

(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2014-534218

(P2014-534218A)

(43) 公表日 平成26年12月18日(2014.12.18)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07K 16/24 (2006.01)	C07K 16/24 ZNA	4B024
C07K 16/46 (2006.01)	C07K 16/46	4B064
C12N 15/09 (2006.01)	C12N 15/00 A	4B065
C12N 1/15 (2006.01)	C12N 1/15	4C084
C12N 1/19 (2006.01)	C12N 1/19	4C086

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 251 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2014-538927 (P2014-538927)	(71) 出願人	512212195 アッヴィ・インコーポレイテッド アメリカ合衆国、イリノイ・60064、 ノース・シカゴ、ノース・ワウキガン・ロ ード・1
(86) (22) 出願日	平成24年10月24日(2012.10.24)	(74) 代理人	110001173 特許業務法人川口国際特許事務所
(85) 翻訳文提出日	平成26年6月23日(2014.6.23)	(72) 発明者	シエ, チュン-ミン アメリカ合衆国、マサチューセッツ・02 459、ニュートン、オールド・フィール ド・ロード・22
(86) 国際出願番号	PCT/US2012/061690	(72) 発明者	ベナトゥイル, ロレンゾ アメリカ合衆国、マサチューセッツ・01 532、ノースボロー、モーホーク・ドラ イブ・33
(87) 国際公開番号	W02013/063114		
(87) 国際公開日	平成25年5月2日(2013.5.2)		
(31) 優先権主張番号	61/550, 587		
(32) 優先日	平成23年10月24日(2011.10.24)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 TNFを標的とする免疫結合剤

(57) 【要約】

腫瘍壊死因子 - アルファ (TNF - a)、例えばヒトTNF - aに結合する単離された結合タンパク質、例えば抗体またはその抗原結合部分、ならびに関連する抗体を使用した組成物および分子を開示する。抗体を含む医薬組成物、ならびに抗体を使用するための治療法および診断法も開示する。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

(a) 配列番号 22、24、26、28、30、32、34～58、74～83、94～266、478～486、496～675、738～762、778～956、1053～1062、1073、1075、および 1077 のうちのいずれか 1 つに由来する 3 つの相補性決定領域 (CDR) ; または

(b) 配列番号 22、24、26、28、30、32、34～58、74～83、94～266、478～486、496～675、738～762、778～956、1053～1062、1073、1075、および 1077 のうちのいずれか 1 つを含む少なくとも 1 つの重鎖可変領域 (VH 領域) を含む、結合タンパク質。

10

【請求項 2】

(a) 配列番号 23、25、27、29、31、33、59～73、84～93、267～477、487～495、676～737、763～777、957～1052、1063～1072、1074、1076、および 1078 のうちのいずれか 1 つに由来する 3 つの相補性決定領域 (CDR) ; または

(b) 配列番号 23、25、27、29、31、33、59～73、84～93、267～477、487～495、676～737、763～777、957～1052、1063～1072、1074、1076、1078 のうちのいずれか 1 つを含む少なくとも 1 つの軽鎖可変領域 (VL 領域) を含む、結合タンパク質。

20

【請求項 3】

少なくとも 1 つの重鎖可変領域 (VH 領域) および少なくとも 1 つの軽鎖可変領域 (VL 領域) を含む結合タンパク質であって、前記 VH 領域が、

(a) 配列番号 22、24、26、28、30、32、34～58、74～83、94～266、478～486、496～675、738～762、778～956、1053～1062、1073、1075、および 1077 のうちのいずれか 1 つに由来する 3 つの相補性決定領域 (CDR) ; または

(b) 配列番号 22、24、26、28、30、32、34～58、74～83、94～266、478～486、496～675、738～762、778～956、1053～1062、1073、1075、および 1077 のうちのいずれか 1 つを含み ; かつ、前記 VL 領域が、

30

(c) 配列番号 23、25、27、29、31、33、59～73、84～93、267～477、487～495、676～737、763～777、957～1052、1063～1072、1074、1076、および 1078 のうちのいずれか 1 つに由来する 3 つの CDR ; または

(d) 配列番号 23、25、27、29、31、33、59～73、84～93、267～477、487～495、676～737、763～777、957～1052、1063～1072、1074、1076、1078 のうちのいずれか 1 つを含む、結合タンパク質。

【請求項 4】

前記結合タンパク質が、2 つの VH 領域および 2 つの VL 領域を含む、請求項 3 に記載の結合タンパク質。

40

【請求項 5】

前記結合タンパク質が、配列番号 22 および 23 ; 24 および 25 ; 26 および 27 ; 28 および 29 ; 30 および 31 ; および 32 および 33 からなる群より選択される、少なくとも 1 つの VH 領域と少なくとも 1 つの VL 領域のアミノ酸配列の組を含む、請求項 3 に記載の結合タンパク質。

【請求項 6】

前記結合タンパク質が、

(a) TNF - の生物学的機能を調節し ;

(b) TNF - を中和し ;

50

- (c) TNF- α がその受容体に結合する能力を弱め；
 (d) 前駆ヒトTNF- α 、成熟ヒトTNF- α 、または切断型ヒトTNF- α がその受容体に結合する能力を弱め；および/または
 (e) TNF依存性サイトカインの生産、TNF依存性細胞死、TNF依存性炎症、TNF依存性骨侵食、およびTNF依存性軟骨損傷のうちの1つ以上を低減する、請求項4に記載の結合タンパク質。

【請求項7】

前記結合タンパク質の結合速度定数 (K_{on}) が、表面プラズモン共鳴で測定すると、少なくとも約 $10^2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ；少なくとも約 $10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ；少なくとも約 $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ；少なくとも約 $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ；または少なくとも約 $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ である、請求項4に記載の結合タンパク質。

10

【請求項8】

前記結合タンパク質の解離速度定数 (K_{off}) が、表面プラズモン共鳴で測定すると、最大約 10^{-3} s^{-1} ；最大約 10^{-4} s^{-1} ；最大約 10^{-5} s^{-1} ；または最大約 10^{-6} s^{-1} である、請求項4に記載の結合タンパク質。

【請求項9】

前記結合タンパク質の解離定数 (K_D) が最大約 10^{-7} M ；最大約 10^{-8} M ；最大約 10^{-9} M ；最大約 10^{-10} M ；最大約 10^{-11} M ；最大約 10^{-12} M ；または最大 10^{-13} M である、請求項4に記載の結合タンパク質。

【請求項10】

ヒトTNF- α に結合できる結合タンパク質であって、前記結合タンパク質が、
 (a) 配列番号2または配列番号3のアミノ酸配列を含む重鎖定常領域；
 (b) 配列番号4または配列番号5のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域；
 (c) 配列番号22、24、26、28、30、32、34~58、74~83、94~266、478~486、496~675、738~762、778~956、1053~1062、1073、1075、および1077からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (VH領域)；ならびに
 (d) 配列番号23、25、27、29、31、33、59~73、84~93、267~477、487~495、676~737、763~777、957~1052、1063~1072、1074、1076、および1078からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (VL領域) を含む、結合タンパク質。

20

30

【請求項11】

前記結合タンパク質が、免疫グロブリン分子、Fv、ジスルフィド結合Fv、モノクローナル抗体、scFv、キメラ結合タンパク質、単ドメイン結合タンパク質、CDR移植結合タンパク質、ディアボディ、ヒト化結合タンパク質、多重特異性結合タンパク質、Fab、双特異的結合タンパク質、Fab'断片、二重特異性結合タンパク質、F(ab')₂断片、DVD-Ig (商標)、ヒンジ領域でジスルフィド架橋によって結合している2つのFab断片を含む二価の断片、前記VHおよびCH1ドメインからなるFd断片、抗体の単一のアームの前記VLおよびVHドメインからなるFv断片、dAb断片、単離された相補性決定領域 (CDR)、または一本鎖結合タンパク質を含む、請求項3に記載の結合タンパク質。

40

【請求項12】

前記結合タンパク質が、放射性標識、酵素、蛍光標識、発光標識、生物発光標識、磁気標識、およびビオチンからなる群より選択される造影剤に複合体化されている、請求項4に記載の結合タンパク質。

【請求項13】

前記結合タンパク質が、代謝拮抗薬、アルキル化剤、抗生物質、成長因子、サイトカイン、抗血管新生薬、有糸分裂阻害剤、アントラサイクリン、毒素、アポトーシス薬、およびTNF- α の活性が有害な疾患を治療するための少なくとも1つ追加の治療薬からなる群より選択される治療薬または細胞傷害性薬物をさらに含む、請求項4に記載の結合タン

50

パク質。

【請求項 14】

請求項 3 に記載のアミノ酸配列を含む結合タンパク質をコードする単離した核酸。

【請求項 15】

請求項 14 に記載の単離した核酸を含むベクター。

【請求項 16】

請求項 15 に記載のベクターを含む宿主細胞。

【請求項 17】

TNF- に結合するタンパク質の産生方法であって、請求項 16 に記載の宿主細胞を培地中で、TNF- に結合する結合タンパク質を産生するのに十分な条件で培養するステップを含む、タンパク質の産生方法。

10

【請求項 18】

請求項 3 に記載の結合タンパク質および医薬として許容可能な担体を含む医薬組成物。

【請求項 19】

請求項 18 に記載の医薬組成物の有効量を哺乳類に投与することを含む、哺乳類の治療方法。

【請求項 20】

ヒト TNF- の活性が低下するように、ヒト TNF- を請求項 3 に記載の結合タンパク質と接触させることを含む、ヒト TNF- 活性を低下させる方法。

【請求項 21】

TNF- 活性が有害な疾患を患っているヒト対象におけるヒト TNF- の活性を低下させる方法であって、前記ヒト対象におけるヒト TNF- の活性が低下するおよび/または治療が達成されるように、前記ヒト対象に請求項 3 に記載の結合タンパク質を投与することを含む、方法。

20

【請求項 22】

請求項 3 に記載の結合タンパク質を、患者に第二の薬剤を投与する前もしくは後またはその投与と同時に、前記患者に投与することを含む、TNF- が有害な疾患を患っている前記患者の治療方法であって、前記第二の薬剤が、ヒト IL-12 に結合できる抗体もしくはその断片；PGE2；LPA；NGF；CGRP；SubP；RAGE；ヒスタミン；ヒスタミン受容体遮断薬；ブラジキニン；IL-1アルファ；IL-1ベータ；VEGF；PLGF；メトトレキサート；コルチコステロイド、グルココルチコイド受容体調節剤；シクロスポリン、ラパマイシン、FK506、および非ステロイド性抗炎症剤からなる群より選択される、治療方法。

30

【請求項 23】

前記疾患が、自己免疫性の疾患および/または炎症性の疾患である、請求項 21 または 22 に記載の方法。

【請求項 24】

前記疾患が、クローン病、乾癬、尋常性乾癬、関節炎、関節リウマチ、乾癬性関節炎、変形性関節症、または若年性特発性関節炎、多発性硬化症および硬直性脊椎炎からなる群より選択される、請求項 23 に記載の方法。

40

【請求項 25】

前記疾患が、呼吸器疾患；喘息；アレルギー性および非アレルギー性喘息；感染症による喘息；呼吸器合胞体ウイルス（RSV）感染による喘息；慢性閉塞性肺疾患（COPD）；気道の炎症を伴う症状；好酸球増加症；線維症および過剰粘液産生；嚢胞性線維症；肺線維症；アトピー性疾患；アトピー性皮膚炎；蕁麻疹；湿疹；アレルギー性鼻炎；アレルギー性胃腸炎；皮膚の炎症性および/または自己免疫性の状態；胃腸器官の炎症性および/または自己免疫性の状態；炎症性腸疾患（IBD）；潰瘍性大腸炎；クローン病；肝臓の炎症性および/または自己免疫性の状態；肝硬変；肝線維症；肝炎 B および/または C ウイルスに起因する肝線維症；強皮症；腫瘍または癌；肝細胞の癌腫；膠芽腫；リンパ腫；ホジキンリンパ腫；ウイルス感染；細菌感染；寄生虫感染；HTLV-1 感染；保護

50

的な1型免疫応答の発現の抑制および、ワクチンを接種している間の、保護的な1型免疫応答の発現の抑制からなる群より選択される、請求項23に記載の方法。

【請求項26】

免疫アッセイにより、被検試料中のTNF- またはその断片の有無を決定する方法であって、前記免疫アッセイが、前記被検試料を、少なくとも1つの請求項3の結合タンパク質またはその断片、および少なくとも1つの検出可能な標識と接触させることを含む、方法。

【請求項27】

(i) 前記被検試料を前記少なくとも1つの結合タンパク質またはその断片と接触させることであって、ここで前記結合タンパク質は、第一の複合体を形成するように、前記TNF- またはその断片上のエピトープに結合し；

(ii) 前記複合体を前記少なくとも1つの検出可能な標識と接触させることであって、ここで前記検出可能な標識は、前記第一の複合体または、前記結合タンパク質またはその断片が結合していない前記TNF- またはその断片上のエピトープに結合して第二の複合体を形成し；および

(iii) 前記第二の複合体に含まれる前記検出可能な標識によって生成された前記シグナルに基づいて、前記被検試料中の前記TNF- またはその断片の有無を検出することであって、ここで前記TNF- またはその断片の有無は、前記検出可能な標識によって生成される前記シグナルと正相関すること、

をさらに含む、請求項26に記載の方法。

【請求項28】

(i) 前記被検試料を前記少なくとも1つの結合タンパク質またはその断片と接触させることであって、ここで前記結合タンパク質またはその断片は、第一の複合体を形成するように、前記TNF- またはその断片上のエピトープに結合し；

(ii) 前記複合体を前記少なくとも1つの検出可能な標識とを接触させることであって、ここで前記検出可能な標識は、第二の複合体を形成するように、前記結合タンパク質またはその断片への結合に関して前記TNF- またはその断片と競合し；および

(iii) 前記第二の複合体に含まれている前記検出可能な標識によって生成された前記シグナルに基づいて、前記被検試料中の前記TNF- またはその断片の有無を検出することであって、ここで前記TNF- またはその断片の存在は、前記検出可能な標識によって生成される前記シグナルと逆相関すること、

をさらに含む、請求項26に記載の方法。

【請求項29】

前記方法が場合により、診断すること、予後診断すること、または前記患者の治療的/予防的処置の有効性を評価することをさらに含む、請求項26に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

TNF- 結合タンパク質ならびに、急性および慢性の炎症性疾患の予防および/または治療におけるその使用を提供する。

【背景技術】

【0002】

TNF- (腫瘍壊死因子、腫瘍壊死因子アルファ、腫瘍壊死因子、TNF、およびカケチンとも呼ばれる)に結合可能な、改良された結合タンパク質が必要とされている。高い親和性でTNF- に結合でき、かつ、TNF- を中和することができる、新規ファミリーの結合タンパク質、CDR移植結合タンパク質、ヒト化結合タンパク質、およびそれらの断片を提供する。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0003】

10

20

30

40

50

TNF- α に結合する TNF- α 結合タンパク質またはその抗原結合部分を提供する。ある実施形態において抗原結合ドメインは、配列番号 22、24、26、28、30、32、34~58、74~83、94~266、478~486、496~675、738~762、778~956、1053~1062、1073、1075、および 1077 のうちのいずれか 1 つから選択される VH 領域、またはそれらに由来する 1 つ、2 つ、もしくは 3 つの CDR を含む。別の実施形態において抗原結合ドメインは、配列番号 23、25、27、29、31、33、59~73、84~93、267~477、487~495、676~737、763~777、957~1052、1063~1072、1074、1076、および 1078 のうちのいずれか 1 つから選択される VL 領域、またはそれらに由来する 1 つ、2 つ、もしくは 3 つの CDR を含む。特定の実施形態において抗原結合ドメインは VH 領域と VL 領域を含み、例えば、VH 領域は、配列番号 22、24、26、28、30、32、34~58、74~83、94~266、478~486、496~675、738~762、778~956、1053~1062、1073、1075、および 1077、またはそれらに由来する 1 つ、2 つ、もしくは 3 つの CDR を含み、および VL 領域は、配列番号 23、25、27、29、31、33、59~73、84~93、267~477、487~495、676~737、763~777、957~1052、1063~1072、1074、1076、および 1078、またはそれらに由来する 1 つ、2 つ、もしくは 3 つの CDR を含む。

10

【0004】

ある実施形態において結合タンパク質は、TNF- α に結合する。別の実施形態においてこの結合タンパク質は、TNF- α の生物学的機能を調節する。別の実施形態においてこの結合タンパク質は、TNF- α を中和する。さらに別の実施形態においてこの結合タンパク質は、TNF- α がその受容体に結合する能力を弱める。例えば結合タンパク質は、前駆ヒト TNF- α 、成熟ヒト TNF- α 、または切断型ヒト TNF- α がその受容体に結合する能力を弱める。さらに別の実施形態においてこの結合タンパク質は、TNF 依存性サイトカイン生産、TNF 依存性細胞死、TNF 依存性炎症、TNF 依存性骨侵食、および TNF 依存性軟骨損傷から選択される、1 つ以上の TNF- α の生物活性を低減する。

20

【0005】

ある実施形態では、結合タンパク質は、表面プラズモン共鳴で測定して、少なくとも約 $10^2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ；少なくとも約 $10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ；少なくとも約 $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ；少なくとも約 $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ；および少なくとも約 $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ から選択される結合定数 (K_{on}) を有する。別の実施形態では、結合タンパク質は、表面プラズモン共鳴で測定して、最大、約 10^{-3} s^{-1} ；最大約 10^{-4} s^{-1} ；最大約 10^{-5} s^{-1} ；および最大約 10^{-6} s^{-1} から選択される解離定数 (K_{off}) を有する。さらに別の実施形態では、結合タンパク質は、最大約 10^{-7} M ；最大約 10^{-8} M ；最大約 10^{-9} M ；最大約 10^{-10} M ；最大約 10^{-11} M ；最大約 10^{-12} M ；および最大 10^{-13} M から選択される解離定数 (K_D) を有する。

30

【0006】

別の態様では、有効量の本明細書で開示の医薬組成物を哺乳類に投与することを含む、哺乳類の治療方法を提供する。別の実施形態では、ヒト TNF- α の活性を低下させる方法を提供し、この方法は、ヒト TNF- α 活性が低下するように、ヒト TNF- α と本明細書で開示の結合タンパク質とを接触させることを含む。別の実施形態では、TNF- α の活性が有害な疾患を患っているヒト対象における、ヒト TNF- α 活性を低下させる方法を提供し、この方法は、ヒト対象におけるヒト TNF- α の活性が低下するように、本明細書で開示の結合タンパク質をヒト対象に投与することを含む。別の実施形態では、病気または TNF- α の活性が有害な疾患に関して、対象を治療する方法を提供し、この方法は、治療が達成されるように、本明細書で開示の結合タンパク質を対象に投与することを含む。

40

【0007】

50

一実施形態においてこの方法は、免疫性および炎症性の要素を伴う病気、例えば自己免疫疾患、特に、クローン病、乾癬（尋常性乾癬を含む）、関節炎（関節リウマチ、乾癬性関節炎、変形性関節症、または若年性特発性関節炎を含む）、多発性硬化症および硬直性脊椎炎などの炎症に関連する病気を治療する。従って、本明細書の結合タンパク質を、これらの疾患を治療するために使用してもよい。

【発明を実施するための形態】

【0008】

TNF- に結合するTNF- 結合タンパク質、またはその抗原結合部分、その医薬組成物、ならびに、そのような結合タンパク質や断片を作成するための核酸、組換え発現ベクターおよび宿主細胞を提供する。さらに、本明細書で開示の結合タンパク質を、ヒトTNF- を検出するために、インビトロまたはインビボのいずれかでヒトTNF- を阻害するために、および遺伝子発現またはTNF- に関連する機能を調節するために使用する方法も提供する。

10

【0009】

本明細書に別段の指定のない限り、本開示との関連で使用される科学および技術的な用語は、当業者によって通常理解されているものと同じ意味を有するものとする。用語の意味および範囲は明確であるべきではあるが、潜在的に曖昧な場合には、本明細書で提供する定義が、いずれの辞書または外部の定義よりも優先される。さらに、文脈から別様に必要とされない限り、単数形用語は複数形を含み、かつ、複数形用語は単数形を含むものとする。本出願においては、「または」の使用は、別様に明示されていない限り、「および/または」を意味する。加えて、「含む」という用語、ならびにこの用語の他の形態、例えば「含んでいる」および「含まれた」の使用は限定的なものではない。また、「要素」または「構成要素」などの用語は、別様に具体的に明示されていない限り、1単位を含有している要素および構成要素、ならびに1を上回るサブユニットを含む要素および構成要素の両方を包含する。

20

【0010】

基本的に、本明細書に記載の細胞培養および組織培養、病理学、腫瘍学、分子生物学、免疫学、微生物学、遺伝学、ならびにタンパク質および核酸化学、およびハイブリダイゼーションに関連して使用される命名法および技術は、当該分野において周知であり、かつ、一般的に使用されているものである。通常、本開示の方法および技術は、別段の指定のない限り、当該分野において周知であり、かつ、本明細書全体を通じて引用され、論じられている様々な一般的な参考文献やより具体的な参考文献に記載されている、標準的な方法に従って実施される。例えば、Sambrook et al. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (第二版、Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989))を参照のこと。酵素反応や精製技術は、当該分野において一般的に達成されるかまたは本明細書に記載するように、製造業者の説明に従って実施される。本明細書に記載の分析化学、合成有機化学、ならびに薬品および医薬品化学に関して使用する命名法、および実験手順や技術は、当該分野において周知、かつ、一般的に使用されているものである。化学合成、化学分析、医薬品の調製、製剤化、および送達、ならびに患者の治療には、標準的な技術を使用する。

30

40

【0011】

「ヒトTNF- 」(本明細書ではhTNF- と略す)という用語は、三量体のサイトカインタンパク質を含むものである。この用語には、17.5 kDのTNF- タンパク質を3つ含む、ホモ単量体のタンパク質が含まれる。このホモ三量体タンパク質は、「TNF- タンパク質」と称される。ヒト「TNF- 」という用語は、標準的な組換え法によって調製可能な、組換えヒトTNF- (rhTNF-)を含むことを意図している。表1にヒトTNF- の配列を示す。

【0012】

【表 1】

表 1. ヒト TNF- α の配列

タンパク質	配列識別名	配列
		12345678901234567890123456789012
ヒト TNF- α	配列番号 1	VRSSSRTPSDKPVAVHVVANPQAEGQLQWLNDR ANALLANGVELRDNQLVVPSEGLYLIYSQVLF KGQGC PSTH VLLTHTISRIAVSYQTKVNLLSA IKSPCQRETPEGAEAKPWYEP IYLGGVFQLEK GDRLSAEINRPDYLDFAESGQVYFGI IAL

10

【0013】

「抗体」という用語は広義には、4つのポリペプチド鎖、すなわち2つの重(H)鎖および2つの軽(L)鎖からなる任意の免疫グロブリン(Ig)分子またはその抗原結合部分か、あるいは、Ig分子に必須のエピトープ結合特性を保持している、その任意の機能性断片、突然変異体、変異体、または誘導体を指す。そのような突然変異体、変異体、または誘導体の形式の抗体は当該分野において知られている。

20

【0014】

完全長抗体の各重鎖は、重鎖可変領域(本明細書では、HCVRまたはVHと略す)と重鎖定常領域を含む。重鎖定常領域は3つのドメイン、すなわちCH1、CH2およびCH3を含む。各軽鎖は軽鎖可変領域(本明細書ではLCVRまたはVLと略す)および軽鎖定常領域を含む。軽鎖定常領域は1つのドメインであるCLから成る。VH領域とVL領域はさらに、相補性決定領域(CDR)と呼ばれる超可変領域と、フレームワーク領域(FR)と呼ばれ、より保存されている散在している領域とに分けられ得る。VHとVLはそれぞれ、3つのCDRと4つのFRを含み、これらは、アミノ末端からカルボキシ末端に向けて、FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4という順番に配置されている。免疫グロブリン分子はいずれの型(例えば、IgG、IgE、IgM、IgD、IgAおよびIgY)、クラス(例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1およびIgA2)、またはサブクラスであってもよい。

30

【0015】

結合タンパク質の「抗原-結合部分」または「抗原結合領域」(もしくは単に「抗原結合部分」という用語は、抗原(例えばhTNF-)に特異的に結合する能力を保持している、結合タンパク質の1つ以上断片を指す。結合タンパク質の抗原結合機能は、完全長結合タンパク質の断片によって行われ得る。そのような結合タンパク質の実施形態は、双特異性、二重特異的、または多重特異的な形式を有し、2つ以上の異なる抗原に特異的に結合し得る。結合タンパク質の「抗原-結合部分」という用語に包含される結合断片の例としては、(i)VL、VH、CLおよびCH1ドメインからなる一価の断片であるFab断片、(ii);ヒンジ領域のジスルフィド架橋で連結した2つのFab断片を含む二価の断片であるF(ab')₂断片、(iii)VHおよびCH1ドメインからなるFd断片、(iv)抗体の単一のアームのVLおよびVHドメインからなるFv断片、(v)単一の可変ドメインを含むdAb断片(Ward et al. (1989) Nature 341:544-546、WinterらのPCT出願である国際公開第90/05144号A1)、および(vi)単離した相補性決定領域(CDR)が挙げられる。さらに、Fv断片の2つのドメインであるVLとVHが別個の遺伝子によってコードされているとしても、それらは、VLおよびVH領域の対が一価の分子を形成する一本のタンパク質とすることができる合成リンカーを使った組換え法により、連結することができ

40

50

る（一本鎖 Fv (scFv) として知られている；例えば、Bird et al. (1988) Science 242:423-426；および Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883 を参照のこと）。そのような一本鎖結合タンパク質も、結合タンパク質の「抗原 - 結合部分」という用語に包含されることが意図される。他の形態の一本鎖結合タンパク質、例えばディアボディも包含される。ディアボディは二価の、双特異性結合タンパク質であり、VH および VL ドメインが単一のポリペプチド鎖として発現しているが、同じ鎖の 2 つのドメインを対合させるには短いリンカーを使うことで、ドメインが別の鎖の相補的なドメインと対合するように強制し、2 つの抗原結合部位を作出している（例えば、Holliger, et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448；Poljak, et al. (1994) Structure 2:1121-1123 を参照のこと）。

10

【0016】

「結合タンパク質」という用語は、本明細書で開示の抗原結合部分を 1 つ以上含むポリペプチドを指し、必要に応じて、リンカーポリペプチドまたは定常ドメインに連結されている。リンカーポリペプチドは、ペプチド結合で結合している 2 つ以上のアミノ酸残基を含み、1 つ以上の抗原結合部分を連結するのに用いられる。このようなリンカーポリペプチドは、当該分野において良く知られている（例えば Holliger, et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448；Poljak, et al. (1994) Structure 2:1121-1123 を参照のこと）。定常ドメインは、重鎖または軽鎖定常ドメインを指す。ヒト IgG 重鎖および軽鎖定常ドメインのアミノ酸配列は当該分野では知られており、また、表 2 に示す。

20

【0017】

【表 2】

表 2. ヒト IgG 重鎖定常ドメインおよび軽鎖定常ドメインの配列

タンパク質	配列識別名	配列
		12345678901234567890123456789012
Igγ1 定常領域	配列番号 2	ASTKGPSVFFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHYT QKSLSLSPGK

30

40

タンパク質	配列識別名	配列
		12345678901234567890123456789012
Ig γ 1 定常領域 変異体	配列番号 3	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
Ig κ 定常領域	配列番号 4	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDST YLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
Ig λ 定常領域	配列番号 5	QPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDF YPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNK YAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVE KTVAPTECS

10

20

30

40

50

【 0 0 1 8 】

結合タンパク質またはその抗原結合部分は、結合タンパク質または結合タンパク質部分が、1つ以上の他のタンパク質またはペプチドと、共有的にまたは非共有的に会合することによって形成される、より大きな免疫接着分子の一部であってもよい。そのような免疫接着分子の例としては、ストレプトアビジンのコア領域を使用した四量体 s c F v 分子の作成 (Kipriyanov, et al. (1995) Hum. Antibod. Hybridomas 6:93-101) ならびに、システイン残基、マーカールペプチドおよび C 末端ポリヒスチンタグを使用した二価のビオチン化 s c F v 分子の作成 (Kipriyanov, et al. (1994) Mol. Immunol. 31:1047-1058) がある。抗体部分、例えば Fab 断片および F(ab')₂ 断片は、慣習的な技術、例えば完全な抗体をそれぞれバインまたはペプシンで消化することによって、完全な抗体から調製することができる。さらに、結合タンパク質、結合タンパク質部分および免疫接着分子は、本明細書に記載したように、組換え DNA 技術によって得ることもできる。

【 0 0 1 9 】

「単離された結合タンパク質」とは、別の抗原特異性をもつ他の結合タンパク質を実質的に含まない、結合タンパク質またはその抗原結合部分を指す（例えば、hTNF- に特異的に結合する単離された結合タンパク質は、hTNF- 以外の抗原に特異的に結合する結合タンパク質を実質的に含まない）。しかしながら、hTNF- に特異的に結合する単離された結合タンパク質は、他の抗原に対して、例えばTNF- 分子から他の種に対して、交差反応性を有してもよい。さらに、単離された結合タンパク質は、他の細胞性物質および/または化学物質を実質的に含まない。

【0020】

「ヒト結合タンパク質」という用語は、ヒト生殖系列の免疫グロブリンの配列に由来する可変領域と定常領域を有する結合タンパク質、またはその抗原結合部分を含む。本開示のヒト結合タンパク質は、例えばCDRに、具体的にはCDR3に、ヒトの生殖系列の免疫グロブリン配列にはコードされていないアミノ酸残基（例えば、インビトロでの無作為なもしくは部位特異的な突然変異生成によって、またはインビボでの体細胞突然変異によって導入された突然変異）を含み得る。しかしながら、「ヒト結合タンパク質」という用語は、そのCDR配列が別の哺乳類の種、例えばマウスの生殖系列に由来し、ヒトのフレームワーク配列に移植された結合タンパク質を含むことは意図しない。

10

【0021】

「カバット (Kabat) の番号付け」、「カバットの定義」および「カバットのラベリング」という用語は、本明細書では同じ意味で使用される。当該技術分野で認識されているこれらの用語は、抗体またはその抗原結合部分の重鎖および軽鎖可変領域において、他のアミノ酸残基よりも変わりやすい（すなわち超可変な）アミノ酸残基に番号をつける体系を指す (Kabat et al. (1971) Ann. NY Acad. Sci. 190:382-391 および Kabat, et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第五版, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242)。Kontermann および Dubel 編, Antibody Engineering (Springer-Verlag, Berlin, 2001)、第31章、特に432-433頁の、Martinによる「Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains」もまた参照のこと。重鎖可変領域では、超可変領域は、CDR1の31番目から35番目のアミノ酸に、CDR2の50番目から65番目のアミノ酸に、およびCDR3の95番目から106番目のアミノ酸にわたる。軽鎖可変領域では、超可変領域は、CDR1の24番目から34番目のアミノ酸に、CDR2の50番目から56番目のアミノ酸に、およびCDR3の89番目から97番目のアミノ酸にわたる。

20

30

【0022】

「CDR」という用語は、抗体可変配列中の相補性決定領域を指す。重鎖および軽鎖の可変領域にはそれぞれ3つのCDRが含まれ、これらは、各可変領域につき、CDR1、CDR2およびCDR3と命名されている。「CDRのセット」という用語は、抗原に結合できる単一の可変領域内に生じている、3つのCDRの組を指す。これらのCDR間の正確な境界は、異なる体系によってそれぞれ個別に定義されている。Kabatらによって説明されたこの体系は (Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987) and (1991))、抗体の任意の可変領域に適用可能な明確な残基の番号付けシステムを提供しているだけでなく、3つのCDRを定義している、正確な残基境界も提供している。これらのCDRは、カバットのCDRと呼ぶこともできる。Chothiaと共同研究者らは (Chothia and Lesk (1987) J. Mol. Biol. 196:901-917) および Chothia et al

40

50

． (1 9 8 9) Nature 3 4 2 : 8 7 7 - 8 8 3)、カバットのCDRに含まれる特定の小部分は、アミノ酸配列のレベルでは非常に多様性に富んでいるにも関わらず、ほぼ同一のペプチド骨格の高次構造をとっていることを見出した。これらの小部分は、L 1、L 2 および L 3 または H 1、H 2 および H 3 と命名されており、ここで、「L」および「H」はそれぞれ、軽鎖および重鎖領域を表している。これらの領域は、コチアのCDRと呼ばれることもあり、カバットのCDRと重複している境界をもつ。カバットのCDRと重複していて、境界を明確にしている他のCDRについては、Padlan (1 9 9 5) FASEB J. 9 : 1 3 3 - 1 3 9 および MacCallum (1 9 9 6) J. Mol. Biol. 2 6 2 (5) : 7 3 2 - 7 4 5) による記載がある。さらに他のCDR境界規定は上述の体系の1つに厳密に従わないかもしれないが、それでもカバットCDRと重複しており、特定の残基、残基の群、または全CDRすら抗原結合に有意な影響を与えないという予想または実験的所見にてらして短縮または延長させることができる。本明細書で使用する方法は、これらの体系のいずれかによるCDRの定義を用いてもよいが、特定の実施形態ではカバットの定義またはコチアが定義したCDRを使用する。

10

【0023】

ヒト重鎖および軽鎖アクセプター配列は当該分野では公知である。本開示の一実施形態では、ヒト重鎖および軽鎖アクセプター配列は、V-base (hvbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/) またはIMGT (登録商標)、international Immunogenetics information system (登録商標) (himgt.cines.fr/textes/IMGTrepertoire/LocusGenes/) から列挙された配列から選択される。本開示の別の実施形態では、ヒト重鎖および軽鎖アクセプター配列はそれぞれ、表3および表4に記載した配列から選択される。

20

【0024】

【表3】

表3. 重鎖アクセプター配列

配列番号	タンパク質領域	配列
		12345678901234567890123456789012
配列番号6	VH4-59 FR1	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISS

30

配列番号	タンパク質領域	配列
		12345678901234567890123456789012
配列番号 7	VH4-59 FR2	WIRQPPGKGLEWIG
配列番号 8	VH4-59 FR3	RVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCAR
配列番号 9	VH3-53 FR1	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTVSS
配列番号 10	VH3-53 FR2	WVRQAPGKGLEWVS
配列番号 11	VH3-53 FR3	RFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAR
配列番号 12	JH1/JH4/JH5 FR4	WGQGT LVT VSS
配列番号 13	JH2 FR4	WGRGT LVT VSS
配列番号 14	JH6 FR4	WGQGT T V T VSS

10

【 0 0 2 5 】

【 表 4 】

表 4. 軽鎖アクセプター配列

20

配列番号	タンパク質領域	配列
		12345678901234567890123456789012
配列番号 15	1-39/012 FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITC
配列番号 16	1-39/012 FR2	WYQQKPGKAPKLLIY
配列番号 17	1-39/012 FR3	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLPEDFATYYC
配列番号 18	3-15/L2 FR1	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSC
配列番号 19	3-15/L2 FR2	WYQQKPGQAPRLLIY
配列番号 20	3-15/L2 FR3	GIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYC
配列番号 21	JK2 FR4	FGQGTKLEIKR

30

【 0 0 2 6 】

本明細書で使用される「多価結合タンパク質」という用語は、2つ以上の抗原結合部位を含む結合タンパク質を表す。多価結合タンパク質は3つ以上の抗原結合部位を有するように変更されていてもよく、また、多価結合タンパク質は通常、天然に存在する抗体ではない。「多重特異性結合タンパク質」という用語は、2つ以上の、関連のある標的または関連のない標的に結合することができる結合タンパク質を指す。本明細書で使用する場合、二重可変ドメイン(DVD)結合タンパク質または二重可変免疫グロブリン(DVD-Ig)とは、2つ以上の抗原結合部位を有し、かつ、四価のまたは多価の結合タンパク質である。そのようなDVD結合タンパク質は単一特異性、つまり1つの抗原に結合するものであっても、または多重特異性、つまり2つ以上の抗原に結合できるものであってもよい。2つの重鎖DVD-Igポリペプチドと2つの軽鎖DVD-Igポリペプチドを含むDVD結合タンパク質は、DVD-Igと称される。DVD-Igの半分はそれぞれ、重鎖DVD-Igポリペプチドと軽鎖DVD-Igポリペプチド、および2つの抗原結合部位を含む。各結合部位は、重鎖可変ドメインと軽鎖可変ドメインを含み、1つの抗原結合

40

50

部位につき、合計で6つのCDRが抗原結合に關与する。DVD結合タンパク質およびDV結合タンパク質の作成方法は、米国特許第7,612,181号に開示されている。

【0027】

本開示の一態様は、TNF- に結合可能な結合タンパク質を含むDVD結合タンパク質に関する。特定の実施形態では、このDVD結合タンパク質は、TNF- と第二の標的に結合できる。

【0028】

「中和」という用語は、結合タンパク質がサイトカインに特異的に結合したときに、サイトカインの生物活性を中和することを指す。特定の実施形態では、中和結合タンパク質がhTNF- に結合すると、hTNF- の生物活性が阻害される。例えば、中和結合タンパク質がhTNF- に結合するとhTNF- の生物活性は、少なくとも約20%、40%、60%、80%、85%またはそれ以上低下する。中和結合タンパク質によるhTNF- の生物活性の阻害は、当該分野で良く知られている、hTNF- 生物活性の1つ以上の指標を測定することによって評価することができる。例えば、L929細胞における、TNF- の細胞毒性の中和である。

10

【0029】

別の実施形態では、「アゴニスト」または「刺激する」という用語は、結合タンパク質がTNF- 、例えばhTNF- に特異的に結合した場合の、TNF- の生物活性の上昇を指す。特定の実施形態では、刺激性の結合タンパク質がTNF- に結合すると、TNF- の生物活性の上昇をもたらされる。特定の実施形態では、アゴニスト結合タンパク質はTNF- に結合し、TNF- の生物活性を少なくともおよそ20%、40%、60%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、および100%上昇させる。アゴニスト結合タンパク質によるTNF- の生物活性の阻害は、当該分野で良く知られている、TNF- 生物活性の1つ以上の指標を測定することによって評価することができる。

20

【0030】

「活性」という用語は活性、例えば、結合タンパク質（例えば、TNF- 抗原に結合するhTNF- 結合タンパク質）の抗原に対する結合特異性/親和性、および/または結合タンパク質（例えば、hTNF- への結合がhTNF- の生物活性を阻害するhTNF- 結合タンパク質）の中和（例えば、L929細胞におけるTNF- の細胞毒性の中和）能力（または刺激能力）を含む。

30

【0031】

「表面プラズモン共鳴」という用語は、バイオセンサーマトリックス内のタンパク質濃度の変化を例えばBIACOREシステム（Pharmacia Biosensor AB、ウプサラ、スウェーデンおよびニュージャージー州ピスカタウェイ）を用いて検出することにより、リアルタイムの生物特異的な相互作用を分析することができる光学現象を指す。

【0032】

「 K_{on} 」という用語は、当該分野で知られているように、例えば抗体/抗原複合体を形成するための結合タンパク質（例えば、抗体）の抗原に対する会合に対する結合速度定数を指す。「 K_{on} 」は、「会合速度定数」または「 k_a 」としても知られており、本明細書においては同じ意味で使用する。抗体のその標的抗原に対する結合速度または抗体と抗原間の複合体形成速度を示すこの値は以下の等式によっても示される：

40

抗体（「Ab」）+ 抗原（「Ag」） $Ab - Ag$ 。

【0033】

「 K_{off} 」という用語は、当該分野で知られているように、結合タンパク質（例えば抗体）が、例えば抗体/抗原複合体から離脱するための解離速度定数、つまり「解離定数」を指す。抗体がその標的抗原から解離する速度、または時間経過とともにAb-Ag複合体が分離して遊離抗体と抗原になるのを示すこの値は、以下の等式によっても表される：

50

$Ab + Ag \rightleftharpoons Ab - Ag$ 。

【0034】

「 K_D 」という用語は「平衡解離定数」を指し、平衡状態での力価測定によって得られた値、または解離定数 (K_{off}) を結合定数 (K_{on}) で除すことによって得られた値を指す。結合定数、解離定数および平衡解離定数は、抗体の抗原に対する結合親和性を表すのに用いられる。結合定数および解離定数を決定するための方法は当該分野においてよく知られている。蛍光を使用した技術を用いることで、高感度と、試料を平衡状態の生理学的な緩衝液中で試験する能力が得られる。他の実験手法や装置、例えば *BIAcore* (登録商標) (生体分子相互作用解析) アッセイを使用することができる (例えば、装置は、*BIAcore International AB*、*GE Healthcare company*、ウプサラ、スウェーデンから入手可能である)。加えて、*KinExA* (登録商標) (*Kinetic Exclusion Assay*) アッセイ (*Sapidyne Instruments* (ボイシ、アイダホ) から入手可能) も使用することができる。

10

【0035】

I. ヒト TNF- α に結合する結合タンパク質

本開示の一態様は、TNF- α に、高い親和性、遅い解離速度、および高い中和能力で結合する、単離された完全長ヒト抗ヒト TNF 結合タンパク質、例えばモノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供する。本開示の第二の態様は、TNF- α に、高い親和性、遅い解離速度、および高い中和能力で結合する親和性成熟した完全長ヒト抗 TNF 結合タンパク質、例えばモノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供する。

20

【0036】

A. TNF- α 結合タンパク質の作成方法

本明細書で開示の結合タンパク質は、当該分野で知られているいくつかの技術のいずれによって作成してもよい。

【0037】

1. トランスジェニック動物を使った抗 TNF- α モノクローナル抗体

本開示の別の実施形態では、ヒト免疫グロブリン遺伝子座の一部または全てを含む非ヒト動物を、TNF- α 抗原で免疫することによって、結合タンパク質を産生する。特定の実施形態では、この非ヒト動物は、*XENOMOUSE* トランスジェニックマウス、つまり、ヒト免疫グロブリン遺伝子座のラージフラグメントを含み、マウス抗体の産生が欠損している、遺伝子改変された系統のマウスである。例えば *Green et al.* (1994) *Nature Genet.* 7: 13-21 および米国特許第 5,916,771 号; 同第 5,939,598 号; 同第 5,985,615 号; 同第 5,998,209 号; 同第 6,075,181 号; 同第 6,091,001 号; 同第 6,114,598 号および同第 6,130,364 号を参照のこと。また、1991年7月25日に公開の国際公開第 91/10741 号; 1994年2月3日に公開の国際公開第 94/02602 号; 1996年10月31日に両方とも公開された国際公開第 96/34096 号および同第 96/33735 号; 1998年4月23日に公開の国際公開第 98/16654 号; 1998年6月11日に公開の国際公開第 98/24893 号; 1998年11月12日に公開の国際公開第 98/50433 号; 1999年9月10日に公開の国際公開第 99/45031 号; 1999年10月21日に公開の国際公開第 99/53049 号; 2000年2月24日に公開の国際公開第 00/09560 号; ならびに 2000年6月29日に公開の国際公開第 00/37504 号も参照のこと。*XENOMOUSE* トランスジェニックマウスは、完全長ヒト抗体の、成体様ヒトレパートリーを産生し、抗原特異的ヒト Mab を生成する。*XENOMOUSE* トランスジェニックマウスは、メガベースサイズの生殖細胞系統の構造をもったヒト重鎖遺伝子座と x 軽鎖遺伝子座の YAC 断片の導入を介して、ヒト抗体レパートリーのおよそ 80% を含有する。*Mendez et al.* (1997) *Nature Genet.* 15: 146-156; *Green and Jakobovits* (1998) *J. Exp. Med.*

30

40

50

188:483 - 495を参照のこと。

【0038】

2. 組換え抗体ライブラリーを使った抗TNF- α モノクローナル抗体

所望の結合特異性を有する抗体を特定するために、抗体ライブラリーをスクリーニングするインビトロ法を使用して、本明細書で開示の結合タンパク質を作成することもできる。そのような、組換え抗体ライブラリーをスクリーニングする方法は当該分野で公知であり、また、例えば、米国特許第5,223,409号；国際公開第92/18619；国際公開第91/17271号；国際公開第92/20791号；国際公開第92/15679号；国際公開第93/01288号；国際公開第92/01047号；国際公開第92/09690号；および国際公開第97/29131号；Fuchs et al. (1991) Bio/Technology 9:1369-1372；Hay et al. (1992) Hum. Antibod. Hybridomas 3:81-85；Huse et al. (1989) Science 246:1275-1281；McCafferty et al. (1990) Nature 348:552-554；Griffiths et al. (1993) EMBO J. 12:725-734；Hawkins et al. (1992) J. Mol. Biol. 226:889-896；Clackson et al. (1991) Nature 352:624-628；Gram et al. (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:3576-3580；Garrard et al. (1991) Bio/Technology 9:1373-1377；Hoogenboom et al. (1991) Nucl. Acid Res. 19:4133-4137；およびBarbas et al. (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:7978-7982；および米国特許出願第2003.0186374号に記載されている方法が含まれる。

10

20

【0039】

組換え抗体ライブラリーは、TNF- α またはTNF- β の一部を使って免疫化した対象に由来するものであってよい。あるいは、組換え抗体ライブラリーはナイーブ対象、つまり、TNF- α によって免疫化されていない対象に由来するもの、例えばヒトTNF- α によって免疫化されていないヒト対象に由来するヒト抗体ライブラリーであってもよい。本明細書で開示の抗体は、TNF- α を認識する抗体を選択するために、ヒトTNF- α を含むペプチドを使って組換え抗体ライブラリーのスクリーニングを行うことで選択される。そのようなスクリーニングおよび選択を実施するための方法、例えば前段の参考文献に記載されている方法のように、当該分野において良く知られている。hTNF- α に対する特定の結合親和性を有する本明細書で開示の抗体、例えば特定の k_{off} 速度定数をもってヒトTNF- α から解離する抗体を選択するためには、当該分野で公知の表面プラズモン共鳴法を使って、所望の k_{off} 速度定数をもつ抗体を選択することができる。hTNF- α に対して特定の中和活性を有する本明細書で開示の抗体、例えば特定のIC₅₀を有する抗体を選択するためには、hTNF- α 活性の阻害を評価するための、当該分野で知られている標準的な方法を使用してもよい。

30

40

【0040】

一態様では、TNF- α 、例えばヒトTNF- α に結合する単離された結合タンパク質またはその抗原結合部分を提供する。特定の実施形態では、この結合タンパク質は中和結合タンパク質である。様々な実施形態においてこの結合タンパク質は、組換え結合タンパク質またはモノクローナル抗体である。

【0041】

例えば、本明細書で開示の結合タンパク質は、当該分野で知られている様々なファージディスプレイ法を使って生成することもできる。ファージディスプレイ法では、機能性の抗体ドメインが、それらをコードするポリヌクレオチド配列を保持するファージ粒子の表面上に提示される。具体的には、そのようなファージを利用して、レパートリーまたはコ

50

ンビナトリアル抗体ライブラリー（例えばヒトまたはマウスの）から発現される抗原結合ドメインを提示させることができる。目的の抗原に結合する抗原結合ドメインを発現しているファージを、抗原、例えば標識した抗原または固体表面もしくはビーズに結合もしくは捕捉された抗原を使って選択または特定することができる。これらの方法で使用されるファージは、典型的には、ファージのクラスIII遺伝子またはクラスVIIII遺伝子のタンパク質のいずれかに組換えによって融合されたFab、Fvまたはジスルフィド安定化Fv抗体ドメインにより、ファージから発現されたfdおよびM13結合ドメインを含む繊維状ファージである。本明細書で開示の結合タンパク質を作成するために使用することが可能なファージディスプレイ法の例は、当該分野において見出すことができる。

【0042】

上記の参考文献中に記載されているように、ファージを選択した後は、例えば以下に詳述するように、ファージ由来の結合タンパク質のコード領域を単離し、ヒト結合タンパク質もしくはその他の所望の抗原結合断片のいずれかを含む完全な結合タンパク質を生成するために使用し、その後、所望の宿主、例えば哺乳類細胞、昆虫細胞、植物細胞、酵母、および細菌内で発現させることができる。例えば、当該分野で知られている方法、例えば国際公開第92/22324号； Mullinax et al. (1992) *BioTechniques* 12(6) : 864 - 869 ; および Sawai et al. (1995) *Am. J. Reprod. Immunol.* 34 : 26 - 34 ; および Better et al. (1998) *Science* 240 : 1041 - 1043 で開示されている方法を使用してFab、Fab' およびF(ab')₂断片を組換え的に産生する技術も用いることができる。一本鎖Fvおよび抗体を産生するために用いることができる技術の例としては、米国特許第4,946,778号および同第5,258,498号； Huston et al. (1991) *Methods Enzymol.* 203 : 46 - 88 ; Shu et al. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90 : 7995 - 7999 ; および Skerra et al. (1998) *Science* 240 : 1038 - 1041 に記載されている技術が挙げられる。

【0043】

ファージディスプレイによって組換え抗体ライブラリーのスクリーニングを行う代わりに、当該分野で知られている、大きなコンビナトリアルライブラリーをスクリーニングするための方法論を適用して、本明細書で開示の二重特異的結合タンパク質を特定することもできる。代替発現系の一様式としては、国際公開第98/31700号およびRoberts and Szostak (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94 : 12297 - 12302 に記載されているように、組換え抗体ライブラリーがRNA-タンパク質融合体として発現されるものがある。この系では、mRNAと、ペプチドまたはタンパク質との共有融合が作られ、この融合体は、3'末端にピューロマイシン（ペプチジルアクセプター-抗生物質）をその保持している合成mRNAのインビトロの翻訳をコードしている。従って、コードされているペプチドもしくはタンパク質のレパートリーに基づいて、例えば抗体もしくはその一部、例えば抗体もしくはその一部の、二重特異的抗原に対する結合に基づいて、mRNAの複雑な混合物（例えばコンビナトリアルライブラリー）から、特定のmRNAを濃縮することができる。そのようなライブラリーのスクリーニングから回収された、抗体をコードしている核酸配列またはその一部は、上述の組換え技術によって（例えば哺乳類の宿主細胞中で）発現させることができ、さらに、最初に選択した配列に変異を導入したmRNA-ペプチド融合体のスクリーニングをさらに繰り返すこと、または上述の、組換え抗体をインビトロで親和性成熟させるためのその他の方法のいずれかによる親和性成熟に供することができる。

【0044】

別のアプローチでは、本明細書で開示の結合タンパク質は、当該分野で知られている酵母ディスプレイ法を使って生成することもできる。酵母ディスプレイ法では、遺伝的な方法を使って、抗体ドメインを酵母の細胞壁につなぎ止め、そしてそれらを酵母の表面に提

10

20

30

40

50

示させる。具体的には、そのような酵母を利用して、レパートリーまたはコンビナトリアル抗体ライブラリー（例えばヒトまたはマウスの）から発現される抗原結合ドメインを提示させることができる。本明細書で開示の結合タンパク質を作成するために用いることができる酵母ディスプレイ法の例としては、Witttrupらに付与されている米国特許第6,699,658号およびFrenkenらに付与されている米国特許第6,114,147号に開示されている方法が挙げられる。

【0045】

B. 組換えTNF - 結合タンパク質の産生

本明細書で開示する結合タンパク質は、当該分野で知られているいくつかの技術のいずれによって産生してもよい。例えば、宿主細胞からの発現、ここで、重鎖および軽鎖をコードしている発現ベクターは、標準的な技術によって宿主細胞に導入される、がある。「導入」という用語の種々の形態は、外生のDNAを原核または真核宿主細胞に導入するために一般的に使用されている多様な技術、例えば、エレクトロポレーション、カルシウム-リン酸沈降、DEAE-デキストラン移入などを包含することを意図している。本明細書で開示する結合タンパク質は原核または真核の宿主細胞のいずれにおいても発現させることができるが、真核細胞、例えば、哺乳類の宿主細胞における結合タンパク質の発現を想定する。なぜならばそのような真核細胞（具体的には哺乳類の細胞）の方が原核細胞よりも、適切に折り畳まれていて、かつ、免疫学的に活性な結合タンパク質を構築し、分泌させるのに適しているからである。

【0046】

本明細書で開示する組換え結合タンパク質を発現させるための哺乳類の宿主細胞には、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞（例えばKaufman and Sharp (1982) J. Mol. Biol. 159:601-621のDHFR選択マーカーと共に使用される、Urlaub and Chasin (1980) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216-4220に記載されているdhfr-CHO細胞を含む）、NS0骨髓腫細胞、COS細胞およびSP2細胞が含まれる。結合タンパク質の遺伝子をコードしている組換え発現ベクターを哺乳類の宿主細胞に導入する場合、結合タンパク質は、その宿主細胞内で結合タンパク質が発現されるのに、特に、宿主細胞を生育させている培地中に抗体が分泌されるのに十分な期間宿主細胞を培養することで産生される。抗体は、標準的なタンパク質の精製法によって、培地から回収することができる。

【0047】

宿主細胞を使用して、機能性の結合タンパク質断片、例えばFab断片またはscFv分子を産生することもできる。上述の手順の変形も本開示の範囲内であると見なされる。例えば、宿主細胞に、本明細書で開示の結合タンパク質の軽鎖および/または重鎖のいずれかの機能性断片をコードしているDNAを導入することが望ましいこともあり得る。組換えDNA技術を用いて、目的の抗原への結合に必要なではない軽鎖および重鎖の一方または両方をコードしているDNAの一部または全てを除去してもよい。そのような切断型DNA分子から発現される分子もまた、本明細書で開示の結合タンパク質に包含される。加えて、本明細書で開示の結合タンパク質と第二の結合タンパク質を、標準的で化学的な架橋法によって架橋することで、一方の重鎖と一方の軽鎖が本明細書で開示の結合タンパク質で、他方の重鎖と軽鎖が目的の抗原以外の抗原に特異的な二機能性結合タンパク質が産生され得る。

【0048】

本明細書で開示する結合タンパク質またはその抗原結合部分の組換え発現の例示的な系では、重鎖と軽鎖の両方をコードしている組換え発現ベクターを、カルシウムとリン酸で仲介する形質移入によって、dhfr-CHO細胞に導入する。組換え発現ベクターの中では、遺伝子の転写を高レベルで誘導するために、重鎖および軽鎖遺伝子はそれぞれ、CMVエンハンサー/AcMPLPプロモーター制御エレメントに操作可能に連結されている。この組換え発現ベクターは、メトトレキサート選抜/増幅を使って、ベクターが形質移

10

20

30

40

50

入されたCHO細胞を選抜することを可能にするDHF R遺伝子も含んでいる。重鎖および軽鎖を発現させるために、選抜された形質転換宿主細胞を培養し、完全な結合タンパク質を培地から回収する。標準的な分子生物学的手法を用いて、組換え発現ベクターを準備し、宿主細胞の形質転換を行い、形質転換体を選抜し、宿主細胞を培養して結合タンパク質を培地から回収する。さらに、本明細書で開示する宿主細胞を好適な培地中で、本明細書で開示する組換え結合タンパク質が合成されるまで培養することによる、本明細書で開示する組換え結合タンパク質の合成方法も提供する。この方法は、培地から組換え結合タンパク質を単離することをさらに含む場合がある。

【0049】

II. hTNF - 結合タンパク質

A. 個々のクローンの配列

表5に、各VHおよびVL配列に由来するCDRを含む、完全長ヒト抗ヒトTNF結合タンパク質のVHおよびVLの配列を示す。

【0050】

【表5】

表5. 個々の完全長ヒト抗TNF- α VHの配列

タンパク質領域		配列	
		123456789012345678901234567890	
AE11-1 VH		配列番号 22	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT SYDVNWVRQATGQGLEWMGWMNPNSGNTGY AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCAIFDSYMDVWGKGLTVTVSS
AE11-1 VH	CDR-H1	配列番号 22 の 31～35 番目の残 基	SYDVN
AE11-1 VH	CDR-H2	配列番号 22 の 50～66 番目の残 基	WMNPNSGNTGYAQKFQG

10

20

30

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
AE11-1 VH	CDR-H3	配列番号 22 の 99～106 番目の 残基	FDSYMDV
AE11-1 VL		配列番号 23	SYELTQPPSVSLSPGQTARITCSGDALPKQ YAYWYQQKPGQAPVLIYKDERPSGIPER FSGSSSGTTVTLTISGAQAEDEADYYCQSA DSSGTSWVFGGGTKLTVL
AE11-1 VL	CDR-L1	配列番号 23 の 23～33 番目の残 基	SGDALPKQYAY
AE11-1 VL	CDR-L2	配列番号 23 の 49～55 番目の残 基	KDTERPS
AE11-1 VL	CDR-L3	配列番号 23 の 89～98 番目の残 基	SADSSGTSWV
AE11-5 VH		配列番号 24	EVQLVQSGAEVKKPGSSAKVSCASGGTFS SYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPILGTANY AQKFLGRVTITADESTSTVYMELSSLRSED TAVYYCARGLYYDPTRADYWGQGLTVTVSS
AE11-5 VH	CDR-H1	配列番号 24 の 31～35 番目の残 基	SYAIS
AE11-5 VH	CDR-H2	配列番号 24 の 50～66 番目の残 基	GIIPILGTANYAQKFLG

10

20

30

40

タンパク質領域			配列	
			123456789012345678901234567890	
AE11-5 VH	CDR-H3	配列番号 24 の 99～109 番目の 残基	GLYYDPTRADY	
AE11-5 VL		配列番号 25	DIVMTQSPDFHSVTPKEKVTITCRASQSIG SSLHWYQQKPDQSPKLLIRHASQSIGVPS RFSGSGSGTDFLTLSLEAEDAATYYCHQ SSSSPPPTFGQGTQVEIK	10
AE11-5 VL	CDR-L1	配列番号 25 の 24～34 番目の残 基	RASQSIGSSLH	20
AE11-5 VL	CDR-L2	配列番号 25 の 50～56 番目の残 基	HASQSIG	
AE11-5 VL	CDR-L3	配列番号 25 の 89～98 番目の残 基	HQSSSSPPPT	30
TNF-JK1 VH		配列番号 26	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGFTFN NYWMSWVRQAPGKLEWVANINHDESEKYY VDSAKGRFTISRDNAEKSLFLQMNSLRAED TAVYYCARIIRGRVGFYDYYNYAMDVWGQGT LTVSS	
TNF-JK1 VH	CDR-H1	配列番号 26 の 31～35 番目の残 基	NYWMS	40
TNF-JK1 VH	CDR-H2	配列番号 26 の 50～66 番目の残 基	NINHDESEKYYVDSAKG	

タンパク質領域			配列	
			123456789012345678901234567890	
TNF-JK1 VH	CDR-H3	配列番号 26 の 99～115 番目の 残基	IIRGRVGFDDYNYAMDV	
TNF-JK1 VL		配列番号 27	DIRLTQSPSPLSASVGDRTITCRASQSIG NYLNWYQHKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFSGTGSGTDFTLTISSLPEDFATYYCQE SYSLIFAGGTKVEIK	10
TNF-JK1 VL	CDR-L1	配列番号 27 の 24～34 番目の残 基	RASQSIGNYLN	20
TNF-JK1 VL	CDR-L2	配列番号 27 の 50～56 番目の残 基	AASSLQS	
TNF-JK1 VL	CDR-L3	配列番号 27 の 89～95 番目の残 基	QESYSLI	30
TNF-Y7C VH		配列番号 28	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGYTFS NYDINWVRQPTGQGLEWMGMDPNNNGNTGY AQKFVGRVTMTRDTSKTTAYLELSGLKSED TAVYYCARSSGSGGTWYKEYFQSWGQGTMTV TVSS	
TNF-Y7C VH	CDR-H1	配列番号 28 の 31～35 番目の残 基	NYDIN	40
TNF-Y7C VH	CDR-H2	配列番号 28 の 50～66 番目の残 基	WMDPNNNGTGYAQKFG	

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
TNF-Y7C VH	CDR-H3	配列番号 28 の 99～112 番目の 残基	KSSGSGGTWYKEYFQS
TNF-Y7C VL		配列番号 29	DIVMTQSPLSLPVTGEPASISCRSSQSLL HSNGYNYLDWYLQKPGQFPQLLIYLGSYRA SGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCMQRIEFPPGTFGQGTKLGIK
TNF-Y7C VL	CDR-L1	配列番号 29 の 24～39 番目の残 基	RSSQSLLSHNGYNYLD
TNF-Y7C VL	CDR-L2	配列番号 29 の 55～61 番目の残 基	LGSYRAS
TNF-Y7C VL	CDR-L3	配列番号 29 の 94～103 番目の 残基	MQRIEFPPGT
AE11-7 VH		配列番号 30	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGYSLT QYPIHWVRQAPGQRPEWMGWISPGNGNTKL SPKFQGRVTLSRDASAGTVFMDLSGLTSDD TAVYFCTSVDLGDHWGQGLVTVSS
AE11-7 VH	CDR-H1	配列番号 30 の 31～35 番目の残 基	QYPIH
AE11-7 VH	CDR-H2	配列番号 30 の 50～66 番目の残 基	WISPGNGNTKLSPKFQG

10

20

30

40

タンパク質領域			配列	
			123456789012345678901234567890	
AE11-7 VH	CDR-H3	配列番号 30 の 99～104 番目の 残基	VDLGDH	
AE11-7 VL		配列番号 31	DIVMTQSPEFQSVTPKEKVTITCRASQSIG SSLHWYQQKPDQSPKLLINYASQSFSGVPS RFSGGGSGTDFTLTINSLEAEDAATYYCHQ SSNLPITFGQGTRLEIK	10
AE11-7 VL	CDR-L1	配列番号 31 の 24～34 番目の残 基	RASQSIGSSLH	20
AE11-7 VL	CDR-L2	配列番号 31 の 50～56 番目の残 基	YASQSFS	
AE11-7 VL	CDR-L3	配列番号 31 の 89～97 番目の残 基	HQSSNLPIT	30
AE11-13 VH		配列番号 32	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFD DYPMHVWRQAPGEGLEWVSGISSNSASIGY ADSVKGRFTISRDNQNTLYLQMNSLGDED TAVYYCVSLTLGIGGQTLVTVSS	
AE11-13 VH	CDR-H1	配列番号 32 の 31～35 番目の残 基	DYPMH	40
AE11-13 VH	CDR-H2	配列番号 332 の 50～66 番目の残 基	GISSNSASIGYADSVKG	

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
AE11-13 VH	CDR-H3	配列番号 32 の 99～102 番目の 残基	LTLG
AE11-13 VL		配列番号 33	DIRLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSIG NYLHWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ SYSTLYSFGQGTKLEIK
AE11-13 VL	CDR-L1	配列番号 33 の 24～34 番目の残 基	RASQSIGNYLH
AE11-13 VL	CDR-L2	配列番号 33 の 50～56 番目の残 基	AASSLQS
AE11-13 VL	CDR-L3	配列番号 33 の 89～97 番目の残 基	QQSYSTLYS

10

20

30

【 0 0 5 1 】

B . I g G 変換クローン

表 6 に、I g G クローンに変換した（実施例 2 で詳しく論じる）、ヒト化抗 T N F M A K - 1 9 5 抗体の V H の配列を示す。

【 0 0 5 2 】

【表 6】

表 6. I g G 変換型ヒト化抗 T N F M A K - 1 9 5 A b クローンの V H 配列

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
A8 VH		配列番号 34	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVNWVRQAPGKGLEWVSMIAADGFTDYA SSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWHHGPVAYWGQGTLVTVSS
A8 VH	CDR-H1	配列番号 34 の 31～35 番目の残 基	NYGVN
A8 VH	CDR-H2	配列番号 34 の 50～65 番目の残 基	MIAADGFTDYASSVKG
A8 VH	CDR-H3	配列番号 34 の 98～106 番目の 残基	EWHHGPVAY
B5 VH		配列番号 35	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVSWVRQAPGKGLEWVSLIRGDGSTDYA SSLKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWHHGPVAYWGQGTLVTVSS
B5 VH	CDR-H1	配列番号 35 の 31～35 番目の残 基	NYGVS
B5 VH	CDR-H2	配列番号 35 の 50～65 番目の残 基	LIRGDGSTDYASSLKG
B5 VH	CDR-H3	配列番号 35 の 98～106 番目の 残基	EWHHGPVAY

10

20

30

40

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
rHC44 VH		配列番号 36	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVSWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA DTLKS RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVAYWGQGTLVTVSS
rHC44 VH	CDR-H1	配列番号 36 の 31～35 番目の残 基	NYGVS
rHC44 VH	CDR-H2	配列番号 36 の 50～65 番目の残 基	MIWADGSTHYADTLKS
rHC44 VH	CDR-H3	配列番号 36 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPVAY
rHC22 VH		配列番号 37	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTDYA DTVKG RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVAYWGQGTLVTVSS
rHC22 VH	CDR-H1	配列番号 37 の 31～35 番目の残 基	NYGVT
rHC22 VH	CDR-H2	配列番号 37 の 50～65 番目の残 基	MIWADGSTDYADTVKG
rHC22 VH	CDR-H3	配列番号 37 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPVAY

10

20

30

40

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
rHC81 VH		配列番号 38	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA DSVKSRTTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPLAYWGQGT LVTVSS
rHC81 VH	CDR-H1	配列番号 38 の 31～35 番目の残 基	NYGVT
rHC81 VH	CDR-H2	配列番号 38 の 50～65 番目の残 基	MIWADGSTHYADSVKS
rHC81 VH	CDR-H3	配列番号 38 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPLAY
rHC18 VH		配列番号 39	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWS DGSTDYA SSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVAYWGQGT LVTVSS
rHC18 VH	CDR-H1	配列番号 39 の 31～35 番目の残 基	NYGVT
rHC18 VH	CDR-H2	配列番号 39 の 50～65 番目の残 基	MIWS DGSTDYASSVKG
rHC18 VH	CDR-H3	配列番号 39 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPVAY

10

20

30

40

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
rHC14 VH		配列番号 40	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSLKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPAAAYWGQGTLLTVSS
rHC14 VH	CDR-H1	配列番号 40 の 31～35 番目の残 基	NYGVT
rHC14 VH	CDR-H2	配列番号 40 の 50～65 番目の残 基	MIWADGSTHYASSLKG
rHC14 VH	CDR-H3	配列番号 40 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPAAAY
rHC3 VH		配列番号 41	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVSWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSLKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVAYWGQGTLLTVSS
rHC3 VH	CDR-H1	配列番号 41 の 31～35 番目の残 基	NYGVS
rHC3 VH	CDR-H2	配列番号 41 の 50～65 番目の残 基	MIWADGSTHYASSLKG
rHC3 VH	CDR-H3	配列番号 41 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPVAY

10

20

30

40

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
rHC19 VH		配列番号 42	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPAA YWGQGT LTVSS
rHC19 VH	CDR-H1	配列番号 42 の 31～35 番目の残 基	NYGVT
rHC19 VH	CDR-H2	配列番号 42 の 50～65 番目の残 基	MIWADGSTHYASSVKG
rHC19 VH	CDR-H3	配列番号 42 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPAA Y
rHC34 VH		配列番号 43	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPSAYWGQGT LTVSS
rHC34 VH	CDR-H1	配列番号 43 の 31～35 番目の残 基	NYGVT
rHC34 VH	CDR-H2	配列番号 43 の 50～65 番目の残 基	MIWADGSTHYASSVKG
rHC34 VH	CDR-H3	配列番号 43 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPSAY

10

20

30

40

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
rHC83 VH		配列番号 44	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVAYWGQGTLTVSS
rHC83 VH	CDR-H1	配列番号 44 の 31～35 番目の残 基	NYGVT
rHC83 VH	CDR-H2	配列番号 44 の 50～65 番目の残 基	MIWADGSTHYASSVKG
rHC83 VH	CDR-H3	配列番号 44 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPVAY
S4-19 VH		配列番号 45	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVEWVRQAPGKGLEWVSGIWADGSTHYA DTVKS RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVAYWGQGTLTVSS
S4-19 VH	CDR-H1	配列番号 45 の 31～35 番目の残 基	NYGVE
S4-19 VH	CDR-H2	配列番号 45 の 50～65 番目の残 基	GIWADGSTHYADTVKS
S4-19 VH	CDR-H3	配列番号 45 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPVAY

10

20

30

40

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
S4-50 VH		配列番号 46	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVEWVRQAPGKGLEWVSGIWADGSTHYA DTVKS RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVGYWGQGLTVTVSS
S4-50 VH	CDR-H1	配列番号 46 の 31～35 番目の残 基	NYGVE
S4-50 VH	CDR-H2	配列番号 46 の 50～65 番目の残 基	GIWADGSTHYADTVKS
S4-50 VH	CDR-H3	配列番号 46 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPVGY
S4-63 VH		配列番号 47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVEWVRQAPGKGLEWVSGIWADGSTHYA DTVKS RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVGYWGQGLTVTVSS
S4-63 VH	CDR-H1	配列番号 47 の 31～35 番目の残 基	NYGVE
S4-63 VH	CDR-H2	配列番号 47 の 50～65 番目の残 基	GIWADGSTHYADTVKS
S4-63 VH	CDR-H3	配列番号 47 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPVGY

10

20

30

40

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
S4-55 VH		配列番号 48	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTDYA STVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVGYWGQGLTVTVSS
S4-55 VH	CDR-H1	配列番号 48 の 31～35 番目の残 基	NYGVT
S4-55 VH	CDR-H2	配列番号 48 の 50～65 番目の残 基	MIWADGSTDYASTVKG
S4-55 VH	CDR-H3	配列番号 48 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPVGY
S4-6 VH		配列番号 49	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVAYWGQGLTVTVSS
S4-6 VH	CDR-H1	配列番号 49 の 31～35 番目の残 基	NYGVT
S4-6 VH	CDR-H2	配列番号 49 の 50～65 番目の残 基	MIWADGSTHYASSVKG
S4-6 VH	CDR-H3	配列番号 49 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPVAY

10

20

30

40

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
S4-18 VH		配列番号 50	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA DSVKS RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPLAYWGQGLTVTVSS
S4-18 VH	CDR-H1	配列番号 50 の 31～35 番目の残 基	NYGVT
S4-18 VH	CDR-H2	配列番号 50 の 50～65 番目の残 基	MIWADGSTHYADSVKS
S4-18 VH	CDR-H3	配列番号 50 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPLAY
S4-31 VH		配列番号 51	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVQWVRQAPGKGLEWVSGIGADGSTAYA SSLKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHSGLAYWGQGLTVTVSS
S4-31 VH	CDR-H1	配列番号 51 の 31～35 番目の残 基	NYGVQ
S4-31 VH	CDR-H2	配列番号 51 の 50～65 番目の残 基	GIGADGSTAYASSLKG
S4-31 VH	CDR-H3	配列番号 51 の 98～106 番目の 残基	EWQHSGLAY

10

20

30

40

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
S4-34 VH		配列番号 52	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVSWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA DTVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPLAYWGQGTLTVSS
S4-34 VH	CDR-H1	配列番号 52 の 31～35 番目の残 基	NYGVS
S4-34 VH	CDR-H2	配列番号 52 の 50～65 番目の残 基	MIWADGSTHYADTVKG
S4-34 VH	CDR-H3	配列番号 52 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPLAY
S4-74 VH		配列番号 53	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA DTVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPLAYWGQGTLTVSS
S4-74 VH	CDR-H1	配列番号 53 の 31～35 番目の残 基	NYGVT
S4-74 VH	CDR-H2	配列番号 53 の 50～65 番目の残 基	MIWADGSTHYADTVKG
S4-74 VH	CDR-H3	配列番号 53 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPLAY

10

20

30

40

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
S4-12 VH		配列番号 54	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVAYWGQGTLLTVSS
S4-12 VH	CDR-H1	配列番号 54 の 31～35 番目の残 基	NYGVT
S4-12 VH	CDR-H2	配列番号 54 の 50～65 番目の残 基	MIWADGSTHYASSVKG
S4-12 VH	CDR-H3	配列番号 54 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPVAY
S4-54 VH		配列番号 55	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVAYWGQGTLLTVSS
S4-54 VH	CDR-H1	配列番号 55 の 31～35 番目の残 基	NYGVT
S4-54 VH	CDR-H2	配列番号 55 の 50～65 番目の残 基	MIWADGSTHYASSVKG
S4-54 VH	CDR-H3	配列番号 55 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPVAY

10

20

30

40

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
S4-17 VH		配列番号 56	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVAYWGQGTLLTVSS
S4-17 VH	CDR-H1	配列番号 56 の 31～35 番目の残 基	NYGVT
S4-17 VH	CDR-H2	配列番号 56 の 50～65 番目の残 基	MIWADGSTHYASSVKG
S4-17 VH	CDR-H3	配列番号 56 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPVAY
S4-40 VH		配列番号 57	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVAYWGQGTLLTVSS
S4-40 VH	CDR-H1	配列番号 57 の 31～35 番目の残 基	NYGVT
S4-40 VH	CDR-H2	配列番号 57 の 50～65 番目の残 基	MIWADGSTHYASSVKG
S4-40 VH	CDR-H3	配列番号 57 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPVAY

10

20

30

40

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
S4-24 VH		配列番号 58	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVAYWGQGLVTVSS
S4-24 VH	CDR-H1	配列番号 58 の 31～35 番目の残 基	NYGVT
S4-24 VH	CDR-H2	配列番号 58 の 50～65 番目の残 基	MIWADGSTHYASSVKG
S4-24 VH	CDR-H3	配列番号 58 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPVAY

10

20

【 0 0 5 3 】

表 7 に、I g G クローンに変換した（実施例 2 で詳しく議論する）、ヒト化抗 T N F M A K - 1 9 5 抗体の V L の配列を示す。

【 0 0 5 4 】

【表 7】

表 7. I g G 変換型ヒト化抗 T N F M A K - 1 9 5 A b クローンの V L 配列

30

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
hMAK195 VL. 1 VL		配列番号 59	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQAVS SAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPS RFSGSGSGTDFLTLSLQPEDFATYYCQQ HYSTPFTFGQGTKLEIKR
hMAK195 VL. 1 VL	CDR-L1	配列番号 59 の 24～34 番目の残 基	KASQAVSSAVA

40

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
hMAK195 VL. 1 VL	CDR-L2	配列番号 59 の 50～56 番目の残 基	WASTRHT
hMAK195 VL. 1 VL	CDR-L3	配列番号 59 の 89～97 番目の残 基	QQHYSTPFT
S4-24 VL		配列番号 60	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQLVS SAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASTLHTGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ HYRTPFTFGQGTKLEIKR
S4-24 VL	CDR-L1	配列番号 60 の 24～34 番目の残 基	RASQLVSSAVA
S4-24 VL	CDR-L2	配列番号 60 の 50～56 番目の残 基	WASTLHT
S4-24 VL	CDR-L3	配列番号 60 の 89～97 番目の残 基	QQHYRTPFT
S4-40 VL		配列番号 61	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQLVS SAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ HYRTPFSFGQGTKLEIKR
S4-40 VL	CDR-L1	配列番号 61 の 24～34 番目の残 基	RASQLVSSAVA

10

20

30

40

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
S4-40 VL	CDR-L2	配列番号 61 の 50～56 番目の残 基	WASTRHS
S4-40 VL	CDR-L3	配列番号 61 の 89～97 番目の残 基	QQHYRTPFS
S4-17 VL		配列番号 62	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQLVS SAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ HYRTPFTFGQGTKLEIKR
S4-17 VL	CDR-L1	配列番号 62 の 24～34 番目の残 基	RASQLVSSAVA
S4-17 VL	CDR-L2	配列番号 62 の 50～56 番目の残 基	WASTRHS
S4-17 VL	CDR-L3	配列番号 62 の 89～97 番目の残 基	QQHYRTPFT
S4-54 VL		配列番号 63	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQLVS SAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASARHTGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ HYKTPFSFGQGTKLEIKR
S4-54 VL	CDR-L1	配列番号 63 の 24～34 番目の残 基	RASQLVSSAVA

10

20

30

40

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
S4-54 VL	CDR-L2	配列番号 63 の 50～56 番目の残 基	WASARHT
S4-54 VL	CDR-L3	配列番号 63 の 89～97 番目の残 基	QQHYKTPFS
S4-12 VL		配列番号 64	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRASQLVS SAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASARHTGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ HYKTPFTFGQGTKLEIKR
S4-12 VL	CDR-L1	配列番号 64 の 24～34 番目の残 基	RASQLVSSAVA
S4-12 VL	CDR-L2	配列番号 64 の 50～56 番目の残 基	WASARHT
S4-12 VL	CDR-L3	配列番号 64 の 89～97 番目の残 基	QQHYKTPFT
S4-74 VL		配列番号 65	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRASQLVS SAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASARHTGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ HYRTPFTFGQGTKLEIKR
S4-74 VL	CDR-L1	配列番号 65 の 24～34 番目の残 基	RASQLVSSAVA

10

20

30

40

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
S4-74 VL	CDR-L2	配列番号 65 の 50～56 番目の残 基	WASARHT
S4-74 VL	CDR-L3	配列番号 65 の 89～97 番目の残 基	QQHYRTPFT
S4-34 VL		配列番号 66	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQLVS SAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPS RFSGSGSGTDFLTLSLQPEDFATYYCQQ HYRTPFTFGQGTKLEIKR
S4-34 VL	CDR-L1	配列番号 66 の 24～34 番目の残 基	RASQLVSSAVA
S4-34 VL	CDR-L2	配列番号 66 の 50～56 番目の残 基	WASTRHT
S4-34 VL	CDR-L3	配列番号 66 の 89～97 番目の残 基	QQHYRTPFT
S4-31 VL		配列番号 67	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGVV SALAWYQQKPGKAPKLLIYWASALHSGVPS RFSGSGSGTDFLTLSLQPEDFATYYCQQ HYSAPFTFGQGTKLEIKR
S4-31 VL	CDR-L1	配列番号 67 の 24～34 番目の残 基	RASQGVSSALA

10

20

30

40

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
S4-31 VL	CDR-L2	配列番号 67 の 50～56 番目の残 基	WASALHS
S4-31 VL	CDR-L3	配列番号 67 の 89～97 番目の残 基	QQHYSAPFT
S4-18 VL		配列番号 68	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQLVS SAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASTLHSGVPS RFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ HYSTPFTFGQGTKLEIKR
S4-18 VL	CDR-L1	配列番号 68 の 24～34 番目の残 基	RASQLVSSAVA
S4-18 VL	CDR-L2	配列番号 68 の 50～56 番目の残 基	WASTLHS
S4-18 VL	CDR-L3	配列番号 68 の 89～97 番目の残 基	QQHYSTPFT
S4-6 VL		配列番号 69	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQLVS SAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPS RFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ HYSTPFTFGQGTKLEIKR
S4-6 VL	CDR-L1	配列番号 69 の 24～34 番目の残 基	KASQLVSSAVA

10

20

30

40

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
S4-6 VL	CDR-L2	配列番号 69 の 50～56 番目の残 基	WASTRHT
S4-6 VL	CDR-L3	配列番号 69 の 89～97 番目の残 基	QQHYSTPFT
S4-55 VL		配列番号 70	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQLVS SAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASTLHTGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ HYRTPFTFGQGTKLEIKR
S4-55 VL	CDR-L1	配列番号 70 の 24～34 番目の残 基	KASQLVSSAVA
S4-55 VL	CDR-L2	配列番号 70 の 50～56 番目の残 基	WASTLHT
S4-55 VL	CDR-L3	配列番号 70 の 89～97 番目の残 基	QQHYRTPFT
S4-63 VL		配列番号 71	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQKVS SALAWYQQKPGKAPKLLIYWASALHSGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ HYRPPFTFGQGTKLEIKR
S4-63 VL	CDR-L1	配列番号 71 の 24～34 番目の残 基	KASQKVSSALA

10

20

30

40

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
S4-63 VL	CDR-L2	配列番号 71 の 50～56 番目の残 基	WASALHS
S4-63 VL	CDR-L3	配列番号 71 の 89～97 番目の残 基	QQHYRPPFT
S4-50 VL		配列番号 72	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQLVS SAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASALHTGVPS RFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQ HYSSPYTFGQGTKLEIKR
S4-50 VL	CDR-L1	配列番号 72 の 24～34 番目の残 基	KASQLVSSAVA
S4-50 VL	CDR-L2	配列番号 72 の 50～56 番目の残 基	WASALHT
S4-50 VL	CDR-L3	配列番号 72 の 89～97 番目の残 基	QQHYSSPYT
S4-19 VL		配列番号 73	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQLVS SAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASTLHTGVPS RFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQ HYRTPFTFGQGTKLEIKR
S4-19 VL	CDR-L1	配列番号 73 の 24～34 番目の残 基	KASQLVSSAVA

10

20

30

40

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
S4-19 VL	CDR-L2	配列番号 73 の 50～56 番目の残 基	WASTLHT
S4-19 VL	CDR-L3	配列番号 73 の 89～97 番目の残 基	QQHYRTPFT

10

【 0 0 5 5 】

C . 変換したクローン由来の個々の h M A K - 1 9 9 配列

表 8 に、ヒト化抗 T N F M A K - 1 9 9 の変換型クローン（実施例 3 で詳しく議論する）の V H の配列を示す。

【 0 0 5 6 】

【表 8】

20

表 8 . I g G 変換型ヒト化抗 T N F M A K - 1 9 9 A b クローンの V H 配列

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
J662M2S3# 10 VH		配列番号 74	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFA NYGIIWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARKLFTTMDVTDNAMDYWGQGTTV TVSS
J662M2S3# 10 VH	CDR-H1	配列番号 74 の 31～35 番目の残 基	NYGII
J662M2S3# 10 VH	CDR-H2	配列番号 74 の 50～66 番目の残 基	WINTYTGKPTYAQKFQG

30

40

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
J662M2S3# 10 VH	CDR-H3	配列番号 74 の 99～112 番目の 残基	RASQDISQYLN
J662M2S3# 13 VH		配列番号 75	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFN NYGIIWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELSSLRSED TAVYFCARKLFNTVDVTDNAMDYWGQGTTV TVSS
J662M2S3# 13 VH	CDR-H1	配列番号 75 の 31～35 番目の残 基	NYGII
J662M2S3# 13 VH	CDR-H2	配列番号 75 の 50～66 番目の残 基	WINTYTGKPTYAQKLQG
J662M2S3# 13 VH	CDR-H3	配列番号 75 の 99～112 番目の 残基	KLFNTVDVTDNAMD
J662M2S3# 15 VH		配列番号 76	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFN NYGIIWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGVPYTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARKLFNTVDVTDNAMDYWGQGTTV TVSS
J662M2S3# 15 VH	CDR-H1	配列番号 76 の 31～35 番目の残 基	NYGII
J662M2S3# 15 VH	CDR-H2	配列番号 76 の 50～66 番目の残 基	WINTYTGVPYTYAQKFQG

10

20

30

40

タンパク質領域			配列	
			123456789012345678901234567890	
J662M2S3# 15 VH	CDR-H3	配列番号 76 の 99～112 番目の 残基	KLFNTVDVTDNAMD	
J662M2S3# 16 VH		配列番号 77	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFN NYGIIWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARKLFNTVAVTDNAMDYWGQGT TVSS	10
J662M2S3# 16 VH	CDR-H1	配列番号 77 の 31～35 番目の残 基	NYGII	20
J662M2S3# 16 VH	CDR-H2	配列番号 77 の 50～66 番目の残 基	WINTYTGKPTYAQKFQG	
J662M2S3# 16 VH	CDR-H3	配列番号 77 の 99～112 番目の 残基	KLFNTVAVTDNAMD	30
J662M2S3# 21 VH		配列番号 78	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFR NYGIIWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAYMELSSLRSED TAVYFCARKLFTTVDVTDNAMDYWGQGT TVSS	
J662M2S3# 21 VH	CDR-H1	配列番号 78 の 31～35 番目の残 基	NYGII	40
J662M2S3# 21 VH	CDR-H2	配列番号 78 の 50～66 番目の残 基	WINTYTGKPTYAQKFQG	

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
J662M2S3# 21 VH	CDR-H3	配列番号 78 の 99～112 番目の 残基	KLFTTVDVTDNAMD
J662M2S3# 34 VH		配列番号 79	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFN NYGINWVRQAPGGGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAYMELSSLRSED TAVYFCARKFRNTVAVTDYAMDYWGQGT TVSS
J662M2S3# 34 VH	CDR-H1	配列番号 79 の 31～35 番目の残 基	NYGIN
J662M2S3# 34 VH	CDR-H2	配列番号 79 の 50～66 番目の残 基	WINTYTGKPTYAQKFQG
J662M2S3# 34 VH	CDR-H3	配列番号 79 の 99～112 番目の 残基	KFRNTVAVTDYAMD
J662M2S3# 36 VH		配列番号 80	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFR NYGITWVRQAPGGGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAYMELSSLRSED TAVYFCARKLFTTMDVTDNAMDYWGQGT TVSS
J662M2S3# 36 VH	CDR-H1	配列番号 80 の 31～35 番目の残 基	NYGIT
J662M2S3# 36 VH	CDR-H2	配列番号 80 の 50～66 番目の残 基	WINTYTGKPTYAQKFQG

10

20

30

40

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
J662M2S3# 36 VH	CDR-H3	配列番号 80 の 99～112 番目の 残基	KLFTTMDVTDNAMD
J662M2S3# 45 VH		配列番号 81	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFA NYGIIWVRQAPGGLEWMGW WINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARKLFTTMDVTDNAM DYWGQGTTV TVSS
J662M2S3# 45 VH	CDR-H1	配列番号 81 の 31～35 番目の残 基	NYGII
J662M2S3# 45 VH	CDR-H2	配列番号 81 の 50～66 番目の残 基	WINTYTGKPTYAQKFQG
J662M2S3# 45 VH	CDR-H3	配列番号 81 の 99～112 番目の 残基	KLFTTMDVTDNAMD
J662M2S3# 58 VH		配列番号 82	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFS NYGINWVRQAPGGLEWMGW WINTYTGQPSY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARKLTKTEAVTDYAM DYWGQGTTV TVSS
J662M2S3# 58 VH	CDR-H1	配列番号 82 の 31～35 番目の残 基	NYGIN
J662M2S3# 58 VH	CDR-H2	配列番号 82 の 50～66 番目の残 基	WINTYTGQPSY AQKFQG

10

20

30

40

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
J662M2S3# 58 VH	CDR-H3	配列番号 82 の 99～112 番目の 残基	KLFKTEAVTDYAMD
J662M2S3# 72 VH		配列番号 83	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFN NYGIIWVRQAPGGLEWMGWINTYSGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAYMELSSLRSED TAVYFCARKLFTTMDVTDNAMDYWGQTTV TVSS
J662M2S3# 72 VH	CDR-H1	配列番号 83 の 31～35 番目の残 基	NYGII
J662M2S3# 72 VH	CDR-H2	配列番号 83 の 50～66 番目の残 基	WINTYSGKPTYAQKFQG
J662M2S3# 72 VH	CDR-H3	配列番号 83 の 99～112 番目の 残基	KLFTTMDVTDNAMD

10

20

30

【 0 0 5 7 】

表 9 に、ヒト化抗 TNF MAK - 1 9 9 の変換型クローン（実施例 3 で詳しく議論する）の VL の配列を示す。

【 0 0 5 8 】

【 表 9 】

表 9. I g G 変換型ヒト化抗 TNF MAK - 1 9 9 A b クローンの VL 配列

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
J662M2S3#1 0 VL		配列番号 84	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDIS QYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQQ GNTWPPTFGQGTKLEIK
J662M2S3#1 0 VL	CDR-L1	配列番号 84 の 24～34 番目の残 基	RASQDISQYLN
J662M2S3#1 0 VL	CDR-L2	配列番号 84 の 50～56 番目の残 基	YTSRLQS
J662M2S3#1 0 VL	CDR-L3	配列番号 84 の 89～97 番目の残 基	QQGNTWPPT
J662M2S3#1 3 VL		配列番号 85	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDIS NYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFSGSGSGTDYTLTISLQPEDFATYFCQQ GNSWPPTFGQGTKLEIK
J662M2S3#1 3 VL	CDR-L1	配列番号 85 の 24～34 番目の残 基	RASQDISNYLN
J662M2S3#1 3 VL	CDR-L2	配列番号 85 の 50～56 番目の残 基	YTSRLQS
J662M2S3#1 3 VL	CDR-L3	配列番号 85 の 89～97 番目の残 基	QQGNSWPPT

10

20

30

40

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
J662M2S3#1 5 VL		配列番号 86	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQDIY NYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQ GNTQPPTFGQGTKLEIK
J662M2S3#1 5 VL	CDR-L1	配列番号 86 の 24～34 番目の残 基	RASQDIYNYLN
J662M2S3#1 5 VL	CDR-L2	配列番号 86 の 50～56 番目の残 基	YTSRLQS
J662M2S3#1 5 VL	CDR-L3	配列番号 86 の 89～97 番目の残 基	QQGNTQPPT
J662M2S3#1 6 VL		配列番号 87	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQDIE NYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQ GNTQPPTFGQGTKLEIK
J662M2S3#1 6 VL	CDR-L1	配列番号 87 の 24～34 番目の残 基	RASQDIENYLN
J662M2S3#1 6 VL	CDR-L2	配列番号 87 の 50～56 番目の残 基	YTSRLQS
J662M2S3#1 6 VL	CDR-L3	配列番号 87 の 89～97 番目の残 基	QQGNTQPPT

10

20

30

40

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
J662M2S3#2 1 VL		配列番号 88	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIS NYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQ GNTWPPTFGQGTKLEIK
J662M2S3#2 1 VL	CDR-L1	配列番号 88 の 24～34 番目の残 基	RASQDISNYLN
J662M2S3#2 1 VL	CDR-L2	配列番号 88 の 50～56 番目の残 基	YTSRLQS
J662M2S3#2 1 VL	CDR-L3	配列番号 88 の 89～97 番目の残 基	QQGNTWPPT
J662M2S3#3 4 VL		配列番号 89	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIY DVLNHWYQQKPGKAPKLLIYYASRLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ GITLPPTFGQGTKLEIK
J662M2S3#3 4 VL	CDR-L1	配列番号 89 の 24～34 番目の残 基	RASQDIYDVLN
J662M2S3#3 4 VL	CDR-L2	配列番号 89 の 50～56 番目の残 基	YASRLQS
J662M2S3#3 4 VL	CDR-L3	配列番号 89 の 89～97 番目の残 基	QQGITLPPT

10

20

30

40

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
J662M2S3#3 6 VL		配列番号 90	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIS NYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFSGSGSGTDYTLTISSLPEDFATYFCQQ GNTWPPTFGQGTKLEIK
J662M2S3#3 6 VL	CDR-L1	配列番号 90 の 24～34 番目の残 基	RASQDISNYLN
J662M2S3#3 6 VL	CDR-L2	配列番号 90 の 50～56 番目の残 基	YTSRLQS
J662M2S3#3 6 VL	CDR-L3	配列番号 90 の 89～97 番目の残 基	QQGNTWPPT
J662M2S3#4 5 VL		配列番号 91	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIS QYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLPEDFATYFCQQ GNTWPPTFGQGTKLEIK
J662M2S3#4 5 VL	CDR-L1	配列番号 91 の 24～34 番目の残 基	RASQDISQYLN
J662M2S3#4 5 VL	CDR-L2	配列番号 91 の 50～56 番目の残 基	YTSRLQS
J662M2S3#4 5 VL	CDR-L3	配列番号 91 の 89～97 番目の残 基	QQGNTWPPT

10

20

30

40

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
J662M2S3#5 8 VL		配列番号 92	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQNIY NVLNWFYQQKPGKAPKLLIYYASRLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQ GNTMPPTFGQGTKLEIK
J662M2S3#5 8 VL	CDR-L1	配列番号 92 の 24～34 番目の残 基	RASQNIYNVLN
J662M2S3#5 8 VL	CDR-L2	配列番号 92 の 50～56 番目の残 基	YASRLQS
J662M2S3#5 8 VL	CDR-L3	配列番号 92 の 89～97 番目の残 基	QQGNTMPPT
J662M2S3#7 2 VL		配列番号 93	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIS NFLNWFYQQKPGKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQ GNTQPPTFGQGTKLEIK
J662M2S3#7 2 VL	CDR-L1	配列番号 93 の 24～34 番目の残 基	RASQDISNFLN
J662M2S3#7 2 VL	CDR-L2	配列番号 93 の 50～56 番目の残 基	YTSRLQS
J662M2S3#7 2 VL	CDR-L3	配列番号 93 の 89～97 番目の残 基	QQGNTQPPT

10

20

30

40

50

【 0 0 5 9 】

ある実施形態において抗原結合ドメインは、配列番号 22、24、26、28、30、32、34～58、74～83、94～266、478～486、496～675、738～762、778～956、1053～1062、1073、1075、および 107

7のうちのいずれか1つから選択されるVH領域、またはそれらに由来する1つ、2つ、もしくは3つのCDRを含む。別の実施形態において抗原結合ドメインは、配列番号23、25、27、29、31、33、59~73、84~93、267~477、487~495、676~737、763~777、957~1052、1063~1072、1074、1076、および1078のうちのいずれか1つから選択されるVL領域、またはそれらに由来する1つ、2つ、もしくは3つのCDRを含む。特定の実施形態において抗原結合ドメインは、VH領域とVL領域を含み、例えば、VH領域は配列番号22、24、26、28、30、32、34~58、74~83、94~266、478~486、496~675、738~762、778~956、1053~1062、1073、1075、および1077、またはそれらに由来する1つ、2つ、もしくは3つのCDRを含み、VL領域は、配列番号23、25、27、29、31、33、59~73、84~93、267~477、487~495、676~737、763~777、957~1052、1063~1072、1074、1076、および1078、またはそれらに由来する1つ、2つ、もしくは3つのCDRを含む。

10

【0060】

VHおよび/またはVLのCDR配列が上に示したものである実施形態では、ヒトアクセプターフレームワークは、配列番号6~21から選択される、少なくとも1つのアミノ酸配列を含む。特定の実施形態では、ヒトアクセプターフレームワークは、配列番号9、10、11、12、15、16、17、および21から選択されるアミノ酸配列を含む。別の実施形態では、ヒトアクセプターフレームワークは、フレームワーク領域に少なくとも1つのアミノ酸置換を含み、ここでフレームワークのアミノ酸配列は、ヒトアクセプターフレームワークの配列と少なくとも65%同一であり、かつ、ヒトアクセプターフレームワークと同一のアミノ酸残基を少なくとも70個含む。別の実施形態では、ヒトアクセプターフレームワークは、フレームワーク領域の重要な残基に、少なくとも1つのアミノ酸置換を含む。重要な残基は、CDRに隣接している残基；グリコシル化部位の残基；数の少ない残基；ヒトTNF- α と相互作用が可能な残基；CDRと相互作用が可能な残基；基準となる残基；重鎖可変領域と軽鎖可変領域の間で接触している残基；バーニアゾーン(Vernier zone)に含まれる残基；およびコチアの定義による重鎖可変CDR1とカバット(Kabat)の定義による第一重鎖フレームワークとの間で重複している領域にある残基、から選択される。ある実施形態では、重要な残基は、H1、H12、H24、H27、H29、H37、H48、H49、H67、H71、H73、H76、H78、L13、L43、L58、L70、およびL80から選択される。ある実施形態では、VH変異は、Q1E、I12V、A24V、G27F、I29L、V29F、F29L、I37V、I48L、V48L、S49G、V67L、F67L、V71K、R71K、T73N、N76S、L78I、およびF78Iから選択される。別の実施形態では、VL変異は、V13L、A43S、I58V、E70D、およびS80Pから選択される。ある実施形態において結合タンパク質は、2つの可変ドメインを含み、この2つの可変ドメインは、配列番号22と23；23と24；24と25；26と27；28と29；30と31；または32と33から選択されるアミノ酸配列を有する。

20

30

【0061】

III. 結合タンパク質および結合タンパク質産生細胞株の生産

ある実施形態では、本明細書で開示のTNF- α 結合タンパク質は、例えば当該分野で知られている複数のインビトロおよびインビボアッセイのいずれかによって評価した時に、TNF- α 活性を低減するまたは中和する高い能力を示す。あるいは、本明細書で開示のTNF- α 結合タンパク質はさらに、TNF- α 活性を高めるはまた刺激する高い能力を示す。

40

【0062】

特定の実施形態では、単離された結合タンパク質またはその抗原結合部分はヒトTNF- α に結合し、ここでこの結合タンパク質またはその抗原結合部分は、表面プラズモン共鳴で決定した時に、およそ 0.1 s^{-1} 以下、例えば $1 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ 以下、 1×10

50

10^{-3} s^{-1} 以下、 $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 以下、 $1 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 以下および $1 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ 以下の k_{off} 速度定数で、ヒト TNF- α から解離するかまたは、およそ $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ 以下の、例えば $1 \times 10^{-7} \text{ M}$ 以下、 $1 \times 10^{-8} \text{ M}$ 以下、 $1 \times 10^{-9} \text{ M}$ 以下、 $1 \times 10^{-10} \text{ M}$ 以下および $1 \times 10^{-11} \text{ M}$ 以下の IC_{50} で、ヒト TNF- α の活性を阻害する。一定の実施形態では、結合タンパク質は重鎖定常領域、例えば IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgE、IgM または IgD 定常領域を含む。ある実施形態において重鎖定常領域は、IgG1 重鎖定常領域または IgG4 重鎖定常領域である。さらに、結合タンパク質は軽鎖定常領域、カップ軽鎖定常領域またはラムダ軽鎖定常領域のいずれかを含む場合もある。別の実施形態では、結合タンパク質はカップ軽鎖定常領域を含む。あるいは、結合タンパク質部分は、例えば Fab 断片または一本鎖 Fv 断片であってもよい。

10

【0063】

Fc 部分のアミノ酸残基を置換して、結合タンパク質のエフェクター機能を変化させることが当該分野において知られている（米国特許第 5,648,260 号および同第 5,624,821 号を参照のこと）。結合タンパク質の Fc 部分は、サイトカインの誘導、ADCC、食作用、補体依存性細胞傷害（CDC）、および抗体や抗原抗体複合体の半減期/排出速度などの、いくつかの重要なエフェクター機能を媒介する。いくつかの例では、これらのエフェクター機能は治療用抗体にとって望ましいものであるが、別の例では、治療目的によって、不必要であるかまたは有害ですらある場合もある。特定のヒト IgG イソ型、特に IgG1 と IgG3 はそれぞれ、Fc γ R への結合と C1q の補完を介して、ADCC および CDC を媒介する。新生児の Fc 受容体（FcRn）は、抗体の血中半減期を決定するのに重要な成分である。その上さらに別の実施形態では、結合タンパク質の定常領域、例えば結合タンパク質の Fc 領域の少なくとも 1 つのアミノ酸残基を、その結合タンパク質のエフェクター機能が変化するように置換する。

20

【0064】

一実施形態では、標識した結合タンパク質を提供し、ここで本明細書で開示する抗体または抗体部分は、誘導体化されているかまたは別の機能性分子（例えば、別のペプチドまたはタンパク質）に連結されている。例えば、本明細書で開示する標識した結合タンパク質は、本明細書で開示する抗体または抗体部分を、1 つ以上他の分子実体、例えば別の抗体（例えば、二重特異性抗体またはディアボディ）、検出可能な薬剤、細胞傷害性薬物、医薬品、および/または抗体もしくは抗体部分と別の分子との会合を媒介するタンパク質またはペプチド（例えばストレプトアビジンのコア領域またはポリヒスチジンタグ）に機能的に結合する（化学結合、遺伝子融合、非共有会合により）ことによって誘導体化することができる。

30

【0065】

本明細書で開示する抗体または抗体部分と共に誘導体化してもよい検出可能な物質としては、蛍光化合物が挙げられる。検出可能な蛍光物質の例には、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、5-ジメチルアミン-1-ナフタレンスルホンニルクロリド、フィコエリトリンなどが含まれる。抗体は、検出可能な酵素、例えばアルカリホスファターゼ、西洋ワサビペルオキシダーゼ、グルコース酸化酵素などとも誘導体化することができる。抗体を検出可能な酵素で誘導体化する場合には、その酵素が検出可能な反応産物を生成するのに使用する別の試薬を追加することで、検出される。例えば、検出可能な薬剤である西洋ワサビペルオキシダーゼが存在する場合、過酸化水素とジアミノベンジジンを加えることで、検出可能な、色のついた反応産物が生じる。抗体をビオチンで誘導体化し、アビジンまたはストレプトアビジンの間接的な測定を通じて検出してもよい。

40

【0066】

本開示の別の実施形態は、結晶化した結合タンパク質を提供する。ある実施形態では、本明細書で開示の完全な TNF- α 結合タンパク質およびその断片の結晶、ならびにそのような結晶を含む調製物および組成物を提供する。一実施形態においてこの結晶化結合タ

50

ンパク質は、この結合タンパク質の可溶性の対応物よりも、インビボでの長い半減期を有する。別の実施形態では、結合タンパク質は結晶化した後も生物活性を保持する。

【0067】

本明細書で開示の結晶化結合タンパク質は、当該分野で知られている方法および国際公開第02/72636号で開示されている方法に従って、生成することができる。

【0068】

本開示の別の実施形態は、結合タンパク質またはその抗原結合部分が1つ以上の糖残基を含む、グリコシル化結合タンパク質を提供する。インビボにおいては、発生期のタンパク質合成は、翻訳後修飾として知られる、さらなる処理を受ける場合がある。具体的には、糖（グリコシル）残基が酵素によって付加される場合があり、この工程はグリコシル化として知られている。その結果生じた、共有結合によってオリゴサッカライド側鎖をもつタンパク質は、グリコシル化タンパク質または糖タンパク質として知られている。タンパク質のグリコシル化は、目的のタンパク質のアミノ酸配列、およびそのタンパク質が発現している宿主細胞に依存する。異なる生物は、異なるグリコシル化酵素を生産し得（例えば糖転移酵素およびグリコシダーゼ）、また、利用可能な異なる基質（ヌクレオチド糖）を有している可能性がある。そのような要因により、タンパク質のグリコシル化のパターン、およびグリコシル残基の組成は、特定のタンパク質が発現する宿主の系に依存して異なるもので有り得る。本開示で有用なグリコシル残基としては、グルコース、ガラクトース、マンノース、フコース、n-アセチルグルコサミンおよびシアル酸が挙げられるがこれらには限定されない。ある実施形態では、グリコシル化結合タンパク質は、グリコシル化パターンがヒトのパターンになるようなグリコシル残基を含む。

【0069】

タンパク質のグリコシル化を変化させることで、タンパク質の特徴が変化し得ることが当業者には知られている。例えば、微生物宿主、例えば酵母で産生され、酵母に内在する経路を利用してグリコシル化された治療用タンパク質の治療効果は、哺乳類細胞、例えばCHO細胞株で発現させた同じタンパク質の効果よりも低下することがある。そのような糖タンパク質もヒトにおいて免疫原性であり、および投与後にインビボで示す半減期は短い。ヒトおよび他の動物における特定の受容体は、特定のグリコシル残基を認識して、そのタンパク質の血流からの迅速な排出を促す場合がある。他の有害作用には、タンパク質の折り畳み、溶解度、プロテアーゼ感受性、細胞内輸送、運搬、区画化、分泌、その他のタンパク質もしくは因子による認識または、抗原性、またはアレルギー性の変化が含まれ得る。従って実務者は、グリコシル化に関して特定の組成とパターンを有する治療用タンパク質、例えば、グリコシル化の組成とパターンが、ヒト細胞で産生された治療用タンパク質または目的の対象動物の種特異的な細胞で産生された治療用タンパク質と同一であるか、または少なくとも類似した治療用タンパク質を選ぶ可能性がある。

【0070】

宿主細胞のものとは異なるグリコシル化タンパク質は、宿主細胞を遺伝的に改変し、異種のグリコシル化酵素を発現させることによって、達成させることができる。当業者は、当該分野で知られている技術を用いて、ヒトタンパク質のグリコシル化を示している抗体またはその抗原結合部分を生成してもよい。例えば、酵母の系統は、これらの酵母系統で産生されたグリコシル化タンパク質（糖タンパク質）が、動物細胞、特にヒト細胞のものと同じグリコシル化を示すように、天然には生じないグリコシル化酵素を発現するように遺伝的に改変されてきた（米国特許第7,449,308号および同第7,029,872号）。

【0071】

さらに、ライブラリー宿主細胞のメンバーが変種のグリコシル化パターンを有する目的のタンパク質の産生するように、様々なグリコシル化酵素を発現するように遺伝的に改変された宿主細胞のライブラリーを使用して目的のタンパク質を発現させてもよいことを当業者は理解するであろう。その後、実務者は、新規のグリコシル化パターンを有する目的のタンパク質を選択および単離してもよい。ある実施形態では、特に選択された新規グリ

10

20

30

40

50

コシル化パターンを有するタンパク質は、向上したまたは変化した生物学的特性を示す。

【0072】

IV. TNF - 結合タンパク質の使用

本明細書で開示する結合タンパク質の TNF - 、例えばヒト TNF - 結合タンパク質もしくはその一部に結合する能力を考えれば、それらを使用した標準的な免疫アッセイ、例えば酵素結合免疫吸着アッセイ (ELISA)、放射性免疫アッセイ (RIA) または組織免疫組織化学抗原 (例えば、生物試料、例えば血清または血漿での) を用いて、TNF - を検出することができる。生物試料と本明細書で開示の結合タンパク質または結合タンパク質部分とを接触させること、および TNF - に結合した結合タンパク質 (もしくは結合タンパク質部分) または未結合の結合タンパク質 (もしくは結合タンパク質部分) のいずれかを検出し、それによって、生物試料中の TNF - を検出すること、を含む生物試料中の TNF - の検出方法を提供する。結合したまたは未結合の抗体の検出を促すために、結合タンパク質を直接的にまたは間接的に、検出可能な物質で標識する。好適な検出可能な物質としては、種々の酵素、補欠分子族、蛍光材料、発光材料および放射性材料が挙げられる。好適な酵素の例としては、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、 α -ガラクトシダーゼ、またはアセチルコリンエステラーゼが；好適な補欠分子族複合体の例としてはストレプトアビジン/ビオチンおよびアビジン/ビオチンが；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イン、塩化ダンシルまたはフィコエリトリンが；蛍光材料の例としてはルミノールが；および好適な放射性材料の例としては ^3H 、 ^{14}C 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{177}Lu 、 ^{166}Ho 、または ^{153}Sm が挙げられる。

10

20

【0073】

結合タンパク質を標識する代わりに、検出可能な物質で標識した TNF - の標準物質と未標識のヒト rh TNF - 結合タンパク質を利用した競合免疫アッセイで、生体液に含まれているヒト TNF - を評価することができる。このアッセイでは、生物試料、標識した rh TNF - の標準物質およびヒト TNF - 結合タンパク質を合わせて、未標識の結合タンパク質に結合した、標識した rh TNF - 標準物質の量を決定する。生物試料中のヒト TNF - の量は、TNF - 結合タンパク質に結合した、標識した rh TNF - 標準物質の量に反比例する。同様に、検出可能な物質で標識した TNF - の標準物質と未標識のヒト TNF - 結合タンパク質を利用した競合免疫アッセイで、生体液に含まれているヒト TNF - を評価することができる。

30

40

【0074】

ある実施形態では、本明細書で開示の結合タンパク質および結合タンパク質部分は、TNF - の活性、例えばヒト TNF - の活性を、インビトロとインビボの両方で、中和することができる。別の実施形態では、本明細書で開示の結合タンパク質および結合タンパク質部分は、ヒト TNF - の活性、例えばヒト TNF - の活性を、向上または刺激することができる。従って、そのような本明細書で開示の結合タンパク質および結合タンパク質部分を、h TNF - の活性を阻害または上昇させるために、例えば h TNF - を含有する細胞培養において、本明細書で開示の結合タンパク質が交差反応する TNF - を有するヒト対象または他の哺乳類対象において、使用することができる。一実施形態では、h TNF - の活性が阻害または上昇するように、h TNF - と本明細書で開示の結合タンパク質または結合タンパク質部分を接触させることを含む、h TNF - の活性を阻害するまたは上昇させるための方法を提供する。例えば、h TNF - を含有する、または含有すると予想される細胞培養物中に、本明細書で開示の結合タンパク質または結合タンパク質部分を培地に添加し、培養物中の h TNF - 活性を阻害または上昇させることができる。

【0075】

別の実施形態では、対象、特に、TNF - の活性が有害なもしくは有益な病気または疾患を患っている対象における h TNF - 活性を低下または上昇させるための方法を提

50

供する。そのような病気または疾患を患っている対象におけるTNF-活性を低下または上昇させる方法を提供し、この方法は、対象におけるTNF-活性が低下または上昇するように、本明細書で開示の結合タンパク質または結合タンパク質部分を対象に投与することを含む。特定の実施形態においてTNF-はヒトTNF-であり、および対象はヒト対象である。あるいは、対象は、提供する結合タンパク質が結合できるTNF-を発現している哺乳類であってもよい。さらに対象は、TNF-が導入されている（例えばTNF-の投与またはTNF-導入遺伝子の発現によって）哺乳類であってもよい。本明細書で開示の結合タンパク質は、治療目的でヒト対象に投与することができる。また、本明細書で開示の結合タンパク質は、獣医学的な目的で、またはヒト疾患の動物モデルとして、この結合タンパク質が結合可能なTNF-を発現している非ヒト哺乳類に投与することもできる。後者に関しては、そのような動物モデルは、本明細書で開示の結合タンパク質の治療効果を評価するのにも有用であり得る（例えば投与量の試験および投与の時間経過）。

10

20

30

40

50

【0076】

「TNF-の活性が有害な疾患」という用語は、その疾患を患っている対象におけるTNF-活性の存在が、その疾患の病態生理の原因であるか、またはその疾患の悪化に寄与する因子であることが分かっている、あるいはそう予想される病気やその他の疾患を含む。従って、TNF-の活性が有害な疾患とは、TNF-の活性の低減が疾患の症状および/または進行を軽減すると予測される疾患である。そのような疾患は、例えば上述の抗TNF-抗体の使用によって検出することができる。例えば、その疾患を患っている対象の体液中のTNF-濃度の上昇（例えば、対象の血清、血漿、骨液などにおけるTNF-濃度の上昇）によって証明され得る。本明細書で開示する結合タンパク質を用いて治療することができる疾患の非限定的な例としては、本明細書で開示する抗体の医薬組成物に関連する以下の節で論じる疾患が含まれる。

【0077】

あるいは、「TNF-の活性が有益な疾患」という用語は、その疾患を患っている対象におけるTNF-活性の存在が、その疾患の病態病理の治療に有益であるか、またはその疾患の治療に寄与する因子であることが分かっている、またはそう予想される病気やその他の疾患を含む。従って、TNF-の活性が有益である疾患とは、TNF-の活性を上昇させることが、疾患の症状および/または進行を軽減すると予測される疾患である。本明細書で開示の抗体で治療することができる疾患の非限定的な例には、本明細書で開示の抗体の医薬組成物に関する以下の節で議論する疾患が含まれる。

【0078】

V. 医薬組成物

本明細書で開示する結合タンパク質またはその抗原結合部分、および医薬として許容可能な担体とを含む医薬組成物も提供する。本発明で開示する結合タンパク質を含む医薬組成物は、疾患もしくは1つ以上のその症状の予防、治療、管理、または軽減においておよび/または研究において、疾患を診断、検出、またはモニタリングするために使用されるが、医薬組成物の用途はこれらには限定されない。具体的な実施形態において組成物は、1つ以上の本発明で開示するタンパク質を含む。別の実施形態において医薬組成物は、TNF-の活性が有害な疾患を治療するための、1つ以上の本発明で開示する結合タンパク質と、本明細書で開示する結合タンパク質以外の1つ以上の予防薬または治療薬とを含む。特定の実施形態では、予防薬または治療薬は、疾患または1つ以上のその症状の予防、治療、管理または軽減に有用であることが知られているものであるか、あるいは疾患または1つ以上のその症状の予防、治療、管理または軽減においてこれまで、または現在使用されているものである。これらの実施形態に従えば、組成物は、担体、希釈剤または賦形剤をさらに含んでもよい。

【0079】

本明細書で開示する結合タンパク質と結合タンパク質部分は、対象への投与に適した医薬組成物に組み込むことができる。典型的には、医薬組成物は、本明細書で開示する結合

タンパク質または結合タンパク質部分と、医薬として許容可能な担体とを含む。「医薬として許容可能な担体」という用語は、生理学的に適合する任意のすべての溶媒、分散媒、コーティング、殺菌および殺真菌剤、等張および吸収遅延剤、などを含む。医薬として許容可能な担体の例としては、水、生理食塩水、リン酸緩衝生理食塩水、デキストロース、グリセロール、エタノールなどの1つ以上、ならびにこれらの組み合わせが挙げられる。多くの場合、組成物に含まれる等張剤、例えば、糖、もしくはマンニトール、ソルビトールなどのポリアルコール類、または塩化ナトリウムが含まれてもよい。医薬として許容可能な担体はさらに、微量の補助物質、例えば湿潤剤または乳化剤や、結合タンパク質または結合タンパク質部分の有効期間または効果を高める防腐剤または緩衝剤などを含んでもよい。

10

【0080】

様々な送達系が公知であり、例えば、リポソーム、微粒子、マイクロカプセル、結合タンパク質または結合タンパク質の断片を発現することができる組み換え細胞、受容体介在性エンドサイトーシス（例えば、Wu and Wu (1987) J. Biol. Chem. 262: 4429-4432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構築物などに封入して、本発明で開示する1つ以上の結合タンパク質を、または本発明で開示する1つ以上の結合タンパク質と疾患もしくは1つ以上のその症状を予防、管理、治療、または軽減するのに有用な予防薬または治療薬との組み合わせを投与するために使用することができる。本発明で提供する予防薬または治療薬の投与方法には、非経口投与（例えば、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内および皮下）、硬膜外投与、腫瘍内投与および粘膜投与（例えば、鼻内および経口経路）が含まれるが、これらには限定されない。さらに、例えば、吸入装置または噴霧器およびエアロゾル化剤を加えた製剤の使用によって、経肺投与を使用することが可能である。一実施形態では、本発明で開示する結合タンパク質、併用療法または本発明で開示する組成物は、Alkermes AIR（登録商標）経肺薬物送達技術（Alkermes, Inc.、ケンブリッジ、マサチューセッツ）を用いて投与される。具体的な実施形態では、本発明で開示する予防薬または治療薬は、筋肉内、静脈内、腫瘍内、経口、鼻内、経肺または皮下投与される。予防薬または治療薬は、あらゆる都合のよい経路によって、例えば、注入若しくはボーラス注射によって、上皮または粘膜皮膚の裏打ち（例えば、口粘粘膜、直腸および腸の粘膜など）を通じた吸収によって投与してもよく、また、生物学的に活性な他の因子と一緒に投与してもよい。投与は、全身投与であっても局所投与であってもよい。

20

30

【0081】

具体的な実施形態では、治療を必要としている部位へ局所的に、本明細書で開示する予防薬または治療薬を投与することが望ましい場合があり得る。これは例えば、これらに限定されるものではないが、局所的注入によって、注射によって、またはインプラントを用いて達成してもよく、前記インプラントは、シアラスチック（silastic）膜、ポリマー、繊維性マトリックス（例えば、Tissue1（登録商標））またはコラーゲンマトリックスなどの、膜およびマトリックスを含む多孔性または非多孔性材料である。一実施形態では、本明細書で開示する1つ以上の結合タンパク質のアンタゴニストの有効量を、疾患またはその症状を予防、治療、管理、および/または軽減するために、対象の罹患した部位へ局所投与する。別の実施形態では、本明細書で開示する1つ以上の結合タンパク質の有効量を、疾患または1つ以上のその症状を予防、治療、管理、および/または軽減するために、本明細書で開示する抗体以外の1つ以上の治療薬（例えば、1つ以上の予防薬または治療薬）の有効量と組み合わせ、対象の罹患した部位に局所投与する。

40

【0082】

本明細書で開示する組成物が予防薬または治療薬をコードしている核酸である具体的な実施形態では、核酸を適切な核酸発現ベクターの一部として構築し、例えば、レトロウイルスベクター（米国特許第4,980,286号）の使用によって、または直接の注射によって、もしくは微粒子ボンバードメント（例えば、遺伝子銃；Biolistic, Dupont）の使用によって、核酸が細胞内となるように核酸を投与し、または脂質若し

50

くは細胞表面受容体若しくは形質移入剤でコーティングし、または核内に進入することが知られているホメオボックス様ペプチドに連結して核酸を投与することによって（例えば、Joliot et al. (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:1864-1868を参照のこと）、核酸がコードしている予防薬または治療薬の発現を促進するために、核酸をインビボで投与することが可能である。あるいは、相同的組み換えによって発現させるために、核酸を細胞内に導入し、宿主細胞DNA内に取り込むことが可能である。

【0083】

本明細書で開示する方法には、注射による（例えば、ポラス注射または持続注入による）非経口投与のために製剤化された組成物の投与が含まれ得る。注射用製剤を、添加された防腐剤とともに、単位容量形態で（例えば、アンプルまたは多回投薬容器に入れて）提示してもよい。組成物は、油性または水性媒体に溶解した懸濁液、溶液または乳液などの剤形であってもよく、懸濁剤、安定化剤および/または分散剤などの製剤化のための薬剤を含んでいてもよい。あるいは、活性成分は、使用前に適切な媒体（例えば、発熱物質を含まない無菌水）で構成するための粉末形態であってもよい。

10

【0084】

本発明で開示する方法はさらに、デポ調製物として製剤化された組成物の投与を含み得る。このような長時間作用型の製剤は、（例えば、皮下または筋肉内への）埋め込みによって、または筋肉内注射によって投与されてよい。従って、例えば、組成物は、適切な高分子材料もしくは疎水性材料（例えば、許容される油に溶解したエマルジョンとして）またはイオン交換樹脂とともに、あるいは難溶性誘導體として（例えば、難溶性の塩として）調合され得る。

20

【0085】

本明細書で開示する方法は、中性または塩の形態として製剤化された組成物の投与を包含する。医薬として許容可能な塩には、塩酸、リン酸、酢酸、シュウ酸、酒石酸などに由来するものなどの陰イオンとともに形成された塩、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化アンモニウム、水酸化カルシウム、水酸化第二鉄、イソプロピルアミン、トリエチルアミン、2-エチルアミノエタノール、ヒスチジン、プロカインなどに由来するものなど、陽イオンとともに形成された塩が含まれる。

【0086】

組成物の成分は一般に、別個に、または単位容量形態中に（例えば、活性剤の量を示した注射器または小袋などの密閉された容器に入れた、凍結乾燥した乾燥粉末もしくは無水濃縮物として）一緒に混合されて供給される。投与の様式が注入である場合には、組成物は、医薬等級の無菌水または生理的食塩水を含有する注入瓶を用いて分配することができる。投与の様式が注射による場合には、注射用の無菌水または生理的食塩水のアンプルは、投与前に成分が混合され得るように提供することが可能である。

30

【0087】

具体的には、1つ以上の予防薬もしくは治療薬または本明細書で開示する医薬組成物が、密閉された容器、例えば、活性剤の量を示したアンプルまたは小袋などの中に梱包されることも提供する。一実施形態では、1つ以上の予防薬もしくは治療薬または本明細書で開示する医薬組成物は、密閉された容器に入れた凍結乾燥した乾燥無菌粉末または無水濃縮物として供給され、対象に投与するための適切な濃度になるように（例えば、水または生理的食塩水で）再構成することができる。ある実施形態では、1つ以上の予防薬もしくは治療薬または本明細書で開示する医薬組成物は、少なくとも5mg、少なくとも10mg、少なくとも15mg、少なくとも25mg、少なくとも35mg、少なくとも45mg、少なくとも50mg、少なくとも75mgまたは少なくとも100mgの単位用量で、密封された容器に入れた凍結乾燥した乾燥無菌粉末として供給される。凍結乾燥した予防もしくは治療薬または本明細書で開示する医薬組成物は、その元の容器中で、2~8の範囲で保存すべきであり、予防薬もしくは治療薬または本明細書で開示する医薬組成物は、再構成後、1週以内、例えば、5日以内、72時間以内、48時間以内に、24時

40

50

間以内に、12時間以内に、6時間以内に、5時間以内に、3時間以内に、または1時間以内に投与すべきである。別の実施形態では、1つ以上の予防薬もしくは治療薬または本明細書で開示する医薬組成物は、薬剤の量と濃度を示す密閉された容器に入れた液体形態で供給される。ある実施形態では、液体形態の投与される組成物は、密封された容器中に、少なくとも0.25 mg/ml、少なくとも0.5 mg/ml、少なくとも1 mg/ml、少なくとも2.5 mg/ml、少なくとも5 mg/ml、少なくとも8 mg/ml、少なくとも10 mg/ml、少なくとも15 mg/kg、少なくとも25 mg/ml、少なくとも50 mg/ml、少なくとも75 mg/mlまたは少なくとも100 mg/mlで供給される。液体形態は、その元の容器中で、2 ~ 8 の範囲で保存すべきである。

【0088】

本明細書で開示する結合タンパク質および結合タンパク質部分は、非経口投与に適した医薬組成物中に取り込ませることができる。ある実施形態では、結合タンパク質または結合タンパク質部分は、0.1から250 mg/mLの結合タンパク質を含有する注射可能な溶液として調製される。注射可能な溶液は、フロント容器または琥珀色の容器、アンプルまたは充填済みのシリンジに入れた液体または凍結乾燥した剤形から構成され得る。緩衝剤は、L-ヒスチジン(1~50 mM)であってよく、5~10 mM、pH 5.0~7.0 (pH 6.0が至適)が最適である。他の好適な緩衝剤としては、コハク酸ナトリウム、クエン酸ナトリウム、リン酸ナトリウムまたはリン酸カリウムが挙げられるが、これらには限定されない。塩化ナトリウムは、0~300 mMの濃度で(液体剤形のためには150 mMが至適)溶液の毒性を変化させる使用することができる。凍結乾燥した剤形には、凍結保護剤、主に、0~10%のショ糖(0.5~1.0%が至適)を含めることができる。他の適切な凍結保護剤としては、トレハロースやラクトースが挙げられる。凍結乾燥された剤形には、増量剤、主に、1~10%のマニトール(2~4%が至適)を含めることができる。液体および凍結乾燥された両剤形において、安定化剤、主に1~50 mMのL-メチオニン(5~10 mMが至適)を使用することができる。他の適切な充填剤には、グリシンおよびアルギニンが含まれ得、0~0.05%のポリソルベート-80として含めることが可能である(0.005~0.01%の濃度が至適)。その他の界面活性剤には、これらには限定されないが、ポリソルベート20やBRIJ界面活性剤がある。

【0089】

典型的な組成物は、ヒトの受動免疫用に使用される、他の抗体を含む組成物と同様の組成物など、注射可能溶液または注入可能溶液の形態である。治療用組成物は、典型的には、製造の条件および保存の条件で、無菌的および安定でなければならない。組成物は、溶液、マイクロエマルジョン、分散液、リポソームまたは高濃度の薬物に適した、その他の要求される構造として製剤化することができる。無菌的な注射可能溶液は、上で列記した成分の1つまたは組み合わせを加えた適切な溶媒中に、必要な量で活性な化合物(すなわち、結合タンパク質または結合タンパク質部分)を組み入れ、その後、必要に応じて、ろ過滅菌によって調製することができる。一般的に、分散液は、基本となる分散溶媒と、上で列記したのから得られる必要なその他の成分を含有する無菌的な媒体中に活性化化合物を取り込ませることによって調製される。無菌的な注射可能溶液の調製のための凍結乾燥された無菌粉末の場合には、調製方法には真空乾燥および噴霧乾燥が含まれ、予め滅菌ろ過されたその溶液から、あらゆる追加の所望される成分を加えた活性成分の粉末を得る。溶液に適した流動性は、例えば、レシチンなどのコーティングを使用することによって、分散液の場合に必要な粒径を維持することによって、および界面活性剤を使用することによって維持することができる。吸収を遅延させる薬剤、例えば、モノステアリン酸塩およびゼラチンを組成物中に含めることによって、注射可能な組成物が吸収される期間を延長することができる。

【0090】

当業者には当然のことであるが、投与の経路および/または様式は、所望される結果に応じて変わる。ある特定の実施形態では、活性化化合物は、迅速な放出に対して化合物を保

10

20

30

40

50

護する担体とともに調製される場合があり、そのような例としては、インプラント、経皮パッチおよび微小封入された送達系を含む制御放出製剤などがある。エチレン酢酸ビニル、ポリ無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステルおよびポリ乳酸など、生物分解可能な生物適合性高分子を使用することができる。このような製剤の多くの調製方法は、特許が付与されているか、または、当業者に一般的に知られている。例えば、Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J. R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978を参照のこと。

【0091】

補助的活性化化合物も、組成物中に取り込ませることが可能である。有る特定の実施形態において、本発明で開示する結合タンパク質または結合タンパク質部分は、TNF-の活性が有害な疾患を治療するのに有用である。例えば、本明細書で開示する抗hTNF-

抗体または抗体部分を、他の標的に結合する1つ以上のさらな抗体（例えば、他のサイトカインに結合する抗体または細胞表面分子に結合する抗体）とともに製剤化し、および/または同時投与してもよい。さらに、本発明で開示する1つ以上の結合タンパク質を、先述の治療薬の2つまたはそれ以上と組み合わせ使用してもよい。このような併用療法では有利なことに、投与される治療薬の用量をより低くすることができるため、様々な単独療法に伴って生じ得る毒性または合併症が回避される。

【0092】

有る特定の実施形態において、TNF-に対する結合タンパク質またはその断片は、当該分野で公知の半減期延長媒体に連結される。このような媒体には、Fcドメイン、ポリエチレングリコールおよびデキストランが含まれるが、これらには限定されない。このような媒体は、例えば、米国特許第6,660,843号に記載されている。

【0093】

具体的な実施形態では、本発明で開示する結合タンパク質または本発明で開示する別の予防薬もしくは治療薬をコードするヌクレオチド配列を含む核酸配列は、遺伝子治療によって、疾患または1つ以上のその症状を治療、予防、管理、または軽減するために投与される。遺伝子治療とは、発現された核酸または発現可能な核酸を対象に投与することによって実行される治療を指す。本開示のこの実施形態では、核酸は、それらがコードしている、予防的効果または治療的効果を媒介する、本発明で開示する結合タンパク質または予防薬もしくは治療薬を産生する。

【0094】

本開示に従えば、当該分野で利用可能ないかなる遺伝子治療の方法にも使用できる。

【0095】

TNF-は、自己免疫疾患などの免疫性および炎症性の要素を伴う様々な疾患に関連がある病理、特に、クローン病、乾癬（尋常性乾癬を含む）、関節炎（関節リウマチ、乾癬性関節炎、変形性関節症、または若年性特発性関節炎を含む）、多発性硬化症、全身性エリテマトーデス、および強直性脊椎炎を含む炎症に関連する病理において非常に重要な役割を担っている。従って、本明細書中の結合タンパク質は、これら疾患の治療に使用してもよい。別の実施形態では、疾患は、呼吸器疾患；喘息；アレルギー性および非アレルギー性喘息；感染症による喘息；呼吸器合胞体ウイルス（RSV）感染による喘息；慢性閉塞性肺疾患（COPD）；気道の炎症を伴う症状；好酸球増加症；線維症および過剰粘液産生；嚢胞性線維症；肺線維症；アトピー性障害；アトピー性皮膚炎；蕁麻疹；湿疹；アレルギー性鼻炎；アレルギー性胃腸炎；皮膚の炎症性および/または自己免疫状態；胃腸器官の炎症性および/または自己免疫状態；炎症性腸疾患（IBD）；潰瘍性大腸炎；肝臓の炎症性および/または自己免疫状態；肝硬変；肝線維症；肝炎Bおよび/またはCウイルスに起因する肝線維症；強皮症；腫瘍または癌；肝細胞の癌腫；膠芽腫；リンパ腫；ホジキンリンパ腫；ウイルス感染；細菌感染；寄生虫感染；HTLV-1感染；保護的な1型免疫応答の発現の抑制、ワクチンを接種している間の、保護的な1型免疫応答の発現の抑制、神経変性性疾患、ニューロン再生、および脊髄損傷である。

10

20

30

40

50

【 0 0 9 6 】

当業者であれば、本発明または本明細書に開示されている実施形態の範囲から逸脱することなく、好適な均等物を用いることで、本発明に開示されている方法に、別の適切な変更および改変を施すことができる。ここまで本発明を詳述してきたが、以下の実施例を参照することにより、本発明をより深く理解できるだろう。ただしこれらの実施例は、例示する目的のためだけのものであり、本発明を限定することを意図してはいない。

【実施例】

【 0 0 9 7 】

実施例 1：インビトロでのディスプレイ系による、TNF に対する完全長ヒト抗体の特定

1. 1：抗体の選択

インビトロディスプレイ技術を用い、完全長ヒト抗ヒトTNFモノクローナル抗体を、それらの組換えヒトTNFタンパク質への結合能を指標として、ヒト抗体ライブラリーから単離した。重鎖可変(VH)および軽鎖可変(VL)領域のアミノ酸配列をDNA配列決定で決定し、表10に示した。

【 0 0 9 8 】

【表10】

表10. 個々のクローンの配列

タンパク質領域		配列番号	配列	
			123456789012345678901234567890	
AE11-1 VH		22	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT <u>SYDVNWVRQATGQGLEWMGWMNPNSGNTGY</u> <u>AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSED</u> TAVYYCAI <u>FDSYMDVW</u> GKGLTVTVSS	10
AE11-1 VH	CDR-H1	配列番号 22 の 31～35 番目の残 基	SYDVN	
AE11-1 VH	CDR-H2	配列番号 22 の 50～66 番目の残 基	WMNPNSGNTGYAQKFQG	20
AE11-1 VH	CDR-H3	配列番号 22 の 99～106 番目の 残基	FDSYMDV	
AE11-1 VL		23	SYELTQPPSVSLSPGQTARITC <u>SGDALPKQ</u> <u>YAYWYQQKPGQAPV</u> LVIY <u>KDTERPS</u> GIPER FSGSSSGTTVTLTISGAQAEDADYYC <u>QSA</u> <u>DSSGTSWV</u> FGGGTKLTVL	30
AE11-1 VL	CDR-L1	配列番号 23 の 23～33 番目の残 基	SGDALPKQYAY	
AE11-1 VL	CDR-L2	配列番号 23 の 49～55 番目の残 基	KDTERPS	40
AE11-1 VL	CDR-L3	配列番号 23 の 89～98 番目の残 基	SADSSGTSWV	

タンパク質領域		配列番号	配列	
			123456789012345678901234567890	
AE11-5 VH		24	EVQLVQSGAEVKKPGSSAKVSCKASGGTFS <u>SYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPILGTANY</u> <u>AQKFLGRVTITADESTSTVYMESSLRSED</u> TAVYYCARGLYYDPTRADYWGQGTLLTVSS	10
AE11-5 VH	CDR-H1	配列番号 24 の 31～35 番目の残 基	SYAIS	
AE11-5 VH	CDR-H2	配列番号 24 の 50～66 番目の残 基	GIIPILGTANYAQKFLG	20
AE11-5 VH	CDR-H3	配列番号 24 の 99～109 番目の 残基	GLYYDPTRADY	
AE11-5 VL		25	DIVMTQSPDFHSTPKEKVTITCRASQSIG <u>SSLHWYQQKPDQSPKLLIRHASQSIGVPS</u> RFGSGSGTDFTLTIHSLEAEDAATYY <u>CHQ</u> <u>SSSSPPPTFGQGTQVEIK</u>	30
AE11-5 VL	CDR-L1	配列番号 25 の 24～34 番目の残 基	RASQSIGSSLH	
AE11-5 VL	CDR-L2	配列番号 25 の 50～56 番目の残 基	HASQSIG	40
AE11-5 VL	CDR-L3	配列番号 25 の 89～98 番目の残 基	HQSSSSPPPT	

タンパク質領域		配列番号	配列	
			123456789012345678901234567890	
TNF-JK1 VH		26	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGFTFN <u>NYWMSWVRQAPGKGLEWVANINHDESEKYY</u> VDSAKGRFTISRDNAEKSLFLQMNSLRAED TAVYYCARI <u>IIRGRVGF</u> DYYNYAMDVWGQGT LVTVSS	10
TNF-JK1 VH	CDR-H1	配列番号 26 の 31～35 番目の残 基	NYWMS	
TNF-JK1 VH	CDR-H2	配列番号 26 の 50～66 番目の残 基	NINHDESEKYYVDSAKG	20
TNF-JK1 VH	CDR-H3	配列番号 26 の 99～115 番目の 残基	IIRGRVGF DYYNYAMDV	
TNF-JK1 VL		27	DIRLTQSPSPLSASVGDRTITCRASQSIG <u>NYLNWYQHKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS</u> RFSGTGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC <u>QE</u> <u>SYSLIFAGG</u> TKVEIK	30
TNF-JK1 VL	CDR-L1	配列番号 27 の 24～34 番目の残 基	RASQSIGNYLN	
TNF-JK1 VL	CDR-L2	配列番号 27 の 50～56 番目の残 基	AASSLQS	40
TNF-JK1 VL	CDR-L3	配列番号 27 の 89～95 番目の残 基	QESYSLI	

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
TNF-Y7C VH		28	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGYTFS <u>NYDINWVRQPTGQGLEWMGWMDPNNNGNTGY</u> <u>AQKFVGRVTMTRDTSKTTAYLELSGLKSED</u> TAVYYCARSSSGSGGTWYKEYFQSWGQGTMV TVSS
TNF-Y7C VH	CDR-H1	配列番号 28 の 31～35 番目の残 基	NYDIN
TNF-Y7C VH	CDR-H2	配列番号 28 の 50～66 番目の残 基	WMDPNNNGTGYAQKFVG
TNF-Y7C VH	CDR-H3	配列番号 28 の 99～112 番目の 残基	KSSGSGGTWYKEYFQS
TNF-Y7C VL		29	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCR <u>SSQSLL</u> <u>HSNGYNYLDWYLQKPGQFPQLLIYLGSYRA</u> <u>SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV</u> YYCM <u>QRIEFPPGT</u> FGGQTKLGIK
TNF-Y7C VL	CDR-L1	配列番号 29 の 24～39 番目の残 基	RSSQSLLHSNGYNYLD
TNF-Y7C VL	CDR-L2	配列番号 29 の 55～61 番目の残 基	LGSYRAS
TNF-Y7C VL	CDR-L3	配列番号 29 の 94～103 番目の 残基	QRIEFPPGT

10

20

30

40

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
AE11-7 VH		30	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGYSLT <u>QYPIHWVRQAPGQRPEWMGWISPGNGNTKL</u> <u>SPKFQGRVTL</u> SRDASAGTVFMDLSGLTSDD TAVYFCTSV <u>VDLGDHWGQ</u> GLVTVSS
AE11-7 VH	CDR-H1	配列番号 30 の 31～35 番目の残 基	QYPIH
AE11-7 VH	CDR-H2	配列番号 30 の 50～66 番目の残 基	WISPGNGNTKLSPKFQG
AE11-7 VH	CDR-H3	配列番号 30 の 99～104 番目の 残基	VDLGDH
AE11-7 VL		31	DIVMTQSPEFQSVTPKEKVTITCRASQSIG <u>SSLHWYQQKPDQSPKLLINYASQSFS</u> GVPS RFSGGSGTDFTLTINSLEAEDAATYY <u>CHQ</u> <u>SSNLPITFGQ</u> GTRLEIK
AE11-7 VL	CDR-L1	配列番号 31 の 24～34 番目の残 基	RASQSIGSSLH
AE11-7 VL	CDR-L2	配列番号 31 の 50～56 番目の残 基	YASQSFS
AE11-7 VL	CDR-L3	配列番号 31 の 89～97 番目の残 基	HQSSNLPIT

10

20

30

40

タンパク質領域		配列番号	配列	
			123456789012345678901234567890	
AE11-13 VH		32	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFD <u>DYPMHWVRQAPGEGLEWVSGLISSNSASIGY</u> <u>ADSVKGRFTISRDNAQNTLYLQMNSLGDED</u> TAVYYCVSLTLGIGQGTLTVSS	10
AE11-13 VH	CDR-H1	配列番号 32 の 31～35 番目の残 基	DYPMH	
AE11-13 VH	CDR-H2	配列番号 32 の 50～66 番目の残 基	GISSNSASIGYADSVKG	20
AE11-13 VH	CDR-H3	配列番号 32 の 99～102 番目の 残基	LTLG	
AE11-13 VL		33	DIRLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSIG <u>NYLHWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS</u> RFSGSGSGTDFLTLTISLQPEDFATYYCQQ <u>SYSTLYSFGQGTKLEIK</u>	30
AE11-13 VL	CDR-L1	配列番号 33 の 24～34 番目の残 基	RASQSIGNYLH	
AE11-13 VL	CDR-L2	配列番号 33 の 50～56 番目の残 基	AASSLQS	40
AE11-13 VL	CDR-L3	配列番号 33 の 89～97 番目の残 基	QQSYSTLYS	

【 0 0 9 9 】

1 . 2 : 完全長ヒト抗ヒト TNF 抗体 AE 1 1 - 5 の親和性成熟

インビトロディスプレイ技術を用い、ヒトTNFに対するAE11-5ヒト抗体を親和性成熟させた。28、31、32、51、55、91、92、93、95aおよび96番目（カバットの番号付け）にのみ、限定的に突然変異を含む様に、軽鎖ライブラリーを1つ構築した。このライブラリーは同時に、ライブラリー選択を行っている間のフレームワークの生殖系列化（germlining）を可能にするための、フレームワーク生殖系列の逆突然変異、D1E、M4L、H11Q、R49K、H76NおよびQ103K、ならびに50（R/K）と94（S/L）のトグル残基を含んだ。CDRH1およびCDRH2の30、31、33、50、52、および55～58番目の残基（カバットの番号付け）、またはCDRH3の95～100b番目の残基（カバットの番号付け）にのみ限定的な突然変異が含まれるように、2つの重鎖ライブラリーを作成した。CDRH1とCDRH2が変化したライブラリーは、フレームワーク生殖系列の逆突然変異、A18VとL64Q、および54（L/F）と78（V/A）にトグル残基を含み、CDRH3ライブラリーは100c（A/F）にさらにトグル残基を含む。

10

【0100】

低濃度のビオチン化ヒトまたはカニクイザルサルTNF抗原存在下で、ヒトまたはカニクイザルサルTNFへの結合能を指標として、全3種類のライブラリーを別個に選択した。ライブラリーの選択で回収した変異したCDR配列の全てを、別のライブラリーに組換え、組み換えたライブラリーに関し、よりストリンジентな条件で選択を行い、その後、個々の抗体を特定した。

20

【0101】

表11に、AE11-5に由来の親和性成熟した完全長ヒトTNF抗体のVH領域のアミノ酸配列の一覧を示す。各VHの個々のCDRのアミノ酸残基を太字で示している。

【0102】

【表11】

表11. 親和性成熟したAE11-5 VH変異体のアミノ酸配列の一覧

クローン	配列番号	VH
J685M2S2-10VH	94	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSWY A ISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGSANYA QKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-12VH	95	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSYYS ISWV RQAPGQGLEWMGGIMPILGTANYA QKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-13VH	96	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSWY A ISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGSP IYA QKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-14VH	97	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSWY T ISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGSP IYA QKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-16VH	98	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFAWYS ISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGTANYA QKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-18VH	99	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSFYA ISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGAATYA QKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-1VH	100	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSIYA ISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGAAVYA QKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J685M2S2-21VH	101	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSWYITISWV RQAPGQGLEWMGGIMPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-23VH	102	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSWYAIISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGVAVYAAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-25VH	103	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSWYAIISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-27VH	104	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSWYAIISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGSAHYAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-28VH	105	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSWYAIISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGSAIYAAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-29VH	106	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSWYAIISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGTAIYAAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-31VH	107	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSIYITISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILRNPIYAAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J685M2S2-32VH	108	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSYYAISWV RQAPGQGLEWMGGIMPILGTPTYAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDNAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-35VH	109	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSIYTIISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGAPIYAAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDNAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-37VH	110	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSWYAIISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGSATYAAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDNAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-38VH	111	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSWYISWV RQAPGQGLEWMGGIMPILGSASYAAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDNAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-43VH	112	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSWYTIISWV RQAPGQGLEWMGGIMPILGTASYAAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDNAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-44VH	113	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSWYISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGTANYAAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDNAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-45VH	114	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSWYAIISWV RQAPGQGLEWMGGIMPILGTATYAAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDNAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J685M2S2-46VH	115	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSFYTISWV RQAPGQGLEWMGGIMPILGSPHYAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSED TAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-47VH	116	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSWY A ISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSED TAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-48VH	117	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSWY A ISWV RQAPGQGLEWMGGIMPILGSATY AQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSED TAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-4VH	118	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSWY A ISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTPTYAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSED TAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-50VH	119	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSY A ISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSED TAVYYCARGVYYDPKRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-51VH	120	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSLYTISWV RQAPGQGLEWMGGIMPILGAPRYAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSED TAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-52VH	121	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSY A ISWV RQAPGQGLEWMGGIMPILGSP IY AQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSED TAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J685M2S2-53VH	122	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSIY A ISWV RQAPGQGLEWMGGILPILGSP IYAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-55VH	123	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSIY A ISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGSP IYAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-56VH	124	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSWY A ISWV RQAPGQGLEWMGGIVPILGAPLYAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-58VH	125	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSIY A ISWV RQAPGQGLEWMGGIMPILGAPIYAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-5VH	126	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSY Y T ISWV RQAPGQGLEWMGGIMPILGTPAYAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-61VH	127	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSWY S ISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGAATYAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-62VH	128	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSWY A ISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTPTYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J685M2S2-63VH	129	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSWYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTPIYAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-64VH	130	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSWYAISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGIGNYAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-66VH	131	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSIYAISWV RQAPGQGLEWMGGIVPILGAATYAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-67VH	132	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSWYAISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGSSTYAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-68VH	133	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSWYTIISWV RQAPGQGLEWMGGIMPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-6VH	134	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSWYAISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGNSIYAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-70VH	135	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSWYAISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGSPHYAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J685M2S2-71VH	136	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSWY A ISWV RQAPGQGLEWMGGIMPILGTP TYAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-72VH	137	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSY Y A ISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGAANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-73VH	138	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSWY A ISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGAAIY AQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-75VH	139	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSWY A ISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGTATY AQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-76VH	140	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSWY S ISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGSAHYAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-77VH	141	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSWY A ISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGNAIY AQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-78VH	142	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSWY A ISWV RQAPGQGLEWMGGITPILRSAVY AQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J685M2S2-7VH	143	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSWYSISWV RQAPGQGLEWMGGIMPILGTANYAQQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-80VH	144	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSWYAISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGTASYAQQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-81VH	145	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSWYAISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGTAIYAQQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-82VH	146	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSWYAISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGSPAYAQQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-83VH	147	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSRYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGPASYAQQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-84VH	148	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSWYAISWV RQAPGQGLEWMGGITPILDAAIYAQQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-86VH	149	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSWYITISWV RQAPGQGLEWMGGIMPILGIPNYAQQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J685M2S2-87VH	150	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSIYAIISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGSAIYAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-88VH	151	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSYYAISWV RQAPGQGLEWMGGIMPILGTATYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-89VH	152	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAIISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARGVYFDPKRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-8VH	153	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFNWTISWV RQAPGQGLEWMGGIMPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-90VH	154	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAIISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARGVYFDFTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-91VH	155	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSWYAIISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILRFPTYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-92VH	156	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSWYSISWV RQAPGQGLEWMGGILPILDTANYAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J685M2S2-93VH	157	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSWYAIISWV RQAPGQGLEWMGGIMPILGTAVYAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J685M2S2-94VH	158	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSIYSISWV RQAPGQGLEWMGGILPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J688M2-11VH	159	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAIISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARGVYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J688M2-13VH	160	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAIISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARGLYYDPSRADYWG QGTLVTVSS
J688M2-14VH	161	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAIISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARGVYFNPTRADYWG QGTLVTVSS
J688M2-16VH	162	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAIISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARGLYYDPARFDYWG QGTLVTVSS
J688M2-20VH	163	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAIISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARGLYYNPSRADYWG QGTLVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH	
J688M2-21VH	164	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYA QKFQGRVTITADE STSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPKRADYWG QGTLVTVSS	
J688M2-22VH	165	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYA QKFQGRVTITADE STSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPRRADYWG QGTLVTVSS	10
J688M2-28VH	166	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYA QKFQGRVTITADE STSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARGFYYPTRADYWG QGTLVTVSS	20
J688M2-29VH	167	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYA QKFQGRVTITADE STSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARGLYYDFTRADYWG QGTLVTVSS	
J688M2-2VH	168	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYA QKFQGRVTITADE STSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARGLYYDFPKRADYWG QGTLVTVSS	30
J688M2-37VH	169	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYA QKFQGRVTITADE STSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARGVYFDPTRADYWG QGTLVTVSS	40
J688M2-3VH	170	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYA QKFQGRVTITADE STSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARGIYYDPSRADYWG QGTLVTVSS	

クローン	配列番号	VH
J688M2-46VH	171	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARS LYYERTRADYWG QGTLVTVSS
J688M2-48VH	172	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAR WRFYIPIRFDYWG QGTLVTVSS
J688M2-4VH	173	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARG VYYDFTRADYWG QGTLVTVSS
J688M2-50VH	174	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARG LFYDPSRADYWG QGTLVTVSS
J688M2-52VH	175	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARG VYYDPVRADYWG QGTLVTVSS
J688M2-56VH	176	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARG VYYDPIRADYWG QGTLVTVSS
J688M2-57VH	177	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARG IYYDPKRADYWG QGTLVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J688M2-58VH	178	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYA QKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYY NPIRFDYWG QGTLVTVSS
J688M2-64VH	179	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYA QKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGVY FDFPARADYWG QGTLVTVSS
J688M2-65VH	180	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYA QKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGV FDFPTRADYWG QGTLVTVSS
J688M2-68VH	181	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYA QKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGV FYNPTRADYWG QGTLVTVSS
J688M2-69VH	182	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYA QKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGLY YEGPSADYWG QGTLVTVSS
J688M2-6VH	183	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYA QKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGLY YAPNRADYWG QGTLVTVSS
J688M2-73VH	184	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYA QKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGL FYDPTRADYWG QGTLVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J688M2-74VH	185	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGI IPILGTANYA QKFQGRVTITADE STSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARGVYYNPTRADYWG QGTLVTVSS
J688M2-75VH	186	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGI IPILGTANYA QKFQGRVTITADE STSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARGVYYDPARADYWG QGTLVTVSS
J688M2-7VH	187	EVQLVQSGAEVKKSGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGI IPILGTANYA QKFQGRVTITADE STSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARGVYYDPGRADYWG QGTLVTVSS
J688M2-81VH	188	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGI IPILGTANYA QKFQGRVTITADE STSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARGVYFDPSRADYWG QGTLVTVSS
J688M2-82VH	189	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGI IPILGTANYA QKFQGRVTITADE STSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARGLYFDPSRFDYWG QGTLVTVSS
J688M2-83VH	190	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGI IPILGTANYA QKFQGRVTITADE STSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARGLYFDFTRADYWG QGTLVTVSS
J688M2-84VH	191	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGI IPILGTANYA QKFQGRVTITADE STSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARGIYYDPTRADYWG QGTLVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J688M2-88VH	192	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYFDPSRADYWG QGTLVTVSS
J688M2-89VH	193	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGVYYDPSRFDYWG QGTLVTVSS
J688M2-8VH	194	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGQYYDTSRADYWG QGTLVTVSS
J688M2-90VH	195	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSLYYDTRFDYWG QGTLVTVSS
J688M2-92VH	196	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGVFYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J688M2-94VH	197	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGIYYDPARADYWG QGTLVTVSS
J688M2-95VH	198	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYFDPRRADYWG QGTLVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J688M2-96VH	199	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGVYYDTTRADYWG QGTLVTVSS
J693FRM2S2L- 32VH	200	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPARADYWG QGTLVTVSS
J693FRM2S2L- 40VH	201	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCSRGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J693FRM2S2L- 70VH	202	EVQLVQSGAEVMKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCTRGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J693FRM2S2R- 29VH	203	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFNYYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J693FRM2S2R- 46VH	204	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCTRGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J693FRM2S2R- 65VH	205	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCTRGIIYDPTRADYWG QGTLVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J693M2S2L-17VH	206	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQEFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J693M2S2L-32VH	207	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCVRGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J693M2S2L-67VH	208	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTASYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J693M2S2L-75VH	209	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAKGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J693M2S2L-78VH	210	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCERGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J693M2S2L-79VH	211	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSNYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J693M2S2L-94VH	212	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAHKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J693M2S2R-22VH	213	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADCWG QGTLVTVSS
J693M2S2R-24VH	214	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWV QQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J693M2S2R-2VH	215	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J693M2S2R-31VH	216	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J693M2S2R-71VH	217	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYATSWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J693M2S2R-84VH	218	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQKFLGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J693M2S2R-89VH	219	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTSSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWG QGTLVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J703M1S3-10VH	220	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSWY A ISWV RQAPGGGLEWMGGITPILGSATYAQKFQGRVTITADE STSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPKRADYWG QGTLVTVSS
J703M1S3-11VH	221	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSWY A ISWV RQAPGGGLEWMGGITPILGAASYAQKFQGRVTITADE STSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARGIYYDPTRADYWG QGTLVTVSS
J703M1S3-12VH	222	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSWY A ISWV RQAPGGGLEWMGGITPILGAASYAQKFQGRVTITADE STSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARGIYYDPARADYWG QGTLVTVSS
J703M1S3-13VH	223	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSWY A ISWV RQAPGGGLEWMGGITPILGAANYAQKFQGRVTITADE STSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARGVYYDPKRADYWG QGTLVTVSS
J703M1S3-14VH	224	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSWYT ISWV RQAPGGGLEWMGGIMPILGSPTYAQKFQGRVTITADE STSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARGVYYDPRRADYWG QGTLVTVSS
J703M1S3-16VH	225	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSWY A ISWV RQAPGGGLEWMGGITPILGSATYAQKFQGRVTITADE STSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARGIYYDPKRADYWG QGTLVTVSS
J703M1S3-17VH	226	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSWY A ISWV RQAPGGGLEWMGGIVPILGTPIYAQKFQGRVTITADE STSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARGVYYDPKRADYWG QGTLVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J703M1S3-18VH	227	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSWYAISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGSANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMESSLRSEDTAVYYCARGLYYDPARADYWG QGTLVTVSS
J703M1S3-19VH	228	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSWYAISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGSPTYAQKFQGRVTITADE STSTVYMESSLRSEDTAVYYCARGVYYDPKRADYWG QGTLVTVSS
J703M1S3-1VH	229	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSWYITISWV RQAPGQGLEWMGGIMPILGTPVYAAQKFQGRVTITADE STSTVYMESSLRSEDTAVYYCARGVYYDFRRANYWG QGTLVTVSS
J703M1S3-20VH	230	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSWYAISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGAATYAAQKFQGRVTITADE STSTVYMESSLRSEDTAVYYCARGIYYDPKRADYWG QGTLVTVSS
J703M1S3-21VH	231	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSWYAISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGDPITYAQKFQGRVTITADE STSTVYMESSLRSEDTAVYYCARGIYYDPKRADYWG QGTLVTVSS
J703M1S3-22VH	232	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSWYAISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGNPIYAAQKFQGRVTITADE STSTVYMESSLRSEDTAVYYCARGIYYDYKRADYWG QGTLVTVSS
J703M1S3-25VH	233	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSWYAISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGSANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMESSLRSEDTAVYYCARGLFYDFRRADYWG QGTLVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH	
J703M1S3-28VH	234	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFAWYAISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGNAIYAQKFQGRVTITADE STSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARGVYYDPKRADYWG QGTLVTVSS	
J703M1S3-29VH	235	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSWYAISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGNPIYAQKFQGRVTITADE STSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARGVYYDPKRADYWG QGTLVTVSS	10
J703M1S3-2VH	236	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSWYATSWV RQAPGQGLEWMGGITPILGSP IYAQKFQGRVTITADE STSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARGVYYDHRRADYWG QGTLVTVSS	20
J703M1S3-34VH	237	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSWYAISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGSP IYAQKFQGRVTITADE STSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARGVYYDYKRADYWG QGTLVTVSS	
J703M1S3-37VH	238	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSWYAISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGSAIYAQKFQGRVTITADE STSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARGVYYDPKRADYWG QGTLVTVSS	30
J703M1S3-38VH	239	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSWYAISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGTPIYAQKFQGRVTITADE STSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARGVYYDFKRADYWG QGTLVTVSS	40
J703M1S3-3VH	240	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSWYTI SWV RQAPGQGLEWMGGIMPILGTPIYAQKFQGRVTITADE STSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARGVYYDPRRADYWG QGTLVTVSS	

クローン	配列番号	VH
J703M1S3-41VH	241	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSWYAIISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGSANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMEISSLRSEDTAVYYCARGVYYDPKRADYWG QGTLVTVSS
J703M1S3-42VH	242	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSWYAIISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGAPVYAQKFQGRVTITADE STSTVYMEISSLRSEDTAVYYCARGVYYDPKRADYWG QGTLVTVSS
J703M1S3-45VH	243	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSWYAIISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGSAIYAQKFQGRVTITADE STSTVYMEISSLRSEDTAVYYCARGVYYDPKRADYWG QGTLVTVSS
J703M1S3-46VH	244	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSWYAIISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGSPIYAQKFQGRVTITADE STSTVYMEISSLRSEDTAVYYCARGIYYDPKRADYWG QGTLVTVSS
J703M1S3-47VH	245	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSWYTIISWV RQAPGQGLEWMGGIMPILGSANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMEISSLRSEDTAVYYCARGIYYDPKRADYWG QGTLVTVSS
J703M1S3-4VH	246	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSWYAIISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGNAIYAQKFQGRVTITADE STSTVYMEISSLRSEDTAVYYCARGIYYDPKRADYWG QGTLVTVSS
J703M1S3-50VH	247	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSWYAIISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGAATYAQKFQGRVTITADE STSTVYMEISSLRSEDTAVYYCARGVYYDPKRADYWG QGTLVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J703M1S3-51VH	248	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSWYAI SWV RQAPGQGLEWMGGITPILGSP IYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGIYYDYRRADYWG QGTLVTVSS
J703M1S3-53VH	249	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSWYAI SWV RQAPGQGLEWMGGIMPILGIPTYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGVYYDPARADYWG QGTLVTVSS
J703M1S3-54VH	250	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSWYAI SWV RQAPGQGLEWMGGITPILGSP IYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGVYYDPKRADYWG QGTLVTVSS
J703M1S3-57VH	251	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSWYAI SWV RQAPGQGLEWMGGITPILGSAVYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGVYYDPKRADYWG QGTLVTVSS
J703M1S3-5VH	252	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSWYAI SWV RQAPGQGLEWMGGITPILGSAIYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGIYYDYKRADYWG QGTLVTVSS
J703M1S3-62VH	253	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSWYAI SWV RQAPGQGLEWMGGITPILGYPIYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGVYYDPKRADYWG QGTLVTVSS
J703M1S3-6VH	254	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSWYAI SWV RQAPGQGLEWMGGITPILGAATYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGIYYDFRRADYWG QGTLVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J703M1S3-72VH	255	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSWYPIISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGSAIYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSED TAVYYCARGVYYDFRRADYWG QGTLVTVSS
J703M1S3-78VH	256	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSWYAIISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGTANYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSED TAVYYCARGVYYDPKRADYWG QGTLVTVSS
J703M1S3-79VH	257	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSWYAIISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGSAVY AQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSED TAVYYCARGIYYDPKRADYWG QGTLVTVSS
J703M1S3-7VH	258	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSWYAIISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGNPIYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSED TAVYYCARGVYYD PARADYWG QGTLVTVSS
J703M1S3-81VH	259	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSWYTIISWV RQAPGQGLEWMGGIMPILGAPNYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSED TAVYYCARGVYYDYTRADYWG QGTLVTVSS
J703M1S3-83VH	260	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFAWYAIISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGSPTYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSED TAVYYCARGVYYDPKRADYWG QGTLVTVSS
J703M1S3-86VH	261	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFGWYATSWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGTPNYAQKFQGRVTITADE STSTVYMELSSLRSED TAVYYCARGVYYDPKRADYWG QGTLVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J703M1S3-87VH	262	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV S CKASGGTFSWY T ISWV RQAPGQGLEWMGGIMPILGTPT Y AQ K FQGRVTITADE STSTVYME L SSLRSEDTAVYYCARGVYYDPKRAD Y WG QGTLVTVSS
J703M1S3-88VH	263	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV S CKASGGTFSWY T ISWV RQAPGQGLEWMGGIMPILGSP N YAQ K FQGRVTITADE STSTVYME L SSLRSEDTAVYYCARGI Y DPKRAD Y WG QGTLVTVSS
J703M1S3-91VH	264	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV S CKASGGTFSW Y AISWV RQAPGQGLEWMGGIMPILGSAT Y AQ K FQGRVTITADE STSTVYME L SSLRSEDTAVYYCARGV Y FDPKRAD Y WG QGTLVTVSS
J703M1S3-93VH	265	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV S CKASGGTFSW Y AISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGA A NYAQ K FQGRVTITADE STSTVYME L SSLRSEDTAVYYCARG L YDPKRAD Y WG QGTLVTVSS
J703M1S3-9VH	266	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV S CKASGGTFSW Y PISWV RQAPGQGLEWMGGITPILGAGI Y AQ K FQGRVTITADE STSTVYME L SSLRSEDTAVYYCARGVYYDFKRAD Y WG QGTLVTVSS

10

20

30

【0103】

表12に、AE11-5由来の親和性成熟した完全長ヒトTNF抗体のVL領域のアミノ酸配列の一覧を示す。各VH配列の個々のCDRのアミノ酸残基を太字で示している。

【0104】

【表12】

表12. 親和性成熟したAE11-5 VL変異体のアミノ酸配列の一覧

40

クローン	配列番号	VL	
J685M2S2-17Vk	267	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSSSPPPTFGQGTKVEIK	
J685M2S2-94Vk	268	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSSSPPPTFGQWTKVEIK	10
J688M2-37Vk	269	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRARQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSIGVPSRFSGSGSGTNFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSSSPPPTFGQGTKVEIK	
J688M2-90Vk	270	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSSSPPPTFGQGTKVEIK	20
J693FRM2S2L- 26Vk	271	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGRSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSVSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQNRSSPPSTFGQGTKVEIK	
J693FRM2S2L- 27Vk	272	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGRSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSLSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSSSPPVTFGQGTKVEIK	30
J693FRM2S2L- 29Vk	273	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQRSNLPAPTFGQGTKVEIK	
J693FRM2S2L- 39Vk	274	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQIIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSFSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQPICSPPTFGQGTKVEIK	40
J693FRM2S2L-3Vk	275	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQTIGSNLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSLSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQCSISPPATFGQGTKVEIK	

クローン	配列番号	VL
J693FRM2S2L- 40Vk	276	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQCIGTSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYDSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQNSSSPPTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2L- 42Vk	277	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQNIGNSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYTSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQTSSLPLPTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2L- 43Vk	278	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYVSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQISDLPTSTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2L- 45Vk	279	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQRIGSNLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQGSSLPPPTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2L- 46Vk	280	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQCIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHTSQSNSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSNSSPLSTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2L- 47Vk	281	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQNIGGSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQNSSLPLPTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2L- 48Vk	282	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSRLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSKSPPTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2L- 52Vk	283	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSCLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSVSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQRSSLPTPTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2L- 53Vk	284	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGGRLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSLSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQASSPSTTFGQGTKVEIK

10

20

30

40

クローン	配列番号	VL
J693FRM2S2L- 54Vk	285	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQRIGPSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQNSCLPSTTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2L- 58Vk	286	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGRSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSRSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSGISPPTTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2L- 59Vk	287	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGTSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYVSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQGMSSPAPTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2L-5Vk	288	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSLSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQRRNSPPPTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2L- 88Vk	289	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQKIGSGLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQNNSSPHKTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2L- 89Vk	290	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQTIGSNLHWYQ QKPDQSPKLLIKHSSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQNSSSPLPTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2L-8Vk	291	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQNIGRSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSSSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSRSSPPPTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2L- 90Vk	292	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQCIGKSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHPSQSVSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSIGLPPTTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2L- 91Vk	293	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQTIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSLSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSISPATFGQGTKVEIK

10

20

30

40

クローン	配列番号	VL
J693FRM2S2L- 92Vk	294	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSTLHWYQ QKPDQSPKLLIKYESQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQRCCSPTQTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2L- 94Vk	295	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGRKLHWYQ QKPDQSPKLLIKYSSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSRSPPTTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2R- 10Vk	296	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQTIGTSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSLSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSSSPPTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2R- 11Vk	297	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHVSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQRGSSPPTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2R- 12Vk	298	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQTIGSTLHWYQ QKPDQSPKLLIKHTSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQRSSSPPTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2R- 14Vk	299	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSNLHWYQ QKPDQSPKLLIKHGSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQRHSSPRATFGQGTKVEIK
J693FRM2S2R- 15Vk	300	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQKIGSNLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSFSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQNSSSPATFGQGTKVEIK
J693FRM2S2R- 16Vk	301	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGRSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSRSPFRTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2R- 34Vk	302	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQCIGRRLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSRSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQCTSSPPPTFGQGTKVEIK

10

20

30

40

クローン	配列番号	VL
J693FRM2S2R- 36Vk	303	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQRIGSNLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSLRLPPQTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2R- 39Vk	304	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQNRSLPRLTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2R-3Vk	305	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSCLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSIGVPSRSSVASGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQRSSLPQPTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2R- 42Vk	306	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGRRLHWYQ QKPDQSPKLLIKHPSQSVSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSIDSPPPTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2R- 45Vk	307	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQTIGRSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYKSQSSSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQRWGLPMPPTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2R- 48Vk	308	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQRIGSMLHWYQ QKPDQSPKLLIKHSSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQTNSLPPRTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2R- 50Vk	309	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGRSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQGSRSPLDTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2R- 51Vk	310	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGCSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSVSVVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSTLPPPTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2R- 52Vk	311	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQIGTSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHDSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQTSSLPPPTFGQGTKVEIK

10

20

30

40

クローン	配列番号	VL
J693FRM2S2R-56Vk	312	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQIIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSSLPLPTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2R-58Vk	313	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYTSQSKSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQGNRSPSTTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2R-59Vk	314	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASKRIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHKSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQRSASPPPTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2R-5Vk	315	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQTIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHPSQSMGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSTSPPATFGQGTKVEIK
J693FRM2S2R-60Vk	316	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQRSSLPTPTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2R-61Vk	317	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSTLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSFSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSNCSAHTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2R-62Vk	318	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQTIGSRLHWYQ QKPDQSPKLLIKYVSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQGSRLPPPTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2R-63Vk	319	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQRIGSTLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSCSPQATFGQGTKVEIK
J693FRM2S2R-64Vk	320	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGTSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYPSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSGRSPPHTFGQGTKVEIK

10

20

30

40

クローン	配列番号	VL
J693FRM2S2R-65Vk	321	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQNSILPPPTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2R-92Vk	322	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQCIGSYLHWYQ QKPDQSPKLLIKHVSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSSSPTLTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2R-93Vk	323	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQMSGVPSGFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQTNRSPPPTFGQGTKVEIK
J693FRM2S2R-9Vk	324	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQNIIGTSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYVSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLN INSLEAEDAATYYCHQSSCLPRPTFGQGTKVEIK
J693M2S2L-10Vk	325	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSPLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQGSSSPPTFGQGTKVEIK
J693M2S2L-11Vk	326	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSTLHWYQ QKPDQSPKLLIKHDSQSKSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSDSPAPTFGQGTKVEIK
J693M2S2L-12Vk	327	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSCLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQNSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSRISPLPTFGQGTKVEIK
J693M2S2L-13Vk	328	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGRRLHWYQ QKPDQSPKLLIKHSSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQCSSLPHPTFGQGTKVEIK
J693M2S2L-14Vk	329	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQRIGSRLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSTSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSCSSPLVTFGQGTKVEIK

10

20

30

40

クローン	配列番号	VL
J693M2S2L-16Vk	330	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSRHLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSSSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSGSSPQATFGQGTKVEIK
J693M2S2L-17Vk	331	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSVSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQNRGSPPTFGQGTKVEIK
J693M2S2L-18Vk	332	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQTIGSILHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQNTSLPPPTFGQGTKVEIK
J693M2S2L-19Vk	333	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGNSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYPSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQGSRLPVPTFGQGTKVEIK
J693M2S2L-1Vk	334	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSRHLHWYQ QKPDQSPKLLIKHTSQNSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSSLPAPTFGQGTKVEIK
J693M2S2L-20Vk	335	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQNISSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHVSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQNSLPAAPTFGQGTKVEIK
J693M2S2L-21Vk	336	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQMSLPSATFGQGTKVEIK
J693M2S2L-22Vk	337	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQRIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHLSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQPCRLPSTFGQGTKVEIK
J693M2S2L-23Vk	338	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSCSSPRHTFGQGTKVEIK

10

20

30

40

クローン	配列番号	VL
J693M2S2L-24Vk	339	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQRIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHPSQSKSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSRSPAPTFGQGTKVEIK
J693M2S2L-25Vk	340	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYSSQSLSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSILPSLTFGQGTKVEIK
J693M2S2L-26Vk	341	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHPSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSRNLPPRTFGQGTKVEIK
J693M2S2L-27Vk	342	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSILHWYQ QKPDQSPKLLIKYGSQSLSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQNGSSPPRTFGQGTKVEIK
J693M2S2L-28Vk	343	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYFSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQNSCLPMQTFGQGTKVEIK
J693M2S2L-29Vk	344	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQNISSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYSSQSVSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSISPPATFGQGTKVEIK
J693M2S2L-2Vk	345	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQCIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQNSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSTCLPPRTFGQGTKVEIK
J693M2S2L-30Vk	346	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSRLHWYQ QKPDQSPKLLIKYVSQSMGVLSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQPSTSPRPTFGQGTKVEIK
J693M2S2L-31Vk	347	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSRLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQNSSLPPSTFGQGTKVEIK

10

20

30

40

クローン	配列番号	VL
J693M2S2L-32Vk	348	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGCSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSSSPSTFGGQTKVEIK
J693M2S2L-33Vk	349	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQIIGTSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSRSPPTFGGQTKVEIK
J693M2S2L-34Vk	350	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQKIGTSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHESQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSGSPPTFGGQTKVEIK
J693M2S2L-35Vk	351	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQTIGGSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHVSQSVSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSISPPPTFGGQTKVEIK
J693M2S2L-36Vk	352	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSDLHWYQ QKPDQSPKLLIKHVSQSVSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSCMSPSLTFGGQTKVEIK
J693M2S2L-37Vk	353	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSNLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSSLPNTTFGGQTKVEIK
J693M2S2L-38Vk	354	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQRIGSILHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQGRISPSSTFGGQTKVEIK
J693M2S2L-39Vk	355	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGNRLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSLSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSGSLPTLTFGGQTKVEIK
J693M2S2L-3Vk	356	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQTIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHDSQSLSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQNSSLPTHTFGGQTKVEIK

10

20

30

40

クローン	配列番号	VL
J693M2S2L-40Vk	357	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQTIGRSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHGSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSRSSPSTFGQGTKVEIK
J693M2S2L-41Vk	358	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQNCSSPPPTFGQGTKVEIK
J693M2S2L-44Vk	359	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYESQSDSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQRRNSPSTFGQGTKVEIK
J693M2S2L-45Vk	360	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQIGSRLHWYQ QKPDQSPKLLIKHGSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQNRGLPAPTFGQGTKVEIK
J693M2S2L-46Vk	361	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSSSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQNHTSPPPTFGQGTKVEIK
J693M2S2L-47Vk	362	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSRLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSVSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSGRLPPPTFGQGTKVEIK
J693M2S2L-4Vk	363	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQYIGKRLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSNISPPPTFGQGTKVEIK
J693M2S2L-51Vk	364	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQRIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHESQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSSLPPPTFGQGTKVEIK
J693M2S2L-52Vk	365	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQTIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQRSSLPPSTFGQGTKVEIK

10

20

30

40

クローン	配列番号	VL
J693M2S2L-54Vk	366	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGRSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHPSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQCSSSPAQTFGQGTKVEIK
J693M2S2L-55Vk	367	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGRSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHTSQSLSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQRSSLPLPTFGQGTKVEIK
J693M2S2L-56Vk	368	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQWIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHTSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSSLPPQTFGQGTKVEIK
J693M2S2L-58Vk	369	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGRSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYSSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQGSSSPPTFGQGTKVEIK
J693M2S2L-59Vk	370	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSRLPPSTFGQGTKVEIK
J693M2S2L-5Vk	371	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYGSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQNWSLPLPTFGQGTKVEIK
J693M2S2L-62Vk	372	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQRIGTSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSKSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSCSPTPTFGQGTKVEIK
J693M2S2L-64Vk	373	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGGSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYGSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQRCVSPSPTFGQGTKVEIK
J693M2S2L-65Vk	374	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGGTLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSSSPARTFGQGTKVEIK

10

20

30

40

クローン	配列番号	VL
J693M2S2L-66Vk	375	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQCGSSPLHTFGGQTKVEIK
J693M2S2L-67Vk	376	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGTSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHPSQSLSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSTSSPPPTFGGQTKVEIK
J693M2S2L-68Vk	377	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQNISSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQNSGLPLPTFGGQTKVEIK
J693M2S2L-69Vk	378	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGRRLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQGSSSPSPTFGGQTKVEIK
J693M2S2L-6Vk	379	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQRIGGNLHWYQ QKPDQSPKLLIKHESQNSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSSLPSHTFGGQTKVEIK
J693M2S2L-70Vk	380	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSTSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQCSSSPSHTFGGQTKVEIK
J693M2S2L-71Vk	381	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQMSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSRNSPPTFGGQTKVEIK
J693M2S2L-72Vk	382	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQRIGSRLHWYQ QKPDQSPKLLIKHGSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQNSSSPPTFGGQTKVEIK
J693M2S2L-74Vk	383	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQNISSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSLSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSLLPAPTFGGQTKVEIK

10

20

30

40

クローン	配列番号	VL
J693M2S2L-75Vk	384	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQIIGTTLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQNSNLPSTFGQGTKVEIK
J693M2S2L-76Vk	385	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQNIGGNLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSLSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSNLPPTFGQGTKVEIK
J693M2S2L-77Vk	386	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQIGGSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSTSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSACLPTRTFGQGTKVEIK
J693M2S2L-78Vk	387	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGTSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSVSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQIGSLPPPTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-13Vk	388	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGRSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSVSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQNSRLPPPTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-14Vk	389	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHNSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQRSSPPLTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-15Vk	390	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGRNLHWYQ QKPDQSPKLLIKHVSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQRSRSPSTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-16Vk	391	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSVSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQCSSLPAPTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-17Vk	392	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQRIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSLSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSRLPPQTFGQGTKVEIK

10

20

30

40

クローン	配列番号	VL
J693M2S2R-18Vk	393	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQCIGSRLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQGRRLPPRTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-19Vk	394	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSTSLPRLTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-20Vk	395	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQIIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSRSSPQQTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-21Vk	396	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSTLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSSLPPPTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-22Vk	397	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGNSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHGSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQRRSSPRHTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-27Vk	398	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQRIGRRLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSIGSPPLTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-29Vk	399	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGRGLHWYQ QKPDQSPKLLIKYGSQSMGVPSPRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSSLPPPTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-2Vk	400	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGCSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQCTSLPLPTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-30Vk	401	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYVSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQGSSLPTPTFGQGTKVEIK

10

20

30

40

クローン	配列番号	VL
J693M2S2R-31Vk	402	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGTSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSSSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSRLPPLTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-32Vk	403	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQVIGGVLHWYQ QKPDQSPKLLIKYTSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSSSPRPTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-33Vk	404	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHSSQSLSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQRSNSPHRTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-36Vk	405	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGRTLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQCSISPQPTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-37Vk	406	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQRIGNTLHWYQ QKPDQSPKLLIKYPSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSGSSPPPTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-39Vk	407	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSRLHWYQ QKPDQSPKLLIKYISQSMMSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSCGLPPPTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-3Vk	408	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQNIGTRLHWYQ QKPDQSPKLLIKYGSQSLSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSRISPPPTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-40Vk	409	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSTLHWYQ QKPDQSPKLLIKYVVSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQCSRLPPPTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-44Vk	410	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSRLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSTSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSNLPSPPTFGQGTKVEIK

10

20

30

40

クローン	配列番号	VL
J693M2S2R-45Vk	411	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSNLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSMSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSSLPRPTFGGQTKVEIK
J693M2S2R-46Vk	412	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQIIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSISSPSTFGGQTKVEIK
J693M2S2R-47Vk	413	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSFSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSNCLPPPTFGGQTKVEIK
J693M2S2R-48Vk	414	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGKSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHESQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQANSLPPPTFGGQTKVEIK
J693M2S2R-4Vk	415	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGRRLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQCSSSPPSTFGGQTKVEIK
J693M2S2R-52Vk	416	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQIIGHSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSILGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSIKSPATFGGQTKVEIK
J693M2S2R-54Vk	417	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGTSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHTSQSKSGVPSRFSGSGSGTDFALT INSLEAEDAATYYCHQSSNSPRYTFGGQTKVEIK
J693M2S2R-55Vk	418	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSHSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSGGSPPTFGGQTKVEIK
J693M2S2R-56Vk	419	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQIGRSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSLSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSNRSPPTFGGQTKVEIK

10

20

30

40

クローン	配列番号	VL
J693M2S2R-5Vk	420	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGTTLHWYQ QKPDQSPKLLIKHVSQSTSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSSLPHPTFGGQTKVEIK
J693M2S2R-60Vk	421	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQIIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYPSQSTSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSWSSPLMTFGGQTKVEIK
J693M2S2R-61Vk	422	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGNTLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSSSPPPTFGGQTKVEIK
J693M2S2R-62Vk	423	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQRIGICLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSMGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQGFSLPPATFGGQTKVEIK
J693M2S2R-63Vk	424	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSCLHWYQ QKPDQSPKLLIKYPSQSTSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQGSCSPTTTFGGQTKVEIK
J693M2S2R-64Vk	425	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQRIGNTLHWYQ QKPDQSPKLLIKYPSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSGSSPPPTFGGQTKVEIK
J693M2S2R-65Vk	426	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQTIGTSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSTSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQRCSLPPPTFGGQTKVEIK
J693M2S2R-68Vk	427	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGGSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSHSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQCRISPRPTFGGQTKVEIK
J693M2S2R-69Vk	428	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQRIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHPSQSKSGVPSRFSGSGSGTDFTLS INSLEAEDAATYYCHQTSRSPLHTFGGQTKVEIK

10

20

30

40

クローン	配列番号	VL
J693M2S2R-6Vk	429	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQNIQKLNHWYQ QKPDQSPKLLIKYPSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSRSSPLSTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-70Vk	430	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSRHWHYQ QKPDQSPKLLIKYMSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSRVLPPTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-71Vk	431	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYGSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSISPRRTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-72Vk	432	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQTIGRSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQRKSSPTPTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-75Vk	433	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQRIGRQLHWYQ QKPDQSPKLLIKHPSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSSLPPQTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-77Vk	434	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHTSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQICRSPSPTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-78Vk	435	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSSSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSGSPAPTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-79Vk	436	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYSSQSTSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQISSPPTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-7Vk	437	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQTIGNSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQNSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQTMTSPPTFGQGTKVEIK

10

20

30

40

クローン	配列番号	VL
J693M2S2R-80Vk	438	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSRSSPSPTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-81Vk	439	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQRRWSPPPTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-82Vk	440	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQNSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQISCLPLPTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-83Vk	441	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQRIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQISLPPPTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-84Vk	442	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGRNLHWYQ QKPDQSPKLLIKHTSQSLSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQTSTLPPQTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-85Vk	443	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGRSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSRNSPQPTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-86Vk	444	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGTRLHWYQ QKPDQSPKLLIKYVSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSHSPPTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-87Vk	445	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSCLHWYQ QKPDQSPKLLIKHRSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQWSSSPPTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-89Vk	446	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQRIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHPSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQTSGSPSHTFGQGTKVEIK

10

20

30

40

クローン	配列番号	VL
J693M2S2R-8Vk	447	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYESQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSSSPPPTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-90Vk	448	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHDSQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSSSPPTTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-91Vk	449	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQTIGSNLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQRISPPSTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-92Vk	450	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQTIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSVSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSCSSPSTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-93Vk	451	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQTIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYVVSQSLSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQTISSPLPTFGQGTKVEIK
J693M2S2R-95Vk	452	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSRLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSCSPAHTFGQGTKVEIK
J703M1S3-11Vk	453	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRDSRCIGSNLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSSSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQCSSPPPTFGQGTKVEIK
J703M1S3-13Vk	454	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSTLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQNSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSSLPPPTFGQGTKVEIK
J703M1S3-16Vk	455	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGDSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSKSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQGSTSPPTFGQGTKVEIK

10

20

30

40

クローン	配列番号	VL
J703M1S3-19Vk	456	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHGSQSSSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSWSSPIPTFGQGTKVEIK
J703M1S3-22Vk	457	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSRHLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSTSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSNLPSPTFGQGTKVEIK
J703M1S3-26Vk	458	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSRHLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSTSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSGSSPRTFGQGTKVEIK
J703M1S3-29Vk	459	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQRTSSPVRTFGQGTKVEIK
J703M1S3-2Vk	460	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGNTLHWYQ QKPDQSPKLLIKHVSQSVSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQKVSSPSPTFGQGTKVEIK
J703M1S3-30Vk	461	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQRIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSVSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSRSSPPPTFGQGTKVEIK
J703M1S3-33Vk	462	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSTSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSSSPPSTFGQGTKVEIK
J703M1S3-34Vk	463	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQNSSSPSTTFGQGTKVEIK
J703M1S3-57Vk	464	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQCIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHESQSSSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQRCTSPSPTFGQGTKVEIK

10

20

30

40

クローン	配列番号	VL	
J703M1S3-5Vk	465	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQRIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHPSQSDSGVPSRFRSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQNCSLPLPTFGQGTKVEIK	
J703M1S3-62Vk	466	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQCIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSTSGVPSRFRSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQGISSPPQTFGQGTKVEIK	10
J703M1S3-69Vk	467	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHVSQSLSGVPSRFRSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQRSSSPSPTFGQGTKVEIK	
J703M1S3-71Vk	468	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHPSQSLSGVPSRFRSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSIRLPPSTFGQGTKVEIK	20
J703M1S3-78Vk	469	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRANQSIGGSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSKSGVPSRFRSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQDSRSPTRTFGQGTKVEIK	
J703M1S3-79Vk	470	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSGLHWYQ QKPDQSPKLLIKHTSQSISGVPSRFRSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSSLPHPTFGQGTKVEIK	30
J703M1S3-7Vk	471	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSTSGVPSRFRSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSSSPTPTFGQGTKVEIK	
J703M1S3-81Vk	472	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSRLHWYQ QKPDQSPKLLIKYPSQSRSGVPSRFRSGSGSGTDLTLT INSLEAEDAATYYCHQNGSLPPPTFGQGTKVEIK	40
J703M1S3-82Vk	473	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSISGVPSRFRSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQNSSSPPTFGQGTKVEIK	

クローン	配列番号	VL
J703M1S3-86Vk	474	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSALHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSLSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQSSILPRPTFGQGTKVEIK
J703M1S3-90Vk	475	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSNLHWYQ QKPDQSPKLLIKHASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQTRTSPPLTFGQGTKVEIK
J703M1S3-93Vk	476	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQKIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYGSQSTSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQCISLPTPTFGQGTKVEIK
J703M1S3-94Vk	477	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVAITCRASQRIGSSLHWYQ QKPDQSPKLLIKYASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLEAEDAATYYCHQNSSLPPPTFGQGTKVEIK

10

20

【 0 1 0 5 】

【 表 1 3 】

表 1 3 . 親和性成熟した A E 1 1 - 5 抗体で観察されたアミノ酸残基

AE11-5 重鎖可変領域 (配列番号 1073)

30

AE11-5	1234567890123456789012345678901234567890123456789012a345678901	10
VH	EVQLVQSGAEVKKPGSSAKVSCASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPILGTANYAQ	
	<p style="text-align: center;">V NW TTT WT FRSPI</p> <p style="text-align: center;"> TY SV M TDAST</p> <p style="text-align: center;"> GI P L I NGS</p> <p style="text-align: center;"> AN G V P V</p> <p style="text-align: center;"> F N I H</p> <p style="text-align: center;"> R V A</p> <p style="text-align: center;"> L K R</p> <p style="text-align: center;"> F M</p> <p style="text-align: center;"> L</p>	
	<u>234567890123456789012abc345678901234567890abc1234567890123</u> <u>KFLGRVTITADESTSTVYMESSLRSED TAVYYCARGLYYDPTRADYWGQGLTVTVSS</u>	
	<p>Q A SVFFNTSWF</p> <p> WIVVEFASM</p> <p> TFP TRKP</p> <p> ARH IGRA</p> <p> Q ADI</p> <p> Y</p> <p> V</p> <p> P</p> <p> N</p> <p> G</p>	30
AE11-5 輕鎖可変領域 (配列番号 1074)		

AE11-5 VL	1234567890123456789012345678901234567890123456789012345678901
	DIVMTQSPDFHSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQQKPDQSPKLLIRHASQSIGVPSR E L Q R RR KYV L T TT P V N GN T T I NC G S C KG S M G CI E N K HK D K Y VM F W PL R LY P V
	2345678901234567890123456789012345a67890123456a FSGSGGTDFTLTIHSLEAEDAATYYCHQSSSSPPPTFGQGTQVEIK N RRRL LS K NGI AR GIC SL TCG RT CNN TA ITT QQ MK HH V M

10

20

30

【 0 1 0 6 】

【 表 1 4 】

表 1 4. 変換型クローン由来の個々のVH配列

タンパク質領域	配列番号	配列
		123456789012345678901234567890
J703M1S3 #2 VH	478	EVQLVQSGAEVKKKPGSSVKV SCKASGGTFS WYATSWVRQAPGQGLEWMGGITPILGSP IY A QKFQGRVTITADESTSTVYME LSSLRSED TAVYYCARGVYYDHRRADYWGQGT LTVSS

40

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
J703M1S3 #2 VH	CDR-H1	配列番号 478 の 31～35 番目の残 基	WYATS
J703M1S3 #2 VH	CDR-H2	配列番号 478 の 50～66 番目の残 基	GITPILGSPIYAQKFQG
J703M1S3 #2 VH	CDR-H3	配列番号 478 の 99～109 番目の 残基	GVYYDHRRADY
J703M1S3 #13 VH		479	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFS WYAISWVRQAPGQGLEWM GGITPILGAANY AQKFQGRVTITADESTSTV YMEISSLRSED TAVYYCARGVYYDPKRADY WGQGLTVTVSS
J703M1S3 #13	CDR-H1	配列番号 479 の 31～35 番目の残 基	WYAIS
J703M1S3 #13 VH	CDR-H2	配列番号 479 の 50～66 番目の残 基	GITPILGAANYAQKFQG
J703M1S3 #13 VH	CDR-H3	配列番号 479 の 99～109 番目の 残基	GVYYDPKRADY
J703M1S3 #26 VH		480	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFS WYAISWVRQAPGQGLEWM GGITPILGTANY AQKFQGRVTITADESTSTV YMEISSLRSED TAVYYCARGVYYDPKRADY WGQGLTVTVSS

10

20

30

40

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
J703M1S3 #26 VH	CDR-H1	配列番号 480 の 31～35 番目の残 基	WYAIS
J703M1S3 #26 VH	CDR-H2	配列番号 480 の 50～66 番目の残 基	GITPILGTANYAQKFQG
J703M1S3 #26 VH	CDR-H3	配列番号 480 の 99～109 番目の 残基	GVYYDPKRADY
J703M1S3 #30 VH		481	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFS WYAISWVRQAPGQGLEWMGGITPILGSPYI AQKFQGRVTITADESTSTVYMELSSLRSED TAVYYCARGVYYDPKRADYWGQGLTVTVSS
J703M1S3 #30 VH	CDR-H1	配列番号 481 の 31～35 番目の残 基	WYAIS
J703M1S3 #30 VH	CDR-H2	配列番号 481 の 50～66 番目の残 基	GITPILGSPYIAQKFQG
J703M1S3 #30 VH	CDR-H3	配列番号 481 の 99～109 番目の 残基	GVYYDPKRADY
J703M1S3 #33 VH		482	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFS WYPISWVRQAPGQGLEWMGGITPILGAGIY AQKFQGRVTITADESTSTVYMELSSLRSED TAVYYCARGVYYDFKRADYWGQGLTVTVSS

10

20

30

40

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
J703M1S3 #33 VH	CDR-H1	配列番号 482 の 31～35 番目の残 基	WYPIS
J703M1S3 #33 VH	CDR-H2	配列番号 482 の 50～66 番目の残 基	GITPILGAGIYAQKFQG
J703M1S3 #33 VH	CDR-H3	配列番号 482 の 99～109 番目の 残基	GVYYDFKRADY
J703M1S3 #35 VH		483	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFS WYAISWVRQAPGQGLEWMGGITPILGSATY AQKFQGRVTITADESTSTVYMELSSLRSED TAVYYCARGIYYDPKRADYWGQGLTVTVSS
J703M1S3 #35 VH	CDR-H1	配列番号 483 の 31～35 番目の残 基	WYAIS
J703M1S3 #35 VH	CDR-H2	配列番号 483 の 50～66 番目の残 基	GITPILGSATYAQKFQG
J703M1S3 #35 VH	CDR-H3	配列番号 483 の 99～109 番目の 残基	GIYYDPKRADY
J703M1S3 #38 VH		484	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFS WYAISWVRQAPGQGLEWMGGITPILGTPIY AQKFQGRVTITADESTSTVYMELSSLRSED TAVYYCARGVYYDFKRADYWGQGLTVTVSS

10

20

30

40

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
J703M1S3 #38 VH	CDR-H1	配列番号 484 の 31～35 番目の残 基	WYAIS
J703M1S3 #38 VH	CDR-H2	配列番号 484 の 50～66 番目の残 基	GITPILGTPIYAQKFQG
J703M1S3 #38 VH	CDR-H3	配列番号 484 の 99～109 番目の 残基	GVYYDFKRADY
J703M1S3 #69 VH		485	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFS WYAISWVRQAPGQGLEWMGGITPILGSPYI AQKFQGRVTITADESTSTVYMELSSLRSED TAVYYCARGIYYDPKRADYWGQGLTVTVSS
J703M1S3 #69 VH	CDR-H1	配列番号 485 の 31～35 番目の残 基	WYAIS
J703M1S3 #69 VH	CDR-H2	配列番号 485 の 50～66 番目の残 基	GITPILGSPYIAQKFQG
J703M1S3 #69 VH	CDR-H3	配列番号 485 の 99～109 番目の 残基	GIYYDPKRADY
J703M1S3 #90 VH		486	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFS WYAISWVRQAPGQGLEWMGGITPILGSPYI AQKFQGRVTITADESTSTVYMELSSLRSED TAVYYCARGVYYDYKRADYWGQGLTVTVSS

10

20

30

40

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
J703M1S3 #90 VH	CDR-H1	配列番号 486 の 31～35 番目の残 基	WYAIS
J703M1S3 #90 VH	CDR-H2	配列番号 486 の 50～66 番目の残 基	GITPILGSPIYAQKFQG
J703M1S3 #90 VH	CDR-H3	配列番号 486 の 99～109 番目の 残基	GVYYDYKRADY

10

【 0 1 0 7 】

20

【 表 1 5 】

表 1 5. 個々のクローンの V L 配列

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
J703M1S3 #2 VL		487	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIG NTLHWYQQKPDQSPKLLIKHVSQSVSGVPS RFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAATYYCHQ KVSSPSPTFGQGTKVEIK
J703M1S3 #2 VL	CDR-L1	配列番号 487 の 24～34 番目の残 基	RASQSIGNTLH
J703M1S3 #2 VL	CDR-L2	配列番号 487 の 50～56 番目の残 基	HVSQSVS
J703M1S3 #2 VL	CDR-L3	配列番号 487 の 89～98 番目の残 基	HQKVSSPSPT

30

40

50

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
J703M1S3 #13 VL		488	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIG STLHWYQQKPDQSPKLLIKHASQSNSGVPS RFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAATYYCHQ SSSLPPPTFGQGTVKEI
J703M1S3 #13 VL	CDR-L1	配列番号 488 の 24～34 番目の残 基	RASQSIGSTLH
J703M1S3 #13 VL	CDR-L2	配列番号 488 の 50～56 番目の残 基	HASQSNS
J703M1S3 #13 VL	CDR-L3	配列番号 488 の 89～98 番目の残 基	HQSSSLPPPT
J703M1S3 #26 VL		489	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIG SRLHWYQQKPDQSPKLLIKHASQSTSGVPS RFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAATYYCHQ SGSSPPRTFGQGTVKEIK
J703M1S3 #26 VL	CDR-L1	配列番号 489 の 24～34 番目の残 基	RASQSIGSRLH
J703M1S3 #26 VL	CDR-L2	配列番号 489 の 50～56 番目の残 基	HASQSTS
J703M1S3 #26 VL	CDR-L3	配列番号 489 の 89～98 番目の残 基	HQSGSSPPRT

10

20

30

40

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
J703M1S3 #30 VL		490	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQRIG SSLHWYQQKPDQSPKLLIKHASQSVSGVPS RFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAATYYCHQ SRSSPPPTFGQGTKVEIK
J703M1S3 #30 VL	CDR-L1	配列番号 490 の 24～34 番目の残 基	RASQRIGSSLH
J703M1S3 #30 VL	CDR-L2	配列番号 490 の 50～56 番目の残 基	HASQSVS
J703M1S3 #30 VL	CDR-L3	配列番号 490 の 89～98 番目の残 基	HQRSSPPPT
J703M1S3 #33 VL		491	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIG SSLHWYQQKPDQSPKLLIKHASQSTSGVPS RFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAATYYCHQ SSSSPPSTFGQGTKVEIK
J703M1S3 #33 VL	CDR-L1	配列番号 491 の 24～34 番目の残 基	RASQSIGSSLH
J703M1S3 #33 VL	CDR-L2	配列番号 491 の 50～56 番目の残 基	HASQSTS
J703M1S3 #33 VL	CDR-L3	配列番号 491 の 89～98 番目の残 基	HQSSSSPPST

10

20

30

40

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
J703M1S3 #35 VL		492	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQTIG SSLHWYQQKPDQSPKLLIKHASQSIGVPS RFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAATYYCHQ TSSLPTPTFGGQTKVEIK
J703M1S3 #35 VL	CDR-L1	配列番号 492 の 24～34 番目の残 基	RASQTIGSSLH
J703M1S3 #35 VL	CDR-L2	配列番号 492 の 50～56 番目の残 基	HASQSIG
J703M1S3 #35 VL	CDR-L3	配列番号 492 の 89～98 番目の残 基	HQTSSLPTPT
J703M1S3 #38 VL		493	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQTIG SSLHWYQQKPDQSPKLLIKHASQSIGVPS RFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAATYYCHQ SSSSPPPTFGGQTKVEIK
J703M1S3 #38 VL	CDR-L1	配列番号 493 の 24～34 番目の残 基	RASQTIGSSLH
J703M1S3 #38 VL	CDR-L2	配列番号 493 の 50～56 番目の残 基	HASQSIG
J703M1S3 #38 VL	CDR-L3	配列番号 493 の 89～98 番目の残 基	HQSSSSPPPT

10

20

30

40

タンパク質領域			配列
			123456789012345678901234567890
J703M1S3 #69 VL		494	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIG SSLHWYQQKPDQSPKLLIKHVSQSLSGVPS RFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAATYYCHQ RSSSPSPTFGQGTKVEIK
J703M1S3 #69 VL	CDR-L1	配列番号 494 の 24～34 番目の残 基	RASQSIGSSLH
J703M1S3 #69 VL	CDR-L2	配列番号 494 の 50～56 番目の残 基	HVSQSL
J703M1S3 #69 VL	CDR-L3	配列番号 494 の 89～98 番目の残 基	HQRSSPSPT
J703M1S3 #90 VL		495	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIG SNLHWYQQKPDQSPKLLIKHASQSIGVPS RFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAATYYCHQ TRTSPPLTFGQGTKVEIK
J703M1S3 #90 VL	CDR-L1	配列番号 495 の 24～34 番目の残 基	RASQSIGSNLH
J703M1S3 #90 VL	CDR-L2	配列番号 495 の 50～56 番目の残 基	HASQSIG
J703M1S3 #90 VL	CDR-L3	配列番号 495 の 89～98 番目の残 基	HQTRTSPPLT

10

20

30

40

50

【表 16】

表 16. 完全長 I g G に変換した A E 1 1 - 5 親和性成熟 s c F v クローン

ScFv クローン名	重鎖プラスミド	軽鎖プラスミド	完全長 IgG(タンパ ク質)名
J703M1S3#2	pJP368 ; pHybE- hCg1, z, non- a, mut (234, 235)- J703M1S3#2	pJP369 ; pHybE-hCk V3-J703M1S31#2	AE11-5 AM1
J703M1S3#13	pJP370 ; pHybE- hCg1, z, non- a, mut (234, 235)- J703M1S3#13	pJP371 ; pHybE-hCk V3-J703M1S3#13	AE11-5 AM2
J703M1S3#26	pJP372 ; pHybE- hCg1, z, non- a, mut (234, 235)- J703M1S3#26	pJP373 ; pHybE-hCk V3-J703M1S3#26	AE11-5 AM3
J703M1S3#30	pJP374 ; pHybE- hCg1, z, non- a, mut (234, 235)- J703M1S3#30	pJP375 ; pHybE-hCk V3-J703M1S3#30	AE11-5 AM4
J703M1S3#33	pJP376 ; pHybE- hCg1, z, non- a, mut (234, 235)- J703M1S3#33	pJP377 ; pHybE-hCk V3-J703M1S3#33	AE11-5 AM5
J703M1S3#35	pJP378 ; pHybE- hCg1, z, non- a, mut (234, 235)- J703M1S3#35	pJP379 ; pHybE-hCk V3-J703M1S3#35	AE11-5 AM6

10

20

30

40

J703M1S3#38	pJP382 ; pHybE- hCg1, z, non- a, mut (234, 235)- J703M1S3#38	pJP383 ; pHybE-hCk V3-J703M1S3#38	AE11-5 AM8
J703M1S3#69	pJP384 ; pHybE- hCg1, z, non- a, mut (234, 235)- J703M1S3#69	pJP385 ; pHybE-hCk V3-J703M1S3#69	AE11-5 AM9
J703M1S3#90	pJP386 ; pHybE- hCg1, z, non- a, mut (234, 235)- J703M1S3#90	pJP387 ; pHybE-hCk V3-J703M1S3#90	AE11-5 AM10

10

20

【 0 1 0 9 】

1.3 : TNF の酵素結合免疫吸着アッセイ (ELISA) の手順およびアッセイの結果

以下の手順を用いた酵素結合免疫吸着アッセイ (ELISA) により、TNF 抗体のビオチン化ヒトまたは TNF 抗体に対する結合を解析する。ELISA プレートを、1 ウェル当たり $50 \mu\text{l}$ のヤギ抗ヒト IgG-Fc ($2 \mu\text{g}/\text{ml}$) で一晚、4 でコーティングした。このプレートを PBS/Tween で 3 回洗浄した。PBS/BSA (0.1%) で $50 \mu\text{l}$ の Mab を $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ に希釈し、適したウェルに加えて、室温 (RT) で 1 時間インキュベートした。プレートを PBS/Tween で 3 回洗浄した。 $50 \mu\text{l}$ の段階希釈したビオチン-ヒト TNF を適切なウェルに加え、RT で 1 時間インキュベートした。プレートを PBS/Tween で 3 回洗浄した。PBS/BSA (0.1%) で 1 : 10,000 に希釈した $50 \mu\text{l}$ のストレプトアビジン-HRP を適切なウェルに加え、RT で 1 時間インキュベートした。プレートを PBS/Tween で 3 回洗浄した。 $50 \mu\text{l}$ の TMB を適切なウェルに加え、1 分間反応を進めた。1 ウェル当たり $50 \mu\text{l}$ の H_2SO_4 (2N) を加えて反応を停止させ、吸収を 450nm で測定した。結果を表 17 に示す。

30

【 0 1 1 0 】

【表 17】

表 17

IgG 名	ヒト TNF ELISA (nM)における EC50	サル TNF ELISA (nM)における EC50
AE11-5-AM1	1.06	2.14
AE11-5-AM2	522.5	>845
AE11-5-AM3	1.57	1.55
AE11-5-AM4	18.32	750.3
AE11-5-AM5	17.7	2.2
AE11-5-AM6	1.37	>720
AE11-5-AM7	10.32	1.26
AE11-5-AM8	250.2	58.58
AE11-5-AM9	16.72	5.29
AE11-5-AM10	0.98	0.28

10

20

【0111】

1.4: L929 バイオアッセイによる、TNF 抗体の TNF 中和能力

ヒト TNF を Abbott Bioresearch Center (ウスター、マサチューセッツ、米国) で調製し、Biologics Pharmacy から受け取った。マウス TNF を Abbott Bioresearch Center で調製し、Biologics Pharmacy から受け取った。ラット TNF を Abbott Bioresearch Center で調製し、Biologics Pharmacy から受け取った。ウサギ TNF は R&D Systems から購入した。アカゲザル TNF (rhTNF) は R&D Systems から購入した。アクチノマイシンを Sigma-Aldrich から購入し、DMSO で 10 mg/mL の保存用濃度に再懸濁した。

30

【0112】

アッセイ培地: 10% FBS (Hyclone #SH30070.03)、Gibco 試薬: RPMI 1640 (#21870)、2 mM の L-グルタミン (#25030)、ペニシリン (50 単位/mL) / ストレプトマイシン (50 µg/mL) (#15140)、0.1 mM の MEM 非必須アミノ酸 (#11140) および 5.5×10^{-5} M の 2-メルカプトエタノール (#21985-023)。

40

【0113】

L929 細胞をセミコンフルエントの密度になるまで生育し、0.05% のトリプシン (Gibco #25300) を用いて回収した。細胞を PBS で洗浄し、計数し、アクチノマイシン D (4 µg/mL) を含有するアッセイ培地中に 1×10^6 個細胞/mL で再懸濁した。この細胞 5×10^4 個を 96 ウェルプレート (Costar #3599) に、1 ウェル当たり 50 µL の体積で播種した。ウェルに 50 µL のアッセイ培地を加えて、体積を 100 µL とした。

【0114】

被検試料を以下のように調製した。試験する IgG タンパク質と対照の IgG タンパク質を、アッセイ培地で 1/4 の濃度に希釈し、そこから 1:3 の段階希釈を行った。各 T

50

NF種をアッセイ培地で、以下の濃度になるように希釈した：ヒトTNF（400 pg/mL）、マウスTNF（200 pg/mL）、ラットTNF（600 pg/mL）およびウサギTNF（100 pg/mL）。抗体試料（200 μL）を1：2の希釈スキームでTNF（200 μL）に加え、室温で0.5時間インキュベートした。

【0115】

このアッセイでヒトTNFの中和能力を測定するために、抗体/TNF溶液を、プレATINGした細胞に100 μL加え、最終濃度が375 nM～0.019 nMとなるようにした。TNFの最終濃度は以下の通りであった：ヒトTNFが100 pg/mL、マウスTNFが50 pg/mL、ラットTNFが150 pg/mL、およびウサギTNFが25 pg/mL。プレートを37、5%CO₂で20時間インキュベートした。生存率を定量するために、ウェルから100 μLを除去し、10 μLのWST-1試薬（Rocheカタログ番号11644807001）を加えた。アッセイ条件でプレートを3.5時間インキュベートし、500×gで遠心分離し、上清の75 μLをELISAプレート（Costarカタログ番号3369）に移した。Spectromax 190 ELISAプレートリーダーを使用し、プレートをOD420～600 nmで測定した。選択したいくつかのTNF/IL-17 DVD-Ig結合タンパク質の中和能力を表18に示す。

10

【0116】

【表18】

表18

20

IgG名	ヒトTNFの中和IC50 (nM)	アカゲザルTNFの中和IC50 (nM)
AE11-5 AM1	0.439	0.251
AE11-5 AM2	1.241	0.756
AE11-5 AM3	0.291	0.165
AE11-5 AM4	0.259	0.109
AE11-5 AM5	0.968	0.613
AE11-5 AM6	2.029	0.652
AE11-5 AM7	0.049	0.104
AE11-5 AM8	1.356	3.040
AE11-5 AM9	0.391	0.123
AE11-5 AM10	0.678	0.140

30

40

【0117】

実施例2：ヒト化抗ヒトTNF抗体hMAK-195の親和性成熟

マウス抗ヒトTNF抗体であるMAK-195をヒト化、かつ、親和性成熟させて、サル-TNFに対する交差反応性を持ち、ヒトおよびサルのTNFの両方への親和性および結合動態が向上したヒト化MAK195変異体のパネルを生成した。

【0118】

hMAK195のTNFに対する親和性を向上させるために、IgBLASTデータベースに含まれる、生殖系列VH3-53とIGKV1-39との相同性が高い他のヒト抗体配列から、非常に変異の多いCDR残基を特定した。次いで、対応するhMAK195

50

のCDR残基をPCRによる限定的な突然変異生成に供した。これらの位置での縮重が少ないプライマーを使用し、scFv形式の3つの抗体ライブラリーを作成した。第一のライブラリーは、VHのCDR1と2の31、32、33、35、50、52、53、54、56および58番目の残基（カバットの番号付け）に；第二のライブラリーではVH CDR3の95～100、100a、101、および102の残基に；および第三のライブラリーでは3つのVL CDRの28、30、31、32、50、53、92、93、94、および95番目の残基に突然変異が生成された。hMAK195とヒト生殖系列のフレームワーク配列との相同性をさらに高めるために、第一のライブラリーでは、VHの60（D/A）、61（S/D）、62（T/S）、63（L/V）、および65（S/G）の位置に、バイナリー縮重を導入した。さらに、第三のライブラリーでは、VLの24（K/R）、33（V/L）、54（R/L）、55（H/Q）、56（T/S）、91（H/S）および96（F/Y）の位置に、バイナリー縮重を導入した。

【0119】

これらのhMAK195変異体を、低濃度のビオチン化TNFに対する高い結合速度、高い解離速度について選択するか、あるいはその両方を実施して、親和性調節したhMAK195抗体タンパク質の配列を、IgGへと逆変換するために回収し、さらに特徴を解析した。低濃度のビオチン化ヒトまたはカニクイザルサルTNF抗原の存在下で、ヒトまたはカニクイザルサルTNFへの結合能を指標として、3つ全てのライブラリーを別個に選択した。ライブラリーの選択から回収した、変異したCDR配列の全てを、別のライブラリーに組換え、組み換えたライブラリーをよりストリンジェントな条件での選択に供し、その後、個々の抗体を特定した。

【0120】

表19に、親和性成熟の選択プロトコールに供した、ヒト化MAK-195のVHおよびVLのアミノ酸配列の一覧を示す。それぞれのVHおよびVL配列の個々のCDRのアミノ酸残基を太字で示している。

【0121】

【表19】

表19. 親和性成熟したhMAK195 VH変異体のアミノ酸配列の一覧

クローン	配列番号	VH
rHC1_B8	496	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSNYGV SWVRQAPGK GLEWVSIIRGDGSTDYASTLKS RFTISRDN SKNTLYLQ MNSLR AEDTAVYYCAREW QHGPVAYWGQ GLVTVSS
rHC1_H12	497	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSNYGV SWVRQAPGK GLEWVSIIRGDGSTDYAD SVKSRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLR AEDTAVYYCAREW HHGPVAYWGQ GLVTVSS

クローン	配列番号	VH
H1+H2_E1	498	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSAYGVNWRQAPGK GLEWVSIIWGDGATDYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC1_A2	499	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVNWRQAPGK GLEWVSMISSDGFTDYASSVKS RFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC1_H6	500	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWRQAPGK GLEWVSMIAADGSTDYASSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPVAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_D7	501	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWRQAPGK GLEWVSMIRADGSTDYASSLKS RFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_D9	502	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWRQAPGK GLEWVSMIRDDGSTDYADTVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC1_A10	503	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHIGVSWVRQAPGK GLEWVSMISYAGSTDYASTVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARLLHKGPIDYWGQGLTVTVSS
H1+H2_A5	504	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDFGVNWRQAPGK GLEWVSMIWSDGSTDYADTVKS RFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_F8	505	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVSWVRQAPGK GLEWVSIIRADGSTDYASSLKG RFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC1_D1	506	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVQWVRQAPGK GLEWVSMIRGDGSTDYASSLKG RFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARPSHHGLIDNWGQGLTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
rHC2_C2	507	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSELGVNWRQAPGK GLEWVSYISDVGSTYYASTVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARDWHHGRFDYWGQGTLVTVSS
rHC1_G4	508	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVSWRQAPGK GLEWVSLIRADGSTDYADSLKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGTLVTVSS
rHC1_F3	509	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWRQAPGK GLEWVSMIRADGFTDYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARDWQHGPSVYWGQGTLVTVSS
rHC1_B4	510	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWRQAPGK GLEWVSIIRADGVTDYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGTLVTVSS
H1+H2_G3	511	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVHWVRQAPGK GLEWVSMIGADGYTDYADSLKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGTLVTVSS
rHC1_D7	512	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVSWRQAPGK GLEWVSMISADGSTDYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGTLVTVSS
rHC1_D5	513	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWRQAPGK GLEWVSMIRSDGFTDYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR TEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGTLVTVSS
H1+H2_E4	514	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSEYGVNWRQAPGK GLEWVSIIWHDGSTAYADTVKSRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGTLVTVSS
rHC1_E10	515	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWRQAPGK GLEWVSLIRGDGSTDYASSVKSFRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGTLVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
H1+H2_B6	516	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFGVSWVRQAPGK GLEWVSMIWGDGSTDYADSLKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC1_B7	517	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMIRDDGSTYYASTVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPLGYWGQGLTVTVSS
H1+H2_G8	518	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDFGVNWRQAPGK GLEWVSMIWAGGSTAYASTVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC1_G5	519	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVS WVRQAPGK GLEWVSLIGADGSTDYASTVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQYGPLAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_F1	520	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMIEGDGGTHYASSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC19	521	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMIWADGSTHYASSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPAAAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_A10	522	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVNWRQAXGK GLEWVSMISADGTTDYASSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC1_B9	523	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSIIRGDGTTDYASTVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPLGYWGQGLTVTVSS
H1+H2_F7	524	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYGVGWVRQAPGK GLEWVSMIWGAGSTNYADTVKSRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
H1+H2_B1	525	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFGVNWVRQAPGK GLEWVSMIWADGTTDYADSLKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC1_H9	526	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSVIGGDGYTDYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPVAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_A12	527	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGX GLEWVSMISSDGYTDYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC2_G8	528	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVSWVRQAPGK GLEWVSMIWSDGSTHYADTVKSRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC2_B4	529	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQLGVTWVRQAPGK GLEWVSTISDAGSTYYASSVKGRFTIIRINSKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARDWHHGRFAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_G5	530	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVSWVRQAPGK GLEWVSIIRGDGSTYYASSLKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC1_C6	531	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVQWVRQAPGK GLEWVSMIRDDGSTSYASTVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC1_F5	532	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSIIRGDGSTDYASSVKSRTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPVAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_B4	533	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSAYGVNWVRQAPGK GLEWVSMISGDGSTDYADSVKSRTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
H1+H2_F6	534	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHFVGTWVRQAPGK GLEWVSNIWASGSTDYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC1_B6	535	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMIRADGSTDYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPVGYWGQGLTVTVSS
H1+H2_A3	536	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFGVNWVRQAPGK GLEWVSVIWGDGSTAYASSVKS RFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC1_D10	537	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVS WVRQAPGK GLEWVSIIRGDGSTDYASSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPLAYWGQGLTVTVSS
rHC18	538	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMI WSDGSTDYASSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPVAYWGQGLTVTVSS
S4-18	539	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMI WADGSTHYADSVKS RFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPLAYWGQGLTVTVSS
rHC2_E6	540	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVS WVRQAPGK GLEWVSLIRGDGSTDYASSLKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_D4	541	EVQLVESGGGLVQPGGSLRISCAASGFTFSAFGVSWVRQAPGK GLEWVSMI WGDGSTDYASSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC2_F8	542	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDLGVNWVRQAPGK GLEWVSTISDIGSTYYASTVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARDWHNGRFDYWGQGLTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
rHC1_F10	543	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVSWVRQAPGK GLEWVSIIRGDGFTDYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_C12	544	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSIIRADGSTDYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_C11	545	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHFVGNWVRQAPGK GLEWVSIIWGDGSTAYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC1_C4	546	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVEWVRQAPGK GLEWVSKIWADGSTDYADSLKSRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPLAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_E12	547	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGVNWRQAPGK GLEWVSLIWGDGTTDYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_C4	548	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYFGVSWVRQAPGK GLEWVSMIWGDGSTDYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC1_F9	549	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMIRSDGSTDYADTLKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPLAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_B5	550	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDFGVNWVRQAPGK GLEWVSIIWSDGSTDYASSLKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
S4-34	551	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVSWVRQAPGK GLEWVSMIWADGSTHYADTVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPLAYWGQGLTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
H1+H2_C2	552	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSEFGVNWVRQAPGK GLEWVSMIWNGATDYASSVKSFRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_F11	553	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDFGVNWVRQAPGK GLEWVSMIWGDGTTAYASSVKSFRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC2_E9	554	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMIRADGSTDYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_B2	555	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDFGVNWVRQAPGK GLEWVSMIWGDGSTDYADSLKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_E9	556	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFGVNWVRQAXGK GLEWVSMIWGDGSTDYADSLKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC1_A6	557	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVSWVRQAPGK GLEWVSMIGSDGFTDYASSLKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPVAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_C8	558	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQTPGK GLEWVSMIRGDGSTDYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_C5	559	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDFGVSWVRQAPGK GLEWVSIWGDGSTDYADSLKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC2_D5	560	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQLGVTWVRQAPGK GLEWVSTISDAGSTYYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARDWHHGRFAYWGQGLTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
rHC1_C7	561	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMIRADGSTDYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARDWQHGPLGYWGQGLVTVSS
H1+H2_C3	562	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSAYGVHWVRQAPGK GLEWVSMIWGDGSTDYADSVKSRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLVTVSS
rHC1_G7	563	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMIRGDGTTDYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARDWQHGPIGYWGQGLVTVSS
rHC1_A5	564	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMIWADGYTDYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPLAYWGQGLVTVSS
H1+H2_G9	565	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVEWVRQAPGK GLEWVSKIWGDGTTDYADTLKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLVTVSS
H1+H2_E2	566	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMIGGEGRTDYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLVTVSS
rHC1_C9	567	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNLGVNWRQAPGK GLEWVSMIWDVGSTDYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARDWHHGLFDYWGQGLVTVSS
rHC1_G6	568	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMIMGDGYTDYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPVAYWGQGLVTVSS
rHC1_C1	569	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMIRDDGATDYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPLAYWGQGLVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
rHC1_C2	570	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMISGDGYTDYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPLAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_C1	571	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSIIRGDGSTDYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_B10	572	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFGVNWVRQAPGX GLEWVSMIWADGSTDYASTLKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_E3	573	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSAFGVCWVRQAPGK GLEWVSMIWADGSTDYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC1_H4	574	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMIRSDGSTDYASSVKSRTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARDWQHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC2_A1	575	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVNWRQAPGK GLEWVSMIRGDGSTDYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_G11	576	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVSWVRQAPGK GLEWVSLIRSDGSTHYADSLKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_D8	577	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVNWRQAPGK GLEWVSMIRGDGYTDYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC1_A3	578	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMIWADGSTHYADSLKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPVAYWGQGLTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
S4-31	579	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVQVWRQAPGK GLEWVSGIGADGSTAYASSLKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHSGLAYWGQGTLLTVSS
rHC36	580	EVQLVESGGGLVQPGGSLILSCAASGFTFSNYGVSWVRQAPGK GLEWVSMIWADGSTHYASSLKGRFTISRDNFKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPVAYWGQGTLLTVSS
rHC2_G3	581	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVNWRQAPGK GLEWVSMIRGDGFTDYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGTLLTVSS
rHC1_C10	582	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVSWVRQAPGK GLEWVSMIAADGSTAYADSLKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGTLLTVSS
rHC14	583	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMIWADGSTHYASSLKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPAAAYWGQGTLLTVSS
rHC1_D4	584	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMIRGDGSTDYADTVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGTLLTVSS
rHC2_D11	585	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVSWVRQAPGK GLEWVSIISGDGFTDYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGTLLTVSS
rHC2_E11	586	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDWGVHWMRQAPGK GLEWVSTIWDDGSTYYASSVKSFRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARHGHHPFVYWGQGTLLTVSS
H1+H2_E7	587	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASXFTFSNFGVNWRQAPGK GLEWVSMIWGDGSTDYADSVKSFRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGTLLTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
rHC1_A8	588	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSVYGVNWVRQAPGK GLEWVSMIGDEGSTDYASTVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLR AEDTAVYYCARHWHHGAVDYWGQGLTVTVSS
H1+H2_B9	589	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGVNWVRQAPGK GLEWVSMIWADGSTHYADSLKSRFTISRDN SKNTLYLQMN SLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
S4-19	590	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVEWVRQAPGK GLEWVSGIWADGSTHYADTVKSRFTISRDN SKNTLYLQMN SLR AEDTAVYYCAREWQHGPVAYWGQGLTVTVSS
S4-74	591	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMIWADGSTHYADTVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLR AEDTAVYYCAREWQHGPLAYWGQGLTVTVSS
rHC1_H2	592	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMIRGDGFTDYASSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLR AEDTAVYYCAREWQHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC1_E3	593	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMIRADGYTSYASSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC34	594	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMIWADGSTHYASSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLR AEDTAVYYCAREWQHGPSAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_F2	595	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVNWVRQAPGK GLEWVSMIRADGSTDYASSVKSRTISRDN SKNTLYLQMN SLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC1_D9	596	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMIRADGTTDYASSVKSRTISRDN SKNTLYLQMN SLR AEDTAVYYCAREWQHGPVGYWGQGLTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
H1+H2_E6	597	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFGVHWVRQAPGK GLEWVSMIWADGSTVYASSVKSRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_F3	598	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMIGSDGSTYYADSLKSRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC1_G11	599	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMIRGDGFTDYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPLGYWGQGLTVTVSS
H1+H2_D3	600	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDFGVNWRQAPGK GLEWVSMIWGDGHTAYASSVKSRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_B12	601	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYGVNWRQAPGK GLEWVSMIWAHGATHYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_B11	602	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSLIRDDGSTDYASTLKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_A8	603	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMIWGDGSTDYADSVKSRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
S4-24	604	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMIWADGSTHYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC1_F11	605	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVSWVRQAPGK GLEWVSMISADGYTDYADSLKSRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPVAYWGQGLTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
H1+H2_D10	606	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVSWVRQAPGK GLEWVSMIWADGSTHYASSLKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC2_D6	607	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVNWRQAPGK GLEWVSMIGADGYTDYASTVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_G4	608	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSAFGVSWVRQAPGK GLEWVSMIWADGSTDYADSVKSRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_D11	609	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSLIRGDGSTDYASSLKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC1_E9	610	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMIWADGTTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPLAYWGQGLTVTVSS
rHC1_A12	611	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVQWVRQAPGK GLEWVSRISGDGSTDYASSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_A2	612	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGF SFSNFGVNWRQAPGK GLEWVSMIWADGSTNYADTVKSRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_B7	613	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSAYGVSWVRQAPGK GLEWVSIISADGSTDYASSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC1_H8	614	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMIRGDGSTDYADSLKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPVAYWGQGLTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
rHC1_F12	615	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVNWVRQAPGK GLEWVSMIGADGYTDYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC1_E5	616	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSIIRGDGSTDYASTVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_A11	617	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVNWVRQAPGK GLEWVSMIWGSGATDYADSVKSRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC1_D6	618	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMISADGFTDYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC2_G10	619	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVNWVRQAPGK GLEWVSMIAADGFTDYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC1_H3	620	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSLIAADGSTDYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPVAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_F10	621	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSIIRGDGSTAYADTVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_C7	622	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVNWVRQAPGK GLEWVSMIWGDGNTGYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC1_A9	623	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMIRGDGSTDYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPLAYWGQGLTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
H1+H2_E5	624	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGVNWVRQAPGK GLEWVSMIWGDGSTEYADTLKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLVTVSS
rHC62	625	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVSWVRQAPGK GLEWVSMIWADGSTHYASSLKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPVGYWGQGLVTVSS
H1+H2_F4	626	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVYVWRQAPGK GLEWVSMIWDDGSTEYADSVKSRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLVTVSS
rHC2_H8	627	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQLGVTWVRQAPGK GLEWVSTISDAGSTYYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARDWHHGRFAYWGQGLVTVSS
rHC2_F4	628	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGPGVNWVRQAPGK GLEWVSSIWDDGSTYYASSVKSRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARHSHDGRFDYWGQGLVTVSS
S4-50	629	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVEWVRQAPGK GLEWVSGIWADGSTHYADTVKSRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPVGYWGQGLVTVSS
H1+H2_F12	630	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGVNWVRQAPGK GLEWVSMIWGEGSTGYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLVTVSS
rHC1_E6	631	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVSWVRQAPGK GLEWVSIIRDDGFTDYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLVTVSS
rHC1_F2	632	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMIGGDGSTDYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPVAYWGQGLVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
H1+H2_G6	633	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDFGVNWVRQAPGK GLEWVSMIWADGTTDYDDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLVTVSS
rHC2_F5	634	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVNWVRQAPGK GLEWVSGISADGSTAYDSSLKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLVTVSS
H1+H2_D6	635	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYGVSWVRQAPGK GLEWVSLIRGDGSTYYASTVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLVTVSS
H1+H2_A9	636	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFGVNWVRQAPGK GLEWVSMIWGDGSTDYASSVKSRTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLVTVSS
H1+H2_A1	637	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHFVNWVRQAPGK GLEWVSMIWADGSTDYASSLKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLVTVSS
rHC60	638	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVSWVRQAPGK GLEWVSMIWADGSTHYASSLKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPAAAYWGQGLVTVSS
rHC1_C8	639	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVHWVRQAPGK GLEWVSMIAGDGSTDYASSVKSRTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPVGYWGQGLVTVSS
rHC44	640	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVSWVRQAPGK GLEWVSMIWADGSTHYADTLKSRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPVAYWGQGLVTVSS
rHC1_G9	641	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSIIGADGATDYADSVKSRTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPLGYWGQGLVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
H1+H2_A6	642	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVNWVRQAPGK GLEWVSGITGDGITAYASTLKSRTTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_G2	643	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVSWVRQAPGK GLEWVSMISGDGFTDYASSVKSRTTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_G7	644	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGVNWVRQAPGK GLEWVSNIWGDGSTDYASSLKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_E10	645	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVNWVRQAPGK GLEWVSMIRADGSTDYADSLKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC1_E2	646	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMIRGDGSTDYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_A4	647	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSAYGVSWVRQAPGK GLEWVSMIWRDGSTDYADSLKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_H3	648	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVHWVRQAPGK GLEWVSMIWGDGSTHYASSVKSRTTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC1_G1	649	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVHWVRQAPGK GLEWVSGISADGSTDYASSVKSRTTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_E8	650	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYGVNWVRQAPGK GLEWVSMIGGDGFTDYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
H1+H2_C9	651	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVNWVRQAPGK GLEWVSMIRADGSTDYASSLKSRTTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC1_F7	652	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVQWVRQAPGK GLEWVSVISADGFTDYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC1_F6	653	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMIGADGSTDYASSVKSRTTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPVGYWGQGLTVTVSS
rHC22	654	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMIWADGSTDYADTVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC2_G5	655	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVSWVRQAPGK GLEWVSLIRGDGYTDYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC1_C12	656	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYGVSWVRQAPGK GLEWVSVIRADGVTDYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPVGYWGQGLTVTVSS
rHC3	657	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVSWVRQAPGK GLEWVSMIWADGSTHYASSLKGRTTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC1_F1	658	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVQWVRQAPGK GLEWVSRINGDGSTDYASTLKGRTTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_E11	659	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVNWVRQAPGK GLEWVSMIRSDGFTDYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
H1+H2_B8	660	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFGVNWVRQAPGK GLEWVSMIWDGSTDYADSVKSRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_G1	661	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYGVNWVRQAPGK GLEWVSMIWGDGSTYYASSVKSRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_B3	662	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYGVSWVRQAPGK GLEWVSMIRSDGFTDYASTVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC1_D2	663	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMITGDGYTDYADTVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPLAYWGQGLTVTVSS
rHC1_E12	664	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVSWVRQAPGK GLEWVSIIRADGLTDYADSVKSRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC1_B5	665	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVSWVRQAPGK GLEWVSLIRSDGSTDYASSVKSRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC1_D11	666	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMIRADGSTDYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPLAYWGQGLTVTVSS
H1+H2_A7	667	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYGVNWVRQAPGK GLEWVSMIGGDGSTYYDSSLKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC1_G3	668	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVNWVRQAPGK GLEWVSMIGSDGSTDYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
H1+H2_D5	669	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYYGVHWVRQAPGK GLEWVSGISGEGSTDYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLVTVSS
H1+H2_D1	670	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMIRGDGSTYYASSVKSRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWVKGLVTVSS
rHC1_E7	671	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVSWVRQAPGK GLEWVSIIRGDGSTDYASSLKSRTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLVTVSS
rHC1_E11	672	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMIRADGTTDYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLVTVSS
S4-55	673	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVTWVRQAPGK GLEWVSMIWADGSTDYASTVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWQHGPVGYWGQGLVTVSS
H1+H2_C10	674	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVSWVRQAPGK GLEWVSMIRGDGSTYYADTLKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLVTVSS
H1+H2_G10	675	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHFVGNWVRQAPGK GLEWVSMIWADGSTSYADSVKSRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLVTVSS

10

20

30

40

【 0 1 2 2 】

表 2 0 に、h M A K 1 9 5 由来の親和性成熟した完全長ヒト T N F 抗体の V L 領域のアミノ酸配列の一覧を示す。各 V H 配列の個々の C D R のアミノ酸残基を太字で示している。

【 0 1 2 3 】

【 表 2 0 】

表 2 0 . 親和性成熟した h M A K 1 9 5 V L 変異体のアミノ酸配列の一覧

クローン	配列番号	VL
------	------	----

S3_92	676	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQKVSSAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQQHYHTPYTFGQGTKLEIK
S3_79	677	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQAVSTEVAWYQQK PGKAPKLLIYCASTRQTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQQSYSAPYTFGQGTKLEIK
S3_68	678	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQVVSSAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASKRHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQQHYSTPFTFGQGTKLEIK
S3_60	679	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQAVSSAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQQHYSTPFTFGQGTKLEIK
S4-63	680	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQKVSSALAWYQQK PGKAPKLLIYWASALHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQQHYRPPFTFGQGTKLEIK
S3_5	681	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGVSSAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQQHYTTPFTFGQGTKLEIK
S3_44	682	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGVSRALAWYQQK PGKAPKLLIYWASTLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQQHYRAPFTFGQGTKLEIK
S3_53	683	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQAVSSAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQQHYHTPFTFGQGTKLEIK
S3_91	684	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQGVSSALAWYQQK PGKAPKLLIYWASTRHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQQHYRTPFTFGQGTKLEIK
S3_59	685	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQGVSSALAWYQQK PGKAPKLLIYWASTRHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQQHYSTPYTFGQGTKLEIK

10

20

30

40

S3_47	686	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQWVSSAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASTRQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYRIPFTFGQGKLEIK
S3_70	687	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQAVSSALAWYQQK PGKAPKLLIYWASTRHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYSTPYTFGQGKLEIK
S3_56	688	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQRVSSAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASTLHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYSTPYTFGQGKLEIK
S3_37	689	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQGVSSAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYNTPTFTFGQGKLEIK
S3_36	690	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQKVSSAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASARHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYSTPFTFGQGKLEIK
S3_67	691	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQTVXRAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASTRQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSTPFTFGQGKLEIK
S3_40	692	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQRVSSAVAWSQQK PGKAPKLLIYWASTRHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYTTPYTFGQGKLEIK
S3_73	693	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQAVSSAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASTRHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYSTPFTFGQGKLEIK
S4-50	694	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQLVSSAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASALHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYSSPYTFGQGKLEIK
S4-6	695	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQLVSSAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYSTPFTFGQGKLEIK

10

20

30

40

S3_19	696	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQKVSSAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASARHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQQHYRSPFTFGQGTKLEIK
S3_83	697	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQAVSTALAWYQQK PGKAPKLLIYSASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQQHYRSPFTFGQGTKLEIK
S3_78	698	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQYVGGAVAWYQQK PGKAPKLLIYQASTLQTVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQQHISKPFTFGQGTKLEIK
S4-19	699	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQLVSSAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASTLHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQQHYRTPFTFGQGTKLEIK
S3_58	700	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVNGALAWYQQK PGKAPKLLIYRASTRQTVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQQHYSIPFTFGQGTKLEIK
S4-31	701	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGVSSALAWYQQK PGKAPKLLIYWASALHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQQHYSAPFTFGQGTKLEIK
S3_31	702	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQAVSSSVAWYQQK PGKAPKLLIYGASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQQHYNEPYTFGQGTKLEIK
S3_13	703	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQKVSSAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASARHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQQHYRTPYTFGQGTKLEIK
S4-40	704	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQLVSSAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASTRHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQQHYRTPFSFGQGTKLEIK
S3_26	705	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQAVSSAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASKRQTVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQQHYISPYPYTFGQGTKLEIK

10

20

30

40

S3_33	706	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQGVRSALAWYQQK PGKAPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSAPYTFGQGTKLEIK
S3_28	707	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQTVSNAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASTRHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYSTPFTFGQGTKLEIK
S4-74	708	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQLVSSAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASARHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYRTPFTFGQGTKLEIK
S3_84	709	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQPVRSAVAWYQQK PGKAPKLLIYSASTRQTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSIPFTFGQGTKLEIK
S4-54	710	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQLVSSAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASARHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYKTPFSFGQGTKLEIK
S3_23	711	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQAVSSAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASSRHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYSTPFTFGQGTKLEIK
S3_55	712	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQTVGRAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASTRQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSTPFTFGQGTKLEIK
S4-34	713	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQLVSSAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYRTPFTFGQGTKLEIK
S3_76	714	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQKVSNAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYNSPFTFGQGTKLEIK
S4-12	715	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQLVSSAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASARHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYKTPFTFGQGTKLEIK

10

20

30

40

S3_86	716	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQRVSSAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASTRHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYTTPYTFGQGTKLEIK
S3_61	717	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQRVSSAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASNRHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYSTPFTFGQGTKLEIK
S3_18	718	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQLVSSALAWYQQK PGKAPKLLIYWASTRQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYRTPFTFGQGTKLEIK
S3_72	719	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQLVSSALAWYQQK PGKAPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYRNPFTFGQGTKLEIK
S3_41	720	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQAVSSALAWYQQK PXKAPKLLIYWASSRQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYRTPFTFGQGTKLEIK
S4-24	721	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQLVSSAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASTLHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYRTPFTFGQGTKLEIK
S4-17	722	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQLVSSAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASTRHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYRTPFTFGQGTKLEIK
S3_90	723	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQPVSGAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYRASYTFGQGTKLEIK
S3_87	724	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQKVSSAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASARHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYRTPYTFGQGTKLEIK
S3_66	725	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQRVSSAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASTRHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYTTPYTFGQGTKLEIK

10

20

30

40

S4-18	726	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQLVSSAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASTLHSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYSTPFTFGQGTKLEIK
S3_4	727	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQAVSSAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASARHTGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYSSPYTFGQGTKLEIK
S3_64	728	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQPVSSAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASTLHSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYRTPFTFGQGTKLEIK
S3_62	729	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQLVSSAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASTRHTGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYRTPYTFGQGTNLEIK
S3_29	730	DIQMTQSPSSLSASVGDIVTITCKASQLVSSAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASTRHTGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYRTPYTFGQGTKLEIK
S3_65	731	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQLVSSAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASMRHSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYSSPFTFGQGTKLEIK
S3_81	732	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQTVSSAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASTRHSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYRAPYTFGQGTKLEIK
S3_39	733	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQRVSSALAWYQQK PGKAPKLLIYWASTRHTGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYSTPFTFGQGTKLEIK
S3_49	734	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQLVSNAAVWYQQK PGKAPKLLIYWASTRHTGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYSSPFTFGQGTKLEIK
S3_85	735	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQLVSSAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASARHSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYSTPFTFGQGTKLEIK

10

20

30

40

S3_82	736	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQLVSSAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASTRHSGVPSRFSGSGSGTDFLTISL QPEDFATYYCQQHYTTPFTFGQGTKLEIK
S3_93	737	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQRVSSAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASTRHSGVPSRFSGSGSGTDFLTISL QPEDFATYYCQQHYSTPFTFGQGTKLEIK

10

【 0 1 2 4 】

【 表 2 1 】

表 2 1 . 親和性成熟した hMAK-195 で観察されたアミノ酸残基

hMAK195 重鎖可変領域 (配列番号 1075)	
hMAK195 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS <u>DYGVN</u> WVRQAPGKGLEWVSM <u>I</u> WGDS
	<u>TD</u>
	NFS T I RAG T
A	HLN S V GSE F
H	YS H L SDA A
V	IR Q R AEV Y
S	Y K LVG W
N	S NY
G	

20

30

40

	YDSTLKS RFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLVT VSS ADSV G	HSQQRTLDS QLRPASGVF LCLLVQDGC YRYNWAETN DFPYEKW P NDARS R I TYVTP P H PPDDI A AICA I SG C R	10 20
hMAK195 軽鎖可変領域(配列番号 1076)			
hMAK195 VL	DIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCKASQAVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHT G	R S RRPL S SLQS V TNT R I T G IGG L L A D NCV C K E T CTS Q A F P KIR G R	30
	VPSRFSGSGSGTDFLT LTISSLQPEDFATYYCQQHYSTPFTFGQGTKLEIK SNRSTY FGPR DTML GIIQ HCAA S	40	

【 0 1 2 5 】

以下の表に、特徴解析のために I g G タンパク質に変換したヒト化 M A K - 1 9 5 抗体 50

の一覧を示す。

【 0 1 2 6 】

【 表 2 2 】

表 2 2. I g G 変換型クローンのVH配列

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
A8 VH		738	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVNWVRQAPGKGLEWVSMIAADGFTDYA SSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVSS
A8 VH	CDR-H1	配列番号 738 の 31～35 番目の残 基	NYGVN
A8 VH	CDR-H2	配列番号 738 の 50～65 番目の残 基	MIAADGFTDYASSVKG
A8 VH	CDR-H3	配列番号 738 の 98～106 番目の 残基	EWHHGPVAY
B5 VH		739	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVSWVRQAPGKGLEWVSLIRGDGSTDYA SSLKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVSS
B5 VH	CDR-H1	配列番号 739 の 31～35 番目の残 基	NYGVS
B5 VH	CDR-H2	配列番号 739 の 50～65 番目の残 基	LIRGDGSTDYASSLKG

10

20

30

40

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
B5 VH	CDR-H3	配列番号 739 の 98～106 番目の 残基	EWHHGPVAY
rHC44 VH		740	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVSWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA DTLKS RFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDT AVYYCAREWQHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC44 VH	CDR-H1	配列番号 740 の 31～35 番目の残 基	NYGVS
rHC44 VH	CDR-H2	配列番号 740 の 50～65 番目の残 基	MIWADGSTHYADTLKS
rHC44 VH	CDR-H3	配列番号 740 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPVAY
rHC22 VH		741	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTDYA DTVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDT AVYYCAREWQHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC22 VH	CDR-H1	配列番号 741 の 31～35 番目の残 基	NYGVT
rHC22 VH	CDR-H2	配列番号 741 の 50～65 番目の残 基	MIWADGSTDYADTVKG

10

20

30

40

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
rHC22 VH	CDR-H3	配列番号 741 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPVAY
rHC81 VH		742	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA DSVKS RFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDT AVYYCAREWQHGPLAYWGQGLTVTVSS
rHC81 VH	CDR-H1	配列番号 742 の 31～35 番目の残 基	NYGVT
rHC81 VH	CDR-H2	配列番号 742 の 50～65 番目の残 基	MIWADGSTHYADSVKS
rHC81 VH	CDR-H3	配列番号 742 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPLAY
rHC18 VH		743	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWS DGSTDYA SSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDT AVYYCAREWQHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC18 VH	CDR-H1	配列番号 743 の 31～35 番目の残 基	NYGVT
rHC18 VH	CDR-H2	配列番号 743 の 50～65 番目の残 基	MIWS DGSTDYASSVKG

10

20

30

40

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
rHC18 VH	CDR-H3	配列番号 743 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPVAY
rHC14 VH		744	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSLKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPAA YWGQGLTVTVSS
rHC14 VH	CDR-H1	配列番号 744 の 31～35 番目の残 基	NYGVT
rHC14 VH	CDR-H2	配列番号 744 の 50～65 番目の残 基	MIWADGSTHYASSLKG
rHC14 VH	CDR-H3	配列番号 744 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPAA Y
rHC3 VH		745	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVS WVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSLKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC3 VH	CDR-H1	配列番号 745 の 31～35 番目の残 基	NYGVS
rHC3 VH	CDR-H2	配列番号 745 の 50～65 番目の残 基	MIWADGSTHYASSLKG

10

20

30

40

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
rHC3 VH	CDR-H3	配列番号 745 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPVAY
rHC19 VH		746	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPAAIWGQGTLTVSS
rHC19 VH	CDR-H1	配列番号 746 の 31～35 番目の残 基	NYGVT
rHC19 VH	CDR-H2	配列番号 746 の 50～65 番目の残 基	MIWADGSTHYASSVKG
rHC19 VH	CDR-H3	配列番号 746 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPAAIW
rHC34 VH		747	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPSAYWGQGTLTVSS
rHC34 VH	CDR-H1	配列番号 747 の 31～35 番目の残 基	NYGVT
rHC34 VH	CDR-H2	配列番号 747 の 50～65 番目の残 基	MIWADGSTHYASSVKG

10

20

30

40

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
rHC34 VH	CDR-H3	配列番号 747 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPSAY
rHC83 VH		748	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVAYWGQGLTIVTSS
rHC83 VH	CDR-H1	配列番号 748 の 31～35 番目の残 基	NYGVT
rHC83 VH	CDR-H2	配列番号 748 の 50～65 番目の残 基	MIWADGSTHYASSVKG
rHC83 VH	CDR-H3	配列番号 748 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPVAY
S4-19 VH		749	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVEWVRQAPGKGLEWVSGIWADGSTHYA DTVKSRTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVAYWGQGLTIVTSS
S4-19 VH	CDR-H1	配列番号 749 の 31～35 番目の残 基	NYGVE
S4-19 VH	CDR-H2	配列番号 749 の 50～65 番目の残 基	GIWADGSTHYADTVKS

10

20

30

40

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
S4-19 VH	CDR-H3	配列番号 749 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPVAY
S4-50 VH		750	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVEWVRQAPGKGLEWVSGIWADGSTHYA DTVKS RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVGYWGQGLTVTVSS
S4-50 VH	CDR-H1	配列番号 750 の 31～35 番目の残 基	NYGVE
S4-50 VH	CDR-H2	配列番号 750 の 50～65 番目の残 基	GIWADGSTHYADTVKS
S4-50 VH	CDR-H3	配列番号 750 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPVGY
S4-63 VH		751	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVEWVRQAPGKGLEWVSGIWADGSTHYA DTVKS RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVGYWGQGLTVTVSS
S4-63 VH	CDR-H1	配列番号 751 の 31～35 番目の残 基	NYGVE
S4-63 VH	CDR-H2	配列番号 751 の 50～65 番目の残 基	GIWADGSTHYADTVKS

10

20

30

40

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
S4-63 VH	CDR-H3	配列番号 751 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPVGY
S4-55 VH		752	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTDYA STVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVGYWGQGLTVTVSS
S4-55 VH	CDR-H1	配列番号 752 の 31～35 番目の残 基	NYGVT
S4-55 VH	CDR-H2	配列番号 752 の 50～65 番目の残 基	MIWADGSTDYASTVKG
S4-55 VH	CDR-H3	配列番号 752 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPVGY
S4-6 VH		753	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVAYWGQGLTVTVSS
S4-6 VH	CDR-H1	配列番号 753 の 31～35 番目の残 基	NYGVT
S4-6 VH	CDR-H2	配列番号 753 の 50～65 番目の残 基	MIWADGSTHYASSVKG

10

20

30

40

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
S4-6 VH	CDR-H3	配列番号 753 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPVAY
S4-18 VH		754	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA DSVKS RFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDT AVYYCAREWQHGPLAYWGQGLTVTVSS
S4-18 VH	CDR-H1	配列番号 754 の 31～35 番目の残 基	NYGVT
S4-18 VH	CDR-H2	配列番号 754 の 50～65 番目の残 基	MIWADGSTHYADSVKS
S4-18 VH	CDR-H3	配列番号 754 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPLAY
S4-31 VH		755	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVQWVRQAPGKGLEWVSGIGADGSTAYA SSLKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDT AVYYCAREWQHSGLAYWGQGLTVTVSS
S4-31 VH	CDR-H1	配列番号 755 の 31～35 番目の残 基	NYGVQ
S4-31 VH	CDR-H2	配列番号 755 の 50～65 番目の残 基	GIGADGSTAYASSLKG

10

20

30

40

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
S4-31 VH	CDR-H3	配列番号 755 の 98～106 番目の 残基	EWQHSGLAY
S4-34 VH		756	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVSWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA DTVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPLAYWGQGLTVTVSS
S4-34 VH	CDR-H1	配列番号 756 の 31～35 番目の残 基	NYGVS
S4-34 VH	CDR-H2	配列番号 756 の 50～65 番目の残 基	MIWADGSTHYADTVKG
S4-34 VH	CDR-H3	配列番号 756 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPLAY
S4-74 VH		757	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA DTVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPLAYWGQGLTVTVSS
S4-74 VH	CDR-H1	配列番号 757 の 31～35 番目の残 基	NYGVT
S4-74 VH	CDR-H2	配列番号 757 の 50～65 番目の残 基	MIWADGSTHYADTVKG

10

20

30

40

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
S4-74 VH	CDR-H3	配列番号 757 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPLAY
S4-12 VH		758	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVAYWGQGLVTVSS
S4-12 VH	CDR-H1	配列番号 758 の 31～35 番目の残 基	NYGVT
S4-12 VH	CDR-H2	配列番号 758 の 50～65 番目の残 基	MIWADGSTHYASSVKG
S4-12 VH	CDR-H3	配列番号 758 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPVAY
S4-54 VH		759	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVAYWGQGLVTVSS
S4-54 VH	CDR-H1	配列番号 759 の 31～35 番目の残 基	NYGVT
S4-54 VH	CDR-H2	配列番号 759 の 50～65 番目の残 基	MIWADGSTHYASSVKG

10

20

30

40

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
S4-54 VH	CDR-H3	配列番号 759 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPVAY
S4-17 VH		760	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVAYWGQGLTVTVSS
S4-17 VH	CDR-H1	配列番号 760 の 31～35 番目の残 基	NYGVT
S4-17 VH	CDR-H2	配列番号 760 の 50～65 番目の残 基	MIWADGSTHYASSVKG
S4-17 VH	CDR-H3	配列番号 760 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPVAY
S4-40 VH		761	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVAYWGQGLTVTVSS
S4-40 VH	CDR-H1	配列番号 761 の 31～35 番目の残 基	NYGVT
S4-40 VH	CDR-H2	配列番号 761 の 50～65 番目の残 基	MIWADGSTHYASSVKG

10

20

30

40

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
S4-40 VH	CDR-H3	配列番号 761 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPVAY
S4-24 VH		762	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVAYWGQGTLVTVSS
S4-24 VH	CDR-H1	配列番号 762 の 31～35 番目の残 基	NYGVT
S4-24 VH	CDR-H2	配列番号 762 の 50～65 番目の残 基	MIWADGSTHYASSVKG
S4-24 VH	CDR-H3	配列番号 762 の 98～106 番目の 残基	EWQHGPVAY

10

20

30

【 0 1 2 7 】

【 表 2 3 】

表 2.3. I g G 変換型クローンの V L 配列

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
hMAK195 VL. 1 VL		763	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQAVS SAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ HYSTPFTFGQGTKLEIKR
hMAK195 VL. 1 VL	CDR-L1	配列番号 763 の 24～34 番目の残 基	KASQAVSSAVA

40

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
hMAK195 VL. 1 VL	CDR-L2	配列番号 763 の 50～56 番目の残 基	WASTRHT
hMAK195 VL. 1 VL	CDR-L3	配列番号 763 の 89～97 番目の残 基	QQHYSTPFT
S4-24 VL		764	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQLVS SAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASTLHTGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ HYRTPFTFGQGTKLEIKR
S4-24 VL	CDR-L1	配列番号 764 の 24～34 番目の残 基	RASQLVSSAVA
S4-24 VL	CDR-L2	配列番号 764 の 50～56 番目の残 基	WASTLHT
S4-24 VL	CDR-L3	配列番号 764 の 89～97 番目の残 基	QQHYRTPFT
S4-40 VL		765	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQLVS SAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHSGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ HYRTPFSFGQGTKLEIKR
S4-40 VL	CDR-L1	配列番号 765 の 24～34 番目の残 基	RASQLVSSAVA

10

20

30

40

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
S4-40 VL	CDR-L2	配列番号 765 の 50～56 番目の残 基	WASTRHS
S4-40 VL	CDR-L3	配列番号 765 の 89～97 番目の残 基	QQHYRTPFS
S4-17 VL		766	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQLVS SAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ HYRTPFTFGQGKLEIKR
S4-17 VL	CDR-L1	配列番号 766 の 24～34 番目の残 基	RASQLVSSAVA
S4-17 VL	CDR-L2	配列番号 766 の 50～56 番目の残 基	WASTRHS
S4-17 VL	CDR-L3	配列番号 766 の 89～97 番目の残 基	QQHYRTPFT
S4-54 VL		767	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQLVS SAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASARHTGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ HYKTPFSFGQGKLEIKR
S4-54 VL	CDR-L1	配列番号 767 の 24～34 番目の残 基	RASQLVSSAVA

10

20

30

40

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
S4-54 VL	CDR-L2	配列番号 767 の 50～56 番目の残 基	WASARHT
S4-54 VL	CDR-L3	配列番号 767 の 89～97 番目の残 基	QQHYKTPFS
S4-12 VL		768	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQLVS SAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASARHTGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ HYKTPFTFGQGTKLEIKR
S4-12 VL	CDR-L1	配列番号 768 の 24～34 番目の残 基	RASQLVSSAVA
S4-12 VL	CDR-L2	配列番号 768 の 50～56 番目の残 基	WASARHT
S4-12 VL	CDR-L3	配列番号 768 の 89～97 番目の残 基	QQHYKTPFT
S4-74 VL		769	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQLVS SAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASARHTGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ HYRTPFTFGQGTKLEIKR
S4-74 VL	CDR-L1	配列番号 769 の 24～34 番目の残 基	RASQLVSSAVA

10

20

30

40

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
S4-74 VL	CDR-L2	配列番号 769 の 50～56 番目の残 基	WASARHT
S4-74 VL	CDR-L3	配列番号 769 の 89～97 番目の残 基	QQHYRTPFT
S4-34 VL		770	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQLVS SAVAWYQQKPKAPKLLIYWASTRHTGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ HYRTPFTFGQGTKLEIKR
S4-34 VL	CDR-L1	配列番号 770 の 24～34 番目の残 基	RASQLVSSAVA
S4-34 VL	CDR-L2	配列番号 770 の 50～56 番目の残 基	WASTRHT
S4-34 VL	CDR-L3	配列番号 770 の 89～97 番目の残 基	QQHYRTPFT
S4-31 VL		771	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGV SALAWYQQKPKAPKLLIYWASALHSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ HYSAPFTFGQGTKLEIKR
S4-31 VL	CDR-L1	配列番号 771 の 24～34 番目の残 基	RASQGVSSALA

10

20

30

40

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
S4-31 VL	CDR-L2	配列番号 771 の 50～56 番目の残 基	WASALHS
S4-31 VL	CDR-L3	配列番号 771 の 89～97 番目の残 基	QQHYSAPFT
S4-18 VL		772	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQLVS SAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASTLHSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ HYSTPFTFGQGTKLEIKR
S4-18 VL	CDR-L1	配列番号 772 の 24～34 番目の残 基	RASQLVSSAVA
S4-18 VL	CDR-L2	配列番号 772 の 50～56 番目の残 基	WASTLHS
S4-18 VL	CDR-L3	配列番号 772 の 89～97 番目の残 基	QQHYSTPFT
S4-6 VL		773	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQLVS SAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ HYSTPFTFGQGTKLEIKR
S4-6 VL	CDR-L1	配列番号 773 の 24～34 番目の残 基	KASQLVSSAVA

10

20

30

40

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
S4-6 VL	CDR-L2	配列番号 773 の 50～56 番目の残 基	WASTRHT
S4-6 VL	CDR-L3	配列番号 773 の 89～97 番目の残 基	QQHYSTPFT
S4-55 VL		774	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQLVS SAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASTLHTGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ HYRTPFTFGGQGTKLEIKR
S4-55 VL	CDR-L1	配列番号 774 の 24～34 番目の残 基	KASQLVSSAVA
S4-55 VL	CDR-L2	配列番号 774 の 50～56 番目の残 基	WASTLHT
S4-55 VL	CDR-L3	配列番号 774 の 89～97 番目の残 基	QQHYRTPFT
S4-63 VL		775	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQKVS SALAWYQQKPGKAPKLLIYWASALHSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ HYRPPFTFGGQGTKLEIKR
S4-63 VL	CDR-L1	配列番号 775 の 24～34 番目の残 基	KASQKVSSALA

10

20

30

40

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
S4-63 VL	CDR-L2	配列番号 775 の 50～56 番目の残 基	WASALHS
S4-63 VL	CDR-L3	配列番号 775 の 89～97 番目の残 基	QQHYRPPFT
S4-50 VL		776	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQLVS SAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASALHTGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ HYSSPYTFGQGTKLEIKR
S4-50 VL	CDR-L1	配列番号 776 の 24～34 番目の残 基	KASQLVSSAVA
S4-50 VL	CDR-L2	配列番号 776 の 50～56 番目の残 基	WASALHT
S4-50 VL	CDR-L3	配列番号 776 の 89～97 番目の残 基	QQHYSSPYT
S4-19 VL		777	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQLVS SAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASTLHTGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ HYRTPFTFGQGTKLEIKR
S4-19 VL	CDR-L1	配列番号 777 の 24～34 番目の残 基	KASQLVSSAVA

10

20

30

40

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
S4-19 VL	CDR-L2	配列番号 777 の 50～56 番目の残 基	WASTLHT
S4-19 VL	CDR-L3	配列番号 777 の 89～97 番目の残 基	QQHYRTPFT

10

【 0 1 2 8 】

【 表 2 4 】

表 2 4. 親和性成熟した hMAK 195 クローンの重鎖および軽鎖の対

クローン 名	重鎖	軽鎖	タンパク質名
A8	hMAK195-A8	hMAK195 VL. 1	hMAK195-AM11
B5	hMAK195-B5	hMAK195 VL. 1	hMAK195-AM13
rHC3	hMAK195 rHC3	hMAK195 VL. 1	hMAK195-AM14
rHC18	hMAK195 rHC18	hMAK195 VL. 1	hMAK195-AM15
rHC19	hMAK195 rHC19	hMAK195 VL. 1	hMAK195-AM16
rHC22	hMAK195 rHC22	hMAK195 VL. 1	hMAK195-AM17
rHC34	hMAK195 rHC34	hMAK195 VL. 1	hMAK195-AM18
rHC60	hMAK195 rHC60	hMAK195 VL. 1	hMAK195-AM19
S4-6	hMAK195 S4-6	hMAK195 S4-6	hMAK195-AM20
S4-12	hMAK195 S4-12	hMAK195 S4-12	hMAK195-AM21
S4-17	hMAK195 S4-17	hMAK195 S4-17	hMAK195-AM22
S4-18	hMAK195 S4-18	hMAK195 S4-18	hMAK195-AM23
S4-19	hMAK195 S4-19	hMAK195 S4-19	hMAK195-AM24
S4-24	hMAK195 S4-24	hMAK195 S4-24	hMAK195-AM25
S4-34	hMAK195 S4-34	hMAK195 S4-34	hMAK195-AM26

20

30

40

【 0 1 2 9 】

2.1 T N F 酵素結合免疫吸着アッセイの結果

【表 2 5】

表 2 5

IgG 名	ヒト TNF α ELISA における EC50 (nM)
hMAK195-AM11	0.2
hMAK195-AM13	0.2
hMAK195-AM14	0.051
hMAK195-AM15	0.052
hMAK195-AM16	0.056
hMAK195-AM17	0.056
hMAK195-AM18	0.052
hMAK195-AM19	0.057
hMAK195-AM20	0.043
hMAK195-AM21	0.042
hMAK195-AM22	0.052
hMAK195-AM23	0.055
hMAK195-AM24	0.053
hMAK195-AM25	0.052
hMAK195-AM26	0.061

10

20

30

【0130】

2.2 L929 バイオアッセイによる、TNF 抗体の TNF 中和能力

【表 2 6】

表 2 6

IgG 名	ヒト TNF の中和 IC50 (nM)	アカゲザル TNF の中和 IC50 (nM)
hMAK195-AM11	0.259	>25
hMAK195-AM13	1.218	4.64
hMAK195-AM14	0.0401	4.61
hMAK195-AM15	0.036	>150
hMAK195-AM16	0.0105	0.803

40

hMAK195-AM17	0.0031	>25
hMAK195-AM18	0.0145	0.4412
hMAK195-AM19	0.0126	1.206
hMAK195-AM20	0.0037	0.596
hMAK195-AM21	0.009	0.09
hMAK195-AM22	0.00345	0.2705
hMAK195-AM23	0.0468	2.627
hMAK195-AM24	0.015	0.557
hMAK195-AM25	0.0114	0.262
hMAK195-AM26	0.0061	0.2495

10

【0131】

実施例3：ヒト化抗ヒトTNF抗体hMAK-199の親和性成熟

マウス抗ヒトTNF抗体であるMAK-199ヒト化、かつ、親和性成熟させて、ヒトおよびサルとのTNF両方への親和性および結合動態が向上したヒト化MAK195変異体のパネルを生成した。以下の仕様に従って、いくつかのライブラリーを作成した。

20

【0132】

V2Iの逆変異を最初に導入し、TNFに対するscFvの親和性に影響が及んでいないことを確認した後、3つのHCライブラリーを作成した。

H1+H2(DDK)ライブラリー：

- 7つの残基(T30、N31、N35、T52a、T54、E56、T58)に限定的な突然変異を生成

- 生殖系列トグル：M34IおよびF63L

H1+H2(QKQ)ライブラリー：

- 7つの残基(T30、N31、N35、T52a、T54、E56、T58)に限定的な突然変異を生成

- 生殖系列トグル：M34IおよびF63L

- 生殖系列への逆変異：D61Q、D62K、K64Q、F67V、F69M、L71T

H3ライブラリー：

- 12つの残基(95~100、100a~100f)に限定的な突然変異を生成

- 生殖系列トグル：F91Y

LCライブラリー：

- 11の残基(28、30~32、50、53、91~94、96)に限定的な突然変異を生成

- 生殖系列トグル：T51A、Y71F、F87Y、およびT43A/V44P(これら2つは共に進展した)

組換えライブラリー：

選択を少なくとも3回行い、ライブラリーの多様性が低下した後、VHライブラリーをVLライブラリーと共に、およびVLライブラリーを含めずに組み換える。

40

【0133】

低濃度のビオチン化ヒトまたはカニクイザルサルTNF抗原の存在下で、ヒトまたはカニクイザルサルTNFへの結合能を指標として、4つ全てのライブラリーを別個に選択した。ライブラリーの選択から回収した、変異したCDR配列の全てを、別のライブラリーに組換え、組み換えたライブラリーをよりストリンジентな条件での選択にかけ、その

50

後、個々の抗体を同定した。

【 0 1 3 4 】

表 2 7 に、親和性成熟の選択プロトコールに供した、h M A K - 1 9 9 抗体の V H のアミノ酸配列の一覧を示す。各 V H 配列の個々の C D R のアミノ酸残基を太字で示している。

【 0 1 3 5 】

【表 2 7】

表 2 7. 親和性成熟した h M A K 1 9 9 V H 変異体のアミノ酸配列の一覧

クローン	配列番号	VH
J644M2S1-10VH	778	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV S CKASGYTFNDYGITWVRQ APGQGLEWMGWINTY T GKPT Y A Q GFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKFLTTVVVTDY A MDYWGQG TTVTVSS

クローン	配列番号	VH
J644M2S1-11VH	779	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTNYGMNWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGPEPTYADDFKGRFTFLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-12VH	780	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTNYGISWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPHYAQLTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-13VH	781	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDNYGIQWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGAPSYAQQFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-14VH	782	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTDYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGKPSYAQQFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-15VH	783	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYGMNWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGESTYAQQFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-16VH	784	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFKNYGMTWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGKPTYAQQFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-17VH	785	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTDYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGKPTYAQQFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J644M2S1-18VH	786	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFNNYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEP AYAQQFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCAR KFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-1VH	787	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFRNYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGQPT YAQQFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCAR KFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-22VH	788	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFDYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEP TYAQQFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCAR KFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-23VH	789	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFKNYGIIWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGKPT YAQQFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCAR KFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-24VH	790	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFSNYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGVP TYAQQFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCAR KFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-25VH	791	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFNNYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGKPS YAQQFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCAR KFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-27VH	792	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFKNYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGKPT YAQGLTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCAR KFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J644M2S1-28VH	793	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFRNYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGKPSYAQGFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-2VH	794	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTNYGIXWVRQ APGQGLEWMGWINTYXGKPTYAQGFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-31VH	795	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNNYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPHYAQGLTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-33VH	796	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTHYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGKPTYAQGFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-34VH	797	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTHYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGQPTYAQGLTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-35VH	798	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTNYGITWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGKPTYAQGFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-36VH	799	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFGNYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGKPSYAQGFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J644M2S1-37VH	800	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGRTPTAQQFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-38VH	801	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFKNYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPHYAQQFTGRVTMTTDTSTST AYIELSSLRSEDTAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-3VH	802	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPHYAQQFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-40VH	803	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYGMNWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPHYAQQFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-41VH	804	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGIGWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGKPSYAQQFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-43VH	805	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNNYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGVPHYAQQFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-44VH	806	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYGIAWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGVPHYAQQFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J644M2S1-45VH	807	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNNGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGVPHYAQGFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSED TAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-46VH	808	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGIXWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPXYAQGFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSED TAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-47VH	809	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNNGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGVPPTYAQGLTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSED TAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-48VH	810	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGQPTYAQGFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSED TAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-4VH	811	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYGITWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGKPTYAQGFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSED TAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-50VH	812	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGVPQY AQGFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSED TAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-51VH	813	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFQNYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGVPPTYAQGLTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSED TAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J644M2S1-53VH	814	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTQYG INWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGDPHYAQQFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-54VH	815	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYG INWVRQ APGQGLEWMGWINTYTG LPTYAQQFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-55VH	816	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWVRQ APGQGLEWMGWINTYNGKPMYAQQFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-56VH	817	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFRNYG ITWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPAYAQGLTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-59VH	818	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNHYG INWVRQ APGQGLEWMGWINTYTG RPTYAQQFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-5VH	819	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYG INWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGKPTYAQGLTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-60VH	820	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNNYG INWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGKPTYAQQFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J644M2S1-64VH	821	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFDNYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTG VPTYAQQFTGRVTMTTDT STST AYMELSSLRSEDTAVYFC ARKFLTTVVVTDYAMDY WGQG TTVTVSS
J644M2S1-65VH	822	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFNDYGIWVRQ APGQGLEWMGWINTYTG KPSYAQQFTGRVTMTTDT STST AYMELSSLRSEDTAVYFC ARKFLTTVVVTDYAMDY WGQG TTVTVSS
J644M2S1-66VH	823	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFSNYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTG KPTYAQQFTGRVTMTTDT STST AYMELSSLRSEDTAVYFC ARKFLTTVVVTDYAMDY WGQG TTVTVSS
J644M2S1-67VH	824	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFANYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTG KPTYAQQFTGRVTMTTDT STST AYMELSSLRSEDTAVYFC ARKFLTTVVVTDYAMDY WGQG TTVTVSS
J644M2S1-68VH	825	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFNNYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTG EPSYAQGLTGRVTMTTDT STST AYMELSSLRSEDTAVYFC ARKFLTTVVVTDYAMDY WGQG TTVTVSS
J644M2S1-6VH	826	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYFTNYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTG VPTYAQGLTGRVTMTTDT STST AYMELSSLRSEDTAVYFC ARKFLTTVVVTDYAMDY WGQG TTVTVSS
J644M2S1-71VH	827	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFDHYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTG KPTYAQGLTGRVTMTTDT STST AYMELSSLRSEDTAVYFC ARKFLTTVVVTDYAMDY WGQG TTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J644M2S1-72VH	828	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGIGWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGKPSYAQGLTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-73VH	829	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPYADDFKGRFTFLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-74VH	830	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNNGMNWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGKPTYAQGLTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-75VH	831	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDNYGMNWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGVPPTYAQGFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-76VH	832	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNSYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGKPTYAQGFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-77VH	833	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYGITWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGKPTYAQGFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-79VH	834	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYNGQPTYAQGFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J644M2S1-7VH	835	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYGIIWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPYTAQGFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-81VH	836	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFANYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGKPTYAQGFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-82VH	837	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSDYGIQWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGRTPTYAQGFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-83VH	838	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYGISWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGKPTYAQGFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-84VH	839	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYGIQWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGVPYTAQGFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-85VH	840	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGVPYTAQGFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-87VH	841	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYSGKPTYAQGFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J644M2S1-88VH	842	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGQPTYAQQFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSED TAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-8VH	843	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFPNYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGKPTYAQQFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSED TAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-90VH	844	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGKTNYAQQFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSED TAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-91VH	845	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNNYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPNYAQQFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSED TAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-92VH	846	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYGITWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPHYAQQGLTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSED TAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-93VH	847	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFKNYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGQPTYAQQFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSED TAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-94VH	848	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNNYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGIPTYAQQFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSED TAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J644M2S1-95VH	849	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYG INWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGKPTYAQGFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSED TAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-96VH	850	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYG INWVRQ APGQGLEWMGWINTYSGVPTYAQGFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSED TAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J644M2S1-9VH	851	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYG INWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGKPTYAQGFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSED TAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2-11VH	852	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFTFTLDTSTST AYMELSSLRSED TAVYYCARKFWRTVVGTDNAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2-12VH	853	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFTFTLDTSTST AYMELSSLRSED TAVYFCARKYSTTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2-13VH	854	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFTFTLDTSTST AYMELSSLRSED TAVYFCARKFLTTVVVTD SAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2-15VH	855	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFTFTLDTSTST AYMELSSLRSED TAVYFCARKFMTTMAVTD FAMDYWGQG TTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J647M2-16VH	856	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFTFLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARKLLTTVVATDNAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2-17VH	857	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFTFLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARKFLTTVIVTDNAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2-19VH	858	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFTFLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFFTPVVVTDNAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2-1VH	859	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFTFLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARKLMTTVVVTDHAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2-20VH	860	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFTFLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARKYLTVVVTDSDAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2-21VH	861	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFTFLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARKFRSSVAVTDNAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2-22VH	862	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFTFLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARKLFTVVVTDSDAMDYWGQG TTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J647M2-23VH	863	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGPTYADDFKGRFTFLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKYLMVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2-24VH	864	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGPTYADDFKGRFTFLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKLLDAVMVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2-26VH	865	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGPTYADDFKGRFTFLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARKFLTTVVVNDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2-44VH	866	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGPTYADDFKGRFTFLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARKLLTTVAVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2-45VH	867	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGPTYADDFKGRFTFLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFLKTVVATDDAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2-47VH	868	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGPTYADDFKGRFTFLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARKFLNTAVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2-48VH	869	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGPTYADDFKGRFTFLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARRFLTVDVTDNAMDYWGQG TTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J647M2-4VH	870	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYGMNWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPYADDFKGRFTFLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKYLTPVVATDFAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2-51VH	871	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYGMNWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPYADDFKGRFTFLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKCMTTIVETDNAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2-52VH	872	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYGMNWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPYADDFKGRFTFLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARKFMNTVDVTDNAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2-53VH	873	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYGMNWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPYADDFKGRFTFLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARKLFTTVVVTDDAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2-54VH	874	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYGMNWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPYADDFKGRFTFLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARKLMTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2-55VH	875	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYGMNWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPYADDFKGRFTFLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARKFLPTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2-56VH	876	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYGMNWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPYADDFKGRFTFLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKLLTVVVTDNAMDYWGQG TTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J647M2-58VH	877	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFTFTLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARKILTTVVVTDNAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2-70VH	878	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFTFTLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARKVMATEVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2-71VH	879	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFTFTLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARKLVTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2-72VH	880	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFTFTLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFRKPVSVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2-73VH	881	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFTFTLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARKLWTTVVVTDNAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2-74VH	882	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFTFTLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARKLLTPVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2-75VH	883	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFTFTLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARKFRTTVVETDYCMDYWGQG TTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J647M2-76VH	884	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFTFTLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKYFTTVAVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2-78VH	885	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFTFTLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARRFLTVEVTDLAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2-79VH	886	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFTFTLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARKFLRTEVMTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2-7VH	887	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFTFTLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFLSTVAVTDSAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2-80VH	888	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFTFTLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARKVLNTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2-83VH	889	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFTFTLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFMNTAMVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2-84VH	890	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFTFTLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARKFSTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J647M2-85VH	891	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPYADDFKGRFTFTLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKYFTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2-86VH	892	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPYADDFKGRFTFTLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFLNTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-12VH	893	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPYADDFKGRFTFTLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARKFMPTVVETDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-13VH	894	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGINWRQ APGQGLEWMGWINTYTGNTYAQGFTRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-14VH	895	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFADYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPYAQGFTRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-15VH	896	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPYADDFKGRFTFTLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-17VH	897	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPYAQGFTRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J647M2S1-18VH	898	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPYADDFKGRFTFLDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARKFLTTVVVTDNAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-19VH	899	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPYADDFKGRFTFLDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARKLLNTVVGTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-21VH	900	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPYADDFKGRFTFLDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKLLTTEAVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-22VH	901	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPYADDFKGRFTFLDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKYSTPVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-23VH	902	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGINWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPYAQGLTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-26VH	903	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPYADDFKGRFTFLDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKCLNTVAVTEHRMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-28VH	904	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPYADDFKGRFTFLDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARKFLTTVVHTDYAMDYWGQG TTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J647M2S1-30VH	905	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYGMNWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGQPTYAQGFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-31VH	906	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGKPTYAQGFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-32VH	907	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFANYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPPTYAQGFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-33VH	908	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYGMNWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPPTYADDFKGRFTFTLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARKFRITVVLTDSAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-35VH	909	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPPTYAQGLTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-36VH	910	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYGMNWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPPTYADDFKGRFTFTLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARKFQTPVVDTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-39VH	911	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYGMNWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPPTYADDFKGRFTFTLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARKFMKTRVVTDNAMDYWGQG TTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J647M2S1-40VH	912	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYGIVVWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPYTAQGFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-41VH	913	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFPNYGISVWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPYTAQGFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-43VH	914	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGINVWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPYTAQGLTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-45VH	915	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTKYGINVWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPYTAQGFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-47VH	916	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNVWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPYADDFKGRFTFTLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARKYLTTVVATDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-48VH	917	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNVWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPYADDFKGRFTFTLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARKLLNTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-65VH	918	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNVWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPYADDFKGRFTFTLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARKFLTPVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J647M2S1-66VH	919	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTNYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPRYAQGLTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-67VH	920	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFRDYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGLPTYAQGFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-69VH	921	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTNYGMNWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFTFTLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFWTTIVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-6VH	922	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTNYGMNWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFTFTLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKLLTTVSATDNAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-70VH	923	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTNYGMNWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFTFTLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARKFLNTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-72VH	924	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTDYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYNGEPSYAQGLTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-75VH	925	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFATYGIWVRQ APGQGLEWMGWINTYSGVPKYAQGLTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J647M2S1-76VH	926	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPYADDFKGRFTFTLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFRRTTAVPTDNAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-77VH	927	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPYADDFKGRFTFTLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARKFLT TVVNTDSAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-78VH	928	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPYADDFKGRFTFTLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFLT TVVVTDYAMDYWGGRG TTVTVSS
J647M2S1-79VH	929	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPYADDFKGRFTFTLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARKLLKTRVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-7VH	930	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPYADDFKGRFTFTLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFLT TVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-80VH	931	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPYADDFKGRFTFTLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARKLLT TVVATDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-84VH	932	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPY AQGFTGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFLT TVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J647M2S1-85VH	933	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGQPTYAQGFTRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-87VH	934	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFTFLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARKFFPTMVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-88VH	935	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFTFLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARKFVTTMVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-8VH	936	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPTYAQGLTRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-92VH	937	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFTFLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYFCARKLLTTIVATDNAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-93VH	938	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFTFLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARKLMSTVVETDNAMDYWGQG TTVTVSS
J647M2S1-94VH	939	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFTFLDTSTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARKLLFTVVQTDYAMDYWGQG TTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J647M2S1-96VH	940	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPYADDFKGRFTFLDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARKLLNTVVDTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J662M2S3-14VH	941	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYGIIWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPHYAQLQGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKLFTVEDVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J662M2S3-18VH	942	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDNYGMNWRQ APGQGLEWMGWINTYNGKPTYAQKFQGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKLFLVEAVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J662M2S3-28VH	943	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFRNYGIIWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGKPTYAQKFQGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKLFTTVDVTDNAMDYWGQG TTVTVSS
J662M2S3-29VH	944	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNNYGIIWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGVPPTYAQKFQGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARKLFNTVDVTDNAMDYWGQG TTVTVSS
J662M2S3-30VH	945	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNNYGIIWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGEPHYAQLQGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARKLFTMAVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J662M2S3-34VH	946	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNNYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGKPTYAQKFQGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKFRNTVAVTDYAMDYWGQG TTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J662M2S3-3VH	947	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNNYGIIWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGKPTYAQKFQGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARKLFNTVAVTDNAMDYWGQG TTVTVSS
J662M2S3-41VH	948	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGKPTYAQKFQGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARKLFFTEDVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J662M2S3-45VH	949	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNNYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGKPTYAQKFQGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKFFTPVVVTDNAMDYWGQG TTVTVSS
J662M2S3-55VH	950	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFRNYGITWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGKPTYAQKFQGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKLFTTMDVTDNAMDYWGQG TTVTVSS
J662M2S3-5VH	951	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFANYGIIWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGKPTYAQKFQGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARKLFTTMDVTDNAMDYWGQG TTVTVSS
J662M2S3-65VH	952	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNNYGIIWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGKPTYAQLQGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKLFNTVDVTDNAMDYWGQG TTVTVSS
J662M2S3-78VH	953	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYGIIWVRQ APGQGLEWMGWINTYTGKPSYAAKFQGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARKLFNTVDVTDNAMDYWGQG TTVTVSS

10

20

30

40

クローン	配列番号	VH
J662M2S3-84VH	954	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFSNYGINWVRQ APGQGLEWMGWINTY TGQPSYAQKFQGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARKL FKTEAVTDYAMDYWGQG TTVTVSS
J662M2S3-87VH	955	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFNNYGIWVRQ APGQGLEWMGWINTY SGKPTYAQKFQGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYFCARKL FTTMDVTDNAMDYWGQG TTVTVSS
J662M2S3-96VH	956	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFNNYGIWVRQ APGQGLEWMGWINTY TGKPTYAQKFQGRVTMTTDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARK FFTTMAVTDNAMDYWGQG TTVTVSS

10

20

【 0 1 3 6 】

表 2 8 に、hMAK199 由来の親和性成熟した完全長ヒト TNF 抗体の VL 領域のアミノ酸配列の一覧を示す。各 VL 配列の個々の CDR のアミノ酸残基を太字で示している。

【 0 1 3 7 】

【 表 2 8 】

表 2 8. 親和性成熟した hMAK199 VL 変異体のアミノ酸配列の一覧

30

クローン	配列番号	VL
J644M2S1-11Vk	957	DIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQDISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRL QSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYYC QQGNTLPPTFGQGTKLEIK
J644M2S1-73Vk	958	DIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQDISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYASRL QSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYFC QQGNTLPPTFGQGTKLEIK
J647M2-11Vk	959	DIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQDISNYLNWYQQK PGKTVKLLIYYTSRL QSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYFC QQGNTLPPTFGQGTKLEIK

40

J647M2S1-10Vk	960	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIWNLYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYFCQQGNRYPPPTFGQGTKLEIK
J647M2S1-16Vk	961	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDICTYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQQGNSPPPTFGQGTKLEIK
J647M2S1-1Vk	962	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQAIGNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYASRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYFCQQGNTLPPTFGQGTKLEIK
J647M2S1-20Vk	963	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISL QPEDFATYFCQQGNTRPPTFGQGTKLEIK
J647M2S1-24Vk	964	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSLLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISL QPEDFATYYCQQGNTGPPTFGQGTKLEIK
J647M2S1-25Vk	965	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIYNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISL QPEDFATYFCQQGNTLPPTFGQGTKLEIK
J647M2S1-29Vk	966	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISHYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISL QPEDFATYFCQQGNTLPATFGQGTKLEIK
J647M2S1-2Vk	967	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISSYLNWYQQK PGKTVKLLIYYASRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQQGNTPPPTFGQGTKLEIK
J647M2S1-34Vk	968	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISSYLNWYQQK PGKAPKLLIYYASRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQQGNTLPPTFGQGTKLEIK
J647M2S1-37Vk	969	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQEISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISL

10

20

30

40

		QPEDFATYFCQQGNTMPTTFGQGTKLEIK
J647M2S1-38Vk	970	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYFASRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYFCQQGNTPPTTFGQGTKLEIK
J647M2S1-3Vk	971	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYFCQQGNTLPSTFGQGTKLEIK
J647M2S1-42Vk	972	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQVISNTLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYFCQQGNALPPTFGQGTKLEIK
J647M2S1-44Vk	973	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISTYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYFCQQGNTPPPTFGQGTKLEIK
J647M2S1-46Vk	974	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISQYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYYCQQGNTLPPTFGQGTKLEIK
J647M2S1-50Vk	975	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDITNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGNTAPPTFGQGTKLEIK
J647M2S1-52Vk	976	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYFCQQGNTMPPTFGQGTKLEIK
J647M2S1-56Vk	977	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYFCQQGNTLPPTFGQGTKLEIK
J647M2S1-59Vk	978	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISKYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGNTRPPTFGQGTKLEIK
J647M2S1-71Vk	979	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL

10

20

30

40

		QPEDFATYYCQQGNTQPPTFGQGTKLEIK
J647M2S1-74Vk	980	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGNSQPPTFGQGTKLEIK
J647M2S1-78Vk	981	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISKYLNWYQQK PGKAPKLLIYNASRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYFCQQGNTLPPTFGQGTKLEIK
J647M2S1-7Vk	982	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSLLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGNIWPPTFGQGTKLEIK
J647M2S1-9Vk	983	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISHYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYFCQQGNTLPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-10Vk	984	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYYCQQGNTFPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-13Vk	985	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYFCQQGNTQPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-14Vk	986	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNVLNWYQQK PGKAPKLLIYYASRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGNTLPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-15Vk	987	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIYKYNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGNTMPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-17Vk	988	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQEIFS YLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGNMGPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-18Vk	989	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL

10

20

30

40

		QPEDFATYYCQQGNTQPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-1Vk	990	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISSYLNWYQQK PGKAPKLLIYYASRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQQGNTWPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-22Vk	991	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQQGNTRPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-23Vk	992	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNFLNWYQQK PGKAPKLLIYYASRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYFCQQGNTFPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-25Vk	993	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNFLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISL QPEDFATYFCQQGNTRPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-26Vk	994	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDINNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYFCQQGNTQPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-27Vk	995	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYASGLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISL QPEDFATYFCQQGNTWPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-28Vk	996	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISRYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQQGNTQPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-29Vk	997	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIATYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYFCQQGNTMPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-31Vk	998	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISL QPEDFATYFCQQGNTFPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-33Vk	999	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQRIGNYLNWYQQK PGKTVKLLIYYASRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL

10

20

30

40

		QPEDFATYFCQQGNTLPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-34Vk	1000	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQEISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYYCQQGNSQPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-35Vk	1001	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIANYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGNTLPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-37Vk	1002	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYASRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYFCQQGNTFPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-38Vk	1003	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGNTQPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-3Vk	1004	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYFCQQGNTPPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-40Vk	1005	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNFLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYYCQQGNTLPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-41Vk	1006	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNFLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYFCQQGNTRPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-42Vk	1007	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDITNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYYCQQGNTPPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-45Vk	1008	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISDYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYFCQQGNMWPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-47Vk	1009	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISSYLNWYQQK PGKAPKLLIYYASRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL

10

20

30

40

		QPEDFATYFCQQGNTMPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-48Vk	1010	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISHYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGNTLPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-49Vk	1011	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYASRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYFCQQGNTMPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-51Vk	1012	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISQYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYFCQQGNTRPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-52Vk	1013	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYFCQQGNMRPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-53Vk	1014	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISTYLNWYQQK PGKAPKLLIYYASRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYFCQQGNTLPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-55Vk	1015	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYFCQQGNTGPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-56Vk	1016	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQNINNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYFCQQGNTMPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-57Vk	1017	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISKYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYYCQQGNTPPPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-61Vk	1018	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGNTVPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-62Vk	1019	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSKLSGVPSPRFSGSGSGTDYTLTISSL

10

20

30

40

		QPEDFATYFCQQGNIFPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-64Vk	1020	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIYNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYFCQQGNTLPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-67Vk	1021	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISSYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGNTLPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-69Vk	1022	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQEISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYFCQQGNTGPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-6Vk	1023	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGNTPPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-71Vk	1024	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISDYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYYCQQGNTWPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-73Vk	1025	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIWKYLNWYQQK PGKAPKLLIYYASRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGNTLPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-75Vk	1026	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISTYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYYCQQGNTWPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-77Vk	1027	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYYCQQGNTPPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-78Vk	1028	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYFCQQGNAPPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-79Vk	1029	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIYKFLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL

10

20

30

40

		QPEDFATYFCQQGNTLPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-80Vk	1030	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIFNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYFCQQGNTLPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-82Vk	1031	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNTLNWYQQK PGKAPKLLIYYASRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYFCQQGNTLPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-84Vk	1032	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQHISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYFCQQGNTQPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-86Vk	1033	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYFCQQGNMPPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-87Vk	1034	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDITNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYFCQQGNTVPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-8Vk	1035	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYFTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGNTQPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-90Vk	1036	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISKFLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYYCQQGNTRPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-91Vk	1037	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYFCQQGNTFPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-92Vk	1038	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIYNVLNWYQQK PGKAPKLLIYYASRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYFCQQGITLPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-93Vk	1039	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQHISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL

10

20

30

40

		QPEDFATYFCQQGNTWPPTFGQGTKLEIK
J652M2S1-95Vk	1040	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYFCQQGNTQPSTFGQGTKLEIK
J652M2S1-9Vk	1041	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYFCQQGNTQPPTFGQGTKLEIK
J662M2S3-13Vk	1042	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYFCQQGNSWPPTFGQGTKLEIK
J662M2S3-15Vk	1043	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIYNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYFCQQGNTQPPTFGQGTKLEIK
J662M2S3-21Vk	1044	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYFCQQGNTWPPTFGQGTKLEIK
J662M2S3-22Vk	1045	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISQYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYFCQQGNTWPPTFGQGTKLEIK
J662M2S3-34Vk	1046	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIYDVLNWYQQK PGKAPKLLIYYASRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGITLPPTFGQGTKLEIK
J662M2S3-3Vk	1047	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIENYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYFCQQGNTQPPTFGQGTKLEIK
J662M2S3-41Vk	1048	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQNIENFLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYFCQQGNTWPPTFGQGTKLEIK
J662M2S3-56Vk	1049	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIYNYLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL

10

20

30

40

		QPEDFATYFCQQGNTPPPTFGQGTKLEIK
J662M2S3-64Vk	1050	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDIASYNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYFCQQGNTQPPTFGQGTKLEIK
J662M2S3-78Vk	1051	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISNYLNWYQQK PGKVPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYFCQQGNTQPPTFGQGTKLEIK
J662M2S3-84Vk	1052	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQNIYNVLNWYQQK PGKAPKLLIYYASRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYFCQQGNTMPPTFGQGTKLEIK

10

【 0 1 3 8 】

【 表 2 9 】

表 2 9 . 親和性成熟した hMAK-199 抗体で観察されたアミノ酸残基

20

MAK199 重鎖可変領域(配列番号 1077)	
MAK	1234567890123456789012345678901234567890123456789012a345678901
199	EIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGPEPTYAD
VH. 2	V ND II N K S Q
a	AH T S V H
	ST Q Q N
	RS S R M
	DQ G L K
	KK A S A
	P V N R
	Q I Q
	M D D
	G A
	E

30

40

<u>234567890123456789012abc345678901234567890abcdefg1234567890123</u> <u>DFKGRFTFTLDTSTSTAYMELSSLRSEDVAVYFCARKFLTTVVVTDYAMDYWGQTTVTVSS</u> GLT V M T Y RLFNPM DASENT K Q NYMKVEAEM SR IRSSAEMN CC VSRARSD H CWL IMG D QP QII I VF GPQ F ND D P V GM N L CA L A H		10
--	--	----

Mak199 輕鎖可變領域 (配列番号 1078)

Mak199 Vk. 1a	<u>123456789012345678901234567890123456789012345678901234567</u> <u>8901</u> DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKTVKLLIYYTSRLQSGV PSR N YQV AP FA L E ESF V N K H AKT G G TT V WH R GD A NR F C	20
------------------	---	----

	<u>234567890123456789012345678901234567890123456a</u> <u>FSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQGNTLPPTFGQGTKLEIK</u> F Y ISW T MQ S IP A AM RR F G V Y A	30
		40

【表 3 0】

表 3 0. 変換型クローン由来 hMAK-199 の個々の VH 配列

タンパク質領域		配列番号	配列	
			123456789012345678901234567890	
J662M2S3# 10 VH		1053	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFA NYGIIWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARKLFTTMDVTDNAMDYWGQGTTV TVSS	10
J662M2S3# 10 VH	CDR-H1	配列番号 1053 の 31～35 番目の残 基	NYGII	20
J662M2S3# 10 VH	CDR-H2	配列番号 1053 の 50～66 番目の残 基	WINTYTGKPTYAQKFQG	
J662M2S3# 10 VH	CDR-H3	配列番号 1053 の 99～112 番目の 残基	RASQDISQYLN	30
J662M2S3# 13 VH		1054	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFN NYGIIWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELSSLRSED TAVYFCARKLFNTVDVTDNAMDYWGQGTTV TVSS	
J662M2S3# 13 VH	CDR-H1	配列番号 1054 の 31～35 番目の残 基	NYGII	40
J662M2S3# 13 VH	CDR-H2	配列番号 1054 の 50～66 番目の残 基	WINTYTGKPTYAQKLQG	

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
J662M2S3# 13 VH	CDR-H3	配列番号 1054 の 99～112 番目の 残基	KLFNTVDVTDNAMD
J662M2S3# 15 VH		1055	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFN NYGIIWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGVPPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARKLFNTVDVTDNAMDYWGQGTIV TVSS
J662M2S3# 15 VH	CDR-H1	配列番号 1055 の 31～35 番目の残 基	NYGII
J662M2S3# 15 VH	CDR-H2	配列番号 1055 の 50～66 番目の残 基	WINTYTGVPPTYAQKFQG
J662M2S3# 15 VH	CDR-H3	配列番号 1055 の 99～112 番目の 残基	KLFNTVDVTDNAMD
J662M2S3# 16 VH		1056	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFN NYGIIWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARKLFNTVAVTDNAMDYWGQGTIV TVSS
J662M2S3# 16 VH	CDR-H1	配列番号 1056 の 31～35 番目の残 基	NYGII

10

20

30

40

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
J662M2S3# 16 VH	CDR-H2	配列番号 1056 の 50～66 番目の残 基	WINTYTGKPTYAQKFQG
J662M2S3# 16 VH	CDR-H3	配列番号 1056 の 99～112 番目の 残基	KLFNTVAVTDNAMD
J662M2S3# 21 VH		1057	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFR NYGIIWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAYMELSSLRSED TAVYFCARKLFTTVDVTDNAMDYWGQTTV TVSS
J662M2S3# 21 VH	CDR-H1	配列番号 1057 の 31～35 番目の残 基	NYGII
J662M2S3# 21 VH	CDR-H2	配列番号 1057 の 50～66 番目の残 基	WINTYTGKPTYAQKFQG
J662M2S3# 21 VH	CDR-H3	配列番号 1057 の 99～112 番目の 残基	KLFTTVDVTDNAMD
J662M2S3# 34 VH		1058	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFN NYGINWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAYMELSSLRSED TAVYFCARKFRNTVAVTDYAMDYWGQTTV TVSS

10

20

30

40

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
J662M2S3# 34 VH	CDR-H1	配列番号 1058 の 31～35 番目の残 基	NYGIN
J662M2S3# 34 VH	CDR-H2	配列番号 1058 の 50～66 番目の残 基	WINTYTGKPTYAQKFQG
J662M2S3# 34 VH	CDR-H3	配列番号 1058 の 99～112 番目の 残基	KFRNTVAVTDYAMD
J662M2S3# 36 VH		1059	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFR NYGITWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAYMELSSLRSED TAVYFCARKLFTTMDVTDNAMDYWGQGTIV TVSS
J662M2S3# 36 VH	CDR-H1	配列番号 1059 の 31～35 番目の残 基	NYGIT
J662M2S3# 36 VH	CDR-H2	配列番号 1059 の 50～66 番目の残 基	WINTYTGKPTYAQKFQG
J662M2S3# 36 VH	CDR-H3	配列番号 1059 の 99～112 番目の 残基	KLFTTMDVTDNAMD

10

20

30

40

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
J662M2S3# 45 VH		1060	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFA NYGIIWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARKLFTTMDVTDNAMDYWGQGTTV TVSS
J662M2S3# 45 VH	CDR-H1	配列番号 1060 の 31～35 番目の残 基	NYGII
J662M2S3# 45 VH	CDR-H2	配列番号 1060 の 50～66 番目の残 基	WINTYTGKPTYAQKFQG
J662M2S3# 45 VH	CDR-H3	配列番号 1060 の 99～112 番目の 残基	KLFTTMDVTDNAMD
J662M2S3# 58 VH		1061	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFS NYGINWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGQPSY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARKLKFTEAVTDYAMDYWGQGTTV TVSS
J662M2S3# 58 VH	CDR-H1	配列番号 1061 の 31～35 番目の残 基	NYGIN
J662M2S3# 58 VH	CDR-H2	配列番号 1061 の 50～66 番目の残 基	WINTYTGQPSY AQKFQG

10

20

30

40

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
J662M2S3# 58 VH	CDR-H3	配列番号 1061 の 99～112 番目の 残基	KLFKTEAVTDYAMD
J662M2S3# 72 VH		1062	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFN NYGIIWVRQAPGGGLEWMGWINTYSGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAYMELSSLRSED TAVYFCARKLFTTMDVTDNAMDYWGQGTTV TVSS
J662M2S3# 72 VH	CDR-H1	配列番号 1062 の 31～35 番目の残 基	NYGII
J662M2S3# 72 VH	CDR-H2	配列番号 1062 の 50～66 番目の残 基	WINTYSGKPTYAQKFQG
J662M2S3# 72 VH	CDR-H3	配列番号 1062 の 99～112 番目の 残基	KLFTTMDVTDNAMD

10

20

30

【 0 1 4 0 】

【 表 3 1 】

表 3 1. 個々の hMAK-199 クローンの V L 配列

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
J662M2S3#1 0 VL		1063	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQDIS QYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQ GNTWPPTFGQGTKLEIK

40

50

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
J662M2S3#1 0 VL	CDR-L1	配列番号 1063 の 24～34 番目 の残基	RASQDISQYLN
J662M2S3#1 0 VL	CDR-L2	配列番号 1063 の 50～56 番目 の残基	YTSRLQS
J662M2S3#1 0 VL	CDR-L3	配列番号 1063 の 89～97 番目 の残基	QQGNTWPPT
J662M2S3#1 3 VL		1064	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDIS NYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFGSGSGTDYTLTISSLPEDFATYFCQQ GNSWPPTFGQGTKLEIK
J662M2S3#1 3 VL	CDR-L1	配列番号 1064 の 24～34 番目 の残基	RASQDISNYLN
J662M2S3#1 3 VL	CDR-L2	配列番号 1064 の 50～56 番目 の残基	YTSRLQS
J662M2S3#1 3 VL	CDR-L3	配列番号 1064 の 89～97 番目 の残基	QQGNSWPPT
J662M2S3#1 5 VL		1065	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDIY NYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFGSGSGTDYTLTISSLPEDFATYFCQQ GNTQPPTFGQGTKLEIK

10

20

30

40

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
J662M2S3#1 5 VL	CDR-L1	配列番号 1065 の 24～34 番目 の残基	RASQDIYNYLN
J662M2S3#1 5 VL	CDR-L2	配列番号 1065 の 50～56 番目 の残基	YTSRLQS
J662M2S3#1 5 VL	CDR-L3	配列番号 1065 の 89～97 番目 の残基	QQGNTQPPT
J662M2S3#1 6 VL		1066	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIE NYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQQ GNTQPPTFGQGTKLEIK
J662M2S3#1 6 VL	CDR-L1	配列番号 1066 の 24～34 番目 の残基	RASQDIENYLN
J662M2S3#1 6 VL	CDR-L2	配列番号 1066 の 50～56 番目 の残基	YTSRLQS
J662M2S3#1 6 VL	CDR-L3	配列番号 1066 の 89～97 番目 の残基	QQGNTQPPT
J662M2S3#2 1 VL		1067	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIS NYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFSGSGSGTDYTLTISLQPEDFATYFCQQ GNTWPPTFGQGTKLEIK

10

20

30

40

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
J662M2S3#2 1 VL	CDR-L1	配列番号 1067 の 24～34 番目 の残基	RASQDISNYLN
J662M2S3#2 1 VL	CDR-L2	配列番号 1067 の 50～56 番目 の残基	YTSRLQS
J662M2S3#2 1 VL	CDR-L3	配列番号 1067 の 89～97 番目 の残基	QQGNTWPPT
J662M2S3#3 4 VL		1068	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDIY DVLNHWYQQKPGKAPKLLIYYASRLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTITSSLPEDFATYYCQQ GITLPPTFGQGTKLEIK
J662M2S3#3 4 VL	CDR-L1	配列番号 1068 の 24～34 番目 の残基	RASQDIYDVLN
J662M2S3#3 4 VL	CDR-L2	配列番号 1068 の 50～56 番目 の残基	YASRLQS
J662M2S3#3 4 VL	CDR-L3	配列番号 1068 の 89～97 番目 の残基	QQGITLPPT
J662M2S3#3 6 VL		1069	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDIS NYLNHWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFSGSGSGTDYTLTITSSLPEDFATYFCQQ GNTWPPTFGQGTKLEIK

10

20

30

40

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
J662M2S3#3 6 VL	CDR-L1	配列番号 1069 の 24～34 番目 の残基	RASQDISNYLN
J662M2S3#3 6 VL	CDR-L2	配列番号 1069 の 50～56 番目 の残基	YTSRLQS
J662M2S3#3 6 VL	CDR-L3	配列番号 1069 の 89～97 番目 の残基	QQGNTWPPT
J662M2S3#4 5 VL		1070	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQDIS QYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQQ GNTWPPTFGQGTKLEIK
J662M2S3#4 5 VL	CDR-L1	配列番号 1070 の 24～34 番目 の残基	RASQDISQYLN
J662M2S3#4 5 VL	CDR-L2	配列番号 1070 の 50～56 番目 の残基	YTSRLQS
J662M2S3#4 5 VL	CDR-L3	配列番号 1070 の 89～97 番目 の残基	QQGNTWPPT
J662M2S3#5 8 VL		1071	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQNIY NVLNWYQQKPGKAPKLLIYYASRLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQQ GNTMPPTFGQGTKLEIK

10

20

30

40

タンパク質領域		配列番号	配列
			123456789012345678901234567890
J662M2S3#5 8 VL	CDR-L1	配列番号 1071 の 24～34 番目 の残基	RASQNIYNVLN
J662M2S3#5 8 VL	CDR-L2	配列番号 1071 の 50～56 番目 の残基	YASRLQS
J662M2S3#5 8 VL	CDR-L3	配列番号 1071 の 89～97 番目 の残基	QQGNTMPPT
J662M2S3#7 2 VL		1072	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDIS NFLNWFYQQKPGKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQ GNTQPPTFGQGTKLEIK
J662M2S3#7 2 VL	CDR-L1	配列番号 1072 の 24～34 番目 の残基	RASQDISNFLN
J662M2S3#7 2 VL	CDR-L2	配列番号 1072 の 50～56 番目 の残基	YTSRLQS
J662M2S3#7 2 VL	CDR-L3	配列番号 1072 の 89～97 番目 の残基	QQGNTQPPT

10

20

30

40

【 0 1 4 1 】

【表 3 2】

表 3 2. 完全長 I g G に変換した、親和性成熟した hMAK 1 9 9 の s c F v クロ
ーン

ScFv クローン名	重鎖プラスミド	重鎖プラスミド	完全長 IgG(タン パク質)名	
J662M2S3#10	pHybE-hCg1, z, non-a V2 J662M2S3#10	pHybE-hCk V3 J662 M2S3#10	hMAK199-AM1	10
J662M2S3#13	pHybE-hCg1, z, non-a V2 J662M2S3#13	pHybE-hCk V3 J662 M2S3#13	hMAK199-AM2	
J662M2S3#15	pHybE-hCg1, z, non-a V2 J662M2S3#15	pHybE-hCk V3 J662 M2S3#15	hMAK199-AM3	
J662M2S3#16	pHybE-hCg1, z, non-a V2 J662M2S3#16	pHybE-hCk V3 J662 M2S3#16	hMAK199-AM4	20
J662M2S3#21	pHybE-hCg1, z, non-a V2 J662M2S3#21	pHybE-hCk V3 J662 M2S3#21	hMAK199-AM5	
J662M2S3#34	pHybE-hCg1, z, non-a V2 J662M2S3#34	pHybE-hCk V3 J662 M2S3#34	hMAK199-AM6	
J662M2S3#36	pHybE-hCg1, z, non-a V2 J662M2S3#36	pHybE-hCk V3 J662 M2S3#36	hMAK199-AM7	30
J662M2S3#45	pHybE-hCg1, z, non-a V2 J662M2S3#45	pHybE-hCk V3 J662 M2S3#45	hMAK199-AM8	
J662M2S3#58	pHybE-hCg1, z, non-a V2 J662M2S3#58	pHybE-hCk V3 J662 M2S3#58	hMAK199-AM9	
J662M2S3#72	pHybE-hCg1, z, non-a V2 J662M2S3#72	pHybE-hCk V3 J662 M2S3#72	hMAK199-AM10	40

【 0 1 4 2 】

3.1 T N F 酵素結合免疫吸着アッセイの結果

【表 3 3】

表 3 3. hMAK199 親和性成熟完全長 I g G

IgG 名	ヒト TNF α ELISA における EC50 (nM)
hMAK199-AM1	0.016
hMAK199-AM2	0.016
hMAK199-AM3	0.019
hMAK199-AM4	0.050
hMAK199-AM5	0.078
hMAK199-AM6	0.035
hMAK199-AM7	0.100
hMAK199-AM8	0.219
hMAK199-AM9	0.032
hMAK199-AM10	0.014

10

20

【 0 1 4 3 】

3.2 L929 バイオアッセイによる、TNF 抗体の TNF 中和能力

【表 3 4】

表 3 4

IgG 名	ヒト TNF の中和 IC50 (nM)	アカゲザル TNF の中和 IC50 (nM)
hMAK199-AM1	0.054	0.012
hMAK199-AM2	0.029	0.010
hMAK199-AM3	0.051	0.019
hMAK199-AM4	0.028	0.005
hMAK199-AM5	0.087	0.020
hMAK199-AM6	0.033	0.004
hMAK199-AM7	0.095	0.051
hMAK199-AM8	0.247	0.204
hMAK199-AM9	0.163	0.089
hMAK199-AM10	0.048	0.034

30

40

【 0 1 4 4 】

50

実施例 4

実施例 4 . 4 : B I A C O R E 技術を用いた親和性の決定

【 0 1 4 5 】

【表 3 5】

抗原	商品名	製造業者	カタログ番号
TNF α	組換えヒト TNF- α /TNFSF1A	R&D	210-TA
		systems	

10

【 0 1 4 6 】

B I A C O R E 法

B I A C O R E アッセイ (B i a c o r e , I n c 、 ニュージャージー州ピスカタウェイ) は、結合速度および解離速度定数の速度論的決定を用いて、結合タンパク質の親和性を決定する。結合タンパク質の標的抗原 (例えば、精製された組換え標的抗原) への結合は、B i a c o r e (登録商標) 1 0 0 0 または 3 0 0 0 装置 (B i a c o r e (登録商標) A B 、スウェーデン、ウプサラ) を用い、移動相として H B S - E P (1 0 m M の H E P E S [p H 7 . 4] 、 1 5 0 m M の N a C l 、 3 m M の E D T A および 0 . 0 0 5 % の界面活性剤 P 2 0) を使用し、2 5 で行う表面プラズモン共鳴を基礎とする測定によって決定される。全ての化学物質は、B i a c o r e (登録商標) A B (スウェーデン、ウプサラ) または本文中に記載されている別の入手先から取得した。例えば、約 5 0 0 0 R U のヤギ抗マウス I g G (F c) 、 1 0 m M の酢酸ナトリウム (p H 4 . 5) で希釈した断片特異的ポリクローナル抗体 (P i e r c e B i o t e c h n o l o g y I n c 、 イリノイ州ロックフォード) を、製造業者の説明および手順に従う標準的なアミンカップリングキットで、研究等級の C M 5 バイオセンサーチップに 2 5 μ g / m L で、直接固定する。バイオセンサー表面の未反応部分は、エタノールアミンでブロックする。フローセル 2 および 4 中の修飾されたカルボキシメチルデキストラン表面を、反応表面として使用する。フローセル 1 および 3 中のヤギ抗マウス I g G なしの修飾されていないカルボキシメチルデキストランを参照表面として使用する。動態解析のために、B i a e v a l u a t i o n 4 . 0 . 1 ソフトウェアを用い、全 8 回の注入の結合相と解離相に、1 : 1 の L a n g m u i r 結合モデルから誘導した速度方程式を同時にあてはめる (グローバルフィット解析を使用) 。ヤギ抗マウス I g G 特異的な反応表面全体を使って捕捉するために、H E P E S 緩衝生理的食塩水で、精製した抗体を希釈する。リガンドとして捕捉される抗体 (2 5 μ g / m L) を、5 μ L / 分の流速で反応マトリックスに注入する。2 5 μ L / 分で継続的に流れているところで、結合速度定数 k_{on} ($M^{-1} s^{-1}$) と解離速度定数 k_{off} (s^{-1}) を決定する。1 0 から 2 0 0 n M の範囲の様々な抗原濃度で結合動態の測定を行うことによって、速度定数が導かれる。次いで、式 : $K_D = k_{off} / k_{on}$ で、運動速度定数から、抗体と標的抗原間の反応の平衡解離定数 (M) を計算する。結合は、時間の関数として記録され、運動速度定数が計算される。このアッセイでは、最大 1 0 $^6 M^{-1} S^{-1}$ の速さの結合速度および最小 1 0 $^{-6} s^{-1}$ までの遅さの解離速度を決定することができる。

20

30

40

【 0 1 4 7 】

本明細書の結合タンパク質は、高い親和性、遅い解離速度、および高い中和能力などの点で、有益な特性をもつことが予想される。

【 0 1 4 8 】

実施例 4 . 5 : ヒト T N F - の中和

L 9 2 9 細胞をセミコンフルエントの密度になるまで生育し、0 . 2 5 % のトリプシン (G i b c o # 2 5 3 0 0) を用いて回収する。細胞を P B S で洗浄し、計数し、アクチノマイシン D (4 μ g / m L) を含有するアッセイ培地中に 1 \times 1 0 6 個細胞 / m L で再懸濁する。この細胞 5 \times 1 0 4 個を、9 6 ウェルプレート (C o s t a r # 3 5 9 9) に

50

、1ウェル当たり100 μ Lの体積で播種する。アッセイ培地を使って結合タンパク質と対照IgGを4倍希釈し、1:4の段階希釈を行う。アッセイ培地で、ヒトTNFを400pg/mLになるように希釈する。1:2の希釈スキームで、結合タンパク質の試料(200 μ L)をヒトTNF(200 μ L)に添加し、室温で0.5時間インキュベートする。

【0149】

結合タンパク質/ヒトTNF- α 溶液を、プレATINGした細胞に100 μ L加え、最終濃度をヒトTNF- α が100pg/mL、結合タンパク質が150nM~0.0001nMとなるようにする。プレートを37 $^{\circ}$ C、5%CO₂で20時間インキュベートする。生存率を定量するために、ウェルから100 μ Lを除去し、10 μ LのWST-1試薬(Rocheカタログ番号11644807001)を加える。アッセイ条件でプレートを3.5時間インキュベートする。Spectromax190ELISAプレートリーダーを使用し、プレートをOD420~600nmで測定する。

10

【0150】

本明細書の結合タンパク質は、高い親和性、遅い解離速度、および高い中和能力などの点で、有益な特性をもつことが予想される

【0151】

実施例4.6:治療

TNF- α 結合タンパク質による治療を必要とする患者は、自己免疫疾患などの免疫性および炎症性の要素を伴う病気、特に、クローン病、乾癬(尋常性乾癬を含む)、関節炎(関節リウマチ、乾癬性関節炎、変形性関節症、または若年性特発性関節炎を含む)、多発性硬化症、および強直性脊椎炎などの炎症に関連する病気を有し得る。従ってこの結合タンパク質をこれら疾患の治療に使用することができる。

20

【0152】

TNF- α 結合タンパク質は、皮下注入によって投与することができる。患者が関節リウマチ、乾癬性関節炎、または強直性脊椎炎を有している場合には、患者は、初期投与量として、1週間おきに40mgの投与を受けてもよく、治療目標を達成するのに必要な場合には、毎週40mgの投与を受けてもよい。患者が若年性特発性関節炎を有していて、かつ、体重が15kgから30kg未満の場合には、この患者は1週間おきに20mgの投与を受けてもよく、体重が30kg以上の場合には、1週間おきに40mgの投与を受けてもよい。患者がクローン病の場合には、この患者は、初回投与量として160mg(1日に40mgの注入を4回、または1日に40mgの注入を2回を2日連続して)、2週間後に80mg、そのまた2週間後からは、維持のために1週間おきに40mgの投与を受け始めてもよい。患者が尋常性乾癬の場合には、この患者は、初回投与量として80mg、初回投与の1週間後からは1週間おきに40mgの投与を受けてもよい。

30

【0153】

結合タンパク質は、使い捨ての充填済みペン(40mg/0.8mL)、使い捨ての充填済みガラスシリンジ(40mg/0.8mLまたは20mg/0.4mL)として供給され得る。

【0154】

参照による組み込み

本出願全体を通じて引用される、引用した全参考文献(文献、特許、特許出願、およびウェブサイトなど)の内容は、ここではっきりと参照によりその全体が本明細書に組み込まれ、それら文献中で引用されている参考文献も同様である。本明細書で開示されている実践は、別段の指定のない限り、免疫学、分子生物学および細胞生物学の、標準的な当該分野で良く知られている技術を使用する。

40

【0155】

均等物

本発明は、その精神または必須の特徴から逸脱することなく、他の特定の形態において具現化され得る。従って、前述の実施形態は、全ての点において、本明細書中に記載した

50

発明を限定するものというよりはむしろ例示的なものであると見なされる。従って、本発明の範囲は、前述した説明ではなく、添付の請求項によって示され、かつ、特許請求の範囲の均等性の意味および範囲に入る全ての変更は、本発明に包含されることが意図される。

【 0 1 5 6 】

本出願は、2011年10月24日出願の米国仮特許出願一連番号第61/550,587号の優先権を主張し、その全文は参照することにより本明細書に組み入れられる。

【 配 列 表 】

2014534218000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2012/061690

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07K16/24 C07K16/46 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2004/050683 A2 (ABGENIX INC [US]; BABCOOK JOHN S [CA]; KANG JASPAL S [CA]; FOORD ORIT) 17 June 2004 (2004-06-17) whole document especially, Examples 2-3, 9, 13; Tables 22, 26, 28; paragraphs [0004], [0151], [0220]; Figures 5-13; claims 47-50	1,3-29
X	WO 97/29131 A1 (BASF AG [DE]; SALFELD JOCHEN G [US]; ALLEN DEBORAH J [GB]; KAYMAKALAN) 14 August 1997 (1997-08-14) cited in the application whole document, especially Examples 1, 4; Tables 4, 7-8, 13-16; Figures 3-6	1,3-29
----- -/--		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box O.		<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents :		
<p>*A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>*E* earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>*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)</p> <p>*O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>*P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>		<p>*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</p> <p>*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</p> <p>*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</p> <p>*&* document member of the same patent family</p>
Date of the actual completion of the international search 18 January 2013	Date of mailing of the international search report 15/03/2013	
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Luyten, Kattie	

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2012/061690**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)**

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

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

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

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

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

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

see additional sheet

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

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

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

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

1, 3-29(all partially)

Remark on Protest

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2012/061690

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2006/024308 A1 (CREA ROBERTO [US] ET AL) 2 February 2006 (2006-02-02) whole document, especially Examples 6, 8; Tables 1-2, 6 -----	1,3-29
X	WO 2011/127141 A1 (ABBOTT LAB [US]; BENATUIL LORENZO [US]; GHAYUR TARIQ [US]; GOODREAU CA) 13 October 2011 (2011-10-13) whole document, especially Example 1; Tables 8, 9 -----	1,3-29

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2012/061690

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date	
WO 2004050683	A2	17-06-2004	AT 472556 T	15-07-2010
			AU 2003298816 A1	23-06-2004
			CA 2508375 A1	17-06-2004
			CN 1745101 A	08-03-2006
			EP 1578799 A2	28-09-2005
			ES 2347239 T3	27-10-2010
			HK 1083023 A1	23-12-2011
			JP 4754219 B2	24-08-2011
			JP 2006508167 A	09-03-2006
			MX PA05005921 A	19-10-2005
			RU 2377253 C2	27-12-2009
			US 2005049402 A1	03-03-2005
			US 2008187531 A1	07-08-2008
			WO 2004050683 A2	17-06-2004

WO 9729131	A1	14-08-1997	AT 239041 T	15-05-2003
			AU 722077 B2	20-07-2000
			BG 64564 B1	29-07-2005
			BG 64776 B1	31-03-2006
			BG 66195 B1	31-01-2012
			BR 9707379 A	13-04-1999
			CA 2243459 A1	14-08-1997
			CN 1215407 A	28-04-1999
			CN 1504752 A	16-06-2004
			CN 101712720 A	26-05-2010
			CN 102070715 A	25-05-2011
			CY 2463 B1	03-06-2005
			CZ 9802476 A3	11-11-1998
			DE 69721548 T2	01-04-2004
			DE 122004000003 I1	23-09-2004
			DE 122004000003 I2	29-03-2007
			DE 122004000004 I1	12-08-2004
			DK 929578 T3	25-08-2003
			EP 0929578 A1	21-07-1999
			ES 2198552 T3	01-02-2004
			HK 1019452 A1	17-08-2007
			HK 1066860 A1	27-03-2009
			HU 9901874 A2	28-09-1999
			IL 125697 A	20-03-2005
			JP 3861118 B2	20-12-2006
			JP 4404181 B2	27-01-2010
			JP 4890997 B2	07-03-2012
			JP 2000507810 A	27-06-2000
			JP 2003177130 A	27-06-2003
			JP 2007045828 A	22-02-2007
			JP 2010209119 A	24-09-2010
			LU 91062 I2	26-04-2004
			NL 300143 I1	03-05-2004
			NO 320657 B1	09-01-2006
			NO 322755 B1	04-12-2006
			NO 983627 A	07-10-1998
			NO 20026202 A	07-10-1998
			NZ 331579 A	29-06-2001
			NZ 512006 A	27-05-2005
			NZ 536216 A	31-08-2006
			NZ 562935 A	26-06-2009
			NZ 576716 A	25-02-2011
			PL 193499 B1	28-02-2007

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2012/061690

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		PL 328411 A1	18-01-1999
		PT 929578 E	30-09-2003
		RO 119831 B1	29-04-2005
		RO 123028 B1	30-07-2010
		RU 2003120859 A	10-01-2005
		SI 9720020 A	31-10-1999
		SK 106298 A3	10-03-1999
		TR 9801532 T2	23-11-1998
		US 6258562 B1	10-07-2001
		US 2003092059 A1	15-05-2003
		US 2007249813 A1	25-10-2007
		US 2009155205 A1	18-06-2009
		US 2010040604 A1	18-02-2010
		US 2012258114 A1	11-10-2012
		WO 9729131 A1	14-08-1997

US 2006024308	A1	02-02-2006	BR PI0511448 A
			CA 2573259 A1
			EP 1769003 A1
			US 2006024308 A1
			WO 2006014477 A1

WO 2011127141	A1	13-10-2011	AR 080840 A1
			AU 2011237679 A1
			CA 2795734 A1
			EP 2555797 A1
			SG 184473 A1
			TW 201138825 A
			US 2011250130 A1
			UY 33319 A
			WO 2011127141 A1

International Application No. PCT/ US2012/ 061690

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. claims: 1, 3-29(all partially)

A binding protein comprising at least one heavy chain variable region (VH region) comprising:
(a) the three complementarity determining regions (CDRs) from SEQ ID NO: 22; or (b) SEQ ID NO: 22.
Corresponding products and methods using said binding protein.

2-1057. claims: 1-29(partially)

A binding protein comprising at least one heavy chain variable region (VH region) or one light chain variable region (VL region) comprising:
(a) three complementarity determining regions (CDRs) from any one of SEQ ID NOs: 23-1078; or (b) SEQ ID NO: 23-1078.
Wherein each SEQ ID NO corresponds to one "invention".
Corresponding products and methods using said binding protein.

フロントページの続き

(51) Int.Cl.			F I			テーマコード(参考)		
C 1 2 N	1/21	(2006.01)	C 1 2 N	1/21		4 H 0 4 5		
C 1 2 N	5/10	(2006.01)	C 1 2 N	5/00	1 0 1			
C 1 2 P	21/02	(2006.01)	C 1 2 P	21/02		C		
A 6 1 K	38/00	(2006.01)	A 6 1 K	37/02				
A 6 1 K	45/00	(2006.01)	A 6 1 K	45/00				
A 6 1 P	1/04	(2006.01)	A 6 1 P	1/04				
A 6 1 P	17/06	(2006.01)	A 6 1 P	17/06				
A 6 1 P	19/02	(2006.01)	A 6 1 P	19/02				
A 6 1 P	29/00	(2006.01)	A 6 1 P	29/00	1 0 1			
A 6 1 P	25/00	(2006.01)	A 6 1 P	25/00				
A 6 1 P	11/00	(2006.01)	A 6 1 P	11/00				
A 6 1 P	11/06	(2006.01)	A 6 1 P	11/06				
A 6 1 P	7/00	(2006.01)	A 6 1 P	7/00				
A 6 1 P	17/04	(2006.01)	A 6 1 P	17/04				
A 6 1 P	11/02	(2006.01)	A 6 1 P	11/02				
A 6 1 P	17/00	(2006.01)	A 6 1 P	17/00				
A 6 1 P	37/02	(2006.01)	A 6 1 P	37/02				
A 6 1 P	1/16	(2006.01)	A 6 1 P	1/16				
A 6 1 P	35/00	(2006.01)	A 6 1 P	35/00				
A 6 1 P	31/12	(2006.01)	A 6 1 P	31/12				
A 6 1 P	31/04	(2006.01)	A 6 1 P	31/04				
A 6 1 P	33/00	(2006.01)	A 6 1 P	33/00				
A 6 1 K	38/27	(2006.01)	A 6 1 P	29/00				
A 6 1 K	31/704	(2006.01)	A 6 1 K	37/36				
G 0 1 N	33/532	(2006.01)	A 6 1 K	31/704				
G 0 1 N	33/53	(2006.01)	G 0 1 N	33/532	A			
			G 0 1 N	33/53	D			

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, T M), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, R S, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, 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, H U, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI , NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC

- (72) 発明者 クツコバ, ユリヤ
アメリカ合衆国、マサチューセッツ・0 1 5 3 2、ノースボロー、ホイトニー・ストリート・1
8 3
- (72) 発明者 メモット, ジョン
アメリカ合衆国、マサチューセッツ・0 1 7 0 1、フラミンガム、コーディ・ロード・1 0
- (72) 発明者 ベレス, ジェニファー
アメリカ合衆国、マサチューセッツ・0 1 5 0 6、ウースター、ロングメドウ・アベニュー・1 3
5
- (72) 発明者 チョン, スジュ
アメリカ合衆国、マサチューセッツ・0 1 5 4 5、シュルーズベリー、ウエストポート・ドライブ
・1 0

(72)発明者 グッドレーウ, キャリー
 アメリカ合衆国、マサチューセッツ・01056、ラッドロー、スティーブンス・ストリート・2
 01

(72)発明者 クラバース, アンカ
 アメリカ合衆国、マサチューセッツ・01543、ラットランド、ヘブン・ヒル・ロード・20

F ターム(参考) 4B024 AA01 BA56 BA61 CA01 CA09 CA11 CA20 DA01 DA02 DA05
 DA11 EA04 GA11 HA01
 4B064 AG26 AG27 CA02 CA05 CA10 CA11 CA19 CC24 DA01 DA13
 4B065 AA01X AA57X AA87X AA90X AA90Y AB01 AC14 BA01 CA24 CA25
 CA44 CA46
 4C084 AA01 AA02 AA19 BA44 DB52 NA14 ZA021 ZA022 ZA591 ZA592
 ZA661 ZA662 ZA751 ZA752 ZA891 ZA892 ZA961 ZA962 ZB071 ZB072
 ZB111 ZB112 ZB151 ZB152 ZB261 ZB262 ZB331 ZB332 ZB351 ZB352
 ZB371 ZB372
 4C086 AA01 AA02 EA10 MA01 MA02 MA04 NA14 ZA02 ZA59 ZA66
 ZA75 ZA89 ZA96 ZB07 ZB11 ZB15 ZB26 ZB33 ZB35 ZB37
 4H045 AA10 AA20 BA10 CA40 DA14 DA75 DA76 EA22 EA50 FA74