

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号  
特許第7454525号  
(P7454525)

(45)発行日 令和6年3月22日(2024.3.22)

(24)登録日 令和6年3月13日(2024.3.13)

(51)国際特許分類	F I		
C 0 7 K 16/18 (2006.01)	C 0 7 K 16/18	Z N A	
C 4 0 B 40/10 (2006.01)	C 4 0 B 40/10		
C 1 2 N 15/13 (2006.01)	C 1 2 N 15/13		
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	Y	

請求項の数 26 外国語出願 (全215頁)

(21)出願番号	特願2021-87053(P2021-87053)	(73)特許権者	505166225 アプリクス エン・ヴェー・ ベルギー、ペー - 9 0 5 2 ヘント - ツ ヴィナールデ、テヒノロギーパルク 2 1
(22)出願日	令和3年5月24日(2021.5.24)	(74)代理人	110001508 弁理士法人 津国
(62)分割の表示	特願2017-512424(P2017-512424) )の分割	(72)発明者	パイセ, マリー - アンジュ ベルギー国、ペー - 9 8 2 0 メレルベ ーク、ブルゲメーステル・エドモン・ロ ンセストラート 2 3
原出願日	平成27年5月13日(2015.5.13)	(72)発明者	ブトン, カルロ ベルギー国、ペー - 8 7 1 0 ウィール スベーク、レイクスベーク 1 1 5
(65)公開番号	特開2021-130681(P2021-130681 A)	審査官	坂崎 恵美子
(43)公開日	令和3年9月9日(2021.9.9)		
審査請求日	令和3年6月14日(2021.6.14)		
(31)優先権主張番号	61/994,552		
(32)優先日	平成26年5月16日(2014.5.16)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		
(31)優先権主張番号	62/014,015		
(32)優先日	平成26年6月18日(2014.6.18)		
	最終頁に続く		最終頁に続く

(54)【発明の名称】 改善された免疫グロブリン可変ドメイン

(57)【特許請求の範囲】

【請求項 1】

V Lドメインとの相互作用無しに、機能的な抗原結合部位を形成する、V H H、ヒト化V H H、ラクダ化V H、シングルドメイン抗体、ドメイン抗体、又はd A bである重鎖免疫グロブリンシングル可変ドメイン( I S V D )であって、8 9位におけるアミノ酸残基は、Lであり、及び1 1 0位におけるアミノ酸残基は、K又はQであり、ここで、アミノ酸残基/位置は、K a b a tに従ったナンバリングで示される、重鎖I S V D。

【請求項 2】

L、E、K、又はYから選択される1 1位におけるアミノ酸残基を含有する、請求項1記載の重鎖I S V D。

【請求項 3】

S、K、又はQから選択される1 1 2位におけるアミノ酸残基を含有する、請求項1又は2記載の重鎖I S V D。

【請求項 4】

Q 1 0 8 L置換を含有する、請求項1 ~ 3のいずれか一項記載の重鎖I S V D。

【請求項 5】

前記重鎖I S V Dが、C末端伸長(X)<sub>n</sub>[同伸長中、nが、1 ~ 1 0であり;そして各Xが、独立して選択されるアミノ酸残基である]を含有する、請求項1 ~ 4のいずれか一項記載の重鎖I S V D。

【請求項 6】

重鎖 I S V D の C 末端が、V K V S S (配列番号：95)、V K V S S (X) n (配列番号：97)、V Q V S S (配列番号：96)、V Q V S S (X) n (配列番号：98)、V Z V Z S (配列番号：107、同配列中、各アミノ酸残基 Z は、独立して、K 又は Q である)、及び V Z V Z S (X) n (配列番号：108、同配列中、各アミノ酸残基 Z は、独立して、K 又は Q である) (これらの配列中、n が、1 ~ 10 であり；そして各 X が、独立して選択されるアミノ酸残基である) の内の 1 つである、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項記載の重鎖 I S V D。

【請求項 7】

重鎖 I S V D の C 末端が、V K V S S (配列番号：95)、V Q V S S (配列番号：96)、V K V S S (X) n (配列番号：97)、及び V Q V S S (X) n (配列番号：98) (これらの配列中、X 及び n は、請求項 6 において定義されるとおりである) の内の 1 つである、請求項 6 記載の重鎖 I S V D。

10

【請求項 8】

V L ドメインとの相互作用無しに、機能的な抗原結合部位を形成する、V H H、ヒト化 V H H、ラクダ化 V H、シングルドメイン抗体、ドメイン抗体、又は d A b である重鎖免疫グロブリンシングル可変ドメイン (I S V D) であって、

11 位におけるアミノ酸残基は、K、及び L の一方であり、及び

14 位におけるアミノ酸残基は、A 及び P の一方であり、及び

41 位におけるアミノ酸残基は、A 及び P の一方であり、及び

89 位におけるアミノ酸残基は、L であり、及び

20

108 位におけるアミノ酸残基は、Q 及び L の一方であり、及び

110 位におけるアミノ酸残基は、K 及び Q の一方であり、及び

112 位におけるアミノ酸残基は、S、K、及び Q の内の 1 つであり、

ここで、アミノ酸残基 / 位置は、K a b a t に従ったナンバリングで示される、重鎖 I S V D。

【請求項 9】

112 位におけるアミノ酸残基が、S である、請求項 8 記載の重鎖 I S V D。

【請求項 10】

前記重鎖 I S V D が、C 末端伸長 (X) n [同伸長中、n が、1 ~ 10 であり；そして各 X が、独立して選択される、アミノ酸残基である] を含有する、請求項 8 又は 9 記載の重鎖 I S V D。

30

【請求項 11】

V H H ドメイン、ヒト化 V H H ドメイン、又はラクダ化 V H ドメインである、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項記載の重鎖 I S V D。

【請求項 12】

K v 1.3、I L - 23、O X 40 L、I g E、C X C R 4、H E R 3、T N F、c - M e t、R A N K L、C X C R 7、又は A - ベータに対する、請求項 1 ~ 11 のいずれか一項記載の重鎖 I S V D。

【請求項 13】

ヒト血清アルブミンに特異的に結合することができる、請求項 1 ~ 12 のいずれか一項記載の重鎖 I S V D。

40

【請求項 14】

C D R 1 は、アミノ酸配列 S F G M S (配列番号：41) であり；

C D R 2 は、アミノ酸配列 S I S G S G S D T L Y A D S V K G (配列番号：42) であり；及び

C D R 3 は、アミノ酸配列 G G S L S R (配列番号：43) である、

請求項 13 記載の重鎖 I S V D。

【請求項 15】

89 位におけるアミノ酸残基は、L であり、110 位におけるアミノ酸残基は、K 又は Q であり、ヒト血清アルブミンに特異的に結合することができ、及び重鎖 I S V D は、A

50

1 b - 1 (本明細書の配列番号: 7 6 7)、A 1 b - 8 (本明細書の配列番号: 4 6)、及び/又は A 1 b - 2 3 (本明細書の配列番号: 6 1) の内の少なくとも1つに対して、少なくとも80%の配列同一性を有する、請求項13又は14記載の重鎖 I S V D。

【請求項16】

配列番号: 1 2 3 ~ 1 3 6、4 9 6 ~ 4 9 7、5 0 0、5 0 5 ~ 5 0 6、及び5 0 9 の内の1つを含む、又はからなる、請求項13 ~ 15のいずれか一項記載の重鎖 I S V D。

【請求項17】

請求項1 ~ 11のいずれか一項記載の重鎖 I S V Dのライブラリ。

【請求項18】

請求項1 ~ 11のいずれか一項記載の重鎖 I S V Dをコードする核酸残基のライブラリ。 10

【請求項19】

発現ライブラリである、請求項18記載のライブラリ。

【請求項20】

合成ライブラリである、請求項17 ~ 19のいずれか一項記載のライブラリ。

【請求項21】

少なくとも100種類の配列を含有する、請求項17 ~ 20のいずれか一項記載のライブラリ。

【請求項22】

少なくとも1つの請求項1 ~ 16のいずれか一項記載の重鎖 I S V Dを含むポリペプチド、構築物、又は化合物。 20

【請求項23】

請求項1 ~ 16のいずれか一項記載の重鎖 I S V D、又は請求項22記載のポリペプチドを、コードする核酸。

【請求項24】

適切な宿主生物中において、請求項23記載の核酸を発現させることを含む、請求項1 ~ 16のいずれか一項記載の重鎖 I S V D又は請求項22記載のポリペプチドを生成するための方法。

【請求項25】

請求項1 ~ 16のいずれか一項記載の重鎖 I S V D、請求項22記載のポリペプチド、構築物、もしくは化合物、又は請求項23記載の核酸を含む組成物。 30

【請求項26】

医薬における使用のための、請求項1 ~ 16のいずれか一項記載の重鎖免疫グロブリンシングル可変ドメイン、又は請求項22記載のポリペプチド、構築物、もしくは化合物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、改善された重鎖免疫グロブリン可変ドメインに関する。

【0002】

本発明は、特に、露出したC末端領域又は端部(本明細書に更に記載された通り、国際公開公報第12/175741号も参照のこと)のいずれかを有するか、又は、露出したC末端領域又は端部(再度、本明細書に更に記載された通り)を有する用途に使用される(又は、同用途に使用されることが意図される)改善された重鎖免疫グロブリン可変ドメインに言及する。前者の一部の好ましく、非限定的な例は、免疫グロブリンシングル可変ドメイン(本明細書において、「I S V」又は「I S V D」とも呼ばれる)、例えば、ナノボディ(V H H、ヒト化V H H、及びラクダ化V H、例えば、ラクダ化ヒトV Hを含む)、V Hドメインであるか、又は、V Hドメインから得られる(シングルドメイン)抗体、ならびに、V Hドメインであるか、又は、V Hドメインから得られるd A bである。後者の一部を好ましく、非限定的な例は、一本鎖F V (S c F v)又はディアボディに使用される(又は、これらに使用されることが意図される)V Hドメインである。 40

【0003】

また、本発明は、(1つ以上の)本明細書に記載された本発明の改善された重鎖免疫グロブリン可変ドメインを含むか、又は、本質的にこれらからなる、タンパク質、ポリペプチド、及び他の構築物、分子、又は化学成分；本発明の改善された重鎖免疫グロブリン可変ドメインを発現/生成するための方法、及び/又は、それを含むタンパク質、ポリペプチド、及び他の構築物、分子、又は化学成分を発現/生成するための方法；本発明の改善された重鎖免疫グロブリン可変ドメインを含む組成物及び製品(例えば、医薬組成物及び製品)、及び/又は、それを含むタンパク質、ポリペプチド、及び他の構築物、分子、又は化学成分；本発明の改善された重鎖免疫グロブリン可変ドメインをコードし、及び/又は、それを含むタンパク質もしくはポリペプチドをコードするヌクレオチド配列及び核酸；ならびに、本発明の改善された重鎖免疫グロブリン可変ドメインならびにそれを含むタンパク質、ポリペプチド、及び他の構築物、分子、又は化学成分の使用(及び特に、治療的、予防的、及び診断的使用)に関する。

10

## 【0004】

本発明の更なる態様、実施態様、利点、用途、及び使用は、本明細書における更なる説明から明らかとなるであろう。

## 【0005】

本願において、免疫グロブリン重鎖可変ドメイン中のアミノ酸残基/位置は、Kabattに従ったナンバリングで示されるであろう。便宜上、図1に、本明細書において具体的に言及されるであろうアミノ酸位置の一部と、幾つかの代替的なナンバリングシステム(例えば、Aho及びIMGT。注記：本説明及び特許請求の範囲については、Kabattナンバリングが決定的であり、他のナンバリングシステムは、参考のためのみに提供される)に従ったそのナンバリングとを列記する表を提供する。

20

## 【0006】

また、本発明において、免疫グロブリン可変ドメインは、定常ドメイン(例えば、CH1ドメイン)に会合又は連結していない場合、「露出したC末端又は領域」を有すると言える。本明細書で引用された関連する従来技術が参照される。

## 【背景技術】

## 【0007】

特に、国際公開公報第12/175741号に記載されているように、C末端領域(この用語も、本明細書においても使用される通り)は、ISV上の仮想のエピトープの一部であり、また、他の残基の中でも、14位におけるアミノ酸残基(及びアミノ酸配列における同残基の次/同残基近くのアミノ酸残基、例えば、11、13、及び15位)も含み、83位におけるアミノ酸残基(及びアミノ酸配列における同残基の次/同残基近くのアミノ酸残基、例えば、82、82a、82b、及び84位)、及び/又は、108位におけるアミノ酸残基(及びアミノ酸配列における同残基の次/同残基近くのアミノ酸残基、例えば、107位)も含む場合がある。国際公開公報第12/175741号におけるのと同様に、推定のエピトープは、本明細書においても、まとめて「C末端領域」と呼ばれる。このC末端領域は、C末端配列VTSS(すなわち、109、110、111、112、及び113位のそれぞれ)と、14位におけるアミノ酸残基とを少なくとも含み、83及び108位におけるアミノ酸残基も含む場合があり、13、15、82b、83、84、及び107位におけるアミノ酸残基も含む可能性があることが理解される。

30

40

## 【0008】

(ISVDと同様に、定常ドメインと会合していない免疫グロブリン可変ドメインを含む構築物である)一本鎖Fv又はScFv中の調査の結果として、免疫グロブリン可変ドメインのC末端は、従来の全長抗体では、可変ドメインと定常ドメインとの間の界面に埋もれているが、可変ドメインが定常ドメインと会合していない場合には、溶媒に露出する疎水性パッチを含有することが、当技術分野において記載されている(例えば、Nieba et al., Protein Engineering, 10, 435-444 (1997)及びHarmsen et al., Molecular Immunology (2000), 579-590を参照のこと)。

## 【0009】

50

また、タンパク質の構造内に通常は埋もれているエピトープ（「ネオ - エピトープ」又は「潜在性エピトープ」とも呼ばれる）は、それらが溶媒露出になると、例えば、関与するタンパク質の分解、ミスフォールディング、又は凝集により、免疫システムをトリガーする可能性があることが周知である。例えば、生体分子の埋もれた疎水性部分（いわゆる、「h y p p o s」）の場合には、これらは、h y p p o sが溶媒露出になると、生来の免疫応答をもたらす一般的な傷害関連分子パターンの一部を形成することが示唆されている（例えば、Seong and Matzinger, Nature Reviews 2004, 469を参照のこと）。免疫応答をトリガーする元は埋もれていた疎水性パッチの種々の例が、当技術分野において記載されている（例えば、David et al., JBC, 2001, 6370-6377 ; Matsuura et al., International Immunology, 2000, 1183-1192 ; Rasheed et al., Life Sciences 79 (2000), 2320-2328を参照のこと）。より一般的には、疎水性アミノ酸は、B細胞エピトープの一部である傾向があることも、当技術分野において公知である（例えば、国際公開公報第11/07586号、10頁；及びKolaskar, FEBS 276, 172-174 (1990)を参照のこと）。同様に、(Nieba et al.及びHarmsen et al., 上記に記載された)重鎖可変ドメインのC末端における疎水性パッチは、(出現し及び/又は予め存在する)抗 - 薬剤抗体を生じ、及び/又は、同抗体と相互作用することができるB細胞エピトープを形成する可能性があることが記載されている（国際公開公報第11/07586号）。この理由のために、疎水性を低下させ、及び/又は、B細胞エピトープを除去するために、可変ドメインのC末端の一部を形成するアミノ酸残基の一部を変異させることが提唱されている。例えば、Nieba et al.には、VH領域の11、14、41、84、87、及び/又は89位（Kababに依ったナンバリング）を変異させることが提唱されている。一方、国際公開公報第11/07586号には、VLドメインの99、101、及び/もしくは148位（Ahoナンバリング）、又は、VHドメインの12、97、98、103、及び/もしくは144位（再度、Ahoナンバリング - これらの位置は、Kababに依った11、83、84、85、89、及び103位に対応する）を変異させることが提唱されている。同様に、Harmsen et al.には、CH1ドメインが存在しないのを補償する、12及び101位（IMGTナンバリング、これらは、Kababに依った11及び89位である）を変異させることが提唱されている。また、同著者は、これらの位置における置換に適した候補であるアミノ酸を含有する、VHHの特定のサブファミリー（「VHH4」と呼ばれる）も特定している。

#### 【0010】

また、ヒトの対象から得られた生体サンプルは、免疫グロブリン可変ドメインの露出したC末端領域又は端部（例えば、ScFv又はディアボディ中のISVD又はVHもしくはVLドメインのC末端領域又は端部）に結合可能な（既存の）タンパク質又は因子を含有している可能性があることも、当技術分野において記載されている（例えば、国際公開公報第12/175741号及び次の段落で引用した参考文献を参照のこと）。

#### 【0011】

例えば、国際公開公報第2013/024059号には、「一部の健康でナイーブなヒト対象からの血清には、VHドメイン抗体及びVHH分子の両方に結合することができる既存の抗VH自己抗体と、VL分子に結合することができる抗VL（例えば、Vカップ（VK））自己抗体が存在する」こと、及び、「VH dAbに結合する既存のADAが、IgGフラグメントに結合するが、インタクトなIgG上にin situで見出された同じ配列には結合しない抗ヒンジ抗体に類似する」ことが記載されている。

#### 【0012】

Holland et al., J. Clin. Immunol. 2013, 33(7):1192-203には、正常で健康なヒトの約半分の血液に、完全にヒトVHドメイン抗体のフレームワーク配列に結合することができる、変動するレベルでの新たな分類の抗IgG自己抗体（Holland et al.において、「HAVH自己抗体」とも呼ばれる）が含まれることが記載されている。さらに、Holland et al.には、これらの自己抗体は、主にIgGアイソタイプのものであり、VH配列に比較的高い親和性（約 $10^{-10}$ M）を表わすと考えられこと、及び、遊離したC末端は、こ

10

20

30

40

50

これらのH A V H自己抗体のV<sub>H</sub>ドメインへの結合に重要であると考えられることが言及されている。

【0013】

また、バイオ治療分子に対する既存のバイオ治療反応性抗体及びそのレギュラトリーな影響に関する問題は、Xue et al., AAPS J. 2013; 15(3):852-5において、全体的に議論されている。

【0014】

また、前述の従来技術では、このような既存の抗体/因子の可変ドメインへの結合を妨げる又は低下させるために、免疫グロブリン可変ドメインの配列を改変することができる方法に焦点が当てられてきた。この観点において、国際公開公報第2011/07586号には、可変ドメインのアミノ酸配列中において、このドメインの幾つかの特定の位置(この位置は、表面露出している)に、1つ以上の変異を生じさせることが示唆されている。国際公開公報第12/175741号には、このような既存の抗体/因子の結合を、少しのアミノ酸残基(及び、最少で1つのアラニン残基)をV<sub>H</sub>ドメインのC末端に付加することにより、及び/又は、1つ以上の特定の置換もしくは欠失を可変ドメインのC末端領域内に生じさせることにより低下させることができることが記載されている。このことは、国際公開公報第12/175741号において、C末端アミノ酸配列V T V S Sと14位におけるアミノ酸残基とを少なくとも含み(これらの位置については、国際公開公報第12/175741号には、アラニン残基の存在が、「ヒト」アミノ酸残基であるプロリンの存在と比較して、既存の抗体の低下した結合を提供することが教示されている)、108及び83位のアミノ酸残基ならびに前記位置近くのアミノ酸残基も含む可能性があることが記載されている(国際公開公報第2013/024059号は、国際公開公報第12/175741号と同じ教示を本質的に提供する)。

【0015】

例えば、国際公開公報第12/175741号の出願までに、出願人/譲受人主導で行われた調査において、1つのアラニン残基を露出したV<sub>H</sub>ドメインのC末端領域又は端部に付加することにより、ほとんどのヒト対象から得られたサンプルに存在する既存の抗体/因子の結合(本質的に全ての結合)が通常妨げられ/除去されるであろうことが見出された(例えば、国際公開公報第12/175741号の第62頁20~25行目、及び、第57頁30行目~第58頁3行目を参照のこと)。これらの知見は、国際公開公報第12/175741号のC末端アラニン置換を他のナノボディに適用した、国際公開公報第12/175741号の出願後の出願人/譲受人により得られた更なる結果により確認されている(データを示さず)。

【0016】

また、出願人/譲受人による国際公開公報第12/175741号及び同第12/175400号において、国際公開公報第12/175741号に記載されたC末端伸長が、血清アルブミン結合ナノボディを確認するのに適用されている(例えば、国際公開公報第12/175741号:配列番号:37、51~53、及び55~64、ならびに、配列番号:41、43、及び44に示された構築物、ならびに、国際公開公報第12/175400号:配列番号:6~11を参照のこと)。

【0017】

また、国際公開公報第12/175741号の図9には、以下の実験部において参照配列として使用される、2つのアルブミン結合配列も記載されている。これらは、国際公開公報第12/175741号の図9からの配列番号:37(本明細書において、「参照B」とも呼ばれ、その配列は、本明細書では、配列番号:45として提供される)及び国際公開公報第12/175741号の図9からの「付加されたC末端アミノ酸残基を含まない配列番号:37」(本明細書において、「参照A」とも呼ばれ、その配列は、配列番号:44に提供される)である。参照A及び参照Bは両方とも、国際公開公報第06/122787号における配列番号:62として提供される(及び本明細書では、「A1b-1」とも呼ばれる)、ヒト化抗アルブミンナノボディ「A1b-8」の配列から得られる

10

20

30

40

50

。一方、A1b-11の配列と比較して、参照Aは、N末端Hisタグを含み、参照Bは、N末端Hisタグ及びC末端アラニン残基を含む。参照A、参照B、及びA1b-8/A1b-11は全て、配列番号：41～43それぞれに提供されるCDRを含有する。

#### 【0018】

C末端伸長及び/又はC末端領域における変異を有するナノボディ及び他の免疫グロブリンシングル可変ドメインの他の例は、例えば、下記の従来技術に見出すことができる。国際公開公報第06/129843号（例えば、配列番号：4、6、8、及び10を参照のこと）；同第03/035695号（例えば、第61～64頁に列記された配列の一部を参照のこと）；Vu et al., Molecular Immunology, 1121-1131, 1997（例えば、図2に列記された配列の一部を参照のこと）；国際公開公報第11/003622号（例えば、配列番号：10～27として提供された配列を参照のこと）；同第09/058383号（例えば、第51頁で言及されたTAR2h-10-27の配列を参照のこと）；同第10/042815号（例えば、配列番号：15、17、27、及び30の配列を参照のこと）；及び同第04/044204号（例えば、配列番号：31、35、37、47、及び49の配列を参照のこと）。

10

#### 【0019】

また、本明細書で引用された参考文献の一部は、例えば、113位におけるセリンが別のアミノ酸により置換されているため、及び/又は、113位におけるセリンが欠失されており、かつ、C末端アミノ酸が付加されている（実際には、C末端アミノ酸配列に関する最終結果は同じであろう）ために、ISVDの最後のC末端アミノ酸がセリン（S）以外のアミノ酸であるISVD配列の例も提供する。

20

#### 【0020】

また、本明細書で引用された参考文献の一部は、112位がセリン以外のアミノ酸である、ナノボディ及び他の免疫グロブリンシングル可変ドメインの例も提供する。例えば、国際公開公報第12/175741号には、112位がグリシン（G）であるナノボディが記載されている。Vu et al.（上記）には、112位がアラニン（A）又はイソロイシン（I）であるナノボディが記載されている。国際公開公報第13/024059号には、S112A置換が例示されている。以下で引用された国際公開公報第08/020079号には、S112F置換が例示されており、また、同文献中で記載されたナノボディが、ナノボディのアミノ酸配列のカルボキシ末端に付加された限られた数のアミノ酸残基を含有することができることも全体的に記載されている。

30

#### 【0021】

本発明までに行われた調査において、C末端伸長（単純に、1つのC末端アラニン残基であることができる。再度、国際公開公報第12/175741号、実施例3を参照のこと）をナノボディのC末端領域又は端部に付加することにより、ヒトの対象/患者のほとんどのサンプル中における既存の抗体/因子の結合が本質的に妨げられ/除去されることが確立された後、ヒト対象（健康なボランティア及び/又は疾患もしくは障害を患う対象）から得られたサンプルが、C末端伸長が存在する場合であっても、ナノボディ（又は他のVHドメイン）の露出したC末端領域に結合することができる（他の）既存の抗体又は因子を含有する可能性があるかどうか調査された。そうすることで、本発明者らは、C末端伸長したVHドメインに結合するこのような既存の抗体を、健康なボランティアの血液もしくは血清中において、又は、数多くの種類の疾患の内の1つ（一部の炎症性疾患又は自己免疫障害 - データを示さず）を患うヒト患者から得られた血液もしくは血清中において、基本的に見出すことができなかつたが、特定の重篤な（自己）免疫障害（例えば、全身性エリテマトーデス、本明細書において、「SLE」とも略される）を患う特定（全員ではない）ヒト対象から得られた一部の血液又は血清サンプルは、前記ナノボディがC末端伸長を含む場合であっても、ナノボディに結合することができる、一部の既存の抗体/因子を含有すると考えられる。

40

#### 【0022】

このため、一般的には、本発明の目的は、露出したC末端領域又は端部を有する場合、

50

既存の抗体又は因子、例えば、ヒト対象から得られた血液又は血清サンプル中に見出されるものにより結合される傾向がほとんどない、改善された重鎖免疫グロブリン可変ドメイン（及び特に、改善された重鎖 I S V D、及びとりわけ、改善されたナノボディ）を提供することである。

**【 0 0 2 3 】**

特に、本発明の目的は、露出した C 末端領域又は端部を有する場合、前記ドメインが C 末端伸長（例えば、国際公開公報第 1 2 / 1 7 5 7 4 1 号、同第 1 3 / 0 2 4 0 5 9 号、及び本明細書で引用された更なる従来技術に記載）を含む場合でも、重鎖可変ドメインの露出した C 末端領域又は端部にも結合することができる、既存の抗体又は因子（再度、例えば、ヒト対象から得られた血液又は血清サンプル中に見出されるもの）により結合される傾向がほとんどない、改善された重鎖免疫グロブリン可変ドメインを提供することである。

10

**【 0 0 2 4 】**

本明細書で言及されたように、C 末端伸長を有する重鎖可変ドメインに結合することができるこのような既存の抗体が、本発明者らにより、免疫系に重篤な影響を及ぼし / 同免疫系を活性化する特定の（自己）免疫疾患又は障害（例えば、S L E）を患うヒト対象から得られた血液又は血清試料に存在することが見出されている。

**【 0 0 2 5 】**

このため、とりわけ、本発明の目的は、露出した C 末端領域又は端部を有する場合、既存の抗体又は因子、例えば、免疫系に重篤な影響を及ぼし / 同免疫系を活性化する特定の（自己）免疫疾患又は障害（例えば、S L E）を患うヒト対象から得られた血液又は血清サンプル中に見出されるものにより結合される傾向がほとんどない、改善された重鎖免疫グロブリン可変ドメイン（及び特に、改善された重鎖 I S V D、及びとりわけ、改善されたナノボディ）を提供することである。

20

**【 0 0 2 6 】**

さらにとりわけ、本発明の目的は、露出した C 末端領域又は端部を有する場合、特定の（自己）免疫疾患又は障害を患うヒト対象から得られた血液又は血清サンプル中に見出され、V H ドメインが C 末端伸長を含む場合でも、V H ドメインの露出した C 末端領域又は端部にも結合することができる既存の抗体又は因子により結合される傾向がほとんどない、改善された重鎖免疫グロブリン可変ドメイン（及び特に、改善された重鎖 I S V D、及びとりわけ、改善されたナノボディ）を提供することである。

30

**【 0 0 2 7 】**

現在、既存の抗体 / 因子の露出した C 末端領域を有する重鎖可変ドメインへの結合を、1 1 2 位（K a b a t ナンバリング）におけるセリンのリシン（K）又はグルタミン（Q）のいずれかへの変異により、（更に）低下させることができることが見出されてきた。特に、このような S 1 1 2 K 又は S 1 1 2 Q 変異により、C 末端伸長を含む（が、S 1 1 2 K 又は S 1 1 2 Q 変異を含まない）重鎖可変ドメインに結合することができる既存の抗体 / 因子、例えば、重篤な自己免疫障害、例えば、S L E を患うヒト対象の血液又は血清中に見出された既存の抗体 / 因子の結合が、（更に）低下し、又は、同結合が本質的に妨げられ / 除去されることが見出された。

40

**【 0 0 2 8 】**

本明細書で開示された特定の変異（及び特に、V 8 9 L との組み合わせにおける、及び場合により、更に T 1 1 0 K との組み合わせにおける下記変異 L 1 1 V）を導入することは、本明細書で一般的に及び具体的に開示された免疫グロブリンシングル可変ドメイン、例えば、I S V D の溶解性を改善することができ、又は、同溶解性の（更なる）改善に寄与することができる（データを示さず）。

**【 0 0 2 9 】**

このため、第 1 の態様では、本発明は、1 1 2 位（K a b a t ナンバリング）におけるアミノ酸残基は、リシン（K）残基又はグルタミン（Q）残基のいずれかである、免疫グロブリン重鎖可変ドメイン（V H ドメイン）に関する。このような免疫グロブリン重鎖可

50



変ドメインは、本明細書において、「本発明のVHドメイン」とも呼ばれる。本発明のVHドメインが、免疫グロブリンシングル可変ドメインである（同様に、好ましい）場合、免疫グロブリンシングル可変ドメインは、本明細書において、「本発明のISVDドメイン」とも呼ばれるであろう。同様に、本発明のVHドメインが、ナノボディである（同様に、更により好ましい）場合、ナノボディは、本明細書において、「本発明のナノボディ」とも呼ばれるであろう。

**【0030】**

一般的には、本発明のVHドメインは、露出したC末端又は領域のいずれかを有し、及び/又は、露出したC末端又は領域を有するタンパク質、ポリペプチド、化合物、成分、又は構築物中に存在し、及び/又は、露出したC末端又は領域を形成するのを意図したタンパク質、ポリペプチド、化合物、成分、又は構築物における使用）を意図されている。

10

**【0031】**

本発明の一態様では、本発明のVHドメインは、VLドメインとの相互作用無しに、機能的な抗原結合部位を形成することができる重鎖可変ドメインを意味する、（重鎖）免疫グロブリンシングル可変ドメインである。例えば、本発明のVHドメインは、ナノボディ（VHH、ヒト化VHH、及び/又はラクダ化VH、例えば、ラクダ化ヒトVHを含む）、VHドメインであるか、もしくは、VHドメインから得られる（シングル）ドメイン抗体、又は、VHドメインであるか、もしくは、VHドメインから得られるdAbであることができる。本発明のVHドメインは、好ましくは、ナノボディ（例えば、VHHドメイン、ヒト化VHHドメイン、又はラクダ化VHドメイン、例えば、ラクダ化ヒトVHドメイン）である。

20

**【0032】**

本発明の別の態様によれば、本発明のVHドメインは、それが存在するタンパク質、ポリペプチド、タンパク質、又は構築物において、抗原結合部位を形成するために、VLドメインとの相互作用を必要とし、露出したC末端又は領域を有するもしくは形成する重鎖可変ドメインであることができる。例えば、本発明のこの態様のVHドメインは、ScFv及び/もしくはディアボディに存在し、ならびに/又は、ScFv及び/もしくはディアボディに使用されるVHドメインであることができる。

**【0033】**

本発明のより具体的な態様によれば、本発明のVHドメインは、VTVKS（配列番号：1）もしくはVTVQS（配列番号：2）であるC末端配列（Kabattに従った109～113位）、又は、配列VTVKS及び/もしくはVTVQSのいずれかと1つのアミノ酸差（すなわち、109、110、111、又は113位の内の1つ）を有し、それでも112位においてリシン（K）もしくはグルタミン（G）のいずれかを有する配列を有する。

30

**【0034】**

また、本明細書で更に記載されたように、本発明の特に好ましい一態様では、本発明のVHドメインは、C末端伸長（例えば、国際公開公報第12/175741号及び/又は同第13/024059号に記載された通り）、特に、本明細書で更に定義されたC末端伸長も、そのC末端（すなわち、VTVKS-、VTVQS-、又は類似するモチーフの端部においてセリン残基に連結されている）に含有する。ただし、本明細書でも更に記載されたように、VTVKS-、VTVQS-、又は類似するモチーフは、VHドメインのC末端を形成する（ただし、これは、通常ほとんど好ましくないであろう）こと、又は、本発明のVHドメインは、そのC末端において（場合により、適切なリンカーを介して）、別のアミノ酸配列、部分、ドメイン、もしくは結合ユニットに連結されることも可能である。例えば、本発明のVHドメインがISVDである場合、VHドメインは、そのC末端において、別のISVDに、場合により、リンカーを介して連結することができる（及び、例えば、前記他のISVDも、本発明のVHドメインであることができる）。

40

**【0035】**

50

全体として、一般的に免疫グロブリン可変ドメインについて周知であるように、本発明のVHドメインは、4つのフレームワーク領域(FW1、FW2、FW3、及びFW4)と、3つのCDR(CDR1、CDR2、及びCDR3)とを含むであろう。一般的には、免疫グロブリン可変ドメインについてと同様に、CDRの配列は、本発明のVHドメインが生じ、及び/又は、結合することが意図される、抗原/ターゲットにより決まるであろう。フレームワーク領域は、一般的には、VHドメインの任意の適切なフレームワーク領域であることができる(それでも、112位及び/又は89位は、本明細書で更に記載された通りであろう)。本発明のVHドメインがISVDである場合、VHドメインは、ISVDに適したフレームワーク配列を有するであろう(場合により、1つ以上のCDRとの会合において)。例えば、本発明のVHドメインがナノボディである場合、フレームワーク領域は、一般的には、適切な数のVHHホールマーク残基を含有するであろう(これについては、例えば、国際公開公報第08/020079号及び本明細書で引用された出願人/譲受人の一部の他の特許出願が参照される)。

#### 【0036】

このため、例えば、本発明のVHドメインがナノボディである場合、前記本発明のナノボディは、VHH/ナノボディに特徴的な1つ以上の「ホールマーク残基」(例えば、11、37、44、45、47、83、84、103、104、及び/又は108位、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-3及びA-5~A-8を参照のこと); VHH/ナノボディに存在することができる1つ以上の他のアミノ酸残基(例えば、それ自体がVHH及びナノボディについて公知である1つ以上のヒト置換、例えば、国際公開公報第08/020079号における教示が参照され、再度、先に言及された表A-3及びA-5~A-8を参照のこと)、ならびに/又は、VHH/ナノボディについて1つ以上の他の適切なアミノ酸残基もしくは置換; 又は、このようなアミノ酸残基/置換の任意の適切な組み合わせを含有することができる。

#### 【0037】

112位がK又はQである(すなわち、C末端伸長の有無に関わらず)本発明のナノボディは、好ましくは、L(VHH中に最も頻繁に生じるアミノ酸残基)、E、K、M、S、V、W、又はYから選択され、より好ましくは、L、E、K、V、又はYから選択され、及び更により好ましくは、L、K、又はV(Vが最も好ましい)から選択される、11位におけるアミノ酸を含有する。例えば、限定されず、VHHに最も頻繁に生じるロイシン残基と比較して、本発明のナノボディは、L11K又はL11V変異を含有することができるが、これに限定されない。また、本発明のナノボディは、例えば、Q108L変異(VHH/ナノボディについて周知のヒト置換)を含有することができるが、これに限定されない。存在することができる他のアミノ酸残基(再度、限定されず、例えば、ヒトVH又はVHH中のこの位置における天然の他のアミノ酸残基も、これらの位置に存在することができる)は、例えば、14位におけるアラニン(A)(天然のVHH中のこの位置において非常に頻繁に生じるアミノ酸残基である)、14位におけるプロリン(ヒトVHドメイン中のこの位置において最も一般的なアミノ酸である)、及び、Harmsen et al.により示唆された変異(特に、Harmsen et al.において、VHH4-クラスVHH、例えば、V89M又はV89Tに基づいて示唆されているもの)、ならびに/又は、Niebaにおいて示唆された位置における(他の)変異(例えば、11、87、及び/又は89位の内の1つ以上において、Nieba、第437頁、右側欄)の内の1つ以上である。別の適切な変異は、例えば、T110K又はT110Qである。また、(i)41位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、41位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、プロリン(P)、セリン(S)、スレオニン(T)、アラニン(A)、又はロイシン(L)であることができ(又は、これらから選択することができる)(これらのアミノ酸残基は、ヒト又はラマのいずれかにおけるこの位置に最も頻繁に生じるアミノ酸残基の一部であり)、及びとりわけ、プロリン(P)又はアラニン(A)のいずれかであることができる。及び/又は、(ii)また、42位は、例えば、国際公開公報第08

10

20

30

40

50

／ 0 2 0 0 7 9 号の表 A - 6 で言及された、4 2 位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒト V H 3 残基及び／又はラクダ化 V H H 残基）の内の 1 つであることができ、及び特に、グリシン（G）又はグルタミン酸（E）であることができる（又は、これらから選択することができる）。及び／又は、（ i i i ） 8 7 位は、例えば、国際公開公報第 0 8 / 0 2 0 0 7 9 号の表 A - 7 で言及された、8 7 位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒト V H 3 残基及び／又はラクダ化 V H H 残基）の内の 1 つであることができ、特に、スレオニン（T）又はアラニン（A）であることができる（又は、これらから選択することができる）。

【 0 0 3 8 】

本発明のより具体的な態様によれば、（本明細書で更に記載された）本発明の V H ドメインは、下記のいずれかであるフレームワーク 4（F W 4 配列）を有する。

a）以下の表 1 で言及された配列番号：3 ~ 2 0 の F W 4 配列の内の 1 つ

【表 1】

表 1：F W 4 配列

WGQGTQVTVKS	（配列番号：3）	
WGKGTLVTVKS	（配列番号：4）	
RGQGTRVTVKS	（配列番号：5）	
WGLGTQVTISS	（配列番号：6）	20
GSQGTQVTVKS	（配列番号：7）	
LRGGTQVTVKS	（配列番号：8）	
RGQGTLVTVKS	（配列番号：9）	
RSRGIQVTVKS	（配列番号：10）	
WGKGTQVTVKS	（配列番号：11）	
WGQGTQVTVQS	（配列番号：12）	30
WGKGTLVTVQS	（配列番号：13）	
RGQGTRVTVQS	（配列番号：14）	
WGLGTQVTISS	（配列番号：15）	
GSQGTQVTVQS	（配列番号：16）	
LRGGTQVTVQS	（配列番号：17）	
RGQGTLVTVQS	（配列番号：18）	40
RSRGIQVTVQS	（配列番号：19）	
WGKGTQVTVQS	（配列番号：20）	

又は、

b）配列番号：3 ~ 2 0 の F W 4 配列の内の少なくとも 1 つに対して、3 つ未満、好ましくは 2 つ未満のアミノ酸差を有する配列。ここで、（ i ） K a b a t ナンバリングの 1 1 2 位に対応する位置におけるアミノ酸残基が、K 又は Q のいずれかであり、ここで、（ i i ） K a b a t ナンバリングの 1 0 3 位に対応する位置におけるアミノ酸残基が、好ましくは、W 又は R であり、（ i i i ） K a b a t ナンバリングの 1 0 4 位に対応する位置

10

20

30

40

50

におけるアミノ酸残基が、好ましくは、Gであり、( i v ) K a b a tナンバリングの106位に対応する位置におけるアミノ酸残基が、好ましくは、Gであり、( v ) K a b a tナンバリングの107位に対応する位置におけるアミノ酸残基が、好ましくは、Tであり、( v i ) K a b a tナンバリングの108位に対応する位置におけるアミノ酸残基が、好ましくは、Q又はLであり(及び、ヒト化ナノボディでは、好ましくは、Lであり)、( v i i ) K a b a tナンバリングの109位に対応する位置におけるアミノ酸残基が、好ましくは、Vであり、( v i i i ) K a b a tナンバリングの110位に対応する位置におけるアミノ酸残基が、好ましくは、Tであり(又は、代替的に、KもしくはQであることができ)、( i x ) K a b a tナンバリングの111位に対応する位置におけるアミノ酸残基が、好ましくは、Vである。以下の表2に、このようなFW4配列の( K a b a tに従ってナンバリングされた)種々の位置に存在することができるアミノ酸残基の一部の非限定的な例を提供する。

10

【0039】

【表2】

表2：本発明のVHドメインのFW4配列中に存在することができるアミノ酸残基の例

位置	アミノ酸残基:
103	W, R, G, S, K, A, M, Y, L, F, T, N, V, Q, P, E, C; 好ましくは、W
104	G, A, S, T, D, P, N, E, C, L; 好ましくは、G
105	Q, K, H, R, P, E, L, T, N, S, V, A, M, G
106	G, R, E
107	T, Q, I, A, S, N, R, V, D
108	Q, L, R, P, E, K, S, T, M, A, H; 好ましくは、Q又はL
109	V, I, L
110	T, S, N, A, I, F, K, Q
111	V, I, A
112	<u>K又はQ (発明)</u>
113	S, T, A, L, P, F, E, V

20

30

【0040】

好ましくは、本発明のVHドメインは、下記のいずれかであるフレームワーク4 (FW4配列)を有する。

40

a) W G Q G T Q V T V K S (配列番号: 3) 又は W G Q G T Q V T V Q S (配列番号: 12)

又は、

b) 配列番号: 3及び/又は配列番号: 12に対して、3つ未満、好ましくは2つ未満のアミノ酸差(例えば、1つのみのアミノ酸差)を有する配列。ここで、( i ) K a b a tナンバリングの112位に対応する位置におけるアミノ酸残基が、K又はQのいずれかであり、ここで、( i i ) K a b a tナンバリングの103位に対応する位置におけるアミノ酸残基が、好ましくは、W又はRであり、( i i i ) K a b a tナンバリングの104位に対応する位置におけるアミノ酸残基が、好ましくは、Gであり、( i v ) K a b a

50

t ナンバリングの 106 位に対応する位置におけるアミノ酸残基が、好ましくは、G であり、(v) K a b a t ナンバリングの 107 位に対応する位置におけるアミノ酸残基が、好ましくは、T であり、(vi) K a b a t ナンバリングの 108 位に対応する位置におけるアミノ酸残基が、好ましくは、Q 又は L であり（及び、ヒト化ナノボディでは、好ましくは、L であり）、(vii) K a b a t ナンバリングの 109 位に対応する位置におけるアミノ酸残基が、好ましくは、V であり、(viii) K a b a t ナンバリングの 110 位に対応する位置におけるアミノ酸残基が、好ましくは、T であり（又は、代替的に、K もしくは Q であることができ）、(ix) K a b a t ナンバリングの 111 位に対応する位置におけるアミノ酸残基が、好ましくは、V である。再度、表 2 に、このような F W 4 配列の (K a b a t に従ってナンバリングされた) 種々の位置に存在することができるアミノ酸残基の一部の非限定的な例を提供する。

10

## 【0041】

本明細書で更に記載されたように、本発明の好ましい態様によれば、上記された F W 4 配列を含む本発明の V H ドメインは、好ましくは、(本明細書で更に記載された) C 末端伸長も含有する。ただし、本明細書でも更に記載されたように、F W 4 配列が、V H ドメインの C 末端を形成する可能性もあり（ただし、これは、通常ほとんど好ましくないであろう）、又は、本発明の V H ドメインは、その C 末端において（場合により、適切なリンカーを介して）、別のアミノ酸配列、部分、ドメイン、又は結合ユニットに連結する可能性もある。例えば、本発明の V H ドメインが I S V D である場合、V H ドメインは、その C 末端において、別の I S V D に、場合により、リンカーを介して連結することができる（及び、例えば、前記他の I S V D も、本発明の V H ドメインであることができる）。

20

## 【0042】

本明細書で示されたように、本発明の好ましく、非限定的な態様によれば、本発明の V H ドメインは、C 末端伸長、例えば、国際公開公報第 12 / 175741 号及び / 又は同第 13 / 024059 号に記載され、及び特に、国際公開公報第 12 / 175741 号に記載された C 末端伸長を含有する。

## 【0043】

このため、この態様によれば、本発明の V H ドメインは、免疫グロブリン重鎖可変ドメイン (V H ドメイン) であって、(i) 112 位 (K a b a t ナンバリング) におけるアミノ酸残基は、セリン残基ではなく、好ましくは、リシン (K) 残基又はグルタミン (Q) 残基のいずれかであり、(ii) その C 末端（すなわち、K a b a t ナンバリングに従った 113 位であるか、又は、同 113 位に対応する位置において、アミノ酸残基に連結した）において、それぞれ独立して、適切なアミノ酸残基から選択され、好ましくはそれぞれ独立して、天然アミノ酸から選択され、より好ましくはそれぞれ独立して、アラニン (A)、グリシン (G)、バリン (V)、ロイシン (L)、又はイソロイシン (I) から選択される、1 ~ 5 個（例えば、1、2、3、4、又は 5 個、及び好ましくは、1、2、又は 3 個、及び最も好ましくは、1 又は 2 個のみ、例えば、1 個のみ）のアミノ酸残基を含む、更なるアミノ酸配列（すなわち、「C 末端伸長」）に連結している（ただし、国際公開公報第 12 / 175741 号に表されたデータからわかるように、他のアミノ酸残基、例えば、セリン、プロリン、スレオニン、及び / 又はリシンも、C 末端伸張の一部として使用することができる）。

30

40

## 【0044】

特に、本発明のこの態様によれば、本発明の V H ドメインは、好ましくは、V T V K S (X)<sub>n</sub> (配列番号: 21) 又は V T V Q S (X)<sub>n</sub> (配列番号: 22) である（又は、V T V K S モチーフ又は V T V Q S モチーフの位置において、配列 V T V K S 及び / 又は V T V Q S のいずれかに対して 1 つのアミノ酸差有し、さらに、112 位において、リシン (K) 又はグルタミン (Q) のいずれかを有する) C 末端配列を有する。ここで、(i) V T V K S もしくは V T V Q S モチーフ（又は、V T V K S もしくは V T V Q S 様モチーフ）のアミノ酸残基は、K a b a t ナンバリングに従って、V H ドメインの 109 ~ 113 位に対応し、(ii) n は、1 ~ 10、好ましくは、1 ~ 5、例えば、1、2、3、

50

4、又は5（及び好ましくは、1又は2、例えば、1）であり、( i i i ) 各 X は、（好ましくは、天然の）アミノ酸残基であり、アラニン（A）、グリシン（G）、バリン（V）、ロイシン（L）、又はイソロイシン（I）から独立して選択され、好ましくは、これらからなる群より独立して選択される。

【0045】

とりわけ、本発明のこの態様によれば、本発明のVHドメインは、そのFW4配列として、配列番号：3～20のFW4配列（又は、配列番号：3～20のFW4配列の内の少なくとも1つに対して、3つ未満、好ましくは2つ未満のアミノ酸差を有するアミノ配列、ここで、Kabatナンバリングの112位に対応する位置におけるアミノ酸残基が、K又はQのいずれかである）の内の1つを有することができる。ここで、前記FW4配列は、そのC末端において、C末端伸張（X）<sub>n</sub> [ 同伸長中、nは、1～10、好ましくは、1～5、例えば、1、2、3、4、又は5（及び好ましくは、1又は2、例えば、1）であり、各Xは、（好ましくは、天然の）アミノ酸残基であり、アラニン（A）、グリシン（G）、バリン（V）、ロイシン（L）、又はイソロイシン（I）から独立して選択され、好ましくは、これらからなる群より独立して選択される ] に連結している。

10

【0046】

したがって、本発明のこの態様では、本発明のVHドメインは、そのC末端において、下記のいずれかを有することができる。

a) 表3中の配列番号：23～40として提供されるアミノ酸配列の内の1つ

20

30

40

50

## 【表 3】

表 3：C末端伸張を有するFW4配列

WGQGTQVTVKS(X) <sub>n</sub> (配列番号：23)	
WGKGLVTVKS(X) <sub>n</sub> (配列番号：24)	
RGQGTRVTVKS(X) <sub>n</sub> (配列番号：25)	
WGLGTQVTISS(X) <sub>n</sub> (配列番号：26)	
GSQGTQVTVKS(X) <sub>n</sub> (配列番号：27)	10
LRGGTQVTVKS(X) <sub>n</sub> (配列番号：28)	
RGQGLVTVKS(X) <sub>n</sub> (配列番号：29)	
RSRGIQVTVKS(X) <sub>n</sub> (配列番号：30)	
WGKGTQVTVKS(X) <sub>n</sub> (配列番号：31)	
WGQGTQVTVQS(X) <sub>n</sub> (配列番号：32)	
WGKGLVTVQS(X) <sub>n</sub> (配列番号：33)	20
RGQGTRVTVQS(X) <sub>n</sub> (配列番号：34)	
WGLGTQVTISS(X) <sub>n</sub> (配列番号：35)	
GSQGTQVTVQS(X) <sub>n</sub> (配列番号：36)	
LRGGTQVTVQS(X) <sub>n</sub> (配列番号：37)	
RGQGLVTVQS(X) <sub>n</sub> (配列番号：38)	
RSRGIQVTVQS(X) <sub>n</sub> (配列番号：39)	
WGKGTQVTVQS(X) <sub>n</sub> (配列番号：40)	30

[ここで、(i) 配列番号：23～40中の(X)<sub>n</sub>C末端伸長に先立つFW4配列のアミノ酸残基は、VHドメインにおけるFW4のアミノ酸位置(すなわち、Kabataナンバリングに従った103～113位)に対応し、(ii)<sub>n</sub>は、1～10、好ましくは、1～5、例えば、1、2、3、4、又は5(及び好ましくは、1又は2、例えば、1)であり、(iii)各Xは、(好ましくは、天然の)アミノ酸残基であり、アラニン(A)、グリシン(G)、バリン(V)、ロイシン(L)、又はイソロイシン(I)から独立して選択され、好ましくは、これらからなる群より独立して選択される]

又は、

b) 配列番号：23～40のアミノ酸配列の内の少なくとも1つに対して、3つ未満、好ましくは2つ未満のアミノ酸差を有するアミノ酸配列[ここで、前記アミノ酸差は、VHドメインにおけるFW4のアミノ酸位置に対応する位置、すなわち、Kabataナンバリングに従った103～113位においてであり、ただし、C末端伸長(X)<sub>n</sub>中の任意のアミノ酸差は無視される)。ここで、(i) Kabataナンバリングの112位に対応する位置におけるアミノ酸残基は、K又はQのいずれかであり、(ii)<sub>n</sub>は、1～10、好ましくは、1～5、例えば、1、2、3、4、又は5(及び好ましくは、1又は2、例えば、1)であり、(iii)各Xは、(好ましくは、天然の)アミノ酸残基であり、アラニン(A)、グリシン(G)、バリン(V)、ロイシン(L)、又はイソロイシン(I)から独立して選択され、好ましくは、これらからなる群より独立して選択される。再

10

20

30

40

50

度、先の文章で言及された特徴 ( i ) ~ ( i i i ) に対して更に、このようなアミノ酸配列において、( i v ) K a b a t ナンバリングの 1 0 3 位に対応する位置におけるアミノ酸残基は、好ましくは、W 又は R であり、( v ) K a b a t ナンバリングの 1 0 4 位に対応する位置におけるアミノ酸残基は、好ましくは、G であり、( v i ) K a b a t ナンバリングの 1 0 6 位に対応する位置におけるアミノ酸残基は、好ましくは、G であり、( v i i ) K a b a t ナンバリングの 1 0 7 位に対応する位置におけるアミノ酸残基は、好ましくは、T であり、( v i i i ) K a b a t ナンバリングの 1 0 8 位に対応する位置におけるアミノ酸残基は、好ましくは、Q 又は L であり（及び、ヒト化ナノボディでは、好ましくは、L であり）、( i x ) K a b a t ナンバリングの 1 0 9 位に対応する位置におけるアミノ酸残基は、好ましくは、V であり、( x ) K a b a t ナンバリングの 1 1 0 位に対応する位置におけるアミノ酸残基は、好ましくは、T であり（又は、代替的に、K もしくは Q であることができ）、( x i ) K a b a t ナンバリングの 1 1 1 位に対応する位置におけるアミノ酸残基は、好ましくは、V である。再度、表 2 に、各位置に存在することができる、潜在的なアミノ酸残基について、参照がなされる。

10

## 【 0 0 4 7 】

好ましくは、本発明のこの態様によれば、本発明の V H ドメインは、その C 末端において、下記のいずれかを有する。

a ) W G Q G T Q V T V K S ( X ) <sub>n</sub> ( 配列番号 : 2 3 ) 又は W G Q G T Q V T V Q S ( X ) <sub>n</sub> ( 配列番号 : 3 2 ) [ 同配列中、( i i ) <sub>n</sub> は、1 ~ 1 0、好ましくは、1 ~ 5、例えば、1、2、3、4、又は 5 ( 及び好ましくは、1 又は 2、例えば、1 ) であり、( i i i ) 各 X は、( 好ましくは、天然の ) アミノ酸残基であり、アラニン ( A )、グリシン ( G )、バリン ( V )、ロイシン ( L )、又はイソロイシン ( I ) から独立して選択され、好ましくは、これらからなる群より独立して選択される ] であるアミノ酸配列又は

20

b ) W G Q G T Q V T V K S ( X ) <sub>n</sub> ( 配列番号 : 2 3 ) 又は W G Q G T Q V T V Q S ( X ) <sub>n</sub> ( 配列番号 : 3 2 ) のアミノ酸配列の内の少なくとも 1 つに対して、3 つ未満、好ましくは 2 つ未満のアミノ酸差を有するアミノ酸配列（ここで、前記アミノ酸差は、V H ドメインにおける F W 4 のアミノ酸位置に対応する位置、すなわち、K a b a t ナンバリングに従った 1 0 3 ~ 1 1 3 位においてであり、ただし、C 末端伸長 ( X ) <sub>n</sub> 中の任意のアミノ酸差は無視される）。ここで、( i ) K a b a t ナンバリングの 1 1 2 位に対応する位置におけるアミノ酸残基は、K 又は Q のいずれかであり、( i i ) <sub>n</sub> は、1 ~ 1 0、好ましくは、1 ~ 5、例えば、1、2、3、4、又は 5 ( 及び好ましくは、1 又は 2、例えば、1 ) であり、( i i i ) 各 X は、( 好ましくは、天然の ) アミノ酸残基であり、アラニン ( A )、グリシン ( G )、バリン ( V )、ロイシン ( L )、又はイソロイシン ( I ) から独立して選択され、好ましくは、これらからなる群より独立して選択される。再度、このようなアミノ酸配列に対して、先の段落で記載された特徴 ( v i ) ~ ( x i ) も、好ましくは適用する。

30

## 【 0 0 4 8 】

また、本明細書で言及されたように、本発明の V H ドメインは、それ自体が、V H ドメイン、及び特に、I S V D ( 及びとりわけ、ナノボディ ) について当技術分野において公知である他のアミノ酸残基又は置換を、関連する位置に含有することができる。一部の非限定的な例は、本明細書で言及された通りであり、例えば、V H H / ナノボディに特徴的な 1 つ以上の「ホールマーク残基」（例えば、1 1 位におけるロイシン ( L ) を含む）、V H H に自然に生じる他のアミノ酸残基（例えば、1 4 位におけるアラニン ( A ) ）、それ自体が V H H / ナノボディについて公知であるヒト化置換（例えば、Q 1 0 8 L 及び A 1 4 P ）、Harmsen に示唆された 1 つ以上の変異（例えば、V 8 9 M 又は V 8 9 T ）、及び / 又は、Nieba に示唆された位置（例えば、1 1、8 7、又は 8 9 ）、又は、それらの任意の適切な組み合わせ、及び / 又は、例えば、T 1 1 0 K、T 1 1 0 Q、もしくは V 8 9 L 変異を含む。

40

## 【 0 0 4 9 】

50



本発明のVHドメインがC末端伸長(X)<sub>n</sub>を含有する場合、このような伸張の一部の好ましく、非限定的な例によれば、X及びnは、下記の通りであることができる。

(a) n = 1 及び X = A l a ;

(b) n = 2 及び各 X = A l a ;

(c) n = 3 及び各 X = A l a ;

(d) n = 2 及び少なくとも一方の X = A l a (ここで、残りのアミノ酸残基 X は、任意の天然のアミノ酸から独立して選択されるが、好ましくは、V a l、L e u、及び/又は I l e から独立して選択される) ;

(e) n = 3 及び少なくとも1つの X = A l a (ここで、残りのアミノ酸残基 X は、任意の天然のアミノ酸から独立して選択されるが、好ましくは、V a l、L e u、及び/又は I l e から独立して選択される) ;

(f) n = 3 及び少なくとも2つの X = A l a (ここで、残りのアミノ酸残基 X は、任意の天然のアミノ酸から独立して選択されるが、好ましくは、V a l、L e u、及び/又は I l e から独立して選択される) ;

(g) n = 1 及び X = G l y ;

(h) n = 2 及び各 X = G l y ;

(i) n = 3 及び各 X = G l y ;

(j) n = 2 及び少なくとも一方の X = G l y (ここで、残りのアミノ酸残基 X は、任意の天然のアミノ酸から独立して選択されるが、好ましくは、V a l、L e u、及び/又は I l e から独立して選択される) ;

(k) n = 3 及び少なくとも1つの X = G l y (ここで、残りのアミノ酸残基 X は、任意の天然のアミノ酸から独立して選択されるが、好ましくは、V a l、L e u、及び/又は I l e から独立して選択される) ;

(l) n = 3 及び少なくとも2つの X = G l y (ここで、残りのアミノ酸残基 X は、任意の天然のアミノ酸から独立して選択されるが、好ましくは、V a l、L e u、及び/又は I l e から独立して選択される) ;

(m) n = 2 及び各 X = A l a 又は G l y ;

(n) n = 3 及び各 X = A l a 又は G l y ;

(o) n = 3 及び少なくとも1つの X = A l a 又は G l y (ここで、残りのアミノ酸残基 X は、任意の天然のアミノ酸から独立して選択されるが、好ましくは、V a l、L e u、及び/又は I l e から独立して選択される) ; 又は、

(p) n = 3 及び少なくとも2つの X = A l a 又は G l y (ここで、残りのアミノ酸残基 X は、任意の天然のアミノ酸から独立して選択されるが、好ましくは、V a l、L e u、及び/又は I l e から独立して選択される)。

#### 【0050】

ここで、態様(a)、(b)、(c)、(g)、(h)、(i)、(m)、及び(n)が特に好ましく、n = 1 又は 2 である態様が好ましく、n = 1 である態様が特に好ましい。

#### 【0051】

また、好ましくは、本発明のVHドメインに存在する任意のC末端伸張は、(遊離した)システイン残基を含有しないこと(前記システイン残基が更なる官能化、例えば、ペグ化に使用される又は同官能化を意図されない限り)も留意されたい。

#### 【0052】

また、国際公開公報第12/175741号に基づいて使用されるC末端伸張(これは、本発明のVHドメインに使用される好ましいC末端伸張でもある)について、国際公開公報第12/175741号の第35~41頁に示された選択は、本発明のVHドメインに使用される好ましいC末端伸張にも適用する。また、国際公開公報第12/175741号に基づくこれらの選択は、参照により本明細書に含まれる。

#### 【0053】

好ましくは、本発明のVHドメインがC末端伸長(X)<sub>n</sub>を含有する場合、n = 1、2、又は3であり、各Xは、A l a 又は G l y のいずれかである。より好ましくは、各Xは

10

20

30

40

50

、 A 1 a であり、 n = 1 又は 2 であり、好ましくは、 1 である。

【 0 0 5 4 】

本発明の V H ドメインが C 末端伸長を含有する場合、本発明の V H ドメインは、それが存在するタンパク質、ポリペプチド、化合物、構築物、又は他の化学成分の C 末端に、通常存在する（多くの場合、同 C 末端を形成する）であろう。再度、このようなタンパク質、ポリペプチド、化合物、構築物、又は他の化学成分は、1 つ以上の他の本発明の V H ドメイン（すなわち、C 末端においてではない）を含有することができる。このような場合において、前記他の本発明の V H ドメインは、1 1 2 位にリシン（K）又はグルタミン（Q）を含有する（及び、本明細書で更に記載された通り）であろうが、C 末端伸張を含有しないであろう（その代わりに、その C 末端において、タンパク質、ポリペプチド、化合物、構築物、又は他の化学成分に存在する 1 つ以上の他のアミノ酸配列、部分、結合ドメイン、又は結合ユニット、例えば、C 末端に存在する C 末端伸張を有する本発明の V H ドメインに（場合により、1 つ以上の適切なリンカーを介して）連結することができる）。

10

【 0 0 5 5 】

本発明の V H ドメイン（ならびに、本明細書で更に記載されたのと同じものを含むタンパク質、ポリペプチド、化合物、構築物、及び他の化学成分）が、医薬用途（例えば、それを必要とするヒト対象における疾患及び障害の予防、治療、及び/又は診断）に使用するのに特に有用である（及び、同使用が意図される）場合、本発明の V H ドメインは、好ましくは、ヒト V H ドメインのフレームワーク領域に対して、そのフレームワーク領域における高い度合いの配列相同性を有する。特に、本発明の V H ドメインは、好ましくは、少なくとも 1 つのヒト生殖系配列（例えば、D P - 4 7、D P - 5 1、又は D P - 2 9）に対して、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 8 5 %、例えば、9 0 % 以上の、全体的な度合いの配列同一性を有する（本明細書で更に記載された通りに決定、フレームワーク領域のみを考慮し、C D R を考慮せず、1 1 2 位における置換及び存在する場合、任意の C 末端伸張も考慮しない）。とりわけ、本発明の V H ドメインは、好ましくは、少なくとも 1 つの下記ヒト生殖系配列：D P - 4 7、D P - 5 1、及び/又は D P - 2 9 に対して、少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 8 5 %、例えば、9 0 % 以上の、全体的な度合いの配列同一性を有する（本明細書で更に記載された通りに決定、フレームワーク領域のみを考慮し、C D R を考慮せず、1 1 2 位における置換及び存在する場合、任意の C 末端伸張も考慮しない）。

20

30

【 0 0 5 6 】

本明細書で更に記載されたように、本発明の一態様によれば、本発明の V H ドメインは、それが存在するタンパク質、ポリペプチド、タンパク質、又は構築物において、抗原結合部位を形成するために、V L ドメインと相互作用/会合する（又は、相互作用/会合することが意図される）、重鎖可変ドメインであることができる。ここで、少なくとも V H ドメインは、露出した C 末端又は領域を有する。例えば、本発明のこの態様における V H ドメインは、S c F v 及び/又はディアボディに存在し、及び/又は、これらに使用される V H ドメインであることができる。この場合、本発明の V H ドメインは、抗原結合部位を形成するために、V L ドメインと会合するであろう。

【 0 0 5 7 】

ただし、本発明の好ましい態様によれば、本発明の V H ドメインは、V L ドメインとの相互作用無しに、機能的な抗原結合部位を形成することができる重鎖可変ドメインを意味する、（重鎖）免疫グロブリンシングル可変ドメイン又は「I S V D」である。例えば、本発明の V H ドメインは、ナノボディ（V H H、ヒト化 V H H、及び/又はラクダ化 V H、例えば、ラクダ化ヒト V H を含む）、V H ドメインであるか、もしくは、V H ドメインから得られる（シングルドメイン）抗体、又は、V H ドメインであるか、もしくは、V H ドメインから得られる d A b であることができる。本発明の V H ドメインは、好ましくは、ナノボディ（及びより好ましくは、V H H ドメイン、ヒト化 V H H ドメイン、又はラクダ化 V H ドメイン、例えば、ラクダ化ヒト V H ドメイン）である。

40

【 0 0 5 8 】

50

本明細書において、

「ナノボディ」という用語は、一般的には、国際公開公報第08/020079号又は同第09/138519号に定義された通りであり、このため、具体的な態様では、一般的には、VHH、ヒト化VHH、もしくはラクダ化VH（例えば、ラクダ化ヒトVHドメイン）又は、一般的には、配列最適化VHH（例えば、化学的安定性及び/又は可溶性の最適化、公知のヒトフレームワーク領域との最大オーバーラップ、ならびに最大発現等）を意味する。ナノボディ（Nanobody）又はナノボディ（Nanobodies）という用語は、Ablynx N. V.の登録商標であるため、ナノボディ（Nanobody）（登録商標）又はナノボディ（Nanobodies）（登録商標）とも呼ぶことができることが留意される。

【0059】

その最も広い意味において、本明細書で使用する時、「ISVD」（又は、「ISV」）という用語は、「ISVD系生物学的製剤」も含み、ISVDがナノボディである場合、「ナノボディ系生物学的製剤」も含む。「ISVD系生物学的製剤」は、本明細書において、少なくとも1つ（例えば、1つ、2つ、又は3つ）のISVDを含むか、又は、本質的に同ISVDからなる、タンパク質、ポリペプチド、又は他の生物学的薬剤と定義される。同様に、「ナノボディ系生物学的製剤」は、少なくとも1つ（例えば、1つ、2つ、又は3つ）のナノボディを含むか、又は、本質的に同ナノボディからなる、タンパク質、ポリペプチド、又は他の生物学的薬剤と定義される。「ISVD」という用語についてと同様に、「ISVD系生物学的製剤」という用語が使用される場合、このようなISVD系生物学的製剤は、好ましくは、ナノボディ系生物学的製剤であることを理解されたい。本発明の文脈内において、「ISVD系生物学的製剤」及び「ナノボディ系生物学的製剤」は両方とも、例えば、一価、二価（又は多価）、二重特異性（又は多重特異性）、及び二重抗原結合性（又は多重抗原結合性）のISVD構築物又はナノボディ構築物それぞれであることができる。また、任意のISVD系又はナノボディ系生物学的製剤は、例えば、1つ以上（例えば、1、2、又は3つ）のISVD又はナノボディに加えて、場合により更に、1つ以上（例えば、1つ又は2つ）の他の更なる治療部分及び/又は1つ以上（例えば、1つ又は2つ）の、ISVD系又はナノボディ系生物学的製剤の薬理的又は薬力学的特性（例えば、半減期）に影響を及ぼす他の部分を含む。このような更なる治療的又は他の部分の適切な例は、当業者に明らかであろうし、例えば、一般的には、任意の治療活性タンパク質、ポリペプチド、又は他の結合ドメインもしくは結合ユニット、及び、例えば、改変、例えば、国際公開公報第09/138159号の第149～152頁に記載されたものを含むことができる。ISVD系生物学的製剤又はナノボディ系生物学的製剤は、好ましくは、治療剤であるか、又は、治療剤（予防及び診断を含む）としての使用が意図されており、この目的のために、好ましくは、治療関連ターゲット（例えば、RANK-L、vWF、IgE、RSV、CXCR-4、IL-23、又は他のインターロイキン等）に対する少なくとも1つのISVDを含有する。このようなISVD系生物学的製剤又はナノボディ系生物学的製剤の一部の具体的で、非限定的な例については、実施例8～18が参照され、また例えば、Ablynx N.V.による種々の出願（例えば、限定されず、国際公開公報第2004/062551号、同第2006/122825号、同第2008/020079号、及び同第2009/068627号等）及び、例えば（及び、限定されず）、国際公開公報第06/038027号、同第06/059108号、同第07/063308号、同第07/063311号、同第07/066016号、及び同第07/085814号等の出願も参照される。また、本明細書で更に記載されたように、本明細書に記載されたISVD又はナノボディは、（ヒト）血清タンパク質、例えば、（ヒト）血清アルブミンに対することができ、また、このようなISVD又はナノボディは、特に、治療部分及び化合物の半減期における、及び/又は、同半減期を伸ばすための（例えば、本明細書に記載されたISV系生物学的製剤における、及び/又は、同ISV系生物学的製剤のための）、治療的使用を見出すことができる。例えば、国際公開公報第2004/041865号、同第2006/122787号、及び同第2012/175400号が参照される。これらの国際公開公報には、一般的に、半減期を伸ばすための

10

20

30

40

50

、血清アルブミン結合ナノボディの使用が記載されている。また、本明細書において、特に断りない限り、本明細書で言及された全ての用語は、国際公開公報第09/138519号（又は、同第09/138519号で引用された従来技術）又は国際公開公報第08/020079号（又は、同第08/020079号で引用された従来技術）に提供された意味を有する。また、方法又は技術が、本明細書に具体的に記載されていない場合には、国際公開公報第09/138519号（又は、同第09/138519号で引用された従来技術）又は国際公開公報第08/020079号（又は、同第08/020079号で引用された従来技術）に記載された通りに行うことができる。

#### 【0060】

また、本明細書又は特許請求の範囲で使用する時、下記用語：「アゴニスト」、「アンタゴニスト」、「逆アゴニスト」、「非極性、無電荷アミノ酸残基」、「極性の無電荷アミノ酸残基」、「極性の電荷アミノ酸残基」、「配列同一性」、「正確に同じ」、及び「アミノ酸差」（2つのアミノ酸配列の配列比較に言及する場合）、「本質的に単離された（形態）（において）」、「ドメイン」、「結合ドメイン」、「抗原決定基」、「エピトープ」、「に対して」、「（抗原）「に対する」、「特異性」、及び「半減期」は、国際公開公報第09/138519号の第62～75頁に提供されたのと同じ意味を有し、及び/又は、その適用可能性は、同頁に記載された方法において決定することができる。加えて、「モデュレーションすること」及び「モデュレーションするために」、「相互作用部位」、「に特異的な」、「クロスブロック」、「クロスブロックした」、及び「クロスブロッキング」、ならびに「本質的にpHとは独立して」という用語は、出願人の国際公開公報第10/130832号における第74～79頁に定義された通りである（及び/又は、同頁に記載された通りに決定することができる）。また、本発明の構築物、化合物、タンパク質、又はポリペプチドに言及する場合、「一価」、「二価」（又は「多価」）、「二重特異性」（又は「多重特異性」）、及び「二重抗原結合性」（又は「多重抗原結合性」）等の用語は、国際公開公報第09/138519号、同第10/130832号、又は同第08/020079号に提供された意味を有することができる。

#### 【0061】

本明細書で言及されたISVD、ナノボディ、ISVD系生物学的製剤、ナノボディ系生物学的製剤、又は任意の他のアミノ酸配列、化合物、もしくはポリペプチドに関して、本明細書で使用する時、「半減期」という用語は、一般的には、国際公開公報第08/020079号の第57頁における段落o)に記載された通りに、及び、本明細書言及された通りに定義することができ、例えば、配列もしくは化合物の分解及び/又は該配列もしくは化合物の本来のメカニズムによるクリアランスもしくはゼクエストレーションにより、アミノ酸配列、化合物、又はポリペプチドの血清濃度が、*in vivo*において50%に減少するのに掛かる時間を意味する。本発明のアミノ酸配列、化合物、又はポリペプチドの*in vivo*半減期は、それ自体公知の任意の方法において、例えば、薬物動態分析により決定することができる。適切な技術は、当業者に明らかであろうし、例えば、一般的には、国際公開公報第08/020079号の第57頁における段落o)に記載された通りであることができる。また、国際公開公報第08/020079号の第57頁における段落o)で言及されたように、半減期は、 $t_{1/2}$ -アルファ、 $t_{1/2}$ -ベータ、及び曲線下面積（AUC）等のパラメータを使用して表現することができる。この観点において、本明細書で使用する時、「半減期」という用語は、特に、 $t_{1/2}$ -ベータ又は終末半減期を意味する（ここで、 $t_{1/2}$ -アルファ及び/もしくはAUC又は両方は考慮されなくてもよい）。例えば、以下の実験部及び、標準的な参考書、例えば、Kenneth, A et al: Chemical Stability of Pharmaceuticals: A Handbook for Pharmacists及びPeters et al, Pharmacokinetic analysis: A Practical Approach (1996)が参照される。また、「Pharmacokinetics」、M Gibaldi & D Perron, published by Marcel Dekker, 2nd Rev. edition (1982)も参照される。同様に、「半減期を伸ばす」又は「延長した半減期」という用語も、国際公開公報第08/020079号の第57頁における段落o)に定義された通りであり、特に、 $t_{1/2}$ -アルファ及び/もしくはAUC

10

20

30

40

50

又は両方の伸びに関わらず、 $t_{1/2}$  - ベータの伸びを意味する。

【0062】

用語が、本明細書で具体的に定義されていない場合には、当量者に明らかであろう、当技術分野におけるその通常の意味を有する。例えば、標準的な参考書、例えば、Sambrook et al, 「Molecular Cloning: A Laboratory Manual」 (2nd.Ed.), Vols. 1-3, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989); F. Ausubel et al, eds., 「Current protocols in molecular biology」, Green Publishing and Wiley Interscience, New York (1987); Lewin, 「Genes II」, John Wiley & Sons, New York, N.Y., (1985); Old et al., 「Principles of Gene Manipulation: An Introduction to Genetic Engineering」, 2nd edition, University of California Press, Berkeley, CA (1981); Roitt et al., 「Immunology」 (6th. Ed.), Mosby/Elsevier, Edinburgh (2001); Roitt et al., Roitt's Essential Immunology, 10th Ed. Blackwell Publishing, UK (2001); 及びJaneway et al., 「Immunobiology」 (6th Ed.), Garland Science Publishing/Churchill Livingstone, New York (2005)、ならびに、本明細書で引用された一般的な背景技術が参照される。

10

【0063】

また、本明細書で既に示されているように、ナノボディのアミノ酸残基は、Kabat et al (「Sequence of proteins of immunological interest」, US Public Health Services, NIH Bethesda, MD, Publication No. 91) により提供された、VHドメインについての一般的なナンバリングに従ってナンバリングされる。同様に、Riechmann and Muyldermans, J. Immunol. Methods 2000 Jun 23; 240 (1-2): 185-195の文献において、ラクダ科からのVHHに適用され、本明細書で言及される。このナンバリングによれば、ナノボディのFR1は、1~30位におけるアミノ酸残基を含む。ナノボディのCDR1は、31~35位におけるアミノ酸残基を含む。ナノボディのFR2は、36~49位におけるアミノ酸残基を含む。ナノボディのCDR2は、50~65位におけるアミノ酸残基を含む。ナノボディのFR3は、66~94位におけるアミノ酸残基を含む。ナノボディのCDR3は、95~102位におけるアミノ酸残基を含む。そして、ナノボディのFR4は、103~113位におけるアミノ酸残基を含む。[この観点において、VHドメイン及びVHHドメインについて当技術分野において周知であるように、各CDRにおけるアミノ酸残基の総数は変動する場合があります、Kabatナンバリングにより示されたアミノ酸残基の総数に対応しない場合がある(すなわち、Kabatナンバリングに従った1つ以上の位置が、実際の配列に占有されない場合があります、又は、実際の配列が、Kabatナンバリングにより認められた数より多くのアミノ酸残基を含有する場合があります)ことに留意されたい。このことは、一般的には、Kabatに従ったナンバリングは、この実際の配列中のアミノ酸残基の実際のナンバリングに対応してもよいし、又は、同ナンバリングに対応しなくてもよいことを意味する。ただし、一般的には、Kabatのナンバリングに従って、CDR中のアミノ酸残基数に関係なく、Kabatナンバリングに従った1位は、FR1の開始及びその逆に対応し、Kabatナンバリングに従った36位は、FR2の開始及びその逆に対応し、Kabatナンバリングに従った66位は、FR3の開始及びその逆に対応し、Kabatナンバリングに従った103位は、FR4の開始又はその逆に対応する]。

20

30

40

【0064】

また、VHドメインのアミノ酸残基をナンバリングするための代替的な方法を、ラクダ科からのVHHドメイン及びナノボディに類似する方法において適用することもでき、Chothia et al. (Nature 342, 877-883 (1989)) に記載された方法、いわゆる、「AbM定義」及びいわゆる、「接触定義」である。ただし、本説明、態様、及び図面において、Riechmann及びMuyldermansによりVHHに適用されるのと同様に、特に断りない限り、Kabatに従ったナンバリングに従うであろう。

【0065】

また、図面、任意の配列表、及び実験部/実施例は、本発明を更に例示するためののみ

50

提供され、本発明及び／又は添付の特許請求の範囲における範囲を、特に断りない限り、何らか限定すると理解され、又は、解釈されるべきでないに留意されたい。

【 0 0 6 6 】

本発明のV Hドメインは、本明細書に記載された任意の薬学的及び／又は治療的関連ターゲットを含む、任意の適切又は所望の抗原又はターゲットに対することができる。

【 0 0 6 7 】

本発明の具体的な態様によれば、本発明のV Hドメインは、血清タンパク質、及び特に、ヒト血清タンパク質に対する。好ましい態様によれば、本発明のV Hドメインが血清タンパク質に対する場合、本発明のV Hドメインは、血清アルブミン、及び特に、ヒト血清アルブミンに対する。またこのため、本発明は、血清タンパク質、特にヒト血清タンパク質に特異的に結合することができ、及び好ましくは、血清アルブミン、及びより好ましくは、ヒト血清アルブミンに特異的に結合することができる本発明のV Hドメイン（本明細書で定義された通り、本発明のV Hドメインについて定義された選択を含む）に関する。再度、このようなV Hドメインは、好ましくは、（本発明で記載された）I S V D、及びより好ましくは、ナノボディである。

【 0 0 6 8 】

例えば、血清アルブミンに対する本発明のV Hドメインは、国際公開公報第2 0 0 4 / 0 4 1 8 6 5号、及び特に、同第2 0 0 6 / 1 2 2 7 8 7号及び同第2 0 1 2 / 1 7 5 4 0 0号（全て出願人／譲受人の出願）に記載された（ヒト）血清アルブミンに対するナノボディの内の1つであることができ、ここで、1 1 2位におけるアミノ酸は、K又はQのいずれかで置換されており、同V Hドメインは、場合により、本明細書に記載されたC末端伸長を備えている（及び、例えば、本明細書で言及された1つ以上の他の特定のアミノ酸残基／置換、例えば、1 1 L、L 1 1 V、L 1 1 K、1 4 A、P 1 4 A、1 4 P、A 1 4 P、8 9 T、V 8 9 T、8 9 L、V 8 9 L、1 0 8 L、Q 1 0 8 L、1 1 0 Q、T 1 1 0 Q、1 1 0 K、及び／又はT 1 1 0 Kを適切に含有することもでき、ただし通常は、1 1 2位がK又はQである場合、1 1 0位における更なる置換の存在は、多くの場合、必ずしも必要ではないであろう。その場合には、1 1 0位は、好ましくは、Tである）。さらに、本発明は、他の血清アルブミン結合重鎖I S V D、例えば、国際公開公報第0 3 / 0 3 5 6 9 4号、同第0 4 / 0 0 3 0 1 9号、同第0 5 / 1 1 8 6 4 2号、同第0 6 / 0 5 9 1 0 6号、同第0 8 / 0 9 6 1 5 8号、同第0 9 / 1 2 1 8 0 4号、同第1 0 / 1 0 8 9 3 7号、又は米国特許出願公開公報第2 0 1 3 / 0 1 2 9 7 2 7号に記載されたものに、すなわち、本明細書に記載された置換（すなわち、S 1 1 2 K、S 1 1 2 Q、及び／又はV 8 9 Tの内の少なくとも1つ、ならびに場合により、本明細書に記載された1つ以上の他のアミノ酸残基／置換、例えば、L 1 1 V）を適切に導入すること、及び場合により（及び通常好ましくは、本明細書で概説されたように）（本明細書で更に記載された）C末端伸長を付加することにより、適用することもできると想定される。

【 0 0 6 9 】

本発明のこのような血清アルブミン結合ナノボディにおける一部の好ましく、非限定的な例は、国際公開公報第2 0 0 6 / 1 2 2 7 8 7号における配列番号：5 2（この配列は本明細書の配列番号：7 6 7である）のアミノ酸配列のヒト化変異体（国際公開公報第2 0 0 6 / 1 2 2 7 8 7号において「A 1 b - 1」と呼ばれる）（同変異体中、1 1 2位におけるアミノ酸は、K又はQのいずれかで置換されている（及び、同変異体は、場合により、本明細書に記載されたC末端伸長を備えている））、例えば、国際公開公報第2 0 0 6 / 1 2 2 7 8 7号における配列番号：5 7 ~ 6 4に提供されたA 1 b - 1のヒト化変異体（各場合において、S 1 1 2 K又はS 1 1 2 Q置換を有し、場合により、C末端伸長を有する）、又は、国際公開公報第2 0 1 2 / 1 7 5 4 0 0号の配列番号：3 ~ 1 1に提供されたA 1 b - 1のヒト化変異体（再度、各場合において、S 1 1 2 K又はS 1 1 2 Q置換を有する）である。同変異体の内、配列番号：3、4、及び5は、場合により、C末端伸長を含有することができ、配列番号：6 ~ 1 1は、C末端伸長を予め含有している（及び再度、このような変異体は、本明細書で言及された1つ以上の他の特定のアミノ酸残基

10

20

30

40

50

ノ置換、例えば、11L、L11V、L11K、14A、P14A、14P、A14P、89T、V89T、89L、V89L、108L、Q108L、110Q、T110Q、110K、及びノ又はT110Kを含有することができ、ただし通常は、112位がK又はQである場合、110位における更なる置換の存在は、多くの場合、必ずしも必要ではないであろう。その場合には、110位は、好ましくは、Tである）。また、(i)41位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、41位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒトVH3残基及びノ又はラクダ化VHH残基）の内の1つであることができ、特に、プロリン(P)、セリン(S)、スレオニン(T)、アラニン(A)、又はロイシン(L)であることができる（又は、これらから選択することができる）。これらのアミノ酸残基は、ヒト又はラマのいずれかにおけるこの位置に最も頻繁に生じるアミノ酸残基の一部であり、とりわけ、プロリン(P)又はアラニン(A)のいずれかであることができる。及びノ又は、(ii)42位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、42位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒトVH3残基及びノ又はラクダ化VHH残基）の内の1つであることができ、特に、グリシン(G)又はグルタミン酸(E)であることができる（又は、これらから選択することができる）。及びノ又は、(iii)87位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-7で言及された、87位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒトVH3残基及びノ又はラクダ化VHH残基）の内の1つであることができ、特に、スレオニン(T)又はアラニン(A)であることができる（又は、これらから選択することができる）。

#### 【0070】

このため、更なる態様では、本発明は、血清アルブミン（及び特に、ヒト血清アルブミン）に結合する（及び特に、特異的に結合する）ことができる、（本明細書で定義された）本発明のナノボディに関し、ここで、

- CDR1は、アミノ酸配列SFGMS（配列番号：41）であり；

- CDR2は、アミノ酸配列SISGSGSDTLYADSVKG（配列番号：42）であり；

- CDR3は、アミノ酸配列GGSLSR（配列番号：43）であり；

- 112位におけるアミノ酸残基は、K又はQのいずれかであり、

場合により、そのC末端において、C末端伸張(X)<sub>n</sub> [同伸長中、nは、1~10、好ましくは、1~5、例えば、1、2、3、4、又は5（及び好ましくは、1又は2、例えば、1）]であり、各Xは、（好ましくは、天然の）アミノ酸残基であり、アラニン(A)、グリシン(G)、バリン(V)、ロイシン(L)、又はイソロイシン(I)から独立して選択され、好ましくは、これらからなる群より独立して選択される]を含有し（再度、このようなC末端伸長は、好ましくは、本明細書で更に記載された通りであり、また再度、このようなナノボディは、例えば、本明細書で言及された1つ以上の他の特定のアミノ酸残基ノ置換、例えば、11L、L11V、L11K、14A、P14A、14P、A14P、89T、V89T、89L、V89L、108L、Q108L、110Q、T110Q、110K、及びノ又はT110Kを含有することができ、ただし通常は、112位がK又はQである場合、110位における更なる置換の存在は、多くの場合、必ずしも必要ではないであろう。その場合には、110位は、好ましくは、Tである）。また、(i)41位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、41位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒトVH3残基及びノ又はラクダ化VHH残基）の内の1つであることができ、特に、プロリン(P)、セリン(S)、スレオニン(T)、アラニン(A)、又はロイシン(L)であることができる（又は、これらから選択することができる）。これらのアミノ酸残基は、ヒト又はラマのいずれかにおけるこの位置に最も頻繁に生じるアミノ酸残基の一部であり、とりわけ、プロリン(P)又はアラニン(A)のいずれかであることができる。及びノ又は、(ii)42位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、42位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒトVH3残基及びノ又はラクダ化VHH残基）の内の1つであることができ、

10

20

30

40

50

でき、特に、グリシン（G）又はグルタミン酸（E）であることができる（又は、これらから選択することができる）。及び/又は、(i i i) 87位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-7で言及された、87位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基）の内の1つであることができ、特に、スレオニン（T）又はアラニン（A）であることができる（又は、これらから選択することができる）。

#### 【0071】

特定の態様では、本発明は、国際公開公報第2006/122787号における配列番号：52のヒト化変異体である血清アルブミン（及び特に、ヒト血清アルブミン）に結合する（及び特に、特異的に結合する）ことができる、（本明細書で定義された）本発明のナノボディに関し、ここで、

- CDR1は、アミノ酸配列SFGMS（配列番号：41）であり；

- CDR2は、アミノ酸配列SISGSGSDTLYADSVKG（配列番号：42）であり；

- CDR3は、アミノ酸配列GGSLSR（配列番号：43）であり；

- 112位におけるアミノ酸残基は、K又はQのいずれかであり、

場合により、そのC末端において、C末端伸張（X）<sub>n</sub> [同伸長中、nは、1～10、好ましくは、1～5、例えば、1、2、3、4、又は5（及び好ましくは、1又は2、例えば、1）]であり、各Xは、（好ましくは、天然の）アミノ酸残基であり、アラニン（A）、グリシン（G）、バリン（V）、ロイシン（L）、又はイソロイシン（I）から独立して選択され、好ましくは、これらからなる群より独立して選択される]を含有し（再度、このようなC末端伸長は、好ましくは、本明細書で更に記載された通りであり、また再度、このようなナノボディは、例えば、本明細書で言及された1つ以上の他の特定のアミノ酸残基/置換、例えば、11L、L11V、L11K、14A、P14A、14P、A14P、89T、V89T、89L、V89L、108L、Q108L、110Q、T110Q、110K、及び/又はT110Kを含有することができ、ただし通常は、112位がK又はQである場合、110位における更なる置換の存在は、多くの場合、必ずしも必要ではないであろう。その場合には、110位は、好ましくは、Tである）。また、(i) 41位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、41位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基）の内の1つであることができ、特に、プロリン（P）、セリン（S）、スレオニン（T）、アラニン（A）、又はロイシン（L）であることができる（又は、これらから選択することができる）。これらのアミノ酸残基は、ヒト又はラマのいずれかにおけるこの位置に最も頻繁に生じるアミノ酸残基の一部であり、とりわけ、プロリン（P）又はアラニン（A）のいずれかであることができる。及び/又は、(i i i) 42位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、42位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基）の内の1つであることができ、特に、グリシン（G）又はグルタミン酸（E）であることができる（又は、これらから選択することができる）。及び/又は、(i i i) 87位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-7で言及された、87位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基）の内の1つであることができ、特に、スレオニン（T）又はアラニン（A）であることができる（又は、これらから選択することができる）。

#### 【0072】

特定の態様では、本発明は、A1b-1（国際公開公報第2006/122787号の配列番号：52）、A1b-8（本明細書における配列番号：46）、及び/又はA1b-23（本明細書における配列番号：61）の内の少なくとも1つ（フレームワーク配列及びCDRの両方を考慮するが、任意のC末端伸長は考慮しない）に対して、少なくとも80%、好ましくは少なくとも85%、より好ましくは少なくとも90%、例えば、少なくとも95%の配列同一性を有する、血清アルブミン（及び特に、ヒト血清アルブミン）

10

20

30

40

50



に結合する（及び特に、特異的に結合する）ことができる、（本明細書で定義された）本発明のナノボディに関し、ここで、112位におけるアミノ酸残基は、K又はQのいずれかであり、場合により、そのC末端において、C末端伸張（X）<sub>n</sub> [同伸長中、nは、1～10、好ましくは、1～5、例えば、1、2、3、4、又は5（及び好ましくは、1又は2、例えば、1）]であり、各Xは、（好ましくは、天然の）アミノ酸残基であり、アラニン（A）、グリシン（G）、バリン（V）、ロイシン（L）、又はイソロイシン（I）から独立して選択され、好ましくは、これらからなる群より独立して選択される]を含有し（再度、このようなC末端伸長は、好ましくは、本明細書で更に記載された通りであり、また再度、このようなナノボディは、例えば、本明細書で言及された1つ以上の他の特定のアミノ酸残基/置換、例えば、11L、L11V、L11K、14A、P14A、14P、A14P、89T、V89T、89L、V89L、108L、Q108L、110Q、T110Q、110K、及び/又はT110Kを含有することができ、ただし通常は、112位がK又はQである場合、110位における更なる置換の存在は、多くの場合、必ずしも必要ではないであろう。その場合には、110位は、好ましくは、Tである）。また、(i)41位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、41位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基）の内の1つであることができ、特に、プロリン（P）、セリン（S）、スレオニン（T）、アラニン（A）、又はロイシン（L）であることができる（又は、これらから選択することができる）。これらのアミノ酸残基は、ヒト又はラマのいずれかにおけるこの位置に最も頻繁に生じるアミノ酸残基の一部であり、とりわけ、プロリン（P）又はアラニン（A）のいずれかであることができる。及び/又は、(ii)42位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、42位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基）の内の1つであることができ、特に、グリシン（G）又はグルタミン酸（E）であることができる（又は、これらから選択することができる）。及び/又は、(iii)87位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-7で言及された、87位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基）の内の1つであることができ、特に、スレオニン（T）又はアラニン（A）であることができる（又は、これらから選択することができる）。

#### 【0073】

本発明のこのようなナノボディは、再度好ましくは、A1b-1（ただし、S112K又はS112Q置換を有する）のヒト化変異体であり、より好ましくは、少なくとも1つ、特に任意の2つ、及びとりわけ、配列番号：41～43のそれぞれで提供されたCDR1、CDR2、及び/又はCDR3の3つ全てを有する。

#### 【0074】

具体的な一態様によれば、本発明の任意の血清アルブミン結合ナノボディは、A1b-23の特徴を有するアミノ酸残基、及び、国際公開公報第12/175400号に記載されたその変異体（すなわち、44及び45位におけるアミノ酸モチーフGP、74～76位におけるアミノ酸モチーフSKN、ならびに好ましくは、16位におけるG、また及び場合により、83位におけるR）も有することができる。

#### 【0075】

ヒト血清アルブミンに対する本発明のナノボディの一部の好ましく、非限定的な例は、表4及び実施例20に提供される。

10

20

30

40

50

【表 4】

表 4：ヒト血清アルブミンに対する本発明の VHドメインの非限定的な例

配列番号	配列名	112位に おけるアミ ノ酸	C末端伸長	配列
46	Alb-11 (国際 公開公報第 06/1 22787号)	S (参照)	[なし]	EVQLVESGGGLVQPQNSLRLSCAASGFTFSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSIS GSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLRS SQGTLVTVKSS
47	Alb-11 + 112K	K	[なし]	EVQLVESGGGLVQPQNSLRLSCAASGFTFSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSIS GSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLRS SQGTLVTVKKS
48	Alb-11 + 112K + A	K	A	EVQLVESGGGLVQPQNSLRLSCAASGFTFSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSIS GSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLRS SQGTLVTVKSA
49	Alb-11 + 112K + AA	K	AA	EVQLVESGGGLVQPQNSLRLSCAASGFTFSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSIS GSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLRS SQGTLVTVKSAA
50	Alb-11 + 112K + AAA	K	AAA	EVQLVESGGGLVQPQNSLRLSCAASGFTFSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSIS GSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLRS SQGTLVTVKSAAA
51	Alb-11 + 112K + G	K	G	EVQLVESGGGLVQPQNSLRLSCAASGFTFSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSIS GSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLRS SQGTLVTVKSG
52	Alb-11 + 112K + GG	K	GG	EVQLVESGGGLVQPQNSLRLSCAASGFTFSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSIS GSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLRS SQGTLVTVKSGG

10

20

30

40

50

表 4 (続き) :

53	Alb-11 + 112K + GGG	K	GGG	EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSIS GSGSDTL YADSVKGRFTISRDNAKTTLLYLQMNLSLRPETA VYYCTIGGSL.SRS SQGTLVTVQSGG
54	Alb-11 + 112Q	Q	[なし]	EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSIS GSGSDTL YADSVKGRFTISRDNAKTTLLYLQMNLSLRPETA VYYCTIGGSL.SRS SQGTLVTVQS
55	Alb-11 + 112Q + A	Q	A	EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSIS GSGSDTL YADSVKGRFTISRDNAKTTLLYLQMNLSLRPETA VYYCTIGGSL.SRS SQGTLVTVQSA
56	Alb-11 + 112Q + AA	Q	AA	EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSIS GSGSDTL YADSVKGRFTISRDNAKTTLLYLQMNLSLRPETA VYYCTIGGSL.SRS SQGTLVTVQSA A
57	Alb-11 + 112Q + AAA	Q	AAA	EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSIS GSGSDTL YADSVKGRFTISRDNAKTTLLYLQMNLSLRPETA VYYCTIGGSL.SRS SQGTLVTVQSA A A
58	Alb-11 + 112Q + G	Q	G	EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSIS GSGSDTL YADSVKGRFTISRDNAKTTLLYLQMNLSLRPETA VYYCTIGGSL.SRS SQGTLVTVQSG
59	Alb-11 + 112Q + GG	Q	GG	EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSIS GSGSDTL YADSVKGRFTISRDNAKTTLLYLQMNLSLRPETA VYYCTIGGSL.SRS SQGTLVTVQSGG

表 4 (続き) :

10

20

30

40

50

60	Alb-11 + 112Q + GGG	Q	GGG	EVQLESVGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSIS GSGDLYADSVKGRFTISRDNKNTLTLQMNLSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSS SQGTLVTVQSGGG
61	Alb-23 (国際 公開公報第12/1 75400号)	S (参照)	[なし]	EVQLESVGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPVWVSSISG SGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTLTLQMNLSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSS QGTLVTVSS
62	Alb-23 + 112K	K	[なし]	EVQLESVGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPVWVSSISG SGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTLTLQMNLSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSS QGTLVTVKS
63	Alb-23 + 112K +A	K	A	EVQLESVGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPVWVSSISG SGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTLTLQMNLSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSS QGTLVTVKSAA
64	Alb-23 + 112K +AA	K	AA	EVQLESVGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPVWVSSISG SGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTLTLQMNLSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSS QGTLVTVKSAAA
65	Alb-23 + 112K +AAA	K	AAA	EVQLESVGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPVWVSSISG SGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTLTLQMNLSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSS QGTLVTVKSAAAA
66	Alb-23 + 112K +G	K	G	EVQLESVGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPVWVSSISG SGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTLTLQMNLSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSS QGTLVTVKSAG
67	Alb-23 + 112K +GG	K	GG	EVQLESVGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPVWVSSISG SGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTLTLQMNLSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSS QGTLVTVKSAGG
68	Alb-23 + 112K +GGG	K	GGG	EVQLESVGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPVWVSSISG SGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTLTLQMNLSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSS QGTLVTVKSAGGG

10

20

30

40

50

表 4 (続き) :

69	Alb-23 + 112Q	Q	[なし]	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPPEWVSSISG SGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSS QGTLVTVQSS
70	Alb-23 + 112Q +A	Q	A	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPPEWVSSISG SGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSS QGTLVTVQSA
71	Alb-23 + 112Q +AA	Q	AA	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPPEWVSSISG SGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSS QGTLVTVQSA
72	Alb-23 + 112Q +AAA	Q	AAA	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPPEWVSSISG SGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSS QGTLVTVQSA
73	Alb-23 + 112Q +G	Q	G	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPPEWVSSISG SGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSS QGTLVTVQSG
74	Alb-23 + 112Q +GG	Q	GG	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPPEWVSSISG SGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSS QGTLVTVQSGG
75	Alb-23 + 112Q +GGG	Q	GGG	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPPEWVSSISG SGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSS QGTLVTVQSGGG

10

20

30

40

【 0 0 7 6 】

別の態様では、本発明は、VHドメイン、及び特に、ISVD、及びとりわけ、ナノボ  
ディに関し、同VHドメインは、下記を有する。

- a) 下記FW4配列の内の1つであるFW4配列

50

## 【表 5】

表 5 : F W 4 配列

SSQGTLLVTVKS (配列番号 : 9 9)
SSQGTLLVTVQS (配列番号 : 1 0 0)
SSQGTLLVKVSS (配列番号 : 1 0 1)
SSQGTLLVQVSS (配列番号 : 1 0 2)
SSQGTLLVTVKS(X) <sub>n</sub> (配列番号 : 1 0 3)
SSQGTLLVTVQS(X) <sub>n</sub> (配列番号 : 1 0 4)
SSQGTLLVKVSS(X) <sub>n</sub> (配列番号 : 1 0 5)
SSQGTLLVQVSS(X) <sub>n</sub> (配列番号 : 1 0 6)

10

## 【 0 0 7 7 】

ここで、( i ) 配列番号 : 2 3 ~ 4 0 中の ( X )<sub>n</sub> C 末端伸長に先立つ F W 4 配列のアミノ酸残基は、V H ドメインにおける F W 4 のアミノ酸位置 ( すなわち、K a b a t ナンバリングに従った 1 0 3 ~ 1 1 3 位 ) に対応し、( i i )<sub>n</sub> は、1 ~ 1 0、好ましくは、1 ~ 5、例えば、1、2、3、4、又は 5 ( 及び好ましくは、1 又は 2、例えば、1 ) であり、( i i i ) 各 X は、( 好ましくは、天然の ) アミノ酸残基であり、アラニン ( A )、グリシン ( G )、バリン ( V )、ロイシン ( L )、又はイソロイシン ( I ) から独立して選択され、好ましくは、これらからなる群より独立して選択され、又は、

20

## 【 0 0 7 8 】

c ) 配列番号 : 9 9 ~ 1 0 6 のアミノ酸配列の内の少なくとも 1 つに対して、3 つ未満、好ましくは 2 つ未満のアミノ酸差を有するアミノ酸配列 ( ここで、前記アミノ酸差は、V H ドメインにおける F W 4 のアミノ酸位置に対応する位置、すなわち、K a b a t ナンバリングに従った 1 0 3 ~ 1 1 3 位においてであり、ただし、C 末端伸長 ( X )<sub>n</sub> 中の任意のアミノ酸差は無視される )。ここで、( i ) K a b a t ナンバリングの 1 1 2 位に対応する位置におけるアミノ酸残基が、K 又は Q のいずれかである場合、前記アミノ酸差は、1 1 2 以外のアミノ酸位置においてであり、V H ドメインの 8 9 位におけるアミノ酸残基は、好ましくは、V、T、又は L から選択され ( 及び最も好ましくは、V であり )、( i )、K a b a t ナンバリングの 1 1 0 位に対応する位置におけるアミノ酸残基が、K 又は Q のいずれかである場合、前記アミノ酸差は、1 1 0 以外のアミノ酸位置においてであり、V H ドメインの 8 9 位は、L であり、( i i i )<sub>n</sub> は、1 ~ 1 0、好ましくは、1 ~ 5、例えば、1、2、3、4、又は 5 ( 及び好ましくは、1 又は 2、例えば、1 ) であり、( i v ) 各 X は、( 好ましくは、天然の ) アミノ酸残基であり、アラニン ( A )、グリシン ( G )、バリン ( V )、ロイシン ( L )、又はイソロイシン ( I ) から独立して選択され、好ましくは、これらからなる群より独立して選択される。再度、先の文章で言及された特徴 ( i ) ~ ( i v ) に対して更に、このようなアミノ酸配列において、( v ) K a b a t ナンバリングの 1 0 3 位に対応する位置におけるアミノ酸残基は、好ましくは、S であり、( v i ) K a b a t ナンバリングの 1 0 4 位に対応する位置におけるアミノ酸残基は、好ましくは、S であり、( v i i ) K a b a t ナンバリングの 1 0 6 位に対応する位置におけるアミノ酸残基は、好ましくは、G であり、( v i i i ) K a b a t ナンバリングの 1 0 7 位に対応する位置におけるアミノ酸残基は、好ましくは、T であり、( i x ) K a b a t ナンバリングの 1 0 8 位に対応する位置におけるアミノ酸残基は、好ましくは、Q 又は L であり ( 及び、ヒト化ナノボディでは、好ましくは、L であり )、( x ) K a b a t ナンバリングの 1 0 9 位に対応する位置におけるアミノ酸残基は、好ましくは、

30

40

50

Vである。再度、表2に、各位置に存在することができる、潜在的なアミノ酸残基について、参照される。

【0079】

再度、本発明のこのようなVHドメインにおいて、(a)11位におけるアミノ酸残基は、L、V、又はKの内の1つ(及びより好ましくは、V)であり、14位におけるアミノ酸残基は、好ましくは、A又はPの一方であり、41位におけるアミノ酸残基は、好ましくは、A又はPの一方である。また、本発明のこのようなVHドメインは、好ましくは、ISVDであり、より好ましくは、ナノボディであり、再度、ヒト血清アルブミンに対することができる(この場合、本発明のこのようなVHドメインは、好ましくは、配列番号:41、42、及び43それぞれに対応する、CDR1、CDR2、CDR3それぞれを有する)。また、前記VHドメインがヒト血清アルブミンに対するISVD又はナノボディである場合、前記VHドメインは、更に、ヒト血清アルブミンに対する本発明のナノボディについて本明細書に記載された通りであることができる。

10

【0080】

血清アルブミンに対する本発明のVHドメイン(及び特に、本発明の血清アルブミン結合ISVD)は、下記の参考文献に開示された血清アルブミン結合ナノボディの使用について、国際公開公報第2004/041865号、同第2006/122787号、及び/又は同第2012/175400号に本質的に記載された方法において(すなわち、血清アルブミン結合ISVDを、タンパク質、ポリペプチド、化合物、又は他の成分に、場合により、適切なリンカーを介して、適切に連結させることにより、例えば、国際公開公報第2012/175400号の第12及び13頁には、適切な融合タンパク質を構築することができる方法の一部の例が提供されている)、治療活性化合物、(ポリ)ペプチド、タンパク質、結合ドメイン、結合ユニット、又は他の治療活性成分もしくは部分の半減期を伸ばすのに使用することができる。

20

【0081】

別の態様では、本発明は、89位(Kabatナンバリング)におけるアミノ酸残基がスレオニン(T)であり、112位におけるアミノ酸残基がセリン(S)、リシン(K)残基、又はグルタミン(Q)残基のいずれかである、免疫グロブリン重鎖可変ドメイン(VHドメイン)に関する。また、89位にTを有するこのような免疫グロブリン重鎖可変ドメイン(VHドメイン)は、その最も広い意味において本明細書で使用する時、「本発明のVHドメイン」という用語に含まれ、更に、112位にK又はQを含む本発明のVHドメインについて、本明細書に記載された通りであることができる。したがって、このような免疫グロブリン重鎖可変ドメイン(VHドメイン)は、本明細書で更に記載されたC末端伸長(このようなC末端伸長について示された選択を含む)を有することができる、本明細書で更に記載されたISVD、及び特に、ナノボディであることができる。

30

【0082】

再度、本発明のこのようなVHドメインが、露出したC末端領域を有する(例えば、本発明のVHドメインは、それが存在するタンパク質、ポリペプチド、又は他の構築物のC末端を形成するためである)場合、本発明のVHドメインは、好ましくは、C末端伸長を含有する(以下の表Cに示されたデータが参照される)。

40

【0083】

また、89位がTである(すなわち、C末端伸長の有無に関わらず)本発明のナノボディは、好ましくは、L(VHH中で最も頻繁に生じるアミノ酸残基)、E、K、M、S、V、W、又はYから選択され、より好ましくは、L、E、K、V、又はYから選択され、及び更により好ましくは、L、K、又はV(Vが最も好ましい)から選択される、11位におけるアミノ酸を含有する。例えば、本発明のナノボディは、L11KもしくはL11V置換、及び、例えば、P14AもしくはA14P置換、Q108L置換、ならびに/又はT110K、T110Q、S112K、及び/もしくはS112Q置換を含有することができる(ただし通常は、89位がTである場合、110及び/又は112位における1つ又は2つの更なる置換の存在は、多くの場合、必ずしも必要ではないであろう。その場

50

合には、110位は、好ましくは、Tであり、112位は、好ましくは、Sである)。

【0084】

特に、この特定の態様における本発明の免疫グロブリン重鎖可変ドメイン(VHドメイン)は、89位(Kabat)にTと、VTVSS(配列番号:77)、VTVSS(X)<sub>n</sub>(配列番号:78)、VTVKS(配列番号:1)、VTVKS(X)<sub>n</sub>(配列番号:21)、VTVQS(配列番号:2)、VTVQS(X)<sub>n</sub>(配列番号:22)、VKVSS(配列番号:95)、VKVSS(X)<sub>n</sub>(配列番号:97)、VQVSS(配列番号:96)、VQVSS(X)<sub>n</sub>(配列番号:98)、VZVZS(配列番号:107(同配列中、各アミノ酸残基Zは、独立して、K又はQである)、又はVZVZSX(n)(配列番号:108、同配列中、各アミノ酸残基Zは、独立して、K又はQである)の内の1つ(及び特に、VTVKS(配列番号:1)、VTVQS(配列番号:2)、VTVSS(配列番号:77)、VTVKS(X)<sub>n</sub>(配列番号:21)、VTVQS(X)<sub>n</sub>(配列番号:22)、又はVTVSS(X)<sub>n</sub>(配列番号:78)の内の1つ、及びとりわけ、VTVSS(配列番号:77)又はVTVSS(X)<sub>n</sub>(配列番号:78)のいずれか)であるC末端とを有する。ここで、n及びXは、112位がQ又はKである本発明のVHドメインについて本明細書で更に記載された通りである(及びここで、任意のC末端伸長は、好ましくは、112位がQ又はKである本発明VHドメインについて本明細書で更に記載された通りである)。また、112位がQ又はKである本発明VHドメインについての場合と同様に、89位にTを有するこのようなVHドメインがナノボディである場合、11位は、好ましくは、ロイシン(L)であり、14位は、特に、アラニン(A)又はプロリン(P)であることができ、108位は、特に、Q又はLであることができる(及び、ヒト化ナノボディでは、好ましくは、Lである)。89位にTを有するこのようなナノボディは、1つ以上のナノボディホールマーク残基を含有することができ、及び/又は、適切にヒト化されていることができる。また、(i)41位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、41位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、プロリン(P)、セリン(S)、スレオニン(T)、アラニン(A)、又はロイシン(L)であることができる(又は、これらから選択することができる)。これらのアミノ酸残基は、ヒト又はラマのいずれかにおけるこの位置に最も頻繁に生じるアミノ酸残基の一部であり、とりわけ、プロリン(P)又はアラニン(A)のいずれかであることができる。及び/又は、(ii)42位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、42位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、グリシン(G)又はグルタミン酸(E)であることができる(又は、これらから選択することができる)。及び/又は、(iii)87位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-7で言及された、87位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、スレオニン(T)又はアラニン(A)であることができる(又は、これらから選択することができる)。

【0085】

89位にTを有する本発明のこのようなVHドメインは、再度、本明細書で更に記載された血清アルブミンナノボディであることもできる。例えば、このような血清アルブミン結合ナノボディは、配列番号:46~75の配列の内の1つ(ただし、89位にTを有する)、又は、Alb-1(国際公開公報第2006/122787号の配列番号:52)、Alb-8(本明細書における配列番号:46)、及び/又はAlb-23(本明細書における配列番号:61)の内の少なくとも1つ(フレームワーク配列及びCDRの両方を考慮するが、任意のC末端伸長は考慮しない)に対して、少なくとも80%、好ましくは少なくとも85%、より好ましくは少なくとも90%、例えば、少なくとも95%の配列同一性を有する、89位にTを有する別の血清アルブミン結合ナノボディであることができる。89位にTを有するこのようなナノボディの一部の他の例は、配列番号:78~91に提供される(これらは、89位にT及び112位にSを有するAlb-1/Alb

10

20

30

40

50



- 8又はA1b - 23の更なる変異体である)。

【0086】

より一般的には、本発明におけるこの態様の血清アルブミンに対するVHドメインは、国際公開公報第2004/041865号、及び特に、同第2006/122787号及び同第2012/175400号(全て出願人/譲受人の出願)に記載された(ヒト)血清アルブミンに対するナノボディの内の1つであることができ、ここで、89位におけるアミノ酸は、スレオニン(T)であり、ここで、場合により、本明細書で記載されたC末端伸長を備えている(及び、例えば、本明細書で言及された1つ以上の他の特定のアミノ酸残基/置換、例えば、11L、L11V、L11K、14A、P14A、14P、A14P、108L、Q108L、110K、T110K、110Q、T110Q、S112K、及び/又はS112Qを適切に含有することもでき、ただし通常は、89位にTが存在する場合、110及び/又は112位における更なる置換の存在は、多くの場合、必ずしも必要ではないであろう。その場合には、110位は、好ましくは、Tであり、112位は、好ましくは、Sである)。また、(i)41位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、41位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、プロリン(P)、セリン(S)、スレオニン(T)、アラニン(A)、又はロイシン(L)であることができる(又は、これらから選択することができる)。これらのアミノ酸残基は、ヒト又はラマのいずれかにおけるこの位置に最も頻繁に生じるアミノ酸残基の一部であり、とりわけ、プロリン(P)又はアラニン(A)のいずれかであることができる。及び/又は、(ii)42位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、42位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、グリシン(G)又はグルタミン酸(E)であることができる(又は、これらから選択することができる)。及び/又は、(iii)87位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-7で言及された、87位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、スレオニン(T)又はアラニン(A)であることができる(又は、これらから選択することができる)。またさらに、本発明は、他の血清アルブミン結合重鎖ISVD、例えば、国際公開公報第03/035694号、同第04/003019号、同第05/118642号、同第06/059106号、同第08/096158号、同第09/121804号、同第10/108937号、又は米国特許出願公開公報第2013/0129727号に記載されたものに、すなわち、89位にスレオニン(T)、及び場合により、本明細書で記載された1つ以上の他のアミノ酸残基/置換を適切に導入すること、ならびに場合により(及び通常、本明細書で概説されたように好ましくは)(本明細書で更に記載された)C末端伸長を付加することにより、適用することもできると想定される。

【0087】

本発明のこのような血清アルブミン結合ナノボディにおける一部の好ましく、非限定的な例は、国際公開公報第2006/122787号における配列番号:52のアミノ酸配列のヒト化変異体(国際公開公報第2006/122787号において「A1b-1」と呼ばれる)(同変異体中、89位のアミノ酸は、Tである(及び、同変異体は、場合により、本明細書で記載されたC末端伸長を備えている))、例えば、国際公開公報第2006/122787号における配列番号:57~64に提供されたA1b-1のヒト化変異体(各場合において、V89T置換を有し、場合により、C末端伸長を有する)、又は、国際公開公報第2012/175400号の配列番号:3~11に提供されたA1b-1のヒト化変異体(再度、各場合において、V89T置換を有する)である。同変異体の内、配列番号:3、4、及び5は、場合により、C末端伸長を含有することができ、配列番号:6~11は、C末端伸長を予め含有している(及び再度、このような変異体は、本明細書で言及された1つ以上の他の特定のアミノ酸残基/置換、例えば、11L、L11V、L11K、14A、P14A、14P、A14P、108L、Q108L、110K、

10

20

30

40

50

T 1 1 0 K、1 1 0 Q、T 1 1 0 Q、1 1 2 Q、1 1 2 K、S 1 1 2 Q、及び/又は S 1 1 2 Kを含有することができ、ただし通常は、8 9 位が T である場合、1 1 0 及び/又は 1 1 2 位における 1 つ又は 2 つの更なる置換の存在は、多くの場合、必ずしも必要ではないであろう。その場合には、1 1 0 位は、好ましくは、T であり、1 1 2 位は、好ましくは、S である)。また、( i ) 4 1 位は、例えば、国際公開公報第 0 8 / 0 2 0 0 7 9 号の表 A - 6 で言及された、4 1 位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒト V H 3 残基及び/又はラクダ化 V H H 残基)の内の 1 つであることができ、特に、プロリン(P)、セリン(S)、スレオニン(T)、アラニン(A)、又はロイシン(L)であることができる(又は、これらから選択することができる)。これらのアミノ酸残基は、ヒト又はラマのいずれかにおけるこの位置に最も頻繁に生じるアミノ酸残基の一部であり、とりわけ、プロリン(P)又はアラニン(A)のいずれかであることができる。及び/又は、( i i ) 4 2 位は、例えば、国際公開公報第 0 8 / 0 2 0 0 7 9 号の表 A - 6 で言及された、4 2 位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒト V H 3 残基及び/又はラクダ化 V H H 残基)の内の 1 つであることができ、特に、グリシン(G)又はグルタミン酸(E)であることができる(又は、これらから選択することができる)。及び/又は、( i i i ) 8 7 位は、例えば、国際公開公報第 0 8 / 0 2 0 0 7 9 号の表 A - 7 で言及された、8 7 位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒト V H 3 残基及び/又はラクダ化 V H H 残基)の内の 1 つであることができ、特に、スレオニン(T)又はアラニン(A)であることができる(又は、これらから選択することができる)。

10

#### 【 0 0 8 8 】

20

このため、更なる態様では、本発明は、血清アルブミン(及び特に、ヒト血清アルブミン)に結合する(及び特に、特異的に結合する)ことができる、(本明細書で定義された)本発明のナノボディに関し、ここで、

- C D R 1 は、アミノ酸配列 S F G M S (配列番号: 4 1)であり;

- C D R 2 は、アミノ酸配列 S I S G S G S D T L Y A D S V K G (配列番号: 4 2)であり;

- C D R 3 は、アミノ酸配列 G G S L S R (配列番号: 4 3)であり;

- 8 9 位におけるアミノ酸残基は、T であり、

場合により、その C 末端において、C 末端伸張 ( X )<sub>n</sub> [ 同伸長中、n は、1 ~ 1 0、好ましくは、1 ~ 5、例えば、1、2、3、4、又は 5 (及び好ましくは、1 又は 2、例えば、1) であり、各 X は、(好ましくは、天然の)アミノ酸残基であり、アラニン(A)、グリシン(G)、バリン(V)、ロイシン(L)、又はイソロイシン(I)から独立して選択され、好ましくは、これらからなる群より独立して選択される] を含有し(再度、このような C 末端伸長は、好ましくは、本明細書で更に記載された通りであり、また再度、このようなナノボディは、例えば、本明細書で言及された 1 つ以上の他の特定のアミノ酸残基/置換、例えば、1 1 L、L 1 1 V、L 1 1 K、1 4 A、P 1 4 A、1 4 P、A 1 4 P、1 0 8 L、Q 1 0 8 L、1 1 0 K、T 1 1 0 K、1 1 0 Q、T 1 1 0 Q、1 1 2 Q、1 1 2 K、S 1 1 2 Q、及び/又は S 1 1 2 K を含有することができ、ただし通常は、8 9 位が T である場合、1 1 0 及び/又は 1 1 2 位における 1 つ又は 2 つの更なる置換の存在は、多くの場合、必ずしも必要ではないであろう。その場合には、1 1 0 位は、好ましくは、T であり、1 1 2 位は、好ましくは、S である)。また、( i ) 4 1 位は、例えば、国際公開公報第 0 8 / 0 2 0 0 7 9 号の表 A - 6 で言及された、4 1 位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒト V H 3 残基及び/又はラクダ化 V H H 残基)の内の 1 つであることができ、特に、プロリン(P)、セリン(S)、スレオニン(T)、アラニン(A)、又はロイシン(L)であることができる(又は、これらから選択することができる)。これらのアミノ酸残基は、ヒト又はラマのいずれかにおけるこの位置に最も頻繁に生じるアミノ酸残基の一部であり、とりわけ、プロリン(P)又はアラニン(A)のいずれかであることができる。及び/又は、( i i ) 4 2 位は、例えば、国際公開公報第 0 8 / 0 2 0 0 7 9 号の表 A - 6 で言及された、4 2 位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒト V H 3 残基及び/又はラクダ化 V H H 残基)の内の 1 つであることができ、特に、グリ

30

40

50

シン（G）又はグルタミン酸（E）であることができる（又は、これらから選択することができる）。及び／又は、（i i i）87位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-7で言及された、87位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒトVH3残基及び／又はラクダ化VHH残基）の内の1つであることができ、特に、スレオニン（T）又はアラニン（A）であることができる（又は、これらから選択することができる）。  
【0089】

特定の態様では、本発明は、国際公開公報第2006/122787号における配列番号：52のヒト化変異体である、血清アルブミン（及び特に、ヒト血清アルブミン）に結合する（及び特に、特異的に結合する）ことができる、（本明細書で定義された）本発明のナノボディに関し、ここで、

- CDR1は、アミノ酸配列SFGMS（配列番号：41）であり；

- CDR2は、アミノ酸配列SISGSGSDTLYADSVKG（配列番号：42）であり；

- CDR3は、アミノ酸配列GGSLSR（配列番号：43）であり；

- 89位におけるアミノ酸残基は、Tであり、

場合により、そのC末端において、C末端伸張（X）<sub>n</sub> [同伸長中、nは、1～10、好ましくは、1～5、例えば、1、2、3、4、又は5（及び好ましくは、1又は2、例えば、1）]であり、各Xは、（好ましくは、天然の）アミノ酸残基であり、アラニン（A）、グリシン（G）、バリン（V）、ロイシン（L）、又はイソロイシン（I）から独立して選択され、好ましくは、これらからなる群より独立して選択される]を含有し（再度、このようなC末端伸長は、好ましくは、本明細書で更に記載された通りであり、また再度、このようなナノボディは、例えば、本明細書で言及された1つ以上の他の特定のアミノ酸残基／置換、例えば、11L、L11V、L11K、14A、P14A、14P、A14P、108L、Q108L、110K、T110K、110Q、T110Q、112Q、112K、S112Q、及び／又はS112Kを含有することができ、ただし通常は、89位がTである場合、110及び／又は112位における1つ又は2つの更なる置換の存在は、多くの場合、必ずしも必要ではないであろう。その場合には、110位は、好ましくは、Tであり、112位は、好ましくは、Sである）。また、（i）41位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、41位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒトVH3残基及び／又はラクダ化VHH残基）の内の1つであることができ、特に、プロリン（P）、セリン（S）、スレオニン（T）、アラニン（A）、又はロイシン（L）であることができる（又は、これらから選択することができる）。これらのアミノ酸残基は、ヒト又はラマのいずれかにおけるこの位置に最も頻繁に生じるアミノ酸残基の一部であり、とりわけ、プロリン（P）又はアラニン（A）のいずれかであることができる。及び／又は、（i i i）42位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、42位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒトVH3残基及び／又はラクダ化VHH残基）の内の1つであることができ、特に、グリシン（G）又はグルタミン酸（E）であることができる（又は、これらから選択することができる）。及び／又は、（i i i）87位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-7で言及された、87位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒトVH3残基及び／又はラクダ化VHH残基）の内の1つであることができ、特に、スレオニン（T）又はアラニン（A）であることができる（又は、これらから選択することができる）。  
【0090】

特定の態様では、本発明は、A1b-1（国際公開公報第2006/122787号の配列番号：52）、A1b-8（本明細書における配列番号：46）、及び／又はA1b-23（本明細書における配列番号：61）の内の少なくとも1つ（フレームワーク配列及びCDRの両方を考慮するが、任意のC末端伸長は考慮しない）に対して、少なくとも80%、好ましくは少なくとも85%、より好ましくは少なくとも90%、例えば、少なくとも95%の配列同一性を有する、血清アルブミン（及び特に、ヒト血清アルブミン）に結合する（及び特に、特異的に結合する）ことができる、（本明細書で定義された）本

10

20

30

40

50

発明のナノボディに関し、ここで、89位におけるアミノ酸残基は、Tであり、場合により、そのC末端において、C末端伸張(X)<sub>n</sub> [同伸長中、nは、1~10、好ましくは、1~5、例えば、1、2、3、4、又は5(及び好ましくは、1又は2、例えば、1)]であり、各Xは、(好ましくは、天然の)アミノ酸残基であり、アラニン(A)、グリシン(G)、バリン(V)、ロイシン(L)、又はイソロイシン(I)から独立して選択され、好ましくは、これらからなる群より独立して選択される]を含有し(再度、このようなC末端伸長は、好ましくは、本明細書で更に記載された通りであり、また再度、このようなナノボディは、例えば、本明細書で言及された1つ以上の他の特定のアミノ酸残基/置換、例えば、11L、L11V、L11K、14A、P14A、14P、A14P、108L、Q108L、110K、T110K、110Q、T110Q、112Q、112K、S112Q、及び/又はS112Kを含有することができ、ただし通常は、89位がTである場合、110及び/又は112位における1つ又は2つの異なる置換の存在は、多くの場合、必ずしも必要ではないであろう。その場合には、110位は、好ましくは、Tであり、112位は、好ましくは、Sである)。また、(i)41位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、41位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、プロリン(P)、セリン(S)、スレオニン(T)、アラニン(A)、又はロイシン(L)であることができる(又は、これらから選択することができる)。これらのアミノ酸残基は、ヒト又はラマのいずれかにおけるこの位置に最も頻繁に生じるアミノ酸残基の一部であり、とりわけ、プロリン(P)又はアラニン(A)のいずれかであることができる。及び/又は、(ii)42位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、42位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、グリシン(G)又はグルタミン酸(E)であることができる(又は、これらから選択することができる)。及び/又は、(iii)87位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-7で言及された、87位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、スレオニン(T)又はアラニン(A)であることができる(又は、これらから選択することができる)。

#### 【0091】

具体的な一態様によれば、89位にTを有する本発明の任意の血清アルブミン結合ナノボディは、国際公開公報第12/175400号に記載されたA1b-23、及び、その変異体の特徴を有するアミノ酸残基(すなわち、44及び45位におけるアミノ酸モチーフGP、74~76位におけるアミノ酸モチーフSKN、ならびに好ましくは、16位におけるG、また及び場合により、83位におけるR)も有することができる。

#### 【0092】

112位にQ又はKを含有する本発明のVHドメインについてと同様に、89位にTを含有する(場合により、112位におけるQもしくはK、及び/又は、C末端伸長を伴う)本発明のVHドメインは、既存の抗体による、及び特に、C末端伸長の存在下においてVHドメイン及びナノボディに結合可能な(例えば、SLE患者から得られたサンプル中に見出された)このような既存の抗体による低下した結合を示す。

#### 【0093】

更に別の態様では、本発明は、89位(Kabatナンバリング)におけるアミノ酸残基がロイシン(L)であり、110位におけるアミノ酸残基がリシン(K)残基又はグルタミン(Q)残基のいずれかである、免疫グロブリン重鎖可変ドメイン(VHドメイン)に関する。また、89位にL及び110位にK又はQを有するこのような免疫グロブリン重鎖可変ドメイン(VHドメイン)は、その最も広い意味において本明細書で使用する時、「本発明のVHドメイン」という用語に含まれ、更に、本発明の他のVHドメイン(すなわち、112位にKもしくはQを含むもの、又は、89位にTを含むもの)について、本明細書で記載された通りであることができる。したがって、このような免疫グロブリン重鎖可変ドメイン(VHドメイン)は、本明細書で更に記載されたC末端伸長(このよう

10

20

30

40

50

なC末端伸長について示された選択を含む)を有することができ、本明細書で更に記載されたISVD、及び特に、ナノボディであることができる。

【0094】

再度、本発明のこのようなVHドメインが、露出したC末端領域を有する(例えば、本発明のVHドメインは、それが存在するタンパク質、ポリペプチド、又は他の構築物のC末端を形成するためである)場合、本発明のVHドメインは、好ましくは、C末端伸長を含有する(以下の表Cに示されたデータが参照される)。

【0095】

また、89位がLであり、110位がK又はQである(すなわち、C末端伸長の有無に関わらず)本発明のナノボディは、好ましくは、L(VHH中で最も頻繁に生じるアミノ酸残基)、E、K、M、S、V、W、又はYから選択され、より好ましくは、L、E、K、V、又はYから選択され、及び更により好ましくは、L、K、又はV(Vが最も好ましい)から選択される、11位におけるアミノ酸を含有する。例えば、本発明のナノボディは、L11KもしくはL11V置換、及び、例えば、P14AもしくはA14P置換、及び/又は、Q108L置換を含有することができる(また、本発明のナノボディは、S112K及び/又はS112Q置換を適切に含有することもできる。ただし通常は、89位がLであり、110位がK又はQである場合、112位における更なる置換の存在は、多くの場合、必ずしも必要ではないであろう。その場合には、112位は、好ましくは、Sである)。また、(i)41位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、41位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、プロリン(P)、セリン(S)、スレオニン(T)、アラニン(A)、又はロイシン(L)であることができる(又は、これらから選択することができる)。これらのアミノ酸残基は、ヒト又はラマのいずれかにおけるこの位置に最も頻繁に生じるアミノ酸残基の一部であり、とりわけ、プロリン(P)又はアラニン(A)のいずれかであることができる。及び/又は、(ii)42位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、42位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、グリシン(G)又はグルタミン酸(E)であることができる(又は、これらから選択することができる)。及び/又は、(iii)87位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-7で言及された、87位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、スレオニン(T)又はアラニン(A)であることができる(又は、これらから選択することができる)。

【0096】

また、一態様では、89がLであり、110がK又はQである、本発明のこのようなVHドメインにおいて、112位におけるアミノ酸残基は、セリン(S)である。とりわけ、このようなVHドメインのC末端は、VKVSS(配列番号:95)、VQVSS(配列番号:96)、VKVSS(X)<sub>n</sub>(配列番号:97)、又はVQVSS(X)<sub>n</sub>(配列番号:98)の内の1つであることができる(及び好ましくは、これらの内の1つである)。ここで、n及びXは、112位がQ又はKである、本発明VHドメインについて本明細書で更に記載された通りである(及びここで、任意のC末端伸長は、好ましくは、112位がQ又はKである、本発明のVHドメインについて本明細書で更に記載された通りである)。また、112位がQもしくはKであり、又は、89位がTである本発明のVHドメインについての場合と同様に、89位にL及び110位にK又はQを有するこのようなVHドメインがナノボディである場合、11位は、好ましくは、ロイシン(L)であり、14位は、特に、アラニン(A)又はプロリン(P)であることができ、108位は、特に、Q又はLであることができる(及び、ヒト化ナノボディでは、好ましくは、Lである)。89位にL及び110位にK又はQを有するこのようなナノボディは、1つ以上のナノボディホールマーク残基を含有することができ、及び/又は、適切にヒト化されていることができる。また、(i)41位は、例えば、国際公開公報第08/020079号

10

20

30

40

50

の表 A - 6 で言及された、41 位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒト V H 3 残基及び / 又はラクダ化 V H H 残基）の内の 1 つであることができ、特に、プロリン（P）、セリン（S）、スレオニン（T）、アラニン（A）、又はロイシン（L）であることができる（又は、これらから選択することができる）。これらのアミノ酸残基は、ヒト又はラマのいずれかにおけるこの位置に最も頻繁に生じるアミノ酸残基の一部であり、とりわけ、プロリン（P）又はアラニン（A）のいずれかであることができる。及び / 又は、( i i ) 42 位は、例えば、国際公開公報第 08 / 020079 号の表 A - 6 で言及された、42 位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒト V H 3 残基及び / 又はラクダ化 V H H 残基）の内の 1 つであることができ、特に、グリシン（G）又はグルタミン酸（E）であることができる（又は、これらから選択することができる）。及び / 又は、( i i i ) 87 位は、例えば、国際公開公報第 08 / 020079 号の表 A - 7 で言及された、87 位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒト V H 3 残基及び / 又はラクダ化 V H H 残基）の内の 1 つであることができ、特に、スレオニン（T）又はアラニン（A）であることができる（又は、これらから選択することができる）。

#### 【0097】

また再度、89 位に L 及び 110 位に K 又は Q を有する本発明のこのような V H ドメインは、本明細書で更に記載された血清アルブミンナノボディであることもできる。例えば、このような血清アルブミン結合ナノボディは、配列番号：46 ~ 75 の配列の内の 1 つ（ただし、89 位に L 及び 110 位に K 又は Q を有する）、又は、A1b - 1（国際公開公報第 2006 / 122787 号の配列番号：52）、A1b - 8（本明細書における配列番号：46）、及び / 又は A1b - 23（本明細書における配列番号：61）の内の少なくとも 1 つ（フレームワーク配列及び C D R の両方を考慮するが、任意の C 末端伸長は考慮しない）に対して、少なくとも 80 %、好ましくは少なくとも 85 %、より好ましくは少なくとも 90 %、例えば、少なくとも 95 % の配列同一性を有する、89 位に L 及び 110 位に K 又は Q を有する別の血清アルブミン結合ナノボディであることができる。

#### 【0098】

より一般的には、本発明におけるこの態様の血清アルブミンに対する V H ドメインは、国際公開公報第 2004 / 041865 号、及び特に、同第 2006 / 122787 号及び同第 2012 / 175400 号（全て出願人 / 譲受人の出願）に記載された（ヒト）血清アルブミンに対するナノボディの内の 1 つであることができ、ここで、89 位におけるアミノ酸は、ロイシン（L）であり、110 位におけるアミノ酸残基は、K 又は Q であり、ここで、場合により、本明細書で記載された C 末端伸長を備えている（及び、例えば、本明細書で言及された 1 つ以上の他の特定のアミノ酸残基 / 置換、例えば、11L、L11V、L11K、14A、P14A、14P、A14P、108L、及び / 又は Q108L、ならびに S112K 又は S112Q を含有することもでき、ただし通常は、89 位が L であり、110 位が K 又は Q である場合、112 位における更なる置換の存在は、多くの場合、必ずしも必要ではないであろう。その場合には、112 位は、好ましくは、S である）。またさらに、本発明は、他の血清アルブミン結合重鎖 I S V D、例えば、国際公開公報第 03 / 035694 号、同第 04 / 003019 号、同第 05 / 118642 号、同第 06 / 059106 号、同第 08 / 096158 号、同第 09 / 121804 号、同第 10 / 108937 号、又は米国特許出願公開公報第 2013 / 0129727 号に記載されたものに、すなわち、89 位にロイシン（L）及び 110 位に K 又は Q のいずれか、ならびに場合により、本明細書で記載された 1 つ以上の他のアミノ酸残基 / 置換を適切に導入すること、及び場合により（及び通常、好ましくは、本明細書で概説されたように）（本明細書で更に記載された）C 末端伸長を付加することにより、適用することもできると想定される。血清アルブミンに対するこれらの V H ドメインにおいて、112 位におけるアミノ酸は、好ましくは、S である。前記 V H ドメインは、好ましくは、配列番号：95 ~ 98 の内の 1 つである C 末端を有する。また、( i ) 41 位は、例えば、国際公開公報第 08 / 020079 号の表 A - 6 で言及された、41 位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒト V H 3 残基及び / 又はラクダ化 V H H 残基）の内の 1 つであることが

10

20

30

40

50

でき、特に、プロリン（P）、セリン（S）、スレオニン（T）、アラニン（A）、又はロイシン（L）であることができる（又は、これらから選択することができる）。これらのアミノ酸残基は、ヒト又はラマのいずれかにおけるこの位置に最も頻繁に生じるアミノ酸残基の一部であり、とりわけ、プロリン（P）又はアラニン（A）のいずれかであることができる。及び/又は、（i i）42位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、42位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基）の内の1つであることができ、特に、グリシン（G）又はグルタミン酸（E）であることができる（又は、これらから選択することができる）。及び/又は、（i i i）87位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-7で言及された、87位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基）の内の1つであることができ、特に、スレオニン（T）又はアラニン（A）であることができる（又は、これらから選択することができる）。

10

## 【0099】

本発明のこのような血清アルブミン結合ナノボディにおける一部の好ましく、非限定的な例は、国際公開公報第2006/122787号における配列番号：52のアミノ酸配列のヒト化変異体（国際公開公報第2006/122787号において「Alb-1」と呼ばれる）（同変異体中、89位におけるアミノ酸は、Lであり、110位におけるアミノ酸は、K又はQである（及び、同変異体は、場合により、本明細書で記載されたC末端伸長を備えている））、例えば、国際公開公報第2006/122787号における配列番号：57～64に提供されたAlb-1のヒト化変異体（各場合において、V89L置換及びT110Q又はT110K置換を有し、場合により、C末端伸長を有する）、又は、国際公開公報第2012/175400号の配列番号：3～11に提供されたAlb-1のヒト化変異体（再度、各場合において、V89L置換及びT110Q又はT110K置換を有する）である。同変異体の内、配列番号：3、4、及び5は、場合により、C末端伸長を含有することができる、配列番号：6～11は、C末端伸長を予め含有している（及び再度、このような変異体は、本明細書で言及された1つ以上の他の特定のアミノ酸残基/置換、例えば、11L、L11V、L11K、14A、P14A、14P、A14P、108L、及び/又はQ108L、ならびにS112K又はS112Qを含有することでもでき、ただし通常は、89位がLであり、110位がK又はQである場合、112位における更なる置換の存在は、多くの場合、必ずしも必要ではないであろう。その場合には、112位は、好ましくは、Sである）。血清アルブミンに対するこれらのVHドメインにおいて、112位におけるアミノ酸は、好ましくは、Sである。前記VHドメインは、好ましくは、配列番号：95～98の内の1つであるC末端を有する。また、（i）41位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、41位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基）の内の1つであることができ、特に、プロリン（P）、セリン（S）、スレオニン（T）、アラニン（A）、又はロイシン（L）であることができる（又は、これらから選択することができる）。これらのアミノ酸残基は、ヒト又はラマのいずれかにおけるこの位置に最も頻繁に生じるアミノ酸残基の一部であり、とりわけ、プロリン（P）又はアラニン（A）のいずれかであることができる。及び/又は、（i i）42位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、42位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基）の内の1つであることができ、特に、グリシン（G）又はグルタミン酸（E）であることができる（又は、これらから選択することができる）。及び/又は、（i i i）87位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-7で言及された、87位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基）の内の1つであることができ、特に、スレオニン（T）又はアラニン（A）であることができる（又は、これらから選択することができる）。

20

30

40

## 【0100】

このため、更なる態様では、本発明は、血清アルブミン（及び特に、ヒト血清アルブミ

50

ン)に結合する(及び特に、特異的に結合する)ことができる、(本明細書で定義された)本発明のナノボディに関し、ここで、

- CDR 1は、アミノ酸配列SFGMS(配列番号:41)であり;
- CDR 2は、アミノ酸配列SISGSGSDTLYADSVKG(配列番号:42)であり;

- CDR 3は、アミノ酸配列GGSLSR(配列番号:43)であり;

- 89位におけるアミノ酸残基は、Lであり、
- 110位におけるアミノ酸残基は、K又はQであり、

場合により、そのC末端において、C末端伸張(X)<sub>n</sub>[同伸長中、nは、1~10、好ましくは、1~5、例えば、1、2、3、4、又は5(及び好ましくは、1又は2、例えば、1)であり、各Xは、(好ましくは、天然の)アミノ酸残基であり、アラニン(A)、グリシン(G)、バリン(V)、ロイシン(L)、又はイソロイシン(I)から独立して選択され、好ましくは、これらからなる群より独立して選択される]を含有し(再度、このようなC末端伸長は、好ましくは、本明細書で更に記載された通りであり、また再度、このようなナノボディは、例えば、本明細書で言及された1つ以上の他の特定のアミノ酸残基/置換、例えば、11L、L11V、L11K、14A、P14A、14P、A14P、108L、及び/又はQ108L;ならびにS112K又はS112Qを含有することができる、ただし通常は、89位がLであり、110位がK又はQである場合、112位における更なる置換の存在は、多くの場合、必ずしも必要ではないであろう。その場合には、112位は、好ましくは、Sである)。血清アルブミンに対するこれらのVHドメインにおいて、112位におけるアミノ酸は、好ましくは、Sであり、前記VHドメインは、好ましくは、配列番号:95~98の内の1つであるC末端を有する。また、(i)41位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、41位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、プロリン(P)、セリン(S)、スレオニン(T)、アラニン(A)、又はロイシン(L)であることができる(又は、これらから選択することができる)。これらのアミノ酸残基は、ヒト又はラマのいずれかにおけるこの位置に最も頻繁に生じるアミノ酸残基の一部であり、とりわけ、プロリン(P)又はアラニン(A)のいずれかであることができる。及び/又は、(ii)42位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、42位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、グリシン(G)又はグルタミン酸(E)であることができる(又は、これらから選択することができる)。及び/又は、(iii)87位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-7で言及された、87位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、スレオニン(T)又はアラニン(A)であることができる(又は、これらから選択することができる)。

#### 【0101】

特定の態様では、本発明は、国際公開公報第2006/122787号における配列番号:52のヒト化変異体である血清アルブミン(及び特に、ヒト血清アルブミン)に結合する(及び特に、特異的に結合する)ことができる、(本明細書で定義された)本発明のナノボディに関し、ここで、

- CDR 1は、アミノ酸配列SFGMS(配列番号:41)であり;
- CDR 2は、アミノ酸配列SISGSGSDTLYADSVKG(配列番号:42)であり;

- CDR 3は、アミノ酸配列GGSLSR(配列番号:43)であり;

- 89位におけるアミノ酸残基は、Lであり、
- 110位におけるアミノ酸残基は、K又はQであり、

場合により、そのC末端において、C末端伸張(X)<sub>n</sub>[同伸長中、nは、1~10、好ましくは、1~5、例えば、1、2、3、4、又は5(及び好ましくは、1又は2、例

10

20

30

40

50



えば、1)であり、各Xは、(好ましくは、天然の)アミノ酸残基であり、アラニン(A)、グリシン(G)、バリン(V)、ロイシン(L)、又はイソロイシン(I)から独立して選択され、好ましくは、これらからなる群より独立して選択される]を含有し(再度、このようなC末端伸長は、好ましくは、本明細書で更に記載された通りであり、また再度、このようなナノボディは、例えば、本明細書で言及された1つ以上の他の特定のアミノ酸残基/置換、例えば、11L、L11V、L11K、14A、P14A、14P、A14P、108L、及び/又はQ108L;ならびにS112K又はS112Qを含有することができ、ただし通常は、89位がLであり、110位がK又はQである場合、112位における更なる置換の存在は、多くの場合、必ずしも必要ではないであろう。その場合には、112位は、好ましくは、Sである)。血清アルブミンに対するこれらのVHドメインにおいて、112位におけるアミノ酸は、好ましくは、Sであり、前記VHドメインは、好ましくは、配列番号:95~98の内の1つであるC末端を有する。また、(i)41位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、41位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、プロリン(P)、セリン(S)、スレオニン(T)、アラニン(A)、又はロイシン(L)であることができる(又は、これらから選択することができる)。これらのアミノ酸残基は、ヒト又はラマのいずれかにおけるこの位置に最も頻繁に生じるアミノ酸残基の一部であり、とりわけ、プロリン(P)又はアラニン(A)のいずれかであることができる。及び/又は、(ii)42位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、42位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、グリシン(G)又はグルタミン酸(E)であることができる(又は、これらから選択することができる)。及び/又は、(iii)87位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-7で言及された、87位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、スレオニン(T)又はアラニン(A)であることができる(又は、これらから選択することができる)。

#### 【0102】

特定の態様では、本発明は、A1b-1(国際公開公報第2006/122787号の配列番号:52)、A1b-8(本明細書における配列番号:46)、及び/又はA1b-23(本明細書における配列番号:61)の内の少なくとも1つ(フレームワーク配列及びCDRの両方を考慮するが、任意のC末端伸長は考慮しない)に対して、少なくとも80%、好ましくは少なくとも85%、より好ましくは少なくとも90%、例えば、少なくとも95%の配列同一性を有する、血清アルブミン(及び特に、ヒト血清アルブミン)に結合する(及び特に、特異的に結合する)ことができる、(本明細書で定義された)本発明のナノボディに関し、ここで、89位におけるアミノ酸残基は、Lであり、110位におけるアミノ酸残基は、K又はQであり、場合により、そのC末端において、C末端伸長(X)<sub>n</sub>[同伸長中、nは、1~10、好ましくは、1~5、例えば、1、2、3、4、又は5(及び好ましくは、1又は2、例えば、1)であり、各Xは、(好ましくは、天然の)アミノ酸残基であり、アラニン(A)、グリシン(G)、バリン(V)、ロイシン(L)、又はイソロイシン(I)から独立して選択され、好ましくは、これらからなる群より独立して選択される]を含有し(再度、このようなC末端伸長は、好ましくは、本明細書で更に記載された通りであり、また再度、このようなナノボディは、例えば、本明細書で言及された1つ以上の他の特定のアミノ酸残基/置換、例えば、11L、L11V、L11K、14A、P14A、14P、A14P、108L、及び/又はQ108L;ならびにS112K又はS112Qを含有することができ、ただし通常は、89位がLであり、110位がK又はQである場合、112位における更なる置換の存在は、多くの場合、必ずしも必要ではないであろう。その場合には、112位は、好ましくは、Sである)。再度、本発明のこのようなナノボディは、好ましくは、A1b-1のヒト化変異体(ただし、V89L及びT110K又はT110Q置換を有する)であり、より好ましくは、

10

20

30

40

50

少なくとも1つ、特に任意の2つ、およびとりわけ、3つ全ての、配列番号：41～43のそれぞれで提供されたCDR1、CDR2、及び/又はCDR3を有する。血清アルブミンに対するこれらのVHドメインにおいて、112位におけるアミノ酸は、好ましくは、Sであり、前記VHドメインは、好ましくは、配列番号：95～98の内の1つであるC末端を有する。また、(i)41位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、41位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、プロリン(P)、セリン(S)、スレオニン(T)、アラニン(A)、又はロイシン(L)であることができる(又は、これらから選択することができる)。これらのアミノ酸残基は、ヒト又はラマのいずれかにおけるこの位置に最も頻繁に生じるアミノ酸残基の一部であり、とりわけ、プロリン(P)又はアラニン(A)のいずれかであることができる。及び/又は、(iii)42位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、42位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、グリシン(G)又はグルタミン酸(E)であることができる(又は、これらから選択することができる)。及び/又は、(iii)87位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-7で言及された、87位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、スレオニン(T)又はアラニン(A)であることができる(又は、これらから選択することができる)。

10

#### 【0103】

20

具体的な一態様によれば、89位にL及び110位にK又はQを有する本発明の任意のこのような血清アルブミン結合ナノボディは、国際公開公報第12/175400号に記載されたAlb-23の特徴を有するアミノ酸残基及びその変異体(すなわち、44及び45位におけるアミノ酸モチーフGP、74～76位におけるアミノ酸モチーフSKN、ならびに好ましくは、16位におけるG、また及び場合により、83位におけるR)も有することができる。また、(i)41位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、41位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、プロリン(P)、セリン(S)、スレオニン(T)、アラニン(A)、又はロイシン(L)であることができる(又は、これらから選択することができる)。これらのアミノ酸残基は、ヒト又はラマのいずれかにおけるこの位置に最も頻繁に生じるアミノ酸残基の一部であり、とりわけ、プロリン(P)又はアラニン(A)のいずれかであることができる。及び/又は、(iii)42位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、42位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、グリシン(G)又はグルタミン酸(E)であることができる(又は、これらから選択することができる)。及び/又は、(iii)87位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-7で言及された、87位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、スレオニン(T)又はアラニン(A)であることができる(又は、これらから選択することができる)。

30

40

#### 【0104】

112位にQ又はKを含有するか、又は、89位にTを有する本発明のVHドメインについてと同様に、89位にL及び110位にK又はQを含有する本発明のVHドメインは、既存の抗体による、及び特に、C末端伸長の存在下においてVHドメイン及びナノボディに結合可能な(例えば、SLE患者から得られたサンプル中に見出された)このような既存の抗体による低下した結合を示す。

#### 【0105】

89位にL及び110位にK(及び加えて、11位にV)を有する本発明のVHドメインの一部の非限定的な例は、配列番号：123～136として、図2に提供されている。これらは、ヒト血清アルブミンに結合するVHドメインであり、本発明の好ましい血清ア

50

ルブミン結合VHドメインについて本明細書で示したCDRを有する。

【0106】

更に別の態様では、本発明は、89位(Kabatナンバリング)におけるアミノ酸残基がロイシン(L)であり、11位におけるアミノ酸残基がバリン(V)である、免疫グロブリン重鎖可変ドメイン(VHドメイン)に関する。また、89位にL及び11位にVを有するこのような免疫グロブリン重鎖可変ドメイン(VHドメイン)は、その最も広い意味において本明細書で使用するとき、「本発明のVHドメイン」という用語に含まれ、更に、本明細書に記載された本発明の他のVHドメイン(すなわち、112位にKもしくはQを含むもの、89位にTを含むもの、又は、89位にL及び110位にKもしくはQを含むもの)について、本明細書に記載された通りであることができる。本態様のVHドメインについてのそれにも関わらず、89位におけるアミノ酸残基は、Lであろうし、11位におけるアミノ酸残基は、Vであろうし、110及び112位におけるアミノ酸残基はそれぞれ、これらの位置に適した任意のアミノ酸残基であることができる。したがって、このような免疫グロブリン重鎖可変ドメイン(VHドメイン)は、本明細書で更に記載されたC末端伸長(このようなC末端伸長について示された選択を含む)を有することができる、本明細書で更に記載されたISVD、及び特に、ナノボディであることができる。

10

【0107】

再度、本発明のこのようなVHドメインが、露出したC末端領域を有する(例えば、本発明のVHドメインは、それが存在するタンパク質、ポリペプチド、又は他の構築物のC末端を形成するためである)場合、本発明のVHドメインは、好ましくは、C末端伸長を含有する(以下の表Cに示されたデータが参照される)。

20

【0108】

また、89位がLであり、11位がVである(すなわち、C末端伸長の有無に関わらず)本発明のナノボディは、(i)好ましくは、T、I、A、K、又はQから選択される(及び好ましくは、T、K、又はQから選択される、及び特に、Tであることができる)110位におけるアミノ酸を含有し、(ii)好ましくは、S、F、K、又はQから選択される(及びより好ましくは、S、K、又はQから選択される、及び特に、Sであることができる)112位におけるアミノ酸を含有し、ならびに(iii)例えば、P14AもしくはA14P置換、及び/又は、Q108L置換も含有することもできる。具体的な一実施態様によれば、本発明のこの態様におけるVHドメインにおいて、110位におけるアミノ酸残基は、Tであり、112位におけるアミノ酸残基は、Sであり、より好ましくは、C末端は、VTVSS(配列番号:77)又はVTVSS(X)n(配列番号:78)のいずれかである。ここで、X及びnは、本発明の他のVHドメインのC末端伸長について本明細書で定義された通りである。また、本発明のこの態様におけるVHドメインにおいて、(i)41位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、41位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、プロリン(P)、セリン(S)、スレオニン(T)、アラニン(A)、又はロイシン(L)であることができる(又は、これらから選択することができる)。これらのアミノ酸残基は、ヒト又はラマのいずれかにおけるこの位置に最も頻繁に生じるアミノ酸残基の一部であり、とりわけ、プロリン(P)又はアラニン(A)のいずれかであることができる。及び/又は、(ii)42位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、42位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、グリシン(G)又はグルタミン酸(E)であることができる(又は、これらから選択することができる)。及び/又は、(iii)87位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-7で言及された、87位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、スレオニン(T)又はアラニン(A)であることができる(又は、これらから選択することができる)。

30

40

【0109】

50

このため、例えば、89がLであり、11がVである、本発明のこのようなVHドメインにおいて、このようなVHドメインのC末端は、VTVSS（配列番号：77）、VTVSS(X)n（配列番号：78）、VTVKS（配列番号：1）、VTVKS(X)n（配列番号：21）、VTVQS（配列番号：2）、VTVQS(X)n（配列番号：22）、VKVSS（配列番号：95）、VKVSS(X)n（配列番号：97）、VQVSS（配列番号：96）、VQVSS(X)n（配列番号：98）、VZVZS（配列番号：107、同配列中、各アミノ酸残基Zは、独立して、K又はQである）、又はVZVZSX(n)（配列番号：108、同配列中、各アミノ酸残基Zは、独立して、K又はQである）の内の1つであることができる（及び好ましくは、これらの内の1つであり）（及び特に、VTVSS、VKVSS（配列番号：95）、VQVSS（配列番号：96）、VKVSS(X)n（配列番号：97）、又はVQVSS(X)n（配列番号：98）の内の1つであり、及びとりわけ、VTVSS（配列番号：77）又はVTVSS(X)n（配列番号：78）のいずれかであることができる）。ここで、n及びXは、112位がQ又はKである、本発明のVHドメインについて本明細書で更に記載された通りであり（及びここで、任意のC末端伸長は、好ましくは、112位がQ又はKである、本発明VHドメインについて本明細書で更に記載された通りである）。また、112位がQ又はKであるか、又は、89位がLである本発明VHドメインについての場合と同様に、89位にL及び11位にVを有するこのようなVHドメインがナノボディである場合、14位は、特に、アラニン（A）又はプロリン（P）であることができ、108位は、Q又はLであることができる（及び、ヒト化ナノボディでは、好ましくは、Lである）。89位にL及び11位にVを有するこのようなナノボディは、1つ以上のナノボディホールマーク残基を含有することができ、及び/又は、適切にヒト化されていることができる。また、(i)41位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、41位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基）の内の1つであることができ、特に、プロリン（P）、セリン（S）、スレオニン（T）、アラニン（A）、又はロイシン（L）であることができる（又は、これらから選択することができる）。これらのアミノ酸残基は、ヒト又はラマのいずれかにおけるこの位置に最も頻繁に生じるアミノ酸残基の一部であり、とりわけ、プロリン（P）又はアラニン（A）のいずれかであることができる。及び/又は、(ii)42位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、42位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基）の内の1つであることができ、特に、グリシン（G）又はグルタミン酸（E）であることができる（又は、これらから選択することができる）。及び/又は、(iii)87位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-7で言及された、87位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基）の内の1つであることができ、特に、スレオニン（T）又はアラニン（A）であることができる（又は、これらから選択することができる）。

#### 【0110】

89位にL及び11位にVを有する本発明のこのようなVHドメインは、再度、本明細書で更に記載された血清アルブミンナノボディであることもできる。例えば、このような血清アルブミン結合ナノボディは、配列番号：46～75の配列の内の1つ（ただし、89位にL及び11位にVを有する）、又は、Alb-1（国際公開公報第2006/122787号の配列番号：52）、Alb-8（本明細書における配列番号：46）、及び/又はAlb-23（本明細書における配列番号：61）の内の少なくとも1つ（フレームワーク配列及びCDRの両方を考慮するが、任意のC末端伸長は考慮しない）に対して、少なくとも80%、好ましくは少なくとも85%、より好ましくは少なくとも90%、例えば、少なくとも95%の配列同一性を有する、89位にL及び11位にVを有する別の血清アルブミン結合ナノボディであることができる。

#### 【0111】

より一般的には、本発明におけるこの態様の血清アルブミンに対するVHドメインは、

10

20

30

40

50

国際公開公報第2004/041865号、及び特に、同第2006/122787号及び同第2012/175400号(全て出願人/譲受人の出願)に記載された(ヒト)血清アルブミンに対するナノボディの内の1つであることができ、ここで、89位におけるアミノ酸は、ロイシン(L)であり、11位におけるアミノ酸残基は、Vであり、場合により、本明細書に記載されたC末端伸長を備えている(及び、例えば、本明細書で言及された1つ以上の他の特定のアミノ酸残基/置換、例えば、14A、P14A、14P、A14P、108L、Q108L、V110K、V110Q、S112K、及び/又はS112Qを適切に含有することもできる)。またさらに、本発明は、他の血清アルブミン結合重鎖ISVD、例えば、国際公開公報第03/035694号、同第04/003019号、同第05/118642号、同第06/059106号、同第08/096158号、同第09/121804号、同第10/108937号、又は米国特許出願公開公報第2013/0129727号に記載されたものに、すなわち、89位にロイシン(L)及び11位にバリン、ならびに場合により、本明細書に記載された1つ以上の他のアミノ酸残基/置換を適切に導入すること、及び場合により(及び通常、好ましくは、本明細書で概説されたように)(本明細書で更に記載された)C末端伸長を付加することにより、適用することもできると想定される。血清アルブミンに対するこれらのVHドメインにおいて、112位におけるアミノ酸は、好ましくは、Sである。前記VHドメインは、好ましくは、配列番号:95~98の内の1つであるC末端を有する。また、(i)41位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、41位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、プロリン(P)、セリン(S)、スレオニン(T)、アラニン(A)、又はロイシン(L)であることができる(又は、これらから選択することができる)。これらのアミノ酸残基は、ヒト又はラマのいずれかにおけるこの位置に最も頻繁に生じるアミノ酸残基の一部であり、とりわけ、プロリン(P)又はアラニン(A)のいずれかであることができる。及び/又は、(ii)42位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、42位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、グリシン(G)又はグルタミン酸(E)であることができる(又は、これらから選択することができる)。及び/又は、(iii)87位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-7で言及された、87位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、スレオニン(T)又はアラニン(A)であることができる(又は、これらから選択することができる)。

#### 【0112】

本発明のこのような血清アルブミン結合ナノボディにおける一部の好ましく、非限定的な例は、国際公開公報第2006/122787号における配列番号:52のアミノ酸配列のヒト化変異体(国際公開公報第2006/122787号において「Alb-1」と呼ばれる)(同変異体中、89位におけるアミノ酸は、Lであり、11位におけるアミノ酸は、Vである(及び、同変異体は、場合により、本明細書に記載されたC末端伸長を備えている))、例えば、国際公開公報第2006/122787号における配列番号:57~64に提供されたAlb-1のヒト化変異体(各場合において、V89L置換及びL11V置換を有し、場合により、C末端伸長を有する)、又は、国際公開公報第2012/175400号の配列番号:3~11に提供されたAlb-1のヒト化変異体(再度、各場合において、V89L置換及びL11Vを有する)である。同変異体の内、配列番号:3、4、及び5は、場合により、C末端伸長を含有することができ、配列番号:6~11は、C末端伸長を予め含有している(及び再度、このような変異体は、本明細書で言及された1つ以上の他の特定のアミノ酸残基/置換、例えば、14A、P14A、14P、A14P、108L、Q108L、T110K、T110Q、S112K、及び/又はS112Qを適切に含有することもできる)。89位にL及び11位にVを有する血清アルブミンに対するこれらのVHドメインにおいて、110位におけるアミノ酸は、好ましく

10

20

30

40

50

は、Tであり、112位におけるアミノ酸残基は、好ましくは、Sである。前記VHドメインは、好ましくは、配列番号：95～98の内の1つであるC末端を有する。また、(i)41位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、41位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、プロリン(P)、セリン(S)、スレオニン(T)、アラニン(A)、又はロイシン(L)であることができる(又は、これらから選択することができる)。これらのアミノ酸残基は、ヒト又はラマのいずれかにおけるこの位置に最も頻繁に生じるアミノ酸残基の一部であり、とりわけ、プロリン(P)又はアラニン(A)のいずれかであることができる。及び/又は、(ii)42位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、42位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、グリシン(G)又はグルタミン酸(E)であることができる(又は、これらから選択することができる)。及び/又は、(iii)87位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-7で言及された、87位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、スレオニン(T)又はアラニン(A)であることができる(又は、これらから選択することができる)。

10

#### 【0113】

このため、更なる態様では、本発明は、血清アルブミン(及び特に、ヒト血清アルブミン)に結合する(及び特に、特異的に結合する)ことができる、(本明細書で定義された)本発明のナノボディに関し、ここで、

20

- CDR1は、アミノ酸配列SFGMS(配列番号：41)であり；

- CDR2は、アミノ酸配列SISGSGSDTLYADSVKG(配列番号：42)であり；

- CDR3は、アミノ酸配列GGSLSR(配列番号：43)であり；

- 89位におけるアミノ酸残基は、Lであり、

- 11位におけるアミノ酸残基は、Vであり、

ここで、好ましくは、

- 110位におけるアミノ酸残基は、K、Q、又はTの内の1つ、及びより好ましくは、Tであり、

30

- 112位におけるアミノ酸残基は、K、Q、又はSの内の1つ、及びより好ましくは、Sであり、

場合により、そのC末端において、C末端伸張(X)<sub>n</sub>[同伸長中、nは、1～10、好ましくは、1～5、例えば、1、2、3、4、又は5(及び好ましくは、1又は2、例えば、1)であり、各Xは、(好ましくは、天然の)アミノ酸残基であり、アラニン(A)、グリシン(G)、バリン(V)、ロイシン(L)、又はイソロイシン(I)から独立して選択され、好ましくは、これらからなる群より独立して選択される]を含有し(再度、このようなC末端伸張は、好ましくは、本明細書で更に記載された通りであり、また再度、このようなナノボディは、例えば、本明細書で言及された1つ以上の他の特定のアミノ酸残基/置換、例えば、14A、P14A、14P、A14P、108L、Q108Lを適切に含有することができる)。再度、89位にL及び11位にVを有する血清アルブミンに対するこれらのVHドメインにおいて、110位におけるアミノ酸は、好ましくは、Tであり、112位におけるアミノ酸は、好ましくは、Sであり、前記VHドメインは、好ましくは、配列番号：95～98の内の1つであるC末端を有する。また、(i)41位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、41位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、プロリン(P)、セリン(S)、スレオニン(T)、アラニン(A)、又はロイシン(L)であることができる(又は、これらから選択することができる)。これらのアミノ酸残基は、ヒト又はラマのいずれかにおけるこの位置に最も頻繁に生じるアミノ酸残基の一部であり、とりわけ、プロリン(P)又はアラニン(A)

40

50

のいずれかであることができる。及び/又は、( i i ) 4 2 位は、例えば、国際公開公報第 0 8 / 0 2 0 0 7 9 号の表 A - 6 で言及された、4 2 位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒト V H 3 残基及び/又はラクダ化 V H H 残基）の内の 1 つであることができ、特に、グリシン（G）又はグルタミン酸（E）であることができる（又は、これらから選択することができる）。及び/又は、( i i i ) 8 7 位は、例えば、国際公開公報第 0 8 / 0 2 0 0 7 9 号の表 A - 7 で言及された、8 7 位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒト V H 3 残基及び/又はラクダ化 V H H 残基）の内の 1 つであることができ、特に、スレオニン（T）又はアラニン（A）であることができる（又は、これらから選択することができる）。

#### 【 0 1 1 4 】

特定の態様では、本発明は、国際公開公報第 2 0 0 6 / 1 2 2 7 8 7 号における配列番号：5 2 のヒト化変異体である血清アルブミン（及び特に、ヒト血清アルブミン）に結合する（及び特に、特異的に結合する）ことができる、（本明細書で定義された）本発明のナノボディに関し、ここで、

- C D R 1 は、アミノ酸配列 S F G M S（配列番号：4 1）であり；

- C D R 2 は、アミノ酸配列 S I S G S G S D T L Y A D S V K G（配列番号：4 2）であり；

- C D R 3 は、アミノ酸配列 G G S L S R（配列番号：4 3）であり；

- 8 9 位におけるアミノ酸残基は、L であり、

- 1 1 位におけるアミノ酸残基は、V であり、

及び好ましくは、

- 1 1 0 位におけるアミノ酸残基は、K、Q、又は T の内の 1 つ、及びより好ましくは、T であり、

- 1 1 2 位におけるアミノ酸残基は、K、Q、又は S の内の 1 つ、及びより好ましくは、S であり、

場合により、その C 末端において、C 末端伸張（X）<sub>n</sub> [ 同伸長中、n は、1 ~ 1 0、好ましくは、1 ~ 5、例えば、1、2、3、4、又は 5（及び好ましくは、1 又は 2、例えば、1）であり、各 X は、（好ましくは、天然の）アミノ酸残基であり、アラニン（A）、グリシン（G）、バリン（V）、ロイシン（L）、又はイソロイシン（I）から独立して選択され、好ましくは、これらからなる群より独立して選択される ] を含有し（再度、このような C 末端伸長は、好ましくは、本明細書で更に記載された通りであり、また再度、このようなナノボディは、例えば、本明細書で言及された 1 つ以上の他の特定のアミノ酸残基 / 置換、例えば、1 1 L、L 1 1 V、L 1 1 K、1 4 A、P 1 4 A、1 4 P、A 1 4 P、1 0 8 L、及び/又は Q 1 0 8 L を含有することができる）。8 9 位に L 及び 1 1 位に V を有する血清アルブミンに対するこれらの V H ドメインにおいて、1 1 0 位におけるアミノ酸残基は、好ましくは、T であり、1 1 2 位におけるアミノ酸残基は、好ましくは、S であり、前記 V H ドメインは、好ましくは、配列番号：9 5 ~ 9 8 の内の 1 つである C 末端を有する。また、( i ) 4 1 位は、例えば、国際公開公報第 0 8 / 0 2 0 0 7 9 号の表 A - 6 で言及された、4 1 位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒト V H 3 残基及び/又はラクダ化 V H H 残基）の内の 1 つであることができ、特に、プロリン（P）、セリン（S）、スレオニン（T）、アラニン（A）、又はロイシン（L）であることができる（又は、これらから選択することができる）。これらのアミノ酸残基は、ヒト又はラマのいずれかにおけるこの位置に最も頻繁に生じるアミノ酸残基の一部であり、とりわけ、プロリン（P）又はアラニン（A）のいずれかであることができる。及び/又は、( i i ) 4 2 位は、例えば、国際公開公報第 0 8 / 0 2 0 0 7 9 号の表 A - 6 で言及された、4 2 位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒト V H 3 残基及び/又はラクダ化 V H H 残基）の内の 1 つであることができ、特に、グリシン（G）又はグルタミン酸（E）であることができる（又は、これらから選択することができる）。及び/又は、( i i i ) 8 7 位は、例えば、国際公開公報第 0 8 / 0 2 0 0 7 9 号の表 A - 7 で言及された、8 7 位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒト V H 3 残基及び/又はラクダ化 V H H 残基）の

10

20

30

40

50

内の1つであることができ、特に、スレオニン(T)又はアラニン(A)であることができる(又は、これらから選択することができる)。

【0115】

特定の態様では、本発明は、A1b-1(国際公開公報第2006/122787号の配列番号:52)、A1b-8(本明細書における配列番号:46)、及び/又はA1b-23(本明細書における配列番号:61)の内の少なくとも1つ(フレームワーク配列及びCDRの両方を考慮するが、任意のC末端伸長は考慮しない)に対して、少なくとも80%、好ましくは少なくとも85%、より好ましくは少なくとも90%、例えば、少なくとも95%の配列同一性を有する、血清アルブミン(及び特に、ヒト血清アルブミン)に結合する(及び特に、特異的に結合する)ことができる、(本明細書で定義された)本発明のナノボディに関し、ここで、89位におけるアミノ酸残基は、Lであり、11位におけるアミノ酸残基は、Vであり、場合により、そのC末端において、C末端伸張(X)<sub>n</sub>[同伸長中、nは、1~10、好ましくは、1~5、例えば、1、2、3、4、又は5(及び好ましくは、1又は2、例えば、1)であり、各Xは、(好ましくは、天然の)アミノ酸残基であり、アラニン(A)、グリシン(G)、バリン(V)、ロイシン(L)、又はイソロイシン(I)から独立して選択され、好ましくは、これらからなる群より独立して選択される]を含有し(再度、このようなC末端伸長は、好ましくは、本明細書で更に記載された通りであり、また再度、このようなナノボディは、例えば、本明細書で言及された1つ以上の他の特定のアミノ酸残基/置換、例えば、14A、P14A、14P、A14P、108L、Q108L、T110K、T110Q、S112K、及び/又はS112Qを適切に含有することができる)。再度、本発明のこのようなナノボディは、好ましくは、A1b-1のヒト化変異体(ただし、V89L及びL11V置換を有する)であり、より好ましくは、少なくとも1つ、特に任意の2つ、およびとりわけ、3つ全ての、配列番号:41~43のそれぞれで提供されたCDR1、CDR2、及び/又はCDR3を有する。血清アルブミンに対するこれらのVHドメインにおいて、112位におけるアミノ酸は、好ましくは、Sであり、前記VHドメインは、好ましくは、配列番号:95~98の内の1つであるC末端を有する。また、(i)41位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、41位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、プロリン(P)、セリン(S)、スレオニン(T)、アラニン(A)、又はロイシン(L)であることができる(又は、これらから選択することができる)。これらのアミノ酸残基は、ヒト又はラマのいずれかにおけるこの位置に最も頻繁に生じるアミノ酸残基の一部であり、とりわけ、プロリン(P)又はアラニン(A)のいずれかであることができる。及び/又は、(ii)42位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、42位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、グリシン(G)又はグルタミン酸(E)であることができる(又は、これらから選択することができる)。及び/又は、(iii)87位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-7で言及された、87位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、スレオニン(T)又はアラニン(A)であることができる(又は、これらから選択することができる)。

【0116】

具体的な一態様によれば、89位にL及び11位にVを有する本発明の任意のこのような血清アルブミン結合ナノボディは、国際公開公報第12/175400号に記載されたA1b-23の特徴を有するアミノ酸残基及びその変異体(すなわち、44及び45位におけるアミノ酸モチーフGP、74~76位におけるアミノ酸モチーフSKN、ならびに好ましくは、16位におけるG、また及び場合により、83位におけるR)も有することができる。また、(i)41位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、41位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、プロリン(P)、セリン(

10

20

30

40

50



S)、スレオニン(T)、アラニン(A)、又はロイシン(L)であることができる(又は、これらから選択することができる)。これらのアミノ酸残基は、ヒト又はラマのいずれかにおけるこの位置に最も頻繁に生じるアミノ酸残基の一部であり、とりわけ、プロリン(P)又はアラニン(A)のいずれかであることができる。及び/又は、(ii)42位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、42位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、グリシン(G)又はグルタミン酸(E)であることができる(又は、これらから選択することができる)。及び/又は、(iii)87位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-7で言及された、87位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、スレオニン(T)又はアラニン(A)であることができる(又は、これらから選択することができる)。

10

## 【0117】

112位にQ又はKを含有するか、又は、89位にTを有する本発明のVHドメインについてと同様に、89位にL及び11位にVを含有する本発明のVHドメインは、既存の抗体による、及び特に、C末端伸長の存在下においてVHドメイン及びナノボディに結合可能な(例えば、SLE患者から得られたサンプル中に見出された)このような既存の抗体による低下した結合を示す。89位がLであり、11位がVである本発明のVHドメインについて留意する1つの更なる事項は、これらの置換は、ヒトVHドメインにおいて、いくらかの頻度で生じることが公知であることである(11位については、国際公開公報第08/020079号の表A-5、及び、89位については、国際公開公報第08/020079号の表A-7を参照のこと)。

20

## 【0118】

11位にV及び89位にTを有する本発明のVHドメインの一部の非限定的な例は、配列番号:109~136として、図2に提供されている。これらのVHドメインの内、配列番号:123~136として提供された配列は、L11V及びV89L変異に加えて、T110K変異も含有する。これらは、ヒト血清アルブミンに結合するVHドメインであり、本発明の好ましい血清アルブミン結合VHドメインについて本明細書で示されたCDRを有する。

## 【0119】

更なる態様では、本発明は、VHドメイン(及び特に、ISVDであるVHドメイン、及びとりわけ、ナノボディであるVHドメイン)に関し、ここで、

- 11位におけるアミノ酸残基は、Vであり、及び、
- 14位におけるアミノ酸残基は、A又はPの一方であり、及び、
- 41位におけるアミノ酸残基は、A又はPの一方であり、及び、
- 89位におけるアミノ酸残基は、Lであり、及び、
- 108位におけるアミノ酸残基は、Q又はLの一方であり、及び、
- 110位におけるアミノ酸残基は、T、K、又はQの内の1つであり、及び、
- 112位におけるアミノ酸残基は、S、K、又はQの内の1つであり、

30

ここで、前記VHドメインは、場合により、C末端伸長(X)<sub>n</sub>[同伸長中、nは、1~10、好ましくは、1~5、例えば、1、2、3、4、又は5(及び好ましくは、1又は2、例えば、1)であり、各Xは、(好ましくは、天然の)アミノ酸残基であり、アラニン(A)、グリシン(G)、バリン(V)、ロイシン(L)、又はイソロイシン(I)から独立して選択され、好ましくは、これらからなる群より独立して選択される]を含有する(このC末端伸長は、好ましくは、本明細書で更に記載された通りである)。また、(i)42位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、42位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、グリシン(G)又はグルタミン酸(E)であることができる(又は、これらから選択することができる)。及び/又は、(ii)87位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-7で言及された、87位に

40

50

ついでのアミノ酸残基（すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基）の内の1つであることができ、特に、スレオニン（T）又はアラニン（A）であることができる（又は、これらから選択することができる）。好ましくは、この段落のVHドメインにおいて、110位におけるアミノ酸残基は、Tであり、112位におけるアミノ酸残基は、Sである。再度、本発明の他のVHドメインについてと同様に、このようなVHドメインは、任意の適切なターゲット（及び特に、治療関連ターゲット）に対することができる。具体的な一態様によれば、このようなVHドメインは、血清アルブミンに対する。

【0120】

更なる態様では、本発明は、VHドメイン（及び特に、ISVDであるVHドメイン、及びとりわけ、ナノボディであるVHドメイン）に関し、ここで、

- 11位におけるアミノ酸残基は、L、V、又はKの内の1つであり、及び、
- 14位におけるアミノ酸残基は、A又はPの一方であり、及び、
- 41位におけるアミノ酸残基は、A又はPの一方であり、及び、
- 89位におけるアミノ酸残基は、T、V、又はLの内の1つであり、及び、
- 108位におけるアミノ酸残基は、Q又はLの一方であり、及び、
- 110位におけるアミノ酸残基は、T、K、又はQの内の1つであり、及び、
- 112位におけるアミノ酸残基は、S、K、又はQの内の1つであり、

ここで、下記のいずれかであり、(i) 112位におけるアミノ酸残基は、KもしくはQの一方であり、及び/又は、(ii) 89位におけるアミノ酸残基は、Tであり、及び/又は、(iii) 89位におけるアミノ酸残基は、Lであり、110位におけるアミノ酸残基は、KもしくはQの一方であり、及び、(iv) (i) ~ (iii) の各場合において、11位におけるアミノ酸は、好ましくは、Vであり、

ここで、前記VHドメインは、場合により、C末端伸長(X)<sub>n</sub> [同伸長中、nは、1~10、好ましくは、1~5、例えば、1、2、3、4、又は5（及び好ましくは、1又は2、例えば、1）]であり、各Xは、（好ましくは、天然の）アミノ酸残基であり、アラニン（A）、グリシン（G）、バリン（V）、ロイシン（L）、又はイソロイシン（I）から独立して選択され、好ましくは、これらからなる群より独立して選択される]を含有する（このC末端伸長は、好ましくは、本明細書で更に記載された通りである）。また、(i) 42位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、42位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基）の内の1つであることができ、特に、グリシン（G）又はグルタミン酸（E）であることができる（又は、これらから選択することができる）。及び/又は、(ii) 87位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-7で言及された、87位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基）の内の1つであることができ、特に、スレオニン（T）又はアラニン（A）であることができる（又は、これらから選択することができる）。本発明の別の態様は、この段落に記載された、VHドメイン（及び特に、ISVDであるVHドメイン、及びとりわけ、ナノボディであるVHドメイン）に関し、ここで、11位におけるアミノ酸残基は、Vであり、110位におけるアミノ酸残基は、K又はQのいずれかであり（及びここで、14、41、89、108、及び112位におけるアミノ酸残基は、上記ピュレットで列記された通りであることができ、42及び87位におけるアミノ酸残基は、例えば、この段落に記載された通りであることができ、このVHドメインは、場合により、この段落に記載されたC末端伸長(X)<sub>n</sub>を含有することができる）。

【0121】

更なる態様では、本発明は、VHドメイン（及び特に、ISVDであるVHドメイン、及びとりわけ、ナノボディであるVHドメイン）に関し、ここで、

- 11位におけるアミノ酸残基は、L、V、又はKの内の1つであり、及び、
- 14位におけるアミノ酸残基は、A又はPの一方であり、及び、
- 41位におけるアミノ酸残基は、A又はPの一方であり、及び、
- 89位におけるアミノ酸残基は、T、V、又はLの内の1つであり、及び、

- 108位におけるアミノ酸残基は、Q又はLの一方であり、及び、
- 110位におけるアミノ酸残基は、T、K、又はQの内の1つであり、及び、
- 112位におけるアミノ酸残基は、S、K、又はQの内の1つであり、

ここで、下記のいずれかであり、(i)112位におけるアミノ酸残基は、KもしくはQの一方であり、89位におけるアミノ酸残基は、T、V、又はLの内の1つであり(及び好ましくは、Vであり)、110位におけるアミノ酸残基は、T、K、又はQの内の1つであり(及び好ましくは、Tであり)、及び/又は、(ii)89位におけるアミノ酸残基は、Tであり、112位におけるアミノ酸残基は、S、K、又はQの内の1つであり(及び好ましくは、Sであり)、110位におけるアミノ酸残基は、T、K、又はQの内の1つであり(及び好ましくは、Tであり)、及び/又は、(iii)89位におけるアミノ酸残基は、Lであり、110位におけるアミノ酸残基は、KもしくはQの一方であり、112位におけるアミノ酸残基は、S、K、又はQの内の1つであり(及び好ましくは、Sであり)、及び、(iv)(i)~(iii)の各場合において、11位におけるアミノ酸は、好ましくは、Vであり、

10

ここで、前記VHドメインは、場合により、C末端伸長(X)<sub>n</sub>[同伸長中、nは、1~10、好ましくは、1~5、例えば、1、2、3、4、又は5(及び好ましくは、1又は2、例えば、1)であり、各Xは、(好ましくは、天然の)アミノ酸残基であり、アラニン(A)、グリシン(G)、バリン(V)、ロイシン(L)、又はイソロイシン(I)から独立して選択され、好ましくは、これらからなる群より独立して選択される]を含有する(このC末端伸長は、好ましくは、本明細書で更に記載された通りである)。また、(i)42位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、42位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、グリシン(G)又はグルタミン酸(E)であることができる(又は、これらから選択することができる)。及び/又は、(ii)87位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-7で言及された、87位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、スレオニン(T)又はアラニン(A)であることができる(又は、これらから選択することができる)。本発明の別の態様は、この段落に記載された、VHドメイン(及び特に、ISVDであるVHドメイン、及びとりわけ、ナノボディであるVHドメイン)に関し、ここで、11位におけるアミノ酸残基は、Vであり、110位におけるアミノ酸残基は、K又はQのいずれかであり(及びここで、14、41、89、108、及び112位におけるアミノ酸残基は、上記ピュレットで列記された通りであることができ、42及び87位におけるアミノ酸残基は、例えば、この段落に記載された通りであることができ、このVHドメインは、場合により、この段落に記載されたC末端伸長(X)<sub>n</sub>を含有することができる)。

20

30

【0122】

更なる態様では、本発明は、VHドメイン(及び特に、ISVDであるVHドメイン、及びとりわけ、ナノボディであるVHドメイン)に関し、ここで、

- 11位におけるアミノ酸残基は、L、V、又はKの内の1つであり、及び、
- 14位におけるアミノ酸残基は、A又はPの一方であり、及び、
- 41位におけるアミノ酸残基は、A又はPの一方であり、及び、
- 89位におけるアミノ酸残基は、T、V、又はLの内の1つであり、及び、
- 108位におけるアミノ酸残基は、Q又はLの一方であり、及び、
- 110位におけるアミノ酸残基は、T、K、又はQの内の1つであり、及び、
- 112位におけるアミノ酸残基は、S、K、又はQの内の1つであり、

40

ここで、下記のいずれかであり、(i)112位におけるアミノ酸残基は、KもしくはQの一方であり、又は、(ii)89位におけるアミノ酸残基は、Tであり、又は、(iii)89位におけるアミノ酸残基は、Lであり、110位におけるアミノ酸残基は、KもしくはQの一方であり、及び、(iv)(i)~(iii)の各場合において、11位におけるアミノ酸は、好ましくは、Vであり、

50

ここで、前記V Hドメインは、場合により、C末端伸長(X)<sub>n</sub> [同伸長中、nは、1 ~ 10、好ましくは、1 ~ 5、例えば、1、2、3、4、又は5 (及び好ましくは、1又は2、例えば、1) であり、各Xは、(好ましくは、天然の)アミノ酸残基であり、アラニン(A)、グリシン(G)、バリン(V)、ロイシン(L)、又はイソロイシン(I)から独立して選択され、好ましくは、これらからなる群より独立して選択される]を含有する(このC末端伸長は、好ましくは、本明細書で更に記載された通りである)。また、(i)42位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、42位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトV H3残基及び/又はラクダ化V H H残基)の内の1つであることができ、特に、グリシン(G)又はグルタミン酸(E)であることができる(又は、これらから選択することができる)。及び/又は、(ii)87位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-7で言及された、87位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトV H3残基及び/又はラクダ化V H H残基)の内の1つであることができ、特に、スレオニン(T)又はアラニン(A)であることができる(又は、これらから選択することができる)。本発明の別の態様は、この段落で記載された、V Hドメイン(及び特に、I S V DであるV Hドメイン、及びとりわけ、ナノボディであるV Hドメイン)に関し、ここで、11位におけるアミノ酸残基は、Vであり、110位におけるアミノ酸残基は、K又はQのいずれかであり(及びここで、14、41、89、108、及び112位におけるアミノ酸残基は、上記ピュレットで列記された通りであることができ、42及び87位におけるアミノ酸残基は、例えば、この段落で記載された通りであることができ、このV Hドメインは、場合により、この段落で記載されたC末端伸長(X)<sub>n</sub>を含有することができる)。

10

20

【0123】

更なる態様では、本発明は、V Hドメイン(及び特に、I S V DであるV Hドメイン、及びとりわけ、ナノボディであるV Hドメイン)に関し、ここで、

- 11位におけるアミノ酸残基は、L、V、又はKの内の1つであり、及び、
- 14位におけるアミノ酸残基は、A又はPの一方であり、及び、
- 41位におけるアミノ酸残基は、A又はPの一方であり、及び、
- 89位におけるアミノ酸残基は、T、V、又はLの内の1つであり、及び、
- 108位におけるアミノ酸残基は、Q又はLの一方であり、及び、
- 110位におけるアミノ酸残基は、T、K、又はQの内の1つであり、及び、
- 112位におけるアミノ酸残基は、S、K、又はQの内の1つであり、

30

ここで、下記のいずれかであり、(i)112位におけるアミノ酸残基は、KもしくはQの一方であり、89位におけるアミノ酸残基は、T、V、又はLの内の1つであり(及び好ましくは、Vであり)、110位におけるアミノ酸残基は、T、K、又はQの内の1つであり(及び好ましくは、Tであり)、又は、(ii)89位におけるアミノ酸残基は、Tであり、112位におけるアミノ酸残基は、S、K、又はQの内の1つであり(及び好ましくは、Sであり)、110位におけるアミノ酸残基は、T、K、又はQの内の1つであり(及び好ましくは、Tであり)、又は、(iii)89位におけるアミノ酸残基は、Lであり、110位におけるアミノ酸残基は、KもしくはQの一方であり、112位におけるアミノ酸残基は、S、K、又はQの内の1つであり(及び好ましくは、Sであり)、及び、(iv)(i)~(iii)の各場合において、11位におけるアミノ酸残基は、好ましくは、Vであり、

40

ここで、前記V Hドメインは、場合により、C末端伸長(X)<sub>n</sub> [同伸長中、nは、1 ~ 10、好ましくは、1 ~ 5、例えば、1、2、3、4、又は5 (及び好ましくは、1又は2、例えば、1) であり、各Xは、(好ましくは、天然の)アミノ酸残基であり、アラニン(A)、グリシン(G)、バリン(V)、ロイシン(L)、又はイソロイシン(I)から独立して選択され、好ましくは、これらからなる群より独立して選択される]を含有する(このC末端伸長は、好ましくは、本明細書で更に記載された通りである)。また、(i)42位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、42位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトV H3残基及び/又はラクダ化V H H

50

残基)の内の1つであることができ、特に、グリシン(G)又はグルタミン酸(E)であることができる(又は、これらから選択することができる)。及び/又は、(ii)87位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-7で言及された、87位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、スレオニン(T)又はアラニン(A)であることができる(又は、これらから選択することができる)。本発明の別の態様は、この段落に記載された、VHドメイン(及び特に、ISVDであるVHドメイン、及びとりわけ、ナノボディであるVHドメイン)に関し、ここで、11位におけるアミノ酸残基は、Vであり、110位におけるアミノ酸残基は、K又はQのいずれかであり(及びここで、14、41、89、108、及び112位におけるアミノ酸残基は、上記ピュレットで列記された通りであることができ、42及び87位におけるアミノ酸残基は、例えば、この段落に記載された通りであることができ、このVHドメインは、場合により、この段落に記載されたC末端伸長(X)<sub>n</sub>を含有することができる)。

10

#### 【0124】

更なる態様では、本発明は、VHドメイン(及び特に、ISVDであるVHドメイン、及びとりわけ、ナノボディであるVHドメイン)に関し、ここで、

- 11位におけるアミノ酸残基は、L、V、又はKの内の1つであり、及び、
- 14位におけるアミノ酸残基は、A又はPの一方であり、及び、
- 41位におけるアミノ酸残基は、A又はPの一方であり、及び、
- 89位におけるアミノ酸残基は、T、V、又はLの内の1つであり、及び、
- 108位におけるアミノ酸残基は、Q又はLの一方であり、及び、
- 110位におけるアミノ酸残基は、T、K、又はQの内の1つであり、及び、
- 112位におけるアミノ酸残基は、S、K、又はQの内の1つであり、

20

ここで、下記のいずれかであり、(i)112位におけるアミノ酸残基は、KもしくはQの一方であり、89位におけるアミノ酸残基は、Vであり、110位におけるアミノ酸残基は、Tであり、又は、(ii)89位におけるアミノ酸残基は、Tであり、112位におけるアミノ酸残基は、Sであり、110位におけるアミノ酸残基は、Tであり、又は、(iii)89位におけるアミノ酸残基は、Lであり、110位におけるアミノ酸残基は、KもしくはQの一方であり、112位におけるアミノ酸残基は、Sであり(及び好ましくは、Sであり)、及び、(iv)(i)~(iii)の各場合において、11位におけるアミノ酸は、好ましくは、Vであり、

30

ここで、前記VHドメインは、場合により、C末端伸長(X)<sub>n</sub>[同伸長中、nは、1~10、好ましくは、1~5、例えば、1、2、3、4、又は5(及び好ましくは、1又は2、例えば、1)であり、各Xは、(好ましくは、天然の)アミノ酸残基であり、アラニン(A)、グリシン(G)、バリン(V)、ロイシン(L)、又はイソロイシン(I)から独立して選択され、好ましくは、これらからなる群より独立して選択される]を含有する(このC末端伸長は、好ましくは、本明細書で更に記載された通りである)。また、(i)42位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、42位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、グリシン(G)又はグルタミン酸(E)であることができる(又は、これらから選択することができる)。及び/又は、(ii)87位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-7で言及された、87位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、スレオニン(T)又はアラニン(A)であることができる(又は、これらから選択することができる)。本発明の別の態様は、この段落に記載された、VHドメイン(及び特に、ISVDであるVHドメイン、及びとりわけ、ナノボディであるVHドメイン)に関し、ここで、11位におけるアミノ酸残基は、Vであり、110位におけるアミノ酸残基は、K又はQのいずれかであり(及びここで、14、41、89、108、及び112位におけるアミノ酸残基は、上記ピュレットで列記された通りであることができ、42及び87位におけるアミノ酸残基は、例えば、この段落に記載さ

40

50

れた通りであることができ、このV Hドメインは、場合により、この段落で記載されたC末端伸長(X)<sub>n</sub>を含有することができる)。

【0125】

更なる態様では、本発明は、V Hドメイン(及び特に、I S V DであるV Hドメイン、及びとりわけ、ナノボディであるV Hドメイン)に関し、ここで、

- 11位におけるアミノ酸残基は、L、V、又はKの内の1つであり、及び、
- 14位におけるアミノ酸残基は、A又はPの一方であり、及び、
- 41位におけるアミノ酸残基は、A又はPの一方であり、及び、
- 89位におけるアミノ酸残基は、T、V、又はLの内の1つであり、及び、
- 108位におけるアミノ酸残基は、Q又はLの一方であり、及び、
- 110位におけるアミノ酸残基は、T、K、又はQの内の1つであり、及び、
- 112位におけるアミノ酸残基は、S、K、又はQの内の1つであり、

10

ここで、下記のいずれかであり、(i)112位におけるアミノ酸残基は、KもしくはQの一方であり、及び/又は、(ii)89位におけるアミノ酸残基は、Tであり、及び/又は、(iii)89位におけるアミノ酸残基は、Lであり、110位におけるアミノ酸残基は、KもしくはQの一方であり、及び、(iv)(i)~(iii)の各場合において、11位におけるアミノ酸は、好ましくは、Vであり、

ここで、前記V Hドメインは、C末端伸長(X)<sub>n</sub>[同伸長中、nは、1~10、好ましくは、1~5、例えば、1、2、3、4、又は5(及び好ましくは、1又は2、例えば、1)であり、各Xは、(好ましくは、天然の)アミノ酸残基であり、アラニン(A)、グリシン(G)、バリン(V)、ロイシン(L)、又はイソロイシン(I)から独立して選択され、好ましくは、これらからなる群より独立して選択される]を含有する(このC末端伸長は、好ましくは、本明細書で更に記載された通りである)。また、(i)42位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、42位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトV H3残基及び/又はラクダ化V H H残基)の内の1つであることができ、特に、グリシン(G)又はグルタミン酸(E)であることができる(又は、これらから選択することができる)。及び/又は、(ii)87位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-7で言及された、87位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトV H3残基及び/又はラクダ化V H H残基)の内の1つであることができ、特に、スレオニン(T)又はアラニン(A)であることができる(又は、これらから選択することができる)。本発明の別の態様は、この段落で記載された、V Hドメイン(及び特に、I S V DであるV Hドメイン、及びとりわけ、ナノボディであるV Hドメイン)に関し、ここで、11位におけるアミノ酸残基は、Vであり、110位におけるアミノ酸残基は、K又はQのいずれかであり(及びここで、14、41、89、108、及び112位におけるアミノ酸残基は、上記ピュレットで列記された通りであることができ、42及び87位におけるアミノ酸残基は、例えば、この段落で記載された通りであることができ、このV Hドメインは、場合により、この段落で記載されたC末端伸長(X)<sub>n</sub>を含有することができる)。

20

30

【0126】

更なる態様では、本発明は、V Hドメイン(及び特に、I S V DであるV Hドメイン、及びとりわけ、ナノボディであるV Hドメイン)に関し、ここで、

- 11位におけるアミノ酸残基は、L、V、又はKの内の1つであり、及び、
- 14位におけるアミノ酸残基は、A又はPの一方であり、及び、
- 41位におけるアミノ酸残基は、A又はPの一方であり、及び、
- 89位におけるアミノ酸残基は、T、V、又はLの内の1つであり、及び、
- 108位におけるアミノ酸残基は、Q又はLの一方であり、及び、
- 110位におけるアミノ酸残基は、T、K、又はQの内の1つであり、及び、
- 112位におけるアミノ酸残基は、S、K、又はQの内の1つであり、

40

ここで、下記のいずれかであり、(i)112位におけるアミノ酸残基は、KもしくはQの一方であり、89位におけるアミノ酸は、T、V、又はLの内の1つであり(及び好ま

50

しくは、Vであり)、110位におけるアミノ酸残基は、T、K、又はQの内の1つであり(及び好ましくは、Tであり)、及び/又は、(ii)89位におけるアミノ酸残基は、Tであり、112位におけるアミノ酸残基は、S、K、又はQの内の1つであり(及び好ましくは、Sであり)、110位におけるアミノ酸残基は、T、K、又はQの内の1つであり(及び好ましくは、Tであり)、及び/又は、(iii)89位におけるアミノ酸残基は、Lであり、110位におけるアミノ酸残基は、KもしくはQの一方であり、112位におけるアミノ酸残基は、S、K、又はQの内の1つであり(及び好ましくは、Sであり)、及び、(iv)(i)~(iii)の各場合において、11位におけるアミノ酸は、好ましくは、Vであり、

ここで、前記VHドメインは、C末端伸長(X)<sub>n</sub>[同伸長中、nは、1~10、好ましくは、1~5、例えば、1、2、3、4、又は5(及び好ましくは、1又は2、例えば、1)であり、各Xは、(好ましくは、天然の)アミノ酸残基であり、アラニン(A)、グリシン(G)、バリン(V)、ロイシン(L)、又はイソロイシン(I)から独立して選択され、好ましくは、これらからなる群より独立して選択される)を含有する(このC末端伸長は、好ましくは、本明細書で更に記載された通りである)。また、(i)42位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、42位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、グリシン(G)又はグルタミン酸(E)であることができる(又は、これらから選択することができる)。及び/又は、(ii)87位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-7で言及された、87位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、スレオニン(T)又はアラニン(A)であることができる(又は、これらから選択することができる)。本発明の別の態様は、この段落で記載された、VHドメイン(及び特に、ISVDであるVHドメイン、及びとりわけ、ナノボディであるVHドメイン)に関し、ここで、11位におけるアミノ酸残基は、Vであり、110位におけるアミノ酸残基は、K又はQのいずれかであり(及びここで、14、41、89、108、及び112位におけるアミノ酸残基は、上記ピュレットで列記された通りであることができ、42及び87位におけるアミノ酸残基は、例えば、この段落で記載された通りであることができ、このVHドメインは、場合により、この段落で記載されたC末端伸長(X)<sub>n</sub>を含有することができる)。

【0127】

更なる態様では、本発明は、VHドメイン(及び特に、ISVDであるVHドメイン、及びとりわけ、ナノボディであるVHドメイン)に関し、ここで、

- 11位におけるアミノ酸残基は、L、V、又はKの内の1つであり、及び、
- 14位におけるアミノ酸残基は、A又はPの一方であり、及び、
- 41位におけるアミノ酸残基は、A又はPの一方であり、及び、
- 89位におけるアミノ酸残基は、T、V、又はLの内の1つであり、及び、
- 108位におけるアミノ酸残基は、Q又はLの一方であり、及び、
- 110位におけるアミノ酸残基は、T、K、又はQの内の1つであり、及び、
- 112位におけるアミノ酸残基は、S、K、又はQの内の1つであり、

ここで、下記のいずれかであり、(i)112位におけるアミノ酸残基は、KもしくはQの一方であり、又は、(ii)89位におけるアミノ酸残基は、Tであり、又は、(iii)89位におけるアミノ酸残基は、Lであり、110位におけるアミノ酸残基は、KもしくはQの一方であり、及び、(iv)(i)~(iii)の各場合において、11位におけるアミノ酸は、好ましくは、Vであり、

ここで、前記VHドメインは、C末端伸長(X)<sub>n</sub>[同伸長中、nは、1~10、好ましくは、1~5、例えば、1、2、3、4、又は5(及び好ましくは、1又は2、例えば、1)であり、各Xは、(好ましくは、天然の)アミノ酸残基であり、アラニン(A)、グリシン(G)、バリン(V)、ロイシン(L)、又はイソロイシン(I)から独立して選択され、好ましくは、これらからなる群より独立して選択される]を含有する(このC

10

20

30

40

50

末端伸長は、好ましくは、本明細書で更に記載された通りである)。また、(i) 42位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、42位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、グリシン(G)又はグルタミン酸(E)であることができる(又は、これらから選択することができる)。及び/又は、(ii) 87位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-7で言及された、87位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、スレオニン(T)又はアラニン(A)であることができる(又は、これらから選択することができる)。本発明の別の態様は、この段落で記載された、VHドメイン(及び特に、ISVDであるVHドメイン、及びとりわけ、ナノボディであるVHドメイン)に関し、ここで、11位におけるアミノ酸残基は、Vであり、110位におけるアミノ酸残基は、K又はQのいずれかであり(及びここで、14、41、89、108、及び112位におけるアミノ酸残基は、上記ピュレットで列記された通りであることができ、42及び87位におけるアミノ酸残基は、例えば、この段落で記載された通りであることができ、このVHドメインは、場合により、この段落で記載されたC末端伸長(X)<sub>n</sub>を含有することができる)。

10

#### 【0128】

更なる態様では、本発明は、VHドメイン(及び特に、ISVDであるVHドメイン、及びとりわけ、ナノボディであるVHドメイン)に関し、ここで、

- 11位におけるアミノ酸残基は、L、V、又はKの内の1つであり、及び、
  - 14位におけるアミノ酸残基は、A又はPの一方であり、及び、
  - 41位におけるアミノ酸残基は、A又はPの一方であり、及び、
  - 89位におけるアミノ酸残基は、T、V、又はLの内の1つであり、及び、
  - 108位におけるアミノ酸残基は、Q又はLの一方であり、及び、
  - 110位におけるアミノ酸残基は、T、K、又はQの内の1つであり、及び、
  - 112位におけるアミノ酸残基は、S、K、又はQの内の1つであり、
- ここで、

20

下記のいずれかであり、(i) 112位におけるアミノ酸残基は、KもしくはQの一方であり、89位におけるアミノ酸残基は、T、V、又はLの内の1つであり(及び好ましくは、Vであり)、110位におけるアミノ酸残基は、T、K、又はQの内の1つであり(及び好ましくは、Tであり)、又は、(ii) 89位におけるアミノ酸残基は、Tであり、112位におけるアミノ酸残基は、S、K、又はQの内の1つであり(及び好ましくは、Sであり)、110位におけるアミノ酸残基は、T、K、又はQの内の1つであり(及び好ましくは、Tであり)、又は、(iii) 89位におけるアミノ酸残基は、Lであり、110位におけるアミノ酸残基は、KもしくはQの一方であり、112位におけるアミノ酸残基は、S、K、又はQの内の1つであり(及び好ましくは、Sであり)、及び、(iv) (i)~(iii)の各場合において、11位におけるアミノ酸は、好ましくは、Vであり、

30

ここで、前記VHドメインは、C末端伸長(X)<sub>n</sub>[同伸長中、nは、1~10、好ましくは、1~5、例えば、1、2、3、4、又は5(及び好ましくは、1又は2、例えば、1)であり、各Xは、(好ましくは、天然の)アミノ酸残基であり、アラニン(A)、グリシン(G)、バリン(V)、ロイシン(L)、又はイソロイシン(I)から独立して選択され、好ましくは、これらからなる群より独立して選択される]を含有する(このC末端伸長は、好ましくは、本明細書で更に記載された通りである)。また、(i) 42位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、42位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つであることができ、特に、グリシン(G)又はグルタミン酸(E)であることができる(又は、これらから選択することができる)。及び/又は、(ii) 87位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-7で言及された、87位についてのアミノ酸残基(すなわち、ヒトVH3残基及び/又はラクダ化VHH残基)の内の1つである

40

50



ことができ、特に、スレオニン（Ｔ）又はアラニン（Ａ）であることができる（又は、これらから選択することができる）。本発明の別の態様は、この段落で記載された、V Hドメイン（及び特に、I S V DであるV Hドメイン、及びとりわけ、ナノボディであるV Hドメイン）に関し、ここで、1 1位におけるアミノ酸残基は、Vであり、1 1 0位におけるアミノ酸残基は、K又はQのいずれかであり（及びここで、1 4、4 1、8 9、1 0 8、及び1 1 2位におけるアミノ酸残基は、上記ピュレットで列記された通りであることができ、4 2及び8 7位におけるアミノ酸残基は、例えば、この段落で記載された通りであることができ、このV Hドメインは、場合により、この段落で記載されたC末端伸長（X）<sub>n</sub>を含有することができる）。

#### 【0 1 2 9】

更なる態様では、本発明は、V Hドメイン（及び特に、I S V DであるV Hドメイン、及びとりわけ、ナノボディであるV Hドメイン）に関し、ここで、

- 1 1位におけるアミノ酸残基は、L、V、又はKの内の1つであり、及び、
- 1 4位におけるアミノ酸残基は、A又はPの一方であり、及び、
- 4 1位におけるアミノ酸残基は、A又はPの一方であり、及び、
- 8 9位におけるアミノ酸残基は、T、V、又はLの内の1つであり、及び、
- 1 0 8位におけるアミノ酸残基は、Q又はLの一方であり、及び、
- 1 1 0位におけるアミノ酸残基は、T、K、又はQの内の1つであり、及び、
- 1 1 2位におけるアミノ酸残基は、S、K、又はQの内の1つであり、

ここで、下記のいずれかであり、( i ) 1 1 2位におけるアミノ酸残基は、KもしくはQの一方であり、8 9位におけるアミノ酸残基は、Vであり、1 1 0位におけるアミノ酸残基は、Tであり、又は、( i i ) 8 9位におけるアミノ酸残基は、Tであり、1 1 2位におけるアミノ酸残基は、Sであり、1 1 0位におけるアミノ酸残基は、Tであり、又は、( i i i ) 8 9位におけるアミノ酸残基は、Lであり、1 1 0位におけるアミノ酸残基は、KもしくはQの一方であり、1 1 2位におけるアミノ酸残基は、Sであり（及び好ましくは、Sであり）、及び、( i v ) ( i ) ~ ( i i i ) の各場合において、1 1位におけるアミノ酸は、好ましくは、Vであり、

ここで、前記V Hドメインは、C末端伸長（X）<sub>n</sub> [同伸長中、nは、1 ~ 1 0、好ましくは、1 ~ 5、例えば、1、2、3、4、又は5（及び好ましくは、1又は2、例えば、1）]であり、各Xは、（好ましくは、天然の）アミノ酸残基であり、アラニン（A）、グリシン（G）、バリン（V）、ロイシン（L）、又はイソロイシン（I）から独立して選択され、好ましくは、これらからなる群より独立して選択される]を含有する（このC末端伸長は、好ましくは、本明細書で更に記載された通りである）。また、( i ) 4 2位は、例えば、国際公開公報第0 8 / 0 2 0 0 7 9号の表A - 6で言及された、4 2位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒトV H 3残基及び/又はラクダ化V H H残基）の内の1つであることができ、特に、グリシン（G）又はグルタミン酸（E）であることができる（又は、これらから選択することができる）。及び/又は、( i i ) 8 7位は、例えば、国際公開公報第0 8 / 0 2 0 0 7 9号の表A - 7で言及された、8 7位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒトV H 3残基及び/又はラクダ化V H H残基）の内の1つであることができ、特に、スレオニン（T）又はアラニン（A）であることができる（又は、これらから選択することができる）。本発明の別の態様は、この段落で記載された、V Hドメイン（及び特に、I S V DであるV Hドメイン、及びとりわけ、ナノボディであるV Hドメイン）に関し、ここで、1 1位におけるアミノ酸残基は、Vであり、1 1 0位におけるアミノ酸残基は、K又はQのいずれかであり（及びここで、1 4、4 1、8 9、1 0 8、及び1 1 2位におけるアミノ酸残基は、上記ピュレットで列記された通りであることができ、4 2及び8 7位におけるアミノ酸残基は、例えば、この段落で記載された通りであることができ、このV Hドメインは、場合により、この段落で記載されたC末端伸長（X）<sub>n</sub>を含有することができる）。

#### 【0 1 3 0】

再度、本明細書で定義された本発明のV Hドメインにおいて、本明細書で明確に定義さ

10

20

30

40

50

れていない位置におけるアミノ酸残基は、V Hドメイン、及び特に、I S V D、及びとりわけ、ナノボディ（ヒト化V H Hドメインを含む）についてこのような位置に適した任意のアミノ酸残基であることができる。再度、本明細書で引用された従来技術、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-3及びA-5～A-8等が参照される。好ましくは、各場合において、11位におけるアミノ酸残基は、L又はVであり、及びより好ましくは、Vである。また、(i)41位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、41位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒトV H 3残基及びノ又はラクダ化V H H残基）の内の1つであることができ、特に、プロリン（P）、セリン（S）、スレオニン（T）、アラニン（A）、又はロイシン（L）であることができる（又は、これらから選択することができる）。これらのアミノ酸残基は、ヒト又はラマのいずれかにおけるこの位置に最も頻繁に生じるアミノ酸残基の一部であり、とりわけ、プロリン（P）又はアラニン（A）のいずれかであることができる。及びノ又は、(i i)42位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-6で言及された、42位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒトV H 3残基及びノ又はラクダ化V H H残基）の内の1つであることができ、特に、グリシン（G）又はグルタミン酸（E）であることができる（又は、これらから選択することができる）。及びノ又は、(i i i)87位は、例えば、国際公開公報第08/020079号の表A-7で言及された、87位についてのアミノ酸残基（すなわち、ヒトV H 3残基及びノ又はラクダ化V H H残基）の内の1つであることができ、特に、スレオニン（T）又はアラニン（A）であることができる（又は、これらから選択することができる）。

10

20

**【0131】**

また、本発明の前記V Hドメインは、任意の適切なターゲット、及び特に、治療ターゲットに対することができる。一態様において、本発明の前記V Hドメインは、ヒト血清タンパク質、例えば、ヒト血清アルブミンに対する。

**【0132】**

また、本発明は、少なくとも1つの本発明のV Hドメインを含む、タンパク質、ポリペプチド、構築物、化合物、又は他の化学成分（本明細書において、まとめて、「本発明の化合物」とも呼ばれる）に関する。

**【0133】**

本明細書で更に記載されたように、具体的な一態様によれば、本発明の化合物において、本発明のV Hドメインは、本発明の化合物のC末端に存在するノ同C末端を形成する。このような場合には、本発明の化合物のC末端を形成するノ同C末端に存在する本発明のV Hドメインは、好ましくは、本明細書で記載されたC末端伸長を有する。

30

**【0134】**

また、本明細書で更に記載されたように、本発明の化合物は、1つ以上の本発明のV Hドメインが1つ以上のV Lドメインと会合して、1つ以上の機能的な抗原結合部位を形成している、S c F v、ディアボディ、又は他のタンパク質、ポリペプチド、もしくは構築物であることができる。

**【0135】**

ただし、本発明の好ましい態様によれば、本発明のV Hドメインは、I S V Dであり、本発明の化合物は、少なくとも1つの本発明のI S V Dと、場合により、1つ以上の異なるアミノ酸配列、部分、結合ドメイン、又は結合ユニット（場合により、1つ以上のリンカーを介して、互いに適切に連結）とを含むか、又は、本質的にこれらからなる、タンパク質、ポリペプチド、構築物、化合物、又は他の化学成分である。特に、本発明のこのような化合物は、1つ以上のI S V Dを含み、又は、本質的にこれらからなることができ、I S V Dの内の少なくとも1つは、本発明のI S V Dである。本発明のこのような化合物は、特に、本発明のI S V Dを、そのC末端に有することができる。またこの場合には、本発明のI S V Dは、好ましくは、本明細書で記載されたC末端伸長を有する。また、本発明のこのような化合物が、2つ以上のI S V Dを含有する場合、存在する2つ以上又は本質的に全てのI S V Dは、本発明のI S V Dであることができる（すなわち、それぞれ

40

50

が、下記アミノ酸残基/置換：112K、112Q、S112K、S112Q、89T、及び/もしくはV89T、又は、V89LとT110KもしくはT110Qとの組み合わせ、ならびに場合により、本発明のISVDについて本明細書で言及された1つ以上の更なる置換、例えば、L11Vの内の少なくとも1つを有する)。また、本発明のこのような化合物において、本発明のISVDは、好ましくは、本発明のナノボディであり、本発明の化合物に存在する全て又は本質的に全てのISVDは、ナノボディ(及び特に、本発明のナノボディ、すなわち、それぞれが、下記アミノ酸残基/置換：112K、112Q、S112K、S112Q、89T、及び/もしくはV89T、又は、V89LとT110KもしくはT110Qとの組み合わせ、ならびに場合により、本発明のナノボディについて本明細書で言及された1つ以上の更なる置換、例えば、L11Vの内の少なくとも1つを有する)であることができる(好ましくは、同ナノボディである)。本発明のこのような化合物の例は、本明細書の更なる開示に基づいて、当業者に明らかであろう。

10

## 【0136】

1つ以上のISVD(少なくとも1つの本発明のISVDを含む)を含むタンパク質、ポリペプチド、構築物、化合物、又は他の化学成分の一部の非限定的な例は、直接又は1つ以上の適切なリンカーを介して連結した2つ以上のISVDを含有する、多価、多重特異性(例えば、二重特異性)、又は多重抗原結合性(例えば、二重抗原結合性)の構築物である。再度、ISVDは、好ましくは、ナノボディである。このような構築物及びこのような構築物を(特にナノボディに基づいて)調製することができる方法における一般的な教示の一部の非限定的な例については、例えば、Conrath et al., JBC 276, 10(9), 7346 (2001)及びMuyldermansによるレビュー文献であるReviews in Mol. Biotechnology, 74: 27 (2001)が参照される。

20

## 【0137】

例えば、2つ以上のISVD(少なくとも1つのISVDが本発明のISVDである)を含有する本発明のこのような化合物は、二価、三価、四価、もしくは五価の構築物であることができ、及び/又は、単特異性、二重特異性、三重特異性の構築物であることができ、及び/又は、二重抗原結合性もしくは三重抗原結合性の構築物であることができる。再度、本明細書で引用されたISVD系及びナノボディ系生物学的製剤における従来技術が参照される。また、本発明のこのような化合物は、官能化により、及び/又は、構築物の半減期を伸ばす部分、もしくは結合ユニットを構築物に含ませることにより、延長した半減期を備えることができる。このような官能化、部分、又は結合ユニットの例は、当業者に明らかであろうし、例えば、本明細書に記載された通りであることができ、例えば、ペグ化、血清アルブミンへの融合、又は、血清タンパク質、例えば、血清アルブミンに結合することができるペプチドもしくは結合ユニットへの融合を含むことができる。このような血清アルブミン結合ペプチド又は結合ドメインは、(血清アルブミン結合ペプチド又は結合ドメインを含まない同じ構築物と比較して)構築物の半減期を伸ばすことができる、任意の適切な血清アルブミン結合ペプチド又は結合ドメインであることができ、特に、出願人による国際公開公報第2008/068280号(及び特に、両方とも出願人による国際公開公報第2009/127691号及び非公表の米国仮出願第61/301,819号)に記載された血清アルブミン結合ペプチド、又は、血清アルブミン結合ISV(例えば、血清アルブミン結合ナノボディ、例えば、Alb-8もしくはヒト化バージョンのAkab-1、例えば、Alb-8、これについては、例えば、国際公開公報第06/122787号が参照される)、又は、(ヒト)血清タンパク質、例えば、(本明細書で更に記載された)(ヒト)血清アルブミンに対する本発明のISVDであることができる。一般的には、延長した半減期を有する本発明の任意の化合物は、好ましくは、ヒト対象中において、少なくとも1日、好ましくは少なくとも3日、より好ましくは少なくとも7日、例えば、少なくとも10日の(本明細書で定義された)半減期を有するであろう。

30

40

## 【0138】

本発明の化合物が、(ヒト)血清タンパク質に対する、及び特に、(ヒト)血清アルブミンに対する、少なくとも1つ(及び好ましくは、1つ)の本発明のISVD(及び特に

50

、本発明のナノボディ)を含む場合、本発明の化合物は、通常、1つ以上の治療活性アミノ酸配列、部分、結合ドメイン、又は結合ユニット(すなわち、治療関連ターゲット、経路、又はメカニズムに対する)を、更に含有するであろうし、本発明のISVDは、それら(及び化合物全体)の半減期を伸ばすのに機能するであろう。再度、前記1つ以上の更なる治療活性部分は、好ましくは、ISVD(及びより好ましくは、ナノボディ)であり、本発明のISVD(及びより好ましくは、本発明のナノボディ)であることもできる。本発明のこのような化合物中において、ヒト血清アルブミンに対する本発明のISVDは、再度、本化合物のC末端に存在する/同C末端を形成することができ、その場合、本明細書に記載されたC末端伸長を含むことができる(及び好ましくは、同C末端伸長を含む)。本発明の化合物が、(ヒト)血清アルブミンに対する本発明のISVDを含有する場合、前記本発明の化合物は、好ましくは、それが投与され/投与されているヒト対象中において、少なくとも1日、好ましくは少なくとも3日、より好ましくは少なくとも7日、例えば、少なくとも10日の(本明細書で定義された)半減期を有する。この目的で使用することができる、ヒト血清アルブミンに対する本発明のISVDの一部の非限定的な例は、本明細書で更に記載された通りである。

10

**【0139】**

一態様において、前記本発明の化合物に存在するISVD又はナノボディは全て、本発明のISVDである(本明細書で定義された本発明のVHドメインの特徴を有するアミノ酸残基/置換、すなわち、110Kもしくは110Qとの組み合わせにおける、少なくとも112KもしくはQ、又は、少なくとも89Tもしくは少なくとも89Lを有することを意味する)。本発明の化合物中におけるISVDが全て、本発明のISVDである場合、本発明のISVDは、同じ置換(例えば、全てS112K又はS112Q置換を有する)又は異なる置換(例えば、1つが、S112K又はS112Q置換を有することができ、他のものが、T110K又はT110Qとの組み合わせにおけるV89L変異を有することができる)を有することができる。また通常、本発明の化合物のC末端におけるISVDのみが、C末端伸長を有するであろう(他のものはおそらく、本化合物に存在する別のISVDに対して、そのC末端において連結しているであろう)。

20

**【0140】**

このため、更なる態様では、本発明は、(本明細書で更に記載された)本発明のISVDを含むか、又は、本質的に同ISVDからなる、タンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは分子に関する。

30

**【0141】**

さらに、本発明は、少なくとも1つの本発明のISVDと、少なくとも1つの他の治療部分又は成分とを(互いに直接又は適切なリンカーを介して連結)含む、タンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは分子に関する。

**【0142】**

さらに、本発明は、(ヒト)血清タンパク質に対する(及び好ましくは、ヒト血清アルブミンに対する)少なくとも1つの本発明のISVDと、少なくとも1つの他の治療部分又は成分とを(互いに直接又は適切なリンカーを介して連結)含む、タンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは分子に関する。

40

**【0143】**

さらに、本発明は、少なくとも2つ(例えば、2つ、3つ、又は4つ)の免疫グロブリンシングル可変ドメイン(互いに直接又は適切なリンカーを介して連結)を含む、タンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは分子に関する。免疫グロブリンシングル可変ドメインの少なくとも1つは、本発明のISVDである。この態様において、(i)存在するISVDは、適切に、同じか又は異なることができ、それらが異なる場合、それらは、同じターゲット(例えば、それらは、異なる配列を有することができ、及び/又は、同じターゲット上の異なるエピトープに対することができる)、又は、2つ以上の異なるターゲット(すなわち、得られたタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは分子が、二重又は多重特異性構築物であるように)に対することができる。及び/又は、(

50

i i ) タンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは分子のC末端に存在するISVDは、本発明のISVDであってもよいし、又は、同ISVDでなくてもよい(ただし、好ましくは、同ISVDである)。及び/又は、( i i i ) 本発明のISVDがタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは分子のC末端に存在する場合、本発明のISVDは、好ましくは、本明細書に記載されたC末端伸長を有する。及び/又は、( i v ) タンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは分子に存在する本質的に全てのISVDは、本発明のISVDであることができる。また、ISVDが、異なるターゲットに対する場合(その内の少なくとも1つが、治療ターゲットである場合)、更なる一態様によれば、存在するISVDの少なくとも1つが、(ヒト)血清タンパク質、例えば、ヒト血清アルブミンに対することができる(このISVDは、本発明のISVDであってもよいし、又は、同ISVDでなくてもよく、このISVDが本発明のISVDである場合、本明細書で更に記載されたヒト血清アルブミンに対するナノボディが好ましい)。

10

## 【0144】

さらに、本発明は、2つの免疫グロブリンシングル可変ドメイン(互いに直接又は適切なリンカーを介して連結)を含むか、又は、本質的にこれらからなる、このようなタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは分子に関する。

## 【0145】

さらに、本発明は、3つの免疫グロブリンシングル可変ドメイン(互いに直接又は適切なリンカーを介して連結)を含むか、又は、本質的にこれらからなる、このようなタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは分子に関する。

20

## 【0146】

さらに、本発明は、4つの免疫グロブリンシングル可変ドメイン(互いに直接又は適切なリンカーを介して連結)を含むか、又は、本質的にこれらからなる、このようなタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは分子に関する。

## 【0147】

さらに、本発明は、延長した半減期を前記タンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは分子に付与する、少なくとも1つの部分、結合ドメイン、又は結合ユニットを更に含む、このようなタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは分子に関する(すなわち、前記部分、結合ドメイン、又は結合ユニットを含まない、対応するタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは分子と比較)。より具体的な態様によれば、延長した半減期を前記タンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは分子に付与する、前記少なくとも1つの部分、結合ドメイン、又は結合ユニットは、免疫グロブリンシングル可変ドメイン、とりわけ、血清タンパク質(例えば、血清アルブミン)に対する、特に、ヒト血清タンパク質(例えば、ヒト血清アルブミン)に対する、免疫グロブリンシングル可変ドメインであり、本明細書に記載されたように、特に、本発明のISVDであることができる。前記血清タンパク質に対するISVDは、タンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは分子のN末端に、C末端に、又は、(タンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは分子が3つ以上のISVDを含む場合)分子の中央に存在することができる。

30

## 【0148】

さらに、本発明は、以下のいずれかを含むか、又は、本質的に以下のいずれかからなる、このようなタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは分子に関する。

40

- 2つの免疫グロブリンシングル可変ドメイン(互いに直接又は適切なリンカーを介して連結)、すなわち、延長した半減期を付与する(前記)一方の免疫グロブリンシングル可変ドメイン(例えば、ナノボディ)と、特に治療ターゲットに対することができる他方の免疫グロブリンシングル可変ドメイン(例えば、ナノボディ)；

- 3つの免疫グロブリンシングル可変ドメイン(互いに直接又は適切なリンカーを介して連結)、すなわち、延長した半減期を付与する(前記)1つの免疫グロブリンシングル可変ドメイン(例えば、ナノボディ)と、特に治療ターゲットに対することができる他の2つの免疫グロブリンシングル可変ドメイン(例えば、2つの他のナノボディ)(ここで

50

、前記他の2つの免疫グロブリンシングル可変ドメインは、同じターゲットに対し、2つの異なるターゲットに対し、又は同じターゲット上の2つの異なるエピトープに対することができる)；又は

- 4つの免疫グロブリンシングル可変ドメイン(互いに直接又は適切なリンカーを介して連結)、すなわち、延長した半減期を付与する(前記)1つの免疫グロブリンシングル可変ドメイン(例えば、ナノボディ)と、特に治療ターゲットに対することができる他の2つの免疫グロブリンシングル可変ドメイン(例えば、2つの他のナノボディ)(ここで、前記他の3つの免疫グロブリンシングル可変ドメインは、同じターゲットに対し、2つもしくは3つの異なるターゲットに対し、及び/又は、同じターゲット上の2つもしくは3つの異なるエピトープに対することができる)

【0149】

再度、このようなタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは分子において、(i)存在するISVDは、適切に、同じか、又は、異なることができ、ISVDが異なる場合、ISVDは、同じターゲットに対し(例えば、ISVDが異なる配列であることができ、及び/又は、同じターゲット上の異なるエピトープに対することができる)、又は、2つ以上の異なるターゲットに対する(すなわち、得られたタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは分子は、二重又は多重特異性構築物であるように)ことができる。及び/又は、(ii)タンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは分子のC末端に存在するISVDは、本発明のISVDでもよく、又は、同ISVDでなくてもよい(ただし、好ましくは、本発明のISVDである)。及び/又は、(iii)本発明のISVDがタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは分子のC末端に存在する場合、本発明のISVDは、好ましくは、本明細書に記載されたC末端伸張を有する。及び/又は、(iv)タンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは分子に存在する本質的に全てのISVDは、本発明のISVDであることができる。

【0150】

さらに、本発明は、(本明細書で更に記載された)本発明のVHドメイン及び本発明の化合物を発現/生成/製造するための方法に関する。例えば、本発明のVHドメインは、適切な宿主生物中において、本発明のVHドメインをコードする核酸を適切に発現させることにより発現/生成することができる。例えば、国際公開公報第08/020079号(及び、本明細書で引用された出願人/譲受人の幾つかの他の特許出願)が参照される。同文献には、一般的に、ナノボディを発現/生成するのに適した方法及び技術が記載されている。また、この方法は、本発明のナノボディを発現/生成するのにも適切に使用することができる。また、ナノボディ以外の本発明のVHドメインを発現させるための方法は、本開示及び本明細書で引用された従来技術に基づいて、当業者に明らかであろう。本発明の化合物を、1つ以上の本発明のVHドメインを、本発明の最終化合物に存在させるべき1つ以上の更なるアミノ酸残基(及び/又は、他の基もしくは部分)に、場合により、1つ以上のリンカー又はスペーサを介して、(通常、共有結合を介して)適切に連結させることにより、適切に製造/生成することができる。あるいは、本発明の化合物がタンパク質又はポリペプチドである場合、本発明の化合物を、適切な宿主生物中において、本発明の化合物をコードする核酸を適切に発現させることにより、製造/生成することができる。例えば、再度、国際公開公報第08/020079号及び、本明細書で引用された出願人/譲受人の幾つかの他の特許出願に記載された一般的な方法が参照される。

【0151】

また、本発明は、本発明のVHドメイン又は本発明の化合物をコードするヌクレオチド配列及び/又は核酸に関する。このような核酸は、DNA又はRNAであることができ、及び好ましくは、DNAであり、プラスミド又はベクターの形態であることができる。例えば、再度、国際公開公報第08/020079号及び、本明細書で引用された出願人/譲受人の幾つかの他の特許出願が参照される。

【0152】

また、本発明は、少なくとも1つの本発明のVHドメイン、本発明の化合物、又は、そ

10

20

30

40

50

これらのいずれかをコードする核酸を含む組成物に関する。

【0153】

さらに、本発明は、ISV（及び好ましくは、治療用ISV）又は、少なくとも1つのISV（及び好ましくは、少なくとも1つの治療用ISV）を含むタンパク質もしくはポリペプチド〔ここで、前記ISV、タンパク質、又はポリペプチドは、本明細書で更に記載された通りである（すなわち、1つ以上の本明細書で記載された態様、及び特に、先の頁に記載された1つ以上の態様のISV、タンパク質、又はポリペプチド、及びとりわけ、本明細書で記載された1つ以上の態様によるC末端/配列を有するISV、タンパク質、又はポリペプチド）〕と、少なくとも1つの適切な（すなわち、医薬用途に適切な）担体、希釈剤、又は賦形剤と、場合により、1つ以上の更なる活性物質とを含む医薬組成物に関する。このような組成物、担体、希釈剤、又は賦形剤は、例えば、ナノボディ又は、少なくとも1つのナノボディを含むタンパク質もしくはポリペプチドを含む医薬組成物について、国際公開公報第08/020079号に記載された通りである（本発明により既に言及された通り、また、ISVは、好ましくは、ナノボディでもある）。

10

【0154】

さらに、本発明は、ヒトにおける疾患の治療（例えば、このような治療を必要とする患者）に使用するための、ISV又は、少なくとも1つのISVを含むタンパク質もしくはポリペプチドであって、前記ISV、タンパク質、又はポリペプチドが、本明細書で更に記載された通りである（すなわち、本明細書で記載された1つ以上の態様、及び特に、先の頁に記載された1つ以上の態様のISV、タンパク質、又はポリペプチド、及びとりわけ、本明細書で記載された1つ以上の態様によるC末端/配列を有するISV、タンパク質、又はポリペプチド）、ISV又は、少なくとも1つのISVを含むタンパク質もしくはポリペプチドに関する。

20

【0155】

さらに、本発明は、医薬組成物の製造における、ISV又は、少なくとも1つのISVを含むタンパク質もしくはポリペプチドの使用であって、前記ISV、タンパク質、又はポリペプチドが、本明細書で更に記載された通りである（すなわち、本明細書で記載された1つ以上の態様、及び特に、先の頁に記載された1つ以上の態様のISV、タンパク質、又はポリペプチド、及びとりわけ、本明細書で記載された1つ以上の態様によるC末端/配列を有するISV、タンパク質、又はポリペプチド）使用に関する。

30

【0156】

さらに、本発明は、ヒト対象（例えば、以下の処置を必要とする患者）に、ISV又は、少なくとも1つのISVを含むタンパク質もしくはポリペプチドを投与することを含む処置方法であって、前記ISV、タンパク質、又はポリペプチドが、本明細書で更に記載された通りである（すなわち、本明細書で記載された1つ以上の態様、及び特に、先の頁に記載された1つ以上の態様のISV、タンパク質、又はポリペプチド、及びとりわけ、本明細書で記載された1つ以上の態様によるC末端/配列を有するISV、タンパク質、又はポリペプチド）方法、又は、少なくとも1つのこのようなISV、タンパク質、もしくはポリペプチドを含む（上記された）医薬組成物に関する。

【0157】

上記に関して、本明細書で記載されたISV、タンパク質、又はポリペプチドの治療的使用が、本発明の非常に重要な態様であることが明らかであろう。したがって、治療的使用（又は、このような治療的使用のための、このようなISV、タンパク質、及びポリペプチドの臨床開発）は、前記ISV、タンパク質、又はポリペプチドが免疫原性である（すなわち、ヒト対象に投与された際に、ADAを生じる可能性がある）かを判定するADAアッセイ法の使用を含むことができる。この観点において、可能性のある免疫原性についての懸念は、治療剤が長期間（数週間、数か月、又は数年の間）使用される、及び/又は、少なくとも3日、例えば、少なくとも1週間、及び最長10日以上ヒト対象における半減期（好ましくは、 $t_{1/2}$ ベータとして表現）を有するかのいずれかである場合、特に取り組まれなければならないであろうことも明らかであろう。

40

50

## 【 0 1 5 8 】

このため、具体的な一態様によれば、本発明は、ヒトにおける慢性疾患の処置に意図された、本明細書で記載された本発明の I S V、タンパク質、ポリペプチド、化合物、又は分子（又は、それらを含む医薬組成物）に関する。及び/又は、本明細書で記載されたこのような I S V、タンパク質、ポリペプチドは、少なくとも 1 週間の期間、好ましくは少なくとも 2 週間、例えば、少なくとも 1 か月間（すなわち、治療活性用量で）投与された対象の循環中に（すなわち、薬理活性レベルで）存在することが意図される。及び/又は、本明細書で記載されたこのような I S V、タンパク質、ポリペプチドは、これらが、少なくとも 3 日、例えば、少なくとも 1 週間、及び最大 10 日以上ヒト対象における半減期（好ましくは、 $t_{1/2}$  ベータとして表現）を有するようにである。及び/又は、本明細書で記載されたこのような I S V、タンパク質、ポリペプチド、又は医薬組成物は、少なくとも 3 日、例えば、少なくとも 1 週間、例えば、少なくとも 2 週間もしくは少なくとも 1 か月、又はそれより長く（すなわち、少なくとも 3 ヶ月、少なくとも 6 か月、又は少なくとも 1 年）の期間にわたって投与され、又は、更に慢性的に投与される 2 回以上の投与として、ヒトに投与されるのが意図される。

10

## 【 0 1 5 9 】

また、本明細書の開示に基づいて当業者に明らかであろうように、本明細書で記載された V H ドメインに対する改善及び得られた改善 V H ドメインは、- 本発明によれば - S L E 患者から得られたサンプル中に見出された種類の既存の抗体、すなわち、本明細書で記載された C 末端伸長の存在下においても V H ドメインの C 末端領域に結合することができる既存の抗体が全血/血清に含まれる（又は、同抗体が含まれると疑われる）ヒト対象（及び特に、患者）への投与が意図されるタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは分子における特定の使用を見出すであろう。特に、本明細書で記載された V H ドメインに対する改善及び得られた改善 V H ドメインは、このような患者における疾患又は障害を治療又は予防するのが意図されるタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは分子における特定の使用を見出すであろう。これは、任意の疾患又は障害であることができるが、特に、このような既存の抗体の存在もしくは発生をもたらす、及び/又は、同存在もしくは発生に関連する疾患又は障害（一例は、S L E であるが、他の重篤な（自己）免疫障害も、このような既存の抗体をもたらすおそれがあると予想される。既存の抗体は、関連する患者集団から得られたサンプルを、このような既存の抗体の存在について、以下の実験部において S L E 患者からのサンプルに行われた試験に本質的に類似する方法において試験することにより、容易に確認することができる）であることができる。

20

30

## 【 0 1 6 0 】

このため、具体的な一態様によれば、本発明は、V H ドメインの露出した C 末端領域に、前記 V H ドメインが本明細書で記載された C 末端伸長を含有する場合（又は、V H ドメインの C 末端が別のタンパク質又はポリペプチド、例えば、別の I S V に、場合により、適切なリンカーを介して連結されている場合）でも、結合することができる既存の抗体が血液に含まれるヒト対象への投与が意図される、本明細書で記載された本発明の I S V、タンパク質、ポリペプチド、化合物、又は分子（又は、これらを含む医薬組成物）に関する。

40

## 【 0 1 6 1 】

特に、本発明は、V H ドメインの露出した C 末端領域に、前記 V H ドメインが本明細書で記載された C 末端伸長を含有する場合（又は、V H ドメインの C 末端が別のタンパク質又はポリペプチド、例えば、別の I S V に、場合により、適切なリンカーを介して連結されている場合）でも、結合することができる既存の抗体が血液に含まれるヒト対象における疾患又は障害の処置に使用するための、本明細書で記載された本発明の I S V、タンパク質、ポリペプチド、化合物、又は分子（又は、これらを含む医薬組成物）に関する。前記疾患又は障害は、任意の疾患又は障害であることができるが、特に、このような患者の血中におけるこのような既存の抗体の存在により、引き起こされ、もたらされ、又は他の方法で関連付けられる疾患又は障害、例えば、S L E 又は別の（重篤な）自己免疫疾患で

50



あることができる。

【0162】

このため、より具体的な態様によれば、本発明は、ヒト対象/患者における疾患又は障害の処置に使用するためのものであり、ここで、前記疾患又は障害が、VHドメインの露出したC末端領域に、前記VHドメインが本明細書で記載されたC末端伸長を含有する場合(又は、VHドメインのC末端が別のタンパク質又はポリペプチド、例えば、別のISVに、場合により、適切なリンカーを介して連結されている場合)でも、結合することができる、前記ヒト対象/患者の血中における既存の抗体の存在により、引き起こされ、もたらされ、又は他の方法で関連付けられる疾患又は障害である、本明細書で記載された本発明のISV、タンパク質、ポリペプチド、化合物、又は分子(又は、これらを含む医薬組成物)に関する。例えば、本明細書で記載された本発明のこのようなISV、タンパク質、ポリペプチド、化合物、又は分子(又は、これらを含む医薬組成物)は、ヒト対象/患者におけるSLE又は別の(重篤な)自己免疫疾患の処置に使用するためのものである。

10

【0163】

当業者に明らかであろうように、タンパク質、ポリペプチド、化合物、又は分子がこのような疾患又は障害の予防又は治療に意図されている場合、これらは、関連する疾患又は障害に対する(例えば、適切な疾患又は障害に治療的に関連するターゲット又は経路に対する)治療活性剤である、少なくとも1つ(例えば、1つ、2つ、3つ、又は4つ)のドメイン、結合ユニット、又は部分もしくは成分を含有するであろう。再度、このような結合ドメイン又は結合ユニットは、例えば、(他の)ISVDであることができ、一態様によれば、特に、本発明のVHドメイン又はISVDであることができる。このようなタンパク質、ポリペプチド、化合物、又は分子の別の一般的な例は、前記1つ以上の治療ドメイン、結合ユニット、又は部分もしくは成分がISVDでないが(ただし、例えば、別のスクャフォールドから得られた)、タンパク質、ポリペプチド、化合物、又は分子の半減期を伸ばすために、本発明のVHドメインを含有するタンパク質、ポリペプチド、化合物、又は分子(例えば、本明細書で記載された血清アルブミンバインダー)である。

20

【0164】

更なる態様では、(本明細書で記載された)本発明のVHドメイン、ISVD、又は化合物は、イオンチャンネルKv1.3に対する。このようなVHドメイン、ISVD、又は化合物の一部の好ましく、非限定的な例は、実施例7に提供される。前記実施例に記載されたKv1.3に対するVHドメイン(及び、それを含む本発明の化合物)及び前記実施例で記載されたKv1.3に対する本発明の特定の化合物は、本発明の更なる態様を構成する。

30

【0165】

例えば、限定されず、Kv1.3に対する本発明の化合物は、Kv1.3に対する本発明のシングルVHドメイン-及び好ましくは、ナノボディ-を含むか、もしくは、本質的にこれからなることができ、又は、少なくとも2つ(例えば、2つもしくは3つ)のKv1.3に対する本発明のVHドメイン-及び好ましくは、ナノボディ-を含むか、もしくは、本質的にこれからなることができる。このようなポリペプチドが2つ以上のKv1.3に対する本発明のVHドメインを含有する場合、これらのVHドメインは、同じか、又は、異なることができる。それらが異なる場合、それらは、Kv1.3上の同じエピトープもしくはKv1.3上のサブユニットに対して、又は、異なるエピトープもしくはサブユニットに対することができる。

40

【0166】

再度、本発明の化合物について本明細書で一般的に記載されたように、このような化合物は、1つ以上のリンカーを適切に含有することができ、C末端伸長(すなわち、本明細書で記載された通り)を含有することができ、また、1つ以上の更なる結合ユニット又は結合ドメイン(又は、他のアミノ酸配列もしくは部分)、例えば、Kv1.3以外のターゲットに対する更なるISVDを含有することもできる。例えば、限定されず、本発明の化合物は、延長した半減期を提供する結合ドメイン又は結合ユニット、例えば、血清タン

50

パク質、例えば、ヒト血清アルブミンに対する I S V D（例えば、ヒト血清アルブミンに対するナノボディ、例えば、ヒト血清アルブミンに対する本発明のナノボディ）を（も）含有することができる。

【0167】

更なる態様では、本発明は、本明細書で記載された（すなわち、本明細書で記載されたアミノ酸残基／変異／置換を含有する）免疫グロブリン可変ドメイン配列の（合成）ライブラリに関する。このようなライブラリは、通常、（本質的に）全て同じフレームワーク配列（本明細書で示されたアミノ酸残基／変異を含有する前記フレームワーク配列）と、種々の C D R（ライブラリ中の各配列が、ライブラリ中の他の配列と比較して、その C D R の少なくとも 1 つにおいて、少なくとも「1 つのアミノ酸差」を有することを意味する）とを伴って、通常、少なくとも 100 種類の配列、例えば、少なくとも 1000 種類の配列、特に、 $10^5$  種類を超える配列、とりわけ、 $10^6$  種類を超える配列、例えば、 $10^8 \sim 10^{10}$  種類以上の配列を含有するであろう（その広い意味において、配列間に少なくとも 1 つのアミノ酸差を有することを意味する）。

10

【0168】

免疫グロブリンシングル可変ドメイン配列（例えば、ヒト V H 配列又はラクダ誘導体化 V H H 配列に基づく）の合成ライブラリ及びそれらを生成／構築する方法（所定のスキヤフォールドに基づき、及び／又は、フレームワーク領域中に 1 つ以上の特定のアミノ酸残基／変異を含有するライブラリを含む）は、当技術分野において周知である。例えば、Tanh et al., J. Biol. Chem., Vol. 276, pp. 24774-24780, 2001 ; Bond et al., J. Mol. Biol. (2003) 332, 643-655 ; Mandrup et al., PLOS One, October 2013, Volume 8, Issue 10, e76834 ; Goldman et al., Anal. Chem., 2006, 78, 8245-8255 ; Hussak et al., Protein Engineering, Design & Selection vol. 25 no. 6 pp. 313-318, 2012 ; 及び、Chen et al., Methods Mol. Biol., 2009, 525, 81 が参照される。これらに文献に記載された技術（及びそれ自体公知の類似する技術）を、本発明の免疫グロブリンシングル可変ドメインライブラリを生成するのに、適切に使用又は適合させることができる。

20

【0169】

このようなライブラリに存在する I S V D は、任意の適切なソースからの任意の適切な C D R、例えば、「ナイーブな」哺乳類からの免疫レパートリー（例えば、ラクダ種又はヒト配列類）から開始して得られた／生成された C D R、抗原により適切に免疫化されている動物（例えば、ラクダ種）からの免疫レパートリーから開始して得られた／生成された C D R、完全に合成 C D R レパートリー、又は、突然変異誘発（例えば、ランダム突然変異誘発又は部位特異的突然変異誘発）等の技術により得られたレパートリーを適切に含有することができる。また、このようなライブラリは、例えば、それ自体公知の親和性成熟法の過程で生成されてくるライブラリであることもできる。

30

【0170】

このようなライブラリ中に存在する I S V D のフレームワーク領域は、例えば、V H 配列（例えば、ヒト V H 配列）から開始して、又は、ナノボディ配列（例えば、V H H 配列又はヒト化 V H 配列）から開始して得られるスキヤフォールドに基づく、任意の適切な開始配列／スキヤフォールドから、適切に得ることができる。また、ライブラリは、2 種類以上のソースから得られ、又は、2 種類以上のスキヤフォールドに基づく I S V D を含有することも可能である（例えば、ライブラリは、異なるソースから得られ、又は、異なるスキヤフォールドに基づく 2 つ以上のライブラリを組み合わせることにより得られるためである）。

40

【0171】

また、ライブラリ（中に存在する I S V D）は、タンパク質の形態、又は、関連する I S V D をコードする D N A もしくは R N A の形態にあることができる。例えば、ライブラリは、スクリーニング及び／又は選択技術に適した発現ライブラリの形態にあることができ、この目的で、例えば、適切なディスプレイ技術、例えば、ファージディスプレイライ

50

ブラリ、酵母ディスプレイライブラリ、又はリボソームディスプレイライブラリを使用してディスプレイすることができる形態にあることができる。

【0172】

このため、また一般的には、本発明は、(本明細書で更に記載された)本発明のVHドメインを含有する(本明細書で記載された)ライブラリに関する。好ましくは、このようなライブラリの特定の態様によれば、存在するVHドメインは、全て同じ(又は本質的に同じ)フレームワーク配列を有するが、異なるCDR配列(再度、言及されたように、これは、ライブラリ中の個々のVHドメインがそれぞれ、ライブラリ中の他のVHドメインと比較して、少なくとも1つのCDR中に少なくとも1つのアミノ酸差を有することを意味する)を有する。

10

【0173】

一態様において、本発明のライブラリは、本発明のISVDのライブラリ(本明細書で更に記載された通り、前記ISVDをコードするのに適した核酸のライブラリを含む)であり、ここで、

- 11位におけるアミノ酸残基は、L、V、又はKの内の1つであり、及び、
- 14位におけるアミノ酸残基は、A又はPの一方であり、及び、
- 41位におけるアミノ酸残基は、A又はPの一方であり、及び、
- 89位におけるアミノ酸残基は、T、V、又はLの内の1つであり、及び、
- 108位におけるアミノ酸残基は、Q又はLの一方であり、及び、
- 110位におけるアミノ酸残基は、T、K、又はQの内の1つであり、及び、
- 112位におけるアミノ酸残基は、S、K、又はQの内の1つであり、

20

ここで、下記のいずれかであり、(i)112位におけるアミノ酸残基は、KもしくはQの一方であり、及び/又は、(ii)89位におけるアミノ酸残基は、Tであり、及び/又は、(iii)89位におけるアミノ酸残基は、Lであり、110位におけるアミノ酸残基は、KもしくはQの一方であり、及び、(iv)(i)~(iii)の各場合において、11位におけるアミノ酸は、好ましくは、Vである。また場合により、このようなライブラリに存在するISVDは、(本発明のVHドメインについて本明細書で更に記載された)C末端伸長を含有することができ、及び/又は、適切なタグ(例えば、ヒスチジンタグ)を適切に含有することができる。

【0174】

30

別の態様では、本発明のこのようなライブラリは、本発明のISVDのライブラリ(本明細書で更に記載された通り、前記ISVDをコードするのに適した核酸のライブラリを含む)であり、ここで、

- 11位におけるアミノ酸残基は、Vであり、及び、
- 14位におけるアミノ酸残基は、A又はPの一方であり、及び、
- 41位におけるアミノ酸残基は、A又はPの一方であり、及び、
- 89位におけるアミノ酸残基は、Lであり、及び、
- 108位におけるアミノ酸残基は、Q又はLの一方であり、及び、
- 110位におけるアミノ酸残基は、T、K、又はQの内の1つであり、及び、
- 112位におけるアミノ酸残基は、S、K、又はQの内の1つである。

40

【0175】

また場合により、このようなライブラリに存在するISVDは、(本発明のVHドメインについて本明細書で更に記載された)C末端伸長を含有することができ、及び/又は、適切なタグ(例えば、ヒスチジンタグ)を適切に含有することができる。

【0176】

本発明のライブラリは、それ自体公知で、任意の適切な/意図した目的に使用することができる。例えば、本発明のライブラリは、例えば、スクリーニング及び/又は選択の目的(又は、スクリーニング及び/又は選択プロセスの一部)に使用することができ、親和性成熟の目的又は改善されたVHドメインの生成を意図した他のプロセスに/これらの一部として、例えば、アラニンスキャニングに使用することができる。実際には、通常、ラ

50

イブラリのサイズ、設計、及び他の特徴は、当業者の範囲であるであろう、その意図した使用に適合されるであろう。

【0177】

ここから、本発明は、下記の非限定的な好ましい、態様、実施例、及び図面により更に説明されるであろう。ここで、

【図面の簡単な説明】

【0178】

【図1】図1は、本明細書で具体的に言及されるであろうアミノ酸位置の一部及び幾つかの代替的なナンバリングシステム（例えば、A h o及びI M G T）に従ったそのナンバリングを列記した表である。

10

【図2】図2は、本明細書で言及された配列を列記する。

【図3】図3は、96個の血清サンプルを、S 1 1 2 K変異を有する代表的なナノボディ（参照A + S 1 1 2 K + C末端アラニン、図3中に（2）として示す）との結合について、S 1 1 2 K変異を有さない参照ナノボディ（参照A、配列番号：44、図3中に（1）として示す）と比較して試験した、

【図4】図4は、129個の血清サンプルを、V 8 9 T変異を有する代表的なナノボディ（参照A + L 1 1 V + V 8 9 T + C末端アラニン、図4中に（2）として示す）との結合について、V 8 9 T変異を有さない参照ナノボディ（参照A、配列番号：44、図4中に（1）として示す）と比較して試験した場合の、実施例4で得られたデータ点を示すプロットである。

20

【図5】図5は、100個の血清サンプルを、V 8 9 L、T 1 1 0 K、及び/又はT 1 1 0 Q変異を有する代表的なナノボディ（参照A + L 1 1 V + V 8 9 L + C末端A l a、図5中に（2）として示す；参照A + L 1 1 V + V 8 9 L + T 1 1 0 K + C末端A l a、図5中に（3）として示す；参照A + L 1 1 V + V 8 9 L + T 1 1 0 Q + C末端A l a、図5中に（4）として示す；及び、参照A + L 1 1 V + T 8 7 A + V 8 9 L + C末端A l a、図5中に（5）として示す）との結合について、これらの変異をいずれも有さない参照ナノボディ（参照A、配列番号：44、図5中に（1）として示す）と比較して試験した場合の、実施例5で得られたデータ点を示すプロットである。

【図6】図6は、健康なボランティアから得られた98個の血清サンプルを、代表的な三価のナノボディ構築物との結合について試験した場合の、実施例6で得られたデータ点を示すプロットである。各ドットは、98個の血清サンプルの内の1つに対して、示された構築物を試験することにより収集されたデータ点を表わす。凡例：（1）=参照X（ナノボディA - 35GS - ナノボディB）；（2）=参照X + C末端A l a；（3）=参照X + L 1 1 V + V 8 9 L + C末端A l a；（4）=参照X + L 1 1 V + T 8 7 A + V 8 9 L + C末端A l a；（5）=参照X + L 1 1 V + V 8 9 L + T 1 1 0 K + C末端A l a；（6）=参照X + L 1 1 V + V 8 9 L + T 1 1 0 Q + C末端A l a。

30

【図7】図7は、健康なボランティアから得られた30個の血清サンプル（高力価の既存の抗体又は、C末端アラニン伸長が存在する場合でも高度の結合を有する既存の抗体の存在について選択したサンプル）を、代表的な三価のナノボディ構築物との結合について試験した場合の、実施例6で得られたデータ点を示すプロットである。各ドットは、30個の血清サンプルの内の1つに対して、示された構築物を試験することにより収集されたデータ点を表わす。凡例：（1）=参照X + C末端A l a；（2）=参照X + L 1 1 V + V 8 9 L + C末端A l a；（3）=参照X + L 1 1 V + T 8 7 A + V 8 9 L + C末端A l a；（4）=参照X + L 1 1 V + V 8 9 L + T 1 1 0 K + C末端A l a。

40

【図8】図8は、健康なボランティアから得られた98個の血清サンプルを、代表的な二価のナノボディ構築物との結合について試験した場合の、実施例6で得られたデータ点を示すプロットである。各ドットは、30個の血清サンプルの内の1つに対して、示された構築物を試験することにより収集されたデータ点を表わす。凡例：（1）=参照Y（ナノボディA - 35GS - ナノボディB）；（2）=参照Y + C末端A l a；（3）=参照Y

50

+ L 1 1 V + V 8 9 L + C 末端 A l a ; ( 4 ) = 参照 Y + L 1 1 V + T 8 7 A + V 8 9 L + C 末端 A l a ; ( 5 ) = 参照 Y + L 1 1 V + V 8 9 L + T 1 1 0 K + C 末端 A l a ; ( 6 ) = 参照 Y + L 1 1 V + V 8 9 L + T 1 1 0 Q + C 末端 A l a 。

【図 9 A】図 9 A 及び 9 B は、イオンチャネル K v 1 . 3 に対する、本発明の一価のナノボディ ( 図 9 A ) 、及び、本発明の三価の二重特異性半減期延長化合物 ( 図 9 B ) の好ましく、非限定的な例を示す。図 9 C は、K v 1 . 3 に対する I S V D についての一部の好ましい C D R ( K a b a t 及び A b m それぞれに従った分類 ) を列記する。

【図 9 B】図 9 A 及び 9 B は、イオンチャネル K v 1 . 3 に対する、本発明の一価のナノボディ ( 図 9 A ) 、及び、本発明の三価の二重特異性半減期延長化合物 ( 図 9 B ) の好ましく、非限定的な例を示す。図 9 C は、K v 1 . 3 に対する I S V D についての一部の好ましい C D R ( K a b a t 及び A b m それぞれに従った分類 ) を列記する。

10

【図 9 C】図 9 A 及び 9 B は、イオンチャネル K v 1 . 3 に対する、本発明の一価のナノボディ ( 図 9 A ) 、及び、本発明の三価の二重特異性半減期延長化合物 ( 図 9 B ) の好ましく、非限定的な例を示す。図 9 C は、K v 1 . 3 に対する I S V D についての一部の好ましい C D R ( K a b a t 及び A b m それぞれに従った分類 ) を列記する。

【図 1 0】図 1 0 は、糖尿病を患うヒト対象から得られた 4 7 個の血清サンプルを、K v 1 . 3 に対する本発明の代表的な三価の二重特異性半減期延長化合物との結合について試験した場合の、実施例 7 で得られたデータ点を示すプロットである。各ドットは、4 7 個の血清サンプルの内の 1 つに対して、示された構築物を試験することにより収集されたデータ点を表わす。配列番号は、図 9 で列記された関連する配列を意味する。

20

【図 1 1】図 1 1 は、健康なボランティアから得られた 9 0 個の血清サンプルを、K v 1 . 3 に対する本発明の代表的な三価の二重特異性半減期延長化合物との結合について試験した場合の、実施例 7 で得られたデータ点を示すプロットである。各ドットは、4 7 個の血清サンプルの内の 1 つに対して、示された構築物を試験することにより収集されたデータ点を表わす。配列番号は、図 9 で列記された関連する配列を意味する。

【図 1 2 A】図 1 2 A 及び 1 2 B は、示された参照配列に基づく、I L - 2 3 に対する本発明のナノボディの一部の好ましく、非限定的な例の C D R 及びアミノ配列を列記する。実施例 8 も参照のこと。

【図 1 2 B】図 1 2 A 及び 1 2 B は、示された参照配列に基づく、I L - 2 3 に対する本発明のナノボディの一部の好ましく、非限定的な例の C D R 及びアミノ配列を列記する。実施例 8 も参照のこと。

30

【図 1 3】図 1 3 は、示された参照配列に基づく、O X 4 0 - L に対する本発明のナノボディの一部の好ましく、非限定的な例の C D R 及びアミノ配列を列記する。実施例 9 も参照のこと。

【図 1 4】図 1 4 は、示された参照配列に基づく、I g E に対する本発明のナノボディの一部の好ましく、非限定的な例の C D R 及びアミノ配列を列記する。実施例 1 0 も参照のこと。

【図 1 5 A】図 1 5 A 及び 1 5 B は、示された参照配列に基づく、C X C R - 4 に対する本発明のナノボディの一部の好ましく、非限定的な例の C D R 及びアミノ配列を列記する。実施例 1 1 も参照のこと。

40

【図 1 5 B】図 1 5 A 及び 1 5 B は、示された参照配列に基づく、C X C R - 4 に対する本発明のナノボディの一部の好ましく、非限定的な例の C D R 及びアミノ配列を列記する。実施例 1 1 も参照のこと。

【図 1 6 A】図 1 6 A 及び 1 6 B は、示された参照配列に基づく、H E R - 3 に対する本発明のナノボディの一部の好ましく、非限定的な例の C D R 及びアミノ配列を列記する。実施例 1 2 も参照のこと。

【図 1 6 B】図 1 6 A 及び 1 6 B は、示された参照配列に基づく、H E R - 3 に対する本発明のナノボディの一部の好ましく、非限定的な例の C D R 及びアミノ配列を列記する。実施例 1 2 も参照のこと。

【図 1 7 A】図 1 7 A 及び 1 7 B は、示された参照配列に基づく、T N F に対する本発明

50

のナノボディの一部の好ましく、非限定的な例の C D R 及びアミノ配列を列記する。実施例 1 3 及び 1 4 も参照のこと。

【図 1 7 B】図 1 7 A 及び 1 7 B は、示された参照配列に基づく、T N F に対する本発明のナノボディの一部の好ましく、非限定的な例の C D R 及びアミノ配列を列記する。実施例 1 3 及び 1 4 も参照のこと。

【図 1 8 A】図 1 8 A 及び 1 8 B は、示された参照配列に基づく、c - M e t に対する本発明のナノボディの一部の好ましく、非限定的な例の C D R 及びアミノ配列を列記する。実施例 1 5 も参照のこと。

【図 1 8 B】図 1 8 A 及び 1 8 B は、示された参照配列に基づく、c - M e t に対する本発明のナノボディの一部の好ましく、非限定的な例の C D R 及びアミノ配列を列記する。実施例 1 5 も参照のこと。

10

【図 1 9】図 1 9 は、示された参照配列に基づく、R A N K - L に対する本発明のナノボディの一部の好ましく、非限定的な例の C D R 及びアミノ配列を列記する。実施例 1 6 も参照のこと。

【図 2 0 A】図 2 0 A ~ 2 0 C は、示された参照配列に基づく、C X C R - 7 に対する本発明のナノボディの一部の好ましく、非限定的な例の C D R 及びアミノ配列を列記する。実施例 1 7 も参照のこと。

【図 2 0 B】図 2 0 A ~ 2 0 C は、示された参照配列に基づく、C X C R - 7 に対する本発明のナノボディの一部の好ましく、非限定的な例の C D R 及びアミノ配列を列記する。実施例 1 7 も参照のこと。

20

【図 2 0 C】図 2 0 A ~ 2 0 C は、示された参照配列に基づく、C X C R - 7 に対する本発明のナノボディの一部の好ましく、非限定的な例の C D R 及びアミノ配列を列記する。実施例 1 7 も参照のこと。

【図 2 1 A】図 2 1 A 及び 2 1 B は、示された参照配列に基づく、A - ベータに対する本発明のナノボディの一部の好ましく、非限定的な例の C D R 及びアミノ配列を列記する。実施例 1 8 も参照のこと。

【図 2 1 B】図 2 1 A 及び 2 1 B は、示された参照配列に基づく、A - ベータに対する本発明のナノボディの一部の好ましく、非限定的な例の C D R 及びアミノ配列を列記する。実施例 1 8 も参照のこと。

【図 2 2】図 2 2 は、I L - 2 3 に対する本発明の化合物の一部の好ましく、非限定的な例のアミノ酸配列を提供する。

30

【図 2 3】図 2 3 は、O X 4 0 - L に対する本発明の化合物の一部の好ましく、非限定的な例のアミノ酸配列を提供する。

【図 2 4】図 2 4 は、I g E に対する本発明の化合物の一部の好ましく、非限定的な例のアミノ酸配列を提供する。

【図 2 5】図 2 5 は、C X C R - 4 に対する本発明の化合物の一部の好ましく、非限定的な例のアミノ酸配列を提供する。

【図 2 6】図 2 6 は、H E R - 3 に対する本発明の化合物の一部の好ましく、非限定的な例のアミノ酸配列を提供する。

【図 2 7】図 2 7 は、T N F に対する本発明の化合物の一部の好ましく、非限定的な例のアミノ酸配列を提供する。

40

【図 2 8 A】図 2 8 A 及び 2 8 B は、c - M e t に対する本発明の化合物の一部の好ましく、非限定的な例のアミノ酸配列を提供する。

【図 2 8 B】図 2 8 A 及び 2 8 B は、c - M e t に対する本発明の化合物の一部の好ましく、非限定的な例のアミノ酸配列を提供する。

【図 2 9】図 2 9 は、R A N K - L に対する本発明の化合物の一部の好ましく、非限定的な例のアミノ酸配列を提供する。

【図 3 0】図 3 0 は、A - ベータに対する本発明の化合物の一部の好ましく、非限定的な例のアミノ酸配列を提供する。

【図 3 1 A】図 3 1 A は、健康なボランティアから得られた 9 2 個の血清サンプルを、A

50

- ベータに対する本発明の代表的な三価の二重特異性半減期延長化合物との結合について試験した場合の、実施例 19 で得られたデータ点を示すプロットである。各ドットは、92 個の血清サンプルの内の 1 つに対して、示された構築物を試験することにより収集されたデータ点を表わす。参照番号は、表 C C - 1 で列記された通りである。同様に、図 3 1 B は、健康なボランティアから得られた 92 個の血清サンプルを、図 3 1 A で試験された構築物に存在する（一価の）C 末端ナノボディとの結合について試験した場合の、実施例 19 で得られたデータ点を示すプロットである。各ドットは、92 個の血清サンプルの内の 1 つに対して、示された構築物を試験することにより収集されたデータ点を表わす。参照番号は、表 C C - 2 で列記された通りである。

【図 3 1 B】図 3 1 A は、健康なボランティアから得られた 92 個の血清サンプルを、A - ベータに対する本発明の代表的な三価の二重特異性半減期延長化合物との結合について試験した場合の、実施例 19 で得られたデータ点を示すプロットである。各ドットは、92 個の血清サンプルの内の 1 つに対して、示された構築物を試験することにより収集されたデータ点を表わす。参照番号は、表 C C - 1 で列記された通りである。同様に、図 3 1 B は、健康なボランティアから得られた 92 個の血清サンプルを、図 3 1 A で試験された構築物に存在する（一価の）C 末端ナノボディとの結合について試験した場合の、実施例 19 で得られたデータ点を示すプロットである。各ドットは、92 個の血清サンプルの内の 1 つに対して、示された構築物を試験することにより収集されたデータ点を表わす。参照番号は、表 C C - 2 で列記された通りである。

#### 【実施例】

##### 【0179】

###### 実験部

以下の実験部で使用したヒトサンプルを、商業的供給元又はヒトボランティアのいずれかから取得し（全ての必要とされる同意及び承認を得た後）、適用される法律及び規則の要件（医療秘匿及び患者プライバシーに関するものを含むが、これらに限定されない）に従って使用した。

##### 【0180】

以下の実施例において、使用したサンプル（すなわち、健康なボランティア、関節リウマチ（RA）患者、及び SLE 患者からのサンプル）中に存在する既存の抗体の試験したナノボディに対する結合を、ProteOn を使用して下記のように決定した。ヒト血清アルブミン（HSA）に捕捉されたナノボディへの既存の抗体の結合を、ProteOn XPR36（Bio-Rad Laboratories, Inc.）を使用して評価した。PBS / Tween（リン酸緩衝生理食塩水、pH 7.4、0.005% Tween 20）を、ランニングバッファーとして使用した。実験を、25℃で行った。ProteOn GLC センサチップのリガンドレーンを、EDC / NHS（流速 30  $\mu$ L/分）で活性化した。HSA を、ProteOn アセタートバッファー pH 4.5（流速 100  $\mu$ L/分）中において、10  $\mu$ g/mL で注入して、固定化レベルを約 3200 RU にした。固定化後、表面を、エタノールアミン HCl（流速 30  $\mu$ L/分）で不活性化した。ナノボディを、HSA 表面上に、45  $\mu$ L/分で 2 分間注入して、ナノボディ捕捉レベルを約 200 RU にした。既存の抗体を含有するサンプルを、14,000 rpm で 2 分間遠心分離した。上清を、PBS - Tween 20（0.005%）中において、1:10 希釈し、その後、45  $\mu$ L/分で 2 分間注入し、その後の 400 秒解離工程を続けた。各サイクル後（すなわち、新たなナノボディの捕捉及び血液サンプル注入工程前）に、HSA 表面を、45  $\mu$ L/分での HCl（100 mM）の 2 分間の注入により再生した。センサグラム処理及びデータ分析を、ProteOn Manager 3.1.0（Bio-Rad Laboratories, Inc.）で行った。既存の抗体の結合を示すセンサグラムを、1) ナノボディ - HSA 解離及び 2) 参照リガンドレーンに対する非特異的結合を差し引くことによる二重参照後に得た。既存の抗体の結合レベルを、125 秒（会合終了後 5 秒）で報告点を設定することにより決定した。既存の抗体結合における % 低下を、参照ナノボディの 125 秒での結合レベルに対して算出した。

##### 【0181】

**実施例 1 : S 1 1 2 K 変異により既存の抗体の結合が阻害される**

ヒトサンプル中の既存の抗体のナノボディへの結合における、1 1 2 位における置換の影響を決定し、国際公開公報第 1 2 / 1 7 5 7 4 1 号に記載された C 末端アラニン伸長の影響と比較した。

**【 0 1 8 2 】**

2 つの参照化合物 ( C 末端アラニン伸長を有さない参照 A 及び C 末端アラニン伸長を有する参照 B ) 及び 1 1 2 位に種々の変異を有するこれらの参照化合物の変異体を、6 名の異なる R A 患者から得られた血清及び異なる健康なヒト対象から得られた 8 つの血清に対して試験した。サンプル中の既存の抗体の試験したナノボディへの結合を、ProteOnにおいて、上記概説した全体的なプロトコールに従って測定した。結果を、以下の表 A に示す。

10

**【 0 1 8 3 】**

分かるように、試験した 1 1 2 位における変異の内、S 1 1 2 K 変異により、( C 末端アラニン伸長が S 1 1 2 K 変異体に存在しなかった場合でも ) C 末端アラニン伸長の低下に匹敵する、試験した血清中に存在した既存の抗体による結合の低下が提供された。同様の結果を、3 つのヒト血漿サンプルについて得た ( データを示さず ) 。

**【 0 1 8 4 】**

20

30

40

50



【表 6】

表 A : R A 患者及びヒトボランティアからの血清中に存在する既存の抗体の結合における、1 1 2 位における変異と C 末端アラニン伸長との比較

	R A 血清										健康なヒト血清																	
	75	96	44	11	117	141	242	81	121	179	93	92	91	92	75	96	44	11	117	141	242	81	121	179	93	92	91	92
参照 A への平均結合 (RU)																												
参照 A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
参照 B	70	90	100	88	84	97	53	78	83	93	93	81	86	86	70	90	100	88	84	97	53	78	83	93	93	81	86	86
参照 A (S 1 1 2 E)	51	67	63	65	66	84	31	82	72	59	73	100	74	70	51	67	63	65	66	84	31	82	72	59	73	100	74	70
参照 A (S 1 1 2 F)	75	51	85	100	79	39	56	86	69	60	78	93	76	79	75	51	85	100	79	39	56	86	69	60	78	93	76	79
参照 A (S 1 1 2 K)	<b>88</b>	<b>88</b>	<b>94</b>	<b>100</b>	<b>94</b>	<b>100</b>	<b>86</b>	<b>93</b>	<b>87</b>	<b>87</b>	<b>95</b>	<b>100</b>	<b>84</b>	<b>91</b>	<b>88</b>	<b>88</b>	<b>94</b>	<b>100</b>	<b>94</b>	<b>100</b>	<b>86</b>	<b>93</b>	<b>87</b>	<b>95</b>	<b>100</b>	<b>84</b>	<b>91</b>	
参照 A S 1 1 2 L)	69	45	63	54	50	81	37	74	59	42	75	97	68	83	69	45	63	54	50	81	37	74	59	42	75	97	68	83

参照 A への平均結合と比較した阻害 (%)

【 0 1 8 5 】

実施例 2 : ヒト S L E サンプル中に存在する既存の抗体の結合における、S 1 1 2 K 変異の影響

実施例 1 で使用したのと同じナノボディ変異体を、全身性エリテマトーデス ( S L E ) について陽性であることが確認された患者から得られた 7 つの血清サンプルからの既存の抗体による結合について試験した。比較のために、2 名の健康なヒトボランティアからの血漿サンプルを含めた。

【 0 1 8 6 】

サンプル中の既存の抗体の試験したナノボディへの結合を、ProteOnにおいて、上記概

10

20

30

40

50

説した全体的なプロトコールに従って測定した。結果を、以下の表 B に示す。

【 0 1 8 7 】

参照 A 及び参照 B、ならびに本発明のナノボディについての結合データの比較から分かるように、一部の S L E 患者から得られたサンプルは、C 末端アラニン残基が存在してもナノボディに結合することができる特定の既存の抗体を含有すると考えられる（C 末端アラニン残基は、健康なボランティアからの血漿サンプル中に存在した既存の抗体の全ての結合を本質的に（部分的に又は本質的に完全に）妨げる / 除去する）。

【 0 1 8 8 】

S L E サンプルからのこれらの既存の抗体の結合を、1 1 及び 1 1 2 位における変異（及び、1 1 2 位の場合には、特に、S 1 1 2 K）により、大きく低下させることができた

10

【 0 1 8 9 】

20

30

40

50

【表 7】

表B：SLE患者からの血清中に存在する既存の抗体の結合における、11及び112位における変異とC末端アラニン伸長との比較

	SLE患者から得られた血清サンプル										健康なボランティアから得られた血漿サンプル
	45	61	38	40	43	20	69	128	171		
参照Aへの平均結合 (RU)											
参照A	45	61	38	40	43	20	69	128	171		
参照Aへの結合と比較した阻害 (%)											
参照B	20	16	13	45	53	86	101	95	90		
参照A (L11E)	63	88	117	61	87	88	92	68	21		
参照A (L11K)	87	97	107	54	106	79	102	100	61		
参照A (L11V)	68	84	49	56	95	91	21	23	6		
参照A (L11Y)	27	71	111	37	84	74	72	13	3		
参照A (S112E)	13	56	91	77	74	91	94	84	22		
参照A (S112F)	-6	18	26	-13	62	69	117	74	43		
参照A (S112K)	71	77	105	80	116	86	120	87	62		
参照A (S112L)	-36	36	48	-24	123	19	84	91	3		

【0190】

実施例3：ヒトSLEサンプル中に存在する既存の抗体の結合における、組み合わせたフレームワーク変異及びC末端伸長の影響

(特定のフレームワーク変異を有し、C末端アラニン伸長を有する又は有さない)4種類のナノボディを、全身性エリテマトーデス(SLE)について陽性であることが確認された患者から得られた5つの血清サンプルからの既存の抗体の結合について試験した。比較のために、健康なヒトボランティアからの1つの血漿サンプルを含めた。

【0191】

サンプル中の既存の抗体の試験したナノボディへの結合を、ProteOnにおいて、上記概

10

20

30

40

50

説した全体的なプロトコールに従って測定した。結果を、以下の表 C 及び D に示す。

【 0 1 9 2 】

参照 A 及び参照 B についての結合データの比較から分かるように、S L E 患者から得られたサンプルは、C 末端アラニン残基が存在してもナノボディに結合することができる特定の既存の抗体を含有すると考えられる (C 末端アラニン残基は、健康なボランティアからの血漿サンプル中に存在した既存の抗体の全ての結合を本質的に妨げる / 除去する)。

【 0 1 9 3 】

S L E サンプルからのこれらの既存の抗体の結合を、1 1 及び 1 1 2 位における変異 (及び、1 1 2 位の場合には、特に、S 1 1 2 K) により、大きく低下させることができたことが更に分かる。

【 0 1 9 4 】

実施例 4 : S L E 患者からのサンプル中の既存の抗体の結合における、V 8 9 T 変異の影響

本明細書で記載されたように、特定の S L E 患者から得られたサンプルは、C 末端伸長が存在する場合でも、V H ドメインの露出した C 末端に結合することができる既存の抗体 / 因子を含有すると考えられる。V 8 9 T 変異が、C 末端伸長の存在の有無に関わらず、このような結合を低下させ、又は、妨げ / 除去することができるかを調査した。結果を、以下の表 C 及び E にも示す。

【 0 1 9 5 】

分かるように、V 8 9 T 変異により、S 1 1 2 K 変異と同程度に、S L E 患者から得られたサンプル中に存在する既存の抗体の結合を本質的に妨げ / 除去することができた。ただし、V 8 9 T 変異を有し、C 末端伸長を有さないナノボディと、S 1 1 2 K 変異を有し、C 末端伸長を有さない類似するナノボディについての表 C 及び E に提供されたデータの比較から分かるように、C 末端伸長を有さないナノボディ中の 1 1 2 位に変異を有することは、健康なボランティアからのサンプル中の既存の抗体の結合を、V 8 9 T 変異より大きい程度に全体的に低下させる (すなわち、それぞれ 1 0 0 %、8 5 %、及び 6 4 % S 1 1 2 K ナノボディ v s 9 %、1 1 %、及び 1 6 % V 8 9 T ナノボディ)。この理由で、1 1 2 位における変異の使用 (及び特に、S 1 1 2 K 又は S 1 1 2 K) が、8 9 位における変異 (例えば、V 8 9 T) の使用を上回って、多くの場合好ましいであろう。

【 0 1 9 6 】

しかしながら、表 C 及び E におけるデータからも分かるように、C 末端アラニンを V 8 9 T ナノ抗体に付加することにより、健康なボランティアから得られたサンプル中の既存の抗体の結合を完全に妨げ / 除去し、この理由で、V 8 9 T ナノボディ又は V H ドメインが、それが存在するであろうタンパク質又はポリペプチド中に露出した C 末端領域を有するか、又は、同領域を有することが意図される場合 (例えば、V 8 9 T ナノボディ又は V H ドメインが、同タンパク質又はポリペプチドの C 末端を形成する場合)、本明細書で記載された V 8 9 T 変異と C 末端伸長との組み合わせが、(すなわち、C 末端伸長を有さない V 8 9 T の使用を上回って) 通常好ましいであろう。

【 0 1 9 7 】

10

20

30

40

50

表C：SLE患者及びヒトボランティニアから得られたサンプル中の既存の抗体による結合における種々の変異の影響

	変異					SLE患者及から得られたサンプル					健康なボランティアから得られたサンプル	
	L1IK	L1IV	V89T	S112K	114A	SLE25	SLE37	SLE39	SLE41	NB13025-14		
<b>参照Aに対する平均結合</b>												
参照Aについての平均結合						38	66	30	41	45		175
<b>HSA上に捕捉された参照Aに対する平均結合と比較した阻害 (%)</b>												
参照A+V89T、C末端伸長なし		x	x			100	98	100	100	98		9
参照A+V89T+C末端アラニン		x	x		x	97	98	100	98	100		100
参照A+S112K、C末端伸長なし	X					100	100	100	100	98		100
参照A+S112K+C末端アラニン(*)	X			x	x	100	100	100	99	99		100
(*) 注記：このナノボディを、図3及び表Fで示されたデータを生成するのにも使用した(以下を参照のこと)。												

【表 9】

表D：SLE患者及びヒトボランテナから得られたサンプル中の既存の抗体による結合における種々の変異の影響

変異	SLE患者から得られたサンプル					健康なボランティアから得られたサンプル
	SLE25	SLE37	SLE39	SLE41	NB13025-14	
L11V						004-030-ABL-02
V89L						
S112Q						
114A						
	ND	71	51	ND	41	180
参照Aに対する平均結合						
参照Aについての平均結合						
HSA上に捕捉された参照Aに対する平均結合と比較した阻害 (%)						
参照A+V89L+S112Q+C末端アラニン	x					97
参照A+L11V+S112Q+C末端アラニン	x					99
参照A+S112Q+C末端アラニン						100

【 0 1 9 9 】

10

20

30

40

50

【 0 1 0 】

表E：SLE患者及びヒトボランテニアからのサンプル中の既存の抗体による結合における種々の変異の影響

変異	SLE患者及から得られたサンプル					健康なボランテニアからのサンプル
	L11V	V89L	V89T	S112K	I14A	
参照Aに対する平均結合						004-030-ABL-02
参照A						NB13025-14
HSA上に捕捉された参照Aに対する平均結合と比較した阻害 (%)						SLE41
参照A+V89L、C末端伸長なし	x					SLE39
参照A+V89L+C末端アラニン	x					SLE37
参照A+V89T、C末端伸長なし		x				SLE25
参照A+V89T+C末端アラニン		x				
参照A+V89T+L11V、C末端伸長なし	x					
参照A+V89T+L11V+C末端アラニン (*)	x					
参照A+S112K+V89L、C末端伸長なし				x		
参照A+S112K+V89L、C末端伸長				x		
参照A+S112K+L11V、C末端伸長なし	x					
参照A+S112K+L11V+C末端アラニン	x					

(\*) 注記：このナノボディを、図4及び表Gで示されたデータで生成するのにも使用した(以下を参照のこと)。

10

20

30

40

【 0 2 0 0 】

上記表からの結果/知見が広く適用できることを確認するために、S112K及び/又はV89T変異を有する代表的なナノボディを、96個(S112K)及び129個(V89T)のヒト血清サンプルの試験パネルに対して試験した。結合を、ProteOnにおいて、上記設定されたプロトコールを使用して決定した。

【 0 2 0 1 】

結果を、図3及び表F(S112K変異を有する代表的なナノボディ)と、図4及び表G(V89T変異を有する代表的なナノボディ)にまとめる。

【 0 2 0 2 】

50

図3において、S 1 1 2 K変異を有するナノボディ（参照A + S 1 1 2 K + C末端アラニン - 上記表Cを参照のこと）を、参照ナノボディ（参照A；配列番号：44）と比較した。S 1 1 2 K変異を有するナノボディ及び参照Aを両方とも、それぞれの血清サンプルに対して試験した。125秒での結合レベル（RU）を決定した。ついで、データを、図3にプロットした。ここで、各点は、参照A（図3において（1）と示す）又はS 1 1 2 K変異（図3において（2）と示す）のいずれかについて、1つのサンプルにおいて測定された結合を表わす。破線は、測定結合レベル20RUを示す。

【0203】

また、同じデータを、表F中に数値で表わす。表Fは、（参照A及びS 1 1 2 K変異それぞれについて）20RU超、20RU未満（すなわち、0～20RU）、及び10RU未満の125秒での結合レベルを提供する試験したサンプルの総数に言及している。

10

【0204】

参照Aについては、図3にプロットされ、表Fに示されたデータから分かるように、試験した96個のサンプルの内の半分超から、20RUを超える結合レベルが提供された（一部の 경우에는、150～200RUの高さ）。このことは、サンプル中に存在する既存の抗体が、参照Aに結合したことを示している。比較により、S 1 1 2 K変異については、サンプルから、20RUを超える結合レベルが提供されなかった（及びほとんどが、10RU未満）。このことは、S 1 1 2 K変異は、試験した全96個のサンプル中の既存の抗体の結合を本質的に妨げ/除去することができたことを示している。

【0205】

20

129個の血清サンプルに対して試験したV 8 9 T変異を有する代表的なナノボディ（参照A + L 1 1 V + V 8 9 T + C末端アラニン、上記表Eを参照のこと）について、類似するプロット及び類似するデータを、図4及び表Gそれぞれに示し、再度、参照A（図4において（1）で示す、V 8 9 T変異を、図4において（2）で示す）と比較した。再度、図4中のプロット及び表G中のデータから、わずかな例外を伴って（すなわち、試験したサンプルの内の10%未満、例えば、それらはそれぞれ、約100RU以下の125秒後の絶対結合値を提供した）、V 8 9 T変異は、試験した129個のサンプルのほとんどにおいて、既存の抗体の結合を低下させ/妨げることができたことがわかる。一方、V 8 9 T変異を有さない参照は、試験したサンプルのほとんどにおける既存の抗体に結合した。

【0206】

30

【表11】

表F：S 1 1 2 K変異を有する代表的なナノボディの96個の血清サンプルに対する試験

試験したナノボディ	125秒での結合 レベル 10RU 未満	125秒での結合 レベル 20RU 未満	125秒での結合 レベル 20RU超
参照A	34	41	55
参照A + S 1 1 2 K + C末端アラニン	92	96	0

40

【0207】

50



## 【表 1 2】

表G：V 8 9 L及び／又はT 1 0 0 K／Q変異を有するナノボディ変異体の1 2 9  
個の血清サンプルに対する試験

試験したナノボディ	1 2 5 秒での結合 レベル 1 0 RU 未満	1 2 5 秒での結合 レベル 2 0 RU 未満	1 2 5 秒での結合 レベル 2 0 RU超
参照A	27	40	89
参照A + L 1 1 V + V 8 9 T + C 末 端アラニン	110	119	10

10

## 【 0 2 0 8】

実施例 5：S L E 患者からのサンプル中の既存の抗体の結合における、T 1 1 0 K 又は  
T 1 1 0 Q と組み合わせた V 8 9 L 変異の影響

20

本明細書で記載されたように、特定の S L E 患者から得られたサンプルは、C 末端伸長  
が存在する場合でも、V H ドメインの露出した C 末端に結合することができる既存の抗体  
／因子を含有すると考えられる。V 8 9 L 及び／又は T 1 1 0 Q もしくは T 1 1 0 K 変異  
（又は、それらの組み合わせ）が、C 末端伸長の存在の有無に関わらず、このような結合  
を低下させ、又は、妨げ／除去することができるかを調査した。結果を、以下の表 H 及び  
I にも示す。これらの表は、2 つの別々の実験からのデータを表わす（上記表 D にも、V  
8 9 L 変異と組み合わせた本発明の S 1 1 2 Q 変異についてのデータを示す）。また、表  
I で使用されたナノボディを、図 5 及び表 J に示されたデータを生成するのにも使用した。

## 【 0 2 0 9】

30

40

50

【 表 1 3 】

表H：SLE患者及びヒトボランテアからのサンプル中の既存の抗体による結合における種々の変異の影響

	変異					SLE患者及から得られたサンプル					健康なボランテアからのサンプル	
	L11V	V89L	T110K	T110Q	I14A	SLE25	SLE37	SLE39	SLE41	NB13025-14		
参照Aに対する平均結合												
参照A						28	44	26	33	30	151	
HSA上に捕捉された参照Aに対する平均結合と比較した阻害 (%)												
参照A+V89L、C末端伸長なし		x				77	64	53	63	41	35	
参照A+V89L+C末端アラニン		x			x	35	27	63	42	46	83	
参照A+L11V+V89L、C末端伸長なし	x	x				100	100	8	95	100	29	
参照A+L11V+V89L+C末端アラニン (*)	x	x			x	94	70	100	78	100	89	
参照A+V89L+T110K、C末端伸長なし		x	x			100	77	100	100	100	65	
参照A+V89L+T110K、C末端アラニン		x	x		x	96	70	100	100	100	100	
参照A+L11V+T110K、C末端伸長なし	x		x			100	0	100	100	100	43	
参照A+L11V+T110K+C末端アラニン	x		x		x	96	0	100	100	100	99	

(\*) 注記：このナノボディを、図5及び表Jで示されたデータを生成するのにも使用した。

【 0 2 1 0 】

10

20

30

40

50

【表 1 4】

表 1 : SLE患者及びヒトポテンティアからのサンプル中の既存の抗体による結合における種々の変異の影響

参照Aに対する平均結合 HSA上に捕捉された参照Aに対する平均結合と比較した阻害 (%)	変異						SLE患者及から得られたサンプル				
	L11V	T87A	V89L	T110K	T110Q	I14A	SLE25	SLE37	SLE39	SLE41	NB13025-14
参照A							50	72	55	96	58
参照A + L11V + V89L + C末端アラニン	x		x			x	100	100	98	100	99
参照A + L11V + V89L + T110K + C末端アラニン	x		x	x		x	100	81	98	99	98
参照A + L11V + V89L + T110Q + C末端アラニン	x		x		x	x	100	100	87	98	81
参照A + L11V + T87A + V89L + C末端アラニン	x	x	x			x	100	100	100	100	100

10

20

30

40

## 【0211】

上記表からの結果/知見が広く適用できることを確認するために、再度、V89L、T110K、及び/又はT110Q変異を有する代表的なナノボディを、99個のヒト血清サンプルのパネルに対して試験した。再度、結合データを取得し、図3及び4ならびに表F及びGに示された結果及びデータについて、実施例4で示したのと同様にプロットした。

## 【0212】

試験したナノボディを、図5で使用されたナンバリングに対応するナンバー：(1) 参照A、(2) 参照A + L11V + V89L + C末端A1a、(3) 参照A + L11V + V89L + T110K + C末端A1a、(4) 参照A + L11V + V89L + T110Q +

50

C末端A1a、(5)参照A+L11V+T87A+V89L+C末端A1aとした。結果を、図5及び表Iに示す。

【0213】

分かるように、再度、試験した変異を導入することにより、既存の抗体が試験したナノボディに結合することができたサンプル数が大きく減少した。図5におけるナノボディ(2)(参照A+L11V+V89L+C末端A1a)については、一部のサンプルは、20RUを超える(が、100RU未満の)レベルで125秒後の既存の抗体の結合を示したことも分かった。ただし、V89L変異をT110K変異(ナノボディ(3))又はT100Q変異(ナノボディ(4))と組み合わせた場合には、99個の試験した全てのサンプルは、20RU未満(及び実際には、10RU未満、表Jを参照のこと)の結合レベルを本質的に示した。

10

【0214】

【表15】

表J：V89L、T110K、及び/又はT110K変異を有する代表的なナノボディの99個の血清サンプルに対する試験

試験したナノボディ	125秒での結合 レベル 10RU未 満	125秒での結合 レベル 20RU未 満	125秒での結合 レベル 20RU超
参照A	52	64	35
参照A+L11V +V89L+C末 端A1a	94	95	4
参照A+L11V +V89L+T1 10K+C末端A 1a	99	99	0
参照A+L11V +V89L+T1 10Q+C末端A 1a	99	99	0
参照A+L11V +T87A+V8 9L+C末端A1 a	99	99	0

20

30

40

【0215】

50

実施例 6：既存の抗体の結合についての多価構築物の試験  
多価構築物を、下記ナノボディに基づいて調製する。

ナノボディ A（治療ターゲットに対する）：

【表 1 6】

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFNHYAMGWFRQAPGKEREFVAAIT  
RSGVRSVSAIYGDSVKDRFTISRDNANTLYLQMNSLRPEDTAVYYCAASAI  
GSGALRRFEYDYSQGTLTVSS（配列番号：92）

ナノボディ B（血清アルブミンに対する）：

10

【表 1 7】

EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISG  
SGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSS  
QGTLTVSS（配列番号：93）

ナノボディ C（治療ターゲットに対する）：

【表 1 8】

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASRSIGRLDRMGWYRHRPGEPRELVATITG  
GSSINYGDSVKGRFTISIDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCNFNKYVTSRDT  
WGQGTLLTVSS（配列番号：94）

20

【0216】

調製した構築物を、以下の表 K に列記する（各場合において、関連するナノボディ中に（存在する場合）導入された置換を、丸かっこ間に記載した。「HIS6」は、6つのヒスチジン残基の N 末端 his - タグを意味する。「-Ala」は、1つのアラニン残基の C 末端伸長を意味する。

【0217】

30

40

50

## 【表 19】

表K：試験した多価構築物

H I S 6-ナノボディA (E 1 D、L 1 1 V、S 1 1 2 K) - 3 5 G S-ナノボディB-A 1 a	
H I S 6-ナノボディA (E 1 D、L 1 1 V、S 1 1 2 K) - 3 5 G S-ナノボディB (L 1 1 V、S 1 1 2 K) - A 1 a	
H I S 6-ナノボディA (E 1 D) - 3 5 G S-ナノボディB	
H I S 6-ナノボディA (E 1 D) - 3 5 G S-ナノボディB-A 1 a	10
H I S 6-ナノボディA (E 1 D、L 1 1 V、S 1 1 2 K) - 3 5 G S-ナノボディB (L 1 1 V、S 1 1 2 K)	
H I S 6-ナノボディA (E 1 D、S 1 1 2 K) - 3 5 G S-ナノボディB (S 1 1 2 K) - A 1 a	
H I S 6-ナノボディA (E 1 D、S 1 1 2 Q) - 3 5 G S-ナノボディB (S 1 1 2 Q) - A 1 a	
H I S 6-ナノボディA (E 1 D、V 8 9 L、S 1 1 2 K) - 3 5 G S-ナノボディB (V 8 9 L、S 1 1 2 K) - A 1 a	
H I S 6-ナノボディA (E 1 D、L 1 1 V、S 1 1 2 Q) - 3 5 G S-ナノボディB (L 1 1 V、S 1 1 2 Q) - A 1 a	20
H I S 6-ナノボディB (E 1 D) - 3 5 G S-ナノボディA	
H I S 6-ナノボディB (E 1 D) - 3 5 G S-ナノボディA-A 1 a	
H I S 6-ナノボディA (E 1 D) - 3 5 G S-ナノボディB (L 1 1 V、S 1 1 2 K) - A 1 a	
H I S 6-ナノボディB (E 1 D、L 1 1 V、S 1 1 2 K) - 3 5 G S-ナノボディA-A 1 a	
H I S 6-ナノボディB (E 1 D) - 3 5 G S-ナノボディA (L 1 1 V、S 1 1 2 K) - A 1 a	
H I S 6-ナノボディA (E 1 D、V 8 9 L、S 1 1 2 Q) - 3 5 G S-ナノボディB (V 8 9 L、S 1 1 2 Q) - A 1 a	30
H I S 6-ナノボディB (E 1 D、L 1 1 V、S 1 1 2 K) - 3 5 G S-ナノボディA (L 1 1 V、S 1 1 2 K) - A 1 a	
H I S 6-ナノボディB (S 1 1 2 K) - A 1 a	
ナノボディB (L 1 1 V、S 1 1 2 K) - A 1 a	
ナノボディB (L 1 1 V、S 1 1 2 Q) - A 1 a	
ナノボディB (S 1 1 2 Q) - A 1 a	

10

20

30

40

50

表K (続き)

H I S 6-ナノボディA (E 1 D、S 1 1 2 K) - 3 5 G S-ナノボディA (S 1 1 2 K) - 3 5 G S-ナノボディB (S 1 1 2 K) - A 1 a	
H I S 6-ナノボディA (E 1 D、S 1 1 2 Q) - 3 5 G S-ナノボディA (S 1 1 2 Q) - 3 5 G S-ナノボディB (S 1 1 2 Q) - A 1 a	
H I S 6-ナノボディA (E 1 D、L 1 1 V、S 1 1 2 K) - 3 5 G S-ナノボディA (L 1 1 V、S 1 1 2 K) - 3 5 G S-ナノボディB (L 1 1 V、S 1 1 2 K) - A 1 a	
H I S 6-ナノボディA (E 1 D、L 8 9 V、S 1 1 2 K) - 3 5 G S-ナノボディA (L 8 9 V、S 1 1 2 K) - 3 5 G S-ナノボディB (L 1 1 V、S 1 1 2 K) - A 1 a	10
H I S 6-ナノボディA (E 1 D) - 3 5 G S-ナノボディA-3 5 G S-ナノボディB	
H I S 6-ナノボディA (E 1 D) - 3 5 G S-ナノボディA-3 5 G S-ナノボディB-A 1 a	
ナノボディC (E 1 D) - 9 G S-A 1 a L B 1 1-9 G S-ナノボディC	
H I S 6-ナノボディA (E 1 D、L 1 1 V、S 1 1 2 K) - 3 5 G S-ナノボディA (L 1 1 V、S 1 1 2 K) - 3 5 G S-ナノボディB-A 1 a	
H I S 6-ナノボディC (E 1 D、L 1 1 V、S 1 1 2 K) - 9 G S-ナノボディB (L 1 1 V、S 1 1 2 K) - 9 G S-ナノボディC (L 1 1 V、S 1 1 2 K) - A 1 a	20
ナノボディC (E 1 D) - 9 G S-A 1 a L B 1 1-9 G S-ナノボディC-A 1 a	
H I S 6-ナノボディA (E 1 D、L 1 1 V、S 1 1 2 Q) - 3 5 G S-ナノボディA (L 1 1 V、S 1 1 2 Q) - 3 5 G S-ナノボディB (L 1 1 V、S 1 1 2 Q) - A 1 a	
H I S 6-ナノボディA (E 1 D、V 8 9 L、S 1 1 2 Q) - 3 5 G S-ナノボディA (V 8 9 L、S 1 1 2 Q) - 3 5 G S-ナノボディB (V 8 9 L、S 1 1 2 Q) - A 1 a	
H I S 6-ナノボディC (E 1 D、S 1 1 2 K) - 9 G S-ナノボディB (S 1 1 2 K) - 9 G S-ナノボディC (S 1 1 2 K) - A 1 a	
H I S 6-ナノボディC (E 1 D、S 1 1 2 Q) - 9 G S-ナノボディB (S 1 1 2 Q) - 9 G S-ナノボディC (S 1 1 2 Q) - A 1 a	30
H I S 6-ナノボディC (E 1 D、L 1 1 V、S 1 1 2 Q) - 9 G S-ナノボディB (L 1 1 V、S 1 1 2 Q) - 9 G S-ナノボディC (L 1 1 V、S 1 1 2 Q) - A 1 a	
H I S 6-ナノボディC (E 1 D、V 8 9 L、S 1 1 2 K) - 9 G S-ナノボディB (V 8 9 L、S 1 1 2 K) - 9 G S-ナノボディC (V 8 9 L、S 1 1 2 K) - A 1 a	
H I S 6-ナノボディC (E 1 D、V 8 9 L、S 1 1 2 Q) - 9 G S-ナノボディB (V 8 9 L、S 1 1 2 Q) - 9 G S-ナノボディC (V 8 9 L、S 1 1 2 Q) - A 1 a	
H I S 6-ナノボディA (E 1 D、L 1 1 V、A 1 4 P、R 3 9 Q、K 8 3 R、V 8 9 L、T 9 1 Y、Q 1 0 8 L) - 3 5 G S-ナノボディB (L 1 1 V、R 3 0 S、E 4 4 G、P 4 5 L、K 8 3 R、V 8 9 L、Q 1 0 8 L) - A 1 a	40

表K (続き)

HIS6-ナノボディA (E1D、L11V、A14P、R39Q、K83R、T87A、V89L、T91Y、Q108L) - 35GS-ナノボディB (L11V、R30S、E44G、P45L、K83R、T87A、V89L、Q108L) - A1a	
HIS6-ナノボディA (E1D、L11V、A14P、R39Q、K83R、V89L、T91Y、Q108L、T110Q) - 35GS-ナノボディB (L11V、R30S、E44G、P45L、K83R、V89L、Q108L、T110Q) - A1a	10
HIS6-ナノボディA (E1D、L11V、A14P、R39Q、K83R、V89L、T91Y、Q108L、T110K) - 35GS-ナノボディB (L11V、R30S、E44G、P45L、K83R、V89L、Q108L、T110K) - A1a	
HIS6-ナノボディA (E1D、L11V、A14P、R39Q、K83R、V89L、T91Y、Q108L) - 35GS-ナノボディA (E1D、L11V、A14P、R39Q、K83R、V89L、T91Y、Q108L) - 35GS-ナノボディB (L11V、R30S、E44G、P45L、K83R、V89L、Q108L) - A1a	20
HIS6-ナノボディA (E1D、L11V、A14P、R39Q、K83R、T87A、V89L、T91Y、Q108L) - 35GS-ナノボディA (E1D、L11V、A14P、R39Q、K83R、T87A、V89L、T91Y、Q108L) - 35GS-ナノボディB (L11V、R30S、E44G、P45L、K83R、T87A、V89L、Q108L) - A1a	
HIS6-ナノボディA (E1D、L11V、A14P、R39Q、K83R、V89L、T91Y、Q108L、T110Q) - 35GS-ナノボディA (E1D、L11V、A14P、R39Q、K83R、V89L、T91Y、Q108L、T110Q) - 35GS-ナノボディB (L11V、R30S、E44G、P45L、K83R、V89L、Q108L、T110Q) - A1a	30
HIS6-ナノボディA (E1D、L11V、A14P、R39Q、K83R、V89L、T91Y、Q108L、T110K) - 35GS-ナノボディA (E1D、L11V、A14P、R39Q、K83R、V89L、T91Y、Q108L、T110K) - 35GS-ナノボディB (L11V、R30S、E44G、P45L、K83R、V89L、Q108L、T110K) - A1a	

## 【0218】

代表的な多価構築物を、SLEを患う患者及び健康なボランティアから得られた血液又は血清サンプル中に存在する既存の抗体による結合について試験した。両方とも、本質的に上記されたProteOnを使用して決定した。

40

## 【0219】

試験した代表的な構築物を、表L(三価構築物)及びM(二価構築物)に列記した。結果を、図6~8及び表N~Qに示す。試験した三価構築物を、参照構築物であるナノボディA-35GS-ナノボディA-35GS-ナノボディB(「参照X」)から得た。二価構築物を、参照構築物であるナノボディA-35GS-ナノボディB(「参照Y」)から得た。全ての構築物(参照構築物を除く)は、C末端アラニン残基ならびに「ナノボディA」及び「ナノボディB」構築ブロックのそれぞれに示された変異を有し、示した。

## 【0220】

50



## 【表 2 0】

表L：試験した三価構築物

三価構築物	変異					
	L11V	T87A	V89L	T110K	T110Q	I14A
これらの構築物（参照構築物を除く）は、C末端アラニン残基及び構築ブロックのそれぞれに示された変異を有し、示した。						
参照X（＝ナノボディA－35GS－ナノボディA－35GS－ナノボディB）						
参照X＋C末端Ala						x
参照X＋L11V＋V89L＋C末端Ala	x		x			x
参照X＋L11V＋V89L＋T110K＋C末端Ala	x		x	x		x
参照X＋L11V＋T87A＋V89L＋C末端Ala	x	x	x			x
参照X＋L11V＋V89L＋T110Q＋C末端Ala	x		x		x	x

## 【0 2 2 1】

## 【表 2 1】

表M：試験した二価構築物

二価構築物	変異					
	L11V	T87A	V89L	T110K	T110Q	I14A
これらの構築物（参照構築物を除く）は、C末端アラニン残基及び構築ブロックのそれぞれに示された変異を有し、示した。						
参照Y（＝ナノボディA－35GS－ナノボディB）						
参照Y＋C末端Ala						x
参照Y＋L11V＋V89L＋C末端Ala	x		x			x
参照Y＋L11V＋V89L＋T110K＋C末端Ala	x		x	x		x
参照Y＋L11V＋T87A＋V89L＋C末端Ala	x	x	x			x
参照Y＋L11V＋V89L＋T110Q＋C末端Ala	x		x		x	x

10

20

30

40

50

【 0 2 2 2 】

【表 2 2】

表N：健康なヒトボランティアから得られた98個の血清サンプル中に存在する既存の抗体による結合についての三価構築物の試験結果。結果を、各ドットが98個の血清サンプルの内の1つに対して、示された構築物を試験することにより収集されたデータ点を表わすプロットとして、図6にも表わす。

98個のサンプル（健康な対象）に試験したナノボディ	図6中に示されたプロットにおけるレーン番号	125秒での結合レベル 10RU 未満	125秒での結合レベル 20RU 未満	125秒での結合レベル 20RU超
参照X	(1)	38	48	50
参照X+C末端Ala	(2)	64	75	23
参照X+L11V+V89L+C末端Ala	(3)	94	95	3
参照X+L11V+V89L+T110K+C末端Ala	(5)	95	96	2
参照X+L11V+V89L+T110Q+C末端Ala	(6)	95	96	2
参照X+L11V+T87A+V89L+C末端Ala	(4)	92	95	3

【 0 2 2 3 】

10

20

30

40

50

## 【表 2 3】

表〇：健康なヒトボランティアから得られた30個の選択された血清サンプル中に存在する既存の抗体による結合についての三価構築物の試験結果。使用した30個のサンプルを、公知の高力価の既存の抗体を有するか、又は、サンプル中に存在する既存の抗体が、C末端アラニン残基が存在する場合でも高度の結合を有することが公知であるためのいずれかのために予め選択した。結果を、各ドットが選択された30個の血清サンプルの内の1つに対して、示された構築物を試験することにより収集されたデータ点を表わすプロットとして、図7にも表わす。

30個のサンプルの選択されたセットに試験したナノボディ	図7中に示されたプロットにおけるレーン番号	125秒での結合レベル 10RU未満	125秒での結合レベル 20RU未満	125秒での結合レベル 20RU超
参照X+C末端Ala	(1)	12	13	17
参照X+L11V+V89L+C末端Ala	(2)	18	22	8
参照X+L11V+T87A+V89L+C末端Ala	(3)	27	27	3
参照X+L11V+V89L+T110K+C末端Ala	(4)	26	26	4

## 【0224】

10

20

30

40

50

## 【表 2 4】

表P：健康なヒトボランティアから得られた98個の血清サンプル中に存在する既存の抗体による結合についての二価構築物の試験結果。結果を、各ドットが98個の血清サンプルの内の1つに対して、示された構築物を試験することにより収集されたデータ点を表わすプロットとして、図8にも表わす。

98個のサンプル（健康な対象）に試験したナノボディ	図8中に示されたプロットにおけるレーン番号	125秒での結合レベル 10RU 未満	125秒での結合レベル 20RU 未満	125秒での結合レベル 20RU超
参照Y	(1)	54	67	31
参照Y+C末端Ala	(2)	90	92	6
参照Y+L11V+V89L+C末端Ala	(3)	97	98	0
参照Y+L11V+T87A+V89L+C末端Ala	(4)	98	98	0
参照Y+L11V+V89L+T110K+C末端Ala	(5)	96	98	0
参照Y+L11V+V89L+T110Q+C末端Ala	(6)	98	98	0

## 【0225】

また、3つの代表的な三価構築物を、SLE患者から得られた血清サンプルに対しても試験した。結果を、表Qに示す。

10

20

30

40

50

【表 2 5】

表 Q : S L E 患者から得られた血清サンプルに対する代表的な三個構築物の試験

構築物 (C末端アラニン残基及び構築物ブロックのそれぞれに示された変異を有し、示す)	変異						S L E 患者及から得られたサンプル	健康なボランティアからのサンプル			
	L11V	T87A	V89L	T110K	T110Q	I14A					
[参照 X + C 末端 A 1 a] に対する平均結合											
参照 X + C 末端 アラニン						142	194	126	108	102	27
HSA 上に捕捉された [参照 X + C 末端 A 1 a] に対する平均結合と比較した阻害 (%)											
参照 X + L 1 1 V + V 8 9 L + C 末端 アラニン	x		x			100	95	100	88	100	0
参照 X + L 1 1 V + V 8 9 L + T 1 1 0 K + C 末端 アラニン	x		x	x		100	76	100	100	100	100
参照 X + L 1 1 V + T 8 7 A + V 8 9 L + C 末端 アラニン	x	x	x			100	100	100	100	97	100

10

20

30

40

【 0 2 2 6】

実施例 7 : イオンチャネル K v 1 . 3 に対するナノボディ及びナノボディ構築物

具体的な一態様では、本発明の V H ドメイン (及び特に、本発明の I S V D、及びとりわけ、本発明のナノボディ) 及び本発明の化合物は、イオンチャネル K v 1 . 3 に対することができる。

【 0 2 2 7】

同時係属中の米国仮出願第 6 2 / 0 1 4 , 0 2 3 号 (発明の名称 : 「 K v 1 . 3 結合免疫グロブリン」 ; 譲受人 : Ablynx N.V. ; 出願日 : 2 0 1 4 年 6 月 1 8 日 ) 及びその後に出願された同じ発明の名称の米国仮出願 (出願日 : 2 0 1 5 年 3 月 1 6 日 ; 譲受人 : Ably

50

nx N.V.)には、カリウム選択的電位作動型イオンチャネルKv1.3に対する免疫グロブリンシングル可変ドメイン（及び特に、ナノボディ）ならびに少なくとも1つのKv1.3に対するこのようなナノボディを含むタンパク質、ポリペプチド、及び他のナノボディ系構築物が、特に記載されている。

【0228】

また、（場合により、本明細書及び／又は国際公開公報第12/175741号で記載されたC末端伸長と適切に組み合わせられた）本願で記載された変異は、これらの2つの米国仮出願に記載されたKv1.3に対するナノボディ、タンパク質、ポリペプチド、及び他のナノボディ系構築物に、適切に適用することができる。

【0229】

このため、一態様において、本発明は、Kv1.3に対し、本発明のISVDについて本明細書で更に記載された（すなわち、本明細書で記載されたアミノ酸残基／変異を含む）VHドメインに関する。

【0230】

再度、本明細書で記載された本発明の他の態様及び実施態様についてと同様に、具体的なISVD（例えば、この実施例で記載されたKv1.3に対するISVD）又はそれを含む化合物が、「本発明の」又は「本明細書で更に記載された」と言われる場合、本発明のISVD又は化合物について本明細書で全体的に記載された好ましい態様／実施態様及び選択も、他の方法で明確に示さない限り、又は、他の方法で必要とされる具体的な技術的文脈が無い限り、前記具体的なISVD又は化合物それぞれにも具体的に適用する。

【0231】

このため、特定の態様では、本発明は、Kv1.3に対するVHドメインに関し、ここで、(i)112位が、KもしくはQであり、又は、(ii)110位が、KもしくはQであり、11位が、Vであり、又は、(iii)89位が、Tであり、又は、(iv)89位が、Lであり、110位が、KもしくはQであり、又は、(v)11位が、Vであり、89位が、Lであり、又は、(i)～(v)の任意の適切な組み合わせである。特に、Kv1.3に対するこのようなVHドメインにおいて、

- 11位におけるアミノ酸残基は、好ましくは、L、V、又はKから選択され（及び最も好ましくは、Vであり）、及び、

- 14位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 41位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 89位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、V、又はLから選択され、及び、

- 108位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、Q又はLから選択され、及び、

- 110位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、K、又はQから選択され、及び、

- 112位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、S、K、又はQから選択され、

このため、下記のいずれか、(i)112位は、KもしくはQであり、又は、(ii)110位は、KもしくはQであり、11位は、Vであり、又は、(iii)89位は、Tであり、又は、(iv)89位は、Lであり、110位は、KもしくはQであり、又は、(v)11位は、Vであり、89位は、Lであり、又は、(i)～(v)の任意の適切な組み合わせである。

【0232】

この実施例において言及されたKv1.3に対するVHドメインは、特に、米国仮出願第62/014,023号の第5～10頁に記載されたCDR（このようなCDRの任意の好ましい態様／実施態様を含む）又は上記で参照された他の米国仮出願に記載されたその配列最適化バージョンを有することができる。

【0233】

特に、この実施例において言及されたKv1.3に対するVHドメインは、特に、米国仮出願第62/014,023号の第9及び10頁に跨るリスト中に好ましい態様として

10

20

30

40

50

列記された CDR 1、CDR 2、及び CDR 3 の組み合わせの内の 1 つから選択される、CDR 1、CDR 2、及び CDR 3 の組み合わせを有することができる。

【0234】

本発明の一部の好ましく、非限定的な態様では、

- 本発明の V H ドメイン中において、( i ) CDR 1 ( K a b a t による ) は、配列番号 : 1 6 6 の配列又は、配列番号 : 1 6 6 の配列と 1 つもしくは 2 つのアミノ酸差を有するアミノ酸配列であり、( i i ) CDR 2 ( K a b a t による ) は、配列番号 : 1 6 7 の配列又は、配列番号 : 1 6 7 の配列と 1 つもしくは 2 つのアミノ酸差を有するアミノ酸配列であり、そして ( i i i ) CDR 3 ( K a b a t による ) は、配列番号 : 1 6 8 の配列又は、配列番号 : 1 6 8 の配列と 1 つもしくは 2 つのアミノ酸差を有するアミノ酸配列であり ; 及び更により好ましくは、( i ) CDR 1 ( K a b a t による ) は、配列番号 : 1 6 6 の配列であり、( i i ) CDR 2 ( K a b a t による ) は、配列番号 : 1 6 7 の配列であり、そして ( i i i ) CDR 3 ( K a b a t による ) は、配列番号 : 1 6 8 の配列であり、及び / 又は、

10

- 本発明の V H ドメイン中において、( i ) CDR 1 ( A b m による ) は、配列番号 : 1 6 9 の配列又は、配列番号 : 1 6 9 の配列と 1 つもしくは 2 つのアミノ酸差を有するアミノ酸配列であり、( i i ) CDR 2 ( A b m による ) は、配列番号 : 1 7 0 の配列又は、配列番号 : 1 7 0 の配列と 1 つもしくは 2 つのアミノ酸差を有するアミノ酸配列であり、そして ( i i i ) CDR 3 ( A b m による ) は、配列番号 : 1 7 1 の配列又は、配列番号 : 1 7 1 の配列と 1 つもしくは 2 つのアミノ酸差を有するアミノ酸配列であり ; 及び更により好ましくは、( i ) CDR 1 ( A b m による ) は、配列番号 : 1 6 9 の配列であり、( i i ) CDR 2 ( A b m による ) は、配列番号 : 1 7 0 の配列であり、そして ( i i i ) CDR 3 ( A b m による ) は、配列番号 : 1 7 8 の配列である。

20

【0235】

さらに、K v 1 . 3 に対する本発明の V H ドメインは、本明細書で記載された通りであることができ、再度特に、K v 1 . 3 に対する I S V D ( 及びとりわけ、ナノボディ ) 又は、少なくとも 1 つのこのような I S V D を含むタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは構築物であることができる。また、このようなタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは構築物は、本明細書で更に記載された通りであることができ、例えば、延長した半減期を有することができる ( すなわち、本明細書で記載された通り、例えば、少なくとも 1 日、好ましくは少なくとも 3 日、より好ましくは少なくとも 7 日、例えば、少なくとも 1 0 日のヒト対象における半減期 - t <sub>1/2</sub> ベータとして表現 - )、及びこの目的で、例えば、血清アルブミン結合ナノボディを含むことができる。また、同ナノボディは、( 再度、本明細書で記載された ) 本発明の血清アルブミン結合ナノボディであることもできる。

30

【0236】

また、このような I S V D は、特に、前記 I S V D が ( 再度、本明細書で更に記載された ) それを含むタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは構築物の C 末端を形成する場合、( 本明細書及び国際公開公報第 1 2 / 1 7 5 7 4 1 号で更に記載された ) C 末端伸長を適切に有することができる。

40

【0237】

例えば、限定されず、K v 1 . 3 に対する本発明の V H ドメインは、米国仮出願第 6 2 / 0 1 4 , 0 2 3 号の表 A - 1 に列記された配列 ( 米国仮出願第 6 2 / 0 1 4 , 0 2 3 号中の配列番号 : 1 ~ 1 2 3 ) の内の 1 つ、又は、米国仮出願、発明の名称「K v 1 . 3 結合免疫グロブリン」( 譲受人 : Ablynx N.V. ; 出願日 : 2 0 1 5 年 3 月 1 6 日 ) の表 A - 1 に列記された配列 ( 前記米国仮出願中の配列番号 : 1 ~ 1 2 3、4 9 5、4 9 8 ~ 5 1 3、又は 5 2 3 ~ 5 4 0、及び特に、配列番号 : 4 9 5 の配列 ) の内の 1 つであることができ、適切に、本発明の I S V D について本明細書で記載された変異 / 特定の アミノ酸残基を有し、及び場合により、適切に、C 末端伸長を有する。

【0238】

50

具体的な一態様では、K v 1 . 3 に対する本発明のナノボディは、配列番号：1 3 7 のナノボディの変異体（配列番号：1 3 7 に対して少なくとも9 0 %の配列同一性を有する）であり、ここで、

- 1 1 位におけるアミノ酸残基は、好ましくは、L、V、又はK から選択され（及び最も好ましくは、V であり）、及び、

- 1 4 位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A 又はP から選択され、及び、

- 4 1 位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A 又はP から選択され、及び、

- 8 9 位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、V、又はL から選択され、及び、

- 1 0 8 位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、Q 又はL から選択され、及び、

- 1 1 0 位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、K、又はQ から選択され、及び、

- 1 1 2 位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、S、K、又はQ から選択され、このため、下記のいずれか、( i ) 1 1 2 位は、K もしくはQ であり、又は、( i i ) 1 1 0 位は、K もしくはQ であり、1 1 位は、V であり、又は、( i i i ) 8 9 位は、T であり、又は、( i v ) 8 9 位は、L であり、1 1 0 位は、K もしくはQ であり、又は、( v ) 1 1 位は、V であり、8 9 位は、L であり、又は、( i ) ~ ( v ) の任意の適切な組み合わせである。

【0 2 3 9】

K v 1 . 3 に対する本発明のナノボディ及びそれを含む本発明の化合物の一部の具体的に好ましく、非限定的な例を、図9 A（一価ナノボディ：配列番号：1 3 8 ~ 1 5 5）及び図9 B（三価の二重特異性半減期延長構築物：配列番号：1 5 6 ~ 1 6 4）に列記する。配列番号：1 3 8 ~ 1 5 5 の抗K v 1 . 3 ナノボディから選択される、少なくとも1 つ（例えば、1 つ、2 つ、又は3 つ）の抗K v 1 . 3 ナノボディを含むか、又は、本質的に同ナノボディからなる本発明の化合物は、本発明の更なる態様を構成する。また、配列番号：1 5 6 ~ 1 6 4 の化合物はそれぞれ、本発明の更なる態様を構成する。具体的な一態様では、このような化合物は、K v 1 . 3 に対する本発明の2 つのこのようなナノボディと、1 つのヒト血清アルブミンに対するナノボディ（好ましくは、本発明のナノボディでもある）とを含有する。また再度、このような構築物は、適切なリンカー及びC 末端伸長も含有することができる。

【0 2 4 0】

配列番号：1 3 8 ~ 1 5 5 の一価の抗K v 1 . 3 ナノボディを、本発明のL 1 1 V 及びV 8 9 L 変異を配列番号：1 3 7（参照）の開始配列に導入することにより生成した。加えて、種々の組み合わせのヒト化（又は他の配列最適化）変異を導入した（例えば、E 1 D、A 1 4 P、G 1 9 R、M 5 3 A もしくはM 5 3 Q もしくはM 5 3 Y、T 6 2 S、A 7 4 S、K 8 3 R、S 9 4 G、及び/ 又はT 9 7 E）。配列番号：1 3 8 ~ 1 5 5 の配列のそれぞれに導入した具体的な変異を、図9 A に提供する。

【0 2 4 1】

また、図9 A からの一価の抗K v 1 . 3 ナノボディの一部を、2 つのK v 1 . 3 に対する本発明のナノボディと、1 つのヒト血清アルブミンに対する本発明の半減期延長ナノボディ（配列番号：1 0 9、図9 B において、「A L B - 8 2」とも呼ばれる）とを含む三価の二重特異性構築物としてもフォーマットした。3 5 G S リンカーを使用した。全ての構築物は、C 末端伸長（1 つのC 末端アラニン残基）を有する。得られた構築物の配列を、配列番号：1 5 6 ~ 1 6 4 に提供する。これらの内、3 つの構築物（配列番号：1 5 6、1 5 7、及び1 6 0）を、4 7 名の糖尿病を患うヒト対象及び9 0 名の健康なヒト対象から得られたサンプル中の既存の抗体による結合について、本明細書に記載された全体的なプロトコールを使用して試験した。これらの2 つのセットからのサンプルによる既存の抗体による結合を、配列番号：1 6 5 の参照構築物と比較した。同構築物は、再度、C 末端アラニン伸長と組み合わせた、配列番号：1 3 7 の参照抗K v 1 . 3 構築ブロック及び血清アルブミンバインダーA 1 b - 8（配列番号：4 6）に基づく対応する三価の二重特

10

20

30

40

50



異性構築物である。結果を、図10(47名の糖尿病を患う患者からのサンプル)及び図11(90名の健康なボランティアからのサンプル)に示す。各場合において、本発明のL11V及びV89L変異を有する構築物は、参照構築物と比較して、既存の抗体による低下した結合を示した。

【0242】

実施例8：IL-23に対するVHドメイン(及び特に、ナノボディ)及びそれを含む本発明の化合物

具体的な一態様では、本発明のVHドメイン(及び特に、本発明のISVD、及びとりわけ、本発明のナノボディ)及び本発明の化合物は、IL-23に対することができる。

【0243】

IL-23に対する本発明のこのようなVHドメインは、(i)本明細書に記載された本発明のアミノ酸残基/変異を適切に含む適切なフレームワーク配列、及び、(ii)本発明のVHドメインがIL-23に特異的に結合するのを可能にするCDR配列を、概ね含むであろう。また加えて、IL-23に対する本発明のこのようなVHドメインは、特に、前記VHドメインが一価であるか、又は、前記VHドメインが(再度、本明細書で更に記載されたように)存在する本発明の化合物のC末端を形成する場合、本明細書に記載されたC末端伸長を適切に有することもできる。さらに、IL-23に対する本発明のこのようなVHドメインは、本明細書で更に記載された通りであることができ、特に、ISVDであることができる。

【0244】

再度、本明細書に記載された本発明の他の態様及び実施態様についてと同様に、具体的なISVD(例えば、この実施例で記載されたIL-23に対するISVD)又はそれを含む化合物が、「本発明の」又は「本明細書で更に記載された」と言われる場合、本発明のISVD又は化合物について本明細書で全体的に記載された好ましい態様/実施態様及び選択も、他の方法で明確に示さない限り、又は、他の方法で必要とされる具体的な技術的文脈が無い限り、前記具体的なISVD又は化合物それぞれにも具体的に適用する。

【0245】

このため、特定の態様では、本発明は、IL-23に対するVHドメイン(及び特に、ISVD)に関し、ここで、(i)112位が、KもしくはQであり、又は、(ii)110位が、KもしくはQであり、11位が、Vであり、又は、(iii)89位が、Tであり、又は、(iv)89位が、Lであり、110位が、KもしくはQであり、又は、(v)11位が、Vであり、89位が、Lであり、又は、(i)~(v)の任意の適切な組み合わせである。特に、IL-23に対するこのようなVHドメインにおいて、

- 11位におけるアミノ酸残基は、好ましくは、L、V、又はKから選択され(及び最も好ましくは、Vであり)、及び、

- 14位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 41位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 89位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、V、又はLから選択され、及び、

- 108位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、Q又はLから選択され、及び、

- 110位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、K、又はQから選択され、及び、

- 112位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、S、K、又はQから選択され、

このため、下記のいずれか、(i)112位は、KもしくはQであり、又は、(ii)110位は、KもしくはQであり、11位は、Vであり、又は、(iii)89位は、Tであり、又は、(iv)89位は、Lであり、110位は、KもしくはQであり、又は、(v)11位は、Vであり、89位は、Lであり、又は、(i)~(v)の任意の適切な組み合わせである。

【0246】

さらに、IL-23に対する本発明のVHドメインは、本明細書に記載された通りであ

10

20

30

40

50

ることができ、再度特に、I L - 2 3 に対する I S V D ( 及びとりわけ、ナノボディ)、又は、少なくとも1つのこのような I S V D を含むタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは構築物であることができる。また、このようなタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは構築物は、本明細書で更に記載された通りであることができ、例えば、延長した半減期を有することができ(すなわち、本明細書で記載された通り、例えば、少なくとも1日、好ましくは少なくとも3日、より好ましくは少なくとも7日、例えば、少なくとも10日のヒト対象における半減期 -  $t_{1/2}$  ベータとして表現 - )、及びこの目的で、例えば、血清アルブミン結合ナノボディを含むことができる。また、同ナノボディは、(再度、本明細書で記載された)本発明の血清アルブミン結合ナノボディであることもできる。

10

## 【0247】

また、このような I S V D は、特に、前記 I S V D が(再度、本明細書で更に記載された)それを含むタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは構築物の C 末端を形成する場合、(本明細書及び国際公開公報第 1 2 / 1 7 5 7 4 1 号で更に記載された) C 末端伸長を適切に有することができる。

## 【0248】

好ましい一態様では、I L - 2 3 に対する本発明の V H ドメインは、( i ) 配列番号：1 7 3 の配列又は、配列番号：1 7 3 の配列と1つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：1 7 3 の配列が好ましい)である C D R 1 配列、( i i ) 配列番号：1 7 4 の配列又は、配列番号：1 7 4 の配列と1つもしくは2つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：1 7 4 の配列が好ましい)である C D R 2 配列、及び、( i i i ) 配列番号：1 7 5 の配列又は、配列番号：1 7 5 の配列と1つもしくは2つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：1 7 5 の配列が好ましい)である C D R 3 配列を含む。

20

## 【0249】

より好ましくは、この態様の I L - 2 3 に対する本発明の V H ドメインにおいて、( i ) C D R 1 は、配列番号：1 7 3 であり、( i i ) C D R 2 は、配列番号：1 7 4 であり、( i i i ) C D R 3 は、配列番号：1 7 5 である。

## 【0250】

具体的な一態様では、I L - 2 3 に対する本発明のナノボディは、配列番号：1 7 2 のナノボディの変異体(配列番号：1 7 2 に対して、少なくとも90%の配列同一性、例えば、少なくとも95%の配列同一性を有する)であり、ここで、

30

- 1 1 位におけるアミノ酸残基は、好ましくは、L、V、又はKから選択され(及び最も好ましくは、Vであり)、及び、

- 1 4 位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 4 1 位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 8 9 位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、V、又はLから選択され、及び、

- 1 0 8 位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、Q又はLから選択され、及び、

- 1 1 0 位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、K、又はQから選択され

40

、及び、

- 1 1 2 位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、S、K、又はQから選択され、

このため、下記のいずれか、( i ) 1 1 2 位は、KもしくはQであり、又は、( i i ) 1 1 0 位は、KもしくはQであり、1 1 位は、Vであり、又は、( i i i ) 8 9 位は、Tであり、又は、( i v ) 8 9 位は、Lであり、1 1 0 位は、KもしくはQであり、又は、( v ) 1 1 位は、Vであり、8 9 位は、Lであり、又は、( i ) ~ ( v ) の任意の適切な組み合わせである。このような I S V の C D R は、好ましくは、先の2つの段落で定義された通りである。

## 【0251】

別の好ましい態様では、I L - 2 3 に対する本発明の V H ドメインは、( i ) 配列番号

50

： 191の配列又は、配列番号：191の配列と1つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列（配列番号：191の配列が好ましい）であるCDR1配列、（i i）配列番号：192の配列又は、配列番号：192の配列と1つ又は2つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列（配列番号：192の配列が好ましい）であるCDR2配列、及び、（i i i）配列番号：193の配列又は、配列番号：193の配列と1つ又は2つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列（配列番号：193の配列が好ましい）であるCDR3配列を含む。

【0252】

より好ましくは、この態様のIL-23に対する本発明のVHドメインにおいて、（i）CDR1は、配列番号：191であり、（i i）CDR2は、配列番号：192であり、（i i i）CDR3は、配列番号：193である。

10

【0253】

具体的な一態様では、IL-23に対する本発明のナノボディは、配列番号：172のナノボディの変異体（配列番号：190に対して、少なくとも90%の配列同一性、例えば、少なくとも95%の配列同一性を有する）であり、ここで、

- 11位におけるアミノ酸残基は、好ましくは、L、V、又はKから選択され（及び最も好ましくは、Vであり）、及び、

- 14位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 41位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 89位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、V、又はLから選択され、及び、

20

- 108位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、Q又はLから選択され、及び、

- 110位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、K、又はQから選択され、及び、

- 112位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、S、K、又はQから選択され、

このため、下記のいずれか、（i）112位は、KもしくはQであり、又は、（i i）110位は、KもしくはQであり、11位は、Vであり、又は、（i i i）89位は、Tであり、又は、（i v）89位は、Lであり、110位は、KもしくはQであり、又は、（v）11位は、Vであり、89位は、Lであり、又は、（i）～（v）の任意の適切な組み合わせである。再度、このようなISVのCDRは、好ましくは、先の2つの段落で定義された通りである。

30

【0254】

IL-23に対する本発明のこのようなナノボディの一部の具体的に好ましく、非限定的な例を、配列番号：176～189として図12Aに、配列番号：194～207として図12Bにそれぞれ列記する。これらのナノボディはそれぞれ、本発明の更なる態様を構成する。

【0255】

また、本発明は、少なくとも1つ（例えば、1つ、2つ、又は3つ）の配列番号：176～189及び/又は194～207の本発明のナノボディを含む、IL-23に対する本発明の化合物に関する。再度、IL-23に対する本発明のこのような化合物は、本明細書で更に記載された通りであることができ、このため、例えば、適切なリンカーを含むことができ、本明細書で記載されたC末端伸長を含むことができ、半減期を伸ばすことができる（例えば、本発明の化合物が、ヒト血清アルブミンに対するナノボディ、例えば（好ましくは）、ヒト血清アルブミンに対する本発明のナノボディを含むため）。以下の表Rが参照される。

40

【0256】

例えば、国際公開公報第2009/068627号、同第2010/142534号、及び同第2011/135026号に記載されたように、特に好ましい一分類のIL-23に対するナノボディ系化合物は、二重抗原結合性化合物である。このため、本発明の一態様では、IL-23に対する本発明の化合物は、配列番号：172の1つのISV又は（好ましくは）（この実施例8に記載された）配列番号：172から得られた本発明のI

50

S Vのいずれかと、配列番号：190の1つのI S V又は（好ましくは）（この実施例8で記載された）配列番号：190から得られた本発明のI S Vのいずれかをと含む二重抗原結合性構築物である。ただし、少なくとも一方（及び好ましくは、両方）のこれらのI S Vが、本発明のI S Vであるという条件である。また、このような二重抗原結合性構築物は、（すなわち、血清アルブミン結合I S Vにより）半減期を伸ばすこともできる。このような二重抗原結合性構築物の一部の具体的な例は、配列番号：514～549に提供される。

【0257】

IL-23に対する本発明の化合物の一部の具体的に好ましい例を、配列番号：514～549として図22に提供し、これらの化合物はそれぞれ、本発明の更なる態様を構成する。このため、別の態様では、本発明は、IL-23に対し、配列番号：514～549からなる群より選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチドに関する。より一般的には、IL-23に対する本発明の化合物は、国際公開公報第2009/068627号、同第2010/142534号、及び同第2011/135026号に記載された通りであることができ、本発明のI S Vを含む。また、本発明の化合物は、国際公開公報第2009/068627号、同第2010/142534号、及び同第2011/135026号に記載された目的に使用することもできる。

【0258】

10

20

30

40

50

【表 26】

表 R : I L - 2 3 に対する本発明の化合物の例

ポリペプチド/ 構築物 <sup>(1)</sup>	一般式	I S V 構築ブロック及びリンカー
一価	[IL-23]	[I L - 2 3] = 配列番号 : 4 6 4 ~ 4 7 7 及び / 又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の 1 つ
一価 / C 末端伸 長	[IL-23]-X(n)	[I L - 2 3] = 配列番号 : 4 6 4 ~ 4 7 7 及び / 又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の 1 つ
一価 / 半減期延 長	[IL-23]- L <sub>1</sub> - [SA] [SA]- L <sub>1</sub> - [IL-23]	[I L - 2 3] = 配列番号 : 4 6 4 ~ 4 7 7 及び / 又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の 1 つ [S A] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと)
一価 / 半減期延 長 / C 末端伸長	[IL-23] - L <sub>1</sub> - [SA]-X(n) [SA]- L <sub>1</sub> -[IL-23] -X(n)	[I L - 2 3] = 配列番号 : 4 6 4 ~ 4 7 7 及び / 又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の 1 つ [S A] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X (n) = (以下の凡例を参照のこと)
二価 <sup>(2)</sup>	[IL-23]- L <sub>1</sub> -[IL-23]	存在する少なくとも 1 つの [I L - 2 3] = 配列番号 : 4 6 4 ~ 4 7 7 及び / 又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の 1 つ <sup>(4)</sup> L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと)

10

20

30

40

50

表 R (続き)

ポリペプチド ／ 構築物 <sup>(1)</sup>	一般式	ISV構築ブロック及びリンクカー
二価／C末端伸 長 <sup>(2)</sup>	[IL-23]- L <sub>1</sub> -[IL-23] -X(n)	少なくとも1つの [IL-23] = 配列番号: 4 6 4 ~ 4 7 7 及び／又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の1つ <sup>(4)</sup> L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X (n) = (以下の凡例を参照のこと)
二価／半減期延 長 <sup>(2)</sup>	[IL-23]- L <sub>1</sub> -[IL-23]- L <sub>2</sub> -[SA] [IL-23]- L <sub>1</sub> -[SA]- L <sub>2</sub> -[IL-23] [SA]- L <sub>1</sub> -[IL-23]- L <sub>2</sub> -[IL-23]	存在する少なくとも1つの [IL-23] = 配列番号: 4 6 4 ~ 4 7 7 及び／又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の1つ <sup>(4)</sup> [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと)
二価／半減期延 長／C末端伸 長 <sup>(2)</sup>	[IL-23]- L <sub>1</sub> -[IL-23]- L <sub>2</sub> -[SA] -X(n) [IL-23]- L <sub>1</sub> -[SA]- L <sub>2</sub> -[IL-23] -X(m) [SA]- L <sub>1</sub> -[IL-23]- L <sub>2</sub> -[IL-23] -X(n)	存在する少なくとも1つの [IL-23] = 配列番号: 4 6 4 ~ 4 7 7 及び／又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の1つ <sup>(4)</sup> [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X (n) = (以下の凡例を参照のこと)

10

20

30

40

50

表R (続き)

ポリペプチド ／ 構築物 (1)	一般式	ISV構築ブロック及びリンカー
二重特異性 (3) )	[IL-23]- L <sub>1</sub> -[Nb] [Nb]- L <sub>1</sub> -[IL-23] [IL-23]- L <sub>1</sub> - [IL-23]- L <sub>2</sub> -[Nb] [IL-23]- L <sub>1</sub> - [Nb]- L <sub>2</sub> -[IL-23] [Nb]- L <sub>1</sub> - [IL-23]- L <sub>2</sub> -[IL-23]	存在する少なくとも1つの [IL-23] = 配列番号: 4 6 4 ~ 4 7 7 及び/又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の1つ (4) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと) [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)
二重特異性／C 末端伸長 (3)	[IL-23]- L <sub>1</sub> -[Nb]-X(n) [Nb]- L <sub>1</sub> -[IL-23]-X(n) [IL-23]- L <sub>1</sub> - [IL-23]- L <sub>2</sub> -[Nb]-X(n) [IL-23]- L <sub>1</sub> - [Nb]- L <sub>2</sub> -[IL-23]-X(n) [Nb]- L <sub>1</sub> - [IL-23]- L <sub>2</sub> -[IL-23]-X(n)	存在する少なくとも1つの [IL-23] = 配列番号: 4 6 4 ~ 4 7 7 及び/又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の1つ (4) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X (n) = (以下の凡例を参照のこと) [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)
二重特異性／半 減期延長 (3)	[IL-23]- L <sub>1</sub> -[Nb]-L <sub>2</sub> -[SA] [IL-23]- L <sub>1</sub> -[SA]- L <sub>2</sub> -[Nb] [Nb]- L <sub>1</sub> -[SA]- L <sub>2</sub> -[IL-23] [Nb]- L <sub>1</sub> -[IL-23]- L <sub>2</sub> -[SA] [SA]- L <sub>1</sub> -[IL-23]- L <sub>2</sub> -[Nb] [SA]- L <sub>1</sub> -[Nb]- L <sub>2</sub> -[IL-23]	存在する少なくとも1つの [IL-23] = 配列番号: 4 6 4 ~ 4 7 7 及び/又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の1つ (4) [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> 、L <sub>2</sub> 、L <sub>3</sub> (以下の凡例を参照のこと) [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)

10

20

30

40

50

表 R (続き)

ポリペプチド ／ 構築物 (1)	一般式	ISV構築ブロック及びリンクカー
二重特異性／半 減期延長 (3)	<p>[IL-23]-L<sub>1</sub>- [IL-23]-L<sub>2</sub>-[Nb]-L<sub>3</sub>- [SA]            [Nb]-L<sub>1</sub>- [IL-23]-L<sub>2</sub>-[IL-23]-L<sub>3</sub>-[SA]            [SA]-L<sub>1</sub>-[IL-23]-L<sub>2</sub>- [IL-23]-L<sub>3</sub>-[Nb]            [SA]-L<sub>1</sub>-[IL-23]-L<sub>2</sub>- [Nb]-L<sub>3</sub>-[IL-23]            [IL-23]-L<sub>1</sub>- [Nb]-L<sub>2</sub>-[IL-23]-L<sub>3</sub>-[SA]</p>	<p>存在する少なくとも1つの [IL-23] = 配列番号：4            64～477及び／又は482～495の内の1つ (+)            [SA] = (以下の凡例を参照のこと)            L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>、L<sub>3</sub> (以下の凡例を参照のこと)            [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)</p>
二重特異性／半 減期延長／C末 端伸長 (3)	<p>[IL-23]-L<sub>1</sub>-[Nb]-L<sub>2</sub>-[SA]-X(n)            [IL-23]-L<sub>1</sub>-[SA]-L<sub>2</sub>-[Nb]-X(m)            [Nb]-L<sub>1</sub>-[SA]-L<sub>2</sub>-[IL-23]-X(m)            [Nb]-L<sub>1</sub>-[IL-23]-L<sub>2</sub>-[SA]-X(m)            [SA]-L<sub>1</sub>-[IL-23]-L<sub>2</sub>-[Nb]-X(m)            [SA]-L<sub>1</sub>- [Nb]-L<sub>2</sub>-[IL-23]-X(m)            [IL-23]-L<sub>1</sub>- [IL-23]-L<sub>2</sub>-[Nb]-L<sub>3</sub>- [SA]-X(m)            [Nb]-L<sub>1</sub>- [IL-23]-L<sub>2</sub>-[IL-23]-L<sub>3</sub>-[SA]-X(m)            [SA]-L<sub>1</sub>-[IL-23]-L<sub>2</sub>- [IL-23]-L<sub>3</sub>-[Nb]-X(n)            [SA]-L<sub>1</sub>-[IL-23]-L<sub>2</sub>- [Nb]-L<sub>3</sub>-[IL-23]-X(m)            [IL-23]-L<sub>1</sub>- [Nb]-L<sub>2</sub>-[IL-23]-L<sub>3</sub>-[SA]-X(m)</p>	<p>存在する少なくとも1つの [IL-23] = 配列番号：4            64～477及び／又は482～495の内の1つ (+)            [SA] = (以下の凡例を参照のこと)            L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>、L<sub>3</sub> (以下の凡例を参照のこと)            X (n) = (以下の凡例を参照のこと)            [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)</p>

10

20

30

40

50



表R (続き)

<p>凡例：</p> <p>－ [SA] は、(ヒト) 血清アルブミンに対するISV、好ましくは、(ヒト) 血清アルブミンに対する本発明のISV、より好ましくは、配列番号：46もしくは61の内の一方、又は更に好ましくは、配列番号：47、54、62、69、78、86、109、116、123、130、又は496～513の本発明のISVDの内の1つである。</p> <p>－ L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>、及びL<sub>3</sub>はそれぞれ、(独立して) 適切なリンカーである。L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>、及びL<sub>3</sub>はそれぞれ、(独立して) 存在してもよいし、又は、存在しなくてもよい。適切なリンカーの非限定的な例は、本明細書で言及されたglyserinカー、例えば、9GS、30GS、又は35GSリンカーである。</p> <p>－ X(n) = 本明細書及び/又は国際公開報第12/175741号に記載されたC末端伸長等のC末端伸長。</p> <p>－ [Nb] は、別の治療ターゲットに対するISVである。</p>	<p>注記：</p> <p>(<sup>1</sup>) この表中において、</p> <p>－ 「一価」は、IL-23に対する1つのISVを含むポリペプチド/構築物を一般的に意味する。これらは、半減期延長ISV (例えば、血清アルブミンに対するISV) を更に含むことができる。</p> <p>－ 「二価」は、IL-23に対する2つのISV (同ISVは、同じでも又は異なってもよい) を含むポリペプチド/構築物を一般的に意味する。再度、これらは、半減期延長ISV (例えば、血清アルブミンに対するISV) を更に含むことができる。</p> <p>－ 「二重特異性」は、少なくとも1つ (例えば、1つ又は2つ) のIL-23に対するISVと、少なくとも1つ (例えば、1つ又は2つ) の治療ターゲットに対する他のISVとを含むポリペプチド/構築物を一般的に意味する。これらは、半減期延長ISV (例えば、血清アルブミンに対するISV) を更に含むことができる。</p> <p>－ この表中で記載されたポリペプチド/構築物において、存在する少なくとも1つのIL-23に対するISVは、本発明のISVであり、及び好ましくは、このようなポリペプチド/構築物に存在するIL-23に対する全てのISVは、本発明のISVである。また、半減期延長ISV及び/又は別の治療ターゲットに対するISVが、このようなポリペプチド/構築物に存在する場合、これらはそれぞれ (及び好ましくは、これらは全て)、本発明のISVであることでもできる (及び好ましくは、本発明のISVである)。</p> <p>(<sup>2</sup>) : また、この表中の全ての「二価」構築物は、二重抗原結合性であることでもできる。これは、「二価」構築物が、少なくとも2つ (例えば、2つ) のIL-23に対するISVを含むことを意味する。同ISVは、IL-23上の異なるエピトープに対する。</p> <p>(<sup>3</sup>) : 当業者に明らかであろうように、列記されたもの以外の他の/更なる二重特異性構築物を、言及された構築ブロック及びリンカーを使用して調製することができる。</p> <p>(<sup>4</sup>) : 好ましくは、存在する各 [IL-23] は、配列番号：464～477及び/又は482～495から独立して選択される。また、存在する [IL-23] は、同一でも又は異なってもよい。二重抗原結合性ポリペプチド/構築物中において、[IL-23] は、IL-23上の異なるエピトープに対するであろう。</p> <p>(<sup>5</sup>) : 配列番号を参照してこの欄で言及されたポリペプチド/構築物はそれぞれ、本発明の個々の具体的な態様を構成する。</p>
---	--

10

20

30

40

【0259】

実施例9：OX40-Lに対するVHドメイン(及び特に、ナノボディ)及びそれを含む本発明の化合物

具体的な一態様では、本発明のVHドメイン(及び特に、本発明のISVD、及びとりわけ、本発明のナノボディ)及び本発明の化合物は、OX40-Lに対することができる。

【0260】

OX40-Lに対する本発明のこのようなVHドメインは、(i)本明細書に記載された本発明のアミノ酸残基/変異を適切に含む適切なフレームワーク配列、及び、(ii)本発明のVHドメインがOX40-Lに特異的に結合するのを可能にするCDR配列を、

50

概ね含むであろう。また加えて、OX40-Lに対する本発明のこのようなVHドメインは、特に、前記VHドメインが一価であるか、又は、前記VHドメインが（再度、本明細書で更に記載されたように）存在する本発明の化合物のC末端を形成する場合、本明細書で記載されたC末端伸長を適切に有することもできる。さらに、OX40-Lに対する本発明のこのようなVHドメインは、本明細書で更に記載された通りであることができ、特に、ISVDであることができる。

#### 【0261】

再度、本明細書で記載された本発明の他の態様及び実施態様についてと同様に、具体的なISVD（例えば、この実施例で記載されたOX40-Lに対するISVD）又はそれを含む化合物が、「本発明の」又は「本明細書で更に記載された」と言われる場合、本発明のISVD又は化合物について本明細書で全体的に記載された好ましい態様/実施態様及び選択も、他の方法で明確に示さない限り、又は、他の方法で必要とされる具体的な技術的文脈が無い限り、前記具体的なISVD又は化合物それぞれに具体的に適用する。

10

#### 【0262】

このため、特定の態様では、本発明は、OX40-Lに対するVHドメイン（及び特に、ISVD）に関し、ここで、(i)112位が、KもしくはQであり、又は、(ii)110位が、KもしくはQであり、11位が、Vであり、又は、(iii)89位が、Tであり、又は、(iv)89位が、Lであり、110位が、KもしくはQであり、又は、(v)11位が、Vであり、89位が、Lであり、又は、(i)~(v)の任意の適切な組み合わせである。特に、OX40-Lに対するこのようなVHドメインにおいて、

20

- 11位におけるアミノ酸残基は、好ましくは、L、V、又はKから選択され（及び最も好ましくは、Vであり）、及び、

- 14位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 41位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 89位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、V、又はLから選択され、及び、

- 108位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、Q又はLから選択され、及び、

- 110位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、K、又はQから選択され、及び、

- 112位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、S、K、又はQから選択され、

30

このため、下記のいずれか、(i)112位は、KもしくはQであり、又は、(ii)110位は、KもしくはQであり、11位は、Vであり、又は、(iii)89位は、Tであり、又は、(iv)89位は、Lであり、110位は、KもしくはQであり、又は、(v)11位は、Vであり、89位は、Lであり、又は、(i)~(v)の任意の適切な組み合わせである。

#### 【0263】

さらに、OX40-Lに対する本発明のVHドメインは、本明細書で記載された通りであることができ、再度特に、OX40-Lに対するISVD（及びとりわけ、ナノボディ）、又は、少なくとも1つのこのようなISVDを含むタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは構築物であることができる。また、このようなタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは構築物は、本明細書で更に記載された通りであることができ、例えば、延長した半減期を有することができる（すなわち、本明細書で記載された通り、例えば、少なくとも1日、好ましくは少なくとも3日、より好ましくは少なくとも7日、例えば、少なくとも10日のヒト対象における半減期-t<sub>1/2</sub>ベータとして表現-）、及びこの目的で、例えば、血清アルブミン結合ナノボディを含むことができる。また、同ナノボディは、（再度、本明細書で記載された）本発明の血清アルブミン結合ナノボディであることができる。

40

#### 【0264】

また、このようなISVDは、特に、前記ISVDが（再度、本明細書で更に記載された）それを含むタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは構築物のC末端を形

50

成する場合、(本明細書及び国際公開公報第12/175741号で更に記載された)C末端伸長を適切に有することができる。

【0265】

好ましい一態様では、OX40-Lに対する本発明のVHドメインは、(i)配列番号：209の配列又は、配列番号：209の配列と1つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：209の配列が好ましい)であるCDR1配列、(ii)配列番号：210の配列又は、配列番号：210の配列と1つ又は2つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：210の配列が好ましい)であるCDR2配列、及び、(iii)配列番号：211の配列又は、配列番号：211の配列と1つ又は2つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：211の配列が好ましい)であるCDR3配列を含む。

10

【0266】

より好ましくは、この態様のOX40-Lに対する本発明のVHドメインにおいて、(i)CDR1は、配列番号：209であり、(ii)CDR2は、配列番号：210であり、(iii)CDR3は、配列番号：211である。

【0267】

具体的な一態様では、OX40-Lに対する本発明のナノボディは、配列番号：208のナノボディの変異体(配列番号：208に対して、少なくとも90%の配列同一性、例えば、少なくとも95%の配列同一性を有する)であり、ここで、

- 11位におけるアミノ酸残基は、好ましくは、L、V、又はKから選択され(及び最も好ましくは、Vであり)、及び、

20

- 14位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 41位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 89位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、V、又はLから選択され、及び、

- 108位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、Q又はLから選択され、及び、

- 110位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、K、又はQから選択され、及び、

- 112位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、S、K、又はQから選択され、このため、下記のいずれか、(i)112位は、KもしくはQであり、又は、(ii)110位は、KもしくはQであり、11位は、Vであり、又は、(iii)89位は、T

30

であり、又は、(iv)89位は、Lであり、110位は、KもしくはQであり、又は、(v)11位は、Vであり、89位は、Lであり、又は、(i)~(v)の任意の適切な組み合わせである。このようなISVのCDRは、好ましくは、先の2つの段落で定義された通りである。

【0268】

OX40-Lに対する本発明のナノボディの一部の具体的に好ましく、非限定的な例を、配列番号：212~225として図13に列記する。これらのナノボディはそれぞれ、本発明の更なる態様を構成する。

【0269】

また、本発明は、少なくとも1つ(例えば、1つ、2つ、又は3つ)の配列番号：212~225の本発明のナノボディを含む、OX40-Lに対する本発明の化合物に関する。再度、OX40-Lに対する本発明のこのような化合物は、本明細書で更に記載された通りであることができ、このため、例えば、適切なリンカーを含むことができ、本明細書で記載されたC末端伸長を含むことができ、半減期を伸ばすことができる(例えば、本発明の化合物が、ヒト血清アルブミンに対するナノボディ、例えば(好ましくは)、ヒト血清アルブミンに対する本発明のナノボディを含むため)。以下の表Sが参照される。

40

【0270】

OX40-Lに対する本発明の化合物の一部の具体的に好ましい例を、配列番号：550~585として図23に提供する。これらの化合物はそれぞれ、本発明の更なる態様を構成する。このため、別の態様では、本発明は、OX40-Lに対し、配列番号：550

50

～585からなる群より選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチドに関する。より一般的には、OX40-Lに対する本発明の化合物は、国際公開公報第2011/073180号に記載された通りであることができ、本発明のISVを含む。また、本発明の化合物は、国際公開公報第2011/073180号に記載された目的に使用することもできる。

【0271】

【表27】

表S：OX40-Lに対する本発明の化合物の例

ポリペプチド ／ 構築物 <sup>(1)</sup>	一般式	ISV構築ブロック及びビリンカー
一価	[OX40-L]	[OX40-L] = 配列番号：464～477及び／又は482～495の内の1つ
一価／C末端伸 長	[OX40-L]-X(m)	[OX40-L] = 配列番号：464～477及び／又は482～495の内の1つ
一価／半減期延 長	[OX40-L]-L <sub>1</sub> -[SA] [SA]-L <sub>1</sub> -[OX40-L]	[OX40-L] = 配列番号：464～477及び／又は482～495の内の1つ [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと)
一価／半減期延 長／C末端伸長	[OX40-L]-L <sub>1</sub> -[SA]-X(m) [SA]-L <sub>1</sub> -[OX40-L]-X(m)	[OX40-L] = 配列番号：464～477及び／又は482～495の内の1つ [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X(n) = (以下の凡例を参照のこと)
二価 <sup>(2)</sup>	[OX40-L]-L <sub>1</sub> -[OX40-L]	存在する少なくとも1つの[OX40-L] = 配列番号：464～477及び／又は482～495の内の1つ <sup>(4)</sup> L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと)

10

20

30

40

50

表 S (続き)

ポリペプチド ／ 構築物 <sup>(1)</sup>	一般式	ISV構築ブロック及びビリンカー
二価／C末端伸 長 <sup>(2)</sup>	[OX40-L]- L <sub>1</sub> [OX40-L]- X(n)	少なくとも1つの [OX40-L] = 配列番号：4 6 4～4 7 7 及び／又は4 8 2～4 9 5の内の1つ <sup>(4)</sup> L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X (n) = (以下の凡例を参照のこと)
二価／半減期延 長 <sup>(2)</sup>	[OX40-L]- L <sub>1</sub> [OX40-L]- L <sub>2</sub> [SA] [OX40-L]- L <sub>1</sub> [SA]- L <sub>2</sub> [OX40-L] [SA]- L <sub>1</sub> [OX40-L]- L <sub>2</sub> [OX40-L]	存在する少なくとも1つの [OX40-L] = 配列番号：4 6 4～4 7 7 及び／又は4 8 2～4 9 5の内の1つ <sup>(4)</sup> [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと)
二価／半減期延 長／C末端伸 長 <sup>(2)</sup>	[OX40-L]- L <sub>1</sub> [OX40-L]- L <sub>2</sub> [SA]- X(n) [OX40-L]- L <sub>1</sub> [SA]- L <sub>2</sub> [OX40-L]- X(n) [SA]- L <sub>1</sub> [OX40-L]- L <sub>2</sub> [OX40-L]- X(n)	存在する少なくとも1つの [OX40-L] = 配列番号：4 6 4～4 7 7 及び／又は4 8 2～4 9 5の内の1つ <sup>(4)</sup> [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X (n) = (以下の凡例を参照のこと)

10

20

30

40

50

表 S (続き)

ポリペプチド ／ 構築物 (1)	一般式	ISV構築ブロック及びビリンカー
二重特異性 (3) )	[OX40-L]- L <sub>1</sub> -[Nb] [Nb]- L <sub>1</sub> -[OX40-L] [OX40-L]- L <sub>1</sub> - [OX40-L]- L <sub>2</sub> -[Nb] [OX40-L]- L <sub>1</sub> - [Nb]- L <sub>2</sub> -[OX40-L] [Nb]- L <sub>1</sub> - [OX40-L]- L <sub>2</sub> -[OX40-L]	存在する少なくとも1つの [OX40-L] = 配列番号: 4 64～477及び/又は482～495の内の1つ (4) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと) [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)
二重特異性／C 末端伸長 (3)	[OX40-L]- L <sub>1</sub> -[Nb] -X(n) [Nb]- L <sub>1</sub> -[OX40-L] -X(n) [OX40-L]- L <sub>1</sub> - [OX40-L]- L <sub>2</sub> -[Nb] -X(n) [OX40-L]- L <sub>1</sub> - [Nb]- L <sub>2</sub> -[OX40-L] -X(n) [Nb]- L <sub>1</sub> - [OX40-L]- L <sub>2</sub> -[OX40-L] -X(n)	存在する少なくとも1つの [OX40-L] = 配列番号: 4 64～477及び/又は482～495の内の1つ (4) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X (n) = (以下の凡例を参照のこと) [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)
二重特異性／半 減期延長 (3)	[OX40-L]- L <sub>1</sub> -[Nb] -L <sub>2</sub> -[SA] [OX40-L]- L <sub>1</sub> -[SA] - L <sub>2</sub> -[Nb] [Nb]- L <sub>1</sub> -[SA] - L <sub>2</sub> -[OX40-L] [Nb]- L <sub>1</sub> -[OX40-L] - L <sub>2</sub> -[SA] [SA]- L <sub>1</sub> -[OX40-L] - L <sub>2</sub> -[Nb] [SA]- L <sub>1</sub> -[Nb] - L <sub>2</sub> -[OX40-L]	存在する少なくとも1つの [OX40-L] = 配列番号: 4 64～477及び/又は482～495の内の1つ (4) [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> 、L <sub>2</sub> 、L <sub>3</sub> (以下の凡例を参照のこと) [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)

10

20

30

40

50

表S (続き)

ポリペプチド ／ 構築物 (1)	一般式	I SV構築ブロック及びリンクカー
二重特異性／半 減期延長 (3)	<p>[OX40-L]- L<sub>1</sub>- [OX40-L]- L<sub>2</sub>-[Nb] - L<sub>3</sub>- [SA]            [Nb]- L<sub>1</sub>- [OX40-L]- L<sub>2</sub>-[OX40-L] - L<sub>3</sub>-[SA]            [SA]-L<sub>1</sub>-[OX40-L]- L<sub>2</sub>- [OX40-L]- L<sub>3</sub>-[Nb]            [SA]-L<sub>1</sub>-[OX40-L]- L<sub>2</sub>- [Nb]- L<sub>3</sub>-[OX40-L]            [OX40-L]- L<sub>1</sub>- [Nb]- L<sub>2</sub>-[OX40-L]-L<sub>3</sub>-[SA]</p>	<p>存在する少なくとも1つの [OX40-L] = 配列番号 : 4            6 4 ~ 4 7 7 及び／又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の1つ (4)            [SA] = (以下の凡例を参照のこと)            L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>、L<sub>3</sub> (以下の凡例を参照のこと)            [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)</p>
二重特異性／半 減期延長／C末 端伸長 (3)	<p>[OX40-L]- L<sub>1</sub>-[Nb] -L<sub>2</sub>-[SA] -X(n)            [OX40-L]- L<sub>1</sub>-[SA] - L<sub>2</sub>-[Nb] -X(n)            [Nb]- L<sub>1</sub>-[SA] - L<sub>2</sub>-[OX40-L] -X(n)            [Nb]- L<sub>1</sub>-[OX40-L] - L<sub>2</sub>-[SA] -X(n)            [SA]- L<sub>1</sub>-[OX40-L] - L<sub>2</sub>-[Nb] -X(n)            [SA]- L<sub>1</sub>- [Nb] - L<sub>2</sub>-[OX40-L] -X(n)            [OX40-L]- L<sub>1</sub>- [OX40-L]- L<sub>2</sub>-[Nb] - L<sub>3</sub>- [SA] -X(n)            [Nb]- L<sub>1</sub>- [OX40-L]- L<sub>2</sub>-[OX40-L] - L<sub>3</sub>-[SA] -X(n)            [SA]- L<sub>1</sub>-[OX40-L]- L<sub>2</sub>- [OX40-L]- L<sub>3</sub>-[Nb] -X(n)            [SA]- L<sub>1</sub>-[OX40-L]- L<sub>2</sub>- [Nb]- L<sub>3</sub>-[OX40-L]-X(n)            [OX40-L]- L<sub>1</sub>- [Nb]- L<sub>2</sub>-[OX40-L] -L<sub>3</sub>-[SA]-X(n)</p>	<p>存在する少なくとも1つの [OX40-L] = 配列番号 : 4            6 4 ~ 4 7 7 及び／又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の1つ (4)            [SA] = (以下の凡例を参照のこと)            L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>、L<sub>3</sub> (以下の凡例を参照のこと)            X (n) = (以下の凡例を参照のこと)            [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)</p>

10

20

30

40

50

表 S (続き)

<p>凡例：</p> <p>— [SA] は、(ヒト) 血清アルブミンに対する I S V、好ましくは、(ヒト) 血清アルブミンに対する本発明の I S V、より好ましくは、配列番号：46又は61の一方、又は更により好ましくは、配列番号：47、54、62、69、78、86、109、116、123、130、又は496～513の本発明の I S V D の内の1つである。</p> <p>— L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>、及び L<sub>3</sub> はそれぞれ、(独立して) 適切なリンカーである。L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>、及び L<sub>3</sub> はそれぞれ、(独立して) 存在してもよいし、又は、存在しなくてもよい。適切なリンカーの非限定的な例は、本明細書で言及された g l y s e r i n c a k e r、例えば、9 G S、3 O G S、又は 35 G S リンカーである。</p> <p>— X (n) = 本明細書及び/又は国際公開報第 12/175741 号に記載された C 末端伸長等の C 末端伸長。</p> <p>— [N b] は、別の治療ターゲットに対する I S V である。</p>	<p><b>注記：</b></p> <p>(1) この表中において、</p> <p>— 「一価」は、O X 4 0 - L に対する 1 つの I S V を含むポリペプチド/構築物を一般的に意味する。これらは、半減期延長 I S V (例えば、血清アルブミンに対する I S V) を更を含むことができる。</p> <p>— 「二価」は、O X 4 0 - L に対する 2 つの I S V (同 I S V は、同じでも又は異なってもよい) を含むポリペプチド/構築物を一般的に意味する。再度、これらは、半減期延長 I S V (例えば、血清アルブミンに対する I S V) を更を含むことができる。</p> <p>— 「二重特異性」は、少なくとも 1 つ (例えば、1 つ又は 2 つ) の O X 4 0 - L に対する I S V と、少なくとも 1 つ (例えば、1 つ又は 2 つ) の治療ターゲットに対する他の I S V とを含むポリペプチド/構築物を一般的に意味する。これらは、半減期延長 I S V (例えば、血清アルブミンに対する I S V) を更を含むことができる。</p> <p>— この表中で記載されたポリペプチド/構築物において、存在する少なくとも 1 つの O X 4 0 - L に対する I S V は、本発明の I S V であり、及び好ましくは、このようなポリペプチド/構築物に存在する全ての O X 4 0 - L に対する I S V は、本発明の I S V である。また、半減期延長 I S V 及び/又は別の治療ターゲットに対する I S V が、このようなポリペプチド/構築物に存在する場合、これらはそれぞれ (及び好ましくは、これらは全て)、本発明の I S V であることもできる (及び好ましくは、本発明の I S V である)。</p> <p>(2) : また、この表中の全ての「二価」構築物は、二重抗原結合性であることもできる。これは、「二価」構築物が、少なくとも 2 つ (例えば、2 つ) の O X 4 0 - L に対する I S V を含むことを意味する。同 I S V は、O X 4 0 - L 上の異なるエピトープに対する。</p> <p>(3) : 当業者に明らかであろうように、列記されたもの以外の他の/更なる二重特異性構築物を、言及された構築物ブロック及びリンカーを使用して調製することができる。</p> <p>(4) : 好ましくは、存在する各 [O X 4 0 - L] は、配列番号：464～477及び/又は482～495から独立して選択される。また、存在する [O X 4 0 - L] は、同一でも又は異なってもよい。二重抗原結合性ポリペプチド/構築物中において、[O X 4 0 - L] は、O X 4 0 - L 上の異なるエピトープに対するであろう。</p> <p>(5) : 配列番号を参照してこの欄で言及されたポリペプチド/構築物はそれぞれ、本発明の個々の具体的な態様を構成する。</p>
---	---

10

20

30

40

【0272】

実施例 10 : I g E に対する V H ドメイン (及び特に、ナノボディ) 及びそれを含む本発明の化合物

具体的な一態様では、本発明の V H ドメイン (及び特に、本発明の I S V D、及びとりわけ、本発明のナノボディ) 及び本発明の化合物は、I g E に対することができる。

【0273】

I g E に対する本発明のこのような V H ドメインは、( i ) 本明細書で記載された本発明のアミノ酸残基/変異を適切に含む適切なフレームワーク配列、及び、( i i ) 本発明の V H ドメインが I g E に特異的に結合するのを可能にする C D R 配列を、概ね含むであ

50



ろう。また加えて、I g Eに対する本発明のこのようなV Hドメインは、特に、前記V Hドメインが一価であるか、又は、前記V Hドメインが(再度、本明細書で更に記載されたように)存在する本発明の化合物のC末端を形成する場合、本明細書で記載されたC末端伸長を適切に有することもできる。さらに、I g Eに対する本発明のこのようなV Hドメインは、本明細書で更に記載された通りであることができ、特に、I S V Dであることができる。

【0274】

再度、本明細書で記載された本発明の他の態様及び実施態様についてと同様に、具体的なI S V D(例えば、この実施例で記載されたI g Eに対するI S V D)又はそれを含む化合物が、「本発明の」又は「本明細書で更に記載された」と言われる場合、本発明のI S V D又は化合物について本明細書で全体的に記載された好ましい態様/実施態様及び選択も、他の方法で明確に示さない限り、又は、他の方法で必要とされる具体的な技術的文脈が無い限り、前記具体的なI S V D又は化合物それぞれに具体的に適用する。

10

【0275】

このため、特定の態様では、本発明は、I g Eに対するV Hドメイン(及び特に、I S V D)に関し、ここで、(i)112位が、KもしくはQであり、又は、(ii)110位が、KもしくはQであり、11位が、Vであり、又は、(iii)89位が、Tであり、又は、(iv)89位が、Lであり、110位が、KもしくはQであり、又は、(v)11位が、Vであり、89位が、Lであり、又は、(i)~(v)の任意の適切な組み合わせである。特に、I g Eに対するこのようなV Hドメインにおいて、

20

- 11位におけるアミノ酸残基は、好ましくは、L、V、又はKから選択され(及び最も好ましくは、Vであり)、及び、

- 14位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 41位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 89位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、V、又はLから選択され、及び、

- 108位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、Q又はLから選択され、及び、

- 110位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、K、又はQから選択され、及び、

- 112位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、S、K、又はQから選択され、

30

このため、下記のいずれか、(i)112位は、KもしくはQであり、又は、(ii)110位は、KもしくはQであり、11位は、Vであり、又は、(iii)89位は、Tであり、又は、(iv)89位は、Lであり、110位は、KもしくはQであり、又は、(v)11位は、Vであり、89位は、Lであり、又は、(i)~(v)の任意の適切な組み合わせである。

【0276】

さらに、I g Eに対する本発明のV Hドメインは、本明細書で記載された通りであることができ、再度特に、I g Eに対するI S V D(及びとりわけ、ナノボディ)、又は、少なくとも1つのこのようなI S V Dを含むタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは構築物であることができる。また、このようなタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは構築物は、本明細書で更に記載された通りであることができ、例えば、延長した半減期を有することができる(すなわち、本明細書で記載された通り、例えば、少なくとも1日、好ましくは少なくとも3日、より好ましくは少なくとも7日、例えば、少なくとも10日のヒト対象における半減期-t<sub>1/2</sub>ベータとして表現-)、及びこの目的で、例えば、血清アルブミン結合ナノボディを含むことができる。また、同ナノボディは、(再度、本明細書で記載された)本発明の血清アルブミン結合ナノボディであることができる。

40

【0277】

また、このようなI S V Dは、特に、前記I S V Dが(再度、本明細書で更に記載された)それを含むタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは構築物のC末端を形

50

成する場合、(本明細書及び国際公開公報第12/175741号で更に記載された)C末端伸長を適切に有することができる。

【0278】

好ましい一態様では、I g Eに対する本発明のV Hドメインは、(i)配列番号：227の配列又は、配列番号：227の配列と1つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：227の配列が好ましい)であるC D R 1配列、(ii)配列番号：228の配列又は、配列番号：228の配列と1つ又は2つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：228の配列が好ましい)であるC D R 2配列、及び、(iii)配列番号：229の配列又は、配列番号：229の配列と1つ又は2つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：229の配列が好ましい)であるC D R 3配列を含む。

10

【0279】

より好ましくは、この態様のI g Eに対する本発明のV Hドメインにおいて、(i)C D R 1は、配列番号：227であり、(ii)C D R 2は、配列番号：228であり、(iii)C D R 3は、配列番号：229である。

【0280】

具体的な一態様では、I g Eに対する本発明のナノボディは、配列番号：226のナノボディの変異体(配列番号：226に対して、少なくとも90%の配列同一性、例えば、少なくとも95%の配列同一性を有する)であり、ここで、

- 11位におけるアミノ酸残基は、好ましくは、L、V、又はKから選択され(及び最も好ましくは、Vであり)、及び、

20

- 14位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 41位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 89位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、V、又はLから選択され、及び、

- 108位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、Q又はLから選択され、及び、

- 110位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、K、又はQから選択され、及び、

- 112位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、S、K、又はQから選択され、

このため、下記のいずれか、(i)112位は、KもしくはQであり、又は、(ii)110位は、KもしくはQであり、11位は、Vであり、又は、(iii)89位は、Tであり、又は、(iv)89位は、Lであり、110位は、KもしくはQであり、又は、(v)11位は、Vであり、89位は、Lであり、又は、(i)~(v)の任意の適切な組み合わせである。このようなI S VのC D Rは、好ましくは、先の2つの段落で定義された通りである。

30

【0281】

I g Eに対する本発明のナノボディの一部の具体的に好ましく、非限定的な例を、配列番号：230~243として図14に列記する。これらのナノボディはそれぞれ、本発明の更なる態様を構成する。

【0282】

また、本発明は、少なくとも1つ(例えば、1つ、2つ、又は3つ)の配列番号：230~243の本発明のナノボディを含む、I g Eに対する本発明の化合物に関する。再度、I g Eに対する本発明のこのような化合物は、本明細書で更に記載された通りであることができ、このため、例えば、適切なリンカーを含むことができ、本明細書で記載されたC末端伸長を含むことができ、半減期を伸ばすことができる(例えば、本発明の化合物が、ヒト血清アルブミンに対するナノボディ、例えば(好ましくは)、ヒト血清アルブミンに対する本発明のナノボディを含むため)。以下の表Tが参照される。

40

【0283】

I g Eに対する本発明の化合物の一部の具体的に好ましい例を、配列番号：586~594として図24に提供する。これらの化合物はそれぞれ、本発明の更なる態様を構成する。このため、別の態様では、本発明は、I g Eに対し、配列番号：586~594から

50

なる群より選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチドに関する。

【0284】

より一般的には、I g Eに対する本発明の化合物は、国際公開公報第2012/175740号及び同第2012/175400号の関連部分に記載された通りであることができ、本発明のI S Vを含む。また、本発明の化合物は、国際公開公報第2012/175740号に記載された目的に使用することもできる。

【0285】

【表28】

表T: I g Eに対する本発明の化合物の例

ポリペプチド ／ 構築物 <sup>(1)</sup>	一般式	I S V構築ブロック及びリンカー
一価	[I g E]	[I g E] = 配列番号: 464~477及び／又は482 ~495の内の1つ
一価／C末端伸 長	[I g E]-X(n)	[I g E] = 配列番号: 464~477及び／又は482 ~495の内の1つ
一価／半減期延 長	[I g E]-L <sub>1</sub> -[SA] [SA]-L <sub>1</sub> -[I g E]	[I g E] = 配列番号: 464~477及び／又は482 ~495の内の1つ [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと)
一価／半減期延 長／C末端伸長	[I g E]-L <sub>1</sub> -[SA]-X(n) [SA]-L <sub>1</sub> -[I g E]-X(n)	[I g E] = 配列番号: 464~477及び／又は482 ~495の内の1つ [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X(n) = (以下の凡例を参照のこと)
二価 <sup>(2)</sup>	[I g E]-L <sub>1</sub> -[I g E]	存在する少なくとも1つの[I g E] = 配列番号: 464 ~477及び／又は482~495の内の1つ <sup>(4)</sup> L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと)

10

20

30

40

50

表I (続き)

ポリペプチド ／構築物 <sup>(1)</sup>	一般式	ISV構築ブロック及びリンカー
二価／C末端伸 長 <sup>(2)</sup>	[lgE]- L <sub>1</sub> -[lgE]-X(n)	少なくとも1つの [I g E] = 配列番号：4 6 4 ~ 4 7 7 及び／又は4 8 2 ~ 4 9 5の内の1つ <sup>(4)</sup> L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X (n) = (以下の凡例を参照のこと)
二価／半減期延 長 <sup>(2)</sup>	[lgE]- L <sub>1</sub> -[lgE]- L <sub>2</sub> -[SA] [lgE]- L <sub>1</sub> -[SA]- L <sub>2</sub> -[lgE] [SA]- L <sub>1</sub> -[lgE]- L <sub>2</sub> -[lgE]	存在する少なくとも1つの [I g E] = 配列番号：4 6 4 ~ 4 7 7 及び／又は4 8 2 ~ 4 9 5の内の1つ <sup>(4)</sup> [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと)
二価／半減期延 長／C末端伸長 <sup>(2)</sup>	[lgE]- L <sub>1</sub> -[lgE]- L <sub>2</sub> -[SA] -X(n) [lgE]- L <sub>1</sub> -[SA]- L <sub>2</sub> -[lgE] -X(n) [SA]- L <sub>1</sub> -[lgE]- L <sub>2</sub> -[lgE] -X(n)	存在する少なくとも1つの [I g E] = 配列番号：4 6 4 ~ 4 7 7 及び／又は4 8 2 ~ 4 9 5の内の1つ <sup>(4)</sup> [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X (n) = (以下の凡例を参照のこと)

10

20

30

40

50

表 T (続き)

ポリペプチド ／構築物 (1)	一般式	ISV構築ブロック及びリンクカー
二重特異性 (3) )	[I g E]- L <sub>1</sub> -[N b] [N b]- L <sub>1</sub> -[I g E] [I g E]- L <sub>1</sub> - [I g E]- L <sub>2</sub> -[N b] [I g E]- L <sub>1</sub> - [N b]- L <sub>2</sub> -[I g E] [N b]- L <sub>1</sub> - [I g E]- L <sub>2</sub> -[I g E]	存在する少なくとも1つの [I g E] = 配列番号: 4 6 4 ～4 7 7 及び／又は4 8 2～4 9 5の内の1つ (4) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと) [N b] = (以下の凡例を参照のこと)
二重特異性／C 末端伸長 (3)	[I g E]- L <sub>1</sub> -[N b] -X(n) [N b]- L <sub>1</sub> -[I g E] -X(n) [I g E]- L <sub>1</sub> - [I g E]- L <sub>2</sub> -[N b] -X(n) [I g E]- L <sub>1</sub> - [N b]- L <sub>2</sub> -[I g E] -X(n) [N b]- L <sub>1</sub> - [I g E]- L <sub>2</sub> -[I g E] -X(n)	存在する少なくとも1つの [I g E] = 配列番号: 4 6 4 ～4 7 7 及び／又は4 8 2～4 9 5の内の1つ (4) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X (n) = (以下の凡例を参照のこと) [N b] = (以下の凡例を参照のこと)
二重特異性／半 減期延長 (3)	[I g E]- L <sub>1</sub> -[N b] -L <sub>2</sub> -[S A] [I g E]- L <sub>1</sub> -[S A] - L <sub>2</sub> -[N b] [N b]- L <sub>1</sub> -[S A] - L <sub>2</sub> -[I g E] [N b]- L <sub>1</sub> -[I g E] - L <sub>2</sub> -[S A] [S A]- L <sub>1</sub> -[I g E] - L <sub>2</sub> -[N b] [S A]- L <sub>1</sub> -[N b] - L <sub>2</sub> -[I g E]	存在する少なくとも1つの [I g E] = 配列番号: 4 6 4 ～4 7 7 及び／又は4 8 2～4 9 5の内の1つ (4) [S A] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> 、L <sub>2</sub> 、L <sub>3</sub> (以下の凡例を参照のこと) [N b] = (以下の凡例を参照のこと)

10

20

30

40

50

表 T (続き)

ポリペプチド ／ 構築物 (1)	一般式	ISV構築ブロック及びリンカー
二重特異性／半 減期延長 (3)	<p>[I g E]- L<sub>1</sub>- [I g E]- L<sub>2</sub>-[Nb] - L<sub>3</sub>- [SA]            [Nb]- L<sub>1</sub>- [I g E]- L<sub>2</sub>-[I g E] - L<sub>3</sub>-[SA]            [SA]-L<sub>1</sub>-[I g E]- L<sub>2</sub>- [I g E]- L<sub>3</sub>-[Nb]            [SA]-L<sub>1</sub>-[I g E]- L<sub>2</sub>- [Nb]- L<sub>3</sub>-[I g E]            [I g E]- L<sub>1</sub>- [Nb]- L<sub>2</sub>-[I g E]-L<sub>3</sub>-[SA]</p>	<p>存在する少なくとも1つの [I g E] = 配列番号： 4 6 4            ～4 7 7 及び／又は4 8 2～4 9 5 の内の1つ (4)            [S A] = (以下の凡例を参照のこと)            L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>、L<sub>3</sub> (以下の凡例を参照のこと)            [N b] = (以下の凡例を参照のこと)</p>
二重特異性／半 減期延長／C末 端伸長 (3)	<p>[I g E]- L<sub>1</sub>-[Nb] -L<sub>2</sub>-[SA] -X(n)            [I g E]- L<sub>1</sub>-[SA] - L<sub>2</sub>-[Nb] -X(m)            [Nb]- L<sub>1</sub>-[SA] - L<sub>2</sub>-[I g E] -X(m)            [Nb]- L<sub>1</sub>-[I g E] - L<sub>2</sub>-[SA] -X(m)            [SA]- L<sub>1</sub>-[I g E] - L<sub>2</sub>-[Nb] -X(m)            [SA]- L<sub>1</sub>- [Nb] - L<sub>2</sub>-[I g E] -X(m)            [I g E]- L<sub>1</sub>- [I g E]- L<sub>2</sub>-[Nb] - L<sub>3</sub>- [SA] -X(m)            [Nb]- L<sub>1</sub>- [I g E]- L<sub>2</sub>-[I g E] - L<sub>3</sub>-[SA] -X(m)            [SA]- L<sub>1</sub>-[I g E]- L<sub>2</sub>- [I g E]- L<sub>3</sub>-[Nb] -X(m)            [SA]- L<sub>1</sub>-[I g E]- L<sub>2</sub>- [Nb]- L<sub>3</sub>-[I g E]-X(m)            [I g E]- L<sub>1</sub>- [Nb]- L<sub>2</sub>-[I g E] -L<sub>3</sub>-[SA]-X(m)</p>	<p>存在する少なくとも1つの [I g E] = 配列番号： 4 6 4            ～4 7 7 及び／又は4 8 2～4 9 5 の内の1つ (4)            [S A] = (以下の凡例を参照のこと)            L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>、L<sub>3</sub> (以下の凡例を参照のこと)            X (n) = (以下の凡例を参照のこと)            [N b] = (以下の凡例を参照のこと)</p>

10

20

30

40

50

表 T (続き)

<p>凡例：</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- [SA] は、(ヒト) 血清アルブミンに対する I S V、好ましくは、(ヒト) 血清アルブミンに対する本発明の I S V、より好ましくは、配列番号：46又は61の一方、又は更に好ましくは、配列番号：47、54、62、69、78、86、109、116、123、130、又は496~513の本発明の I S V Dの内の1つである。</li> <li>- I<sub>1</sub>、I<sub>2</sub>、及びI<sub>3</sub>はそれぞれ、(独立して) 適切なリンカーである。I<sub>1</sub>、I<sub>2</sub>、及びI<sub>3</sub>はそれぞれ、(独立して) 存在してもよいし、又は、存在しなくてもよい。適切なリンカーの非限定的な例は、本明細書で言及された g l y - s e r - l i n k e r、例えば、9 G S、30 G S、又は35 G S リンカーである。</li> <li>- X (n) = 本明細書及び/又は国際公開報第 12/175741号に記載された C 末端伸長等の C 末端伸長。</li> <li>- [N b] は、別の治療ターゲットに対する I S V である。</li> </ul>	<p>注記：</p> <p>(<sup>1</sup>) この表中において、</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 「一価」は、I g E に対する 1 つの I S V を含むポリペプチド/構築物を一般的に意味する。これらは、半減期延長 I S V (例えば、血清アルブミンに対する I S V) を更を含むことができる。</li> <li>- 「二価」は、I g E に対する 2 つの I S V (同 I S V は、同じでも又は異なってもよい) を含むポリペプチド/構築物を一般的に意味する。再度、これらは、半減期延長 I S V (例えば、血清アルブミンに対する I S V) を更を含むことができる。</li> <li>- 「二重特異性」は、少なくとも 1 つ (例えば、1 つ又は 2 つ) の I g E に対する I S V と、少なくとも 1 つ (例えば、1 つ又は 2 つ) の治療ターゲットに対する他の I S V とを含むポリペプチド/構築物を一般的に意味する。これらは、半減期延長 I S V (例えば、血清アルブミンに対する I S V) を更を含むことができる。</li> <li>- この表中に記載されたポリペプチド/構築物において、存在する少なくとも 1 つの I g E に対する I S V は、本発明の I S V であり、及び好ましくは、このようなポリペプチド/構築物に存在する I g E に対する全ての I S V は、本発明の I S V である。また、半減期延長 I S V 及び/又は別の治療ターゲットに対する I S V が、このようなポリペプチド/構築物に存在する場合、これらはそれぞれ (及び好ましくは、これらは全て)、本発明の I S V であることもできる (及び好ましくは、本発明の I S V である)。</li> <li>(<sup>2</sup>) : また、この表中の全ての「二価」構築物は、二重抗原結合性であることもできる。これは、「二価」構築物が、少なくとも 2 つ (例えば、2 つ) の I g E に対する I S V を含むことを意味する。同 I S V は、I g E 上の異なるエピトープに対する。</li> <li>(<sup>3</sup>) : 当業者に明らかであろうように、列記されたもの以外の他の/更なる二重特異性構築物を、言及された構築ブロック及びリンカーを使用して調製することができる。</li> <li>(<sup>4</sup>) : 好ましくは、存在する各 [I g E] は、配列番号：464~477及び/又は482~495から独立して選択される。また、存在する [I g E] は、同一でも又は異なってもよい。二重抗原結合性ポリペプチド/構築物中において、[I g E] は、I g E 上の異なるエピトープに対するであろう。</li> <li>(<sup>5</sup>) : 配列番号を参照してこの欄で言及されたポリペプチド/構築物はそれぞれ、本発明の個々の具体的な態様を構成する。</li> </ul>
--	---

10

20

30

40

【0286】

実施例 11 : C X C R - 4 に対する V H ドメイン (及び特に、ナノボディ) 及びそれを含む本発明の化合物

具体的な一態様では、本発明の V H ドメイン (及び特に、本発明の I S V D、及びとりわけ、本発明のナノボディ) 及び本発明の化合物は、C X C R - 4 に対することができる。

【0287】

C X C R - 4 に対する本発明のこのような V H ドメインは、( i ) 本明細書に記載された本発明のアミノ酸残基 / 変異を適切に含む適切なフレームワーク配列、及び、( i i ) 本発明の V H ドメインが C X C R - 4 に特異的に結合するのを可能にする C D R 配列を、

50

概ね含むであろう。また加えて、C X C R - 4に対する本発明のこのようなV Hドメインは、特に、前記V Hドメインが一価であるか、又は、前記V Hドメインが（再度、本明細書で更に記載されたように）存在する本発明の化合物のC末端を形成する場合、本明細書で記載されたC末端伸長を適切に有することもできる。さらに、C X C R - 4に対する本発明のこのようなV Hドメインは、本明細書で更に記載された通りであることができ、特に、I S V Dであることができる。

【0288】

再度、本明細書で記載された本発明の他の態様及び実施態様についてと同様に、具体的なI S V D（例えば、この実施例で記載されたC X C R - 4に対するI S V D）又はそれを含む化合物が、「本発明の」又は「本明細書で更に記載された」と言われる場合、本発明のI S V D又は化合物について本明細書で全体的に記載された好ましい態様／実施態様及び選択も、他の方法で明確に示さない限り、又は、他の方法で必要とされる具体的な技術的文脈が無い限り、前記具体的なI S V D又は化合物それぞれに具体的に適用する。

10

【0289】

このため、特定の態様では、本発明は、C X C R - 4に対するV Hドメイン（及び特に、I S V D）に関し、ここで、( i ) 1 1 2位が、KもしくはQであり、又は、( i i ) 1 1 0位が、KもしくはQであり、1 1位が、Vであり、又は、( i i i ) 8 9位が、Tであり、又は、( i v ) 8 9位が、Lであり、1 1 0位が、KもしくはQであり、又は、( v ) 1 1位が、Vであり、8 9位が、Lであり、又は、( i ) ~ ( v ) の任意の適切な組み合わせである。特に、C X C R - 4に対するこのようなV Hドメインにおいて、

20

- 1 1位におけるアミノ酸残基は、好ましくは、L、V、又はKから選択され（及び最も好ましくは、Vであり）、及び、

- 1 4位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 4 1位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 8 9位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、V、又はLから選択され、及び、

- 1 0 8位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、Q又はLから選択され、及び、

- 1 1 0位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、K、又はQから選択され、及び、

30

- 1 1 2位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、S、K、又はQから選択され、

このため、下記のいずれか、( i ) 1 1 2位は、KもしくはQであり、又は、( i i ) 1 1 0位は、KもしくはQであり、1 1位は、Vであり、又は、( i i i ) 8 9位は、Tであり、又は、( i v ) 8 9位は、Lであり、1 1 0位は、KもしくはQであり、又は、( v ) 1 1位は、Vであり、8 9位は、Lであり、又は、( i ) ~ ( v ) の任意の適切な組み合わせである。

【0290】

さらに、C X C R - 4に対する本発明のV Hドメインは、本明細書で記載された通りであることができ、再度特に、C X C R - 4に対するI S V D（及びとりわけ、ナノボディ）、又は、少なくとも1つのこのようなI S V Dを含むタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは構築物であることができる。また、このようなタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは構築物は、本明細書で更に記載された通りであることができ、例えば、延長した半減期を有することができる（すなわち、本明細書で記載された通り、例えば、少なくとも1日、好ましくは少なくとも3日、より好ましくは少なくとも7日、例えば、少なくとも10日のヒト対象における半減期 - t<sub>1/2</sub>ベータとして表現 - ）、及びこの目的で、例えば、血清アルブミン結合ナノボディを含むことができる。また、同ナノボディは、（再度、本明細書で記載された）本発明の血清アルブミン結合ナノボディであることができる。

40

【0291】

また、このようなI S V Dは、特に、前記I S V Dが（再度、本明細書で更に記載された）それを含むタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは構築物のC末端を形

50



成する場合、(本明細書及び国際公開公報第12/175741号で更に記載された)C末端伸長を適切に有することができる。

【0292】

好ましい一態様では、CXCR-4に対する本発明のVHドメインは、(i)配列番号：245の配列又は、配列番号：245の配列と1つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：245の配列が好ましい)であるCDR1配列、(ii)配列番号：246の配列又は、配列番号：246の配列と1つ又は2つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：246の配列が好ましい)であるCDR2配列、及び、(iii)配列番号：247の配列又は、配列番号：247の配列と1つ又は2つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：247の配列が好ましい)であるCDR3配列を含む。

10

【0293】

より好ましくは、この態様のCXCR-4に対する本発明のVHドメインにおいて、(i)CDR1は、配列番号：245であり、(ii)CDR2は、配列番号：246であり、(iii)CDR3は、配列番号：247である。

【0294】

具体的な一態様では、CXCR-4に対する本発明のナノボディは、配列番号：244のナノボディの変異体(配列番号：244に対して、少なくとも90%の配列同一性、例えば、少なくとも95%の配列同一性を有する)であり、ここで、

- 11位におけるアミノ酸残基は、好ましくは、L、V、又はKから選択され(及び最も好ましくは、Vであり)、及び、

20

- 14位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 41位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 89位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、V、又はLから選択され、及び、

- 108位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、Q又はLから選択され、及び、

- 110位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、K、又はQから選択され、及び、

- 112位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、S、K、又はQから選択され、このため、下記のいずれか、(i)112位は、KもしくはQであり、又は、(ii)110位は、KもしくはQであり、11位は、Vであり、又は、(iii)89位は、T

30

であり、又は、(iv)89位は、Lであり、110位は、KもしくはQであり、又は、(v)11位は、Vであり、89位は、Lであり、又は、(i)~(v)の任意の適切な組み合わせである。このようなISVのCDRは、好ましくは、先の2つの段落で定義された通りである。

【0295】

別の好ましい態様では、CXCR-4に対する本発明のVHドメインは、(i)配列番号：263の配列又は、配列番号：263の配列と1つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：263の配列が好ましい)であるCDR1配列、(ii)配列番号：264の配列又は、配列番号：264の配列と1つ又は2つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：264の配列が好ましい)であるCDR2配列、及び、(iii)配列番号：265の配列又は、配列番号：265の配列と1つ又は2つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：265の配列が好ましい)であるCDR3配列を含む。

40

【0296】

より好ましくは、この態様のCXCR-4に対する本発明のVHドメインにおいて、(i)CDR1は、配列番号：263であり、(ii)CDR2は、配列番号：264であり、(iii)CDR3は、配列番号：265である。

【0297】

具体的な一態様では、IL-23に対する本発明のナノボディは、配列番号：262のナノボディの変異体(配列番号：262に対して、少なくとも90%の配列同一性、例え

50

ば、少なくとも95%の配列同一性を有する)であり、ここで、

- 11位におけるアミノ酸残基は、好ましくは、L、V、又はKから選択され(及び最も好ましくは、Vであり)、及び、

- 14位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 41位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 89位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、V、又はLから選択され、及び、

- 108位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、Q又はLから選択され、及び、

- 110位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、K、又はQから選択され、及び、

- 112位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、S、K、又はQから選択され、このため、下記のいずれか、(i)112位は、KもしくはQであり、又は、(ii)110位は、KもしくはQであり、11位は、Vであり、又は、(iii)89位は、Tであり、又は、(iv)89位は、Lであり、110位は、KもしくはQであり、又は、(v)11位は、Vであり、89位は、Lであり、又は、(i)~(v)の任意の適切な組み合わせである。再度、このようなISVのCDRは、好ましくは、先の2つの段落で定義された通りである。

#### 【0298】

CXCR-4に対する本発明のナノボディの一部の具体的に好ましく、非限定的な例を、配列番号:248~261として図15A及び配列番号:266~279として図15Bにそれぞれ列記する。これらのナノボディはそれぞれ、本発明の更なる態様を構成する。

#### 【0299】

また、本発明は、少なくとも1つ(例えば、1つ、2つ、又は3つ)の配列番号:248~261及び/又は266~279の本発明のナノボディを含む、CXCR-4に対する本発明の化合物に関する。再度、CXCR-4に対する本発明のこのような化合物は、本明細書で更に記載された通りであることができ、このため、例えば、適切なリンカーを含むことができ、本明細書で記載されたC末端伸長を含むことができ、半減期を伸ばすことができる(例えば、本発明の化合物が、ヒト血清アルブミンに対するナノボディ、例えば(好ましくは)、ヒト血清アルブミンに対する本発明のナノボディを含むため)。以下の表Uが参照される。

#### 【0300】

例えば、国際公開公報第2009/138519号、同第2011/042398号、及び同第2011/161266号に記載されたように、特に好ましい一分類のCXCR-4に対するナノボディ系化合物は、二重抗原結合性化合物である。このため、本発明の一態様では、CXCR-4に対する本発明の化合物は、配列番号:244の1つのISV又は(好ましくは)(この実施例11に記載された)配列番号:244から得られた本発明のISVのいずれかと、配列番号:262の1つのISV又は(好ましくは)(この実施例11に記載された)配列番号:262から得られた本発明のISVのいずれかとを含む二重抗原結合性構築物である。ただし、少なくとも一方(及び好ましくは、両方)のこれらのISVが、本発明のISVであるという条件である。また、このような二重抗原結合性構築物は、(すなわち、血清アルブミン結合ISVにより)半減期を伸ばすこともできる。このような二重抗原結合性構築物の一部の具体的な例は、配列番号:595~603に提供される。

#### 【0301】

CXCR-4に対する本発明の化合物の一部の具体的に好ましい例を、配列番号:595~603として図25に提供し、これらの化合物はそれぞれ、本発明の更なる態様を構成する。このため、別の態様では、本発明は、CXCR-4に対し、配列番号:595~603からなる群より選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチドに関する。より一般的には、CXCR-4に対する本発明の化合物は、国際公開公報第2009/138519号、同第2011/042398号、及び同第2011/161266号、同第201

10

20

30

40

50

1 / 1 4 4 7 4 9 号に記載された通りであることができ、本発明の I S V を含む。また、本発明の化合物は、国際公開公報第 2 0 0 9 / 1 3 8 5 1 9 号、同第 2 0 1 1 / 0 4 2 3 9 8 号、及び同第 2 0 1 1 / 1 6 1 2 6 6 号に記載された目的に使用することもできる。

【 0 3 0 2 】

【表 2 9】

表U：CXCR-4に対する本発明の化合物の例

ポリペプチド ／ 構築物 <sup>(1)</sup>	一般式	I S V 構築ブロック及びリンカー
一価	[CXCR-4]	[CXCR-4] = 配列番号：464~477及びび／又は482~495の内の1つ
一価／C末端伸 長	[CXCR-4]-X(m)	[CXCR-4] = 配列番号：464~477及びび／又は482~495の内の1つ
一価／半減期延 長	[CXCR-4]-L <sub>1</sub> -[SA] [SA]-L <sub>1</sub> -[CXCR-4]	[CXCR-4] = 配列番号：464~477及びび／又は482~495の内の1つ [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと)
一価／半減期延 長／C末端伸長	[CXCR-4]-L <sub>1</sub> -[SA]-X(m) [SA]-L <sub>1</sub> -[CXCR-4]-X(n)	[CXCR-4] = 配列番号：464~477及びび／又は482~495の内の1つ [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X(n) = (以下の凡例を参照のこと)
二価 <sup>(2)</sup>	[CXCR-4]-L <sub>1</sub> -[CXCR-4]	存在する少なくとも1つの[CXCR-4] = 配列番号：464~477及びび／又は482~495の内の1つ <sup>(4)</sup> L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと)

10

20

30

40

50

表U (続き)

ポリペプチド ／ 構築物 <sup>(1)</sup>	一般式	ISV構築ブロック及びピンカー
二価／C末端伸 長 <sup>(2)</sup>	[CXCR-4]- L <sub>1</sub> [CXCR-4]-X(n)	少なくとも1つの [CXCR-4] = 配列番号 : 464 ～477及び／又は482～495の内の1つ <sup>(4)</sup> L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X (n) = (以下の凡例を参照のこと)
二価／半減期延 長 <sup>(2)</sup>	[CXCR-4]- L <sub>1</sub> [CXCR-4]- L <sub>2</sub> [SA] [CXCR-4]- L <sub>1</sub> [SA]- L <sub>2</sub> [CXCR-4] [SA]- L <sub>1</sub> [CXCR-4]- L <sub>2</sub> [CXCR-4]	存在する少なくとも1つの [CXCR-4] = 配列番号 : 464～477及び／又は482～495の内の1つ <sup>(4)</sup> [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと)
二価／半減期延 長／C末端伸長 <sup>(2)</sup>	[CXCR-4]- L <sub>1</sub> [CXCR-4]- L <sub>2</sub> [SA]-X(n) [CXCR-4]- L <sub>1</sub> [SA]- L <sub>2</sub> [CXCR-4]-X(n) [SA]- L <sub>1</sub> [CXCR-4]- L <sub>2</sub> [CXCR-4]-X(n)	存在する少なくとも1つの [CXCR-4] = 配列番号 : 464～477及び／又は482～495の内の1つ <sup>(4)</sup> [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X (n) = (以下の凡例を参照のこと)

10

20

30

40

50

表U (続き)

ポリペプチド ／構築物 (1)	一般式	I S V構築ブロック及びびリンカー
二重特異性 (3) )	[CXCR-4]- L <sub>1</sub> -[Nb] [Nb]- L <sub>1</sub> -[CXCR-4] [CXCR-4]- L <sub>1</sub> - [CXCR-4]- L <sub>2</sub> -[Nb] [CXCR-4]- L <sub>1</sub> - [Nb]- L <sub>2</sub> -[CXCR-4] [Nb]- L <sub>1</sub> - [CXCR-4]- L <sub>2</sub> -[CXCR-4]	存在する少なくとも1つの [CXCR-4] = 配列番号 : 4 6 4 ~ 4 7 7 及び/又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の1つ (4) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと) [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)
二重特異性/C 末端伸長 (3)	[CXCR-4]- L <sub>1</sub> -[Nb] -X(n) [Nb]- L <sub>1</sub> -[CXCR-4] -X(n) [CXCR-4]- L <sub>1</sub> - [CXCR-4]- L <sub>2</sub> -[Nb] -X(n) [CXCR-4]- L <sub>1</sub> - [Nb]- L <sub>2</sub> -[CXCR-4] -X(n) [Nb]- L <sub>1</sub> - [CXCR-4]- L <sub>2</sub> -[CXCR-4] -X(n)	存在する少なくとも1つの [CXCR-4] = 配列番号 : 4 6 4 ~ 4 7 7 及び/又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の1つ (4) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X (n) = (以下の凡例を参照のこと) [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)
二重特異性/半 減期延長 (3)	[CXCR-4]- L <sub>1</sub> -[Nb] -L <sub>2</sub> -[SA] [CXCR-4]- L <sub>1</sub> -[SA] - L <sub>2</sub> -[Nb] [Nb]- L <sub>1</sub> -[SA] - L <sub>2</sub> -[CXCR-4] [Nb]- L <sub>1</sub> -[CXCR-4] - L <sub>2</sub> -[SA] [SA]- L <sub>1</sub> -[CXCR-4] - L <sub>2</sub> -[Nb] [SA]- L <sub>1</sub> -[Nb] - L <sub>2</sub> -[CXCR-4]	存在する少なくとも1つの [CXCR-4] = 配列番号 : 4 6 4 ~ 4 7 7 及び/又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の1つ (4) [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> 、L <sub>2</sub> 、L <sub>3</sub> (以下の凡例を参照のこと) [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)

10

20

30

40

50

表U (続き)

ポリペプチド ／構築物 (1)	一般式	ISV構築ブロック及びリンクカー
二重特異性／半 減期延長 (3)	[CXCR-4]- L <sub>1</sub> - [CXCR-4]- L <sub>2</sub> -[Nb] - L <sub>3</sub> - [SA] [Nb]- L <sub>1</sub> - [CXCR-4]- L <sub>2</sub> -[CXCR-4] - L <sub>3</sub> -[SA] [SA]-L <sub>1</sub> -[CXCR-4]- L <sub>2</sub> - [CXCR-4]- L <sub>3</sub> -[Nb] [SA]-L <sub>1</sub> -[CXCR-4]- L <sub>2</sub> - [Nb]- L <sub>3</sub> -[CXCR-4] [CXCR-4]- L <sub>1</sub> - [Nb]- L <sub>2</sub> -[CXCR-4]-L <sub>3</sub> -[SA]	存在する少なくとも1つの [CXCR-4] = 配列番号 : 464~477及び／又は482~495の内の1つ (4) [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> 、L <sub>2</sub> 、L <sub>3</sub> (以下の凡例を参照のこと) [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)
二重特異性／半 減期延長／C末 端伸長 (3)	[CXCR-4]- L <sub>1</sub> -[Nb] -L <sub>2</sub> -[SA] -X(n) [CXCR-4]- L <sub>1</sub> -[SA] - L <sub>2</sub> -[Nb] -X(n) [Nb]- L <sub>1</sub> -[SA] - L <sub>2</sub> -[CXCR-4] -X(n) [Nb]- L <sub>1</sub> -[CXCR-4] - L <sub>2</sub> -[SA] -X(n) [SA]- L <sub>1</sub> -[CXCR-4] - L <sub>2</sub> -[Nb] -X(n) [SA]- L <sub>1</sub> - [Nb] - L <sub>2</sub> -[CXCR-4] -X(n) [CXCR-4]- L <sub>1</sub> - [CXCR-4]- L <sub>2</sub> -[Nb] - L <sub>3</sub> - [SA] -X(n) [Nb]- L <sub>1</sub> - [CXCR-4]- L <sub>2</sub> -[CXCR-4] - L <sub>3</sub> -[SA] -X(n) [SA]- L <sub>1</sub> -[CXCR-4]- L <sub>2</sub> - [CXCR-4]- L <sub>3</sub> -[Nb] -X(n) [SA]- L <sub>1</sub> -[CXCR-4]- L <sub>2</sub> - [Nb]- L <sub>3</sub> -[CXCR-4]-X(n) [CXCR-4]- L <sub>1</sub> - [Nb]- L <sub>2</sub> -[CXCR-4] -L <sub>3</sub> -[SA]-X(n)	存在する少なくとも1つの [CXCR-4] = 配列番号 : 464~477及び／又は482~495の内の1つ (4) [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> 、L <sub>2</sub> 、L <sub>3</sub> (以下の凡例を参照のこと) X (n) = (以下の凡例を参照のこと) [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)

10

20

30

40

50

表U (続き)

<p>凡例：</p> <p>— [SA] は、(ヒト) 血清アルブミンに対する I SV、好ましくは、(ヒト) 血清アルブミンに対する本発明の I SV、より好ましくは、配列番号：46又は61の一方、又は更により好ましくは、配列番号：47、54、62、69、78、86、109、116、123、130、又は496～513の本発明の I SV Dの内の1つである。</p> <p>— L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>、及びL<sub>3</sub>はそれぞれ、(独立して) 適切なリンカーである。L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>、及びL<sub>3</sub>はそれぞれ、(独立して) 存在してもよいし、又は、存在しなくてもよい。適切なリンカーの非限定的な例は、本明細書で言及された g l y - s e r i n c a r、例えば、9 G S、30 G S、又は35 G S リンカーである。</p> <p>— X (n) = 本明細書及び/又は国際公開公報第12/175741号に記載されたC末端伸長等のC末端伸長。</p> <p>— [Nb] は、別の治療ターゲットに対する I SVである。</p> <p>注記：</p> <p>(<sup>1</sup>) この表中において、</p> <p>— 「一価」は、CXCR-4に対する1つの I SVを含むポリペプチド/構築物を一般的に意味する。これらは、半減期延長 I SV (例えば、血清アルブミンに対する I SV) を更に含むことができる。</p> <p>— 「二価」は、CXCR-4に対する2つの I SV (同 I SVは、同じでも又は異なってもよい) を含むポリペプチド/構築物を一般的に意味する。再度、これらは、半減期延長 I SV (例えば、血清アルブミンに対する I SV) を更に含むことができる。</p> <p>— 「二重特異性」は、少なくとも1つ (例えば、1つ又は2つ) の CXCR-4 に対する I SVと、少なくとも1つ (例えば、1つ又は2つ) の治療ターゲットに対する他の I SVとを含むポリペプチド/構築物を一般的に意味する。これらは、半減期延長 I SV (例えば、血清アルブミンに対する I SV) を更に含むことができる。</p> <p>— この表中で記載されたポリペプチド/構築物において、存在する少なくとも1つの CXCR-4 に対する I SVは、本発明の I SVであり、及び好ましくは、このようなポリペプチド/構築物に存在する全ての I SVは、本発明の I SVである。また、半減期延長 I SV及び/又は別の治療ターゲットに対する I SVが、このようなポリペプチド/構築物に存在する場合、これらはそれぞれ (及び好ましくは、これら全て)、本発明の I SVであることもできる (及び好ましくは、本発明の I SVである)。</p> <p>(<sup>2</sup>) : また、この表中の全ての「二価」構築物は、二重抗原結合性であることもできる。これは、「二価」構築物が、少なくとも2つ (例えば、2つ) の CXCR-4 に対する I SVを含むことを意味する。同 I SVは、CXCR-4 上の異なるエピトープに対する。</p> <p>(<sup>3</sup>) : 当業者に明らかであろうように、列記されたもの以外の他の/更なる二重特異性構築物を、言及された構築ブロック及びリンカーを使用して調製することができる。</p> <p>(<sup>4</sup>) : 好ましくは、存在する各 [CXCR-4] は、配列番号：464～477及び/又は482～495から独立して選択される。また、存在する [CXCR-4] は、同一でも又は異なってもよい。二重抗原結合性ポリペプチド/構築物中において、[CXCR-4] は、CXCR-4 上の異なるエピトープに対するであろう。</p> <p>(<sup>5</sup>) : 配列番号を参照してこの欄で言及されたポリペプチド/構築物はそれぞれ、本発明の個々の具体的な態様を構成する。</p>	<p>10</p> <p>20</p> <p>30</p> <p>40</p>
--	---

【0303】

実施例12：HER-3に対するVHドメイン(及び特に、ナノボディ)及びそれを含む本発明の化合物

具体的な一態様では、本発明のVHドメイン(及び特に、本発明のISVD、及びとりわけ、本発明のナノボディ)及び本発明の化合物は、HER-3に対することができる。

【0304】

HER-3に対する本発明のこのようなVHドメインは、(i)本明細書で記載された本発明のアミノ酸残基/変異を適切に含む適切なフレームワーク配列、及び、(ii)本発明のVHドメインがHER-3に特異的に結合するのを可能にするCDR配列を、概ね

含むであろう。また加えて、HER-3に対する本発明のこのようなVHドメインは、特に、前記VHドメインが一価であるか、又は、前記VHドメインが(再度、本明細書で更に記載されたように)存在する本発明の化合物のC末端を形成する場合、本明細書で記載されたC末端伸長を適切に有することもできる。さらに、HER-3に対する本発明のこのようなVHドメインは、本明細書で更に記載された通りであることができ、特に、ISVDであることができる。

#### 【0305】

再度、本明細書で記載された本発明の他の態様及び実施態様についてと同様に、具体的なISVD(例えば、この実施例で記載されたHER-3に対するISVD)又はそれを含む化合物が、「本発明の」又は「本明細書で更に記載された」と言われる場合、本発明のISVD又は化合物について本明細書で全体的に記載された好ましい態様/実施態様及び選択も、他の方法で明確に示さない限り、又は、他の方法で必要とされる具体的な技術的文脈が無い限り、前記具体的なISVD又は化合物それぞれに具体的に適用する。

10

#### 【0306】

このため、特定の態様では、本発明は、HER-3に対するVHドメイン(及び特に、ISVD)に関し、ここで、(i)112位が、KもしくはQであり、又は、(ii)110位が、KもしくはQであり、11位が、Vであり、又は、(iii)89位が、Tであり、又は、(iv)89位が、Lであり、110位が、KもしくはQであり、又は、(v)11位が、Vであり、89位が、Lであり、又は、(i)~(v)の任意の適切な組み合わせである。特に、HER-3に対するこのようなVHドメインにおいて、

20

- 11位におけるアミノ酸残基は、好ましくは、L、V、又はKから選択され(及び最も好ましくは、Vであり)、及び、

- 14位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 41位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 89位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、V、又はLから選択され、及び、

- 108位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、Q又はLから選択され、及び、

- 110位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、K、又はQから選択され、及び、

30

- 112位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、S、K、又はQから選択され、

このため、下記のいずれか、(i)112位は、KもしくはQであり、又は、(ii)110位は、KもしくはQであり、11位は、Vであり、又は、(iii)89位は、Tであり、又は、(iv)89位は、Lであり、110位は、KもしくはQであり、又は、(v)11位は、Vであり、89位は、Lであり、又は、(i)~(v)の任意の適切な組み合わせである。

#### 【0307】

さらに、HER-3に対する本発明のVHドメインは、本明細書で記載された通りであることができ、再度特に、HER-3に対するISVD(及びとりわけ、ナノボディ)、又は、少なくとも1つのこのようなISVDを含むタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは構築物であることができる。また、このようなタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは構築物は、本明細書で更に記載された通りであることができ、例えば、延長した半減期を有することができる(すなわち、本明細書で記載された通り、例えば、少なくとも1日、好ましくは少なくとも3日、より好ましくは少なくとも7日、例えば、少なくとも10日のヒト対象における半減期-t<sub>1/2</sub>ベータとして表現-)、及びこの目的で、例えば、血清アルブミン結合ナノボディを含むことができる。また、同ナノボディは、(再度、本明細書で記載された)本発明の血清アルブミン結合ナノボディであることができる。

40

#### 【0308】

また、このようなISVDは、特に、前記ISVDが(再度、本明細書で更に記載された)それを含むタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは構築物のC末端を形

50



成する場合、(本明細書及び国際公開公報第12/175741号で更に記載された)C末端伸長を適切に有することができる。

【0309】

好ましい一態様では、HER-3に対する本発明のVHドメインは、(i)配列番号：281の配列又は、配列番号：281の配列と1つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：281の配列が好ましい)であるCDR1配列、(ii)配列番号：282の配列又は、配列番号：282の配列と1つ又は2つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：282の配列が好ましい)であるCDR2配列、及び、(iii)配列番号：283の配列又は、配列番号：283の配列と1つ又は2つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：283の配列が好ましい)であるCDR3配列を含む。

10

【0310】

より好ましくは、この態様のHER-3に対する本発明のVHドメインにおいて、(i)CDR1は、配列番号：281であり、(ii)CDR2は、配列番号：282であり、(iii)CDR3は、配列番号：283である。

【0311】

具体的な一態様では、HER-3に対する本発明のナノボディは、配列番号：280のナノボディの変異体(配列番号：280に対して、少なくとも90%の配列同一性、例えば、少なくとも95%の配列同一性を有する)であり、ここで、

- 11位におけるアミノ酸残基は、好ましくは、L、V、又はKから選択され(及び最も好ましくは、Vであり)、及び、

20

- 14位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 41位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 89位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、V、又はLから選択され、及び、

- 108位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、Q又はLから選択され、及び、

- 110位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、K、又はQから選択され、及び、

- 112位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、S、K、又はQから選択され、このため、下記のいずれか、(i)112位は、KもしくはQであり、又は、(ii)110位は、KもしくはQであり、11位は、Vであり、又は、(iii)89位は、Tであり、又は、(iv)89位は、Lであり、110位は、KもしくはQであり、又は、(v)11位は、Vであり、89位は、Lであり、又は、(i)~(v)の任意の適切な組み合わせである。このようなISVのCDRは、好ましくは、先の2つの段落で定義された通りである。

30

【0312】

別の好ましい態様では、HER-3に対する本発明のVHドメインは、(i)配列番号：299の配列又は、配列番号：299の配列と1つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：299の配列が好ましい)であるCDR1配列、(ii)配列番号：300の配列又は、配列番号：300の配列と1つ又は2つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：300の配列が好ましい)であるCDR2配列、及び、(iii)配列番号：301の配列又は、配列番号：301の配列と1つ又は2つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：301の配列が好ましい)であるCDR3配列を含む。

40

【0313】

より好ましくは、この態様のHER-3に対する本発明のVHドメインにおいて、(i)CDR1は、配列番号：299であり、(ii)CDR2は、配列番号：300であり、(iii)CDR3は、配列番号：301である。

【0314】

具体的な一態様では、HER-3に対する本発明のナノボディは、配列番号：298のナノボディの変異体(配列番号：298に対して、少なくとも90%の配列同一性、例えば、少なくとも95%の配列同一性を有する)であり、ここで、

50

- 11位におけるアミノ酸残基は、好ましくは、L、V、又はKから選択され（及び最も好ましくは、Vであり）、及び、

- 14位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 41位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 89位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、V、又はLから選択され、及び、

- 108位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、Q又はLから選択され、及び、

- 110位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、K、又はQから選択され、及び、

- 112位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、S、K、又はQから選択され、

このため、下記のいずれか、(i) 112位は、KもしくはQであり、又は、(ii) 110位は、KもしくはQであり、11位は、Vであり、又は、(iii) 89位は、Tであり、又は、(iv) 89位は、Lであり、110位は、KもしくはQであり、又は、(v) 11位は、Vであり、89位は、Lであり、又は、(i)~(v)の任意の適切な組み合わせである。再度、このようなISVのCDRは、好ましくは、先の2つの段落で定義された通りである。

#### 【0315】

HER-3に対する本発明のナノボディの一部の具体的に好ましく、非限定的な例を、配列番号：284~297として図16A及び配列番号：302~315として図16Bにそれぞれ列記する。これらのナノボディはそれぞれ、本発明の更なる態様を構成する。

#### 【0316】

また、本発明は、少なくとも1つ（例えば、1つ、2つ、又は3つ）の配列番号：284~297及び/又は302~315の本発明のナノボディを含む、HER-3に対する本発明の化合物に関する。再度、HER-3に対する本発明のこのような化合物は、本明細書で更に記載された通りであることができ、このため、例えば、適切なリンカーを含むことができ、本明細書で記載されたC末端伸長を含むことができ、半減期を伸ばすことができる（例えば、本発明の化合物が、ヒト血清アルブミンに対するナノボディ、例えば（好ましくは）、ヒト血清アルブミンに対する本発明のナノボディを含むため）。以下の表Vが参照される。

#### 【0317】

例えば、国際公開公報第2011/144749号に記載されたように、特に好ましい一分類のHER-3に対するナノボディ系化合物は、二重抗原結合性化合物である。このため、本発明の一態様では、HER-3に対する本発明の化合物は、配列番号：280の1つのISV又は（好ましくは）（この実施例12で記載された）配列番号：280から得られた本発明のISVのいずれかと、配列番号：298の1つのISV又は（好ましくは）（この実施例12で記載された）配列番号：298から得られた本発明のISVのいずれかとを含む二重抗原結合性構築物である。ただし、少なくとも一方（及び好ましくは、両方）のこれらのISVが、本発明のISVであるという条件である。また、このような二重抗原結合性構築物は、（すなわち、血清アルブミン結合ISVにより）半減期を伸ばすこともできる。このような二重抗原結合性構築物の一部の具体的な例は、配列番号：604~639に提供される。

#### 【0318】

HER-3に対する本発明の化合物の一部の具体的に好ましい例を、配列番号：604~639として図26に提供し、これらの化合物はそれぞれ、本発明の更なる態様を構成する。このため、別の態様では、本発明は、HER-3に対し、配列番号：604~639からなる群より選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチドに関する。より一般的には、HER-3に対する本発明の化合物は、国際公開公報第2011/144749号に記載された通りであることができ、本発明のISVを含む。また、本発明の化合物は、国際公開公報第2011/144749号に記載された目的に使用することもできる。

#### 【0319】

10

20

30

40

50

【表 30】

表V：HER-3に対する本発明の化合物の例

ポリペプチド ／ 構築物 <sup>(1)</sup>	一般式	ISV構築ブロック及びリンカー
一価	[HER-3]	[HER-3] = 配列番号：464～477及び／又は482～495の内の1つ
一価／C末端伸 長	[HER-3]-X(n)	[HER-3] = 配列番号：464～477及び／又は482～495の内の1つ
一価／半減期延 長	[HER-3]-L <sub>1</sub> -[SA] [SA]-L <sub>1</sub> -[HER-3]	[HER-3] = 配列番号：464～477及び／又は482～495の内の1つ [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと)
一価／半減期延 長／C末端伸長	[HER-3]-L <sub>1</sub> -[SA]-X(n) [SA]-L <sub>1</sub> -[HER-3]-X(n)	[HER-3] = 配列番号：464～477及び／又は482～495の内の1つ [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X(n) = (以下の凡例を参照のこと)
二価 <sup>(2)</sup>	[HER-3]-L <sub>1</sub> -[HER-3]	存在する少なくとも1つの [HER-3] = 配列番号：464～477及び／又は482～495の内の1つ <sup>(4)</sup> L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと)

10

20

30

40

50

表V (続き)

ポリペプチド ／ 構築物 <sup>(1)</sup>	一般式	ISV構築ブロック及びリンカー
二価／C末端伸 長 <sup>(2)</sup>	[HER-3]- L <sub>1</sub> -[HER-3] -X(n)	少なくとも1つの [HER-3] = 配列番号: 4 6 4 ~ 4 7 7 及び／又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の1つ <sup>(4)</sup> L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X (n) = (以下の凡例を参照のこと)
二価／半減期延 長 <sup>(2)</sup>	[HER-3]- L <sub>1</sub> -[HER-3]- L <sub>2</sub> -[SA] [HER-3]- L <sub>1</sub> -[SA]- L <sub>2</sub> -[HER-3] [SA]- L <sub>1</sub> -[HER-3]- L <sub>2</sub> -[HER-3]	存在する少なくとも1つの [HER-3] = 配列番号: 4 6 4 ~ 4 7 7 及び／又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の1つ <sup>(4)</sup> [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと)
二価／半減期延 長／C末端伸長 <sup>(2)</sup>	[HER-3]- L <sub>1</sub> -[HER-3]- L <sub>2</sub> -[SA] -X(n) [HER-3]- L <sub>1</sub> -[SA]- L <sub>2</sub> -[HER-3] -X(n) [SA]- L <sub>1</sub> -[HER-3]- L <sub>2</sub> -[HER-3] -X(n)	存在する少なくとも1つの [HER-3] = 配列番号: 4 6 4 ~ 4 7 7 及び／又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の1つ <sup>(4)</sup> [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X (n) = (以下の凡例を参照のこと)

10

20

30

40

50

表 V (続き)

ポリペプチド ／ 構築物 (1)	一般式	ISV構築ブロック及びリンクカー
二重特異性 (3)	[HER-3]- L <sub>1</sub> -[Nb] [Nb]- L <sub>1</sub> -[HER-3] [HER-3]- L <sub>1</sub> - [HER-3]- L <sub>2</sub> -[Nb] [HER-3]- L <sub>1</sub> - [Nb]- L <sub>2</sub> -[HER-3] [Nb]- L <sub>1</sub> - [HER-3]- L <sub>2</sub> -[HER-3]	存在する少なくとも1つの [HER-3] = 配列番号 : 4 6 4 ~ 4 7 7 及び / 又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の 1 つ (4) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと) [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)
二重特異性 / C 末端伸長 (3)	[HER-3]- L <sub>1</sub> -[Nb] -X(m) [Nb]- L <sub>1</sub> -[HER-3] -X(m) [HER-3]- L <sub>1</sub> - [HER-3]- L <sub>2</sub> -[Nb] -X(m) [HER-3]- L <sub>1</sub> - [Nb]- L <sub>2</sub> -[HER-3] -X(m) [Nb]- L <sub>1</sub> - [HER-3]- L <sub>2</sub> -[HER-3] -X(m)	存在する少なくとも1つの [HER-3] = 配列番号 : 4 6 4 ~ 4 7 7 及び / 又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の 1 つ (4) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X (n) = (以下の凡例を参照のこと) [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)
二重特異性 / 半 減期延長 (3)	[HER-3]- L <sub>1</sub> -[Nb] -L <sub>2</sub> -[SA] [HER-3]- L <sub>1</sub> -[SA] - L <sub>2</sub> -[Nb] [Nb]- L <sub>1</sub> -[SA] - L <sub>2</sub> -[HER-3] [Nb]- L <sub>1</sub> -[HER-3] - L <sub>2</sub> -[SA] [SA]- L <sub>1</sub> -[HER-3] - L <sub>2</sub> -[Nb] [SA]- L <sub>1</sub> -[Nb] - L <sub>2</sub> -[HER-3]	存在する少なくとも1つの [HER-3] = 配列番号 : 4 6 4 ~ 4 7 7 及び / 又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の 1 つ (4) [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> 、L <sub>2</sub> 、L <sub>3</sub> (以下の凡例を参照のこと) [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)

10

20

30

40

50

表V (続き)

ポリペプチド ／ 構築物 <sup>(1)</sup>	一般式	ISV構築ブロック及びびリンカー
二重特異性／半 減期延長 <sup>(3)</sup>	<p>[HER-3]- L<sub>1</sub>- [HER-3]- L<sub>2</sub>-[Nb] - L<sub>3</sub>- [SA]            [Nb]- L<sub>1</sub>- [HER-3]- L<sub>2</sub>-[HER-3] - L<sub>3</sub>-[SA]            [SA]-L<sub>1</sub>-[HER-3]- L<sub>2</sub>- [HER-3]- L<sub>3</sub>-[Nb]            [SA]-L<sub>1</sub>-[HER-3]- L<sub>2</sub>- [Nb]- L<sub>3</sub>-[HER-3]            [HER-3]- L<sub>1</sub>- [Nb]- L<sub>2</sub>-[HER-3]-L<sub>3</sub>-[SA]</p>	<p>存在する少なくとも1つの [HER-3] = 配列番号:            4 6 4 ~ 4 7 7 及び／又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の1つ<sup>(4)</sup>            [SA] = (以下の凡例を参照のこと)            L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>、L<sub>3</sub> (以下の凡例を参照のこと)            [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)</p>
二重特異性／半 減期延長／C末 端伸長 <sup>(3)</sup>	<p>[HER-3]- L<sub>1</sub>-[Nb] -L<sub>2</sub>-[SA] -X(n)            [HER-3]- L<sub>1</sub>-[SA] - L<sub>2</sub>-[Nb] -X(n)            [Nb]- L<sub>1</sub>-[SA] - L<sub>2</sub>-[HER-3] -X(n)            [Nb]- L<sub>1</sub>-[HER-3] - L<sub>2</sub>-[SA] -X(n)            [SA]- L<sub>1</sub>-[HER-3] - L<sub>2</sub>-[Nb] -X(n)            [SA]- L<sub>1</sub>- [Nb] - L<sub>2</sub>-[HER-3] -X(n)            [HER-3]- L<sub>1</sub>- [HER-3]- L<sub>2</sub>-[Nb] - L<sub>3</sub>- [SA] -X(n)            [Nb]- L<sub>1</sub>- [HER-3]- L<sub>2</sub>-[HER-3] - L<sub>3</sub>-[SA] -X(n)            [SA]- L<sub>1</sub>-[HER-3]- L<sub>2</sub>- [HER-3]- L<sub>3</sub>-[Nb] -X(n)            [SA]- L<sub>1</sub>-[HER-3]- L<sub>2</sub>- [Nb]- L<sub>3</sub>-[HER-3]-X(n)            [HER-3]- L<sub>1</sub>- [Nb]- L<sub>2</sub>-[HER-3] -L<sub>3</sub>-[SA]-X(n)</p>	<p>存在する少なくとも1つの [HER-3] = 配列番号:            4 6 4 ~ 4 7 7 及び／又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の1つ<sup>(4)</sup>            [SA] = (以下の凡例を参照のこと)            L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>、L<sub>3</sub> (以下の凡例を参照のこと)            X (n) = (以下の凡例を参照のこと)            [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)</p>

10

20

30

40

50

表V (続き)

<p>凡例：</p> <p>— [SA] は、(ヒト) 血清アルブミンに対するISV、好ましくは、(ヒト) 血清アルブミンに対する本発明のISV、より好ましくは、配列番号：46又は61の一方、又は更に好ましくは、配列番号：47、54、62、69、78、86、109、116、123、130、又は496～513の本発明のISVDである。</p> <p>— L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>、及びL<sub>3</sub>はそれぞれ、(独立して) 適切なリンカーである。L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>、及びL<sub>3</sub>はそれぞれ、(独立して) 存在してもよいし、又は、存在しなくてもよい。適切なリンカーの非限定的な例は、本明細書で言及されたglyserinカー、例えば、9GS、30GS、又は35GSリンカーである。</p> <p>— X(n) = 本明細書及び/又は国際公開報第12/175741号に記載されたC末端伸長等のC末端伸長。</p> <p>— [Nb] は、別の治療ターゲットに対するISVである。</p>	<p>注記：</p> <p>(<sup>1</sup>) この表中において、</p> <p>— 「一価」は、HER-3に対する1つのISVを含むポリペプチド/構築物を一般的に意味する。これらは、半減期延長ISV (例えば、血清アルブミンに対するISV) を更に含むことができる。</p> <p>— 「二価」は、HER-3に対する2つのISV (同ISVは、同じでも又は異なってもよい) を含むポリペプチド/構築物を一般的に意味する。再度、これらは、半減期延長ISV (例えば、血清アルブミンに対するISV) を更に含むことができる。</p> <p>— 「二重特異性」は、少なくとも1つ (例えば、1つ又は2つ) のHER-3に対するISVと、少なくとも1つ (例えば、1つ又は2つ) の治療ターゲットに対する他のISVとを含むポリペプチド/構築物を一般的に意味する。これらは、半減期延長ISV (例えば、血清アルブミンに対するISV) を更に含むことができる。</p> <p>— この表中で記載されたポリペプチド/構築物において、存在する少なくとも1つのHER-3に対するISVは、本発明のISVであり、及び好ましくは、このようなポリペプチド/構築物に存在するHER-3に対する全てのISVは、本発明のISVである。また、半減期延長ISV及び/又は別の治療ターゲットに対するISVが、このようなポリペプチド/構築物に存在する場合、これらはそれぞれ (及び好ましくは、これらは全て)、本発明のISVであることもできる (及び好ましくは、本発明のISVである)。</p> <p>(<sup>2</sup>) : また、この表中の全ての「二価」構築物は、二重抗原結合性であることもできる。これは、「二価」構築物が、少なくとも2つ (例えば、2つ) のHER-3に対するISVを含むことを意味する。同ISVは、HER-3上の異なるエピトープに対する。</p> <p>(<sup>3</sup>) : 当業者に明らかであろうように、列記されたもの以外の他の/異なる二重特異性構築物を、言及された構築ブロック及びリンカーを使用して調製することができる。</p> <p>(<sup>4</sup>) : 好ましくは、存在する各[HER-3]は、配列番号：464～477及び/又は482～495から独立して選択される。また、存在する[HER-3]は、同一でも又は異なってもよい。二重抗原結合性ポリペプチド/構築物中において、[HER-3]は、HER-3上の異なるエピトープに対するであろう。</p> <p>(<sup>5</sup>) : 配列番号を参照してこの欄で言及されたポリペプチド/構築物はそれぞれ、本発明の個々の具体的な態様を構成する。</p>	<p>10</p> <p>20</p> <p>30</p> <p>40</p>
--	---	---

【0320】

実施例13 : TNF に対する VHドメイン (及び特に、ナノボディ) 及びそれを含む本発明の化合物

具体的な一態様では、本発明のVHドメイン (及び特に、本発明のISVD、及びとりわけ、本発明のナノボディ) 及び本発明の化合物は、TNF に対することができる。

【0321】

TNF に対する本発明のこのようなVHドメインは、(i) 本明細書で記載された本発明のアミノ酸残基/変異を適切に含む適切なフレームワーク配列、及び、(ii) 本発明のVHドメインがTNF に特異的に結合するのを可能にするCDR配列を、概ね含むであ

ろう。また加えて、TNFに対する本発明のこのようなVHドメインは、特に、前記VHドメインが一価であるか、又は、前記VHドメインが(再度、本明細書で更に記載されたように)存在する本発明の化合物のC末端を形成する場合、本明細書で記載されたC末端伸長を適切に有することもできる。さらに、TNFに対する本発明のこのようなVHドメインは、本明細書で更に記載された通りであることができ、特に、ISVDであることができる。

#### 【0322】

再度、本明細書で記載された本発明の他の態様及び実施態様についてと同様に、具体的なISVD(例えば、この実施例で記載されたTNFに対するISVD)又はそれを含む化合物が、「本発明の」又は「本明細書で更に記載された」と言われる場合、本発明のISVD又は化合物について本明細書で全体的に記載された好ましい態様/実施態様及び選択も、他の方法で明確に示さない限り、又は、他の方法で必要とされる具体的な技術的文脈が無い限り、前記具体的なISVD又は化合物それぞれに具体的に適用する。

10

#### 【0323】

このため、特定の態様では、本発明は、TNFに対するVHドメイン(及び特に、ISVD)に関し、ここで、(i)112位が、KもしくはQであり、又は、(ii)110位が、KもしくはQであり、11位が、Vであり、又は、(iii)89位が、Tであり、又は、(iv)89位が、Lであり、110位が、KもしくはQであり、又は、(v)11位が、Vであり、89位が、Lであり、又は、(i)~(v)の任意の適切な組み合わせである。特に、TNFに対するこのようなVHドメインにおいて、

20

- 11位におけるアミノ酸残基は、好ましくは、L、V、又はKから選択され(及び最も好ましくは、Vであり)、及び、

- 14位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 41位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 89位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、V、又はLから選択され、及び、

- 108位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、Q又はLから選択され、及び、

- 110位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、K、又はQから選択され、及び、

- 112位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、S、K、又はQから選択され、

30

このため、下記のいずれか、(i)112位は、KもしくはQであり、又は、(ii)110位は、KもしくはQであり、11位は、Vであり、又は、(iii)89位は、Tであり、又は、(iv)89位は、Lであり、110位は、KもしくはQであり、又は、(v)11位は、Vであり、89位は、Lであり、又は、(i)~(v)の任意の適切な組み合わせである。

#### 【0324】

さらに、TNFに対する本発明のVHドメインは、本明細書で記載された通りであることができ、再度特に、TNFに対するISVD(及びとりわけ、ナノボディ)、又は、少なくとも1つのこのようなISVDを含むタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは構築物であることができる。また、このようなタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは構築物は、本明細書で更に記載された通りであることができ、例えば、延長した半減期を有することができる(すなわち、本明細書で記載された通り、例えば、少なくとも1日、好ましくは少なくとも3日、より好ましくは少なくとも7日、例えば、少なくとも10日のヒト対象における半減期-t<sub>1/2</sub>ベータとして表現-)、及びこの目的で、例えば、血清アルブミン結合ナノボディを含むことができる。また、同ナノボディは、(再度、本明細書で記載された)本発明の血清アルブミン結合ナノボディであることができる。

40

#### 【0325】

また、このようなISVDは、特に、前記ISVDが(再度、本明細書で更に記載された)それを含むタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは構築物のC末端を形

50



成する場合、(本明細書及び国際公開公報第12/175741号で更に記載された)C末端伸長を適切に有することができる。

【0326】

好ましい一態様では、TNFに対する本発明のVHドメインは、(i)配列番号：317の配列又は、配列番号：317の配列と1つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：317の配列が好ましい)であるCDR1配列、(ii)配列番号：318の配列又は、配列番号：318の配列と1つ又は2つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：318の配列が好ましい)であるCDR2配列、及び、(iii)配列番号：319の配列又は、配列番号：319の配列と1つ又は2つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：319の配列が好ましい)であるCDR3配列を含む。

10

【0327】

より好ましくは、この態様のTNFに対する本発明のVHドメインにおいて、(i)CDR1は、配列番号：317であり、(ii)CDR2は、配列番号：318であり、(iii)CDR3は、配列番号：319である。

【0328】

具体的な一態様では、TNFに対する本発明のナノボディは、配列番号：316のナノボディの変異体(配列番号：316に対して、少なくとも90%の配列同一性、例えば、少なくとも95%の配列同一性を有する)であり、ここで、

- 11位におけるアミノ酸残基は、好ましくは、L、V、又はKから選択され(及び最も好ましくは、Vであり)、及び、

20

- 14位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 41位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 89位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、V、又はLから選択され、及び、

- 108位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、Q又はLから選択され、及び、

- 110位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、K、又はQから選択され、及び、

- 112位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、S、K、又はQから選択され、ここで、下記のいずれか、(i)112位は、KもしくはQであり、又は、(ii)110位は、KもしくはQであり、11位は、Vであり、又は、(iii)89位は、Tであり、又は、(iv)89位は、Lであり、110位は、KもしくはQであり、又は、(v)11位は、Vであり、89位は、Lであり、又は、(i)~(v)の任意の適切な組み合わせである。このようなISVのCDRは、好ましくは、先の2つの段落で定義された通りである。

30

【0329】

TNFに対する本発明のナノボディの一部の具体的に好ましく、非限定的な例を、配列番号：320~333として図17Aに列記する。これらのナノボディはそれぞれ、本発明の更なる態様を構成する。

【0330】

また、本発明は、少なくとも1つ(例えば、1つ、2つ、又は3つ)の配列番号：320~333の本発明のナノボディを含む、TNFに対する本発明の化合物に関する。再度、TNFに対する本発明のこのような化合物は、本明細書で更に記載された通りであることができ、このため、例えば、適切なリンカーを含むことができ、本明細書で記載されたC末端伸長を含むことができ、半減期を伸ばすことができる(例えば、本発明の化合物が、ヒト血清アルブミンに対するナノボディ、例えば(好ましくは)、ヒト血清アルブミンに対する本発明のナノボディを含むため)。以下の表Wが参照される。一般的には、TNFが多価ターゲットであるため、2つ又は3つの抗TNF ISV(及び、適切な長さのリンカー、国際公開公報第06/122786号を参照のこと)を含む本発明の化合物が好ましい。

40

【0331】

50

TNFに対する本発明の化合物の一部の具体的に好ましい例を、配列番号：640～675として図27に提供し、これらの化合物はそれぞれ、本発明の更なる態様を構成する。このため、別の態様では、本発明は、TNFに対し、配列番号：640～675からなる群より選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチドに関する。より一般的には、TNFに対する本発明の化合物は、国際公開公報第2006/122786号に記載された通りであることができ、本発明のISVを含む。また、本発明の化合物は、国際公開公報第2006/122786号に記載された目的に使用することもできる。

【0332】

【表31】

表W：TNFに対する本発明の化合物の例

ポリペプチド /構築物 <sup>(1)</sup>	一般式	ISV構築ブロック及びびリンカー
一価	[TNF]	[TNF] = 配列番号：464～477及び/又は482～495の内1つ
一価/C末端伸 長	[TNF]-X(n)	[TNF] = 配列番号：464～477及び/又は482～495の内1つ
一価/半減期延 長	[TNF]-L <sub>1</sub> -[SA] [SA]-L <sub>1</sub> -[TNF]	[TNF] = 配列番号：464～477及び/又は482～495の内1つ [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと)
一価/半減期延 長/C末端伸長	[TNF]-L <sub>1</sub> -[SA]-X(n) [SA]-L <sub>1</sub> -[TNF]-X(n)	[TNF] = 配列番号：464～477及び/又は482～495の内1つ [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X(n) = (以下の凡例を参照のこと)
二価 <sup>(2)</sup>	[TNF]-L <sub>1</sub> -[TNF]	存在する少なくとも1つの[TNF] = 配列番号：464～477及び/又は482～495の内1つ <sup>(4)</sup> L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと)

10

20

30

40

50

表W (続き)

ポリペプチド ／ 構築物 <sup>(1)</sup>	一般式	ISV構築ブロック及びリンカー
二価／C末端伸 長 <sup>(2)</sup>	[TNF]-L <sub>1</sub> -[TNF]-X(n)	少なくとも1つの [TNF] = 配列番号: 4 6 4 ~ 4 7 7 及び又は4 8 2 ~ 4 9 5の内の1つ <sup>(+)</sup> L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X (n) = (以下の凡例を参照のこと)
二価／半減期延 長 <sup>(2)</sup>	[TNF]-L <sub>1</sub> -[TNF]-L <sub>2</sub> -[SA] [TNF]-L <sub>1</sub> -[SA]-L <sub>2</sub> -[TNF] [SA]-L <sub>1</sub> -[TNF]-L <sub>2</sub> -[TNF]	存在する少なくとも1つの [TNF] = 配列番号: 4 6 4 ~ 4 7 7 及び／又は4 8 2 ~ 4 9 5の内の1つ <sup>(+)</sup> [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと)
二価／半減期延 長／C末端伸長 <sup>(2)</sup>	[TNF]-L <sub>1</sub> -[TNF]-L <sub>2</sub> -[SA]-X(n) [TNF]-L <sub>1</sub> -[SA]-L <sub>2</sub> -[TNF]-X(n) [SA]-L <sub>1</sub> -[TNF]-L <sub>2</sub> -[TNF]-X(n)	存在する少なくとも1つの [TNF] = 配列番号: 4 6 4 ~ 4 7 7 及び／又は4 8 2 ~ 4 9 5の内の1つ <sup>(+)</sup> [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X (n) = (以下の凡例を参照のこと)

10

20

30

40

50

表W (続き)

ポリペプチド ／ 構築物 (1)	一般式	ISV構築ブロック及びリンカー
二重特異性 (3) )	[TNF]- L <sub>1</sub> -[Nb] [Nb]- L <sub>1</sub> -[TNF] [TNF]- L <sub>1</sub> - [TNF]- L <sub>2</sub> -[Nb] [TNF]- L <sub>1</sub> - [Nb]- L <sub>2</sub> -[TNF] [Nb]- L <sub>1</sub> - [TNF]- L <sub>2</sub> -[TNF]	存在する少なくとも1つの [TNF] = 配列番号: 4 6 4 ~4 7 7 及び/又は4 8 2 ~4 9 5 の内の1つ (4) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと) [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)
二重特異性／C 末端伸長 (3)	[TNF]- L <sub>1</sub> -[Nb] -X(n) [Nb]- L <sub>1</sub> -[TNF] -X(n) [TNF]- L <sub>1</sub> - [TNF]- L <sub>2</sub> -[Nb] -X(n) [TNF]- L <sub>1</sub> - [Nb]- L <sub>2</sub> -[TNF] -X(n) [Nb]- L <sub>1</sub> - [TNF]- L <sub>2</sub> -[TNF] -X(n)	存在する少なくとも1つの [TNF] = 配列番号: 4 6 4 ~4 7 7 及び/又は4 8 2 ~4 9 5 の内の1つ (4) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X (n) = (以下の凡例を参照のこと) [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)
二重特異性／半 減期延長 (3)	[TNF]- L <sub>1</sub> -[Nb] -L <sub>2</sub> -[SA] [TNF]- L <sub>1</sub> -[SA] - L <sub>2</sub> -[Nb] [Nb]- L <sub>1</sub> -[SA] - L <sub>2</sub> -[TNF] [Nb]- L <sub>1</sub> -[TNF] - L <sub>2</sub> -[SA] [SA]- L <sub>1</sub> -[TNF] - L <sub>2</sub> -[Nb] [SA]- L <sub>1</sub> -[Nb] - L <sub>2</sub> -[TNF]	存在する少なくとも1つの [TNF] = 配列番号: 4 6 4 ~4 7 7 及び/又は4 8 2 ~4 9 5 の内の1つ (4) [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> 、L <sub>2</sub> 、L <sub>3</sub> (以下の凡例を参照のこと) [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)

10

20

30

40

50

表W (続き)

ポリペプチド ／ 構築物 (1)	一般式	ISV構築ブロック及びピリンカー
二重特異性／半 減期延長 (3)	[TNF]-L <sub>1</sub> -[TNF]-L <sub>2</sub> -[Nb]-L <sub>3</sub> -[SA] [Nb]-L <sub>1</sub> -[TNF]-L <sub>2</sub> -[TNF]-L <sub>3</sub> -[SA] [SA]-L <sub>1</sub> -[TNF]-L <sub>2</sub> -[TNF]-L <sub>3</sub> -[Nb] [SA]-L <sub>1</sub> -[TNF]-L <sub>2</sub> -[Nb]-L <sub>3</sub> -[TNF] [TNF]-L <sub>1</sub> -[Nb]-L <sub>2</sub> -[TNF]-L <sub>3</sub> -[SA]	存在する少なくとも1つの [TNF] = 配列番号：464 ～477及び／又は482～495の内の1つ (4) [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> 、L <sub>2</sub> 、L <sub>3</sub> (以下の凡例を参照のこと) [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)
二重特異性／半 減期延長／C末 端伸長 (3)	[TNF]-L <sub>1</sub> -[Nb]-L <sub>2</sub> -[SA]-X(n) [TNF]-L <sub>1</sub> -[SA]-L <sub>2</sub> -[Nb]-X(n) [Nb]-L <sub>1</sub> -[SA]-L <sub>2</sub> -[TNF]-X(n) [Nb]-L <sub>1</sub> -[TNF]-L <sub>2</sub> -[SA]-X(n) [SA]-L <sub>1</sub> -[TNF]-L <sub>2</sub> -[Nb]-X(n) [SA]-L <sub>1</sub> -[Nb]-L <sub>2</sub> -[TNF]-X(n) [TNF]-L <sub>1</sub> -[TNF]-L <sub>2</sub> -[Nb]-L <sub>3</sub> -[SA]-X(n) [Nb]-L <sub>1</sub> -[TNF]-L <sub>2</sub> -[TNF]-L <sub>3</sub> -[SA]-X(n) [SA]-L <sub>1</sub> -[TNF]-L <sub>2</sub> -[TNF]-L <sub>3</sub> -[Nb]-X(n) [SA]-L <sub>1</sub> -[TNF]-L <sub>2</sub> -[Nb]-L <sub>3</sub> -[TNF]-X(n) [TNF]-L <sub>1</sub> -[Nb]-L <sub>2</sub> -[TNF]-L <sub>3</sub> -[SA]-X(n)	存在する少なくとも1つの [TNF] = 配列番号：464 ～477及び／又は482～495の内の1つ (4) [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> 、L <sub>2</sub> 、L <sub>3</sub> (以下の凡例を参照のこと) X(n) = (以下の凡例を参照のこと) [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)

10

20

30

40

50

表W (続き)

<p>凡例：</p> <p>— [SA] は、(ヒト)血清アルブミンに対するISV、好ましくは、(ヒト)血清アルブミンに対する本発明のISV、より好ましくは、配列番号：46又は61の一方、又は更に好ましくは、配列番号：47、54、62、69、78、86、109、116、123、130、又は496～513の本発明のISVDの内の1つである。</p> <p>— L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>、及びL<sub>3</sub>はそれぞれ、(独立して)適切なリンカーである。L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>、及びL<sub>3</sub>はそれぞれ、(独立して)存在してもよいし、又は、存在しなくてもよい。適切なリンカーの非限定的な例は、本明細書で言及されたglyserinカー、例えば、9GS、30GS、又は35GSリンカーである。</p> <p>— X (n) =本明細書及び/又は国際公開報第12/175741号に記載されたC末端伸長等のC末端伸長。</p> <p>— [Nb] は、別の治療ターゲットに対するISVである。</p>	<p>注記：</p> <p>(<sup>1</sup>) この表中において、</p> <p>— 「一価」は、TNFに対する1つのISVを含むポリペプチド/構築物を一般的に意味する。これらは、半減期延長ISV (例えば、血清アルブミンに対するISV) を更に含むことができる。</p> <p>— 「二価」は、TNFに対する2つのISV (同ISVは、同じでも又は異なってもよい) を含むポリペプチド/構築物を一般的に意味する。再度、これらは、半減期延長ISV (例えば、血清アルブミンに対するISV) を更に含むことができる。</p> <p>— 「二重特異性」は、少なくとも1つ (例えば、1つ又は2つ) のTNFに対するISVと、少なくとも1つ (例えば、1つ又は2つ) の治療ターゲットに対する他のISVとを含むポリペプチド/構築物を一般的に意味する。これらは、半減期延長ISV (例えば、血清アルブミンに対するISV) を更に含むことができる。</p> <p>— この表中で記載されたポリペプチド/構築物において、存在する少なくとも1つのTNFに対するISVは、本発明のISVであり、及び好ましくは、このようなポリペプチド/構築物に存在するTNFに対する全てのISVは、本発明のISVである。また、半減期延長ISV及び/又は別の治療ターゲットに対するISVが、このようなポリペプチド/構築物に存在する場合、これらはそれぞれ (及び好ましくは、これらは全て)、本発明のISVであることもできる (及び好ましくは、本発明のISVである)。</p> <p>(<sup>2</sup>) : また、この表中の全ての「二価」構築物は、二重抗原結合性であることもできる。これは、「二価」構築物が、少なくとも2つ (例えば、2つ) のTNFに対するISVを含むことを意味する。同ISVは、TNF上の異なるエピトープに対する。</p> <p>(<sup>3</sup>) : 当業者に明らかであるように、列記されたもの以外の他の/更なる二重特異性構築物を、言及された構築ブロック及びリンカーを使用して調製することができる。</p> <p>(<sup>4</sup>) : 好ましくは、存在する各「TNF」は、配列番号：464～477及び/又は482～495から独立して選択される。また、存在する「TNF」は、同一でも又は異なってもよい。二重抗原結合性ポリペプチド/構築物中において、「TNF」は、TNF上の異なるエピトープに対するであろう。</p> <p>(<sup>5</sup>) : 配列番号を参照してこの欄で言及されたポリペプチド/構築物はそれぞれ、本発明の個々の具体的な態様を構成する。</p>	<p>10</p> <p>20</p> <p>30</p> <p>40</p>
---	--	---

【0333】

実施例14：TNFに対する更なるVHドメイン (及び特に、ナノボディ) 及びそれを含む本発明の化合物

具体的な一態様では、本発明のVHドメイン (及び特に、本発明のISVD、及びとりわけ、本発明のナノボディ) 及び本発明の化合物は、TNFに対することができる。

【0334】

TNFに対する本発明のこのようなVHドメインは、(i)本明細書で記載された本発明のアミノ酸残基/変異を適切に含む適切なフレームワーク配列、及び、(ii)本発明のVHドメインがTNFに特異的に結合するのを可能にするCDR配列を、概ね含むであ

ろう。また加えて、TNFに対する本発明のこのようなVHドメインは、特に、前記VHドメインが一価であるか、又は、前記VHドメインが(再度、本明細書で更に記載されたように)存在する本発明の化合物のC末端を形成する場合、本明細書で記載されたC末端伸長を適切に有することもできる。さらに、TNFに対する本発明のこのようなVHドメインは、本明細書で更に記載された通りであることができ、特に、ISVDであることができる。

#### 【0335】

再度、本明細書で記載された本発明の他の態様及び実施態様についてと同様に、具体的なISVD(例えば、この実施例で記載されたTNFに対するISVD)又はそれを含む化合物が、「本発明の」又は「本明細書で更に記載された」と言われる場合、本発明のISVD又は化合物について本明細書で全体的に記載された好ましい態様/実施態様及び選択も、他の方法で明確に示さない限り、又は、他の方法で必要とされる具体的な技術的文脈が無い限り、前記具体的なISVD又は化合物それぞれに具体的に適用する。

10

#### 【0336】

このため、特定の態様では、本発明は、TNFに対するVHドメイン(及び特に、ISVD)に関し、ここで、(i)112位が、KもしくはQであり、又は、(ii)110位が、KもしくはQであり、11位が、Vであり、又は、(iii)89位が、Tであり、又は、(iv)89位が、Lであり、110位が、KもしくはQであり、又は、(v)11位が、Vであり、89位が、Lであり、又は、(i)~(v)の任意の適切な組み合わせである。特に、TNFに対するこのようなVHドメインにおいて、

20

- 11位におけるアミノ酸残基は、好ましくは、L、V、又はKから選択され(及び最も好ましくは、Vであり)、及び、

- 14位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 41位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 89位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、V、又はLから選択され、及び、

- 108位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、Q又はLから選択され、及び、

- 110位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、K、又はQから選択され、及び、

- 112位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、S、K、又はQから選択され、

30

このため、下記のいずれか、(i)112位は、KもしくはQであり、又は、(ii)110位は、KもしくはQであり、11位は、Vであり、又は、(iii)89位は、Tであり、又は、(iv)89位は、Lであり、110位は、KもしくはQであり、又は、(v)11位は、Vであり、89位は、Lであり、又は、(i)~(v)の任意の適切な組み合わせである。

#### 【0337】

さらに、TNFに対する本発明のVHドメインは、本明細書で記載された通りであることができ、再度特に、TNFに対するISVD(及びとりわけ、ナノボディ)、又は、少なくとも1つのこのようなISVDを含むタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは構築物であることができる。また、このようなタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは構築物は、本明細書で更に記載された通りであることができ、例えば、延長した半減期を有することができる(すなわち、本明細書で記載された通り、例えば、少なくとも1日、好ましくは少なくとも3日、より好ましくは少なくとも7日、例えば、少なくとも10日のヒト対象における半減期-t<sub>1/2</sub>ベータとして表現-)、及びこの目的で、例えば、血清アルブミン結合ナノボディを含むことができる。また、同ナノボディは、(再度、本明細書で記載された)本発明の血清アルブミン結合ナノボディであることができる。

40

#### 【0338】

また、このようなISVDは、特に、前記ISVDが(再度、本明細書で更に記載された)それを含むタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは構築物のC末端を形

50

成する場合、(本明細書及び国際公開公報第12/175741号で更に記載された)C末端伸長を適切に有することができる。

【0339】

好ましい一態様では、TNFに対する本発明のVHドメインは、(i)配列番号：335の配列又は、配列番号：335の配列と1つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：335の配列が好ましい)であるCDR1配列、(ii)配列番号：336の配列又は、配列番号：336の配列と1つ又は2つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：336の配列が好ましい)であるCDR2配列、及び、(iii)配列番号：337の配列又は、配列番号：337の配列と1つ又は2つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：337の配列が好ましい)であるCDR3配列を含む。

10

【0340】

より好ましくは、この態様のTNFに対する本発明のVHドメインにおいて、(i)CDR1は、配列番号：335であり、(ii)CDR2は、配列番号：336であり、(iii)CDR3は、配列番号：337である。

【0341】

具体的な一態様では、TNFに対する本発明のナノボディは、配列番号：334のナノボディの変異体(配列番号：334に対して、少なくとも90%の配列同一性、例えば、少なくとも95%の配列同一性を有する)であり、ここで、

- 11位におけるアミノ酸残基は、好ましくは、L、V、又はKから選択され(及び最も好ましくは、Vであり)、及び、

20

- 14位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 41位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 89位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、V、又はLから選択され、及び、

- 108位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、Q又はLから選択され、及び、

- 110位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、K、又はQから選択され、及び、

- 112位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、S、K、又はQから選択され、

このため、下記のいずれか、(i)112位は、KもしくはQであり、又は、(ii)110位は、KもしくはQであり、11位は、Vであり、又は、(iii)89位は、Tであり、又は、(iv)89位は、Lであり、110位は、KもしくはQであり、又は、(v)11位は、Vであり、89位は、Lであり、又は、(i)~(v)の任意の適切な組み合わせである。このようなISVのCDRは、好ましくは、先の2つの段落で定義された通りである。

30

【0342】

TNFに対する本発明のナノボディの一部の具体的に好ましく、非限定的な例を、配列番号：338~351として図17Bに列記する。これらのナノボディはそれぞれ、本発明の更なる態様を構成する。

【0343】

また、本発明は、少なくとも1つ(例えば、1つ、2つ、又は3つ)の配列番号：338~351の本発明のナノボディを含む、TNFに対する本発明の化合物に関する。再度、TNFに対する本発明のこのような化合物は、本明細書で更に記載された通りであることができ、このため、例えば、適切なリンカーを含むことができ、本明細書で記載されたC末端伸長を含むことができ、半減期を伸ばすことができる(例えば、本発明の化合物が、ヒト血清アルブミンに対するナノボディ、例えば(好ましくは)、ヒト血清アルブミンに対する本発明のナノボディを含むため)。以下の表Xが参照される。一般的には、TNFが多価ターゲットであるため、2つ又は3つの抗TNF ISVを含む本発明の化合物が好ましい。

40

【0344】

50



【表 3 2】

表 X : TNF に対する本発明の化合物の例

ポリペプチド / 構築物 <sup>(1)</sup>	一般式	ISV 構築ブロック及びビルンカー
一価	[TNF]	[TNF] = 配列番号 : 4 6 4 ~ 4 7 7 及び / 又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の 1 つ
一価 / C 末端伸 長	[TNF]-X(n)	[TNF] = 配列番号 : 4 6 4 ~ 4 7 7 及び / 又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の 1 つ
一価 / 半減期延 長	[TNF]-L <sub>1</sub> -[SA] [SA]-L <sub>1</sub> -[TNF]	[TNF] = 配列番号 : 4 6 4 ~ 4 7 7 及び / 又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の 1 つ [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと)
一価 / 半減期延 長 / C 末端伸長	[TNF]-L <sub>1</sub> -[SA]-X(n) [SA]-L <sub>1</sub> -[TNF]-X(n)	[TNF] = 配列番号 : 4 6 4 ~ 4 7 7 及び / 又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の 1 つ [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X (n) = (以下の凡例を参照のこと)
二価 <sup>(2)</sup>	[TNF]-L <sub>1</sub> -[TNF]	存在する少なくとも 1 つの [TNF] = 配列番号 : 4 6 4 ~ 4 7 7 及び / 又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の 1 つ <sup>(4)</sup> L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと)

10

20

30

40

50

表 X (続き)

ポリペプチド ／ 構築物 <sup>(1)</sup>	一般式	ISV構築ブロック及びリンカー
二価／C末端伸 長 <sup>(2)</sup>	[TNF]- L <sub>1</sub> -[TNF]-X(m)	少なくとも1つの [TNF] = 配列番号：464~477及び ／又は482~495の内の1つ <sup>(4)</sup> L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X (n) = (以下の凡例を参照のこと)
二価／半減期延 長 <sup>(2)</sup>	[TNF]- L <sub>1</sub> -[TNF]- L <sub>2</sub> -[SA] [TNF]- L <sub>1</sub> -[SA]- L <sub>2</sub> -[TNF] [SA]- L <sub>1</sub> -[TNF]- L <sub>2</sub> -[TNF]	存在する少なくとも1つの [TNF] = 配列番号：464~4 77及び／又は482~495の内の1つ <sup>(4)</sup> [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと)
二価／半減期延 長／C末端伸長 <sup>(2)</sup>	[TNF]- L <sub>1</sub> -[TNF]- L <sub>2</sub> -[SA]-X(m) [TNF]- L <sub>1</sub> -[SA]- L <sub>2</sub> -[TNF]-X(m) [SA]- L <sub>1</sub> -[TNF]- L <sub>2</sub> -[TNF]-X(m)	存在する少なくとも1つの [TNF] = 配列番号：464~4 77及び／又は482~495の内の1つ <sup>(4)</sup> [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X (n) = (以下の凡例を参照のこと)

10

20

30

40

50

表 X (続き)

ポリペプチド ／ 構築物 (1)	一般式	ISV構築ブロック及びリンクカー
二重特異性 (3) )	[TNF]- L <sub>1</sub> -[Nb] [Nb]- L <sub>1</sub> -[TNF] [TNF]- L <sub>1</sub> - [TNF]- L <sub>2</sub> -[Nb] [TNF]- L <sub>1</sub> - [Nb]- L <sub>2</sub> -[TNF] [Nb]- L <sub>1</sub> - [TNF]- L <sub>2</sub> -[TNF]	存在する少なくとも1つの [TNF] = 配列番号 : 4 6 4 ~ 4 7 7 及び / 又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の 1 つ (4) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと) [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)
二重特異性 / C 末端伸長 (3)	[TNF]- L <sub>1</sub> -[Nb] -X(n) [Nb]- L <sub>1</sub> -[TNF] -X(n) [TNF]- L <sub>1</sub> - [TNF]- L <sub>2</sub> -[Nb] -X(n) [TNF]- L <sub>1</sub> - [Nb]- L <sub>2</sub> -[TNF] -X(n) [Nb]- L <sub>1</sub> - [TNF]- L <sub>2</sub> -[TNF] -X(n)	存在する少なくとも1つの [TNF] = 配列番号 : 4 6 4 ~ 4 7 7 及び / 又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の 1 つ (4) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X (n) = (以下の凡例を参照のこと) [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)
二重特異性 / 半 減期延長 (3)	[TNF]- L <sub>1</sub> -[Nb] -L <sub>2</sub> -[SA] [TNF]- L <sub>1</sub> -[SA] - L <sub>2</sub> -[Nb] [Nb]- L <sub>1</sub> -[SA] - L <sub>2</sub> -[TNF] [Nb]- L <sub>1</sub> -[TNF] - L <sub>2</sub> -[SA] [SA]- L <sub>1</sub> -[TNF] - L <sub>2</sub> -[Nb] [SA]- L <sub>1</sub> -[Nb] - L <sub>2</sub> -[TNF]	存在する少なくとも1つの [TNF] = 配列番号 : 4 6 4 ~ 4 7 7 及び / 又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の 1 つ (4) [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> 、L <sub>2</sub> 、L <sub>3</sub> (以下の凡例を参照のこと) [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)

10

20

30

40

50

表 X (続き)

ポリペプチド ／ 構築物 (1)	一般式	ISV構築ブロック及びリンクカー
二重特異性／半 減期延長 (3)	<p>[TNF]-L<sub>1</sub>-[TNF]-L<sub>2</sub>-[Nb]-L<sub>3</sub>-[SA]</p> <p>[Nb]-L<sub>1</sub>-[TNF]-L<sub>2</sub>-[TNF]-L<sub>3</sub>-[SA]</p> <p>[SA]-L<sub>1</sub>-[TNF]-L<sub>2</sub>-[TNF]-L<sub>3</sub>-[Nb]</p> <p>[SA]-L<sub>1</sub>-[TNF]-L<sub>2</sub>-[Nb]-L<sub>3</sub>-[TNF]</p> <p>[TNF]-L<sub>1</sub>-[Nb]-L<sub>2</sub>-[TNF]-L<sub>3</sub>-[SA]</p>	<p>存在する少なくとも1つの [TNF] = 配列番号 : 4 6 4 ~ 4 7 7 及び／又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の1つ (4)</p> <p>[SA] = (以下の凡例を参照のこと)</p> <p>L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>、L<sub>3</sub> (以下の凡例を参照のこと)</p> <p>[Nb] = (以下の凡例を参照のこと)</p>
二重特異性／半 減期延長／C末 端伸長 (3)	<p>[TNF]-L<sub>1</sub>-[Nb]-L<sub>2</sub>-[SA]-X(n)</p> <p>[TNF]-L<sub>1</sub>-[SA]-L<sub>2</sub>-[Nb]-X(n)</p> <p>[Nb]-L<sub>1</sub>-[SA]-L<sub>2</sub>-[TNF]-X(n)</p> <p>[Nb]-L<sub>1</sub>-[TNF]-L<sub>2</sub>-[SA]-X(n)</p> <p>[SA]-L<sub>1</sub>-[TNF]-L<sub>2</sub>-[Nb]-X(n)</p> <p>[SA]-L<sub>1</sub>-[Nb]-L<sub>2</sub>-[TNF]-X(n)</p> <p>[TNF]-L<sub>1</sub>-[TNF]-L<sub>2</sub>-[Nb]-L<sub>3</sub>-[SA]-X(n)</p> <p>[Nb]-L<sub>1</sub>-[TNF]-L<sub>2</sub>-[TNF]-L<sub>3</sub>-[SA]-X(n)</p> <p>[SA]-L<sub>1</sub>-[TNF]-L<sub>2</sub>-[TNF]-L<sub>3</sub>-[Nb]-X(n)</p> <p>[SA]-L<sub>1</sub>-[TNF]-L<sub>2</sub>-[Nb]-L<sub>3</sub>-[TNF]-X(n)</p> <p>[TNF]-L<sub>1</sub>-[Nb]-L<sub>2</sub>-[TNF]-L<sub>3</sub>-[SA]-X(n)</p>	<p>存在する少なくとも1つの [TNF] = 配列番号 : 4 6 4 ~ 4 7 7 及び／又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の1つ (4)</p> <p>[SA] = (以下の凡例を参照のこと)</p> <p>L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>、L<sub>3</sub> (以下の凡例を参照のこと)</p> <p>X (n) = (以下の凡例を参照のこと)</p> <p>[Nb] = (以下の凡例を参照のこと)</p>

10

20

30

40

50

表 X (続き)

<p>凡例：</p> <p>— [SA] は、(ヒト) 血清アルブミンに対する I S V、好ましくは、(ヒト) 血清アルブミンに対する本発明の I S V、より好ましくは、配列番号：46又は61の一方、又は更に好ましくは、配列番号：47、54、62、69、78、86、109、116、123、130、又は496～513の本発明の I S V Dの内の一つである。</p> <p>— L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>、及びL<sub>3</sub>はそれぞれ、(独立して) 適切なリンカーである。L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>、及びL<sub>3</sub>はそれぞれ、(独立して) 存在してもよいし、又は、存在しなくてもよい。適切なリンカーの非限定的な例は、本明細書で言及された g l y - s e r リンカー、例えば、9 G S、30 G S、又は35 G S リンカーである。</p> <p>— X (n) = 本明細書及び/又は国際公開公報第 12/175741号に記載された C 末端伸長等の C 末端伸長。</p> <p>— [Nb] は、別の治療ターゲットに対する I S V である。</p>	<p>注記：</p> <p>(1) この表中において、</p> <p>— 「一価」は、TNFに対する1つの I S V を含むポリペプチド/構築物を一般的に意味する。これらは、半減期延長 I S V (例えば、血清アルブミンに対する I S V) を更に含むことができる。</p> <p>— 「二価」は、TNFに対する2つの I S V (同 I S V は、同じでも又は異なってもよい) を含むポリペプチド/構築物を一般的に意味する。再度、これらは、半減期延長 I S V (例えば、血清アルブミンに対する I S V) を更に含むことができる。</p> <p>— 「二重特異性」は、少なくとも1つ (例えば、1つ又は2つ) の TNF に対する I S V と、少なくとも1つ (例えば、1つ又は2つ) の治療ターゲットに対する他の I S V とを含むポリペプチド/構築物を一般的に意味する。これらは、血清アルブミンに対する I S V) を更に含むことができる。</p> <p>— この表中に記載されたポリペプチド/構築物において、存在する少なくとも1つの TNF に対する I S V は、本発明の I S V であり、及び好ましくは、このようなポリペプチド/構築物に存在する TNF に対する全ての I S V は、本発明の I S V である。また、半減期延長 I S V 及び/又は別の治療ターゲットに対する I S V が、このようなポリペプチド/構築物に存在する場合、これらはそれぞれ (及び好ましくは、これらは全て)、本発明の I S V であることもできる (及び好ましくは、本発明の I S V である)。</p> <p>(2) ; また、この表中の全ての「二価」構築物は、二重抗原結合性であることもできる。これは、「二価」構築物が、少なくとも2つ (例えば、2つ) の TNF に対する I S V を含むことを意味する。同 I S V は、TNF 上の異なるエピトープに対する。</p> <p>(3) ; 当業者に明らかであろうように、列記されたもの以外の他の/更なる二重特異性構築物を、言及された構築ブロック及びリンカーを使用して調製することができる。</p> <p>(4) ; 好ましくは、存在する各 [TNF] は、配列番号：464～477及び/又は482～495から独立して選択される。また、存在する [TNF] は、同一でも又は異なってもよい。二重抗原結合性ポリペプチド/構築物において、[TNF] は、TNF 上の異なるエピトープに対するであろう。</p> <p>(5) ; 配列番号を参照してこの欄で言及されたポリペプチド/構築物はそれぞれ、本発明の個々の具体的な態様を構成する。</p>	<p>10</p> <p>20</p> <p>30</p> <p>40</p>
--	--	---

【0345】

実施例 15 : c - M e t に対する V H ドメイン (及び特に、ナノボディ) 及びそれを含む本発明の化合物

具体的な一態様では、本発明の V H ドメイン (及び特に、本発明の I S V D、及びとりわけ、本発明のナノボディ) 及び本発明の化合物は、c - M e t に対することができる。

【0346】

c - M e t に対する本発明のこのような V H ドメインは、( i ) 本明細書に記載された本発明のアミノ酸残基 / 変異を適切に含む適切なフレームワーク配列、及び、( i i ) 本発明の V H ドメインが c - M e t に特異的に結合するのを可能にする C D R 配列を、概ね

含むであろう。また加えて、c - M e t に対する本発明のこのようなV Hドメインは、特に、前記V Hドメインが一価であるか、又は、前記V Hドメインが（再度、本明細書で更に記載されたように）存在する本発明の化合物のC末端を形成する場合、本明細書で記載されたC末端伸長を適切に有することもできる。さらに、c - M e t に対する本発明のこのようなV Hドメインは、本明細書で更に記載された通りであることができ、特に、I S V D であることができる。

【0347】

再度、本明細書で記載された本発明の他の態様及び実施態様についてと同様に、具体的なI S V D（例えば、この実施例で記載されたc - M e t に対するI S V D）又はそれを含む化合物が、「本発明の」又は「本明細書で更に記載された」と言われる場合、本発明のI S V D 又は化合物について本明細書で全体的に記載された好ましい態様／実施態様及び選択も、他の方法で明確に示さない限り、又は、他の方法で必要とされる具体的な技術的文脈が無い限り、前記具体的なI S V D 又は化合物それぞれに具体的に適用する。

10

【0348】

このため、特定の態様では、本発明は、c - M e t に対するV Hドメイン（及び特に、I S V D）に関し、ここで、( i ) 1 1 2 位が、KもしくはQであり、又は、( i i ) 1 1 0 位が、KもしくはQであり、1 1 位が、Vであり、又は、( i i i ) 8 9 位が、Tであり、又は、( i v ) 8 9 位が、Lであり、1 1 0 位が、KもしくはQであり、又は、( v ) 1 1 位が、Vであり、8 9 位が、Lであり、又は、( i ) ~ ( v ) の任意の適切な組み合わせである。特に、c - M e t に対するこのようなV Hドメインにおいて、

20

- 1 1 位におけるアミノ酸残基は、好ましくは、L、V、又はKから選択され（及び最も好ましくは、Vであり）、及び、

- 1 4 位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 4 1 位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 8 9 位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、V、又はLから選択され、及び、

- 1 0 8 位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、Q又はLから選択され、及び、

- 1 1 0 位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、K、又はQから選択され、及び、

30

- 1 1 2 位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、S、K、又はQから選択され、

このため、下記のいずれか、( i ) 1 1 2 位は、KもしくはQであり、又は、( i i ) 1 1 0 位は、KもしくはQであり、1 1 位は、Vであり、又は、( i i i ) 8 9 位は、Tであり、又は、( i v ) 8 9 位は、Lであり、1 1 0 位は、KもしくはQであり、又は、( v ) 1 1 位は、Vであり、8 9 位は、Lであり、又は、( i ) ~ ( v ) の任意の適切な組み合わせである。

【0349】

さらに、c - M e t に対する本発明のV Hドメインは、本明細書で記載された通りであることができ、再度特に、c - M e t に対するI S V D（及びとりわけ、ナノボディ）、又は、少なくとも1つのこのようなI S V Dを含むタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは構築物であることができる。また、このようなタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは構築物は、本明細書で更に記載された通りであることができ、例えば、延長した半減期を有することができる（すなわち、本明細書で記載された通り、例えば、少なくとも1日、好ましくは少なくとも3日、より好ましくは少なくとも7日、例えば、少なくとも10日のヒト対象における半減期 - t 1 / 2 ベータとして表現 - ）、及びこの目的で、例えば、血清アルブミン結合ナノボディを含むことができる。また、同ナノボディは、（再度、本明細書で記載された）本発明の血清アルブミン結合ナノボディであることができる。

40

【0350】

また、このようなI S V Dは、特に、前記I S V Dが（再度、本明細書で更に記載された）それを含むタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは構築物のC末端を形

50

成する場合、(本明細書及び国際公開公報第12/175741号で更に記載された)C末端伸長を適切に有することができる。

【0351】

好ましい一態様では、c-Metに対する本発明のVHドメインは、(i)配列番号：353の配列又は、配列番号：353の配列と1つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：353の配列が好ましい)であるCDR1配列、(ii)配列番号：354の配列又は、配列番号：354の配列と1つ又は2つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：354の配列が好ましい)であるCDR2配列、及び、(iii)配列番号：355の配列又は、配列番号：355の配列と1つ又は2つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：355の配列が好ましい)であるCDR3配列を含む。

10

【0352】

より好ましくは、この態様のc-Metに対する本発明のVHドメインにおいて、(i)CDR1は、配列番号：353であり、(ii)CDR2は、配列番号：354であり、(iii)CDR3は、配列番号：355である。

【0353】

具体的な一態様では、c-Metに対する本発明のナノボディは、配列番号：352のナノボディの変異体(配列番号：352に対して、少なくとも90%の配列同一性、例えば、少なくとも95%の配列同一性を有する)であり、ここで、

- 11位におけるアミノ酸残基は、好ましくは、L、V、又はKから選択され(及び最も好ましくは、Vであり)、及び、

20

- 14位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 41位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 89位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、V、又はLから選択され、及び、

- 108位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、Q又はLから選択され、及び、

- 110位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、K、又はQから選択され、及び、

- 112位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、S、K、又はQから選択され、

このため、下記のいずれか、(i)112位は、KもしくはQであり、又は、(ii)110位は、KもしくはQであり、11位は、Vであり、又は、(iii)89位は、Tであり、又は、(iv)89位は、Lであり、110位は、KもしくはQであり、又は、(v)11位は、Vであり、89位は、Lであり、又は、(i)~(v)の任意の適切な組み合わせである。このようなISVのCDRは、好ましくは、先の2つの段落で定義された通りである。

30

【0354】

別の好ましい態様では、c-Metに対する本発明のVHドメインは、(i)配列番号：371の配列又は、配列番号：371の配列と1つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：371の配列が好ましい)であるCDR1配列、(ii)配列番号：372の配列又は、配列番号：372の配列と1つ又は2つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：372の配列が好ましい)であるCDR2配列、及び、(iii)配列番号：373の配列又は、配列番号：373の配列と1つ又は2つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：373の配列が好ましい)であるCDR3配列を含む。

40

【0355】

より好ましくは、この態様のc-Metに対する本発明のこのようなVHドメインにおいて、(i)CDR1は、配列番号：371であり、(ii)CDR2は、配列番号：372であり、(iii)CDR3は、配列番号：373である。

【0356】

具体的な一態様では、c-Metに対する本発明のナノボディは、配列番号：370のナノボディの変異体(配列番号：370に対して、少なくとも90%の配列同一性、例え

50

ば、少なくとも95%の配列同一性を有する)であり、ここで、

- 11位におけるアミノ酸残基は、好ましくは、L、V、又はKから選択され(及び最も好ましくは、Vであり)、及び、

- 14位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 41位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 89位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、V、又はLから選択され、及び、

- 108位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、Q又はLから選択され、及び、

- 110位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、K、又はQから選択され、及び、

- 112位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、S、K、又はQから選択され、

このため、下記のいずれか、(i)112位は、KもしくはQであり、又は、(ii)110位は、KもしくはQであり、11位は、Vであり、又は、(iii)89位は、Tであり、又は、(iv)89位は、Lであり、110位は、KもしくはQであり、又は、(v)11位は、Vであり、89位は、Lであり、又は、(i)~(v)の任意の適切な組み合わせである。このようなISVのCDRは、好ましくは、先の2つの段落で定義された通りである。

#### 【0357】

c-Metに対する本発明のナノボディの一部の具体的に好ましく、非限定的な例を、配列番号：356~369として図18A及び配列番号：374~387として図18Bにそれぞれ列記する。これらのナノボディはそれぞれ、本発明の更なる態様を構成する。

#### 【0358】

また、本発明は、少なくとも1つ(例えば、1つ、2つ、又は3つ)の配列番号：356~369及び/又は374~387の本発明のナノボディを含む、c-Metに対する本発明の化合物に関する。再度、c-Metに対する本発明のこのような化合物は、本明細書で更に記載された通りであることができ、このため、例えば、適切なリンカーを含むことができ、本明細書で記載されたC末端伸長を含むことができ、半減期を伸ばすことができる(例えば、本発明の化合物が、ヒト血清アルブミンに対するナノボディ、例えば(好ましくは)、ヒト血清アルブミンに対する本発明のナノボディを含むため)。以下の表Yが参照される。

#### 【0359】

例えば、国際公開公報第2013/045707号に記載されたように、特に好ましい一分類のc-Metに対するナノボディ系化合物は、二重抗原結合性化合物である。このため、本発明の一態様では、c-Metに対する本発明の化合物は、配列番号：352の1つのISV又は(好ましくは)(この実施例15に記載された)配列番号：352から得られた本発明のISVのいずれかと、配列番号：370の1つのISV又は(好ましくは)(この実施例15に記載された)配列番号：370から得られた本発明のISVのいずれかとを含む二重抗原結合性構築物である。ただし、少なくとも一方(及び好ましくは、両方)のこれらのISVが、本発明のISVであるという条件である。また、このような二重抗原結合性構築物は、(すなわち、血清アルブミン結合ISVにより)半減期を伸ばすこともできる。このような二重抗原結合性構築物の一部の具体的な例は、配列番号：676~693に提供される。また、c-Metに対する二重抗原結合性構築物は、VEGF又はEGFRに対するISVを含むこともできる。再度、国際公開公報第2014/341309号が参照される。

#### 【0360】

c-Metに対する本発明の化合物の一部の具体的に好ましい例を、配列番号：676~694として図28A及び28Bに提供し、これらの化合物はそれぞれ、本発明の更なる態様を構成する。このため、別の態様では、本発明は、c-Metに対し、配列番号：676~694からなる群より選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチドに関する。より一般的には、c-Metに対する本発明の化合物は、国際公開公報第2013/04

10

20

30

40

50



5707号に記載された通りであることができ、本発明のISVを含む。また、本発明の化合物は、国際公開公報第2013/045707号に記載された目的に使用することもできる。

【0361】

【表33】

表Y: c-Metに対する本発明の化合物の例

ポリペプチド ／構築物 <sup>(1)</sup>	一般式	ISV構築ブロック及びリンカー
一価	[c-Met]	[c-Met] = 配列番号: 464~477及び/又は482~495の内の1つ
一価/C末端伸 長	[c-Met]-X(n)	[c-Met] = 配列番号: 464~477及び/又は482~495の内の1つ
一価/半減期延 長	[c-Met]-L <sub>1</sub> -[SA] [SA]-L <sub>1</sub> -[c-Met]	[c-Met] = 配列番号: 464~477及び/又は482~495の内の1つ [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと)
一価/半減期延 長/C末端伸長	[c-Met]-L <sub>1</sub> -[SA]-X(n) [SA]-L <sub>1</sub> -[c-Met]-X(n)	[c-Met] = 配列番号: 464~477及び/又は482~495の内の1つ [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X(n) = (以下の凡例を参照のこと)
二価 <sup>(2)</sup>	[c-Met]-L <sub>1</sub> -[c-Met]	存在する少なくとも1つの[c-Met] = 配列番号: 464~477及び/又は482~495の内の1つ <sup>(4)</sup> L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと)

10

20

30

40

50

表 Y (続き)

ポリペプチド ／ 構築物 <sup>(1)</sup>	一般式	I SV構築ブロック及びリンクカー
二価／C末端伸 長 <sup>(2)</sup>	[c-Met]- L <sub>1</sub> -[c-Met]- X(n)	少なくとも1つの [c-Met] = 配列番号 : 4 6 4 ~ 4 7 7及び／又は4 8 2 ~ 4 9 5の内の1つ <sup>(4)</sup> L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X (n) = (以下の凡例を参照のこと)
二価／半減期延 長 <sup>(2)</sup>	[c-Met]- L <sub>1</sub> -[c-Met]- L <sub>2</sub> -[SA] [c-Met]- L <sub>1</sub> -[SA]- L <sub>2</sub> -[c-Met] [SA]- L <sub>1</sub> -[c-Met]- L <sub>2</sub> -[c-Met]	存在する少なくとも1つの [c-Met] = 配列番号 : 4 6 4 ~ 4 7 7及び／又は4 8 2 ~ 4 9 5の内の1つ <sup>(4)</sup> [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと)
二価／半減期延 長／C末端伸長 ( <sup>2</sup> )	[c-Met]- L <sub>1</sub> -[c-Met]- L <sub>2</sub> -[SA]- X(n) [c-Met]- L <sub>1</sub> -[SA]- L <sub>2</sub> -[c-Met]- X(n) [SA]- L <sub>1</sub> -[c-Met]- L <sub>2</sub> -[c-Met]- X(n)	存在する少なくとも1つの [c-Met] = 配列番号 : 4 6 4 ~ 4 7 7及び／又は4 8 2 ~ 4 9 5の内の1つ <sup>(4)</sup> [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X (n) = (以下の凡例を参照のこと)

10

20

30

40

50

表 Y (続き)

ポリペプチド ／ 構築物 (1)	一般式	ISV構築ブロック及びリンカー
二重特異性 (3) )	[c-Met]- L <sub>1</sub> -[Nb] [Nb]- L <sub>1</sub> -[c-Met] [c-Met]- L <sub>1</sub> - [c-Met]- L <sub>2</sub> -[Nb] [c-Met]- L <sub>1</sub> - [Nb]- L <sub>2</sub> -[c-Met] [Nb]- L <sub>1</sub> - [c-Met]- L <sub>2</sub> -[c-Met]	存在する少なくとも1つの [c-Met] = 配列番号 : 4 6 4 ~ 4 7 7 及び / 又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の 1 つ (4) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと) [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)
二重特異性 / C 末端伸長 (3)	[c-Met]- L <sub>1</sub> -[Nb] -X(n) [Nb]- L <sub>1</sub> -[c-Met] -X(n) [c-Met]- L <sub>1</sub> - [c-Met]- L <sub>2</sub> -[Nb] -X(n) [c-Met]- L <sub>1</sub> - [Nb]- L <sub>2</sub> -[c-Met] -X(n) [Nb]- L <sub>1</sub> - [c-Met]- L <sub>2</sub> -[c-Met] -X(n)	存在する少なくとも1つの [c-Met] = 配列番号 : 4 6 4 ~ 4 7 7 及び / 又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の 1 つ (4) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X (n) = (以下の凡例を参照のこと) [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)
二重特異性 / 半 減期延長 (3)	[c-Met]- L <sub>1</sub> -[Nb] -L <sub>2</sub> -[SA] [c-Met]- L <sub>1</sub> -[SA] - L <sub>2</sub> -[Nb] [Nb]- L <sub>1</sub> -[SA] - L <sub>2</sub> -[c-Met] [Nb]- L <sub>1</sub> -[c-Met] - L <sub>2</sub> -[SA] [SA]- L <sub>1</sub> -[c-Met] - L <sub>2</sub> -[Nb] [SA]- L <sub>1</sub> -[Nb] - L <sub>2</sub> -[c-Met]	存在する少なくとも1つの [c-Met] = 配列番号 : 4 6 4 ~ 4 7 7 及び / 又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の 1 つ (4) [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> 、L <sub>2</sub> 、L <sub>3</sub> (以下の凡例を参照のこと) [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)

10

20

30

40

50

表 Y (続き)

ポリペプチド ／ 構築物 <sup>(1)</sup>	一般式	I S V構築ブロック及びびリンカー
二重特異性／半 減期延長 <sup>(3)</sup>	[c-Met]-L <sub>1</sub> -[c-Met]-L <sub>2</sub> -[Nb]-L <sub>3</sub> -[SA] [Nb]-L <sub>1</sub> -[c-Met]-L <sub>2</sub> -[c-Met]-L <sub>3</sub> -[SA] [SA]-L <sub>1</sub> -[c-Met]-L <sub>2</sub> -[c-Met]-L <sub>3</sub> -[Nb] [SA]-L <sub>1</sub> -[c-Met]-L <sub>2</sub> -[Nb]-L <sub>3</sub> -[c-Met] [c-Met]-L <sub>1</sub> -[Nb]-L <sub>2</sub> -[c-Met]-L <sub>3</sub> -[SA]	存在する少なくとも1つの [c-Met] = 配列番号 : 4 6 4 ~ 4 7 7 及び／又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の1つ <sup>(4)</sup> [S A] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> 、L <sub>2</sub> 、L <sub>3</sub> (以下の凡例を参照のこと) [N b] = (以下の凡例を参照のこと)
二重特異性／半 減期延長／C末 端伸長 <sup>(3)</sup>	[c-Met]-L <sub>1</sub> -[Nb]-L <sub>2</sub> -[SA]-X(n) [c-Met]-L <sub>1</sub> -[SA]-L <sub>2</sub> -[Nb]-X(n) [Nb]-L <sub>1</sub> -[SA]-L <sub>2</sub> -[c-Met]-X(n) [Nb]-L <sub>1</sub> -[c-Met]-L <sub>2</sub> -[SA]-X(n) [SA]-L <sub>1</sub> -[c-Met]-L <sub>2</sub> -[Nb]-X(n) [SA]-L <sub>1</sub> -[Nb]-L <sub>2</sub> -[c-Met]-X(n) [c-Met]-L <sub>1</sub> -[c-Met]-L <sub>2</sub> -[Nb]-L <sub>3</sub> -[SA]-X(n) [Nb]-L <sub>1</sub> -[c-Met]-L <sub>2</sub> -[c-Met]-L <sub>3</sub> -[SA]-X(n) [SA]-L <sub>1</sub> -[c-Met]-L <sub>2</sub> -[c-Met]-L <sub>3</sub> -[Nb]-X(n) [SA]-L <sub>1</sub> -[c-Met]-L <sub>2</sub> -[Nb]-L <sub>3</sub> -[c-Met]-X(n) [c-Met]-L <sub>1</sub> -[Nb]-L <sub>2</sub> -[c-Met]-L <sub>3</sub> -[SA]-X(n)	存在する少なくとも1つの [c-Met] = 配列番号 : 4 6 4 ~ 4 7 7 及び／又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の1つ <sup>(4)</sup> [S A] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> 、L <sub>2</sub> 、L <sub>3</sub> (以下の凡例を参照のこと) X (n) = (以下の凡例を参照のこと) [N b] = (以下の凡例を参照のこと)

10

20

30

40

50

表 Y (続き)

<p>凡例：</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- [SA] は、(ヒト) 血清アルブミンに対する I SV、好ましくは、(ヒト) 血清アルブミンに対する本発明の I SV、より好ましくは、配列番号：46又は61の一方、又は更に好ましくは、配列番号：47、54、62、69、78、86、109、116、123、130、又は496~513の本発明の I SVDの内の1つである。</li> <li>- L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>、及びL<sub>3</sub>はそれぞれ、(独立して) 適切なリンカーである。L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>、及びL<sub>3</sub>はそれぞれ、(独立して) 存在してもよいし、又は、存在しなくてもよい。適切なリンカーの非限定的な例は、本明細書で言及された g l y - s e r i n c a r、例えば、9GS、30GS、又は35GSリンカーである。</li> <li>- X (n) = 本明細書及び/又は国際公開公報第12/175741号に記載されたC末端伸長等のC末端伸長。</li> <li>- [Nb] は、別の治療ターゲットに対する I SVである。</li> </ul>	<p>注記：</p> <p>(1) この表中において、</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 「一価」は、c-Me tに対する1つの I SVを含むポリペプチド/構築物を一般的に意味する。これらは、半減期延長 I SV (例えば、血清アルブミンに対する I SV) を更に含むことができる。</li> <li>- 「二価」は、c-Me tに対する2つの I SV (同 I SVは、同じでも又は異なってもよい) を含むポリペプチド/構築物を一般的に意味する。再度、これらは、半減期延長 I SV (例えば、血清アルブミンに対する I SV) を更に含むことができる。</li> <li>- 「二重特異性」は、少なくとも1つ (例えば、1つ又は2つ) の c-Me tに対する I SVと、少なくとも1つ (例えば、1つ又は2つ) の治療ターゲットに対する他の I SVとを含むポリペプチド/構築物を一般的に意味する。これらは、半減期延長 I SV (例えば、血清アルブミンに対する I SV) を更に含むことができる。</li> <li>- この表中で記載されたポリペプチド/構築物において、存在する少なくとも1つの c-Me tに対する I SVは、本発明の I SVであり、及び好ましくは、このようなポリペプチド/構築物に存在する c-Me tに対する全ての I SVは、本発明の I SVである。また、半減期延長 I SV及び/又は別の治療ターゲットに対する I SVが、このようなポリペプチド/構築物に存在する場合、これらはそれぞれ (及び好ましくは、これらは全て)、本発明の I SVであることもできる (及び好ましくは、本発明の I SVである)。</li> <li>(2) : また、この表中の全ての「二価」構築物は、二重抗原結合性であることもできる。これは、「二価」構築物が、少なくとも2つ (例えば、2つ) の c-Me tに対する I SVを含むことを意味する。同 I SVは、c-Me t上の異なるエピトープに対する。</li> <li>(3) : 当業者に明らかであろうように、列記されたもの以外の他の/更なる二重特異性構築物を、言及された構築ブロック及びリンカーを使用して調製することができる。</li> <li>(4) : 好ましくは、存在する各 [c-Me t] は、配列番号：464~477及び/又は482~495から独立して選択される。また、存在する [c-Me t] は、同1つでも又は異なってもよい。二重抗原結合性ポリペプチド/構築物中において、[c-Me t] は、c-Me t上の異なるエピトープに対するであろう。</li> <li>(5) : 配列番号を参照してこの欄で言及されたポリペプチド/構築物はそれぞれ、本発明の個々の具体的な態様を構成する。</li> </ul>
--	--

10

20

30

40

【0362】

実施例16：RANK-Lに対するVHドメイン(及び特に、ナノボディ)及びそれを含む本発明の化合物

具体的な一態様では、本発明のVHドメイン(及び特に、本発明のISVD、及びとりわけ、本発明のナノボディ)及び本発明の化合物は、RANK-Lに対することができる。

【0363】

RANK-Lに対する本発明のこのようなVHドメインは、(i)本明細書で記載された本発明のアミノ酸残基/変異を適切に含む適切なフレームワーク配列、及び、(ii)本発明のVHドメインがRANK-Lに特異的に結合するのを可能にするCDR配列を、

50

概ね含むであろう。また加えて、RANK-Lに対する本発明のこのようなVHドメインは、特に、前記VHドメインが一価であるか、又は、前記VHドメインが（再度、本明細書で更に記載されたように）存在する本発明の化合物のC末端を形成する場合、本明細書で記載されたC末端伸長を適切に有することもできる。さらに、RANK-Lに対する本発明のこのようなVHドメインは、本明細書で更に記載された通りであることができ、特に、ISVDであることができる。

#### 【0364】

再度、本明細書で記載された本発明の他の態様及び実施態様についてと同様に、具体的なISVD（例えば、この実施例で記載されたRANK-Lに対するISVD）又はそれを含む化合物が、「本発明の」又は「本明細書で更に記載された」と言われる場合、本発明のISVD又は化合物について本明細書で全体的に記載された好ましい態様/実施態様及び選択も、他の方法で明確に示さない限り、又は、他の方法で必要とされる具体的な技術的文脈が無い限り、前記具体的なISVD又は化合物それぞれに具体的に適用する。

10

#### 【0365】

このため、特定の態様では、本発明は、RANK-Lに対するVHドメイン（及び特に、ISVD）に関し、ここで、(i)112位が、KもしくはQであり、又は、(ii)110位が、KもしくはQであり、11位が、Vであり、又は、(iii)89位が、Tであり、又は、(iv)89位が、Lであり、110位が、KもしくはQであり、又は、(v)11位が、Vであり、89位が、Lであり、又は、(i)~(v)の任意の適切な組み合わせである。特に、RANK-Lに対するこのようなVHドメインにおいて、

20

- 11位におけるアミノ酸残基は、好ましくは、L、V、又はKから選択され（及び最も好ましくは、Vであり）、及び、

- 14位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 41位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 89位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、V、又はLから選択され、及び、

- 108位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、Q又はLから選択され、及び、

- 110位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、K、又はQから選択され、及び、

- 112位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、S、K、又はQから選択され、

30

このため、下記のいずれか、(i)112位は、KもしくはQであり、又は、(ii)110位は、KもしくはQであり、11位は、Vであり、又は、(iii)89位は、Tであり、又は、(iv)89位は、Lであり、110位は、KもしくはQであり、又は、(v)11位は、Vであり、89位は、Lであり、又は、(i)~(v)の任意の適切な組み合わせである。

#### 【0366】

さらに、RANK-Lに対する本発明のVHドメインは、本明細書で記載された通りであることができ、再度特に、RANK-Lに対するISVD（及びとりわけ、ナノボディ）、又は、少なくとも1つのこのようなISVDを含むタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは構築物であることができる。また、このようなタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは構築物は、本明細書で更に記載された通りであり、例えば、延長した半減期を有することができる（すなわち、本明細書で記載された通りであることができ、例えば、少なくとも1日、好ましくは少なくとも3日、より好ましくは少なくとも7日、例えば、少なくとも10日のヒト対象における半減期 - t<sub>1/2</sub>ベータとして表現 -）、及びこの目的で、例えば、血清アルブミン結合ナノボディを含むことができる。また、同ナノボディは、（再度、本明細書で記載された）本発明の血清アルブミン結合ナノボディであることができる。

40

#### 【0367】

また、このようなISVDは、特に、前記ISVDが（再度、本明細書で更に記載された）それを含むタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは構築物のC末端を形

50

成する場合、(本明細書及び国際公開公報第12/175741号で更に記載された)C末端伸長を適切に有することができる。

【0368】

好ましい一態様では、RANK-Lに対する本発明のVHドメインは、(i)配列番号：389の配列又は、配列番号：389の配列と1つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：389の配列が好ましい)であるCDR1配列、(ii)配列番号：390の配列又は、配列番号：390の配列と1つ又は2つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：390の配列が好ましい)であるCDR2配列、及び、(iii)配列番号：391の配列又は、配列番号：391の配列と1つ又は2つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：391の配列が好ましい)であるCDR3配列を含む。

10

【0369】

より好ましくは、この態様のRANK-Lに対する本発明のVHドメインにおいて、(i)CDR1は、配列番号：389であり、(ii)CDR2は、配列番号：390であり、(iii)CDR3は、配列番号：391である。

【0370】

具体的な一態様では、RANK-Lに対する本発明のナノボディは、配列番号：388のナノボディの変異体(配列番号：388に対して、少なくとも90%の配列同一性、例えば、少なくとも95%の配列同一性を有する)であり、ここで、

- 11位におけるアミノ酸残基は、好ましくは、L、V、又はKから選択され(及び最も好ましくは、Vであり)、及び、

20

- 14位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 41位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 89位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、V、又はLから選択され、及び、

- 108位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、Q又はLから選択され、及び、

- 110位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、K、又はQから選択され、及び、

- 112位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、S、K、又はQから選択され、このため、下記のいずれか、(i)112位は、KもしくはQであり、又は、(ii)110位は、KもしくはQであり、11位は、Vであり、又は、(iii)89位は、T

30

であり、又は、(iv)89位は、Lであり、110位は、KもしくはQであり、又は、(v)11位は、Vであり、89位は、Lであり、又は、(i)~(v)の任意の適切な組み合わせである。このようなISVのCDRは、好ましくは、先の2つの段落で定義された通りである。

【0371】

RANK-Lに対する本発明のナノボディの一部の具体的に好ましく、非限定的な例を、配列番号：392~405として図19に列記する。これらのナノボディはそれぞれ、本発明の更なる態様を構成する。

【0372】

また、本発明は、少なくとも1つ(例えば、1つ、2つ、又は3つ)の配列番号：392~405の本発明のナノボディを含む、RANK-Lに対する本発明の化合物に関する。再度、RANK-Lに対する本発明のこのような化合物は、本明細書で更に記載された通りであることができ、このため、例えば、適切なリンカーを含むことができ、本明細書で記載されたC末端伸長を含むことができ、半減期を伸ばすことができる(例えば、本発明の化合物が、ヒト血清アルブミンに対するナノボディ、例えば(好ましくは)、ヒト血清アルブミンに対する本発明のナノボディを含むため)。以下の表Zが参照される。

40

【0373】

RANK-Lに対する本発明の化合物の一部の具体的に好ましい例を、配列番号：694~729として図29に提供し、これらの化合物はそれぞれ、本発明の更なる態様を構成する。このため、別の態様では、本発明は、RANK-Lに対し、配列番号：694~

50

729 からなる群より選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチドに関する。

【0374】

より一般的には、RANK-L に対する本発明の化合物は、国際公開公報第2008/142164号に記載された通りであることができ、本発明のISVを含む。また、本発明の化合物は、国際公開公報第2008/142164号に記載された目的に使用することもできる。

【0375】

【表34】

表Z：RANK-L に対する本発明の化合物の例

ポリペプチド ／ 構築物 <sup>(1)</sup>	一般式	ISV構築ブロック及びびリンカー
一価	[RANK-L]	[RANK-L] = 配列番号：464～477及びび／又は482～495の内の1つ
一価／C末端伸 長	[RANK-L]-X(n)	[RANK-L] = 配列番号：464～477及びび／又は482～495の内の1つ
一価／半減期延 長	[RANK-L]-L <sub>1</sub> -[SA] [SA]-L <sub>1</sub> -[RANK-L]	[RANK-L] = 配列番号：464～477及びび／又は482～495の内の1つ [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと)
一価／半減期延 長／C末端伸長	[RANK-L]-L <sub>1</sub> -[SA]-X(n) [SA]-L <sub>1</sub> -[RANK-L]-X(n)	[RANK-L] = 配列番号：464～477及びび／又は482～495の内の1つ [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X(n) = (以下の凡例を参照のこと)
二価 <sup>(2)</sup>	[RANK-L]-L <sub>1</sub> -[RANK-L]	存在する少なくとも1つの[RANK-L] = 配列番号：464～477及びび／又は482～495の内の1つ <sup>(4)</sup> L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと)

10

20

30

40

50



表 Z (続き)

ポリペプチド ／ 構築物 (1)	一般式	ISV構築ブロック及びびリンカー
二価／C末端伸 長 (2)	[RANK-L]- L <sub>1</sub> -[RANK-L] -X(n)	少なくとも1つの [RANK-L] = 配列番号 : 4 6 4 ～ 4 7 7 及び／又は 4 8 2 ～ 4 9 5 の内の 1 つ (4) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X (n) = (以下の凡例を参照のこと)
二価／半減期延 長 (2)	[RANK-L]- L <sub>1</sub> -[RANK-L]- L <sub>2</sub> -[SA] [RANK-L]- L <sub>1</sub> -[SA]- L <sub>2</sub> -[RANK-L] [SA]- L <sub>1</sub> -[RANK-L]- L <sub>2</sub> -[RANK-L]	存在する少なくとも1つの [RANK-L] = 配列番号 : 4 6 4 ～ 4 7 7 及び／又は 4 8 2 ～ 4 9 5 の内の 1 つ (4) [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと)
二価／半減期延 長／C末端伸長 (2)	[RANK-L]- L <sub>1</sub> -[RANK-L]- L <sub>2</sub> -[SA] -X(n) [RANK-L]- L <sub>1</sub> -[SA]- L <sub>2</sub> -[RANK-L] -X(n) [SA]- L <sub>1</sub> -[RANK-L]- L <sub>2</sub> -[RANK-L] -X(n)	存在する少なくとも1つの [RANK-L] = 配列番号 : 4 6 4 ～ 4 7 7 及び／又は 4 8 2 ～ 4 9 5 の内の 1 つ (4) [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X (n) = (以下の凡例を参照のこと)

10

20

30

40

50

表Z (続き)

ポリペプチド ／構築物 (1)	一般式	I S V構築ブロック及びびリンカー
二重特異性 (3) )	[RANK-L]- L <sub>1</sub> -[Nb] [Nb]- L <sub>1</sub> -[RANK-L] [RANK-L]- L <sub>1</sub> - [RANK-L]- L <sub>2</sub> -[Nb] [RANK-L]- L <sub>1</sub> - [Nb]- L <sub>2</sub> -[RANK-L] [Nb]- L <sub>1</sub> - [RANK-L]- L <sub>2</sub> -[RANK-L]	存在する少なくとも1つの [RANK-L] = 配列番号 : 4 6 4 ~ 4 7 7 及び/又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の1つ (4) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと) [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)
二重特異性／C 末端伸長 (3)	[RANK-L]- L <sub>1</sub> -[Nb] -X(n) [Nb]- L <sub>1</sub> -[RANK-L] -X(m) [RANK-L]- L <sub>1</sub> - [RANK-L]- L <sub>2</sub> -[Nb] -X(n) [RANK-L]- L <sub>1</sub> - [Nb]- L <sub>2</sub> -[RANK-L] -X(n) [Nb]- L <sub>1</sub> - [RANK-L]- L <sub>2</sub> -[RANK-L] -X(n)	存在する少なくとも1つの [RANK-L] = 配列番号 : 4 6 4 ~ 4 7 7 及び/又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の1つ (4) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X (n) = (以下の凡例を参照のこと) [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)
二重特異性／半 減期延長 (3)	[RANK-L]- L <sub>1</sub> -[Nb] -L <sub>2</sub> -[SA] [RANK-L]- L <sub>1</sub> -[SA] - L <sub>2</sub> -[Nb] [Nb]- L <sub>1</sub> -[SA] - L <sub>2</sub> -[RANK-L] [Nb]- L <sub>1</sub> -[RANK-L] - L <sub>2</sub> -[SA] [SA]- L <sub>1</sub> -[RANK-L] - L <sub>2</sub> -[Nb] [SA]- L <sub>1</sub> -[Nb] - L <sub>2</sub> -[RANK-L]	存在する少なくとも1つの [RANK-L] = 配列番号 : 4 6 4 ~ 4 7 7 及び/又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の1つ (4) [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> 、L <sub>2</sub> 、L <sub>3</sub> (以下の凡例を参照のこと) [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)

10

20

30

40

50

表 Z (続き)

ポリペプチド ／ 構築物 (1)	一般式	I S V 構築ブロック及びびリンカー
二重特異性／半 減期延長 (3)	[RANK-L]- L <sub>1</sub> - [RANK-L]- L <sub>2</sub> -[Nb] - L <sub>3</sub> - [SA] [Nb]- L <sub>1</sub> - [RANK-L]- L <sub>2</sub> -[RANK-L] - L <sub>3</sub> -[SA] [SA]-L <sub>1</sub> -[RANK-L]- L <sub>2</sub> - [RANK-L]- L <sub>3</sub> -[Nb] [SA]-L <sub>1</sub> -[RANK-L]- L <sub>2</sub> - [Nb]- L <sub>3</sub> -[RANK-L] [RANK-L]- L <sub>1</sub> - [Nb]- L <sub>2</sub> -[RANK-L]-L <sub>3</sub> -[SA]	存在する少なくとも1つの [RANK-L] = 配列番号 : 4 6 4 ~ 4 7 7 及び／又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の1つ (4) [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> 、L <sub>2</sub> 、L <sub>3</sub> (以下の凡例を参照のこと) [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)
二重特異性／半 減期延長／C未 端伸長 (3)	[RANK-L]- L <sub>1</sub> -[Nb] -L <sub>2</sub> -[SA] -X(n) [RANK-L]- L <sub>1</sub> -[SA] - L <sub>2</sub> -[Nb] -X(m) [Nb]- L <sub>1</sub> -[SA] - L <sub>2</sub> -[RANK-L] -X(m) [Nb]- L <sub>1</sub> -[RANK-L] - L <sub>2</sub> -[SA] -X(m) [SA]- L <sub>1</sub> -[RANK-L] - L <sub>2</sub> -[Nb] -X(m) [SA]- L <sub>1</sub> - [Nb] - L <sub>2</sub> -[RANK-L] -X(m) [RANK-L]- L <sub>1</sub> - [RANK-L]- L <sub>2</sub> -[Nb] - L <sub>3</sub> - [SA] -X(n) [Nb]- L <sub>1</sub> - [RANK-L]- L <sub>2</sub> -[RANK-L] - L <sub>3</sub> -[SA] -X(m) [SA]- L <sub>1</sub> -[RANK-L]- L <sub>2</sub> - [RANK-L]- L <sub>3</sub> -[Nb] -X(m) [SA]- L <sub>1</sub> -[RANK-L]- L <sub>2</sub> - [Nb]- L <sub>3</sub> -[RANK-L]-X(m) [RANK-L]- L <sub>1</sub> - [Nb]- L <sub>2</sub> -[RANK-L] -L <sub>3</sub> -[SA]-X(m)	存在する少なくとも1つの [RANK-L] = 配列番号 : 4 6 4 ~ 4 7 7 及び／又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の1つ (4) [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> 、L <sub>2</sub> 、L <sub>3</sub> (以下の凡例を参照のこと) X (n) = (以下の凡例を参照のこと) [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)

10

20

30

40

50

表Z (続き)

<p>凡例：</p> <p>— [SA] は、(ヒト) 血清アルブミンに対する I SV、好ましくは、(ヒト) 血清アルブミンに対する本発明の I SV、より好ましくは、配列番号：46又は61の一方、又は更により好ましくは、配列番号：47、54、62、69、78、86、109、116、123、130、又は496～513の本発明の I SV Dの内の1つである。</p> <p>— L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>、及びL<sub>3</sub>はそれぞれ、(独立して) 適切なリンカーである。L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>、及びL<sub>3</sub>はそれぞれ、(独立して) 存在してもよいし、又は、存在しなくてもよい。適切なリンカーの非限定的な例は、本明細書で言及された g l y - s e r i n c a k e r、例えば、9 G S、30 G S、又は35 G S リンカーである。</p> <p>— X (n) = 本明細書及び/又は国際公開報第12/175741号に記載されたC末端伸長等のC末端伸長。</p> <p>— [Nb] は、別の治療ターゲットに対する I SVである。</p>	<p>注記：</p> <p>(1) この表中において、</p> <p>— 「一価」は、RANK-Lに対する1つの I SVを含むポリペプチド/構築物を一般的に意味する。これらは、半減期延長 I SV (例えば、血清アルブミンに対する I SV) を更を含むことができる。</p> <p>— 「二価」は、RANK-Lに対する2つの I SV (同 I SVは、同じでも又は異なってもよい) を含むポリペプチド/構築物を一般的に意味する。再度、これらは、半減期延長 I SV (例えば、血清アルブミンに対する I SV) を更を含むことができる。</p> <p>— 「二重特異性」は、少なくとも1つ (例えば、1つ又は2つ) の RANK-L に対する I SV と、少なくとも1つ (例えば、1つ又は2つ) の治療ターゲットに対する他の I SV とを含むポリペプチド/構築物を一般的に意味する。これらは、半減期延長 I SV (例えば、血清アルブミンに対する I SV) を更を含むことができる。</p> <p>— この表中に記載されたポリペプチド/構築物において、存在する少なくとも1つの RANK-L に対する I SV は、本発明の I SV であり、及び好ましくは、このようなポリペプチド/構築物に存在する RANK-L に対する全ての I SV は、本発明の I SV である。また、半減期延長 I SV 及び/又は別の治療ターゲットに対する I SV が、このようなポリペプチド/構築物に存在する場合、これらはそれぞれ (及び好ましくは、これらは全て)、本発明の I SV であることもできる (及び好ましくは、本発明の I SV である)。</p> <p>(2) : また、この表中の全ての「二価」構築物は、二重抗原結合性であることもできる。これは、「二価」構築物が、少なくとも2つ (例えば、2つ) の RANK-L に対する I SV を含むことを意味する。同 I SV は、RANK-L 上の異なるエピトープに対する。</p> <p>(3) : 当業者に明らかであるように、列記されたもの以外の他の/更なる二重特異性構築物を、言及された構築物ブロック及びリンカーを使用して調製することができる。</p> <p>(4) : 好ましくは、存在する各 [RANK-L] は、配列番号：464～477及び/又は482～495から独立して選択される。また、存在する [RANK-L] は、同一でも又は異なってもよい。二重抗原結合性ポリペプチド/構築物中において、[RANK-L] は、RANK-L 上の異なるエピトープに対するであろう。</p> <p>(5) : 配列番号を参照してこの欄で言及されたポリペプチド/構築物はそれぞれ、本発明の個々の具体的な態様を構成する。</p>	<p>10</p> <p>20</p> <p>30</p> <p>40</p>
--	--	---

【0376】

実施例17：CXCR-7に対するVHドメイン(及び特に、ナノボディ)及びそれを含む本発明の化合物

具体的な一態様では、本発明のVHドメイン(及び特に、本発明のISVD、及びとりわけ、本発明のナノボディ)及び本発明の化合物は、CXCR-7に対することができる。

【0377】

CXCR-7に対する本発明のこのようなVHドメインは、(i)本明細書に記載された本発明のアミノ酸残基/変異を適切に含む適切なフレームワーク配列、及び、(ii)本発明のVHドメインがCXCR-7に特異的に結合するのを可能にするCDR配列を、

10

20

30

40

50

概ね含むであろう。また加えて、C X C R - 7に対する本発明のこのようなV Hドメインは、特に、前記V Hドメインが一価であるか、又は、前記V Hドメインが（再度、本明細書で更に記載されたように）存在する本発明の化合物のC末端を形成する場合、本明細書で記載されたC末端伸長を適切に有することもできる。さらに、C X C R - 7に対する本発明のこのようなV Hドメインは、本明細書で更に記載された通りであることができ、特に、I S V Dであることができる。

#### 【0378】

再度、本明細書で記載された本発明の他の態様及び実施態様についてと同様に、具体的なI S V D（例えば、この実施例で記載されたC X C R - 7に対するI S V D）又はそれを含む化合物が、「本発明の」又は「本明細書で更に記載された」と言われる場合、本発明のI S V D又は化合物について本明細書で全体的に記載された好ましい態様／実施態様及び選択も、他の方法で明確に示さない限り、又は、他の方法で必要とされる具体的な技術的文脈が無い限り、前記具体的なI S V D又は化合物それぞれに具体的に適用する。

10

#### 【0379】

このため、特定の態様では、本発明は、C X C R - 7に対するV Hドメイン（及び特に、I S V D）に関し、ここで、( i ) 1 1 2位が、KもしくはQであり、又は、( i i ) 1 1 0位が、KもしくはQであり、1 1位が、Vであり、又は、( i i i ) 8 9位が、Tであり、又は、( i v ) 8 9位が、Lであり、1 1 0位が、KもしくはQであり、又は、( v ) 1 1位が、Vであり、8 9位が、Lであり、又は、( i ) ~ ( v ) の任意の適切な組み合わせである。特に、C X C R - 7に対するこのようなV Hドメインにおいて、

20

- 1 1位におけるアミノ酸残基は、好ましくは、L、V、又はKから選択され（及び最も好ましくは、Vであり）、及び、

- 1 4位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 4 1位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 8 9位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、V、又はLから選択され、及び、

- 1 0 8位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、Q又はLから選択され、及び、

- 1 1 0位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、K、又はQから選択され、及び、

30

- 1 1 2位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、S、K、又はQから選択され、

このため、下記のいずれか、( i ) 1 1 2位は、KもしくはQであり、又は、( i i ) 1 1 0位は、KもしくはQであり、1 1位は、Vであり、又は、( i i i ) 8 9位は、Tであり、又は、( i v ) 8 9位は、Lであり、1 1 0位は、KもしくはQであり、又は、( v ) 1 1位は、Vであり、8 9位は、Lであり、又は、( i ) ~ ( v ) の任意の適切な組み合わせである。

#### 【0380】

さらに、C X C R - 7に対する本発明のV Hドメインは、本明細書で記載された通りであることができ、再度特に、C X C R - 7に対するI S V D（及びとりわけ、ナノボディ）、又は、少なくとも1つのこのようなI S V Dを含むタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは構築物であることができる。また、このようなタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは構築物は、本明細書で更に記載された通りであり、例えば、延長した半減期を有することができる（すなわち、本明細書で記載された通り、例えば、少なくとも1日、好ましくは少なくとも3日、より好ましくは少なくとも7日、例えば、少なくとも10日のヒト対象における半減期 - t<sub>1/2</sub>ベータとして表現 - ）、及びこの目的で、例えば、血清アルブミン結合ナノボディを含むことができる。また、同ナノボディは、（再度、本明細書で記載された）本発明の血清アルブミン結合ナノボディであることができる。

40

#### 【0381】

また、このようなI S V Dは、特に、前記I S V Dが（再度、本明細書で更に記載された）それを含むタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは構築物のC末端を形

50

成する場合、(本明細書及び国際公開公報第12/175741号で更に記載された)C末端伸長を適切に有することができる。

【0382】

好ましい一態様では、CXCR-7に対する本発明のVHドメインは、(i)配列番号：407の配列又は、配列番号：407の配列と1つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：407の配列が好ましい)であるCDR1配列、(ii)配列番号：408の配列又は、配列番号：408の配列と1つ又は2つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：408の配列が好ましい)であるCDR2配列、及び、(iii)配列番号：409の配列又は、配列番号：409の配列と1つ又は2つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：409の配列が好ましい)であるCDR3配列を含む。

10

【0383】

より好ましくは、この態様のCXCR-7に対する本発明のVHドメインにおいて、(i)CDR1は、配列番号：407であり、(ii)CDR2は、配列番号：408であり、(iii)CDR3は、配列番号：409である。

【0384】

具体的な一態様では、CXCR-7に対する本発明のナノボディは、配列番号：406のナノボディの変異体(配列番号：406に対して、少なくとも90%の配列同一性、例えば、少なくとも95%の配列同一性を有する)であり、ここで、

- 11位におけるアミノ酸残基は、好ましくは、L、V、又はKから選択され(及び最も好ましくは、Vであり)、及び、

20

- 14位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 41位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 89位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、V、又はLから選択され、及び、

- 108位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、Q又はLから選択され、及び、

- 110位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、K、又はQから選択され、及び、

- 112位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、S、K、又はQから選択され、ここで、下記のいずれか、(i)112位は、KもしくはQであり、又は、(ii)110位は、KもしくはQであり、11位は、Vであり、又は、(iii)89位は、Tであり、又は、(iv)89位は、Lであり、110位は、KもしくはQであり、又は、(v)11位は、Vであり、89位は、Lであり、又は、(i)~(v)の任意の適切な組み合わせである。このようなISVのCDRは、好ましくは、先の2つの段落で定義された通りである。

30

【0385】

別の好ましい態様では、CXCR-7に対する本発明のVHドメインは、(i)配列番号：425の配列又は、配列番号：425の配列と1つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：425の配列が好ましい)であるCDR1配列、(ii)配列番号：426の配列又は、配列番号：426の配列と1つ又は2つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：426の配列が好ましい)であるCDR2配列、及び、(iii)配列番号：427の配列又は、配列番号：427の配列と1つ又は2つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：427の配列が好ましい)であるCDR3配列を含む。

40

【0386】

より好ましくは、この態様のCXCR-7に対する本発明のVHドメインにおいて、(i)CDR1は、配列番号：425であり、(ii)CDR2は、配列番号：426であり、(iii)CDR3は、配列番号：427である。

【0387】

具体的な一態様では、CXCR-7に対する本発明のナノボディは、配列番号：424のナノボディの変異体(配列番号：424に対して、少なくとも90%の配列同一性、例

50

えば、少なくとも95%の配列同一性を有する)であり、ここで、

- 11位におけるアミノ酸残基は、好ましくは、L、V、又はKから選択され(及び最も好ましくは、Vであり)、及び、

- 14位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 41位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 89位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、V、又はLから選択され、及び、

- 108位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、Q又はLから選択され、及び、

- 110位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、K、又はQから選択され、及び、

- 112位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、S、K、又はQから選択され、

このため、下記のいずれか、(i)112位は、KもしくはQであり、又は、(ii)110位は、KもしくはQであり、11位は、Vであり、又は、(iii)89位は、Tであり、又は、(iv)89位は、Lであり、110位は、KもしくはQであり、又は、(v)11位は、Vであり、89位は、Lであり、又は、(i)~(v)の任意の適切な組み合わせである。再度、このようなISVのCDRは、好ましくは、先の2つの段落で定義された通りである。

#### 【0388】

CXCR-7に対する本発明のナノボディの一部の具体的に好ましく、非限定的な例を、配列番号：410~423として図20A及び配列番号：428~441として図20Bに列記する。これらのナノボディはそれぞれ、本発明の更なる態様を構成する。

#### 【0389】

また、本発明は、少なくとも1つ(例えば、1つ、2つ、又は3つ)の配列番号：410~423及び/又は428~441の本発明のナノボディを含む、CXCR-7に対する本発明の化合物に関する。再度、CXCR-7に対する本発明のこのような化合物は、本明細書で更に記載された通りであることができ、このため、例えば、適切なリンカーを含むことができ、本明細書で記載されたC末端伸長を含むことができ、半減期を伸ばすことができる(例えば、本発明の化合物が、ヒト血清アルブミンに対するナノボディ、例えば(好ましくは)、ヒト血清アルブミンに対する本発明のナノボディを含むため)。以下の表AAが参照される。

#### 【0390】

例えば、国際公開公報第2012/130874号に記載されたように、特に好ましい一分類のCXCR-7に対するナノボディ系化合物は、二重抗原結合性化合物である。このため、本発明の一態様では、CXCR-7に対する本発明の化合物は、配列番号：406の1つのISV又は(好ましくは)(この実施例17に記載された)配列番号：406から得られた本発明のISVのいずれかと、配列番号：424の1つのISV又は(好ましくは)(この実施例17に記載された)配列番号：424から得られた本発明のISVのいずれかとを含む二重抗原結合性構築物である。ただし、少なくとも一方(及び好ましくは、両方)のこれらのISVが、本発明のISVであるという条件である。また、このような二重抗原結合性構築物は、(すなわち、血清アルブミン結合ISVにより)半減期を伸ばすこともできる。

#### 【0391】

より一般的には、CXCR-7に対する本発明の化合物は、国際公開公報第2012/130874号に記載された通りであり、本発明のISVを含む。また、本発明の化合物は、国際公開公報第2012/130874号に記載された目的に使用することもできる。

#### 【0392】

10

20

30

40

50

【 表 3 5 】

表AA：CXCR-7に対する本発明の化合物の例

ポリペプチド ／ 構築物 <sup>(1)</sup>	一般式	ISV構築ブロック及びリンカー
一価	[CXCR-7]	[CXCR-7] = 配列番号：464～477及び／又は482～495の内の1つ
一価／C末端伸 長	[CXCR-7]-X(n)	[CXCR-7] = 配列番号：464～477及び／又は482～495の内の1つ
一価／半減期延 長	[CXCR-7]-L <sub>1</sub> -[SA] [SA]-L <sub>1</sub> -[CXCR-7]	[CXCR-7] = 配列番号：464～477及び／又は482～495の内の1つ [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと)
一価／半減期延 長／C末端伸長	[CXCR-7]-L <sub>1</sub> -[SA]-X(n) [SA]-L <sub>1</sub> -[CXCR-7]-X(n)	[CXCR-7] = 配列番号：464～477及び／又は482～495の内の1つ [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X(n) = (以下の凡例を参照のこと)
二価 <sup>(2)</sup>	[CXCR-7]-L <sub>1</sub> -[CXCR-7]	存在する少なくとも1つの[CXCR-7] = 配列番号：464～477及び／又は482～495の内の1つ ( <sup>4</sup> ) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと)

10

20

30

40

50



表AA (続き)

ポリペプチド ／ 構築物 <sup>(1)</sup>	一般式	ISV構築ブロック及びリンクカー
二価／C末端伸 長 <sup>(2)</sup>	[CXCR-7]- L <sub>1</sub> -[CXCR-7] -X(n)	少なくとも1つの [CXCR-7] = 配列番号：464 ～477及び／又は482～495の内の1つ <sup>(4)</sup> L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X (n) = (以下の凡例を参照のこと)
二価／半減期延 長 <sup>(2)</sup>	[CXCR-7]- L <sub>1</sub> -[CXCR-7]- L <sub>2</sub> -[SA] [CXCR-7]- L <sub>1</sub> -[SA]- L <sub>2</sub> -[CXCR-7] [SA]- L <sub>1</sub> -[CXCR-7]- L <sub>2</sub> -[CXCR-7]	存在する少なくとも1つの [CXCR-7] = 配列番号 ：464～477及び／又は482～495の内の1つ <sup>(4)</sup> [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと)
二価／半減期延 長／C末端伸長 <sup>(2)</sup>	[CXCR-7]- L <sub>1</sub> -[CXCR-7]- L <sub>2</sub> -[SA] -X(n) [CXCR-7]- L <sub>1</sub> -[SA]- L <sub>2</sub> -[CXCR-7] -X(n) [SA]- L <sub>1</sub> -[CXCR-7]- L <sub>2</sub> -[CXCR-7] -X(n)	存在する少なくとも1つの [CXCR-7] = 配列番号 ：464～477及び／又は482～495の内の1つ <sup>(4)</sup> [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと)

表A.A (続き)

ポリペプチド ／ 構築物 (1)	一般式	ISV構築ブロック及びリンクカー
二重特異性 (3) )	[CXCR-7]- L <sub>1</sub> -[Nb] [Nb]- L <sub>1</sub> -[CXCR-7] [CXCR-7]- L <sub>1</sub> - [CXCR-7]- L <sub>2</sub> -[Nb] [CXCR-7]- L <sub>1</sub> - [Nb]- L <sub>2</sub> -[CXCR-7] [Nb]- L <sub>1</sub> - [CXCR-7]- L <sub>2</sub> -[CXCR-7]	存在する少なくとも1つの [CXCR-7] = 配列番号 : 464~477及び/又は482~495の内の1つ (4) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと) [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)
二重特異性／C 末端伸長 (3)	[CXCR-7]- L <sub>1</sub> -[Nb] -X(n) [Nb]- L <sub>1</sub> -[CXCR-7] -X(n) [CXCR-7]- L <sub>1</sub> - [CXCR-7]- L <sub>2</sub> -[Nb] -X(n) [CXCR-7]- L <sub>1</sub> - [Nb]- L <sub>2</sub> -[CXCR-7] -X(n) [Nb]- L <sub>1</sub> - [CXCR-7]- L <sub>2</sub> -[CXCR-7] -X(n)	存在する少なくとも1つの [CXCR-7] = 配列番号 : 464~477及び/又は482~495の内の1つ (4) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X (n) = (以下の凡例を参照のこと) [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)
二重特異性／半 減期延長 (3)	[CXCR-7]- L <sub>1</sub> -[Nb] -L <sub>2</sub> -[SA] [CXCR-7]- L <sub>1</sub> -[SA] - L <sub>2</sub> -[Nb] [Nb]- L <sub>1</sub> -[SA] - L <sub>2</sub> -[CXCR-7] [Nb]- L <sub>1</sub> -[CXCR-7] - L <sub>2</sub> -[SA] [SA]- L <sub>1</sub> -[CXCR-7] - L <sub>2</sub> -[Nb] [SA]- L <sub>1</sub> -[Nb] - L <sub>2</sub> -[CXCR-7]	存在する少なくとも1つの [CXCR-7] = 配列番号 : 464~477及び/又は482~495の内の1つ (4) [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> 、L <sub>2</sub> 、L <sub>3</sub> (以下の凡例を参照のこと) [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)

10

20

30

40

50

表A.A (続き)

ポリペプチド ／ 構築物 (1)	一般式	ISV構築ブロック及びびリンカー
二重特異性／半 減期延長 (3)	[CXCR-7]-L <sub>1</sub> - [CXCR-7]-L <sub>2</sub> [Nb]-L <sub>3</sub> - [SA] [Nb]-L <sub>1</sub> - [CXCR-7]-L <sub>2</sub> -[CXCR-7]-L <sub>3</sub> -[SA] [SA]-L <sub>1</sub> -[CXCR-7]-L <sub>2</sub> - [CXCR-7]-L <sub>3</sub> -[Nb] [SA]-L <sub>1</sub> -[CXCR-7]-L <sub>2</sub> - [Nb]-L <sub>3</sub> -[CXCR-7] [CXCR-7]-L <sub>1</sub> - [Nb]-L <sub>2</sub> -[CXCR-7]-L <sub>3</sub> -[SA]	存在する少なくとも1つの [CXCR-7] = 配列番号 : 464~477及び／又は482~495の内の1つ (4) [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> 、L <sub>2</sub> 、L <sub>3</sub> (以下の凡例を参照のこと) [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)
二重特異性／半 減期延長／C末 端伸長 (3)	[CXCR-7]-L <sub>1</sub> [Nb]-L <sub>2</sub> -[SA]-X(n) [CXCR-7]-L <sub>1</sub> -[SA]-L <sub>2</sub> -[Nb]-X(n) [Nb]-L <sub>1</sub> -[SA]-L <sub>2</sub> -[CXCR-7]-X(n) [Nb]-L <sub>1</sub> -[CXCR-7]-L <sub>2</sub> -[SA]-X(n) [SA]-L <sub>1</sub> -[CXCR-7]-L <sub>2</sub> -[Nb]-X(n) [SA]-L <sub>1</sub> - [Nb]-L <sub>2</sub> -[CXCR-7]-X(n) [CXCR-7]-L <sub>1</sub> - [CXCR-7]-L <sub>2</sub> -[Nb]-L <sub>3</sub> - [SA]-X(n) [Nb]-L <sub>1</sub> - [CXCR-7]-L <sub>2</sub> -[CXCR-7]-L <sub>3</sub> -[SA]-X(n) [SA]-L <sub>1</sub> -[CXCR-7]-L <sub>2</sub> - [CXCR-7]-L <sub>3</sub> -[Nb]-X(n) [SA]-L <sub>1</sub> -[CXCR-7]-L <sub>2</sub> - [Nb]-L <sub>3</sub> -[CXCR-7]-X(n) [CXCR-7]-L <sub>1</sub> - [Nb]-L <sub>2</sub> -[CXCR-7]-L <sub>3</sub> -[SA]-X(n)	存在する少なくとも1つの [CXCR-7] = 配列番号 : 464~477及び／又は482~495の内の1つ (4) [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> 、L <sub>2</sub> 、L <sub>3</sub> (以下の凡例を参照のこと) X (n) = (以下の凡例を参照のこと) [Nb] = (以下の凡例を参照のこと)

10

20

30

40

50

表A.A (続き)

<p>凡例：</p> <p>— [SA] は、(ヒト)血清アルブミンに対するISV、好ましくは、(ヒト)血清アルブミンに対する本発明のISV、より好ましくは、配列番号：46又は61の一方、又は更に好ましくは、配列番号：47、54、62、69、78、86、109、116、123、130、又は496～513の本発明のISVDの内の1つである。</p> <p>— L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>、及びL<sub>3</sub>はそれぞれ、(独立して)適切なリンカーである。L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>、及びL<sub>3</sub>はそれぞれ、(独立して)存在してもよいし、又は、存在しなくてもよい。適切なリンカーの非限定的な例は、本明細書で言及されたglyserリンカー、例えば、9GS、30GS、又は35GSリンカーである。</p> <p>— X(n) = 本明細書及び/又は国際公開報第12/175741号に記載されたC末端伸長のC末端伸長。</p> <p>— [Nb] は、別の治療ターゲットに対するISVである。</p>	<p>注記：</p> <p>(<sup>1</sup>) この表中において、</p> <p>— 「一価」は、CXCR-7に対する1つのISVを含むポリペプチド/構築物を一般的に意味する。これらは、半減期延長ISV (例えば、血清アルブミンに対するISV) を更に含むことができる。</p> <p>— 「二価」は、CXCR-7に対する2つのISV (同じでも又は異なってもよい) を含むポリペプチド/構築物を一般的に意味する。再度、これらは、半減期延長ISV (例えば、血清アルブミンに対するISV) を更に含むことができる。</p> <p>— 「二重特異性」は、少なくとも1つ (例えば、1つ又は2つ) のCXCR-7に対するISVと、少なくとも1つ (例えば、1つ又は2つ) の治療ターゲットに対する他のISVとを含むポリペプチド/構築物を一般的に意味する。これらは、半減期延長ISV (例えば、血清アルブミンに対するISV) を更に含むことができる。</p> <p>— この表中に記載されたポリペプチド/構築物において、存在する少なくとも1つのCXCR-7に対するISVは、本発明のISVであり、及び好ましくは、このようにポリペプチド/構築物に存在するCXCR-7に対する全てのISVは、本発明のISVである。また、半減期延長ISV及び/又は別の治療ターゲットに対するISVが、このようなポリペプチド/構築物に存在する場合、これらはそれぞれ (及び好ましくは、これらは全て)、本発明のISVであることもできる (及び好ましくは、本発明のISVである)。</p> <p>(<sup>2</sup>) : また、この表中の全ての「二価」構築物は、二重抗原結合性であることもできる。これは、「二価」構築物が、少なくとも2つ (例えば、2つ) のCXCR-7に対するISVを含むことを意味する。同ISVは、CXCR-7上の異なるエピトープに対する。</p> <p>(<sup>3</sup>) : 当業者に明らかであるように、列記されたもの以外の他の/異なる二重特異性構築物を、言及された構築ブロック及びリンカーを使用して調整することができる。</p> <p>(<sup>4</sup>) : 好ましくは、存在する各[CXCR-7] は、配列番号：464～477及び/又は482～495から独立して選択される。また、存在する[CXCR-7] は、同一でも又は異なってもよい。二重抗原結合性ポリペプチド/構築物中において、[CXCR-7] は、CXCR-7上の異なるエピトープに対するであろう。</p> <p>(<sup>5</sup>) : 配列番号を参照してこの欄で言及されたポリペプチド/構築物はそれぞれ、本発明の個々の具体的な態様を構成する。</p>
--	--

10

20

30

40

【0393】

実施例18：A-ベータに対するVHドメイン (及び特に、ナノボディ) 及びそれを含む本発明の化合物

具体的な一態様では、本発明のVHドメイン (及び特に、本発明のISVD、及びとりわけ、本発明のナノボディ) 及び本発明の化合物は、A-ベータに対することができる。

【0394】

A-ベータに対する本発明のこのようなVHドメインは、(i) 本明細書に記載された本発明のアミノ酸残基/変異を適切に含む適切なフレームワーク配列、及び、(ii) 本発明のVHドメインがA-ベータに特異的に結合するのを可能にするCDR配列を、概ね

50

含むであろう。また加えて、A - ベータに対する本発明のこのようなVHドメインは、特に、前記VHドメインが一価であるか、又は、前記VHドメインが（再度、本明細書で更に記載されたように）存在する本発明の化合物のC末端を形成する場合、本明細書で記載されたC末端伸長を適切に有することもできる。さらに、A - ベータに対する本発明のこのようなVHドメインは、本明細書で更に記載された通りであることができ、特に、ISVDであることができる。

【0395】

再度、本明細書で記載された本発明の他の態様及び実施態様についてと同様に、具体的なISVD（例えば、この実施例で記載されたA - ベータに対するISVD）又はそれを含む化合物が、「本発明の」又は「本明細書で更に記載された」と言われる場合、本発明のISVD又は化合物について本明細書で全体的に記載された好ましい態様/実施態様及び選択も、他の方法で明確に示さない限り、又は、他の方法で必要とされる具体的な技術的文脈が無い限り、前記具体的なISVD又は化合物それぞれに具体的に適用する。

10

【0396】

このため、特定の態様では、本発明は、A - ベータに対するVHドメイン（及び特に、ISVD）に関し、ここで、(i)112位が、KもしくはQであり、又は、(ii)110位が、KもしくはQであり、11位が、Vであり、又は、(iii)89位が、Tであり、又は、(iv)89位が、Lであり、110位が、KもしくはQであり、又は、(v)11位が、Vであり、89位が、Lであり、又は、(i)~(v)の任意の適切な組み合わせである。特に、A - ベータに対するこのようなVHドメインにおいて、

20

- 11位におけるアミノ酸残基は、好ましくは、L、V、又はKから選択され（及び最も好ましくは、Vであり）、及び、

- 14位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 41位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 89位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、V、又はLから選択され、及び、

- 108位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、Q又はLから選択され、及び、

- 110位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、K、又はQから選択され、及び、

30

- 112位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、S、K、又はQから選択され、

このため、下記のいずれか、(i)112位は、KもしくはQであり、又は、(ii)110位は、KもしくはQであり、11位は、Vであり、又は、(iii)89位は、Tであり、又は、(iv)89位は、Lであり、110位は、KもしくはQであり、又は、(v)11位は、Vであり、89位は、Lであり、又は、(i)~(v)の任意の適切な組み合わせである。

【0397】

さらに、A - ベータに対する本発明のVHドメインは、本明細書で記載された通りであることができ、再度特に、A - ベータに対するISVD（及びとりわけ、ナノボディ）、又は、少なくとも1つのこのようなISVDを含むタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは構築物であることができる。また、このようなタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは構築物は、本明細書で更に記載された通りであることができ、例えば、延長した半減期を有することができる（すなわち、本明細書で記載された通り、例えば、少なくとも1日、好ましくは少なくとも3日、より好ましくは少なくとも7日、例えば、少なくとも10日のヒト対象における半減期 - t<sub>1/2</sub>ベータとして表現 - ）、及びこの目的で、例えば、血清アルブミン結合ナノボディを含むことができる。また、同ナノボディは、（再度、本明細書で記載された）本発明の血清アルブミン結合ナノボディであることができる。

40

【0398】

また、このようなISVDは、特に、前記ISVDが（再度、本明細書で更に記載された）それを含むタンパク質、ポリペプチド、又は他の化合物もしくは構築物のC末端を形

50

成する場合、(本明細書及び国際公開公報第12/175741号で更に記載された)C末端伸長を適切に有することができる。

【0399】

好ましい一態様では、A-ベータに対する本発明のVHドメインは、(i)配列番号：461の配列又は、配列番号：461の配列と1つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：461の配列が好ましい)であるCDR1配列、(ii)配列番号：462の配列又は、配列番号：462の配列と1つ又は2つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：462の配列が好ましい)であるCDR2配列、及び、(iii)配列番号：463の配列又は、配列番号：463の配列と1つ又は2つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：463の配列が好ましい)であるCDR3配列を含む。

10

【0400】

より好ましくは、この態様のA-ベータに対する本発明のVHドメインにおいて、(i)CDR1は、配列番号：461であり、(ii)CDR2は、配列番号：462であり、(iii)CDR3は、配列番号：463である。

【0401】

具体的な一態様では、A-ベータに対する本発明のナノボディは、配列番号：460のナノボディの変異体(配列番号：460に対して、少なくとも90%の配列同一性、例えば、少なくとも95%の配列同一性を有する)であり、ここで、

- 11位におけるアミノ酸残基は、好ましくは、L、V、又はKから選択され(及び最も好ましくは、Vであり)、及び、

20

- 14位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 41位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 89位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、V、又はLから選択され、及び、

- 108位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、Q又はLから選択され、及び、

- 110位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、K、又はQから選択され、及び、

- 112位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、S、K、又はQから選択され、このため、下記のいずれか、(i)112位は、KもしくはQであり、又は、(ii)110位は、KもしくはQであり、11位は、Vであり、又は、(iii)89位は、T

30

であり、又は、(iv)89位は、Lであり、110位は、KもしくはQであり、又は、(v)11位は、Vであり、89位は、Lであり、又は、(i)~(v)の任意の適切な組み合わせである。このようなISVのCDRは、好ましくは、先の2つの段落で定義された通りである。

【0402】

別の好ましい態様では、A-ベータに対する本発明のVHドメインは、(i)配列番号：479の配列又は、配列番号：479の配列と1つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：479の配列が好ましい)であるCDR1配列、(ii)配列番号：480の配列又は、配列番号：480の配列と1つ又は2つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：480の配列が好ましい)であるCDR2配列、及び、(iii)配列番号：481の配列又は、配列番号：481の配列と1つ又は2つのアミノ酸差のみを有するアミノ酸配列(配列番号：481の配列が好ましい)であるCDR3配列を含む。

40

【0403】

より好ましくは、この態様のA-ベータに対する本発明のVHドメインにおいて、(i)CDR1は、配列番号：479であり、(ii)CDR2は、配列番号：480であり、(iii)CDR3は、配列番号：481である。

【0404】

具体的な一態様では、A-ベータに対する本発明のナノボディは、配列番号：478のナノボディの変異体(配列番号：478に対して、少なくとも90%の配列同一性、例えば、少なくとも95%の配列同一性を有する)であり、ここで、

50

- 11位におけるアミノ酸残基は、好ましくは、L、V、又はKから選択され（及び最も好ましくは、Vであり）、及び、

- 14位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 41位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、A又はPから選択され、及び、

- 89位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、V、又はLから選択され、及び、

- 108位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、Q又はLから選択され、及び、

- 110位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、T、K、又はQから選択され、及び、

- 112位におけるアミノ酸残基は、好ましくは適切に、S、K、又はQから選択され、

このため、下記のいずれか、(i) 112位は、KもしくはQであり、又は、(ii) 110位は、KもしくはQであり、11位は、Vであり、又は、(iii) 89位は、Tであり、又は、(iv) 89位は、Lであり、110位は、KもしくはQであり、又は、(v) 11位は、Vであり、89位は、Lであり、又は、(i)~(v)の任意の適切な組み合わせである。再度、このようなISVのCDRは、好ましくは、先の2つの段落で定義された通りである。

#### 【0405】

A-ベータに対する本発明のナノボディの一部の具体的に好ましく、非限定的な例を、配列番号：464~477として図21A及び配列番号：482~495として図21Bに列記する。これらのナノボディはそれぞれ、本発明の更なる態様を構成する。

#### 【0406】

また、本発明は、少なくとも1つ（例えば、1つ、2つ、又は3つ）の配列番号：464~477及び/又は482~495の本発明のナノボディを含む、A-ベータに対する本発明の化合物に関する。再度、A-ベータに対する本発明のこのような化合物は、本明細書で更に記載された通りであることができ、このため、例えば、適切なリンカーを含むことができ、本明細書で記載されたC末端伸長を含むことができ、半減期を伸ばすことができる（例えば、本発明の化合物が、ヒト血清アルブミンに対するナノボディ、例えば（好ましくは）、ヒト血清アルブミンに対する本発明のナノボディを含むため）。以下の表BBが参照される。

#### 【0407】

例えば、国際公開公報第2006/040153号、及び特に、欧州特許第2542579号に記載されたように、特に好ましい一分類のA-ベータに対するナノボディ系化合物は、二重抗原結合性化合物である。このため、本発明の一態様では、A-ベータに対する本発明の化合物は、配列番号：460の1つのISV又は（好ましくは）（この実施例17で記載された）配列番号：460から得られた本発明のISVのいずれかと、配列番号：478の1つのISV又は（好ましくは）（この実施例17で記載された）配列番号：478から得られた本発明のISVのいずれかとを含む。ただし、少なくとも一方（及び好ましくは、両方）のこれらのISVが、本発明のISVであるという条件である。また、このような二重抗原結合性構築物は、（すなわち、血清アルブミン結合ISVにより）半減期を伸ばすこともできる。このような二重抗原結合性構築物の一部の具体的な例は、配列番号：730~766に提供される。

#### 【0408】

A-ベータに対する本発明の化合物の一部の具体的に好ましい例を、配列番号：730~766として図30に提供し、これらの化合物はそれぞれ、本発明の更なる態様を構成する。このため、別の態様では、本発明は、A-ベータに対し、配列番号：730~766からなる群より選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチドに関する。より一般的には、A-ベータに対する本発明の化合物は、国際公開公報第2006/040153号に記載された通りであることができ、及び特に、欧州特許第2542579号に記載された通りであることができ、本発明のISVを含む。また、本発明の化合物は、国際公開公報第2006/040153号、及び特に、欧州特許第2542579号に記載された目的

10

20

30

40

50

に使用することもできる。

【0409】

【表36】

表B B : A-ベータに対する本発明の化合物の例

ポリペプチド ／ 構築物 <sup>(1)</sup>	一般式	ISV構築ブロック及びリンカー
一価	[A-ベータ]	[A-ベータ] = 配列番号 : 464~477及び／又は482~495の内の1つ
一価／C末端伸 長	[A-ベータ] - X (n)	[A-ベータ] = 配列番号 : 464~477及び／又は482~495の内の1つ
一価／半減期延 長	[A-ベータ] - L <sub>1</sub> - [SA] [SA] - L <sub>1</sub> - [A-ベータ]	[A-ベータ] = 配列番号 : 464~477及び／又は482~495の内の1つ [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと)
一価／半減期延 長／C末端伸長	[A-ベータ] - L <sub>1</sub> - [SA] - X (n) [SA] - L <sub>1</sub> - [A-ベータ] - X (n)	[A-ベータ] = 配列番号 : 464~477及び／又は482~495の内の1つ [SA] = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X (n) = (以下の凡例を参照のこと)
二価 <sup>(2)</sup>	[A-ベータ] - L <sub>1</sub> - [A-ベータ]	存在する少なくとも1つの [A-ベータ] = 配列番号 : 464~477及び／又は482~495の内の1つ <sup>(4)</sup> L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと)

10

20

30

40

50



表 B B (続き)

ポリペプチド ／ 構築物 <sup>(1)</sup>	一般式	ISV構築ブロック及びリンクー
二価／C末端伸 長 <sup>(2)</sup>	[A-ペーダ]-L <sub>1</sub> -[A-ペーダ]-X(n)	少なくとも1つの[A-ペーダ]=配列番号：4644~477及び／又は482~495の内の1つ <sup>(4)</sup> L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X(n) = (以下の凡例を参照のこと)
二価／半減期延 長 <sup>(2)</sup>	[A-ペーダ]-L <sub>1</sub> -[A-ペーダ]-L <sub>2</sub> -[SA] [A-ペーダ]-L <sub>1</sub> -[SA]-L <sub>2</sub> -[A-ペーダ] [SA]-L <sub>1</sub> -[A-ペーダ]-L <sub>2</sub> -[A-ペーダ]	存在する少なくとも1つの[A-ペーダ]=配列番号：464~477及び／又は482~495の内の1つ <sup>(4)</sup> [SA]= (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと)
二価／半減期延 長／C末端伸長 <sup>(2)</sup>	[A-ペーダ]-L <sub>1</sub> -[A-ペーダ]-L <sub>2</sub> -[SA] -X(n) [A-ペーダ]-L <sub>1</sub> -[SA]-L <sub>2</sub> -[A-ペーダ] -X(n) [SA]-L <sub>1</sub> -[A-ペーダ]-L <sub>2</sub> -[A-ペーダ] -X(n)	存在する少なくとも1つの[A-ペーダ]=配列番号：464~477及び／又は482~495の内の1つ <sup>(4)</sup> [SA]= (以下の凡例を参照のこと) L <sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと) L <sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと) X(n) = (以下の凡例を参照のこと)

10

20

30

40

50

表 B B (続き)

ポリペプチド /構築物 (1)	一般式	I SV構築ブロック及びリンクカー
二重特異性 (3) )	<p>[A-ペプチド] - L<sub>1</sub> - [Nb]</p> <p>[Nb] - L<sub>1</sub> - [A-ペプチド]</p> <p>[A-ペプチド] - L<sub>1</sub> - [A-ペプチド] - L<sub>2</sub> - [Nb]</p> <p>[A-ペプチド] - L<sub>1</sub> - [Nb] - L<sub>2</sub> - [A-ペプチド]</p> <p>[Nb] - L<sub>1</sub> - [A-ペプチド] - L<sub>2</sub> - [A-ペプチド]</p>	<p>存在する少なくとも1つの [A-ペプチド] = 配列番号 : 4 6</p> <p>4 ~ 4 7 7 及び/又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の 1 つ (4)</p> <p>L<sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと)</p> <p>L<sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと)</p> <p>[Nb] = (以下の凡例を参照のこと)</p>
二重特異性/C 末端伸長 (3)	<p>[A-ペプチド] - L<sub>1</sub> - [Nb] - X (n)</p> <p>[Nb] - L<sub>1</sub> - [A-ペプチド] - X (n)</p> <p>[A-ペプチド] - L<sub>1</sub> - [A-ペプチド] - L<sub>2</sub> - [Nb]</p> <p>- X (n)</p> <p>[A-ペプチド] - L<sub>1</sub> - [Nb] - L<sub>2</sub> - [A-ペプチド]</p> <p>- X (n)</p> <p>[Nb] - L<sub>1</sub> - [A-ペプチド] - L<sub>2</sub> - [A-ペプチド]</p> <p>- X (n)</p>	<p>存在する少なくとも1つの [A-ペプチド] = 配列番号 : 4 6</p> <p>4 ~ 4 7 7 及び/又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の 1 つ (4)</p> <p>L<sub>1</sub> = (以下の凡例を参照のこと)</p> <p>L<sub>2</sub> = (以下の凡例を参照のこと)</p> <p>X (n) = (以下の凡例を参照のこと)</p> <p>[Nb] = (以下の凡例を参照のこと)</p>
二重特異性/半 減期延長 (3)	<p>[A-ペプチド] - L<sub>1</sub> - [Nb] - L<sub>2</sub> - [SA]</p> <p>[A-ペプチド] - L<sub>1</sub> - [SA] - L<sub>2</sub> - [Nb]</p> <p>[Nb] - L<sub>1</sub> - [SA] - L<sub>2</sub> - [A-ペプチド]</p> <p>[Nb] - L<sub>1</sub> - [A-ペプチド] - L<sub>2</sub> - [SA]</p> <p>[SA] - L<sub>1</sub> - [A-ペプチド] - L<sub>2</sub> - [Nb]</p> <p>[SA] - L<sub>1</sub> - [Nb] - L<sub>2</sub> - [A-ペプチド]</p>	<p>存在する少なくとも1つの [A-ペプチド] = 配列番号 : 4 6</p> <p>4 ~ 4 7 7 及び/又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の 1 つ (4)</p> <p>[SA] = (以下の凡例を参照のこと)</p> <p>L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>、L<sub>3</sub> = (以下の凡例を参照のこと)</p> <p>[Nb] = (以下の凡例を参照のこと)</p>

10

20

30

40

50

表B B (続き)

ポリペプチド / 構築物 (1)	一般式	I S V構築ブロック及びリンカー
二重特異性/半 減期延長 (3)	<p>[A-ペーダ]-L<sub>1</sub>-[A-ペーダ]-L<sub>2</sub>-[Nb]-L<sub>3</sub>-[SA]</p> <p>[Nb]-L<sub>1</sub>-[A-ペーダ]-L<sub>2</sub>-[A-ペーダ]-L<sub>3</sub>-[SA]</p> <p>[SA]-L<sub>1</sub>-[A-ペーダ]-L<sub>2</sub>-[A-ペーダ]-L<sub>3</sub>-[Nb]</p> <p>[SA]-L<sub>1</sub>-[A-ペーダ]-L<sub>2</sub>-[Nb]-L<sub>3</sub>-[A-ペーダ]</p> <p>[A-ペーダ]-L<sub>1</sub>-[Nb]-L<sub>2</sub>-[A-ペーダ]-L<sub>3</sub>-[SA]</p>	<p>存在する少なくとも1つの [A-ペーダ] = 配列番号: 4 6 4 ~ 4 7 7 及び/又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の1つ (4)</p> <p>[SA] = (以下の凡例を参照のこと)</p> <p>L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>、L<sub>3</sub> (以下の凡例を参照のこと)</p> <p>[Nb] = (以下の凡例を参照のこと)</p>
二重特異性/半 減期延長/C末 端伸長 (3)	<p>[A-ペーダ]-L<sub>1</sub>-[Nb]-L<sub>2</sub>-[SA]-X (n)</p> <p>[A-ペーダ]-L<sub>1</sub>-[SA]-L<sub>2</sub>-[Nb]-X (n)</p> <p>[Nb]-L<sub>1</sub>-[SA]-L<sub>2</sub>-[A-ペーダ]-X (n)</p> <p>[Nb]-L<sub>1</sub>-[A-ペーダ]-L<sub>2</sub>-[SA]-X (n)</p> <p>[SA]-L<sub>1</sub>-[A-ペーダ]-L<sub>2</sub>-[Nb]-X (n)</p> <p>[SA]-L<sub>1</sub>-[Nb]-L<sub>2</sub>-[A-ペーダ]-X (n)</p> <p>[A-ペーダ]-L<sub>1</sub>-[A-ペーダ]-L<sub>2</sub>-[Nb]-L<sub>3</sub>-[SA]</p> <p>-X (n)</p> <p>[Nb]-L<sub>1</sub>-[A-ペーダ]-L<sub>2</sub>-[A-ペーダ]-L<sub>3</sub>-[SA]</p> <p>-X (n)</p> <p>[SA]-L<sub>1</sub>-[A-ペーダ]-L<sub>2</sub>-[A-ペーダ]-L<sub>3</sub>-[Nb]</p> <p>-X (n)</p> <p>[SA]-L<sub>1</sub>-[A-ペーダ]-L<sub>2</sub>-[Nb]-L<sub>3</sub>-[A-ペーダ]</p> <p>-X (n)</p> <p>[A-ペーダ]-L<sub>1</sub>-[Nb]-L<sub>2</sub>-[A-ペーダ]-L<sub>3</sub>-[SA]</p> <p>-X (n)</p>	<p>存在する少なくとも1つの [A-ペーダ] = 配列番号: 4 6 4 ~ 4 7 7 及び/又は 4 8 2 ~ 4 9 5 の内の1つ (4)</p> <p>[SA] = (以下の凡例を参照のこと)</p> <p>L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>、L<sub>3</sub> (以下の凡例を参照のこと)</p> <p>X (n) = (以下の凡例を参照のこと)</p> <p>[Nb] = (以下の凡例を参照のこと)</p>

表B B (続き)

凡例：  
 - [SA] は、(ヒト) 血清アルブミンに対する I S V、好ましくは、(ヒト) 血清アルブミンに対する本発明の I S V、より好ましくは、配列番号：4 6 又は 6 1 の一方、又は更により好ましくは、配列番号：4 7、5 4、6 2、6 9、7 8、8 6、1 0 9、1 1 6、1 2 3、1 3 0、又は 4 9 6 ~ 5 1 3 の本発明の I S V D の内の 1 つである。  
 - L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>、及び L<sub>3</sub> はそれぞれ、(独立して) 適切なリンカーである。L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>、及び L<sub>3</sub> はそれぞれ、(独立して) 存在してもよいし、又は、存在しなくてもよい。適切なリンカーの非限定的な例は、本明細書で言及された g l y - s e r - l i n k e r、例えば、9 G S、3 0 G S、又は 3 5 G S リンカーである。  
 - X (n) = 本明細書及び/又は国際公開公報第 1 2 / 1 7 5 7 4 1 号に記載された C 末端伸長等の C 末端伸長。  
 - [N b] は、別の治療ターゲットに対する I S V である。

注記：

(1) この表中において、  
 - 「一価」は、A - ベータに対する 1 つの I S V を含むポリペプチド/構築物を一般的に意味する。これらは、半減期延長 I S V (例えば、血清アルブミンに対する I S V) を更に含むことができる。  
 - 「二価」は、A - ベータに対する 2 つの I S V (同 I S V は、同じでも又は異なってもよい) を含むポリペプチド/構築物を一般的に意味する。再度、これらは、半減期延長 I S V (例えば、血清アルブミンに対する I S V) を更に含むことができる。  
 - 「二重特異性」は、少なくとも 1 つ (例えば、1 つ又は 2 つ) の A - ベータに対する I S V と、少なくとも 1 つ (例えば、1 つ又は 2 つ) の治療ターゲットに対する他の I S V とを含むポリペプチド/構築物を一般的に意味する。これらは、半減期延長 I S V (例えば、血清アルブミンに対する I S V) を更に含むことができる。  
 - この表中に記載されたポリペプチド/構築物において、存在する少なくとも 1 つの A - ベータに対する I S V は、本発明の I S V であり、及び好ましくは、このようなポリペプチド/構築物に存在する A - ベータに対する全ての I S V は、本発明の I S V である。また、半減期延長 I S V 及び/又は別の治療ターゲットに対する I S V が、このようなポリペプチド/構築物に存在する場合、これらはそれぞれ (及び好ましくは、これらは全て)、本発明の I S V であることもできる (及び好ましくは、本発明の I S V である)。  
 (2) : また、この表中の全ての「二価」構築物は、二重抗原結合性であることもできる。これは、「二価」構築物が、少なくとも 2 つ (例えば、2 つ) の A - ベータに対する I S V を含むことを意味する。同 I S V は、A - ベータ上の異なるエピトープに対する。  
 (3) : 当業者に明らかであろうように、列記されたもの以外の他の/更なる二重特異性構築物を、言及された構築ブロック及びリンカーを使用して調製することができる。  
 (4) : 好ましくは、存在する各 [A - ベータ] は、配列番号：4 6 4 ~ 4 7 7 及び/又は 4 8 2 ~ 4 9 5 から独立して選択される。また、存在する [A - ベータ] は、同好ましくは異なる。二重抗原結合性ポリペプチド/構築物において、「A - ベータ」は、A - ベータ上の異なるエピトープに対するであろう。  
 (5) : 配列番号を参照してこの欄で言及されたポリペプチド/構築物はそれぞれ、本発明の個々の具体的な態様を構成する。

10  
20  
30  
40

【 0 4 1 0 】

実施例 1 9 : 既存の抗体による結合についての抗 A - ベータ構築物の試験

3 つの半減期延長抗 A - ベータ構築物 (一般式 [ A - ベータ - 1 ] - 9 G S - A L B 8 - 9 G S - [ A - ベータ - 2 ] - A ) を試験し、既存の抗体による結合について、本明細書で記載された全体的なプロトコールを使用して比較した。本発明の 2 つの構築物は、3 つ全ての構築ブロック中 (すなわち、2 つの抗 A - ベータナノボディ中及び血清アルブミン結合ナノボディ中) に本発明の示された変異を有した。参照構築物 (配列番号：7 6 6 ) は、いずれの構築ブロック中にも、本発明の変異を有さなかった。試験した全ての構築物は、C 末端アラニンを有する。結果を、表 C C - 1 及び図 3 1 A に提供する。

【0411】

【表37】

表CC-1：既存の抗体による結合についての抗A-ベータ構築物の試験

92個のサンプル (健康な対象)に 試験したナノボ ディ	図30 A中の 参照番 号	125秒での 結合レベル 10RU未満	125秒での 結合レベル 20RU未満	125秒での 結合レベル 20RU超
配列番号：766 (参照)	(1)	0	1	91
配列番号：733 (発明：L11V +V89L)	(2)	11	41	51
配列番号：749 (発明：L11V +V89L+T1 10K)	(3)	16	56	36

10

【0412】

また、該構築物のC末端に存在する抗A-ベータナノボディを、(C末端アラニンを有する)一価の構築物として別々に試験した。結果を、表CC-2及び図31Bに提供する。

【0413】

【表38】

表CC-2：既存の抗体による結合についての一価の抗A-ベータナノボディの試験

145個のサンプ ル(健康な対象) に試験したナノボ ディ	図30 A中の 参照番 号	125秒での 結合レベル 10RU未満	125秒での 結合レベル 20RU未満	125秒での結 合レベル 20R U超
配列番号：478 (参照) (*)	(1)	67	87	58
配列番号：489 (発明：L11V +V89L) (* )	(2)	74	103	42
配列番号：490 (発明：L11V +V89L+T1 10K) (*)	(3)	116	138	7
(*) 試験した3つ全ての一価のナノボディは、付加されたC末端アラニンを有した				

30

40

【0414】

実施例20：本発明の血清アルブミンバイндアーの概観

以下の表DD及びEEは、A1b-8(表DD)及びA1b-23(表EE)それぞれに基づく、本発明の血清アルブミン結合ナノボディの一部の好ましく、非限定的な例を提供する。

【0415】

50

言及されたように、また、本発明は、以下の表 D D 又は E E に列記された血清アルブミン結合ナノボディの内の 1 つを含む、ポリペプチド、タンパク質、化合物、又は構築物（及び特に、本発明の化合物）に関する。このようなポリペプチド、タンパク質、化合物、又は構築物（及び特に、本発明の化合物）は、少なくとも 1 つの治療ターゲットに対する、少なくとも 1 つ（例えば、1 つ、2 つ、又は 3 つ）の結合ドメイン又は結合ユニット（例えば、I S V D、及び特に、本発明の I S V）を更に含むことができる。再度、このようなポリペプチド、タンパク質、化合物、又は構築物は、適切に、治療ターゲットに対して、単特異性、二重特異性、又は三重特異性であることができ、二価、三価、四価、又はより高い価であることができる。また通常、このようなポリペプチド、タンパク質、化合物、又は構築物は、適切なリンカーを含有するであろうし、本明細書に記載された C 末端伸長を含むことができる。

10

**【 0 4 1 6 】**

特に、このようなポリペプチド、タンパク質、化合物、又は構築物は、（本明細書に記載された）本発明の化合物であることができ、及びノ又は、本発明の化合物（本発明についての好ましい実施態様を含む。このため、I S V D、及び特に、ナノボディを含む化合物が特に好ましい）について、本明細書で更に記載された通りであることができる。したがって、表 D D 又は E E に列記された血清アルブミン結合ナノボディの内の 1 つを含む本発明の化合物は、本発明の更なる態様を構成する。

**【 0 4 1 7 】**

20

30

40

50

表DD : A 1 b - 8 (参照) 及び本発明のA 1 b - 8 変異体

配列番号:	変異体	配列
46	A 1 b - 8 (国際 公開公報第 0 6 / 1 2 2 7 8 7 号)	EVQLVESGGGLVQP <sup>G</sup> NSLR <sup>L</sup> SCAASGFTFS <sup>S</sup> FGMSWVRQAPGK <sup>G</sup> LEWVSSISGGSGSDL <sup>L</sup> YADSVKGRFTISR DNAK <sup>T</sup> TLLYLQ <sup>M</sup> NSLR <sup>P</sup> EDTAVYYCTIGGSL <sup>R</sup> SRSSQ <sup>G</sup> TLVTVSS
496	89L + 110K	EVQLVESGGGLVQP <sup>G</sup> NSLR <sup>L</sup> SCAASGFTFS <sup>S</sup> FGMSWVRQAPGK <sup>G</sup> LEWVSSISGGSGSDL <sup>L</sup> YADSVKGRFTISR DNAK <sup>T</sup> TLLYLQ <sup>M</sup> NSLR <sup>P</sup> EDTALYYCTIGGSL <sup>R</sup> SRSSQ <sup>G</sup> TLVKVSS
497	89L + 110Q	EVQLVESGGGLVQP <sup>G</sup> NSLR <sup>L</sup> SCAASGFTFS <sup>S</sup> FGMSWVRQAPGK <sup>G</sup> LEWVSSISGGSGSDL <sup>L</sup> YADSVKGRFTISR DNAK <sup>T</sup> TLLYLQ <sup>M</sup> NSLR <sup>P</sup> EDTALYYCTIGGSL <sup>R</sup> SRSSQ <sup>G</sup> TLVQVSS
498	110K	EVQLVESGGGLVQP <sup>G</sup> NSLR <sup>L</sup> SCAASGFTFS <sup>S</sup> FGMSWVRQAPGK <sup>G</sup> LEWVSSISGGSGSDL <sup>L</sup> YADSVKGRFTISR DNAK <sup>T</sup> TLLYLQ <sup>M</sup> NSLR <sup>P</sup> EDTAVYYCTIGGSL <sup>R</sup> SRSSQ <sup>G</sup> TLVKVSS
499	110Q	EVQLVESGGGLVQP <sup>G</sup> NSLR <sup>L</sup> SCAASGFTFS <sup>S</sup> FGMSWVRQAPGK <sup>G</sup> LEWVSSISGGSGSDL <sup>L</sup> YADSVKGRFTISR DNAK <sup>T</sup> TLLYLQ <sup>M</sup> NSLR <sup>P</sup> EDTAVYYCTIGGSL <sup>R</sup> SRSSQ <sup>G</sup> TLVQVSS
47	112K	EVQLVESGGGLVQP <sup>G</sup> NSLR <sup>L</sup> SCAASGFTFS <sup>S</sup> FGMSWVRQAPGK <sup>G</sup> LEWVSSISGGSGSDL <sup>L</sup> YADSVKGRFTISR DNAK <sup>T</sup> TLLYLQ <sup>M</sup> NSLR <sup>P</sup> EDTAVYYCTIGGSL <sup>R</sup> SRSSQ <sup>G</sup> TLVTVKS
54	112Q	EVQLVESGGGLVQP <sup>G</sup> NSLR <sup>L</sup> SCAASGFTFS <sup>S</sup> FGMSWVRQAPGK <sup>G</sup> LEWVSSISGGSGSDL <sup>L</sup> YADSVKGRFTISR DNAK <sup>T</sup> TLLYLQ <sup>M</sup> NSLR <sup>P</sup> EDTAVYYCTIGGSL <sup>R</sup> SRSSQ <sup>G</sup> TLVTVQS
78	89T	EVQLVESGGGLVQP <sup>G</sup> NSLR <sup>L</sup> SCAASGFTFS <sup>S</sup> FGMSWVRQAPGK <sup>G</sup> LEWVSSISGGSGSDL <sup>L</sup> YADSVKGRFTISR DNAK <sup>T</sup> TLLYLQ <sup>M</sup> NSLR <sup>P</sup> EDTATYYCTIGGSL <sup>R</sup> SRSSQ <sup>G</sup> TLVTVSS

10

20

30

40

50

表DD (続き)

配列番号:	変異体	配列
109	11V + 89L	EVQLVESGGGVVQPNGSLRLSCAASGFTFSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGGSDTLYADSVKGRFTISR DNAKTTLLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTLLVTVSS
123	11V + 89L + 110K	EVQLVESGGGVVQPNGSLRLSCAASGFTFSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGGSDTLYADSVKGRFTISR DNAKTTLLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTLLVKVSS
500	11V + 89L + 110Q	EVQLVESGGGVVQPNGSLRLSCAASGFTFSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGGSDTLYADSVKGRFTISR DNAKTTLLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTLLVQVSS
501	11V + 110K	EVQLVESGGGVVQPNGSLRLSCAASGFTFSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGGSDTLYADSVKGRFTISR DNAKTTLLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLLVKVSS
502	11V + 110Q	EVQLVESGGGVVQPNGSLRLSCAASGFTFSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGGSDTLYADSVKGRFTISR DNAKTTLLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLLVQVSS
503	11V + 112K	EVQLVESGGGVVQPNGSLRLSCAASGFTFSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGGSDTLYADSVKGRFTISR DNAKTTLLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLLVTVKS
504	11V + 112Q	EVQLVESGGGVVQPNGSLRLSCAASGFTFSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGGSDTLYADSVKGRFTISR DNAKTTLLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLLVTVQS

10

20

30

40

50



表 E E : A 1 b - 2 3 (参照) 及び本発明の A 1 b - 2 3 変異体

配列番号:	変異体	配列
61	A 1 b - 2 3 (国際 公開公報第 1 2 / 1 7 5 4 0 0 号)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGP EWVSSISGSGSDTL YADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGT LVTVSS
505	89L + 110K	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGP EWVSSISGSGSDTL YADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGT L VKVSS
506	89L + 110Q	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGP EWVSSISGSGSDTL YADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGT L VQVSS
507	110K	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGP EWVSSISGSGSDTL YADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGT L VKVSS
508	110Q	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGP EWVSSISGSGSDTL YADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGT L VQVSS
62	112K	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGP EWVSSISGSGSDTL YADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGT L VTKVKS
69	112Q	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGP EWVSSISGSGSDTL YADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGT L VTVQS
86	89T	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGP EWVSSISGSGSDTL YADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRPEDTATYYCTIGGSLSRSSQGT L VTVSS

10

20

30

40

50

表 E E (続き)

配列番号:	変異体	配列
116	11V + 89L	EVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPPEWVSSISGGSDTLYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNLSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSS
130	11V + 89L + 110K	EVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPPEWVSSISGGSDTLYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNLSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTLVKVVSS
509	11V + 89L + 110Q	EVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPPEWVSSISGGSDTLYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNLSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTLVQVSS
510	11V + 110K	EVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPPEWVSSISGGSDTLYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNLSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVKVVSS
511	11V + 110Q	EVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPPEWVSSISGGSDTLYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNLSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVQVSS
512	11V + 112K	EVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPPEWVSSISGGSDTLYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNLSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVKS
513	11V + 112Q	EVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPPEWVSSISGGSDTLYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNLSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVQS

10

20

30

40

50

【図面】

【図 1】

IMCT	Ahoナナンパリング	Chotiaに従ったナンパリング (VH)	Kabatに従ったナンパリング (VH)
12	12	11	11
15	15	14	14
46	48	41	41
47	49	42	42
99	101	87	87
101	103	89	89
...	144	108	108
...	146	110	110
...	148	112	112

ソース: <http://www.bio.uzh.ch/plueckthun/antibody/Numbering/NumFrame.html>

【図 2 - 1】

配列番号 : 1	C末端	VTVKS
配列番号 : 2	C末端	VTVQS
配列番号 : 3	F R 4配列	WGQGTQVTVKS
配列番号 : 4	F R 4配列	WGKGLVTVKS
配列番号 : 5	F R 4配列	RGQGRVTVKS
配列番号 : 6	F R 4配列	WGLGTQVTISS
配列番号 : 7	F R 4配列	GSQGTQVTVKS
配列番号 : 8	F R 4配列	LRGGTQVTVKS
配列番号 : 9	F R 4配列	RGQGLVTVKS
配列番号 : 10	F R 4配列	RSRGIQVTVKS
配列番号 : 11	F R 4配列	WGKGTQVTVKS
配列番号 : 12	F R 4配列	WGQGTQVTVQS
配列番号 : 13	F R 4配列	WGKGLVTVQS
配列番号 : 14	F R 4配列	RGQGRVTVQS
配列番号 : 15	F R 4配列	WGLGTQVTISS
配列番号 : 16	F R 4配列	GSQGTQVTVQS
配列番号 : 17	F R 4配列	LRGGTQVTVQS
配列番号 : 18	F R 4配列	RGQGLVTVQS
配列番号 : 19	F R 4配列	RSRGIQVTVQS
配列番号 : 20	F R 4配列	WGKGTQVTVQS
配列番号 : 21	C末端伸長を有するC末端	VTVKS(X) <sub>n</sub>

10

20

【図 2 - 2】

配列番号 : 22	C末端伸長を有するC末端	VTVQS(X) <sub>n</sub>
配列番号 : 23	C末端伸長を有するF R 4配列	WGQGTQVTVKS(X) <sub>n</sub>
配列番号 : 24	C末端伸長を有するF R 4配列	WGKGLVTVKS(X) <sub>n</sub>
配列番号 : 25	C末端伸長を有するF R 4配列	RGQGRVTVKS(X) <sub>n</sub>
配列番号 : 26	C末端伸長を有するF R 4配列	WGLGTQVTISS(X) <sub>n</sub>
配列番号 : 27	C末端伸長を有するF R 4配列	GSQGTQVTVKS(X) <sub>n</sub>
配列番号 : 28	C末端伸長を有するF R 4配列	LRGGTQVTVKS(X) <sub>n</sub>
配列番号 : 29	C末端伸長を有するF R 4配列	RGQGLVTVKS(X) <sub>n</sub>
配列番号 : 30	C末端伸長を有するF R 4配列	RSRGIQVTVKS(X) <sub>n</sub>

【図 2 - 3】

配列番号 : 31	C末端伸長を有するF R 4配列	WGKGTQVTVKS(X) <sub>n</sub>
配列番号 : 32	C末端伸長を有するF R 4配列	WGQGTQVTVQS(X) <sub>n</sub>
配列番号 : 33	C末端伸長を有するF R 4配列	WGKGLVTVQS(X) <sub>n</sub>
配列番号 : 34	C末端伸長を有するF R 4配列	RGQGRVTVQS(X) <sub>n</sub>
配列番号 : 35	C末端伸長を有するF R 4配列	WGLGTQVTISS(X) <sub>n</sub>
配列番号 : 36	C末端伸長を有するF R 4配列	GSQGTQVTVQS(X) <sub>n</sub>
配列番号 : 37	C末端伸長を有するF R 4配列	LRGGTQVTVQS(X) <sub>n</sub>
配列番号 : 38	C末端伸長を有するF R 4配列	RGQGLVTVQS(X) <sub>n</sub>
配列番号 : 39	C末端伸長を有するF R 4配列	RSRGIQVTVQS(X) <sub>n</sub>

30

40

【図 2 - 4】

配列番号 : 40	C 末端伸長を有する F R 4 配列	WGKGTQVTVQS(X) <sub>n</sub>
配列番号 : 41	C D R 1 配列	SFGMS
配列番号 : 42	C D R 2 配列	SISGSGSDTLYADSVKG
配列番号 : 43	C D R 3 配列	GGSLSR
配列番号 : 44	参照 A.	HHHHHEVQLVESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVSS
配列番号 : 45	参照 B 国際公開公報第 12 / 175741 号からの配列番号 : 37	HHHHHEVQLVESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVSSA
配列番号 : 46	A1b-8 (国際公開公報第 06 / 122787 号)	EVQLVESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVSS
配列番号 : 47	A1b-8 + 112 K	EVQLVESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVKSS
配列番号 : 48	A1b-8 + 112 K + A	EVQLVESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVKSA
配列番号 : 49	A1b-8 + 112 K + AA	EVQLVESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVKSA A
配列番号 : 50	A1b-8 + 112 K + AAA	EVQLVESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVKSA AA
配列番号 : 51	A1b-8 + 112 K + G	EVQLVESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVKSG
配列番号 : 52	A1b-8 + 112 K + GG	EVQLVESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVKSG G

【図 2 - 5】

配列番号 : 53	A1b-8 + 112 K + GGG	EVQLVESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVKSG GG
配列番号 : 54	A1b-8 + 112 Q	EVQLVESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVQSS
配列番号 : 55	A1b-8 + 112 Q + A	EVQLVESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVQSA
配列番号 : 56	A1b-8 + 112 Q + AA	EVQLVESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVQSA A
配列番号 : 57	A1b-8 + 112 Q + AAA	EVQLVESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVQSA AA
配列番号 : 58	A1b-8 + 112 Q + G	EVQLVESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVQSG
配列番号 : 59	A1b-8 + 112 Q + GG	EVQLVESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVQSG G
配列番号 : 60	A1b-8 + 112 Q + GGG	EVQLVESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVQSG GG
配列番号 : 61	A1b-23 (国際公開公報第 12 / 175400 号)	EVQLLESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVSS
配列番号 : 62	A1b-23 + 112 K	EVQLLESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVKSS
配列番号 : 63	A1b-23 + 112 K + A	EVQLLESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVKSA
配列番号 : 64	A1b-23 + 112 K + AA	EVQLLESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVKSA A
配列番号 : 65	A1b-23 + 112 K + AAA	EVQLLESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVKSA AA

10

20

【図 2 - 6】

配列番号 : 66	A1b-23 + 112 K + G	EVQLLESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVKSG G
配列番号 : 67	A1b-23 + 112 K + GG	EVQLLESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVKSG G
配列番号 : 68	A1b-23 + 112 K + GGG	EVQLLESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVKSG GG
配列番号 : 69	A1b-23 + 112 Q	EVQLLESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVQSS
配列番号 : 70	A1b-23 + 112 Q + A	EVQLLESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVQSA
配列番号 : 71	A1b-23 + 112 Q + AA	EVQLLESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVQSA A
配列番号 : 72	A1b-23 + 112 Q + AAA	EVQLLESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVQSA AA
配列番号 : 73	A1b-23 + 112 Q + G	EVQLLESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVQSG
配列番号 : 74	A1b-23 + 112 Q + GG	EVQLLESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVQSG G
配列番号 : 75	A1b-23 + 112 Q + GGG	EVQLLESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVQSG GG
配列番号 : 76	C 末端	VTVSS
配列番号 : 77	C 末端伸長を有する C 末端	VTVSS(X) <sub>n</sub>
配列番号 : 78	V 89 T 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLLESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVSS

【図 2 - 7】

配列番号 : 79	V 89 T 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLVESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVSSA
配列番号 : 80	V 89 T 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLVESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVSSA A
配列番号 : 81	V 89 T 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLVESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVSSA AA
配列番号 : 82	V 89 T 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLVESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVSSG
配列番号 : 83	V 89 T 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLVESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVSSG G
配列番号 : 84	V 89 T 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLVESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVSSG GG
配列番号 : 85	V 89 T 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLLESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVSS
配列番号 : 86	V 89 T 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLLESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAAKTLTYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSLSSQGLTVTVSSA

30

40

50

【図 2 - 8】

配列番号 : 87	V 8 9 T 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPWEVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRPEDTATYYCTIGGSLSRSSQGLTVTVSSA A
配列番号 : 88	V 8 9 T 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPWEVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRPEDTATYYCTIGGSLSRSSQGLTVTVSSA AA
配列番号 : 89	V 8 9 T 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPWEVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRPEDTATYYCTIGGSLSRSSQGLTVTVSSG
配列番号 : 90	V 8 9 T 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPWEVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRPEDTATYYCTIGGSLSRSSQGLTVTVSSG G
配列番号 : 91	V 8 9 T 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPWEVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRPEDTATYYCTIGGSLSRSSQGLTVTVSSG GG
配列番号 : 92	実施例 6 で使用されたナノボディ A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFNMYAMGWFHRPGEKREFVAITRSGVRSVSAIYGDVSKDRFTISR DNAKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCAASAIKSGALRRFE YDYSQGLTVTVSS
配列番号 : 93	実施例 6 で使用されたナノボディ B	EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN AKT TLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGLTVTVSS
配列番号 : 94	実施例 6 で使用されたナノボディ C	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASRIGRLDRMGWYRHRPGEPRELVATITGGSSINYGDSVKGRFTISRDN SKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCNFNKYVTSRDTWGQGLTVTVSS

【図 2 - 9】

配列番号 : 95	C 末端	VKVVSS
配列番号 : 96	C 末端	VQVSS
配列番号 : 97	C 末端	VKVVSS(X)n
配列番号 : 98	C 末端	VQVSS(X)n
配列番号 : 99	F R 4 配列	SSQGLTVTVKS
配列番号 : 100	F R 4 配列	SSQGLTVTVQS
配列番号 : 101	F R 4 配列	SSQGLTVKVSS
配列番号 : 102	F R 4 配列	SSQGLTVQVSS
配列番号 : 103	C 末端伸長を有する F R 4 配列	SSQGLTVTVKS(X)n
配列番号 : 104	C 末端伸長を有する F R 4 配列	SSQGLTVTVQS(X)n
配列番号 : 105	C 末端伸長を有する F R 4 配列	SSQGLTVKVSS(X)n
配列番号 : 106	C 末端伸長を有する F R 4 配列	SSQGLTVQVSS(X)n
配列番号 : 107	C 末端配列	VZVZS
配列番号 : 108	C 末端配列	VZVZS(X)n
配列番号 : 109	L 1 1 V + V 8 9 L 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN AKT TLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGLTVTVSS

10

20

【図 2 - 10】

配列番号 : 110	L 1 1 V + V 8 9 L 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN AKT TLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGLTVTVSSA
配列番号 : 111	L 1 1 V + V 8 9 L 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN AKT TLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGLTVTVSSA A
配列番号 : 112	L 1 1 V + V 8 9 L 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN AKT TLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGLTVTVSSA AA
配列番号 : 113	L 1 1 V + V 8 9 L 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN AKT TLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGLTVTVSSG
配列番号 : 114	L 1 1 V + V 8 9 L 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN AKT TLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGLTVTVSSG G
配列番号 : 115	L 1 1 V + V 8 9 L 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN AKT TLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGLTVTVSSG GG

【図 2 - 11】

配列番号 : 116	L 1 1 V + V 8 9 L 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPWEVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGLTVTVSS
配列番号 : 117	L 1 1 V + V 8 9 L 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPWEVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGLTVTVSSA
配列番号 : 118	L 1 1 V + V 8 9 L 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPWEVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGLTVTVSSA A
配列番号 : 119	L 1 1 V + V 8 9 L 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPWEVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGLTVTVSSA AA
配列番号 : 120	L 1 1 V + V 8 9 L 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPWEVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGLTVTVSSG
配列番号 : 121	L 1 1 V + V 8 9 L 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPWEVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGLTVTVSSG G

30

40

50

【図2 - 1 2】

配列番号 : 122	L 1 1 V + V 8 9 L 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVR QAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGT LKVS SGG
配列番号 : 123	L 1 1 V + V 8 9 L + T 1 1 0 K 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVR QAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN AKT TLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGT LK VVSS
配列番号 : 124	L 1 1 V + V 8 9 L + T 1 1 0 K 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVR QAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN AKT TLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGT LK VVSSA
配列番号 : 125	L 1 1 V + V 8 9 L + T 1 1 0 K 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVR QAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN AKT TLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGT LK VVSSA A
配列番号 : 126	L 1 1 V + V 8 9 L + T 1 1 0 K 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVR QAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN AKT TLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGT LK VVSSA AA
配列番号 : 127	L 1 1 V + V 8 9 L + T 1 1 0 K 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVR QAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN AKT TLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGT LK VVSSG

【図2 - 1 3】

配列番号 : 128	L 1 1 V + V 8 9 L + T 1 1 0 K 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVR QAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN AKT TLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGT LK VVSSG G
配列番号 : 129	L 1 1 V + V 8 9 L + T 1 1 0 K 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVR QAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN AKT TLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGT LK VVSSG GG
配列番号 : 130	L 1 1 V + V 8 9 L + T 1 1 0 K 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVR QAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGT LK VVSS
配列番号 : 131	L 1 1 V + V 8 9 L + T 1 1 0 K 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVR QAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGT LK VVSSA
配列番号 : 132	L 1 1 V + V 8 9 L + T 1 1 0 K 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVR QAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGT LK VVSSA A
配列番号 : 133	L 1 1 V + V 8 9 L + T 1 1 0 K 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVR QAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGT LK VVSSA AA

10

20

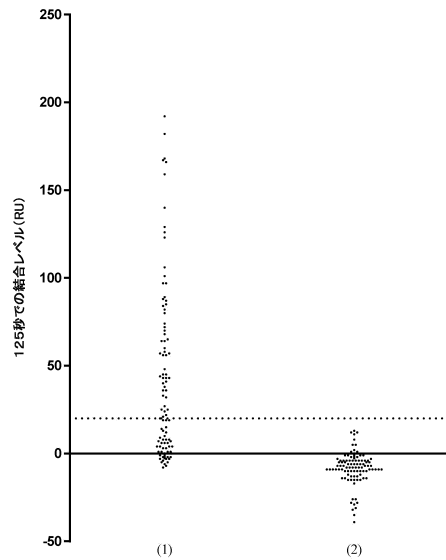
【図2 - 1 4】

配列番号 : 134	L 1 1 V + V 8 9 L + T 1 1 0 K 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVR QAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGT LK VVSSG
配列番号 : 135	L 1 1 V + V 8 9 L + T 1 1 0 K 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVR QAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGT LK VVSSG G
配列番号 : 136	L 1 1 V + V 8 9 L + T 1 1 0 K 置換を有する血清アルブミン結合ナノボディ	EVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVR QAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGT LK VVSSG GG

注記：上記配列中において、(X)<sub>n</sub>が存在する場合、それは、C末端伸長を表わす。ここで、n=1、2、3、4、又は5（好ましくは、1、2、又は3、より好ましくは、1又は2、最も好ましくは、1）。各Xは、適切なアミノ酸（好ましくは、天然アミノ酸残基、より好ましくは、A、G、V、L、又はIからなる群より、ここで、A及び/又はGが特に好ましい）から独立して選択される。

注記：配列番号：107（VZVZS）及び108（VZVZS（X）<sub>n</sub>）の配列中において、各Zは、独立して、K又はQである。

【図3】

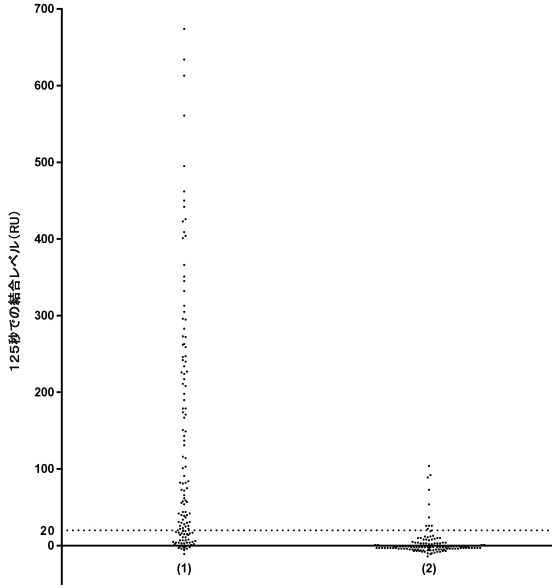


30

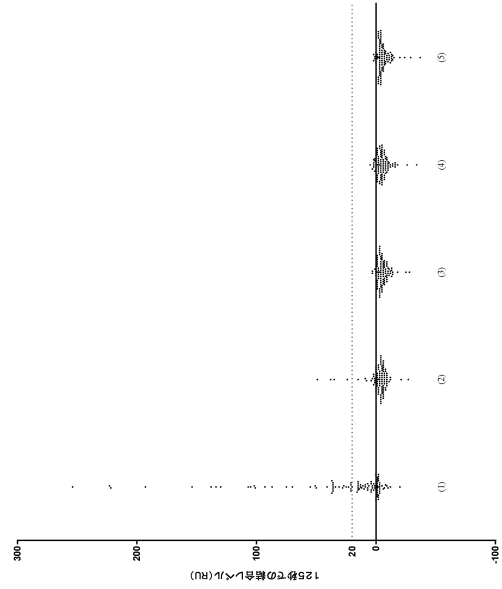
40

50

【 図 4 】

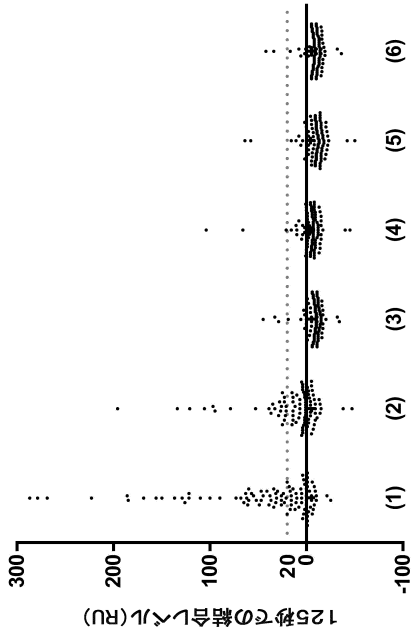


【 図 5 】



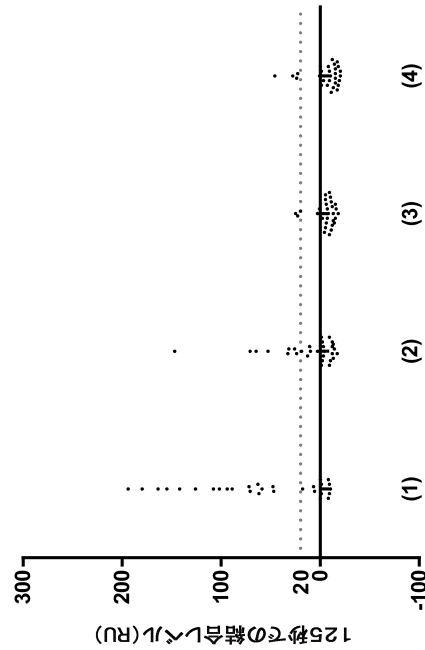
10

【 図 6 】



20

【 図 7 】



30

40

50

【 図 8 】



【 図 9 A - 1 】

クローン	配列番号：	配列
A019409G09 (E1D,L11V,A14P,G19R,M53Q, T62S,A74S,K83R,V89L,T97E)	137 (495) <sup>*</sup>	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCASAGLLFSRNSAGWYRQAPGKQREFVARIRAGGSINYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCSGWRTEGFEYEWGQGITLVYSS
A019409G09 (E1D,L11V,A14P,G19R,M53A, T62S,A74S,K83R,V89L,S94G)	138 (523)	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCASAGLLFSRNSAGWYRQAPGKQREFVARIRAGGSINYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCSGWRTEGFEYEWGQGITLVYSS
A019409G09 (E1D,L11V,A14P,G19R,M53A, T62S,A74S,K83R,V89L,T97E)	139 (524)	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCASAGLLFSRNSAGWYRQAPGKQREFVARIRAGGSINYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCSGWRTEGFEYEWGQGITLVYSS
A019409G09 (E1D,L11V,A14P,G19R,M53A, T62S,A74S,K83R,V89L,T97E)	140 (525)	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCASAGLLFSRNSAGWYRQAPGKQREFVARIRAGGSINYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCSGWRTEGFEYEWGQGITLVYSS
A019409G09 (E1D,L11V,A14P,G19R,M53Q, T62S,A74S,K83R,V89L,S94G)	141 (526)	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCASAGLLFSRNSAGWYRQAPGKQREFVARIRAGGSINYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCSGWRTEGFEYEWGQGITLVYSS

(\*) 図 9 A 及び 9 B 中において、丸かっこ二箇の番号を意味する。この配列は、同時係属中の米国版出願、発明の名称「K v 1、3 結合免疫グロブリン」(出願日：2015年3月16日；譲受人：Ablynx N.V.) に列記されている。

【 図 9 A - 2 】

クローン	配列番号：	配列
A019409G09 (E1D,L11V,A14P,G19R,M53Q, T62S,A74S,K83R,V89L,T97E)	142 (527)	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCASAGLLFSRNSAGWYRQAPGKQREFVARIRAGGSINYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCSGWRTEGFEYEWGQGITLVYSS
A019409G09 (E1D,L11V,A14P,G19R,M53Q, T62S,A74S,K83R,V89L,S94G, T97E)	143 (528)	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCASAGLLFSRNSAGWYRQAPGKQREFVARIRAGGSINYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCSGWRTEGFEYEWGQGITLVYSS
A019409G09 (E1D,L11V,A14P,G19R,M53Y, T62S,A74S,K83R,V89L,S94G)	144 (529)	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCASAGLLFSRNSAGWYRQAPGKQREFVARIRAGGSINYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCSGWRTEGFEYEWGQGITLVYSS
A019409G09 (E1D,L11V,A14P,G19R,M53Y, T62S,A74S,K83R,V89L,T97E)	145 (530)	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCASAGLLFSRNSAGWYRQAPGKQREFVARIRAGGSINYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCSGWRTEGFEYEWGQGITLVYSS
A019409G09 (E1D,L11V,A14P,G19R,M53Y, T62S,A74S,K83R,V89L,S94G, T97E)	146 (531)	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCASAGLLFSRNSAGWYRQAPGKQREFVARIRAGGSINYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCSGWRTEGFEYEWGQGITLVYSS

【 図 9 A - 3 】

クローン	配列番号：	配列
A019409G09 (L11V,A14P,G19R,M53A,T62S, A74S,K83R,V89L,S94G)	147 (532)	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCASAGLLFSRNSAGWYRQAPGKQREFVARIRAGGSINYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCSGWRTEGFEYEWGQGITLVYSS
A019409G09 (L11V,A14P,G19R,M53A,T62S, A74S,K83R,V89L,T97E)	148 (533)	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCASAGLLFSRNSAGWYRQAPGKQREFVARIRAGGSINYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCSGWRTEGFEYEWGQGITLVYSS
A019409G09 (L11V,A14P,G19R,M53A,T62S, A74S,K83R,V89L,T97E)	149 (534)	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCASAGLLFSRNSAGWYRQAPGKQREFVARIRAGGSINYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCSGWRTEGFEYEWGQGITLVYSS
A019409G09 (L11V,A14P,G19R,M53A,T62S, A74S,K83R,V89L,S94G,T97E)	150 (535)	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCASAGLLFSRNSAGWYRQAPGKQREFVARIRAGGSINYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCSGWRTEGFEYEWGQGITLVYSS
A019409G09 (L11V,A14P,G19R,M53Q,T62S, A74S,K83R,V89L,T97E)	151 (536)	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCASAGLLFSRNSAGWYRQAPGKQREFVARIRAGGSINYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCSGWRTEGFEYEWGQGITLVYSS
A019409G09 (L11V,A14P,G19R,M53Q,T62S, A74S,K83R,V89L,S94G,T97E)	152 (537)	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCASAGLLFSRNSAGWYRQAPGKQREFVARIRAGGSINYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCSGWRTEGFEYEWGQGITLVYSS







【 図 1 2 A 】

配列番号	変異	配列
172	なし (参照)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRIFSLPASGNIFNLLTIAW YRQAPGKGRELVATINSGRRTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR QMNSLRPEDTAVYYCQTSGSGSPNFWGQGLTVTVSS
173	CDR1	LPASGNIFNLLTIA
174	CDR2	APGKGRELVATINSGRRTYYADSVKGV
175	CDR3	SGSGSPNF
176	89L + 110K	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRIFSLPASGNIFNLLTIAW YRQAPGKGRELVATINSGRRTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR QMNSLRPEDTAVYYCQTSGSGSPNFWGQGLTVTVSS
177	89L + 110Q	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRIFSLPASGNIFNLLTIAW YRQAPGKGRELVATINSGRRTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR QMNSLRPEDTAVYYCQTSGSGSPNFWGQGLTVTVSS
178	110K	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRIFSLPASGNIFNLLTIAW YRQAPGKGRELVATINSGRRTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR QMNSLRPEDTAVYYCQTSGSGSPNFWGQGLTVTVSS
179	110Q	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRIFSLPASGNIFNLLTIAW YRQAPGKGRELVATINSGRRTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR QMNSLRPEDTAVYYCQTSGSGSPNFWGQGLTVTVSS
180	112K	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRIFSLPASGNIFNLLTIAW YRQAPGKGRELVATINSGRRTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR QMNSLRPEDTAVYYCQTSGSGSPNFWGQGLTVTVSS
181	112Q	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRIFSLPASGNIFNLLTIAW YRQAPGKGRELVATINSGRRTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR QMNSLRPEDTAVYYCQTSGSGSPNFWGQGLTVTVSS
182	89T	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRIFSLPASGNIFNLLTIAW YRQAPGKGRELVATINSGRRTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR QMNSLRPEDTAVYYCQTSGSGSPNFWGQGLTVTVSS
183	11V + 89L	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRIFSLPASGNIFNLLTIAW YRQAPGKGRELVATINSGRRTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR QMNSLRPEDTAVYYCQTSGSGSPNFWGQGLTVTVSS
184	11V + 89L + 110K	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRIFSLPASGNIFNLLTIAW YRQAPGKGRELVATINSGRRTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR QMNSLRPEDTAVYYCQTSGSGSPNFWGQGLTVTVSS
185	11V + 89L + 110Q	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRIFSLPASGNIFNLLTIAW YRQAPGKGRELVATINSGRRTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR QMNSLRPEDTAVYYCQTSGSGSPNFWGQGLTVTVSS
186	11V + 110K	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRIFSLPASGNIFNLLTIAW YRQAPGKGRELVATINSGRRTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR QMNSLRPEDTAVYYCQTSGSGSPNFWGQGLTVTVSS
187	11V + 110Q	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRIFSLPASGNIFNLLTIAW YRQAPGKGRELVATINSGRRTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR QMNSLRPEDTAVYYCQTSGSGSPNFWGQGLTVTVSS
188	11V + 112K	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRIFSLPASGNIFNLLTIAW YRQAPGKGRELVATINSGRRTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR QMNSLRPEDTAVYYCQTSGSGSPNFWGQGLTVTVSS
189	11V + 112Q	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRIFSLPASGNIFNLLTIAW YRQAPGKGRELVATINSGRRTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR QMNSLRPEDTAVYYCQTSGSGSPNFWGQGLTVTVSS

【 図 1 2 B - 1 】

配列番号	変異	配列
190	なし (参照)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRITLSSYAMGWFRQAPGK GREFVARISQGGTAIYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR PEDTAVYYCAKDPSPYYRGSAYLLSGSYDSWGQGLTVTVSS
191	CDR1	SYAMG
192	CDR2	RISQGGTAIYYADSVKGV
193	CDR3	DPSPPYRGSAYLLSGSYDS
194	89L + 110K	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRITLSSYAMGWFRQAPGK GREFVARISQGGTAIYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR PEDTAVYYCAKDPSPYYRGSAYLLSGSYDSWGQGLTVTVSS
195	89L + 110Q	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRITLSSYAMGWFRQAPGK GREFVARISQGGTAIYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR PEDTAVYYCAKDPSPYYRGSAYLLSGSYDSWGQGLTVTVSS
196	110K	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRITLSSYAMGWFRQAPGK GREFVARISQGGTAIYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR PEDTAVYYCAKDPSPYYRGSAYLLSGSYDSWGQGLTVTVSS
197	110Q	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRITLSSYAMGWFRQAPGK GREFVARISQGGTAIYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR PEDTAVYYCAKDPSPYYRGSAYLLSGSYDSWGQGLTVTVSS
198	112K	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRITLSSYAMGWFRQAPGK GREFVARISQGGTAIYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR PEDTAVYYCAKDPSPYYRGSAYLLSGSYDSWGQGLTVTVSS
199	112Q	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRITLSSYAMGWFRQAPGK GREFVARISQGGTAIYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR PEDTAVYYCAKDPSPYYRGSAYLLSGSYDSWGQGLTVTVSS
200	89T	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRITLSSYAMGWFRQAPGK GREFVARISQGGTAIYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR PEDTAVYYCAKDPSPYYRGSAYLLSGSYDSWGQGLTVTVSS
201	11V + 89L	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRITLSSYAMGWFRQAPGK GREFVARISQGGTAIYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR PEDTAVYYCAKDPSPYYRGSAYLLSGSYDSWGQGLTVTVSS
202	11V + 89L + 110K	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRITLSSYAMGWFRQAPGK GREFVARISQGGTAIYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR PEDTAVYYCAKDPSPYYRGSAYLLSGSYDSWGQGLTVTVSS
203	11V + 89L + 110Q	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRITLSSYAMGWFRQAPGK GREFVARISQGGTAIYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR PEDTAVYYCAKDPSPYYRGSAYLLSGSYDSWGQGLTVTVSS
204	11V + 110K	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRITLSSYAMGWFRQAPGK GREFVARISQGGTAIYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR PEDTAVYYCAKDPSPYYRGSAYLLSGSYDSWGQGLTVTVSS

10

20

【 図 1 2 B - 2 】

配列番号	変異	配列
205	11V + 110Q	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRITLSSYAMGWFRQAPGK GREFVARISQGGTAIYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR PEDTAVYYCAKDPSPYYRGSAYLLSGSYDSWGQGLTVTVSS
206	11V + 112K	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRITLSSYAMGWFRQAPGK GREFVARISQGGTAIYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR PEDTAVYYCAKDPSPYYRGSAYLLSGSYDSWGQGLTVTVSS
207	11V + 112Q	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRITLSSYAMGWFRQAPGK GREFVARISQGGTAIYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR PEDTAVYYCAKDPSPYYRGSAYLLSGSYDSWGQGLTVTVSS

【 図 1 3 - 1 】

配列番号	変異	配列
208	なし (参照)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASRSIGRLDRMGWYRHRPGE PRELVAITTGSSINYGDSVKGRFTISIDNSKNTVYLQMNLSLRPE DTAVYYCNFNKYVTSRDTWGQGLTVTVSS
209	CDR1	LDRMG
210	CDR2	ITTGSSINYGDSVKGV
211	CDR3	NKYVTSRDT
212	89L + 110K	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASRSIGRLDRMGWYRHRPGE PRELVAITTGSSINYGDSVKGRFTISIDNSKNTVYLQMNLSLRPE DTALYYCNFNKYVTSRDTWGQGLTVTVSS
213	89L + 110Q	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASRSIGRLDRMGWYRHRPGE PRELVAITTGSSINYGDSVKGRFTISIDNSKNTVYLQMNLSLRPE DTALYYCNFNKYVTSRDTWGQGLTVTVSS
214	110K	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASRSIGRLDRMGWYRHRPGE PRELVAITTGSSINYGDSVKGRFTISIDNSKNTVYLQMNLSLRPE DTAVYYCNFNKYVTSRDTWGQGLTVTVSS
215	110Q	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASRSIGRLDRMGWYRHRPGE PRELVAITTGSSINYGDSVKGRFTISIDNSKNTVYLQMNLSLRPE DTAVYYCNFNKYVTSRDTWGQGLTVTVSS
216	112K	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASRSIGRLDRMGWYRHRPGE PRELVAITTGSSINYGDSVKGRFTISIDNSKNTVYLQMNLSLRPE DTAVYYCNFNKYVTSRDTWGQGLTVTVSS
217	112Q	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASRSIGRLDRMGWYRHRPGE PRELVAITTGSSINYGDSVKGRFTISIDNSKNTVYLQMNLSLRPE DTAVYYCNFNKYVTSRDTWGQGLTVTVSS
218	89T	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASRSIGRLDRMGWYRHRPGE PRELVAITTGSSINYGDSVKGRFTISIDNSKNTVYLQMNLSLRPE DTAVYYCNFNKYVTSRDTWGQGLTVTVSS
219	11V + 89L	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASRSIGRLDRMGWYRHRPGE PRELVAITTGSSINYGDSVKGRFTISIDNSKNTVYLQMNLSLRPE DTALYYCNFNKYVTSRDTWGQGLTVTVSS
220	11V + 89L + 110K	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASRSIGRLDRMGWYRHRPGE PRELVAITTGSSINYGDSVKGRFTISIDNSKNTVYLQMNLSLRPE DTALYYCNFNKYVTSRDTWGQGLTVTVSS
221	11V + 89L + 110Q	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASRSIGRLDRMGWYRHRPGE PRELVAITTGSSINYGDSVKGRFTISIDNSKNTVYLQMNLSLRPE DTALYYCNFNKYVTSRDTWGQGLTVTVSS
222	11V + 110K	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASRSIGRLDRMGWYRHRPGE PRELVAITTGSSINYGDSVKGRFTISIDNSKNTVYLQMNLSLRPE DTAVYYCNFNKYVTSRDTWGQGLTVTVSS

30

40

【 図 1 3 - 2 】

配列番号	変異	配列
223	11V + 110Q	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASRSIGRLDRMGWYRHRPGE PRELVATITGGSSINYGDSVKGRFTISIDNSKNTVYLQMNLSRPE DTAVYYCNFNKYVTSRDTWGQGLTVQVSS
224	11V + 112K	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASRSIGRLDRMGWYRHRPGE PRELVATITGGSSINYGDSVKGRFTISIDNSKNTVYLQMNLSRPE DTAVYYCNFNKYVTSRDTWGQGLTVTVKS
225	11V + 112Q	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASRSIGRLDRMGWYRHRPGE PRELVATITGGSSINYGDSVKGRFTISIDNSKNTVYLQMNLSRPE DTAVYYCNFNKYVTSRDTWGQGLTVTVQS

【 図 1 4 - 1 】

配列番号	変異	配列
226	なし (参照)	DVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGNYDMAWVRQAPG KRPEWVSSIDTGGDITHYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNLSR RPEDTAVYWCATDEEYALGPNEFDYVYGGQGLTVTVSS
227	CDR1	NYDMA
228	CDR2	SIDTGGDITHYADSVK
229	CDR3	DEEYALGPNEFDY
230	89L + 110K	DVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGNYDMAWVRQAPG KRPEWVSSIDTGGDITHYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNLSR RPEDTAVYWCATDEEYALGPNEFDYVYGGQGLTVTVSS
231	89L + 110Q	DVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGNYDMAWVRQAPG KRPEWVSSIDTGGDITHYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNLSR RPEDTAVYWCATDEEYALGPNEFDYVYGGQGLTVTVSS
232	110K	DVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGNYDMAWVRQAPG KRPEWVSSIDTGGDITHYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNLSR RPEDTAVYWCATDEEYALGPNEFDYVYGGQGLTVTVSS
233	110Q	DVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGNYDMAWVRQAPG KRPEWVSSIDTGGDITHYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNLSR RPEDTAVYWCATDEEYALGPNEFDYVYGGQGLTVTVSS
234	112K	DVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGNYDMAWVRQAPG KRPEWVSSIDTGGDITHYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNLSR RPEDTAVYWCATDEEYALGPNEFDYVYGGQGLTVTVKS
235	112Q	DVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGNYDMAWVRQAPG KRPEWVSSIDTGGDITHYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNLSR RPEDTAVYWCATDEEYALGPNEFDYVYGGQGLTVTVQS
236	89T	DVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGNYDMAWVRQAPG KRPEWVSSIDTGGDITHYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNLSR RPEDTAVYWCATDEEYALGPNEFDYVYGGQGLTVTVSS
237	11V + 89L	DVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFGNYDMAWVRQAPG KRPEWVSSIDTGGDITHYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNLSR RPEDTAVYWCATDEEYALGPNEFDYVYGGQGLTVTVSS
238	11V + 89L + 110K	DVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFGNYDMAWVRQAPG KRPEWVSSIDTGGDITHYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNLSR RPEDTAVYWCATDEEYALGPNEFDYVYGGQGLTVTVSS
239	11V + 89L + 110Q	DVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFGNYDMAWVRQAPG KRPEWVSSIDTGGDITHYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNLSR RPEDTAVYWCATDEEYALGPNEFDYVYGGQGLTVTVSS

10

20

【 図 1 4 - 2 】

配列番号	変異	配列
240	11V + 110K	DVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFGNYDMAWVRQAPG KRPEWVSSIDTGGDITHYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNLSR RPEDTAVYWCATDEEYALGPNEFDYVYGGQGLTVTVSS
241	11V + 110Q	DVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFGNYDMAWVRQAPG KRPEWVSSIDTGGDITHYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNLSR RPEDTAVYWCATDEEYALGPNEFDYVYGGQGLTVTVSS
242	11V + 112K	DVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFGNYDMAWVRQAPG KRPEWVSSIDTGGDITHYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNLSR RPEDTAVYWCATDEEYALGPNEFDYVYGGQGLTVTVKS
243	11V + 112Q	DVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFGNYDMAWVRQAPG KRPEWVSSIDTGGDITHYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNLSR RPEDTAVYWCATDEEYALGPNEFDYVYGGQGLTVTVQS

【 図 1 5 A - 1 】

配列番号	変異	配列
244	なし (参照)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGK GLEWVSGIKSSGDSTRYAGSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNLSR PEDTAVYYCAKRSVSRITGLTYDNRGGQGLTVTVSS
245	CDR1	SYAMS
246	CDR2	GIKSSGDSTRYAGSVK
247	CDR3	SRVSRITGLTYTDN
248	89L + 110K	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGK GLEWVSGIKSSGDSTRYAGSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNLSR PEDTAVYYCAKRSVSRITGLTYDNRGGQGLTVTVSS
249	89L + 110Q	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGK GLEWVSGIKSSGDSTRYAGSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNLSR PEDTAVYYCAKRSVSRITGLTYDNRGGQGLTVTVSS
250	110K	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGK GLEWVSGIKSSGDSTRYAGSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNLSR PEDTAVYYCAKRSVSRITGLTYDNRGGQGLTVTVSS
251	110Q	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGK GLEWVSGIKSSGDSTRYAGSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNLSR PEDTAVYYCAKRSVSRITGLTYDNRGGQGLTVTVSS
252	112K	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGK GLEWVSGIKSSGDSTRYAGSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNLSR PEDTAVYYCAKRSVSRITGLTYDNRGGQGLTVTVKS
253	112Q	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGK GLEWVSGIKSSGDSTRYAGSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNLSR PEDTAVYYCAKRSVSRITGLTYDNRGGQGLTVTVQS
254	89T	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGK GLEWVSGIKSSGDSTRYAGSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNLSR PEDTAVYYCAKRSVSRITGLTYDNRGGQGLTVTVSS
255	11V + 89L	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGK GLEWVSGIKSSGDSTRYAGSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNLSR PEDTAVYYCAKRSVSRITGLTYDNRGGQGLTVTVSS
256	11V + 89L + 110K	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGK GLEWVSGIKSSGDSTRYAGSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNLSR PEDTAVYYCAKRSVSRITGLTYDNRGGQGLTVTVSS
257	11V + 89L + 110Q	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGK GLEWVSGIKSSGDSTRYAGSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNLSR PEDTAVYYCAKRSVSRITGLTYDNRGGQGLTVTVSS

30

40

50

【 図 1 5 A - 2 】

配列番号	変異	配列
258	11V + 110K	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGK GLEWVSGIKSSGDSSTRYAGSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR PEDTAVYYCAKSRVSRVTLTYDNRGQGTLLVQVSS
259	11V + 110Q	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGK GLEWVSGIKSSGDSSTRYAGSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR PEDTAVYYCAKSRVSRVTLTYDNRGQGTLLVQVSS
260	11V + 112K	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGK GLEWVSGIKSSGDSSTRYAGSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR PEDTAVYYCAKSRVSRVTLTYDNRGQGTLLVQVSS
261	11V + 112Q	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGK GLEWVSGIKSSGDSSTRYAGSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR PEDTAVYYCAKSRVSRVTLTYDNRGQGTLLVQVSS

【 図 1 5 B - 1 】

配列番号	変異	配列
262	なし (参照)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRFTFNMYAMGWFRQAPG KREFVAAITRSGVRSVSAIYGDSVKDRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRPEDTAVYYCAASAIGSGALRRFEYDYSGGQGLTVQVSS
263	CDR1	NYAMG
264	CDR2	AITRSGVRSVSAIYGDSVKD
265	CDR3	SAIGSGALRRFEYDY
266	89L + 110K	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRFTFNMYAMGWFRQAPG KREFVAAITRSGVRSVSAIYGDSVKDRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRPEDTAVYYCAASAIGSGALRRFEYDYSGGQGLTVQVSS
267	89L + 110Q	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRFTFNMYAMGWFRQAPG KREFVAAITRSGVRSVSAIYGDSVKDRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRPEDTAVYYCAASAIGSGALRRFEYDYSGGQGLTVQVSS
268	110K	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRFTFNMYAMGWFRQAPG KREFVAAITRSGVRSVSAIYGDSVKDRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRPEDTAVYYCAASAIGSGALRRFEYDYSGGQGLTVQVSS
269	110Q	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRFTFNMYAMGWFRQAPG KREFVAAITRSGVRSVSAIYGDSVKDRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRPEDTAVYYCAASAIGSGALRRFEYDYSGGQGLTVQVSS
270	112K	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRFTFNMYAMGWFRQAPG KREFVAAITRSGVRSVSAIYGDSVKDRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRPEDTAVYYCAASAIGSGALRRFEYDYSGGQGLTVQVSS
271	112Q	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRFTFNMYAMGWFRQAPG KREFVAAITRSGVRSVSAIYGDSVKDRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRPEDTAVYYCAASAIGSGALRRFEYDYSGGQGLTVQVSS
272	89T	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRFTFNMYAMGWFRQAPG KREFVAAITRSGVRSVSAIYGDSVKDRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRPEDTAVYYCAASAIGSGALRRFEYDYSGGQGLTVQVSS
273	11V + 89L	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRFTFNMYAMGWFRQAPG KREFVAAITRSGVRSVSAIYGDSVKDRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRPEDTAVYYCAASAIGSGALRRFEYDYSGGQGLTVQVSS
274	11V + 89L + 110K	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRFTFNMYAMGWFRQAPG KREFVAAITRSGVRSVSAIYGDSVKDRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRPEDTAVYYCAASAIGSGALRRFEYDYSGGQGLTVQVSS
275	11V + 89L + 110Q	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRFTFNMYAMGWFRQAPG KREFVAAITRSGVRSVSAIYGDSVKDRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRPEDTAVYYCAASAIGSGALRRFEYDYSGGQGLTVQVSS

10

20

【 図 1 5 B - 2 】

配列番号	変異	配列
276	11V + 110K	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRFTFNMYAMGWFRQAPG KREFVAAITRSGVRSVSAIYGDSVKDRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRPEDTAVYYCAASAIGSGALRRFEYDYSGGQGLTVQVSS
277	11V + 110Q	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRFTFNMYAMGWFRQAPG KREFVAAITRSGVRSVSAIYGDSVKDRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRPEDTAVYYCAASAIGSGALRRFEYDYSGGQGLTVQVSS
278	11V + 112K	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRFTFNMYAMGWFRQAPG KREFVAAITRSGVRSVSAIYGDSVKDRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRPEDTAVYYCAASAIGSGALRRFEYDYSGGQGLTVQVSS
279	11V + 112Q	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRFTFNMYAMGWFRQAPG KREFVAAITRSGVRSVSAIYGDSVKDRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRPEDTAVYYCAASAIGSGALRRFEYDYSGGQGLTVQVSS

【 図 1 6 A - 1 】

配列番号	変異	配列
280	なし (参照)	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIGGLNAMAWYRQAPG KERELVAGIFGVGSTRYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLR PEDTAVYYCRMSSVTRGSSDYWGQGLTVQVSS
281	CDR1	LNAMA
282	CDR2	GIFGVGSTRYADSVK
283	CDR3	SSVTRGSSDY
284	89L + 110K	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIGGLNAMAWYRQAPG KERELVAGIFGVGSTRYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLR PEDTAVYYCRMSSVTRGSSDYWGQGLTVQVSS
285	89L + 110Q	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIGGLNAMAWYRQAPG KERELVAGIFGVGSTRYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLR PEDTAVYYCRMSSVTRGSSDYWGQGLTVQVSS
286	110K	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIGGLNAMAWYRQAPG KERELVAGIFGVGSTRYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLR PEDTAVYYCRMSSVTRGSSDYWGQGLTVQVSS
287	110Q	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIGGLNAMAWYRQAPG KERELVAGIFGVGSTRYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLR PEDTAVYYCRMSSVTRGSSDYWGQGLTVQVSS
288	112K	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIGGLNAMAWYRQAPG KERELVAGIFGVGSTRYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLR PEDTAVYYCRMSSVTRGSSDYWGQGLTVQVSS
289	112Q	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIGGLNAMAWYRQAPG KERELVAGIFGVGSTRYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLR PEDTAVYYCRMSSVTRGSSDYWGQGLTVQVSS
290	89T	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIGGLNAMAWYRQAPG KERELVAGIFGVGSTRYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLR PEDTAVYYCRMSSVTRGSSDYWGQGLTVQVSS
291	11V + 89L	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGIGGLNAMAWYRQAPG KERELVAGIFGVGSTRYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLR PEDTAVYYCRMSSVTRGSSDYWGQGLTVQVSS
292	11V + 89L + 110K	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGIGGLNAMAWYRQAPG KERELVAGIFGVGSTRYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLR PEDTAVYYCRMSSVTRGSSDYWGQGLTVQVSS
293	11V + 89L + 110Q	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGIGGLNAMAWYRQAPG KERELVAGIFGVGSTRYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLR PEDTAVYYCRMSSVTRGSSDYWGQGLTVQVSS

30

40

50

【図 16A - 2】

配列番号	変異	配列
294	11V + 110K	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGIGGLNAMAWYRQAPG KERELVAGIFGVGSTRYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLR PEDTAVYYCRMSSVTRGSSDYWGQGLTVKVS
295	11V + 110Q	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGIGGLNAMAWYRQAPG KERELVAGIFGVGSTRYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLR PEDTAVYYCRMSSVTRGSSDYWGQGLTVQVSS
296	11V + 112K	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGIGGLNAMAWYRQAPG KERELVAGIFGVGSTRYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLR PEDTAVYYCRMSSVTRGSSDYWGQGLTVKVS
297	11V + 112Q	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGIGGLNAMAWYRQAPG KERELVAGIFGVGSTRYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLR PEDTAVYYCRMSSVTRGSSDYWGQGLTVQVS

【図 16B - 1】

配列番号	変異	配列
298	なし (参照)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTYLNNAMGWFRQAPG KREFVAAIDWSEGNKDYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLR LRPDTAVYYCAADTPPWGPLYIESYDSWGQGLTVTVSS
299	CDR1	LNAMG
300	CDR2	AIDWSEGNKDYADSVKVG
301	CDR3	DTPPWGPLYIESYDS
302	89L + 110K	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTYLNNAMGWFRQAPG KREFVAAIDWSEGNKDYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLR LRPDTALYYCAADTPPWGPLYIESYDSWGQGLTVKVS
303	89L + 110Q	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTYLNNAMGWFRQAPG KREFVAAIDWSEGNKDYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLR LRPDTALYYCAADTPPWGPLYIESYDSWGQGLTVQVSS
304	110K	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTYLNNAMGWFRQAPG KREFVAAIDWSEGNKDYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLR LRPDTAVYYCAADTPPWGPLYIESYDSWGQGLTVKVS
305	110Q	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTYLNNAMGWFRQAPG KREFVAAIDWSEGNKDYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLR LRPDTAVYYCAADTPPWGPLYIESYDSWGQGLTVQVSS
306	112K	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTYLNNAMGWFRQAPG KREFVAAIDWSEGNKDYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLR LRPDTAVYYCAADTPPWGPLYIESYDSWGQGLTVKVS
307	112Q	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTYLNNAMGWFRQAPG KREFVAAIDWSEGNKDYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLR LRPDTAVYYCAADTPPWGPLYIESYDSWGQGLTVQVS
308	89T	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTYLNNAMGWFRQAPG KREFVAAIDWSEGNKDYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLR LRPDTATYYCAADTPPWGPLYIESYDSWGQGLTVTVSS
309	11V + 89L	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTYLNNAMGWFRQAPG KREFVAAIDWSEGNKDYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLR LRPDTALYYCAADTPPWGPLYIESYDSWGQGLTVKVS
310	11V + 89L + 110K	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTYLNNAMGWFRQAPG KREFVAAIDWSEGNKDYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLR LRPDTALYYCAADTPPWGPLYIESYDSWGQGLTVKVS
311	11V + 89L + 110Q	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTYLNNAMGWFRQAPG KREFVAAIDWSEGNKDYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLR LRPDTALYYCAADTPPWGPLYIESYDSWGQGLTVQVSS

10

20

【図 16B - 2】

配列番号	変異	配列
312	11V + 110K	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTYLNNAMGWFRQAPG KREFVAAIDWSEGNKDYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLR LRPDTAVYYCAADTPPWGPLYIESYDSWGQGLTVKVS
313	11V + 110Q	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTYLNNAMGWFRQAPG KREFVAAIDWSEGNKDYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLR LRPDTAVYYCAADTPPWGPLYIESYDSWGQGLTVQVSS
314	11V + 112K	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTYLNNAMGWFRQAPG KREFVAAIDWSEGNKDYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLR LRPDTAVYYCAADTPPWGPLYIESYDSWGQGLTVKVS
315	11V + 112Q	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTYLNNAMGWFRQAPG KREFVAAIDWSEGNKDYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLR LRPDTAVYYCAADTPPWGPLYIESYDSWGQGLTVQVS

【図 17A - 1】

配列番号	変異	配列
316	なし (参照)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYWMYVWRQAPG KGLEWVSEINTNGLITKYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR RPEDTAVYYCARSPSGFNRRGGQGLTVTVSS
317	CDR1	DYWMY
318	CDR2	EINTNGLITKYPDSVKVG
319	CDR3	SPSGFN
320	89L + 110K	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYWMYVWRQAPG KGLEWVSEINTNGLITKYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR RPEDTALYYCARSPSGFNRRGGQGLTVQVSS
321	89L + 110Q	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYWMYVWRQAPG KGLEWVSEINTNGLITKYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR RPEDTALYYCARSPSGFNRRGGQGLTVQVS
322	110K	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYWMYVWRQAPG KGLEWVSEINTNGLITKYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR RPEDTAVYYCARSPSGFNRRGGQGLTVKVS
323	110Q	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYWMYVWRQAPG KGLEWVSEINTNGLITKYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR RPEDTAVYYCARSPSGFNRRGGQGLTVQVSS
324	112K	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYWMYVWRQAPG KGLEWVSEINTNGLITKYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR RPEDTAVYYCARSPSGFNRRGGQGLTVKVS
325	112Q	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYWMYVWRQAPG KGLEWVSEINTNGLITKYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR RPEDTAVYYCARSPSGFNRRGGQGLTVQVS
326	89T	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYWMYVWRQAPG KGLEWVSEINTNGLITKYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR RPEDTATYYCARSPSGFNRRGGQGLTVTVSS
327	11V + 89L	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYWMYVWRQAPG KGLEWVSEINTNGLITKYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR RPEDTALYYCARSPSGFNRRGGQGLTVTVSS
328	11V + 89L + 110K	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYWMYVWRQAPG KGLEWVSEINTNGLITKYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR RPEDTALYYCARSPSGFNRRGGQGLTVKVS
329	11V + 89L + 110Q	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYWMYVWRQAPG KGLEWVSEINTNGLITKYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLR RPEDTALYYCARSPSGFNRRGGQGLTVQVSS

30

40

50

【 図 1 7 A - 2 】

配列番号	変異	配列
330	11V + 110K	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYWMYVVRQAPGKGLEWVSEINTNGLITKYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYCARSPSGFNRGQGLTVKVS
331	11V + 110Q	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYWMYVVRQAPGKGLEWVSEINTNGLITKYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYCARSPSGFNRGQGLTVQVSS
332	11V + 112K	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYWMYVVRQAPGKGLEWVSEINTNGLITKYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYCARSPSGFNRGQGLTVKVS
333	11V + 112Q	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYWMYVVRQAPGKGLEWVSEINTNGLITKYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYCARSPSGFNRGQGLTVQVS

【 図 1 7 B - 1 】

配列番号	変異	配列
334	なし (参照)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSTADMGWFRQAPGKGRFVSRISGIDGTTYDEPVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYCRSPRYADQWSAYDYWGQGLTVVSS
335	CDR1	TADMG
336	CDR2	RISGIDGTTYDEPVK
337	CDR3	PRYADQWSAYDY
338	89L + 110K	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSTADMGWFRQAPGKGRFVSRISGIDGTTYDEPVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYCRSPRYADQWSAYDYWGQGLTVVSS
339	89L + 110Q	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSTADMGWFRQAPGKGRFVSRISGIDGTTYDEPVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYCRSPRYADQWSAYDYWGQGLTVVSS
340	110K	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSTADMGWFRQAPGKGRFVSRISGIDGTTYDEPVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYCRSPRYADQWSAYDYWGQGLTVVSS
341	110Q	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSTADMGWFRQAPGKGRFVSRISGIDGTTYDEPVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYCRSPRYADQWSAYDYWGQGLTVVSS
342	112K	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSTADMGWFRQAPGKGRFVSRISGIDGTTYDEPVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYCRSPRYADQWSAYDYWGQGLTVVSS
343	112Q	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSTADMGWFRQAPGKGRFVSRISGIDGTTYDEPVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYCRSPRYADQWSAYDYWGQGLTVVSS
344	89T	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSTADMGWFRQAPGKGRFVSRISGIDGTTYDEPVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYCRSPRYADQWSAYDYWGQGLTVVSS
345	11V + 89L	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCTASGFTFSTADMGWFRQAPGKGRFVSRISGIDGTTYDEPVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYCRSPRYADQWSAYDYWGQGLTVVSS
346	11V + 89L + 110K	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCTASGFTFSTADMGWFRQAPGKGRFVSRISGIDGTTYDEPVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYCRSPRYADQWSAYDYWGQGLTVVSS
347	11V + 89L + 110Q	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCTASGFTFSTADMGWFRQAPGKGRFVSRISGIDGTTYDEPVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYCRSPRYADQWSAYDYWGQGLTVVSS

10

【 図 1 7 B - 2 】

配列番号	変異	配列
348	11V + 110K	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCTASGFTFSTADMGWFRQAPGKGRFVSRISGIDGTTYDEPVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYCRSPRYADQWSAYDYWGQGLTVVSS
349	11V + 110Q	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCTASGFTFSTADMGWFRQAPGKGRFVSRISGIDGTTYDEPVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYCRSPRYADQWSAYDYWGQGLTVQVSS
350	11V + 112K	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCTASGFTFSTADMGWFRQAPGKGRFVSRISGIDGTTYDEPVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYCRSPRYADQWSAYDYWGQGLTVKVS
351	11V + 112Q	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCTASGFTFSTADMGWFRQAPGKGRFVSRISGIDGTTYDEPVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYCRSPRYADQWSAYDYWGQGLTVQVS

【 図 1 8 A - 1 】

配列番号	変異	配列
352	なし (参照)	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFILDYIAGWFRQAPGKEREGVLCIDASDDITYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRPEDTAVYCATPIGLSSSCLLEYYDYWGQGLTVVSS
353	CDR1	YVAIG
354	CDR2	CIDASDDITYYADSVK
355	CDR3	PIGLSSSCLLEYYDY
356	89L + 110K	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFILDYIAGWFRQAPGKEREGVLCIDASDDITYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRPEDTAVYCATPIGLSSSCLLEYYDYWGQGLTVVSS
357	89L + 110Q	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFILDYIAGWFRQAPGKEREGVLCIDASDDITYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRPEDTAVYCATPIGLSSSCLLEYYDYWGQGLTVQVSS
358	110K	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFILDYIAGWFRQAPGKEREGVLCIDASDDITYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRPEDTAVYCATPIGLSSSCLLEYYDYWGQGLTVKVS
359	110Q	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFILDYIAGWFRQAPGKEREGVLCIDASDDITYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRPEDTAVYCATPIGLSSSCLLEYYDYWGQGLTVQVSS
360	112K	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFILDYIAGWFRQAPGKEREGVLCIDASDDITYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRPEDTAVYCATPIGLSSSCLLEYYDYWGQGLTVKVS
361	112Q	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFILDYIAGWFRQAPGKEREGVLCIDASDDITYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRPEDTAVYCATPIGLSSSCLLEYYDYWGQGLTVQVS
362	89T	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFILDYIAGWFRQAPGKEREGVLCIDASDDITYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRPEDTAVYCATPIGLSSSCLLEYYDYWGQGLTVVSS
363	11V + 89L	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFILDYIAGWFRQAPGKEREGVLCIDASDDITYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRPEDTAVYCATPIGLSSSCLLEYYDYWGQGLTVVSS
364	11V + 89L + 110K	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFILDYIAGWFRQAPGKEREGVLCIDASDDITYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRPEDTAVYCATPIGLSSSCLLEYYDYWGQGLTVVSS
365	11V + 89L + 110Q	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFILDYIAGWFRQAPGKEREGVLCIDASDDITYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRPEDTAVYCATPIGLSSSCLLEYYDYWGQGLTVQVSS

20

30

40

50

【 図 1 8 A - 2 】

配列番号	変異	配列
366	11V + 110K	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFLDYAIGWFRQAPGK EREGVSSISSTYGLTYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLR PETAAYYYCAATPIGLSSCLEYDYWGGQGLTVKVS
367	11V + 110Q	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFLDYAIGWFRQAPGK EREGVLCIDASDDITYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLR PETAAYYYCAATPIGLSSCLEYDYWGGQGLTVQVSS
368	11V + 112K	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFLDYAIGWFRQAPGK EREGVLCIDASDDITYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLR PETAAYYYCAATPIGLSSCLEYDYWGGQGLTVKVS
369	11V + 112Q	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFLDYAIGWFRQAPGK EREGVLCIDASDDITYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLR PETAAYYYCAATPIGLSSCLEYDYWGGQGLTVQVSS

【 図 1 8 B - 1 】

配列番号	変異	配列
370	なし (参照)	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAFDDYAIWFRQAPGE EREGVSSISSTYGLTYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLR EDTAYYYCAATPIGLIGLDAEYDYWGGQGLTVTVSS
371	CDR1	DDYAIAG
372	CDR2	SISSTYGLTYADSVK
373	CDR3	TPIGLIGLDAEYDY
374	89L + 110K	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAFDDYAIWFRQAPGE EREGVSSISSTYGLTYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLR EDTAYYYCAATPIGLIGLDAEYDYWGGQGLTVKVS
375	89L + 110Q	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAFDDYAIWFRQAPGE EREGVSSISSTYGLTYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLR EDTAYYYCAATPIGLIGLDAEYDYWGGQGLTVQVSS
376	110K	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAFDDYAIWFRQAPGE EREGVSSISSTYGLTYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLR EDTAYYYCAATPIGLIGLDAEYDYWGGQGLTVKVS
377	110Q	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAFDDYAIWFRQAPGE EREGVSSISSTYGLTYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLR EDTAYYYCAATPIGLIGLDAEYDYWGGQGLTVQVSS
378	112K	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAFDDYAIWFRQAPGE EREGVSSISSTYGLTYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLR EDTAYYYCAATPIGLIGLDAEYDYWGGQGLTVTVKS
379	112Q	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAFDDYAIWFRQAPGE EREGVSSISSTYGLTYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLR EDTAYYYCAATPIGLIGLDAEYDYWGGQGLTVTVQS
380	89T	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAFDDYAIWFRQAPGE EREGVSSISSTYGLTYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLR EDTAYYYCAATPIGLIGLDAEYDYWGGQGLTVTVSS
381	11V + 89L	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFAFDDYAIWFRQAPGE EREGVSSISSTYGLTYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLR EDTAYYYCAATPIGLIGLDAEYDYWGGQGLTVTVSS
382	11V + 89L + 110K	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFAFDDYAIWFRQAPGE EREGVSSISSTYGLTYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLR EDTAYYYCAATPIGLIGLDAEYDYWGGQGLTVKVS
383	11V + 89L + 110Q	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFAFDDYAIWFRQAPGE EREGVSSISSTYGLTYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLR EDTAYYYCAATPIGLIGLDAEYDYWGGQGLTVQVSS

10

20

【 図 1 8 B - 2 】

配列番号	変異	配列
384	11V + 110K	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFAFDDYAIWFRQAPGE EREGVSSISSTYGLTYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLR EDTAYYYCAATPIGLIGLDAEYDYWGGQGLTVKVS
385	11V + 110Q	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFAFDDYAIWFRQAPGE EREGVSSISSTYGLTYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLR EDTAYYYCAATPIGLIGLDAEYDYWGGQGLTVQVSS
386	11V + 112K	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFAFDDYAIWFRQAPGE EREGVSSISSTYGLTYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLR EDTAYYYCAATPIGLIGLDAEYDYWGGQGLTVTVKS
387	11V + 112Q	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFAFDDYAIWFRQAPGE EREGVSSISSTYGLTYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLR EDTAYYYCAATPIGLIGLDAEYDYWGGQGLTVTVQS

【 図 1 9 - 1 】

配列番号	変異	配列
388	なし (参照)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYPMGWFRQAPGK GREFVSSITGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLVLQMNLSLR PETAAYYYCAAIRPDTYLSRDYRKDYWGGQGLTVTVSS
389	CDR1	SYPMG
390	CDR2	SITGSGGSTYYADSVK
391	CDR3	YIRPDTYLSRDYRKDY
392	89L + 110K	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYPMGWFRQAPGK GREFVSSITGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLVLQMNLSLR PETAAYYYCAAIRPDTYLSRDYRKDYWGGQGLTVKVS
393	89L + 110Q	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYPMGWFRQAPGK GREFVSSITGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLVLQMNLSLR PETAAYYYCAAIRPDTYLSRDYRKDYWGGQGLTVQVSS
394	110K	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYPMGWFRQAPGK GREFVSSITGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLVLQMNLSLR PETAAYYYCAAIRPDTYLSRDYRKDYWGGQGLTVKVS
395	110Q	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYPMGWFRQAPGK GREFVSSITGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLVLQMNLSLR PETAAYYYCAAIRPDTYLSRDYRKDYWGGQGLTVQVSS
396	112K	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYPMGWFRQAPGK GREFVSSITGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLVLQMNLSLR PETAAYYYCAAIRPDTYLSRDYRKDYWGGQGLTVTVKS
397	112Q	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYPMGWFRQAPGK GREFVSSITGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLVLQMNLSLR PETAAYYYCAAIRPDTYLSRDYRKDYWGGQGLTVTVQS
398	89T	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYPMGWFRQAPGK GREFVSSITGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLVLQMNLSLR PETAAYYYCAAIRPDTYLSRDYRKDYWGGQGLTVTVSS
399	11V + 89L	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTSSYPMGWFRQAPGK GREFVSSITGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLVLQMNLSLR PETAAYYYCAAIRPDTYLSRDYRKDYWGGQGLTVTVSS
400	11V + 89L + 110K	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTSSYPMGWFRQAPGK GREFVSSITGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLVLQMNLSLR PETAAYYYCAAIRPDTYLSRDYRKDYWGGQGLTVKVS
401	11V + 89L + 110Q	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTSSYPMGWFRQAPGK GREFVSSITGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLVLQMNLSLR PETAAYYYCAAIRPDTYLSRDYRKDYWGGQGLTVQVSS

30

40

50



【 図 1 9 - 2 】

配列番号	変異	配列
402	11V + 110K	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSYPMGWFRQAPGK GREFVSSITGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR PEDTAVYYCAAIRPDTYLSRDYRKDYDWGQGLTVQVSS
403	11V + 110Q	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSYPMGWFRQAPGK GREFVSSITGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR PEDTAVYYCAAIRPDTYLSRDYRKDYDWGQGLTVQVSS
404	11V + 112K	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSYPMGWFRQAPGK GREFVSSITGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR PEDTAVYYCAAIRPDTYLSRDYRKDYDWGQGLTVQVSS
405	11V + 112Q	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSYPMGWFRQAPGK GREFVSSITGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR PEDTAVYYCAAIRPDTYLSRDYRKDYDWGQGLTVQVSS

【 図 2 0 A - 1 】

配列番号	変異	配列
406	なし (参照)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRISCAASGSIYLYNYMGWYRQAPGKQ RELVAITLTSGGSTNYAGSVKGRFAISRDNKNTVYLQMNLSLK EDTAVYYCNIIGGTLYDRRRFESWGQGLTVQVSS
407	CDR1	INVMG
408	CDR2	TLTSGGSTNYAGSVK
409	CDR3	GGTLYDRRRFES
410	89L + 110K	EVQLVESGGGLVQPGGSLRISCAASGSIYLYNYMGWYRQAPGKQ RELVAITLTSGGSTNYAGSVKGRFAISRDNKNTVYLQMNLSLK EDTAVYYCNIIGGTLYDRRRFESWGQGLTVQVSS
411	89L + 110Q	EVQLVESGGGLVQPGGSLRISCAASGSIYLYNYMGWYRQAPGKQ RELVAITLTSGGSTNYAGSVKGRFAISRDNKNTVYLQMNLSLK EDTAVYYCNIIGGTLYDRRRFESWGQGLTVQVSS
412	110K	EVQLVESGGGLVQPGGSLRISCAASGSIYLYNYMGWYRQAPGKQ RELVAITLTSGGSTNYAGSVKGRFAISRDNKNTVYLQMNLSLK EDTAVYYCNIIGGTLYDRRRFESWGQGLTVQVSS
413	110Q	EVQLVESGGGLVQPGGSLRISCAASGSIYLYNYMGWYRQAPGKQ RELVAITLTSGGSTNYAGSVKGRFAISRDNKNTVYLQMNLSLK EDTAVYYCNIIGGTLYDRRRFESWGQGLTVQVSS
414	112K	EVQLVESGGGLVQPGGSLRISCAASGSIYLYNYMGWYRQAPGKQ RELVAITLTSGGSTNYAGSVKGRFAISRDNKNTVYLQMNLSLK EDTAVYYCNIIGGTLYDRRRFESWGQGLTVQVSS
415	112Q	EVQLVESGGGLVQPGGSLRISCAASGSIYLYNYMGWYRQAPGKQ RELVAITLTSGGSTNYAGSVKGRFAISRDNKNTVYLQMNLSLK EDTAVYYCNIIGGTLYDRRRFESWGQGLTVQVSS
416	89T	EVQLVESGGGLVQPGGSLRISCAASGSIYLYNYMGWYRQAPGKQ RELVAITLTSGGSTNYAGSVKGRFAISRDNKNTVYLQMNLSLK EDTAVYYCNIIGGTLYDRRRFESWGQGLTVQVSS
417	11V + 89L	EVQLVESGGGVVQPGGSLRISCAASGSIYLYNYMGWYRQAPGK QRELVAITLTSGGSTNYAGSVKGRFAISRDNKNTVYLQMNLSLK PEDTALYYCNIIGGTLYDRRRFESWGQGLTVQVSS
418	11V + 89L + 110K	EVQLVESGGGVVQPGGSLRISCAASGSIYLYNYMGWYRQAPGK QRELVAITLTSGGSTNYAGSVKGRFAISRDNKNTVYLQMNLSLK PEDTALYYCNIIGGTLYDRRRFESWGQGLTVQVSS
419	11V + 89L + 110Q	EVQLVESGGGVVQPGGSLRISCAASGSIYLYNYMGWYRQAPGK QRELVAITLTSGGSTNYAGSVKGRFAISRDNKNTVYLQMNLSLK PEDTALYYCNIIGGTLYDRRRFESWGQGLTVQVSS

10

【 図 2 0 A - 2 】

配列番号	変異	配列
420	11V + 110K	EVQLVESGGGVVQPGGSLRISCAASGSIYLYNYMGWYRQAPGK QRELVAITLTSGGSTNYAGSVKGRFAISRDNKNTVYLQMNLSLK PEDTAVYYCNIIGGTLYDRRRFESWGQGLTVQVSS
421	11V + 110Q	EVQLVESGGGVVQPGGSLRISCAASGSIYLYNYMGWYRQAPGK QRELVAITLTSGGSTNYAGSVKGRFAISRDNKNTVYLQMNLSLK PEDTAVYYCNIIGGTLYDRRRFESWGQGLTVQVSS
422	11V + 112K	EVQLVESGGGVVQPGGSLRISCAASGSIYLYNYMGWYRQAPGK QRELVAITLTSGGSTNYAGSVKGRFAISRDNKNTVYLQMNLSLK PEDTAVYYCNIIGGTLYDRRRFESWGQGLTVQVSS
423	11V + 112Q	EVQLVESGGGVVQPGGSLRISCAASGSIYLYNYMGWYRQAPGK QRELVAITLTSGGSTNYAGSVKGRFAISRDNKNTVYLQMNLSLK PEDTAVYYCNIIGGTLYDRRRFESWGQGLTVQVSS

【 図 2 0 B - 1 】

配列番号	変異	配列
424	なし (参照)	EVQLVESGGGLVQTGASLRISCAASGRFTSNYAMGWFRQAPGK ERERVAAITPRAFTYYADSVKGRFTISRDNKNTA YLQMVSLK PEDTAVYYCAAQLVSGSGLGRQESYAYWGQGLTVQVSS
425	CDR1	NYAMG
426	CDR2	AITPRAFTYYADSVK
427	CDR3	QLVSGSGLGRQESYAY
428	89L + 110K	EVQLVESGGGLVQTGASLRISCAASGRFTSNYAMGWFRQAPGK ERERVAAITPRAFTYYADSVKGRFTISRDNKNTA YLQMVSLK PEDTAVYYCAAQLVSGSGLGRQESYAYWGQGLTVQVSS
429	89L + 110Q	EVQLVESGGGLVQTGASLRISCAASGRFTSNYAMGWFRQAPGK ERERVAAITPRAFTYYADSVKGRFTISRDNKNTA YLQMVSLK PEDTAVYYCAAQLVSGSGLGRQESYAYWGQGLTVQVSS
430	110K	EVQLVESGGGLVQTGASLRISCAASGRFTSNYAMGWFRQAPGK ERERVAAITPRAFTYYADSVKGRFTISRDNKNTA YLQMVSLK PEDTAVYYCAAQLVSGSGLGRQESYAYWGQGLTVQVSS
431	110Q	EVQLVESGGGLVQTGASLRISCAASGRFTSNYAMGWFRQAPGK ERERVAAITPRAFTYYADSVKGRFTISRDNKNTA YLQMVSLK PEDTAVYYCAAQLVSGSGLGRQESYAYWGQGLTVQVSS
432	112K	EVQLVESGGGLVQTGASLRISCAASGRFTSNYAMGWFRQAPGK ERERVAAITPRAFTYYADSVKGRFTISRDNKNTA YLQMVSLK PEDTAVYYCAAQLVSGSGLGRQESYAYWGQGLTVQVSS
433	112Q	EVQLVESGGGLVQTGASLRISCAASGRFTSNYAMGWFRQAPGK ERERVAAITPRAFTYYADSVKGRFTISRDNKNTA YLQMVSLK PEDTAVYYCAAQLVSGSGLGRQESYAYWGQGLTVQVSS
434	89T	EVQLVESGGGLVQTGASLRISCAASGRFTSNYAMGWFRQAPGK ERERVAAITPRAFTYYADSVKGRFTISRDNKNTA YLQMVSLK PEDTAVYYCAAQLVSGSGLGRQESYAYWGQGLTVQVSS
435	11V + 89L	EVQLVESGGGVVQTGASLRISCAASGRFTSNYAMGWFRQAPG KERERVAAITPRAFTYYADSVKGRFTISRDNKNTA YLQMVSL KPEDTALYYCAAQLVSGSGLGRQESYAYWGQGLTVQVSS
436	11V + 89L + 110K	EVQLVESGGGVVQTGASLRISCAASGRFTSNYAMGWFRQAPG KERERVAAITPRAFTYYADSVKGRFTISRDNKNTA YLQMVSL KPEDTALYYCAAQLVSGSGLGRQESYAYWGQGLTVQVSS
437	11V + 89L + 110Q	EVQLVESGGGVVQTGASLRISCAASGRFTSNYAMGWFRQAPG KERERVAAITPRAFTYYADSVKGRFTISRDNKNTA YLQMVSL KPEDTALYYCAAQLVSGSGLGRQESYAYWGQGLTVQVSS

20

30

40

50

【 図 2 0 B - 2 】

配列番号	変異	配列
438	11V + 110K	EVQLVESGGGVVQTGASLRLSCAASGRFTFSNYAMGWFRQAPGKERERVAAITPRAFTTYYADSVKGRFTISRDNKNTAYLQMNSLKPEDTAVYYCAQLVGSNSLGRQESYAYWGQGLTVKVS
439	11V + 110Q	EVQLVESGGGVVQTGASLRLSCAASGRFTFSNYAMGWFRQAPGKERERVAAITPRAFTTYYADSVKGRFTISRDNKNTAYLQMNSLKPEDTAVYYCAQLVGSNSLGRQESYAYWGQGLTVQVSS
440	11V + 112K	EVQLVESGGGVVQTGASLRLSCAASGRFTFSNYAMGWFRQAPGKERERVAAITPRAFTTYYADSVKGRFTISRDNKNTAYLQMNSLKPEDTAVYYCAQLVGSNSLGRQESYAYWGQGLTVKVS
441	11V + 112Q	EVQLVESGGGVVQTGASLRLSCAASGRFTFSNYAMGWFRQAPGKERERVAAITPRAFTTYYADSVKGRFTISRDNKNTAYLQMNSLKPEDTAVYYCAQLVGSNSLGRQESYAYWGQGLTVQVS

【 図 2 0 C - 1 】

配列番号	変異	配列
442	なし (参照)	EVQLVESGGGLVQAGESLTLSCAASGRFTLSAYIMGWFRQAPGKEREFVAGIWSGGYTHLADSAKGRFSISRDNKNTVYLMNGLKPEDTAVYYCAAGLRGRQYSNWGGQGLTVVSS
443	CDR1	AYIMG
444	CDR2	GIWSGGYTHLADSAK
445	CDR3	GIWSGGYTHLADSAK
446	89L + 110K	EVQLVESGGGLVQAGESLTLSCAASGRFTLSAYIMGWFRQAPGKEREFVAGIWSGGYTHLADSAKGRFSISRDNKNTVYLMNGLKPEDTAVYYCAAGLRGRQYSNWGGQGLTVKVS
447	89L + 110Q	EVQLVESGGGLVQAGESLTLSCAASGRFTLSAYIMGWFRQAPGKEREFVAGIWSGGYTHLADSAKGRFSISRDNKNTVYLMNGLKPEDTAVYYCAAGLRGRQYSNWGGQGLTVQVSS
448	110K	EVQLVESGGGLVQAGESLTLSCAASGRFTLSAYIMGWFRQAPGKEREFVAGIWSGGYTHLADSAKGRFSISRDNKNTVYLMNGLKPEDTAVYYCAAGLRGRQYSNWGGQGLTVKVS
449	110Q	EVQLVESGGGLVQAGESLTLSCAASGRFTLSAYIMGWFRQAPGKEREFVAGIWSGGYTHLADSAKGRFSISRDNKNTVYLMNGLKPEDTAVYYCAAGLRGRQYSNWGGQGLTVQVSS
450	112K	EVQLVESGGGLVQAGESLTLSCAASGRFTLSAYIMGWFRQAPGKEREFVAGIWSGGYTHLADSAKGRFSISRDNKNTVYLMNGLKPEDTAVYYCAAGLRGRQYSNWGGQGLTVKVS
451	112Q	EVQLVESGGGLVQAGESLTLSCAASGRFTLSAYIMGWFRQAPGKEREFVAGIWSGGYTHLADSAKGRFSISRDNKNTVYLMNGLKPEDTAVYYCAAGLRGRQYSNWGGQGLTVVSS
452	89T	EVQLVESGGGLVQAGESLTLSCAASGRFTLSAYIMGWFRQAPGKEREFVAGIWSGGYTHLADSAKGRFSISRDNKNTVYLMNGLKPEDTAVYYCAAGLRGRQYSNWGGQGLTVVSS
453	11V + 89L	EVQLVESGGGVVQAGESLTLSCAASGRFTLSAYIMGWFRQAPGKEREFVAGIWSGGYTHLADSAKGRFSISRDNKNTVYLMNGLKPEDTAVYYCAAGLRGRQYSNWGGQGLTVVSS
454	11V + 89L + 110K	EVQLVESGGGVVQAGESLTLSCAASGRFTLSAYIMGWFRQAPGKEREFVAGIWSGGYTHLADSAKGRFSISRDNKNTVYLMNGLKPEDTAVYYCAAGLRGRQYSNWGGQGLTVKVS
455	11V + 89L + 110Q	EVQLVESGGGVVQAGESLTLSCAASGRFTLSAYIMGWFRQAPGKEREFVAGIWSGGYTHLADSAKGRFSISRDNKNTVYLMNGLKPEDTAVYYCAAGLRGRQYSNWGGQGLTVQVSS

10

【 図 2 0 C - 2 】

配列番号	変異	配列
456	11V + 110K	EVQLVESGGGVVQAGESLTLSCAASGRFTLSAYIMGWFRQAPGKEREFVAGIWSGGYTHLADSAKGRFSISRDNKNTVYLMNGLKPEDTAVYYCAAGLRGRQYSNWGGQGLTVKVS
457	11V + 110Q	EVQLVESGGGVVQAGESLTLSCAASGRFTLSAYIMGWFRQAPGKEREFVAGIWSGGYTHLADSAKGRFSISRDNKNTVYLMNGLKPEDTAVYYCAAGLRGRQYSNWGGQGLTVQVSS
458	11V + 112K	EVQLVESGGGVVQAGESLTLSCAASGRFTLSAYIMGWFRQAPGKEREFVAGIWSGGYTHLADSAKGRFSISRDNKNTVYLMNGLKPEDTAVYYCAAGLRGRQYSNWGGQGLTVKVS
459	11V + 112Q	EVQLVESGGGVVQAGESLTLSCAASGRFTLSAYIMGWFRQAPGKEREFVAGIWSGGYTHLADSAKGRFSISRDNKNTVYLMNGLKPEDTAVYYCAAGLRGRQYSNWGGQGLTVQVS

【 図 2 1 A - 1 】

配列番号	変異	配列
460	リード	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCVHSPTFRFTDTMGWFRQAPGKEREFVAAVTWNSGRINYADSVKGRFTISRDNKNTAYLQMNSLRPEDTAVYYCAAHRFVVGGRNVEDWRYWGQGLTVVSS
461	CDR1	TDTMG
462	CDR2	AVTWNSGRINYADSVK
463	CDR3	HRFVVGGRNVEDWRY
464	89L + 110K	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCVHSPTFRFTDTMGWFRQAPGKEREFVAAVTWNSGRINYADSVKGRFTISRDNKNTAYLQMNSLRPEDTAVYYCAAHRFVVGGRNVEDWRYWGQGLTVQVSS
465	89L + 110Q	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCVHSPTFRFTDTMGWFRQAPGKEREFVAAVTWNSGRINYADSVKGRFTISRDNKNTAYLQMNSLRPEDTAVYYCAAHRFVVGGRNVEDWRYWGQGLTVQVSS
466	110K	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCVHSPTFRFTDTMGWFRQAPGKEREFVAAVTWNSGRINYADSVKGRFTISRDNKNTAYLQMNSLRPEDTAVYYCAAHRFVVGGRNVEDWRYWGQGLTVKVS
467	110Q	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCVHSPTFRFTDTMGWFRQAPGKEREFVAAVTWNSGRINYADSVKGRFTISRDNKNTAYLQMNSLRPEDTAVYYCAAHRFVVGGRNVEDWRYWGQGLTVQVSS
468	112K	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCVHSPTFRFTDTMGWFRQAPGKEREFVAAVTWNSGRINYADSVKGRFTISRDNKNTAYLQMNSLRPEDTAVYYCAAHRFVVGGRNVEDWRYWGQGLTVKVS
469	112Q	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCVHSPTFRFTDTMGWFRQAPGKEREFVAAVTWNSGRINYADSVKGRFTISRDNKNTAYLQMNSLRPEDTAVYYCAAHRFVVGGRNVEDWRYWGQGLTVQVS
470	89T	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCVHSPTFRFTDTMGWFRQAPGKEREFVAAVTWNSGRINYADSVKGRFTISRDNKNTAYLQMNSLRPEDTAVYYCAAHRFVVGGRNVEDWRYWGQGLTVVSS
471	11V + 89L	EVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCVHSPTFRFTDTMGWFRQAPGKEREFVAAVTWNSGRINYADSVKGRFTISRDNKNTAYLQMNSLRPEDTAVYYCAAHRFVVGGRNVEDWRYWGQGLTVVSS
472	11V + 89L + 110K	EVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCVHSPTFRFTDTMGWFRQAPGKEREFVAAVTWNSGRINYADSVKGRFTISRDNKNTAYLQMNSLRPEDTAVYYCAAHRFVVGGRNVEDWRYWGQGLTVKVS
473	11V + 89L + 110Q	EVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCVHSPTFRFTDTMGWFRQAPGKEREFVAAVTWNSGRINYADSVKGRFTISRDNKNTAYLQMNSLRPEDTAVYYCAAHRFVVGGRNVEDWRYWGQGLTVQVSS

20

30

40

50

【 図 2 1 A - 2 】

配列番号	変異	配列
474	11V + 110K	EVQLLESGGGVVPQGGSLRLSCVHSGPTFRDTMGWFRQAPGK GREFVAAVTWNSGRINYADSVKGRFTISRDNKNTAYLQMNSL RPEDTAVYYCAAHRFVVGGRVEDWRYWGQGLTVKVS
475	11V + 110Q	EVQLLESGGGVVPQGGSLRLSCVHSGPTFRDTMGWFRQAPGK GREFVAAVTWNSGRINYADSVKGRFTISRDNKNTAYLQMNSL RPEDTAVYYCAAHRFVVGGRVEDWRYWGQGLTVQVSS
476	11V + 112K	EVQLLESGGGVVPQGGSLRLSCVHSGPTFRDTMGWFRQAPGK GREFVAAVTWNSGRINYADSVKGRFTISRDNKNTAYLQMNSL RPEDTAVYYCAAHRFVVGGRVEDWRYWGQGLTVKVS
477	11V + 112Q	EVQLLESGGGVVPQGGSLRLSCVHSGPTFRDTMGWFRQAPGK GREFVAAVTWNSGRINYADSVKGRFTISRDNKNTAYLQMNSL RPEDTAVYYCAAHRFVVGGRVEDWRYWGQGLTVQVS

【 図 2 1 B - 1 】

配列番号	変異	配列
478	リード	EVQLLESGGGVVPQGGSLRLSCAASGRFTFNINMGMWFRQAPGK GREFVAAVSRSGVSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSL RPEDTAVYYCAAAAYRGTAINVRRSYSSWGQGLTVTVSS
479	CDR1	NYNMG
480	CDR2	AVSRSGVSTYYADSVK
481	CDR3	AYRGTAINVRRSYSS
482	89L + 110K	EVQLLESGGGVVPQGGSLRLSCAASGRFTFNINMGMWFRQAPGK GREFVAAVSRSGVSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSL RPEDTAVYYCAAAAYRGTAINVRRSYSSWGQGLTVKVS
483	89L + 110Q	EVQLLESGGGVVPQGGSLRLSCAASGRFTFNINMGMWFRQAPGK GREFVAAVSRSGVSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSL RPEDTAVYYCAAAAYRGTAINVRRSYSSWGQGLTVQVSS
484	110K	EVQLLESGGGVVPQGGSLRLSCAASGRFTFNINMGMWFRQAPGK GREFVAAVSRSGVSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSL RPEDTAVYYCAAAAYRGTAINVRRSYSSWGQGLTVKVS
485	110Q	EVQLLESGGGVVPQGGSLRLSCAASGRFTFNINMGMWFRQAPGK GREFVAAVSRSGVSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSL RPEDTAVYYCAAAAYRGTAINVRRSYSSWGQGLTVQVSS
486	112K	EVQLLESGGGVVPQGGSLRLSCAASGRFTFNINMGMWFRQAPGK GREFVAAVSRSGVSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSL RPEDTAVYYCAAAAYRGTAINVRRSYSSWGQGLTVKVS
487	112Q	EVQLLESGGGVVPQGGSLRLSCAASGRFTFNINMGMWFRQAPGK GREFVAAVSRSGVSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSL RPEDTAVYYCAAAAYRGTAINVRRSYSSWGQGLTVQVS
488	89T	EVQLLESGGGVVPQGGSLRLSCAASGRFTFNINMGMWFRQAPGK GREFVAAVSRSGVSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSL RPEDTAVYYCAAAAYRGTAINVRRSYSSWGQGLTVTVSS
489	11V + 89L	EVQLLESGGGVVPQGGSLRLSCAASGRFTFNINMGMWFRQAPGK GREFVAAVSRSGVSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMN LRPDTALYYCAAAAYRGTAINVRRSYSSWGQGLTVTVSS
490	11V + 89L + 110K	EVQLLESGGGVVPQGGSLRLSCAASGRFTFNINMGMWFRQAPGK GREFVAAVSRSGVSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMN LRPDTALYYCAAAAYRGTAINVRRSYSSWGQGLTVKVS
491	11V + 89L + 110Q	EVQLLESGGGVVPQGGSLRLSCAASGRFTFNINMGMWFRQAPGK GREFVAAVSRSGVSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMN LRPDTALYYCAAAAYRGTAINVRRSYSSWGQGLTVQVSS

10

20

【 図 2 1 B - 2 】

配列番号	変異	配列
492	11V + 110K	EVQLLESGGGVVPQGGSLRLSCAASGRFTFNINMGMWFRQAPGK KREFVAAVSRSGVSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMN LRPDTAVYYCAAAAYRGTAINVRRSYSSWGQGLTVKVS
493	11V + 110Q	EVQLLESGGGVVPQGGSLRLSCAASGRFTFNINMGMWFRQAPGK KREFVAAVSRSGVSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMN LRPDTAVYYCAAAAYRGTAINVRRSYSSWGQGLTVQVSS
494	11V + 112K	EVQLLESGGGVVPQGGSLRLSCAASGRFTFNINMGMWFRQAPGK KREFVAAVSRSGVSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMN LRPDTAVYYCAAAAYRGTAINVRRSYSSWGQGLTVKVS
495	11V + 112Q	EVQLLESGGGVVPQGGSLRLSCAASGRFTFNINMGMWFRQAPGK KREFVAAVSRSGVSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMN LRPDTAVYYCAAAAYRGTAINVRRSYSSWGQGLTVQVS

【 図 2 2 - 1 】

配列番号	配列
514	EVQLLESGGGVVPQGGSLRLSCAASGRIFSLPASGNIFNLLTIAWYRQAPGK GREL VATINSGRSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLRPDTALYYCQTS SGSGSP NFWGQGLTVTVSSGGGGGGGGSEVQLVESGGGLVQPGNLSRLSCAASGFT FSSFG MSWVRQAPGKLEWVSSISGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTLTL YLMNLSRPE DTAVYYCTIGGSLRSSSQGLTVTVSSGGGGGGGGSEVQLLESGGGV VPQGGSLRLSCAASGRITLSSYAMGWFRQAPGK GREFVARISQGGTAIYADSVKGRFTISRDNK NTLYLQMNLSR PEDTALYYCAKDPSPYYRGSAYLLSGSYDSWGQGLTVTVSSA
515	EVQLLESGGGVVPQGGSLRLSCAASGRIFSLPASGNIFNLLTIAWYRQAPGK GREL VATINSGRSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLRPDTALYYCQTS SGSGSP NFWGQGLTVTVSSGGGGGGGGSEVQLVESGGGLVQPGNLSRLSCAASGFT FSSFG MSWVRQAPGKLEWVSSISGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTLTL YLMNLSRPE DTAVYYCTIGGSLRSSSQGLTVTVSSGGGGGGGGSEVQLLESGGGV VPQGGSLRLSCAASGRITLSSYAMGWFRQAPGK GREFVARISQGGTAIYADSVKGRFTISRDNK NTLYLQMNLSR PEDTALYYCAKDPSPYYRGSAYLLSGSYDSWGQGLTVTVSSA
516	EVQLLESGGGVVPQGGSLRLSCAASGRIFSLPASGNIFNLLTIAWYRQAPGK GREL VATINSGRSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLRPDTALYYCQTS SGSGSP NFWGQGLTVTVSSGGGGGGGGSEVQLVESGGGLVQPGNLSRLSCAASGFT FSSFG MSWVRQAPGKLEWVSSISGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTLTL YLMNLSRPE DTAVYYCTIGGSLRSSSQGLTVTVSSGGGGGGGGSEVQLLESGGGV VPQGGSLRLSCAASGRITLSSYAMGWFRQAPGK GREFVARISQGGTAIYADSVKGRFTISRDNK NTLYLQMNLSR PEDTALYYCAKDPSPYYRGSAYLLSGSYDSWGQGLTVQVSSA
517	EVQLLESGGGVVPQGGSLRLSCAASGRIFSLPASGNIFNLLTIAWYRQAPGK GREL VATINSGRSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLRPDTALYYCQTS SGSGSP NFWGQGLTVTVSSGGGGGGGGSEVQLVESGGGLVQPGNLSRLSCAASGFT FSSFG MSWVRQAPGKLEWVSSISGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTLTL YLMNLSRPE DTALYYCTIGGSLRSSSQGLTVTVSSGGGGGGGGSEVQLLESGGGV VPQGGSLRLSCAASGRITLSSYAMGWFRQAPGK GREFVARISQGGTAIYADSVKGRFTISRDNK NTLYLQMNLSR PEDTALYYCAKDPSPYYRGSAYLLSGSYDSWGQGLTVTVSSA
518	EVQLLESGGGVVPQGGSLRLSCAASGRIFSLPASGNIFNLLTIAWYRQAPGK GREL VATINSGRSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLRPDTALYYCQTS SGSGSP NFWGQGLTVTVSSGGGGGGGGSEVQLVESGGGLVQPGNLSRLSCAASGFT FSSFG MSWVRQAPGKLEWVSSISGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTLTL YLMNLSRPE DTALYYCTIGGSLRSSSQGLTVTVSSGGGGGGGGSEVQLLESGGGV VPQGGSLRLSCAASGRITLSSYAMGWFRQAPGK GREFVARISQGGTAIYADSVKGRFTISRDNK NTLYLQMNLSR PEDTALYYCAKDPSPYYRGSAYLLSGSYDSWGQGLTVKVS
519	EVQLLESGGGVVPQGGSLRLSCAASGRIFSLPASGNIFNLLTIAWYRQAPGK GREL VATINSGRSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLRPDTALYYCQTS SGSGSP NFWGQGLTVTVSSGGGGGGGGSEVQLVESGGGLVQPGNLSRLSCAASGFT FSSFG MSWVRQAPGKLEWVSSISGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTLTL YLMNLSRPE DTALYYCTIGGSLRSSSQGLTVTVSSGGGGGGGGSEVQLLESGGGV VPQGGSLRLSCAASGRITLSSYAMGWFRQAPGK GREFVARISQGGTAIYADSVKGRFTISRDNK NTLYLQMNLSR PEDTALYYCAKDPSPYYRGSAYLLSGSYDSWGQGLTVQVSSA

30

40

50





【 図 2 3 - 4 】

配列番号	配列
565	EVQLVESGGGVVQPQGSRLRSCAASRSIGRLDRMGWYRHRPGEPRELVAITITGSSINYGDSVKGRFTISIDNSKNTVYQMNLSRPEDTALYYCNFNKYVTSRDTWGQGLTVKVS... (repeated text)
566	EVQLVESGGGVVQPQGSRLRSCAASRSIGRLDRMGWYRHRPGEPRELVAITITGSSINYGDSVKGRFTISIDNSKNTVYQMNLSRPEDTALYYCNFNKYVTSRDTWGQGLTVKVS... (repeated text)
567	EVQLVESGGGVVQPQGSRLRSCAASRSIGRLDRMGWYRHRPGEPRELVAITITGSSINYGDSVKGRFTISIDNSKNTVYQMNLSRPEDTALYYCNFNKYVTSRDTWGQGLTVKVS... (repeated text)
568	EVQLVESGGGVVQPQGSRLRSCAASRSIGRLDRMGWYRHRPGEPRELVAITITGSSINYGDSVKGRFTISIDNSKNTVYQMNLSRPEDTALYYCNFNKYVTSRDTWGQGLTVKVS... (repeated text)
569	EVQLVESGGGVVQPQGSRLRSCAASRSIGRLDRMGWYRHRPGEPRELVAITITGSSINYGDSVKGRFTISIDNSKNTVYQMNLSRPEDTALYYCNFNKYVTSRDTWGQGLTVKVS... (repeated text)

【 図 2 3 - 5 】

配列番号	配列
570	EVQLVESGGGVVQPQGSRLRSCAASRSIGRLDRMGWYRHRPGEPRELVAITITGSSINYGDSVKGRFTISIDNSKNTVYQMNLSRPEDTALYYCNFNKYVTSRDTWGQGLTVKVS... (repeated text)
571	EVQLVESGGGVVQPQGSRLRSCAASRSIGRLDRMGWYRHRPGEPRELVAITITGSSINYGDSVKGRFTISIDNSKNTVYQMNLSRPEDTALYYCNFNKYVTSRDTWGQGLTVKVS... (repeated text)
572	EVQLVESGGGVVQPQGSRLRSCAASRSIGRLDRMGWYRHRPGEPRELVAITITGSSINYGDSVKGRFTISIDNSKNTVYQMNLSRPEDTALYYCNFNKYVTSRDTWGQGLTVKVS... (repeated text)
573	EVQLVESGGGVVQPQGSRLRSCAASRSIGRLDRMGWYRHRPGEPRELVAITITGSSINYGDSVKGRFTISIDNSKNTVYQMNLSRPEDTALYYCNFNKYVTSRDTWGQGLTVKVS... (repeated text)
574	EVQLVESGGGVVQPQGSRLRSCAASRSIGRLDRMGWYRHRPGEPRELVAITITGSSINYGDSVKGRFTISIDNSKNTVYQMNLSRPEDTALYYCNFNKYVTSRDTWGQGLTVKVS... (repeated text)

10

20

【 図 2 3 - 6 】

配列番号	配列
575	EVQLVESGGGVVQPQGSRLRSCAASRSIGRLDRMGWYRHRPGEPRELVAITITGSSINYGDSVKGRFTISIDNSKNTVYQMNLSRPEDTALYYCNFNKYVTSRDTWGQGLTVKVS... (repeated text)
576	EVQLVESGGGVVQPQGSRLRSCAASRSIGRLDRMGWYRHRPGEPRELVAITITGSSINYGDSVKGRFTISIDNSKNTVYQMNLSRPEDTALYYCNFNKYVTSRDTWGQGLTVKVS... (repeated text)
577	EVQLVESGGGVVQPQGSRLRSCAASRSIGRLDRMGWYRHRPGEPRELVAITITGSSINYGDSVKGRFTISIDNSKNTVYQMNLSRPEDTALYYCNFNKYVTSRDTWGQGLTVKVS... (repeated text)
578	EVQLVESGGGVVQPQGSRLRSCAASRSIGRLDRMGWYRHRPGEPRELVAITITGSSINYGDSVKGRFTISIDNSKNTVYQMNLSRPEDTALYYCNFNKYVTSRDTWGQGLTVKVS... (repeated text)
579	EVQLVESGGGVVQPQGSRLRSCAASRSIGRLDRMGWYRHRPGEPRELVAITITGSSINYGDSVKGRFTISIDNSKNTVYQMNLSRPEDTALYYCNFNKYVTSRDTWGQGLTVKVS... (repeated text)

【 図 2 3 - 7 】

配列番号	配列
580	EVQLVESGGGVVQPQGSRLRSCAASRSIGRLDRMGWYRHRPGEPRELVAITITGSSINYGDSVKGRFTISIDNSKNTVYQMNLSRPEDTALYYCNFNKYVTSRDTWGQGLTVKVS... (repeated text)
581	EVQLVESGGGVVQPQGSRLRSCAASRSIGRLDRMGWYRHRPGEPRELVAITITGSSINYGDSVKGRFTISIDNSKNTVYQMNLSRPEDTALYYCNFNKYVTSRDTWGQGLTVKVS... (repeated text)
582	EVQLVESGGGVVQPQGSRLRSCAASRSIGRLDRMGWYRHRPGEPRELVAITITGSSINYGDSVKGRFTISIDNSKNTVYQMNLSRPEDTALYYCNFNKYVTSRDTWGQGLTVKVS... (repeated text)
583	EVQLVESGGGVVQPQGSRLRSCAASRSIGRLDRMGWYRHRPGEPRELVAITITGSSINYGDSVKGRFTISIDNSKNTVYQMNLSRPEDTALYYCNFNKYVTSRDTWGQGLTVKVS... (repeated text)
584	EVQLVESGGGVVQPQGSRLRSCAASRSIGRLDRMGWYRHRPGEPRELVAITITGSSINYGDSVKGRFTISIDNSKNTVYQMNLSRPEDTALYYCNFNKYVTSRDTWGQGLTVKVS... (repeated text)
585	EVQLVESGGGVVQPQGSRLRSCAASRSIGRLDRMGWYRHRPGEPRELVAITITGSSINYGDSVKGRFTISIDNSKNTVYQMNLSRPEDTALYYCNFNKYVTSRDTWGQGLTVKVS... (repeated text)

30

40

50

















【 図 3 0 - 7 】

配列番号	配列
760	EVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCVHSGPTFRDTMGWFRQAPGKGRFVAAVT WNSGRINYADSVKGRFTISRDNKNTALLQMNSLRPEDTAVYYCAAHRFVVG NRVEDWRYWGGQTLVQVSSGGGGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLR LSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSDTLYADSVKGR FTISRDNAKTTLYLQMNLSRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGLTVKVS SGGGGGGGSEVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFNINMGWFRQAP GKGRFVAAVSRSGVSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSRPEDTAL YCAAA YRGTA INVRRSYSSWGQGLTVVSSA
761	EVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCVHSGPTFRDTMGWFRQAPGKGRFVAAVT WNSGRINYADSVKGRFTISRDNKNTALLQMNSLRPEDTAVYYCAAHRFVVG NRVEDWRYWGGQTLVQVSSGGGGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLR LSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSDTLYADSVKGR FTISRDNAKTTLYLQMNLSRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGLTVKVS SGGGGGGGSEVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFNINMGWFRQAP GKGRFVAAVSRSGVSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSRPEDTAL YCAAA YRGTA INVRRSYSSWGQGLTVVSSA
762	EVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCVHSGPTFRDTMGWFRQAPGKGRFVAAVT WNSGRINYADSVKGRFTISRDNKNTALLQMNSLRPEDTAVYYCAAHRFVVG NRVEDWRYWGGQTLVQVSSGGGGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLR LSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSDTLYADSVKGR FTISRDNAKTTLYLQMNLSRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGLTVKVS SGGGGGGGSEVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFNINMGWFRQAP GKGRFVAAVSRSGVSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSRPEDTAL YCAAA YRGTA INVRRSYSSWGQGLTVVSSA
763	EVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCVHSGPTFRDTMGWFRQAPGKGRFVAAVT WNSGRINYADSVKGRFTISRDNKNTALLQMNSLRPEDTAVYYCAAHRFVVG NRVEDWRYWGGQTLVQVSSGGGGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLR LSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSDTLYADSVKGR FTISRDNAKTTLYLQMNLSRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGLTVQVS SGGGGGGGSEVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFNINMGWFRQAP GKGRFVAAVSRSGVSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSRPEDTAL YCAAA YRGTA INVRRSYSSWGQGLTVVSSA
764	EVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCVHSGPTFRDTMGWFRQAPGKGRFVAAVT WNSGRINYADSVKGRFTISRDNKNTALLQMNSLRPEDTAVYYCAAHRFVVG NRVEDWRYWGGQTLVQVSSGGGGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLR LSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSDTLYADSVKGR FTISRDNAKTTLYLQMNLSRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGLTVQVS SGGGGGGGSEVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFNINMGWFRQAP GKGRFVAAVSRSGVSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSRPEDTAL YCAAA YRGTA INVRRSYSSWGQGLTVKVVSSA

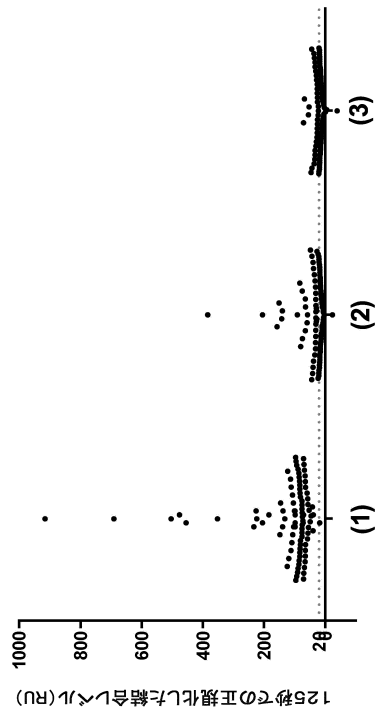
【 図 3 0 - 8 】

配列番号	配列
765	EVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCVHSGPTFRDTMGWFRQAPGKGRFVAAVT WNSGRINYADSVKGRFTISRDNKNTALLQMNSLRPEDTAVYYCAAHRFVVG GNRVEDWRYWGGQTLVQVSSGGGGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSL RLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSDTLYADSVK GRFTISRDNAKTTLYLQMNLSRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGLTVQV SSGGGGGGSEVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFNINMGWFRQA PGKGRFVAAVSRSGVSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSRPEDTAL YCAAA YRGTA INVRRSYSSWGQGLTVVSSA
766	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCVHSGPTFRDTMGWFRQAPGKGRFVAAVT WNSGRINYADSVKGRFTISRDNKNTALLQMNSLRPEDTAVYYCAAHRFVVG GNRVEDWRYWGGQTLVTVSSGGGGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSL RLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSDTLYADSVK GRFTISRDNAKTTLYLQMNLSRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGLTVTV SSGGGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFNINMGWFRQA PGKGRFVAAVSRSGVSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSRPEDTAV YCAAA YRGTA INVRRSYSSWGQGLTVVSSA

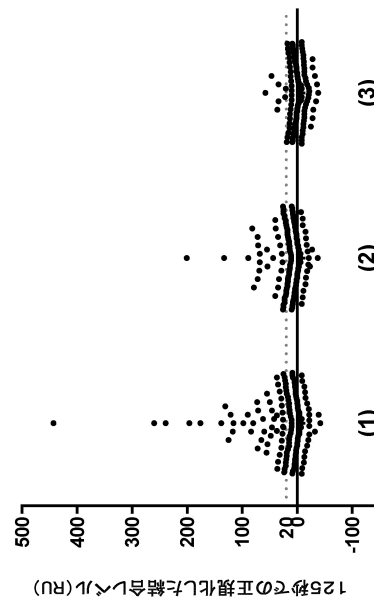
10

20

【 図 3 1 A 】



【 図 3 1 B 】



30

40

【 配列表 】

0007454525000001.app

50

## フロントページの続き

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/040,167

(32)優先日 平成26年8月21日(2014.8.21)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/047,560

(32)優先日 平成26年9月8日(2014.9.8)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/133,600

(32)優先日 平成27年3月16日(2015.3.16)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(56)参考文献 特表2014-525752(JP,A)

特表2008-539772(JP,A)

国際公開第2012/175741(WO,A2)

国際公開第2014/004427(WO,A2)

国際公開第2005/092925(WO,A2)

特表2010-531145(JP,A)

特表2012-500006(JP,A)

特許第5047950(JP,B2)

特開2021-006563(JP,A)

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

C07K 16/00

C12N 15/13

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

Caplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)