た。この DVD-Ig タンパク質プロファイルは、親抗体について観察されたプロファイルと同様である。

【 0 2 7 9 】

[実施例 4] スクリーニング漏斗

薬物様特性を有する IL-1 / IL-17 DVD-Ig 結合タンパク質を生成させる目的で、5つの異なる抗 IL-1 可変ドメイン (E26.13、E26.35、1B12.1、1B12.3、1B12.6) の1つ、3つの異なる抗 IL-17 可変ドメイン (10F7M11、B6-5、B6-17) のうちの1つ、3つの異なるリンカーの組合せ (SS、LS、SL) の1つ、および2つの配向の1つ (すなわち、内側または外側可変ドメイン結合部位としての IL-17) を含有する DVD-Ig 結合タンパク質を含む DVD-Ig 結合タンパク質の大きな集団が作製され、サイズ排除クロマトグラフィー (SEC)、親和性、効力および予備処方分析によってスクリーニングされた。DVD-Ig 結合タンパク質のいずれも、すべての予備処方基準に対して所望の閾値を達成しなかった。

【 0 2 8 0 】

DVD-Ig 結合タンパク質の初期スクリーニングからの情報に基づいて、追加の DVD-Ig 結合タンパク質の小さな集団は調製された。DVD-Ig 結合タンパク質は、抗 IL-1 可変ドメイン E26.13 または E26.35 および抗 IL-17 可変ドメイン B6-5G または B6-17G、Gly-Ser リピートを含む重鎖と軽鎖の両方の X1 リンカー (「GS」リンカーと呼ばれる。) および唯一の配向 (IL-17 については結合部位を形成する内側可変ドメインと IL-1 については結合部位を形成する外側可変ドメイン) を含有した。抗 IL-17 可変ドメイン (B6-5G、B6-17G) は、従来の IL-17 可変ドメイン B6-5 と B6-17 から遺伝子操作され、脱アミド化

部位を排除するためにHC - CDR3でNからGの変異を有する。DVD - Ig結合タンパク質は、ヒト包皮線維芽細胞MRC - 5細胞株におけるIL - 8放出についてのIL - 1 効力アッセイでスクリーニングされ、ヒト胎児肺線維芽細胞HS 27細胞におけるIL - 6放出についてのIL - 17効力アッセイでスクリーニングされた。表10に示されるように、DVD3415およびDVD3418は、IL - 1 とIL - 17活性の両方の中和において高い効力を示し、IC₅₀は低いpM範囲であった。表10に提供されているデータは、IL - 1 について2つの実験およびIL - 17について3 - 4つの実験からの平均 + / - 標準偏差を反映している。試験されたDVD - Ig結合タンパク質のうち、DVD3415とDVD3418は、親抗体に最も近いIL - 17の効力値を示した。

10

【0281】

【表12】

表10：選択されたDVD-Ig結合タンパク質のIL-1βおよびIL-17効力

Ab名	N末端可変ドメイン (VD)	C末端可変ドメイン (VD)	リンカー	IL-1β 効力 IC ₅₀ (pM) ^a	IL-17 効力 IC ₅₀ (pM) ^b
DVD3415	IL-1β (E26.13)	IL-17 (B6-17G)	GS	8 ± 0.6	70 ± 30
DVD3417	IL-1β (E26.13)	IL-17 (B6-5G)	GS	6 ± 3	398 ± 124
DVD3418	IL-1β (E26.35)	IL-17 (B6-17G)	GS	3 ± 1	60 ± 24
DVD3422	IL-1β (E26.35)	IL-17 (B6-5G)	SL	1 ± 0.2	149 ± 103
AB268	IL-1β (E26.13)			10	
AB269	IL-1β (E26.35)			2	
AB274	IL-17 (B6-17G)				2
AB275	IL-17 (B6-5G)				3

20

【0282】

表10からのDVD - Ig結合タンパク質の物理化学的特性のさらなる評価は、DVD3415とDVD3418が、それぞれの予備処方基準に対する所望の閾値を上回る特性を示したことを実証した(表11参照)。DVD3415とDVD3418は、15mMのヒスチジン、pH5.5の液体製剤中に高濃度で安定であった。

30

【0283】

【表13】

	粘度/濁度 (cP)	T _{on} (DSC) (°C)	凍結/融解安定性 1mg/mLで4F/T後の HMM増加%	加速安定性 40°C、T21d 1mg/mLでの モ/マ喪失	凍結/融解安定性 100mg/mLで 4F/T後の HMM増加%	加速安定性 T21d 100mg/mLでの モ/マ喪失		4°Cの安定性 T21d 100mg/mLでの モ/マ喪失
						@25°C	@40°C	
DVD 3415	5.06	59	0.15	1.6	0.56	0.86	2.67	0.6
DVD 3417	2.81	57	0.49	1.9	0.94	0.77	2.96	0.62
DVD 3418	5.26	56	0.31	1.67	0.07	0.98	1.82	0.85 @ T28d
DVD 3422	4°Cでゲル	57	0.01	1.99	19.48	12.82	8.78	19.88 gelling
基準	< 10 cP	T _{on} > 50°C	4F/T後後の <0.5%のHMM増加	40°C、T21dでの <3%のモ/マ喪失	4F/T後後の <0.5%のHMM増加	40°C、T21dでの <5%のモ/マ喪失	40°C、T21dでの <1%のモ/マ喪失	

40

開発/スケールアップ 低効力 中間効力 高効力

表11：選択されたDVD-Ig結合タンパク質の物理化学的特性

【0284】

DVD3415とDVD3418の両方は、高い効力と所望の物理化学的特性を有する

50

安定な分子であることが示された。両者は、同一の抗IL-17可変領域(B6-17G)と類似した抗IL-1可変領域(DVD3415におけるE26.13とDVD3418におけるE26.35)を共有する。E26.35は、4個のアミノ酸残基(CDR3において1つ、FR3において3つ)で重鎖(HC)においてのみE26.13と異なる。驚くべきことに、DVD3418は、その抗IL-1ドメインとしてE26.35を含有し、より高い効力を示し、その抗IL-1ドメインとしてE26.13を含有する、DVD3415と比較して、より多くの生殖細胞系配列を有した。このように、DVD3418が、さらなる評価のために選択された。

【0285】

したがって、追加の製剤試験はDVD3418について行われた。15mMヒスチジン、pH5.5で製剤化した場合、ある用量の100mg/mlのDVD3418は、溶解性、粘性、および凍結融解の安定性を含む有益な物理化学的特性を示した。DVD-Igの融解の開始(すなわち、アンフォールディング)は、示差走査熱量測定(DSC)を用いて測定された。凍結/融解の安定性は、凍結融解の4ラウンド後、高分子量(HMW)産物の増加率を評価することによって測定された。加速された安定性は、25および40で21~28日間のインキュベーション後のモノマー喪失を測定することによって評価された。DVD3418の物理化学的特性を以下の表12にまとめ、それぞれの特性(cP=センチポアズ、T_{on}=融解温度)について閾値基準に対して比較した。

【0286】

【表14】

表12

	粘度/濁度(cP)	T _{on} (°C)	1mg/mlでの凍結/融解安定性	1mg/mlでの加速安定性(40°C)
DVD3418	5.26	56	0.31	1.67
閾値基準	<10cP	T _{on} >50°C	HMW産物の<0.5%の増加	<3%のモノマー喪失

	100mg/mlでの凍結/融解安定性	100mg/mlでの加速安定性モノマー喪失		100mg/mlでの4°C安定性
		25°C	40°C	
DVD3418	0.07	0.98	1.82	-0.85(28日)
閾値基準	HMW産物の<0.5%の増加	<5%のモノマー喪失	<5%のモノマー喪失	<1%のモノマー喪失

【0287】

表12のデータは、熱ストレス(例えば、40で21日間のインキュベーション)中

のDVD-Ig結合タンパク質に対する有意な変化を実証していない。これは、DVD-Ig結合タンパク質は、安定な高濃度の液体製剤として製剤化されてもよいことを示唆している。

【0288】

DVD3418は、数個の他のDVD-Ig結合タンパク質（例えば、DVD1274、DVD1601、DVD1631およびDVD1661）とともに、同一の抗IL-1可変ドメイン（E26.35）と類似した抗IL-17可変ドメイン（DVD3418におけるB6-17Gと他におけるB6-17の間の唯一のアミノ酸差）を共有するが、DVD13418は、優れた溶解性と安定性を示した。一方、他のDVD-Ig結合タンパク質は、宿主細胞発現のレベルの減少（例えば、DVD1661）またはより小さい優れた物理化学的特性（例えば、DVD1274、1601、1631）を示した（表13参照）。これらの他のDVD-Ig結合タンパク質は全て、異なるリンカー配列を有し、リンカー配列は結合タンパク質の物理化学的特性に影響を与えることができる。これは、配列全体が、可変ドメインとリンカーを含み、DVD-Ig分子の物理化学的特性を決定することができるためである。

【0289】

【表15】

表13: DVD-Ig結合タンパク質の物理化学的特性の比較

DVD-Ig	N末端可変ドメイン (VD)	C末端可変ドメイン (VD)	リンカー	hIgG1 Fc	IL-1β効力 IC50(pM)	IL-17効力 IC50(pM)	物理化学的特性
DVD3418	IL-1β (E26.35)	IL-17 (B6-17G)	GS	Fc mut (234,235)	11 ± 10	60 ± 16	全ての性能基準が達成された
DVD1274	IL-1β (E26.35)	IL-17 (B6-17)	SS	wt Fc	7	1081	可溶性の減少(4°Cで乳白色が観察された。)
DVD1275	IL-17 (B6-17)	IL-1β (E26.35)	SS	wt Fc	1916	1	IL-1β効力の減少
DVD1601	IL-1β (E26.35)	IL-17 (B6-17)	SL	wt Fc	4	26	凍結/融解後の安定性の減少と高濃度でのいくつかの相分離
DVD1602	IL-17 (B6-17)	IL-1β (E26.35)	SL	wt Fc	133	3	IL-1β効力の減少
DVD1631	IL-1β (E26.35)	IL-17 (B6-17)	LS	wt Fc	4	460	4°Cでの安定性の減少とインビトロでの血清安定性の減少
DVD1632	IL-17 (B6-17)	IL-1β (E26.35)	LS	wt Fc	438	7	IL-1β効力の減少
DVD1661	IL-1β (E26.35)	IL-17 (B6-17)	LL	wt Fc	低発現のため評価しなかった		
DVD1662	IL-17 (B6-17)	IL-1β (E26.35)	LL	wt Fc	低発現のため評価しなかった		

【0290】

DVD3418はまた、他の種由来の抗原に対して、霊長類のIL-1およびIL-17に対して選択的である。DVD3418は、ヒトIL-1に匹敵する効力でカニクイザルIL-1を中和し、約100倍のより小さい効力でうさぎIL-1を中和し、

約1000倍のより小さい効力でマウスIL-1を中和し、および最高試験濃度500nMでラットIL-1を中和しなかった(表14参照)。DVD3418はまた、ヒトIL-17と比較して、ヒトIL-17の2倍範囲内のIC₅₀でカニクイザルIL-17を中和し、約50倍のより小さい効力でウサギIL-17を中和し、および少なくとも200倍のより小さい効力でラットとマウスのIL-17を中和した。

【0291】

【表16】

表14: DVD3418の種交差反応性

抗原種	IL-1 β 効力(IC ₅₀) ^a	IL-17効力(IC ₅₀) ^b
ヒト	11 ± 10	60 ± 16
カニクイザル	7 ± 5	163 ± 41
マウス	11200 ± 12300	>50000
ラット	NR	12000 ± 5600
ウサギ	1400 ± 1200	2900 ± 1800

NR: 最高試験濃度(500nM)まで活性なし

^aIL-1 β 効力は、ヒト包皮線維芽細胞MRC-5細胞株におけるIL-8放出アッセイによって決定された。

^bIL-17効力は、ヒト胎児肺線維芽細胞HS27細胞株におけるIL-6放出アッセイによって決定された。

【0292】

[実施例5] インビボ試験

DVD3418は、ラットおよびカニクイザルにおける半減期と免疫原性について試験された。Sprague Dawleyラットへの5mg/kg用量の静脈内投与後の薬物動態パラメータは、以下の表15(t_{1/2} = 半減期、C_{max} = 最大血清濃度、V_{ss} = 定常状態での分布体積、AUC = 曲線下面積、CL_p = 血漿クリアランス、MRT = 平均滞留時間)に示される。DVD3418は、長い半減期(約10日)、中等度のCL(約0.37ml/h/kg)、および小さいV_{ss}(約113ml/kg)を示す。一匹の動物は、ADAの可能性のため、これらの平均を決定する際に省略された。

【0293】

【表17】

表15

	t _{1/2}	C _{最大}	V _{ss}	AUC	AUC _{0-t}	CL _p	MRT
ラット#	(時間)	(ug/mL)	(L/kg)	(ug·hr/mL)	(ug·hr/mL)	(L/hr/kg)	(時間)
1	270	95.0	0.118	14200	11900	0.000353	335
2	240	115	0.0898	17200	14900	0.000292	308
4	220	107	0.117	12000	10600	0.000415	281
5	260	98.5	0.129	12500	10600	0.000401	322
平均	240	104	0.113	14000	12000	0.000365	311
SEM		4.57	0.0083	1160	1010	0.0000279	11.6

【0294】

DVD3418はまたカニクイザルに静脈内投与され、血清試料は700時間かけて回収された。DVD3418は長い半減期、低クリアランス速度、および小さなV_{ss}を示した; 明らかなADA(抗薬物抗体)は観察されなかった。これに基づいて、DVD-Ig結合タンパク質は、さらなる半減期延長の変異を必要とすることなく、より少ない頻度の投薬に適切であり得る。

10

20

30

40

50

【 0 2 9 5 】

上記で言及されたいくつかのDVD-Ig結合タンパク質の重鎖および軽鎖配列は表16に提供される。結合タンパク質の内側と外側可変ドメインを調製するために使用される親抗体可変ドメインはまた同定される。X1リンカー配列は下線を付されている。

【 0 2 9 6 】

【 表 1 8 】

表 1 6

配列番号	DVD可変ドメイン名	外側可変ドメイン名	内側可変ドメイン名	配列
	DVD1274H	AB269VH	AB274VH	12345678901234567890123456789012345 EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSASGFI FSRYDMS WVRQAPGKGLEWVAYI SHGGAGTYYPDSVKGRFTI SRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYYCARGGVYKGY FDVWGQGT PVTVSSASTKGPEVQLVQSGAEVKKPG SSVKVSCASGGSGGGYGI GWRQAPGQGLEWMGG ITPFFGFADYAQKFQGRVTITADESTTTAYMELSG LTSDDTAVYYCARDPNEFWNGYYSTHDFDSWGQGT TVTSS
	DVD1274L	AB269VL	AB274VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASGNIHNYLTW YQQTTPGKAPKLLIYNAKTLADGVPSRFSGSGSGTD YFTTISLQPEDIAITYYCQHFWSIPYTFGQGTKLQ ITRTVAAP EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQ DIGSELHWYQQKPDQPPKLLIKYASHSTSGVPSRF SGSGSGTDFTLTINGLEAEADAGTY YCHQTDLSL PYT FGPGTKVDIKR
	DVD1275H	AB274VH	AB269VH	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGSGGGYGI G WVRQAPGQGLEWMGGITPFFGFADYAQKFQGRVTI TADESTTTAYMELSG L TSDDTAVYYCARDPNEFWN GYYSTHDFDSWGQGT T VTVSSASTKGPEVQLVESG GGVVQPGRSLRLSCSASGFI FSRYDMSWVRQAPGK GLEWVAYI SHGGAGTYYPDSVKGRFTI SRDNSKNT LFLQMDSLRAEDTAVYYCARGGVYKGYFDVWGQGT PVTSS
	DVD1275L	AB274VL	AB269VL	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQDIGSELHW YQQKPDQPPKLLIKYASHSTSGVPSRFSGSGSGTD FTLTINGLEAEADAGTY YCHQTDLSL PYTFGPGTKVD IKRTVAAPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASG NIHNYLTWYQQTTPGKAPKLLIYNAKTLADGVPSRF SGSGSGTDYFTTISLQPEDIAITYYCQHFWSIPYT FGQTKLQITR
	DVD1601H	AB269VH	AB274VH	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSASGFI FSRYDMS WVRQAPGKGLEWVAYI SHGGAGTYYPDSVKGRFTI SRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYYCARGGVYKGY FDVWGQGT PVTVSSASTKGPEVQLVQSGAEVKKPG SSVKVSCASGGSGGGYGI GWRQAPGQGLEWMGG ITPFFGFADYAQKFQGRVTITADESTTTAYMELSG LTSDDTAVYYCARDPNEFWNGYYSTHDFDSWGQGT TVTSS
	DVD1601L	AB269VL	AB274VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASGNIHNYLTW YQQTTPGKAPKLLIYNAKTLADGVPSRFSGSGSGTD YFTTISLQPEDIAITYYCQHFWSIPYTFGQGTKLQ ITRTVAAPSVFI FPPEI VLTQSPDFQSVTPKEKVT ITCRASQDIGSELHWYQQKPDQPPKLLIKYASHST SGVPSRFSGSGSGTDFTLTINGLEAEADAGTY YCHQ TDSL PYTFGPGTKVDIKR
	DVD1602H	AB274VH	AB269VH	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGSGGGYGI G WVRQAPGQGLEWMGGITPFFGFADYAQKFQGRVTI TADESTTTAYMELSG L TSDDTAVYYCARDPNEFWN GYYSTHDFDSWGQGT T VTVSSASTKGPEVQLVESG GGVVQPGRSLRLSCSASGFI FSRYDMSWVRQAPGK GLEWVAYI SHGGAGTYYPDSVKGRFTI SRDNSKNT LFLQMDSLRAEDTAVYYCARGGVYKGYFDVWGQGT PVTSS

10

20

30

40

	DVD1602L	AB274VL	AB269VL	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQDIGSELHW YQQKPDQPPKLLIKYASHSTSGVPSRFSGSGSGTD FTLTINGLEAEADAGTYCHQTDLSLPTFGPGTKVD IKRTVAAPSVFI FPPDIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASGNIHNYLTWYQQT PGKAPKLLIYNAKTLA DGVPSRFSGSGSGTDYFTFTISSLQPEDIATYYCQH FWSIPYTFGQGTKLQITR	
	DVD1631H	AB269VH	AB274VH	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSASGFI FSRYDMS WVRQAPGKGLEWVAYI SHGGAGTYYPDSVKGRFTI SRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYYCARGGVYKGY FDVWGQGT PVTVSSASTKGPSVFPLAPEVQLVQSG AEVKKPGSSVKVSCASGGSFGGYGIGWVRQAPGQ GLEWMGGITPFFGFADYAQKFQGRVTITADESTTT AYMELSGLTSDDTAVYYCARDPNEFWNGYYSTHDF DSWGQGT TTVTVSS	10
	DVD1631L	AB269VL	AB274VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASGNIHNYLTW YQQT PGKAPKLLIYNAKTLADGVPSRFSGSGSGTD YFTFTISSLQPEDIATYYCQHFWSI PYTFGQGTKLQ ITRTVAAPEIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQ DIGSELHWYQQKPDQPPKLLIKYASHSTSGVPSRF SGSGSGTDFTLTINGLEAEADAGTYCHQTDLSLPT FGPGTKVDIKR	
	DVD1632H	AB274VH	AB269VH	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGSFGGYGIG WVRQAPGQGLEWMGGITPFFGFADYAQKFQGRVTI TADESTTTAYMELSGLTSDDTAVYYCARDPNEFWN GYYSTHDFDSWGQGT TTVTVSSASTKGPSVFPLAPE VQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSASGFI FSRYDMSW VRQAPGKGLEWVAYI SHGGAGTYYPDSVKGRFTI S RDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYYCARGGVYKGYF DVWGQGT PVTVSS	20
	DVD1632L	AB274VL	AB269VL	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQDIGSELHW YQQKPDQPPKLLIKYASHSTSGVPSRFSGSGSGTD FTLTINGLEAEADAGTYCHQTDLSLPTFGPGTKVD IKRTVAAPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASG NIHNYLTWYQQT PGKAPKLLIYNAKTLADGVPSRF SGSGSGTDYFTFTISSLQPEDIATYYCQHFWSI PYT FGQGTKLQITR	
	DVD1661H	AB269VH	AB274VH	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSASGFI FSRYDMS WVRQAPGKGLEWVAYI SHGGAGTYYPDSVKGRFTI SRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYYCARGGVYKGY FDVWGQGT PVTVSSASTKGPSVFPLAPEVQLVQSG AEVKKPGSSVKVSCASGGSFGGYGIGWVRQAPGQ GLEWMGGITPFFGFADYAQKFQGRVTITADESTTT AYMELSGLTSDDTAVYYCARDPNEFWNGYYSTHDF DSWGQGT TTVTVSS	30
	DVD1661L	AB269VL	AB274VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASGNIHNYLTW YQQT PGKAPKLLIYNAKTLADGVPSRFSGSGSGTD YFTFTISSLQPEDIATYYCQHFWSI PYTFGQGTKLQ ITRTVAAPSVFI FPPEIVLTQSPDFQSVTPKEKVT ITCRASQDIGSELHWYQQKPDQPPKLLIKYASHST SGVPSRFSGSGSGTDFTLTINGLEAEADAGTYCHQ TDSLPTFGPGTKVDIKR	
	DVD1662H	AB274VH	AB269VH	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGSFGGYGIG WVRQAPGQGLEWMGGITPFFGFADYAQKFQGRVTI TADESTTTAYMELSGLTSDDTAVYYCARDPNEFWN GYYSTHDFDSWGQGT TTVTVSSASTKGPSVFPLAPE VQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSASGFI FSRYDMSW VRQAPGKGLEWVAYI SHGGAGTYYPDSVKGRFTI S RDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYYCARGGVYKGYF DVWGQGT PVTVSS	40
	DVD1662L	AB274VL	AB269VL	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQDIGSELHW YQQKPDQPPKLLIKYASHSTSGVPSRFSGSGSGTD FTLTINGLEAEADAGTYCHQTDLSLPTFGPGTKVD IKRTVAAPSVFI FPPDIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASGNIHNYLTWYQQT PGKAPKLLIYNAKTLA DGVPSRFSGSGSGTDYFTFTISSLQPEDIATYYCQH FWSIPYTFGQGTKLQITR	

【 0 2 9 7 】

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。

【 0 2 9 8 】

本開示は、分子生物学および薬物送達分野で周知の技術全体も、参照により組み込む。これらの技術には、以下の公報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。

【 0 2 9 9 】

【 表 1 9 】

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 ed., 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;

10

20

30

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);

10

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

20

Winnacker, E.L. FROM GENES TO CLONES: INTRODUCTION TO GENE TECHNOLOGY (1987) VCH Publishers, NY (translated by Horst Ibelgauf). 634 pp. (ISBN 0-89573-614-4).

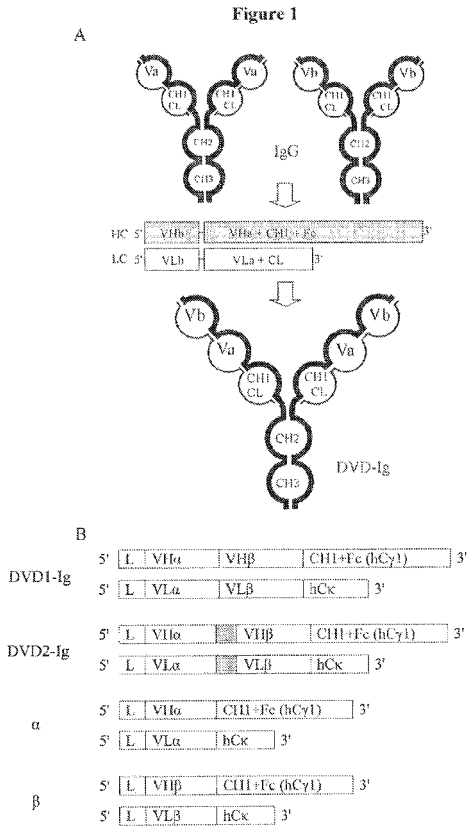
【 0 3 0 0 】

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で実施することができる。したがって、前述の実施形態は、本開示を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。

30

【 図 1 】



【 配 列 表 】

2016522793000001.app

【 手 続 補 正 書 】

【 提 出 日 】 平 成 27 年 11 月 12 日 (2015.11.12)

【 手 続 補 正 1 】

【 補 正 対 象 書 類 名 】 明 細 書

【 補 正 対 象 項 目 名 】 0 0 0 1

【 補 正 方 法 】 変 更

【 補 正 の 内 容 】

【 0 0 0 1 】

本 出 願 は、3 5 U . S . C . 第 1 1 9 条 の 下 で、2 0 1 3 年 3 月 1 5 日 に 出 願 し た 米 国 仮 特 許 出 願 第 6 1 / 7 9 9 , 7 0 0 号 の 優 先 権 の 利 益 を 主 張 し、こ の 出 願 は そ の 全 体 が 参 照 に よ り 本 明 細 書 に 組 み 込 ま れ る。

【 手 続 補 正 2 】

【 補 正 対 象 書 類 名 】 明 細 書

【 補 正 対 象 項 目 名 】 0 1 6 3

【 補 正 方 法 】 変 更

【 補 正 の 内 容 】

【 0 1 6 3 】

【表 1】

表 1：多価結合タンパク質を含む結合タンパク質を生成するための
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
			1234567890123456789012345678901234567890
32	AB268VH	VH-IL1b (配列 1)	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSASGFI FSRYDMSWVRQA PGKGLEWVAYI SHGGAGTYYPDSVKGRFTISRDN SKNTLF LQMDSL RPEDTGVYFCARGGVTKGYFDVWGQGPVTVSS
33	AB268VL	VL-IL1b (配列 1)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASGNIHNYLTWYQQTP GKAPKLLIYNAKTLADGVPSRFSGSGSGTDYTF TISSLQP EDIATYYCQHFW SIPYTFGQGTKLQITR
34	AB269VH	VH-IL1b (配列 2)	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSASGFI FSRYDMSWVRQA PGKGLEWVAYI SHGGAGTYYPDSVKGRFTISRDN SKNTLF LQMDSLRAEDTAVYYCARGGVYKGYFDVWGQGPVTVSS
35	AB269VL	VL-IL1b (配列 2)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASGNIHNYLTWYQQTP GKAPKLLIYNAKTLADGVPSRFSGSGSGTDYTF TISSLQP EDIATYYCQHFW SIPYTFGQGTKLQITR
36	AB270VH	VH-IL1b (配列 3)	EVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGFSLSDYGVSWIRQP PGKGLEWLGLIWGGGDTYYNSPLKSRLTISKDN SKSQVSL KLSSVTAADTAVYYCAKQRTLWGYDLYGMDYWGQGLVTV SS
37	AB270VL	VL-IL1b (配列 3)	DTQVTQSPSSLSASVGDRVTITCITSTDIDVDMN WYQQKP GKPPKLLISQGNLRLPGVPSRFSSSGSGTDFTFT ISSLQP EDFATYYCLQSDNLPLTFGQGTKLEIKR
38	AB271VH	VH-IL1b (配列 4)	EVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGFSLSDYGVSWIRQP PGKGLEWLGLIWGGGDTYYNSPLKSRLTISKDN SKSQVSL KLSSVTAADTAVYYCAKQRTLWGYDLYGMDYWGQGLVTV SS
39	AB271VL	VL-IL1b (配列 4)	DTVVTQSPAFLSVTPGEKVTITCITSTDIDVDMN WYQQKP DQPPKLLISQGNLRLPGVPSRFSSSGSGTDFTFT ISSLEA EDAATYYCLQSDNLPLTFGQGTKLEIKR
40	AB272VH	VH-IL1b (配列 5)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTLSDYGVSWIRQA PGKGLEWLGLIWGGGDTYYNSPLKSRLTISKDN SKSTVYL QMNSLRAEDTAVYYCAKQRTLWGYDLYGMDYWGQGLVTV SS

配列 番号	ABT 固有 ID	タンパク質 領域	配列 1234567890123456789012345678901234567890
41	AB272VL	VL-IL1b (配列 5)	ETT <u>VTQSPSSLSAS</u> VGDRVTITCITST <u>DDIDVDMN</u> WYQQKP GKPPKLLIS <u>QGN</u> TLR <u>PGVPSRFSSSGSGTDF</u> FTFTISSLQP EDFATYY <u>CLQSDN</u> LPL <u>TFGQ</u> GTKLEIKR
42	AB273VH	VH-IL17 (配列 1)	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV <u>SCKASGYTF</u> TDY <u>EIH</u> WVRQA PGQGLEW <u>MGN</u> DPESGGTFY <u>NQK</u> FDGRVTLTADE <u>ST</u> STAY MELSSLRSEDTAVYYCT <u>RY</u> SK <u>WDS</u> FDGMDYWGQGT <u>TV</u> TVSS
43	AB273VL	VL-IL17 (配列 1)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC <u>RASSGI</u> ISYIDWFQQKP GKAPKRLIYATFD <u>LAS</u> GVPSRFSGSGSGTDYTLT <u>TI</u> SSLQP EDFATYYC <u>RQVGS</u> YP <u>ET</u> FGQGT <u>KLEI</u> KR
44	AB420VH	VH-IL17 (配列 2)	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV <u>SCKASGGS</u> F <u>GGYGI</u> GWVRQA PGQGLEW <u>MGGIT</u> PF <u>FGFADYAQ</u> K <u>FQ</u> GRVTITADE <u>ST</u> TTAY MELSGLTSDDTAVYYC <u>ARD</u> PNEFWGGY <u>Y</u> STHDFDS <u>WGQ</u> GT TVTVSS
45	AB420VL	VL-IL17 (配列 2)	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITC <u>RASQ</u> DIGSEL <u>H</u> WYQQKP DQPPKLLIKYASH <u>ST</u> SGVPSRFSGSGSGTD <u>FT</u> LT <u>ING</u> LEA EDAGTY <u>YCHQ</u> TDSL <u>PY</u> TF <u>GP</u> GTKVDIKR
46	AB461VH	VH-IL17 (配列 3)	EVQLVQSGAEVKKPGESVKIS <u>CKASGGS</u> F <u>RSYGI</u> SWVRQA PGQGLEW <u>MGGIT</u> H <u>FFGIT</u> DYA <u>Q</u> K <u>FQ</u> GRVTITADE <u>ST</u> TTAY MELSGLTSDDTAVYYC <u>ARE</u> P <u>NDF</u> WGGY <u>Y</u> DTHDFDS <u>WGQ</u> GT TVTVSS
47	AB461VL	VL-IL17 (配列 3)	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITC <u>RASQ</u> NIGSEL <u>H</u> WYQQKP DQSPKLLIKYASH <u>SIS</u> GVPSRFSGSGSGTD <u>FT</u> LT <u>ING</u> LEA EDAATYY <u>CHQ</u> S <u>DTLP</u> H <u>TFGQ</u> GTKVDIKR
120	AB274VH	VH-IL17 (配列 4)	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV <u>SCKASGGS</u> F <u>GGYGI</u> GWVRQA PGQGLEW <u>MGGIT</u> PF <u>FGFADYAQ</u> K <u>FQ</u> GRVTITADE <u>ST</u> TTAY MELSGLTSDDTAVYYC <u>ARD</u> PNEFW <u>NGY</u> YSTHDFDS <u>WGQ</u> GT TVTVSS
121	AB274VL	VL-IL-17 (配列 4)	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITC <u>RASQ</u> DIGSEL <u>H</u> WYQQKP DQPPKLLIKYASH <u>ST</u> SGVPSRFSGSGSGTD <u>FT</u> LT <u>ING</u> LEA EDAGTY <u>YCHQ</u> TDSL <u>PY</u> TF <u>GP</u> GTKVDIKR

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0232

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0232】

【表 3】

表 2 a : ヒト I g G 重鎖および軽鎖定常ドメイン

ブレイク	配列番号	配列
		12345678901234567890123456789012345678901234567890123
野生型 hIgG1 定常領域	122	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPE <u>LL</u> GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNNH YTQKSLSLSPGK
変異体 hIgG1 定常領域 (IgG1, z, non-a mut (234,235))	123	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPE <u>AA</u> GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNNH YTQKSLSLSPGK
Ig カハ ^o - 定常領域	124	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQIE SVTEQDSKIDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
Ig ヽハ ^o 定常領域	125	QPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVE TTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

【手続補正 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 2 3 3

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 2 3 3】

【表 4】

表 2 b : 定常領域を有する DVD3418 に対するアミノ酸配列

DVD3418	配列番号	配列
		12345678901234567890123456789012345678901234567890123
第一鎖	126	<p>EVQLVESGGGVVQPGRSRLRLSCSASGFIFSRYDMSWVRQAPGKGLEWVAYISH</p> <p><u>GGAGTYYPDSVKGRFTISRDN</u>SKNTLFLQMDSLRAEDTAVYYCARGGVYKGYF</p> <p><u>DVWGQGT</u>PVTVSSGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGSGF</p> <p><u>GYGIGWVRQAPGQGLEWMGGIT</u>PFFGFADYAQKFQGRVTITADESTTTAYMEL</p> <p>SGLTSDDTAVYYCARDPNEFWGGYYSTHDFDSWGQGTTVTVSSASTKGPSVFP</p> <p>LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAYLQSSGLY</p> <p>SLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPPCPAPE</p> <p>AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN</p> <p>AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA</p> <p>KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK</p> <p>TPPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSP</p> <p>GK</p>
第二鎖	127	<p>DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASGNIHNYLTWYQQTPGKAPKLLIYNAKT</p> <p>LADGVPSRFRSGSGSGTDYTFTISSLPEDIATYYCQHFWSIPIYTFGQGTKLQI</p> <p>TRGGSGGGGSGEIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQDIGSELHWYQQKPDQ</p> <p>PPKLLIKYASHSTSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTINGLEAEDAGTYYCHQTDSLP</p> <p>YTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW</p> <p>KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL</p> <p>SSPVTKSFNRGEC</p>

【手続補正 5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0296

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0296】

【表 18】

表 16

配列 番号	DVD可変 ドメイン名	外側可変 ドメイン名	内側可変 ドメイン名	配列 12345678901234567890123456789012345
128	DVD1274H	AB269VH	AB274VH	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSASGFI FSRYDMS WVRQAPGKGLEWVAYI SHGGAGTYYPDSVKGRFTI SRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYYCARGGVYKGY FDVWGQGT PVTVSSASTKGPEVQLVQSGAEVKKPG SSVKVSCASGGSFGGYGIGWVRQAPGQGLEWMGG ITPFFGFADYAQKFQGRVTITADESTTTAYMELSG LTSDDTAVYYCARDPNEFWNGYYSTHDFDSWGQGT TDTVSS
129	DVD1274L	AB269VL	AB274VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRASGNIHNYLTW YQQT PGKAPKLLI YNAKTLADGVPSRFSGSGSGTD YTFTISSLQPEDATYYCQHFWSI PYTFGQGTKLQ ITRTVAAP EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQ DIGSELHWYQQKPDQPPKLLI KYASHSTSGVPSRF SGSGSGTDFTLTINGLEAEDAGTYCHQTDLSL PYT FGPGTKVDIKR
130	DVD1275H	AB274VH	AB269VH	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGSFGGYGIG WVRQAPGQGLEWMGGITPFFGFADYAQKFQGRVTI TADESTTTAYMELSGLTSDDTAVYYCARDPNEFWN GYYSTHDFDSWGQGT TTVTVSSASTKGPEVQLVESG GGVVQPGRSLRLSCSASGFI FSRYDMSWVRQAPGK GLEWVAYI SHGGAGTYYPDSVKGRFTISRDNKNT LFLQMDSLRAEDTAVYYCARGGVYKGYFDVWGQGT PVTVSS
131	DVD1275L	AB274VL	AB269VL	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQDIGSELHW YQQKPDQPPKLLI KYASHSTSGVPSRFSGSGSGTD FTLTINGLEAEDAGTYCHQTDLSL PYTFGPGTKVD IKRTVAAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRASG NIHNYLTWYQQTPGKAPKLLI YNAKTLADGVPSRF SGSGSGTDYTFTISSLQPEDATYYCQHFWSI PYT FGQGTKLQITR
132	DVD1601H	AB269VH	AB274VH	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSASGFI FSRYDMS WVRQAPGKGLEWVAYI SHGGAGTYYPDSVKGRFTI SRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYYCARGGVYKGY FDVWGQGT PVTVSSASTKGPEVQLVQSGAEVKKPG SSVKVSCASGGSFGGYGIGWVRQAPGQGLEWMGG ITPFFGFADYAQKFQGRVTITADESTTTAYMELSG LTSDDTAVYYCARDPNEFWNGYYSTHDFDSWGQGT TDTVSS
133	DVD1601L	AB269VL	AB274VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRASGNIHNYLTW YQQT PGKAPKLLI YNAKTLADGVPSRFSGSGSGTD YTFTISSLQPEDATYYCQHFWSI PYTFGQGTKLQ ITRTVAAPSVFIFPPEIVLTQSPDFQSVTPKEKVT ITCRASQDIGSELHWYQQKPDQPPKLLI KYASHST SGVPSRFSGSGSGTDFTLTINGLEAEDAGTYCHQ TDSL PYTFGPGTKVDIKR
134	DVD1602H	AB274VH	AB269VH	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGSFGGYGIG WVRQAPGQGLEWMGGITPFFGFADYAQKFQGRVTI TADESTTTAYMELSGLTSDDTAVYYCARDPNEFWN GYYSTHDFDSWGQGT TTVTVSSASTKGPEVQLVESG GGVVQPGRSLRLSCSASGFI FSRYDMSWVRQAPGK GLEWVAYI SHGGAGTYYPDSVKGRFTISRDNKNT LFLQMDSLRAEDTAVYYCARGGVYKGYFDVWGQGT PVTVSS

135	DVD1602L	AB274VL	AB269VL	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQDIGSELHW YQQKPDQPPKLLIKYASHSTSGVPSRFSGSGSGTD FTLTINGLEAEADAGTYCHQTDLSLPTFGPGTKVD IKRTVAAPSVFIFPPDIQMTQSPSSLSASVGDRTV ITCRASGNIHNYLTWYQQTGPKAPKLLIYNAKT LA DGVPSRFSGSGSGTDYFTTIISSLOPEDIATYYCQH FWSIPYTFGQGTKLOITR
136	DVD1631H	AB269VH	AB274VH	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSASGFI FSRYDMS WVRQAPGKGLEWVAYI SHGGAGTYYPDSVKGRFTI SRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYYCARGGVYKGY FDVWGQGTPTVTVSSASTKGPSVFPLAPEVQLVQSG AEVKKPGSSVKVSCKASGGSFGGYGIGWVRQAPGQ GLEWMGGITPFFGFADYAQKFQGRVTITADESTTT AYMELSGLTSDDTAVYYCARDPNEFWNGYYSTHDF DSWGQGTPTVTVSS
137	DVD1631L	AB269VL	AB274VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASGNIHNYLTW YQQTGPKAPKLLIYNAKTLDAGVPSRFSGSGSGTD YFTTIISSLOPEDIATYYCQHFWSIPYTFGQGTKLO ITRTVAAPEIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQ DIGSELHWYQQKPDQPPKLLIKYASHSTSGVPSRF SGSGSGTDFTLTINGLEAEADAGTYCHQTDLSLPT FGPGTKVDIKR
138	DVD1632H	AB274VH	AB269VH	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGSFGGYGIG WVRQAPGQGLEWMGGITPFFGFADYAQKFQGRVTI TADESTTTAYMELSGLTSDDTAVYYCARDPNEFWN GYYSTHDFDSWGQGTPTVTVSSASTKGPSVFPLAPE VQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSASGFI FSRYDMSW VRQAPGKGLEWVAYI SHGGAGTYYPDSVKGRFTI S RDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYYCARGGVYKGYF DVGWQGTPTVTVSS
139	DVD1632L	AB274VL	AB269VL	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQDIGSELHW YQQKPDQPPKLLIKYASHSTSGVPSRFSGSGSGTD FTLTINGLEAEADAGTYCHQTDLSLPTFGPGTKVD IKRTVAAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASG NIHNYLTWYQQTGPKAPKLLIYNAKTLDAGVPSRF SGSGSGTDYFTTIISSLOPEDIATYYCQHFWSIPY TFGQGTKLOITR
140	DVD1661H	AB269VH	AB274VH	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSASGFI FSRYDMS WVRQAPGKGLEWVAYI SHGGAGTYYPDSVKGRFTI SRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYYCARGGVYKGY FDVWGQGTPTVTVSSASTKGPSVFPLAPEVQLVQSG AEVKKPGSSVKVSCKASGGSFGGYGIGWVRQAPGQ GLEWMGGITPFFGFADYAQKFQGRVTITADESTTT AYMELSGLTSDDTAVYYCARDPNEFWNGYYSTHDF DSWGQGTPTVTVSS
141	DVD1661L	AB269VL	AB274VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASGNIHNYLTW YQQTGPKAPKLLIYNAKTLDAGVPSRFSGSGSGTD YFTTIISSLOPEDIATYYCQHFWSIPYTFGQGTKLO ITRTVAAPSVFIFPPEIVLTQSPDFQSVTPKEKVT ITCRASQDIGSELHWYQQKPDQPPKLLIKYASHST SGVPSRFSGSGSGTDFTLTINGLEAEADAGTYCHQ TDSLPTFGPGTKVDIKR
142	DVD1662H	AB274VH	AB269VH	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGSFGGYGIG WVRQAPGQGLEWMGGITPFFGFADYAQKFQGRVTI TADESTTTAYMELSGLTSDDTAVYYCARDPNEFWN GYYSTHDFDSWGQGTPTVTVSSASTKGPSVFPLAPE VQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSASGFI FSRYDMSW VRQAPGKGLEWVAYI SHGGAGTYYPDSVKGRFTI S RDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYYCARGGVYKGYF DVGWQGTPTVTVSS
143	DVD1662L	AB274VL	AB269VL	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQDIGSELHW YQQKPDQPPKLLIKYASHSTSGVPSRFSGSGSGTD FTLTINGLEAEADAGTYCHQTDLSLPTFGPGTKVD IKRTVAAPSVFIFPPDIQMTQSPSSLSASVGDRTV ITCRASGNIHNYLTWYQQTGPKAPKLLIYNAKT LA DGVPSRFSGSGSGTDYFTTIISSLOPEDIATYYCQH FWSIPYTFGQGTKLOITR

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2014/028618

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07K16/24 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2012/018790 A2 (ABBOTT LAB [US]; GHAYUR TARIQ [US]; LIU JUNJIAN [US]; ISAKSON PETER C) 9 February 2012 (2012-02-09) the whole document -----	1-78
A	WO 2011/028811 A2 (ABBOTT LAB [US]; GHAYUR TARIQ [US]; LIU JUNJIAN [US]; MANOJ SHARMILA []) 10 March 2011 (2011-03-10) the whole document -----	1-78
A	WO 2007/024715 A2 (ABBOTT LAB [US]; WU CHENGBIN [US]; GHAYUR TARIQ [US]; DIXON RICHARD W) 1 March 2007 (2007-03-01) the whole document -----	1-78
A	WO 2011/143562 A2 (ABBOTT LAB) 17 November 2011 (2011-11-17) sequences 208, 239 -----	1-78
-/--		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier 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
10 October 2014		28/10/2014
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Pérez-Mato, Isabel

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2014/028618

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2010/102251 A2 (ABBOTT LAB [US]; HSIEH CHUNG-MING [US]; HUGUNIN MARGARET; MURTAZA ANWA) 10 September 2010 (2010-09-10) the whole document	1-78
A	----- PIERRE MIOSSEC ET AL: "Targeting IL-17 and TH17 cells in chronic inflammation", NATURE REVIEWS DRUG DISCOVERY, vol. 11, no. 10, 1 October 2012 (2012-10-01), pages 763-776, XP055083929, ISSN: 1474-1776, DOI: 10.1038/nrd3794 the whole document	1-78
A	----- WU CHENGBIN ET AL: "Simultaneous targeting of multiple disease mediators by a dual-variable-domain immunoglobulin", NATURE BIOTECHNOLOGY, NATURE PUBLISHING GROUP, NEW YORK, NY, US, vol. 25, no. 11, 1 November 2007 (2007-11-01), pages 1290-1297, XP009110104, ISSN: 1087-0156, DOI: 10.1038/NBT1345 the whole document	1-78

INTERNATIONAL SEARCH REPORTInternational application No.
PCT/US2014/028618**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)**

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

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

see additional sheet

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Noe.:
1-78(partially)
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 Noe.:

Remark on Protest

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

International Application No. PCT/US2014/028618

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. claims: 1-78(partially)

directed to a binding protein comprising first and second polypeptide chains, each independently comprising VD1-(X1)n-VD2-C-X2, wherein VD1 is a first variable domain; VD2 is a second variable domain; C is a constant domain; X1 is a linker (which may or may not be CH1); X2 is an Fc region that is either present or absent; n is 0 or 1, wherein the VD1 domains on the first and second polypeptide chains form a first functional target binding site and the VD2 domains on the first and second polypeptide chains form a second functional target binding site, and wherein the binding protein is capable of binding IL-1beta and IL-17, wherein the variable domains that form a functional target binding site for IL-1 comprise CDRs 1-3 from SEQ ID NO: 34 and CDRs 1-3 from SEQ ID NO: 35 and the variable domains that form a functional target binding site for IL-17 comprise CDRs 1-3 from SEQ ID NO: 44 and CDRs 1-3 from SEQ ID NO:45

2. claims: 1-78(partially)

directed to a binding protein comprising first and second polypeptide chains, each independently comprising VD1-(X1)n-VD2-C-X2, wherein VD1 is a first variable domain; VD2 is a second variable domain; C is a constant domain; X1 is a linker (which may or may not be CH1); X2 is an Fc region that is either present or absent; n is 0 or 1, wherein the VD1 domains on the first and second polypeptide chains form a first functional target binding site and the VD2 domains on the first and second polypeptide chains form a second functional target binding site, and wherein the binding protein is capable of binding IL-1beta and IL-17, wherein the variable domains that form a functional target binding site for IL-1 comprise CDRs 1-3 from SEQ ID NO: 34 and CDRs 1-3 from SEQ ID NO: 35, and the variable domains that form a functional target binding site for IL-17 comprise CDRs 1-3 from SEQ ID NO: 42 and CDRs 1-3 from SEQ ID NO:43.

3. claims: 1-78(partially)

directed to a binding protein comprising first and second polypeptide chains, each independently comprising VD1-(X1)n-VD2-C-X2, wherein VD1 is a first variable domain; VD2 is a second variable domain; C is a constant domain; X1 is a linker (which may or may not be CH1); X2 is an Fc region that is either present or absent; n is 0 or 1, wherein the VD1 domains on the first and second polypeptide chains form a first functional target binding site and the VD2

International Application No. PCT/US2014/028618

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

domains on the first and second polypeptide chains form a second functional target binding site, and wherein the binding protein is capable of binding IL-1beta and IL-17, wherein the variable domains that form a functional target binding site for IL-1 comprise CDRs 1-3 from SEQ ID NO: 34 and CDRs 1-3 from SEQ ID NO: 35, and the variable domains that form a functional target binding site for IL-17 comprise CDRs 1-3 from SEQ ID NO: 46 and CDRs 1-3 from SEQ ID NO:47.

4. claims: 1-78(partially)

directed to a binding protein comprising first and second polypeptide chains, each independently comprising VD1-(X1)n-VD2-C-X2, wherein VD1 is a first variable domain; VD2 is a second variable domain; C is a constant domain; X1 is a linker (which may or may not be CH1); X2 is an Fc region that is either present or absent; n is 0 or 1, wherein the VD1 domains on the first and second polypeptide chains form a first functional target binding site and the VD2 domains on the first and second polypeptide chains form a second functional target binding site, and wherein the binding protein is capable of binding IL-1beta and IL-17, wherein the variable domains that form a functional target binding site for IL-1 comprise CDRs 1-3 from SEQ ID NO: 32 and CDRs 1-3 from SEQ ID NO: 33.

5. claims: 1-78(partially)

directed to a binding protein comprising first and second polypeptide chains, each independently comprising VD1-(X1)n-VD2-C-X2, wherein VD1 is a first variable domain; VD2 is a second variable domain; C is a constant domain; X1 is a linker (which may or may not be CH1); X2 is an Fc region that is either present or absent; n is 0 or 1, wherein the VD1 domains on the first and second polypeptide chains form a first functional target binding site and the VD2 domains on the first and second polypeptide chains form a second functional target binding site, and wherein the binding protein is capable of binding IL-1beta and IL-17, wherein the variable domains that form a functional target binding site for IL-1 comprise CDRs 1-3 from SEQ ID NO: 36 and CDRs 1-3 from SEQ ID NO: 37.

6. claims: 1-78(partially)

directed to a binding protein comprising first and second polypeptide chains, each independently comprising VD1-(X1)n-VD2-C-X2, wherein VD1 is a first variable domain; VD2 is a second variable domain; C is a constant domain; X1 is a linker (which may or may not be CH1); X2 is an Fc region that is either present or absent; n is 0 or 1, wherein

International Application No. PCT/US2014/028618

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

the VD1 domains on the first and second polypeptide chains form a first functional target binding site and the VD2 domains on the first and second polypeptide chains form a second functional target binding site, and wherein the binding protein is capable of binding IL-1beta and IL-17, wherein the variable domains that form a functional target binding site for IL-1 comprise CDRs 1-3 from SEQ ID NO: 38 and CDRs 1-3 from SEQ ID NO: 39.

7. claims: 1-78(partially)

directed to a binding protein comprising first and second polypeptide chains, each independently comprising VD1-(X1)ⁿ-VD2-C-X2, wherein VD1 is a first variable domain; VD2 is a second variable domain; C is a constant domain; X1 is a linker (which may or may not be CH1); X2 is an Fc region that is either present or absent; n is 0 or 1, wherein the VD1 domains on the first and second polypeptide chains form a first functional target binding site and the VD2 domains on the first and second polypeptide chains form a second functional target binding site, and wherein the binding protein is capable of binding IL-1beta and IL-17, wherein the variable domains that form a functional target binding site for IL-1 comprise CDRs 1-3 from SEQ ID NO: 40 and CDRs 1-3 from SEQ ID NO: 41.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2014/028618

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2012018790 A2	09-02-2012	AR 082461 A1	12-12-2012
		AU 2011285852 A1	14-03-2013
		CA 2807014 A1	09-02-2012
		CN 103298834 A	11-09-2013
		CO 6680687 A2	31-05-2013
		CR 20130058 A	12-06-2013
		DO P2013000025 A	31-01-2014
		EP 2601218 A2	12-06-2013
		JP 2013537415 A	03-10-2013
		KR 20130100118 A	09-09-2013
		PE 14122013 A1	19-01-2014
		RU 2013109275 A	10-09-2014
		SG 188190 A1	30-04-2013
		TW 201206473 A	16-02-2012
		US 2012034160 A1	09-02-2012
		US 2014219912 A1	07-08-2014
		US 2014220019 A1	07-08-2014
		US 2014234208 A1	21-08-2014
		UY 33543 A	29-02-2012
		WO 2012018790 A2	09-02-2012
WO 2011028811 A2	10-03-2011	AR 078254 A1	26-10-2011
		AU 2010289527 A1	19-04-2012
		CA 2772628 A1	10-03-2011
		CN 102612524 A	25-07-2012
		CO 6511254 A2	31-08-2012
		CR 20120154 A	19-07-2012
		DO P2012000055 A	31-07-2012
		EP 2473524 A2	11-07-2012
		GT 201200058 A	28-01-2014
		JP 2013503607 A	04-02-2013
		KR 20120060877 A	12-06-2012
		NZ 598929 A	30-05-2014
		PE 15302012 A1	22-12-2012
		RU 2012112550 A	10-10-2013
		SG 178602 A1	27-04-2012
		TW 201119673 A	16-06-2011
		US 2011091372 A1	21-04-2011
		US 2014134171 A1	15-05-2014
		UY 32870 A	28-02-2011
		WO 2011028811 A2	10-03-2011
WO 2007024715 A2	01-03-2007	EP 1928506 A2	11-06-2008
		EP 2495257 A2	05-09-2012
		EP 2500352 A1	19-09-2012
		EP 2520588 A1	07-11-2012
		IL 189543 A	30-06-2014
		JP 5364870 B2	11-12-2013
		JP 2009504191 A	05-02-2009
		NZ 597168 A	26-07-2013
		TW 1323734 B	21-04-2010
		WO 2007024715 A2	01-03-2007
WO 2011143562 A2	17-11-2011	AR 081246 A1	18-07-2012
		AU 2011252883 A1	10-01-2013
		CA 2799046 A1	17-11-2011
		CN 103025758 A	03-04-2013
		CO 6640269 A2	22-03-2013

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2014/028618

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		CR 20120581 A	08-04-2013
		DO P2012000288 A	15-02-2013
		EP 2571532 A2	27-03-2013
		GT 201200308 A	14-03-2014
		JP 2013532959 A	22-08-2013
		KR 20130109966 A	08-10-2013
		NZ 604360 A	26-09-2014
		PE 02052013 A1	24-03-2013
		RU 2012154210 A	20-06-2014
		SG 185502 A1	28-12-2012
		US 2011280800 A1	17-11-2011
		US 2013195754 A1	01-08-2013
		US 2014099671 A1	10-04-2014
		US 2014205562 A1	24-07-2014
		US 2014212379 A1	31-07-2014
		US 2014212925 A1	31-07-2014
		US 2014220020 A1	07-08-2014
		UY 33386 A	30-12-2011
		WO 2011143562 A2	17-11-2011

WO 2010102251 A2	10-09-2010	AR 075798 A1	27-04-2011
		AU 2010221166 A1	08-09-2011
		CA 2752648 A1	10-09-2010
		CN 102781470 A	14-11-2012
		CO 6410314 A2	30-03-2012
		CR 20110470 A	08-12-2011
		DO P2011000274 A	31-10-2011
		EC SP11011297 A	31-10-2011
		EP 2403531 A2	11-01-2012
		EP 2772269 A2	03-09-2014
		JP 2012519708 A	30-08-2012
		KR 20110128909 A	30-11-2011
		NZ 594514 A	28-06-2013
		PE 10942012 A1	13-09-2012
		RU 2011140335 A	10-04-2013
		SG 173705 A1	29-09-2011
		TW 201043241 A	16-12-2010
		US 2010266531 A1	21-10-2010
		US 2014017246 A1	16-01-2014
		UY 32477 A	30-06-2010
		WO 2010102251 A2	10-09-2010

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I		テーマコード(参考)	
C 1 2 N	5/10	(2006.01)	C 1 2 N	5/10		4 C 0 8 6
C 1 2 P	21/08	(2006.01)	C 1 2 P	21/08		4 C 2 0 6
C 1 2 N	15/09	(2006.01)	C 1 2 N	15/00	A	4 H 0 4 5
A 6 1 K	39/395	(2006.01)	A 6 1 K	39/395	U	
A 6 1 K	45/00	(2006.01)	A 6 1 K	45/00		
A 6 1 K	38/00	(2006.01)	A 6 1 K	37/02		
A 6 1 K	49/00	(2006.01)	A 6 1 K	49/00	C	
A 6 1 K	51/00	(2006.01)	A 6 1 K	49/00	Z	
A 6 1 K	38/22	(2006.01)	A 6 1 K	49/02	C	
A 6 1 K	31/519	(2006.01)	A 6 1 K	49/02	B	
A 6 1 K	31/436	(2006.01)	A 6 1 K	39/395	D	
A 6 1 K	31/706	(2006.01)	A 6 1 K	37/24		
A 6 1 K	31/573	(2006.01)	A 6 1 K	39/395	Z	
A 6 1 K	31/137	(2006.01)	A 6 1 K	43/00		
A 6 1 P	19/02	(2006.01)	A 6 1 K	31/519		
A 6 1 P	1/04	(2006.01)	A 6 1 K	31/436		
A 6 1 P	3/10	(2006.01)	A 6 1 K	31/706		
A 6 1 P	17/00	(2006.01)	A 6 1 K	31/573		
A 6 1 P	11/06	(2006.01)	A 6 1 K	31/137		
A 6 1 P	37/08	(2006.01)	A 6 1 P	19/02		
A 6 1 P	17/06	(2006.01)	A 6 1 P	1/04		
A 6 1 P	37/02	(2006.01)	A 6 1 P	3/10		
A 6 1 P	9/10	(2006.01)	A 6 1 P	17/00		
A 6 1 P	9/00	(2006.01)	A 6 1 P	11/06		
A 6 1 P	5/14	(2006.01)	A 6 1 P	37/08		
A 6 1 P	3/00	(2006.01)	A 6 1 P	17/06		
A 6 1 P	13/12	(2006.01)	A 6 1 P	37/02		
A 6 1 P	1/16	(2006.01)	A 6 1 P	9/10		
A 6 1 P	31/04	(2006.01)	A 6 1 P	9/00		
A 6 1 P	33/00	(2006.01)	A 6 1 P	5/14		
A 6 1 P	31/00	(2006.01)	A 6 1 P	3/00		
A 6 1 P	25/14	(2006.01)	A 6 1 P	13/12		
A 6 1 P	25/16	(2006.01)	A 6 1 P	1/16		
A 6 1 P	25/28	(2006.01)	A 6 1 P	31/04		
A 6 1 P	7/06	(2006.01)	A 6 1 P	33/00		
A 6 1 P	35/00	(2006.01)	A 6 1 P	31/00		
A 6 1 P	9/04	(2006.01)	A 6 1 P	25/14		
A 6 1 P	11/00	(2006.01)	A 6 1 P	25/16		
A 6 1 P	17/14	(2006.01)	A 6 1 P	25/28		
A 6 1 P	37/06	(2006.01)	A 6 1 P	7/06		
A 6 1 P	15/08	(2006.01)	A 6 1 P	35/00		
A 6 1 P	3/08	(2006.01)	A 6 1 P	9/04		
A 6 1 P	5/18	(2006.01)	A 6 1 P	11/00		
A 6 1 P	27/02	(2006.01)	A 6 1 P	17/14		
A 6 1 P	9/12	(2006.01)	A 6 1 P	37/06		
A 6 1 P	25/24	(2006.01)	A 6 1 P	15/08		
A 6 1 P	25/18	(2006.01)	A 6 1 P	3/08		

A 6 1 P 25/20 (2006.01)	A 6 1 P 5/18
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 27/02
A 6 1 P 35/02 (2006.01)	A 6 1 P 9/12
A 6 1 P 1/18 (2006.01)	A 6 1 P 25/24
A 6 1 P 11/02 (2006.01)	A 6 1 P 25/18
A 6 1 P 25/32 (2006.01)	A 6 1 P 25/20
A 6 1 P 31/10 (2006.01)	A 6 1 P 29/00
A 6 1 P 31/18 (2006.01)	A 6 1 P 35/02
A 6 1 P 31/16 (2006.01)	A 6 1 P 1/18
A 6 1 P 31/08 (2006.01)	A 6 1 P 11/02
A 6 1 P 33/06 (2006.01)	A 6 1 P 25/32
A 6 1 P 3/02 (2006.01)	A 6 1 P 31/10
A 6 1 P 5/00 (2006.01)	A 6 1 P 31/18
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	A 6 1 P 31/16
	A 6 1 P 29/00 1 0 1
	A 6 1 P 31/08
	A 6 1 P 33/06
	A 6 1 P 3/02
	A 6 1 P 5/00
	G 0 1 N 33/53 P

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, T M), 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, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, 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, H R, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, 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, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(72) 発明者 ハリス, マリア
アメリカ合衆国、マサチューセッツ・01545、シュルーズベリー、トローブリッジ・レイン・55

(72) 発明者 グッドロー, キャリー
アメリカ合衆国、マサチューセッツ・01056、ラッドロー、スティープンス・ストリート・201

(72) 発明者 サルージャ, ソナル
アメリカ合衆国、マサチューセッツ・01545、シュルーズベリー、マディソン・プレイス・322

F ターム(参考) 4B024 AA01 AA11 BA41 CA07 DA01 DA02 DA05 DA06 DA11 DA12
DA20 EA04 GA11 HA01
4B064 AG27 CA01 CA10 CA19 CC24 DA01 DA13
4B065 AA01X AA26X AA57X AA72X AA86X AA88X AA90X AA90Y AB01 AC14
BA01 CA25 CA44 CA46
4C084 AA01 AA19 BA44 DA01 DA11 DA58 DB22 DB56 DC01 MA55
MA56 MA57 MA59 MA60 MA63 MA66 NA05 ZA042 ZA082 ZA122
ZA182 ZA202 ZA212 ZA362 ZA592 ZA892 ZA942 ZB082 ZB112 ZB152
ZB212 ZB262 ZB322 ZB352 ZC032 ZC202 ZC212 ZC412 ZC422
4C085 AA13 AA14 AA16 AA33 BB44 CC23 DD62 EE01 EE05 GG01
GG02 GG03 GG04 GG06 GG10 HH03 HH07 HH11 HH20 KA05
KA27 KA28 KA29 KB02 KB09 KB11 KB12 KB15 KB18 KB57

KB82
4C086 AA01 AA02 CB10 CB22 DA10 EA05 MA03 MA05 MA55 MA56
MA57 MA59 MA60 MA63 MA66 NA05 ZC41
4C206 AA01 FA14 KA01 MA03 MA05 MA75 MA76 MA77 MA79 MA80
MA83 MA86 NA05 ZA36
4H045 AA11 AA20 AA30 BA41 BA70 BA71 BA72 CA40 DA76 EA20
EA50 FA71

专利名称(译)	针对IL-1 β 和/或IL-17的双特异性结合蛋白		
公开(公告)号	JP2016522793A	公开(公告)日	2016-08-04
申请号	JP2016502847	申请日	2014-03-14
[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 グージージエ ハリスマリア グッドローキャリー サルージャソナル		
发明人	ガユール,タリク グー,ジージエ ハリス,マリア グッドロー,キャリー サルージャ,ソナル		
IPC分类号	C07K16/46 C12N1/11 C12N1/19 C12N1/15 C12N1/21 C12N5/10 C12P21/08 C12N15/09 A61K39/395 A61K45/00 A61K38/00 A61K49/00 A61K51/00 A61K38/22 A61K31/519 A61K31/436 A61K31/706 A61K31/573 A61K31/137 A61P19/02 A61P1/04 A61P3/10 A61P17/00 A61P11/06 A61P37/08 A61P17 /06 A61P37/02 A61P9/10 A61P9/00 A61P5/14 A61P3/00 A61P13/12 A61P1/16 A61P31/04 A61P33/00 A61P31/00 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/28 A61P7/06 A61P35/00 A61P9/04 A61P11/00 A61P17/14 A61P37/06 A61P15/08 A61P3/08 A61P5/18 A61P27/02 A61P9/12 A61P25/24 A61P25/18 A61P25/20 A61P29/00 A61P35/02 A61P1/18 A61P11/02 A61P25/32 A61P31/10 A61P31/18 A61P31/16 A61P31 /08 A61P33/06 A61P3/02 A61P5/00 G01N33/53		
CPC分类号	A61P1/04 A61P1/16 A61P1/18 A61P3/00 A61P3/02 A61P11/00 A61P11/02 A61P11/06 A61P13/12 A61P15/08 A61P17/00 A61P17/06 A61P17/14 A61P19/02 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/18 A61P25 /20 A61P25/24 A61P25/28 A61P25/32 A61P27/02 A61P29/00 A61P31/00 A61P31/04 A61K47/6845 A61K47/6879 C07K16/244 C07K16/245 C07K2317/31 C07K2317/626 C07K2317/76 C07K2317/92 C07K2317/94 G01N33/6869 A61K39/3955 A61K45/06 C07K16/468 C07K2317/64 C07K2319/00 G01N2333/54 G01N2333/545		
FI分类号	C07K16/46.ZNA C12N1/11 C12N1/19 C12N1/15 C12N1/21 C12N5/10 C12P21/08 C12N15/00.A A61K39/395.U A61K45/00 A61K37/02 A61K49/00.C A61K49/00.Z A61K49/02.C A61K49/02.B A61K39 /395.D A61K37/24 A61K39/395.Z A61K43/00 A61K31/519 A61K31/436 A61K31/706 A61K31/573 A61K31/137 A61P19/02 A61P1/04 A61P3/10 A61P17/00 A61P11/06 A61P37/08 A61P17/06 A61P37 /02 A61P9/10 A61P9/00 A61P5/14 A61P3/00 A61P13/12 A61P1/16 A61P31/04 A61P33/00 A61P31/00 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/28 A61P7/06 A61P35/00 A61P9/04 A61P11/00 A61P17/14 A61P37/06 A61P15/08 A61P3/08 A61P5/18 A61P27/02 A61P9/12 A61P25/24 A61P25/18 A61P25/20 A61P29/00 A61P35/02 A61P1/18 A61P11/02 A61P25/32 A61P31/10 A61P31/18 A61P31/16 A61P29/00.101 A61P31/08 A61P33/06 A61P3/02 A61P5/00 G01N33/53.P		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA41 4B024/CA07 4B024/DA01 4B024/DA02 4B024/DA05 4B024 /DA06 4B024/DA11 4B024/DA12 4B024/DA20 4B024/EA04 4B024/GA11 4B024/HA01 4B064/AG27 4B064/CA01 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA01X 4B065 /AA26X 4B065/AA57X 4B065/AA72X 4B065/AA86X 4B065/AA88X 4B065/AA90X 4B065/AA90Y 4B065 /AB01 4B065/AC14 4B065/BA01 4B065/CA25 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA01 4C084/AA19 4C084/BA44 4C084/DA01 4C084/DA11 4C084/DA58 4C084/DB22 4C084/DB56 4C084/DC01 4C084 /MA55 4C084/MA56 4C084/MA57 4C084/MA59 4C084/MA60 4C084/MA63 4C084/MA66 4C084/NA05 4C084/ZA042 4C084/ZA082 4C084/ZA122 4C084/ZA182 4C084/ZA202 4C084/ZA212 4C084/ZA362		

4C084/ZA592 4C084/ZA892 4C084/ZA942 4C084/ZB082 4C084/ZB112 4C084/ZB152 4C084/ZB212
4C084/ZB262 4C084/ZB322 4C084/ZB352 4C084/ZC032 4C084/ZC202 4C084/ZC212 4C084/ZC412
4C084/ZC422 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/AA16 4C085/AA33 4C085/BB44 4C085/CC23 4C085
/DD62 4C085/EE01 4C085/EE05 4C085/GG01 4C085/GG02 4C085/GG03 4C085/GG04 4C085/GG06
4C085/GG10 4C085/HH03 4C085/HH07 4C085/HH11 4C085/HH20 4C085/KA05 4C085/KA27 4C085
/KA28 4C085/KA29 4C085/KB02 4C085/KB09 4C085/KB11 4C085/KB12 4C085/KB15 4C085/KB18
4C085/KB57 4C085/KB82 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/CB10 4C086/CB22 4C086/DA10 4C086
/EA05 4C086/MA03 4C086/MA05 4C086/MA55 4C086/MA56 4C086/MA57 4C086/MA59 4C086/MA60
4C086/MA63 4C086/MA66 4C086/NA05 4C086/ZC41 4C206/AA01 4C206/FA14 4C206/KA01 4C206
/MA03 4C206/MA05 4C206/MA75 4C206/MA76 4C206/MA77 4C206/MA79 4C206/MA80 4C206/MA83
4C206/MA86 4C206/NA05 4C206/ZA36 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA41 4H045
/BA70 4H045/BA71 4H045/BA72 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA71

优先权 61/799700 2013-03-15 US

外部链接 [Espacenet](#)

摘要(译)

提供了与IL-1 β 和/或IL-17结合的工程化的多价和多特异性结合蛋白，以及制备结合蛋白和使用结合蛋白预防，诊断和/或治疗疾病的方法。有待完成。

