

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2024-544757
(P2024-544757A)

(43)公表日 令和6年12月4日(2024.12.4)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 0 7 K	19/00 (2006.01)	C 0 7 K	19/00	Z N A	4 C 0 7 6
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	C 0 7 K	16/28		4 C 0 8 4
C 0 7 K	16/46 (2006.01)	C 0 7 K	16/46		4 C 0 8 5
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00		4 H 0 4 5
A 6 1 K	39/395(2006.01)	A 6 1 K	39/395	U	
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求
				(全169頁)	最終頁に続く

(21)出願番号	特願2024-529287(P2024-529287)	(71)出願人	514099673
(86)(22)出願日	令和4年11月17日(2022.11.17)		エフ・ホフマンーラ・ロシュ・アクチェ ンゲゼルシャフト
(85)翻訳文提出日	令和6年6月27日(2024.6.27)		スイス国 シーエイチー 4 0 7 0 バーゼ ル グレンツァッハーシュトラーセ 1 2 4
(86)国際出願番号	PCT/US2022/080043		110002077
(87)国際公開番号	WO2023/092006	(74)代理人	園田・小林弁理士法人
(87)国際公開日	令和5年5月25日(2023.5.25)		マリガン, ジョン トーマス
(31)優先権主張番号	63/280,494	(72)発明者	アメリカ合衆国 9 8 1 0 2 ワシントン , シアトル, イーストレーク アヴェ ニュー イースト 1 6 1 6
(32)優先日	令和3年11月17日(2021.11.17)		オカダ, シャノン リー
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(72)発明者	アメリカ合衆国 9 8 1 0 2 ワシントン , シアトル, イーストレーク アヴェ ニュー イースト 1 6 1 6
(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,A T,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		最終頁に続く

(54)【発明の名称】 タンパク質複合体の組成物およびその使用方法

(57)【要約】

リンカーによって連結されたセンサドメインと治療ドメインとを含むタンパク質複合体、およびその使用方法が、本明細書で提供される。本開示の態様では、治療ドメインの活性は、標的マーカーに結合するセンサドメインへの依存を含む。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

複合体であって、

(a) IL-2 ペプチドを含む治療ドメインと、

(b) リンカーと、

(c) 抗体を含むセンサドメインであって、前記センサドメインが、PD-1 および IL-2 に相互に排他的な様式で結合するように構成されている、センサドメインとを含み、

前記治療ドメインが、前記リンカーによって前記センサドメインに連結されている、複合体。

10

【請求項 2】

前記センサドメインが、(i) PD-1 の非存在下で IL-2 に結合し、かつ (ii) PD-1 の存在下で IL-2 に結合しないように構成されている、請求項 1 に記載の複合体。

【請求項 3】

前記抗体が、抗体断片または抗体誘導体である、請求項 1 または 2 に記載の複合体。

【請求項 4】

前記センサドメインが、PD-1 および IL-2 に結合するように構成された単一二重結合抗体 (DBA) を含む、請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項 5】

前記 DBA が、配列番号 11 ～ 20、154 ～ 156、168 ～ 173、114 ～ 119、415、421、433、439、445、451、457、463、469、475、481、487、493、499、505、511、517、523、529、535、541、547、553、559、565、571、577、583、589、595、601、607、613、619、625、631、637、643、649、655、661、または 667 のいずれか 1 つと少なくとも 80 % の同一性を有する重鎖 CDR3 を含む、請求項 1 ～ 4 のいずれか一項に記載の複合体。

20

【請求項 6】

前記 DBA が、表 3、表 7、表 8 または表 19 に列挙される配列のいずれかと少なくとも 80 % の同一性を有する配列を含む重鎖 CDR1、CDR2 または CDR3 を含む、請求項 1 ～ 4 のいずれか一項に記載の複合体。

30

【請求項 7】

前記 DBA が、表 18 に列挙される配列のいずれかと少なくとも 80 % の同一性を有する配列を含む V_H または V_L を含む、請求項 1 ～ 4 のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項 8】

前記複合体が、Fc ドメインを含む、請求項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項 9】

前記 Fc ドメインが、ホモ二量体である、請求項 8 に記載の複合体。

【請求項 10】

前記 Fc ドメインが、ヘテロ二量体である、請求項 8 に記載の複合体。

40

【請求項 11】

前記 Fc ドメインが、(a) ノブ変異を含む第 1 のポリペプチドと、(b) ホール変異を含む第 2 のポリペプチドとを含む、請求項 10 に記載の複合体。

【請求項 12】

前記ノブ変異が、または前記ホール変異が、IgG に対して以下の残基対：366 および 407、405 および 394、または 407 および 366 のいずれか 1 つの変異を含む、請求項 11 に記載の複合体。

【請求項 13】

前記ノブ変異が、アルギニン残基、フェニルアラニン残基、チロシン残基またはトリプトファン残基を含み、前記ホール変異が、アラニン残基、セリン残基、トレオニン残基ま

50

たはバリン残基を含む、請求項 12 に記載の複合体。

【請求項 14】

前記複合体が、全長 D B A を含むセンサドメインを含み、前記 I L - 2 ペプチドが、前記全長 D B A の重鎖の N 末端に連結されているか、または前記 I L - 2 ペプチドが、前記全長 D B A の軽鎖の N 末端に連結されている、請求項 1 ~ 12 のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項 15】

前記複合体が、全長 D B A を含むセンサドメインを含み、前記 I L - 2 ペプチドが、前記全長 D B A の重鎖の C 末端に連結されている、請求項 1 ~ 12 のいずれか一項に記載の複合体。

10

【請求項 16】

前記複合体が、

(a) N - [I L - 2] - [リンカー] - [V_H] - [C_H] - [ヒンジ] - F_c - C による第 1 のポリペプチドと、

N - [V_L] - [C_L] - C による第 2 のポリペプチドと

を含むか、または

(b) N - [V_H] - [C_H] - [ヒンジ] - F_c - C による第 1 のポリペプチドと、

N - [I L - 2] - [リンカー] - [V_L] - [C_L] - C による第 2 のポリペプチド

と

を含み、

20

式中、N - はペプチド N 末端を表し、C - はペプチド C 末端を表し、[リンカー] は前記リンカーを表し、V_H は前記 D B A の重鎖可変ドメインを示し、C_H は免疫グロブリンの重鎖定常ドメインを示し、V_L は前記 D B A の軽鎖可変ドメインを表し、[ヒンジ] は免疫グロブリンのヒンジ領域を表し、F_c は免疫グロブリンの F_c 領域を表し、C_L は免疫グロブリンの軽鎖定常ドメインを表す、請求項 1 ~ 9 または 13 のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項 17】

前記複合体が、A F 0 0 3 3 4 5、A F 0 0 3 2 4 3、A F 0 0 3 2 4 6、A F 0 0 3 2 4 7、A F 0 0 3 3 4 1、A F 0 0 3 6 4 4、A F 0 0 3 6 5 1、A F 0 0 3 6 5 7、または A F 0 0 3 9 3 4 のいずれか 1 つを含む、請求項 16 に記載の複合体。

30

【請求項 18】

前記複合体が、

(a) N - [I L - 2] - [リンカー] - [V_H] - [C_H] - [ヒンジ] - F_c [ノブ] - C による第 1 のポリペプチドと、

N - [V_L] - [C_L] - C による第 2 のポリペプチドと、

N - [V_H] - [C_H] - [ヒンジ] - F_c [ホール] - C による第 3 のポリペプチドと

を含むか、または

(b) N - [I L - 2] - [リンカー] - [V_H] - [C_H] - [ヒンジ] - F_c [ホール] - C による第 1 のポリペプチドと、

40

N - [V_L] - [C_L] - C による第 2 のポリペプチドと、

N - [V_H] - [C_H] - [ヒンジ] - F_c [ノブ] - C による第 3 のポリペプチドと

を含み、

式中、N - はペプチド N 末端を表し、C - はペプチド C 末端を表し、[リンカー] は前記リンカーを表し、V_H は前記 D B A の重鎖可変ドメインを示し、C_H は免疫グロブリンの重鎖定常ドメインを示し、V_L は前記 D B A の軽鎖可変ドメインを表し、[ヒンジ] は免疫グロブリンのヒンジ領域を表し、F_c [ノブ] はノブ変異を含む免疫グロブリンの F_c を表し、F_c [ホール] はホール変異を含む免疫グロブリンの F_c 領域を表し、C_L は免疫グロブリンの軽鎖定常ドメインを表す、請求項 1 ~ 8、10 ~ 12、または 13 のいずれか一項に記載の複合体。

50

【請求項 19】

前記ノブ変異または前記ホール変異が、I g Gに対して以下の残基対：366および407、405および394、または407および366のいずれか1つの変異を含む、請求項18に記載の複合体。

【請求項 20】

前記複合体が、AF003229、AF003230、AF003232、AF003740、AF003747、AF003749、AF003753、AF003945、AF003947、AF003951、AF003952、AF003953、AF003955、AF003956、またはAF003941のいずれか1つを含む、請求項18または19に記載の複合体。前記複合体が、

10

(a) N-[IL-2]-[リンカー]-[V_H]-[C_H]-[ヒンジ]-Fc-[scFv]-Cによる第1のポリペプチドと、

(b) N-[V_L]-[C_L]-Cによる第2のポリペプチドとを含むか、または

式中、N-はペプチドN末端を表し、C-はペプチドC末端を表し、[リンカー]は前記リンカーを表し、V_Hは抗PD-1単一選択性抗体の重鎖可変ドメインを示し、C_Hは免疫グロブリンの重鎖定常ドメインを示し、V_Lは抗PD-1単一選択性抗体の軽鎖可変ドメインを表し、[ヒンジ]は免疫グロブリンのヒンジ領域を表し、Fcは免疫グロブリンのFc領域を表し、C_Lは免疫グロブリンの軽鎖定常ドメインを表し、[scFv]は前記DBAのV_HドメインおよびV_Lドメインを含むscFvを表す、請求項1〜9または15のいずれか一項に記載の複合体。

20

【請求項 21】

前記scFvが、N-[V_H]-[リンカー2]-[V_L]-Cに従って配向されている、請求項20に記載の複合体。

【請求項 22】

前記DBAのV_HドメインおよびV_Lドメインを含む前記scFvが、

(a) AB002022__2B07v1、AB002328__2B07v4、AB002360__7A04v1、AB002413__2A11v3、AB002342__2B07v5、AB002345__2B07v6、もしくはAB002365__7A04v2のいずれか1つのV_Hドメインと少なくとも80%の同一性を有する配列を含むV_Hドメイン、または

30

(b) AB002022__2B07v1、AB002328__2B07v4、AB002360__7A04v1、AB002413__2A11v3、AB002342__2B07v5、AB002345__2B07v6、もしくはAB002365__7A04v2のいずれか1つのV_Lドメインと少なくとも80%の同一性を有する配列を含むV_Lドメイン

を含む、請求項20または21に記載の複合体。

【請求項 23】

前記DBAのV_HドメインおよびV_Lドメインを含む前記scFvが、

(a) AB002022__2B07v1、AB002328__2B07v4、AB002360__7A04v1、AB002413__2A11v3、AB002342__2B07v5、AB002345__2B07v6、もしくはAB002365__7A04v2のいずれか1つの重鎖CDR、または

40

(b) AB002022__2B07v1、AB002328__2B07v4、AB002360__7A04v1、AB002413__2A11v3、AB002342__2B07v5、AB002345__2B07v6、もしくはAB002365__7A04v2のいずれか1つの軽鎖CDR

を含む、請求項20または21に記載の複合体。

【請求項 24】

前記複合体が、AF003864、AF003871、AF003872、AF003

50

913、AF003918、AF003923、AF003927、AF004502、AF004503、AF004504、AF004505、AF004892、またはAF004893のいずれか1つを含む、請求項20～22のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項25】

前記複合体が、

(a) N-[V_H]-[C_H]-[ヒンジ]-Fc[ノブ]-[リンカー]-[IL-2]-Cによる第1のポリペプチドと、

N-[V_L]-[C_L]-Cによる第2のポリペプチドと、

N-[V_H]-[C_H]-[ヒンジ]-Fc[ホール]-[リンカー]-[scFv]-Cによる第3のポリペプチドと

を含むか、または

(b) N-[V_H]-[C_H]-[ヒンジ]-Fc[ホール]-[リンカー]-[IL-2]-Cによる第1のポリペプチドと、

N-[V_L]-[C_L]-Cによる第2のポリペプチドと、

N-[V_H]-[C_H]-[ヒンジ]-Fc[ノブ]-[リンカー]-[scFv]-Cによる第3のポリペプチドと

を含み、

式中、N-はペプチドN末端を表し、C-はペプチドC末端を表し、[リンカー]は前記リンカーを表し、V_Hは前記DBAの重鎖可変ドメインを示し、C_Hは免疫グロブリンの重鎖定常ドメインを示し、V_Lは前記DBAの軽鎖可変ドメインを表し、[ヒンジ]は免疫グロブリンのヒンジ領域を表し、Fc[ノブ]はノブ変異を含む免疫グロブリンのFcを表し、Fc[ホール]はホール変異を含む免疫グロブリンのFc領域を表し、C_Lは免疫グロブリンの軽鎖定常ドメインを表し、[scFv]は前記DBAのscFvを表す、請求項1～8、10～12、または15のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項26】

前記複合体が、AF004693、AF004695、AF004696、AF005416、AF005418、またはAF005419のいずれか1つを含む、請求項25に記載の複合体。

【請求項27】

前記複合体が、

(a) N-[V_H]-[C_H]-[het-ヒンジ]-Fc[ノブ]-[リンカー]-[IL-2]-Cによる第1のポリペプチドと、

N-[V_L]-[C_L]-Cによる第2のポリペプチドと、

N-[V_H]-[C_H]-[het-ヒンジ]-Fc[ホール]-Cによる第3のポリペプチドと

を含むか、または

(b) N-[V_H]-[C_H]-[het-ヒンジ]-Fc[ホール]-[リンカー]-[IL-2]-Cによる第1のポリペプチドと、

N-[V_L]-[C_L]-Cによる第2のポリペプチドと、

N-[V_H]-[C_H]-[het-ヒンジ]-Fc[ノブ]-Cによる第3のポリペプチドと

を含み、

式中、N-はペプチドN末端を表し、C-はペプチドC末端を表し、[リンカー]は前記リンカーを表し、V_Hは前記DBAの重鎖可変ドメインを示し、C_Hは免疫グロブリンの重鎖定常ドメインを示し、V_Lは前記DBAの軽鎖可変ドメインを表し、[hetヒンジ]は前記Fc領域に対して異種のヒンジ領域を表し、Fc[ノブ]はノブ変異を含む免疫グロブリンのFcを表し、Fc[ホール]はホール変異を含む免疫グロブリンのFc領域を表し、C_Lは免疫グロブリンの軽鎖定常ドメインを表す、請求項1～8、10～12、または15のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項 28】

前記 F c 領域に対して異種の前記ヒンジ領域が、(a) I g G 3 抗体由来のヒンジ領域、または (b) G 4 S 系リンカーである、請求項 27 に記載の複合体。

【請求項 29】

前記複合体が、A F 0 0 3 6 3 2 または A F 0 0 3 6 3 4 を含む、請求項 27 または 28 に記載の複合体。

【請求項 30】

前記 I L - 2 ペプチドが、野生型ヒト I L - 2 ペプチドを含む、請求項 1 ~ 29 のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項 31】

前記 I L - 2 ペプチドが、ヒト I L - 2 と少なくとも約 80 %、少なくとも約 81 %、少なくとも約 82 %、少なくとも約 83 %、少なくとも約 84 %、少なくとも約 85 %、少なくとも約 86 %、少なくとも約 87 %、少なくとも約 88 %、少なくとも約 89 %、少なくとも約 90 %、少なくとも約 91 %、少なくとも約 92 %、少なくとも約 93 %、少なくとも約 94 %、少なくとも約 95 %、少なくとも約 96 %、少なくとも約 97 %、少なくとも約 98 %、少なくとも約 99 %、または実質的に 100 % の配列同一性を有する配列を含む、請求項 30 に記載の複合体。

【請求項 32】

前記複合体が、A F 0 0 3 2 3 2、A F 0 0 3 2 4 3、A F 0 0 3 2 4 6、A F 0 0 3 2 4 7、A F 0 0 3 3 4 1、A F 0 0 3 3 4 5、A F 0 0 3 6 3 2、A F 0 0 3 6 3 4、A F 0 0 3 6 4 4、A F 0 0 3 6 5 1、A F 0 0 3 6 5 2、A F 0 0 3 6 5 3、A F 0 0 3 6 5 7、A F 0 0 3 7 4 0、A F 0 0 3 7 4 4、A F 0 0 3 7 4 7、A F 0 0 3 7 4 9、A F 0 0 3 7 5 3、A F 0 0 3 8 6 4、A F 0 0 3 8 7 3、A F 0 0 3 8 7 6、A F 0 0 3 8 7 7、A F 0 0 3 9 1 3、A F 0 0 3 9 1 8、A F 0 0 3 9 2 3、A F 0 0 3 9 2 7、A F 0 0 3 9 3 0、A F 0 0 3 9 3 1、A F 0 0 3 9 3 3、A F 0 0 3 9 3 4、A F 0 0 3 9 3 5、A F 0 0 3 9 4 1、A F 0 0 3 9 4 5、A F 0 0 3 9 4 6、A F 0 0 3 9 4 7、A F 0 0 3 9 4 8、A F 0 0 3 9 5 1、A F 0 0 3 9 5 2、A F 0 0 3 9 5 3、A F 0 0 3 9 5 5、A F 0 0 3 9 5 6、A F 0 0 4 2 6 2、A F 0 0 4 2 6 5、A F 0 0 4 2 7 3、A F 0 0 4 2 7 6、A F 0 0 4 2 8 4、A F 0 0 4 2 8 7、A F 0 0 4 2 9 5、A F 0 0 4 2 9 8、A F 0 0 4 3 8 5、A F 0 0 4 3 8 6、A F 0 0 4 3 8 7、A F 0 0 4 3 8 8、A F 0 0 4 3 8 9、A F 0 0 4 4 0 4、A F 0 0 4 4 0 5、A F 0 0 4 4 1 3、A F 0 0 4 4 1 4、A F 0 0 4 4 1 5、A F 0 0 4 4 1 6、A F 0 0 4 5 0 4、A F 0 0 4 5 0 5、A F 0 0 4 6 9 3、A F 0 0 4 6 9 5、A F 0 0 4 6 9 6、A F 0 0 4 7 7 1、A F 0 0 4 7 7 3、A F 0 0 4 8 9 2、または A F 0 0 4 8 9 3 のいずれか 1 つを含む、請求項 31 に記載の複合体。

【請求項 33】

異種細胞に対する T 細胞反応性を増強する方法であって、請求項 1 ~ 32 のいずれか一項に記載の複合体を、該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 34】

前記異種細胞が、がん細胞である、請求項 33 に記載の方法。

【請求項 35】

処置を必要とする対象を処置する方法であって、請求項 1 ~ 32 のいずれか一項に記載の複合体を、該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 36】

前記投与することが、静脈内、筋肉内、または皮下の投与を含む、請求項 35 に記載の方法。

【請求項 37】

処置を必要とする前記対象が、がんを有する、請求項 35 または 36 に記載の方法。

【請求項 38】

前記治療ドメインが、処置を必要とする前記対象を処置する、請求項 35 ~ 37 のい

10

20

30

40

50

れか一項に記載の方法。

【請求項 39】

処置を必要とする前記対象が、哺乳動物である、請求項 35～38 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 40】

処置を必要とする前記対象が、ヒトである、請求項 39 に記載の方法。

【請求項 41】

請求項 1～32 のいずれかに記載の複合体をコードする組み換え核酸を含む、組成物。

【請求項 42】

請求項 1～32 のいずれかに記載の複合体と、薬学的に許容され得る添加物とを含む、医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

配列表

本出願は、XML 形式で電子的に提出された配列表を含み、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。2022 年 11 月 14 日に作成された当該 XML コピーの名前は 51177-046WO2__Sequence__Listing__11__14__22 であり、サイズは 634, 137 バイトである。

【背景技術】

【0002】

背景

インターロイキン 2 (IL-2) は、全身投与時に毒性を示す強力なサイトカインである。全身に送達され得るが、T 細胞の有効なサブセットに対して治療活性を示すように制御され得る IL-2 のバージョンが必要とされている。

【発明の概要】

【0003】

概要

いくつかの態様において、本開示は、(a) IL-2 ペプチドを含む治療ドメインと、(b) 抗体を含むセンサドメインであって、当該センサドメインが、PD-1 および IL-2 に相互に排他的な様式で結合するように構成されている、センサドメインと、を含む複合体を提供する。いくつかの実施形態において、複合体は、治療ドメインをセンサドメインに連結するリンカーを更に含む。いくつかの実施形態において、センサドメインは、(i) PD-1 の非存在下で IL-2 に結合し、かつ (ii) PD-1 の存在下で IL-2 に結合しないように構成される。いくつかの実施形態において、抗体は、抗体断片または抗体誘導体である。いくつかの実施形態において、センサドメインは、PD-1 および IL-2 に結合するように構成された単一二重結合抗体 (DBA) を含む。いくつかの実施形態において、DBA は、配列番号 11～20、154～156、168～173、114～119、415、421、433、439、445、451、457、463、469、475、481、487、493、499、505、511、517、523、529、535、541、547、553、559、565、571、577、583、589、595、601、607、613、619、625、631、637、643、649、655、661、または 667 のいずれか 1 つと少なくとも 80%、少なくとも 81%、少なくとも 82%、少なくとも 83%、少なくとも 84%、少なくとも 85%、少なくとも 86%、少なくとも 87%、少なくとも 88%、少なくとも 89%、少なくとも 90%、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、少なくとも 99% または 100% の配列同一性を有する重鎖 CDR3 を含む。いくつかの実施形態において、DBA は、表 3、表 7、表 8、または表 19 に列挙される配列のいずれかと少なくとも 80%、少なくとも 81%、少なくとも 82%、少なくとも 83%、少なくとも

84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR1、CDR2、またはCDR3を含む。いくつかの実施形態において、DBAは、表18に列挙される配列のいずれかと少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の配列同一性を有する配列を含むV_HまたはV_Lを含む。いくつかの実施形態において、複合体はFcドメインを含む。いくつかの実施形態において、FcドメインはIgGに由来する。いくつかの実施形態において、Fcドメインはホモ二量体である。いくつかの実施形態において、Fcドメインはヘテロ二量体である。いくつかの実施形態において、Fcドメインは、(a) ノブ変異を含む第1のポリペプチドと、(b) ホール変異を含む第2のポリペプチドと、を含む。いくつかの実施形態において、ノブ変異またはホール変異は、IgGに対する以下の残基対：366および407、405および394、または407および366のいずれか1つの変異を含む。いくつかの実施形態において、ノブ変異は、アルギニン残基、フェニルアラニン残基、チロシン残基またはトリプトファン残基を含み、ホール変異が、アラニン残基、セリン残基、トレオニン残基またはバリン残基を含む。いくつかの実施形態において、複合体は、全長DBAを含むセンサドメインを含み、IL-2ペプチドは、当該全長DBAの重鎖のN末端に連結されているか、またはIL-2ペプチドは、当該全長DBAの軽鎖のN末端に連結されている。いくつかの実施形態において、複合体は、全長DBAを含むセンサドメインを含み、IL-2ペプチドが、当該全長DBAの重鎖のC末端に連結されている。いくつかの実施形態において、複合体は、(a) N-[IL-2]-[リンカー]-[V_H]-[C_H]-[ヒンジ]-Fc-Cによる第1のポリペプチドと、N-[V_L]-[C_L]-Cによる第2のポリペプチド、または(b) N-[V_H]-[C_H]-[ヒンジ]-Fc-Cによる第1のポリペプチドと、N-[IL-2]-[リンカー]-[V_L]-[C_L]-Cによる第2のポリペプチドと、を含み、式中、N-はペプチドN末端を表し、C-はペプチドC末端を表し、[リンカー]は上記リンカーを表し、V_Hは上記DBAの重鎖可変ドメインを示し、C_Hは免疫グロブリンの重鎖定常ドメインを示し、V_Lは上記DBAの軽鎖可変ドメインを表し、[ヒンジ]は免疫グロブリンのヒンジ領域を表し、Fcは免疫グロブリンのFc領域を表し、C_Lは免疫グロブリンの軽鎖定常ドメインを表す。いくつかの実施形態において、複合体は、AF003345、AF003243、AF003246、AF003247、AF003341、AF003644、AF003651、AF003657、またはAF003934のいずれか1つを含む。いくつかの実施形態において、複合体は、(a) N-[IL-2]-[リンカー]-[V_H]-[C_H]-[ヒンジ]-Fc[ノブ]-Cによる第1のポリペプチドと、N-[V_L]-[C_L]-Cによる第2のポリペプチドと、N-[V_H]-[C_H]-[ヒンジ]-Fc[ホール]-Cによる第3のポリペプチド、または(b) N-[IL-2]-[リンカー]-[V_H]-[C_H]-[ヒンジ]-Fc[ホール]-Cによる第1のポリペプチドと、N-[V_L]-[C_L]-Cによる第2のポリペプチドと、N-[V_H]-[C_H]-[ヒンジ]-Fc[ノブ]-Cによる第3のポリペプチドと、を含み、式中、N-はペプチドN末端を表し、C-はペプチドC末端を表し、[リンカー]は上記リンカーを表し、V_Hは上記DBAの重鎖可変ドメインを示し、C_Hは免疫グロブリンの重鎖定常ドメインを示し、V_Lは上記DBAの軽鎖可変ドメインを表し、[ヒンジ]は免疫グロブリンのヒンジ領域を表し、Fc[ノブ]はノブ変異を含む免疫グロブリンのFcを表し、Fc[ホール]はホール変異を含む免疫グロブリンのFc領域を表し、C_Lは免疫グロブリンの軽鎖定常ドメインを表す。いくつかの実施形態において、ノブ変異またはホール変異は、IgGに対する以下の残基対

10

20

30

40

50

: 366および407、405および394、または407および366のいずれか1つの変異を含む。いくつかの実施形態において、複合体が、AF003229、AF003230、AF003232、AF003740、AF003747、AF003749、AF003753、AF003945、AF003947、AF003951、AF003952、AF003953、AF003955、AF003956、またはAF003941のいずれか1つを含む。いくつかの実施形態において、複合体は、(a) N-[IL-2]-[linker]-[V_H]-[C_H]-[hinge]-Fc-[scFv]-Cによる第1のポリペプチドと、(b) N-[V_L]-[C_L]-Cによる第2のポリペプチドと、を含み、式中、N-はペプチドN末端を表し、C-はペプチドC末端を表し、[リンカー]は上記リンカーを表し、V_Hは抗PD-1単一選択性抗体の重鎖可変ドメインを示し、C_Hは免疫グロブリンの重鎖定常ドメインを示し、V_Lは抗PD-1単一選択性抗体の軽鎖可変ドメインを表し、[ヒンジ]は免疫グロブリンのヒンジ領域を表し、Fcは免疫グロブリンのFc領域を表し、C_Lは免疫グロブリンの軽鎖定常ドメインを表し、[scFv]は上記DBAのV_HドメインおよびV_Lドメインを含むscFvを表す。いくつかの実施形態において、当該scFvは、N-[V_H]-[リンカー2]-[V_L]-Cに従って配向される。いくつかの実施形態において、上記DBAのHドメインおよびV_Lドメインを含む上記scFvは、(a) AB002022__2B07v1、AB002328__2B07v4、AB002360__7A04v1、AB002413__2A11v3、AB002342__2B07v5、AB002345__2B07v6、またはAB002365__7A04v2のいずれか1つのV_Hドメインと少なくとも80%の同一性を有する配列を含むV_Hドメイン、または(b) AB002022__2B07v1、AB002328__2B07v4、AB002360__7A04v1、AB002413__2A11v3、AB002342__2B07v5、AB002345__2B07v6またはAB002365__7A04v2のいずれか1つのV_Lドメインと少なくとも80%の同一性を有する配列を含むV_Lドメインを含む。いくつかの実施形態において、上記DBAのHドメインおよびLドメインを含む上記scFvは、(a) AB002022__2B07v1、AB002328__2B07v4、AB002360__7A04v1、AB002413__2A11v3、AB002342__2B07v5、AB002345__2B07v6、もしくはAB002365__7A04v2のいずれか1つの重鎖CDR、または(b) AB002022__2B07v1、AB002328__2B07v4、AB002360__7A04v1、AB002413__2A11v3、AB002342__2B07v5、AB002345__2B07v6、もしくはAB002365__7A04v2のいずれか1つの軽鎖CDRを含む。いくつかの実施形態において、複合体は、AF003864、AF003871、AF003872、AF003913、AF003918、AF003923、AF003927、AF004502、AF004503、AF004504、AF004505、AF004892、またはAF004893のいずれか1つを含む。いくつかの実施形態において、複合体は、(a) N-[V_H]-[C_H]-[ヒンジ]-Fc[ノブ]-[リンカー]-[IL-2]-Cによる第1のポリペプチドと、N-[V_L]-[C_L]-Cによる第2のポリペプチドと、N-[V_H]-[C_H]-[ヒンジ]-Fc[ホール]-[リンカー]-[IL-2]-Cによる第1のポリペプチドと、N-[V_L]-[C_L]-Cによる第2のポリペプチドと、N-[V_H]-[C_H]-[ヒンジ]-Fc[ノブ]-[リンカー]-[scFv]-Cによるダウ3のポリペプチドと、を含み、式中、N-はペプチドN末端を表し、C-はペプチドC末端を表し、[リンカー]は上記リンカーを表し、V_Hは上記DBAの重鎖可変ドメインを示し、C_Hは免疫グロブリンの重鎖定常ドメインを示し、V_Lは上記DBAの軽鎖可変ドメインを表し、[ヒンジ]は免疫グロブリンのヒンジ領域を表し、Fc[ノブ]はノブ変異を含む免疫グロブリンのFcを表し、Fc[ホール]はホール変異を含む免疫グロブリンのFc領域を表し、C_Lは免疫グロブリンの軽鎖定常ドメインを表し、[scFv]は上記DBAのscFvを表す。いくつかの実施形

10

20

30

40

50

態において、複合体は、AF004693、AF004695、AF004696、AF005416、AF005418、またはAF005419のいずれか1つを含む。いくつかの実施形態において、複合体は、(a) N-[V_H]-[C_H]-[h e t-ヒンジ]-Fc[ノブ]-[リンカー]-[IL-2]-Cによる第1のポリペプチドと、N-[V_L]-[C_L]-Cによる第2のポリペプチドと、N-[V_H]-[C_H]-[h e t-ヒンジ]-Fc[ホール]-Cによる第3のポリペプチド、または(b) N-[V_H]-[C_H]-[h e t-ヒンジ]-Fc[ホール]-[リンカー]-[IL-2]-Cによる第1のポリペプチドと、N-[V_L]-[C_L]-Cによる第2のポリペプチドと、N-[V_H]-[C_H]-[h e t-ヒンジ]-Fc[ノブ]-Cによる第3のポリペプチドと、を含み、式中、N-はペプチドN末端を表し、C-はペプチドC末端を表し、[リンカー]は上記リンカーを表し、V_Hは上記DBAの重鎖可変ドメインを示し、C_Hは免疫グロブリンの重鎖定常ドメインを示し、V_Lは上記DBAの軽鎖可変ドメインを表し、[h e tヒンジ]は上記Fc領域と異種のヒンジ領域を表し、Fc[ノブ]はノブ変異を含む免疫グロブリンのFcを表し、Fc[ホール]はホール変異を含む免疫グロブリンのFc領域を表し、C_Lは免疫グロブリンの軽鎖定常ドメインを表す。いくつかの実施形態において、当該Fc領域に対して異種のヒンジ領域は、(a) IgG3抗体由来のヒンジ領域、または(b) G4S系リンカーである。いくつかの実施形態において、複合体は、AF003632またはAF003634を含む。いくつかの実施形態において、IL-2ペプチドは、野生型ヒトIL-2ペプチドを含む。いくつかの実施形態において、IL-2ペプチドは、ヒトIL-2と少なくとも約80%、少なくとも約81%、少なくとも約82%、少なくとも約83%、少なくとも約84%、少なくとも約85%、少なくとも約86%、少なくとも約87%、少なくとも約88%、少なくとも約89%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または実質的に100%の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、IL-2ペプチドは、ヒトIL-2のR38、K43、E61、F42、Y45、L72、T3またはC125のうちの少なくとも1つの変異を含む。いくつかの実施形態において、複合体は、AF003232、AF003243、AF003246、AF003247、AF003341、AF003345、AF003632、AF003634、AF003644、AF003651、AF003652、AF003653、AF003657、AF003740、AF003744、AF003747、AF003749、AF003753、AF003864、AF003873、AF003876、AF003877、AF003913、AF003918、AF003923、AF003927、AF003930、AF003931、AF003933、AF003934、AF003935、AF003941、AF003945、AF003946、AF003947、AF003948、AF003951、AF003952、AF003953、AF003955、AF003956、AF004262、AF004265、AF004273、AF004276、AF004284、AF004287、AF004295、AF004298、AF004385、AF004386、AF004387、AF004388、AF004389、AF004404、AF004405、AF004413、AF004414、AF004415、AF004416、AF004504、AF004505、AF004693、AF004695、AF004696、AF004771、AF004773、AF004892、またはAF004893のいずれか1つを含む。

10

20

30

40

[0004]

いくつかの態様において、本開示は、本明細書に記載の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、異種細胞に対するT細胞反応性を増強する方法を提供する。いくつかの実施形態において、異種細胞は、がん細胞である。

[0005]

いくつかの態様において、本開示は、請求項[0162]1～[0162]32のい

50

れか一項に記載の複合体を必要とする対象を処置する方法であって、請求項〔0162〕1～〔0162〕32のいずれか一項に記載の複合体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。いくつかの実施形態において、投与することは、静脈内、筋肉内、または皮下の投与を含む。いくつかの実施形態において、それを必要とする対象は、がんを有する。いくつかの実施形態において、治療ドメインは、それを必要とする対象を処置する。いくつかの実施形態において、それを必要とする対象は哺乳動物である。いくつかの実施形態において、それを必要とする対象はヒトである。

〔0006〕

いくつかの態様において、本開示は、本明細書に記載の複合体のいずれかをコードする組み換え核酸を含む組成物を提供する。いくつかの態様において、本開示は、本明細書に記載の複合体のいずれかをコードする組み換え核酸のいずれかを含む宿主細胞を提供する。

10

いくつかの態様において、本開示は、本明細書に記載の複合体のいずれかと、薬学的に許容され得る添加物とを含む医薬組成物を提供する。

〔0007〕

様々な態様において、本開示は、a) 治療ドメインと、b) リンカーと、c) センサドメインとを含む複合体を提供し、治療ドメインはIL-2アゴニストであり、治療ドメインはリンカーによってセンサドメインに連結されており、センサドメインは、治療ドメイン(IL-2アゴニストドメイン)とマーカーとに結合することができる二重結合抗体(DBA)であり、マーカーはPD-1である。

20

〔0008〕

いくつかの態様において、センサドメインは、マーカーの非存在下で治療ドメインに結合している。いくつかの態様において、治療ドメインは、センサドメインがマーカーに結合すると、センサドメインとの結合から遮断される。いくつかの態様において、治療ドメインの活性は、治療ドメインがセンサドメインに結合すると低下する。いくつかの態様において、治療ドメインは、センサドメインがマーカーに結合すると治療活性を示すことができる。いくつかの態様において、治療ドメインは、センサドメインがマーカーに結合すると治療的に活性である。

〔0009〕

いくつかの態様において、センサドメインは、抗体を含む。いくつかの態様において、抗体は、抗体断片または抗体誘導体である。いくつかの態様において、複合体は、Fcドメインを含む。いくつかの態様において、複合体は、動力学的特性を改善するドメインを含む。いくつかの態様において、複合体は、2つの重鎖および2つの軽鎖を含む。

30

〔0010〕

いくつかの態様において、複合体は、2つの治療ドメインを含む。いくつかの態様において、複合体は、2つのセンサドメインを含む。いくつかの態様において、複合体は、制御された治療用タンパク質である。いくつかの態様において、抗体または抗体断片は、IgG、単ドメイン抗体断片、ナノボディ、または単鎖可変断片(scFv)を含む。

〔0011〕

いくつかの態様において、治療ドメインは、IL-2受容体アゴニストである。いくつかの態様において、IL-2受容体アゴニストは、IL-2、IL-15、またはそれらのバリエーションもしくは融合体である。いくつかの態様において、治療ドメインは、センサドメインに結合する。

40

〔0012〕

いくつかの態様において、リンカーは、ポリペプチドリンカーである。いくつかの態様において、リンカーは、2～200アミノ酸長を含む。いくつかの態様において、リンカーは、センサドメインの重鎖に付着しているか、センサドメインの軽鎖に付着しているか、センサドメインのN末端との融合であるか、またはセンサドメインのC末端との融合である。いくつかの態様において、リンカーは、治療ドメインの重鎖に付着しているか、治療ドメインの軽鎖に付着しているか、治療ドメインのN末端との融合であるか、または治

50

療ドメインのC末端との融合である。

【0013】

いくつかの態様において、治療ドメインの活性は、センサドメインに結合すると低下する。いくつかの態様において、治療ドメインは、センサドメインに結合している場合、不活性である。いくつかの態様において、センサドメインは、治療ドメインに結合した場合、治療ドメインの活性を遮断する。いくつかの態様において、治療ドメインは、センサドメインがマーカーに結合しているときに活性である。いくつかの態様において、マーカーに対するセンサドメインの親和性は、治療ドメインに対するセンサドメインの親和性以上である。

【0014】

いくつかの態様において、マーカーに対するセンサドメインの親和性は、治療ドメインに対するセンサ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倍または100000倍大きい。

【0015】

いくつかの態様において、センサドメインは、抗体またはその断片である。いくつかの態様において、センサドメインは、二重特異性抗体の抗原結合ドメインの一方または両方を含む。いくつかの態様において、二重特異性抗体は、治療ドメインに結合することができ、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。いくつかの態様において、二重特異性抗体は、単一の治療ドメインを含む。

【0016】

いくつかの態様において、センサ二重特異性抗体は、IL-2およびPD-1に結合する。いくつかの態様において、IL-2受容体アゴニストは、IL-2、IL-15、またはそれらのバリエーションもしくは融合体である。

【0017】

いくつかの態様において、センサドメインは、表3、表7、表8または表19から選択される相補性決定領域(CDR)を含む。いくつかの態様において、センサドメインは、表8または表18から選択される。いくつかの態様において、複合体は、表15または表2Aから選択される。いくつかの態様において、センサドメインは、表3、表7、表8または表19から選択される相補性決定領域のいずれかと少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%の配列同一性を有する相補性決定領域を含む。いくつかの態様において、センサドメインは、表8または表18に列挙されるV_HまたはV_Lのいずれかと少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の配列同一性を有するV_HまたはV_Lドメインを含む。いくつかの態様において、センサドメインは、配列番号1~配列番号20または配列番号142~配列番号173または配列番号238~252のいずれかと1つと少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%の配列同一性を有する相補性決定領域を含む。いくつかの態様において、センサドメインは、配列番号21~配列番号27、配列番号31~配列番号39または配列番号127~配列番号141のい

10

20

30

40

50

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%または100%の配列同一性を有する。いくつかの態様において、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、またはそれらの断片のいずれか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%、または100%の配列同一性を有する。

【0018】

様々な態様において、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。様々な態様において、本開示は、上記錯体のいずれかを必要とする対象を処置する方法であって、それを必要とする対象に上記錯体のいずれかを投与することを含む方法を提供する。いくつかの態様において、投与することは、静脈内、筋肉内、または皮下の投与を含む。いくつかの態様において、それを必要とする対象は、がんを有する。いくつかの態様において、治療ドメインは、それを必要とする対象を処置する。いくつかの態様において、それを必要とする対象は哺乳動物である。いくつかの態様において、それを必要とする対象はヒトである。

【0019】

いくつかの態様において、本開示は、全身に送達され得るが、全身毒性の低下を示し得るIL-2コンジュゲートを提供する。

【0020】

参照による組み込み

本明細書において言及される全ての刊行物、特許および特許出願は、各個別の刊行物、特許または特許出願が、具体的に、および、個別に、参照により本明細書に組み込まれるものと、あたかも示されたことと同じ程度に、参照により本明細書に組み込まれる。

【図面の簡単な説明】

【0021】

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。本開示の特徴および利点のより良好な理解は、本開示の原則が利用される例証的な実施形態を明記する以下の詳細な説明、および添付の図面への参照により得られるものとする。

【0022】

【図1A-1B】図1Aおよび図1B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。タンパク質複合体は、センサドメインおよび治療ドメインを有する。センサドメインおよび治療ドメインは、リンカーによって連結されている。センサドメインは、治療ドメインに結合して示され、治療ドメインを不活性にする。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。タンパク質複合体は、センサドメインおよび治療ドメインを有する。センサドメインおよび治療ドメインは、リンカーによって連結されている。センサドメインは、マーカーに結合して示され、治療ドメインを活性にする。

【0023】

【図2】図2は、1つ以上のセンサドメインおよび1つ以上の治療ドメインを含む本開示のタンパク質複合体の概略図を示す。図2A、図2B、図2C、図2D、図2E、図2F、図2G、図2H、および図2Iは、実施例に詳述されているタンパク質複合体の配置の例示的な概略図を示す。

【0024】

【図3】図3は、5つの例示的なPD-1/IL-2 DBA-サイトカインタンパク質複合体(2__A08、2__A11、2__B05、2__B07および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および配列番号75～配列番号76)によるIL-2シ

10

20

30

40

50

グナル伝達が、対照 I L - 2 - 抗 H E R 2 タンパク質複合体（配列番号 6 5 ~ 配列番号 6 6）と比較して低下していることを示す。

【0025】

【図 4 A - 4 F】図 4 A、図 4 B、図 4 C、図 4 D、図 4 E および図 4 F は、P D - 1 - F c または I g G 1 対照タンパク質で被覆されたウェルにおいて、図 2 B に示される構造を含むタンパク質複合体の I L - 2 活性を提供する。H E K - B l u e（商標）I L - 2 レポーター細胞からの 630 nm シグナルの成長として活性を測定した。図 4 A ~ 図 4 C は、3 つの異なる P D - 1 / I L - 2 D B A - I L - 2 複合体の I L - 2 活性を提供する。図 4 D は、抗 P D - 1 抗体 - I L - 2 複合体の活性を提供する。図 4 E は、抗 H e r - 2 抗体 - I L - 2 複合体の活性を提供する。図 4 F は、抗 I L - 2 抗体 - I L - 2 複合体の活性を提供する。

10

【0026】

【図 5】図 5 A、図 5 B、図 5 C、図 5 D、図 5 E、図 5 F、図 5 G および図 5 H は、P D - 1 - F c または I g G 1 対照タンパク質で被覆されたウェルにおいて、図 2 H に示される構造を含むタンパク質複合体の I L - 2 活性を提供する。H E K - B l u e（商標）I L - 2 レポーター細胞からの 630 nm シグナルの成長として活性を測定した。図 5 B ~ 図 5 D は、F a b アーム中の抗 P D - 1 ドメインおよび F c アーム上の P D - 1 / I L - 2 D B A s c F v を含む 2 つの P D - 1 / I L - 2 D B A 複合体についての結果を提供する。図 5 A、図 5 C および図 5 E ~ 図 5 H は、対照タンパク質複合体の結果を提供する。

20

【0027】

【図 6】図 6 は、P D - 1 / I L - 2 D B A - サイトカイン複合体（「2 B 0 7 I L - 2 m u t」）および 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提供する。

【0028】

【図 7 A - 7 D】図 7 A、図 7 B、図 7 C および図 7 D は、P D - 1 / I L - 2 D B A - サイトカイン複合体（「2 B 0 7 I L - 2 m u t」）および 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収集した血液および脾臓組織における C D 8 + T 細胞および N K 細胞数を提供する。

【0029】

【図 8】図 8 は、マウスにおける腫瘍細胞移植後の日数の関数としての腫瘍体積測定値を提供する。マウスは、P D - 1 / I L - 2 D B A - I L - 2 複合体、I L - 2 を欠く P D - 1 / I L - 2 D B A 複合体、またはアイソタイプ対照の種々の静脈内用量を受けた。

30

【0030】

【図 9】図 9 は、図 2 E に示される構造を含む対称性複合体に対する I L - 2 R B G 結合を提供する。

【0031】

【図 10】図 10 は、図 2 B に示される構造を含む対称性複合体に対する I L - 2 R B G 結合を提供する。

【0032】

40

【図 11】図 11 は、P D - 1 / I L - 2 D B A - サイトカイン複合体および制御されていない対照複合体によるインビトロ I L - 2 R B G 結合を示すプロットを示し、W T I L - 2 および I L - 2 3 x を含む I L - 2 の 2 つの異なる形態で作製された複合体を比較する。図 11 A は、野生型 I L - 2 との複合体に対する I L - 2 R B G 結合を示し、図 11 B は、I L - 2 3 x 変異体との複合体に対する I L - 2 R B G 結合を示す。

【0033】

【図 12 A - 12 B】図 12 A、図 12 B、図 13 A、図 13 B、図 14 A、図 14 B、図 15 および図 16 は、P D - 1 - F c または I g G 1 対照タンパク質で処置した細胞における、それぞれ図 2 E、図 2 B、図 2 H、図 2 G および図 2 I に示される構造を含む I L - 2 連結タンパク質複合体の I L - 2 活性を示すプロットを示す。H E K - B l u e（

50

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 630 nm シグナルの成長として活性を測定した。

【図 13 A-13 B】図 12 A、図 12 B、図 13 A、図 13 B、図 14 A、図 14 B、図 15 および図 16 は、PD-1-Fc または IgG1 対照タンパク質で処置した細胞における、それぞれ図 2 E、図 2 B、図 2 H、図 2 G および図 2 I に示される構造を含む IL-2 連結タンパク質複合体の IL-2 活性を示すプロットを示す。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 630 nm シグナルの成長として活性を測定した。

10

【図 14 A-14 B】図 12 A、図 12 B、図 13 A、図 13 B、図 14 A、図 14 B、図 15 および図 16 は、PD-1-Fc または IgG1 対照タンパク質で処置した細胞における、それぞれ図 2 E、図 2 B、図 2 H、図 2 G および図 2 I に示される構造を含む IL-2 連結タンパク質複合体の IL-2 活性を示すプロットを示す。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 630 nm シグナルの成長として活性を測定した。

【図 15】図 12 A、図 12 B、図 13 A、図 13 B、図 14 A、図 14 B、図 15 および図 16 は、PD-1-Fc または IgG1 対照タンパク質で処置した細胞における、それぞれ図 2 E、図 2 B、図 2 H、図 2 G および図 2 I に示される構造を含む IL-2 連結タンパク質複合体の IL-2 活性を示すプロットを示す。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 630 nm シグナルの成長として活性を測定した。

20

【図 16】図 12 A、図 12 B、図 13 A、図 13 B、図 14 A、図 14 B、図 15 および図 16 は、PD-1-Fc または IgG1 対照タンパク質で処置した細胞における、それぞれ図 2 E、図 2 B、図 2 H、図 2 G および図 2 I に示される構造を含む IL-2 連結タンパク質複合体の IL-2 活性を示すプロットを示す。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 630 nm シグナルの成長として活性を測定した。

【0034】

30

【図 17】図 17 は、PD-1-Fc または IgG1 対照タンパク質で処置した細胞における、ヒト Fc ドメインを有する図 2 H に示す構造を含む IL-2 連結タンパク質複合体の IL-2 活性を示すプロットである。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 630 nm シグナルの成長として活性を測定した。

【0035】

【図 18】図 18 は、IL-2 3x バリエーションを有する図 2 B に示す構造を含むタンパク質複合体における IL-2 活性を示すプロットである。

【0036】

【図 19 A-19 C】図 19 A、図 19 B および図 19 C は、PD-1-Fc または IgG1 対照タンパク質で被覆されたウェルにプレATINGされた細胞における、3つの異なる抗 PD-1 Fab アーム (それぞれニボルマブ、4C10 および Knd) を有する図 2 H に示される構造を含む IL-2-3x 連結タンパク質複合体の IL-2 活性を示すプロットを示す。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 630 nm シグナルの成長として活性を測定した。

40

【0037】

【図 20】図 20 は、様々な長さのリンカーを有する図 2 B に示される構造を含む IL-2 連結タンパク質複合体の IL-2 活性を示すプロットを示す。PD-1-Fc または IgG1 対照タンパク質で被覆したウェルで複合体を試験した。HEK-Blue (商標)

50

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 630 nm シグナルの成長として活性を測定した。

【0038】

【図 21A-21B】図 21A および図 21B は、フローサイトメトリーによって測定した場合のヒト初代 CD8+T 細胞における PD-1 / IL-2 DBA-サイトカイン複合体による STAT5 リン酸化の PD-1 依存的誘導を示すプロットを示す。

【0039】

【図 22A-22B】図 22A および図 22B は、グランザイム B 放出によって評価される混合リンパ球反応におけるヒト T 細胞活性化の PD-1 / IL-2 DBA-サイトカイン複合体調節を示すプロットを示す。

【0040】

【図 23A-23B】図 23A および図 23B は、同系腫瘍モデルにおける抗腫瘍免疫性の PD-1 / IL-2 DBA-サイトカイン複合体調節を示すプロットを示す。500,000 個の MC38 腫瘍細胞をヒト PD-1 ノックインマウスに皮下移植し、マウスを複合体で静脈内処置し、腫瘍体積を評価した。

【発明を実施するための形態】

【0041】

詳細な説明

本開示は、タンパク質複合体の組成物およびその使用方法を提供する。インターロイキン 2 治療薬は、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。PD-1 陽性細胞、具体的には抗原を経験した T 細胞に対して治療効果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。更に、本開示のタンパク質複合体は自己制御され、PD-1 の非存在下では不活性のままであり、PD-1 に結合すると活性化する。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 IL-2 受容体アゴニスト（治療ドメイン）に連結されたセンサドメイン（例えば、抗体、Fab または scFv）を含み得る。センサドメインは、PD-1 および治療ドメインがセンサドメインへの結合について競合するように、治療ドメインおよび PD-1 に対して親和性を有する二重結合抗体であり得る。PD-1 の非存在下では、センサドメインは治療ドメインに結合し、治療ドメインが IL-2 受容体に対して活性を発揮できないようにする。センサドメインが PD-1 に結合している場合、治療ドメインは結合解除されており、活性を発揮し得る。いくつかの実施形態において、複合体による IL-2 受容体アゴニスト活性の制御は可逆的であり得、すなわち、センサドメインが PD-1 から解離すると、センサドメインは治療ドメインに結合し得て、治療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、PD-1 の存在下で IL-2 受容体アゴニストドメインを制御し、PD-1 に結合し、IL-2 受容体アゴニストドメインを活性にするセンサドメインを含む。医薬製剤を含む、タンパク質複合体の様々な構造およ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処置する方法も本明細書で提供される。

【0042】

本明細書で使用される場合、「センサドメイン」は、一般に、PD-1 に結合することができ、IL-2 受容体アゴニストに結合することができる二重結合抗体を指す。

【0043】

本明細書で使用される場合、「治療ドメイン」とは、一般に、IL-2 受容体アゴニストのことを指す。治療ドメインの非限定的な例としては、IL-2、IL-15、または IL-2 と同様の様式で IL-2 受容体に作用する任意の他の分子が挙げられる。

【0044】

本明細書で使用される場合、「マーカー」は、一般に PD-1 タンパク質を指す。

【0045】

本明細書で使用される場合、「抗体」は、一般に、抗体可変ドメインの一部または全部を含む抗体、抗体誘導体、またはその断片（複数可）を指す。

10

20

30

40

50

【0046】

「組み換え核酸」という用語は、一般に、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。組み換え核酸は、実験室で合成され得る。組み換え核酸は、酵素的制限消化、ライゲーション、およびDNAクローニング等のDNAの酵素的修飾を使用することにより、組み換えDNA技術を使用して調製される。本明細書で使用される場合、組み換え核酸は、DNAまたはRNAであり得る。組み換え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、組み換え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。組み換え核酸は、タンパク質またはポリペプチドをコードし得る。組み換え核酸は、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、核酸の転写および／または翻訳を指す。核酸発現の産物は通常タンパク質であるが、mRNAであってもよい。組み換え核酸を組み込んだ細胞内の組み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」されているという陽性の証拠と考えられる。

10

【0047】

本明細書で使用される場合、「治療ドメイン」という用語は、一般に、細胞または生物において所与の治療活性を活性化するための最小配列特徴を有するタンパク質ドメインを指す。治療ドメインがリガンド-受容体対のリガンドである場合、リガンドは、受容体への結合または受容体の活性化を可能にする最小配列および／または構造的特徴を有する。

【0048】

核酸を細胞に挿入または組み込むプロセスは、形質転換、トランスフェクションまた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、および他の用途に適合している。形質転換は、組み換えプラスミド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適格であるが、適格性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、または抗体等の小分子を真核細胞に強制的に導入することである。単に生活を混乱させるために、「トランスフェクション」はまた、バクテリオファージの細菌細胞への導入を指す。「形質導入」は、ほとんどの場合、組み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または動物の自然感染を指す。

20

30

【0049】

タンパク質複合体

本開示は、IL-2受容体アゴニスト活性を自己制御し得る複合体を提供する。本開示のタンパク質複合体は、PD-1に対する親和性、ならびにIL-2受容体アゴニスト（「センサドメイン」）およびIL-2受容体アゴニスト（「治療ドメイン」）に対する親和性を有する二重結合抗体を含み得る。センサドメインおよび治療ドメインは、リンカーによって連結され得る。センサドメインは、治療ドメインの活性を制御し得る。治療ドメインの活性の制御は、センサドメインの治療ドメインへの結合を含み得、治療ドメインがIL-2受容体に対して活性を発揮できないようにする。治療ドメインの活性の制御は、センサドメインがPD-1に結合すると、センサドメインによる治療ドメインの結合解除または放出を更に含み得る。したがって、本開示のタンパク質複合体は、IL-2受容体アゴニストのセンサ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すら細胞特異的活性を可能にすることから、優れた薬物候補である。単独で投与されるIL-2受容体アゴニストと比較して、本開示のタンパク質複合体は、制御された治療活性を示す。結果として、単独で投与された遊離IL-2受容体アゴニストと比較して、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。

40

【0050】

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

50

パク質複合体は、Fc領域、アルブミン、PEG、または別の双性イオンポリマー等の半減期延長剤に更にカップリングされてもよい。本開示のタンパク質複合体は、2つの重鎖および2つの軽鎖を有し得る。本開示のタンパク質複合体は、2つの重鎖および1つの軽鎖を有し得る。本開示のタンパク質複合体は、複数のセンサドメインおよび複数の治療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つのセンサドメインおよび2つの治療ドメインを含み得、それらの全てが連結されており、2つの治療ドメインが2つのセンサドメインに結合している。いくつかの実施形態において、本開示のタンパク質複合体は、2つのセンサドメインおよび1つの治療ドメインを含み得、それらの全てが連結されており、治療ドメインは両方のセンサドメインまたは2つのセンサドメインのうちの1つのみに結合し得る。

10

【0051】

いくつかの実施形態において、PD-1は、細胞表面タンパク質等の表面タンパク質であり得る。いくつかの実施形態において、PD-1は、抗原を経験したT細胞上に発現され得る。

【0052】

いくつかの実施形態において、IL-2受容体アゴニストは、IL-2、IL-2のバリエーションまたはIL-2の切断型であり得る。いくつかの実施形態において、IL-2受容体アゴニストは、IL-15、IL-15-sushi、IL-15のバリエーションまたはIL-15-sushiのバリエーションであり得る。いくつかの実施形態において、IL-2受容体アゴニストは、IL-2受容体ベータおよびIL-2受容体ガンマに結合する操作されたまたは設計されたペプチドであり得る。いくつかの実施形態において、IL-2受容体アゴニストは、IL-2受容体ベータおよびIL-2受容体ガンマに結合する抗体であり得る。

20

【0053】

いくつかの実施形態において、PD-1へのセンサドメインの結合に対する治療ドメインへのセンサドメインの結合は、治療ドメインに対するセンサドメインの相対的親和性によって制御される。いくつかの実施形態において、センサドメインは、治療ドメインに対するセンサドメインの解離定数よりも低いPD-1に対する解離定数(K_d)を有し得る。したがって、センサドメインは、治療ドメインよりもPD-1に対してより高い親和性(より低いK_d)を有し得る。本開示のセンサドメインは、治療ドメインよりもPD-1に対してより高い親和性(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、本開示のセンサドメインは、治療ドメインがセンサドメインによって結合されるように、治療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、PD-1に対するセンサドメインの親和性は、PD-1がセンサドメインへの結合について治療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、IL-2受容体アゴニストドメインにセンサドメインが結合した状態から、IL-2受容体アゴニストドメインが結合解除され、PD-1にセンサドメインが結合した状態に移行する。

30

【0054】

センサドメインは、治療ドメインに対する親和性よりも少なくとも2倍高いPD-1に対する親和性を有し得る。センサドメインは、治療ドメインに対する親和性よりも少なくとも5倍高いPD-1に対する親和性を有し得る。センサドメインは、治療ドメインに対する親和性よりも少なくとも10倍高いPD-1に対する親和性を有し得る。センサドメインは、治療ドメインに対する親和性よりも少なくとも15倍高いPD-1に対する親和性を有し得る。センサドメインは、治療ドメインに対する親和性よりも少なくとも20倍高いPD-1に対する親和性を有し得る。センサドメインは、治療ドメインに対する親和性よりも少なくとも25倍高いPD-1に対する親和性を有し得る。センサドメインは、治療ドメインに対する親和性よりも少なくとも30倍高いPD-1に対する親和性を有し得る。センサドメインは、治療ドメインに対する親和性よりも少なくとも35倍高いPD-1に対する親和性を有し得る。センサドメインは、治療ドメインに対する親和性よりも

40

50

50

る。センサドメインは、治療ドメインに対する親和性よりも70～500倍高いPD-1に対する親和性を有し得る。センサドメインは、治療ドメインに対する親和性よりも100～500倍高いPD-1に対する親和性を有し得る。センサドメインは、治療ドメインに対する親和性よりも500～750倍高いPD-1に対する親和性を有し得る。センサドメインは、治療ドメインに対する親和性よりも250～750倍高いPD-1に対する親和性を有し得る。センサドメインは、治療ドメインに対する親和性よりも1000～100000倍高いPD-1に対する親和性を有し得る。センサドメインは、治療ドメインに対する親和性よりも2～100000倍高いPD-1に対する親和性を有し得る。

【0055】

本開示のタンパク質複合体またはその断片は、本明細書に開示されるCDRのいずれか1つと少なくとも約80%、少なくとも約81%、少なくとも約82%、少なくとも約83%、少なくとも約84%、少なくとも約85%、少なくとも約86%、少なくとも約87%、少なくとも約88%、少なくとも約89%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または実質的に100%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。本開示のタンパク質複合体またはその断片は、本明細書に記載の重鎖または軽鎖可変領域のいずれか1つと少なくとも約80%、少なくとも約81%、少なくとも約82%、少なくとも約83%、少なくとも約84%、少なくとも約85%、少なくとも約86%、少なくとも約87%、少なくとも約88%、少なくとも約89%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または実質的に100%の配列同一性を有する1つ以上の重鎖または軽鎖可変領域を含み得る。例えば、本開示のタンパク質複合体またはその断片は、配列番号1～20、配列番号142～173、または配列番号238～252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またはその断片は、配列番号1～配列番号20、配列番号142～173、または配列番号238～252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またはその断片は、配列番号1～配列番号20、配列番号142～173、または配列番号238～252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またはその断片は、配列番号1～配列番号20、配列番号142～173、または配列番号238～252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またはその断片は、配列番号1～配列番号20、配列番号142～173、または配列番号238～252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またはその断片は、配列番号1～配列番号20、配列番号142～173、または配列番号238～252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またはその断片は、配列番号1～配列番号20、配列番号142～173、または配列番号238～252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またはその断片は、配列番号1～配列番号20、配列番号142～173、または配列番号238～252のいずれか1つを有する1つ以上のCDRを含み得る。

【0056】

タンパク質複合体またはその断片は、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もしくは配列番号289～293、またはその断片のいずれか1つと少なくとも80%の配列同一性を

有することができる。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 もしくは配列番号 289～293、またはその断片のいずれか 1 つと少なくとも 85 % の配列同一性を有することができる。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 もしくは配列番号 289～293、またはその断片のいずれか 1 つと少なくとも 90 % の配列同一性を有することができる。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 もしくは配列番号 289～293、またはその断片のいずれか 1 つと少なくとも 92 % の配列同一性を有することができる。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 もしくは配列番号 289～293、またはその断片のいずれか 1 つと少なくとも 95 % の配列同一性を有することができる。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 もしくは配列番号 289～293、またはその断片のいずれか 1 つと少なくとも 97 % の配列同一性を有することができる。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 もしくは配列番号 289～293、またはその断片のいずれか 1 つと少なくとも 99 % の配列同一性を有することができる。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 もしくは配列番号 289～293、またはその断片のいずれか 1 つである。

10

20

30

40

50

【0057】

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 もしくは配列番号 289～293、またはそれらの断片のいずれか 1 つと少なくとも 95 % の配列同一性を有し得て、配列番号 1～配列番号 20、配列番号 142～173 もしくは配列番号 238～252 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、任意の組み合わせまた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、または配列番号 238～252 から選択される CDR を有することができる。

【0058】

上記のいずれかの断片は、センサの機能的結合ドメインまたは治療薬の任意の機能的治療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、抗体全体またはマ

ーカーおよび治療ドメインに結合することができる抗体の領域を有する断片を含むことができる。後者の場合、断片は、マーカーおよび治療ドメインに結合することができる s c F v 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。

【表 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 7 6 9	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSN SGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSKRYY ADSVKGRFTISRDN SKNTLFLQMNSLRAEDT AVYYCATNDDYWGQGLVTVSSAKTTAPSV YPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTL	PD1- IL2_3x_Cterm_Nivo _2B07_H_H37Y_L_ A107Y_S109R;

10

20

30

40

50

配列番号	配列	説明
	TWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTV TSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGP TIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLM ISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEV HTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWM SGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAP QVYVLPPEKEMTKKQVSLTCLVKDFMPEDI YVEWTNNGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFMY SKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHT TKSFSRTPGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQ VQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFTR YYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYASYA QKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTA VYYCAAGLFIWGQGLTVTVSSASGGGGSGG GGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQSIGRWLAWYQQKPGKAPKLLIYSAS NLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQYNRFPVTFGPGTKVDIK	AF4695_pep2
配列番号 7 5 9	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSN SGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSKRYY ADSVKGRFTISRDN SKNTLFLQMNSLRAEDT AVYYCATNDDYWQGGLTVTVSSAKTTAPSV YPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTL TWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTV TSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGP TIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLM ISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEV HTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWM SGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAP QVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDMPEDI YVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSGGSYFMY SDLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHT TESFSRTPGGGGGSGGGGSGGGGSAPTSSST KKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTD MLTFEFYMPKKATELKHLQCLERELKPLEEV LNLAQSKNFHLRPRDLISNINIVLELKGSETT FMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT	PD1- IL2_3x_Cterm_Nivo _2B07_H_H37Y_L_ A107Y_S109R; AF4695_pep1 および AF4696_pep1
配列番号 7 4 5	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYL AWYQQKPGQAPRLLIYDASN RATGIPARFSG SGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSSNWPR TFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSG GASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNG VLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTTLTKDEYERH NSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC	PD1- IL2_3x_Cterm_Nivo _2B07_H_H37Y_L_ A107Y_S109R; AF4695_pep3 および AF4695_pep3
配列番号 7 7 0	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSN SGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSKRYY ADSVKGRFTISRDN SKNTLFLQMNSLRAEDT	PD1- IL2_3x_Cterm_Niv o_704var

10

20

30

40

50

配列番号	配列	説明
	AVYYCATNDDYWGGQGLVTVSSAKTTAPSV YPLAPVCGD TTGSSVTLGCLVKGYFPEPVT L TWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTV TSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGP TIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVL MISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFN NVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQH QDWM SGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISK PKGSVRAPQVYVLPPEKEMTKKQVSLTCL VKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEP VLKSDGSYFMY SKLTVEKKNWVERNSY SCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGG SGGGSGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKK PGASVKVSCKASGYTFTRYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPRAGYTSYALKFQGRVTMTR DSTSTVYMESSLRSEDTAVYYCTSGWDV WGGQGLVTVSSASGGGGSGGGSGGGGSH ASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ SISTWLAWYQKPGKAPKLLIYAASSLD SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQSYPVTFGQGTKVEIK	AF4696_pep2
配列番号 1 8 1	APTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYK NPKLTDMLTFEFYMPKKATELKHLQCLEREL KPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLEL KGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSII STLTGGGGSGGGSGGGSGGGGSQVQLVQ SGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFTRYVHW VRQAPGQGLEWMGIINPSGGYASYAQKFQGR VMTMTRDSTSTVYMESSLRSEDTAVYYCA AGLFIWGGQGLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVC GDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSL SSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQ SITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCK CPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVL MISLSPIVTC VVVDVSEDDPDVQISWVFNVEVHTAQTQTH REDYNSTLRVVSALPIQH QDWM SGKEFKC KVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLP PEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTN NGKTELNYKNTEPVLDS DGSYFMYSDLRVE KKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSR TPGK	PD1- IL2_3x_Asym_PD1 - IL2_2B07_H_H37Y _L_W38Y_A107Y AF4386_pep1
配列番号 1 8 2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFTRYVHW VRQAPGQGLEWMGIINPSGGYASYAQKFQGRVTMTRD TSTSTVYMESSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGGQGLVTVS SAKTAPSVYPLAPVCGD TTGSSVTLGCLVKGYFPEPVT L TWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQ QSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPN AAGGPSVFIFPPKIKDVL MISLSPIVTCVVVDVSEDDPDV QISWVFNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQH	PD1- IL2_3x_Asym_PD1 - IL2_2B07_H_H37Y _L_W38Y_A107Y AF4386_pep2

10

20

30

40

50

配列番号	配列	説明
	QDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAQ VYVLPPEKEMTKKQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNN GKTELNYKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNS YSCSVVHEGLHNHHTTKSFRTPGGGGSGGGSHHHH H	
配列番号 2 1 2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGRY LAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSFP VTFGPGTKVDIKRAAAPTVSIFPPSSEQLTS GGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQN GVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYER HNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC	PD1- IL2_3x_Asym_PD1 - IL2_2B07_H_H37Y _L_W38Y_A107Y AF4386_pep3
配列番号 1 8 3	APTSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTDM LTFEFYMPKKATELKHQLCLERELKPLEEVLNLAQSKNF HLRPRDLISINIVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLN RWITFCQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGQVQ LVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYYMHVVRQ APGQGLEWMGIINPRAGYTSYALKFQGRVTMTRDTST STVYMELSSLRSEDAVYYCTSGWDVWGQGLTVTVSS AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVT LWNLSGLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPS QSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPN AAGGPSVFIFPPKIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDV QISWVFNNEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQH QDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAQ VYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNN GKTELNYKNTEPVLSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERN SYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK	PD1- IL2_3x_Asym_PD1 - IL2_7A04_H_M115 W_L_Q68D AF4387_pep1
配列番号 1 8 4	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYYMHW VRQAPGQGLEWMGIINPRAGYTSYALKFQGRVTMTR DTSTSTVYMELSSLRSEDAVYYCTSGWDVWGQGLTV TVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPE PVTLTWNLSGLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSST WPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCP APNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSED DPDVQISWVFNNEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSAL PIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVR APQVYVLPPEKEMTKKQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWT NNGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVE RNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFRTPGGGGSGGGSHH HHHH	PD1- IL2_3x_Asym_PD1 - IL2_7A04_H_M115 W_L_Q68D AF4387_pep2
配列番号 1 8 5	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISTW LAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLDSGVPSRFS	PD1- IL2_3x_Asym_PD1

10

20

30

40

配列番号	配列	説明
	GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSP VTFGQGTKVEIKRAAAPTVSIFPPSSEQLTS GGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQN GVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYER HNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC	- IL2_7A04_H_M115 W_L_Q68D AF4387_pep3

50

【0059】

A. センサドメイン

本開示のタンパク質複合体は、PD-1に対する親和性およびIL-2受容体アゴニストに対する親和性を有する二重結合抗体から構成されるセンサドメインを含む。センサドメインは、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PD-1であり、第2の部分はIL-2受容体アゴニストである。例えば、本開示は、第1の部分に結合し、第2の部分に結合して活性を遮断することができる抗体または抗体断片であり得るセンサドメインを提供し、第1の部分はPD-1であり、第2の部分はIL-2または別のIL-2受容体アゴニストである。第1の部分の非存在下では、センサドメインは第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の部分の結合および結合解除は可逆的である。センサドメインは、IL-2受容体アゴニストドメインに結合し、IL-2受容体アゴニストドメインがその標的（IL-2受容体）に結合するのを妨げることによって、IL-2受容体アゴニストドメインの活性を不活性化または遮断する。センサドメインは、PD-1の結合時にその標的に作用するようにIL-2受容体アゴニストドメインを放出することによって、IL-2受容体アゴニストドメインを制御する。

10

【0060】

いくつかの実施形態において、センサドメインは二重結合抗体である。二重結合抗体は、PD-1およびIL-2受容体アゴニストドメインに結合することができる場合がある。本開示の二重結合抗体は、PD-1および治療ドメインに結合するように選択または操作され得る。二重結合タンパク質は、IL-2受容体アゴニストドメインと比較して、PD-1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、IL-2受容体アゴニストドメインと比較してPD-1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。

20

【0061】

いくつかの実施形態において、センサドメインは抗体である。センサドメインはまた、抗体の断片であり得る。本明細書に開示されるセンサドメインと一致する抗体の断片は、PD-1およびIL-2受容体アゴニスト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また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、IL-2受容体アゴニストドメインおよびPD-1に結合し得る第1の抗原結合ドメインを含み得て、PD-1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。

30

【0062】

いくつかの実施形態において、センサドメインは抗PD-1抗体またはその断片（例えば、PD-1またはPD-L1に結合するscFv）である。

【0063】

B. 治療ドメイン

本開示のタンパク質複合体は、IL-2受容体アゴニストから構成される治療ドメインを含む。本開示の治療ドメインは、リンカーを介してセンサドメインに連結され、タンパク質複合体を形成する。治療ドメインは、IL-2受容体に結合することによって治療活性を発揮し得る。

40

【0064】

いくつかの実施形態において、本開示のタンパク質複合体は、IL-2、またはこのサイトカインのバリエーションもしくは融合体を含む治療ドメインを含む。治療ドメインはまた、上記部分の断片であり得る。断片は、その標的（例えば、IL-2受容体）への結合に必要な部分の機能性領域および活性に必要な任意の機能性領域を保持する。

【0065】

いくつかの実施形態において、本開示のタンパク質複合体は、IL-15、またはこのサイトカインのバリエーションもしくは融合体を含む治療ドメインを含む。治療ドメインはま

50

た、上記部分の断片であり得る。断片は、その標的（例えば、IL-2受容体）への結合に必要な部分の機能性領域および活性に必要な任意の機能性領域を保持する。

【0066】

いくつかの実施形態において、本開示のタンパク質複合体は、ペプチドを含む治療ドメイン、ならびにIL-2受容体ベータおよびIL-2受容体ガンマに結合することができる操作されたタンパク質または抗体を含む。治療ドメインはまた、上記部分の断片であり得る。断片は、その標的（例えば、IL-2受容体）への結合に必要な部分の機能性領域および活性に必要な任意の機能性領域を保持する。

【0067】

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、センサドメインおよび治療ドメイン等の2つのドメインを連結し得る。様々なリンカーが、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において、リンカーは、アミノ酸リンカーまたは化学リンカーであり得る。

【0068】

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、センサドメインがマーカーに結合し、それによって、治療ドメインがセンサドメインから結合解除されたときでさえ、治療ドメインとセンサドメインとの間の連結を維持し得る。例えば、センサドメインは治療ドメインを結合解除し得るが、治療ドメインはリンカーを介してセンサ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、非切断性リンカーが挙げられ得る。

【0069】

リンカーは、フレキシブルリンカーであってもよい。フレキシブルリンカーは、一旦センサドメインから結合解除されると、治療ドメインがIL-2受容体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。リンカーの柔軟性は、治療効果に影響を及ぼし得る。例えば、センサドメインがPD-1に結合し、治療ドメインが結合解除されると、治療ドメインは、その標的であるIL-2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、治療ドメインがIL-2受容体に結合することを可能にするのに十分なほど柔軟でない場合、治療有効性は低下するかまたは発揮されない場合がある。リンカーが柔軟である場合、治療ドメインはIL-2受容体に結合し、高い治療有効性を発揮し得る。リンカーの柔軟性は、リンカーの長さから生じ得る。例えば、短いリンカーは、治療ドメインがIL-2受容体に結合するのを立体的に妨げる可能性がある。より長いリンカーは、タンパク質複合体がより柔軟であることを可能にし、治療ドメインがIL-2受容体に結合することを可能にし得る。いくつかの実施形態において、長すぎるリンカーは、PD-1の非存在下でセンサドメインが治療ドメインに結合して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において、長すぎるリンカーは、インビボでのタンパク質治療ドメインの安定性またはタンパク質治療ドメインの半減期に影響を及ぼし得る。

【0070】

いくつかの実施形態において、リンカーは、センサドメインの重鎖またはセンサドメインの軽鎖に付着し得る。リンカーは、センサドメインのN末端またはC末端に融合され得る。いくつかの実施形態において、リンカーは、IL-2受容体アゴニストドメインのN末端またはC末端と融合され得る。例えば、リンカーは、scFVまたはScFabのN末端またはC末端に付着していてもよい。

【0071】

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において、好ましいアミノ酸残基は、エントロピー的に柔軟な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には、グリシンおよびセリンが含まれ得る。他の好ましいアミノ酸残基としては、アラニン、プロリン、トレオニンおよびグルタミン酸が挙げられ得る。好ましい実施形態において、アミノ酸リンカーは、3～

10

20

30

40

50

50

カーは、25～75個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、100～500個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、100～300個のアミノ酸残基を含み得る。アミノ酸リンカーは、5～500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。

10

20

30

40

50

【0072】

非切断性リンカー。

非切断性リンカーは、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、所与の試料また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、全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、ヒトおよびヒト試料内で高度の安定性を備え得る。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またはアクセス不能にする二次構造を備え得る。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、または少なくとも1ヶ月の切断半減期を備え得る。

【0073】

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、IL-2受容体アゴニストドメインおよび単一単位として発現されるセンサドメインを含み得る。IL-2受容体アゴニストドメインは、センサドメインのN末端伸長として発現され得るか、センサドメインのC末端伸長として発現され得るか、またはセンサ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、IL-2受容体アゴニストドメイン、ペプチドリンカー、scFvドメイン、および任意にタグ、例えば精製タグ（例えば、V5またはmycタグ）または局在化シグナルを含むペプチドを含み得る。

【0074】

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、I L-2 受容体アゴニストドメインおよびセンサドメイン、2つのセンサドメイン、またはセンサドメインの2つのサブユニット）は、発現後に化学的また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、複数のセンサドメインおよび／または治療ドメインを含み得る。センサドメインおよび／または治療ドメインは、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、またはその一部から構成され得る。例えば、センサドメインは、免疫グロブリン軽鎖および免疫グロブリン重鎖の一部を含む抗体 F a b 領域を含み得る。

【0075】

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、および／または非媒介（例えば、シャペロンタンパク質または触媒複合体を必要としない）カップリングを可能にし得て、それによって複合体およ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巢（C H O）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および特異性を有する物理的構造を含む「ノブ・イントゥ・ホール（k n o b - i n t o - h o l e）」（K I H）コンストラクトまたは電荷交換コンストラクトを含み得る。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等の共有結合対を含み得る。物理的ハンドルは、同一または異なるドメインを含むタンパク質複合体の容易な産生を可能にし得る。

【0076】

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2Eに提供され、図2Eは、2つのI L-2 治療ドメインに結合した抗体（マルチセンサドメイン）を示す。この例では、タンパク質複合体は、複合体化した、2つのタンパク質免疫グロブリン軽鎖サブユニットおよび2つの免疫グロブリン重鎖サブユニットを含み、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、I L-2 治療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F a b 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ドメインに別々にカップリングされる。そのようなタンパク質複合体の第2例が図2Dに提供され、図2Eは、2つのI L-2 治療ドメインに結合した抗体（マルチセンサドメイン）を示す。この例では、タンパク質複合体は、複合体化した、2つのタンパク質免疫グロブリン軽鎖サブユニットおよび2つの免疫グロブリン重鎖サブユニットを含み、コンピテント抗体を形成する。2つの免疫グロブリン軽鎖サブユニットは、I L-2 治療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F a b 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ドメインに別々にカップリングされる。そのようなタンパク質複合体の第3の例が図2Gに提供され、図2Gは、2つのI L-2 治療ドメインおよび4つのセンサドメインに結合した抗体（マルチセンサドメイン）を示す。この例では、タンパク質複合体は、複合体化した、2つのタンパク質免疫グロブリン軽鎖サブユニットおよび2つの免疫グロブリン重鎖サブユニットを含み、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、I L-2 治療ドメインにカップリングされたN末端リンカーを含む、治療ドメインを標的としないセンサドメイン（抗P D-1 s c F v ドメイン）にカップリングされたC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F a b 領域を含み、それぞれがリンカーによって治療ドメインに別々にカップリングされ、2つのF c ドメインがそれぞれリンカーによってセンサに別々にカップリングされるように、免疫グロブリン軽鎖にカップリングされる。

【0077】

上記の例は、2つの同一のセンサドメインおよび2つの同一の治療ドメインを有する対称タンパク質複合体を提供するが、タンパク質複合体はまた、複数の異なるセンサドメ

ンおよび／または治療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、s c F v、s c F a b、V Hまたはその断片等の抗体断片から構成される第2のアームとを有する免疫グロブリン単位を含み得る。そのような場合、重鎖、抗体断片または軽鎖は、図2 A、図2 Cおよび図2 Fにそれぞれ示されるように、リンカーおよび治療ドメインを有するN末端伸長を含み得る。あるいは、重鎖、抗体断片または軽鎖は、リンカーおよび治療ドメインを有するC末端伸長を含み得る。タンパク質複合体はまた、単一の治療ドメインを有する対称免疫グロブリン単位を含み得る。例えば、図2 Bに示すように、免疫グロブリン単位は、単一の重鎖上にN末端リンカーおよび治療単位を含み得る。あるいは、免疫グロブリン単位は、単一の軽鎖上にN末端リンカーおよび治療単位を含み得る。免疫グロブリン単位はまた、単一のF c領域に結合した一対の抗体断片を含み得る。免疫グロブリン単位は、ナノボディを含み得る。免疫グロブリン単位は、ダイアボディを含み得る。

10

【0078】

タンパク質複合体は、図5 Iに示されるように、F a bセンサドメインがF cドメインのC末端に連結された治療ドメインに結合することができるように、F a bアームとコンピテント抗体のF cドメインとの間にフレキシブルリンカーを含み得る。この例では、タンパク質複合体は、複合体化した、2つのタンパク質免疫グロブリン軽鎖サブユニットおよび2つの免疫グロブリン重鎖サブユニットを含み、センサ抗体ドメインを形成する。

【0079】

タンパク質複合体は、治療ドメインを標的としないセンサドメインを含み得る。そのようなセンサドメインは、標的局在化を補助し得るか、またはP D－1に対する別個のセンサドメインの結合を増強し得る。治療ドメインを標的としないセンサドメインを含むタンパク質複合体の例を図2 Hに示す。この系は、単一特異性抗P D－1抗体を含み、第1の重鎖は、治療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、I L－2受容体アゴニストドメインおよびP D－1に対する二重特異性を有するセンサドメインにカップリングされたC末端リンカーを含む。

20

【0080】

タンパク質複合体は、ある範囲のセンサ対治療ドメイン比を含み得る。タンパク質複合体は、等しい数のセンサドメインおよび治療ドメインを含み得、その例は、2つのセンサドメインおよび2つの治療ドメインとのタンパク質複合体を示す図2 Dおよび図2 Eによって提供される。タンパク質複合体は、それぞれが2つのセンサドメインおよび1つの治療ドメインを含む図2 A、図2 B、図2 C、図2 Fおよび図2 Iのタンパク質複合体等の治療ドメインよりも多数のセンサドメインを含み得るか、または4つのセンサドメインおよび2つの治療ドメインを含む図2 Gならびに3つのセンサドメインおよび1つの治療ドメインを含む図2 H等であり得る。そのような場合、治療ドメインは、複数のセンサドメインと相互作用することが可能であり得るか、または2つ以上のセンサドメインと相互作用することが制限され得る。センサドメインが相互作用し得る治療ドメインの数は、そのリンカーに依存し得る。リンカーは、治療ドメインがセンサドメインと相互作用するのを防ぐために十分に短くてもよく、または治療ドメインが複数のセンサドメインと相互作用することを可能にするために十分に長くてもよい。

30

40

【0081】

特定の場合には、タンパク質複合体は、F c結合治療ドメインおよびセンサドメインを有する抗体を含み得る。図2 Hに示すように、タンパク質複合体は、リンカーおよび治療ドメインを含む第1の重鎖C末端伸長、ならびにリンカーおよびセンサドメインを含む第2の重鎖C末端伸長を有する抗体を含み得る。この設計の抗体は、そのF a bおよびC末端伸長センサドメインにわたって共通の標的を含み得る。例えば、抗体F a b領域およびC末端伸長センサドメインはそれぞれ、P D－1上の同じエピトープを標的とし得る。逆に、この設計の抗体は、そのF a b領域およびC末端伸長センサドメインにわたって別個の標的を含み得る。例えば、抗体F a b領域およびC末端伸長センサドメインはそれぞれ、P D－1上の異なるエピトープを標的とし得る。図2 Iに示されるように、タンパク質

50

複合体は、（F a b アームとF c ドメインとの間の）C H 1 ドメインおよびC H 2 ドメインのフレキシブルリンカーと、リンカーおよび治療ドメインを含む重鎖C末端伸長とを含む第1の重鎖、ならびにC末端伸長のない（F a b アームとF c ドメインとの間の）C H 1 ドメインおよびC H 2 ドメインのフレキシブルリンカーを含む第2の重鎖とを有する抗体を含み得る。

【0082】

いくつかの実施形態において、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、疎水性およびサイズ）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、ならびに必ずしも好ましいとは限らないが好ましい可能性がある置換は、以下の表2

10

【表2】

表2－保存的置換の例

元の残基	置換例	好ましい置換
A l a (A)	V a l ; L e u ; I l e	V a l
A r g (R)	L y s ; G l n ; A s n	L y s
A s n (N)	G l n ; H i s ; L y s ; A r g	G l n
A s p (D)	G l u	G l u
C y s (C)	S e r	S e r
G l n (Q)	A s n	A s n
G l u (E)	A s p	A s p
G l y (G)	P r o ; A l a	A l a
H i s (H)	A s n ; G l n ; L y s ; A r g	A r g
I l e (I)	L e u ; V a l ; M e t ; A l a ; P h e ; ノルロイシン	L e u
L e u (L)	ノルロイシン ; I l e ; V a l ; M e t ; A l a ; P h e	I l e
L y s (K)	A r g ; G l n ; A s n	A r g
M e t (M)	L e u ; P h e ; I l e	L e u
P h e (F)	L e u ; V a l ; I l e ; A l a ; T y r	L e u
P r o (P)	A l a	A l a
S e r (S)	T h r	T h r
T h r (T)	S e r	S e r
T r p (W)	T y r ; P h e	T y r
T y r (Y)	T r p ; P h e ; T h r ; S e r	P h e
V a l (V)	I l e ; L e u ; M e t ; P h e ; A l a ; ノルロイシン	L e u

20

30

40

【0083】

いくつかの実施形態において、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み換え核酸を記載する。いくつかの実施形態において、組み換え核酸は、タン

50

パク質複合体全体をコードするプラスミドまたはベクターを含む。いくつかの実施形態において、組み換え核酸は、治療ドメイン、センサドメイン、およびリンカーをそれぞれコードするプラスミドまたはベクターを含む。いくつかの実施形態において、組み換え核酸は、治療ドメイン、センサドメインおよびリンカーのうちのいずれか2つと一緒にコードするプラスミドまたはベクターを含む。

【0084】

医薬製剤

本開示のタンパク質複合体またはタンパク質複合体をコードする組み換え核酸は、医薬組成物として製剤化され得る。医薬組成物は、薬学的に許容され得る担体または添加物を含み得る。本明細書で使用される場合、「薬学的に許容され得る」または「薬理学的に許容され得る」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または他の不都合な反応を生じさせない分子実体および組成物が含まれる。薬学的に許容され得る担体としては、ありとあらゆる溶媒、分散媒、コーティング、抗菌剤および抗真菌剤、等張剤および吸収遅延剤等が挙げられる。薬学的活性物質のためのそのような媒体および薬剤の使用は、当技術分野で周知である。任意の従来の媒体または薬剤が有効成分と不適合でない限り、治療組成物におけるその使用が企図される。補助的な有効成分もしばしば組成物に組み込まれる。

【0085】

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、ヒトまたは非ヒト哺乳動物であり得る。対象は、疾患を有し得る。疾患は、がんであり得る。がんは、急性リンパ芽球性白血病（ALL）；急性骨髄性白血病（AML）；青年のがん；副腎皮質がん；エイズ関連のがん；カポジ肉腫（軟部組織肉腫）；エイズ関連のリンパ腫（リンパ腫）；原発性CNSリンパ腫（リンパ腫）；肛門がん；虫垂がん－消化管カルチノイド腫瘍を参照；星状細胞腫、小児期（脳がん）；非定型奇形腫様／ラブドイド腫瘍、小児、中枢神経系（脳がん）；皮膚の基底細胞がん－皮膚がんを参照；胆管がん；膀胱がん；骨がん（ユーイング肉腫および骨肉腫、ならびに悪性線維性組織球腫を含む）；脳腫瘍；乳がん；気管支腫瘍（肺がん）；バーキットリンパ腫－非ホジキンリンパ腫を参照；カルチノイド腫瘍（消化管）；原発不明がん；心臓（心臓の）腫瘍、小児期；中枢神経系；非定型奇形腫様／ラブドイド腫瘍、小児期（脳がん）；髄芽腫および他のCNS胎児性腫瘍、小児期（脳腫瘍）；胚細胞腫瘍、小児期（脳腫瘍）；原発性CNSリンパ腫；子宮頸がん；小児がん；小児期のがん、稀；胆管がん（cholangiocarcinoma）－胆管がん（bile duct cancer）を参照；腱索腫、小児期（骨がん）；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；結腸直腸がん；頭蓋咽頭腫、小児期（脳がん）；皮膚t細胞リンパ腫－リンパ腫（菌状息肉症およびセザリ－症候群）を参照；非浸潤性乳管がん（DCIS）－乳がんを参照；胎児性腫瘍、髄芽腫および他の中枢神経系、小児（脳がん）；子宮内膜がん（子宮がん）；上衣腫、小児期（脳がん）；食道がん；鼻腔神経芽細胞腫（頭頸部がん）；ユーイング肉腫（骨がん）；頭蓋外胚細胞腫瘍、小児期；性腺外胚細胞腫瘍；眼のがん；眼内黒色腫；網膜芽細胞腫；卵管がん；骨の線維性組織球腫、悪性および骨肉腫；胆嚢がん；胃（gastric）（胃（stomach））がん；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（脳がん）；小児頭蓋外胚細胞腫瘍；性腺外胚細胞腫瘍；卵巢胚細胞腫瘍；精巣がん；妊娠性絨毛性疾患；有毛細胞白血病；頭頸部がん；心臓腫瘍、小児期；肝細胞（肝臓）がん；組織球症、ランゲルハンス細胞；ホジキンリンパ腫；下咽頭がん（頭頸部がん）；眼内黒色腫；脾臓腫瘍、脾臓神経内分泌腫瘍；カポジ肉腫（軟部組織肉腫）；腎臓（腎細胞）がん；ランゲルハンス細胞組織球症；喉頭がん（頭頸部がん）；白血病；口唇および口腔がん（頭頸部がん）；肝臓がん；肺がん（非小細胞、小細胞、胸膜肺芽腫、および気管気管支腫瘍）；リンパ腫；男性乳がん；骨および骨肉腫の悪性線維性組織球腫；黒色腫；黒色腫

10

20

30

40

50

、眼内（眼）；メルケル細胞がん（皮膚がん）；中皮腫、悪性；転移性がん；不顕性原発性転移性扁平上皮頸部がん（頭頸部がん）；ナット遺伝子変化を伴う正中管がん；口のがん（頭頸部がん）；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；鼻腔および副鼻腔がん（頭頸部がん）；鼻咽頭がん（頭頸部がん）；神経芽細胞腫；非ホジキンリンパ腫；非小細胞肺がん；口腔がん、口唇および口腔がんならびに中咽頭がん（頭頸部がん）；骨肉腫および骨の悪性線維性組織球腫；卵巣がん；膵臓がん；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；副鼻腔がんおよび鼻腔がん（頭頸部がん）；副甲状腺がん；陰茎がん；咽頭がん（頭頸部がん）；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（肺がん）；妊娠および乳がん；原発性中枢神経系（CNS）リンパ腫；原発性腹膜がん；前立腺がん；直腸がん；再発がん；腎細胞（腎臓）がん；網膜芽細胞腫；横紋筋肉腫、小児期（軟部組織肉腫）；唾液腺がん（頭頸部がん）；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（骨がん）；カボジ肉腫（軟部組織肉腫）；骨肉腫（骨がん）；軟部組織肉腫；子宮肉腫；セザリー症候群（リンパ腫）；皮膚がん；小細胞肺がん；小腸がん；軟部組織肉腫；皮膚の扁平上皮がん－皮膚がんを参照；不顕性原発性転移性扁平上皮頸部がん（頭頸部がん）；胃（stomach）（胃（gastric））がん；t細胞リンパ腫、皮膚－リンパ腫（菌状息肉症およびセザリー症候群）を参照；精巣がん；喉のがん（頭頸部がん）；鼻咽頭がん；中咽頭がん；下咽頭がん；胸腺腫および胸腺がん；甲状腺がん；気管気管支腫瘍（肺がん）；腎盂および尿管の移行細胞がん（腎臓（腎細胞）がん）；未知の原発性がん腫；小児期の稀ながん；尿管および腎盂、移行細胞がん（腎臓（腎細胞）がん）；尿道がん；子宮がん、子宮内膜；子宮肉腫；膣がん；血管腫瘍（軟部組織肉腫）；外陰がん；ウィルムス腫瘍および他の小児腎臓腫瘍；または若年成人のがんもしくは <https://www.cancer.gov/types> で言及されている任意のがんであり得る。

10

20

【0086】

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、および／または添加物等の他の化学成分との組み合わせであり得る。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。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、眼科（ophthalmic）、肺、経皮、膣、眼（optic）、鼻、経口、吸入、皮膚、関節内、髄腔内、鼻腔内および局部投与を含む様々な形態およ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。医薬組成物は、局所的または全身的な様式で、例えば、本明細書に記載のタンパク質複合体を任意にデポーで臓器に直接注射することによって投与することができる。

30

【0087】

非経口注射は、ボーラス注射または連続注入のために製剤化することができる。医薬組成物は、油性または水性ビヒクル中の滅菌懸濁液、溶液また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、安定化剤および／または分散剤等の配合剤を含有し得る。非経口投与用の医薬製剤には、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含まれる。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。好適な親油性溶媒またはビヒクルには、ゴマ油等の脂肪油、またはオレイン酸エチルもしくはトリグリセリド等の合成脂肪酸エステル、またはリポソームが挙げられる。水性注射懸濁液は、ナトリウムカルボキシメチルセルロース、ソルビトール、またはデキストラン等の、懸濁液の粘度を増加させる物質を含有し得る。懸濁液はまた、高濃度溶液の調製を可能にするために、本明細書に記載のそのようなタンパク質複合体の溶解度を増加させるおよび／または凝集を減少させる適切な安定剤また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、

40

50

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または粉末形態であり得る。いくつかの実施形態において、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、隔週または毎月の投与頻度を含む投薬レジメンを可能にするのに十分に長い血清半減期（例えば、本明細書では、例えば、実施例7において実証される）を含み得る。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、または少なくとも400時間の血清半減期を含み得る。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、またはウサギ血清半減期であり得る。

10

【0088】

本開示のタンパク質複合体は、外科的処置中に、または経皮、皮下、筋肉内、腫瘍内、髄腔内、局部もしくは局所送達を介して、器官または器官組織も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において、タンパク質複合体は、癌性組織（例えば、腫瘍）に直接適用され得る。本明細書に記載のタンパク質複合体は、局部的に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、クリームおよび軟膏等の様々な局部的に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、等張化剤、緩衝剤および保存剤を含有することができる。タンパク質複合体は、スピルリナで発現され、経口送達され得る。

20

【0089】

本明細書で提供される処置また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でがん罹患している対象に投与する。いくつかの実施形態において、対象は、ヒト等の哺乳動物である。治療有効量は、疾患の重症度、対象の年齢および相対的な健康状態、使用される化合物の効力、および他の要因に応じて大きく変化し得る。

【0090】

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化合物の加工を容易にする添加物および補助剤を含む1つ以上の生理学的に許容され得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み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、または溶解することによって製造することができる。医薬組成物は、少なくとも1つの薬学的に許容され得る担体、希釈剤、または添加物と、遊離塩基または薬学的に許容され得る塩形態として本明細書に記載される化合物とを含むことができる。

30

【0091】

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得る添加物または担体と製剤化して、固体、半固体または液体組成物を形成することを含む。固体組成物には、例えば、散剤、錠剤、分散性顆粒剤、カプセル剤、カシェ剤および坐剤が含まれる。これらの組成物はまた、湿潤剤または乳化剤、pH緩衝剤、および他の薬学的に許容され得る添加剤等の少量の非毒性補助物質を含有することができる。

40

【0092】

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、ボラス、経時的に起こる注入、また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。いくつかの態様において、注入速度は、用量が5分未満、5分超ただし15分未満または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

50

期間にわたって投与されるような速度である。他の態様において、注入速度は、用量が5分超かつ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において、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。

【0093】

本明細書で使用される場合、「製品」または「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、液体もしくは凍結製剤または調製物を指す。投与すると、生成物からの活性部分の放出速度は、しばしば、生成物自体を構成する添加物および／または生成物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、胃腸の不快感また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、小さな製剤変化に比較的反応しない。

10

【0094】

薬学的に許容され得る添加物の非限定的な例は、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 Dekker, New York, N. Y., 1980; および Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Seventh Ed. (Lippincott Williams & Wilkins 1999) に記載されており、その各々は参照によりその全体が組み込まれる。

20

【0095】

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場合、「有効量」という用語は、処置される疾患または症状の症候の1つ以上をある程度軽減する、投与される薬剤または化合物の十分な量を指すことができる。結果は、疾患の徴候、症候、もしくは原因の軽減および／もしくは緩和、または生物系の任意の他の所望の変化であり得る。そのような薬剤または化合物を含有する組成物は、予防的、増強的および／また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、用量漸増研究等の技術を使用して決定することができる。

30

【0096】

本開示の方法、組成物およびキットは、症状の症候を予防、処置、停止、逆転または改善する方法を含むことができる。処置は、対象（例えば、疾患または症状に罹患している個体、家畜、野生動物または実験動物）を本開示のタンパク質複合体で処置することを含み得る。本開示のタンパク質複合体は、対象の疾患を処置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；チンパンジー、または他の類人猿もしくはサル種等の非ヒト霊長類；ウシ、ウマ、ヒツジ、ヤギ、ブタ等の家畜；ウサギ、イヌ、ネコ等の飼育動物；ラット、マウス、モルモット等の齧歯動物を含む実験動物であり得る。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、思春期、思春期前、小児、幼児、乳児、または子宮内胎児であり得る。

40

【0097】

疾患の臨床的発症前に処置を対象に提供することができる。疾患の臨床的発症後に処置を対象に提供することができる。処置を、疾患の臨床的発症の1日後、1週間後、6ヶ月後、12ヶ月後もしくは2年後またはそれ以上後に対象に提供することができる。処置は、疾患の臨床的発症後1日、1週間、1ヶ月、6ヶ月、12ヶ月、2年以上にわたって対象に提供され得る。処置は、疾患の臨床的発症後1日、1週間、1ヶ月、6ヶ月、12ヶ月、または2年未満にわたって対象に提供され得る。処置はまた、臨床試験においてヒト

50

を処置することを含み得る。処置は、医薬組成物、例えば本開示を通して記載される1つ以上の医薬組成物を対象に投与することを含み得る。処置は、1日1回の投薬を含むことができる。処置は、本開示のタンパク質複合体を対象に、静脈内、皮下、筋肉内により、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、または疾患組織上もしくは疾患組織内に直接、例えば局部、関節内注射経路または注射適用経路を介して送達することを含み得る。

【0098】

いくつかの実施形態においては、本開示は、がんを処置する方法であって、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。

【0099】

いくつかの実施形態において、本開示は、がんを処置する方法であって、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得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。

【0100】

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において、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、単回もしくは複数回投与用の注射液の形態で、また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、また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、医薬組成物の適用および使用に関する書面の情報を更に含み得る。

【0101】

別段の定義がない限り、本明細書で使用される全ての技術用語は、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ている意味と同じ意味を有する。本明細書および特許請求の範囲において使用される単数形（「a」、「an」、および「the」）は、別途内容が明確に指示しない限り、複数の指示対象を含む。本明細書における「または」へのあらゆる言及は、特に明記しない限り、「および／または」を包含することが意図される。

【0102】

「少なくとも」、「より大きい」、または「以上」という用語が2つ以上の一連の数値の第1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」、または「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、または3以上は、1以上、2以上、または3以上に等しい。

【0103】

「以下（no more than）」、「未満」、「以下（less than or equal to）」、または「最大で」という用語が一連の2つ以上の数値の第1の数値に先行するときはいつでも、「以下（no more than）」、「未満」、「以下（less than or equal to）」、または「最大で」という用語は、一連の数値の各数値に適用される。例えば、3、2、または1以下は、3以下、2以下、または1以下と等価である。

【0104】

値が範囲として記載されている場合、そのような開示は、特定の数値また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全ての可能な部分範囲、なら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。

【0105】

10

20

30

40

50

【表 2 A】

表 2 A－本明細書に記載のマルチペプチド免疫サイトカイン設計の例示的なペプチド成分

ペプチド I D	配列	コメント	配列番号
PEP000113	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDVNT AVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSR FSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHY TTPPTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQ LTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSE RQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTLTK DEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRECE		671
PEP000169	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSISS WLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLTQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQS YSTPLTFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSE QLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGS ERQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTLTK DEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRECE		672
PEP000243	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVDT SDNSFIHWYQQKPGQSPKLLIYRSSTLES GV PDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQ QNYDVPWTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFP PSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKI DGSERQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTL TLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFN RNECE		673
PEP000244	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVDT SDNSFIHWYQQKPGQSPKLLIYRSSTLES GV PDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQ QNYDVPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCFLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTL TLTKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC		674
PEP000245	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSLH SSSNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRE SGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVY YCQQYYSTPITFGPGTKVDIKRADAAPTVSI FPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINV KWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMS STLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIV KSFNRECE		675
PEP000288	EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSS YTMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGRDIYY PDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCVLLTGRVYFALDSWGQGLVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVK		676

10

20

30

40

50

ペプチドID	配列	コメント	配列番号
	DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDE LTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG GGGGSGGGSGGGGSAPASSSTKKTQLQLE HLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTAKFA MPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNGAQS KNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCE YADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT		
PEP001315	MSTSTEQKLISEEDLQVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASGYTFTTYMHVVRQAPGQ GLEWMGIINPSGGGTLYAQKFQGRVTMTR DTSTSTVYMELSSLRSEDТАVYYCAAGLFI WGQGTITVTVSSASGGGGSGGGSGGGGSH ASDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSL LHSSSNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWAST RESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVA VYYCQQYYSTPITFGPGTKVDIKGSGLNDIF EAQKIEWHEGKPIPNLLGLDST	PD1_R04 —C10—内部 抗PD1 mAb	677
PEP003213	MSTSTEQKLISEEDLQVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASGDTFTRHYVHWVRQAPGQG LEWMGIINPSGGYASYAQKFQGRVTMTRD TSTSTVYMELSSLRSEDТАVYYCAAGLFIW GQGTITVTVSSASGGGGSGGGSGGGGSHA SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSIGR WLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYE SFPVTFGPGTKVDIKGKPIPNLLGLDST	AB002022_2 B07v1	678
PEP003626	EVQLLESDDLVPQGGSLRLSCAASGFSFSS YTMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGRDIYY PDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCVLLTGRVYFALDSWGQGTITVTVS SAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLV KGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQS DLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASS TKVDKKIEPRGPTIKCPPCKCAPNAAGGP SVFIFPPKIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDD PDVQISWVFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTL RVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNDLG APIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTK KQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTEL NYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWV ERNYSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGGG		679

10

20

30

40

50

ペプチドID	配列	コメント	配列番号
	GGSGGGGSGGGGSAPASSSTKKTQLQLEHL LLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFAMP KKATELKHLCLEELKPLEEVLNGAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYA DETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT		
PEP003639	APASSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLCLE EELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FAQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTF TRHYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYA SYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGLTVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLS SSVTVTSSWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WVFNNEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVS LPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERT ISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTL TCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNT EPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSY SCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK		680
PEP003641	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNVGT NVGWYQQKPGKAPKALIYSASFRYSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQQYY TYPYTFGGGTKLEIKRADAAPTVISFPPSSEQ LTSGGASVVCFLNFPKDVNWKIDGSE RQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTTLTK DEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRENEC		681
PEP003642	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGR WLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSR FSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYE SFPVTFGPGTKVDIKRADAAPTVISFPPSSEQ LTSGGASVVCFLNFPKDVNWKIDGSE RQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTTLTK DEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRENEC		682
PEP003648	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTF TRHYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYA SYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGLTVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLS SSVTVTSSWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WVFNNEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVS		683

10

20

30

40

50

ペプチドID	配列	コメント	配列番号
	LPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERT ISKPKGSVRAPQVYVLPPEKEMTKKQVSL TCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNT EPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSY SCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGSGGG SHHHHHH		
PEP003654	APASSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLE EELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FAQSIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGGSE VQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSS YTLAWVRQAPGKGLEWVAIDSSSYTYSP DTVRGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDT AVYYCARDSDALDYWGQGLTVTVSSA KTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKG YFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDL YTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTK VDKKIEPRGPTIKCPPCKCPAPNAAGGPSV FIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPD VQISWVFNNEVHTAQTQTHREDYNSTLR VVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGA PIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKK QVTLTCMVTDMPEDIYVEWTNNGKTELN YKNTPEVLDSGYSYFMYSKLRVEKKNWVE RNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK		684
PEP003655	APASSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLE EELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FAQSIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGGSE VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKD TYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRY ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAED TAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLTVTV SSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCL VKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQ SDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPAS STKVDKKIEPRGPTIKCPPCKCPAPNAAGG PSVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSED DPDVQISWVFNNEVHTAQTQTHREDYNS TLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKD LGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEM TKKQVTLTCMVTDMPEDIYVEWTNNGKT ELNYKNTPEVLDSGYSYFMYSKLRVEKKN WVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG K		685
PEP003657	APASSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLE		686

10

20

30

40

50

ペプチドID	配列	コメント	配列番号
	EELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FAQSIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGGS QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTF TRHYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYA SYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGTLLTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSSGLSSGVHTFPAVLQSDLYTSL SSVTVTSSWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WVFNNEVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVS LPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERT ISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTL TCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNT EPVLDSGGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSY SCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK		
	APASSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLCLE EELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FAQSIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGGS QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTF TRHYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYA SYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGTLLTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK		
PEP003780			687
	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGR WLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSR FSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYE SFPVTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC		
PEP003782			688
	APASSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLCLE EELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT		
PEP003786			689

10

20

30

40

50

ペプチドID	配列	コメント	配列番号
	FAQSIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGGS DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSIGR WLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYE SFPVTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC		
	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTF TRHYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYA SYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLR EDTAVYYCAAGLFIWGQGLTVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK		690
PEP003791			
	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSS YTMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGRDIYY PDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCVLLTGRVYFALDSWGQGLTVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTSPSPSEPKSSDTPP PSPRSPEPKSSDTPPPSPRSPEPKSCDTPPPCP RAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQ VCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLV SKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSP		691
PEP004129			
	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSS YTMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGRDIYY PDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCVLLTGRVYFALDSWGQGLTVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTSPSPSEPKSSDTPP PSPRSPEPKSSDTPPPSPRSPEPKSCDTPPPCP		692
PEP004130			

10

20

30

40

50

ペプチドID	配列	コメント	配列番号
	RAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGGGGSGGGGSGGGGSAPASS STKKTQLQLEHLLDLQMILNGINNYKNPK LTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEEELKP LEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLEL KGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQS IISTLT		
PEP004133	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTF TRHYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYA SYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGTLLTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTSPPSPEPKSSDTPPPSPRSP EPKSSDTPPPSPRSPPEPKSCDTPPPCPRAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPP SRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLVSKLTV KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSP		693
PEP004134	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTF TRHYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYA SYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGTLLTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTSPPSPEPKSSDTPPPSPRSP EPKSSDTPPPSPRSPPEPKSCDTPPPCPRAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP CRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTV KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGGGGSGGGGSGGGGSAPASSSTKKTQ LQLEHLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLT AKFAMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLN		694

10

20

30

40

50

ペプチドID	配列	コメント	配列番号
	GAQSKNFHLRPRDLISNINIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT		
PEP004153	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLE EELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FAQSIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGGS QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTF TRYVYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYA SYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGTLLTVVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTNWSGLSSGVHTFPAVLQSDLYTLS SSVTVTSSWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WVFNNEVHTAQQTQTHREDYNSTLRVVS LPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERT ISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTL TCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNT EPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSY SCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK		695
PEP004158	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGR WLAHYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSR FSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQYN RFPVTFGPGTKVDIKRADAAPTVSIFPPSSEQ LTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSE RQNGVLNSWTDQDSKDYMSSTLTTLTK DEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC		696
PEP004159	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGR WLAHYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSR FSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQYN SFPVTFGPGTKVDIKRADAAPTVSIFPPSSEQ LTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSE RQNGVLNSWTDQDSKDYMSSTLTTLTK DEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC		697
PEP004161	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGR YLAHYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSR FSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQYN RFPVTFGPGTKVDIKRADAAPTVSIFPPSSEQ LTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSE RQNGVLNSWTDQDSKDYMSSTLTTLTK DEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC		698
PEP004162	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGR YLAHYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSR FSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQYN SFPVTFGPGTKVDIKRADAAPTVSIFPPSSEQ LTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSE		699

10

20

30

40

50

ペプチドID	配列	コメント	配列番号
	RQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTK DEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRENEC		
PEP004163	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGR YLAWYQQKPGKAPKLLIYYASNLETGVPSR FSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYN SFPVTFGPGTKVDIKRADAAPTVSIFPPSSEQ LTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSE RQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTK DEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRENEC		700
PEP004191	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGDTFTRYYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINP SGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLLTVS SASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPS SLSASVGDRVTITCRASQSIGRWLAWYQQK PGKAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQYERFVTFGPG TKVDIKAAAGSGSEQKLISEEDLGKIPNPL LGLDST	AB002342_2 B07v5	701
PEP004192	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGDTFTRYYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINP SGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLLTVS SASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPS SLSASVGDRVTITCRASQSIGRWLAWYQQK PGKAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQYESFPVTFGPGT KVDIKAAAGSGSEQKLISEEDLGKIPNPLL GLDST	AB002353_2 B07v9	702
PEP004195	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGDTFTRYYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINP SGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLLTVS SASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPS SLSASVGDRVTITCRASQSIGRWLAWYQQK PGKAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQYNRFVTFGPG TKVDIKAAAGSGSEQKLISEEDLGKIPNPL LGLDST	AB002328_2 B07v4	703
PEP004198	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGDTFTRYYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINP SGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLLTVS SASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPS SLSASVGDRVTITCRASQSIGRWLAWYQQK PGKAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQYNSFPVTFGPG TKVDIKAAAGSGSEQKLISEEDLGKIPNPL LGLDST	AB002293_2 B07v2	704

10

20

30

40

50

ペプチドID	配列	コメント	配列番号
PEP004207	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGDTFTRYYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINP SGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGLTVTS SASGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPS SLSASVGDRVTITCRASQSIGRYLAWYQQK PGKAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQYNRFPVTFGPG TKVDIAAAGSGSEQKLISEEDLGKPIPNPL LGLDST	AB002347_2 B07v7	705
PEP004208	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGDTFTRYYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINP SGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGLTVTS SASGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPS SLSASVGDRVTITCRASQSIGRYLAWYQQK PGKAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSFPVTFGPG TKVDIAAAGSGSEQKLISEEDLGKPIPNPL LGLDST	AB002345_2 B07v6	706
PEP004210	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGDTFTRYYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINP SGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGLTVTS SASGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPS SLSASVGDRVTITCRASQSIGRYLAWYQQK PGKAPKLLIYYASNLETGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSFPVTFGPG TKVDIAAAGSGSEQKLISEEDLGKPIPNPL LGLDST	AB002348_2 B07v8	707
PEP004211	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGDTFTRYYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINP SGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGLTVTS SASGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPS SLSASVGDRVTITCRASQSIGSWLAWYQQK PGKAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSFPVTFGPG TKVDIAAAGSGSEQKLISEEDLGKPIPNPL LGLDST	AB002326_2 B07v3	708
PEP004243	APASSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLE EELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISINVI VLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FAQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTF TRYYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYA SYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGLTVTVSSAKTT		709

10

20

30

40

50

ペプチドID	配列	コメント	配列番号
	APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLS SSVTVTSSWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVS LPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERT ISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTL TCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNT EPVLDSGYSYFMYSDLRVEKKNWVERNSY SCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK		
PEP004247	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTF TRYVYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYA SYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGLTVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLS SSVTVTSSWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVS LPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERT ISKPKGSVRAPQVYVLPPEKEMTKKQVSL TCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNT EPVLKSDGYSYFMYSKLTVEKKNWVERNSY SCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK		710
PEP004251	APASSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLCLE EELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FAQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TKNYMHWVRQAPGQGLEWLGWVSPDSGY TGYYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLR SEDTAVYYCTDLSLELDDAFDIWGQGTMT VTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTL GCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPA VLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAH PASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNA AGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVVDV SEDDPDVQISWVNNVEVHTAQTQTHRED YNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVN NKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPE EEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNN GKTELNYKNTPEVLDSGYSYFMYSDLRVE KKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFS RTPGK		711
PEP004261	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGDTFTDYMHVVRQAPGQGLEWMGIINP	AB002381_7 A04v4	712

10

20

30

40

50

ペプチドID	配列	コメント	配列番号
	RAGYTSYALKFQGRVTMTTRDTSTSTVYME LSSLRSEDNAVYYCTSGWDVWGQGLVTV SSASGGGGSGGGSGGGGSHASDIQMTQSP SSLSASVGDRVTITCRASQSISTWLAWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLDGVPSPRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSPVTFGQ GTKVEIKAAAGSGSEQKLISEEDLGKPIPNP LLGLDST		
PEP004271	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGHTFTRYMHVVRQAPGQGLEWMGIINP SGGYATYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYME LSSLRSEDNAVYYCASGLFIWGQGLVTVS SASGGGGSGGGSGGGGSHASDIQMTQSPS SLSASVGDRVTITCRASQSINSLAWYQQK PGKAPKLLIYATSTLESGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSYRFPVTFGQ TKVEIKAAAGSGSEQKLISEEDLGKPIPNPL GLDST	AB002427_2 A11v5	713
PEP004272	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGHTFTRYMHVVRQAPGQGLEWMGIINP SGGYATYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYME LSSLRSEDNAVYYCASGLFIWGQGLVTVS SASGGGGSGGGSGGGGSHASDIQMTQSPS SLSASVGDRVTITCRASQSINSLAWYQQK PGKAPKLLIYATSTLESGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQYYRFPVTFGQ TKVEIKAAAGSGSEQKLISEEDLGKPIPNPL GLDST	AB002413_2 A11v3	714
PEP004273	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGHTFTRYMHVVRQAPGQGLEWMGIINP SGGYATYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYME LSSLRSEDNAVYYCASGLFIWGQGLVTVS SASGGGGSGGGSGGGGSHASDIQMTQSPS SLSASVGDRVTITCRASQSINSLAWYQQK PGKAPKLLIYATSTLESGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQYYSPVTFGQ TKVEIKAAAGSGSEQKLISEEDLGKPIPNPL GLDST	AB002417_2 A11v4	715
PEP004281	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGHTFTRYMHVVRQAPGQGLEWMGIINP SGGYATYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYME LSSLRSEDNAVYYCASGWFVWGQGLVTV SSASGGGGSGGGSGGGGSHASDIQMTQSP SSLSASVGDRVTITCRASQSINSLAWYQQ KPGKAPKLLIYDTSTLESGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSPVTFGQ GTKVEIKAAAGSGSEQKLISEEDLGKPIPNP LLGLDST	AB002410_2 A11v2	716

10

20

30

40

50

ペプチドID	配列	コメント	配列番号
PEP004299	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYTFTDYMHWRQAPGQGLEWMGIINP RAGYTSYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCTSGWDVWGQGLTVTV SSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSP SSLSASVGDRVTITCRASQSISTWLAWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLDSGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSPVTFGQ GTKVEIKAAAGSGSEQKLISEEDLGKPIPNP LLGLDST	AB002360_7 A04v1	717
PEP004340	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYTFTTRYMHWRQAPGQGLEWMGIINP RAGYTSYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCTSGWDVWGQGLTVTV SSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSP SSLSASVGDRVTITCRASQSISTWLAWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLDSGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSPVTFGQ GTKVEIKAAAGSGSEQKLISEEDLGKPIPNP LLGLDST	AB002365_7 A04v2	718
PEP004349	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYTFTTYMHWRQAPGQGLEWMGIINP RAGYTSYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCTSGWDVWGQGLTVTV SSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSP SSLSASVGDRVTITCRASQSISTWLAWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLDSGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSPVTFGQ GTKVEIKAAAGSGSEQKLISEEDLGKPIPNP LLGLDST	AB002370_7 A04v3	719
PEP004356	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSS YTMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGRDIYY PDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCVLLTGRVYFALDSWGQGLTVTVS SAKTAPS VYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLV KGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQS DLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASS TKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGP SVFIFPPKIKDVL MISLSPIVTCVVDVSEDD PDVQISWVFNNVEVHTAQTQTHREDYNSTL RVVSALPIQH QDWMSGKEFKCKVNNKDLG APIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEKEMTK KQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTEL NYKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWV ERNYSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGL VKPGGSLRLSCAASGFTFSSYTLAWVRQAP GKGLEWVA AIDSSSYTYSPTVTRGRFTISR NAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARD SN		720

10

20

30

40

ペプチドID	配列	コメント	配列番号
	WDALDYWGQGLTVTVSSASGGGGSGGGG SGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVSIT CKASQNVGTNVGWYQQKPGKAPKALIYSA SFRYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDF ATYFCQQYYTYPTYTFGGGTKLEIKGGGSGG GSHHHHHH		
	APASSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLE EELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FAQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGG QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTF TRHYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYA SYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGLTVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTSL SSVTVTSSWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVS LPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERT ISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTL TCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNT EPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSY SCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGSGG GGSGGGSGGGGSGVQLVQSGAEVKKPGA SVKVSCKASGYTFTTYMHWRQAPGQGL EWMGIINPSGGTLYAQKFQGRVTMTRDTS TSTVYMELSSLRSEDVAVYYCAAGLFIWGQ GTTVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDI VMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSLHSS SNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRES GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYY CQQYYSTPITFGPGTKVDIK		721
PEP004361			
	APASSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLE EELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FAQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGG QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTF TRYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYA SYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGLTVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTSL SSVTVTSSWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS		722
PEP004363			

10

20

30

40

50

ペプチドID	配列	コメント	配列番号
	W F V N N V E V H T A Q T Q T H R E D Y N S T L R V V S A L P I Q H Q D W M S G K E F K C K V N N K D L G A P I E R T I S K P K G S V R A P Q V Y V L P P P E E E M T K K Q V T L T C M V T D F M P E D I Y V E W T N N G K T E L N Y K N T E P V L D S D G S Y F M Y S K L R V E K K N W V E R N S Y S C S V V H E G L H N H H T T K S F S R T P G G G G S G G G G S G G G S G G G S Q V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K V S C K A S G Y T F T T Y Y M H W V R Q A P G Q G L E W M G I N P S G G G T L Y A Q K F Q G R V T M T R D T S T S T V Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C A A G L F I W G Q G T T V T V S S A S G G G S G G G S G G G S H A S D I V M T Q S P D S L A V S L G E R A T I N C K A S Q S L L H S S S N K N Y L A W Y Q Q K P G Q P P K L L I Y W A S T R E S G V P D R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q A E D V A V Y Y C Q Q Y Y S T P I T F G P G T K V D I K		
	E V Q L L E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F S F S S Y T M S W V R Q A P G K G L E W V A T I S G G R D I Y Y P D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C V L L T G R V Y F A L D S W G Q G T L V T V S S A K T T A P S V Y P L A P V C G D T T G S S V T L G C L V K G Y F P E P V T L T W N S G S L S S G V H T F P A V L Q S D L Y T L S S S V T V T S S T W P S Q S I T C N V A H P A S S T K V D K K I E P R G P T I K P C P P C K C P A P N A A G G P S V F I F P P K I K D V L M I S L S P I V T C V V V D V S E D D P D V Q I S W F V N N V E V H T A Q T Q T H R E D Y N S T L R V V S A L P I Q H Q D W M S G K E F K C K V N N K D L G A P I E R T I S K P K G S V R A P Q V Y V L P P P E K E M T K K Q V S L T C L V K D F M P E D I Y V E W T N N G K T E L N Y K N T E P V L K S D G S Y F M Y S K L T V E K K N W V E R N S Y S C S V V H E G L H N H H T T K S F S R T P G G G G G S G G G S G G G S G G G S Q V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K V S C K A S G D T F T R H Y V H W V R Q A P G Q G L E W M G I N P S G G Y A S Y A Q K F Q G R V T M T R D T S T S T V Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C A A G L F I W G Q G T L V T V S S A S G G G S G G G S G G G G S H A S D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A S Q S I G R W L A W Y Q Q K P G K A P K L L I Y S A S N L E T G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q Y E S F P V T F G P G T K V D I K G G G S G G G S H H H H H H		
PEP004395			723
PEP004398	E V Q L L E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F S F S S Y T M S W V R Q A P G K G L E W V A T I S G G R D I Y Y P D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C V L L T G R V Y F A L D S W G Q G T L V T V S S A K T T A P S V Y P L A P V C G D T T G S S V T L G C L V K G Y F P E P V T L T W N S G S L S S G V H T F P A V L Q S D L Y T L S S S V T V T S S T W P S Q S I T C N V A H P A S S T K V D K K I E P R G P T I K P C P P C K C P A P N A A G G P S V F I F P P K I K D V L M I S L S P I V T C V V V D V S E D D		724

10

20

30

40

50

ペプチドID	配列	コメント	配列番号
	PDVQISWVFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTL RVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLG APIERTISKPKGVRAPQVYVLPPEKEMTK KQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTEL NYKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWV ERNYSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEV KKPGASVKVSKASGDTFTRYVYVHWVRQA PGQGLEWMGIINPSGGYASYAQKFQGRVT MTRDTSTSTVYMESSLRSEDYAVYYCAAG LFIWGQGTLLTVSSASGGGGSGGGGSGGG GSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRAS QSIGRWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLET GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQYNRFPTFGPGTKVDIKGGGSGGGSHHH HHH		
	EVQLLESQGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSS YTMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGRDIYY PDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCVLLTGRVYFALDSWGQGTLLTVS SAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLV KGYFPEPVTLLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQS DLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASS TKVDKKIEPRGPTIKCPPCKCPAPNAAGGP SVFIFPPKIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDD PDVQISWVFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTL RVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLG APIERTISKPKGVRAPQVYVLPPEKEMTK KQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTEL NYKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWV ERNYSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEV KKPGASVKVSKASGHTFTRYVYVHWVRQA APGQGLEWMGIINPSGGYATYAAQKFQGRV TMTRDTSTSTVYMESSLRSEDYAVYYCAS GLFIWGQGTLLTVSSASGGGGSGGGGSGGG GSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRA SQSINSLAWYQQKPGKAPKLLIYATSTLE SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY CQYYRFPVTFGQGTKVEIKGGGSGGGSHH HHHH		
PEP004404			725
PEP004406	EVQLLESQGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSS YTMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGRDIYY PDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCVLLTGRVYFALDSWGQGTLLTVS SAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLV KGYFPEPVTLLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQS DLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASS TKVDKKIEPRGPTIKCPPCKCPAPNAAGGP		726

10

20

30

40

50

ペプチドID	配列	コメント	配列番号
	SVFIFPPKIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDD PDVQISWVFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTL RVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLG APIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEKEMTK KQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTEL NYKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWV ERNYSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGG GGSGGGSGGGSGGGGSQVQLVQSGAEV KKPGASVKVSKKASGYTFTDYMHWRQ APGQGLEWMGIINPRAGYTSYALKFQGRVT MTRDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCTSG WDVWGQGTLLTVSSASGGGGSGGGSGG GGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRA SQSISTWLAWYQKPKGAPKLLIYAASSLD SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY CQQSYSPVTFGQGTKVEIKGGGSGGGSHH HHHH		
	APASSSTKKTKQLQLEHLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLCLE EELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FAQSIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGGS QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKKASGYTF TDYMHWRQAPGQGLEWMGIINPRAGY TSYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLR SEDVAVYYCTSGWDVWGQGTLLTVSSAKT TAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYF PEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTL SSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKV KIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFP PKIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQI SWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVS ALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIE RTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQV TLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYK NTEPVLDSGSYFMYSKLRVEKKNWVERN SYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK		
PEP004416			727
	APASSSTKKTKQLQLEHLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLCLE EELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FAQSIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGGS QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKKASGYTF TRYMHWRQAPGQGLEWMGIINPRAGY SYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRS EDTAVYYCTSGWDVWGQGTLLTVSSAKT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYT SSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKV DKK		
PEP004418			728

10

20

30

40

50

ペプチドID	配列	コメント	配列番号
	IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WVNNNEVHTAQQTTHREDYNSTLRVVS LPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERT ISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTL TCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNT EPVLDSGSGYFMYSKLRVEKKNWVERNSY SCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK		
	APASSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLCLE EELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FAQSIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TTYMHWRQAPGGGLEWMGIINPRAGYT SYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCTSGWDVWGQGLTVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTSL SSVTVTSSWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WVNNNEVHTAQQTTHREDYNSTLRVVS LPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERT ISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTL TCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNT EPVLDSGSGYFMYSKLRVEKKNWVERNSY SCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK		729
PEP004419			
	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGR WLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSR FSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYE RFPVTFGPGTKVDIKRADAAPTVSIFPPSSEQ LTSGGASVVCFLNFPKDIVKWKIDGSE RQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTTLTK DEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRENEC		730
PEP004420			
	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGS WLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSR FSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYN SFPVTFGPGTKVDIKRADAAPTVSIFPPSSEQ LTSGGASVVCFLNFPKDIVKWKIDGSE RQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTTLTK DEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRENEC		731
PEP004421			
	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSINS WLAWYQQKPGKAPKLLIYATSTLESQVPSR FSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYY RFPVTFGPGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQ LTSGGASVVCFLNFPKDIVKWKIDGSE RQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTTLTK DEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRENEC		732
PEP004423			

10

20

30

40

50

ペプチドID	配列	コメント	配列番号
PEP004426	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIST WLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLDSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQS YRFPVTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSE QLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGS ERQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTLTK DEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC		733
PEP004427	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIST WLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLDSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQS YSFPVTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSE QLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGS ERQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTLTK DEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC		734
PEP004431	APASSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLE EELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FAQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGHTF TRYVMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYA TYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCASGLFIWGQGLTVTVSSAKTTA PSVYPLAPVCGDITGSSVTLGCLVKGYFPEP VTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS VTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIE PRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWF VNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPI QHGDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTIS KPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTC MVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEP VLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSC SVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK		735
PEP004433	APASSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLE EELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FAQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTF TDYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPRAGY TSYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLR SEDTAVYYCTSGWDVWGQGLTVTVSSAKT TAPSVYPLAPVCGDITGSSVTLGCLVKGYF PEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTL SSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDK KIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFP PKIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQI SWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVS		736

10

20

30

40

50

ペプチドID	配列	コメント	配列番号
	ALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIE RTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQV TLCMTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYK NTEPVLDSGGSYFMYSDLRVEKKNWVERN SYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK		
PEP004435	APASSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLCLE EELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FAQSIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGGS QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TRYVMHWVRQAPGQGLEWMGIINPRAGYT SYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCTSGWDVWGQGLTVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLS SSVTVTSSWPSQSITCNVAHPASSTKVDDK IEPRGPTIKCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVISA LPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERT ISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTL TCMTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNT EPVLDSGGSYFMYSDLRVEKKNWVERN SYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK		737
PEP004436	APASSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLCLE EELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FAQSIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGGS QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TTYVMHWVRQAPGQGLEWMGIINPRAGYT SYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCTSGWDVWGQGLTVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLS SSVTVTSSWPSQSITCNVAHPASSTKVDDK IEPRGPTIKCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVISA LPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERT ISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTL TCMTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNT EPVLDSGGSYFMYSDLRVEKKNWVERN SYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK		738
PEP004438	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTF TRYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYA SYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGLTVTVSSAKTT		739

10

20

30

40

50

ペプチドID	配列	コメント	配列番号
	APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLS SSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WVFNNEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVS LPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERT ISKPKGSVRAPQVYVLPPEKEMTKKQVSL TCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNT EPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSY SCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGSGGG SHHHHHH		
PEP004440	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHTF TRYMHWRQAPGQGLEWMGIINPSGGYA TYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRS EDTAVYYCASGLFIWGQGLTVTVSSAKTTA PSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEP VTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSS VTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIE PRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWF VNNNEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPI QHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTIS KPKGSVRAPQVYVLPPEKEMTKKQVSLTC LVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEP VLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSC SVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGSGGGSH HHHHH		740
PEP004442	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TDYMHWRQAPGQGLEWMGIINPRAGY TSYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLR SEDTAVYYCTSGWDVWGQGLTVTVSSAKT TAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYF PEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTL SSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDK KIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFP PKIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQI SWFVNNNEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVS ALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIE RTISKPKGSVRAPQVYVLPPEKEMTKKQV SLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYK NTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERN SYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGSG GGSHHHHHH		741
PEP004443	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TKNYMHWRQAPGQGLEWLGWVSPDSGY TGYYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLR SEDTAVYYCTDLLSLELDDAFDIWGQGT MTVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTL		742

10

20

30

40

50

ペプチドID	配列	コメント	配列番号
	GCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPA VLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAH PASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNA AGGPSVFIFPPKIKDVLMISSLPIVTCVVVDV SEDDPDVQISWVFNNEVHTAQTQTHRED YNSTLRVVSALPIQHQDWMMSGKEFKCKVN NKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPE KEMTKKQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNN GKTELNYKNTPEVLKSDGSYFMYSKLTVEK KNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSR TPGGGSGGGSHHHHHH		
PEP004445	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TRYMHVWRQAPGQGLEWMGIINPRAGYT SYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRS EDTAVYYCTSGWDVWGQGLTVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTL SSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WVFNNEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVS LPIQHQDWMMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERT ISKPKGSVRAPQVYVLPPEKEMTKKQVSL TCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNT EPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSY SCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGSGGG SHHHHHH		743
PEP004446	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TTYMHVWRQAPGQGLEWMGIINPRAGYT SYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRS EDTAVYYCTSGWDVWGQGLTVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTL SSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WVFNNEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVS LPIQHQDWMMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERT ISKPKGSVRAPQVYVLPPEKEMTKKQVSL TCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNT EPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSY SCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGSGGG SHHHHHH		744
PEP004729	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSY LAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARF SGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQSSN WPRTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQ LTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSE		745

10

20

30

40

50

ペプチドID	配列	コメント	配列番号
	RQNGVLNSWTDQDSKSTYSMSSTLTLTK DEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRECE		
PEP004810	APASSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLE EELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FAQSIISTLTGGGGSQVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCASGDTFTRYVHWVRQAPGQG LEWMGIINPSGGYASYAQKFQGRVTMTRD TSTSTVYMELSSLRSEDТАVYYCAAGLFIW GQGTЛTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTG SSVTЛGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGV HTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSIT CNVAHPASSTKVDDKIEPRGPTIKPCPPCKC PAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTC VVVDVSEDDPDVQISWVFNNVEVHTAQТQ THREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEF KCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVY VLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYV EWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMY DLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHT TESFSRTPGK		746
PEP004813	APASSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLE EELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FAQSIISTLTGGGGSQVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCASGYTFTRYMHVVRQAPGQ GLEWMGIINPRAGYTSYALKFQGRVTMTR DTSTSTVYMELSSLRSEDТАVYYCTSGWDV WGQGTЛTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTT GSSVTЛGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSG VHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSI TCNVAHPASSTKVDDKIEPRGPTIKPCPPCK CPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIVT CVVVDVSEDDPDVQISWVFNNVEVHTAQТ QTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKE FKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQV YVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIY VEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMY SDLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHH TTESFSRTPGK		747
PEP004818	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTF TRYMHVVRQAPGQGLEWMGIINPRAGYT SYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDТАVYYCTSGWDVWGQGTЛTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTЛGCLVKGYFP EPVTЛTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTЛS SSVTVTSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDDK		748

10

20

30

40

50

ペプチドID	配列	コメント	配列番号
	IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WVNNVEVHTAQQTQTHREDYNSTLRVVS ALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERT ISKPKGSVRAPQVYVLPPEKEMTKKQVSL TCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNT EPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSY SCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK		
PEP004822	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLE EELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FAQSIISTLTGGGGSGGGGSQVQLVQSGAE VKKPGASVKVSCKASGDTFTRYVHWVRQ APGQGLEWMGIINPSGGYASYAQKFQGRV TMTTRDTSTSTVYMELSSLRSEDNAVYYCAA GLFIWGQGTLLTVSSAKTTAPSVYPLAPVC GDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGS LSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWP SQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCP PCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISSL PIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVNNVEVHTA QTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSG KEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQ VYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDI YVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSGYSYFMY SDLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNH HTTESFSRTPGK		749
PEP004825	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLE EELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FAQSIISTLTGGGGSGGGGSQVQLVQSGAE VKKPGASVKVSCKASGYTFTRYMHWR QAPGQGLEWMGIINPRAGYTSYALKFQGR VTMTTRDTSTSTVYMELSSLRSEDNAVYYCT SGWDVWGQGTLLTVSSAKTTAPSVYPLAP VCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNS GSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSST WPSQITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIK PCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMI SSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVNNVEV HTAQQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDW MSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSV RAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDF MPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDS GSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSCSVVHE GLHNHHTTESFSRTPGK		750

10

20

30

40

50

ペプチド I D	配列	コメント	配列番号
PEP004829	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLE EELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FAQSIISTLTGGGGSGGGSGGGGSQVQLV QSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFTRYVYV HWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYASYAQK FQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDVAV YYCAAGLFIWGQGLTVTVSSAKTTAPSVYP LAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLT WNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTV TSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRG PTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDV LMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFN VEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQH DWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKG SVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVT DFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDS DGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSCSVVH EGLHNHHTTESFSRTPGK		751
PEP004832	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLE EELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FAQSIISTLTGGGGSGGGSGGGGSQVQLV QSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYM HWVRQAPGQGLEWMGIINPRAGYTSYALK FQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDVAV YYCTSGWDVWGQGLTVTVSSAKTTAPSVY PLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLT WNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTV TSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRG PTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDV LMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFN VEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQH DWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKG SVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVT DFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDS DGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSCSVVH EGLHNHHTTESFSRTPGK		752
PEP004836	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLE EELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FAQSIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGGS GGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGTDFTRYVYVHWVRQAPGQGLEWMGIINP SGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSEDVAVYYCAAGLFIWGQGLTVTVS		753

10

20

30

40

50

ペプチドID	配列	コメント	配列番号
	SAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLV KGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQS DLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASS TKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGP SVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDD PDVQISWVFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTL RVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLG APIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTK KQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTEL NYKNTEPVLDSGYSYFMYSDLRVEKKNWV ERNYSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK		
PEP004839	APASSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLOCLE EELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FAQSIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGGS GGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYTFTRYMHWRQAPGQGLEWMGIINP RAGYTSYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCTSGWDVWGQGTLLTV SSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCL VKGYPPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQ SDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPAS STKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGG PSVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSED DPDVQISWVFVNNVEVHTAQTQTHREDYNS TLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKD LGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEM TKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKT ELNYKNTEPVLDSGYSYFMYSDLRVEKKN WVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPG K		754
PEP004957	APTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINNY KNPKLTDMLTFEFYMPKKATELKHLOCLER ELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF CQSIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGGSQ VQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFT RYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYAS YAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSE DTAVYYCAAGLFIWGQGTLLTVSSAKTTAP SVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYPPEP VTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSS VTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIE PRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPKI KDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWF VNNVEVHTAQTQTHREDYNSTL RVVSALPI QHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTIS KPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTC		755

10

20

30

40

50

ペプチドID	配列	コメント	配列番号
	MVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEP VLDSGGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSC SVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK		
PEP004958	APTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINNY KNPKLTDMLTFEFYMPKKATELKHLQCLER ELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF CQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQ VQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHTFT RYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYAT YAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCASGLFIWGQGLTVTVSSAKTTAP SVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEP VTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS VTVTSSWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIE PRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWF VNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPI QHGDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTIS KPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTC MVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEP VLDSGGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSC SVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK		756
PEP004959	APTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINNY KNPKLTDMLTFEFYMPKKATELKHLQCLER ELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF CQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQ VQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYVMHWVRQAPGQGLEWMGIINPRAGYTS YALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCTSGWDVWGQGLTVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLS SSVTVTSSWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSA LPIQHGDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERT ISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTL TCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEP EPVLDSGGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSY SCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK		757
PEP004960	APTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINNY KNPKLTDMLTFEFYMPKKATELKHLQCLER ELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF CQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQ VQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT		758

10

20

30

40

50

ペプチドID	配列	コメント	配列番号
	TYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPRAGYTS YALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSE DTAVYYCTSGWDVWGQGLTVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLS SSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDDK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WFNNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVS LPIQHGDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERT ISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTL TCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNT EPVLDSGGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSY SCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK		
	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFS NSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKR YYADSVKGRFTISRDN SKNTLFLQMNSLRA EDTAVYYCATNDDYWGQGLTVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLS SSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDDK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WFNNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVS LPIQHGDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERT ISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTL TCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNT EPVLDSGGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSY SCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGGGGSGG GSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEHLLDLQ MILNGINNYKNPKLTDMLTFEFYMPKKATE LKHLQCLERELKPLEEVNLAQSKNFHLRP RDLISNINIVLELKGSETTFMCEYADETATI VEFLNRWITFCQSIISTLT		
PEP004967			759
	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFS NSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKR YYADSVKGRFTISRDN SKNTLFLQMNSLRA EDTAVYYCATNDDYWGQGLTVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLS SSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDDK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WFNNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVS LPIQHGDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERT ISKPKGSVRAPQVYVLPPEKEMTKKQVSL TCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNT EPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSY SCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGSGG		
PEP004973			760

10

20

30

40

50

ペプチド I D	配列	コメント	配列番号
	GSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGA SVKVSCKASGHTFTRYMHWRQAPGQGL EWMGIINPSGGYATYAQKFQGRVTMTRDT STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCASGLFIWG QGTLVTVSSASGGGSGGGGSGGGGSHAS DIQMTQSPSSLASVGDRVITICRASQSINS WLAWYQQKPGKAPKLLIYATSTLESGVPSR FSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYY RFPVTFGQGTKVEIKGGGSGGGSHHHHHH		
	QVQLVESGGGVVQGRSLRLDCKASGITFS NSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKR YYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMNSLRA EDTAVYYCATNDDYWGQGLVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLS SSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WFNNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVS LPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERT ISKPKGSVRAPQVYVLPPEKEMTKKQVSL TCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNT EPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNYS SCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGGSGG GSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGA SVKVSCKASGYTFTDYMHWRQAPGQG LEWMGIINPRAGYTSYALKFQGRVTMTRDT STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCTSGWDVW GQGLVTVSSASGGGSGGGGSGGGGSHA SDIQMTQSPSSLASVGDRVITICRASQSIST WLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLDSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQS YSFPVTFGQGTKVEIKGGGSGGGSHHHHHH		761
PEP004974			
	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TTYMHWRQAPGQGLEWMGIINPSGGGT LYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGTITVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLS SSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WFNNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVS LPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERT ISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTL TCMVTDMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNT EPVLDSGYSYFMYSDLRVEKKNWVERNYS SCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGGGGGSGG GSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQ		762
PEP004978			

10

20

30

40

50

ペプチド I D	配列	コメント	配列番号
	MILNGINNYKNPKLTDMLTFEFYMPKKATE LKHLQCLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRP RDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATI VEFLNRWITFCQSIISTLT		
	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TTYMHVVRQAPGQGLEWMGIINPSGGGT LYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGTITVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSSLSSGVHTFPAVLQSDLYTSL SSVTVTSSWTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WVFNNEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVS LPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERT ISKPKGSVRAPQVYVLPPEKEMTKKQVSL TCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNT EPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSY SCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGGSGG GGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGA SVKVSCKASGDTFTRYVHWVRQAPGQGL EWMGIINPSGGYASYAQKFQGRVTMTRDT STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWG QGTILVTSSASGGGGSGGGSGGGGSHAS DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGR WLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSR FSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYE RFPVTFGPGTKVDIKGGGSGGGSHHHHHH		763
PEP004981			
	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TTYMHVVRQAPGQGLEWMGIINPSGGGT LYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGTITVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSSLSSGVHTFPAVLQSDLYTSL SSVTVTSSWTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WVFNNEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVS LPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERT ISKPKGSVRAPQVYVLPPEKEMTKKQVSL TCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNT EPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSY SCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGGSGG GGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGA SVKVSCKASGDTFTRYVHWVRQAPGQGL EWMGIINPSGGYASYAQKFQGRVTMTRDT STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWG QGTILVTSSASGGGGSGGGSGGGGSHAS DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGR		764
PEP004982			

10

20

30

40

50

ペプチドID	配列	コメント	配列番号
	YLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSR FSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQYN SFPVTFGPGTKVDIKGGGSGGGSHHHHHH		
	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TTYMHWRQAPGQGLEWMGIINPSGGGT LYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGTITVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNLSGLSSGVHTFPAVLQSDLYTSL SSVTVTSSWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WLVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVS LPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERT ISKPKGSVRAPQVYVLPPEKEMTKKQVSL TCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNT EPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSY SCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGSGG GGSGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGA SVKVSCKASGHTFTRYMHWRQAPGQGL EWMGIINPSGGYATYAAQKFQGRVTMTRDT STSTVYMELSSLRSEDVAVYYCASGLFIWG QGTLTVSSASGGGGSGGGSGGGGSHAS DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSINS WLAWYQQKPGKAPKLLIYATSTLESGVPSR FSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQYY RFPVTFGQGTKVEIKGGGSGGGSHHHHHH		765
PEP004983			
	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TTYMHWRQAPGQGLEWMGIINPSGGGT LYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGTITVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNLSGLSSGVHTFPAVLQSDLYTSL SSVTVTSSWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WLVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVS LPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERT ISKPKGSVRAPQVYVLPPEKEMTKKQVSL TCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNT EPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSY SCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGSGG GGSGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGA SVKVSCKASGYTFTDYMHWRQAPGQGL LEWMGIINPRAGYTSYALKFQGRVTMTRDT STSTVYMELSSLRSEDVAVYYCTSGWDVW QGTLTVSSASGGGGSGGGSGGGGSHA SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIST WLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLDGVP		766
PEP004984			

10

20

30

40

50

ペプチドID	配列	コメント	配列番号
	RFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQS YSFPVTFGQGTKVEIKGGGSGGGSHHHHHH		
PEP005089	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFS NSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKR YYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMNSLRA EDTAVYYCATNDDYWGQGLTVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLS SSVTVTSSWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMLSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WVFNNEVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVS LPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERT ISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTL TCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNT EPVLDSGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSY SCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGGGGSGG GGSGGGGSAPASSSTKKTQLQLEHLLDLQ MILNGINNYKNPKLTRMLTAKFAMPKKAT ELKHLQCLEEELKPLEEVLNGAQSKNFHLR PRDLISNINIVLELKGSETTFMCEYADETA TIVEFLNRWITFAQSIISTLT		767
PEP005090	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFS NSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKR YYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMNSLRA EDTAVYYCATNDDYWGQGLTVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLS SSVTVTSSWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMLSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WVFNNEVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVS LPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERT ISKPKGSVRAPQVYVLPPEKEMTKKQVSL TCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNT EPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSY SCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGSGG GGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKLE WVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSK NTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGF YAMDYWGQGLTVTVSSASGGGGSGGGGS GGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRTITC RASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSAS FLYSGVPSRFSGRSGTDFLTISLQPEDFA TYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIK	AB001203 —トラスツズマブ 対照	768
PEP005091	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFS NSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKR YYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMNSLRA		769

10

20

30

40

50

ペプチドID	配列	コメント	配列番号
	EDTAVYYCATNDDYWQGGLTVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLS SSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WFNNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVS LPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERT ISKPKGSVRAPQVYVLPPEKEMTKKQVSL TCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNT EPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNYS SCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGGSGG GSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGA SVKVSCKASGDTFTRYVHWVRQAPGQGL EWMGIINPSGGYASYAQKFQGRVTMTRDT STSTVYMELSSLRSEDVAVYYCAAGLFIWG QGTLTVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHAS DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSIGR WLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSR FSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYN RFPVTFGPGTKVDIK		
	QVQLVESGGGVVQPGSRRLDCKASGITFS NSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKR YYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMNSLRA EDTAVYYCATNDDYWQGGLTVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLS SSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WFNNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVS LPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERT ISKPKGSVRAPQVYVLPPEKEMTKKQVSL TCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNT EPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNYS SCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGGSGG GSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGA SVKVSCKASGYTFTRYMHWRQAPGQGL EWMGIINPRAGYTSYALKFQGRVTMTRDTS TSTVYMELSSLRSEDVAVYYCTSGWDVWG QGTLTVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHAS DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSIST WLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLDSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQS YSFPVTFGQGTKVEIK		
PEP005092			770
PEP005469	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQTISRY LNWIYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRF SSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYS TPRTFGQGTKLEIKRADAAPTVISIFPPSSEQL		771

10

20

30

40

50

ペプチドID	配列	コメント	配列番号
	TSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSER QNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKD EYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC		
PEP005470	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFT AYYIHWVRQAPGQGLEFMGWIHPYSGGTN YAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSE DTAVYYCAIGYYYGKFDYWGGTLTVTVSS AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVK GYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSD LYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASST KVDKKIEPRGPTIKCPPCKCPAPNAAGGPS VFIFPPKIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDP DVQISWVFNNEVHTAQTQTHREDYNSTL RVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLG APIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTK KQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTEL NYKNTEPVLDSGYSYFMYSDLRVEKKNWV ERNYSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGGG GGSGGGGSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEHL LLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTFEFYMP KKATELKHLCLERELKPLEEVLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYA DETATIVEFLNRWITFCQSIHSTLT		772
PEP005471	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFT AYYIHWVRQAPGQGLEFMGWIHPYSGGTN YAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSE DTAVYYCAIGYYYGKFDYWGGTLTVTVSS AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVK GYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSD LYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASST KVDKKIEPRGPTIKCPPCKCPAPNAAGGPS VFIFPPKIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDP DVQISWVFNNEVHTAQTQTHREDYNSTL RVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLG APIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEKEMTK KQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTEL NYKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWV ERNYSYSCSVVHEGLHNHHTTKFSRTPGGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEV KKPGASVKVSCKASGDTFTRYVHWVRQA PGQGLEWMGIINPSGGYASYAQKFQGRVT MTRDTSTSTVYMELSSLRSEDYAVYYCAAG LFIWGQGTLLTVTVSSASGGGGSGGGGSGGG GSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS QSIGRWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLET GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC QQYNRFPTFGPGTKVDIK		773
PEP005473	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHLS NGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRAS		774

10

20

30

40

50

ペプチドID	配列	コメント	配列番号
	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVY YCMQGTHWPPTFGQGTKVEIKRADAAPT SIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVK WKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMS STLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVK SFNRNEC		
PEP005474	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFN GYDIHWVRQAPGQGLEWMGWMNPDNGN TGLAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRS EDTAVYYCARGMATRFPIYYYGMDVWGQ GTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSS VTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHT FPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCN VAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPA PNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVV VDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQQTQTH REDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMSGKEFKC KVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVL PPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEW TNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDL RVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTE SFSRTPGGGGSGGGGSGGGGSAPTSSSTK KTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTD MLTFEFYMPKKATELKHLCCLERELKPLEE VLNLAQSKNFHLRPRDLISNINIVLELKGS ETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIIST LT		775
PEP005475	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFN GYDIHWVRQAPGQGLEWMGWMNPDNGN TGLAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRS EDTAVYYCARGMATRFPIYYYGMDVWGQ GTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSS VTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHT FPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCN VAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPA PNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVV VDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQQTQTH REDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMSGKEFKC KVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVL PPPEKEMTKKQVSLTCLVKDFMPEDIYVEW TNNGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFMYSKLT VEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKS FSRTPGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQ LVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFTRY YVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYASYA QKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAAGLFIWGQGTTLTVSSASGGGGS GGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCRASQSIGRWLAWYQKPGKAPKLL		776

10

20

30

40

50

ペプチドID	配列	コメント	配列番号
	IYSASNLETGVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLQ PEDFATYYCQQYNRFPVTFGPGTKVDIK		
PEP005631	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSS YTMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGRDIYY PDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCVLLTGRVYFALDSWGQGT LVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALGAPIEK TISKAKGQPREPQVCTLPSSRDE LTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG GGGSGGGSGGGSGGGSGVQLVQSGAE VKKPGASVKVSCKASGDTFTRYVHWVRQ APGQGLEWMGIINPSGGYASYAQKFQGRV TMTRDTSTSTVYMESSLRSEDTAVYYCAA GLFIWGQGT LVTVSSASGGGSGGGSGG GGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRA SQSIGRWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLE TGVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLQPEDFATYY CQQYNRFPVTFGPGTKVDIK		777
PEP005634	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSS YTMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGRDIYY PDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCVLLTGRVYFALDSWGQGT LVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALGAPIEK TISKAKGQPREPQVCTLPSSRDE LTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG GGGSGGGSGGGSGGGSGVQLVQSGAE VKKPGASVKVSCKASGYTFTRYMHVWR QAPGQGLEWMGIINPRAGYTSYALKFQGR VTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDTAVYYCT SGWDVWGQGT LVTVSSASGGGSGGGGS GGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITC RASQSISTWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASS		778

10

20

30

40

50

ペプチドID	配列	コメント	配列番号
	LDSGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFAT YYCQQSYSPVTFGQGTKVEIK		
PEP005789	MSTSTQVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKAS GITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYD GSKRYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMN SLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGLTVTVSS ASGGGSGGGGSGGGGSHASEIVLTQSPAT LSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKP GQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDF TLTISLQPEDFAVYYCQSSNWPRTFGQGT KVEIKEQKLISEEDLGSLNDIFEAKIEWH EGKPIPNPLLGLDSTNA	ニボルマブ - s c F V	779
PEP005790	MSTSTQVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKA SGYTFTNYMYWVRQAPGQGLEWMGGIN PSNGGTNFNEKFKNRVTLTDSSTTTAYME LKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFDYW GQGTTVTVSSASGGGSGGGGSGGGGSHA SEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVST SGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLAAYLES VPAFSGSGSGTDFLTISLQPEDFAVYYC QHSRDLPLTFGGGTKVEIKEQKLISEEDLGS GLNDIFEAKIEWHEGKPIPNPLLGLDSTNA	ペンブロリズマブ - s c F v	780
PEP005794	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGDEFTRYVYVHWVRQAPGQGLEWMGIINP SGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGLTVTVS SGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPS SLSASVGDRVTITCRASQSIGRWLAWYQQK PGKAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQYNRFPVTFGPG TKVDIKEQKLISEEDLGSLNDIFEAKIEW HEGKPIPNPLLGLDST	AB003178_2 B07v12	781
PEP005797	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGDEFTRYVYVHWVRQAPGQGLEWMGIQNP SGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGLTVTVS SGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPS SLSASVGDRVTITCRASQSIGRELAWYQQK PGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQYNRFPVTFGPG TKVDIKEQKLISEEDLGSLNDIFEAKIEW HEGKPIPNPLLGLDST	AB003183_2 B07v14	782
PEP005798	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGDEFTRYVYVHWVRQAPGQGLEWMGIQNP SGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGLTVTVS SGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPS SLSASVGDRVTITCRASQSIGRWLAWYQQK PGKAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTD	AB003180_2 B07v13	783

10

20

30

40

50

ペプチドID	配列	コメント	配列番号
	FTLTISLQPEDFATYYCQQYNRFPVTFGPG TKVDIKEQKLISEEDLGSLNDIFEAQKIEW HEGKPIPNNLLGLDST		
PEP005801	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGDTFTRYVYVHWVRQAPGQGLEWMGIINP SGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGLTVTVS SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPS SLSASVGDRVTITCRASQSIGRELAWYQQK PGKAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQYNRFPVTFGPG TKVDIKEQKLISEEDLGSLNDIFEAQKIEW HEGKPIPNNLLGLDST	AB003174_2 B07v11	784
PEP005803	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGDTFTRYVYVHWVRQAPGQGLEWMGIINP SGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGLTVTVS SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPS SLSASVGDRVTITCRASQSIGRWLAWYQQK PGKAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQYNRFPVTFGPG TKVDIKEQKLISEEDLGSLNDIFEAQKIEW HEGKPIPNNLLGLDST	AB002328_2 B07v4	785
PEP005817	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGDTFTRYVYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPS GGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEL SSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGLTVTVSS GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSS LSASVGDRVTITCRASQSIGRWLAWYQQKP GKAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTDF TLTISLQPEDFATYYCQQYNRFPVTFGPGT KVDIKEQKLISEEDLGSLNDIFEAQKIEWH EGKPIPNNLLGLDST	AB003155_2 B07v10	786
PEP005840	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYTFTRYVMHWVRQAPGQGLEWMGIINP RAGYTSYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCTSGWDVWGQGLTVTV SSGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSP SSLSASVGDRVTITCRASQSISTWLAWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLDEGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSPVTFGQ GTKVEIKEQKLISEEDLGSLNDIFEAQKIE WHEGKPIPNNLLGLDST	AB003012_7 A04v7	787
PEP005842	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYTFTRYVMHWVRQAPGQGLEWMGIINP RAGYTSYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCTSGWDVWGQGLTVTV SSGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSP SSLSASVGDRVTITCRASQSISTWLAWYQQ	AB002365_7 A04v2	788

10

20

30

40

50

ペプチドID	配列	コメント	配列番号
	KPGKAPKLLIYAASSLD SGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSPVTFGQ GTKVEIKEQKLISEEDLGSLNDIFEAKIE WHEGKPIPNLLGLDST		
PEP005843	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYTFTRYMHWRQAPGQGLEWMGIINP RAGYTSYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSED TAVYYCTSGWEVWGQGLVTV SSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSP SSLSASVGDRVTITCRASQSISTWLAWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLDEGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSPVTFGQ GTKVEIKEQKLISEEDLGSLNDIFEAKIE WHEGKPIPNLLGLDST	AB003007_7 A04v6	789
PEP005845	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYTFTRYMHWRQAPGQGLEWMGIHQP RAGYTSYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSED TAVYYCTSGWDVWGQGLVTV SSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSP SSLSASVGDRVTITCRASQSISTWLAWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLDEGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSPVTFGQ GTKVEIKEQKLISEEDLGSLNDIFEAKIE WHEGKPIPNLLGLDST	AB003005_7 A04v5	790
PEP005847	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGETFTNYYIHWVRQAPGQGLEWMGIIDPR AGYTSYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSED TAVYYCAGGWEDWGQGLVTVS SSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPS SLSASVGDRVTITCRISQSISSFLAWYQQKP GKAPKLLIYSASSLQSGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQSFTSPITFGQGT LEIKEQKLISEEDLGSLNDIFEAKIEWHE GKPIPNLLGLDST	AB003209_2 B05v4	791
PEP005853	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGETFTNYYIHWVRQAPGQGLEWMGVINP RAGYTSYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSED TAVYYCAGGWEDWGQGLVTV SSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSP SSLSASVGDRVTITCRISQSISSWLAWYQQK PGKAPKLLIYSASSLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQSFTSPITFGQGT RLEIKEQKLISEEDLGSLNDIFEAKIEWHE GKPIPNLLGLDST	AB003200_2 B05v1	792
PEP005860	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGFTFTRYMHWRQAPGQGLEWMGVINP SGGYATYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSED TAVYYCASGWDVWGQGLVTV SSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSP	AB003021_2 A11v7	793

10

20

30

40

50

ペプチド I D	配列	コメント	配列番号
	SSLSASVGDRVITITCRASQSISSWLAWYQQ KPGKAPKLLIYATSTLESGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSSPVTFGQ GTKVEIKEQKLISEEDLGSLNDIFEAQKIE WHEGKPIPNNLLGLDST		
PEP005863	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGGTFTNYYIHWRQAPGQGLEWMGIIDPR AGYTSYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYME SSLRSEDTAVYYCAGGWEDWGQGLVTVS SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPS SLSASVGDRVITITCRISQSISSWLAWYQQK GKAPKLLIYSASSLQSGVPSRFSGSGSGTDF TLTISLQPEDFATYYCQQSFTSPITFGQGTR LEIKEQKLISEEDLGSLNDIFEAQKIEWHE GKPIPNNLLGLDST	AB003201_2 B05v2	794
PEP005867	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGHTFTRYMHWRQAPGQGLEWMGIINP SGGYATYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCASGLFIWGQGLVTVS SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPS SLSASVGDRVITITCRASQSINWLAWYQQK PGKAPKLLIYATSTLESGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSYRFPVTFGQG TKVEIKEQKLISEEDLGSLNDIFEAQKIEW HEGKPIPNNLLGLDST	AB002427_2 A11v5	795
PEP005868	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGHTFTRYMHWRQAPGQGLEWMGIINP SGGYATYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCASGLFIWGQGLVTVS SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPS SLSASVGDRVITITCRASQSINWLAWYQQK PGKAPKLLIYATSTLESGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQYYRFPVTFGQG TKVEIKEQKLISEEDLGSLNDIFEAQKIEW HEGKPIPNNLLGLDST	AB002413_2 A11v3	796
PEP005869	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGHTFTRYMHWRQAPGQGLEWMGIINP SGGYATYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCASGLFIWGQGLVTVS SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPS SLSASVGDRVITITCRASQSINWLAWYQQK PGKAPKLLIYATSTLESGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQYYSFPVTFGQG TKVEIKEQKLISEEDLGSLNDIFEAQKIEW HEGKPIPNNLLGLDST	AB002417_2 A11v4	797
PEP005880	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGHTFTRYMHWRQAPGQGLEWMGVIN PSGGYATYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYM ELSSLRSEDTAVYYCASGWDVWGQGLVTV	AB002864_2 A11v6	798

10

20

30

40

50

ペプチドID	配列	コメント	配列番号
	VSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQ SPSSLSASVGDRVITITCRASQSINSWLAWYQ QKPGKAPKLLIYATSTLESGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSSPVTFG QGTKVEIKEQKLISEEDLGSLNDIFEAQKIE WHEGKPIPNNLLGLDST		
PEP005887	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCA SGSTFTNYYIHWVRQAPGQGLEWMGIIDPR AGYTSYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEL SSLRSEDTAVYYCAGGWEDWGQGLTVTVS SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPS SLSASVGDRVITITCRISQSISSFLAWYQQKP GKAPKLLIYSASSLQSGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQSFTSPITFGQGTR LEIKEQKLISEEDLGSLNDIFEAQKIEWHE GKPIPNNLLGLDST	AB003202_2 B05v3	799
PEP006177	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFS NSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSKR YYADSVKGRFTISRDN SKNTLFLQMNSLRA EDTAVYYCATNDDYWGQGLTVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLS SSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMI SLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WVFNNEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVS LPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERT ISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTL TCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNT EPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSY SCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGGGGGSGG GGSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQ MILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATE LKHLQCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRP RDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATI VEFLNRWITFCQSIISTLT		800

10

20

30

40

50

【実施例】

【0106】

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、およびキットの範囲に限定されない。

【0107】

実施例 1

ヒトPD-1およびヒト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、本開示のセンサドメイン、具体的には、ヒトPD-1およびヒトIL-2に結合するDBAのセットの単離を記載する。抗PD-1および抗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Superhuman 2.0抗体ライブラリーの重鎖CDR1、重鎖CDR2および軽鎖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）。

【表3】

表3－PD-1バインダーのHC-CDR3

配列番号	配列	説明
配列番号11	CAAGLFIW	PD-1バインダーのHC-CDR3
配列番号12	CAGGWLDW	PD-1バインダーのHC-CDR3
配列番号13	CARDHLGGSYQPW	PD-1バインダーのHC-CDR3
配列番号14	CARDLVGVSPGINYVPRYY YYYYGMDVW	PD-1バインダーのHC-CDR3
配列番号15	CARDTGLGYYYGSGDFDYW	PD-1バインダーのHC-CDR3
配列番号16	CARSGYSYGYFYDYW	PD-1バインダーのHC-CDR3
配列番号17	CARTGGYPAIDSW	PD-1バインダーのHC-CDR3
配列番号18	CASGWDVW	PD-1バインダーのHC-CDR3
配列番号19	CASSPLQWVDVW	PD-1バインダーのHC-CDR3
配列番号20	CTSGMDVW	PD-1バインダーのHC-CDR3

10

20

【0108】

このライブラリーを標準的なプロトコルで4回選択に供した。簡潔には、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上で洗浄し、磁気ビーズから溶出し、大腸菌（E. coli）内で継代することによって増幅した。ラウンド1を50nMヒトPD-1-His融合物（R&D Systems、製品番号8986-PD）とインキュベートし、TRISNTAビオチン（Sigma-Aldrich 製品番号75543）およ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カニクイザルPD-1-Fc融合物（R&D Systems、製品番号8578-PD）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、サンガーシーケンシングのために380コロニーを採取した。151個の固有の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（E. coli）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、翻訳開始部位およびT7ターミネーターを有するgBlock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（New England 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結合アッセイおよ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およびヒトIL-2への結合について試験した。81個の抗体がPD-1および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の要約を表5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

30

40

50

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4)。

【表4】

表4-データベースおよび対照

配列番号	配列	説明
配列番号31	QVQLVQSGAEVKKPGVSVKVSCKASGYTF PRSYIHWVRQAPGQGLEWMGWINPHSGDT YYAQNFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLR SEDTAVYYCARDTGLGYYYGSGDFDYWG QGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHAS DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISR YLNWYQQKPGKAPKLLIYTASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQAN RFPLTFGPGTKVDIK	PD-1マーカーおよび 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 QGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHAS DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISS WLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQS HSFPLTFGGGTKVEIK	PD-1マーカーおよび IL-2治療薬に結合する ことができるDBA
配列番号33	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TRYIHWVRQAPGQGLEWMGWINAYNGD TNYAQKLQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSL RSEDTAVYYCARDSYYYDSFDYWGQGTL VTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQM TQSPSSLSASVGDRVTITCRASQTITDWLA WYQQKPGKAPKLLIYGASNLQGGVPSRFS GSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYSS WTFGGGTKVEIK	PD-1マーカーおよび IL-2治療薬に結合する ことができるDBA

10

20

30

40

50

配列番号	配列	説明
配列番号34	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TSYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSDGST TYAQSFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCASGWDVWGQGTLVTVSSASG GGGSGGGGSGGGGSHASDIVMTQSPDSL VSLGERATINCKSSQSVFSSANNKNYLAW YQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGS GSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQYFGTP VTFGGGTKVEIK	PD-1マーカーおよび IL-2治療薬に結合する ことができるDBA

【表 5】

表 5

名称	PD 1 結合	I L 2 結合	I L 2 R B 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
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 3 1)	1,299	298	1,069
PD1-IL2-R02-C03 (配列番号 3 2)	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

10

20

30

40

50

名称	PD 1 結合	I L 2 結合	I L 2 RB 遮断
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
PD1-IL2-R06-E04 (配列番号 3 3)	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

10

20

30

40

50

名称	PD 1 結合	I L 2 結合	I L 2 RB 遮断
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
PD1-IL2-R07-A09 (配列番号 3 4)	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

10

20

30

40

50

名称	PD 1 結合	I L 2 結合	I L 2 RB 遮断
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
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

10

20

30

40

50

名称	PD1結合	IL2結合	IL2RB遮断
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

10

【0109】

実施例2

二重結合抗体（DBA）－サイトカインタンパク質複合体

20

【0110】

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を記載する。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、および1つ以上の二重結合抗体ドメインを含むように設計された。例示的なコンストラクトの絵画図を図5に示す。

【0111】

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および1つの治療ドメインを用いて設計され得る。表8に提供される配列を有する表6に提供されるこのシリーズで使用されるDBAは、マーカーおよび治療ドメインに対してある範囲の親和性を示す。例示的なDBA複合体を表6、表9、および表10に提供する。

30

【表6】

表6－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51	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFST YYIHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGGTVYA QKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTA VYYCAAGLFIWGQGLVTVSSAKTTAPSVYP LAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTW NSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSST WPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPC PPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMI SLSPIVTCVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQ TQTHREDYNSTLRVVSALPIQHGDWMSGKEF KCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYV LPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEW	PD1－IL2__ 6C12__N36T__ Sym__L__Long__ Pep1；対称型DBA －サイトカイン複合体 IgGフォーマット

40

50

配列番号	配列	説明
	TNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRV EKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSR TPGK	
配列番号 5 2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYK NPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEEL KPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLEL KGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSII STLTVPGVGVPGAGVPGVGVPGGGVPGVGV PGGGVPGAGVPGGGVPGVGVPGAGVPGVGV PGGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQY ISSGLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLDNGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYE RLPLTFGGGKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQL TSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQ NGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTLTKDEYE RHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRECE	PD1-IL2_ 6C12_N36T_ Sym_L_Long_ Pe p 2 ; 対称型DBA ーサイトカイン複合体 IgGフォーマット
配列番号 5 3	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYK NPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEEL KPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLEL KGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSII STLTGGGGSGGGSGGGSGGGSGQVQLVQ SGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSTYYIHWV RQAPGQGLEWMGIINPSGGGTVYAQKFQGR VTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAA GLFIWGQGLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCG DTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSS GVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSIT CNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCP APNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISSLPIVTCVV VDVSEDDPDVQISWFWNNVEVHTAQTQTHRE DYNSTLRVVSALPIQHODWMSGKEFKCKVN NKDLGAPIERTISKPGSVRAPQVYVLPPEEE MTKKQVTLTCMVTDMPEDIVVEWTNNGKT ELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNW VERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK	PD1-IL2_ 6C12_N36T_ D68E_Sym_H_ Shor t_Pe p 1 ; 対称型DBAーサイトカ イン複合体IgG フォーマット
配列番号 5 4	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQYISSGL AWYQQKPGKAPKLLIYKASSLENGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYERLPLT FGGGKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGA SVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLN SWTDQDSKDYSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSY TCEATHKTSTSPIVKSFNRECE	PD1-IL2_ 6C12_N36T_ D68E_Sym_H_ Shor t_Pe p 2 ; 対称型DBAーサイトカ イン複合体IgG フォーマット
配列番号 7 7	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTT YYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYA QNFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTA VYYCASGWDVWGQGTITVTVSSAKTTAPSVY PLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLT WNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTS STWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIK	PD1-IL2_L_ 7A05scFv_ PD1-R07-A05 _Pe p 1 ; 非対称DB Aーサイトカイン複合体 IgG-s c F v フォーマット

10

20

30

40

50

配列番号	配列	説明
	PCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMI SPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVNNVEVHT AQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSG KEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQV YVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYV EWTNNGKTELNYKNTEPVLDSGGSYFMYSD LRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTE SFSRTPGK	
配列番号 78	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTT YYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYA QNFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTA VYYCASGWDVWGQGTTVTVSSASGGGGSG GGGSGGGGSHASEIVMTQSPATLSVSPGERAT LSCRASQSVNTYLAWYQQKPGQAPRLLIYGA STRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDAV YYCQQYGSSPVTFGQGTRLEIKPRGPTIKPCPP CKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMI SPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVNNVEVHTAQT QTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFK CKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLP PPEKEMTKKQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTN NGKTELNYKNTEPVLKSDGGSYFMYSKLTVEK KNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTP GGGGSGGGSHHHHHH	PD1-IL2__L__ 7A05scFv__ PD1-R07-A05 __Pep2; 非対称DB A-サイトカイン複合体 IgG-scFv フォーマット
配列番号 79	APTSSSTKKKTQLQLEHLLDLQMILNGINNYK NPKLTDMLTFKFYMPKKATELKHLCLEEL KPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLEL KGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSII STLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQS PATLSVSPGERATLSCRASQSVNTYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGA STRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDAV YYCQQYGSSPVTFGQGTRLEIKRADAAPT VSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLN NFYPKDINVKWKIDGSRQNGVLNSWTDQ DSKDSTYSMSSTLTLT KDEYERHNSYTCEAT HKTSTSPIVKSFNRNEC	PD1-IL2__L__ 7A05scFv__ PD1-R07-A05 __Pep3; 非対称DB A-サイトカイン複合体 IgG-scFv フォーマット

10

20

30

【表 7】

表 7 - 二重結合抗体 (DBA)

40

二重結合 抗体	マーカー	治療薬	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
AB00 1718	PD-1	IL-2	127	135	142	148	154	157	163	168
AB00 1744	PD-1	IL-2	128	136	143	148	154	158	163	169
AB00 2022	PD-1	IL-2	129	137	144	149	154	159	164	170

*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

50

【表 8】

表 8－D B A タンパク質成分の配列

配列番号	D B A タンパク質成分	配列
配列番号 1 2 7	AB001718_HV	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG DTFSTYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINP SGGGTVYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGT LVTVSS
配列番号 1 2 8	AB001744_HV	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG YTFSNYYIHWVRQAPGQGLEWMGIINP SGGGTVYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGT LVTVSS
配列番号 1 2 9	AB002022_HV	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG DTFTRHYVHWVRQAPGQGLEWMGIIN PSGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTV YMELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQG TLVTVSS
配列番号 1 3 5	AB001718_LV	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQYI SSGLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLDN GVPSRFSGSGSGTDFLTITSLQPEDFAT YYCQQYERLPLTFGGGTKVEIK
配列番号 1 3 6	AB001744_LV	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI GTGLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLDN GVPSRFSGSGSGTDFLTITSLQPEDFAT YYCQQYNRAPLTFGGGTKVEIK
配列番号 1 3 7	AB002022_LV	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI GRWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLET GVPSRFSGSGSGTDFLTITSLQPEDFAT YYCQQYESFPVTFGPGTKVDIK
配列番号 1 4 2	AB001718_HV_cdr1	GDTFSTYYVH
配列番号 1 4 6	AB001843_HV_cdr1	GYTFSGYIHI
配列番号 1 4 7	AB001866_HV_cdr1	GYTFSNYYVH
配列番号 1 4 8	AB001718_HV_cdr2	IINPSGGGTVYAQKFQG
	AB001744_HV_cdr2	IINPSGGGTVYAQKFQG
配列番号 1 4 9	AB002022_HV_cdr2	IINPSGGYASYAQKFQG
配列番号 1 5 4	AB001718_HV_cdr3	AAGLFI
配列番号 1 5 7	AB001718_LV_cdr1	RASQYISSGLA
配列番号 1 5 8	AB001744_LV_cdr1	RASQSIGTGLA
配列番号 1 5 9	AB002022_LV_cdr1	RASQSIGRWLA
配列番号 1 6 0	AB001609_LV_cdr1	RASQSISNRLA
配列番号 1 6 1	AB001638_LV_cdr1	QASQSISNYLA
配列番号 1 6 2	AB001843_LV_cdr1	RASQSISSYLN
配列番号 1 6 3	AB001718_LV_cdr2	KASSLDN
	AB001744_LV_cdr2	KASSLDN
配列番号 1 6 4	AB002022_LV_cdr2	SASNLET
配列番号 1 6 8	AB001718_LV_cdr3	QQYERLPL
配列番号 1 6 9	AB001744_LV_cdr3	QQYNRAPL

配列番号	D B A タンパク質成分	配列
配列番号 1 7 0	AB002022_LV_cdr3	QQYESFPV

10

20

30

40

50

【表 9】

表 9－例示的な D B A サイトカインタンパク質複合体

名称	D B A / 治療薬	D B A	種類	D B A ドメイン	治療 ドメイン	第 2 の A b ドメイン	重鎖 1 配列 番号	重鎖 2 配列 番号	重鎖 3 配列 番号
A F 0 0 3 2 2 9	P D - 1 / I L - 2	A B 0 0 1 7 1 8	図 2 B	2	1	N / A	8 0	9 7	1 1 4
A F 0 0 3 2 3 0	P D - 1 / I L - 2	A B 0 0 1 7 4 4	図 2 B	2	1	N / A	8 1	9 8	1 1 5
A F 0 0 3 2 3 2	P D - 1 / I L - 2	A B 0 0 2 0 2 2	図 2 B	2	1	N / A	8 2	9 9	1 1 6
A F 0 0 3 2 5 0	P D - 1 / I L - 2	A B 0 0 1 7 1 8	図 2 A	1	1	抗 P D - 1	8 3	1 0 0	1 1 7
A F 0 0 3 2 5 1	P D - 1 / I L - 2	A B 0 0 1 7 4 4	図 2 A	1	1	抗 P D - 1	8 4	1 0 1	1 1 8
A F 0 0 3 2 5 3	P D - 1 / I L - 2	A B 0 0 2 0 2 2	図 2 A	1	1	抗 P D - 1	8 5	1 0 2	1 1 9

10

【表 10】

表 10－表 9 のペプチドの配列

配列番号	D B A	配列
配列番号 8 0	A F 0 0 3 2 2 9 _Pep1	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTF KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPR DLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQ SIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLVQSGAEVKKP GASVKVSCASGDTFSTYYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPS GGGTVYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVY YCAAGLFIWGQGT LVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGD TTGSS VTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYT LSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKP CPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVL MISLSPIVTCVVVDV SEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALP IQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKG SVRAPQV YVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTE LNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSCSVV HEGLHNHHTTESFSRTPGK
配列番号 8 1	A F 0 0 3 2 3 0 _Pep1	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTF KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPR DLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQ SIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLVQSGAEVKKP GASVKVSCASGYTFSNYYIHWVRQAPGQGLEWMGIINPS GGGTVYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVY YCAAGLFIWGQGT LVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGD TTGSS VTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYT LSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKP CPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVL MISLSPIVTCVVVDV SEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALP

20

30

40

50

配列番号	DBA	配列
		IQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQV YVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTE LNYKNTEPVLDSGGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSCSVV HEGLHNHHTTESFSRTPGK
配列番号 8 2	AF003232 _Pep1	APTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTF KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPR DLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQ SIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKP GASVKVSCKASGDTFTRHYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPS GGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVY YCAAGLFIWGQGLTVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSS VTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYT LSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKP CPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVVDV SEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALP IQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQV YVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTE LNYKNTEPVLDSGGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSCSVV HEGLHNHHTTESFSRTPGK
配列番号 8 3	AF003250 _Pep1	APTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTF KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPR DLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQ SIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKP GASVKVSCKASGDTFSTYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPS GGGTVYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVY YCAAGLFIWGQGLTVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSS VTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYT LSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKP CPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVVDV SEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALP IQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQV YVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTE LNYKNTEPVLDSGGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSCSVV HEGLHNHHTTESFSRTPGK
配列番号 8 4	AF003251 _Pep1	APTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTF KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPR DLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQ SIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKP GASVKVSCKASGYTFSNYYIHWVRQAPGQGLEWMGIINPS GGGTVYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVY YCAAGLFIWGQGLTVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSS VTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYT LSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKP CPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVVDV SEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALP IQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQV YVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTE LNYKNTEPVLDSGGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSCSVV HEGLHNHHTTESFSRTPGK

10

20

30

40

50

配列番号	DBA	配列
配列番号 85	AF003253 _Pep1	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTDMLTF KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPR DLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQ SIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLVQSGAEVKKP GASVKVSCKASGDTFTRHYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPS GGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDNAVY YCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSS VTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYT LSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKP CPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMLSLPIVTCVVVDV SEDDPDVQISWVFNNEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALP IQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQV YVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTE LNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERNYSYSCSVV HEGLHNHHTTESFSRTPGK

10

【0112】

実施例3

20

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、CD8⁺T 細胞 STAT5 リン酸化を使用して読み取られるように、融合による IL-2 分子への PD-1 / IL-2 DBA 部分の付加による IL-2 媒介シグナル伝達の低減を記載する。表 11 に示す PD-1 / IL-2 DBA の遺伝子を合成し、HEK293 において、IL-2 がリンカー (Genscript) を介して重鎖または軽鎖の 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-2 RB への IL-2 結合を遮断したにもかかわらず、30 を超える抗体が、図 2D および図 2E に示されるフォーマットで連結された 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 (表 11 および図 3) と比較した。

30

【表 11】

表 11 - IgG PD-1 / IL-2 DBA 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 RWGGDGFYAMDYWGQGTLLTVSS AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTL GCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSG	(配列番号 66) APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQ MILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPL EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNI NVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFCQSIISTLTVP GVGVPGAGVPGVGVPGGGVPG

40

50

名称	重鎖配列 配列番号	軽鎖配列 配列番号
	VHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSST WPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEP RGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFI FPPKIKDVLMLSLPIVTCVVVDVSE DDPDVQISWVNNVEVHTAQTQTH REDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSG KEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKG SVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTL TCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTEL NYKNTEPVLDSGYSYFMYSKLRVE KKNWVERNSYSCSVVHEGLHNNH TTKSFSRTPGK	VGVPGGGVPGAGVPGGGVPGV GVPGAGVPGVGVPGGGDIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCRASQD VNTAVAWYQQKPGKAPKLLIY SASFLYSGVPSRFSGSRSGTDF LTISLQPEDFATYYCQQHYP PTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIF PPSSEQLTSGGASVVCFLNNFY KDINVKWKIDGSRQNGVLNS WTDQDSKDYSTYSMSSTLTLTKD EYERHNSYTCEATHKTSTSPIVK SFNRNEC
2-A08	(配列番号 6 7) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK VSGYTFTSYDINWVRQAPGQGLEW MGWINPNSGDTGYAQKFQGRVTM TRDTSTSTVYMESSLRSEDYAVYY CARDTGLGYYYGSGDFDYWGQGT LVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTT GSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNS GSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSV TVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKV DKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAA GGPSVFIFPPKIKDVLMLSLPIVTCV VVDVSEDDPDVQISWVNNVEVHT AQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQH QDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIE RTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEM TKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWT NNGKTELNYKNTEPVLDSGYSYF YSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHE GLHNNHTTKSFSRTPGK	(配列番号 6 8) APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQ MILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPL EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNI NVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFCQSIISTLTVP GVGVPGAGVPGVGVPGGGVPG VGVPGAGVPGVGVPGGGDIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCRASQD IHNYLNWYQQKPGKAPKLLIYD VSNLETGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQAISFPLT FGGGTKVEIKRADAAPTVSIFPP SSEQLTSGGASVVCFLNNFYPK DINVKWKIDGSRQNGVLNSW TDQDSKDYSTYSMSSTLTLTKDE YERHNSYTCEATHKTSTSPIVKS FNRNEC
2-A11	(配列番号 6 9) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGHTFTRYMHVVRQAPGQGLE WMGINPSGGYATYAAQKFQGRVTM TRDTSTSTVYMESSLRSEDYAVYY CASGWDVWGQGLTVTVSSAKTTA PSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVK GYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPA VLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSIT CNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKP CPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKD VLMISLPIVTCVVVDVSEDDPDVQ ISWVNNVEVHTAQTQTHREDYNS TLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCK VNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQ	(配列番号 7 0) APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQ MILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPL EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNI NVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFCQSIISTLTVP GVGVPGAGVPGVGVPGGGVPG VGVPGAGVPGVGVPGGGDIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI NSWLAWYQQKPGKAPKLLIYA TSTLESGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQSYSFPP TFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFP

10

20

30

40

50

名称	重鎖配列 配列番号	軽鎖配列 配列番号
	VYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSGDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK	PSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDYMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
2-B05	(配列番号 7 1) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTNYYIHWRQAPGQGLEWMGIINPRAGYTSYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDYAVYYCAGWLDWGQGLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSLTRVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSGDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK	(配列番号 7 2) APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPL EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTVPGVGVPAGAGVPGVGPGGGVPGVGVPGGGVPGAGVPGGGVPGVGVPAGAGVPGVGPGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSFTMPI TFGQGTREIKRADAAPTVSIFP PSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDYMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
2-B07	(配列番号 7 3) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFTRHYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDYAVYYCAAGLFIWGQGLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSLTRVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSGDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK	(配列番号 7 4) APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPL EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTVPGVGVPAGAGVPGVGPGGGVPGVGVPGGGVPGAGVPGGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYASNLLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANSFPV TFGPGTKVDIKRADAAPTVSIFP PSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDYMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
7-A04	(配列番号 7 5)	(配列番号 7 6)

10

20

30

40

50

名称	重鎖配列 配列番号	軽鎖配列 配列番号
	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGYTFDYYMHWVRQAPGQGLE WMGIINPRAGYTSYALKFQGRVTM TRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYY CTSGMDVWGQGTLLTVSSAKTTAP SVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVK GYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPA VLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSIT CNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKP CPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKD VLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQ ISWVFNVEVHTAQTQTHREDYNS TLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCK VNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQ VYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTD FMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNT PVLDSGSGYFMYSKLRVEKKNWV ERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSR TPGK	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQ MILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLCLEELKPL EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNI NVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFCQSIISTLTVP GVGVPGAGVPGVGVPGGGVPG VGVPGGGVPGAGVPGGGVPGV GVPGAGVPGVGVPGGGDIQMT QSPSSLSASVGDRVITITCRASQSI STWLAWYQQKPGKAPKLLIYA ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQSYSPFV TFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFP PSSEQLTSGGASVVCFLNFPYK DINVKWKIDGSRQNGVLNSW TDQDSKDSTYSMSSTLTTLTKDE YERHNSYTCEATHKTSTSPIVKS FNRNEC

10

20

【0113】

PD-1 / IL-2 DBA-サイトカイン複合体を完全RPMI (+10% FBS、2mM 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。2×10⁵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℃にて30分間固定した。細胞をFACS洗浄緩衝液 (PBS+2% FBS、2mM EDTA) で洗浄し、FACS洗浄緩衝液で1:20に希釈したCD3、CD4、CD8 (Biolegend) およびホスホ-STAT5 (BD Biosciences) 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-2 DBA / サイトカイン複合体は、単一特異性対照抗HER2 IL-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3)。

30

【0114】

実施例4

一般方法：ヒト細胞においてPD-1依存性IL-2活性を駆動する複合体の産生

40

この実施例は、インビトロおよ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タンパク質複合体を記載する。PD-1 / IL-2タンパク質複合体は、リンカーを介してIL-2サイトカイン治療ドメインに連結されたPD-1センサドメイン (例えば、抗PD-1抗体または抗PD-1 scFv) 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センサドメインはIL-2治療ドメインに結合し、IL-2治療を不活性にする。PD-1 (例えば、PD-1は、免疫細胞等の細胞上で発現される) の存在下では、PD-1センサドメインはPD-1に結合し、それによってIL-2治療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。

【0115】

50

P D - 1 / I L - 2 タンパク質複合体は、組み換え発現または化学合成される。P D - 1 / I L - 2 タンパク質複合体を、ヒト細胞にインビトロで、またはマウスもしくはそれを必要とするヒト対象にインビボで投与する。ヒト細胞は、P D - 1 を発現する細胞である。マウスまたはヒト対象への投与は、静脈内、筋肉内、皮下、皮内、腹腔内または粘膜内で行われる。P D - 1 の非存在下では、I L - 2 治療ドメインはP D - 1 センサドメインに結合したままであり、治療有効性は観察されない（例えば、インビトロおよび対象における細胞活性化は変化していない）。P D - 1 の存在下では、P D - 1 センサドメインはP D - 1 に結合し、I L - 2 治療ドメインの結合を解除する。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、がんである。細胞は、P D - 1 を内因的にもしくは活性化後に、またはP D - 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、I L 2 応答性遺伝子の活性化または誘導であり得る。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。

10

【0116】

実施例 5

リンパ球細胞株におけるS T A T 5 リン酸化のP D - 1 / I L - 2 D B A 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S T A T 5 リン酸化のP D - 1 / I L - 2 D B A - サイトカイン複合体誘導を記載する。P D - 1 への結合に対するP D - 1 / I L - 2 D B A - サイトカイン複合体活性の依存性を評価するために、H u t 7 8 またはJ u r k a t E 6 . 1 等のI L - 2 R + T 細胞株のP D - 1 発現バリエーションを作製する。P D - 1 + およびP D - 1 - バリエーション細胞株を、滴定濃度の本開示のP D - 1 / I L - 2 D B A - サイトカイン複合体で処置し、S T A T 5 リン酸化を、ホスホフロー（p h o s p h o - f l o w）、T R - F R E T、またはI L - 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。

20

【0117】

H E K 2 9 3 I L - 2 レポーター細胞株を、P D - 1 を発現するように操作する。P D - 1 + およびP D - 1 - バリエーション細胞株を滴定濃度のP D - 1 / I L - 2 D B A - サイトカイン複合体で処置し、レポーター活性をI L - 2 シグナル伝達の測定値として評価する。P D - 1 / I L - 2 D B A - サイトカイン複合体は、P D - 1 + バリエーション細胞株に対して高い効力を示す。

30

【0118】

実施例 6

S T A T 5 リン酸化および活性化の他のマーカーのP D - 1 / I L - 2 D B A サイトカイン複合体誘導、ならびに初代リンパ球における増殖

この実施例は、初代リンパ球におけるS T A T 5 リン酸化ならびに活性化および増殖の他のマーカーのP D - 1 / I L - 2 D B A - サイトカイン複合体誘導を記載する。P B M C を細胞増殖色素で標識し、本開示のP D - 1 / I L - 2 D B A - 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。P B M C は、C D 4 + およびC D 8 + T 細胞、T r e g 細胞、およびナチュラルキラー（N K）細胞、ならびにC D 2 5 等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。

40

【0119】

全T細胞を、免疫磁気陰性選択（S T E M C E L L）を使用してP B M C から単離し、プレート結合抗C D 3 および可溶性抗C D 2 8 で72時間刺激してP D - 1 の発現を誘導した。P D - 1 + T 細胞を、滴定濃度のP D - 1 / I L - 2 D B A - サイトカイン複合体と共に20日間インキュベートする。S T A T 5 リン酸化を、固定T細胞および透過処理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。いくつかの実験において、P

50

D-1 / IL-2 DBA-サイトカイン複合体で処置する前に、PD-1を抗PD-1でT細胞上で遮断して、PD-1への結合に対するPD-1 / IL-2 DBA-サイトカイン複合体活性の依存性を評価し得る。PD-1 / IL-2 DBA-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。

【0120】

実施例7

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

この実施例では、野生型マウスの血液におけるPD-1 / IL-2 DBA-サイトカイン複合体の薬物動態および非腫瘍末梢組織における複合体のシグナル伝達を記載する。PD-1 / IL-2 DBA-サイトカイン複合体および適切な制御されていない対照、例えば抗PD-1、抗HER2-IL-2または抗PD-1-IL-2の血清半減期および末梢組織活性を、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、またはその両方を処置後の様々な時点で収集し、染色してCD8+T細胞およびNK細胞を同定した。

【0121】

循環中のPD-1 / IL-2 DBA-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マウスは、表13に概説されるように、単回の2.5ミリグラム / キログラム静脈内用量のPD-1 / IL-2 DBA-サイトカイン複合体(2B07 IL-2 mut; 配列番号205~配列番号206)、抗HER2 / IL-2-サイトカイン複合体(常時オンIL-2 mut; 配列番号64および配列番号207)または抗IL-2 / IL-2-サイトカイン複合体(常時オフIL-2 mut; 配列番号208~配列番号209)を受けた。投薬の30分後、4時間後、24時間後、48時間後、72時間後、96時間後および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決定するために、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1μg / mLウサギ抗hu IL-2捕捉抗体(クローンab9618、Abcam)で4℃にて一晚被覆した。プレートを3回洗浄し、Super Blockブロッキング緩衝液(Thermo Scientific)で1時間ブロッキングした。様々な時点および処置群からの血清試料をSuper Block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 ImmunoResearch)と共にSuper Block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、EnVision 2105マイクロプレートリーダー(PerkinElmer)を使用して450 nmで測定した。図6に示されるように、調べた全ての時点において、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、制御されていない抗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。

10

20

30

40

【表 1 2】
表 1 2 - I g G P D - 1 / I L - 2 D B A およ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 2 0 5	APASSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFAMPKK ATELKHLQCLEELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSET TFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGDTFTRHYVHWVRQAPGQG LEWMGIINPSGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAAGLFIWGQGT LTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGD TTGSSVTLGCLVKGYFPEP VTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSIT CNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKD VLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQTQTHREDYNS TLRVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQ VYVLPPEEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTE PVLDSGGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRT PGK
	配列番号 2 0 6	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSIGRWLAWYQQKPGKAPKLLIYS ASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQYQYESFPVTFGPG TKVDIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKID GSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKEDEYERHNSYTCEATHKT STSPIVKSFNNEC
抗HER2 / IL-2 サイトカイン 複合体	配列番号 6 4	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIY SASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYYTPPTFGQ GTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKID GSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKEDEYERHNSYTCEATHKT STSPIVKSFNNEC

10

20

30

40

50

タンパク質 複合体	配列番号	配列
	配列番号 207	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFAMPKK ATELKHLQCLEELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGET TFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLE WVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYY CSRWGGDGFYAMDYWGQGLTVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSS VTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSS TWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKCPPCKCPAPNAAGGPSV FIFPPKIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQTQ THREDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKP KGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDMPEDIYVEWTNNGKT ELNYKNTEPVLDSGGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNH HTTKSFSRTPGK
常時オフ IL-2 mut	配列番号 208	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFAMPKK ATELKHLQCLEELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGET TFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYTLAWVRQAPGKGLE WVAIDSSSYTSPDTPVRGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCA RDSNWDALDYWGQGLTVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGC LVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPS QSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQTQTHRE DYNSTLRVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSV RAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDMPEDIYVEWTNNGKTELNY KNTEPVLDSGGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKS FSRTPGK
	配列番号 209	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNVGTNVGWYQQKPGKAPKALIY SASFRYSQVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQQYYTYPYTFGG GTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKID GSERQNGVLNSWTDQDSKSTYSMSSTLTLTKEDEYERHNSYTCEATHKT STSPIVKSFNRNEC

10

20

30

40

50

【0122】

末梢組織におけるPD-1/IL-2 DBA-サイトカイン複合体の活性を調べるために、野生型C57BL/6マウスは、表12に示すように、PD-1/IL-2 DBA-サイトカイン複合体(2B07 IL-2 mut; 配列番号205~配列番号206)、抗HER2/IL-2-サイトカイン複合体(常時オンIL-2 mut; 配列番号64および配列番号207)、抗IL-2/IL-2-サイトカイン複合体(常時オフIL-2 mut; 配列番号208~配列番号209)またはPBSの静脈内単回用量2.5ミリグラムを受けた。投薬前に、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としてELISAによって確認した。処置の5日後に血液および脾臓を収集し、フローサイトメトリーによって分析して、脾臓あたりおよび血液1マイクロリットルあたりのCD8+T細胞およびNK細胞の数を定量した。PD-1/IL-2 DBA-サイトカイン複合体はCD8+T細胞またはNK細胞の拡大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細胞およびNK細胞の拡大を誘導した(図7A~図7D)。

【 0 1 2 3 】

実施例 8

同系腫瘍モデルにおける抗腫瘍免疫の P D - 1 / I L - 2 D B A サイトカイン複合体調節

この実施例は、M C 3 8 同系マウス腫瘍モデルにおける抗腫瘍免疫の P D - 1 / I L - 2 D B A - サイトカイン複合体調節を記載する。P D - 1 / I L - 2 D B A - 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。5 0 0 , 0 0 0 個の M C 3 8 腫瘍細胞をヒト P D - 1 ノックインマウス (G e n O w a y) 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) として計算した。マウスを処置群に無作為化し、腫瘍が約 1 0 0 m m ³ の体積に達したときに処置を開始した。以下の表 1 3 に示すように、マウスを、腫瘍移植後 7 日目、1 0 日目、および 1 3 日目に、5 または 0 . 5 ミリグラム / キログラムの指定用量で、P D - 1 / I L - 2 D B A - サイトカイン複合体 (2 B 0 7 I L - 2 m u t ; 配列番号 2 1 0 ~ 2 1 2) 、I L - 2 を欠く P D - 1 / I L - 2 D B A (2 B 0 7 ; 配列番号 2 1 2 ~ 2 1 3) 、またはアイソタイプ対照 (配列番号 2 1 4 ~ 2 1 5) で静脈内処置した。P D - 1 / I L - 2 D B A - サイトカイン複合体は、I L - 2 を欠く P D - 1 / I L - 2 D B A また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 8) 。

【 表 1 3 】

表 1 3 - I g G P D - 1 / I L - 2 D B A およ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 2 1 0	APASSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTAKFAMPKK ATELKHLQCLEELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSET TFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFTRYVHWVRQAPGQG LEWMGIINPSGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAV YYCAAGLFIWGQGLTVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVK GYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSIT CNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKD VLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQTQTHREDYNS TLRVVSALPIQHQQDWMGSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQ VYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTE PVLDSGYSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRT PGK
	配列番号 2 1 1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFTRYVHWVRQAPGQGLEW MGIINPSGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYC AAGLFIWGQGLTVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYF PEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNV AHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLM ISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQTQTHREDYNSTLR

10

20

30

40

50

タンパク質複合体	配列番号	配列
		VVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYV LPPPEKEMTKKQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLK SDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
	配列番号 2 1 2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSIGRYLAWYQQKPGKAPKLLIYS ASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYNSFPVTFGPG TKVDIKRADAAPTVISIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKID GSERQNGVLNSWTDQDSKDYMSSTLTITKDEYERHNSYTCEATHKT STSPIVKSFNRECE
I L - 2 を欠く P D - 1 / I L - 2 D B A	配列番号 2 1 2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSIGRYLAWYQQKPGKAPKLLIYS ASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYNSFPVTFGPG TKVDIKRADAAPTVISIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKID GSERQNGVLNSWTDQDSKDYMSSTLTITKDEYERHNSYTCEATHKT STSPIVKSFNRECE
	配列番号 2 1 3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFTRYVHWVRQAPGQGLEW MGIINPSGGYASYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYC AAGLFIWGQGLTVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYF PEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNV AHPASSTKVDKKIEPRGPTIKCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMI ISLSPITCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQTQTHREDYNSTLR VVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYV LPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVL DSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
アイソタイプ 対照	配列番号 2 1 4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWV ARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRSEDTAVYYCSR WGGDGFYAMDYWGQGLTVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTL GCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTW PSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKCPPCKCPAPNAAGGPSVFIF PPKIKDVLMIISLSPITCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQTQTH REDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKG SVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDMPEDIYVEWTNNGKTEL NYKNTEPVLDSGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHT TKSFSRTPGK
	配列番号 2 1 5	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIY SASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQ GTKVEIKRADAAPTVISIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKID GSERQNGVLNSWTDQDSKDYMSSTLTITKDEYERHNSYTCEATHKT STSPIVKSFNRECE

10

20

30

40

【 0 1 2 4 】

実施例 9

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 P D - 1 / I L - 2 D B A サイトカイン複合体調節

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 P D - 1 / I L - 2 D B A - サイトカイン複合体調節を記載する。P D - 1 / I L - 2 D B A - 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 P B M C またはヒト T 細胞と単球由来樹状細胞 (m o D C) との組み合わせを、ヒト腫瘍細胞 (例えば、H P A C、A 3 7 5、H 4 4 1) と 1 : 4 の

50

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-2 DBA-サイトカイン複合体、または抗PD-1、抗HER2-IL-2もしくは抗PD-1-IL-2等の適切な制御されていない対照による処置を開始する。腫瘍を週に少なくとも2回測定し、体積を（長さ×幅×高さ／2）として計算する。PD-1/IL-2 DBA-サイトカイン複合体は、抗PD-1および抗HER2-IL-2と比較して増大した抗腫瘍有効性および抗PD-1-IL-2と比較して減少した腫瘍外活性を示す。

【0125】

実施例10

一般方法：インビトロおよびインビボでのタンパク質複合体の特性評価

10

【0126】

この実施例は、インビトロおよびインビボ安定性のためのDBA-サイトカイン複合体の評価を記載する。本開示のタンパク質複合体は、組み換え発現されるか、または化学合成される。タンパク質複合体は、治療ドメインに連結されたセンサドメインを含む。リンカーは、ペプチドリinkerである。センサドメインは、治療ドメインおよ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、センサドメインは治療ドメインに結合し、治療ドメインをその標的に結合することができず、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、センサドメインはマーカーに結合し、治療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。

【0127】

20

インビトロで、タンパク質複合体を、ベースラインで、またはストレス条件、例えば高温、pH変化、酸化緩衝液もしくは血清／血漿中でのインキュベーション後に、断片化、アンフォールディングもしくは凝集を測定するための生物物理学的特性評価の方法を使用して、および／または機能活性の変化を試験するための方法を使用して、安定性およ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、ラットまたは非ヒト霊長類）における投与後に測定され、分布、クリアランスおよ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または選択するために使用される。

【0128】

実施例11

30

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-2 DBA-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制御IL-2活性を記載する。標準的なプロトコルを使用して哺乳動物細胞での発現によって、図2E、図2Bおよび図2Hに示す3つのフォーマットで、DBA-サイトカイン複合体および対照抗体-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または抗Fc抗体（Jackson ImmunoResearch、製品番号109-005-098）で捕捉したIgG1対照タンパク質で被覆した。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、HEK-BLue（商標）IL-2レポーター細胞を添加する前に短時間インキュベートした。

40

【0129】

図2Eに示す構造を含むタンパク質複合体の結果を図9A～図9Dに示す。図2Eに示されるように、この対称フォーマットは、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-2 DBA-IL-2複合体AF4379のIL-2活性は、図9Aに示されるように、IgG1被覆ウェルにおける62pMに対して、PD-1被覆ウェルにおける31pMのEC50を有し、PD-1依存性を実証した。図9Dに示されるように、配列番号64および配列番号176を含む抗体-サイトカイン複合体AF4377（抗Her2抗体）、ならびに配列番号177～配列番号178を含むAF4378（抗IL-2抗体）のIL-2活性は、PD-

50

1（図9Bおよび図9Cにそれぞれ示す）の存在下では変化しなかったが、配列番号179～配列番号180を含む抗PD-1抗体AF4376のIL-2活性は、PD-1の存在下では低下した。タンパク質複合体の配列を以下の表14に要約する。

【表14】

表14－重鎖IL-2治療ドメインを有するIgG PD-1／IL-2 DBA
およ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	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLT FEFYMPKKATELKHLQCLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLR PRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FCQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAE VKKPGASVKVSCASGDTFTRYVHWVRQAPQGGLWM GIINPSGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAAGLFIWGQGLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCG DTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVL QSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEP RGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIV

10

20

30

40

50

タンパク質 複合体	配列番号	配列
		TCVVVDVSEDDPDVQISWVNNVEVHTAQTQTHREDYNS TLRVVSALPIQHQDWMMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISK PKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIY VEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSGSYFMYSKLRVEKKN WVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
	配列番号 1 7 5	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSIGRYLAWYQQKPG KAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFA TYYCQQYNSFPVTFGPGTKVDIKRADAAPTVSIFPPSSEQLT SGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSRQNGVLNSWTD QDSKDYSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIV KSFNRNEC
AF4377	配列番号 6 4	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISLQPEDF ATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSEQLT SGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSRQNGVLNSWTD QDSKDYSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPI VKSFNRENC
	配列番号 1 7 6	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTDMLT FEFYMPKKA TELKHLQCLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLR PRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FCQSIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARI YPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDT AVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLLTVSSAKTTAPSVY PLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGV HTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTK VDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVL MISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVNNVEVHTAQTQT HREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMMSGKEFKCKVNNKDLGA PIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDF MPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSGSYFMYSKL RVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
AF4378	配列番号 1 7 7	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTDMLT FEFYMPKKA TELKHLQCLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLR PRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FCQSIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGL VKPGGSLRLSCAASGFTFSSYTLAWVRQAPGKGLEWVAI DSSSYTYSPTVTRGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTA VYYCARDNWDALDYWGQGTLLTVSSAKTTAPSVYPLAP VCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFP AVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDK KIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVL MISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVNNVEVHTAQTQTHRED YNSTLRVVSALPIQHQDWMMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERT ISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPE DIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSGSYFMYSKLRVEK KNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
	配列番号 1 7 8	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCASQNVGTNVGWYQQKP GKAPKALIIYSASFRYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED

10

20

30

40

50

タンパク質 複合体	配列番号	配列
		FATYFCQQYYTYPTYTFGGGKLEIKRADAAPTVSIFPPSSE QLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNS WTDQDSKDYSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTST SPIVKSFNRECE
AF4376	配列番号 179	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLT FEFYMPKKATELKHLQCLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLR PRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FCQSIHSTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVESGGG VVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVA VIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNSTLFLQMNSLRAE DTAVYYCATNDDYWGQGTLLTVSSAKTTAPSVYPLAPVC GDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPA VLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDDK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSP IVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQTQTHREDY NSTLRVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTI SKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPED IYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKK NWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
	配列番号 180	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFA VYYCQQSSNWPRFTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQL TSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWT DQDSKDYSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPI VKSFNRECE

10

20

【0130】

図2Bに示す構造を含むタンパク質複合体の結果を図4A～図4Fに示す。このフォーマットは、ドメインの1つに連結された単一のIL-2を有する2つの抗体ドメインから構成される非対称複合体で構成される。PD-1/IL-2 DBA-IL-2 複合体AF4386（配列番号212および配列番号181～配列番号182を含む、結果を図4Aに示す）、AF4387（配列番号183～配列番号185を含む、結果を図4Bに示す）およびAF4389（配列番号186～配列番号188を含む、結果を図4Cに示す）のIL-2活性は、PD-1被覆ウェルではそれぞれ50pM、57pMおよび118pM、IgG1被覆ウェルではそれぞれ1.79nM、419pMおよび1.67nMのEC50を有し、PD-1依存性を実証した。抗PD1対照タンパク質AF4380（配列番号180、配列番号189～配列番号190を含む、結果を図4Dに示す）、抗Her2対照タンパク質AF4383（配列番号64、配列番号191～配列番号192を含む、結果を図4Eに示す）および抗IL-2対照タンパク質AF4384（配列番号178、配列番号193～配列番号194を含む、結果を図4Fに示す）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15に要約する。

30

40

50

【表 15】

表 15－単一の I L－2 を有する I g G P D－1 / I L－2 P D A および
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	APTSSSTKKTKQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTDMLT FEFYMPKKATELKHLQCLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLR PRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FCQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAE VKKPGASVKVSCKASGDTFTRYVHWVRQAPGQGLEWM GIINPSGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAAGLFIWGQGTLLTVSSAKTTAPSVYPLAPVCG DTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVL QSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEP RGPTIKCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIV TCVVVDVSEDDPDVQISWVFNVEVHTAQTQTHREDYNS TLRVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISK PKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIY VEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSGGSYFMYSDLRVEKKN WVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK
	配列番号 182	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFTRYVHWVR QAPGQGLEWMGIINPSGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTST VYMELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLLTVSSAKTTA PSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSL SSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHP ASSTKVDKKIEPRGPTIKCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNVEVHTA QTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNK DLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEKEMTKKQVSLTC LVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFM YSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG GGGSGGGSHHHHHH
	配列番号 212	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSIGRYLAWYQQKPG KAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFA TYQCQYNSEFPVTFGPGTKVDIKRADAAPTVSIFPPSSEQLT SGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTD QDSKDYSTYMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKSTSPIV KSFNRNEC
AF4387	配列番号 183	APTSSSTKKTKQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTDMLT FEFYMPKKATELKHLQCLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLR PRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FCQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAE VKKPGASVKVSCKASGYTFDYYMHWVRQAPGQGLEWM GIINPRAGYTSYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCTSGWDVWGQGTLLTVSSAKTTAPSVYPLAPVC GDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPA VLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIV IVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNVEVHTAQTQTHREDY NSTLRVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTI SKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPED IYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSGGSYFMYSDLRVEKK NWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK

10

20

30

40

50

タンパク質 複合体	配列番号	配列
	配列番号 1 8 4	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYMHWR QAPGGGLEWMGIINPRAGYTSYALKFQGRVTMTRDTST VYMESSLRSEDVAVYYCTSGWDVWGQGLVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSG SLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAH PASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPK IKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTA QTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMMSGKEFKCKVNNK DLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEKEMTKKQVSLTC LVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFM YSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG GGSGGGSHHHHHH
	配列番号 1 8 5	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISTWLAWYQQKPG KAPKLLIYAASSLDGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDF ATYYCQQSYSPVTFGGGTKVEIKRADAAPTVISFPPSSEQL TSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWT DQDSKDYSTYMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPI VKSFNRENC
AF4389	配列番号 1 8 6	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTDMLT FEFYMPKKATELKHLQCLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLR PRDLISNINIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FCQSIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGGSQVQLVQSGAE VKKPGASVKVSCKASGHTFTRYMHWRQAPGGGLEWM GIINPSGGYATYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSE DTAVYYCASGLFIWGQGLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCG DTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVL QSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEP RGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISSLPIV TCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQTQTHREDYNS TLRVVSALPIQHQQDWMMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISK PKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIY VEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKN WVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK
	配列番号 1 8 7	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHTFTRYMHWR QAPGGGLEWMGIINPSGGYATYAQKFQGRVTMTRDTSTST VYMESSLRSEDVAVYYCASGLFIWGQGLVTVSSAKTTA PSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSL SSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHP ASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTA QTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMMSGKEFKCKVNNK DLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEKEMTKKQVSLTC LVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFM YSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG GGSGGGSHHHHHH
	配列番号 1 8 8	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSINSWLAWYQQKPG KAPKLLIYATSTLESGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFA TYYCQQYYRFPVTFGGGTKVEIKRADAAPTVISFPPSSEQL TSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWT

10

20

30

40

50

タンパク質 複合体	配列番号	配列
		DQDSKDYSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPI VKSFNRNEC
AF4380	配列番号 180	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYDASNRTGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFA VYYCQQSSNWPRFTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQL TSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWT DQDSKDYSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPI VKSFNRNEC
	配列番号 189	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTDMLT FEFYMPKKATELKHQLCLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLR PRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FCQSIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGGSQVQLVESGGG VVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVA VIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMNSLRAE DTAVYYCATNDDYWGQGTLLTVSSAKTTAPSVYPLAPVC GDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPA VLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSP IVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFVNNVEVHTAQTQTHREDY NSTLRVVSALPIQHQQDWMMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTI SKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPED IYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKK NWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK
	配列番号 190	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQ APGKGLEWVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNKNT LFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGTLLTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSG SLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAH PASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPK IKDVLMSLSPITCVVVDVSEDDPDVQISWVFVNNVEVHTA QTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMMSGKEFKCKVNNK DLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEKEMTKKQVSLTC LVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLSKSDGSYFM YSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG GGSGGGSHHHHHH
AF4383	配列番号 64	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDF ATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQ LTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWT DQDSKDYSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPI VKSFNRNEC
	配列番号 191	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTDMLT FEFYMPKKATELKHQLCLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLR PRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FCQSIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARI YPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDT AVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLLTVSSAKTTAPSVY PLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGV

10

20

30

40

50

タンパク質複合体	配列番号	配列	
AF4384		HTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTK VDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVL MISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQT HREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMMSGKEFKCKVNNKDLGA PIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTD FMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDL RVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK	
	配列番号 1 9 2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK LEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLTVTVSSAKTTAPSVY PLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFP AVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEP RGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVL VDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSAL PIQHQDWMMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYV LPPPEKEMTKKQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKN TEPVLSKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHH TTKSFSRTPGGGGSGGGSHHHHHH	10
	配列番号 1 7 8	DIQMTQSPSSLSASVGRVSITCKASQNVGTNVGWYQQKP GKAPKALIYSASFYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED FATYFCQQYYTYPTYTFGGGKLEIKRADAAPTVSIFPPSSE QLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNS WTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKSTST SPIVKSFNRENC	20
AF4384	配列番号 1 9 3	APTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTDMLT FEFYMPKKATELKHLQCLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLR PRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FCQSIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGL VKPGGSLRLSCAASGFTFSYTLAWVRQAPGKGLEWVA DSSSYTYSPDTRVGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTA VYYCARDSDNWDALDYWGQGLTVTVSSAKTTAPSVYPLAP VCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFP AVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDK KIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVL SPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHRED YNSTLRVVSALPIQHQDWMMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERT ISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTD DIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEK KNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK	30
	配列番号 1 9 4	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYTLAWVRQA PGKGLEWVAIDSSSYTYSPDTRVGRFTISRDNANKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARDSDNWDALDYWGQGLTVTVSSAK TTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTW SGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNV AHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIF PPKIKDVL MISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEV HTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMMSGKEFKCKV NNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEKEMTKKQVS LTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLSKSDGSY	40

タンパク質複合体	配列番号	配列
		FMYSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSR TPGGGGSGGGSHHHHHH

【 0 1 3 1 】

図 2 H に示す構造を含むタンパク質複合体の結果を図 5 A ～図 5 H に示す。図 2 H 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 I L - 2 がフレキシブルリンカー

によって一方のFcドメインに付着し、単一のscFvがフレキシブルリンカーによって他方のFcドメインに付着した、2つの同一の単一特異性Fabアームから構成される。活性PD-1/IL-2 DBA複合体、配列番号180、195、199を含むAF4403および配列番号180、196、199を含むAF4404は、Fabアーム中の抗PD-1ドメインおよびFcアーム上のPD-1/IL-2 DBA scFvで構成される。対照抗体-サイトカイン複合体は、a) Fc上の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および配列番号64、198、202を含むAF4396）、b) Fcアーム上の非DBA scFvとの抗体-サイトカイン複合体（配列番号180、199～200を含むAF4400および配列番号180、199、201を含むAF4401）、および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および配列番号64、202、204を含むAF4393）で構成される。図5Bおよび図5Dに示されるように、DBA-サイトカイン複合体AF4403およびAF4404のIL-2活性は、PD-1被覆ウェルではそれぞれ31 pMおよび26 pM、対照ウェルではそれぞれ62 pMおよび64 pMのEC50を有し、IL-2活性のPD-1依存性を実証した。上記の対照タンパク質AF4395、AF4396、AF4400、AF4401、AF4392およびAF4393のいずれも、図5A、図5Cおよび図5E～図5Hに示されるように、IgG1タンパク質で被覆されたウェルよりもPD-1被覆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16に要約する。

10

20

【表16】

表16-C末端scFvおよびIL-2を有するIgG PD-1、なら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	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRTGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSRQNGVLNSWT DQDSKDSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKKTSTSPI VKSFNRNEC
	配列番号195	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDN SKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGT LVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVT LGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAH

30

40

50

タンパク質 複合体	配列番号	配列
		PASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPK IKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTA QTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMMSGKEFKCKVNNK DLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEKEMTKKQVSLTC LVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFM YSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG GGGGSGGGSGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGDTFTRYVYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGY ASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDТАVYYC AAGLFIWGQGTЛTVSSASGGGGSGGGSGGGGSHASDIQ MTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSIGRYLAWYQQKPGKA PKLLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQQYNSEFPVTFGPGTKVDIKGGGSGGGSHHHHHH
	配列番号 199	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQ APGKGLEWVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDN SKNT LFLQMNSLRAEDТАVYYCATNDDYWGQGTЛTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSG SLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAH PASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPK IKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTA QTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMMSGKEFKCKVNNK DLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTC MVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDS DGSYFM YSDLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPG GGGGSGGGSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLMIL NGINNYKNPKLTDMLTFEFYMPKKATELKHLCCLERELKP LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
AF4404	配列番号 180	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFA VYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQL TSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWT DQDSKDSTYSMSSTLTЛTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPI VKSFNRENC
	配列番号 196	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQ APGKGLEWVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDN SKNT LFLQMNSLRAEDТАVYYCATNDDYWGQGTЛTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSG SLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAH PASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPK IKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTA QTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMMSGKEFKCKVNNK DLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEKEMTKKQVSLTC LVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFM YSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG GGGGSGGGSGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGYTFDYMHMWVRQAPGQGLEWMGIINPRAG YTSYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDТАVYYC TSGWDVWGQGTЛTVSSASGGGGSGGGSGGGGSHASDI

10

20

30

40

50

タンパク質 複合体	配列番号	配列
		QMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISTWLAWYQQKPGK APKLLIYAASSLDGVPSPRFSGSGSGTDFLTITSSLPEDFAT YYCQQSYSPVTFGQGTKVEIKGGGSGGGSHHHHHH
	配列番号 199	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQ APKGLEWVAVIWDGSKRYYADSVKGRFTISRDN SKNT LFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGLTVTS AKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSG SLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAH PASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPK IKDVL MISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISW FVNNVEVHTA QTQTHREDYNSTLRVVSALPIQH QDWMMSGKEFKCKVNNK DLGAPIERTISKPKGSGVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTC MVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDS DGSYFM YSDLRVEKKNWVERNYSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPG GGGGSGGGSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMIL NGINNYKNPKLTDMLTFEFYMPKKATELKHLQCLERELKP LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
AF4395	配列番号 64	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFLTITSSLPEDF ATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRADAAPT VSIFFPSSEQ LTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDG SERQNGVLNSWT DQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSY TCEATHKTSTSPI VKSFN RNEC
	配列番号 197	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLTVT VSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVT LTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSI TCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGP SVFIFPPKIKDVL MISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISW FVN NVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQH QDWMMSGKEF KCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSGVRAPQVYVLPPEKEMT KKQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVL KSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNYSYSCSVVHEGLHNHHT TKSFSRTPGGGGSGGGSGGGSGGGGSQVQLVQSGAE VKKPGASVKVCKASGDTFTRYVYVHWVRQAPGQGLEWM GIINPSGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSE DTAVYYCAAGLFIWGQGLTVTVSSASGGGGSGGGSGGG GSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGRYLAWY QQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTDFLTITSSL QPEDFATYYCQQYNSFPVTFGP GTKVDIKGGGSGGGSHHH HHH
	配列番号 202	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLTVT VSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVT LTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSI TCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGP

10

20

30

40

50

タンパク質 複合体	配列番号	配列
		SVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFFVN NVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEF KCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTK KQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLD SDGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTT ESFSRTPGGGGGSGGGGSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEHLL LDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTFEFYMPKKATELKHLQC LERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSE TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
AF4396	配列番号 64	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISSLPEDF ATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRADAAPTVISFPPSSEQ LTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSRQNGVLNSWT DQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKSTSPI VKSFNRNEC
	配列番号 198	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLVT VSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVT LTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSI TCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGP SVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFFVN NVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEF KCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEKEMT KSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHT TKSFSRTPGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAE VKKPGASVKVSCKASGYTFDYMHWRQAPQGQGLEWM GIINPRAGYTSYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCTSGWDVWGQGLVTVSSASGGGGSGGGGSGG GGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISTWLAW YQQKPGKAPKLLIYAASLDSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS LPEDFATYYCQQSYSPVTFGQGTKVEIKGGGSGGGSHH HHHH
	配列番号 202	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLVT VSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVT LTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSI TCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGP SVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFFVN NVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEF KCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTK KQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLD SDGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTT ESFSRTPGGGGGSGGGGSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEHLL LDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTFEFYMPKKATELKHLQC LERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSE TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT

10

20

30

40

タンパク質 複合体	配列番号	配列
AF4400	配列番号 180	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYDASNRTGIPARFSGSGSGTDFTLTISSEPEDFA VYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIKRADAAPTVISIFPPSSEQL TSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWT DQDSKDYSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKSTSPI VKSFNRNEC
	配列番号 199	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQ APGKGLEWVAVIWDGSKRYYADSVKGRFTISRDN SKNT LFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGLTVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGD TTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSG SLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAH PASSTKVDKKIEPRGPTIKCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPK IKDVL MISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISW FVNNVEVHTA QTQTHREDYNSTLRVVSALPIQH QDWMSGKEFKCKVNNK DLGAPIERTISKPKG SVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTC MVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFM YSDLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPG GGGGSGGGSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMIL NGINNYKNPKLTDMLTFEFYMPKKATELKHLQCLERELKP LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
	配列番号 200	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQ APGKGLEWVAVIWDGSKRYYADSVKGRFTISRDN SKNT LFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGLTVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGD TTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSG SLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAH PASSTKVDKKIEPRGPTIKCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPK IKDVL MISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISW FVNNVEVHTA QTQTHREDYNSTLRVVSALPIQH QDWMSGKEFKCKVNNK DLGAPIERTISKPKG SVRAPQVYVLPPEKEMTKKQVSLTC LVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLS DGSYFM YSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG GGGGSGGGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLR LSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTR YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSR WGGDGFYAMDYWGQGLTVTVSSASGGGGSGGGSGGG GSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTIS LQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGGSGGGSHH HHHH
AF4401	配列番号 180	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYDASNRTGIPARFSGSGSGTDFTLTISSEPEDFA VYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIKRADAAPTVISIFPPSSEQL TSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWT DQDSKDYSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKSTSPI VKSFNRNEC
	配列番号 199	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQ APGKGLEWVAVIWDGSKRYYADSVKGRFTISRDN SKNT LFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGLTVTVSSAKTT

10

20

30

40

タンパク質 複合体	配列番号	配列
		APSVYPLAPVCGD TTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSG SLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAH PASSTKVDDKKIEPRGPTIKCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPK IKDVLMI SLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFVNNVEVHTA QTQTHREDYNSTLRVVSALPIQH QDWMSGKEFKCKVNNK DLGAPIERTISKPKG SVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTC MVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFM YSDLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPG GGGGSGGGGSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMIL NGINNYKNPKLTDMLTFEFYMPKKATELKHLQCLERELKP LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
	配列番号 201	QVQLVESGGGVVQPGSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQ APKGLEWVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDN SKNT LFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGLTVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGD TTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSG SLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAH PASSTKVDDKKIEPRGPTIKCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPK IKDVLMI SLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFVNNVEVHTA QTQTHREDYNSTLRVVSALPIQH QDWMSGKEFKCKVNNK DLGAPIERTISKPKG SVRAPQVYVLPPEKEMTKKQVSLTC LVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLS DGSYFM YSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVKPGGSLR LSCAASGFTFSYTLAWVRQAPKGLEWVA AIDSSSYTYS PDTVRGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDS NWDALDYWGQGLTVTVSSASGGGSGGGGSGGGGSHAS DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNVGTNVGWYQQKP GKAPKALIYSASFYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED FATYFCQQYYTYPTYTFGGGTKEIKGGGSGGGSHHHHHH
AF4392	配列番号 64	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDF ATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRADAAPT VSIFFPSSEQ LTSGGASVVCFLN NFYPKDINVKWKIDGSRQNGVLNSWT DQDSKDYSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPI VKSFNRNEC
	配列番号 202	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLTVT VSSAKTTAPSVYPLAPVCGD TTGSSVTLGCLVKGYFPEPVT LTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSI TCNVAHPASSTKVDDKKIEPRGPTIKCPPCKCPAPNAAGGP SVFIFPPKIKDVLMI SLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFV NVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQH QDWMSGKEF KCKVNNKDLGAPIERTISKPKG SVRAPQVYVLPPEEEMTK KQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLD SDGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTT ESFSRTPGGGGSGGGGSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEHLL LDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTFEFYMPKKATELKHLQC

10

20

30

40

50

タンパク質 複合体	配列番号	配列
AF4393		LERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSE TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIHSTLT
	配列番号 203	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLVT VSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVT LTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSI TCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGP SVFIFPPKIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFN NVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMSGKEF KCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEKEMT KKQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVL KSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHT TKSFSRTPGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARI YPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDT AVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLVTVSSASGGGGSGG GGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDV NTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSGT DFTLTISLQPEDFATYYCQQHYYTPPTFGQGTKVEIKGGG SGGGSHHHHHH
	配列番号 64	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQK GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPEDF ATYYCQQHYYTPPTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQ LTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSRQNGVLNSWT DQDSKDYSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKSTSPI VKSFNRNEC
AF4393	配列番号 202	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLVT VSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVT LTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSI TCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGP SVFIFPPKIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFN NVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMSGKEF KCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTK KQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVL SDGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTT ESFSRTPGGGGGSGGGGSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEHLL LDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTFEFYMPKKATELKHLQC LERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSE TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIHSTLT
	配列番号 204	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLVT VSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVT LTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSI TCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGP SVFIFPPKIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFN

10

20

30

40

50

タンパク質 複合体	配列番号	配列
		NVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEF KCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEKEMT KKQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVL KSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNYSYSCSVVHEGLHNHHT TKSFSRTPGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGL VKPGGSLRLSCAASGFTFSSYTLAWVRQAPGKGLEWVAAI DSSSYTYSPDTRVGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTA VYYCARDSDNWDALDYWGQGTLLTVSSASGGGGSGGGGS GGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNVGTN VGWYQQKPGKAPKALISASFRYSQVPSRFSGSGSGTDFT LTISLQPEDFATYFCQQYYTYPYTFGGGTKLEIKGGGSGG GSHHHHHH

10

【0132】

実施例12

PD1およびIL2に対する更なる二重結合抗体の結合

以前の実施例において二重結合抗体（DBA）の有効性を観察して、更なる二重結合抗体scFvを作製した（以下の表17、表18、および表19を参照）。この実施例は、これらの二重結合抗体scFvへのPD1およびIL2の結合の測定を記載する。各クローンのscFv DNA配列を、T7プロモーター、翻訳開始部位、cMycおよびV5タグを有するscFv配列に対するコード配列、ならびにT7ターミネーター配列を有するgBlock（Integrated DNA Technologies, Inc.）として合成した。各gBlock断片由来のタンパク質を、無細胞転写／翻訳システム（Cosmo Bio USA, Inc.、PUREfrex2.1、製品番号GFK-PF213（DS サプリメントあり）、製品番号GFK-PF005）を用いて発現させた。scFv試料をELISA分析に供して、PD1およびIL2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、1μg/mlの抗V5抗体（Sv5-Pk1、BioRad）で4度で一晩被覆した。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。PD1結合を検出するために、ビオチン化組み換えPD1を使用した（PD1-HisAvi、Acro Biosystems、PD1-H82E4）。IL2結合を検出するために、IL2（R&D、202-IL）をSuperBlock緩衝液中でビオチン化抗IL2 mAb（mab202、標準的な方法を用いてビオチン化）と2：1の比でプレインキュベートした。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。表17A～表17Cは、3セットのscFvに対するPD1およびIL2結合についてのEC50値を示し、これらの抗体の二重結合を実証する。

20

30

40

【0133】

データは、対照抗体AB000694、AB000719、AB000880を除く表17A～表17Cの全ての抗体がPD1とIL2の両方に効果的に結合することができることを示す。

50

【表 17 A】

表 17 A：第 1 の実験において E L I S A によって評価した場合の、
本開示による P D 1 および I L 2 に対する更なる D B A の結合親和性

抗体ID	タンパク質名	P D 1 E C 5 0	I L 2 E C 5 0
AB002293__2B07v2	AF003676	0. 2	6
AB002353__2B07v9	AF003736	0. 9	30
AB002342__2B07v5	AF003725	0. 2	7
AB002328__2B07v4	AF003711	0. 2	0. 4
AB002326__2B07v3	AF003709	0. 2	30
AB002345__2B07v6	AF003728	0. 2	60
AB002348__2B07v8	AF003731	0. 3	100
AB002022__2B07v1	AF002829	0. 6	10
AB002347__2B07v7	AF003730	0. 1	8

10

【表 17 B】

表 17 B：第 2 の実験において E L I S A によって評価した場合の、
本開示による P D 1 および I L 2 に対する更なる D B A の結合親和性

抗体ID	タンパク質名	P D 1 E C 5 0	I L 2 E C 5 0
AB000694 (抗PD1対照)	AF005039	0. 7	—
AB000719 (抗PD1対照)	AF005040	0. 4	—
AB000880 (抗PD1対照)	AF000327	4	—
AB003021__2A11v7	AF005103	0. 6	40
AB002417__2A11v4	AF005148	4	50
AB002413__2A11v3	AF005147	2	2
AB002427__2A11v5	AF005149	3	0. 9
AB003200__2B05v1	AF005131	0. 5	弱い
AB003209__2B05v4	AF005140	0. 4	弱い
AB003201__2B05v2	AF005132	0. 5	弱い
AB003202__2B05v3	AF005133	0. 5	弱い
AB003155__2B07v10	AF005042	0. 7	0. 4
AB002328__2B07v4	AF005041	2	1
AB003174__2B07v11	AF005062	0. 6	7
AB003180__2B07v13	AF005068	0. 6	0. 8
AB003183__2B07v14	AF005071	0. 3	40
AB003178__2B07v12	AF005066	1	0. 3
AB003007__7A04v6	AF005087	1	10
AB002365__7A04v2	AF005095	1	8
AB003012__7A04v7	AF005092	1	7
AB003005__7A04v5	AF005085	4	3
AB002864__2A11v6	AF005116	0. 4	60

20

30

40

50

【表 17C】

表 17C：第 3 の実験において E L I S A によって評価した場合の、
本開示による P D 1 および I L 2 に対する更なる D B A の結合親和性

抗体ID	タンパク質名	P D 1 E C 5 0	I L 2 E C 5 0
AB000880 (抗PD1対照)	AF000327	8	—
AB002360_7A04v1	AF003765	1	70
AB002365_7A04v2	AF003770	1	30
AB002370_7A04v3	AF003775	0.7	30
AB002381_7A04v4	AF003786	0.7	30
AB002410_2A11v2	AF003815	3	100
AB002413_2A11v3	AF003818	3	3
AB002417_2A11v4	AF003822	5	400
AB002427_2A11v5	AF003832	3	0.8
AB002022_2B07v1	AF002829	5	30
AB001938	AF002745	10	30

10

20

30

40

50

【表 18】

表 18：実施例 12 に記載の DBA の V_H 領域および V_L 領域の配列

ID	抗体 I D	V_H	V_L	V_H 配列番号	V_L 配列番号
AB000694_nivo	AB00069 4	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLD CKASGITFSNSGMHWVRQAPG KGLEWVAWIYDGSKRYADS VKGRFTISRDNKNTLFLQMNS LRAEDTAVYYCATNDDYWGQ GTLVTVSS	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQS VSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGGTDFLTITSSLEPED FAVYYCQQSSNWPRTFGGGTKVEIK	329	330
AB000880_PD1_R04_C10	AB00088 0	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTTYMHWVRQAPG QGLEWMGIINPSGGGTLYAQKF QGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSL RSEDTA VYYCAAGLFIWGQGT TVTVSS	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKAS QSLHSSSNKNYLAWYQQKPGQPPK LLIYWASTRESGVPDFRFGSGSGTDF LTISLQAEDVAVYYCQQYYSTPITFG PGTKVDIK	331	332
AB002022_2B07v1	AB00202 2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGDTFTRHYVHWVRQAPG QGLEWMGIINPSGGYASYAQKF QGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQ SIGRWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASN LETGVPSRFGSGSGGTDFLTITSSLQPE DFATYYCQQYESFPVTFPGGTKVDIK	333	334

10

20

30

40

50

ID	抗体 I D	V _H	V _L	V _H 配列番号	V _L 配列番号
AB002293_2B07v2	AB00229 3	RSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTL VTVSS			
		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGDTFTRYYYVHWVRQAPG QGLEWMGIINPSGGYASYAQKF QGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSL RSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTL VTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ SIGRWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASN LETGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQYNRFPVTFGPGTKVDIK	335	336
		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGDTFTRYYYVHWVRQAPG QGLEWMGIINPSGGYASYAQKF QGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSL RSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTL VTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ SIGRWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASN LETGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQYNRFPVTFGPGTKVDIK	337	338
AB002328_2B07v4	AB00232 8	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGDTFTRYYYVHWVRQAPG QGLEWMGIINPSGGYASYAQKF QGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ SIGRWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASN LETGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQYNRFPVTFGPGTKVDIK	339	340

10

20

30

40

50

ID	抗体 I D	V _H	V _L	V _H 配列番号	V _L 配列番号
AB002342_2B07v5	AB00234 2	RSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTL VTVSS			
		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGDTFTRYYYVHWVRQAPG QGLEWMGIINPSGGYASYAQKF QGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSL RSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTL VTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQ SIGRWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASN LETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQYERFPVTFGPGTKVDIK	341	342
		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGDTFTRYYYVHWVRQAPG QGLEWMGIINPSGGYASYAQKF QGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSL RSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTL VTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQ SIGRYLAWYQQKPGKAPKLLIYSASN LETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQYNSFPVTFGPGTKVDIK	343	344
AB002345_2B07v6	AB00234 5	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGDTFTRYYYVHWVRQAPG QGLEWMGIINPSGGYASYAQKF QGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSL RSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTL VTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQ SIGRYLAWYQQKPGKAPKLLIYSASN LETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQYNSFPVTFGPGTKVDIK	345	346

10

20

30

40

50

ID	抗体 I D	V _H	V _L	V _H 配列番号	V _L 配列番号
AB002348_2B07v8	AB002348 8	RSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTL VTVSS			
		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGDTFTRYYYVHWVRQAPG QGLEWMGIINPSGGYASYAQKF QGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSL RSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTL VTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQ SIGRWLAWYQQKPGKAPKLLIYASN LETGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQYNSTFPVTFGPGTKVDIK	347	348
		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGDTFTRYYYVHWVRQAPG QGLEWMGIINPSGGYASYAQKF QGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSL RSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTL VTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQ SIGRWLAWYQQKPGKAPKLLIYASN LETGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQYESFPVTFGPGTKVDIK	349	350
AB002360_7A04v1	AB002360 0	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTDYYMHWVRQAPG QGLEWMGIINPRAGYTSYALKF QGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQ SISTWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASS LDSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQSYSTFPVTFGQGTKVEIK	351	352

10

20

30

40

50

ID	抗体 I D	V _H	V _L	V _H 配列番号	V _L 配列番号
AB002365_7A04v2	AB002365	RSEDTAVYYCTSGWDVWGQGT LVTVSS			
		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTRYMHWVRQAPG QGLEWMGIINPRAGYTSYALKF QGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSL RSEDTAVYYCTSGWDVWGQGT LVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQ SISTWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASS LDSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQSYSPVTFGGQGTKVEIK	353	354
		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTRYMHWVRQAPG QGLEWMGIINPRAGYTSYALKF QGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSL RSEDTAVYYCTSGWDVWGQGT LVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQ SISTWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASS LDSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQSYSPVTFGGQGTKVEIK	355	356
AB002381_7A04v4	AB002381	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGDTFTDYMHWVRQAPG QGLEWMGIINPRAGYTSYALKF QGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQ SISTWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASS LDSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQSYSPVTFGGQGTKVEIK	357	358

10

20

30

40

50

ID	抗体 I D	V _H	V _L	V _H 配列番号	V _L 配列番号
		RSEDTAVYYCTSGWDVWGQGT LVTVSS			
AB002410_2A11v2	AB002410	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGHTFTTRYMHWVRQAPG QGLEWMGIINPSGGYATYAQKF QGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSL RSEDTAVYYCASGWFVWGQGT LVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ SINSLAWYQQKPGKAPKLLIYDTST LESGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQSYSPVTFGQGTKVEIK	359	360
AB002413_2A11v3	AB002413	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGHTFTTRYMHWVRQAPG QGLEWMGIINPSGGYATYAQKF QGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSL RSEDTAVYYCASGLFIWGQGT LVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ SINSLAWYQQKPGKAPKLLIYATST LESGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQYYRFPVTFGQGTKVEIK	361	362
AB002417_2A11v4	AB002417	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGHTFTTRYMHWVRQAPG QGLEWMGIINPSGGYATYAQKF QGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ SINSLAWYQQKPGKAPKLLIYATST LESGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQYYSPVTFGQGTKVEIK	363	364

10

20

30

40

50

ID	抗体 I D	V _H	V _L	V _H 配列番号	V _L 配列番号
AB002427_2A11v5	AB002427	RSEDTAVYYCASGLFIWGQGTLL VTVSS			
		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGHTFTTRYMHWVRQAPG QGLEWMGIINPSGGYATYAQKF QGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSL RSEDTAVYYCASGLFIWGQGTLL VTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ SINSLAWYQQKPGKAPKLLIYATST LESGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQSYRFPVTFGGQGTKVEIK	365	366
AB002520_7A04v8	AB002520	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTDYMHWVRQAPG QGLEWMGIINPRAGYTSYALKF QGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSL RSEDTAVYYCTSGWDVWGQGT LVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ SISTWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASS LDSGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQSYRFPVTFGGQGTKVEIK	367	368
		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGHTFTTRYMHWVRQAPG QGLEWMGIINPSGGYATYAQKF QGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ SINSLAWYQQKPGKAPKLLIYATST LESGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQSYRFPVTFGGQGTKVEIK	369	370

10

20

30

40

50

ID	抗体 I D	V _H	V _L	V _H 配列番号	V _L 配列番号
		RSEDTAVYYCASGLDIWGQGT LVTVSS			
AB002829_knd_A08	AB002829 9	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYFNGYDIHWVRQAPGQ GLEWMGWMNPDNGNTGLAQK FQGRVTITADESTSTAYMELSSL RSEDTAVYYCARGMATRFPYY YYGMDVWVGQGTLVTVSS	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQS LLHSNGYNLDWYLYQKPGQSPQLLIY LGSNRRASGVDPDRFSGSGGTDFTLKIS RVEAEDVGYYVYCMQGTHTWPPTFGQ GTKVEIK	371	372
AB002864_2A11v6	AB002864 4	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGHTFTTRYYYMHWVRQAPG QGLEWMGVINPSGGYATYAQK FQGRVTMTTRDTSTSTVYMELSS LRSEDTAVYYCASGWDVWVGQ GTLVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQ SINSWLAWYQQKPGKAPKLLIYATST LESGVPSRFSFGSGGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQSYSSPVTFGQGTKVEIK	373	374
AB003005_7A04v5	AB003005 5	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTRYYYMHWVRQAPG QGLEWMGIIQPRAGYTSYALKF QGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQ SISTWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASS LDEGVPSRFSFGSGGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQSYSPVTFGQGTKVEIK	375	376

10

20

30

40

50

ID	抗体 I D	V _H	V _L	V _H 配列番号	V _L 配列番号
AB003007_7A04v6	AB00300 7	RSEDTAVYYCTSGWDVWGQGT LVTVSS			
		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTRYMHWRQAPG QGLEWMGIINPRAGYTSYALKF QGRVTMTTRDTSTSTVYMESSL RSEDTAVYYCTSGWEVWGQGT LVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQ SISTWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASS LDEGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQSYSPVTFGGQGTKVEIK	377	378
		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTRYMHWRQAPG QGLEWMGIINPRAGYTSYALKF QGRVTMTTRDTSTSTVYMESSL RSEDTAVYYCTSGWDVWGQGT LVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQ SISTWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASS LDEGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQSYSPVTFGGQGTKVEIK	379	380
AB003021_2A11v7	AB00302 1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGFTFTRYMHWRQAPG QGLEWMGVINPSGGYATYAQK FQGRVTMTTRDTSTSTVYMESSL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQ SISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYATST LESGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQSYSPVTFGGQGTKVEIK	381	382

10

20

30

40

50

ID	抗体ID	V _H	V _L	V _H 配列番号	V _L 配列番号
AB003155_2B07v10	AB00315 5	LRSEDTAVYYCASGWDVWGQ GTLVTVSS			
		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGETFTRYVYVHWVRQAPG QGLEWMGIINPSGGYASYAQKF QGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSL RSEDTAVYYCAAGLFIWGQGT LTVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ SIGRWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASN LETGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQYNRFPVTFGPGTKVDIK	383	384
		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGDTFTRYVYVHWVRQAPG QGLEWMGIINPSGGYASYAQKF QGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSL RSEDTAVYYCAAGLFIWGQGT LTVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ SIGRELAWYQQKPGKAPKLLIYSASN LETGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQYNRFPVTFGPGTKVDIK	385	386
AB003178_2B07v12	AB00317 8	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGDEFTRYVYVHWVRQAPG QGLEWMGIINPSGGYASYAQKF QGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ SIGRWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASN LETGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQYNRFPVTFGPGTKVDIK	387	388

10

20

30

40

50

ID	抗体 I D	V _H	V _L	V _H 配列番号	V _L 配列番号
AB003180_2B07v13	AB003180	RSEDTAVYYCAAGLFIWGQGT LVTVSS			
		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGDEFTRYYYVHWVRQAPG QGLEWMGIQNPSSGGYASYAQK FQGRVTMTTRDTSTSTVYME LSS LRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGT LVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCRASQ SIGRWLA WYQQKPGKAPKLLIY SASN LETGVPSR FSGSGGTDFTLTIS SLQPE DFATYYC QQYNRFPVTFGP GTKVDIK	389	390
		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGDEFTRYYYVHWVRQAPG QGLEWMGIQNPSSGGYASYAQK FQGRVTMTTRDTSTSTVYME LSS LRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGT LVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCRASQ SIGRELA WYQQKPGKAPKLLIY DASN LETGVPSR FSGSGGTDFTLTIS SLQPE DFATYYC QQYNRFPVTFGP GTKVDIK	391	392
AB003200_2B05v1	AB003200	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGETFTNYYIH WVRQAPG QGLEWMGVNPRAGYTSYALK FQGRVTMTTRDTSTSTVYME LSS	DIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCRISQS ISSWLA WYQQKPGKAPKLLIY SASSL QSGVPSR FSGSGGTDFTLTIS SLQPED FATYYC QQSFTSPITFGQ GTRLEIK	393	394

10

20

30

40

50

ID	抗体ID	V _H	V _L	V _H 配列番号	V _L 配列番号
AB003201_2B05v2	AB003201	L R S E D T A V Y Y C A G G W E D W G Q G T L V T V S S			
		Q V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K V S C K A S G G T F T N Y Y I H W V R Q A P G Q G L E W M G I I D P R A G Y T S Y A L K F Q G R V T M T R D T S T S T V Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C A G G W E D W G Q G T L V T V S S	D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T T I C R I S Q S I S S W L A W Y Q Q K P G K A P K L L I Y S A S S L Q S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q S F T S P I T F G Q G T R L E I K	395	396
AB003202_2B05v3	AB003202	Q V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K V S C K A S G G T F T N Y Y I H W V R Q A P G Q G L E W M G I I D P R A G Y T S Y A L K F Q G R V T M T R D T S T S T V Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C A G G W E D W G Q G T L V T V S S	D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T T I C R I S Q S I S S F L A W Y Q Q K P G K A P K L L I Y S A S S L Q S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q S F T S P I T F G Q G T R L E I K	397	398
		Q V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K V S C K A S G E T F T N Y Y I H W V R Q A P G Q G L E W M G I I D P R A G Y T S Y A L K F Q G R V T M T R D T S T S T V Y M E L S S L	D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T T I C R I S Q S I S S F L A W Y Q Q K P G K A P K L L I Y S A S S L Q S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q S F T S P I T F G Q G T R L E I K	399	400

10

20

30

40

50

ID	抗体ID	V _H	V _L	V _H 配列番号	V _L 配列番号
AB003232_2B05v5	AB00323 2	RSEDTAVYYCAGGWEDWGQG TLVTVSS			
		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGFTFTNYYIHWRQAPG QGLEWMGVNPRAGYTSYALK FQGRVTMTTRDTSTSTVYMEISS LRSEDTAVYYCTGGWLDWGQ GTLVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQ SISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASS LQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQSVTMPVTFGQGTREIK	401	402
AB003422_2B05v5	AB00342 2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTNYYIHWRQAPG QGLEWMGVNPRAGYTSYALK FQGRVTMTTRDTSTSTVYMEISS LRSEDTAVYYCAGGWLDWGQ GTLVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQ RISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYDASS LQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQSFTMPVTFGQGTREIK	403	404
		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGFTFTTRYMHWRQAPG QGLEWMGVNPSGGYATYAQK FQGRVTMTTRDTSTSTVYMEISS	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQ SISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYATST LESGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQSYFPPTFGQGTREIK	405	406

10

20

30

40

ID	抗体 I D	V _H	V _L	V _H 配列番号	V _L 配列番号
AB003466_2B07v10	AB00346 6	LRSEDTAVYYCAGWDVWGQ GTLVTVSS			
		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGETFTRYVYVHWVRQAPG QGLEWMGIINPSGGYASYAQKF QGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSL RSEDTAVYYCAAGLFIWGQGT LTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQ SIGRWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASN LETGVPSRFSGSGSGTDFTLTITSSLPQE DFATYYCQQYNSTFPVTFPGGTKVDIK	407	408
		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTRYVMHWVRQAPG QGLEWMGIINPRAGYTSYALKF QGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSL RSEDTAVYYCTSGWDVWGQGT LTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQ SISTWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASS LDTGVPSRFSGSGSGTDFTLTITSSLPQE DFATYYCQQSYSTFPVTFGQGTKVEIK	409	410
AB003470_knd_A04	AB00347 0	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVS CKASGYTFTAYYIHWVRQAPG QGLEFMGWIHYPYSGGTNYAQK FQGRVTITADESTSTAYMELSSL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQ TISRVLNWYQQKPGKAPKLLIYAASS LQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTITSSLPQE DFATYYCQQSYSTPRPTFGQGTKLEIK	411	412

10

20

30

40

50

ID	抗体 I D	V _H	V _L	V _H 配列番号	V _L 配列番号
		RSEDTAVYYCAIGYYYGKFDY WGQGTLLVTVSS			

10

20

30

40

50

【表 1 9】

表 1 9：実施例 1 2 に記載の DBA の V_H CDR および V_L CDR の配列

ID	抗体 I D	V _H _cdr1	V _H _cdr2	V _H _cdr3	V _L _cdr1	V _L _cd r2	V _L _cdr 3	V _H — c d r 1 配列 番号	V _H — c d r 2 配列 番号	V _H — c d r 3 配列 番号	V _L — c d r 1 配列 番号	V _L — c d r 2 配列 番号	V _L — c d r 3 配列 番号
AB002022_ 2B07v1	AB00 2022	GDTFTR HYVH	IINPSGGYASY AQKFQG	AAGLFI	RASQSIGRW LA	SASN LET	QQYES FPV	431	432	433	434	435	436
AB002293_ 2B07v2	AB00 2293	GDTFTR YYVH	IINPSGGYASY AQKFQG	AAGLFI	RASQSIGRW LA	SASN LET	QQYN SFPV	437	438	439	440	441	442
AB002326_ 2B07v3	AB00 2326	GDTFTR YYVH	IINPSGGYASY AQKFQG	AAGLFI	RASQSIGSW LA	SASN LET	QQYN SFPV	443	444	445	446	447	448
AB002328_ 2B07v4	AB00 2328	GDTFTR YYVH	IINPSGGYASY AQKFQG	AAGLFI	RASQSIGRW LA	SASN LET	QQYN RFPV	449	450	451	452	453	454
AB002342_ 2B07v5	AB00 2342	GDTFTR YYVH	IINPSGGYASY AQKFQG	AAGLFI	RASQSIGRW LA	SASN LET	QQYE RFPV	455	456	457	458	459	460

10

20

30

40

50

ID	抗体 I D	V _H _cdr1	V _H _cdr2	V _H _cdr3	V _L _cdr1	V _L _cdr r2	V _L _cdr 3	V _H - c d r 1 配列 番号	V _H - c d r 2 配列 番号	V _H - c d r 3 配列 番号	V _L - c d r 1 配列 番号	V _L - c d r 2 配列 番号	V _L - c d r 3 配列 番号
AB002345_	AB00	GDTFTR	IINPSGGYASY		RASQSIGRY	SASN	QQYN						
2B07v6	2345	YYVH	AQKFQG	AAGLFI	LA	LET	SFPV			462	463	464	465
AB002347_	AB00	GDTFTR	IINPSGGYASY		RASQSIGRY	SASN	QQYN						
2B07v7	2347	YYVH	AQKFQG	AAGLFI	LA	LET	RFPV		468	469	470	471	472
AB002348_	AB00	GDTFTR	IINPSGGYASY		RASQSIGRY	YAS	QQYN						
2B07v8	2348	YYVH	AQKFQG	AAGLFI	LA	NLET	SFPV		474	475	476	477	478
AB002353_	AB00	GDTFTR	IINPSGGYASY		RASQSIGRW	SASN	QQYES						
2B07v9	2353	YYVH	AQKFQG	AAGLFI	LA	LET	FPV		480	481	482	483	484
AB002360_	AB00	GYTFID	IINPRAGYTSY		RASQSISTW	AASS	QQSYS						
7A04v1	2360	YYMH	ALKFQG	TSGWDV	LA	LDS	FPV		486	487	488	489	490
AB002365_	AB00	GYTFTR	IINPRAGYTSY		RASQSISTW	AASS	QQSYS						
7A04v2	2365	YYMH	ALKFQG	TSGWDV	LA	LDS	FPV		492	493	494	495	496
AB002370_	AB00	GYTFIT	IINPRAGYTSY		RASQSISTW	AASS	QQSYS						
7A04v3	2370	YYMH	ALKFQG	TSGWDV	LA	LDS	FPV		498	499	500	501	502
AB002381_	AB00	GDTFID	IINPRAGYTSY		RASQSISTW	AASS	QQSYS						
7A04v4	2381	YYMH	ALKFQG	TSGWDV	LA	LDS	FPV		504	505	506	507	508
AB002410_	AB00	GHTFTR	IINPSGGYATY		RASQSINSW	DTST	QQSYS						
2A11v2	2410	YYMH	AQKFQG	ASGWFV	LA	LES	FPV		510	511	512	513	514

10

20

30

40

50

ID	抗体 ID	V _H _cdr1	V _H _cdr2	V _H _cdr3	V _L _cdr1	V _L _cdr2	V _L _cdr3	V _H - cdr 1 配列 番号	V _H - cdr 2 配列 番号	V _H - cdr 3 配列 番号	V _L - cdr 1 配列 番号	V _L - cdr 2 配列 番号	V _L - cdr 3 配列 番号
AB002413_2A11v3	AB00 2413	GHTFTR YYMH	IINPSGGYATY AQKFQG	ASGLFI	RASQSINSW LA	ATST LES	QYY RFPV	515	516	517	518	519	520
AB002417_2A11v4	AB00 2417	GHTFTR YYMH	IINPSGGYATY AQKFQG	ASGLFI	RASQSINSW LA	ATST LES	QYY SFPV	521	522	523	524	525	526
AB002427_2A11v5	AB00 2427	GHTFTR YYMH	IINPSGGYATY AQKFQG	ASGLFI	RASQSINSW LA	ATST LES	QSY RFPV	527	528	529	530	531	532
AB002520_7A04v8	AB00 2520	GYTFTR YYMH	IINPRAGYTSY ALKFQG	TSGWDV	RASQSISTW LA	AASS LDS	QSY RFPV	533	534	535	536	537	538
AB002521_2A11v1	AB00 2521	GHTFTR YYMH	IINPSGGYATY AQKFQG	ASGLDI	RASQSINSW LA	ATST LES	QSY RFPV	539	540	541	542	543	544
AB002829_knd_A08	AB00 2829	GYIFNG YDIH	WMNPDNGNT GLAQKFQG	ARGMATRFPY YYYGMDV	RSSQSLHLS NGYNYLD	LGSN RAS	MQGT HWPP	545	546	547	548	549	550
AB002864_2A11v6	AB00 2864	GHTFTR YYMH	VINPSGGYAT YAQKFQG	ASGWDV	RASQSINSW LA	ATST LES	QSY SPV	551	552	553	554	555	556
AB003005_7A04v5	AB00 3005	GYTFTR YYMH	IINPRAGYTSY ALKFQG	TSGWDV	RASQSISTW LA	AASS LDE	QSY FPV	557	558	559	560	561	562
AB003007_7A04v6	AB00 3007	GYTFTR YYMH	IINPRAGYTSY ALKFQG	TSGWEV	RASQSISTW LA	AASS LDE	QSY FPV	563	564	565	566	567	568

10

20

30

40

50

ID	抗体 ID	V _H _cdr1	V _H _cdr2	V _H _cdr3	V _L _cdr1	V _L _cdr r2	V _L _cdr 3	V _H - cdr 1 配列 番号	V _H - cdr 2 配列 番号	V _H - cdr 3 配列 番号	V _L - cdr 1 配列 番号	V _L - cdr 2 配列 番号	V _L - cdr 3 配列 番号
AB003012_7A04v7	AB00 3012	GYTFTR YYMH	IINPRAGYTSY ALKFQG	TSGWDV	RASQISITW LA	AASS LDE	QSYS FPV	569	570	571	572	573	574
AB003021_2A11v7	AB00 3021	GFTFTR YYMH	VINPSGGYAT YAQKFQG	ASGWDV	RASQISSW LA	ATST LES	QSYS SPV		576	577	578	579	580
AB003155_2B07v10	AB00 3155	GETFTR YYVH	IINPSGGYASY AQKFQG	AAGLFI	RASQISGRW LA	SASN LET	QQYN RFPV	581	582	583	584	585	586
AB003174_2B07v11	AB00 3174	GDTFTR YYVH	IINPSGGYASY AQKFQG	AAGLFI	RASQISGRE LA	SASN LET	QQYN RFPV	587	588	589	590	591	592
AB003178_2B07v12	AB00 3178	GDEFTR YYVH	IINPSGGYASY AQKFQG	AAGLFI	RASQISGRW LA	SASN LET	QQYN RFPV	593	594	595	596	597	598
AB003180_2B07v13	AB00 3180	GDEFTR YYVH	IQNPSGGYASY AQKFQG	AAGLFI	RASQISGRW LA	SASN LET	QQYN RFPV	599	600	601	602	603	604
AB003183_2B07v14	AB00 3183	GDEFTR YYVH	IQNPSGGYASY AQKFQG	AAGLFI	RASQISGRE LA	DAS NLET	QQYN RFPV	605	606	607	608	609	610
AB003200_2B05v1	AB00 3200	GETFTN YYIH	VINPRAGYTSY ALKFQG	AGGWED	RISQISSWL A	SASS LQS	QQSFT SPI	611	612	613	614	615	616
AB003201_2B05v2	AB00 3201	GGTFTN YYIH	IIDPRAGYTSY ALKFQG	AGGWED	RISQISSWL A	SASS LQS	QQSFT SPI	617	618	619	620	621	622

10

20

30

40

50

ID	抗体 ID	V _H _cdr1	V _H _cdr2	V _H _cdr3	V _L _cdr1	V _L _cdr2	V _L _cdr3	V _H -cdr 1 配列 番号	V _H -cdr 2 配列 番号	V _H -cdr 3 配列 番号	V _L -cdr 1 配列 番号	V _L -cdr 2 配列 番号	V _L -cdr 3 配列 番号
AB003202_2B05v3	AB003202_3202	GSTFTN YYIH	IIDPRAGYTSY ALKFQG	AGGWED	RISQSISSFL A	SASS LQS	QQSFT SPI	623	624	625	626	627	628
AB003209_2B05v4	AB003209_3209	GETFTN YYIH	IIDPRAGYTSY ALKFQG	AGGWED	RISQSISSFL A	SASS LQS	QQSFT SPI	629	630	631	632	633	634
AB003232_2B05v5	AB003232_3232	GTFTTN YYIH	VINPRAGYTSY ALKFQG	TGGWLD	RASQSISSW LA	SASS LQS	QQSVT MPV	635	636	637	638	639	640
AB003422_2B05v5	AB003422_3422	GYTFTN YYIH	VINPRAGYTSY ALKFQG	AGGWLD	RASQRISSW LA	DASS LQS	QQSFT MPV	641	642	643	644	645	646
AB003465_2A11v9	AB003465_3465	GFTFTR YYMH	VINPSGGYAT YAQKFQG	ASGWDV	RASQSISSW LA	ATST LES	QQSYS FPP	647	648	649	650	651	652
AB003466_2B07v10	AB003466_3466	GETFTR YYVH	IINPSGGYASY AQKFQG	AAGLFI	RASQSIGRW LA	SASN LET	QQYN SFPV	653	654	655	656	657	658
AB003467_7A04v9	AB003467_3467	GYTFTN YYMH	IINPRAGYTSY ALKFQG	TSGWDV	RASQSISSW LA	AASS LDT	QQSYS FPV	659	660	661	662	663	664
AB003470_knd_A04	AB003470_3470	GYTFTN YYIH	WIHPYSGGTN YAQKFQG	AIGYYYGKFD Y	RASQTISSY LN	AASS LQS	QQSYS TPR	665	666	667	668	669	670

10

20

30

40

【0134】

実施例13

インビトロで更なる二重結合抗体（DBA）ドメインを含有するPD-1／IL-2 サイトカイン複合体による制御されたIL-2 受容体結合

この実施例は、実施例12に記載される更なるDBA結合エレメントを含むPD-1／IL-2 DBA-サイトカイン複合体によるPD-1制御IL-2 受容体結合を記載する。抗PD-1／IL-2 DBA-サイトカイン複合体を、抗PD-1、抗Her2、抗PD-L1または抗IL-2 サイトカイン複合体等の適切な制御されていない対照と共に分析した。DBA-サイトカイン複合体および対照抗体-サイトカイン複合体を2つの

50

フォーマットで産生した：哺乳動物細胞における発現によって、および標準的なプロトコルを使用して精製した、(1)「対称」免疫サイトカイン(図2Eに示す)；または(2)「非対称」免疫サイトカイン(図2Bに示す)。様々な量のPD-1-FcまたはhIgG1-Fcの存在下で、ビオチン化IL-2受容体ベータガンマヘテロ二量体Fc(IL-2RBG；Acro カタログ番号：ILG-H5254)でプローブした各ウェル上に被覆された一定量の抗体-サイトカインコンストラクトを用いてELISAアッセイを実施した。アッセイを行うために、384ウェルELISAプレートを、100mM重炭酸塩溶液pH9.0中1マイクログラム／mLの抗Fc抗体で4℃で一晩被覆し、SuperBlockで2回洗浄した。次いで、抗体-サイトカイン複合体を6nMの一定濃度で各ウェルに添加し、1時間インキュベートし、PBS+0.05% Tween 20(PBST)中で3回洗浄した。滴定された濃度のPD-1 FcまたはIgG1対照Fcを加え、15分間インキュベートした後、10nMの一定量のビオチン化IL-2RBGを加えた。プレートを更に30分間インキュベートし、洗浄し、ストレプトアビジン-HRPおよび標準ELISAプロトコルを使用してビオチン化IL-2RBG検出を行った。

10

【0135】

対称設計

図2Eに示す構造を含むタンパク質複合体の結果を図9に示す。図2Eに示されるように、この対称フォーマットは、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。図9におけるこれらのコンストラクトの挙動について見ることにできるように、IL-2RBG結合は、下記の表35に示されるペプチドIDを含むDBサイトカイン複合体AF3247、AF3644、AF3651、AF3652、AF3653、AF3657、AF3930、AF3931、AF3933、AF3934およびAF3935(参照されるペプチドの配列が表2Aに見出すことができる)については、PD-1 Fcの添加により用量依存的様式で増加した(しかし、陰性対照hIgG1 Fcタンパク質の添加では増加しなかった)。抗Her2(AF3243)および抗IL-2(AF3246)を含む対照の単一特異性抗体-サイトカイン複合体に対するIL-2RBG結合は、PD-1 Fcタンパク質の添加によって変化しなかった。

20

30

40

50

【表 20】

表 20：実施例 13 で試験した「対称」免疫サイトカイン設計および対照の多タンパク質成分

タンパク質複合体	ペプチド 1	ペプチド 2	ペプチド 3	抗体 1
AF003232	PEP003639	PEP003648	PEP003642	AB002022_2B07v1
AF003740	PEP004243	PEP004247	PEP004159	AB002293_2B07v2
AF003747	PEP004243	PEP004247	PEP004162	AB002345_2B07v6
AF003749	PEP004243	PEP004247	PEP004163	AB002348_2B07v8
AF003753	PEP004243	PEP004247	PEP003642	AB002353_2B07v9
AF003941	PEP004251	PEP004443	PEP000169	AB001054_PDL1_DB02_D10 対照
AF003945	PEP004243	PEP004438	PEP004421	AB002326_2B07v3
AF003947	PEP004243	PEP004438	PEP004420	AB002342_2B07v5
AF003951	PEP004433	PEP004442	PEP004427	AB002360_7A04v1
AF003952	PEP004435	PEP004445	PEP004427	AB002365_7A04v2
AF003953	PEP004436	PEP004446	PEP004427	AB002370_7A04v3
AF003955	PEP004431	PEP004440	PEP004423	AB002413_2A11v3
AF003956	PEP004433	PEP004442	PEP004426	AB002520_7A04v8
AF003243	PEP003655	PEP000113		AB001203_トラスツズマブ対照
AF003246	PEP003654	PEP003641		AB001923_抗 IL2 対照

10

20

【0136】

非対称設計

図 2 B に示され（「非対称」免疫サイトカイン設計）、以下の表 21 に記載される構造を含むタンパク質複合体に関する結果を図 10 に示す。このフォーマットは、ドメインの 1 つに連結された単一の IL-2 を有する 2 つの抗体ドメインから構成される非対称複合体で構成される。IL-2 RBG 結合は、PD-1 Fc の添加により用量依存的様式で増加したが、下記の表 21 に示されるペプチド ID を含む DBA-サイトカイン複合体 AF3232、AF3740、AF3747、AF3749、AF3753、AF3945、AF3947、AF3951、AF3952、AF3953、AF3955 および AF3956 に対する IgG1 対照 Fc タンパク質の添加では増加しなかった（参照されるペプチドの配列は表 2 A に見出すことができる）。対照の単一特異性抗体-サイトカイン複合体抗 PDL-1（AF3941）に対する IL-2 RBG 結合は、PD-1 Fc タンパク質の添加によって変化しなかった。

30

40

50

【表 2 1】

表 2 1：実施例 1 3 で試験した「非対称」免疫サイトカイン設計および対照の多タンパク質成分

タンパク質複合体	ペプチド1	ペプチド2	ペプチド2	抗体
AF003232	PEP003639	PEP003648	PEP003642	AB002022_2B07v1
AF003740	PEP004243	PEP004247	PEP004159	AB002293_2B07v2
AF003747	PEP004243	PEP004247	PEP004162	AB002345_2B07v6
AF003749	PEP004243	PEP004247	PEP004163	AB002348_2B07v8
AF003753	PEP004243	PEP004247	PEP003642	AB002353_2B07v9
AF003945	PEP004243	PEP004438	PEP004421	AB002326_2B07v3
AF003947	PEP004243	PEP004438	PEP004420	AB002342_2B07v5
AF003951	PEP004433	PEP004442	PEP004427	AB002360_7A04v1
AF003952	PEP004435	PEP004445	PEP004427	AB002365_7A04v2
AF003953	PEP004436	PEP004446	PEP004427	AB002370_7A04v3
AF003955	PEP004431	PEP004440	PEP004423	AB002413_2A11v3
AF003956	PEP004433	PEP004442	PEP004426	AB002520_7A04v8
AF003941	PEP004251	PEP004443	PEP000169	AB001054_PDL1_DB02_D10 対照

10

20

【0 1 3 7】

実施例 1 4

インビトロでの PD-1 / IL-2 サイトカイン複合体に対する IL-2 RBG への 2 種類の IL-2 結合の阻害

この実施例は、IL-2 RBG に結合する PD-1 / IL-2 DBA-サイトカイン複合体中の IL-2 の 2 つの形態を記載する。図 2 H に示されるフォーマットの抗体-サイトカイン複合体を、野生型 (WT) IL-2 または IL-2 3x (IL-2 R アルファへの結合が減少し、R38D、K43E および E61R 変異を有する IL-2 バリエーション、例えば、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、Vazquez-Lombardi et al. Nat Commun. 8:15371 2017 を参照) を用いて作製した。DBA-サイトカイン複合体および対照抗体-サイトカイン複合体を哺乳動物細胞における発現によって産生させ、標準的なプロトコルを使用して精製した。IL-2 RBG への IL-2 の結合を遮断する DBA 結合ドメインの能力を調べるために、ビオチン化 IL-2 受容体ベータガンマヘテロ二量体 Fc (IL-2 RBG; Acro カタログ番号 ILG-H5254) でプローブした各ウェル上に被覆した一定量の抗体-サイトカインコンストラクトを用いて ELISA アッセイを行った。これらの実験では、384 ウェル ELISA プレート、100 mM 重炭酸塩溶液 pH 9.0 中 1 マイクログラム / ml の抗 Fc 抗体 (Jackson ImmunoResearch) で 4℃ にて一晩被覆し、SuperBlock (ThermoFisher、37515) で 2 回洗浄した。次いで、抗体-サイトカイン複合体を 6 nM の一定濃度で各ウェルに添加し、1 時間インキュベートし、PBS + 0.05% Tween 20 (PBST) 中で 3 回洗浄した。滴定濃度のビオチン化 IL-2 RBG を添加し、プレートを更に 45 分間インキュベートした。洗浄後、ストレプトアビジン-HRP および標準 ELISA プロトコルを使用してビオチン化 IL-2 RBG 検出を行った。

30

40

【0 1 3 8】

以下の表 2 2 に記載のタンパク質複合体を用いた結果を図 1 1 に示す。図 2 H に示され

50

るように、これらの複合体は非対称であり、単一の I L - 2 (W T または 3 x のいずれか) がフレキシブルリンカーによって一方の F c ドメインに付着し、単一の s c F v がフレキシブルリンカーによって他方の F c ドメインに付着した、2つの同一の単一特異性 F a b アームから構成される。抗体-サイトカイン複合体は、F a b アームに抗 P D - 1 ドメインを含み、F c アームに P D - 1 / I L - 2 D B A s c F v を含む。対照抗体-サイトカイン複合体は、F a b アームにおける同じ抗 P D - 1 ドメインと、F c アームにおける抗 H E R 2 単一特異性 s c F v とを含む。図 11 のパネル A において、抗体-サイトカイン複合体は、F c ドメイン上に W T I L - 2 形態を含有し、図 11 のパネル B において、抗体-サイトカイン複合体は、F c 上に 3 × I L - 2 形態を含有する。図 11 のパネル A に示されるように、P D - 1 / I L - 2 D B A 複合体 A F 5 4 1 8 および A F 5 4 1 9 は、抗 H e r 2 非 D B A 対照複合体 A F 5 4 1 6 と比較して I L - 2 R B G 結合が減少しており、これは、W T I L - 2 への受容体結合を遮断する D B A ドメインの能力を実証している。図 11 のパネル B に示されるように、P D - 1 / I L - 2 D B A 複合体 A F 4 6 9 5 および A F 4 6 9 6 は、抗 H e r 2 非 D B A 対照複合体 A F 4 6 9 3 と比較して I L - 2 R B G 結合が減少しており、D B A ドメインが I L - 2 3 x への受容体結合を遮断する能力を実証している。

10

【表 2 2】

表 2 2 : 実施例 1 4 で試験した「C t e r m」免疫サイトカイン設計および対照の多タンパク質成分

20

ペプチド ID	ペプチド1	ペプチド2	ペプチド3	抗体1	抗体2
AF0046 93	PEP0049 67	PEP0050 90	PEP0047 29	AB001203__ トラスツズマブ対照	AB000694__PD1__ ニボルマブ対照
AF0046 95	PEP0049 67	PEP0050 91	PEP0047 29	AB002328 2B07v4	AB000694__PD1__ ニボルマブ対照
AF0046 96	PEP0049 67	PEP0050 92	PEP0047 29	AB002365 7A04v2	AB000694__PD1__ ニボルマブ対照
AF0054 16	PEP0061 77	PEP0050 90	PEP0047 29	AB001203__ トラスツズマブ対照	AB000694__PD1__ ニボルマブ対照
AF0054 18	PEP0061 77	PEP0050 91	PEP0047 29	AB002328 2B07v4	AB000694__PD1__ ニボルマブ対照
AF0054 19	PEP0061 77	PEP0050 92	PEP0047 29	AB002365 7A04v2	AB000694__PD1__ ニボルマブ対照

30

【0139】

実施例 1 5

細胞アッセイにおける P D - 1 / I L - 2 二重結合抗体 (D B A) サイトカイン複合体による制御された I L - 2 受容体シグナル伝達

この実施例は、P D - 1 / I L - 2 D B A - サイトカイン複合体による H E K - B l u e (商標) I L - 2 レポーター細胞における P D - 1 制御 I L - 2 活性を記載する。抗 P D - 1 / I L - 2 D B A - サイトカイン複合体を、抗 H e r 2 、抗 P D L - 1 または抗 I L - 2 サイトカイン複合体等の適切な制御されていない対照と共に分析した。D B A - サイトカイン複合体および対照抗体-サイトカイン複合体を、哺乳動物細胞における発現によって、図 2 B 、図 2 D 、図 2 E 、図 2 G 、図 2 H および図 2 I に示される 5 つのフォーマットで産生し、標準的なプロトコルを使用して精製した。これらの複合体のペプチド成分を以下の表 2 3 に概説する (個々の成分の配列は表 2 A に見出すことができる) 。細胞ベースのレポーターアッセイを、様々な量の P D - 1 - F c または h I g G 1 - F c の存在下で、5つのフォーマットのそれぞれについて行った。

40

50

【表 2 3】

表 2 3：実施例 1 5 で試験した免疫サイトカイン設計および対照の多タンパク質成分

タンパク質複合体	フォーマット (図)	鎖 1	鎖 2	鎖 3	抗体 1	抗体 2
AF003 232	2B	PEP003 639	PEP003 648	PEP003 642	AB002022_2B07v1	-
AF003 744	2B	PEP004 243	PEP004 247	PEP004 158	AB002328_2B07v4	-
AF003 747	2B	PEP004 243	PEP004 247	PEP004 162	AB002345_2B07v6	-
AF003 941	2B	PEP004 251	PEP004 443	PEP000 169	AB001054_PDL1_D B02_D10 対照	-
AF003 946	2B	PEP004 243	PEP004 438	PEP004 158	AB002328_2B07v4	-
AF003 948	2B	PEP004 243	PEP004 438	PEP004 162	AB002345_2B07v6	-
AF003 952	2B	PEP004 435	PEP004 445	PEP004 427	AB002365_7A04v2	-
AF003 955	2B	PEP004 431	PEP004 440	PEP004 423	AB002413_2A11v3	-
AF003 956	2B	PEP004 433	PEP004 442	PEP004 426	AB002520_7A04v8	-
AF003 345	2D	PEP003 791	PEP003 786		AB002022_2B07v1	-
AF003 243	2E	PEP003 655	PEP000 113		AB001203_ トラストズマブ対照	-

10

20

30

40

50

タンパク質複合体	フォーマット (図)	鎖 1	鎖 2	鎖 3	抗体 1	抗体 2
AF003 246	2E	PEP003 654	PEP003 641		AB001923__ 抗 IL2 対照	-
AF003 247	2E	PEP003 657	PEP003 642		AB002022_2B07v1	-
AF003 341	2E	PEP003 780	PEP003 782		AB002022_2B07v1	-
AF003 644	2E	PEP004 153	PEP004 159		AB002293_2B07v2	-
AF003 651	2E	PEP004 153	PEP004 162		AB002345_2B07v6	-
AF003 657	2E	PEP004 153	PEP003 642		AB002353_2B07v9	-
AF003 934	2E	PEP004 418	PEP004 427		AB002365_7A04v2	-
AF003 873	2G	PEP004 361	PEP003 642		AB002022_2B07v1	AB000880_PD1_4 C10 対照
AF003 876	2G	PEP004 363	PEP004 158		AB002328_2B07v4	AB000880_PD1_4 C10 対照
AF003 877	2G	PEP004 363	PEP004 162		AB002345_2B07v6	AB000880_PD1_4 C10 対照
AF003 864	2H	PEP003 626	PEP004 356	PEP000 243	AB001923__ 抗 IL2 対照	AB000881_PD1_ 対照
AF003 871	2H	PEP004 360	PEP000 113	PEP004 360	AB001203__ トラスツズマブ対照	AB000880_PD1_4 C10 対照
AF003 872	2H	PEP004 359	PEP003 641	PEP004 359	AB001923__ 抗 IL2 対照	AB000880_PD1_4 C10 対照
AF003 913	2H	PEP003 626	PEP004 395	PEP000 243	AB002022_2B07v1	AB000881_PD1_ 対照
AF003 918	2H	PEP003 626	PEP004 398	PEP000 243	AB002328_2B07v4	AB000881_PD1_ 対照
AF003 923	2H	PEP003 626	PEP004 406	PEP000 243	AB002360_7A04v1	AB000881_PD1_ 対照
AF003 927	2H	PEP003 626	PEP004 404	PEP000 243	AB002413_2A11v3	AB000881_PD1_ 対照
AF004 502	2H	PEP005 089	PEP005 090	PEP004 729	AB000694_PD1_ ニボルマブ対照	AB001203__ トラスツズマブ対照
AF004 503	2H	PEP003 628	PEP005 088	PEP000 113	AB001203__ トラスツズマブ対照	AB001203__ トラスツズマブ対照
AF004 504	2H	PEP005 089	PEP005 091	PEP004 729	AB002328_2B07v4	AB000694_PD1_ ニボルマブ対照
AF004 505	2H	PEP005 089	PEP005 092	PEP004 729	AB002365_7A04v2	AB000694_PD1_ ニボルマブ対照
AF004 892	2H	PEP000 288	PEP005 631	PEP000 244	AB002328_2B07v4	AB000881_PD1_ 対照
AF004 893	2H	PEP000 288	PEP005 634	PEP000 244	AB002365_7A04v2	AB000881_PD1_ 対照

10

20

30

40

タンパク質複合体	フォーマット (図)	鎖 1	鎖 2	鎖 3	抗体 1	抗体 2
AF003 632	2I	PEP004 130	PEP004 129	PEP000 244	AB000881_PD1_ 対照	-
AF003 634	2I	PEP004 134	PEP004 133	PEP003 782	AB002022_2B07v1	-

50

【0140】

図12A、図12B、図13Aおよび図25に示す実験では、抗体-サイトカイン複合体を、滴定された濃度のPD-1 FcまたはIgG1対照Fcと共に、完全DMEM（+10% FBS、2mM L-グルタミン、ピルビン酸ナトリウム）中の384ウェルTC処置プレート（Corning 3701）のウェルに、最終濃度100pM（常時オン対照については強いレポーターシグナルを有するが、常時オフ対照についてはほとんどまたは全くシグナルを有さないことが以前に示された濃度）に希釈した。15分間のインキュベーション後、HEK-Blue（商標）IL-2レポーター細胞（12,500個の細胞）を各ウェルに添加し、一晚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Quantibluе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分後から60分後、Perkin-Elmer Envisionを使用して630nmでの吸光度を決定した。

10

【0141】

図13B、図14A、図14B、図20および図22に示す代替実験フォーマットでは、384ウェルELISAプレートのウェルを、一定濃度のPD-1-Fcまたは抗Fc抗体（Jackson ImmunoResearch、製品番号109-005-098）で捕捉したIgG1 Fc対照タンパク質で被覆した。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、HEK-Blue（商標）IL-2レポーター細胞を添加する前に短時間インキュベートした。

20

【0142】

図2Eに示す構造を含むタンパク質複合体の結果を図12Aおよび図12Bに示す。図2Eに示されるように、この対称フォーマットは、各抗体重鎖可変ドメインに連結された1つのIL-2から構成される。IL-2活性は、DBA-サイトカイン複合体AF3247、AF3644、AF3651、AF3657およびAF3934について、PD-1 Fcの添加により用量依存的様式で増加したが、hIgG1 Fcタンパク質の添加により増加しなかった。対照抗Her2 AF3243および抗IL-2 AF3246単一特異性抗体-サイトカイン複合体に対するIL-2活性は、PD-1 Fcタンパク質の添加によって変化しなかった。図12Bの対称フォーマットは、図12AのDBA-サイトカイン複合体に類似しているが、IL-2は、AF3341の重鎖可変ドメインおよびAF3345の軽鎖可変ドメインにコンジュゲートされている。両方の対称フォーマットは、PD-1 Fcの添加でIL-2活性の増加を示すが、hIgG1 Fcの添加ではIL-2活性の増加を示さない。

30

【0143】

図2Bに示す構造を含むタンパク質複合体の結果を図13Aおよび図13Bに示す。このフォーマットは、ドメインの1つに連結された単一のIL-2を有する2つの抗体ドメインから構成される非対称複合体で構成される。図13Aにおいて、IL-2活性は、用量依存的様式でPD-1 Fcの添加と共に増加したが、DBA-サイトカイン複合体AF3232、AF3744およびAF3747のためのIgG1対照Fcタンパク質の添加では増加しなかった。図13Bでは、PD-1 FcまたはhIgG1 Fcがプレートに捕捉される代替アッセイフォーマットの非対称コンストラクトを用いた結果を示す。DBA-サイトカイン複合体AF3946、AF3948、AF3952、AF3955およびAF3956は、hIgG1 Fcで被覆されたウェルと比較して、PD-1で被覆されたウェルにおけるIL-2活性の増加を実証する。対照抗PDL-1単一特異性抗体-サイトカイン複合体AF3941のIL-2活性は、PD-1 Fcタンパク質の添加によって変化しなかった。

40

【0144】

図2Hに示す構造を含むタンパク質複合体の結果を図14Aおよび図14Bに示す。図2H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がフレキシブルリンカーによって一方のFcドメインに付着し、単一のscFvがフレキシブルリンカーによって他方のFcドメインに付着した、2つの同一の単一特異性Fabアームから構成

50

される。

【0145】

図14Aにおいて、PD-1/IL-2 DBA複合体は、Fabアームの抗PD-1ドメイン（PD1-ニボルマブ対照）およびFcアームのPD-1/IL-2 DBA s c F vで構成される。対照抗体-サイトカイン複合体は、Fabアームにおける同じ抗PD-1ドメインと、Fcアームにおける非DBA s c F vとで構成される。滴定量のサイトカイン複合体を細胞に添加すると、上段のグラフにおけるPD-1/IL-2 DBA含有サイトカイン複合体AF4504およびAF4505は、等モル量の対照抗HER2 IL-2免疫サイトカインAF4502およびAF4503と比較して、低下したレポーター活性化を示す。同じ滴定量のサイトカイン複合体を、下のグラフのPD-1 FcまたはヒトIgG1 Fc対照で被覆したウェルに添加した。AF4504およびAF4505の両方が、ヒトIgG1 Fcで被覆されたウェルと比較して、PD-1被覆ウェルにおいてIL-2活性の増加を実証する。対照抗HER2 IL-2免疫サイトカインAF4502およびAF4503のIL-2活性は、ヒトIgG1 Fc対照と比較して、PD1 Fcで被覆したウェルでは変化しなかった。図14Bにおいて、PD-1/IL-2 DBA複合体は、Fabアーム中の異なる抗PD-1ドメイン（AB000881__PD1__対照）およびFcアーム上のPD-1/IL-2 DBA s c F vで構成される。PD-1/IL-2 DBA含有サイトカイン複合体AF3913、AF3918、AF3923およびAF3927は、ヒトIgG1 Fcで被覆されたウェルと比較して、PD-1 Fcで被覆されたウェルにおいてIL-2活性の増加を実証する。抗IL-2非DBA s c F v対照抗体-サイトカイン複合体AF3864に対するIL-2活性は、PD-1で被覆したウェルでは変化しなかった。

10

20

【0146】

図2Gに示す構造を含むタンパク質複合体の結果を図15に示す。図2Gに示されるように、この対称フォーマットは、Fabアームの各抗体重鎖可変ドメインに連結された1つのIL-2と、各Fcドメインに付着された1つのs c F vとから構成される。抗体-サイトカイン複合体は、Fabアーム中のPD-1/IL-2 DBAおよびFcドメイン上の抗PD-1 s c F v（AB000880__PD1__4C10__対照）で構成される。対照抗体-サイトカイン複合体は、Fcドメイン中の同じ抗PD-1ドメインおよびFabアーム中の非DBAで構成される。AF3871はFabアーム上に非DBA抗HER2抗体を有し、AF3872はFabアーム上に非DBA抗IL-2抗体を有する。PD-1/IL-2 DBA含有複合体AF3873、AF3876およびAF3877は、ヒトIgG1で被覆されたウェルと比較して、PD-1 Fcで被覆されたウェルにおけるIL-2レポーター活性の増加を実証する。2つの対照抗体-サイトカイン複合体AF3871およびAF3872に対するIL-2活性は、PD-1 Fcで被覆されたウェルにおいて変化しなかった。

30

【0147】

図2Iに示す構造を含むタンパク質複合体の結果を図16に示す。図2I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がフレキシブルリンカーによって1つのFcドメインに付着したFabアーム中のPD-1/IL-2 DBAから構成される抗体のヒンジ領域は、Fcドメイン上のFabアームとIL-2サイトカインとの間の柔軟性を高めるためにジスルフィド架橋が除去されたIgG1およびIgG3のヒンジ配列のハイブリッドである。対照抗体-サイトカイン複合体は、Fabアーム中の単一特異性抗PD-1ドメインおよびFcドメイン上の同じIL-2で構成される。IL-2活性は、PD-1 Fcの添加により用量依存的様式で増加したが、DBA-サイトカイン複合体AF3634に対するヒトIgG1 Fcタンパク質の添加では増加しなかった。対照抗PD-1単一特異性抗体-サイトカイン複合体AF3632のIL-2活性は、PD-1 Fcタンパク質の添加によって変化しなかった。

40

【0148】

図2Hに示す構造を含むタンパク質複合体の結果を図17に示す。図2Hに示されるよ

50

うに)、また図14Aおよび図14Bのコンストラクトと同様に、これらの複合体は非対称であり、単一のIL-2がフレキシブルリンカーによって一方のFcドメインに付着し、単一のscFvがフレキシブルリンカーによって他方のFcドメインに付着した、2つの同一の単一特異性Fabアームから構成される。図17, のコンストラクトとは異なり、篋津のFc部分はヒトIgG1アイソタイプである。図17に示される2つのコンストラクトは、Fabアーム中の抗PD-1ドメイン(AB000881__PD1__対照)およびFcアーム上のPD-1/IL-2 DBA scFvで構成される。PD-1/IL-2 DBA含有サイトカイン複合体AF4892およびAF4893の両方が、mIgG2a Fc対照で被覆されたウェルと比較して、PD-1 Fcで被覆されたウェルにおいてIL-2活性の増加を実証する。

10

【0149】

実施例16

インビトロでのPD-1/IL-2 3×二重結合抗体(DBA)サイトカイン複合体による制御されたIL-2 3×受容体シグナル伝達

この実施例は、PD-1/IL-2 3×DB-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制御IL-2 3×(IL-2 Rアルファへの結合が低下したIL-2バリエーション、Lombardi et al, 2017)活性を記載する。抗PD-1/IL-2 3× DB-サイトカイン複合体を、抗Her2、抗PD-1または抗IL-2サイトカイン複合体等の適切な制御されていない対照と共に分析した。DB-サイトカイン複合体および対照抗体-サイトカイン複合体を、哺乳動物細胞における発現によって図2Bおよび図2Hに示す2つのフォーマットで産生し、標準的なプロトコルを使用して精製した。プレート結合PD-1-FcまたはhIgG1-Fcの存在下で、2つのフォーマットのそれぞれについて細胞ベースのレポーターアッセイを行った。384ウェルELISAプレート(Corning 3700)を、100mM重炭酸塩溶液pH9.0中1マイクログラム/mlの抗Fc抗体(Jackson ImmunoResearch)で4℃にて一晚被覆し、SuperBlock(ThermoFisher)で2回洗浄した。次いで、PD1-FcまたはIgG1対照を6nMの一定濃度で各ウェルに添加し、1時間インキュベートし、PBS+0.05% Tween 20(PBST)中で3回洗浄した。抗体-サイトカイン複合体を、6nMの開始濃度から完全DMEM(+10% FBS、2mM L-グルタミン、ピルビン酸ナトリウム)で8点、1:4で段階希釈した。15分間のインキュベーション後、HEK-Blue(商標)IL-2レポーター細胞(12,500個の細胞)を各ウェルに添加し、一晚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Quantiblu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分後から60分後、Perkin-Elmer Envisionを使用して630nmでの吸光度を決定した。

20

30

【0150】

図2Bに示す構造を含むタンパク質複合体の結果を図18に示す。このフォーマットは、ドメインの1つに連結された単一のIL-2 3xを有する2つの抗体ドメインから構成される非対称複合体で構成される。DB-サイトカイン複合体AF4385、AF4386、AF4387、AF4388およびAF4389は、hIgG1 Fcで被覆されたウェルと比較して、PD-1 Fcで被覆されたウェルにおいてIL-2 3x活性の増加を実証する。対照抗PD-1単一特異性抗体-サイトカイン複合体AF4380および抗IL-2単一特異性抗体-サイトカイン複合体AF4384についてのIL-2 3x活性は、PD-1 Fcタンパク質の添加によって変化しなかった。

40

【0151】

図2Hに示す構造を含むタンパク質複合体の結果を図19A、図19B、および図19Cに示す。図2H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 3xがフレキシブルリンカーによって一方のFcドメインに付着し、単一のscFvがフレキシブルリンカーによって他方のFcドメインに付着した、2つの同一の単一特異性F

50

a b アームから構成される。

【0152】

図19Aにおいて、PD-1/IL-2 DBA複合体は、Fabアームの抗PD-1ドメイン（AB000694__nivo）およびFcアームのPD-1/IL-2 DBA scFvで構成される。対照抗体-サイトカイン複合体は、Fabアームにおける同じ抗PD-1ドメインと、Fcアームにおける非DBA scFvとで構成される。PD-1/IL-2 3×DBA含有サイトカイン複合体AF4404、AF4405、AF4695およびAF4696は、hIgG1 Fcで被覆されたウェルと比較して、PD-1 Fcで被覆されたウェルにおけるIL-2 3×活性の増加を実証する。抗IL-2非DBA scFv対照抗体-サイトカイン複合体AF4401および抗Her2非DBA scFv対照抗体-サイトカイン複合体AF4694に対するIL-2 3×活性は、PD-1 Fcで被覆したウェルで変化しなかった。図19Bにおいて、PD-1/IL-2 DBA複合体は、Fabアーム中の異なる抗PD-1ドメイン（AB000880__PD1__R04__C10）およびFcアーム上のPD-1/IL-2 DBA scFvで構成される。PD-1/IL-2 3×DBA含有サイトカイン複合体AF4413、AF4414、AF4415およびAF4416は、hIgG1 Fcで被覆されたウェルと比較して、PD-1 Fcで被覆されたウェルにおけるIL-2 3×活性の増加を実証する。抗IL-2非DBA scFv対照抗体-サイトカイン複合体AF4412に対するIL-2 3×活性は、PD-1 Fcで被覆したウェルでは変化しなかった。図19Cにおいて、PD-1/IL-2 DBA複合体は、PD-1へのPD-L1の結合を遮断せず、PD-1へのニボルマブの結合も遮断しないFabアーム中の抗PD-1ドメインで構成される。PD-1/IL-2 DBA含有複合体AF4771およびAF4773の両方が、hIgG1 Fcで被覆されたウェルと比較して、PD-1 Fcで被覆されたウェルにおいてIL-2 3×活性の増加を実証する。

【表24】

表24：実施例16で試験した免疫サイトカイン設計および対照の多タンパク質成分

タンパク質複合体	フォーマット (図)	鎖1	鎖2	鎖3	抗体1	抗体2
AF004385	2B	PEP004957	PEP004438	PEP004420	AB002342_2B07v5	-
AF004386	2B	PEP004957	PEP004438	PEP004162	AB002345_2B07v6	-
AF004387	2B	PEP004959	PEP004442	PEP004427	AB002360_7A04v1	-
AF004388	2B	PEP004960	PEP004446	PEP004427	AB002370_7A04v3	-
AF004389	2B	PEP004958	PEP004440	PEP004423	AB002413_2A11v3	-
AF004404	2H	PEP004967	PEP004974	PEP004729	AB002360_7A04v1	AB000694__PD1__ニボルマブ対照
AF004405	2H	PEP004967	PEP004973	PEP004729	AB002413_2A11v3	AB000694__PD1

10

20

30

40

50

						__ニボルマブ 対照
AF004413	2H	PEP00497 8	PEP00498 1	PEP00024 5	AB002342 _2B07v5	AB000880_ PD1_4C10 対照
AF004414	2H	PEP00497 8	PEP00498 2	PEP00024 5	AB002345 _2B07v6	AB000880_ PD1_4C10 対照
AF004415	2H	PEP00497 8	PEP00498 4	PEP00024 5	AB002360 _7A04v1	AB000880_ PD1_4C10 対照
AF004416	2H	PEP00497 8	PEP00498 3	PEP00024 5	AB002413 _2A11v3	AB000880_ PD1_4C10 対照
AF004695	2H	PEP00496 7	PEP00509 1	PEP00472 9	AB002328 _2B07v4	AB00006 94__PD1 __ニボルマブ 対照
AF004696	2H	PEP00496 7	PEP00509 2	PEP00472 9	AB002365 _7A04v2	AB00006 94__PD1 __ニボルマブ 対照
AF004771	2H	PEP00547 0	PEP00547 1	PEP00546 9	AB002328 _2B07v4	AB00028 29__knd _A04__P D1抗体
AF004773	2H	PEP00547 4	PEP00547 5	PEP00547 3	AB002328 _2B07v4	AB00034 70__knd _A08__P D1抗体

10

20

30

【0153】

実施例17

細胞における可変リンカー長を有する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

この実施例では、様々なリンカー長を有するPD-1／IL-2 DB-サイトカイン複合体によるHEK-BLue（商標）IL-2レポーター細胞モデルにおけるPD-1制御IL-2活性を記載する。IL-2サイトカインをDBAドメインに接続するグリシン-セリン（GS）リンカーを5GSリピートから25GSリピートまで変化させた、図2Bに示すフォーマットで、DB-サイトカイン複合体を産生した。DB-サイトカイン複合体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。プレート結合PD-1-FcまたはhIgG1-Fcの存在下で、細胞ベースのレポーターアッセイを実施した。この実施例では、384ウェルELISAプレート（Corning 3700）を、100mM重炭酸塩溶液pH9.0中1マイクログラム／mlの抗Fc抗体（Jackson ImmunoResearch）で4℃にて一晩被覆し、SuperBlock（ThermoFisher）で2回洗浄した。次いで、PD1-FcまたはIgG1対照を6nMの一定濃度で各ウェルに添加し、1時間インキュベートし、PBS+0.05% Tween 20（PBST）中で3回洗浄した。抗体-サイトカイン複合体を、6nMの開始濃度から完全DMEM（+10% FBS、2mM L-グルタミン、ピルビン酸ナトリウム）で8点、1：4で段階希釈した。15分間のインキュベーション

40

50

後、HEK-Blue (商標) IL-2レポーター細胞 (12,500個の細胞)を各ウェルに添加し、一晚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Quant iBlue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分後から60分後、Perkin-Elmer Envisionを使用して630nmでの吸光度を決定した。

【0154】

様々なリンカー長を有する図2Bに示されるタンパク質複合体による結果を図20に示す。非対称複合体は、ドメインの1つに連結された単一のIL-2を有する2つの抗体ドメインから構成される。様々なリンカー長をGS5~GS25から選択して、PD-1制御に対するリンカー長依存性を試験した。AF4262、AF4273、AF4284およびAF4295におけるPD-1/IL-2 DBAドメイン2B07バリエーションを含有するサイトカイン複合体はいずれも、hIgG1 Fcで被覆されたウェルと比較して、PD-1 Fcで被覆されたウェルにおいてIL-2活性の増加を実証した。同様の結果が、AF4265、AF4276、AF4287およびAF4298におけるPD-1/IL-2 DBAドメイン7A04バリエーションを含有するサイトカイン複合体において観察された。これらのデータは、GS5からGS25まで様々な複数のサイトカイン抗体リンカー長でPD-1制御が可能であることを実証している。

【0155】

実施例18

ヒト初代CD8+T細胞におけるPD-1/IL-2 DB-サイトカイン複合体によるSTAT5リン酸化のPD-1依存的誘導

この実施例は、初代ヒトCD8+T細胞におけるSTAT5リン酸化のPD-1/IL-2 DB-サイトカイン複合体誘導を記載する。図2Hに示すフォーマットで、DB-サイトカイン複合体を産生した。CD8+T細胞を、免疫磁気陰性選択 (STEMCELL)を使用してヒトPBMCから単離し、プレート結合抗CD3および可溶性抗CD28で72時間刺激してPD-1の発現を誘導した。刺激したCD8+T細胞を抗PD-1ブロッキング抗体またはアイソタイプ対照抗体と1時間インキュベートした。次いで、滴定濃度のPD-1/IL-2 DBAサイトカイン複合体 (PD-1制御IL-2) または抗HER2/IL-2サイトカイン複合体 (常時オンIL-2)をCD8+T細胞に添加し、37℃で20分間インキュベートした。CD8+T細胞をPerm Buffer I II (BD Biosciences)で固定し、洗浄し、CD8、CD45RA、CD45ROおよびpSTAT5に対する抗体で染色した。CD45RA+およびCD45RO+T細胞集団内のSTAT5リン酸化をフローサイトメトリーによって評価した。この実験の結果を図21Aおよび図21Bに示す。大部分がPD-1陰性であるCD8+CD45RA+T細胞において、PD-1/IL-2 DBAサイトカイン複合体は、制御されていない抗HER2/IL-2サイトカイン複合体対照と比較して、より低い頻度のSTAT5リン酸化陽性CD8+T細胞を誘導する。大部分がPD-1陽性であるCD8+CD45RO+T細胞において、PD-1/IL-2 DBAサイトカイン複合体は、制御されていない抗HER2/IL-2サイトカイン複合体対照と比較して、同等の頻度のSTAT5リン酸化陽性CD8+T細胞を誘導する。更に、抗PD-1ブロッキング抗体で前処置したCD8+CD45RO+T細胞は、PD-1/IL-2 DBAサイトカイン複合体での処置後、STAT5リン酸化陽性細胞の頻度がより低く、PD-1結合に対する活性の依存性を示した。まとめると、これらのデータは、PD-1/IL-2 DBAサイトカイン複合体がPD-1陰性細胞に対して低下した活性を示すことを示す。PD-1陽性細胞では、PD-1/IL-2 DBAサイトカイン複合体活性はPD-1遮断によって低下する。

【0156】

実施例19

混合リンパ球反応におけるヒトT細胞活性化のPD-1/IL-2 DB-サイトカイン複合体調節

この実施例は、混合リンパ球反応（MLR）モデルにおけるヒトCD4+T細胞活性化のPD-1/IL-2 DB-サイトカイン複合体調節を記載する。このモデルでは、本発明者らは、外来抗原提示細胞に対するT細胞の活性化およびその活性化を調節する本発明者らの免疫サイトカインコンストラクトの能力を評価した。CD4+CD25-T細胞を、免疫磁気陰性選択（STEMCELL）を使用してヒトPBMCから単離し、製造業者のプロトコルに従ってCellTrace Violet増殖色素（ThermoFisher）で標識した。単球由来樹状細胞（MDDC）を作製するために、免疫磁気陰性選択（STEMCELL）を用いて異なるドナーのPBMCから単球を単離し、GM-CSF（100 ng/mL）およびIL-4（50 ng/mL）の存在下で培養した。3日後に培地を交換し、7日目にMDDCを収集した。10,000個のMDDCを96ウェル丸底プレートの各ウェルに添加し、続いて50,000個の増殖色素標識CD4+T細胞を添加した。各免疫サイトカイン複合体の希釈系列を生成し、細胞培養物に加えた。37℃で5日後、細胞を生存/死滅生存色素（ThermoFisher）で染色し、次いで、固定/透過処理緩衝液（BD Biosciences）中で4℃で20分間インキュベートした。次いで、細胞をCD4およびグランザイムB（BD Bioscience）に対するフルオロフォア結合抗体で染色し、増殖CD4+T細胞のうちのグランザイムB発現細胞の頻度をフローサイトメトリーによって評価した。この実験の結果を図22Aおよび図22Bに示す。HER2-IL2はT細胞の最小特異的活性化を誘導したが（T細胞はHER2分子を保有していないため、予想どおりに）、制御されていないおよび制御されたPD1-IL2コンストラクトは、用量依存性グランザイムB発現によって示されるように、T細胞活性化を刺激することができた。これらのデータは、制御されたPD1-IL2複合体のPD-1結合依存的活性を（T細胞を活性化するそれらの能力を介して）実証する。更に、観察されたグランザイムB誘導の程度は、制御されたPD1-IL2複合体と制御されていないPD1-IL2複合体との間で同等であり、IL2への制御部分の付加が、適切に許容される条件下でIL2の活性を低下させないことを示している。

10

20

30

40

50

【0157】

実施例20

同系腫瘍モデルにおける抗腫瘍免疫性のPD-1/IL-2 DB-サイトカイン複合体調節

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-2 DB-サイトカイン複合体調節を記載する。PD-1/IL-2 DB-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）として計算した。マウスを処置群に無作為化し、腫瘍が約100 mm³の体積に達したときに治療を開始した。マウスを、腫瘍移植後7日目、10日目、および13日目に、体重1キログラムあたり0.5ミリグラムで、PD-1/IL-2 DB-サイトカイン複合体、制御されていない抗PD1-IL2、抗HER2-IL2、抗PD-1、または抗HER2で静脈内処置した。この実験の結果を図23Aおよび図23Bに示す。PD-1/IL-2 DB-サイトカイン複合体は、制御されていないPD1-IL2と比較して同等の腫瘍増殖阻害および抗PD1および抗HER抗体と比較して優れた腫瘍増殖阻害を示した。

【0158】

実施例21

T細胞二重特異性エンゲージャー活性のPD1-IL2増強（仮想例）

PD1制御IL2を使用して、T細胞二重特異性抗体（TCB）の活性を増強するPD1制御免疫サイトカインを作製することができる。この実施例では、PD1-IL2 DBA s c F vが1つの重鎖のC末端に融合され、IL-2バリエーションがTCBの対向する重鎖のC末端に融合されたPD1-IL2 TCBを生成することができる。PD1-IL2 TCBのN末端可変領域を、CD3およびPSMA、HER2、CD20等の

腫瘍関連抗原に対して、またはCD3および無関係の抗原に対して向けることができる。PD1-IL2 TCB活性を評価するために、ヒトT細胞を新鮮なPBMCから単離し、様々なレベルの腫瘍関連抗原を発現する腫瘍細胞株と共培養する。裸のTCBまたは滴定濃度のPD1-IL2 TCBをT細胞：腫瘍細胞共培養物に添加する。腫瘍死滅ならびにT細胞活性化およびサイトカイン産生を様々な時点で評価する。

【0159】

実施例22

T細胞関連抗原を標的とするPD-1制御IL-2活性（仮想例）

PD1制御IL2が任意のT細胞マーカーを使用してT細胞に標的化されるPD-1調節免疫サイトカインを生成することができる。例えば、PD1-IL2 DBA scFvは、1つの重鎖のC末端に融合することができ、IL-2バリエーションは、限定されないが、CD28、CD28H、OX40、GITR、CD137、CD27、HVEM、CTLA-4、PD-1、TIM-3、BTLA、VISTA、LAG-3、TIGIT、CD244、ICOS、CD40L、CD4、CD8、KLRG1、FasLおよびCD7を含むT細胞発現マーカーに対する抗体の対向する重鎖のC末端に融合することができる。T細胞は、所与のT細胞マーカーの発現を誘導するために様々な条件下で活性化され得る。次いで、目的のマーカーまたは無関係のマーカーに対する滴定濃度のPD1-IL2 DB含有免疫サイトカインを加えてもよい。次いで、STAT5リン酸化を、標的IL-2活性の測定値として評価し得る。いくつかの実験では、特異性を示すために、PD1-IL2 DB含有免疫サイトカインによる処置の前に、目的のマーカーに対するブロッ

10

20

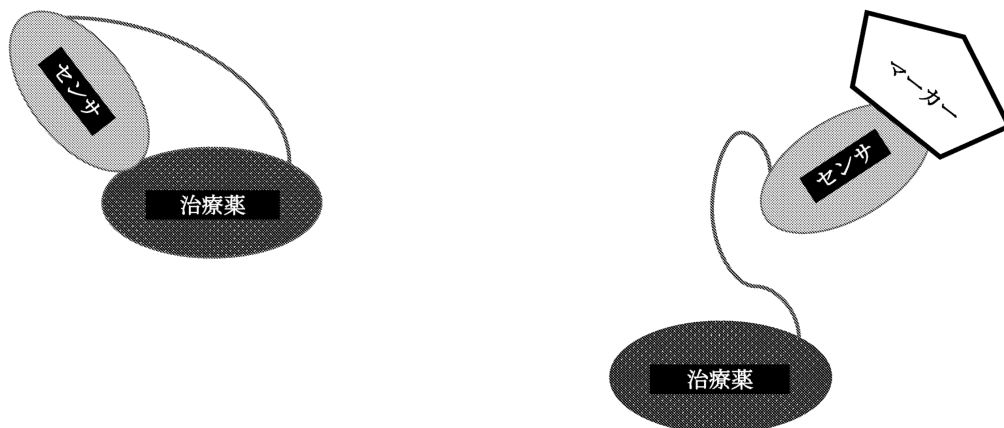
【0160】

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、このような実施形態は例として提供されているに過ぎないことは当業者には明らかであろう。ここで、多数の変異形、変更、および代替物は、本開示から逸脱することなく当業者に想起されるものとする。本明細書に説明される本開示の実施形態に対する様々な代替案が、本開示を実践するにあたり用いら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すること、これらの特許請求の範囲内の方法および構造ならびにそれらの均等物が特許請求の範囲によって包含されることが意図される。

【図面】

【図1A】

【図1B】

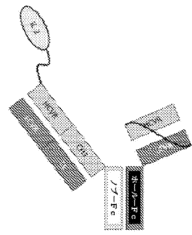


30

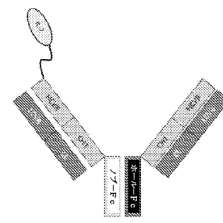
40

50

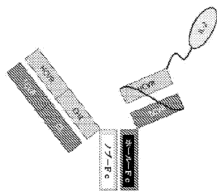
【図 2 A】



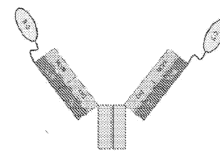
【図 2 B】



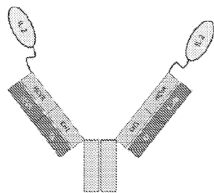
【図 2 C】



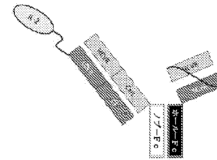
【図 2 D】



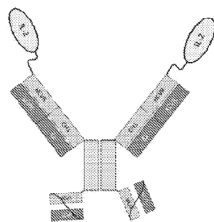
【図 2 E】



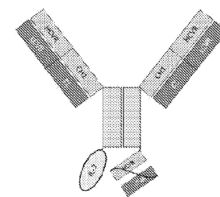
【図 2 F】



【図 2 G】



【図 2 H】



10

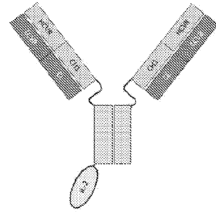
20

30

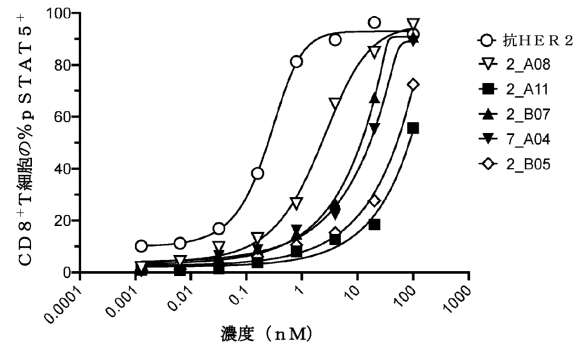
40

50

【図 2 I】

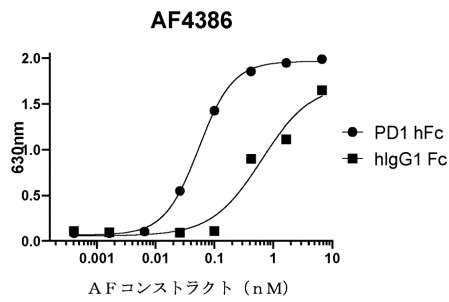


【図 3】

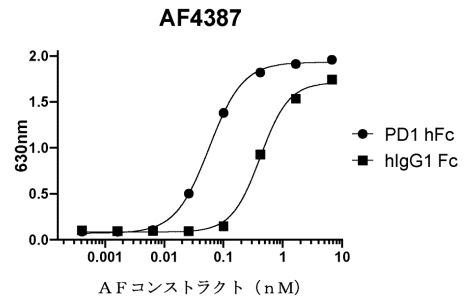


10

【図 4 A】

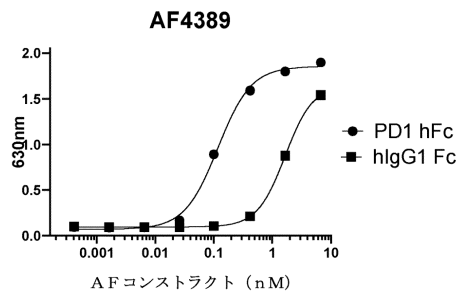


【図 4 B】

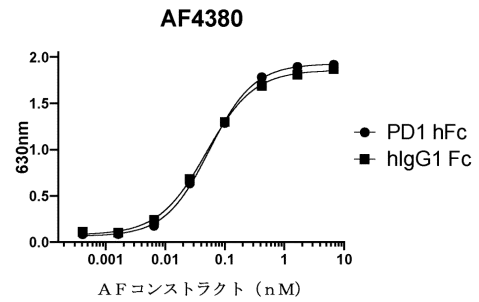


20

【図 4 C】



【図 4 D】

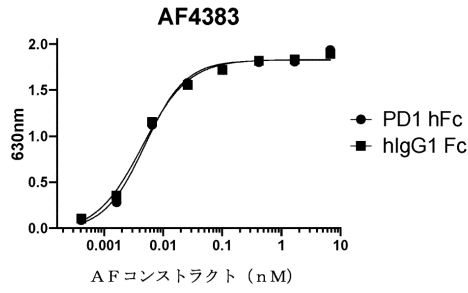


30

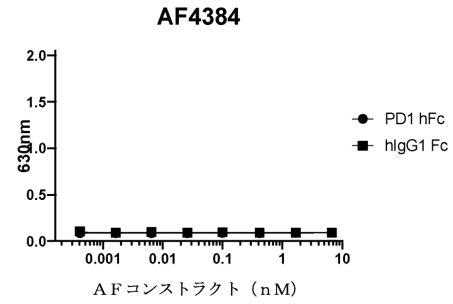
40

50

【図 4 E】

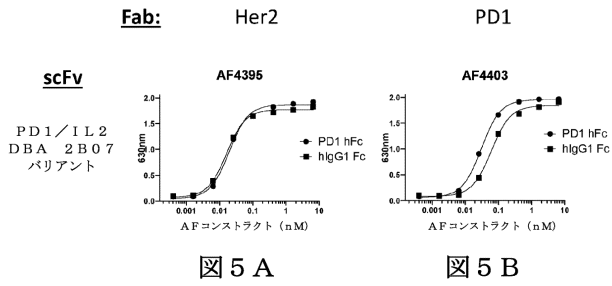


【図 4 F】

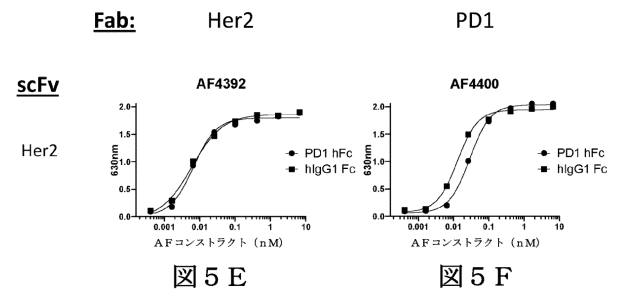


10

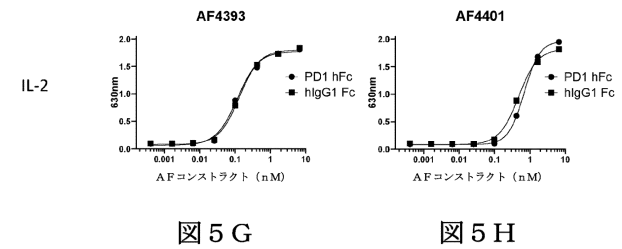
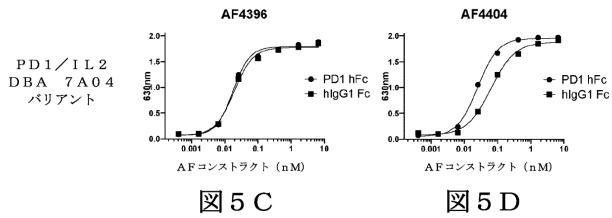
【図 5 A - D】



【図 5 E - H】



20

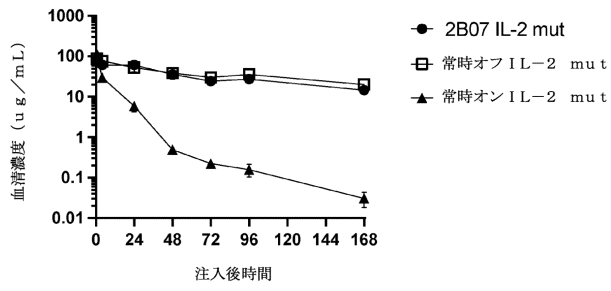


30

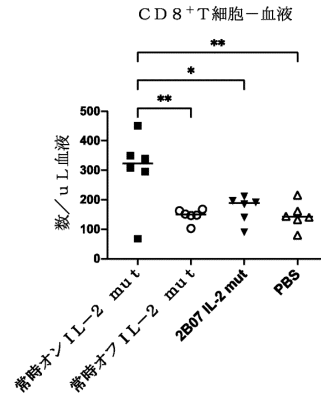
40

50

【図 6】

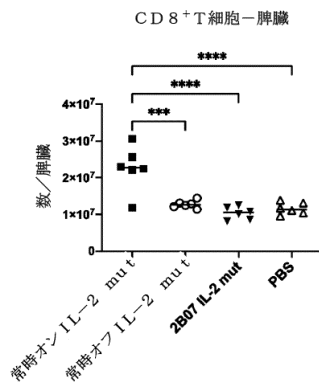


【図 7 A】

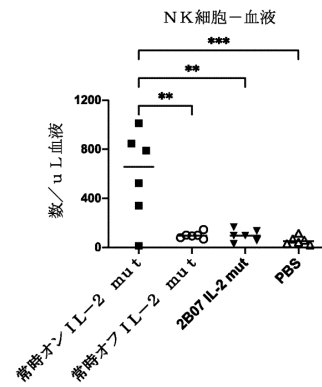


10

【図 7 B】



【図 7 C】



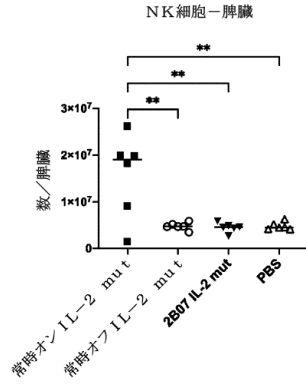
20

30

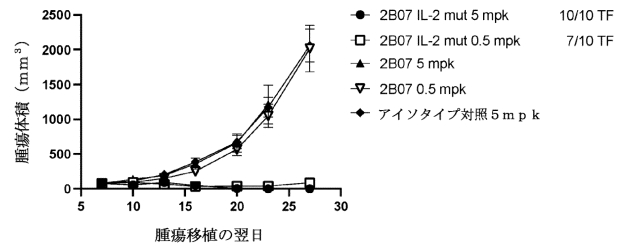
40

50

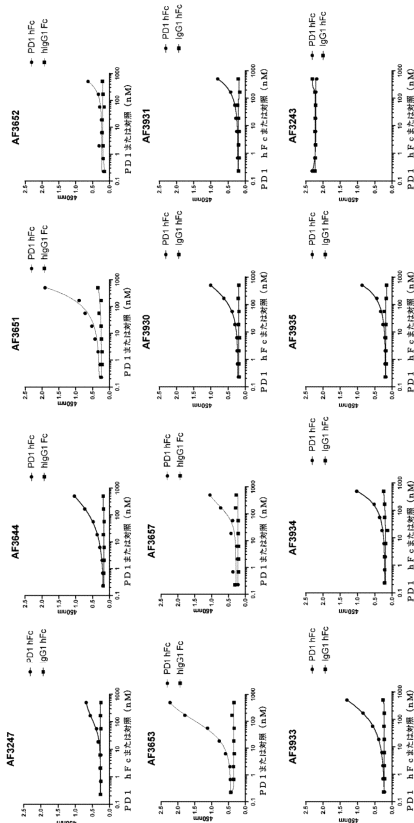
【図 7 D】



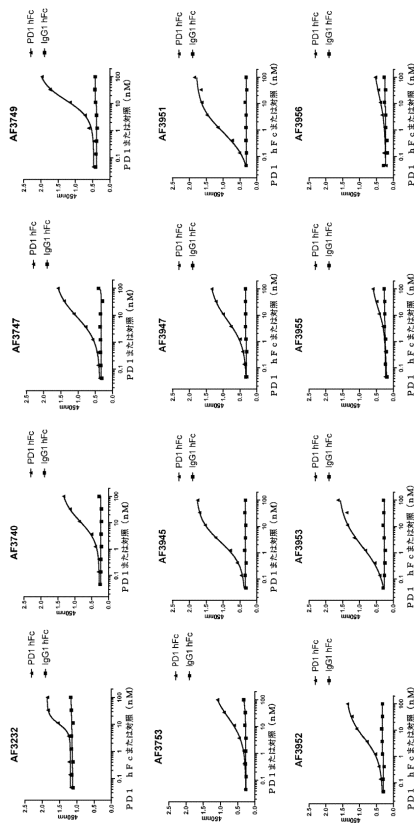
【図 8】



【図 9】



【図 10】



10

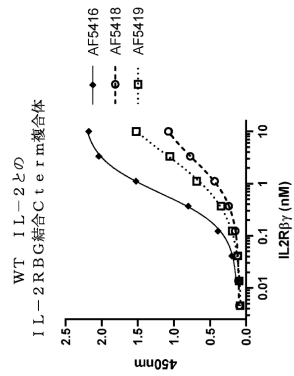
20

30

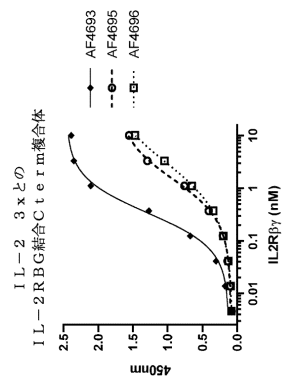
40

50

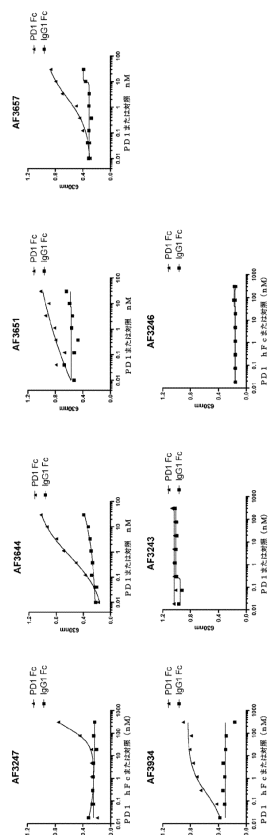
【図 1 1 A】



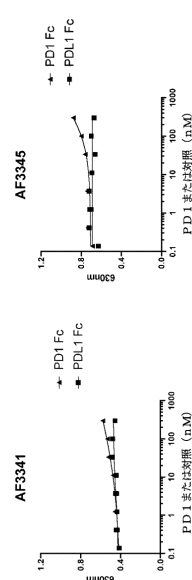
【図 1 1 B】



【図 1 2 A】



【図 1 2 B】



10

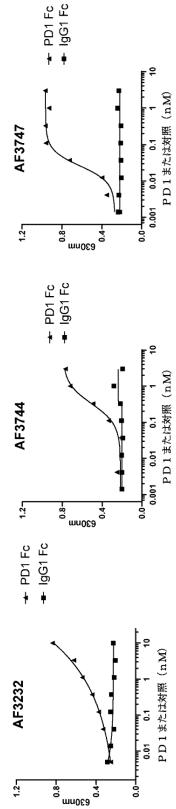
20

30

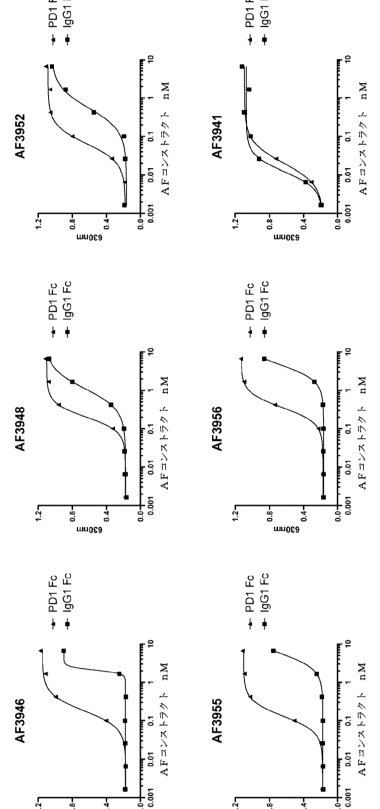
40

50

【図 1 3 A】



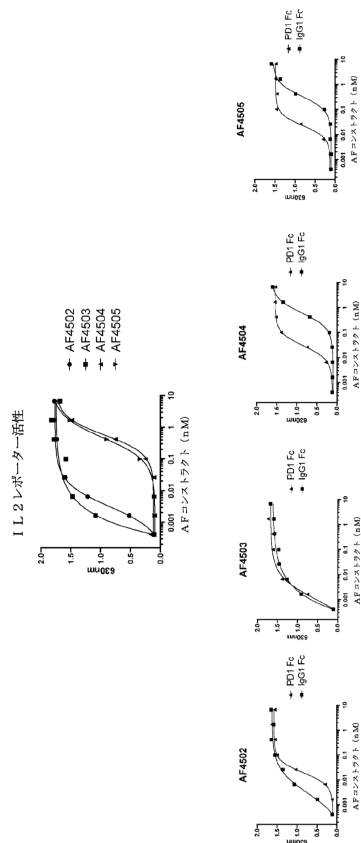
【図 1 3 B】



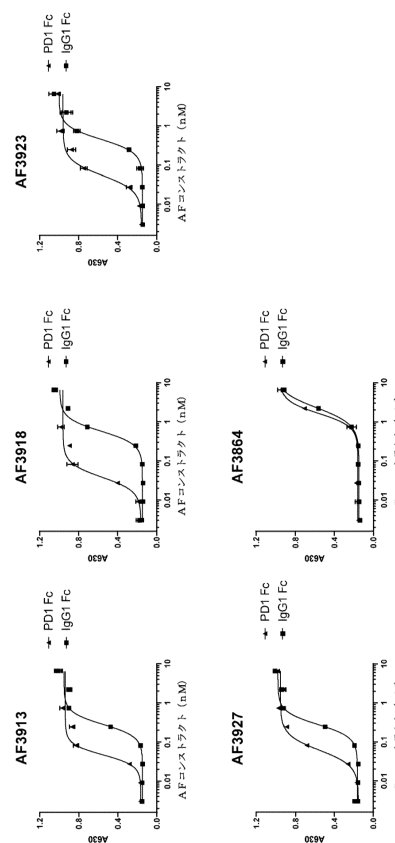
10

20

【図 1 4 A】



【図 1 4 B】

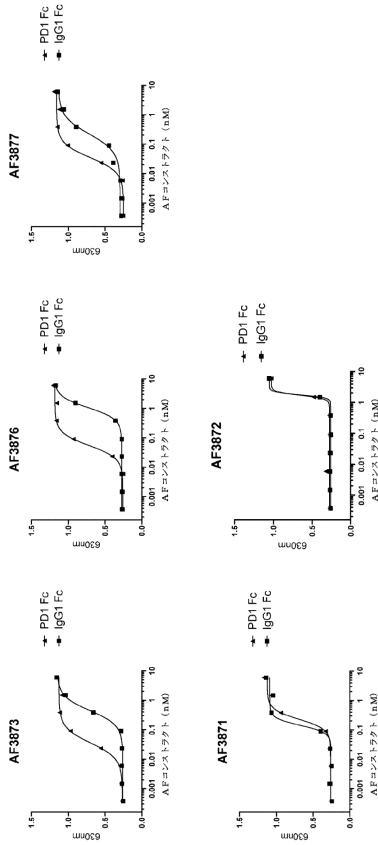


30

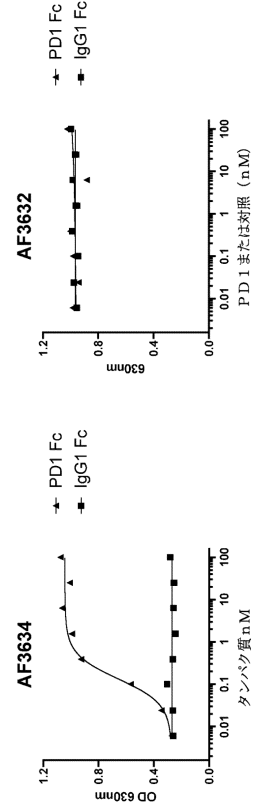
40

50

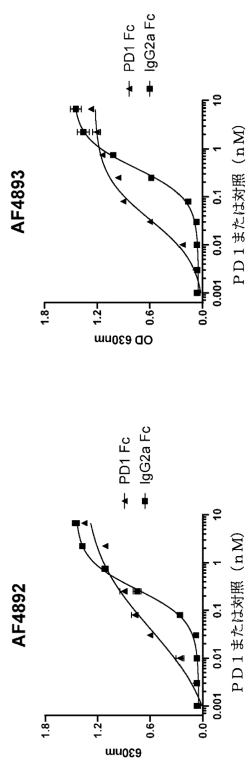
【図 15】



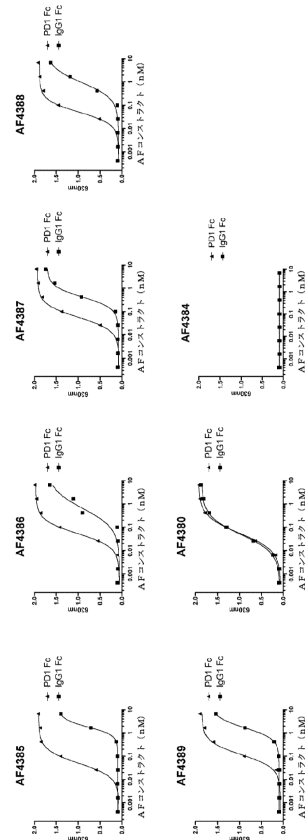
【図 16】



【図 17】



【図 18】



10

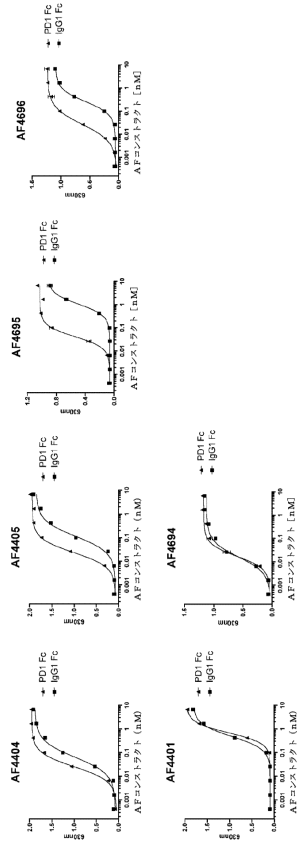
20

30

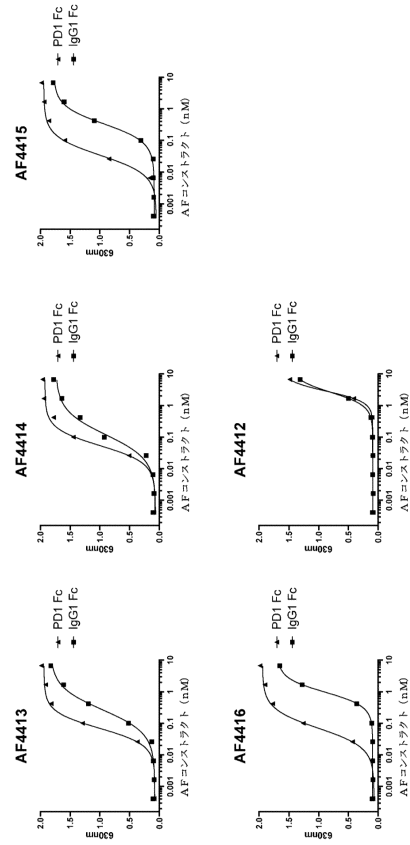
40

50

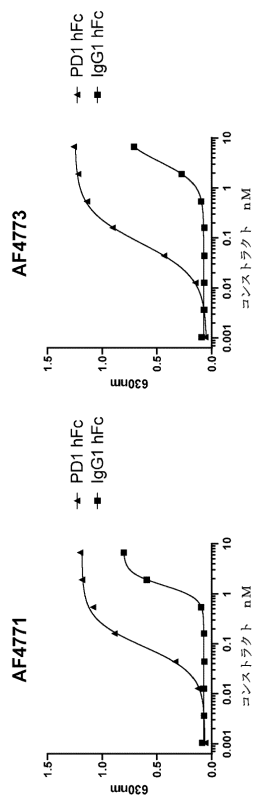
【図 19 A】



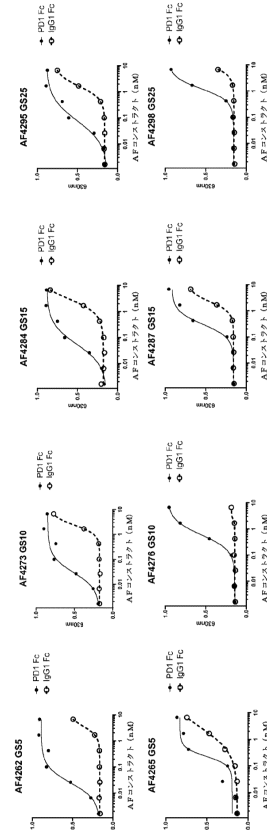
【図 19 B】



【図 19 C】



【図 20】



10

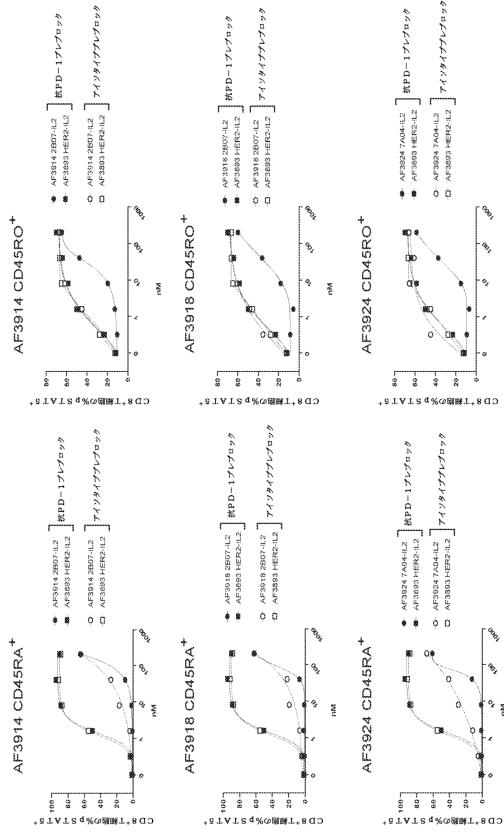
20

30

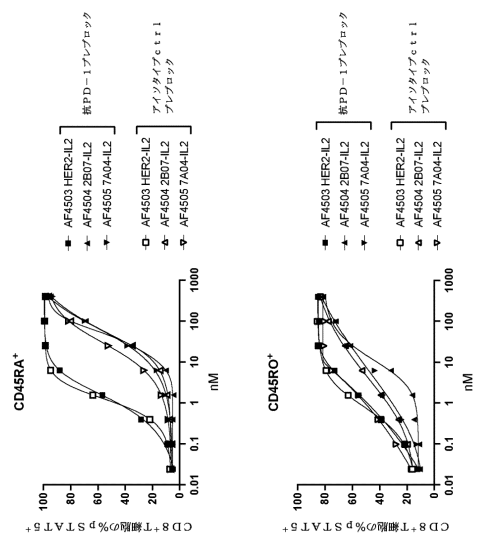
40

50

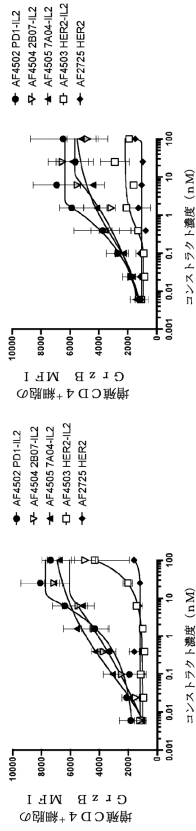
【図 2 1 A】



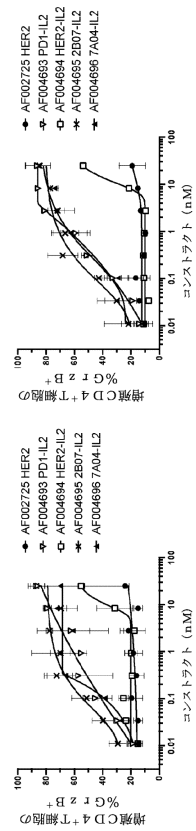
【図 2 1 B】



【図 2 2 A】



【図 2 2 B】



10

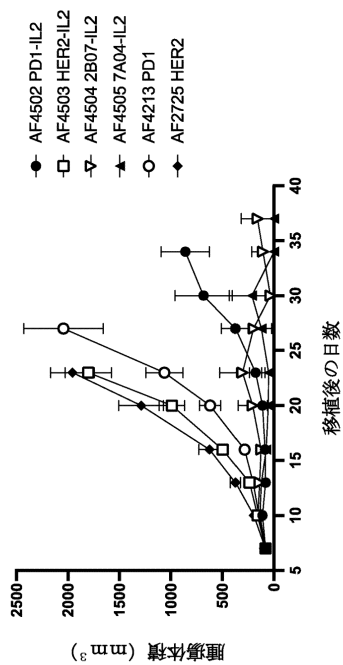
20

30

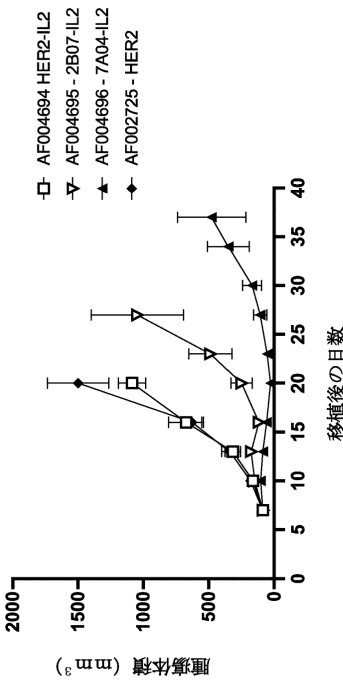
40

50

【図 2 3 A】



【図 2 3 B】



【配列表】

2024544757000001.xml

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/080043

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K47/68 A61P35/00
ADD.

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K A61P

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

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

EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2018/326011 A1 (CODARRI DEAK LAURA [CH] ET AL) 15 November 2018 (2018-11-15) claims 1, 21 -----	1-42
A	WO 2018/184964 A1 (HOFFMANN LA ROCHE [CH]; HOFFMANN LA ROCHE [US]) 11 October 2018 (2018-10-11) claims 1, 11, 12 -----	1-42
A	US 2020/317787 A1 (LI ZHONGDAO [CN] ET AL) 8 October 2020 (2020-10-08) -----	1-42
A	WO 2018/234862 A1 (MEDICENNA THERAPEUTICS INC [CA]) 27 December 2018 (2018-12-27) -----	1-42
A	WO 2020/247843 A2 (ASHER BIOTHERAPEUTICS INC [US]) 10 December 2020 (2020-12-10) ----- -/--	1-42

☒ 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
"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

24 March 2023

Date of mailing of the international search report

30/03/2023

Name and mailing address of the ISA/
European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Langer, Miren

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/080043

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X, P	WO 2021/231773 A1 (GOOD THERAPEUTICS INC [US]) 18 November 2021 (2021-11-18) claims 1, 35, 36 -----	1-42

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2022/080043

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.
- b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)).
- ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2022/080043

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2018326011 A1	A1	15-11-2018	AR 111203 A1	12-06-2019
			CN 110382525 A	25-10-2019
			EP 3606947 A1	12-02-2020
			JP 7148539 B2	05-10-2022
			JP 2020512814 A	30-04-2020
			TW 201842937 A	16-12-2018
			US 2018326011 A1	15-11-2018
			US 2023071733 A1	09-03-2023
			WO 2018184965 A1	11-10-2018

WO 2018184964 A1	A1	11-10-2018	AR 111400 A1	10-07-2019
			AU 2018247765 A1	22-08-2019
			BR 112019017329 A2	14-04-2020
			CA 3053357 A1	11-10-2018
			CL 2019002346 A1	10-01-2020
			CN 110392692 A	29-10-2019
			CO 2019009354 A2	09-09-2019
			CR 20190426 A	01-11-2019
			DK 3606946 T3	24-10-2022
			EP 3606946 A1	12-02-2020
			ES 2928718 T3	22-11-2022
			HR P20221254 T1	23-12-2022
			HU E059885 T2	28-01-2023
			IL 269395 A	28-11-2019
			JP 2020515275 A	28-05-2020
			JP 2022062001 A	19-04-2022
			KR 20190121816 A	28-10-2019
			KR 20210124518 A	14-10-2021
			LT 3606946 T	25-10-2022
			MA 49033 A	12-02-2020
			PE 20191494 A1	21-10-2019
			PH 12019502273 A1	07-12-2020
			PL 3606946 T3	28-11-2022
			PT 3606946 T	17-10-2022
			RS 63663 B1	30-11-2022
			RU 2019134338 A	05-05-2021
			SG 11201909205Y A	28-11-2019
			TW 201900220 A	01-01-2019
			UA 125700 C2	18-05-2022
			US 2018326010 A1	15-11-2018
			WO 2018184964 A1	11-10-2018
			ZA 201905517 B	26-05-2021

US 2020317787 A1	A1	08-10-2020	CN 111527109 A	11-08-2020
			EP 3733716 A1	04-11-2020
			JP 2021511069 A	06-05-2021
			US 2020317787 A1	08-10-2020
			WO 2019129053 A1	04-07-2019

WO 2018234862 A1	A1	27-12-2018	AU 2018287317 A1	06-02-2020
			CA 3067909 A1	27-12-2018
			CN 111201035 A	26-05-2020
			EP 3641814 A1	29-04-2020
			JP 2020524174 A	13-08-2020
			US 2019062395 A1	28-02-2019
			US 2023080403 A1	16-03-2023
			WO 2018234862 A1	27-12-2018

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2022/080043

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2020247843 A2	10-12-2020	AU 2020287373 A1 CA 3142738 A1 CN 114786708 A EP 3980051 A2 JP 2022535130 A KR 20220083660 A US 2022251202 A1 WO 2020247843 A2	06-01-2022 10-12-2020 22-07-2022 13-04-2022 04-08-2022 20-06-2022 11-08-2022 10-12-2020
WO 2021231773 A1	18-11-2021	AU 2021273009 A1 CA 3177843 A1 EP 4149554 A1 GB 2602612 A IL 298136 A KR 20230010251 A US 2022047714 A1 WO 2021231773 A1	15-12-2022 18-11-2021 22-03-2023 06-07-2022 01-01-2023 18-01-2023 17-02-2022 18-11-2021

フロントページの続き

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 47/68 (2017.01)	A 6 1 K 39/395	D
A 6 1 K 38/20 (2006.01)	A 6 1 K 47/68	
C 0 7 K 14/55 (2006.01)	A 6 1 K 38/20	
	C 0 7 K 14/55	

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,N
E,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,
CV,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,I
T,JM,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. T W E E N

- (72)発明者 キルブルー, ジャスティン リチャード
アメリカ合衆国 9 8 1 0 2 ワシントン, シアトル, イーストレーク アヴェニュー イースト
1 6 1 6
- (72)発明者 ホレンボー, ダイアン ルイス
アメリカ合衆国 9 8 1 0 2 ワシントン, シアトル, イーストレーク アヴェニュー イースト
1 6 1 6

F ターム (参考) 4C076 AA95 BB13 BB15 BB16 CC27 EE41 EE59
4C084 AA02 AA03 BA41 BA44 DA14 MA55 MA65 MA66 NA05 ZB26
4C085 AA16 AA25 BB11 CC23 GG02 GG03 GG04
4H045 AA10 AA11 AA30 BA41 CA40 DA04 DA76 EA20 FA74 GA26