(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2023-526282
(P2023-526282A)
(43)公表日　令和5年6月21日(2023.6.21)

(51)国際特許分類			F I			テーマコード（参考）
C12N	*15/62*	*(2006.01)*	C12N	15/62	ZZNA	4C076
C12N	*15/12*	*(2006.01)*	C12N	15/12		4C084
C12N	*15/13*	*(2006.01)*	C12N	15/13		4C085
C07K	*19/00*	*(2006.01)*	C07K	19/00		4H045
C12N	*15/11*	*(2006.01)*	C12N	15/11	Z	

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全149頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2022-569034(P2022-569034)
(86)(22)出願日　令和3年5月13日(2021.5.13)
(85)翻訳文提出日　令和5年1月11日(2023.1.11)
(86)国際出願番号　PCT/US2021/032313
(87)国際公開番号　WO2021/231773
(87)国際公開日　令和3年11月18日(2021.11.18)
(31)優先権主張番号　63/024,422
(32)優先日　令和2年5月13日(2020.5.13)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,
最終頁に続く

(71)出願人　522441460
ボナム セラピューティクス，インク．
アメリカ合衆国 ９８１０２ ワシントン州 シアトル イーストレーク・アベニュー・イースト １６１６ スイート ４００
(74)代理人　110003797
弁理士法人清原国際特許事務所
(72)発明者　マリガン，ジョン トーマス
アメリカ合衆国 ９８１０３ ワシントン州 シアトル ノース ３４番 ストリート ４５４ １階
(72)発明者　オカダ，シャノン リー
アメリカ合衆国 ９８１０３ ワシントン州 シアトル ノース ３４番 ストリート ４５４ １階
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　タンパク質複合体の組成物及びその使用方法

(57)【要約】
センサードメインと、リンカーによって連結された治療用ドメインとを含むタンパク質複合体、及びその使用方法が本明細書で提供される。本開示の態様では、治療用ドメインの活性は、標的マーカーに結合するセンサードメインへの依存性を有する。
【選択図】図１３

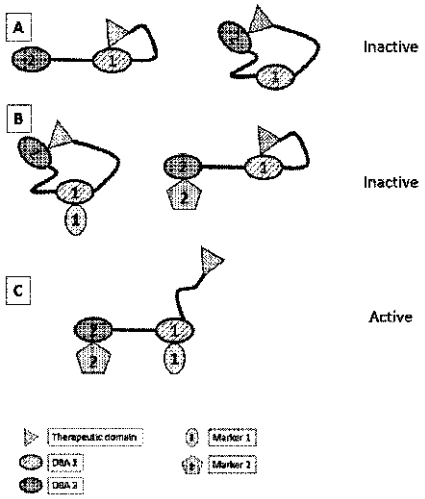


FIG. 13

【特許請求の範囲】
【請求項１】
複合体であって、
ａ）治療用ドメインと、
ｂ）リンカーと、
ｃ）センサードメインとを含み、
前記治療用ドメインが前記リンカーによって前記センサードメインに連結されており、
前記センサードメインが前記治療用ドメイン及びマーカーに結合するように構成される、複合体。
【請求項２】
前記センサードメインが、前記マーカーの非存在下で前記治療用ドメインに結合している、請求項１に記載の複合体。
【請求項３】
前記センサードメインが前記マーカーに結合するときに、前記治療用ドメインが前記センサードメインとの結合から遮断される、請求項１に記載の複合体。
【請求項４】
前記治療用ドメインが前記センサードメインに結合するときに、前記治療用ドメインの活性が低下する、請求項１又は２のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項５】
前記センサードメインが前記マーカーに結合するときに、前記治療用ドメインが治療活性を示すように構成される、請求項１又は３のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項６】
前記センサードメインが前記マーカーに結合するときに、前記治療用ドメインが治療的に活性である、請求項１、３又は５のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項７】
前記治療用ドメインに対する前記センサードメインの親和性が、条件依存性を有する、請求項１～６のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項８】
前記条件依存性が、ｐＨ、温度、塩分及びオスモル濃度からなる群から選択される、請求項７に記載の複合体。
【請求項９】
前記センサードメインが抗体を含む、請求項１～８のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項１０】
前記抗体が抗体フラグメント又は抗体誘導体である、請求項９に記載の複合体。
【請求項１１】
前記複合体がＦｃドメインを含む、請求項１～１０のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項１２】
前記複合体が動力学的特性を改善するドメインを含む、請求項１～１１のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項１３】
少なくとも１２、２４、又は４８時間の血清循環半減期を有する、請求項１～１２のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項１４】
複数の別個に発現されたサブユニットを含む、請求項１～１３のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項１５】
２つの重鎖及び２つの軽鎖を含む、請求項１～１４のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項１６】
第２の治療用ドメインを含む、請求項１～１５のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項１７】

前記第２の治療用ドメインが前記治療用ドメインとは異なる、請求項１６に記載の複合体。
【請求項１８】
前記第２の治療用ドメインが前記治療用ドメインと同一である、請求項１６に記載の複合体。
【請求項１９】
第２のセンサードメインを含む、請求項１～１８のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項２０】
前記センサードメイン及び前記第２のセンサードメインが、前記治療用ドメインを標的化する、請求項１９に記載の複合体。
【請求項２１】
前記センサードメイン及び前記第２のセンサードメインが、前記治療用ドメインに対して類似の親和性を有する、請求項２０に記載の複合体。
【請求項２２】
前記センサードメイン及び前記第２のセンサードメインが、前記治療用ドメインに対する少なくとも一桁異なる親和性を有する、請求項２１に記載の複合体。
【請求項２３】
前記第２のセンサードメインが前記マーカーを標的化する、請求項２１又は２２のいずれかに記載の複合体。
【請求項２４】
前記第２のセンサードメインが前記マーカーを標的化しない、請求項２１又は２２のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項２５】
前記第２のセンサードメインが第２のマーカーを標的化する、請求項１９～２４のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項２６】
前記治療用ドメインの活性が、前記センサードメインが前記マーカーに結合し、前記第２のセンサードメインが前記第２のマーカーに結合する際に不可欠である、請求項２５に記載の複合体。
【請求項２７】
前記マーカー及び前記第２のマーカーが同じ細胞型に関連する、請求項２５又は２６のいずれかに記載の複合体。
【請求項２８】
前記細胞型が疾患細胞型である、請求項２７に記載の複合体。
【請求項２９】
前記第２のセンサードメインが前記治療用ドメインを標的化しない、請求項２３～２８のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項３０】
前記第２のセンサードメインが前記第２の治療用ドメインを標的化する、請求項２３～２９のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項３１】
前記第２のセンサードメインが治療用ドメインを標的化しない、請求項２９に記載の複合体。
【請求項３２】
調節された治療用タンパク質である、請求項１～３１のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項３３】
前記治療用ドメインが、サイトカイン、ケモカイン、抗体、抗体フラグメント、ペプチドアゴニスト、ペプチドアンタゴニスト、酵素、可溶性受容体、成長因子、タンパク質毒素、可溶性リガンド、小分子、又はそれらの任意の組み合わせを含む、請求項１～３２のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項３４】
前記抗体又は前記抗体フラグメントが、ＩｇＧ、単一ドメイン抗体フラグメント、ナノボディ、ｓｃＦａｂ、又は単鎖可変フラグメント（ｓｃＦｖ）を含む、請求項９～３３のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項３５】
前記治療用ドメインがＩＬ－２受容体アゴニストを含む、請求項１～３４のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項３６】
前記ＩＬ－２受容体アゴニストが、ＩＬ－２、ＩＬ－１５、又はそれらの変異体若しくは融合体である、請求項３５に記載の複合体。
【請求項３７】
前記治療用ドメインが、ＩＦＮα、ＩＦＮγ、ＩＬ－１２、ＩＬ－４、ＩＬ－８、ＩＬ－１０、ＩＬ－１５、ＩＬ－１８、ＩＬ－２１、ＴＧＦベータ、抗ＣＤ３抗体、抗ＣＤ２８抗体若しくはリガンド、ＣＤ４０、ＧＩＴＲ、ＯＸ４０、ＣＤ１３７、ＣＤ２７若しくは細胞死受容体に対する抗体若しくはリガンド、ＴＧＦＢＲ２、ＶＥＧＦ－Ｃ、キヌレニナーゼ、ＩＬ－７、ＴＮＦ、ＭＩＣＡ、ＭＩＣＢ、ＣＤ４７、抗ＣＴＬＡ４抗体、抗ＰＤ－Ｌ１抗体、又は抗ＰＤ－１抗体の細胞外ドメインを含む、請求項１～３６のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項３８】
前記治療用ドメインが前記センサードメインに結合する、請求項１～３７のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項３９】
前記治療用ドメイン、前記リンカー及び前記センサードメインがそれぞれ単一ペプチドとして発現される、請求項１～３８のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項４０】
前記リンカーがポリペプチドを含む、請求項１～３９のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項４１】
前記リンカーが、２から２００アミノ酸長を有する、請求項１～４０のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項４２】
前記リンカーのポリペプチドがヒトプロテアーゼ切断部位を欠く、請求項４０又は４１のいずれかに記載の複合体。
【請求項４３】
前記リンカーが、前記センサードメインの重鎖に結合しているか、前記センサードメインの軽鎖に結合しているか、前記センサードメインのＮ末端との融合物であるか、又は前記センサードメインのＣ末端との融合物である、請求項１～４２のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項４４】
前記リンカーが、前記治療用ドメインの重鎖に結合しているか、前記治療用ドメインの軽鎖に結合しているか、前記治療用ドメインのＮ末端との融合物であるか、又は前記治療用ドメインのＣ末端との融合物である、請求項１～４２のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項４５】
前記センサードメインに結合しているときに、前記治療用ドメインの活性が低下する、請求項１～４４のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項４６】
前記センサードメインに結合しているときに、前記治療用ドメインが不活性である、請求項１～４５のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項４７】
前記治療用ドメインに結合しているときに、前記センサードメインが前記治療用ドメインの活性を遮断する、請求項１～４６のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項４８】
前記センサードメインが前記マーカーに結合しているときに、前記治療用ドメインが活性である、請求項１～４７のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項４９】
前記マーカーに対する前記センサードメインの親和性が、前記治療用ドメインに対する前記センサードメインの親和性と同等かそれ以上である、請求項１～４８のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項５０】
前記マーカーに対する前記センサードメインの親和性が、前記治療用ドメインに対する前記センサードメインの親和性の少なくとも２倍、５倍、１０倍、１００倍、１０００倍、１００００倍又は１０００００倍である、請求項１～４９のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項５１】
前記センサードメインが抗体又はそのフラグメントである、請求項１～５０のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項５２】
前記センサードメインが二重特異性抗体の抗原結合ドメインの一方又は両方を含む、請求項１～５１のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項５３】
前記センサードメインが二重特異性抗体の２つ以上の抗原結合ドメインを含む、請求項１～５１のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項５４】
前記センサードメインが二重特異性抗体の３つ以上の抗原結合ドメインを含む、請求項１～５１のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項５５】
前記二重特異性抗体が、前記治療用ドメインに結合することができ、前記マーカーに結合することができる第１の抗原結合ドメインと、前記マーカーに結合することができる第２の抗原結合ドメインとを含む、請求項５２に記載の複合体。
【請求項５６】
前記二重特異性抗体が、前記治療用ドメイン及び前記マーカーに結合することができる第１の抗原結合ドメインと、第２のマーカーに結合することができる第２の抗原結合ドメインとを含む、請求項に５２に記載の複合体。
【請求項５７】
前記二重特異性抗体が、前記治療用ドメイン及び前記マーカーに結合することができる第１の抗原結合ドメインと、前記治療用ドメイン及び第２のマーカーに結合することができる第２の抗原結合ドメインとを含む、請求項５２に記載の複合体。
【請求項５８】
前記二重特異性抗体が単一の治療用ドメインを含む、請求項５２～５７のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項５９】
前記治療用ドメインがＩＦＮαであり、第１のマーカーがＡＴＰであり、第２のマーカーがＣＥＡである、請求項５４～５６のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項６０】
前記センサードメインがＩＬ－２受容体アゴニスト及びＰＤ－１に結合する、請求項１～５７のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項６１】
前記ＩＬ－２受容体アゴニストが、ＩＬ－２、ＩＬ－１５、又はそれらの変異体若しくは融合体である、請求項５８に記載の複合体。
【請求項６２】
前記センサードメインが、前記治療用ドメイン、前記マーカー及び第２のマーカーに結

合するように構成される、請求項１～６１のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項６３】
前記センサードメインの単一のＦａｂが、前記治療用ドメイン、前記マーカー及び前記第２のマーカーに結合するように構成される、請求項６２に記載の複合体。
【請求項６４】
前記センサードメインが第３のマーカーに結合するように構成される、請求項６２又は６３のいずれかに記載の複合体。
【請求項６５】
前記センサードメインの前記単一Ｆａｂが、前記第３のマーカーに結合するように構成される、請求項６４に記載の複合体。
【請求項６６】
前記センサードメインがＩＦＮα及びＰＤ－Ｌ１に結合する、請求項１～６５のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項６７】
前記マーカーが、表面タンパク質、細胞表面マーカー、又は可溶性ＡＴＰである、請求項１～６６のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項６８】
前記マーカーが分泌タンパク質である、請求項１～６７のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項６９】
前記マーカーが癌細胞によって発現される、請求項１～６７のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項７０】
前記マーカーが免疫細胞によって発現される、請求項１～６７のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項７１】
前記マーカーがＰＤ－１である、請求項１～７０のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項７２】
前記マーカーがＰＤ－Ｌ１である、請求項１～７０のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項７３】
前記マーカーがＣＥＡＣＡＭ５である、請求項１～７０のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項７４】
前記マーカーがＦＡＰである、請求項１～７０のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項７５】
前記マーカーがＬＲＲＣ１５である、請求項１～７０のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項７６】
前記マーカーが間質細胞によって発現される、請求項１～７０のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項７７】
前記マーカーが内皮細胞によって発現される、請求項１～７０のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項７８】
前記マーカーが代謝産物である、請求項１～７０のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項７９】
前記マーカーが、アデノシン、ＡＭＰ、ＡＤＰ又はＡＴＰである、請求項１～７０のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項８０】
前記マーカーがキヌレニンである、請求項１～７０のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項８１】

前記センサードメインが、表１３から選択される相補性決定領域を含む、請求項１～８０のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項８２】
前記センサードメインが表１３から選択される、請求項１～８１のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項８３】
表１５から選択される、請求項１～８２のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項８４】
前記センサードメインが、配列番号１～配列番号２０、配列番号１４２～配列番号１７３又は配列番号２３８～２５２のうちのいずれか１つと、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９７％、少なくとも９９％又は１００％の配列同一性を有する相補性決定領域を含む、請求項１～８３のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項８５】
前記センサードメインが、配列番号２１～配列番号２７、配列番号３１～配列番号３９又は配列番号１２７～配列番号１４１のうちのいずれか１つと、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９７％、少なくとも９９％又は１００％の配列同一性を有する、請求項１～８３のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項８６】
タンパク質の前記複合体が、配列番号４１、配列番号４４、配列番号８０～配列番号１１２、配列番号１７４～１７５、配列番号１８１～１８２、配列番号１９５～１９６、配列番号２０５～２０６、配列番号２１０～２１２、配列番号２２０～２２３、配列番号２２６～２３１、配列番号２５９～２６１、配列番号２６６～２８２又は配列番号２８９～２９３のうちのいずれか１つと、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９７％、少なくとも９９％又は１００％の配列同一性を有する、請求項１～８３のいずれか一項に記載の複合体。
【請求項８７】
請求項１～８６のいずれか一項に記載の複合体を、必要とする対象に投与することを含む方法。
【請求項８８】
必要とする対象を治療する方法であって、請求項１～８６のいずれか一項に記載の複合体を、必要とする前記対象に投与することを含む方法。
【請求項８９】
前記投与することが、静脈内投与、筋肉内投与、又は皮下投与を含む、請求項８８に記載の方法。
【請求項９０】
必要とする前記対象が癌を有する、請求項８８～８９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項９１】
必要とする前記対象が自己免疫疾患を有する、請求項８８～９０のいずれか一項に記載の方法。
【請求項９２】
必要とする前記対象がウイルス性疾患を有する、請求項８８～９１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項９３】
前記治療用ドメインが、必要とする前記対象を治療する、請求項８８～８２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項９４】
必要とする前記対象が哺乳動物である、請求項８８～８３のいずれか一項に記載の方法。

【請求項９５】
必要とする前記対象がヒトである、請求項９４に記載の方法。
【請求項９６】
請求項１～８６のいずれかに記載の複合体をコードする組換え核酸を含む組成物。
【請求項９７】
請求項１～８６のいずれかに記載の複合体と、薬学的に許容される賦形剤とを含む医薬組成物。
【請求項９８】
請求項９６に記載の組成物と、薬学的に許容される賦形剤とを含む医薬組成物。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
相互参照
本出願は、２０２０年５月１３日に出願された米国仮特許出願第６３／０２４，４２２号の利益を主張し、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。
【背景技術】
【０００２】
局所的に必要とされる多くの有望な治療薬は、全身投与時に毒性を示す。全身に送達され得るが、局所的に又は疾患のマーカーの存在下で治療活性を示すように調節され得る薬物が必要とされている。
【発明の概要】
【０００３】
様々な態様において、本開示は、ａ）治療用ドメインと、ｂ）リンカーと、ｃ）センサードメインとを含む複合体であって、治療用ドメインがリンカーによってセンサードメインに連結されており、センサードメインが治療用ドメイン及びマーカーに結合することができる、複合体を提供する。
【０００４】
いくつかの態様では、センサードメインは、マーカーの非存在下で治療用ドメインに結合している。いくつかの態様では、治療用ドメインは、センサードメインがマーカーに結合すると、センサードメインとの結合から遮断される。いくつかの態様では、治療用ドメインの活性は、治療用ドメインがセンサードメインに結合すると低下する。いくつかの態様では、治療用ドメインは、センサードメインがマーカーに結合しているときに治療活性を示すことができる。いくつかの態様では、治療用ドメインは、センサードメインがマーカーに結合しているときに治療的に活性である。
【０００５】
いくつかの態様では、センサードメインは、抗体を含む。いくつかの態様では、抗体は、抗体フラグメント又は抗体誘導体である。いくつかの態様では、本複合体は、Ｆｃドメインを含む。いくつかの態様では、本複合体は、動力学的特性を改善するドメインを含む。いくつかの態様では、本複合体は、２つの重鎖及び２つの軽鎖を含む。
【０００６】
いくつかの態様では、本複合体は、２つの治療用ドメインを含む。いくつかの態様では、本複合体は、２つのセンサードメインを含む。いくつかの態様では、本複合体は、制御された治療用タンパク質である。いくつかの態様では、治療用ドメインは、サイトカイン、ケモカイン、抗体、抗体フラグメント、ペプチドアゴニスト、ペプチドアンタゴニスト、酵素、可溶性受容体、成長因子、タンパク質毒素、可溶性リガンド、小分子、又はそれらの任意の組み合わせである。いくつかの態様では、抗体又は抗体フラグメントは、ＩｇＧ、単一ドメイン抗体フラグメント、ナノボディ、又は単鎖可変フラグメント（ｓｃＦｖ）を含む。
【０００７】
いくつかの態様では、治療用ドメインは、ＩＬ－２受容体アゴニストである。いくつか

の態様では、ＩＬ－２受容体アゴニストは、ＩＬ－２、ＩＬ－１５、又はそれらの変異体若しくは融合体である。いくつかの態様では、治療用ドメインは、ＩＦＮα、ＩＦＮγ、ＩＬ－１２、ＩＬ－４、ＩＬ－８、ＩＬ－１０、ＩＬ－１５、ＩＬ－１８、ＩＬ－２１、ＴＧＦベータ、抗ＣＤ３抗体、抗ＣＤ２８抗体若しくはリガンド、ＣＤ４０、ＧＩＴＲ、ＯＸ４０、ＣＤ１３７、ＣＤ２７若しくは細胞死受容体に対する抗体若しくはリガンド、ＴＧＦＢＲ２、ＶＥＧＦ－Ｃ、キヌレニナーゼ、ＩＬ－７、ＴＮＦ、ＭＩＣＡ、ＭＩＣＢ、ＣＤ４７、抗ＣＴＬＡ４抗体、抗ＰＤ－Ｌ１抗体、又は抗ＰＤ－１抗体である。いくつかの態様では、治療用ドメインは、センサードメインに結合する。

【０００８】

いくつかの態様では、リンカーは、ポリペプチドリンカーである。いくつかの態様では、リンカーは、２から２００アミノ酸長を有する。いくつかの態様では、リンカーは、センサードメインの重鎖に結合しているか、センサードメインの軽鎖に結合しているか、センサードメインのＮ末端との融合であるか、又はセンサードメインのＣ末端との融合である。いくつかの態様では、リンカーは、治療用ドメインの重鎖に結合しているか、治療用ドメインの軽鎖に結合しているか、治療用ドメインのＮ末端との融合であるか、又は治療用ドメインのＣ末端との融合である。

【０００９】

いくつかの態様では、治療用ドメインの活性は、センサードメインに結合すると低下する。いくつかの態様では、治療用ドメインは、センサードメインに結合しているときは、不活性である。いくつかの態様では、センサードメインは、治療用ドメインに結合しているときに、治療用ドメインの活性を遮断する。いくつかの態様では、治療用ドメインは、センサードメインがマーカーに結合しているときに活性である。いくつかの態様では、マーカーに対するセンサードメインの親和性は、治療用ドメインに対するセンサードメインの親和性と同等かそれ以上である。

【００１０】

いくつかの態様では、マーカーに対するセンサードメインの親和性は、治療用ドメインに対するセンサードメインの親和性よりも少なくとも２倍、５倍、１０倍、１００倍、１０００倍、１００００倍又は１０００００倍大きい。

【００１１】

いくつかの態様では、センサードメインは、抗体又はそのフラグメントである。いくつかの態様では、センサードメインは、二重特異性抗体の抗原結合ドメインの一方又は両方を含む。いくつかの態様では、二重特異性抗体は、治療用ドメインに結合することができ、かつマーカーに結合することができる第１の抗原結合ドメインと、マーカーに結合することができる第２の抗原結合ドメインとを含む。いくつかの態様では、二重特異性抗体は、治療用ドメイン及びマーカーに結合することができる第１の抗原結合ドメインと、第２のマーカーに結合することができる第２の抗原結合ドメインとを含む。いくつかの態様では、二重特異性抗体は、治療用ドメイン及びマーカーに結合することができる第１の抗原結合ドメインと、治療用ドメイン及び第２のマーカーに結合することができる第２の抗原結合ドメインとを含む。いくつかの態様では、二重特異性抗体は、単一の治療用ドメインを含む。

【００１２】

いくつかの態様では、治療用ドメインはＩＦＮαであり、第１のマーカーはＡＴＰであり、第２のマーカーはＣＥＡである。いくつかの態様では、センサードメインは、ＩＬ－２受容体アゴニスト及びＰＤ－１に結合する。いくつかの態様では、ＩＬ－２受容体アゴニストは、ＩＬ－２、ＩＬ－１５、又はそれらの変異体若しくは融合体である。いくつかの態様では、センサードメインは、ＩＦＮα及びＰＤ－Ｌ１に結合する。

【００１３】

いくつかの態様では、マーカーは、表面タンパク質、細胞表面マーカー、又は可溶性ＡＴＰである。いくつかの態様では、マーカーは、分泌タンパク質である。いくつかの態様では、マーカーは、癌細胞によって発現される。いくつかの態様では、マーカーは、免疫

細胞によって発現される。いくつかの態様では、マーカーは、ＰＤ－１である。いくつかの態様では、マーカーは、ＰＤ－Ｌ１である。いくつかの態様では、マーカーは、ＣＥＡＣＡＭ５である。いくつかの態様では、マーカーは、ＦＡＰである。いくつかの態様では、マーカーは、ＬＲＲＣ１５である。いくつかの態様では、マーカーは、間質細胞によって発現される。いくつかの態様では、マーカーは、内皮細胞によって発現される。いくつかの態様では、マーカーは、代謝産物である。いくつかの態様では、マーカーは、アデノシン、ＡＭＰ、ＡＤＰ又はＡＴＰである。いくつかの態様では、マーカーは、キヌレニンである。

【００１４】

いくつかの態様では、センサードメインは、表１３又は表１８から選択される相補性決定領域を含む。いくつかの態様では、センサードメインは、表１３から選択される。いくつかの態様では、本複合体は、表１５から選択される。

いくつかの態様では、センサードメインは、配列番号１～配列番号２０、又は配列番号１４２～配列番号１７３、又は配列番号２３８～２５２のうちのいずれか１つと、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９７％、少なくとも９９％又は１００％の配列同一性を有する相補性決定領域を含む。いくつかの態様では、センサードメインは、配列番号２１～配列番号２７、配列番号３１～配列番号３９、又は配列番号１２７～配列番号１４１のうちのいずれか１つと、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９７％、少なくとも９９％又は１００％の配列同一性を有する。いくつかの態様では、タンパク質複合体は、配列番号４１、配列番号４４、配列番号８０～配列番号１１２、配列番号１７４～１７５、配列番号１８１～１８２、配列番号１９５～１９６、配列番号２０５～２０６、配列番号２１０～２１２、配列番号２２０～２２３、配列番号２２６～２３１、配列番号２５９～２６１、配列番号２６６～２８２、配列番号２８９～２９３、又はそれらの断片のうちのいずれか１つと、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９７％、少なくとも９９％、又は１００％の配列同一性を有する。

【００１５】

様々な態様では、本開示は、上記複合体のいずれかをそれを必要とする対象に投与することを含む方法を提供する。様々な態様では、本開示は、それを必要とする対象を治療する方法であって、それを必要とする対象に上記複合体のいずれかを投与することを含む方法を提供する。いくつかの態様では、投与することは、静脈内投与、筋肉内投与、又は皮下投与を含む。いくつかの態様では、それを必要とする対象は癌を有する。いくつかの態様では、それを必要とする対象は自己免疫疾患を有する。いくつかの態様では、それを必要とする対象はウイルス性疾患を有する。いくつかの態様では、治療用ドメインは、それを必要とする対象を処置する。いくつかの態様では、それを必要とする対象は哺乳動物である。いくつかの態様では、それを必要とする対象はヒトである。

【００１６】

参照による組み込み

本明細書で言及されるすべての刊行物、特許、及び特許出願は、個々の刊行物、特許、又は特許出願それぞれが参照により組み込まれることが具体的かつ個別に示されているのと同程度に、参照により本明細書に組み込まれる。

【図面の簡単な説明】

【００１７】

本開示の新規な特徴は、添付の特許請求の範囲に詳細に記載されている。特許又は出願ファイルは、カラーで作成された少なくとも１つの図面を含む。カラー図面を伴うこの特許又は特許出願公開の写しは、請求及び必要な料金の支払いに応じて特許庁によって提供される。本開示の特徴及び利点のより良い理解は、本開示の原理が利用される例示的な実施形態を説明する以下の詳細な説明、及び以下の添付の図面を参照することによって得られるであろう。

【００１８】
【図１Ａ】図１Ａは、本開示のタンパク質複合体の概略図を示す。図１Ａは、不活性状態の例示的な二重結合タンパク質複合体を示す。このタンパク質複合体は、センサードメイン及び治療用ドメインを有する。センサードメインと治療用ドメインはリンカーによって連結されている。センサードメインは、治療用ドメインに結合して示され、治療用ドメインを不活性にする。
【図１Ｂ】図１Ｂは、本開示のタンパク質複合体の概略図を示す。図１Ｂは、活性状態の例示的な二重結合タンパク質複合体を示す。このタンパク質複合体は、センサードメイン及び治療用ドメインを有する。センサードメインと治療用ドメインはリンカーによって連結されている。センサードメインは、マーカー（例えば、腫瘍マーカー又は他の疾患マーカー）に結合して示され、治療用ドメインを活性にする。
【図２】図２は、腫瘍に結合したときの活性状態のタンパク質複合体の例と、腫瘍に結合していないときの不活性状態のタンパク質複合体の例とを示す。
【図３】図３は、ｓｃＦｖ抗体の無細胞発現に使用される例示的なｇＢｌｏｃｋ配列を示す。
【図４】図４は、候補ＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮαＤＢＡがＩＦＮαに結合することを示す。
【図５】図５は、候補ＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮαＤＢＡがＰＤ－Ｌ１に結合することを示す。
【図６】図６は、候補ＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮαＤＢＡによるＩＦＮＡＲへのＩＦＮα結合の阻害を示す。
【図７】図７は、ＩＦＮαが、配列番号２４及び配列番号２６の候補ＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮαＤＢＡへの結合についてＰＤ－Ｌ１と競合し得ることを示す。
【図８】図８は、サイトカイン治療用ドメイン及びＤＢＡを含むタンパク質複合体の概略図（左）及び当該タンパク質複合体の配列（右）を示す。
【図９】図９Ａ～Ｆは、１つ以上のセンサードメイン及び１つ以上の治療用ドメインを含む本開示の他のタンパク質複合体の概略図を示す。
【図１０】図１０は、２つの例示的なＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮαＤＢＡサイトカインタンパク質複合体（Ｃ０８　ＩＦＮα及びＢ０９　ＩＦＮα、それぞれ、配列番号５７～配列番号５８及び配列番号５９～配列番号６０）によるインターフェロンシグナル伝達が、２つの対照ＩＦＮα－抗体タンパク質複合体（抗ＨＥＲ２　ＩＦＮα及び抗ＰＤ－Ｌ１　ＩＦＮα、それぞれ、配列番号６３～配列番号６４及び配列番号６１～配列番号６２）と比較して低減されることを示す。
【図１１】図１１は、５つの例示的なＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－サイトカインタンパク質複合体（２＿Ａ０８、２＿Ａ１１、２＿Ｂ０５、２＿Ｂ０７及び７＿Ａ０４、それぞれ、配列番号６７～配列番号６８、配列番号６９～配列番号７０、配列番号７１～配列番号７２、配列番号７３～配列番号７４及び配列番号７５～配列番号７６）によるＩＬ－２シグナル伝達が、対照ＩＬ－２－抗ＨＥＲ２タンパク質複合体（配列番号６５～配列番号６６）と比較して低減されることを示す。
【図１２】図１２は、例示的なＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮα　ＤＢＡ－サイトカインタンパク質複合体のＰＤ－Ｌ１調節型ＩＦＮα活性を示す。
【図１３】図１３Ａ～Ｃは、治療用ドメイン及び２つのセンサードメインを、両方のセンサードメインが治療用ドメインの活性を可能にするためにそれらの標的マーカーに結合しなければならないように含む二重特異性抗体の概略図を示す。
【図１４Ａ】図１４Ａは、本開示と一致する免疫グロブリン含有タンパク質複合体を示す。
【図１４Ｂ】図１４Ｂは、本開示と一致する免疫グロブリン含有タンパク質複合体を示す。
【図１４Ｃ】図１４Ｃは、本開示と一致する免疫グロブリン含有タンパク質複合体を示す。
【図１５Ａ】図１５Ａは、ＰＤ－１－Ｆｃ又はＩｇＧ１対照タンパク質で被覆されたウェルにおいて、図１４Ａに示される構造を有するＩＬ－２結合タンパク質複合体のＩＬ－２

活性を示す。ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ（商標）ＩＬ－２レポーター細胞（そのＩＬ－２受容体の活性化時に検出可能な色変化を生じる操作されたヒト腎臓細胞株）からの６３０ｎｍシグナルの増大として活性を測定した。図１５Ａは、ＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－ＩＬ－２複合体のＩＬ－２活性を示す。

【図１５Ｂ】図１５Ｂは、ＰＤ－１－Ｆｃ又はＩｇＧ１対照タンパク質で被覆されたウェルにおいて、図１４Ａに示される構造を有するＩＬ－２結合タンパク質複合体のＩＬ－２活性を示す。ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ（商標）ＩＬ－２レポーター細胞（そのＩＬ－２受容体の活性化時に検出可能な色変化を生じる操作されたヒト腎臓細胞株）からの６３０ｎｍシグナルの増大として活性を測定した。図１５Ｂは、抗Ｈｅｒ２抗体－ＩＬ－２複合体のＩＬ－２活性を示す。

【図１５Ｃ】図１５Ｃは、ＰＤ－１－Ｆｃ又はＩｇＧ１対照タンパク質で被覆されたウェルにおいて、図１４Ａに示される構造を有するＩＬ－２結合タンパク質複合体のＩＬ－２活性を示す。ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ（商標）ＩＬ－２レポーター細胞（そのＩＬ－２受容体の活性化時に検出可能な色変化を生じる操作されたヒト腎臓細胞株）からの６３０ｎｍシグナルの増大として活性を測定した。図１５Ｃは、抗ＩＬ－２抗体－ＩＬ－２複合体の活性を示す。

【図１５Ｄ】図１５Ｄは、ＰＤ－１－Ｆｃ又はＩｇＧ１対照タンパク質で被覆されたウェルにおいて、図１４Ａに示される構造を有するＩＬ－２結合タンパク質複合体のＩＬ－２活性を示す。ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ（商標）ＩＬ－２レポーター細胞（そのＩＬ－２受容体の活性化時に検出可能な色変化を生じる操作されたヒト腎臓細胞株）からの６３０ｎｍシグナルの増大として活性を測定した。図１５Ｄは、抗ＰＤ－１抗体－ＩＬ－２複合体の活性を示す。

【図１６Ａ】図１６Ａは、ＰＤ－１－Ｆｃ又はＩｇＧ１対照タンパク質で被覆されたウェルにおいて、図１４Ｂに示される構造を有するタンパク質複合体のＩＬ－２活性を示す。ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ（商標）ＩＬ－２レポーター細胞からの６３０ｎｍシグナルの増大として活性を測定した。図１６Ａは、３つの異なるＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－ＩＬ－２複合体のＩＬ－２活性を示す。

【図１６Ｂ】図１６Ｂは、ＰＤ－１－Ｆｃ又はＩｇＧ１対照タンパク質で被覆されたウェルにおいて、図１４Ｂに示される構造を有するタンパク質複合体のＩＬ－２活性を示す。ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ（商標）ＩＬ－２レポーター細胞からの６３０ｎｍシグナルの増大として活性を測定した。図１６Ｂは、３つの異なるＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－ＩＬ－２複合体のＩＬ－２活性を示す。

【図１６Ｃ】図１６Ｃは、ＰＤ－１－Ｆｃ又はＩｇＧ１対照タンパク質で被覆されたウェルにおいて、図１４Ｂに示される構造を有するタンパク質複合体のＩＬ－２活性を示す。ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ（商標）ＩＬ－２レポーター細胞からの６３０ｎｍシグナルの増大として活性を測定した。図１６Ｃは、３つの異なるＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－ＩＬ－２複合体のＩＬ－２活性を示す。

【図１６Ｄ】図１６Ｄは、ＰＤ－１－Ｆｃ又はＩｇＧ１対照タンパク質で被覆されたウェルにおいて、図１４Ｂに示される構造を有するタンパク質複合体のＩＬ－２活性を示す。ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ（商標）ＩＬ－２レポーター細胞からの６３０ｎｍシグナルの増大として活性を測定した。図１６Ｄは、抗ＰＤ－１抗体－ＩＬ－２複合体の活性を示す。

【図１６Ｅ】図１６Ｅは、ＰＤ－１－Ｆｃ又はＩｇＧ１対照タンパク質で被覆されたウェルにおいて、図１４Ｂに示される構造を有するタンパク質複合体のＩＬ－２活性を示す。ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ（商標）ＩＬ－２レポーター細胞からの６３０ｎｍシグナルの増大として活性を測定した。図１６Ｅは、抗Ｈｅｒ－２抗体－ＩＬ－２複合体の活性を示す。

【図１６Ｆ】図１６Ｆは、ＰＤ－１－Ｆｃ又はＩｇＧ１対照タンパク質で被覆されたウェルにおいて、図１４Ｂに示される構造を有するタンパク質複合体のＩＬ－２活性を示す。ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ（商標）ＩＬ－２レポーター細胞からの６３０ｎｍシグナルの増大として活性を測定した。図１６Ｆは、抗ＩＬ－２抗体－ＩＬ－２複合体の活性を示す。

【図１７Ａ】図１７Ａは、ＰＤ－１－Ｆｃ又はＩｇＧ１対照タンパク質で被覆されたウェ

ルにおいて、図１４Ｃに示される構造を有するタンパク質複合体のＩＬ－２活性を示す。ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ（商標）ＩＬ－２レポーター細胞からの６３０ｎｍシグナルの増大として活性を測定した。図１７Ａは、対照タンパク質複合体についての結果を示す。

【図１７Ｂ】図１７Ｂは、ＰＤ－１－Ｆｃ又はＩｇＧ１対照タンパク質で被覆されたウェルにおいて、図１４Ｃに示される構造を有するタンパク質複合体のＩＬ－２活性を示す。ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ（商標）ＩＬ－２レポーター細胞からの６３０ｎｍシグナルの増大として活性を測定した。図１７Ｂは、Ｆａｂアーム中の抗ＰＤ－１ドメイン及びＦｃアーム上のＰＤ－１／ＩＬ－２　ＤＢＡ　ｓｃＦｖを含む２つのＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ複合体についての結果を示す。

【図１７Ｃ】図１７Ｃは、ＰＤ－１－Ｆｃ又はＩｇＧ１対照タンパク質で被覆されたウェルにおいて、図１４Ｃに示される構造を有するタンパク質複合体のＩＬ－２活性を示す。ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ（商標）ＩＬ－２レポーター細胞からの６３０ｎｍシグナルの増大として活性を測定した。図１７Ｃは、対照タンパク質複合体についての結果を示す。

【図１７Ｄ】図１７Ｄは、ＰＤ－１－Ｆｃ又はＩｇＧ１対照タンパク質で被覆されたウェルにおいて、図１４Ｃに示される構造を有するタンパク質複合体のＩＬ－２活性を示す。ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ（商標）ＩＬ－２レポーター細胞からの６３０ｎｍシグナルの増大として活性を測定した。図１７Ｄは、Ｆａｂアーム中の抗ＰＤ－１ドメイン及びＦｃアーム上のＰＤ－１／ＩＬ－２　ＤＢＡ　ｓｃＦｖを含む２つのＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ複合体についての結果を示す。

【図１７Ｅ】図１７Ｅは、ＰＤ－１－Ｆｃ又はＩｇＧ１対照タンパク質で被覆されたウェルにおいて、図１４Ｃに示される構造を有するタンパク質複合体のＩＬ－２活性を示す。ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ（商標）ＩＬ－２レポーター細胞からの６３０ｎｍシグナルの増大として活性を測定した。図１７Ｅは、対照タンパク質複合体についての結果を示す。

【図１７Ｆ】図１７Ｆは、ＰＤ－１－Ｆｃ又はＩｇＧ１対照タンパク質で被覆されたウェルにおいて、図１４Ｃに示される構造を有するタンパク質複合体のＩＬ－２活性を示す。ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ（商標）ＩＬ－２レポーター細胞からの６３０ｎｍシグナルの増大として活性を測定した。図１７Ｆは、対照タンパク質複合体についての結果を示す。

【図１７Ｇ】図１７Ｇは、対照タンパク質複合体についての結果を示す。

【図１７Ｈ】図１７Ｈは、対照タンパク質複合体についての結果を示す。

【図１８】図１８は、ＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－サイトカイン複合体（「２Ｂ０７ＩＬ－２ｍｕｔ」）及び２つの対照複合体の野生型マウスの血液中の血清濃度低下率を示す。

【図１９Ａ】図１９Ａは、ＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－サイトカイン複合体（「２Ｂ０７ＩＬ－２ｍｕｔ」）及び２つの対照複合体による処置の５日後に野生型マウスから採取した血液及び脾臓組織におけるＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞及びＮＫ細胞の数を示す。

【図１９Ｂ】図１９Ｂは、ＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－サイトカイン複合体（「２Ｂ０７ＩＬ－２ｍｕｔ」）及び２つの対照複合体による処置の５日後に野生型マウスから採取した血液及び脾臓組織におけるＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞及びＮＫ細胞の数を示す。

【図１９Ｃ】図１９Ｃは、ＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－サイトカイン複合体（「２Ｂ０７ＩＬ－２ｍｕｔ」）及び２つの対照複合体による処置の５日後に野生型マウスから採取した血液及び脾臓組織におけるＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞及びＮＫ細胞の数を示す。

【図１９Ｄ】図１９Ｄは、ＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－サイトカイン複合体（「２Ｂ０７ＩＬ－２ｍｕｔ」）及び２つの対照複合体による処置の５日後に野生型マウスから採取した血液及び脾臓組織におけるＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞及びＮＫ細胞の数を示す。

【図２０】図２０は、マウスにおける腫瘍細胞移植後の日数の関数として腫瘍体積の測定値を示す。マウスは、ＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－ＩＬ－２複合体、ＩＬ－２を欠くＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ複合体、又はアイソタイプ対照の種々の静脈内用量を受けた。

【図２１Ａ】図２１Ａは、６つの別個のＤＢＡ　ＰＤＬ１－ＩＦＮ変異体についてのＰＤ－Ｌ１の存在下（三角）及び非存在下（四角）におけるＩＦＮＡＲ２結合についての結果を示す。

【図２１Ｂ】図２１Ｂは、６つの別個のＤＢＡ　ＰＤＬ１－ＩＦＮ変異体についてのＰＤ

－Ｌ１の存在下（三角）及び非存在下（四角）におけるＩＦＮＡＲ２結合についての結果を示す。
【図２１Ｃ】図２１Ｃは、６つの別個のＤＢＡ　ＰＤＬ１－ＩＦＮ変異体についてのＰＤ－Ｌ１の存在下（三角）及び非存在下（四角）におけるＩＦＮＡＲ２結合についての結果を示す。
【図２１Ｄ】図２１Ｄは、６つの別個のＤＢＡ　ＰＤＬ１－ＩＦＮ変異体についてのＰＤ－Ｌ１の存在下（三角）及び非存在下（四角）におけるＩＦＮＡＲ２結合についての結果を示す。
【図２１Ｅ】図２１Ｅは、６つの別個のＤＢＡ　ＰＤＬ１－ＩＦＮ変異体についてのＰＤ－Ｌ１の存在下（三角）及び非存在下（四角）におけるＩＦＮＡＲ２結合についての結果を示す。
【図２１Ｆ】図２１Ｆは、６つの別個のＤＢＡ　ＰＤＬ１－ＩＦＮ変異体についてのＰＤ－Ｌ１の存在下（三角）及び非存在下（四角）におけるＩＦＮＡＲ２結合についての結果を示す。
【図２２Ａ】図２２Ａは、５つのＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮαＤＢＡ－サイトカイン複合体及び３つの対照複合体によるＩＦＮＡＲ２結合を提供する。
【図２２Ｂ】図２２Ｂは、５つのＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮαＤＢＡ－サイトカイン複合体及び３つの対照複合体によるＩＦＮＡＲ２結合を提供する。
【図２２Ｃ】図２２Ｃは、５つのＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮαＤＢＡ－サイトカイン複合体及び３つの対照複合体によるＩＦＮＡＲ２結合を提供する。
【図２２Ｄ】図２２Ｄは、５つのＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮαＤＢＡ－サイトカイン複合体及び３つの対照複合体によるＩＦＮＡＲ２結合を提供する。
【図２２Ｅ】図２２Ｅは、５つのＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮαＤＢＡ－サイトカイン複合体及び３つの対照複合体によるＩＦＮＡＲ２結合を提供する。
【図２２Ｆ】図２２Ｆは、５つのＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮαＤＢＡ－サイトカイン複合体及び３つの対照複合体によるＩＦＮＡＲ２結合を提供する。
【図２２Ｇ】図２２Ｇは、５つのＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮαＤＢＡ－サイトカイン複合体及び３つの対照複合体によるＩＦＮＡＲ２結合を提供する。
【図２２Ｈ】図２２Ｈは、５つのＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮαＤＢＡ－サイトカイン複合体及び３つの対照複合体によるＩＦＮＡＲ２結合を提供する。
【図２３Ａ】図２３Ａは、４つの別々の抗ＰＤ－Ｌ１及び抗ＩＬ－１５ＤＢＡによるＰＤ－Ｌ１及びＩＬ－１５結合についてのＥＬＩＳＡ測定値を示す。
【図２３Ｂ】図２３Ｂは、４つの別々の抗ＰＤ－Ｌ１及び抗ＩＬ－１５ＤＢＡによるＰＤ－Ｌ１及びＩＬ－１５結合についてのＥＬＩＳＡ測定値を示す。
【図２３Ｃ】図２３Ｃは、４つの別々の抗ＰＤ－Ｌ１及び抗ＩＬ－１５ＤＢＡによるＰＤ－Ｌ１及びＩＬ－１５結合についてのＥＬＩＳＡ測定値を示す。
【図２３Ｄ】図２３Ｄは、４つの別々の抗ＰＤ－Ｌ１及び抗ＩＬ－１５ＤＢＡによるＰＤ－Ｌ１及びＩＬ－１５結合についてのＥＬＩＳＡ測定値を示す。
【図２４Ａ】図２４Ａは、４つのｓｃＦｖ　ＤＢＡ－ＩＬ－１５複合体及び２つの単一特異性抗ＩＬ－１５抗体ＩＬ－１５複合体について、ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ（商標）ＩＬ－２レポーター細胞比色反応によって測定されるＩＬ－１５活性を示す。
【図２４Ｂ】図２４Ｂは、４つのｓｃＦｖ　ＤＢＡ－ＩＬ－１５複合体及び２つの単一特異性抗ＩＬ－１５抗体ＩＬ－１５複合体について、ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ（商標）ＩＬ－２レポーター細胞比色反応によって測定されるＩＬ－１５活性を示す。
【図２４Ｃ】図２４Ｃは、４つのｓｃＦｖ　ＤＢＡ－ＩＬ－１５複合体及び２つの単一特異性抗ＩＬ－１５抗体ＩＬ－１５複合体について、ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ（商標）ＩＬ－２レポーター細胞比色反応によって測定されるＩＬ－１５活性を示す。
【図２４Ｄ】図２４Ｄは、４つのｓｃＦｖ　ＤＢＡ－ＩＬ－１５複合体及び２つの単一特異性抗ＩＬ－１５抗体ＩＬ－１５複合体について、ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ（商標）ＩＬ－２レポーター細胞比色反応によって測定されるＩＬ－１５活性を示す。

【図２４Ｅ】図２４Ｅは、４つのｓｃＦｖ　ＤＢＡ－ＩＬ－１５複合体及び２つの単一特異性抗ＩＬ－１５抗体ＩＬ－１５複合体について、ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ（商標）ＩＬ－２レポーター細胞比色反応によって測定されるＩＬ－１５活性を示す。
【図２４Ｆ】図２４Ｆは、４つのｓｃＦｖ　ＤＢＡ－ＩＬ－１５複合体及び２つの単一特異性抗ＩＬ－１５抗体ＩＬ－１５複合体について、ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ（商標）ＩＬ－２レポーター細胞比色反応によって測定されるＩＬ－１５活性を示す。
【図２５Ａ】図２５Ａは、２つのＤＢＡ－ＩＬ－１５複合体及びＰＤＬ１－ＩＦＮＤＢＡ対照タンパク質複合体についてのＨＥＫ－Ｂｌｕｅ（商標）ＩＬ－２レポーター細胞比色応答によって測定されるＩＬ－１５活性を示す。
【図２５Ｂ】図２５Ｂは、２つのＤＢＡ－ＩＬ－１５複合体及びＰＤＬ１－ＩＦＮＤＢＡ対照タンパク質複合体についてのＨＥＫ－Ｂｌｕｅ（商標）ＩＬ－２レポーター細胞比色応答によって測定されるＩＬ－１５活性を示す。
【図２５Ｃ】図２５Ｃは、２つのＤＢＡ－ＩＬ－１５複合体及びＰＤＬ１－ＩＦＮＤＢＡ対照タンパク質複合体についてのＨＥＫ－Ｂｌｕｅ（商標）ＩＬ－２レポーター細胞比色応答によって測定されるＩＬ－１５活性を示す。
【図２５Ｄ】図２５Ｄは、２つのＤＢＡ－ＩＬ－１５複合体及びＰＤＬ１－ＩＦＮＤＢＡ対照タンパク質複合体についてのＨＥＫ－Ｂｌｕｅ（商標）ＩＬ－２レポーター細胞比色応答によって測定されるＩＬ－１５活性を示す。
【図２６】図２６は、ＣＥＡへの５つの二重結合ｓｃＦｖ結合についてのＥＬＩＳＡ結合データを示す。
【図２７Ａ】図２７Ａは、３つのＤＢＡ－サイトカインタンパク質複合体、ＩＦＮα単一特異的結合ｓｃＦｖ及び２つの非ＩＦＮα結合ｓｃＦｖによるＩＦＮＡＲ２結合を示す。
【図２７Ｂ】図２７Ｂは、３つのＤＢＡ－サイトカインタンパク質複合体、ＩＦＮα単一特異的結合ｓｃＦｖ及び２つの非ＩＦＮα結合ｓｃＦｖによるＩＦＮＡＲ２結合を示す。
【図２７Ｃ】図２７Ｃは、３つのＤＢＡ－サイトカインタンパク質複合体、ＩＦＮα単一特異的結合ｓｃＦｖ及び２つの非ＩＦＮα結合ｓｃＦｖによるＩＦＮＡＲ２結合を示す。
【図２７Ｄ】図２７Ｄは、３つのＤＢＡ－サイトカインタンパク質複合体、ＩＦＮα単一特異的結合ｓｃＦｖ及び２つの非ＩＦＮα結合ｓｃＦｖによるＩＦＮＡＲ２結合を示す。
【図２７Ｅ】図２７Ｅは、３つのＤＢＡ－サイトカインタンパク質複合体、ＩＦＮα単一特異的結合ｓｃＦｖ及び２つの非ＩＦＮα結合ｓｃＦｖによるＩＦＮＡＲ２結合を示す。
【図２７Ｆ】図２７Ｆは、３つのＤＢＡ－サイトカインタンパク質複合体、ＩＦＮα単一特異的結合ｓｃＦｖ及び２つの非ＩＦＮα結合ｓｃＦｖによるＩＦＮＡＲ２結合を示す。
【図２８Ａ】図２８Ａは、ＬＲＲＣ１５に対する６つのｓｃＦｖのＥＬＩＳＡ結合データを示す。図２８Ａの結果が図２８Ｂにまとめられている。
【図２８Ｂ】図２８Ａの結果が図２８Ｂにまとめられている。
【図２９Ａ】図２９Ａは、４つのＬＲＲＣ１５－ＩＦＮ－αＤＢＡ－ＩＦＮα複合体及び２つの対照複合体によるＩＦＮＡＲ２結合をまとめている。
【図２９Ｂ】図２９Ｂは、４つのＬＲＲＣ１５－ＩＦＮ－αＤＢＡ－ＩＦＮα複合体及び２つの対照複合体によるＩＦＮＡＲ２結合をまとめている。
【図２９Ｃ】図２９Ｃは、４つのＬＲＲＣ１５－ＩＦＮ－αＤＢＡ－ＩＦＮα複合体及び２つの対照複合体によるＩＦＮＡＲ２結合をまとめている。
【図２９Ｄ】図２９Ｄは、４つのＬＲＲＣ１５－ＩＦＮ－αＤＢＡ－ＩＦＮα複合体及び２つの対照複合体によるＩＦＮＡＲ２結合をまとめている。
【図２９Ｅ】図２９Ｅは、４つのＬＲＲＣ１５－ＩＦＮ－αＤＢＡ－ＩＦＮα複合体及び２つの対照複合体によるＩＦＮＡＲ２結合をまとめている。
【図２９Ｆ】図２９Ｆは、４つのＬＲＲＣ１５－ＩＦＮ－αＤＢＡ－ＩＦＮα複合体及び２つの対照複合体によるＩＦＮＡＲ２結合をまとめている。
【発明を実施するための形態】
【００１９】
本開示は、タンパク質複合体の組成物及びその使用方法を提供する。有望な治療薬は、

有害な副作用又は全身的なオンターゲット毒性のために実現できないことが多い。関連する細胞及び標的が存在するときに、局所的に治療有効性を特異的に示すタンパク質複合体が本明細書で提供される。さらに、本開示のタンパク質複合体は自己調節され、特定のマーカーの非存在下では不活性のままであり、特定のマーカーの存在下で活性化する。本明細書に開示されるタンパク質複合体は、リンカーを介して治療用ドメイン（例えば、サイトカイン、治療用抗体ドメイン、受容体、リガンド）に連結されたセンサードメイン（例えば、抗体又はｓｃＦｖ）を含み得る。センサードメインは、マーカー及び治療用ドメインがセンサードメインへの結合について競合するように、治療用ドメイン及び特異的マーカーに対する親和性を有する二重結合タンパク質であり得る。いくつかの実施形態では、二重結合タンパク質は、二重結合抗体である。マーカーの非存在下では、センサードメインは治療用ドメインに結合し、治療用ドメインが活性を発揮できないようにする。センサードメインがマーカーに結合しているときに、治療用ドメインは非結合であり、活性を発揮し得る。いくつかの実施形態では、本複合体による治療活性の調節は可逆的であり得、すなわち、センサードメインがマーカーから解離すると、センサードメインは治療用ドメインに結合し得、治療用ドメインは再び活性を発揮することができなくなる。したがって、本開示のタンパク質複合体は、マーカーの存在下で治療用ドメインを調節し、マーカーに結合し、治療用ドメインを活性にするセンサードメインを含む。医薬製剤などの、タンパク質複合体の様々な構造及び組成物が本明細書に開示される。タンパク質複合体を対象に投与することによって、それを必要とする対象を治療する方法もまた本明細書で提供される。

【００２０】

本明細書で使用される場合、「マーカー」は、本明細書に開示されるタンパク質複合体のセンサードメインによって結合される部分を指す場合がある。「マーカー」の非限定的な例としては、タンパク質、タンパク質修飾、炭水化物、代謝産物、又は抗体によって結合され得る任意の他の分子が挙げられる。マーカーはまた、疾患特異的マーカー、例えば、疾患状態（例えば、癌）の分子マーカーを指す場合がある。

【００２１】

本明細書で使用される場合、「標的」は、本明細書に開示されるタンパク質複合体の治療用ドメインが作用し得る分子を指し得る。「標的」の非限定的な例としては、サイトカイン受容体、サイトカイン、リガンド、酵素基質、又は治療用ドメインと接触した場合に、タンパク質複合体を投与された対象（例えば、ヒト又は非ヒト動物）に治療的影響を及ぼす任意の他の分子が挙げられる。

【００２２】

本明細書で使用される場合、「抗体」は、抗体可変ドメインの一部又は全部を含む抗体、抗体誘導体、又はそのフラグメントを指し得る。

【００２３】

「組換え核酸」という用語は、天然に存在しないヌクレオチド配列を有する合成核酸を指す。組換え核酸は、実験室で合成され得る。組換え核酸は、酵素的制限消化、ライゲーション、及びＤＮＡクローニングなどのＤＮＡの酵素的修飾を使用することにより、組換えＤＮＡ技術を使用して調製される。本明細書で使用される組換え核酸は、ＤＮＡ又はＲＮＡであり得る。組換えＤＮＡをインビトロで転写してメッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）を生成することができ、組換えｍＲＮＡを単離し、精製し、細胞をトランスフェクトするために使用することができる。組換え核酸は、タンパク質又はポリペプチドをコードし得る。組換え核酸は、適切な条件下で、生細胞に組み込むことができ、生細胞の内部で発現させることができる。本明細書で使用される場合、核酸の「発現」は、通常、核酸の転写及び／又は翻訳を指す。核酸発現の産物は通常タンパク質であるが、ｍＲＮＡの場合もある。組換え核酸を組み込んだ細胞内の組換え核酸によってコードされるｍＲＮＡの検出は、核酸が細胞内で「発現」されているという確実な証拠と考えられている。

【００２４】

核酸を細胞に挿入又は組み込むプロセスは、形質転換、トランスフェクション又は形質

導入によるものであり得る。形質転換は、細菌細胞による外来核酸の取り込みのプロセスである。このプロセスは、プラスミドＤＮＡの増殖、タンパク質産生、及び他の用途に適合している。形質転換は、組換えプラスミドＤＮＡを、環境から細胞外ＤＮＡを取り込むコンピテント細菌細胞に導入する。一部の細菌種は、特定の環境条件下で自然にコンピテントであるが、コンピテンスは実験室環境で人工的に誘導される。トランスフェクションは、ＤＮＡ、ＲＮＡ、又は抗体などの小分子を真核細胞に強制的に導入することである。ややこしいことに、「トランスフェクション」はまた、バクテリオファージを細菌細胞へ導入することも指す。「形質導入」は、ほとんどの場合、組換えウイルスベクター粒子の標的細胞への導入を説明するために使用され、一方、「感染」は、野生型ウイルスによるヒト又は動物の自然感染を指す。

【００２５】

タンパク質複合体

本開示は、治療活性を自己調節し得る複合体を提供する。本開示のタンパク質複合体は、センサードメイン及び治療用ドメインを含み得る。センサードメイン及び治療用ドメインは、リンカーによって連結され得る。センサードメインは、治療用ドメインの活性を調節し得る。治療用ドメインの活性の調節は、センサードメインの治療用ドメインへの結合を含み得、治療用ドメインが治療活性を発揮できないようにする。治療用ドメインの活性の調節は、センサードメインがマーカーに結合しているときに、センサードメインが治療用ドメインを結合解除又は放出することをさらに含み得る。マーカーは、疾患に関連する細胞によって発現され得る。例えば、疾患は癌であり得、細胞は腫瘍細胞であり得、マーカーは腫瘍細胞上に発現される腫瘍特異的マーカーであり得る。したがって、本開示のタンパク質複合体は、治療用ドメインのセンサードメイン依存性活性が、タンパク質複合体の全身投与時でさえ局所活性を可能にするので、優れた薬物候補である。単独で投与される治療用ドメインと比較して、本開示のタンパク質複合体は、治療用ドメインの調節された治療活性を示す。結果として、単独で投与される遊離治療用ドメインと比較して、本開示のタンパク質複合体は、低下した全身オンターゲット毒性を示す。

【００２６】

本開示のタンパク質複合体は、Ｆｃ領域を有することができる。本開示のタンパク質複合体は、動力学的特性を改善するドメインを有することができる。例えば、本開示のタンパク質複合体は、Ｆｃ領域、アルブミン、ＰＥＧ、又は別の双性イオンポリマーなどの半減期延長剤にさらにカップリングされていてもよい。本開示のタンパク質複合体は、２つの重鎖及び２つの軽鎖を有し得る。本開示のタンパク質複合体は、２つの重鎖及び１つの軽鎖を有し得る。本開示のタンパク質複合体は、複数のセンサードメイン及び複数の治療用ドメインを含み得る。例えば、本開示のタンパク質複合体は、２つのセンサードメイン及び２つの治療用ドメインを含み得、それらのすべてが連結されており、２つの治療用ドメインが２つのセンサードメインに結合している。いくつかの実施形態では、本開示のタンパク質複合体は、２つのセンサードメイン及び１つの治療用ドメインを含み得、それらのすべてが連結されており、治療用ドメインは両方のセンサードメイン又は２つのセンサードメインのうちの１つのみに結合し得る。

【００２７】

いくつかの実施形態では、マーカーは、細胞表面タンパク質などの表面タンパク質であり得る。マーカーは可溶性ＡＴＰであってもよい。いくつかの実施形態では、マーカーは分泌タンパク質であり得る。例えば、分泌タンパク質は、腫瘍細胞の増殖によって放出されるタンパク質であり得る。いくつかの実施形態では、マーカーは、癌細胞によって発現され得る。マーカーは、免疫細胞によって発現され得る。マーカーは、間質細胞によって発現され得る。マーカーは、内皮細胞によって発現され得る。例示的なマーカーとしては、ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＣＥＡＣＡＭ５、ＦＡＰ、ＬＲＲＣ１５、代謝産物、アデノシン、ＡＭＰ、ＡＤＰ、ＡＴＰ又はキヌレニンが挙げられる。他のマーカーとしては、ＣＲＩＰＴＯ、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＣＤ３０、ＣＤ３３、糖タンパク質ＮＭＢ、ＣａｎＡｇ、ＨＥＲ２（ＥｒｂＢ２／Ｎｅｕ）、ＣＤ５６（ＮＣＡＭ）、ＣＤ７０、ＣＤ７

９、ＣＤ１３８、ＰＳＣＡ、ＰＳＭＡ（前立腺特異的膜抗原）、ＢＣＭＡ、Ｅ－セレクチン、ＥｐｈＢ２、メラノトランスフェリン、Ｍｕｃ１６及びＴＭＥＦＦ２、又は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる米国特許第１０，５６１，７３９号に記載されている任意の他のマーカーが挙げられ得る。他のマーカーとしては、ＢＭＰＲ１Ｂ、Ｅ１６、ＳＴＥＡＰ１、０７７２Ｐ、ＭＰＦ、Ｎａｐｉ３ｂ、Ｓｅｍａ　５ｂ、ＰＳＣＡ　ｈｌｇ、ＥＴＢＲ、ＭＳＧ７８３、ＳＴＥＡＰ２、ＴｒｐＭ４、ＣＤ２１、ＣＤ７９ｂ、ＦｃＲＨ２、ＮＣＡ、ＭＤＰ、ＩＬ２０Ｒα、Ｂｒｅｖｉｃａｎ、ＥｐｈＢ２Ｒ、ＡＳＬＧ６５９、ＰＳＣＡ、ＧＥＤＡ、ＢＡＦＦ－Ｒ、ＣＤ７９ａ、ＣＸＣＲ５、ＨＬＡ－ＤＯＢ、Ｐ２Ｘ５、ＣＤ７２、ＦＣＲＨＩ、ＩＲＴＡ２、又はその全体が参照により本明細書に組み込まれる国際公開第２００５／０８２０２３号に記載されている任意の他のマーカーも挙げることができる。

【００２８】

いくつかの実施形態では、センサードメインのマーカーへの結合に対するセンサードメインの治療用ドメインへの結合は、治療用ドメインに対するセンサードメインの相対的親和性によって調節される。いくつかの実施形態では、センサードメインは、治療用ドメインに対するセンサードメインの解離定数（Ｋｄ）よりも低いマーカーに対する解離定数を有し得る。したがって、センサーは、治療用ドメインよりもマーカーに対してより高い親和性（より低いＫｄ）を有し得る。本開示のセンサードメインは、マーカーに対して治療用ドメインよりも高い親和性（より低い解離定数）を有するように、例えば、親和性成熟によって操作され得る。マーカーの非存在下では、本開示のセンサードメインは、治療用ドメインがセンサードメインによって結合されるように、治療用ドメインに対して十分に高い親和性を有し得る。マーカーの存在下では、マーカーに対するセンサードメインの親和性は、マーカーがセンサードメインへの結合について治療用ドメインを打ち負かすように、十分に高い（解離定数が低い）。その結果、平衡結合は、センサードメインが治療用ドメインに結合した状態から、治療用ドメインが結合せず、センサードメインがマーカーに結合した状態に移行する。

【００２９】

センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも少なくとも２倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも少なくとも５倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも少なくとも１０倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも少なくとも１５倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも少なくとも２０倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも少なくとも２５倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも少なくとも３０倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも少なくとも３５倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも少なくとも４０倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも少なくとも４５倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも少なくとも５０倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも少なくとも６０倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも少なくとも７０倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも少なくとも８０倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも少なくとも９０倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも少なくとも１００倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも少なくとも１５０倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。セ

ンサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも少なくとも２００倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも少なくとも２５０倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも少なくとも３００倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも少なくとも３５０倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも少なくとも４００倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも少なくとも４５０倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも少なくとも５００倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも少なくとも１０００倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも少なくとも１００００倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも少なくとも１０００００倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも２倍から１０倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも１０倍から２０倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも２０倍から３０倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも３０倍から４０倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも４０倍から５０倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも５０倍から１００倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも１００倍から１５０倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも１５０倍から２００倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも２００倍から２５０倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも２５０倍から３００倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも３００倍から３５０倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも３５０倍から４００倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも４００倍から４５０倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも４５０倍から５００倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも５００倍から１０００倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも１０倍から８０倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも３０倍から７０倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも４０倍から６０倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも２０倍から５０倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも１０倍から１０００倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも７０倍から５００倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも１００倍から５００倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも５００倍から７５０倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも２５０倍から７５０倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも１０００倍から１０００００倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。センサードメインは、治療用ドメインに対する親和性よりも２倍から１０００００倍高いマーカーに対する親和性を有し得る。

【００３０】
本開示のタンパク質複合体又はその断片は、本明細書に開示されるＣＤＲのうちのいずれか１つと少なくとも８０％の配列同一性を有する１つ以上の相補性決定領域（ＣＤＲ）を含み得る。例えば、本開示のタンパク質複合体又はその断片は、配列番号１～配列番号２０、配列番号１４２～１７３、又は配列番号２３８～２５２のうちのいずれか１つと少なくとも８０％の配列同一性を有する１つ以上のＣＤＲを含み得る。本開示のタンパク質複合体又はその断片は、配列番号１～配列番号２０、配列番号１４２～１７３、又は配列番号２３８～２５２のうちのいずれか１つと少なくとも８５％の配列同一性を有する１つ以上のＣＤＲを含み得る。本開示のタンパク質複合体又はその断片は、配列番号１～配列番号２０、配列番号１４２～１７３、又は配列番号２３８～２５２のうちのいずれか１つと少なくとも９０％の配列同一性を有する１つ以上のＣＤＲを含み得る。本開示のタンパク質複合体又はその断片は、配列番号１～配列番号２０、配列番号１４２～１７３、又は配列番号２３８～２５２のうちのいずれか１つと少なくとも９２％の配列同一性を有する１つ以上のＣＤＲを含み得る。本開示のタンパク質複合体又はその断片は、配列番号１～配列番号２０、配列番号１４２～１７３、又は配列番号２３８～２５２のうちのいずれか１つと少なくとも９５％の配列同一性を有する１つ以上のＣＤＲを含み得る。本開示のタンパク質複合体又はその断片は、配列番号１～配列番号２０、配列番号１４２～１７３、又は配列番号２３８～２５２のうちのいずれか１つと少なくとも９７％の配列同一性を有する１つ以上のＣＤＲを含み得る。本開示のタンパク質複合体又はその断片は、配列番号１～配列番号２０、配列番号１４２～１７３、又は配列番号２３８～２５２のうちのいずれか１つと少なくとも９９％の配列同一性を有する１つ以上のＣＤＲを含み得る。本開示のタンパク質複合体又はその断片は、配列番号１～配列番号２０、配列番号１４２～１７３、又は配列番号２３８～２５２のうちのいずれか１つを有する１つ以上のＣＤＲを含み得る。

【００３１】
タンパク質複合体又はその断片は、配列番号４１、配列番号４４、配列番号８０～配列番号１１２、配列番号１７４～１７５、配列番号１８１～１８２、配列番号１９５～１９６、配列番号２０５～２０６、配列番号２１０～２１２、配列番号２２０～２２３、配列番号２２６～２３１、配列番号２５９～２６１、配列番号２６６～２８２若しくは配列番号２８９～２９３、又はその断片のうちのいずれか１つと少なくとも８０％の配列同一性を有し得る。タンパク質複合体は、配列番号４１、配列番号４４、配列番号８０～配列番号１１２、配列番号１７４～１７５、配列番号１８１～１８２、配列番号１９５～１９６、配列番号２０５～２０６、配列番号２１０～２１２、配列番号２２０～２２３、配列番号２２６～２３１、配列番号２５９～２６１、配列番号２６６～２８２若しくは配列番号２８９～２９３、又はそれらの断片のうちのいずれか１つと少なくとも８５％の配列同一性を有し得る。タンパク質複合体は、配列番号４１、配列番号４４、配列番号８０～配列番号１１２、配列番号１７４～１７５、配列番号１８１～１８２、配列番号１９５～１９６、配列番号２０５～２０６、配列番号２１０～２１２、配列番号２２０～２２３、配列番号２２６～２３１、配列番号２５９～２６１、配列番号２６６～２８２若しくは配列番号２８９～２９３、又はそれらの断片のうちのいずれか１つと少なくとも９０％の配列同一性を有し得る。タンパク質複合体は、配列番号４１、配列番号４４、配列番号８０～配列番号１１２、配列番号１７４～１７５、配列番号１８１～１８２、配列番号１９５～１９６、配列番号２０５～２０６、配列番号２１０～２１２、配列番号２２０～２２３、配列番号２２６～２３１、配列番号２５９～２６１、配列番号２６６～２８２若しくは配列番号２８９～２９３、又はそれらの断片のうちのいずれか１つと少なくとも９２％の配列同一性を有し得る。タンパク質複合体は、配列番号４１、配列番号４４、配列番号８０～配列番号１１２、配列番号１７４～１７５、配列番号１８１～１８２、配列番号１９５～１９６、配列番号２０５～２０６、配列番号２１０～２１２、配列番号２２０～２２３、配列番号２２６～２３１、配列番号２５９～２６１、配列番号２６６～２８２若しくは配列番号２８９～２９３、又はそれらの断片のうちのいずれか１つと少なくとも９５％の配

列同一性を有し得る。タンパク質複合体は、配列番号４１、配列番号４４、配列番号８０～配列番号１１２、配列番号１７４～１７５、配列番号１８１～１８２、配列番号１９５～１９６、配列番号２０５～２０６、配列番号２１０～２１２、配列番号２２０～２２３、配列番号２２６～２３１、配列番号２５９～２６１、配列番号２６６～２８２若しくは配列番号２８９～２９３、又はそれらの断片のうちのいずれか１つと少なくとも９７％の配列同一性を有し得る。タンパク質複合体は、配列番号４１、配列番号４４、配列番号８０～配列番号１１２、配列番号１７４～１７５、配列番号１８１～１８２、配列番号１９５～１９６、配列番号２０５～２０６、配列番号２１０～２１２、配列番号２２０～２２３、配列番号２２６～２３１、配列番号２５９～２６１、配列番号２６６～２８２若しくは配列番号２８９～２９３、又はそれらの断片のうちのいずれか１つと少なくとも９９％の配列同一性を有し得る。タンパク質複合体は、配列番号４１、配列番号４４、配列番号８０～配列番号１１２、配列番号１７４～１７５、配列番号１８１～１８２、配列番号１９５～１９６、配列番号２０５～２０６、配列番号２１０～２１２、配列番号２２０～２２３、配列番号２２６～２３１、配列番号２５９～２６１、配列番号２６６～２８２若しくは配列番号２８９～２９３、又はそれらの断片のうちのいずれか１つである。

【００３２】

本開示のタンパク質複合体は、配列番号４１、配列番号４４、配列番号８０～配列番号１１２、配列番号１７４～１７５、配列番号１８１～１８２、配列番号１９５～１９６、配列番号２０５～２０６、配列番号２１０～２１２、配列番号２２０～２２３、配列番号２２６～２３１、配列番号２５９～２６１、配列番号２６６～２８２若しくは配列番号２８９～２９３、又はそれらの断片のうちのいずれか１つと少なくとも９５％の配列同一性を有し、配列番号１～配列番号２０、配列番号１４２～１７３若しくは配列番号２３８～２５２のうちのいずれか１つと少なくとも８０％の配列同一性を有する１つ以上のＣＤＲを有し得る。本開示のタンパク質複合体は、任意の組み合わせ又は順序で配置された配列番号１～配列番号２０、配列番号１４２～１７３、又は配列番号２３８～２５２から選択されるＣＤＲを有することができる。

【００３３】

上記のいずれかの断片は、センサーの機能的結合ドメイン又は治療薬の任意の機能的治療用ドメインを保持し得る。例えば、二重結合抗体タンパク質複合体は、抗体全体、又はマーカー及び治療用ドメインに結合することができる抗体の領域を有するフラグメント含むことができる。後者の場合、そのフラグメントは、マーカー及び治療用ドメインに結合することができるｓｃＦｖであり得る。本開示のタンパク質複合体の例示的な配列を以下の表１に示す。

【００３４】

【表１－１】

表１－例示的なタンパク質複合体

配列番号	配列	説明
配列番号４１	MSTSTCDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISL FSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLHE MIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELY QQLNDLEACVIQGVGVTETPLMKEDSILAVR KYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSF SLSTNLQESLRSKEGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGY TFSNYYVHWVRQAPGQGLEWMGWMDPNS GGTGYAHQFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSS LRSEDTAVYYCAKEVFSGWYDYWGQGTLV TVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQS	ＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮα ｓｃＦｖセンサードメイン及びＩＦＮα治療用ドメインを有するＤＢＡ／サイトカイン複合体を含むタンパク質複合体 ｓｃＦｖ＿ＩＦＮ－Ｈ ｅａｖｙ＿ＧＳ２０＿ ＰＤＬ１

【００３５】

【表１－２】

配列番号	配列	説明
	PSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQK PGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTK VEIKGKPIPNPLLGLDST	－ ＩＦＮ＿１Ａ０５＿ Ｈ＿Ｉ３９Ｖ＿Ｓ ５８Ｐ＿Ｑ６９Ｈ＿ Ｋ７０Ｑ
配列番号４２	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT KNYMHWVRQAPGQGLEWLGWVSPDSGYTG YAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCTTDLLSLELDDAFDIWGQGTMVTV SSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPS SLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKP GKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKL EIKPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISW FVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPI QHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKP KGSVRAPQVYVLPPCEEEMTKKQVTLSCAV TDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDS DGSYFMVSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHE GLHNHHTTKSFSRTPGK	ＰＤ－Ｌ１抗体センサードメイン及びＩＦＮα治療用ドメインを有するＤＢＡ／サイトカイン複合体を含むタンパク質複合体であって、ＤＢＡがｓｃＦｖである、タンパク質複合体 ＰＤＬ１－ＩＦＮ＿ｕＩＦＮ＿２Ｄ１０ｓｃＦｖ＿ＫｉＨ＿ＰＤＬ１－ＩＦＮ＿１Ａ０５＿Ｈ＿Ｎ３６Ｇ＿Ｐｅｐ１
配列番号４３	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLK DRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQI FNLFSTKDSSAAWDETLLDKFCTELYQQLND LEACVMQEERVGETPLMNADSILAVKKYFR RITLYLTEKKYSPCAWEVVRAEIVRSLSLSTN LQERLRRKEGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQ VQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSG YYIHWVRQAPGQGLEWMGWMDSNSGGTGY AQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDT AVYYCAKEVFSGWYDYWGQGTLVTVSSAK TTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYF PEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLS SSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKI EPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWF VNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQ HQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPK GSVRAPQVCVLPPPEEEMTKKQVTLWCMVT DFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDS DGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHE GLHNHHTTKSFSRTPGK	ＰＤ－Ｌ１結合ドメイン及びＩＦＮα治療用ドメインを有するＤＢＡ／サイトカイン複合体を含むタンパク質複合体の第１の重鎖 ＰＤＬ１－ＩＦＮ＿ｕＩＦＮ＿２Ｄ１０ｓｃＦｖ＿ＫｉＨ＿ＰＤＬ１－ＩＦＮ＿１Ａ０５＿Ｈ＿Ｎ３６Ｇ＿Ｐｅｐ２
配列番号４４	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYL NWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPY TFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSG GASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNG VLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERH NSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC	ＰＤ－Ｌ１　ｓｃＦｖセンサードメイン及びＩＦＮα治療用ドメインを有するＤＢＡ／サイトカイン複合体を含むタンパク質複合体の軽鎖

【００３６】

【表１－３】

配列番号	配列	説明
		ＰＤＬ１－ＩＦＮ＿ｕＩＦＮ＿２Ｄ１０ｓｃＦｖ＿ＫｉＨ＿ＰＤＬ１－ＩＦＮ＿１Ａ０５＿Ｈ＿Ｎ３６Ｇ＿Ｐｅｐ３
配列番号３０３	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSN SGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSKRYY ADSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRAEDT AVYYCATNDDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSV YPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTL TWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTV TSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGP TIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLM ISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEV HTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWM SGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAP QVYVLPPPEKEMTKKQVSLTCLVKDFMPEDI YVEWTNNGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFMY SKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHT TKSFSRTPGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQ VQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFTR YYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYASYA QKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTA VYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSASGGGGSGG GGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQSIGRWLAWYQQKPGKAPKLLIYSAS NLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQYNRFPVTFGPGTKVDIK	ＰＤ１－ＩＬ２＿３ｘ＿Ｃｔｅｒｍ＿Ｎｉｖｏ＿２Ｂ０７＿Ｈ＿Ｈ３７Ｙ＿Ｌ＿Ａ１０７Ｙ＿Ｓ１０９Ｒ； ＡＦ４５０５＿ｐｅｐ２
配列番号３０４	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSN SGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSKRYY ADSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRAEDT AVYYCATNDDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSV YPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTL TWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTV TSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGP TIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLM ISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEV HTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWM SGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAP QVYVLPPPEKEMTKKQVSLTCLVKDFMPEDI YVEWTNNGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFMY SKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHT TKSFSRTPGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQ VQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTR YYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPRAGYTSY ALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDT AVYYCTSGWDVWGQGTLVTVSSASGGGGS GGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCRASQSISTWLAWYQQKPGKAPKLLIY	ＰＤ１－ＩＬ２＿３ｘ＿Ｃｔｅｒｍ＿Ｎｉｖｏ＿７０４ｖａｒ ＡＦ４５０４＿ｐｅｐ２

【００３７】

【表１－４】

配列番号	配列	説明
	AASSLDSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQSYSFPVTFGQGTKVEIK	
配列番号１８１	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYK NPKLTDMLTFEFYMPKKATELKHLQCLEREL KPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLEL KGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSII STLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQ SGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFTRYYVHW VRQAPGQGLEWMGIINPSGGYASYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCA AGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVC GDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSL SSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQ SITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCK CPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTC VVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQT HREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKC KVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPP PEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTN NGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVE KKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSR TPGK	ＰＤ１－ＩＬ２＿３ｘ＿Ａｓｙｍ＿ＰＤ１－ＩＬ２＿２Ｂ０７＿Ｈ＿Ｈ３７Ｙ＿Ｌ＿Ｗ３８Ｙ＿Ａ１０７Ｙ
配列番号１８２	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFTRYYVHWV RQAPGQGLEWMGIINPSGGYASYAQKFQGRVTMTRD TSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVS SAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVT LTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPS QSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPN AAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDV QISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQH QDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQ VYVLPPPEKEMTKKQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNN GKTELNYKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNS YSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGSGGGSHHHHH H	ＰＤ１－ＩＬ２＿３ｘ＿Ａｓｙｍ＿ＰＤ１－ＩＬ２＿２Ｂ０７＿Ｈ＿Ｈ３７Ｙ＿Ｌ＿Ｗ３８Ｙ＿Ａ１０７Ｙ
配列番号１８３	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDM LTFEFYMPKKATELKHLQCLERELKPLEEVLNLAQSKNF HLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLN RWITFCQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQ LVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMHWVRQ APGQGLEWMGIINPRAGYTSYALKFQGRVTMTRDTST STVYMELSSLRSEDTAVYYCTSGWDVWGQGTLVTVSS AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTL TWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPS QSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPN AAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDV	ＰＤ１－ＩＬ２＿３ｘ＿Ａｓｙｍ＿ＰＤ１－ＩＬ２＿７Ａ０４＿Ｈ＿Ｍ１１５Ｗ＿Ｌ＿Ｑ６８Ｄ

【００３８】

【表１－５】

配列番号	配列	説明
	QISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQH QDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQ VYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNN GKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERN SYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK	
配列番号１８４	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMHW VRQAPGQGLEWMGIINPRAGYTSYALKFQGRVTMTR DTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCTSGWDVWGQGTLV TVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPE PVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSST WPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCP APNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSED DPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSAL PIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVR APQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWT NNGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVE RNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGSGGGSHH HHHH	ＰＤ１－ＩＬ２＿３ｘ＿Ａｓｙｍ＿ＰＤ１－ＩＬ２＿７Ａ０４＿Ｈ＿Ｍ１１５Ｗ＿Ｌ＿Ｑ６８Ｄ

【００３９】

Ａ．センサードメイン

本開示のタンパク質複合体は、センサードメインを含む。センサードメインは、第１の部分の存在を感知し、第２の部分を調節することができる任意のタンパク質であり得、第１の部分はマーカー（例えば、腫瘍細胞マーカー）であり、第２の部分は治療用ドメイン（例えば、サイトカイン治療用ドメイン）である。例えば、本開示は、第１の部分に結合し、第２の部分に結合してその活性を遮断することができる抗体又は抗体フラグメントであり得るセンサードメインを提供し、第１の部分はマーカー（例えば、腫瘍マーカー）であり、第２の部分は治療用ドメイン（例えば、サイトカイン治療用ドメイン）である。第１の部分の非存在下では、センサードメインは第２の部分に結合する。第１の部分が系に導入される場合、センサードメインは第１の部分に結合し、第２の部分を結合解除する。したがって、第２の部分の結合及び結合解除は可逆的である。センサードメインは、治療用ドメインに結合し、治療用ドメインがその標的（例えば、受容体、リガンド又は基質）に結合するのを妨げることによって、治療用ドメインを不活性化又はその活性を遮断する。センサードメインは、マーカーの結合時にその標的に作用するようにそれを放出することによって治療用ドメインを調節する。

【００４０】

いくつかの実施形態では、センサードメインは二重結合タンパク質、例えば、二重結合抗体である。二重結合タンパク質は、マーカー及び治療用ドメインに結合することができる場合がある。本開示の二重結合タンパク質は、マーカー及び治療用ドメインに結合するように選択又は操作され得る。二重結合タンパク質は、治療用ドメインと比較して、マーカーに対してより高い親和性を有し得る。二重結合タンパク質は、治療用ドメインと比較して、マーカーに対してより高い親和性を有するように親和性成熟され得る。

【００４１】

いくつかの実施形態では、センサードメインは抗体である。センサードメインはまた、抗体のフラグメントであり得る。本明細書中に開示されるセンサードメインと一致する抗

体のフラグメントは、マーカー及び治療用ドメインの両方に対する二重結合を示すその能力を保持する。二重特異性抗体の一方又は両方のドメインは、本開示のタンパク質複合体のセンサードメインであり得る。二重特異性抗体が使用される場合、二重特異性抗体は、治療用ドメイン及びマーカーに結合し得る第１の抗原結合ドメインを含み得、マーカーに結合することができる第２の抗原結合ドメインも含み得る。いくつかの実施形態では、二重特異性抗体は、治療用ドメイン及び第１のマーカーに結合する第１の抗原結合ドメインと、第２のマーカーに結合する第２の抗原結合ドメインとを有し得る。いくつかの実施形態では、二重特異性抗体は、治療用ドメイン及び第１のマーカーに結合する第１の抗原結合ドメインと、治療用ドメイン及び第２のマーカーに結合する第２の抗原結合ドメインとを有し得る。いくつかの実施形態では、第１の抗原結合ドメイン及び第２の抗原結合ドメインは、同じ治療用ドメインに結合し得る（図１３）。

【００４２】

いくつかの実施形態では、２つのセンサードメインは、リンカーによって２つの抗体ドメイン、すなわち、ＣＥＡ（第１のマーカー）及びＩＦＮαドメインに結合し得る第１の抗体ドメイン、並びに、ＩＦＮαがＣＥＡ及びＡＴＰの存在下でのみその受容体に結合することができるように（図１３）、ＡＴＰ（第２のマーカー）及びＩＦＮαドメインに結合し得る第２の抗体ドメイン、に結合された単一のＩＦＮαドメインに結合し得る。

【００４３】

いくつかの実施形態では、センサードメインは抗ＰＤ１若しくは抗ＰＤＬ１抗体又はそのフラグメント（例えば、ＰＤ１又はＰＤ－Ｌ１に結合するｓｃＦｖ）である。いくつかの実施形態では、センサードメインは、細胞表面タンパク質、可溶性ＡＴＰ、分泌タンパク質、ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＣＥＡＣＡＭ５、ＦＡＰ、ＬＲＲＣ１５、代謝産物、アデノシン、ＡＭＰ、ＡＤＰ、ＡＴＰ若しくはキヌレニン、又はＣＲＩＰＴＯ、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＣＤ３０、ＣＤ３３、糖タンパク質ＮＭＢ、ＣａｎＡｇ、ＨＥＲ２（ＥｒｂＢ２／Ｎｅｕ）、ＣＤ５６（ＮＣＡＭ）、ＣＤ７０、ＣＤ７９、ＣＤ１３８、ＰＳＣＡ、ＰＳＭＡ（前立腺特異的膜抗原）、ＢＣＭＡ、Ｅ－セレクチン、ＥｐｈＢ２、メラノトランスフェリン、Ｍｕｃ１６及びＴＭＥＦＦ２、ＢＭＰＲ１Ｂ、Ｅ１６、ＳＴＥＡＰ１、０７７２Ｐ、ＭＰＦ、Ｎａｐｉ３ｂ、Ｓｅｍａ　５ｂ、ＰＳＣＡ　ｈｌｇ、ＥＴＢＲ、ＭＳＧ７８３、ＳＴＥＡＰ２、ＴｒｐＭ４、ＣＤ２１、ＣＤ７９ｂ、ＦｃＲＨ２、ＮＣＡ、ＭＤＰ、ＩＬ２０Ｒα、Ｂｒｅｖｉｃａｎ、ＥｐｈＢ２Ｒ、ＡＳＬＧ６５９、ＰＳＣＡ、ＧＥＤＡ、ＢＡＦＦ－Ｒ、ＣＤ７９ａ、ＣＸＣＲ５、ＨＬＡ－ＤＯＢ、Ｐ２Ｘ５、ＣＤ７２、ＦＣＲＨＩ、ＩＲＴＡ２、シアル酸などの表面タンパク質を含むマーカー、又は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる米国特許第１０，５６１，７３９号、又は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる国際公開第２００５／０８２０２３号に記載されている任意の他のマーカーに結合する。

【００４４】

いくつかの実施形態では、センサードメインは、条件依存的な標的親和性を有する。様々な癌細胞型を含む多くの細胞型は、健康な細胞のものとは異なる特定の細胞外及び組織特異的微小環境を生成する。近年、細胞外ナトリウム欠乏と特定の脳癌との関連に大きな注目が集まっている。さらなる例として、いくつかの癌は、低ｐＨ微小環境を生成し、これは、膜状プロトン化及び立体配座パターンの変化に影響を及ぼし得る。したがって、センサードメインは、特定の状態の存在下で標的マーカーに対する増強された親和性を有し得る。センサードメインは、ｐＨ、温度、塩分、浸透圧、又はそれらの任意の組み合わせに応答し得る。例えば、センサードメインは、特定の状態の存在下で、標的分子に対して１桁大きい親和性、又は治療用ドメインに対して１桁小さい親和性を有し得る。特定の状態は、センサー（例えば、センサーの電荷又は配座）、標的（例えば、標的の電荷又は溶解度）、又はその両方に影響を及ぼし得る。

【００４５】

Ｂ．治療用ドメイン

本開示のタンパク質複合体は、治療用ドメインを含む。本開示の治療用ドメインは、リ

ンカーを介してセンサードメインに連結され、タンパク質複合体を形成する。治療用ドメインは、標的に結合することによって治療活性を発揮し得る。例えば、治療用ドメインはサイトカインであり得、その標的は受容体標的であり得る。サイトカインがその受容体標的に結合すると、サイトカインは細胞増殖、活性化、分化を調節し得、かつ／又は抗腫瘍活性若しくは抗ウイルス活性を発揮し得る。本開示のタンパク質複合体と一致する治療用ドメインとしては、サイトカイン、ケモカイン、抗体、抗体フラグメント、ペプチドアゴニスト、ペプチドアンタゴニスト、酵素、可溶性受容体、増殖因子、タンパク質毒素、可溶性リガンド、小分子、又はそれらの組み合わせが挙げられる。いくつかの実施形態では、抗体又は抗体フラグメントは、ＩｇＧ、ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＭ、Ｆａｂ、Ｆ（ａｂ）’２、単一ドメイン抗体フラグメント（例えば、ナノボディ）、ダイアボディ、ｓｃＦａｂ、ｓｃＦｖ、$(scFv)_2$、又は任意のフラグメント（例えば、ＦｃドメインＣＨドメイン）又はそれらの組み合わせを含む。

【００４６】

いくつかの実施形態では、本開示のタンパク質複合体は、ＩＬ－２受容体アゴニスト、ＩＬ－１２受容体アゴニスト若しくはＩＦＮα、又はこれらのサイトカインの変異体若しくは融合体を含む治療用ドメインを含む。いくつかの実施形態では、治療用ドメインは、ＩＦＮα、ＩＦＮγ、ＩＬ－１２、ＩＬ－４、ＩＬ－８、ＩＬ－１０、ＩＬ－１５、ＩＬ－１８、ＩＬ－２１、ＴＧＦβ、抗ＣＤ３抗体、抗ＣＤ２８抗体若しくはリガンド、ＣＤ４０、ＧＩＴＲ、ＯＸ４０、ＣＤ１３７、ＣＤ２７若しくは細胞死受容体に対する抗体若しくはリガンド、ＴＧＦＢＲ２、ＶＥＧＦ－Ｃ、キヌレニナーゼ、ＩＬ－７、ＴＮＦ、ＭＩＣＡ、ＭＩＣＢ、ＣＤ４７、抗ＣＴＬＡ４抗体、抗ＰＤ－Ｌ１抗体、又は抗ＰＤ－１抗体であり得る。治療用ドメインはまた、上記部分のいずれかのフラグメントであり得る。フラグメントは、その標的への結合に必要な部分の官能性領域（例えば、ＩＬ－２受容体）及び活性に必要な任意の官能性領域を保持する。

【００４７】

Ｃ．リンカー

本明細書に開示されるタンパク質複合体は、リンカーを含み得る。リンカーは、センサードメイン及び治療用ドメインなどの２つのドメインを連結し得る。リンカーは、センサードメインの２つの部分、例えば、軽鎖可変ドメイン及び重鎖可変ドメインを連結し得る。様々なリンカーは、本開示のタンパク質複合体と一致する。いくつかの実施形態では、リンカーは、アミノ酸リンカー又は化学リンカーであり得る。

【００４８】

リンカーは、安定なリンカーであり得る。例えば、リンカーは、センサードメインがマーカーに結合し、それによって、治療用ドメインがセンサードメインから結合解除されたときでさえ、治療用ドメインとセンサードメインとの間の連結を維持し得る。例えば、センサードメインは治療用ドメインを結合解除し得るが、治療用ドメインはリンカーを介してセンサードメインに連結されたままであり得る。この活性と一致するリンカーの例としては、非切断性リンカーを挙げることができる。

【００４９】

リンカーは、可撓性リンカーであってもよい。可撓性リンカーは、一旦治療用ドメインがセンサードメインから結合解除されると、治療用ドメインがその標的に結合することを可能にするのに十分な長さのリンカーである。リンカーの可撓性は、治療効果に影響を及ぼし得る。例えば、センサードメインがマーカーに結合し、治療用ドメインが結合解除されると、治療用ドメインは、その治療標的（例えば、マーカーと同じ細胞表面上の受容体又はマーカーに隣接する細胞表面上の受容体）に遭遇して結合することができる必要がある。リンカーが、治療用ドメインがその治療標的に結合することを可能にするのに十分に可撓性でない場合、治療有効性は低下するか、又は発揮されない可能性がある。リンカーが可撓性である場合、治療用ドメインは、それらの治療標的に結合し、高い治療有効性を発揮することができる。リンカーの可撓性は、リンカーの長さから生じ得る。例えば、短いリンカーは、治療用ドメインがその標的に結合するのを立体的に妨げ得る。より長いリ

ンカーは、タンパク質複合体がより可撓性であることを可能にし、治療用ドメインがそれらの標的に結合することを可能にし得る。いくつかの実施形態では、長すぎるリンカーは、センサードメインが治療用ドメインに結合し、マーカーの非存在下で活性を阻害する能力に影響を及ぼし得る。いくつかの実施形態では、長すぎるリンカーは、インビボでのタンパク質治療用ドメインの安定性又はタンパク質治療用ドメインの半減期に影響を及ぼし得る。

【００５０】

いくつかの実施形態では、リンカーは、センサードメインの重鎖又はセンサードメインの軽鎖に結合し得る。リンカーは、センサードメインのＮ末端又はＣ末端に融合され得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、治療用ドメインの重鎖若しくは軽鎖に結合し得、又は治療用ドメインのＮ末端若しくはＣ末端と融合している。例えば、リンカーは、ｓｃＦＶ又はＳｃＦａｂのＮ末端又はＣ末端に結合し得る。

【００５１】

アミノ酸リンカーアミノ酸リンカーは、任意のアミノ酸残基を含み得る。いくつかの実施形態では、好ましいアミノ酸残基は、エントロピー的に可撓性のアミノ酸残基である。本開示のアミノ酸リンカー中の好ましいアミノ酸残基としては、グリシン及びセリンを挙げることができる。他の好ましいアミノ酸残基としては、アラニン、プロリン、トレオニン及びグルタミン酸を挙げることができる。好ましい実施形態では、アミノ酸リンカーは、３から６０アミノ酸残基の長さを有し得る。いくつかの実施形態では、アミノ酸リンカーは、２０個のアミノ酸残基を含み得る。いくつかの実施形態では、アミノ酸リンカーは、４０個のアミノ酸残基を含み得る。いくつかの実施形態では、アミノ酸リンカーは、６０個のアミノ酸残基を含み得る。いくつかの実施形態では、アミノ酸リンカーは、８０個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、少なくとも５個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、少なくとも１０個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、少なくとも１５個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、少なくとも２０個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、少なくとも２５個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、少なくとも３０個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、少なくとも３５個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、少なくとも４０個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、少なくとも４５個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、少なくとも５０個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、少なくとも５５個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、少なくとも６０個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、少なくとも６５個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、少なくとも７０個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、少なくとも７５個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、少なくとも８０個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、少なくとも８５個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、少なくとも９０個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、少なくとも９５個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、少なくとも１００個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、少なくとも１１０個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、少なくとも１２０個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、少なくとも１３０個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、少なくとも１４０個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、少なくとも１５０個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、少なくとも１６０個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、少なくとも１７０個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、少なくとも１８０個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、少なくとも１９０個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、少なくとも２００個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、少なくとも３００個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、少なくとも４００個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、少なくとも５００個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、５から１０個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、１０個から１５個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、１

５個から２０個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、２０個から２５個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、２５個から３０個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、３０個から３５個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、３５個から４０個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、４０個から４５個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、４５個から５０個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、５０個から５５個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、５５個から６０個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、６０個から６５個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、６５個から７０個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、７０個から７５個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、７５個から８０個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、８０個から８５個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、８５個から９０個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、９０個から９５個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、９５個から１００個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、５から８０個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、２０個から４０個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、２０個から８０個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、３０個から６０個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、４０個から５０個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、１０個から３０個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、１０個から２０個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、５から２５個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、２５個から７５個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、１００個から５００個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、１００個から３００個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、５から５００個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、１００個以下のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、９０個以下のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、８０個以下のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、７０個以下のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、６０個以下のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、５０個以下のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、４０個以下のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、３０個以下のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、２０個以下のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、１０個以下のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、９５個以下のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、９０個以下のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、８５個以下のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、８０個以下のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、７５個以下のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、７０個以下のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、６５個以下のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、６０個以下のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、５５個以下のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、５０個以下のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、４５個以下のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、４０個以下のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、３５個以下のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、３０個以下のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、２５個以下のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、２０個以下のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、１５個以下のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、１０個以下のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、２００個以下のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、３００個以下のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、４００個以下のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、５００個以下のアミノ酸残基を含み得る。

【００５２】

非切断性リンカー

本開示の非切断性リンカーは、安定な化学的リンカーを含み得る。センサードメインと治療用ドメインとを連結するための本開示のタンパク質複合体における使用に一致する非切断性リンカーの例としては、チオエーテルリンカー、アルキルリンカー、ポリマーリン

カーを挙げることができる。リンカーは、ＳＭＣＣリンカー又はＰＥＧリンカーであり得る。好ましい実施形態では、リンカーはＰＥＧリンカーであり得る。

【００５３】

非切断性リンカーはまた、非タンパク質分解的に切断可能なペプチドを含み得る。非タンパク質分解的に切断可能なペプチドは、所与の試料又は生物に存在するプロテアーゼに対して不活性であり得る。例えば、ペプチドは、すべてのヒトプロテアーゼ切断配列に対して不活性であり得、それにより、ヒト及びヒト試料内に高度の安定性を有し得る。そのようなペプチドはまた、プロテアーゼ切断部位をプロテアーゼに対して不活性又はアクセス不能にする二次構造を含み得る。本開示の非切断性リンカーは、ｐＨ７緩衝液中、２５℃でヒトプロテアーゼの存在下、少なくとも１時間、少なくとも２時間、少なくとも４時間、少なくとも８時間、少なくとも１２時間、少なくとも１６時間、少なくとも１日、少なくとも２日、少なくとも３日、少なくとも１週間、少なくとも２週間、又は少なくとも１ヶ月の切断半減期を有し得る。

【００５４】

Ｄ．タンパク質複合体構造

本開示は、様々な構造にわたる多種多様なタンパク質複合体を提供する。本開示のタンパク質複合体は、単一ユニットとして発現される治療用ドメイン及びセンサードメインを含み得る。治療用ドメインは、センサードメインのＮ末端伸長として、若しくはセンサードメインのＣ末端伸長として発現され得、又はセンサードメイン内に配置され得る。例えば、タンパク質複合体は、Ｎ末端からＣ末端に向って、治療用ドメイン、ペプチドリンカー、ｓｃＦｖドメイン、及び、必要に応じて、タグ、例えば、精製タグ（例えば、Ｖ５又はｍｙｃタグ）又は局在化シグナルを含むペプチドを含み得る。あるいは、治療用ドメイン及びセンサードメインは、発現後にカップリングされ得る（例えば、化学的に結合される）。

【００５５】

タンパク質複合体は、複数のタンパク質サブユニットを含み得る。複数のタンパク質サブユニット（例えば、治療用ドメイン及びセンサードメイン、２つのセンサードメイン、又はセンサードメインの２つのサブユニット）は、発現後に化学的又は物理的にカップリングされ得る。複数のタンパク質サブユニットは、複数のセンサードメイン及び／又は治療用ドメインを含み得る。センサー及び／又は治療用ドメインは、単一のタンパク質サブユニット、複数のタンパク質サブユニット、又はその一部から構成され得る。例えば、センサードメインは、免疫グロブリン軽鎖及び免疫グロブリン重鎖の一部を含む抗体Ｆａｂ領域を含み得る。

【００５６】

複数のタンパク質サブユニットは、それらの選択的カップリングを容易にする物理的ハンドルを含み得る。物理的ハンドルは、タンパク質サブユニット間の自発的、不可逆的、及び／又は非媒介（例えば、シャペロンタンパク質又は触媒複合体を必要としない）カップリングを可能にし、それによって複合体及び非対称タンパク質複合体を可能にし得る。例えば、単一のチャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞で発現される２つの異なるタンパク質複合体サブユニットは、細胞輸送前に自発的かつ不可逆的に結合する物理的ハンドルを含み得る。そのような物理的ハンドルは、２つのタンパク質サブユニットが相互結合親和性及び特異性を有する物理的構造を有する「ノブ・イントゥ・ホール（ｋｎｏｂ－ｉｎｔｏ－ｈｏｌｅ）」（ＫＩＨ）構築物又は電荷交換構築物を含み得る。そのような物理的ハンドルは、ジスルフィド結合を形成するように構成された複数のチオールなどの共有結合対を含み得る。物理的ハンドルは、同一又は異なるドメインを含むタンパク質複合体の容易な生成を可能にし得る。

【００５７】

タンパク質複合体は、２つ以上の同一のドメインを含み得る。そのようなタンパク質複合体の一例が図１４Ａに示されており、図１４Ａは、２つのＩＬ－２治療用ドメインに結合した抗体（マルチセンサードメイン）を示す。この例では、タンパク質複合体は、２つ

のタンパク質免疫グロブリン軽鎖サブユニット及び２つの免疫グロブリン重鎖サブユニットを含み、複合体化してコンピテント抗体を形成する。２つの免疫グロブリン重鎖サブユニットは、ＩＬ－２治療用ドメインにカップリングされたＮ末端リンカーを含む。各免疫グロブリン重鎖は、タンパク質複合体が２つのＦａｂ領域を含むように免疫グロブリン軽鎖にカップリングされ、それぞれリンカーによって治療用ドメインに別々にカップリングされる。

【００５８】

上記の例は、２つの同一のセンサードメイン及び２つの同一の治療用ドメインを有する対称的なタンパク質複合体を示しているが、タンパク質複合体はまた、複数の異なるセンサードメイン及び／又は治療用ドメインを含み得る。そのようなタンパク質複合体は、重鎖－軽鎖対から構成される第１のアームと、ｓｃＦｖ、ｓｃＦａｂ、ＶＨ又はそのフラグメントなどの抗体フラグメントから構成される第２のアームとを有する免疫グロブリンユニットを含み得る。かかる場合、重鎖、抗体フラグメント又は軽鎖は、図９Ａ、図９Ｃ及び図９Ｆにそれぞれ示されるように、リンカー及び治療用ドメインを有するＮ末端伸長を含み得る。あるいは、重鎖、抗体フラグメント又は軽鎖は、リンカー及び治療用ドメインを有するＣ末端伸長を含み得る。タンパク質複合体はまた、単一の治療用ドメインを有する対称的な免疫グロブリンユニットを含み得る。例えば、図９Ｂに示すように、免疫グロブリンユニットは、単一の重鎖上にＮ末端リンカー及び治療ユニットを含み得る。あるいは、免疫グロブリンユニットは、単一の軽鎖上にＮ末端リンカー及び治療ユニットを含み得る。免疫グロブリンユニットはまた、単一のＦｃ領域に結合した一対の抗体フラグメントを含み得る。免疫グロブリンユニットは、ナノボディを含み得る。免疫グロブリンユニットは、ダイアボディを含み得る。

【００５９】

場合によっては、複数の異なるセンサードメインは、複数の異なる治療用ドメインに関連付けられる。そのような複数のセンサードメインは、共通の標的を含み得る。例えば、タンパク質複合体は、ＩＬ－２治療用ドメインと会合し、ＩＬ－２及びＰＤ－１に対する親和性を有する第１のセンサードメインと、ＩＦＮα治療用ドメインと会合し、ＩＦＮα及びＰＤ－１に対する親和性を有する第２のセンサードメインとを含み得る。あるいは、複数のセンサードメインは、別個の標的を含み得る。例えば、タンパク質複合体は、ＩＬ－２治療用ドメインと会合し、ＩＬ－２及びＰＤ－１に対する親和性を有する第１のセンサードメインと、ＩＦＮα治療用ドメインと会合し、ＩＦＮα及びＣＥＡＣＡＭ５に対する親和性を有する第２のセンサードメインとを含み得る。

【００６０】

タンパク質複合体は、１つ又は１つ以上のセンサードメインによって標的化される治療用ドメインを含み得る。そのような複数のセンサードメインを含むタンパク質複合体は、活性に対する多標的依存性を有し得る。この概念は図１３に示されており、図１３は、治療用ドメインと、治療用ドメイン及び第１の標的を標的とする第１のセンサードメイン（「マーカー１」）と、治療用ドメイン及び第２の標的を標的とする第２のセンサードメイン（「マーカー２」）とを含むタンパク質複合体を示している。この例では、マーカー１の存在は治療用ドメインのＤＢＡ２への結合をもたらし、マーカー２の存在は治療用ドメインのＤＢＡ１への結合をもたらす。しかしながら、マーカー１及びマーカー２の存在は、治療用ドメインを遊離させ、その活性を増強する。したがって、タンパク質複合体の活性は、そのマーカーの両方が存在する場合に不可欠である。そのような系の例は、ＣＥＡＣＡＭ５及びＰＤ－１がタンパク質複合体によるＩＬ－２活性に不可欠であるように、ＩＬ－２及びＰＤ－１を標的とする第１のセンサードメインと、ＩＬ－２及びＣＥＡＣＡＭ５を標的とする第２のセンサードメインとを含むタンパク質複合体であり得る。タンパク質複合体は、少なくとも２つ、少なくとも３つ、少なくとも４つ、又は少なくとも５つの標的マーカーに対する依存性を有し得る。タンパク質複合体は、最大で５つの、最大で４つの、最大で３つの、最大で２つの、又は単一の標的マーカーに対する依存性を含み得る。

【００６１】
マルチマーカー活性依存性は、タンパク質複合体の選択性を高め得る。多くの形態の癌性細胞など、いくつかの細胞は、健康な細胞と比較して、それらの表面領域にわずかな変化を有しており、疾患細胞を区別するための単一特異的標的化を実行不可能にする。したがって、特定の疾患細胞又は組織を選択的に標的化するには、複数のマーカーを標的化する必要があり得る。本開示のタンパク質複合体は、少なくとも２つ、少なくとも３つ、少なくとも４つ、又は少なくとも５つのマーカーを標的化し得る。本開示のタンパク質複合体は、最大で５つ、最大で４つ、最大で３つ、又は最大で２つのマーカーを標的化し得る。場合によっては、タンパク質複合体によって標的化されるマーカーのうちの少なくとも１つは、一般に、標的細胞又は組織と健康な細胞又は組織との間で共有される。場合によっては、タンパク質複合体によって標的化されるマーカーのすべては、一般に、標的細胞又は組織と健康な細胞又は組織との間で共有される。

【００６２】
本開示のセンサードメインは、少なくとも２つ、少なくとも３つ、少なくとも４つ、少なくとも５つ、少なくとも６つ、少なくとも７つ、少なくとも８つ、少なくとも９つ、又は少なくとも１０個のマーカーを標的化し得、治療用ドメインを標的化し得ない。本開示のセンサードメインは、最大で２つ、最大で３つ、最大で４つ、最大で５つ、最大で６つ、最大で７つ、最大で８つ、最大で９つ、又は最大で１０個のマーカーを標的化し得、治療用ドメインを標的化し得ない。本開示のセンサードメインは、単一の治療用ドメイン及び少なくとも１つ、少なくとも２つ、少なくとも３つ、少なくとも４つ、少なくとも５つ、少なくとも６つ、少なくとも７つ、少なくとも８つ、少なくとも９つ、又は少なくとも１０個のマーカーを標的化し得る。本開示のセンサードメインは、単一の治療用ドメイン及び最大で１つ、最大で２つ、最大で３つ、最大で４つ、最大で５つ、最大で６つ、最大で７つ、最大で８つ、最大で９つ、又は最大で１０個のマーカーを標的化し得る。本開示のセンサードメインは、少なくとも２つの治療用ドメイン及び少なくとも１つ、少なくとも２つ、少なくとも３つ、少なくとも４つ、少なくとも５つ、少なくとも６つ、少なくとも７つ、少なくとも８つ、少なくとも９つ、又は少なくとも１０個のマーカーを標的化し得る。本開示のセンサードメインは、少なくとも２つの治療用ドメイン、並びに最大で１つ、最大で２つ、最大で３つ、最大で４つ、最大で５つ、最大で６つ、最大で７つ、最大で８つ、最大で９つ、又は最大で１０個のマーカーを標的化し得る。

【００６３】
２つのセンサードメインは、治療用ドメインに対して同一の親和性を有し得るか、又は治療用ドメインに対して異なる親和性を有し得る。２つのセンサードメインは、治療用ドメインに対して少なくとも１桁、少なくとも２桁、少なくとも３桁、又は少なくとも４桁異なる治療用ドメインに対する親和性を有し得る。２つのセンサードメインは、最大で４桁、最大で３桁、最大で２桁、又は最大で１桁異なる治療用ドメインに対する親和性を有し得る。複数のセンサードメインによる異なる治療用ドメイン親和性の組み合わせは、標的マーカーに対するタンパク質複合体の親和性を高め得る。例えば、タンパク質複合体は、タンパク質複合体が細胞表面の第２のマーカーの存在下で弱い活性を示し、第１及び第２の細胞表面マーカーの存在下で強い活性を示すように、第１の細胞表面マーカーを弱く標的化し、治療用ドメインを弱く標的化する第１のセンサードメインと、第２の細胞表面マーカーを強く標的化し、治療用ドメインを強く標的化する第２のセンサードメインとを含み得る。

【００６４】
タンパク質複合体の２つのセンサードメインはまた、別個の治療用ドメインを標的化し得る。例えば、タンパク質複合体は、ＩＬ－２及びＰＤ－１を標的とする第１のセンサードメインと、ＩＦＮα及びＣＥＡＣＡＭ５を標的とする第２のセンサードメインとを含み得る。タンパク質複合体は、治療用ドメインを標的化しないセンサードメインを含み得る。そのようなセンサードメインは、標的局在化を補助し得るか、又は治療用ドメインに対する別個のセンサードメインの活性を増強し得る。治療用ドメインを標的化しないセンサ

ードメインを含むタンパク質複合体の例を図１４Ｃに示す。この系は、単一特異性抗ＰＤ－１抗体を含み、第１の重鎖は、治療用ドメインにカップリングされたＣ末端リンカーを含み、第２の重鎖は、治療用ドメイン及び標的マーカーに対して二重特異性を有するセンサードメインにカップリングされたＣ末端リンカーを含む。

【００６５】

タンパク質複合体は、単一の標的、２つの標的、３つの標的、４つの標的、又は４つを超える標的を有し得る。タンパク質複合体は、少なくとも２つの標的、少なくとも３つの標的、又は少なくとも４つの標的を有し得る。タンパク質複合体は、最大で４つの標的、最大で３つの標的、又は最大で２つの標的を有し得る。タンパク質複合体は、単一のセンサードメイン、２つのセンサードメイン、３つのセンサードメイン、４つのセンサードメイン、又は４つを超えるセンサードメインを含み得る。タンパク質複合体は、少なくとも２つのセンサードメイン、少なくとも３つのセンサードメイン、又は少なくとも４つのセンサードメインを含み得る。例えば、タンパク質複合体は、Ｆａｂ領域センサードメインを含むＩｇＭ抗体、又は４つのＦａｂ領域センサードメインを含むＩｇＡ抗体を含み得る。

【００６６】

タンパク質複合体は、ある範囲のセンサー対治療用ドメイン比を有し得る。タンパク質複合体は、等しい数のセンサードメイン及び治療用ドメインを含み得、その例は、２つのセンサードメイン及び２つの治療用ドメインを有するタンパク質複合体を示す図１４Ａ、並びに単一のセンサードメイン及び単一の治療用ドメインを有するタンパク質複合体を示す図８によって提供される。タンパク質複合体は、それぞれが２つのセンサードメイン及び１つの治療用ドメインを含む図９Ａ、図９Ｂ、図９Ｃ、図９Ｆ及び図１４Ｂのタンパク質複合体などのように、治療用ドメインよりも多数のセンサードメインを含み得る。そのような場合、治療用ドメインは、複数のセンサードメインと相互作用することが可能であり得るか、又は２つ以上のセンサードメインと相互作用することが制限され得る。センサードメインが相互作用し得る治療用ドメインの数は、そのリンカーに依存し得る。リンカーは、治療用ドメインがセンサードメインと相互作用するのを防ぐように十分に短くてもよく、又は治療用ドメインが複数のセンサードメインと相互作用することを可能にするように十分に長くてもよい。

【００６７】

特定の場合には、タンパク質複合体は、Ｆｃ結合治療ドメイン及びセンサードメインを有する抗体を含み得る。図１４Ｃに示されるように、タンパク質複合体は、リンカー及び治療用ドメインを含む第１の重鎖Ｃ末端伸長と、リンカー及びセンサードメインを含む第２の重鎖Ｃ末端伸長とを有する抗体を含み得る。この設計の抗体は、そのＦａｂ及びＣ末端伸長センサードメインにわたって共通の標的を有し得る。例えば、抗体Ｆａｂ領域及びＣ末端伸長センサードメインは、それぞれＰＤ－１を標的化し得る。逆に、この設計の抗体は、そのＦａｂ領域及びＣ末端伸長センサードメインにわたって別個の標的を有し得る。

【００６８】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のタンパク質複合体中のアミノ酸は、保存的置換を含み得る。保存的置換は、類似の生化学的特性（例えば、電荷、疎水性及びサイズ）を有する異なるアミノ酸による１つのアミノ酸の置換を含み得る。保存的置換の例、並びに好ましい（ただし必ずしもそうとは限らない）置換の例を表３３に示す。

【００６９】

【表２－１】

表３３－例示的な保存的置換

元の残基	例示的な置換	好ましい置換
Ala (A)	Val、Leu、Ile	Val
Arg (R)	Lys、Gln、Asn	Lys
Asn (N)	Gln、His、Lys、Arg	Gln
Asp (D)	Glu	Glu
Cys (C)	Ser	Ser
Gln (Q)	Asn	Asn
Glu (E)	Asp	Asp
Gly (G)	Pro、Ala	Ala
His (H)	Asn、Gln、Lys、Arg	Arg
Ile (I)	Leu、Val、Met、Ala、Phe、ノルロイシン	Leu
Leu (L)	ノルロイシン、Ile 、Val、Met、Ala、Phe	Ile
Lys (K)	Arg、Gln、Asn	Arg
Met (M)	Leu、Phe、Ile	Leu
Phe (F)	Leu、Val、Ile、Ala、Tyr	Leu
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr

【００７０】

【表２－２】

元の残基	例示的な置換	好ましい置換
Thr (T)	Ser	Ser
Trp (W)	Tyr、Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp、Phe、Thr、Ser	Phe
Val (V)	Ile、Leu、Met、Phe、Ala、ノルロイシン	Leu

【００７１】

いくつかの実施形態では、本開示は、本明細書に開示されるタンパク質複合体をコードする組換え核酸について説明する。いくつかの実施形態では、組換え核酸は、タンパク質複合体全体をコードするプラスミド又はベクターを含む。いくつかの実施形態では、組換え核酸は、治療用ドメイン、センサードメイン、及びリンカーをそれぞれコードするプラ

スミド又はベクターを含む。いくつかの実施形態では、組換え核酸は、治療用ドメイン、センサードメイン及びリンカーのうちのいずれか２つを一緒にコードするプラスミド又はベクターを含む。

【００７２】

医薬製剤

本開示のタンパク質複合体、又はそのタンパク質複合体をコードする組換え核酸は、医薬組成物として製剤化され得る。医薬組成物は、薬学的に許容される担体又は賦形剤を含み得る。本明細書中で使用される場合、「薬学的に許容される」又は「薬理学的に許容される」には、必要に応じて、対象に投与されたとき、有害なアレルギー反応又は他の不都合な反応を生じさせない分子実体及び組成物が含まれる。「薬学的に許容される担体」としては、ありとあらゆる溶媒、分散媒、コーティング、抗菌剤及び抗真菌剤、等張剤及び吸収遅延剤などが挙げられる。医薬活性物質のためのそのような媒体及び薬剤の使用は、当技術分野で周知である。任意の従来の媒体又は薬剤が活性成分と配合禁忌である場合を除いて、治療用組成物におけるその使用が企図される。補助活性成分もしばしば組成物に組み込まれる。

【００７３】

用途

本開示のタンパク質複合体は、様々な治療用途に使用され得る。本開示のタンパク質複合体は、それを必要とする対象に投与するための治療薬として使用され得る。対象は、ヒト又は非ヒト哺乳動物であり得る。対象は、疾患を有し得る。その疾患は癌であり得る。癌は、急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）、青年の癌、副腎皮質癌、支援関連癌、カポジ肉腫（軟部組織肉腫）、支援関連リンパ腫（リンパ腫）、原発性ＣＮＳリンパ腫（リンパ腫）、肛門癌、虫垂癌－消化管カルチノイド腫瘍を参照のこと、星状細胞腫、小児期（脳癌）、非定型奇形腫様／ラブドイド腫瘍、小児期、中枢神経系（脳癌）、皮膚の基底細胞癌－皮膚癌を参照のこと、胆管癌、膀胱癌、骨癌（ユーイング肉腫及び骨肉腫及び悪性線維性組織球腫を含む）、脳腫瘍、乳癌、気管支腫瘍（肺癌）、バーキットリンパ腫－非ホジキンリンパ腫を参照のこと、カルチノイド腫瘍（胃腸）、原発不明癌、心臓（心臓）腫瘍、小児、中枢神経系、非定型奇形腫様／ラブドイド腫瘍、小児（脳癌）、髄芽腫及び他のＣＮＳ胚性腫瘍、小児（脳腫瘍）、胚細胞腫瘍、小児（脳癌）、原発性ＣＮＳリンパ腫、子宮頸癌、小児癌、小児期の癌、稀、胆管癌－胆管癌を参照のこと、腱索腫、小児（骨癌）、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、慢性骨髄増殖性腫瘍、結腸直腸癌、頭蓋咽頭腫、小児（脳癌）、皮膚ｔ細胞リンパ腫－リンパ腫（菌状息肉症及びセザリー症候群）を参照のこと、非浸潤性乳管癌（ＤＣＩＳ）－乳癌を参照のこと、胚性腫瘍、髄芽腫及び他の中枢神経系、小児（脳癌）、子宮内膜癌（子宮癌）、上衣腫、小児（脳癌）、食道癌、感覚神経芽細胞腫（頭頸部癌）、ユーイング肉腫（骨癌）、頭蓋外胚細胞腫瘍、小児、性腺外胚細胞腫瘍、眼の癌、眼内黒色腫、網膜芽細胞腫、卵管癌、骨の線維性組織球腫、悪性及び骨肉腫、

胆嚢癌、胃（胃腸）癌、消化管カルチノイド腫瘍、消化管間質腫瘍（ＧＩＳＴ）（軟部組織肉腫）、胚細胞腫瘍、小児中枢神経系胚細胞腫瘍（脳腫瘍）、小児頭蓋外胚細胞腫瘍、性腺外胚細胞腫瘍、卵巣胚細胞腫瘍、精巣癌、妊娠性栄養膜疾患、有毛細胞白血病、頭頸部癌、心臓腫瘍、小児、肝細胞（肝臓）癌、組織球症、ランゲルハンス細胞、ホジキンリンパ腫、下咽頭癌（頭頸部癌）、眼内黒色腫、膵島細胞腫瘍、膵臓神経内分泌腫瘍、カポジ肉腫（軟部組織肉腫）、腎臓（腎細胞）癌、ランゲルハンス細胞組織球症、喉頭癌（頭頸部癌）、白血病、口唇及び口腔癌（頭頸部癌）、肝臓癌、肺癌（非小細胞、小細胞、胸膜肺芽腫、及び気管気管支腫瘍）、リンパ腫、男性乳癌、骨及び骨肉腫の悪性線維性組織球腫、メラノーマ、黒色腫、眼内（眼）、メルケル細胞癌（皮膚癌）、中皮腫、悪性、転移性癌、潜在性原発性転移性扁平上皮頸部癌（頭頸部癌）、ナット遺伝子変化を伴う正中管癌、口腔癌（頭頸部癌）、多発性内分泌腫瘍症候群、多発性骨髄腫／形質細胞新生物、菌状息肉症（リンパ腫）、骨髄異形成症候群、骨髄異形成／骨髄増殖性新生物、骨髄性白血病、慢性（ＣＭＬ）、骨髄性白血病、急性（ＡＭＬ）、骨髄増殖性新生物、慢性、鼻

腔及び副鼻腔癌（頭頸部癌）、鼻咽頭癌（頭頸部癌）、神経芽細胞腫、非ホジキンリンパ腫、非小細胞肺癌、口腔癌、口唇及び口腔癌並びに中咽頭癌（頭頸部癌）、骨肉腫及び骨の悪性線維性組織球腫、卵巣癌、

膵臓癌、膵臓神経内分泌腫瘍（膵島細胞腫瘍）、乳頭腫症（小児喉頭）、傍神経節腫、副鼻腔癌及び鼻腔癌（頭頸部癌）、副甲状腺癌、陰茎癌、咽頭癌（頭頸部癌）、褐色細胞腫、下垂体腫瘍、形質細胞新生物／多発性骨髄腫、胸膜肺芽腫（肺癌）、妊娠及び乳癌、原発性中枢神経系（ＣＮＳ）リンパ腫、原発性腹膜癌、前立腺癌、直腸癌、再発癌、腎細胞（腎臓）癌、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、小児（軟部組織肉腫）、唾液腺癌（頭頸部癌）、肉腫、小児横紋筋肉腫（軟部組織肉腫）、小児血管腫瘍（軟部組織肉腫）、ユーイング肉腫（骨癌）、カポジ肉腫（軟部組織肉腫）、骨肉腫（骨癌）、軟部組織肉腫、子宮肉腫、セザリー症候群（リンパ腫）、皮膚癌、小細胞肺癌、小腸癌、軟部組織肉腫、皮膚の扁平上皮癌－皮膚癌を参照のこと、潜在性原発性転移性扁平上皮頸部癌（頭頸部癌）、胃腸（胃）癌、ｔ細胞リンパ腫、皮膚－リンパ腫（菌状息肉症及びセザリー症候群）を参照のこと、精巣癌、咽喉癌（頭頸部癌）、鼻咽頭癌、中咽頭癌、下咽頭癌、胸腺腫及び胸腺癌、甲状腺癌、気管気管支腫瘍（肺癌）、腎盂及び尿管の移行細胞癌（腎臓（腎細胞）癌）、未知の原発性癌、小児のまれな癌、尿管及び腎盂、移行細胞癌（腎臓（腎細胞）癌）、尿道癌、子宮癌、子宮内膜、子宮肉腫、膣癌、血管腫瘍（軟部組織肉腫）、外陰癌、ウィルムス腫瘍及び他の小児腎臓腫瘍、又は若年成人の癌、あるいはｈｔｔｐｓ：／／ｗｗｗ．ｃａｎｃｅｒ．ｇｏｖ／ｔｙｐｅｓで言及されている任意の癌で有り得る。

【００７４】

癌の治療に加えて、本開示のタンパク質複合体は、標的化された条件付き活性が有利であり得る様々な他の状況において潜在的な用途を有する。自己免疫疾患及び炎症性疾患では、全体的な免疫抑制を介して作用する治療薬は、患者を様々な日和見感染症の影響を受けやすくするという欠点を有する。さらに、短い半減期及び疾患組織への蓄積の欠如は、免疫抑制組換えサイトカインの有効性を制限し得る。本開示のタンパク質複合体は、末梢においてサイレントの状態を維持しながら、影響を受けた解剖学的位置に選択的に、ＩＬ－４、ＩＬ－１０、ＴＧＦ－β及びＴＮＦＲ２などの免疫調節因子の標的化送達を可能にすることによって、これらの欠点に対処し得る。さらなる用途は、細胞型特異的治療標的化、例えば、Ｔｒｅｇ細胞指向ＩＬ－２を含み得る。特定の臓器又は炎症マーカーの存在下でのオピオイドアゴニストの標的化された条件付き活性化は、疼痛制御の中毒リスクを減少させ得る。

【００７５】

タンパク質複合体は、医薬組成物として投与され得る。本開示の医薬組成物は、本明細書に記載の任意のタンパク質複合体と、担体、安定剤、希釈剤、分散剤、懸濁化剤、増粘剤、及び／又は賦形剤などの他の化学成分との組み合わせであり得る。本医薬組成物は、本明細書に記載のタンパク質複合体の生物への投与を容易にする。本医薬組成物は、例えば、静脈内、皮下、筋肉内、直腸、エアロゾル、非経口、眼、肺、経皮、膣、視神経、鼻、経口、吸入、皮膚、関節内、髄腔内、鼻腔内、及び局所投与などの様々な形態及び経路によって医薬組成物として治療有効量で投与することができる。本医薬組成物は、局所的又は全身的に、例えば、本明細書に記載のタンパク質複合体を臓器に、任意選択でデポ剤として、直接注射することによって投与することができる。

【００７６】

非経口注射は、ボーラス注射又は連続注入用として製剤化することができる。本医薬組成物は、油性又は水性ビヒクル中の滅菌懸濁液、溶液又はエマルジョンとしての非経口注射に適した形態であり得、懸濁化剤、安定化剤及び／又は分散剤などの調合剤を含有し得る。非経口投与用の医薬製剤としては、水溶性形態の本明細書に記載のタンパク質複合体の水溶液が挙げられる。本明細書に記載のタンパク質複合体の懸濁液は、油性注射懸濁液として調製することができる。適切な親油性溶媒又はビヒクルとしては、ゴマ油などの脂肪油、又はオレイン酸エチル若しくはトリグリセリドなどの合成脂肪酸エステル、又はリポソームが挙げられる。水性注射懸濁液は、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ソ

ルビトール又はデキストランなどの懸濁液の粘度を増加させる物質を含有することができる。懸濁液はまた、高濃度溶液の調製を可能にするために、溶解度を増加させ、かつ／又は本明細書に記載のそのようなタンパク質複合体の凝集を減少させる適切な安定剤又は薬剤を含有することができる。あるいは、本明細書に記載のタンパク質複合体は、使用前に、適切なビヒクル、例えば、滅菌パイロジェンフリー水で再構成するために凍結乾燥又は粉末形態であり得る。いくつかの実施形態では、精製タンパク質複合体は静脈内投与される。本開示のタンパク質複合体は、毎日、１日おき、週に２回、毎週、隔週又は毎月の投与頻度を含む投与レジメンを可能にするのに十分に長い血清半減期を有し得る（例えば、実施例１７に示すように）。本開示のタンパク質複合体は、少なくとも１２時間、少なくとも２４時間、少なくとも３６時間、少なくとも４８時間、少なくとも７２時間、少なくとも９６時間、少なくとも１２０時間、少なくとも１６８時間、少なくとも２５０時間、少なくとも３２０時間、又は少なくとも４００時間の血清半減期を有し得る。血清半減期は、ヒト血清半減期、マウス血清半減期、ブタ血清半減期、ウシ血清半減期、イヌ血清半減期、ネコ血清半減期、又はレポーリン血清半減期であり得る。

【００７７】

本開示のタンパク質複合体は、外科的処置中に、又は経皮、皮下、筋肉内、腫瘍内、髄腔内、局所若しくは局所送達を介して、器官又は器官組織若しくは細胞に直接適用することができる。いくつかの実施形態では、本開示のタンパク質複合体を滑膜に直接注射することができる（例えば、関節リウマチのためのＩＬ－１０を含むタンパク質複合体の投与として）。いくつかの実施形態では、タンパク質複合体は、癌性組織（例えば、腫瘍）に直接適用することができる。本明細書に記載のタンパク質複合体は、局所投与することができ、溶液、懸濁液、ローション、ゲル、ペースト、薬用スティック、バーム、クリーム及び軟膏などの様々な局所投与可能な組成物に製剤化することができる。そのような医薬組成物は、可溶化剤、安定剤、張度向上剤、緩衝剤及び保存剤を含有することができる。

【００７８】

本明細書で提供される治療又は使用の方法を実施する際に、治療有効量の本明細書に記載のタンパク質複合体を医薬組成物の形で状態に罹患している対象に投与する。いくつかの例では、本医薬組成物は、免疫系、炎症反応、又は他の生理学的影響などの動物の生理学に影響を及ぼす。いくつかの実施形態では、対象は、ヒトなどの哺乳動物である。治療有効量は、疾患の重症度、対象の年齢及び相対的な健康状態、使用される化合物の効力、及び他の要因に応じて大きく変動し得る。

【００７９】

医薬組成物は、薬学的に使用することができる調製物への活性化合物の加工を容易にする賦形剤及び補助剤を含む１つ以上の生理学的に許容される担体を使用して製剤化することができる。製剤は、選択された投与経路に応じて変更することができる。本明細書に記載のタンパク質複合体を含む医薬組成物は、例えば、タンパク質複合体を組換え系で発現させること、タンパク質複合体を精製すること、タンパク質複合体を凍結乾燥すること、混合すること、又は溶解することによって製造することができる。本医薬組成物は、少なくとも１つの薬学的に許容される担体、希釈剤、又は賦形剤、及び遊離塩基又は薬学的に許容される塩形態として本明細書に記載される化合物を含むことができる。

【００８０】

本明細書に記載のタンパク質複合体の調製方法は、本明細書に記載のタンパク質複合体を１つ以上の不活性な薬学的に許容される賦形剤又は担体と製剤化して、固体、半固体、又は液体組成物を形成することを含む。固体組成物としては、例えば、散剤、錠剤、分散性顆粒剤、カプセル剤、カシェ剤及び坐剤が挙げられる。これらの組成物はまた、湿潤剤又は乳化剤、ｐＨ緩衝剤、及び他の薬学的に許容される添加剤などの少量の非毒性補助物質を含有することができる。

【００８１】

本明細書に記載の特定の方法は、例えば、本明細書に記載の本開示のタンパク質複合体を含む静脈内医薬組成物を対象に投与することを含む。タンパク質複合体の静脈内医薬組

成物は、ボーラス、経時的に起こる注入、又は当技術分野で公知の任意の他の静脈内方法を含む任意の静脈内方法による対象への投与に適した任意の製剤を含む。いくつかの態様では、注入速度は、用量が５分未満、５分超１５分未満又は１５分超の期間にわたって投与されるような速度である。他の態様では、注入速度は、用量が５分未満の期間にわたって投与されるような速度である。他の態様では、注入速度は、用量が５分超１５分未満の期間にわたって投与されるような速度である。いくつかの他の態様では、注入速度は、用量が１５分を超える期間にわたって投与されるような速度である。

【００８２】

本明細書で使用される「製品」又は「剤形」は、投与に使用される任意の固体、半固体、凍結乾燥、水性、液体又は凍結製剤又は製剤を指す。投与時、製品からの活性部分の放出速度は、しばしば、賦形剤及び／又は製品自体を構成する製品の特徴によって大きく影響される。例えば、錠剤上の腸溶コートは、例えば、胃腸の不快感又は損傷を誘発することが多い胃の分解を防止するために、錠剤の内容物を胃の内容物から分離するように設計される。現在受け入れられている従来の理解によれば、活性部分の全身曝露は、製剤のわずかな変化に対して比較的鈍感である。

【００８３】

薬学的に許容される賦形剤の非限定的な例は、例えば、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ：Ｔｈｅ Ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｙ，Ｎｉｎｅｔｅｅｎｔｈ Ｅｄ（Ｅａｓｔｏｎ，Ｐａ．：Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏｍｐａｎｙ，１９９５）、Ｈｏｏｖｅｒ，Ｊｏｈｎ Ｅ．，Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏ．，Ｅａｓｔｏｎ，Ｐｅｎｎｓｙｌｖａｎｉａ １９７５、Ｌｉｂｅｒｍａｎ，Ｈ．Ａ．ａｎｄ Ｌａｃｈｍａｎ，Ｌ．，Ｅｄｓ．，Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｃｋｅｒ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．，１９８０、及び、Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ ａｎｄ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｓｅｖｅｎｔｈ Ｅｄ．（Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ Ｗｉｌｌｉａｍｓ＆Ｗｉｌｋｉｎｓ１９９９）、に見出すことができ、その各々が参照によりその全体が組み込まれる。

【００８４】

本開示のタンパク質複合体は、有効量で患者に投与され得る。本明細書で使用される「有効量」という用語は、治療される疾患又は状態の症状のうちの１つ以上をある程度軽減する、投与される薬剤又は化合物の十分な量を指すことができる。その結果は、疾患の徴候、症状、若しくは原因の軽減及び／若しくは緩和、又は生物系の任意の他の所望の変化であり得る。そのような薬剤又は化合物を含有する組成物は、予防的、増強的及び／又は治療的処置のために投与することができる。任意の個々の場合における適切な「有効」量は、用量漸増実験などの方法を使用して決定することができる。

【００８５】

本開示の方法、組成物及びキットは、状態の症状を予防、治療、停止、好転又は改善する方法を含むことができる。治療は、対象（例えば、疾患又は状態に罹患している個体、家畜、野生動物又は実験動物）を本開示のタンパク質複合体で治療することを含み得る。本開示のタンパク質複合体は、対象の疾患を治療するために投与され得る。対象はヒトであり得る。対象は、ヒト、非ヒト霊長類（チンパンジー、又は他の類人猿若しくはサル種など）、家畜（ウシ、ウマ、ヒツジ、ヤギ、ブタなど）、飼育動物（ウサギ、イヌ、ネコなど）、実験動物（ラット、マウス、モルモットなどの齧歯動物を含む）であり得る。対象は、任意の年齢であり得る。対象は、例えば、高齢成人、成人、青年、早期青年、小児、幼児、乳児、又は子宮内胎児であり得る。

【００８６】

疾患の臨床的発症前に対象に治療を提供することができる。疾患の臨床的発症後に対象に治療を提供することができる。治療は、疾患の臨床的発症の１日後、１週間後、６ヶ月後、１２ヶ月後又は２年後又はそれ以降に対象に提供することができる。治療は、疾患の

臨床的発症後１日以上、１週間以上、１ヶ月以上、６ヶ月以上、１２ヶ月以上、２年以上、又はそれ以上にわたって対象に提供することができる。治療は、疾患の臨床的発症後１日未満、１週間未満、１ヶ月未満、６ヶ月未満、１２ヶ月未満、又は２年未満にわたって対象に提供することができる。治療はまた、臨床試験においてヒトを治療することを含み得る。治療は、医薬組成物、例えば、本開示を通して記載される医薬組成物のうちの１つ以上を対象に投与することを含み得る。治療は、１日１回の投薬を含むことができる。治療は、本開示のタンパク質複合体を対象に、静脈内、皮下、筋肉内、吸入、真皮、関節内注射、経口、髄腔内、経皮、鼻腔内、腹膜経路を介して、又は疾患組織上若しくは疾患組織内に直接、例えば、局所、関節内注射経路又は注射適用経路を介して送達することを含み得る。

【００８７】

いくつかの実施形態では、本開示は、癌を治療する方法であって、それを必要とする対象に有効量の本開示のタンパク質複合体を投与することを含む方法を提供する。

【００８８】

いくつかの実施形態では、本開示は、癌を治療する方法であって、それを必要とする患者に、本開示のタンパク質複合体と薬学的に許容される担体とを含む有効量の医薬組成物を投与することを含む方法を提供する。

【００８９】

キット

本開示のタンパク質複合体は、様々なキットで提供され得る。いくつかの実施形態では、本開示のタンパク質複合体を含む医薬組成物は、キットとして供給され得る。キットは、タンパク質複合体を含む容器を含み得る。治療用タンパク質複合体は、単回又は複数回投与用の注射液の形態で、又は注射前に再構成される滅菌粉末として提供することができる。あるいは、そのようなキットは、治療用タンパク質複合体を投与するための乾燥粉末分散機、液体エアロゾル発生器、又はネブライザーを含むことができる。そのようなキットは、本医薬組成物の適用及び使用に関する書面の情報をさらに含み得る。

【００９０】

他に定義されない限り、本明細書で使用されるすべての技術用語は、本発明が属する技術分野の当業者によって一般的に理解されるのと同じ意味を有する。本明細書及び添付の特許請求の範囲で使用される場合、単数形「ａ」、「ａｎ」及び「ｔｈｅ」は、文脈が明らかにそうでないことを指示しない限り、複数の言及を含む。本明細書における「又は」への任意の言及は、特に明記しない限り、「及び／又は」を包含することが意図される。

【００９１】

「少なくとも」、「より大きい」、又は「より大きいか等しい」という用語が２つ以上の一連の数値の最初の数値に先行するときはいつでも、「少なくとも」、「より大きい」、又は「以上」という用語は、その一連の数値の各数値に適用される。例えば、１、２、又は３以上は、１以上、２以上、又は３以上と同じ意味である。

【００９２】

「以下」、「未満」、「より小さいか等しい」、又は「最大で」という用語が２つ以上の一連の数値の最初の数値に先行するときはいつでも、「以下」、「未満」、又は「より小さいか等しい」、又は「最大で」という用語は、その一連の数値の各数値に適用される。例えば、３、２、又は１以下は、３以下、２以下、又は１以下と同じ意味である。

【００９３】

値が範囲として記載されている場合、そのような開示は、特定の数値又は特定の部分範囲が明示的に記載されているかどうかにかかわらず、そのような範囲内のすべての可能な部分範囲、並びにそのような範囲内に入る特定の数値の開示を含むことが理解されよう。

【実施例】

【００９４】

以下の実施例は、例示であり、本明細書に記載の装置、方法、システム、及びキットの範囲に限定されない。

【００９５】
実施例１
ＩＦＮα及びＰＤ－Ｌ１特異的二重結合抗体（ＤＢＡ）の選択
この実施例は、本開示のセンサードメインの単離、具体的には、ＩＦＮα及びＰＤ－Ｌ１特異的二重結合抗体（ＤＢＡ）の選択について説明する。抗ＰＤ－Ｌ１及び抗ＩＦＮαＤＢＡをＴｕｍｂｌｅｒ抗体ファージディスプレイライブラリー（Ｄｉｓｔｒｉｂｕｔｅｄ　Ｂｉｏ，Ｉｎｃ．）から単離した。抗体ファージディスプレイライブラリーを、以下の表２に示されるように、記載されるＰＤ－Ｌ１結合抗体由来の１０個の重鎖（「ＨＣ」）ＣＤＲ３配列（配列番号１～配列番号１０）と組み合わせたＳｕｐｅｒｈｕｍａｎ２．０抗体ライブラリーの重鎖ＣＤＲ１、重鎖ＣＤＲ２及び軽鎖の多様性を組み込むように構築した

【００９６】
【表３】

表２－ＰＤ－Ｌ１結合因子のＨＣ－ＣＤＲ３

配列番号	配列	
配列番号 １	CARDRIAVAGFDYW	ＰＤ－Ｌ１結合因子のＨＣ－ＣＤＲ３
配列番号 ２	CAKEVFSGWYDYW	ＰＤ－Ｌ１結合因子のＨＣ－ＣＤＲ３
配列番号 ３	CTTDLLSLELDDAFDIW	ＰＤ－Ｌ１結合因子のＨＣ－ＣＤＲ３
配列番号 ４	CARSLFPTIFGVEVAFDIW	ＰＤ－Ｌ１結合因子のＨＣ－ＣＤＲ３
配列番号 ５	CARDSYYYDSFDYW	ＰＤ－Ｌ１結合因子のＨＣ－ＣＤＲ３
配列番号 ６	CARHGEWGSGWPFDYW	ＰＤ－Ｌ１結合因子のＨＣ－ＣＤＲ３
配列番号 ７	CARDLLPAIFSGEVNDAFDIW	ＰＤ－Ｌ１結合因子のＨＣ－ＣＤＲ３
配列番号 ８	CARETIAVAGFDPW	ＰＤ－Ｌ１結合因子のＨＣ－ＣＤＲ３
配列番号 ９	CARDVLPTIFGVVSDAFDIW	ＰＤ－Ｌ１結合因子のＨＣ－ＣＤＲ３
配列番号 １０	CARGDYGDYFDYW	ＰＤ－Ｌ１結合因子のＨＣ－ＣＤＲ３

【００９７】
このライブラリーを、ＰＤ－Ｌ１（ＰＤ－Ｌ１結合を発現させ、この場合、ＰＤ－Ｌ１はマーカーとして作用する）とＩＦＮα（ＩＦＮα結合を発現させ、この場合、ＩＦＮαはセンサードメインによって調節される治療用ドメインである）とを交互に行う４回の選択に供した。各回、ファージライブラリーを抗原（ＰＤ－Ｌ１又はＩＦＮα）と共にインキュベートし、磁気ビーズ上に捕捉し、Ｋｉｎｇｆｉｓｈｅｒ磁気粒子プロセッサで洗浄し、磁気ビーズから溶出し、大腸菌中で継代することによって増幅した。ラウンド１では、ファージライブラリーを５０ｎＭのヒトＰＤ－Ｌ１－Ｆｃ融合物（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ、製品番号１５６－Ｂ７）と共にインキュベートし、プロテインＧ磁気ビーズ上に捕捉した。ラウンド２では、ファージライブラリーを１００ｎＭのビオチン化ヒトＩＦＮα（Ｇｅｎｓｃｒｉｐｔ、製品番号Ｚ０３００３、標準プロトコルを使用してビオチン化）とインキュベートし、ストレプトアビジン磁気ビーズ上に捕捉した。ラウンド３では、ファージライブラリーを５０ｎＭのカニクイザルＰＤ－Ｌ１－Ｆｃ融合物と共にインキュベートし、プロテインＧ磁気ビーズ上に捕捉した。ラウンド４では、ファージライブラリーを５０ｎＭのビオチン化ヒトＩＦＮαと共にインキュベートし、ストレプトアビジン磁気ビーズ上に捕捉した。最終選択物を単一コロニーとしてプレーティングし、サンガー配列決定のために３８０個のコロニーを採取した。４１個のユニークなクローンを発現のために選択した。各クローンのｓｃＦｖ配列を大腸菌発現のためにコドン最適化し、対応するＤＮＡ配列を、Ｔ７プロモーター、翻訳開始部位、Ｍｙｃタグ、ｓｃＦｖ配列、Ｖ５タグ配列及びＴ７ターミネーターを有するｇＢｌｏｃｋｓ（Ｉｎｔｅｇｒａｔｅｄ　ＤＮＡ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ，Ｉｎｃ．）として合成した。抗体可変領域のフレームワーク配列が生殖系列配列と異なる場合、生殖系列配列を用いてクローンの第２のバージョンを合成した。ｇＢｌｏｃｋ発現フラグメントの例示的な配列を図３に示す（配列番号４０、

GCGAATTAATACGACTCACTATAGGGCTTAAGTATAAGGA
GAATAATATATGTCTACTTCAACAGAACAAAAGTTAATTA
GTGAAGAAGATTTACAGGTCCAGTTGGTTCAGTCAGGCGC
AGAAGTCAAAAAGCCGGGAGCGAGTGTCAAAGTATCTTGT
AAAGCGAGCGGTGGTACTTTTAGTAGTTATGCGATTTCCT
GGGTTCGCCAAGCCCCGGGACAGGGTCTGGAATGGATGGG
TATTATTGACCCTTCCGTGACTTACACCCGCTACGCTCAG
AAATTCCAGGGACGTGTTACCATGACCCGCGATACCAGCA
CCAGTACCGTTTACATGGAACTTTCCTCCCTGAGATCGGA
AGACACGGCCGTGTATTATTGCGCTCGCTCACTCTTTCCG
ACCATCTTCGGCGTTGAAGTCGCCTTCGACATCTGGGGCC
AGGGCACGCTGGTTACGGTAAGTTCCGCAAGTGGCGGTGG
TGGTAGTGGTGGAGGTGGATCAGGAGGAGGTGGTTCTCAC
GCATCAGACATTCAAATGACACAGAGTCCATCATCCCTTT
CTGCCTCCGTGGGTGACCGGGTGACGATAACCTGCCAAGC
TAGCCAAGACATTAGCAACTATCTGAACTGGTACCAGCAA
AAGCCTGGGAAAGCTCCGAAACTATTGATTTACGGTGCGT
CGACTCTCCAGAGTGGGGTACCTAGTCGTTTTTCCGGTTC
AGGGTCGGGTACAGATTTTACCCTTACTATTTCCTCTCTG
CAGCCAGAAGACTTTGCTACTTATTACTGCCAACAGACTT
ATTCGACTCCGATTACGTTTGGCCAGGGAACCAAAGTCGA
AATCAAAGGCAAGCCGATCCCGAACCCTCTGCTGGGATTA
GACAGCACGTAACTAGCATAACCCCTCTCTAAACGGAGGG
GTTT）。各gBlockフラグメント由来のタンパク質を、無細胞転写／翻訳系（Cosmo Bio USA，Inc.、PURExpress2.1、製品番号GFK-PF213 with DS Supplement，製品番号GFK-PF005）を用いて発現させた。

【００９８】

V5タグ付きscFvを含む無細胞発現試料を３８４ウェルプレートで段階希釈した。Alexa Fluor647標識抗V5抗体をEu標識IFNα2a又はPD-L1と共に各ウェルに添加した。プレートを室温で２時間インキュベートし、HTRFレーザーモジュールを備えたEnvision（Perkin Elmer）でHTRFシグナルを読み取った。インターフェロンα受容体２（IFNAR2）のIFNαへの結合を阻止するDBA結合ドメインの能力を調べるために、V5タグ付きDBAscFvを、PURExpress2.1インビトロ翻訳系を使用して合成し、３８４ウェルプレートで段階希釈した。Eu標識IFNαをIFNAR2-Fc及びAPC標識抗Fc抗体と共に各ウェルに添加した。プレートを室温で２時間インキュベーションし、HTRFシグナルを、IFNα：IFNAR2結合の尺度としてEnvision（Perkin Elmer）で読み取った。結合曲線及び阻害曲線から得られた蛍光シグナル値を表４にまとめ、IFNα及びPD-L1についての結合曲線をそれぞれ図４及び図５に示す。IFNAR2遮断曲線を図６に示す。配列番号２１～配列番号２７の配列を有するDBAは、IFNα（図４）及びPD-L1（図５）の両方に結合することができた。配列番号２４はIFNαのIFNAR2への結合を遮断し、配列番号２６はIFNαのIFNAR2への結合を低下させた（図６）。

【００９９】

【表４－１】

表３－ＤＢＡ及び対照

配列番号	配列	説明
配列番号２１	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF SNYYIHWVRQAPGQGLEWMGWMDSNSG GTGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSS LRSEDTAVYYCAKEVFSGWYDYWGQGTL VTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQM TQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNW YQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPY TFGQGTKVEIK	ＰＤ－Ｌ１マーカー及びＩＦＮα治療用ドメインに結合することができるＤＢＡ
配列番号２２	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGGTF SSYAISWVRQAPGQGLEWVGWMDPKSGN TGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSL RSEDTAVYYCARSLFPTIFGVEVAFDIWGQ GTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASD IQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDINNY LNWYQQKPGKAPKLLIYKASSLEPGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQKSND VPFTFGQGTKVEIK	ＰＤ－Ｌ１マーカー及びＩＦＮα治療用ドメインに結合することができるＤＢＡ
配列番号２３	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGGTF SSYYMHWVRQAPGQGLEWMGWMNPNSG NTGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSS LRSEDTAVYYCARSLFPTIFGVEVAFDIWG QGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHAS DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDITN YLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLESGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSY SIPITFGQGTRLEIK	ＰＤ－Ｌ１マーカー及びＩＦＮα治療用ドメインに結合することができるＤＢＡ
配列番号２４	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGGTF TGYYMHWVRQAPGQGLEWMGWVNPNSG NTGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSS LRSEDTAVYYCARSLFPTIFGVEVAFDIWG QGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHAS DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISN YLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQS YSPPPTFGQGTKLEIK	ＰＤ－Ｌ１マーカー及びＩＦＮα治療用ドメインに結合することができるＤＢＡ
配列番号２５	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGNTF TDYYMHWVRQAPGQGLEWMGWMNPNS GNTGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELS SLRSEDTAVYYCARSLFPTIFGVEVAFDIW GQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHA SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDIS NYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVP	ＰＤ－Ｌ１マーカー及びＩＦＮα治療用ドメインに結合することができるＤＢＡ

【０１００】

【表４－２】

配列番号	配列	説明
	SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ SYSTPPTFGQGTRLEIK	
配列番号２６	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGGTF SSYAISWVRQAPGQGLEWMGIIDPSVTYTR YAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCARSLFPTIFGVEVAFDIWGQGT LVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYL NWYQQKPGKAPKLLIYGASTLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQTYST PITFGQGTKVEIK	ＰＤ－Ｌ１マーカー及びＩＦＮα治療用ドメインに結合することができるＤＢＡ
配列番号２７	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGGTF SSYAISWVRQAPGQGLEWMGWMDANNG NTGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSS LRSEDTAVYYCARSLFPTIFGVEVAFDIWG QGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHAS DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSS YLNWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSS STPLSFGGGTKVEIK	ＰＤ－Ｌ１マーカー及びＩＦＮα治療用ドメインに結合することができるＤＢＡ
配列番号２８	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIK DTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTR YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA EDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTL VTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQM TQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVA WYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSG SRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTP PTFGQGTKVEIK	抗ＨＥＲ２対照
配列番号２９	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS DSWIHWVRQAPGKGLEWVAWISPYGGST YYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTLVT VSSAASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYLYHP ATFGQGTKVEIK	抗ＰＤ－Ｌ１対照
配列番号３０	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGYTFT EYIIHWVRQAPGKGLEWVASINPDYDITNY NQRFKGRFTISLDKSKRTAYLQMNSLRAED TAVYYCASWISDFFDYWGQGTLVTVSSAS GGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSSL SASVGDRVTITCRASQSVSTSSYSYMHWY QQKPGKAPKVLISYASNLESGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHSWGIPRT FGQGTKVEIK	抗ＩＦＮα対照

【０１０１】

【表５－１】

表４－結合曲線及び阻害曲線から得られた蛍光シグナル値

名称	ＰＤＬ１結合	ＩＦＮα結合	ＩＦＮＡＲ２－ＩＦＮ結合
PDL1-IFN-R01-A03	2,715	20,447	42,528
PDL1-IFN-R01-A04	2,377	10,890	45,590
PDL1-IFN-R01-A05 (配列番号２１)	3,113	7,115	50,505
PDL1-IFN-R01-A06 (配列番号２２)	2,781	8,563	44,019
PDL1-IFN-R01-A07	3,010	4,496	52,343
PDL1-IFN-R01-A08	2,274	19,905	40,314
PDL1-IFN-R01-A09	1,628	6,585	50,070
PDL1-IFN-R01-A09V2	1,894	5,264	49,709
PDL1-IFN-R01-A10	1,969	6,105	48,781
PDL1-IFN-R01-A11 (配列番号２３)	2,965	14,613	41,796
PDL1-IFN-R01-A12	2,133	9,478	53,273
PDL1-IFN-R01-B01	3,172	7,460	44,230
PDL1-IFN-R01-B02	2,695	7,190	42,135
PDL1-IFN-R01-B03	2,383	4,072	44,076
PDL1-IFN-R01-B04	2,518	12,736	42,948
PDL1-IFN-R01-B04V2	2,703	12,952	43,748
PDL1-IFN-R01-B05	2,074	3,480	50,563
PDL1-IFN-R01-B06	3,084	17,212	43,958
PDL1-IFN-R01-B07	2,897	6,271	40,647
PDL1-IFN-R01-B07V2	2,907	6,111	42,880
PDL1-IFN-R01-B08	2,924	4,042	46,089
PDL1-IFN-R01-B09 (配列番号２４)	1,378	35,717	31,232
PDL1-IFN-R01-B10	899	4,118	46,508
PDL1-IFN-R01-B11	2,525	14,580	43,204
PDL1-IFN-R01-B12 (配列番号２５)	2,977	9,230	44,505
PDL1-IFN-R01-C01	2,780	6,975	47,032
PDL1-IFN-R01-C02	2,923	4,123	49,398
PDL1-IFN-R01-C03	2,671	6,522	46,323
PDL1-IFN-R01-C04	2,917	7,761	48,699
PDL1-IFN-R01-C05	2,802	3,427	47,470
PDL1-IFN-R01-C06	399	4,380	49,878
PDL1-IFN-R01-C06V2	391	4,130	47,685
PDL1-IFN-R01-C07	2,139	24,494	43,262
PDL1-IFN-R01-C08 (配列番号２６)	2,746	45,175	14,739
PDL1-IFN-R01-C08V2	2,812	55,319	16,753
PDL1-IFN-R01-C09	2,388	4,346	48,696
PDL1-IFN-R01-C10	2,489	12,727	43,275
PDL1-IFN-R01-C10V2	2,665	11,972	43,576
PDL1-IFN-R01-C11 (配列番号２７)	3,043	7,730	40,503
PDL1-IFN-R01-C12	1,006	13,135	44,871
PDL1-IFN-R01-D01	582	7,018	39,109

【０１０２】

【表５－２】

名称	ＰＤＬ１結合	ＩＦＮα結合	ＩＦＮＡＲ２－ＩＦＮ結合
PDL1-IFN-R01-D03	2,904	6,084	42,638
PDL1-IFN-R01-D05	2,325	6,402	49,246
PDL1-IFN-R01-D06	2,907	8,326	45,581
PDL1-IFN-R01-D07	414	4,974	38,164
抗Ｈｅｒ２対照（配列番号２８）	425	4,275	52,922
抗ＰＤ－Ｌ１対照（配列番号２９）	2,445	1,803	39,121
抗ＩＦＮ対照（配列番号３０）	416	19,098	51,190
ＤＮＡ対照なし	422	4,135	45,042

【０１０３】

実施例２

ヒトＰＤ－１及びヒトＩＬ－２に結合する二重結合抗体（ＤＢＡ）のセットの単離

この実施例は、本開示のセンサードメイン、具体的には、ヒトＰＤ－１及びヒトＩＬ－２に結合するＤＢＡのセットの単離について説明する。抗ＰＤ－１　ＤＢＡ及び抗ＩＬ－２　ＤＢＡをＴｕｍｂｌｅｒ抗体ファージディスプレイライブラリー（Ｄｉｓｔｒｉｂｕｔｅｄ　Ｂｉｏ，Ｉｎｃ．）から単離した。抗体ファージディスプレイライブラリーを、ＰＤ－１結合抗体由来の１０個の重鎖ＣＤＲ３配列と組み合わせたＳｕｐｅｒｈｕｍａｎ２．０抗体ライブラリーの重鎖ＣＤＲ１、重鎖ＣＤＲ２及び軽鎖の多様性を組み込むように構築した（配列番号１１～配列番号２０）。

【０１０４】

【表６】

表５－ＰＤ－１結合因子のＨＣ－ＣＤＲ３

配列番号	配列	説明
配列番号　１１	CAAGLFIW	ＰＤ－１結合因子のＨＣ－ＣＤＲ３
配列番号　１２	CAGGWLDW	ＰＤ－１結合因子のＨＣ－ＣＤＲ３
配列番号　１３	CARDHLGGSYQPW	ＰＤ－１結合因子のＨＣ－ＣＤＲ３
配列番号　１４	CARDLVGVSPGINYVPRYYYYYYGMDVW	ＰＤ－１結合因子のＨＣ－ＣＤＲ３
配列番号　１５	CARDTGLGYYYGSGDFDYW	ＰＤ－１結合因子のＨＣ－ＣＤＲ３
配列番号　１６	CARSGYSYGYYFDYW	ＰＤ－１結合因子のＨＣ－ＣＤＲ３
配列番号　１７	CARTGGYPAIDSW	ＰＤ－１結合因子のＨＣ－ＣＤＲ３
配列番号　１８	CASGWDVW	ＰＤ－１結合因子のＨＣ－ＣＤＲ３
配列番号　１９	CASSPLQWVDVW	ＰＤ－１結合因子のＨＣ－ＣＤＲ３
配列番号　２０	CTSGMDVW	ＰＤ－１結合因子のＨＣ－ＣＤＲ３

【０１０５】

このライブラリーを標準的なプロトコルで４回選択した。端的に言うと、ファージライブラリーを抗原と共にインキュベートし、次いで、磁気ビーズ上に捕捉し、Ｋｉｎｇｆｉｓｈｅｒ磁気粒子プロセッサで洗浄し、磁気ビーズから溶出し、大腸菌中で継代することによって増幅した。ラウンド１を５０ｎＭのヒトＰＤ－１－Ｈｉｓ融合物（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ、製品番号８９８６ＰＤ）とインキュベートし、ＴＲＩＳＮＴＡビオチン（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ　製品番号７５５４３）及びストレプトアビジン磁気ビーズで捕捉した。ラウンド２を１００ｎＭのビオチン化ＩＬ－２（Ｃｒｅａｔｉｖｅ　Ｂｉｏｍａｒｔ、製品番号ＩＬ２－５０１Ｈ、標準プロトコルを使用してビオチン化）とインキュベートし、ストレプトアビジン磁気ビーズ上に捕捉した。ラウンド３を５０ｎＭのカニク

イザルＰＤ－１－Ｆｃ融合物（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ、製品番号８５７８ＰＤ）と共にインキュベートし、プロテインＧ磁気ビーズ上に捕捉した。ラウンド４を５０ｎＭのビオチン化ヒトＩＬ－２と共にインキュベートし、ストレプトアビジン磁気ビーズ上に捕捉した。最終選択物を単一コロニーとしてプレーティングし、サンガー配列決定のために３８０コロニーを採取した。１５１個のユニークなクローンを発現のために選択した。各クローンのｓｃＦｖ配列を大腸菌発現のためにコドン最適化し、対応するＤＮＡ配列を、Ｔ７プロモーター、翻訳開始部位及びＴ７ターミネーターを有するｇＢｌｏｃｋｓ（図３の例示的なｇＢｌｏｃｋシーケンスを参照されたい）として合成するためにＩｎｔｅｇｒａｔｅｄ　ＤＮＡ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ，Ｉｎｃ．（ＩＤＴ）に送った。ｓｃＦｖをコードする各ｇＢｌｏｃｋ由来のタンパク質を、ＰＵＲＥｘｐｒｅｓｓ　Ｉｎ　ｖｉｔｒｏ　Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ　Ｋｉｔ（ＮｅｗＥｎｇｌａｎｄ　Ｂｉｏｌａｂｓ，Ｉｎｃ．、製品番号Ｅ６８００）を使用して発現させた。ＰＵＲＥｘｐｒｅｓｓ　ｓｃＦｖタンパク質を、ＨＴＲＦ結合アッセイ及び細胞ベースの機能アッセイにおいて直接使用した。各ｓｃＦｖを、ＰＤ－１及びヒトＩＬ－２への結合について試験した。８１の抗体がＰＤ－１及びＩＬ－２の両方に対して二重結合活性を示し、結合曲線の蛍光シグナル値をまとめたものを表７に示す。ＩＬ－２受容体結合を遮断するＤＢＡ結合ドメインの能力を調べるために、Ｖ５タグ付きＤＢＡ　ｓｃＦｖを３８４ウェルプレートで段階希釈した。ユウロピウム標識ストレプトアビジン、ビオチン標識ＩＬ－２（Ａｃｒｏ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ、製品番号ＩＬ２－Ｈ８２Ｅ４）、ＩＬ－２受容体ベータ（Ｆｃ－ＩＬ２ＲＢ）（Ａｃｒｏ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ、製品番号ＩＬＢ－Ｈ５２５３）、ＡＰＣ標識抗Ｆｃ抗体。プレートを室温で２時間インキュベートし、ＨＴＲＦシグナルを、ＩＬ－２：ＩＬ２ＲＢ結合の尺度としてＥｎｖｉｓｉｏｎ（Ｐｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ）で読み取った。４つのｓｃＦｖ（配列番号３１～配列番号３４）は、ＰＤ－１に結合し、ＩＬ－２に結合し、ＩＬ－２のＩＬ－２ＲＢへの結合を遮断した（表７）。

【０１０６】

【表７－１】

表６－ＤＢＡ及び対照

配列番号	配列	説明
配列番号３１	QVQLVQSGAEVKKPGVSVKVSCKASGYTF PRSYIHWVRQAPGQGLEWMGWINPHSGDT YYAQNFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLR SEDTAVYYCARDTGLGYYYGSGDFDYWG QGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHAS DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISR YLNWYQQKPGKAPKLLIYTASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQAN RFPLTFGPGTKVDIK	ＰＤ－１マーカー及びＩＬ－２治療薬に結合することができるＤＢＡ
配列番号３２	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF PRYHIHWVRQAPGQGLEWMGMINPSGGTT TYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLR SEDTAVYYCARDTGLGYYYGSGDFDYWG	ＰＤ－１マーカー及びＩＬ－２治療薬に結合することができるＤＢＡ

【０１０７】

【表７－２】

配列番号	配列	説明
	QGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHAS DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISS WLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQS HSFPLTFGGGTKVEIK	
配列番号３３	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TRYYIHWVRQAPGQGLEWMGWINAYNGD TNYAQKLQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSL RSEDTAVYYCARDSYYYDSFDYWGQGTL VTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQM TQSPSSLSASVGDRVTITCRASQTITDWLA WYQQKPGKAPKLLIYGASNLQGGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYSS WTFGQGTKVEIK	ＰＤ－１マーカー及びＩＬ－２治療薬に結合することができるＤＢＡ
配列番号３４	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TSYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSDGST TYAQSFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCASGWDVWGQGTLVTVSSASG GGGSGGGGSGGGGSHASDIVMTQSPDSLA VSLGERATINCKSSQSVFSSANNKNYLAW YQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGS GSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYFGTP VTFGGGTKVEIK	ＰＤ－１マーカー及びＩＬ－２治療薬に結合することができるＤＢＡ

【０１０８】
【表８－１】

表７

名称	ＰＤ１結合	ＩＬ２結合	ＩＬ２ＲＢ遮断
ＤＮＡなし	5	6	1,490
PD1-IL2-R01-H08	576	-9	1,829
PD1-IL2-R01-H09	1,015	131	1,772
PD1-IL2-R02-A03	1,508	635	1,714
PD1-IL2-R02-A04	909	978	1,618
PD1-IL2-R02-A05	1,557	23	1,735
PD1-IL2-R02-A06	357	515	1,772
PD1-IL2-R02-A08	995	520	1,612
PD1-IL2-R02-A09	1,421	1,470	1,495
PD1-IL2-R02-A10	500	838	1,847
PD1-IL2-R02-A11	1,625	1,559	1,783
PD1-IL2-R02-A12	1,725	130	1,586
PD1-IL2-R02-B01	746	1,077	1,516
PD1-IL2-R02-B02	1,740	1,107	1,849
PD1-IL2-R02-B04	11	2,346	1,536
PD1-IL2-R02-B05	1,665	2,489	1,613
PD1-IL2-R02-B06	1,527	32	1,605
PD1-IL2-R02-B07	1,685	628	1,814
PD1-IL2-R02-B08	1,446	92	1,680

【０１０９】
【表８－２】

名称	ＰＤ１結合	ＩＬ２結合	ＩＬ２ＲＢ遮断
PD1-IL2-R02-B10	211	343	1,607
PD1-IL2-R02-B11	1,426	915	1,509
PD1-IL2-R02-B12	1,264	316	1,762
PD1-IL2-R02-C01	1,463	296	1,743
PD1-IL2-R02-C02（配列番号３１）	1,299	298	1,069
PD1-IL2-R02-C03（配列番号３２）	1,383	293	1,211
PD1-IL2-R02-C04	1,622	575	1,857
PD1-IL2-R02-C06	1,376	34	1,684
PD1-IL2-R02-C07	34	87	1,607
PD1-IL2-R02-C08	1,468	619	1,671
PD1-IL2-R02-C10	174	256	1,757
PD1-IL2-R02-C12	1,367	340	1,723
PD1-IL2-R02-D01	1,421	68	1,614
PD1-IL2-R02-D02	1,473	539	1,726
PD1-IL2-R06-A10	1,269	9	1,796
PD1-IL2-R06-A11	1,376	34	1,762
PD1-IL2-R06-A12	1,305	7	1,681
PD1-IL2-R06-B01	10	2,109	1,307
PD1-IL2-R06-B02	1,666	15	1,799
PD1-IL2-R06-B03	923	4	1,661
PD1-IL2-R06-B04	1,782	28	1,666
PD1-IL2-R06-B06	1,223	17	1,648
PD1-IL2-R06-B08	1,777	1,160	1,738
PD1-IL2-R06-B10	13	31	1,847
PD1-IL2-R06-B11	1,534	24	1,699
PD1-IL2-R06-B12	822	1,125	1,604
PD1-IL2-R06-C02	1,667	26	1,671
PD1-IL2-R06-C04	1,491	7	1,759
PD1-IL2-R06-C08	1,448	8	1,693
PD1-IL2-R06-C09	1,158	1,525	1,602
PD1-IL2-R06-C11	1,879	-2	1,785
PD1-IL2-R06-C12	1,669	1,998	1,033
PD1-IL2-R06-D02	280	432	1,677
PD1-IL2-R06-D03	9	93	1,606
PD1-IL2-R06-D05	505	-3	1,786
PD1-IL2-R06-D07	1,577	24	1,820
PD1-IL2-R06-D10	1,751	49	1,719
PD1-IL2-R06-D11	405	593	1,576
PD1-IL2-R06-D12	1,024	1,423	1,649
PD1-IL2-R06-E01	1,628	3	1,724
PD1-IL2-R06-E02	1,554	16	1,598

【０１１０】

【表８－３】

名称	ＰＤ１結合	ＩＬ２結合	ＩＬ２ＲＢ遮断
PD1-IL2-R06-E04（配列番号３３）	50	247	1,108
PD1-IL2-R06-E05	1,364	14	1,734
PD1-IL2-R06-E06	1,627	15	1,735
PD1-IL2-R06-E07	1,801	12	1,698
PD1-IL2-R06-E09	1,467	11	1,511
PD1-IL2-R06-E11	1,805	294	1,767
PD1-IL2-R06-E12	4	-7	1,735
PD1-IL2-R06-F01	196	280	1,629
PD1-IL2-R06-F03	1,377	28	1,642
PD1-IL2-R06-F04	26	779	1,726
PD1-IL2-R06-F05	1,493	18	1,625
PD1-IL2-R06-F06	1,577	46	1,595
PD1-IL2-R06-F07	1,544	335	1,682
PD1-IL2-R06-F08	1,570	9	1,780
PD1-IL2-R06-F09	30	41	1,776
PD1-IL2-R06-F10	1,745	24	1,607
PD1-IL2-R06-F11	1,586	12	1,574
PD1-IL2-R06-F12	623	8	1,645
PD1-IL2-R06-G01	130	184	1,640
PD1-IL2-R06-G02	1,754	20	1,623
PD1-IL2-R06-G04	1,348	13	1,596
PD1-IL2-R06-G05	1,382	10	1,846
PD1-IL2-R06-G06	1,383	4	1,744
PD1-IL2-R06-G08	1,708	124	1,533
PD1-IL2-R06-G09	557	756	1,527
PD1-IL2-R06-G10	1,595	35	1,703
PD1-IL2-R06-G11	1,469	17	1,709
PD1-IL2-R06-G12	1,281	1,479	1,713
PD1-IL2-R06-H01	381	4	1,647
PD1-IL2-R06-H02	1,501	20	1,748
PD1-IL2-R06-H03	1,132	1,449	1,617
PD1-IL2-R06-H04	355	1	1,677
PD1-IL2-R06-H05	1,409	21	1,561
PD1-IL2-R06-H06	1,491	23	1,650
PD1-IL2-R06-H07	12	13	1,701
PD1-IL2-R06-H08	847	1,118	1,746
PD1-IL2-R06-H09	1,732	22	1,662
PD1-IL2-R06-H10	830	1,151	1,569
PD1-IL2-R07-A03	1,786	28	1,511
PD1-IL2-R07-A04	730	973	1,613
PD1-IL2-R07-A05	477	663	1,327
PD1-IL2-R07-A08	1,628	841	1,618

【０１１１】

【表８－４】

名称	ＰＤ１結合	ＩＬ２結合	ＩＬ２ＲＢ遮断
PD1-IL2-R07-A09（配列番号３４）	1,235	2,040	910
PD1-IL2-R07-A10	1,716	63	1,518
PD1-IL2-R07-B01	1,397	32	1,565
PD1-IL2-R07-B02	192	321	1,634
PD1-IL2-R07-B03	65	202	1,604
PD1-IL2-R07-B04	1,862	410	1,527
PD1-IL2-R07-B05	965	351	1,389
PD1-IL2-R07-B06	1,882	44	1,497
PD1-IL2-R07-B07	6	2,549	1,517
PD1-IL2-R07-B08	906	1,047	1,475
PD1-IL2-R07-B09	1,788	27	1,384
PD1-IL2-R07-B10	18	19	1,635
PD1-IL2-R07-B11	1,765	9	1,641
PD1-IL2-R07-C01	230	367	1,536
PD1-IL2-R07-C02	236	304	1,500
PD1-IL2-R07-C03	20	1,347	1,536
PD1-IL2-R07-C07	15	275	1,665
PD1-IL2-R07-C10	1,064	317	1,550
PD1-IL2-R07-C11	1,523	642	1,460
PD1-IL2-R07-C12	1,377	49	1,707
PD1-IL2-R07-D01	1,541	79	1,657
PD1-IL2-R07-D03	1,483	33	1,481
PD1-IL2-R07-D04	923	1,104	1,517
PD1-IL2-R07-D06	1,664	416	1,734
PD1-IL2-R07-D07	6	835	1,512
PD1-IL2-R07-D10	1,580	193	1,572
PD1-IL2-R07-D11	1,401	798	1,614
PD1-IL2-R07-E02	1,473	992	1,830
PD1-IL2-R07-E03	1,459	422	1,683
PD1-IL2-R07-E05	512	913	1,513
PD1-IL2-R07-E06	1,483	1,178	1,526
PD1-IL2-R07-E07	1,181	1,060	1,524
PD1-IL2-R07-E08	1,604	472	1,717
PD1-IL2-R07-E09	1,733	23	1,569
PD1-IL2-R07-E10	1,472	251	1,545
PD1-IL2-R07-E11	1,146	56	1,777
PD1-IL2-R07-E12	1,698	106	1,764
PD1-IL2-R07-F01	3	17	1,529
PD1-IL2-R07-F02	348	752	1,537
PD1-IL2-R07-F03	1,788	520	1,750
PD1-IL2-R07-F04	1,416	145	1,767
PD1-IL2-R07-F06	1,422	438	1,579

【０１１２】

【表８－５】

名称	ＰＤ１結合	ＩＬ２結合	ＩＬ２ＲＢ遮断
PD1-IL2-R07-F09	1,589	17	1,456
PD1-IL2-R07-F10	24	19	1,778
PD1-IL2-R07-F12	505	196	1,553
PD1-IL2-R07-G01	4	214	1,560
PD1-IL2-R07-G02	1,610	61	1,735
PD1-IL2-R07-G04	82	147	1,600
PD1-IL2-R07-G05	981	216	1,475
PD1-IL2-R07-G06	860	512	1,655
PD1-R04-C10	1,552	4	1,550
PD1-R07-A05	653	19	1,730
PD1-R07-A10	484	25	2,290
PD1-R07-C09	1,911	20	2,080
PD1-R07-D03	1,733	22	2,208
PD1-R07-D05	1,760	16	1,578
PD1-R07-D06	1,997	22	1,749
PD1-R07-E05	633	24	2,246
PD1-R07-G12	907	11	1,577
PD1-R15-B02	1,671	28	1,797
PDL1-DB03-H02	18	11	1,725
抗Ｈｅｒ２（配列番号２８）	4	20	1,636

【０１１３】

実施例３

二重結合抗体（ＤＢＡ）の標的に対する競合的結合

この実施例は、マーカーと二重結合抗体（ＤＢＡ）の治療用ドメインとの間の競合的結合について説明する。ＰＤ－Ｌ１（マーカー）が、ＤＢＡ結合ドメインへの結合についてＩＦＮα（治療薬）と競合する能力を試験するために、Ｖ５タグ付きＤＢＡ又は対照ｓｃＦｖを、ＰＵＲＥｆｒｅｘ２．１インビトロ翻訳系を使用して合成し、３８４ウェルプレートに単一希釈で加えた。Ｅｕ標識ＰＤ－Ｌ１及びＡｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ６４７標識抗Ｖ５抗体をすべてのウェルに添加し、室温で３０分間インキュベートした。滴定濃度のＩＦＮαをすべてのウェルに添加し、プレートを室温で１時間インキュベートした。ＨＴＲＦシグナルをＥｎｖｉｓｉｏｎ（Ｐｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ）で読み取った。図７に示されるように、ＩＦＮαは、ＤＢＡクローンＢ０９（配列番号２４）及びＣ０８（配列番号２６）に対する結合についてＰＤ－Ｌ１と競合したが、抗ＰＤ－Ｌ１単一特異的抗体の結合はＩＦＮαの濃度によって影響されなかった。

【０１１４】

実施例４

結合親和性の改善のための二重結合抗体（ＤＢＡ）のスクリーニング

この実施例は、改善された結合親和性について二重結合抗体（ＤＢＡ）をスクリーニングすることを例示する。各ＤＢＡの配列を、それが由来する親単一特異性抗体及び同じ親単一特異性抗体に由来する他のＤＢＡとアラインメントした。この配列情報を使用して、ＣＤＲ領域内及びＣＤＲ領域に隣接するアミノ酸置換を有する変異体を設計して、いずれかの抗原への結合の変化を試験した。さらに、安定性を改善し得る配列変異体を考慮した。代表的な変異体を表８及び表９に示す。表８及び表９に示されるＣＤＲ配列は、ＨＣＤＲ１－ＨＣＤＲ２－ＨＣＤＲ３に対応し、下線及び太字の置換を有する。二重結合ＰＤ－Ｌ１及びＩＦＮα変異体の配列を表１０に示す。

【０１１５】

【表９】

表８－抗ＰＤＬ１　０２＿Ａ０８、ＤＢＡ　ＰＤＬ１－ＩＦＮ＿１Ａ０５の重鎖ＣＤＲ領域及び変異体

配列番号	説明	ＣＤＲ配列
配列番号３０５	親単一特異性抗体ＰＤＬ１＿０２＿Ａ０８	CKASGYTFSGYYMHW - WMGWMDPNSGYTGYAHQFQGRV – CAKEVFSGWYDYWGQ
配列番号３０６	二重結合抗体（ＤＢＡ）ＰＤＬ１－ＩＦＮ　Ｒ０１　Ａ０５	CKASGYTFSNYYIHW - WMGWMDSNSGGTGYAQKFQGRV - CAKEVFSGWYDYWGQ
配列番号３０７	ＤＢＡ変異体Ｈ＿Ｎ３６Ｇ	CKASGYTFS**G**YYIHW - WMGWMDSNSGGTGYAQKFQGRV - CAKEVFSGWYDYWGQ
配列番号３０８	ＤＢＡ変異体Ｈ＿Ｉ３９Ｖ＿Ｓ５８Ｐ＿Ｑ６９Ｈ＿Ｋ７０Ｑ	CKASGYTFSNYY**V**HW - WMGWMD**P**NSGGTGYA**HQ**FQGRV - CAKEVFSGWYDYWGQ
配列番号３０９	ＤＢＡ変異体Ｈ＿Ｇ６４Ｙ＿Ｑ６９Ｈ	CKASGYTFSNYYIHW - WMGWMDSNSG**Y**TGYA**H**KFQGRV - CAKEVFSGWYDYWGQ

【０１１６】

【表１０－１】

表９－抗ＰＤＬ１　０２＿Ａ０８、ＤＢＡ　ＰＤＬ１－ＩＦＮ＿１Ａ０５の軽鎖ＣＤＲ領域及び変異体

配列番号	構築物	ＣＤＲ配列
配列番号３１０	親単一特異性抗体ＰＤＬ１ ０２ Ａ０８	CRASQTISSYLNWY - IYAASTLESGVPSR - YYCQQGYSTPITFGPGTKVDIK

【０１１７】

【表１０－２】

配列番号	構築物	ＣＤＲ配列
配列番号３１１	二重結合抗体（ＤＢＡ）ＰＤＬ１－ＩＦＮ＿Ｒ０１＿Ａ０５	CRASQSISSYLNWY - IYAASSLQSGVPSR - YYCQQSYSTPYTFGQGTKVEIK
配列番号３１２	L_Q68E	CRASQSISSYLNWY - IYAASSL**E**SGVPSR - YYCQQSYSTPYTFGQGTKVEIK
配列番号３１３	L_Q68E_E125D	CRASQSISSYLNWY - IYAASSL**E**SGVPSR - YYCQQSYSTPYTFGQGTKV**D**IK

【０１１８】

【表１１】

表１０－二重結合ＰＤ－Ｌ１及びＩＦＮα変異体の配列

配列番号	変異体	配列
配列番号３５	H_N36G	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSGYYIHW VRQAPGQGLEWMGWMDSNSGGTGYAQKFQGRVTMT RDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAKEVFSGWYDY WGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKA PKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDF ATYYCQQSYSTPYTFGQGTKVEIK
配列番号３６	H_I39V_S58P_Q69H_K70Q	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYYVHW VRQAPGQGLEWMGWMDPNSGGTGYAHQFQGRVTMT RDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAKEVFSGWYDY WGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKA PKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDF ATYYCQQSYSTPYTFGQGTKVEIK
配列番号３７	H_G64Y_Q69H	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYYIHW VRQAPGQGLEWMGWMDSNSGYTGYAHKFQGRVTMT RDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAKEVFSGWYDY WGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKA PKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDF ATYYCQQSYSTPYTFGQGTKVEIK
配列番号３８	L_Q68E	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYYIHW VRQAPGQGLEWMGWMDSNSGGTGYAQKFQGRVTMT RDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAKEVFSGWYDY WGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKA PKLLIYAASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDF ATYYCQQSYSTPYTFGQGTKVEIK
配列番号３９	L_Q68E_E125D	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYYIHW VRQAPGQGLEWMGWMDSNSGGTGYAQKFQGRVTMT RDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAKEVFSGWYDY WGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKA PKLLIYAASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDF ATYYCQQSYSTPYTFGQGTKVDIK

【０１１９】

各変異体のｓｃＦｖ配列を大腸菌発現のためにコドン最適化し、対応するＤＮＡ配列を、Ｔ７プロモーター、翻訳開始部位、Ｍｙｃタグ、ｓｃＦｖ配列、Ｖ５タグ配列及びＴ７ターミネーターを有するｇＢｌｏｃｋｓ（Ｉｎｔｅｇｒａｔｅｄ ＤＮＡ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ，Ｉｎｃ．）として合成した。ｇＢｌｏｃｋフラグメントによってコードされるタンパク質を、無細胞転写／翻訳系（Ｃｏｓｍｏ Ｂｉｏ ＵＳＡ，Ｉｎｃ．，ＰＵＲＥｆｒｅｘ２．１、製品番号ＧＦＫ－ＰＦ２１３ ｗｉｔｈ ＤＳ Ｓｕｐｐｌｅｍｅｎｔ、製品番号ＧＦＫ－ＰＦ００５）を用いて発現させた。無細胞発現試料を、実施例１に記載されるようにＰＤ－Ｌ１及びＩＦＮα結合についてアッセイした。

【０１２０】

異なる結合親和性を有する変異体はまた、ファージディスプレイ及びｍＲＮＡディスプレイなどのディスプレイ法によって作製され得る。これらの方法で使用するためのライブラリーは、ランダムなアミノ酸変化によってＣＤＲを変化させることによって、又は変化

に適していると同定されたＣＤＲの位置を変化させることによって、親抗体から作成され得る。

【０１２１】

実施例５

二重結合抗体（ＤＢＡ）の結合親和性

この実施例は、タンパク質複合体、具体的には、二重結合抗体（ＤＢＡ）の結合親和性について説明する。変異体を、ＰＵＲＥｆｒｅｘ２．１インビトロ翻訳系を使用してＶ５タグ付きｓｃＦｖとして合成し、試験のために１倍の動態緩衝液（ＫＢ、ｆｏｒｔｅＢＩＯ）で１：３０に希釈した。ビオチン化抗Ｖ５抗体（クローンＳＶ５－Ｐｋ１　ＢｉｏＲａｄ、ＥＺ－Ｌｉｎｋ（登録商標）Ｓｕｌｆｏ－ＮＨＳ－ＬＣ－Ｂｉｏｔｉｎ、ＴＨＥＲＭＯを用いてビオチン化）を１倍のＫＢで８０ｎＭに希釈し、次いで、ＯｃｔｅｔＲＥＤ９６ｅ装置のストレプトアビジンバイオセンサー先端（ＳＡ、ｆｏｒｔｅＢＩＯ）にロードした。次いで、これらの先端にｓｃＦｖを２４０秒間ロードした。ロードした先端を６０秒間１倍のＫＢに移してベースラインを確立し、次いで１６０ｎＭのＡＣＲＯヒトＰＤＬ１－ｈｉｓに１５０秒間浸漬して会合を測定し、次いで１８０秒間、１倍のＫＢに浸漬して解離を測定した。この解離の直後に、１倍のＫＢのベースラインシグナルを測定し、チップを５，０００ｎＭＩＦＮα２ｂ（ＧｅｎＳｃｒｉｐｔ）に１５０秒間浸漬して会合を測定し、次いで、１倍のＫＢに２４０秒間浸漬して解離を測定した。データを１：１動態モデルに当てはめた。ＩＦＮα２ｂの結合に対する応答は、定性的に陰性又は陽性であった。表１１で使用されるＤＢＡ変異体の配列を表８及び表９に示す。

【０１２２】

【表１２】

表１１－ＤＢＡ変異体の結合速度

	KD（PD-L1、nM）	ＩＦＮα結合（５uMで）
H_G64Y_Q69H	13	+/-
H_I39V_S58P_Q69H_K70Q	8	-
H_N36G	37	+
L_Q68E	21	+
L_Q68E_E125D	21	+
PDL1-IFN_R01_A05	120	試験せず

【０１２３】

この又は他の抗体フォーマットにおけるＤＢＡの親和性は、バイオレイヤー干渉法（例えば、Ｏｃｔｅｔ、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｅｖｉｃｅｓ　ＬＬＣ．）、表面プラズモン共鳴（例えば、ＢｉａＣｏｒｅ，ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ　Ｌｉｆｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ）、速度論的排除（ＫｉｎＥｘＡ、Ｓａｐｉｄｙｎｅ　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ，Ｉｎｃ．）、又は他の生物物理学的方法などの、タンパク質相互作用の測定の標準的な方法を使用して定量的又は半定量的測定値を生成するために同様の方法で測定され得る。さらに、共有結合構築物中のＤＢＡに対する標的の見かけの親和性は、非結合剤に対する競合によってこれらの方法で測定することができる。

【０１２４】

実施例６

二重結合抗体（ＤＢＡ）－サイトカインタンパク質複合体

この実施例は、本開示の二重結合抗体（ＤＢＡ）－サイトカインタンパク質複合体について説明する。本開示の様々なＤＢＡ－サイトカインタンパク質複合体は、サイトカイン、リンカー、及び１つ以上の二重結合抗体ドメインを含むように設計した。例示的なタンパク質複合体を図８（左）に示し、そのアミノ酸配列を図８（右）に示す。他の例示的な構築物の図的表現を図９に示す（配列番号４２～配列番号５４及び配列番号７７～配列番号７９）。

【０１２５】

一連のＤＢＡ－サイトカインタンパク質複合体は、２つのマーカー結合ドメイン及び１つの治療用ドメインを用いて設計され得る。表１４に示される配列を有する表１３に示されるこのシリーズで使用されるＤＢＡは、マーカー及び治療用ドメインについてある範囲の親和性を示す。例示的なＤＢＡ複合体を表１２、表１５、及び表１６に示す。

【０１２６】

【表１３－１】

表１２－例示的なＤＢＡサイトカインタンパク質複合体

配列番号	配列	説明
配列番号４２	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT KNYMHWVRQAPGQGLEWLGWVSPDSGYTG YAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCTTDLLSLELDDAFDIWGQGTMVTVS SASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSS LSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPG KAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKLEIK PRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIK DVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVN NVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQ DWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGS VRAPQVYVLPPCEEEMTKKQVTLSCAVTDFM PEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSY FMVSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHN HHTTKSFSRTPGK	ＰＤ－Ｌ１マーカーと結合することができるＤＢＡセンサードメイン及びＩＦＮα治療用ドメインを有し、ＩＦＮα治療活性を有するＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮαタンパク質複合体
配列番号４３	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKD RHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQIF	ＰＤ－Ｌ１マーカーと結合することができる

【０１２７】

【表１３－２】

配列番号	配列	説明
	NLFSTKDSSAAWDETLLDKFCTELYQQLNDL EACVMQEERVGETPLMNADSILAVKKYFRRI TLYLTEKKYSPCAWEVVRAEIVRSLSLSTNLQ ERLRRKEGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQ LVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSGYYI HWVRQAPGQGLEWMGWMDSNSGGTGYAQ KFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAV YYCAKEVFSGWYDYWGQGTLVTVSSAKTTA PSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPV TLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVT VTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRG PTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVL MISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVE VHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDW MSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVR APQVCVLPPPEEEMTKKQVTLWCMVTDFMP EDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYF MYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNH HTTKSFSRTPGK	ＤＢＡセンサードメイン及びＩＦＮα治療用ドメインを有し、ＩＦＮα治療活性を有するＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮαタンパク質複合体
配列番号４４	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYL NWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYT FGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGA SVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLN SWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSY TCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC	ＰＤ－Ｌ１マーカーと結合することができるＤＢＡセンサードメイン及びＩＦＮα治療用ドメインを有し、ＩＦＮα治療活性を有するＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮαタンパク質複合体
配列番号４５	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGGTFSS YAISWVRQAPGQGLEWMGIIDPSVTYTRYAQ KFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAV YYCARSLFPTIFGVEVAFDIWGQGTLVTVSSA KTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGY FPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTL SSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKI EPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIK DVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVN NVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQ DWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGS VRAPQVYVLPPCEEEMTKKQVTLSCAVTDFM PEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSY FMVSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHN HHTTKSFSRTPGK	ＰＤ－Ｌ１マーカーと結合することができるＤＢＡセンサードメイン及びＩＦＮα治療用ドメインを有し、ＩＦＮα治療活性を有するＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮαタンパク質複合体
配列番号４６	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKD RHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQIF NLFSTKDSSAAWDETLLDKFCTELYQQLNDL EACVMQEERVGETPLMNADSILAVKKYFRRI TLYLTEKKYSPCAWEVVRAEIVRSLSLSTNLQ ERLRRKEGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQ LVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGGTFSSYAIS	ＰＤ－Ｌ１マーカーと結合することができるＤＢＡセンサードメイン及びＩＦＮα治療用ドメインを有し、

【０１２８】

【表１３－３】

配列番号	配列	説明
	WVRQAPGQGLEWMGIIDPSVTYTRYAQKFQ GRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYC ARSLFPTIFGVEVAFDIWGQGTLVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEP VTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSV TVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPR GPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDV LMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNV EVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDW MSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVR APQVCVLPPPEEEMTKKQVTLWCMVTDFMP EDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYF MYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNH HTTKSFSRTPGK	ＩＦＮα治療活性を有するＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮαタンパク質複合体
配列番号４７	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISNYL AWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQTYSTPITF GQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGAS VVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNS WTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYT CEATHKTSTSPIVKSFNRNEC	ＰＤ－Ｌ１マーカーと結合することができるＤＢＡセンサードメイン及びＩＦＮα治療用ドメインを有し、ＩＦＮα治療活性を有するＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮαタンパク質複合体
配列番号４８	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKD RHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQIF NLFSTKDSSAAWDETLLDKFCTELYQQLNDL EACVMQEERVGETPLMNADSILAVKKYFRRI TLYLTEKKYSPCAWEVVRAEIVRSLSLSTNLQ ERLRRKEGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQ LVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGGTFSSYAIS WVRQAPGQGLEWMGIIDPSVTYTRYAQKFQ GRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYC ARSLFPTIFGVEVAFDIWGQGTLVTVSSASGG GGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKL LIYGASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYCQQTYSTPITFGQGTKVEIKAKTTA PSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPV TLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVT VTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRG PTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVL MISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVE VHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDW MSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVR APQVYVLPPCEEEMTKKQVTLSCAVTDFMPE DIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFM VSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHH TTKSFSRTPGK	ＥｘｅｍｐｌａｒｙＳｅｑ＿Ｃ＿Ｐｅｐ１ 非対称ＤＢＡ－サイトカイン複合体ｓｃＦｖ－ＩｇＧフォーマット
配列番号４９	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSG YYIHWVRQAPGQGLEWMGWMDSNSGGTGY	ＥｘｅｍｐｌａｒｙＳｅｑ＿Ｃ＿Ｐｅｐ２

【０１２９】

【表１３－４】

配列番号	配列	説明
	AQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDT AVYYCAKEVFSGWYDYWGQGTLVTVSSAKT TAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPE PVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS VTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEP RGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKD VLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNN VEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQD WMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSV RAPQVCVLPPPEEEMTKKQVTLWCMVTDFM PEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSY FMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHN HHTTKSFSRTPGK	非対称ＤＢＡ－サイトカイン複合体ｓｃＦｖ－ＩｇＧフォーマット
配列番号５０	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYL NWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYT FGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGA SVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLN SWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSY TCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC	Ｅｘｅｍｐｌａｒｙ Ｓｅｑ＿Ｃ＿Ｐｅｐ３ 非対称ＤＢＡ－サイトカイン複合体ｓｃＦｖ－ＩｇＧフォーマット
配列番号５１	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFST YYIHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGGTVYA QKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTA VYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYP LAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTW NSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSST WPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPC PPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPI VTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQ TQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEF KCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYV LPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEW TNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRV EKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSR TPGK	ＰＤ１－ＩＬ２＿６Ｃ１２＿Ｎ３６Ｔ＿Ｓｙｍ＿Ｌ＿Ｌｏｎｇ＿Ｐｅｐ１ 対称性ＤＢＡ－サイトカイン複合体ＩｇＧフォーマット
配列番号５２	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYK NPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEEL KPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLEL KGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSII STLTVPGVGVPGAGVPGVGVPGGGVPGVGV PGGGVPGAGVPGGGVPGVGVPGAGVPGVGV PGGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQY ISSGLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLDNGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYE RLPLTFGGGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQL TSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQ NGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYE RHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC	ＰＤ１－ＩＬ２＿６Ｃ１２＿Ｎ３６Ｔ＿Ｓｙｍ＿Ｌ＿Ｌｏｎｇ＿Ｐｅｐ２ 対称性ＤＢＡ－サイトカイン複合体ＩｇＧフォーマット
配列番号５３	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYK NPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEEL KPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLEL	PD1- IL2_6C12_N36T_

【０１３０】

【表１３－５】

配列番号	配列	説明
配列番号５３	KGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSII STLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQ SGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSTYYIHWV RQAPGQGLEWMGIINPSGGGTVYAQKFQGR VTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAA GLFIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCG DTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSS GVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSIT CNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCP APNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVV VDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHRE DYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVN NKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEE MTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKT ELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNW VERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK	Ｄ６８Ｅ＿Ｓｙｍ＿Ｈ＿Ｓｈｏｒｔ＿Ｐｅｐ１ 対称性ＤＢＡ－サイトカイン複合体ＩｇＧフォーマット
配列番号５４	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQYISSGL AWYQQKPGKAPKLLIYKASSLENGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYERLPLT FGGGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGA SVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLN SWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSY TCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC	ＰＤ１－ＩＬ２＿６Ｃ１２＿Ｎ３６Ｔ＿Ｄ６８Ｅ＿Ｓｙｍ＿Ｈ＿Ｓｈｏｒｔ＿Ｐｅｐ２ 対称性ＤＢＡ－サイトカイン複合体ＩｇＧフォーマット
配列番号７７	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTT YYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYA QNFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTA VYYCASGWDVWGQGTTVTVSSAKTTAPSVY PLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLT WNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTS STWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIK PCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISL SPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHT AQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSG KEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQV YVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYV EWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSD LRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTE SFSRTPGK	ＰＤ１－ＩＬ２＿Ｌ＿７Ａ０５ｓｃＦｖ＿ＰＤ１－Ｒ０７－Ａ０５＿Ｐｅｐ１ 非対称ＤＢＡ－サイトカイン複合体ＩｇＧ－ｓｃＦｖフォーマット
配列番号７８	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTT YYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYA QNFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTA VYYCASGWDVWGQGTTVTVSSASGGGGSG GGGSGGGGSHASEIVMTQSPATLSVSPGERAT LSCRASQSVNTYLAWYQQKPGQAPRLLIYGA STRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAV YYCQQYGSSPVTFGQGTRLEIKPRGPTIKPCPP CKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIV TCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQT QTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFK CKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLP	ＰＤ１－ＩＬ２＿Ｌ＿７Ａ０５ｓｃＦｖ＿ＰＤ１－Ｒ０７－Ａ０５＿Ｐｅｐ２ 非対称ＤＢＡ－サイトカイン複合体ＩｇＧ－ｓｃＦｖフォーマット

【０１３１】

【表１３－６】

配列番号	配列	説明
	PPEKEMTKKQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTN NGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEK KNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTP GGGGSGGGSHHHHHH	
配列番号７９	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYK NPKLTDMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEEL KPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLEL KGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSII STLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQS PATLSVSPGERATLSCRASQSVNTYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEF TLTISSLQSEDFAVYYCQQYGSSPVTFGQGTR LEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFL NNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQ DSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEAT HKTSTSPIVKSFNRNEC	ＰＤ１－ＩＬ２＿Ｌ＿７Ａ０５ｓｃＦｖ＿ＰＤ１－Ｒ０７－Ａ０５＿Ｐｅｐ３ 非対称ＤＢＡ－サイトカイン複合体ＩｇＧ－ｓｃＦｖフォーマット

【０１３２】

【表１４】

表１３－二重結合抗体（ＤＢＡ）

二重結合抗体	ﾏｰｶｰ	治療用	ＨＶ＊配列番号	ＬＶ＊＊配列番号	ＨＶ＿ｃｄｒ１配列番号	ＨＶ＿ｃｄｒ２配列番号	ＨＶ＿ｃｄｒ３配列番号	ＬＶ＿ｃｄｒ１配列番号	ＬＶ＿ｃｄｒ２配列番号	ＬＶ＿ｃｄｒ３配列番号
AB001718	PD-1	IL-2	127	135	142	148	154	157	163	168
AB001744	PD-1	IL-2	128	136	143	148	154	158	163	169
AB002022	PD-1	IL-2	129	137	144	149	154	159	164	170
AB001609	PD-L1	IFNα	130	138	145	150	155	160	165	171
AB001638	PD-L1	IFNα	130	139	145	150	155	161	165	172
AB001843	PD-L1	IFNα	131	140	146	151	156	162	166	173
AB001866	PD-L1	IFNα	132	140	147	152	156	162	166	173
AB001875	PD-L1	IFNα	133	140	143	153	156	162	166	173
AB001909	PD-L1	IFNα	134	141	143	151	156	162	167	173

＊ＨＶは、それぞれの抗体の重鎖可変領域を指す
＊＊ＬＶは、それぞれの抗体の軽鎖可変領域を指す

【０１３３】

【表１５－１】

表１４－ＤＢＡタンパク質成分の配列

配列番号	ＤＢＡタンパク質成分	配列
配列番号１２７	AB001718_HV	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG DTFSTYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINP SGGGTVYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGT LVTVSS
配列番号１２８	AB001744_HV	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG YTFSNYYIHWVRQAPGQGLEWMGIINP SGGGTVYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGT LVTVSS

【０１３４】

【表１５－２】

配列番号	ＤＢＡタンパク質成分	配列
配列番号１２９	AB002022_HV	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG DTFTRHYVHWVRQAPGQGLEWMGIIN PSGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTV YMELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQG TLVTVSS
配列番号１３０	AB001609_HV	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG GTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGIIDPS VTYTRYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCARSLFPTIFGVE VAFDIWGQGTLVTVSS
配列番号１３１	AB001843_HV	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG YTFSGYYIHWVRQAPGQGLEWMGWM DSNSGGTGYAQKFQGRVTMTRDTSTST VYMELSSLRSEDTAVYYCAKEVFSGW YDYWGQGTLVTVSS
配列番号１３２	AB001866_HV	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG YTFSNYYVHWVRQAPGQGLEWMGWM DPNSGGTGYAHQFQGRVTMTRDTSTST VYMELSSLRSEDTAVYYCAKEVFSGW YDYWGQGTLVTVSS
配列番号１３３	AB001875_HV	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG YTFSNYYIHWVRQAPGQGLEWMGWM DSNSGYTGYAQQFQGRVTMTRDTSTST VYMELSSLRSEDTAVYYCAKEVFSGW YDYWGQGTLVTVSS
配列番号１３４	AB001909_HV	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG YTFSNYYIHWVRQAPGQGLEWMGWM DSNSGGTGYAQKFQGRVTMTRDTSTST VYMELSSLRSEDTAVYYCAKEVFSGW YDYWGQGTLVTVSS
配列番号１３５	AB001718_LV	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQYI SSGLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLDN GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQYERLPLTFGGGTKVEIK
配列番号１３６	AB001744_LV	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI GTGLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLDN GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQYNRAPLTFGGGTKVEIK
配列番号１３７	AB002022_LV	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI GRWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLET GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQYESFPVTFGPGTKVDIK
配列番号１３８	AB001609_LV	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI SNRLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLES GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQSNSTPFTFGQGTKVEIK
配列番号１３９	AB001638_LV	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSI SNYLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLES GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQTYSTPITFGQGTKVEIK

【０１３５】

【表１５－３】

配列番号	ＤＢＡタンパク質成分	配列
配列番号１４０	AB001843_LV	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI SSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQSYSTPYTFGQGTKVEIK
配列番号１４１	AB001909_LV	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI SSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLES GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQSYSTPYTFGQGTKVDIK
配列番号１４２	AB001718_HV_cdr1	GDTFSTYYVH
配列番号１４３	AB001744_HV_cdr1	GYTFSNYYIH
配列番号１４４	AB002022_HV_cdr1	GDTFTRHYVH
配列番号１４５	AB001609_HV_cdr1	GGTFSSYAIS
配列番号１４６	AB001843_HV_cdr1	GYTFSGYYIH
配列番号１４７	AB001866_HV_cdr1	GYTFSNYYVH
配列番号１４８	AB001718_HV_cdr2	IINPSGGGTVYAQKFQG
配列番号１４９	AB002022_HV_cdr2	IINPSGGYASYAQKFQG
配列番号１５０	AB001609_HV_cdr2	IIDPSVTYTRYAQKFQG
配列番号１５１	AB001843_HV_cdr2	WMDSNSGGTGYAQKFQG
配列番号１５２	AB001866_HV_cdr2	WMDPNSGGTGYAHQFQG
配列番号１５３	AB001875_HV_cdr2	WMDSNSGYTGYAQQFQG
配列番号１５４	AB001718_HV_cdr3	AAGLFI
配列番号１５５	AB001609_HV_cdr3	ARSLFPTIFGVEVAFDI
配列番号１５６	AB001843_HV_cdr3	AKEVFSGWYDY
配列番号１５７	AB001718_LV_cdr1	RASQYISSGLA
配列番号１５８	AB001744_LV_cdr1	RASQSIGTGLA
配列番号１５９	AB002022_LV_cdr1	RASQSIGRWLA
配列番号１６０	AB001609_LV_cdr1	RASQSISNRLA
配列番号１６１	AB001638_LV_cdr1	QASQSISNYLA
配列番号１６２	AB001843_LV_cdr1	RASQSISSYLN
配列番号１６３	AB001718_LV_cdr2	KASSLDN
配列番号１６４	AB002022_LV_cdr2	SASNLET
配列番号１６５	AB001609_LV_cdr2	KASSLES
配列番号１６６	AB001843_LV_cdr2	AASSLQS
配列番号１６７	AB001909_LV_cdr2	AASSLES
配列番号１６８	AB001718_LV_cdr3	QQYERLPL
配列番号１６９	AB001744_LV_cdr3	QQYNRAPL
配列番号１７０	AB002022_LV_cdr3	QQYESFPV
配列番号１７１	AB001609_LV_cdr3	QQSNSTPF
配列番号１７２	AB001638_LV_cdr3	QQTYSTPI
配列番号１７３	AB001843_LV_cdr3	QQSYSTPY

【０１３６】

【表１６】

表１５－例示的なＤＢＡ－サイトカインタンパク質複合体

名称	ＤＢＡ／治療用	ＤＢＡ	種類	ＤＢＡドメイン	治療用ドメイン	第２のＡｂドメイン	重鎖１の配列番号	重鎖２の配列番号	重鎖３の配列番号
AF003229	PD-1 / IL-2	AB001718	図９ｂ	2	1	該当なし	80	97	114
AF003230	PD-1 / IL-2	AB001744	図９ｂ	2	1	該当なし	81	98	115
AF003232	PD-1 / IL-2	AB002022	図９ｂ	2	1	該当なし	82	99	116
AF003250	PD-1 / IL-2	AB001718	図９ａ	1	1	抗ＰＤ－１	83	100	117
AF003251	PD-1 / IL-2	AB001744	図９ａ	1	1	抗ＰＤ－１	84	101	118
AF003253	PD-1 / IL-2	AB002022	図９ａ	1	1	抗ＰＤ－１	85	102	119
AF003103	PD-L1 / IFNα	AB001609	図９ｂ	2	1	該当なし	86	103	120
AF003104	PD-L1 / IFNα	AB001909	図９ｂ	2	1	該当なし	87	104	126
AF003105	PD-L1 / IFNα	AB001843	図９ｂ	2	1	該当なし	88	105	122
AF003106	PD-L1 / IFNα	AB001875	図９ｂ	2	1	該当なし	89	106	123
AF003217	PD-L1 / IFNα	AB001609	図９ａ	1	1	抗ＰＤ－Ｌ１	90	107	124
AF003218	PD-L1 / IFNα	AB001843	図９ａ	1	1	抗ＰＤ－Ｌ１	91	108	125
AF003219	PD-L1 / IFNα	AB001909	図９ａ	1	1	抗ＰＤ－Ｌ１	92	109	126
AF002618	PD-L1 / IFNα	AB001609	図９ｄ	2	2	該当なし	93		110
AF002639	PD-L1 / IFNα	AB001875	図９ｄ	2	2	該当なし	94		111
AF002645	PD-L1 / IFNα	AB001609	図９ｅ	2	2	該当なし	95		112
AF002666	PD-L1 / IFNα	AB001875	図９ｅ	2	2	該当なし	96		277

【０１３７】

【表１７－１】

表１６－表１５のペプチドの配列

配列番号	ＤＢＡ	配列
配列番号８０	AF003229_Pep1	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTF KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPR DLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQ SIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKP GASVKVSCKASGDTFSTYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPS GGGTVYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVY YCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSS VTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYT LSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKP CPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDV SEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALP IQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQV YVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTE LNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSCSVV HEGLHNHHTTESFSRTPGK

【０１３８】

【表１７－２】

配列番号	ＤＢＡ	配列
配列番号８１	AF003230_Pep1	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTF KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPR DLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQ SIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKP GASVKVSCKASGYTFSNYYIHWVRQAPGQGLEWMGIINPS GGGTVYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVY YCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSS VTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYT LSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKP CPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDV SEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALP IQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQV YVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTE LNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSCSVV HEGLHNHHTTESFSRTPGK
配列番号８２	AF003232_Pep1	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTF KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPR DLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQ SIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKP GASVKVSCKASGDTFTRHYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPS GGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVY YCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSS VTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYT LSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKP CPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDV SEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALP IQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQV YVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTE LNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSCSVV HEGLHNHHTTESFSRTPGK
配列番号８３	AF003250_Pep1	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTF KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPR DLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQ SIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKP GASVKVSCKASGDTFSTYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPS GGGTVYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVY YCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSS VTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYT LSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKP CPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDV SEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALP IQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQV YVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTE LNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSCSVV HEGLHNHHTTESFSRTPGK
配列番号８４	AF003251_Pep1	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTF KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPR DLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQ SIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKP GASVKVSCKASGYTFSNYYIHWVRQAPGQGLEWMGIINPS

【０１３９】

【表１７－３】

配列番号	ＤＢＡ	配列
		GGGTVYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVY YCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSS VTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYT LSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKP CPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDV SEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALP IQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQV YVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTE LNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSCSVV HEGLHNHHTTESFSRTPGK
配列番号 ８５	AF003253 _Pep1	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTF KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPR DLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQ SIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKP GASVKVSCKASGDTFTRHYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPS GGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVY YCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSS VTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYT LSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKP CPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDV SEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALP IQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQV YVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTE LNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSCSVV HEGLHNHHTTESFSRTPGK
配列番号 ８６	AF003103 _Pep1	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEE FGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKF CTELYQQLNDLEACVMQEERVGETPLMNADSILAVKKYFR RITLYLTEKKYSPCAWEVVRAEIVRSLSLSTNLQERLRRKEG GGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGIIDPSVTYTRYA QKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSLFP TIFGVEVAFDIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTT GSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSD LYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPT IKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVV DVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVS ALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRA PQVCVLPPPEEEMTKKQVTLWCMVTDFMPEDIYVEWTNNG KTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSC SVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
配列番号 ８７	AF003104 _Pep1	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEE FGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKF CTELYQQLNDLEACVMQEERVGETPLMNADSILAVKKYFR RITLYLTEKKYSPCAWEVVRAEIVRSLSLSTNLQERLRRKEG GGGSGGGGSGGGGSGGGGS QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYYIHWVRQA PGQGLEWMGWMDSNSGGTGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTV YMELSSLRSEDTAVYYCAKEVFSGWYDYWGQGTLVTVSS AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTW

【０１４０】

【表１７－４】

配列番号	ＤＢＡ	配列
		NSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNV AHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFP PKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHT AQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNK DLGAPIERTISKPKGSVRAPQVCVLPPPEEEMTKKQVTLWC MVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMY SKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
配列番号 ８８	AF003105 _Pep1	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEE FGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKF CTELYQQLNDLEACVMQEERVGETPLMNADSILAVKKYFR RITLYLTEKKYSPCAWEVVRAEIVRSLSLSTNLQERLRRKEG GGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFSGYYIHWVRQAPGQGLEWMGWMDSNSGGTG YAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAKE VFSGWYDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGS SVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLY TLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIK PCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVD VSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSA LPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAP QVCVLPPPEEEMTKKQVTLWCMVTDFMPEDIYVEWTNNG KTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSC SVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
配列番号 ８９	AF003106 _Pep1	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEE FGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKF CTELYQQLNDLEACVMQEERVGETPLMNADSILAVKKYFR RITLYLTEKKYSPCAWEVVRAEIVRSLSLSTNLQERLRRKEG GGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFSNYYIHWVRQAPGQGLEWMGWMDSNSGYTG YAQQFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAKE VFSGWYDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGS SVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLY TLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIK PCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVD VSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSA LPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAP QVCVLPPPEEEMTKKQVTLWCMVTDFMPEDIYVEWTNNG KTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSC SVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
配列番号 ９０	AF003217 _Pep1	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEE FGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKF CTELYQQLNDLEACVMQEERVGETPLMNADSILAVKKYFR RITLYLTEKKYSPCAWEVVRAEIVRSLSLSTNLQERLRRKEG GGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGIIDPSVTYTRYA QKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSLFP TIFGVEVAFDIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTT GSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSD LYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPT IKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVV

【０１４１】

【表１７－５】

配列番号	ＤＢＡ	配列
		DVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVS ALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRA PQVCVLPPPEEEMTKKQVTLWCMVTDFMPEDIYVEWTNNG KTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSC SVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
配列番号９１	AF003218_Pep1	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEE FGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKF CTELYQQLNDLEACVMQEERVGETPLMNADSILAVKKYFR RITLYLTEKKYSPCAWEVVRAEIVRSLSLSTNLQERLRRKEG GGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFSGYYIHWVRQAPGQGLEWMGWMDSNSGGTG YAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAKE VFSGWYDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGS SVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLY TLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIK PCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVD VSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSA LPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAP QVCVLPPPEEEMTKKQVTLWCMVTDFMPEDIYVEWTNNG KTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSC SVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
配列番号９２	AF003219_Pep1	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEE FGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKF CTELYQQLNDLEACVMQEERVGETPLMNADSILAVKKYFR RITLYLTEKKYSPCAWEVVRAEIVRSLSLSTNLQERLRRKEG GGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFSNYYIHWVRQAPGQGLEWMGWMDSNSGGTG YAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAKE VFSGWYDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGS SVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLY TLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIK PCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVD VSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSA LPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAP QVCVLPPPEEEMTKKQVTLWCMVTDFMPEDIYVEWTNNG KTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSC SVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
配列番号９３	AF002618_Pep1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQA PGQGLEWMGIIDPSVTYTRYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCARSLFPTIFGVEVAFDIWGQGTLVTV SSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLT WNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITC NVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFI FPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEV HTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVN NKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLT CMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFM YSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG K

【０１４２】

【表１７－６】

配列番号	ＤＢＡ	配列
配列番号９４	AF002639_Pep1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYYIHWVRQA PGQGLEWMGWMDSNSGYTGYAQQFQGRVTMTRDTSTSTV YMELSSLRSEDTAVYYCAKEVFSGWYDYWGQGTLVTVSSA KTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWN SGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVA HPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHT AQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNK DLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCM VTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYS KLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
配列番号９５	AF002645_Pep1	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEE FGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKF YTELYQQLNDLEACVIQGVGVTETPLMKEDSILAVRKYFQR ITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEVP GVGVPGAGVPGVGVPGGGVPGVGVPGGGVPGAGVPGGGV PGVGVPGAGVPGVGVPGGGQVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGIIDPSVTYTRYA QKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSLFP TIFGVEVAFDIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTT GSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSD LYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPT IKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVV DVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVS ALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRA PQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNG KTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSC SVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
配列番号９６	AF002666_Pep1	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEE FGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKF YTELYQQLNDLEACVIQGVGVTETPLMKEDSILAVRKYFQR ITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEVP GVGVPGAGVPGVGVPGGGVPGVGVPGGGVPGAGVPGGGV PGVGVPGAGVPGVGVPGGGQVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFSNYYIHWVRQAPGQGLEWMGWMDSNSGYTG YAQQFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAKE VFSGWYDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGS SVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLY TLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIK PCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVD VSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSA LPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAP QVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGK TELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCS VVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
配列番号９７	AF003229_Pep2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFSTYYVHWVRQ APGQGLEWMGIINPSGGGTVYAQKFQGRVTMTRDTSTSTV YMELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAPS VYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSS GVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASS

【０１４３】

【表１７－７】

配列番号	ＤＢＡ	配列
		TKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDV LMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQT HREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAP IERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTCLVKDFM PEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVE KKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGSGGG SHHHHHH
配列番号 ９８	AF003230 _Pep2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYYIHWVRQA PGQGLEWMGIINPSGGGTVYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAPSV YPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSG VHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASST KVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVL MISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTH REDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPI ERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTCLVKDFM PEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVE KKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGSGGG SHHHHHH
配列番号 ９９	AF003232 _Pep2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFTRHYVHWVRQ APGQGLEWMGIINPSGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTV YMELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAPS VYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSS GVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASS TKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDV LMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQT HREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAP IERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTCLVKDFM PEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVE KKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGSGGG SHHHHHH
配列番号 １００	AF003250 _Pep2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYYVHWVRQ APGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQNFQGRVTMTRDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCASGWDVWGQGTTVTVSSASGGGGS GGGGSGGGGSHASEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQS VNTYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGT EFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYGSSPVTFGQGTRLEIKPRGPT IKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVV DVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVS ALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRA PQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNG KTELNYKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSC SVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGSGGGSHHHHHH
配列番号 １０１	AF003251 _Pep2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYYVHWVRQ APGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQNFQGRVTMTRDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCASGWDVWGQGTTVTVSSASGGGGS GGGGSGGGGSHASEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQS VNTYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGT EFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYGSSPVTFGQGTRLEIKPRGPT IKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVV

【０１４４】

【表１７－８】

配列番号	ＤＢＡ	配列
		DVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVS ALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRA PQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNG KTELNYKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSC SVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGSGGGSHHHHHH
配列番号 １０２	AF003253 _Pep2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYYVHWVRQ APGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQNFQGRVTMTRDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCASGWDVWGQGTTVTVSSASGGGGS GGGGSGGGGSHASEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQS VNTYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGT EFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYGSSPVTFGQGTRLEIKPRGPT IKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVV DVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVS ALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRA PQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNG KTELNYKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSC SVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGSGGGSHHHHHH
配列番号 １０３	AF003103 _Pep2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQA PGQGLEWMGIIDPSVTYTRYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCARSLFPTIFGVEVAFDIWGQGTLVTV SSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLT WNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITC NVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFI FPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEV HTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVN NKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPCEEEMTKKQVTLS CAVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFM VSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG KHHHHHH
配列番号 １０４	AF003104 _Pep2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYYIHWVRQA PGQGLEWMGWMDSNSGGTGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTV YMELSSLRSEDTAVYYCAKEVFSGWYDYWGQGTLVTVSSA KTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWN SGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVA HPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHT AQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNK DLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPCEEEMTKKQVTLSCA VTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMVS KLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGKH HHHHH
配列番号 １０５	AF003105 _Pep2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSGYYIHWVRQA PGQGLEWMGWMDSNSGGTGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTV YMELSSLRSEDTAVYYCAKEVFSGWYDYWGQGTLVTVSSA KTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWN SGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVA HPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHT AQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNK DLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPCEEEMTKKQVTLSCA

【０１４５】

【表１７－９】

配列番号	ＤＢＡ	配列
		VTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMVS KLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGKH HHHHH
配列番号 １０６	AF003106 _Pep2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYYIHWVRQA PGQGLEWMGWMDSNSGYTGYAQQFQGRVTMTRDTSTSTV YMELSSLRSEDTAVYYCAKEVFSGWYDYWGQGTLVTVSSA KTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWN SGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVA HPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHT AQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNK DLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPCEEEMTKKQVTLSCA VTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMVS KLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGKH HHHHH
配列番号 １０７	AF003217 _Pep2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTKNYMHWVRQ APGQGLEWLGWVSPDSGYTGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTV YMELSSLRSEDTAVYYCTTDLLSLELDDAFDIWGQGTMVT VSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTK LEIKPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISL SPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDY NSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTIS KPKGSVRAPQVYVLPPCEEEMTKKQVTLSCAVTDFMPEDIY VEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMVSKLRVEKKNW VERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
配列番号 １０８	AF003218 _Pep2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTKNYMHWVRQ APGQGLEWLGWVSPDSGYTGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTV YMELSSLRSEDTAVYYCTTDLLSLELDDAFDIWGQGTMVT VSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTK LEIKPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISL SPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDY NSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTIS KPKGSVRAPQVYVLPPCEEEMTKKQVTLSCAVTDFMPEDIY VEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMVSKLRVEKKNW VERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
配列番号 １０９	AF003219 _Pep2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTKNYMHWVRQ APGQGLEWLGWVSPDSGYTGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTV YMELSSLRSEDTAVYYCTTDLLSLELDDAFDIWGQGTMVT VSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTK LEIKPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISL SPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDY NSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTIS KPKGSVRAPQVYVLPPCEEEMTKKQVTLSCAVTDFMPEDIY

【０１４６】

【表１７－１０】

配列番号	ＤＢＡ	配列
		VEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMVSKLRVEKKNW VERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
配列番号１１０	AF002618 _Pep2	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEE FGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKF YTELYQQLNDLEACVIQGVGVTETPLMKEDSILAVRKYFQR ITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQSISNRLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNSTPFTFGQGTKVEIKR ADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKI DGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHN SYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
配列番号１１１	AF002639 _Pep2	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEE FGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKF YTELYQQLNDLEACVIQGVGVTETPLMKEDSILAVRKYFQR ITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKVEIK RADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWK IDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHN SYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
配列番号１１２	AF002645 _Pep2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISNRLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQQSNSTPFTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGG ASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSK DSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNR NEC
配列番号１１４	AF003229 _Pep3	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQYISSGLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLDNGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQYERLPLTFGGGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTS GGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQD SKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSF NRNEC
配列番号１１５	AF003230 _Pep3	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGTGLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLDNGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQYNRAPLTFGGGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTS GGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQD SKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSF NRNEC
配列番号１１６	AF003232 _Pep3	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGRWLAWYQQKPG KAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQYESFPVTFGPGTKVDIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTS GGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQD SKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSF NRNEC
配列番号１２６	AF003219 _Pep3	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGK APKLLIYAASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQQSYSTPYTFGQGTKVDIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSG GASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDS

【０１４７】

【表１７－１１】

配列番号	ＤＢＡ	配列
		KDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFN RNEC

【０１４８】

実施例７

ＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮαタンパク質複合体によるＩ型ＩＦＮαレポーター活性化の低下

この実施例は、調節されていない抗体－ＩＦＮα免疫サイトカインと比較して、本開示のＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮαタンパク質複合体、具体的にはＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮαＤＢＡ／サイトカイン複合体がＩ型ＩＦＮαレポーターの活性化を低下させることを示す。この実験で使用したＤＢＡ－サイトカインタンパク質複合体及び対照免疫サイトカインは、図９Ｅに例示されるように、「ＧＧＧＧＳ」の４回の反復からなるリンカーを介して重鎖のＮ末端に融合したＩＦＮαを有するＩｇＧタンパク質であった。２つのＤＢＡ－サイトカイン複合体、Ｃ０８ＩＦＮα（ＣＤＬＰＱＴＨＳＬＧＳＲＲＴＬＭＬＬＡＱＭＲＲＩＳＬＦＳＣＬＫＤＲＨＤＦＧＦＰＱＥＥＦＧＮＱＦＱＫＡＥＴＩＰＶＬＨＥＭＩＱＱＩＦＮＬＦＳＴＫＤＳＳＡＡＷＤＥＴＬＬＤＫＦＹＴＥＬＹＱＱＬＮＤＬＥＡＣＶＩＱＧＶＧＶＴＥＴＰＬＭＫＥＤＳＩＬＡＶＲＫＹＦＱＲＩＴＬＹＬＫＥＫＫＹＳＰＣＡＷＥＶＶＲＡＥＩＭＲＳＦＳＬＳＴＮＬＱＥＳＬＲＳＫＥＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＱＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＧＴＦＳＳＹＡＩＳＷＶＲＱＡＰＧＱＧＬＥＷＭＧＩＩＤＰＳＶＴＹＴＲＹＡＱＫＦＱＧＲＶＴＭＴＲＤＴＳＴＳＴＶＹＭＥＬＳＳＬＲＳＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＳＬＦＰＴＩＦＧＶＥＶＡＦＤＩＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳＡＫＴＴＡＰＳＶＹＰＬＡＰＶＣＧＤＴＴＧＳＳＶＴＬＧＣＬＶＫＧＹＦＰＥＰＶＴＬＴＷＮＳＧＳＬＳＳＧＶＨＴＦＰＡＶＬＱＳＤＬＹＴＬＳＳＳＶＴＶＴＳＳＴＷＰＳＱＳＩＴＣＮＶＡＨＰＡＳＳＴＫＶＤＫＫＩＥＰＲＧＰＴＩＫＰＣＰＰＣＫＣＰＡＰＮＡＡＧＧＰＳＶＦＩＦＰＰＫＩＫＤＶＬＭＩＳＬＳＰＩＶＴＣＶＶＶＤＶＳＥＤＤＰＤＶＱＩＳＷＦＶＮＮＶＥＶＨＴＡＱＴＱＴＨＲＥＤＹＮＳＴＬＲＶＶＳＡＬＰＩＱＨＱＤＷＭＳＧＫＥＦＫＣＫＶＮＮＫＤＬＧＡＰＩＥＲＴＩＳＫＰＫＧＳＶＲＡＰＱＶＹＶＬＰＰＰＥＥＥＭＴＫＫＱＶＴＬＴＣＭＶＴＤＦＭＰＥＤＩＹＶＥＷＴＮＮＧＫＴＥＬＮＹＫＮＴＥＰＶＬＤＳＤＧＳＹＦＭＹＳＫＬＲＶＥＫＫＮＷＶＥＲＮＳＹＳＣＳＶＶＨＥＧＬＨＮＨＨＴＴＫＳＦＳＲＴＰＧＫ；配列番号５７及びＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＱＡＳＱＤＩＳＮＹＬＮＷＹＱＱＫＰＧＫＡＰＫＬＬＩＹＧＡＳＴＬＱＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＴＹＳＴＰＩＴＦＧＱＧＴＫＶＥＩＫＲＡＤＡＡＰＴＶＳＩＦＰＰＳＳＥＱＬＴＳＧＧＡＳＶＶＣＦＬＮＮＦＹＰＫＤＩＮＶＫＷＫＩＤＧＳＥＲＱＮＧＶＬＮＳＷＴＤＱＤＳＫＤＳＴＹＳＭＳＳＴＬＴＬＴＫＤＥＹＥＲＨＮＳＹＴＣＥＡＴＨＫＴＳＴＳＰＩＶＫＳＦＮＲＮＥＣ；配列番号５８）及び

Ｂ０９ＩＦＮα（ＣＤＬＰＱＴＨＳＬＧＳＲＲＴＬＭＬＬＡＱＭＲＲＩＳＬＦＳＣＬＫＤＲＨＤＦＧＦＰＱＥＥＦＧＮＱＦＱＫＡＥＴＩＰＶＬＨＥＭＩＱＱＩＦＮＬＦＳＴＫＤＳＳＡＡＷＤＥＴＬＬＤＫＦＹＴＥＬＹＱＱＬＮＤＬＥＡＣＶＩＱＧＶＧＶＴＥＴＰＬＭＫＥＤＳＩＬＡＶＲＫＹＦＱＲＩＴＬＹＬＫＥＫＫＹＳＰＣＡＷＥＶＶＲＡＥＩＭＲＳＦＳＬＳＴＮＬＱＥＳＬＲＳＫＥＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＱＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＧＴＦＴＧＹＹＭＨＷＶＲＱＡＰＧＱＧＬＥＷＭＧＷＶＮＰＮＳＧＮＴＧＹＡＱＫＦＱＧＲＶＴＭＴＲＤＴＳＴＳＴＶＹＭＥＬＳＳＬＲＳＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＳＬＦＰＴＩＦＧＶＥＶＡＦＤＩＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳＡＫＴＴＡＰＳＶＹＰＬＡＰＶＣＧＤＴＴＧＳＳＶＴＬＧＣＬＶＫＧＹＦＰＥＰＶＴＬＴＷＮＳＧＳＬＳＳＧＶＨＴＦＰＡＶＬＱＳＤＬＹＴＬＳＳＳＶＴＶＴＳＳＴＷＰＳＱＳＩＴＣＮＶＡＨＰＡＳＳＴＫＶＤＫＫＩＥＰＲＧＰＴＩＫＰＣＰＰＣＫＣＰＡＰＮＡＡＧＧＰＳＶＦＩＦＰＰＫＩＫＤＶＬＭＩＳＬＳＰＩＶＴＣＶＶＶＤＶＳＥＤＤＰＤＶＱＩＳＷＦＶＮＮＶＥＶＨＴＡＱＴＱＴＨＲＥＤＹＮＳＴＬＲＶＶＳＡＬＰＩＱＨＱＤＷＭＳＧＫＥＦＫＣＫＶＮＮＫＤＬＧＡＰＩＥＲＴＩＳＫＰＫＧＳＶＲＡＰＱＶＹＶＬＰＰＰＥＥＥＭＴＫＫＱＶＴＬＴＣＭＶＴＤＦＭＰＥＤＩＹＶＥＷＴＮＮＧＫＴＥＬＮＹＫＮＴＥＰＶＬＤＳＤＧＳＹＦＭＹＳＫＬＲＶＥＫＫＮＷＶＥＲＮＳＹＳＣＳＶＶＨＥＧＬＨＮＨＨＴＴＫＳＦＳＲＴＰＧＫ；配列番号５９及びＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＱＡＳＱＤＩＳＮＹＬＮＷＹＱＱＫＰＧＫＡＰＫＬＬＩＹＡＡＳＳＬＱＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＳＹＳＰＰＰＴＦＧＱＧＴＫＬＥＩＫＲＡＤＡＡＰＴＶＳＩＦＰＰＳＳＥＱＬＴＳＧＧＡＳＶＶＣＦＬＮＮＦＹＰＫＤ

ＩＮＶＫＷＫＩＤＧＳＥＲＱＮＧＶＬＮＳＷＴＤＱＤＳＫＤＳＴＹＳＭＳＳＴＬＴＬＴＫＤＥＹＥＲＨＮＳＹＴＣＥＡＴＨＫＴＳＴＳＰＩＶＫＳＦＮＲＮＥＣ；配列番号６０）、及び

２つの対照免疫サイトカインである抗Ｈｅｒ２ＩＦＮα（ＣＤＬＰＱＴＨＳＬＧＳＲＲＴＬＭＬＬＡＱＭＲＲＩＳＬＦＳＣＬＫＤＲＨＤＦＧＦＰＱＥＥＦＧＮＱＦＱＫＡＥＴＩＰＶＬＨＥＭＩＱＱＩＦＮＬＦＳＴＫＤＳＳＡＡＷＤＥＴＬＬＤＫＦＹＴＥＬＹＱＱＬＮＤＬＥＡＣＶＩＱＧＶＧＶＴＥＴＰＬＭＫＥＤＳＩＬＡＶＲＫＹＦＱＲＩＴＬＹＬＫＥＫＫＹＳＰＣＡＷＥＶＶＲＡＥＩＭＲＳＦＳＬＳＴＮＬＱＥＳＬＲＳＫＥＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＱＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＧＴＦＳＳＹＡＩＳＷＶＲＱＡＰＧＱＧＬＥＷＭＧＷＩＮＰＮＳＧＧＴＮＹＡＱＫＦＱＧＲＶＴＭＴＲＤＴＳＴＳＴＶＹＭＥＬＳＳＬＲＳＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＳＬＦＰＴＩＦＧＶＥＶＡＦＤＩＷＧＱＧＴＴＶＴＶＳＳＡＫＴＴＡＰＳＶＹＰＬＡＰＶＣＧＤＴＴＧＳＳＶＴＬＧＣＬＶＫＧＹＦＰＥＰＶＴＬＴＷＮＳＧＳＬＳＳＧＶＨＴＦＰＡＶＬＱＳＤＬＹＴＬＳＳＳＶＴＶＴＳＳＴＷＰＳＱＳＩＴＣＮＶＡＨＰＡＳＳＴＫＶＤＫＫＩＥＰＲＧＰＴＩＫＰＣＰＰＣＫＣＰＡＰＮＡＡＧＧＰＳＶＦＩＦＰＰＫＩＫＤＶＬＭＩＳＬＳＰＩＶＴＣＶＶＶＤＶＳＥＤＤＰＤＶＱＩＳＷＦＶＮＮＶＥＶＨＴＡＱＴＱＴＨＲＥＤＹＮＳＴＬＲＶＶＳＡＬＰＩＱＨＱＤＷＭＳＧＫＥＦＫＣＫＶＮＮＫＤＬＧＡＰＩＥＲＴＩＳＫＰＫＧＳＶＲＡＰＱＶＹＶＬＰＰＰＥＥＥＭＴＫＫＱＶＴＬＴＣＭＶＴＤＦＭＰＥＤＩＹＶＥＷＴＮＮＧＫＴＥＬＮＹＫＮＴＥＰＶＬＤＳＤＧＳＹＦＭＹＳＫＬＲＶＥＫＫＮＷＶＥＲＮＳＹＳＣＳＶＶＨＥＧＬＨＮＨＨＴＴＫＳＦＳＲＴＰＧＫ；配列番号６１及びＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＳＩＩＤＲＬＡＷＹＱＱＫＰＧＫＡＰＫＬＬＩＹＫＡＳＳＬＥＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＳＹＳＴＰＦＴＦＧＰＧＴＫＶＤＩＫＲＡＤＡＡＰＴＶＳＩＦＰＰＳＳＥＱＬＴＳＧＧＡＳＶＶＣＦＬＮＮＦＹＰＫＤＩＮＶＫＷＫＩＤＧＳＥＲＱＮＧＶＬＮＳＷＴＤＱＤＳＫＤＳＴＹＳＭＳＳＴＬＴＬＴＫＤＥＹＥＲＨＮＳＹＴＣＥＡＴＨＫＴＳＴＳＰＩＶＫＳＦＮＲＮＥＣ；配列番号６２）及び抗ＰＤ－Ｌ１ＩＦＮα（ＣＤＬＰＱＴＨＳＬＧＳＲＲＴＬＭＬＬＡＱＭＲＲＩＳＬＦＳＣＬＫＤＲＨＤＦＧＦＰＱＥＥＦＧＮＱＦＱＫＡＥＴＩＰＶＬＨＥＭＩＱＱＩＦＮＬＦＳＴＫＤＳＳＡＡＷＤＥＴＬＬＤＫＦＹＴＥＬＹＱＱＬＮＤＬＥＡＣＶＩＱＧＶＧＶＴＥＴＰＬＭＫＥＤＳＩＬＡＶＲＫＹＦＱＲＩＴＬＹＬＫＥＫＫＹＳＰＣＡＷＥＶＶＲＡＥＩＭＲＳＦＳＬＳＴＮＬＱＥＳＬＲＳＫＥＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＮＩＫＤＴＹＩＨＷＶＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶＡＲＩＹＰＴＮＧＹＴＲＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＡＤＴＳＫＮＴＡＹＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＳＲＷＧＧＤＧＦＹＡＭＤＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳＡＫＴＴＡＰＳＶＹＰＬＡＰＶＣＧＤＴＴＧＳＳＶＴＬＧＣＬＶＫＧＹＦＰＥＰＶＴＬＴＷＮＳＧＳＬＳＳＧＶＨＴＦＰＡＶＬＱＳＤＬＹＴＬＳＳＳＶＴＶＴＳＳＴＷＰＳＱＳＩＴＣＮＶＡＨＰＡＳＳＴＫＶＤＫＫＩＥＰＲＧＰＴＩＫＰＣＰＰＣＫＣＰＡＰＮＡＡＧＧＰＳＶＦＩＦＰＰＫＩＫＤＶＬＭＩＳＬＳＰＩＶＴＣＶＶＶＤＶＳＥＤＤＰＤＶＱＩＳＷＦＶＮＮＶＥＶＨＴＡＱＴＱＴＨＲＥＤＹＮＳＴＬＲＶＶＳＡＬＰＩＱＨＱＤＷＭＳＧＫＥＦＫＣＫＶＮＮＫＤＬＧＡＰＩＥＲＴＩＳＫＰＫＧＳＶＲＡＰＱＶＹＶＬＰＰＰＥＥＥＭＴＫＫＱＶＴＬＴＣＭＶＴＤＦＭＰＥＤＩＹＶＥＷＴＮＮＧＫＴＥＬＮＹＫＮＴＥＰＶＬＤＳＤＧＳＹＦＭＹＳＫＬＲＶＥＫＫＮＷＶＥＲＮＳＹＳＣＳＶＶＨＥＧＬＨＮＨＨＴＴＫＳＦＳＲＴＰＧＫ；配列番号６３及びＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＤＶＮＴＡＶＡＷＹＱＱＫＰＧＫＡＰＫＬＬＩＹＳＡＳＦＬＹＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＲＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＨＹＴＴＰＰＴＦＧＱＧＴＫＶＥＩＫＲＡＤＡＡＰＴＶＳＩＦＰＰＳＳＥＱＬＴＳＧＧＡＳＶＶＣＦＬＮＮＦＹＰＫＤＩＮＶＫＷＫＩＤＧＳＥＲＱＮＧＶＬＮＳＷＴＤＱＤＳＫＤＳＴＹＳＭＳＳＴＬＴＬＴＫＤＥＹＥＲＨＮＳＹＴＣＥＡＴＨＫＴＳＴＳＰＩＶＫＳＦＮＲＮＥＣ；配列番号６４）を合成し、ＨＥＫ２９３細胞において発現させ、プロテインＡを精製した（ＧｅｎＳｃｒｉｐｔ）。滴定濃度のＤＢＡ－サイトカイン複合体及び抗体－サイトカイン対照を、完全ＤＭＥＭ（＋１０％ＦＢＳ、２ｍＭのＬ－グルタミン

、ピルビン酸ナトリウム）中の５０，０００個のＩ型ＩＦＮαレポーター細胞（ＩｎｖｉｖｏＧｅｎ）と共に９６ウェルプレートに添加した。プレートを３７℃で一晩インキュベートし、２０ｕＬの培養上清を１８０ｕＬのＱＵＡＮＴＩ－Ｂｌｕｅ溶液（ＩｎｖｉｖｏＧｅｎ）に添加することによって発色させた。室温で３０分間インキュベートした後、プレートをＥｎｖｉｓｉｏｎ（Ｐｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ）で６３０ｎｍで読み取った。ＰＤ－Ｌ１の非存在下において、ＩＦＮαテザリングＰＤ－Ｌ１－ＩＦＮαＤＢＡ複合体Ｃ０８及びＢ０９は、等モル量の対照抗ＰＤ－Ｌ１又は抗ＨＥＲ２ＩＦＮα免疫サイトカインと比較して、低下したレポーター活性化を示す（図１０）。

【０１４９】

実施例８

ＰＤ－１／ＩＬ－２二重結合抗体（ＤＢＡ）サイトカイン複合体によるＣＤ８＋Ｔ細胞ＳＴＡＴ５リン酸化の減少

この実施例は、本開示のＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－サイトカイン複合体によるＣＤ８＋Ｔ細胞ＳＴＡＴ５リン酸化について説明する。表１７に示すＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡの遺伝子を合成し、ＨＥＫ２９３中で、ＩＬ－２がリンカー（Ｇｅｎｓｃｒｉｐｔ）を介して重鎖又は軽鎖のＮ末端に融合したＩｇＧタンパク質として発現させた。抗体のうちの２つだけがｓｃＦｖとしてのＩＬ－２ＲＢへのＩＬ－２結合を遮断したが、抗体のうちの３０を超えるものは、連結されたＩＬ－２ドメインによるＩＬ－２シグナル伝達を低下させることができた。これらのＤＢＡの例示的なセットを分析のために選択し、対照抗ＨＥＲ２－ＩＬ－２免疫サイトカインと比較した（表１７）。

【０１５０】

【表１８－１】

表１７－ＩｇＧＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡタンパク質複合体

名称	重鎖配列配列番号	軽鎖配列配列番号
抗ＨＥＲ２	（配列番号６５） EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWV ARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISAD TSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCS	（配列番号６６） APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQ MILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPL EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNI

【０１５１】

【表１８－２】

名称	重鎖配列配列番号	軽鎖配列配列番号
	RWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTL GCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSG VHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSST WPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEP RGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFI FPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSE DDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTH REDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSG KEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKG SVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTL TCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTEL NYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVE KKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHH TTKSFSRTPGK	NVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFCQSIISTLTVP GVGVPGAGVPGVGVPGGGVPG VGVPGGGVPGAGVPGGGVPGV GVPGAGVPGVGVPGGGDIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCRASQD VNTAVAWYQQKPGKAPKLLIY SASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQHYTTP PTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIF PPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYP KDINVKWKIDGSERQNGVLNS WTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKD EYERHNSYTCEATHKTSTSPIVK SFNRNEC
2-A08	（配列番号６７） QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK VSGYTFTSYDINWVRQAPGQGLEW MGWINPNSGDTGYAQKFQGRVTM TRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYY CARDTGLGYYYGSGDFDYWGQGT LVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTT GSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNS GSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSV TVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKV DKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAA GGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCV VVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHT AQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQH QDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIE RTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEM TKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWT NNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFM YSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHE GLHNHHTTKSFSRTPGK	（配列番号６８） APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQ MILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPL EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNI NVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFCQSIISTLTVP GVGVPGAGVPGVGVPGGGVPG VGVPGGGVPGAGVPGGGVPGV GVPGAGVPGVGVPGGGDIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCQASQD IHNYLNWYQQKPGKAPKLLIYD VSNLETGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQAISFPLT FGGGTKVEIKRADAAPTVSIFPP SSEQLTSGGASVVCFLNNFYPK DINVKWKIDGSERQNGVLNSW TDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDE YERHNSYTCEATHKTSTSPIVKS FNRNEC
2-A11	（配列番号６９） QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGHTFTRYYMHWVRQAPGQGLE WMGIINPSGGYATYAQKFQGRVTM TRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYY CASGWDVWGQGTLVTVSSAKTTA PSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVK GYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPA VLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSIT CNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKP CPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKD VLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQ ISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNS	（配列番号７０） APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQ MILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPL EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNI NVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFCQSIISTLTVP GVGVPGAGVPGVGVPGGGVPG VGVPGGGVPGAGVPGGGVPGV GVPGAGVPGVGVPGGGDIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI NSWLAWYQQKPGKAPKLLIYA TSTLESGVPSRFSGSGSGTDFTL

【０１５２】

【表１８－３】

名称	重鎖配列配列番号	軽鎖配列配列番号
	TLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCK VNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQ VYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTD FMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTE PVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWV ERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSR TPGK	TISSLQPEDFATYYCQQSYSFPP TFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFP PSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPK DINVKWKIDGSERQNGVLNSW TDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDE YERHNSYTCEATHKTSTSPIVKS FNRNEC
2-B05	（配列番号７１） QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGYTFTNYYIHWVRQAPGQGLE WMGIINPRAGYTSYALKFQGRVTM TRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYY CAGGWLDWGQGTLVTVSSAKTTA PSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVK GYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPA VLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSIT CNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKP CPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKD VLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQ ISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNS TLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCK VNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQ VYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTD FMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTE PVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWV ERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSR TPGK	（配列番号７２） APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQ MILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPL EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNI NVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFCQSIISTLTVP GVGVPGAGVPGVGVPGGGVPG VGVPGGGVPGAGVPGGGVPGV GVPGAGVPGVGVPGGGDIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI SSWLAWYQQKPGKAPKLLIYA ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQSFTMPI TFGQGTRLEIKRADAAPTVSIFP PSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPK DINVKWKIDGSERQNGVLNSW TDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDE YERHNSYTCEATHKTSTSPIVKS FNRNEC
2-B07	（配列番号７３） QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGDTFTRHYVHWVRQAPGQGLE WMGIINPSGGYASYAQKFQGRVTM TRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYY CAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAPS VYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKG YFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAV LQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITC NVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPC PPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDV LMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WFVNNVEVHTAQTQTHREDYNST LRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKV NNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQV YVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDF MPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEP VLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVE RNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRT PGK	（配列番号７４） APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQ MILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPL EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNI NVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFCQSIISTLTVP GVGVPGAGVPGVGVPGGGVPG VGVPGGGVPGAGVPGGGVPGV GVPGAGVPGVGVPGGGDIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI GRWLAWYQQKPGKAPKLLIYS ASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQANSFPV TFGPGTKVDIKRADAAPTVSIFP PSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPK DINVKWKIDGSERQNGVLNSW TDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDE YERHNSYTCEATHKTSTSPIVKS FNRNEC
7-A04	（配列番号７５）	（配列番号７６）

【０１５３】

【表１８－４】

名称	重鎖配列配列番号	軽鎖配列配列番号
	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGYTFTDYYMHWVRQAPGQGLE WMGIINPRAGYTSYALKFQGRVTM TRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYY CTSGMDVWGQGTLVTVSSAKTTAP SVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVK GYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPA VLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSIT CNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKP CPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKD VLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQ ISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNS TLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCK VNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQ VYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTD FMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTE PVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWV ERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSR TPGK	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQ MILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPL EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNI NVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFCQSIISTLTVP GVGVPGAGVPGVGVPGGGVPG VGVPGGGVPGAGVPGGGVPGV GVPGAGVPGVGVPGGGDIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI STWLAWYQQKPGKAPKLLIYA ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQSYSFPV TFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFP PSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPK DINVKWKIDGSERQNGVLNSW TDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDE YERHNSYTCEATHKTSTSPIVKS FNRNEC

【０１５４】

ＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－サイトカイン複合体を完全ＲＰＭＩ（＋１０％ＦＢＳ、２ｍＭのＬ－グルタミン、ピルビン酸ナトリウム）で段階希釈し、９６ウェルプレートに添加した。２×１０^{5}個のヒトＰＢＭＣを各ウェルに添加し、プレートを３７℃で２０分間インキュベートした。次いで、等量の予熱した固定緩衝液（Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ）を各ウェルに添加し、プレートを３７℃で１０分間インキュベートした。次いで、細胞を予め冷却したＰｅｒｍ Ｂｕｆｆｅｒ ＩＩＩ（ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）中で４℃で３０分間固定した。細胞をＦＡＣＳ洗浄緩衝液（ＰＢＳ＋２％ＦＢＳ、２ｍＭのＥＤＴＡ）で洗浄し、ＦＡＣＳ洗浄緩衝液で１：２０に希釈したＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ８、（ＢｉｏＬｅｇｅｎｄ）及びホスホ－ＳＴＡＴ５（ＢＤＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）に対するフルオロフォア標識抗体で染色した。細胞を４℃で１時間インキュベートし、ＦＡＣＳ洗浄緩衝液で洗浄し、ＳＡ３８００ Ｓｐｅｃｔｒａｌ Ａｎａｌｙｚｅｒで分析した。ＰＤ－１の非存在下では、ＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ／サイトカイン複合体は、単一特異性対照抗ＨＥＲ２ＩＬ－２免疫サイトカインと比較して、Ｔ細胞においてより少ないＳＴＡＴ５リン酸化を誘導した（図１１）。

【０１５５】

実施例９

ＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮα二重結合抗体（ＤＢＡ）サイトカイン複合体による調節されたインターフェロン受容体結合

この実施例は、ＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮαＤＢＡ－サイトカイン複合体による制御されたインターフェロン受容体結合について説明する。配列番号４１及び配列番号５５（ＭＳＴＳＴＣＤＬＰＱＴＨＳＬＧＳＲＲＴＬＭＬＬＡＱＭＲＲＩＳＬＦＳＣＬＫＤＲＨＤＦＧＦＰＱＥＥＦＧＮＱＦＱＫＡＥＴＩＰＶＬＨＥＭＩＱＱＩＦＮＬＦＳＴＫＤＳＳＡＡＷＤＥＴＬＬＤＫＦＹＴＥＬＹＱＱＬＮＤＬＥＡＣＶＩＱＧＶＧＶＴＥＴＰＬＭＫＥＤＳＩＬＡＶＲＫＹＦＱＲＩＴＬＹＬＫＥＫＫＹＳＰＣＡＷＥＶＶＲＡＥＩＭＲＳＦＳＬＳＴＮＬＱＥＳＬＲＳＫＥＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＱＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＮＴＦＴＤＹＹＭＨＷＶＲＱＡＰＧＱＧＬＥＷＭＧＷＭＮＰＮ

ＳＧＮＴＧＹＡＱＫＦＱＧＲＶＴＭＴＲＤＴＳＴＳＴＶＹＭＥＬＳＳＬＲＳＥＤＴＡＶＹ
ＹＣＡＲＳＬＦＰＴＩＦＧＶＥＶＡＦＤＩＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳＡＳＧＧＧＧＳＧＧＧ
ＧＳＧＧＧＧＳＨＡＳＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＱＡＳＱＤＩＳ
ＮＹＬＮＷＹＱＱＫＰＧＫＡＰＫＬＬＩＹＡＡＳＳＬＥＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤ
ＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＳＹＳＴＰＰＴＦＧＱＧＴＲＬＥＩＫＧＫＰ
ＩＰＮＰＬＬＧＬＤＳＴ）のＤＢＡ－サイトカイン複合体を、ＨＥＲ２結合ｓｃＦｖ（配
列番号５６、ＭＳＴＳＴＣＤＬＰＱＴＨＳＬＧＳＲＲＴＬＭＬＬＡＱＭＲＲＩＳＬＦＳＣ
ＬＫＤＲＨＤＦＧＦＰＱＥＥＦＧＮＱＦＱＫＡＥＴＩＰＶＬＨＥＭＩＱＱＩＦＮＬＦＳＴ
ＫＤＳＳＡＡＷＤＥＴＬＬＤＫＦＹＴＥＬＹＱＱＬＮＤＬＥＡＣＶＩＱＧＶＧＶＴＥＴＰ
ＬＭＫＥＤＳＩＬＡＶＲＫＹＦＱＲＩＴＬＹＬＫＥＫＫＹＳＰＣＡＷＥＶＶＲＡＥＩＭＲ
ＳＦＳＬＳＴＮＬＱＥＳＬＲＳＫＥＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＥＶＱＬ
ＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＮＩＫＤＴＹＩＨＷＶＲＱＡＰＧＫＧ
ＬＥＷＶＡＲＩＹＰＴＮＧＹＴＲＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＡＤＴＳＫＮＴＡＹＬＱＭＮ
ＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＳＲＷＧＧＤＧＦＹＡＭＤＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳＡＳＧＧ
ＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＨＡＳＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲ
ＡＳＱＤＶＮＴＡＶＡＷＹＱＱＫＰＧＫＡＰＫＬＬＩＹＳＡＳＦＬＹＳＧＶＰＳＲＦＳＧ
ＳＲＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＨＹＴＴＰＰＴＦＧＱＧＴＫＶ
ＥＩＫＧＫＰＩＰＮＰＬＬＧＬＤＳＴ）に基づく類似の構造を有する陰性対照を用いた分
析のために選択した。無細胞転写／翻訳系（Ｃｏｓｍｏ　Ｂｉｏ　ＵＳＡ，Ｉｎｃ．，Ｐ
ＵＲＥｆｒｅｘ２．１、製品番号ＧＦＫ－ＰＦ２１３　ｗｉｔｈ　ＤＳ　Ｓｕｐｐｌｅｍ
ｅｎｔ、製品番号ＧＦＫ－ＰＦ００５）を使用してタンパク質を発現させた。９６ウェル
ＥＬＩＳＡプレートを、５０ｎｇ／ウェルの抗Ｖ５抗体（ＳＶ５－ｐｋ１）で４℃にて一
晩コーティングした。２００ｕｌ／ウェルの０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０含有ＳｕｐｅｒＢ
ｌｏｃｋ（ＳＢＴ）を添加してプレートを２回洗浄し、最後のＳＢＴ洗浄を室温で１５分
間インキュベートした後、吸引した。次いで、ＳＢＴ中の各構築物のタンパク質の希釈系
列を５０μｌ／ウェルで抗Ｖ５コーティングプレートに添加し、室温で１時間インキュベ
ートした。次いで、各プレートを０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０（ＰＢＳＴ）を含むＰＢＳで
３回洗浄した。次いで、結合した構築物を、ＳＢＴ中の抗ＩＦＮα、ＩＦＮＡＲ２－ビオ
チン、ＰＤＬ１－ｈＦｃ－Ａｖｉ又はＩＦＮＡＲ２－ビオチン及びＰＤＬ１－ｈＦｃ－Ａ
ｖｉの組み合わせのうちのいずれかを用いて、室温で１時間、５０ｕｌ／ウェルでプロー
ブした。プレートをＰＢＳＴで３回洗浄した。ヤギ抗ｍＩｇＧ－ＨＲＰ又はストレプトア
ビジン－ＨＲＰを５０ｕｌ／ウェルで添加し、室温で３０分間インキュベートし、続いて
ＰＢＳＴで３回洗浄した。５０ｕｌ／ウェルのＴＭＢを添加することによってプレートを
発色させ、等量のＥＬＩＳＡ停止溶液で反応を停止させた。図１２（左上）に示されるよ
うに、ＤＢＡ－ＩＦＮα複合体（配列番号４１）に対するＩＦＮＡＲ２の結合が、ＰＤ－
Ｌ１の添加とともに用量依存的態様で増大した。対照のＨＥＲ２特異的抗体－ＩＦＮα複
合体（配列番号５６）へのＩＦＮＡＲ２の結合は、ＰＤ－Ｌ１の添加によって影響されな
かった（図１２右上）。配列番号５５を含有するＤＢＡ－ＩＦＮα複合体へのＩＦＮＡＲ
２の結合は、これらの濃度でのＰＤ－Ｌ１の添加によって影響されなかった（図１２下）
。配列番号５５のタンパク質複合体は、配列番号４１のセンサードメインが配列番号５５
のセンサードメインよりも高いＩＦＮα親和性を有することを除いて、配列番号４１のタ
ンパク質複合体と同様である。本発明のタンパク質複合体は、マーカーに対するそれらの
親和性と治療用ドメインに対するそれらの親和性との間の正しいバランスを必要とし得る
。

【０１５６】

実施例１０

インビトロでのＰＤ－Ｌ１依存的ＩＦＮα活性についてのＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮαタンパク
質複合体

　この実施例は、インビトロでのＰＤ－Ｌ１依存性ＩＦＮα活性のためのＰＤ－Ｌ１／Ｉ
ＦＮαタンパク質複合体について説明する。ＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮαタンパク質複合体は、

ＰＤ－Ｌ１マーカーに結合することができるＤＢＡと、タンパク質複合体がリンカーを介してＩＦＮα治療用サイトカインに連結されているＩＦＮα治療用ドメインとを含む。ＰＤ－Ｌ１の非存在下において、ＰＤ－Ｌ１センサードメインはＩＦＮα治療用ドメインに結合し、ＩＦＮα治療薬を不活性にする。ＰＤ－Ｌ１の存在下において（例えば、ＰＤ－Ｌ１は、腫瘍細胞又は免疫細胞などの細胞上で発現される）、ＰＤ－Ｌ１センサードメインはＰＤ－Ｌ１に結合し、それにより、ＩＦＮα治療用ドメインを結合解除し、ＩＦＮαが治療活性を示すことを可能にする。

【０１５７】

ＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮαタンパク質複合体を設計し、組換え発現させるか、又は化学合成される。ＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮαタンパク質複合体はインビトロで（例えば、細胞培養において）細胞に投与される。ＰＤ－Ｌ１マーカーの非存在下において、ＩＦＮαドメインはＰＤ－Ｌ１センサードメインに結合した状態を維持し、治療効果は観察されない。細胞は、ＰＤ－Ｌ１を内因的に又は活性化後に、又はＰＤ－Ｌ１をコードする遺伝子の導入後に発現し得る。細胞がＰＤ－Ｌ１マーカーを発現する腫瘍細胞である場合、治療効果は、細胞増殖の阻害又はＩＦＮα応答性遺伝子の誘導であり得る。細胞が免疫細胞である場合、治療効果は、細胞増殖、ＩＦＮ応答性遺伝子の活性化又は誘導であり得る。細胞が細胞型の混合物の一部である場合、これらの変化のいずれかが、混合物中の応答性細胞集団についてモニターされ得る。

【０１５８】

実施例１１

インビボでのＰＤ－Ｌ１依存的ＩＦＮα活性

この実施例は、インビボでのＰＤ－Ｌ１依存性ＩＦＮα活性のためのＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮαタンパク質複合体について説明する。ＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮαタンパク質複合体は、ＩＦＮαサイトカインにリンカーを介して連結されたＰＤ－Ｌ１センサードメイン（例えば、抗ＰＤ－Ｌ１抗体又は抗ＰＤ－Ｌ１ｓｃＦｖ）を含み、ＩＦＮαサイトカインは治療薬である。ＰＤ－Ｌ１の非存在下において、ＰＤ－Ｌ１センサードメインはＩＦＮα治療用ドメインに結合し、ＩＦＮα治療薬を不活性にする。ＰＤ－Ｌ１の存在下において（例えば、ＰＤ－Ｌ１は、腫瘍細胞又は免疫細胞などの細胞上で発現される）、ＰＤ－Ｌ１センサードメインはＰＤ－Ｌ１に結合し、それにより、ＩＦＮα治療用ドメインを結合解除し、ＩＦＮαが治療活性を示すことを可能にする。

【０１５９】

ＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮαタンパク質複合体は、組換え発現されるか、又は化学合成される。ＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮαタンパク質複合体は、それを必要とする対象にインビボで投与される。投与は、静脈内、筋肉内、皮下、皮内、腹腔内、又は粘膜的に行われる。ＰＤ－Ｌ１の非存在下では、ＩＦＮα治療用ドメインはＰＤ－Ｌ１センサードメインに結合した状態を維持し、治療有効性は観察されない（例えば、対象における細胞増殖は阻害されない）。ＰＤ－Ｌ１の存在下では、ＰＤ－Ｌ１センサードメインはＰＤ－Ｌ１に結合し、ＩＦＮα治療用ドメインには結合しない。治療有効性が観察される（例えば、細胞増殖が阻害されるか、又は免疫細胞活性化が起こる）。細胞は、ＰＤ－Ｌ１を発現する腫瘍細胞である。対象は、それを必要とするヒト又は非ヒト動物である。対象は疾患を有する。疾患は癌である。

【０１６０】

実施例１２

ヒト細胞におけるＰＤ－１依存性ＩＬ－２活性

この実施例は、インビトロ及びインビボでのヒト細胞におけるＰＤ－１依存性ＩＬ－２活性のためのＰＤ－１／ＩＬ－２タンパク質複合体について説明する。ＰＤ－１／ＩＬ－２タンパク質複合体は、リンカーを介してＩＬ－２サイトカイン治療用ドメインに連結されたＰＤ－１センサードメイン（例えば、抗ＰＤ－１抗体又は抗ＰＤ－１ｓｃＦｖ）を含み、ＩＬ－２サイトカインは治療薬である。ＰＤ－１の非存在下では、ＰＤ－１センサードメインはＩＬ－２治療用ドメインに結合し、ＩＬ－２治療薬を不活性にする。ＰＤ－１

の存在下では（例えば、ＰＤ－１は、免疫細胞などの細胞上で発現される）、ＰＤ－１センサードメインはＰＤ－１に結合し、それによってＩＬ－２治療用ドメインを結合解除し、ＩＬ－２が治療活性を示すことを可能にする。

【０１６１】

ＰＤ－１／ＩＬ－２タンパク質複合体は、組換え発現又は化学合成される。ＰＤ－１／ＩＬ－２タンパク質複合体は、ヒト細胞にインビトロで、又はマウス若しくはそれを必要とするヒト対象にインビボで投与される。ヒト細胞は、ＰＤ－１を発現する細胞である。マウス又はヒト対象への投与は、静脈内、筋肉内、皮下、皮内、腹腔内又は粘膜内で行われる。ＰＤ－１の非存在下では、ＩＬ－２治療用ドメインはＰＤ－１センサードメインに結合した状態を維持し、治療有効性は観察されない（例えば、インビトロ及び対象における細胞活性化は変化しない）。ＰＤ－１の存在下では、ＰＤ－１センサードメインはＰＤ－１に結合し、ＩＬ－２治療用ドメインに結合しない。治療有効性が観察される（例えば、細胞活性化がインビトロで観察され、対象において、インビボで観察される）。対象は疾患を有する。疾患は癌である。細胞は、ＰＤ－１を内因的に又は活性化後に、又はＰＤ－１をコードする遺伝子の導入後に発現し得る。治療効果は、細胞増殖、分化、ＩＬ２応答性遺伝子の活性化又は誘導であり得る。インビトロでは、細胞が細胞型の混合物の一部である場合、これらの変化のいずれかが、混合物中の応答性細胞集団についてモニターされ得る。

【０１６２】

実施例１３

腫瘍組織における生物活性

この実施例は、腫瘍組織における生物活性について説明する。本開示のタンパク質複合体は、組換え発現又は化学合成される。タンパク質複合体は、治療用ドメインに連結されたセンサードメインを含む。リンカーはペプチドリンカーである。センサードメインは、治療薬及びマーカーに結合することができる。マーカーの非存在下では、センサードメインは治療用ドメインに結合し、治療用ドメインをその標的に結合できないようにし、治療活性を発揮することができないようにする。マーカーの存在下では、センサードメインはマーカーに結合し、治療用ドメインをその標的に自由に結合させ、治療活性を発揮することができるようにする。タンパク質複合体は、インビトロで細胞に、又はインビボでそれを必要とする対象に投与される。細胞は、センサードメインが結合するマーカーを発現する。細胞は、腫瘍細胞又は免疫細胞である。対象は、ヒト又は非ヒト動物である。対象は疾患を有する。疾患は癌である。対象への投与は、静脈内、筋肉内、皮下、皮内、腹腔内又は粘膜内で行われる。

【０１６３】

タンパク質複合体の投与時に、センサードメインは、対象においてインビトロ又はインビボでマーカーに結合し、治療用ドメインに結合しない。治療有効性は、対象においてインビトロ又はインビボで観察され、例えば、腫瘍細胞の細胞増殖が減速されるか又は完全に停止され、腫瘍細胞が排除される。

【０１６４】

実施例１４

タンパク質複合体の腫瘍モデルにおける活性

この実施例は、腫瘍モデルにおける活性について説明する。腫瘍モデルは、タンパク質複合体の有効性及び全身オンターゲット効果を評価する。腫瘍モデルは、本開示のタンパク質複合体が治療用ドメインのセンサードメイン制御活性を示す能力を評価する。

【０１６５】

本開示のタンパク質複合体は、組換え発現又は化学合成される。タンパク質複合体は、治療用ドメインに連結されたセンサードメインを含む。リンカーはペプチドリンカーである。センサードメインは、治療用ドメイン及びマーカーに結合することができる。マーカーの非存在下では、センサードメインは治療用ドメインに結合し、治療用ドメインをその標的に結合できないようにし、治療活性を発揮することができないようにする。マーカー

の存在下では、センサードメインはマーカーに結合し、治療用ドメインをその標的に自由に結合させ、治療活性を発揮することができるようにする。タンパク質複合体は、インビトロ又はインビボで腫瘍モデルに投与される。腫瘍モデルにおける腫瘍細胞又は免疫細胞は、センサードメインが結合するマーカーを発現する。インビボ投与は、静脈内、筋肉内、皮下、皮内、腹腔内又は粘膜内で行われる。

【０１６６】

腫瘍測定タンパク質複合体の投与前、又はタンパク質複合体が投与されていない対照試料では、腫瘍の測定値は、腫瘍が増殖し続けていることを示す。例えば、腫瘍モデル（例えば、腫瘍のマウスモデル）中の固形腫瘍をノギスを用いて測定する。タンパク質複合体の投与前、又はタンパク質複合体が投与されない対照試料では、固形腫瘍は、ノギスによる腫瘍サイズの測定値の増加によって示されるように、サイズが成長し続ける。タンパク質複合体を投与すると、経時的に、センサードメインは腫瘍上に発現されたマーカーに結合し、治療用ドメインは結合せず、その結果、治療効果をもたらす。治療有効性は、経時的にノギスによる腫瘍サイズの測定値の減少を観察することによって検証される。

【０１６７】

免疫活性化　タンパク質複合体の投与前、又はタンパク質複合体が投与されない対照試料では、固形腫瘍は、ノギスによる腫瘍サイズの測定値の増加によって示されるように、サイズが成長し続ける。タンパク質複合体を投与すると、経時的に、センサードメインはマーカーに結合し、治療用ドメインは結合せず、その結果、治療有効性をもたらす。治療有効性は、対照試料と比較した場合に、腫瘍、リンパ節又は全身における免疫細胞の違いを観察することによって検証される。その違いは、免疫細胞表現型、活性化状態、分化状態又は特異性であり得る。

【０１６８】

サイトカインマーカーの全身誘導サイトカインマーカーの誘導又はサイトカインマーカーの全身誘導の減少は、対照と比較した場合、タンパク質複合体の投与時に観察されない。

【０１６９】

体重減少対照と比較した場合、タンパク質複合体の投与時に体重減少又は体重減少の減少が観察されない。

【０１７０】

実施例１５

リンパ球細胞株におけるＳＴＡＴ５リン酸化のＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡサイトカイン複合体誘導

この実施例は、リンパ球系細胞株におけるＳＴＡＴ５リン酸化のＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－サイトカイン複合体誘導について説明する。ＰＤ－１への結合に対するＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－サイトカイン複合体活性の依存性を評価するために、Ｈｕｔ７８又はＪｕｒｋａｔ　Ｅ６．１などのＩＬ－２Ｒ＋Ｔ細胞株のＰＤ－１発現変異体を作製する。ＰＤ－１＋及びＰＤ－１－変異体細胞株を、滴定濃度の本開示のＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－サイトカイン複合体で処理し、ＳＴＡＴ５リン酸化を、ホスホ－フロー、ＴＲ－ＦＲＥＴ、又はＩＬ－２シグナル伝達を測定するための他のアッセイによって評価する。

【０１７１】

ＨＥＫ２９３　ＩＬ－２レポーター細胞株を、ＰＤ－１を発現するように操作する。ＰＤ－１＋及びＰＤ－１－変異体細胞株を滴定濃度のＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－サイトカイン複合体で処理し、レポーター活性をＩＬ－２シグナル伝達の測定値として評価する。ＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－サイトカイン複合体は、ＰＤ－１＋変異体細胞株に対して高い効力を示す。

【０１７２】

実施例１６

ＳＴＡＴ５リン酸化及び活性化の他のマーカーのＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡサイトカイン複合体誘導、並びに初代リンパ球における増殖

この実施例は、ＳＴＡＴ５リン酸化及び活性化の他のマーカーのＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－サイトカイン複合体誘導、並びに初代リンパ球における増殖について説明する。ＰＢＭＣを細胞増殖色素で標識し、本開示のＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－サイトカイン複合体の滴定濃度で４日間インキュベートする。ＰＢＭＣは、ＣＤ４＋Ｔ細胞及びＣＤ８＋Ｔ細胞、Ｔｒｅｇ細胞、及びナチュラルキラー（ＮＫ）細胞、並びにＣＤ２５などの細胞活性化のマーカーを区別するために、免疫細胞表現型分類マーカーに対する抗体で染色される。免疫細胞サブセットの色素希釈を、増殖の測定としてフローサイトメトリーによって調べる。

【０１７３】

全Ｔ細胞を、免疫磁気陰性選択（ＳＴＥＭＣＥＬＬ）を使用してＰＢＭＣから単離し、プレート結合抗ＣＤ３及び可溶性抗ＣＤ２８で７２時間刺激してＰＤ－１の発現を誘導する。ＰＤ－１＋Ｔ細胞を、滴定濃度のＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－サイトカイン複合体とともに２０分間インキュベートする。ＳＴＡＴ５リン酸化を、固定Ｔ細胞及び透過処理Ｔ細胞においてフローサイトメトリーによって測定する。いくつかの実験では、ＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－サイトカイン複合体で処理する前に、ＰＤ－１を抗ＰＤ－１でＴ細胞上でブロックして、ＰＤ－１への結合に対するＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－サイトカイン複合体活性の依存性を評価することができる。ＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－サイトカイン複合体は、ＰＤ－１が遮断された場合、最小のＳＴＡＴ５リン酸化を誘導し、ＰＤ－１に結合するその能力を条件とする活性を示す。

【０１７４】

実施例１７

非腫瘍末梢組織におけるインビボＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡサイトカイン複合体シグナル伝達

この実施例は、野生型マウスの血液におけるＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－サイトカイン複合体の薬物動態及び非腫瘍末梢組織における本複合体のシグナル伝達について説明する。ＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－サイトカイン複合体及び適切な非調節対照、例えば、抗ＰＤ－１、抗ＨＥＲ２－ＩＬ－２又は抗ＰＤ－１－ＩＬ－２の血清半減期及び末梢組織活性を、本複合体を静脈内（ｉ．ｖ．）投与したマウスにおいて測定した。血液、脾臓、又はその両方を治療後の様々な時点で採取し、染色してＣＤ８＋Ｔ細胞及びＮＫ細胞を同定した。

【０１７５】

循環中のＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－サイトカイン複合体の半減期を調べるために、野生型Ｃ５７ＢＬ／６マウスに、表２０に概説されるように、ＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－サイトカイン複合体（２Ｂ０７　ＩＬ－２ｍｕｔ、配列番号２０５～２０６）、抗ＨＥＲ２／ＩＬ－２－サイトカイン複合体（常時ＩＬ－２ｍｕｔ、配列番号６４及び配列番号２０７）又は抗ＩＬ－２／ＩＬ－２－サイトカイン複合体（常時オフＩＬ－２ｍｕｔ、配列番号２０８～２０９）の静脈内単回用量２．５ミリグラムを投与した。投与の３０分後、４時間後、２４時間後、４８時間後、７２時間後、９６時間後及び１６８時間後に、後眼窩洞を介してマウスから採血した。血液を血清分離チューブに採取し、単離した血清を分析まで－８０℃で凍結した。サイトカイン複合体の血清レベルを調べるために、９６ウェルの高結合ＥＬＩＳＡプレートを、炭酸－重炭酸塩緩衝液中の１ｕｇ／ｍＬウサギ抗ｈｕＩＬ－２捕捉抗体（クローンａｂ９６１８、Ａｂｃａｍ）を用いて、４Ｃで一晩コーティングした。プレートを３回洗浄し、ＳｕｐｅｒＢｌｏｃｋブロッキング緩衝液（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）で１時間ブロッキングした。様々な時点及び処置群から得られた血清試料をＳｕｐｅｒＢｌｏｃｋで希釈し、プレートに添加し、１時間インキュベートした。サイトカイン複合体を検出するために、プレートをヤギ抗マウスＦｃ－ＨＲＰ（Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｉｍｍｕｎｏ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ）と共にＳｕｐｅｒＢｌｏｃｋにおいて１：５０００で１時間インキュベートした。次いで、プレートを洗浄し、ＴＭＢ基質で発色させた。吸光度（ＯＤ）を、ＥｎＶｉｓｉｏｎ２１０５マイクロプレートリーダー（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ）を使用して４５０ｎｍで測定した。図１８に示されるように

、調べたすべての時点において、ＰＤ－１／ＩＬ－２のＤＢＡ－サイトカイン複合体は、抗ＩＬ－２／ＩＬ－２－サイトカイン複合体と同様の血清濃度で検出された。対照的に、非調節抗ＨＥＲ２／ＩＬ－２－サイトカイン複合体の血清濃度は、経時的に血清濃度のより大きな減少を示した。

【０１７６】

【表１９－１】

表２０－ＩｇＧ ＰＤ－１／ＩＬ－２ ＤＢＡ複合体及び対照タンパク質複合体

タンパク質複合体	配列番号	配列
2B07 IL-2 mut	配列番号２０５	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHL QCLEEELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV EFLNRWITFAQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGAS VKVSCKASGDTFTRHYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYASYAQKFQGRVTM TRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPV CGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVT SSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPK IKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRV VSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEE MTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLR VEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
	配列番号２０６	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGRWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLET GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYESFPVTFGPGTKVDIKRADAAPT VSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSK DSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
抗ＨＥＲ２／ＩＬ－２サイトカイン複合体	配列番号６４	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYS GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRADAAP TVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSK DSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
	配列番号２０７	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHL QCLEEELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV EFLNRWITFAQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGS LRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISAD TSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSAKTTAP SVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYT LSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGG PSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHRE DYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVY VLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSY FMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
常時オフ．ＩＬ－２ｍｕｔ	配列番号２０８	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHL QCLEEELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV EFLNRWITFAQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVKPGGS LRLSCAASGFTFSSYTLAWVRQAPGKGLEWVAAIDSSSYTYSPDTVRGRFTISRDNA KNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSNWDALDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPL APVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSV TVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIF

【０１７７】

【表１９－２】

タンパク質複合体	配列番号	配列
		PPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNST LRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPE EEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKL RVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
	配列番号 ２０９	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNVGTNVGWYQQKPGKAPKALIYSASFRYS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQYYTYPYTFGGGTKLEIKRADAAPT VSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSK DSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC

【０１７８】

末梢組織におけるＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－サイトカイン複合体の活性を調べるために、野生型Ｃ５７ＢＬ／６マウスに、表２０に示すように、ＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－サイトカイン複合体（２Ｂ０７　ＩＬ－２ｍｕｔ、配列番号２０５～２０６）、抗ＨＥＲ２／ＩＬ－２－サイトカイン複合体（常時ＩＬ－２ｍｕｔ、配列番号６４及び配列番号２０７）、抗ＩＬ－２／ＩＬ－２－サイトカイン複合体（常時オフＩＬ－２ｍｕｔ、配列番号２０８～２０９）の静脈内単回用量２．５ミリグラム、又はＰＢＳを投与した。投与前に、各ＩＬ－２サイトカイン複合体内のインタクトＩＬ－２の存在を、それらの生物学的活性の可能性を検証する手段であるＥＬＩＳＡによって確認した。処置の５日後に血液及び脾臓を採取し、フローサイトメトリーによって分析して、脾臓１つ当たり及び血液１マイクロリットル当たりのＣＤ８＋Ｔ細胞及びＮＫ細胞の数を定量した。ＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－サイトカイン複合体はＣＤ８Ｔ細胞又はＮＫ細胞の増殖を誘導しなかったが、ＨＥＲ２／ＩＬ－２－サイトカイン複合体は末梢ＣＤ８＋Ｔ細胞及びＮＫ細胞の増殖を誘導した（図１９Ａ～図１９Ｄ）。

【０１７９】

実施例１８

同系腫瘍モデルにおける抗腫瘍免疫のＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡサイトカイン複合体の調節

この実施例は、ＭＣ３８同系マウス腫瘍モデルにおける抗腫瘍免疫のＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－サイトカイン複合体の調節について説明する。ＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－サイトカイン複合体を、インビボで抗腫瘍免疫を駆動する能力について評価した。５００，０００個のＭＣ３８腫瘍細胞をヒトＰＤ－１ノックインマウス（ＧｅｎＯｗａｙ）の皮下に移植した。腫瘍を週に２回測定し、体積を（長さ×幅×幅／２）のように算出した。マウスを処置群に無作為化し、腫瘍が約１００ｍｍ^{3}の体積に達したときに処置を開始した。以下の表２１に示すように、マウスを、腫瘍移植後７、１０、及び１３日目に、５又は０．５ミリグラム／キログラムの指示用量で、ＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－サイトカイン複合体（２Ｂ０７　ＩＬ－２ｍｕｔ、配列番号２１０～２１２）、ＩＬ－２を欠くＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ（２Ｂ０７、配列番号２１２～２１３）、又はアイソタイプ対照（配列番号２１４～２１５）で静脈内処置した。ＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－サイトカイン複合体は、ＩＬ－２を欠くＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ又はアイソタイプ対照と比較して腫瘍増殖阻害の増加を示した（図２０）。

【０１８０】

【表２０－１】

表２１－ＩｇＧＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ複合体及び対照タンパク質複合体

タンパク質複合体	配列番号	配列
2B07 IL-2 mut	配列番号２１０	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHL QCLEEELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV EFLNRWITFAQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGAS VKVSCKASGDTFTRYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYASYAQKFQGRVTM TRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPV CGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVT SSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPK IKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRV VSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEE MTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLR VEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK
	配列番号２１１	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFTRYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPS GGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLV TVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTF PAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCK CPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEV HTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKP KGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNT EPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
	配列番号２１２	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGRYLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETG VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSFPVTFGPGTKVDIKRADAAPT VSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSK DSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
ＩＬ－２を欠くＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ	配列番号２１２	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGRYLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETG VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSFPVTFGPGTKVDIKRADAAPT VSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSK DSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
	配列番号２１３	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFTRYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPS GGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLV TVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTF PAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCK CPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEV HTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKP KGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKN TEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
アイソタイプ対照	配列番号２１４	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTN GYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDY WGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGS LSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPT IKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWF VNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPI ERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKT

【０１８１】

【表２０－２】

タンパク質複合体	配列番号	配列
		ELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSR TPGK
	配列番号２１５	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYS GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRADAAP TVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSK DSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC

【０１８２】
実施例１９
異種移植片／ヒト免疫細胞混合物モデルにおける抗腫瘍免疫のＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡサイトカイン複合体の調節
この実施例は、異種移植片／ヒト免疫細胞混合物モデルにおける抗腫瘍免疫のＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－サイトカイン複合体の調節について説明する。ＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－サイトカイン複合体がインビボ設定において抗腫瘍免疫を駆動する能力を調べるために、混合系を使用する。総ヒトＰＢＭＣ又はヒトＴ細胞と単球由来樹状細胞（ｍｏＤＣ）との組み合わせを、ヒト腫瘍細胞（例えば、ＨＰＡＣ、Ａ３７５、Ｈ４４１）と１：４の比で混合し、ＮＳＧマウスの脇腹に同時皮下移植する。１日後、本開示のＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－サイトカイン複合体、又は抗ＰＤ－１、抗ＨＥＲ２－ＩＬ－２若しくは抗ＰＤ－１－ＩＬ－２などの適切な非調節対照による治療を開始する。腫瘍を週に少なくとも２回測定し、体積を（長さ×幅×高さ／２）のように算出する。ＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－サイトカイン複合体は、抗ＰＤ－１及び抗ＨＥＲ２－ＩＬ－２と比較して増大した抗腫瘍有効性及び抗ＰＤ－１－ＩＬ－２と比較して減少した腫瘍外活性を示す。
【０１８３】
実施例２０
扁平結合ＰＤ－Ｌ１又はＰＤ－Ｌ１発現腫瘍細胞の存在下における骨髄細胞成熟のＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮ－αＤＢＡサイトカイン複合体の誘導
この実施例は、プレート結合ＰＤ－Ｌ１又はＰＤ－Ｌ１発現腫瘍細胞の存在下における骨髄細胞成熟のＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮ－αＤＢＡ－サイトカイン複合体の誘導について説明する。ＣＤ１４＋単球を、免疫磁気陰性選択（ＳＴＥＭＣＥＬＬ）によって新鮮なヒトＰＢＭＣから精製する。単球由来樹状細胞（ｍｏＤＣ）は、精製単球を、１０％ＦＢＳを含有するＲＰＭＩ－１６４０培地中でｈＧＭ－ＣＳＦ及びｈＩＬ－４と共に５日間培養することによって生成される。ＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮ－αのＤＢＡ－サイトカイン複合体の条件付き活性を調べるために、単球又はｍｏＤＣを、滴定濃度の本開示のＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮ－αのＤＢＡ－サイトカイン複合体と共に、ＰＤ－Ｌ１又はＨＥＲ－２のいずれかでコーティングしたプレートに添加する。いくつかの実験では、ヒト単球又はｍｏＤＣを、様々なレベルのＰＤ－Ｌ１及び滴定濃度のＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮ－αＤＢＡ－サイトカイン複合体を発現する腫瘍細胞株と共培養する。培養物を３７℃で一晩インキュベートし、ＣＤ８０、ＣＤ８３、ＣＤ８６及びＨＬＡ－ＤＲの発現を骨髄細胞活性化の測定値としてフローサイトメトリーによって評価する。ＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮ－αＤＢＡ－サイトカイン複合体は、ＰＤ－Ｌ１の存在下でのみ単球及びｍｏＤＣ活性化を誘導すると予想される。
【０１８４】
実施例２１
混合リンパ球反応におけるＴ細胞活性化のＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮ－αＤＢＡサイトカイン複合体の誘導
この実施例は、混合リンパ球反応におけるＴ細胞活性化のＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮ－αＤＢＡ－サイトカイン複合体の誘導について説明する。Ｔ細胞機能に対するＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮ－αＤＢＡ－サイトカイン複合体の直接的及び間接的な影響を評価するために、ＣＤ１４＋単球を、免疫磁気陰性選択（ＳＴＥＭＣＥＬＬ）を使用してヒトＰＢＭＣから単離し、ｈＧＭ－ＣＳＦ及びｈＩＬ－４の存在下で５日間培養して、ｍｏＤＣを誘導する。ＣＤ８＋Ｔ細胞を、異なる健常ドナーのヒトＰＢＭＣから精製し、細胞増殖色素で標識する。２つの細胞型を、滴定濃度の本開示のＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮ－αＤＢＡ－サイトカイン複合体と共に、ＰＤ－Ｌ１又はＨＥＲ２でコーティングされたプレートにおいて合わせる。他の実験では、２つの細胞型を、滴定濃度のＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮ－αＤＢＡ－サイトカイン複合体及び様々なレベルのＰＤ－Ｌ１を発現する腫瘍細胞株と共に培養する。他の実験では、細胞はマウス起源のものであり得る。培養物を５日間インキュベートし、増殖の測定としてフローサイトメトリーによってＴ細胞色素希釈を評価する。培養上清中のサイトカイン（例えばＩＦＮ－γ）の濃度をＥＬＩＳＡによって評価する。ＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮ－

αＤＢＡ－サイトカイン複合体は、ＰＤ－Ｌ１の存在下でのみＴ細胞の活性化及び増殖を増加させる。

【０１８５】

実施例２２

末梢組織におけるインビボＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮ－αＤＢＡサイトカイン複合体のシグナル伝達

この実施例は、末梢組織におけるインビボＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮ－αＤＢＡ－サイトカイン複合体シグナル伝達について説明する。非腫瘍組織におけるＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮ－αＤＢＡ－サイトカイン複合体の活性を調べるために、野生型Ｃ５７ＢＬ／６マウスに、１００ｕｇの本開示のＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮ－αＤＢＡ－サイトカイン複合体又は抗ＰＤ－Ｌ１及びＩＦＮ－αからなる同等の構造の非調節免疫サイトカイン（ＰＤ－Ｌ１－ＩＦＮα免疫サイトカイン）のいずれかを静脈内（ｉ．ｖ．）注射する。ＩＦＮ－α誘導性毒性をモニターするために動物の体重を毎日測定する。血清を投与の６時間後及び２４時間後に採取し、ＭＣＰ－１、ＩＬ－６、ＩＬ－１０、ＴＮＦ－α及びＩＦＮ－γレベルをＥＬＩＳＡによって定量する。いくつかの群では、ＲＮＡは、投与の６時間後及び２４時間後に脾臓及び肝臓から単離する。ＩＳＧ１５、ＩＲＦ７及びＭＸ２を含むＩＦＮ刺激遺伝子の誘導をｑＰＣＲによって評価する。非調節の抗ＰＤ－Ｌ１－ＩＦＮ－α免疫サイトカインを投与されたマウスでは、体重減少、血清サイトカインレベルの増加及びＩＦＮ標的遺伝子誘導が起こるが、ＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮ－αＤＢＡ－サイトカイン複合体を投与されたマウスは、末梢ＩＦＮ－αシグナル伝達の証拠を最小限にしか示さない。

【０１８６】

実施例２３

同系腫瘍モデルにおける抗腫瘍免疫のＰＤ－Ｌ１－ＩＦＮ－αＤＢＡ－サイトカイン複合体の調節

この実施例は、同系腫瘍モデルにおける抗腫瘍免疫のＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮ－αのＤＢＡ－サイトカイン複合体の調節について説明する。ＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮ－αＤＢＡサイトカイン複合体タンパク質を、インビボで抗腫瘍免疫を駆動するそれらの能力について評価する。野生型又はヒトＰＤ－Ｌ１発現同系マウス腫瘍細胞（例えば、ＭＣ３８、ＣＴ２６、４Ｔ１又はＡ２０）を、野生型又はヒトＰＤ－Ｌ１ノックインマウス（Ｇｅｎｏｗａｙ）に皮下移植する。腫瘍を週に少なくとも２回測定し、体積を（長さ×幅×高さ／２）のように算出する。マウスを異なる群に無作為化し、腫瘍が約１００mm^3の体積に達したときに処置を開始する。マウスを、本開示のＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮ－αＤＢＡ－サイトカイン複合体又は好適な非調節対照（例えば、抗ＰＤ－Ｌ１免疫サイトカイン、抗ＨＥＲ２－ＩＦＮ－α免疫サイトカイン又は抗ＰＤ－Ｌ１－ＩＦＮ－α免疫サイトカイン）によりｉ．ｖ．処置するか、又は腫瘍内処置する。いくつかの実験では、処置の５日後にマウスを殺し、腫瘍を採取し、免疫表現型検査のために酵素的に解離させる。ＣＤ４＋Ｔ細胞及びＣＤ８＋Ｔ細胞、Ｔｒｅｇ細胞、ＮＫ細胞、及びＤＣを含む腫瘍浸潤免疫細胞サブセットの頻度及び表現型は、フローサイトメトリーによって決定される。ＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮ－αのＤＢＡ－サイトカイン複合体は、抗ＨＥＲ２－ＩＦＮ－αと同等又はそれを超える程度まで腫瘍成長を阻害するが、腫瘍外活性は低い。ＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮαＤＢＡ－サイトカイン複合体は、免疫浸潤物の量及び表現型によって示されるように、抗腫瘍免疫応答を抗ＨＥＲ２－ＩＦＮα免疫サイトカインと同等又はそれを超える程度まで増大させるが、腫瘍外活性はより低い。

【０１８７】

実施例２４

異種移植片／ヒト免疫細胞混合物モデルにおける抗腫瘍免疫のＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮ－αＤＢＡの調節

この実施例は、異種移植片／ヒト免疫細胞混合物モデルにおける抗腫瘍免疫のＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮ－αＤＢＡ－サイトカイン複合体の調節について説明する。ＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮ－αＤＢＡ－サイトカイン複合体が抗腫瘍免疫をインビボ設定において駆動する能力を

調べるために、混合系を使用する。総ヒトＰＢＭＣ又はヒトＴ細胞とｍｏＤＣとの組み合わせを、１：４の比でヒト腫瘍細胞（例えば、ＨＰＡＣ、Ａ３７５、Ｈ４４１）と混合し、ＮＳＧマウスの脇腹に同時皮下移植する。１日後、本開示のＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮ－αＤＢＡ－サイトカイン複合体又は好適な非調節対照（例えば、抗ＰＤ－Ｌ１免疫サイトカイン、抗ＨＥＲ２－ＩＦＮ－α免疫サイトカイン又は抗ＰＤ－Ｌ１－ＩＦＮ－α免疫サイトカイン）によるｉ．ｖ．処置を開始する。腫瘍を週に少なくとも２回測定し、体積を（長さ×幅×高さ／２）のように算出する。ＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮ－αのＤＢＡ－サイトカイン複合体は、抗ＨＥＲ２－ＩＦＮ－αと同等又はそれを超える程度まで腫瘍成長を阻害するが、腫瘍外活性は低い。

【０１８８】

実施例２５

インビトロ及びインビボでのタンパク質複合体のキャラクタライゼーション

この実施例は、インビトロ及びインビボ安定性についてのＤＢＡ－サイトカイン複合体の評価について説明する。本開示のタンパク質複合体は、組換え発現又は化学合成される。タンパク質複合体は、治療用ドメインに連結されたセンサードメインを含む。リンカーはペプチドリンカーである。センサードメインは、治療用ドメイン及びマーカーに結合することができる。マーカーの非存在下では、センサードメインは治療用ドメインに結合し、治療用ドメインをその標的に結合できないようにし、治療活性を発揮することができないようにする。マーカーの存在下では、センサードメインはマーカーに結合し、治療用ドメインをその標的に自由に結合させ、治療活性を発揮することができるようにする。

【０１８９】

インビトロで、タンパク質複合体を、断片化、アンフォールディング若しくは凝集を測定するための生物物理学的キャラクタライゼーションの方法を使用して、かつ／又は、機能活性の変化を試験するための方法を使用して、ベースラインにおける、又はストレス条件、例えば、高温、ｐＨ変化、酸化緩衝液若しくは血清／血漿中でのインキュベーション後の安定性及び機能性について試験する。インビボにおいて、タンパク質の薬物動態特性が、哺乳動物（例えば、マウス、ラット又は非ヒト霊長類）における投与後に測定され、分布、クリアランス及び分解の特性が測定される。これらの測定値は、最適な治療形態のＤＢＡ－タンパク質複合体を操作又は選択するために使用される。

【０１９０】

実施例２６

ＰＤ－１／ＩＬ－２二重結合抗体（ＤＢＡ）サイトカイン複合体による制御されたＩＬ－２受容体シグナル伝達

この実施例は、ＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－サイトカイン複合体によるＨＥＫ－Ｂｌｕｅ（商標）ＩＬ－２レポーター細胞におけるＰＤ－１調節ＩＬ－２活性について説明する。標準的なプロトコルを使用した哺乳動物細胞における発現によって、図１４Ａ～図１４Ｃに示す３つの形式で、ＤＢＡ－サイトカイン複合体及び対照抗体－サイトカイン複合体を産生した。３８４ウェルＥＬＩＳＡプレートのウェルを、一定濃度のＰＤ－１－Ｆｃ又は抗Ｆｃ抗体（Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｉｍｍｕｎｏ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ、製品番号１０９－００５－０９８）で捕捉されたＩｇＧ１対照タンパク質でコーティングした。サイトカイン複合体を、６ｎＭの出発濃度から増殖培地中で８点について１：４で段階希釈し、短時間インキュベートした後に、ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ（商標）ＩＬ－２レポーター細胞を添加した。

【０１９１】

図１４Ａに示す構造を有するタンパク質複合体の結果を図１５Ａ～図１５Ｄに示す。図１４Ａに示されるように、この対称的なフォーマットは、各抗体可変ドメインに連結された１つのＩＬ－２から構成される。配列番号１７４～１７５を含むＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－ＩＬ－２複合体ＡＦ４３７９のＩＬ－２活性は、図１５Ａに示されるように、ＩｇＧ１コーティングウェルにおける６２ｐＭに対して、ＰＤ－１コーティングウェルにおいて３１ｐＭのＥＣ５０を有し、ＰＤ－１依存性を示した。図１５Ｄに示されるように、配

列番号６４及び１７６を含む抗体－サイトカイン複合体ＡＦ４３７７（抗Ｈｅｒ２抗体）及び配列番号１７７～１７８を含むＡＦ４３７８（抗ＩＬ－２抗体）のＩＬ－２活性は、（図１５Ｂ及び図１５Ｃにそれぞれ示されるように）ＰＤ－１の存在下では変化しなかったが、配列番号１７９～１８０を含む抗ＰＤ－１抗体ＡＦ４３７６のＩＬ－２活性は、ＰＤ－１の存在下で低下していた。タンパク質複合体の配列を以下の表２２にまとめる。

【０１９２】

【表２１－１】

表２２－重鎖ＩＬ－２治療用ドメインを有するＩｇＧ ＰＤ－１／ＩＬ－２ ＤＢＡ複合体及び対照タンパク質複合体

タンパク質複合体	配列番号	配列
AF4379	配列番号１７４	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTFEFYM PKKATELKHLQCLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGG GGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFTR YYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYASYAQKFQGRVTMTRDTS TSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAPSV YPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFP AVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRG PTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDV SEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQ DWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEE MTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSD GSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG K	
	配列番号１７５	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGRYLAWYQQKPGKAPKL LIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSF PVTFGPGTKVDIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYP KDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEY ERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC	
AF4377	配列番号６４	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPK LLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYT TPPTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFY PKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDE YERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC	
	配列番号１７６	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTFEFYM PKKATELKHLQCLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGG GGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDT YIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKN TAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS	

【０１９３】

【表２１－２】

タンパク質複合体	配列番号	配列
		AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSL SSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKV DKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIV TCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVS ALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVY VLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNT EPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTT KSFSRTPGK
AF4378	配列番号 １７７	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTFEFYM PKKATELKHLQCLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGG GGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYT LAWVRQAPGKGLEWVAAIDSSSYTYSPDTVRGRFTISRDNAKNSL YLQMNSLRAEDTAVYYCARDSNWDALDYWGQGTLVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGV HTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKI EPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVV VDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPI QHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPP PEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVL DSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSR TPGK
	配列番号 １７８	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNVGTNVGWYQQKPGKAPK ALIYSASFRYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQYYT YPYTFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFY PKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDE YERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
AF4376	配列番号 １７９	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTFEFYM PKKATELKHLQCLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGG GGSGGGGSGGGGSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNS GMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNS KNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGTLVTVSSAKTTAP SVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHT FPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEP RGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVV DVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQ HQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPP EEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVL DSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSR TPGK
	配列番号 １８０	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLL IYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSSNW PRTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYP KDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEY ERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC

【０１９４】

図１４Ｂに示す構造を有するタンパク質複合体の結果を図１６Ａ～図１６Ｆに示す。このフォーマットは、２つの抗体ドメインから構成され、ドメインのうちの１つに単一のＩＬ－２が連結された非対称複合体から構成される。ＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ－ＩＬ－２複合体ＡＦ４３８６（配列番号２１２及び配列番号１８１～１８２を含み、図１６Ａに示される結果）、ＡＦ４３８７（配列番号１８３～１８５を含み、図１６Ｂに示される結果）及びＡＦ４３８９（配列番号１８６～１８８を含み、図１６Ｃに示される結果）のＩＬ－２活性は、ＰＤ－１コーティングウェルではそれぞれ５０ｐＭ、５７ｐＭ及び１１８ｐＭ、ＩｇＧ１コーティングウェルではそれぞれ１．７９ｎＭ、４１９ｐＭ及び１．６７ｎＭのＥＣ５０を有し、ＰＤ－１依存性を示した。抗ＰＤ１対照タンパク質ＡＦ４３８０（

配列番号１８０、配列番号１８９～１９０を含み、図１６Ｄに示される結果）、抗Ｈｅｒ２対照タンパク質ＡＦ４３８３（配列番号６４、配列番号１９１～１９２を含み、図１６Ｅに示される結果）及び抗ＩＬ－２対照タンパク質ＡＦ４３８４（配列番号１７８、配列番号１９３～１９４を含み、図１６Ｆに示される結果）のＩＬ－２活性は変化しなかった。タンパク質複合体の配列を以下の表２３にまとめる。

【０１９５】

【表２２－１】

表２３－単一のＩＬ－２を有するＩｇＧ　ＰＤ－１／ＩＬ－２　ＰＤＡ複合体及び対照タンパク質複合体

タンパク質複合体	配列番号	配列
AF4386	配列番号１８１	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTFEFYMPKKATELKHLQ CLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVE FLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGDTFTRYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYASYAQKFQGRVTMT RDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVC GDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSS TWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIK DVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVV SALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMT KKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEK KNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK
	配列番号１８２	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFTRYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPS GGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLV TVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTF PAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCK CPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEV HTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKP KGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNT EPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGG SGGGSHHHHHH
	配列番号２１２	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGRYLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETG VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSFPVTFGPGTKVDIKRADAAPT VSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSK DSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
AF4387	配列番号１８３	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTFEFYMPKKATELKHLQ CLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVE FLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGYTFTDYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPRAGYTSYALKFQGRVTMT RDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCTSGWDVWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPV CGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVT

【０１９６】

【表２２－２】

タンパク質複合体	配列番号	配列
		SSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPK IKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRV VSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEE MTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLR VEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK
	配列番号１８４	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINP RAGYTSYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCTSGWDVWGQGTL VTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHT FPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPC KCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEV HTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKP KGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNT EPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGG SGGGSHHHHHH
	配列番号１８５	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISTWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLDSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSFPVTFGQGTKVEIKRADAAPTV SIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDS TYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
AF4389	配列番号１８６	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTFEFYMPKKATELKHLQ CLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVE FLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGHTFTRYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYATYAQKFQGRVTMT RDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCASGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVC GDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSS TWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIK DVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVV SALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMT KKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEK KNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK
	配列番号１８７	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHTFTRYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINP SGGYATYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCASGLFIWGQGTL VTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHT FPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPC KCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEV HTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKP KGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNT EPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGG SGGGSHHHHHH
	配列番号１８８	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSINSWLAWYQQKPGKAPKLLIYATSTLESG VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYRFPVTFGQGTKVEIKRADAAPT VSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSK DSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
AF4380	配列番号１８０	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLL IYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSSNW PRTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYP KDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEY ERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC

【０１９７】

【表２２－３】

タンパク質複合体	配列番号	配列
	配列番号189	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTFEFYMPKKATELKHLQ CLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVE FLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVESGGGVVQPGRSL RLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTISR DNSKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPV CGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVT SSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPPK IKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRV VSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEE MTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLR VEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK	10
	配列番号190	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWY DGSKRYYADSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGTL VTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHT FPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPC KCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEV HTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKP KGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNT EPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGG SGGGSHHHHHH	
AF4383	配列番号64	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPK LLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYT TPPTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFY PKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDE YERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC	20
	配列番号191	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTFEFYMPKKATELKHLQ CLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVE FLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADT SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSAKTTAPS VYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTL SSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGP SVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHRED YNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVL PPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYF MYSDLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK	30
	配列番号192	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRY ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVS SAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDL YTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVF IFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVV SALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQV SLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYS CSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGSGGGSHHHHHH	
AF4384	配列番号178	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNVGTNVGWYQQKPGKAPKALIYSASFRYS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQYYTYPYTFGGGTKLEIKRADAAPT VSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSK DSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC	40

【０１９８】

50

【表２２－４】

タンパク質複合体	配列番号	配列
	配列番号１９３	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTFEFYMPKKATELKHLQ CLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVE FLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVKPGGSL RLSCAASGFTFSSYTLAWVRQAPGKGLEWVAAIDSSSYTYSPDTVRGRFTISRDNAK NSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSNWDALDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLA PVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVT VTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFP PKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTL RVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEE EMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDL RVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK
	配列番号１９４	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYTLAWVRQAPGKGLEWVAAIDSSSY TYSPDTVRGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSNWDALDYWGQG TLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGV HTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCP PCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNV EVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTIS KPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYK NTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGG GGSGGGSHHHHHH

【０１９９】

図１４Ｃに示す構造を有するタンパク質複合体の結果を図１７Ａ～図１７Ｈに示す。図１４Ｃに示されるように、これらの複合体は非対称であり、単一のＩＬ－２が可撓性リンカーによって一方のＦｃドメインに結合し、単一のｓｃＦｖが可撓性リンカーによって他方のＦｃドメインに結合した２つの同一の単一特異性Ｆａｂアームからなる。活性ＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡ複合体、配列番号１８０、１９５、１９９を含むＡＦ４４０３、及び配列番号１８０、１９６、１９９を含むＡＦ４４０４は、Ｆａｂアーム中の抗ＰＤ－１ドメイン及びＦｃアーム上のＰＤ－１／ＩＬ－２ＤＢＡｓｃＦｖから構成される。対照抗体－サイトカイン複合体は、ａ）Ｆｃ上にＤＢＡ　ｓｃＦｖを有するＦａｂアーム上の無関係な抗体との抗体－サイトカイン複合体（配列番号６４、１９７、２０２を含むＡＦ４３９５、及び配列番号６４、１９８、２０２を含むＡＦ４３９６）、ｂ）Ｆｃアーム上の非ＤＢＡｓｃＦｖとの抗体－サイトカイン複合体（配列番号１８０、１９９～２００を含むＡＦ４４００、及び配列番号１８０、１９９、２０１を含むＡＦ４４０１）、及びｃ）ＦａｂドメインとｓｃＦｖドメインの両方における非ＤＢＡ抗体との抗体－サイトカイン複合体（配列番号６４、２０２～２０３を含むＡＦ４３９２、及び配列番号６４、２０２、２０４を含むＡＦ４３９３）から構成される。図１７Ｂ及び図１７Ｄに示すように、ＤＢＡ－サイトカイン複合体ＡＦ４４０３及びＡＦ４４０４のＩＬ－２活性は、ＰＤ－１コーティングウェルではそれぞれ３１ｐＭ及び２６ｐＭ、対照ウェルではそれぞれ６２ｐＭ及び６４ｐＭのＥＣ５０を有し、ＩＬ－２活性のＰＤ－１依存性を示した。上記の対照タンパク質ＡＦ４３９５、ＡＦ４３９６、ＡＦ４４００、ＡＦ４４０１、ＡＦ４３９２及びＡＦ４３９３のいずれもが、図１７Ａ、図１７Ｃ及び図１７Ｅ～図１７Ｈに示されるように、ＩｇＧ１タンパク質でコーティングされたウェルよりも、ＰＤ－１でコーティングされたウェルにおいて低いＥＣ５０を示さなかった。タンパク質複合体の配列を以下の表２４にまとめる。

【０２００】

【表２３－１】

表２４－Ｃ末端ｓｃＦｖ及びＩＬ－２を有するＩｇＧ　ＰＤ－１複合体、並びに対照タンパク質複合体

タンパク質複合体	配列番号	配列
AF4403	配列番号１８０	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLL IYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSSNW PRTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYP KDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEY ERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
	配列番号１９５	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKG LEWVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRAE DTAVYYCATNDDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTG SSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS VTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAP NAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFV NNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKV NNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTCLV KDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEK KNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFTRYYVHW VRQAPGQGLEWMGIINPSGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGS GGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGRYLAWYQQ KPGKAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQQYNSFPVTFGPGTKVDIKGGGSGGGSHHHHHH
	配列番号１９９	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKG LEWVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRAE DTAVYYCATNDDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTG SSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS VTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAP NAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFV NNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKV NNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMV TDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEK KNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGGGGGSGGGGSGG GGSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTFE FYMPKKATELKHLQCLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNI NVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
AF4404	配列番号１８０	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLL IYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSSNW PRTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYP KDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEY ERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
	配列番号１９６	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKG LEWVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRAE DTAVYYCATNDDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTG SSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS VTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAP NAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFV

【０２０１】

【表２３－２】

タンパク質複合体	配列番号	配列
		NNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKV NNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTCLV KDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEK KNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMH WVRQAPGQGLEWMGIINPRAGYTSYALKFQGRVTMTRDTSTSTV YMELSSLRSEDTAVYYCTSGWDVWGQGTLVTVSSASGGGGSGGG GSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISTWLAWY QQKPGKAPKLLIYAASSLDSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQSYSFPVTFGQGTKVEIKGGGSGGGSHHHHHH
	配列番号 １９９	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKG LEWVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRAE DTAVYYCATNDDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTG SSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS VTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAP NAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFV NNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKV NNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMV TDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEK KNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGGGGGSGGGGSGG GGSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTFE FYMPKKATELKHLQCLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNI NVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
AF4395	配列番号 ６４	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPK LLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYT TPPTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFY PKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDE YERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
	配列番号 １９７	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGL EWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAED TAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPV CGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSD LYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCP PCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPD VQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSG KEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQ VSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFMY SKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFT RYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYASYAQKFQGRVTMTRDT STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSASGGGGS GGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGRYL AWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYCQQYNSFPVTFGPGTKVDIKGGGSGGGSHHHHHH
	配列番号 ２０２	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGL EWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAED TAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPV CGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSD LYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCP PCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPD

【０２０２】

【表２３－３】

タンパク質複合体	配列番号	配列
		VQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSG KEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQ VTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFM YSDLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGGGGGS GGGGSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKL TDMLTFEFYMPKKATELKHLQCLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRP RDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIIST LT
AF4396	配列番号 ６４	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPK LLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYT TPPTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFY PKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDE YERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
	配列番号 １９８	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGL EWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAED TAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPV CGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSD LYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCP PCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPD VQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSG KEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQ VSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFMY SKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPRAGYTSYALKFQGRVTMTRD TSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCTSGWDVWGQGTLVTVSSASGGG GSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIST WLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLDSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSFPVTFGQGTKVEIKGGGSGGGSHHHHHH
	配列番号 ２０２	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGL EWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAED TAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPV CGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSD LYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCP PCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPD VQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSG KEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQ VTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFM YSDLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGGGGGS GGGGSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKL TDMLTFEFYMPKKATELKHLQCLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRP RDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIIST LT
AF4400	配列番号 １８０	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLL IYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSSNW PRTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYP KDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEY ERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
	配列番号 １９９	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKG LEWVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRAE

【０２０３】

【表２３－４】

タンパク質複合体	配列番号	配列
		DTAVYYCATNDDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTG SSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS VTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAP NAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFV NNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKV NNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMV TDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEK KNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGGGGGSGGGGSGG GGSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTFE FYMPKKATELKHLQCLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNI NVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
	配列番号 ２００	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKG LEWVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRAE DTAVYYCATNDDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTG SSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS VTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAP NAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFV NNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKV NNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTCLV KDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEK KNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWV RQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQ MNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASGGG GSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNT AVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGGSGGGSHHHHHH
AF4401	配列番号 １８０	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLL IYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSSNW PRTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYP KDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEY ERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
	配列番号 １９９	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKG LEWVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRAE DTAVYYCATNDDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTG SSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS VTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAP NAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFV NNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKV NNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMV TDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEK KNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGGGGGSGGGGSGG GGSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTFE FYMPKKATELKHLQCLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNI NVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
	配列番号 ２０１	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKG LEWVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRAE DTAVYYCATNDDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTG SSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS VTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAP

【０２０４】

【表２３－５】

タンパク質複合体	配列番号	配列
		NAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFV NNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKV NNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTCLV KDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEK KNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSEVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYTLAWV RQAPGKGLEWVAAIDSSSYTYSPDTVRGRFTISRDNAKNSLYLQM NSLRAEDTAVYYCARDSNWDALDYWGQGTLVTVSSASGGGGSG GGGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNVGTNVG WYQQKPGKAPKALIYSASFRYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYFCQQYYTYPYTFGGGTKLEIKGGGSGGGSHHHHHH
AF4392	配列番号 ６４	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPK LLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYT TPPTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFY PKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDE YERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
	配列番号 ２０２	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGL EWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAED TAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPV CGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSD LYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCP PCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPD VQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSG KEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQ VTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFM YSDLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGGGGGS GGGGSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKL TDMLTFEFYMPKKATELKHLQCLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRP RDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIIST LT
	配列番号 ２０３	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGL EWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAED TAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPV CGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSD LYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCP PCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPD VQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSG KEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQ VSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFMY SKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKD TYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSK NTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVS SASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRA SQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGGSGGGSHH HHHH
AF4393	配列番号 ６４	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPK LLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYT TPPTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFY

【０２０５】

【表２３－６】

タンパク質複合体	配列番号	配列
		PKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDE YERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
	配列番号２０２	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGL EWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAED TAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPV CGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSD LYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCP PCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPD VQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSG KEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQ VTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFM YSDLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGGGGGS GGGGSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKL TDMLTFEFYMPKKATELKHLQCLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRP RDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIIST LT
	配列番号２０４	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGL EWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAED TAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPV CGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSD LYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCP PCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPD VQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSG KEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQ VSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFMY SKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSS YTLAWVRQAPGKGLEWVAAIDSSSYTYSPDTVRGRFTISRDNAKN SLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSNWDALDYWGQGTLVTVSSASG GGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNV GTNVGWYQQKPGKAPKALIYSASFRYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYFCQQYYTYPYTFGGGTKLEIKGGGSGGGSHHHHH H

【０２０６】

実施例２７

標準的な方法を使用してＤＢＡ親和性を操作することによる調節の改善

この実施例では、ＤＢＡ親和性を改変し、ＤＢＡ－サイトカイン構築物のセンサー依存性活性化の範囲を改善するための標準的な技術の使用について説明する。ＤＢＡ　ＰＤＬ１－ＩＦＮ　Ｒ０１Ａ０５の一連の変異体（実施例１）を、実施例４に記載されるように調製し、ＤＢＡ－サイトカイン複合体を構築し、実施例９に記載されるようにアッセイした。６つの例示的な変異体のＤＢＡ－サイトカイン複合体の結果を図２１Ａ～図２１Ｆに示す。各プロットは、ＰＤ－Ｌ１の存在下（三角）及び非存在下（四角）におけるＩＦＮＡＲ２結合についてのデータを含む。対照ＩＦＮα抗体（丸）への結合を使用して、インタクトなＤＢＡ複合体の存在を確認し、ウェルに捕捉されたＤＢＡ複合体の量の相対的推定値を得る。ＡＦ２７１９及び５つの変異体のＤＢＡ－サイトカイン複合体は、ＰＤ－Ｌ１の非存在下では無視できる程度のＩＦＮＡＲ２結合を示し、ＰＤ－Ｌ１の存在下では異なるレベルのＩＦＮＡＲ２結合を示す。ＡＦ３０９９（配列番号２９３）は、ＰＤ－Ｌ１のすべての濃度において無視できる程度のＩＦＮＡＲ２結合を示す一方で、ＡＦ３０９２（配列番号２９２）とのＩＦＮＡＲ２結合シグナルは、抗ＩＦＮα抗体結合と類似している。ＡＦ２７１９（配列番号４１）、ＡＦ３１０１（配列番号２８９）、ＡＦ３０９３（配列番号２９０）及びＡＦ３０９４（配列番号２９１）は、抗ＩＦＮα結合と比較して中間レベルのＩＦＮＡＲ結合を示す。合わせて、これらの結果は、抗体工学の標準的な方法

を使用して、ＤＢＡ－サイトカイン複合体の治療活性の調節を改善し得ることを示している。タンパク質複合体配列を以下の表２５に示す。

【０２０７】

【表２４－１】

表２５－ＤＢＡ－サイトカインタンパク質複合体

タンパク質複合体	配列番号	配列
AF3099	配列番号２９３	MSTSTCDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAE TIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVTET PLMKEDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEG GGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSGYYIH WVRQAPGQGLEWMGWMDSNSGGTGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSL RSEDTAVYYCAKEVFSGWYDYWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKVEIKGKPIPNPLLGL DST
AF3092	配列番号２９２	MSTSTCDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAE TIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVTET PLMKEDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEG GGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYYIH WVRQAPGQGLEWMGWMDPNSGGTGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSL RSEDTAVYYCAKEVFSGWYDYWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKVEIKGKPIPNPLLGL DST
AF2719	配列番号４１	MSTSTCDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAE TIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVTET PLMKEDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEG GGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYYV HWVRQAPGQGLEWMGWMDPNSGGTGYAHQFQGRVTMTRDTSTSTVYMELS SLRSEDTAVYYCAKEVFSGWYDYWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHAS DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKVEIKGKPIPNPLL GLDST
AF3101	配列番号２８９	MSTSTCDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAE TIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVTET PLMKEDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEG GGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYYIH

【０２０８】

【表２４－２】

タンパク質複合体	配列番号	配列
		WVRQAPGQGLEWMGWMDGNSGGTGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSL RSEDTAVYYCAKEVFSGWYDYWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKVEIKGKPIPNPLLGL DST
AF3093	配列番号 ２９０	MSTSTCDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAE TIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVTET PLMKEDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEG GGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYYIH WVRQAPGQGLEWMGWMDSNSGYTGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSL RSEDTAVYYCAKEVFSGWYDYWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKVEIKGKPIPNPLLGL DST
AF3094	配列番号 ２９１	MSTSTCDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAE TIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVTET PLMKEDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEG GGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYYIH WVRQAPGQGLEWMGWMDPNSGYTGYAHQFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSL RSEDTAVYYCAKEVFSGWYDYWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKVEIKGKPIPNPLLGL DST

【０２０９】

実施例２８

ＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮα二重結合抗体による調節されたインターフェロン受容体結合

この実施例は、ＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮαのＤＢＡ－サイトカイン複合体による制御されたインターフェロン受容体結合について説明する。ＤＢＡ－サイトカイン複合体ＡＦ２６５９（配列番号２７６～２７７）、ＡＦ２６６６（配列番号９６及び２７７）、ＡＦ２６４５（配列番号９５及び１１２）、ＡＦ２６１５（配列番号２７９～２８０）及びＡＦ２６１６（配列番号２８１～２８２）を分析のために選択した。これらの複合体を集合させるために使用されるＤＢＡは、実施例４に記載されるような標準的な抗体工学技術を使用して、実施例１に記載される３つの親ＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮαＤＢＡ、すなわち、ＰＤＬ１－ＩＦＮ－Ｒ０１－Ａ０５（ＡＦ２６５９及びＡＦ２６６６）、ＰＤＬ１－ＩＦＮ－Ｒ０１－Ｃ０８（ＡＦ２６４５）及びＰＤＬ１－ＩＦＮ－Ｒ０１－Ｂ１２（ＡＦ２６１５及びＡＦ２６１６）から誘導した。３つの対照抗体－サイトカイン構築物を、単一特異性抗体、すなわち、ＡＦ２６９６（抗ＰＤＬ１、配列番号２８３～２８４）、ＡＦ２６９７（抗Ｈｅｒ２、配列番号２１４及び２８６）及びＡＦ２６９８（抗ＩＦＮａ、配列番号２８７～２８８）から構築した。タンパク質複合体の配列を以下の表２６に示す。８つの抗体－サイトカイン複合体を、可撓性リンカー（図９ｅに概略的に示されているＡＦ２６５９、ＡＦ２６６６及びＡＦ２６４５）を介して重鎖のＮ末端にＩＦＮαが付加された、又は、可撓性リンカー（図９ｄに概略的に示されているＡＦ２６１５、ＡＦ２６１６、ＡＦ２６９６、ＡＦ２６９７及びＡＦ２６９８）を介して軽鎖のＮ末端にＩＦＮαが付加された対称性ＩｇＧ分子として作製した。このタンパク質を哺乳動物細胞で発現させ、標準的なプロトコルを使用して精製した。様々な量のＰＤ－Ｌ１－Ｆｃ又はＨｅｒ２－Ｆｃの存在下で、ビオチン化インターフェロン受容体（ＩＦＮＡＲ２）でプローブした各ウェル上にコーティングされた一定量の抗体－サイトカイン構築物を用いてＥＬＩＳＡアッセイを実施した。３８４ウェルＥＬＩＳＡプレートを、１０マイクログラム／ｍｌの抗Ｆｃ抗体を用いて４℃で一晩コーティングし、ＳｕｐｅｒＢｌｏｃｋで２回洗浄した。２０マイクロミリ

リットルの６６．７ｎＭの抗体－サイトカイン複合体を各ウェルに添加し、１時間インキュベートし、ＰＢＳ中で３回洗浄した。ビオチン化ＩＦＮＡＲ２タンパク質を５ｎＭの最終濃度で各ウェルに添加し、ＰＤ－Ｌ１－Ｆｃタンパク質又はＨＥＲ２－Ｆｃタンパク質を０．６４ｎＭ、３．２ｎＭ、１６ｎＭ、８０ｎＭ又は４００ｎＭの最終濃度で添加した。プレートを１時間インキュベートし、洗浄し、ビオチン化ＩＦＮＡＲ２の検出を、ストレプトアビジン－ＨＲＰ及び標準的なＥＬＩＳＡプロトコルを使用して行った。図２２Ａ～図２２Ｈに示されるように、ＤＢＡ－サイトカイン複合体ＡＦ２６５９、ＡＦ２６６６、ＡＦ２６４５、ＡＦ２６１５及びＡＦ２６１６は、ＰＤ－Ｌ１タンパク質の存在下におけるＩＦＮＡＲ２結合の用量依存的誘導を示すが、同じ用量範囲のＨｅｒ２タンパク質によって影響されず、このことは、３つの異なる親ＰＤ－Ｌ１／ＩＦＮＡ二重結合抗体に由来する５つのＤＢＡ構築物におけるＰＤ－Ｌ１依存的ＩＮＦ活性を示している。３つの対照抗体複合体ＡＦ２６９６、ＡＦ２６９７及びＡＦ２６９８に結合するＩＦＮＡＲ２は、ＰＤ－Ｌ１の濃度によって有意に影響されなかった。本発明のタンパク質複合体は、標準的な抗体工学方法を用いて複数の二重結合抗体から作製することができる。

【０２１０】

【表２５－１】

表２６－ＤＢＡ－サイトカインタンパク質複合体

タンパク質複合体	配列番号	配列
AF2659	配列番号２７６	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVL HEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVTETPLMK EDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEVPGVG VPGAGVPGVGVPGGGVPGVGVPGGGVPGAGVPGGGVPGVGVPGAGVPGVGV PGGGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYYIHWVRQAPGQGLEWMG WMDSNSGYTGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAKEVFSG WYDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLT WNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKI EPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPD VQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNN KDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEW TNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHH TTKSFSRTPGK
	配列番号２７７	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKVEIKRADAAPTV SIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDS TYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC

【０２１１】

【表２５－２】

タンパク質複合体	配列番号	配列
AF2666	配列番号９６	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVL HEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVTETPLMK EDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEVPGVG VPGAGVPGVGVPGGGVPGVGVPGGGVPGAGVPGGGVPGVGVPGAGVPGVGV PGGGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYYIHWVRQAPGQGLEWMG WMDSNSGYTGYAQQFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAKEVFSG WYDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLT WNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKI EPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPD VQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNN KDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEW TNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHH TTKSFSRTPGK
	配列番号２７７	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKVEIKRADAAPTV SIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDS TYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
AF2645	配列番号９５	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVL HEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVTETPLMK EDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEVPGVG VPGAGVPGVGVPGGGVPGVGVPGGGVPGAGVPGGGVPGVGVPGAGVPGVGV PGGGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMG IIDPSVTYTRYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSLFPTIFGV EVAFDIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLT WNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKI EPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPD VQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNN KDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEW TNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHH TTKSFSRTPGK
	配列番号１１２	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISNRLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESG VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNSTPFTFGQGTKVEIKRADAAPTV SIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDS TYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
AF2615	配列番号２７９	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGNTFTDYYMHWVRQAPGQGLEWMGWM NPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSLFPTIFGV EVAFDIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLT WNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKI EPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPD VQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNN KDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEW TNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHH TTKSFSRTPGK
	配列番号２８０	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVL HEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVTETPLMK EDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQK

【０２１２】

【表２５－３】

タンパク質複合体	配列番号	配列
		PGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPPTF GQGTRLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSER QNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNR NEC
AF2616	配列番号２８１	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGIIDPS VTYTRYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSLFPTIFGVEVAF DIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNS GSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRG PTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLG APIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNN GKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTK SFSRTPGK
	配列番号２８２	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVL HEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVTETPLMK EDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISNRLAWYQQK PGKAPKLLIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQTYSTPITFG QGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQ NGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRN EC
AF2696	配列番号２８３	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSGYYMHWVRQAPGQGLEWMGWM DPNSGYTGYAHQFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAKEVFSGWYD YWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSG SLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGP TIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISW FVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAP IERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKT ELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSR TPGK
	配列番号２８４	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVL HEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVTETPLMK EDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQTISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYAASTLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGYSTPITFG PGTKVDIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQ NGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRN EC
AF2697	配列番号２１４	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTN GYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDY WGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGS LSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPT IKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWF VNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPI ERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKT ELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSR TPGK

【０２１３】

【表２５－４】

タンパク質複合体	配列番号	配列
	配列番号２８６	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVL HEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVTETPLMK EDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQ KPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPT FGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSE RQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFN RNEC
AF2698	配列番号２８７	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGYTFTEYIIHWVRQAPGKGLEWVASINPDYD ITNYNQRFKGRFTISLDKSKRTAYLQMNSLRAEDTAVYYCASWISDFFDYWGQGTL VTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHT FPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPC KCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEV HTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKP KGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKN TEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
	配列番号２８８	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVL HEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVTETPLMK EDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSTSSYSYMHW YQQKPGKAPKVLISYASNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHSW GIPRTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKI DGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIV KSFNRNEC

【０２１４】

実施例２９

ＩＬ－１５及びＰＤ－Ｌ１特異的二重結合抗体の選択

この実施例は、本開示のセンサードメインの単離、具体的には、ＩＬ－１５及びＰＤ－Ｌ１特異的二重結合抗体（ＤＢＡ）の選択について説明する。抗ＰＤ－Ｌ１及び抗ＩＬ－１５ＤＢＡを、実施例１に記載されるＩＦＮα　Ｔｕｍｂｌｅｒ抗体ファージディスプレイライブラリーから単離した。この選択は、ＰＤ－Ｌ１選択とＩＬ－１５選択とを交互に行う、実施例１に記載のプロトコルと同様であった。

【０２１５】

最終選択物を単一コロニーとしてプレーティングし、サンガー配列決定のために３８０個のコロニーを採取した。３８個のユニークなクローンをＰＤ－Ｌ１及びＩＬ－１５結合についてスクリーニングした。各クローンのｓｃＦｖ　ＤＮＡ配列を、Ｔ７プロモーター、翻訳開始部位、Ｍｙｃタグ、ｓｃＦｖ配列、Ｖ５タグ及びＴ７ターミネーターを有するｇＢｌｏｃｋ（Ｉｎｔｅｇｒａｔｅｄ　ＤＮＡ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ，Ｉｎｃ．）として合成した。前の実施例に記載されるように、ＰＵＲＥｆｒｅｘ２．１無細胞転写／翻訳系を使用してタンパク質を発現させた。ｓｃＦｖ試料をＥＬＩＳＡ分析に供して、ＰＤＬ１及びＩＬ１５の結合を検出した。これらの実験では、３８４ウェルプレートのウェルを、１ｕｇ／ｍｌの抗Ｖ５抗体（Ｓｖ５－Ｐｋ１、ＢｉｏＲａｄ）で４度で一晩コーティングした。洗浄後、ウェルをＳｕｐｅｒＢｌｏｃｋ（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ、３７５１５）でブロッキングし、続いてＳｕｐｅｒＢｌｏｃｋ中で飽和レベルのｓｃＦｖを添加した。洗浄後、抗原を添加し、プレートを１時間インキュベートした（ＰＤＬ１－ｈＦｃ－Ａｖｉ、Ａｃｒｏ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ、ＰＤＬ－Ｈ８２Ｆ２）、ＡＦ３３（配列番号２９８～２９９）、標準的な方法を用いてビオチン化、ＰＤ１－ｈＦｃ－Ａｖｉの対照（ＡｃｒｏＢｉｏｓｙｓｔｅｍｓ、ＰＤ１－Ｈ８２Ｆ１）、ＡＦ３５（配列番号６３～６４）、標準的な方法を用いてビオチン化）。ビオチン化抗原を、標準的な方法を使用し

てストレプトアビジンＨＲＰを使用して検出した。様々な量の標識試験抗原を添加して、結合を示し、異なるｓｃＦｖの相対親和性を推定した。図２３Ａ～図２３Ｄは、４つの例示的二重結合ｓｃＦｖ　ＡＦ６３５（配列番号２１６）、ＡＦ６３６（配列番号２１７）、ＡＦ６６６（配列番号２１８）及びＡＦ６１４（配列番号２１９）についてのＥＬＩＳＡ結合データを示す。４つすべての抗体は、ＰＤ－Ｌ１及びＩＬ－１５の両方への結合を示し、ＰＤ－Ｌ１への結合は、より低い濃度の抗原で検出可能である。タンパク質複合体配列を以下の表２７にまとめる。

【０２１６】

【表２６－１】

表２７－ＤＢＡ－サイトカインタンパク質複合体及び対照タンパク質複合体

タンパク質複合体	配列番号	配列
AF33	配列番号２９８	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTN GYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDY WGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGS LSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPT IKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWF VNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPI ERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKT ELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSR TPGKGGGSGGGSHHHHHH
	配列番号２９９	ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWT TPSLKCIRDPALVHQRPAPPSGGSGGGGSGGGSGGGGSLQNWVNVISDLKKIEDLI QSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSL SSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTSGGGGSGGGGSGGGGSG GGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSA SFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRA DAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTD QDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
AF35	配列番号６３	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVL HEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVTETPLMK EDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQ APGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYY CSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLV KGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAH PASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCV VVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMS GKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTD

【０２１７】

【表２６－２】

タンパク質複合体	配列番号	配列
		FMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
	配列番号６４	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
AF635	配列番号２１６	MSTSTEQKLISEEDLQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYIHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTRYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSLFPTIFGVEVAFDIWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIRTYLNWYQQKPGKAPKLLIYSASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANSFPFTFGPGTKVDIKGKPIPNPLLGLDST
AF636	配列番号２１７	MSTSTEQKLISEEDLQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSYYLHWVRQAPGQGLEWMGRISPRSGGTKNAQNFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCVRSLFPTIFGVEVAFDIWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYYASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGYQYPYTFGQGTKLEIKGKPIPNPLLGLDST
AF666	配列番号２１８	MSTSTEQKLISEEDLQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSTYYIHWVRQAPGQGLEWMGWMNPNSGNTGYAQTFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSLFPTIFGVEVAFDIWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGYSTPRTFGQGTKVEIKGKPIPNPLLGLDSST
AF614	配列番号２１９	MSTSTEQKLISEEDLQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMGWMNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSLFPTIFGVEVAFDIWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPRTFGQGTKLEIKGKPIPNPLLGLDST

【０２１８】

実施例３０

ＰＤ－Ｌ１／ＩＬ－１５二重結合抗体（ＤＢＡ）サイトカイン複合体による制御されたＩＬ－２受容体シグナル伝達

この実施例は、ＰＤ－Ｌ１／ＩＬ－１５ＤＢＡ－サイトカイン複合体によるレポーター細胞株における制御されたＩＬ－１５活性について説明する。ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ（商標）ＩＬ－２レポーター細胞（Ｉｎｖｉｖｏｇｅｎカタログ番号ｈｋｂ－ｉｌ２）を供給者の指示に従って増殖させた。細胞はＩＬ－２受容体を発現し、酵素の誘導によってＩＬ－２又はＩＬ－１５シグナル伝達に応答し、これは比色アッセイで読み取ることができる。実施例２９及び表２８に記載される例示的な二重結合ｓｃＦｖ配列、ＡＦ６３５（配列番号２１６）、ＡＦ６３６（配列番号２１７）、ＡＦ６６６（配列番号２１８）及びＡＦ６１４（配列番号２１９）を使用して、ｓｃＦｖ　ＤＢＡ－サイトカイン複合体、ＡＦ４４５５（配列番号２２０）、ＡＦ４４５６（配列番号２２１）、ＡＦ４４５７（ＳＱＩＤＮＯ：２２２）及びＡＦ４４４０（配列番号２２３）をそれぞれ構築した。２つの単一特異性抗ＩＬ－１５ｓｃＦｖ配列からサイトカイン－ｓｃＦｖ複合体ＡＦ４４７８（配列番号２２４）及びＡＦ４４７９（配列番号２２５）を構築して、陰性対照として機能させた。タンパク質複合体配列を以下の表２８に示す。ＰＵＲＥｆｒｅｘ２．１無細胞転写／翻訳系を使用してタンパク質を発現させた。３８４ウェルＥＬＩＳＡプレート（Ｃｏｒｎｉｎｇ３７００）を、１００ｍＭの重炭酸塩溶液（ｐＨ９．０）中、１マイクログラム／ｍｌの抗Ｖ５抗体（ＳＶ５－ｐｋ１）を２５マイクロリットル／ウェルで４℃にて一晩コーティングした。このプレートを１００マイクロリットルのＰＢＳ＋Ｔｗｅｅｎで３回、そして

５０ｕｌ／ウェルのＳｕｐｅｒＢｌｏｃｋで１回洗浄した。各試料のＰＵＲＥｆｒｅｘ反応物をＳｕｐｅｒｂｌｏｃｋで１：２，１６０に希釈し、２０μｌ／ウェルで抗Ｖ５コーティングプレートに添加し、室温で１時間インキュベートして、プレート上に均一量のｓｃＦｖタンパク質を捕捉した。次いで、各プレートを０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０（ＰＢＳＴ）を含むＰＢＳで３回洗浄した。ＰＤＬ－１タンパク質（Ａｃｒｏ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ、製品番号ＰＤ１－Ｈ５３５８）又はＦｃタンパク質（Ａｃｒｏ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ、製品番号ＦＣＣ－Ｈ５２１４）を増殖培地（ＤＭＥＭ完全）で最終濃度の２倍に希釈し、１ウェル当たり１２．５マイクロリットルを添加した。１５分間のインキュベーション後、１２．５マイクロリットルのＨＥＫ－Ｂｌｕｅ（商標）ＩＬ－２レポーター細胞（１２，５００細胞）を各ウェルに添加し、一晩インキュベートした。各ウェルからの５マイクロリットルを、４５マイクロリットルのＱｕａｎｔｉＢｌｕｅ溶液（Ｉｎｖｉｖｏｇｅｎ、製品番号ｒｅｐ－ｑｂｓ）を含有する新しいプレートに移した。３０から６０分後、Ｐｅｒｋｉｎ－Ｅｌｍｅｒ　Ｅｎｖｉｓｉｏｎを使用して６３０ｎｍでの吸光度を測定した。

【０２１９】

【表２７－１】

表２８－ＤＢＡ－サイトカインタンパク質複合体及び対照タンパク質複合体

タンパク質複合体	配列番号	配列
AF4455	配列番号２２０	MSTSTITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATN VAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPAPPSGGSGGGGSGGGSGGGGSLQNWVNVISDL KKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVENLIIL ANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTSGGSGSGSGGSG GSGSGGSGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYIHWVRQAPGQGL EWMGIINPSGGSTRYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSLF PTIFGVEVAFDIWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLS ASVGDRVTITCRASQSIRTYLNWYQQKPGKAPKLLIYSASNLQSGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQQANSFPFTFGPGTKVDIKAAAGSGSEQKLISEEDLGKPI PNPLLGLDSTNA
AF4456	配列番号２２１	MSTSTITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATN VAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPAPPSGGSGGGGSGGGSGGGGSLQNWVNVISDL KKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVENLIIL ANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTSGGSGSGSGGSG GSGSGGSGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSYYLHWVRQAPGQGL EWMGRISPRSGGTKNAQNFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCVRSL FPTIFGVEVAFDIWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSSL SASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYYASSLQSGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGYQYPYTFGQGTKLEIKAAAGSGSEQKLISEEDLGK PIPNPLLGLDSTNA
AF4457	配列番号２２２	MSTSTITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATN VAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPAPPSGGSGGGGSGGGSGGGGSLQNWVNVISDL KKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVENLIIL

【０２２０】

【表２７－２】

タンパク質複合体	配列番号	配列
		ANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTSGGSGSGSGGSG GSGSGGSGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSTYYIHWVRQAPGQGLE WMGWMNPNSGNTGYAQTFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARS LFPTIFGVEVAFDIWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSS LSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGYSTPRTFGQGTKVEIKAAAGSGSEQKLISEEDLGK PIPNPLLGLDSTNA
AF4440	配列番号２２３	MSTSTITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATN VAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPAPPSGGSGGGGSGGGSGGGGSLQNWVNVISDL KKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVENLIIL ANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTSGGSGSGSGGSG GSGSGGSGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQG LEWMGWMNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCA RSLFPTIFGVEVAFDIWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSP SSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPRTFGQGTKLEIKAAAGSGSEQKLISEEDLG KPIPNPLLGLDSTNA
AF4478	配列番号２２４	MSTSTITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATN VAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPAPPSGGSGGGGSGGGSGGGGSLQNWVNVISDL KKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVENLIIL ANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTSGGSGSGSGGSG GSGSGGSGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYIHWVRQAPGQGL EWMGWMNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCA RSLFPTIFGVEVAFDIWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSP SSLSASVGDRVTITCRASRSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPRTFGQGTKVEIKAAAGSGSEQKLISEEDL GKPIPNPLLGLDSTNA
AF4479	配列番号２２５	MSTSTITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATN VAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPAPPSGGSGGGGSGGGSGGGGSLQNWVNVISDL KKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVENLIIL ANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTSGGSGSGSGGSG GSGSGGSGSQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYSFTDYYVHWVRQAPGQGL EWVGGINPKRGDTVFAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGGL GVFGVVDVWGQGTTVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIVMTQSPLSLPVT PGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYAATTLQSGVPDRFSGSG SGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPLTFGGGTKLEIKAAAGSGSEQKLISEEDL GKPIPNPLLGLDST

【０２２１】

結果を図２４Ａ～図２４Ｆに示す。ＩＬ－１５活性は、ＰＤ－Ｌ１（丸）の添加により用量依存的態様で増加したが、ＤＢＡ－サイトカイン複合体ＡＦ４４５５（配列番号２２０）、ＡＦ４４５６（配列番号２２１）、ＡＦ４４５７（配列番号２２２）及びＡＦ４４４０（配列番号２２３）についてはＦｃタンパク質（四角）の添加により増加しなかった。単一特異性ＩＬ－１５ｓｃＦｖサイトカイン複合体ＡＦ４４７８（配列番号２２４）及びＡＦ４４７９（配列番号２２５）からのＩＬ－１５活性は、ＰＤ－Ｌ１又はＦｃタンパク質の添加によって変化しなかった。

【０２２２】

ＡＦ６１４（配列番号２１９）及びＡＦ６６６（配列番号２１８）からの例示的な二重結合抗体配列から、（図９ｂに概略的に示されるように）可撓性リンカーを介して１つの重鎖のＮ末端にＩＬ－１５が付加された非対称ＩｇＧ分子を構築して、それぞれＡＦ４５９１（配列番号２２６～２２８）及びＡＦ４５９２（配列番号２２９～２３１）を作製し

た。２つの対照を、抗ＩＬ－１５抗体（ＡＦ４６５９、配列番号２３２～２３４）及びＰＤＬ１－ＩＦＮ二重結合抗体（ＡＦ４６６０、配列番号２３５～２３７）から同じフォーマットで構築した。タンパク質複合体の配列を表２９にまとめる。このタンパク質を哺乳動物細胞で発現させ、標準的なプロトコルを使用して精製した。すべてのタンパク質が増殖培地中の溶液中にあったことを除いて、上記のアッセイと同様のアッセイで、ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ（商標）ＩＬ－２レポーター細胞を用いて、４つの抗体－サイトカイン複合体をＩＬ－１５活性についてアッセイした。精製抗体－サイトカイン複合体を１００ｐＭの最終濃度に希釈し、様々な濃度のＰＤ－Ｌ１又は対照ＩｇＧ１抗体でアッセイした。

【０２２３】

【表２８－１】

表２９－ＤＢＡ－サイトカインタンパク質複合体及び対照タンパク質複合体

タンパク質複合体	配列番号	配列
AF4591	配列番号２２６	ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATN VAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPAPPSGGSGGGGSGGGSGGGGSLQNW VNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESG DASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQ MFINTSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMGWMNPNSGNTGYAQKFQ GRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSLFPTIFGVEVAFDIWGQ GTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNS GSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVD KKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVV DVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQD WMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKK QVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDL RVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK
	配列番号２２７	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEW MGWMNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVY YCARSLFPTIFGVEVAFDIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGS SVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSS TWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVF IFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTH REDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGS VRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNY KNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSF SRTPGK
	配列番号２２８	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAA SSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPRTFGQGTK LEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSER

【０２２４】

【表２８－２】

タンパク質複合体	配列番号	配列
		QNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPI VKSFNRNEC
AF4592	配列番号２２９	ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATN VAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPAPPSGGSGGGGSGGGSGGGGSLQNW VNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESG DASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQ MFINTSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFSTYYIHWVRQAPGQGLEWMGWMNPNSGNTGYAQTFQGR VTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSLFPTIFGVEVAFDIWGQGT LVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGS LSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKI EPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDV SEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDW MSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQV TLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRV EKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK
	配列番号２３０	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSTYYIHWVRQAPGQGLEWM GWMNPNSGNTGYAQTFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYC ARSLFPTIFGVEVAFDIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSV TLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSST WPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFI FPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTH REDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGS VRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNY KNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSF SRTPGK
	配列番号２３１	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAA SSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGYSTPRTFGQGT KVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSE RQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSP IVKSFNRNEC
AF4659	配列番号２３２	ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATN VAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPAPPSGGSGGGGSGGGSGGGGSLQNW VNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESG DASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQ MFINTSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGDTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGWMNPNSGNTGYAQKFQGR VTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCATGITMIGYWGQGTLVTVSSA KTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHT FPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTI KPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPD VQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFK CKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVT DFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWV ERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK
	配列番号２３３	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFSSYAISWVRQAPGQGLEWM GWMNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYC

【０２２５】

【表２８－３】

タンパク質複合体	配列番号	配列
		ATGITMIGYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVK GYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITC NVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVL MISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTL RVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVY VLPPPEKEMTKKQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLK SDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
	配列番号２３４	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAA STLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTK VEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSER QNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPI VKSFNRNEC
AF4660	配列番号２３５	ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATN VAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPAPPSGGSGGGGSGGGSGGGGSLQNW VNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESG DASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQ MFINTSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGIIDPSMTYTRYAQKFQGRVT MTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSLFPTIFGLEVAFDIWGQGTLV TVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLS SGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEP RGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSE DDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMS GKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLT CMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKK NWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK
	配列番号２３６	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWM GIIDPSMTYTRYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAR SLFPTIFGLEVAFDIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLG CLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPS QSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPK IKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDY NSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAP QVYVLPPPEKEMTKKQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTE PVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTP GK
	配列番号２３７	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISNRLAWYQQKPGKAPKLLIYKA SSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQTYSTPITFGQGTK VEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSER QNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPI VKSFNRNEC

【０２２６】

結果を図２５Ａ～図２５Ｄに示す。ＩＬ－１５活性は、ＰＤ－Ｌ１の添加により用量依存的態様で増加したが、ＤＢＡ－サイトカイン複合体ＡＦ４５９１（配列番号２２６～２２８）及びＡＦ４５９２（配列番号２２９～２３１）についてはＦｃタンパク質の添加により増加しなかった。単一特異性ＩＬ－１５ｓｃＦｖサイトカイン複合体ＡＦ４６５９（配列番号２３２～２３４）及びＡＦ４６６０（配列番号２３５～２３７）からのＩＬ－１５活性は、ＰＤ－Ｌ１又はＦｃタンパク質の添加によって変化しなかった。

【０２２７】

２つの異なるフォーマットで産生された４つの異なるＰＤ－Ｌ１／ＩＬ－１５二重結合

抗体に基づく本発明のタンパク質複合体は、ＰＤ－Ｌ１依存性ＩＬ－１５活性を示した。

【０２２８】

実施例３１

ＩＦＮ及びＣＥＡ特異的二重結合抗体の選択及び結合

この実施例は、本開示のセンサードメインの単離、具体的には、ＩＦＮα及びＣＥＡ特異的二重結合抗体（ＤＢＡ）の選択について説明する。抗ＣＥＡ及び抗ＩＦＮαＤＢＡを、実施例１に記載のライブラリーと同様のＴｕｍｂｌｅｒ抗体ファージディスプレイライブラリーから単離した。抗体ファージディスプレイライブラリーを、抗ＩＦＮα抗体由来の種々の重鎖（「ＨＣ」）ＣＤＲ３配列と組み合わせたＳｕｐｅｒｈｕｍａｎ２．０抗体ライブラリーの重鎖ＣＤＲ１、重鎖ＣＤＲ２及び軽鎖の多様性を組み込むように構築した（表１８）。この選択は、１ラウンドのＩＦＮα選択（ＩＦＮα２ｂ、ＧｅｎＳｃｒｉｐｔ、Ｚ０３００２、標準プロトコルを用いてビオチン化）及び１ラウンドのＣＥＡ選択（ＣＥＡ－ｈＦｃ、Ｓｉｎｏ Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌｓ、１１０７７－Ｈ０２Ｈ）を使用する、実施例１に記載されるプロトコルと同様であった。

【０２２９】

【表２９】

表１８－ＩＦＮα結合因子のＨＣ－ＣＤＲ３

配列番号	配列	説明
配列番号２３８	CASGGSYSPWYFDLW	ＩＦＮα結合因子のＨＣ－ＣＤＲ３
配列番号２３９	CASLAAAGPYYYYGMDVW	ＩＦＮα結合因子のＨＣ－ＣＤＲ３
配列番号２４０	CVSSVGAGAYYYQGLDVW	ＩＦＮα結合因子のＨＣ－ＣＤＲ３
配列番号２４１	CARDHDYLTSFGYW	ＩＦＮα結合因子のＨＣ－ＣＤＲ３
配列番号２４２	CAFSSPTYYYYYGMDVW	ＩＦＮα結合因子のＨＣ－ＣＤＲ３
配列番号２４３	CARVNYDFWSGQSLRFDPW	ＩＦＮα結合因子のＨＣ－ＣＤＲ３
配列番号２４４	CATIKGLGAYYYYGMDVW	ＩＦＮα結合因子のＨＣ－ＣＤＲ３
配列番号２４５	CASDHGWLDAFDIW	ＩＦＮα結合因子のＨＣ－ＣＤＲ３
配列番号２４６	CARDWYGDYFDYW	ＩＦＮα結合因子のＨＣ－ＣＤＲ３
配列番号２４７	CARGILSDYGDHAFDYW	ＩＦＮα結合因子のＨＣ－ＣＤＲ３
配列番号２４８	CARVDSSSSLHFDYW	ＩＦＮα結合因子のＨＣ－ＣＤＲ３
配列番号２４９	CARTSGYDLLFDYW	ＩＦＮα結合因子のＨＣ－ＣＤＲ３
配列番号２５０	CARVGGWGIYYYYGMDVW	ＩＦＮα結合因子のＨＣ－ＣＤＲ３
配列番号２５１	CARDPSYSTGYYDYW	ＩＦＮα結合因子のＨＣ－ＣＤＲ３
配列番号２５２	CARGSRADYW	ＩＦＮα結合因子のＨＣ－ＣＤＲ３

【０２３０】

ファージにおける２回の選択の後、得られたＤＢＡのライブラリーを酵母表面ディスプレイベクターにサブクローニングし、標準的なプロトコルを使用してさらなるスクリーニングのために酵母に形質転換した。ＣＥＡ及びＩＦＮαへの結合について酵母ライブラリーを４回選別した。各選別ラウンドにおいて、ライブラリーをＣＥＡ－Ｆｃ－ビオチン又はＩＦＮα－ビオチンのいずれかで標識し、次いでストレプトアビジン－ＰＥ（Ａｂｃａｍ Ｎｏ．ａｂ２３９７５９）で標識し、Ｓｏｎｙ ＭＡ９００細胞選別機でＰＥ蛍光に基づいて選別した。１００ｎＭのＣＥＡ－Ｆｃ－ビオチン、１０００ｎＭのＩＦＮα－ビオチン、１０ｎＭのＣＥＡ－Ｆｃ－ビオチン及び２０ｎＭのＣＥＡ－Ｆｃ－ビオチンで標識して、４つの選別を行った。Ｚｙｍｏｐｒｅｐ Ｙｅａｓｔ Ｐｌａｓｍｉｄ Ｍｉｎｉｐｒｅｐ ＩＩキット（Ｚｙｍｏ ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｄ２００４）を使用して最終選別後にプラスミドを酵母からレスキューし、クローニングのためにＤＨ５ａ大腸菌に形質転換した。サンガー配列決定のために９６個のコロニーを選び、そこから３４個のユニークなクローンを同定し、ＩＦＮα及びＣＥＡ結合についてスクリーニングした。ｃ－ｍｙｃ及びＶ５タグを含む各クローンのｓｃＦｖ ＤＮＡ配列を、Ｔ７プロモーター及び翻訳

開始部位を含むフォワードプライマーと、Ｔ７ターミネーターを含むリバースプライマーとを用いてＰＣＲによって増幅した。前の実施例に記載されるように、ＰＵＲＥｆｒｅｘ２．１無細胞転写／翻訳系を使用してタンパク質を発現させた。ｓｃＦｖ試料をＥＬＩＳＡ分析に供して、ＣＥＡ及びＩＦＮα結合を検出した。これらの実験では、３８４ウェルプレートのウェルを、１ｕｇ／ｍｌの抗Ｖ５抗体（Ｓｖ５－Ｐｋ１、ＢｉｏＲａｄ）で４度で一晩コーティングする。洗浄後、ウェルをＳｕｐｅｒＢｌｏｃｋ（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ、３７５１５）でブロッキングし、続いてＳｕｐｅｒＢｌｏｃｋ中で飽和レベルのｓｃＦｖを添加する。洗浄後、抗原を添加し、プレートを１時間インキュベートする。ビオチン化ＩＦＮαをストレプトアビジンＨＲＰを使用して検出し、ＣＥＡ－Ｆｃを抗ｈＦｃ－ＨＲＰを使用して検出し、標準的な方法を使用して発色させる。様々な量の標識試験抗原を添加して、結合を示し、異なるｓｃＦｖの相対親和性を推定した。図２６は、ＣＥＡへの５つの例示的な二重結合ｓｃＦｖ結合についてのＥＬＩＳＡ結合データを示す。ＩＦＮαに対する結合親和性が低すぎてＥＬＩＳＡによって検出することができなかったので、ＩＦＮαに対する結合を、実施例５に記載されるようにバイオレイヤー干渉法（ＯｃｔｅｔＲＥＤ９６ｅ）によって測定した。結果を表１９にまとめる。５つすべてがＣＥＡ及びＩＦＮの両方への結合を示し、ＣＥＡへの結合はより低い濃度の抗原で検出可能である。

【０２３１】

【表３０－１】

表１９－抗ＩＦＮα結合の結果

クローンＩＤ	ＩＦＮα結合（５ｕＭで）	ＥＬＩＳＡ	配列	ＨＣ－ＣＤＲ３
8b2_A09	+	-	（配列番号２５３） MSTSTEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVSAIGA GGGTYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQM NSLKTEDTAVYYCVSSVGAGAYYYQGLDV WGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGG SHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS QDIFTYLNWYQQRPGKAPKLLIYDASRLQT GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY CQQSYSIPYTFGQGTKLEIKRAAAGSGSEQ KLISEEDLGKPIPNPLLGLDST	配列番号２４０

【０２３２】

【表３０－２】

8b2_B10	+	-	（配列番号２５４） MSTSTEVQLLESGAEVKKPGGSLR LSCAASGFTVSSNYMSWVRQAPG KGLEWVSAISGSGGSTYYADFVKG RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCVSSVGAGAYYYQGLDV WGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGS GGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVG DRVTITCRASQGVGNFLAWYQQKP GKAPKLLIYGASTLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ SYSTPFTFGGGTKLEIKRAAAGSGS EQKLISEEDLGKPIPNPLLGLDST	配列番号 ２４０
8b2_C02	+	-	-	
8b2_C03	+	-	-	
8b2_C08	+	-	（配列番号２５６） MSTSTEVQLLESGAEVKKPGGSLR LSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGK GLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGR FTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCARVDSSSSLHFDYWGQGT LVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSH ASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQRIGTYLNWYQQKPGKAPKLL IYAASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCLQTFNTPFTF GPGTKVDIKRAAAGSGSEQKLISEE DLGKPIPNPLLGLDST	配列番号 ２４８
AF317	(KD < 10nM)	+++	（配列番号２５７） MSTSTEQKLISEEDLQVQLVQSGAE VKKPGASVKVSCKASGYSFTSYDI NWVRQAPGQGLEWIGMINPSSGFT	配列番号 ２４４

【０２３３】

【表３０－３】

			SAAQTFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCATIKGLGAYY YYGMDVWGQGTTVTVSSASGGGG SGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSS LSASVGDRVTITCRASQSIDRYLNW YQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQQSYSPPLTFGGGTKVEIKGSGL NDIFEAQKIEWHEGKPIPNPLLGLD ST	
AF372	-	-	（配列番号２５８） MSTSTEQKLISEEDLEVQLVESGGG LVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIH WVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYT RYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQ MNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFY AMDYWGQGTLVTVSSASGGGGSG GGGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLS ASVGDRVTITCRASQDVNTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPS RFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGSG LNDIFEAQKIEWHEGKPIPNPLLGL DST	-

実施例３２

ＣＥＡ－ＩＦＮα二重結合抗体（ＤＢＡ）サイトカイン複合体による調節されたＩＦＮＡＲ２（ＩＦＮα受容体２）の結合

この実施例では、図８に示される形態のＣＥＡ／ＩＦＮＤＢＡ－サイトカイン複合体によるＩＦＮの受容体ＩＦＮＡＲ２への調節された結合について説明する。配列番号２５９、配列番号２６０及び配列番号２６１のＤＢＡ－サイトカイン複合体を、ＩＦＮα単一特異的結合ｓｃＦｖ（配列番号３００）及び２つの非ＩＦＮα結合ｓｃＦｖ（配列番号３０１のものと配列番号３０２のもの）に基づく類似の構造を有する陰性対照を用いる分析のために選択した。ＤＢＡ－サイトカイン複合体及び対照タンパク質複合体の配列を表３０にまとめる。癌胎児性抗原（ＣＥＡ）がＩＦＮＡＲ２の結合を調節する能力を試験するために、ＩＦＮ－αに連結されるＣＥＡ－ＩＦＮ－αＤＢＡｓｃＦｖからなるＶ５タグ化構築物を作製した。ＰＵＲＥｆｒｅｘ２．１インビトロ翻訳系を使用してｓｃＦｖを合成し、３８４ウェルプレートに単一希釈で添加した。滴定濃度のＣＥＡ－Ｆｃ（ＳＩＮＯ Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ）又はＰＤＬ１－Ｆｃ（ＡＣＲＯＢｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）のいずれかを添加し、プレートを室温で３０分間インキュベートした。Ｅｕ標識ＩＦＮＡＲ２（ＡＣ

ＲＯＢｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）及びＡｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ６４７標識抗Ｖ５抗体（Ｐｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ）をすべてのウェルに添加し、室温で２４時間インキュベートした。次いで、ＨＴＲＦシグナルをＥｎｖｉｓｉｏｎ２１０５マイクロプレートリーダー（Ｐｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ）で読み取った。ＩＦＮＡＲ２は、滴定濃度のＣＥＡ－Ｆｃの存在下で、ＤＢＡ－ｓｃＦｖ複合体上のＩＦＮ－αに結合することができた。ＩＦＮＡＲ２結合の増加は、ＤＢＡ－ｓｃＦｖタンパク質複合体に結合しないＰＤ－Ｌ１－Ｆｃ対照タンパク質の存在下では見られなかった。図２７Ａ～図２７Ｆに示される結果は、ＩＦＮＡＲ２結合が、ＣＥＡの添加により用量依存的態様で増大するが、配列番号２５９（図２７Ａ）、配列番号２６０（図２７Ｂ）及び配列番号２６１（図２７Ｃ）のＤＢＡ－サイトカイン複合体については対照タンパク質ＰＤＬ１の添加により増大しなかったことを示す。単一特異性ＩＦＮｓｃＦｖサイトカイン複合体からのＩＦＮＡＲ２結合は、ＣＥＡ又はＰＤ－Ｌ１の添加によって変化しなかった。

【０２３４】

【表３１－１】

表３０－ＤＢＡ－サイトカインタンパク質複合体及び対照タンパク質複合体

タンパク質複合体	配列番号	配列
ＤＢＡ－サイトカイン複合体	配列番号２５９	MSTSTCDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVTETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEGGSGSGSGGSGGSGSGGGSGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVSAIGAGGGTYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCVSSVGAGAYYYQGLDVWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIFTYLNWYQQRPGKAPKLLIYDASRLQTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSIPYTFGQGTKLEIKRAAAGSGSEQKLISEEDLGKPIPNPLLGLDST
ＤＢＡ－サイトカイン複合体	配列番号２６０	MSTSTCDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVTETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEGGSGSGSGGSGGSGSGGGSGSEVQLLESGAEVKKPGGSLRLSCAASGFTVSSNYMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADFVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVSSVGAGAYYYQGLDVWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGVGNFLAWYQQKPGKAPKLLIYGASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPFTFGGGTKLEIKRAAAGSGSEQKLISEEDLGKPIPNPLLGLDST

【０２３５】

【表３１－２】

タンパク質複合体	配列番号	配列
ＤＢＡ－サイトカイン複合体	配列番号２６１	MSTSTCDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVTETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEGGSGSGSGGSGGSGSGGSGSEVQLLESGAEVKKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVDSSSSLHFDYWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQRIGTYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQTFNTPFTFGPGTKVDIKRAAAGSGSEQKLISEEDLGKPIPNPLLGLDST
AF2589	配列番号３００	MSTSTCDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVTETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSYDINWVRQAPGQGLEWIGMINPSSGFTSAAQTFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCATIKGLGAYYYYGMDVWGQGTTVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIDRYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSPPLTFGGGTKVEIKGKPIPNPLLGLDST
AF2592	配列番号３０１	MSTSTCDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVTETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSLFPTIFGVEVAFDIWGQGTTVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIIDRLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPFTFGPGTKVDIKGKPIPNPLLGLDST
AF2594	配列番号３０２	MSTSTCDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVTETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGKPIPNPLLGLDST

【０２３６】

実施例３３

ＬＲＲＣ１５及びＩＦＮα特異的二重結合抗体の選択及び結合

この実施例は、本開示のセンサードメインの単離、具体的には、ＬＲＲＣ１５及びＩＦＮα特異的二重結合抗体（ＤＢＡ）の選択について説明する。抗ＬＲＲＣ１５及び抗ＩＦＮαＤＢＡを、実施例３１に記載されるＩＦＮα　Ｔｕｍｂｌｅｒ抗体ファージディスプレイライブラリーから単離した。この選択は、１ラウンドのＩＦＮα選択（ＩＦＮα２ｂ、ＧｅｎＳｃｒｉｐｔ、Ｚ０３００２、標準プロトコルを用いてビオチン化）及び１ラウンドのＬＲＲＣ１５選択（ＬＲＲＣ１５－ｈＦｃ、Ｓｉｎｏ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌｓ、１５７８６－Ｈ０２Ｈ）を使用する、実施例１に記載されるプロトコルと同様であった。

【０２３７】

１００ｎＭのＩＦＮαでのファージでの１回目の選択及び１００ｎＭのＬＲＲＣ１５での２回目の選択の後、得られたＤＢＡのライブラリーを酵母表面ディスプレイベクターにサブクローニングし、標準的なプロトコルを使用して、さらなるスクリーニングのために

酵母に形質転換した。ＬＲＲＣ１５及びＩＦＮαへの結合について酵母ライブラリーを４回選別した。各選別ラウンドにおいて、ライブラリーをＬＲＲＣ１５－Ｆｃ－ビオチン又はＩＦＮα－ビオチンのいずれかで標識し、次いでストレプトアビジン－ＰＥ（Ａｂｃａｍ　Ｎｏ．ａｂ２３９７５９）で標識し、Ｓｏｎｙ　ＭＡ９００細胞選別機でＰＥ蛍光に基づいて選別した。１００ｎＭのＬＲＲＣ１５－Ｆｃ－ビオチン、１０００ｎＭのＩＦＮα－ビオチン、１０ｎＭのＬＲＲＣ１５－Ｆｃ－ビオチン及び１０ｎＭのＬＲＲＣ１５－Ｆｃ－ビオチンで標識して、４つの選別を行った。Ｚｙｍｏｐｒｅｐ　Ｙｅａｓｔ　Ｐｌａｓｍｉｄ　Ｍｉｎｉｐｒｅｐ　ＩＩキット（Ｚｙｍｏ　ｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｄ２００４）を使用して最終選別後にプラスミドを酵母からレスキューし、クローニングのためにＤＨ５ａ大腸菌に形質転換した。サンガー配列決定のために９６個のコロニーを選び、そこから２４個のユニークなクローンを同定し、ＩＦＮα及びＬＲＲＣ１５の結合についてスクリーニングした。ｃ－ｍｙｃ及びＶ５タグを含む各クローンのｓｃＦｖ　ＤＮＡ配列を、Ｔ７プロモーター及び翻訳開始部位を含むフォワードプライマーと、Ｔ７ターミネーターを含むリバースプライマーとを用いてＰＣＲによって増幅した。前の実施例に記載されるように、ＰＵＲＥｆｒｅｘ２．１無細胞転写／翻訳系を使用してタンパク質を発現させた。ｓｃＦｖ試料をＥＬＩＳＡ分析に供して、ＬＲＲＣ１５及びＩＦＮα結合を検出した。図２８Ａは、ＬＲＲＣ１５に対する６つの例示的なｓｃＦｖのＥＬＩＳＡ結合データを示す。ＩＦＮα結合親和性が、いくつかのｓｃＦｖについてＥＬＩＳＡによって検出するには低すぎたので、ＩＦＮαに対する結合もまた、実施例５に記載されるようにバイオレイヤー干渉法（ＯｃｔｅｔＲＥＤ９６ｅ）によって測定した。結果及び抗体配列を図２８Ｂに表にする。６つすべてがＬＲＲＣ１５及びＩＦＮαの両方への結合を示し、ＬＲＲＣ１５への結合はより低濃度の抗原で検出可能である。タンパク質複合体の配列を表３１に示す。

【０２３８】

【表３２－１】

表３１－ＤＢＡ－サイトカインタンパク質複合体及び対照タンパク質複合体

タンパク質複合体	配列番号	配列
A03	配列番号２６２	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGWMDPNNDDADYAQRFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCASLAAAGPYYYYGMDVWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSINNYLNWYQQKPGKAPKLLIYGASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYGTPLTFGGGTKVEIKRAAAGSGSEQKLISEEDLGKPIPNPLLGLDST

【０２３９】

【表３２－２】

タンパク質複合体	配列番号	配列
i47_A11	配列番号３１４	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQA PGQGLEWMGTINPSDGDTTYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSL RSEDTAVYYCARVGGWGIYYYYGMDVWGQGTLVTVSSASGGGG SGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSINSW LAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQ PEDFATYYCQQTYTVPFSFGQGTKLEIKRAAAGSGSEQKLISEEDLG KPIPNPLLGLDST
i47_A12	配列番号３１５	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFINNDINWVRQA PGQGLEWMGGTIPIFGVHIYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSL RSEDTAVYYCVSSVGAGAYYYYGMDVWGQGTLVTVSSASGGGG SGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNY LNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQ PEDFATYYCQQSYSLPYTFGQGTRLEIKRAAAGSGSEQKLISEEDLG KPIPNPLLGLDST
B03	配列番号２６３	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVEVSCKASGGTFSSYAINWVRQAPGQGLEWM GWIDPKSGDTTYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCASGGSYSP WYFDLWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCRASQSISSWLAWYQQKSGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQAYSFPFTFGPGTKVDIKRAAAGSGSEQKLISEEDLGKPIPNPL LGLDST
B07	配列番号２６４	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEW MGWMDPNNDDADYAQRFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCASLA AAGPYYYYGMDVWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPS SLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYGASILEAGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSAPITFGQGTRLEIKRAAAGSGSEQKLISEEDL GKPIPNPLLGLDST
B11	配列番号２６５	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQAPGQGLEWLG GTVPLFGISHYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCVSSVGAGAYY YQGLDVWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVG DRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLLPEDFATYYCQQSYLPPYSFGQGTKLEIKRAAAGSGSEQKLISEEDLGKPIPNPLL GLDST
AF372	配列番号２５８	MSTSTEQKLISEEDLEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAP GKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCS RWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSP SSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGS RSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGSGLNDIFEAQKIEW HEGKPIPNPLLGLDST

【０２４０】

実施例３４

ＬＲＲＣ１５－ＩＦＮα二重結合抗体（ＤＢＡ）サイトカイン複合体による調節されたＩＦＮＡＲ２（ＩＦＮα受容体２）の結合

この実施例は、ＬＲＲＣ１５／ＩＦＮのＤＢＡ－サイトカイン複合体によるＩＦＮの受容体ＩＦＮＡＲ２へのＬＲＲＣ１５依存的結合について説明する。この実施例のサイトカイン複合体は、１つの重鎖（その構造の概略図を図９Ｂに示す）のＮ末端に連結されたＩＦＮ－αを有するＬＲＲＣ１５－ＩＦＮ－αＤＢＡ　ＩｇＧから構成される。ＤＢＡ－サイトカイン複合体ＡＦ４５８１（配列番号２６６～２６８）、ＡＦ４５８６（配列番号２６９～２７１）、ＡＦ４５８７（配列番号２６６～２６７、２７２）及びＡＦ４５８８（配列番号２７３～２７５）を分析のために選択した。同じ構造を有する２つのサイトカイン複合体、すなわち、中和抗ＩＦＮα抗体に基づくＡＦ４３０５（配列番号２９４～２９６）及び抗Ｈｅｒ２抗体に基づくＡＦ４３０６（配列番号６４、１９２、２９７）を対照として含めた。タンパク質複合体の配列を表３２に示す。６つのＩｇＧ－サイトカインを

、標準的なプロトコルを使用して哺乳動物細胞において発現させ、単一希釈で３８４ウェルプレートに添加した。滴定濃度のＬＲＲＣ１５－Ｆｃ（ＳＩＮＯ Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ）、ＰＤＬ１－Ｆｃ（ＡＣＲＯＢｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）又はＣＥＡ－Ｆｃ（ＳＩＮＯ Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ）のいずれかを添加し、プレートを室温で３０分間インキュベートした。Ｅｕ標識ＩＦＮＡＲ２（ＡＣＲＯＢｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）及びＡｌｅｘａ Ｆｌｕｏｒ６４７標識抗Ｖ５抗体（Ｐｅｒｋｉｎ Ｅｌｍｅｒ）をすべてのウェルに添加し、室温で２４時間インキュベートした。次いで、ＨＴＲＦシグナルをＥｎｖｉｓｉｏｎ２１０５マイクロプレートリーダー（Ｐｅｒｋｉｎ Ｅｌｍｅｒ）で読み取った。図２９Ａ～図２９Ｆに示される結果は、ＩＦＮＡＲ２結合が、ＬＲＲＣ１５の添加により用量依存的態様で増大したが、ＡＦ４５８１、ＡＦ４５８６及びＡＦ４５８７のＤＢＡ－サイトカイン複合体については、対照タンパク質ＰＤＬ１の添加により増大しなかったことを示し、このことは、ＩＦＮＡＲ結合活性のＬＲＲＣ１５依存的な調節を示す。ＡＦ４５８８並びに単一特異性ＩＦＮｓｃＦｖサイトカイン複合体ＡＦ４３０５及びＡＦ４３０６からのＩＦＮＡＲ２結合は、ＬＲＲＣ１５又はＰＤ－Ｌ１の添加によって変化しなかった。

【０２４１】

本開示の好ましい実施形態を本明細書に示し説明してきたが、かかる実施形態が例としてのみ提供されることは当業者には明らかであろう。本開示から逸脱することなく、当業者には多数の変形、変更、及び置換が思い浮かぶであろう。本明細書に記載の開示の実施形態に対する様々な代替形態が、本開示を実施する際に使用され得ることを理解されたい。以下の特許請求の範囲が本開示の範囲を定義し、これらの特許請求の範囲内の方法及び構造並びにそれらの均等物がそれによって包含されることが意図される。

【０２４２】

【表３３－１】

表３２－ＤＢＡ－サイトカインタンパク質複合体及び対照タンパク質複合体

タンパク質複合体	配列番号	配列
AF4581	配列番号２６６	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVL HEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVTETPLMK EDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWV RQAPGQGLEWMGWMDPNNDDADYAQRFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCASLAAAGPYYYYGMDVWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTG SSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPS

【０２４３】

【表３３－２】

タンパク質複合体	配列番号	配列
		QSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLM ISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPI QHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQ VTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKN WVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK
	配列番号２６７	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGWM DPNNDDADYAQRFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCASLAAAGPYY YYGMDVWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTL TWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPD VQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNN KDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWT NNGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHT TKSFSRTPGK
	配列番号２６８	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSINNYLNWYQQKPGKAPKLLIYGASNLET GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYGTPLTFGGGTKVEIKRADAAPT VSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSK DSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
AF4586	配列番号２６９	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVL HEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVTETPLMK EDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVEVSCKASGGTFSSYAINWVR QAPGQGLEWMGWIDPKSGDTTYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDT AVYYCASGGSYSPWYFDLWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLG CLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCN VAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIV TCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDW MSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMV TDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYS CSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK
	配列番号２７０	QVQLVQSGAEVKKPGASVEVSCKASGGTFSSYAINWVRQAPGQGLEWMGWIDP KSGDTTYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCASGGSYSPWYFDL WGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGS LSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPT IKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWF VNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPI ERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTE LNYKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRT PGK
	配列番号２７１	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKSGKAPKLLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQAYSFPFTFGPGTKVDIKRADAAPTV SIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDS TYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
AF4587	配列番号２６６	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVL HEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVTETPLMK EDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWV

【０２４４】

【表３３－３】

タンパク質複合体	配列番号	配列
		RQAPGQGLEWMGWMDPNNDDADYAQRFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCASLAAAGPYYYYGMDVWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTG SSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPS QSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLM ISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPI QHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQ VTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKN WVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK
	配列番号２６７	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGWM DPNNDDADYAQRFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCASLAAAGPYY YYGMDVWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTL TWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPD VQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNN KDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWT NNGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHT TKSFSRTPGK
	配列番号２７２	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYGASILEAG VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSAPITFGQGTRLEIKRADAAPTV SIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDS TYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
AF4588	配列番号２７３	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVL HEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVTETPLMK EDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQ APGQGLEWLGGTVPLFGISHYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CVSSVGAGAYYYQGLDVWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGC LVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNV AHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVT CVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDW MSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMV TDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYS CSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK
	配列番号２７４	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQAPGQGLEWLGGTVPL FGISHYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCVSSVGAGAYYYQGLD VWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNS GSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRG PTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLG APIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNG KTELNYKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSF SRTPGK
	配列番号２７５	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLLPEDFATYYCQQSYLPPYSFGQGTKLEIKRADAAPTVS IFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDST YSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC

【０２４５】

【表３３－４】

タンパク質複合体	配列番号	配列
AF4305	配列番号２９４	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVL HEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVTETPLMK EDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTAYDINWVR QAPGQGLEWVGIINPGSGSPMYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAV YYCVSSVGAGAYYYQGLDVWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTL GCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITC NVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPI VTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQD WMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTC MVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERN SYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK
	配列番号２９５	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTAYDINWVRQAPGQGLEWVGIINPGS GSPMYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCVSSVGAGAYYYQGLD VWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNS GSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRG PTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLG APIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNG KTELNYKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSF SRTPGGGGSGGGSHHHHHH
	配列番号２９６	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDIANYLNWYQQKPGKAPKLLIYSASNLQS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTQWTFGQGTKVEIKRADAA PTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDS KDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
AF4306	配列番号６４	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYS GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRADAAP TVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSK DSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
	配列番号１９２	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRY ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVS SAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDL YTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVF IFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVV SALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQV SLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYS CSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGSGGGSHHHHHH
	配列番号２９７	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVL HEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVTETPLMK EDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQ APGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYY CSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLV KGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAH PASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCV VVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMS GKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTD

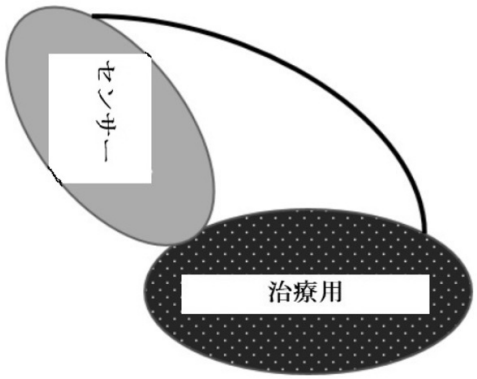
【０２４６】

【表３３－５】

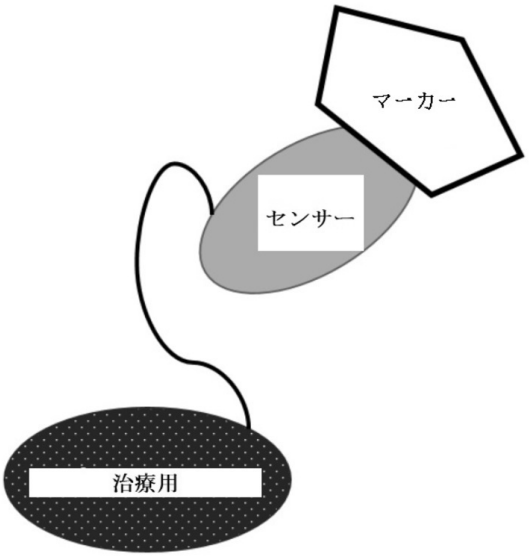
タンパク質複合体	配列番号	配列
		FMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSCS VVHEGLHNHHTTESFSRTPGK

【図面】

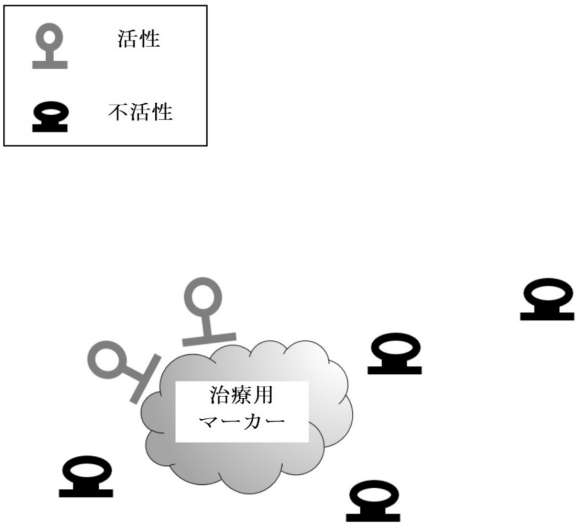
【図１Ａ】



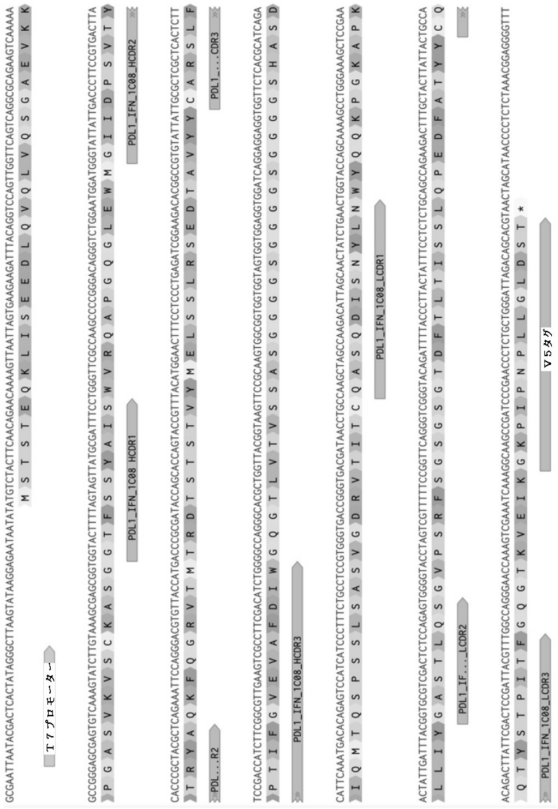
【図１Ｂ】



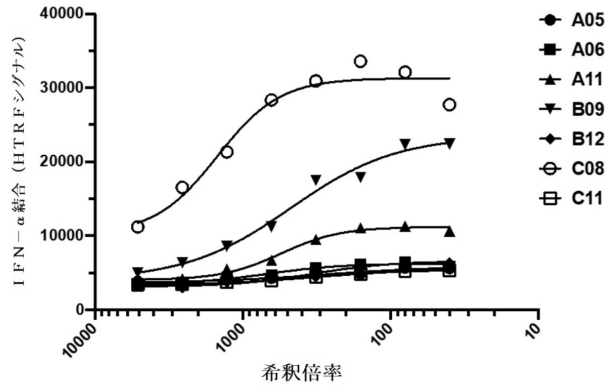
【図２】



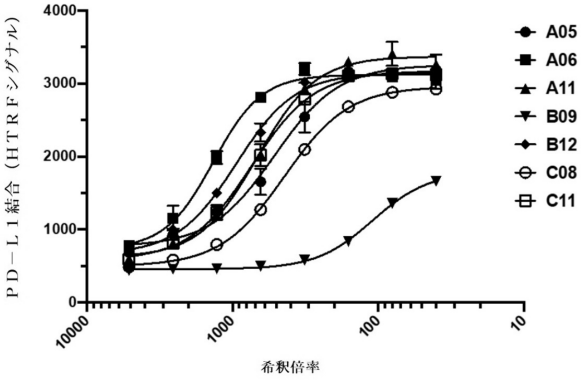
【図３】



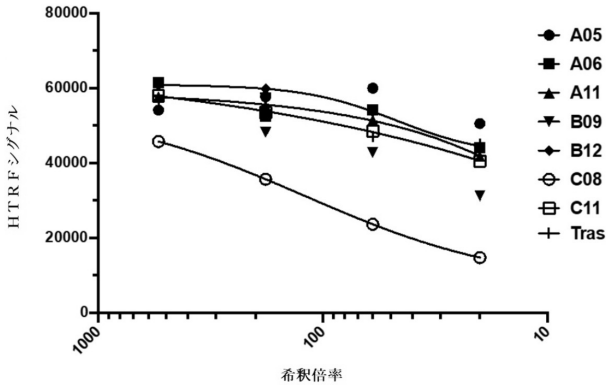
【図４】


IFN－α結合（HTRFシグナル）
40000
30000
20000
10000
0
10000
1000
100
10
希釈倍率
A05
A06
A11
B09
B12
C08
C11

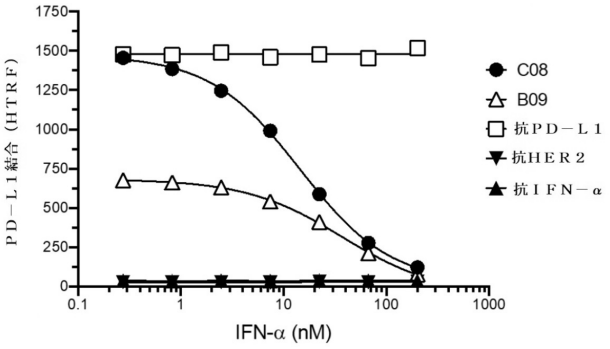
【図５】


PD－L1結合（HTRFシグナル）
4000
3000
2000
1000
0
10000
1000
100
10
希釈倍率
A05
A06
A11
B09
B12
C08
C11

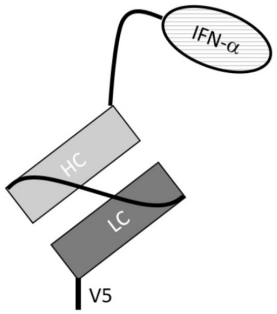
【図６】


HTRFシグナル
80000
60000
40000
20000
0
1000
100
10
希釈倍率
A05
A06
A11
B09
B12
C08
C11
Tras

【図７】

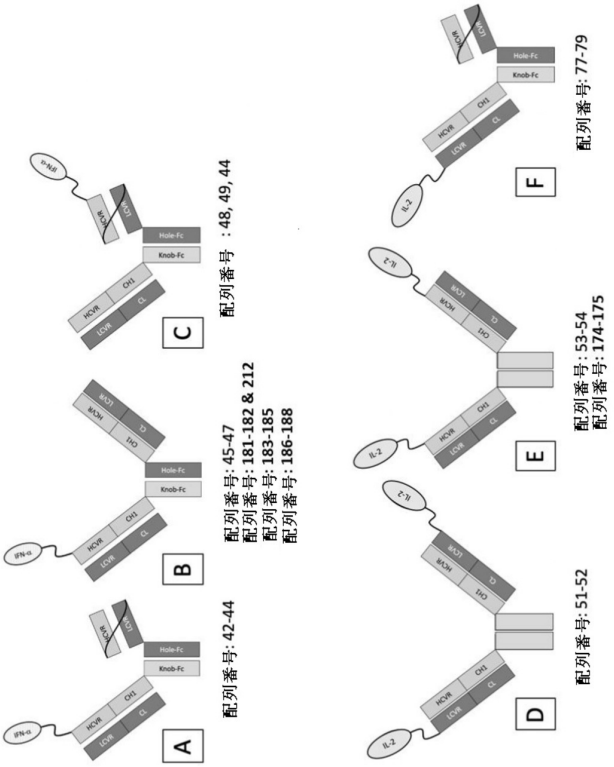

PD－L1結合（HTRF）
1750
1500
1250
1000
750
500
250
0
0.1
1
10
100
1000
IFN-α (nM)
C08
B09
抗PD－L1
抗HER2
抗IFN－α

【図８】

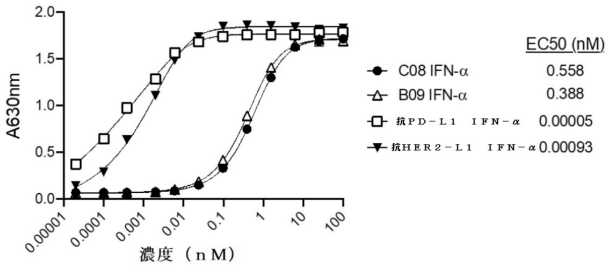


MSTSTCDLPQTHSLGSRRTLML
LAQMRRISLFSCLKDRHDFGFP
QEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQ
QIFNLFSTKDSSAAWDETLLDK
FYTELYQQLNDLEACVIQGVGV
TETPLMKEDSILAVRKYFQRIT
LYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMR
SFSLSTNLQESLRSKE
GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC
KASGYTFSNYYVHWVRQAPGQG
LEWMGWMDPNSGGTGYAHQFQG
RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS
EDTAVYYCAKEVFSGWYDYWGQ
GTLVTVSS
ASGGGGSGGGGSGGGGSHAS
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT
CRASQSISSYLNWYQQKPGKAP
KLLIYAASSLQSGVPSRFSGSG
SGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQSYSTPYTFGQGTKVEIK
GKPIPNPLLGLDST

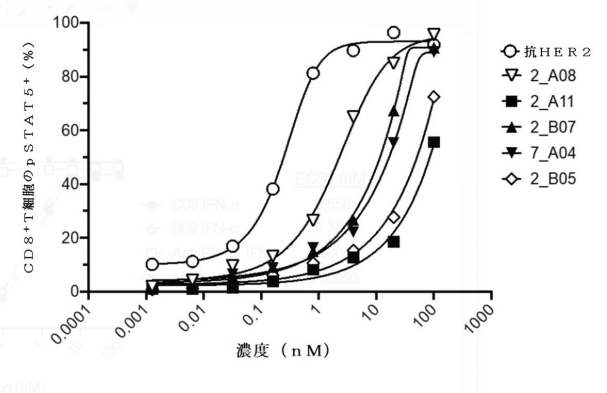
【図９】



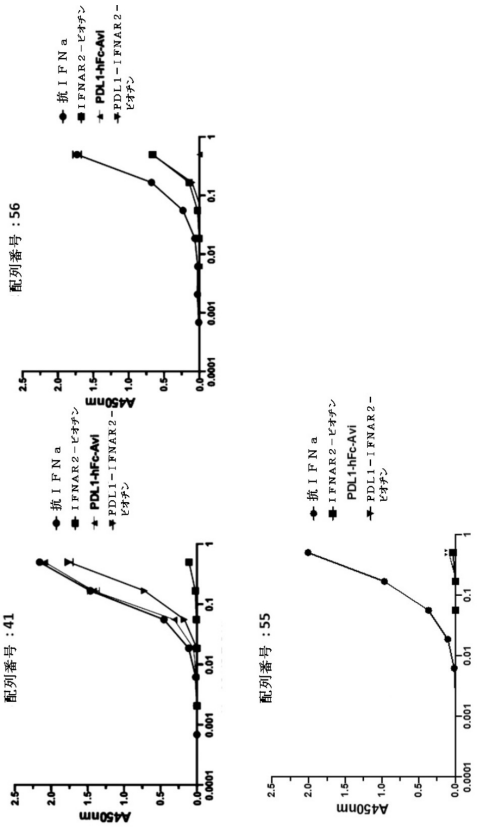
【図１０】



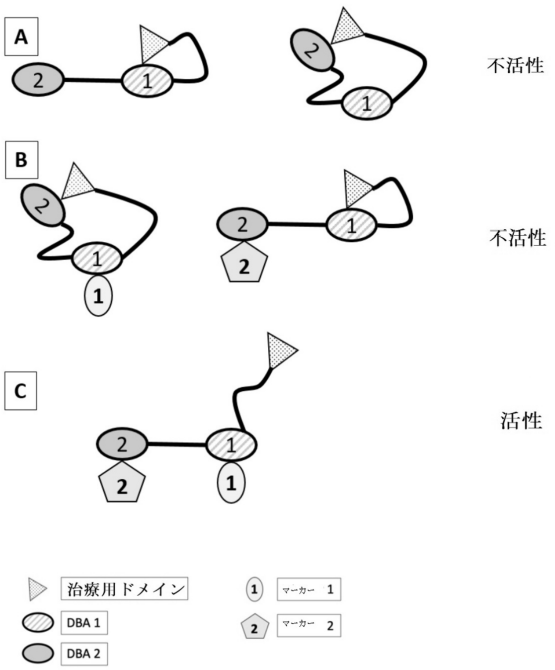
【図１１】



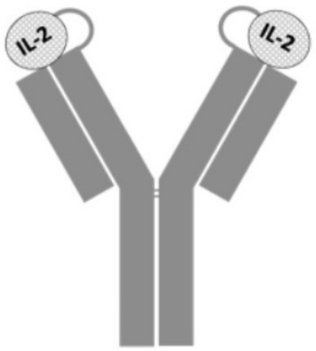
【図１２】



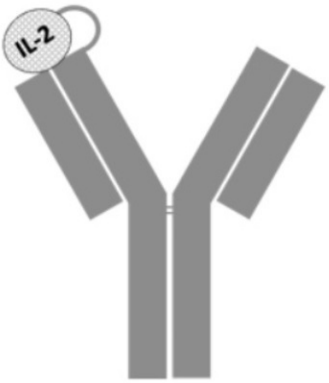
【図１３】



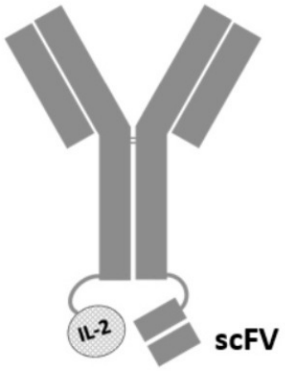
【図１４Ａ】



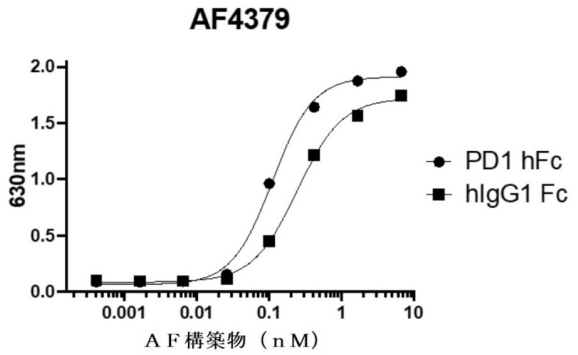
【図１４Ｂ】



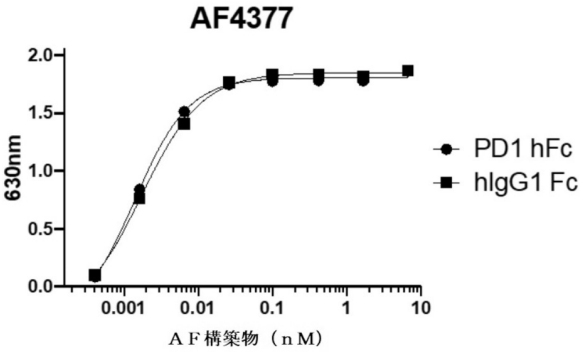
【図１４Ｃ】



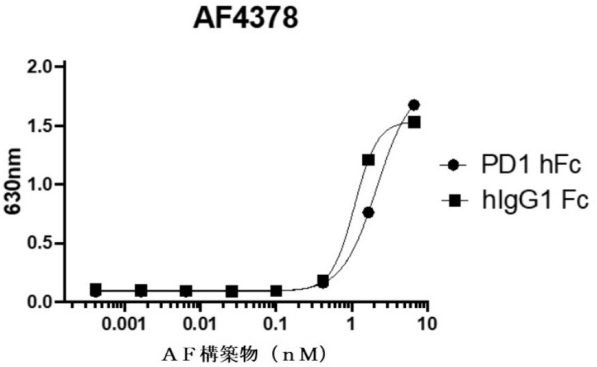
【図１５Ａ】



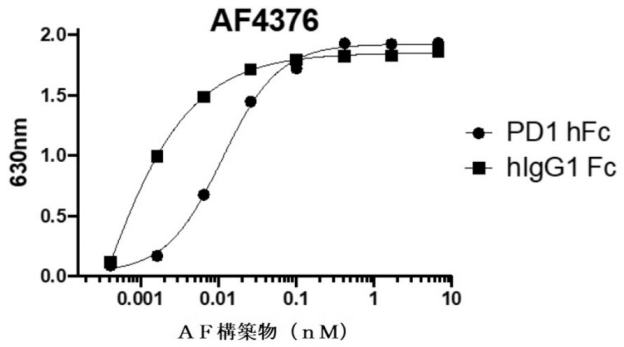
【図１５Ｂ】



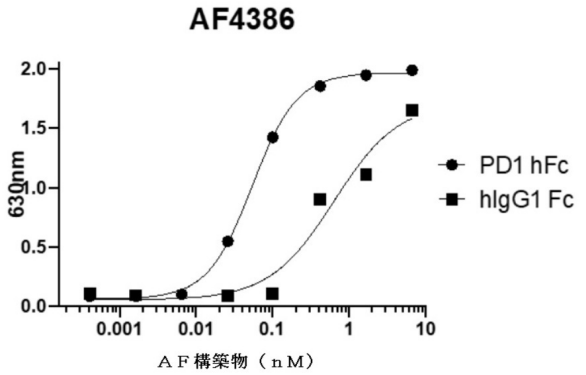
【図１５Ｃ】



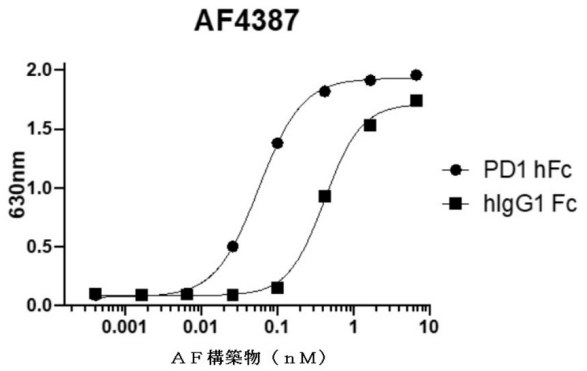
【図１５Ｄ】



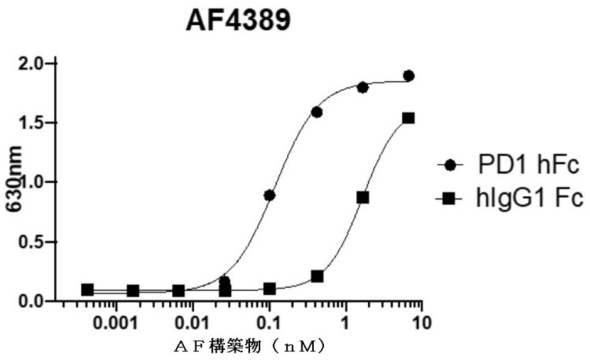
【図１６Ａ】



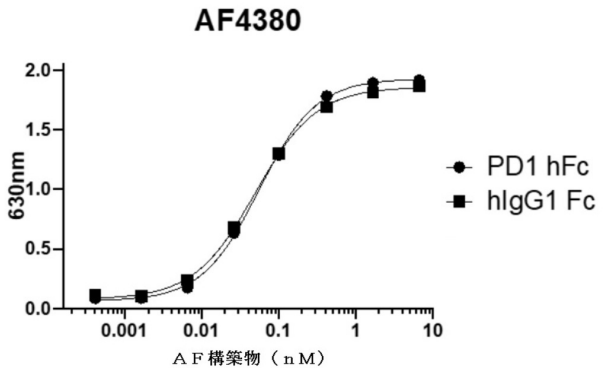
【図１６Ｂ】



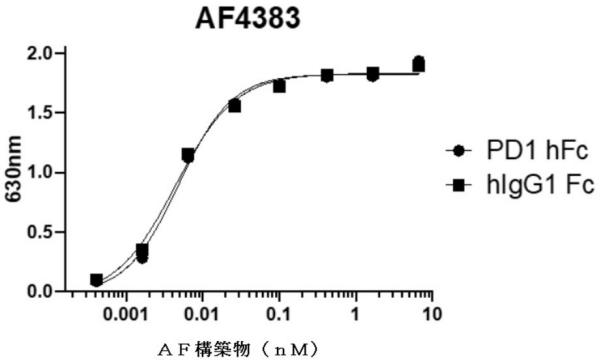
【図１６Ｃ】



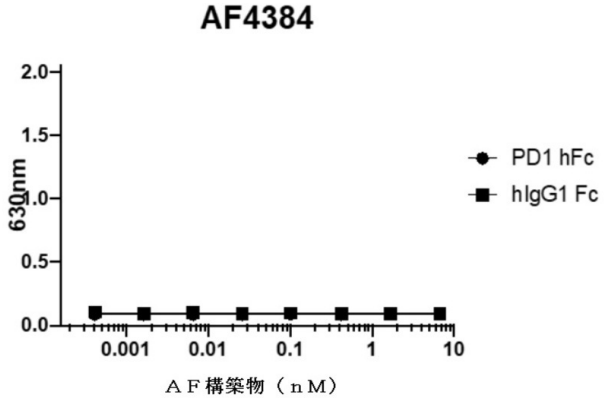
【図１６Ｄ】



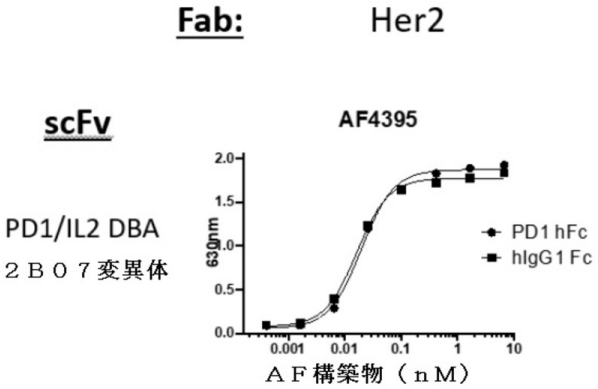
【図１６Ｅ】



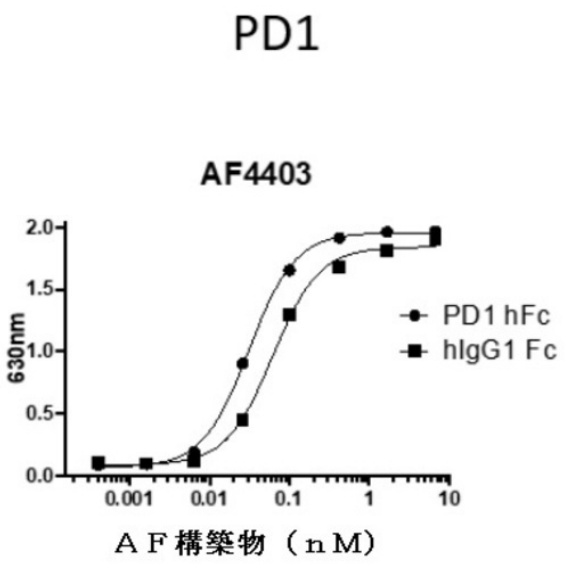
【図１６Ｆ】



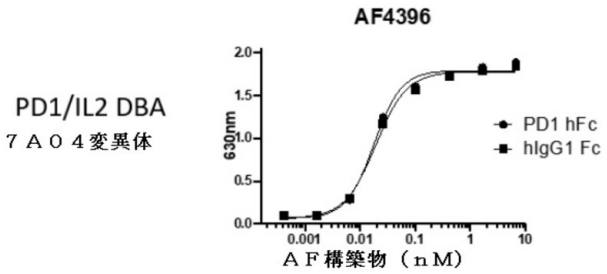
【図１７Ａ】



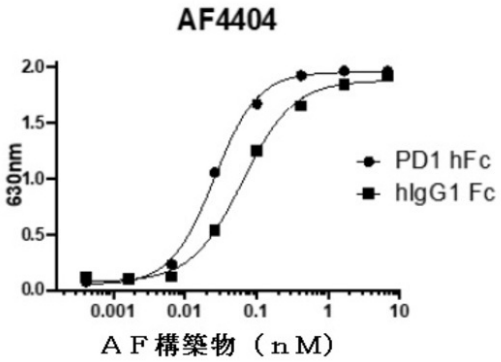
【図１７Ｂ】



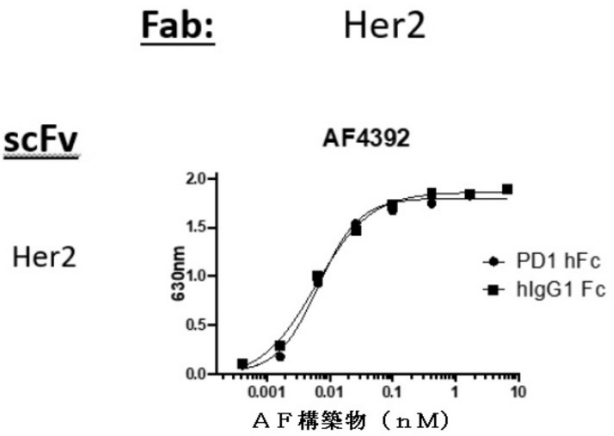
【図１７Ｃ】



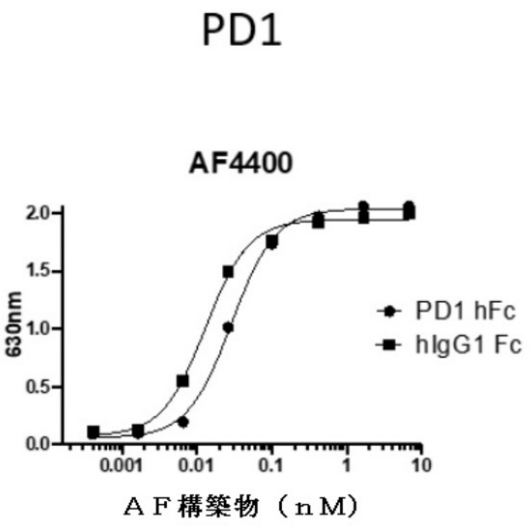
【図１７Ｄ】



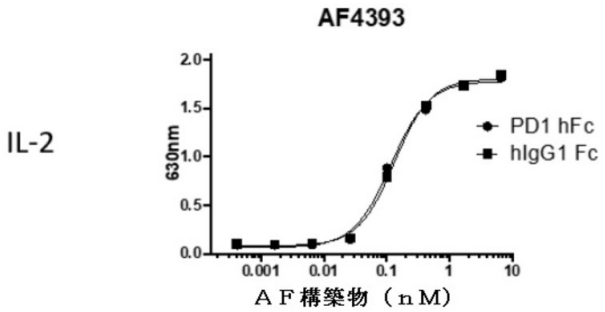
【図１７Ｅ】



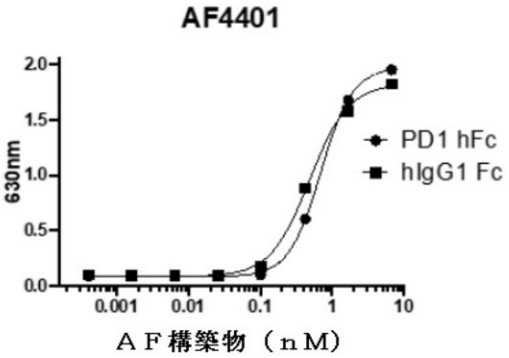
【図１７Ｆ】



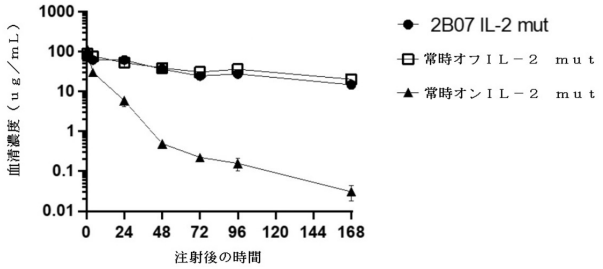
【図１７Ｇ】



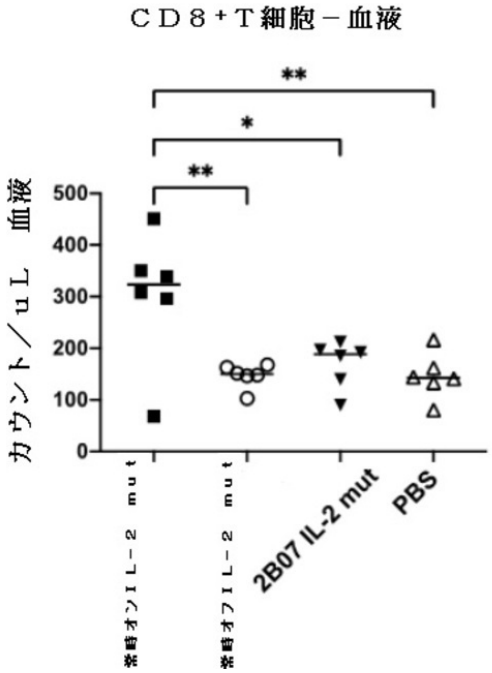
【図１７Ｈ】



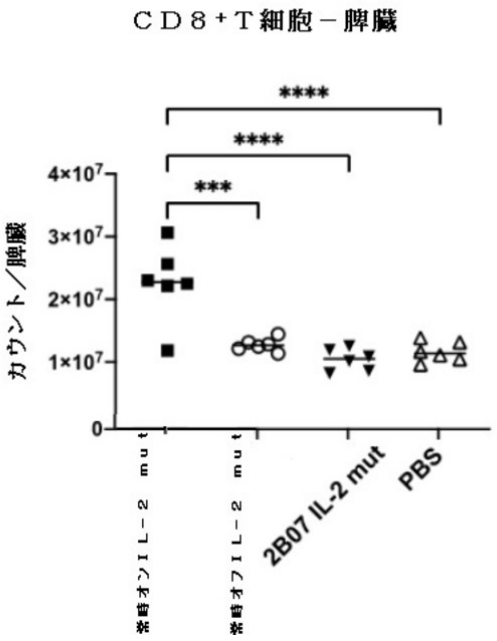
【図１８】



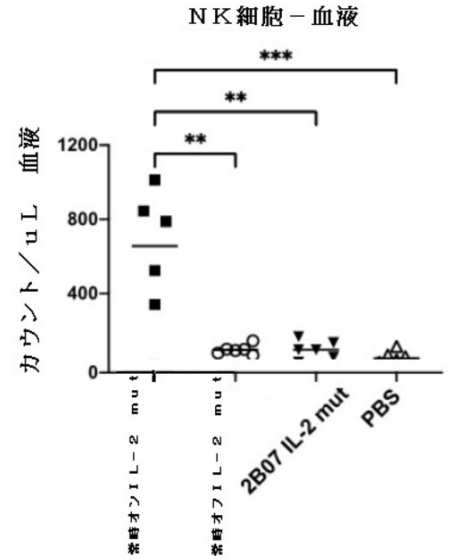
【図１９Ａ】



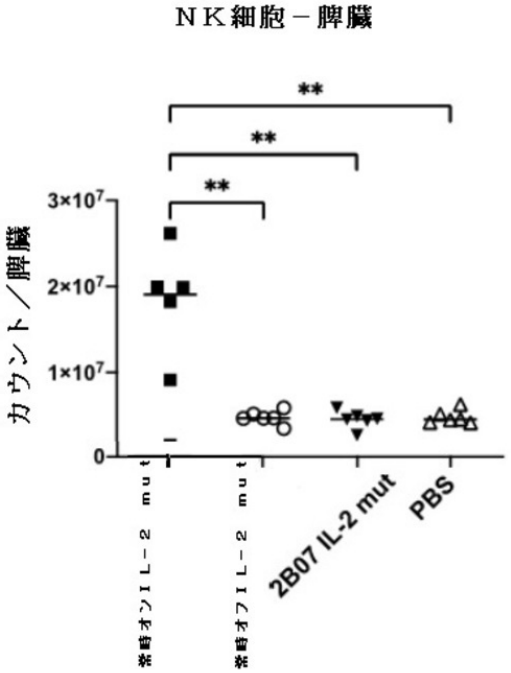
【図１９Ｂ】



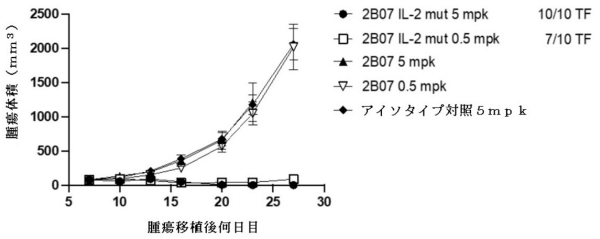
【図１９Ｃ】



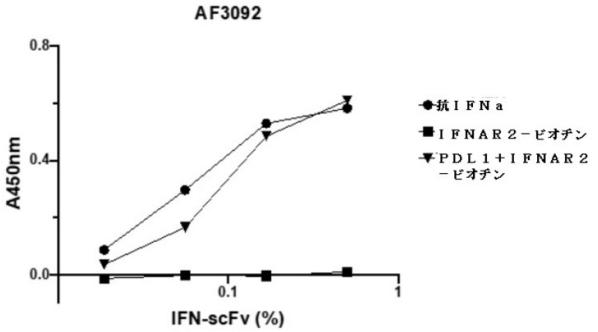
【図１９Ｄ】



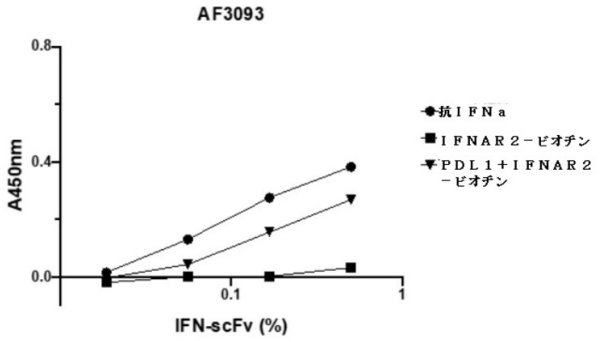
【図２０】



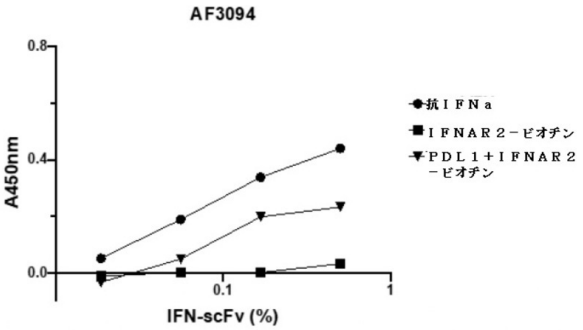
【図２１Ａ】



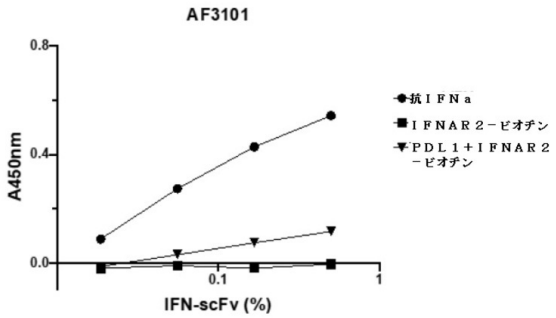
【図２１Ｂ】



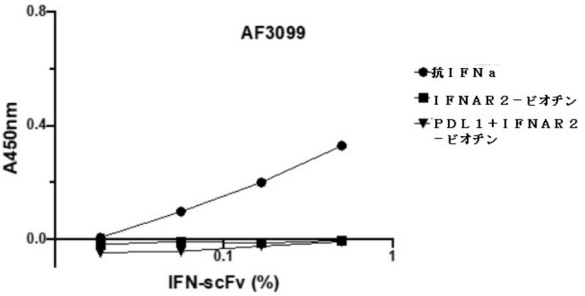
【図２１Ｃ】



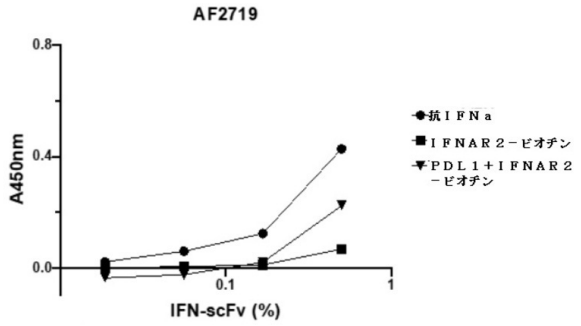
【図２１Ｄ】



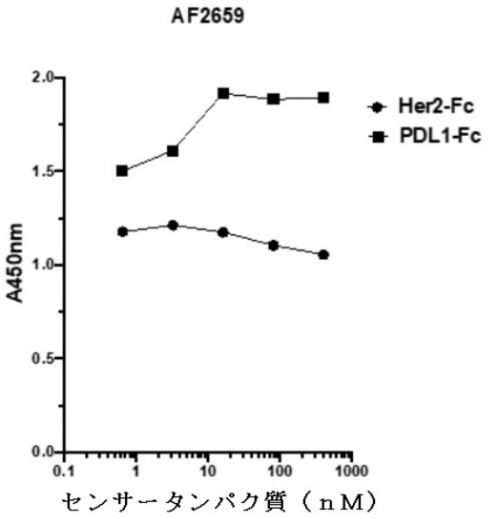
【図２１Ｅ】



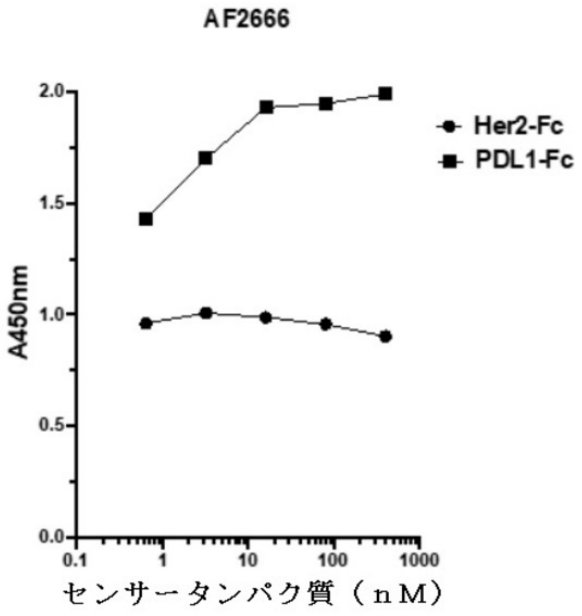
【図２１Ｆ】



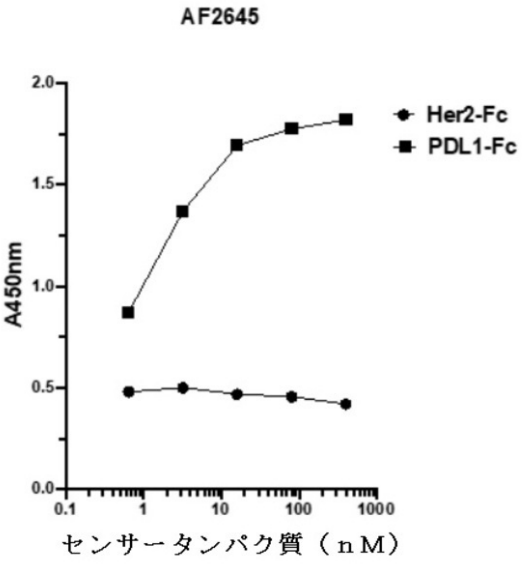
【図２２Ａ】



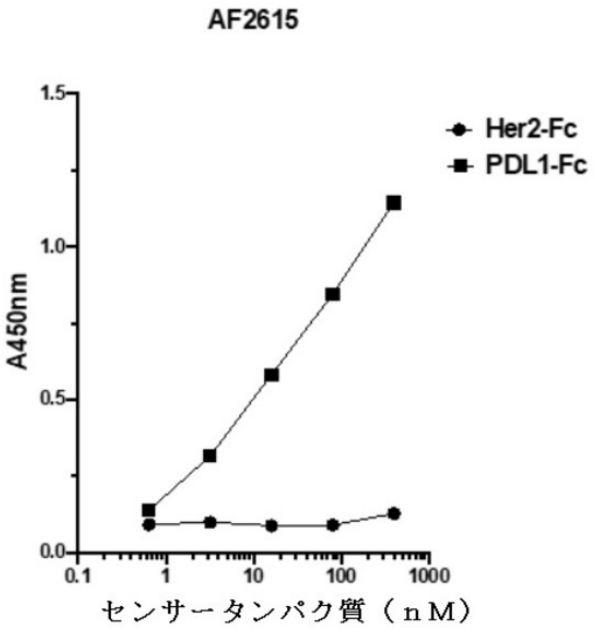
【図２２Ｂ】



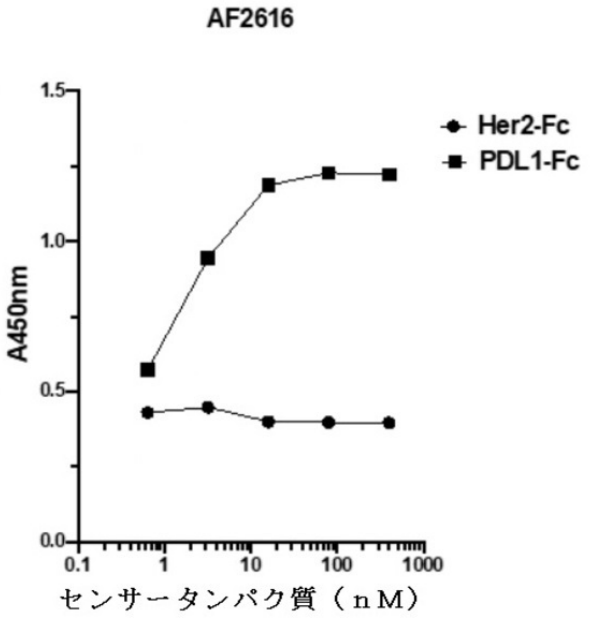
【図２２Ｃ】



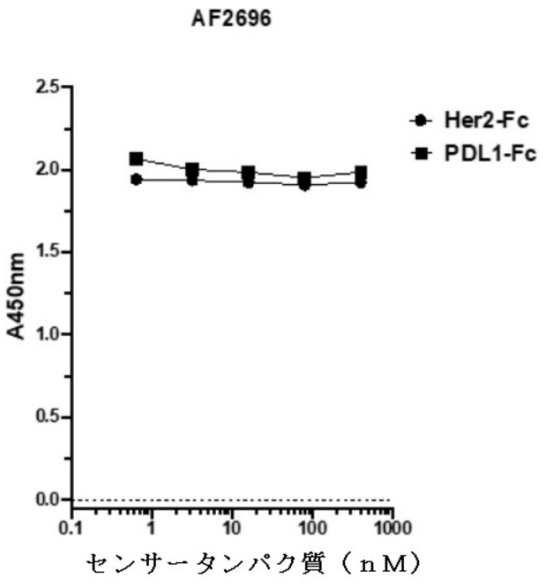
【図２２Ｄ】



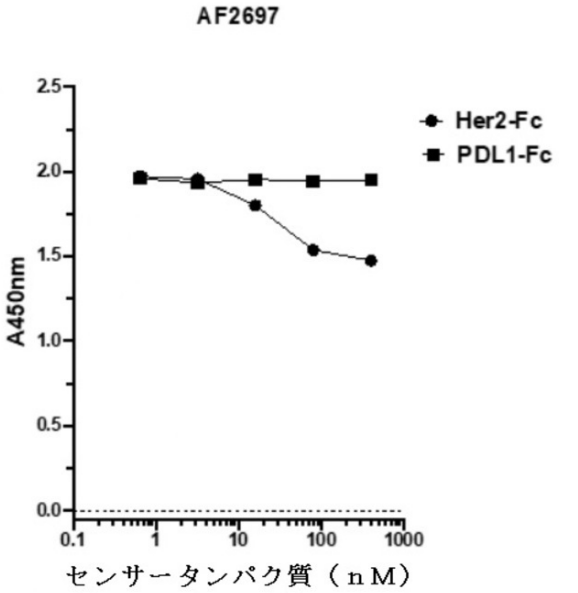
【図２２Ｅ】



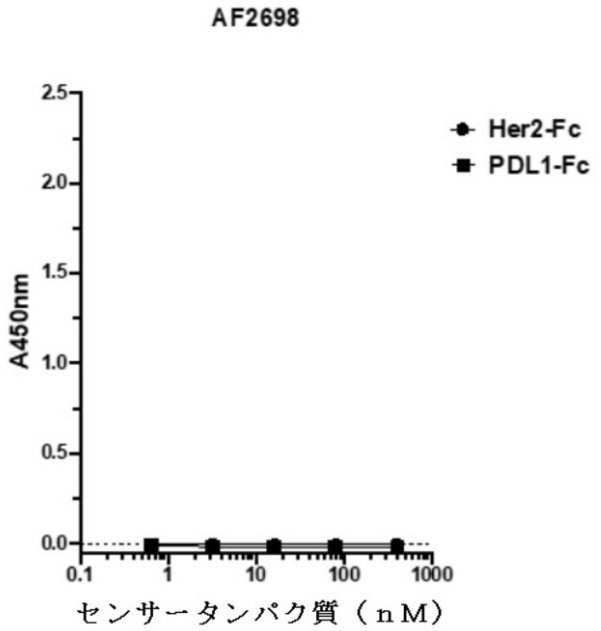
【図２２Ｆ】



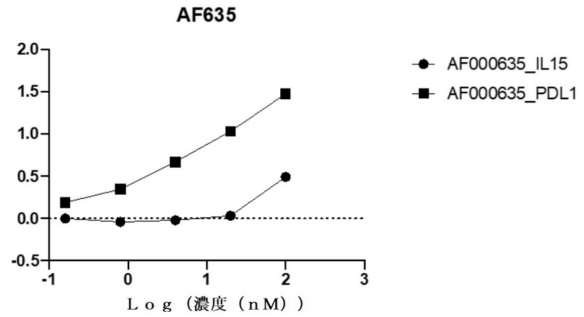
【図２２Ｇ】



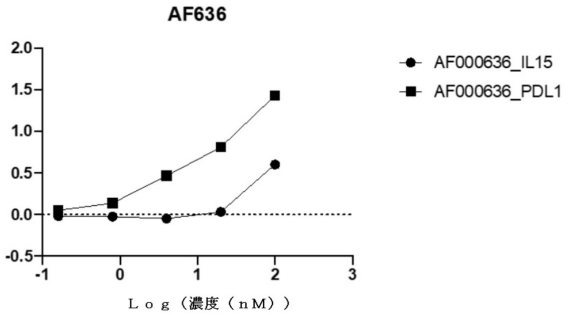
【図２２Ｈ】



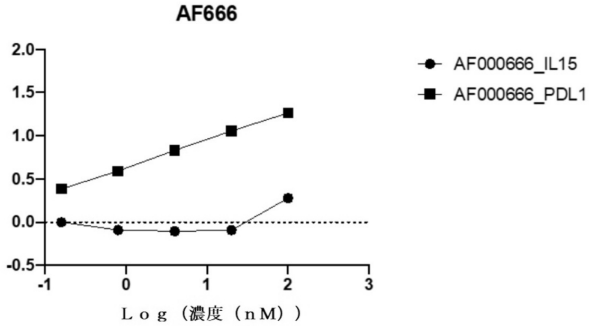
【図２３Ａ】



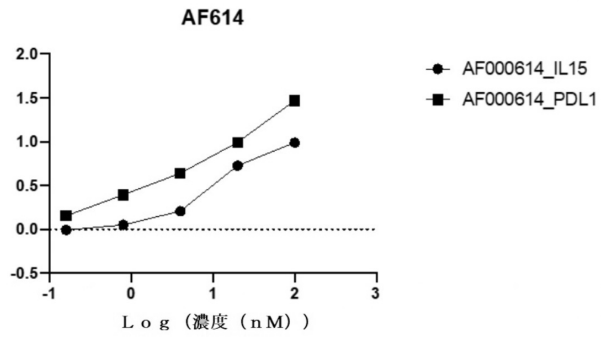
【図２３Ｂ】



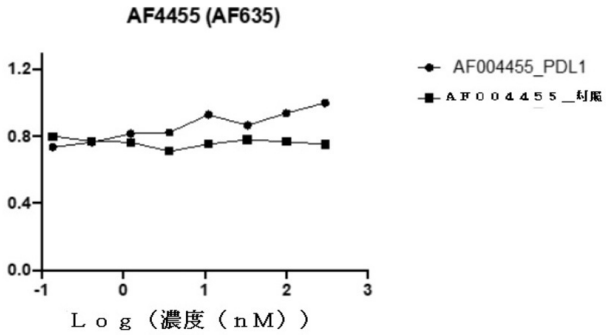
【図２３Ｃ】



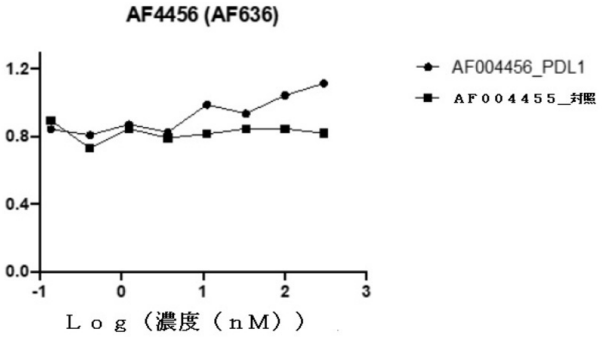
【図２３Ｄ】



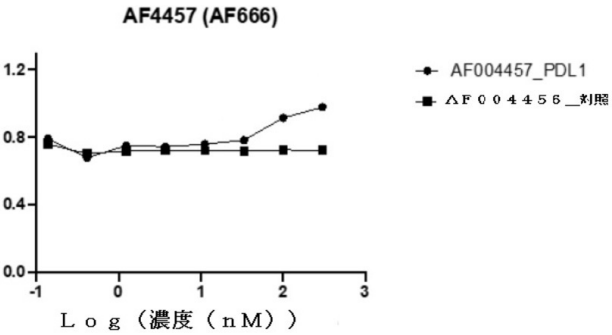
【図２４Ａ】



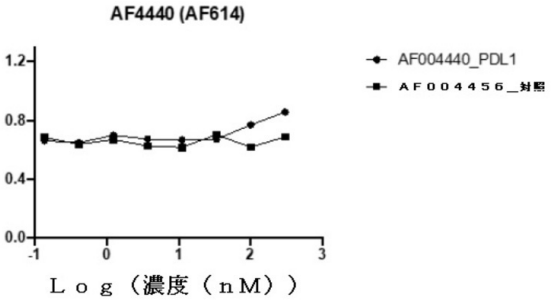
【図２４Ｂ】



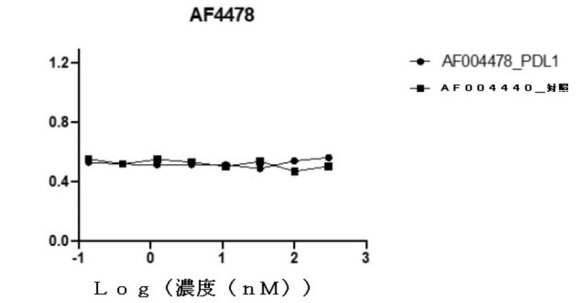
【図２４Ｃ】



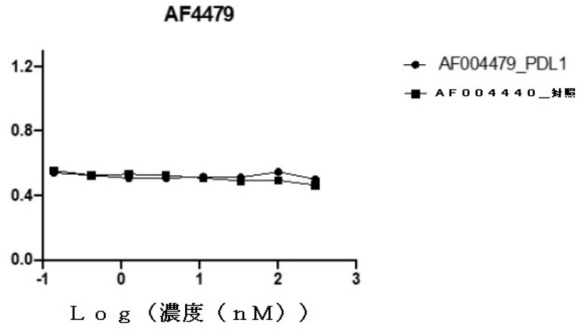
【図２４Ｄ】



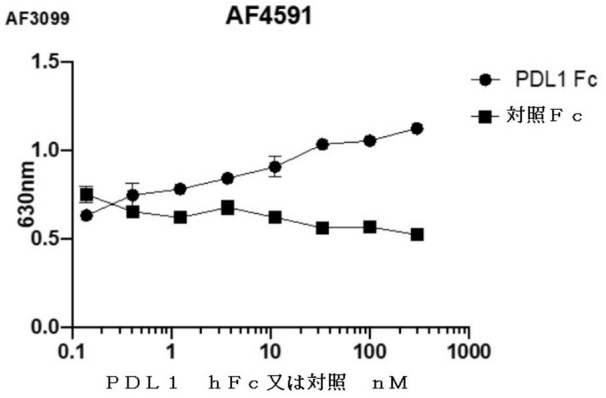
【図２４Ｅ】



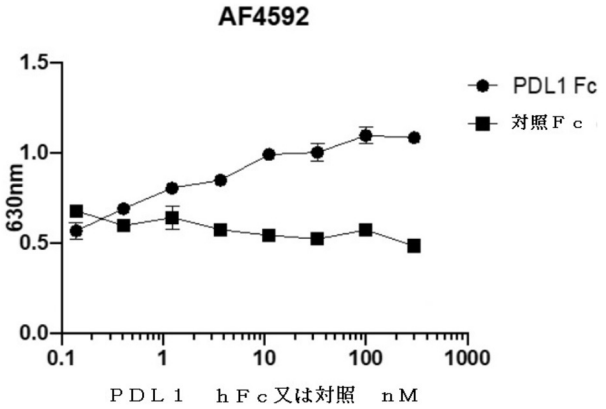
【図２４Ｆ】



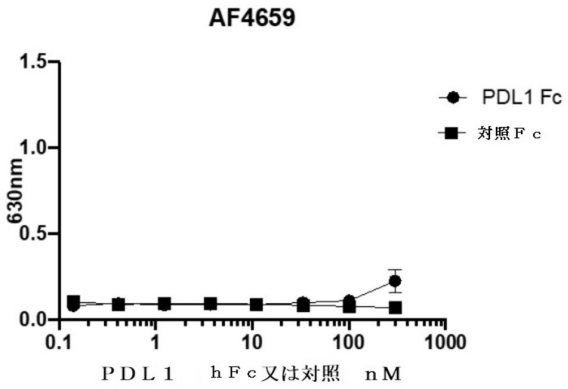
【図２５Ａ】



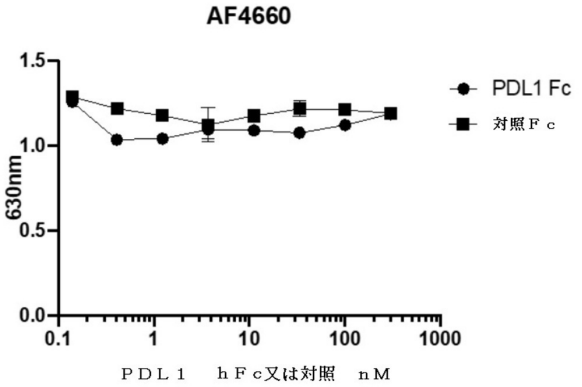
【図２５Ｂ】



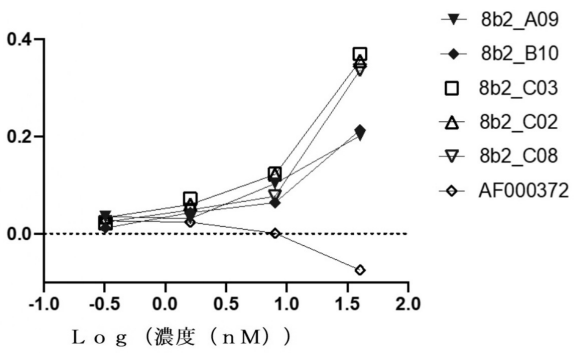
【図２５Ｃ】



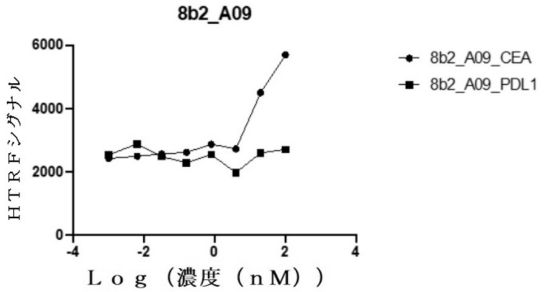
【図２５Ｄ】



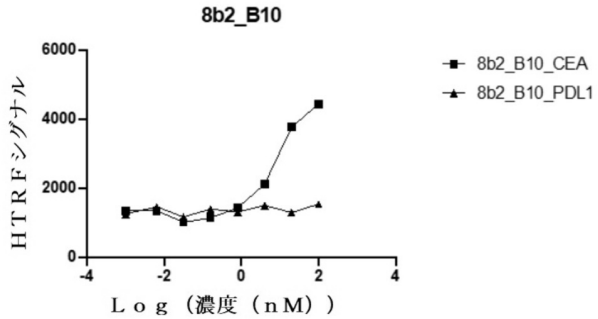
【図２６】



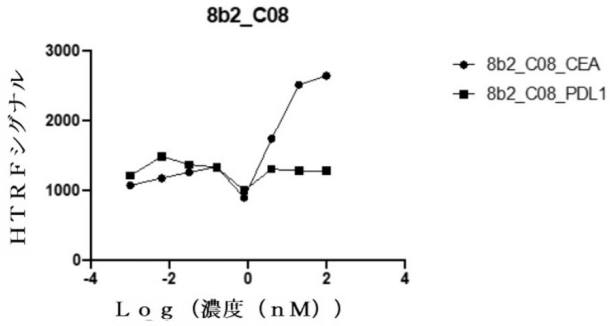
【図２７Ａ】



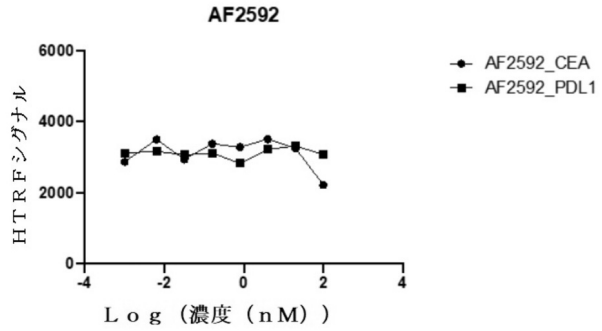
【図２７Ｂ】



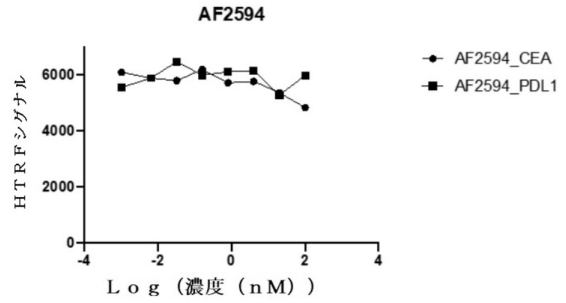
【図２７Ｃ】



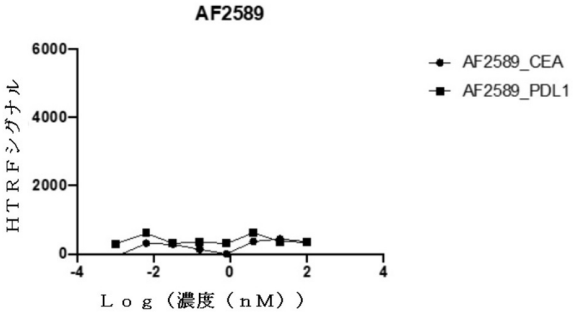
【図２７Ｄ】



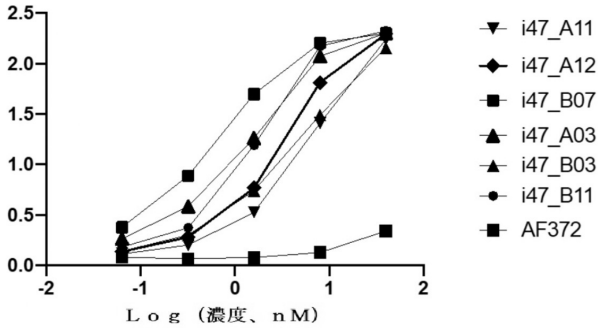
【図２７Ｅ】



【図２７Ｆ】



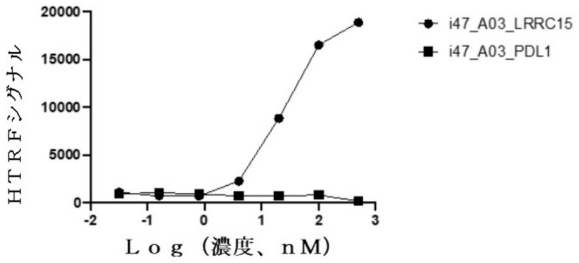
【図２８Ａ】



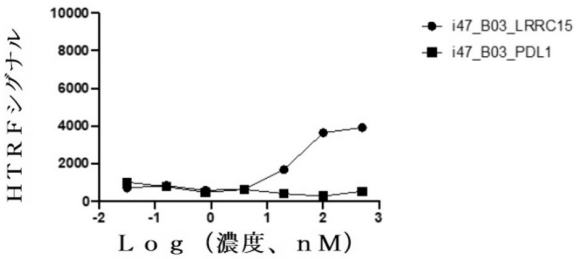
【図２８Ｂ】

クローンＩＤ	ＩＦＮα結合（５ｕＭで）	ELISA	配列番号
i47_A03	+	-	配列番号：**262**
I47_A11	+	-	**N/A**
I47_A12	+	-	**N/A**
I47_B03	+	-	配列番号：**263**
I47_B07	+	-	配列番号：**264**
I47_B11	+	-	配列番号：**264**
AF317	**(KD < 10nM)**	**+++**	配列番号：**257**
AF372	-	-	配列番号：**258**

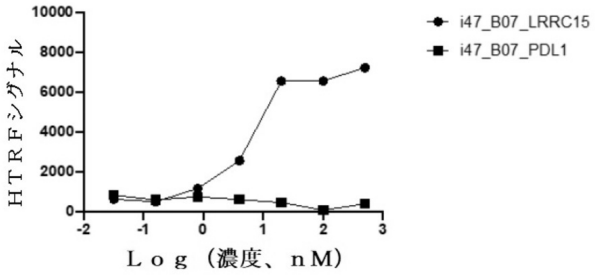
【図２９Ａ】



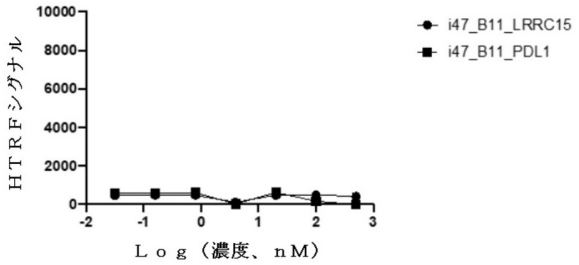
【図２９Ｂ】



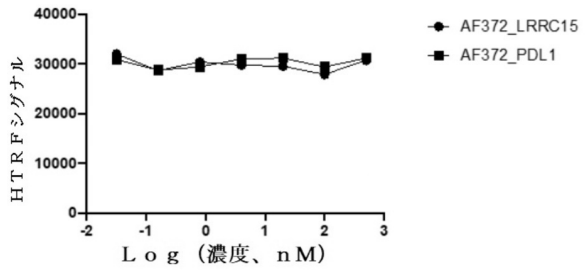
【図２９Ｃ】



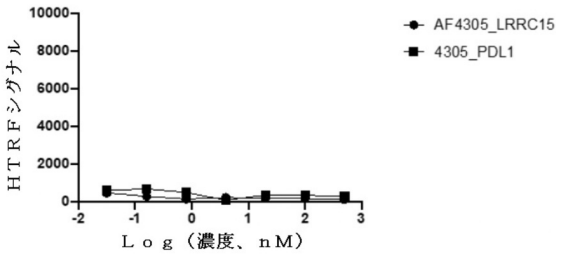
【図２９Ｄ】



【図２９Ｅ】



【図２９Ｆ】



【配列表】

2023526282000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US21/32313

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC - A61K 47/50; C07K 14/435; C07K 14/705; C07K 14/52; A61P 35/00 (2021.01)
CPC - C07K 14/435; A61K 47/50; C07K 14/705; C07K 14/52; A61P 35/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
See Search History document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
See Search History document

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2003/0143559 A1 (BRACKEN, et al.) 31 July 2003; figure 1; paragraphs [0011], [0042], [0163], [0209]	1-5
X	US 2019/0314455 A1 (SYNTHORX, Inc.) 17 October 2019; paragraphs [0005], [0135], [0163] [0211]; claim 1	1
X	WO 2015/123527 A1 (BELLICUM PHARMACEUTICALS, INC.) 20 August 2015; page 2, lines 1-5; page 7, lines 1-12, 29-35; page 8, lines 1-5; page 9, lines 5-10	1
A	US 2017/0198308 A1 (THE BOARD OF TRUSTEES OF THE LELAND STANFORD JUNOR UNIVERSITY) 13 July 2017; entire publication	1

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

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

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
10 August 2021 (10.08.2021)	SEP 22 2021
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Shane Thomas Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US21/32313

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

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

   a. ☐ forming part of the international application as filed:

      ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file.

      ☐ on paper or in the form of an image file.

   b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13*ter*.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

   c. ☒ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

      ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13*ter*.1(a)).

      ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

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

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US21/32313

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

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

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

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

3. ☒ Claims Nos.: 6-98
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

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

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

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

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

Remark on Protest

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

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

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (2)) (July 2019)

フロントページの続き

(51)国際特許分類			FI			テーマコード（参考）
C07K	*16/18*	*(2006.01)*	C07K	16/18		
C07K	*16/28*	*(2006.01)*	C07K	16/28		
C07K	*16/24*	*(2006.01)*	C07K	16/24		
C07K	*14/54*	*(2006.01)*	C07K	14/54		
C07K	*14/56*	*(2006.01)*	C07K	14/56		
C07K	*14/57*	*(2006.01)*	C07K	14/57		
C07K	*14/55*	*(2006.01)*	C07K	14/55		
C07K	*14/495*	*(2006.01)*	C07K	14/495		
A61P	*35/00*	*(2006.01)*	A61P	35/00		
A61P	*37/02*	*(2006.01)*	A61P	37/02		
A61P	*31/12*	*(2006.01)*	A61P	31/12		
A61K	*47/68*	*(2017.01)*	A61K	47/68		
A61K	*38/20*	*(2006.01)*	A61K	38/20		
A61K	*38/21*	*(2006.01)*	A61K	38/21		
A61K	*39/395*	*(2006.01)*	A61K	39/395	D	
			A61K	39/395	N	

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

（特許庁注：以下のものは登録商標）

１．ＴＷＥＥＮ

(72)発明者 キルブリュー，ジャスティン リチャード
アメリカ合衆国 ９８１０３ ワシントン州 シアトル ノース ３４番 ストリート ４５４ １階
(72)発明者 ホレンボー，ダイアン ルイーズ
アメリカ合衆国 ９８１０３ ワシントン州 シアトル ノース ３４番 ストリート ４５４ １階

Ｆターム（参考） 4C076 BB13 BB15 BB16 CC07 CC27 CC35 CC41 FF31
4C084 AA02 DA12 DA16 DA22 DA24 DA25 NA12 NA14 ZB071 ZB261 ZB331
4C085 AA13 BB11 BB41 BB42
4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 CA40 DA02 DA16 DA18 DA22 DA50 DA76