(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2016-531100
(P2016-531100A)
(43)公表日　平成28年10月6日(2016.10.6)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C07K 16/46	(2006.01)	C07K	16/46	ZNA	4B064
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	A	4B065
C12P 21/08	(2006.01)	C12P	21/08		4C085
C12N 5/10	(2006.01)	C12N	5/10		4H045
C12N 5/09	(2010.01)	C12N	5/09		

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 112 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2016-525831 (P2016-525831)
(86)(22)出願日　平成26年7月11日 (2014.7.11)
(85)翻訳文提出日　平成28年2月19日 (2016.2.19)
(86)国際出願番号　PCT/US2014/046436
(87)国際公開番号　WO2015/006749
(87)国際公開日　平成27年1月15日 (2015.1.15)
(31)優先権主張番号　61/978,719
(32)優先日　平成26年4月11日 (2014.4.11)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　61/845,948
(32)優先日　平成25年7月12日 (2013.7.12)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　61/927,877
(32)優先日　平成26年1月15日 (2014.1.15)
(33)優先権主張国　米国(US)

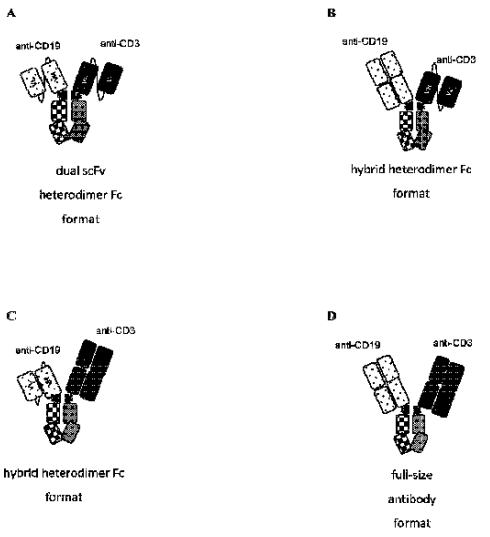
(71)出願人　510214045
ザイムワークス，インコーポレイテッド
カナダ国，ブリティッシュ　コロンビア州　ブイ６エイチ　３ブイ９，バンクーバー，ウエスト　８番　アベニュー　５４０－１３８５
(74)代理人　100102978
弁理士　清水　初志
(74)代理人　100102118
弁理士　春名　雅夫
(74)代理人　100160923
弁理士　山口　裕孝
(74)代理人　100119507
弁理士　刑部　俊

最終頁に続く

(54)【発明の名称】二重特異的なＣＤ３及びＣＤ１９抗原結合構築物

(57)【要約】
ＣＤ３、及びＣＤ１９またはＣＤ２０に結合する二重特異的抗原結合構築物を記載する。

Figure 1



【特許請求の範囲】
【請求項１】
ＣＤ１９抗原またはＣＤ２０抗原に、一価でかつ特異的に結合する、第１の抗原結合ポリペプチド構築物；
ＣＤ３抗原に、一価でかつ特異的に結合する、第２の抗原結合ポリペプチド構築物；
それぞれ修飾ＣＨ３ドメインを含む第１及び第２Ｆｃポリペプチドを含むヘテロ二量体Ｆｃであって、各修飾ＣＨ３ドメインが、約６８℃以上の融解温度（Ｔｍ）を有するヘテロ二量体Ｆｃ及び二量体ＣＨ３ドメインの形成を促進する非対称なアミノ酸修飾を含み、前記第１のＦｃポリペプチドが、第１のリンカーを含んでまたは含まずに前記第１の抗原結合ポリペプチド構築物に結合し、かつ前記第２のモノマーＦｃポリペプチドが、第２のリンカーを含んでまたは含まずに前記第２の抗原結合ポリペプチド構築物に結合する、前記ヘテロ二量体Ｆｃ；
を含む、単離二重特異的抗原結合構築物であって、
前記第１の抗原結合ポリペプチド構築物がＦａｂであり、かつ前記第２の抗原結合ポリペプチド構築物がｓｃＦｖであるか、または前記第１の抗原結合ポリペプチド構築物がｓｃＦｖであり、かつ前記第２の抗原結合ポリペプチド構築物がＦａｂである、前記単離二重特異的抗原結合構築物。
【請求項２】
変異体６７５４、６７５１、１８５３、１０１５１、６４７５、６７４９、１０１５２、１０１５３、６４７６、５８５０、５８５１、５８５２、または６３２５からなる、請求項１に記載の単離二重特異的抗原結合構築物。
【請求項３】
変異体６７５４、６７５１、１８５３、１０１５１、６４７５、６７４９、１０１５２、１０１５３、６４７６、５８５０、５８５１、５８５２、または６３２５のうち少なくとも３個、少なくとも６個、または少なくとも１２個のＣＤＲを含む、請求項１に記載の単離二重特異的抗原結合構築物。
【請求項４】
少なくとも１つのポリペプチドが、変異体６７５４、６７５１、１８５３、１０１５１、６４７５、６７４９、１０１５２、１０１５３、６４７６、５８５０、５８５１、５８５２、または６３２５のうち少なくとも１つのポリペプチドに、少なくとも８０％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であるアミノ酸配列を含む、請求項１に記載の単離二重特異的抗原結合構築物。
【請求項５】
ａ．前記第１の抗原結合ポリペプチド構築物が、４Ｇ７；Ｂ４；Ｂ４３；ＢＵ１２；ＣＬＢ－ＣＤ１９；Ｌｅｕ－１２；ＳＪ２５－Ｃ１；Ｊ４．１１９、Ｂ４３、ＳＪ２５Ｃ１、ＦＭＣ６３（ＩｇＧ２ａ）、ＨＤ２３７（ＩｇＧ２ｂ）、Ｍｏｒ－２０８、ＭＥＤＩ－５５１、及びＭＤＸ－１３４２からなる群から選択される抗体に由来する、ＣＤ１９に特異的な前記抗原結合ポリペプチド構築物を含み、
ｂ．かつ、前記第２の抗原結合ポリペプチド構築物が、ＯＫＴ３；テプリズマブ（商標）（ＭＧＡ０３１，Ｅｌｉ Ｌｉｌｌｙ）；Ｍｉｃｒｏｍｅｔ、ブリナツモマブ（商標）；ＵＣＨＴ１；ＮＩ０４０１；ビジリズマブ；Ｘ３５－３、ＶＩＴ３、ＢＭＡ０３０（ＢＷ２６４／５６）、ＣＬＢ－Ｔ３／３、ＣＲＩＳ７、ＹＴＨ１２．５、Ｆ１１１－４０９、ＣＬＢ－Ｔ３．４．２、ＷＴ３１、ＷＴ３２、ＳＰｖ－Ｔ３ｂ、１１Ｄ８、ＸＩＩＩ－１４１、ＸＩＩＩ－４６、ＸＩＩＩ－８７、１２Ｆ６、Ｔ３／ＲＷ２－８Ｃ８、Ｔ３／ＲＷ２－４Ｂ６、ＯＫＴ３Ｄ、Ｍ－Ｔ３０１、ＳＭＣ２及びＦ１０１．０１から選択される抗体に由来する、ＣＤ３に特異的な前記結合ポリペプチド構築物を含み、
ｃ．かつ／または前記抗原結合構築物が、ａもしくはｂに記載した抗体と競合し、
ｄ．かつ／またはこれらのヒト化版である、請求項１に記載の単離二重特異的抗原結合構築物。
【請求項６】

前記第１の抗原結合ポリペプチド構築物が、ＣＤ１９に特異的な前記抗原結合ポリペプチド構築物に少なくとも８０％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であるアミノ酸配列を含み、かつ前記第２の抗原結合ポリペプチド構築物が、ＣＤ３に特異的な前記抗原結合ポリペプチド構築物に少なくとも８０％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であるアミノ酸配列を含む、請求項５に記載の単離二重特異的抗原結合構築物。

【請求項７】

表Ａの前記ヘテロ二量体Ｆｃ、または変異体６７５４、６７５１、１８５３、１０１５１、６４７５、６７４９、１０１５２、１０１５３、６４７６、５８５０、５８５１、５８５２、もしくは６３２５を含む、請求項１に記載の単離二重特異的抗原結合構築物。

【請求項８】

少なくとも１つのＦｃポリペプチドが、表Ａのヘテロ二量体Ｆｃ、または変異体６７５４、６７５１、１８５３、１０１５１、６４７５、６７４９、１０１５２、１０１５３、６４７６、５８５０、５８５１、５８５２、もしくは６３２５のうち少なくとも１つのＦｃポリペプチドに少なくとも８０％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であるアミノ酸配列を含む、請求項１に記載の単離二重特異的抗原結合構築物。

【請求項９】

前記ヘテロ二量体Ｆｃが

ヒトＦｃである；かつ／または

ヒトＩｇＧ１　ＦｃもしくはＩｇＧ４　Ｆｃである；かつ／または

前記ＣＨ３ドメインのうち少なくとも１つにおける１つ以上の修飾を含む；かつ／または

野生型ホモ二量体Ｆｃに相当する安定性を有するヘテロ二量体の形成を促進する、前記ＣＨ３ドメインのうち少なくとも１つにおける１つ以上の修飾を含む；かつ／または

表Ａに記載した前記ＣＨ３ドメインのうち少なくとも１つにおける１つ以上の修飾を含み；

少なくとも１つのＣＨ２ドメインを更に含む；かつ／または

１つ以上の修飾を含む少なくとも１つのＣＨ２ドメインを更に含む；かつ／または

表Ｂに記載した前記ＣＨ２ドメインのうち少なくとも１つにおける１つ以上の修飾を含む、少なくとも１つのＣＨ２ドメインを更に含む；かつ／または

Ｆｃγ受容体及び／もしくは補体の選択的結合を促進する１つ以上の修飾を含む、上記請求項のいずれか一項に記載の単離二重特異的抗原結合構築物。

【請求項１０】

前記二量体化ＣＨ３ドメインが、６８、６９、７０、７１、７２、７３、７４、７５、７６、７７、７７．５、７８、７９、８０、８１、８２、８３、８４、または８５℃以上の融解温度（Ｔｍ）を有する、上記請求項のいずれか一項に記載の単離二重特異的抗原結合構築物。

【請求項１１】

各ヘテロ二量体Ｆｃポリペプチドが、リンカーにより各抗原結合ポリペプチド構築物に融合した、上記請求項のいずれか一項に記載の単離二重特異的抗原結合構築物。

【請求項１２】

前記リンカーがポリペプチドリンカーである、請求項１１に記載の単離二重特異的抗原結合構築物。

【請求項１３】

前記リンカーがＩｇＧ１ヒンジ領域を含む、請求項１１に記載の単離二重特異的抗原結合構築物。

【請求項１４】

低下したＦｃγ受容体結合を示し、かつ関係する免疫細胞が仲立ちするエフェクター活性を示さない、上記請求項のいずれか一項に記載の単離二重特異的抗原結合構築物。

【請求項１５】
前記二重特異的抗原結合構築物が、
ＦＡＣＳ及び／もしくは顕微鏡検査法によりアッセイしたように、ＣＤ１９＋Ｒａｊｉ Ｂ細胞及びＪｕｒｋａｔＴ細胞間でのシナプス形成並びに結合が可能である；かつ／または
ヒト全血において、Ｔ細胞が導くＣＤ２０＋Ｂ細胞の死滅の仲立ちをする；かつ／または
ｖ８７５と比較して向上した生物物理学的特性を示す；かつ／または
ｖ８７５と比較して、例えばＳＥＣ（サイズ排除クロマトグラフィー）後に１０ｍｇ／Ｌを超えて発現する、向上した収量を示す；かつ／または
同等の発現条件下で、所望の均一種の１０倍良好な収量を示す、かつ／または
例えば９５％を超えるヘテロ二量体純度を示す、上記請求項のいずれか一項に記載の単離二重特異的抗原結合構築物。
【請求項１６】
前記抗原結合構築物が薬剤に結合している、上記請求項のいずれか一項に記載の単離二重特異的抗原結合構築物。
【請求項１７】
上記請求項のいずれか一項に記載の前記単離二重特異的抗原結合構築物、及び医薬担体を含む医薬組成物。
【請求項１８】
前記担体が、緩衝液、酸化防止剤、低分子量分子、薬剤、タンパク質、アミノ酸、炭水化物、脂質、キレート化剤、安定剤、または賦形剤を含む、請求項１７に記載の医薬組成物。
【請求項１９】
上記請求項のいずれか一項に記載の前記二重特異的抗原結合構築物を含む、薬で使用するための医薬組成物。
【請求項２０】
上記請求項のいずれか一項に記載の前記二重特異的抗原結合構築物を含む、がん治療に使用するための医薬組成物。
【請求項２１】
対象におけるがん治療方法であって、有効量の上記請求項のいずれか一項に記載の単離抗原結合構築物を前記対象に投与する段階を含む、前記がん治療方法。
【請求項２２】
前記対象がヒトである、請求項２１に記載の方法。
【請求項２３】
前記がんが、血球系がん、白血病、リンパ腫、血液がん、Ｂ細胞リンパ腫、非ホジキンリンパ腫、ＣＤ１９溶解抗体、ＣＤ２０溶解抗体、及びブリナツモマブのうち少なくとも１種に非応答性のがん、ブリナツモマブでの治療後に退行性となるがん細胞、ＡＬＬ、ＣＬＬ、ＮＨＬ、外套細胞リンパ腫、播種性Ｂ細胞病、並びに脳、肺、肝臓及び／または骨の転位である、請求項２１に記載の方法。
【請求項２４】
対象における状態の治療方法であって、有効量の上記請求項のいずれか一項に記載の前記抗原結合構築物を前記対象に投与する段階を含み、前記状態が、炎症性の状態、増殖性疾患、最小残存がん、腫瘍性疾患、炎症性疾患、免疫不全、自己免疫疾患、感染症、ウイルス性疾患、アレルギー反応、寄生虫反応、移植片対宿主病もしくは宿主対移植片病、または細胞悪性疾患、Ｂ細胞に関係する疾患、抗ＣＤ１９抗体及び抗ＣＤ２０抗体のうち少なくとも１つによる治療に非応答性の疾患である、前記治療方法。
【請求項２５】
前記自己免疫状態が、多発性硬化症、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、乾癬性関節炎、乾癬、血管炎、ぶどう膜炎、クローン病、及び１型糖尿病の１つ以上である、請

求項２４に記載の方法。
【請求項２６】
前記二重特異的抗原結合構築物の発現に好適な条件下で宿主細胞を培養する段階であって、前記宿主細胞が、上記請求項のいずれか一項に記載の前記単離二重特異的抗原結合構築物をコードするポリヌクレオチドを含む、段階、及び
前記二重特異的抗原結合構築物を精製する段階
を含む、上記請求項のいずれか一項に記載の前記二重特異的抗原結合構築物の作製方法。
【請求項２７】
サンプルにおけるＣＤ３及び／またはＣＤ１９の検出または測定方法であって、前記サンプルを、上記請求項のいずれか一項に記載の前記二重特異的抗原結合構築物と接触させる段階、及び結合複合体を検出または測定する段階を含む、前記検出または測定方法。
【請求項２８】
有効量の上記請求項のいずれか一項に記載の前記二重特異的抗原結合構築物を前記細胞に投与する段階、及び所望により、低分子または第２の抗体を投与する段階を含む、細胞におけるＣＤ３及び／またはＣＤ１９シグナル伝達の阻害、低下またはブロック方法。
【請求項２９】
上記請求項のいずれか一項に記載の前記単離二重特異的抗原結合構築物のうち少なくとも１つのポリペプチドをコードする少なくとも１つの核酸配列を含む、単離ポリヌクレオチドまたは単離ポリヌクレオチドのセット。
【請求項３０】
前記ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットがｃＤＮＡである、請求項２９に記載の単離ポリヌクレオチド。
【請求項３１】
変異体６７５４、６７５１、１８５３、１０１５１、６４７５、６７４９、１０１５２、１０１５３、６４７６、５８５０、５８５１、５８５２、または６３２５のうち少なくとも１つのポリペプチドをコードする、単離ポリヌクレオチドまたは単離ポリヌクレオチドのセット。
【請求項３２】
請求項２９に記載の１つ以上のポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットを含む、ベクターまたはベクターのセット。
【請求項３３】
プラスミド、ウイルスベクター、非エピソーム哺乳動物ベクター、発現ベクター、及び組換え発現ベクターからなる群から選択される、請求項２９に記載の１つ以上のポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットを含むベクターまたはベクターのセット。
【請求項３４】
請求項２９に記載のポリヌクレオチドもしくはポリヌクレオチドのセット、または請求項３２に記載のベクターもしくはベクターのセットを含む単離細胞。
【請求項３５】
ハイブリドーマ、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞、またはＨＥＫ２９３細胞である、請求項３４に記載の単離細胞。
【請求項３６】
ｖ１８１３またはｖ１８１２またはｖ１８２３からなる単離二重特異的抗原結合構築物。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願の相互参照
本出願は、２０１３年７月１２日に出願された米国特許仮出願番号第６１／８４５，９４８号、及び２０１４年１月１５日に出願された米国仮出願番号６１／９２７，８７７号、及び２０１４年４月１１日に出願された米国仮出願番号６１／９７８，７１９号の利益

を主張する。これらの出願は、その全体が参照として本明細書に組み込まれる。
【０００２】
配列表
本願は、ＥＦＳ－Ｗｅｂを通して提出された配列表を含有し、その全体が参照として本明細書に組み込まれる。２０１４年ＸＸ月に作成された前記ＡＳＣＩＩの写しはＸＸＸＸ＿ＣＲＦ＿ｓｅｑｕｅｎｃｅｌｉｓｔｉｎｇ．ｔｘｔという名前であり、ＸＸＸ，ＸＸＸバイトのサイズである。
【０００３】
発明の分野
本発明の分野は多重特異的な足場、例えば、生物学的治療薬のカスタム開発用ＣＤ３結合ドメインを含む抗原結合構築物の、合理的設計である。
【背景技術】
【０００４】
発明の背景
治療用タンパク質の分野において、多価の標的結合機能を有する抗体は、薬剤候補として素晴らしい足場である。これらの機能を更に発達させることで、設計した二重特異性抗体及び他の融合多重特異的治療薬は、二重または多重標的特異性、及び新規の作用機序を有する創薬の可能性を示す。好ましい製造可能性、薬学動態及び機能活性を有する、かかる多価及び多重特異的な治療用タンパク質の開発は、難題であり続けた。
【０００５】
腫瘍細胞に対してＴ細胞を標的指向させることが可能な二重特異的抗体が同定され、がん治療におけるその有効性が試験されてきた。ブリナツモマブは、再発Ｂ細胞非ホジキンリンパ腫及び慢性リンパ性白血病等のＢ細胞疾患の治療のために同定された、ＢｉＴＥ（商標）（二重特異的Ｔ細胞誘導）と呼ばれるフォーマットの二重特異的抗ＣＤ３－ＣＤ１９抗体の例である（Ｂａｅｕｅｒｌｅ　ｅｔ　ａｌ（２００９）１２：４９４１－４９４４（非特許文献１））。ＢｉＴＥ（商標）フォーマットは、２つの異なる抗体に由来する可変ドメインが結合している、二重特異的一本鎖抗体構築物である。しかし、ブリナツモマブはインビボでの不十分な半減期を有し、生産及び安定性の点で、製造するのが難しい。したがって、腫瘍細胞にＴ細胞を標的指向させることが可能であり、向上した製造可能性を有する、向上した二重特異的抗体が必要とされている。
【先行技術文献】
【非特許文献】
【０００６】
【非特許文献１】Ｂａｅｕｅｒｌｅ　ｅｔ　ａｌ（２００９）１２：４９４１－４９４４
【発明の概要】
【０００７】
ＣＤ１９またはＣＤ２０抗原に、一価でかつ特異的に結合する、第１の抗原結合ポリペプチド構築物；ＣＤ３抗原に、一価でかつ特異的に結合する、第２の抗原結合ポリペプチド構築物；それぞれ修飾ＣＨ３ドメインを含む第１及び第２Ｆｃポリペプチドを含むヘテロ二量体Ｆｃを含む、単離された二重特異的抗原結合構築物を本明細書にて開示する。ここで各修飾ＣＨ３ドメインは非対称なアミノ酸修飾を含み、これは約６８℃以上の融解温度（Ｔｍ）を有するヘテロ二量体Ｆｃ及び二量体ＣＨ３ドメインの形成を促進する。またここで第１のＦｃポリペプチドは、第１のリンカーを含んでまたは含まずに第１の抗原結合ポリペプチド構築物に結合し、かつ第２のモノマーＦｃポリペプチドは、第２のリンカーを含んでまたは含まずに第２の抗原結合ポリペプチド構築物に結合し、並びに、第１の抗原結合ポリペプチド構築物はＦａｂでありかつ第２の抗原結合ポリペプチド構築物はｓｃＦｖであるか、または、第１の抗原結合ポリペプチド構築物はｓｃＦｖでありかつ第２の抗原結合ポリペプチド構築物はＦａｂである。
【図面の簡単な説明】
【０００８】

特許出願ファイルは、カラーで作成した少なくとも１つの図面を含有する。一般に入手可能であれば、カラーの図面を含む本特許出願の写しは、要請に応じて、かつ必要な料金の支払いがあり次第、米国特許及び商標事務所から提供される。

【図１】本明細書に記載される二重特異的抗原結合構築物の例示的な略図を示す。図１Ａは、二重ｓｃＦｖヘテロ二量体Ｆｃフォーマットを示す；図１Ｂは、ＣＤ３結合ポリペプチドがｓｃＦｖフォーマットであり、ＣＤ１９結合ポリペプチドがＦａｂフォーマットである実施形態における、ハイブリッドヘテロ二量体Ｆｃフォーマットを示す；図１Ｃは、ＣＤ１９結合ポリペプチドがｓｃＦｖフォーマットであり、ＣＤ３結合ポリペプチドがＦａｂフォーマットである実施形態における、ハイブリッドヘテロ二量体Ｆｃフォーマットを示す；図１Ｄは、フルサイズの抗体フォーマットを示す。

【図２】二重ｓｃＦｖ－Ｆｃ（本明細書においては、二重ｓｃＦｖフォーマットとも呼ばれる）、ハイブリッドまたはフルサイズモノクローナル抗体フォーマットにおける例示的なＣＤ３／ＣＤ１９二重特異的変異体の一覧を提供する。この図に示す二重特異的変異体は、単一特異的抗ＣＤ３抗体ＯＫＴ３、及び単一特異的抗ＣＤ１９抗体ＨＤ３７に基づく抗原結合ドメインを含む。ＣＤＲでのシステインからセリンへの変異（ＣＤＲ　Ｃ→Ｓ）、ｓｃＦｖリンカー配列（ＶＨＶＬリンカー）への修飾、及びジスルフィド安定化修飾（ＶＨＶＬ　ＳＳ）を含む、二重特異的変異体の生物物理学的及び機能的特徴を向上させる、抗原結合ドメインへの修飾の可能性をここで特定する。加えて、Ｆｃ領域のノックアウトＦｃγＲへの結合活性の改変も、変異体の機能的特徴を変更する手段として特定される。

【図３Ａ】選択した二重特異的変異体に対する生物物理特性の向上のための、変異体最適化の一覧を提供する。この図は生物物理学的及び機能的特徴、並びに変異体の製造可能性を向上するために使用した最適化戦略を示し、最終精製工程後の発現収量、及びそれぞれに対するヘテロ二量体純度をまとめている。

【図３Ｂ】選択した二重特異的変異体に対する生物物理特性の向上のための、変異体最適化の一覧を提供する。この図は生物物理学的及び機能的特徴、並びに変異体の製造可能性を向上するために使用した最適化戦略を示し、最終精製工程後の発現収量、及びそれぞれに対するヘテロ二量体純度をまとめている。

【図３Ｃ】選択した二重特異的変異体に対する生物物理特性の向上のための、変異体最適化の一覧を提供する。この図は生物物理学的及び機能的特徴、並びに変異体の製造可能性を向上するために使用した最適化戦略を示し、最終精製工程後の発現収量、及びそれぞれに対するヘテロ二量体純度をまとめている。

【図４】特定の物理的性質、一時的発現によるタンパク質収量、結合特性及びバリデーション段階（即ち、インビボモデルで試験をしたかエクスビボモデルで試験をしたか）に関する、選択した変異体の一覧を提供する。

【図５】選択した変異体はＣＤ１９＋ＲａｊｉＢ細胞とＪｕｒｋａｔＴ細胞とを架橋できることを示す。左のパネルは、対照ＩｇＧと比較した、変異体８７５及び８９１のＦＡＣＳ架橋データを示す。右のパネルは変異体８７５、１８５３、及び６４７６に対するＴ：Ｂ架橋分析の一覧を提供する。

【図６】選択した変異体が、偽足形成を伴ってＢ細胞及びＴ細胞を架橋する能力を示す。左側の表は、変異体８７５、１６６１、１８５３、６４７６及び６５１８のＢ：Ｔ細胞架橋分析の一覧を提供する。右側の写真は、架橋顕微鏡法（ｂｒｉｄｇｉｎｇ　ｍｉｃｒｏｓｃｏｐｙ）により測定した、変異体８７５、１８５３、及び６５１８における偽足の形成を示す。

【図７Ａ】選択した変異体が、ヒト全血アッセイにおいて、自己Ｂ細胞の枯渇の仲立ちをする能力を示す。ＣＤ２０＋Ｂ細胞の存在は、ヒト全血における４８時間のＩＬ－２インキュベーションに従って測定した（２つのドナーの平均、ｎ＝４）。図７Ａは、二重ｓｃＦｖヘテロ二量体Ｆｃフォーマット、またはハイブリッドヘテロ二量体Ｆｃフォーマットを有する変異体の結果を示す。

【図７Ｂ】選択した変異体が、ヒト全血アッセイにおいて、自己Ｂ細胞の枯渇の仲立ちを

する能力を示す。ＣＤ２０＋Ｂ細胞の存在は、ヒト全血における４８時間のＩＬ－２インキュベーションに従って測定した（２つのドナーの平均、ｎ＝４）。図７Ｂは、フルサイズ抗体フォーマットにおける変異体の結果を示す。

【図８】選択した変異体がヒトＧ２ＡＬＬ腫瘍細胞株に結合する能力を示す。

【図９】インビボマウスＢ－ＡＬＬ白血病モデルにおける、対照と比較した変異型１６６１（ＦｃγＲノックアウト変異体）の有効性を示す。パネルＡは、腹臥位における全身の生物発光量を示す。パネルＢは、仰臥位における全身の生物発光量を示す。パネルＣは全身の生物発光の画像である。かつパネルＤは脾臓内で検出した生物発光量を示す。

【図１０】インビボマウスＢ－ＡＬＬ白血病モデルにおける、対照と比較したハイブリッド変異体１８５３及び二重ｓｃＦｖ－Ｆｃ変異体８７５の有効性を示す。パネルＡは、腹臥位における全身の生物発光量を示す。パネルＢは、仰臥位における全身の生物発光量を示す。パネルＣは全身の生物発光の画像である。かつパネルＤは脾臓内で検出した生物発光量を示す。

【図１１】例示的なＣＤ３－ＣＤ１９ヘテロ二量体変異体の薬物動態分析を示す。図は、１．２ｍｇ／ｋｇの対照抗体と比較した、ＮＳＧ（ＮＯＤスキッドγ）マウスにおける、０．８ｍｇ／ｋｇのｖ８７５を一回経静脈投与したＰＫプロファイルを示す。対照抗体は、ＨＥＲ２に結合する単一特異的抗体である。

【図１２】例示的な二重特異的抗ＣＤ３－ＣＤ１９抗原結合構築物による、Ｔ細胞活性化の、標的Ｂ細胞への依存性を示す。

【図１３】ヒトＰＢＭＣ内でのＴ細胞増殖における、例示的な二重特異的抗ＣＤ３－ＣＤ１９抗原結合構築物の効果を示す。

【図１４】ヒトＰＢＭＣにおけるＩＦＮγ、ＴＮＦα、ＩＬ－２、ＩＬ－６及びＩＬ－１０サイトカインの放出に関する、例示的な二重特異的抗ＣＤ３－ＣＤ１９抗原結合構築物の効果を示す。

【図１５】図１５Ａ及びＢは、ＮＳＧ（ＮＯＤスキッドγ、ＮＯＤ．Ｃｇ－Ｐｒｋｄｃ^{ｓｃｉｄ}Ｉｌ２ｒｇ^{ｔｍ１Ｗｊｌ}／ＳｚＪ）マウスにおける３ｍｇ／ｋｇの例示的な二重特異的抗ＣＤ３－ＣＤ１９抗原結合構築物１８５３の一回の経静脈投与が、マウスにおける半減期、分布、及びクリアランスに関して、典型的なヒトＩｇＧ様の薬学動態を有することを示す。図１５Ｃは、３ｍｇ／ｋｇの経静脈注射の２４時間後における、二重特異的ＣＤ３／ＣＤ１９変異体の血清中濃度の分析を示す。分析は、インビボ有効性研究の一部として行った（実施例１０、及び図９、１０を参照のこと）。

【図１６】ヒト化ＮＳＧマウスのインビボヒトＢ－ＡＬＬ異種移植モデルにおいて、例示的な二重特異的抗ＣＤ３－ＣＤ１９抗原結合構築物が自己Ｂ細胞を枯渇させる能力を示す。

【図１７】ヒト化ＮＳＧマウスのインビボヒトＢ－ＡＬＬ異種移植モデルにおける、例示的な二重特異的抗ＣＤ３－ＣＤ１９抗原結合構築物による治療に応答した、自己Ｔ細胞の活性化及び再分布の動態を示す。

【図１８】ヒト化ＮＳＧマウスのインビボヒトＢ－ＡＬＬ異種移植モデルにおける、ヒトサイトカインＩＦＮγ、ＴＮＦα、ＩＬ２、ＩＬ６、及びＩＬ１０の放出に関する、例示的な二重特異的抗ＣＤ３－ＣＤ１９抗原結合構築物の効果を示す。

【図１９】全血アッセイにおける自己Ｂ細胞の枯渇を仲立ちする、異種間反応性変異体５８５１の能力を示す。ＣＤ２０＋Ｂ細胞の存在は、ヒト全血における４８時間のＩＬ－２インキュベーションに従って測定した（２つのドナーの平均、ｎ＝４）。

【発明を実施するための形態】

【０００９】

発明の詳細な説明

別段定めがない限り、本明細書で使用する全ての技術及び科学用語は、請求項に記載の主題が属する当業者により一般的に理解されるのと同じ意味を有する。本明細書の用語に関して複数の定義が存在する場合、このセクションのものが当てはまる。ＵＲＬ、または他のかかる識別子もしくはアドレスが参照される場合、かかる識別子は変化する可能性が

あり、かつインターネット上の特定の情報は移り変わる可能性があるが、インターネットを検索することにより同等の情報を見つけることができると理解されている。これらの参照は、かかる情報の入手可能性及び公への伝播の証拠となる。

【００１０】

前述の一般的な記述及び以下の詳細の記述は、単に例示的及び説明用であり、請求項に記載のいかなる主題をも限定しないものと理解されなければならない。本願において、単数形の使用は別途特に明記しない限り、複数形を含む。

【００１１】

本明細書で明示的に異なった定義がされない限り、抗体技術の当業者により理解される用語にはそれぞれ、当該技術分野において獲得された意味が付与される。

【００１２】

アミノ酸は本明細書において、ＩＵＰＡＣ－ＩＵＢ国際生命学命名委員会により推奨される周知の３文字の記号、または１文字の記号のいずれかにより表されてよい。ヌクレオチドも同様に、一般に是認されている１文字のコードにより表されてよい。

【００１３】

本明細書において、任意の濃度範囲、割合範囲、比の範囲、または整数範囲は、特に断りのない限り、引用した範囲内の任意の整数値、及び適切な場合、それらの分数（例えば整数の１０分の１及び１００分の１）を含むと理解されなければならない。本明細書で使用する場合、「約」とは、特に断りのない限り、示した範囲、値、配列または構造の±１０％を意味する。本明細書で使用する場合、用語「一つの(ａ)」及び「一つの(ａｎ)」は、特に断りのない限り、または文脈で示されない限り、列挙した成分「の１つ以上」を指すと理解されるべきである。選択肢（例えば「または」）の使用は、代替物のいずれか１つ、両方、または選択肢の任意の組み合わせを意味すると理解されなければならない。本明細書で使用する場合、用語「含む（ｉｎｃｌｕｄｅ）」及び「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｅ）」は同義語として使用される。加えて、本明細書に記載される構造及び置換基の種々の組み合わせに由来する、個々の単鎖ポリペプチドまたは抗原結合構築物は、各単鎖ポリペプチドまたはヘテロ二量体が個々に説明されているかのごとく、本出願により開示されていると理解されるべきである。したがって、個々の単鎖ポリペプチドまたはヘテロ二量体を形成するための特定の成分の選択は、本開示の範囲内である。

【００１４】

本明細書で使用するセクションの見出しは単に組織的な目的のみのためであり、記載された主題を限定するものとして解釈されるべきではない。

【００１５】

本明細書に記載される方法及び組成物は、本明細書で記載される特定の方法論、手順、細胞株、構築物及び試薬に限定されず、変化し得るものと理解されなければならない。また、本明細書で使用する用語は単に特定の実施形態を記述する目的のためのものであり、本明細書で記載される方法及び組成物の範囲を限定することを意図するものではないと理解されなければならず、この方法及び組成物は添付の特許請求の範囲によってのみ限定される。

【００１６】

特許、特許出願、記事、書籍、取扱説明書、及び学術論文を含むがこれらに限定されない、出願に引用される全ての文書、または文書の一部は、任意の目的のため、それら全体が本明細書に明示的に参照として組み込まれる。本明細書で触れられている全ての出版物及び特許は、例えば出版物中に説明されている構築物及び方法論を記述または開示する目的のために、それら全体が、本明細書に参照として組み込まれ、本明細書に記載される方法、組成物及び化合物と組み合わされて使用されてよい。本明細書で論じる出版物は、本出願の出願日に先立つ開示のためだけに提供される。本明細書におけるいかなるものも、本明細書に記載される発明者らは、先行発明、または任意の他の理由のために、かかる開示に先行する権利を有しないということを認めたものである、と解釈されるべきではない。

【００１７】
本出願において、アミノ酸の名前及び原子名（例えばＮ、Ｏ、Ｃ等）は、ＩＵＰＡＣ命名法（Ｅｕｒ．Ｊ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．，１５２，１（１９８５）の修正を組み合わせた、ＩＵＰＡＣ Ｎｏｍｅｎｃｌａｔｕｒｅ ａｎｄ Ｓｙｍｂｏｌｉｓｍ ｆｏｒ Ａｍｉｎｏ Ａｃｉｄｓ ａｎｄ Ｐｅｐｔｉｄｅｓ（ｒｅｓｉｄｕｅ ｎａｍｅｓ，ａｔｏｍ ｎａｍｅｓ ｅｔｃ．），Ｅｕｒ．Ｊ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．，１３８，９－３７（１９８４））Ｐｒｏｔｅｉｎ ＤａｔａＢａｎｋ（ＰＤＢ）（ｗｗｗ．ｐｄｂ．ｏｒｇ）で定義される通りに使用される。

【００１８】
抗原結合構築物
抗原結合構築物とは、任意の作用物質、例えば抗原に結合可能なポリペプチドまたはポリペプチド複合体を指す。抗原結合構築物は単量体、二量体、多量体、タンパク質、ペプチド、またはタンパク質もしくはペプチド複合体；抗体もしくは抗体断片；ｓｃＦｖなどであることができる。

【００１９】
用語「二重特異的な」とは、２つの異なる結合特異性を有する作用物質、例えば抗原結合構築物を含むことを目的としている。例えば、いくつかの実施形態では、作用物質は（ａ）細胞表面標的分子及び（ｂ）エフェクター細胞表面のＦｃ受容体と、結合または相互作用してよい。別の実施形態において、作用物質は（ａ）第１の細胞表面標的分子及び（ｂ）第１の細胞表面ターゲット分子とは異なる第２の細胞表面標的分子と、結合または相互作用してよい。別の実施形態において、作用物質は２つの細胞を結合及び架橋してよい、即ち、（ａ）第１の細胞上の第１の細胞表面標的分子及び（ｂ）第１の細胞表面標的分子とは異なる第２の細胞上の第２の細胞表面標的分子と、相互作用してよい。

【００２０】
用語「多重特異的な」または「異種特異的な」とは、３つ以上の異なる結合特異性を有する任意の作用物質、例えば、抗原結合構築物を含むことを目的としている。例えば、作用物質は（ａ）これに限定されるわけではないが、細胞表面抗原等の細胞表面標的分子、（ｂ）エフェクター細胞表面上のＦｃ受容体、及び所望により（ｃ）少なくとも１つの他の成分と、結合または相互作用してよい。別の実施形態では、作用物質は（ａ）これに限定されるわけではないが、細胞表面抗原等の細胞表面標的分子、（ｂ）エフェクター細胞表面上の標的分子、及び／または（ｃ）生物学的に関係性のある他の分子成分の２つ以上と、結合または相互作用してよい。したがって、本明細書に記載される抗原結合構築物の実施形態は、二重特異的、三重特異的、四重特異的、及び他の多重特異的分子を含むがこれらに限定されない。ある種の実施形態において、これらの分子は、例えばＣＤ３抗原及び／またはＣＤ１９抗原、ＣＤ２０抗原、並びに、エフェクター細胞上のＦｃ受容体といった他の標的を対象にする。

【００２１】
本明細書で使用する場合、「単離された」とは、同定され、その天然での細胞培養環境における成分から分離及び／または回収された作用物質を意味する。その自然環境における不純物成分は、診察または治療での抗原結合構築物の使用を妨げる材料であり、酵素、ホルモン、及びタンパク質または非タンパク質の溶質を含みうる。

【００２２】
抗体
抗原結合構築物は抗体とすることができる。本明細書で使用する場合、「抗体」または「免疫グロブリン」とは、検体（抗原）に特異的に結合してこれらを認識する、１つの免疫グロブリン遺伝子もしくは複数の免疫グロブリン遺伝子により実質的にコードされたポリペプチドまたはこれらの断片を意味する。認識されている免疫グロブリン遺伝子は、κ、λ、α、γ、δ、ε及びμ定常領域遺伝子、並びに種々の免疫グロブリン可変領域遺伝子を含む。軽鎖はκまたはλのいずれかに分類される。抗体または免疫グロブリンの「クラス」とは、その重鎖により保有される定常ドメインまたは定常領域の種類を意味する。

抗体には５つの主なクラス：ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ、及びＩｇＭがあり、これらの幾つかは更に、例えばIgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、IgA_1及びIgA_2等のサブクラス（アイソタイプ）に分割されてもよい。異なる免疫グロブリンのクラスに対応する重鎖定常ドメインは、それぞれα、δ、ε、γ、及びμと呼ばれる。

【００２３】

例示的免疫グロブリン（抗体）構造ユニットは２対のポリペプチド鎖で構成され、各対は１つの「軽」鎖（約２５ｋＤ）及び１つの「重」鎖（約５０～７０ｋＤ）を有する。各鎖のＮ末端領域は、主に抗原認識を行う約１００～１１０個またはそれ以上のアミノ酸の可変領域を規定する。用語「可変軽鎖」（ＶＬ）及び「可変重鎖」（ＶＨ）とは、それぞれこれらの軽鎖及び重鎖ドメインを意味する。ＩｇＧ１重鎖は、ＮからＣ末端にかけてそれぞれ、ＶＨ、ＣＨ１、ＣＨ２及びＣＨ３ドメインを含む。軽鎖はＮからＣ末端にかけて、ＶＬ及びＣＬドメインを含む。ＩｇＧ１重鎖は、ＣＨ１とＣＨ２ドメインの間にヒンジを含む。ある種の実施形態において、免疫グロブリン構築物は、治療用ポリペプチドに接続したＩｇＧ、ＩｇＭ、ＩｇＡ、ＩｇＤ、またはＩｇＥのうち、少なくとも１つの免疫グロブリンドメインを含む。いくつかの実施形態では、本明細書において提供する抗原結合構築物に見出される免疫グロブリンドメインは、ダイアボディまたはナノボディ等の構築物に基づく免疫グロブリンからのものであるか、またはこれらに由来する。ある種の実施形態において、本明細書に記載される免疫グロブリン構築物は、ラクダ抗体等の重鎖抗体のうち少なくとも１つの免疫グロブリンドメインを含む。ある種の実施形態において、本明細書において提供する免疫グロブリン構築物は、ウシ抗体、ヒト抗体、ラクダ抗体、マウス抗体または任意のキメラ抗体等の哺乳類抗体のうち、少なくとも１つの免疫グロブリンドメインを含む。

【００２４】

「Ｆａｂ分子」とは、免疫グロブリンの重鎖のＶＨ及びＣＨ１ドメイン（「Ｆａｂ重鎖」）、並びに軽鎖のＶＬ及びＣＬドメイン（「Ｆａｂ軽鎖」）からなるタンパク質を意味する。

【００２５】

本明細書において、「Ｆｃドメイン」または「Ｆｃ領域」は、定常領域の少なくとも一部分を含む免疫グロブリン重鎖のＣ末端領域を定義するために用いられる。この用語は、天然配列のＦｃ領域と変異体のＦｃ領域とを含む。ＩｇＧ重鎖のＦｃ領域の境界は僅かに変わりうるが、ヒトＩｇＧ重鎖Ｆｃ領域は通常、Ｃｙｓ２２６またはＰｒｏ２３０から、重鎖のカルボキシル末端に伸びているように定義される。しかし、Ｆｃ領域のＣ末端リジン（Ｌｙｓ４４７）は存在しても、存在しなくてもよい。本明細書で特に指示がない限り、Ｆｃ領域または定常領域のアミノ酸残基のナンバリングは、Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，５ｔｈ Ｅｄ．Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ，Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，ＭＤ，１９９１に記載されている、ＥＵインデックスとも呼ばれるＥＵナンバリングシステムに従う。本明細書で使用する場合、Ｆｃドメインの「サブユニット」とは、二量体のＦｃドメインを形成する２つのポリペプチドの１つ、即ち、免疫グロブリン重鎖のＣ末端定常領域を含み、安定した自己会合が可能なポリペプチドを意味する。例えば、ＩｇＧのＦｃドメインのサブユニットはＩｇＧ　ＣＨ２、及びＩｇＧ　ＣＨ３定常ドメインを含む。

【００２６】

「融合した」または「結合した」とは、成分（例えばＦａｂ分子及びＦｃドメインサブユニット）がペプチド結合により、直接または１つ以上のペプチドリンカーを介して結合されていることを意味する。

【００２７】

本明細書で使用する場合、用語「単鎖」とは、文字通りペプチド結合により結合したアミノ酸単量体を含む分子を意味する。ある種の実施形態において、抗原結合部位の１つは単鎖Ｆａｂ分子、即ちＦａｂ分子であり、Ｆａｂ軽鎖及びＦａｂ重鎖はペプチドリンカー

により接続し、単一のペプチド鎖を形成している。かかる特定の実施形態において、Ｆａｂ軽鎖のＣ末端は、単鎖Ｆａｂ分子内のＦａｂ重鎖のＮ末端に接続している。他の特定の実施形態において、抗原結合部位の１つは、単鎖Ｆｖ分子（ｓｃＦｖ）である。本明細書でより詳細に記載されるように、ｓｃＦｖは、ポリペプチド鎖によりそのＣ末端から重鎖可変ドメイン（ＶＨ）のＮ末端側に接続した軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）を有する。あるいはｓｃＦｖは、ポリペプチド鎖によりＶＨのＣ末端側がＶＬのＮ末端側に結合したポリペプチド鎖を含む。

【００２８】

「クロスオーバー」Ｆａｂ分子（「Ｃｒｏｓｓｆａｂ」とも称される）は、Ｆａｂ重鎖及び軽鎖の可変領域または定常領域のいずれかが交換されているＦａｂ分子を意味する。即ち、クロスオーバーＦａｂ分子は軽鎖可変領域及び重鎖定常領域で構成されるペプチド鎖並びに重鎖可変領域及び軽鎖定常領域で構成されるペプチド鎖を含む。明確にするために、Ｆａｂ軽鎖及びＦａｂ重鎖の可変領域が交換されたクロスオーバーＦａｂ分子においては、重鎖定常領域を含むペプチド鎖は本明細書において、クロスオーバーＦａｂ分子の「重鎖」と呼ばれる。逆に、Ｆａｂ軽鎖及びＦａｂ重鎖の定常領域が交換されたクロスオーバーＦａｂ分子においては、重鎖可変領域を含むペプチド鎖は本明細書において、クロスオーバーＦａｂ分子の「重鎖」と呼ばれる。

【００２９】

「フレームワーク」または「ＦＲ」とは、超可変領域（ＨＶＲ）残基以外の可変領域残基を意味する。可変領域のＦＲは通常、４つのＦＲドメイン：ＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３及びＦＲ４からなる。したがって、ＨＶＲ及びＦＲ配列は通常、ＶＨ（またはＶＬ）の以下の配列に現れる：ＦＲ１－Ｈ１（Ｌ１）－ＦＲ２－Ｈ２（Ｌ２）－ＦＲ３－Ｈ３（Ｌ３）－ＦＲ４。

【００３０】

「Ｆｃドメインの第１及び第２のサブユニットの会合を促進する修飾」とは、Ｆｃドメインサブユニットを含むポリペプチドの、同一のポリペプチドとの会合を低下または防止するＦｃドメインサブユニットのペプチド骨格を操作または翻訳後修飾することで、ホモ二量体を形成することである。本明細書で使用する場合、会合を促進する修飾は特に、会合を所望する２つのＦｃドメインサブユニット（即ち、Ｆｃドメインの第１及び第２のサブユニット）それぞれを別々に修飾することを含み、２つのＦｃドメインサブユニットの会合及びヘテロ二量体の形成を促進する。例えばある種の実施形態において、会合を促進する修飾は、会合を好ましいものにするために、Ｆｃドメインサブユニットの１つまたは両方の構造または電荷を変化させる場合がある。

【００３１】

用語「エフェクター機能」とは、抗体のＦｃ領域に起因するこれらの生物活性を意味し、抗体のアイソタイプを変える場合がある。抗体のエフェクター機能の例としては、Ｃ１ｑ結合及び補体依存性細胞傷害（ＣＤＣ）、Ｆｃ受容体結合、抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ）、抗体依存性細胞貪食（ＡＤＣＰ）、サイトカイン分泌、抗原提示細胞による免疫複合体が仲立ちする抗原取込、細胞表面受容体（例えばＢ細胞受容体）の下方制御、並びにＢ細胞活性化が挙げられる。

【００３２】

「活性化Ｆｃ受容体」は、抗体のＦｃドメインによるその後の関わりが、受容体を有する細胞を刺激してエフェクター機能を遂行するシグナル伝達を誘発するＦｃ受容体である。ヒト活性化Ｆｃ受容体としては、ＦｃγＲＩＩＩａ（ＣＤ１６ａ）、ＦｃγＲＩ（ＣＤ６４）、及びＦｃγＲＩＩａ（ＣＤ３２）　が挙げられる。

【００３３】

抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ）は、免疫エフェクター細胞により抗体に被覆された標的細胞の細胞溶解を引き起こす免疫機構である。標的細胞は、Ｆｃ領域を含む抗体または誘導体が、一般的にＦｃ領域のＮ末端であるタンパク質部分を介して特異的に結合する細胞である。本明細書で使用する場合、用語「低下したＡＤＣＣ」は、上記で定義したＡＤ

ＣＣのメカニズムにより、所与の時間、標的細胞を取り囲む媒質中の所与の濃度の抗体で溶解した標的細胞の数の減少、及び／または、ＡＤＣＣのメカニズムにより、所与の時間内に所与の標的細胞数の溶解を達成するのに必要な、標的細胞を取り囲む媒質における抗体濃度の増加のいずれかとして定義される。ＡＤＣＣの低下は、同一の標準的な（当業者に知られている）産生、精製、処方及び貯蔵方法を用いる、同一タイプの宿主細胞から産生した同一抗体により仲立ちされるＡＤＣＣに関係しているが、未だに開発されていない。例えば、ＦｃドメインにＡＤＣＣを低下させるアミノ酸置換を含む抗体により仲立ちされるＡＤＣＣの低下は、Ｆｃドメインにこのアミノ酸置換を有しない同一の抗体により仲立ちされるＡＤＣＣに関係している。

【００３４】

Ｆｃ

本発明の抗原結合構築物は、二量体のＦｃを含む。いくつかの態様では、Ｆｃは少なくとも１つまたは２つのC_{H3}配列を含む。いくつかの態様では、Ｆｃは１つ以上のリンカーと共に、またはそれ無しで、第１のヘテロ二量体及び／または第２のヘテロ二量体と一体化している。いくつかの態様では、ＦｃはヒトＦｃである。いくつかの態様では、ＦｃはヒトＩｇＧまたはＩｇＧ１　Ｆｃである。いくつかの態様では、Ｆｃはヘテロ二量体Ｆｃである。いくつかの態様では、Ｆｃは少なくとも１つまたは２つのC_{H2}配列を含む。

【００３５】

いくつかの態様では、ＦｃはC_{H3}配列のうち少なくとも１つにおいて、１種以上の修飾を含む。いくつかの態様では、ＦｃはC_{H2}配列のうち少なくとも１つにおいて、１種以上の修飾を含む。いくつかの態様では、Ｆｃは単一のポリペプチドである。いくつかの態様では、Ｆｃは複数のペプチド、例えば２つのポリペプチドである。

【００３６】

いくつかの態様では、Ｆｃは、２０１１年１１月４日に出願された国際出願ＣＡ２０１１／００１２３８号、または２０１２年１１月２日に出願された国際出願ＣＡ２０１２／０５０７８０号に記載されているＦｃであり、これらそれぞれの開示全体があらゆる目的のため、参照として本明細書に組み込まれる。

【００３７】

修飾ＣＨ３

いくつかの態様では、本明細書に記載される構築物は、非対称に修飾された修飾ＣＨ３ドメインを含むヘテロ二量体Ｆｃを含む。ヘテロ二量体Ｆｃは２つの重鎖定常ドメインポリペプチド：第１の重鎖ポリペプチド及び第２の重鎖ポリペプチドを含むことができ、これらは、Ｆｃが１つの第１の重鎖ポリペプチド及び１つの第２の重鎖ポリペプチドを含むのであれば、交換可能に用いることができる。一般に、第１の重鎖ポリペプチドは第１のＣＨ３配列を含み、第２の重鎖ポリペプチドは第２のＣＨ３配列を含む。

【００３８】

２つのＣＨ３配列が二量体化する場合、非対称に導入された１つ以上のアミノ酸修飾を含む２つのＣＨ３配列は通常、ホモ二量体ではなくヘテロ二量体Ｆｃをもたらす。本明細書で使用する場合、「非対称なアミノ酸修飾」とは、第１のＣＨ３配列の特定の位置におけるアミノ酸が同じ位置の第２のＣＨ３配列のアミノ酸と異なり、第１及び第２のＣＨ３配列が好ましくは、対をなしてホモ二量体ではなくヘテロ二量体を形成する、あらゆる修飾を意味する。このヘテロ二量体化は、各配列の、それぞれ同一のアミノ酸位置における２つのアミノ酸の１つのみの修飾、または第１及び第２のＣＨ３配列のそれぞれにおける、それぞれ同一の位置における各配列のアミノ酸の両方の修飾の結果であることができる。ヘテロ二量体Ｆｃの第１及び第２のＣＨ３配列は、１つ以上の非対称なアミノ酸修飾を含むことができる。

【００３９】

表Ａは、完全長ヒトＩｇＧ１重鎖のアミノ酸２３１～４４７に対応する、ヒトＩｇＧ１Ｆｃ配列のアミノ酸配列を提供する。ＣＨ３配列は、完全長ヒトＩｇＧ１重鎖のアミノ酸３４１～４４７を含む。

【００４０】
通常、Ｆｃは二量体化可能な２つの連続した重鎖配列（Ａ及びＢ）を含むことができる。いくつかの態様では、Ｆｃの配列の一方または両方は、以下の位置で１つ以上の変異または修飾を含む：ＥＵナンバリングを使用したＬ３５１、Ｆ４０５、Ｙ４０７、Ｔ３６６、Ｋ３９２、Ｔ３９４、Ｔ３５０、Ｓ４００、及び／またはＮ３９０。いくつかの態様では、Ｆｃは表Ｘに示す変異配列を含む。いくつかの態様ではＦｃは、変異体１Ａ－Ｂの変異を含む。いくつかの態様では、Ｆｃは、変異体２Ａ－Ｂの変異を含む。いくつかの態様では、Ｆｃは、変異体３Ａ－Ｂの変異を含む。いくつかの態様では、Ｆｃは変異体４Ａ－Ｂの変異を含む。いくつかの態様では、Ｆｃは変異体５Ａ－Ｂの変異を含む。

【００４１】
（表Ａ）ＩｇＧ１　Ｆｃ配列

ヒトIgG1 Fc配列231～447 (EUナンバリング)	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK （配列番号：370）

変異体IgG１ Fc配列 (231～447)	鎖	変異
1	A	L351Y_F405A_Y407V
1	B	T366L_K392M_T394W
2	A	L351Y_F405A_Y407V
2	B	T366L_K392L_T394W
3	A	T350V_L351Y_F405A_Y407V
3	B	T350V_T366L_K392L_T394W
4	A	T350V_L351Y_F405A_Y407V
4	B	T350V_T366L_K392M_T394W
5	A	T350V_L351Y_S400E_F405A_Y407V
5	B	T350V_T366L_N390R_K392M_T394W

【００４２】
第１及び第２のＣＨ３配列は、完全長ヒトＩｇＧ１重鎖のアミノ酸２３１～４４７に関して、本明細書に記載したアミノ酸変異を含むことができる。一実施形態では、ヘテロ二量体Ｆｃは、Ｆ４０５及びＹ４０７の位置にアミノ酸修飾を有する第１のＣＨ３配列、並びにＴ３９４の位置にアミノ酸修飾を有する第２のＣＨ３配列を有する修飾ＣＨ３ドメインを含む。一実施形態では、ヘテロ二量体Ｆｃは、Ｌ３５１Ｙ、Ｆ４０５Ａ及びＹ４０７Ｖから選択される１つ以上のアミノ酸修飾を有する第１のＣＨ３配列、並びにＴ３６６Ｌ、Ｔ３６６Ｉ、Ｋ３９２Ｌ、Ｋ３９２Ｍ、及びＴ３９４Ｗから選択される１つ以上のアミノ酸修飾を有する第２のＣＨ３配列を有する修飾ＣＨ３ドメインを含む。

【００４３】
一実施形態では、ヘテロ二量体Ｆｃは、Ｌ３５１、Ｆ４０５及びＹ４０７の位置にアミノ酸修飾を有する第１のＣＨ３配列、並びにＴ３６６、Ｋ３９２及びＴ３９４の位置にアミノ酸修飾を有する第２のＣＨ３配列、並びにＱ３４７のアミノ酸修飾を更に含む前記第１及び第２のＣＨ３配列の１つ、並びＫ３６０を含む他のＣＨ３配列を有する修飾ＣＨ３ドメインを含む。別の実施形態では、ヘテロ二量体Ｆｃは、Ｌ３５１、Ｆ４０５及びＹ４０７の位置にアミノ酸修飾を有する第１のＣＨ３配列、並びにＴ３６６、Ｋ３９２及びＴ３９４の位置にアミノ酸修飾を有する第２のＣＨ３配列、並びにＱ３４７のアミノ酸修飾を更に含む前記第１及び第２のＣＨ３配列の１つ、並びにＫ３６０を含む他のＣＨ３配列、並びに、Ｔ３５０Ｖを含む、前記ＣＨ３配列の一方または両方、を有する修飾ＣＨ３ドメインを含む。

【００４４】
一実施形態では、ヘテロ二量体Ｆｃは、Ｌ３５１、Ｆ４０５及びＹ４０７の位置にアミノ酸修飾を有する第１のＣＨ３配列、並びにＴ３６６、Ｋ３９２及びＴ３９４の位置にアミノ酸修飾を有する第２のＣＨ３配列、並びにＤ３９９ＲまたはＤ３９９Ｋのアミノ酸修

飾を更に含む前記第１及び第２のＣＨ３配列の１つ、並びにＴ４１１Ｅ、Ｔ４１１Ｄ、Ｋ４０９Ｅ、Ｋ４０９Ｄ、Ｋ３９２Ｅ及びＫ３９２Ｄの１つ以上を含む他のＣＨ３配列を有する修飾ＣＨ３ドメインを含む。別の実施形態では、ヘテロ二量体Ｆｃは、Ｌ３５１、Ｆ４０５及びＹ４０７の位置にアミノ酸修飾を有する第１のＣＨ３配列、並びにＴ３６６、Ｋ３９２及びＴ３９４の位置にアミノ酸修飾を有する第２のＣＨ３配列を有する修飾ＣＨ３ドメインを含み、前記第１及び第２のＣＨ３配列の１つは更に、Ｄ３９９ＲまたはＤ３９９Ｋのアミノ酸修飾、及びＴ４１１Ｅ、Ｔ４１１Ｄ、Ｋ４０９Ｅ、Ｋ４０９Ｄ、Ｋ３９２Ｅ及びＫ３９２Ｄの１つ以上を含む他のＣＨ３配列を含み、前記ＣＨ３配列の一方または両方は更に、Ｔ３５０Ｖのアミノ酸修飾を含む。

【００４５】

一実施形態では、ヘテロ二量体Ｆｃは、Ｌ３５１、Ｆ４０５及びＹ４０７の位置にアミノ酸修飾を有する第１のＣＨ３配列、並びにＴ３６６、Ｋ３９２及びＴ３９４の位置にアミノ酸修飾を有する第２のＣＨ３配列を有する修飾ＣＨ３ドメインを含み、前記ＣＨ３配列の一方または両方は更に、Ｔ３５０Ｖのアミノ酸修飾を含む。

【００４６】

一実施形態では、ヘテロ二量体Ｆｃは以下のアミノ酸修飾を含む修飾ＣＨ３ドメインを含み、「Ａ」は第１のＣＨ３配列へのアミノ酸修飾を表し、「Ｂ」は第２のＣＨ３配列へのアミノ酸修飾を表す。

A:L351Y_F405A_Y407V, B:T366L_K392M_T394W,

A:L351Y_F405A_Y407V, B:T366L_K392L_T394W, A:T350V_L351Y_F405A_Y407V,

B:T350V_T366L_K392L_T394W, A:T350V_L351Y_F405A_Y407V,

B:T350V_T366L_K392M_T394W, A:T350V_L351Y_S400E_F405A_Y407V, 及び/または

B:T350V_T366L_N390R_K392M_T394W

【００４７】

１つ以上の非対称なアミノ酸修飾はヘテロ二量体Ｆｃの形成を促進することができ、ここでヘテロ二量体のＣＨ３ドメインは、野生型ヘテロ二量体のＣＨ３ドメインに相当する安定性を有する。一実施態様において、１つ以上の非対称なアミノ酸修飾はヘテロ二量体のＦｃドメインの形成を促進し、ここでヘテロ二量体のＦｃドメインは、野生型ホモ二量体のＦｃドメインに相当する安定性を有する。一実施形態では、１つ以上の非対称なアミノ酸修飾はヘテロ二量体のＦｃドメインの形成を促進し、ここでヘテロ二量体のＦｃドメインは示差走査熱量計調査において融解温度（Ｔｍ）により観察された安定性を有し、融解温度は、対応する対称な野生型ホモ二量体Ｆｃドメインで観察される融解温度の４℃以内である。いくつかの態様では、Ｆｃは、C_{H3}配列のうち少なくとも１つにおける１つ以上の修飾を含み、これは野生型ホモ二量体Ｆｃに相当する安定性を有するヘテロ二量体Ｆｃの形成を促進する。

【００４８】

一実施形態では、ＣＨ３ドメインの安定性は、例えば示差走査熱量計（ＤＳＣ）によりＣＨ３ドメインの融解温度を測定することにより評価することができる。したがって、更なる実施形態において、ＣＨ３ドメインは約６８℃以上の融解温度を有する。別の実施形態において、ＣＨ３ドメインは約７０℃以上の融解温度を有する。別の実施形態において、ＣＨ３ドメインは約７２℃以上の融解温度を有する。別の実施形態において、ＣＨ３ドメインは約７３℃以上の融解温度を有する。別の実施形態において、ＣＨ３ドメインは約７５℃以上の融解温度を有する。別の実施形態において、ＣＨ３ドメインは約７８℃以上の融解温度を有する。いくつかの態様では、二量体化したC_{H3}配列は約６８、６９、７０、７１、７２、７３、７４、７５、７６、７７、７７．５、７８、７９、８０、８１、８２、８３、８４または８５℃以上の融解温度（Ｔｍ）を有する。

【００４９】

いくつかの実施形態では、修飾ＣＨ３配列を含むヘテロ二量体Ｆｃは、発現した生成物

内のホモ二量体Ｆｃと比較して、少なくとも約７５％の純度で形成されることができる。別の実施形態では、ヘテロ二量体Ｆｃは約８０％より高い純度で形成される。別の実施形態では、ヘテロ二量体Ｆｃは約８５％より高い純度で形成される。別の実施形態では、ヘテロ二量体Ｆｃは約９０％より高い純度で形成される。別の実施形態では、ヘテロ二量体Ｆｃは約９５％より高い純度で形成される。別の実施形態では、ヘテロ二量体Ｆｃは約９７％より高い純度で形成される。いくつかの態様では、Ｆｃは発現した際、約７５、７６、７７、７８、７９、８０、８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、または９９％より高い純度で形成されるヘテロ二量体である。いくつかの態様では、Ｆｃは単一細胞を介して発現した際、約７５、７６、７７、７８、７９、８０、８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、または９９％より高い純度で形成されるヘテロ二量体である。

【００５０】

単量体Ｆｃポリペプチドを修飾してヘテロ二量体Ｆｃの形成を促進する更なる方法は、ＰＣＴ国際公開特許ＷＯ９６／０２７０１１（ｋｎｏｂｓ ｉｎｔｏ ｈｏｌｅｓ）、Ｇｕｎａｓｅｋａｒａｎ ｅｔ ａｌ．（Ｇｕｎａｓｅｋａｒａｎ Ｋ．ｅｔ ａｌ．（２０１０）Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ．２８５，１９６３７－４６，ｅｌｅｃｔｒｏｓｔａｔｉｃ ｄｅｓｉｇｎ ｔｏ ａｃｈｉｅｖｅ ｓｅｌｅｃｔｉｖｅ ｈｅｔｅｒｏｄｉｍｅｒｉｚａｔｉｏｎ）、Ｄａｖｉｓ ｅｔ ａｌ．（Ｄａｖｉｓ，ＪＨ．ｅｔ ａｌ．（２０１０）Ｐｒｏｔ Ｅｎｇ Ｄｅｓ Ｓｅｌ；２３（４）：１９５－２０２，ｓｔｒａｎｄ ｅｘｃｈａｎｇｅ ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ ｄｏｍａｉｎ（ＳＥＥＤ）ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ）、及びＬａｂｒｉｊｎ ｅｔ ａｌ［Ｅｆｆｉｃｉｅｎｔ ｇｅｎｅｒａｔｉｏｎ ｏｆ ｓｔａｂｌｅ ｂｉｓｐｅｃｉｆｉｃ ＩｇＧ１ ｂｙ ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｆａｂ－ａｒｍ ｅｘｃｈａｎｇｅ．Ｌａｂｒｉｊｎ ＡＦ，Ｍｅｅｓｔｅｒｓ ＪＩ，ｄｅ Ｇｏｅｉｊ ＢＥ，ｖａｎ ｄｅｎ Ｂｒｅｍｅｒ ＥＴ，Ｎｅｉｊｓｓｅｎ Ｊ，ｖａｎ Ｋａｍｐｅｎ ＭＤ，Ｓｔｒｕｍａｎｅ Ｋ，Ｖｅｒｐｌｏｅｇｅｎ Ｓ，Ｋｕｎｄｕ Ａ，Ｇｒａｍｅｒ ＭＪ，ｖａｎ Ｂｅｒｋｅｌ ＰＨ，ｖａｎ ｄｅ Ｗｉｎｋｅｌ ＪＧ，Ｓｃｈｕｕｒｍａｎ Ｊ，Ｐａｒｒｅｎ ＰＷ．Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ Ｕ Ｓ Ａ．２０１３ Ｍａｒ ２６；１１０（１３）：５１４５－５０に記載されている。

【００５１】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される単離された構築物は、抗原に結合する抗体構築物；並びに同じＦｃポリペプチドを含まない抗体構築物と比較して、安定性及び製造の容易さといった、優れた生物物理学的特性を有する二量体のＦｃポリペプチド構築物を含む。異なるＦｃγ受容体に対する抗体Ｆｃの親和性を選択的に変化させるための、Ｆｃの重鎖配列におけるいくつかの変異が、当技術分野において既知である。いくつかの態様では、Ｆｃは、Ｆｃγ受容体の選択的結合を促進するための１つ以上の修飾を含む。

【００５２】

ＣＨ２ドメイン

ＦｃのＣＨ２ドメインは、表ａに示す配列のアミノ酸２３１～３４０である。代表的な変異を以下に示す：

・Ｓ２９８Ａ／Ｅ３３３Ａ／Ｋ３３４Ａ，Ｓ２９８Ａ／Ｅ３３３Ａ／Ｋ３３４Ａ／Ｋ３２６Ａ（Ｌｕ Ｙ，Ｖｅｒｎｅｓ ＪＭ，Ｃｈｉａｎｇ Ｎ，ｅｔ ａｌ．Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｍｅｔｈｏｄｓ．２０１１ Ｆｅｂ ２８；３６５（１－２）：１３２－４１）；

・Ｆ２４３Ｌ／Ｒ２９２Ｐ／Ｙ３００Ｌ／Ｖ３０５Ｉ／Ｐ３９６Ｌ，Ｆ２４３Ｌ／Ｒ２９２Ｐ／Ｙ３００Ｌ／Ｌ２３５Ｖ／Ｐ３９６Ｌ（Ｓｔａｖｅｎｈａｇｅｎ ＪＢ，Ｇｏｒｌａｔｏｖ Ｓ，Ｔｕａｉｌｌｏｎ Ｎ，ｅｔ ａｌ．Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．２００７ Ｓｅｐ １５；６７（１８）：８８８２－９０；Ｎｏｒｄｓｔｒｏｍ ＪＬ，Ｇｏｒｌａｔｏｖ Ｓ，Ｚｈａｎｇ Ｗ，ｅｔ ａｌ．Ｂｒｅａｓｔ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．

２０１１ Ｎｏｖ ３０；１３（６）：Ｒ１２３）；
・ Ｆ２４３Ｌ（Ｓｔｅｗａｒｔ Ｒ，Ｔｈｏｍ Ｇ，Ｌｅｖｅｎｓ Ｍ，ｅｔ ａｌ．Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇ Ｄｅｓ Ｓｅｌ．２０１１ Ｓｅｐ；２４（９）：６７１－８．）、Ｓ２９８Ａ／Ｅ３３３Ａ／Ｋ３３４Ａ（Ｓｈｉｅｌｄｓ ＲＬ，Ｎａｍｅｎｕｋ ＡＫ，Ｈｏｎｇ Ｋ，ｅｔ ａｌ．Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ．２００１ Ｍａｒ ２；２７６（９）：６５９１－６０４）；
・ Ｓ２３９Ｄ／Ｉ３３２Ｅ／Ａ３３０Ｌ、Ｓ２３９Ｄ／Ｉ３３２Ｅ（Ｌａｚａｒ ＧＡ，Ｄａｎｇ Ｗ，Ｋａｒｋｉ Ｓ，ｅｔ ａｌ．Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ Ｕ Ｓ Ａ．２００６ Ｍａｒ １４；１０３（１１）：４００５－１０）；
・Ｓ２３９Ｄ／Ｓ２６７Ｅ、Ｓ２６７Ｅ／Ｌ３２８Ｆ（Ｃｈｕ ＳＹ，Ｖｏｓｔｉａｒ Ｉ，Ｋａｒｋｉ Ｓ，ｅｔ ａｌ．Ｍｏｌ Ｉｍｍｕｎｏｌ．２００８ Ｓｅｐ；４５（１５）：３９２６－３３）；
・ Ｓ２３９Ｄ／Ｄ２６５Ｓ／Ｓ２９８Ａ／Ｉ３３２Ｅ、Ｓ２３９Ｅ／Ｓ２９８Ａ／Ｋ３２６Ａ／Ａ３２７Ｈ、Ｇ２３７Ｆ／Ｓ２９８Ａ／Ａ３３０Ｌ／Ｉ３３２Ｅ、Ｓ２３９Ｄ／Ｉ３３２Ｅ／Ｓ２９８Ａ、Ｓ２３９Ｄ／Ｋ３２６Ｅ／Ａ３３０Ｌ／Ｉ３３２Ｅ／Ｓ２９８Ａ、Ｇ２３６Ａ／Ｓ２３９Ｄ／Ｄ２７０Ｌ／Ｉ３３２Ｅ、Ｓ２３９Ｅ／Ｓ２６７Ｅ／Ｈ２６８Ｄ、Ｌ２３４Ｆ／Ｓ２６７Ｅ／Ｎ３２５Ｌ、Ｇ２３７Ｆ／Ｖ２６６Ｌ／Ｓ２６７Ｄ並びにＷＯ２０１１／１２０１３４及びＷＯ２０１１／１２０１３５にて記載されている他の変異（本明細書に参考として組み込まれる）。Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ（ｂｙ Ｗｉｌｌｉａｍ Ｒ．Ｓｔｒｏｈｌ ａｎｄ Ｌｉｌａ Ｍ．Ｓｔｒｏｈｌ，Ｗｏｏｄｈｅａｄ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ ｓｅｒｉｅｓ ｉｎ Ｂｉｏｍｅｄｉｃｉｎｅ Ｎｏ １１，ＩＳＢＮ １ ９０７５６８ ３７ ９，Ｏｃｔ ２０１２） の２８３頁の変異一覧。

【００５３】

いくつかの実施形態では、ＣＨ２ドメインは１つ以上の非対称なアミノ酸修飾を含む。いくつかの実施形態では、ＣＨ２ドメインは、ＦｃγＲの選択的結合を促進する１つ以上の非対称なアミノ酸修飾を含む。いくつかの実施形態では、ＣＨ２ドメインは、本明細書に記載される単離された構築物の分離及び精製を可能にする。

【００５４】

エフェクター機能を向上させるための追加の修飾

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される構築物を修飾して、エフェクター機能を向上させることができる。かかる修飾は、当技術分野において既知であり、アフコシル化、または活性化受容体（主にＡＤＣＣに関するＦＣＧＲ３ａ）、及びＣＤＣに関するＣ１ｑへの抗体のＦｃ部分の親和性のエンジニアリングを含む。以下の表Ｂは、エフェクター機能エンジニアリングの文献中で報告されている種々の設計についてまとめている。

【００５５】

したがって、一実施形態において、本明細書に記載される構築物は、向上したエフェクター機能を付与する表Ｂに記載した１つ以上のアミノ酸修飾を含む二量体Ｆｃを含むことができる。別の実施形態では、構築物をアフコシル化してエフェクター機能を向上させることができる。

【００５６】

（表Ｂ）ＣＨ２及びエフェクター機能のエンジニアリング

参照	変異	効果
Lu, 2011, Ferrara 2011, Mizushima 2011	アフコシル化	ADCCの増大
Lu, 2011	S298A/E333A/K334A	ADCCの増大
Lu, 2011	S298A/E333A/K334A/K326A	ADCCの増大
Stavenhagen, 2007	F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L	ADCCの増大
Nordstrom, 2011	F243L/R292P/Y300L/L235V/P396L	ADCCの増大
Stewart, 2011	F243L	ADCCの増大
Shields, 2001	S298A/E333A/K334A	ADCCの増大
Lazar, 2006	S239D/I332E/A330L	ADCCの増大
Lazar, 2006	S239D/I332E	ADCCの増大
Bowles, 2006	AME-D, 非特異的変異	ADCCの増大
Heider, 2011	37.1, 変異は開示されない	ADCCの増大
Moore, 2010	S267E/H268F/S324T	CDCの増大

【００５７】

ＦｃＲｎ結合及びＰＫパラメータ

従来技術で公知なように、ＦｃＲｎへの結合により、エンドサイトーシスにより取り込まれた抗体がエンドソームから血流に戻り再利用される（Ｒａｇｈａｖａｎ ｅｔ ａｌ．，１９９６，Ａｎｎｕ Ｒｅｖ Ｃｅｌｌ Ｄｅｖ Ｂｉｏｌ １２：１８１－２２０；Ｇｈｅｔｉｅ ｅｔ ａｌ．，２０００，Ａｎｎｕ Ｒｅｖ Ｉｍｍｕｎｏｌ １８：７３９－７６６）。このプロセスは、完全長分子が大型サイズであるために腎臓濾過されないことと組み合わさって、１～３週間の範囲にわたる、抗体血清の好ましい半減期をもたらす。ＦｃがＦｃＲｎに結合することはまた、抗体輸送でも重要な役割を果たす。したがって、一実施形態において、本発明の構築物はＦｃＲｎに結合可能である。

【００５８】

ＦｃγＲ補体結合及び／またはエフェクター機能を低下させるＦｃ修飾は、当技術分野において既知である。近年の出版物は、受容体活性を低下させるかなくした抗体をエンジニアリングするために使用されている戦略を記載している（Ｓｔｒｏｈｌ，ＷＲ（２００９），Ｃｕｒｒ Ｏｐｉｎ Ｂｉｏｔｅｃｈ ２０：６８５－６９１、及びＳｔｒｏｈｌ，ＷＲ ａｎｄ Ｓｔｒｏｈｌ ＬＭ，"Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｆｃ ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ ｆｏｒ ｏｐｔｉｍａｌ ａｎｔｉｂｏｄｙ ｐｅｒｆｏｒｍａｎｃｅ"Ｉｎ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ，Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ：Ｗｏｏｄｈｅａｄ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ（２０１２），ｐｐ ２２５－２４９を参照のこと）。これらの戦略としては、グリコシル化修飾によるエフェクター機能の低下、ＩｇＧ２／ＩｇＧ４足場の使用、または抗体のＦｃ領域のヒンジもしくはＣＨ２領域での変異の導入が挙げられる。例えば、米国特許公報２０１１／０２１２０８７（Ｓｔｒｏｈｌ）、ＰＣＴ国際公開特許ＷＯ２００６／１０５３３８（Ｘｅｎｃｏｒ）、米国特許公報２０１２／０２２５０５８（Ｘｅｎｃｏｒ）、米国特許公報２０１２／０２５１５３１（

Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）、及びＳｔｒｏｐ ｅｔ ａｌ （（２０１２）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．４２０：２０４－２１９）は、ＦｃγＲ、またはＦｃへの補体結合を減少させるための特異的な修飾について記載している。

【００５９】

特異的な既知のアミノ酸修飾の非限定例としては、以下の表で特定されるものが挙げられる。

【００６０】

（表Ｃ）ＦｃγＲ、またはＦｃへの補体結合を低下させるための修飾

会社	変異
GSK	N297A
Ortho Biotech	L234A/L235A
Protein Design labs	IGG2 V234A/G237A
Wellcome Labs	IGG4 L235A/G237A/E318A
GSK	IGG4 S228P/L236E
Alexion	IGG2/IGG4combo
Merck	IGG2 H268Q/V309L/A330S/A331S
Bristol-Myers	C220S/C226S/C229S/P238S
Seattle Genetics	C226S/C229S/E3233P/L235V/L235A
Amgen	大腸菌産生、非グリコシル化
Medimune	L234F/L235E/P331S
Trubion	ヒンジ変異、おそらくC226S/P230S

【００６１】

一実施形態では、Ｆｃは、上記表で同定された少なくとも１つのアミノ酸修飾を含む。別の実施形態では、Ｆｃは、Ｌ２３４、Ｌ２３５、またはＤ２６５のうち少なくとも１つのアミノ酸修飾を含む。別の実施形態では、Ｆｃは、Ｌ２３４、Ｌ２３５及びＤ２６５のアミノ酸修飾を含む。別の実施形態では、Ｆｃは、Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ及びＤ２６５Ｓのアミノ酸修飾を含む。

【００６２】

リンカー

本明細書に記載される構築物は、本明細書に記載されるＦｃに機能的に結合した、本明細書に記載される１つ以上のヘテロ二量体を含むことができる。いくつかの態様では、Ｆｃは１つ以上のリンカーにより、またはそれ無しで、１つ以上のヘテロ二量体に結合する。いくつかの態様では、Ｆｃは１つ以上のヘテロ二量体に直接結合する。いくつかの態様では、Ｆｃは１つ以上のリンカーにより、１つ以上のヘテロ二量体に結合する。いくつかの態様では、Ｆｃはリンカーにより、各ヘテロ二量体の重鎖に結合する。

【００６３】
いくつかの態様では、１つ以上のリンカーは１つ以上のポリペプチドリンカーである。いくつかの態様では、１つ以上のリンカーは１つ以上のＩｇＧ１ヒンジ領域を含む。
【００６４】
フォーマットｓｃＦｖ
本明細書に記載される抗原結合構築物は二重特異的であり、例えば、これらは、それぞれが２つの異なる抗原に特異的に結合可能な少なくとも２つの抗原結合ポリペプチド構築物を含む。１つの抗原結合ポリペプチド構築物はｓｃＦｖフォーマットである。（即ち、抗原結合ドメインは重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインで構成される）一実施形態では、前記ｓｃＦｖ分子はヒトである。別の実施形態において、前記ｓｃＦｖ分子はヒト化されている。
【００６５】
ｓｃＦｖ分子において、軽鎖可変領域のＣ末端は重鎖可変領域のＮ末端へと接続されてもよい、または、重鎖可変領域のＣ末端は軽鎖可変領域のＮ末端へと接続されてよい。
【００６６】
可変領域は直接、または典型的には、機能性抗原結合部位の形成を可能にするリンカーペプチドを介して接続されてよい。典型的なペプチドリンカーは約２～２０個のアミノ酸を含み、本明細書で記載されるか、または当該技術分野において既知である。好適な非免疫原性のペプチド類としては例えば、（Ｇ４Ｓ）ｎ、（ＳＧ４）ｎ、（Ｇ４Ｓ）ｎ、Ｇ４（ＳＧ４）ｎまたはＧ２（ＳＧ２）ｎリンカーペプチドが挙げられ、式中ｎは通常１～１０の数字、典型的には２～４の数字である。
【００６７】
ｓｃＦｖ分子は更に、例えばＲｅｉｔｅｒ ｅｔ ａｌ．（Ｎａｔ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ １４，１２３９－１２４５（１９９６））に記載されているように、重鎖可変ドメインと軽鎖可変ドメインとの間のジスルフィド架橋により安定化されてもよい。したがって、一実施形態において、Ｔ細胞を活性化する本発明の二重特異的抗原結合分子は、ｓｃＦｖ分子を含み、重鎖可変ドメインのアミノ酸と軽鎖可変ドメインのアミノ酸は、重鎖可変ドメインと軽鎖可変ドメインとの間にジスルフィド架橋を形成可能なように、システインにより置き換えられている。特異的な実施形態においては、軽鎖可変ドメインの４４番目の位置のアミノ酸、及び重鎖可変ドメインの１００番目の位置のアミノ酸はシステインで置換されている（Ｋａｂａｔナンバリング）。
【００６８】
従来技術で公知なように、［Ｍｉｌｌｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇ Ｄｅｓ Ｓｅｌ．２０１０ Ｊｕｌ；２３（７）：５４９－５７；Ｉｇａｗａ ｅｔ ａｌ．，ＭＡｂｓ．２０１１ Ｍａｙ－Ｊｕｎ；３（３）：２４３－５；Ｐｅｒｃｈｉａｃｃａ ＆ Ｔｅｓｓｉｅｒ，Ａｎｎｕ Ｒｅｖ Ｃｈｅｍ Ｂｉｏｍｏｌ Ｅｎｇ．２０１２；３：２６３－８６．］に記載されている通り、ｓｃＦｖはＣＤＲ配列の変異によっても安定化することができる。
【００６９】
ＨＶＲ及びＣＤＲ
用語「超可変領域」または「ＨＶＲ」は、本明細書で使用する場合、配列内で超可変性である、及び／または構造的に規定されるループ（「超可変ループ」）を形成する、抗体可変領域の各領域を意味する。一般に、内在性の４鎖抗体は６つのＨＶＲ；ＶＨ（Ｈ１、Ｈ２、Ｈ３）内の３つ、及びＶＬ（Ｌ１、Ｌ２、Ｌ３）内の３つを含む。ＨＶＲは一般に、超可変ループからの、及び／または相補性決定領域（ＣＤＲ）からのアミノ酸残基を含み、後者は配列変動性が最も高く、かつ／または抗原認識に関係する。ＶＨにおけるＣＤＲ１の例外はあれど、ＣＤＲは通常、超可変ループを形成するアミノ酸残基を含む。超可変領域（ＨＶＲ）は「相補性決定領域」（ＣＤＲ）とも呼ばれ、これらの用語は、抗原認識領域を形成する可変領域の部分に関して、本明細書では同じ意味で用いられる。この特殊な領域はＫａｂａｔ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐｔ．ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ ａｎｄ

Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ（１９８３）、及びＣｈｏｔｈｉａ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ １９６：９０１－９１７（１９８７）により記載されており、互いに比較した場合、この定義はアミノ酸残基の重複またはサブセットを含む。しかし、抗体またはその変異体のＣＤＲを指すためにいずれかの定義を用いることは、本明細書において定義及び使用されている、この用語の範囲内であることが意図されている。上記で引用した各参照で定義されるＣＤＲを包含する適切なアミノ酸残基を、比較のため表１にて以下で説明する。特定のＣＤＲを包含する正確な残基数は、ＣＤＲの配列及びサイズに応じて変化する。抗体の可変領域アミノ酸配列があれば、当業者は機械的に、どの残基が特定のＣＤＲを含むかを測定することができる。

【００７０】

抗原

抗原結合構築物は、少なくとも１つの抗原、例えばＣＤ３抗原及び／またはＣＤ１９抗原と特異的に結合する。本明細書で使用する場合、用語「抗原決定基」は「抗原」及び「エピトープ」と同義であり、抗原結合部位が結合し、抗原結合部位複合体を形成するポリペプチド巨大分子上の部位（例えば、アミノ酸が連続する区域、または非連続アミノ酸の異なる領域で作られた高次構造の配置）を意味する。例としては、ＣＤ３抗原、ＣＤ１９抗原、及びＣＤ２０抗原が挙げられる。

【００７１】

有用な抗原決定基は例えば、腫瘍細胞の表面上、ウイルス感染細胞の表面上、他の病気にかかった細胞の表面上、免疫細胞の表面上、血液血清中に遊離した状態で、及び／または細胞外マトリックス（ＥＣＭ）内に見出すことができる。本明細書で抗原と称されるタンパク質（例えばＣＤ３、ＣＤ１９、及びＣ２０）は、特に指示がない限り、霊長類（例えばヒト）並びに齧歯類（例えばマウス及びラット）等の哺乳類を含む、任意の脊椎動物源からの、天然型の任意のタンパク質とすることができる。特定の実施形態では、抗原はヒトタンパク質である。本明細書で、特異的タンパク質を参照する場合、用語は「完全長」の未処理のタンパク質、及び細胞内での処理により得られたタンパク質の任意の形態を包含する。この用語はまた、タンパク質の天然変異体、例えばスプライス変異体または対立遺伝子変異体を包含する。抗原として有用な他のヒトタンパク質としては、コンドロイチン硫酸プロテオグリカン４としても知られる黒色腫関連コンドロイチン硫酸プロテオグリカン（ＭＣＳＰ）（ＵｎｉＰｒｏｔ ｎｏ．Ｑ６ＵＶＫ１（ｖｅｒｓｉｏｎ ７０），ＮＣＢＩ ＲｅｆＳｅｑ ｎｏ．ＮＰ ００１８８８．２）；セプラーゼとしても知られる線維芽細胞活性化タンパク質（ＦＡＰ）（Ｕｎｉ Ｐｒｏｔ ｎｏｓ．Ｑ１２８８４，Ｑ８６Ｚ２９，Ｑ９９９９８，ＮＣＢＩ Ａｃｃｅｓｓｉｏｎ ｎｏ．ＮＰ ００４４５１）；癌胎児性抗原関連細胞付着分子５としても知られる、癌胎児性抗原（ＣＥＡ）（ＵｎｉＰｒｏｔ ｎｏ．Ｐ０６７３１（ｖｅｒｓｉｏｎ １１９），ＮＣＢＩ ＲｅｆＳｅｑ ｎｏ．ＮＰ ００４３５４．２）；ｇｐ６７またはＳｉｇｌｅｃ－３としても知られるＣＤ３３（ＵｎｉＰｒｏｔ ｎｏ．Ｐ２０１３８，ＮＣＢＩ Ａｃｃｅｓｓｉｏｎ ｎｏｓ．ＮＰ ００１０７６０８７，ＮＰ ００１１７１０７９）；ＥｒｂＢ－１またはＨｅｒｌとしても知られる上皮成長因子受容体（ＥＧＦＲ）（ＵｎｉＰｒｏｔ ｎｏ．Ｐ００５３，ＮＣＢＩ Ａｃｃｅｓｓｉｏｎ ｎｏｓ．ＮＰ ９５８４３９，ＮＰ ９５８４４０）、及びＣＤ３、特にＣＤ３のεサブユニット（ヒト配列に関しては、ＵｎｉＰｒｏｔ ｎｏ．Ｐ０７７６６（ｖｅｒｓｉｏｎ １３０），ＮＣＢＩ ＲｅｆＳｅｑ ｎｏ．ＮＰ ０００７２４．１；またはマカクザル［カニクイザル（Ｍａｃａｃａ ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓ）］配列に関してはＵｎｉＰｒｏｔ ｎｏ．Ｑ９５ＬＩ５ （ｖｅｒｓｉｏｎ ４９），ＮＣＢＩ ＧｅｎＢａｎｋ ｎｏ．ＢＡＢ７１８４９．１）が挙げられるが、これらに限定されない。

【００７２】

ある種の実施形態において、本発明のＴ細胞活性化二重特異的抗原結合分子は、異なる種の活性化Ｔ細胞抗原または標的抗原内で保存された、活性化Ｔ細胞抗原または標的細胞

抗原のエピトープに結合する。

【００７３】

「特異的結合」または「選択的結合」とは、結合が抗原に対して選択的であり、不必要なあるいは非特異的な相互作用から区別されることができることを意味する。抗原結合部位が特異的な抗原決定基に結合する能力は、酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）、または当業者によく知られている他の技術、例えば表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）技術（ＢＩＡｃｏｒｅ機器上で分析）（Ｌｉｌｊｅｂｌａｄ ｅｔ ａｌ，Ｇｌｙｃｏ Ｊ １７，３２３－３２９（２０００））、及び従来の結合アッセイ（Ｈｅｅｌｅｙ，Ｅｎｄｏｃｒ Ｒｅｓ ２８，２１７－２２９（２００２））のいずれかにより測定することができる。一実施形態では、抗原結合部位が無関係のタンパク質に結合する程度は、例えばＳＰＲにより測定される抗原結合部位の抗原への結合の約１０％未満である。ある種の実施形態において、抗原に結合する抗原結合部位、または抗原結合部位を含む抗原結合分子は、＜１μＭ、＜１００ｎＭ、＜１０ｎＭ、＜１ｎＭ、＜０．１ｎＭ、＜０．０１ｎＭ、または＜０．００１ｎＭ（例えば10^{-8}Ｍ以下、例えば10^{-8}～10^{-13}Ｍ、例えば10^{-9}～10^{-13}Ｍ）の解離定数（K_D）を有する。

【００７４】

「親和性」とは、分子の単一の結合部位（例えば受容体）と、その結合パートナー（例えばリガンド）との非共有相互作用の合計の強さを意味する。特に指示がない限り、本発明で使用する場合、「結合親和性」とは結合ペアメンバー（例えば抗原結合部位と抗原、または受容体とそのリガンド）の１：１の相互作用を反映する固有の結合親和性を意味する。分子Ｘの、そのパートナーＹに対する親和性は通常、解離速度定数と会合速度定数（それぞれk_{off}及びk_{on}）の比である解離定数（K_D）により表すことができる。したがって、速度定数比が同一のままである限り、同等の親和性は異なる速度定数を含んでよい。親和性は、本明細書で記載される技術を含む、当該技術分野において既知の十分に確立された方法により測定することができる。親和性を測定する特定の方法は、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）である。

【００７５】

「結合の低下」、例えばＦｃ受容体に対する結合の低下とは、例えばＳＰＲにより測定したそれぞれの相互作用に関する親和性の低下を意味する。明確にするために、この用語は親和性のゼロ（または分析方法の検出限界以下）への低下、即ち相互作用の完全な消失もまた含む。逆に、「結合の増加」とは、それぞれの相互作用に関する結合親和性の増加を意味する。

【００７６】

「活性化Ｔ細胞抗原」とは、本明細書で使用する場合、Ｔリンパ球、特に細胞傷害性Ｔリンパ球の表面に発現した抗原結合分子との相互作用に際し、Ｔ細胞の活性化を誘発することが可能な抗原決定基を意味する。具体的には、抗原結合分子と活性化Ｔ細胞抗原との相互作用は、Ｔ細胞受容体複合体のシグナル伝達カスケードを引き起こすことにより、Ｔ細胞活性化を誘発し得る。特定の実施形態では、活性化Ｔ細胞抗原はＣＤ３である。

【００７７】

「Ｔ細胞活性化」とは、本明細書で使用する場合、増殖、分化、サイトカイン分泌、細胞毒性エフェクター分子の放出、細胞毒性活性、及び活性化マーカーから選択されるＴリンパ球、特に細胞傷害性Ｔリンパ球の１種以上の細胞応答を意味する。本発明のＴ細胞活性化二重特異的抗原結合分子は、Ｔ細胞活性化を誘発することができる。Ｔ細胞活性化を測定するのに好適なアッセイは、本明細書に記載される当技術分野において既知である。

【００７８】

「標的細胞抗原」とは、本明細書で使用する場合、標的細胞、例えばがん細胞または腫瘍間質細胞等の腫瘍内のＢ細胞の表面に提示された抗原決定基を意味する。本明細書で使用する場合、抗原結合部位に関して用語「第１」及び「第２」は、２つ以上の各種類の部位が存在する場合、便宜的な区別のために使用される。これらの用語を使用することは、明示的に記述される場合を除いて、Ｔ細胞活性化二重特異的抗原結合分子の特定の順序ま

たは方向を付与することを目的としていない。

【００７９】

用語「異種間結合」または「種間結合」は、本明細書で使用する場合、本明細書に記載される結合領域の、ヒト及び他の生命体、例えば、これらに限定されないがチンパンジーでない霊長類における同一の標的分子への結合を意味する。したがって、「異種間結合」または「種間結合」は、「Ｘ」以外の分子にではなく、異なる種において発現した同一分子「Ｘ」（即ち類似体）に対する種間の反応性として理解されなければならない。例えばヒトＣＤ３εを認識するモノクローナル抗体の、チンパンジーではない霊長類のＣＤ３ε、例えばマカクＣＤ３εへの異種間特異性は、例えばＦＡＣＳ分析により、測定することができる。ＦＡＣＳ分析は、それぞれのモノクローナル抗体が、ヒト及びチンパンジーではない霊長類ＣＤ３ε抗原をそれぞれ発現する、前記ヒト及びチンパンジーではない霊長類細胞、例えばマカク細胞に結合することを試験するという方法で実施される。更なるアッセイは、当業者に周知である。上述の主題は、ＰＳＣＡ、ＣＤ１９、Ｃ－ＭＥＴ、エンドシアリン、ＥｐＣＡＭ、ＩＧＦ－１Ｒ及びＦＡＰα抗原に準用して適用される。例えばヒトＰＳＣＡ、ＣＤ１９、Ｃ－ＭＥＴ、エンドシアリン、ＥｐＣＡＭ、ＩＧＦ－１ＲまたはＦＡＰαを認識するモノクローナル抗体の、チンパンジーではない霊長類ＰＳＣＡ、ＣＤ１９、Ｃ－ＭＥＴ、エンドシアリン、ＥｐＣＡＭ、ＩＧＦ－１ＲまたはＦＡＰα、例えばマカクＰＳＣＡ、ＣＤ１９、Ｃ－ＭＥＴ、エンドシアリン、ＥｐＣＡＭ、ＩＧＦ－１ＲまたはＦＡＰαへの異種間特異性は、例えばＦＡＣＳ分析により、測定することができる。ＦＡＣＳ分析は、それぞれのモノクローナル抗体が、ヒト及びチンパンジーではない霊長類ＰＳＣＡ、ＣＤ１９、Ｃ－ＭＥＴ、エンドシアリン、ＥｐＣＡＭ、ＩＧＦ－１ＲまたはＦＡＰα抗原をそれぞれ発現する、前記ヒト及びチンパンジーではない霊長類細胞、例えばマカク細胞に結合することを試験するという方法で実施される。

【００８０】

ＣＤ３、ＣＤ１９、及びＣＤ２０

本発明の抗原結合構築物としては、ＣＤ３抗原並びに／またはＣＤ１９抗原及び／もしくはＣＤ２０抗原に、一価でかつ特異的に結合する抗原結合ポリペプチド構築物が挙げられる。

【００８１】

本明細書に記載した「ＣＤ３」または「ＣＤ３複合体」は、非共有結合で互いにかつＴ細胞受容体に会合した、成熟Ｔリンパ球内の少なくとも５つの膜結合ポリペプチドの複合体である。ＣＤ３複合体としては、γ、δ、ε、ζ及びη鎖（サブユニットとも称される）が挙げられる。幾つかのこれらの鎖に対して、マウス抗体ＯＫＴ３、ＳＰ３４、ＵＣＨＴ１または６４．１に例示される非ヒトモノクローナル抗体が開発されてきた。（例えば、Ｊｕｎｅ，ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１３６：３９４５－３９５２（１９８６）；Ｙａｎｇ，ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１３７：１０９７－１１００（１９８６）；及びＨａｙｗａｒｄ，ｅｔ　ａｌ．，Ｉｍｍｕｎｏｌ．６４：８７－９２（１９８８）を参照のこと）。例えば固定化された抗ＣＤ３抗体により、Ｔ細胞上でＣＤ３をクラスター化することは、Ｔ細胞受容体の関与に似てはいるがそのクローンの典型的な特異性に影響を受けない、Ｔ細胞活性化をもたらす。大部分の抗ＣＤ３抗体はＣＤ３ε鎖を認識する。

【００８２】

一実施形態において、二重特異的抗原結合構築物は、ＯＫＴ３（ＯＲＴＨＯＣＬＯＮＥ－ＯＫＴ３（商標）（ムロモナブＣＤ３））；テプリズマブ（商標）（ＭＧＡ０３１，Ｅｌｉ　Ｌｉｌｌｙ）；種間反応性抗ＣＤ３（Ｍｉｃｒｏｍｅｔ，ＵＳ２０１１／０２７５７８７）；ブリナツモマブ（商標）；ＵＣＨＴ１（Ｐｏｌｌａｒｄ　ｅｔ　ａｌ．１９８７　Ｊ　Ｈｉｓｔｏｃｈｅｍ　Ｃｙｔｏｃｈｅｍ．３５（１１）：１３２９－３８）；ＮＩ０４０１（ＷＯ２００７／０３３２３０）；ビジリズマブ（ＵＳ２５８３４５９７）に由来する、ＣＤ３抗原に一価でかつ特異的に結合するＣＤ３抗原結合ポリペプチドを含む。一実施形態では、二重特異的抗原結合構築物は、ＣＤ３に一価でかつ特異的に

結合するＣＤ３抗原結合ポリペプチドを含み、前記ＣＤ３抗原結合ポリペプチドのＶＨ及びＶＬ領域は、Ｘ３５－３、ＶＩＴ３、ＢＭＡ０３０（ＢＷ２６４／５６）、ＣＬＢ－Ｔ３／３、ＣＲＩＳ７、ＹＴＨ１２．５、Ｆ１１１－４０９、ＣＬＢ－Ｔ３．４．２、ＷＴ３１、ＷＴ３２、ＳＰｖ－Ｔ３ｂ、１１Ｄ８、ＸＩＩＩ－１４１、ＸＩＩＩ－４６、ＸＩＩ－８７、１２Ｆ６、Ｔ３／ＲＷ２－８Ｃ８、Ｔ３／ＲＷ２－４Ｂ６、ＯＫＴ３Ｄ、Ｍ－Ｔ３０１、ＳＭＣ２及びＦ１０１．０１からなる群から選択されるＣＤ３特異的抗体に由来する。

【００８３】

本発明によれば、前記ＶＨ及びＶＬ領域は、他のＴＣＲサブユニットとの関係において、ヒトＣＤ３εを特異的に認識することができる抗体誘導体等に由来する。

【００８４】

可変領域（ＶＨ及びＶＬ）が本発明の医薬組成物中に含まれる二重特異的抗原結合構築物において用いられるようにするヒトＣＤ１９に対する抗体／抗体分子／抗体誘導体類は、当該技術分野において既知である。一実施形態では、ＣＤ１９結合抗原結合ポリペプチドは、例えば４Ｇ７（Ｍｅｅｃｋｅｒ（１９８４）Ｈｙｂｒｉｄｏｍａ ３，３０５－２０）；Ｂ４（Ｆｒｅｅｄｍａｎ（１９８７）Ｂｌｏｏｄ ７０，４１８－２７；Ｂ４３（Ｂｅｊｃｅｋ（１９９５）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．５５，２３４６－５１）；ＢＵ１２（Ｃａｌｌａｒｄ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，１４８（１０）：２９８３－７（１９９２），Ｆｌａｖｅｌｌ（１９９５）Ｂｒ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ ７２，１３７３－９）；ＣＬＢ－ＣＤ１９（Ｄｅ Ｒｉｅ（１９８９）Ｃｅｌｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１１８，３６８－８１）；Ｌｅｕ－１２（ＭａｃＫｅｎｚｉｅ（１９８７），Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１３９，２４－８）；ＳＪ２５－Ｃ１（ＧｅｎＴｒａｋ，ＰｌｙｍｏｕｔｈＭｅｅｔｉｎｇ，Ｐａ．），Ｊ４．１１９（Ｂｅｃｋｍａｎ Ｃｏｕｌｔｅｒ，Ｋｒｅｆｅｌｄ，Ｇｅｒｍａｎｙ），Ｂ４３（ＰｈａｒＭｉｎｇｅｎ，Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，Ｃａｌｉｆ．），ＳＪ２５Ｃ１（ＢＤ ＰｈａｒＭｉｎｇｅｎ，Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，Ｃａｌｉｆ．），ＦＭＣ６３（ＩｇＧ２ａ）（Ｚｏｌａ ｅｔ ａｌ．，Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｃｅｌｌ．Ｂｉｏｌ．６９（ＰＴ６）：４１１－２２（１９９１）；Ｎｉｃｈｏｌｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，３４：１１５７－１１６５（１９９７）；Ｐｉｅｔｅｒｓｚ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒａｐｙ，４１：５３－６０（１９９５）），及び／またはＨＤ２３７（ＩｇＧ２ｂ）（Ｆｏｕｒｔｈ Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ Ｗｏｒｋｓｈｏｐ ｏｎ Ｈｕｍａｎ Ｌｅｕｋｏｃｙｔｅ Ｄｉｆｆｅｒｅｎｔｉａｔｉｏｎ Ａｎｔｉｇｅｎｓ，Ｖｉｅｎｎａ，Ａｕｓｔｒｉａ，１９８９；並びにＰｅｚｚｕｔｔｏ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１３８（９）：２７９３－２７９９（１９８７））といったヒトＣＤ１９に対する抗体に由来する。ＣＤ１９抗原結合ポリペプチドはまた、Ｍｏｒ－２０８、ＭＥＤＩ－５５１、ＭＤＸ－１３４２等の抗体、またはＨａｍｍｅｒ（２０１２）Ｍａｂｓ４：５，５７１－５７７に記載されているような他の抗ＣＤ１９抗体からも由来し得る。更に他の実施形態では、前記ＶＨ（ＣＤ１９）及びＶＬ（ＣＤ１９）領域（またはそのＣＤＲ等の一部）は、ＨＤ３７ハイブリドーマにより提供される抗体（Ｐｅｚｚｕｔｔｏ（１９９７），Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１３８，２７９３－９）に由来する。

【００８５】

ＣＤ２０は、成熟Ｂ細胞の細胞膜に発現する、非グリコシル化リンタンパク質である。９５％を超えるＢ細胞非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）及び他のＢ細胞悪性疾患で発現するが、前駆体Ｂ細胞、樹状細胞及び形質細胞には存在しないため、ＣＤ２０はＢ細胞腫瘍関連抗原と考えられている。抗ＣＤ２０抗体は、補体依存性細胞傷害（ＣＤＣ）、抗体依存性細胞媒介性障害（ＡＤＣＣ）及び／またはアポトーシス誘発及び化学療法に対する感作により、ＣＤ２０発現腫瘍細胞を殺すと考えられている。二重特異的抗原構築物は、抗ＣＤ２０抗体であるリツキシマブ、オファツムマブ、またはトシツモマブに由来することができる。リツキシマブ（ＲＩＴＵＸＡＮ（登録商標））抗体は、ＣＤ２０に対する、遺伝子組換えされたキメラマウス／ヒトモノクローナル抗体である。リツキシマブは米国特許

出願公開５，７３６，１３７（Ａｎｄｅｒｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．）にて「Ｃ２Ｂ８」と呼ばれる抗体である。ＣＤ２０抗原結合ポリペプチドは、Ｌｉｍ　ｅｔ　ａｌ．，Ｈａｅｍａｔｏｌｏｇｉｃａ　２０１０；９５（１）：１３５-１４３に記載される更なる抗ＣＤ２０抗体に由来することもできる。

【００８６】

特定のＣＤ抗原の発現は、リンパ造血細胞の特異的分化系列に非常に限定されており、過去数年間にわたり、リンパ球特異的抗原に対する抗体が、インビトロまたは動物モデルのいずれかに効果的な治療を開発するために使用されてきた。これに関して、ＣＤ１９は大変有用な標的であることが証明された。ＣＤ１９は、プロＢ細胞から成熟Ｂ細胞までの全てのＢ細胞分化系列に発現し、脱落することがなく、全てのリンパ腫細胞に均一に発現し、かつ幹細胞には存在しない。

【００８７】

ＣＤ３複合体結合ポリペプチド構造体：

本明細書において提供する抗原のある種の実施形態において、前記抗原結合構築物は、少なくとも１つのＣＤ３発現細胞上のＣＤ３複合体に結合する、少なくとも１つのＣＤ３結合ポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１つのＣＤ３結合ポリペプチド構築物は、ＣＤ３特異的抗体、ナノボディ、フィブロネクチン、アフィボディ、アンチカリン、システインノットタンパク質、ＤＡＲＰｉｎ、アビマー、Ｋｕｎｉｔｚドメイン、またはこれらの変異体もしくは誘導体のうち少なくとも１つのＣＤ３結合領域を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１つのＣＤ３結合領域は、前記修飾を含まない対応するＣＤ３結合領域と比較して免疫原性を低下させる、少なくとも１つのアミノ酸修飾を含む。一実施態様において、少なくとも１つのＣＤ３結合領域は、前記修飾を含まない対応するＣＤ３結合領域と比較してT_mで測定した安定性を増加させる、少なくとも１つのアミノ酸修飾を含む。いくつかの実施形態では、前記少なくとも１つの修飾を含まない内在性ＣＤ３結合ドメインと比較して、約３度のT_mの増加がある。いくつかの実施形態では、前記少なくとも１つの修飾を含まない内在性ＣＤ３結合ドメインと比較して、約５度のT_mの増加がある。いくつかの実施形態では、前記少なくとも１つの修飾を含まない内在性ＣＤ３結合ドメインと比較して、約８度のT_mの増加がある。いくつかの実施形態では、前記少なくとも１つの修飾を含まない内在性ＣＤ３結合ドメインと比較して、約１０度のT_mの増加がある。

【００８８】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される少なくとも１つのＣＤ３結合ポリペプチド構築物は、ＣＤ３特異的抗体のうち少なくとも１つのＣＤ３結合ドメインを含み、前記ＣＤ３特異的抗体は、軽鎖を欠いている重鎖抗体である。

【００８９】

他の特定の実施形態において、本明細書に記載される少なくとも１つのＣＤ３結合ポリペプチド構築物は、非抗体タンパク質の足場ドメインに由来する少なくとも１つのＣＤ３結合ドメインを含む。

【００９０】

ある種の実施形態において、ＣＤ３結合ポリペプチド構築物は、ＣＤ３結合Ｆａｂ構築物（即ち、重鎖及び軽鎖を含み、これらがそれぞれ可変領域及び定常領域を含む抗原結合構築物）である。いくつかの実施形態では、Ｆａｂ構築物は哺乳類である。一実施形態では、前記Ｆａｂ構築物はヒトである。別の実施形態において、前記Ｆａｂ構築物はヒト化されている。更に他の実施形態では、前記Ｆａｂ構築物はヒト重鎖及び軽鎖定常領域のうち少なくとも１つを含む。更なる実施形態において、前記Ｆａｂ構築物は単鎖Ｆａｂ（ｓｃＦａｂ）である。

【００９１】

ある種の実施形態において、ＣＤ３結合ポリペプチド構築物はＣＤ３結合ｓｃＦａｂ構造体を含み、Ｆａｂ軽鎖のＣ末端は、ペプチドリンカーによりＦａｂ重鎖のＮ末端に結合している。ペプチドリンカーにより、機能的ＣＤ３結合部位を形成するようにＦａｂ重鎖

及び軽鎖を配置することが可能となる。ある種の実施形態において、Ｆａｂ重鎖及び軽鎖を接続するのに好適なペプチドリンカーは、例えば（$Ｇ_{m}Ｓ)_{n}$－ＧＧ（配列番号：３６０）、$(ＳＧ_{n})_{m}$、（配列番号：３６１）、$(ＳＥＧ_{n})_{m}$（配列番号：３６２）（式中及びｎは０～２０である）を含むがこれらに限定されない、グリシン－セリンリンカーを含む配列を含む。ある種の実施形態において、ｓｃＦａｂ構築物はクロスオーバー構築物であり、Ｆａｂ軽鎖とＦａｂ重鎖の定常領域が交換される。クロスオーバーＦａｂの別の実施形態では、Ｆａｂ軽鎖とＦａｂ重鎖の可変領域が交換される。

【００９２】

ある種の実施形態において、ＣＤ３結合ポリペプチド構築物は、ＣＤ３結合Ｆｖ構築物（即ち、それぞれが可変領域を含む重鎖及び軽鎖を含む抗原結合構築物）を含む。幾つかの実施形態では、前記Ｆｖ構築物は哺乳類である。一実施形態では、前記Ｆｖ構築物はヒトである。別の実施形態において、前記Ｆｖ構築物はヒト化されている。更に他の実施形態では、前記Ｆｖ構築物は、ヒト重鎖及び軽鎖可変領域のうち少なくとも１つを含む。更なる実施形態において、前記Ｆｖ構築物は単鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）である。

【００９３】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される抗原結合構築物のＣＤ３結合ポリペプチド構築物は、ＣＤ３複合体のうち少なくとも１つの成分に結合する。ある特定の実施形態では、ＣＤ３結合ポリペプチド構築物は、ＣＤ３複合体のＣＤ３ε、ＣＤ３γ、ＣＤ３δまたはＣＤ３ζのうち少なくとも１つに結合する。ある種の実施形態において、ＣＤ３結合ポリペプチド構築物はＣＤ３εドメインに結合する。ある種の実施形態において、結合ポリペプチド構築物はヒトＣＤ３複合体に結合する。ある種の実施形態において、ＣＤ３結合ポリペプチド構築物は、ＣＤ３複合体のうち少なくとも１つのメンバーへの異種間結合を示す。

【００９４】

少なくとも１つのＣＤ３発現細胞上のＣＤ３複合体に結合する、少なくとも１つのＣＤ３結合ポリペプチド構築物を含む抗原結合構築物を本明細書で提供する。ここで、ＣＤ３発現細胞はＴ細胞である。ある実施態様では、ＣＤ３発現細胞はヒト細胞である。いくつかの実施形態では、ＣＤ３発現細胞は非ヒトの哺乳動物細胞である。いくつかの実施形態では、Ｔ細胞は細胞毒性Ｔ細胞である。いくつかの実施形態では、Ｔ細胞は$ＣＤ４^{+}$または$ＣＤ８^{+}$Ｔ細胞である。

【００９５】

本明細書において提供する抗原のある種の実施形態において、構築物はＴ細胞の細胞毒性活性を活性化し、Ｂ細胞等の標的細胞に向かわせることができる。特定の実施形態では、前記向かわせることは、標的細胞による、ＭＨＣが仲立ちするペプチド抗原の提示、及び／またはＴ細胞の特異性とは無関係である。

【００９６】

例えば腫瘍細胞抗原などのＢ細胞抗原、及び活性化Ｔ細胞抗原に同時に結合することができる抗原結合構築物を、本明細書で提供する。一実施形態では、抗原結合構築物は、例えばＣＤ１９またはＣＤ２０等のＢ細胞抗原と、例えばＣＤ３等の活性化Ｔ細胞抗原とに同時に結合することにより、Ｔ細胞と標的Ｂ細胞を架橋することが可能である。一実施形態では、同時結合により標的Ｂ細胞、例えば腫瘍細胞が細胞溶解する。一実施形態では、かかる同時結合によりＴ細胞が活性化される。他の実施形態では、かかる同時結合は、増殖、分化、サイトカイン分泌、細胞毒性エフェクター分子の放出、細胞毒性活性、及び活性化マーカーの発現からなる群から選択されるＴリンパ球、例えば細胞傷害性Ｔリンパ球の細胞応答をもたらす。一実施形態では、Ｔ細胞活性化二重特異的抗原結合分子が、標的細胞抗原への同時結合なしで活性化Ｔ細胞抗原に結合すると、Ｔ細胞活性化は行われない。

【００９７】

ＣＤ１９及び／またはＣＤ２０Ｂ細胞結合ポリペプチド構築物：

少なくとも１つのＢ細胞上の標的抗原に結合する、少なくとも１つの抗原結合ポリペプ

チド構築物を含む単離された抗原結合構築物を、本明細書で提供する。ある種の実施形態において、抗原結合ポリペプチド構築物はＢ細胞ＣＤ２１－ＣＤ１９－ＣＤ８１複合体のうち少なくとも１つのメンバーに結合する。いくつかの実施形態では、抗原結合ポリペプチド構築物は、少なくとも１つのＣＤ１９結合領域、またはこれらの断片を含む。一実施形態では、抗原結合ポリペプチド構築物は少なくとも１つのＣＤ２０結合ドメインを含む。

【００９８】

いくつかの実施形態では、少なくとも１つの抗原結合領域は、ＣＤ１９またはＣＤ２０に特異的な抗体、ナノボディ、フィブロネクチン、アフィボディ、アンチカリン、システインノットタンパク質、ＤＡＲＰｉｎ、アビマー、Ｋｕｎｉｔｚドメイン、またはこれらの変異体もしくは誘導体から得られるＣＤ１９またはＣＤ２０結合領域である。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される少なくとも１つの抗原結合ポリペプチド構築物は、軽鎖を欠いている重鎖抗体である抗体のＣＤ１９またはＣＤ２０結合ドメインである、少なくとも１つの抗原結合ドメインを含む。

【００９９】

いくつかの実施形態では、少なくとも１つの抗原結合ドメインは、前記修飾を含まない対応する抗原結合ドメインと比較して、免疫原性を低下させる少なくとも１つのアミノ酸修飾を含むＣＤ１９またはＣＤ２０結合領域である。一実施形態では、少なくとも１つの抗原結合ドメインは、前記修飾を含まない対応するドメインと比較して、T_mで測定した安定性を増加させる少なくとも１つのアミノ酸修飾を含むＣＤ１９またはＣＤ２０結合領域である。

【０１００】

ある種の実施形態において、少なくとも１つの抗原結合ポリペプチド構築物は、Ｂ細胞上のＣＤ１９及びＣＤ２０のうち少なくとも１つに結合するＦａｂ構築物である。いくつかの実施形態では、Ｆａｂ構築物は哺乳類である。一実施形態では、前記Ｆａｂ構築物はヒトである。別の実施形態において、前記Ｆａｂ構築物はヒト化されている。更に他の実施形態では、前記Ｆａｂ構築物はヒト重鎖及び軽鎖定常領域のうち少なくとも１つを含む。更なる実施形態において、前記Ｆａｂ構築物は単鎖Ｆａｂ（ｓｃＦａｂ）である。

【０１０１】

ある種の実施形態において、ＣＤ１９及び／またはＣＤ２０結合ポリペプチド構築物は、ｓｃＦａｂ構築物を含み、Ｆａｂ軽鎖のＣ末端は、ペプチドリンカーによりＦａｂ重鎖のＮ末端に結合している。ペプチドリンカーにより、ＣＤ１９及び／またはＣＤ２０結合部位を形成するようにＦａｂ重鎖及び軽鎖を配置することが可能となる。ある種の実施形態において、Ｆａｂ重鎖及び軽鎖を接続するのに好適なペプチドリンカーは、例えば（$G_mS)_n$－ＧＧ（配列番号：３６３）、（$SG_n)_m$、（配列番号：３６４）、（$SEG_n)_m$（配列番号：３６５）（式中ｍ及びｎは０～２０である）を含むが、これらに限定されないグリシン－セリンリンカーを含む配列を含む。ある種の実施形態において、ｓｃＦａｂ構築物はクロスオーバー構築物であり、Ｆａｂ軽鎖とＦａｂ重鎖の定常領域が交換される。クロスオーバーＦａｂの別の実施形態では、Ｆａｂ軽鎖とＦａｂ重鎖の可変領域が交換される。

【０１０２】

ある種の実施形態において、少なくとも１つの抗原結合ポリペプチド構築物は、Ｂ細胞上のＣＤ１９及びＣＤ２０のうち少なくとも１つに結合するＦｖ構築物である。幾つかの実施形態では、前記Ｆｖ構築物は哺乳類である。一実施形態では、前記Ｆｖ構築物はヒトである。別の実施形態において、前記Ｆｖ構築物はヒト化されている。更に他の実施形態では、前記Ｆｖ構築物は、ヒト重鎖及び軽鎖可変領域のうち少なくとも１つを含む。更なる実施形態において、前記Ｆｖ構築物は単鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）である。

【０１０３】

ある種の実施形態において、抗原結合ポリペプチド構築物は、Ｂ細胞の表面上に発現する少なくとも１つの抗原への異種間結合を示す。いくつかの実施形態では、本明細書に記

載される抗原結合構築物の抗原結合ポリペプチド構築物は、哺乳類ＣＤ１９及びＣＤ２０のうち少なくとも１つに結合する。ある種の実施形態において、結合ポリペプチド構築物はヒトＣＤ１９またはＣＤ２０に結合する。

【０１０４】

例えば腫瘍細胞等のＢ細胞抗原、及び活性化Ｔ細胞抗原に同時に結合することができる構築物を本明細書で提供する。一実施形態では、抗原結合構築物は、例えばＣＤ１９またはＣＤ２０等のＢ細胞抗原と、例えばＣＤ３等の活性化Ｔ細胞抗原とに同時に結合することにより、Ｔ細胞と標的Ｂ細胞を架橋することが可能である。

【０１０５】

ある種の実施形態において、本明細書に記載される抗原結合構築物は、病気に関係する少なくとも１つのＢ細胞上の、ＣＤ１９またはＣＤ２０等の標的抗原に結合する少なくとも１つの抗原結合ポリペプチド構築物を含む。いくつかの実施形態では、病気は癌腫、肉腫、白血病、リンパ腫及び神経膠腫から選択されるがんである。一実施形態では、がんは、扁平上皮細胞癌、腺癌、移行上皮細胞癌、骨肉腫及び軟部組織肉腫のうちの少なくとも１つである。ある種の実施形態において、少なくとも１つのＢ細胞はリンパ系細胞または骨髄細胞である自己免疫反応細胞である。

【０１０６】

更なる抗原結合構築物：

ある種の実施形態において、本明細書に記載される抗原結合構築物は更に、ＧＰＡ１３３、ＥｐＣＡＭ、ＥＧＦＲ、ＩＧＦＲ、ＨＥＲ－２　ｎｅｕ、ＨＥＲ－３、ＨＥＲ－４、ＰＳＭＡ、ＣＥＡ、ＭＵＣ－１（ムチン）、ＭＵＣ２、ＭＵＣ３、ＭＵＣ４、ＭＵＣ５、ＭＵＣ７、ＣＣＲ４、ＣＣＲ５、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ３３、ＣＤ３０、ガングリオシドＧＤ３、９－Ｏ－アセチル－ＧＤ３、ＧＭ２、ポリＳＡ、ＧＤ２、カルボアンヒドラーゼＩＸ（ＭＮ／ＣＡ　ＩＸ）、ＣＤ４４ｖ６、ソニックヘッジホッグ（Ｓｈｈ）、Ｗｕｅ－１、形質細胞抗原（膜結合）、黒色腫コンドロイチン硫酸プロテオグリカン（ＭＣＳＰ）、ＣＣＲ８、ＴＮＦ－α前駆体、ＳＴＥＡＰ、メソテリン、Ａ３３抗原、前立腺幹細胞抗原（ＰＳＣＡ）、Ｌｙ－６；デスモグレイン４、Ｅカドヘリンネオエピトープ、胎児性アセチルコリン受容体、ＣＤ２５、ＣＡ１９－９マーカー、ＣＡ－１２５マーカー及びミュラー管阻害因子（ＭＩＳ）ＩＩ型受容体、ｓＴｎ（シアル化Ｔｎ抗原；ＴＡＧ－７２）、ＦＡＰ（繊維芽細胞活性化抗原）、エンドシアリン、ＬＧ、ＳＡＳ、ＥＰＨＡ４　ＣＤ６３、サイトカインに付着したＣＤ３抗体を含むＣＤ３　ＢｓＡｂ免疫サイトカインＴＮＦ、ＩＦＮγ、ＩＬ－２、並びにＴＲＡＩＬのうち少なくとも１つに結合する少なくとも１つの結合ドメインを含む。

【０１０７】

ポリペプチド及びポリヌクレオチド

抗原結合構築物は少なくとも１つのポリペプチドを含む。用語「ポリペプチド」、「ペプチド」及び「タンパク質」は本明細書において同じ意味で用いられ、アミノ酸残基の重合体を指す。即ち、ポリペプチドを指す記述は、ペプチドの記述及びタンパク質の記述に等しくあてはまり、逆もまた同様である。この用語は、１つ以上のアミノ酸残基が非天然でコードされたアミノ酸である、天然アミノ酸重合体及びアミノ酸重合体にあてはまる。本明細書で使用する場合、この用語は完全長タンパク質を含む任意の長さのアミノ酸鎖を包含し、アミノ酸残基は共有ペプチド結合により連結している。

【０１０８】

用語「アミノ酸」とは、天然及び非天然アミノ酸、並びに天然アミノ酸に似た方法で機能するアミノ酸類似体及びアミノ酸模倣物質を意味する。天然にコードされたアミノ酸は２０種類の一般的なアミノ酸（アラニン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン、グルタミン酸、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、フェニルアラニン、プラリーヌ、セリン、トレオニン、トリプトファン、チロシン及びバリン）並びにピロリシン及びセレノシステインである。アミノ酸類似体とは、天然アミノ酸と同一の基本化学構造、即ち、水素に結合した炭素、カルボ

キシル基、アミノ基、及びＲ基を有する化合物、例えばホモセリン、ノルロイシン、メチオニンスルホキシド、メチオニンメチルスルホニウムを意味する。かかる類似体は修飾Ｒ基（ノルロイシン等）または修飾したペプチド骨格を有するが、天然アミノ酸と同一の基本化学構造を保持する。アミノ酸への言及は、例えば天然のタンパク新生Ｌ－アミノ酸；アミノ酸変異体及び誘導体等の、化学修飾アミノ酸であるＤ－アミノ酸；β－アラニン、オルニチン等の、天然の非タンパク新生アミノ酸；並びに当該技術分野において既知の特性を有する、化学合成してアミノ酸の特徴を示す化合物を含む。非天然アミノ酸の例としては、α－メチルアミノ酸（例えばα－メチルアラニン）、Ｄ－アミノ酸、ヒスチジン様アミノ酸（例えば２－アミノ－ヒスチジン、β－ヒドロキシ－ヒスチジン、ホモヒスチジン）、側鎖中に余分なメチレンを有するアミノ酸（「ホモ」アミノ酸）、及び側鎖中のカルボン酸官能基がスルホン酸基に置換されているアミノ酸（例えばシステイン酸）が挙げられるが、これらに限定されない。合成した非内在性アミノ酸、置換アミノ酸、または１種以上のＤアミノ酸を含む非天然アミノ酸を本発明のタンパク質に組み込むことは、多数の異なる方法において有利であり得る。Ｄ－アミノ酸含有ペプチド等は、Ｌ－アミノ酸含有対応物と比べて、インビトロまたはインビボでの増大した安定性を示す。したがって、Ｄ－アミノ酸を組み込んだペプチド等の構築物は、一層大きな細胞内安定性が所望されるか、または必要とされる場合に、特に有用であることができる。より具体的には、Ｄ－ペプチド等は内因性ペプチダーゼ及びプロテアーゼに対して耐性があるため、かかる性質が所望される場合、分子の向上した生物学的利用能、及びインビボにおいて伸びた寿命を付与する。更に、Ｄ－ペプチド等は、主要組織適合遺伝子複合体クラスＩＩ拘束性のＴヘルパー細胞への提示に対して、効率的に処理されることができないため、生命体全体において体液性免疫反応を誘発しにくい。

【０１０９】

本明細書で使用する場合、用語「エンジニアリングする、エンジニアリングされた、エンジニアリング」とは、ペプチド骨格の任意の操作、または天然もしくは組換えポリペプチドもしくはこれらの断片の翻訳後修飾を含むと考えられる。エンジニアリングは、アミノ酸配列、グリコシル化パターン、または個々のアミノ酸の側鎖基の修飾、及びこれらのアプローチの組み合わせを含む。エンジニアリングされたタンパク質は標準的な分子生物学技術により発現及び製造される。

【０１１０】

本発明には、抗原結合構築物のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた含まれる。用語「ポリヌクレオチド」または「ヌクレオチド配列」は、２つ以上のヌクレオチド分子が連続する区域を示すことを意味する。ヌクレオチド配列はゲノム、ｃＤＮＡ、ＲＮＡ、半合成または合成由来、またはこれらの任意の組み合わせであってよい。

【０１１１】

「単離された核酸分子またはポリヌクレオチド」は、その自然環境から取り出された核酸分子、ＤＮＡまたはＲＮＡを指すことを目的としている。例えば、ベクター中に含まれるポリペプチドをコードする組換えポリヌクレオチドは、単離していると考えられる。単離されたポリヌクレオチドの更なる例としては、異種宿主細胞内に保持される組換えポリヌクレオチド、または溶液中の（部分的にまたは実質的に）精製されたポリヌクレオチドが挙げられる。単離されたポリヌクレオチドは、通常はポリヌクレオチド分子を含む細胞中に含まれるポリヌクレオチド分子を含むが、ポリヌクレオチド分子は、染色体外に、または天然の染色体位置とは異なる染色体位置に存在する。単離されたＲＮＡ分子は、インビボまたはインビトロのＲＮＡ転写産物、並びにプラス及びマイナス鎖形態、並びに二本鎖形態を含む。本明細書に記載される単離されたポリヌクレオチドまたは核酸は更に、合成により、例えばＰＣＲまたは化学合成により作製したかかる分子を含む。加えて、ある種の実施形態において、ポリヌクレオチドまたは核酸は、プロモーター、リボソーム結合部位、または転写ターミネーター等の調節エレメントを含む。

【０１１２】

用語「ポリメラーゼ連鎖反応」または「ＰＣＲ」とは、一般に、例えば米国特許４，６

８３，１９５に記載されているような、インビトロで所望のヌクレオチド配列を増幅する方法を意味する。一般に、ＰＣＲ法は、鋳型核酸と優先的にハイブリダイゼーション可能なオリゴヌクレオチドプライマーを使用する、プライマー伸長合成の反復サイクルを伴う。

【０１１３】

本発明の参照ヌクレオチド配列に対して少なくとも、例えば９５％「同一」であるヌクレオチド配列を有する核酸またはポリヌクレオチドは、ポリヌクレオチド配列が、参照ヌクレオチド配列の各１００ヌクレオチドあたり、最大５つの点突然変異を含む場合があることを除いて、ポリヌクレオチドのヌクレオチド配列が参照配列と同一であることを意味する。換言すれば、参照ヌクレオチド配列に少なくとも９５％同一であるヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドを得るために、参照配列中のヌクレオチドの最大５％が失われるか、もしくは別のヌクレオチドと置換されてよく、または、参照配列中の全ヌクレオチドのうちのいくつか、最大５％のヌクレオチドが、参照配列に挿入されてよい。これらの参照配列の変更は、参照ヌクレオチド配列の５'もしくは３'位置で、または、これらの末端位置の間の任意の箇所で生じてよく、参照配列中の残基間に別々に、または参照配列内の１つ以上の連続した基の中に分散している。実際には、任意の特定のポリヌクレオチド配列が、本発明のヌクレオチド配列に少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％または９９％同一であるかどうかは、従来より使用される、例えばポリペプチドに関して上述したようなもの（例えばＡＬＩＧＮ－２）等の周知のコンピュータプログラムにより測定することができる。

【０１１４】

ポリペプチド誘導体または変異体は、誘導体または変異体のアミノ酸配列が、もとのペプチドの１００のアミノ酸配列と少なくとも５０％の同一性を有しているのであれば、ペプチドと「相同性」を共有しているか、または「相同である」と言われる。ある種の実施形態において、誘導体または変異体は、誘導体として同一数のアミノ酸残基を有するペプチド、またはペプチド断片のいずれかの配列と、少なくとも７５％同一である。ある種の実施形態において、誘導体または変異体は、誘導体として同一数のアミノ酸残基を有するペプチド、またはペプチド断片のいずれかの配列と、少なくとも８５％同一である。ある種の実施形態において、誘導体のアミノ酸配列は、誘導体として同一数のアミノ酸残基を有するペプチド、またはペプチド断片と少なくとも９０％同一である。いくつかの実施形態では、誘導体のアミノ酸配列は、誘導体として同一数のアミノ酸残基を有するペプチド、またはペプチド断片と少なくとも９５％同一である。ある種の実施形態において、誘導体または変異体は、誘導体として同一数のアミノ酸残基を有するペプチド、またはペプチド断片のいずれかの配列と、少なくとも９９％同一である。

【０１１５】

「保存的修飾された変異体」は、アミノ酸と核酸配列の両方に当てはまる。特定の核酸配列に関して、「保存的修飾された変異体」とは、同一または本質的に同一であるアミノ酸配列をコードするこれらの核酸、または核酸が、本質的に同一である配列についてあるアミノ酸配列をコードしない場合を意味する。遺伝暗号の縮退のため、機能が同一の多数の核酸は、任意の所与のタンパク質をコードする。例えば、コドンＧＣＡ、ＧＣＣ、ＧＣＧ及びＧＣＵは全て、アミノ酸のアラニンをコードする。したがって、コドンによりアラニンが指定される全ての位置において、コドンは、コードされたポリペプチドを変更することなく、記載された対応するコドンのいずれかと変更することができる。かかる核酸変異は「サイレント変異」であり、保存的修飾された変異の１つの種である。本明細書における、ポリペプチドをコードする全ての核酸配列はまた、核酸の全ての可能なサイレント変異についても記載している。当業者は、核酸内の各コドン（メチオニンに対する通常唯一のコドンであるＡＵＧ、及びトリプトファンに対する通常唯一のコドンであるＴＧＧを除く）を修飾して、機能的に同一である分子を得ることができることを理解するであろう。したがって、ポリペプチドをコードする核酸の各サイレント変異は、記載された各配列に内在する。

【０１１６】
アミノ酸配列に関して、当業者は、コードした配列において単一のアミノ酸または小さな割合のアミノ酸を変更、付加もしくは欠失する、核酸、ペプチド、ポリペプチド、またはタンパク質配列へのそれぞれの置換、欠失または付加は、変更が、アミノ酸の欠失、アミノ酸の付加、またはアミノ酸の、化学的に類似のアミノ酸との置換をもたらす「保存的修飾された変異体」であることを理解するであろう。機能的に同一のアミノ酸を提供する保存的置換表は、当業者に知られている。このような保存的修飾した変異体としては、本発明の多型変異体、種間同族体、及び対立遺伝子が挙げられる。
【０１１７】
機能的に同一のアミノ酸を提供する保存的置換表は、当業者に知られている。以下の８つの群はそれぞれ、互いに保存的置換であるアミノ酸を含有する。
１）アラニン（Ａ）、グリシン（Ｇ）；
２）アスパラギン酸（Ｄ）、グルタミン酸（Ｅ）；
３）アスパラギン（Ｎ）、グルタミン（Ｑ）；
４）アルギニン（Ｒ）、リジン（Ｋ）；
５）イソロイシン（Ｉ）、ロイシン（Ｌ）、メチオニン（Ｍ）、バリン（Ｖ）；
６）フェニルアラニン（Ｆ）、チロシン（Ｙ）、トリプトファン（Ｗ）；
７）セリン（Ｓ）、スレオニン（Ｔ）；及び
８）システイン（Ｃ）、メチオニン（Ｍ）
（例えば、Ｃｒｅｉｇｈｔｏｎ，Ｐｒｏｔｅｉｎｓ：Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅｓ ａｎｄ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｐｒｏｐｅｒｔｉｅｓ（Ｗ Ｈ Ｆｒｅｅｍａｎ＆Ｃｏ．；２ｎｄ ｅｄｉｔｉｏｎ（Ｄｅｃｅｍｂｅｒ １９９３））を参照のこと。）
【０１１８】
２つ以上の核酸またはポリペプチド配列の関係において、用語「同一の」またはパーセント「同一性」とは、同じである２つ以上の配列または部分配列を意味する。比較ウィンドウ、つまり以下の配列比較アルゴリズム（もしくは当業者が入手可能な他のアルゴリズム）の１つを用いるか、または手作業での配列比較及び目視により測定した指定領域に関する最大の対応関係について、比較して整列させた際に、同一であるアミノ酸残基またはヌクレオチドの割合を有する場合（即ち、指定領域において約５０％の同一性、約５５％の同一性、約６０％の同一性、約６５％の同一性、約７０％の同一性、約７５％の同一性、約８０％の同一性、約８５％の同一性、約９０％の同一性、または約９５％の同一性）、配列は「実質的に同一」である。本定義はまた、試験配列の相補体も指す。同一性は、少なくとも約５０個の長さのアミノ酸もしくはヌクレオチドである領域にわたり、または少なくとも７５～１００個の長さのアミノ酸もしくはヌクレオチドの領域にわたり、または指定しない場合、ポリヌクレオチドもしくはポリペプチドの配列全体にまたがり、存在することができる。ヒト以外の種の同族体を含む、本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドは、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で、本発明のポリヌクレオチド配列またはその断片を有する標識したプローブによりライブラリーをスクリーニングし、かつ前記ポリヌクレオチド配列を含む完全長ｃＤＮＡ及びゲノムクローンを単離する工程を含むプロセスにより入手してよい。かかるハイブリダイゼーション技術は当事者によく知られている。
【０１１９】
語句「選択的に（または特異的に）ハイブリダイズする」とは、その配列が複合体混合物（細胞全体またはライブラリーＤＮＡもしくはＲＮＡを含むがこれらに限定されない）中に存在する際に、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で特定のヌクレオチド配列のみに、分子が結合、二本鎖形成、またはハイブリダイズすることを意味する。
【０１２０】
語句「ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件」とは、当技術分野において既知である低イオン強度及び高温の条件下における、ＤＮＡ配列、ＲＮＡ配列、もしくは他の核酸配列、またはこれらの組み合わせのハイブリダイゼーションを意味する。通常、ス

トリンジェントな条件下で、プローブは、核酸（細胞全体またはライブラリーＤＮＡもしくはＲＮＡを含むがこれらに限定されない）の複合体混合物中の標的部分配列とハイブリダイズするが、複合体混合物中の他の配列とはハイブリダイズしない。ストリンジェントな条件は配列に依存し、異なる状況では別のものとなる。より長い配列は、より高温で特異的にハイブリダイズする。核酸のハイブリダイゼーションについての大規模な手引きは、Ｔｉｊｓｓｅｎ，Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ ｉｎ Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ａｎｄ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ－－Ｈｙｂｒｉｄｉｚａｔｉｏｎ ｗｉｔｈ Ｎｕｃｌｅｉｃ Ｐｒｏｂｅｓ，"Ｏｖｅｒｖｉｅｗ ｏｆ ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ｏｆ ｈｙｂｒｉｄｉｚａｔｉｏｎ ａｎｄ ｔｈｅ ｓｔｒａｔｅｇｙ ｏｆ ｎｕｃｌｅｉｃ ａｃｉｄ ａｓｓａｙｓ"（１９９３）に見出される。

【０１２１】

抗原結合構築物の組換え及び合成による作製方法：

宿主細胞内でポリペプチドを発現することにより抗原結合構築物を作製する方法もまた本明細書に記載する。

【０１２２】

用語「発現カセット」とは、標的細胞内の特定の核酸の転写を可能にする特定の一連の核酸エレメントによって、組換えまたは合成により生成したポリヌクレオチドを意味する。組換え発現カセットはプラスミド、染色体、ミトコンドリアＤＮＡ、色素体ＤＮＡ、ウイルス、または核酸断片に組み込むことが可能である。通常、発現ベクターの組換え発現カセット部分は、他の配列内に、転写される核酸配列及びプロモーターを含む。ある種の実施形態において、本発明の発現カセットは、本発明の二重特異的抗原結合分子またはその断片をコードするポリヌクレオチド配列を含む。

【０１２３】

用語「ベクター」または「発現ベクター」は「発現構築物」と同義であり、標的細胞中で特異的遺伝子と機能的に関連してその発現を導入及び誘導するのに使用されるＤＮＡ分子を意味する。この用語は自己複製核酸構造としてのベクター、及び宿主細胞のゲノムに組み込まれている既に導入されたベクターを含む。本発明の発現ベクターは、発現カセットを含む。発現ベクターは、多量の安定なｍＲＮＡの転写を可能にする。発現ベクターが標的細胞内に入ると、遺伝子によりコードされるリボ核酸分子またはタンパク質が、細胞転写及び／または翻訳機構により作製される。一実施形態では、本発明の発現ベクターは、本発明の二重特異的抗原結合分子またはその断片をコードするポリヌクレオチド配列を含む発現カセットを含む。

【０１２４】

「細胞」、「宿主細胞」及び「細胞株」は、本明細書では同じ意味で用いられ、かかる全ての用語は、細胞増殖または培養から得られた後代を含むと理解されなければならない。「形質転換」及び「トランスフェクション」は同じ意味で用いられ、細胞内にＤＮＡを導入するプロセスを意味する。

【０１２５】

用語「宿主細胞」、「宿主細胞株」、及び「宿主細胞培養」は同じ意味で用いられ、外因性核酸が導入された細胞を意味し、かかる細胞の後代を含む。宿主細胞は「形質転換体」及び「形質転換細胞」を含み、これらは初代形質転換細胞、及び継代数に関係なく、これらに由来する後代を含む。ある種の実施形態において、後代は親細胞と核酸含有量が完全に同一であるわけではなく、変異を含む場合がある。元の形質転換細胞でスクリーニングした、または選択したものと同じ機能または生物活性を有する変異後代が、本明細書に含まれる。宿主細胞は、本発明の二重特異的抗原結合分子を生成するのに使用することができる任意の種類の細胞系である。宿主細胞としては、ほんのわずかの例を挙げると、ＣＨＯ細胞、ＢＨＫ細胞、ＮＳ０細胞、ＳＰ２／０細胞、ＹＯ骨髄腫細胞、Ｐ３Ｘ６３マウス骨髄腫細胞、ＰＥＲ細胞、ＰＥＲ．Ｃ６細胞またはハイブリドーマ細胞、酵母菌、昆虫細胞及び植物細胞等の、例えば哺乳類培養細胞といった培養細胞が挙げられ、トランスジェニック動物、トランスジェニック植物または培養植物もしくは動物組織内に含まれる細

胞もまた挙げられる。

【０１２６】

安定した哺乳類細胞内で、本明細書に記載した抗原結合構築物を含有する発現生成物の作製方法を提供する。該方法は少なくとも１つの哺乳動物細胞に、前記第１のポリペプチド構築物をコードする少なくとも第１のＤＮＡ配列、及び前記第２のポリペプチド構築物をコードする少なくとも第２のＤＮＡ配列を、前記少なくとも１つの第１のＤＮＡ配列、前記少なくとも１つの第２のＤＮＡ配列が、前記少なくとも１つの哺乳動物細胞内に所定の割合でトランスフェクションされ安定した哺乳類細胞を生成するようにトランスフェクションすること；前記安定した哺乳類細胞を培養して、前記抗原結合構築物を含む前記発現生成物を作製することを含む。ある種の実施形態において、少なくとも１つの第１のＤＮＡ配列と、少なくとも１つの第２のＤＮＡ配列の前記所定の割合は、約１：１である。他の特定の実施形態において、少なくとも１つの第１のＤＮＡ配列と、少なくとも１つの第２のＤＮＡ配列の前記所定の割合は、該１つの第１のＤＮＡ配列が、例えば約２：１といったより大きな量となるように非対称となる。更に他の実施形態では、少なくとも１つの第１のＤＮＡ配列と、少なくとも１つの第２のＤＮＡ配列の前記所定の割合は、該１つの第１のＤＮＡ配列が、例えば約１：２といったより大きな量となるように非対称となる。選択的実施形態では、哺乳動物細胞は、ＶＥＲＯ、ＨｅＬａ、ＨＥＫ、ＮＳ０、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）、Ｗ１３８、ＢＨＫ、ＣＯＳ－７、Ｃａｃｏ－２及びＭＤＣＫ細胞、並びにこれらのサブクラス及び変異体からなる群から選択される。

【０１２７】

ある種の実施形態は、酵母菌、細菌等の微生物、またはヒトもしくは動物細胞株からの分泌による組換え分子として作製される抗原結合構築物である。実施形態において、ポリペプチドは宿主細胞から分泌される。

【０１２８】

実施形態としては、形質転換して本明細書に記載される抗原結合構築物タンパク質を発現する酵母細胞等の細胞が挙げられる。形質転換した宿主細胞そのものに加え、これらの細胞の培養物、好ましくは、培養液中の単一クローン性の（クローンが均質な）培養物、または単一クローン性の培養物に由来する培養物を提供する。ポリペプチドが分泌されると、細胞と共に、または細胞が濾過または遠心分離されると細胞を含まずに、培地にはポリペプチドが含まれるであろう。多くの発現系が知られており、細菌（例えば大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）及びバチルス・ズブチルス（Ｂａｃｉｌｌｕｓ ｓｕｂｔｉｌｉｓ））、酵母菌（例えばサッカロマイセス・セレビジエ（Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ）、クルイベロマイセス・ラクティス（Ｋｌｕｙｖｅｒｏｍｙｃｅｓ ｌａｃｔｉｓ）及びピキア・パストリス（Ｐｉｃｈｉａ ｐａｓｔｏｒｉｓ））、糸状菌（例えばアスペルギルス（Ａｓｐｅｒｇｉｌｌｕｓ））、植物細胞、動物細胞並びに昆虫細胞を含めて使用してよい。

【０１２９】

本明細書に記載される抗原結合構築物は従来の方法で、例えば宿主染色体に挿入されたコード配列、または遊離プラスミド上のコード配列から作製される。酵母菌は、例えばエレクトロポレーション等の有用な任意の方法により、所望のタンパク質に対するコード配列で形質転換される。エレクトロポレーションによる酵母菌の形質転換方法は、Ｂｅｃｋｅｒ ＆ Ｇｕａｒｅｎｔｅ（１９９０）Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｅｎｚｙｍｏｌ．１９４，１８２に開示されている。

【０１３０】

形質転換に成功した細胞、即ち本発明のＤＮＡ構築物を含有する細胞は、周知の技術により同定することができる。例えば、発現構築物の導入により生じた細胞を増殖させて、所望のポリペプチドを生成することができる。細胞を採取して溶解させることができ、ＤＮＡの存在を確認するために、Ｓｏｕｔｈｅｒｎ（１９７５）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．９８，５０３またはＢｅｒｅｎｔ ｅｔ ａｌ．（１９８５）Ｂｉｏｔｅｃｈ．３，２０８により記載されているもの等の技術を用いて、これらのＤＮＡ含有量を調査した。あるい

は、上清中のタンパク質の存在を、抗体を用いて検出することができる。

【０１３１】

有用な酵母菌プラスミドベクターとしては、ｐＲＳ４０３－４０６及びｐＲＳ４１３－４１６が挙げられ、通常、Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅ Ｃｌｏｎｉｎｇ Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｌａ Ｊｏｌｌａ，Ｃａｌｉｆ．９２０３７，ＵＳＡから入手することができる。プラスミドｐＲＳ４０３、ｐＲＳ４０４、ｐＲＳ４０５及びｐＲＳ４０６は酵母組込み型プラスミド（ＹＩｐ）であり、酵母菌選択マーカーであるＨＩＳ３、７ＲＰ１、ＬＥＵ２及びＵＲＡ３を組み込む。プラスミドｐＲＳ４１３－４１６は、酵母菌セントロメアプラスミド（Ｙｃｐ）である。

【０１３２】

相補的付着端を介して、ＤＮＡをベクターと機能的に連結する種々の方法が開発されてきた。例えば、相補的感光重合体域（ｐｈｏｔｏｐｏｌｙｍｅｒ ｔｒａｃｔｓ）を、ベクターＤＮＡに挿入されるＤＮＡセグメントに添加することができる。ベクターとＤＮＡセグメントは次に、相補的ホモポリマーの尾部間の水素結合により結合して、組換えＤＮＡ分子を形成する。

【０１３３】

１つ以上の制限酵素切断部位を含有する合成リンカーは、ＤＮＡセグメントをベクターに結合させる、代わりの方法を提供する。突起状の単鎖末端を３'５'ヌクレオチド鎖分解性活性で除去し、くぼんだ３'端に重合活性を埋め込む酵素である、バクテリオファージＴ４　ＤＮＡポリメラーゼまたは大腸菌ＤＮＡポリメラーゼ１で、エンドヌクレアーゼ制限消化により作製したＤＮＡセグメントを処理する。

【０１３４】

これらの活性の組み合わせはそれ故、平滑末端のＤＮＡセグメントを作製する。平滑末端のセグメントを次いで、平滑末端のＤＮＡ分子のライゲーションを触媒することが可能な酵素、例えばバクテリオファージＴ４　ＤＮＡリガーゼの存在下で、大過剰モル濃度のリンカー分子とインキュベーションする。したがって反応生成物は、端に高分子リンカー配列を担持するＤＮＡセグメントである。これらのＤＮＡセグメントを次に、適切な制限酵素で切断し、これらのＤＮＡセグメントと適合性のある末端を作製する酵素により切断された発現ベクターと連結した。

【０１３５】

種々の制限エンドヌクレアーゼ部位を含有する合成リンカーは、Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｈａｖｅｎ，Ｃｏｎｎ．，ＵＳＡを含む多数の供給元から商業的に入手可能である。

【０１３６】

タンパク質の発現のための宿主として、本発明の実践に有用と考えられる酵母菌の代表的な属は、ピキア（Ｐｉｃｈｕａ）（以前はハンゼヌラ（Ｈａｎｓｅｎｕｌａ）として分類されていた）、サッカロマイセス（Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ）、クリベロミセス（Ｋｌｕｙｖｅｒｏｍｙｃｅｓ）、アスペルギルス（Ａｓｐｅｒｇｉｌｌｕｓ）、カンジダ（Ｃａｎｄｉｄａ）、トルロプシス（Ｔｏｒｕｌｏｐｓｉｓ）、トルラスポラ（Ｔｏｒｕｌａｓｐｏｒａ）、シゾサッカロマイセス（Ｓｃｈｉｚｏｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ）、シテロマイセス（Ｃｉｔｅｒｏｍｙｃｅｓ）、パチソレン（Ｐａｃｈｙｓｏｌｅｎ）、ジゴサッカロマイセス（Ｚｙｇｏｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ）、デバロマイセス（Ｄｅｂａｒｏｍｙｃｅｓ）、トリコデルマ（Ｔｒｉｃｈｏｄｅｒｍａ）、セファロスポリウム（Ｃｅｐｈａｌｏｓｐｏｒｉｕｍ）、フミコラ（Ｈｕｍｉｃｏｌａ）、ムコール（Ｍｕｃｏｒ）、ニューロスポラ（Ｎｅｕｒｏｓｐｏｒａ）、ヤロウィア（Ｙａｒｒｏｗｉａ）、メチニコビア（Ｍｅｔｓｃｈｕｎｉｋｏｗｉａ）、ロドスポリジウム（Ｒｈｏｄｏｓｐｏｒｉｄｉｕｍ）、レウコスポリディウム（Ｌｅｕｃｏｓｐｏｒｉｄｉｕｍ）、ボトリオアスカス（Ｂｏｔｒｙｏａｓｃｕｓ）、スポリデオボルス（Ｓｐｏｒｉｄｉｏｂｏｌｕｓ）、エンドミコプシス（Ｅｎｄｏｍｙｃｏｐｓｉｓ）等である。好ましい属は、サッカロマイセス、シキゾサッカロマイセス、クリベロミセス、ピキア及びトルラスポラからなる群

から選択されるものである。サッカロマイセスｓｐｐの例はＳ．セレビジエ（Ｓ．ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ）、Ｓ．イタリクス（Ｓ．ｉｔａｌｉｃｕｓ）及びＳ．ルーキシイ（Ｓ．ｒｏｕｘｉｉ）である。

【０１３７】

クリベロミセスｓｐｐの例はＫ．フラジリス（Ｋ．ｆｒａｇｉｌｉｓ）、Ｋ．ラクティス（Ｋ．ｌａｃｔｉｓ）及びＫ．マーキシアヌス（Ｋ．ｍａｒｘｉａｎｕｓ）である。好適なトルラスポラ種はＴ．デルブリュッキ（Ｔ．ｄｅｌｂｒｕｅｃｋｉｉ）である。ピキア（ハンゼヌラ）の例はＰ．アングスタ（Ｐ．ａｎｇｕｓｔａ（以前のＨ．ポリモルファ（Ｈ．ｐｏｌｙｍｏｒｐｈａ））、Ｐ．アノマラ（Ｐ．ａｎｏｍａｌａ（以前のＨ．アノマラ（Ｈ．ａｎｏｍａｌａ））、及びＰ．パストリス（Ｐ．ｐａｓｔｏｒｉｓ）である。Ｓ．セレビジエ（Ｓ．ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ）の形質転換方法は一般に、ＥＰ２５１７４４、ＥＰ２５８０６７及びＷＯ９０／０１０６３に教示されている。

【０１３８】

本明細書に記載される抗原結合構築物の合成に有用なサッカロマイセスの代表的な種としては、Ｓ．セレビジエ（Ｓ．ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ）、Ｓ．イタリクス（Ｓ．ｉｔａｌｉｃｕｓ）、Ｓ．ジアスタティカス（Ｓ．ｄｉａｓｔａｔｉｃｕｓ）、及びザイゴサッカロミセス・ルーキシイ（Ｚｙｇｏｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ　ｒｏｕｘｉｉ）が挙げられる。クリベロミセスの好ましい代表的な種としては、Ｋ．フラジリス（Ｋ．ｆｒａｇｉｌｉｓ）及びＫ．ラクティス（Ｋ．ｌａｃｔｉｓ）が挙げられる。ハンゼヌラの好ましい代表的な種としては、Ｈ．ポリモルファ（Ｈ．ｐｏｌｙｍｏｒｐｈａ（現在はピキア・アングスタ（Ｐｉｃｈｉａ　ａｎｇｕｓｔａ））、Ｈ．アノマラ（Ｈ．ａｎｏｍａｌａ（現在はピキア・アノマラ（Ｐｉｃｈｉａ　ａｎｏｍａｌａ））、及びピキア・カプスラータ（Ｐｉｃｈｉａ　ｃａｐｓｕｌａｔａ）が挙げられる。ピキアの更なる好ましい代表的な種としては、Ｐ．パストリス（Ｐ．ｐａｓｔｏｒｉｓ）が挙げられる。アスペルギルスの好ましい代表的な種としては、Ａ．ニガー（Ａ．ｎｉｇｅｒ）及びＡ．ニデュランス（Ａ．ｎｉｄｕｌａｎｓ）が挙げられる。ヤロウィアの好ましい代表的な種としては、Ｙ．リポリティカ（Ｙ．ｌｉｐｏｌｙｔｉｃａ）が挙げられる。多くの好ましい酵母菌種は、ＡＴＣＣから入手可能である。例えば、以下の好ましい酵母菌種はＡＴＣＣから入手可能であり、タンパク質のタンパク質類に有用である：サッカロマイセス・セレヴィシエ、ハンセン（Ｈａｎｓｅｎ）、テレオモルフ株ＢＹ４７４３　ｙａｐ３変異体（ＡＴＣＣアクセッション番号４０２２７３１）；サッカロマイセス・セレヴィシエ ハンセン、テレオモルフ株ＢＹ４７４３　ｈｓｐ１５０変異体（ＡＴＣＣアクセッション番号４０２１２６６）；サッカロマイセス・セレヴィシエ ハンセン、テレオモルフ株ＢＹ４７４３　ｐｍｔ１変異体（ＡＴＣＣアクセッション番号４０２３７９２）；サッカロマイセス・セレビジエ ハンセン、テレオモルフ（ＡＴＣＣ番号２０６２６；４４７７３；４４７７４；及び６２９９５）；サッカロマイセス・ジアスタティカス（Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ　ｄｉａｓｔａｔｉｃｕｓ）　Ａｎｄｒｅｗｓ　ｅｔ　Ｇｉｌｌｉｌａｎｄ　ｅｘ　ｖａｎ　ｄｅｒ　Ｗａｌｔ、テレオモルフ（ＡＴＣＣアクセッション番号６２９８７）；クルイベロマイセス・ラクティス（Ｄｏｍｂｒｏｗｓｋｉ）ｖａｎ　ｄｅｒ　Ｗａｌｔテレオモルフ（ＡＴＣＣアクセッション番号７６４９２）；ピキア・アングスタ（Ｐｉｃｈｉａ　ａｎｇｕｓｔａ（Ｔｅｕｎｉｓｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．）Ｋｕｒｔｚｍａｎ、ハンゼヌラ・ポリモルファ（Ｈａｎｓｅｎｕｌａ　ｐｏｌｙｍｏｒｐｈａ）　ｄｅ　Ｍｏｒａｉｓ　ｅｔ　Ｍａｉａとして蓄積されるテレオモルフ、テレオモルフ（ＡＴＣＣアクセッション番号２６０１２）；アスペルギルス・ニガー（Ａｓｐｅｒｇｉｌｌｕｓ　ｎｉｇｅｒ）　ｖａｎ　Ｔｉｅｇｈｅｍ、アナモルフ（ＡＴＣＣアクセッション番号９０２９）；アスペルギルス・ニガー（Ａｓｐｅｒｇｉｌｌｕｓ　ｎｉｇｅｒ）　ｖａｎ　Ｔｉｅｇｈｅｍ、アナモルフ（ＡＴＣＣアクセッション番号１６４０４）；アスペルギルス・ニデュランス（Ａｓｐｅｒｇｉｌｌｕｓ　ｎｉｄｕｌａｎｓ）（Ｅｉｄａｍ）　Ｗｉｎｔｅｒ、アナモルフ（ＡＴＣＣアクセッション番号４８７５６）；並びにヤロウカ・リポリティカ（Ｙａｒｒｏｗｉａ　ｌｉｐｏｌｙｔｉｃａ）（Ｗｉｃｋｅｒｈａｍ　ｅｔ　ａｌ．）ｖａｎ

ｄｅｒ Ｗａｌｔ ｅｔ ｖｏｎ Ａｒｘ、テレオモルフ（ＡＴＣＣアクセッション番号２０１８４７）。

【０１３９】

Ｓ．セレビジエ（Ｓ．ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ）の好適なプロモーターとしては、ＰＧＫＩ遺伝子、ＧＡＬ１またはＧＡＬ１０遺伝子、ＣＹＣＩ、ＰＨ０５、ＴＲＰ１、ＡＤＨ１、ＡＤＨ２、グリセルアルデヒド－３－リン酸デヒドロゲナーゼ、ヘキソキナーゼ、ピルビン酸デカルボキシラーゼ、ホスホフルクトキナーゼ、トリオースリン酸イソメラーゼ、ホスホグルコースイソメラーゼ、グルコキナーゼ、α－接合因子フェロモン（ｍａｔｉｎｇ ｆａｃｔｏｒ ｐｈｅｒｏｍｏｎｅ）［α接合因子フェロモン］、ＰＲＢＩプロモーター、ＧＵＴ２プロモーター、ＧＰＤＩプロモーター、５'調節領域の一部と、他のプロモーターの５'調節領域、または上流活性化部位（例えばＥＰ－Ａ－２５８０６７のプロモーター）とのハイブリッドを含むハイブリッドプロモーターに対する遺伝子と会合するものが挙げられる。

【０１４０】

シゾサッカロミセス・ポンベ（Ｓｃｈｉｚｏｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ ｐｏｍｂｅ）において使用するのに便利な調節可能プロモーターは、Ｍａｕｎｄｒｅｌｌ（１９９０）Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２６５，１０８５７－１０８６４に記載されているｎｍｔ遺伝子からのチアミン抑制プロモーター、及びＨｏｆｆｍａｎ ＆ Ｗｉｎｓｔｏｎ（１９９０）Ｇｅｎｅｔｉｃｓ １２４，８０７－８１６に記載されているグルコース抑圧ｊｂｐｌ遺伝子プロモーターである。

【０１４１】

外来遺伝子の発現用にピキアを形質転換する方法は、例えばＣｒｅｇｇ ｅｔ ａｌ．（１９９３）、及び種々のＰｈｉｌｌｉｐｓの特許（例えば米国特許４，８５７，４６７、参照として本明細書に組み込まれている）に教示され、かつ、ピキア発現キットはＩｎｖｉｔｒｏｇｅｎ ＢＶ，Ｌｅｅｋ，Ｎｅｔｈｅｒｌａｎｄｓ，及びＩｎｖｉｔｒｏｇｅｎ Ｃｏｒｐ．，Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，Ｃａｌｉｆから市販されている。好適なプロモーターとしては、ＡＯＸ１及びＡＯＸ２が挙げられる。Ｇｌｅｅｓｏｎ ｅｔ ａｌ．（１９８６）Ｊ．Ｇｅｎ．Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．１３２，３４５９－３４６５は、ハンゼヌラベクター及び形質転換の情報を含み、好適なプロモーターはＭＯＸ１及びＦＭＤ１である；一方、Ｒｈｏｎｅ－Ｐｏｕｌｅｎｃ ＲｏｒｅｒのＥＰ３６１９９１，Ｆｌｅｅｒ ｅｔ ａｌ．（１９９１）及び他の広報は、クリベロミセスｓｐｐ内での外来タンパク質の発現方法、及び好適なプロモーターがＰＧＫＩであることを教示している。

【０１４２】

転写終結シグナルは、転写終結及びポリアデニル化のための適切なシグナルを含む、真核細胞遺伝子の３'隣接配列であることが好ましい。好適な３'隣接配列は例えば、使用される発現制御配列に自然に結合した遺伝子の配列であってよい、即ち、プロモーターに対応してよい。あるいは、Ｓ．セレビジエ（Ｓ．ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ） ＡＤＨＩの終結シグナルが好ましい場合は異なってよい。

【０１４３】

ある種の実施形態において、選択した酵母菌内で効果的な任意のリーダーであってよい分泌リーダー配列により、所望の抗原結合構築物タンパク質がまず発現する。Ｓ．セレビジエ（Ｓ．ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ）において有用なリーダーとしては、接合因子αポリペプチド（ＭＦα－１）からのもの、及びＥＰ－Ａ－３８７３１９のハイブリッドリーダーが挙げられる。かかるリーダー（またはシグナル）は、成熟タンパク質が周囲の媒質中に放出される前に、酵母菌により切断される。更なるかかるリーダーとしては、ＪＰ６２－０９６０８６（９１１０３６５１６として認可）に記載されるＳ．セレビジエ（Ｓ．ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ）インベルターゼ（ＳＵＣ２）、酸ホスファターゼ（ＰＨ０５）、ＭＦα－１のプレ配列、０グルカナーゼ（ＢＧＬ２）及びキラー毒素；Ｓ．ジアスタティカス（Ｓ．ｄｉａｓｔａｔｉｃｕｓ）グルコアルニラーゼ（ｇｌｕｃｏａｒｎｙｌａｓｅ）Ｉｌ；Ｓ．カールスベルゲンシス（Ｓ．ｃａｒｌｓｂｅｒｇｅｎｓｉｓ）α－ガラクトシダ

ーゼ（ＭＥＬ１）；Ｋ．ラクティス（Ｋ．ｌａｃｔｉｓ）キラー毒素；並びにカンジダグルコアルニラーゼ（ｇｌｕｃｏａｒｎｙｌａｓｅ）が挙げられる。

【０１４４】

本明細書に記載される抗原結合構築物をコードするポリヌクレオチドを含有するベクター、宿主細胞、並びに合成及び組換え技術による抗原結合構築物タンパク質の作製を提供する。ベクターは例えば、ファージ、プラスミド、ウイルスまたはレトロウイルスベクターであってよい。レトロウイルスベクターは複製可能または複製欠損性であってよい。後者の場合、ウイルス増殖は通常、相補性宿主細胞内のみで発生する。

【０１４５】

ある種の実施形態において、本明細書に記載される抗原結合構築物タンパク質をコードするポリヌクレオチドは、宿主内での増殖のための選択マーカーを含有するベクターに連結される。一般に、プラスミドベクターをリン酸カルシウム沈殿物等の沈殿物中、または荷電脂質との複合体中に導入する。ベクターがウイルスであれば、適切なパッケージング用細胞株を用いてインビトロでパッケージ化し、次いで宿主細胞内に形質導入してよい。

【０１４６】

ある種の実施形態において、ポリヌクレオチド挿入断片は、数例挙げると、ファージλＰＬプロモーター、大腸菌ｌａｃ、ｔｒｐ、ｐｈｏＡ及びｒａｃプロモーター、ＳＶ４０初期及び後期プロモーター、並びにレトロウイルスＬＴＲのプロモーター等の適切なプロモーターと機能的に結合される。他の好適なプロモーターは当事者に知られるであろう。発現構築物は更に、転写開始及び終結のための部位、及び転写領域内に、翻訳のためのリボソーム結合部位を含有する。構築物により発現した転写物のコード部分は、先頭に翻訳開始コドン、及び翻訳されるポリペプチドの末端部におおよそ配置される終止コドン（ＵＡＡ、ＵＧＡまたはＵＡＧ）を含むことが好ましい。

【０１４７】

示すように、発現ベクターは少なくとも１つの選択マーカーを含むことが好ましい。かかるマーカーとしては、真核細胞培養のためのジヒドロ葉酸レダクターゼ、Ｇ４１８、グルタミンシンターゼ、またはネオマイシン耐性、並びに大腸菌及び他の細菌培養のためのテトラサイクリン、カナマイシンまたはアンピシリン耐性遺伝子が挙げられる。適切な宿主の代表例としては、大腸菌、ストレプトミセス（Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ）及びサルモネラ・ティフィムリウム（Ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ　ｔｙｐｈｉｍｕｒｉｕｍ）等の細菌細胞；酵母細胞（例えばサッカロマイセス・セレビジエまたはピキア・パストリス（ＡＴＣＣアクセッション番号２０１１７８）等）といった真菌細胞；ショウジョウバエ（Ｄｒｏｓｏｐｈｉｌａ）Ｓ２及びハスモンヨトウ（Ｓｐｏｄｏｐｔｅｒａ）Ｓｆ９細胞などの昆虫細胞；ＣＨＯ、ＣＯＳ、ＮＳＯ、２９３及びＢｏｗｅｓメラノーマ細胞等の動物細胞；並びに植物細胞が挙げられるが、これらに限定されない。上述の宿主細胞用の適切な培地及び条件は、当技術分野において既知である。

【０１４８】

細菌において使用するのが好ましいベクターとしては、ＱＩＡＧＥＮ，Ｉｎｃ．から入手可能なｐＱＥ７０、ｐＱＥ６０及びｐＱＥ－９；Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅ　Ｃｌｏｎｉｎｇ　Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｉｎｃ．から入手可能なｐＢｌｕｅｓｃｒｉｐｔベクター、Ｐｈａｇｅｓｃｒｉｐｔベクター、ｐＮＨ８Ａ、ｐＮＨ１６ａ、ｐＮＨ１８Ａ、ｐＮＨ４６Ａ；並びにＰｈａｒｍａｃｉａ　Ｂｉｏｔｅｃｈ，Ｉｎｃ．から入手可能なｐｔｒｃ９９ａ、ｐＫＫ２２３－３、ｐＫＫ２３３－３、ｐＤＲ５４０、ｐＲＩＴ５が挙げられる。好ましい真核ベクターは、Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅから入手可能なｐＷＬＮＥＯ、ｐＳＶ２ＣＡＴ、ｐＯＧ４４、ｐＸＴ１及びｐＳＧ；並びにＰｈａｒｍａｃｉａから入手可能なｐＳＶＫ３、ｐＢＰＶ、ｐＭＳＧ及びｐＳＶＬである。酵母菌系において使用する好ましい発現ベクターとしては、ｐＹＥＳ２、ｐＹＤ１、ｐＴＥＦ１／Ｚｅｏ、ｐＹＥＳ２／ＧＳ、ｐＰＩＣＺ、ｐＧＡＰＺ、ｐＧＡＰＺａｌｐｈ、ｐＰＩＣ９、ｐＰＩＣ３．５、ｐＨＩＬ－Ｄ２、ｐＨＩＬ－Ｓ１、ｐＰＩＣ３．５Ｋ、ｐＰＩＣ９Ｋ及びＰＡＯ８１５（全てＩｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡから入手可能）が挙げられるが、これらに限定さ

れない。他の好適なベクターは、当事者に速やかに明らかとなるであろう。

【０１４９】

一実施形態では、本明細書に記載される抗原結合構築物をコードするポリヌクレオチドは、原核もしくは真核細胞の特定の区画に、本発明のタンパク質を局在化させる、かつ／または原核もしくは真核細胞から本発明のタンパク質を分泌させるシグナル配列と融合される。例えば、大腸菌において、ペリプラズム空間にタンパク質の発現を行いたいと考えるかもしれない。細菌のペリプラズム空間にポリペプチドを発現させるために、抗原結合構築物タンパク質が融合したタンパク質（またはそれらの断片）のシグナル配列の例としては、ｐｅｌＢシグナル配列、マルトース結合タンパク質（ＭＢＰ）シグナル配列、ＭＢＰ、ｏｍｐＡシグナル配列、ペリプラズム性大腸菌熱不安定性エンテロトキシンＢ－サブユニットのシグナル配列、及びアルカリホスファターゼのシグナル配列が挙げられるが、これらに限定されない。Ｎｅｗ Ｅｎｇｌａｎｄ Ｂｉｏｌａｂｓから入手可能なｐＭＡＬシリーズのベクター（特にｐＭＡＬ－．ｒｈｏシリーズ）等の、タンパク質を局在化させる、融合タンパク質の構築のための幾つかのベクターは商業的に入手可能である。ある特定の実施形態では、本発明のタンパク質をコードするポリヌクレオチドは、グラム陰性菌中のかかるポリペプチドの発現及び精製効率を増加させるために、ｐｅｌＢペクチン酸リアーゼシグナル配列と融合させてもよい。米国特許番号５，５７６，１９５及び５，８４６，８１８を参照のこと（これらの内容は全体が、参照として本明細書に組み込まれる）。

【０１５０】

哺乳類細胞中で分泌を行うために、抗原結合構築物タンパク質に融合したシグナルペプチドの例としては、ＭＰＩＦ－１シグナル配列（例えばＧｅｎＢａｎｋアクセッション番号ＡＡＢ５１１３４のアミノ酸１－２１）、スタニオカルシンシグナル配列（ＭＬＱＮＳＡＶＬＬＬＬＶＩＳＡＳＡ）（配列番号：２７６）、コンセンサスシグナル配列（ＭＰＴＷＡＷＷＬＦＬＶＬＬＬＡＬＷＡＰＡＲＧ）（配列番号：２７７）が挙げられるが、これらに限定されない。バキュロウイルス発現系とともに使用してよい、好適なシグナル配列としてはｇｐ６７シグナル配列（例えばＧｅｎＢａｎｋアクセッション番号ＡＡＡ７２７５９のアミノ酸１－１９）がある。

【０１５１】

グルタミンシンターゼ（ＧＳ）またはＤＨＦＲを選択マーカーとして使用するベクターはそれぞれ、薬剤であるメチオニンスルホキシミンまたはメトトレキサートの存在下で増幅することができる。グルタミンシンターゼ系ベクターの利点は、グルタミンシンターゼ陰性の細胞株（例えばマウス骨髄腫細胞株、ＮＳＯ）を利用可能であることである。グルタミンシンターゼ発現系はまた、更なる阻害剤を与えて内因性遺伝子の機能を停止させることにより、グルタミンシンターゼ発現細胞（例えばチャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞）内でも機能することができる。グルタミンシンターゼ発現系及びそれらの構成成分は、ＰＣＴ広報：ＷＯ８７／０４４６２；ＷＯ８６／０５８０７；ＷＯ８９／１００３６；ＷＯ８９／１０４０４；及びＷＯ９１／０６６５７に詳細に記載されており、これらは全体が参照として本明細書に組み込まれている。更に、グルタミンシンターゼ発現ベクターはＬｏｎｚａ Ｂｉｏｌｏｇｉｃｓ，Ｉｎｃ．（Ｐｏｒｔｓｍｏｕｔｈ，Ｎ．Ｈ．）から入手することができる。マウス骨髄腫細胞内でのＧＳ発現系を用いたモノクローナル抗体の発現及び作製は、Ｂｅｂｂｉｎｇｔｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏ／ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ １０：１６９（１９９２）及びＢｉｂｌｉａ ａｎｄ Ｒｏｂｉｎｓｏｎ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．Ｐｒｏｇ．１１：１（１９９５）に記載されており、これらは、参照として本明細書に組み込まれる。

【０１５２】

本明細書に記載されるベクター構築物、及び更に、当業者に既知の技術を用いて１つ以上の異種制御領域（例えばプロモーター及び／またはエンハンサー）と機能的に会合したヌクレオチド配列を含有する宿主細胞もまた提供する。宿主細胞は、哺乳動物細胞（例えばヒト由来細胞）等の高等真核細胞、もしくは酵母細胞等の下等真核生物であることがで

きるか、または、宿主細胞は細菌細胞等の原核細胞であることができる。挿入遺伝子配列を調節するか、または所望の特異的な方法により遺伝子産物を修飾及び処理する宿主株を選択してよい。ある種のプロモーターからの発現は、ある種の誘導因子の存在下で増加することができるため、遺伝子組換えされたポリペプチドの発現を制御することができる。更に、異なる宿主細胞は、タンパク質の翻訳及び翻訳後プロセス、並びに修飾（例えばリン酸化及び開裂）に対して特徴及び特異的なメカニズムを有する。適切な細胞系を選択して、発現する外来タンパク質の所望の修飾及び処理を確実に行うことができる。

【０１５３】

本発明の核酸及び核酸構築物を宿主細胞に導入することは、リン酸カルシウムトランスフェクション、ＤＥＡＥ－デキストランが仲立ちするトランスフェクション、カチオン性脂質媒介性トランスフェクション、エレクトロポレーション、形質導入、感染、または他の方法により達成することが可能である。かかる方法は、Ｄａｖｉｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂａｓｉｃ　Ｍｅｔｈｏｄｓ　Ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ（１９８６）等の多くの標準的な実験室マニュアルに記載されている。本発明のポリペプチドは実際のところ、組換えベクターを欠く宿主細胞により発現される場合があることが特に検討されている。

【０１５４】

本明細書で論じたベクター構築物を含有する宿主細胞に加えて、本発明は、エンジニアリングして内因性遺伝物質を欠失もしくは置き換えた（例えば、Ｃａｒｇｏポリペプチドに対応するコード配列が、Ｃａｒｇｏポリペプチドに対応する抗原結合構築物タンパク質に置き換えられている）かつ／または遺伝物質を含む脊椎動物由来、特に哺乳類由来の初代宿主細胞、二代目宿主細胞及び不死化宿主細胞もまた包含する。内因性ポリヌクレオチドに機能的に会合した遺伝物質は内因性ポリヌクレオチドを活性化、変更、及び／または増幅してよい。

【０１５５】

更に、当該技術分野において既知の技術を使用して、相同組換えにより、異種ポリヌクレオチド（例えばタンパク質、またはその断片または変異体をコードするポリヌクレオチド）、並びに／または異種制御領域（例えばプロモーター及び／もしくはエンハンサー）を治療用タンパク質をコードする内因性ポリヌクレオチド配列と機能的に会合させてよい（例えば、１９９７年６月２４日に発行された米国特許５，６４１，６７０、国際公開番号ＷＯ９６／２９４１１；国際公開番号ＷＯ９４／１２６５０；Ｋｏｌｌｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８６：８９３２－８９３５（１９８９）；及びＺｉｊｌｓｔｒａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ　３４２：４３５－４３８（１９８９）を参照のこと：これらそれぞれの開示は、その全体が参照として組み込まれる）。

【０１５６】

硫酸アンモニウムまたはエタノール沈殿、酸抽出、アニオンまたはカチオン交換クロマトグラフィー、ホスホセルロースクロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィー、プロテインＡ等の親和性クロマトグラフィー、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィー、疎水性電荷相互作用クロマトグラフィー及びレクチンクロマトグラフィーを含む周知の方法により、組換え細胞培養物から本明細書に記載される抗原結合構築物タンパク質を回収及び精製することができる。高速液体クロマトグラフィー（「ＨＰＬＣ」）を精製のために用いるのが最も好ましい。

【０１５７】

ある種の実施形態において、Ｑ－セファロース、ＤＥＡＥセファロース、ｐｏｒｏｓ　ＨＱ、ｐｏｒｏｓ　ＤＥＡＦ、Ｔｏｙｏｐｅａｒｌ　Ｑ、Ｔｏｙｏｐｅａｒｌ　ＱＡＥ、Ｔｏｙｏｐｅａｒｌ　ＤＥＡＥ、Ｒｅｓｏｕｒｃｅ／Ｓｏｕｒｃｅ　Ｑ及びＤＥＡＥ、Ｆｒａｃｔｏｇｅｌ　Ｑ及びＤＥＡＥカラムを含むがこれらに限定されないアニオン交換クロマトグラフィーを使用して、本発明の抗原結合構築物タンパク質を精製する。

【０１５８】

特定の実施形態において、ＳＰ－セファロース、ＣＭセファロース、ｐｏｒｏｓ ＨＳ、ｐｏｒｏｓ ＣＭ、Ｔｏｙｏｐｅａｒｌ ＳＰ、Ｔｏｙｏｐｅａｒｌ ＣＭ、Ｒｅｓｏｕｒｃｅ／Ｓｏｕｒｃｅ Ｓ及びＣＭ、Ｆｒａｃｔｏｇｅｌ Ｓ及びＣＭカラム、並びにこれらの等価物及び類似物を含むがこれらに限定されないカチオン交換クロマトグラフィーを使用して、本発明のタンパク質を精製する。

【０１５９】

加えて、本明細書に記載される抗原結合構築物タンパク質は、当該技術分野において既知の技術を使用して化学的に合成することができる（例えば、Ｃｒｅｉｇｈｔｏｎ，１９８３，Ｐｒｏｔｅｉｎｓ：Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅｓ ａｎｄ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ，Ｗ．Ｈ．Ｆｒｅｅｍａｎ ＆ Ｃｏ．，Ｎ．Ｙ ａｎｄ Ｈｕｎｋａｐｉｌｌｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，３１０：１０５－１１１（１９８４）を参照のこと）。例えば、ポリペプチドの断片に対応するポリペプチドを、ペプチドシンセサイザーを使用して合成することができる。更に所望する場合、ポリペプチド配列内に置換または付加として、非古典的アミノ酸（ｎｏｎ－ｃｌａｓｓｉｃａｌ ａｍｉｎｏ ａｃｉｄｓ）または化学アミノ酸類似体を導入することができる。非古典的アミノ酸としては、一般的なアミノ酸のＤ－異性体、２，４－ジアミノ酪酸、α－アミノイソ酪酸、４－アミノ酪酸、Ａｂｕ、２－アミノ酪酸、ｇ－Ａｂｕ、ｅ－Ａｈｘ、６アミノヘキサン酸、Ａｉｂ、２－アミノイソ酪酸、３－アミノプロピオン酸、オルニチン、ノルロイシン、ノルバリン、ヒドロキシプロリン、サルコシン、シトルリン、ホモシトルリン、システイン酸、ｔ－ブチルグリシン、ｔ－ブチルアラニン、フェニルグリシン、シクロヘキシルアラニン、β－アラニン、フルオロアミノ酸、β－メチルアミノ酸、Ｃα－メチルアミノ酸、Ｎα－メチルアミノ酸等の人工設計アミノ酸、及び一般的なアミノ酸類似体が挙げられるが、これらに限定されない。更にアミノ酸はＤ（右旋性）またはＬ（左旋性）であることができる。

【０１６０】

翻訳後修飾：

ある種の実施形態は、本明細書で記載される抗原結合構築物であり、翻訳中または翻訳後に異なる修飾が行われている。いくつかの実施形態では、修飾は、既知の保護／ブロック基によるグリコシル化、アセチル化、リン酸化、アミド化、誘導体化、タンパク質分解開裂及び抗体分子または他の細胞リガンドへの結合のうちの少なくとも１つである。幾つかの実施形態では、抗原結合構築物は、ブロモシアン、トリプシン、キモトリプシン、パパイン、Ｖ８プロテアーゼ、$NaBH_4$による特異的な化学切断；アセチル化、ホルミル化、酸化、還元；及びツニカマイシンの存在下での代謝合成を含むがこれらに限定されない既知の技術により化学修飾される。

【０１６１】

本明細書に記載される抗原結合構築物の更なる翻訳後修飾としては、例えば、Ｎ結合またはＯ結合炭水化物鎖（Ｎ末端またはＣ末端部の処理）、アミノ酸骨格への化学部位の結合、Ｎ結合またはＯ結合炭水化物鎖の化学修飾、及び宿主原核細胞での発現の結果としての、Ｎ末端メチオニン残基の付加または欠失が挙げられる。本明細書に記載される抗原結合構築物は酵素標識、蛍光標識、同位体標識または親和性標識などの検出可能な標識により修飾され、タンパク質の検出及び単離が可能となる。ある種の実施形態において、好適な酵素標識の例としては、ホースラディッシュペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、β－ガラクトシダーゼ、またはアセチルコリンエステラーゼが挙げられる；好適な補欠分子族複合体の例としては、ビオチン及びアビジン／ビオチンが挙げられる；好適な蛍光材料の例としては、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ネート、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挙げられる；発光材料の例としては、ルミノールが挙げられる；生物発光材料の例としては、ルシフェラーゼ、ルシフェリン及びエクオリンが挙げられる；かつ、好適な放射性材料の例としては、ヨウ素、炭素、硫黄、トリチウム、インジウム、テクネチウム、タリウム、ガリウム、パラジウム、水鉛、キセノン、フ

ッ素が挙げられる。
【０１６２】
特定の実施形態において、本明細書に記載される抗原結合構築物は、放射性金属イオンに会合する大環状キレート化剤に結合する。
【０１６３】
幾つかの実施形態では、本明細書に記載される抗原結合構築物は、翻訳後プロセシング等の自然のプロセス、または当該技術分野において既知の化学修飾技術のいずれかにより修飾される。ある種の実施形態において、同一タイプの修飾が、所与のポリペプチド内の複数の部位に同程度、または異なる程度存在してよい。ある種の実施形態において、本明細書に記載される抗原結合構築物のポリペプチドは、例えばユビキチン化の結果分枝状であり、いくつかの実施形態においては、分枝を有するか有しない環状である。環状、分枝状、及び分枝環状のポリペプチドは、翻訳後の自然プロセスの結果によるか、または合成方法により作製される。修飾としては、アセチル化、アシル化、ＡＤＰリボシル化、アミド化、フラビンの共有結合、ヘム部位の共有結合、ヌクレオチドまたはヌクレオチド誘導体の共有結合、脂質または脂質誘導体の共有結合、ホスファチジルイノシトールの共有結合、架橋、環化、ジスルフィド結合形成、脱メチル化、共有架橋の形成、システイン成形、ピログルタミン酸の形成、ホルミル化、γ－カルボキシル化、グリコシル化、ＧＰＩアンカー形成、ヒドロキシル化、ヨウ素化、メチル化、ミリスチル化、酸化、ペグ化、タンパク分解性処理、リン酸化、プレニル化、ラセミ化、セレノイル化、硫酸化、転写ＲＮＡが仲介する、アルギニル化等のタンパク質へのアミノ酸の付加、及びユビキチン化が挙げられる（例えば、ＰＲＯＴＥＩＮＳ－－ＳＴＲＵＣＴＵＲＥ ＡＮＤ ＭＯＬＥＣＵＬＡＲ ＰＲＯＰＥＲＴＩＥＳ，２ｎｄ Ｅｄ．，Ｔ．Ｅ．Ｃｒｅｉｇｈｔｏｎ，Ｗ．Ｈ．Ｆｒｅｅｍａｎ ａｎｄ Ｃｏｍｐａｎｙ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９９３）；ＰＯＳＴ－ＴＲＡＮＳＬＡＴＩＯＮＡＬ ＣＯＶＡＬＥＮＴ ＭＯＤＩＦＩＣＡＴＩＯＮ ＯＦ ＰＲＯＴＥＩＮＳ，Ｂ．Ｃ．Ｊｏｈｎｓｏｎ，Ｅｄ．，Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，ｐｇｓ．１－１２（１９８３）；Ｓｅｉｆｔｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈ．Ｅｎｚｙｍｏｌ．１８２：６２６－６４６（１９９０）；Ｒａｔｔａｎ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｎ．Ｎ．Ｙ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．６６３：４８－６２（１９９２）を参照のこと）。
【０１６４】
ある種の実施形態において、本明細書に記載される抗原結合構築物は固体の支持体に結合され、本発明のタンパク質により結合された、すなわち本発明のタンパク質に結合するかまたは会合するポリペプチドの免疫学的検定または精製に特に有用である。かかる固体の支持体としては、ガラス、セルロース、ポリアクリルアミド、ナイロン、ポリスチレン、ポリ塩化ビニルまたはポリプロピレンが挙げられるが、これらに限定されない。
【０１６５】
アッセイ：
当該技術分野において既知のアッセイ、及び本明細書に記載されるアッセイを使用して、または定期的に変更して、本明細書に記載される抗原結合構築物の機能活性（例えば生物活性）をアッセイすることができる。
【０１６６】
例えば、本明細書に記載される抗原結合構築物が抗原に結合する、または抗原に結合する他のポリペプチドと競合する、またはＦｃ受容体及び／もしくは抗体に結合する能力をアッセイする一実施形態において、ラジオイムノアッセイ、ＥＬＩＳＡ（酵素結合免疫吸着アッセイ）、「サンドイッチ」イムノアッセイ、免疫放射線測定法、ゲル拡散法沈降反応、免疫拡散法分析、ｉｎ ｓｉｔｕイムノアッセイ（例えばコロイド金、酵素または放射性同位体標識を使用）、ウェスタンブロット、沈降反応、凝集アッセイ（例えばゲル凝集アッセイ、血球凝集アッセイ）、補体結合アッセイ、免疫蛍光抗体検定、プロテインＡアッセイ、及び免疫電気泳動分析等の技術を使用する競合及び非競合アッセイを含むがこれらに限定されない、当該技術分野において既知の各種免疫学的検定を使用することがで

きる。一実施形態では、抗体結合は一次抗体上の標識を検出することにより検出される。別の実施形態において、一次抗体は二次抗体の結合、または一次抗体への試薬の結合を検出することにより検出される。更なる実施形態において、二次抗体が標識される。イムノアッセイでの結合を検出する多くの手段が当技術分野において既知であり、本発明の範囲内となっている。

【０１６７】

本明細書に記載される抗原結合構築物に含まれる抗原結合ドメインに対して結合パートナー（例えばレセプターまたはリガンド）が同定されるある種の実施形態において、例えば当該技術分野において公知の手段、例えば還元及び非還元ゲルクロマトグラフィー、タンパク質親和性クロマトグラフィー、並びに親和性ブロッティングにより本明細書に記載される抗原結合構築物による、その結合パートナーへの結合をアッセイする。通常は、Ｐｈｉｚｉｃｋｙ ｅｔ ａｌ．，Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．Ｒｅｖ．５９：９４－１２３（１９９５）を参照のこと。別の実施形態において、抗原結合構築物が本明細書に記載される抗原結合構築物の抗原結合ポリペプチド構築物の基質に結合する生理学的相関の能力は、当該技術分野において既知の技術を使用して機械的にアッセイすることができる。

【０１６８】

医薬組成物

また本明細書に詳述されているように、抗原結合構築物及び担体を含む組成物も含まれる。

【０１６９】

「薬学的に許容できる担体」とは、医薬組成物中の有効成分以外の、対象に対して無毒性の成分を意味する。薬学的に許容できる担体としては、緩衝液、賦形剤、安定剤、または防腐剤が挙げられるが、これらに限定されない。

【０１７０】

本明細書で使用する場合、「治療」（及び「治療する」または「治療すること」等の文法的変化）とは、治療される個体の病気の自然経過を変えるための、かつ予防または臨床病理学的な過程のいずれかにおいて実施することが可能な、臨床的介入を意味する。治療の所望の効果としては、病気の発症または再発防止、症状の緩和、病気の任意の直接的または間接的な病理学的結果の減少、転移予防、疾患進行度の低下、病状の回復または緩和、及び寛解または予後の改善が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される抗原結合構築物は、病気の進展を遅らせる、または病気の進行を遅らせるのに使用される。用語「取扱説明書」は、指示、使用法、用量、投与、併用療法、禁忌及び／またはかかる治療製品の使用に関係する警告についての情報を含む、治療製品の販売用パッケージに慣例上含まれる取扱説明書を意味するために使用される。

【０１７１】

本明細書に記載される抗原結合構築物等の「有効量」とは、投与される細胞または組織での生理学的変化をもたらすのに必要な量を意味する。

【０１７２】

作用物質、例えば本明細書に記載される抗原結合構築物を含む医薬組成物の「治療上有効な量」とは、必要な用量及び期間で所望の治療または予防結果を達成するのに有効な量を意味する。治療上有効な量の作用物質は例えば、病気の悪影響を除くか、減らすか、遅らせるか、最小限にするか、または予防する。

【０１７３】

「個体」または「対象」は哺乳類である。哺乳類としては、家畜（例えばウシ、ヒツジ、ネコ、イヌ、及びウマ）、霊長類（ヒト、及びサル等の非ヒト霊長類）、ウサギ、並びに齧歯類（例えばマウス及びラット）が挙げられるが、これらに限定されない。特に、個体または対象はヒトである。

【０１７４】

用語「医薬組成物」とは、中に含まれる抗原結合構築物の生物活性を効果的なものにするような形態であり、かつ製剤が投与される対象に対して許容されない毒性を有する追加

の化合物を含まない配合物を意味する。

【０１７５】

治療上の使用

一態様において、本明細書に記載される抗原結合構築物は、開示した１つ以上の病気、疾患、または状態を治療するための、患者に抗体、抗体の断片または変異体であるカーゴポリペプチドを含む、記載された抗原結合構築物を投与することを伴う抗体ベースの治療を目的としている。本明細書に記載される治療用化合物としては、本明細書に記載される抗原結合構築物、本明細書に記載される抗原結合構築物をコードする核酸が挙げられるが、これらに限定されない。

【０１７６】

ある種の実施形態において、増殖性疾患、最小残存がん、腫瘍性疾患、炎症性疾患、免疫不全、自己免疫疾患、感染症、ウイルス性疾患、アレルギー反応、寄生虫反応、移植片対宿主病もしくは宿主対移植片病、または細胞悪性疾患のうち少なくとも１つの、予防、治療または回復方法を提供し、前記方法は、かかる予防、治療または回復が必要な対象に、本明細書に記載される抗原結合構築物を含む医薬組成物を投与することを含む。

【０１７７】

ある種の実施形態は、本明細書に記載される有効量の医薬組成物を含み、任意に他の薬学的に活性な分子を組み合わせた組成物を、哺乳類に投与することを含む、それを必要とする哺乳類におけるがんの治療方法である。ある種の実施形態において、がんは固形腫瘍である。いくつかの実施形態では、固形腫瘍は肉腫、癌腫、及びリンパ腫の１つ以上である。他の特定の実施形態においてがんは血液がんである。いくつかの実施形態では、がんはＢ細胞リンパ腫、非ホジキンリンパ腫、及び白血病の１つ以上である。

【０１７８】

前記細胞に、本明細書に記載される抗原結合構築物を含む組成物を提供することを含むがんの治療方法を提供する。いくつかの実施形態では、この方法は、前記抗原結合構築物を他の治療薬と組み合わせて提供することを更に含む。

【０１７９】

有効量の本明細書に記載される抗原結合構築物を含む医薬組成物を含む組成物を哺乳類に投与することを含む、それを必要とする哺乳類におけるブリナツモマブ非反応性がんの治療方法を提供する。

【０１８０】

いくつかの実施形態は、前記がん細胞に、有効量の本明細書に記載される抗原結合構築物を含む医薬組成物を含む組成物を提供することを含む、ブリナツモマブでの治療後に退行性となるがん細胞の治療方法を提供する。

【０１８１】

いくつかの実施形態は、Ｂ細胞の発現を特徴とする病気を患う個体の治療方法であり、前記方法は、前記個体に、有効量の本明細書に記載される抗原結合構築物を含む医薬組成物を含む有効量の組成物を提供することを含む。いくつかの実施形態では、病気は、抗ＣＤ１９抗体及び抗ＣＤ２０抗体のうち少なくとも１つによる治療に応答しない。ある種の実施形態において、病気はＣＤ１９またはＣＤ２０溶解抗体に耐性のあるがんまたは自己免疫状態である。

【０１８２】

前記哺乳類に、本明細書に記載される有効量の医薬組成物を含む組成物を投与することを含む、それを必要とする哺乳類における自己免疫状態の治療法を提供する。ある種の実施形態において、自己免疫状態は、多発性硬化症、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、乾癬性関節炎、乾癬、血管炎、ぶどう膜炎、クローン病及び１型糖尿病の１つ以上である。

【０１８３】

前記哺乳類に、本明細書に記載される抗原結合構築物を含む有効量の医薬組成物を含む組成物を投与することを含む、それを必要とする哺乳類の炎症状態の治療方法を提供する

。

【０１８４】

本明細書において提供する教示を身につければ、当業者は過度な実験をすることなく診察、監視または治療目的での、本明細書に記載される抗原結合構築物の使用方法を知るであろう。

【０１８５】

少なくとも抗体の断片または変異体を含む、本明細書に記載される抗原結合構築物は単独で、または他の種類の治療（例えば放射線治療、化学療法、ホルモン療法、免疫療法及び抗腫瘍剤）と組み合わせて投与されてもよい。一般に、種起源の、または患者と同じ種である種反応性（抗体の場合）の生成物を投与することが好ましい。したがって、一実施形態において、ヒト抗体、断片誘導体、類似体、または核酸が、治療または予防のためヒト患者に投与される。

【０１８６】

遺伝子治療：

ある特定の実施形態では、本明細書に記載される抗原結合構築物タンパク質をコードする配列を含む核酸を、タンパク質の異常発現及び／もしくは活性に関係する病気または疾患を遺伝子治療により治療、阻害または予防するために投与する。遺伝子治療とは、発現した、または発現可能な核酸を対象に投与することにより行われる治療を意味する。本発明のこの実施形態では、核酸は、治療効果を仲立ちするこれらがコードされたタンパク質を作製する。当該技術分野において入手可能な任意の遺伝子治療方法を使用することができる。

【０１８７】

治療または予防活性の証明：

本明細書に記載される抗原結合構築物または医薬組成物をヒトで使用する前に、所望の治療または予防活性をインビトロで、その後インビボで試験した。例えば、化合物または医薬組成物の治療または予防での実用性を示すインビトロアッセイには、細胞株または患者の組織サンプルでの化合物の効果が含まれる。細胞株及び／もしくは組織サンプルでの化合物または組成物の効果は、ロゼット形成アッセイ及び細胞溶解アッセイを含むがこれらに限定されない、当業者に既知の技術を用いて測定することができる。本発明では、特異的化合物の投与が示されるかどうかを測定するのに使用することができるインビトロアッセイとしては、患者の組織サンプルが培地で成長し、抗原結合構築物に曝露されるか、そうでない場合は抗原結合構築物が投与されるインビトロ細胞培養アッセイが挙げられ、組織サンプルにおけるかかる抗原結合構築物の効果が観察される。

【０１８８】

治療または予防活性の証明：

本明細書に記載される有効量の抗原結合構築物または医薬組成物を対象に投与することによる、治療、阻害及び予防方法を提供する。一実施形態では、抗原結合構築物は実質的に精製されている（例えば、その効果を制限するか、または好ましくない副作用を生み出す物質を実質的に含まない）。ある種の実施形態において、対象は、ウシ、ブタ、ウマ、ニワトリ、ネコ、イヌ等の動物を含むがこれらに限定されない動物であり、ある種の実施形態においては哺乳類、かつ最も好ましくはヒトである。

【０１８９】

例えば、リポソーム内でのカプセル化、微小粒子、マイクロカプセル、化合物を発現可能な組換え細胞、受容体が仲立ちするエンドシトーシス（例えばＷｕ　ａｎｄ　Ｗｕ，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２６２：４４２９－４４３２（１９８７）を参照のこと）、レトロウイルスまたは他のベクターの一部としての核酸の構築等、種々の送達システムが知られており、本明細書に記載される抗原結合構築物配合物を投与するのに使用することができる。導入方法としては、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、皮下、鼻孔内、硬膜外、及び経口経路が挙げられるが、これらに限定されない。化合物または組成物は、例えば点滴またはボーラス注射、上皮または粘膜皮膚内層（例えば口腔粘膜、直腸及び腸粘膜）を通し

ての吸収等の任意の便利な経路により投与されてよく、他の生物学的活性剤と共に投与されてよい。投与は全体的または局所的とすることができる。加えて、ある種の実施形態において、心室内及び髄腔内注射を含む任意の好適な経路により、本明細書に記載される抗原結合構築物組成物を中枢神経系に導入することが望ましい。心室内注射は、例えばオンマヤリザーバー等のリザーバーに取り付けられた心室内カテーテルにより行われてよい。例えば吸入器またはネブライザの使用、及びエアロゾル化剤との配合により、経肺投与もまた用いることができる。

【０１９０】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載される抗原結合構築物または組成物を、治療の必要な領域に局所的に投与することが望ましい。この投与は、以下に限定されないが、例えば手術中の局所注入、手術後の、例えば創傷被覆材と組み合わせた局所適用、注射、カテーテル、座薬、またはインプラントにより達成され得る。前記インプラントはシラスティック膜または繊維等の、膜を含む多孔質、非多孔質またはゼラチン様物質である。本発明の抗体を含むタンパク質を投与する場合、好ましくは、タンパク質が吸収されない材料を使用して治療が行われなければならない。

【０１９１】

別の実施形態において、抗原結合構築物または組成物を小胞、特にリポソームに送達することができる（Ｌａｎｇｅｒ，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４９：１５２７－１５３３ （１９９０）；Ｔｒｅａｔ ｅｔ ａｌ．，ｉｎ Ｌｉｐｏｓｏｍｅｓ ｉｎ ｔｈｅ Ｔｈｅｒａｐｙ ｏｆ Ｉｎｆｅｃｔｉｏｕｓ Ｄｉｓｅａｓｅ ａｎｄ Ｃａｎｃｅｒ，Ｌｏｐｅｚ－Ｂｅｒｅｓｔｅｉｎ ａｎｄ Ｆｉｄｌｅｒ（ｅｄｓ．），Ｌｉｓｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，ｐｐ．３５３－３６５ （１９８９）；Ｌｏｐｅｚ－Ｂｅｒｅｓｔｅｉｎ，ｉｂｉｄ．，ｐｐ．３１７－３２７；を参照のこと：通常は同上の箇所を参照のこと）。

【０１９２】

更に他の実施形態では、抗原結合構築物または組成物を制御放出システム中に送達することができる。一実施形態では、ポンプを使用してよい （Ｌａｎｇｅｒ，ｓｕｐｒａ；Ｓｅｆｔｏｎ，ＣＲＣ Ｃｒｉｔ．Ｒｅｆ．Ｂｉｏｍｅｄ．Ｅｎｇ．１４：２０１（１９８７）；Ｂｕｃｈｗａｌｄ ｅｔ ａｌ．，Ｓｕｒｇｅｒｙ ８８：５０７（１９８０）；Ｓａｕｄｅｋ ｅｔ ａｌ．，Ｎ．Ｅｎｇｌ．Ｊ．Ｍｅｄ．３２１：５７４（１９８９）を参照のこと）。別の実施形態では、高分子材料を使用することができる（Ｍｅｄｉｃａｌ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ ｏｆ Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｒｅｌｅａｓｅ，Ｌａｎｇｅｒ ａｎｄ Ｗｉｓｅ（ｅｄｓ．），ＣＲＣ Ｐｒｅｓ．，Ｂｏｃａ Ｒａｔｏｎ，Ｆｌａ．（１９７４）；Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｄｒｕｇ Ｂｉｏａｖａｉｌａｂｉｌｉｔｙ，Ｄｒｕｇ Ｐｒｏｄｕｃｔ Ｄｅｓｉｇｎ ａｎｄ Ｐｅｒｆｏｒｍａｎｃｅ，Ｓｍｏｌｅｎ ａｎｄ Ｂａｌｌ（ｅｄｓ．），Ｗｉｌｅｙ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９８４）；Ｒａｎｇｅｒ ａｎｄ Ｐｅｐｐａｓ，Ｊ．，Ｍａｃｒｏｍｏｌ．Ｓｃｉ．Ｒｅｖ．Ｍａｃｒｏｍｏｌ．Ｃｈｅｍ．２３：６１（１９８３）；を参照のこと：Ｌｅｖｙ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２２８：１９０（１９８５）；Ｄｕｒｉｎｇ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｎ．Ｎｅｕｒｏｌ．２５：３５１（１９８９）；Ｈｏｗａｒｄ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｎｅｕｒｏｓｕｒｇ．７１：１０５（１９８９）もまた参照のこと）。更に他の実施例において、制御放出システムは治療標的（例えば脳）の近くに配置することができるため、全身投与量のわずかのみしか必要としない（例えばＧｏｏｄｓｏｎ，ｉｎ Ｍｅｄｉｃａｌ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ ｏｆ Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｒｅｌｅａｓｅ，ｓｕｐｒａ，ｖｏｌ．２，ｐｐ．１１５－１３８（１９８４）を参照のこと）。

【０１９３】

他の制御放出システムはＬａｎｇｅｒの考察（Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４９：１５２７－１５３３（１９９０））にて論じられている。

【０１９４】

本明細書に記載される抗原結合構築物をコードする核酸を含むある特定の実施形態では、適切な核酸発現ベクターの一部として核酸を構築し、例えばレトロウイルスベクターの

使用により（例えば米国特許４，９８０，２８６を参照）、または直接注射により、または微粒子衝突法（例えば遺伝子銃；Ｂｉｏｌｉｓｔｉｃ，Ｄｕｐｏｎｔ）の使用により、もしくは脂質もしくは細胞表面受容体もしくは形質移入剤によるコーティングの使用により、または核を入れることが知られているホメオボックス様ペプチドと組み合わせて投与すること（例えばＪｏｌｉｏｔ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８８：１８６４－１８６８（１９９１）を参照）等により、細胞内に入るように投与することにより、核酸をインビボ投与して、コードされたタンパク質の発現を促進することができる。あるいは、核酸を細胞内に導入し、発現のために相同組換えにより宿主細胞ＤＮＡ内に組み込むことができる。

【０１９５】

本明細書においては、医薬組成物もまた提供される。かかる組成物は、治療上有効な量の化合物、及び薬学的に許容できる担体を含む。ある特定の実施形態では、用語「薬学的に許容できる」とは、連邦もしくは州政府の監督機関により認可された、または、米国薬局方もしくは動物、より詳細にはヒトでの使用のために一般的に認識されている他の薬局方に記載されたことを意味する。用語「担体」とは、治療薬が投与される場合に組み合わされる希釈剤、アジュバント、賦形剤またはビヒクルを意味する。かかる医薬担体は、水及び石油、動物、植物、またはピーナッツオイル、大豆油、鉱油、ゴマ油等の合成由来のものを含む油類等の滅菌した液体であることができる。医薬組成物静脈内投与される場合、水が好ましい担体である。食塩水及びデキストロース水溶液及びグリセロール溶液もまた、液状担体として、特に注射可能な溶液として用いることができる。好適な医薬品賦形剤としては、デンプン、グルコース、ラクトース、スクロース、ゼラチン、麦芽、コメ、小麦粉、胡粉、シリカゲル、ステアリン酸ナトリウム、グリセロールモノステアリン酸、タルク、塩化ナトリウム、脱脂粉乳、グリセロール、プロピレン、グリコール、水、エタノール等が挙げられる。組成物は所望する場合、微量の湿潤もしくは乳化剤、またはｐＨ緩衝剤も含むことができる。これらの組成物は、溶液、懸濁液、エマルション、錠剤、丸剤、カプセル剤、散剤、徐放性剤等の形態を取ることができる。組成物は、従来の結合剤及びトリグリセリド等の担体と共に座薬として処方することができる。経口製剤は、医薬品等級のマンニトール、ラクトース、澱粉、ステアリン酸マグネシウム、ナトリウムサッカリン、セルロース、炭酸マグネシウム等の標準的な担体を含むことができる。好適な医薬担体の例は、Ｅ．Ｗ．Ｍａｒｔｉｎによる「Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ's Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ」に記載されている。かかる組成物は、患者に適切な投与形態を提供するように、好適な量の担体と共に、治療上有効な量の化合物を好ましくは精製した形態で含む。配合物は投与方法に適合しなければならない。

【０１９６】

ある種の実施形態において、抗原結合構築物を含む組成物は、ヒトに静脈内投与するのに適した医薬組成物として決まった手順に従い配合される。通常、静脈内投与用組成物は、滅菌した等張性水性緩衝液の溶液である。必要であれば、組成物は、注射部位の痛みを和らげるために可溶化剤及びリグノカイン等の局部麻酔薬を含んでもよい。一般に、成分はバラバラに、または例えば活性剤の量を示すアンプルもしくはサッシェ等の密封容器内で、例えば乾燥凍結粉末または無水濃縮物として単位投薬形態で混合されて供給される。組成物が点滴により投与されなければならない場合、滅菌した医薬品等級水または生理食塩水を含む点滴ボトルで組成物を分散させることができる。組成物が注射により投与される場合、注射用滅菌水または生理食塩水のアンプルは、成分が投与前に混合されてよいように提供することができる。

【０１９７】

ある種の実施形態において、本明細書に記載される組成物は天然または塩形態で配合される。薬学的に許容できる塩としては、塩酸、リン酸、酢酸、シュウ酸、酒石酸等に由来するもの等のアニオンと共に形成されたもの、及びナトリウム、カリウム、アンモニウム、カルシウム、水酸化第二鉄イソプロピルアミン、トリエチルアミン、２－エチルアミノエタノール、ヒスチジン、プロカイン等に由来するもの等のカチオンと共に形成されたも

のが挙げられる。

【０１９８】

治療用タンパク質の異常発現及び／または活性と関係する病気または疾患の治療、阻害及び予防に効果的な、本明細書に記載される組成物の量は、標準的な臨床技術により測定することができる。加えて、最適な用量範囲を特定することを補助するために、インビトロアッセイを所望により用いてよい。配合物に用いられるべき正確な用量は、投与経路、及び病気または疾患の深刻度にも依存し、施術者の判断、及び各患者の状況に応じて決定されなければならない。有効量はインビトロまたは動物モデル試験系からの用量反応曲線より推定される。

【０１９９】

ある種の実施形態において、本明細書に記載される抗原結合構築物は一度に、またはひと続きの治療にわたり、患者に適切に投与される。病気の種類及び重症度に応じ、例えば、一回以上の個別投与、または連続点滴に関わらず、約１μｇ／ｋｇ～１５ｍｇ／ｋｇ（例えば０．１ｍｇ／ｋｇ～１０ｍｇ／ｋｇ）のＴ細胞活性化二重特異的抗原結合分子が、患者への投与への最初の候補投与量となることができる。ある典型的な１日の投与量は、上述の因子に応じ、約１μｇ／ｋｇ～１００ｍｇ／ｋｇ以上の範囲であってよい。数日間またはそれ以上にわたる反復投与において、状態に応じ、治療は通常、病徴の所望の抑制が生じるまで続けられる。本明細書に記載される抗原結合構築物のある代表的な用量は、約０．００５ｍｇ／ｋｇ～約１０ｍｇ／ｋｇの範囲である。別の非限定的実施例において、投与当たりの投与量は約１マイクログラム／ｋｇ体重、約５マイクログラム／ｋｇ体重、約１０マイクログラム／ｋｇ体重、約５０マイクログラム／ｋｇ体重、約１００マイクログラム／ｋｇ体重、約２００マイクログラム／ｋｇ体重、約３５０マイクログラム／ｋｇ体重、約５００マイクログラム／ｋｇ体重、約１ミリグラム／ｋｇ体重、約５ミリグラム／ｋｇ体重、約１０ミリグラム／ｋｇ体重、約５０ミリグラム／ｋｇ体重、約１００ミリグラム／ｋｇ体重、約２００ミリグラム／ｋｇ体重、約３５０ミリグラム／ｋｇ体重、約５００ミリグラム／ｋｇ体重、約１０００ｍｇ／ｋｇ体重までまたはそれ以上、及びこれらの中で推論可能な任意の範囲を含んでよい。本明細書で記載する数字から推論可能な非限定的実施例において、上述の数に基づき、約５ｍｇ／ｋｇ体重～約１００ｍｇ／ｋｇ体重、約５マイクログラムｋｇ体重～約５００ミリグラムｋｇ体重の範囲を投与することができる。したがって、約０．５ｍｇ／ｋｇ、２．０ｍｇ／ｋｇ、５．０ｍｇ／ｋｇもしくは１０ｍｇ／ｋｇ（またはこれらの任意の組み合わせ）の投与量の１種以上を、患者に投与してよい。かかる投与量は、例えば毎週または３週間に１度（例えば、患者が約２～約２０回、即ち例えば約６回のＴ細胞活性化二重特異的抗原結合分子の投与を受けるように）断続的に投与してよい。最初の多めの投与量、それに続く一回以上の量の少ない用量を投与してよい。しかし、他の投薬レジメンも有用である。この治療の進行は、従来技術及びアッセイによって容易に監視される。

【０２００】

本明細書に記載される抗原結合構築物は一般に、意図した目的を達成するのに有効な量で使用する。病状を治療または予防するのに使用するため、本明細書に記載される抗原結合構築物、またはその医薬組成物を治療上有効な量で投与または適用してよい。特に本明細書において提供する開示の見地からすると、治療的有効な量の決定は十分に当業者の能力のうちである。

【０２０１】

全身投与のために、治療的有効量は細胞培養アッセイ等のインビトロアッセイから最初に測定することが可能である。投与量を次いで、動物モデルに処方して、細胞培養で測定したＩＣ$_{50}$を含む血中濃度範囲を得ることができる。かかる情報を使用して、ヒトにおける有用な投与量を更に正確に測定することができる。

【０２０２】

初期用量は、例えば動物モデルのインビボデータから、当該技術分野において既知の技術を使用して推定することができる。当業者は、動物のデータに基づきヒトへの投与を速

やかに最適化することができる。

【０２０３】

投与量及び間隔を個々で調整して、治療効果を維持するのに十分である、本明細書に記載される抗原結合構築物の血漿濃度を提供してよい。注射による投与のための通常の患者への投与量は、約０．１～５０ｍｇ／ｋｇ／日、典型的には約０．５～１ｍｇ／ｋｇ／日の範囲で変動する。治療に効果的な血漿濃度は各日に複数回投与を行うことによって達成され得る。血漿中濃度は、例えばＨＰＬＣにより測定され得る。

【０２０４】

局所投与または選択的取り込みの場合、本明細書に記載される抗原結合構築物の効果的な局所濃度は血漿濃度と関係しない場合がある。当業者は、過度な実験をすることなく治療上効果的な局所投与量を最適化することができる。

【０２０５】

本明細書に記載される抗原結合構築物の治療的有効量は、実質的に毒性の原因となることなく、通常は治療上の効果をもたらす。本明細書に記載される抗原結合構築物の毒性及び治療効果は、細胞培養または実験動物における標準的な薬学的手順により測定することができる。細胞培養アッセイ及び動物実験を使用して、LD_{50}（集団の５０％の致死量）、及びED_{50}（集団の５０％に治療上効果的な投与量）を測定することができる。毒性と治療効果的な投与量の比は治療係数であり、LD_{50}／ED_{50}の比として表すことができる。大きな治療係数を示すＴ細胞活性化二重特異的抗原結合分子が好ましい。一実施形態では、本発明に従った、本明細書に記載される抗原結合構築物は高い治療係数を示す。細胞培養アッセイ及び動物実験から入手したデータを、ヒトでの使用に好適な用量の範囲で配合するのに使用することができる。用量は、毒性が殆ど無いかまたは全く無く、ＥＤ５０を含む血中濃度の範囲内であることが好ましい。用量は種々の要因、例えば用いた投薬形態、利用した投与経路、対象の状態等に応じて、この範囲内で変化してよい。正確な配合物、投与経路及び用量は、患者の状態に鑑みて個々の医師により選択されることができる（例えば、Ｆｉｎｇｌ ｅｔ ａｌ，１９７５：Ｔｈｅ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｉｃａｌ Ｂａｓｉｓ ｏｆ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ，Ｃｈ．１，ｐ．１内を参照のこと：その全体が本明細書に参照として組み込まれる）。

【０２０６】

本明細書に記載される抗原結合構築物で治療される患者の主治医は、毒性、臓器機能不全等により投与を終了、中断または調節する方法及び時期を知っている。逆に、主治医はまた、臨床反応が十分でない場合（毒性を除く）、治療を高レベルに調節する方法も知っている。対象の疾患の管理における投与規模は、治療される状態の重症度、投与経路等により変化する。状態の重症度は、例えば標準的な予後の評価方法により、ある程度は測定される。更に、投与量及び恐らく投与頻度もまた、年齢、体重及び個々の患者の応答に応じて変化する。

【０２０７】

本明細書に記載される抗原結合構築物を含む医薬組成物の製造プロセスもまた提供する。前記プロセスは、抗原結合構築物の発現を可能にする条件下での宿主細胞の培養；作製した抗原結合構築物の培養物からの回収；及び医薬組成物の作製を含む。

【０２０８】

その他の作用物質及び治療薬：

ある種の実施形態において、本明細書に記載される抗原結合構築物は治療において、１種以上の他の作用物質と組み合わせて投与される。例えば、一実施形態では、本明細書に記載される抗原結合構築物は、少なくとも１種の追加の治療薬と同時投与される。用語「治療薬」とは、かかる治療が必要な個体において、症状または病気を治療するために投与される任意の作用物質を包含する。かかる追加の治療薬は、治療される特定の適応症に好適な任意の有効成分、好ましくは互いに悪影響を及ぼさない相補的な活性を有するものを含んでよい。ある種の実施形態において、追加の治療薬としては、免疫賦活剤、細胞増殖抑制剤、細胞接着阻害剤、細胞毒性剤、細胞アポトーシスの活性化剤、またはアポトーシ

ス誘導物質に対する細胞の感受性を高める作用物質がある。特定の実施形態では、追加の治療薬は抗がん剤、例えば微細管攪乱物質、代謝拮抗薬、トポイソメラーゼ阻害剤、ＤＮＡインターカレーター、アルキル化剤、ホルモン療法、キナーゼ阻害剤、受容体拮抗剤、腫瘍細胞アポトーシス活性化剤、または血管新生阻害剤である。

【０２０９】

かかる他の作用物質は、意図する目的に効果的な量と組み合わせて好適に存在する。かかる他の作用物質の有効量は、使用するＴ細胞活性化二重特異的抗原結合分子の量、疾患または治療の種類、及び上述した他の要因に依存する。本明細書に記載される抗原結合構築物は通常、本明細書に記載されるのと同じ用量及び投与経路で、または本明細書に記載される用量の約１～９９％で、または実験的／臨床的に適切と測定される任意の用量及び任意の経路で使用される。

【０２１０】

上記のかかる併用療法は、併用投与（２つ以上の治療薬が同一または別々の組成物に含まれる）、及び個別投与を包含し、後者の場合、本明細書に記載される抗原結合構築物の投与は追加の治療薬及び／またはアジュバントの投与前、投与と同時、及び／または投与後に行うことができる。本明細書に記載される抗原結合構築物は、放射線治療と組み合わせて使用することができる。

【０２１１】

製造物品：

本発明の別の態様では、上記疾患の治療、予防及び／または診断に有用な材料を含む製造物品を提供する。該製造物品は、容器、及び容器上にあるまたは付属するラベルまたは添付文書を含む。好適な容器としては、例えば、ボトル、バイアル、シリンジ、静注液バッグ等が挙げられる。容器はガラスまたはプラスチック等の種々の材料から形成してよい。容器は組成物それ自体、または状態の治療、予防及び／もしくは診断に効果的な他の組成物と組み合わせた組成物を保持し、かつ、滅菌点検口を有してよい（例えば、容器は静注液バッグまたは皮下注射針で貫通可能なストッパを有するバイアルであってよい）。組成物中の少なくとも１つの活性剤は、本発明のＴ細胞活性化二重特異的抗原結合分子である。ラベルまたは添付文書は、組成物が最適な状態の治療に使用されることを示す。更に、製造物品は（ａ）その中に組成物を含む第１の容器（前記組成物は本明細書に記載される抗原結合構築物を含む）；及び（ｂ）その中に組成物を含む第２の容器（前記組成物は更に細胞毒性、または別の治療薬を含む）を含んでよい。本発明の本実施形態における製造物品は更に、組成物を特定の状態の治療に使用可能であることを示す添付文書を含んでよい。あるいは、または追加で、製造物品は更に、注射用静菌水（ＢＷＦＩ）、リン酸塩－緩衝生理食塩水、リンゲル液及びデキストロース溶液等の薬学的に許容できる緩衝液を含む第２（または第３）の容器を含んでよい。更に、他の緩衝液、希釈剤、フィルター、針、及びシリンジを含む、商業的及び使用者の視点から所望の他の物質を含んでもよい。

【実施例】

【０２１２】

以下の特異的かつ非限定的な実施例は単なる例示として解釈されるべきであり、本開示をいかなる他の方法で限定するものではない。更なる説明無しに、当業者は、本明細書の説明に基づき、本開示を最大限活用することができると考えられている。本明細書で引用される全ての出版物は、それら全体が参照として本明細書に組み込まれる。ＵＲＬ、または他のかかる識別子もしくはアドレスが参照される場合、かかる識別子は変化する可能性があり、かつインターネット上の特定の情報は移り変わる可能性があるが、インターネットを検索することにより同等の情報を見つけることができると理解されている。これらの参照は、かかる情報の入手可能性及び公への伝播の証拠となる。

【０２１３】

実施例１．二重特異的抗ＣＤ１９－ＣＤ３抗原結合構築物の説明

多数の例示的な二重特異的抗ＣＤ３－ＣＤ１９抗原結合構築物を以下に記述するように設計した。この種の構築物の例示的な略図を図１Ａ～Ｃに示す。これらの変異体の一覧を

図２に示す。全てのフォーマットは、ＣＨ３ドメインにおける既知の変異により構築されたヘテロ二量体Ｆｃに基づいている（Ｖｏｎ　Ｋｒｅｕｄｅｎｓｔｅｉｎ　ｅｔ　ａｌ．，ＭＡｂｓ．２０１３　５（５）：６４６－５４）：
・二重ｓｃＦｖヘテロ二量体Ｆｃ分子は、抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ及び抗ＣＤ３　ｓｃＦｖを有するヘテロ二量体Ｆｃを含有する。
・ハイブリッドヘテロ二量体Ｆｃ分子は、抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ及び抗ＣＤ３　Ｆａｂを有するヘテロ二量体Ｆｃ、または抗ＣＤ１９　Ｆａｂ及び抗ＣＤ３　ｓｃＦｖを有するヘテロ二量体Ｆｃを含有する。
・フルサイズヘテロ二量体Ｆｃ分子は、抗ＣＤ１９　Ｆａｂ及び抗ＣＤ３　Ｆａｂを有するヘテロ二量体Ｆｃを含有する。フルサイズ分子は共通の軽鎖、または／並びに抗ＣＤ１９軽鎖及び抗ＣＤ３軽鎖により構築することができる。

【０２１４】

二重ｓｃＦｖヘテロ二量体Ｆｃ構築物：

ｖ８７３及びｖ８７５は、二重ｓｃＦｖヘテロ二量体Ｆｃ二重特異的抗ＣＤ３－ＣＤ１９抗原結合構築物を例示する。

【０２１５】

変異体ｖ８７３及びｖ８７５の抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ（ＨＤ３７　ｓｃＦｖ）配列は、既知の抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ（ＶＬ－ＶＨ）ＨＤ３７（Ｋｉｐｒｉｙａｎｏｖ　ｅｔ．ａｌ．，１９９８，Ｉｎｔ．Ｊ　Ｃａｎｃｅｒ：７７，７６３－７７２）から作製した。変異体ｖ８７５の抗ＣＤ３　ｓｃＦｖ（ＯＫＴ３　ｓｃＦｖ）は、軽鎖と重鎖の間の（ＧＧＧＧＳ）３リンカーにより、公表されたＯＫＴ３（Ｏｒｔｈｏｃｌｏｎｅ　ＯＫＴ３、ムロモナブ）可変軽鎖配列を可変重鎖配列に融合することで作製した。変異体ｖ８７３の抗ＣＤ３　ｓｃＦｖ（ブリナツモマブｓｃＦｖ）は、既知のブリナツモマブ（Ａｍｇｅｎ）抗ＣＤ３　ｓｃＦｖ（ＶＨ－ＶＬ）配列から作製した。

【０２１６】

ｖ８７３は、ヘテロ二量体Ｆｃの鎖Ａに抗ＣＤ１９（ＨＤ３７）ｓｃＦｖを、かつ鎖Ｂに抗ＣＤ３（ブリナツモマブ）ｓｃＦｖを有し、鎖Ａに変異Ｌ３５１Ｙ＿Ｆ４０５Ａ＿Ｙ４０７Ｖ、及び鎖ＢにＴ３６６Ｌ＿Ｋ３９２Ｍ＿Ｔ３９４Ｗを含む。

【０２１７】

ｖ８７５は、ヘテロ二量体Ｆｃの鎖Ａに抗ＣＤ１９（ＨＤ３７）ｓｃＦｖを、かつ鎖Ｂに抗ＣＤ３（ＯＫＴ３）ｓｃＦｖを有し、鎖Ａに変異Ｌ３５１Ｙ＿Ｆ４０５Ａ＿Ｙ４０７Ｖ、及び鎖ＢにＴ３６６Ｌ＿Ｋ３９２Ｍ＿Ｔ３９４Ｗを含む。

【０２１８】

前記変異体は、重鎖の両方に変異Ｄ２６５Ｓ＿Ｌ２３４Ａ＿Ｌ２３５Ａを含むＦｃノックアウト変異体である。この一連の変異は、ＦｃがＦｃγＲに結合することをやめさせる。ｖ１６６１は、ヘテロ二量体Ｆｃの鎖Ａに抗ＣＤ１９　ＢｉＴＥ（商標）（ＨＤ３７）ｓｃＦｖを、かつ鎖Ｂに抗ＣＤ３（ＯＫＴ３）ｓｃＦｖ有し、鎖Ａに変異Ｄ２６５Ｓ＿Ｌ２３４Ａ＿Ｌ２３５Ａ＿Ｔ３５０Ｖ＿Ｌ３５１Ｙ＿Ｆ４０５Ａ＿Ｙ４０７Ｖを、かつ鎖ＢにＤ２６５Ｓ＿Ｌ２３４Ａ＿Ｌ２３５Ａ＿Ｔ３５０Ｖ＿Ｔ３６６Ｌ＿Ｋ３９２Ｌ＿Ｔ３９４Ｗを含む。

【０２１９】

ハイブリッドヘテロ二量体Ｆｃ及び向上した生物物理学的特性のための、エンジニアリングされた構築物：

更なる二重特異的抗ＣＤ３－ＣＤ１９抗原結合構築物１８５３、６７５４、１０１５１、６７５０、６７５１、６４７５、６７４９、１０１５２、１０１５３、及び６５１８を調製した。これらの構築物は、変異体８７５と同じ抗原結合ドメインに基づくが、向上した収量及び生物物理学的特性のためにエンジニアリングされている。修飾としては、ＶＬ－ＶＨジスルフィドエンジニアリング及びＣＤＲ変異体の安定化により、１つまたは両方のｓｃＦｖをＦａｂフォーマット等価物に変化させること、及び／またはｓｃＦｖの安定化が挙げられる。

【０２２０】
抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ及び抗ＣＤ３　ｓｃＦｖ配列を上述のとおり作製した。抗ＣＤ１９　Ｆａｂ（ＨＤ３７　Ｆａｂ）は、それぞれヒトＩｇＧ１　ＣＨ及びＣＬ配列に融合したＨＤ３７　ＶＨ及びＶＬ配列を使用した、キメラＦａｂである。ｓｃＦｖまたはＶＨ－ＣＨドメインは、ヘテロ二量体Ｆｃの１つの鎖に融合している。抗ＣＤ３　Ｆａｂ（ｈＯＫＴ３　Ｆａｂ）はヒト化ＯＫＴ３抗体テプリズマブ（Ｅｌｉ　Ｌｉｌｌｙ）の既知の配列から作製した。ＶＨ－ＣＨドメインはヘテロ二量体Ｆｃの１つの鎖に融合した。
【０２２１】
抗ＣＤ３及び抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖの両方に対するｓｃＦｖジスルフィドエンジニアリング戦略（ＶＨＶＬ　ＳＳ）には、ｓｃＦｖのＶＨとＶＬとの間にジスルフィド結合を導入するために、Ｋａｂａｔナンバリングシステムに従い、公表されている位置ＶＨ４４及びＶＬ１００を用いた［Ｒｅｉｔｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．１４：１２３９－１２４５（１９９６）］。
【０２２２】
以前に報告されている［Ｋｉｐｒｉｙａｎｏｖ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｔ．Ｅｎｇ．１０（４）：４４５－４５３（１９９７）］ように、前記変異体は、安定性及び収量を向上するために、抗ＣＤ３　ｓｃＦｖへの変異を含有する。ｖ１６５３、ｖ６４７５及びｖ１０１５３はＶＨ　ＣＤＲ３の１００Ａ位置において、システインからセリンへの変異を有する抗ＣＤ３（ＯＫＴ３）を有する。
【０２２３】
更なる二重特異的抗ＣＤ３－ＣＤ１９抗原結合構築物は、実施例７に記載の通り設計した。各二重特異的抗ＣＤ３－ＣＤ１９抗原結合構築物に対応するクローンは表ＸＸに示し、各クローンの対応する配列組成物は表ＹＹに示す。
【０２２４】
ベンチマーク制御
ｖ８９１は、ブリナツモマブ（ＢｉＴＥ（商標））と同一のポリペプチド配列を有し、抗ＣＤ３　ｓｃＦｖ及び抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ（５０ｋＤａ）を含む。
【０２２５】
実施例２：代表的な抗原結合構築物のクローニング、発現、及び精製
実施例１に記載されている変異体（抗原結合構築物）及び対照をクローニングし、以下のとおり発現させた。抗体重鎖及び軽鎖をコードする遺伝子は、ヒト／哺乳類の発現に最適化したコドンを使用して、遺伝子合成により構築した。ｓｃＦｖ及びＦａｂ配列は、既知の抗ＣＤ１９抗体ＨＤ３７（ＨＤ３７、Ｋｉｐｒｉｙａｎｏｖ　ｅｔ．ａｌ．，１９９８，Ｉｎｔ．Ｊ　Ｃａｎｃｅｒ：７７，７６３－７７２）、及び既知の抗ＣＤ３モノクローナル抗体ＯＫＴ３（ＯＲＴＨＯＣＬＯＮＥ　ＯＫＴ３，Ｄｒｕｇ　Ｂａｎｋ参照：ＤＢ００００７５）、テプリズマブ（ＭＧＡ０３１，Ｅｌｉ　Ｌｉｌｌｙ）、ブリナツモマブ（Ａｍｇｅｎ，ＵＳ２０１１／０２７５７８７）配列から作製し、実施例１に記載の通り構築した。
【０２２６】
最終遺伝子産物を哺乳類発現ベクターｐＴＴ５（ＮＲＣ－ＢＲＩ，Ｃａｎａｄａ）内にサブクローニングし、ＣＨＯ細胞で発現させた（Ｄｕｒｏｃｈｅｒ，Ｙ．，Ｐｅｒｒｅｔ，Ｓ．＆　Ｋａｍｅｎ，Ａ．Ｈｉｇｈ－ｌｅｖｅｌ　ａｎｄ　ｈｉｇｈ－ｔｈｒｏｕｇｈｐｕｔ　ｒｅｃｏｍｂｉｎａｎｔ　ｐｒｏｔｅｉｎ　ｐｒｏｄｕｃｔｉｏｎ　ｂｙ　ｔｒａｎｓｉｅｎｔ　ｔｒａｎｓｆｅｃｔｉｏｎ　ｏｆ　ｓｕｓｐｅｎｓｉｏｎ－ｇｒｏｗｉｎｇ　ＣＨＯ　ｃｅｌｌｓ．Ｎｕｃｌｅｉｃ　ａｃｉｄｓ　ｒｅｓｅａｒｃｈ　３０，Ｅ９（２００２））。
【０２２７】
ＣＨＯ細胞を、１ｍｇ／ｍＬの２５ｋＤａポリエチレンイミン水溶液（ＰＥＩ、Ｐｏｌｙｓｃｉｅｎｃｅｓ）により、ＰＥＩ：ＤＮＡを２．５：１の比として指数増殖期（１５０万～２００万個の細胞／ｍＬ）にトランスフェクションした（Ｒａｙｍｏｎｄ　Ｃ．ｅ

ｔ ａｌ．Ａ ｓｉｍｐｌｉｆｉｅｄ ｐｏｌｙｅｔｈｙｌｅｎｉｍｉｎｅ－ｍｅｄｉａｔｅｄ ｔｒａｎｓｆｅｃｔｉｏｎ ｐｒｏｃｅｓｓ ｆｏｒ ｌａｒｇｅ－ｓｃａｌｅ ａｎｄ ｈｉｇｈ－ｔｈｒｏｕｇｈｐｕｔ ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ．Ｍｅｔｈｏｄｓ．５５（１）：４４－５１（２０１１））。ヘテロ二量体の形成のために最適な濃度範囲を測定するために、ヘテロ二量体形成が可能となる、重鎖Ａ（ＨＣ－Ａ）、軽鎖（ＬＣ）、及び重鎖Ｂの最適なＤＮＡ比（例えばＨＣ－Ａ／ＨＣ－Ｂ／比＝５０：５０％（ＯＡＡ；ＨＣ／Ｆｃ）、５０：５０％）でＤＮＡをトランスフェクションした。４０００ｒｐｍで遠心分離した後に回収し０．４５μｍ濾過器を使用して不純物を除去した培地で、トランスフェクション細胞を５～６日後に採取した。

【０２２８】

不純物を除去した培地をＭａｂＳｅｌｅｃｔ ＳｕＲｅ（ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）プロテインＡカラム上に載せ、１０カラム体積のＰＢＳ緩衝液（ｐＨ７．２）で洗浄した。抗体を１０カラム体積のクエン酸塩緩衝液ｐＨ３．６）で、ｐＨ１１のトリスで中和した抗体を含有するプールしたフラクションと共に、溶出した。タンパク質は最終的に、Ｅｃｏｎｏ－Ｐａｃ １０ＤＧカラム（Ｂｉｏ－Ｒａｄ）を使用して脱塩した。

【０２２９】

場合によっては、以下の方法により、プロテインＬクロマトグラフィーでタンパク質を更に精製した。Ｃａｐｔｏ Ｌ樹脂ＰＢＳをＰＢＳで平衡化させ、１Ｍのトリスで中和した、プロテインＡ精製したｖ８７５を樹脂に添加し、室温で３０分間インキュベーションした。樹脂をＰＢＳで洗浄してフロースルーを収集し、結合したタンパク質を０．１Ｍのグリシン０．５ｍＬ（ｐＨ３）で溶出した。

【０２３０】

場合によっては、ゲル濾過によりタンパク質を更に精製し、抗体混合物３．５ｍｇを１．５ｍＬに濃縮し、１ｍＬ／ｍｉｎの流速でＡＫＴＡ Ｅｘｐｒｅｓｓ ＦＰＬＣにより、Ｓｕｐｅｒｄｅｘ ２００ ＨｉＬｏａｄ １６／６００ ２００ｐｇカラム（ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）に載せた。ＰＢＳ緩衝液（ｐＨ７．４）を、流速１ｍＬ／ｍｉｎで使用した。精製した抗体に対応するフラクションを収集し、最大１ｍｇ／ｍＬまで濃縮しマイナス８０℃で保存した。

【０２３１】

代表的な抗原結合構築物は、８０％を超える細胞生存能のＣＨＯ３Ｅ７細胞内で一時的に発現した。

【０２３２】

実施例３：ハイブリッドヘテロ二量体Ｆｃフォーマットまたはフルサイズ抗体フォーマットにおける、代表的な二重特異的抗原構築物（抗ＣＤ３－ＣＤ１９または抗ＣＤ３－ＣＤ２０）の説明、発現、及び精製

ｖ５８５０、ｖ５８５１、ｖ５８５２、ｖ６３２５、ｖ１８１３、ｖ１８２１及びｖ１８２３は、二重特異的ＣＤ３／ＣＤ１９またはＣＤ３／ＣＤ２０ハイブリッド抗原結合構築物を例示する。これらの二重特異的ハイブリッド変異体は、別のポリペプチド鎖でのｓｃＦｖ－Ｆｃと対になった、鎖ＡまたはＢのいずれかでのＦａｂで構成される。ヘテロ二量体Ｆｃの鎖Ａは以下の変異：Ｔ３５０Ｖ＿Ｌ３５１Ｙ＿Ｆ４０５Ａ＿Ｙ４０７Ｖを含み、ヘテロ二量体Ｆｃの鎖Ｂは以下の変異：Ｔ３５０Ｖ＿Ｔ３６６Ｌ＿Ｋ３９２Ｌ＿Ｔ３９４Ｗを含む。ｖ１８１３、ｖ１８２１及びｖ１８２３はＣＤ３／ＣＤ２０の共通の軽鎖抗原結合構築物を例示する。共通の軽鎖変異体は２つの異なるＦａｂからなり、それぞれ相補的ヘテロ二量体Ｆｃ上に存在し、単一の軽鎖を共有している。特異的変異体組成物を表１に示す。

【０２３３】

共通の軽鎖変異体に関して、表１に示すもの以外の組み合わせもまた調製及び試験した。

【０２３４】

（表１）ＣＤ３／ＣＤ１９またはＣＤ２０ハイブリッド変異体の組成物

	v5850	V5851	V5852	V6325	v1813	V1821	V1823
フォーマット	ハイブリッド	ハイブリッド	ハイブリッド	ハイブリッド	共通の軽鎖	共通の軽鎖	共通の軽鎖
鎖A	aCD3-BiTEx_I2C_scFvFc (VHVL)	aCD3-BiTEx_I2C_scFvFc (VHVL)	aCD3-テプリズマブ-hOKT3_Fab	aCD3-テプリズマブ-hOKT3_Fab	aCD3-フォラルマブ_Fab	aCD3-12F6_Fab	aCD3-12F6_Fab
鎖B	aCD20-オファツムマブ_Fab	aCD19-MOR208_Fab	aCD19-MOR208_scFvFc_(VHVL)	aCD20-オファツムマブ_scFvFc VHVL)	aCD20-オファツムマブ_Fab	aCD20-リツキシマブ_Fab	aCD20-トシツモマブ_Fab
軽鎖	aCD20-オファツムマブ_Fab	aCD19-MOR208_Fab	aCD3-テプリズマブ-hOKT3	aCD3-テプリズマブ-hOKT3	aCD20-オファツムマブ_Fab	aCD20-リツキシマブ_Fab	aCD20-トシツモマブ_Fab
参照	鎖A - US2011/0275787 鎖B - WO2004035607 軽鎖 - WO2004035607	鎖A - US2011/0275787 鎖B - WO2008022152 軽鎖 - WO2008022152	鎖A - US20070077246 鎖B – 軽鎖 - US20070077246	鎖A - US20070077246 鎖B - 軽鎖 - US20070077246	鎖A – WHO 薬剤情報 Vol.24, no2, 2010 鎖B - WO2004035607 軽鎖 - WO2004035607	鎖A – Pubmed ID: 16313362 鎖B – Drug bank アクセッション番号: DB00073 軽鎖 - Drug bank アクセッション番号: DB00073	鎖A - Pubmed ID: 16313362 鎖B – Drug bank アクセッション番号: DB00081 軽鎖 - Drug bank アクセッション番号: DB00081

【０２３５】

ｖ５８５２に使用される抗ＣＤ１９　ＭＯＲ２０８＿ｓｃＦｖ－Ｆｃ（ＶＨＶＬ）は、公表されている可変重鎖配列を、重鎖と軽鎖との間の（ＧＧＧＧＳ）３（配列番号：３８０）リンカーで表１に示す可変軽鎖配列に融合することにより作製した。可変ドメインをヘテロ二量体Ｆｃの鎖Ｂに融合した。

【０２３６】

ｖ６３２５に使用される抗ＣＤ２０オファツムマブ＿ｓｃＦｖ－Ｆｃ（ＶＨＶＬ）は、公表されている可変重鎖配列を、重鎖と軽鎖との間の（ＧＧＧＧＳ）３（配列番号：３８０）リンカーで表１に示す可変軽鎖配列に融合することにより作製した。可変ドメインをヘテロ二量体Ｆｃの鎖Ｂに融合した。

【０２３７】

クローニング、発現、及び精製は、実施例２に記載する通りに実施した。

【０２３８】

変異体の収量及び純度を下の表２に示す。ヘテロ二量体の純度は、後述のＬＣＭＳ分析により測定した。例示的な抗原結合構築物の純度はＬＣ－ＭＳにより試験した。抗原結合構築物をまず、実施例２に記載のプロテインＡ、プロテインＬ及びＳＥＣ精製により精製した。ヘテロ二量体の純度のＬＣ－ＭＳ分析を後述のように実施した。

【０２３９】

精製したサンプルを、６時間３７０ＣでＰＮＧａｓｅ　Ｆにより脱グリコシル化した。ＭＳ分析の前に、サンプルをＰｏｒｏｓ　Ｒ２カラムに注入して、２０～９０％ＡＣＮ０．１％ＦＡの勾配で３分間溶出し、一つの単一ピークを得た。

【０２４０】

ＬＣカラムのピークを、以下の設定を用いてＬＴＱ－Ｏｒｂｉｔｒａｐ　ＸＬ質量分析計で分析した。コーン電圧：５０Ｖ'チューブレンズ：２１５Ｖ；ＦＴ解像度：７，５００。質量スペクトルをソフトウェアＰｒｏｍａｓｓまたはＭａｘ　Ｅｎｔ．と組み合わせ、分子量プロファイルを作製した。

【０２４１】

ハイブリッドヘテロ二量体Ｆｃ構築物及びフルサイズｍＡｂ変異体は同等の発現及び精製収量を示す。全ての変異体が、７３．８％を超えるヘテロ二量体純度を示し、試験した全ての変異体の平均純度は８９．６％であった。サンプルは、全ての生成物の０～５．３％の範囲の、低量の正しくない対のホモ二量体を有した。報告値は、観察した全てのホモ二量体種の合計を示す。半抗体の存在がホモ二量体よりも一般的に観察され、全生成物の０～２０．７％の範囲となっていた。報告値は、観察される全ての半抗体種の合計を示す。

【０２４２】

（表２）変異体の発現及び純度

フォーマット	ハイブリッド				フルサイズmAb（共通の軽鎖）		
標的	CD20/CD3	CD19/CD3	CD19/CD3	CD20/CD3	CD20/CD3	CD20/CD3	CD20/CD3
	V5850	V5851	V5852	V6325	v1813	V1821	V1823
発現規模(ml)	50	50	50	50	500	500	500
SEC後の量(mg)	1.25	0.72	0.57	0.42	17.4	2.16	8.8
ヘテロ二量体(AB)(%)	95.6	100	95.1	97.5	78.4	91.4	73.8
ホモ二量体(AA+BB)(%)	0	0	4.9	0	1.36	3.7	5.3
半抗体(A+B)(%)	4.4	0	0	2.5	20.2	4.8	20.7

【０２４３】

実施例４：二重特異的抗原構築物はＴ細胞及びＢ細胞に結合する

例示的なＣＤ３／ＣＤ２０二重特異的抗原構築物ｖ５８５０、ｖ６３２５、ｖ１８１３、ｖ１８２１、ｖ１８２３がＣＤ３及びＣＤ２０発現細胞に結合する能力を、後述のＦＡＣＳ分析により測定した。更に、例示的な二重特異的抗ＣＤ３－ＣＤ１９抗原結合構築物ｖ５８５１及びｖ５８５２がＣＤ３及びＣＤ１９発現細胞に結合する能力を、同様に測定した。二重ｓｃＦｖフォーマットの抗ＣＤ３－ＣＤ１９　ＢｉＴＥ　Ｆｃ抗体構築物である変異体ｖ８７５もまた、ベンチマークとして試験した。二重特異的ファミリーの両方に属する変異体において、標的Ｂ細胞への結合親和性は、設計したエフェクターＴ細胞よりも高かった。

【０２４４】

ＦＡＣＳプロトコールによる細胞全体の結合：

２×１０^{6}細胞／ｍＬ（８０％を超える生存能）の細胞をＬ１０＋ＧＳ１培地中に再懸濁して抗体希釈用液と混合し、氷上で１時間インキュベーションした。

【０２４５】

１０ｍＬの冷たいＲ－２緩衝液を添加し、４℃で１０分間、２３３ｇで遠心分離することにより、細胞を洗浄した。細胞ペレットを、蛍光標識した抗マウスまたは抗ヒトＩｇＧ

１００μＬ（Ｌ１０＋ＧＳ１培地中に１／１００で希釈）で再懸濁し、室温で１時間インキュベーションした。

【０２４６】

先に記載したような１０ｍＬの冷たいＲ－２を添加することにより、細胞処理物を洗浄し、細胞ペレットを４００μＬの冷たいＬ－２再懸濁し、サンプルをＮｉｔｅｘに通して濾過し、４μＬのヨウ化プロピジウムを含むチューブに入れた。

【０２４７】

サンプルは、フローサイトメトリーで分析した。

【０２４８】

発現した各変異体の、速度定数Ｂｍａｘ及びＫｄでの結合結果を、以下の表４及び５に記載する。表４は、ＣＤ１９及びＣＤ２０発現ＲａｊｉＢ細胞への結合について記載しているが、表５は、ＣＤ３発現ＪｕｒｋａｔＴ細胞への結合について記載している。Ｒａｊｉ結合研究（表４）において、ＣＤ１９－ＣＤ３二重特異的二重ｓｃＦｖヘテロ二量体Ｆｃ及びハイブリッドヘテロ二量体Ｆｃ変異体は、低いｎＭの見かけの親和性及び同等のＢｍａｘで標的Ｂ細胞に結合した。抗ＣＤ２０－ＣＤ３二重特異的ハイブリッドヘテロ二量体Ｆｃ及びフルサイズの共通軽鎖変異体は同等のＢｍａｘで標的Ｂ細胞に結合し、３つの共通軽鎖変異体のうち２つは、Ｂ細胞に対して低いｎＭの結合親和性を示した。

【０２４９】

Ｊｕｒｋａｔ結合研究（表５）において、ＣＤ１９－ＣＤ３二重特異的二重ｓｃＦｖヘテロ二量体Ｆｃ及びハイブリッドヘテロ二量体Ｆｃ変異体は、Ｔ細胞にｎＭの親和性及び同等のＢｍａｘで結合した。ＣＤ２０－ＣＤ３二重特異的ハイブリッドヘテロ二量体Ｆｃ及びフルサイズの共通軽鎖変異体はＴ細胞に同等のＢｍａｘで結合し、３つの共通軽鎖変異体のうち１つは、Ｔ細胞に対してｎＭの結合親和性を示した。

【０２５０】

二重特異的抗ＣＤ１９－ＣＤ３構築物は全て、予想通り、ＣＤ１９Ｂ細胞に高親和性で、かつＣＤ３Ｔ細胞には低親和性で結合した。二重ｓｃＦｖヘテロ二量体Ｆｃ構築物及びハイブリッドヘテロ二量体Ｆｃ構築物は、同等の結合親和性を示した。

【０２５１】

幾つかの他の共通軽鎖抗ＣＤ２０－ＣＤ３フルサイズ構築物を試験したが（データは示さず）、変異体１８１３、１８２１、及び１８２３のみが、標的ＣＤ２０Ｂ細胞とＣＤ３Ｔ細胞の両方に対して良好な結合を示した。

【０２５２】

（表４）Ｒａｊｉ

フォーマット	二重 scFv		ハイブリッド					フルサイズmAb（共通の軽鎖）		
標的	CD19/CD3	CD19/CD3	CD20/CD3	CD19/CD3	CD19/CD3		CD20/CD3	CD20/CD3	CD20/CD3	CD20/CD3
変異体	v875	v4542	v5850	v5851	v5852		v6325	v1813	v1821	v1823
Bmax (OD450)	2.78	2.96	4.24	3.88	該当せず		6.44	6.40	4.71	4.14
KD (nM)	0.36	0.70	3.60	1.38	該当せず		11.87	4.04	122.5	21.05

【０２５３】

（表５）Ｊｕｒｋａｔ

	二重scFv			ハイブリッド				フルサイズmAb（共通の軽鎖）		
	v875	v4542	v5850	v5851	v5852		v6325	v1813	v1821	v1823
標的	CD19/CD3	CD19/CD3	CD20/CD3	CD19/CD3	CD19/CD3		CD20/CD3	CD20/CD3	CD20/CD3	CD20/CD3
Bmax (OD450)	1.59	2.27	2.06	2.51	2.21		2.51	2.54	2.11	0.88
KD (nM)	21.36	6.66	4.04	4.24	25.24		1.58	691.4	181.5	68.77

【０２５４】
実施例５：二重特異的抗ＣＤ３－ＣＤ１９抗原結合構築物及び二重特異的抗ＣＤ３－ＣＤ２０抗原結合構築物は、Ｔ細胞とＢ細胞を架橋する
５つの例示的な抗ＣＤ３－ＣＤ２０抗原結合構築物－即ち、ｖ５８５０、ｖ６３２５、ｖ１８１３、ｖ１８２１及びｖ１８２３－並びに２つの例示的な抗ＣＤ３－ＣＤ１９抗原結合構築物－即ちｖ５８５１及びｖ５８５２－がＴ細胞とＢ細胞を架橋する能力を、以下に記載する手順に従って、ＦＡＣＳ分析により試験した。更なる構築物、即ちｖ７９２及びｖ８７５もまた、対照として試験した。ｖ７９２は、ヘテロ二量体Ｆｃの鎖Ａ及び鎖Ｂに、トラスツズマブに基づく同一の抗Ｈｅｒ２Ｆ（ａｂ'）を有する二価の抗ＨＥＲ２抗体であり、鎖Ａに変異Ｔ３５０Ｖ＿Ｌ３５１Ｙ＿Ｆ４０５Ａ＿Ｙ４０７Ｖ及び鎖ＢにＴ３５０Ｖ＿Ｔ３６６Ｌ＿Ｋ３９２Ｌ＿Ｔ３９４Ｗ（ｄｒｕｇ　ｂａｎｋアクセッション番号－ＤＢ００８７２）を含む。
【０２５５】
ＦＡＣＳによる細胞全体の架橋
ＲＰＭＩ中に再懸濁した１×１０^{6}細胞／ｍＬを、０．３μＭのＣｅｌｌＴｒａｃｅ標識で標識して混合し、２５分間水浴中で、３７℃でインキュベーションした。
【０２５６】
ペレットを２ｍＬのＬ１０＋ＧＳ１＋ＮａＮ３中に再懸濁し、最終濃度を５×１０６個の細胞／ｍＬとした。
【０２５７】
細胞懸濁液をフローサイトメトリーにより分析し（１／５希釈）、適切な細胞標識とレーザー設定を確認した。フローチェック及びフローセットＦｌｕｏｒｏｓｐｈｅｒｅを使用し、機器の標準化、光学配列及びフルイディクスを確認した。
【０２５８】
フローサイトメトリーでの確認後、かつ架橋前に、各細胞株を所望の比率で混合し、最終濃度を１×１０^{6}細胞／ｍＬとした。
【０２５９】
Ｔ：Ｔ架橋をＪｕｒｋａｔ－ｖｉｏｌｅｔ　＋　Ｊｕｒｋａｔ－ＦａｒＲｅｄで測定し、Ｂ：ＢをＲＡＪＩ－ｖｉｏｌｅｔ　＋　ＲＡＪＩ－ＦａｒＲｅｄで測定し、Ｔ：Ｂ架橋をＪｕｒｋａｔ－ｖｉｏｌｅｔ　＋　ＲＡＪＩ－ＦａｒＲｅｄで測定した。
【０２６０】
抗体を室温でＬ１０＋ＧＳ１＋ＮａＮ３中で２倍に希釈し、次いで細胞に添加した後、緩やかに混合して３０分間インキュベーションした。
【０２６１】
３０分間のインキュベーションの後、２μＬのヨウ化プロピジウムを添加してゆっくりと混合し、直ちにフローサイトメトリーにより分析した。
【０２６２】
架橋％を、ｖｉｏｌｅｔ及びＦａｒ－ｒｅｄで同時に標識した場合の割合として計算し

た。

【０２６３】

表６及び７は、各変異体に関して、Ｊｕｒｋａｔ－Ｊｕｒｋａｔ、Ｒａｊｉ－Ｒａｊｉ、及びＪｕｒｋａｔ－Ｒａｊｉ間の架橋割合を提供し、それぞれの表は個々の実験を示す。Ｔ細胞及びＢ細胞結合パラトープを有する二重ｓｃＦｖ、並びにハイブリッドフルサイズ（共通軽鎖）ヘテロ二量体Ｆｃフォーマットに属する全ての変異体は、Ｊｕｒｋａｔ及びＲａｊｉ細胞の架橋において効果的であった。更に、変異体は２つのＪｕｒｋａｔ細胞をいずれも架橋せず、いくつかのＲａｊｉ－Ｒａｊｉ細胞架橋では、異なる程度で観察された。陰性対照ｖ７９２は特異的（バックグラウンド）Ｔ－Ｂ、Ｂ：Ｂ、Ｔ：Ｔ結合を示さなかった。

【０２６４】

分析は、結合ドメインの形状及び空間的距離が異なるにも関わらず、全てのフォーマット、つまり二重ｓｃＦｖヘテロ二量体Ｆｃ、ハイブリッドヘテロ二量体Ｆｃ及びフルサイズ抗体フォーマットもまた、Ｔ細胞とＢ細胞を効果的に架橋することができることを示す。更に、ＣＤ１９及びＣＤ２０は共に、Ｔ：Ｂ細胞結合を誘発するために標的化されることができる。

【０２６５】

（表６）細胞全体のＦＡＣＳＢ：Ｔ細胞架橋分析

フォーマット		二重 scFv	ハイブリッド		フルサイズmAb（共通の軽鎖）		
変異体	v792	v875	v5850	v5851	v1813	v1821	v1823
標的	陰性対照	CD19/ CD3	CD20/ CD3	CD19/ CD3	CD20/ CD3	CD20/ CD3	CD20/ CD3
架橋(%)							
Jurkat/Jurkat	0.5	1.6	0.8	1.0	0.6	0.5	0.7
Raji/Raji	2.6	10.2	2.1	1.6	7.0	2.4	2.1
Jurkat/Raji	2.6	17.0	11.6	23.2	16.2	7.3	8.1

【０２６６】

（表７）細胞全体のＦＡＣＳＢ：Ｔ細胞架橋分析

		二重 scFv	ハイブリッド		
変異体	v792	v875	v5852		v6325
標的	陰性対照	CD19/ CD3	CD19/ CD3		CD20/ CD3
架橋(%)					
Jurkat/Jurkat	0.7	0.5	0.9		1.1
Raji/Raji	0.7	8.6	7.2		0.7
Jurkat/Raji	1.9	15.7	30.4		15.7

【０２６７】

実施例６：向上した生物物理学的特性のための、二重特異的抗ＣＤ３－ＣＤ１９抗原結

合構築物の発現、精製、及び生物物理学的性質決定

実施例１に記載されている抗原結合構築物を、実施例２に記載の通りクローニング、発現、及び精製し、最終生成物の純度及び収量を、実施例３に記載の通りＬＣ／ＭＳ及びＵＰＬＣ－ＳＥＣにより推定した。ＣＤ１９＋標的ＲａｊｉＢ細胞、及びＣＤ３＋ＪｕｒｋａｔＴ細胞への細胞全体の飽和性結合を、実施例４に記載の通り測定した。

【０２６８】

ｖ８７５及びｖ６７５４の精製結果を図３Ａ及び３Ｂに示す。二重ｓｃＦｖヘテロ二量体Ｆｃ変異体ｖ８７５はプロテインＡ精製後に相当量の高分子量のアグリゲートを示したが、ハイブリッドヘテロ二量体Ｆｃ変異体ｖ６７５４は、標準的な治療用モノクローナル抗体に見られるものに類似した、１つの主なピークを示す。二重ｓｃＦｖヘテロ二量体Ｆｃ変異体及びハイブリッドヘテロ二量体Ｆｃ変異体を共に、ＬＣ／ＭＳ及びＨＰＬＣ－ＳＥＣで確認したように、９８％を超える均質性で精製した。

【０２６９】

図３Ｃは、最適化した変異体の向上した収量、及び対応する最適化戦略を示す。具体的には、ハイブリッド変異体は、ｖ８７５と比較して収量及びヘテロ二量体純度の全体的な向上を示した。

【０２７０】

変異体は更に、ＶＨＶＬジスルフィド安定化により、及び実施例１に記載のｓｃＦｖにＣＤＲ変異の安定化を加えることで、製造可能性を向上することができると考えられている。可変ドメインジスルフィドエンジニアリングは、特異的可変及び軽鎖、並びにＶＨ－ＶＬ界面に大変依存することが知られている。これは全てのｓｃＦｖに当てはまらず、著しく低下した収量、及び／または抗原結合の喪失をもたらす可能性がある［Ｍｉｌｌｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｅｎｇ　Ｄｅｓ　Ｓｅｌ．２０１０　Ｊｕｌ；２３（７）：５４９－５７；Ｉｇａｗａ　ｅｔ　ａｌ．，ＭＡｂｓ．２０１１　Ｍａｙ－Ｊｕｎ；３（３）：２４３－５；Ｐｅｒｃｈｉａｃｃａ　＆　Ｔｅｓｓｉｅｒ，Ａｎｎｕ　Ｒｅｖ　Ｃｈｅｍ　Ｂｉｏｍｏｌ　Ｅｎｇ．２０１２；３：２６３－８６］。変異体ｖ６７４７はｖ８７５に対する等価な変異体であり、両方のｓｃＦｖが、実施例１に記載のＶＬ－ＶＨジスルフィドにより安定化されている。図３Ｃは、ｖ８７５と比較して、ジスルフィド安定化ｖ６７４７におけるより高い収量、及び明らかな結合親和性の喪失がないことを示す。これらの実験は、抗ＣＤ１９及び抗ＣＤ３　ｓｃＦｖが共に、収量を増加させ、かつ結合親和性の喪失なく、ジスルフィドエンジニアリングにより安定化されることができることを示す。

【０２７１】

実施例７：二重特異的抗原構築物のＲａｊｉ及びＪｕｒｋａｔ細胞への結合

図２に記載されている二重特異的抗原構築物１８５３、６７５４、６７５０，及び６７５１の、ＣＤ１９及びＣＤ３発現細胞への結合能力を、実施例４に記載されているＦＡＣＳにより測定した。実施例１に記載されている変異体であるｖ８７５及びｖ１６６１の結合特性を、比較物として使用した。

【０２７２】

図４は結果の一覧を提供する。二重ｓｃＦｖヘテロ二量体Ｆｃ及びハイブリッドヘテロ二量体Ｆｃ変異体を含む全ての変異体は、ＣＤ１９　ＲａｊｉＢ細胞に低いｎＭ親和性で、及びＣＤ３　Ｔ細胞に５～３０ｎＭの低い見かけの親和性で結合する。実施例９：ＦＡＣＳによる二重特異的抗原構築物のＴ：Ｂ細胞結合の分析。

【０２７３】

二重特異的抗ＣＤ３－ＣＤ１９抗原結合構築物の、Ｔ細胞とＢ細胞を架橋しクラスター形成する向上した能力を、以下の通りＦＡＣＳ分析により試験した。

【０２７４】

手短に言えば、ＲＰＭＩ中に懸濁した１×１０^{6}細胞／ｍＬを、適切な０．３μＭのＣｅｌｌＴｒａｃｅ標識で標識し、混合して水浴で２５分間、３７℃でインキュベーションした。

【０２７５】
ＪｕｒｋａｔまたはＲａｊｉ細胞を以下の通り作製した。細胞培養物を対数期まで増殖させた後、遠心分離にかけた。細胞ペレットを２ｍＬのＬ１０　＋　ＧＳ１　＋　ＮａＮ３中に再懸濁し、最終濃度を５×１０^{6}細胞／ｍＬとした。細胞懸濁液をフローサイトメトリーにより分析し（１／５希釈）、適切な細胞標識とレーザー設定を確認した。フローチェック及びフローセットＦｌｕｏｒｏｓｐｈｅｒｅを使用し、機器の標準化、光学配列及びフルイディクスを確認した。フローサイトメトリーでの確認後、かつ架橋前に、各細胞株を所望の比率で混合し、最終濃度を１×１０^{6}細胞／ｍＬとした。
【０２７６】
Ｔ：Ｔ架橋はＪｕｒｋａｔ－ｖｉｏｌｅｔ　＋　Ｊｕｒｋａｔ－ＦａｒＲｅｄで測定し、Ｂ：ＢはＲＡＪＩ－ｖｉｏｌｅｔ　＋　ＲＡＪＩ－ＦａｒＲｅｄで測定し、Ｔ：ＢはＪｕｒｋａｔ－ｖｉｏｌｅｔ　＋　ＲＡＪＩ－ＦａｒＲｅｄで測定した。試験抗体をＬ１０＋ＧＳ１＋ＮａＮ３中、室温で２倍まで希釈し、次いで細胞に添加した後、緩やかに混合して３０分間インキュベーションした。３０分間のインキュベーション後、２μＬのヨウ化プロピジウムを添加してゆっくりと混合し、直ちにフローサイトメトリーにより分析した。架橋％を、ｖｉｏｌｅｔ及びＦａｒ－ｒｅｄで同時に標識した場合の割合として計算した。
【０２７７】
図５は、試験したハイブリッド変異体に対するＴ：Ｂ（％）をまとめている。これらの結果は、ハイブリッドヘテロ二量体Ｆｃ変異体１８５３及びｖ６４７６は共に、二重ｓｃＦｖヘテロ二量体Ｆｃ変異体ｖ８７５と同等に、ＣＤ１９＋Ｒａｊｉ細胞及びＣＤ３＋Ｊｕｒｋａｔ細胞（右側の表）を架橋することができることを示している。図５の左側のパネルは、ＣＤ１９＋Ｒａｊｉ細胞及びＣＤ３＋Ｊｕｒｋａｔ細胞における、変異体８７５（二重ｓｃＦｖ）及び参照用の８９１（ｓｃＦｖ）に対する、架橋結果を示す。
【０２７８】
実施例８：顕微鏡検査法による、Ｔ：Ｂ細胞シナプス（Ｔ細胞偽足）形成の分析
例示的な変異体の、Ｔ細胞シナプス及び偽足の形成能力を以下の通り評価した。このアッセイにより試験した変異体は、８７５、１６６１、１８５３及び６４７６を含んだ。フルサイズＣＤ３／ＣＤ１９二重特異的抗体（ＣＤ３及びＣＤ１９抗原結合ドメインの両方がＦａｂフォーマットにある）である変異体６５１８もまた、試験した。
【０２７９】
標識したＲａｊｉＢ細胞（赤）及び標識したＪｕｒｋａｔＴ細胞（青）を、３ｎＭのヒトＩｇＧまたはｖ８７５で３０分間、室温でインキュベーションした。細胞懸濁液を遠心分離により濃縮し、続いて１８０μＬの上清を除去した。細胞を残体積中で再懸濁し、２００倍及び４００倍でイメージングした。
【０２８０】
Ｏｐｅｎｌａｂソフトウェアを使用し、顕微鏡画像（２００倍）を入手して疑似カラーリングし、重ね合わせてＴＩＦＦに変換した。細胞を次に、Ｉｍａｇｅ　Ｊソフトウェアの細胞カウンターを使用して数を数え、５つの異なる集団に分け入れた。
１．Ｔのみ（Ｔ：Ｔも含む）
２．Ｂと会合したＴ（偽足なし）
３．Ｂと会合したＴ（偽足あり、即ち、三日月様構造を示したＴ細胞）
４．Ｂのみ（Ｂ：Ｂも含む）
５．Ｔと会合したＢ
【０２８１】
いくつかの細胞では、Ｏｐｅｎｌａｂソフトウェアの元画像及び位相差画像の評価が、適切な分類のために必要であった。次いで、Ｂ細胞に会合したＴ細胞の合計％、糸状仮足を有するＢ細胞に会合したＴ細胞の合計％、糸状仮足を有するＢ細胞に会合したＴ細胞の％、Ｔ細胞に会合したＢ細胞の％、及び全体のＢ：Ｔ（％）を測定することができた。
【０２８２】

結果を図６に示し、シナプスの細胞全体ＦＡＣＳ分析により、バックグラウンドの５～８倍であると定量化されたように、また位相差顕微鏡法、及びＢ：Ｂ細胞ではなくＴ：Ｂ細胞間の特異的なシナプス形成により示された通り、これらはハイブリッドヘテロ二量体Ｆｃ変異体（１８５３及び６４７６）、フルサイズ二重特異的（６５１８）、及び二重ｓｃＦｖヘテロ二量体Ｆｃ（８７５及び１６６１）フォーマットもまた、Ｔ：Ｂ細胞シナプス（Ｔ細胞偽足）の形成により、ＣＤ１９$^{+}$ＲａｊｉＢ細胞及びＪｕｒｋａｔＴ細胞を架橋することができることを示している。

【０２８３】

分析は、結合ドメインの形状及び空間的距離が異なるにも関わらず、二重ｓｃＦｖヘテロ二量体Ｆｃ及びハイブリッドヘテロ二量体Ｆｃ、並びにフルサイズ抗体フォーマットもまた、Ｔ細胞とＢ細胞を効果的に架橋し、Ｔ細胞が仲立ちする標的細胞溶解が示すように、Ｔ細胞シナプス及び偽足形成の仲立ちを行うことができることを示している。

【０２８４】

実施例９：ヒト全血における自己Ｂ細胞の枯渇

二重特異的ＣＤ１９－ＣＤ３変異体の、ＩＬ２活性下におけるヒト血液初代細胞培養での自己Ｂ細胞枯渇能力を分析した。このアッセイで試験した変異体は、二重ｓｃＦｖヘテロ二量体Ｆｃ変異体８７５及び１６６１、並びにハイブリッドヘテロ二量体Ｆｃ変異体１８５３、６７５４、６７５０、及び６７４９（図７Ａ）であった。フルサイズ二重特異性抗体ｖ６５１８もまた、このアッセイにおいて、別の実験で試験した（図７Ｂ）。非特異的対照として、図７AにおいてＦｃブロックと称される、Ｆａｂ結合アームを含まないホモ二量体Ｆｃを使用した。

【０２８５】

手短に言えば、変異体をヘパリン添加ヒト全血中で、ＩＬ２の存在下で２日間インキュベーションした。４つ組のウェルを各対照及び実験条件に対して配置し、培養物を５％ＣＯ２、３７℃でインキュベーションし、４８時間で停止した。赤血球を、培養物回収後に溶解させ、収集した初代細胞をＣＤ４５、ＣＤ２０及び７－ＡＡＤ　ＦＡＣＳ検出のために染色した。ＣＤ４５＋、ＣＤ４５＋／ＣＤ２０＋及びＣＤ４５＋／ＣＤ２０＋／７ＡＡＤ＋／－集団のＦＡＣＳ分析を、以下の通りＩｎＣｙｔｅ／ＦｌｏｗＪｏで実施した：ＦＳＣ／ＳＳＣ及び補正用ウェル（ｃｏｍｐｅｎｓａｔｉｏｎ　ｗｅｌｌ）の５，０００事象と、実験ウェルの３０，０００事象とを、サイトメトリーにより分析した。閾値は、細片及びＲＢＣをスキップするように設定した。ゲーティングはリンパ球、ＣＤ４５＋、ＣＤ２０＋、及び７ＡＡＤ＋細胞で実施した。

【０２８６】

図７Ａ及び７Ｂは、ＩＬ２インキュベーション後のヒト全血中での自己Ｂ細胞濃度への、二重特異的抗ＣＤ１９－ＣＤ３抗原結合構築物の細胞毒性効果を示す。変異体は全て、このアッセイにおいて０．１ｎＭでＣＤ２０＋Ｂ細胞を最大限枯渇させることができた。

【０２８７】

分析は、結合ドメインの形状及び空間的距離が異なるにも関わらず、二重ｓｃＦｖ、ヘテロ二量体、及びハイブリッドヘテロ二量体Ｆｃ変異体、並びにフルサイズ抗体フォーマットもまた、ヒト初代血液培養物中でＢ細胞を効果的に枯渇させることができることを示している。

【０２８８】

実施例１０：ＩＬ２活性化ヒトＰＢＭＣ及びＧ２白血病細胞を移植したＮＳＧマウスにおける、ＣＤ１９－ＣＤ３ヘテロ二量体変異体のインビボ有効性

インビボマウス白血病モデルにおける、選択した変異体の有効性を測定した。このモデルでは、ＮＳＧ（ＮＯＤスキッドγ）マウスに、ＩＬ２活性化ヒトＰＢＭＣ及びＧ２白血病細胞を移植した。

【０２８９】

予備実験として、選択した変異体の、Ｇ２白血病細胞株への結合能力を試験した。

【０２９０】

ヒトＧ２　ＡＬＬ腫瘍細胞株への結合のインビトロＦＡＣＳ：

予め冷却されたＧ２細胞（１×１０^{6}個の生存細胞／チューブ）を氷上で２時間、CO_2非存在下で、０、０．１、０．３、１、３、１０、３０、および１００ｎＭの濃度の氷冷二重特異的試薬ｈｕＣＤ３×ｈｕＣＤ１９、並びに１０％の熱不活性化ウシ胎児血清、及び１％ヤギ血清（Ｌ－１０＋ＧＳ１）を２００μＬ／チューブの最終体積で含むＬｅｉｂｏｖｉｔｚ　Ｌ１５緩衝液と共に、３つ組みでインキュベーションした。インキュベーション後、細胞を４ｍＬの氷冷Ｌｅｉｂｏｖｉｔｚ　Ｌ１５で洗浄し、ペレットを、Ｌ－１０＋ＧＳ１中で１／１００に希釈した１００μＬの氷冷Ａｌｅｘａ　ｆｌｕｏｒ　４８８タグ付け抗ヒト抗体（Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｉｍｍｕｎｏｒｅｓｅａｒｃｈ）中に再懸濁した。１５分以上暗室に放置した後、４ｍＬのＬｅｉｂｏｖｉｔｚ　Ｌ１５を添加し、細胞をペレットにして、次に、２μｇ／ｍＬの７ＡＡＤを含む２００μＬの氷冷したフローサイトメトリー用ランニング緩衝液中に再懸濁した後、フローサイトメトリーにより分析した。平均蛍光強度を使用して、各細胞株に対する各二重特異的試薬のＫｄを測定する結合曲線を作成した。

【０２９１】

図８は、代表的な変異体８７３、８７５、及び１６６１がＧ２　ＡＬＬ細胞に結合することができることを示す。

【０２９２】

ＩＬ２活性化ヒトＰＢＭＣ及びＧ２白血病細胞を移植したＮＳＧマウスにおけるインビボ有効性：

マウスの全グループへの細胞源として単一のドナーを使用して、ＮＯＤ／ＳＣＩＤ／^{c}^{null}（ＮＳＧ）マウス（Ｎ＝５／グループ）に、３×１０^{6}個の活性化した（抗ＣＤ３／抗ＣＤ２８［１ビーズ／ＣＤ３＋細胞］＋５０Ｕ　ＩＬ２／ｍＬで５日間）ヒトＰＢＭＣを混合した１×１０^{5}個のＧ２－ＣＢＲｌｕｃ／ｅＧＦＰ細胞を静脈内注入した。フローサイトメトリーを使用して、Ｔ細胞の活性化状態（ＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ８、ＣＤ２５、ＣＤ６９、ＣＤ４５ＲＯ、ＣＤ６２Ｌ、及びＣＣＲ７）並びに生存能（７ＡＡＤ）を評価した。

【０２９３】

マウスは、ＰＢＭＣ及びＧ２の移植の１時間後、０、２、及び４日目に３ｍｇ／ｋｇの投与量で、二重特異的変異体の第一投与（ｎ＝５／グループ）を受け、５日目に終了した。腫瘍の進行後に、マウスにＤ－ルシフェリン（１５０マイクログラム／ｇ体重）を注射し、続いて１０分後にベースラインで、並びに注入後９、１４及び１８日目に、全身の生物発光イメージング（ＢＬＩ）を行った。１８日目に動物は終了し、エクスビボＢＬＩ（生物発光イメージング）のために脾臓を採取した。

【０２９４】

加えて、最初の３ｍｇ／ｋｇの経静脈投与の２４時間後に、コホート当たり動物２匹から血清サンプルを採集した。血清サンプルを実施例１７に示すように分析し、２４時間の血清中濃度を図１５に示す。結果を図１５Ｃに示し、試験したＣＤ３－ＣＤ１９二重特異的変異体のＩｇＧ１様のＰＫを確認した。

【０２９５】

図９は、Ｇ２白血病細胞を移植した場合の全身及び単離された脾臓における、二重ｓｃＦｖヘテロ二量体Ｆｃ　ＦｃｇＲノックアウト変異体１６６１の効果を示す。ｖ１６６１は、Ｇ２　ＡＬＬ細胞の完全な枯渇を示し、ＡＬＬに感染した主な臓器及び組織内には、有意なＧ２移植物は見られないことを示す。

【０２９６】

図１０は、共に野生型ＩｇＧ１　Ｆｃ（ＦｃｇＲノックアウト変異はなし）を有する、二重ｓｃＦｖヘテロ二量体Ｆｃ変異体ｖ８７５及びハイブリッドヘテロ二量体Ｆｃ変異体ｖ１８５３の効果を示す。これらの条件下において、共に野生型Ｆｃを含有する変異体８７５及びハイブリッド１８５３は、全身イメージングにおいて、Ｆｃノックアウトを有する等価な二重ｓｃＦｖヘテロ二量体Ｆｃ変異体１６６１と比較して、Ｇ２枯渇量の低下を

示す。二重ｓｃＦｖヘテロ二量体及びハイブリッドヘテロ二量体Ｆｃ構築物は共に、フォーマットの違いにも関わらず、全身の生物発光イメージングにおいて同等なＧ２枯渇量を示す。

【０２９７】

実施例１１：ＮＳＧマウスにおける二重特異的抗ＣＤ３－ＣＤ１９抗原結合構築物の薬学動態

メスＮＳＧマウス（ＮＯＤ．Ｃｇ－Ｐｒｋｄｃ^{ｓｃｉｄ}　Ｉｌ２ｒｇ^{ｔｍ１Ｗｊｌ}／ＳｚＪ）への一回の０．８ｍｇ／ｋｇ経静脈投与後の、一投与量でのｖ８７５の薬学動態（ＰＫ）を測定した。Ｈｅｒ２に結合する対照の単一特異的抗体のＰＫもまた測定した。

【０２９８】

手短に言えば、精製したｖ８７５を１日目に経静脈注射により、１ｍｇ／ｋｇの用量で尾静脈に投与した。約０．０５０ｍＬの血液サンプルを、選択した時点（１時点当たり動物３匹）で、注射後最大７２時間まで、下顎静脈または伏在静脈から収集した。前処理した血清サンプルは、特定の実験を受けたことがない動物から入手した。血液サンプルを室温で１５～３０分間、凝固させた。血液サンプルを、２７００ｒｐｍで１０分間、室温で遠心分離にかけ、血清を得た。血清サンプルを３つのチューブに分け、分析するまで－８０℃に保った。

【０２９９】

血清中濃度は、標準的な抗ヒトＦｃαＬＩＳＡにより測定した。別々に測定した精製ｖ８７５の検量線を使用して、ｖ８７５の血清中濃度を測定した。血清中濃度を、ＷｉｎｎｏｎＬｉｎソフトウェア（バージョン５．３）を使用して分析した。

【０３００】

図１１は、注射後最初の１２時間と、最初の７２時間の、ＮＳＧマウスにおける二重ｓｃＦｖヘテロ二量体Ｆｃ変異体ｖ８７５のＰＫプロファイルと、ＩｇＧ対照抗体ｖ５０６（ｖ５０６は治療用抗体トラスツズマブ（ハーセプチン（Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ））、対照として使用）に相当するＰＫプロファイルを示す。

【０３０１】

実施例１２：ヒトＰＢＭＣにおける二重特異的ヘテロ二量体によるＴ細胞活性化の標的Ｂ細胞依存性

標的Ｂ細胞上での、例示的な二重特異的ヘテロ二量体変異体６７５４によるＴ細胞活性化の依存性を、ヒトＰＢＭＣ内で測定した。実験は、後述のように実施した。

【０３０２】

ヒト血液（１２０～１４０ｍＬ）をドナーから収集し、ＰＢＭＣを新鮮なままドナーから単離した。ＰＢＭＣを更に処理して亜集団をｉ）ＰＢＭＣ、及びｉｉ）Ｂ細胞を含まないＰＢＭＣ（ＰＢＭＣ－Ｂ）に誘導した。自己Ｂ細胞及びＴ細胞を０日目に、ＦＡＣＳにより同定した。４つ組のウェルを各対照及び実験条件に関して配置し、ＰＢＭＣ培養液を５％ＣＯ２、３７℃でインキュベーションし、７２時間で停止した。自己Ｔ細胞及びＢ細胞について、培養液中及び７ＡＡＤ＋細胞量におけるそれぞれの割合を測定した。細胞ペレットをフローサイトメトリー分析のため、種々の抗体カクテル内で再懸濁した。Ｇｕａｖａ　８ＨＴフローサイトメーターを、細胞亜集団の分析のために使用した。

【０３０３】

結果を表８及び図１２に示す。表１３はドナーＰＢＭＣプロファイルを提供する。健康なドナーから収集したヒトＰＢＭＣ内の平均Ｅ：Ｔ比は、ＣＤ３＋Ｔ細胞対ＣＤ１９＋Ｂ細胞が約１０：１であった。

【０３０４】

（表８）

	CD3＋T細胞/CD45+リンパ球(%)	CD4+T細胞/CD3+フラクション(%)	CD8+T細胞/CD3+フラクション(%)	CD19+B細胞/CD45+リンパ球(%)
ドナー１	74.1	60.5	39.2	9.4
ドナー２	69.1	69.1	39.2	11.2
ドナー３	77.1	72.8	32.2	7.5

【０３０５】

図１２は、ｖ６７５４が最大１０ｎＭまでは、Ｂ細胞を欠いているＰＢＭＣの培養液中のＴ細胞は活性化しないが、全ＰＢＭＣ内にＢ細胞が存在する場合は最低０．０１ｎＭの濃度であってもＴ細胞を活性化することを示す。ｖ６７５４は、最大のエクスビボＢ細胞枯渇を仲立ちする濃度において、強固な標的依存性Ｔ細胞活性化を示す（図７）。

【０３０６】

実施例１３：二重特異的ヘテロ二量体変異体は、ヒト初代血液培養物内の対照よりも、ヒトＴ細胞増殖を刺激しない

例示的なハイブリッドヘテロ二量体Ｆｃ変異体６７５４の、ヒトＰＢＭＣでの自己Ｔ細胞増殖を誘発する能力を、後述のように評価した。

【０３０７】

細胞生存アッセイ：１日目に、４人の各ドナーから血液を収集し、ＰＢＭＣを新鮮なまま単離した。試験品目を、０．３及び１００ｎＭの最終濃度で調製し、ＰＢＭＣと混合して２５０，０００細胞／ウェルで配置した。前記混合物を３日間インキュベーションした後、トリチウム標識したチミジンを、細胞含有ウェルに添加して、最終的に０．５μＣｉチミジン／ウェルとした。プレートを更に１８時間インキュベーションし、その後プレートを凍結した。合計のインキュベーション時間は４日間であった。プレートを濾過し、βカウンターを使用して数を数えた（ＣＰＭ）。平均から、刺激指数（ＳＩ）を以下の通り計算し、データを表にした：試験項目の平均ＣＰＭ／媒体の平均ＣＰＭのみ。

【０３０８】

結果を表９及び図１３に示す。健康なドナーから収集したヒトＰＢＭＣ内の平均Ｅ：Ｔ比は、ＣＤ３＋Ｔ細胞対ＣＤ１９＋Ｂ細胞が最大１０：１であった。

【０３０９】

（表９）

	CD45+リンパ球中のCD3+T細胞(%)	CD3+フラクション中のCD4+T細胞(%)	CD3+フラクション中のCD8+T細胞(%)	CD45+リンパ球中のCD19+T細胞(%)
ドナー１	61.7	60.1	32.8	7.9
ドナー２	66.7	75.1	26.3	7.8
ドナー３	72.8	72.2	30.0	8.4

【０３１０】

図１３に示すとおり、商業用の治療用抗体ムロモナブ－ＯＫＴ３は、降順で、０．３ｎＭで最もＴ細胞増殖を仲立ちする。８９１（ＢｉＴＥ）＞６７５４：この血清中濃度において、ＯＫＴ３及びＢｉＴＥは、副作用と関連している（例えば、Ｃｈａｔｅｎｏｕｄ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ １３７（３）：８３０-８ （１９８６）；Ａｂｒａｍｏｗｉｃｚ ｅｔ ａｌ．，Ｔｒａｎｓｐｌａｎｔａｔｉｏｎ ４７（４）：６０６-８（１９８９）；Ｇｏｅｂｅｌｅｒ ｅｔ ａｌ．Ａｎｎａｌｓ Ｏｎｃｏｌｏｇｙ ２２，Ｓｕｐｌ ４：ａｂｓｔｒａｃｔ ０６８（２０１１）；Ｂａｒｇｏｕ ｅｔ ａｌ．Ｓｃｉｅｎｃｅ ３２１（５８９１）：９７４－７（２００８）；Ｔｏｐｐ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｏｎｃｏｌ．２９（１８）：２４９３－８ （２０１１）；Ｋｌｉｎｇｅｒ ｅｔ ａｌ．Ｂｌｏｏｄ １１９（２８）：６２２６－３３（２０１０）；及び国際特許出願番号ＷＯ２０１１０５１３０７Ａ１を参照のこと）。６７５４により誘発されたＴ細胞増殖は、０．３ｎＭ及び最大１００ｎＭのＯＫＴ３及びＢｉＴＥにより誘発されたＴ細胞増殖量を、著しく下回っている。ｖ６７５４は、最大のＢ細胞枯渇を起こし、十分なＴ細胞増殖を誘発した（しかし、ベンチマークよりは大変低い量）（図７）。

【０３１１】

実施例１４：二重特異的ヘテロ二量体変異体は、対照と比較して、ヒト初代血液培養物

において低いサイトカイン放出量を示す

休止ヒトＰＢＭＣ内で、例示的な変異体６７５４により誘発されたサイトカイン放出量を測定した。

【０３１２】

サイトカイン放出アッセイ：１日目に、４人の各ドナーから血液を収集し、ＰＢＭＣを新鮮なまま単離した。試験品目を、０．３及び１００ｎＭの最終濃度で調製し、ＰＢＭＣと混合して２５０，０００細胞／ウェルで配置した。前記混合物を４日間インキュベーションした。インキュベーション後、複製物の上清をプールしてサイトカイン測定に使用し、２回の測定では、ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓからの ＣＢＡヒトＴｈ１／Ｔｈ２サイトカインキットＩＩを使用した。このキットはＩＬ－２、ＩＬ－４、ＩＬ－６、ＩＬ－１０、ＴＮＦ及びＩＦＮγを測定する。

【０３１３】

結果を表１０及び図１４に示す。健康なドナーから収集したヒトＰＢＭＣ内の平均Ｅ：Ｔ比は、ＣＤ３＋Ｔ細胞対ＣＤ１９＋Ｂ細胞が約１０：１であった。

【０３１４】

（表１０）

	CD3+T細胞/CD45+リンパ球(%)	CD4+T細胞/CD3+フラクション(%)	CD8+T細胞/CD3+フラクション(%)	CD19+B細胞/CD45+リンパ球(%)
ドナー１	74.1	60.5	39.2	9.4
ドナー２	69.1	69.1	39.2	11.2
ドナー３	77.1	72.8	32.2	7.5

【０３１５】

図１４は、７ｎＭの濃度の商業用の治療用抗体ムロモナブ－ＯＫＴ３よりも、ｖ６７５４は１００ｎＭの濃度で、ＩＦＮγ、ＴＮＦα、ＩＬ－２、ＩＬ－６及びＩＬ－１０サイトカイン量を著しく低い量で誘発したことを示す。７ｎＭの血清中濃度では、ＯＫＴ３は副作用に関係する（例えばＣｈａｔｅｎｏｕｄ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ １３７（３）：８３０－８（１９８６），及びＡｂｒａｍｏｗｉｃｚ　ｅｔ　ａｌ．，Ｔｒａｎｓｐｌａｎｔａｔｉｏｎ　４７（４）：６０６－８（１９８９）を参照）。

【０３１６】

ＢｉＴＥは、同等のｖ６７５４の濃度で、ＩＦＮγ、ＩＦＮα、ＩＬ－２、ＩＬ－６及びＩＬ－１０サイトカインを同等の量かより高い量で誘発する。ｖ６７５４は、エクスビボでのＢ細胞枯渇を最大限仲立ちする濃度で、サイトカインを低レベルで誘発する（図７）。

【０３１７】

実施例１５：例示的ヘテロ二量体変異体のインビボマウス薬学動態

例示的な二重特異的ヘテロ二量体変異体である１８５３の薬学動態（ＰＫ）をマウスで測定した。変異体１８５３が、ＦｃのＦｃγＲへの結合をノックアウトするＣＨ２変異を含有しないことを除いて、変異体１８５３は変異体６７５４と同一である。実験は、後述のように実施した。

【０３１８】

ＮＳＧマウスにおける薬学動態：メスＮＳＧマウス（ＮＯＤ．Ｃｇ－Ｐｒｋｄｃ^{ｓｃｉｄ}　Ｉｌ２ｒｇ^{ｔｍ１Ｗｊｌ}／ＳｚＪ）への一回の３ｍｇ／ｋｇ経静脈投与後の、一投与量での１８５３の薬学動態を測定した。１８５３を１日目に、経静脈注射により尾静脈に、３ｍｇ／ｋｇの投与量で投与した。約０．０５０ｍＬの血液サンプルを、選択した時点（１時点当たり動物３匹）で、下顎静脈または伏在静脈から収集した。前処理した血清サンプルは、特定の実験を受けたことがない動物から入手した。血液サンプルを室温で１５～３０分間、凝固させた。血液サンプルを、２７００ｒｐｍで１０分間、室温で遠心分離にかけ、血清を得た。血清サンプルを３つのチューブに分け、分析するまで－８０℃に保った。血清中濃度は標準的な抗ヒトＦｃ　Ｌｕｍｉｎｅｘにより測定した。別々に測定した精製１８５３の検量線を使用して、１８５３の血清中濃度を測定した。ＰＫパラメーターを、ノンコンパートメントモデル分析を用いてＷｉｎＮｏｎＬｉｎで計算した。

【０３１９】
結果を表１１並びに図１５Ａ及びＢに示す。
【０３２０】
（表１１）ＮＳＧマウスでのｖ１８５３のＰＫパラメーター

PK パラメーター	
C_{max} [μg/mL]	33.1
AUC [h*μg/mL]	811.8
V_{ss} [mL/kg]	131.8
Cl [mL/h/kg]	3.6
MRT [h]	36.7
$t_{1/2}$ [h]	25.7

【０３２１】
表１１は、１８５３で測定したＰＫパラメーターを示す。図１５は、ＮＳＧ（ＮＯＤスキッドγ、ＮＯＤ．Ｃｇ－Ｐｒｋｄｃ^{ｓｃｉｄ} Ｉｌ２ｒｇ^{ｔｍ１Ｗｊｌ}／ＳｚＪ）マウスでの３ｍｇ／ｋｇの６７５４の単回経静脈投与では、マウスでの、２４時間を超えるＩｇＧ１様クリアランス及び半減期となるということを示している（図１５Ｂは、対数目盛を使用してプロットした図１５Ａのデータを示す）。ｖ６７５４は、典型的なヒトＩｇＧ様薬学動態：マウス内での半減期、分布及びクリアランスを示す。
【０３２２】
加えて、実施例１２に詳細を記載したインビボ有効性研究の一部として、血清サンプルを、最初の３ｍｇ／ｋｇの経静脈投与の２４時間後に、２匹の動物から収集した（実施例１２）。血清サンプルを上述の通り分析し、２４時間での血清中濃度を図１５Ｃに示す。経静脈注射後の２４時間での曝露量（図１５Ｃ）は、ＰＫ研究において観察された曝露量に等しく（図１５Ａ、Ｂ）、試験したＣＤ３－ＣＤ１９二重特異的変異体が、ＩｇＧ１様のＰＫであることを確認している。
【０３２３】
実施例１６：ヒト化ＮＳＧマウスのインビボヒトＢ－ＡＬＬ異種移植モデルにおける二重特異的ヘテロ二量体変異体の効果
例示的な変異体であるｖ６７５４の、ヒト化（ＣＤ３４＋）ＮＳＧマウス（Ｅ：Ｔ約１：５）におけるインビボヒトＢ－ＡＬＬ異種移植モデルでの効果を評価した。ｖ６７５４の、このモデルにおける自己Ｂ細胞を枯渇させる（図１６）、Ｔ細胞を活性化し再分布させる（図１７）、並びにサイトカイン放出を制御する（図１８）能力を、後述のように測定した。
【０３２４】
ヒト化（ＣＤ３４＋）ＮＳＧマウスはＪａｃｋｓｏｎ ｌａｂｏｒａｔｏｒｙから入手した。２週齢のＮＳＧ（ＮＯＤスキッドγ、ＮＯＤ．Ｃｇ－Ｐｒｋｄｃ^{ｓｃｉｄ} Ｉｌ２ｒｇ^{ｔｍ１Ｗｊｌ}／ＳｚＪ）マウスに、ヒト胎児肝臓のヒト（ＣＤ３４＋）多能性造血幹細胞ＨＳＣを注入した。ヒト化（ＣＤ３４＋）ＮＳＧマウスは１２週以内にヒトＴ細胞及びＢ細胞の分化系列を発達させる。ヒト化（ＣＤ３４＋）ＮＳＧマウスでの、Ｂ細胞に対するＴ細胞の平均比率は最大１：５である。ｖ６７５４は単回の３ｍｇ／ｋｇ経静脈投与で投与した。
【０３２５】
ヒト化ＮＳＧマウスでのインビボ有効性：二重特異的抗原構築物のインビボ細胞毒性を以下の通り試験した。手短に言えば、ヒト化（ｈＣＤ３４＋）ＮＳＧマウスに、１日目に３ｍｇ／ｋｇで、ｖ６７５４を単回経静脈ボーラス投与し、自己循環Ｂ細胞及びＴ細胞数、並びに末梢血、骨髄、及び脾臓でのヒトサイトカイン量を、注射の４～６時間後、並びに２日目及び５日目に測定した。ヒトＣＤ４５、ＣＤ２０、ＣＤ４、ＣＤ８、及びＣＤ６

９を標識した後、ＦＡＣＳによりＴ細胞及びＢ細胞集団を分析した。ヒトサイトカインＩＦＮγ、ＴＮＦα、ＩＬ２、ＩＬ６、ＩＬ１０を測定した。末梢血、骨髄、及び脾臓での自己Ｂ細胞の枯渇をＦＡＣＳにより監視した。末梢血中でのＢ細胞及びＴ細胞集団を、１日目の注射の２週間前に分析したレベルに対して正規化した。

【０３２６】

自己Ｂ細胞の枯渇：自己Ｂ細胞の枯渇におけるｖ６７５４の効果を示す結果を図１６に示す。図１２は、処理前のヒト化ＮＳＧマウスにおける平均リンパ球集団を示す。図１６は、ヒト化ＮＳＧマウスにおける６７５４のインビボ有効性を示す。

【０３２７】

（表１２）

リンパ球中のhuCD45+	huCD45+フラクション中のhuCD19+B細胞（%）	huCD45+フラクション中のhuCD3+T細胞（%）	huCD45+フラクション中のhuCD4+T細胞（%）	huCD45+フラクション中のhuCD8+T細胞（%）
30-50%	60-80%	20-30%	15-20%	5-10%

【０３２８】

図１６に示すとおり、ｖ６７５４の単回経静脈投与（３ｍｇ／ｋｇ）後、Ｂ細胞は投与５日後にはヒト化ＮＳＧマウス内での末梢血、骨髄、及び脾臓では観察されず、低いＥ：Ｔ比（１：５）を示した。

【０３２９】

自己Ｔ細胞のインビボ活性化及び再分布動力学：ヒト化（ＣＤ３４＋）ＮＳＧマウスにおける、ｖ６７５４が仲立ちした自己Ｔ細胞のインビボ活性化及び再分布動力学の評価（Ｅ：Ｔは約１：５）を上述の通り実施した。

【０３３０】

結果を図１７に示す。インビボで自己Ｂ細胞を完全に枯渇させるｖ６７５４の投与量において（図１６）、自己Ｔ細胞は、４時間後にＣＤ６９＋染色で測定した通り、一時的に活性化した。末梢Ｔ細胞数は、ｖ６７５４の注射後減少して数時間で最下点に達し、５日以降にベースラインまで回復した。Ｔ細胞活性化及び減少した血清数プロファイルは、公表されているブリナツモマブでの発見（Ｋｌｉｎｇｅｒ　ｅｔ　ａｌ．Ｂｌｏｏｄ　１１９（２８）：６２２６－３３（２０１０）を参照）と類似しているが、効果は更に適当なものであり、二重特異的抗原構築物はＴ細胞活性化対ブリナツモマブの「適切な」量で、Ｂ細胞の枯渇を最大限仲立ちすることができることを示唆している。ＣＤ３－ＣＤ１９ハイブリッド及び二重ｓｃＦｖヘテロ二量体Ｆｃフォーマットは、その特異的形状、並びに得られるＴ細胞の関与、シナプス形成及び動力学の性質から、一層制御されたＴ細胞活性化を可能にする。

【０３３１】

ヒト化ＮＳＧマウスにおけるインビボサイトカイン放出：上述の通り、ヒトサイトカインＩＦＮγ、ＴＮＦα、ＩＬ２、ＩＬ６、ＩＬ１０を測定した。結果は図１８に示し、ｖ６７５４が、単回の３ｍｇ／ｋｇの経静脈投与後に、ヒト化ＮＳＧマウスにおいてサイトカイン放出を誘発したことを表している。サイトカイン放出は一時的なものであり、最初の数時間でピークとなった。３ｍｇ／ｋｇ投与量でのピーク量は、公表されている臨床サイトカイン量以下であった。単回の３ｍｇ／ｋｇ経静脈投与の後、ｖ６７５４は適度かつ一時的なサイトカイン放出を誘発した。サイトカイン放出パターンは、公表されているブリナツモマブでの発見（Ｋｌｉｎｇｅｒ（２０１０）を参照）と類似しているが、効果は更に適切なものであり、再び、二重特異的抗原構築物は、Ｂ細胞の最大限の枯渇に対して「適切な」レベルでＴ細胞を活性化することができることを示唆している。

【０３３２】

実施例１７：ヒト及びマカクザルへの種間結合活性を有する二重特異的ＣＤ３－ＣＤ１９結合構築物の、インビトロ及びエクスビボ性質決定

ＣＤ１９－ＣＤ３ハイブリッドヘテロ二量体Ｆｃ変異体５８５１（実施例２及び３に記載されているクローニング及び構築物）は、既知の可変ドメインから構築されており、ヒト及びマカクザルのＣＤ１９及びＣＤ３に結合することが知られている。ｖ５８５１を発

現させ、ＬＣ／ＭＳ及び全細胞ＦＡＣＳ結合により、実施例３～５に記載されているように精製及び同定した。精製したｖ５８５１は更に、実施例１１に記載したように、ヒト初代血液培養物におけるエクスビボ活性を分析した。

【０３３３】

図１９は、二重ｓｃＦｖヘテロ二量体Ｆｃ変異体ｖ８７５と比較した、ＩＬ２インキュベーション後のヒト全血中の自己Ｂ細胞濃度での、種間反応性ｖ５８５１構築物の細胞毒性効果を示す。変異体は共に、０．１ｎＭでのこのアッセイにおいて、ＣＤ２０＋Ｂ細胞を最大限枯渇させることができた。

【０３３４】

分析は、抗ＣＤ３及び抗ＣＤ１９可変ドメインの両方の違い、並びに二重ｓｃＦｖヘテロ二量体Ｆｃとハイブリッドヘテロ二量体Ｆｃとの結合ドメインの形状の違いにもかかわらず、二重ｓｃＦｖヘテロ二量体Ｆｃ変異体ｖ８７５、及び種間反応性ハイブリッドヘテロ二量体Ｆｃ変異体ｖ５８５１が、ヒト初代血液培養物において０．１ｎＭの最少測定濃度で、同等のエクスビボ有効性を示すことを示している。

【０３３５】

追加の表

（表ＸＸ）例示的な抗ＣＤ３－ＣＤ１９、または抗ＣＤ３－ＣＤ２０抗原結合構築物の変異体番号、並びに、重鎖（Ｈ１及びＨ２）、並びに該当する場合、軽鎖（Ｌ１及びＬ２）のクローン名

クローンの核酸及びポリペプチド配列は、表ＹＹを参照のこと。

変異体番号	H1 (クローン)	H2 (クローン)	L1 (クローン)	L2 (クローン)
873	1064	1065	n/a	n/a
875	1064	1067	n/a	n/a
1661	2183	2176	n/a	n/a
1653	1842	2167	n/a	n/a
5850	3320	2317	2325	n/a
5851	3320	2307	2312	n/a
5852	2304	3322	2309	n/a
6325	2304	3916	2309	n/a
1813	2313	2317	2325	2325
1821	2303	1342	1335	1335
1823	2303	2316	2323	2323
1853	2304	2175	2309	n/a
6754	5239	2185	2309	n/a
10151	5239	6691	2309	n/a
6750	5241	5238	2310	n/a
6751	5242	2176	2310	n/a
6475	2305	2171	2310	n/a
6749	5242	2177	2310	n/a
10152	5242	6689	2310	n/a
10153	5242	6690	2310	n/a
6518	2304	2305	2309	2310
6476	2305	2170	2310	n/a

【０３３６】

（表ＹＹ１）表ＸＸに記載したクローンの核酸配列

配列番号：	クローン	記載	核酸(をコードする)配列
1.	2176	完全	CAGATCGTCCTGACACAGAGCCCAGCTATCATGTCAGCAAGCCCCGGCGAGAAAGTCACAATGACTTGCTCAG CCAGCTCCTCTGTGAGCTACATGAACTGGTATCAGCAGAAAAGCGGAACCTCCCCCAAGAGATGGATCTACGA CACATCCAAGCTGGCCTCTGGAGTGCCTGCTCACTTCAGGGGCAGCGGCTCTGGGACCAGTTATTCACTGACA ATTTCCGGCATGGAGGCCGAAGATGCCGCTACCTACTATTGCCAGCAGTGGAGTTCAAACCCATTCACTTTTG GATCTGGCACCAAGCTGGAAATTAATGGCGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGGTCTGGAGGAGGAGGAAGTCA GGTGCAGCTGCAGCAGTCCGGAGCAGAGCTGGCTCGACCAGGAGCTAGTGTGAAAATGTCCTGTAAGGCAAGC GGCTACACCTTCACACGGTATACCATGCATTGGGTGAAACAGAGACCCGGGCAGGGACTGGAATGGATCGGGT ACATTAATCCTAGCCGAGGATACACAAACTACAACCAGAAGTTTAAAGACAAGGCCACTCTGACCACAGATAA GAGCTCCTCTACCGCTTATATGCAGCTGAGTTCACTGACATCTGAGGACAGTGCAGTGTACTATTGCGCCAGG TACTATGACGATCACTACTGTCTGGATTATTGGGGCCAGGGGACTACCCTGACAGTGAGCTCCGCAGCCGAAC CTAAATCTAGTGACAAGACTCATACCTGCCCCCCTTGTCCAGCACCAGAGGCTGCAGGAGGACCTTCCGTGTT CCTGTTTCCACCCAAACCAAAGGATACTCTGATGATCTCCCGGACACCTGAAGTCACTTGCGTGGTCGTGAGC GTGTCTCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTTAACTGGTACGTGGACGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAAACCA AGCCCAGGGAGGAACAGTACAACTCCACATATCGCGTCGTGTCTGTCCTGACTGTGCTGCACCAGGATTGGCT GAACGGCAAGGAGTACAAATGCAAGGTGAGCAACAAGGCACTGCCTGCCCCAATCGAGAAGACAATTAGCAAA GCAAAGGGGCAGCCCCGAGAACCTCAGGTCTACGTGCTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACTAAAAACCAGG TCAGTCTGCTGTGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCAAGCGATATTGCTGTGGAGTGGGAATCCAATGGGCAGCC CGAAAACAATTACCTGACTTGGCCCCCTGTCCTGGACTCAGATGGGAGCTTCTTTCTGTATAGTAAACTGACC GTGGACAAGTCACGGTGGCAGCAGGGAAACGTCTTTAGCTGTTCCGTGATGCATGAGGCCCTGCACAATCATT ACACCCAGAAATCTCTGAGTCTGTCACCCGGCAAG
2.	2176	VL	CAGATCGTCCTGACACAGAGCCCAGCTATCATGTCAGCAAGCCCCGGCGAGAAAGTCACAATGACTTGCTCAG CCAGCTCCTCTGTGAGCTACATGAACTGGTATCAGCAGAAAAGCGGAACCTCCCCCAAGAGATGGATCTACGA CACATCCAAGCTGGCCTCTGGAGTGCCTGCTCACTTCAGGGGCAGCGGCTCTGGGACCAGTTATTCACTGACA ATTTCCGGCATGGAGGCCGAAGATGCCGCTACCTACTATTGCCAGCAGTGGAGTTCAAACCCATTCACTTTTG GATCTGGCACCAAGCTGGAAATTAAT
3.	2176	VH	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTCCGGAGCAGAGCTGGCTCGACCAGGAGCTAGTGTGAAAATGTCCTGTAAGGCAA GCGGCTACACCTTCACACGGTATACCATGCATTGGGTGAAACAGAGACCCGGGCAGGGACTGGAATGGATCGG GTACATTAATCCTAGCCGAGGATACACAAACTACAACCAGAAGTTTAAAGACAAGGCCACTCTGACCACAGAT AAGAGCTCCTCTACCGCTTATATGCAGCTGAGTTCACTGACATCTGAGGACAGTGCAGTGTACTATTGCGCCA GGTACTATGACGATCACTACTGTCTGGATTATTGGGGCCAGGGGACTACCCTGACAGTGAGCTCC
4.	2176	CH2	GCACCAGAGGCTGCAGGAGGACCTTCCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAACCAAAGGATACTCTGATGATCTCCC GGACACCTGAAGTCACTTGCGTGGTCGTGAGCGTGTCTCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTTAACTGGTACGT GGACGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAAACCAAGCCCAGGGAGGAACAGTACAACTCCACATATCGCGTCGTG TCTGTCCTGACTGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAATGCAAGGTGAGCAACAAGGCAC TGCCTGCCCCAATCGAGAAGACAATTAGCAAAGCAAAG
5.	2176	CH3	GGGCAGCCCCGAGAACCTCAGGTCTACGTGCTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACTAAAAACCAGGTCAGTC TGCTGTGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCAAGCGATATTGCTGTGGAGTGGGAATCCAATGGGCAGCCCGAAAA CAATTACCTGACTTGGCCCCCTGTCCTGGACTCAGATGGGAGCTTCTTTCTGTATAGTAAACTGACCGTGGAC AAGTCACGGTGGCAGCAGGGAAACGTCTTTAGCTGTTCCGTGATGCATGAGGCCCTGCACAATCATTACACCC AGAAATCTCTGAGTCTGTCACCCGGC
6.	2304	完全	CAGGTCCAGCTGGTGCAGAGCGGAGGAGGAGTGGTCCAGCCAGGACGGTCTCTGAGACTGAGTTGCAAGGCAT CAGGGTACACTTTCACCCGATATACCATGCACTGGGTGCGGCAGGCACCAGGGAAAGGACTGGAATGGATCGG GTACATTAACCCTTCCAGGGGATACACAAACTATAATCAGAAGGTGAAAGACAGGTTCACTATCAGCCGCGAT AACTCCAAGAATACCGCTTTTCTGCAGATGGACTCTCTGCGCCCCGAGGATACAGGCGTGTATTTCTGCGCAC GATACTATGACGATCACTACTGTCTGGACTATTGGGGCCAGGGGACTCCAGTCACCGTGAGCTCCGCCTCTAC TAAGGGACCCAGTGTGTTTCCACTGGCTCCCTCTAGTAAATCCACATCTGGAGGAACTGCAGCTCTGGGATGC CTGGTGAAGGATTACTTCCCAGAGCCCGTCACCGTGAGTTGGAACTCAGGAGCTCTGACTAGCGGCGTCCATA CCTTTCCCGCAGTGCTGCAGTCAAGCGGGCTGTACAGCCTGTCCTCTGTGGTCACAGTGCCTAGTTCAAGCCT GGGAACACAGACTTATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCTAATACTAAAGTCGACAAGAAAGTGGAACCA AAGAGTTGTGATAAAACCCATACATGCCCACCTTGTCCTGCACCAGAGCTGCTGGGAGGACCAAGCGTGTTCC TGTTTCCACCCAAGCCTAAAGACACCCTGATGATTAGCCGGACCCCTGAAGTCACATGTGTGGTCGTGGACGT GAGCCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAA CCTAGAGAGGAACAGTACAATTCAACCTATAGGGTCGTGAGCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGGACTGGCTGA ACGGGAAGGAGTATAAGTGCAAAGTGTCCAATAAGGCACTGCCCGCCCCTATCGAGAAAACCATTTCTAAGGC AAAAGGCCAGCCTAGGGAACCACAGGTCTACGTGTATCCTCCAAGCCGCGACGAGCTGACAAAGAACCAGGTC TCCCTGACTTGTCTGGTGAAAGGATTTTACCCAAGTGATATTGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGCCAGCCCG AAAACAATTATAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCTCCTTCGCCCTGGTCTCCAAGCTGACTGT GGATAAATCTAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTTAGTTGTTCAGTGATGCATGAGGCTCTGCACAATCATTAC ACCCAGAAGAGCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAAA
7.	2304	VH	CAGGTCCAGCTGGTGCAGAGCGGAGGAGGAGTGGTCCAGCCAGGACGGTCTCTGAGACTGAGTTGCAAGGCAT CAGGGTACACTTTCACCCGATATACCATGCACTGGGTGCGGCAGGCACCAGGGAAAGGACTGGAATGGATCGG GTACATTAACCCTTCCAGGGGATACACAAACTATAATCAGAAGGTGAAAGACAGGTTCACTATCAGCCGCGAT AACTCCAAGAATACCGCTTTTCTGCAGATGGACTCTCTGCGCCCCGAGGATACAGGCGTGTATTTCTGCGCAC GATACTATGACGATCACTACTGTCTGGACTATTGGGGCCAGGGGACTCCAGTCACCGTGAGCTCC
8.	2304	CH1	GCCTCTACTAAGGGACCCAGTGTGTTTCCACTGGCTCCCTCTAGTAAATCCACATCTGGAGGAACTGCAGCTC TGGGATGCCTGGTGAAGGATTACTTCCCAGAGCCCGTCACCGTGAGTTGGAACTCAGGAGCTCTGACTAGCGG CGTCCATACCTTTCCCGCAGTGCTGCAGTCAAGCGGGCTGTACAGCCTGTCCTCTGTGGTCACAGTGCCTAGT TCAAGCCTGGGAACACAGACTTATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCTAATACTAAAGTCGACAAGAAAG TG

9.	2304	CH2	GCACCAGAGCTGCTGGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCTAAAGACACCCTGATGATTAGCC GGACCCCTGAAGTCACATGTGTGGTCGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGT GGATGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAACCTAGAGAGGAACAGTACAATTCAACCTATAGGGTCGTG AGCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTATAAGTGCAAAGTGTCCAATAAGGCAC TGCCCGCCCCTATCGAGAAAACCATTTCTAAGGCAAAA
10.	2304	CH3	GGCCAGCCTAGGGAACCACAGGTCTACGTGTATCCTCCAAGCCGCGACGAGCTGACAAAGAACCAGGTCTCCC TGACTTGTCTGGTGAAAGGATTTTACCCAAGTGATATTGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGCCAGCCCGAAAA CAATTATAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCTCCTTCGCCCTGGTCTCCAAGCTGACTGTGGAT AAATCTAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTTAGTTGTTCAGTGATGCATGAGGCTCTGCACAATCATTACACCC AGAAGAGCCTGTCCCTGTCTCCCGGC
11.	2307	完全	GAGGTCCAGCTGGTCGAATCCGGAGGAGGACTGGTGAAGCCAGGAGGGAGTCTGAAACTGTCATGCGCCGCTA GCGGCTATACCTTCACATCTTACGTCATGCACTGGGTGAGGCAGGCACCTGGCAAGGGACTGGAATGGATCGG ATATATTAACCCATACAATGACGGCACTAAGTATAACGAGAAATTTCAGGGCAGAGTGACCATCAGCTCCGAT AAGAGCATTTCCACAGCTTACATGGAGCTGTCTAGTCTGAGGAGCGAAGACACCGCCATGTACTATTGCGCTC GGGGGACCTACTATTACGGAACAAGAGTGTTCGATTATTGGGGACAGGGCACCCTGGTCACAGTGTCAAGCGC TTCCACAAAGGGGCCTTCTGTGTTTCCACTGGCACCCTCCTCTAAATCTACTAGTGGAGGCACCGCAGCCCTG GGATGTCTGGTGAAGGACTACTTCCCAGAGCCCGTCACAGTGTCATGGAACAGCGGCGCACTGACTAGCGGGG TCCATACCTTTCCTGCCGTGCTGCAGAGTTCAGGCCTGTATAGCCTGAGCTCCGTGGTCACAGTGCCATCTAG TTCACTGGGGACTCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCATCCAATACTAAAGTCGACAAGAAAGTG GAACCCAAGTCTTGTGATAAAACACATACTTGCCCACCTTGTCCTGCACCAGAGCTGCTGGGAGGACCATCCG TGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCTAAAGATACTCTGATGATTAGTCGCACACCAGAAGTGACTTGCGTGGTCGT GGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAG ACCAAACCCAGGGAGGAACAGTATAATAGTACATACAGAGTCGTGTCAGTGCTGACCGTCCTGCACCAGGATT GGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAAGTGTCCAATAAGGCTCTGCCCGCACCTATCGAGAAAACCATTTC TAAGGCAAAAGGGCAGCCTCGAGAACCACAGGTCTATGTGCTGCCTCCATCACGGGATGAGCTGACAAAGAAC CAGGTCAGCCTGCTGTGTCTGGTGAAAGGGTTCTACCCCTCTGACATCGCTGTGGAGTGGGAAAGTAATGGAC AGCCTGAAAACAATTATCTGACTTGGCCCCCTGTGCTGGACTCCGATGGATCTTTCTTTCTGTACAGCAAGCT GACCGTGGACAAATCCCGATGGCAGCAGGGCAACGTCTTTTCATGTAGCGTGATGCATGAGGCCCTGCACAAT CATTACACCCAGAAGTCCCTGTCTCTGAGTCCCGGCAAA
12.	2307	VH	GAGGTCCAGCTGGTCGAATCCGGAGGAGGACTGGTGAAGCCAGGAGGGAGTCTGAAACTGTCATGCGCCGCTA GCGGCTATACCTTCACATCTTACGTCATGCACTGGGTGAGGCAGGCACCTGGCAAGGGACTGGAATGGATCGG ATATATTAACCCATACAATGACGGCACTAAGTATAACGAGAAATTTCAGGGCAGAGTGACCATCAGCTCCGAT AAGAGCATTTCCACAGCTTACATGGAGCTGTCTAGTCTGAGGAGCGAAGACACCGCCATGTACTATTGCGCTC GGGGGACCTACTATTACGGAACAAGAGTGTTCGATTATTGGGGACAGGGCACCCTGGTCACAGTGTCAAGC
13.	2307	CH1	GCTTCCACAAAGGGGCCTTCTGTGTTTCCACTGGCACCCTCCTCTAAATCTACTAGTGGAGGCACCGCAGCCC TGGGATGTCTGGTGAAGGACTACTTCCCAGAGCCCGTCACAGTGTCATGGAACAGCGGCGCACTGACTAGCGG GGTCCATACCTTTCCTGCCGTGCTGCAGAGTTCAGGCCTGTATAGCCTGAGCTCCGTGGTCACAGTGCCATCT AGTTCACTGGGGACTCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCATCCAATACTAAAGTCGACAAGAAAG TG
14.	2307	CH2	GCACCAGAGCTGCTGGGAGGACCATCCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCTAAAGATACTCTGATGATTAGTC GCACACCAGAAGTGACTTGCGTGGTCGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGT GGACGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAGACCAAACCCAGGGAGGAACAGTATAATAGTACATACAGAGTCGTG TCAGTGCTGACCGTCCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAAGTGTCCAATAAGGCTC TGCCCGCACCTATCGAGAAAACCATTTCTAAGGCAAAA
15.	2307	CH3	GGGCAGCCTCGAGAACCACAGGTCTATGTGCTGCCTCCATCACGGGATGAGCTGACAAAGAACCAGGTCAGCC TGCTGTGTCTGGTGAAAGGGTTCTACCCCTCTGACATCGCTGTGGAGTGGGAAAGTAATGGACAGCCTGAAAA CAATTATCTGACTTGGCCCCCTGTGCTGGACTCCGATGGATCTTTCTTTCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGAC AAATCCCGATGGCAGCAGGGCAACGTCTTTTCATGTAGCGTGATGCATGAGGCCCTGCACAATCATTACACCC AGAAGTCCCTGTCTCTGAGTCCCGGC
16.	2309	完全	GATATTCAGATGACCCAGAGCCCAAGCTCCCTGAGTGCCTCAGTGGGCGACCGAGTCACCATCACATGCTCCG CTTCTAGTTCAGTGTCTTACATGAACTGGTATCAGCAGACTCCAGGGAAGGCACCCAAACGGTGGATCTACGA TACCTCAAAGCTGGCCAGCGGAGTGCCCTCCAGATTCAGCGGCTCCGGGTCTGGAACAGACTATACTTTTACC ATCAGCTCCCTGCAGCCTGAGGATATTGCTACTTACTATTGCCAGCAGTGGTCTAGTAATCCATTCACTTTTG GCCAGGGGACCAAGCTGCAGATCACAAGGACTGTGGCCGCTCCCAGCGTCTTCATTTTTCCCCCTAGCGACGA GCAGCTGAAATCTGGCACAGCCAGTGTGGTCTGTCTGCTGAACAATTTCTACCCTCGCGAAGCAAAGGTGCAG TGGAAAGTCGATAACGCCCTGCAGAGTGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACAGAACAGGACTCCAAGGATTCTA CTTATAGTCTGTCAAGCACCCTGACACTGTCCAAAGCTGACTACGAGAAGCACAAAGTGTATGCATGCGAAGT CACCCATCAGGGACTGTCCTCTCCTGTGACAAAATCTTTTAACAGAGGCGAATGT
17.	2309	VL	GATATTCAGATGACCCAGAGCCCAAGCTCCCTGAGTGCCTCAGTGGGCGACCGAGTCACCATCACATGCTCCG CTTCTAGTTCAGTGTCTTACATGAACTGGTATCAGCAGACTCCAGGGAAGGCACCCAAACGGTGGATCTACGA TACCTCAAAGCTGGCCAGCGGAGTGCCCTCCAGATTCAGCGGCTCCGGGTCTGGAACAGACTATACTTTTACC ATCAGCTCCCTGCAGCCTGAGGATATTGCTACTTACTATTGCCAGCAGTGGTCTAGTAATCCATTCACTTTTG GCCAGGGGACCAAGCTGCAGATCACA
18.	2309	CL	AGGACTGTGGCCGCTCCCAGCGTCTTCATTTTTCCCCCTAGCGACGAGCAGCTGAAATCTGGCACAGCCAGTG TGGTCTGTCTGCTGAACAATTTCTACCCTCGCGAAGCAAAGGTGCAGTGGAAAGTCGATAACGCCCTGCAGAG TGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACAGAACAGGACTCCAAGGATTCTACTTATAGTCTGTCAAGCACCCTGACA CTGTCCAAAGCTGACTACGAGAAGCACAAAGTGTATGCATGCGAAGTCACCCATCAGGGACTGTCCTCTCCTG TGACAAAATCTTTTAACAGAGGCGAATGT
19.	2310	完全	GATATTCAGCTGACTCAGTCACCCGCTAGCCTGGCAGTGAGTCTGGGCCAGAGGGCCACCATCAGCTGCAAGG CTTCACAGAGCGTCGACTACGATGGCGACAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGATCCCTGGGCAGCCCCCTAA ACTGCTGATCTACGACGCCTCTAATCTGGTGAGTGGCATCCCCCCACGCTTCTCCGGCTCTGGGAGTGGAACT GATTTTACCCTGAACATTCACCCCGTGGAGAAGGTCGACGCCGCTACATACCATTGCCAGCAGTCCACAGAGG ACCCCTGGACTTTCGGCGGGGGAACCAAGCTGGAAATCAAACGGACAGTGGCAGCCCCATCCGTCTTCATTTT TCCTCCATCTGACGAGCAGCTGAAATCAGGGACTGCTAGCGTGGTCTGTCTGCTGAACAATTTTTACCCAAGA GAAGCAAAGGTGCAGTGGAAAGTCGATAACGCCCTGCAGTCCGGAAATTCTCAGGAGAGTGTGACAGAACAGG ATTCAAAGGACAGCACTTATTCCCTGAGCTCCACCCTGACACTGTCCAAAGCTGATTACGAGAAGCACAAAGT

			GTATGCATGCGAAGTCACCCATCAGGGACTGTCTAGTCCCGTGACAAAGTCTTTCAATCGAGGCGAATGT
20.	2310	VL	GATATTCAGCTGACTCAGTCACCCGCTAGCCTGGCAGTGAGTCTGGGCCAGAGGGCCACCATCAGCTGCAAGG CTTCACAGAGCGTCGACTACGATGGCGACAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGATCCCTGGGCAGCCCCCTAA ACTGCTGATCTACGACGCCTCTAATCTGGTGAGTGGCATCCCCCCACGCTTCTCCGGCTCTGGGAGTGGAACT GATTTTACCCTGAACATTCACCCCGTGGAGAAGGTCGACGCCGCTACATACCATTGCCAGCAGTCCACAGAGG ACCCCTGGACTTTCGGCGGGGGAACCAAGCTGGAAATCAAA
21.	2310	CL	CGGACAGTGGCAGCCCCATCCGTCTTCATTTTTCCTCCATCTGACGAGCAGCTGAAATCAGGGACTGCTAGCG TGGTCTGTCTGCTGAACAATTTTTACCCAAGAGAAGCAAAGGTGCAGTGGAAAGTCGATAACGCCCTGCAGTC CGGAAATTCTCAGGAGAGTGTGACAGAACAGGATTCAAAGGACAGCACTTATTCCCTGAGCTCCACCCTGACA CTGTCCAAAGCTGATTACGAGAAGCACAAAGTGTATGCATGCGAAGTCACCCATCAGGGACTGTCTAGTCCCG TGACAAAGTCTTTCAATCGAGGCGAATGT
22.	2183	完全	GATATTCAGCTGACACAGAGTCCTGCATCACTGGCTGTGAGCCTGGGACAGCGAGCAACTATCTCCTGCAAAG CCAGTCAGTCAGTGGACTATGATGGCGACTCCTATCTGAACTGGTACCAGCAGATCCCAGGGCAGCCCCCTAA GCTGCTGATCTACGACGCCTCAAATCTGGTGAGCGGCATCCCACCACGATTCAGCGGCAGCGGCTCTGGGACT GATTTTACCCTGAACATTCACCCAGTCGAGAAGGTGGACGCCGCTACCTACCATTGCCAGCAGTCTACCGAGG ACCCCTGGACATTCGGCGGGGGAACTAAACTGGAAATCAAGGGAGGAGGAGGCAGTGGCGGAGGAGGGTCAGG AGGAGGAGGAAGCCAGGTGCAGCTGCAGCAGAGCGGAGCAGAGCTGGTCAGACCAGGAAGCTCCGTGAAAATT TCCTGTAAGGCTTCTGGCTATGCATTTTCTAGTTACTGGATGAATTGGGTGAAGCAGAGGCCAGGACAGGGCC TGGAATGGATCGGGCAGATTTGGCCCGGGGATGGAGACACCAACTATAATGGAAAGTTCAAAGGCAAGGCCAC ACTGACTGCTGACGAGTCAAGCTCCACAGCCTATATGCAGCTGTCTAGTCTGGCAAGCGAGGATTCCGCCGTG TACTTTTGCGCTCGGAGAGAAACCACAACTGTGGGCAGGTACTATTACGCTATGGACTACTGGGGCCAGGGGA CCACAGTCACCGTGTCAAGCGCAGCCGAACCCAAATCCTCTGATAAGACCCACACATGCCCTCCATGTCCAGC TCCTGAGGCTGCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCCCCTAAACCTAAGGACACACTGATGATCTCTCGG ACACCCGAAGTCACTTGTGTGGTCGTGAGCGTGAGCCACGAGGACCCTGAAGTCAAATTCAACTGGTACGTGG ATGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAAACTAAGCCTAGGGAGGAACAGTATAACTCCACTTACCGCGTCGTGTC TGTCCTGACCGTGCTGCATCAGGACTGGCTGAACGGAAAGGAGTACAAATGCAAGGTGAGCAACAAGGCACTG CCAGCCCCCATCGAGAAGACAATTTCCAAAGCAAAGGGCCAGCCTCGAGAACCACAGGTCTATGTGTACCCAC CCAGCCGGGACGAGCTGACCAAAAACCAGGTCTCCCTGACATGTCTGGTGAAGGGATTTTATCCTTCTGATAT TGCCGTGGAGTGGGAAAGTAATGGCCAGCCAGAAAACAATTACAAGACTACCCCTCCAGTGCTGGATTCTGAC GGGAGTTTCGCTCTGGTCAGTAAACTGACTGTGGATAAGTCACGGTGGCAGCAGGGAAACGTCTTTAGTTGTT CAGTGATGCACGAGGCACTGCACAATCATTACACCCAGAAAAGCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAAG
23.	2183	VL	GATATTCAGCTGACACAGAGTCCTGCATCACTGGCTGTGAGCCTGGGACAGCGAGCAACTATCTCCTGCAAAG CCAGTCAGTCAGTGGACTATGATGGCGACTCCTATCTGAACTGGTACCAGCAGATCCCAGGGCAGCCCCCTAA GCTGCTGATCTACGACGCCTCAAATCTGGTGAGCGGCATCCCACCACGATTCAGCGGCAGCGGCTCTGGGACT GATTTTACCCTGAACATTCACCCAGTCGAGAAGGTGGACGCCGCTACCTACCATTGCCAGCAGTCTACCGAGG ACCCCTGGACATTCGGCGGGGGAACTAAACTGGAAATCAAG
24.	2183	VH	CAGGTGCAGCTGCAGCAGAGCGGAGCAGAGCTGGTCAGACCAGGAAGCTCCGTGAAAATTTCCTGTAAGGCTT CTGGCTATGCATTTTCTAGTTACTGGATGAATTGGGTGAAGCAGAGGCCAGGACAGGGCCTGGAATGGATCGG GCAGATTTGGCCCGGGGATGGAGACACCAACTATAATGGAAAGTTCAAAGGCAAGGCCACACTGACTGCTGAC GAGTCAAGCTCCACAGCCTATATGCAGCTGTCTAGTCTGGCAAGCGAGGATTCCGCCGTGTACTTTTGCGCTC GGAGAGAAACCACAACTGTGGGCAGGTACTATTACGCTATGGACTACTGGGGCCAGGGGACCACAGTCACCGT GTCAAGC
25.	2183	CH2	GCTCCTGAGGCTGCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCCCCTAAACCTAAGGACACACTGATGATCTCTC GGACACCCGAAGTCACTTGTGTGGTCGTGAGCGTGAGCCACGAGGACCCTGAAGTCAAATTCAACTGGTACGT GGATGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAAACTAAGCCTAGGGAGGAACAGTATAACTCCACTTACCGCGTCGTG TCTGTCCTGACCGTGCTGCATCAGGACTGGCTGAACGGAAAGGAGTACAAATGCAAGGTGAGCAACAAGGCAC TGCCAGCCCCCATCGAGAAGACAATTTCCAAAGCAAAG
26.	2183	CH3	GGCCAGCCTCGAGAACCACAGGTCTATGTGTACCCACCCAGCCGGGACGAGCTGACCAAAAACCAGGTCTCCC TGACATGTCTGGTGAAGGGATTTTATCCTTCTGATATTGCCGTGGAGTGGGAAAGTAATGGCCAGCCAGAAAA CAATTACAAGACTACCCCTCCAGTGCTGGATTCTGACGGGAGTTTCGCTCTGGTCAGTAAACTGACTGTGGAT AAGTCACGGTGGCAGCAGGGAAACGTCTTTAGTTGTTCAGTGATGCACGAGGCACTGCACAATCATTACACCC AGAAAAGCCTGTCCCTGTCTCCCGGC
27.	2312	完全	GACATTGTGATGACACAGTCCCCTGCCACTCTGAGTCTGTCACCAGGCGAGCGGGCTACCCTGAGTTGCAGAA GCTCCAAGAGCCTGCAGAACGTGAATGGAAACACATACCTGTATTGGTTCCAGCAGAAACCAGGCCAGTCTCC CCAGCTGCTGATCTACAGGATGTCAAATCTGAACAGCGGAGTGCCTGACCGCTTCAGCGGCTCCGGGTCTGGA ACCGAGTTCACCCTGACAATTTCTAGTCTGGAGCCCGAAGATTTCGCAGTCTACTATTGCATGCAGCACCTGG AGTATCCTATCACCTTTGGCGCTGGGACAAAGCTGGAGATCAAGCGAACTGTGGCCGCTCCATCCGTCTTCAT CTTTCCCCCTTCTGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACAGCCTCTGTGGTCTGTCTGCTGAACAATTTCTACCCC AGAGAAGCAAAGGTGCAGTGGAAAGTCGATAATGCCCTGCAGAGTGGGAACTCACAGGAGAGCGTGACTGAAC AGGACTCCAAGGATTCTACCTATAGTCTGTCAAGCACTCTGACCCTGAGCAAAGCTGACTACGAGAAGCACAA AGTGTATGCATGCGAAGTCACACATCAGGGGCTGTCCTCTCCCGTGACTAAAAGCTTTAATCGGGGAGAGTGT
28.	2312	VL	GACATTGTGATGACACAGTCCCCTGCCACTCTGAGTCTGTCACCAGGCGAGCGGGCTACCCTGAGTTGCAGAA GCTCCAAGAGCCTGCAGAACGTGAATGGAAACACATACCTGTATTGGTTCCAGCAGAAACCAGGCCAGTCTCC CCAGCTGCTGATCTACAGGATGTCAAATCTGAACAGCGGAGTGCCTGACCGCTTCAGCGGCTCCGGGTCTGGA ACCGAGTTCACCCTGACAATTTCTAGTCTGGAGCCCGAAGATTTCGCAGTCTACTATTGCATGCAGCACCTGG AGTATCCTATCACCTTTGGCGCTGGGACAAAGCTGGAGATCAAG
29.	2312	CL	CGAACTGTGGCCGCTCCATCCGTCTTCATCTTTCCCCCTTCTGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACAGCCTCTG TGGTCTGTCTGCTGAACAATTTCTACCCCAGAGAAGCAAAGGTGCAGTGGAAAGTCGATAATGCCCTGCAGAG TGGGAACTCACAGGAGAGCGTGACTGAACAGGACTCCAAGGATTCTACCTATAGTCTGTCAAGCACTCTGACC CTGAGCAAAGCTGACTACGAGAAGCACAAAGTGTATGCATGCGAAGTCACACATCAGGGGCTGTCCTCTCCCG TGACTAAAAGCTTTAATCGGGGAGAGTGT
30.	2313	完全	CAGGTCCAGCTGGTGGAATCCGGAGGAGGAGTGGTCCAGCCTGGACGATCTCTGAGACTGAGTTGCGCCGCTT CAGGGTTCAAGTTTAGCGGGTACGGAATGCACTGGGTGAGGCAGGCACCAGGCAAAGGGCTGGAGTGGGTCGC CGTGATCTGGTATGACGGCAGCAAGAAGTACTATGTCGATTCTGTGAAGGGCAGGTTCACCATTAGCCGCGAC AACTCCAAAAATACACTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAAGACACCGCTGTGTACTATTGCGCCA GGCAGATGGGCTATTGGCACTTCGATCTGTGGGGCACGAGGAACCCTGGTCACAGTGAGCTCCGCATCTACAAA

			GGGGCCCAGTGTGTTTCCACTGGCTCCCTCTAGTAAATCCACTTCTGGAGGAACCGCAGCACTGGGATGTCTG GTGAAGGATTACTTCCCAGAGCCCGTCACCGTGAGTTGGAACTCAGGGGCTCTGACCTCCGGAGTCCATACAT TTCCAGCAGTGCTGCAGTCAAGCGGCCTGTACAGCCTGTCCTCTGTGGTCACTGTGCCCAGTTCAAGCCTGGG GACTCAGACCTATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCATCAAATACCAAAGTCGACAAGAAAGTGGAACCCAAG AGCTGTGATAAAACACATACTTGCCCACCTTGTCCTGCACCAGAGCTGCTGGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGT TTCCACCCAAGCCTAAAGACACTCTGATGATTTCCCGGACACCCGAAGTGACTTGCGTGGTCGTGGACGTGTC TCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCGAGGTGCATAATGCTAAGACAAAACCC CGAGAGGAACAGTACAATTCAACATATCGGGTCGTGAGCGTCCTGACTGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACG GCAAGGAGTATAAGTGCAAAGTGAGTAATAAGGCTCTGCCCGCACCTATCGAGAAAACCATTTCTAAGGCTAA AGGGCAGCCTCGCGAACCACAGGTCTACGTGTATCCTCCATCTCGAGACGAGCTGACTAAGAACCAGGTCAGT CTGACCTGTCTGGTGAAAGGGTTTTACCCTAGCGATATCGCAGTGGAGTGGGAATCCAATGGACAGCCAGAAA ACAATTATAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCGCACTGGTCAGTAAGCTGACAGTGGA TAAATCAAGATGGCAGCAGGGCAACGTCTTTAGTTGTTCAGTGATGCATGAGGCCCTGCACAATCATTACACT CAGAAGAGCCTGTCCCTGTCTCCTGGCAAA
31.	2313	VH	CAGGTCCAGCTGGTGGAATCCGGAGGAGGAGTGGTCCAGCCTGGACGATCTCTGAGACTGAGTTGCGCCGCTT CAGGGTTCAAGTTTAGCGGGTACGGAATGCACTGGGTGAGGCAGGCACCAGGCAAAGGGCTGGAGTGGGTCGC CGTGATCTGGTATGACGGCAGCAAGAAGTACTATGTCGATTCTGTGAAGGGCAGGTTCACCATTAGCCGCGAC AACTCCAAAAATACACTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAAGACACCGCTGTGTACTATTGCGCCA GGCAGATGGGCTATTGGCACTTCGATCTGTGGGGACGAGGAACCCTGGTCACAGTGAGCTCC
32.	2313	CH1	GCATCTACAAAGGGGCCCAGTGTGTTTCCACTGGCTCCCTCTAGTAAATCCACTTCTGGAGGAACCGCAGCAC TGGGATGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCAGAGCCCGTCACCGTGAGTTGGAACTCAGGGGCTCTGACCTCCGG AGTCCATACATTTCCAGCAGTGCTGCAGTCAAGCGGCCTGTACAGCCTGTCCTCTGTGGTCACTGTGCCCAGT TCAAGCCTGGGGACTCAGACCTATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCATCAAATACCAAAGTCGACAAGAAAG TG
33.	2313	CH2	GCACCAGAGCTGCTGGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCTAAAGACACTCTGATGATTTCCC GGACACCCGAAGTGACTTGCGTGGTCGTGGACGTGTCTCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGT GGATGGCGTCGAGGTGCATAATGCTAAGACAAAACCCCGAGAGGAACAGTACAATTCAACATATCGGGTCGTG AGCGTCCTGACTGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAAGTGAGTAATAAGGCTC TGCCCGCACCTATCGAGAAAACCATTTCTAAGGCTAAA
34.	2313	CH3	GGGCAGCCTCGCGAACCACAGGTCTACGTGTATCCTCCATCTCGAGACGAGCTGACTAAGAACCAGGTCAGTC TGACCTGTCTGGTGAAAGGGTTTTACCCTAGCGATATCGCAGTGGAGTGGGAATCCAATGGACAGCCAGAAAA CAATTATAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCGCACTGGTCAGTAAGCTGACAGTGGAT AAATCAAGATGGCAGCAGGGCAACGTCTTTAGTTGTTCAGTGATGCATGAGGCCCTGCACAATCATTACACTC AGAAGAGCCTGTCCCTGTCTCCTGGC
35.	2316	完全	CAGGCTTACCTGCAGCAGTCCGGAGCAGAACTGGTCCGACCAGGAGCTTCCGTGAAAATGTCTTGCAAAGCAA GTGGCTACACTTTCACCAGCTATAACATGCACTGGGTGAAACAGACACCTCGACAGGGACTGGAGTGGATCGG AGCAATCTACCCAGGGAACGGAGACACTAGCTATAATCAGAAGTTTAAAGGGAAGGCTACACTGACTGTGGAT AAGAGCTCCTCTACTGCATACATGCAGCTGAGTTCACTGACCAGCGAAGACTCCGCTGTGTATTTCTGCGCAA GGGTGGTCTACTACTCCAATTCTTACTGGTACTTCGATGTGTGGGGCACTGGGACCACAGTCACCGTGAGCTC CGCCTCAACCAAAGGACCTAGCGTGTTCCCACTGGCTCCCTCTAGTAAGAGTACATCAGGAGGAACTGCAGCT CTGGGATGTCTGGTGAAGGACTACTTCCCAGAGCCCGTCACAGTGTCTTGGAACAGTGGGGCACTGACATCTG GAGTCCATACTTTTCCTGCCGTGCTGCAGTCAAGCGGGCTGTACAGCCTGTCCTCTGTGGTCACTGTGCCAAG TTCAAGCCTGGGAACCCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAACCAAGCAATACCAAGGTCGACAAGAAA GTGGAACCCAAATCCTGTGATAAGACTCATACCTGCCCACCTTGTCCTGCACCAGAGCTGCTGGGAGGACCAT CCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAACCTAAGGACACCCTGATGATTTCTAGAACCCCAGAAGTCACATGCGTGGT CGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTTAACTGGTACGTGGATGGCGTCGAGGTGCATAATGCT AAAACAAAGCCCCGGGAGGAACAGTACAACTCCACCTATAGAGTCGTGTCTGTCCTGACAGTGCTGCACCAGG ACTGGCTGAACGGGAAGGAGTATAAATGCAAGGTGAGCAACAAGGCACTGCCCGCCCCTATCGAGAAGACAAT TTCCAAAGCTAAGGGACAGCCTAGGGAACCACAGGTCTACGTGCTGCCTCCATCTCGCGACGAGCTGACTAAA AACCAGGTCAGTCTGCTGTGTCTGGTGAAGGGATTCTATCCCAGCGATATCGCAGTGGAGTGGGAATCCAATG GCCAGCCTGAAAACAATTACCTGACCTGGCCCCCTGTGCTGGACTCAGATGGCAGCTTCTTTCTGTATAGTAA ACTGACAGTGGATAAGTCACGCTGGCAGCAGGGGAACGTCTTTAGCTGTTCCGTGATGCATGAGGCCCTGCAC AATCATTACACCCAGAAATCTCTGAGTCTGTCACCCGGCAAG
36.	2316	VH	CAGGCTTACCTGCAGCAGTCCGGAGCAGAACTGGTCCGACCAGGAGCTTCCGTGAAAATGTCTTGCAAAGCAA GTGGCTACACTTTCACCAGCTATAACATGCACTGGGTGAAACAGACACCTCGACAGGGACTGGAGTGGATCGG AGCAATCTACCCAGGGAACGGAGACACTAGCTATAATCAGAAGTTTAAAGGGAAGGCTACACTGACTGTGGAT AAGAGCTCCTCTACTGCATACATGCAGCTGAGTTCACTGACCAGCGAAGACTCCGCTGTGTATTTCTGCGCAA GGGTGGTCTACTACTCCAATTCTTACTGGTACTTCGATGTGTGGGGCACTGGGACCACAGTCACCGTGAGCTC C
37.	2316	CH1	GCCTCAACCAAAGGACCTAGCGTGTTCCCACTGGCTCCCTCTAGTAAGAGTACATCAGGAGGAACTGCAGCTC TGGGATGTCTGGTGAAGGACTACTTCCCAGAGCCCGTCACAGTGTCTTGGAACAGTGGGGCACTGACATCTGG AGTCCATACTTTTCCTGCCGTGCTGCAGTCAAGCGGGCTGTACAGCCTGTCCTCTGTGGTCACTGTGCCAAGT TCAAGCCTGGGAACCCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAACCAAGCAATACCAAGGTCGACAAGAAAG TG
38.	2316	CH2	GCACCAGAGCTGCTGGGAGGACCATCCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAACCTAAGGACACCCTGATGATTTCTA GAACCCCAGAAGTCACATGCGTGGTCGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTTAACTGGTACGT GGATGGCGTCGAGGTGCATAATGCTAAAACAAAGCCCCGGGAGGAACAGTACAACTCCACCTATAGAGTCGTG TCTGTCCTGACAGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTATAAATGCAAGGTGAGCAACAAGGCAC TGCCCGCCCCTATCGAGAAGACAATTTCCAAAGCTAAG
39.	2316	CH3	GGACAGCCTAGGGAACCACAGGTCTACGTGCTGCCTCCATCTCGCGACGAGCTGACTAAAAACCAGGTCAGTC TGCTGTGTCTGGTGAAGGGATTCTATCCCAGCGATATCGCAGTGGAGTGGGAATCCAATGGCCAGCCTGAAAA CAATTACCTGACCTGGCCCCCTGTGCTGGACTCAGATGGCAGCTTCTTTCTGTATAGTAAACTGACAGTGGAT AAGTCACGCTGGCAGCAGGGGAACGTCTTTAGCTGTTCCGTGATGCATGAGGCCCTGCACAATCATTACACCC AGAAATCTCTGAGTCTGTCACCCGGC
40.	2317	完全	GAAGTCCAGCTGGTCGAATCTGGAGGAGGACTGGTGCAGCCTGGACGATCCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCTA GTGGCTTCACTTTTAACGACTATGCAATGCACTGGGTGCGCCAGGCACCAGGGAAGGGACTGGAGTGGGTGAG

			CACCATCTCCTGGAACAGCGGATCTATTGGCTATGCAGACAGCGTGAAAGGCAGGTTCACAATCAGTCGCGAT AACGCCAAGAAATCACTGTACCTGCAGATGAATAGCCTGCGAGCCGAAGACACAGCTCTGTACTATTGCGCCA AGGATATTCAGTATGGGAACTACTATTACGGAATGGACGTGTGGGGCCAGGGGACCACAGTCACCGTGAGCTC CGCCTCAACAAAGGGGCCCAGCGTGTTTCCACTGGCTCCCTCTAGTAAAAGTACCTCAGGCGGGACAGCAGCC CTGGGATGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCAGAGCCCGTCACCGTGTCTTGGAACAGTGGCGCTCTGACAAGCG GGGTCCATACTTTTCCAGCAGTGCTGCAGTCAAGCGGCCTGTATTCCCTGTCCTCTGTGGTCACTGTGCCCAG TTCAAGCCTGGGGACTCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCATCTAATACCAAAGTCGACAAGAAA GTGGAACCCAAGAGTTGTGATAAAACACATACTTGCCCACCTTGTCCTGCACCAGAGCTGCTGGGAGGACCAT CCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCTAAAGACACCCTGATGATTAGCAGGACTCCCGAAGTCACCTGCGTGGT CGTGGACGTGTCCCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCGAGGTGCATAATGCT AAGACAAAACCCCGAGAGGAACAGTATAATTCCACTTACCGGGTCGTGTCTGTCCTGACCGTGCTGCACCAGG ACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAAGTGTCTAATAAGGCTCTGCCCGCACCTATCGAGAAAACAAT TAGCAAGGCTAAAGGGCAGCCTAGAGAACCACAGGTCTATGTGCTGCCTCCAAGCAGGGACGAGCTGACTAAG AACCAGGTCTCCCTGCTGTGTCTGGTGAAAGGGTTCTACCCTAGTGATATCGCAGTGGAGTGGGAATCAAATG GACAGCCAGAAAACAATTATCTGACATGGCCCCCTGTGCTGGACTCAGATGGAAGCTTCTTTCTGTACTCCAA GCTGACTGTGGATAAATCTCGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTTAGCTGTTCCGTGATGCATGAGGCCCTGCAC AATCATTACACCCAGAAGTCTCTGAGTCTGTCACCTGGCAAA
41.	2317	VH	GAAGTCCAGCTGGTCGAATCTGGAGGAGGACTGGTGCAGCCTGGACGATCCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCTA GTGGCTTCACTTTTAACGACTATGCAATGGCACTGGGTGCGCCAGGCACCAGGGAAGGGACTGGAGTGGGTGAG CACCATCTCCTGGAACAGCGGATCTATTGGCTATGCAGACAGCGTGAAAGGCAGGTTCACAATCAGTCGCGAT AACGCCAAGAAATCACTGTACCTGCAGATGAATAGCCTGCGAGCCGAAGACACAGCTCTGTACTATTGCGCCA AGGATATTCAGTATGGGAACTACTATTACGGAATGGACGTGTGGGGCCAGGGGACCACAGTCACCGTGAGCTC C
42.	2317	CH1	GCCTCAACAAAGGGGCCCAGCGTGTTTCCACTGGCTCCCTCTAGTAAAAGTACCTCAGGCGGGACAGCAGCCC TGGGATGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCAGAGCCCGTCACCGTGTCTTGGAACAGTGGCGCTCTGACAAGCGG GGTCCATACTTTTCCAGCAGTGCTGCAGTCAAGCGGCCTGTATTCCCTGTCCTCTGTGGTCACTGTGCCCAGT TCAAGCCTGGGGACTCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCATCTAATACCAAAGTCGACAAGAAAG TG
43.	2317	CH2	GCACCAGAGCTGCTGGGAGGACCATCCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCTAAAGACACCCTGATGATTAGCA GGACTCCCGAAGTCACCTGCGTGGTCGTGGACGTGTCCCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGT GGATGGCGTCGAGGTGCATAATGCTAAGACAAAACCCCGAGAGGAACAGTATAATTCCACTTACCGGGTCGTG TCTGTCCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAAGTGTCTAATAAGGCTC TGCCCGCACCTATCGAGAAAACAATTAGCAAGGCTAAA
44.	2317	CH3	GGGCAGCCTAGAGAACCACAGGTCTATGTGCTGCCTCCAAGCAGGGACGAGCTGACTAAGAACCAGGTCTCCC TGCTGTGTCTGGTGAAAGGGTTCTACCCTAGTGATATCGCAGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCAGAAAA CAATTATCTGACATGGCCCCCTGTGCTGGACTCAGATGGAAGCTTCTTTCTGTACTCCAAGCTGACTGTGGAT AAATCTCGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTTAGCTGTTCCGTGATGCATGAGGCCCTGCACAATCATTACACCC AGAAGTCTCTGAGTCTGTCACCTGGC
45.	2323	完全	CAGATCGTCCTGTCACAGAGCCCCGCTATCCTGTCCGCATCTCCTGGCGAGAAGGTGACCATGACATGCCGAG CTAGCTCCTCTGTCTCCTACATGCACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGGAGTTCACCTAAACCATGGATCTACGC CCCATCAAACCTGGCTAGCGGAGTGCCAGCACGGTTCAGTGGCTCAGGGAGCGGAACATCCTATTCTCTGACT ATTTCTAGAGTGGAGGCTGAAGACGCCGCTACCTACTATTGCCAGCAGTGGTCCTTCAATCCCCCTACCTTTG GCGCAGGGACAAAGCTGGAGCTGAAAAGGACCGTGGCAGCCCCTAGTGTCTTCATTTTTCCACCCTCCGACGA ACAGCTGAAGTCCGGCACAGCCTCTGTGGTCTGTCTGCTGAACAATTTCTACCCACGCGAGGCCAAGGTGCAG TGGAAAGTCGATAACGCTCTGCAGAGTGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACTGAACAGGACTCCAAGGATTCTA CCTATAGTCTGAGCTCCACTCTGACCCTGAGCAAAGCAGATTACGAGAAGCACAAAGTGTATGCCTGCGAAGT CACACATCAGGGACTGTCTAGTCCTGTGACTAAAAGCTTTAACAGAGGCGAATGT
46.	2323	VL	CAGATCGTCCTGTCACAGAGCCCCGCTATCCTGTCCGCATCTCCTGGCGAGAAGGTGACCATGACATGCCGAG CTAGCTCCTCTGTCTCCTACATGCACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGGAGTTCACCTAAACCATGGATCTACGC CCCATCAAACCTGGCTAGCGGAGTGCCAGCACGGTTCAGTGGCTCAGGGAGCGGAACATCCTATTCTCTGACT ATTTCTAGAGTGGAGGCTGAAGACGCCGCTACCTACTATTGCCAGCAGTGGTCCTTCAATCCCCCTACCTTTG GCGCAGGGACAAAGCTGGAGCTGAAA
47.	2323	CL	AGGACCGTGGCAGCCCCTAGTGTCTTCATTTTTCCACCCTCCGACGAACAGCTGAAGTCCGGCACAGCCTCTG TGGTCTGTCTGCTGAACAATTTCTACCCACGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAAGTCGATAACGCTCTGCAGAG TGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACTGAACAGGACTCCAAGGATTCTACCTATAGTCTGAGCTCCACTCTGACC CTGAGCAAAGCAGATTACGAGAAGCACAAAGTGTATGCCTGCGAAGTCACACATCAGGGACTGTCTAGTCCTG TGACTAAAAGCTTTAACAGAGGCGAATGT
48.	2325	完全	GAAATCGTCCTGACACAGTCCCCTGCCACTCTGAGTCTGTCACCAGGCGAGAGGGCTACCCTGTCTTGCCGCG CAAGCCAGTCCGTGAGCTCCTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCAGGGCAGGCTCCCAGACTGCTGATCTA CGACGCATCCAACCGAGCAACCGGCATCCCCGCACGGTTCTCTGGCAGTGGGTCAGGAACAGACTTTACCCTG ACAATCTCTAGTCTGGAGCCCGAAGATTTCGCTGTGTACTATTGCCAGCAGAGGTCTAATTGGCCTATCACCT TTGGCCAGGGGACACGGCTGGAGATTAAGAGAACTGTGGCCGCTCCAAGTGTCTTCATTTTTCCCCCTAGCGA CGAACAGCTGAAATCCGGCACAGCCTCTGTGGTCTGTCTGCTGAACAATTTCTACCCCCGCGAGGCAAAGGTG CAGTGGAAAGTCGATAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGTCTGTGACTGAACAGGACAGTAAGGATT CAACCTATAGCCTGTCAAGCACTCTGACCCTGAGCAAAGCTGATTACGAGAAGCACAAAGTGTATGCATGCGA AGTCACACATCAGGGACTGTCCTCTCCCGTCACTAAAAGCTTTAACCGAGGCGAATGT
49.	2325	VL	GAAATCGTCCTGACACAGTCCCCTGCCACTCTGAGTCTGTCACCAGGCGAGAGGGCTACCCTGTCTTGCCGCG CAAGCCAGTCCGTGAGCTCCTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCAGGGCAGGCTCCCAGACTGCTGATCTA CGACGCATCCAACCGAGCAACCGGCATCCCCGCACGGTTCTCTGGCAGTGGGTCAGGAACAGACTTTACCCTG ACAATCTCTAGTCTGGAGCCCGAAGATTTCGCTGTGTACTATTGCCAGCAGAGGTCTAATTGGCCTATCACCT TTGGCCAGGGGACACGGCTGGAGATTAAG
50.	2325	CL	AGAACTGTGGCCGCTCCAAGTGTCTTCATTTTTCCCCCTAGCGACGAACAGCTGAAATCCGGCACAGCCTCTG TGGTCTGTCTGCTGAACAATTTCTACCCCCGCGAGGCAAAGGTGCAGTGGAAAGTCGATAACGCCCTGCAGAG CGGCAACAGCCAGGAGTCTGTGACTGAACAGGACAGTAAGGATTCAACCTATAGCCTGTCAAGCACTCTGACC CTGAGCAAAGCTGATTACGAGAAGCACAAAGTGTATGCATGCGAAGTCACACATCAGGGACTGTCCTCTCCCG TCACTAAAAGCTTTAACCGAGGCGAATGT

51.	2170	完全	GACATCAAACTGCAGCAGAGCGGAGCTGAGCTGGCACGACCAGGAGCCAGTGTGAAAATGTCATGCAAGACAA GCGGCTACACCTTCACACGGTATACTATGCACTGGGTGAAACAGAGACCCGGCCAGGGGCTGGAATGGATCGG ATATATTAACCCTTCCCGAGGCTACACCAACTATAATCAGAAGTTTAAAGACAAGGCCACCCTGACCACAGAT AAGAGCTCCTCTACAGCTTACATGCAGCTGAGTTCACTGACTAGTGAGGACTCAGCTGTGTACTATTGCGCAA GGTACTATGACGATCATTACTGTCTGGATTATTGGGGACAGGGCACTACCCTGACTGTCAGCTCCGTGGAAGG AGGGAGCGGAGGCTCCGGAGGATCTGGCGGGAGTGGAGGCGTGGACGATATCCAGCTGACCCAGTCCCCAGCA ATTATGTCCGCCTCTCCCGGCGAGAAAGTGACTATGACCTGCCGCGCCTCTAGTTCAGTGAGCTACATGAACT GGTATCAGCAGAAATCAGGCACCAGCCCCAAGAGATGGATCTACGACACATCCAAGGTCGCTTCTGGGGTGCC TTATAGGTTCAGTGGGTCAGGAAGCGGCACTTCCTACTCTCTGACCATTAGCTCCATGGAGGCAGAAGATGCC GCTACATACTATTGTCAGCAGTGGTCTAGTAATCCACTGACATTTGGGGCCGGAACTAAACTGGAGCTGAAGG CAGCCGAACCCAAATCAAGCGACAAGACACACACTTGCCCACCTTGTCCAGCACCAGAACTGCTGGGAGGACC TAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAACCAAAGGATACACTGATGATCAGCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTG GTCGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTCGAAGTGCATAATG CCAAAACCAAGCCTAGGGAGGAACAGTACAATAGTACTTATCGCGTCGTGTCAGTCCTGACCGTGCTGCATCA GGATTGGCTGAACGGGAAGGAGTACAAATGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCTCCAATCGAGAAGACC ATTTCTAAAGCAAAGGGCCAGCCCCGAGAACCTCAGGTCTACGTGTATCCTCCATCCCGGGACGAGCTGACCA AAAACCAGGTCTCTCTGACATGTCTGGTGAAGGGGTTTTATCCATCTGATATTGCTGTGGAGTGGGAAAGTAA TGGACAGCCCGAGAACAATTACAAGACAACTCCCCCTGTGCTGGACTCCGATGGATCTTTCGCTCTGGTCAGC AAACTGACAGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGGCAACGTCTTTAGTTGTTCAGTGATGCACGAGGCACTGC ACAATCATTACACTCAGAAAAGCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAAG
52.	2170	VH	GACATCAAACTGCAGCAGAGCGGAGCTGAGCTGGCACGACCAGGAGCCAGTGTGAAAATGTCATGCAAGACAA GCGGCTACACCTTCACACGGTATACTATGCACTGGGTGAAACAGAGACCCGGCCAGGGGCTGGAATGGATCGG ATATATTAACCCTTCCCGAGGCTACACCAACTATAATCAGAAGTTTAAAGACAAGGCCACCCTGACCACAGAT AAGAGCTCCTCTACAGCTTACATGCAGCTGAGTTCACTGACTAGTGAGGACTCAGCTGTGTACTATTGCGCAA GGTACTATGACGATCATTACTGTCTGGATTATTGGGGACAGGGCACTACCCTGACTGTCAGCTCC
53.	2170	VL	GATATCCAGCTGACCCAGTCCCCAGCAATTATGTCCGCCTCTCCCGGCGAGAAAGTGACTATGACCTGCCGCG CCTCTAGTTCAGTGAGCTACATGAACTGGTATCAGCAGAAATCAGGCACCAGCCCCAAGAGATGGATCTACGA CACATCCAAGGTCGCTTCTGGGGTGCCTTATAGGTTCAGTGGGTCAGGAAGCGGCACTTCCTACTCTCTGACC ATTAGCTCCATGGAGGCAGAAGATGCCGCTACATACTATTGTCAGCAGTGGTCTAGTAATCCACTGACATTTG GGGCCGGAACTAAACTGGAGCTGAAG
54.	2170	CH2	GCACCAGAACTGCTGGGAGGACCTAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAACCAAAGGATACACTGATGATCAGCC GGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTCGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGT GGACGGCGTCGAAGTGCATAATGCCAAAACCAAGCCTAGGGAGGAACAGTACAATAGTACTTATCGCGTCGTG TCAGTCCTGACCGTGCTGCATCAGGATTGGCTGAACGGGAAGGAGTACAAATGCAAGGTGTCCAACAAGGCCC TGCCTGCTCCAATCGAGAAGACCATTTCTAAAGCAAAG
55.	2170	CH3	GGCCAGCCCCGAGAACCTCAGGTCTACGTGTATCCTCCATCCCGGGACGAGCTGACCAAAAACCAGGTCTCTC TGACATGTCTGGTGAAGGGGTTTTATCCATCTGATATTGCTGTGGAGTGGGAAAGTAATGGACAGCCCGAGAA CAATTACAAGACAACTCCCCCTGTGCTGGACTCCGATGGATCTTTCGCTCTGGTCAGCAAACTGACAGTGGAC AAGTCCAGATGGCAGCAGGGCAACGTCTTTAGTTGTTCAGTGATGCACGAGGCACTGCACAATCATTACACTC AGAAAAGCCTGTCCCTGTCTCCCGGC
56.	6689	完全	CAGATCGTCCTGACTCAGAGCCCCGCTATTATGTCCGCTTCCCCTGGAGAAAAGGTCACTATGACTTGTTCCG CCTCTAGTTCCGTCTCCTACATGAACTGGTATCAGCAGAAATCTGGAACAAGTCCCAAGCGATGGATCTACGA CACTTCCAAGCTGGCATCTGGAGTGCCTGCCCACTTCCGAGGCAGCGGCTCTGGGACAAGTTATTCACTGACT ATTTCTGGCATGGAGGCCGAAGATGCCGCTACATACTATTGCCAGCAGTGGAGCTCCAACCCATTCACCTTTG GATGTGGCACAAAGCTGGAGATCAATGGCGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGGTCTGGAGGAGGAGGAAGTCA GGTCCAGCTGCAGCAGAGCGGAGCAGAACTGGCTAGACCAGGAGCCAGTGTGAAAATGTCATGCAAGGCCAGC GGCTACACATTCACTCGGTATACCATGCATTGGGTGAAACAGAGACCAGGACAGTGTCTGGAGTGGATCGGCT ACATTAATCCCAGCAGGGGGTACACAAACTACAACCAGAAGTTTAAAGACAAGGCAACCCTGACCACCGATAA GTCTAGTTCAACAGCTTATATGCAGCTGAGCTCCCTGACTTCAGAAGACAGCGCTGTGTACTATTGCGCACGC TACTATGACGATCACTACTGTCTGGATTATTGGGGGCAGGGAACTACCCTGACCGTGTCTAGTGCAGCCGAGC CTAAATCAAGCGACAAGACCCATACATGCCCCCCTTGTCCGGCGCCAGAAGCTGCAGGCGGACCAAGCGTGTT CCTGTTTCCACCCAAACCTAAGGATACTCTGATGATTAGCCGAACTCCTGAGGTCACCTGCGTGGTCGTGAGC GTGTCCCACGAGGACCCAGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGGGTCGAAGTGCATAATGCCAAAACCA AGCCCAGGGAGGAACAGTACAACTCCACTTATCGCGTCGTGTCTGTCCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCT GAATGGCAAGGAGTACAAATGTAAGGTCTCAAATAAGGCTCTGCCCGCCCCTATCGAAAAAACTATCTCAAAG GCAAAAGGCCAGCCTCGCGAACCACAGGTCTACGTGCTGCCCCCTAGCCGCGACGAACTGACTAAAAATCAGG TCTCTCTGCTGTGTCTGGTCAAAGGATTCTACCCTTCCGACATCGCCGTGGAGTGGGAAAGTAACGGCCAGCC CGAGAACAATTACCTGACCTGGCCCCCTGTGCTGGACTCTGATGGGAGTTTCTTTCTGTATTCAAAGCTGACA GTCGATAAAAGCCGGTGGCAGCAGGGCAATGTGTTCAGCTGCTCCGTCATGCACGAAGCACTGCACAACCATT ACACTCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCACCTGGC
57.	6689	VL	CAGATCGTCCTGACTCAGAGCCCCGCTATTATGTCCGCTTCCCCTGGAGAAAAGGTCACTATGACTTGTTCCG CCTCTAGTTCCGTCTCCTACATGAACTGGTATCAGCAGAAATCTGGAACAAGTCCCAAGCGATGGATCTACGA CACTTCCAAGCTGGCATCTGGAGTGCCTGCCCACTTCCGAGGCAGCGGCTCTGGGACAAGTTATTCACTGACT ATTTCTGGCATGGAGGCCGAAGATGCCGCTACATACTATTGCCAGCAGTGGAGCTCCAACCCATTCACCTTTG GATGTGGCACAAAGCTGGAGATCAAT
58.	6689	VH	CAGGTCCAGCTGCAGCAGAGCGGAGCAGAACTGGCTAGACCAGGAGCCAGTGTGAAAATGTCATGCAAGGCCA GCGGCTACACATTCACTCGGTATACCATGCATTGGGTGAAACAGAGACCAGGACAGTGTCTGGAGTGGATCGG CTACATTAATCCCAGCAGGGGGTACACAAACTACAACCAGAAGTTTAAAGACAAGGCAACCCTGACCACCGAT AAGTCTAGTTCAACAGCTTATATGCAGCTGAGCTCCCTGACTTCAGAAGACAGCGCTGTGTACTATTGCGCAC GCTACTATGACGATCACTACTGTCTGGATTATTGGGGGCAGGGAACTACCCTGACCGTGTCTAGT
59.	6689	CH2	GCGCCAGAAGCTGCAGGCGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAACCTAAGGATACTCTGATGATTAGCC GAACTCCTGAGGTCACCTGCGTGGTCGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCAGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGT GGATGGGGTCGAAGTGCATAATGCCAAAACCAAGCCCAGGGAGGAACAGTACAACTCCACTTATCGCGTCGTG TCTGTCCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAATGTAAGGTCTCAAATAAGGCTC TGCCCGCCCCTATCGAAAAAACTATCTCAAAGGCAAAA
60.	6689	CH3	GGCCAGCCTCGCGAACCACAGGTCTACGTGCTGCCCCCTAGCCGCGACGAACTGACTAAAAATCAGGTCTCTC

			TGCTGTGTCTGGTCAAAGGATTCTACCCTTCCGACATCGCCGTGGAGTGGGAAAGTAACGGCCAGCCCGAGAA CAATTACCTGACCTGGCCCCCTGTGCTGGACTCTGATGGGAGTTTCTTTCTGTATTCAAAGCTGACAGTCGAT AAAAGCCGGTGGCAGCAGGGCAATGTGTTCAGCTGCTCCGTCATGCACGAAGCACTGCACAACCATTACACTC AGAAGTCCCTGTCCCTGTCACCTGGC
61.	6690	完全	CAGATCGTCCTGACTCAGAGCCCCGCTATTATGTCCGCAAGCCCTGGAGAGAAAGTGACTATGACCTGTTCCG CATCTAGTTCCGTGTCCTACATGAACTGGTATCAGCAGAAATCTGGAACAAGTCCCAAGCGATGGATCTACGA CACTTCCAAGCTGGCATCTGGAGTGCCTGCCCACTTCCGAGGCAGCGGCTCTGGGACAAGTTATTCACTGACT ATTAGCGGCATGGAGGCCGAAGATGCCGCTACATACTATTGCCAGCAGTGGAGCTCCAACCCATTCACCTTTG GATGTGGCACAAAGCTGGAGATCAATGGCGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGGTCTGGAGGAGGAGGAAGTCA GGTCCAGCTGCAGCAGTCCGGAGCAGAACTGGCTAGACCAGGAGCCAGTGTGAAAATGTCATGCAAGGCCAGC GGCTACACATTCACTCGGTATACCATGCATTGGGTGAAACAGAGACCAGGACAGTGTCTGGAGTGGATCGGCT ACATTAATCCCAGCAGGGGGTACACAAACTACAACCAGAAGTTTAAAGACAAGGCAACCCTGACCACCGATAA GTCTAGTTCAACAGCTTATATGCAGCTGAGCTCCCTGACTTCAGAAGACAGCGCTGTGTACTATTGCGCACGC TACTATGACGATCACTACTCCCTGGATTATTGGGGGCAGGGAACTACCCTGACCGTGTCTAGTGCAGCCGAGC CTAAATCAAGCGACAAGACCCATACATGCCCCCCTTGTCCGGCGCCAGAAGCTGCAGGCGGACCAAGTGTGTT CCTGTTTCCACCCAAACCTAAGGATACTCTGATGATTTCTCGAACTCCTGAGGTCACCTGCGTGGTCGTGAGC GTGTCCCACGAGGACCCAGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGGGTCGAAGTGCATAATGCCAAAACCA AGCCCAGGGAGGAACAGTACAACTCAACTTATCGCGTCGTGTCTGTCCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCT GAATGGCAAGGAGTACAAATGTAAGGTCTCAAATAAGGCTCTGCCCGCCCCTATCGAAAAAACTATCTCTAAG GCAAAAGGACAGCCTCGCGAACCACAGGTCTACGTGCTGCCCCCTAGCCGCGACGAACTGACTAAAAATCAGG TCTCTCTGCTGTGTCTGGTCAAAGGATTCTACCCTTCCGACATCGCCGTGGAGTGGGAAAGTAACGGCCAGCC CGAGAACAATTACCTGACCTGGCCCCCTGTGCTGGACTCTGATGGGAGTTTCTTTCTGTATTCAAAGCTGACA GTCGATAAAAGCCGGTGGCAGCAGGGCAATGTGTTCAGCTGCTCCGTCATGCACGAAGCACTGCACAACCATT ACACTCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCACCTGGC
62.	6690	VL	CAGATCGTCCTGACTCAGAGCCCCGCTATTATGTCCGCAAGCCCTGGAGAGAAAGTGACTATGACCTGTTCCG CATCTAGTTCCGTGTCCTACATGAACTGGTATCAGCAGAAATCTGGAACAAGTCCCAAGCGATGGATCTACGA CACTTCCAAGCTGGCATCTGGAGTGCCTGCCCACTTCCGAGGCAGCGGCTCTGGGACAAGTTATTCACTGACT ATTAGCGGCATGGAGGCCGAAGATGCCGCTACATACTATTGCCAGCAGTGGAGCTCCAACCCATTCACCTTTG GATGTGGCACAAAGCTGGAGATCAAT
63.	6690	VH	CAGGTCCAGCTGCAGCAGTCCGGAGCAGAACTGGCTAGACCAGGAGCCAGTGTGAAAATGTCATGCAAGGCCA GCGGCTACACATTCACTCGGTATACCATGCATTGGGTGAAACAGAGACCAGGACAGTGTCTGGAGTGGATCGG CTACATTAATCCCAGCAGGGGGTACACAAACTACAACCAGAAGTTTAAAGACAAGGCAACCCTGACCACCGAT AAGTCTAGTTCAACAGCTTATATGCAGCTGAGCTCCCTGACTTCAGAAGACAGCGCTGTGTACTATTGCGCAC GCTACTATGACGATCACTACTCCCTGGATTATTGGGGGCAGGGAACTACCCTGACCGTGTCTAGT
64.	6690	CH2	GCGCCAGAAGCTGCAGGCGGACCAAGTGTGTTCCTGTTTCCACCCAAACCTAAGGATACTCTGATGATTTCTC GAACTCCTGAGGTCACCTGCGTGGTCGTGAGCGTGTCCCACGAGGACCCAGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGT GGATGGGGTCGAAGTGCATAATGCCAAAACCAAGCCCAGGGAGGAACAGTACAACTCAACTTATCGCGTCGTG TCTGTCCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAATGTAAGGTCTCAAATAAGGCTC TGCCCGCCCCTATCGAAAAAACTATCTCTAAGGCAAAA
65.	6690	CH3	GGACAGCCTCGCGAACCACAGGTCTACGTGCTGCCCCCTAGCCGCGACGAACTGACTAAAAATCAGGTCTCTC TGCTGTGTCTGGTCAAAGGATTCTACCCTTCCGACATCGCCGTGGAGTGGGAAAGTAACGGCCAGCCCGAGAA CAATTACCTGACCTGGCCCCCTGTGCTGGACTCTGATGGGAGTTTCTTTCTGTATTCAAAGCTGACAGTCGAT AAAAGCCGGTGGCAGCAGGGCAATGTGTTCAGCTGCTCCGTCATGCACGAAGCACTGCACAACCATTACACTC AGAAGTCCCTGTCCCTGTCACCTGGC
66.	6691	完全	GATATTCAGCTGACACAGAGCCCCGCATCCCTGGCCGTGAGCCTGGGACAGAGAGCAACTATTTCCTGCAAAG CCTCACAGAGCGTGGACTATGATGGAGACAGCTATCTGAACTGGTACCAGCAGATCCCAGGCCAGCCCCCTAA ACTGCTGATCTACGACGCCCAGCAATCTGGTGTCCGGCATCCCACCCAGGTTCAGTGGATCAGGCAGCGGGACC GATTTTACACTGAACATTCACCCTGTCGAGAAGGTGGACGCCGCTACCTACCATTGCCAGCAGTCCACAGAGG ACCCCTGGACTTTCGGATGTGGCACCAAACTGGAAATCAAGGGCGGGGGAGGCTCAGGAGGAGGAGGGAGCGG AGGAGGAGGCAGCCAGGTGCAGCTGCAGCAGAGCGGAGCAGAACTGGTCCGACCTGGAAGCTCCGTGAAAATT TCTTGCAAGGCCAGTGGCTATGCTTTTTCTAGTTACTGGATGAATTGGGTGAAGCAGCGACCAGGACAGTGTC TGGAGTGGATCGGGCAGATTTGGCCTGGGGATGGAGACACCAACTATAATGGAAAGTTCAAAGGCAAGGCAAC TCTGACCGCCGACGAATCAAGCTCCACAGCTTATATGCAGCTGTCTAGTCTGGCTAGTGAGGATTCAGCAGTG TACTTTTGCGCCCGGAGAGAAACCACAACTGTGGGCAGATACTATTACGCAATGGACTACTGGGGCCAGGGGA CCACAGTCACCGTGTCAAGCGCAGCCGAGCCCAAATCCTCTGATAAGACACACACTTGCCCTCCATGTCCGGC GCCAGAAGCTGCAGGCGGACCTTCCGTGTTCCTGTTTCCCCCTAAACCAAAGGACACTCTGATGATCTCTCGC ACTCCAGAGGTCACCTGCGTGGTCGTGTCCGTGTCTCACGAGGACCCCGAAGTCAAATTCAACTGGTATGTGG ACGGGGTCGAAGTGCATAATGCCAAAACAAAGCCTAGGGAGGAACAGTATAACTCTACATACCGCGTCGTGAG TGTCCTGACTGTGCTGCATCAGGATTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAATGTAAGGTCTCAAATAAGGCTCTG CCCGCCCCTATCGAAAAAACTATCTCTAAAGCTAAAGGCCAGCCTCGCGAACCACAGGTCTACGTGCTGCCCC CTAGCCGCGACGAACTGACTAAAAATCAGGTCTCTCTGCTGTGTCTGGTCAAAGGATTCTACCCTTCCGACAT CGCCGTGGAGTGGGAAAGTAACGGCCAGCCCGAGAACAATTACCTGACCTGGCCCCCTGTGCTGGACTCTGAT GGGAGTTTCTTTCTGTATTCAAAGCTGACAGTCGATAAAAGCCGGTGGCAGCAGGGCAATGTGTTCAGCTGCT CCGTCATGCACGAAGCACTGCACAACCATTACACTCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCACCTGGC
67.	6691	VL	GATATTCAGCTGACACAGAGCCCCGCATCCCTGGCCGTGAGCCTGGGACAGAGAGCAACTATTTCCTGCAAAG CCTCACAGAGCGTGGACTATGATGGAGACAGCTATCTGAACTGGTACCAGCAGATCCCAGGCCAGCCCCCTAA ACTGCTGATCTACGACGCCAGCAATCTGGTGTCCGGCATCCCACCCAGGTTCAGTGGATCAGGCAGCGGGACC GATTTTACACTGAACATTCACCCTGTCGAGAAGGTGGACGCCGCTACCTACCATTGCCAGCAGTCCACAGAGG ACCCCTGGACTTTCGGATGTGGCACCAAACTGGAAATCAAG
68.	6691	VH	CAGGTGCAGCTGCAGCAGAGCGGAGCAGAACTGGTCCGACCTGGAAGCTCCGTGAAAATTTCTTGCAAGGCCA GTGGCTATGCTTTTTCTAGTTACTGGATGAATTGGGTGAAGCAGCGACCAGGACAGTGTCTGGAGTGGATCGG GCAGATTTGGCCTGGGGATGGAGACACCAACTATAATGGAAAGTTCAAAGGCAAGGCAACTCTGACCGCCGAC GAATCAAGCTCCACAGCTTATATGCAGCTGTCTAGTCTGGCTAGTGAGGATTCAGCAGTGTACTTTTGCGCCC GGAGAGAAACCACAACTGTGGGCAGATACTATTACGCAATGGACTACTGGGGCCAGGGGACCACAGTCACCGT GTCAAGC
69.	6691	CH2	GCGCCAGAAGCTGCAGGCGGACCTTCCGTGTTCCTGTTTCCCCCTAAACCAAAGGACACTCTGATGATCTCTC

			GCACTCCAGAGGTCACCTGCGTGGTCGTGTCCGTGTCTCACGAGGACCCCGAAGTCAAATTCAACTGGTATGT GGACGGGGTCGAAGTGCATAATGCCAAAACAAAGCCTAGGGAGGAACAGTATAACTCTACATACCGCGTCGTG AGTGTCCTGACTGTGCTGCATCAGGATTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAATGTAAGGTCTCAAATAAGGCTC TGCCCGCCCCTATCGAAAAAACTATCTCTAAAGCTAAA
70.	6691	CH3	GGCCAGCCTCGCGAACCACAGGTCTACGTGCTGCCCCCTAGCCGCGACGAACTGACTAAAAATCAGGTCTCTC TGCTGTGTCTGGTCAAAGGATTCTACCCTTCCGACATCGCCGTGGAGTGGGAAAGTAACGGCCAGCCCGAGAA CAATTACCTGACCTGGCCCCCTGTGCTGGACTCTGATGGGAGTTTCTTTCTGTATTCAAAGCTGACAGTCGAT AAAAGCCGGTGGCAGCAGGGCAATGTGTTCAGCTGCTCCGTCATGCACGAAGCACTGCACAACCATTACACTC AGAAGTCCCTGTCCCTGTCACCTGGC
71.	1064	完全	GACATTCAGCTGACACAGAGTCCTGCTTCACTGGCAGTGAGCCTGGGACAGCGAGCAACTATCTCCTGCAAAG CTAGTCAGTCAGTGGACTATGATGGCGACTCCTATCTGAACTGGTACCAGCAGATCCCAGGGCAGCCCCCTAA GCTGCTGATCTACGACGCCTCAAATCTGGTGAGCGGCATCCCACCACGATTCAGCGGCAGCGGCTCTGGGACT GATTTTACCCTGAACATTCACCCAGTCGAGAAGGTGGACGCCGCTACCTACCATTGCCAGCAGTCTACCGAGG ACCCCTGGACATTCGGCGGGGGAACTAAACTGGAAATCAAGGGAGGAGGAGGCAGTGGCGGAGGAGGGTCAGG AGGAGGAGGAAGCCAGGTGCAGCTGCAGCAGAGCGGAGCAGAGCTGGTCAGACCAGGAAGCTCCGTGAAAATT TCCTGTAAGGCATCTGGCTATGCCTTTTCTAGTTACTGGATGAATTGGGTGAAGCAGAGGCCAGGACAGGGCC TGGAATGGATCGGGCAGATTTGGCCCGGGGATGGAGACACTAACTATAATGGAAAGTTCAAAGGCAAGGCTAC ACTGACTGCAGACGAGTCAAGCTCCACCGCTTATATGCAGCTGTCTAGTCTGGCCAGCGAGGATTCCGCTGTC TACTTTTGCGCACGGAGAGAAACCACAACTGTGGGCAGGTACTATTACGCAATGGACTACTGGGGCCAGGGGA CCACAGTCACCGTGTCAAGCGCAGCCGAACCCAAATCCTCTGATAAGACCCACACATGCCCTCCATGTCCAGC ACCTGAGCTGCTGGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCTAAACCTAAGGACACCCTGATGATCTCTCGG ACACCCGAAGTCACTTGTGTGGTCGTGGATGTGAGCCACGAGGACCCTGAAGTCAAATTCAACTGGTACGTGG ATGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAAACAAAGCCTAGGGAGGAACAGTATAACTCCACTTACCGCGTCGTGTC TGTCCTGACCGTGCTGCATCAGGACTGGCTGAACGGAAAGGAGTACAAATGCAAGGTGAGCAACAAGGCCCTG CCAGCTCCCATCGAGAAGACCATTTCCAAAGCTAAGGGCCAGCCTCGAGAACCACAGGTGTATACATACCCAC CCAGCCGGGACGAGCTGACCAAAAACCAGGTCTCCCTGACATGTCTGGTGAAGGGATTTTATCCTTCTGATAT TGCCGTGGAGTGGGAAAGTAATGGCCAGCCAGAAAACAATTACAAGACTACCCCTCCAGTGCTGGATTCTGAC GGGAGTTTCGCACTGGTCAGTAAACTGACAGTGGATAAGTCACGGTGGCAGCAGGGAAACGTCTTTAGTTGTT CAGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCATTACACTCAGAAAAGCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAAG
72.	1064	VL	GACATTCAGCTGACACAGAGTCCTGCTTCACTGGCAGTGAGCCTGGGACAGCGAGCAACTATCTCCTGCAAAG CTAGTCAGTCAGTGGACTATGATGGCGACTCCTATCTGAACTGGTACCAGCAGATCCCAGGGCAGCCCCCTAA GCTGCTGATCTACGACGCCTCAAATCTGGTGAGCGGCATCCCACCACGATTCAGCGGCAGCGGCTCTGGGACT GATTTTACCCTGAACATTCACCCAGTCGAGAAGGTGGACGCCGCTACCTACCATTGCCAGCAGTCTACCGAGG ACCCCTGGACATTCGGCGGGGGAACTAAACTGGAAATCAAG
73.	1064	VH	CAGGTGCAGCTGCAGCAGAGCGGAGCAGAGCTGGTCAGACCAGGAAGCTCCGTGAAAATTTCCTGTAAGGCAT CTGGCTATGCCTTTTCTAGTTACTGGATGAATTGGGTGAAGCAGAGGCCAGGACAGGGCCTGGAATGGATCGG GCAGATTTGGCCCGGGGATGGAGACACTAACTATAATGGAAAGTTCAAAGGCAAGGCTACACTGACTGCAGAC GAGTCAAGCTCCACCGCTTATATGCAGCTGTCTAGTCTGGCCAGCGAGGATTCCGCTGTCTACTTTTGCGCAC GGAGAGAAACCACAACTGTGGGCAGGTACTATTACGCAATGGACTACTGGGGCCAGGGGACCACAGTCACCGT GTCAAGC
74.	1064	CH2	GCACCTGAGCTGCTGGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCTAAACCTAAGGACACCCTGATGATCTCTC GGACACCCGAAGTCACTTGTGTGGTCGTGGATGTGAGCCACGAGGACCCTGAAGTCAAATTCAACTGGTACGT GGATGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAAACAAAGCCTAGGGAGGAACAGTATAACTCCACTTACCGCGTCGTG TCTGTCCTGACCGTGCTGCATCAGGACTGGCTGAACGGAAAGGAGTACAAATGCAAGGTGAGCAACAAGGCCC TGCCAGCTCCCATCGAGAAGACCATTTCCAAAGCTAAG
75.	1064	CH3	GGCCAGCCTCGAGAACCACAGGTGTATACATACCCACCCAGCCGGGACGAGCTGACCAAAAACCAGGTCTCCC TGACATGTCTGGTGAAGGGATTTTATCCTTCTGATATTGCCGTGGAGTGGGAAAGTAATGGCCAGCCAGAAAA CAATTACAAGACTACCCCTCCAGTGCTGGATTCTGACGGGAGTTTCGCACTGGTCAGTAAACTGACAGTGGAT AAGTCACGGTGGCAGCAGGGAAACGTCTTTAGTTGTTCAGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCATTACACTC AGAAAAGCCTGTCCCTGTCTCCCGGC
76.	1065	完全	GATATTAAGCTGCAGCAGAGCGGAGCTGAGCTGGCACGACCAGGAGCCAGTGTGAAAATGTCATGCAAGACCA GCGGCTACACATTCACTCGGTATACAATGCACTGGGTGAAGCAGACCAGGACAGGGACTGGAATGGATCGG ATATATTAACCCTTCCCGAGGCTACACCAACTATAATCAGAAGTTTAAAGACAAGGCCACTCTGACCACAGAT AAGAGCTCCTCTACCGCTTACATGCAGCTGAGTTCACTGACAAGTGAGGACTCAGCTGTGTACTATTGCGCAA GGTACTATGACGATCATTACTGTCTGGATTATTGGGGACAGGGCACTACCCTGACTGTCAGCTCCGTGGAAGG AGGGAGCGGAGGCTCCGGAGGATCTGGCGGGAGTGGAGGCGTGGACGATATCCAGCTGACCCAGTCCCCAGCA ATTATGTCCGCCTCTCCCGGCGAGAAAGTCACCATGACATGCCGCGCTTCTAGTTCAGTGAGCTACATGAACT GGTATCAGCAGAAATCAGGCACTAGCCCCAAGAGATGGATCTACGACACCTCCAAGGTCGCATCTGGGGTGCC TTATAGGTTCAGTGGGTCAGGAAGCGGCACCTCCTACTCTCTGACAATTAGCTCCATGGAGGCAGAAGATGCC GCTACCTACTATTGTCAGCAGTGGTCTAGTAATCCACTGACTTTTGGGGCCGGAACCAAACTGGAGCTGAAGG CAGCCGAACCCAAATCAAGCGACAAGACTCACACCTGCCCCCCTTGTCCAGCACCCGAACTGCTGGGGGGACC TAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAACCAAAGGATACACTGATGATCAGCCGGACACCTGAGGTCACTTGCGTG GTCGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTCGAAGTGCATAATG CTAAAACTAAGCCTAGGGAGGAACAGTACAATAGTACATATAGAGTCGTGTCAGTGCTGACCGTCCTGCATCA GGATTGGCTGAACGGGAAGGAGTACAAATGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCTCCAATCGAGAAGACA ATTTCTAAAGCCAAGGGCCAGCCCCGAGAACCTCAGGTGTATACACTGCCTCCATCCCGGGACGAGCTGACTA AAAACCAGGTCTCTCTGCTGTGTCTGGTGAAGGGGTTCTACCCATCTGATATTGCTGTGGAGTGGGAAAGTAA TGGACAGCCCGAGAACAATTATATGACCTGGCCCCCTGTCCTGGACTCCGATGGATCTTTCTTTCTGTACAGC AAACTGACAGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGGCAACGTCTTTAGTTGTTCAGTGATGCACGAGGCCCTGC ACAATCATTACACCCAGAAAAGCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAAG
77.	1065	VH	GATATTAAGCTGCAGCAGAGCGGAGCTGAGCTGGCACGACCAGGAGCCAGTGTGAAAATGTCATGCAAGACCA GCGGCTACACATTCACTCGGTATACAATGCACTGGGTGAAGCAGAGACCAGGACAGGGACTGGAATGGATCGG ATATATTAACCCTTCCCGAGGCTACACCAACTATAATCAGAAGTTTAAAGACAAGGCCACTCTGACCACAGAT AAGAGCTCCTCTACCGCTTACATGCAGCTGAGTTCACTGACAAGTGAGGACTCAGCTGTGTACTATTGCGCAA GGTACTATGACGATCATTACTGTCTGGATTATTGGGGACAGGGCACTACCCTGACTGTCAGCTCC
78.	1065	VL	GATATCCAGCTGACCCAGTCCCCAGCAATTATGTCCGCCTCTCCCGGCGAGAAAGTCACCATGACATGCCGCG

10

20

30

40

			CTTCTAGTTCAGTGAGCTACATGAACTGGTATCAGCAGAAATCAGGCACTAGCCCCAAGAGATGGATCTACGA CACCTCCAAGGTCGCATCTGGGGTGCCTTATAGGTTCAGTGGGTCAGGAAGCGGCACCTCCTACTCTCTGACA ATTAGCTCCATGGAGGCAGAAGATGCCGCTACCTACTATTGTCAGCAGTGGTCTAGTAATCCACTGACTTTTG GGGCCGGAACCAAACTGGAGCTGAAG
79.	1065	CH2	GCACCCGAACTGCTGGGGGGACCTAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAACCAAAGGATACACTGATGATCAGCC GGACACCTGAGGTCACTTGCGTGGTCGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGT GGACGGCGTCGAAGTGCATAATGCTAAAACTAAGCCTAGGGAGGAACAGTACAATAGTACATATAGAGTCGTG TCAGTGCTGACCGTCCTGCATCAGGATTGGCTGAACGGGAAGGAGTACAAATGCAAGGTGTCCAACAAGGCCC TGCCTGCTCCAATCGAGAAGACAATTTCTAAAGCCAAG
80.	1065	CH3	GGCCAGCCCCGAGAACCTCAGGTGTATACACTGCCTCCATCCCGGGACGAGCTGACTAAAAACCAGGTCTCTC TGCTGTGTCTGGTGAAGGGGTTCTACCCATCTGATATTGCTGTGGAGTGGGAAAGTAATGGACAGCCCGAGAA CAATTATATGACCTGGCCCCCTGTCCTGGACTCCGATGGATCTTTCTTTCTGTACAGCAAACTGACAGTGGAC AAGTCCAGATGGCAGCAGGGCAACGTCTTTAGTTGTTCAGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCATTACACCC AGAAAAGCCTGTCCCTGTCTCCCGGC
81.	1067	完全	CAGATCGTCCTGACACAGAGCCCAGCAATCATGTCAGCCAGCCCCGGCGAGAAAGTCACAATGACTTGCTCAG CAAGCTCCTCTGTGAGCTACATGAACTGGTATCAGCAGAAAAGCGGAACCTCCCCCAAGAGATGGATCTACGA CACATCCAAGCTGGCTTCTGGAGTGCCTGCACACTTCAGGGGCAGCGGCTCTGGGACCAGTTATTCACTGACA ATTTCCGGCATGGAGGCTGAAGATGCCGCTACCTACTATTGCCAGCAGTGGAGTTCAAACCCATTCACTTTTG GATCTGGCACCAAGCTGGAAATTAATGGCGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGGTCTGGAGGAGGAGGAAGTCA GGTCCAGCTGCAGCAGTCCGGAGCTGAGCTGGCACGACCAGGAGCAAGTGTGAAAATGTCCTGTAAGGCCAGC GGCTACACCTTCACACGGTATACCATGCATTGGGTGAAACAGAGACCCGGGCAGGGACTGGAATGGATCGGGT ACATTAATCCTAGCCGAGGATACACAAACTACAACCAGAAGTTTAAAGACAAGGCTACTCTGACCACAGATAA GAGCTCCTCTACCGCATATATGCAGCTGAGTTCACTGACATCTGAGGACAGTGCCGTGTACTATTGCGCTAGG TACTATGACGATCACTACTGTCTGGATTATTGGGGCCAGGGGACTACCCTGACCGTGAGCTCCGCAGCCGAAC CTAAATCTAGTGACAAGACTCATACCTGCCCCCCTTGTCCAGCACCAGAGCTGCTGGGAGGACCTTCCGTGTT CCTGTTTCCACCCAAACCAAAGGATACTCTGATGATCTCCCGGACACCTGAAGTCACTTGCGTGGTCGTGGAC GTGTCTCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTTAACTGGTACGTGGACGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAAACCA AGCCCAGGGAGGAACAGTACAACTCCACATATCGCGTCGTGTCTGTCCTGACTGTGCTGCACCAGGATTGGCT GAACGGCAAGGAGTACAAATGCAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCTGCTCCAATCGAGAAGACAATTAGCAAA GCCAAGGGGCAGCCCCGAGAACCTCAGGTGTACACTCTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACCAAAAACCAGG TCAGTCTGCTGTGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCAAGCGATATTGCTGTGGAGTGGGAATCCAATGGGCAGCC CGAAAACAATTACATGACATGGCCCCCTGTCCTGGACTCAGATGGGAGCTTCTTTCTGTATAGTAAACTGACT GTGGACAAGTCACGGTGGCAGCAGGGAAACGTCTTTAGCTGTTCCGTGATGCATGAGGCCCTGCACAATCATT ACACCCAGAAATCTCTGAGTCTGTCACCCGGCAAG
82.	1067	VL	CAGATCGTCCTGACACAGAGCCCAGCAATCATGTCAGCCAGCCCCGGCGAGAAAGTCACAATGACTTGCTCAG CAAGCTCCTCTGTGAGCTACATGAACTGGTATCAGCAGAAAAGCGGAACCTCCCCCAAGAGATGGATCTACGA CACATCCAAGCTGGCTTCTGGAGTGCCTGCACACTTCAGGGGCAGCGGCTCTGGGACCAGTTATTCACTGACA ATTTCCGGCATGGAGGCTGAAGATGCCGCTACCTACTATTGCCAGCAGTGGAGTTCAAACCCATTCACTTTTG GATCTGGCACCAAGCTGGAAATTAAT
83.	1067	VH	CAGGTCCAGCTGCAGCAGTCCGGAGCTGAGCTGGCACGACCAGGAGCAAGTGTGAAAATGTCCTGTAAGGCCA GCGGCTACACCTTCACACGGTATACCATGCATTGGGTGAAACAGAGACCCGGGCAGGGACTGGAATGGATCGG GTACATTAATCCTAGCCGAGGATACACAAACTACAACCAGAAGTTTAAAGACAAGGCTACTCTGACCACAGAT AAGAGCTCCTCTACCGCATATATGCAGCTGAGTTCACTGACATCTGAGGACAGTGCCGTGTACTATTGCGCTA GGTACTATGACGATCACTACTGTCTGGATTATTGGGGCCAGGGGACTACCCTGACCGTGAGCTCC
84.	1067	CH2	GCACCAGAGCTGCTGGGAGGACCTTCCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAACCAAAGGATACTCTGATGATCTCCC GGACACCTGAAGTCACTTGCGTGGTCGTGGACGTGTCTCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTTAACTGGTACGT GGACGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAAACCAAGCCCAGGGAGGAACAGTACAACTCCACATATCGCGTCGTG TCTGTCCTGACTGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAATGCAAGGTGAGCAACAAGGCCC TGCCTGCTCCAATCGAGAAGACAATTAGCAAAGCCAAG
85.	1067	CH3	GGGCAGCCCCGAGAACCTCAGGTGTACACTCTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACCAAAAACCAGGTCAGTC TGCTGTGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCAAGCGATATTGCTGTGGAGTGGGAATCCAATGGGCAGCCCGAAAA CAATTACATGACATGGCCCCCTGTCCTGGACTCAGATGGGAGCTTCTTTCTGTATAGTAAACTGACTGTGGAC AAGTCACGGTGGCAGCAGGGAAACGTCTTTAGCTGTTCCGTGATGCATGAGGCCCTGCACAATCATTACACCC AGAAATCTCTGAGTCTGTCACCCGGC
86.	1842	完全	GATATTCAGCTGACACAGAGTCCTGCTTCACTGGCAGTGAGCCTGGGACAGCGAGCAACTATCTCCTGCAAAG CTAGTCAGTCAGTGGACTATGATGGCGACTCCTATCTGAACTGGTACCAGCAGATCCCAGGGCAGCCCCCTAA GCTGCTGATCTACGACGCCTCAAATCTGGTGAGCGGCATCCCACCACGATTCAGCGGCAGCGGCTCTGGGACT GATTTTACCCTGAACATTCACCCAGTCGAGAAGGTGGACGCCGCTACCTACCATTGCCAGCAGTCTACCGAGG ACCCCTGGACATTCGGCGGGGGAACTAAACTGGAAATCAAGGGAGGAGGAGGCAGTGGCGGAGGAGGGTCAGG AGGAGGAGGAAGCCAGGTGCAGCTGCAGCAGAGCGGAGCAGAGCTGGTCAGACCAGGAAGCTCCGTGAAAATT TCCTGTAAGGCATCTGGCTATGCCTTTTCTAGTTACTGGATGAATTGGGTGAAGCAGAGGCCAGGACAGGGCC TGGAATGGATCGGGCAGATTTGGCCCGGGGATGGAGACACCAACTATAATGGAAAGTTCAAAGGCAAGGCTAC ACTGACTGCAGACGAGTCAAGCTCCACAGCTTATATGCAGCTGTCTAGTCTGGCCAGCGAGGATTCCGCTGTG TACTTTTGCGCACGGAGAGAAACCACAACTGTGGGCAGGTACTATTACGCAATGGACTACTGGGGCCAGGGGA CCACAGTCACCGTGTCAAGCGCAGCCGAACCCAAATCCTCTGATAAGACCCACACATGCCCTCCATGTCCAGC ACCTGAGCTGCTGGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCTAAACCTAAGGACACACTGATGATCTCTCGG ACACCCGAAGTCACTTGTGTGGTCGTGGATGTGAGCCACGAGGACCCTGAAGTCAAATTCAACTGGTACGTGG ATGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAAACTAAGCCTAGGGAGGAACAGTATAACTCCACTTACCGCGTCGTGTC TGTCCTGACCGTGCTGCATCAGGACTGGCTGAACGGAAAGGAGTACAAATGCAAGGTGAGCAACAAGGCCCTG CCAGCTCCCATCGAGAAGACAATTTCCAAAGCTAAGGGCCAGCCTCGAGAACCACAGGTCTATGTGTACCCAC CCAGCCGGGACGAGCTGACCAAAAACCAGGTCTCCCTGACATGTCTGGTGAAGGGATTTTATCCTTCTGATAT TGCCGTGGAGTGGGAAAGTAATGGCCAGCCAGAAAACAATTACAAGACTACCCCTCCAGTGCTGGATTCTGAC GGGAGTTTCGCACTGGTCAGTAAACTGACTGTGGATAAGTCACGGTGGCAGCAGGGAAACGTCTTTAGTTGTT CAGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCATTACACCCAGAAAAGCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAAG
87.	1842	VL	GATATTCAGCTGACACAGAGTCCTGCTTCACTGGCAGTGAGCCTGGGACAGCGAGCAACTATCTCCTGCAAAG CTAGTCAGTCAGTGGACTATGATGGCGACTCCTATCTGAACTGGTACCAGCAGATCCCAGGGCAGCCCCCTAA

			GCTGCTGATCTACGACGCCTCAAATCTGGTGAGCGGCATCCCACCACGATTCAGCGGCAGCGGCTCTGGGACT GATTTTACCCTGAACATTCACCCAGTCGAGAAGGTGGACGCCGCTACCTACCATTGCCAGCAGTCTACCGAGG ACCCCTGGACATTCGGCGGGGGAACTAAACTGGAAATCAAG
88.	1842	VH	CAGGTGCAGCTGCAGCAGAGCGGAGCAGAGCTGGTCAGACCAGGAAGCTCCGTGAAAATTTCCTGTAAGGCAT CTGGCTATGCCTTTTCTAGTTACTGGATGAATTGGGTGAAGCAGAGGCCAGGACAGGGCCTGGAATGGATCGG GCAGATTTGGCCCGGGGATGGAGACACCAACTATAATGGAAAGTTCAAAGGCAAGGCTACACTGACTGCAGAC GAGTCAAGCTCCACAGCTTATATGCAGCTGTCTAGTCTGGCCAGCGAGGATTCCGCTGTGTACTTTTGCGCAC GGAGAGAAACCACAACTGTGGGCAGGTACTATTACGCAATGGACTACTGGGGCCAGGGGACCACAGTCACCGT GTCAAGC
89.	1842	CH2	GCACCTGAGCTGCTGGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCTAAACCTAAGGACACACTGATGATCTCTC GGACACCCGAAGTCACTTGTGTGGTCGTGGATGTGAGCCACGAGGACCCTGAAGTCAAATTCAACTGGTACGT GGATGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAAACTAAGCCTAGGGAGGAACAGTATAACTCCACTTACCGCGTCGTG TCTGTCCTGACCGTGCTGCATCAGGACTGGCTGAACGGAAAGGAGTACAAATGCAAGGTGAGCAACAAGGCCC TGCCAGCTCCCATCGAGAAGACAATTTCCAAAGCTAAG
90.	1842	CH3	GGCCAGCCTCGAGAACCACAGGTCTATGTGTACCCACCCAGCCGGGACGAGCTGACCAAAAACCAGGTCTCCC TGACATGTCTGGTGAAGGGATTTTATCCTTCTGATATTGCCGTGGAGTGGGAAAGTAATGGCCAGCCAGAAAA CAATTACAAGACTACCCCTCCAGTGCTGGATTCTGACGGGAGTTTCGCACTGGTCAGTAAACTGACTGTGGAT AAGTCACGGTGGCAGCAGGGAAACGTCTTTAGTTGTTCAGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCATTACACCC AGAAAAGCCTGTCCCTGTCTCCCGGC
91.	1335	完全	CAGATTGTCCTGTCTCAGAGTCCCGCTATCCTGTCAGCAAGCCCTGGGGAGAAGGTGACCATGACATGCCGAG CCAGCTCCTCTGTCAGCTACATCCACTGGTTCCAGCAGAAGCCAGGCAGTTCACCTAAACCATGGATCTACGC CACATCTAACCTGGCTAGTGGAGTGCCCGTCCGGTTTTCCGGCTCTGGGAGTGGAACATCATACAGCCTGACT ATTTCCAGAGTGGAGGCCGAAGACGCCGCTACCTACTATTGCCAGCAGTGGACCTCTAATCCCCCTACATTCG GCGGGGGAACTAAGCTGGAGATCAAAAGGACTGTGGCAGCCCCTTCTGTCTTCATTTTTCCACCCAGTGACGA ACAGCTGAAATCAGGAACCGCTTCCGTGGTCTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGCGAGGCAAAGGTGCAG TGGAAAGTCGATAACGCCCTGCAGTCCGGCAATTCTCAGGAGAGTGTGACCGAACAGGACTCAAAGGATAGCA CATATTCCCTGAGCTCCACTCTGACCCTGTCCAAAGCTGATTACGAAAAGCATAAAGTGTATGCATGTGAGGT CACCCACCAGGGGCTGAGTAGTCCCGTCACAAAGAGTTTCAATAGAGGAGAGTGT
92.	1335	VL	CAGATTGTCCTGTCTCAGAGTCCCGCTATCCTGTCAGCAAGCCCTGGGGAGAAGGTGACCATGACATGCCGAG CCAGCTCCTCTGTCAGCTACATCCACTGGTTCCAGCAGAAGCCAGGCAGTTCACCTAAACCATGGATCTACGC CACATCTAACCTGGCTAGTGGAGTGCCCGTCCGGTTTTCCGGCTCTGGGAGTGGAACATCATACAGCCTGACT ATTTCCAGAGTGGAGGCCGAAGACGCCGCTACCTACTATTGCCAGCAGTGGACCTCTAATCCCCCTACATTCG GCGGGGGAACTAAGCTGGAGATCAAA
93.	1335	CL	AGGACTGTGGCAGCCCCTTCTGTCTTCATTTTTCCACCCAGTGACGAACAGCTGAAATCAGGAACCGCTTCCG TGGTCTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGCGAGGCAAAGGTGCAGTGGAAAGTCGATAACGCCCTGCAGTC CGGCAATTCTCAGGAGAGTGTGACCGAACAGGACTCAAAGGATAGCACATATTCCCTGAGCTCCACTCTGACC CTGTCCAAAGCTGATTACGAAAAGCATAAAGTGTATGCATGTGAGGTCACCCACCAGGGGCTGAGTAGTCCCG TCACAAAGAGTTTCAATAGAGGAGAGTGT
94.	1342	完全	CAGGTCCAGCTGCAGCAGCCCGGAGCTGAACTGGTCAAACCTGGCGCATCCGTGAAAATGTCTTGCAAGGCTA GTGGCTACACATTCACTTCCTATAACATGCACTGGGTGAAGCAGACACCAGGACGAGGACTGGAGTGGATCGG AGCAATCTACCCTGGAAACGGCGACACTTCTTATAATCAGAAGTTTAAAGGCAAGGCCACCCTGACAGCTGAT AAGAGCTCCTCTACCGCCTACATGCAGCTGAGTTCACTGACAAGTGAAGACTCAGCAGTGTACTATTGCGCCA GAAGCACCTACTATGGCGGGGATTGGTACTTCAACGTGTGGGGGGCAGGAACCACAGTCACCGTGAGCGCCGC TTCCACAAAAGGACCAAGCGTGTTTCCACTGGCACCAAGCTCCAAGTCAACCAGCGGAGGAACAGCAGCCCTG GGATGTCTGGTGAAGGACTACTTCCCAGAGCCCGTCACCGTGTCTTGGAACAGTGGCGCCCTGACAAGCGGGG TCCATACTTTTCCCGCTGTGCTGCAGTCTAGTGGCCTGTACAGCCTGTCAAGCGTGGTCACCGTCCCTTCCTC TAGTCTGGGGACTCAGACCTATATCTGCAACGTGAATCACAAACCTTCTAATACAAAGGTCGACAAGAAAGTG GAACCAAAAAGTTGTGATAAGACACATACTTGCCCACCTTGTCCTGCACCAGAGCTGCTGGGAGGACCATCCG TGTTCCTGTTTCCACCCAAACCCAAGGACACTCTGATGATTAGCCGGACTCCTGAAGTCACCTGCGTGGTCGT GGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAAGTCAAATTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAA ACAAAGCCCCGGGAGGAACAGTACAACTCAACATATAGAGTCGTGAGCGTCCTGACTGTGCTGCACCAGGACT GGCTGAACGGCAAGGAGTATAAATGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCCGCACCTATCGAGAAGACTATTTC TAAAGCCAAGGGCCAGCCTAGGGAACCACAGGTGTACGTGCTGCCTCCAAGCCGCGACGAGCTGACTAAAAAC CAGGTCTCCCTGCTGTGTCTGGTGAAGGGGTTCTATCCAAGTGATATCGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGAC AGCCCGAGAACAATTACCTGACTTGGCCCCCTGTGCTGGACTCAGATGGGAGCTTCTTTCTGTATTCCAAACT GACCGTGGATAAGTCTCGGTGGCAGCAGGGAAATGTCTTTTCCTGTTCTGTGATGCACGAAGCACTGCACAAT CACTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGTCACCCGGCAAA
95.	1342	VH	CAGGTCCAGCTGCAGCAGCCCGGAGCTGAACTGGTCAAACCTGGCGCATCCGTGAAAATGTCTTGCAAGGCTA GTGGCTACACATTCACTTCCTATAACATGCACTGGGTGAAGCAGACACCAGGACGAGGACTGGAGTGGATCGG AGCAATCTACCCTGGAAACGGCGACACTTCTTATAATCAGAAGTTTAAAGGCAAGGCCACCCTGACAGCTGAT AAGAGCTCCTCTACCGCCTACATGCAGCTGAGTTCACTGACAAGTGAAGACTCAGCAGTGTACTATTGCGCCA GAAGCACCTACTATGGCGGGGATTGGTACTTCAACGTGTGGGGGGCAGGAACCACAGTCACCGTGAGCGCC
96.	1342	CH1	GCTTCCACAAAAGGACCAAGCGTGTTTCCACTGGCACCAAGCTCCAAGTCAACCAGCGGAGGAACAGCAGCCC TGGGATGTCTGGTGAAGGACTACTTCCCAGAGCCCGTCACCGTGTCTTGGAACAGTGGCGCCCTGACAAGCGG GGTCCATACTTTTCCCGCTGTGCTGCAGTCTAGTGGCCTGTACAGCCTGTCAAGCGTGGTCACCGTCCCTTCC TCTAGTCTGGGGACTCAGACCTATATCTGCAACGTGAATCACAAACCTTCTAATACAAAGGTCGACAAGAAAG TG
97.	1342	CH2	GCACCAGAGCTGCTGGGAGGACCATCCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAACCCAAGGACACTCTGATGATTAGCC GGACTCCTGAAGTCACCTGCGTGGTCGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAAGTCAAATTCAACTGGTACGT GGATGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAAACAAAGCCCCGGGAGGAACAGTACAACTCAACATATAGAGTCGTG AGCGTCCTGACTGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAATGCAAGGTGTCCAACAAGGCCC TGCCCGCACCTATCGAGAAGACTATTTCTAAAGCCAAG
98.	1342	CH3	GGCCAGCCTAGGGAACCACAGGTGTACGTGCTGCCTCCAAGCCGCGACGAGCTGACTAAAAACCAGGTCTCCC TGCTGTGTCTGGTGAAGGGGTTCTATCCAAGTGATATCGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCCGAGAA CAATTACCTGACTTGGCCCCCTGTGCTGGACTCAGATGGGAGCTTCTTTCTGTATTCCAAACTGACCGTGGAT AAGTCTCGGTGGCAGCAGGGAAATGTCTTTTCCTGTTCTGTGATGCACGAAGCACTGCACAATCACTACACCC

			AGAAGTCCCTGAGCCTGTCACCCGGC
99.	5239	完全	CAGGTCCAGCTGGTCCAGTCCGGAGGAGGAGTGGTCCAGCCAGGACGGTCACTGAGACTGAGCTGCAAGGCTT CCGGGTACACTTTCACCCGATATACCATGCACTGGGTGCGGCAGGCACCAGGGAAAGGACTGGAATGGATCGG GTACATTAACCCTAGCAGGGGATACACAAACTATAATCAGAAGGTGAAAGACAGGTTCACTATCTCTCGCGAT AACAGTAAGAATACCGCCTTTCTGCAGATGGACAGCCTGCGCCCCGAGGATACAGGCGTGTATTTCTGCGCTC GATACTATGACGATCACTACTGTCTGGACTATTGGGGCCAGGGGACTCCAGTCACCGTGAGCTCCGCATCAAC TAAGGGACCCAGCGTGTTTCCACTGGCCCCCTCTAGTAAATCCACATCTGGAGGAACTGCAGCTCTGGGATGC CTGGTGAAGGATTACTTCCCAGAGCCCGTCACCGTGAGCTGGAACTCCGGAGCCCTGACTTCCGGCGTCCATA CCTTTCCCGCTGTGCTGCAGTCAAGCGGGCTGTACTCTCTGTCCTCTGTGGTCACAGTGCCTAGTTCAAGCCT GGGAACACAGACTTATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTAGCAATACTAAAGTCGACAAGAAAGTGGAACCA AAGAGCTGTGATAAAACCCATACATGCCCCCCTTGTCCTGCACCAGAGGCAGCAGGAGGACCAAGCGTGTTCC TGTTTCCACCCAAGCCTAAAGACACCCTGATGATTAGCCGGACCCCTGAAGTGACATGTGTGGTCGTGAGTGT GTCACACGAGGACCCAGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAA CCTAGAGAGGAACAGTACAATTCCACCTATAGGGTCGTGTCTGTCCTGACAGTGCTGCACCAGGATTGGCTGA ACGGGAAAGAGTATAAGTGCAAAGTGTCCAATAAGGCTCTGCCCGCACCTATCGAGAAAACCATTTCTAAGGC TAAAGGCCAGCCTAGGGAACCACAGGTCTACGTGTATCCTCCATCTCGCGACGAGCTGACAAAGAACCAGGTC AGTCTGACTTGTCTGGTGAAAGGATTTTACCCAAGCGATATTGCCGTGGAGTGGGAATCCAATGGCCAGCCCG AAAACAATTATAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACTCTGATGGCAGTTTCGCACTGGTCAGTAAGCTGACTGT GGACAAATCAAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTTAGCTGTTCCGTGATGCATGAGGCCCTGCACAATCATTAC ACCCAGAAGTCTCTGAGTCTGTCACCCGGC
100.	5239	VH	CAGGTCCAGCTGGTCCAGTCCGGAGGAGGAGTGGTCCAGCCAGGACGGTCACTGAGACTGAGCTGCAAGGCTT CCGGGTACACTTTCACCCGATATACCATGCACTGGGTGCGGCAGGCACCAGGGAAAGGACTGGAATGGATCGG GTACATTAACCCTAGCAGGGGATACACAAACTATAATCAGAAGGTGAAAGACAGGTTCACTATCTCTCGCGAT AACAGTAAGAATACCGCCTTTCTGCAGATGGACAGCCTGCGCCCCGAGGATACAGGCGTGTATTTCTGCGCTC GATACTATGACGATCACTACTGTCTGGACTATTGGGGCCAGGGGACTCCAGTCACCGTGAGCTCC
101.	5239	CH1	GCATCAACTAAGGGACCCAGCGTGTTTCCACTGGCCCCCTCTAGTAAATCCACATCTGGAGGAACTGCAGCTC TGGGATGCCTGGTGAAGGATTACTTCCCAGAGCCCGTCACCGTGAGCTGGAACTCCGGAGCCCTGACTTCCGG CGTCCATACCTTTCCCGCTGTGCTGCAGTCAAGCGGGCTGTACTCTCTGTCCTCTGTGGTCACAGTGCCTAGT TCAAGCCTGGGAACACAGACTTATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTAGCAATACTAAAGTCGACAAGAAAG TG
102.	5239	CH2	GCACCAGAGGCAGCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCTAAAGACACCCTGATGATTAGCC GGACCCCTGAAGTGACATGTGTGGTCGTGAGTGTGTCACACGAGGACCCAGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGT GGATGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAACCTAGAGAGGAACAGTACAATTCCACCTATAGGGTCGTG TCTGTCCTGACAGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGGAAAGAGTATAAGTGCAAAGTGTCCAATAAGGCTC TGCCCGCACCTATCGAGAAAACCATTTCTAAGGCTAAA
103.	5239	CH3	GGCCAGCCTAGGGAACCACAGGTCTACGTGTATCCTCCATCTCGCGACGAGCTGACAAAGAACCAGGTCAGTC TGACTTGTCTGGTGAAAGGATTTTACCCAAGCGATATTGCCGTGGAGTGGGAATCCAATGGCCAGCCCGAAAA CAATTATAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACTCTGATGGCAGTTTCGCACTGGTCAGTAAGCTGACTGTGGAC AAATCAAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTTAGCTGTTCCGTGATGCATGAGGCCCTGCACAATCATTACACCC AGAAGTCTCTGAGTCTGTCACCCGGC
104.	3916	完全	GAAGTCCAGCTGGTCGAGAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGACGGTCCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCTA GTGGGTTCACCTTTAACGACTATGCCATGCACTGGGTCCGACAGGCTCCAGGAAAGGGACTGGAATGGGTGTC TACCATCAGTTGGAATAGTGGATCAATTGGCTATGCTGACTCCGTGAAAGGCAGGTTCACAATCTCACGCGAT AACGCAAAGAAAAGCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGCGCCGAGGACACAGCTCTGTACTATTGCGCCA AGGATATTCAGTACGGGAACTACTATTACGGAATGGACGTGTGGGGGCAGGGAACCACAGTCACTGTGAGCTC CGGCGGGGGAGGCTCAGGAGGAGGAGGGAGCGGAGGAGGAGGCAGCGAAATCGTGCTGACTCAGAGCCCTGCA ACCCTGAGCCTGTCCCCAGGAGAGCGAGCTACACTGAGCTGTCGGGCATCTCAGAGTGTGTCTAGTTATCTGG CATGGTACCAGCAGAAGCCAGGGCAGGCCCCCAGACTGCTGATCTACGATGCATCCAACAGAGCCACTGGCAT CCCCGCAAGGTTCTCAGGCAGCGGGTCCGGAACCGACTTTACTCTGACCATCTCAAGCCTGGAGCCCGAAGAT TTCGCTGTGTATTACTGCCAGCAGAGGTCTAATTGGCCTATCACATTTGGCCAGGGGACTCGCCTGGAGATTA AGGCAGCCGAACCAAAGTCCTCTGACAAAACACACACTTGCCCCCCTTGTCCAGCACCAGAACTGCTGGGAGG ACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCTAAAGATACCCTGATGATTAGTAGGACCCCTGAGGTCACATGT GTGGTCGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTTAACTGGTACGTGGACGGCGTCGAAGTGCATA ATGCCAAGACAAAACCCCGCGAGGAACAGTATAATTCTACCTACCGAGTCGTGAGTGTCCTGACAGTGCTGCA TCAGGATTGGCTGAACGGAAAAGAGTACAAGTGCAAAGTGTCCAATAAGGCTCTGCCTGCACCAATCGAGAAA ACTATTTCTAAGGCAAAAGGGCAGCCCCGGGAACCTCAGGTCTATGTGCTGCCTCCATCCAGAGACGAGCTGA CCAAGAACCAGGTCTCTCTGCTGTGTCTGGTGAAAGGATTCTACCCATCAGATATCGCTGTGGAGTGGGAAAG CAATGGCCAGCCCGAGAACAATTATCTGACATGGCCCCCTGTGCTGGACTCAGATGGCAGCTTCTTTCTGTAC TCTAAGCTGACTGTGGATAAAAGTCGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTTTCTTGTAGTGTGATGCATGAGGCCC TGCACAATCATTACACCCAGAAGTCACTGAGCCTGTCCCCTGGCAAA
105.	3916	VH	GAAGTCCAGCTGGTCGAGAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGACGGTCCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCTA GTGGGTTCACCTTTAACGACTATGCCATGCACTGGGTCCGACAGGCTCCAGGAAAGGGACTGGAATGGGTGTC TACCATCAGTTGGAATAGTGGATCAATTGGCTATGCTGACTCCGTGAAAGGCAGGTTCACAATCTCACGCGAT AACGCAAAGAAAAGCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGCGCCGAGGACACAGCTCTGTACTATTGCGCCA AGGATATTCAGTACGGGAACTACTATTACGGAATGGACGTGTGGGGGCAGGGAACCACAGTCACTGTGAGCTC C
106.	3916	VL	GAAATCGTGCTGACTCAGAGCCCTGCAACCCTGAGCCTGTCCCCAGGAGAGCGAGCTACACTGAGCTGTCGGG CATCTCAGAGTGTGTCTAGTTATCTGGCATGGTACCAGCAGAAGCCAGGGCAGGCCCCCAGACTGCTGATCTA CGATGCATCCAACAGAGCCACTGGCATCCCCGCAAGGTTCTCAGGCAGCGGGTCCGGAACCGACTTTACTCTG ACCATCTCAAGCCTGGAGCCCGAAGATTTCGCTGTGTATTACTGCCAGCAGAGGTCTAATTGGCCTATCACAT TTGGCCAGGGGACTCGCCTGGAGATTAAG
107.	3916	CH2	GCACCAGAACTGCTGGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCTAAAGATACCCTGATGATTAGTA GGACCCCTGAGGTCACATGTGTGGTCGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTTAACTGGTACGT GGACGGCGTCGAAGTGCATAATGCCAAGACAAAACCCCGCGAGGAACAGTATAATTCTACCTACCGAGTCGTG AGTGTCCTGACAGTGCTGCATCAGGATTGGCTGAACGGAAAAGAGTACAAGTGCAAAGTGTCCAATAAGGCTC TGCCTGCACCAATCGAGAAAACTATTTCTAAGGCAAAA

108.	3916	CH3	GGGCAGCCCCGGGAACCTCAGGTCTATGTGCTGCCTCCATCCAGAGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTCTCTC TGCTGTGTCTGGTGAAAGGATTCTACCCATCAGATATCGCTGTGGAGTGGGAAAGCAATGGCCAGCCCGAGAA CAATTATCTGACATGGCCCCCTGTGCTGGACTCAGATGGCAGCTTCTTTCTGTACTCTAAGCTGACTGTGGAT AAAAGTCGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTTTCTTGTAGTGTGATGCATGAGGCCCTGCACAATCATTACACCC AGAAGTCACTGAGCCTGTCCCCTGGC
109.	2185	完全	GATATTCAGCTGACCCAGAGTCCTGCATCACTGGCTGTGAGCCTGGGACAGCGAGCAACAATCTCCTGCAAAG CCAGTCAGTCAGTGGACTATGATGGCGACTCCTATCTGAACTGGTACCAGCAGATCCCAGGGCAGCCCCCTAA GCTGCTGATCTACGACGCTTCAAATCTGGTGAGCGGCATCCCACCACGATTCAGCGGCAGCGGCTCTGGAACC GATTTTACACTGAACATTCACCCAGTCGAGAAGGTGGACGCCGCTACCTACCATTGCCAGCAGTCTACAGAGG ACCCCTGGACTTTCGGCGGGGGAACCAAACTGGAAATCAAGGGAGGAGGAGGCAGTGGCGGAGGAGGGTCAGG AGGAGGAGGAAGCCAGGTGCAGCTGCAGCAGAGCGGAGCAGAGCTGGTCAGACCAGGAAGCTCCGTGAAAATT TCCTGTAAGGCTTCTGGCTATGCATTTTCTAGTTACTGGATGAATTGGGTGAAGCAGAGGCCAGGACAGGGCC TGGAATGGATCGGGCAGATTTGGCCCGGGGATGGAGACACAAACTATAATGGAAAGTTCAAAGGCAAGGCCAC TCTGACCGCTGACGAGTCAAGCTCCACTGCTTATATGCAGCTGTCTAGTCTGGCAAGCGAGGATTCCGCCGTC TACTTTTGCGCTCGGAGAGAAACCACAACTGTGGGCAGGTACTATTACGCAATGGACTACTGGGGCCAGGGGA CCACAGTCACCGTGTCAAGCGCAGCCGAACCCAAATCCTCTGATAAGACACACACTTGCCCTCCATGTCCAGC ACCTGAGGCTGCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCCCCTAAACCTAAGGACACTCTGATGATCTCTCGG ACTCCCGAAGTCACCTGTGTGGTCGTGAGCGTGAGCCACGAGGACCCTGAAGTCAAATTCAACTGGTACGTGG ATGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAAACAAAGCCTAGGGAGGAACAGTATAACTCCACATACCGCGTCGTGTC TGTCCTGACTGTGCTGCATCAGGACTGGCTGAACGGAAAGGAGTACAAATGCAAGGTGAGCAACAAGGCACTG CCAGCCCCCATCGAGAAGACCATTTCCAAAGCCAAGGGCCAGCCTCGAGAACCACAGGTCTATGTGCTGCCAC CCAGCCGGGACGAGCTGACAAAAAACCAGGTCTCCCTGCTGTGTCTGGTGAAGGGATTCTACCCTTCTGATAT TGCTGTGGAGTGGGAAAGTAATGGCCAGCCAGAAAACAATTATCTGACTTGGCCTCCAGTGCTGGATTCTGAC GGGAGTTTCTTTCTGTACAGTAAACTGACCGTGGATAAGTCACGGTGGCAGCAGGGAAACGTCTTTAGTTGTT CAGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCATTACACCCAGAAAAGCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAAG
110.	2185	VL	GATATTCAGCTGACCCAGAGTCCTGCATCACTGGCTGTGAGCCTGGGACAGCGAGCAACAATCTCCTGCAAAG CCAGTCAGTCAGTGGACTATGATGGCGACTCCTATCTGAACTGGTACCAGCAGATCCCAGGGCAGCCCCCTAA GCTGCTGATCTACGACGCTTCAAATCTGGTGAGCGGCATCCCACCACGATTCAGCGGCAGCGGCTCTGGAACC GATTTTACACTGAACATTCACCCAGTCGAGAAGGTGGACGCCGCTACCTACCATTGCCAGCAGTCTACAGAGG ACCCCTGGACTTTCGGCGGGGGAACCAAACTGGAAATCAAG
111.	2185	VH	CAGGTGCAGCTGCAGCAGAGCGGAGCAGAGCTGGTCAGACCAGGAAGCTCCGTGAAAATTTCCTGTAAGGCTT CTGGCTATGCATTTTCTAGTTACTGGATGAATTGGGTGAAGCAGAGGCCAGGACAGGGCCTGGAATGGATCGG GCAGATTTGGCCCGGGGATGGAGACACAAACTATAATGGAAAGTTCAAAGGCAAGGCCACTCTGACCGCTGAC GAGTCAAGCTCCACTGCTTATATGCAGCTGTCTAGTCTGGCAAGCGAGGATTCCGCCGTCTACTTTTGCGCTC GGAGAGAAACCACAACTGTGGGCAGGTACTATTACGCAATGGACTACTGGGGCCAGGGGACCACAGTCACCGT GTCAAGC
112.	2185	CH2	GCACCTGAGGCTGCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCCCCTAAACCTAAGGACACTCTGATGATCTCTC GGACTCCCGAAGTCACCTGTGTGGTCGTGAGCGTGAGCCACGAGGACCCTGAAGTCAAATTCAACTGGTACGT GGATGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAAACAAAGCCTAGGGAGGAACAGTATAACTCCACATACCGCGTCGTG TCTGTCCTGACTGTGCTGCATCAGGACTGGCTGAACGGAAAGGAGTACAAATGCAAGGTGAGCAACAAGGCAC TGCCAGCCCCCATCGAGAAGACCATTTCCAAAGCCAAG
113.	2185	CH3	GGCCAGCCTCGAGAACCACAGGTCTATGTGCTGCCACCCAGCCGGGACGAGCTGACAAAAAACCAGGTCTCCC TGCTGTGTCTGGTGAAGGGATTCTACCCTTCTGATATTGCTGTGGAGTGGGAAAGTAATGGCCAGCCAGAAAA CAATTATCTGACTTGGCCTCCAGTGCTGGATTCTGACGGGAGTTTCTTTCTGTACAGTAAACTGACCGTGGAT AAGTCACGGTGGCAGCAGGGAAACGTCTTTAGTTGTTCAGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCATTACACCC AGAAAAGCCTGTCCCTGTCTCCCGGC
114.	5242	完全	CAGGTCCAGCTGCAGCAGTCCGGAGCCGAACTGGTCAGACCCGGCAGCTCCGTGAAAATCAGCTGCAAGGCCT CCGGCTATGCTTTCTCTAGTTACTGGATGAACTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGGCAGGGACTGGAATGGATCGG GCAGATTTGGCCAGGCGACGGGGATACAAACTATAATGGGAAGTTCAAAGGAAAGGCAACACTGACTGCCGAC GAGTCAAGCTCCACTGCTTATATGCAGCTGTCTAGTCTGGCTTCAGAGGATAGCGCAGTGTACTTTTGCGCCC GGAGAGAAACCACAACTGTGGGCCGCTACTATTACGCAATGGACTATTGGGGACAGGGCACCACAGTCACAGT GTCAAGCGCCTCTACTAAAGGGCCTAGTGTGTTTCCACTGGCTCCCTCCTCTAAGAGCACATCCGGAGGAACT GCAGCTCTGGGATGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCAGAGCCCGTCACAGTGTCCTGGAACTCTGGCGCTCTGA CTAGCGGGGTCCACACCTTTCCTGCAGTGCTGCAGAGTTCAGGCCTGTATAGCCTGAGCTCCGTGGTCACCGT GCCATCTAGTTCACTGGGGACCCAGACATACATCTGCAACGTGAATCACAAACCAAGCAATACAAAGGTCGAC AAGAAAGTGGAACCCAAAAGCTGTGATAAGACTCATACCTGCCCCCCTTGTCCTGCACCAGAGGCAGCAGGAG GACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAACCTAAGGACACACTGATGATTTCCCGAACCCCAGAAGTGACATG CGTGGTCGTGTCTGTGAGTCACGAGGACCCCGAAGTCAAATTCAACTGGTACGTGGATGGGGTCGAGGTGCAT AATGCCAAAACCAAGCCCAGGGAGGAACAGTATAATTCAACTTACCGCGTCGTGAGCGTCCTGACCGTGCTGC ACCAGGATTGGCTGAACGGAAAGGAGTACAAATGCAAGGTGTCCAACAAGGCTCTGCCCGCACCTATCGAGAA GACCATTTCTAAAGCTAAGGGCCAGCCTCGAGAACCACAGGTCTATGTGTACCCTCCATCCCGGGACGAGCTG ACCAAAAACCAGGTCTCTCTGACATGTCTGGTGAAGGGGTTTTATCCCAGTGATATTGCCGTGGAGTGGGAAA GCAATGGACAGCCTGAAAACAATTACAAGACTACCCCCCCTGTGCTGGACAGTGATGGATCATTCGCACTGGT CTCCAAACTGACTGTGGACAAGTCTAGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTTTCATGTAGCGTGATGCATGAGGCC CTGCACAATCATTACACCCAGAAGTCCCTGTCTCTGAGTCCCGGC
115.	5242	VH	CAGGTCCAGCTGCAGCAGTCCGGAGCCGAACTGGTCAGACCCGGCAGCTCCGTGAAAATCAGCTGCAAGGCCT CCGGCTATGCTTTCTCTAGTTACTGGATGAACTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGGCAGGGACTGGAATGGATCGG GCAGATTTGGCCAGGCGACGGGGATACAAACTATAATGGGAAGTTCAAAGGAAAGGCAACACTGACTGCCGAC GAGTCAAGCTCCACTGCTTATATGCAGCTGTCTAGTCTGGCTTCAGAGGATAGCGCAGTGTACTTTTGCGCCC GGAGAGAAACCACAACTGTGGGCCGCTACTATTACGCAATGGACTATTGGGGACAGGGCACCACAGTCACAGT GTCAAGC
116.	5242	CH1	GCCTCTACTAAAGGGCCTAGTGTGTTTCCACTGGCTCCCTCCTCTAAGAGCACATCCGGAGGAACTGCAGCTC TGGGATGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCAGAGCCCGTCACAGTGTCCTGGAACTCTGGCGCTCTGACTAGCGG GGTCCACACCTTTCCTGCAGTGCTGCAGAGTTCAGGCCTGTATAGCCTGAGCTCCGTGGTCACCGTGCCATCT AGTTCACTGGGGACCCAGACATACATCTGCAACGTGAATCACAAACCAAGCAATACAAAGGTCGACAAGAAAG TG

117.	5242	CH2	GCACCAGAGGCAGCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAACCTAAGGACACACTGATGATTTCCC GAACCCCAGAAGTGACATGCGTGGTCGTGTCTGTGAGTCACGAGGACCCCGAAGTCAAATTCAACTGGTACGT GGATGGGGTCGAGGTGCATAATGCCAAAACCAAGCCCAGGGAGGAACAGTATAATTCAACTTACCGCGTCGTG AGCGTCCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGAAAGGAGTACAAATGCAAGGTGTCCAACAAGGCTC TGCCCGCACCTATCGAGAAGACCATTTCTAAAGCTAAG
118.	5242	CH3	GGCCAGCCTCGAGAACCACAGGTCTATGTGTACCCTCCATCCCGGGACGAGCTGACCAAAAACCAGGTCTCTC TGACATGTCTGGTGAAGGGGTTTTATCCCAGTGATATTGCCGTGGAGTGGGAAAGCAATGGACAGCCTGAAAA CAATTACAAGACTACCCCCCCTGTGCTGGACAGTGATGGATCATTCGCACTGGTCTCCAAACTGACTGTGGAC AAGTCTAGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTTTCATGTAGCGTGATGCATGAGGCCCTGCACAATCATTACACCC AGAAGTCCCTGTCTCTGAGTCCCGGC
119.	2171	完全	CAGATCGTCCTGACACAGAGCCCAGCAATCATGTCAGCCAGCCCCGGCGAGAAAGTCACCATGACATGCTCAG CCAGCTCCTCTGTGAGCTACATGAACTGGTATCAGCAGAAAAGCGGAACATCCCCCAAGAGATGGATCTACGA CACTTCCAAGCTGGCTTCTGGAGTGCCTGCACACTTCAGGGGCAGCGGCTCTGGGACTAGTTATTCACTGACC ATTTCCGGCATGGAGGCCGAAGATGCCGCTACCTACTATTGCCAGCAGTGGAGTTCAAACCCATTCACATTTG GATCTGGCACTAAGCTGGAAATTAATGGCGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGGTCTGGAGGAGGAGGAAGTCA GGTCCAGCTGCAGCAGAGCGGAGCTGAGCTGGCACGACCAGGAGCAAGTGTGAAAATGTCCTGTAAGGCCAGC GGCTACACTTTCACCCGGTATACCATGCATTGGGTGAAACAGAGACCCGGGCAGGGACTGGAATGGATCGGGT ACATTAATCCTTCCCGAGGATACACAAACTACAACCAGAAGTTTAAAGACAAGGCTACCCTGACCACAGATAA GAGCTCCTCTACAGCATATATGCAGCTGAGTTCACTGACTTCTGAGGACAGTGCCGTGTACTATTGCGCTAGG TACTATGACGATCACTACTCCCTGGATTATTGGGGCCAGGGGACTACCCTGACCGTGAGCTCCGCAGCCGAAC CTAAATCTAGTGACAAGACACATACTTGCCCACCTTGTCCAGCACCAGAGCTGCTGGGAGGACCTAGCGTGTT CCTGTTTCCACCCAAACCAAAGGATACACTGATGATCTCCCGGACCCCTGAAGTCACATGTGTGGTCGTGGAC GTGTCTCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAAACTA AGCCCAGGGAGGAACAGTACAACTCCACTTATCGCGTCGTGTCTGTCCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCT GAACGGCAAGGAGTACAAATGCAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCTGCTCCAATCGAGAAGACCATTAGCAAA GCAAAGGGGCAGCCCCGAGAACCTCAGGTCTACGTGTATCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACCAAAAACCAGG TCAGTCTGACATGTCTGGTGAAGGGCTTTTACCCAAGCGATATTGCTGTGGAGTGGGAATCCAATGGGCAGCC CGAAAACAATTATAAGACAACTCCCCCTGTGCTGGACTCAGATGGGAGCTTCGCCCTGGTCAGTAAACTGACT GTGGACAAGTCACGGTGGCAGCAGGGAAACGTCTTTAGCTGTTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAATCATT ACACCCAGAAATCTCTGAGTCTGTCACCCGGCAAG
120.	2171	VL	CAGATCGTCCTGACACAGAGCCCAGCAATCATGTCAGCCAGCCCCGGCGAGAAAGTCACCATGACATGCTCAG CCAGCTCCTCTGTGAGCTACATGAACTGGTATCAGCAGAAAAGCGGAACATCCCCCAAGAGATGGATCTACGA CACTTCCAAGCTGGCTTCTGGAGTGCCTGCACACTTCAGGGGCAGCGGCTCTGGGACTAGTTATTCACTGACC ATTTCCGGCATGGAGGCCGAAGATGCCGCTACCTACTATTGCCAGCAGTGGAGTTCAAACCCATTCACATTTG GATCTGGCACTAAGCTGGAAATTAAT
121.	2171	VH	CAGGTCCAGCTGCAGCAGAGCGGAGCTGAGCTGGCACGACCAGGAGCAAGTGTGAAAATGTCCTGTAAGGCCA GCGGCTACACTTTCACCCGGTATACCATGCATTGGGTGAAACAGAGACCCGGGCAGGGACTGGAATGGATCGG GTACATTAATCCTTCCCGAGGATACACAAACTACAACCAGAAGTTTAAAGACAAGGCTACCCTGACCACAGAT AAGAGCTCCTCTACAGCATATATGCAGCTGAGTTCACTGACTTCTGAGGACAGTGCCGTGTACTATTGCGCTA GGTACTATGACGATCACTACTCCCTGGATTATTGGGGCCAGGGGACTACCCTGACCGTGAGCTCC
122.	2171	CH2	GCACCAGAGCTGCTGGGAGGACCTAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAACCAAAGGATACACTGATGATCTCCC GGACCCCTGAAGTCACATGTGTGGTCGTGGACGTGTCTCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGT GGACGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAAACTAAGCCCAGGGAGGAACAGTACAACTCCACTTATCGCGTCGTG TCTGTCCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAATGCAAGGTGAGCAACAAGGCCC TGCCTGCTCCAATCGAGAAGACCATTAGCAAAGCAAAG
123.	2171	CH3	GGGCAGCCCCGAGAACCTCAGGTCTACGTGTATCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACCAAAAACCAGGTCAGTC TGACATGTCTGGTGAAGGGCTTTTACCCAAGCGATATTGCTGTGGAGTGGGAATCCAATGGGCAGCCCGAAAA CAATTATAAGACAACTCCCCCTGTGCTGGACTCAGATGGGAGCTTCGCCCTGGTCAGTAAACTGACTGTGGAC AAGTCACGGTGGCAGCAGGGAAACGTCTTTAGCTGTTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAATCATTACACCC AGAAATCTCTGAGTCTGTCACCCGGC
124.	2177	完全	CAGATCGTCCTGACACAGAGCCCAGCTATCATGTCAGCAAGCCCCGGCGAGAAAGTCACAATGACTTGCTCAG CCAGCTCCTCTGTGAGCTACATGAACTGGTATCAGCAGAAAAGCGGAACCTCCCCCAAGAGATGGATCTACGA CACATCCAAGCTGGCCTCTGGAGTGCCTGCTCACTTCAGGGGCAGCGGCTCTGGGACCAGTTATTCACTGACA ATTTCCGGCATGGAGGCCGAAGATGCCGCTACCTACTATTGCCAGCAGTGGAGTTCAAACCCATTCACTTTTG GATCTGGCACCAAGCTGGAAATTAATGGCGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGGTCTGGAGGAGGAGGAAGTCA GGTGCAGCTGCAGCAGAGCGGAGCAGAGCTGGCTCGACCAGGAGCTAGTGTGAAAATGTCCTGTAAGGCAAGC GGCTACACCTTCACACGGTATACCATGCATTGGGTGAAACAGAGACCCGGGCAGGGACTGGAATGGATCGGGT ACATTAATCCTTCCCGAGGATACACAAACTACAACCAGAAGTTTAAAGACAAGGCCACTCTGACCACAGATAA GAGCTCCTCTACCGCTTATATGCAGCTGAGTTCACTGACATCTGAGGACAGTGCAGTGTACTATTGCGCCAGG TACTATGACGATCACTACTCCCTGGATTATTGGGGCCAGGGGACTACCCTGACAGTGAGCTCCGCAGCCGAAC CTAAATCTAGTGACAAGACTCATACCTGCCCCCCTTGTCCAGCACCAGAGGCTGCAGGAGGACCTAGCGTGTT CCTGTTTCCACCCAAACCAAAGGATACTCTGATGATCTCCCGGACACCTGAAGTCACTTGTGTGGTCGTGAGC GTGTCTCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTTAACTGGTACGTGGACGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAAACCA AGCCCAGGGAGGAACAGTACAACTCCACATATCGCGTCGTGTCTGTCCTGACTGTGCTGCACCAGGATTGGCT GAACGGCAAGGAGTACAAATGCAAGGTGAGCAACAAGGCACTGCCTGCCCCAATCGAGAAGACAATTAGCAAA GCAAAGGGGCAGCCCCGAGAACCTCAGGTCTACGTGCTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACTAAAAACCAGG TCAGTCTGCTGTGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCAAGCGATATTGCTGTGGAGTGGGAATCCAATGGGCAGCC CGAAAACAATTACCTGACTTGGCCCCCTGTCCTGGACTCAGATGGGAGCTTCTTTTCTGTATAGTAAACTGACC GTGGACAAGTCACGGTGGCAGCAGGGAAACGTCTTTAGCTGTTCCGTGATGCATGAGGCCCTGCACAATCATT ACACCCAGAAATCTCTGAGTCTGTCACCCGGCAAG
125.	2177	VL	CAGATCGTCCTGACACAGAGCCCAGCTATCATGTCAGCAAGCCCCGGCGAGAAAGTCACAATGACTTGCTCAG CCAGCTCCTCTGTGAGCTACATGAACTGGTATCAGCAGAAAAGCGGAACCTCCCCCAAGAGATGGATCTACGA CACATCCAAGCTGGCCTCTGGAGTGCCTGCTCACTTCAGGGGCAGCGGCTCTGGGACCAGTTATTCACTGACA ATTTCCGGCATGGAGGCCGAAGATGCCGCTACCTACTATTGCCAGCAGTGGAGTTCAAACCCATTCACTTTTG GATCTGGCACCAAGCTGGAAATTAAT
126.	2177	VH	CAGGTGCAGCTGCAGCAGAGCGGAGCAGAGCTGGCTCGACCAGGAGCTAGTGTGAAAATGTCCTGTAAGGCAA

10

20

30

40

			GCGGCTACACCTTCACACGGTATACCATGCATTGGGTGAAACAGAGACCCGGGCAGGGACTGGAATGGATCGG GTACATTAATCCTTCCCGAGGATACACAAACTACAACCAGAAGTTTAAAGACAAGGCCACTCTGACCACAGAT AAGAGCTCCTCTACCGCTTATATGCAGCTGAGTTCACTGACATCTGAGGACAGTGCAGTGTACTATTGCGCCA GGTACTATGACGATCACTACTCCCTGGATTATTGGGGCCAGGGGACTACCCTGACAGTGAGCTCC
127.	2177	CH2	GCACCAGAGGCTGCAGGAGGACCTAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAACCAAAGGATACTCTGATGATCTCCC GGACACCTGAAGTCACTTGTGTGGTCGTGAGCGTGTCTCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTTAACTGGTACGT GGACGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAAACCAAGCCCAGGGAGGAACAGTACAACTCCACATATCGCGTCGTG TCTGTCCTGACTGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAATGCAAGGTGAGCAACAAGGCAC TGCCTGCCCCAATCGAGAAGACAATTAGCAAAGCAAAG
128.	2177	CH3	GGGCAGCCCCGAGAACCTCAGGTCTACGTGCTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACTAAAAACCAGGTCAGTC TGCTGTGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCAAGCGATATTGCTGTGGAGTGGGAATCCAATGGGCAGCCCGAAAA CAATTACCTGACTTGGCCCCCTGTCCTGGACTCAGATGGGAGCTTCTTTCTGTATAGTAAACTGACCGTGGAC AAGTCACGGTGGCAGCAGGGAAACGTCTTTAGCTGTTCCGTGATGCATGAGGCCCTGCACAATCATTACACCC AGAAATCTCTGAGTCTGTCACCCGGC
129.	2305	完全	CAGGTCCAGCTGCAGCAGAGCGGAGCCGAACTGGTCAGACCCGGCAGCTCCGTGAAAATCAGTTGCAAGGCTT CAGGCTATGCATTCTCTAGTTACTGGATGAACTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGGCAGGGACTGGAATGGATCGG GCAGATTTGGCCAGGCGACGGGGATACTAACTATAATGGGAAGTTCAAAGGAAAGGCCACTCTGACCGCTGAC GAGTCAAGCTCCACCGCCTATATGCAGCTGTCTAGTCTGGCATCTGAGGATAGTGCCGTGTACTTTTGCGCTC GGAGAGAAACCACAACTGTGGGCCGCTACTATTACGCTATGGACTATTGGGGACAGGGCACCACAGTCACTGT GTCAAGCGCTAGCACCAAAGGGCCTTCCGTGTTTCCACTGGCACCCTCCTCTAAGAGCACTTCCGGAGGAACC GCAGCTCTGGGATGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCAGAGCCCGTCACAGTGTCATGGAACAGCGGAGCACTGA CCAGCGGAGTCCACACATTTCCTGCCGTGCTGCAGAGTTCAGGCCTGTATTCCCTGAGCTCCGTGGTCACAGT GCCATCTAGTTCACTGGGGACACAGACTTACATCTGCAACGTGAATCACAAACCATCCAATACTAAGGTCGAC AAGAAAGTGGAACCCAAATCTTGTGATAAGACCCATACATGCCCCCCTTGTCCTGCTCCAGAGCTGCTGGGAG GACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAACCTAAGGACACTCTGATGATTAGCCGAACACCAGAAGTCACTTG CGTGGTCGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGGGTCGAGGTGCAT AATGCCAAAACCAAGCCCAGGGAGGAACAGTATAATTCTACATACCGCGTCGTGAGTGTCCTGACTGTGCTGC ACCAGGACTGGCTGAACGGAAAGGAGTACAAATGCAAGGTGTCCAACAAGGCACTGCCCGCCCCTATCGAGAA GACCATTTCTAAAGCAAAGGGCCAGCCTCGAGAACCACAGGTCTATGTGCTGCCTCCAAGTCGGGACGAGCTG ACAAAAAACCAGGTCAGCCTGCTGTGTCTGGTGAAGGGGTTCTACCCCTCCGATATTGCCGTGGAGTGGGAAT CTAATGGACAGCCTGAAAACAATTATCTGACCTGGCCCCCTGTGCTGGACTCCGATGGATCTTTCTTTCTTCTGTA CTCAAAACTGACAGTGGATAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTTTCTTGTAGTGTGATGCATGAGGCC CTGCACAATCATTACACCCAGAAATCACTGAGCCTGTCCCCCGGCAAG
130.	2305	VH	CAGGTCCAGCTGCAGCAGAGCGGAGCCGAACTGGTCAGACCCGGCAGCTCCGTGAAAATCAGTTGCAAGGCTT CAGGCTATGCATTCTCTAGTTACTGGATGAACTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGGCAGGGACTGGAATGGATCGG GCAGATTTGGCCAGGCGACGGGGATACTAACTATAATGGGAAGTTCAAAGGAAAGGCCACTCTGACCGCTGAC GAGTCAAGCTCCACCGCCTATATGCAGCTGTCTAGTCTGGCATCTGAGGATAGTGCCGTGTACTTTTGCGCTC GGAGAGAAACCACAACTGTGGGCCGCTACTATTACGCTATGGACTATTGGGGACAGGGCACCACAGTCACTGT GTCAAGC
131.	2305	CH1	GCTAGCACCAAAGGGCCTTCCGTGTTTCCACTGGCACCCTCCTCTAAGAGCACTTCCGGAGGAACCGCAGCTC TGGGATGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCAGAGCCCGTCACAGTGTCATGGAACAGCGGAGCACTGACCAGCGG AGTCCACACATTTCCTGCCGTGCTGCAGAGTTCAGGCCTGTATTCCCTGAGCTCCGTGGTCACAGTGCCATCT AGTTCACTGGGGACACAGACTTACATCTGCAACGTGAATCACAAACCATCCAATACTAAGGTCGACAAGAAAG TG
132.	2305	CH2	GCTCCAGAGCTGCTGGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAACCTAAGGACACTCTGATGATTAGCC GAACACCAGAAGTCACTTGCGTGGTCGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGT GGATGGGGTCGAGGTGCATAATGCCAAAACCAAGCCCAGGGAGGAACAGTATAATTCTACATACCGCGTCGTG AGTGTCCTGACTGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGAAAGGAGTACAAATGCAAGGTGTCCAACAAGGCAC TGCCCGCCCCTATCGAGAAGACCATTTCTAAAGCAAAG
133.	2305	CH3	GGCCAGCCTCGAGAACCACAGGTCTATGTGCTGCCTCCAAGTCGGGACGAGCTGACAAAAAACCAGGTCAGCC TGCTGTGTCTGGTGAAGGGGTTCTACCCCTCCGATATTGCCGTGGAGTGGGAATCTAATGGACAGCCTGAAAA CAATTATCTGACCTGGCCCCCTGTGCTGGACTCCGATGGATCTTTCTTTCTGTACTCAAAACTGACAGTGGAT AAGAGCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTTTCTTGTAGTGTGATGCATGAGGCCCTGCACAATCATTACACCC AGAAATCACTGAGCCTGTCCCCCGGC
134.	5238	完全	CAGATCGTCCTGACACAGAGCCCAGCAATCATGTCAGCCAGCCCCGGCGAGAAAGTCACAATGACTTGCTCAG CAAGCTCCTCTGTGAGCTACATGAACTGGTATCAGCAGAAAAGCGGAACCTCCCCCAAGAGATGGATCTACGA CACATCCAAGCTGGCTTCTGGAGTGCCTGCACACTTCAGGGGCAGCGGCTCTGGGACCAGTTATTCACTGACA ATTTCCGGCATGGAGGCTGAAGATGCCGCTACATACTATTGCCAGCAGTGGAGTTCAAACCCATTCACTTTTG GATCTGGCACCAAGCTGGAAATTAATGGCGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGGTCTGGAGGAGGAGGAAGTCA GGTGCAGCTGCAGCAGTCCGGAGCTGAGCTGGCACGACCAGGAGCAAGTGTGAAAATGTCCTGTAAGGCCAGC GGCTACACCTTCACACGGTATACCATGCATTGGGTGAAACAGAGACCCGGGCAGGGACTGGAATGGATCGGGT ACATTAATCCTAGCCGAGGATACACAAACTACAACCAGAAGTTTAAAGACAAGGCTACTCTGACCACAGATAA GAGCTCCTCTACCGCATATATGCAGCTGAGTTCACTGACATCTGAGGACAGTGCCGTGTACTATTGCGCTAGG TACTATGACGATCACTACTGTCTGGATTATTGGGGCCAGGGGACTACCCTGACCGTGAGCTCCGCAGCCGAAC CTAAATCTAGTGACAAGACTCATACCTGCCCCCCTTGTCCAGCACCAGAGCTGCTGGGAGGACCTTCCGTGTT CCTGTTTCCACCCAAACCAAAGGATACTCTGATGATCTCCCGGACACCTGAAGTCACTTGCGTGGTCGTGGAC GTGTCTCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAAACCA AGCCCAGGGAGGAACAGTACAACTCCACATATCGCGTCGTGTCTGTCCTGACTGTGCTGCACCAGGATTGGCT GAACGGCAAGGAGTACAAATGCAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCTGCTCCAATCGAGAAGACAATTAGCAAA GCCAAGGGGCAGCCCCGAGAACCTCAGGTCTACGTGCTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACTAAAAACCAGG TCAGTCTGCTGTGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCAAGCGATATTGCTGTGGAGTGGGAATCCAATGGGCAGCC CGAAAACAATTACCTGACTTGGCCCCCTGTCCTGGACTCAGATGGGAGCTTCTTTCTGTATAGTAAACTGACC GTGGACAAGTCACGGTGGCAGCAGGGAAACGTCTTTAGCTGTTCCGTGATGCATGAGGCCCTGCACAATCATT ACACCCAGAAGTCTCTGAGTCTGTCACCCGGC
135.	5238	VL	CAGATCGTCCTGACACAGAGCCCAGCAATCATGTCAGCCAGCCCCGGCGAGAAAGTCACAATGACTTGCTCAG CAAGCTCCTCTGTGAGCTACATGAACTGGTATCAGCAGAAAAGCGGAACCTCCCCCAAGAGATGGATCTACGA

			CACATCCAAGCTGGCTTCTGGAGTGCCTGCACACTTCAGGGGCAGCGGCTCTGGGACCAGTTATTCACTGACA ATTTCCGGCATGGAGGCTGAAGATGCCGCTACATACTATTGCCAGCAGTGGAGTTCAAACCCATTCACTTTTG GATCTGGCACCAAGCTGGAAATTAAT
136.	5238	VH	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTCCGGAGCTGAGCTGGCACGACCAGGAGCAAGTGTGAAAATGTCCTGTAAGGCCA GCGGCTACACCTTCACACGGTATACCATGCATTGGGTGAAACAGAGACCCGGGCAGGGACTGGAATGGATCGG GTACATTAATCCTAGCCGAGGATACACAAACTACAACCAGAAGTTTAAAGACAAGGCTACTCTGACCACAGAT AAGAGCTCCTCTACCGCATATATGCAGCTGAGTTCACTGACATCTGAGGACAGTGCCGTGTACTATTGCGCTA GGTACTATGACGATCACTACTGTCTGGATTATTGGGGCCAGGGGACTACCCTGACCGTGAGCTCC
137.	5238	CH2	GCACCAGAGCTGCTGGGAGGACCTTCCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAACCAAAGGATACTCTGATGATCTCCC GGACACCTGAAGTCACTTGCGTGGTCGTGGACGTGTCTCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGT GGACGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAAACCAAGCCCAGGGAGGAACAGTACAACTCCACATATCGCGTCGTG TCTGTCCTGACTGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAATGCAAGGTGAGCAACAAGGCCC TGCCTGCTCCAATCGAGAAGACAATTAGCAAAGCCAAG
138.	5238	CH3	GGGCAGCCCCGAGAACCTCAGGTCTACGTGCTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACTAAAAACCAGGTCAGTC TGCTGTGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCAAGCGATATTGCTGTGGAGTGGGAATCCAATGGGCAGCCCGAAAA CAATTACCTGACTTGGCCCCCTGTCCTGGACTCAGATGGGAGCTTCTTTCTGTATAGTAAACTGACCGTGGAC AAGTCACGGTGGCAGCAGGGAAACGTCTTTAGCTGTTCCGTGATGCATGAGGCCCTGCACAATCATTACACCC AGAAGTCTCTGAGTCTGTCACCCGGC
139.	2167	完全	CAGATCGTCCTGACACAGAGCCCAGCAATCATGTCAGCCAGCCCCGGCGAGAAAGTCACAATGACTTGCTCAG CAAGCTCCTCTGTGAGCTACATGAACTGGTATCAGCAGAAAAGCGGAACCTCCCCCAAGAGATGGATCTACGA CACATCCAAGCTGGCTTCTGGAGTGCCTGCACACTTCAGGGGCAGCGGCTCTGGGACCAGTTATTCACTGACA ATTTCCGGCATGGAGGCTGAAGATGCCGCTACCTACTATTGCCAGCAGTGGAGTTCAAACCCATTCACTTTTG GATCTGGCACCAAGCTGGAAATTAATGGCGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGGTCTGGAGGAGGAGGAAGTCA GGTGCAGCTGCAGCAGAGCGGAGCTGAGCTGGCACGACCAGGAGCAAGTGTGAAAATGTCCTGTAAGGCCAGC GGCTACACCTTCACACGGTATACCATGCATTGGGTGAAACAGAGACCCGGGCAGGGACTGGAATGGATCGGGT ACATTAATCCTTCCCGAGGATACACAAACTACAACCAGAAGTTTAAAGACAAGGCTACTCTGACCACAGATAA GAGCTCCTCTACCGCATATATGCAGCTGAGTTCACTGACATCTGAGGACAGTGCCGTGTACTATTGCGCTAGG TACTATGACGATCACTACTCCCTGGATTATTGGGGCCAGGGGACTACCCTGACAGTGAGCTCCGCAGCCGAAC CTAAATCTAGTGACAAGACTCATACCTGCCCCCCTTGTCCAGCACCAGAGCTGCTGGGAGGACCTAGCGTGTT CCTGTTTCCACCCAAACCAAAGGATACTCTGATGATCTCCCGGACACCTGAAGTCACTTGTGTGGTCGTGGAC GTGTCTCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTTAACTGGTACGTGGACGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAAACCA AGCCCAGGGAGGAACAGTACAACTCCACATATCGCGTCGTGTCTGTCCTGACTGTGCTGCACCAGGATTGGCT GAACGGCAAGGAGTACAAATGCAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCTGCTCCAATCGAGAAGACAATTAGCAAA GCCAAGGGGCAGCCCCGAGAACCTCAGGTCTACGTGCTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACTAAAAACCAGG TCAGTCTGCTGTGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCAAGCGATATTGCTGTGGAGTGGGAATCCAATGGGCAGCC CGAAAACAATTACCTGACTTGGCCCCCTGTCCTGGACTCAGATGGGAGCTTCTTTCTGTATAGTAAACTGACC GTGGACAAGTCACGGTGGCAGCAGGGAAACGTCTTTAGCTGTTCCGTGATGCATGAGGCCCTGCACAATCATT ACACCCAGAAATCTCTGAGTCTGTCACCCGGCAAG
140.	2167	VL	CAGATCGTCCTGACACAGAGCCCAGCAATCATGTCAGCCAGCCCCGGCGAGAAAGTCACAATGACTTGCTCAG CAAGCTCCTCTGTGAGCTACATGAACTGGTATCAGCAGAAAAGCGGAACCTCCCCCAAGAGATGGATCTACGA CACATCCAAGCTGGCTTCTGGAGTGCCTGCACACTTCAGGGGCAGCGGCTCTGGGACCAGTTATTCACTGACA ATTTCCGGCATGGAGGCTGAAGATGCCGCTACCTACTATTGCCAGCAGTGGAGTTCAAACCCATTCACTTTTG GATCTGGCACCAAGCTGGAAATTAAT
141.	2167	VH	CAGGTGCAGCTGCAGCAGAGCGGAGCTGAGCTGGCACGACCAGGAGCAAGTGTGAAAATGTCCTGTAAGGCCA GCGGCTACACCTTCACACGGTATACCATGCATTGGGTGAAACAGAGACCCGGGCAGGGACTGGAATGGATCGG GTACATTAATCCTTCCCGAGGATACACAAACTACAACCAGAAGTTTAAAGACAAGGCTACTCTGACCACAGAT AAGAGCTCCTCTACCGCATATATGCAGCTGAGTTCACTGACATCTGAGGACAGTGCCGTGTACTATTGCGCTA GGTACTATGACGATCACTACTCCCTGGATTATTGGGGCCAGGGGACTACCCTGACAGTGAGCTCC
142.	2167	CH2	GCACCAGAGCTGCTGGGAGGACCTAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAACCAAAGGATACTCTGATGATCTCCC GGACACCTGAAGTCACTTGTGTGGTCGTGGACGTGTCTCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTTAACTGGTACGT GGACGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAAACCAAGCCCAGGGAGGAACAGTACAACTCCACATATCGCGTCGTG TCTGTCCTGACTGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAATGCAAGGTGAGCAACAAGGCCC TGCCTGCTCCAATCGAGAAGACAATTAGCAAAGCCAAG
143.	2167	CH3	GGGCAGCCCCGAGAACCTCAGGTCTACGTGCTGCCTCCATCTCGGGACGAGCTGACTAAAAACCAGGTCAGTC TGCTGTGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCAAGCGATATTGCTGTGGAGTGGGAATCCAATGGGCAGCCCGAAAA CAATTACCTGACTTGGCCCCCTGTCCTGGACTCAGATGGGAGCTTCTTTCTGTATAGTAAACTGACCGTGGAC AAGTCACGGTGGCAGCAGGGAAACGTCTTTAGCTGTTCCGTGATGCATGAGGCCCTGCACAATCATTACACCC AGAAATCTCTGAGTCTGTCACCCGGC
144.	3320	完全	GAAGTCCAGCTGGTCGAGTCCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGGTCACTGAAACTGAGCTGCGCCGCTT CCGGCTTCACTTTTAACAAGTATGCAATGAATTGGGTGCGGCAGGCACCAGGGAAGGGACTGGAATGGGTGGC CCGGATCAGATCTAAGTACAACAACTACGCTACCTACTATGCAGACAGTGTGAAGGATAGGTTCACAATTTCT CGCGACGATAGTAAAAACACTGCTTACCTGCAGATGAACAATCTGAAGACAGAGGACACTGCAGTCTACTATT GCGTGAGACACGGAAACTTTGGCAATAGCTACATCTCCTATTGGGCATACTGGGGACAGGGAACCCTGGTCAC AGTGAGCTCCGGAGGAGGAGGCAGCGGAGGAGGAGGCTCTGGGGGAGGCGGGAGTCAGACTGTGGTCACCCAG GAGCCCTCACTGACAGTCAGCCCTGGAGGCACTGTGACCCTGACATGTGGGTCTAGTACCGGAGCCGTGACAT CTGGCAACTATCCCAATTGGGTGCAGCAGAAACCTGGACAGGCTCCACGAGGACTGATTGGAGGAACAAAGTT CCTGGCCCCCGGAACTCCTGCTCGATTTTCCGGCTCTCTGCTGGGAGGGAAAGCAGCACTGACCCTGAGCGGA GTGCAGCCTGAGGATGAAGCCGAGTACTATTGCGTGCTGTGGTACAGCAACAGATGGGTGTTCGGAGGCGGGA CAAAGCTGACTGTGCTGGCTGCAGAGCCAAAGTCAAGCGACAAAACTCACACCTGCCCACCTTGTCCAGCTCC AGAAGCAGCTGGAGGACCATCCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCCAAAGATACACTGATGATCTCTCGCACT CCCGAGGTCACCTGTGTGGTCGTGAGTGTGTCACACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTTAACTGGTACGTGGATG GCGTCGAAGTGCATAATGCCAAGACCAAACCTCGAGAGGAACAGTATAATTCAACTTACCGGGTCGTGAGCGT CCTGACCGTGCTGCATCAGGACTGGCTGAACGGAAAGGAGTACAAGTGCAAAGTGAGCAATAAGGCACTGCCT GCCCCAATCGAAAAAACCATTAGCAAGGCTAAAGGGCAGCCAAGAGAGCCCCAGGTCTACGTGTATCCTCCAA GCAGGGACGAACTGACCAAGAACCAGGTCTCCCTGACATGTCTGGTGAAAGGGTTCTATCCTAGTGATATTGC AGTGGAATGGGAGTCAAATGGACAGCCAGAGAACAATTACAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACTCTGATGGC

			AGTTTCGCACTGGTCTCCAAGCTGACCGTGGATAAATCTAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTTAGCTGTTCCG TGATGCATGAAGCCCTGCACAATCATTACACACAGAAGTCTCTGAGTCTGTCACCCGGCAAA
145.	3320	VH	GAAGTCCAGCTGGTCGAGTCCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGGTCACTGAAACTGAGCTGCGCCGCTT CCGGCTTCACTTTTAACAAGTATGCAATGAATTGGGTGCGGCAGGCACCAGGGAAGGGACTGGAATGGGTGGC CCGGATCAGATCTAAGTACAACAACTACGCTACCTACTATGCAGACAGTGTGAAGGATAGGTTCACAATTTCT CGCGACGATAGTAAAAACACTGCTTACCTGCAGATGAACAATCTGAAGACAGAGGACACTGCAGTCTACTATT GCGTGAGACACGGAAACTTTGGCAATAGCTACATCTCCTATTGGGCATACTGGGGACAGGGAACCCTGGTCAC AGTGAGCTCC
146.	3320	VL	CAGACTGTGGTCACCCAGGAGCCCTCACTGACAGTCAGCCCTGGAGGCACTGTGACCCTGACATGTGGGTCTA GTACCGGAGCCGTGACATCTGGCAACTATCCCAATTGGGTGCAGCAGAAACCTGGACAGGCTCCACGAGGACT GATTGGAGGAACAAAGTTCCTGGCCCCCGGAACTCCTGCTCGATTTTCCGGCTCTCTGCTGGGAGGGAAAGCA GCACTGACCCTGAGCGGAGTGCAGCCTGAGGATGAAGCCGAGTACTATTGCGTGCTGTGGTACAGCAACAGAT GGGTGTTCGGAGGCGGGACAAAGCTGACTGTGCTG
147.	3320	CH2	GCTCCAGAAGCAGCTGGAGGACCATCCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCCAAAGATACACTGATGATCTCTC GCACTCCCGAGGTCACCTGTGTGGTCGTGAGTGTGTCACACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTTAACTGGTACGT GGATGGCGTCGAAGTGCATAATGCCAAGACCAAACCTCGAGAGGAACAGTATAATTCAACTTACCGGGTCGTG AGCGTCCTGACCGTGCTGCATCAGGACTGGCTGAACGGAAAGGAGTACAAGTGCAAAGTGAGCAATAAGGCAC TGCCTGCCCCAATCGAAAAAACCATTAGCAAGGCTAAA
148.	3320	CH3	GGGCAGCCAAGAGAGCCCCAGGTCTACGTGTATCCTCCAAGCAGGGACGAACTGACCAAGAACCAGGTCTCCC TGACATGTCTGGTGAAAGGGTTCTATCCTAGTGATATTGCAGTGGAATGGGAGTCAAATGGACAGCCAGAGAA CAATTACAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACTCTGATGGCAGTTTCGCACTGGTCTCCAAGCTGACCGTGGAT AAATCTAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTTAGCTGTTCCGTGATGCATGAAGCCCTGCACAATCATTACACAC AGAAGTCTCTGAGTCTGTCACCCGGC
149.	5241	完全	CAGGTCCAGCTGCAGCAGAGCGGAGCCGAACTGGTCAGACCCGGCAGCTCCGTGAAAATCAGTTGCAAGGCTT CAGGCTATGCATTCTCTAGTTACTGGATGAACTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGGCAGGGACTGGAATGGATCGG GCAGATTTGGCCAGGCGACGGGGATACAAACTATAATGGGAAGTTCAAAGGAAAGGCCACACTGACTGCTGAC GAGTCAAGCTCCACTGCATATATGCAGCTGTCTAGTCTGGCATCTGAGGATAGTGCCGTGTACTTTTGCGCTC GGAGAGAAACCACAACTGTGGGCCGCTACTATTACGCCATGGACTATTGGGGACAGGGCACCACAGTCACAGT GTCAAGCGCTAGCACTAAAGGGCCTTCCGTGTTTCCACTGGCACCCTCCTCTAAGAGCACATCCGGAGGAACT GCAGCTCTGGGATGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCAGAGCCCGTCACAGTGTCATGGAACAGCGGCGCACTGA CTAGCGGGGTCCACACCTTTCCTGCCGTGCTGCAGAGTTCAGGCCTGTATTCCCTGAGCTCCGTGGTCACCGT GCCATCTAGTTCACTGGGGACCCAGACATACATCTGCAACGTGAATCACAAACCATCCAATACAAAGGTCGAC AAGAAAGTGGAACCCAAATCTTGTGATAAGACTCATACCTGCCCCCCTTGTCCTGCTCCAGAGCTGCTGGGAG GACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAACCTAAGGACACACTGATGATTAGCCGAACCCCAGAAGTGACATG CGTGGTCGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAAGTCAAATTCAACTGGTACGTGGATGGGGTCGAGGTGCAT AATGCCAAAACCAAGCCCAGGGAGGAACAGTATAATTCTACTTACCGCGTCGTGAGTGTCCTGACCGTGCTGC ACCAGGACTGGCTGAACGGAAAGGAGTACAAATGCAAGGTGTCCAACAAGGCACTGCCCGCCCCTATCGAGAA GACCATTTCTAAAGCTAAGGGCCAGCCTCGAGAACCACAGGTCTATGTGTACCCTCCAAGTCGGGACGAGCTG ACCAAAAACCAGGTCAGCCTGACATGTCTGGTGAAGGGGTTTTATCCCTCCGATATTGCAGTGGAGTGGGAAT CTAATGGACAGCCTGAAAACAATTACAAGACTACCCCCCCTGTGCTGGACTCCGATGGATCTTTCGCCCTGGT CTCAAAACTGACTGTGGATAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTTTCTTGTAGTGTGATGCATGAGGCT CTGCACAATCATTACACCCAGAAGTCACTGAGCCTGTCCCCCGGC
150.	5241	VH	CAGGTCCAGCTGCAGCAGAGCGGAGCCGAACTGGTCAGACCCGGCAGCTCCGTGAAAATCAGTTGCAAGGCTT CAGGCTATGCATTCTCTAGTTACTGGATGAACTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGGCAGGGACTGGAATGGATCGG GCAGATTTGGCCAGGCGACGGGGATACAAACTATAATGGGAAGTTCAAAGGAAAGGCCACACTGACTGCTGAC GAGTCAAGCTCCACTGCATATATGCAGCTGTCTAGTCTGGCATCTGAGGATAGTGCCGTGTACTTTTGCGCTC GGAGAGAAACCACAACTGTGGGCCGCTACTATTACGCCATGGACTATTGGGGACAGGGCACCACAGTCACAGT GTCAAGC
151.	5241	CH1	GCTAGCACTAAAGGGCCTTCCGTGTTTCCACTGGCACCCTCCTCTAAGAGCACATCCGGAGGAACTGCAGCTC TGGGATGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCAGAGCCCGTCACAGTGTCATGGAACAGCGGCGCACTGACTAGCGG GGTCCACACCTTTCCTGCCGTGCTGCAGAGTTCAGGCCTGTATTCCCTGAGCTCCGTGGTCACCGTGCCATCT AGTTCACTGGGGACCCAGACATACATCTGCAACGTGAATCACAAACCATCCAATACAAAGGTCGACAAGAAAG TG
152.	5241	CH2	GCTCCAGAGCTGCTGGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAACCTAAGGACACACTGATGATTAGCC GAACCCCAGAAGTGACATGCGTGGTCGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAAGTCAAATTCAACTGGTACGT GGATGGGGTCGAGGTGCATAATGCCAAAACCAAGCCCAGGGAGGAACAGTATAATTCTACTTACCGCGTCGTG AGTGTCCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGAAAGGAGTACAAATGCAAGGTGTCCAACAAGGCAC TGCCCGCCCCTATCGAGAAGACCATTTCTAAAGCTAAG
153.	5241	CH3	GGCCAGCCTCGAGAACCACAGGTCTATGTGTACCCTCCAAGTCGGGACGAGCTGACCAAAAACCAGGTCAGCC TGACATGTCTGGTGAAGGGGTTTTATCCCTCCGATATTGCAGTGGAGTGGGAATCTAATGGACAGCCTGAAAA CAATTACAAGACTACCCCCCCTGTGCTGGACTCCGATGGATCTTTCGCCCTGGTCTCAAAACTGACTGTGGAT AAGAGCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTTTCTTGTAGTGTGATGCATGAGGCTCTGCACAATCATTACACCC AGAAGTCACTGAGCCTGTCCCCCGGC
154.	3322	完全	GAAGTCCAGCTGGTCGAGTCTGGAGGAGGACTGGTGAAGCCAGGAGGGAGTCTGAAACTGTCATGCGCCGCTA GCGGGTATACCTTCACAAGCTACGTCATGCACTGGGTGAGGCAGGCACCAGGGAAGGGACTGGAATGGATCGG CTATATTAATCCCTACAACGACGGGACTAAGTATAATGAGAAATTTCAGGGCAGGGTGACCATCAGCTCCGAT AAGTCTATTAGTACAGCCTACATGGAGCTGTCTAGTCTGCGCAGCGAAGACACAGCAATGTACTATTGCGCCA GGGGGACATACTATTACGGAACTCGCGTGTTCGATTACTGGGGCCAGGGGACCCTGGTCACAGTGTCAAGCGG AGGCGGGGGAAGTGGAGGAGGAGGCTCAGGAGGAGGAGGGAGCGACATCGTGATGACCCAGTCCCCTGCTACA CTGTCACTGAGCCCAGGCGAGCGGGCAACTCTGTCCTGTAGATCCTCTAAGTCTCTGCAGAACGTGAATGGAA ACACCTATCTGTACTGGTTTCAGCAGAAACCAGGCCAGAGCCCCCAGCTGCTGATCTATAGAATGTCCAATCT GAACTCTGGCGTGCCTGATAGGTTCTCCGGATCTGGCAGTGGGACCGAGTTCACCCTGACCATTAGTTCACTG GAGCCAGAAGACTTCGCCGTGTATTACTGCATGCAGCACCTGGAGTACCCCATCACTTTTGGAGCTGGCACCA AGCTGGAGATCAAGGCAGCCGAACCAAAGAGCTCCGATAAAACACATACTTGCCCACCTTGTCCAGCACCAGA AGCTGCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCTAAAGACACCCTGATGATCTCCCGGACTCCC GAGGTCACCTGTGTGGTCGTGTCAGTGAGCCACGAGGACCCTGAAGTCAAGTTCAATTGGTACGTGGATGGCG

			TCGAAGTGCATAACGCTAAGACAAAACCCCGAGAGGAACAGTATAACAGTACATACCGGGTCGTGTCAGTGCT GACCGTCCTGCACCAGGATTGGCTGAATGGAAAGGAGTACAAGTGCAAAGTGTCTAACAAGGCCCTGCCTGCT CCAATCGAGAAAACCATTAGCAAGGCTAAAGGCCAGCCCCGCGAACCTCAGGTCTATGTGCTGCCTCCAAGCC GAGATGAGCTGACAAAGAATCAGGTCTCCCTGCTGTGTCTGGTGAAAGGGTTCTACCCTTCTGACATTGCAGT GGAGTGGGAAAGTAACGGACAGCCAGAGAACAATTATCTGACATGGCCCCCTGTCCTGGACTCCGATGGCTCT TTCTTTCTGTACAGCAAGCTGACTGTGGACAAATCCAGATGGCAGCAGGGGAATGTCTTTTCCTGTTCTGTGA TGCATGAAGCCCTGCACAACCATTACACCCAGAAGAGTCTGTCACTGAGCCCTGGCAAA
155.	3322	VH	GAAGTCCAGCTGGTCGAGTCTGGAGGAGGACTGGTGAAGCCAGGAGGGAGTCTGAAACTGTCATGCGCCGCTA GCGGGTATACCTTCACAAGCTACGTCATGCACTGGGTGAGGCAGGCACCAGGGAAGGGACTGGAATGGATCGG CTATATTAATCCCTACAACGACGGGACTAAGTATAATGAGAAATTTCAGGGCAGGGTGACCATCAGCTCCGAT AAGTCTATTAGTACAGCCTACATGGAGCTGTCTAGTCTGCGCAGCGAAGACACAGCAATGTACTATTGCGCCA GGGGGACATACTATTACGGAACTCGCGTGTTCGATTACTGGGGCCAGGGGACCCTGGTCACAGTGTCAAGC
156.	3322	VL	GACATCGTGATGACCCAGTCCCCTGCTACACTGTCACTGAGCCCAGGCGAGCGGGCAACTCTGTCCTGTAGAT CCTCTAAGTCTCTGCAGAACGTGAATGGAAACACCTATCTGTACTGGTTTCAGCAGAAACCAGGCCAGAGCCC CCAGCTGCTGATCTATAGAATGTCCAATCTGAACTCTGGCGTGCCTGATAGGTTCTCCGGATCTGGCAGTGGG ACCGAGTTCACCCTGACCATTAGTTCACTGGAGCCAGAAGACTTCGCCGTGTATTACTGCATGCAGCACCTGG AGTACCCCATCACTTTTGGAGCTGGCACCAAGCTGGAGATCAAG
157.	3322	CH2	GCACCAGAAGCTGCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCTAAAGACACCCTGATGATCTCCC GGACTCCCGAGGTCACCTGTGTGGTCGTGTCAGTGAGCCACGAGGACCCTGAAGTCAAGTTCAATTGGTACGT GGATGGCGTCGAAGTGCATAACGCTAAGACAAAACCCCGAGAGGAACAGTATAACAGTACATACCGGGTCGTG TCAGTGCTGACCGTCCTGCACCAGGATTGGCTGAATGGAAAGGAGTACAAGTGCAAAGTGTCTAACAAGGCCC TGCCTGCTCCAATCGAGAAAACCATTAGCAAGGCTAAA
158.	3322	CH3	GGCCAGCCCCGCGAACCTCAGGTCTATGTGCTGCCTCCAAGCCGAGATGAGCTGACAAAGAATCAGGTCTCCC TGCTGTGTCTGGTGAAAGGGTTCTACCCTTCTGACATTGCAGTGGAGTGGGAAAGTAACGGACAGCCAGAGAA CAATTATCTGACATGGCCCCCTGTCCTGGACTCCGATGGCTCTTTCTTTCTGTACAGCAAGCTGACTGTGGAC AAATCCAGATGGCAGCAGGGGAATGTCTTTTCCTGTTCTGTGATGCATGAAGCCCTGCACAACCATTACACCC AGAAGAGTCTGTCACTGAGCCCTGGC
159.	2175	完全	GACATTCAGCTGACCCAGAGTCCTGCTTCACTGGCAGTGAGCCTGGGACAGCGAGCAACAATCTCCTGCAAAG CTAGTCAGTCAGTGGACTATGATGGCGACTCCTATCTGAACTGGTACCAGCAGATCCCAGGGCAGCCCCCTAA GCTGCTGATCTACGACGCCTCAAATCTGGTGAGCGGCATCCCACCACGATTCAGCGGCAGCGGCTCTGGAACC GATTTTACACTGAACATTCACCCAGTCGAGAAGGTGGACGCCGCTACCTACCATTGCCAGCAGTCTACAGAGG ACCCCTGGACTTTCGGCGGGGGAACCAAACTGGAAATCAAGGGAGGAGGAGGCAGTGGCGGAGGAGGGTCAGG AGGAGGAGGAAGCCAGGTGCAGCTGCAGCAGAGCGGAGCAGAGCTGGTCAGACCAGGAAGCTCCGTGAAAATT TCCTGTAAGGCATCTGGCTATGCCTTTTCTAGTTACTGGATGAATTGGGTGAAGCAGAGGCCAGGACAGGGCC TGGAATGGATCGGGCAGATTTGGCCCGGGGATGGAGACACAAACTATAATGGAAAGTTCAAAGGCAAGGCTAC TCTGACCGCAGACGAGTCAAGCTCCACTGCATATATGCAGCTGTCTAGTCTGGCCAGCGAGGATTCCGCTGTC TACTTTTGCGCACGGAGAGAAACCACAACTGTGGGCAGGTACTATTACGCCATGGACTACTGGGGCCAGGGGA CCACAGTCACCGTGTCAAGCGCAGCCGAACCCAAATCCTCTGATAAGACACACACTTGCCCTCCATGTCCAGC TCCTGAGCTGCTGGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCTAAACCTAAGGACACTCTGATGATCTCTCGG ACTCCCGAAGTCACCTGTGTGGTCGTGGATGTGAGCCACGAGGACCCTGAAGTCAAATTCAACTGGTACGTGG ATGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAAACAAAGCCTAGGGAGGAACAGTATAACTCCACATACCGCGTCGTGTC TGTCCTGACTGTGCTGCATCAGGACTGGCTGAACGGAAAGGAGTACAAATGCAAGGTGAGCAACAAGGCCCTG CCAGCTCCCATCGAGAAGACCATTTCCAAAGCTAAGGGCCAGCCTCGAGAACCACAGGTCTATGTGCTGCCAC CCAGCCGGGACGAGCTGACAAAAAACCAGGTCTCCCTGCTGTGTCTGGTGAAGGGATTCTACCCTTCTGATAT TGCAGTGGAGTGGGAAAGTAATGGCCAGCCAGAAAACAATTATCTGACTTGGCCTCCAGTGCTGGATTCTGAC GGGAGTTTCTTTCTGTACAGTAAACTGACCGTGGATAAGTCACGGTGGCAGCAGGGAAACGTCTTTAGTTGTT CAGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCATTACACCCAGAAAAGCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAAG
160.	2175	VL	GACATTCAGCTGACCCAGAGTCCTGCTTCACTGGCAGTGAGCCTGGGACAGCGAGCAACAATCTCCTGCAAAG CTAGTCAGTCAGTGGACTATGATGGCGACTCCTATCTGAACTGGTACCAGCAGATCCCAGGGCAGCCCCCTAA GCTGCTGATCTACGACGCCTCAAATCTGGTGAGCGGCATCCCACCACGATTCAGCGGCAGCGGCTCTGGAACC GATTTTACACTGAACATTCACCCAGTCGAGAAGGTGGACGCCGCTACCTACCATTGCCAGCAGTCTACAGAGG ACCCCTGGACTTTCGGCGGGGGAACCAAACTGGAAATCAAG
161.	2175	VH	CAGGTGCAGCTGCAGCAGAGCGGAGCAGAGCTGGTCAGACCAGGAAGCTCCGTGAAAATTTCCTGTAAGGCAT CTGGCTATGCCTTTTCTAGTTACTGGATGAATTGGGTGAAGCAGAGGCCAGGACAGGGCCTGGAATGGATCGG GCAGATTTGGCCCGGGGATGGAGACACAAACTATAATGGAAAGTTCAAAGGCAAGGCTACTCTGACCGCAGAC GAGTCAAGCTCCACTGCATATATGCAGCTGTCTAGTCTGGCCAGCGAGGATTCCGCTGTCTACTTTTGCGCAC GGAGAGAAACCACAACTGTGGGCAGGTACTATTACGCCATGGACTACTGGGGCCAGGGGACCACAGTCACCGT GTCAAGC
162.	2175	CH2	GCTCCTGAGCTGCTGGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCTAAACCTAAGGACACTCTGATGATCTCTC GGACTCCCGAAGTCACCTGTGTGGTCGTGGATGTGAGCCACGAGGACCCTGAAGTCAAATTCAACTGGTACGT GGATGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAAACAAAGCCTAGGGAGGAACAGTATAACTCCACATACCGCGTCGTG TCTGTCCTGACTGTGCTGCATCAGGACTGGCTGAACGGAAAGGAGTACAAATGCAAGGTGAGCAACAAGGCCC TGCCAGCTCCCATCGAGAAGACCATTTCCAAAGCTAAG
163.	2175	CH3	GGCCAGCCTCGAGAACCACAGGTCTATGTGCTGCCACCCAGCCGGGACGAGCTGACAAAAAACCAGGTCTCCC TGCTGTGTCTGGTGAAGGGATTCTACCCTTCTGATATTGCAGTGGAGTGGGAAAGTAATGGCCAGCCAGAAAA CAATTATCTGACTTGGCCTCCAGTGCTGGATTCTGACGGGAGTTTCTTTCTGTACAGTAAACTGACCGTGGAT AAGTCACGGTGGCAGCAGGGAAACGTCTTTAGTTGTTCAGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCATTACACCC AGAAAAGCCTGTCCCTGTCTCCCGGC
164.	2303	完全	CAGGTCCAGCTGGTGCAGTCCGGAGGAGGAGTGGTCCAGCCAGGACGGTCCCTGAGACTGTCTTGCAAGGCTA GTGGGTATACTTTCACCTCTTACACCATGCACTGGGTGCGCCAGGCACCAGGGAAGGGACTGGAATGGATCGG GTATATTAACCCTAGCTCCGGATACACAAAGTACAACCAGAAGTTCAAAGACCGGTTCACCATCTCCGCTGAT AAGAGTAAATCAACCGCATTCCTGCAGATGGACTCTCTGCGACCCGAGGATACAGGCGTGTACTTCTGCGCCC GGTGGCAGGACTACGATGTGTATTTTGACTACTGGGGCCAGGGGACTCCAGTCACCGTGTCTAGTGCATCAAC TAAGGGACCCAGCGTGTTTCCACTGGCCCCCTCAAGCAAAAGCACATCCGGAGGAACTGCAGCTCTGGGATGT CTGGTGAAGGATTATTTCCCAGAGCCCGTCACCGTGTCTTGGAACAGTGGAGCCCTGACTAGCGGCGTCCATA CCTTTCCCGCTGTGCTGCAGTCCTCTGGGCTGTATAGCCTGAGTTCAGTGGTCACAGTGCCTAGCTCCTCTCT

			GGGAACACAGACTTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCAAATACTAAAGTCGACAAGAAAGTGGAACCA AAGAGCTGTGATAAAACCCATACATGCCCACCTTGTCCTGCACCAGAGCTGCTGGGAGGACCAAGCGTGTTCC TGTTTCCACCCAAGCCTAAAGACACCCTGATGATTTCCAGGACCCCTGAAGTCACATGCGTGGTCGTGGACGT GTCTCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAA CCTAGGGAGGAACAGTATAACTCCACCTACCGCGTCGTGTCTGTCCTGACAGTGCTGCACCAGGACTGGCTGA ACGGGAAGGAGTACAAGTGCAAAGTGAGTAATAAGGCACTGCCCGCCCCTATCGAGAAAACCATTAGCAAGGC AAAAGGCCAGCCTAGAGAACCACAGGTCTACGTGTATCCTCCATCTAGGGACGAGCTGACAAAGAACCAGGTC AGTCTGACTTGTCTGGTGAAAGGATTTTATCCAAGCGATATTGCTGTGGAGTGGGAATCCAATGGCCAGCCCG AAAACAATTACAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACTCAGATGGCAGCTTCGCCCTGGTCAGTAAGCTGACTGT GGATAAATCACGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTTTCTTGTAGTGTGATGCATGAGGCTCTGCACAATCATTAC ACCCAGAAGTCACTGAGCCTGTCCCCCGGCAAA
165.	2303	VH	CAGGTCCAGCTGGTGCAGTCCGGAGGAGGAGTGGTCCAGCCAGGACGGTCCCTGAGACTGTCTTGCAAGGCTA GTGGGTATACTTTCACCTCTTACACCATGCACTGGGTGCGCCAGGCACCAGGGAAGGGACTGGAATGGATCGG GTATATTAACCCTAGCTCCGGATACACAAAGTACAACCAGAAGTTCAAAGACCGGTTCACCATCTCCGCTGAT AAGAGTAAATCAACCGCATTCCTGCAGATGGACTCTCTGCGACCCGAGGATACAGGCGTGTACTTCTGCGCCC GGTGGCAGGACTACGATGTGTATTTTGACTACTGGGGCCAGGGGACTCCAGTCACCGTGTCTAGT
166.	2303	CH1	GCATCAACTAAGGGACCCAGCGTGTTTCCACTGGCCCCCTCAAGCAAAAGCACATCCGGAGGAACTGCAGCTC TGGGATGTCTGGTGAAGGATTATTTCCCAGAGCCCGTCACCGTGTCTTGGAACAGTGGAGCCCTGACTAGCGG CGTCCATACCTTTCCCGCTGTGCTGCAGTCCTCTGGGCTGTATAGCCTGAGTTCAGTGGTCACAGTGCCTAGC TCCTCTCTGGGAACACAGACTTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCAAATACTAAAGTCGACAAGAAAG TG
167.	2303	CH2	GCACCAGAGCTGCTGGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCTAAAGACACCCTGATGATTTCCA GGACCCCTGAAGTCACATGCGTGGTCGTGGACGTGTCTCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGT GGATGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAACCTAGGGAGGAACAGTATAACTCCACCTACCGCGTCGTG TCTGTCCTGACAGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTACAAGTGCAAAGTGAGTAATAAGGCAC TGCCCGCCCCTATCGAGAAAACCATTAGCAAGGCAAAA
168.	2303	CH3	GGCCAGCCTAGAGAACCACAGGTCTACGTGTATCCTCCATCTAGGGACGAGCTGACAAAGAACCAGGTCAGTC TGACTTGTCTGGTGAAAGGATTTTATCCAAGCGATATTGCTGTGGAGTGGGAATCCAATGGCCAGCCCGAAAA CAATTACAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACTCAGATGGCAGCTTCGCCCTGGTCAGTAAGCTGACTGTGGAT AAATCACGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTTTCTTGTAGTGTGATGCATGAGGCTCTGCACAATCATTACACCC AGAAGTCACTGAGCCTGTCCCCCGGC

【０３３７】

（表ＹＹ２）表ＹＹに記載したクローンのポリペプチド配列

配列番号：	クローン	記載	ポリペプチド配列
169.	6690	VH	QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRYTMHWVKQRPGQCLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTD KSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYSLDYWGQGTTLTVSS
170.	6690	CH2	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
171.	6690	CH3	GQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
172.	6691	完全	DIQLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSGSGT DFTLNIHPVEKVDAATYHCQQSTEDPWTFGCGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQQSGAELVRPGSSVKI SCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQCLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTADESSSTAYMQLSSLASEDSAV YFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTTVTVSSAAEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
173.	6691	VL	DIQLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSGSGT DFTLNIHPVEKVDAATYHCQQSTEDPWTFGCGTKLEIK
174.	6691	VH	QVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQCLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTAD ESSSTAYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTTVTVSS
175.	6691	CH2	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
176.	6691	CH3	GQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
177.	1064	完全	DIQLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSGSGT DFTLNIHPVEKVDAATYHCQQSTEDPWTFGGGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQQSGAELVRPGSSVKI SCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTADESSSTAYMQLSSLASEDSAV YFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTTVTVSSAAEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
178.	1064	VL	DIQLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSGSGT DFTLNIHPVEKVDAATYHCQQSTEDPWTFGGGTKLEIK
179.	1064	VH	QVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTAD ESSSTAYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTTVTVSS
180.	1064	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
181.	1064	CH3	GQPREPQVYTYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
182.	1065	完全	DIKLQQSGAELARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTD KSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLTVSSVEGGSGGSGGSGGSGGVDDIQLTQSPA IMSASPGEKVTMTCRASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPYRFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDA ATYYCQQWSSNPLTFGAGTKLELKAAEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYMTWPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
183.	1065	VH	DIKLQQSGAELARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTD KSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLTVSS
184.	1065	VL	DIQLTQSPAIMSASPGEKVTMTCRASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPYRFSGSGSGTSYSLT ISSMEAEDAATYYCQQWSSNPLTFGAGTKLELK
185.	1065	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
186.	1065	CH3	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYMTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
187.	1067	完全	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPAHFRGSGSGTSYSLT ISGMEAEDAATYYCQQWSSNPFTFGSGTKLEINGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQQSGAELARPGASVKMSCKAS GYTFTRYTMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCAR YYDDHYCLDYWGQGTTLTVSSAAEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYMTWPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
188.	1067	VL	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPAHFRGSGSGTSYSLT ISGMEAEDAATYYCQQWSSNPFTFGSGTKLEIN
189.	1067	VH	QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRYTMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTD KSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLTVSS
190.	1067	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
191.	1067	CH3	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYMTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
192.	1842	完全	DIQLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSGSGT DFTLNIHPVEKVDAATYHCQQSTEDPWTFGGGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQQSGAELVRPGSSVKI

			SCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTADESSSTAYMQLSSLASEDSAV YFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTTVTVSSAAEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
193.	1842	VL	DIQLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSGSGT DFTLNIHPVEKVDAATYHCQQSTEDPWTFGGGTKLEIK
194.	1842	VH	QVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTAD ESSSTAYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTTVTVSS
195.	1842	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
196.	1842	CH3	GQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
197.	1335	完全	QIVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSSVSYIHWFQQKPGSSPKPWIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTSYSLT ISRVEAEDAATYYCQQWTSNPPTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
198.	1335	VL	QIVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSSVSYIHWFQQKPGSSPKPWIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTSYSLT ISRVEAEDAATYYCQQWTSNPPTFGGGTKLEIK
199.	1335	CL	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
200.	1342	完全	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTAD KSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTTVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPPSRDELTKN QVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK
201.	1342	VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTAD KSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTTVTVSA
202.	1342	CH1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV
203.	1342	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
204.	1342	CH3	GQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
205.	5239	完全	QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTISRD NSKNTAFLQMDSLRPEDTGVYFCARYYDDHYCLDYWGQGTPVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPG
206.	5239	VH	QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTISRD NSKNTAFLQMDSLRPEDTGVYFCARYYDDHYCLDYWGQGTPVTVSS
207.	5239	CH1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV
208.	5239	CH2	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
209.	5239	CH3	GQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
210.	3916	完全	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFNDYAMHWVRQAPGKGLEWVSTISWNSGSIGYADSVKGRFTISRD NAKKSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKDIQYGNYYYGMDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPA TLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPED FAVYYCQQRSNWPITFGQGTRLEIKAAEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
211.	3916	VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFNDYAMHWVRQAPGKGLEWVSTISWNSGSIGYADSVKGRFTISRD NAKKSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKDIQYGNYYYGMDVWGQGTTVTVSS
212.	3916	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPITFGQGTRLEIK
213.	3916	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
214.	3916	CH3	GQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
215.	2185	完全	DIQLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSGSGT DFTLNIHPVEKVDAATYHCQQSTEDPWTFGGGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQQSGAELVRPGSSVKI SCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTADESSSTAYMQLSSLASEDSAV YFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTTVTVSSAAEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
216.	2185	VL	DIQLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSGSGT DFTLNIHPVEKVDAATYHCQQSTEDPWTFGGGTKLEIK
217.	2185	VH	QVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTAD

			ESSSTAYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTTVTVSS
218.	2185	CH2	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
219.	2185	CH3	GQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
220.	5242	完全	QVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTAD ESSSTAYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPG
221.	5242	VH	QVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTAD ESSSTAYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTTVTVSS
222.	5242	CH1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV
223.	5242	CH2	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
224.	5242	CH3	GQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
225.	2171	完全	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPAHFRGSGSGTSYSLT ISGMEAEDAATYYCQQWSSNPFTFGSGTKLEINGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQQSGAELARPGASVKMSCKAS GYTFTRYTMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCAR YYDDHYSLDYWGQGTTLTVSSAAEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
226.	2171	VL	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPAHFRGSGSGTSYSLT ISGMEAEDAATYYCQQWSSNPFTFGSGTKLEIN
227.	2171	VH	QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRYTMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTD KSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYSLDYWGQGTTLTVSS
228.	2171	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
229.	2171	CH3	GQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
230.	2177	完全	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPAHFRGSGSGTSYSLT ISGMEAEDAATYYCQQWSSNPFTFGSGTKLEINGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQQSGAELARPGASVKMSCKAS GYTFTRYTMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCAR YYDDHYSLDYWGQGTTLTVSSAAEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVS VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
231.	2177	VL	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPAHFRGSGSGTSYSLT ISGMEAEDAATYYCQQWSSNPFTFGSGTKLEIN
232.	2177	VH	QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRYTMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTD KSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYSLDYWGQGTTLTVSS
233.	2177	CH2	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
234.	2177	CH3	GQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
235.	2305	完全	QVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTAD ESSSTAYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPPSRDEL TKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK
236.	2305	VH	QVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTAD ESSSTAYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTTVTVSS
237.	2305	CH1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV
238.	2305	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
239.	2305	CH3	GQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
240.	5238	完全	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPAHFRGSGSGTSYSLT ISGMEAEDAATYYCQQWSSNPFTFGSGTKLEINGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQQSGAELARPGASVKMSCKAS GYTFTRYTMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCAR YYDDHYCLDYWGQGTTLTVSSAAEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
241.	5238	VL	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPAHFRGSGSGTSYSLT ISGMEAEDAATYYCQQWSSNPFTFGSGTKLEIN
242.	5238	VH	QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRYTMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTD

			KSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLTVSS
243.	5238	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
244.	5238	CH3	GQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
245.	2167	完全	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPAHFRGSGSGTSYSLT ISGMEAEDAATYYCQQWSSNPFTFGSGTKLEINGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQQSGAELARPGASVKMSCKAS GYTFTRYTMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCAR YYDDHYSLDYWGQGTTLTVSSAAEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
246.	2167	VL	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPAHFRGSGSGTSYSLT ISGMEAEDAATYYCQQWSSNPFTFGSGTKLEIN
247.	2167	VH	QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRYTMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTD KSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYSLDYWGQGTTLTVSS
248.	2167	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
249.	2167	CH3	GQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
250.	3320	完全	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQ EPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSG VQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLAAEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
251.	3320	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLVTVSS
252.	3320	VL	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKA ALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
253.	3320	CH2	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
254.	3320	CH3	GQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
255.	5241	完全	QVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTAD ESSSTAYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPG
256.	5241	VH	QVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTAD ESSSTAYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTTVTVSS
257.	5241	CH1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV
258.	5241	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
259.	5241	CH3	GQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
260.	3322	完全	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTKYNEKFQGRVTISSD KSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPAT LSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSL EPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKAAEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
261.	3322	VH	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTKYNEKFQGRVTISSD KSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGTLVTVSS
262.	3322	VL	DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSG TEFTLTISSLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK
263.	3322	CH2	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
264.	3322	CH3	GQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
265.	2175	完全	DIQLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSGSGT DFTLNIHPVEKVDAATYHCQQSTEDPWTFGGGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQQSGAELVRPGSSVKI SCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTADESSSTAYMQLSSLASEDSAV YFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTTVTVSSAAEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
266.	2175	VL	DIQLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSGSGT DFTLNIHPVEKVDAATYHCQQSTEDPWTFGGGTKLEIK
267.	2175	VH	QVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTAD

			ESSSTAYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTTVTVSS
268.	2175	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
269.	2175	CH3	GQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
270.	2303	完全	QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCKASGYTFTSYTMHWVRQAPGKGLEWIGYINPSSGYTKYNQKFKDRFTISAD KSKSTAFLQMDSLRPEDTGVYFCARWQDYDVYFDYWGQGTPVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK
271.	2303	VH	QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCKASGYTFTSYTMHWVRQAPGKGLEWIGYINPSSGYTKYNQKFKDRFTISAD KSKSTAFLQMDSLRPEDTGVYFCARWQDYDVYFDYWGQGTPVTVSS
272.	2303	CH1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV
273.	2303	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
274.	2303	CH3	GQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
275.	6690	VH	QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRYTMHWVKQRPGQCLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTD KSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYSLDYWGQGTTLTVSS
276.	6690	CH2	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
277.	6690	CH3	GQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
278.	6691	完全	DIQLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSGSGT DFTLNIHPVEKVDAATYHCQQSTEDPWTFGCGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQQSGAELVRPGSSVKI SCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQCLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTADESSSTAYMQLSSLASEDSAV YFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTTVTVSSAAEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
279.	6691	VL	DIQLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSGSGT DFTLNIHPVEKVDAATYHCQQSTEDPWTFGCGTKLEIK
280.	6691	VH	QVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQCLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTAD ESSSTAYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTTVTVSS
281.	6691	CH2	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
282.	6691	CH3	GQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
283.	1064	完全	DIQLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSGSGT DFTLNIHPVEKVDAATYHCQQSTEDPWTFGGGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQQSGAELVRPGSSVKI SCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTADESSSTAYMQLSSLASEDSAV YFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTTVTVSSAAEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
284.	1064	VL	DIQLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSGSGT DFTLNIHPVEKVDAATYHCQQSTEDPWTFGGGTKLEIK
285.	1064	VH	QVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTAD ESSSTAYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTTVTVSS
286.	1064	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
287.	1064	CH3	GQPREPQVYTYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
288.	1065	完全	DIKLQQSGAELARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTD KSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLTVSSVEGGSGGSGGSGGSGGVDDIQLTQSPA IMSASPGEKVTMTCRASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPYRFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDA ATYYCQQWSSNPLTFGAGTKLELKAAEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYMTWPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
289.	1065	VH	DIKLQQSGAELARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTD KSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLTVSS
290.	1065	VL	DIQLTQSPAIMSASPGEKVTMTCRASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPYRFSGSGSGTSYSLT ISSMEAEDAATYYCQQWSSNPLTFGAGTKLELK
291.	1065	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
292.	1065	CH3	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYMTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
293.	1067	完全	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPAHFRGSGSGTSYSLT ISGMEAEDAATYYCQQWSSNPFTFGSGTKLEINGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQQSGAELARPGASVKMSCKAS GYTFTRYTMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCAR YYDDHYCLDYWGQGTTLTVSSAAEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD

10

20

30

40

			VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYMTWPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
294.	1067	VL	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPAHFRGSGSGTSYSLT ISGMEAEDAATYYCQQWSSNPFTFGSGTKLEIN
295.	1067	VH	QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRYTMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTD KSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLTVSS
296.	1067	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
297.	1067	CH3	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYMTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
298.	1842	完全	DIQLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSGSGT DFTLNIHPVEKVDAATYHCQQSTEDPWTFGGGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQQSGAELVRPGSSVKI SCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTADESSSTAYMQLSSLASEDSAV YFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTTVTVSSAAEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
299.	1842	VL	DIQLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSGSGT DFTLNIHPVEKVDAATYHCQQSTEDPWTFGGGTKLEIK
300.	1842	VH	QVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTAD ESSSTAYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTTVTVSS
301.	1842	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
302.	1842	CH3	GQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
303.	1335	完全	QIVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSSVSYIHWFQQKPGSSPKPWIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTSYSLT ISRVEAEDAATYYCQQWTSNPPTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
304.	1335	VL	QIVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSSVSYIHWFQQKPGSSPKPWIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTSYSLT ISRVEAEDAATYYCQQWTSNPPTFGGGTKLEIK
305.	1335	CL	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
306.	1342	完全	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTAD KSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTTVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPPSRDELTKN QVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK
307.	1342	VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTAD KSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTTVTVSA
308.	1342	CH1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV
309.	1342	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
310.	1342	CH3	GQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
311.	5239	完全	QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTISRD NSKNTAFLQMDSLRPEDTGVYFCARYYDDHYCLDYWGQGTPVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPG
312.	5239	VH	QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTISRD NSKNTAFLQMDSLRPEDTGVYFCARYYDDHYCLDYWGQGTPVTVSS
313.	5239	CH1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV
314.	5239	CH2	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
315.	5239	CH3	GQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
316.	3916	完全	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFNDYAMHWVRQAPGKGLEWVSTISWNSGSIGYADSVKGRFTISRD NAKKSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKDIQYGNYYYGMDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPA TLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPED FAVYYCQQRSNWPITFGQGTRLEIKAAEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
317.	3916	VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFNDYAMHWVRQAPGKGLEWVSTISWNSGSIGYADSVKGRFTISRD NAKKSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKDIQYGNYYYGMDVWGQGTTVTVSS
318.	3916	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPITFGQGTRLEIK
319.	3916	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV

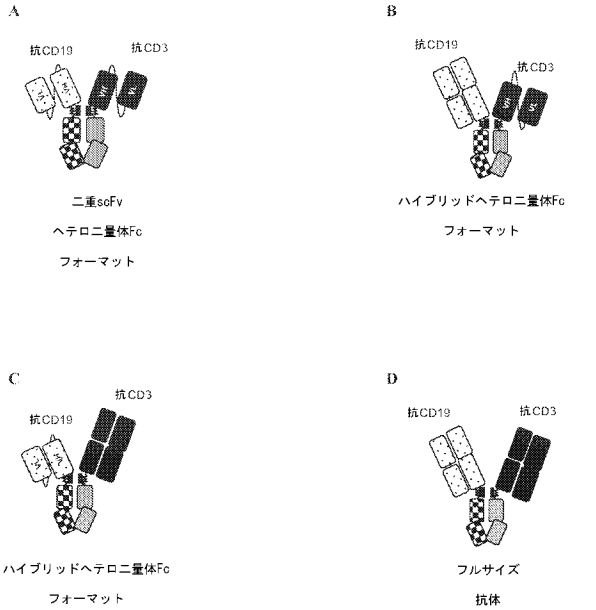
			SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
320.	3916	CH3	GQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
321.	2185	完全	DIQLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSGSGT DFTLNIHPVEKVDAATYHCQQSTEDPWTFGGGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQQSGAELVRPGSSVKI SCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTADESSSTAYMQLSSLASEDSAV YFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTTVTVSSAAEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
322.	2185	VL	DIQLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSGSGT DFTLNIHPVEKVDAATYHCQQSTEDPWTFGGGTKLEIK
323.	2185	VH	QVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTAD ESSSTAYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTTVTVSS
324.	2185	CH2	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
325.	2185	CH3	GQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
326.	5242	完全	QVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTAD ESSSTAYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPG
327.	5242	VH	QVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTAD ESSSTAYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTTVTVSS
328.	5242	CH1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV
329.	5242	CH2	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
330.	5242	CH3	GQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
331.	2171	完全	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPAHFRGSGSGTSYSLT ISGMEAEDAATYYCQQWSSNPFTFGSGTKLEINGGGSGGGGSGGGGSQVQLQQSGAELARPGASVKMSCKAS GYTFTRYTMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCAR YYDDHYSLDYWGQGTTLTVSSAAEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
332.	2171	VL	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPAHFRGSGSGTSYSLT ISGMEAEDAATYYCQQWSSNPFTFGSGTKLEIN
333.	2171	VH	QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRYTMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTD KSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYSLDYWGQGTTLTVSS
334.	2171	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
335.	2171	CH3	GQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
336.	2177	完全	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPAHFRGSGSGTSYSLT ISGMEAEDAATYYCQQWSSNPFTFGSGTKLEINGGGSGGGGSGGGGSQVQLQQSGAELARPGASVKMSCKAS GYTFTRYTMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCAR YYDDHYSLDYWGQGTTLTVSSAAEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVS VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

【０３３８】

（表ＺＺ）抗原結合ポリペプチド構築物の例示的なＣＤＲ配列

CDR	配列
野生型 OKT3 (CD3 結合)	L1: SSVSY (配列番号：337) L2: DTS (配列番号：338) L3: QQWSSNP (配列番号：339) H1: GYTFTRYT (配列番号：340) H2: INPSRGYT (配列番号：341) H3: ARYYDDHY**C**LDY (配列番号：342)
安定化した OKT3 の変異体 (CD3 結合)	L1: SSVSY (配列番号：343) L2: DTS (配列番号：344) L3: QQWSSNP (配列番号：345) H1: GYTFTRYT (配列番号：346) H2: INPSRGYT (配列番号：347) H3: ARYYDDHY**S**LDY (配列番号：348)
HD37 (CD19 結合)	L1: QSVDYDGDSYL (配列番号：348) L2: DAS (配列番号：349) L3: QQSTEDPWT (配列番号：350) H1: GYAFSSYW (配列番号：351) H2: IWPGDGDT (配列番号：352) H3: ARRETTTVGRYYYAMDY (配列番号：353)

【図１】



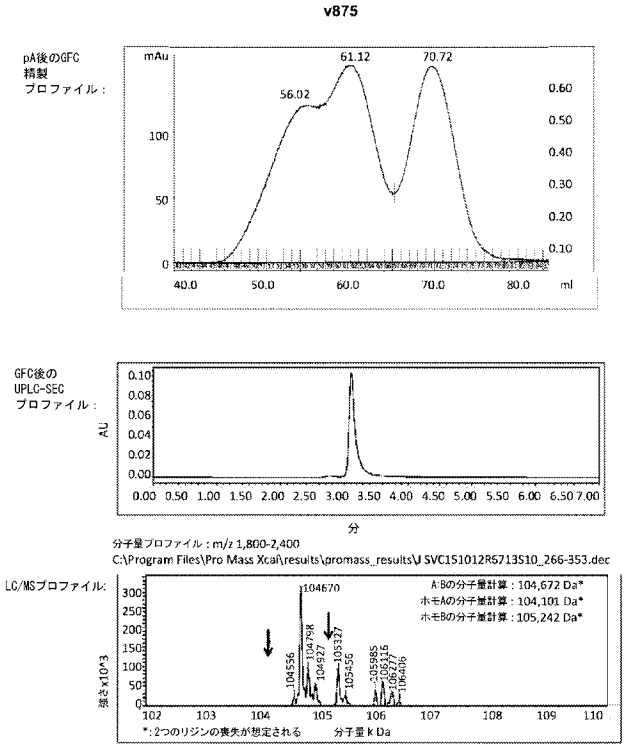
【図２】

変異体及び組成物の一覧

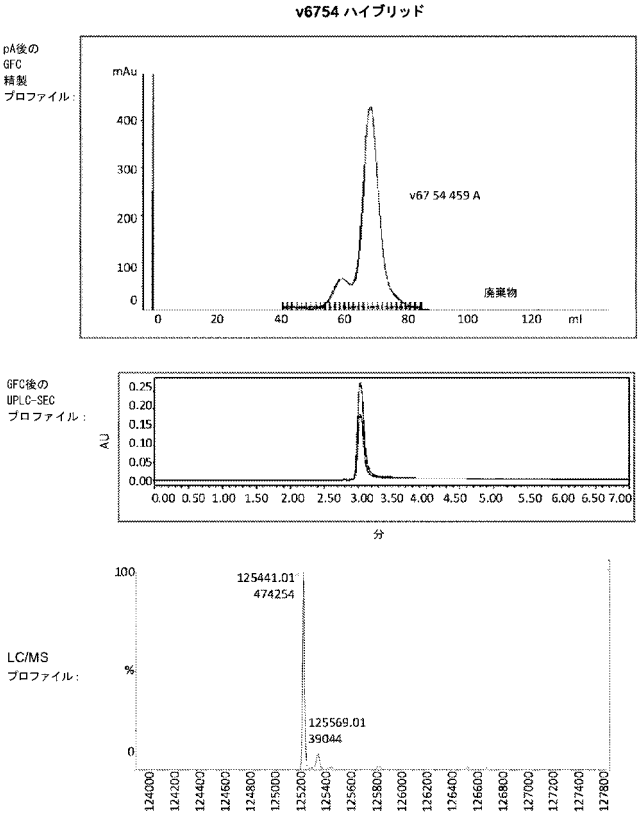
	変異体番号 野生型FcγR(FcgR)ノックアウト)*	鎖1	鎖2
二重scFv	875 (1661)	αCD3_OKT3 scFv	αCD19_HD37 scFv
ヘテロ二量体		αCD3_プリナツモマブ scFv	αCD19_HD37 scFv
Fc変異体	873	αCD3_OKT3 scFv (CDR C->S)	αCD19_HD37 scFv
	1653	αCD3_hOKT3 Fab	αCD19_HD37 scFv
ハイブリッド	1853 (6754)		αCD19_HD37 scFv (VHVL SS)
ヘテロ二量体	N5 (10151)	αCD3_hOKT3 Fab	αCD19_HD37 Fab
Fc変異体	6750 (6751)	αCD3_OKT3 scFv	αCD19_HD37 Fab
	6475 (6749)	αCD3_OKT3 scFv (CDR C->S)	αCD19_HD37 Fab
	N7 (10152)	αCD3_OKT3 scFv (VLVH SS)	αCD19_HD37 Fab
	N11 (10153)	αCD3_OKT3 scFv (CDR C->S) (VLVH SS)	αCD19_HD37 Fab
	6476	αCD3_プリナツモマブ scFv	αCD3_HD37 Fab
フルサイズmAb	6518 (N12)	αCD3_hOKT3 Fab	αCD19_HD37 Fab

* 括弧内の変異体は、重鎖の両方に追加の変異D265S_L234A_L235Aを含む、同等のFcノックアウト変異体を指す。
これはFcのFcγRへの結合をなくす。

【図３Ａ】



【図３Ｂ】

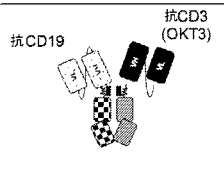
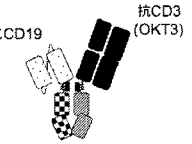
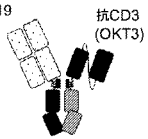


【図３Ｃ】

変異体**	二重scFvヘテロ二量体Fc変異体			ハイブリッドヘテロ二量体Fc変異体			
	遺伝子1-最初のリード	遺伝子2-リード最適化		遺伝子2-ハイブリッドFc変異体*			
	v875	v1653	v6747	v1853	v6750	v6475	v6476
鎖 A	αCD3_OKT3 scFv	αCD3_OKT3 (C-S) scFv	αCD3_OKT3 scFv	αCD3_hOKT3 Fab	αCD3_OKT3 scFv	αCD3_OKT3 (C->S) scFv	αCD3_ブリナツモマブ scFv
鎖 B	αCD19_HD37 scFv	αCD19_HD37 scFv	αCD19_HD37 scFv	αCD19_HD37 scFv	αCD19_HD37 Fab	αCD19_HD37 Fab	αCD19_HD37 Fab
最適化ストラテジー	初期リード	CDR変異体	両方のscFvでのVHVLジスルフィド	scFvをFabへ	scFvをFabへ	scFvをFabへ	scFvをFabへ
ヘテロ二量体純度	>95%（高い変動性）	>95%（高い変動性）	>95%	>95%	>95%	>95%	>95%
細胞全体の結合							
Raji B細胞	Kd: 1.4 nM	Kd: 1.4 nM	Kd: 2.1 nM	Kd: 1.0 nM	Kd: 0.8 nM	Kd: 1.5 nM	nd
Jurkat T細胞	Kd:約30nM	Kd:約30nM	Kd:約30nM	Kd:約5nM	Kd:約30nM	Kd:約30nM	
収量 (mg/L)	1.5	4	4	>10	>10	>10	>10

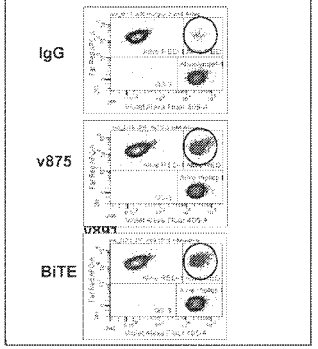
*HD37 CD19 Fabは、元のHD37配列のキメラであり(Kipriyanov1996)、OKT3 Fabはテプリズマブ Fabを意味する。
**全ての変異体は、CH2 FcgRノックアウト変異を含め、収量及び純度に著しい影響を与えることなく作製することができる。

【図４】

	875 / 1661(FcγR KO)	1853 / 6754(FcγR KO)	6750 / 6751(FcγR KO)
フォーマット			
CHOの一時的な収量			
プロテインAでの収量 [mg/L]	20	20	20
GFC後の収量 [mg/L]	1.5	15	10
物理的特性			
LC/MS (ヘテロ二量体(%))	>95%	>95%	>95%
結合特性			
細胞全体の結合			
Raji	Kd: 1.4 nM, Bmax: 4.5	Kd: 1.0 nM, Bmax: 4.5	Kd: 0.8 nM, Bmax: 4.8
Jurkatt	Kd:約30 nM, Bmax: 0.8	Kd:約5 nM, Bmax: 1.8	Kd:約30 nM, Bmax: 1.2
バリデーションの段階	インビボ	インビボ	エクスビボ

【図５】

FACS架橋T:B分析
(3nM; Raji:Jurakt @ 1:1)



T:B架橋分析の一覧
(3nM; Raji:Jurkat @ 1:1)

変異体	T:B架橋(%)*
v875	22.9% (9.2X)
v1853ハイブリッド(hOKT3 Fab)	24.7% (8X)
v6476ハイブリッド(CD19 Fab)	32.2% (7.8X)

* 3nMでのT:B細胞の架橋(%)(ブランクバックグラウンドからの変化倍率)

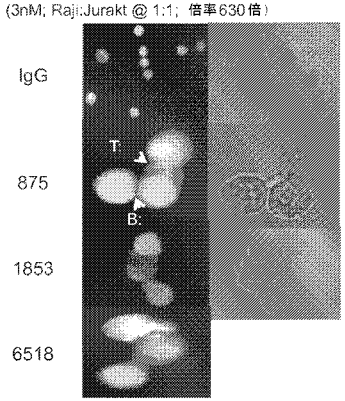
【図６】

B:T架橋分析
(3nM; Raji:Jurkat @ 1:1)

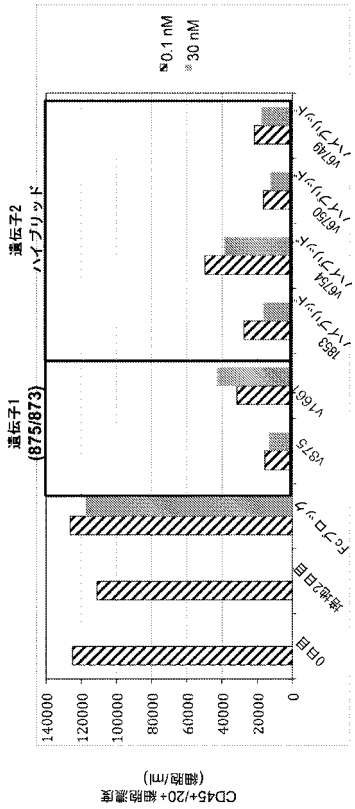
変異体	B:T架橋(%)*（バックグラウンドからの変化倍率）	シナプス形成した架橋B:T(%)
875	22.9% (9.2X)	75%
1661	20.1% (5.8X)	80%
1853	24.7% (8X)	75%
6476	32.2% (7.8X)	65%

FACSによる、3nMでのT:B細胞の架橋(%)(ブランクバックグラウンドからの変化倍率)

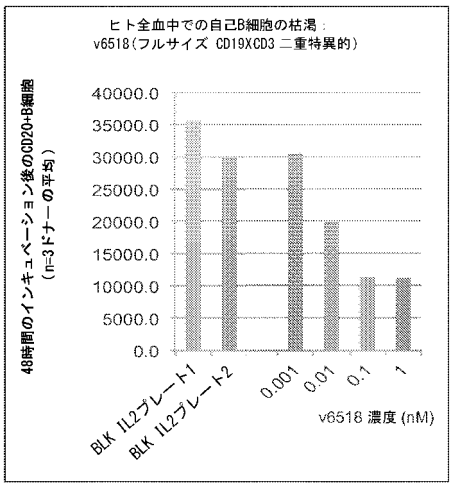
T:Bの架橋に関する顕微鏡検査分析
(3nM; Raji:Jurakt @ 1:1; 倍率630倍)



【図７Ａ】

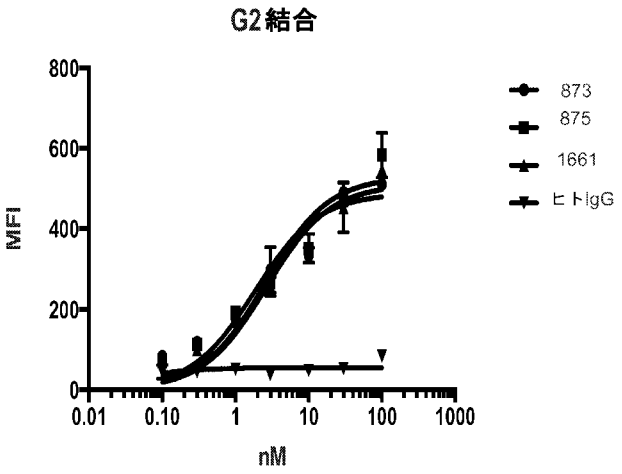


【図７Ｂ】

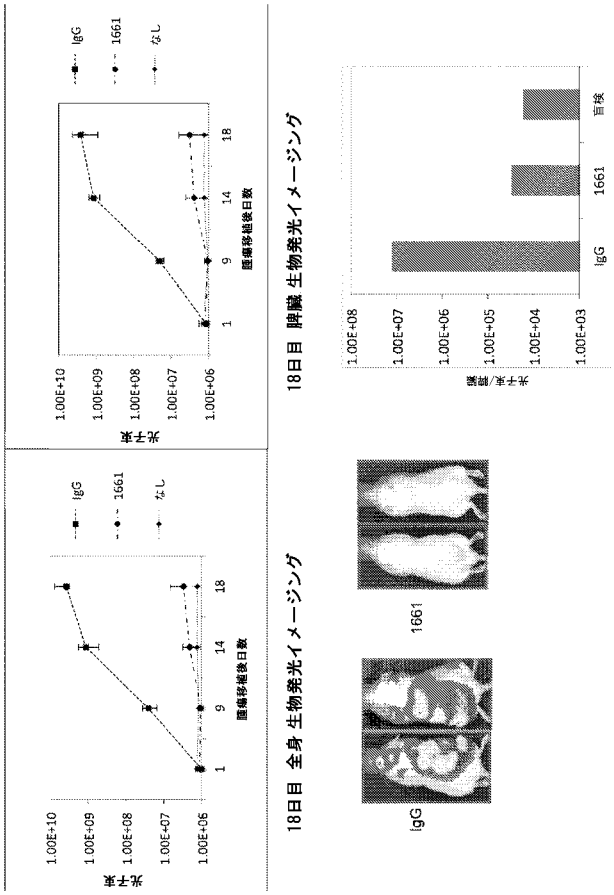


＊ BLK IL2は対照インキュベーションのみの培地を示す。

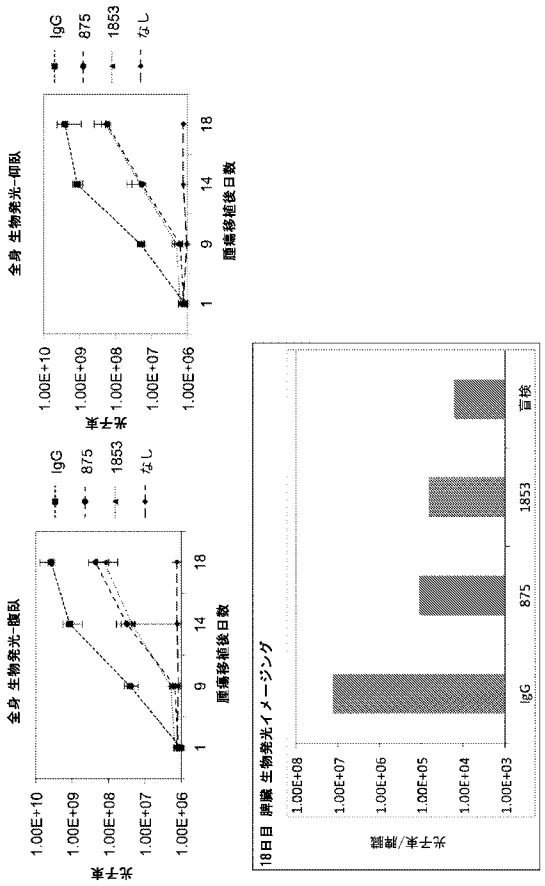
【図８】



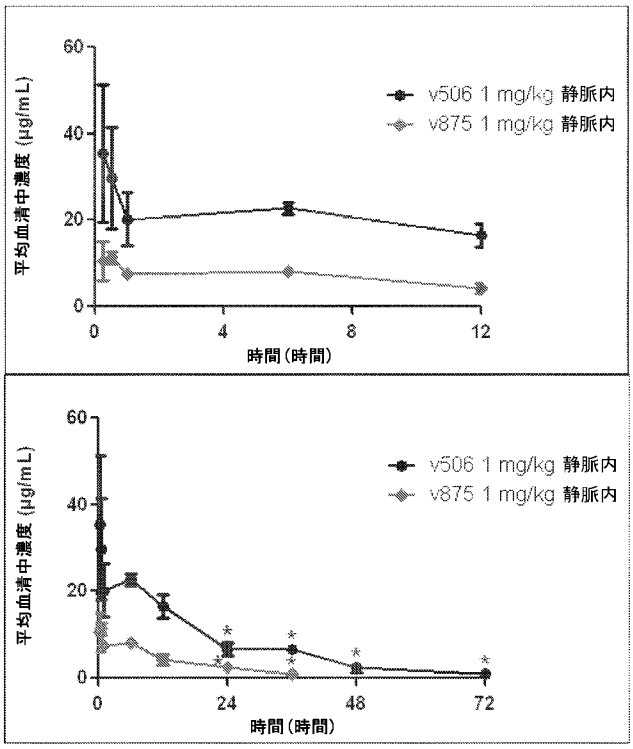
【図９】



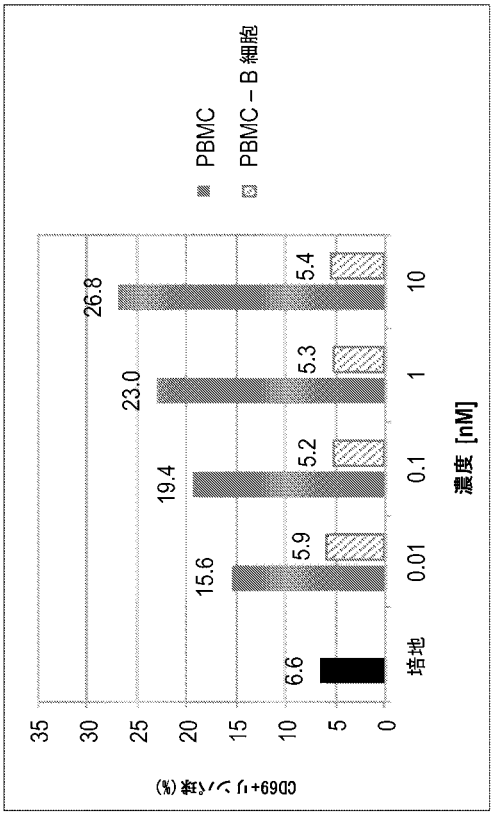
【図１０】



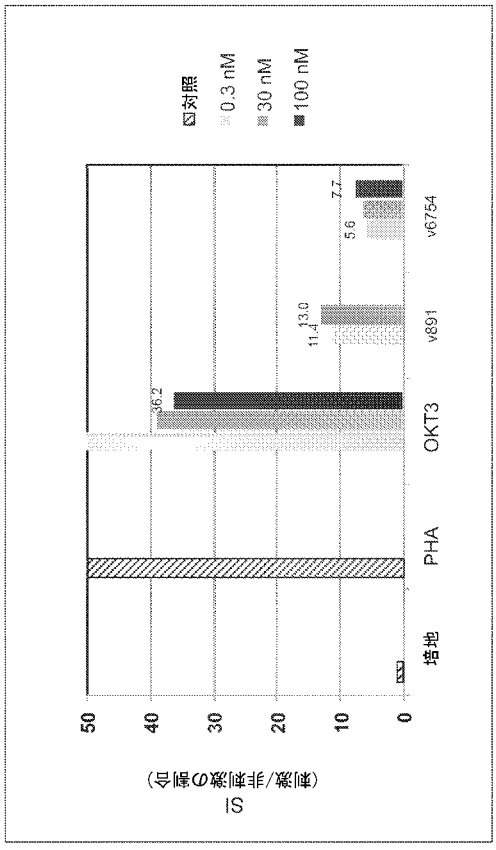
【図１１】



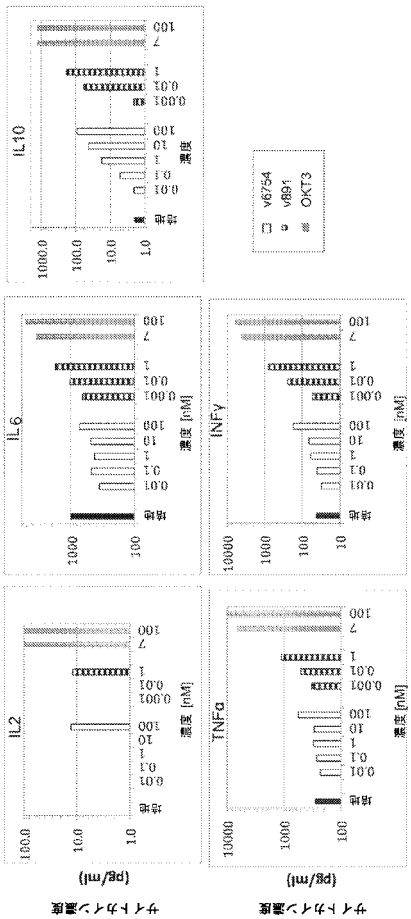
【図１２】



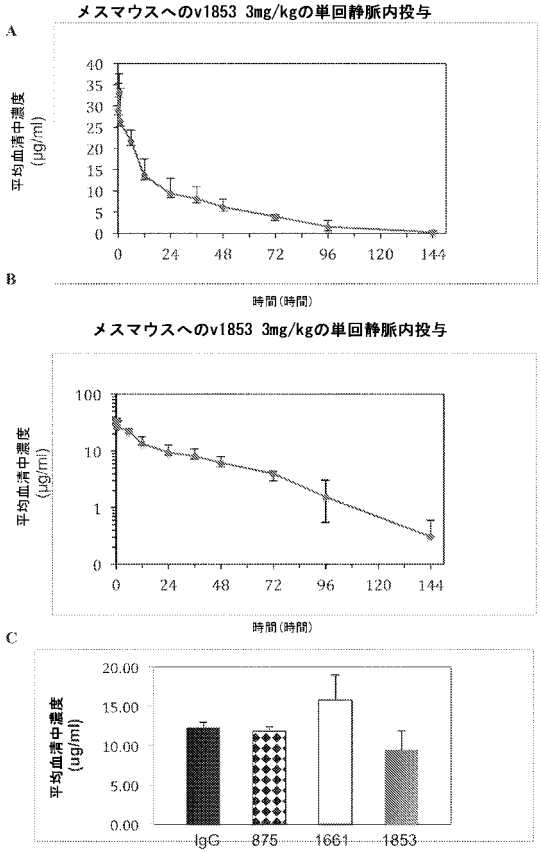
【図１３】



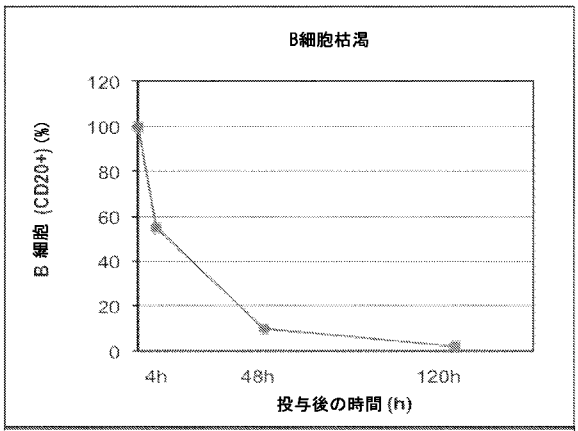
【図１４】



【図１５】



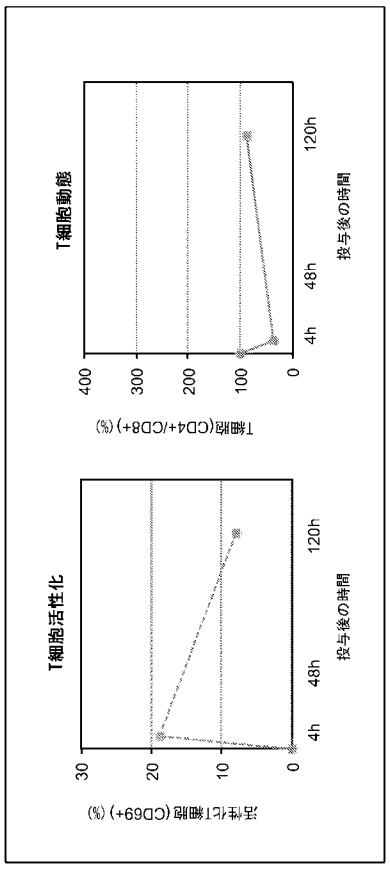
【図１６】



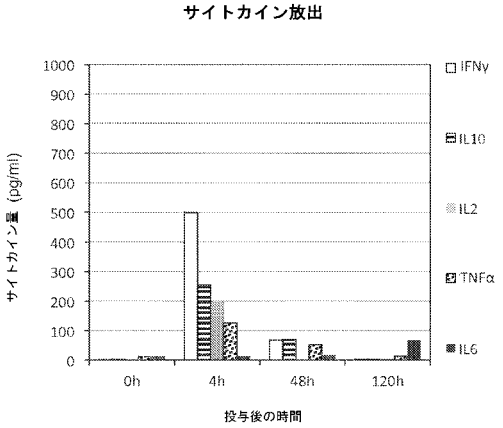
骨髄及び脾臓におけるB細胞の枯渇（投与量3mg/kg）

	huCD20+リンパ球(%)（120時間）
骨髄	0.4%
脾臓	1.3%

【図１７】

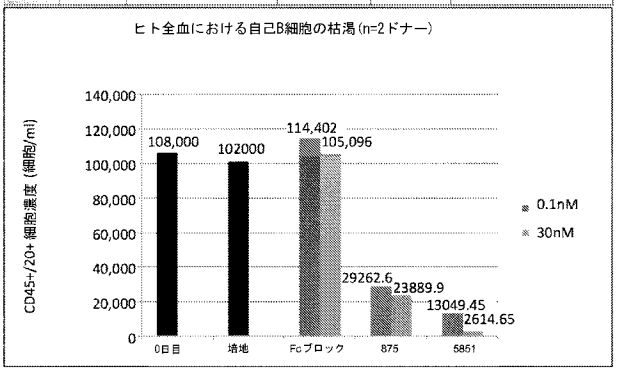


【図１８】



【図１９】

変異体	収量 (mg/L)	LC/MS純度 ヘテロ二量体 純度(%)	結合 Jurkat (CD3)	結合 Raji (CD19)	エクスビボ ヒト全血
5851	>15	95%超えのヘテロ二量体	約4nM	1.4nM	活性



【手続補正書】
【提出日】平成28年3月15日(2016.3.15)
【手続補正１】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０００２
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０００２】
配列表
本願は、ＥＦＳ－Ｗｅｂを通して提出された配列表を含有し、その全体が参照として本明細書に組み込まれる。２０１４年７月３０日に作成された前記ＡＳＣＩＩの写しは２７２２１ＰＣＴ＿ＣＲＦ＿ｓｅｑｕｅｎｃｅｌｉｓｔｉｎｇ．ｔｘｔという名前であり、４８７，０４６バイトのサイズである。
【手続補正２】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０００７
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０００７】
ＣＤ１９またはＣＤ２０抗原に、一価でかつ特異的に結合する、第１の抗原結合ポリペプチド構築物；ＣＤ３抗原に、一価でかつ特異的に結合する、第２の抗原結合ポリペプチド構築物；それぞれ修飾ＣＨ３ドメインを含む第１及び第２Ｆｃポリペプチドを含むヘテロ二量体Ｆｃを含む、単離された二重特異的抗原結合構築物を本明細書にて開示する。ここで各修飾ＣＨ３ドメインは非対称なアミノ酸修飾を含み、これは約６８℃以上の融解温度（Ｔｍ）を有するヘテロ二量体Ｆｃ及び二量体ＣＨ３ドメインの形成を促進する。また

ここで第１のＦｃポリペプチドは、第１のリンカーを含んでまたは含まずに第１の抗原結合ポリペプチド構築物に結合し、かつ第２のモノマーＦｃポリペプチドは、第２のリンカーを含んでまたは含まずに第２の抗原結合ポリペプチド構築物に結合し、並びに、第１の抗原結合ポリペプチド構築物はＦａｂでありかつ第２の抗原結合ポリペプチド構築物はｓｃＦｖであるか、または、第１の抗原結合ポリペプチド構築物はｓｃＦｖでありかつ第２の抗原結合ポリペプチド構築物はＦａｂである。

[本発明1001]

ＣＤ19抗原またはＣＤ20抗原に、一価でかつ特異的に結合する、第1の抗原結合ポリペプチド構築物；

ＣＤ3抗原に、一価でかつ特異的に結合する、第2の抗原結合ポリペプチド構築物；

それぞれ修飾ＣＨ3ドメインを含む第1及び第2Ｆｃポリペプチドを含むヘテロ二量体Ｆｃであって、各修飾ＣＨ3ドメインが、約68℃以上の融解温度（Ｔｍ）を有するヘテロ二量体Ｆｃ及び二量体ＣＨ3ドメインの形成を促進する非対称なアミノ酸修飾を含み、前記第1のＦｃポリペプチドが、第1のリンカーを含んでまたは含まずに前記第1の抗原結合ポリペプチド構築物に結合し、かつ前記第2のモノマーＦｃポリペプチドが、第2のリンカーを含んでまたは含まずに前記第2の抗原結合ポリペプチド構築物に結合する、前記ヘテロ二量体Ｆｃ；

を含む、単離二重特異的抗原結合構築物であって、

前記第1の抗原結合ポリペプチド構築物がＦａｂであり、かつ前記第2の抗原結合ポリペプチド構築物がｓｃＦｖであるか、または前記第1の抗原結合ポリペプチド構築物がｓｃＦｖであり、かつ前記第2の抗原結合ポリペプチド構築物がＦａｂである、前記単離二重特異的抗原結合構築物。

[本発明1002]

変異体6754、6751、1853、10151、6475、6749、10152、10153、6476、5850、5851、5852、または6325からなる、本発明1001の単離二重特異的抗原結合構築物。

[本発明1003]

変異体6754、6751、1853、10151、6475、6749、10152、10153、6476、5850、5851、5852、または6325のうち少なくとも3個、少なくとも6個、または少なくとも12個のＣＤＲを含む、本発明1001の単離二重特異的抗原結合構築物。

[本発明1004]

少なくとも1つのポリペプチドが、変異体6754、6751、1853、10151、6475、6749、10152、10153、6476、5850、5851、5852、または6325のうち少なくとも1つのポリペプチドに、少なくとも80％、90％、95％、96％、97％、98％、または99％同一であるアミノ酸配列を含む、本発明1001の単離二重特異的抗原結合構築物。

[本発明1005]

ａ．前記第1の抗原結合ポリペプチド構築物が、4Ｇ7；Ｂ4；Ｂ43；ＢＵ12；ＣＬＢ－ＣＤ19；Ｌｅｕ－12；ＳＪ25－Ｃ1；Ｊ4．119、Ｂ43、ＳＪ25Ｃ1、ＦＭＣ63（ＩｇＧ2ａ）、ＨＤ237（ＩｇＧ2ｂ）、Ｍｏｒ－208、ＭＥＤＩ－551、及びＭＤＸ－1342からなる群から選択される抗体に由来する、ＣＤ19に特異的な前記抗原結合ポリペプチド構築物を含み、

ｂ．かつ、前記第2の抗原結合ポリペプチド構築物が、ＯＫＴ3；テプリズマブ（商標）（ＭＧＡ031，Ｅｌｉ　Ｌｉｌｌｙ）；Ｍｉｃｒｏｍｅｔ、ブリナツモマブ（商標）；ＵＣＨＴ1；ＮＩ0401；ビジリズマブ；Ｘ35－3、ＶＩＴ3、ＢＭＡ030（ＢＷ264／56）、ＣＬＢ－Ｔ3／3、ＣＲＩＳ7、ＹＴＨ12．5、Ｆ111－409、ＣＬＢ－Ｔ3．4．2、ＷＴ31、ＷＴ32、ＳＰｖ－Ｔ3ｂ、11Ｄ8、ＸＩＩＩ－141、ＸＩＩＩ－46、ＸＩＩＩ－87、12Ｆ6、Ｔ3／ＲＷ2－8Ｃ8、Ｔ3／ＲＷ2－4Ｂ6、ＯＫＴ3Ｄ、Ｍ－Ｔ301、ＳＭＣ2及びＦ101．01から選択される抗体に由来する、ＣＤ3に特異的な前記結合ポリペプチド構築物を含み、

ｃ．かつ／または前記抗原結合構築物が、ａもしくはｂに記載した抗体と競合し、

ｄ．かつ／またはこれらのヒト化版である、本発明1001の単離二重特異的抗原結合構築物。

[本発明1006]
前記第1の抗原結合ポリペプチド構築物が、ＣＤ19に特異的な前記抗原結合ポリペプチド構築物に少なくとも80％、90％、95％、96％、97％、98％、または99％同一であるアミノ酸配列を含み、かつ前記第2の抗原結合ポリペプチド構築物が、ＣＤ3に特異的な前記抗原結合ポリペプチド構築物に少なくとも80％、90％、95％、96％、97％、98％、または99％同一であるアミノ酸配列を含む、本発明1005の単離二重特異的抗原結合構築物。
[本発明1007]
表Ａの前記ヘテロ二量体Ｆｃ、または変異体6754、6751、1853、10151、6475、6749、10152、10153、6476、5850、5851、5852、もしくは6325を含む、本発明1001の単離二重特異的抗原結合構築物。
[本発明1008]
少なくとも1つのＦｃポリペプチドが、表Ａのヘテロ二量体Ｆｃ、または変異体6754、6751、1853、10151、6475、6749、10152、10153、6476、5850、5851、5852、もしくは6325のうち少なくとも1つのＦｃポリペプチドに少なくとも80％、90％、95％、96％、97％、98％、または99％同一であるアミノ酸配列を含む、本発明1001の単離二重特異的抗原結合構築物。
[本発明1009]
前記ヘテロ二量体Ｆｃが
ヒトＦｃである；かつ／または
ヒトＩｇＧ1　ＦｃもしくはＩｇＧ4　Ｆｃである；かつ／または
前記ＣＨ3ドメインのうち少なくとも1つにおける1つ以上の修飾を含む；かつ／または
野生型ホモ二量体Ｆｃに相当する安定性を有するヘテロ二量体の形成を促進する、前記ＣＨ3ドメインのうち少なくとも1つにおける1つ以上の修飾を含む；かつ／または
表Ａに記載した前記ＣＨ3ドメインのうち少なくとも1つにおける1つ以上の修飾を含み；
少なくとも1つのＣＨ2ドメインを更に含む；かつ／または
1つ以上の修飾を含む少なくとも1つのＣＨ2ドメインを更に含む；かつ／または
表Ｂに記載した前記ＣＨ2ドメインのうち少なくとも1つにおける1つ以上の修飾を含む、少なくとも1つのＣＨ2ドメインを更に含む；かつ／または
Ｆｃγ受容体及び／もしくは補体の選択的結合を促進する1つ以上の修飾を含む、上記本発明のいずれかの単離二重特異的抗原結合構築物。
[本発明1010]
前記二量体化ＣＨ3ドメインが、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、77．5、78、79、80、81、82、83、84、または85℃以上の融解温度（Ｔｍ）を有する、上記本発明のいずれかの単離二重特異的抗原結合構築物。
[本発明1011]
各ヘテロ二量体Ｆｃポリペプチドが、リンカーにより各抗原結合ポリペプチド構築物に融合した、上記本発明のいずれかの単離二重特異的抗原結合構築物。
[本発明1012]
前記リンカーがポリペプチドリンカーである、本発明1011の単離二重特異的抗原結合構築物。
[本発明1013]
前記リンカーがＩｇＧ1ヒンジ領域を含む、本発明1011の単離二重特異的抗原結合構築物。
[本発明1014]
低下したＦｃγ受容体結合を示し、かつ関係する免疫細胞が仲立ちするエフェクター活性を示さない、上記本発明のいずれかの単離二重特異的抗原結合構築物。
[本発明1015]
前記二重特異的抗原結合構築物が、
ＦＡＣＳ及び／もしくは顕微鏡検査法によりアッセイしたように、ＣＤ19＋ＲａｊｉＢ

細胞及びＪｕｒｋａｔＴ細胞間でのシナプス形成並びに結合が可能である；かつ／または
ヒト全血において、Ｔ細胞が導くＣＤ20＋Ｂ細胞の死滅の仲立ちをする；かつ／または
ｖ875と比較して向上した生物物理学的特性を示す；かつ／または
ｖ875と比較して、例えばＳＥＣ（サイズ排除クロマトグラフィー）後に10ｍｇ／Ｌを超えて発現する、向上した収量を示す；かつ／または
同等の発現条件下で、所望の均一種の10倍良好な収量を示す、かつ／または
例えば95％を超えるヘテロ二量体純度を示す、上記本発明のいずれかの単離二重特異的抗原結合構築物。

[本発明1016]
前記抗原結合構築物が薬剤に結合している、上記本発明のいずれかの単離二重特異的抗原結合構築物。

[本発明1017]
上記本発明のいずれかの前記単離二重特異的抗原結合構築物、及び医薬担体を含む医薬組成物。

[本発明1018]
前記担体が、緩衝液、酸化防止剤、低分子量分子、薬剤、タンパク質、アミノ酸、炭水化物、脂質、キレート化剤、安定剤、または賦形剤を含む、本発明1017の医薬組成物。

[本発明1019]
上記本発明のいずれかの前記二重特異的抗原結合構築物を含む、薬で使用するための医薬組成物。

[本発明1020]
上記本発明のいずれかの前記二重特異的抗原結合構築物を含む、がん治療に使用するための医薬組成物。

[本発明1021]
対象におけるがん治療方法であって、有効量の上記本発明のいずれかの単離抗原結合構築物を前記対象に投与する段階を含む、前記がん治療方法。

[本発明1022]
前記対象がヒトである、本発明1021の方法。

[本発明1023]
前記がんが、血球系がん、白血病、リンパ腫、血液がん、Ｂ細胞リンパ腫、非ホジキンリンパ腫、ＣＤ19溶解抗体、ＣＤ20溶解抗体、及びブリナツモマブのうち少なくとも1種に非応答性のがん、ブリナツモマブでの治療後に退行性となるがん細胞、ＡＬＬ、ＣＬＬ、ＮＨＬ、外套細胞リンパ腫、播種性Ｂ細胞病、並びに脳、肺、肝臓及び／または骨の転位である、本発明1021の方法。

[本発明1024]
対象における状態の治療方法であって、有効量の上記本発明のいずれかの前記抗原結合構築物を前記対象に投与する段階を含み、前記状態が、炎症性の状態、増殖性疾患、最小残存がん、腫瘍性疾患、炎症性疾患、免疫不全、自己免疫疾患、感染症、ウイルス性疾患、アレルギー反応、寄生虫反応、移植片対宿主病もしくは宿主対移植片病、または細胞悪性疾患、Ｂ細胞に関係する疾患、抗ＣＤ19抗体及び抗ＣＤ20抗体のうち少なくとも1つによる治療に非応答性の疾患である、前記治療方法。

[本発明1025]
前記自己免疫状態が、多発性硬化症、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、乾癬性関節炎、乾癬、血管炎、ぶどう膜炎、クローン病、及び1型糖尿病の1つ以上である、本発明1024の方法。

[本発明1026]
前記二重特異的抗原結合構築物の発現に好適な条件下で宿主細胞を培養する段階であって、前記宿主細胞が、上記本発明のいずれかの前記単離二重特異的抗原結合構築物をコードするポリヌクレオチドを含む、段階、及び
前記二重特異的抗原結合構築物を精製する段階

を含む、上記本発明のいずれかの前記二重特異的抗原結合構築物の作製方法。
[本発明1027]
サンプルにおけるＣＤ3及び／またはＣＤ19の検出または測定方法であって、前記サンプルを、上記本発明のいずれかの前記二重特異的抗原結合構築物と接触させる段階、及び結合複合体を検出または測定する段階を含む、前記検出または測定方法。
[本発明1028]
有効量の上記本発明のいずれかの前記二重特異的抗原結合構築物を前記細胞に投与する段階、及び所望により、低分子または第2の抗体を投与する段階を含む、細胞におけるＣＤ3及び／またはＣＤ19シグナル伝達の阻害、低下またはブロック方法。
[本発明1029]
上記本発明のいずれかの前記単離二重特異的抗原結合構築物のうち少なくとも1つのポリペプチドをコードする少なくとも1つの核酸配列を含む、単離ポリヌクレオチドまたは単離ポリヌクレオチドのセット。
[本発明1030]
前記ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットがｃＤＮＡである、本発明1029の単離ポリヌクレオチド。
[本発明1031]
変異体6754、6751、1853、10151、6475、6749、10152、10153、6476、5850、5851、5852、または6325のうち少なくとも1つのポリペプチドをコードする、単離ポリヌクレオチドまたは単離ポリヌクレオチドのセット。
[本発明1032]
本発明1029の1つ以上のポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットを含む、ベクターまたはベクターのセット。
[本発明1033]
プラスミド、ウイルスベクター、非エピソーム哺乳動物ベクター、発現ベクター、及び組換え発現ベクターからなる群から選択される、本発明1029の1つ以上のポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットを含むベクターまたはベクターのセット。
[本発明1034]
本発明1029のポリヌクレオチドもしくはポリヌクレオチドのセット、または本発明1032のベクターもしくはベクターのセットを含む単離細胞。
[本発明1035]
ハイブリドーマ、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞、またはＨＥＫ293細胞である、本発明1034の単離細胞。
[本発明1036]
ｖ1813またはｖ1812またはｖ1823からなる単離二重特異的抗原結合構築物。
【手続補正３】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００６６
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００６６】
可変領域は直接、または典型的には、機能性抗原結合部位の形成を可能にするリンカーペプチドを介して接続されてよい。典型的なペプチドリンカーは約２～２０個のアミノ酸を含み、本明細書で記載されるか、または当該技術分野において既知である。好適な非免疫原性のペプチド類としては例えば、（Ｇ４Ｓ）ｎ（配列番号：３５７）、（ＳＧ４）ｎ（配列番号：３５８）、（Ｇ４Ｓ）ｎ（配列番号：３５７）、Ｇ４（ＳＧ４）ｎ（配列番号：３５９）またはＧ２（ＳＧ２）ｎ（配列番号：３６６）リンカーペプチドが挙げられ、式中ｎは通常１～１０の数字、典型的には２～４の数字である。
【手続補正４】
【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】０１５０
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０１５０】
哺乳類細胞中で分泌を行うために、抗原結合構築物タンパク質に融合したシグナルペプチドの例としては、ＭＰＩＦ－１シグナル配列（例えばＧｅｎＢａｎｋアクセッション番号ＡＡＢ５１１３４のアミノ酸１－２１）、スタニオカルシンシグナル配列（ＭＬＱＮＳＡＶＬＬＬＬＶＩＳＡＳＡ）（配列番号：３５５）、コンセンサスシグナル配列（ＭＰＴＷＡＷＷＬＦＬＶＬＬＬＡＬＷＡＰＡＲＧ）（配列番号：３５６）が挙げられるが、これらに限定されない。バキュロウイルス発現系とともに使用してよい、好適なシグナル配列としてはｇｐ６７シグナル配列（例えばＧｅｎＢａｎｋアクセッション番号ＡＡＡ７２７５９のアミノ酸１－１９）がある。
【手続補正５】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０２１５
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０２１５】
変異体ｖ８７３及びｖ８７５の抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ（ＨＤ３７　ｓｃＦｖ）配列は、既知の抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ（ＶＬ－ＶＨ）ＨＤ３７（Ｋｉｐｒｉｙａｎｏｖ　ｅｔ．ａｌ．，１９９８，Ｉｎｔ．Ｊ　Ｃａｎｃｅｒ：７７，７６３－７７２）から作製した。変異体ｖ８７５の抗ＣＤ３　ｓｃＦｖ（ＯＫＴ３　ｓｃＦｖ）は、軽鎖と重鎖の間の（ＧＧＧＧＳ）３（配列番号：３８０）リンカーにより、公表されたＯＫＴ３（Ｏｒｔｈｏｃｌｏｎｅ　ＯＫＴ３、ムロモナブ）可変軽鎖配列を可変重鎖配列に融合することで作製した。変異体ｖ８７３の抗ＣＤ３　ｓｃＦｖ（ブリナツモマブｓｃＦｖ）は、既知のブリナツモマブ（Ａｍｇｅｎ）抗ＣＤ３　ｓｃＦｖ（ＶＨ－ＶＬ）配列から作製した。
【手続補正６】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０３３８
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０３３８】
（表ＺＺ）抗原結合ポリペプチド構築物の例示的なＣＤＲ配列

CDR	配列
野生型 OKT3 (CD3 結合)	L1: SSVSY (配列番号：337) L2: DTS (配列番号：338) L3: QQWSSNP (配列番号：339) H1: GYTFTRYT (配列番号：340) H2: INPSRGYT (配列番号：341) H3: ARYYDDHY**C**LDY (配列番号：342)
安定化した OKT3 の変異体 (CD3 結合)	L1: SSVSY (配列番号：343) L2: DTS (配列番号：344) L3: QQWSSNP (配列番号：345) H1: GYTFTRYT (配列番号：346) H2: INPSRGYT (配列番号：347) H3: ARYYDDHY**S**LDY (配列番号：348)
HD37 (CD19 結合)	L1: QSVDYDGDSYL (配列番号：354) L2: DAS (配列番号：349) L3: QQSTEDPWT (配列番号：350) H1: GYAFSSYW (配列番号：351) H2: IWPGDGDT (配列番号：352) H3: ARRETTTVGRYYYAMDY (配列番号：353)

【手続補正７】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】配列表
【補正方法】追加
【補正の内容】
【配列表】
2016531100000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US14/46436

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(8) - C12P 21/08 (2014.01)
CPC - C07K 2319/00, 2317/24
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC(8): C12P 21/08 (2014.01)
CPC: C07K 2319/00, 2317/24; USPC: 530/387.3, 387.1, 386, 380, 350

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)
MicroPatent (US-G, US-A, EP-A, EP-B, WO, JP-bib, DE-C,B, DE-A, DE-T, DE-U, GB-A, FR-A); Google; Google Scholar; Dialog ProQuest; Entrez Pubmed; 'bispecific antibody,' 'heterodimeric Fc,' 'CH3 domain,' 'variant 6754,' 'CD19,' 'CD3,' 'CD20,' 'OKT3,' 'HD37,' 'monovalent specificity,' construct

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2012/0149876 A1 (VON KREUDENSTEIN, TS, et al.) June 14, 2012; abstract; figure 14; paragraphs [0003], [0021], [0023], [0025], [0027], [0074]-[0076], [0079], [0080], [0083], [0088], [0153], [0188], [0196], [0202], [0205], [0207], [0208], [0228]	1-8, 31
Y	COCHLOVIUS, B et al. Treatment Of Human B Cell Lymphoma Xenografts With A CD3 x CD19 Diabody And T Cells. Journal of Immunology. 2000, Vol. 165; pages 888-895; abstract; page 888, second column, second paragraph; page 889, first column, first to second paragraph; page 889, first column, fourth paragraphs; page 890, first paragraph, fourth paragraph; page 893, first column, first paragraph; figure 4.	1-8, 31
A	STANGLMAIER, M et al. Bi20 (FBTA05), A Novel Trifunctional Bispecific Antibody (anti-CD20 3 anti-CD3), Mediates Efficient Killing Of B-cell Lymphoma Cells Even With Very Low CD20 Expression Levels. International Journal of Cancer. 2008, Vol. 123; pages 1181-1189; abstract.	1-8, 31
A	US 2013/0078249 A1 (AST, O et al.) March 28, 2013; abstract	1-8, 31

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
17 December 2014 (17.12.2014)	02 JAN 2015
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201	Authorized officer: Shane Thomas PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US14/46436

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing filed or furnished:

   a. (means)

   ☐ on paper

   ☒ in electronic form

   b. (time)

   ☐ in the international application as filed

   ☐ together with the international application in electronic form

   ☒ subsequently to this Authority for the purposes of search

2. ☒ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US14/46436

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.: 9-30, 32-35
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:

-***-Please See Supplemental Page-***-

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

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

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

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Groups I+: Claims 1, 2 (in-part), 3 (in-part), 4 (in-part), 5, 6, 7 (in-part), 8 (in-part), 31 (in-part), an isolated bispecific antigen binding polypeptide construct consisting of variant 6754

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US14/46436

-***-Continued from Box No. III: Observations Where Unity of Invention Is Lacking:

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Groups I+: Claims 1-8, 31 and 36 are directed toward a bispecific antigen binding construct comprising a first antigen-binding polypeptide construct which monovalently and specifically binds a CD19 antigen or a CD20 antigen; a second antigen-binding polypeptide construct which monovalently and specifically binds a CD3 antigen; and a heterodimeric Fc comprising first and second Fc polypeptides each comprising a modified CH3 domain, wherein each modified CH3 domain comprises asymmetric amino acid modifications that promote the formation of a heterodimeric Fc and the dimerized CH3 domains having a melting temperature (Tm) of about 68 degrees C or higher; and an isolated polynucleotide encoding said bispecific antigen binding construct.

The bispecific antigen binding construct will be searched to extent that the construct encompasses variant 6754. It is believed that Claims 1, 2 (in-part), 3 (in-part), 4 (in-part), 5, 6, 7 (in-part), 8 (in-part) and 31 (in-part) encompass this first named invention and thus these claims will be searched without fee to the extent that they encompass an isolated bispecific antigen binding polypeptide construct consisting of variant 6754. Additional antigen binding construct(s) will searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that encompass any additionally elected antigen binding construct(s). Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined. An Exemplary Election would be: an isolated bispecific antigen binding polypeptide construct consisting of variant 6751.

Groups I+ share the technical features including: an isolated bispecific antigen binding construct comprising a first antigen-binding polypeptide construct which monovalently and specifically binds a CD19 antigen or a CD20 antigen; a second antigen-binding polypeptide construct which monovalently and specifically binds a CD3 antigen; a heterodimeric Fc comprising first and second Fc polypeptides each comprising a modified CH3 domain, wherein each modified CH3 domain comprises asymmetric amino acid modifications that promote the formation of a heterodimeric Fc and the dimerized CH3 domains having a melting temperature (Tm) of about 68 degrees C or higher, wherein the first Fc polypeptide is linked to the first antigen-binding polypeptide construct, with or without a first linker, and the second monomeric Fc polypeptide is linked to the second antigen-binding polypeptide construct with or without a second linker; and wherein the first antigen binding polypeptide construct is a Fab and the second antigen binding polypeptide construct is an scFv or the first antigen binding polypeptide construct is an scFv and the second antigen binding polypeptide construct is a Fab; an isolated polynucleotide or set of isolated polynucleotides encoding at least one polypeptide of variant 6754, 6751, 1853, 10151, 6475, 6749, 10152, 10153, 6476, 5850, 5851, 5852 or 6325; and an isolated bispecific antigen binding construct consisting of V1813 or V1812 or V1823.

However, these shared technical features are previously disclosed by US 2012/0149876 A1 to Von Kreudenstein, et al. (hereinafter 'Von Kreudenstein') and further in view of the publication entitled 'Bi20 (FBTA05), A Novel Trifunctional Bispecific Antibody (anti-CD20 X anti-CD3), Mediates Efficient Killing Of B-Cell Lymphoma Cells Even With Very Low CD20 Expression Levels' by Stanglmaier, et al. (hereinafter 'Stanglmaier') and the publication entitled 'Treatment Of Human B Cell Lymphoma Xenografts With A CD3 X CD19 Diabody And T Cells' by Cochlovius, et al. (hereinafter 'Cochlovius').

Von Kreudenstein discloses an isolated bispecific antigen binding construct (a bispecific antibody; paragraphs [0003], [0025]) comprising a first antigen-binding polypeptide construct (comprising an Fab or single chain antibody in a bispecific antibody; paragraphs [0003], [0188]) which monovalently and specifically binds a first antigen (fab or single-chain antibody; paragraphs [0003], [0188]); a second antigen-binding polypeptide construct which monovalently and specifically binds a second antigen (a second single-chain antibody or Fab in a bispecific antibody; paragraphs [0003], [0188]); a heterodimeric Fc (a heterodimeric Fc; paragraph [0003]) comprising first and second Fc polypeptides (comprising a heterodimer Fc region; paragraphs [0013], [0080]) each comprising a modified CH3 domain (paragraph [0080]), wherein each modified CH3 domain comprises asymmetric amino acid modifications that promote the formation of a heterodimeric Fc (paragraph [0080]) and the dimerized CH3 domains having a melting temperature (Tm) of about 68 degrees C or higher (the dimerized CH3 domains having a melting temperature (Tm) of about 70 degrees C or higher; paragraph [0079]), wherein the first Fc polypeptide is linked to the first antigen-binding polypeptide construct (wherein the Fc heterodimer is fused to a variable light or heavy chain domain; figure 14, paragraph [0188]), with or without a first linker (with a hinge region; figure 14), and the second monomeric Fc polypeptide is linked to the second antigen-binding polypeptide construct (wherein the Fc heterodimer is fused to a variable light or heavy chain domain; figure 14, paragraph [0188]) with or without a second linker (with a hinge region; figure 14); and wherein the first antigen binding polypeptide construct is a Fab (paragraphs [0188]) and the second antigen binding polypeptide construct is an scFv (and the second antigen binding polypeptide is a single chain antibody; paragraphs [0188], [0196]) or the first antigen binding polypeptide construct is an scFv (the first antigen binding polypeptide is a single chain antibody; paragraphs [0188], [0196])) and the second antigen binding polypeptide construct is a Fab (the second antigen binding protein is an Fab; paragraph [0188]); and an isolated polynucleotide or set of isolated polynucleotides encoding at least one polypeptide (a nucleic acid encoding a heteromultimer; paragraph [0027]); wherein the bispecific antigen may bind targets including CD19, CD20 and CD3 (wherein the bispecific antigen may bind targets including CD19, CD20 and CD3; paragraph [0207]), and wherein the modifications include T350V (T350V; Claims 1, 91, and 94), L351Y, F405A, Y407V, T366L, K392L, and T394W (L351Y, F405A, Y407V, T366L, K392L, and T394W; paragraph [0020]) to produce heterodimers with increased stability (to produce heterodimers with increased stability; paragraph [0011]).

-***-Continued Within the Next Supplemental Box-***-

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US14/46436

-***-Continued from Previous Supplemental Page:

Von Kreudenstein does not disclose a first antigen-binding polypeptide construct which monovalently and specifically binds a CD19 antigen or a CD20 antigen; a second antigen-binding polypeptide construct which monovalently and specifically binds a CD3 antigen; an isolated polynucleotide or set of isolated polynucleotides encoding at least one polypeptide of variant 6754, 6751, 1853, 10151, 6475, 6749, 10152, 10153, 6476, 5850, 5851, 5852 or 6325; and an isolated bispecific antigen binding construct consisting of V1813 or V1812 or V1823.

Stanglmaier discloses a bispecific antigen-binding construct (a bispecific antibody; abstract) comprising a first antigen-binding polypeptide construct which monovalently and specifically binds a CD20 antigen (comprising a CD20-specific monoclonal IgG2 antibody; page 1181, column 2, paragraph 5) and a second antigen-binding polypeptide construct which monovalently and specifically binds a CD3 antigen (and an anti-CD3 monoclonal antibody; page 1182, column 1, paragraph 1), wherein the molecule is useful for the treatment of B-cell lymphoma (abstract).

Cochlovius discloses a bispecific antigen-binding construct (a bispecific antibody; abstract) comprising a first antigen-binding polypeptide construct which monovalently and specifically binds a CD19 antigen (comprising ScFv fragment from HD37 (comprising a first antigen-binding polypeptide construct which monovalently and specifically binds a CD19 antigen; page 890, column 1, paragraph 4), and a second antigen-binding polypeptide construct which monovalently and specifically binds a CD3 antigen (and an OKT3 ScFv (a second antigen-binding polypeptide construct which monovalently and specifically binds a CD3 antigen); page 890, column 1, paragraph 4), wherein the CD-3 binding antigen comprises an OKT3 scFv (page 890, column 1, paragraph 4), and nucleic acids encoding said polypeptides (optimized expression vector encoding the bispecific construct; page 890, column 1, paragraph 4); wherein the bispecific antigen binding construct is useful for the treatment of B-cell leukemias and lymphomas (abstract).

It would have been obvious to a person of ordinary skill in the art, at the time of the invention, to have modified the prevoius disclosure of Von Kreudenstein, for producing variants including the specific combination of mutations required to produce any of variants 6754, 6751, 1853, 10151, 6475, 6749, 10152, 10153, 6476, 5850, 5851, 5852, 6325, V1813, V1812 or V1823, including a bispecific construct comprising said Fc mutations in chains including an anti-CD3 OKT3 scFv and anti-CD19 HD37 Fab, provided the previous disclosure of Cochlovius, for producing a bispecific construct, such as a variant of 6754 with increased stability, useful for the treatment of B-cell lymphomas. Furthermore, it would have been obvious to a person of ordinary skill in the art, at the time of the invention, to have modified the previous disclosure of Von Kreudenstein, for producing Fc variants, including the specific combination of Fc mutations required to produce any of variants V1813, V1812 or V1823, or a nucleic acid encoding at least one polypeptide of the variants, which binds to the same targets, provided the previous disclosure of Stanglmaier. Moreover, it would have been obvious to a person of ordinary skill in the art at, the time the invention, to have modified the prevoius disclosure of Von Kreudenstein, for implementing the use of a known therapeutic antibody, such as anti-CD3 and anti-CD20 antibodies or binding proteins, as previously disclosed by Stanglmaier, with utilizing known therapeutic antibodies, particularly Foralumab, and Fatumumab (anti-CD3 and anti-CD20 antibodies or binding proteins Foralumab, and Fatumumab; paragraph [00248], Table 1 of the instant PCT application), for producing therapeutic bispecific antibodies such as V1813 (Table 1 of the instant PCT appolication), with increased stability, as previously disclosed by Von Kreudenstein, and having usefulness in the treatment of B-cell lymphomas, as previously disclosed by Stanglmaier, for achieving more rapid clearance of the antibodies for therapeutic use, due to their similarity with accepted therapeutics.

Since none of the special technical features of the Groups I+ inventions is found in more than one of the inventions, and since all of the shared technical features are previously disclosed by a combination of the Von Kreudenstein, Stanglmaier and Cochlovius references, unity of invention is lacking.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI			テーマコード（参考）
C12N	*5/18*	*(2006.01)*	C12N	5/18		
C12N	*5/22*	*(2006.01)*	C12N	5/22		
A61K	*39/395*	*(2006.01)*	A61K	39/395	N	
A61P	*35/00*	*(2006.01)*	A61P	35/00		
A61P	*35/02*	*(2006.01)*	A61P	35/02		
A61P	*35/04*	*(2006.01)*	A61P	35/04		
A61P	*37/06*	*(2006.01)*	A61P	37/06		
A61P	*29/00*	*(2006.01)*	A61P	29/00		
A61P	*37/02*	*(2006.01)*	A61P	37/02		
A61P	*37/08*	*(2006.01)*	A61P	37/08		
A61P	*31/00*	*(2006.01)*	A61P	31/00		
A61P	*31/12*	*(2006.01)*	A61P	31/12		
A61P	*33/00*	*(2006.01)*	A61P	33/00		
A61P	*19/02*	*(2006.01)*	A61P	19/02		
A61P	*17/00*	*(2006.01)*	A61P	29/00	101	
A61P	*17/06*	*(2006.01)*	A61P	17/00		
A61P	*9/00*	*(2006.01)*	A61P	17/06		
A61P	*1/04*	*(2006.01)*	A61P	9/00		
A61P	*3/10*	*(2006.01)*	A61P	1/04		
A61P	*27/02*	*(2006.01)*	A61P	3/10		
G01N	*33/53*	*(2006.01)*	A61P	27/02		
C12N	*5/0783*	*(2010.01)*	G01N	33/53	D	
C12N	*5/0781*	*(2010.01)*	C12N	5/0783		
			C12N	5/0781		

(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,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,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,HR,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

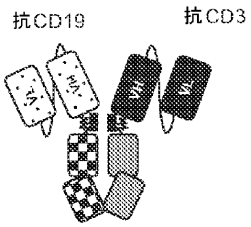
(74)代理人 100142929
弁理士 井上 隆一
(74)代理人 100148699
弁理士 佐藤 利光
(74)代理人 100128048
弁理士 新見 浩一
(74)代理人 100129506
弁理士 小林 智彦
(74)代理人 100114340
弁理士 大関 雅人
(74)代理人 100114889
弁理士 五十嵐 義弘
(74)代理人 100121072
弁理士 川本 和弥

(72)発明者　ディキシット　スールジット　ビーマラオ
カナダ　ブリティッシュコロンビア州　バンクーバー　ウエスト　エイス　アベニュー　５４０－１３８５　ザイムワークス　インコーポレイテッド内
(72)発明者　スプレッター　フォン　クロイデンシュタイン　トマス
カナダ　ブリティッシュコロンビア州　バンクーバー　ウエスト　エイス　アベニュー　５４０－１３８５　ザイムワークス　インコーポレイテッド内
(72)発明者　エング　ゴードン　イウ　コン
カナダ　ブリティッシュコロンビア州　バンクーバー　ウエスト　エイス　アベニュー　５４０－１３８５　ザイムワークス　インコーポレイテッド内

Ｆターム(参考) 4B064 AG26 AG27 CC24 CE10 CE12 DA01
4B065 AA90X AB05 AB06 AC14 BA21 BD14
4C085 AA14 AA16 BB36 BB41 BB50 CC23 EE01
4H045 AA10 AA30 BA10 BA41 CA40 DA75 DA76 EA20 EA22 EA29
FA74 GA22 GA26

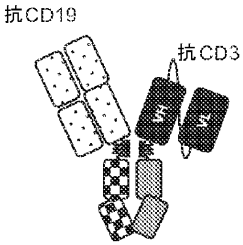
【要約の続き】

A



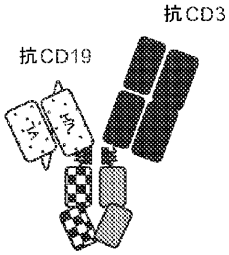
二重scFv
ヘテロ二量体Fc
フォーマット

B



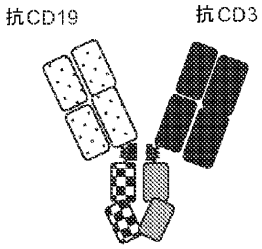
ハイブリッドヘテロ二量体Fc
フォーマット

C



ハイブリッドヘテロ二量体Fc
フォーマット

D



フルサイズ
抗体
フォーマット

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	JP2016531100A5	公开(公告)日	2017-08-17
申请号	JP2016525831	申请日	2014-07-11
[标]申请(专利权)人(译)	酵活有限公司		
申请(专利权)人(译)	ZYME工程有限公司		
[标]发明人	ディキシットスールジットビーマラオ スプレッターフォンクロイデンシュタイントマス エングゴードンイウコン		
发明人	ディキシット スールジット ビーマラオ スプレッター フォン クロイデンシュタイン トマス エング ゴードン イウ コン		
IPC分类号	C07K16/46 C12N15/09 C12P21/08 C12N5/10 C12N5/09 C12N5/18 C12N5/22 A61K39/395 A61P35/00 A61P35/02 A61P35/04 A61P37/06 A61P29/00 A61P37/02 A61P37/08 A61P31/00 A61P31/12 A61P33/00 A61P19/02 A61P17/00 A61P17/06 A61P9/00 A61P1/04 A61P3/10 A61P27/02 G01N33/53 C12N5/0783 C12N5/0781		
CPC分类号	A61K2039/505 A61P1/04 A61P17/00 A61P17/06 A61P19/02 A61P27/02 A61P29/00 A61P31/00 A61P31/12 A61P33/00 A61P35/00 A61P35/02 A61K47/6849 C07K16/2803 C07K16/2809 C07K16/2887 C07K16/468 C07K2317/21 C07K2317/31 C07K2317/526 C07K2317/55 C07K2317/565 C07K2317/622 C07K2317/624 C07K2317/64 C07K2317/76 C07K2317/90 A61K47/48561 C07K16/30 C07K2317/24 G01N33/6872 G01N2333/70503 G01N2333/7051		
FI分类号	C07K16/46.ZNA C12N15/00.A C12P21/08 C12N5/10 C12N5/09 C12N5/18 C12N5/22 A61K39/395.N A61P35/00 A61P35/02 A61P35/04 A61P37/06 A61P29/00 A61P37/02 A61P37/08 A61P31/00 A61P31/12 A61P33/00 A61P19/02 A61P29/00.101 A61P17/00 A61P17/06 A61P9/00 A61P1/04 A61P3/10 A61P27/02 G01N33/53.D C12N5/0783 C12N5/0781		
F-TERM分类号	4B064/AG26 4B064/AG27 4B064/CC24 4B064/CE10 4B064/CE12 4B064/DA01 4B065/AA90X 4B065/AB05 4B065/AB06 4B065/AC14 4B065/BA21 4B065/BD14 4C085/AA14 4C085/AA16 4C085/BB36 4C085/BB41 4C085/BB50 4C085/CC23 4C085/EE01 4H045/AA10 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/BA41 4H045/CA40 4H045/DA75 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/EA22 4H045/EA29 4H045/FA74 4H045/GA22 4H045/GA26		
代理人(译)	清水初衷 井上隆一 佐藤俊光 小林智彦 正人大关 五十岚弘		
优先权	61/978719 2014-04-11 US 61/845948 2013-07-12 US 61/927877 2014-01-15 US		
其他公开文献	JP2016531100A		

摘要(译)

描述了与CD3和CD19或CD20结合的双特异性抗原结合构建体。