

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 1 部門第 1 区分

【発行日】令和 3 年 4 月 15 日 (2021.4.15)

【公表番号】特表 2020-508691 (P2020-508691A)

【公表日】令和 2 年 3 月 26 日 (2020.3.26)

【年通号数】公開・登録公報 2020-012

【出願番号】特願 2019-548419 (P2019-548419)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/62 (2006.01)

C 0 7 K 14/54 (2006.01)

C 0 7 K 16/24 (2006.01)

C 0 7 K 19/00 (2006.01)

C 1 2 N 15/63 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 31/00 (2006.01)

A 6 1 P 37/04 (2006.01)

A 6 1 P 35/02 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 38/20 (2006.01)

A 6 1 K 35/12 (2015.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/62 Z

C 0 7 K 14/54 Z N A

C 0 7 K 16/24

C 0 7 K 19/00

C 1 2 N 15/63 Z

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 31/00

A 6 1 P 37/04

A 6 1 P 35/02

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 38/20

A 6 1 K 35/12

【手続補正書】

【提出日】令和 3 年 3 月 5 日 (2021.3.5)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

少なくとも 2 種の可溶性タンパク質を含む単離された可溶性融合タンパク質複合体であって、

第 1 可溶性タンパク質は、インターロイキン - 15 (I L - 15) ドメイン及び I L - 1 2 ドメインを含み、前記 I L - 1 5 ドメイン及び前記 I L - 1 2 ドメインはそれぞれ実質的に配列番号 8 と同一であり、及び

第 2 可溶性タンパク質は、I L - 1 8 ドメイン、及びホモ二量体免疫グロブリン結晶化

可能断片 (F c) ドメインに融合された可溶性 I L - 1 5 受容体アルファ s u s h i 結合ドメイン (I L - 1 5 R S u) を含み、前記 I L - 1 8 ドメイン及び前記 I L - 1 5 R S u ドメインはそれぞれ実質的に配列番号 6 と同一であり、

前記ホモ二量体免疫グロブリン F c ドメインは、ジスルフィド結合により共有結合された 2 つの単量体を含み、

前記第 1 可溶性タンパク質の前記 I L - 1 5 ドメインは、前記第 2 可溶性タンパク質の前記 I L - 1 5 R S u ドメインに結合して可溶性融合タンパク質複合体を形成する、単離された可溶性融合タンパク質複合体。

【請求項 2】

前記 I L - 1 2 ドメインは、I L - 1 2 の p 4 0 及び p 3 5 サブユニットを含む、請求項 1 に記載の可溶性融合タンパク質複合体。

【請求項 3】

I L - 1 2 の前記 p 4 0 及び p 3 5 サブユニットは、可動性のポリペプチドリンカーによって一本鎖フォーマット内に連結されている、請求項 2 に記載の可溶性融合タンパク質複合体。

【請求項 4】

前記第 1 可溶性タンパク質は、配列番号 8 に規定されたアミノ酸配列を含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の可溶性融合タンパク質複合体。

【請求項 5】

前記第 2 可溶性タンパク質は、配列番号 6 に規定されたアミノ酸配列を含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の可溶性融合タンパク質複合体。

【請求項 6】

前記第 1 可溶性タンパク質は、前記第 1 可溶性タンパク質の F c ドメインを前記第 2 可溶性タンパク質の F c ドメインに連結するジスルフィド結合によって前記第 2 可溶性タンパク質に共有結合されている、請求項 1 に記載の可溶性融合タンパク質複合体。

【請求項 7】

前記第 1 又は第 2 可溶性タンパク質は、疾患抗原及び / 又は免疫チェックポイント若しくはシグナル伝達分子に結合する結合ドメインをさらに含む、請求項 1 に記載の可溶性融合タンパク質複合体。

【請求項 8】

前記疾患抗原は、新生物又は感染性疾患に関連している、請求項 7 に記載の可溶性融合タンパク質複合体。

【請求項 9】

少なくとも 2 種の可溶性タンパク質を含む単離された可溶性融合タンパク質複合体であって、

第 1 可溶性タンパク質は、インターロイキン - 1 5 (I L - 1 5) ドメイン及び I L - 1 8 ドメインを含み、前記 I L - 1 5 ドメイン及び前記 I L - 1 8 ドメインはそれぞれ実質的に配列番号 4 と同一であり、及び

第 2 可溶性タンパク質は、I L - 1 2 ドメイン、及びホモ二量体免疫グロブリン結晶化可能断片 (F c) ドメインに融合された可溶性 I L - 1 5 受容体アルファ s u s h i 結合ドメイン (I L - 1 5 R S u) を含み、

I L - 1 2 ドメイン及び I L - 1 5 R S u ドメインはそれぞれ実質的に配列番号 2 と同一であり、

前記ホモ二量体免疫グロブリン F c ドメインは、ジスルフィド結合により共有結合された 2 つの単量体を含み、

前記第 1 可溶性タンパク質の前記 I L - 1 5 ポリペプチドドメインは、前記第 2 可溶性タンパク質の前記 I L - 1 5 R S u ドメインに結合して可溶性融合タンパク質複合体を形成する、単離された可溶性融合タンパク質複合体。

【請求項 10】

前記 I L - 1 2 ドメインは、I L - 1 2 の p 4 0 及び p 3 5 サブユニットを含む、請求

項 9 に記載の可溶化融合タンパク質複合体。

【請求項 1 1】

IL - 1 2 の前記 p 4 0 及び p 3 5 サブユニットは、フレキシブルなポリペプチドリンカーによって一本鎖フォーマット内に連結されている、請求項 1 0 に記載の可溶化融合タンパク質複合体。

【請求項 1 2】

前記第 1 可溶性タンパク質は、配列番号 4 に規定されたアミノ酸配列を含む、請求項 9 ~ 1 1 のいずれか一項に記載の可溶化融合タンパク質複合体。

【請求項 1 3】

前記第 2 可溶性タンパク質は、配列番号 2 に規定されたアミノ酸配列を含む、請求項 9 ~ 1 1 のいずれか一項に記載の可溶化融合タンパク質複合体。

【請求項 1 4】

前記第 1 可溶性タンパク質は、前記第 1 可溶性タンパク質の F c ドメインを前記第 2 可溶性タンパク質の F c ドメインに連結するジスルフィド結合によって前記第 2 可溶性タンパク質に共有結合されている、請求項 9 に記載の可溶化タンパク質複合体。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 0 6

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 0 6】

したがって、少なくとも 2 種の可溶性タンパク質を含む単離された可溶性融合タンパク質複合体が提供される。例えば、第 1 タンパク質は、IL - 1 5 ポリペプチド、例えば N 7 2 D 突然変異を含む変異 IL - 1 5 ポリペプチド (IL - 1 5 N 7 2 D) を含む。第 2 タンパク質は、免疫グロブリン F c ドメイン (IL - 1 5 R Su / F c) に融合された可溶性 IL - 1 5 受容体アルファ s u s h i 結合ドメイン (IL - 1 5 R Su) を含む。単離された可溶性融合タンパク質複合体の第 3 成分は、IL - 1 2 の結合ドメインを含み、ここで、IL - 1 2 結合ドメインは、IL - 1 5 N 7 2 D 又は IL - 1 5 R Su / F c タンパク質のいずれかに融合されている。単離された可溶性融合タンパク質複合体の第 4 成分は、IL - 1 8 の結合ドメインを含み、ここで、IL - 1 8 結合ドメインは、IL - 1 5 N 7 2 D 又は IL - 1 5 R Su / F c タンパク質のいずれかに融合されている。一部の場合、IL - 1 2 及び / 又は IL - 1 8 結合ドメインは、IL - 1 5 N 7 2 D 及び IL - 1 5 R Su / F c タンパク質の両方に融合されている。他の場合、IL - 1 2 又は IL - 1 8 結合ドメインのいずれかは、IL - 1 5 N 7 2 D 又は IL - 1 5 R Su / F c タンパク質に融合されており、別の結合ドメインは、他のタンパク質に融合されている。他の場合、この複合体は、IL - 1 2 を含まない IL - 1 5 N 7 2 D : IL - 1 5 R Su - I g F c スカフォールドに融合された IL - 1 8 結合ドメイン又は IL - 1 2 を含まない IL - 1 5 N 7 2 D : IL - 1 5 R Su - I g F c スカフォールドに融合された IL - 1 8 結合ドメインを含む。融合は、タンパク質の N 末端又は C 末端で作成され得る。IL - 1 2 タンパク質は、p 4 0 及び p 3 5 の IL - 1 2 サブユニットのヘテロ二量体を含み得る。代わりに、IL - 1 2 タンパク質は、p 4 0 及び p 3 5 のサブユニットが可動性のポリペプチドリンカーによって連結されている一本鎖フォーマットを含み得る。一本鎖 IL - 1 2 は、p 3 5 の N 末端に連結された p 4 0 の C 末端又は p 4 0 の N 末端に連結された p 3 5 の C 末端のいずれかを含み得る。典型的な融合タンパク質複合体は、IL - 1 5 N 7 2 D に共有結合された IL - 1 8 ポリペプチド及び IL - 1 5 R Su / F c 融合タンパク質に共有結合された一本鎖 IL - 1 2 ポリペプチドを含む。代わりに、融合タンパク質複合体は、IL - 1 5 N 7 2 D に共有結合された一本鎖 IL - 1 2 ポリペプチド及び IL - 1 5 R Su / F c 融合タンパク質に共有結合された IL - 1 8 ポリペプチドを含む (図 1 A、1 B)。

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0034

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0034】

1つの実施形態では、IL-12結合ドメインは、IL-12のp40及びp35のサブユニットを含む。1つの実施形態では、IL-12のp40及びp35のサブユニットは、可動性のポリペプチドリinkerによって一本鎖フォーマット内に連結される。

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0129

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0129】

IL-12は、サブユニット(p35)及びサブユニット(p40)からなるジスルフィド結合ヘテロ二量体であり、ここで、サブユニットは、4ヘリックスバンドルの長鎖サイトカインからなり、サブユニットは、IL-6ファミリーの非シグナル伝達受容体と相同である。IL-12の結晶構造及び突然変異誘発分析は、サブユニット相互作用のために重要なp35/p40界面でのアミノ酸残基を規定した(Yoon, et al., 2000, EMBO J., 9, 3530-354)。例えば、p35における重要なアルギニン残基(R189)は、R189側鎖がp40上の親水性ポケット内に埋め込まれるようにp40内のアスパラギン酸(D290)と相互作用する。さらに、p40における構造変化は、これらの相互作用を最適化する際に重要な可能性がある。この情報に基づき、改善されたサブユニット相互作用を示すアミノ酸変化を含有するIL-12変異体を生成し得る。さらに、p40のN末端に連結したp35のC末端を通して又はその逆を通してのいずれかで可動性リンカーによってp40サブユニットに連結されたp35サブユニットからなるIL-12の一本鎖形を生成し得る。そのような変異体は、IL-12結合ドメインの発現、サブユニット相互作用及び/又は安定性を最適化するために本発明の融合タンパク質複合体中に組み込まれ得る。同様に、遺伝子発現、翻訳、翻訳後修飾及び/又は分泌を改善するためにIL-12遺伝子及び発現構築物を修飾し得る(すなわちコドン最適化、二次構造の除去)。

【手続補正5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0147

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0147】

リンカー

一部の場合、本発明の融合タンパク質複合体は、IL-15又はIL-15Rドメインと、IL-12及び/若しくはIL-18結合ドメイン又はIL-12サブユニットとの間に挿入された可動性リンカー配列も含む。リンカー配列は、IL-15又はIL-15Rドメインの両方の機能的活性を可能にするため、それらに関してポリペプチドの有効な配置を可能にしなければならない。代わりに、リンカーは、機能的IL-12結合ドメインの形成を可能にしなければならない。

【手続補正6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0150

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0150】

本発明の融合タンパク質複合体は、好ましくは、IL - 15又はIL - 15R ドメインと免疫グロブリンFcドメインとの間に挿入された可動性リンカー配列も含む。リンカー配列は、各ドメインの機能的活性を可能にするため、Fcドメイン、生物活性ポリペプチド及びIL - 15又はIL - 15R ドメインの効果的な配置を可能にしなければならない。例えば、Fcドメインは、オプソニン作用、細胞溶解、肥満細胞、好塩基球及び好酸球の脱顆粒並びに他のFc受容体依存性プロセス；補体経路の活性化；並びに融合タンパク質複合体のインビボ半減期の増強を含むFc媒介性作用を刺激するために、適正な融合タンパク質複合体の形成及び/又は免疫細胞上のFc受容体若しくは補体系のタンパク質との相互作用を可能にするように効果的に配置される。

【手続補正7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0152

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0152】

好ましくは、リンカー配列は、約7～20個のアミノ酸、より好ましくは約10～20個のアミノ酸を含む。リンカー配列は、好ましくは、単一の望ましくない立体配座に生物活性ポリペプチド又はエフェクター分子を保持することがないように可動性である。リンカー配列は、例えば、認識部位を融合分子から間隔を空けるために使用できる。詳細には、ペプチドリリンカー配列は、例えば、同一物を化学的に架橋結合するため及び分子の可動性を提供するために生物活性ポリペプチドとエフェクター分子との間に配置され得る。リンカーは、好ましくは、主として、可動性を提供するために、グリシン、アラニン及びセリンなどの短い側鎖を有するアミノ酸を含む。好ましくは、リンカー配列の約80又は90%以上がグリシン、アラニン又はセリン残基、特にグリシン及びセリン残基を含む。

【手続補正8】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0153

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0153】

抗体可変領域を一緒に接合するために使用されるのに成功してきた多数の可動性リンカー設計のいずれかを含む、様々なリンカー配列を使用し得る（例えば、Whitlow, M. et al., (1991) Methods: A Companion to Methods in Enzymology, 2:97-105を参照されたい）。

【手続補正9】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0222

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0222】

詳細には、IL - 12及び/又はIL - 18ドメインをIL - 15N72D及びIL - 15R Su/Fc鎖に連結する構築物を作成した。IL - 12の場合、成熟サイトカインは、活性一本鎖形を生成するために可動性リンカーを介して連結され得る2つのポリペプチドサブユニット（p40及びp35）からなる。一部の場合、IL - 12又はIL - 18ポリペプチドのいずれかがIL - 15N72D及び/又はIL - 15R Su/Fc鎖のN末端に連結されている。他の場合、IL - 12又はIL - 18ポリペプチドは、IL - 15N72D及び/又はIL - 15R Su/Fc鎖のN末端に連結されている。IL - 12及び/又はIL - 18結合ドメインに融合されたIL - 15N72D:IL - 15R Su/Fcスカフォールドを含む特異的融合タンパク質複合体について下記で記載する。

【手続補正 10】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0262

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0262】

本発明をその好ましい実施形態を参照して具体的に示すと共に説明してきたが、添付の特許請求の範囲に包含される本発明の範囲から逸脱しない限り、様式及び詳細について多様な変更形態が可能であることが当業者に理解されるであろう。

本発明は以下の実施形態を含む。

[1]

少なくとも2種の可溶性タンパク質を含む単離された可溶性融合タンパク質複合体であって、

第1可溶性タンパク質は、インターロイキン-15 (IL-15) ポリペプチドドメインを含み、及び第2可溶性タンパク質は、免疫グロブリンFcドメインに融合された可溶性IL-15受容体アルファ α 結合ドメイン (IL-15R α) を含み、

前記第1又は第2可溶性タンパク質は、IL-18結合ドメイン又はその機能的断片をさらに含み、

前記第1又は第2可溶性タンパク質は、IL-12結合ドメイン又はその機能的断片をさらに含み、

前記第1可溶性タンパク質の前記IL-15ポリペプチドドメインは、前記第2可溶性タンパク質の前記IL-15R α ドメインに結合して可溶性融合タンパク質複合体を形成する、単離された可溶性融合タンパク質複合体。

[2]

前記IL-15ポリペプチドは、N72D突然変異を含むIL-15変異体 (IL-15N72D) である、[1] に記載の可溶性融合タンパク質複合体。

[3]

前記IL-12結合ドメインは、IL-12のp40及びp35サブユニットを含む、[1] に記載の可溶性融合タンパク質複合体。

[4]

IL-12の前記p40及びp35サブユニットは、可撓性ポリペプチドリッカーによって一本鎖フォーマット内に連結されている、[3] に記載の可溶性融合タンパク質複合体。

[5]

前記第1可溶性タンパク質は、配列番号2又は6の1つに規定されたアミノ酸配列を含む、[2] ~ [4] のいずれか一項に記載の可溶性融合タンパク質複合体。

[6]

前記第2可溶性タンパク質は、配列番号4又は8の1つに規定されたアミノ酸配列を含む、[2] ~ [4] のいずれか一項に記載の可溶性融合タンパク質複合体。

[7]

[1] に記載の第2可溶性融合タンパク質複合体に共有結合されている、[1] に記載の第1可溶性融合タンパク質複合体を含む可溶性融合タンパク質複合体。

[8]

前記第1可溶性融合タンパク質複合体は、前記第1可溶性融合タンパク質複合体のFcドメインを前記第2可溶性融合タンパク質複合体のFcドメインに連結するジスルフィド結合によって前記第2可溶性融合タンパク質複合体に共有結合されている、[7] に記載の可溶性融合タンパク質複合体。

[9]

前記第1又は第2可溶性タンパク質は、疾患抗原及び/又は免疫チェックポイント若しくはシグナル伝達分子に結合する結合ドメインをさらに含む、[1] に記載の可溶性融合

タンパク質複合体。

[1 0]

前記疾患抗原は、新生物又は感染性疾患に関連している、[9]に記載の可溶性融合タンパク質複合体。

[1 1]

[5]に記載の第1可溶性タンパク質をコードする核酸配列であって、配列番号1又は5の1つに規定された配列を含む核酸配列。

[1 2]

前記可溶性タンパク質をコードする前記配列に機能的に連結されたプロモーター、翻訳開始シグナル及びリーダー配列をさらに含む、[1 1]に記載の核酸配列。

[1 3]

[6]に記載の第2可溶性タンパク質をコードする核酸配列であって、配列番号3又は7の1つに規定された配列を含む核酸配列。

[1 4]

前記可溶性タンパク質をコードする前記配列に機能的に連結されたプロモーター、翻訳開始シグナル及びリーダー配列をさらに含む、[1 3]に記載の核酸配列。

[1 5]

[1 1]及び/又は[1 3]に記載の核酸配列を含むDNAベクター。

[1 6]

免疫機能を増強するための方法であって、

a)複数の細胞を[1]～[1 0]のいずれか一項に記載の可溶性融合タンパク質複合体と接触させる工程であって、前記複数の細胞は、前記IL-15ポリペプチドドメインに結合するIL-15R鎖、前記IL-12ドメインに結合するIL-12R鎖及び/又は前記IL-18ドメインに結合するIL-18R鎖を含む免疫細胞をさらに含む、工程と、

b)前記IL-15R、IL-12R及び/又はIL-18Rのシグナル伝達を介して前記免疫細胞を活性化する工程とを含む方法。

[1 7]

標的細胞を殺傷するための方法であって、

a)複数の細胞を[1]～[1 0]のいずれか一項に記載の可溶性融合タンパク質複合体と接触させる工程であって、前記複数の細胞は、前記IL-15ポリペプチドドメインに結合するIL-15R鎖、前記IL-12ドメインに結合するIL-12R鎖及び/又は前記IL-18ドメインに結合するIL-18R鎖を含む免疫細胞と、標的疾患細胞とをさらに含む、工程と、

b)前記IL-15R、IL-12R及び/又はIL-18Rのシグナル伝達を介して前記免疫細胞を活性化する工程と、

c)前記活性化免疫細胞によって前記標的疾患細胞を殺傷する工程とを含む方法。

[1 8]

前記標的細胞は、腫瘍細胞又は感染細胞である、[1 7]に記載の方法。

[1 9]

対象における免疫応答を増強する方法であって、

a)複数の細胞を[1]～[1 0]のいずれか一項に記載の可溶性融合タンパク質複合体と接触させる工程であって、前記複数の細胞は、前記IL-15ポリペプチドドメインに結合するIL-15R鎖、前記IL-12ドメインに結合するIL-12R鎖及び/又は前記IL-18ドメインに結合するIL-18R鎖を含む免疫細胞をさらに含む、工程と、

b)前記IL-15R、IL-12R及び/又はIL-18Rのシグナル伝達を介して前記免疫細胞を活性化する工程と、

c) 前記活性化免疫細胞を患者に投与する(又は養子移入する)工程と、
d) 前記患者における免疫応答を増強する工程と
を含む方法。

[2 0]

患者における疾患を予防又は治療する方法であって、
a) 複数の細胞を [1] ~ [1 0] のいずれか一項に記載の可溶性融合タンパク質複合体と接触させる工程であって、前記複数の細胞は、前記 I L - 1 5 ドメインに結合する I L - 1 5 R 鎖、前記 I L - 1 2 ドメインに結合する I L - 1 2 R 鎖及び / 又は前記 I L - 1 8 ドメインによって認識される I L - 1 8 R 鎖を含む免疫細胞をさらに含む、工程と、
b) 前記 I L - 1 5 R、I L - 1 2 R 及び / 又は I L - 1 8 R のシグナル伝達を介して前記免疫細胞を活性化する工程と、
c) 有効量の前記活性化免疫細胞を前記患者に投与する(又は養子移入する)工程と、
d) 前記患者における前記疾患を予防又は治療するために十分な前記活性化免疫細胞を介して疾患細胞を損傷又は殺傷する工程と
を含む方法。

[2 1]

前記疾患は、新生物又は感染性疾患である、[2 0] に記載の方法。

[2 2]

対象における免疫応答を増強する方法であって、有効量の [1] ~ [1 0] のいずれか一項に記載の可溶性融合タンパク質複合体を前記対象に投与する工程を含む方法。

[2 3]

新生物又は感染性疾患の治療を、それを必要とする対象において行うための方法であって、[1] ~ [1 0] のいずれか一項に記載の可溶性融合タンパク質複合体を含む有効量の医薬組成物を前記対象に投与し、それにより前記新生物又は感染性疾患を治療する工程を含む方法。

[2 4]

前記新生物は、膠芽腫、前立腺癌、血液学的癌、B細胞新生物、多発性骨髄腫、B細胞リンパ腫、B細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病、急性骨髄性白血病、皮膚T細胞リンパ腫、T細胞リンパ腫、固形腫瘍、尿路上皮 / 膀胱癌、黒色腫、肺癌、腎細胞癌、乳癌、胃食道癌、前立腺癌、膵臓癌、結腸直腸癌、卵巣癌、非小細胞肺癌及び扁平上皮頭頸部癌からなる群から選択される、[2 1] 又は [2 3] に記載の方法。

[2 5]

前記免疫細胞は、NK細胞又はサイトカイン誘導性メモリー様(CIML)NK細胞である、[1 6] ~ [2 1] のいずれか一項に記載の方法。

[2 6]

前記活性化免疫細胞の前記有効量は、 1×10^4 細胞 / kg ~ 1×10^{10} 細胞 / kg である、[2 0] に記載の方法。

[2 7]

前記免疫細胞は、少なくとも週1回投与される、[2 0] に記載の方法。

[2 8]

前記有効量は、前記融合タンパク質複合体の約 $1 \sim 100 \mu\text{g} / \text{kg}$ である、[2 2] 又は [2 3] に記載の方法。

[2 9]

前記融合タンパク質複合体は、少なくとも週1回投与される、[2 2] 又は [2 3] に記載の方法。

[3 0]

前記融合タンパク質複合体は、免疫細胞増殖、活性化マーカー、標的細胞に対する細胞傷害性及び / 又は I F N - γ を含む前炎症性サイトカインの産生を増加させる、[1 6] ~ [2 9] のいずれか一項に記載の方法。

[3 1]

第 1 及び第 2 可溶性タンパク質を含む単離された可溶性融合タンパク質複合体であって、前記第 1 可溶性タンパク質は、IL - 12 若しくは IL - 18 結合ドメイン又はその機能的断片に連結されたインターロイキン - 15 (IL - 15) ポリペプチドドメインを含み、

前記第 2 可溶性タンパク質は、免疫グロブリンFcドメインに融合された可溶性IL - 15 受容体アルファsu sh i 結合ドメイン (IL - 15 R Su) を含み、前記IL - 15 R Suドメインは、IL - 12 若しくは IL - 18 結合ドメイン又はその機能的断片に連結されており、及び

前記第 1 可溶性タンパク質の前記IL - 15 ポリペプチドドメインは、前記第 2 可溶性タンパク質の前記IL - 15 R Suドメインに結合して可溶性融合タンパク質複合体を形成する、単離された可溶性融合タンパク質複合体。

[3 2]

IL - 12 及び / 若しくは IL - 18 結合ドメイン又はその機能的断片に連結されたインターロイキン - 15 (IL - 15) ポリペプチドドメインを含む単離された可溶性融合タンパク質複合体。

[3 3]

前記IL - 15 ポリペプチドドメインは、N72D突然変異を含むIL - 15 変異体 (IL - 15 N72D) である、[3 2] に記載の単離された可溶性融合タンパク質複合体。

[3 4]

免疫グロブリンFcドメインに融合された可溶性IL - 15 受容体アルファsu sh i 結合ドメイン (IL - 15 R Su) を含む単離された可溶性融合タンパク質複合体であって、前記IL - 15 R Suドメインは、IL - 12 及び / 若しくは IL - 18 結合ドメイン又はその機能的断片に連結されている、単離された可溶性融合タンパク質複合体。

[3 5]

第 1 及び第 2 可溶性タンパク質を含む単離された可溶性融合タンパク質複合体であって、前記第 1 可溶性タンパク質は、免疫グロブリンFcドメインに融合されたインターロイキン - 15 受容体アルファsu sh i 結合ドメイン (IL - 15 R Su) を含み、前記IL - 15 R Suドメインは、IL - 18 結合ドメイン又はその機能的断片に融合されており、

前記第 2 可溶性タンパク質は、IL - 18 ドメインに融合されたインターロイキン - 15 (IL - 15) ポリペプチドドメインを含み、

前記第 1 可溶性タンパク質の前記IL - 15 ポリペプチドドメインは、前記第 2 可溶性タンパク質の前記IL - 15 R Suドメインに結合して可溶性融合タンパク質複合体を形成する、単離された可溶性融合タンパク質複合体。

[3 6]

第 1 及び第 2 可溶性タンパク質を含む単離された可溶性融合タンパク質複合体であって、

前記第 1 可溶性タンパク質は、免疫グロブリンFcドメインに融合されたインターロイキン - 15 受容体アルファsu sh i 結合ドメイン (IL - 15 R Su) を含み、前記IL - 15 R Suドメインは、IL - 12 結合ドメイン又はその機能的断片に融合されており、

前記第 2 可溶性タンパク質は、IL - 12 ドメインに融合されたインターロイキン - 15 (IL - 15) ポリペプチドドメインを含み、

前記第 1 可溶性タンパク質の前記IL - 15 ポリペプチドドメインは、前記第 2 可溶性タンパク質の前記IL - 15 R Suドメインに結合して可溶性融合タンパク質複合体を形成する、単離された可溶性融合タンパク質複合体。

[3 7]

前記IL - 15 ポリペプチドドメインは、N72D突然変異を含むIL - 15 変異体 (

IL - 15 N72D)である、[35]又は[36]に記載の単離された可溶性融合タンパク質複合体。

[38]

インターロイキン - 15 ポリペプチドドメイン、第1及び第2可溶性タンパク質を含む単離された可溶性融合タンパク質複合体であって、

前記第1可溶性タンパク質は、免疫グロブリンFcドメインに融合されたインターロイキン - 15 受容体アルファsushi結合ドメイン(IL - 15 R Su)を含み、前記 IL - 15 R Suドメインは、IL - 12 及び / 若しくはIL - 18 結合ドメイン又はその機能的断片に連結されており、

第2可溶性タンパク質は、免疫グロブリンFcドメインに融合されたインターロイキン - 15 受容体アルファsushi結合ドメイン(IL - 15 R Su)を含み、前記 IL - 15 R Suドメインは、IL - 12 及び / 若しくはIL - 18 結合ドメイン又はその機能的断片に連結されており、

前記 IL - 15 ポリペプチドドメインは、前記第1及び / 又は第2可溶性タンパク質の前記 IL - 15 R Suドメインに結合して可溶性融合タンパク質複合体を形成する、単離された可溶性融合タンパク質。

[39]

免疫グロブリンFcドメインに融合されたインターロイキン - 15 受容体アルファsushi結合ドメイン(IL - 15 R Su)、第1及び第2可溶性タンパク質を含む単離された可溶性融合タンパク質であって、

前記第1可溶性タンパク質は、IL - 12 及び / 若しくはIL - 18 結合ドメイン又はその機能的断片に連結されたインターロイキン - 15 ポリペプチドドメインを含み、及び第2可溶性タンパク質は、IL - 12 及び / 若しくはIL - 18 結合ドメイン又はその機能的断片に連結されたインターロイキン - 15 ポリペプチドドメインを含み、

前記第1及び / 又は第2可溶性タンパク質の前記 IL - 15 ポリペプチドドメインは、前記 IL - 15 R Suドメインに結合して可溶性融合タンパク質複合体を形成する、単離された可溶性融合タンパク質。

[40]

前記 IL - 15 ポリペプチドドメインは、N72D突然変異を含むIL - 15 変異体(IL - 15 N72D)である、[38]又は[39]に記載の単離された可溶性融合タンパク質複合体。