

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7612571号
(P7612571)

(45)発行日 令和7年1月14日(2025.1.14)

(24)登録日 令和6年12月27日(2024.12.27)

(51)国際特許分類		F I	
C 0 7 K	19/00 (2006.01)	C 0 7 K	19/00 Z N A
C 0 7 K	14/54 (2006.01)	C 0 7 K	14/54
C 0 7 K	16/00 (2006.01)	C 0 7 K	16/00
C 1 2 N	15/10 (2006.01)	C 1 2 N	15/10 2 0 0 Z
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 1 2 N	15/13
請求項の数 5 (全279頁) 最終頁に続く			
(21)出願番号	特願2021-517799(P2021-517799)	(73)特許権者	510089100
(86)(22)出願日	令和1年10月3日(2019.10.3)		ゼンコア インコーポレイテッド
(65)公表番号	特表2022-503959(P2022-503959 A)		アメリカ合衆国, カリフォルニア州 9
(43)公表日	令和4年1月12日(2022.1.12)		1 1 0 7 パサデナ ノース ハルステッド
(86)国際出願番号	PCT/US2019/054570	(74)代理人	100079108
(87)国際公開番号	WO2020/072821		弁理士 稲葉 良幸
(87)国際公開日	令和2年4月9日(2020.4.9)	(74)代理人	100109346
審査請求日	令和4年9月29日(2022.9.29)		弁理士 大貫 敏史
(31)優先権主張番号	62/740,813	(74)代理人	100117189
(32)優先日	平成30年10月3日(2018.10.3)		弁理士 江口 昭彦
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	100134120
(31)優先権主張番号	62/810,038		弁理士 内藤 和彦
(32)優先日	平成31年2月25日(2019.2.25)	(72)発明者	バーネット, マシュー
最終頁に続く			アメリカ合衆国, カリフォルニア州 9
		最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 I L - 1 2 ヘテロ二量体 F C - 融合タンパク質

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

ヘテロ二量体 F c 融合タンパク質であって、
a) 配列番号 3 8 2 に示されるアミノ酸配列においてアミノ酸置換 M 4 2 8 L / N 4 3 4 S を有するアミノ酸配列を含む第 1 の融合タンパク質と、
b) 配列番号 4 0 4 に示されるアミノ酸配列においてアミノ酸置換 M 4 2 8 L / N 4 2 4 S を有するアミノ酸配列を含む第 2 の融合タンパク質と、を含み、
付番が E U 付番に従う、
ヘテロ二量体 F c 融合タンパク質。

【請求項2】

a) 請求項1に記載の第1の融合タンパク質をコードする第1の核酸と、
b) 請求項1に記載の第2の融合タンパク質をコードする第2の核酸と、を含む、
請求項1に記載のヘテロ二量体 F c 融合タンパク質をコードする核酸のセット。

【請求項3】

a) 請求項2に記載の第1の核酸を含む第1の発現ベクターと、
b) 請求項2に記載の第2の核酸を含む第2の発現ベクターと、を含む、
発現ベクターのセット。

【請求項4】

請求項3に記載の発現ベクターのセットを含む、宿主細胞。

【請求項5】

ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を作製する方法であって、前記方法が、前記ヘテロ二量体Fc融合タンパク質が発現する条件下で請求項4に記載の宿主細胞を培養することを含む、方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2018年10月3日に出願された、米国仮特許出願第62/740,813号、2019年2月25日に出願された、米国仮特許出願第62/810,038号、および2019年5月15日に出願された米国仮特許出願第62/848,512号の利益を主張し、その全ては、全ての目的のためにそれらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【0002】

T細胞が効果的な抗腫瘍応答を開始するためには、3つのことが起こらなければならない。T細胞が、第1に、腫瘍環境でMHCによって提示される抗原性腫瘍ペプチドに関与しなければならない。第2に、共刺激分子がT細胞に結合しなければならない。かつ第3に、T細胞が、IL-12およびIL-2などのサイトカインによって、分化および増殖を可能にするIFN γ などの共刺激性サイトカインを産生するように誘導されなければならない。サイトカイン誘導の不在下での単独の腫瘍ペプチドの認識は、T細胞がアネルギー性になり、それによって耐性をもたらす。したがって、癌免疫療法における非常に有望なアプローチは、サイトカインベースの治療である。実際には、IL-2は、転移性腎細胞癌および悪性黒色腫を有する患者への使用について承認されている。しかしながら、現在、ヒトにおける組換えIL-12の承認された使用はない。

【0003】

組換えIL-12は、免疫系の活性化におけるその幅広い効果のために、有望なサイトカインベースの治療である。しかしながら、IL-12は、これまでのところ、毒性のためにヒト臨床試験においてハードルに直面している。他のサイトカインと同様に、IL-12の短い半減期は、頻繁なボラス注射を必要とする。

【0004】

加えて、IL-12は、生物学的に活性なIL-12ヘテロ二量体を形成するように共有結合された α 鎖(p35サブユニット、IL-12p35)および β 鎖(p40サブユニット、IL-12p40)からなる。IL-12は、T細胞上のIL-12受容体 β 1(IL-12R β 1)およびIL-12受容体 β 2(IL-12R β 2)からなる二量体IL-12受容体複合体に結合し、IFN γ 分泌を誘導することによる結合を通してその細胞シグナル伝達機能を発揮する。しかしながら、IL-12p40サブユニットは、IL-12受容体への結合について競合することによってIL-12活性をアンタゴナイズすることが報告されているホモ二量体としても存在することができる。

【0005】

本発明は、新規IL-12-Fc融合タンパク質、および低下した有効性を有する新規IL-12バリエーションを提供することによって、IL-12の短い半減期に対処する。

【発明の概要】

【0006】

一態様では、本発明は、a) バリエーションIL-12p40サブユニットドメインおよび第1のFcドメインを含む第1の融合タンパク質であって、当該IL-12p40サブユニットドメインが、当該第1のFcドメインのN末端に共有結合している、第1の融合タンパク質と、b) IL-12p35サブユニットドメインおよび第2のFcドメインを含む第2の融合タンパク質であって、当該IL-12p35サブユニットドメインが、当該FcドメインのN末端に共有結合している、第2の融合タンパク質と、を含み、当該第1および当該第2のFcドメインが、当該第1および当該第2のFcドメインのヘテロ二量

体化を促進する修飾を含む、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、E59K、E59Q、D18N、D18K、E32Q、E33Q、D34N、D34K、Q42E、S43E、S43K、E45Q、Q56E、D62N、E73Q、D87N、K99E、K99Y、E100Q、N103D、N103Q、N113D、N113Q、Q144E、D161N、R159E、K163E、E187Q、N200D、N200Q、N218Q、Q229E、E235Q、C252S、Q256N、K258E、K260E、E262Q、K264E、N281D、N281Q、およびE299Qからなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0007】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、N103D/N113D/N200D/N281D、Q42E/E45Q、E45Q/Q56E、Q42E/E59Q、Q56E/E59Q、Q42E/E45Q/Q56E、E45Q/Q56E/E59Q、E32Q/E59Q、D34N/E59K、D34N/E59K/K99E、D34K/E59K/K99E、E32Q/D34N/E59K/K99E、E32K/D34N/E59K/K99E、D34N/E59Q、E59Q/E187Q、S43E/E59Q、S43K/E49Q、E59Q/K163E、E59Q/K99E、E59Q/K258E、E59Q/K260E、E59K/K99E、D18K/E59K/K99E、E59K/K99E/K264E、E59K/K99Y、E59Y/K99Y、E59Y/K99E、E45K/E59K/K99E、E59K/K99E/Q144E、E59K/K99E/Q144K、E59K/K99E/R159E、E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/C252S、D18K/E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99Y/C252S、E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99E/C252S、N103D/N113D、N103D/N200D、N103D/N281D、N113D/N200D、N113D/N281D、N200D/N281D、N103D/N113D/N200D、N103D/N113D/N281D、N103D/N200D/N281D、N113D/N200D/N281D、N103Q/N113Q、N103Q/N200Q、N103Q/N281Q、N113Q/N200Q、N113Q/N281Q、N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N200Q、N103Q/N113Q/N281Q、N103Q/N200Q/N281Q、N113Q/N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N200Q/N281Q、E59K/K99E/N103Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、およびE59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264Eからなる群から選択されるアミノ酸置換を有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0008】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、i) 配列番号57 (IL-12p40 (N103D))、ii) 配列番号58 (IL-12p40 (N113D))、iii) 配列番号59 (IL-12p40 (N200D))、iv)

10

20

30

40

50

配列番号60 (IL-12p40 (N281D))、v) 配列番号61 (IL-12p40 (N103D/N113D/N200D/N281D))、vi) 配列番号62 (IL-12p40 (Q42E))、vii) 配列番号63 (IL-12p40 (E45Q))、viii) 配列番号64 (IL-12p40 (Q56E))、ix) 配列番号65 (IL-12p40 (E59Q))、x) 配列番号66 (IL-12p40 (D62N))、xi) 配列番号67 (IL-12p40 (Q42E/E45Q))、xii) 配列番号68 (IL-12p40 (E45Q/Q56E))、xiii) 配列番号69 (IL-12p40 (Q42E/E59Q))、xiv) 配列番号70 (IL-12p40 (Q56E/E59Q))、xv) 配列番号71 (IL-12p40 (Q42E/E45Q/Q56E))、xvi) 配列番号72 (IL-12p40 (E45Q/Q56E/E59Q))、xvii) 配列番号73 (IL-12p40 (D161N))、xviii) 配列番号74 (IL-12p40 (E73Q))、xix) 配列番号75 (IL-12p40 (Q144E))、xx) 配列番号76 (IL-12p40 (E262Q))、xxi) 配列番号77 (IL-12p40 (E100Q))、xxii) 配列番号78 (IL-12p40 (D18N))、xxiii) 配列番号79 (IL-12p40 (E33Q))、xxiv) 配列番号80 (IL-12p40 (Q229E))、xxv) 配列番号81 (IL-12p40 (E235Q))、xxvi) 配列番号82 (IL-12p40 (Q256N))、xxvii) 配列番号83 (IL-12p40 (E299Q))、xxviii) 配列番号84 (IL-12p40 (D87N))、xxix) IL-12p40 (E32Q)、xxx) IL-12p40 (D34N)、xxxix) IL-12p40 (S43E)、xxxx) IL-12p40 (S43K)、xxxxii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、xxxix) 配列番号205 (IL-12p40 (E59K))、xxxv) IL-12p40 (K99E)、xxxvi) IL-12p40 (K163E)、xxxvii) IL-12p40 (E187Q)、xxxviii) IL-12p40 (K258E)、xxxix) IL-12p40 (K260E)、xl) 配列番号206 (IL-12p40 (E32Q/E59Q))、xli) 配列番号207 (IL-12p40 (D34N/E59Q))、xlii) 配列番号208 (IL-12p40 (E59Q/E187Q))、xliii) 配列番号209 (IL-12p40 (S43E/E59Q))、xliv) 配列番号210 (IL-12p40 (S43K/E49Q))、xlv) 配列番号211 (IL-12p40 (E59Q/K163E))、xlvi) 配列番号212 (IL-12p40 (E59Q/K99E))、xlvii) 配列番号213 (IL-12p40 (E59Q/K258E))、xlviii) 配列番号214 (IL-12p40 (E59Q/K260E))、xlix) 配列番号XXX (IL-12p40 (D34N/E59K))、l) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E))、li) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E))、lii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/K264E))、liii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99Y))、liv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59Y/K99E))、lv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E45K/E59K/K99E))、lvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/Q144E))、lvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/Q144K))、lviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/R159E))、lix) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/K264E))、lx) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/K264E))、lxi) 配列番号XXX (IL-12p40 (C252S))、lxii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/C252S))、lxiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/C252S/K264E))、lxiv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99Y/C252S))、lxv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/C252S/K2

10

20

30

40

50

64E))、lxvi) 配列番号XXX(IL-12p40(E59K/K99E/C252S))、lxvii) 配列番号XXX(IL-12p40(N103D/N113D))、lxviii) 配列番号XXX(IL-12p40(N103D/N200D))、lix) 配列番号XXX(IL-12p40(N103D/N281D))、lxx) 配列番号XXX(IL-12p40(N113D/N200D))、lxxi) 配列番号XXX(IL-12p40(N113D/N281D))、lxxii) 配列番号XXX(IL-12p40(N200D/N281D))、lxxiii) 配列番号XXX(IL-12p50(N103D/N113D/N200D))、lxxiv) 配列番号XXX(IL-12p40(N103D/N113D/N281D))、lxxv) 配列番号XXX(IL-12p40(N103D/N200D/N281D))、lxxvi) 配列番号XXX(IL-12p40(N113D/N200D/N281D))、lxxvii) 配列番号XXX(IL-12p40(N103Q))、lxxviii) 配列番号XXX(IL-12p40(N113Q))、lxxix) 配列番号XXX(IL-12p40(N200Q))、lxxx) 配列番号XXX(IL-12p40(N281Q))、lxxxi) 配列番号XXX(IL-12p40(N103Q/N113Q))、lxxxii) 配列番号XXX(IL-12p40(N103Q/N200Q))、lxxxiii) 配列番号XXX(IL-12p40(N103Q/N281Q))、lxxxiv) 配列番号XXX(IL-12p40(N113Q/N200Q))、lxxxv) 配列番号XXX(IL-12p40(N113Q/N281Q))、lxxxvi) 配列番号XXX(IL-12p40(N200Q/N281Q))、lxxxvii) 配列番号XXX(IL-12p40(N103Q/N113Q/N200Q))、lxxxviii) 配列番号XXX(IL-12p40(N103Q/N113Q/N281Q))、lxxxix) 配列番号XXX(IL-12p40(N103Q/N200Q/N281Q))、xc) 配列番号XXX(IL-12p40(N113Q/N200Q/N281Q))、xci) 配列番号XXX(IL-12p40(N103Q/N113Q/N200Q/N281Q))、xcii) 配列番号XXX(IL-12p40(D34N/E59K/K99E))、xciii) 配列番号XXX(IL-12p40(D34K/E59K/K99E))、xciv) 配列番号XXX(IL-12p40(E32Q/D34N/E59K/K99E))、xcv) 配列番号XXX(IL-12p40(E32K/D34N/E59K/K99E))、xcvi) 配列番号XXX(IL-12p40(E59Y/K99Y))、xcvii) 配列番号XXX(IL-12p40(E59K/K99E/N103Q/C252S/K264E))、xcviii) 配列番号XXX(IL-12p40(E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E))、xcix) 配列番号XXX(IL-12p40(E59K/K99E/N200Q/C252S/K264E))、c) 配列番号XXX(IL-12p40(E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E))、ci) 配列番号XXX(IL-12p40(E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E))、cii) 配列番号XXX(IL-12p40(E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E))、ciii) 配列番号XXX(IL-12p40(E59K/K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264E))、civ) 配列番号XXX(IL-12p40(E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/K264E))、cv) 配列番号XXX(IL-12p40(E59K/K99E/N113Q/N281Q/C252S/K264E))、cvi) 配列番号XXX(IL-12p40(E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、cvii) 配列番号XXX(IL-12p40(E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/C252S/K264E))、cviii) 配列番号XXX(IL-12p40(E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、およびcix) 配列番号XXX(IL-12p40(E59K/K99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E))からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

10

20

30

40

50

【0009】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該バリエーションIL-12p40サブユニットが、配列番号3（ヒトIL-12サブユニットベータ（IL-12p40）前駆体配列）および配列番号4（ヒトIL-12サブユニットベータ（IL-12p40）成熟形態配列）からなる群から選択されるポリペプチド配列と少なくとも90%の同一性を有し、かつ／または当該IL-12p35サブユニットが、配列番号1（ヒトIL-12サブユニットアルファ（IL-12p35）前駆体配列）および配列番号2（ヒトIL-12サブユニットアルファ（IL-12p35）成熟形態配列）からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0010】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p35サブユニットが、バリエーションIL-12p35サブユニットである、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0011】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、IL-12受容体サブユニットベータ-1（IL-12Rβ1）、IL-12受容体サブユニットベータ-2（IL-12Rβ2）、および／もしくはIL-12受容体複合体についての変更された親和性を有するバリエーションIL-12p40サブユニットであり、かつ／または当該IL-12p35サブユニットが、IL-12受容体サブユニットベータ-1（IL-12Rβ1）、IL-12受容体サブユニットベータ-2（IL-12Rβ2）、および／もしくはIL-12受容体複合体についての変更された親和性を有するバリエーションIL-12p35サブユニットである、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0012】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該バリエーションIL-12p35サブユニットが、N21D、Q35D、E38Q、D55Q、D55K、N71D、N71Q、L75A、N76D、E79Q、N85D、N85Q、L89A、F96A、M97A、L124A、M125A、Q130E、Q135E、N136D、E143Q、Q146E、N151D、N151K、E153K、E153Q、K158E、E162Q、E163Q、D165N、I171A、N195D、およびN195Qからなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0013】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該バリエーションIL-12p35サブユニットが、N71D/N85D/N195D、N151D/E153Q、N151D/D165N、Q130E/N151D、N151D/K158E、E79Q/N151D、D55Q/N151D、N136D/N151D、N21D/N151D、E143Q/N151D、N71Q/N85Q、N71Q/N195Q、N85Q/N195Q、N71Q/N85Q/N195Q、N71D/N85D、N71D/N195D、およびN85D/N195Dからなる群から選択されるアミノ酸置換を有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0014】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該バリエーションIL-12p35サブユニットが、i) 配列番号113（IL-12p35（N71D））、ii) 配列番号114（IL-12p35（N85D））、iii) 配列番号115（IL-12p35（N195D））、iv) 配列番号116（IL-12p35（N71D/N85D/N195D））、v) 配列番号117（IL-12p35（E153Q））、vi) 配列番号118（IL-12p35（E38Q））、vii) 配列番号119（IL-12p35（N151D））、viii) 配列番号120（IL-12p35（Q135E））、ix) 配列番号121（IL-12p35（Q35D））、x) 配列番号122（IL-12p35（Q146E））、xi) 配列番号123（IL-12p35（N76D））、xii) 配列番号124（IL-12p35（E162Q））、xiii) 配列番号125（IL-12p35（E163Q））、xiv) IL-12p35（N21D）、xv) 配列番号

10

20

30

40

50

XXX (IL-12p35 (D55Q))、xvi) IL-12p35 (E79Q)、xvii) IL-12p35 (Q130E)、xviii) IL-12p35 (N136D)、xix) IL-12p35 (E143Q)、xx) 配列番号227 (IL-12p35 (N151K))、xxi) 配列番号226 (IL-12p35 (E153K))、xxii) IL-12p35 (K158E)、xxiii) IL-12p35 (D165N)、xxiv) 配列番号225 (IL-12p35 (N151D/E153Q))、xxv) 配列番号228 (IL-12p35 (N151D/D165N))、xxvi) 配列番号229 (IL-12p35 (Q130E/N151D))、xxvii) 配列番号230 (IL-12p35 (N151D/K158E))、xxviii) 配列番号231 (IL-12p35 (E79Q/N151D))、xxix) 配列番号232 (IL-12p35 (D55Q/N151D))、xxx) 配列番号233 (IL-12p35 (N136D/N151D))、xxxii) 配列番号234 (IL-12p35 (N21D/N151D))、xxxiii) 配列番号235 (IL-12p35 (E143Q/N151D))、xxxiiii) 配列番号XXX (IL-12p35 (F96A))、xxxiv) 配列番号XXX (IL-12p35 (M97A))、xxxv) 配列番号XXX (IL-12p35 (L89A))、xxxvi) 配列番号XXX (IL-12p35 (L124A))、xxxvii) 配列番号XXX (IL-12p35 (M125A))、xxxviii) 配列番号XXX (IL-12p35 (L75A))、xxxix) 配列番号XXX (IL-12p35 (I171A))、xxxv) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q))、xxxvi) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85Q))、xxxvii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N195Q))、xxxviii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N85Q))、xxxix) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N195Q))、xl) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85Q/N195Q))、xli) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N85Q/N195Q))、xlii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71D/N85D))、xliii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71D/N195D))、xliv) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85D/N195D))、xlv) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55Q))、およびxlvii) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55K)) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0015】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該第1および当該第2のFcドメインのヘテロ二量体化を促進する当該修飾が、EU付番に従って、L368D/K370SおよびS364K；L368D/K370SおよびS364K/E357L；L368D/K370SおよびS364K/E357Q；T411E/K360E/Q362EおよびD401K；L368E/K370SおよびS364K；K370SおよびS364K/E357Q；T366S/L368A/Y407VおよびT366W；T366S/L368A/Y407V/Y349CおよびT366W/S354Cからなる群から選択されるアミノ酸置換のセットである、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0016】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該バリエーションIL-12p40サブユニットドメインが、第1のドメインリンカーを使用して当該第1のFcドメインに結合し、かつ／または当該IL-12p35サブユニットドメインが、第2のドメインリンカーを使用して当該第2のFcドメインに結合している、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0017】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該第1および／または当該第2のFcドメインが、EU付番に従って、Q295E/N384D/Q418E/N421Dを含むアミノ酸置換の追加のセットを有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0018】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該第1および／または当該第2のFcドメイン

が、E U付番に従って、G 2 3 6 R / L 3 2 8 R、E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 __ / S 2 3 9 K、E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 __ / S 2 3 9 K / A 3 2 7 G、E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 __ / S 2 6 7 K / A 3 2 7 G、E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 __、およびE 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 __ / S 2 6 7 Kからなる群から選択されるアミノ酸置換の追加のセットを有する、ヘテロ二量体F c融合タンパク質を提供する。

【0019】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該第1および第2のF cドメインが、アミノ酸置換M 4 2 8 L / N 4 2 4 Sをさらに含む、ヘテロ二量体F c融合タンパク質を提供する。

【0020】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該ヘテロ二量体F c融合タンパク質が、

【0021】

a) i) 配列番号47 (XENP27201鎖1)、ii) 配列番号85 (XenD24752)、iii) 配列番号86 (XenD24753)、iv) 配列番号87 (XenD24754)、v) 配列番号88 (XenD24755)、vi) 配列番号89 (XenD24756)、vii) 配列番号90 (XenD24757)、viii) 配列番号91 (XenD24758)、ix) 配列番号92 (XenD24759)、x) 配列番号93 (XenD24760)、xi) 配列番号94 (XenD24761)、xii) 配列番号95 (XenD24762)、xiii) 配列番号96 (XenD24763)、xiv) 配列番号97 (XenD24764)、xv) 配列番号98 (XenD24765)、xvi) 配列番号99 (XenD24766)、xvii) 配列番号100 (XenD24767)、xviii) 配列番号101 (XenD24768)、xix) 配列番号102 (XenD24769)、xx) 配列番号103 (XenD24770)、xxi) 配列番号104 (XenD24771)、xxii) 配列番号105 (XenD24772)、xxiii) 配列番号106 (XenD24773)、xxiv) 配列番号107 (XenD24774)、xxv) 配列番号108 (XenD24775)、xxvi) 配列番号109 (XenD24776)、xxvii) 配列番号110 (XenD24777)、xxviii) 配列番号111 (XenD24778)、xxix) 配列番号112 (XenD24792)、xxx) 配列番号215 (XenD25922)、xxxi) 配列番号216 (XenD25923)、xxxii) 配列番号217 (XenD25924)、xxxiii) 配列番号218 (XenD25925)、xxxiv) 配列番号219 (XenD25926)、xxxv) 配列番号220 (XenD25927)、xxxvi) 配列番号221 (XenD25928)、xxxvii) 配列番号222 (XenD25929)、xxxviii) 配列番号223 (XenD25930)、xxxix) 配列番号224 (XenD25931)、xl) 配列番号XXX (XenD26411)、xli) 配列番号XXX (XenD26412)、xlii) 配列番号XXX (XenD26413)、xliv) 配列番号XXX (XenD26414)、xlv) 配列番号XXX (XenD26415)、xlvi) 配列番号XXX (XenD26416)、xlvii) 配列番号XXX (XenD26417)、xlviii) 配列番号XXX (XenD26418)、xlviii) 配列番号XXX (XenD27070)、xlix) 配列番号XXX (XenD27071)、l) 配列番号XXX (XenD27072)、li) 配列番号XXX (XenD27073)、lii) 配列番号XXX (XenD27074)、liii) 配列番号XXX (XenD27075)、liv) 配列番号XXX (XenD27076)、lv) 配列番号XXX (XenD27077)、lvi) 配列番号XXX (XenD27078)、lvii) 配列番号XXX (XenD28173)、lviii) 配列番号XXX (XenD24876)、lix) 配列番号XXX (XenD27162)、lx) 配列番号XXX (XenD27163)、lxi) 配列番号XXX (XenD27164)、lxii) 配列番号XXX (XenD27165) lxiii) 配列番号XXX (XENP31582鎖1)、lxiv) 配列番号XXX (XENP31583鎖1)、lxv) 配列番号XXX (XENP3158

10

20

30

40

50

4鎖1)、lxvi) 配列番号XXX (XENP32187鎖1)、lxvii) 配列番号XXX (XENP32188鎖1)、lxviii) 配列番号XXX (XENP32189、鎖1)、lix) 配列番号XXX (XENP32190鎖1)、lxx) 配列番号XXX (XENP32191鎖1)、lxxi) 配列番号XXX (XENP32991鎖1)、lxxii) 配列番号XXX (XENP32992鎖1)、lxxiii) 配列番号XXX (XENP32993鎖1)、lxxiv) 配列番号XXX (XENP32994鎖1)、lxxv) 配列番号XXX (XENP32995鎖1)、lxxvi) 配列番号XXX (XENP32996鎖1)、lxxvii) 配列番号XXX (XENP32997鎖1)、lxxviii) 配列番号XXX (XENP32998鎖1)、lxxviii) 配列番号XXX (XENP32999鎖1)、lxxviii) 配列番号XXX (XENP33000鎖1)、lxxix) 配列番号XXX (XENP33001鎖1)、lxxx) 配列番号XXX (XENP33002鎖1)、lxxxii) 配列番号XXX (XENP33003鎖1)、lxxxiii) 配列番号XXX (XENP33004鎖1)、lxxxiii) 配列番号XXX (XENP33005鎖1)、lxxxiv) 配列番号XXX (XENP33006鎖1)、lxxxv) 配列番号XXX (XENP33007鎖1)、lxxxvi) 配列番号XXX (XENP33008鎖1)、lxxxvii) 配列番号XXX (XENP33008鎖1)、lxxxviii) 配列番号XXX (XENP33009鎖1)、lxxxix) 配列番号XXX (XENP33010鎖1)、およびxc) 配列番号XXX (XENP33011鎖1) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する当該第1の融合タンパク質と、

【0022】

b) i) 配列番号48 (XENP27201鎖2)、ii) 配列番号126 (XenD24779)、iii) 配列番号127 (XenD24780)、iv) 配列番号128 (XenD24781)、v) 配列番号129 (XenD24782)、vi) 配列番号130 (XenD24783)、vii) 配列番号131 (XenD24784)、viii) 配列番号132 (XenD24785)、ix) 配列番号133 (XenD24786)、x) 配列番号134 (XenD24787)、xi) 配列番号135 (XenD24788)、xii) 配列番号136 (XenD24789)、xiii) 配列番号137 (XenD24790)、xiv) 配列番号138 (XenD24791)、xv) 配列番号236 (XenD25911)、xvi) 配列番号237 (XenD25912)、xvii) 配列番号238 (XenD25913)、xviii) 配列番号239 (XenD25914)、xix) 配列番号240 (XenD25915)、xx) 配列番号241 (XenD25916)、xxi) 配列番号242 (XenD25917)、xxii) 配列番号243 (XenD25918)、xxiii) 配列番号244 (XenD25919)、xxiv) 配列番号245 (XenD25920)、xxv) 配列番号246 (XenD25921)、xxvi) 配列番号XXX (XenD26427)、xxvii) 配列番号XXX (XenD26428)、xxviii) 配列番号XXX (XenD27089)、xxix) 配列番号XXX (XenD27090)、xxx) 配列番号XXX (XenD27091)、xxxii) 配列番号XXX (XenD27092)、xxxiii) 配列番号XXX (XenD27093)、xxxiii) 配列番号XXX (XenD27094)、xxxix) 配列番号XXX (XenD24877)、xl) 配列番号XXX (XenD27166)、xli) 配列番号XXX (XENP31582鎖2)、xlii) 配列番号XXX (XENP31583鎖2)、xliii) 配列番号XXX (XENP31584鎖2)、xliv) 配列番号XXX (XENP32187鎖2)、xlv) 配列番号XXX (XENP32188鎖2)、xlvi) 配列番号XXX (XENP32189、鎖2)、xlvi) 配列番号XXX (XENP32190鎖2)、xlvi) 配列番号XXX (XENP32191鎖2)、xlix) 配列番号XXX (XENP32991鎖2)、l) 配列番号XXX (XENP32992鎖2)、li) 配列番号XXX (XENP32993鎖2)、lii) 配列番号XXX (XENP32994鎖2)、liii) 配列番号XXX (XENP32995鎖2)、liv) 配列

番号XXX (XENP32996鎖2)、lv) 配列番号XXX (XENP32997鎖2)、lvi) 配列番号XXX (XENP32998鎖2)、lvii) 配列番号XXX (XENP32999鎖2)、lviii) 配列番号XXX (XENP33000鎖2)、lix) 配列番号XXX (XENP33001鎖2)、lx) 配列番号XXX (XENP33002鎖2)、lxi) 配列番号XXX (XENP33003鎖2)、lxii) 配列番号XXX (XENP33004鎖2)、lxiii) 配列番号XXX (XENP33005鎖2)、lxiv) 配列番号XXX (XENP33006鎖2)、lxv) 配列番号XXX (XENP33007鎖2)、lxvi) 配列番号XXX (XENP33008鎖2)、lxvii) 配列番号XXX (XENP33008鎖2)、lxviii) 配列番号XXX (XENP33009鎖2)、lix) 配列番号XXX (XENP33010鎖2)、およびlxx) 配列番号XXX (XENP33011鎖2) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する当該第2の融合タンパク質と、を含む、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0023】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供し、当該ヘテロ二量体Fc融合タンパク質は、XENP27201、XENP28820、XENP28821、XENP28822、XENP28823、XENP28824、XENP28825、XENP28826、XENP28827、XENP28828、XENP28829、XENP28830、XENP28831、XENP28832、XENP28833、XENP28834、XENP28835、XENP28836、XENP28837、XENP28838、XENP28839、XENP28840、XENP28841、XENP28842、XENP28843、XENP28844、XENP28845、XENP28846、XENP28847、XENP28848、XENP28849、XENP28850、XENP28851、XENP28852、XENP29949、XENP29950、XENP29951、XENP29952、XENP30597、XENP30598、XENP30599、XENP30600、XENP30601、XENP30602、XENP30603、XENP30604、XENP30605、XENP30606、XENP30307、XENP30308、XENP30609、XENP31250、XENP31251、XENP31252、XENP31253、XENP31254、XENP31255、XENP31256、XENP31257、XENP31258、XENP31259、XENP31260、XENP31261、XENP31262、XENP31263、XENP31264、XENP31265、XENP31286、XENP31142、XENP31143、XENP31144、XENP31145、XENP31146、XENP31582、XENP31583、XENP31584、XENP32186、XENP32187、XENP32188、XENP32189、XENP32190、XENP32191、XENP32991、XENP32992、XENP32993、XENP32994、XENP32995、XENP32996、XENP32997、XENP32998、XENP32999、XENP33000、XENP33001、XENP33002、XENP33003、XENP33004、XENP33005、XENP33006、XENP33007、XENP33008、XENP33008、XENP33009、XENP33010、およびXENP33011からなる群から選択される。

【0024】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該ヘテロ二量体Fc融合タンパク質が、XENP31251、XENP31254、XENP31258、XENP32186、XENP32187、XENP32188、XENP32189、XENP32190、およびXENP32191からなる群から選択される、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0025】

いくつかの実施形態では、本発明は、N103Q、N113Q、N200Q、およびN

10

20

30

40

50

281Qからなる群から選択されるIL-12p40サブユニットに対する1つ以上の修飾をさらに含む、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0026】

いくつかの実施形態では、本発明は、対象における癌の治療における使用のためのヘテロ二量体Fc融合タンパク質を含む組成物を提供する。

【0027】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質をコードする1つ以上の核酸を提供する。

【0028】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質をコードする当該1つ以上の核酸を含む宿主細胞を提供する。

10

【0029】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を作製する方法を提供し、当該方法は、当該ヘテロ二量体Fc融合タンパク質が産生される条件下で宿主細胞を培養することを含む。

【0030】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を精製する方法を提供し、当該方法は、a)ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を含む組成物を提供することと、b)当該組成物をイオン交換カラムに充填することと、c)当該ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を含有する画分を収集することと、を含む。

20

【0031】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、E3、D7、E12、D14、W15、P17、D18、A19、P20、G21、E22、M23、D29、E32、E33、D34、L40、D41、Q42、S43、E45、L47、T54、I55、Q56、K58、E59、F60、G61、D62、Q65、Y66、E73、K84、E86、D87、G88、I89、W90、D93、D97、K99、E100、K102、N103、K104、F106、E110、N113、Y114、D129、D142、Q144、E156、R159、D161、N162、K163、D166、D170、Q172、D174、A176、C177、P178、A179、A180、E181、S183、P185、E187、N200、S204、F206、R208、D209、D214、N218、Q220、N226、Q229、E231、E235、T242、P243、S245、Y246、F247、S248、C252、Q256、K258、K260、E262、K264、D265、D270、N281、Q289、D290、R291、Y292、Y293、およびE299からなる群から選択されるアミノ酸残基で1つ以上のアミノ酸修飾を有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

30

【0032】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p35サブユニットが、Q20、N21、Q35、E38、S44、E45、E46、H49、K54、D55、T59、V60、E61、C63、L64、P65、E67、L68、N71、S73、C74、L75、N76、E79、N85、L89、F96、M97、L124、M125、Q130、Q135、N136、E143、Q146、N151、E153、K158、E162、E163、D165、I171、R181、I182、R183、V185、T186、D188、R189、V190、S192、Y193、N195、およびA196からなる群から選択されるアミノ酸残基として1つ以上のアミノ酸修飾を有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

40

【0033】

別の態様では、本発明は、a)第1のタンパク質ドメインおよび第1のFcドメインを含む第1の融合タンパク質であって、当該第1のタンパク質ドメインが、当該第1のFcドメインのC末端に共有結合している、第1の融合タンパク質と、b)第2のタンパク質

50

ドメインおよび第2のFcドメインを含む第2の融合タンパク質であって、当該第2のタンパク質ドメインが、当該FcドメインのC末端に共有結合している、第2の融合タンパク質と、を含み、当該第1および当該第2のFcドメインが、当該第1および当該第2のFcドメインのヘテロ二量体化を促進する修飾を含み、当該第1のタンパク質ドメインが、IL-12p40サブユニットを含み、当該第2のタンパク質ドメインが、IL-12p35サブユニットを含む、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0034】

いくつかの実施形態では、当該第1および当該第2のFcドメインのヘテロ二量体化を促進する当該修飾が、EU付番に従って、L368D/K370SおよびS364K；L368D/K370SおよびS364K/E357L；L368D/K370SおよびS364K/E357Q；T411E/K360E/Q362EおよびD401K；L368E/K370SおよびS364K；K370SおよびS364K/E357QおよびT366S/L368A/Y407V：T366W（任意に架橋ジスルフィド、T366S/L368A/Y407V/Y349C：T366W/S354Cを含む）からなる群から選択されるアミノ酸置換のセットである、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

10

【0035】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該第1のタンパク質ドメインが、第1のドメインリンカーを使用して当該第1のFcドメインに結合し、かつ/または当該第2のタンパク質ドメインが、第2のドメインリンカーを使用して当該第2のFcドメインに結合している、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

20

【0036】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該第1および/または当該第2のFcドメインが、EU付番に従って、Q295E/N384D/Q418E/N421D、を含むアミノ酸置換の追加のセットを有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0037】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該第1および/または当該第2のFcドメインが、EU付番に従って、G236R/L328R、E233P/L234V/L235A/G236_/S239K、E233P/L234V/L235A/G236_/S239K/A327G、E233P/L234V/L235A/G236_/S267K/A327G、E233P/L234V/L235A/G236_、およびE233P/L234V/L235A/G236_/S267Kからなる群から選択されるアミノ酸置換の追加のセットを有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

30

【0038】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、配列番号3（ヒトIL-12サブユニットベータ（IL-12p40）前駆体配列）および配列番号4（ヒトIL-12サブユニットベータ（IL-12p40）成熟形態配列）からなる群から選択されるポリペプチド配列を有し、かつ/または当該IL-12p35サブユニットが、配列番号1（ヒトIL-12サブユニットアルファ（IL-12p35）前駆体配列）および配列番号2（ヒトIL-12サブユニットアルファ（IL-12p35）成熟形態配列）からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

40

【0039】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該第1および第2のFcドメインが、アミノ酸置換M428L/N424Sをさらに含む、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0040】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、バリエーションIL-12p40サブユニットであり、かつ/または当該IL-12p35サブユニットが、バリエーションIL-12p35サブユニットである、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0041】

50

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、IL-12受容体サブユニットベータ-1 (IL-12R β 1)、IL-12受容体サブユニットベータ-2 (IL-12R β 2)、および／もしくはIL-12受容体複合体についての変更された親和性を有するバリエーションIL-12p40サブユニットであり、かつ／または当該IL-12p35サブユニットが、IL-12受容体サブユニットベータ-1 (IL-12R β 1)、IL-12受容体サブユニットベータ-2 (IL-12R β 2)、および／もしくはIL-12受容体複合体についての変更された親和性を有するバリエーションIL-12p35サブユニットである、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0042】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、E3、D7、E12、D14、W15、P17、D18、A19、P20、G21、E22、M23、D29、E32、E33、D34、L40、D41、Q42、S43、E45、L47、T54、I55、Q56、K58、E59、F60、G61、D62、Q65、Y66、E73、K84、E86、D87、G88、I89、W90、D93、D97、K99、E100、K102、N103、K104、F106、E110、N113、Y114、D129、D142、Q144、E156、R159、D161、N162、K163、D166、D170、Q172、D174、A176、C177、P178、A179、A180、E181、S183、P185、E187、N200、S204、F206、R208、D209、D214、N218、Q220、N226、Q229、E231、E235、T242、P243、S245、Y246、F247、S248、C252、Q256、K258、K260、E262、K264、D265、D270、N281、Q289、D290、R291、Y292、Y293、およびE299からなる群から選択されるアミノ酸残基で1つ以上のアミノ酸修飾を有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0043】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、D18N、D18K、E32Q、E33Q、D34N、D34K、Q42E、S43E、S43K、E45Q、Q56E、E59Q、E59K、D62N、E73Q、D87N、K99E、K99Y、E100Q、N103D、N103Q、N113D、N113Q、Q144E、D161N、R159E、K163E、E187Q、N200D、N200Q、N218Q、Q229E、E235Q、C252S、Q256N、K258E、K260E、E262Q、K264E、N281D、N281Q、およびE299Qからなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0044】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、N103D/N113D/N200D/N281D、Q42E/E45Q、E45Q/Q56E、Q42E/E59Q、Q56E/E59Q、Q42E/E45Q/Q56E、E45Q/Q56E/E59Q、E32Q/E59Q、D34N/E59K、D34N/E59K/K99E、D34K/E59K/K99E、E32Q/D34N/E59K/K99E、E32K/D34N/E59K/K99E、D34N/E59Q、E59Q/E187Q、S43E/E59Q、S43K/E49Q、E59Q/K163E、E59Q/K99E、E59Q/K258E、E59Q/K260E、E59K/K99E、D18K/E59K/K99E、E59K/K99E/K264E、E59K/K99Y、E59Y/K99Y、E59Y/K99E、E45K/E59K/K99E、E59K/K99E/Q144E、E59K/K99E/Q144K、E59K/K99E/R159E、E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/C252S、D18K/E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99Y/C252S、E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99E/C252S、N103D/N113D、N103D/N200D、N103D/N281D、N113D/N200D、N113D/N281D、N20

0D/N281D、N103D/N113D/N200D、N103D/N113D/N281D、N103D/N200D/N281D、N113D/N200D/N281D、N103Q/N113Q、N103Q/N200Q、N103Q/N281Q、N113Q/N200Q、N113Q/N281Q、N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N200Q、N103Q/N113Q/N281Q、N103Q/N200Q/N281Q、N113Q/N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N200Q/N281Q、E59K/K99E/N103Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、およびE59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264Eからなる群から選択されるアミノ酸置換を有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

10

20

【0045】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、N103D/N113D/N200D/N281D、Q42E/E45Q、E45Q/Q56E、Q42E/E59Q、Q56E/E59Q、Q42E/E45Q/Q56E、E45Q/Q56E/E59Q、E32Q/E59Q、D34N/E59K、D34N/E59K/K99E、D34K/E59K/K99E、E32Q/D34N/E59K/K99E、E32K/D34N/E59K/K99E、D34N/E59Q、E59Q/E187Q、S43E/E59Q、S43K/E49Q、E59Q/K163E、E59Q/K99E、E59Q/K258E、E59Q/K260E、E59K/K99E、D18K/E59K/K99E、E59K/K99E/K264E、E59K/K99Y、E59Y/K99Y、E59Y/K99E、E45K/E59K/K99E、E59K/K99E/Q144E、E59K/K99E/Q144K、E59K/K99E/R159E、E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/C252S、D18K/E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99Y/C252S、E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99E/C252S、N103D/N113D、N103D/N200D、N103D/N281D、N113D/N200D、N113D/N281D、N200D/N281D、N103D/N113D/N200D、N103D/N113D/N281D、N103D/N200D/N281D、N113D/N200D/N281D、N103Q/N113Q、N103Q/N200Q、N103Q/N281Q、N113Q/N200Q、N113Q/N281Q、N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N200Q、N103Q/N113Q/N281Q、N103Q/N200Q/N281Q、N113Q/N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N200Q/N281Q、E59K/K99E/N103Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N281Q/C

30

40

50

252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、およびE59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264Eからなる群から選択されるアミノ酸置換を有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0046】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、i) 配列番号57 (IL-12p40 (N103D))、ii) 配列番号58 (IL-12p40 (N113D))、iii) 配列番号59 (IL-12p40 (N200D))、iv) 配列番号60 (IL-12p40 (N281D))、v) 配列番号61 (IL-12p40 (N103D/N113D/N200D/N281D))、vi) 配列番号62 (IL-12p40 (Q42E))、vii) 配列番号63 (IL-12p40 (E45Q))、viii) 配列番号64 (IL-12p40 (Q56E))、ix) 配列番号65 (IL-12p40 (E59Q))、x) 配列番号66 (IL-12p40 (D62N))、xi) 配列番号67 (IL-12p40 (Q42E/E45Q))、xii) 配列番号68 (IL-12p40 (E45Q/Q56E))、xiii) 配列番号69 (IL-12p40 (Q42E/E59Q))、xiv) 配列番号70 (IL-12p40 (Q56E/E59Q))、xv) 配列番号71 (IL-12p40 (Q42E/E45Q/Q56E))、xvi) 配列番号72 (IL-12p40 (E45Q/Q56E/E59Q))、xvii) 配列番号73 (IL-12p40 (D161N))、xviii) 配列番号74 (IL-12p40 (E73Q))、xix) 配列番号75 (IL-12p40 (Q144E))、xx) 配列番号76 (IL-12p40 (E262Q))、xxi) 配列番号77 (IL-12p40 (E100Q))、xxii) 配列番号78 (IL-12p40 (D18N))、xxiii) 配列番号79 (IL-12p40 (E33Q))、xxiv) 配列番号80 (IL-12p40 (Q229E))、xxv) 配列番号81 (IL-12p40 (E235Q))、xxvi) 配列番号82 (IL-12p40 (Q256N))、xxvii) 配列番号83 (IL-12p40 (E299Q))、xxviii) 配列番号84 (IL-12p40 (D87N))、xxix) IL-12p40 (E32Q)、xxx) IL-12p40 (D34N)、xxxi) IL-12p40 (S43E)、xxxii) IL-12p40 (S43K)、xxxiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、xxxiv) 配列番号205 (IL-12p40 (E59K))、xxxv) IL-12p40 (K99E)、xxxvi) IL-12p40 (K163E)、xxxvii) IL-12p40 (E187Q)、xxxviii) IL-12p40 (K258E)、xxxix) IL-12p40 (K260E)、xl) 配列番号206 (IL-12p40 (E32Q/E59Q))、xli) 配列番号207 (IL-12p40 (D34N/E59Q))、xlii) 配列番号208 (IL-12p40 (E59Q/E187Q))、xliii) 配列番号209 (IL-12p40 (S43E/E59Q))、xliv) 配列番号210 (IL-12p40 (S43K/E49Q))、xlv) 配列番号211 (IL-12p40 (E59Q/K163E))、xlvi) 配列番号212 (IL-12p40 (E59Q/K99E))、xlvii) 配列番号213 (IL-12p40 (E59Q/K258E))、xlviii) 配列番号214 (IL-12p40 (E59Q/K260E))、xlix) 配列番号XXX (IL-12p40 (D34N/E59K))、l) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E))、li) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E))、lii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/K264E))、liii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99Y))、liv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59Y/K99E))、lv) 配

10

20

30

40

50

列番号XXX (IL-12p40 (E45K/E59K/K99E))、lvi) 配列番号
 XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/Q144E))、lvii) 配列番号
 XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/Q144K))、lviii) 配列
 番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/R159E))、lix) 配列番
 号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/K264E))、lx) 配列番号X
 XX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/K264E))、lxi) 配
 列番号XXX (IL-12p40 (C252S))、lxii) 配列番号XXX (IL-
 12p40 (D18K/E59K/K99E/C252S))、lxiii) 配列番号X
 XX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/C252S/K264E))
 、lxiv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99Y/C252S))
 、lxv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/C252S/K2
 64E))、lxvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/C2
 52S))、lxvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N113D
))、lxviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N200D))
 、lix) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N281D))、lxx
) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113D/N200D))、lxxi) 配列番
 号XXX (IL-12p40 (N113D/N281D))、lxxii) 配列番号XX
 X (IL-12p40 (N200D/N281D))、lxxiii) 配列番号XXX (IL-
 12p50 (N103D/N113D/N200D))、lxxiv) 配列番号X
 XX (IL-12p40 (N103D/N113D/N281D))、lxxv) 配列番
 号XXX (IL-12p40 (N103D/N200D/N281D))、lxxvi)
 配列番号XXX (IL-12p40 (N113D/N200D/N281D))、lxx
 vii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q))、lxxviii) 配列番
 号XXX (IL-12p40 (N113Q))、lxxix) 配列番号XXX (IL-1
 2p40 (N200Q))、lxxx) 配列番号XXX (IL-12p40 (N281Q
))、lxxxii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q))、
 lxxxiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N200Q))、lxx
 xiiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N281Q))、lxx
 xv) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q/N200Q))、lxxxvi
) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q/N281Q))、lxxxvii) 配
 列番号XXX (IL-12p40 (N200Q/N281Q))、lxxxviii) 配列
 番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N200Q))、lxxxv
 iiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N281Q))
 、lxxxix) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N200Q/N28
 1Q))、xc) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q/N200Q/N28
 1Q))、xci) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N2
 00Q/N281Q))、xcii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D34N/E
 59K/K99E))、xciii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D34K/E
 59K/K99E))、xciv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E32Q/D3
 4N/E59K/K99E))、xcv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E32K
 /D34N/E59K/K99E))、xcvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E
 59Y/K99Y))、xcvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/
 K99E/N103Q/C252S/K264E))、xcviii) 配列番号XXX (IL-
 12p40 (E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E))、xc
 ix) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N200Q/C25
 2S/K264E))、c) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/
 N281Q/C252S/K264E))、ci) 配列番号XXX (IL-12p40 (E
 59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E))、cii)
 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N200Q/C
 252S/K264E))、ciii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/

10

20

30

40

50

K 9 9 E / N 1 0 3 Q / N 2 8 1 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E)) 、 c i v) 配列番号 X X X (I L - 1 2 p 4 0 (E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 1 3 Q / N 2 0 0 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E)) 、 c v) 配列番号 X X X (I L - 1 2 p 4 0 (E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 1 3 Q / N 2 8 1 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E)) 、 c v i) 配列番号 X X X (I L - 1 2 p 4 0 (E 5 9 K / K 9 9 E / N 2 0 0 Q / N 2 8 1 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E)) 、 c v i i) 配列番号 X X X (I L - 1 2 p 4 0 (E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 0 3 Q / N 1 1 3 Q / N 2 0 0 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E)) 、 c v i i i) 配列番号 X X X (I L - 1 2 p 4 0 (E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 0 3 Q / N 2 0 0 Q / N 2 8 1 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E)) 、 および c i x) 配列番号 X X X (I L - 1 2 p 4 0 (E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 1 3 Q / N 2 0 0 Q / N 2 8 1 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E)) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ヘテロ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、当該 I L - 1 2 p 3 5 サブユニットが、Q 2 0 、 N 2 1 、 Q 3 5 、 E 3 8 、 S 4 4 、 E 4 5 、 E 4 6 、 H 4 9 、 K 5 4 、 D 5 5 、 T 5 9 、 V 6 0 、 E 6 1 、 C 6 3 、 L 6 4 、 P 6 5 、 E 6 7 、 L 6 8 、 N 7 1 、 S 7 3 、 C 7 4 、 L 7 5 、 N 7 6 、 E 7 9 、 N 8 5 、 L 8 9 、 F 9 6 、 M 9 7 、 L 1 2 4 、 M 1 2 5 、 Q 1 3 0 、 Q 1 3 5 、 N 1 3 6 、 E 1 4 3 、 Q 1 4 6 、 N 1 5 1 、 E 1 5 3 、 K 1 5 8 、 E 1 6 2 、 E 1 6 3 、 D 1 6 5 、 I 1 7 1 、 R 1 8 1 、 I 1 8 2 、 R 1 8 3 、 V 1 8 5 、 T 1 8 6 、 D 1 8 8 、 R 1 8 9 、 V 1 9 0 、 S 1 9 2 、 Y 1 9 3 、 N 1 9 5 、 および A 1 9 6 からなる群から選択されるアミノ酸残基として1つ以上のアミノ酸修飾を有する、ヘテロ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

10

20

【0047】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 I L - 1 2 p 3 5 サブユニットが、N 2 1 D 、 Q 3 5 D 、 E 3 8 Q 、 D 5 5 Q 、 D 5 5 K 、 N 7 1 D 、 N 7 1 Q 、 L 7 5 A 、 N 7 6 D 、 E 7 9 Q 、 N 8 5 D 、 N 8 5 Q 、 L 8 9 A 、 F 9 6 A 、 M 9 7 A 、 L 1 2 4 A 、 M 1 2 5 A 、 Q 1 3 0 E 、 Q 1 3 5 E 、 N 1 3 6 D 、 E 1 4 3 Q 、 Q 1 4 6 E 、 N 1 5 1 D 、 N 1 5 1 K 、 E 1 5 3 K 、 E 1 5 3 Q 、 K 1 5 8 E 、 E 1 6 2 Q 、 E 1 6 3 Q 、 D 1 6 5 N 、 I 1 7 1 A 、 N 1 9 5 D 、 および N 1 9 5 Q からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を有する、ヘテロ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

【0048】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 I L - 1 2 p 3 5 サブユニットが、N 7 1 D / N 8 5 D / N 1 9 5 D 、 N 1 5 1 D / E 1 5 3 Q 、 N 1 5 1 D / D 1 6 5 N 、 Q 1 3 0 E / N 1 5 1 D 、 N 1 5 1 D / K 1 5 8 E 、 E 7 9 Q / N 1 5 1 D 、 D 5 5 Q / N 1 5 1 D 、 N 1 3 6 D / N 1 5 1 D 、 N 2 1 D / N 1 5 1 D 、 E 1 4 3 Q / N 1 5 1 D 、 N 7 1 Q / N 8 5 Q 、 N 7 1 Q / N 1 9 5 Q 、 N 8 5 Q / N 1 9 5 Q 、 N 7 1 Q / N 8 5 Q / N 1 9 5 Q 、 N 7 1 D / N 8 5 D 、 N 7 1 D / N 1 9 5 D 、 および N 8 5 D / N 1 9 5 D からなる群から選択されるアミノ酸置換を有する、ヘテロ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

30

【0049】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 I L - 1 2 p 3 5 サブユニットが、i) 配列番号 1 1 3 (I L - 1 2 p 3 5 (N 7 1 D)) 、 i i) 配列番号 1 1 4 (I L - 1 2 p 3 5 (N 8 5 D)) 、 i i i) 配列番号 1 1 5 (I L - 1 2 p 3 5 (N 1 9 5 D)) 、 i v) 配列番号 1 1 6 (I L - 1 2 p 3 5 (N 7 1 D / N 8 5 D / N 1 9 5 D)) 、 v) 配列番号 1 1 7 (I L - 1 2 p 3 5 (E 1 5 3 Q)) 、 v i) 配列番号 1 1 8 (I L - 1 2 p 3 5 (E 3 8 Q)) 、 v i i) 配列番号 1 1 9 (I L - 1 2 p 3 5 (N 1 5 1 D)) 、 v i i i) 配列番号 1 2 0 (I L - 1 2 p 3 5 (Q 1 3 5 E)) 、 i x) 配列番号 1 2 1 (I L - 1 2 p 3 5 (Q 3 5 D)) 、 x) 配列番号 1 2 2 (I L - 1 2 p 3 5 (Q 1 4 6 E)) 、 x i) 配列番号 1 2 3 (I L - 1 2 p 3 5 (N 7 6 D)) 、 x i i) 配列番号 1 2 4 (I L - 1 2 p 3 5 (E 1 6 2 Q)) 、 x i i i) 配列番号 1 2 5 (I L - 1 2 p 3 5 (E 1 6 3 Q)) 、 x i v) I L - 1 2 p 3 5 (N 2 1 D) 、 x v) 配列番号 X X X (I L - 1 2 p 3 5 (D 5 5 Q)) 、 x v i) I L - 1 2 p 3 5 (E 7 9 Q) 、 x v i i) I

40

50

L-12p35 (Q130E)、xviii) IL-12p35 (N136D)、xix)
) IL-12p35 (E143Q)、xx) 配列番号227 (IL-12p35 (N151K))、xxi) 配列番号226 (IL-12p35 (E153K))、xxii) IL-12p35 (K158E)、xxiii) IL-12p35 (D165N)、xxiv)
配列番号225 (IL-12p35 (N151D/E153Q))、xxv) 配列番号228 (IL-12p35 (N151D/D165N))、xxvi) 配列番号229
(IL-12p35 (Q130E/N151D))、xxvii) 配列番号230 (IL-12p35 (N151D/K158E))、xxviii) 配列番号231 (IL-12p35 (E79Q/N151D))、xxix)
配列番号232 (IL-12p35 (D55Q/N151D))、xxx) 配列番号233 (IL-12p35 (N136D/N151D))、xxxii) 配列番号234 (IL-12p35 (N21D/N151D))、xxxiii)
配列番号235 (IL-12p35 (E143Q/N151D))、xxxiiii) 配列番号XXX (IL-12p35 (F96A))、xxxiv) 配列番号XXX (IL-12p35 (M97A))、xxxv)
配列番号XXX (IL-12p35 (L89A))、xxxvi) 配列番号XXX (IL-12p35 (L124A))、xxxvii) 配列番号XXX (IL-12p35 (M125A))、xxxviii)
配列番号XXX (IL-12p35 (L75A))、xxxix) 配列番号XXX (IL-12p35 (I171A))、xxxv) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q))、xxxvi)
配列番号XXX (IL-12p35 (N85Q))、xxxvii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N195Q))、xxxviii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N85Q))、xxxix)
配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N195Q))、xl) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85Q/N195Q))、xli) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N85Q/N195Q))、xlii)
配列番号XXX (IL-12p35 (N71D/N85D))、xliii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71D/N195D))、xliv) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85D/N195D))、xlv)
配列番号XXX (IL-12p35 (D55Q))、およびxlv) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55K)) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0050】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供し、当該ヘテロ二量体Fc融合タンパク質は、a) 配列番号49 (XENP27202鎖1) のポリペプチド配列を有する当該第1の融合タンパク質、およびb) 配列番号50 (XENP27202鎖2) のポリペプチド配列を有する当該第2の融合タンパク質を含む。

【0051】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供し、当該ヘテロ二量体Fc融合タンパク質は、XENP27202である。

【0052】

いくつかの実施形態では、本発明は、対象における癌の治療における使用のためのヘテロ二量体Fc融合タンパク質を含む組成物を提供する。

【0053】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質をコードする1つ以上の核酸を提供する。

【0054】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質をコードする当該1つ以上の核酸を含む宿主細胞を提供する。

【0055】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を作製する方法を提供し、当該方法は、当該ヘテロ二量体Fc融合タンパク質が産生される条件下で宿主細胞を培養することを含む。

【0056】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を精製する方法を提供し、当該方法は、a) ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を含む組成物を提供すること、b) 当該組成物をイオン交換カラムに充填すること、c) 当該ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を含有する画分を収集すること、を含む。

【0057】

別の態様では、本発明は、a) 第1のタンパク質ドメイン、第2のタンパク質ドメイン、および第1のFcドメインを含む融合タンパク質であって、当該第1のタンパク質ドメインが、当該第2のタンパク質ドメインに共有結合し、当該第2のタンパク質ドメインが、当該第1のFcドメインのN末端に共有結合している、融合タンパク質と、b) 第2のFcドメインであって、当該第1および当該第2のFcドメインが、当該第1および当該第2のFcドメインのヘテロ二量体化を促進する修飾を含み、当該第1のタンパク質ドメインが、IL-12p40サブユニットを含み、当該第2のタンパク質ドメインが、IL-12p35サブユニットを含む、第2のFcドメインと、を含む、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0058】

いくつかの実施形態では、当該第1および当該第2のFcドメインのヘテロ二量体化を促進する当該修飾が、EU付番に従って、L368D/K370SおよびS364K；L368D/K370SおよびS364K/E357L；L368D/K370SおよびS364K/E357Q；T411E/K360E/Q362EおよびD401K；L368E/K370SおよびS364K；K370SおよびS364K/E357QおよびT366S/L368A/Y407V：T366W（任意に架橋ジスルフィド、T366S/L368A/Y407V/Y349C：T366W/S354Cを含む）からなる群から選択されるアミノ酸置換のセットである、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0059】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該第1のタンパク質ドメインが、第1のドメインリンカーを使用して当該第2のタンパク質ドメインに結合し、かつ/または当該第2のタンパク質ドメインが、第2のドメインリンカーを使用して当該第1のFcドメインに結合している、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0060】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該第1および/または当該第2のFcドメインが、EU付番に従って、Q295E/N384D/Q418E/N421D、を含むアミノ酸置換の追加のセットを有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0061】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該第1および/または当該第2のFcドメインが、EU付番に従って、G236R/L328R、E233P/L234V/L235A/G236_/S239K、E233P/L234V/L235A/G236_/S239K/A327G、E233P/L234V/L235A/G236_/S267K/A327G、E233P/L234V/L235A/G236_、およびE233P/L234V/L235A/G236_/S267Kからなる群から選択されるアミノ酸置換の追加のセットを有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0062】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、配列番号3（ヒトIL-12サブユニットベータ（IL-12p40）前駆体配列）および配列番号4（ヒトIL-12サブユニットベータ（IL-12p40）成熟形態配列）からなる群から選択されるポリペプチド配列を有し、かつ/または当該IL-12p35サブユニットが、配列番号1（ヒトIL-12サブユニットアルファ（IL-12p35）前駆体配列）および配列番号2（ヒトIL-12サブユニットアルファ（IL-12p35）成熟形態配列）からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0063】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該第1および第2のFcドメインが、アミノ酸置換M428L/N424S.をさらに含む、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0064】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、バリエーションIL-12p40サブユニットであり、かつ/または当該IL-12p35サブユニットが、バリエーションIL-12p35サブユニットである、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0065】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、IL-12受容体サブユニットベクター1(IL-12Rβ1)、IL-12受容体サブユニットベクター2(IL-12Rβ2)、および/もしくはIL-12受容体複合体についての変更された親和性を有するバリエーションIL-12p40サブユニットであり、かつ/または当該IL-12p35サブユニットが、IL-12受容体サブユニットベクター1(IL-12Rβ1)、IL-12受容体サブユニットベクター2(IL-12Rβ2)、および/もしくはIL-12受容体複合体についての変更された親和性を有するバリエーションIL-12p35サブユニットである、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0066】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、E3、D7、E12、D14、W15、P17、D18、A19、P20、G21、E22、M23、D29、E32、E33、D34、L40、D41、Q42、S43、E45、L47、T54、I55、Q56、K58、E59、F60、G61、D62、Q65、Y66、E73、K84、E86、D87、G88、I89、W90、D93、D97、K99、E100、K102、N103、K104、F106、E110、N113、Y114、D129、D142、Q144、E156、R159、D161、N162、K163、D166、D170、Q172、D174、A176、C177、P178、A179、A180、E181、S183、P185、E187、N200、S204、F206、R208、D209、D214、N218、Q220、N226、Q229、E231、E235、T242、P243、S245、Y246、F247、S248、Q256、K158、C252、K260、E262、K264、D265、D270、N281、Q289、D290、R291、Y292、Y293、およびE299からなる群から選択されるアミノ酸残基で1つ以上のアミノ酸修飾を有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0067】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、D18N、D18K、E32Q、E33Q、D34N、D34K、Q42E、S43E、S43K、E45Q、Q56E、E59Q、E59K、D62N、E73Q、D87N、K99E、K99Y、E100Q、N103D、N103Q、N113D、N113Q、Q144E、D161N、R159E、K163E、E187Q、N200D、N200Q、N218Q、Q229E、E235Q、C252S、Q256N、K258E、K260E、E262Q、K264E、N281D、N281Q、およびE299Qからなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0068】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、N103D/N113D/N200D/N281D、Q42E/E45Q、E45Q/Q56E、Q42E/E59Q、Q56E/E59Q、Q42E/E45Q/Q56E、E45Q/Q56E/E59Q、E32Q/E59Q、D34N/E59K、D34N/E59K/K99E、D34K/E59K/K99E、E32Q/D34N/E59K/K99E、E32K/D34N/E59K/K99E、D34N/E59Q、E59Q/E187Q

、S43E/E59Q、S43K/E49Q、E59Q/K163E、E59Q/K99E、E59Q/K258E、E59Q/K260E、E59K/K99E、D18K/E59K/K99E、E59K/K99E/K264E、E59K/K99Y、E59Y/K99Y、E59Y/K99E、E45K/E59K/K99E、E59K/K99E/Q144E、E59K/K99E/Q144K、E59K/K99E/R159E、E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/C252S、D18K/E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99Y/C252S、E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99E/C252S、N103D/N113D、N103D/N200D、N103D/N281D、N113D/N200D、N113D/N281D、N200D/N281D、N103D/N113D/N200D、N103D/N113D/N281D、N103D/N200D/N281D、N113D/N200D/N281D、N103Q/N113Q、N103Q/N200Q、N103Q/N281Q、N113Q/N200Q、N113Q/N281Q、N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N200Q、N103Q/N113Q/N281Q、N103Q/N200Q/N281Q、N113Q/N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N200Q/N281Q、E59K/K99E/N103Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、およびE59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264Eからなる群から選択されるアミノ酸置換を有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0069】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、i) 配列番号57 (IL-12p40 (N103D))、ii) 配列番号58 (IL-12p40 (N113D))、iii) 配列番号59 (IL-12p40 (N200D))、iv) 配列番号60 (IL-12p40 (N281D))、v) 配列番号61 (IL-12p40 (N103D/N113D/N200D/N281D))、vi) 配列番号62 (IL-12p40 (Q42E))、vii) 配列番号63 (IL-12p40 (E45Q))、viii) 配列番号64 (IL-12p40 (Q56E))、ix) 配列番号65 (IL-12p40 (E59Q))、x) 配列番号66 (IL-12p40 (D62N))、xi) 配列番号67 (IL-12p40 (Q42E/E45Q))、xii) 配列番号68 (IL-12p40 (E45Q/Q56E))、xiii) 配列番号69 (IL-12p40 (Q42E/E59Q))、xiv) 配列番号70 (IL-12p40 (Q56E/E59Q))、xv) 配列番号71 (IL-12p40 (Q42E/E45Q/Q56E))、xvi) 配列番号72 (IL-12p40 (E45Q/Q56E/E59Q))、xvii) 配列番号73 (IL-12p40 (D161N))、xviii) 配列番号74 (IL-12p40 (E73Q))、xix) 配列番号75 (IL-12p40 (Q144E))、xx) 配列番号76 (IL-12p40 (E262Q))、xxi) 配列番号77 (IL-12p40 (E100Q))、xxii) 配列番号78 (IL-12p40 (D18N))、xxiii) 配列番号79 (IL-12p40 (E33Q))、xxiv) 配列番号80 (IL-12p40 (Q229E))、xxv) 配列番号81 (I

L-12p40 (E235Q))、xxvi) 配列番号82 (IL-12p40 (Q256N))、xxvii) 配列番号83 (IL-12p40 (E299Q))、xxviii) 配列番号84 (IL-12p40 (D87N))、xxix) IL-12p40 (E32Q)、xxx) IL-12p40 (D34N)、xxxii) IL-12p40 (S43E)、xxxiii) IL-12p40 (S43K)、xxxiiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、xxxiv) 配列番号205 (IL-12p40 (E59K))、xxxv) IL-12p40 (K99E)、xxxvi) IL-12p40 (K163E)、xxxvii) IL-12p40 (E187Q)、xxxviii) IL-12p40 (K258E)、xxxix) IL-12p40 (K260E)、xl) 配列番号206 (IL-12p40 (E32Q/E59Q))、xli) 配列番号207 (IL-12p40 (D34N/E59Q))、xlii) 配列番号208 (IL-12p40 (E59Q/E187Q))、xliii) 配列番号209 (IL-12p40 (S43E/E59Q))、xliv) 配列番号210 (IL-12p40 (S43K/E49Q))、xlv) 配列番号211 (IL-12p40 (E59Q/K163E))、xlvi) 配列番号212 (IL-12p40 (E59Q/K99E))、xlvii) 配列番号213 (IL-12p40 (E59Q/K258E))、xlviii) 配列番号214 (IL-12p40 (E59Q/K260E))、xlix) 配列番号XXX (IL-12p40 (D34N/E59K))、l) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E))、li) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E))、lii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/K264E))、liii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99Y))、liv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59Y/K99E))、lv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E45K/E59K/K99E))、lvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/Q144E))、lvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/Q144K))、lviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/R159E))、lix) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/K264E))、lx) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/K264E))、lxi) 配列番号XXX (IL-12p40 (C252S))、lxii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/C252S))、lxiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/C252S/K264E))、lxiv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99Y/C252S))、lxv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/C252S/K264E))、lxvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/C252S))、lxvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N113D))、lxviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N200D))、lxix) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N281D))、lxx) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113D/N200D))、lxxi) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113D/N281D))、lxxii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N200D/N281D))、lxxiii) 配列番号XXX (IL-12p50 (N103D/N113D/N200D))、lxxiv) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N113D/N281D))、lxxv) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N200D/N281D))、lxxvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113D/N200D/N281D))、lxxvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q))、lxxviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q))、lxxix) 配列番号XXX (IL-12p40 (N200Q))、lxxx) 配列番号XXX (IL-12p40 (N281Q))、lxxxi) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q))、lxxxii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N200Q))、lx

10

20

30

40

50

x x i i i) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (N103Q/N281Q))、l x x
 x i v) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (N113Q/N200Q))、l x x x v
) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (N113Q/N281Q))、l x x x v i) 配
 列番号 XXX (IL-12 p 40 (N200Q/N281Q))、l x x x v i i) 配列
 番号 XXX (IL-12 p 40 (N103Q/N113Q/N200Q))、l x x x v
 i i i) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (N103Q/N113Q/N281Q))
 、l x x x i x) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (N103Q/N200Q/N28
 1Q))、x c) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (N113Q/N200Q/N28
 1Q))、x c i) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (N103Q/N113Q/N2
 00Q/N281Q))、x c i i) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (D34N/E
 59K/K99E))、x c i i i) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (D34K/E
 59K/K99E))、x c i v) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (E32Q/D3
 4N/E59K/K99E))、x c v) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (E32K
 /D34N/E59K/K99E))、x c v i) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (E
 59Y/K99Y))、x c v i i) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (E59K/
 K99E/N103Q/C252S/K264E))、x c v i i i) 配列番号 XXX (IL-
 12 p 40 (E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E))、x
 c i x) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (E59K/K99E/N200Q/C25
 2S/K264E))、c) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (E59K/K99E/
 N281Q/C252S/K264E))、c i) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (E
 59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E))、c i i)
 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (E59K/K99E/N103Q/N200Q/C
 252S/K264E))、c i i i) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (E59K/
 K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264E))、c i v) 配列番号 X
 X X (IL-12 p 40 (E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/
 K264E))、c v) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (E59K/K99E/N1
 13Q/N281Q/C252S/K264E))、c v i) 配列番号 XXX (IL-1
 2 p 40 (E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E))
 、c v i i) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (E59K/K99E/N103Q/N
 113Q/N200Q/C252S/K264E))、c v i i i) 配列番号 XXX (IL-
 12 p 40 (E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252
 S/K264E))、および c i x) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (E59K/K
 99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E)) からなる群
 から選択されるポリペプチド配列を有する、ヘテロ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

【0070】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 IL-12 p 35 サブユニットが、Q20、
 N21、Q35、E38、S44、E45、E46、H49、K54、D55、T59、
 V60、E61、C63、L64、P65、E67、L68、N71、S73、C74、
 L75、N76、E79、N85、L89、F96、M97、L124、M125、Q1
 30、Q135、N136、E143、Q146、N151、E153、K158、E1
 62、E163、D165、I171、R181、I182、R183、V185、T1
 86、D188、R189、V190、S192、Y193、N195、および A196
 からなる群から選択されるアミノ酸残基として1つ以上のアミノ酸修飾を有する、ヘテロ
 二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

【0071】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 IL-12 p 35 サブユニットが、N21D
 、Q35D、E38Q、D55Q、D55K、N71D、N71Q、L75A、N76D
 、E79Q、N85D、N85Q、L89A、F96A、M97A、L124A、M12
 5A、Q130E、Q135E、N136D、E143Q、Q146E、N151D、N
 151K、E153K、E153Q、K158E、E162Q、E163Q、D165N

10

20

30

40

50

【 0 0 7 2 】

10

【 0 0 7 3 】

20

30

40

50

列番号XXX (IL-12p35 (D55Q))、およびxlv i) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55K)) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0074】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供し、当該ヘテロ二量体Fc融合タンパク質は、a) 配列番号51 (XENP27203鎖1) のポリペプチド配列を有する当該融合タンパク質、およびb) 配列番号52 (XENP27203鎖2) のポリペプチド配列を有する当該第2のFcドメインを含む。

【0075】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供し、当該ヘテロ二量体Fc融合タンパク質は、XENP27203である。

【0076】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供し、当該ヘテロ二量体Fc融合タンパク質は、XENP31290である。

【0077】

いくつかの実施形態では、本発明は、対象における癌の治療における使用のためのヘテロ二量体Fc融合タンパク質を含む組成物を提供する。

【0078】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質をコードする1つ以上の核酸を提供する。

【0079】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質をコードする当該1つ以上の核酸を含む宿主細胞を提供する。

【0080】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を作製する方法を提供し、当該方法は、当該ヘテロ二量体Fc融合タンパク質が産生される条件下で宿主細胞を培養することを含む。

【0081】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を精製する方法を提供し、当該方法は、a) ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を含む組成物を提供することと、b) 当該組成物をイオン交換カラムに充填することと、c) 当該ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を含有する画分を収集することと、を含む。

【0082】

別の態様では、本発明は、a) 第1のタンパク質ドメイン、第2のタンパク質ドメイン、および第1のFcドメインを含む融合タンパク質であって、当該第1のタンパク質ドメインが、当該第2のタンパク質ドメインに共有結合し、当該第2のタンパク質ドメインが、当該第1のFcドメインのN末端に共有結合している、融合タンパク質と、b) 第2のFcドメインと、を含み、当該第1および当該第2のFcドメインが、当該第1および当該第2のFcドメインのヘテロ二量体化を促進する修飾を含み、当該第1のタンパク質ドメインが、IL-12p35サブユニットを含み、当該第2のタンパク質ドメインが、IL-12p40サブユニットを含む、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0083】

いくつかの実施形態では、当該第1および当該第2のFcドメインのヘテロ二量体化を促進する当該修飾が、EU付番に従って、L368D/K370SおよびS364K；L368D/K370SおよびS364K/E357L；L368D/K370SおよびS364K/E357Q；T411E/K360E/Q362EおよびD401K；L368E/K370SおよびS364K；K370SおよびS364K/E357QおよびT366S/L368A/Y407V；T366W（任意に架橋ジスルフィド、T366S/L368A/Y407V/Y349C；T366W/S354Cを含む）からなる群から選択されるアミノ酸置換のセットである、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

10

20

30

40

50

【0084】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該第1のタンパク質ドメインが、第1のドメインリンカーを使用して当該第2のタンパク質ドメインに結合し、かつ／または当該第2のタンパク質ドメインが、第2のドメインリンカーを用使用して当該第1のFcドメインに結合している、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0085】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該第1および／または当該第2のFcドメインが、EU付番に従って、Q295E／N384D／Q418E／N421D、を含むアミノ酸置換の追加のセットを有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0086】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該第1および／または当該第2のFcドメインが、EU付番に従って、G236R／L328R、E233P／L234V／L235A／G236__／S239K、E233P／L234V／L235A／G236__／S239K／A327G、E233P／L234V／L235A／G236__／S267K／A327G、E233P／L234V／L235A／G236__、およびE233P／L234V／L235A／G236__／S267Kからなる群から選択されるアミノ酸置換の追加のセットを有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0087】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、配列番号3（ヒトIL-12サブユニットベータ（IL-12p40）前駆体配列）および／または配列番号4（ヒトIL-12サブユニットベータ（IL-12p40）成熟形態配列）からなる群から選択されるポリペプチド配列を有し、当該IL-12p35サブユニットが、配列番号1（ヒトIL-12サブユニットアルファ（IL-12p35）前駆体配列）および配列番号2（ヒトIL-12サブユニットアルファ（IL-12p35）成熟形態配列）からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0088】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該第1および第2のFcドメインが、アミノ酸置換M428L／N424Sをさらに含む、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0089】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、バリエーションIL-12p40サブユニットであり、かつ／または当該IL-12p35サブユニットが、バリエーションIL-12p35サブユニットである、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0090】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、IL-12受容体サブユニットベーター1（IL-12Rβ1）、IL-12受容体サブユニットベーター2（IL-12Rβ2）、および／もしくはIL-12受容体複合体についての変更された親和性を有するバリエーションIL-12p40サブユニットであり、かつ／または当該IL-12p35サブユニットが、IL-12受容体サブユニットベーター1（IL-12Rβ1）、IL-12受容体サブユニットベーター2（IL-12Rβ2）、および／もしくはIL-12受容体複合体についての変更された親和性を有するバリエーションIL-12p35サブユニットである、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0091】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、E3、D7、E12、D14、W15、P17、D18、A19、P20、G21、E22、M23、D29、E32、E33、D34、L40、D41、Q42、S43、E45、L47、T54、I55、Q56、K58、E59、F60、G61、D62、Q65、Y66、E73、K84、E86、D87、G88、I89、W90、D93、D97、K99、E100、K102、N103、K104、F106、E110、N113、Y11

10

20

30

40

50

4、D129、D142、Q144、E156、R159、D161、N162、K163、D166、D170、Q172、D174、A176、C177、P178、A179、A180、E181、S183、P185、E187、N200、S204、F206、R208、D209、D214、N218、Q220、N226、Q229、E231、E235、T242、P243、S245、Y246、F247、S248、C252、Q256、K258、K260、E262、K264、D265、D270、N281、Q289、D290、R291、Y292、Y293、およびE299からなる群から選択されるアミノ酸残基で1つ以上のアミノ酸修飾を有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0092】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、D18N、D18K、E32Q、E33Q、D34N、D34K、Q42E、S43E、S43K、E45Q、Q56E、E59Q、E59K、D62N、E73Q、D87N、K99E、K99Y、E100Q、N103D、N103Q、N113D、N113Q、Q144E、D161N、R159E、K163E、E187Q、N200D、N200Q、N218Q、Q229E、E235Q、C252S、Q256N、K258E、K260E、E262Q、K264E、N281D、N281Q、およびE299Qからなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0093】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、N103D/N113D/N200D/N281D、Q42E/E45Q、E45Q/Q56E、Q42E/E59Q、Q56E/E59Q、Q42E/E45Q/Q56E、E45Q/Q56E/E59Q、E32Q/E59Q、D34N/E59K、D34N/E59K/K99E、D34K/E59K/K99E、E32Q/D34N/E59K/K99E、E32K/D34N/E59K/K99E、D34N/E59Q、E59Q/E187Q、S43E/E59Q、S43K/E49Q、E59Q/K163E、E59Q/K99E、E59Q/K258E、E59Q/K260E、E59K/K99E、D18K/E59K/K99E、E59K/K99E/K264E、E59K/K99Y、E59Y/K99Y、E59Y/K99E、E45K/E59K/K99E、E59K/K99E/Q144E、E59K/K99E/Q144K、E59K/K99E/R159E、E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/C252S、D18K/E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99Y/C252S、E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99E/C252S、N103D/N113D、N103D/N200D、N103D/N281D、N113D/N200D、N113D/N281D、N200D/N281D、N103D/N113D/N200D、N103D/N113D/N281D、N103D/N200D/N281D、N113D/N200D/N281D、N103Q/N113Q、N103Q/N200Q、N103Q/N281Q、N113Q/N200Q、N113Q/N281Q、N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N200Q、N103Q/N113Q/N281Q、N103Q/N200Q/N281Q、N113Q/N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N200Q/N281Q、E59K/K99E/N103Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/C252S/K

10

20

30

40

50

264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252S/K
264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K
264E、およびE59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281
Q/C252S/K264Eからなる群から選択されるアミノ酸置換を有する、ヘテロ二
量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0094】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、i) 配列
番号57 (IL-12p40 (N103D))、ii) 配列番号58 (IL-12p40
(N113D))、iii) 配列番号59 (IL-12p40 (N200D))、iv)
配列番号60 (IL-12p40 (N281D))、v) 配列番号61 (IL-12p40
(N103D/N113D/N200D/N281D))、vi) 配列番号62 (IL-
12p40 (Q42E))、vii) 配列番号63 (IL-12p40 (E45Q))
、viii) 配列番号64 (IL-12p40 (Q56E))、ix) 配列番号65 (IL-
12p40 (E59Q))、x) 配列番号66 (IL-12p40 (D62N))、
xi) 配列番号67 (IL-12p40 (Q42E/E45Q))、xii) 配列番号6
8 (IL-12p40 (E45Q/Q56E))、xiii) 配列番号69 (IL-12
p40 (Q42E/E59Q))、xiv) 配列番号70 (IL-12p40 (Q56E
/E59Q))、xv) 配列番号71 (IL-12p40 (Q42E/E45Q/Q56
E))、xvi) 配列番号72 (IL-12p40 (E45Q/Q56E/E59Q))
、xvii) 配列番号73 (IL-12p40 (D161N))、xviii) 配列番号
74 (IL-12p40 (E73Q))、xix) 配列番号75 (IL-12p40 (Q
144E))、xx) 配列番号76 (IL-12p40 (E262Q))、xxi) 配列
番号77 (IL-12p40 (E100Q))、xxii) 配列番号78 (IL-12p
40 (D18N))、xxiii) 配列番号79 (IL-12p40 (E33Q))、x
xiv) 配列番号80 (IL-12p40 (Q229E))、xxv) 配列番号81 (IL-
12p40 (E235Q))、xxvi) 配列番号82 (IL-12p40 (Q25
6N))、xxvii) 配列番号83 (IL-12p40 (E299Q))、xxviii
i) 配列番号84 (IL-12p40 (D87N))、xxix) IL-12p40 (E
32Q)、xxx) IL-12p40 (D34N)、xxxii) IL-12p40 (S4
3E)、xxxiii) IL-12p40 (S43K)、xxxiiii) 配列番号XXX (IL-
12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N28
1Q/C252S/K264E))、xxxiv) 配列番号205 (IL-12p40 (E
59K))、xxxv) IL-12p40 (K99E)、xxxvi) IL-12p4
0 (K163E)、xxxvii) IL-12p40 (E187Q)、xxxviii) IL-12p4
0 (K258E)、xxxix) IL-12p40 (K260E)、xl
) 配列番号206 (IL-12p40 (E32Q/E59Q))、xli) 配列番号20
7 (IL-12p40 (D34N/E59Q))、xlii) 配列番号208 (IL-1
2p40 (E59Q/E187Q))、xliii) 配列番号209 (IL-12p40
(S43E/E59Q))、xliv) 配列番号210 (IL-12p40 (S43K/
E49Q))、xlv) 配列番号211 (IL-12p40 (E59Q/K163E))
、xlvi) 配列番号212 (IL-12p40 (E59Q/K99E))、xlvii
) 配列番号213 (IL-12p40 (E59Q/K258E))、xlviii) 配列
番号214 (IL-12p40 (E59Q/K260E))、xlix) 配列番号XXX
(IL-12p40 (D34N/E59K))、li) 配列番号XXX (IL-12p40
(E59K/K99E))、lii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E
/K264E))、liiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99Y
))、liv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59Y/K99E))、lv) 配
列番号XXX (IL-12p40 (E45K/E59K/K99E))、lvi) 配列番
号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/Q144E))、lvii) 配列番

10

20

30

40

50

号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/Q144K))、lviii) 配列
 番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/R159E))、lix) 配列番
 号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/K264E))、lx) 配列番号X
 XX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/K264E))、lxi) 配
 列番号XXX (IL-12p40 (C252S))、lxii) 配列番号XXX (IL-
 12p40 (D18K/E59K/K99E/C252S))、lxiii) 配列番号X
 XX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/C252S/K264E))
 、lxiv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99Y/C252S))
 、lxv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/C252S/K2
 64E))、lxvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/C2
 52S))、lxvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N113D
))、lxviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N200D))
 、lix) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N281D))、lxx
) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113D/N200D))、lxxi) 配列番
 号XXX (IL-12p40 (N113D/N281D))、lxxii) 配列番号XX
 X (IL-12p40 (N200D/N281D))、lxxiii) 配列番号XXX (IL-
 12p50 (N103D/N113D/N200D))、lxxiv) 配列番号X
 XX (IL-12p40 (N103D/N113D/N281D))、lxxv) 配列番
 号XXX (IL-12p40 (N103D/N200D/N281D))、lxxvi)
 配列番号XXX (IL-12p40 (N113D/N200D/N281D))、lxx
 vii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q))、lxxviii) 配列番
 号XXX (IL-12p40 (N113Q))、lxxix) 配列番号XXX (IL-1
 2p40 (N200Q))、lxxx) 配列番号XXX (IL-12p40 (N281Q
))、lxxxii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q))、
 lxxxiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N200Q))、lx
 xxxiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N281Q))、lxx
 xiv) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q/N200Q))、lxxxv
) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q/N281Q))、lxxxvi) 配
 列番号XXX (IL-12p40 (N200Q/N281Q))、lxxxvii) 配列
 番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N200Q))、lxxxv
 iii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N281Q))
 、lxxxix) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N200Q/N28
 1Q))、xc) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q/N200Q/N28
 1Q))、xci) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N2
 00Q/N281Q))、xcii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D34N/E
 59K/K99E))、xciii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D34K/E
 59K/K99E))、xciv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E32Q/D3
 4N/E59K/K99E))、xcv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E32K
 /D34N/E59K/K99E))、xcvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E
 59Y/K99Y))、xcvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/
 K99E/N103Q/C252S/K264E))、xcviii) 配列番号XXX (IL-
 12p40 (E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E))、xc
 ix) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N200Q/C25
 2S/K264E))、c) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/
 N281Q/C252S/K264E))、ci) 配列番号XXX (IL-12p40 (E
 59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E))、cii)
 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N200Q/C
 252S/K264E))、ciii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/
 K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264E))、civ) 配列番号X
 XX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/

10

20

30

40

50

K 2 6 4 E))、c v) 配列番号XXX (I L-1 2 p 4 0 (E 5 9 K/K 9 9 E/N 1 1 3 Q/N 2 8 1 Q/C 2 5 2 S/K 2 6 4 E))、c v i) 配列番号XXX (I L-1 2 p 4 0 (E 5 9 K/K 9 9 E/N 2 0 0 Q/N 2 8 1 Q/C 2 5 2 S/K 2 6 4 E))、c v i i) 配列番号XXX (I L-1 2 p 4 0 (E 5 9 K/K 9 9 E/N 1 0 3 Q/N 1 1 3 Q/N 2 0 0 Q/C 2 5 2 S/K 2 6 4 E))、c v i i i) 配列番号XXX (I L-1 2 p 4 0 (E 5 9 K/K 9 9 E/N 1 0 3 Q/N 2 0 0 Q/N 2 8 1 Q/C 2 5 2 S/K 2 6 4 E))、およびc i x) 配列番号XXX (I L-1 2 p 4 0 (E 5 9 K/K 9 9 E/N 1 1 3 Q/N 2 0 0 Q/N 2 8 1 Q/C 2 5 2 S/K 2 6 4 E)) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ヘテロ二量体F c融合タンパク質を提供する。
【0095】

10

いくつかの実施形態では、本発明は、当該I L-1 2 p 3 5サブユニットが、Q 2 0、N 2 1、Q 3 5、E 3 8、S 4 4、E 4 5、E 4 6、H 4 9、K 5 4、D 5 5、T 5 9、V 6 0、E 6 1、C 6 3、L 6 4、P 6 5、E 6 7、L 6 8、N 7 1、S 7 3、C 7 4、L 7 5、N 7 6、E 7 9、N 8 5、L 8 9、F 9 6、M 9 7、L 1 2 4、M 1 2 5、Q 1 3 0、Q 1 3 5、N 1 3 6、E 1 4 3、Q 1 4 6、N 1 5 1、E 1 5 3、K 1 5 8、E 1 6 2、E 1 6 3、D 1 6 5、I 1 7 1、R 1 8 1、I 1 8 2、R 1 8 3、V 1 8 5、T 1 8 6、D 1 8 8、R 1 8 9、V 1 9 0、S 1 9 2、Y 1 9 3、N 1 9 5、およびA 1 9 6 からなる群から選択されるアミノ酸残基として1つ以上のアミノ酸修飾を有する、ヘテロ二量体F c融合タンパク質を提供する。

【0096】

20

いくつかの実施形態では、本発明は、当該I L-1 2 p 3 5サブユニットが、N 2 1 D、Q 3 5 D、E 3 8 Q、D 5 5 Q、D 5 5 K、N 7 1 D、N 7 1 Q、L 7 5 A、N 7 6 D、E 7 9 Q、N 8 5 D、N 8 5 Q、L 8 9 A、F 9 6 A、M 9 7 A、L 1 2 4 A、M 1 2 5 A、Q 1 3 0 E、Q 1 3 5 E、N 1 3 6 D、E 1 4 3 Q、Q 1 4 6 E、N 1 5 1 D、N 1 5 1 K、E 1 5 3 K、E 1 5 3 Q、K 1 5 8 E、E 1 6 2 Q、E 1 6 3 Q、D 1 6 5 N、I 1 7 1 A、N 1 9 5 D、およびN 1 9 5 Qからなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を有する、ヘテロ二量体F c融合タンパク質を提供する。

【0097】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該I L-1 2 p 3 5サブユニットが、N 7 1 D/N 8 5 D/N 1 9 5 D、N 1 5 1 D/E 1 5 3 Q、N 1 5 1 D/D 1 6 5 N、Q 1 3 0 E/N 1 5 1 D、N 1 5 1 D/K 1 5 8 E、E 7 9 Q/N 1 5 1 D、D 5 5 Q/N 1 5 1 D、N 1 3 6 D/N 1 5 1 D、N 2 1 D/N 1 5 1 D、E 1 4 3 Q/N 1 5 1 D、N 7 1 Q/N 8 5 Q、N 7 1 Q/N 1 9 5 Q、N 8 5 Q/N 1 9 5 Q、N 7 1 Q/N 8 5 Q/N 1 9 5 Q、N 7 1 D/N 8 5 D、N 7 1 D/N 1 9 5 D、およびN 8 5 D/N 1 9 5 Dからなる群から選択されるアミノ酸置換を有する、ヘテロ二量体F c融合タンパク質を提供する。

30

【0098】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該I L-1 2 p 3 5サブユニットが、i) 配列番号113 (I L-1 2 p 3 5 (N 7 1 D))、i i) 配列番号114 (I L-1 2 p 3 5 (N 8 5 D))、i i i) 配列番号115 (I L-1 2 p 3 5 (N 1 9 5 D))、i v) 配列番号116 (I L-1 2 p 3 5 (N 7 1 D/N 8 5 D/N 1 9 5 D))、v) 配列番号117 (I L-1 2 p 3 5 (E 1 5 3 Q))、v i) 配列番号118 (I L-1 2 p 3 5 (E 3 8 Q))、v i i) 配列番号119 (I L-1 2 p 3 5 (N 1 5 1 D))、v i i i) 配列番号120 (I L-1 2 p 3 5 (Q 1 3 5 E))、i x) 配列番号121 (I L-1 2 p 3 5 (Q 3 5 D))、x) 配列番号122 (I L-1 2 p 3 5 (Q 1 4 6 E))、x i) 配列番号123 (I L-1 2 p 3 5 (N 7 6 D))、x i i) 配列番号124 (I L-1 2 p 3 5 (E 1 6 2 Q))、x i i i) 配列番号125 (I L-1 2 p 3 5 (E 1 6 3 Q))、x i v) I L-1 2 p 3 5 (N 2 1 D)、x v) 配列番号XXX (I L-1 2 p 3 5 (D 5 5 Q))、x v i) I L-1 2 p 3 5 (E 7 9 Q)、x v i i) I L-1 2 p 3 5 (Q 1 3 0 E)、x v i i i) I L-1 2 p 3 5 (N 1 3 6 D)、x i x

40

50

) IL-12p35 (E143Q)、xx) 配列番号227 (IL-12p35 (N151K))、xxi) 配列番号226 (IL-12p35 (E153K))、xxii) IL-12p35 (K158E)、xxiii) IL-12p35 (D165N)、xxiv) 配列番号225 (IL-12p35 (N151D/E153Q))、xxv) 配列番号228 (IL-12p35 (N151D/D165N))、xxvi) 配列番号229 (IL-12p35 (Q130E/N151D))、xxvii) 配列番号230 (IL-12p35 (N151D/K158E))、xxviii) 配列番号231 (IL-12p35 (E79Q/N151D))、xxix) 配列番号232 (IL-12p35 (D55Q/N151D))、xxx) 配列番号233 (IL-12p35 (N136D/N151D))、xxxii) 配列番号234 (IL-12p35 (N21D/N151D))、xxxiii) 配列番号235 (IL-12p35 (E143Q/N151D))、xxxiiii) 配列番号XXX (IL-12p35 (F96A))、xxxiv) 配列番号XXX (IL-12p35 (M97A))、xxxv) 配列番号XXX (IL-12p35 (L89A))、xxxvi) 配列番号XXX (IL-12p35 (L124A))、xxxvii) 配列番号XXX (IL-12p35 (M125A))、xxxviii) 配列番号XXX (IL-12p35 (L75A))、xxxix) 配列番号XXX (IL-12p35 (I171A))、xxxv) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q))、xxxvi) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85Q))、xxxvii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N195Q))、xxxviii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N85Q))、xxxix) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N195Q))、xl) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85Q/N195Q))、xli) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N85Q/N195Q))、xlii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71D/N85D))、xliii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71D/N195D))、xliv) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85D/N195D))、xlv) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55Q))、およびxlvii) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55K)) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0099】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供し、当該ヘテロ二量体Fc融合タンパク質は、a) 配列番号53 (XENP27204鎖1) のポリペプチド配列を有する当該融合タンパク質、およびb) 配列番号54 (XENP27204鎖2) のポリペプチド配列を有する当該第2のFcドメインを含む。

【0100】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供し、当該ヘテロ二量体Fc融合タンパク質は、XENP27204である。

【0101】

いくつかの実施形態では、本発明は、対象における癌の治療における使用のためのヘテロ二量体Fc融合タンパク質を含む組成物を提供する。

【0102】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質をコードする1つ以上の核酸を提供する。

【0103】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質をコードする当該1つ以上の核酸を含む宿主細胞を提供する。

【0104】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を作製する方法を提供し、当該方法は、当該ヘテロ二量体Fc融合タンパク質が産生される条件下で宿主細胞を培養することを含む。

【0105】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヘテロ二量体 F c 融合タンパク質を精製する方法を提供し、当該方法は、a) ヘテロ二量体 F c 融合タンパク質を含む組成物を提供することと、b) 当該組成物をイオン交換カラムに充填することと、c) 当該ヘテロ二量体 F c 融合タンパク質を含有する画分を収集することと、を含む。

【0106】

別の態様では、本発明は、a) 第1のタンパク質ドメイン、第2のタンパク質ドメイン、および第1の F c ドメインを含む融合タンパク質であって、当該第1のタンパク質ドメインが、当該第1の F c ドメインの C 末端に結合し、当該第2のタンパク質ドメインが、当該第1のタンパク質ドメインに共有結合している、融合タンパク質と、b) 第2の F c ドメインと、を含み、当該第1および当該第2の F c ドメインが、当該第1および当該第2の F c ドメインのヘテロ二量体化を促進する修飾を含み、当該第1のタンパク質ドメインが、I L-12p40 サブユニットを含み、当該第2のタンパク質ドメインが、I L-12p35 サブユニットを含む、ヘテロ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

10

【0107】

いくつかの実施形態では、当該第1および当該第2の F c ドメインのヘテロ二量体化を促進する当該修飾が、E U 付番に従って、L368D/K370S および S364K；L368D/K370S および S364K/E357L；L368D/K370S および S364K/E357Q；T411E/K360E/Q362E および D401K；L368E/K370S および S364K；K370S および S364K/E357Q および T366S/L368A/Y407V：T366W（任意に架橋ジスルフィド、T366S/L368A/Y407V/Y349C：T366W/S354C を含む）からなる群から選択されるアミノ酸置換のセットである、ヘテロ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

20

【0108】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該第1のタンパク質ドメインが、第1のドメインリンカーを使用して当該第2のタンパク質ドメインに結合し、かつ/または当該第2のタンパク質ドメインが、第2のドメインリンカーを使用して当該第1の F c ドメインに結合している、ヘテロ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

【0109】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該第1および/または当該第2の F c ドメインが、E U 付番に従って、Q295E/N384D/Q418E/N421D、を含むアミノ酸置換の追加のセットを有する、ヘテロ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

30

【0110】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該第1および/または当該第2の F c ドメインが、E U 付番に従って、G236R/L328R、E233P/L234V/L235A/G236__/S239K、E233P/L234V/L235A/G236__/S239K/A327G、E233P/L234V/L235A/G236__/S267K/A327G、E233P/L234V/L235A/G236__、および E233P/L234V/L235A/G236__/S267K からなる群から選択されるアミノ酸置換の追加のセットを有する、ヘテロ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

【0111】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 I L-12p40 サブユニットが、配列番号 3（ヒト I L-12 サブユニットベータ（I L-12p40）前駆体配列）および配列番号 4（ヒト I L-12 サブユニットベータ（I L-12p40）成熟形態配列）からなる群から選択されるポリペプチド配列を有し、かつ/または当該 I L-12p35 サブユニットが、配列番号 1（ヒト I L-12 サブユニットアルファ（I L-12p35）前駆体配列）および配列番号 2（ヒト I L-12 サブユニットアルファ（I L-12p35）成熟形態配列）からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ヘテロ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

40

【0112】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該第1および第2の F c ドメインが、アミノ酸

50

置換 M 4 2 8 L / N 4 2 4 S をさらに含む、ヘテロ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

【0113】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 I L - 1 2 p 4 0 サブユニットが、バリエーション I L - 1 2 p 4 0 サブユニットであり、かつ／または当該 I L - 1 2 p 3 5 サブユニットが、バリエーション I L - 1 2 p 3 5 サブユニットである、ヘテロ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

【0114】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 I L - 1 2 p 4 0 サブユニットが、I L - 1 2 受容体サブユニットベクター 1 (I L - 1 2 R β 1)、I L - 1 2 受容体サブユニットベクター 2 (I L - 1 2 R β 2)、および／もしくは I L - 1 2 受容体複合体についての 10 変更された親和性を有するバリエーション I L - 1 2 p 4 0 サブユニットであり、かつ／または当該 I L - 1 2 p 3 5 サブユニットが、I L - 1 2 受容体サブユニットベクター 1 (I L - 1 2 R β 1)、I L - 1 2 受容体サブユニットベクター 2 (I L - 1 2 R β 2)、および／もしくは I L - 1 2 受容体複合体についての 20 変更された親和性を有するバリエーション I L - 1 2 p 3 5 サブユニットである、ヘテロ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

【0115】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 I L - 1 2 p 4 0 サブユニットが、E 3、D 7、E 1 2、D 1 4、W 1 5、P 1 7、D 1 8、A 1 9、P 2 0、G 2 1、E 2 2、M 2 3、D 2 9、E 3 2、E 3 3、D 3 4、L 4 0、D 4 1、Q 4 2、S 4 3、E 4 5、L 4 7、T 5 4、I 5 5、Q 5 6、K 5 8、E 5 9、F 6 0、G 6 1、D 6 2、Q 6 5、Y 6 6、E 7 3、K 8 4、E 8 6、D 8 7、G 8 8、I 8 9、W 9 0、D 9 3、D 9 7、K 9 9、E 1 0 0、K 1 0 2、N 1 0 3、K 1 0 4、F 1 0 6、E 1 1 0、N 1 1 3、Y 1 1 4、D 1 2 9、D 1 4 2、Q 1 4 4、E 1 5 6、R 1 5 9、D 1 6 1、N 1 6 2、K 1 6 3、D 1 6 6、D 1 7 0、Q 1 7 2、D 1 7 4、A 1 7 6、C 1 7 7、P 1 7 8、A 1 7 9、A 1 8 0、E 1 8 1、S 1 8 3、P 1 8 5、E 1 8 7、N 2 0 0、S 2 0 4、F 2 0 6、R 2 0 8、D 2 0 9、D 2 1 4、N 2 1 8、Q 2 2 0、N 2 2 6、Q 2 2 9、E 2 3 1、E 2 3 5、T 2 4 2、P 2 4 3、S 2 4 5、Y 2 4 6、F 2 4 7、S 2 4 8、C 2 5 2、Q 2 5 6、K 2 5 8、K 2 6 0、E 2 6 2、K 2 6 4、D 2 6 5、D 2 7 0、N 2 8 1、Q 2 8 9、D 2 9 0、R 2 9 1、Y 2 9 2、Y 2 9 3、および E 2 9 9 からなる群から 30 選択されるアミノ酸残基で 1 つ以上のアミノ酸修飾を有する、ヘテロ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

【0116】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 I L - 1 2 p 4 0 サブユニットが、D 1 8 N、D 1 8 K、E 3 2 Q、E 3 3 Q、D 3 4 N、D 3 4 K、Q 4 2 E、S 4 3 E、S 4 3 K、E 4 5 Q、Q 5 6 E、E 5 9 Q、E 5 9 K、D 6 2 N、E 7 3 Q、D 8 7 N、K 9 9 E、K 9 9 Y、E 1 0 0 Q、N 1 0 3 D、N 1 0 3 Q、N 1 1 3 D、N 1 1 3 Q、Q 1 4 4 E、D 1 6 1 N、R 1 5 9 E、K 1 6 3 E、E 1 8 7 Q、N 2 0 0 D、N 2 0 0 Q、N 2 1 8 Q、Q 2 2 9 E、E 2 3 5 Q、C 2 5 2 S、Q 2 5 6 N、K 2 5 8 E、K 2 6 0 E、E 2 6 2 Q、K 2 6 4 E、N 2 8 1 D、N 2 8 1 Q、および E 2 9 9 Q からなる群から 40 選択される 1 つ以上のアミノ酸置換を有する、ヘテロ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

【0117】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 I L - 1 2 p 4 0 サブユニットが、N 1 0 3 D / N 1 1 3 D / N 2 0 0 D / N 2 8 1 D、Q 4 2 E / E 4 5 Q、E 4 5 Q / Q 5 6 E、Q 4 2 E / E 5 9 Q、Q 5 6 E / E 5 9 Q、Q 4 2 E / E 4 5 Q / Q 5 6 E、E 4 5 Q / Q 5 6 E / E 5 9 Q、E 3 2 Q / E 5 9 Q、D 3 4 N / E 5 9 K、D 3 4 N / E 5 9 K / K 9 9 E、D 3 4 K / E 5 9 K / K 9 9 E、E 3 2 Q / D 3 4 N / E 5 9 K / K 9 9 E、E 3 2 K / D 3 4 N / E 5 9 K / K 9 9 E、D 3 4 N / E 5 9 Q、E 5 9 Q / E 1 8 7 Q、S 4 3 E / E 5 9 Q、S 4 3 K / E 4 9 Q、E 5 9 Q / K 1 6 3 E、E 5 9 Q / K 9 9 E、E 5 9 Q / K 2 5 8 E、E 5 9 Q / K 2 6 0 E、E 5 9 K / K 9 9 E、D 1 8 K / E 5 9 K / K 9 9 E、E 5 9 K / K 9 9 E / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 Y、E 5 9 Y / 50

K99Y、E59Y/K99E、E45K/E59K/K99E、E59K/K99E/Q144E、E59K/K99E/Q144K、E59K/K99E/R159E、E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/C252S、D18K/E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99Y/C252S、E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99E/C252S、N103D/N113D、N103D/N200D、N103D/N281D、N113D/N200D、N113D/N281D、N200D/N281D、N103D/N113D/N200D、N103D/N113D/N281D、N103D/N200D/N281D、N113D/N200D/N281D、N103Q/N113Q、N103Q/N200Q、N103Q/N281Q、N113Q/N200Q、N113Q/N281Q、N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N200Q、N103Q/N113Q/N281Q、N103Q/N200Q/N281Q、E59K/K99E/N103Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、およびE59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264Eからなる群から選択されるアミノ酸置換を有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0118】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、i) 配列番号57 (IL-12p40 (N103D))、ii) 配列番号58 (IL-12p40 (N113D))、iii) 配列番号59 (IL-12p40 (N200D))、iv) 配列番号60 (IL-12p40 (N281D))、v) 配列番号61 (IL-12p40 (N103D/N113D/N200D/N281D))、vi) 配列番号62 (IL-12p40 (Q42E))、vii) 配列番号63 (IL-12p40 (E45Q))、viii) 配列番号64 (IL-12p40 (Q56E))、ix) 配列番号65 (IL-12p40 (E59Q))、x) 配列番号66 (IL-12p40 (D62N))、xi) 配列番号67 (IL-12p40 (Q42E/E45Q))、xii) 配列番号68 (IL-12p40 (E45Q/Q56E))、xiii) 配列番号69 (IL-12p40 (Q42E/E59Q))、xiv) 配列番号70 (IL-12p40 (Q56E/E59Q))、xv) 配列番号71 (IL-12p40 (Q42E/E45Q/Q56E))、xvi) 配列番号72 (IL-12p40 (E45Q/Q56E/E59Q))、xvii) 配列番号73 (IL-12p40 (D161N))、xviii) 配列番号74 (IL-12p40 (E73Q))、xix) 配列番号75 (IL-12p40 (Q144E))、xx) 配列番号76 (IL-12p40 (E262Q))、xxi) 配列番号77 (IL-12p40 (E100Q))、xxii) 配列番号78 (IL-12p40 (D18N))、xxiii) 配列番号79 (IL-12p40 (E33Q))、xxiv) 配列番号80 (IL-12p40 (Q229E))、xxv) 配列番号81 (IL-12p40 (E235Q))、xxvi) 配列番号82 (IL-12p40 (Q256N))、xxvii) 配列番号83 (IL-12p40 (E299Q))、xxviii) 配列番号84 (IL-12p40 (D87N))、xxix) IL-12p40 (E

3 2 Q)、xxx) IL-12 p 4 0 (D 3 4 N)、xxx i) IL-12 p 4 0 (S 4
 3 E)、xxx i i) IL-12 p 4 0 (S 4 3 K)、xxx i i i) 配列番号XXX (IL-12 p 4 0 (E 5 9 K/K 9 9 E/N 1 0 3 Q/N 1 1 3 Q/N 2 0 0 Q/N 2 8
 1 Q/C 2 5 2 S/K 2 6 4 E))、xxx i v) 配列番号205 (IL-12 p 4 0 (E 5 9 K))、xxx v) IL-12 p 4 0 (K 9 9 E)、xxx v i) IL-12 p 4
 0 (K 1 6 3 E)、xxx v i i) IL-12 p 4 0 (E 1 8 7 Q)、xxx v i i i) IL-12 p 4 0 (K 2 5 8 E)、xxx i x) IL-12 p 4 0 (K 2 6 0 E)、x l
) 配列番号206 (IL-12 p 4 0 (E 3 2 Q/E 5 9 Q))、x l i) 配列番号207 (IL-12 p 4 0 (D 3 4 N/E 5 9 Q))、x l i i) 配列番号208 (IL-1
 2 p 4 0 (E 5 9 Q/E 1 8 7 Q))、x l i i i) 配列番号209 (IL-12 p 4 0 (S 4 3 E/E 5 9 Q))、x l i v) 配列番号210 (IL-12 p 4 0 (S 4 3 K/
 E 4 9 Q))、x l v) 配列番号211 (IL-12 p 4 0 (E 5 9 Q/K 1 6 3 E))、x l v i) 配列番号212 (IL-12 p 4 0 (E 5 9 Q/K 9 9 E))、x l v i i
) 配列番号213 (IL-12 p 4 0 (E 5 9 Q/K 2 5 8 E))、x l v i i i) 配列番号214 (IL-12 p 4 0 (E 5 9 Q/K 2 6 0 E))、x l i x) 配列番号XXX
 (IL-12 p 4 0 (D 3 4 N/E 5 9 K))、l) 配列番号XXX (IL-12 p 4 0 (E 5 9 K/K 9 9 E))、l i) 配列番号XXX (IL-12 p 4 0 (D 1 8 K/E 5
 9 K/K 9 9 E))、l i i) 配列番号XXX (IL-12 p 4 0 (E 5 9 K/K 9 9 E/K 2 6 4 E))、l i i i) 配列番号XXX (IL-12 p 4 0 (E 5 9 K/K 9 9 Y
))、l i v) 配列番号XXX (IL-12 p 4 0 (E 5 9 Y/K 9 9 E))、l v) 配列番号XXX (IL-12 p 4 0 (E 4 5 K/E 5 9 K/K 9 9 E))、l v i) 配列番
 号XXX (IL-12 p 4 0 (E 5 9 K/K 9 9 E/Q 1 4 4 E))、l v i i) 配列番号XXX (IL-12 p 4 0 (E 5 9 K/K 9 9 E/Q 1 4 4 K))、l v i i i) 配列
 番号XXX (IL-12 p 4 0 (E 5 9 K/K 9 9 E/R 1 5 9 E))、l i x) 配列番号XXX (IL-12 p 4 0 (E 5 9 K/K 9 9 E/K 2 6 4 E))、l x) 配列番号X
 XX (IL-12 p 4 0 (D 1 8 K/E 5 9 K/K 9 9 E/K 2 6 4 E))、l x i) 配列番号XXX (IL-12 p 4 0 (C 2 5 2 S))、l x i i) 配列番号XXX (IL-
 12 p 4 0 (D 1 8 K/E 5 9 K/K 9 9 E/C 2 5 2 S))、l x i i i) 配列番号X
 XX (IL-12 p 4 0 (D 1 8 K/E 5 9 K/K 9 9 E/C 2 5 2 S/K 2 6 4 E))、l x i v) 配列番号XXX (IL-12 p 4 0 (E 5 9 K/K 9 9 Y/C 2 5 2 S))
 、l x v) 配列番号XXX (IL-12 p 4 0 (E 5 9 K/K 9 9 E/C 2 5 2 S/K 2
 6 4 E))、l x v i) 配列番号XXX (IL-12 p 4 0 (E 5 9 K/K 9 9 E/C 2
 5 2 S))、l x v i i) 配列番号XXX (IL-12 p 4 0 (N 1 0 3 D/N 1 1 3 D
))、l x v i i i) 配列番号XXX (IL-12 p 4 0 (N 1 0 3 D/N 2 0 0 D))
 、l x i x) 配列番号XXX (IL-12 p 4 0 (N 1 0 3 D/N 2 8 1 D))、l x x
) 配列番号XXX (IL-12 p 4 0 (N 1 1 3 D/N 2 0 0 D))、l x x i) 配列番
 号XXX (IL-12 p 4 0 (N 1 1 3 D/N 2 8 1 D))、l x x i i) 配列番号XXX
 (IL-12 p 4 0 (N 2 0 0 D/N 2 8 1 D))、l x x i i i) 配列番号XXX (IL-
 12 p 5 0 (N 1 0 3 D/N 1 1 3 D/N 2 0 0 D))、l x x i v) 配列番号X
 XX (IL-12 p 4 0 (N 1 0 3 D/N 1 1 3 D/N 2 8 1 D))、l x x v) 配列番
 号XXX (IL-12 p 4 0 (N 1 0 3 D/N 2 0 0 D/N 2 8 1 D))、l x x v i)
 配列番号XXX (IL-12 p 4 0 (N 1 1 3 D/N 2 0 0 D/N 2 8 1 D))、l x x
 v i i) 配列番号XXX (IL-12 p 4 0 (N 1 0 3 Q))、l x x v i i i) 配列番
 号XXX (IL-12 p 4 0 (N 1 1 3 Q))、l x x i x) 配列番号XXX (IL-1
 2 p 4 0 (N 2 0 0 Q))、l x x x) 配列番号XXX (IL-12 p 4 0 (N 2 8 1 Q
))、l x x x i) 配列番号XXX (IL-12 p 4 0 (N 1 0 3 Q/N 1 1 3 Q))、
 l x x x i i) 配列番号XXX (IL-12 p 4 0 (N 1 0 3 Q/N 2 0 0 Q))、l x
 x x i i i) 配列番号XXX (IL-12 p 4 0 (N 1 0 3 Q/N 2 8 1 Q))、l x x
 x i v) 配列番号XXX (IL-12 p 4 0 (N 1 1 3 Q/N 2 0 0 Q))、l x x x v
) 配列番号XXX (IL-12 p 4 0 (N 1 1 3 Q/N 2 8 1 Q))、l x x x v i) 配

10

20

30

40

50

列番号XXX (IL-12p40 (N200Q/N281Q))、Lxxxvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N200Q))、Lxxxviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N281Q))、Lxxxix) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N200Q/N281Q))、xc) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q/N200Q/N281Q))、xci) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N200Q/N281Q))、xcii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D34N/E59K/K99E))、xciii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D34K/E59K/K99E))、xciv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E32Q/D34N/E59K/K99E))、xcv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E32K/D34N/E59K/K99E))、xcvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59Y/K99Y))、xcvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/C252S/K264E))、xcviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E))、xcix) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N200Q/C252S/K264E))、c) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E))、ci) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E))、cii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E))、ciii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E))、civ) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/K264E))、cv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/N281Q/C252S/K264E))、cvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、cvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/C252S/K264E))、cviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、およびcix) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E)) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0119】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p35サブユニットが、Q20、N21、Q35、E38、S44、E45、E46、H49、K54、D55、T59、V60、E61、C63、L64、P65、E67、L68、N71、S73、C74、L75、N76、E79、N85、L89、F96、M97、L124、M125、Q130、Q135、N136、E143、Q146、N151、E153、K158、E162、E163、D165、I171、R181、I182、R183、V185、T186、D188、R189、V190、S192、Y193、N195、およびA196 からなる群から選択されるアミノ酸残基として1つ以上のアミノ酸修飾を有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0120】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p35サブユニットが、N21D、Q35D、E38Q、D55Q、D55K、N71D、N71Q、L75A、N76D、E79Q、N85D、N85Q、L89A、F96A、M97A、L124A、M125A、Q130E、Q135E、N136D、E143Q、Q146E、N151D、N151K、E153K、E153Q、K158E、E162Q、E163Q、D165N、I171A、N195D、およびN195Qからなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0121】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p35サブユニットが、N71D/N85D/N195D、N151D/E153Q、N151D/D165N、Q130E/N151D、N151D/K158E、E79Q/N151D、D55Q/N151D、N136D/N151D、N21D/N151D、E143Q/N151D、N71Q/N85Q、N71Q/N195Q、N85Q/N195Q、N71Q/N85Q/N195Q、N71D/N85D、N71D/N195D、およびN85D/N195Dからなる群から選択されるアミノ酸置換を有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0122】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p35サブユニットが、i) 配列番号113 (IL-12p35 (N71D))、ii) 配列番号114 (IL-12p35 (N85D))、iii) 配列番号115 (IL-12p35 (N195D))、iv) 配列番号116 (IL-12p35 (N71D/N85D/N195D))、v) 配列番号117 (IL-12p35 (E153Q))、vi) 配列番号118 (IL-12p35 (E38Q))、vii) 配列番号119 (IL-12p35 (N151D))、viii) 配列番号120 (IL-12p35 (Q135E))、ix) 配列番号121 (IL-12p35 (Q35D))、x) 配列番号122 (IL-12p35 (Q146E))、xi) 配列番号123 (IL-12p35 (N76D))、xii) 配列番号124 (IL-12p35 (E162Q))、xiii) 配列番号125 (IL-12p35 (E163Q))、xiv) IL-12p35 (N21D)、xv) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55Q))、xvi) IL-12p35 (E79Q)、xvii) IL-12p35 (Q130E)、xviii) IL-12p35 (N136D)、xix) IL-12p35 (E143Q)、xx) 配列番号227 (IL-12p35 (N151K))、xxi) 配列番号226 (IL-12p35 (E153K))、xxii) IL-12p35 (K158E)、xxiii) IL-12p35 (D165N)、xxiv) 配列番号225 (IL-12p35 (N151D/E153Q))、xxv) 配列番号228 (IL-12p35 (N151D/D165N))、xxvi) 配列番号229 (IL-12p35 (Q130E/N151D))、xxvii) 配列番号230 (IL-12p35 (N151D/K158E))、xxviii) 配列番号231 (IL-12p35 (E79Q/N151D))、xxix) 配列番号232 (IL-12p35 (D55Q/N151D))、xxx) 配列番号233 (IL-12p35 (N136D/N151D))、xxxi) 配列番号234 (IL-12p35 (N21D/N151D))、xxxii) 配列番号235 (IL-12p35 (E143Q/N151D))、xxxiii) 配列番号XXX (IL-12p35 (F96A))、xxxiv) 配列番号XXX (IL-12p35 (M97A))、xxxv) 配列番号XXX (IL-12p35 (L89A))、xxxvi) 配列番号XXX (IL-12p35 (L124A))、xxxvii) 配列番号XXX (IL-12p35 (M125A))、xxxviii) 配列番号XXX (IL-12p35 (L75A))、xxxix) 配列番号XXX (IL-12p35 (I171A))、xl) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q))、xli) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85Q))、xlii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N195Q))、xliv) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N85Q))、xlv) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N195Q))、xlii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71D/N85D))、xliv) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71D/N195D))、xlv) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85D/N195D))、xlv) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55Q))、およびxlvii) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55K)) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

10

20

30

40

50

【0123】

いくつかの実施形態では、本発明は、対象における癌の治療における使用のためのヘテロ二量体Fc融合タンパク質を含む組成物を提供する。

【0124】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質をコードする1つ以上の核酸を提供する。

【0125】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質をコードする当該1つ以上の核酸を含む宿主細胞を提供する。

【0126】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を作製する方法を提供し、当該方法は、当該ヘテロ二量体Fc融合タンパク質が産生される条件下で宿主細胞を培養することを含む。

【0127】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を精製する方法を提供し、当該方法は、a) ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を含む組成物を提供することと、b) 当該組成物をイオン交換カラムに充填することと、c) 当該ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を含有する画分を収集することと、を含む。

【0128】

別の態様では、本発明は、a) 第1のタンパク質ドメイン、第2のタンパク質ドメイン、および第1のFcドメインを含む融合タンパク質であって、当該第1のタンパク質ドメインが、当該第1のFcドメインのC末端に結合し、当該第2のタンパク質ドメインが、当該第1のタンパク質ドメインに共有結合している、融合タンパク質と、b) 第2のFcドメインと、を含み、当該第1および当該第2のFcドメインが、当該第1および当該第2のFcドメインのヘテロ二量体化を促進する修飾を含み、当該第1のタンパク質ドメインが、IL-12p35サブユニットを含み、当該第2のタンパク質ドメインが、IL-12p40サブユニットを含む、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0129】

いくつかの実施形態では、当該第1および当該第2のFcドメインのヘテロ二量体化を促進する当該修飾が、EU付番に従って、L368D/K370SおよびS364K；L368D/K370SおよびS364K/E357L；L368D/K370SおよびS364K/E357Q；T411E/K360E/Q362EおよびD401K；L368E/K370SおよびS364K；K370SおよびS364K/E357QおよびT366S/L368A/Y407V：T366W（任意に架橋ジスルフィド、T366S/L368A/Y407V/Y349C：T366W/S354Cを含む）からなる群から選択されるアミノ酸置換のセットである、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0130】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該第1のタンパク質ドメインが、第1のドメインリンカーを使用して当該第2のタンパク質ドメインに結合し、かつ/または当該第2のタンパク質ドメインが、第2のドメインリンカーを使用して当該第1のFcドメインに結合している、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0131】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該第1および/または当該第2のFcドメインが、EU付番に従って、Q295E/N384D/Q418E/N421D、を含むアミノ酸置換の追加のセットを有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0132】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該第1および/または当該第2のFcドメインが、EU付番に従って、G236R/L328R、E233P/L234V/L235A/G236__/S239K、E233P/L234V/L235A/G236__/S239K/A327G、E233P/L234V/L235A/G236__/S267K/A

10

20

30

40

50

3 2 7 G、E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 __、および E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 __ / S 2 6 7 K からなる群から選択されるアミノ酸置換の追加のセットを有する、ヘテロ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

【0133】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 I L - 1 2 p 4 0 サブユニットが、配列番号 3 (ヒト I L - 1 2 サブユニットベータ (I L - 1 2 p 4 0) 前駆体配列) および配列番号 4 (ヒト I L - 1 2 サブユニットベータ (I L - 1 2 p 4 0) 成熟形態配列) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有し、かつ / または当該 I L - 1 2 p 3 5 サブユニットが、配列番号 1 (ヒト I L - 1 2 サブユニットアルファ (I L - 1 2 p 3 5) 前駆体配列) および配列番号 2 (ヒト I L - 1 2 サブユニットアルファ (I L - 1 2 p 3 5) 成熟形態配列) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ヘテロ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

10

【0134】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該第 1 および第 2 の F c ドメインが、アミノ酸置換 M 4 2 8 L / N 4 2 4 S をさらに含む、ヘテロ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

【0135】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 I L - 1 2 p 4 0 サブユニットが、バリエーション I L - 1 2 p 4 0 サブユニットであり、かつ / または当該 I L - 1 2 p 3 5 サブユニットが、バリエーション I L - 1 2 p 3 5 サブユニットである、ヘテロ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

20

【0136】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 I L - 1 2 p 4 0 サブユニットが、I L - 1 2 受容体サブユニットベーター 1 (I L - 1 2 R β 1)、I L - 1 2 受容体サブユニットベーター 2 (I L - 1 2 R β 2)、および / もしくは I L - 1 2 受容体複合体についての変更された親和性を有するバリエーション I L - 1 2 p 4 0 サブユニットであり、かつ / または当該 I L - 1 2 p 3 5 サブユニットが、I L - 1 2 受容体サブユニットベーター 1 (I L - 1 2 R β 1)、I L - 1 2 受容体サブユニットベーター 2 (I L - 1 2 R β 2)、および / もしくは I L - 1 2 受容体複合体についての変更された親和性を有するバリエーション I L - 1 2 p 3 5 サブユニットである、ヘテロ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

【0137】

30

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 I L - 1 2 p 4 0 サブユニットが、E 3、D 7、E 1 2、D 1 4、W 1 5、P 1 7、D 1 8、A 1 9、P 2 0、G 2 1、E 2 2、M 2 3、D 2 9、E 3 2、E 3 3、D 3 4、L 4 0、D 4 1、Q 4 2、S 4 3、E 4 5、L 4 7、T 5 4、I 5 5、Q 5 6、K 5 8、E 5 9、F 6 0、G 6 1、D 6 2、Q 6 5、Y 6 6、E 7 3、K 8 4、E 8 6、D 8 7、G 8 8、I 8 9、W 9 0、D 9 3、D 9 7、K 9 9、E 1 0 0、K 1 0 2、N 1 0 3、K 1 0 4、F 1 0 6、E 1 1 0、N 1 1 3、Y 1 1 4、D 1 2 9、D 1 4 2、Q 1 4 4、E 1 5 6、R 1 5 9、D 1 6 1、N 1 6 2、K 1 6 3、D 1 6 6、D 1 7 0、Q 1 7 2、D 1 7 4、A 1 7 6、C 1 7 7、P 1 7 8、A 1 7 9、A 1 8 0、E 1 8 1、S 1 8 3、P 1 8 5、E 1 8 7、N 2 0 0、S 2 0 4、F 2 0 6、R 2 0 8、D 2 0 9、D 2 1 4、N 2 1 8、Q 2 2 0、N 2 2 6、Q 2 2 9、E 2 3 1、E 2 3 5、T 2 4 2、P 2 4 3、S 2 4 5、Y 2 4 6、F 2 4 7、S 2 4 8、C 2 5 2、Q 2 5 6、K 2 5 8、K 2 6 0、E 2 6 2、K 2 6 4、D 2 6 5、D 2 7 0、N 2 8 1、Q 2 8 9、D 2 9 0、R 2 9 1、Y 2 9 2、Y 2 9 3、および E 2 9 9 からなる群から選択されるアミノ酸残基で 1 つ以上のアミノ酸修飾を有する、ヘテロ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

40

【0138】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 I L - 1 2 p 4 0 サブユニットが、D 1 8 N、D 1 8 K、E 3 2 Q、E 3 3 Q、D 3 4 N、D 3 4 K、Q 4 2 E、S 4 3 E、S 4 3 K、E 4 5 Q、Q 5 6 E、E 5 9 Q、E 5 9 K、D 6 2 N、E 7 3 Q、D 8 7 N、K 9 9 E、K 9 9 Y、E 1 0 0 Q、N 1 0 3 D、N 1 0 3 Q、N 1 1 3 D、N 1 1 3 Q、Q 1 4 4

50

E、D161N、R159E、K163E、E187Q、N200D、N200Q、N218Q、Q229E、E235Q、C252S、Q256N、K258E、K260E、E262Q、K264E、N281D、N281Q、およびE299Qからなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。
【0139】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、N103D/N113D/N200D/N281D、Q42E/E45Q、E45Q/Q56E、Q42E/E59Q、Q56E/E59Q、Q42E/E45Q/Q56E、E45Q/Q56E/E59Q、E32Q/E59Q、D34N/E59K、D34N/E59K/K99E、D34K/E59K/K99E、E32Q/D34N/E59K/K99E、E32K/D34N/E59K/K99E、D34N/E59Q、E59Q/E187Q、S43E/E59Q、S43K/E49Q、E59Q/K163E、E59Q/K99E、E59Q/K258E、E59Q/K260E、E59K/K99E、D18K/E59K/K99E、E59K/K99E/K264E、E59K/K99Y、E59Y/K99Y、E59Y/K99E、E45K/E59K/K99E、E59K/K99E/Q144E、E59K/K99E/Q144K、E59K/K99E/R159E、E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/C252S、D18K/E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99Y/C252S、E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99E/C252S、N103D/N113D、N103D/N200D、N103D/N281D、N113D/N200D、N113D/N281D、N200D/N281D、N103D/N113D/N200D、N103D/N113D/N281D、N103D/N200D/N281D、N113D/N200D/N281D、N103Q/N113Q、N103Q/N200Q、N103Q/N281Q、N113Q/N200Q、N113Q/N281Q、N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N200Q、N103Q/N113Q/N281Q、N103Q/N200Q/N281Q、N113Q/N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N200Q/N281Q、E59K/K99E/N103Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、およびE59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264Eからなる群から選択されるアミノ酸置換を有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0140】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、i) 配列番号57 (IL-12p40 (N103D))、ii) 配列番号58 (IL-12p40 (N113D))、iii) 配列番号59 (IL-12p40 (N200D))、iv) 配列番号60 (IL-12p40 (N281D))、v) 配列番号61 (IL-12p40 (N103D/N113D/N200D/N281D))、vi) 配列番号62 (IL-12p40 (Q42E))、vii) 配列番号63 (IL-12p40 (E45Q))、viii) 配列番号64 (IL-12p40 (Q56E))、ix) 配列番号65 (IL-12p40 (E59Q))、x) 配列番号66 (IL-12p40 (D62N))、

10

20

30

40

50

x i) 配列番号 67 (IL-12 p 40 (Q 42 E / E 45 Q))、x i i) 配列番号 68 (IL-12 p 40 (E 45 Q / Q 56 E))、x i i i) 配列番号 69 (IL-12 p 40 (Q 42 E / E 59 Q))、x i v) 配列番号 70 (IL-12 p 40 (Q 56 E / E 59 Q))、x v) 配列番号 71 (IL-12 p 40 (Q 42 E / E 45 Q / Q 56 E))、x v i) 配列番号 72 (IL-12 p 40 (E 45 Q / Q 56 E / E 59 Q))、x v i i) 配列番号 73 (IL-12 p 40 (D 161 N))、x v i i i) 配列番号 74 (IL-12 p 40 (E 73 Q))、x i x) 配列番号 75 (IL-12 p 40 (Q 144 E))、x x) 配列番号 76 (IL-12 p 40 (E 262 Q))、x x i) 配列番号 77 (IL-12 p 40 (E 100 Q))、x x i i) 配列番号 78 (IL-12 p 40 (D 18 N))、x x i i i) 配列番号 79 (IL-12 p 40 (E 33 Q))、x x i v) 配列番号 80 (IL-12 p 40 (Q 229 E))、x x v) 配列番号 81 (IL-12 p 40 (E 235 Q))、x x v i) 配列番号 82 (IL-12 p 40 (Q 256 N))、x x v i i) 配列番号 83 (IL-12 p 40 (E 299 Q))、x x v i i i) 配列番号 84 (IL-12 p 40 (D 87 N))、x x i x) IL-12 p 40 (E 32 Q)、x x x) IL-12 p 40 (D 34 N)、x x x i) IL-12 p 40 (S 43 E)、x x x i i) IL-12 p 40 (S 43 K)、x x x i i i) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (E 59 K / K 99 E / N 103 Q / N 113 Q / N 200 Q / N 281 Q / C 252 S / K 264 E))、x x x i v) 配列番号 205 (IL-12 p 40 (E 59 K))、x x x v) IL-12 p 40 (K 99 E)、x x x v i) IL-12 p 40 (K 163 E)、x x x v i i) IL-12 p 40 (E 187 Q)、x x x v i i i) IL-12 p 40 (K 258 E)、x x x i x) IL-12 p 40 (K 260 E)、x l) 配列番号 206 (IL-12 p 40 (E 32 Q / E 59 Q))、x l i) 配列番号 207 (IL-12 p 40 (D 34 N / E 59 Q))、x l i i) 配列番号 208 (IL-12 p 40 (E 59 Q / E 187 Q))、x l i i i) 配列番号 209 (IL-12 p 40 (S 43 E / E 59 Q))、x l i v) 配列番号 210 (IL-12 p 40 (S 43 K / E 49 Q))、x l v) 配列番号 211 (IL-12 p 40 (E 59 Q / K 163 E))、x l v i) 配列番号 212 (IL-12 p 40 (E 59 Q / K 99 E))、x l v i i) 配列番号 213 (IL-12 p 40 (E 59 Q / K 258 E))、x l v i i i) 配列番号 214 (IL-12 p 40 (E 59 Q / K 260 E))、x l i x) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (D 34 N / E 59 K))、l) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (E 59 K / K 99 E))、l i) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (D 18 K / E 59 K / K 99 E))、l i i) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (E 59 K / K 99 E / K 264 E))、l i i i) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (E 59 K / K 99 Y))、l i v) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (E 59 Y / K 99 E))、l v) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (E 45 K / E 59 K / K 99 E))、l v i) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (E 59 K / K 99 E / Q 144 E))、l v i i) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (E 59 K / K 99 E / Q 144 K))、l v i i i) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (E 59 K / K 99 E / R 159 E))、l i x) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (E 59 K / K 99 E / K 264 E))、l x) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (D 18 K / E 59 K / K 99 E / K 264 E))、l x i) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (C 252 S))、l x i i) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (D 18 K / E 59 K / K 99 E / C 252 S))、l x i i i) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (D 18 K / E 59 K / K 99 E / C 252 S / K 264 E))、l x i v) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (E 59 K / K 99 Y / C 252 S))、l x v) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (E 59 K / K 99 E / C 252 S / K 264 E))、l x v i) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (E 59 K / K 99 E / C 252 S))、l x v i i) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (N 103 D / N 113 D))、l x v i i i) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (N 103 D / N 200 D))、l x i x) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (N 103 D / N 281 D))、l x x) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (N 113 D / N 200 D))、l x x i) 配列番

10

20

30

40

50

号XXX (IL-12p40 (N113D/N281D))、lxxii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N200D/N281D))、lxxiii) 配列番号XXX (IL-12p50 (N103D/N113D/N200D))、lxxiv) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N113D/N281D))、lxxv) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N200D/N281D))、lxxvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113D/N200D/N281D))、lxxvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q))、lxxviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q))、lxxix) 配列番号XXX (IL-12p40 (N200Q))、lxxx) 配列番号XXX (IL-12p40 (N281Q))、lxxxi) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q))、lxxxii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N200Q))、lxxxiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N281Q))、lxxxiv) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q/N200Q))、lxxxv) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q/N281Q))、lxxxvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (N200Q/N281Q))、lxxxvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N200Q))、lxxxviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N281Q))、lxxxix) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N200Q/N281Q))、xc) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q/N200Q/N281Q))、xci) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N200Q/N281Q))、xcii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D34N/E59K/K99E))、xciii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D34K/E59K/K99E))、xciv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E32Q/D34N/E59K/K99E))、xcv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E32K/D34N/E59K/K99E))、xcvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59Y/K99Y))、xcvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/C252S/K264E))、xcviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E))、xcix) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N200Q/C252S/K264E))、c) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E))、ci) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E))、cii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E))、ciii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264E))、civ) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/K264E))、cv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/N281Q/C252S/K264E))、cvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、cvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/C252S/K264E))、cviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、およびcix) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E)) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0141】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p35サブユニットが、Q20、N21、Q35、E38、S44、E45、E46、H49、K54、D55、T59、V60、E61、C63、L64、P65、E67、L68、N71、S73、C74、L75、N76、E79、N85、L89、F96、M97、L124、M125、Q1

30、Q135、N136、E143、Q146、N151、E153、K158、E162、E163、D165、I171、R181、I182、R183、V185、T186、D188、R189、V190、S192、Y193、N195、およびA196からなる群から選択されるアミノ酸残基として1つ以上のアミノ酸修飾を有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0142】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p35サブユニットが、N21D、Q35D、E38Q、D55Q、D55K、N71D、N71Q、L75A、N76D、E79Q、N85D、N85Q、L89A、F96A、M97A、L124A、M125A、Q130E、Q135E、N136D、E143Q、Q146E、N151D、N151K、E153K、E153Q、K158E、E162Q、E163Q、D165N、I171A、N195D、およびN195Qからなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0143】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p35サブユニットが、N71D/N85D/N195D、N151D/E153Q、N151D/D165N、Q130E/N151D、N151D/K158E、E79Q/N151D、D55Q/N151D、N136D/N151D、N21D/N151D、E143Q/N151D、N71Q/N85Q、N71Q/N195Q、N85Q/N195Q、N71Q/N85Q/N195Q、N71D/N85D、N71D/N195D、およびN85D/N195Dからなる群から選択されるアミノ酸置換を有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0144】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p35サブユニットが、i) 配列番号113 (IL-12p35 (N71D))、ii) 配列番号114 (IL-12p35 (N85D))、iii) 配列番号115 (IL-12p35 (N195D))、iv) 配列番号116 (IL-12p35 (N71D/N85D/N195D))、v) 配列番号117 (IL-12p35 (E153Q))、vi) 配列番号118 (IL-12p35 (E38Q))、vii) 配列番号119 (IL-12p35 (N151D))、viii) 配列番号120 (IL-12p35 (Q135E))、ix) 配列番号121 (IL-12p35 (Q35D))、x) 配列番号122 (IL-12p35 (Q146E))、xi) 配列番号123 (IL-12p35 (N76D))、xii) 配列番号124 (IL-12p35 (E162Q))、xiii) 配列番号125 (IL-12p35 (E163Q))、xiv) IL-12p35 (N21D)、xv) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55Q))、xvi) IL-12p35 (E79Q)、xvii) IL-12p35 (Q130E)、xviii) IL-12p35 (N136D)、xix) IL-12p35 (E143Q)、xx) 配列番号227 (IL-12p35 (N151K))、xxi) 配列番号226 (IL-12p35 (E153K))、xxii) IL-12p35 (K158E)、xxiii) IL-12p35 (D165N)、xxiv) 配列番号225 (IL-12p35 (N151D/E153Q))、xxv) 配列番号228 (IL-12p35 (N151D/D165N))、xxvi) 配列番号229 (IL-12p35 (Q130E/N151D))、xxvii) 配列番号230 (IL-12p35 (N151D/K158E))、xxviii) 配列番号231 (IL-12p35 (E79Q/N151D))、xxix) 配列番号232 (IL-12p35 (D55Q/N151D))、xxx) 配列番号233 (IL-12p35 (N136D/N151D))、xxxi) 配列番号234 (IL-12p35 (N21D/N151D))、xxxii) 配列番号235 (IL-12p35 (E143Q/N151D))、xxxiii) 配列番号XXX (IL-12p35 (F96A))、xxxiv) 配列番号XXX (IL-12p35 (M97A))、xxxv) 配列番号XXX (IL-12p35 (L89A))、xxxvi) 配列番号XXX (IL-12p35 (L124A))

、xxxvii) 配列番号XXX (IL-12p35 (M125A))、xxxviii) 配列番号XXX (IL-12p35 (L75A))、xxxix) 配列番号XXX (IL-12p35 (I171A))、xxxv) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q))、xxxvi) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85Q))、xxxvii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N195Q))、xxxviii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N85Q))、xxxix) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N195Q))、xl) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85Q/N195Q))、xli) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N85Q/N195Q))、xlii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71D/N85D))、xliii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71D/N195D))、xliv) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85D/N195D))、xlv) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55Q))、およびxlvii) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55K)) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0145】

いくつかの実施形態では、本発明は、対象における癌の治療における使用のためのヘテロ二量体Fc融合タンパク質を含む組成物を提供する。

【0146】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質をコードする1つ以上の核酸を提供する。

【0147】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質をコードする当該1つ以上の核酸を含む宿主細胞を提供する。

【0148】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を作製する方法を提供し、当該方法は、当該ヘテロ二量体Fc融合タンパク質が産生される条件下で宿主細胞を培養することを含む。

【0149】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を精製する方法を提供し、当該方法は、a) ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を含む組成物を提供することと、b) 当該組成物をイオン交換カラムに充填することと、c) 当該ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を含有する画分を収集することと、を含む。

【0150】

別の態様では、本発明は、a) IL-12p40サブユニット、およびb) IL-12p35サブユニットを含むヘテロ二量体複合体を提供する。

【0151】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、ドメインリンカーを使用して当該IL-12p35サブユニットに共有結合している、ヘテロ二量体複合体を提供する。

【0152】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、配列番号3 (ヒトIL-12サブユニットベータ (IL-12p40) 前駆体配列) および配列番号4 (ヒトIL-12サブユニットベータ (IL-12p40) 成熟形態配列) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有し、かつ/または当該IL-12p35サブユニットが、配列番号1 (ヒトIL-12サブユニットアルファ (IL-12p35) 前駆体配列) および配列番号2 (ヒトIL-12サブユニットアルファ (IL-12p35) 成熟形態配列) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ヘテロ二量体複合体を提供する。

【0153】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該第1および第2のFcドメインが、アミノ酸

10

20

30

40

50

置換 M 4 2 8 L / N 4 2 4 S をさらに含む、ヘテロ二量体複合体を提供する。

【0154】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 I L - 1 2 p 4 0 サブユニットが、バリエーション I L - 1 2 p 4 0 サブユニットであり、かつ／または当該 I L - 1 2 p 3 5 サブユニットが、バリエーション I L - 1 2 p 3 5 サブユニットである、ヘテロ二量体複合体を提供する。

【0155】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 I L - 1 2 p 4 0 サブユニットが、I L - 1 2 受容体サブユニットベクター 1 (I L - 1 2 R β 1)、I L - 1 2 受容体サブユニットベクター 2 (I L - 1 2 R β 2)、および／もしくは I L - 1 2 受容体複合体についての変更された親和性を有するバリエーション I L - 1 2 p 4 0 サブユニットであり、かつ／または当該 I L - 1 2 p 3 5 サブユニットが、I L - 1 2 受容体サブユニットベクター 1 (I L - 1 2 R β 1)、I L - 1 2 受容体サブユニットベクター 2 (I L - 1 2 R β 2)、および／もしくは I L - 1 2 受容体複合体についての変更された親和性を有するバリエーション I L - 1 2 p 3 5 サブユニットである、ヘテロ二量体複合体を提供する。

【0156】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 I L - 1 2 p 4 0 サブユニットが、E 3、D 7、E 1 2、D 1 4、W 1 5、P 1 7、D 1 8、A 1 9、P 2 0、G 2 1、E 2 2、M 2 3、D 2 9、E 3 2、E 3 3、D 3 4、L 4 0、D 4 1、Q 4 2、S 4 3、E 4 5、L 4 7、T 5 4、I 5 5、Q 5 6、K 5 8、E 5 9、F 6 0、G 6 1、D 6 2、Q 6 5、Y 6 6、E 7 3、K 8 4、E 8 6、D 8 7、G 8 8、I 8 9、W 9 0、D 9 3、D 9 7、K 9 9、E 1 0 0、K 1 0 2、N 1 0 3、K 1 0 4、F 1 0 6、E 1 1 0、N 1 1 3、Y 1 1 4、D 1 2 9、D 1 4 2、Q 1 4 4、E 1 5 6、R 1 5 9、D 1 6 1、N 1 6 2、K 1 6 3、D 1 6 6、D 1 7 0、Q 1 7 2、D 1 7 4、A 1 7 6、C 1 7 7、P 1 7 8、A 1 7 9、A 1 8 0、E 1 8 1、S 1 8 3、P 1 8 5、E 1 8 7、N 2 0 0、S 2 0 4、F 2 0 6、R 2 0 8、D 2 0 9、D 2 1 4、N 2 1 8、Q 2 2 0、N 2 2 6、Q 2 2 9、E 2 3 1、E 2 3 5、T 2 4 2、P 2 4 3、S 2 4 5、Y 2 4 6、F 2 4 7、S 2 4 8、C 2 5 2、Q 2 5 6、K 2 5 8、K 2 6 0、E 2 6 2、K 2 6 4、D 2 6 5、D 2 7 0、N 2 8 1、Q 2 8 9、D 2 9 0、R 2 9 1、Y 2 9 2、Y 2 9 3、および E 2 9 9 からなる群から選択されるアミノ酸残基で 1 つ以上のアミノ酸修飾を有する、ヘテロ二量体複合体を提供する。

【0157】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 I L - 1 2 p 4 0 サブユニットが、D 1 8 N、D 1 8 K、E 3 2 Q、E 3 3 Q、D 3 4 N、D 3 4 K、Q 4 2 E、S 4 3 E、S 4 3 K、E 4 5 Q、Q 5 6 E、E 5 9 Q、E 5 9 K、D 6 2 N、E 7 3 Q、D 8 7 N、K 9 9 E、K 9 9 Y、E 1 0 0 Q、N 1 0 3 D、N 1 0 3 Q、N 1 1 3 D、N 1 1 3 Q、Q 1 4 4 E、D 1 6 1 N、R 1 5 9 E、K 1 6 3 E、E 1 8 7 Q、N 2 0 0 D、N 2 0 0 Q、N 2 1 8 Q、Q 2 2 9 E、E 2 3 5 Q、C 2 5 2 S、Q 2 5 6 N、K 2 5 8 E、K 2 6 0 E、E 2 6 2 Q、K 2 6 4 E、N 2 8 1 D、N 2 8 1 Q、および E 2 9 9 Q からなる群から選択される 1 つ以上のアミノ酸置換を有する、ヘテロ二量体複合体を提供する。

【0158】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 I L - 1 2 p 4 0 サブユニットが、N 1 0 3 D / N 1 1 3 D / N 2 0 0 D / N 2 8 1 D、Q 4 2 E / E 4 5 Q、E 4 5 Q / Q 5 6 E、Q 4 2 E / E 5 9 Q、Q 5 6 E / E 5 9 Q、Q 4 2 E / E 4 5 Q / Q 5 6 E、E 4 5 Q / Q 5 6 E / E 5 9 Q、E 3 2 Q / E 5 9 Q、D 3 4 N / E 5 9 K、D 3 4 N / E 5 9 K / K 9 9 E、D 3 4 K / E 5 9 K / K 9 9 E、E 3 2 Q / D 3 4 N / E 5 9 K / K 9 9 E、E 3 2 K / D 3 4 N / E 5 9 K / K 9 9 E、D 3 4 N / E 5 9 Q、E 5 9 Q / E 1 8 7 Q、S 4 3 E / E 5 9 Q、S 4 3 K / E 4 9 Q、E 5 9 Q / K 1 6 3 E、E 5 9 Q / K 9 9 E、E 5 9 Q / K 2 5 8 E、E 5 9 Q / K 2 6 0 E、E 5 9 K / K 9 9 E、D 1 8 K / E 5 9 K / K 9 9 E、E 5 9 K / K 9 9 E / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 Y、E 5 9 Y / K 9 9 Y、E 5 9 Y / K 9 9 E、E 4 5 K / E 5 9 K / K 9 9 E、E 5 9 K / K 9 9 E /

Q144E、E59K/K99E/Q144K、E59K/K99E/R159E、E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/C252S、D18K/E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99Y/C252S、E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99E/C252S、N103D/N113D、N103D/N200D、N103D/N281D、N113D/N200D、N113D/N281D、N200D/N281D、N103D/N113D/N200D、N103D/N113D/N281D、N103D/N200D/N281D、N113D/N200D/N281D、N103Q/N113Q、N103Q/N200Q、N103Q/N281Q、N113Q/N200Q、N113Q/N281Q、N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N200Q、N103Q/N113Q/N281Q、N103Q/N200Q/N281Q、N113Q/N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N200Q/N281Q、E59K/K99E/N103Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、およびE59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264Eからなる群から選択されるアミノ酸置換を有する、ヘテロ二量体複合体を提供する。

【0159】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、i) 配列番号57 (IL-12p40 (N103D))、ii) 配列番号58 (IL-12p40 (N113D))、iii) 配列番号59 (IL-12p40 (N200D))、iv) 配列番号60 (IL-12p40 (N281D))、v) 配列番号61 (IL-12p40 (N103D/N113D/N200D/N281D))、vi) 配列番号62 (IL-12p40 (Q42E))、vii) 配列番号63 (IL-12p40 (E45Q))、viii) 配列番号64 (IL-12p40 (Q56E))、ix) 配列番号65 (IL-12p40 (E59Q))、x) 配列番号66 (IL-12p40 (D62N))、xi) 配列番号67 (IL-12p40 (Q42E/E45Q))、xii) 配列番号68 (IL-12p40 (E45Q/Q56E))、xiii) 配列番号69 (IL-12p40 (Q42E/E59Q))、xiv) 配列番号70 (IL-12p40 (Q56E/E59Q))、xv) 配列番号71 (IL-12p40 (Q42E/E45Q/Q56E))、xvi) 配列番号72 (IL-12p40 (E45Q/Q56E/E59Q))、xvii) 配列番号73 (IL-12p40 (D161N))、xviii) 配列番号74 (IL-12p40 (E73Q))、xix) 配列番号75 (IL-12p40 (Q144E))、xx) 配列番号76 (IL-12p40 (E262Q))、xxi) 配列番号77 (IL-12p40 (E100Q))、xxii) 配列番号78 (IL-12p40 (D18N))、xxiii) 配列番号79 (IL-12p40 (E33Q))、xxiv) 配列番号80 (IL-12p40 (Q229E))、xxv) 配列番号81 (IL-12p40 (E235Q))、xxvi) 配列番号82 (IL-12p40 (Q256N))、xxvii) 配列番号83 (IL-12p40 (E299Q))、xxviii) 配列番号84 (IL-12p40 (D87N))、xxix) IL-12p40 (E32Q)、xxx) IL-12p40 (D34N)、xxxi) IL-12p40 (S4

3E)、xxxii) IL-12p40 (S43K)、xxxiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、xxxiv) 配列番号205 (IL-12p40 (E59K))、xxxv) IL-12p40 (K99E)、xxxvi) IL-12p40 (K163E)、xxxvii) IL-12p40 (E187Q)、xxxviii) IL-12p40 (K258E)、xxxix) IL-12p40 (K260E)、xl) 配列番号206 (IL-12p40 (E32Q/E59Q))、xli) 配列番号207 (IL-12p40 (D34N/E59Q))、xlii) 配列番号208 (IL-12p40 (E59Q/E187Q))、xliii) 配列番号209 (IL-12p40 (S43E/E59Q))、xliv) 配列番号210 (IL-12p40 (S43K/E49Q))、xlv) 配列番号211 (IL-12p40 (E59Q/K163E))、xlvi) 配列番号212 (IL-12p40 (E59Q/K99E))、xlvii) 配列番号213 (IL-12p40 (E59Q/K258E))、xlviii) 配列番号214 (IL-12p40 (E59Q/K260E))、xlix) 配列番号XXX (IL-12p40 (D34N/E59K))、l) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E))、li) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E))、lii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/K264E))、liii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99Y))、liv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59Y/K99E))、lv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E45K/E59K/K99E))、lvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/Q144E))、lvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/Q144K))、lviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/R159E))、lix) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/K264E))、lx) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/K264E))、lxi) 配列番号XXX (IL-12p40 (C252S))、lxii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/C252S))、lxiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/C252S/K264E))、lxiv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99Y/C252S))、lxv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/C252S/K264E))、lxvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/C252S))、lxvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N113D))、lxviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N200D))、lxix) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N281D))、lxx) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113D/N200D))、lxxi) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113D/N281D))、lxxii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N200D/N281D))、lxxiii) 配列番号XXX (IL-12p50 (N103D/N113D/N200D))、lxxiv) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N113D/N281D))、lxxv) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N200D/N281D))、lxxvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113D/N200D/N281D))、lxxvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q))、lxxviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q))、lxxix) 配列番号XXX (IL-12p40 (N200Q))、lxxx) 配列番号XXX (IL-12p40 (N281Q))、lxxxi) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q))、lxxxii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N200Q))、lxxxiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N281Q))、lxxxiv) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q/N200Q))、lxxxv) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q/N281Q))、lxxxvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (N200Q/N281Q))、lxxxvii) 配列

10

20

30

40

50

番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N200Q))、Lxxxv
 iii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N281Q))
 、Lxxxix) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N200Q/N28
 1Q))、xc) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q/N200Q/N28
 1Q))、xci) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N2
 00Q/N281Q))、xcii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D34N/E
 59K/K99E))、xciii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D34K/E
 59K/K99E))、xciv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E32Q/D3
 4N/E59K/K99E))、xcv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E32K
 /D34N/E59K/K99E))、xcvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E
 59Y/K99Y))、xcvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/
 K99E/N103Q/C252S/K264E))、xcviii) 配列番号XXX (IL-
 12p40 (E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E))、xcix)
 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N200Q/C25
 2S/K264E))、c) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/
 N281Q/C252S/K264E))、ci) 配列番号XXX (IL-12p40 (E
 59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E))、cii)
 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N200Q/C
 252S/K264E))、ciii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/
 K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264E))、civ) 配列番号X
 XX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/
 K264E))、cv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N1
 13Q/N281Q/C252S/K264E))、cvi) 配列番号XXX (IL-1
 2p40 (E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E))
 、cvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N
 113Q/N200Q/C252S/K264E))、cviii) 配列番号XXX (IL-
 12p40 (E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252
 S/K264E))、およびcix) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K
 99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E)) からなる群
 から選択されるポリペプチド配列を有する、ヘテロ二量体複合体を提供する。

10

20

30

【0160】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p35サブユニットが、Q20、
 N21、Q35、E38、S44、E45、E46、H49、K54、D55、T59、
 V60、E61、C63、L64、P65、E67、L68、N71、S73、C74、
 L75、N76、E79、N85、L89、F96、M97、L124、M125、Q1
 30、Q135、N136、E143、Q146、N151、E153、K158、E1
 62、E163、D165、I171、R181、I182、R183、V185、T1
 86、D188、R189、V190、S192、Y193、N195、およびA196
 からなる群から選択されるアミノ酸残基として1つ以上のアミノ酸修飾を有する、ヘテロ
 二量体複合体を提供する。

40

【0161】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p35サブユニットが、N21D
 、Q35D、E38Q、D55Q、D55K、N71D、N71Q、L75A、N76D
 、E79Q、N85D、N85Q、L89A、F96A、M97A、L124A、M12
 5A、Q130E、Q135E、N136D、E143Q、Q146E、N151D、N
 151K、E153K、E153Q、K158E、E162Q、E163Q、D165N
 、I171A、N195D、およびN195Qからなる群から選択される1つ以上のアミ
 ノ酸置換を有する、ヘテロ二量体複合体を提供する。

【0162】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p35サブユニットが、N71D

50

／N85D／N195D、N151D／E153Q、N151D／D165N、Q130E／N151D、N151D／K158E、E79Q／N151D、D55Q／N151D、N136D／N151D、N21D／N151D、E143Q／N151D、N71Q／N85Q、N71Q／N195Q、N85Q／N195Q、N71Q／N85Q／N195Q、N71D／N85D、N71D／N195D、およびN85D／N195Dからなる群から選択されるアミノ酸置換を有する、ヘテロ二量体複合体を提供する。

【0163】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p35サブユニットが、i) 配列番号113 (IL-12p35 (N71D))、ii) 配列番号114 (IL-12p35 (N85D))、iii) 配列番号115 (IL-12p35 (N195D))、iv) 配列番号116 (IL-12p35 (N71D／N85D／N195D))、v) 配列番号117 (IL-12p35 (E153Q))、vi) 配列番号118 (IL-12p35 (E38Q))、vii) 配列番号119 (IL-12p35 (N151D))、viii) 配列番号120 (IL-12p35 (Q135E))、ix) 配列番号121 (IL-12p35 (Q35D))、x) 配列番号122 (IL-12p35 (Q146E))、xi) 配列番号123 (IL-12p35 (N76D))、xii) 配列番号124 (IL-12p35 (E162Q))、xiii) 配列番号125 (IL-12p35 (E163Q))、xiv) IL-12p35 (N21D)、xv) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55Q))、xvi) IL-12p35 (E79Q)、xvii) IL-12p35 (Q130E)、xviii) IL-12p35 (N136D)、xix) IL-12p35 (E143Q)、xx) 配列番号227 (IL-12p35 (N151K))、xxi) 配列番号226 (IL-12p35 (E153K))、xxii) IL-12p35 (K158E)、xxiii) IL-12p35 (D165N)、xxiv) 配列番号225 (IL-12p35 (N151D／E153Q))、xxv) 配列番号228 (IL-12p35 (N151D／D165N))、xxvi) 配列番号229 (IL-12p35 (Q130E／N151D))、xxvii) 配列番号230 (IL-12p35 (N151D／K158E))、xxviii) 配列番号231 (IL-12p35 (E79Q／N151D))、xxix) 配列番号232 (IL-12p35 (D55Q／N151D))、xxx) 配列番号233 (IL-12p35 (N136D／N151D))、xxxi) 配列番号234 (IL-12p35 (N21D／N151D))、xxxii) 配列番号235 (IL-12p35 (E143Q／N151D))、xxxiii) 配列番号XXX (IL-12p35 (F96A))、xxxiv) 配列番号XXX (IL-12p35 (M97A))、xxxv) 配列番号XXX (IL-12p35 (L89A))、xxxvi) 配列番号XXX (IL-12p35 (L124A))、xxxvii) 配列番号XXX (IL-12p35 (M125A))、xxxviii) 配列番号XXX (IL-12p35 (L75A))、xxxix) 配列番号XXX (IL-12p35 (I171A))、xxxv) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q))、xxxvi) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85Q))、xxxvii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N195Q))、xxxviii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q／N85Q))、xxxix) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q／N195Q))、xl) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85Q／N195Q))、xli) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71D／N85D))、xlii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71D／N195D))、xliii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85D／N195D))、xliv) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55Q))、およびxlv) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55K))からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ヘテロ二量体複合体を提供する。

【0164】

いくつかの実施形態では、本発明は、対象における癌の治療における使用のためのヘテ

10

20

30

40

50

口二量体複合体を含む組成物を提供する。

【0165】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヘテロ二量体複合体をコードする1つ以上の核酸を提供する。

【0166】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヘテロ二量体複合体をコードする当該1つ以上の核酸を含む宿主細胞を提供する。

【0167】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヘテロ二量体複合体を作製する方法を提供し、当該方法は、当該ヘテロ二量体複合体が産生される条件下で宿主細胞を培養することを含む。

【0168】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヘテロ二量体複合体を精製する方法を提供し、当該方法は、a) ヘテロ二量体複合体を含む組成物を提供することと、b) 当該組成物をイオン交換カラムに充填することと、c) 当該ヘテロ二量体複合体を含有する画分を収集することと、を含む。

【0169】

別の態様では、本発明は、IL-12受容体サブユニットベクター1 (IL-12R β 1)、IL-12受容体サブユニットベクター2 (IL-12R β 2)、および／またはIL-12受容体複合体についての変更された親和性を有するバリエーションIL-12p40サブユニットを提供する。

【0170】

いくつかの実施形態では、本発明は、バリエーションIL-12p40サブユニットを提供し、当該バリエーションIL-12p40サブユニットは、E3、D7、E12、D14、W15、P17、D18、A19、P20、G21、E22、M23、D29、E32、E33、D34、L40、D41、Q42、S43、E45、L47、T54、I55、Q56、K58、E59、F60、G61、D62、Q65、Y66、E73、K84、E86、D87、G88、I89、W90、D93、D97、K99、E100、K102、N103、K104、F106、E110、N113、Y114、D129、D142、Q144、E156、R159、D161、N162、K163、D166、D170、Q172、D174、A176、C177、P178、A179、A180、E181、S183、P185、E187、N200、S204、F206、R208、D209、D214、N218、Q220、N226、Q229、E231、E235、T242、P243、S245、Y246、F247、S248、Q256、C252、K258、K260、E262、K264、D265、D270、N281、Q289、D290、R291、Y292、Y293、およびE299からなる群から選択されるアミノ酸残基で1つ以上のアミノ酸修飾を有する。

いくつかの実施形態では、本発明は、バリエーションIL-12p40サブユニットを提供し、当該バリエーションIL-12p40サブユニットは、D18N、D18K、E32Q、E33Q、D34N、D34K、Q42E、S43E、S43K、E45Q、Q56E、E59Q、E59K、D62N、E73Q、D87N、K99E、K99Y、E100Q、N103D、N103Q、N113D、N113Q、Q144E、D161N、R159E、K163E、E187Q、N200D、N200Q、N218Q、Q229E、E235Q、C252S、Q256N、K258E、K260E、E262Q、K264E、N281D、N281Q、およびE299Qからなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を有する。

【0171】

いくつかの実施形態では、本発明は、バリエーションIL-12p40サブユニットを提供し、当該バリエーションIL-12p40サブユニットは、N103D/N113D/N200D/N281D、Q42E/E45Q、E45Q/Q56E、Q42E/E59Q、Q56E/E59Q、Q42E/E45Q/Q56E、E45Q/Q56E/E59Q、E

3 2 Q / E 5 9 Q、D 3 4 N / E 5 9 K、D 3 4 N / E 5 9 K / K 9 9 E、D 3 4 K / E 5 9 K / K 9 9 E、E 3 2 Q / D 3 4 N / E 5 9 K / K 9 9 E、E 3 2 K / D 3 4 N / E 5 9 K / K 9 9 E、D 3 4 N / E 5 9 Q、E 5 9 Q / E 1 8 7 Q、S 4 3 E / E 5 9 Q、S 4 3 K / E 4 9 Q、E 5 9 Q / K 1 6 3 E、E 5 9 Q / K 9 9 E、E 5 9 Q / K 2 5 8 E、E 5 9 Q / K 2 6 0 E、E 5 9 K / K 9 9 E、D 1 8 K / E 5 9 K / K 9 9 E、E 5 9 K / K 9 9 E / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 Y、E 5 9 Y / K 9 9 Y、E 5 9 Y / K 9 9 E、E 4 5 K / E 5 9 K / K 9 9 E、E 5 9 K / K 9 9 E / Q 1 4 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / Q 1 4 4 K、E 5 9 K / K 9 9 E / R 1 5 9 E、E 5 9 K / K 9 9 E / K 2 6 4 E、D 1 8 K / E 5 9 K / K 9 9 E / K 2 6 4 E、D 1 8 K / E 5 9 K / K 9 9 E / C 2 5 2 S、D 1 8 K / E 5 9 K / K 9 9 E / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 Y / C 2 5 2 S、E 5 9 K / K 9 9 E / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / C 2 5 2 S、N 1 0 3 D / N 1 1 3 D、N 1 0 3 D / N 2 0 0 D、N 1 0 3 D / N 2 8 1 D、N 1 1 3 D / N 2 0 0 D、N 1 1 3 D / N 2 8 1 D、N 2 0 0 D / N 2 8 1 D、N 1 0 3 D / N 1 1 3 D / N 2 0 0 D、N 1 0 3 D / N 1 1 3 D / N 2 8 1 D、N 1 0 3 D / N 2 0 0 D / N 2 8 1 D、N 1 1 3 D / N 2 0 0 D / N 2 8 1 D、N 1 0 3 Q / N 1 1 3 Q、N 1 0 3 Q / N 2 0 0 Q、N 1 0 3 Q / N 2 8 1 Q、N 1 1 3 Q / N 2 0 0 Q、N 1 1 3 Q / N 2 8 1 Q、N 2 0 0 Q / N 2 8 1 Q、N 1 0 3 Q / N 1 1 3 Q / N 2 0 0 Q、N 1 0 3 Q / N 1 1 3 Q / N 2 8 1 Q、N 1 0 3 Q / N 2 0 0 Q / N 2 8 1 Q、N 1 1 3 Q / N 2 0 0 Q / N 2 8 1 Q、N 1 0 3 Q / N 1 1 3 Q / N 2 0 0 Q / N 2 8 1 Q、E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 0 3 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 1 3 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 2 0 0 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 2 8 1 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 0 3 Q / N 1 1 3 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 0 3 Q / N 2 0 0 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 1 3 Q / N 2 0 0 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 2 0 0 Q / N 2 8 1 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 0 3 Q / N 1 1 3 Q / N 2 0 0 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 0 3 Q / N 2 0 0 Q / N 2 8 1 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 1 3 Q / N 2 0 0 Q / N 2 8 1 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、および E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 0 3 Q / N 1 1 3 Q / N 2 0 0 Q / N 2 8 1 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E からなる群から選択されるアミノ酸置換を有する。

【0172】

いくつかの実施形態では、本発明は、バリエーション IL-12 p 40 サブユニットを提供し、当該バリエーション IL-12 p 40 サブユニットは、i) 配列番号 57 (IL-12 p 40 (N103D))、ii) 配列番号 58 (IL-12 p 40 (N113D))、iii) 配列番号 59 (IL-12 p 40 (N200D))、iv) 配列番号 60 (IL-12 p 40 (N281D))、v) 配列番号 61 (IL-12 p 40 (N103D / N113D / N200D / N281D))、vi) 配列番号 62 (IL-12 p 40 (Q42E))、vii) 配列番号 63 (IL-12 p 40 (E45Q))、viii) 配列番号 64 (IL-12 p 40 (Q56E))、ix) 配列番号 65 (IL-12 p 40 (E59Q))、x) 配列番号 66 (IL-12 p 40 (D62N))、xi) 配列番号 67 (IL-12 p 40 (Q42E / E45Q))、xii) 配列番号 68 (IL-12 p 40 (E45Q / Q56E))、xiii) 配列番号 69 (IL-12 p 40 (Q42E / E59Q))、xiv) 配列番号 70 (IL-12 p 40 (Q56E / E59Q))、xv) 配列番号 71 (IL-12 p 40 (Q42E / E45Q / Q56E))、xvi) 配列番号 72 (IL-12 p 40 (E45Q / Q56E / E59Q))、xvii) 配列番号 73 (IL-12 p 40 (D161N))、xviii) 配列番号 74 (IL-12 p 40 (E73Q))、xix) 配列番号 75 (IL-12 p 40 (Q144E))、xx) 配列番号 76 (IL-12 p 40 (E262Q))、xxi) 配列番号 77 (IL-12 p

40 (E100Q))、xxii) 配列番号78 (IL-12p40 (D18N))、xxiii) 配列番号79 (IL-12p40 (E33Q))、xxiv) 配列番号80 (IL-12p40 (Q229E))、xxv) 配列番号81 (IL-12p40 (E235Q))、xxvi) 配列番号82 (IL-12p40 (Q256N))、xxvii) 配列番号83 (IL-12p40 (E299Q))、xxviii) 配列番号84 (IL-12p40 (D87N))、xxix) IL-12p40 (E32Q)、xxx) IL-12p40 (D34N)、xxxii) IL-12p40 (S43E)、xxxiii) IL-12p40 (S43K)、xxxiiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、xxxiv) 配列番号205 (IL-12p40 (E59K))、xxxv) IL-12p40 (K99E)、xxxvi) IL-12p40 (K163E)、xxxvii) IL-12p40 (E187Q)、xxxviii) IL-12p40 (K258E)、xxxix) IL-12p40 (K260E)、xl) 配列番号206 (IL-12p40 (E32Q/E59Q))、xli) 配列番号207 (IL-12p40 (D34N/E59Q))、xlii) 配列番号208 (IL-12p40 (E59Q/E187Q))、xliii) 配列番号209 (IL-12p40 (S43E/E59Q))、xliv) 配列番号210 (IL-12p40 (S43K/E49Q))、xlv) 配列番号211 (IL-12p40 (E59Q/K163E))、xlvi) 配列番号212 (IL-12p40 (E59Q/K99E))、xlvii) 配列番号213 (IL-12p40 (E59Q/K258E))、xlviii) 配列番号214 (IL-12p40 (E59Q/K260E))、xlix) 配列番号XXX (IL-12p40 (D34N/E59K))、l) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E))、li) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E))、lii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/K264E))、liii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99Y))、liv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59Y/K99E))、lv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E45K/E59K/K99E))、lvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/Q144E))、lvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/Q144K))、lviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/R159E))、lix) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/K264E))、lx) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/K264E))、lxi) 配列番号XXX (IL-12p40 (C252S))、lxii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/C252S))、lxiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/C252S/K264E))、lxiv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99Y/C252S))、lxv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/C252S/K264E))、lxvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/C252S))、lxvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N113D))、lxviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N200D))、lxix) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N281D))、lxx) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113D/N200D))、lxxii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113D/N281D))、lxxiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N200D/N281D))、lxxiiii) 配列番号XXX (IL-12p50 (N103D/N113D/N200D))、lxxiv) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N113D/N281D))、lxxv) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N200D/N281D))、lxxvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113D/N200D/N281D))、lxxvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q))、lxxviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q))、lxxix) 配列番号XXX (IL-12p40 (N200Q))

10

20

30

40

50

)、lxxx) 配列番号XXX (IL-12p40 (N281Q))、lxxx i) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q))、lxxx ii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N200Q))、lxxx iii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N281Q))、lxxx iv) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q/N200Q))、lxxx v) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q/N281Q))、lxxx vi) 配列番号XXX (IL-12p40 (N200Q/N281Q))、lxxx vii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N200Q))、lxxx viii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N281Q))、lxxx ix) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N200Q/N281Q))、xc) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q/N200Q/N281Q))、xc i) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N200Q/N281Q))、xc ii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D34N/E59K/K99E))、xc iii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D34K/E59K/K99E))、xc iv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E32Q/D34N/E59K/K99E))、xc v) 配列番号XXX (IL-12p40 (E32K/D34N/E59K/K99E))、xc vi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59Y/K99Y))、xc vii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/C252S/K264E))、xc viii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E))、xc ix) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N200Q/C252S/K264E))、c) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E))、c i) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E))、c ii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E))、c iii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264E))、c iv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/K264E))、c v) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/N281Q/C252S/K264E))、c vi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、c vii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/C252S/K264E))、c viii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、およびc ix) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E)) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する。

【0173】

いくつかの実施形態では、本発明は、バリエントIL-12p40サブユニットを含む組成物を提供する。

【0174】

いくつかの実施形態では、本発明は、バリエントIL-12p40サブユニットをコードする核酸を提供する。

【0175】

いくつかの実施形態では、本発明は、バリエントIL-12p40サブユニットをコードする当該核酸を含む宿主細胞を提供する。

【0176】

いくつかの実施形態では、本発明は、バリエントIL-12p40サブユニットを作製する方法を提供し、当該方法は、当該バリエントIL-12p40サブユニットが産生される条件下で請求項H8に記載の宿主細胞を培養することを含む。

【0177】

別の態様では、本発明は、IL-12受容体サブユニットベーター1 (IL-12R β 1)、IL-12受容体サブユニットベーター2 (IL-12R β 2)、および／またはIL-12受容体複合体についての変更された親和性を有するバリエーションIL-12p35サブユニットを提供する。

【0178】

いくつかの実施形態では、本発明は、バリエーションIL-12p35サブユニットを提供し、当該バリエーションIL-12p35サブユニットは、Q20、N21、Q35、E38、S44、E45、E46、H49、K54、D55、T59、V60、E61、C63、L64、P65、E67、L68、N71、S73、C74、L75、N76、E79、N85、L89、F96、M97、L124、M125、Q130、Q135、N136、E143、Q146、N151、E153、K158、E162、E163、D165、I171、R181、I182、R183、V185、T186、D188、R189、V190、S192、Y193、N195、およびA196からなる群から選択されるアミノ酸残基として1つ以上のアミノ酸修飾を有する。

10

【0179】

いくつかの実施形態では、本発明は、バリエーションIL-12p35サブユニットを提供し、当該バリエーションIL-12p35サブユニットは、N21D、Q35D、E38Q、D55Q、D55K、N71D、N71Q、L75A、N76D、E79Q、N85D、N85Q、L89A、F96A、M97A、L124A、M125A、Q130E、Q135E、N136D、E143Q、Q146E、N151D、N151K、E153K、E153Q、K158E、E162Q、E163Q、D165N、I171A、N195D、およびN195Qからなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を有する。

20

【0180】

いくつかの実施形態では、本発明は、バリエーションIL-12p35サブユニットを提供し、当該バリエーションIL-12p35サブユニットは、N71D/N85D/N195D、N151D/E153Q、N151D/D165N、Q130E/N151D、N151D/K158E、E79Q/N151D、D55Q/N151D、N136D/N151D、N21D/N151D、E143Q/N151D、N71Q/N85Q、N71Q/N195Q、N85Q/N195Q、N71Q/N85Q/N195Q、N71D/N85D、N71D/N195D、およびN85D/N195Dからなる群から選択されるアミノ酸置換を有する。

30

【0181】

いくつかの実施形態では、本発明は、バリエーションIL-12p35サブユニットを提供し、当該バリエーションIL-12p35サブユニットは、アミノ酸置換N71D/N85D/N195Dを有する。

【0182】

いくつかの実施形態では、本発明は、バリエーションIL-12p35サブユニットを提供し、当該バリエーションIL-12p35サブユニットは、i) 配列番号113 (IL-12p35 (N71D))、ii) 配列番号114 (IL-12p35 (N85D))、iii) 配列番号115 (IL-12p35 (N195D))、iv) 配列番号116 (IL-12p35 (N71D/N85D/N195D))、v) 配列番号117 (IL-12p35 (E153Q))、vi) 配列番号118 (IL-12p35 (E38Q))、vii) 配列番号119 (IL-12p35 (N151D))、viii) 配列番号120 (IL-12p35 (Q135E))、ix) 配列番号121 (IL-12p35 (Q35D))、x) 配列番号122 (IL-12p35 (Q146E))、xi) 配列番号123 (IL-12p35 (N76D))、xii) 配列番号124 (IL-12p35 (E162Q))、xiii) 配列番号125 (IL-12p35 (E163Q))、xiv) IL-12p35 (N21D)、xv) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55Q))、xvi) IL-12p35 (E79Q)、xvii) IL-12p35 (Q13

40

50

0E)、xviii) IL-12p35 (N136D)、xix) IL-12p35 (E143Q)、xx) 配列番号227 (IL-12p35 (N151K))、xxi) 配列番号226 (IL-12p35 (E153K))、xxii) IL-12p35 (K158E)、xxiii) IL-12p35 (D165N)、xxiv) 配列番号225 (IL-12p35 (N151D/E153Q))、xxv) 配列番号228 (IL-12p35 (N151D/D165N))、xxvi) 配列番号229 (IL-12p35 (Q130E/N151D))、xxvii) 配列番号230 (IL-12p35 (N151D/K158E))、xxviii) 配列番号231 (IL-12p35 (E79Q/N151D))、xxix) 配列番号232 (IL-12p35 (D55Q/N151D))、xxx) 配列番号233 (IL-12p35 (N136D/N151D))、xxxi) 配列番号234 (IL-12p35 (N21D/N151D))、xxxx) 配列番号235 (IL-12p35 (E143Q/N151D))、xxxxi) 配列番号XXX (IL-12p35 (F96A))、xxxiv) 配列番号XXX (IL-12p35 (M97A))、xxxv) 配列番号XXX (IL-12p35 (L89A))、xxxvi) 配列番号XXX (IL-12p35 (L124A))、xxxvii) 配列番号XXX (IL-12p35 (M125A))、xxxviii) 配列番号XXX (IL-12p35 (L75A))、xxxix) 配列番号XXX (IL-12p35 (I171A))、xxxv) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q))、xxxvi) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85Q))、xxxvii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N195Q))、xxxviii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N85Q))、xxxix) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N195Q))、xl) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85Q/N195Q))、xli) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N85Q/N195Q))、xlii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71D/N85D))、xliii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71D/N195D))、xliv) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85D/N195D))、xlv) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55Q))、およびxlv) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55K)) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する。

【0183】

いくつかの実施形態では、本発明は、バリエントIL-12p35サブユニットを含む組成物を提供する。

【0184】

いくつかの実施形態では、本発明は、バリエントIL-12p35サブユニットをコードする核酸を提供する。

【0185】

いくつかの実施形態では、本発明は、バリエントIL-12p35サブユニットをコードする当該核酸を含む宿主細胞を提供する。

【0186】

いくつかの実施形態では、本発明は、バリエントIL-12p35サブユニットを提供し、当該方法は、当該バリエントIL-12p35サブユニットが産生される条件下で宿主細胞を培養することを含む。

【0187】

別の態様では、本発明は、a) 第1のFcドメインに共有結合したIL-12p40サブユニットドメインを含む第1の融合タンパク質と、b) 第2のFcドメインに共有結合したIL-12p35サブユニットドメインを含む第2の融合タンパク質と、を含み、当該第1および第2のFcドメインが、EU付番に従って、L368D/K370SおよびS364K; L368D/K370SおよびS364K/E357L; L368D/K370SおよびS364K/E357Q; T411E/K360E/Q362EおよびD401K; L368E/K370SおよびS364K; K370SおよびS364K/E357Q; T366S/L368A/Y407VおよびT366W; ならびにT366S/

L 3 6 8 A / Y 4 0 7 V / Y 3 4 9 C および T 3 6 6 W / S 3 5 4 C ; からなる群から選択されるアミノ酸置換のセットである、ヘテロ二量体タンパク質を提供する。

【0188】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 I L - 1 2 p 4 0 サブユニットドメインが、当該第 1 の F c ドメインの N 末端に結合し、当該 I L - 1 2 p 3 5 サブユニットドメインが、当該第 2 の F c ドメインの N 末端に結合している、ヘテロ二量体タンパク質を提供する。

【0189】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 I L - 1 2 p 4 0 サブユニットドメインが、当該第 1 の F c ドメインの C 末端に結合し、当該 I L - 1 2 p 3 5 サブユニットドメインが、当該第 2 の F c ドメインの C 末端に結合している、ヘテロ二量体タンパク質を提供する。

【0190】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 I L - 1 2 p 4 0 サブユニットドメインが、ドメインリンカーを使用して当該第 1 の F c ドメインに結合し、当該 I L - 1 2 p 3 5 サブユニットドメインが、ドメインリンカーを使用して当該第 2 の F c ドメインに結合している、ヘテロ二量体タンパク質を提供する。

【0191】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該第 1 および第 2 の F c ドメインが、I g G 1 ヒンジ - C H 2 - C H 3 を含む、ヘテロ二量体タンパク質を提供する。

【0192】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該第 1 の融合タンパク質が、N 末端から C 末端へ、I L - 1 2 p 4 0 サブユニットドメイン - ドメインリンカー - ヒンジ - C H 2 - C H 3 を含み、当該第 2 の融合タンパク質が、N 末端から C 末端へ、I L - 1 2 p 3 5 サブユニットドメイン - ドメインリンカー - ヒンジ - C H 2 - C H 3 を含む、ヘテロ二量体タンパク質を提供する。

【0193】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該第 1 の融合タンパク質が、N 末端から C 末端へ、ヒンジ - C H 2 - C H 3 - ドメインリンカー - I L - 1 2 p 4 0 サブユニットドメインを含み、当該第 2 の融合タンパク質が、N 末端から C 末端へ、ヒンジ - C H 2 - C H 3 - ドメインリンカー - I L - 1 2 p 3 5 サブユニットドメインを含む、ヘテロ二量体タンパク質を提供する。

【0194】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 I L - 1 2 p 4 0 サブユニットが、i) 配列番号 57 (I L - 1 2 p 4 0 (N 1 0 3 D))、ii) 配列番号 58 (I L - 1 2 p 4 0 (N 1 1 3 D))、iii) 配列番号 59 (I L - 1 2 p 4 0 (N 2 0 0 D))、iv) 配列番号 60 (I L - 1 2 p 4 0 (N 2 8 1 D))、v) 配列番号 61 (I L - 1 2 p 4 0 (N 1 0 3 D / N 1 1 3 D / N 2 0 0 D / N 2 8 1 D))、vi) 配列番号 62 (I L - 1 2 p 4 0 (Q 4 2 E))、vii) 配列番号 63 (I L - 1 2 p 4 0 (E 4 5 Q))、viii) 配列番号 64 (I L - 1 2 p 4 0 (Q 5 6 E))、ix) 配列番号 65 (I L - 1 2 p 4 0 (E 5 9 Q))、x) 配列番号 66 (I L - 1 2 p 4 0 (D 6 2 N))、xi) 配列番号 67 (I L - 1 2 p 4 0 (Q 4 2 E / E 4 5 Q))、xii) 配列番号 68 (I L - 1 2 p 4 0 (E 4 5 Q / Q 5 6 E))、xiii) 配列番号 69 (I L - 1 2 p 4 0 (Q 4 2 E / E 5 9 Q))、xiv) 配列番号 70 (I L - 1 2 p 4 0 (Q 5 6 E / E 5 9 Q))、xv) 配列番号 71 (I L - 1 2 p 4 0 (Q 4 2 E / E 4 5 Q / Q 5 6 E))、xvi) 配列番号 72 (I L - 1 2 p 4 0 (E 4 5 Q / Q 5 6 E / E 5 9 Q))、xvii) 配列番号 73 (I L - 1 2 p 4 0 (D 1 6 1 N))、xviii) 配列番号 74 (I L - 1 2 p 4 0 (E 7 3 Q))、xix) 配列番号 75 (I L - 1 2 p 4 0 (Q 1 4 4 E))、xx) 配列番号 76 (I L - 1 2 p 4 0 (E 2 6 2 Q))、xxi) 配列番号 77 (I L - 1 2 p 4 0 (E 1 0 0 Q))、xxii) 配列番号 78 (I L - 1 2 p

10

20

30

40

50

40 (D18N))、xxiii) 配列番号79 (IL-12p40 (E33Q))、xxiv) 配列番号80 (IL-12p40 (Q229E))、xxv) 配列番号81 (IL-12p40 (E235Q))、xxvi) 配列番号82 (IL-12p40 (Q256N))、xxvii) 配列番号83 (IL-12p40 (E299Q))、xxviii) 配列番号84 (IL-12p40 (D87N))、xxix) IL-12p40 (E32Q)、xxx) IL-12p40 (D34N)、xxxi) IL-12p40 (S43E)、xxxii) IL-12p40 (S43K)、xxxiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、xxxiv) 配列番号205 (IL-12p40 (E59K))、xxxv) IL-12p40 (K99E)、xxxvi) IL-12p40 (K163E)、xxxvii) IL-12p40 (E187Q)、xxxviii) IL-12p40 (K258E)、xxxix) IL-12p40 (K260E)、xl) 配列番号206 (IL-12p40 (E32Q/E59Q))、xli) 配列番号207 (IL-12p40 (D34N/E59Q))、xlii) 配列番号208 (IL-12p40 (E59Q/E187Q))、xliii) 配列番号209 (IL-12p40 (S43E/E59Q))、xliv) 配列番号210 (IL-12p40 (S43K/E49Q))、xlv) 配列番号211 (IL-12p40 (E59Q/K163E))、xlvii) 配列番号212 (IL-12p40 (E59Q/K99E))、xlviii) 配列番号213 (IL-12p40 (E59Q/K258E))、xlviii) 配列番号214 (IL-12p40 (E59Q/K260E))、xlix) 配列番号XXX (IL-12p40 (D34N/E59K))、li) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E))、lii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/K264E))、liii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99Y))、liv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59Y/K99E))、lv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E45K/E59K/K99E))、lvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/Q144E))、lvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/Q144K))、lviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/R159E))、lix) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/K264E))、lx) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/K264E))、lxi) 配列番号XXX (IL-12p40 (C252S))、lxii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/C252S))、lxiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/C252S/K264E))、lxiv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99Y/C252S))、lxv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/C252S/K264E))、lxvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/C252S))、lxvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N113D))、lxviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N200D))、lxix) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N281D))、lxx) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113D/N200D))、lxxi) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113D/N281D))、lxxii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N200D/N281D))、lxxiii) 配列番号XXX (IL-12p50 (N103D/N113D/N200D))、lxxiv) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N113D/N281D))、lxxv) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N200D/N281D))、lxxvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113D/N200D/N281D))、lxxvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q))、lxxviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q))、lxxix) 配列番号XXX (IL-12p40 (N200Q))、lxxx) 配列番号XXX (IL-12p40 (N281Q

10

20

30

40

50

))、l x x x i) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (N103Q/N113Q))、
 l x x x i i) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (N103Q/N200Q))、l x
 x x i i i) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (N103Q/N281Q))、l x x
 x i v) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (N113Q/N200Q))、l x x x v
) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (N113Q/N281Q))、l x x x v i) 配
 列番号XXX (IL-12 p 40 (N200Q/N281Q))、l x x x v i i) 配列
 番号XXX (IL-12 p 40 (N103Q/N113Q/N200Q))、l x x x v
 i i i) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (N103Q/N113Q/N281Q))
 、l x x x i x) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (N103Q/N200Q/N28
 1Q))、x c) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (N113Q/N200Q/N28
 1Q))、x c i) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (N103Q/N113Q/N2
 00Q/N281Q))、x c i i) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (D34N/E
 59K/K99E))、x c i i i) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (D34K/E
 59K/K99E))、x c i v) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (E32Q/D3
 4N/E59K/K99E))、x c v) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (E32K
 /D34N/E59K/K99E))、x c v i) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (E
 59Y/K99Y))、x c v i i) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (E59K/
 K99E/N103Q/C252S/K264E))、x c v i i i) 配列番号XXX (IL-
 12 p 40 (E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E))、x
 c i x) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (E59K/K99E/N200Q/C25
 2S/K264E))、c) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (E59K/K99E/
 N281Q/C252S/K264E))、c i) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (E
 59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E))、c i i) 配
 列番号XXX (IL-12 p 40 (E59K/K99E/N103Q/N200Q/C
 252S/K264E))、c i i i) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (E59K/
 K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264E))、c i v) 配列番号X
 X X (IL-12 p 40 (E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/
 K264E))、c v) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (E59K/K99E/N1
 13Q/N281Q/C252S/K264E))、c v i) 配列番号XXX (IL-1
 2 p 40 (E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E))
 、c v i i) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (E59K/K99E/N103Q/N
 113Q/N200Q/C252S/K264E))、c v i i i) 配列番号XXX (IL-
 12 p 40 (E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252
 S/K264E))、およびc i x) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (E59K/K
 99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E)) からなる群
 から選択される配列を有する、ヘテロ二量体タンパク質を提供する。

【0195】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12 p 35サブユニットが、i) 配列
 番号113 (IL-12 p 35 (N71D))、i i) 配列番号114 (IL-12 p 3
 5 (N85D))、i i i) 配列番号115 (IL-12 p 35 (N195D))、i v
) 配列番号116 (IL-12 p 35 (N71D/N85D/N195D))、v) 配列
 番号117 (IL-12 p 35 (E153Q))、v i) 配列番号118 (IL-12 p
 35 (E38Q))、v i i) 配列番号119 (IL-12 p 35 (N151D))、v
 i i i) 配列番号120 (IL-12 p 35 (Q135E))、i x) 配列番号121 (IL-
 12 p 35 (Q35D))、x) 配列番号122 (IL-12 p 35 (Q146E
))、x i) 配列番号123 (IL-12 p 35 (N76D))、x i i) 配列番号12
 4 (IL-12 p 35 (E162Q))、x i i i) 配列番号125 (IL-12 p 35
 (E163Q))、x i v) IL-12 p 35 (N21D)、x v) 配列番号XXX (IL-
 12 p 35 (D55Q))、x v i) IL-12 p 35 (E79Q)、x v i i) IL-
 12 p 35 (Q130E)、x v i i i) IL-12 p 35 (N136D)、x i x

) IL-12p35 (E143Q)、xx) 配列番号227 (IL-12p35 (N151K))、xx i) 配列番号226 (IL-12p35 (E153K))、xx ii) IL-12p35 (K158E))、xx iii) IL-12p35 (D165N)、xx iv) 配列番号225 (IL-12p35 (N151D/E153Q))、xx v) 配列番号228 (IL-12p35 (N151D/D165N))、xx vi) 配列番号229 (IL-12p35 (Q130E/N151D))、xx vii) 配列番号230 (IL-12p35 (N151D/K158E))、xx viii) 配列番号231 (IL-12p35 (E79Q/N151D))、xx ix) 配列番号232 (IL-12p35 (D55Q/N151D))、xx x) 配列番号233 (IL-12p35 (N136D/N151D))、xx xi) 配列番号234 (IL-12p35 (N21D/N151D))、xx xii) 配列番号235 (IL-12p35 (E143Q/N151D))、xx xiii) 配列番号XXX (IL-12p35 (F96A))、xx xiv) 配列番号XXX (IL-12p35 (M97A))、xx xv) 配列番号XXX (IL-12p35 (L89A))、xx xvi) 配列番号XXX (IL-12p35 (L124A))、xx xvii) 配列番号XXX (IL-12p35 (M125A))、xx xviii) 配列番号XXX (IL-12p35 (L75A))、xx xix) 配列番号XXX (IL-12p35 (I171A))、xx xx) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q))、xx xxi) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85Q))、xx xxii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N195Q))、xx xxiii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N85Q))、xx xxiv) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N195Q))、lx) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85Q/N195Q))、lx i) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N85Q/N195Q))、lx ii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71D/N85D))、lx iii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71D/N195D))、lx iv) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85D/N195D))、lx v) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55Q))、およびlx vi) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55K)) からなる群から選択される配列を有する、ヘテロ二量体タンパク質を提供する。

【0196】

別の態様では、本発明は、a) 第1のFcドメインと、b) i) 第2のFcドメイン、ii) IL-12p40サブユニットドメイン、およびiii) IL-12p35サブユニットドメインを含む融合タンパク質と、を含む、ヘテロ二量体タンパク質を含み、当該第1および第2のFcドメインは、EU付番に従って、L368D/K370SおよびS364K；L368D/K370SおよびS364K/E357L；L368D/K370SおよびS364K/E357Q；T411E/K360E/Q362EおよびD401K；L368E/K370SおよびS364K；K370SおよびS364K/E357Q；T366S/L368A/Y407VおよびT366W；ならびにT366S/L368A/Y407V/Y349CおよびT366W/S354C；からなる群から選択されるアミノ酸置換のセットである。

【0197】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該融合タンパク質が、N末端からC末端へ、IL-12p40サブユニットドメインドメインリンカーIL-12p35サブユニットドメインドメインリンカーヒンジCH2-CH3を含む、ヘテロ二量体タンパク質を提供する。

【0198】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該融合タンパク質が、N末端からC末端へ、IL-12p35サブユニットドメインドメインリンカーIL-12p40サブユニットドメインドメインリンカーヒンジCH2-CH3を含む、ヘテロ二量体タンパク質を提供する。

【0199】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該融合タンパク質が、N末端からC末端へ、ヒンジ-CH₂-CH₃-ドメインリンカー-IL-12p35サブユニットドメイン-ドメインリンカー-IL-12p40サブユニットドメインを含む、ヘテロ二量体タンパク質を提供する。

【0200】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該融合タンパク質が、N末端からC末端へ、ヒンジ-CH₂-CH₃-ドメインリンカー-IL-12p40サブユニットドメイン-ドメインリンカー-IL-12p35サブユニットドメインを含む、ヘテロ二量体タンパク質を提供する。

【0201】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、i) 配列番号57 (IL-12p40 (N103D))、ii) 配列番号58 (IL-12p40 (N113D))、iii) 配列番号59 (IL-12p40 (N200D))、iv) 配列番号60 (IL-12p40 (N281D))、v) 配列番号61 (IL-12p40 (N103D/N113D/N200D/N281D))、vi) 配列番号62 (IL-12p40 (Q42E))、vii) 配列番号63 (IL-12p40 (E45Q))、viii) 配列番号64 (IL-12p40 (Q56E))、ix) 配列番号65 (IL-12p40 (E59Q))、x) 配列番号66 (IL-12p40 (D62N))、xi) 配列番号67 (IL-12p40 (Q42E/E45Q))、xii) 配列番号68 (IL-12p40 (E45Q/Q56E))、xiii) 配列番号69 (IL-12p40 (Q42E/E59Q))、xiv) 配列番号70 (IL-12p40 (Q56E/E59Q))、xv) 配列番号71 (IL-12p40 (Q42E/E45Q/Q56E))、xvi) 配列番号72 (IL-12p40 (E45Q/Q56E/E59Q))、xvii) 配列番号73 (IL-12p40 (D161N))、xviii) 配列番号74 (IL-12p40 (E73Q))、xix) 配列番号75 (IL-12p40 (Q144E))、xx) 配列番号76 (IL-12p40 (E262Q))、xxi) 配列番号77 (IL-12p40 (E100Q))、xxii) 配列番号78 (IL-12p40 (D18N))、xxiii) 配列番号79 (IL-12p40 (E33Q))、xxiv) 配列番号80 (IL-12p40 (Q229E))、xxv) 配列番号81 (IL-12p40 (E235Q))、xxvi) 配列番号82 (IL-12p40 (Q256N))、xxvii) 配列番号83 (IL-12p40 (E299Q))、xxviii) 配列番号84 (IL-12p40 (D87N))、xxix) IL-12p40 (E32Q)、xxx) IL-12p40 (D34N)、xxxi) IL-12p40 (S43E)、xxxii) IL-12p40 (S43K)、xxxiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、xxxiv) 配列番号205 (IL-12p40 (E59K))、xxxv) IL-12p40 (K99E)、xxxvi) IL-12p40 (K163E)、xxxvii) IL-12p40 (E187Q)、xxxviii) IL-12p40 (K258E)、xxxix) IL-12p40 (K260E)、xl) 配列番号206 (IL-12p40 (E32Q/E59Q))、xli) 配列番号207 (IL-12p40 (D34N/E59Q))、xlii) 配列番号208 (IL-12p40 (E59Q/E187Q))、xliii) 配列番号209 (IL-12p40 (S43E/E59Q))、xliv) 配列番号210 (IL-12p40 (S43K/E49Q))、xlv) 配列番号211 (IL-12p40 (E59Q/K163E))、xlvi) 配列番号212 (IL-12p40 (E59Q/K99E))、xlvii) 配列番号213 (IL-12p40 (E59Q/K258E))、xlviii) 配列番号214 (IL-12p40 (E59Q/K260E))、xlix) 配列番号XXX (IL-12p40 (D34N/E59K))、l) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E))、li) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E))、lii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E

10

20

30

40

50

/K264E))、l i i i) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99Y))、l i v) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59Y/K99E))、l v) 配列番号XXX (IL-12p40 (E45K/E59K/K99E))、l v i) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/Q144E))、l v i i) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/Q144K))、l v i i i) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/R159E))、l i x) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/K264E))、l x) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/K264E))、l x i) 配列番号XXX (IL-12p40 (C252S))、l x i i) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/C252S))、l x i i i) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/C252S/K264E))、l x i v) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99Y/C252S))、l x v) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/C252S/K264E))、l x v i) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/C252S))、l x v i i) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N113D))、l x v i i i) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N200D))、l x i x) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N281D))、l x x) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113D/N200D))、l x x i) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113D/N281D))、l x x i i) 配列番号XXX (IL-12p40 (N200D/N281D))、l x x i i i) 配列番号XXX (IL-12p50 (N103D/N113D/N200D))、l x x i v) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N113D/N281D))、l x x v) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N200D/N281D))、l x x v i) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113D/N200D/N281D))、l x x v i i) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q))、l x x v i i i) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q))、l x x i x) 配列番号XXX (IL-12p40 (N200Q))、l x x x) 配列番号XXX (IL-12p40 (N281Q))、l x x x i) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q))、l x x x i i) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N200Q))、l x x x i i i) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N281Q))、l x x x i v) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q/N200Q))、l x x x v) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q/N281Q))、l x x x v i) 配列番号XXX (IL-12p40 (N200Q/N281Q))、l x x x v i i) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N200Q))、l x x x v i i i) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N281Q))、l x x x i x) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N200Q/N281Q))、x c) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q/N200Q/N281Q))、x c i) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N200Q/N281Q))、x c i i) 配列番号XXX (IL-12p40 (D34N/E59K/K99E))、x c i i i) 配列番号XXX (IL-12p40 (D34K/E59K/K99E))、x c i v) 配列番号XXX (IL-12p40 (E32Q/D34N/E59K/K99E))、x c v) 配列番号XXX (IL-12p40 (E32K/D34N/E59K/K99E))、x c v i) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59Y/K99Y))、x c v i i) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/C252S/K264E))、x c v i i i) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E))、x c i x) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N200Q/C252S/K264E))、c) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E))、c i) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E))、c i i)

10

20

30

40

50

配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E))、ciii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264E))、civ) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/K264E))、cv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/N281Q/C252S/K264E))、cvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、cvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/C252S/K264E))、cvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、およびcix) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E)) からなる群から選択される配列を有する、ヘテロ二量体タンパク質を提供する。

【0202】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p35サブユニットが、i) 配列番号113 (IL-12p35 (N71D))、ii) 配列番号114 (IL-12p35 (N85D))、iii) 配列番号115 (IL-12p35 (N195D))、iv) 配列番号116 (IL-12p35 (N71D/N85D/N195D))、v) 配列番号117 (IL-12p35 (E153Q))、vi) 配列番号118 (IL-12p35 (E38Q))、vii) 配列番号119 (IL-12p35 (N151D))、viii) 配列番号120 (IL-12p35 (Q135E))、ix) 配列番号121 (IL-12p35 (Q35D))、x) 配列番号122 (IL-12p35 (Q146E))、xi) 配列番号123 (IL-12p35 (N76D))、xii) 配列番号124 (IL-12p35 (E162Q))、xiii) 配列番号125 (IL-12p35 (E163Q))、xiv) IL-12p35 (N21D)、xv) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55Q))、xvi) IL-12p35 (E79Q)、xvii) IL-12p35 (Q130E)、xviii) IL-12p35 (N136D)、xix) IL-12p35 (E143Q)、xx) 配列番号227 (IL-12p35 (N151K))、xxi) 配列番号226 (IL-12p35 (E153K))、xxii) IL-12p35 (K158E)、xxiii) IL-12p35 (D165N)、xxiv) 配列番号225 (IL-12p35 (N151D/E153Q))、xxv) 配列番号228 (IL-12p35 (N151D/D165N))、xxvi) 配列番号229 (IL-12p35 (Q130E/N151D))、xxvii) 配列番号230 (IL-12p35 (N151D/K158E))、xxviii) 配列番号231 (IL-12p35 (E79Q/N151D))、xxix) 配列番号232 (IL-12p35 (D55Q/N151D))、xxx) 配列番号233 (IL-12p35 (N136D/N151D))、xxxi) 配列番号234 (IL-12p35 (N21D/N151D))、xxxii) 配列番号235 (IL-12p35 (E143Q/N151D))、xxxiii) 配列番号XXX (IL-12p35 (F96A))、xxxiv) 配列番号XXX (IL-12p35 (M97A))、xxxv) 配列番号XXX (IL-12p35 (L89A))、xxxvi) 配列番号XXX (IL-12p35 (L124A))、xxxvii) 配列番号XXX (IL-12p35 (M125A))、xxxviii) 配列番号XXX (IL-12p35 (L75A))、xxxix) 配列番号XXX (IL-12p35 (I171A))、xl) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q))、xli) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85Q))、xlii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N195Q))、xliv) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N85Q))、xlv) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N195Q))、lx) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85Q/N195Q))、lxi) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N85Q/N195Q))、lxii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71D/N8

10

20

30

40

50

5 D))、l x i i i) 配列番号 X X X (I L - 1 2 p 3 5 (N 7 1 D / N 1 9 5 D)、
l x i v) 配列番号 X X X (I L - 1 2 p 3 5 (N 8 5 D / N 1 9 5 D))、l x v) 配
列番号 X X X (I L - 1 2 p 3 5 (D 5 5 Q))、および l x v i) 配列番号 X X X (I
L - 1 2 p 3 5 (D 5 5 K)) からなる群から選択される配列を有する、ヘテロ二量体タ
ンパク質を提供する。

【0203】

別の態様では、本発明は、第1の単量体および第2の単量体を含むホモ二量体 F c 融合
タンパク質であって、各々が、N末端からC末端へ、I L - 1 2 p 4 0 サブユニットドメ
インー任意の第1のドメインリンカーーI L - 1 2 p 3 5 サブユニットドメインー任意の
第2のドメインリンカーーF c ドメインを含む、ホモ二量体 F c 融合タンパク質を提供す
る。

10

【0204】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 F c ドメインのホモ二量体化を促進する当該
修飾が、E U 付番に従って、L 3 6 8 D / K 3 7 0 S ; S 3 6 4 K ; S 3 6 4 K / E 3 5
7 L ; S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q ; T 4 1 1 E / K 3 6 0 E / Q 3 6 2 E ; D 4 0 1 K ; T
3 6 6 S / L 3 6 8 A / Y 4 0 7 V ; T 3 6 6 W ; T 3 6 6 S / L 3 6 8 A / Y 4 0 7 V
/ Y 3 4 9 C ; および T 3 6 6 W / S 3 5 4 C からなる群から選択されるアミノ酸置換の
セットである、ホモ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

【0205】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該第1のドメインリンカーおよび当該第2のド
メインリンカーが、同じアミノ酸配列を有する、ホモ二量体 F c 融合タンパク質を提供す
る。

20

【0206】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 F c ドメインが、E U 付番に従って、Q 2 9
5 E / N 3 8 4 D / Q 4 1 8 E / N 4 2 1 D、を含むアミノ酸置換の追加のセットを有す
る、ホモ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

【0207】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 F c ドメインが、E U 付番に従って、G 2 3
6 R / L 3 2 8 R、E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 __ / S 2 3 9 K、E
2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 __ / S 2 3 9 K / A 3 2 7 G、E 2 3 3 P
/ L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 __ / S 2 6 7 K / A 3 2 7 G、E 2 3 3 P / L 2 3
4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 __、および E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6
__ / S 2 6 7 K からなる群から選択されるアミノ酸置換の追加のセットを有する、ホモ二
量体 F c 融合タンパク質を提供する。

30

【0208】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 I L - 1 2 p 4 0 サブユニットが、配列番号
X X (ヒト I L - 1 2 サブユニットベータ (I L - 1 2 p 4 0) 前駆体配列) および配列
番号 X X (ヒト I L - 1 2 サブユニットベータ (I L - 1 2 p 4 0) 成熟形態配列) から
なる群から選択されるポリペプチド配列を有し、当該 I L - 1 2 p 3 5 サブユニットが、
配列番号 X X (ヒト I L - 1 2 サブユニットアルファ (I L - 1 2 p 3 5) 前駆体配列)
および配列番号 X X (ヒト I L - 1 2 サブユニットアルファ (I L - 1 2 p 3 5) 成熟形
態配列) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ホモ二量体 F c 融合タン
パク質を提供する。

40

【0209】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 F c ドメインの各々が、アミノ酸置換 M 4 2
8 L / N 4 2 4 S をさらに含む、ホモ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

【0210】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 I L - 1 2 p 4 0 サブユニットが、バリアン
ト I L - 1 2 p 4 0 サブユニットであり、かつ／または当該 I L - 1 2 p 3 5 サブユニッ
トが、バリエーション I L - 1 2 p 3 5 サブユニットである、ホモ二量体 F c 融合タンパク質

50

を提供する。

【0211】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、IL-12受容体サブユニットベータ-1 (IL-12R β 1)、IL-12受容体サブユニットベータ-2 (IL-12R β 2)、および／もしくはIL-12受容体複合体についての変更された親和性を有するバリエーションIL-12p40サブユニットであり、かつ／または当該IL-12p35サブユニットが、IL-12受容体サブユニットベータ-1 (IL-12R β 1)、IL-12受容体サブユニットベータ-2 (IL-12R β 2)、および／もしくはIL-12受容体複合体についての変更された親和性を有するバリエーションIL-12p35サブユニットである、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

10

【0212】

いくつかの実施形態では、当該IL-12p40サブユニットが、E3、D7、E12、D14、W15、P17、D18、A19、P20、G21、E22、M23、D29、E32、E33、D34、L40、D41、Q42、S43、E45、L47、T54、I55、Q56、K58、E59、F60、G61、D62、Q65、Y66、E73、K84、E86、D87、G88、I89、W90、D93、D97、K99、E100、K102、N103、K104、F106、E110、N113、Y114、D129、D142、Q144、E156、R159、D161、N162、K163、D166、D170、Q172、D174、A176、C177、P178、A179、A180、E181、S183、P185、E187、N200、S204、F206、R208、D209、D214、N218、Q220、N226、Q229、E231、E235、T242、P243、S245、Y246、F247、S248、C252S、Q256、K158、K260、E262、K264、D265、D270、N281、Q289、D290、R291、Y292、Y293、およびE299からなる群から選択されるアミノ酸残基で1つ以上のアミノ酸修飾を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

20

【0213】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、D18N、D18K、E32Q、E33Q、D34N、D34K、Q42E、S43E、S43K、E45Q、Q56E、E59Q、E59K、D62N、E73Q、D87N、K99E、K99Y、E100Q、N103D、N103Q、N113D、N113Q、Q144E、D161N、R159E、K163E、E187Q、N200D、N200Q、N218Q、Q229E、E235Q、C252S、Q256N、K258E、K260E、E262Q、K264E、N281D、N281Q、およびE299Qからなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

30

【0214】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、N103D/N113D/N200D/N281D、Q42E/E45Q、E45Q/Q56E、Q42E/E59Q、Q56E/E59Q、Q42E/E45Q/Q56E、E45Q/Q56E/E59Q、E32Q/E59Q、D34N/E59K、D34N/E59K/K99E、D34K/E59K/K99E、E32Q/D34N/E59K/K99E、E32K/D34N/E59K/K99E、D34N/E59Q、E59Q/E187Q、S43E/E59Q、S43K/E49Q、E59Q/K163E、E59Q/K99E、E59Q/K258E、E59Q/K260E、E59K/K99E、D18K/E59K/K99E、E59K/K99E/K264E、E59K/K99Y、E59Y/K99Y、E59Y/K99E、E45K/E59K/K99E、E59K/K99E/Q144E、E59K/K99E/Q144K、E59K/K99E/R159E、E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/C252S、D18K/E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99Y/C252S、E59K/K99E/C252S/K264E

40

50

、E59K/K99E/C252S、N103D/N113D、N103D/N200D
 、N103D/N281D、N113D/N200D、N113D/N281D、N20
 0D/N281D、N103D/N113D/N200D、N103D/N113D/N
 281D、N103D/N200D/N281D、N113D/N200D/N281D
 、N103Q/N113Q、N103Q/N200Q、N103Q/N281Q、N11
 3Q/N200Q、N113Q/N281Q、N200Q/N281Q、N103Q/N
 113Q/N200Q、N103Q/N113Q/N281Q、N103Q/N200Q
 /N281Q、N113Q/N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N20
 0Q/N281Q、E59K/K99E/N103Q/C252S/K264E、E59
 K/K99E/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q
 /C252S/K264E、E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E
 、E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E、E59K/
 K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N
 103Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N
 200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N281Q/C
 252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K
 264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/C252S/K
 264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252S/K
 264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K
 264E、およびE59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281
 Q/C252S/K264Eからなる群から選択されるアミノ酸置換を有する、ホモ二量
 体Fc融合タンパク質を提供する。

10

20

【0215】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、i) 配列
 番号57 (IL-12p40 (N103D))、ii) 配列番号58 (IL-12p40
 (N113D))、iii) 配列番号59 (IL-12p40 (N200D))、iv)
 配列番号60 (IL-12p40 (N281D))、v) 配列番号61 (IL-12p40
 (N103D/N113D/N200D/N281D))、vi) 配列番号62 (IL
 -12p40 (Q42E))、vii) 配列番号63 (IL-12p40 (E45Q))
 、viii) 配列番号64 (IL-12p40 (Q56E))、ix) 配列番号65 (IL
 -12p40 (E59Q))、x) 配列番号66 (IL-12p40 (D62N))、
 xi) 配列番号67 (IL-12p40 (Q42E/E45Q))、xii) 配列番号6
 8 (IL-12p40 (E45Q/Q56E))、xiii) 配列番号69 (IL-12
 p40 (Q42E/E59Q))、xiv) 配列番号70 (IL-12p40 (Q56E
 /E59Q))、xv) 配列番号71 (IL-12p40 (Q42E/E45Q/Q56
 E))、xvi) 配列番号72 (IL-12p40 (E45Q/Q56E/E59Q))
 、xvii) 配列番号73 (IL-12p40 (D161N))、xviii) 配列番号
 74 (IL-12p40 (E73Q))、xix) 配列番号75 (IL-12p40 (Q
 144E))、xx) 配列番号76 (IL-12p40 (E262Q))、xxi) 配列
 番号77 (IL-12p40 (E100Q))、xxii) 配列番号78 (IL-12p
 40 (D18N))、xxiii) 配列番号79 (IL-12p40 (E33Q))、x
 xiv) 配列番号80 (IL-12p40 (Q229E))、xxv) 配列番号81 (IL
 -12p40 (E235Q))、xxvi) 配列番号82 (IL-12p40 (Q25
 6N))、xxvii) 配列番号83 (IL-12p40 (E299Q))、xxviii
 i) 配列番号84 (IL-12p40 (D87N))、xxix) IL-12p40 (E
 32Q)、xxx) IL-12p40 (D34N)、xxxi) IL-12p40 (S4
 3E)、xxxii) IL-12p40 (S43K)、xxxiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N28
 1Q/C252S/K264E))、xxxiv) 配列番号205 (IL-12p40 (E
 59K))、xxxv) IL-12p40 (K99E)、xxxvi) IL-12p4

30

40

50

0 (K163E)、xxxvii) IL-12p40 (E187Q)、xxxviii)
 IL-12p40 (K258E)、xxxix) IL-12p40 (K260E)、xl
) 配列番号206 (IL-12p40 (E32Q/E59Q))、xli) 配列番号20
 7 (IL-12p40 (D34N/E59Q))、xlii) 配列番号208 (IL-1
 2p40 (E59Q/E187Q))、xliii) 配列番号209 (IL-12p40
 (S43E/E59Q))、xliv) 配列番号210 (IL-12p40 (S43K/
 E49Q))、xlv) 配列番号211 (IL-12p40 (E59Q/K163E))
 、xlvi) 配列番号212 (IL-12p40 (E59Q/K99E))、xlvii
) 配列番号213 (IL-12p40 (E59Q/K258E))、xlviii) 配列
 番号214 (IL-12p40 (E59Q/K260E))、xlix) 配列番号XXX
 (IL-12p40 (D34N/E59K))、l) 配列番号XXX (IL-12p40
 (E59K/K99E))、li) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E5
 9K/K99E))、lii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E
 /K264E))、liii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99Y
))、liv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59Y/K99E))、lv) 配
 列番号XXX (IL-12p40 (E45K/E59K/K99E))、lvi) 配列番
 号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/Q144E))、lvii) 配列番
 号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/Q144K))、lviii) 配列
 番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/R159E))、lix) 配列番
 号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/K264E))、lx) 配列番号X
 XX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/K264E))、lxi) 配
 列番号XXX (IL-12p40 (C252S))、lxii) 配列番号XXX (IL-
 12p40 (D18K/E59K/K99E/C252S))、lxiii) 配列番号X
 XX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/C252S/K264E))
 、lxiv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99Y/C252S))
 、lxv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/C252S/K2
 64E))、lxvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/C2
 52S))、lxvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N113D
))、lxviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N200D))
 、lxix) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N281D))、lxx
) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113D/N200D))、lxxi) 配列番
 号XXX (IL-12p40 (N113D/N281D))、lxxii) 配列番号XX
 X (IL-12p40 (N200D/N281D))、lxxiii) 配列番号XXX (IL-
 12p50 (N103D/N113D/N200D))、lxxiv) 配列番号X
 XX (IL-12p40 (N103D/N113D/N281D))、lxxv) 配列番
 号XXX (IL-12p40 (N103D/N200D/N281D))、lxxvi)
 配列番号XXX (IL-12p40 (N113D/N200D/N281D))、lxxv
 ii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q))、lxxviii) 配列番
 号XXX (IL-12p40 (N113Q))、lxxix) 配列番号XXX (IL-1
 2p40 (N200Q))、lxxx) 配列番号XXX (IL-12p40 (N281Q
))、lxxxi) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q))、
 lxxxii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N200Q))、lxx
 xiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N281Q))、lxxx
 iv) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q/N200Q))、lxxxv
) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q/N281Q))、lxxxvi) 配
 列番号XXX (IL-12p40 (N200Q/N281Q))、lxxxvii) 配列
 番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N200Q))、lxxxv
 iii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N281Q))
 、lxxxix) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N200Q/N28
 1Q))、xc) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q/N200Q/N28

10

20

30

40

50

1 Q))、x c i) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (N103Q/N113Q/N200Q/N281Q))、x c i i) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (D34N/E59K/K99E))、x c i i i) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (D34K/E59K/K99E))、x c i v) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (E32Q/D34N/E59K/K99E))、x c v) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (E32K/D34N/E59K/K99E))、x c v i) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (E59Y/K99Y))、x c v i i) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (E59K/K99E/N103Q/C252S/K264E))、x c v i i i) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E))、x c i x) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (E59K/K99E/N200Q/C252S/K264E))、c) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E))、c i) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E))、c i i) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E))、c i i i) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (E59K/K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264E))、c i v) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/K264E))、c v) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (E59K/K99E/N113Q/N281Q/C252S/K264E))、c v i) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、c v i i) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/C252S/K264E))、c v i i i) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、およびc i x) 配列番号XXX (IL-12 p 40 (E59K/K99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E)) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0216】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12 p 35サブユニットが、Q20、N21、Q35、E38、S44、E45、E46、H49、K54、D55、T59、V60、E61、C63、L64、P65、E67、L68、N71、S73、C74、L75、N76、E79、N85、L89、F96、M97、L124、M125、Q130、Q135、N136、E143、Q146、N151、E153、K158、E162、E163、D165、I171、R181、I182、R183、V185、T186、D188、R189、V190、S192、Y193、N195、およびA196からなる群から選択されるアミノ酸残基として1つ以上のアミノ酸修飾を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0217】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12 p 35サブユニットが、N21D、Q35D、E38Q、D55Q、D55K、N71D、N71Q、L75A、N76D、E79Q、N85D、N85Q、L89A、F96A、M97A、L124A、M125A、Q130E、Q135E、N136D、E143Q、Q146E、N151D、N151K、E153K、E153Q、K158E、E162Q、E163Q、D165N、I171A、N195D、およびN195Qからなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0218】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12 p 35サブユニットが、N71D/N85D/N195D、N151D/E153Q、N151D/D165N、Q130E/N151D、N151D/K158E、E79Q/N151D、D55Q/N151D、N136D/N151D、N21D/N151D、E143Q/N151D、N71Q/N85Q、N71Q/N195Q、N85Q/N195Q、N71Q/N85Q/N

10

20

30

40

50

195Q、N71D/N85D、N71D/N195D、およびN85D/N195Dからなる群から選択されるアミノ酸置換を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0219】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p35サブユニットが、i) 配列番号113 (IL-12p35 (N71D))、ii) 配列番号114 (IL-12p35 (N85D))、iii) 配列番号115 (IL-12p35 (N195D))、iv) 配列番号116 (IL-12p35 (N71D/N85D/N195D))、v) 配列番号117 (IL-12p35 (E153Q))、vi) 配列番号118 (IL-12p35 (E38Q))、vii) 配列番号119 (IL-12p35 (N151D))、viii) 配列番号120 (IL-12p35 (Q135E))、ix) 配列番号121 (IL-12p35 (Q35D))、x) 配列番号122 (IL-12p35 (Q146E))、xi) 配列番号123 (IL-12p35 (N76D))、xii) 配列番号124 (IL-12p35 (E162Q))、xiii) 配列番号125 (IL-12p35 (E163Q))、xiv) IL-12p35 (N21D)、xv) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55Q))、xvi) IL-12p35 (E79Q)、xvii) IL-12p35 (Q130E)、xviii) IL-12p35 (N136D)、xix) IL-12p35 (E143Q)、xx) 配列番号227 (IL-12p35 (N151K))、xxi) 配列番号226 (IL-12p35 (E153K))、xxii) IL-12p35 (K158E)、xxiii) IL-12p35 (D165N)、xxiv) 配列番号225 (IL-12p35 (N151D/E153Q))、xxv) 配列番号228 (IL-12p35 (N151D/D165N))、xxvi) 配列番号229 (IL-12p35 (Q130E/N151D))、xxvii) 配列番号230 (IL-12p35 (N151D/K158E))、xxviii) 配列番号231 (IL-12p35 (E79Q/N151D))、xxix) 配列番号232 (IL-12p35 (D55Q/N151D))、xxx) 配列番号233 (IL-12p35 (N136D/N151D))、xxxi) 配列番号234 (IL-12p35 (N21D/N151D))、xxxii) 配列番号235 (IL-12p35 (E143Q/N151D))、xxxiii) 配列番号XXX (IL-12p35 (F96A))、xxxiv) 配列番号XXX (IL-12p35 (M97A))、xxxv) 配列番号XXX (IL-12p35 (L89A))、xxxvi) 配列番号XXX (IL-12p35 (L124A))、xxxvii) 配列番号XXX (IL-12p35 (M125A))、xxxviii) 配列番号XXX (IL-12p35 (L75A))、xxxix) 配列番号XXX (IL-12p35 (I171A))、xxxv) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q))、xxxvi) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85Q))、xxxvii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N195Q))、xxxviii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N85Q))、xxxix) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N195Q))、xl) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85Q/N195Q))、xli) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N85Q/N195Q))、xlii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71D/N85D))、xliii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71D/N195D))、xliv) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85D/N195D))、xlv) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55Q))、およびxlvii) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55K))からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0220】

いくつかの実施形態では、当該第1および第2の単量体が、XENP31289である、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0221】

いくつかの実施形態では、当該第1および第2の単量体が、XENP31291である

、ホモ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

【0222】

いくつかの実施形態では、本発明は、対象における癌の治療における使用のためのホモ二量体 F c 融合タンパク質を含むホモ二量体 F c 融合タンパク質組成物を提供する。

【0223】

いくつかの実施形態では、本発明は、ホモ二量体 F c 融合タンパク質をコードする 1 つ以上の核酸を提供する。

【0224】

いくつかの実施形態では、本発明は、ホモ二量体 F c 融合タンパク質をコードする当該 1 つ以上の核酸を含む宿主細胞を提供する。

【0225】

いくつかの実施形態では、本発明は、ホモ二量体 F c 融合タンパク質を作製する方法を提供し、当該方法は、当該ホモ二量体 F c 融合タンパク質が産生される条件下で宿主細胞を培養することを含む。

【0226】

いくつかの実施形態では、本発明は、ホモ二量体 F c 融合タンパク質を精製する方法を提供し、当該方法は、a) ホモ二量体 F c 融合タンパク質を含む組成物を提供することと、b) 当該組成物をイオン交換カラムに充填することと、c) 当該ホモ二量体 F c 融合タンパク質を含有する画分を収集することと、を含む。

【0227】

別の態様では、本発明は、第 1 の単量体および第 2 の単量体を含むホモ二量体 F c 融合タンパク質であって、各々が、N 末端から C 末端へ、I L-12 p 35 サブユニットドメインー任意の第 1 のドメインリンカーー I L-12 p 40 サブユニットドメインー任意の第 2 のドメインリンカーー F c ドメインを含む、ホモ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

【0228】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 F c ドメインのホモ二量体化を促進する当該修飾が、E U 付番に従って、L 368 D / K 370 S ; S 364 K ; S 364 K / E 357 L ; S 364 K / E 357 Q ; T 411 E / K 360 E / Q 362 E ; D 401 K ; T 366 S / L 368 A / Y 407 V ; T 366 W ; T 366 S / L 368 A / Y 407 V / Y 349 C ; および T 366 W / S 354 C からなる群から選択されるアミノ酸置換のセットである、ホモ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

【0229】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該第 1 のドメインリンカーおよび当該第 2 のドメインリンカーが、同じアミノ酸配列を有する、ホモ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

【0230】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 F c ドメインが、E U 付番に従って、Q 295 E / N 384 D / Q 418 E / N 421 D、を含むアミノ酸置換の追加のセットを有する、ホモ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

【0231】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 F c ドメインが、E U 付番に従って、G 236 R / L 328 R、E 233 P / L 234 V / L 235 A / G 236 __ / S 239 K、E 233 P / L 234 V / L 235 A / G 236 __ / S 239 K / A 327 G、E 233 P / L 234 V / L 235 A / G 236 __ / S 267 K / A 327 G、E 233 P / L 234 V / L 235 A / G 236 __、および E 233 P / L 234 V / L 235 A / G 236 __ / S 267 K からなる群から選択されるアミノ酸置換の追加のセットを有する、ホモ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

【0232】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 I L-12 p 40 サブユニットが、配列番号

10

20

30

40

50

3 (ヒトIL-12サブユニットベータ (IL-12 p 40) 前駆体配列) および配列番号4 (ヒトIL-12サブユニットベータ (IL-12 p 40) 成熟形態配列) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有し、当該IL-12 p 35サブユニットが、配列番号1 (ヒトIL-12サブユニットアルファ (IL-12 p 35) 前駆体配列) および配列番号2 (ヒトIL-12サブユニットアルファ (IL-12 p 35) 成熟形態配列) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0233】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該Fcドメインの各々が、アミノ酸置換M428L/N424Sをさらに含む、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

10

【0234】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12 p 40サブユニットが、バリエーションIL-12 p 40サブユニットであり、かつ／または当該IL-12 p 35サブユニットが、バリエーションIL-12 p 35サブユニットである、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0235】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12 p 40サブユニットが、IL-12受容体サブユニットベータ-1 (IL-12 R β 1)、IL-12受容体サブユニットベータ-2 (IL-12 R β 2)、および／もしくはIL-12受容体複合体についての変更された親和性を有するバリエーションIL-12 p 40サブユニットであり、かつ／または当該IL-12 p 35サブユニットが、IL-12受容体サブユニットベータ-1 (IL-12 R β 1)、IL-12受容体サブユニットベータ-2 (IL-12 R β 2)、および／もしくはIL-12受容体複合体についての変更された親和性を有するバリエーションIL-12 p 35サブユニットである、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

20

【0236】

いくつかの実施形態では、当該IL-12 p 40サブユニットが、E3、D7、E12、D14、W15、P17、D18、A19、P20、G21、E22、M23、D29、E32、E33、D34、L40、D41、Q42、S43、E45、L47、T54、I55、Q56、K58、E59、F60、G61、D62、Q65、Y66、E73、K84、E86、D87、G88、I89、W90、D93、D97、K99、E100、K102、N103、K104、F106、E110、N113、Y114、D129、D142、Q144、E156、R159、D161、N162、K163、D166、D170、Q172、D174、A176、C177、P178、A179、A180、E181、S183、P185、E187、N200、S204、F206、R208、D209、D214、N218、Q220、N226、Q229、E231、E235、T242、P243、S245、Y246、F247、S248、C252S、Q256、K158、K260、E262、K264、D265、D270、N281、Q289、D290、R291、Y292、Y293、およびE299からなる群から選択されるアミノ酸残基で1つ以上のアミノ酸修飾を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

30

40

【0237】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12 p 40サブユニットが、D18N、D18K、E32Q、E33Q、D34N、D34K、Q42E、S43E、S43K、E45Q、Q56E、E59Q、E59K、D62N、E73Q、D87N、K99E、K99Y、E100Q、N103D、N103Q、N113D、N113Q、Q144E、D161N、R159E、K163E、E187Q、N200D、N200Q、N218Q、Q229E、E235Q、C252S、Q256N、K258E、K260E、E262Q、K264E、N281D、N281Q、およびE299Qからなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0238】

50

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、N103D/N113D/N200D/N281D、Q42E/E45Q、E45Q/Q56E、Q42E/E59Q、Q56E/E59Q、Q42E/E45Q/Q56E、E45Q/Q56E/E59Q、E32Q/E59Q、D34N/E59K、D34N/E59K/K99E、D34K/E59K/K99E、E32Q/D34N/E59K/K99E、E32K/D34N/E59K/K99E、D34N/E59Q、E59Q/E187Q、S43E/E59Q、S43K/E49Q、E59Q/K163E、E59Q/K99E、E59Q/K258E、E59Q/K260E、E59K/K99E、D18K/E59K/K99E、E59K/K99E/K264E、E59K/K99Y、E59Y/K99Y、E59Y/K99E、E45K/E59K/K99E、E59K/K99E/Q144E、E59K/K99E/Q144K、E59K/K99E/R159E、E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/C252S、D18K/E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99Y/C252S、E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99E/C252S、N103D/N113D、N103D/N200D、N103D/N281D、N113D/N200D、N113D/N281D、N200D/N281D、N103D/N113D/N200D、N103D/N113D/N281D、N103D/N200D/N281D、N113D/N200D/N281D、N103Q/N113Q、N103Q/N200Q、N103Q/N281Q、N113Q/N200Q、N113Q/N281Q、N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N200Q、N103Q/N113Q/N281Q、N103Q/N200Q/N281Q、N113Q/N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N200Q/N281Q、E59K/K99E/N103Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、およびE59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264Eからなる群から選択されるアミノ酸置換を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、

i) 配列番号57 (IL-12p40 (N103D))、ii) 配列番号58 (IL-12p40 (N113D))、iii) 配列番号59 (IL-12p40 (N200D))、iv) 配列番号60 (IL-12p40 (N281D))、v) 配列番号61 (IL-12p40 (N103D/N113D/N200D/N281D))、vi) 配列番号62 (IL-12p40 (Q42E))、vii) 配列番号63 (IL-12p40 (E45Q))、viii) 配列番号64 (IL-12p40 (Q56E))、ix) 配列番号65 (IL-12p40 (E59Q))、x) 配列番号66 (IL-12p40 (D62N))、xi) 配列番号67 (IL-12p40 (Q42E/E45Q))、xii) 配列番号68 (IL-12p40 (E45Q/Q56E))、xiii) 配列番号69 (IL-12p40 (Q42E/E59Q))、xiv) 配列番号70 (IL-12p40 (Q56E/E59Q))、xv) 配列番号71 (IL-12p40 (Q42E/E45Q/Q56E))、xvi) 配列番号72 (IL-12p40 (E45Q/Q56E/E59Q))、xvii) 配列番号73 (IL-12p40 (D161N))、xviii)

配列番号74 (IL-12p40 (E73Q))、xix) 配列番号75 (IL-12p40 (Q144E))、xx) 配列番号76 (IL-12p40 (E262Q))、xxi) 配列番号77 (IL-12p40 (E100Q))、xxii) 配列番号78 (IL-12p40 (D18N))、xxiii) 配列番号79 (IL-12p40 (E33Q))、xxiv) 配列番号80 (IL-12p40 (Q229E))、xxv) 配列番号81 (IL-12p40 (E235Q))、xxvi) 配列番号82 (IL-12p40 (Q256N))、xxvii) 配列番号83 (IL-12p40 (E299Q))、xxviii) 配列番号84 (IL-12p40 (D87N))、xxix) IL-12p40 (E32Q)、xxx) IL-12p40 (D34N)、xxxii) IL-12p40 (S43E)、xxxiii) IL-12p40 (S43K)、xxxiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、xxxiv) 配列番号205 (IL-12p40 (E59K))、xxxv) IL-12p40 (K99E)、xxxvi) IL-12p40 (K163E)、xxxvii) IL-12p40 (E187Q)、xxxviii) IL-12p40 (K258E)、xxxix) IL-12p40 (K260E)、xl) 配列番号206 (IL-12p40 (E32Q/E59Q))、xli) 配列番号207 (IL-12p40 (D34N/E59Q))、xlii) 配列番号208 (IL-12p40 (E59Q/E187Q))、xliii) 配列番号209 (IL-12p40 (S43E/E59Q))、xliv) 配列番号210 (IL-12p40 (S43K/E49Q))、xlv) 配列番号211 (IL-12p40 (E59Q/K163E))、xlvi) 配列番号212 (IL-12p40 (E59Q/K99E))、xlvii) 配列番号213 (IL-12p40 (E59Q/K258E))、xlviii) 配列番号214 (IL-12p40 (E59Q/K260E))、xlix) 配列番号XXX (IL-12p40 (D34N/E59K))、li) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E))、lii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E))、liii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/K264E))、liiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99Y))、liv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59Y/K99E))、lv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E45K/E59K/K99E))、lvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/Q144E))、lvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/Q144K))、lviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/R159E))、lix) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/K264E))、lx) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/K264E))、lxi) 配列番号XXX (IL-12p40 (C252S))、lxii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/C252S))、lxiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/C252S/K264E))、lxiv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99Y/C252S))、lxv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/C252S/K264E))、lxvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/C252S))、lxvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N113D))、lxviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N200D))、lxix) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N281D))、lxx) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113D/N200D))、lxxi) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113D/N281D))、lxxii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N200D/N281D))、lxxiii) 配列番号XXX (IL-12p50 (N103D/N113D/N200D))、lxxiv) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N113D/N281D))、lxxv) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N200D/N281D))、lxxvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113D/N200D/N281D))

10

20

30

40

50

、*lxxvii*) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N103Q))、*lxxviii*
) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N113Q))、*lxxix*) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N200Q))、*lxxx*) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N281Q))、*lxxxi*) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q))、*lxxxii*) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N103Q/N200Q))、*lxxxiii*) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N103Q/N281Q))、*lxxxiv*) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N113Q/N200Q))、*lxxxv*) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N113Q/N281Q))、*lxxxvi*) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N200Q/N281Q))、*lxxxvii*) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N200Q))、*lxxxviii*) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N281Q))、*lxxxix*) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N103Q/N200Q/N281Q))、*xc*) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N113Q/N200Q/N281Q))、*xi*) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N200Q/N281Q))、*xii*) 配列番号 XXX (IL-12p40 (D34N/E59K/K99E))、*xiii*) 配列番号 XXX (IL-12p40 (D34K/E59K/K99E))、*xiv*) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E32Q/D34N/E59K/K99E))、*xv*) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E32K/D34N/E59K/K99E))、*xvi*) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59Y/K99Y))、*xvii*) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/C252S/K264E))、*xviii*) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E))、*xi*) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N200Q/C252S/K264E))、*c*) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E))、*ci*) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E))、*cii*) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E))、*ciii*) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264E))、*civ*) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/K264E))、*cv*) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/N281Q/C252S/K264E))、*cvi*) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、*cvi*) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/C252S/K264E))、*cvi*) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、および *cix*) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E)) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ホモ二量体 Fc 融合タンパク質を提供する。

【0239】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 IL-12p35 サブユニットが、Q20、N21、Q35、E38、S44、E45、E46、H49、K54、D55、T59、V60、E61、C63、L64、P65、E67、L68、N71、S73、C74、L75、N76、E79、N85、L89、F96、M97、L124、M125、Q130、Q135、N136、E143、Q146、N151、E153、K158、E162、E163、D165、I171、R181、I182、R183、V185、T186、D188、R189、V190、S192、Y193、N195、および A196 からなる群から選択されるアミノ酸残基として1つ以上のアミノ酸修飾を有する、ホモ二量体 Fc 融合タンパク質を提供する。

【0240】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p35サブユニットが、N21D、Q35D、E38Q、D55Q、D55K、N71D、N71Q、L75A、N76D、E79Q、N85D、N85Q、L89A、F96A、M97A、L124A、M125A、Q130E、Q135E、N136D、E143Q、Q146E、N151D、N151K、E153K、E153Q、K158E、E162Q、E163Q、D165N、I171A、N195D、およびN195Qからなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0241】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p35サブユニットが、N71D/N85D/N195D、N151D/E153Q、N151D/D165N、Q130E/N151D、N151D/K158E、E79Q/N151D、D55Q/N151D、N136D/N151D、N21D/N151D、E143Q/N151D、N71Q/N85Q、N71Q/N195Q、N85Q/N195Q、N71Q/N85Q/N195Q、N71D/N85D、N71D/N195D、およびN85D/N195Dからなる群から選択されるアミノ酸置換を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0242】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p35サブユニットが、i) 配列番号113 (IL-12p35 (N71D))、ii) 配列番号114 (IL-12p35 (N85D))、iii) 配列番号115 (IL-12p35 (N195D))、iv) 配列番号116 (IL-12p35 (N71D/N85D/N195D))、v) 配列番号117 (IL-12p35 (E153Q))、vi) 配列番号118 (IL-12p35 (E38Q))、vii) 配列番号119 (IL-12p35 (N151D))、viii) 配列番号120 (IL-12p35 (Q135E))、ix) 配列番号121 (IL-12p35 (Q35D))、x) 配列番号122 (IL-12p35 (Q146E))、xi) 配列番号123 (IL-12p35 (N76D))、xii) 配列番号124 (IL-12p35 (E162Q))、xiii) 配列番号125 (IL-12p35 (E163Q))、xiv) IL-12p35 (N21D)、xv) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55Q))、xvi) IL-12p35 (E79Q)、xvii) IL-12p35 (Q130E)、xviii) IL-12p35 (N136D)、xix) IL-12p35 (E143Q)、xx) 配列番号227 (IL-12p35 (N151K))、xxi) 配列番号226 (IL-12p35 (E153K))、xxii) IL-12p35 (K158E)、xxiii) IL-12p35 (D165N)、xxiv) 配列番号225 (IL-12p35 (N151D/E153Q))、xxv) 配列番号228 (IL-12p35 (N151D/D165N))、xxvi) 配列番号229 (IL-12p35 (Q130E/N151D))、xxvii) 配列番号230 (IL-12p35 (N151D/K158E))、xxviii) 配列番号231 (IL-12p35 (E79Q/N151D))、xxix) 配列番号232 (IL-12p35 (D55Q/N151D))、xxx) 配列番号233 (IL-12p35 (N136D/N151D))、xxxi) 配列番号234 (IL-12p35 (N21D/N151D))、xxxii) 配列番号235 (IL-12p35 (E143Q/N151D))、xxxiii) 配列番号XXX (IL-12p35 (F96A))、xxxiv) 配列番号XXX (IL-12p35 (M97A))、xxxv) 配列番号XXX (IL-12p35 (L89A))、xxxvi) 配列番号XXX (IL-12p35 (L124A))、xxxvii) 配列番号XXX (IL-12p35 (M125A))、xxxviii) 配列番号XXX (IL-12p35 (L75A))、xxxix) 配列番号XXX (IL-12p35 (I171A))、xxxx) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q))、xxxxi) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85Q))、xxxv) 配列番号XXX (IL-12p35 (N195Q))、xxxvi) 配列番号X

10

20

30

40

50

XX (IL-12p35 (N71Q/N85Q))、xxxix) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N195Q))、xl) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85Q/N195Q))、xli) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N85Q/N195Q))、xlii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71D/N85D))、xliii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71D/N195D))、xliv) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85D/N195D))、xlv) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55Q))、およびxlvii) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55K)) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0243】

いくつかの実施形態では、当該第1および第2の単量体が、XENP31289である、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0244】

いくつかの実施形態では、当該第1および第2の単量体が、XENP31291である、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0245】

いくつかの実施形態では、本発明は、対象における癌の治療における使用のためのホモ二量体Fc融合タンパク質を含むホモ二量体Fc融合タンパク質組成物を提供する。

【0246】

いくつかの実施形態では、本発明は、ホモ二量体Fc融合タンパク質をコードする1つ以上の核酸を提供する。

【0247】

いくつかの実施形態では、本発明は、ホモ二量体Fc融合タンパク質をコードする当該1つ以上の核酸を含む宿主細胞を提供する。

【0248】

いくつかの実施形態では、本発明は、ホモ二量体Fc融合タンパク質を作製する方法を提供し、当該方法は、当該ホモ二量体Fc融合タンパク質が産生される条件下で宿主細胞を培養することを含む。

【0249】

いくつかの実施形態では、本発明は、ホモ二量体Fc融合タンパク質を精製する方法を提供し、当該方法は、a) ホモ二量体Fc融合タンパク質を含む組成物を提供することと、b) 当該組成物をイオン交換カラムに充填することと、c) 当該ホモ二量体Fc融合タンパク質を含有する画分を収集することと、を含む。

【0250】

別の態様では、本発明は、第1の単量体および第2の単量体を含むホモ二量体Fc融合タンパク質であって、各々が、N末端からC末端へ、Fcドメインー任意の第1のドメインリンカーーIL-12p40サブユニットドメインー任意の第2のドメインリンカーーIL-12p35サブユニットドメインを含む、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0251】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該Fcドメインのホモ二量体化を促進する当該修飾が、EU付番に従って、L368D/K370S; S364K; S364K/E357L; S364K/E357Q; T411E/K360E/Q362E; D401K; T366S/L368A/Y407V; T366W; T366S/L368A/Y407V/Y349C; およびT366W/S354Cからなる群から選択されるアミノ酸置換のセットである、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0252】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該第1のドメインリンカーおよび当該第2のドメインリンカーが、同じアミノ酸配列を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

10

20

30

40

50

【0253】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該Fcドメインが、EU付番に従って、Q295E/N384D/Q418E/N421D、を含むアミノ酸置換の追加のセットを有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0254】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該Fcドメインが、EU付番に従って、G236R/L328R、E233P/L234V/L235A/G236_/S239K、E233P/L234V/L235A/G236_/S239K/A327G、E233P/L234V/L235A/G236_/S267K/A327G、E233P/L234V/L235A/G236_、およびE233P/L234V/L235A/G236_/S267Kからなる群から選択されるアミノ酸置換の追加のセットを有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

10

【0255】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、配列番号3（ヒトIL-12サブユニットベータ（IL-12p40）前駆体配列）および配列番号4（ヒトIL-12サブユニットベータ（IL-12p40）成熟形態配列）からなる群から選択されるポリペプチド配列を有し、当該IL-12p35サブユニットが、配列番号1（ヒトIL-12サブユニットアルファ（IL-12p35）前駆体配列）および配列番号2（ヒトIL-12サブユニットアルファ（IL-12p35）成熟形態配列）からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

20

【0256】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該Fcドメインの各々が、アミノ酸置換M428L/N424Sをさらに含む、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0257】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、バリエーションIL-12p40サブユニットであり、かつ／または当該IL-12p35サブユニットが、バリエーションIL-12p35サブユニットである、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0258】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、IL-12受容体サブユニットベーター1（IL-12Rβ1）、IL-12受容体サブユニットベーター2（IL-12Rβ2）、および／もしくはIL-12受容体複合体についての変更された親和性を有するバリエーションIL-12p40サブユニットであり、かつ／または当該IL-12p35サブユニットが、IL-12受容体サブユニットベーター1（IL-12Rβ1）、IL-12受容体サブユニットベーター2（IL-12Rβ2）、および／もしくはIL-12受容体複合体についての変更された親和性を有するバリエーションIL-12p35サブユニットである、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

30

【0259】

いくつかの実施形態では、当該IL-12p40サブユニットが、E3、D7、E12、D14、W15、P17、D18、A19、P20、G21、E22、M23、D29、E32、E33、D34、L40、D41、Q42、S43、E45、L47、T54、I55、Q56、K58、E59、F60、G61、D62、Q65、Y66、E73、K84、E86、D87、G88、I89、W90、D93、D97、K99、E100、K102、N103、K104、F106、E110、N113、Y114、D129、D142、Q144、E156、R159、D161、N162、K163、D166、D170、Q172、D174、A176、C177、P178、A179、A180、E181、S183、P185、E187、N200、S204、F206、R208、D209、D214、N218、Q220、N226、Q229、E231、E235、T242、P243、S245、Y246、F247、S248、C252S、Q

40

50

256、K158、K260、E262、K264、D265、D270、N281、Q289、D290、R291、Y292、Y293、およびE299からなる群から選択されるアミノ酸残基で1つ以上のアミノ酸修飾を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0260】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、D18N、D18K、E32Q、E33Q、D34N、D34K、Q42E、S43E、S43K、E45Q、Q56E、E59Q、E59K、D62N、E73Q、D87N、K99E、K99Y、E100Q、N103D、N103Q、N113D、N113Q、Q144E、D161N、R159E、K163E、E187Q、N200D、N200Q、N218Q、Q229E、E235Q、C252S、Q256N、K258E、K260E、E262Q、K264E、N281D、N281Q、およびE299Qからなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0261】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、N103D/N113D/N200D/N281D、Q42E/E45Q、E45Q/Q56E、Q42E/E59Q、Q56E/E59Q、Q42E/E45Q/Q56E、E45Q/Q56E/E59Q、E32Q/E59Q、D34N/E59K、D34N/E59K/K99E、D34K/E59K/K99E、E32Q/D34N/E59K/K99E、E32K/D34N/E59K/K99E、D34N/E59Q、E59Q/E187Q、S43E/E59Q、S43K/E49Q、E59Q/K163E、E59Q/K99E、E59Q/K258E、E59Q/K260E、E59K/K99E、D18K/E59K/K99E、E59K/K99E/K264E、E59K/K99Y、E59Y/K99Y、E59Y/K99E、E45K/E59K/K99E、E59K/K99E/Q144E、E59K/K99E/Q144K、E59K/K99E/R159E、E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/C252S、D18K/E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99Y/C252S、E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99E/C252S、N103D/N113D、N103D/N200D、N103D/N281D、N113D/N200D、N113D/N281D、N200D/N281D、N103D/N113D/N200D、N103D/N113D/N281D、N103D/N200D/N281D、N113D/N200D/N281D、N103Q/N113Q、N103Q/N200Q、N103Q/N281Q、N113Q/N200Q、N113Q/N281Q、N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N200Q、N103Q/N113Q/N281Q、N103Q/N200Q/N281Q、N113Q/N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N200Q/N281Q、E59K/K99E/N103Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、およびE59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264Eからなる群から選択されるアミノ酸置換を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

10

20

30

40

50

【0262】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、i) 配列番号57 (IL-12p40 (N103D))、ii) 配列番号58 (IL-12p40 (N113D))、iii) 配列番号59 (IL-12p40 (N200D))、iv) 配列番号60 (IL-12p40 (N281D))、v) 配列番号61 (IL-12p40 (N103D/N113D/N200D/N281D))、vi) 配列番号62 (IL-12p40 (Q42E))、vii) 配列番号63 (IL-12p40 (E45Q))、viii) 配列番号64 (IL-12p40 (Q56E))、ix) 配列番号65 (IL-12p40 (E59Q))、x) 配列番号66 (IL-12p40 (D62N))、xi) 配列番号67 (IL-12p40 (Q42E/E45Q))、xii) 配列番号68 (IL-12p40 (E45Q/Q56E))、xiii) 配列番号69 (IL-12p40 (Q42E/E59Q))、xiv) 配列番号70 (IL-12p40 (Q56E/E59Q))、xv) 配列番号71 (IL-12p40 (Q42E/E45Q/Q56E))、xvi) 配列番号72 (IL-12p40 (E45Q/Q56E/E59Q))、xvii) 配列番号73 (IL-12p40 (D161N))、xviii) 配列番号74 (IL-12p40 (E73Q))、xix) 配列番号75 (IL-12p40 (Q144E))、xx) 配列番号76 (IL-12p40 (E262Q))、xxi) 配列番号77 (IL-12p40 (E100Q))、xxii) 配列番号78 (IL-12p40 (D18N))、xxiii) 配列番号79 (IL-12p40 (E33Q))、xxiv) 配列番号80 (IL-12p40 (Q229E))、xxv) 配列番号81 (IL-12p40 (E235Q))、xxvi) 配列番号82 (IL-12p40 (Q256N))、xxvii) 配列番号83 (IL-12p40 (E299Q))、xxviii) 配列番号84 (IL-12p40 (D87N))、xxix) IL-12p40 (E32Q)、xxx) IL-12p40 (D34N)、xxxi) IL-12p40 (S43E)、xxxii) IL-12p40 (S43K)、xxxiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、xxxiv) 配列番号205 (IL-12p40 (E59K))、xxxv) IL-12p40 (K99E)、xxxvi) IL-12p40 (K163E)、xxxvii) IL-12p40 (E187Q)、xxxviii) IL-12p40 (K258E)、xxxix) IL-12p40 (K260E)、xl) 配列番号206 (IL-12p40 (E32Q/E59Q))、xli) 配列番号207 (IL-12p40 (D34N/E59Q))、xlii) 配列番号208 (IL-12p40 (E59Q/E187Q))、xliii) 配列番号209 (IL-12p40 (S43E/E59Q))、xliv) 配列番号210 (IL-12p40 (S43K/E49Q))、xlv) 配列番号211 (IL-12p40 (E59Q/K163E))、xlvi) 配列番号212 (IL-12p40 (E59Q/K99E))、xlvii) 配列番号213 (IL-12p40 (E59Q/K258E))、xlviii) 配列番号214 (IL-12p40 (E59Q/K260E))、xlix) 配列番号XXX (IL-12p40 (D34N/E59K))、l) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E))、li) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/K264E))、lii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/K264E))、liii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99Y))、liv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59Y/K99E))、lv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E45K/E59K/K99E))、lvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/Q144E))、lvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/Q144K))、lviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/R159E))、lix) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/K264E))、lx) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/K264E))、lxi) 配列番号XXX (IL-12p40 (C252S))、lxii) 配列番号XXX (IL-

10

20

30

40

50

12p40 (D18K/E59K/K99E/C252S))、lxiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/C252S/K264E))、lxiv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99Y/C252S))、lxv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/C252S/K264E))、lxvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/C252S))、lxvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N113D))、lxviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N200D))、lxix) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N281D))、lxx) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113D/N200D))、lxxi) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113D/N281D))、lxxii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N200D/N281D))、lxxiii) 配列番号XXX (IL-12p50 (N103D/N113D/N200D))、lxxiv) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N113D/N281D))、lxxv) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N200D/N281D))、lxxvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113D/N200D/N281D))、lxxvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q))、lxxviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q))、lxxix) 配列番号XXX (IL-12p40 (N200Q))、lxxx) 配列番号XXX (IL-12p40 (N281Q))、lxxxi) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q))、lxxxii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N200Q))、lxxxiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N281Q))、lxxxiv) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q/N200Q))、lxxxv) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q/N281Q))、lxxxvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (N200Q/N281Q))、lxxxvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N200Q))、lxxxviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N281Q))、lxxxix) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N200Q/N281Q))、xc) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q/N200Q/N281Q))、xci) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N200Q/N281Q))、xcii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D34N/E59K/K99E))、xciii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D34K/E59K/K99E))、xciv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E32Q/D34N/E59K/K99E))、xcv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E32K/D34N/E59K/K99E))、xcvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59Y/K99Y))、xcvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/C252S/K264E))、xcviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E))、xcix) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N200Q/C252S/K264E))、c) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E))、ci) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E))、cii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E))、ciii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264E))、civ) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/K264E))、cv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/N281Q/C252S/K264E))、cvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、cvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、cvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/C252S/K264E))、cvi) 配列番号XXX (I

10

20

30

40

50

L-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、およびcix) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E)) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0263】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p35サブユニットが、Q20、N21、Q35、E38、S44、E45、E46、H49、K54、D55、T59、V60、E61、C63、L64、P65、E67、L68、N71、S73、C74、L75、N76、E79、N85、L89、F96、M97、L124、M125、Q130、Q135、N136、E143、Q146、N151、E153、K158、E162、E163、D165、I171、R181、I182、R183、V185、T186、D188、R189、V190、S192、Y193、N195、およびA196 からなる群から選択されるアミノ酸残基として1つ以上のアミノ酸修飾を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0264】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p35サブユニットが、N21D、Q35D、E38Q、D55Q、D55K、N71D、N71Q、L75A、N76D、E79Q、N85D、N85Q、L89A、F96A、M97A、L124A、M125A、Q130E、Q135E、N136D、E143Q、Q146E、N151D、N151K、E153K、E153Q、K158E、E162Q、E163Q、D165N、I171A、N195D、およびN195Qからなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0265】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p35サブユニットが、N71D/N85D/N195D、N151D/E153Q、N151D/D165N、Q130E/N151D、N151D/K158E、E79Q/N151D、D55Q/N151D、N136D/N151D、N21D/N151D、E143Q/N151D、N71Q/N85Q、N71Q/N195Q、N85Q/N195Q、N71Q/N85Q/N195Q、N71D/N85D、N71D/N195D、およびN85D/N195Dからなる群から選択されるアミノ酸置換を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0266】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p35サブユニットが、i) 配列番号113 (IL-12p35 (N71D))、ii) 配列番号114 (IL-12p35 (N85D))、iii) 配列番号115 (IL-12p35 (N195D))、iv) 配列番号116 (IL-12p35 (N71D/N85D/N195D))、v) 配列番号117 (IL-12p35 (E153Q))、vi) 配列番号118 (IL-12p35 (E38Q))、vii) 配列番号119 (IL-12p35 (N151D))、viii) 配列番号120 (IL-12p35 (Q135E))、ix) 配列番号121 (IL-12p35 (Q35D))、x) 配列番号122 (IL-12p35 (Q146E))、xi) 配列番号123 (IL-12p35 (N76D))、xii) 配列番号124 (IL-12p35 (E162Q))、xiii) 配列番号125 (IL-12p35 (E163Q))、xiv) IL-12p35 (N21D)、xv) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55Q))、xvi) IL-12p35 (E79Q)、xvii) IL-12p35 (Q130E)、xviii) IL-12p35 (N136D)、xix) IL-12p35 (E143Q)、xx) 配列番号227 (IL-12p35 (N151K))、xxi) 配列番号226 (IL-12p35 (E153K))、xxii) IL-12p35 (K158E)、xxiii) IL-12p35 (D165N)、xxiv) 配列番号225 (IL-12p35 (N151D/E153Q))、xxv) 配列番号228 (IL-12p35 (N151D/D165N))、xxvi) 配列番号229

(IL-12p35 (Q130E/N151D))、xxvii) 配列番号230 (IL-12p35 (N151D/K158E))、xxviii) 配列番号231 (IL-12p35 (E79Q/N151D))、xxix) 配列番号232 (IL-12p35 (D55Q/N151D))、xxx) 配列番号233 (IL-12p35 (N136D/N151D))、xxxii) 配列番号234 (IL-12p35 (N21D/N151D))、xxxiii) 配列番号235 (IL-12p35 (E143Q/N151D))、xxxiiii) 配列番号XXX (IL-12p35 (F96A))、xxxiv) 配列番号XXX (IL-12p35 (M97A))、xxxv) 配列番号XXX (IL-12p35 (L89A))、xxxvi) 配列番号XXX (IL-12p35 (L124A))、xxxvii) 配列番号XXX (IL-12p35 (M125A))、xxxviii) 配列番号XXX (IL-12p35 (L75A))、xxxix) 配列番号XXX (IL-12p35 (I171A))、xxxv) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q))、xxxvi) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85Q))、xxxvii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N195Q))、xxxviii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N85Q))、xxxix) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N195Q))、xl) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85Q/N195Q))、xli) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N85D))、xlii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71D/N85D))、xliii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71D/N195D))、xliv) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85D/N195D))、xlv) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55Q))、およびxlvii) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55K)) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0267】

いくつかの実施形態では、当該第1および第2の単量体が、XENP31289である、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0268】

いくつかの実施形態では、当該第1および第2の単量体が、XENP31291である、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0269】

いくつかの実施形態では、本発明は、対象における癌の治療における使用のためのホモ二量体Fc融合タンパク質を含むホモ二量体Fc融合タンパク質組成物を提供する。

【0270】

いくつかの実施形態では、本発明は、ホモ二量体Fc融合タンパク質をコードする1つ以上の核酸を提供する。

【0271】

いくつかの実施形態では、本発明は、ホモ二量体Fc融合タンパク質をコードする当該1つ以上の核酸を含む宿主細胞を提供する。

【0272】

いくつかの実施形態では、本発明は、ホモ二量体Fc融合タンパク質を作製する方法を提供し、当該方法は、当該ホモ二量体Fc融合タンパク質が産生される条件下で宿主細胞を培養することを含む。

【0273】

いくつかの実施形態では、本発明は、ホモ二量体Fc融合タンパク質を精製する方法を提供し、当該方法は、a) ホモ二量体Fc融合タンパク質を含む組成物を提供することと、b) 当該組成物をイオン交換カラムに充填することと、c) 当該ホモ二量体Fc融合タンパク質を含有する画分を収集することと、を含む。

【0274】

別の態様では、本発明は、第1の単量体および第2の単量体を含むホモ二量体Fc融合タンパク質であって、各々が、N末端からC末端へ、Fcドメインー任意の第1のドメイ

ンリンカー－IL－12p35サブユニットドメイン－任意の第2のドメインリンカー－IL－12p40サブユニットドメインを含む、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0275】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該Fcドメインのホモ二量体化を促進する当該修飾が、EU付番に従って、L368D/K370S；S364K；S364K/E357L；S364K/E357Q；T411E/K360E/Q362E；D401K；T366S/L368A/Y407V；T366W；T366S/L368A/Y407V/Y349C；およびT366W/S354Cからなる群から選択されるアミノ酸置換のセットである、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

10

【0276】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該第1のドメインリンカーおよび当該第2のドメインリンカーが、同じアミノ酸配列を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0277】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該Fcドメインが、EU付番に従って、Q295E/N384D/Q418E/N421D、を含むアミノ酸置換の追加のセットを有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0278】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該Fcドメインが、EU付番に従って、G236R/L328R、E233P/L234V/L235A/G236_/S239K、E233P/L234V/L235A/G236_/S239K/A327G、E233P/L234V/L235A/G236_/S267K/A327G、E233P/L234V/L235A/G236_、およびE233P/L234V/L235A/G236_/S267Kからなる群から選択されるアミノ酸置換の追加のセットを有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

20

【0279】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL－12p40サブユニットが、配列番号3（ヒトIL－12サブユニットベータ（IL－12p40）前駆体配列）および配列番号4（ヒトIL－12サブユニットベータ（IL－12p40）成熟形態配列）からなる群から選択されるポリペプチド配列を有し、当該IL－12p35サブユニットが、配列番号1（ヒトIL－12サブユニットアルファ（IL－12p35）前駆体配列）および配列番号2（ヒトIL－12サブユニットアルファ（IL－12p35）成熟形態配列）からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

30

【0280】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該Fcドメインの各々が、アミノ酸置換M428L/N424Sをさらに含む、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0281】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL－12p40サブユニットが、バリエーションIL－12p40サブユニットであり、かつ／または当該IL－12p35サブユニットが、バリエーションIL－12p35サブユニットである、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

40

【0282】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL－12p40サブユニットが、IL－12受容体サブユニットベーター1（IL－12Rβ1）、IL－12受容体サブユニットベーター2（IL－12Rβ2）、および／もしくはIL－12受容体複合体についての変更された親和性を有するバリエーションIL－12p40サブユニットであり、かつ／または当該IL－12p35サブユニットが、IL－12受容体サブユニットベーター1（IL－12Rβ1）、IL－12受容体サブユニットベーター2（IL－12Rβ2）、お

50

【 0 2 8 3 】

10

20

30

40

50

0Q/N281Q、E59K/K99E/N103Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、およびE59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264Eからなる群から選択されるアミノ酸置換を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0286】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、i) 配列番号57 (IL-12p40 (N103D))、ii) 配列番号58 (IL-12p40 (N113D))、iii) 配列番号59 (IL-12p40 (N200D))、iv) 配列番号60 (IL-12p40 (N281D))、v) 配列番号61 (IL-12p40 (N103D/N113D/N200D/N281D))、vi) 配列番号62 (IL-12p40 (Q42E))、vii) 配列番号63 (IL-12p40 (E45Q))、viii) 配列番号64 (IL-12p40 (Q56E))、ix) 配列番号65 (IL-12p40 (E59Q))、x) 配列番号66 (IL-12p40 (D62N))、xi) 配列番号67 (IL-12p40 (Q42E/E45Q))、xii) 配列番号68 (IL-12p40 (E45Q/Q56E))、xiii) 配列番号69 (IL-12p40 (Q42E/E59Q))、xiv) 配列番号70 (IL-12p40 (Q56E/E59Q))、xv) 配列番号71 (IL-12p40 (Q42E/E45Q/Q56E))、xvi) 配列番号72 (IL-12p40 (E45Q/Q56E/E59Q))、xvii) 配列番号73 (IL-12p40 (D161N))、xviii) 配列番号74 (IL-12p40 (E73Q))、xix) 配列番号75 (IL-12p40 (Q144E))、xx) 配列番号76 (IL-12p40 (E262Q))、xxi) 配列番号77 (IL-12p40 (E100Q))、xxii) 配列番号78 (IL-12p40 (D18N))、xxiii) 配列番号79 (IL-12p40 (E33Q))、xxiv) 配列番号80 (IL-12p40 (Q229E))、xxv) 配列番号81 (IL-12p40 (E235Q))、xxvi) 配列番号82 (IL-12p40 (Q256N))、xxvii) 配列番号83 (IL-12p40 (E299Q))、xxviii) 配列番号84 (IL-12p40 (D87N))、xxix) IL-12p40 (E32Q)、xxx) IL-12p40 (D34N)、xxxi) IL-12p40 (S43E)、xxxii) IL-12p40 (S43K)、xxxiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、xxxiv) 配列番号205 (IL-12p40 (E59K))、xxxv) IL-12p40 (K99E)、xxxvi) IL-12p40 (K163E)、xxxvii) IL-12p40 (E187Q)、xxxviii) IL-12p40 (K258E)、xxxix) IL-12p40 (K260E)、xl) 配列番号206 (IL-12p40 (E32Q/E59Q))、xli) 配列番号207 (IL-12p40 (D34N/E59Q))、xlii) 配列番号208 (IL-12p40 (E59Q/E187Q))、xliii) 配列番号209 (IL-12p40 (S43E/E59Q))、xliv) 配列番号210 (IL-12p40 (S43K/E49Q))、xlv) 配列番号211 (IL-12p40 (E59Q/K163E))、xlvi) 配列番号212 (IL-12p40 (E59Q/K99E))、xlvii)

) 配列番号 213 (IL-12p40 (E59Q/K258E))、xlvi) 配列番号 214 (IL-12p40 (E59Q/K260E))、xlix) 配列番号 XXX (IL-12p40 (D34N/E59K))、l) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59K/K99E))、li) 配列番号 XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E))、lii) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/K264E))、liii) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59K/K99Y))、liv) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59Y/K99E))、lv) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E45K/E59K/K99E))、lvi) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/Q144E))、lvii) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/Q144K))、lviii) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/R159E))、lix) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/K264E))、lx) 配列番号 XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/K264E))、lxi) 配列番号 XXX (IL-12p40 (C252S))、lxii) 配列番号 XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/C252S))、lxiii) 配列番号 XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/C252S/K264E))、lxiv) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59K/K99Y/C252S))、lxv) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/C252S/K264E))、lxvi) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/C252S))、lxvii) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N103D/N113D))、lxviii) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N103D/N200D))、lxix) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N103D/N281D))、lxx) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N113D/N200D))、lxxi) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N113D/N281D))、lxxii) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N200D/N281D))、lxxiii) 配列番号 XXX (IL-12p50 (N103D/N113D/N200D))、lxxiv) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N103D/N113D/N281D))、lxxv) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N103D/N200D/N281D))、lxxvi) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N113D/N200D/N281D))、lxxvii) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N103Q))、lxxviii) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N113Q))、lxxix) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N200Q))、lxxx) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N281Q))、lxxxi) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q))、lxxxii) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N103Q/N200Q))、lxxxiii) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N103Q/N281Q))、lxxxiv) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N113Q/N200Q))、lxxxv) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N113Q/N281Q))、lxxxvi) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N200Q/N281Q))、lxxxvii) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N200Q))、lxxxviii) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N281Q))、lxxxix) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N103Q/N200Q/N281Q))、xc) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N113Q/N200Q/N281Q))、xci) 配列番号 XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N200Q/N281Q))、xcii) 配列番号 XXX (IL-12p40 (D34N/E59K/K99E))、xciii) 配列番号 XXX (IL-12p40 (D34K/E59K/K99E))、xciv) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E32Q/D34N/E59K/K99E))、xcv) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E32K/D34N/E59K/K99E))、xcvi) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59Y/K99Y))、xcvii) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/C252S/K264E))、xcviii) 配列番号 XXX (

10

20

30

40

50

IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E))、xcix) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N200Q/C252S/K264E))、c) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E))、ci) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E))、cii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E))、ciii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264E))、civ) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/K264E))、cv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/N281Q/C252S/K264E))、cvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、cvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、cvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/C252S/K264E))、cvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、およびcix) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E)) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0287】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p35サブユニットが、Q20、N21、Q35、E38、S44、E45、E46、H49、K54、D55、T59、V60、E61、C63、L64、P65、E67、L68、N71、S73、C74、L75、N76、E79、N85、L89、F96、M97、L124、M125、Q130、Q135、N136、E143、Q146、N151、E153、K158、E162、E163、D165、I171、R181、I182、R183、V185、T186、D188、R189、V190、S192、Y193、N195、およびA196 からなる群から選択されるアミノ酸残基として1つ以上のアミノ酸修飾を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0288】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p35サブユニットが、N21D、Q35D、E38Q、D55Q、D55K、N71D、N71Q、L75A、N76D、E79Q、N85D、N85Q、L89A、F96A、M97A、L124A、M125A、Q130E、Q135E、N136D、E143Q、Q146E、N151D、N151K、E153K、E153Q、K158E、E162Q、E163Q、D165N、I171A、N195D、およびN195Qからなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0289】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p35サブユニットが、N71D/N85D/N195D、N151D/E153Q、N151D/D165N、Q130E/N151D、N151D/K158E、E79Q/N151D、D55Q/N151D、N136D/N151D、N21D/N151D、E143Q/N151D、N71Q/N85Q、N71Q/N195Q、N85Q/N195Q、N71Q/N85Q/N195Q、N71D/N85D、N71D/N195D、およびN85D/N195Dからなる群から選択されるアミノ酸置換を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0290】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p35サブユニットが、i) 配列番号113 (IL-12p35 (N71D))、ii) 配列番号114 (IL-12p35 (N85D))、iii) 配列番号115 (IL-12p35 (N195D))、iv) 配列番号116 (IL-12p35 (N71D/N85D/N195D))、v) 配列

10

20

30

40

50

番号117 (IL-12p35 (E153Q))、vi) 配列番号118 (IL-12p35 (E38Q))、vii) 配列番号119 (IL-12p35 (N151D))、viii) 配列番号120 (IL-12p35 (Q135E))、ix) 配列番号121 (IL-12p35 (Q35D))、x) 配列番号122 (IL-12p35 (Q146E))、xi) 配列番号123 (IL-12p35 (N76D))、xii) 配列番号124 (IL-12p35 (E162Q))、xiii) 配列番号125 (IL-12p35 (E163Q))、xiv) IL-12p35 (N21D)、xv) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55Q))、xvi) IL-12p35 (E79Q)、xvii) IL-12p35 (Q130E)、xviii) IL-12p35 (N136D)、xix) IL-12p35 (E143Q)、xx) 配列番号227 (IL-12p35 (N151K))、xxi) 配列番号226 (IL-12p35 (E153K))、xxii) IL-12p35 (K158E)、xxiii) IL-12p35 (D165N)、xxiv) 配列番号225 (IL-12p35 (N151D/E153Q))、xxv) 配列番号228 (IL-12p35 (N151D/D165N))、xxvi) 配列番号229 (IL-12p35 (Q130E/N151D))、xxvii) 配列番号230 (IL-12p35 (N151D/K158E))、xxviii) 配列番号231 (IL-12p35 (E79Q/N151D))、xxix) 配列番号232 (IL-12p35 (D55Q/N151D))、xxx) 配列番号233 (IL-12p35 (N136D/N151D))、xxxi) 配列番号234 (IL-12p35 (N21D/N151D))、xxxii) 配列番号235 (IL-12p35 (E143Q/N151D))、xxxiii) 配列番号XXX (IL-12p35 (F96A))、xxxiv) 配列番号XXX (IL-12p35 (M97A))、xxxv) 配列番号XXX (IL-12p35 (L89A))、xxxvi) 配列番号XXX (IL-12p35 (L124A))、xxxvii) 配列番号XXX (IL-12p35 (M125A))、xxxviii) 配列番号XXX (IL-12p35 (L75A))、xxxix) 配列番号XXX (IL-12p35 (I171A))、xxxx) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q))、xxxxi) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85Q))、xxxxii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N195Q))、xxxxiii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N85Q))、xxxxiv) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N195Q))、xl) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85Q/N195Q))、xli) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71D/N85D))、xlii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71D/N195D))、xliii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85D/N195D))、xliv) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55Q))、およびxlv) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55K)) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0291】

いくつかの実施形態では、当該第1および第2の単量体が、XENP31289である、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0292】

いくつかの実施形態では、当該第1および第2の単量体が、XENP31291である、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0293】

いくつかの実施形態では、本発明は、対象における癌の治療における使用のためのホモ二量体Fc融合タンパク質を含むホモ二量体Fc融合タンパク質組成物を提供する。

【0294】

いくつかの実施形態では、本発明は、ホモ二量体Fc融合タンパク質をコードする1つ以上の核酸を提供する。

【0295】

いくつかの実施形態では、本発明は、ホモ二量体 F c 融合タンパク質をコードする当該 1 つ以上の核酸を含む宿主細胞を提供する。

【0296】

いくつかの実施形態では、本発明は、ホモ二量体 F c 融合タンパク質を作製する方法を提供し、当該方法は、当該ホモ二量体 F c 融合タンパク質が産生される条件下で宿主細胞を培養することを含む。

【0297】

いくつかの実施形態では、本発明は、ホモ二量体 F c 融合タンパク質を精製する方法を提供し、当該方法は、a) ホモ二量体 F c 融合タンパク質を含む組成物を提供することと、b) 当該組成物をイオン交換カラムに充填することと、c) 当該ホモ二量体 F c 融合タンパク質を含有する画分を収集することと、を含む。

【0298】

別の態様では、本発明は、第 1 の単量体および第 2 の単量体を含むホモ二量体 F c 融合タンパク質であって、各々が、N 末端から C 末端へ、IL-12p40 サブユニットドメイン-第 1 のドメインリンカー-IL-12p35 サブユニットドメイン-第 2 のドメインリンカー-F c ドメインを含む、ホモ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

【0299】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 F c ドメインのホモ二量体化を促進する当該修飾が、EU 付番に従って、L368D/K370S; S364K; S364K/E357L; S364K/E357Q; T411E/K360E/Q362E; D401K; T366S/L368A/Y407V; T366W; T366S/L368A/Y407V/Y349C; および T366W/S354C からなる群から選択されるアミノ酸置換のセットである、ホモ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

【0300】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該第 1 のドメインリンカーおよび当該第 2 のドメインリンカーが、同じアミノ酸配列を有する、ホモ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

【0301】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 F c ドメインが、EU 付番に従って、Q295E/N384D/Q418E/N421D、を含むアミノ酸置換の追加のセットを有する、ホモ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

【0302】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 F c ドメインが、EU 付番に従って、G236R/L328R、E233P/L234V/L235A/G236_/S239K、E233P/L234V/L235A/G236_/S239K/A327G、E233P/L234V/L235A/G236_/S267K/A327G、E233P/L234V/L235A/G236_、および E233P/L234V/L235A/G236_/S267K からなる群から選択されるアミノ酸置換の追加のセットを有する、ホモ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

【0303】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 IL-12p40 サブユニットが、配列番号 3 (ヒト IL-12 サブユニットベータ (IL-12p40) 前駆体配列) および配列番号 4 (ヒト IL-12 サブユニットベータ (IL-12p40) 成熟形態配列) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有し、当該 IL-12p35 サブユニットが、配列番号 1 (ヒト IL-12 サブユニットアルファ (IL-12p35) 前駆体配列) および配列番号 2 (ヒト IL-12 サブユニットアルファ (IL-12p35) 成熟形態配列) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ホモ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

【0304】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 F c ドメインの各々が、アミノ酸置換 M42

10

20

30

40

50

8 L / N 4 2 4 S をさらに含む、ホモ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

【0305】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 I L - 1 2 p 4 0 サブユニットが、バリエーション I L - 1 2 p 4 0 サブユニットであり、かつ／または当該 I L - 1 2 p 3 5 サブユニットが、バリエーション I L - 1 2 p 3 5 サブユニットである、ホモ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

【0306】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 I L - 1 2 p 4 0 サブユニットが、I L - 1 2 受容体サブユニットベクター 1 (I L - 1 2 R β 1)、I L - 1 2 受容体サブユニットベクター 2 (I L - 1 2 R β 2)、および／もしくは I L - 1 2 受容体複合体についての 10 変更された親和性を有するバリエーション I L - 1 2 p 4 0 サブユニットであり、かつ／または当該 I L - 1 2 p 3 5 サブユニットが、I L - 1 2 受容体サブユニットベクター 1 (I L - 1 2 R β 1)、I L - 1 2 受容体サブユニットベクター 2 (I L - 1 2 R β 2)、および／もしくは I L - 1 2 受容体複合体についての 20 変更された親和性を有するバリエーション I L - 1 2 p 3 5 サブユニットである、ホモ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

【0307】

いくつかの実施形態では、当該 I L - 1 2 p 4 0 サブユニットが、E 3、D 7、E 1 2、D 1 4、W 1 5、P 1 7、D 1 8、A 1 9、P 2 0、G 2 1、E 2 2、M 2 3、D 2 9、E 3 2、E 3 3、D 3 4、L 4 0、D 4 1、Q 4 2、S 4 3、E 4 5、L 4 7、T 5 4、I 5 5、Q 5 6、K 5 8、E 5 9、F 6 0、G 6 1、D 6 2、Q 6 5、Y 6 6、E 7 3、K 8 4、E 8 6、D 8 7、G 8 8、I 8 9、W 9 0、D 9 3、D 9 7、K 9 9、E 1 0 0、K 1 0 2、N 1 0 3、K 1 0 4、F 1 0 6、E 1 1 0、N 1 1 3、Y 1 1 4、D 1 2 9、D 1 4 2、Q 1 4 4、E 1 5 6、R 1 5 9、D 1 6 1、N 1 6 2、K 1 6 3、D 1 6 6、D 1 7 0、Q 1 7 2、D 1 7 4、A 1 7 6、C 1 7 7、P 1 7 8、A 1 7 9、A 1 8 0、E 1 8 1、S 1 8 3、P 1 8 5、E 1 8 7、N 2 0 0、S 2 0 4、F 2 0 6、R 2 0 8、D 2 0 9、D 2 1 4、N 2 1 8、Q 2 2 0、N 2 2 6、Q 2 2 9、E 2 3 1、E 2 3 5、T 2 4 2、P 2 4 3、S 2 4 5、Y 2 4 6、F 2 4 7、S 2 4 8、C 2 5 2 S、Q 2 5 6、K 1 5 8、K 2 6 0、E 2 6 2、K 2 6 4、D 2 6 5、D 2 7 0、N 2 8 1、Q 2 8 9、D 2 9 0、R 2 9 1、Y 2 9 2、Y 2 9 3、および E 2 9 9 からなる群から選択 30 されるアミノ酸残基で 1 つ以上のアミノ酸修飾を有する、ホモ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

【0308】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 I L - 1 2 p 4 0 サブユニットが、D 1 8 N、D 1 8 K、E 3 2 Q、E 3 3 Q、D 3 4 N、D 3 4 K、Q 4 2 E、S 4 3 E、S 4 3 K、E 4 5 Q、Q 5 6 E、E 5 9 Q、E 5 9 K、D 6 2 N、E 7 3 Q、D 8 7 N、K 9 9 E、K 9 9 Y、E 1 0 0 Q、N 1 0 3 D、N 1 0 3 Q、N 1 1 3 D、N 1 1 3 Q、Q 1 4 4 E、D 1 6 1 N、R 1 5 9 E、K 1 6 3 E、E 1 8 7 Q、N 2 0 0 D、N 2 0 0 Q、N 2 1 8 Q、Q 2 2 9 E、E 2 3 5 Q、C 2 5 2 S、Q 2 5 6 N、K 2 5 8 E、K 2 6 0 E、E 2 6 2 Q、K 2 6 4 E、N 2 8 1 D、N 2 8 1 Q、および E 2 9 9 Q からなる群から選択 40 される 1 つ以上のアミノ酸置換を有する、ホモ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

【0309】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 I L - 1 2 p 4 0 サブユニットが、N 1 0 3 D / N 1 1 3 D / N 2 0 0 D / N 2 8 1 D、Q 4 2 E / E 4 5 Q、E 4 5 Q / Q 5 6 E、Q 4 2 E / E 5 9 Q、Q 5 6 E / E 5 9 Q、Q 4 2 E / E 4 5 Q / Q 5 6 E、E 4 5 Q / Q 5 6 E / E 5 9 Q、E 3 2 Q / E 5 9 Q、D 3 4 N / E 5 9 K、D 3 4 N / E 5 9 K / K 9 9 E、D 3 4 K / E 5 9 K / K 9 9 E、E 3 2 Q / D 3 4 N / E 5 9 K / K 9 9 E、E 3 2 K / D 3 4 N / E 5 9 K / K 9 9 E、D 3 4 N / E 5 9 Q、E 5 9 Q / E 1 8 7 Q、S 4 3 E / E 5 9 Q、S 4 3 K / E 4 9 Q、E 5 9 Q / K 1 6 3 E、E 5 9 Q / K 9 9 E、E 5 9 Q / K 2 5 8 E、E 5 9 Q / K 2 6 0 E、E 5 9 K / K 9 9 E、D 1 8 K / E 5 9 K / K 9 9 E、E 5 9 K / K 9 9 E / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 Y、E 5 9 Y / 50

K99Y、E59Y/K99E、E45K/E59K/K99E、E59K/K99E/Q144E、E59K/K99E/Q144K、E59K/K99E/R159E、E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/C252S、D18K/E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99Y/C252S、E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99E/C252S、N103D/N113D、N103D/N200D、N103D/N281D、N113D/N200D、N113D/N281D、N200D/N281D、N103D/N113D/N200D、N103D/N113D/N281D、N103D/N200D/N281D、N113D/N200D/N281D、N103Q/N113Q、N103Q/N200Q、N103Q/N281Q、N113Q/N200Q、N113Q/N281Q、N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N200Q、N103Q/N113Q/N281Q、N103Q/N200Q/N281Q、E59K/K99E/N103Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、およびE59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264Eからなる群から選択されるアミノ酸置換を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、

i) 配列番号57 (IL-12p40 (N103D))、ii) 配列番号58 (IL-12p40 (N113D))、iii) 配列番号59 (IL-12p40 (N200D))、iv) 配列番号60 (IL-12p40 (N281D))、v) 配列番号61 (IL-12p40 (N103D/N113D/N200D/N281D))、vi) 配列番号62 (IL-12p40 (Q42E))、vii) 配列番号63 (IL-12p40 (E45Q))、viii) 配列番号64 (IL-12p40 (Q56E))、ix) 配列番号65 (IL-12p40 (E59Q))、x) 配列番号66 (IL-12p40 (D62N))、xi) 配列番号67 (IL-12p40 (Q42E/E45Q))、xii) 配列番号68 (IL-12p40 (E45Q/Q56E))、xiii) 配列番号69 (IL-12p40 (Q42E/E59Q))、xiv) 配列番号70 (IL-12p40 (Q56E/E59Q))、xv) 配列番号71 (IL-12p40 (Q42E/E45Q/Q56E))、xvi) 配列番号72 (IL-12p40 (E45Q/Q56E/E59Q))、xvii) 配列番号73 (IL-12p40 (D161N))、xviii) 配列番号74 (IL-12p40 (E73Q))、xix) 配列番号75 (IL-12p40 (Q144E))、xx) 配列番号76 (IL-12p40 (E262Q))、xxi) 配列番号77 (IL-12p40 (E100Q))、xxii) 配列番号78 (IL-12p40 (D18N))、xxiii) 配列番号79 (IL-12p40 (E33Q))、xxiv) 配列番号80 (IL-12p40 (Q229E))、xxv) 配列番号81 (IL-12p40 (E235Q))、xxvi) 配列番号82 (IL-12p40 (Q256N))、xxvii) 配列番号83 (IL-12p40 (E299Q))、xxviii) 配列番号84 (IL-12p40 (D87N))、xxix) IL-12p40 (E32Q)、xxx) IL-12p40 (D34N)、xxxix) IL-12p40

0 (S43E)、xxxii) IL-12p40 (S43K)、xxxiii) 配列番号
 XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q
 /N281Q/C252S/K264E))、xxxiv) 配列番号205 (IL-12
 p40 (E59K))、xxxv) IL-12p40 (K99E)、xxxvi) IL-
 12p40 (K163E)、xxxvii) IL-12p40 (E187Q)、xxxv
 iii) IL-12p40 (K258E)、xxxix) IL-12p40 (K260E
)、xl) 配列番号206 (IL-12p40 (E32Q/E59Q))、xli) 配列
 番号207 (IL-12p40 (D34N/E59Q))、xlii) 配列番号208 (IL-12p40 (E59Q/E187Q))、xliii) 配列番号209 (IL-12p40 (S43E/E59Q))、xliv) 配列番号210 (IL-12p40 (S43K/E49Q))、xlv) 配列番号211 (IL-12p40 (E59Q/K163E))、xlvi) 配列番号212 (IL-12p40 (E59Q/K99E))、xlvii) 配列番号213 (IL-12p40 (E59Q/K258E))、xlviii) 配列番号214 (IL-12p40 (E59Q/K260E))、xlix) 配列番号XXX (IL-12p40 (D34N/E59K))、li) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E))、lii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E))、liii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/K264E))、liiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99Y))、liv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59Y/K99E))、lv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E45K/E59K/K99E))、lvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/Q144E))、lvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/Q144K))、lviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/R159E))、lix) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/K264E))、lx) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/K264E))、lxi) 配列番号XXX (IL-12p40 (C252S))、lxii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/C252S))、lxiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/C252S/K264E))、lxiv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99Y/C252S))、lxv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/C252S/K264E))、lxvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/C252S))、lxvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N113D))、lxviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N200D))、lxix) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N281D))、lxx) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113D/N200D))、lxxi) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113D/N281D))、lxxii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N200D/N281D))、lxxiii) 配列番号XXX (IL-12p50 (N103D/N113D/N200D))、lxxiv) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N113D/N281D))、lxxv) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N200D/N281D))、lxxvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113D/N200D/N281D))、lxxvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q))、lxxviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q))、lxxix) 配列番号XXX (IL-12p40 (N200Q))、lxxx) 配列番号XXX (IL-12p40 (N281Q))、lxxxi) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q))、lxxxii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N200Q))、lxxxiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N281Q))、lxxxiv) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q/N200Q))、lxxxv) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q/N281Q))、lxxxvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (N200Q/N281Q))、lxxxvii)

10

20

30

40

50

i) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N200Q))、lxxxviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N281Q))、lxxxix) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N200Q/N281Q))、xc) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q/N200Q/N281Q))、xci) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N200Q/N281Q))、xcii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D34N/E59K/K99E))、xciii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D34K/E59K/K99E))、xciv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E32Q/D34N/E59K/K99E))、xcv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E32K/D34N/E59K/K99E))、xcvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59Y/K99Y))、xcvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/C252S/K264E))、xcviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E))、xcix) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N200Q/C252S/K264E))、c) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E))、ci) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E))、cii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E))、ciii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264E))、civ) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/K264E))、cv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/N281Q/C252S/K264E))、cvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、cvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/C252S/K264E))、cviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、およびcix) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E))からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0310】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p35サブユニットが、Q20、N21、Q35、E38、S44、E45、E46、H49、K54、D55、T59、V60、E61、C63、L64、P65、E67、L68、N71、S73、C74、L75、N76、E79、N85、L89、F96、M97、L124、M125、Q130、Q135、N136、E143、Q146、N151、E153、K158、E162、E163、D165、I171、R181、I182、R183、V185、T186、D188、R189、V190、S192、Y193、N195、およびA196からなる群から選択されるアミノ酸残基として1つ以上のアミノ酸修飾を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0311】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p35サブユニットが、N21D、Q35D、E38Q、D55Q、D55K、N71D、N71Q、L75A、N76D、E79Q、N85D、N85Q、L89A、F96A、M97A、L124A、M125A、Q130E、Q135E、N136D、E143Q、Q146E、N151D、N151K、E153K、E153Q、K158E、E162Q、E163Q、D165N、I171A、N195D、およびN195Qからなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0312】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p35サブユニットが、N71D/N85D/N195D、N151D/E153Q、N151D/D165N、Q130E/N151D、N151D/K158E、E79Q/N151D、D55Q/N151D、N136D/N151D、N21D/N151D、E143Q/N151D、N71Q/N85Q、N71Q/N195Q、N85Q/N195Q、N71Q/N85Q/N195Q、N71D/N85D、N71D/N195D、およびN85D/N195Dからなる群から選択されるアミノ酸置換を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0313】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p35サブユニットが、i) 配列番号113 (IL-12p35 (N71D))、ii) 配列番号114 (IL-12p35 (N85D))、iii) 配列番号115 (IL-12p35 (N195D))、iv) 配列番号116 (IL-12p35 (N71D/N85D/N195D))、v) 配列番号117 (IL-12p35 (E153Q))、vi) 配列番号118 (IL-12p35 (E38Q))、vii) 配列番号119 (IL-12p35 (N151D))、viii) 配列番号120 (IL-12p35 (Q135E))、ix) 配列番号121 (IL-12p35 (Q35D))、x) 配列番号122 (IL-12p35 (Q146E))、xi) 配列番号123 (IL-12p35 (N76D))、xii) 配列番号124 (IL-12p35 (E162Q))、xiii) 配列番号125 (IL-12p35 (E163Q))、xiv) IL-12p35 (N21D)、xv) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55Q))、xvi) IL-12p35 (E79Q)、xvii) IL-12p35 (Q130E)、xviii) IL-12p35 (N136D)、xix) IL-12p35 (E143Q)、xx) 配列番号227 (IL-12p35 (N151K))、xxi) 配列番号226 (IL-12p35 (E153K))、xxii) IL-12p35 (K158E)、xxiii) IL-12p35 (D165N)、xxiv) 配列番号225 (IL-12p35 (N151D/E153Q))、xxv) 配列番号228 (IL-12p35 (N151D/D165N))、xxvi) 配列番号229 (IL-12p35 (Q130E/N151D))、xxvii) 配列番号230 (IL-12p35 (N151D/K158E))、xxviii) 配列番号231 (IL-12p35 (E79Q/N151D))、xxix) 配列番号232 (IL-12p35 (D55Q/N151D))、xxx) 配列番号233 (IL-12p35 (N136D/N151D))、xxxi) 配列番号234 (IL-12p35 (N21D/N151D))、xxxx) 配列番号235 (IL-12p35 (E143Q/N151D))、xxxxi) 配列番号XXX (IL-12p35 (F96A))、xxxxiv) 配列番号XXX (IL-12p35 (M97A))、xxxxv) 配列番号XXX (IL-12p35 (L89A))、xxxxvi) 配列番号XXX (IL-12p35 (L124A))、xxxxvii) 配列番号XXX (IL-12p35 (M125A))、xxxxviii) 配列番号XXX (IL-12p35 (L75A))、xxxxiv) 配列番号XXX (IL-12p35 (I171A))、xxxxv) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q))、xxxxvi) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85Q))、xxxxvii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N195Q))、xxxxviii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N85Q))、xxxxix) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N195Q))、xl) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85Q/N195Q))、xli) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N85Q/N195Q))、xlii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71D/N85D))、xliii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71D/N195D))、xliv) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85D/N195D))、xlv) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55Q))、およびxlvii) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55K)) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

10

20

30

40

50

【0314】

いくつかの実施形態では、当該第1および第2の単量体が、XENP31289である、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0315】

いくつかの実施形態では、当該第1および第2の単量体が、XENP31291である、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0316】

いくつかの実施形態では、本発明は、対象における癌の治療における使用のためのホモ二量体Fc融合タンパク質を含むホモ二量体Fc融合タンパク質組成物を提供する。

【0317】

いくつかの実施形態では、本発明は、ホモ二量体Fc融合タンパク質をコードする1つ以上の核酸を提供する。

【0318】

いくつかの実施形態では、本発明は、ホモ二量体Fc融合タンパク質をコードする当該1つ以上の核酸を含む宿主細胞を提供する。

【0319】

いくつかの実施形態では、本発明は、ホモ二量体Fc融合タンパク質を作製する方法を提供し、当該方法は、当該ホモ二量体Fc融合タンパク質が産生される条件下で宿主細胞を培養することを含む。

【0320】

いくつかの実施形態では、本発明は、ホモ二量体Fc融合タンパク質を精製する方法を提供し、当該方法は、a) ホモ二量体Fc融合タンパク質を含む組成物を提供することと、b) 当該組成物をイオン交換カラムに充填することと、c) 当該ホモ二量体Fc融合タンパク質を含有する画分を収集することと、を含む。

【0321】

別の態様では、本発明は、第1の単量体および第2の単量体を含むホモ二量体Fc融合タンパク質であって、各々が、N末端からC末端へ、IL-12p35サブユニットドメイン-第1のドメインリンカー-IL-12p40サブユニットドメイン-第2のドメインリンカー-Fcドメインを含む、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0322】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該Fcドメインのホモ二量体化を促進する当該修飾が、EU付番に従って、L368D/K370S; S364K; S364K/E357L; S364K/E357Q; T411E/K360E/Q362E; D401K; T366S/L368A/Y407V; T366W; T366S/L368A/Y407V/Y349C; およびT366W/S354Cからなる群から選択されるアミノ酸置換のセットである、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0323】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該第1のドメインリンカーおよび当該第2のドメインリンカーが、同じアミノ酸配列を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0324】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該Fcドメインが、EU付番に従って、Q295E/N384D/Q418E/N421D、を含むアミノ酸置換の追加のセットを有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0325】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該Fcドメインが、EU付番に従って、G236R/L328R、E233P/L234V/L235A/G236_/S239K、E233P/L234V/L235A/G236_/S239K/A327G、E233P/L234V/L235A/G236_/S267K/A327G、E233P/L234V/L235A/G236_、およびE233P/L234V/L235A/G236

10

20

30

40

50

—／S 2 6 7 Kからなる群から選択されるアミノ酸置換の追加のセットを有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0326】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、配列番号3（ヒトIL-12サブユニットベータ（IL-12p40）前駆体配列）および配列番号4（ヒトIL-12サブユニットベータ（IL-12p40）成熟形態配列）からなる群から選択されるポリペプチド配列を有し、当該IL-12p35サブユニットが、配列番号1（ヒトIL-12サブユニットアルファ（IL-12p35）前駆体配列）および配列番号2（ヒトIL-12サブユニットアルファ（IL-12p35）成熟形態配列）からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

10

【0327】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該Fcドメインの各々が、アミノ酸置換M428L／N424Sをさらに含む、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0328】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、バリエーションIL-12p40サブユニットであり、かつ／または当該IL-12p35サブユニットが、バリエーションIL-12p35サブユニットである、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0329】

20

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、IL-12受容体サブユニットベーター1（IL-12Rβ1）、IL-12受容体サブユニットベーター2（IL-12Rβ2）、および／もしくはIL-12受容体複合体についての変更された親和性を有するバリエーションIL-12p40サブユニットであり、かつ／または当該IL-12p35サブユニットが、IL-12受容体サブユニットベーター1（IL-12Rβ1）、IL-12受容体サブユニットベーター2（IL-12Rβ2）、および／もしくはIL-12受容体複合体についての変更された親和性を有するバリエーションIL-12p35サブユニットである、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0330】

いくつかの実施形態では、当該IL-12p40サブユニットが、E3、D7、E12、D14、W15、P17、D18、A19、P20、G21、E22、M23、D29、E32、E33、D34、L40、D41、Q42、S43、E45、L47、T54、I55、Q56、K58、E59、F60、G61、D62、Q65、Y66、E73、K84、E86、D87、G88、I89、W90、D93、D97、K99、E100、K102、N103、K104、F106、E110、N113、Y114、D129、D142、Q144、E156、R159、D161、N162、K163、D166、D170、Q172、D174、A176、C177、P178、A179、A180、E181、S183、P185、E187、N200、S204、F206、R208、D209、D214、N218、Q220、N226、Q229、E231、E235、T242、P243、S245、Y246、F247、S248、C252S、Q256、K158、K260、E262、K264、D265、D270、N281、Q289、D290、R291、Y292、Y293、およびE299からなる群から選択されるアミノ酸残基で1つ以上のアミノ酸修飾を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

30

40

【0331】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、D18N、D18K、E32Q、E33Q、D34N、D34K、Q42E、S43E、S43K、E45Q、Q56E、E59Q、E59K、D62N、E73Q、D87N、K99E、K99Y、E100Q、N103D、N103Q、N113D、N113Q、Q144E、D161N、R159E、K163E、E187Q、N200D、N200Q、N2

50

18Q、Q229E、E235Q、C252S、Q256N、K258E、K260E、E262Q、K264E、N281D、N281Q、およびE299Qからなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0332】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、N103D/N113D/N200D/N281D、Q42E/E45Q、E45Q/Q56E、Q42E/E59Q、Q56E/E59Q、Q42E/E45Q/Q56E、E45Q/Q56E/E59Q、E32Q/E59Q、D34N/E59K、D34N/E59K/K99E、D34K/E59K/K99E、E32Q/D34N/E59K/K99E、E32K/D34N/E59K/K99E、D34N/E59Q、E59Q/E187Q、S43E/E59Q、S43K/E49Q、E59Q/K163E、E59Q/K99E、E59Q/K258E、E59Q/K260E、E59K/K99E、D18K/E59K/K99E、E59K/K99E/K264E、E59K/K99Y、E59Y/K99Y、E59Y/K99E、E45K/E59K/K99E、E59K/K99E/Q144E、E59K/K99E/Q144K、E59K/K99E/R159E、E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/C252S、D18K/E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99Y/C252S、E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99E/C252S、N103D/N113D、N103D/N200D、N103D/N281D、N113D/N200D、N113D/N281D、N200D/N281D、N103D/N113D/N200D、N103D/N113D/N281D、N103D/N200D/N281D、N113D/N200D/N281D、N103Q/N113Q、N103Q/N200Q、N103Q/N281Q、N113Q/N200Q、N113Q/N281Q、N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N200Q、N103Q/N113Q/N281Q、N103Q/N200Q/N281Q、N113Q/N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N200Q/N281Q、E59K/K99E/N103Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、およびE59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264Eからなる群から選択されるアミノ酸置換を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、

i) 配列番号57 (IL-12p40 (N103D))、ii) 配列番号58 (IL-12p40 (N113D))、iii) 配列番号59 (IL-12p40 (N200D))、iv) 配列番号60 (IL-12p40 (N281D))、v) 配列番号61 (IL-12p40 (N103D/N113D/N200D/N281D))、vi) 配列番号62 (IL-12p40 (Q42E))、vii) 配列番号63 (IL-12p40 (E45Q))、viii) 配列番号64 (IL-12p40 (Q56E))、ix) 配列番号65 (IL-12p40 (E59Q))、x) 配列番号66 (IL-12p40 (D62N))、xi) 配列番号67 (IL-12p40 (Q42E/E45Q))、xii) 配列番号68 (IL-12p40 (E45Q/Q56E))、xiii) 配列番号69 (I

10

20

30

40

50

L-12p40 (Q42E/E59Q))、xiv) 配列番号70 (IL-12p40 (Q56E/E59Q))、xv) 配列番号71 (IL-12p40 (Q42E/E45Q/Q56E))、xvi) 配列番号72 (IL-12p40 (E45Q/Q56E/E59Q))、xvii) 配列番号73 (IL-12p40 (D161N))、xviii) 配列番号74 (IL-12p40 (E73Q))、xix) 配列番号75 (IL-12p40 (Q144E))、xx) 配列番号76 (IL-12p40 (E262Q))、xxi) 配列番号77 (IL-12p40 (E100Q))、xxii) 配列番号78 (IL-12p40 (D18N))、xxiii) 配列番号79 (IL-12p40 (E33Q))、xxiv) 配列番号80 (IL-12p40 (Q229E))、xxv) 配列番号81 (IL-12p40 (E235Q))、xxvi) 配列番号82 (IL-12p40 (Q256N))、xxvii) 配列番号83 (IL-12p40 (E299Q))、xxviii) 配列番号84 (IL-12p40 (D87N))、xxix) IL-12p40 (E32Q)、xxx) IL-12p40 (D34N)、xxxii) IL-12p40 (S43E)、xxxiii) IL-12p40 (S43K)、xxxiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、xxxiv) 配列番号205 (IL-12p40 (E59K))、xxxv) IL-12p40 (K99E)、xxxvi) IL-12p40 (K163E)、xxxvii) IL-12p40 (E187Q)、xxxviii) IL-12p40 (K258E)、xxxix) IL-12p40 (K260E)、xl) 配列番号206 (IL-12p40 (E32Q/E59Q))、xli) 配列番号207 (IL-12p40 (D34N/E59Q))、xlii) 配列番号208 (IL-12p40 (E59Q/E187Q))、xliii) 配列番号209 (IL-12p40 (S43E/E59Q))、xliv) 配列番号210 (IL-12p40 (S43K/E49Q))、xlv) 配列番号211 (IL-12p40 (E59Q/K163E))、xlvi) 配列番号212 (IL-12p40 (E59Q/K99E))、xlvii) 配列番号213 (IL-12p40 (E59Q/K258E))、xlvi) 配列番号214 (IL-12p40 (E59Q/K260E))、xlix) 配列番号XXX (IL-12p40 (D34N/E59K))、li) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E))、li) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E))、lii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/K264E))、liii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99Y))、liv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59Y/K99E))、lv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E45K/E59K/K99E))、lvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/Q144E))、lvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/Q144K))、lviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/R159E))、lix) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/K264E))、lx) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/K264E))、lxi) 配列番号XXX (IL-12p40 (C252S))、lxii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/C252S))、lxiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/C252S/K264E))、lxiv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99Y/C252S))、lxv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/C252S/K264E))、lxvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/C252S))、lxvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N113D))、lxviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N200D))、lix) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N281D))、lxx) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113D/N200D))、lxxi) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113D/N281D))、lxxii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N200D/N281D))、lxxiii) 配列番号

10

20

30

40

50

XXX (IL-12p50 (N103D/N113D/N200D))、lxxiv) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N113D/N281D))、lxxv) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N200D/N281D))、lxxvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113D/N200D/N281D))、lxxvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q))、lxxviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q))、lxxix) 配列番号XXX (IL-12p40 (N200Q))、lxxx) 配列番号XXX (IL-12p40 (N281Q))、lxxxi) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q))、lxxxii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N200Q))、lxxxiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N281Q))、lxxxiv) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q/N200Q))、lxxxv) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q/N281Q))、lxxxvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (N200Q/N281Q))、lxxxvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N200Q))、lxxxviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N281Q))、lxxxix) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N200Q/N281Q))、xc) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q/N200Q/N281Q))、xci) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N200Q/N281Q))、xcii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D34N/E59K/K99E))、xciii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D34K/E59K/K99E))、xciv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E32Q/D34N/E59K/K99E))、xcv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E32K/D34N/E59K/K99E))、xcvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59Y/K99Y))、xcvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/C252S/K264E))、xcviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E))、xcix) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N200Q/C252S/K264E))、c) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E))、ci) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E))、cii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E))、ciii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264E))、civ) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/K264E))、cv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/N281Q/C252S/K264E))、cvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、cvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/C252S/K264E))、cviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、およびcix) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E)) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0333】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p35サブユニットが、Q20、N21、Q35、E38、S44、E45、E46、H49、K54、D55、T59、V60、E61、C63、L64、P65、E67、L68、N71、S73、C74、L75、N76、E79、N85、L89、F96、M97、L124、M125、Q130、Q135、N136、E143、Q146、N151、E153、K158、E1

【 0 3 3 4 】

10

【 0 3 3 5 】

20

【 0 3 3 6 】

30

40

50

i i) 配列番号XXX (IL-12 p35 (L75A))、xxxiv) 配列番号XXX (IL-12 p35 (I171A))、xxxv) 配列番号XXX (IL-12 p35 (N71Q))、xxxvi) 配列番号XXX (IL-12 p35 (N85Q))、xxxvii) 配列番号XXX (IL-12 p35 (N195Q))、xxxviii) 配列番号XXX (IL-12 p35 (N71Q/N85Q))、xxxix) 配列番号XXX (IL-12 p35 (N71Q/N195Q))、xl) 配列番号XXX (IL-12 p35 (N85Q/N195Q))、xli) 配列番号XXX (IL-12 p35 (N71Q/N85Q/N195Q))、xlii) 配列番号XXX (IL-12 p35 (N71D/N85D))、xliii) 配列番号XXX (IL-12 p35 (N71D/N195D))、xliv) 配列番号XXX (IL-12 p35 (N85D/N195D))、xlv) 配列番号XXX (IL-12 p35 (D55Q))、およびxlvi) 配列番号XXX (IL-12 p35 (D55K)) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0337】

いくつかの実施形態では、当該第1および第2の単量体が、XENP31289である、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0338】

いくつかの実施形態では、当該第1および第2の単量体が、XENP31291である、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0339】

いくつかの実施形態では、本発明は、対象における癌の治療における使用のためのホモ二量体Fc融合タンパク質を含むホモ二量体Fc融合タンパク質組成物を提供する。

【0340】

いくつかの実施形態では、本発明は、ホモ二量体Fc融合タンパク質をコードする1つ以上の核酸を提供する。

【0341】

いくつかの実施形態では、本発明は、ホモ二量体Fc融合タンパク質をコードする当該1つ以上の核酸を含む宿主細胞を提供する。

【0342】

いくつかの実施形態では、本発明は、ホモ二量体Fc融合タンパク質を作製する方法を提供し、当該方法は、当該ホモ二量体Fc融合タンパク質が産生される条件下で宿主細胞を培養することを含む。

【0343】

いくつかの実施形態では、本発明は、ホモ二量体Fc融合タンパク質を精製する方法を提供し、当該方法は、a) ホモ二量体Fc融合タンパク質を含む組成物を提供することと、b) 当該組成物をイオン交換カラムに充填することと、c) 当該ホモ二量体Fc融合タンパク質を含有する画分を収集することと、を含む。

【0344】

別の態様では、本発明は、第1の単量体および第2の単量体を含むホモ二量体Fc融合タンパク質であって、各々が、N末端からC末端へ、Fcドメインー第1のドメインリンカーーIL-12 p40サブユニットドメインー第2のドメインリンカーーIL-12 p35サブユニットドメインを含む、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0345】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該Fcドメインのホモ二量体化を促進する当該修飾が、EU付番に従って、L368D/K370S; S364K; S364K/E357L; S364K/E357Q; T411E/K360E/Q362E; D401K; T366S/L368A/Y407V; T366W; T366S/L368A/Y407V/Y349C; およびT366W/S354Cからなる群から選択されるアミノ酸置換のセットである、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0346】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該第1のドメインリンカーおよび当該第2のドメインリンカーが、同じアミノ酸配列を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0347】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該Fcドメインが、EU付番に従って、Q295E/N384D/Q418E/N421D、を含むアミノ酸置換の追加のセットを有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0348】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該Fcドメインが、EU付番に従って、G236R/L328R、E233P/L234V/L235A/G236_/S239K、E233P/L234V/L235A/G236_/S239K/A327G、E233P/L234V/L235A/G236_/S267K/A327G、E233P/L234V/L235A/G236_、およびE233P/L234V/L235A/G236_/S267Kからなる群から選択されるアミノ酸置換の追加のセットを有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0349】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、配列番号3（ヒトIL-12サブユニットベータ（IL-12p40）前駆体配列）および配列番号4（ヒトIL-12サブユニットベータ（IL-12p40）成熟形態配列）からなる群から選択されるポリペプチド配列を有し、当該IL-12p35サブユニットが、配列番号1（ヒトIL-12サブユニットアルファ（IL-12p35）前駆体配列）および配列番号2（ヒトIL-12サブユニットアルファ（IL-12p35）成熟形態配列）からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0350】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該Fcドメインの各々が、アミノ酸置換M428L/N424Sをさらに含む、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0351】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、バリエーションIL-12p40サブユニットであり、かつ/または当該IL-12p35サブユニットが、バリエーションIL-12p35サブユニットである、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0352】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、IL-12受容体サブユニットベーター1（IL-12Rβ1）、IL-12受容体サブユニットベーター2（IL-12Rβ2）、および/もしくはIL-12受容体複合体についての変更された親和性を有するバリエーションIL-12p40サブユニットであり、かつ/または当該IL-12p35サブユニットが、IL-12受容体サブユニットベーター1（IL-12Rβ1）、IL-12受容体サブユニットベーター2（IL-12Rβ2）、および/もしくはIL-12受容体複合体についての変更された親和性を有するバリエーションIL-12p35サブユニットである、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0353】

いくつかの実施形態では、当該IL-12p40サブユニットが、E3、D7、E12、D14、W15、P17、D18、A19、P20、G21、E22、M23、D29、E32、E33、D34、L40、D41、Q42、S43、E45、L47、T54、I55、Q56、K58、E59、F60、G61、D62、Q65、Y66、E73、K84、E86、D87、G88、I89、W90、D93、D97、K99、E100、K102、N103、K104、F106、E110、N113、Y114、D129、D142、Q144、E156、R159、D161、N162、K163、D166、D170、Q172、D174、A176、C177、P178、A179、A18

10

20

30

40

50

0、E181、S183、P185、E187、N200、S204、F206、R208、D209、D214、N218、Q220、N226、Q229、E231、E235、T242、P243、S245、Y246、F247、S248、C252S、Q256、K158、K260、E262、K264、D265、D270、N281、Q289、D290、R291、Y292、Y293、およびE299からなる群から選択されるアミノ酸残基で1つ以上のアミノ酸修飾を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0354】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、D18N、D18K、E32Q、E33Q、D34N、D34K、Q42E、S43E、S43K、E45Q、Q56E、E59Q、E59K、D62N、E73Q、D87N、K99E、K99Y、E100Q、N103D、N103Q、N113D、N113Q、Q144E、D161N、R159E、K163E、E187Q、N200D、N200Q、N218Q、Q229E、E235Q、C252S、Q256N、K258E、K260E、E262Q、K264E、N281D、N281Q、およびE299Qからなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0355】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、N103D/N113D/N200D/N281D、Q42E/E45Q、E45Q/Q56E、Q42E/E59Q、Q56E/E59Q、Q42E/E45Q/Q56E、E45Q/Q56E/E59Q、E32Q/E59Q、D34N/E59K、D34N/E59K/K99E、D34K/E59K/K99E、E32Q/D34N/E59K/K99E、E32K/D34N/E59K/K99E、D34N/E59Q、E59Q/E187Q、S43E/E59Q、S43K/E49Q、E59Q/K163E、E59Q/K99E、E59Q/K258E、E59Q/K260E、E59K/K99E、D18K/E59K/K99E、E59K/K99E/K264E、E59K/K99Y、E59Y/K99Y、E59Y/K99E、E45K/E59K/K99E、E59K/K99E/Q144E、E59K/K99E/Q144K、E59K/K99E/R159E、E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/C252S、D18K/E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99Y/C252S、E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99E/C252S、N103D/N113D、N103D/N200D、N103D/N281D、N113D/N200D、N113D/N281D、N200D/N281D、N103D/N113D/N200D、N103D/N113D/N281D、N103D/N200D/N281D、N113D/N200D/N281D、N103Q/N113Q、N103Q/N200Q、N103Q/N281Q、N113Q/N200Q、N113Q/N281Q、N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N200Q、N103Q/N113Q/N281Q、N103Q/N200Q/N281Q、N113Q/N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N200Q/N281Q、E59K/K99E/N103Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K

10

20

30

40

50

264E、およびE59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264Eからなる群から選択されるアミノ酸置換を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、

i) 配列番号57 (IL-12p40 (N103D))、ii) 配列番号58 (IL-12p40 (N113D))、iii) 配列番号59 (IL-12p40 (N200D))、iv) 配列番号60 (IL-12p40 (N281D))、v) 配列番号61 (IL-12p40 (N103D/N113D/N200D/N281D))、vi) 配列番号62 (IL-12p40 (Q42E))、vii) 配列番号63 (IL-12p40 (E45Q))、viii) 配列番号64 (IL-12p40 (Q56E))、ix) 配列番号65 (IL-12p40 (E59Q))、x) 配列番号66 (IL-12p40 (D62N))、xi) 配列番号67 (IL-12p40 (Q42E/E45Q))、xii) 配列番号68 (IL-12p40 (E45Q/Q56E))、xiii) 配列番号69 (IL-12p40 (Q42E/E59Q))、xiv) 配列番号70 (IL-12p40 (Q56E/E59Q))、xv) 配列番号71 (IL-12p40 (Q42E/E45Q/Q56E))、xvi) 配列番号72 (IL-12p40 (E45Q/Q56E/E59Q))、xvii) 配列番号73 (IL-12p40 (D161N))、xviii) 配列番号74 (IL-12p40 (E73Q))、xix) 配列番号75 (IL-12p40 (Q144E))、xx) 配列番号76 (IL-12p40 (E262Q))、xxi) 配列番号77 (IL-12p40 (E100Q))、xxii) 配列番号78 (IL-12p40 (D18N))、xxiii) 配列番号79 (IL-12p40 (E33Q))、xxiv) 配列番号80 (IL-12p40 (Q229E))、xxv) 配列番号81 (IL-12p40 (E235Q))、xxvi) 配列番号82 (IL-12p40 (Q256N))、xxvii) 配列番号83 (IL-12p40 (E299Q))、xxviii) 配列番号84 (IL-12p40 (D87N))、xxix) IL-12p40 (E32Q)、xxx) IL-12p40 (D34N)、xxxix) IL-12p40 (S43E)、xxxix) IL-12p40 (S43K)、xxxix) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、xxxix) 配列番号205 (IL-12p40 (E59K))、xxxix) IL-12p40 (K99E)、xxxix) IL-12p40 (K163E)、xxxix) IL-12p40 (E187Q)、xxxix) IL-12p40 (K258E)、xxxix) IL-12p40 (K260E)、xl) 配列番号206 (IL-12p40 (E32Q/E59Q))、xli) 配列番号207 (IL-12p40 (D34N/E59Q))、xlii) 配列番号208 (IL-12p40 (E59Q/E187Q))、xliii) 配列番号209 (IL-12p40 (S43E/E59Q))、xliv) 配列番号210 (IL-12p40 (S43K/E49Q))、xlv) 配列番号211 (IL-12p40 (E59Q/K163E))、xlvi) 配列番号212 (IL-12p40 (E59Q/K99E))、xlvii) 配列番号213 (IL-12p40 (E59Q/K258E))、xlviii) 配列番号214 (IL-12p40 (E59Q/K260E))、xlix) 配列番号XXX (IL-12p40 (D34N/E59K))、l) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E))、li) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/K264E))、lii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99Y))、liv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59Y/K99E))、lv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E45K/E59K/K99E))、lvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/Q144E))、lvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/Q144K))、lviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/R159E))、lix) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/K264E))、lx) 配

10

20

30

40

50

列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/K264E))、lxi) 配列番号XXX (IL-12p40 (C252S))、lxii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/C252S))、lxiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/C252S/K264E))、lxiv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99Y/C252S))、lxv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/C252S/K264E))、lxvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/C252S))、lxvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N113D))、lxviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N200D))、lxix) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N281D))、lxx) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113D/N200D))、lxxi) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113D/N281D))、lxxii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N200D/N281D))、lxxiii) 配列番号XXX (IL-12p50 (N103D/N113D/N200D))、lxxiv) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N113D/N281D))、lxxv) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103D/N200D/N281D))、lxxvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113D/N200D/N281D))、lxxvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q))、lxxviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q))、lxxix) 配列番号XXX (IL-12p40 (N200Q))、lxxx) 配列番号XXX (IL-12p40 (N281Q))、lxxxi) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q))、lxxxii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N200Q))、lxxxiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N281Q))、lxxxiv) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q/N200Q))、lxxxv) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q/N281Q))、lxxxvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (N200Q/N281Q))、lxxxvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N200Q))、lxxxviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N281Q))、lxxxix) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N200Q/N281Q))、xc) 配列番号XXX (IL-12p40 (N113Q/N200Q/N281Q))、xci) 配列番号XXX (IL-12p40 (N103Q/N113Q/N200Q/N281Q))、xcii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D34N/E59K/K99E))、xciii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D34K/E59K/K99E))、xciv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E32Q/D34N/E59K/K99E))、xcv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E32K/D34N/E59K/K99E))、xcvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59Y/K99Y))、xcvii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/C252S/K264E))、xcviii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E))、xcix) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N200Q/C252S/K264E))、c) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E))、ci) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E))、cii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E))、ciii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264E))、civ) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/K264E))、cv) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/N281Q/C252S/K264E))、cvi) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K26

10

20

30

40

50

4 E))、c v i i) 配列番号 X X X (I L - 1 2 p 4 0 (E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 0 3 Q / N 1 1 3 Q / N 2 0 0 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E))、c v i i i) 配列番号 X X X (I L - 1 2 p 4 0 (E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 0 3 Q / N 2 0 0 Q / N 2 8 1 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E))、および c i x) 配列番号 X X X (I L - 1 2 p 4 0 (E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 1 3 Q / N 2 0 0 Q / N 2 8 1 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E)) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ホモ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

【0356】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 I L - 1 2 p 3 5 サブユニットが、Q 2 0、N 2 1、Q 3 5、E 3 8、S 4 4、E 4 5、E 4 6、H 4 9、K 5 4、D 5 5、T 5 9、V 6 0、E 6 1、C 6 3、L 6 4、P 6 5、E 6 7、L 6 8、N 7 1、S 7 3、C 7 4、L 7 5、N 7 6、E 7 9、N 8 5、L 8 9、F 9 6、M 9 7、L 1 2 4、M 1 2 5、Q 1 3 0、Q 1 3 5、N 1 3 6、E 1 4 3、Q 1 4 6、N 1 5 1、E 1 5 3、K 1 5 8、E 1 6 2、E 1 6 3、D 1 6 5、I 1 7 1、R 1 8 1、I 1 8 2、R 1 8 3、V 1 8 5、T 1 8 6、D 1 8 8、R 1 8 9、V 1 9 0、S 1 9 2、Y 1 9 3、N 1 9 5、および A 1 9 6 からなる群から選択されるアミノ酸残基として1つ以上のアミノ酸修飾を有する、ホモ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

【0357】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 I L - 1 2 p 3 5 サブユニットが、N 2 1 D、Q 3 5 D、E 3 8 Q、D 5 5 Q、D 5 5 K、N 7 1 D、N 7 1 Q、L 7 5 A、N 7 6 D、E 7 9 Q、N 8 5 D、N 8 5 Q、L 8 9 A、F 9 6 A、M 9 7 A、L 1 2 4 A、M 1 2 5 A、Q 1 3 0 E、Q 1 3 5 E、N 1 3 6 D、E 1 4 3 Q、Q 1 4 6 E、N 1 5 1 D、N 1 5 1 K、E 1 5 3 K、E 1 5 3 Q、K 1 5 8 E、E 1 6 2 Q、E 1 6 3 Q、D 1 6 5 N、I 1 7 1 A、N 1 9 5 D、および N 1 9 5 Q からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を有する、ホモ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

【0358】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 I L - 1 2 p 3 5 サブユニットが、N 7 1 D / N 8 5 D / N 1 9 5 D、N 1 5 1 D / E 1 5 3 Q、N 1 5 1 D / D 1 6 5 N、Q 1 3 0 E / N 1 5 1 D、N 1 5 1 D / K 1 5 8 E、E 7 9 Q / N 1 5 1 D、D 5 5 Q / N 1 5 1 D、N 1 3 6 D / N 1 5 1 D、N 2 1 D / N 1 5 1 D、E 1 4 3 Q / N 1 5 1 D、N 7 1 Q / N 8 5 Q、N 7 1 Q / N 1 9 5 Q、N 8 5 Q / N 1 9 5 Q、N 7 1 Q / N 8 5 Q / N 1 9 5 Q、N 7 1 D / N 8 5 D、N 7 1 D / N 1 9 5 D、および N 8 5 D / N 1 9 5 D からなる群から選択されるアミノ酸置換を有する、ホモ二量体 F c 融合タンパク質を提供する。

【0359】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該 I L - 1 2 p 3 5 サブユニットが、i) 配列番号 1 1 3 (I L - 1 2 p 3 5 (N 7 1 D))、i i) 配列番号 1 1 4 (I L - 1 2 p 3 5 (N 8 5 D))、i i i) 配列番号 1 1 5 (I L - 1 2 p 3 5 (N 1 9 5 D))、i v) 配列番号 1 1 6 (I L - 1 2 p 3 5 (N 7 1 D / N 8 5 D / N 1 9 5 D))、v) 配列番号 1 1 7 (I L - 1 2 p 3 5 (E 1 5 3 Q))、v i) 配列番号 1 1 8 (I L - 1 2 p 3 5 (E 3 8 Q))、v i i) 配列番号 1 1 9 (I L - 1 2 p 3 5 (N 1 5 1 D))、v i i i) 配列番号 1 2 0 (I L - 1 2 p 3 5 (Q 1 3 5 E))、i x) 配列番号 1 2 1 (I L - 1 2 p 3 5 (Q 3 5 D))、x) 配列番号 1 2 2 (I L - 1 2 p 3 5 (Q 1 4 6 E))、x i) 配列番号 1 2 3 (I L - 1 2 p 3 5 (N 7 6 D))、x i i) 配列番号 1 2 4 (I L - 1 2 p 3 5 (E 1 6 2 Q))、x i i i) 配列番号 1 2 5 (I L - 1 2 p 3 5 (E 1 6 3 Q))、x i v) I L - 1 2 p 3 5 (N 2 1 D)、x v) 配列番号 X X X (I L - 1 2 p 3 5 (D 5 5 Q))、x v i) I L - 1 2 p 3 5 (E 7 9 Q)、x v i i) I L - 1 2 p 3 5 (Q 1 3 0 E)、x v i i i) I L - 1 2 p 3 5 (N 1 3 6 D)、x i x) I L - 1 2 p 3 5 (E 1 4 3 Q)、x x) 配列番号 2 2 7 (I L - 1 2 p 3 5 (N 1 5 1 K))、x x i) 配列番号 2 2 6 (I L - 1 2 p 3 5 (E 1 5 3 K))、x x i i) I

10

20

30

40

50

L-12p35 (K158E)、xxiii) IL-12p35 (D165N)、xxiv) 配列番号225 (IL-12p35 (N151D/E153Q))、xxv) 配列番号228 (IL-12p35 (N151D/D165N))、xxvi) 配列番号229 (IL-12p35 (Q130E/N151D))、xxvii) 配列番号230 (IL-12p35 (N151D/K158E))、xxviii) 配列番号231 (IL-12p35 (E79Q/N151D))、xxix) 配列番号232 (IL-12p35 (D55Q/N151D))、xxx) 配列番号233 (IL-12p35 (N136D/N151D))、xxxi) 配列番号234 (IL-12p35 (N21D/N151D))、xxxii) 配列番号235 (IL-12p35 (E143Q/N151D))、xxxiii) 配列番号XXX (IL-12p35 (F96A))、xxxiv) 配列番号XXX (IL-12p35 (M97A))、xxxv) 配列番号XXX (IL-12p35 (L89A))、xxxvi) 配列番号XXX (IL-12p35 (L124A))、xxxvii) 配列番号XXX (IL-12p35 (M125A))、xxxviii) 配列番号XXX (IL-12p35 (L75A))、xxxix) 配列番号XXX (IL-12p35 (I171A))、xxxv) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q))、xxxvi) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85Q))、xxxvii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N195Q))、xxxviii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N85Q))、xxxix) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N195Q))、xl) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85Q/N195Q))、xli) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N85Q/N195Q))、xlii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71D/N85D))、xliii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71D/N195D))、xliv) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85D/N195D))、xlv) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55Q))、およびxlvii) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55K)) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0360】

いくつかの実施形態では、当該第1および第2の単量体が、XENP31289である、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0361】

いくつかの実施形態では、当該第1および第2の単量体が、XENP31291である、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0362】

いくつかの実施形態では、本発明は、対象における癌の治療における使用のためのホモ二量体Fc融合タンパク質を含むホモ二量体Fc融合タンパク質組成物を提供する。

【0363】

いくつかの実施形態では、本発明は、ホモ二量体Fc融合タンパク質をコードする1つ以上の核酸を提供する。

【0364】

いくつかの実施形態では、本発明は、ホモ二量体Fc融合タンパク質をコードする当該1つ以上の核酸を含む宿主細胞を提供する。

【0365】

いくつかの実施形態では、本発明は、ホモ二量体Fc融合タンパク質を作製する方法を提供し、当該方法は、当該ホモ二量体Fc融合タンパク質が産生される条件下で宿主細胞を培養することを含む。

【0366】

いくつかの実施形態では、本発明は、ホモ二量体Fc融合タンパク質を精製する方法を提供し、当該方法は、a) ホモ二量体Fc融合タンパク質を含む組成物を提供することと、b) 当該組成物をイオン交換カラムに充填することと、c) 当該ホモ二量体Fc融合タンパク質を含有する画分を収集することと、を含む。

【0367】

別の態様では、本発明は、第1の単量体および第2の単量体を含むホモ二量体Fc融合タンパク質であって、各々が、N末端からC末端へ、Fcドメインー第1のドメインリンカーーIL-12p35サブユニットドメインー第2のドメインリンカーーIL-12p40サブユニットドメインを含む、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0368】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該Fcドメインのホモ二量体化を促進する当該修飾が、EU付番に従って、L368D/K370S；S364K；S364K/E357L；S364K/E357Q；T411E/K360E/Q362E；D401K；T366S/L368A/Y407V；T366W；T366S/L368A/Y407V/Y349C；およびT366W/S354Cからなる群から選択されるアミノ酸置換のセットである、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

10

【0369】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該第1のドメインリンカーおよび当該第2のドメインリンカーが、同じアミノ酸配列を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0370】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該Fcドメインが、EU付番に従って、Q295E/N384D/Q418E/N421D、を含むアミノ酸置換の追加のセットを有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

20

【0371】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該Fcドメインが、EU付番に従って、G236R/L328R、E233P/L234V/L235A/G236_/S239K、E233P/L234V/L235A/G236_/S239K/A327G、E233P/L234V/L235A/G236_/S267K/A327G、E233P/L234V/L235A/G236_、およびE233P/L234V/L235A/G236_/S267Kからなる群から選択されるアミノ酸置換の追加のセットを有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0372】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、配列番号3（ヒトIL-12サブユニットベータ（IL-12p40）前駆体配列）および配列番号4（ヒトIL-12サブユニットベータ（IL-12p40）成熟形態配列）からなる群から選択されるポリペプチド配列を有し、当該IL-12p35サブユニットが、配列番号1（ヒトIL-12サブユニットアルファ（IL-12p35）前駆体配列）および配列番号2（ヒトIL-12サブユニットアルファ（IL-12p35）成熟形態配列）からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

30

【0373】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該Fcドメインの各々が、アミノ酸置換M428L/N424Sをさらに含む、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

40

【0374】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、バリエーションIL-12p40サブユニットであり、かつ／または当該IL-12p35サブユニットが、バリエーションIL-12p35サブユニットである、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0375】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、IL-12受容体サブユニットベータ-1（IL-12Rβ1）、IL-12受容体サブユニットベータ-2（IL-12Rβ2）、および／もしくはIL-12受容体複合体についての変更された親和性を有するバリエーションIL-12p40サブユニットであり、かつ／また

50

は当該IL-12p35サブユニットが、IL-12受容体サブユニットベータ-1 (IL-12R β 1)、IL-12受容体サブユニットベータ-2 (IL-12R β 2)、および／もしくはIL-12受容体複合体についての変更された親和性を有するバリエーションIL-12p35サブユニットである、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0376】

いくつかの実施形態では、当該IL-12p40サブユニットが、E3、D7、E12、D14、W15、P17、D18、A19、P20、G21、E22、M23、D29、E32、E33、D34、L40、D41、Q42、S43、E45、L47、T54、I55、Q56、K58、E59、F60、G61、D62、Q65、Y66、E73、K84、E86、D87、G88、I89、W90、D93、D97、K99、E100、K102、N103、K104、F106、E110、N113、Y114、D129、D142、Q144、E156、R159、D161、N162、K163、D166、D170、Q172、D174、A176、C177、P178、A179、A180、E181、S183、P185、E187、N200、S204、F206、R208、D209、D214、N218、Q220、N226、Q229、E231、E235、T242、P243、S245、Y246、F247、S248、C252S、Q256、K158、K260、E262、K264、D265、D270、N281、Q289、D290、R291、Y292、Y293、およびE299からなる群から選択されるアミノ酸残基で1つ以上のアミノ酸修飾を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0377】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、D18N、D18K、E32Q、E33Q、D34N、D34K、Q42E、S43E、S43K、E45Q、Q56E、E59Q、E59K、D62N、E73Q、D87N、K99E、K99Y、E100Q、N103D、N103Q、N113D、N113Q、Q144E、D161N、R159E、K163E、E187Q、N200D、N200Q、N218Q、Q229E、E235Q、C252S、Q256N、K258E、K260E、E262Q、K264E、N281D、N281Q、およびE299Qからなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0378】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、N103D/N113D/N200D/N281D、Q42E/E45Q、E45Q/Q56E、Q42E/E59Q、Q56E/E59Q、Q42E/E45Q/Q56E、E45Q/Q56E/E59Q、E32Q/E59Q、D34N/E59K、D34N/E59K/K99E、D34K/E59K/K99E、E32Q/D34N/E59K/K99E、E32K/D34N/E59K/K99E、D34N/E59Q、E59Q/E187Q、S43E/E59Q、S43K/E49Q、E59Q/K163E、E59Q/K99E、E59Q/K258E、E59Q/K260E、E59K/K99E、D18K/E59K/K99E、E59K/K99E/K264E、E59K/K99Y、E59Y/K99Y、E59Y/K99E、E45K/E59K/K99E、E59K/K99E/Q144E、E59K/K99E/Q144K、E59K/K99E/R159E、E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/C252S、D18K/E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99Y/C252S、E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99E/C252S、N103D/N113D、N103D/N200D、N103D/N281D、N113D/N200D、N113D/N281D、N200D/N281D、N103D/N113D/N200D、N103D/N113D/N281D、N103D/N200D/N281D、N113D/N200D/N281D、N103Q/N113Q、N103Q/N200Q、N103Q/N281Q、N113Q/N200Q、N113Q/N281Q、N200Q/N281Q、N103Q/N

113Q/N200Q、N103Q/N113Q/N281Q、N103Q/N200Q/N281Q、N113Q/N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N200Q/N281Q、E59K/K99E/N103Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、およびE59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264Eからなる群から選択されるアミノ酸置換を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p40サブユニットが、

i) 配列番号57 (IL-12p40 (N103D))、ii) 配列番号58 (IL-12p40 (N113D))、iii) 配列番号59 (IL-12p40 (N200D))、iv) 配列番号60 (IL-12p40 (N281D))、v) 配列番号61 (IL-12p40 (N103D/N113D/N200D/N281D))、vi) 配列番号62 (IL-12p40 (Q42E))、vii) 配列番号63 (IL-12p40 (E45Q))、viii) 配列番号64 (IL-12p40 (Q56E))、ix) 配列番号65 (IL-12p40 (E59Q))、x) 配列番号66 (IL-12p40 (D62N))、xi) 配列番号67 (IL-12p40 (Q42E/E45Q))、xii) 配列番号68 (IL-12p40 (E45Q/Q56E))、xiii) 配列番号69 (IL-12p40 (Q42E/E59Q))、xiv) 配列番号70 (IL-12p40 (Q56E/E59Q))、xv) 配列番号71 (IL-12p40 (Q42E/E45Q/Q56E))、xvi) 配列番号72 (IL-12p40 (E45Q/Q56E/E59Q))、xvii) 配列番号73 (IL-12p40 (D161N))、xviii) 配列番号74 (IL-12p40 (E73Q))、xix) 配列番号75 (IL-12p40 (Q144E))、xx) 配列番号76 (IL-12p40 (E262Q))、xxi) 配列番号77 (IL-12p40 (E100Q))、xxii) 配列番号78 (IL-12p40 (D18N))、xxiii) 配列番号79 (IL-12p40 (E33Q))、xxiv) 配列番号80 (IL-12p40 (Q229E))、xxv) 配列番号81 (IL-12p40 (E235Q))、xxvi) 配列番号82 (IL-12p40 (Q256N))、xxvii) 配列番号83 (IL-12p40 (E299Q))、xxviii) 配列番号84 (IL-12p40 (D87N))、xxix) IL-12p40 (E32Q)、xxx) IL-12p40 (D34N)、xxxi) IL-12p40 (S43E)、xxxii) IL-12p40 (S43K)、xxxiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、xxxiv) 配列番号205 (IL-12p40 (E59K))、xxxv) IL-12p40 (K99E)、xxxvi) IL-12p40 (K163E)、xxxvii) IL-12p40 (E187Q)、xxxviii) IL-12p40 (K258E)、xxxix) IL-12p40 (K260E)、xl) 配列番号206 (IL-12p40 (E32Q/E59Q))、xli) 配列番号207 (IL-12p40 (D34N/E59Q))、xlii) 配列番号208 (IL-12p40 (E59Q/E187Q))、xliiii) 配列番号209 (IL-12p40 (S43E/E59Q))、xliv) 配列番号210 (IL-12p40 (S43K/E49Q))、xlv) 配列番号211 (IL-12p40 (E59Q/K16

10

20

30

40

50

3 E))、x l v i) 配列番号 2 1 2 (I L-1 2 p 4 0 (E 5 9 Q/K 9 9 E))、x
 l v i i) 配列番号 2 1 3 (I L-1 2 p 4 0 (E 5 9 Q/K 2 5 8 E))、x l v i i
 i) 配列番号 2 1 4 (I L-1 2 p 4 0 (E 5 9 Q/K 2 6 0 E))、x l i x) 配列番
 号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (D 3 4 N/E 5 9 K))、l) 配列番号 X X X (I L-1
 2 p 4 0 (E 5 9 K/K 9 9 E))、l i) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (D 1 8
 K/E 5 9 K/K 9 9 E))、l i i) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (E 5 9 K/
 K 9 9 E/K 2 6 4 E))、l i i i) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (E 5 9 K/
 K 9 9 Y))、l i v) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (E 5 9 Y/K 9 9 E))、
 l v) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (E 4 5 K/E 5 9 K/K 9 9 E))、l v i
) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (E 5 9 K/K 9 9 E/Q 1 4 4 E))、l v i i
) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (E 5 9 K/K 9 9 E/Q 1 4 4 K))、l v i i
 i) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (E 5 9 K/K 9 9 E/R 1 5 9 E))、l i x
) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (E 5 9 K/K 9 9 E/K 2 6 4 E))、l x) 配
 列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (D 1 8 K/E 5 9 K/K 9 9 E/K 2 6 4 E))、l
 x i) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (C 2 5 2 S))、l x i i) 配列番号 X X X
 (I L-1 2 p 4 0 (D 1 8 K/E 5 9 K/K 9 9 E/C 2 5 2 S))、l x i i i) 配
 列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (D 1 8 K/E 5 9 K/K 9 9 E/C 2 5 2 S/K 2 6
 4 E))、l x i v) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (E 5 9 K/K 9 9 Y/C 2 5
 2 S))、l x v) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (E 5 9 K/K 9 9 E/C 2 5 2
 S/K 2 6 4 E))、l x v i) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (E 5 9 K/K 9 9
 E/C 2 5 2 S))、l x v i i) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (N 1 0 3 D/N
 1 1 3 D))、l x v i i i) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (N 1 0 3 D/N 2 0
 0 D))、l x i x) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (N 1 0 3 D/N 2 8 1 D))
 、l x x) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (N 1 1 3 D/N 2 0 0 D))、l x x i
) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (N 1 1 3 D/N 2 8 1 D))、l x x i i) 配列
 番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (N 2 0 0 D/N 2 8 1 D))、l x x i i i) 配列番号
 X X X (I L-1 2 p 5 0 (N 1 0 3 D/N 1 1 3 D/N 2 0 0 D))、l x x i v) 配
 列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (N 1 0 3 D/N 1 1 3 D/N 2 8 1 D))、l x x v
) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (N 1 0 3 D/N 2 0 0 D/N 2 8 1 D))、l x
 x v i) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (N 1 1 3 D/N 2 0 0 D/N 2 8 1 D))
 、l x x v i i) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (N 1 0 3 Q))、l x x v i i i
) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (N 1 1 3 Q))、l x x i x) 配列番号 X X X
 (I L-1 2 p 4 0 (N 2 0 0 Q))、l x x x) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (N
 2 8 1 Q))、l x x x i) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (N 1 0 3 Q/N 1 1 3
 Q))、l x x x i i) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (N 1 0 3 Q/N 2 0 0 Q))
)、l x x x i i i) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (N 1 0 3 Q/N 2 8 1 Q))
 、l x x x i v) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (N 1 1 3 Q/N 2 0 0 Q))、l
 x x x v) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (N 1 1 3 Q/N 2 8 1 Q))、l x x x
 v i) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (N 2 0 0 Q/N 2 8 1 Q))、l x x x v i
 i) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (N 1 0 3 Q/N 1 1 3 Q/N 2 0 0 Q))、l
 x x x v i i i) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (N 1 0 3 Q/N 1 1 3 Q/N 2 8
 1 Q))、l x x x i x) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (N 1 0 3 Q/N 2 0 0 Q
 /N 2 8 1 Q))、x c) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (N 1 1 3 Q/N 2 0 0 Q
 /N 2 8 1 Q))、x c i) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (N 1 0 3 Q/N 1 1 3
 Q/N 2 0 0 Q/N 2 8 1 Q))、x c i i) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (D 3
 4 N/E 5 9 K/K 9 9 E))、x c i i i) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (D 3
 4 K/E 5 9 K/K 9 9 E))、x c i v) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (E 3 2
 Q/D 3 4 N/E 5 9 K/K 9 9 E))、x c v) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (E
 3 2 K/D 3 4 N/E 5 9 K/K 9 9 E))、x c v i) 配列番号 X X X (I L-1 2
 p 4 0 (E 5 9 Y/K 9 9 Y))、x c v i i) 配列番号 X X X (I L-1 2 p 4 0 (E

10

20

30

40

50

59K/K99E/N103Q/C252S/K264E))、xcviii) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E))、xcix) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N200Q/C252S/K264E))、c) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E))、ci) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E))、cii) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E))、ciii) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264E))、civ) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/K264E))、cv) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/N281Q/C252S/K264E))、cvi) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、cvii) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/C252S/K264E))、cviii) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E))、および cix) 配列番号 XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E)) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

10

20

【0379】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p35サブユニットが、Q20、N21、Q35、E38、S44、E45、E46、H49、K54、D55、T59、V60、E61、C63、L64、P65、E67、L68、N71、S73、C74、L75、N76、E79、N85、L89、F96、M97、L124、M125、Q130、Q135、N136、E143、Q146、N151、E153、K158、E162、E163、D165、I171、R181、I182、R183、V185、T186、D188、R189、V190、S192、Y193、N195、およびA196 からなる群から選択されるアミノ酸残基として1つ以上のアミノ酸修飾を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

30

【0380】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p35サブユニットが、N21D、Q35D、E38Q、D55Q、D55K、N71D、N71Q、L75A、N76D、E79Q、N85D、N85Q、L89A、F96A、M97A、L124A、M125A、Q130E、Q135E、N136D、E143Q、Q146E、N151D、N151K、E153K、E153Q、K158E、E162Q、E163Q、D165N、I171A、N195D、およびN195Qからなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0381】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p35サブユニットが、N71D/N85D/N195D、N151D/E153Q、N151D/D165N、Q130E/N151D、N151D/K158E、E79Q/N151D、D55Q/N151D、N136D/N151D、N21D/N151D、E143Q/N151D、N71Q/N85Q、N71Q/N195Q、N85Q/N195Q、N71Q/N85Q/N195Q、N71D/N85D、N71D/N195D、およびN85D/N195Dからなる群から選択されるアミノ酸置換を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

40

【0382】

いくつかの実施形態では、本発明は、当該IL-12p35サブユニットが、i) 配列番号113 (IL-12p35 (N71D))、ii) 配列番号114 (IL-12p3

50

5 (N85D))、iii) 配列番号115 (IL-12p35 (N195D))、iv) 配列番号116 (IL-12p35 (N71D/N85D/N195D))、v) 配列番号117 (IL-12p35 (E153Q))、vi) 配列番号118 (IL-12p35 (E38Q))、vii) 配列番号119 (IL-12p35 (N151D))、viii) 配列番号120 (IL-12p35 (Q135E))、ix) 配列番号121 (IL-12p35 (Q35D))、x) 配列番号122 (IL-12p35 (Q146E))、xi) 配列番号123 (IL-12p35 (N76D))、xii) 配列番号124 (IL-12p35 (E162Q))、xiii) 配列番号125 (IL-12p35 (E163Q))、xiv) IL-12p35 (N21D)、xv) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55Q))、xvi) IL-12p35 (E79Q)、xvii) IL-12p35 (Q130E)、xviii) IL-12p35 (N136D)、xix) IL-12p35 (E143Q)、xx) 配列番号227 (IL-12p35 (N151K))、xxi) 配列番号226 (IL-12p35 (E153K))、xxii) IL-12p35 (K158E)、xxiii) IL-12p35 (D165N)、xxiv) 配列番号225 (IL-12p35 (N151D/E153Q))、xxv) 配列番号228 (IL-12p35 (N151D/D165N))、xxvi) 配列番号229 (IL-12p35 (Q130E/N151D))、xxvii) 配列番号230 (IL-12p35 (N151D/K158E))、xxviii) 配列番号231 (IL-12p35 (E79Q/N151D))、xxix) 配列番号232 (IL-12p35 (D55Q/N151D))、xxx) 配列番号233 (IL-12p35 (N136D/N151D))、xxxi) 配列番号234 (IL-12p35 (N21D/N151D))、xxxii) 配列番号235 (IL-12p35 (E143Q/N151D))、xxxiii) 配列番号XXX (IL-12p35 (F96A))、xxxiv) 配列番号XXX (IL-12p35 (M97A))、xxxv) 配列番号XXX (IL-12p35 (L89A))、xxxvi) 配列番号XXX (IL-12p35 (L124A))、xxxvii) 配列番号XXX (IL-12p35 (M125A))、xxxviii) 配列番号XXX (IL-12p35 (L75A))、xxxix) 配列番号XXX (IL-12p35 (I171A))、xl) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q))、xli) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85Q))、xlii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N195Q))、xliii) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N85Q))、xliv) 配列番号XXX (IL-12p35 (N71Q/N195Q))、xlv) 配列番号XXX (IL-12p35 (N85D/N195D))、xlvi) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55Q))、およびxlvii) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55K)) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0383】

いくつかの実施形態では、当該第1および第2の単量体が、XENP31289である、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0384】

いくつかの実施形態では、当該第1および第2の単量体が、XENP31291である、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0385】

いくつかの実施形態では、本発明は、対象における癌の治療における使用のためのホモ二量体Fc融合タンパク質を含むホモ二量体Fc融合タンパク質組成物を提供する。

【0386】

いくつかの実施形態では、本発明は、ホモ二量体Fc融合タンパク質をコードする1つ

以上の核酸を提供する。

【0387】

いくつかの実施形態では、本発明は、ホモ二量体Fc融合タンパク質をコードする当該1つ以上の核酸を含む宿主細胞を提供する。

【0388】

いくつかの実施形態では、本発明は、ホモ二量体Fc融合タンパク質を作製する方法を提供し、当該方法は、当該ホモ二量体Fc融合タンパク質が産生される条件下で宿主細胞を培養することを含む。

【0389】

いくつかの実施形態では、本発明は、ホモ二量体Fc融合タンパク質を精製する方法を提供し、当該方法は、a) ホモ二量体Fc融合タンパク質を含む組成物を提供することと、b) 当該組成物をイオン交換カラムに充填することと、c) 当該ホモ二量体Fc融合タンパク質を含有する画分を収集することと、を含む。

【0390】

別の態様では、本発明は、癌を治療することを必要とする患者において癌を治療する方法を提供し、治療有効量の、先行項のいずれかによるヘテロ二量体またはホモ二量体Fc融合タンパク質を当該患者に投与することを含む。

【0391】

いくつかの実施形態では、本発明は、癌を治療することを必要とする患者において癌を治療する方法を提供し、治療有効量のチェックポイント遮断抗体を投与することをさらに含む。

【0392】

いくつかのさらなる実施形態では、本発明は、癌を治療することを必要とする患者において癌を治療する方法を提供し、当該チェックポイント遮断抗体は、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体、抗TIM3抗体、抗TIGIT抗体、抗LAG3抗体、および抗CTLA-4抗体から選択される。

【0393】

いくつかのさらなる実施形態では、本発明は、癌を治療することを必要とする患者において癌を治療する方法を提供し、当該抗PD-1抗体は、ニボルマブ、ペンブロリズマブ、またはピジリズマブである。

【0394】

いくつかのさらなる実施形態では、本発明は、癌を治療することを必要とする患者において癌を治療する方法を提供し、当該抗PD-L1抗体は、アテゾリズマブ、アベルマブ、またはデュルバルマブである。

【0395】

いくつかのさらなる実施形態では、本発明は、癌を治療することを必要とする患者において癌を治療する方法を提供し、患者は、投与後にリンパ球の増加を示す。

【0396】

いくつかのさらなる実施形態では、本発明は、癌を治療することを必要とする患者において癌を治療する方法を提供し、患者は、投与後に末梢CD8+T細胞の増加を示す。

【0397】

いくつかの実施形態では、本発明は、癌を治療することを必要とする患者において癌を治療する方法を提供し、IL-12Fc融合タンパク質は、治療前のチェックポイント発現を増加させるために、チェックポイント阻害剤の前に投与される。

【0398】

いくつかの実施形態では、本発明は、癌を治療することを必要とする患者において癌を治療する方法を提供し、IL-12Fc融合タンパク質は、治療前のチェックポイント発現を増加させるために、チェックポイント阻害剤の前に投与される。

【0399】

別の態様では、本発明は、T細胞増殖を誘導することを必要とする患者においてT細胞

10

20

30

40

50

増殖を誘導する方法を提供し、治療有効量の先行項のいずれかによるヘテロ二量体またはホモ二量体Fc融合タンパク質を当該患者に投与することを含む。

【0400】

いくつかのさらなる実施形態では、本発明は、T細胞増殖を誘導することを必要とする患者においてT細胞増殖を誘導する方法を提供し、治療有効量のチェックポイント遮断抗体を投与することをさらに含む。

【0401】

いくつかのさらなる実施形態では、本発明は、T細胞増殖を誘導することを必要とする患者においてT細胞増殖を誘導する方法を提供し、当該チェックポイント遮断抗体は、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体、抗TIM3抗体、抗TIGIT抗体、抗LAG3抗体、および抗CTLA-4抗体から選択される。

10

【0402】

いくつかのさらなる実施形態では、本発明は、T細胞増殖を誘導することを必要とする患者においてT細胞増殖を誘導する方法を提供し、当該抗PD-1抗体は、ニボルマブ、ペンブロリズマブ、またはビジリズマブである。

【0403】

いくつかの他のさらなる実施形態では、本発明は、T細胞増殖を誘導することを必要とする患者においてT細胞増殖を誘導する方法を提供し、当該抗PD-L1抗体は、アテゾリズマブ、アベルマブ、またはデュルバルマブである。

20

【0404】

いくつかのさらなる実施形態では、本発明は、T細胞増殖を誘導することを必要とする患者においてT細胞増殖を誘導する方法を提供し、T細胞増殖は、T細胞の少なくとも2倍の増加である。

【0405】

いくつかの実施形態では、本発明は、T細胞増殖を誘導することを必要とする患者においてT細胞増殖を誘導する方法を提供し、IL-12Fc融合タンパク質は、治療前のチェックポイント発現を増加させるために、チェックポイント阻害剤の前に投与される。

【0406】

いくつかの実施形態では、本発明は、T細胞増殖を誘導することを必要とする患者においてT細胞増殖を誘導する方法を提供し、IL-12Fc融合タンパク質は、治療前のチェックポイント発現を増加させるために、チェックポイント阻害剤の前に投与される。

30

【0407】

一態様では、本発明は、IL-12p40サブユニットを提供する。別の態様では、本発明は、IL-12p35サブユニットを提供する。さらなる態様では、本発明は、a) IL-12p40サブユニットおよびb) IL-12p35サブユニットを含むヘテロ二量体複合体を提供する。

【図面の簡単な説明】

【0408】

【図1】図1Aおよび1Bは、IL-12およびその受容体の配列を示す。

【図2】図2A～2Eは、(スキューおよびpIバリエーションを含む)Fcヘテロ二量体化バリエーションセットの有用な対を示す。対応する「単量体2」を有しないバリエーションは、いずれかの単量体に対して単独で使用する事ができるpIバリエーションである。

40

【図3】等比体積バリエーション抗体定常領域およびそれらのそれぞれの置換の一覧を示す。pI_—(-)は低pIバリエーションを示し、pI_—(+)は高pIバリエーションを示す。これらは、任意にかつ独立して、本発明の他のヘテロ二量体化バリエーション(および本明細書に概説される他のバリエーション種)と組み合わせることができる。

【図4】FcγR結合をアブレートする有用なアブレーションバリエーションを示す(「ノックアウト」または「KO」バリエーションと称されることもある)。一般に、アブレーションバリエーションは両方の単量体に見られるが、いくつかの場合では、それらは一方の単量体のみにあってもよい。

50

【図5】本発明の「非サイトカイン」成分の特に有用な実施形態を示す。

【図6】いくつかの例示的なドメインリンカーを示す。いくつかの実施形態では、これらのリンカーは、IL-12p35サブユニット、IL-12p40サブユニット、または単鎖IL-12複合体をFc領域のN末端に結合することによって用途を見出す。いくつかの実施形態では、これらのリンカーは、単鎖IL-12複合体においてIL-12p35サブユニットをIL-12p40サブユニットに融合することによって用途を見出す。scIL-12複合体は、IL-12p40にN末端結合したIL-12p35またはIL-12p35にN末端結合したIL-12p40のいずれかを含むことができることに留意することが重要である。また、本明細書に記載されるいくつかの場合では、Fcドメインのヒンジ部分は、ドメインリンカーとして機能し、これらのリンカーのいずれかと同様に組み合わせることができる。

10

【図7】図7A～7Eは、サイトカイン配列を含まない、ヒトIgG1に基づくいくつかの有用なIL-12-Fc融合バックボーンの配列（例えば、IL-12p35サブユニット、IL-12p40サブユニット、またはscIL-12複合体）を示す。バックボーン1は、ヒトIgG1（356E/358Mアロタイプ）に基づき、両方の鎖上のC220S、S364K/E357Q：L368D/K370Sスキューバリエーション、L368D/K370Sスキューバリエーションを有する鎖上のQ295E/N384D/Q418E/N421D pIバリエーション、および両方の鎖上のE233P/L234V/L235A/G236del/S267Kアブレーションバリエーションを含む。バックボーン2は、ヒトIgG1（356E/358Mアロタイプ）に基づき、両方の鎖上のC220S、S364K：L368D/K370Sスキューバリエーション、L368D/K370Sスキューバリエーションを有する鎖上のQ295E/N384D/Q418E/N421D pIバリエーション、および両方の鎖上のE233P/L234V/L235A/G236del/S267Kアブレーションバリエーションを含む。バックボーン3は、ヒトIgG1（356E/358Mアロタイプ）に基づき、両方の鎖上のC220S、S364K：L368E/K370Sスキューバリエーション、L368E/K370Sスキューバリエーションを有する鎖上のQ295E/N384D/Q418E/N421D pIバリエーション、および両方の鎖上のE233P/L234V/L235A/G236del/S267Kアブレーションバリエーションを含む。バックボーン4は、ヒトIgG1（356E/358Mアロタイプ）に基づき、両方の鎖上のC220S、D401K：K360E/Q362E/T411Eスキューバリエーション、K360E/Q362E/T411Eスキューバリエーションを有する鎖上のQ295E/N384D/Q418E/N421D pIバリエーション、および両方の鎖上のE233P/L234V/L235A/G236del/S267Kアブレーションバリエーションを含む。バックボーン5は、ヒトIgG1（356D/358Lアロタイプ）に基づき、両方の鎖上のC220S、S364K/E357Q：L368D/K370Sスキューバリエーション、L368D/K370Sスキューバリエーションを有する鎖上のQ295E/N384D/Q418E/N421D pIバリエーション、および両方の鎖上のE233P/L234V/L235A/G236del/S267Kアブレーションバリエーションを含む。バックボーン6は、ヒトIgG1（356E/358Mアロタイプ）に基づき、両方の鎖上のC220S、S364K/E357Q：L368D/K370Sスキューバリエーション、L368D/K370Sスキューバリエーションを有する鎖上のQ295E/N384D/Q418E/N421D pIバリエーション、および両方の鎖上のE233P/L234V/L235A/G236del/S267Kアブレーションバリエーション、ならびに両方の鎖上のN297Aバリエーションを含む。バックボーン7は、変異がN297Sであることを除いて、6と同一である。バックボーン6および7についての代替フォーマットは、両方の鎖においてアブレーションバリエーションE233P/L234V/L235A/G236del/S267Kを除外することができる。バックボーン8は、ヒトIgG4に基づき、S364K/E357Q：L368D/K370Sスキューバリエーション、L368D/K370Sスキューバリエーションを有する鎖上のQ295E/N384D/Q418E/N421D pIバリエーション、および当該技術分野で知られるように

20

30

40

50

F a b アーム交換をアブレートする両方の鎖上の S 2 2 8 P (E U 付番、すなわち K a b a t の S 2 4 1 P) バリエントを含む。バックボーン 9 は、ヒト I g G 2 に基づき、S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q : L 3 6 8 D / K 3 7 0 S スキューバリエント、L 3 6 8 D / K 3 7 0 S スキューバリエントを有する鎖上の Q 2 9 5 E / N 3 8 4 D / Q 4 1 8 E / N 4 2 1 D p I バリエントを含む。バックボーン 10 は、ヒト I g G 2 に基づき、S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q : L 3 6 8 D / K 3 7 0 S スキューバリエント、L 3 6 8 D / K 3 7 0 S スキューバリエントを有する鎖上の Q 2 9 5 E / N 3 8 4 D / Q 4 1 8 E / N 4 2 1 D p I バリエント、および両方の鎖上の S 2 6 7 K バリエントを含む。バックボーン 11 は、M 4 2 8 L / N 4 3 4 S X t e n d 変異を含むことを除いて、バックボーン 1 と同一である。バックボーン 12 は、ヒト I g G 1 (3 5 6 E / 3 5 8 M アロタイプ) に基づき、両方の同一の鎖上の C 2 2 0 S、および両方の同一の鎖上の E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 d e l / S 2 6 7 K アブレーションバリエントを含む。バックボーン 13 は、ヒト I g G 1 (3 5 6 E / 3 5 8 M アロタイプ) に基づき、両方の鎖上の C 2 2 0 S、S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q : L 3 6 8 D / K 3 7 0 S スキューバリエント、S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q スキューバリエントを有する鎖上の P 2 1 7 R / P 2 2 9 R / N 2 7 6 K p I バリエント、および両方の鎖上の E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 d e l / S 2 6 7 K アブレーションバリエントを含む。 当業者によって理解され、以下に概説されるように、これらの配列は、これらに限定されないが、図 8 に概略的に示される、I L - 1 2 - ヘテロ F c、ヘテロ F c - I L - 1 2、および s c I L - 1 2 - F c フォーマットを含む、本明細書に概説される任意の I L - 1 2 - F c 融合フォーマットで使用する。ヘテロ F c - I L - 1 2 融合体について、バックボーンは K 4 4 7 の欠失をさらに含み得ることが留意されるべきである。加えて、任意の I L - 1 2 p 3 5 および / または I L - 1 2 p 4 0 バリエントは、これらの図 7 バックボーンに任意の組み合わせで組み込むことができる。これらのバックボーンの各々の内に含まれるものは、列挙された配列に対して (本明細書で定義されるように) 9 0、9 5、9 8、および 9 9 % 同一である配列であり、かつ / または (当業者によって理解されるように、親ヒト I g G 1 (またはバックボーンに応じた、I g G 2 もしくは I g G 4) と比べて、いくつかのアミノ酸修飾をすでに含有する、図の「親」と比べて) 1、2、3、4、5、6、7、8、9、または 10 個からの追加のアミノ酸置換を含有する。すなわち、列挙されたバックボーンは、この図のバックボーン内に含まれるスクューバリエント、p I バリエント、およびアブレーションバリエントに加えて、追加のアミノ酸修飾 (一般にアミノ酸置換) を含み得る。

【図 8】図 8 A ~ 8 F は、本発明の I L - 1 2 - F c 融合タンパク質についての例示的なフォーマットを示す。N 末端 I L - 1 2 ヘテロ二量体 F c 融合体または「I L - 1 2 - ヘテロ F c」 (図 8 A) フォーマットは、ヘテロ二量体 F c の一方の側の N 末端に組換え融合した I L - 1 2 p 4 0 サブユニット、およびヘテロ二量体 F c の他方の側の N 末端に組換え融合した I L - 1 2 p 3 5 サブユニットを含む。I L - 1 2 p 3 5 および I L - 1 2 p 4 0 サブユニットは、ドメインリンカーによってそれらのそれぞれの F c 鎖に結合され得る。C 末端 I L - 1 2 ヘテロ二量体 F c 融合体または「ヘテロ F c - I L - 1 2」 (図 8 B) フォーマットは、ヘテロ二量体 F c の一方の側の C 末端に組換え融合した I L - 1 2 p 4 0 サブユニット、およびヘテロ二量体 F c の他方の側の C 末端に組換え融合した I L - 1 2 p 3 5 サブユニットを含む。I L - 1 2 p 3 5 および I L - 1 2 p 4 0 サブユニットは、ドメインリンカーによってそれらのそれぞれの F c 鎖に結合され得る。N 末端単鎖 I L - 1 2 - F c 融合体または「s c I L - 1 2 - F c」 (図 8 C ~ D) フォーマットは、(任意にドメインリンカーを介して) ヘテロ二量体 F c の一方の側の N 末端に組換え融合した単鎖 I L - 1 2 複合体 (または「s c I L - 1 2 複合体」) を含み、分子の他方の側は、「F c のみ」または「空 F c」ヘテロ二量体 F c である。C 末端単鎖 I L - 1 2 - F c 融合体または「F c - s c I L - 1 2」 (図 8 E ~ F) フォーマットは、(任意にドメインリンカーを介して) ヘテロ二量体 F c の一方の側の C 末端に組換え融合した s c I L - 1 2 複合体を含み、分子の他方の側は、「F c のみ」または「空 F c」ヘテロ二量

体Fcである。scIL-12複合体は、一般的であるが任意にドメインリンカーで、IL-12p40にN末端結合したIL-12p35またはIL-12p35にN末端結合したIL-12p40のいずれかを含むことができる。scIL-12複合体における2つのサブユニットの順序は、以下のように指定され得る：IL-12p40サブユニットがIL-12p35サブユニットにN末端結合している「scIL-12 (p40 / p35)」、またはIL-12p35がIL-12p40サブユニットにN末端結合している「scIL-12 (p35 / p40)」。

【図9】野生型IL-12p40および野生型IL-12p35配列を含有する、XENP27201、「IL-12-ヘテロFc」フォーマットの例示的なIL-12-Fc融合タンパク質の配列を示す。リンカーは、二重下線が付され（当業者によって理解されるように、リンカーは、そのいくつかが図6に示される、他のリンカーによって置き換えることができるが）、スラッシュ（/）は、IL-12p35、IL-12p40、リンカー、およびFc領域の間の境界（複数可）を示す。

10

【図10】野生型IL-12p40および野生型IL-12p35配列を含有する、XENP27202、「ヘテロFc-IL-12」フォーマットの例示的なIL-12-Fc融合タンパク質の配列を示す。リンカーは、二重下線が付され（当業者によって理解されるように、リンカーは、そのいくつかが図6に示される、他のリンカーによって置き換えることができるが）、スラッシュ（/）は、IL-12p35、IL-12p40、リンカー、およびFc領域の間の境界（複数可）を示す。

【図11】野生型IL-12p40および野生型IL-12p35配列を含有する、XENP27203およびXENP27204、「scIL-12-Fc」フォーマットの例示的なIL-12-Fc融合タンパク質の配列を示す。リンカーは、二重下線が付され（当業者によって理解されるように、リンカーは、そのいくつかが図6に示される、他のリンカーによって置き換えることができるが）、スラッシュ（/）は、IL-12p35、IL-12p40、リンカー、およびFc領域の間の境界（複数可）を示す。

20

【図12】図12A～12Bは、A) XENP27201の精製パート2を示すクロマトグラム（タンパク質Aクロマトグラフィー後のアニオン交換クロマトグラフィー）、ならびにB) 多角度光散乱での分析サイズ排除クロマトグラフィー（aSEC-MALS）およびC) 分析アニオン交換クロマトグラフィー（分析AIEX）によって決定されるピークAと比較した図12Aに示されるアニオン交換分離から単離されたピークBの純度および均一性を示す。図12Bは、多角度光散乱によって決定されるピークのタンパク質種の分子量も示す。

30

【図13】図13A～13Cは、A) XENP27203の精製パート2を示すクロマトグラム（タンパク質Aクロマトグラフィー後のアニオン交換クロマトグラフィー）、ならびにB) 多角度光散乱での分析サイズ排除クロマトグラフィー（SEC-MALS）およびC) 分析アニオン交換クロマトグラフィーによって決定されるピークAと比較した図13Aに示されるアニオン交換分離から単離されたピークBの純度および均一性を示す。図13Bは、多角度光散乱によって決定されるピークのタンパク質種の分子量も示す。

【図14】図A～14Bは、A) 二価IL-12p40-Fc融合体およびB) 二価IL-12p35-Fc融合体の漫画概略図を示す。各融合体は、ホモ二量体FcのN末端に組換え融合したIL-12p40またはIL-12p35サブユニットのいずれかを含む。サブユニットは、Fc領域のそれぞれのC末端およびN末端の間にドメインリンカーを有し得る。

40

【図15】野生型IL-12p40および野生型IL-12p35配列を含有する、XENP27560、二価IL-12p40-Fc融合体、およびXENP27561、二価IL-12p35-Fc融合体（図14に示される漫画概略図）の配列を示す。リンカーは、二重下線が付され（当業者によって理解されるように、リンカーは、そのいくつかが図6に示される、他のリンカーによって置き換えることができるが）、スラッシュ（/）は、IL-12p35、IL-12p40、リンカー、およびFc領域の間の境界（複数可）を示す。

50

【図16】図16A～16Dは、示された試験品との活性化PBMCのインキュベーション後のA) $CD4^+CD45RA^-CD25^{hi}$ T細胞、B) $CD8^+CD45RA^-CD25^{hi}$ T細胞、C) $\gamma\delta$ T細胞、およびD) NK細胞に対するSTAT4リン酸化を示す。

【図17】IL-12受容体でのIL-12p40の結合に寄与すると予測される(IL-12p40成熟形態配列に基づく)IL-12p40上の残基を示す。

【図18】MOEにおけるQuaSARパッケージを使用して少なくとも19のASAスコア(水分子の1.4 Åの半径および各原子の多面体表示を使用して計算される水接触可能表面積)を有すると特定される(IL-12p40成熟形態配列に基づく)IL-12p40上のアスパラギン酸、グルタミン酸、アスパラギン、およびグルタミン残基を示す。

【図19】(アクセッション番号5MZVでPDBに登録される結晶構造に基づいて)IL-23受容体と接触すると予測される(IL-12p40成熟形態配列に基づく)IL-12p40上の残基および予測される接触タイプ(複数可)を示す。「D」は、近接性に基づいて予測される接触を示す。「H」は、潜在的な水素結合に基づいて予測される接触を示す。「I」は、潜在的な塩橋に基づいて予測される接触を示す。「A」は、潜在的なアレール結合に基づいて予測される接触を示す。

【図20】図20A～20Iは、IL-12受容体についてのIL-12ヘテロ二量体複合体の親和性を低減および／または推定グリコシル化部位を除去する目的で設計された例示的なIL-12p40バリエーションについての配列を示す。修飾されたアミノ酸は、下線が引かれ、太字である。

【図21】図21A～21Jは、Fc融合パートナーを有する例示的なIL-12p40バリエーションについてのアミノ酸配列を示す。ドメインリンカーは二重下線が引かれ、IL-12p40バリエーションはイタリック体である。

【図22】MOEにおけるQuaSARパッケージを使用して少なくとも103のASAスコア(水分子の1.4 Åの半径および各原子の多面体表示を使用して計算される水接触可能表面積)を有すると特定される(IL-12p35成熟形態配列に基づく)IL-12p35上のアスパラギン酸、グルタミン酸、アスパラギン、およびグルタミン残基を示す。

【図23】図23A～23Cは、IL-12受容体についてのIL-12ヘテロ二量体複合体の親和性を低減および／または推定グリコシル化部位を除去する目的で設計された例示的なIL-12p35バリエーションについての配列を示す。修飾されたアミノ酸は、下線が引かれ、太字である。

【図24】図24A～24Dは、Fc融合パートナーを有する例示的なIL-12p35バリエーションについてのアミノ酸配列を示す。ドメインリンカーは二重下線が引かれ、IL-12p35バリエーションはイタリック体である。

【図25】図25A～25Qは、IL-12受容体についてのIL-12-Fc複合体の親和性を低減または推定グリコシル化部位を除去する目的で設計された例示的なバリエーションIL-12-Fc融合体についての配列を示す。リンカーは、二重下線が付され(当業者によって理解されるように、リンカーは、そのいくつかが図6に示される、他のリンカーによって置き換えることができるが)、スラッシュ(/)は、IL-12p35、IL-12p40、リンカー、およびFc領域の間の境界(複数可)を示す。

【図26】図26A～26Bは、親和性および有効性を低減する目的で操作されたIL-12p40バリエーションを含むIL-12-Fc融合体との活性化PBMCのインキュベーション後のA) $CD4^+CD45RA^+CD25^+$ T細胞およびB) $CD8^+CD45RA^+CD25^+$ T細胞に対するSTAT4リン酸化を示す。

【図27】図27A～27Bは、親和性および有効性を低減する目的で操作されたIL-12p35バリエーションを含むIL-12-Fc融合体との活性化PBMCのインキュベーション後のA) $CD4^+CD45RA^+CD25^+$ T細胞およびB) $CD8^+CD45RA^+CD25^+$ T細胞に対するSTAT4リン酸化を示す。

【図28】IL-12p40またはIL-12p35バリエーションを含むIL-12-Fc

10

20

30

40

50

融合体としての（STAT4リン酸化についての）EC50およびWTIL-12-FcXENP27201と比較したEC50の減少倍率を示す。27201-1および27201-2は、XENP27201の2つの別々に生成されたバッチを表す。

【図29】図29A～29Bは、IL-12受容体についてのIL-12ヘテロ二量体複合体の親和性を低減する目的で設計された例示的なIL-12p40バリエーションについての配列を示す。修飾されたアミノ酸は、下線が引かれ、太字である。

【図30】図30A～30Dは、Fc融合パートナーを有する例示的なIL-12p40バリエーションについてのアミノ酸配列を示す。ドメインリンカーは二重下線が引かれ、IL-12p40バリエーションはイタリック体である。

【図31】図31A～31Bは、IL-12受容体についてのIL-12ヘテロ二量体複合体の親和性を低減する目的で設計された例示的なIL-12p35バリエーションについての配列を示す。修飾されたアミノ酸は、下線が引かれ、太字である。

【図32】図32A～32Cは、Fc融合パートナーを有する例示的なIL-12p35バリエーションについてのアミノ酸配列を示す。ドメインリンカーは二重下線が引かれ、IL-12p35バリエーションはイタリック体である。

【図33】図33A～33Pは、IL-12受容体についてのIL-12-Fc複合体の親和性を低減する目的で設計された例示的なバリエーションIL-12-Fc融合体についての配列を示す。リンカーは、二重下線が付され（当業者によって理解されるように、リンカーは、そのいくつかが図6に示される、他のリンカーによって置き換えることができる）、スラッシュ（/）は、IL-12p35、IL-12p40、リンカー、およびFc領域の間の境界（複数可）を示す。

【図34】図34Aおよび34Bは、親和性および有効性を低減する目的で操作されたIL-12p40バリエーションを含むIL-12-Fc融合体との活性化PBMCのインキュベーション後のA）CD4⁺CD45RA⁺CD25⁺T細胞およびB）CD8⁺CD45RA⁺CD25⁺T細胞に対するSTAT4リン酸化を示す。

【図35】図35Aおよび35Bは、親和性および有効性を低減する目的で操作されたIL-12p40および/またはIL-12p35バリエーションを含むIL-12-Fc融合体との活性化PBMCのインキュベーション後のA）CD4⁺CD45RA⁺CD25⁺T細胞およびB）CD8⁺CD45RA⁺CD25⁺T細胞に対するSTAT4リン酸化を示す。

【図36】IL-12p40および/またはIL-12p35バリエーションを含むIL-12-Fc融合体の（STAT4リン酸化についての）EC50ならびにWTIL-12-FcXENP27201と比較したEC50の減少倍率を示す。データは、有効性がIL-12p40サブユニットにおけるE59K置換のみを含むIL-12-Fc融合体によって最大12倍低減したことを示す。

【図37】図37A～37Bは、IL-12受容体についてのIL-12ヘテロ二量体複合体の親和性を低減する目的で設計された例示的なIL-12p40バリエーションについての配列を示す。修飾されたアミノ酸は、下線が引かれ、太字である。

【図38】IL-12受容体についてのIL-12ヘテロ二量体複合体の親和性を低減する目的で設計された例示的なIL-12p35バリエーションについての配列を示す。修飾されたアミノ酸は、下線が引かれ、太字である。

【図39】図39A～39Iは、IL-12受容体についてのIL-12-Fc複合体の親和性を低減する目的で設計された例示的なバリエーションIL-12-Fc融合体についての配列を示す。リンカーは、二重下線が付され（当業者によって理解されるように、リンカーは、そのいくつかが図6に示される、他のリンカーによって置き換えることができる）、スラッシュ（/）は、IL-12p35、IL-12p40、リンカー、およびFc領域の間の境界（複数可）を示す。

【図40】図40A～40Bは、親和性および有効性を低減する目的で操作されたIL-12p40および/またはIL-12p35バリエーションを含むIL-12-Fc融合体との活性化PBMCのインキュベーション後のA）CD4⁺CD45RA⁺CD25⁺T細胞

10

20

30

40

50

およびB) $CD8^+CD45RA^+CD25^+$ T細胞に対するSTAT4リン酸化を示す。

【図41】IL-12p40および／またはIL-12p35バリエーションを含むIL-12-Fc融合体の(STAT4リン酸化についての)EC50ならびにWTIL-12-FcXENP27201と比較したEC50の減少倍率を示す。データは、有効性が最大100倍低減したことを示す。

【図42】図42A～42Bは、IL-12受容体についてのIL-12ヘテロ二量体複合体の親和性を低減する目的で設計された例示的なIL-12p40バリエーションについての配列を示す。修飾されたアミノ酸は、下線が引かれ、太字である。

【図43】IL-12受容体についてのIL-12ヘテロ二量体複合体の親和性を低減する目的で設計された例示的なIL-12p35バリエーションについての配列を示す。修飾されたアミノ酸は、下線が引かれ、太字である。

10

【図44】図44A～44Kは、IL-12受容体についてのIL-12-Fc複合体の親和性を低減する目的で設計された例示的なバリエーションIL-12-Fc融合体についての配列を示す。リンカーは、二重下線が付され(当業者によって理解されるように、リンカーは、そのいくつかが図6に示される、他のリンカーによって置き換えることができる)、スラッシュ(/)は、IL-12p35、IL-12p40、リンカー、およびFc領域の間の境界(複数可)を示す。

【図45】図45A～45Cは、IL-12受容体についてのIL-12-Fc融合体の親和性を低減する目的で設計され、半減期を延長するためにXtendFc(M428L/N434S)でさらに操作された例示的なバリエーションIL-12-Fc融合体についての配列を示す。リンカーは、二重下線が付され(当業者によって理解されるように、リンカーは、そのいくつかが図6に示される、他のリンカーによって置き換えることができる)、スラッシュ(/)は、IL-12p35、IL-12p40、リンカー、およびFc領域の間の境界(複数可)を示す。これらの配列が例示的な目的で提供され、半減期を延長するために他の図に示される配列のいずれもXtendFc(M428L/N434S)を含み得ることが留意されるべきである。

20

【図46】図46A～46Dは、親和性および有効性を低減する目的で操作されたIL-12p40および／またはIL-12p35バリエーションを含むIL-12-Fc融合体との活性化PBMCのインキュベーション後のA) $CD4^+CD45RA^+CD25^+$ T細胞、B) $CD4^+CD45RA^-CD25^+$ T細胞、C) $CD8^+CD45RA^+CD25^+$ T細胞、およびD) $CD8^+CD45RA^-CD25^+$ T細胞に対するSTAT4リン酸化を示す。

30

【図47】IL-12p40および／またはIL-12p35バリエーションを含むIL-12-Fc融合体の(STAT4リン酸化についての)EC50ならびにWTIL-12-FcXENP27201と比較したEC50の減少倍率を示す。

【図48】図48A～48Dは、本発明の二価IL-12-Fc融合タンパク質についての例示的なフォーマットを示す。二価N末端単鎖(図48A～B)フォーマットは、各々が、(任意にドメインリンカーを介して)ホモ二量体Fc鎖のN末端に融合したscIL-12複合体組換え体を含む、2つの同一の単量体を含む。二価C末端単鎖(図48C～D)フォーマットは、各々が、(任意にドメインリンカーを介して)ホモ二量体Fc鎖のC末端に融合したscIL-12複合体組換え体を含む、2つの同一の単量体を含む。scIL-12複合体は、任意にドメインリンカーで、IL-12p40にN末端結合したIL-12p35またはIL-12p35にN末端結合したIL-12p40のいずれかを含むことができる。scIL-12複合体における2つのサブユニットの順序は、以下のように指定され得る: IL-12p40サブユニットがIL-12p35サブユニットにN末端結合している「scIL-12(p40/p35)」、またはIL-12p35がIL-12p40サブユニットにN末端結合している「scIL-12(p35/p40)」。

40

【図49】XENP31289およびXENP31291、(scIL-12(p40/p35))₂-Fcフォーマットの例示的なIL-12-Fc融合タンパク質についての

50

配列を示す。XENP31289は、野生型IL-12p40および野生型IL-12p35サブユニットを含有する。XENP31291は、IL-12p40（E59K/K99E）バリエーションおよび野生型IL-12p35サブユニットを含有する。リンカーは、二重下線が付され（当業者によって理解されるように、リンカーは、そのいくつかが図6に示される、他のリンカーによって置き換えることができるが）、スラッシュ（/）は、IL-12p35、IL-12p40、リンカー、およびFc領域の間の境界（複数可）を示す。

【図50】IL-12p40（E59K/K99E）バリエーションおよび野生型IL-12p35サブユニットを含有する、XENP31290、scIL-12（p40/p35）-Fcフォーマットの例示的なIL-12-Fc融合タンパク質についての配列を示す。リンカーは、二重下線が付され（当業者によって理解されるように、リンカーは、そのいくつかが図6に示される、他のリンカーによって置き換えることができるが）、スラッシュ（/）は、IL-12p35、IL-12p40、リンカー、およびFc領域の間の境界（複数可）を示す。

【図51】図51A～51Dは、WTIL-12p40サブユニットまたはバリエーションIL-12p40（E59K/K99E）サブユニットのいずれかを有するscIL-12（p40/p35）-Fcおよび（scIL-12（p40/p35））₂-FcフォーマットのIL-12-Fc融合体との活性化PBMCのインキュベーション後のA）CD4⁺CD45RA⁺CD25⁺T細胞、B）CD4⁺CD45RA⁻CD25⁺T細胞、C）CD8⁺CD45RA⁺CD25⁺T細胞、およびD）CD8⁺CD45RA⁻CD25⁺T細胞に対するSTAT4リン酸化を示す。データは、バリエーションIL-12p40（E59K/K99E）サブユニットを含むscIL-12（p40/p35）-Fcおよび（scIL-12（p40/p35））₂-Fc融合体におけるIL-12-Fc融合体が、WTIL-12p40サブユニットを含むIL-12-Fc融合体と比較して低減した有効性を示したことを示す。

【図52】WTIL-12p40サブユニットまたはバリエーションIL-12p40（E59K/K99E）サブユニットのいずれかを有するscIL-12（p40/p35）-Fcおよび（scIL-12（p40/p35））₂-FcフォーマットでのIL-12-Fc融合体の（STAT4リン酸化についての）EC50を示す。

【図53】XENP16432、ニボルマブおよびE233P/L234V/L235A/G236del/S267Kアブレーションバリエーションを有するIgG1バックボーンに基づく抗PD-1 mAbについての配列を示す。

【図54】図54A～54Dは、PBS、XENP16432（二価抗PD-1 mAb）、またはXENP29952（バリエーションIL-12p40（E59K））を含むIL-12-ヘテロFcフォーマットの低減有効性IL-12-Fc融合体が投与されたpp65-MCF7およびhuPBMC生着NSGマウスにおけるA）11日目、B）13日目、およびC）15日目、ならびにD）時間経過での腫瘍体積（キャリパー測定によって決定される）の変化を示す。XENP29952は、腫瘍体積の変化によって示されるように11日目までに抗腫瘍活性を有意に増強した（対応のないt検定を使用してベースライン補正データに対して実施された統計）。

【図55】図55A～55Fは、PBMC生着ならびにPBS、XENP16432（二価抗PD-1 mAb）、またはXENP29952（バリエーションIL-12p40（E59K））を含むIL-12-ヘテロFcフォーマットの低減有効性IL-12-Fc融合体の第1の用量後14日目のpp65-MCF7およびhuPBMC生着NSGマウスにおけるA）CD45細胞、B）CD3⁺T細胞、C）CD4⁺T細胞、D）CD8⁺T細胞、E）NK細胞数、およびF）CD4⁺T細胞対CD8⁺T細胞比を示す。XENP29952は、PBS対照およびXENP16432によるチェックポイント遮断の両方と比較して、14日目までにCD45⁺、CD3⁺T細胞、CD4⁺T細胞、CD8⁺T細胞、およびNK細胞の増殖を有意に増強した（対応のないt検定を使用して対数変換データに対して実施された統計）。

10

20

30

40

50

【図56】図56A～56Dは、PBMC生着ならびにPBS、XENP16432（二価抗PD-1 mAb）、またはXENP29952（バリエントIL-12p40（E59K））を含むIL-12-ヘテロFcフォーマットの低減有効性IL-12-Fc融合体の第1の用量後のpp65-MCF7およびhuPBMC生着NSGマウスにおけるA）7日目およびB）14日目の血清IFN γ 濃度、ならびにC）7日目およびD）14日目の血清CD25濃度を示す。XENP29952は、XENP16432によるチェックポイント遮断と比較して、7日目までにIFN γ およびCD25の分泌を有意に増強した（対応のないt検定を使用して対数変換データに対して実施された統計）。

【図57】図57A～57Iは、PBSまたはXENP29952（バリエントIL-12p40（E59K））を含むIL-12-ヘテロFcフォーマットの低減有効性IL-12-Fc融合体）、XENP30597（バリエントIL-12p40（E59K/K99E））を含むIL-12-ヘテロFcフォーマットの低減有効性IL-12-Fc融合体）、XENP31254（バリエントIL-12p40（D18K/E59K/K99E））を含むIL-12-ヘテロFcフォーマットの低減有効性IL-12-Fc融合体）、XENP31251（バリエントIL-12p40（E59K/K99Y））を含むIL-12-ヘテロFcフォーマットの低減有効性IL-12-Fc融合体）、もしくはXENP31258（バリエントIL-12p40（E59K/K99E/K264E））を含むIL-12-ヘテロFcフォーマットの低減有効性IL-12-Fc融合体）が0.3または0.03mg/kgで投与されたhuPBMC生着NSGマウスにおけるA）3日目、B）6日目、C）10日目、D）13日目、E）17日目、F）20日目、G）24日目、およびH）27日目まで、ならびにI）時間経過での体重の変化（GVHDの指標として）を示す。特に、IL-12-Fc融合試験品は、それらのインビトロ有効性と相関する変動する程度のGVHDを誘導した。加えて、データは、試験品についての用量応答（すなわち、0.3mg/kg対0.03mg/kgによって増強されたGVHD）を示す。

【図58】図58A～58Cは、PBMC生着およびPBSまたはXENP29952（バリエントIL-12p40（E59K））を含むIL-12-ヘテロFcフォーマットの低減有効性IL-12-Fc融合体）、XENP30597（バリエントIL-12p40（E59K/K99E））を含むIL-12-ヘテロFcフォーマットの低減有効性IL-12-Fc融合体）、XENP31254（バリエントIL-12p40（D18K/E59K/K99E））を含むIL-12-ヘテロFcフォーマットの低減有効性IL-12-Fc融合体）、XENP31251（バリエントIL-12p40（E59K/K99Y））を含むIL-12-ヘテロFcフォーマットの低減有効性IL-12-Fc融合体）、もしくはXENP31258（バリエントIL-12p40（E59K/K99E/K264E））を含むIL-12-ヘテロFcフォーマットの低減有効性IL-12-Fc融合体の0.3または0.03mg/kgでの第1の用量後のA）7日目、B）10日目、およびC）14日目のhuPBMC生着NSGマウスにおけるCD8⁺T細胞上でのPD-1発現を（活性化の指標として）示す。特に、IL-12-Fc融合試験品は、それらのインビトロ有効性と相関する変動する程度のCD8⁺T細胞活性化を誘導した。加えて、データは、試験品についての用量応答（すなわち、0.3mg/kg対0.03mg/kgによって増強されたCD8⁺T細胞活性化）を示す。

【図59】図59A～59Cは、PBMC生着およびPBSまたはXENP29952（バリエントIL-12p40（E59K））を含むIL-12-ヘテロFcフォーマットの低減有効性IL-12-Fc融合体）、XENP30597（バリエントIL-12p40（E59K/K99E））を含むIL-12-ヘテロFcフォーマットの低減有効性IL-12-Fc融合体）、XENP31254（バリエントIL-12p40（D18K/E59K/K99E））を含むIL-12-ヘテロFcフォーマットの低減有効性IL-12-Fc融合体）、XENP31251（バリエントIL-12p40（E59K/K99Y））を含むIL-12-ヘテロFcフォーマットの低減有効性IL-12-Fc融合体）、もしくはXENP31258（バリエントIL-12p40（E59K/K

10

20

30

40

50

99E/K264E)を含むIL-12-ヘテロFcフォーマットの低減有効性IL-12-Fc融合体)の0.3または0.03mg/kgでの第1の用量後のA)7日目、B)10日目、およびC)14日目のhuPBMC生着NSGマウスにおけるCD4⁺T細胞上でのPD-1発現を(活性化の指標として)示す。特に、IL-12-Fc融合試験品は、それらのインビトロ有効性と相関する変動する程度のCD4⁺T細胞活性化を誘導した。加えて、データは、試験品についての用量応答(すなわち、0.3mg/kg対0.03mg/kgによって増強されたCD4⁺T細胞活性化)を示す。

【図60】図60A~60Dは、PBMC生着およびPBSまたはXENP29952(バリエーションIL-12p40(E59K))を含むIL-12-ヘテロFcフォーマットの低減有効性IL-12-Fc融合体)、XENP30597(バリエーションIL-12p40(E59K/K99E))を含むIL-12-ヘテロFcフォーマットの低減有効性IL-12-Fc融合体)、XENP31254(バリエーションIL-12p40(D18K/E59K/K99E))を含むIL-12-ヘテロFcフォーマットの低減有効性IL-12-Fc融合体)、XENP31251(バリエーションIL-12p40(E59K/K99Y))を含むIL-12-ヘテロFcフォーマットの低減有効性IL-12-Fc融合体)、もしくはXENP31258(バリエーションIL-12p40(E59K/K99E/K264E))を含むIL-12-ヘテロFcフォーマットの低減有効性IL-12-Fc融合体)の0.3または0.03mg/kgでの第1の用量後のA)7、B)10、C)14、およびD)31日目のhuPBMC生着NSGマウスにおけるIFN γ の血清濃度を示す。特に、IL-12-Fc融合試験品は、それらのインビトロ有効性と相関する変動するレベルのIFN γ 分泌を誘導した。加えて、データは、試験品についての用量応答(すなわち、0.3mg/kg対0.03mg/kgによって誘導される増強されたIFN γ 分泌)を示す。

【図61】図61A~61Kは、組換えヒトIL-12、XENP29952(バリエーションIL-12p40(E59K))を含むIL-12-ヘテロFcフォーマットの低減有効性IL-12-Fc融合体)、XENP30597(バリエーションIL-12p40(E59K/K99E))を含むIL-12-ヘテロFcフォーマットの低減有効性IL-12-Fc融合体)、XENP31254(バリエーションIL-12p40(D18K/E59K/K99E))を含むIL-12-ヘテロFcフォーマットの低減有効性IL-12-Fc融合体)、XENP31251(バリエーションIL-12p40(E59K/K99Y))を含むIL-12-ヘテロFcフォーマットの低減有効性IL-12-Fc融合体)、またはXENP31258(バリエーションIL-12p40(E59K/K99E/K264E))を含むIL-12-ヘテロFcフォーマットの低減有効性IL-12-Fc融合体)との、活性化PBMC(第1のドナー、ドナー1由来)のインキュベーション後のA)CD4⁺CD45RA⁻CD25⁺T細胞、B)CD4⁺CD45RA⁺CD25⁺T細胞、C)CD4⁺CD45RA⁺CD25⁻T細胞、D)CD4⁺CD45RA⁻CD25⁻T細胞、E)CD8⁺CD45RA⁻CD25⁺T細胞、F)CD8⁺CD45RA⁺CD25⁺T細胞、G)CD8⁺CD45RA⁺CD25⁻T細胞、H)CD8⁺CD45RA⁻CD25⁻T細胞、I)Treg、J) $\gamma\delta$ T細胞、およびK)CD56⁺NK細胞に対するSTAT4リン酸化を示す。データは有効性ラダーを示し、XENP29952は最も有効なバリエーションであり、XENP31254およびXENP31258は最も有効でないバリエーションであり、XENP30597およびXENP31251はその間に入る。特に、低減有効性IL-12-Fc融合バリエーションによってインビボで誘導されるGVHDおよびT細胞活性化の程度は、インビトロ有効性と相関した。

【図62】図62A~62Dは、PBS、XENP16432(二価抗PD-1 mAb)、XENP31258、XENP31251、またはXENP31251およびXENP16432の組み合わせが投与されたpp65-MCF7およびhuPBMC生着NSGマウスにおけるA)14日目、B)16日目、およびC)21日目、ならびにD)時間経過での腫瘍体積(キャリパー測定によって決定される)の変化を示す。XENP31258は、14日目までに抗腫瘍活性を有意に増強した。XENP31251(単独または

10

20

30

40

50

XENP16432との組み合わせ)は、PBSでの処理と比較して、16日目までに抗腫瘍活性を有意に増強し、XENP16432と組み合わせたXENP31251は、XENP16432単独での処理と比較して、21日目までに抗腫瘍活性を有意に増強した(マン-ホイットニー検定を使用してベースライン補正データに対して実施された統計)。

【図63】図63A~63Fは、PBMC生着ならびにPBS、XENP16432(二価抗PD-1 mAb)、XENP31258、XENP31251、またはXENP31251およびXENP16432の組み合わせの第1の用量後14日目のpp65-MCF7およびhuPBMC生着NSGマウスにおけるA)CD45細胞、B)CD3⁺T細胞、C)CD4⁺T細胞、D)CD8⁺T細胞、E)NK細胞数、およびF)CD8⁺T細胞対CD4⁺T細胞比を示す。特に、データは、XENP16432と組み合わせたXENP31251での治療が、XENP31251またはXENP16432のいずれかが単独と比較してリンパ球増殖を有意に増強し、IL-12-Fc融合体が、チェックポイント遮断と生産的に組み合わせることを示した。

10

【図64】図64A~64Cは、IL-12受容体についてのIL-12-Fc融合体の親和性を低減する目的で設計され、半減期を延長するためにXtendFc(M428L/N434S)でさらに操作された例示的なバリエーションIL-12-Fc融合体についての配列を示す。リンカーは、二重下線が付され(当業者によって理解されるように、リンカーは、そのいくつかを図6に示される、他のリンカーによって置き換えることができるが)、スラッシュ(/)は、IL-12p35、IL-12p40、リンカー、およびFc領域の間の境界(複数可)を示す。これらの配列が例示的な目的で提供され、半減期を延長するために他の図に示される配列のいずれもXtendFc(M428L/N434S)を含み得ることが留意されるべきである。

20

【図65】図65A~65Cは、(発現および親和性/有効性バリエーションに加えて)遊離システインを除去する目的でC252Sで操作された例示的なIL-12p40バリエーションについての配列を示す。

【図66】図66A~66Qは、(発現および親和性/有効性バリエーションに加えて)遊離システインを除去する目的でIL-12p40サブユニットにおいてC252Sで操作された例示的なバリエーションIL-12-Fc融合体についての配列を示す。リンカーは、二重下線が付され(当業者によって理解されるように、リンカーは、そのいくつかを図6に示される、他のリンカーによって置き換えることができるが)、スラッシュ(/)は、IL-12p35、IL-12p40、リンカー、およびFc領域の間の境界(複数可)を示す。

30

【図67】図67A~67Dは、遊離システインを除去する追加の操作ありまたはなしでのIL-12p40バリエーションを含むIL-12-Fcとの活性化PBMCのインキュベーション後のA)CD8⁺CD45RA⁻CD25⁺T細胞、B)CD8⁺CD45RA⁺CD25⁺T、C)CD4⁺CD45RA⁻CD25⁺T、D)CD4⁺CD45RA⁺CD25⁺T、およびE)NK細胞に対するSTAT4リン酸化を示す。データは、IL-12p40サブユニットにおけるC252Sを含むバリエーションのほとんどが、C252S修飾を含まないバリエーションと比較して、わずかに改善されたが、類似の有効性を示したことを示す。

40

【発明を実施するための形態】

【0409】

I. 概要

本発明は、IL-12サブユニットおよびFcドメインを含有する新規ヘテロ二量体融合タンパク質構築物に関する。上記のように、IL-12は、生物学的に活性なIL-12ヘテロ二量体を形成するように共有結合されたα鎖(p35サブユニット、IL-12p35)およびβ鎖(p40サブユニット、IL-12p40)からなる。IL-12は、T細胞上のIL-12受容体β1(IL-12Rβ1)およびIL-12受容体β2(IL-12Rβ2)からなる二量体IL-12受容体複合体に結合し、IFNγ分泌を誘導することによる結合を通してその細胞シグナル伝達機能を発揮する。しかしながら、I

50

IL-12p40サブユニットは、IL-12受容体への結合について競合することによってIL-12活性をアンタゴナイズすることが報告されているホモ二量体としても存在することができる。したがって、本発明は、IL-12-Fc融合タンパク質、および低下した有効性を有する新規IL-12バリエーションを提供することによってIL-12の短い半減期、および拮抗的なIL-12p40ホモ二量体の潜在的な形成に対処する。図8に一般的に示されるように、本発明のヘテロ二量体融合タンパク質は、様々な構造をとることができる。

【0410】

本出願は、参照により、2018年10月3日に出願された62/740、813および2019年5月15日に出願された62/828、512、より具体的には62/740、813の図17ならびに62/828、512の図62A~62Kおよび図63A~63D、ならびに図凡例、および対応する明細書におけるこれらの図の言及を組みこむ。

【0411】

II. 定義

本出願をより完全に理解できるようにするため、いくつかの定義を以下に示す。そのような定義は、文法的同等物を包含することを意図する。

【0412】

本明細書において「アブレーション」とは、結合および/または活性の低下または除去を意味する。したがって、例えば、「FcγR結合をアブレートする」とは、Fc領域アミノ酸バリエーションが、その特定のバリエーションを含まないFc領域と比較して50%未満の開始結合を有することを意味し、70~80~90~95~98%未満の結合喪失が好ましく、一般に、結合はBiacoreアッセイにおいて検出可能な結合のレベル未満である。FcγR結合のアブレーションにおいて特に有用なものは、図4に示すものである。しかしながら、他の記載がない限り、本発明のFc単量体はFcRnへの結合を保持する。

【0413】

本明細書で使用される「ADCC」または「抗体依存性細胞媒介性細胞傷害」とは、FcγRを発現する非特異的細胞傷害性細胞が標的細胞上の結合抗体を認識し、続いて標的細胞の溶解を引き起こす細胞媒介反応を意味する。ADCCは、FcγRIIIaへの結合と相関し、FcγRIIIaへの結合の増加はADCC活性の増加をもたらす。本明細書で議論されるように、本発明の多くの実施形態はADCC活性を完全にアブレートする。

【0414】

本明細書における「修飾」とは、ポリペプチド配列におけるアミノ酸の置換、挿入、および/もしくは欠失、またはタンパク質に化学的に結合された部分への変更を意味する。例えば、修飾は、タンパク質に結合した変更された炭水化物またはPEG構造であってもよい。本明細書における「アミノ酸修飾」は、ポリペプチド配列中のアミノ酸の置換、挿入、および/または欠失を意味する。明確にするために、別段の記載がない限り、アミノ酸修飾は常に、DNAによってコードされるアミノ酸、例えば、DNAおよびRNA中にコドンをもつ20個のアミノ酸に対するものである。

【0415】

本明細書における「アミノ酸置換」または「置換」は、親ポリペプチド配列中の特定の位置のアミノ酸を異なるアミノ酸で置き換えることを意味する。特に、いくつかの実施形態では、置換は、特定の位置で天然に存在しない（生物内で天然に存在しないか、またはいずれの生物中にも存在しないかのいずれか）アミノ酸に対するものである。例えば、置換E272Yまたは272Yは、位置272のグルタミン酸がチロシンで置き換えられている、バリエーションポリペプチド、この場合ではFcバリエーションを指す。明確にするために、核酸コード配列を変化させるが、出発アミノ酸を変化させない（例えば、宿主生物発現レベルを上昇させるためにCGG（アルギニンをコードする）をCGA（アルギニンをなおコードする）に交換する）ように操作されたタンパク質は、「アミノ酸置換」ではない。すなわち、同じタンパク質をコードする新たな遺伝子の創出にもかかわらず、タンパク質は、それが開始する特定の位置に同じアミノ酸を有する場合、それはアミノ酸置換では

10

20

30

40

50

ない。

【0416】

本明細書で使用する「アミノ酸挿入」または「挿入」は、親ポリペプチド配列中の特定の位置にアミノ酸残基またはアミノ酸配列を付加することを意味する。例えば、－233Eは、位置233の後、かつ位置234の前のグルタミン酸の挿入を示す。加えて、－233ADEまたはA233ADEは、位置233の後、かつ位置234の前のAlaAspGluの挿入を示す。

【0417】

本明細書で使用する「アミノ酸欠失」または「欠失」は、親ポリペプチド配列中の特定の位置でアミノ酸残基またはアミノ酸配列を除去することを意味する。例えば、E233－、またはE233#、E233（）、またはE233delは、位置233のグルタミン酸の欠失を示す。加えて、EDA233－またはEDA233#は、位置233で始まる配列GluAspAlaの欠失を示す。

【0418】

本明細書で使用する「バリエーションタンパク質」、「タンパク質バリエーション」、または「バリエーション」とは、少なくとも1つの修飾によって親タンパク質のそれとは異なるタンパク質を意味する。タンパク質バリエーションは、タンパク質自体、タンパク質を含む組成物、それをコードするアミノ酸配列、またはそれをコードするDNA配列を指し得る。好ましくは、タンパク質バリエーションは、親タンパク質と比較して少なくとも1個のアミノ酸修飾、例えば、親と比較して約1～約70個のアミノ酸修飾、好ましくは約1～約5個のアミノ酸修飾を有する。修飾は、付加、欠失、または置換であり得る。以下に記載されるように、いくつかの実施形態では、親ポリペプチド、例えば、Fc親ポリペプチドは、IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4由来のFc領域などのヒト野生型配列である。本明細書のタンパク質バリエーション配列は、好ましくは、親タンパク質配列と少なくとも約80%の同一性、最も好ましくは少なくとも約90%の同一性、より好ましくは少なくとも約95～98～99%の同一性を有する。

【0419】

本明細書で 사용되는場合、「タンパク質」は、タンパク質、ポリペプチド、オリゴペプチド、およびペプチドを含む、少なくとも2つの共有結合したアミノ酸を意味する。生物学的に機能的なユニットが2つ以上のタンパク質を含む場合、各タンパク質は、「単量体」または「サブユニット」または「ドメイン」と称されてもよく、生物学的に機能的な分子は、「複合体」と称されてもよい。

【0420】

本明細書で 사용되는場合、「タンパク質」は、タンパク質、ポリペプチド、オリゴペプチド、およびペプチドを含む、少なくとも2つの共有結合したアミノ酸を意味する。生物学的に機能的な分子または複合体が2つ以上のタンパク質を含む場合、各タンパク質は、「単量体」または「サブユニット」または「ドメイン」と称されてもよく、生物学的に機能的な分子は、「複合体」と称されてもよい。いくつかの実施形態では、機能的な複合体の2つ以上のタンパク質は、非共有結合される。いくつかの実施形態では、「単量体」という用語は、タンパク質（複数可）の1つ以上の成分、断片、またはサブユニットを含むポリペプチドまたはタンパク質を指し、成分、断片、またはサブユニットは、共有結合される。

【0421】

「残基」とは、本明細書で使用时、タンパク質における位置およびその関連するアミノ酸同一性を意味する。例えば、アスパラギン297（Asn297またはN297とも称される）は、ヒト抗体IgG1中の位置297の残基である。

【0422】

本明細書で使用する「IgGサブクラス修飾」または「アイソタイプ修飾」とは、1つのIgGアイソタイプの1つのアミノ酸を、異なる、整合したIgGアイソタイプの対応するアミノ酸に変換するアミノ酸修飾を意味する。例えば、IgG1はチロシンおよび

I g G 2を含むので、E U位置296のフェニルアラニン、I g G 2におけるF 296 Y置換は、I g Gサブクラス修飾とみなされる。

【0423】

各I g G鎖のカルボキシ末端部分は、エフェクター機能に主に関与する定常領域を定義する。K a b a tらは、重鎖および軽鎖の可変領域の多数の一次配列を収集した。配列の保存の程度に基づき、K a b a tらは、個々の一次配列をC D Rおよびフレームワークに分類し、そのリストを作成した（参照により全体が組み込まれる、S E Q U E N C E S O F I M M U N O L O G I C A L I N T E R E S T、5 t h e d i t i o n、N I H p u b l i c a t i o n、N o . 9 1 - 3 2 4 2、E . A . K a b a t e t a l . を参照されたい）。本明細書全体を通して、K a b a t付番系は、一般に、可変ドメインにおける残基（およそ、軽鎖可変領域の残基1～107および重鎖可変領域の残基1～113）、E U付番系は、F c領域（例えば、K a b a t e t a l .、前掲（1991））を参照するときに使用される。

【0424】

免疫グロブリンのI g Gサブクラスには、重鎖においていくつかの免疫グロブリンドメインがある。本明細書の「免疫グロブリン（I g）ドメイン」とは、明確に異なる三次構造を有する免疫グロブリンの領域を意味する。定常重（C H）ドメインおよびヒンジドメインを含む重鎖ドメインが本発明における関心対象である。I g G抗体の関連において、I g Gアイソタイプは、それぞれ3つのC H領域を有する。したがって、I g Gとの関連における「C H」ドメインは以下のとおりである。「C H 1」は、K a b a tにあるようなE U指数による位置118～215を指す。「ヒンジ」とは、K a b a tにあるような、E U指数による位置216～230を指す。「C H 2」は、K a b a tにあるようなE U指数による位置231～340を指し、「C H 3」は、K a b a tにあるようなE U指数による位置341～447を指す。表1に示すように、重鎖ドメインの正確な付番および配置は、異なる付番システムで異なり得る。本明細書に示され、以下に記載されるように、p Iバリエーションは、以下に考察されるヒンジ領域と同様に1つまたは複数のC H領域にあり得る。

【0425】

重鎖のI gドメインの別の種類は、ヒンジ領域である。本明細書において「ヒンジ」または「ヒンジ領域」または「抗体ヒンジ領域」または「免疫グロブリンヒンジ領域」とは、抗体の第1のおよび第2の定常ドメイン間のアミノ酸を含む可動性ポリペプチドを意味する。構造的に、I g G C H 1ドメインは、E U位置215で終わり、I g G C H 2ドメインは、残基E U位置231で始まる。したがって、I g Gについて、抗体ヒンジは、位置216（I g G 1における（E 216）～230（I g G 1におけるP 230））を含むように本明細書で定義され、付番は、K a b a tと同様にE U指数によるものである。いくつかの実施形態では、例えば、F c領域の文脈で、ヒンジが含まれ、一般に位置216～230を指す。本明細書に記載のとおり、p Iバリエーションはヒンジ領域にも同様に作製することができる。

【0426】

本明細書で使用される「天然に存在しない修飾」とは、アイソタイプ性ではないアミノ酸修飾を意味する。例えば、I g Gのうちのいずれも位置434にセリンを含まないので、I g G 1、I g G 2、I g G 3、またはI g G 4（またはそれらのハイブリッド）における置換434 Sは、非自然発生修飾とみなされる。

【0427】

本明細書で使用される「アミノ酸」および「アミノ酸同一性」は、D N AおよびR N Aによってコードされている20種の天然に存在するアミノ酸のうちの1つを意味する。

【0428】

本明細書で使用される「エフェクター機能」とは、抗体F c領域とF c受容体またはリガンドとの相互作用から生じる生化学的事象を意味する。エフェクター機能には、A D C C、A D C P、およびC D Cが含まれるが、これらに限定されない。

【0429】

本明細書で使用される「IgG Fcリガンド」または「Fcリガンド」とは、IgG抗体のFc領域に結合してFc/Fcリガンド複合体を形成する任意の生物由来の分子、好ましくはポリペプチドを意味する。Fcリガンドには、FcγRI、FcγRII、FcγRIII、FcRn、C1q、C3、マンナン結合レクチン、マンノース受容体、staphylococcalタンパク質A、streptococcalタンパク質G、およびウイルスFcγRが含まれるが、これらに限定されない。Fcリガンドにはまた、FcγRと相同なFc受容体のファミリーである、Fc受容体相同体（FcRH）が含まれる（Davis et al.、2002、Immunological Reviews 190:123-136（参照により全体が組み込まれる））。Fcリガンドは、Fcに結合する未発見の分子を含み得る。特定のIgG Fcリガンドは、FcRnおよびFcガンマ受容体である。

10

【0430】

本明細書で使用される「Fcガンマ受容体」、「FcγR」、または「FcガンマR」とは、IgG抗体Fc領域に結合し、かつFcγR遺伝子によってコードされるタンパク質ファミリーの任意のメンバーを意味する。ヒトでは、このファミリーには、アイソフォームFcγRIa、FcγRIb、およびFcγRIcを含む、FcγRI（CD64）、アイソフォームFcγRIIa（アロタイプH131およびR131を含む）、FcγRIIb（FcγRIIb-1およびFcγRIIb-2を含む）、およびFcγRIIcを含む、FcγRII（CD32）、ならびにアイソフォームFcγRIIIa（アロタイプV158およびF158を含む）およびFcγRIIIb（アロタイプFcγRIIb-NA1およびFcγRIIb-NA2を含む）を含む、FcγRIII（CD16）（参照により全体が組み込まれる、Jefferys et al.、2002、Immunol Lett 82:57-65）、ならびに任意の発見されていないヒトFcγRまたはFcγRアイソフォームまたはアロタイプが含まれるが、これらに限定されない。FcγRは、ヒト、マウス、ラット、ウサギ、およびサルを含むが、これらに限定されない任意の生物由来であり得る。マウスFcγRには、FcγRI（CD64）、FcγRII（CD32）、FcγRIII-（CD16）、およびFcγRIII-2（CD16-2）、ならびに任意の発見されていないマウスFcγRまたはFcγRアイソフォームまたはアロタイプが含まれるが、これらに限定されない。

20

30

【0431】

本明細書で使用される「FcRn」または「新生児Fc受容体」とは、IgG抗体のFc領域に結合し、少なくとも部分的にFcRn遺伝子によってコードされるタンパク質を意味する。FcRnは、ヒト、マウス、ラット、ウサギ、およびサルを含むが、これらに限定されない任意の生物由来であり得る。当技術分野で既知のとおり、機能性FcRnタンパク質は、しばしば重鎖および軽鎖と称される2つのポリペプチドを含む。軽鎖はβ2-ミクログロブリン（β2-ミクログロブリン）であり、重鎖はFcRn遺伝子によってコードされる。本明細書において別段の記載がない限り、FcRnまたはFcRnタンパク質は、FcRn重鎖とβ2-ミクログロブリンとの複合体を指す。様々なFcバリエーションを使用して、FcRnへの結合を増加させ、いくつかの場合では、血清半減期を増加させることができる。一般に、別段の記載がない限り、本発明のFc単量体は、FcRnへの結合を保持する（および下記のように、FcRnへの結合を増加させるためのアミノ酸バリエーションを含み得る）。

40

【0432】

本明細書で使用される「親ポリペプチド」とは、バリエーションを生成するようにその後修飾される出発ポリペプチドを意味する。親ポリペプチドは、天然に存在するポリペプチド、または天然に存在するポリペプチドのバリエーションもしくは操作されたバージョンであってもよい。親ポリペプチドとは、ポリペプチド自体、親ポリペプチドを含む組成物、またはそれをコードするアミノ酸配列を指し得る。

【0433】

50

本明細書で使用される「Fc」または「Fc領域」または「Fcドメイン」とは、いくつかの場合では、第1の定常領域免疫グロブリンドメイン（例えば、CH1）の全部またはその一部を除き、いくつかの例では、任意にヒンジの全部または一部を含む、ポリペプチドを意味する。IgGについて、Fcドメインは、免疫グロブリンドメインCH2およびCH3（Cy2およびCy3）、ならびに任意にCH1（Cy1）とCH2（Cy2）との間のヒンジ領域の全部または一部を含む。したがって、いくつかの場合では、Fcドメインは、N末端からC末端へ、CH2-CH3およびヒンジ-CH2-CH3を含む。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4に由来するものであり、IgG1ヒンジ-CH2-CH3およびIgG4ヒンジ-CH2-CH3は、多くの実施形態で特定の用途を見出す。加えて、ヒトIgG1Fcドメインの場合では、頻繁にヒンジはC220Sアミノ酸置換を含む。さらに、ヒトIgG4Fcドメインの場合では、頻繁にヒンジはS228Pアミノ酸置換を含む。Fc領域の境界は異なり得るが、ヒトIgG重鎖Fc領域は、通常、そのカルボキシ末端に残基E216、C226、またはA231を含むと定義され、付番は、KabatにあるようなEU指数によるものである。いくつかの実施形態では、以下でより詳細に説明されるように、例えば、1つ以上のFcγRまたはFcRnへの結合を変更させるために、Fc領域に対してアミノ酸修飾が行われる。

【0434】

当業者には理解されるように、重定常領域ドメインの正確な付番および配置は、異なる付番システムで異なり得る。EUおよびKabatによる重定常領域の付番の有用な比較は以下のとおり、Edelman et al.、1969、Proc Natl Acad Sci USA 63:78-85、およびKabat et al.、1991、Sequences of Proteins of Immunological Interest、5th Ed.、United States Public Health Service、National Institutes of Health、Bethesda（参照によりその全体が組み込まれる）を参照されたい。

【表1】

表1

	EU 付番	Kabat 付番
CH1	118-215	114-223
ヒンジ	216-230	226-243
CH2	231-340	244-360
CH3	341-447	361-478

【0435】

本明細書で使用される「Fcバリエント」または「バリエントFc」とは、Fcドメインにアミノ酸修飾を含むタンパク質を意味する。修飾は、付加、欠失、または置換であり得る。本発明のFcバリエントは、それらを構成するアミノ酸修飾に従って定義される。したがって、例えば、N434Sまたは434Sは、親Fcポリペプチドに対して位置434でセリンの置換を有するFcバリエントであり、付番は、EU指数によるものである。同様に、M428L/N434Sは、親Fcポリペプチドに対して置換M428LおよびN434Sを有するFcバリエントを定義する。WTアミノ酸の同一性は特定されていなくてもよく、その場合、前述のバリエントは428L/434Sと称される。置換が提供される順序は任意であり、すなわち、例えば、428L/434Sは434S/428Lと同じFcバリエントなどであることが留意される。抗体に関連する本発明において議論される全ての位置について、特に明記しない限り、アミノ酸位置の付番はEU指数によるものである。EU指数、またはKabatもしくはEU付番スキームと同様のEU指数は、EU抗体の付番を指す（Edelman et al.、1969、Proc Natl Acad Sci USA 63:78-85、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）。修飾は、付加、欠失、または置換であり得る。

【0436】

本明細書で使用される「融合タンパク質」とは、少なくとも2つのタンパク質またはタンパク質ドメインの共有結合を意味する。融合タンパク質は、人工配列、例えば、本明細書に記載されるドメインリンカー、バリエーションFcドメイン、バリエーションIL-12p40サブユニットドメイン、バリエーションIL-12p35サブユニットドメインなどを含み得る。本明細書における「Fc融合タンパク質」または「イムノアドヘンシ」とは、（任意に本明細書に記載されるようにドメインリンカーを通して）一般に1つ以上の異なるタンパク質に結合した、Fc領域を含むタンパク質を意味する。したがって、「IL-12Fc融合体」は、本明細書に記載されるように、（任意であるが通常はドメインリンカーを通して）IL-12p40サブユニット、IL-12p35サブユニット、および／または単鎖IL-12複合体（scIL-12）に結合したFc領域を含む。いくつかの例では、2つのFc融合タンパク質は、ホモ二量体Fc融合タンパク質またはヘテロ二量体Fc融合タンパク質を形成することができ、いくつかの場合では後者が好ましい。いくつかの場合では、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質の一方の単量体は、Fcドメイン単独（例えば、「空Fcドメイン」）を含み、他方の単量体は、本明細書に概説されるように、バリエーションFcドメインおよび1つまたは2つのIL-12サブユニットドメインを含むFc融合体である。

10

【0437】

本明細書で使用される「位置」は、タンパク質の配列中の場所を意味する。位置は、順番に付番されるか、または確立されたフォーマット、例えば、抗体付番のためのEU指数によって付番されてもよい。

20

【0438】

本明細書における本発明のヘテロ二量体タンパク質の単量体の文脈における「鎖性（strandedness）」は、「整合」する二本鎖DNAと同様に、「整合」してヘテロ二量体を形成する能力を保持、創出、および／または増強するようにヘテロ二量体化バリエーションを各単量体に組み込むことを意味する。例えば、いくつかのpIバリエーションが単量体Aへと操作される（例えば、pIをより高くする）場合、同様に利用され得る「電荷対」である立体バリエーションは、pIバリエーションに干渉せず、例えば、pIを高くした電荷バリエーションは、同じ「鎖」または「単量体」上に置かれ、両方の機能を保持する。同様に、以下により詳細に概説されるように、対のセットになる「スキュー」バリエーションについて、当業者は、対の1つのセットを組み入れる鎖または単量体がどちらに入るかを決定する際にpIを考慮し、同様にスキューのpIを使用してpI分離を最大化するようにする。

30

【0439】

本明細書における「野生型またはWT」とは、対立遺伝子変異を含む、天然に見出されるアミノ酸配列またはヌクレオチド配列を意味する。WTタンパク質は、意図的に修飾されていないアミノ酸配列またはヌクレオチド配列を有する。

【0440】

本発明のヘテロ二量体タンパク質は一般に、単離されているか、または組換え体である。本明細書に開示される様々なポリペプチドを説明するために使用される場合、「単離された」とは、それが発現された細胞または細胞培養物から特定および分離および／または回収されたポリペプチドを意味する。通常、単離されたポリペプチドは、少なくとも1つの精製ステップによって調製される。「単離されたタンパク質」とは、宿主細胞タンパク質などの細胞培養由来の他のタンパク質を実質的に含まないタンパク質を指す。「組換え体」は、外来性宿主細胞において組換え核酸技法を使用してタンパク質が生成されることを意味する。

40

【0441】

タンパク質配列に関する「アミノ酸配列同一性パーセント（％）」は、最大の配列同一性パーセントを達成するために配列を整合し、必要ならギャップを導入した後の、特定の（親）配列中のアミノ酸残基と同一である候補配列中のアミノ酸残基のパーセンテージとして定義され、そして配列同一性の一部としていかなる保存的置換も考慮しない。アミノ

50

酸配列同一性パーセントを決定するためのアラインメントは、例えば、BLAST、BLAST-2、ALIGN、またはMegalign (DNASTAR) ソフトウェアなどの公的に利用可能なコンピューターソフトウェアを使用して、当技術分野の範囲内である様々な方法で達成できる。当業者は、比較される配列の全長にわたって最大の整合を達成するために必要とされる任意のアルゴリズムを含む、整合を測定するための適切なパラメータを決定することができる。1つの特定のプログラムは、参照により本明細書に組み込まれる米国特許出願公開第2016/0244525号の段落[0279]～[0280]に概説されているALIGN-2プログラムである。

【0442】

本発明のアミノ酸配列（「本発明の配列」）と親アミノ酸配列との間の同一性の程度は、「本発明の配列」の長さまたは親配列の長さのうちの短い方で割った、2つの配列の整合における正確な一致の数として計算される。結果は同一性パーセントで表される。

【0443】

いくつかの実施形態では、2つ以上のアミノ酸配列は少なくとも50%、60%、70%、80%、または90%同一である。いくつかの実施形態では、2つ以上のアミノ酸配列は少なくとも95%、97%、98%、99%、さらには100%まで同一である。

【0444】

本明細書における「IL-12p40サブユニットドメイン」とは、β鎖（p40サブユニット、IL-12p40）を意味する。本明細書で議論されるように、IL-12p40サブユニットドメインは、以下でより完全に議論されるように、野生型ヒト配列（例えば、図1からの配列番号XX）またはそのバリエーションであり得る（例えば、図20、23、および29を参照されたい）。

【0445】

本明細書における「IL-12p35サブユニットドメイン」とは、α鎖（p35サブユニット、IL-12p35）を意味する。本明細書で議論されるように、IL-12p35サブユニットドメインは、以下でより完全に議論されるように、野生型ヒト配列（例えば、図1からの配列番号XX）またはそのバリエーションであり得る（例えば、図20、23、および29を参照されたい）。

【0446】

本発明のIL-12サブユニットドメインは、一緒に会合されると、IL-12受容体β1およびIL-12受容体β2を含む二量体IL-12受容体複合体に特異的に結合する。特異的結合の強度または親和性は、相互作用の解離定数（ K_D ）として表すことができ、 K_D が小さいほどより大きな親和性を表し、 K_D が大きいほどより低い親和性を表す。結合特性は、BiacoreおよびOctet方法論を含む、生体層干渉法および表面プラズモン共鳴に基づく方法などの当該技術分野で周知の方法によって決定することができる。そのような方法の1つは、抗原結合部位／抗原または受容体／リガンド複合体の会合速度および解離速度を測定することを伴い、速度は、複合パートナーの濃度、相互作用の親和性、および両方向の速度に等しく影響を与える幾何学的パラメータに依存する。したがって、会合速度（ k_a ）および解離速度（ k_d ）の両方を決定することができ、 k_d/k_a の比は、解離定数 K_D に等しく（Nature 361:186-187（1993）およびDavies et al.（1990）Annual Rev Biochem 59:439-473を参照されたい）、その両方は、その中の方法について参照によりそれらの全体が組み込まれる。

【0447】

特定の分子に特異的な結合は、例えば、少なくとも約 10^{-4} M、少なくとも約 10^{-5} M、少なくとも約 10^{-6} M、少なくとも約 10^{-7} M、少なくとも約 10^{-8} M、少なくとも約 10^{-9} M、あるいは少なくとも約 10^{-10} M、少なくとも約 10^{-11} M、少なくとも約 10^{-12} M、またはそれ以上のリガンド（この場合では、一般的には受容体）についての K_D を有する分子によって示すことができる。典型的には、その受容体に特異的に結合する分子は、受容体と比べて、対照分子について20倍、50倍、100倍、50

10

20

30

40

50

0 倍、1 0 0 0 倍、5、0 0 0 倍、1 0、0 0 0 倍以上大きい K_D を有するであろう。

【0 4 4 8】

また、特定の分子への特異的結合は、例えば、対照と比べて受容体について少なくとも 2 0 倍、5 0 倍、1 0 0 倍、5 0 0 倍、1 0 0 0 倍、5、0 0 0 倍、1 0、0 0 0 倍以上大きいリガンドまたは受容体についての k_a または会合速度を有する分子によって示すことができる。

【0 4 4 9】

「融合」または「共有結合」とは、成分（例えば、I L-1 2 サブユニットおよび F c ドメイン）が、直接または、本明細書で概説される、ドメインリンカーを介して間接のいずれかで、ペプチド結合によって結合されることを意味する。

【0 4 5 0】

本明細書で使用される場合、「単鎖」という用語は、ペプチド結合によって線形に結合したアミノ酸ドメインを含む分子を指す。特定の実施形態では、生物学的に機能的な I L-1 2 は、単鎖 I L-1 2 複合体または「s c I L-1 2」であり、すなわち、I L-1 2 p 3 5 サブユニットおよび I L-1 2 p 4 0 サブユニットは、融合して単一ペプチド鎖を形成する。特定のそのような実施形態では、I L-1 2 p 3 5 サブユニットの C 末端は、I L-1 2 p 4 0 サブユニット、指定された「s c I L-1 2 (p 3 5 / p 4 0)」の N 末端に接続される。別の特定のそのような実施形態では、I L-1 2 p 4 0 サブユニットの C 末端は、I L-1 2 p 3 5 サブユニット、指定された「s c I L-1 2 (p 4 0 / p 3 5)」の N 末端に接続される。加えて、これらの複合体が F c ドメインにさらに融合される場合、それらは依然として「単鎖」である。p 3 5 および p 4 0 サブユニットが同じアミノ酸鎖上にある、これらの単鎖構築物は、依然として 2 つのアミノ酸鎖（例えば、図 8 C および 8 D に示されるように、s c I L-1 2 (p 3 5 / p 4 0) 成分および「空アーム」F c 成分）を含有するヘテロ二量体複合体の一部であることが留意されるべきである。すなわち、ヘテロ二量体複合体を構成する 2 つの単鎖がある。

【0 4 5 1】

本発明の融合タンパク質は、図 8 に示されるものなどのヘテロ二量体フォーマット、ならびに図 1 4 および図 4 8 に示されるものなどのホモ二量体フォーマットを含む、様々なフォーマットをとることができる。

【0 4 5 2】

I I I. ヘテロ二量体 F c 融合タンパク質

いくつかの態様では、本発明は、一般に（任意にドメインリンカーを通して）1 つ以上の異なる I L-1 2 タンパク質ドメインに結合した、F c 領域を含むヘテロ二量体 F c 融合タンパク質に関する。これらのヘテロ二量体融合タンパク質は、図 8 に一般的に示されるように、多数の異なるフォーマットをとることができる。一態様では、ヘテロ二量体 F c 融合タンパク質は、I L-1 2 R β 1 / β 2 の I L-1 2 受容体複合体に結合するように一緒に示す I L-1 2 p 4 0 および I L-1 2 p 3 5 サブユニットを異なる配向で含む I L-1 2 ヘテロ二量体 F c 融合タンパク質である。F c ドメインは、I g G F c ドメイン、例えば、I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 F c ドメインに由来することができ、I g G 1 および I g G 4 F c ドメインは、本発明において特定の用途を見出す。本明細書に記載されるように、I g G 1 F c ドメインは、エフェクター機能をアブレートするために、常にではないが、多くの場合、アブレーションバリエーションと組み合わせて使用され得る。同様に、低いエフェクター機能が望ましい場合、I g G 4 F c ドメインが使用され得る。

【0 4 5 3】

本明細書中に記載され、当技術分野において既知のとおり、本発明のヘテロ二量体タンパク質は異なるドメインを含み、これもまた重複し得る。これらのドメインは、これらに限定されないが、F c ドメイン、C H 2 ドメイン、C H 3 ドメインおよびヒンジドメイン、I L-1 2 p 4 0 サブユニットドメインおよび I L-1 2 p 3 5 サブユニットドメインを含む。本明細書に記載されるように、これらのドメインは、図 8 に一般的に概説される

10

20

30

40

50

ように、異なるフォーマットで一緒に結合される。

【0454】

本明細書の実施形態のいくつかでは、タンパク質断片、例えば、IL-12p40またはIL-12p35が、Fcドメインに結合される場合、それはFcドメインのヒンジの全部または一部に結合しているタンパク質断片のC末端であり、例えば、それは一般にIgG1ヒンジの始まりである配列EPKSに結合している。本明細書の実施形態の他では、タンパク質断片、例えば、IL-12p40またはIL-12p35が、Fcドメインに結合される場合、それはCH3ドメインのC末端に結合しているタンパク質断片のN末端である。

【0455】

Fcドメインタンパク質の本明細書に概説される構築物および配列のいくつかでは、IL-12p40またはIL-12p35タンパク質断片のC末端は、ドメインリンカーのN末端に結合し、そのC末端は、定常FcドメインのN末端に結合している（N-IL-12p40またはIL-12p35タンパク質断片-リンカー-Fcドメイン-C）が、それは切替えることができる（N-Fcドメイン-リンカー-IL-12p40またはIL-12p35タンパク質断片-C）。本明細書に概説される他の構築物および配列では、第1のタンパク質断片のC末端は、任意にドメインリンカーを介して、第2のタンパク質断片のN末端に結合し、第2のタンパク質断片のC末端は、任意にドメインリンカーを介して、定常FcドメインのN末端に結合している。さらに別の構築物では、第1のタンパク質断片のN末端は、任意にドメインリンカーを介して、第2のタンパク質断片のC末端に結合し、第2のタンパク質断片のN末端は、任意にドメインリンカーを介して定常FcドメインのC末端に結合する。本明細書に概説されるさらに他の構築物および配列において、第1のタンパク質断片または第2のタンパク質断片に結合していない定常Fcドメインが提供される。ヘテロ二量体Fc融合タンパク質は、本明細書に記載の2つ以上の例示的な単量体Fcドメインタンパク質を含有し得る。

【0456】

したがって、いくつかの実施形態では、本発明は、自己組織化してヘテロ二量体Fcドメイン融合ポリペプチドを形成する、2つの異なる重鎖バリエーションFc配列の使用に依存するヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。一実施形態では、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質は、それがpI操作などのヘテロ二量体を産生するように操作することができる少なくとも2つの定常ドメインを含有する。使用することができる他のFcドメインは、pI操作された本発明のCH1、CH2、CH3、およびヒンジドメインのうちの1つ以上を含有する断片を含む。特に、図8A～Fに示されるフォーマットは、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質であり、タンパク質が、ヘテロ二量体Fcドメインに自己組織化した2つの会合されたFc配列および少なくとも1つのタンパク質断片（例えば、1つ、2つ以上のタンパク質断片）を有することを意味する。いくつかの場合では、第1のタンパク質断片は第1のFc配列に結合し、そして第2のタンパク質断片は第2のFc配列に結合する。いくつかの場合では、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質は、第1のFc配列に結合している第2のタンパク質断片に結合した第1のタンパク質断片、および第1のまたは第2のタンパク質断片のいずれにも結合していない第2のFc配列を含有する。

【0457】

本発明は、1つ以上の結合パートナー、リガンド、または受容体への結合を可能にするヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供するための新規構築物に関する。ヘテロ二量体Fc構築物は、抗体の重鎖の2つのFcドメイン、例えば、「二量体」に組み立てられる2つの「単量体」の自己組織化の性質に基づく。ヘテロ二量体Fc融合体は、以下でさらに詳しく説明するとおり、各単量体のアミノ酸配列を変更することによって作製される。したがって、本発明は一般に、いくつかの方法で結合相手（複数可）またはリガンド（複数可）または受容体（複数可）と共係合することができるヘテロ二量体Fc融合タンパク質の創出に関し、ヘテロ二量体形成を促進するために、および／またはホモ二量体よりもヘテロ二量体の精製を容易にするために、各鎖上で異なる定常領域におけるアミノ酸バリア

10

20

30

40

50

ントに依存する。本発明のヘテロ二量体を生成するために使用することができる多くの機構がある。加えて、当業者には理解されるように、これらの機構を組み合わせる高いヘテロ二量体化を確実にすることができる。したがって、ヘテロ二量体の産生をもたらすアミノ酸バリエーションは、「ヘテロ二量体化バリエーション」と称される。後述するように、ヘテロ二量体化バリエーションは、ヘテロ二量体からのホモ二量体の精製を可能にする立体バリエーション（例えば、後述の「ノブアンドホール」または「スキュー」バリエーションおよび「電荷対」バリエーション）ならびに「pIバリエーション」を含み得る。その全体が参照により本明細書に組み込まれ、具体的に以下で「ヘテロ二量体化バリエーション」の議論について、WO 2014/145806に一般に記載されるように、ヘテロ二量体化に有用な機構は、「ノブアンドホール」（「KIH」、時に「スキュー」バリエーションとして本明細書に記載される（WO 2014/145806中の議論を参照されたい）、WO 2014/145806に記載される「静電ステアリング」または「電荷対」、WO 2014/145806に記載されるpIバリエーション、ならびにWO 2014/145806および以下に概説される一般的な追加のFcバリエーションを含む。

【0458】

本発明において、ヘテロ二量体タンパク質および抗体の精製を容易することができるいくつかの基本的な機構が存在し、その1つは、各単量体、続いて各二量体種が異なるpIを有することによって、A-A、A-B、およびB-B二量体タンパク質の等電点精製が可能になるように、pIバリエーションの使用に依存する。代替的に、いくつかのフォーマットはまた、サイズに基づいて分離することも可能にする。以下にさらに概説するように、ホモ二量体よりもヘテロ二量体の形成を「スキューさせる」ことも可能である。したがって、立体的ヘテロ二量体化バリエーションおよびpIバリエーションまたは電荷対バリエーションの組み合わせは、本発明において特に使用される。

【0459】

一般に、本発明において特に使用される実施形態は、2つの単量体間および各二量体種間のpI差を増加させる、pIバリエーションと組み合わせた、ホモ二量体形成に対するヘテロ二量体形成を促進するスキューバリエーションを含むバリエーションのセットに依存する。

【0460】

加えて、以下により完全に概説されるように、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質のフォーマットに応じて、pIバリエーションは単量体の定常ドメインおよび／またはFcドメイン内に含まれるか、またはドメインリンカーが使用されるかのいずれかであり得る。すなわち、本発明は、一方または両方の単量体上にあるpIバリエーション、および／または荷電ドメインリンカーも提供する。加えて、代替の機能性のためのさらなるアミノ酸操作もまた、Fc、FcRn、およびKOバリエーションなどのpI変化を付与し得る。

【0461】

ヘテロ二量体タンパク質の精製を可能にするための分離機構としてpIを利用する本発明においては、アミノ酸変異を一方または両方の単量体のポリペプチドに導入することができ、すなわち、単量体の一方（本明細書では簡単のために「単量体A」と呼ぶ）のpIを単量体Bと異なるように操作でき、または、単量体AおよびBの両方を、単量体AのpIを増加させ、単量体BのpIを減少させるように変えることができる。議論されるように、いずれかまたは両方の単量体のpI変化は、荷電残基を除去または付加することによって（例えば中性アミノ酸を正または負に荷電したアミノ酸残基によって置き換える、例えばグルタミンからグルタミン酸）、正または負から反対の電荷への荷電残基の変更によって（例えばアスパラギン酸からリジンへ）、または荷電残基の中性残基への変更によって（例えば電荷の消失、リジンからセリン）、実施することができる。いくつかのこれらのバリエーションを図に示す。

【0462】

したがって、本発明のこの実施形態は、ヘテロ二量体をホモ二量体から分離することができるように、少なくとも1つの単量体に十分なpIの変化を生じさせることを提供する。当業者には理解され、かつ以下でさらに議論されるように、これは「野生型」重鎖定常

領域、およびその pI を増加または減少させる (wt A : B + または wt A : B -) ように操作されたバリエーション領域を使用することによって、または一方の領域を増加して他方の領域を減少させることによって (A + : B - または A - : B +)、実施できる。

【0463】

したがって、一般に、本発明のいくつかの実施形態の構成要素は、二量体タンパク質の単量体の両方ではないにしても少なくとも1つの等電点 (pI) を、アミノ酸置換 (「pI バリエーション」または「pI 置換」) を単量体の一方または両方に組み込むことによって変化させることを目的とする定常領域におけるアミノ酸バリエーションである。本明細書中の2つのホモ二量体からのヘテロ二量体の分離は、2つの単量体の pI が 0.1 pH 単位とわずかに異なる場合に達成でき、0.2、0.3、0.4、および 0.5 以上異なるものが全て本発明において使用される。

10

【0464】

当業者には理解されるように、良好な分離を得るために各単量体または両方の単量体 (複数可) に含まれるべき pI バリエーションの数は、構成要素の出発 pI に部分的に依存するであろう。すなわち、どの単量体を操作するか、またはどの「方向」 (例えば、より陽性またはより陰性) かを決定するために、Fc ドメインの配列、いくつかの場合では、Fc ドメインに結合するタンパク質ドメイン (複数可) が計算され、そこから決定がなされる。当技術分野において既知のとおり、異なる Fc ドメインおよび/またはタンパク質ドメインは、本発明において利用される異なる出発 pI を有するであろう。一般に、本明細書に概説されるように、pI は、少なくとも約 0.1 log の各単量体の総 pI 差をもたらすように操作され、本明細書に概説されるように 0.2 ~ 0.5 が好ましい。

20

【0465】

さらに、当業者には理解され、本明細書に概説されるように、いくつかの実施形態では、ヘテロ二量体はサイズに基づいてホモ二量体から分離することができる。図に示されるように、例えば、フォーマットのいくつかは、サイズに基づいてヘテロ二量体およびホモ二量体の分離を可能にする。

【0466】

pI バリエーションを使用してヘテロ二量体化を達成する場合、Fc ドメイン (複数可) の定常領域 (複数可) を使用することによって、ヘテロ二量体 Fc 融合タンパク質を設計および精製するためのよりモジュール方式のアプローチが提供される。したがって、いくつかの実施形態では、ヘテロ二量体化バリエーション (スキューバリエーションおよび精製ヘテロ二量体化バリエーションを含む) を操作しなければならない。加えて、いくつかの実施形態では、pI バリエーションから生じる免疫原性の可能性は、顕著な免疫原性を導入することなく pI が変化するように、異なる IgG アイソタイプからの pI バリエーションを移入することによって顕著に低減する。したがって、解決されるべきさらなる問題は、高いヒト配列含有量を有する低 pI の定常ドメインの解明、例えば、任意の特定の位置における非ヒト残基の最小化または回避である。

30

【0467】

この pI 操作で起こり得る副次的な利益はまた、血清半減期の延長および FcRn 結合の増加である。すなわち、US 2013/0194,904 (その全体が参照により本明細書に組み込まれる) に記載されているように、抗体定常ドメイン (抗体および Fc 融合体に見られるものを含む) の pI を低下させるとインビボでより長い血清保持をもたらす得る。血清半減期を延長するためのこれらの pI バリエーションはまた、精製のための pI 変化を促進する。

40

【0468】

加えて、ヘテロ二量体化バリエーションの pI バリエーションは、ホモ二量体が存在するとき、排除、最小化、および区別する能力が顕著であるので、Fc 融合タンパク質の分析および品質管理プロセスにさらなる利益を与える。同様に、ヘテロ二量体 Fc 融合タンパク質の製造の再現性を確実に試験する能力は重要である。

【0469】

50

A. ヘテロ二量体化バリエント

本発明は、ヘテロ二量体形成および／またはホモ二量体からの精製を可能にするためにヘテロ二量体バリエントを利用する、様々なフォーマットのヘテロ二量体Fc融合タンパク質を含む、ヘテロ二量体タンパク質を提供する。ヘテロ二量体融合構築物は、2つのFcドメイン、例えば、「二量体」に組み立てられる2つの「単量体」の自己組織化の性質に基づく。

【0470】

ヘテロ二量体化スキューバリエントのセットのいくつかの好適な対がある。これらのバリエントは、「セット」の「対」になる。すなわち、一方のセットの対が第1の単量体に組み込まれ、他のセットの対が第2の単量体に組み込まれる。注目すべきは、これらのセットは、一方の単量体上の残基と他方の単量体上の残基との間で一対一の対応関係を有する「ノブインホール」バリエントとして必ずしも振舞わないことであり、すなわち、これらのセットの対は、ヘテロ二量体形成を促進し、ホモ二量体形成を妨げる2つの単量体間の境界面を形成し、生物学的条件下で自発的に形成するヘテロ二量体の割合を予想の50%（25%ホモ二量体A/A：50%ヘテロ二量体A/B：25%ホモ二量体B/B）ではなく90%以上にする。

【0471】

B. 立体バリエント

いくつかの実施形態では、ヘテロ二量体の形成は、立体バリエントの付加によって促進され得る。すなわち、各重鎖中のアミノ酸を変えることによって、異なる重鎖が会合して同じFcアミノ酸配列を有するホモ二量体を形成するよりもヘテロ二量体構造を形成する可能性が高い。好適な立体バリエントは、その全てがその全体において参照により本明細書に組み込まれる、US 2015/0141,350の図29、同様に図2に含まれる。

【0472】

1つの機構は、その全てがそれらの全体において参照により本明細書に組み込まれる、US 2006/00596,846、Ridgway et al., Protein Engineering 9(7):617(1996)、Atwell et al., J. Mol. Biol. 1997 270:26、米国特許第8,216,805号に記載されるように、当該技術分野において一般的に「ノブアンドホール」と称され、ヘテロ二量体形成を有利にし、ホモ二量体形成を不利にする立体効果を創出するアミノ酸操作を指す。これらの図は、「ノブアンドホール」に依存するいくつかの「単量体A-単量体B」対を特定する。加えて、Merchant et al., Nature Biotech 16:677(1998)に記載されるように、これらの「ノブアンドホール」変異は、ヘテロ二量体化へのスキュー形成ヘジスルフィド結合と組み合わせることができる。

【0473】

ヘテロ二量体の生成に見出す追加の機構は、参照によりその全てが本明細書に組み込まれる、Gunasekaran et al., J. Biol. Chem. 285(25):19637(2010)に記載されるように、時に「静電ステアリング」と称される。これは、本明細書において、時折「電荷対」と称される。この実施形態では、静電学を使用して、ヘテロ二量体化に向けて形成をスキューさせる。当業者には理解されるように、これらは、pI、すなわち精製にも影響を及ぼす可能性があり、したがっていくつかの場合ではpIバリエントとみなすこともできる。しかしながら、これらはヘテロ二量体化を強制するために生成され、精製手段として使用されなかったため、それらは「立体バリエント」として分類される。これらには、D221R/P228R/K409Rと対になったD221E/P228E/L368E（例えば、これらは「単量体」対応セットである）、およびC220R/E224R/P228R/K409Rと対になったC220E/P228E/L368Eが含まれるが、これらに限定されない。

【0474】

さらなる単量体Aおよび単量体Bのバリエントは、本明細書に概説されるpIバリエントまたは参照によりその全てが本明細書に明示的に組み込まれるUS 2012/0149

10

20

30

40

50

876の図37に示される他の立体バリエーションなどの他のバリエーションと、任意選択的に独立して任意の量で組み合わせることができる。

【0475】

いくつかの実施形態では、本明細書に概説される立体バリエーションは、任意のpIバリエーション（またはFcバリエーション、FcRnバリエーションなどの他のバリエーション）を一方または両方の単量体に任意にかつ独立して組み込むことができ、本発明のタンパク質に独立してかつ任意に含むかまたは除外することができる。

【0476】

好適なスキューバリエーションの一覧は、図2に見られる。多くの実施形態における特定の使用のうち、これらに限定されないが、S364K/E357Q：L368D/K370S；L368D/K370S：S364K；L368E/K370S：S364K；T411T/E360E/Q362E：D401K；L368D/K370S：S364K/E357L；K370S：S364K/E357Q；およびT366S/L368A/Y407V：T366W（任意に、架橋ジスルフィド、T366S/L368A/Y407V/Y349C：T366W/S354Cを含む）を含む、セットの対がある。命名法に関して、対「S364K/E357Q：L368D/K370S」は、上記のように単量体の一方が二重バリエーションセットS364K/E357Qを有し、他方が二重バリエーションセットL368D/K370S；を有することを意味し、これらの対の「鎖性」は、出発pIに依存する。

【0477】

C. ヘテロ二量体のpI（等電点）バリエーション

一般に、当業者には理解されるように、pIバリエーションには2つの一般的なカテゴリー：タンパク質のpIを増加させるもの（塩基性変化）とタンパク質のpIを減少させるもの（酸性変化）がある。本明細書に記載されるように、これらのバリエーションの全ての組み合わせを使用することができる。一方の単量体は野生型、または野生型と顕著に異なるpIを示さないバリエーションであってもよく、他方がより塩基性またはより酸性のいずれかであり得る。あるいは、各単量体は、1つはより塩基性に、1つはより酸性へと変化し得る。

【0478】

pIバリエーションの好ましい組み合わせはUSN15/141、350の図30に示されており、その全てはその全体が参照により本明細書に組み込まれる。本明細書に概説され、図に示されるように、これらの変化は、IgG1と比較して示されるが、全てのアイソタイプは、このように変更することができ、アイソタイプハイブリッドも同様である。重鎖定常ドメインがIgG2～4に由来する場合、R133EおよびR133Qも使用され得る。

【0479】

一実施形態では、pIバリエーションの好ましい組み合わせは、Fc単量体のうちの1つがCH1ドメインを含む場合、208D/295E/384D/418E/421Dバリエーション（ヒトIgG1と比較するときN208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D）を含む1つの単量体を有する。いくつかの例では、第2の単量体は、（GKPGS）₄を含む、正荷電ドメインリンカーを含む。いくつかの場合では、第1の単量体は、位置208を含む、CH1ドメインを含む。したがって、CH1ドメインを含まない構築物（例えば、ドメインの1つにCH1ドメインを利用しないヘテロ二量体Fc融合タンパク質について）では、好ましい負のpIバリエーションFcセットは、295E/384D/418E/421Dバリエーション（ヒトIgG1と比較するときQ295E/N384D/Q418E/N421D）を含む。

【0480】

いくつかの実施形態では、変異は、位置216、217、218、219、220、221、222、223、224、225、226、227、228、229、および230を含む、Fcドメインのヒンジにおいて生じる。したがって、pI変異、特に置換は、本発明で使用されている1、2、3、4または5個の変異によって位置216～230の

うちの1つ以上で行うことができる。同様に、全ての可能な組み合わせが、単独で、または他のドメイン中の他のpIバリエーションとともに企図されている。

【0481】

ヒンジドメインのpIを低下させるのに使用される具体的な置換としては、位置221の欠失、位置222の非天然バリンまたはトレオニン、位置223の欠失、位置224の非天然グルタミン酸、位置225の欠失、位置235の欠失、および位置236の欠失または非天然アラニンが含まれるがこれらに限定されない。いくつかの場合では、ヒンジドメインにおいてはpI置換のみが行われ、他の例では、これらの置換（複数可）は他のドメイン内の他のpIバリエーションに任意の組み合わせで加えられる。

【0482】

いくつかの実施形態では、変異は、位置233、234、235、236、274、296、300、309、320、322、326、327、334、および339を含む、CH2領域において生じることができる。233～236における変化は、IgG2バックボーンにおける（327Aとともに）エフェクター機能を増加させるために行うことができることが留意されるべきである。同様に、これらの14個の位置の全ての可能な組み合わせを作製することができ、例えば、pI抗体は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個のCH2pI置換を有し得る。

【0483】

CH2ドメインのpIを低下させることに使用を見出す具体的な置換には、位置274の非天然グルタミンまたはグルタミン酸、位置296の非天然フェニルアラニン、位置300の非天然フェニルアラニン、位置309の非天然バリン、位置320の非天然グルタミン酸、位置322の非天然グルタミン酸、位置326の非天然グルタミン酸、位置327の非天然グリシン、位置334の非天然グルタミン酸、位置339の非天然トレオニン、およびCH2内および他のドメインとの全ての可能な組み合わせが含まれるが、これらに限定されない。

【0484】

この実施形態では、変異は位置355、359、362、384、389、392、397、418、419、444および447から独立してかつ任意に選択され得る。CH3ドメインのpIを低下させることに使用を見出す具体的な置換には、位置355の非天然グルタミンまたはグルタミン酸、位置384の非天然セリン、位置392の非天然アスパラギンまたはグルタミン酸、位置397の非天然メチオニン、位置419の非天然グルタミン酸、位置359の非天然グルタミン酸、位置362の非天然グルタミン酸、位置389の非天然グルタミン酸、位置418の非天然グルタミン酸、位置444の非天然グルタミン酸、および位置447の欠失または非天然アスパラギン酸が含まれるが、これらに限定されない。

【0485】

D. アイソタイプバリエーション

加えて、本発明の多くの実施形態は、あるIgGアイソタイプから別のIgGアイソタイプへの特定の位置でのpIアミノ酸の「移入」に依存し、したがって、バリエーションに望ましくない免疫原性が導入される可能性を低減または排除する。これらのいくつかは、参照により本明細書に組み込まれている、米国特許出願公開第2014/0370013号の図21に示されている。すなわち、IgG1は、高いエフェクター機能を含み、様々な理由で治療用抗体の一般的なアイソタイプである。しかしながら、IgG1の重定常領域は、IgG2のそれよりも高いpIを有する（8.10対7.31）。特定の位置のIgG2残基をIgG1バックボーンに導入することによって、得られる単体のpIは、低下（または上昇）し、より長い血清半減期をさらに示す。例えば、IgG1は、位置137にグリシン（pI5.97）を有し、IgG2は、グルタミン酸（pI3.22）を有し、グルタミン酸を移入することは、得られるタンパク質のpIに影響を与えるであろう。以下に記載されるように、バリエーションFc融合タンパク質のpIに顕著な影響を与えるためには、一般にいくつかのアミノ酸置換が必要とされる。しかしながら、IgG2分子

10

20

30

40

50

中の変化でさえも増加した血清半減期を可能にすることが以下で議論されることが留意されるべきである。

【0486】

他の実施形態では、非アイソタイプのアミノ酸変化を行って、（例えば、高pIのアミノ酸から低pIのアミノ酸へと変化させることによって）得られるタンパク質の全体的な荷電状態を低減させるか、または以下でさらに詳細に説明する安定性などのための構造の調整を可能にする。

【0487】

加えて、重定常ドメインおよび軽定常ドメインの両方をpI操作することによって、ヘテロ二量体の各単量体における顕著な変化を見ることができる。本明細書で議論されるように、2つの単量体のpIが少なくとも0.5だけ異なることは、イオン交換クロマトグラフィーもしくは等電点電気泳動、または等電点に感受性の他の方法による分離を可能にし得る。

【0488】

E pIの計算

各単量体のpIは、バリエーション重鎖定常ドメインのpIおよび全単量体のpIに依存し、バリエーション重鎖定常ドメインおよび融合パートナーを含み得る。したがって、いくつかの実施形態では、pIの変化は、米国特許出願公開第2014/0370013号の図19のチャートを使用して、バリエーション重鎖定常ドメインに基づいて計算される。本明細書で議論されるように、どの単量体を操作するかは一般に、各単量体の固有のpIによって決定される。

【0489】

Fインビボ結合により良好なFcRnも付与するpIバリエーション

pIバリエーションが単量体のpIを減少させる場合、それらはインビボでの血清保持を改善するというさらなる利点を有することができる。

【0490】

まだ検討中ではあるが、エンドソーム内のpH6でFcRnに結合するとFcが隔離されるため、Fc領域はインビボでより長い半減期を有すると考えられている（Ghetie and Ward, 1997 Immunol Today 18 (12): 592-598、全体が参照により組み込まれる）。次いでエンドソーム区画はFcを細胞表面にリサイクルする。区画が細胞外空間に開くと、約7.4のより高いpHが、血中へのFcの放出を誘導する。マウスでは、Dall'Aquilaらは、pH6およびpH7.4での増加したFcRn結合を有するFcバリエーションは、実際に低減した血清濃度および野生型Fcと同じ半減期を有することを示した（Dall'Aquila et al., 2002, J. Immunol. 169: 5171-5180、参照によりその全体が組み込まれる）。pH7.4でのFcRnに対するFcの親和性の増加は、血中へのFcの放出を妨げると考えられる。したがって、インビボでのFcの半減期を増加させるFc変異は、理想的には、より高いpHでのFcの放出をなお可能にしながら、より低いpHでのFcRn結合を増加させる。アミノ酸ヒスチジンは、6.0~7.4のpH範囲でその荷電状態を変化させる。したがって、Fc/FcRn複合体中の重要な位置にHis残基を見出すことは驚くべきことではない。

【0491】

その全体が参照により本明細書に組み込まれる、US 2012/0341,769に具体的に開示されるように、FcRnへの増加された結合および増加された血清半減期における用途を見出す多数のFc置換があり、これらに限定されないが、434A、428L、308F、259I、428L/434S、259I/308F、436I/428L、436I、434S、252Y/428L、252Y/434S、428L/434S、436V/428L、および259I/308F/428Lを含む。

【0492】

G. 追加機能のための追加のFcバリエーション

10

20

30

40

50

p I アミノ酸バリエーションに加えて、1つ以上の F c γ R 受容体への結合を変更すること、F c R n 受容体への結合の変更などを含むがこれらに限定されない、様々な理由で行うことができるいくつかの有用な F c アミノ酸修飾が存在する。

【0493】

したがって、本発明のタンパク質は、p I バリエーションおよび立体バリエーションを含む、本明細書に概説したヘテロ二量体化バリエーションを含むアミノ酸修飾を含むことができる。バリエーションの各セットは独立してかつ任意に特定のヘテロ二量体タンパク質に含み得るかまたはそれから除外し得る。

【0494】

H. F c γ R バリエーション

したがって、F c γ 受容体のうちの1つ以上への結合を変更するために行われ得るいくつかの有用な F c 置換が存在する。結合の増加ならびに結合の減少をもたらす置換が有用であり得る。例えば、F c γ R I I I a への結合の増加は、一般に、A D C C（抗体依存性細胞媒介性細胞傷害性、すなわち、F c γ R を発現する非特異的細胞傷害性細胞が標的細胞上の結合抗体を認識し、その後、標的細胞の溶解を引き起こす細胞媒介性反応）の増加をもたらすことが知られている。同様に、いくつかの状況下では、F c γ R I I b（抑制性受容体）への結合の減少も有益であり得る。本発明で使用されるアミノ酸置換には、U S S N 1 1 / 1 2 4、6 2 0（特に図41）、U S S N 1 1 / 1 7 4、2 8 7、U S S N 1 1 / 3 9 6、4 9 5、U S S N 1 1 / 5 3 8、4 0 6 に列挙されるものが含まれ、それらの全てはその全体が、具体的にはそこで開示されるバリエーションが参照により、明示的に本明細書に組み込まれる。使用される特定のバリエーションには、2 3 6 A、2 3 9 D、2 3 9 E、3 3 2 E、3 3 2 D、2 3 9 D / 3 3 2 E、2 6 7 D、2 6 7 E、3 2 8 F、2 6 7 E / 3 2 8 F、2 3 6 A / 3 3 2 E、2 3 9 D / 3 3 2 E / 3 3 0 Y、2 3 9 D、3 3 2 E / 3 3 0 L、2 4 3 A、2 4 3 L、2 6 4 A、2 6 4 V、および 2 9 9 T が含まれるがこれらに限定されない。

【0495】

加えて、F c γ R I I c に対する親和性を増加させるアミノ酸置換もまた、本明細書に概説される F c ドメインバリエーションに含まれ得る。例えば、U S S N 1 1 / 1 2 4、6 2 0 および U S S N 1 4 / 5 7 8、3 0 5 に記載される置換は有用である。

【0496】

I. アブレーションバリエーション

同様に、機能性バリエーションの別のカテゴリーは「F c γ R アブレーションバリエーション」または「F c ノックアウト（F c K O または K O）」バリエーションである。これらの実施形態では、いくつかの治療用途について、追加の作用機序を回避するために、F c γ 受容体（例えば、F c γ R 1、F c γ R I I a、F c γ R I I b、F c γ R I I I a など）のうちの1つ以上または全ての F c ドメインの正常な結合を低減または除去することが望ましい。すなわち、例えば、多くの実施形態では、特に、免疫調節タンパク質の使用において、F c ドメインのうちの1つが、1つ以上の F c γ 受容体アブレーションバリエーションを含むように、F c γ R I I I a 結合をアブレートして A D C C 活性を排除または著しく低減することが望ましい。これらのアブレーションバリエーションは、その全てが参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、U S S N 1 5 / 1 4 1、3 5 0 の図31に示されており、各々は、独立してかつ任意に含まれても除外されてもよく、好ましい態様は、E U 指数に従って、G 2 3 6 R / L 3 2 8 R、E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 d e l / S 2 3 9 K、E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 d e l / S 2 6 7 K、E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 d e l / S 2 3 9 K / A 3 2 7 G、E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 d e l / S 2 6 7 K / A 3 2 7 G、および E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 d e l からなる群から選択されるアブレーションバリエーションを利用する。本明細書で言及されるアブレーションバリエーションは、F c γ R 結合をアブレートするが、F c R n 結合をアブレートしないことに留意されたい。

【0497】

J. ヘテロ二量体およびFcバリエーションの組み合わせ

当業者には理解されるように、列挙されたヘテロ二量体化バリエーション（スキューバリエーションおよび／またはpIバリエーションを含む）は全て、それらの「鎖性（strandedness）」または「単量体分割」を保持する限り、任意の方法で任意にかつ独立して組み合わせることができる。加えて、これらのバリエーションは全て、ヘテロ二量体化フォーマットのいずれにも組み合わせることができる。

【0498】

pIバリエーションの場合、特に使用される実施形態が図面に示されているが、精製を促進するために2つの単量体間のpIの差異を変更するという基本的な規則に従って、他の組み合わせを生成できる。

10

【0499】

加えて、ヘテロ二量体化バリエーション、スキュー、およびpIのいずれも、本明細書で概説されるように、独立してかつ任意にFcアブレーションバリエーション、Fcバリエーション、FcRnバリエーションと組み合わせることができる。

【0500】

加えて、単量体Fcドメインは、C220S／S267K／L368D／K370SまたはC220S／S267K／S364K／E357Qを含むアミノ酸置換のセットを含むことができる。

【0501】

20

加えて、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質は、スキューバリエーション（例えば、それらの全てが参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、USN15／141、350の図1A～1Cに示されるアミノ酸置換のセット）（特に有用なスキューバリエーションは、S364K／E357Q：L368D／K370S；L368D／K370S：S364K；L368E／K370S：S364K；T411T／E360E／Q362E：D401K；L368D／K370S：S364K／E357L；K370S：S364K／E357Q；T366S／L368A／Y407V：T366W；およびT366S／L368A／Y407V：T366W（任意に架橋ジスルフィド、T366S／L368A／Y407V／Y349C：T366W／S354Cを含む）からなる群から選択される）、任意にアブレーションバリエーション、任意に荷電されたドメインリンカー、および任意にpIバリエーションを含むことができる。

30

【0502】

いくつかの実施形態では、Fcドメインは、EU指数に従って、236R、S239D、S239E、F243L、M252Y、V259I、S267D、S267E、S67K、S298A、V308F、L328F、L328R、330L、I332D、I332E、M428L、N434A、N434S、236R／L328R、S239D／I332E、236R／L328F、V259I／V308F、S267E／L328F、M428L／N43S、Y436I／M428L、N436V／M428L、V436I／N434S、Y436V／N434S、S239D／I332E／330L、M252Y／S54T／T256E、V259I／V308F／M428L、E233P／L234V／L235A／G236__／S239K、E233P／L234V／L235A／G236__／S239K／A327G、E233P／L234V／L235A／G236__／S267K／A327G、E233P／L234V／L235A／G236__、およびE233P／L234V／L235A／G236__／S267Kからなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を含む。

40

【0503】

一実施形態では、本発明における使用を見出すスキューおよびpIバリエーションの特定の組み合わせは、T366S／L368A／Y407V：T366W（任意に、架橋ジスルフィド、T366S／L368A／Y407V／Y349C：T366W／S354Cを含む）であり、一方の単量体がQ295E／N384D／Q418E／N481Dを含み

50

、他方が正に荷電されたドメインリンカーを含む。当技術分野において理解されるように、「ノブインホール」バリエーションは p I を変化させず、したがってどちらの単量体にも使用することができる。

【0504】

IV. ホモ二量体 F c 融合タンパク質

いくつかの態様では、本発明は、一般に（任意にドメインリンカーを通して）1つ以上の異なるタンパク質ドメインに結合した、F c 領域を含むホモ二量体 F c 融合タンパク質に関する。これらのフォーマットは、一般的に図 14 および図 48 に示される。一態様では、ホモ二量体 F c 融合タンパク質は、I L-12 R β 1 / β 2 の I L-12 受容体複合体に結合することを一緒に示すように、I L-12 p 40 および I L-12 p 35 サブユニットを異なる配向で含む I L-12 ホモ二量体 F c 融合タンパク質である。F c ドメインは、I g G F c ドメイン、例えば、I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 F c ドメインに由来することができ、I g G 1 および I g G 4 F c ドメインは、本発明において特定の用途を見出す。本明細書に記載されるように、I g G 1 F c ドメインは、エフェクター機能をアブレートするために、常にではないが、多くの場合、アブレーションバリエーションと組み合わせて使用され得る。同様に、低いエフェクター機能が望ましい場合、I g G 4 F c ドメインが使用され得る。

【0505】

一態様では、ホモ二量体 F c 融合タンパク質は、第 1 の単量体および第 2 の単量体を含み、N 末端から C 末端へ、I L-12 p 40 サブユニットー任意のリンカーー I L-12 p 35 サブユニットー任意のリンカーー F c ドメインを含む。いくつかの実施形態では、ホモ二量体 F c 融合タンパク質は、第 1 の単量体および第 2 の単量体を含み、N 末端から C 末端へ、I L-12 p 40 サブユニットーリンカーー I L-12 p 35 サブユニットーリンカーー F c ドメインを含む。一実施形態の例は、図 48 A に提供されている。

【0506】

別の態様では、ホモ二量体 F c 融合タンパク質は、第 1 の単量体および第 2 の単量体を含み、N 末端から C 末端へ、I L-12 p 35 サブユニットー任意のリンカーー I L-12 p 40 サブユニットー任意のリンカーー F c ドメインを含む。いくつかの実施形態では、ホモ二量体 F c 融合タンパク質は、第 1 の単量体および第 2 の単量体を含み、N 末端から C 末端へ、I L-12 p 35 サブユニットーリンカーー I L-12 p 40 サブユニットーリンカーー F c ドメインを含む。一実施形態の例は、図 48 B に提供されている。

【0507】

別の態様では、ホモ二量体 F c 融合タンパク質は、第 1 の単量体および第 2 の単量体を含み、N 末端から C 末端へ、F c ドメインー任意のリンカーー I L-12 p 40 サブユニットー任意のリンカーー I L-12 p 35 サブユニットを含む。いくつかの実施形態では、ホモ二量体 F c 融合タンパク質は、第 1 の単量体および第 2 の単量体を含み、N 末端から C 末端へ、F c ドメインーリンカーー I L-12 p 40 サブユニットーリンカーー I L-12 p 35 サブユニットを含む。一実施形態の例は、図 48 C に提供されている。

【0508】

別の態様では、ホモ二量体 F c 融合タンパク質は、第 1 の単量体および第 2 の単量体を含み、N 末端から C 末端へ、F c ドメインー任意のリンカーー I L-12 p 35 サブユニットー任意のリンカーー I L-12 p 40 サブユニットを含む。いくつかの実施形態では、ホモ二量体 F c 融合タンパク質は、第 1 の単量体および第 2 の単量体を含み、N 末端から C 末端へ、F c ドメインーリンカーー I L-12 p 35 サブユニットーリンカーー I L-12 p 40 サブユニットを含む。一実施形態の例は、図 48 D に提供されている。

【0509】

いくつかの実施形態では、二価 I L-12 p 40-F c フォーマットは、a) N 末端から C 末端へ、i) I L-12 p 40 ドメインタンパク質、i i) 任意の第 1 のドメインリンカー、i i i) 第 1 のバリエーション F c ドメインタンパク質を含む第 1 の単量体と、b) N 末端から C 末端へ、i) I L-12 p 40 ドメインタンパク質、i i) 任意に第 2 のド

10

20

30

40

50

メインリンカー、*i i i*) 第2のバリエーションFcドメインタンパク質を含む第2の単量体と、を含む、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0510】

いくつかの実施形態では、二価IL-12p35-Fcフォーマットは、a) N末端からC末端へ、*i i i*) IL-12p35ドメインタンパク質、*i i*) 任意の第1のドメインリンカー、*i i i*) 第1のバリエーションFcドメインタンパク質を含む第1の単量体と、b) N末端からC末端へ、*i i*) IL-12p35ドメインタンパク質、*i i*) 任意に第2のドメインリンカー、*i i i*) 第2のバリエーションFcドメインタンパク質を含む第2の単量体と、を含む、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0511】

いくつかの実施形態では、(scIL-12(p40/p35))₂-Fcフォーマットは、a) N末端からC末端へ、*i i*) IL-12p40ドメインタンパク質、*i i*) 任意の第1のドメインリンカー、*i i i*) IL-12p35ドメインタンパク質、*i v*) 任意の第2のドメインリンカー、*v*) 第1のバリエーションFcドメインタンパク質を含む第1の単量体と、b) N末端からC末端へ、*i i*) IL-12p40ドメインタンパク質、*i i*) 任意に第3のドメインリンカー、*i i i*) IL-12p35ドメインタンパク質、*i v*) 任意に第4のドメインリンカー、*v*) 第2のバリエーションFcドメインタンパク質を含む第2の単量体と、を含む、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0512】

いくつかの実施形態では、(scIL-12(p35/p40))₂-Fcフォーマットは、a) N末端からC末端へ、*i i*) IL-12p35ドメインタンパク質、*i i*) 任意の第1のドメインリンカー、*i i i*) IL-12p40ドメインタンパク質、*i v*) 任意の第2のドメインリンカー、*v*) 第1のバリエーションFcドメインタンパク質を含む第1の単量体と、b) N末端からC末端へ、*i i*) IL-12p35ドメインタンパク質、*i i*) 任意に第3のドメインリンカー、*i i i*) IL-12p40ドメインタンパク質、*i v*) 任意に第4のドメインリンカー、*v*) 第2のバリエーションFcドメインタンパク質を含む第2の単量体と、を含む、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0513】

いくつかの実施形態では、Fc-(scIL-12(p40/p35))₂フォーマットは、a) N末端からC末端へ、*i i*) 第1のバリエーションFcドメインタンパク質、*i i*) 任意の第1のドメインリンカー、*i i i*) IL-12p40ドメインタンパク質、*i v*) 任意の第2のドメインリンカー、*v*) IL-12p35ドメインタンパク質を含む第1の単量体と、b) N末端からC末端へ、*i i*) 第2のバリエーションFcドメインタンパク質、*i i*) 任意の第1のドメインリンカー、*i i i*) IL-12p40ドメインタンパク質、*i v*) 任意の第2のドメインリンカー、*v*) IL-12p35ドメインタンパク質を含む第2の単量体と、を含む、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0514】

いくつかの実施形態では、Fc-(scIL-12(p35/p40))₂フォーマットは、a) N末端からC末端へ、*i i*) 第1のバリエーションFcドメインタンパク質、*i i*) 任意の第1のドメインリンカー、*i i i*) IL-12p35ドメインタンパク質、*i v*) 任意の第2のドメインリンカー、*v*) IL-12p40ドメインタンパク質を含む第1の単量体と、b) N末端からC末端へ、*i i*) 第2のバリエーションFcドメインタンパク質、*i i*) 任意の第1のドメインリンカー、*i i i*) IL-12p35ドメインタンパク質、*i v*) 任意の第2のドメインリンカー、*v*) IL-12p40ドメインタンパク質を含む第2の単量体と、を含む、ホモ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0515】

いくつかの実施形態では、第1のドメインリンカーおよび当該第2のドメインリンカーは、同じアミノ酸配列を有する。いくつかの実施形態では、第1のドメインリンカーおよび第2のドメインリンカーは、異なるアミノ酸配列を有する。

【0516】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、Fcバリエーションは、本明細書で提供されるような1つ以上のスキュー、pI、およびアブレーションバリエーションを含む。一実施形態では、Fcバリエーションは、特定のスキュー、pI、およびアブレーションバリエーションを含む。いくつかの実施形態では、第1および第2のFcドメインのホモ二量体化を促進する修飾は、EU付番に従って、L368D/K370S; S364K; S364K/E357L; S364K/E357Q; T411E/K360E/Q362E; D401K; T366S/L368A/Y407V; T366W; T366S/L368A/Y407V/Y349C; およびT366W/S354Cからなる群から選択されるアミノ酸置換のセットである。いくつかの実施形態では、第1および/または第2のFcドメインは、EU付番に従って、Q295E/N384D/Q418E/N421D、を含むアミノ酸置換の追加のセットを有する。いくつかの実施形態では、第1および/または第2のFcドメインは、EU付番に従って、G236R/L328R、E233P/L234V/L235A/G236__/S239K、E233P/L234V/L235A/G236__/S239K/A327G、E233P/L234V/L235A/G236__/S267K/A327G、E233P/L234V/L235A/G236__、およびE233P/L234V/L235A/G236__/S267Kからなる群から選択されるアミノ酸置換の追加のセットを有する。いくつかの実施形態では、第1および第2のFcドメインは、アミノ酸置換M428L/N424Sをさらに含む。

【0517】

このフォーマットでは、有用なIL-12p40タンパク質ドメインは、これに限定されないが、配列番号4（ヒトIL-12サブユニットベータ（IL-12p40）成熟形態配列）を含む。このフォーマットでは、有用なIL-12p40バリエーションは、これらに限定されないが、E59K、E59Q、D18N、D18K、E32Q、E33Q、D34N、D34K、Q42E、S43E、S43K、E45Q、Q56E、D62N、E73Q、D87N、K99E、K99Y、E100Q、N103D、N103Q、N113D、N113Q、Q144E、D161N、R159E、K163E、E187Q、N200D、N200Q、N218Q、Q229E、E235Q、C252S、Q256N、K258E、K260E、E262Q、K264E、N281D、N281Q、およびE299Qを含む。このフォーマットでは、有用なIL-12p40バリエーションは、これらに限定されないが、N103D/N113D/N200D/N281D、Q42E/E45Q、E45Q/Q56E、Q42E/E59Q、Q56E/E59Q、Q42E/E45Q/Q56E、E45Q/Q56E/E59Q、E32Q/E59Q、D34N/E59K、D34N/E59K/K99E、D34K/E59K/K99E、E32Q/D34N/E59K/K99E、E32K/D34N/E59K/K99E、D34N/E59Q、E59Q/E187Q、S43E/E59Q、S43K/E49Q、E59Q/K163E、E59Q/K99E、E59Q/K258E、E59Q/K260E、E59K/K99E、D18K/E59K/K99E、E59K/K99E/K264E、E59K/K99Y、E59Y/K99Y、E59Y/K99E、E45K/E59K/K99E、E59K/K99E/Q144E、E59K/K99E/Q144K、E59K/K99E/R159E、E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/K264E、DI8K/E59K/K99E/C252S、D18K/E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99Y/C252S、E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99E/C252S、N103D/N113D、N103D/N200D、N103D/N281D、N113D/N200D、N113D/N281D、N200D/N281D、N103D/N113D/N200D、N103D/N113D/N281D、N103D/N200D/N281D、N113D/N200D/N281D、N103Q/N113Q、N103Q/N200Q、N103Q/N281Q、N113Q/N200Q、N113Q/N281Q、N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N200Q、N103Q/N113Q/N281Q、N103Q/N200Q/N281Q、N113Q/N200Q/N281Q、N

10

20

30

40

50

103Q/N113Q/N200Q/N281Q、E59K/K99E/N103Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、およびE59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264Eを含む。

【0518】

このフォーマットでは、IL-12p35タンパク質ドメインは、配列番号2（ヒトIL-12サブユニットアルファ（IL-12p35）成熟形態配列）を含む。このフォーマットでは、有用なIL-12p35バリエーションは、これらに限定されないが、N21D、Q35D、E38Q、D55Q、D55K、N71D、N71Q、L75A、N76D、E79Q、N85D、N85Q、L89A、F96A、M97A、L124A、M125A、Q130E、Q135E、N136D、E143Q、Q146E、N151D、N151K、E153K、E153Q、K158E、E162Q、E163Q、D165N、I171A、N195D、およびN195Qを含む。このフォーマットでは、有用なIL-12p35バリエーションは、これらに限定されないが、N71D/N85D/N195D、N151D/E153Q、N151D/D165N、Q130E/N151D、N151D/K158E、E79Q/N151D、D55Q/N151D、N136D/N151D、N21D/N151D、E143Q/N151D、N71Q/N85Q、N71Q/N195Q、N85Q/N195Q、N71Q/N85Q/N195Q、N71D/N85D、N71D/N195D、およびN85D/N195Dを含む。

【0519】

このフォーマットでは、有用な実施形態には、図14A～14Bおよび図15に見られるものが含まれるが、これらに限定されない。

ホモ二量体Fc融合タンパク質の潜在的な実施形態は、ヘテロ二量体ではなくホモ二量体を産生する目的で、必要に応じて、「ヘテロ二量体Fc融合タンパク質」と題する上記セクションに記載される方法および組成物を使用し得る。ホモ二量体Fc融合タンパク質の潜在的な実施形態は、本明細書に記載される方法および組成物の任意の組み合わせを使用し得る。

【0520】

V. インターロイキン12

本発明は、インターロイキン12の生物学的に機能的な形態に関する。IL-12p40バリエーションおよび/またはIL-12p35バリエーションを含むIL-12ヘテロ二量体Fcタンパク質は、p40/p35ヘテロ二量体およびp40ホモ二量体を含む、野生型IL-12と比較したIL-12受容体への低減または低下した結合親和性を有する。本発明のIL-12ヘテロ二量体Fcタンパク質は、野生型IL-12と比較して低減または低下した有効性を有する。IL-12ヘテロ二量体Fcタンパク質は、延長または増加した血清半減期を有する。IL-12ヘテロ二量体Fcタンパク質は、毒性の低減または低下した潜在性を有する。本発明のIL-12ヘテロ二量体Fcタンパク質は、これらに限定されないが、T細胞およびNK細胞などの免疫細胞におけるSTAT4リン酸化を誘導することにおける低減または低下した有効性を有する。IL-12p40バリエーションは、潜在的なN-グリコシル化部位を除去するアミノ酸修飾（例えば、置換、付加、および欠失）を含む。IL-12p35バリエーションは、潜在的なN-グリコシル化部位を除去す

10

20

30

40

50

るアミノ酸修飾（例えば、置換、付加、および欠失）を含む。いくつかの実施形態では、本発明のＩＬ－１２ヘテロ二量体Ｆｃタンパク質は、野生型ＩＬ－１２と比較して、低減／減少したグリコシル化を有する。いくつかの実施形態では、本発明のＩＬ－１２ヘテロ二量体Ｆｃタンパク質のグリコシル化状態は、野生型ＩＬ－１２タンパク質とは異なる。本発明のＩＬ－１２ヘテロ二量体Ｆｃタンパク質は、野生型ＩＬ－１２と比較して改善された薬物動態を提供する。また、そのようなＩＬ－１２ヘテロ二量体Ｆｃタンパク質は、治療に効果的であり、野生型ＩＬ－１２と比較して改善された治療指数を有する。本発明のＩＬ－１２ヘテロ二量体Ｆｃタンパク質は、Ｔ細胞活性化を促進／誘導することができる。いくつかの実施形態では、患者へのＩＬ－１２ヘテロ二量体Ｆｃタンパク質のいずれか１つの投与は、患者におけるＴ細胞活性化を誘導する。いくつかの例では、投与は、患者におけるＩＦＮ－ガンマ分泌を誘導する。いくつかの場合では、ＩＬ－１２ヘテロ二量体Ｆｃタンパク質の投与は、患者におけるリンパ球の増殖を誘導する。ＩＬ－１２ヘテロ二量体Ｆｃタンパク質は、固形腫瘍癌または液体腫瘍癌などの癌の治療に有用である。いくつかの実施形態では、ＩＬ－１２ヘテロ二量体Ｆｃタンパク質のうちのいずれか１つの患者への投与は、いくつかの場合では、チェックポイント遮断剤と組み合わせて、腫瘍サイズを低減する。

【０５２１】

上記のように、インターロイキン１２の生物学的に機能的な形態または「ＩＬ－１２」は、ヘテロ二量体であり、ＩＬ－１２ｐ３５サブユニット（ＩＬ－１２サブユニットアルファ）およびＩＬ－１２ｐ４０サブユニット（ＩＬ－１２サブユニットベータ）からなり、以降「ＩＬ－１２ヘテロ二量体複合体」と表される。この複合体は、２つの異なるフォーマットで 사용할 ことができる。図８Ａ～Ｂに示されるように、ＩＬ－１２ｐ４０サブユニットおよびＩＬ－１２ｐ３５サブユニットは、互いに共有結合されないが、むしろヘテロ二量体として組み立てられる第１および第２のＦｃドメインにそれぞれ共有結合される。あるいは、ＩＬ－１２ｐ３５およびＩＬ－１２ｐ４０サブユニットは、図８Ｃ～Ｆに一般的に示されるように、任意にドメインリンカー（本明細書に記載される）を使用して、共有結合させることができ、以降、単鎖ＩＬ－１２複合体または「ｓｃＩＬ－１２」と表される。ｓｃＩＬ－１２における２つのサブユニットの順序は、以下のように指定され得る：ＩＬ－１２ｐ４０サブユニットが（ドメインリンカーありまたはなしで）ＩＬ－１２ｐ３５サブユニットにＮ末端結合している「ｓｃＩＬ－１２（ｐ４０／ｐ３５）」、またはＩＬ－１２ｐ３５が（ドメインリンカーありまたはなしで）ＩＬ－１２ｐ４０サブユニットにＮ末端結合している「ｓｃＩＬ－１２（ｐ３５／ｐ４０）」。

【０５２２】

いくつかの実施形態では、ヒトＩＬ－１２ｐ３５タンパク質は、ＮＣＢＩ参照配列番号ＮＰ__０００８７３．２または配列番号１（図１に示されるヒトＩＬ－１２サブユニットアルファ（ＩＬ－１２ｐ３５）前駆体配列）に示されるアミノ酸配列を有する。いくつかの場合では、ヒトＩＬ－１２ｐ３５のコード配列は、ＮＣＢＩ参照配列番号ＮＭ__０００８８２．３に示される。本明細書に概説されるＦｃ融合ヘテロ二量体タンパク質の例示的なＩＬ－１２ｐ３５タンパク質は、配列番号２のアミノ酸配列（図１に示されるヒトＩＬ－１２サブユニットアルファ（ＩＬ－１２ｐ３５）成熟形態配列）または配列番号１のアミノ酸２３～２１９を有することができる。いくつかの実施形態では、ＩＬ－１２ｐ３５タンパク質は、配列番号２に対して少なくとも９０％、例えば、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、またはそれ以上の配列同一性を有する。Ｆｃ融合タンパク質のＩＬ－１２ｐ３５タンパク質は、１、２、３、４、５、６、７、８、または９個のアミノ酸変異を有することができる。

【０５２３】

いくつかの実施形態では、ヒトＩＬ－１２ｐ４０タンパク質は、ＮＣＢＩ参照配列番号ＮＰ__００２１７８．３または配列番号３（図１に示されるヒトＩＬ－１２サブユニットベータ（ＩＬ－１２ｐ４０）前駆体配列）に示されるアミノ酸配列を有する。いくつかの場合では、ヒトＩＬ－１２ｐ４０のコード配列は、ＮＣＢＩ参照配列番号ＮＭ__００２１

10

20

30

40

50

87.3に示される。本明細書に概説されるFc融合タンパク質の例示的なIL-12p40タンパク質は、配列番号4のアミノ酸配列（図1に示されるヒトIL-12サブユニットベータ（IL-12p40）成熟形態配列）または配列番号3のアミノ酸23～328を有することができる。いくつかの実施形態では、IL-12p40タンパク質は、配列番号4に対して少なくとも90%、例えば、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれ以上の配列同一性を有する。Fc融合タンパク質のIL-12p40タンパク質は、1、2、3、4、5、6、7、8、または9個のアミノ酸変異を有することができる。

【0524】

本発明はまた、バリエーションIL-12p40サブユニットおよびバリエーションIL-12p35サブユニットを提供する。これらのバリエーションは、生物学的に機能的なIL-12複合体の一部、および本明細書に記載されるIL-12-Fc融合体のいずれかとして用途を見出す。

【0525】

A. 発現バリエーション

予備的な問題として、本発明のIL-12p40およびIL-12p35サブユニットはまた、不均一性を低減するように設計された潜在的なN-グリコシル化部位を除去するバリエーションを含む。

【0526】

アミノ酸修飾を導入することができるIL-12p40上のそのような潜在的なN-グリコシル化部位は、N103、N113、N200、およびN281（図1に示されるヒトIL-12サブユニットベータ（IL-12p40成熟形態配列に従って付番される）を含む。これらの部位のうちの1つ以上での例示的な修飾は、N103D、N103Q、N113D、N113Q、N200D、N200Q、N281D、およびN281Qからなる群から選択され得る。IL-12p40発現バリエーションは、これらの部位での1つ以上の修飾を含むことができる。したがって、一実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N103D/N113D/N200D/N281Dである。一実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N103D/N113Dである。一実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N103D/N200Dである。一実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N103D/N281Dである。一実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N113D/N200Dである。一実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N113D/N281Dである。一実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N200D/N281Dである。一実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N103D/N113D/N200Dである。一実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N103D/N113D/N281Dである。一実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N/N103D/N200D/N281Dを含む。一実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N113D/N200D/N281Dである。一実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N103Q/N113Qである。一実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N103Q/N200Qである。一実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N103Q/N281Qである。一実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N113Q/N200Qである。一実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N113Q/N281Qである。一実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N103Q/N113Q/N200Qである。一実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N103Q/N113Q/N281Qである。一実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N103Q/N200Q/N281Qである。一実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N113Q/N200Q/N281Qを含む。これらの修飾は、単独で、または任意の他のIL-12p40バリエーション、例えば、親和性バリエーションと組み合わせて使用することができる。

【0527】

部位のうちの1つ以上でアミノ酸修飾を導入することができるIL-12p35上のそ

10

20

30

40

50

のような潜在的なN-グリコシル化部位は、N71、N85、およびN195（図1に示されるヒトIL-12サブユニットアルファ（IL-12p35）成熟形態配列に従って付番される）からなる群から選択される。これらの部位での例示的な修飾は、N71D、N71Q、N85D、N85Q、N195D、およびN195Qを含む。IL-12p35バリエーションは、これらの部位で1つ以上の修飾を含むことができる。したがって、一実施形態では、IL-12p35バリエーションは、N71D/N85D/N195Dを含む。これらの修飾は、単独で、または任意の他のIL-12p35バリエーション、例えば、親和性バリエーションと組み合わせて使用することができる。

【0528】

IL-12p40サブユニットは、位置252に遊離システイン（図1に示されるヒトIL-12サブユニットベータ（IL-12p40）成熟形態配列に従って付番される）を有し、これは他の遊離システインと結合し、少なくとも不均一性、さらに悪い場合には免疫原性をもたらす得る。したがって、IL-12p40バリエーションは、例えば、C252S修飾を導入することによって（他の置換も使用され得るが）、遊離システインを除去するように操作された。C252（例えば、C252S）の修飾は、単独で、または任意の他のIL-12p40バリエーション、例えば、親和性もしくは発現バリエーションと組み合わせて使用することができる。遊離システインを除去するC252での修飾を含む例示的なIL-12p40バリエーションは、図65に示される。例示的なIL-12-Fc融合タンパク質は、追加のバリエーションIL-12p40サブユニットで生成され、その配列は、図66に示され、実施例1Bに一般的に記載されるように生成される。これらの修飾は、単独で、または任意の他のIL-12p40バリエーション、例えば、親和性バリエーションと組み合わせて使用することができる。

【0529】

B. 親和性および有効性バリエーション

本発明は、IL-12受容体についての変更された、すなわち、低減または増加された、結合親和性を有する生物学的に機能的なIL-12を形成するIL-12p40バリエーションおよびIL-12p35バリエーションを提供する。いくつかの場合では、バリエーションIL-12p40サブユニットは、IL-12受容体サブユニットベータ-1（IL-12Rβ1）、IL-12受容体サブユニットベータ-2（IL-12Rβ2）、および／またはIL-12受容体複合体についての変更された、すなわち、低減または増加された、結合親和性を有する。いくつかの場合では、バリエーションIL-12p35は、IL-12受容体サブユニットベータ-1（IL-12Rβ1）、IL-12受容体サブユニットベータ-2（IL-12Rβ2）、および／またはIL-12受容体複合体についての変更された、すなわち、低減または増加された、結合親和性を有する。本発明は、野生型IL-12p40およびIL-12p35と比較して変更された、すなわち、低減または増加した、有効性を有する生物学的に機能的なIL-12を形成するIL-12p40バリエーションおよびIL-12p35バリエーションも提供する。

アミノ酸修飾を導入することができるIL-12p40上の好適な部位は、E3、D7、E12、D14、W15、P17、D18、A19、P20、G21、E22、M23、D29、E32、E33、D34、L40、D41、Q42、S43、E45、L47、T54、I55、Q56、K58、E59、F60、G61、D62、Q65、Y66、E73、K84、E86、D87、G88、I89、W90、D93、D97、K99、E100、K102、N103、K104、F106、E110、N113、Y114、D129、D142、Q144、E156、R159、D161、N162、K163、D166、D170、Q172、D174、A176、C177、P178、A179、A180、E181、S183、P185、E187、N200、S204、F206、R208、D209、D214、N218、Q220、N226、Q229、E231、E235、T242、P243、S245、Y246、F247、S248、C252、Q256、K258、K260、E262、K264、D265、D270、N281、Q289、D290、R291、Y292、Y293、およびE299（図1に示される

ヒトIL-12サブユニットベータ（IL-12 p40成熟形態配列に従って付番される）からなる群から選択される。これらの部位での例示的な修飾は、D18N、D18K、E32Q、E33Q、D34N、D34K、Q42E、S43E、S43K、E45Q、Q56E、E59Q、E59K、D62N、E73Q、D87N、K99E、K99Y、E100Q、N103D、N103Q、N113D、N113Q、Q144E、D161N、R159E、K163E、E187Q、N200D、N200Q、N218Q、Q229E、E235Q、C252S、Q256N、K258E、K260E、E262Q、K264E、N281D、N281Q、およびE299Qからなる群から選択することができ、IL-12 p40親和性バリエーションは、これらの部位の1つ以上での修飾を含むことができる。したがって、一実施形態では、IL-12 p40バリエーションは、N103D／N113D／N200D／N281Dを含む。別の実施形態では、IL-12 p40バリエーションは、Q42E／E45Qを含む。別の実施形態では、IL-12 p40バリエーションは、E45Q／Q56Eを含む。別の実施形態では、IL-12 p40バリエーションは、Q42E／E59Qを含む。別の実施形態では、IL-12 p40バリエーションは、Q56E／E59Qを含む。別の実施形態では、IL-12 p40バリエーションは、Q42E／E45Q／Q56Eを含む。別の実施形態では、IL-12 p40バリエーションは、E45Q／Q56E／E59Qを含む。別の実施形態では、IL-12 p40バリエーションは、E32Q／E59Qを含む。別の実施形態では、IL-12 p40バリエーションは、D34N／E59Kを含む。別の実施形態では、IL-12 p40バリエーションは、D34N／E59K／K99Eを含む。別の実施形態では、IL-12 p40バリエーションは、D34K／E59K／K99Eを含む。別の実施形態では、IL-12 p40バリエーションは、E32Q／D34N／E59K／K99Eを含む。別の実施形態では、IL-12 p40バリエーションは、D34N／E59Qを含む。別の実施形態では、IL-12 p40バリエーションは、E59Q／E187Qを含む。別の実施形態では、IL-12 p40バリエーションは、S43E／E59Qを含む。別の実施形態では、IL-12 p40バリエーションは、S43K／E49Qを含む。別の実施形態では、IL-12 p40バリエーションは、E59Q／K163Eを含む。別の実施形態では、IL-12 p40バリエーションは、E59Q／K99Eを含む。別の実施形態では、IL-12 p40バリエーションは、E59Q／K258Eを含む。別の実施形態では、IL-12 p40バリエーションは、E59Q／K260Eを含む。別の実施形態では、IL-12 p40バリエーションは、E59K／K99Eを含む。別の実施形態では、IL-12 p40バリエーションは、D18K／E59K／K99Eを含む。別の実施形態では、IL-12 p40バリエーションは、E59K／K99E／K264Eを含む。別の実施形態では、IL-12 p40バリエーションは、E59K／K99Yを含む。別の実施形態では、IL-12 p40バリエーションは、E59Y／K99Eを含む。別の実施形態では、IL-12 p40バリエーションは、E45K／E59K／K99Eを含む。別の実施形態では、IL-12 p40バリエーションは、E59K／K99E／Q144Eを含む。別の実施形態では、IL-12 p40バリエーションは、E59K／K99E／Q144Kを含む。別の実施形態では、IL-12 p40バリエーションは、E59K／K99E／R159Eを含む。別の実施形態では、IL-12 p40バリエーションは、E59K／K99E／K264Eを含む。別の実施形態では、IL-12 p40バリエーションは、D18K／E59K／K99E／K264Eを含む。別の実施形態では、IL-12 p40バリエーションは、D18K／E59K／K99E／C252Sである。別の実施形態では、IL-12 p40バリエーションは、D18K／E59K／K99E／C252S／K264Eを含む。別の実施形態では、IL-12 p40バリエーションは、E59K／K99Y／C252Sを含む。別の実施形態では、IL-12 p40バリエーションは、E59K／K99E／C252S／K264Eを含む。別の実施形態では、IL-12 p40バリエーションは、E59K／K99E／C252Sを含む。別の実施形態では、IL-12 p40バリエーションは、N103D／N113Dを含む。別の実施形態では、IL-12 p40バリエーションは

10

20

30

40

50

、N103D/N200Dを含む。別の実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N103D/N281Dを含む。別の実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N113D/N200Dを含む。別の実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N113D/N281Dを含む。別の実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N200D/N281Dを含む。別の実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N103D/N113D/N200Dを含む。別の実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N103D/N113D/N281Dを含む。別の実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N103D/N200D/N281Dを含む。別の実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N113D/N200D/N281Dを含む。別の実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N103Q/N113Qを含む。別の実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N103Q/N200Qを含む。別の実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N103Q/N281Qを含む。別の実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N113Q/N200Qを含む。別の実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N113Q/N281Qを含む。別の実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N200Q/N281Qを含む。別の実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N103Q/N113Q/N200Qを含む。別の実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N103Q/N113Q/N281Q、を含む。別の実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N103Q/N200Q/N281Qを含む。別の実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N113Q/N200Q/N281Qを含む。別の実施形態では、IL-12p40バリエーションは、N103Q/N113Q/N281Qを含む。別の実施形態では、IL-12p40バリエーションは、E59K/K99E/N103Q/C252S/K264Eを含む。別の実施形態では、IL-12p40バリエーションは、E59K/K99E/N113Q/C252S/K264Eを含む。別の実施形態では、IL-12p40バリエーションは、E59K/K99E/N200Q/C252S/K264Eを含む。別の実施形態では、IL-12p40バリエーションは、E59K/K99E/N281Q/C252S/K264Eを含む。別の実施形態では、IL-12p40バリエーションは、E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264Eを含む。別の実施形態では、IL-12p40バリエーションは、E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264Eを含む。別の実施形態では、IL-12p40バリエーションは、E59K/K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264Eを含む。別の実施形態では、IL-12p40バリエーションは、E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/K264Eを含む。別の実施形態では、IL-12p40バリエーションは、E59K/K99E/N113Q/N281Q/C252S/K264Eを含む。別の実施形態では、IL-12p40バリエーションは、E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264Eを含む。別の実施形態では、IL-12p40バリエーションは、E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/C252S/K264Eを含む。別の実施形態では、IL-12p40バリエーションは、E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252S/K264Eを含む。別の実施形態では、IL-12p40バリエーションは、E59K/K99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264Eを含む。別の実施形態では、IL-12p40バリエーションは、E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264Eを含む。

加えて、これらの修飾は、単独で、または任意の他のIL-12p40バリエーション、例えば、発現バリエーションと組み合わせて使用することができる。

【0530】

IL-12p40サブユニットは、位置252に遊離システイン（図1に示されるヒトIL-12サブユニットベータ（IL-12p40）成熟形態配列に従って付番される）を有し、これは他の遊離システインと結合し、少なくとも不均一性、さらに悪い場合には免疫原性をもたらす得る。したがって、IL-12p40バリエーションは、例えば、C252S修飾を導入することによって（他の置換も使用され得るが）、遊離システインを除去

10

20

30

40

50

するように操作された。C 2 5 2（例えば、C 2 5 2 S）の修飾は、単独で、または任意の他のI L - 1 2 p 4 0バリエーション、例えば、親和性もしくは発現バリエーションと組み合わせて使用することができる。遊離システインを除去するC 2 5 2での修飾を含む例示的なI L - 1 2 p 4 0バリエーションは、図65に示される。例示的なI L - 1 2 - F c融合タンパク質は、追加のバリエーションI L - 1 2 p 4 0サブユニットで生成され（generate）、その配列は、図66に示され、実施例1Bに一般的に記載されるように生成（produce）される。加えて、これらの修飾は、単独で、または任意の他のI L - 1 2 p 4 0バリエーション、例えば、発現バリエーションと組み合わせて使用することができる。

【0531】

アミノ酸修飾を導入することができるI L - 1 2 p 3 5上の好適な部位は、Q 2 0、N 2 1、Q 3 5、E 3 8、S 4 4、E 4 5、E 4 6、H 4 9、K 5 4、D 5 5、T 5 9、V 6 0、E 6 1、C 6 3、L 6 4、P 6 5、E 6 7、L 6 8、N 7 1、S 7 3、C 7 4、L 7 5、N 7 6、E 7 9、N 8 5、F 9 6、M 9 7、L 8 9、L 1 2 4、M 1 2 5、Q 1 3 0、Q 1 3 5、N 1 3 6、E 1 4 3、Q 1 4 6、N 1 5 1、E 1 5 3、K 1 5 8、E 1 6 2、E 1 6 3、D 1 6 5、I 1 7 1、R 1 8 1、I 1 8 2、R 1 8 3、V 1 8 5、T 1 8 6、D 1 8 8、R 1 8 9、V 1 9 0、S 1 9 2、Y 1 9 3、およびA 1 9 6（図1に示されるヒトI L - 1 2サブユニットアルファ（I L - 1 2 p 3 5）成熟形態配列に従って付番される）からなる群から選択される。例示的な修飾は、N 2 1 D、Q 3 5 D、E 3 8 Q、D 5 5 Q、D 5 5 K、N 7 1 D、N 7 1 Q、L 7 5 A、N 7 6 D、E 7 9 Q、N 8 5 D、N 8 5 Q、L 8 9 A、F 9 6 A、M 9 7 A、L 1 2 4 A、M 1 2 5 A、Q 1 3 0 E、Q 1 3 5 E、N 1 3 6 D、E 1 4 3 Q、Q 1 4 6 E、N 1 5 1 D、N 1 5 1 K、E 1 5 3 K、E 1 5 3 Q、K 1 5 8 E、E 1 6 2 Q、E 1 6 3 Q、D 1 6 5 N、I 1 7 1 A、N 1 9 5 D、およびN 1 9 5 Qからなる群から選択され、I L - 1 2 p 3 5親和性バリエーションは、これらの部位の1つ以上での修飾を含むことができる。したがって、一実施形態では、I L - 1 2 p 3 5バリエーションは、N 7 1 D / N 8 5 D / N 1 9 5 Dを含む。別の実施形態では、I L - 1 2 p 3 5バリエーションは、N 1 5 1 D / E 1 5 3 Qを含む。別の実施形態では、I L - 1 2 p 3 5バリエーションは、N 1 5 1 D / D 1 6 5 Nを含む。別の実施形態では、I L - 1 2 p 3 5バリエーションは、Q 1 3 0 E / N 1 5 1 Dを含む。別の実施形態では、I L - 1 2 p 3 5バリエーションは、N 1 5 1 D / K 1 5 8 Eを含む。別の実施形態では、I L - 1 2 p 3 5バリエーションは、E 7 9 Q / N 1 5 1 Dを含む。別の実施形態では、I L - 1 2 p 3 5バリエーションは、D 5 5 Q / N 1 5 1 Dを含む。別の実施形態では、I L - 1 2 p 3 5バリエーションは、N 1 3 6 D / N 1 5 1 Dを含む。別の実施形態では、I L - 1 2 p 3 5バリエーションは、N 2 1 D / N 1 5 1 Dを含む。別の実施形態では、I L - 1 2 p 3 5バリエーションは、E 1 4 3 Q / N 1 5 1 Dを含む。別の実施形態では、I L - 1 2 p 3 5バリエーションは、N 7 1 Q / N 8 5 Qを含む。別の実施形態では、I L - 1 2 p 3 5バリエーションは、N 7 1 Q / N 1 9 5 Qを含む。別の実施形態では、I L - 1 2 p 3 5バリエーションは、N 8 5 Q / N 1 9 5 Qを含む。別の実施形態では、I L - 1 2 p 3 5バリエーションは、N 7 1 Q / N 8 5 Q / N 1 9 5 Qを含む。別の実施形態では、I L - 1 2 p 3 5バリエーションは、N 7 1 D / N 8 5 Dを含む。別の実施形態では、I L - 1 2 p 3 5バリエーションは、N 7 1 D / N 1 9 5 Dを含む。別の実施形態では、I L - 1 2 p 3 5バリエーションは、N 8 5 D / N 1 9 5 Dを含む。

【0532】

加えて、これらの修飾は、単独で、または任意の他のI L - 1 2 p 3 5バリエーション、例えば、発現バリエーションと組み合わせて使用することができる。

【0533】

生物学的に機能的なI L - 1 2ヘテロ二量体複合体は、野生型I L - 1 2 p 4 0サブユニットおよび野生型I L - 1 2 p 3 5サブユニット、バリエーションI L - 1 2 p 4 0サブユニットおよび野生型I L - 1 2 p 3 5サブユニット、野生型I L - 1 2 p 4 0サブユニットおよびバリエーションI L - 1 2 p 3 5サブユニット、またはバリエーションI L - 1 2 p 4 0サブユニットおよびバリエーションI L - 1 2 p 3 5サブユニットを含むことができる。

【0534】

生物学的に機能的なIL-12二価ホモ二量体複合体は、野生型IL-12 p40サブユニットおよび野生型IL-12 p35サブユニット、バリエントIL-12 p40サブユニットおよび野生型IL-12 p35サブユニット、野生型IL-12 p40サブユニットおよびバリエントIL-12 p35サブユニット、またはバリエントIL-12 p40サブユニットおよびバリエントIL-12 p35サブユニットを含むことができる。

【0535】

V I . ドメインリンカー

いくつかの実施形態では、IL-12 p35およびIL-12 p40サブユニットは、リンカーを介して一緒に結合される。任意に、サブユニットは、リンカーを介して結合されない。他の実施形態では、IL-12 p35およびIL-12 p40サブユニットは、非共有結合される。いくつかの実施形態では、IL-12 p35サブユニットは、リンカーを介してFcドメインに結合される。特定の実施形態では、IL-12 p35サブユニットは、直接、例えば、リンカーなしで、Fcドメインに結合される。他の実施形態では、IL-12 p40サブユニットは、リンカーを介してFcドメインに結合される。他の実施形態では、IL-12 p40サブユニットは、直接Fcドメインに結合される。いくつかの場合では、リンカーは、IL-12 p35サブユニットまたはIL-12 p40サブユニットをFcドメインに結合するために使用されない。

【0536】

いくつかの実施形態では、リンカーは、本明細書に概説される任意の2つのドメインとともに結合するために使用される「ドメインリンカー」である。任意の好適なリンカーを使用することができるが、多くの実施形態は、例えば、nが少なくとも0（および一般に0~1~2~3~4~5）である、(GS)_n、(GSGGS)_n、(GGGGGS)_n、および(GGGGS)_nを含む、グリシン-セリンポリマー、ならびに各ドメインがその生物学的機能を保持することを可能するために十分な長さおよび柔軟性を有する2つのドメインの組換え結合を可能にする任意のペプチド配列を利用する。特定の場合では、有用なリンカーは、(GGGGGS)₀または(GGGGS)₁または(GGGGS)₂を含む。例示的なドメインリンカーを図6に示す。いくつかの場合では、以下に概説されるように、「鎖性」に注意を払って、荷電ドメインリンカーを本明細書に議論されるように使用することができる。

【0537】

加えて、Fc融合体におけるGly-SerリンカーのセリンがO-グリコシル化に供され得ることが以前に報告されている。したがって、(Fc融合体の文脈で)不均一性を減少させる最終的なアプローチは、これまで使用されたGly-SerリンカーをGly-Alaリンカーで置き換えることである。

【0538】

V I I . 本発明の有用なフォーマット

図8A~Fに示されるように、本発明のヘテロ二量体融合タンパク質のいくつかの有用なフォーマットがある。一般に、本発明のヘテロ二量体融合タンパク質は、2つの機能的成分：IL-12ヘテロ二量体成分およびFc成分を有し、その両方は、本明細書で概説されるように異なる形態をとることができ、その両方は、任意の構成で他の成分と組み合わせることができる。

【0539】

いくつかの実施形態では、IL-12 p35およびIL-12 p40サブユニットは、任意にドメインリンカーと共有結合され、本明細書では単鎖IL-12複合体または「scIL-12」と称される。scIL-12は、任意にドメインリンカーで、IL-12 p40にN末端結合したIL-12 p35またはIL-12 p35にN末端結合したIL-12 p40のいずれかを含むことができる。scIL-12における2つのサブユニットの順序は、以下のように指定され得る：IL-12 p40サブユニットが（ドメインリンカーありまたはなしで）IL-12 p35サブユニットにN末端結合している「scI

L-12 (p 40 / p 35)」、またはIL-12 p 35が(ドメインリンカーありまたはなしで)IL-12 p 340サブユニットにN末端結合している「scIL-12 (p 35 / p 40)」。

【0540】

いくつかの実施形態では、IL-12 p 35およびIL-12 p 40サブユニットは、共有結合されないが、むしろヘテロ二量体として組み立てられる第1および第2のFcドメインにそれぞれ共有結合される。

【0541】

第1および第2のFcドメインは、EU付番に従って、a) L368D / K370SおよびS364K; b) L368D / K370SおよびS364K / E357L; c) L368D / K370SおよびS364K / E357Q; d) S267K / L368D / K370S; e) T411E / K360E / Q362EおよびD401K; f) L368E / K370SおよびS364K; g) K370SおよびS364K / E357Q; ならびにh) T366S / L368A / Y407VおよびT366W (任意に架橋ジスルフィド、T366S / L368A / Y407V / Y349CおよびT366W / S354Cを含む) からなる群から選択されるアミノ酸置換のセットを有することができる。

【0542】

いくつかの実施形態では、第1および/または第2のFcドメインは、EU付番に従って、Q295E / N384D / Q418E / N421D、を含むアミノ酸置換の追加のセットを有する。

【0543】

任意に、第1および/または第2のFcドメインは、EU付番に従って、G236R / L328R、E233P / L234V / L235A / G236_ / S239K、E233P / L234V / L235A / G236_ / S239K / A327G、E233P / L234V / L235A / G236_ / S267K / A327G、E233P / L234V / L235A / G236_、およびE233P / L234V / L235A / G236_ / S267Kからなる群から選択されるアミノ酸置換の追加のセットを有する。

【0544】

任意に、第1および/または第2のFcドメインは、半減期延長のために428L / 434Sバリエーションを有する。

【0545】

A. IL-12-ヘテロFcフォーマット

一実施形態では、本発明は、N末端IL-12ヘテロ二量体Fc融合体または「IL-12-ヘテロFc」フォーマットを提供する。この実施形態では、図8Aに示されるように、ヘテロ二量体融合タンパク質は、2つの単量体を含む。第1の単量体は、(N末端からC末端へ)IL-12 p 40-任意のドメインリンカー-Fcを含む。第2の単量体は、(N末端からC末端へ)IL-12 p 35-任意のドメインリンカー-Fcを含む。

【0546】

IL-12-ヘテロFcフォーマットでは、好ましい実施形態は、スキューバリエーション対S364K / E357Q : L368D / K370Sを利用する。

【0547】

IL-12-ヘテロFcフォーマットでは、好ましい実施形態は、図9 (鎖1鎖2を含むXENP27201) に示される。

【0548】

いくつかの実施形態では、IL-12-ヘテロFcフォーマットは、a) N末端からC末端へ、i) IL-12 p 40ドメインタンパク質、ii) 任意の第1のドメインリンカー、iii) 第1のバリエーションFcドメインタンパク質を含む第1の単量体と、b) N末端からC末端へ、i) IL-12 p 35ドメインタンパク質、ii) 任意に第2のドメインリンカー、iii) 第2のバリエーションFcドメインタンパク質を含む第2の単量体と、を含む、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

10

20

30

40

50

【0549】

いくつかの実施形態では、Fcバリエーションは、本明細書で提供されるような1つ以上のスキュー、pI、およびアブレーションバリエーションを含む。一実施形態では、Fcバリエーションは、特定のスキュー、pI、およびアブレーションバリエーションを含む。いくつかの実施形態では、第1および第2のFcドメインのヘテロ二量体化を促進する修飾は、EU付番に従って、L368D/K370SおよびS364K；L368D/K370SおよびS364K/E357L；L368D/K370SおよびS364K/E357Q；T411E/K360E/Q362EおよびD401K；L368E/K370SおよびS364K；K370SおよびS364K/E357Q；T366S/L368A/Y407VおよびT366W；T366S/L368A/Y407V/Y349CおよびT366W/S354Cからなる群から選択されるアミノ酸置換のセットである。いくつかの実施形態では、第1および/または第2のFcドメインは、EU付番に従って、Q295E/N384D/Q418E/N421D、を含むアミノ酸置換の追加のセットを有する。いくつかの実施形態では、第1および/または第2のFcドメインは、EU付番に従って、G236R/L328R、E233P/L234V/L235A/G236_/S239K、E233P/L234V/L235A/G236_/S239K/A327G、E233P/L234V/L235A/G236_/S267K/A327G、E233P/L234V/L235A/G236_、およびE233P/L234V/L235A/G236_/S267Kからなる群から選択されるアミノ酸置換の追加のセットを有する。いくつかの実施形態では、第1および第2のFcドメインは、アミノ酸置換M428L/N424Sをさらに含む。

【0550】

このフォーマットでは、有用なIL-12p40タンパク質ドメインは、これに限定されないが、配列番号4（ヒトIL-12サブユニットベータ（IL-12p40）成熟形態配列）を含む。このフォーマットでは、有用なIL-12p40バリエーションは、これらに限定されないが、E59K、E59Q、D18N、D18K、E32Q、E33Q、D34N、D34K、Q42E、S43E、S43K、E45Q、Q56E、D62N、E73Q、D87N、K99E、K99Y、E100Q、N103D、N103Q、N113D、N113Q、Q144E、D161N、R159E、K163E、E187Q、N200D、N200Q、N218Q、Q229E、E235Q、C252S、Q256N、K258E、K260E、E262Q、K264E、N281D、N281Q、およびE299Qを含む。このフォーマットでは、有用なIL-12p40バリエーションは、これらに限定されないが、N103D/N113D/N200D/N281D、Q42E/E45Q、E45Q/Q56E、Q42E/E59Q、Q56E/E59Q、Q42E/E45Q/Q56E、E45Q/Q56E/E59Q、E32Q/E59Q、D34N/E59K、D34N/E59K/K99E、D34K/E59K/K99E、E32Q/D34N/E59K/K99E、E32K/D34N/E59K/K99E、D34N/E59Q、E59Q/E187Q、S43E/E59Q、S43K/E49Q、E59Q/K163E、E59Q/K99E、E59Q/K258E、E59Q/K260E、E59K/K99E、D18K/E59K/K99E、E59K/K99E/K264E、E59K/K99Y、E59Y/K99Y、E59Y/K99E、E45K/E59K/K99E、E59K/K99E/Q144E、E59K/K99E/Q144K、E59K/K99E/R159E、E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/C252S、D18K/E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99Y/C252S、E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99E/C252S、N103D/N113D、N103D/N200D、N103D/N281D、N113D/N200D、N113D/N281D、N200D/N281D、N103D/N113D/N200D、N103D/N113D/N281D、N103D/N200D/N281D、N113D/N200D/N281D、N103Q/N113Q、N103Q/N200Q、N

103Q/N281Q、N113Q/N200Q、N113Q/N281Q、N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N200Q、N103Q/N113Q/N281Q、N103Q/N200Q/N281Q、N113Q/N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N200Q/N281Q、E59K/K99E/N103Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、およびE59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264Eを含む。

【0551】

このフォーマットでは、IL-12p35タンパク質ドメインは、配列番号2（ヒトIL-12サブユニットアルファ（IL-12p35）成熟形態配列）を含む。このフォーマットでは、有用なIL-12p35バリエーションは、これらに限定されないが、N21D、Q35D、E38Q、D55Q、D55K、N71D、N71Q、L75A、N76D、E79Q、N85D、N85Q、L89A、F96A、M97A、L124A、M125A、Q130E、Q135E、N136D、E143Q、Q146E、N151D、N151K、E153K、E153Q、K158E、E162Q、E163Q、D165N、I171A、N195D、およびN195Qを含む。このフォーマットでは、有用なIL-12p35バリエーションは、これらに限定されないが、N71D/N85D/N195D、N151D/E153Q、N151D/D165N、Q130E/N151D、N151D/K158E、E79Q/N151D、D55Q/N151D、N136D/N151D、N21D/N151D、E143Q/N151D、N71Q/N85Q、N71Q/N195Q、N85Q/N195Q、N71Q/N85Q/N195Q、N71D/N85D、N71D/N195D、およびN85D/N195Dを含む。

【0552】

このフォーマットでは、バリエーションIL-12p40サブユニットおよびIL-12p35サブユニットの有用な組み合わせは、これらに限定されないが、IL-12p40（E59K/K99Y）およびIL-12p35（配列番号2）、IL-12p40（D18K/E59K/K99E）およびIL-12p35（配列番号2）、IL-12p40（E59K/K99E/K264E）およびIL-12p35（配列番号2）、IL-12p40（D18K/E59K/K99E/K264E）およびIL-12p35（配列番号2）、IL-12p40（D18K/E59K/K99E/C252S）およびIL-12p35（配列番号2）、IL-12p40（D18K/E59K/K99E/C252S/K264E）およびIL-12p35（配列番号2）、IL-12p40（E59K/K99Y/C252S）およびIL-12p35（配列番号2）、IL-12p40（E59K/K99E/C252S/K264E）およびIL-12p35（配列番号2）、ならびにIL-12p40（E59K/K99E/C252S）およびIL-12p35（配列番号2）を含む。

【0553】

このフォーマットでは、バリエーションIL-12p40サブユニットおよびIL-12p35サブユニットの有用な組み合わせは、これに限定されないが、配列番号2（ヒトIL-12サブユニットアルファ（IL-12p35）成熟形態配列）を含むIL-12p35と、これらに限定されないが、E59K、E59Q、D18N、D18K、E32Q、

10

20

30

40

50

E 3 3 Q、D 3 4 N、D 3 4 K、Q 4 2 E、S 4 3 E、S 4 3 K、E 4 5 Q、Q 5 6 E、
 D 6 2 N、E 7 3 Q、D 8 7 N、K 9 9 E、K 9 9 Y、E 1 0 0 Q、N 1 0 3 D、N 1 0
 3 Q、N 1 1 3 D、N 1 1 3 Q、Q 1 4 4 E、D 1 6 1 N、R 1 5 9 E、K 1 6 3 E、E
 1 8 7 Q、N 2 0 0 D、N 2 0 0 Q、N 2 1 8 Q、Q 2 2 9 E、E 2 3 5 Q、C 2 5 2 S
 、Q 2 5 6 N、K 2 5 8 E、K 2 6 0 E、E 2 6 2 Q、K 2 6 4 E、N 2 8 1 D、N 2 8
 1 Q、E 2 9 9 Q、N 1 0 3 D/N 1 1 3 D/N 2 0 0 D/N 2 8 1 D、Q 4 2 E/E 4
 5 Q、E 4 5 Q/Q 5 6 E、Q 4 2 E/E 5 9 Q、Q 5 6 E/E 5 9 Q、Q 4 2 E/E 4
 5 Q/Q 5 6 E、E 4 5 Q/Q 5 6 E/E 5 9 Q、E 3 2 Q/E 5 9 Q、D 3 4 N/E 5
 9 K、D 3 4 N/E 5 9 K/K 9 9 E、D 3 4 K/E 5 9 K/K 9 9 E、E 3 2 Q/D 3
 4 N/E 5 9 K/K 9 9 E、E 3 2 K/D 3 4 N/E 5 9 K/K 9 9 E、D 3 4 N/E 5
 9 Q、E 5 9 Q/E 1 8 7 Q、S 4 3 E/E 5 9 Q、S 4 3 K/E 4 9 Q、E 5 9 Q/K
 1 6 3 E、E 5 9 Q/K 9 9 E、E 5 9 Q/K 2 5 8 E、E 5 9 Q/K 2 6 0 E、E 5 9
 K/K 9 9 E、D 1 8 K/E 5 9 K/K 9 9 E、E 5 9 K/K 9 9 E/K 2 6 4 E、E 5
 9 K/K 9 9 Y、E 5 9 Y/K 9 9 Y、E 5 9 Y/K 9 9 E、E 4 5 K/E 5 9 K/K 9
 9 E、E 5 9 K/K 9 9 E/Q 1 4 4 E、E 5 9 K/K 9 9 E/Q 1 4 4 K、E 5 9 K/
 K 9 9 E/R 1 5 9 E、E 5 9 K/K 9 9 E/K 2 6 4 E、D 1 8 K/E 5 9 K/K 9 9
 E/K 2 6 4 E、D 1 8 K/E 5 9 K/K 9 9 E/C 2 5 2 S、D 1 8 K/E 5 9 K/K
 9 9 E/C 2 5 2 S/K 2 6 4 E、E 5 9 K/K 9 9 Y/C 2 5 2 S、E 5 9 K/K 9 9
 E/C 2 5 2 S/K 2 6 4 E、E 5 9 K/K 9 9 E/C 2 5 2 S、N 1 0 3 D/N 1 1 3
 D、N 1 0 3 D/N 2 0 0 D、N 1 0 3 D/N 2 8 1 D、N 1 1 3 D/N 2 0 0 D、N 1
 1 3 D/N 2 8 1 D、N 2 0 0 D/N 2 8 1 D、N 1 0 3 D/N 1 1 3 D/N 2 0 0 D、
 N 1 0 3 D/N 1 1 3 D/N 2 8 1 D、N 1 0 3 D/N 2 0 0 D/N 2 8 1 D、N 1 1 3
 D/N 2 0 0 D/N 2 8 1 D、N 1 0 3 Q/N 1 1 3 Q、N 1 0 3 Q/N 2 0 0 Q、N 1
 0 3 Q/N 2 8 1 Q、N 1 1 3 Q/N 2 0 0 Q、N 1 1 3 Q/N 2 8 1 Q、N 2 0 0 Q/
 N 2 8 1 Q、N 1 0 3 Q/N 1 1 3 Q/N 2 0 0 Q、N 1 0 3 Q/N 1 1 3 Q/N 2 8 1
 Q、N 1 0 3 Q/N 2 0 0 Q/N 2 8 1 Q、N 1 1 3 Q/N 2 0 0 Q/N 2 8 1 Q、N 1
 0 3 Q/N 1 1 3 Q/N 2 0 0 Q/N 2 8 1 Q、E 5 9 K/K 9 9 E/N 1 0 3 Q/C 2
 5 2 S/K 2 6 4 E、E 5 9 K/K 9 9 E/N 1 1 3 Q/C 2 5 2 S/K 2 6 4 E、E 5
 9 K/K 9 9 E/N 2 0 0 Q/C 2 5 2 S/K 2 6 4 E、E 5 9 K/K 9 9 E/N 2 8 1
 Q/C 2 5 2 S/K 2 6 4 E、E 5 9 K/K 9 9 E/N 1 0 3 Q/N 1 1 3 Q/C 2 5 2
 S/K 2 6 4 E、E 5 9 K/K 9 9 E/N 1 0 3 Q/N 2 0 0 Q/C 2 5 2 S/K 2 6 4
 E、E 5 9 K/K 9 9 E/N 1 0 3 Q/N 2 8 1 Q/C 2 5 2 S/K 2 6 4 E、E 5 9 K
 /K 9 9 E/N 1 1 3 Q/N 2 0 0 Q/C 2 5 2 S/K 2 6 4 E、E 5 9 K/K 9 9 E/
 N 1 1 3 Q/N 2 8 1 Q/C 2 5 2 S/K 2 6 4 E、E 5 9 K/K 9 9 E/N 2 0 0 Q/
 N 2 8 1 Q/C 2 5 2 S/K 2 6 4 E、E 5 9 K/K 9 9 E/N 1 0 3 Q/N 1 1 3 Q/
 N 2 0 0 Q/C 2 5 2 S/K 2 6 4 E、E 5 9 K/K 9 9 E/N 1 0 3 Q/N 2 0 0 Q/
 N 2 8 1 Q/C 2 5 2 S/K 2 6 4 E、E 5 9 K/K 9 9 E/N 1 1 3 Q/N 2 0 0 Q/
 N 2 8 1 Q/C 2 5 2 S/K 2 6 4 E、および E 5 9 K/K 9 9 E/N 1 0 3 Q/N 1 1
 3 Q/N 2 0 0 Q/N 2 8 1 Q/C 2 5 2 S/K 2 6 4 Eを含む、1つ以上の置換を含む
 バリエーション IL-12 p 4 0 との組み合わせを含む。

【0554】

このフォーマットでは、IL-12 p 4 0 および IL-12 p 3 5 バリエーションの有用な
 組み合わせは、これに限定されないが、配列番号 4（ヒト IL-12 サブユニットベータ
 （IL-12 p 4 0）成熟形態配列）を含む IL-12 p 4 0 と、N 2 1 D、Q 3 5 D、
 E 3 8 Q、D 5 5 Q、D 5 5 K、N 7 1 D、N 7 1 Q、L 7 5 A、N 7 6 D、E 7 9 Q、
 N 8 5 D、N 8 5 Q、L 8 9 A、F 9 6 A、M 9 7 A、L 1 2 4 A、M 1 2 5 A、Q 1 3
 0 E、Q 1 3 5 E、N 1 3 6 D、E 1 4 3 Q、Q 1 4 6 E、N 1 5 1 D、N 1 5 1 K、E
 1 5 3 K、E 1 5 3 Q、K 1 5 8 E、E 1 6 2 Q、E 1 6 3 Q、D 1 6 5 N、I 1 7 1 A
 、N 1 9 5 D、N 1 9 5 Q、N 7 1 D/N 8 5 D/N 1 9 5 D、N 1 5 1 D/E 1 5 3 Q
 、N 1 5 1 D/D 1 6 5 N、Q 1 3 0 E/N 1 5 1 D、N 1 5 1 D/K 1 5 8 E、E 7 9

Q/N151D、D55Q/N151D、N136D/N151D、N21D/N151D、E143Q/N151D、N71Q/N85Q、N71Q/N195Q、N85Q/N195Q、N71Q/N85Q/N195Q、N71D/N85D、N71D/N195D、およびN85D/N195Dを含むIL-12p35との組み合わせを含む。

【0555】

このフォーマットでは、IL-12p40バリエーションおよびIL-12p35バリエーションの有用な組み合わせは、これに限定されないが、E59K、E59Q、D18N、D18K、E32Q、E33Q、D34N、D34K、Q42E、S43E、S43K、E45Q、Q56E、D62N、E73Q、D87N、K99E、K99Y、E100Q、N103D、N103Q、N113D、N113Q、Q144E、D161N、R159E、K163E、E187Q、N200D、N200Q、N218Q、Q229E、E235Q、C252S、Q256N、K258E、K260E、E262Q、K264E、N281D、N281Q、E299Q、N103D/N113D/N200D/N281D、Q42E/E45Q、E45Q/Q56E、Q42E/E59Q、Q56E/E59Q、Q42E/E45Q/Q56E、E45Q/Q56E/E59Q、E32Q/E59Q、D34N/E59K、D34N/E59K/K99E、D34K/E59K/K99E、E32Q/D34N/E59K/K99E、E32K/D34N/E59K/K99E、D34N/E59Q、E59Q/E187Q、S43E/E59Q、S43K/E49Q、E59Q/K163E、E59Q/K99E、E59Q/K258E、E59Q/K260E、E59K/K99E、D18K/E59K/K99E、E59K/K99E/K264E、E59K/K99Y、E59Y/K99Y、E59Y/K99E、E45K/E59K/K99E、E59K/K99E/Q144E、E59K/K99E/Q144K、E59K/K99E/R159E、E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/C252S、D18K/E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99Y/C252S、E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99E/C252S、N103D/N113D、N103D/N200D、N103D/N281D、N113D/N200D、N113D/N281D、N200D/N281D、N103D/N113D/N200D、N103D/N113D/N281D、N103D/N200D/N281D、N113D/N200D/N281D、N103Q/N113Q、N103Q/N200Q、N103Q/N281Q、N113Q/N200Q、N113Q/N281Q、N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N200Q、N103Q/N113Q/N281Q、N103Q/N200Q/N281Q、N113Q/N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N200Q/N281Q、E59K/K99E/N103Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、およびE59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E；からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を含むIL-12p40バリエーションと、N21D、Q35D、E38Q、D55Q、D55K、N71D、N71Q、L75A、N76D、E79Q、N85D、N85Q、L89A、F96A、M97A、L124A、M125A、Q130E、Q135E、N136D、E143Q、Q146E、N151D、N

10

20

30

40

50

151K、E153K、E153Q、K158E、E162Q、E163Q、D165N、I171A、N195D、N195Q、N71D/N85D/N195D、N151D/E153Q、N151D/D165N、Q130E/N151D、N151D/K158E、E79Q/N151D、D55Q/N151D、N136D/N151D、N21D/N151D、E143Q/N151D、N71Q/N85Q、N71Q/N195Q、N85Q/N195Q、N71Q/N85Q/N195Q、N71D/N85D、N71D/N195D、およびN85D/N195Dからなる群から選択される1つ以上の置換を含むIL-12p35バリエーションとの組み合わせを含む。

【0556】

このフォーマットでは、有用な実施形態は、これらに限定されないが、バリエーションIL-12p40サブユニットドメインが、第1のドメインリンカーを使用して当該第1のFcドメインに結合し、かつ/または当該IL-12p35サブユニットドメインが、第2のドメインリンカーを使用して当該第2のFcドメインに結合しているものを含む。

【0557】

このフォーマットでは、有用な実施形態には、これらに限定されないが、XENP31251、XENP31254、XENP31258、XENP32186、XENP32187、XENP32188、XENP32189、XENP32190、およびXENP32191が含まれる。さらなる実施形態では、XENP31251、XENP31254、XENP31258、XENP32186、XENP32187、XENP32188、XENP32189、XENP32190、およびXENP32191は、さらなる糖鎖工学を含む。

【0558】

このフォーマットでは、有用な実施形態には、図44A~44Kおよび図66A~66Qに見られるものが含まれるが、これらに限定されない。

【0559】

B. ヘテロFc-IL-12フォーマット

別の実施形態では、本発明は、C末端IL-12ヘテロ二量体Fc融合体または「ヘテロFc-IL-12」フォーマットを提供する。この実施形態では、図8Bに示されるように、ヘテロ二量体融合タンパク質は、2つの単量体を含む。第1の単量体は、(N末端からC末端へ)Fc-任意のドメインリンカー-IL-12p40を含む。第2の単量体は、(N末端からC末端へ)Fc-任意のドメインリンカー-IL-12p35を含む。

【0560】

ヘテロFc-IL-12フォーマットでは、好ましい実施形態は、スキューバリエーション対S364K/E357Q:L368D/K370Sを利用する。

【0561】

IL-12-ヘテロFcフォーマットでは、好ましい実施形態は、図10(鎖1鎖2を含むXENP27202)に示される。

【0562】

いくつかの実施形態では、ヘテロFc-IL-12フォーマットは、a) N末端からC末端へ、i) 第1のバリエーションFcドメインタンパク質、ii) 任意の第1のドメインリンカー、iii) IL-12p40ドメインタンパク質を含む第1の単量体と、b) N末端からC末端へ、i) 第2のバリエーションFcドメインタンパク質、ii) 任意に第2のドメインリンカー、iii) IL-12p35ドメインタンパク質を含む第2の単量体と、を含む、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0563】

いくつかの実施形態では、Fcバリエーションは、本明細書で提供されるような1つ以上のスキュー、pI、およびアブレーションバリエーションを含む。一実施形態では、Fcバリエーションは、特定のスキュー、pI、およびアブレーションバリエーションを含む。いくつかの実施形態では、第1および第2のFcドメインのヘテロ二量体化を促進する修飾は、EU付番に従って、L368D/K370SおよびS364K;L368D/K370Sおよび

10

20

30

40

50

S 3 6 4 K / E 3 5 7 L ; L 3 6 8 D / K 3 7 0 S および S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q ; T 4 1 1 E / K 3 6 0 E / Q 3 6 2 E および D 4 0 1 K ; L 3 6 8 E / K 3 7 0 S および S 3 6 4 K ; K 3 7 0 S および S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q ; T 3 6 6 S / L 3 6 8 A / Y 4 0 7 V および T 3 6 6 W ; T 3 6 6 S / L 3 6 8 A / Y 4 0 7 V / Y 3 4 9 C および T 3 6 6 W / S 3 5 4 C からなる群から選択されるアミノ酸置換のセットである。いくつかの実施形態では、第 1 および / または第 2 の F c ドメインは、E U 付番に従って、Q 2 9 5 E / N 3 8 4 D / Q 4 1 8 E / N 4 2 1 D、を含むアミノ酸置換の追加のセットを有する。いくつかの実施形態では、第 1 および / または第 2 の F c ドメインは、E U 付番に従って、G 2 3 6 R / L 3 2 8 R、E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 __ / S 2 3 9 K、E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 __ / S 2 3 9 K / A 3 2 7 G、E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 __ / S 2 6 7 K / A 3 2 7 G、E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 __、および E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 __ / S 2 6 7 K からなる群から選択されるアミノ酸置換の追加のセットを有する。いくつかの実施形態では、第 1 および第 2 の F c ドメインは、アミノ酸置換 M 4 2 8 L / N 4 2 4 S をさらに含む。

【0564】

このフォーマットでは、有用な I L - 1 2 p 4 0 タンパク質ドメインは、これに限定されないが、配列番号 4 (ヒト I L - 1 2 サブユニットベータ (I L - 1 2 p 4 0) 成熟形態配列) を含む。このフォーマットでは、有用な I L - 1 2 p 4 0 バリエーションは、これらに限定されないが、E 5 9 K、E 5 9 Q、D 1 8 N、D 1 8 K、E 3 2 Q、E 3 3 Q、D 3 4 N、D 3 4 K、Q 4 2 E、S 4 3 E、S 4 3 K、E 4 5 Q、Q 5 6 E、D 6 2 N、E 7 3 Q、D 8 7 N、K 9 9 E、K 9 9 Y、E 1 0 0 Q、N 1 0 3 D、N 1 0 3 Q、N 1 1 3 D、N 1 1 3 Q、Q 1 4 4 E、D 1 6 1 N、R 1 5 9 E、K 1 6 3 E、E 1 8 7 Q、N 2 0 0 D、N 2 0 0 Q、N 2 1 8 Q、Q 2 2 9 E、E 2 3 5 Q、C 2 5 2 S、Q 2 5 6 N、K 2 5 8 E、K 2 6 0 E、E 2 6 2 Q、K 2 6 4 E、N 2 8 1 D、N 2 8 1 Q、および E 2 9 9 Q を含む。このフォーマットでは、有用な I L - 1 2 p 4 0 バリエーションは、これらに限定されないが、N 1 0 3 D / N 1 1 3 D / N 2 0 0 D / N 2 8 1 D、Q 4 2 E / E 4 5 Q、E 4 5 Q / Q 5 6 E、Q 4 2 E / E 5 9 Q、Q 5 6 E / E 5 9 Q、Q 4 2 E / E 4 5 Q / Q 5 6 E、E 4 5 Q / Q 5 6 E / E 5 9 Q、E 3 2 Q / E 5 9 Q、D 3 4 N / E 5 9 K、D 3 4 N / E 5 9 K / K 9 9 E、D 3 4 K / E 5 9 K / K 9 9 E、E 3 2 Q / D 3 4 N / E 5 9 K / K 9 9 E、E 3 2 K / D 3 4 N / E 5 9 K / K 9 9 E、D 3 4 N / E 5 9 Q、E 5 9 Q / E 1 8 7 Q、S 4 3 E / E 5 9 Q、S 4 3 K / E 4 9 Q、E 5 9 Q / K 1 6 3 E、E 5 9 Q / K 9 9 E、E 5 9 Q / K 2 5 8 E、E 5 9 Q / K 2 6 0 E、E 5 9 K / K 9 9 E、D 1 8 K / E 5 9 K / K 9 9 E、E 5 9 K / K 9 9 E / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 Y、E 5 9 Y / K 9 9 Y、E 5 9 Y / K 9 9 E、E 4 5 K / E 5 9 K / K 9 9 E、E 5 9 K / K 9 9 E / Q 1 4 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / Q 1 4 4 K、E 5 9 K / K 9 9 E / R 1 5 9 E、E 5 9 K / K 9 9 E / K 2 6 4 E、D 1 8 K / E 5 9 K / K 9 9 E / K 2 6 4 E、D 1 8 K / E 5 9 K / K 9 9 E / C 2 5 2 S、D 1 8 K / E 5 9 K / K 9 9 E / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 Y / C 2 5 2 S、E 5 9 K / K 9 9 E / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / C 2 5 2 S、N 1 0 3 D / N 1 1 3 D、N 1 0 3 D / N 2 0 0 D、N 1 0 3 D / N 2 8 1 D、N 1 1 3 D / N 2 0 0 D、N 1 1 3 D / N 2 8 1 D、N 2 0 0 D / N 2 8 1 D、N 1 0 3 D / N 1 1 3 D / N 2 0 0 D、N 1 0 3 D / N 1 1 3 D / N 2 8 1 D、N 1 0 3 D / N 2 0 0 D / N 2 8 1 D、N 1 1 3 D / N 2 0 0 D / N 2 8 1 D、N 1 0 3 Q / N 1 1 3 Q、N 1 0 3 Q / N 2 0 0 Q、N 1 0 3 Q / N 2 8 1 Q、N 1 1 3 Q / N 2 0 0 Q、N 1 1 3 Q / N 2 8 1 Q、N 2 0 0 Q / N 2 8 1 Q、N 1 0 3 Q / N 1 1 3 Q / N 2 0 0 Q、N 1 0 3 Q / N 1 1 3 Q / N 2 8 1 Q、N 1 0 3 Q / N 2 0 0 Q / N 2 8 1 Q、N 1 1 3 Q / N 2 0 0 Q / N 2 8 1 Q、N 1 0 3 Q / N 1 1 3 Q / N 2 0 0 Q / N 2 8 1 Q、E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 0 3 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 1 3 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 2 0 0 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 2 8

10

20

30

40

50

1 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 0 3 Q / N 1 1 3 Q / C 2 5
2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 0 3 Q / N 2 0 0 Q / C 2 5 2 S / K 2 6
4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 0 3 Q / N 2 8 1 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9
K / K 9 9 E / N 1 1 3 Q / N 2 0 0 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E
/ N 1 1 3 Q / N 2 8 1 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 2 0 0 Q
/ N 2 8 1 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 0 3 Q / N 1 1 3 Q
/ N 2 0 0 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 0 3 Q / N 2 0 0 Q
/ N 2 8 1 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 1 3 Q / N 2 0 0 Q
/ N 2 8 1 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、および E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 0 3 Q / N 1
1 3 Q / N 2 0 0 Q / N 2 8 1 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E を含む。

10

【0565】

このフォーマットでは、IL-12 p 3 5 タンパク質ドメインは、配列番号 2（ヒト IL-12 サブユニットアルファ（IL-12 p 3 5）成熟形態配列）を含む。このフォーマットでは、有用な IL-12 p 3 5 バリエーションは、これらに限定されないが、N 2 1 D、Q 3 5 D、E 3 8 Q、D 5 5 Q、D 5 5 K、N 7 1 D、N 7 1 Q、L 7 5 A、N 7 6 D、E 7 9 Q、N 8 5 D、N 8 5 Q、L 8 9 A、F 9 6 A、M 9 7 A、L 1 2 4 A、M 1 2 5 A、Q 1 3 0 E、Q 1 3 5 E、N 1 3 6 D、E 1 4 3 Q、Q 1 4 6 E、N 1 5 1 D、N 1 5 1 K、E 1 5 3 K、E 1 5 3 Q、K 1 5 8 E、E 1 6 2 Q、E 1 6 3 Q、D 1 6 5 N、I 1 7 1 A、N 1 9 5 D、および N 1 9 5 Q を含む。このフォーマットでは、有用な IL-12 p 3 5 バリエーションは、これらに限定されないが、N 7 1 D / N 8 5 D / N 1 9 5 D、N 1 5 1 D / E 1 5 3 Q、N 1 5 1 D / D 1 6 5 N、Q 1 3 0 E / N 1 5 1 D、N 1 5 1 D / K 1 5 8 E、E 7 9 Q / N 1 5 1 D、D 5 5 Q / N 1 5 1 D、N 1 3 6 D / N 1 5 1 D、N 2 1 D / N 1 5 1 D、E 1 4 3 Q / N 1 5 1 D、N 7 1 Q / N 8 5 Q、N 7 1 Q / N 1 9 5 Q、N 8 5 Q / N 1 9 5 Q、N 7 1 Q / N 8 5 Q / N 1 9 5 Q、N 7 1 D / N 8 5 D、N 7 1 D / N 1 9 5 D、および N 8 5 D / N 1 9 5 D を含む。

20

【0566】

このフォーマットでは、バリエーション IL-12 p 4 0 サブユニットおよび IL-12 p 3 5 サブユニットの有用な組み合わせは、これらに限定されないが、IL-12 p 4 0（E 5 9 K / K 9 9 Y）および IL-12 p 3 5（配列番号 2）、IL-12 p 4 0（D 1 8 K / E 5 9 K / K 9 9 E）および IL-12 p 3 5（配列番号 2）、IL-12 p 4 0（E 5 9 K / K 9 9 E / K 2 6 4 E）および IL-12 p 3 5（配列番号 2）、IL-12 p 4 0（D 1 8 K / E 5 9 K / K 9 9 E / K 2 6 4 E）および IL-12 p 3 5（配列番号 2）、IL-12 p 4 0（D 1 8 K / E 5 9 K / K 9 9 E / C 2 5 2 S）および IL-12 p 3 5（配列番号 2）、IL-12 p 4 0（D 1 8 K / E 5 9 K / K 9 9 E / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E）および IL-12 p 3 5（配列番号 2）、IL-12 p 4 0（E 5 9 K / K 9 9 Y / C 2 5 2 S）および IL-12 p 3 5（配列番号 2）、IL-12 p 4 0（E 5 9 K / K 9 9 E / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E）および IL-12 p 3 5（配列番号 2）、ならびに IL-12 p 4 0（E 5 9 K / K 9 9 E / C 2 5 2 S）および IL-12 p 3 5（配列番号 2）を含む。

30

【0567】

このフォーマットでは、バリエーション IL-12 p 4 0 サブユニットおよび IL-12 p 3 5 サブユニットの有用な組み合わせは、これに限定されないが、配列番号 2（ヒト IL-12 サブユニットアルファ（IL-12 p 3 5）成熟形態配列）を含む IL-12 p 3 5 と、これらに限定されないが、E 5 9 K、E 5 9 Q、D 1 8 N、D 1 8 K、E 3 2 Q、E 3 3 Q、D 3 4 N、D 3 4 K、Q 4 2 E、S 4 3 E、S 4 3 K、E 4 5 Q、Q 5 6 E、D 6 2 N、E 7 3 Q、D 8 7 N、K 9 9 E、K 9 9 Y、E 1 0 0 Q、N 1 0 3 D、N 1 0 3 Q、N 1 1 3 D、N 1 1 3 Q、Q 1 4 4 E、D 1 6 1 N、R 1 5 9 E、K 1 6 3 E、E 1 8 7 Q、N 2 0 0 D、N 2 0 0 Q、N 2 1 8 Q、Q 2 2 9 E、E 2 3 5 Q、C 2 5 2 S、Q 2 5 6 N、K 2 5 8 E、K 2 6 0 E、E 2 6 2 Q、K 2 6 4 E、N 2 8 1 D、N 2 8 1 Q、E 2 9 9 Q、N 1 0 3 D / N 1 1 3 D / N 2 0 0 D / N 2 8 1 D、Q 4 2 E / E 4

40

50

5 Q、E 4 5 Q/Q 5 6 E、Q 4 2 E/E 5 9 Q、Q 5 6 E/E 5 9 Q、Q 4 2 E/E 4 5 Q/Q 5 6 E、E 4 5 Q/Q 5 6 E/E 5 9 Q、E 3 2 Q/E 5 9 Q、D 3 4 N/E 5 9 K、D 3 4 N/E 5 9 K/K 9 9 E、D 3 4 K/E 5 9 K/K 9 9 E、E 3 2 Q/D 3 4 N/E 5 9 K/K 9 9 E、E 3 2 K/D 3 4 N/E 5 9 K/K 9 9 E、D 3 4 N/E 5 9 Q、E 5 9 Q/E 1 8 7 Q、S 4 3 E/E 5 9 Q、S 4 3 K/E 4 9 Q、E 5 9 Q/K 1 6 3 E、E 5 9 Q/K 9 9 E、E 5 9 Q/K 2 5 8 E、E 5 9 Q/K 2 6 0 E、E 5 9 K/K 9 9 E、D 1 8 K/E 5 9 K/K 9 9 E、E 5 9 K/K 9 9 E/K 2 6 4 E、E 5 9 K/K 9 9 Y、E 5 9 Y/K 9 9 Y、E 5 9 Y/K 9 9 E、E 4 5 K/E 5 9 K/K 9 9 E、E 5 9 K/K 9 9 E/Q 1 4 4 E、E 5 9 K/K 9 9 E/Q 1 4 4 K、E 5 9 K/K 9 9 E/R 1 5 9 E、E 5 9 K/K 9 9 E/K 2 6 4 E、D 1 8 K/E 5 9 K/K 9 9 E/K 2 6 4 E、D 1 8 K/E 5 9 K/K 9 9 E/C 2 5 2 S、D 1 8 K/E 5 9 K/K 9 9 E/C 2 5 2 S/K 2 6 4 E、E 5 9 K/K 9 9 Y/C 2 5 2 S、E 5 9 K/K 9 9 E/C 2 5 2 S/K 2 6 4 E、E 5 9 K/K 9 9 E/C 2 5 2 S、N 1 0 3 D/N 1 1 3 D、N 1 0 3 D/N 2 0 0 D、N 1 0 3 D/N 2 8 1 D、N 1 1 3 D/N 2 0 0 D、N 1 1 3 D/N 2 8 1 D、N 2 0 0 D/N 2 8 1 D、N 1 0 3 D/N 1 1 3 D/N 2 0 0 D、N 1 0 3 D/N 1 1 3 D/N 2 8 1 D、N 1 0 3 D/N 2 0 0 D/N 2 8 1 D、N 1 1 3 D/N 2 0 0 D/N 2 8 1 D、N 1 0 3 Q/N 1 1 3 Q、N 1 0 3 Q/N 2 0 0 Q、N 1 0 3 Q/N 2 8 1 Q、N 1 1 3 Q/N 2 0 0 Q、N 1 1 3 Q/N 2 8 1 Q、N 2 0 0 Q/N 2 8 1 Q、N 1 0 3 Q/N 1 1 3 Q/N 2 0 0 Q、N 1 0 3 Q/N 1 1 3 Q/N 2 8 1 Q、N 1 0 3 Q/N 2 0 0 Q/N 2 8 1 Q、N 1 1 3 Q/N 2 0 0 Q/N 2 8 1 Q、N 1 0 3 Q/N 1 1 3 Q/N 2 0 0 Q/N 2 8 1 Q、E 5 9 K/K 9 9 E/N 1 0 3 Q/C 2 5 2 S/K 2 6 4 E、E 5 9 K/K 9 9 E/N 1 1 3 Q/C 2 5 2 S/K 2 6 4 E、E 5 9 K/K 9 9 E/N 2 0 0 Q/C 2 5 2 S/K 2 6 4 E、E 5 9 K/K 9 9 E/N 2 8 1 Q/C 2 5 2 S/K 2 6 4 E、E 5 9 K/K 9 9 E/N 1 0 3 Q/N 1 1 3 Q/C 2 5 2 S/K 2 6 4 E、E 5 9 K/K 9 9 E/N 1 0 3 Q/N 2 0 0 Q/C 2 5 2 S/K 2 6 4 E、E 5 9 K/K 9 9 E/N 1 0 3 Q/N 2 8 1 Q/C 2 5 2 S/K 2 6 4 E、E 5 9 K/K 9 9 E/N 1 1 3 Q/N 2 0 0 Q/C 2 5 2 S/K 2 6 4 E、E 5 9 K/K 9 9 E/N 1 1 3 Q/N 2 8 1 Q/C 2 5 2 S/K 2 6 4 E、E 5 9 K/K 9 9 E/N 2 0 0 Q/N 2 8 1 Q/C 2 5 2 S/K 2 6 4 E、E 5 9 K/K 9 9 E/N 1 0 3 Q/N 1 1 3 Q/N 2 0 0 Q/C 2 5 2 S/K 2 6 4 E、E 5 9 K/K 9 9 E/N 1 0 3 Q/N 2 0 0 Q/N 2 8 1 Q/C 2 5 2 S/K 2 6 4 E、E 5 9 K/K 9 9 E/N 1 1 3 Q/N 2 0 0 Q/N 2 8 1 Q/C 2 5 2 S/K 2 6 4 E、および E 5 9 K/K 9 9 E/N 1 0 3 Q/N 1 1 3 Q/N 2 0 0 Q/N 2 8 1 Q/C 2 5 2 S/K 2 6 4 E を含む、1 つ以上の置換を含むバリエーション I L - 1 2 p 4 0 との組み合わせを含む。

【0568】

このフォーマットでは、I L - 1 2 p 4 0 および I L - 1 2 p 3 5 バリエーションの有用な組み合わせは、これに限定されないが、配列番号 4 (ヒト I L - 1 2 サブユニットベータ (I L - 1 2 p 4 0) 成熟形態配列) を含む I L - 1 2 p 4 0 と、N 2 1 D、Q 3 5 D、E 3 8 Q、D 5 5 Q、D 5 5 K、N 7 1 D、N 7 1 Q、L 7 5 A、N 7 6 D、E 7 9 Q、N 8 5 D、N 8 5 Q、L 8 9 A、F 9 6 A、M 9 7 A、L 1 2 4 A、M 1 2 5 A、Q 1 3 0 E、Q 1 3 5 E、N 1 3 6 D、E 1 4 3 Q、Q 1 4 6 E、N 1 5 1 D、N 1 5 1 K、E 1 5 3 K、E 1 5 3 Q、K 1 5 8 E、E 1 6 2 Q、E 1 6 3 Q、D 1 6 5 N、I 1 7 1 A、N 1 9 5 D、N 1 9 5 Q、N 7 1 D/N 8 5 D/N 1 9 5 D、N 1 5 1 D/E 1 5 3 Q、N 1 5 1 D/D 1 6 5 N、Q 1 3 0 E/N 1 5 1 D、N 1 5 1 D/K 1 5 8 E、E 7 9 Q/N 1 5 1 D、D 5 5 Q/N 1 5 1 D、N 1 3 6 D/N 1 5 1 D、N 2 1 D/N 1 5 1 D、E 1 4 3 Q/N 1 5 1 D、N 7 1 Q/N 8 5 Q、N 7 1 Q/N 1 9 5 Q、N 8 5 Q/N 1 9 5 Q、N 7 1 Q/N 8 5 Q/N 1 9 5 Q、N 7 1 D/N 8 5 D、N 7 1 D/N 1 9 5 D、および N 8 5 D/N 1 9 5 D を含む I L - 1 2 p 3 5 との組み合わせを含む。

【0569】

このフォーマットでは、I L - 1 2 p 4 0 バリエーションおよび I L - 1 2 p 3 5 バリアン

10

20

30

40

50

トの有用な組み合わせは、これに限定されないが、E59K、E59Q、D18N、D18K、E32Q、E33Q、D34N、D34K、Q42E、S43E、S43K、E45Q、Q56E、D62N、E73Q、D87N、K99E、K99Y、E100Q、N103D、N103Q、N113D、N113Q、Q144E、D161N、R159E、K163E、E187Q、N200D、N200Q、N218Q、Q229E、E235Q、C252S、Q256N、K258E、K260E、E262Q、K264E、N281D、N281Q、E299Q、N103D/N113D/N200D/N281D、Q42E/E45Q、E45Q/Q56E、Q42E/E59Q、Q56E/E59Q、Q42E/E45Q/Q56E、E45Q/Q56E/E59Q、E32Q/E59Q、D34N/E59K、D34N/E59K/K99E、D34K/E59K/K99E、E32Q/D34N/E59K/K99E、E32K/D34N/E59K/K99E、D34N/E59Q、E59Q/E187Q、S43E/E59Q、S43K/E49Q、E59Q/K163E、E59Q/K99E、E59Q/K258E、E59Q/K260E、E59K/K99E、D18K/E59K/K99E、E59K/K99E/K264E、E59K/K99Y、E59Y/K99Y、E59Y/K99E、E45K/E59K/K99E、E59K/K99E/Q144E、E59K/K99E/Q144K、E59K/K99E/R159E、E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/C252S、D18K/E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99Y/C252S、E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99E/C252S、N103D/N113D、N103D/N200D、N103D/N281D、N113D/N200D、N113D/N281D、N200D/N281D、N103D/N113D/N200D、N103D/N113D/N281D、N103D/N200D/N281D、N113D/N200D/N281D、N103Q/N113Q、N103Q/N200Q、N103Q/N281Q、N113Q/N200Q、N113Q/N281Q、N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N200Q、N103Q/N113Q/N281Q、N103Q/N200Q/N281Q、N113Q/N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N200Q/N281Q、E59K/K99E/N103Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、およびE59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E；からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を含むIL-12p40バリエーションと、N21D、Q35D、E38Q、D55Q、D55K、N71D、N71Q、L75A、N76D、E79Q、N85D、N85Q、L89A、F96A、M97A、L124A、M125A、Q130E、Q135E、N136D、E143Q、Q146E、N151D、N151K、E153K、E153Q、K158E、E162Q、E163Q、D165N、I171A、N195D、N195Q、N71D/N85D/N195D、N151D/E153Q、N151D/D165N、Q130E/N151D、N151D/K158E、E79Q/N151D、D55Q/N151D、N136D/N151D、N21D/N151D、E143Q/N151D、N71Q/N85Q、N71Q/N195Q、N85Q/N195Q、N71Q/N85Q/N195Q、N71D/N85D、N7

10

20

30

40

50

1 D / N 1 9 5 D、および N 8 5 D / N 1 9 5 D からなる群から選択される 1 つ以上の置換を含む I L - 1 2 p 3 5 バリエーションとの組み合わせを含む。

【0570】

このフォーマットでは、有用な実施形態には、図 10 に見られるものが含まれるが、これらに限定されない。

【0571】

C. s c I L - 1 2 - F c フォーマット

さらなる実施形態では、本発明は、N 末端単鎖 I L - 1 2 - F c 融合体または「s c I L - 1 2 - F c」フォーマットを提供する。この実施形態では、図 8 C ~ D に示されるように、ヘテロ二量体融合タンパク質は、2 つの単量体を含む。第 1 の単量体は、(N 末端から C 末端へ) s c I L - 1 2 - 任意のドメインリンカー - F c を含む。第 2 の単量体は、ヒンジ - C H 2 - C H 3 の全部または一部を含む、「空」F c を含む。s c I L - 1 2 は、I L - 1 2 p 4 0 サブユニットが (ドメインリンカーありまたはなしで) I L - 1 2 p 3 5 サブユニットに N 末端結合している「s c I L - 1 2 (p 4 0 / p 3 5)」、または I L - 1 2 p 3 5 が (ドメインリンカーありまたはなしで) I L - 1 2 p 4 0 サブユニットに N 末端結合している「s c I L - 1 2 (p 3 5 / p 4 0)」であり得る。

【0572】

s c I L - 1 2 - F c フォーマットでは、好ましい実施形態は、スキューバリエーション対 S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q : L 3 6 8 D / K 3 7 0 S を利用する。

【0573】

s c I L - 1 2 - F c フォーマットでは、好ましい実施形態は、図 11 に X E N P 2 4 2 0 3 (鎖 1 および鎖 2 を含む) および X E N P 2 4 2 0 4 (鎖 1 および鎖 2 を含む) として示される。

【0574】

s c I L - 1 2 - F c フォーマットでは、好ましい実施形態は、図 50 に X E N P 3 1 2 9 0 (鎖 1 および鎖 2 を含む) として示される。

【0575】

いくつかの実施形態では、s c I L - 1 2 - F c フォーマットは、二価 I L - 1 2 - F c 融合体である。いくつかの実施形態では、二価 I L - 1 2 - F c 融合フォーマット (図 48 A ~ B) は、各々が、(任意にドメインリンカーを介して) ホモ二量体 F c 鎖の N 末端に融合した s c I L - 1 2 複合体組換え体を含む、2 つの同一の単量体を含む。

【0576】

いくつかの実施形態では、s c I L - 1 2 - F c フォーマットは、a) N 末端から C 末端へ、i) I L - 1 2 p 4 0 ドメインタンパク質、i i) 任意の第 1 のドメインリンカー、i i i) I L - 1 2 p 3 5 ドメインタンパク質、i v) 任意の第 2 のリンカー、v) 第 1 のバリエーション F c ドメインタンパク質を含む第 1 の単量体と、b) 第 2 のバリエーション F c ドメインタンパク質を含む第 2 の単量体と、を含む、ヘテロ二量体 F c 融合タンパク質である。

【0577】

いくつかの実施形態では、s c I L - 1 2 - F c フォーマットは、a) N 末端から C 末端へ、i) I L - 1 2 p 3 5 ドメインタンパク質、i i) 任意の第 1 のドメインリンカー、i i i) I L - 1 2 p 4 0 ドメインタンパク質、i v) 任意の第 2 のリンカー、v) 第 1 のバリエーション F c ドメインタンパク質を含む第 1 の単量体と、b) 第 2 のバリエーション F c ドメインタンパク質を含む第 2 の単量体と、を含む、ヘテロ二量体 F c 融合タンパク質である。

【0578】

いくつかの実施形態では、F c バリエーションは、本明細書で提供されるような 1 つ以上のスキュー、p I、およびアブレーションバリエーションを含む。一実施形態では、F c バリエーションは、特定のスキュー、p I、およびアブレーションバリエーションを含む。いくつかの実施形態では、第 1 および第 2 の F c ドメインのヘテロ二量体化を促進する修飾は、E U 付

10

20

30

40

50

番に従って、L 3 6 8 D / K 3 7 0 S および S 3 6 4 K ; L 3 6 8 D / K 3 7 0 S および S 3 6 4 K / E 3 5 7 L ; L 3 6 8 D / K 3 7 0 S および S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q ; T 4 1 1 E / K 3 6 0 E / Q 3 6 2 E および D 4 0 1 K ; L 3 6 8 E / K 3 7 0 S および S 3 6 4 K ; K 3 7 0 S および S 3 6 4 K / E 3 5 7 Q ; T 3 6 6 S / L 3 6 8 A / Y 4 0 7 V および T 3 6 6 W ; T 3 6 6 S / L 3 6 8 A / Y 4 0 7 V / Y 3 4 9 C および T 3 6 6 W / S 3 5 4 C からなる群から選択されるアミノ酸置換のセットである。いくつかの実施形態では、第1および/または第2のFcドメインは、EU付番に従って、Q 2 9 5 E / N 3 8 4 D / Q 4 1 8 E / N 4 2 1 D、を含むアミノ酸置換の追加のセットを有する。いくつかの実施形態では、第1および/または第2のFcドメインは、EU付番に従って、G 2 3 6 R / L 3 2 8 R、E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 __ / S 2 3 9 K、E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 __ / S 2 3 9 K / A 3 2 7 G、E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 __ / S 2 6 7 K / A 3 2 7 G、E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 __、および E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 __ / S 2 6 7 K からなる群から選択されるアミノ酸置換の追加のセットを有する。いくつかの実施形態では、第1および第2のFcドメインは、アミノ酸置換 M 4 2 8 L / N 4 2 4 S をさらに含む。

【0579】

このフォーマットでは、有用な IL-12p40 タンパク質ドメインは、これに限定されないが、配列番号4（ヒト IL-12サブユニットベータ（IL-12p40）成熟形態配列）を含む。このフォーマットでは、有用な IL-12p40 バリエーションは、これらに限定されないが、E 5 9 K、E 5 9 Q、D 1 8 N、D 1 8 K、E 3 2 Q、E 3 3 Q、D 3 4 N、D 3 4 K、Q 4 2 E、S 4 3 E、S 4 3 K、E 4 5 Q、Q 5 6 E、D 6 2 N、E 7 3 Q、D 8 7 N、K 9 9 E、K 9 9 Y、E 1 0 0 Q、N 1 0 3 D、N 1 0 3 Q、N 1 1 3 D、N 1 1 3 Q、Q 1 4 4 E、D 1 6 1 N、R 1 5 9 E、K 1 6 3 E、E 1 8 7 Q、N 2 0 0 D、N 2 0 0 Q、N 2 1 8 Q、Q 2 2 9 E、E 2 3 5 Q、C 2 5 2 S、Q 2 5 6 N、K 2 5 8 E、K 2 6 0 E、E 2 6 2 Q、K 2 6 4 E、N 2 8 1 D、N 2 8 1 Q、および E 2 9 9 Q を含む。このフォーマットでは、有用な IL-12p40 バリエーションは、これらに限定されないが、N 1 0 3 D / N 1 1 3 D / N 2 0 0 D / N 2 8 1 D、Q 4 2 E / E 4 5 Q、E 4 5 Q / Q 5 6 E、Q 4 2 E / E 5 9 Q、Q 5 6 E / E 5 9 Q、Q 4 2 E / E 4 5 Q / Q 5 6 E、E 4 5 Q / Q 5 6 E / E 5 9 Q、E 3 2 Q / E 5 9 Q、D 3 4 N / E 5 9 K、D 3 4 N / E 5 9 K / K 9 9 E、D 3 4 K / E 5 9 K / K 9 9 E、E 3 2 Q / D 3 4 N / E 5 9 K / K 9 9 E、E 3 2 K / D 3 4 N / E 5 9 K / K 9 9 E、D 3 4 N / E 5 9 Q、E 5 9 Q / E 1 8 7 Q、S 4 3 E / E 5 9 Q、S 4 3 K / E 4 9 Q、E 5 9 Q / K 1 6 3 E、E 5 9 Q / K 9 9 E、E 5 9 Q / K 2 5 8 E、E 5 9 Q / K 2 6 0 E、E 5 9 K / K 9 9 E、D 1 8 K / E 5 9 K / K 9 9 E、E 5 9 K / K 9 9 E / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 Y、E 5 9 Y / K 9 9 Y、E 5 9 Y / K 9 9 E、E 4 5 K / E 5 9 K / K 9 9 E、E 5 9 K / K 9 9 E / Q 1 4 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / Q 1 4 4 K、E 5 9 K / K 9 9 E / R 1 5 9 E、E 5 9 K / K 9 9 E / K 2 6 4 E、D 1 8 K / E 5 9 K / K 9 9 E / K 2 6 4 E、D 1 8 K / E 5 9 K / K 9 9 E / C 2 5 2 S、D 1 8 K / E 5 9 K / K 9 9 E / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 Y / C 2 5 2 S、E 5 9 K / K 9 9 E / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / C 2 5 2 S、N 1 0 3 D / N 1 1 3 D、N 1 0 3 D / N 2 0 0 D、N 1 0 3 D / N 2 8 1 D、N 1 1 3 D / N 2 0 0 D、N 1 1 3 D / N 2 8 1 D、N 2 0 0 D / N 2 8 1 D、N 1 0 3 D / N 1 1 3 D / N 2 0 0 D、N 1 0 3 D / N 1 1 3 D / N 2 8 1 D、N 1 0 3 D / N 2 0 0 D / N 2 8 1 D、N 1 1 3 D / N 2 0 0 D / N 2 8 1 D、N 1 0 3 Q / N 1 1 3 Q、N 1 0 3 Q / N 2 0 0 Q、N 1 0 3 Q / N 2 8 1 Q、N 1 1 3 Q / N 2 0 0 Q、N 1 1 3 Q / N 2 8 1 Q、N 2 0 0 Q / N 2 8 1 Q、N 1 0 3 Q / N 1 1 3 Q / N 2 0 0 Q、N 1 0 3 Q / N 1 1 3 Q / N 2 8 1 Q、N 1 0 3 Q / N 2 0 0 Q / N 2 8 1 Q、N 1 1 3 Q / N 2 0 0 Q / N 2 8 1 Q、N 1 0 3 Q / N 1 1 3 Q / N 2 0 0 Q / N 2 8 1 Q、E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 0 3 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 1 3 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E

10

20

30

40

50

59K/K99E/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、およびE59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264Eを含む。

10

【0580】

このフォーマットでは、IL-12p35タンパク質ドメインは、配列番号2（ヒトIL-12サブユニットアルファ（IL-12p35）成熟形態配列）を含む。このフォーマットでは、有用なIL-12p35バリエーションは、これらに限定されないが、N21D、Q35D、E38Q、D55Q、D55K、N71D、N71Q、L75A、N76D、E79Q、N85D、N85Q、L89A、F96A、M97A、L124A、M125A、Q130E、Q135E、N136D、E143Q、Q146E、N151D、N151K、E153K、E153Q、K158E、E162Q、E163Q、D165N、I171A、N195D、およびN195Qを含む。このフォーマットでは、有用なIL-12p35バリエーションは、これらに限定されないが、N71D/N85D/N195D、N151D/E153Q、N151D/D165N、Q130E/N151D、N151D/K158E、E79Q/N151D、D55Q/N151D、N136D/N151D、N21D/N151D、E143Q/N151D、N71Q/N85Q、N71Q/N195Q、N85Q/N195Q、N71Q/N85Q/N195Q、N71D/N85D、N71D/N195D、およびN85D/N195Dを含む。

20

【0581】

このフォーマットでは、バリエーションIL-12p40サブユニットおよびIL-12p35サブユニットの有用な組み合わせは、これらに限定されないが、IL-12p40（E59K/K99Y）およびIL-12p35（配列番号2）、IL-12p40（D18K/E59K/K99E）およびIL-12p35（配列番号2）、IL-12p40（E59K/K99E/K264E）およびIL-12p35（配列番号2）、IL-12p40（D18K/E59K/K99E/K264E）およびIL-12p35（配列番号2）、IL-12p40（D18K/E59K/K99E/C252S）およびIL-12p35（配列番号2）、IL-12p40（D18K/E59K/K99E/C252S/K264E）およびIL-12p35（配列番号2）、IL-12p40（E59K/K99Y/C252S）およびIL-12p35（配列番号2）、IL-12p40（E59K/K99E/C252S/K264E）およびIL-12p35（配列番号2）、ならびにIL-12p40（E59K/K99E/C252S）およびIL-12p35（配列番号2）を含む。

30

【0582】

このフォーマットでは、バリエーションIL-12p40サブユニットおよびIL-12p35サブユニットの有用な組み合わせは、これに限定されないが、配列番号2（ヒトIL-12サブユニットアルファ（IL-12p35）成熟形態配列）を含むIL-12p35と、これらに限定されないが、E59K、E59Q、D18N、D18K、E32Q、E33Q、D34N、D34K、Q42E、S43E、S43K、E45Q、Q56E、D62N、E73Q、D87N、K99E、K99Y、E100Q、N103D、N103Q、N113D、N113Q、Q144E、D161N、R159E、K163E、E187Q、N200D、N200Q、N218Q、Q229E、E235Q、C252S、Q256N、K258E、K260E、E262Q、K264E、N281D、N28

40

50

1 Q、E 2 9 9 Q、N 1 0 3 D / N 1 1 3 D / N 2 0 0 D / N 2 8 1 D、Q 4 2 E / E 4
 5 Q、E 4 5 Q / Q 5 6 E、Q 4 2 E / E 5 9 Q、Q 5 6 E / E 5 9 Q、Q 4 2 E / E 4
 5 Q / Q 5 6 E、E 4 5 Q / Q 5 6 E / E 5 9 Q、E 3 2 Q / E 5 9 Q、D 3 4 N / E 5
 9 K、D 3 4 N / E 5 9 K / K 9 9 E、D 3 4 K / E 5 9 K / K 9 9 E、E 3 2 Q / D 3
 4 N / E 5 9 K / K 9 9 E、E 3 2 K / D 3 4 N / E 5 9 K / K 9 9 E、D 3 4 N / E 5
 9 Q、E 5 9 Q / E 1 8 7 Q、S 4 3 E / E 5 9 Q、S 4 3 K / E 4 9 Q、E 5 9 Q / K
 1 6 3 E、E 5 9 Q / K 9 9 E、E 5 9 Q / K 2 5 8 E、E 5 9 Q / K 2 6 0 E、E 5 9
 K / K 9 9 E、D 1 8 K / E 5 9 K / K 9 9 E、E 5 9 K / K 9 9 E / K 2 6 4 E、E 5
 9 K / K 9 9 Y、E 5 9 Y / K 9 9 Y、E 5 9 Y / K 9 9 E、E 4 5 K / E 5 9 K / K 9
 9 E、E 5 9 K / K 9 9 E / Q 1 4 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / Q 1 4 4 K、E 5 9 K /
 K 9 9 E / R 1 5 9 E、E 5 9 K / K 9 9 E / K 2 6 4 E、D 1 8 K / E 5 9 K / K 9 9
 E / K 2 6 4 E、D 1 8 K / E 5 9 K / K 9 9 E / C 2 5 2 S、D 1 8 K / E 5 9 K / K
 9 9 E / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 Y / C 2 5 2 S、E 5 9 K / K 9 9
 E / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / C 2 5 2 S、N 1 0 3 D / N 1 1 3
 D、N 1 0 3 D / N 2 0 0 D、N 1 0 3 D / N 2 8 1 D、N 1 1 3 D / N 2 0 0 D、N 1
 1 3 D / N 2 8 1 D、N 2 0 0 D / N 2 8 1 D、N 1 0 3 D / N 1 1 3 D / N 2 0 0 D、
 N 1 0 3 D / N 1 1 3 D / N 2 8 1 D、N 1 0 3 D / N 2 0 0 D / N 2 8 1 D、N 1 1 3
 D / N 2 0 0 D / N 2 8 1 D、N 1 0 3 Q / N 1 1 3 Q、N 1 0 3 Q / N 2 0 0 Q、N 1
 0 3 Q / N 2 8 1 Q、N 1 1 3 Q / N 2 0 0 Q、N 1 1 3 Q / N 2 8 1 Q、N 2 0 0 Q /
 N 2 8 1 Q、N 1 0 3 Q / N 1 1 3 Q / N 2 0 0 Q、N 1 0 3 Q / N 1 1 3 Q / N 2 8 1
 Q、N 1 0 3 Q / N 2 0 0 Q / N 2 8 1 Q、N 1 1 3 Q / N 2 0 0 Q / N 2 8 1 Q、N 1
 0 3 Q / N 1 1 3 Q / N 2 0 0 Q / N 2 8 1 Q、E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 0 3 Q / C 2
 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 1 3 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5
 9 K / K 9 9 E / N 2 0 0 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 2 8 1
 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 0 3 Q / N 1 1 3 Q / C 2 5 2
 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 0 3 Q / N 2 0 0 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4
 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 0 3 Q / N 2 8 1 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K
 / K 9 9 E / N 1 1 3 Q / N 2 0 0 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E /
 N 1 1 3 Q / N 2 8 1 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 2 0 0 Q /
 N 2 8 1 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 0 3 Q / N 1 1 3 Q /
 N 2 0 0 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 0 3 Q / N 2 0 0 Q /
 N 2 8 1 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 1 3 Q / N 2 0 0 Q /
 N 2 8 1 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、および E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 0 3 Q / N 1 1
 3 Q / N 2 0 0 Q / N 2 8 1 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E を含む、1 つ以上の置換を含む
 バリエーション IL-12 p 40 との組み合わせを含む。

【0583】

このフォーマットでは、IL-12 p 40 および IL-12 p 35 バリエーションの有用な
 組み合わせは、これに限定されないが、配列番号 4 (ヒト IL-12 サブユニットベータ
 (IL-12 p 40) 成熟形態配列) を含む IL-12 p 40 と、N 2 1 D、Q 3 5 D、
 E 3 8 Q、D 5 5 Q、D 5 5 K、N 7 1 D、N 7 1 Q、L 7 5 A、N 7 6 D、E 7 9 Q、
 N 8 5 D、N 8 5 Q、L 8 9 A、F 9 6 A、M 9 7 A、L 1 2 4 A、M 1 2 5 A、Q 1 3
 0 E、Q 1 3 5 E、N 1 3 6 D、E 1 4 3 Q、Q 1 4 6 E、N 1 5 1 D、N 1 5 1 K、E
 1 5 3 K、E 1 5 3 Q、K 1 5 8 E、E 1 6 2 Q、E 1 6 3 Q、D 1 6 5 N、I 1 7 1 A
 、N 1 9 5 D、N 1 9 5 Q、N 7 1 D / N 8 5 D / N 1 9 5 D、N 1 5 1 D / E 1 5 3 Q
 、N 1 5 1 D / D 1 6 5 N、Q 1 3 0 E / N 1 5 1 D、N 1 5 1 D / K 1 5 8 E、E 7 9
 Q / N 1 5 1 D、D 5 5 Q / N 1 5 1 D、N 1 3 6 D / N 1 5 1 D、N 2 1 D / N 1 5 1
 D、E 1 4 3 Q / N 1 5 1 D、N 7 1 Q / N 8 5 Q、N 7 1 Q / N 1 9 5 Q、N 8 5 Q /
 N 1 9 5 Q、N 7 1 Q / N 8 5 Q / N 1 9 5 Q、N 7 1 D / N 8 5 D、N 7 1 D / N 1 9
 5 D、および N 8 5 D / N 1 9 5 D を含む IL-12 p 35 との組み合わせを含む。

【0584】

このフォーマットでは、IL-12p40バリエーションおよびIL-12p35バリエーションの有用な組み合わせは、これに限定されないが、E59K、E59Q、D18N、D18K、E32Q、E33Q、D34N、D34K、Q42E、S43E、S43K、E45Q、Q56E、D62N、E73Q、D87N、K99E、K99Y、E100Q、N103D、N103Q、N113D、N113Q、Q144E、D161N、R159E、K163E、E187Q、N200D、N200Q、N218Q、Q229E、E235Q、C252S、Q256N、K258E、K260E、E262Q、K264E、N281D、N281Q、E299Q、N103D/N113D/N200D/N281D、Q42E/E45Q、E45Q/Q56E、Q42E/E59Q、Q56E/E59Q、Q42E/E45Q/Q56E、E45Q/Q56E/E59Q、E32Q/E59Q、D34N/E59K、D34N/E59K/K99E、D34K/E59K/K99E、E32Q/D34N/E59K/K99E、E32K/D34N/E59K/K99E、D34N/E59Q、E59Q/E187Q、S43E/E59Q、S43K/E49Q、E59Q/K163E、E59Q/K99E、E59Q/K258E、E59Q/K260E、E59K/K99E、D18K/E59K/K99E、E59K/K99E/K264E、E59K/K99Y、E59Y/K99Y、E59Y/K99E、E45K/E59K/K99E、E59K/K99E/Q144E、E59K/K99E/Q144K、E59K/K99E/R159E、E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/C252S、D18K/E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99Y/C252S、E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99E/C252S、N103D/N113D、N103D/N200D、N103D/N281D、N113D/N200D、N113D/N281D、N200D/N281D、N103D/N113D/N200D、N103D/N113D/N281D、N103D/N200D/N281D、N113D/N200D/N281D、N103Q/N113Q、N103Q/N200Q、N103Q/N281Q、N113Q/N200Q、N113Q/N281Q、N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N200Q、N103Q/N113Q/N281Q、N103Q/N200Q/N281Q、N113Q/N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N200Q/N281Q、E59K/K99E/N103Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、およびE59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E；からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を含むIL-12p40バリエーションと、N21D、Q35D、E38Q、D55Q、D55K、N71D、N71Q、L75A、N76D、E79Q、N85D、N85Q、L89A、F96A、M97A、L124A、M125A、Q130E、Q135E、N136D、E143Q、Q146E、N151D、N151K、E153K、E153Q、K158E、E162Q、E163Q、D165N、I171A、N195D、N195Q、N71D/N85D/N195D、N151D/E153Q、N151D/D165N、Q130E/N151D、N151D/K158E、E79Q/N151D、D55Q/N151D、N136D/N151D、N21D/N151D、E143Q/N151D、N71Q/N85Q、N71Q/N195Q

10

20

30

40

50

、N85Q/N195Q、N71Q/N85Q/N195Q、N71D/N85D、N71D/N195D、およびN85D/N195Dからなる群から選択される1つ以上の置換を含むIL-12p35バリエーションとの組み合わせを含む。

【0585】

このフォーマットでは、有用な実施形態には、図11に見られるものが含まれるが、これらに限定されない。

【0586】

D. Fc-s c IL-12フォーマット

追加の実施形態では、本発明は、C末端単鎖IL-12-Fc融合体または「Fc-s c IL-12」フォーマットを提供する。この実施形態では、図8E~Fに示されるように、ヘテロ二量体融合タンパク質は、2つの単量体を含む。第1の単量体は、(N末端からC末端へ)Fc-任意のリンカー-s c IL-12を含む。第2の単量体は、ヒンジCH₂-CH₃の全部または一部を含む、「空」Fcを含む。上記のように、s c IL-12は、IL-12p40サブユニットが(ドメインリンカーありまたはなしで)IL-12p35サブユニットにN末端結合している「s c IL-12(p40/p35)」、またはIL-12p35が(ドメインリンカーありまたはなしで)IL-12p40サブユニットにN末端結合している「s c IL-12(p35/p40)」であり得る。

【0587】

Fc-s c IL-12フォーマットでは、好ましい実施形態は、スキューバリエーション対S364K/E357Q:L368D/K370Sを利用する。

【0588】

いくつかの実施形態では、s c IL-12-Fcフォーマットは、二価IL-12-Fc融合体である。いくつかの実施形態では、二価IL-12-Fc融合フォーマット(図48C~D)は、各々が、(任意にドメインリンカーを介して)ホモ二量体Fc鎖のC末端に融合したs c IL-12複合体組換え体を含む、2つの同一の単量体を含む。

【0589】

いくつかの実施形態では、s c IL-12-Fcフォーマットは、a) N末端からC末端へ、i) 第1のバリエーションFcドメインタンパク質、ii) 任意の第1のドメインリンカー、iii) IL-12p40ドメインタンパク質、iv) 任意の第2のドメインリンカー、v) IL-12p35ドメインタンパク質を含む第1の単量体と、b) 第2のバリエーションFcドメインタンパク質を含む第2の単量体と、を含む、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0590】

いくつかの実施形態では、s c IL-12-Fcフォーマットは、a) N末端からC末端へ、i) 第1のバリエーションFcドメインタンパク質、ii) 任意の第1のドメインリンカー、iii) IL-12p35ドメインタンパク質、iv) 任意の第2のドメインリンカー、v) IL-12p40ドメインタンパク質を含む第1の単量体と、b) 第2のバリエーションFcドメインタンパク質を含む第2の単量体と、を含む、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を提供する。

【0591】

いくつかの実施形態では、Fcバリエーションは、本明細書で提供されるような1つ以上のスキュー、pI、およびアブレーションバリエーションを含む。一実施形態では、Fcバリエーションは、特定のスキュー、pI、およびアブレーションバリエーションを含む。いくつかの実施形態では、第1および第2のFcドメインのヘテロ二量体化を促進する修飾は、EU付番に従って、L368D/K370SおよびS364K; L368D/K370SおよびS364K/E357L; L368D/K370SおよびS364K/E357Q; T411E/K360E/Q362EおよびD401K; L368E/K370SおよびS364K; K370SおよびS364K/E357Q; T366S/L368A/Y407VおよびT366W; T366S/L368A/Y407V/Y349CおよびT366W/S354Cからなる群から選択されるアミノ酸置換のセットである。いくつかの実施

10

20

30

40

50

形態では、第1および／または第2のFcドメインは、EU付番に従って、Q295E／N384D／Q418E／N421D、を含むアミノ酸置換の追加のセットを有する。いくつかの実施形態では、第1および／または第2のFcドメインは、EU付番に従って、G236R／L328R、E233P／L234V／L235A／G236__／S239K、E233P／L234V／L235A／G236__／S239K／A327G、E233P／L234V／L235A／G236__／S267K／A327G、E233P／L234V／L235A／G236__、およびE233P／L234V／L235A／G236__／S267Kからなる群から選択されるアミノ酸置換の追加のセットを有する。いくつかの実施形態では、第1および第2のFcドメインは、アミノ酸置換M428L／N424Sをさらに含む。

【0592】

このフォーマットでは、有用なIL-12p40タンパク質ドメインは、これに限定されないが、配列番号4（ヒトIL-12サブユニットベータ（IL-12p40）成熟形態配列）を含む。このフォーマットでは、有用なIL-12p40バリエーションは、これらに限定されないが、E59K、E59Q、D18N、D18K、E32Q、E33Q、D34N、D34K、Q42E、S43E、S43K、E45Q、Q56E、D62N、E73Q、D87N、K99E、K99Y、E100Q、N103D、N103Q、N113D、N113Q、Q144E、D161N、R159E、K163E、E187Q、N200D、N200Q、N218Q、Q229E、E235Q、C252S、Q256N、K258E、K260E、E262Q、K264E、N281D、N281Q、およびE299Qを含む。このフォーマットでは、有用なIL-12p40バリエーションは、これらに限定されないが、N103D／N113D／N200D／N281D、Q42E／E45Q、E45Q／Q56E、Q42E／E59Q、Q56E／E59Q、Q42E／E45Q／Q56E、E45Q／Q56E／E59Q、E32Q／E59Q、D34N／E59K、D34N／E59K／K99E、D34K／E59K／K99E、E32Q／D34N／E59K／K99E、E32K／D34N／E59K／K99E、D34N／E59Q、E59Q／E187Q、S43E／E59Q、S43K／E49Q、E59Q／K163E、E59Q／K99E、E59Q／K258E、E59Q／K260E、E59K／K99E、D18K／E59K／K99E、E59K／K99E／K264E、E59K／K99Y、E59Y／K99Y、E59Y／K99E、E45K／E59K／K99E、E59K／K99E／Q144E、E59K／K99E／Q144K、E59K／K99E／R159E、E59K／K99E／K264E、D18K／E59K／K99E／K264E、D18K／E59K／K99E／C252S、D18K／E59K／K99E／C252S／K264E、E59K／K99Y／C252S、E59K／K99E／C252S／K264E、E59K／K99E／C252S、N103D／N113D、N103D／N200D、N103D／N281D、N113D／N200D、N113D／N281D、N200D／N281D、N103D／N113D／N200D、N103D／N113D／N281D、N103Q／N113Q、N103Q／N200Q、N103Q／N281Q、N113Q／N200Q、N113Q／N281Q、N200Q／N281Q、N103Q／N113Q／N200Q、N103Q／N113Q／N281Q、N103Q／N200Q／N281Q、N113Q／N200Q／N281Q、N103Q／N113Q／N200Q／N281Q、E59K／K99E／N103Q／C252S／K264E、E59K／K99E／N113Q／C252S／K264E、E59K／K99E／N200Q／C252S／K264E、E59K／K99E／N281Q／C252S／K264E、E59K／K99E／N103Q／N113Q／C252S／K264E、E59K／K99E／N103Q／N200Q／C252S／K264E、E59K／K99E／N113Q／N200Q／C252S／K264E、E59K／K99E／N200Q

10

20

30

40

50

／N281Q／C252S／K264E、E59K／K99E／N103Q／N113Q
／N200Q／C252S／K264E、E59K／K99E／N103Q／N200Q
／N281Q／C252S／K264E、E59K／K99E／N113Q／N200Q
／N281Q／C252S／K264E、およびE59K／K99E／N103Q／N1
13Q／N200Q／N281Q／C252S／K264Eを含む。

【0593】

このフォーマットでは、IL-12p35タンパク質ドメインは、配列番号2（ヒトIL-12サブユニットアルファ（IL-12p35）成熟形態配列）を含む。このフォーマットでは、有用なIL-12p35バリエーションは、これらに限定されないが、N21D、Q35D、E38Q、D55Q、D55K、N71D、N71Q、L75A、N76D、E79Q、N85D、N85Q、L89A、F96A、M97A、L124A、M125A、Q130E、Q135E、N136D、E143Q、Q146E、N151D、N151K、E153K、E153Q、K158E、E162Q、E163Q、D165N、I171A、N195D、およびN195Qを含む。このフォーマットでは、有用なIL-12p35バリエーションは、これらに限定されないが、N71D／N85D／N195D、N151D／E153Q、N151D／D165N、Q130E／N151D、N151D／K158E、E79Q／N151D、D55Q／N151D、N136D／N151D、N21D／N151D、E143Q／N151D、N71Q／N85Q、N71Q／N195Q、N85Q／N195Q、N71Q／N85Q／N195Q、N71D／N85D、N71D／N195D、およびN85D／N195Dを含む。

【0594】

このフォーマットでは、バリエーションIL-12p40サブユニットおよびIL-12p35サブユニットの有用な組み合わせは、これらに限定されないが、IL-12p40（E59K／K99Y）およびIL-12p35（配列番号2）、IL-12p40（D18K／E59K／K99E）およびIL-12p35（配列番号2）、IL-12p40（E59K／K99E／K264E）およびIL-12p35（配列番号2）、IL-12p40（D18K／E59K／K99E／K264E）およびIL-12p35（配列番号2）、IL-12p40（D18K／E59K／K99E／C252S）およびIL-12p35（配列番号2）、IL-12p40（D18K／E59K／K99E／C252S／K264E）およびIL-12p35（配列番号2）、IL-12p40（E59K／K99Y／C252S）およびIL-12p35（配列番号2）、IL-12p40（E59K／K99E／C252S／K264E）およびIL-12p35（配列番号2）、ならびにIL-12p40（E59K／K99E／C252S）およびIL-12p35（配列番号2）を含む。

【0595】

このフォーマットでは、バリエーションIL-12p40サブユニットおよびIL-12p35サブユニットの有用な組み合わせは、これに限定されないが、配列番号2（ヒトIL-12サブユニットアルファ（IL-12p35）成熟形態配列）を含むIL-12p35と、これらに限定されないが、E59K、E59Q、D18N、D18K、E32Q、E33Q、D34N、D34K、Q42E、S43E、S43K、E45Q、Q56E、D62N、E73Q、D87N、K99E、K99Y、E100Q、N103D、N103Q、N113D、N113Q、Q144E、D161N、R159E、K163E、E187Q、N200D、N200Q、N218Q、Q229E、E235Q、C252S、Q256N、K258E、K260E、E262Q、K264E、N281D、N281Q、E299Q、N103D／N113D／N200D／N281D、Q42E／E45Q、E45Q／Q56E、Q42E／E59Q、Q56E／E59Q、Q42E／E45Q／Q56E、E45Q／Q56E／E59Q、E32Q／E59Q、D34N／E59K、D34N／E59K／K99E、D34K／E59K／K99E、E32Q／D34N／E59K／K99E、E32K／D34N／E59K／K99E、D34N／E59Q、E59Q／E187Q、S43E／E59Q、S43K／E49Q、E59Q／K

163E、E59Q/K99E、E59Q/K258E、E59Q/K260E、E59K/K99E、D18K/E59K/K99E、E59K/K99E/K264E、E59K/K99Y、E59Y/K99Y、E59Y/K99E、E45K/E59K/K99E、E59K/K99E/Q144E、E59K/K99E/Q144K、E59K/K99E/R159E、E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/C252S、D18K/E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99Y/C252S、E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99E/C252S、N103D/N113D、N103D/N200D、N103D/N281D、N113D/N200D、N113D/N281D、N200D/N281D、N103D/N113D/N200D、N103D/N113D/N281D、N103D/N200D/N281D、N113D/N200D/N281D、N103Q/N113Q、N103Q/N200Q、N103Q/N281Q、N113Q/N200Q、N113Q/N281Q、N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N200Q、N103Q/N113Q/N281Q、N103Q/N200Q/N281Q、N113Q/N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N200Q/N281Q、E59K/K99E/N103Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、およびE59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264Eを含む、1つ以上の置換を含むバリエーションIL-12p40との組み合わせを含む。

【0596】

このフォーマットでは、IL-12p40およびIL-12p35バリエーションの有用な組み合わせは、これに限定されないが、配列番号4（ヒトIL-12サブユニットベータ（IL-12p40）成熟形態配列）を含むIL-12p40と、N21D、Q35D、E38Q、D55Q、D55K、N71D、N71Q、L75A、N76D、E79Q、N85D、N85Q、L89A、F96A、M97A、L124A、M125A、Q130E、Q135E、N136D、E143Q、Q146E、N151D、N151K、E153K、E153Q、K158E、E162Q、E163Q、D165N、I171A、N195D、N195Q、N71D/N85D/N195D、N151D/E153Q、N151D/D165N、Q130E/N151D、N151D/K158E、E79Q/N151D、D55Q/N151D、N136D/N151D、N21D/N151D、E143Q/N151D、N71Q/N85Q、N71Q/N195Q、N85Q/N195Q、N71Q/N85Q/N195Q、N71D/N85D、N71D/N195D、およびN85D/N195Dを含むIL-12p35との組み合わせを含む。

【0597】

このフォーマットでは、IL-12p40バリエーションおよびIL-12p35バリエーションの有用な組み合わせは、これに限定されないが、E59K、E59Q、D18N、D18K、E32Q、E33Q、D34N、D34K、Q42E、S43E、S43K、E45Q、Q56E、D62N、E73Q、D87N、K99E、K99Y、E100Q、N103D、N103Q、N113D、N113Q、Q144E、D161N、R159E、K163E、E187Q、N200D、N200Q、N218Q、Q229E、E23

10

20

30

40

50

5Q、C252S、Q256N、K258E、K260E、E262Q、K264E、N281D、N281Q、E299Q、N103D/N113D/N200D/N281D、Q42E/E45Q、E45Q/Q56E、Q42E/E59Q、Q56E/E59Q、Q42E/E45Q/Q56E、E45Q/Q56E/E59Q、E32Q/E59Q、D34N/E59K、D34N/E59K/K99E、D34K/E59K/K99E、E32Q/D34N/E59K/K99E、E32K/D34N/E59K/K99E、D34N/E59Q、E59Q/E187Q、S43E/E59Q、S43K/E49Q、E59Q/K163E、E59Q/K99E、E59Q/K258E、E59Q/K260E、E59K/K99E、D18K/E59K/K99E、E59K/K99E/K264E、E59K/K99Y、E59Y/K99Y、E59Y/K99E、E45K/E59K/K99E、E59K/K99E/Q144E、E59K/K99E/Q144K、E59K/K99E/R159E、E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/K264E、D18K/E59K/K99E/C252S、D18K/E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99Y/C252S、E59K/K99E/C252S/K264E、E59K/K99E/C252S、N103D/N113D、N103D/N200D、N103D/N281D、N113D/N200D、N113D/N281D、N200D/N281D、N103D/N113D/N200D、N103D/N113D/N281D、N103D/N200D/N281D、N113D/N200D/N281D、N103Q/N113Q、N103Q/N200Q、N103Q/N281Q、N113Q/N200Q、N113Q/N281Q、N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N200Q、N103Q/N113Q/N281Q、N103Q/N200Q/N281Q、N113Q/N200Q/N281Q、N103Q/N113Q/N200Q/N281Q、E59K/K99E/N103Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、E59K/K99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E、およびE59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E；からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を含むIL-12p40バリエーションと、N21D、Q35D、E38Q、D55Q、D55K、N71D、N71Q、L75A、N76D、E79Q、N85D、N85Q、L89A、F96A、M97A、L124A、M125A、Q130E、Q135E、N136D、E143Q、Q146E、N151D、N151K、E153K、E153Q、K158E、E162Q、E163Q、D165N、I171A、N195D、N195Q、N71D/N85D/N195D、N151D/E153Q、N151D/D165N、Q130E/N151D、N151D/K158E、E79Q/N151D、D55Q/N151D、N136D/N151D、N21D/N151D、E143Q/N151D、N71Q/N85Q、N71Q/N195Q、N85Q/N195Q、N71Q/N85Q/N195Q、N71D/N85D、N71D/N195D、およびN85D/N195Dからなる群から選択される1つ以上の置換を含むIL-12p35バリエーションとの組み合わせを含む。

【0598】

VIII. 本発明の有用な実施形態

当業者によって理解され、以下でより完全に議論されるように、本発明のヘテロ二量体

10

20

30

40

50

融合タンパク質は、一般に図 8 A～F に示されるように、多種多様な立体配置をとることができる。例示的な融合タンパク質のアミノ酸配列は、図 9～11 に提供される。

【0599】

本明細書に概説される実施形態の多くは、一般に、第 1 の Fc ドメインの N 末端に（任意にドメインリンカーを介して）共有結合した IL-12p35 サブユニットドメインを含む第 1 の単量体（第 1 の融合タンパク質）、および第 2 の Fc ドメインの N 末端に（任意にドメインリンカーを介して）共有結合した IL-12p40 サブユニットドメインを含む第 2 の単量体（第 2 の融合タンパク質）を含むフォーマットに依存する。このフォーマットの例示的な実施形態は、これに限定されないが、XENP27201 を含む。追加の実施形態では、第 1 の単量体は、i) 配列番号 XX (XENP27201 鎖 1)、ii) 配列番号 XX (XenD24752)、iii) 配列番号 XX (XenD24753)、iv) 配列番号 XX (XenD24754)、v) 配列番号 XX (XenD24755)、vi) 配列番号 XX (XenD24756)、vii) 配列番号 XX (XenD24757)、viii) 配列番号 XX (XenD24758)、ix) 配列番号 XX (XenD24759)、x) 配列番号 XX (XenD24760)、xi) 配列番号 XX (XenD24761)、xii) 配列番号 XX (XenD24762)、xiii) 配列番号 XX (XenD24763)、xiv) 配列番号 XX (XenD24764)、xv) 配列番号 XX (XenD24765)、xvi) 配列番号 XX (XenD24766)、xvii) 配列番号 XX (XenD24767)、xviii) 配列番号 XX (XenD24768)、xix) 配列番号 XX (XenD24769)、xx) 配列番号 XX (XenD24770)、xxi) 配列番号 XX (XenD24771)、xxii) 配列番号 XX (XenD24772)、xxiii) 配列番号 XX (XenD24773)、xxiv) 配列番号 XX (XenD24774)、xxv) 配列番号 XX (XenD24775)、xxvi) 配列番号 XX (XenD24776)、xxvii) 配列番号 XX (XenD24777)、xxviii) 配列番号 XX (XenD24778)、xxix) 配列番号 XX (XenD24792)、xxx) 配列番号 XX (XenD25922)、xxxi) 配列番号 XX (XenD25923)、xxxii) 配列番号 XX (XenD25924)、xxxiii) 配列番号 XX (XenD25925)、xxxiv) 配列番号 XX (XenD25926)、xxxv) 配列番号 XX (XenD25927)、xxxvi) 配列番号 XX (XenD25928)、xxxvii) 配列番号 XX (XenD25929)、xxxviii) 配列番号 XX (XenD25930)、および xxxix) 配列番号 XX (XenD25931) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有し、第 2 の単量体は、i) 配列番号 XX (XENP27201 鎖 2)、ii) 配列番号 XX (XenD24779)、iii) 配列番号 XX (XenD24780)、iv) 配列番号 XX (XenD24781)、v) 配列番号 XX (XenD24782)、vi) 配列番号 XX (XenD24783)、vii) 配列番号 XX (XenD24784)、viii) 配列番号 XX (XenD24785)、ix) 配列番号 XX (XenD24786)、x) 配列番号 XX (XenD24787)、xi) 配列番号 XX (XenD24788)、xii) 配列番号 XX (XenD24789)、xiii) 配列番号 XX (XenD24790)、xiv) 配列番号 XX (XenD24791)、xv) 配列番号 XX (XenD25911)、xvi) 配列番号 XX (XenD25912)、xvii) 配列番号 XX (XenD25913)、xviii) 配列番号 XX (XenD25914)、xix) 配列番号 XX (XenD25915)、xx) 配列番号 XX (XenD25916)、xxi) 配列番号 XX (XenD25917)、xxii) 配列番号 XX (XenD25918)、xxiii) 配列番号 XX (XenD25919)、xxiv) 配列番号 XX (XenD25920)、および xxv) 配列番号 XX (XenD25921) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する。特定のそのような実施形態は、これらに限定されないが、XENP27201、XENP28820、XENP28821、XENP28822、XENP28823、XENP28824、XENP28825、XENP28826、XENP28827、XENP28828、XENP28

10

20

30

40

50

8 2 9、X E N P 2 8 8 3 0、X E N P 2 8 8 3 1、X E N P 2 8 8 3 2、X E N P 2 8
8 3 3、X E N P 2 8 8 3 4、X E N P 2 8 8 3 5、X E N P 2 8 8 3 6、X E N P 2 8
8 3 7、X E N P 2 8 8 3 8、X E N P 2 8 8 3 9、X E N P 2 8 8 4 0、X E N P 2 8
8 4 1、X E N P 2 8 8 4 2、X E N P 2 8 8 4 3、X E N P 2 8 8 4 4、X E N P 2 8
8 4 5、X E N P 2 8 8 4 6、X E N P 2 8 8 4 7、X E N P 2 8 8 4 8、X E N P 2 8
8 4 9、X E N P 2 8 8 5 0、X E N P 2 8 8 5 1、X E N P 2 8 8 5 2、X E N P 2 9
9 4 9、X E N P 2 9 9 5 0、X E N P 2 9 9 5 1、X E N P 2 9 9 5 2、X E N P 3 0
5 9 7、X E N P 3 0 5 9 8、X E N P 3 0 5 9 9、X E N P 3 0 6 0 0、X E N P 3 0
6 0 1、X E N P 3 0 6 0 2、X E N P 3 0 6 0 3、X E N P 3 0 6 0 4、X E N P 3 0
6 0 5、X E N P 3 0 6 0 6、X E N P 3 0 3 0 7、X E N P 3 0 3 0 8、X E N P 3 0
6 0 9、X E N P 3 1 2 5 0、X E N P 3 1 2 5 1、X E N P 3 1 2 5 2、X E N P 3 1
2 5 3、X E N P 3 1 2 5 4、X E N P 3 1 2 5 5、X E N P 3 1 2 5 6、X E N P 3 1
2 5 7、X E N P 3 1 2 5 8、X E N P 3 1 2 5 9、X E N P 3 1 2 6 0、X E N P 3 1
2 6 1、X E N P 3 1 2 6 2、X E N P 3 1 2 6 3、X E N P 3 1 2 6 4、X E N P 3 1
2 6 5、X E N P 3 1 2 8 6、X E N P 3 1 1 4 2、X E N P 3 1 1 4 3、X E N P 3 1
1 4 4、X E N P 3 1 1 4 5、X E N P 3 1 1 4 6、X E N P 3 1 5 8 2、X E N P 3 1
5 8 3、X E N P 3 1 5 8 4、X E N P 3 2 1 8 7、X E N P 3 2 1 8 8、X E N P 3 2
1 8 9、X E N P 3 2 1 9 0、X E N P 3 2 1 9 1、X E N P 3 2 9 9 1、X E N P 3 2
9 9 2、X E N P 3 2 9 9 3、X E N P 3 2 9 9 4、X E N P 3 2 9 9 5、X E N P 3 2
9 9 6、X E N P 3 2 9 9 7、X E N P 3 2 9 9 8、X E N P 3 2 9 9 9、X E N P 3 3
0 0 0、X E N P 3 3 0 0 1、X E N P 3 3 0 0 2、X E N P 3 3 0 0 3、X E N P 3 3
0 0 4、X E N P 3 3 0 0 5、X E N P 3 3 0 0 6、X E N P 3 3 0 0 7、X E N P 3 3
0 0 8、X E N P 3 3 0 0 8、X E N P 3 3 0 0 9、X E N P 3 3 0 1 0、およびX E N
P 3 3 0 1 1を含む。ヘテロ二量体F c融合タンパク質の有用な実施形態は、第1のF c
ドメインのC末端に（任意にドメインリンカーを介して）共有結合したI L-1 2 p 3 5
サブユニットドメインを含む第1の単量体（第1の融合タンパク質）、および第2のF c
ドメインのC末端に（任意にドメインリンカーを介して）共有結合したI L-1 2 p 4 0
サブユニットドメインを含む第2の単量体（第2の融合タンパク質）を含む。このフォー
マットの例示的な実施形態は、これに限定されないが、X E N P 2 7 2 0 2を含む。

【0 6 0 0】

ヘテロ二量体F c融合タンパク質の別の有用な実施形態は、第1のF cドメイン、およ
び第2のF cドメイン（例えば、空のF cドメイン）のN末端に（任意にドメインリンカー
を介して）共有結合した単鎖I L-1 2複合体（「s c I L-1 2」）を含む第1の単
量体（第1の融合タンパク質）を含む。s c I L-1 2は、I L-1 2 p 4 0サブユニッ
トが（ドメインリンカーありまたはなしで）I L-1 2 p 3 5サブユニットにN末端結合
している「s c I L-1 2（p 4 0／p 3 5）」、またはI L-1 2 p 3 5が（ドメイン
リンカーありまたはなしで）I L-1 2 p 4 0サブユニットにN末端結合している「s c
I L-1 2（p 3 5／p 4 0）」であり得る。このフォーマットの例示的な実施形態は、
これらに限定されないが、X E N P 2 7 2 0 3およびX E N P 2 7 2 0 4を含む。

【0 6 0 1】

ヘテロ二量体F c融合タンパク質のさらに有用な実施形態は、第1のF cドメイン、およ
び第2のF cドメイン（例えば、空のF cドメイン）のC末端に（任意にドメインリン
カーを介して）共有結合した単鎖I L-1 2複合体（「s c I L-1 2」）を含む第1の
単量体（第1の融合タンパク質）を含む。s c I L-1 2は、I L-1 2 p 4 0サブユニッ
トが（ドメインリンカーありまたはなしで）I L-1 2 p 3 5サブユニットにN末端結
合している「s c I L-1 2（p 4 0／p 3 5）」、またはI L-1 2 p 3 5が（ドメイ
ンリンカーありまたはなしで）I L-1 2 p 4 0サブユニットにN末端結合している「s
c I L-1 2（p 3 5／p 4 0）」であり得る。

【0 6 0 2】

本明細書に概説されるヘテロ二量体F c融合タンパク質のいずれかについて、第1の単

量体、第2の単量体、および／またはs c I L-12において使用される任意のドメインリンカーは、同じでも異なってもよい。加えて、ヘテロ二量体タンパク質の第1のFcドメインおよび第2のFcドメインは、異なるアミノ酸配列を有し得る。

【0603】

本発明のFcドメインは、IgG Fcドメイン、例えば、IgG1 Fcドメインを含む。いくつかの実施形態では、第1および第2のFcドメインは、EU付番に従って、L368D/K370SおよびS364K；L368D/K370SおよびS364K/E357L；L368D/K370SおよびS364K/E357Q；T411E/K360E/Q362EおよびD401K；L368E/K370SおよびS364K；K370SおよびS364K/E357QおよびT366S/L368A/Y407V；T366W（任意に架橋ジスルフィド、T366S/L368A/Y407V/Y349C：T366W/S354Cを含む）からなる群から選択されるアミノ酸置換のセットを含む。いくつかの例では、本明細書に概説されるヘテロ二量体Fc融合フォーマットのうちのいずれかの第1および／または第2のFcドメインは、EU付番に従って、Q295E/N384D/Q418E/N421D、を含むアミノ酸置換の追加のセットを有することができる。いくつかの実施形態では、第1および／または第2のFcドメインは、EU付番に従って、G236R/L328R、E233P/L234V/L235A/G236_/S239K、E233P/L234V/L235A/G236_/S239K/A327G、E233P/L234V/L235A/G236_/S267K/A327G、E233P/L234V/L235A/G236_、およびE233P/L234V/L235A/G236_/S267Kからなる群から選択されるアミノ酸置換の追加のセットを有する。

【0604】

追加のヘテロ二量体化またはホモ二量体化バリエントは、独立してかつ任意に含み、図に概説されるバリエントから選択することができる。これらの組成物は、アブレーションバリエント、pIバリエント、荷電バリエント、アイソタイプバリエントなどをさらに含み得る。

【0605】

A. IL-12 p40 バリエント

いくつかの実施形態では、IL-12 p40サブユニットは、バリエントIL-12 p40サブユニットである。いくつかの特定のそのような実施形態では、IL-12 p40サブユニットは、低減された不均一性を有するバリエントIL-12 p40サブユニットである。他の特定のそのような実施形態では、IL-12 p40サブユニットは、変更された、すなわち、低減または増加された、IL-12受容体サブユニットベーター1（IL-12Rβ1）、IL-12受容体サブユニットベーター2（IL-12Rβ2）、および／またはIL-12受容体複合体についての親和性を有するバリエントIL-12 p40サブユニットである。いくつかの実施形態では、バリエントIL-12 p40サブユニットは、E3、D7、E12、D14、W15、P17、D18、A19、P20、G21、E22、M23、D29、E32、E33、D34、L40、D41、Q42、S43、E45、L47、T54、I55、Q56、K58、E59、F60、G61、D62、Q65、Y66、E73、K84、E86、D87、G88、I89、W90、D93、D97、K99、E100、K102、N103、K104、F106、E110、N113、Y114、D129、D142、Q144、E156、R159、D161、N162、K163、D166、D170、Q172、D174、A176、C177、P178、A179、A180、E181、S183、P185、E187、N200、S204、F206、R208、D209、D214、N218、Q220、N226、Q229、E231、E235、T242、P243、S245、Y246、F247、S248、C252、Q256、K258、K260、E262、K264、D265、D270、N281、Q289、D290、R291、Y292、Y293、およびE299からなる群から選択されるアミノ酸残基で1つ以上のアミノ酸修飾を有する。（ヒ

ト I L - 1 2 サブユニットベータ (I L - 1 2 p 4 0) 成熟形態配列に従って付番される)。

【 0 6 0 6 】

いくつかの実施形態では、バリエーション I L - 1 2 p 4 0 サブユニットは、D 1 8 N、D 1 8 K、E 3 2 Q、E 3 3 Q、D 3 4 N、D 3 4 K、Q 4 2 E、S 4 3 E、S 4 3 K、E 4 5 Q、Q 5 6 E、E 5 9 Q、E 5 9 K、D 6 2 N、E 7 3 Q、D 8 7 N、K 9 9 E、K 9 9 Y、E 1 0 0 Q、N 1 0 3 D、N 1 0 3 Q、N 1 1 3 D、N 1 1 3 Q、Q 1 4 4 E、D 1 6 1 N、R 1 5 9 E、K 1 6 3 E、E 1 8 7 Q、N 2 0 0 D、N 2 0 0 Q、N 2 1 8 Q、Q 2 2 9 E、E 2 3 5 Q、C 2 5 2 S、Q 2 5 6 N、K 2 5 8 E、K 2 6 0 E、E 2 6 2 Q、K 2 6 4 E、N 2 8 1 D、N 2 8 1 Q、および E 2 9 9 Q からなる群から選択される 1 つ以上のアミノ酸置換を有する。いくつかの実施形態では、バリエーション I L - 1 2 p 4 0 サブユニットは、N 1 0 3 D / N 1 1 3 D / N 2 0 0 D / N 2 8 1 D、Q 4 2 E / E 4 5 Q、E 4 5 Q / Q 5 6 E、Q 4 2 E / E 5 9 Q、Q 5 6 E / E 5 9 Q、Q 4 2 E / E 4 5 Q / Q 5 6 E、E 4 5 Q / Q 5 6 E / E 5 9 Q、E 3 2 Q / E 5 9 Q、D 3 4 N / E 5 9 K、D 3 4 N / E 5 9 K / K 9 9 E、D 3 4 K / E 5 9 K / K 9 9 E、E 3 2 Q / D 3 4 N / E 5 9 K / K 9 9 E、E 3 2 K / D 3 4 N / E 5 9 K / K 9 9 E、D 3 4 N / E 5 9 Q、E 5 9 Q / E 1 8 7 Q、S 4 3 E / E 5 9 Q、S 4 3 K / E 4 9 Q、E 5 9 Q / K 1 6 3 E、E 5 9 Q / K 9 9 E、E 5 9 Q / K 2 5 8 E、E 5 9 Q / K 2 6 0 E、E 5 9 K / K 9 9 E、D 1 8 K / E 5 9 K / K 9 9 E、E 5 9 K / K 9 9 E / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 Y、E 5 9 Y / K 9 9 Y、E 5 9 Y / K 9 9 E、E 4 5 K / E 5 9 K / K 9 9 E、E 5 9 K / K 9 9 E / Q 1 4 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / Q 1 4 4 K、E 5 9 K / K 9 9 E / R 1 5 9 E、E 5 9 K / K 9 9 E / K 2 6 4 E、D 1 8 K / E 5 9 K / K 9 9 E / K 2 6 4 E、D 1 8 K / E 5 9 K / K 9 9 E / C 2 5 2 S、D 1 8 K / E 5 9 K / K 9 9 E / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 Y / C 2 5 2 S、E 5 9 K / K 9 9 E / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / C 2 5 2 S、N 1 0 3 D / N 1 1 3 D、N 1 0 3 D / N 2 0 0 D、N 1 0 3 D / N 2 8 1 D、N 1 1 3 D / N 2 0 0 D、N 1 1 3 D / N 2 8 1 D、N 2 0 0 D / N 2 8 1 D、N 1 0 3 D / N 1 1 3 D / N 2 0 0 D、N 1 0 3 D / N 1 1 3 D / N 2 8 1 D、N 1 0 3 D / N 2 0 0 D / N 2 8 1 D、N 1 1 3 D / N 2 0 0 D / N 2 8 1 D、N 1 0 3 Q / N 1 1 3 Q、N 1 0 3 Q / N 2 0 0 Q、N 1 0 3 Q / N 2 8 1 Q、N 1 1 3 Q / N 2 0 0 Q、N 1 1 3 Q / N 2 8 1 Q、N 2 0 0 Q / N 2 8 1 Q、N 1 0 3 Q / N 1 1 3 Q / N 2 0 0 Q、N 1 0 3 Q / N 1 1 3 Q / N 2 8 1 Q、N 1 0 3 Q / N 2 0 0 Q / N 2 8 1 Q、N 1 1 3 Q / N 2 0 0 Q / N 2 8 1 Q、N 1 0 3 Q / N 1 1 3 Q / N 2 0 0 Q / N 2 8 1 Q、E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 0 3 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 1 3 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 2 0 0 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 2 8 1 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 0 3 Q / N 1 1 3 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 0 3 Q / N 2 0 0 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 1 3 Q / N 2 0 0 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 1 3 Q / N 2 8 1 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 2 0 0 Q / N 2 8 1 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 0 3 Q / N 1 1 3 Q / N 2 0 0 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 0 3 Q / N 2 0 0 Q / N 2 8 1 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E、および E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 0 3 Q / N 1 1 3 Q / N 2 0 0 Q / N 2 8 1 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E からなる群から選択されるアミノ酸置換を有する。

【 0 6 0 7 】

いくつかの実施形態では、I L - 1 2 p 4 0 バリエーションは、i) 配列番号 5 7 (I L - 1 2 p 4 0 (N 1 0 3 D))、i i) 配列番号 5 8 (I L - 1 2 p 4 0 (N 1 1 3 D))、i i i) 配列番号 5 9 (I L - 1 2 p 4 0 (N 2 0 0 D))、i v) 配列番号 6 0 (I

10

20

30

40

50

L-12p40 (N281D))、v) 配列番号61 (IL-12p40 (N103D/
 N113D/N200D/N281D))、vi) 配列番号62 (IL-12p40 (Q
 42E))、vii) 配列番号63 (IL-12p40 (E45Q))、viii) 配列
 番号64 (IL-12p40 (Q56E))、ix) 配列番号65 (IL-12p40 (E
 59Q))、x) 配列番号66 (IL-12p40 (D62N))、xi) 配列番号6
 7 (IL-12p40 (Q42E/E45Q))、xii) 配列番号68 (IL-12p
 40 (E45Q/Q56E))、xiii) 配列番号69 (IL-12p40 (Q42E
 /E59Q))、xiv) 配列番号70 (IL-12p40 (Q56E/E59Q))、
 xv) 配列番号71 (IL-12p40 (Q42E/E45Q/Q56E))、xvi)
 配列番号72 (IL-12p40 (E45Q/Q56E/E59Q))、xvii) 配列
 番号73 (IL-12p40 (D161N))、xviii) 配列番号74 (IL-12
 p40 (E73Q))、xix) 配列番号75 (IL-12p40 (Q144E))、x
 x) 配列番号76 (IL-12p40 (E262Q))、xxi) 配列番号77 (IL-
 12p40 (E100Q))、xxii) 配列番号78 (IL-12p40 (D18N)
)、xxiii) 配列番号79 (IL-12p40 (E33Q))、xxiv) 配列番号
 80 (IL-12p40 (Q229E))、xxv) 配列番号81 (IL-12p40 (E
 235Q))、xxvi) 配列番号82 (IL-12p40 (Q256N))、xxv
 ii) 配列番号83 (IL-12p40 (E299Q))、xxviii) 配列番号84
 (IL-12p40 (D87N))、xxix) IL-12p40 (E32Q)、xxx
) IL-12p40 (D34N)、xxxii) IL-12p40 (S43E)、xxx i
 i) IL-12p40 (S43K)、xxxiii) 配列番号XXX (IL-12p40
 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S
 /K264E))、xxxiv) 配列番号205 (IL-12p40 (E59K))、x
 xxv) IL-12p40 (K99E)、xxxvi) IL-12p40 (K163E)
 、xxxvii) IL-12p40 (E187Q)、xxxviii) IL-12p40
 (K258E)、xxxix) IL-12p40 (K260E)、xl) 配列番号206
 (IL-12p40 (E32Q/E59Q))、xli) 配列番号207 (IL-12p
 40 (D34N/E59Q))、xlii) 配列番号208 (IL-12p40 (E59
 Q/E187Q))、xliii) 配列番号209 (IL-12p40 (S43E/E5
 9Q))、xliv) 配列番号210 (IL-12p40 (S43K/E49Q))、x
 lv) 配列番号211 (IL-12p40 (E59Q/K163E))、xlvii) 配列
 番号212 (IL-12p40 (E59Q/K99E))、xlvi) 配列番号213
 (IL-12p40 (E59Q/K258E))、xlviii) 配列番号214 (IL
 -12p40 (E59Q/K260E))、xlix) 配列番号XXX (IL-12p4
 0 (D34N/E59K))、li) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K9
 9E))、lii) 配列番号XXX (IL-12p40 (D18K/E59K/K99E)
)、liii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/K264E))
 、liiii) 配列番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99Y))、liv) 配
 列番号XXX (IL-12p40 (E59Y/K99E))、lv) 配列番号XXX (I
 L-12p40 (E45K/E59K/K99E))、lvi) 配列番号XXX (IL-
 12p40 (E59K/K99E/Q144E))、lvii) 配列番号XXX (IL-
 12p40 (E59K/K99E/Q144K))、lviii) 配列番号XXX (IL
 -12p40 (E59K/K99E/R159E))、lix) 配列番号XXX (IL-
 12p40 (E59K/K99E/K264E))、lx) 配列番号XXX (IL-12
 p40 (D18K/E59K/K99E/K264E))、lxi) 配列番号XXX (I
 L-12p40 (C252S))、lxii) 配列番号XXX (IL-12p40 (DI
 8K/E59K/K99E/C252S))、lxiii) 配列番号XXX (IL-12
 p40 (D18K/E59K/K99E/C252S/K264E))、lxiv) 配列
 番号XXX (IL-12p40 (E59K/K99Y/C252S))、lxv) 配列番
 号XXX (IL-12p40 (E59K/K99E/C252S/K264E))、lx

10

20

30

40

50

v i) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (E 59 K / K 99 E / C 252 S))、l x
 v i i) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (N 103 D / N 113 D))、l x v i i
 i) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (N 103 D / N 200 D))、l x i x) 配列
 番号 XXX (IL-12 p 40 (N 103 D / N 281 D))、l x x) 配列番号 XXX
 (IL-12 p 40 (N 113 D / N 200 D))、l x x i) 配列番号 XXX (IL-
 12 p 40 (N 113 D / N 281 D))、l x x i i) 配列番号 XXX (IL-12 p
 40 (N 200 D / N 281 D))、l x x i i i) 配列番号 XXX (IL-12 p 50
 (N 103 D / N 113 D / N 200 D))、l x x i v) 配列番号 XXX (IL-12
 p 40 (N 103 D / N 113 D / N 281 D))、l x x v) 配列番号 XXX (IL-
 12 p 40 (N 103 D / N 200 D / N 281 D))、l x x v i) 配列番号 XXX (10
 IL-12 p 40 (N 113 D / N 200 D / N 281 D))、l x x v i i) 配列番号
 XXX (IL-12 p 40 (N 103 Q))、l x x v i i i) 配列番号 XXX (IL-
 12 p 40 (N 113 Q))、l x x i x) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (N 20
 0 Q))、l x x x) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (N 281 Q))、l x x x i
) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (N 103 Q / N 113 Q))、l x x x i i) 配
 列番号 XXX (IL-12 p 40 (N 103 Q / N 200 Q))、l x x x i i i) 配列
 番号 XXX (IL-12 p 40 (N 103 Q / N 281 Q))、l x x x i v) 配列番号
 XXX (IL-12 p 40 (N 113 Q / N 200 Q))、l x x x v) 配列番号 XXX
 (IL-12 p 40 (N 113 Q / N 281 Q))、l x x x v i) 配列番号 XXX (IL
 -12 p 40 (N 200 Q / N 281 Q))、l x x x v i i) 配列番号 XXX (IL
 -12 p 40 (N 103 Q / N 113 Q / N 200 Q))、l x x x v i i i) 配列番号
 XXX (IL-12 p 40 (N 103 Q / N 113 Q / N 281 Q))、l x x x i x)
 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (N 103 Q / N 200 Q / N 281 Q))、x c)
 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (N 113 Q / N 200 Q / N 281 Q))、x c i
) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (N 103 Q / N 113 Q / N 200 Q / N 281
 Q))、x c i i) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (D 34 N / E 59 K / K 99 E
))、x c i i i) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (D 34 K / E 59 K / K 99 E
))、x c i v) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (E 32 Q / D 34 N / E 59 K /
 K 99 E))、x c v) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (E 32 K / D 34 N / E 5
 9 K / K 99 E))、x c v i) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (E 59 Y / K 99
 Y))、x c v i i) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (E 59 K / K 99 E / N 10
 3 Q / C 252 S / K 264 E))、x c v i i i) 配列番号 XXX (IL-12 p 40
 (E 59 K / K 99 E / N 113 Q / C 252 S / K 264 E))、x c i x) 配列番号
 XXX (IL-12 p 40 (E 59 K / K 99 E / N 200 Q / C 252 S / K 264 E
))、c) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (E 59 K / K 99 E / N 281 Q / C 2
 52 S / K 264 E))、c i) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (E 59 K / K 99
 E / N 103 Q / N 113 Q / C 252 S / K 264 E))、c i i) 配列番号 XXX (IL-
 12 p 40 (E 59 K / K 99 E / N 103 Q / N 200 Q / C 252 S / K 26
 4 E))、c i i i) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (E 59 K / K 99 E / N 10
 3 Q / N 281 Q / C 252 S / K 264 E))、c i v) 配列番号 XXX (IL-12
 p 40 (E 59 K / K 99 E / N 113 Q / N 200 Q / C 252 S / K 264 E))、
 c v) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (E 59 K / K 99 E / N 113 Q / N 281
 Q / C 252 S / K 264 E))、c v i) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (E 59
 K / K 99 E / N 200 Q / N 281 Q / C 252 S / K 264 E))、c v i i) 配列
 番号 XXX (IL-12 p 40 (E 59 K / K 99 E / N 103 Q / N 113 Q / N 20
 0 Q / C 252 S / K 264 E))、c v i i i) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (E
 59 K / K 99 E / N 103 Q / N 200 Q / N 281 Q / C 252 S / K 264 E)
)、および c i x) 配列番号 XXX (IL-12 p 40 (E 59 K / K 99 E / N 113
 Q / N 200 Q / N 281 Q / C 252 S / K 264 E)) からなる群から選択されるポ
 リペプチド配列を有する。

10

20

30

40

50

【0608】

B. IL-12p35バリエーション

いくつかの実施形態では、IL-12p35サブユニットは、バリエーションIL-12p35サブユニットである。いくつかの特定のそのような実施形態では、IL-12p35サブユニットは、低減された不均一性を有するバリエーションIL-12p35サブユニットである。他の特定のそのような実施形態では、IL-12p35サブユニットは、変更された、すなわち、低減または増加された、IL-12受容体サブユニットベクター1 (IL-12R β 1)、IL-12受容体サブユニットベクター2 (IL-12R β 2)、および／またはIL-12受容体複合体についての親和性を有するバリエーションIL-12p35サブユニットである。いくつかの実施形態では、バリエーションIL-12p35サブユニットは、Q20、N21、Q35、E38、S44、E45、E46、H49、K54、D55、T59、V60、E61、C63、L64、P65、E67、L68、N71、S73、C74、L75、N76、E79、N85、L89、F96、M97、L124、M125、Q130、Q135、N136、E143、Q146、N151、E153、K158、E162、E163、D165、I171、R181、I182、R183、V185、T186、D188、R189、V190、S192、Y193、N195、およびA196からなる群から選択されるアミノ酸残基で1つ以上のアミノ酸修飾を有する。(ヒトIL-12サブユニットアルファ(IL-12p35)成熟形態配列に従って付番される)。いくつかの実施形態では、バリエーションIL-12p35サブユニットは、N21D、Q35D、E38Q、D55Q、D55K、N71D、N71Q、L75A、N76D、E79Q、N85D、N85Q、L89A、F96A、M97A、L124A、M125A、Q130E、Q135E、N136D、E143Q、Q146E、N151D、N151K、E153K、E153Q、K158E、E162Q、E163Q、D165N、I171A、N195D、およびN195Qからなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を有する。いくつかの実施形態では、バリエーションIL-12p35サブユニットは、アミノ酸置換N71D/N85D/N195D、N151D/E153Q、N151D/D165N、Q130E/N151D、N151D/K158E、E79Q/N151D、D55Q/N151D、N136D/N151D、N21D/N151D、E143Q/N151D、N71Q/N85Q、N71Q/N195Q、N85Q/N195Q、N71Q/N85Q/N195Q、N71D/N85D、N71D/N195D、およびN85D/N195Dを有する。いくつかの実施形態では、バリエーションIL-12p35サブユニットは、i) 配列番号113 (IL-12p35 (N71D))、ii) 配列番号114 (IL-12p35 (N85D))、iii) 配列番号115 (IL-12p35 (N195D))、iv) 配列番号116 (IL-12p35 (N71D/N85D/N195D))、v) 配列番号117 (IL-12p35 (E153Q))、vi) 配列番号118 (IL-12p35 (E38Q))、vii) 配列番号119 (IL-12p35 (N151D))、viii) 配列番号120 (IL-12p35 (Q135E))、ix) 配列番号121 (IL-12p35 (Q35D))、x) 配列番号122 (IL-12p35 (Q146E))、xi) 配列番号123 (IL-12p35 (N76D))、xii) 配列番号124 (IL-12p35 (E162Q))、xiii) 配列番号125 (IL-12p35 (E163Q))、xiv) IL-12p35 (N21D)、xv) 配列番号XXX (IL-12p35 (D55Q)、xvi) IL-12p35 (E79Q)、xvii) IL-12p35 (Q130E)、xviii) IL-12p35 (N136D)、xix) IL-12p35 (E143Q)、xx) 配列番号227 (IL-12p35 (N151K))、xxi) 配列番号226 (IL-12p35 (E153K))、xxii) IL-12p35 (K158E)、xxiii) IL-12p35 (D165N)、xxiv) 配列番号225 (IL-12p35 (N151D/E153Q))、xxv) 配列番号228 (IL-12p35 (N151D/D165N))、xxvi) 配列番号229 (IL-12p35 (Q130E/N151D))、xxvii) 配列番号230 (IL-12p35 (N151D/K158E))、x

10

20

30

40

50

x v i i i) 配列番号 231 (I L-12 p 35 (E 7 9 Q / N 1 5 1 D))、x x i x) 配列番号 232 (I L-12 p 35 (D 5 5 Q / N 1 5 1 D))、x x x) 配列番号 233 (I L-12 p 35 (N 1 3 6 D / N 1 5 1 D))、x x x i) 配列番号 234 (I L-12 p 35 (N 2 1 D / N 1 5 1 D))、x x x i i) 配列番号 235 (I L-12 p 35 (E 1 4 3 Q / N 1 5 1 D))、x x x i i i) 配列番号 X X X (I L-12 p 35 (F 9 6 A))、x x x i v) 配列番号 X X X (I L-12 p 35 (M 9 7 A))、x x x v) 配列番号 X X X (I L-12 p 35 (L 8 9 A))、x x x v i) 配列番号 X X X (I L-12 p 35 (L 1 2 4 A))、x x x v i i) 配列番号 X X X (I L-12 p 35 (M 1 2 5 A))、x x x v i i i) 配列番号 X X X (I L-12 p 35 (L 7 5 A))、x x x i v) 配列番号 X X X (I L-12 p 35 (I 1 7 1 A))、x x x v) 配列番号 X X X (I L-12 p 35 (N 7 1 Q))、x x x v i) 配列番号 X X X (I L-12 p 35 (N 8 5 Q))、x x x v i i) 配列番号 X X X (I L-12 p 35 (N 1 9 5 Q))、x x x v i i i) 配列番号 X X X (I L-12 p 35 (N 7 1 Q / N 8 5 Q))、x x x i x) 配列番号 X X X (I L-12 p 35 (N 7 1 Q / N 1 9 5 Q))、l x) 配列番号 X X X (I L-12 p 35 (N 8 5 Q / N 1 9 5 Q))、l x i) 配列番号 X X X (I L-12 p 35 (N 7 1 Q / N 8 5 Q / N 1 9 5 Q))、l x i i) 配列番号 X X X (I L-12 p 35 (N 7 1 D / N 8 5 D))、l x i i i) 配列番号 X X X (I L-12 p 35 (N 7 1 D / N 1 9 5 D))、l x i v) 配列番号 X X X (I L-12 p 35 (N 8 5 D / N 1 9 5 D))、l x v) 配列番号 X X X (I L-12 p 35 (D 5 5 Q))、および l x v i) 配列番号 X X X (I L-12 p 35 (D 5 5 K)) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する。

【0609】

C. 追加の選択肢

いくつかの実施形態では、s c I L-12-F c フォーマットは、二価 I L-12-F c 融合体である。いくつかの実施形態では、二価 I L-12-F c 融合フォーマット (図 48A~B) は、各々が、(任意にドメインリンカーを介して) ホモ二量体 F c 鎖の N 末端に融合した s c I L-12 複合体組換え体を含む、2つの同一の単量体を含む。いくつかの実施形態では、二価 I L-12-F c 融合フォーマット (図 48C~D) は、各々が、(任意にドメインリンカーを介して) ホモ二量体 F c 鎖の C 末端に融合した s c I L-12 複合体組換え体を含む、2つの同一の単量体を含む。例としては、これらに限定されないが、X E N P 3 1 2 8 9 および X E N P 3 1 2 9 1 (図 49) が挙げられる。

【0610】

いくつかの実施形態では、I L-12 F c 融合タンパク質は、M 4 2 8 L および N 4 3 4 S を含む置換によって半減期を延長するためにさらに操作される。いくつかの実施形態では、I L-12 F c 融合タンパク質は、M 4 2 8 L / N 4 3 4 S を含む置換によって半減期を延長するためにさらに操作される。本明細書に列挙される I L-12 F c 融合体のいずれかは、半減期を延長するために操作され得る。例としては、これらに限定されないが、X E N P 3 1 5 8 2、X E N P 3 1 5 8 3、および X E N P 3 1 5 8 4 (図 65) が挙げられる。

【0611】

いくつかの実施形態では、ヘテロ二量体 F c 融合タンパク質の例は、X E N P 2 7 2 0 1、X E N P 2 8 8 2 0、X E N P 2 8 8 2 1、X E N P 2 8 8 2 2、X E N P 2 8 8 2 3、X E N P 2 8 8 2 4、X E N P 2 8 8 2 5、X E N P 2 8 8 2 6、X E N P 2 8 8 2 7、X E N P 2 8 8 2 8、X E N P 2 8 8 2 9、X E N P 2 8 8 3 0、X E N P 2 8 8 3 1、X E N P 2 8 8 3 2、X E N P 2 8 8 3 3、X E N P 2 8 8 3 4、X E N P 2 8 8 3 5、X E N P 2 8 8 3 6、X E N P 2 8 8 3 7、X E N P 2 8 8 3 8、X E N P 2 8 8 3 9、X E N P 2 8 8 4 0、X E N P 2 8 8 4 1、X E N P 2 8 8 4 2、X E N P 2 8 8 4 3、X E N P 2 8 8 4 4、X E N P 2 8 8 4 5、X E N P 2 8 8 4 6、X E N P 2 8 8 4 7、X E N P 2 8 8 4 8、X E N P 2 8 8 4 9、X E N P 2 8 8 5 0、X E N P 2 8 8 5 1、X E N P 2 8 8 5 2、X E N P 2 9 9 4 9、X E N P 2 9 9 5 0、X E N P 2 9 9 5

1、XENP29952、XENP30597、XENP30598、XENP30599、XENP30600、XENP30601、XENP30602、XENP30603、XENP30604、XENP30605、XENP30606、XENP30307、XENP30308、XENP30609、XENP31250、XENP31251、XENP31252、XENP31253、XENP31254、XENP31255、XENP31256、XENP31257、XENP31258、XENP31259、XENP31260、XENP31261、XENP31262、XENP31263、XENP31264、XENP31265、XENP31286、XENP31142、XENP31143、XENP31144、XENP31145、XENP31146、XENP31582、XENP31583、XENP31584、XENP32186、XENP32187、XENP32188、XENP32189、XENP32190、XENP32191、XENP32991、XENP32992、XENP32993、XENP32994、XENP32995、XENP32996、XENP32997、XENP32998、XENP32999、XENP33000、XENP33001、XENP33002、XENP33003、XENP33004、XENP33005、XENP33006、XENP33007、XENP33008、XENP33008、XENP33009、XENP33010、およびXENP33011を含む。

【0612】

いくつかの実施形態では、ヘテロ二量体Fc融合タンパク質の例は、i) 配列番号47 (XENP27201鎖1)、ii) 配列番号85 (XenD24752)、iii) 配列番号86 (XenD24753)、iv) 配列番号87 (XenD24754)、v) 配列番号88 (XenD24755)、vi) 配列番号89 (XenD24756)、vii) 配列番号90 (XenD24757)、viii) 配列番号91 (XenD24758)、ix) 配列番号92 (XenD24759)、x) 配列番号93 (XenD24760)、xi) 配列番号94 (XenD24761)、xii) 配列番号95 (XenD24762)、xiii) 配列番号96 (XenD24763)、xiv) 配列番号97 (XenD24764)、xv) 配列番号98 (XenD24765)、xvi) 配列番号99 (XenD24766)、xvii) 配列番号100 (XenD24767)、xviii) 配列番号101 (XenD24768)、xix) 配列番号102 (XenD24769)、xx) 配列番号103 (XenD24770)、xxi) 配列番号104 (XenD24771)、xxii) 配列番号105 (XenD24772)、xxiii) 配列番号106 (XenD24773)、xxiv) 配列番号107 (XenD24774)、xxv) 配列番号108 (XenD24775)、xxvi) 配列番号109 (XenD24776)、xxvii) 配列番号110 (XenD24777)、xxviii) 配列番号111 (XenD24778)、xxix) 配列番号112 (XenD24792)、xxx) 配列番号215 (XenD25922)、xxxii) 配列番号216 (XenD25923)、xxxiii) 配列番号217 (XenD25924)、xxxiiii) 配列番号218 (XenD25925)、xxxiv) 配列番号219 (XenD25926)、xxxv) 配列番号220 (XenD25927)、xxxvi) 配列番号221 (XenD25928)、xxxvii) 配列番号222 (XenD25929)、xxxviii) 配列番号223 (XenD25930)、xxxix) 配列番号224 (XenD25931)、xl) 配列番号XXX (XenD26411)、xli) 配列番号XXX (XenD26412)、xlii) 配列番号XXX (XenD26413)、xliv) 配列番号XXX (XenD26414)、xlv) 配列番号XXX (XenD26415)、xlvi) 配列番号XXX (XenD26416)、xlvii) 配列番号XXX (XenD26417)、xlviii) 配列番号XXX (XenD26418)、xlviii) 配列番号XXX (XenD27070)、xlix) 配列番号XXX (XenD27071)、l) 配列番号XXX (XenD27072)、li) 配列番号XXX (XenD27073)、lii) 配列番号XXX (XenD27074)、liii) 配列番号XXX (XenD27075)、liv) 配列番号XXX (

10

20

30

40

50

X e n D 2 7 0 7 6) 、 l v) 配列番号 X X X (X e n D 2 7 0 7 7) 配列番号 X X X (X e n D 2 7 0 7 8) 、 l v i i) 配列番号 X X X (X e n D 2 8 1 7 3) 、 l v i i i) 配列番号 X X X (X e n D 2 4 8 7 6) 、 l i x) 配列番号 X X X (X e n D 2 7 1 6 2) 、 l x) 配列番号 X X X (X e n D 2 7 1 6 3) 、 l x i) 配列番号 X X X (X e n D 2 7 1 6 4) 、 l x i i) 配列番号 X X X (X e n D 2 7 1 6 5) l x i i i) 配列番号 X X X (X E N P 3 1 5 8 2 鎖 1) 、 l x i v) 配列番号 X X X (X E N P 3 1 5 8 3 鎖 1) 、 l x v) 配列番号 X X X (X E N P 3 1 5 8 4 鎖 1) 、 l x v i) 配列番号 X X X (X E N P 3 2 1 8 7 鎖 1) 、 l x v i i) 配列番号 X X X (X E N P 3 2 1 8 8 鎖 1) 、 l x v i i i) 配列番号 X X X (X E N P 3 2 1 8 9 、 鎖 1) 、 l x i x) 配列番号 X X X (X E N P 3 2 1 9 0 鎖 1) 、 l x x) 配列番号 X X X (X E N P 3 2 1 9 1 鎖 1) 、 l x x i) 配列番号 X X X (X E N P 3 2 9 9 1 鎖 1) 、 l x x i i) 配列番号 X X X (X E N P 3 2 9 9 2 鎖 1) 、 l x x i i i) 配列番号 X X X (X E N P 3 2 9 9 3 鎖 1) 、 l x x i v) 配列番号 X X X (X E N P 3 2 9 9 4 鎖 1) 、 l x x v) 配列番号 X X X (X E N P 3 2 9 9 5 鎖 1) 、 l x x v i) 配列番号 X X X (X E N P 3 2 9 9 6 鎖 1) 、 l x x v i i) 配列番号 X X X (X E N P 3 2 9 9 7 鎖 1) 、 l x x v i i i) 配列番号 X X X (X E N P 3 2 9 9 8 鎖 1) 、 l x x v i i i) 配列番号 X X X (X E N P 3 3 0 0 0 鎖 1) 、 l x x i x) 配列番号 X X X (X E N P 3 3 0 0 1 鎖 1) 、 l x x x) 配列番号 X X X (X E N P 3 3 0 0 2 鎖 1) 、 l x x x i) 配列番号 X X X (X E N P 3 3 0 0 3 鎖 1) 、 l x x x i i) 配列番号 X X X (X E N P 3 3 0 0 4 鎖 1) 、 l x x x i i i) 配列番号 X X X (X E N P 3 3 0 0 5 鎖 1) 、 l x x x i v) 配列番号 X X X (X E N P 3 3 0 0 6 鎖 1) 、 l x x x v) 配列番号 X X X (X E N P 3 3 0 0 7 鎖 1) 、 l x x x v i) 配列番号 X X X (X E N P 3 3 0 0 8 鎖 1) 、 l x x x v i i) 配列番号 X X X (X E N P 3 3 0 0 8 鎖 1) 、 l x x x v i i i) 配列番号 X X X (X E N P 3 3 0 0 9 鎖 1) 、 l x x x i x) 配列番号 X X X (X E N P 3 3 0 1 0 鎖 1) 、 および x c) 配列番号 X X X (X E N P 3 3 0 1 1 鎖 1) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する第 1 の融合タンパク質と、 i) 配列番号 4 8 (X E N P 2 7 2 0 1 鎖 2) 、 i i) 配列番号 1 2 6 (X e n D 2 4 7 7 9) 、 i i i) 配列番号 1 2 7 (X e n D 2 4 7 8 0) 、 i v) 配列番号 1 2 8 (X e n D 2 4 7 8 1) 、 v) 配列番号 1 2 9 (X e n D 2 4 7 8 2) 、 v i) 配列番号 1 3 0 (X e n D 2 4 7 8 3) 、 v i i) 配列番号 1 3 1 (X e n D 2 4 7 8 4) 、 v i i i) 配列番号 1 3 2 (X e n D 2 4 7 8 5) 、 i x) 配列番号 1 3 3 (X e n D 2 4 7 8 6) 、 x) 配列番号 1 3 4 (X e n D 2 4 7 8 7) 、 x i) 配列番号 1 3 5 (X e n D 2 4 7 8 8) 、 x i i) 配列番号 1 3 6 (X e n D 2 4 7 8 9) 、 x i i i) 配列番号 1 3 7 (X e n D 2 4 7 9 0) 、 x i v) 配列番号 1 3 8 (X e n D 2 4 7 9 1) 、 x v) 配列番号 2 3 6 (X e n D 2 5 9 1 1) 、 x v i) 配列番号 2 3 7 (X e n D 2 5 9 1 2) 、 x v i i) 配列番号 2 3 8 (X e n D 2 5 9 1 3) 、 x v i i i) 配列番号 2 3 9 (X e n D 2 5 9 1 4) 、 x i x) 配列番号 2 4 0 (X e n D 2 5 9 1 5) 、 x x) 配列番号 2 4 1 (X e n D 2 5 9 1 6) 、 x x i) 配列番号 2 4 2 (X e n D 2 5 9 1 7) 、 x x i i) 配列番号 2 4 3 (X e n D 2 5 9 1 8) 、 x x i i i) 配列番号 2 4 4 (X e n D 2 5 9 1 9) 、 x x i v) 配列番号 2 4 5 (X e n D 2 5 9 2 0) 、 x x v) 配列番号 2 4 6 (X e n D 2 5 9 2 1) 、 x x v i) 配列番号 X X X (X e n D 2 6 4 2 7) 、 x x v i i) 配列番号 X X X (X e n D 2 6 4 2 8) 、 x x v i i i) 配列番号 X X X (X e n D 2 7 0 8 9) 、 x x i x) 配列番号 X X X (X e n D 2 7 0 9 0) 、 x x x) 配列番号 X X X (X e n D 2 7 0 9 1) 、 x x x i) 配列番号 X X X (X e n D 2 7 0 9 2) 、 x x x i i) 配列番号 X X X (X e n D 2 7 0 9 3) 、 x x x i i i) 配列番号 X X X (X e n D 2 7 0 9 4) 、 x x x i x) 配列番号 X X X (X e n D 2 4 8 7 7) 、 x l) 配列番号 X X X (X e n D 2 7 1 6 6) 、 x l i) 配列番号 X X X (X E N P 3 1 5 8 2 鎖 2) 、 x l i i) 配列番号 X X X (X E N P 3 1 5 8 3 鎖 2) 、 x l i i i) 配列番号 X X X (X E N P 3 1 5 8 4 鎖 2) 、 x l i v) 配列番号 X X X (X E N P 3 2 1 8 7 鎖 2) 、 x l v) 配列番号 X X X (X E N P 3 2 1 8 8 鎖 2) 、 x l v i) 配列番号 X X

10

20

30

40

50

X (XENP32189、鎖2)、xlvii) 配列番号XXX (XENP32190鎖2)、xlviii) 配列番号XXX (XENP32191鎖2)、xlix) 配列番号XXX (XENP32991鎖2)、l) 配列番号XXX (XENP32992鎖2)、li) 配列番号XXX (XENP32993鎖2)、lii) 配列番号XXX (XENP32994鎖2)、liii) 配列番号XXX (XENP32995鎖2)、liv) 配列番号XXX (XENP32996鎖2)、lv) 配列番号XXX (XENP32997鎖2)、lvi) 配列番号XXX (XENP32998鎖2)、lvii) 配列番号XXX (XENP32999鎖2)、lviii) 配列番号XXX (XENP33000鎖2)、lix) 配列番号XXX (XENP33001鎖2)、lx) 配列番号XXX (XENP33002鎖2)、lxi) 配列番号XXX (XENP33003鎖2)、lxii) 配列番号XXX (XENP33004鎖2)、lxiii) 配列番号XXX (XENP33005鎖2)、lxiv) 配列番号XXX (XENP33006鎖2)、lxv) 配列番号XXX (XENP33007鎖2)、lxvi) 配列番号XXX (XENP33008鎖2)、lxvii) 配列番号XXX (XENP33009鎖2)、lxix) 配列番号XXX (XENP33010鎖2)、およびlxx) 配列番号XXX (XENP33011鎖2) からなる群から選択されるポリペプチド配列を有する当該第2の融合タンパク質と、を含む。

【0613】

好ましい実施形態は、XENP31251、XENP31254、XENP31258、XENP32186、XENP32187、XENP32188、XENP32189、XENP32190、およびXENP32191を含む。さらなる実施形態では、XENP31251、XENP31254、XENP31258、XENP32186、XENP32187、XENP32188、XENP32189、XENP32190、およびXENP32191は、さらなる糖鎖工学を含む。

【0614】

IX. 本発明の核酸

本発明は、本発明のヘテロ二量体Fc融合タンパク質、IL-12サブユニット、およびIL-12ヘテロ二量体複合体をコードする核酸組成物（または、単量体Fcドメインタンパク質の場合、同様にそれらをコードする核酸）をさらに提供する。

【0615】

当業者には理解されるように、核酸組成物はヘテロ二量体タンパク質のフォーマットに依存するであろう。したがって、例えば、フォーマットが3つのアミノ酸配列を必要とするとき、3つの核酸配列を発現のために1つ以上の発現ベクターに組み込むことができる。同様に、いくつかのフォーマットは2つの核酸のみを必要とし、同様に、それらを1つまたは2つの発現ベクターに入れることができる。

【0616】

当該技術分野において既知であるように、本発明の構成要素をコードする核酸は、当該技術分野において既知であるように、そして本発明のヘテロ二量体Fc融合タンパク質を産生するために使用される宿主細胞に依存した発現ベクターに組み込まれ得る。一般に、核酸は任意の数の調節エレメント（プロモーター、複製起点、選択可能マーカー、リボソーム結合部位、インデューサーなど）に作動可能に結合されている。発現ベクターは、染色体外ベクターまたは組み込みベクターであり得る。

【0617】

次いで、本発明の核酸および／または発現ベクターを、哺乳動物細胞、細菌細胞、酵母細胞、昆虫細胞および／または真菌細胞を含む当該技術分野で周知の任意の数の異なる種類の宿主細胞に形質転換するが、哺乳動物細胞（例えばCHO細胞）が、多くの実施形態において使用される。

【0618】

いくつかの実施形態では、各単量体をコードする核酸は、フォーマットに応じて適用可能なように、それぞれ一般に異なるまたは同じプロモーター制御下で単一の発現ベクター

内に含有される。本発明において特に使用される実施形態では、これら2つまたは3つの核酸の各々は異なる発現ベクターに含有される。

【0619】

本発明のヘテロ二量体Fc融合タンパク質は、当該技術分野において周知のように、発現ベクター（複数可）を含む宿主細胞を培養することによって作製される。一旦産生されると、イオン交換クロマトグラフィーステップを含む従来の融合タンパク質または抗体精製ステップが実施される。本明細書で議論されるように、2つの単量体のpIが少なくとも0.5異なることは、イオン交換クロマトグラフィーもしくは等電点電気泳動、または等電点に感受性の他の方法による分離を可能にし得る。すなわち、各単量体が異なる等電点（pI）を有し、ヘテロ二量体も異なるpIを有するように、各単量体のpIを変更させるpI置換を含むことによって、ヘテロ二量体の等電点精製（例えば、アニオン交換クロマトグラフィー、カチオン交換クロマトグラフィー）を促進する。これらの置換はまた、精製後の任意の混入したホモ二量体の特定および監視にも役立つ（例えば、IEFゲル、cIEF、および分析用IEXカラム）。

【0620】

X. IL-12ヘテロ二量体免疫調節Fc融合タンパク質の生物学および生化学的機能性

一般に、本発明のFc融合タンパク質は、癌を有する患者に投与され、有効性は、本明細書に記載されるようないくつかの方法で評価される。したがって、癌量、腫瘍のサイズ、転移の存在または程度の評価などの、有効性の標準的なアッセイを実行し得るが、免疫腫瘍学的治療もまた免疫状態評価に基づいて評価され得る。これは、インビトロアッセイおよびインビボアッセイの両方を含むいくつかの方法で行うことができる。例えば、腫瘍量、サイズ、侵襲性、LN関与、転移などといった「古典的な」測定と併せて、免疫状態（例えば、ipi治療後のICOS+CD4+T細胞の存在）の変化の評価を実施することができる。したがって、以下のいずれかまたは全てを評価することができる：CD4+T細胞活性化もしくは増殖、CD8+T（CTL）細胞活性化もしくは増殖、CD8+T細胞媒介性細胞傷害性活性および／もしくはCTL媒介性細胞枯渇、NK細胞活性およびNK媒介性細胞枯渇に対するPVRIGの阻害効果、Treg細胞分化および増殖ならびにTregもしくは骨髄由来抑制細胞（MDSC）媒介性免疫抑制もしくは免疫耐性に対するPVRIGの増強効果、ならびに／または免疫細胞による炎症促進性サイトカイン産生、例えば、Tもしくは他の免疫細胞によるIL-2、IFN-γ、もしくはTNF-α産生に対するPVRIGの効果。

【0621】

いくつかの実施形態では、治療の評価は、例えば、CFSE希釈法、免疫エフェクター細胞のKi67細胞内染色、および³H-チミジン組み込み法を使用して、免疫細胞増殖を評価することによって実施される。

【0622】

いくつかの実施形態では、治療の評価は、遺伝子発現の増加、またはCD25、CD69、CD137、ICOS、PD1、GITR、OX40、およびCD107Aの表面発現によって測定される細胞脱顆粒のうちの1つ以上を含む、活性化関連マーカーの増加したタンパク質レベルを評価することによって行われる。

【0623】

一般に、遺伝子発現アッセイは、当該技術分野で既知であるように行われる。

【0624】

一般に、タンパク質発現測定も同様に、当該技術分野で知られているように実施される。

【0625】

いくつかの実施形態では、治療の評価は、酵素活性（プロテアーゼ活性を含む）、細胞膜透過性、細胞接着、ATP産生、補酵素産生、およびヌクレオチド取り込み活性などの多数の細胞パラメータを推測することを通じた標的細胞生存検出によって測定される細胞傷害性活性を評価することによって行われる。これらのアッセイの具体的な例としては、トリパンブルーまたはPI染色、⁵¹Crまたは³⁵S放出法、LDH活性、MTTおよび

／またはWSTアッセイ、カルセイン－AMアッセイ、発光系アッセイ、ならびに他のものが含まれるが、これらに限定されない。

【0626】

いくつかの実施形態では、治療の評価は、サイトカイン産生によって測定されるT細胞活性を評価することによって行われ、周知の技法を使用して、IFN γ 、TNF α 、GM-CSF、IL2、IL6、IL4、IL5、IL10、IL13を含むが、これらに限定されない、サイトカインを使用して、培養上清中で細胞内のいずれかで測定する。

【0627】

したがって、治療の評価は、以下のうちの1つ以上を評価するアッセイを使用して行うことができる：(i)免疫応答の増加、(ii) $\alpha\beta$ および／または $\gamma\delta$ T細胞の活性化の増加、(iii)細胞傷害性T細胞活性の増加、(iv)NKおよび／またはNKT細胞活性の増加、(v) $\alpha\beta$ および／または $\gamma\delta$ T細胞抑制の軽減、(vi)炎症促進性サイトカイン分泌の増加、(vii)IL-2分泌の増加、(viii)インターフェロン- γ 産生の増加、(ix)Th1応答の増加、(x)Th2応答の減少、(xi)調節性T細胞(Treg)のうちの少なくとも1つの細胞数および／または活性の減少または除外。

【0628】

A.有効性(Efficacy)および有効性(Potency)を測定するアッセイ

いくつかの実施形態では、T細胞活性化は、当技術分野において既知の混合リンパ球反応(MLR)アッセイを使用して評価される。活性の増加は免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加を以下に概説する。

【0629】

一実施形態では、シグナル伝達経路アッセイは、例えば、異なる因子のリン酸化もしくは脱リン酸化によって、または他の翻訳後修飾を測定することによって測定される免疫応答の増加または減少を測定する。IL-12は、STAT4のリン酸化を通してIFN γ 発現および分泌を媒介する(Morinobu et al., 2002)。したがって、好ましい実施形態では、シグナル伝達経路アッセイは、STAT4のリン酸化によって示されるように、免疫応答の増加または減少を測定する。活性の増加は免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加を以下に概説する。

【0630】

一実施形態では、シグナル伝達経路アッセイは、例えば、サイトカイン分泌によって、または増殖によって、または例えば、CD137、CD107a、PD1などのような活性化マーカーの発現の変化によって測定される、 $\alpha\beta$ および／または $\gamma\delta$ T細胞の活性化の増加または減少を測定する。活性の増加は、免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加を以下に概説する。

【0631】

一実施形態では、シグナル伝達経路アッセイは、例えば、例えば、癌細胞のような標的細胞の直接的な殺傷によって、またはサイトカイン分泌によって、または増殖によって、または例えば、CD137、CD107a、PD1などのような活性化マーカーの発現の変化によって測定される、細胞傷害性T細胞活性の増加または減少を測定する。活性の増加は、免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加を以下に概説する。

【0632】

一実施形態では、シグナル伝達経路アッセイは、例えば、例えば、癌細胞のような標的細胞の直接的な殺傷によって、またはサイトカイン分泌によって、または例えば、CD107aなどの例のような活性化マーカーの発現の変化によって測定される、NKおよび／またはNKT細胞活性の増加または減少を測定する。活性の増加は免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加を以下に概説する。

【0633】

一実施形態では、シグナル伝達経路アッセイは、例えば、サイトカイン分泌によって、または増殖によって、または例えば、CD137、CD107a、PD1などのような活

10

20

30

40

50

性化マーカーの発現の変化によって測定される、 $\alpha\beta$ および／または $\gamma\delta$ T細胞抑制の増加または減少を測定する。活性の増加は、免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加を以下に概説する。

【0634】

一実施形態では、シグナル伝達経路アッセイは、例えば、ELISAによって、またはLuminoxによって、またはマルチプレックスビーズ系方法によって、または細胞内染色およびFACS分析によって、またはAlisportなどによって測定される、炎症促進性サイトカイン分泌の増加または減少を測定する。活性の増加は免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加を以下に概説する。

【0635】

一実施形態では、シグナル伝達経路アッセイは、例えば、ELISAによって、またはLuminoxによって、またはマルチプレックスビーズ系方法によって、または細胞内染色およびFACS分析によって、またはAlisportなどによって測定される、IL-2分泌の増加または減少を測定する。活性の増加は、免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加を以下に概説する。

【0636】

一実施形態では、シグナル伝達経路アッセイは、例えば、ELISAによって、またはLuminoxによって、またはマルチプレックスビーズ系方法によって、または細胞内染色およびFACS解析によって、またはAlisport等によって測定される、インターフェロン- γ 産生の増加または減少を測定する。活性の増加は免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加を以下に概説する。

【0637】

一実施形態では、シグナル伝達経路アッセイは、例えば、サイトカイン分泌によって、または活性化マーカーの発現の変化によって測定される、Th1応答の増加または減少を測定する。活性の増加は免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加を以下に概説する。

【0638】

一実施形態では、シグナル伝達経路アッセイは、例えば、サイトカイン分泌によって、または活性化マーカーの発現の変化によって測定される、Th2応答の増加または減少を測定する。活性の増加は免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加を以下に概説する。

【0639】

一実施形態では、シグナル伝達経路アッセイは、例えば、フローサイトメトリーによって、またはIHCによって測定される調節性T細胞(Treg)のうちの少なくとも1つの細胞数および／または活性の増加または減少を測定する。応答の減少は免疫刺激活性を示す。適切な減少は、以下に概説する増加の場合と同じである。

【0640】

一実施形態では、シグナル伝達経路アッセイは、例えば、フローサイトメトリーによって、またはIHCによって測定される、M2マクロファージ細胞数の増加または減少を測定する。応答の減少は免疫刺激活性を示す。適切な減少は、以下に概説する増加の場合と同じである。

【0641】

一実施形態では、シグナル伝達経路アッセイは、例えば、サイトカイン分泌によって、または活性化マーカーの発現の変化によって測定される、M2マクロファージ腫瘍形成促進活性の増加または減少を測定する。応答の減少は免疫刺激活性を示す。適切な減少は、以下に概説する増加の場合と同じである。

【0642】

一実施形態では、シグナル伝達経路アッセイは、例えば、フローサイトメトリーによって、またはIHCによって測定される、N2好中球増加の増加または減少を測定する。応答の減少は免疫刺激活性を示す。適切な減少は、以下に概説する増加の場合と同じである。

【0643】

一実施形態では、シグナル伝達経路アッセイは、例えば、サイトカイン分泌によって、

10

20

30

40

50

または活性化マーカーの発現の変化によって測定される、N2好中球腫瘍形成促進活性の増加または減少を測定する。応答の減少は免疫刺激活性を示す。適切な減少は、以下に概説する増加の場合と同じである。

【0644】

一実施形態では、シグナル伝達経路アッセイは、例えば、サイトカイン分泌によって、または増殖によって、または例えば、CD137、CD107a、PD1などのような活性化マーカーの発現の変化によって測定される、T細胞活性化の阻害の増加または減少を測定する。活性の増加は、免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加を以下に概説する。

【0645】

一実施形態では、シグナル伝達経路アッセイは、例えば、例えば、癌細胞のような標的細胞の直接的な殺傷によって、またはサイトカイン分泌によって、または増殖によって、または例えば、CD137、CD107a、PD1などのような活性化マーカーの発現の変化によって測定される、CTL活性化の阻害の増加または減少を測定する。活性の増加は、免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加を以下に概説する。

【0646】

一実施形態では、シグナル伝達経路アッセイは、例えば、活性化マーカーの発現の変化によって測定される、 $\alpha\beta$ および／または $\gamma\delta$ T細胞枯渇(exhaustion)の増加または減少を測定する。応答の減少は免疫刺激活性を示す。適切な減少は、以下に概説する増加の場合と同じである。

【0647】

一実施形態では、シグナル伝達経路アッセイは、例えば、サイトカイン分泌によって、または増殖によって、または例えば、CD137、CD107a、PD1などのような活性化マーカーの発現の変化によって測定される、 $\alpha\beta$ および／または $\gamma\delta$ T細胞応答の増加または減少を測定する。活性の増加は、免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加を以下に概説する。

【0648】

一実施形態では、シグナル伝達経路アッセイは、例えば、サイトカイン分泌によって、または増殖によって、または例えば、CD45RA、CCR7などのような活性化マーカーの発現の変化によって測定される、抗原特異的メモリー応答の刺激の増加または減少を測定する。活性の増加は、免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加を以下に概説する。

【0649】

一実施形態では、シグナル伝達経路アッセイは、例えば、例えばMTT、Cr放出、カルサインAMなどの細胞傷害性アッセイによって、または例えばCFSE希釈もしくはヨウ化プロピジウム染色などのようなフローサイトメトリー系アッセイによって測定される、癌細胞のアポトーシスまたは溶解の増加または減少を測定する。活性の増加は免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加を以下に概説する。

【0650】

一実施形態では、シグナル伝達経路アッセイは、例えば、例えばMTT、Cr放出、カルサインAMなどの細胞傷害性アッセイによって、または例えば、CFSE希釈もしくはヨウ化プロピジウム染色などのようなフローサイトメトリー系アッセイによって測定される、癌細胞への細胞傷害性または細胞増殖抑制性の効果の刺激の増加または減少を測定する。活性の増加は免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加を以下に概説する。

【0651】

一実施形態では、シグナル伝達経路アッセイは、例えば、例えばMTT、Cr放出、カルサインAMなどの細胞傷害性アッセイによって、または例えばCFSE希釈もしくはヨウ化プロピジウム染色などのようなフローサイトメトリー系アッセイによって測定される、癌細胞の直接的な殺傷の増加または減少を測定する。活性の増加は免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加を以下に概説する。

【0652】

一実施形態では、シグナル伝達経路アッセイ測定は、例えば、サイトカイン分泌によっ

10

20

30

40

50

て、または増殖によって、または活性化マーカーの発現の変化によって測定される、T h 1 7 活性の増加または減少を測定する。活性の増加は免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加を以下に概説する。

【0653】

一実施形態では、シグナル伝達経路アッセイは、例えば、例えばMTT、Cr放出、カルサインAMなどの細胞傷害性アッセイによって、または例えばCFSE希釈もしくはヨウ化プロピジウム染色などのようなフローサイトメトリー系アッセイによって測定される、補体依存性細胞傷害性および／または抗体依存性細胞媒介性細胞傷害性の誘導の増加または減少を測定する。活性の増加は免疫刺激活性を示す。活性の適切な増加を以下に概説する。

10

【0654】

一実施形態では、T細胞活性化は、例えば、例えば癌細胞のような標的細胞の直接的な殺傷によって、またはサイトカイン分泌によって、または増殖によって、または例えば、CD137、CD107a、PD1などのような活性化マーカーの発現の変化によって測定される。T細胞について、増殖、活性化の細胞表面マーカー（例えば、CD25、CD69、CD137、PD1）、細胞傷害性（標的細胞を殺傷する能力）、サイトカイン産生（例えば、IL-2、IL-4、IL-6、IFN γ 、TNF- α 、IL-10、IL-17A）の増加は、癌細胞の増強された殺傷と一貫する免疫調節の指標となるであろう。

【0655】

一実施形態では、NK細胞活性化は、例えば、例えば癌細胞のような標的細胞の直接的な殺傷によって、またはサイトカイン分泌によって、または例えば、CD107aなどのような活性化マーカーの発現の変化によって測定される。NK細胞については、増殖、細胞傷害性（標的細胞を殺傷し、CD107a、グランザイム、およびパーフォリン発現を増加させる能力）、サイトカイン産生（例えば、IFN γ およびTNF）、および細胞表面受容体発現（例えば、CD25）の増加が、癌細胞の増強された殺傷と一貫する免疫調節の指標となるであろう。

20

【0656】

一実施形態では、 $\gamma\delta$ T細胞活性化は、例えば、サイトカイン分泌によって、または増殖によって、または活性化マーカーの発現の変化によって測定される。

【0657】

一実施形態では、T h 1細胞活性化は、例えば、サイトカイン分泌によって、または活性化マーカーの発現の変化によって測定される。

30

【0658】

活性または応答の適切な増加（または適切な場合上記で概説されるような減少）とは、参照試料または対照試料のいずれか、例えば、本発明のIL-12ヘテロ二量体融合タンパク質を含有しない試験試料におけるシグナルに対して、少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、または98~99%パーセントの増加である。同様に、参照対象または対照試料と比較して、少なくとも1倍、2倍、3倍、4倍または5倍の増加が有効性を示す。

【0659】

40

XI. 併用療法

いくつかの態様では、本明細書に記載されるIL-12-Fc融合タンパク質は、別の治療剤と組み合わせて投与される。本明細書で使用される「組み合わせて」投与されるとは、対象が障害に苦しんでいる過程で2つ（またはそれ以上）の異なる治療が対象に提供されることを意味し、例えば、対象が障害があると診断された後に、障害が治癒もしくは解消される前、または他の理由で治療が中止される前に、2つ以上の治療が提供される。いくつかの実施形態では、1つの治療の送達、第2の治療の送達が始まったときにまだ起こっているため、投与に関して重複がある。これは、本明細書では「同時」または「同時送達」と称されることもある。他の実施形態では、一方の治療の送達は、他方の治療の送達が始まる前に終了する。いずれかの場合のいくつかの実施形態では、治療は、併用

50

投与のためにより効果的である。例えば、第2の治療はより効果的であり、例えば、第2の治療がより少なく同等の効果がえられるか、または第2の治療は、第2の治療が第1の治療の非存在下で投与された場合に見られるよりも症状を大幅に軽減するか、または同様の状況が第1の治療で見られる。いくつかの実施形態では、送達は、症状の減少、または障害に関連する他のパラメータが、他方の非存在下で送達された一方の治療で観察されるものよりも大きいようなものである。2つの治療の効果は、部分的に相加的、完全に相加的、または相加的より大きくあり得る。送達は、送達された第1の治療の効果が、第2の治療が送達されたときに依然として検出可能であるようなものであり得る。

【0660】

本明細書に記載されるIL-12-Fc融合タンパク質（例えば、本明細書に記載される任意のXENP配列）および少なくとも1つの追加の治療剤は、同時に、同じもしくは別々の組成物で、または連続して投与することができる。連続投与について、本明細書に記載されるIL-12-Fc融合タンパク質（例えば、本明細書に記載される任意のXENP配列）を第1に投与することができ、追加の薬剤を第2に投与するか、または投与の順序を逆にすることができる。

【0661】

本明細書に記載されるIL-12-Fc融合タンパク質（例えば、本明細書に記載される任意のXENP配列）および／または他の治療剤、手順または様式は、活動性障害の期間中、または寛解期間または低活動性疾患の期間中に投与することができる。IL-12-Fc融合タンパク質（例えば、本明細書に記載される任意のXENP配列）は、他の治療の前、治療と同時に、治療後、または障害の寛解中に投与することができる。

【0662】

A. チェックポイント遮断抗体

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるIL-12-Fc融合タンパク質は、これらに限定されないが、PD-1阻害剤、TIM3阻害剤、CTLA4阻害剤、PD-L1阻害剤、TIGIT阻害剤、LAG3阻害剤、またはそれらの組み合わせなどのチェックポイント遮断抗体を含む他の治療剤と組み合わせられる。

【0663】

1. 抗PD-1抗体

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるIL-12-Fc融合タンパク質は、抗PD-1抗体と組み合わせて、癌を有する対象に投与することができる。いくつかの場合では、抗PD-1抗体は、XENP16432（二価抗PD-1 mAb、生着ヒトT細胞を抑制解除することによって抗腫瘍活性を増強するチェックポイント阻害剤、図53に示される配列）を含む。

【0664】

いくつかの実施形態では、本発明のIL-12-Fc融合タンパク質は、Keytruda（登録商標）またはOptivo（登録商標）と組み合わせて投与される。

【0665】

例示的な非限定的な抗PD-1抗体分子は、参照によりその全体が組み込まれる、「Antibody Molecules to PD-1 and Uses Thereof」という名称の、2015年7月30日に公開されたUS2015/0210769に開示されている。

【0666】

一実施形態では、抗PD-1抗体分子は、BAP049-Clone-A、BAP049-Clone-B、BAP049-Clone-C、BAP049-Clone-D、もしくはBAP049-Clone-Eのアミノ酸配列、またはUS2015/0210769の表1に記載されているか、もしくは表1のヌクレオチド配列によってコードされているようなもの、または前述の配列のいずれかと実質的に同一（例えば、少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%、もしくはそれ以上同一）の配列を含む、少なくとも1つもしくは2つの重鎖可変ドメイン（任意に定常領域を

10

20

30

40

50

含む)、少なくとも1つもしくは2つの軽鎖可変ドメイン(任意に定常領域を含む)、またはその両方を含む。抗PD-1抗体分子は、任意に、US2015/0210769の表4に示されているように、重鎖、軽鎖、またはその両方からのリーダー配列、またはそれと実質的に同一の配列を含む。

【0667】

さらに別の実施形態では、抗PD-1抗体分子は、本明細書に記載される抗体、例えば、BAP049-hum01、BAP049-hum02、BAP049-hum03、BAP049-hum04、BAP049-hum05、BAP049-hum06、BAP049-hum07、BAP049-hum08、BAP049-hum09、BAP049-hum10、BAP049-hum11、BAP049-hum12、BAP049-hum13、BAP049-hum14、BAP049-hum15、BAP049-hum16、BAP049-Clone-A、BAP049-Clone-B、BAP049-Clone-C、BAP049-Clone-D、もしくはBAP049-Clone-Eのいずれかから選択される抗体、または表1に記載されているか、もしくは表1のヌクレオチド配列によってコードされているもの、または前述の配列のいずれかと実質的に同一(例えば、少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%、もしくはそれ以上同一)の配列の重鎖可変領域および/または軽鎖可変領域からの少なくとも1つ、2つ、または3つの相補性決定領域(CDR)を含む。

【0668】

さらに別の実施形態では、抗PD-1抗体分子は、US2015/0210769の表1に示されるか、または表1に示すヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域からの少なくとも1つ、2つ、または3つのCDR(または集合的に全てのCDR)を含む。一実施形態では、1つ以上のCDR(または集合的に全てのCDR)は、表1に示されるかまたは表1に示すヌクレオチド配列によってコードされているアミノ酸配列に対して、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ以上の変化、例えば、アミノ酸置換または欠失を有する。

【0669】

さらに別の実施形態では、抗PD-1抗体分子は、US2015/0210769の表1に示されるか、または表1に示すヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域からの少なくとも1つ、2つ、または3つのCDR(または集合的に全てのCDR)を含む。一実施形態では、1つ以上のCDR(または集合的に全てのCDR)は、表1に示されるかまたは表1に示すヌクレオチド配列によってコードされているアミノ酸配列に対して、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ以上の変化、例えば、アミノ酸置換または欠失を有する。特定の実施形態では、抗PD-1抗体分子は、軽鎖CDRにおける置換、例えば、軽鎖のCDR1、CDR2、および/またはCDR3における1つ以上の置換を含む。一実施形態では、抗PD-1抗体分子は、軽鎖可変領域の位置102での軽鎖CDR3における置換、例えば、または表1による軽鎖可変領域(例えば、マウスまたはキメラ、非修飾について配列番号16もしくは24、または修飾された配列について配列番号34、42、46、54、58、62、66、70、74、もしくは78のいずれか)の位置102でのシステインからチロシン、またはシステインからセリン残基への置換を含む。

【0670】

別の態様では、抗PD-1抗体分子は、US2015/0210769の表1に示されるか、または表1に示されるヌクレオチド配列によってコードされているアミノ酸配列を含む重鎖および軽鎖可変領域からの少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのCDR(または集合的に全てのCDR)を含む。一実施形態では、1つ以上のCDR(または集合的に全てのCDR)は、表1に示されるかまたは表1に示すヌクレオチド配列によってコードされているアミノ酸配列に対して、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ以上の変化、例えば、アミノ酸置換または欠失を有する。

【0671】

一実施形態では、抗PD-1抗体分子は以下を含む：

【0672】

(a) 各々が、US2015/0210769の表1に開示されている、配列番号4のVHCDR1アミノ酸配列、配列番号5のVHCDR2アミノ酸配列、および配列番号3のVHCDR3アミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH)、ならびに配列番号13のVLCDR1アミノ酸配列、配列番号14のVLCDR2アミノ酸配列、および配列番号33のVLCDR3アミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL)、

【0673】

(b) 各々が、US2015/0210769の表1に開示されている、配列番号1から選択されるVHCDR1アミノ酸配列、配列番号2のVHCDR2アミノ酸配列、および配列番号3のVHCDR3アミノ酸配列を含むVH、ならびに配列番号10のVLCDR1アミノ酸配列、配列番号11のVLCDR2アミノ酸配列、および配列番号32のVLCDR3アミノ酸配列を含むVL、

【0674】

(c) 各々が、US2015/0210769の表1に開示されている、配列番号224のVHCDR1アミノ酸配列、配列番号5のVHCDR2アミノ酸配列、および配列番号3のVHCDR3アミノ酸配列を含むVH、ならびに配列番号13のVLCDR1アミノ酸配列、配列番号14のVLCDR2アミノ酸配列、および配列番号33のVLCDR3アミノ酸配列を含むVL、または

【0675】

(d) 各々が、US2015/0210769の表1に開示されている、配列番号224のVHCDR1アミノ酸配列、配列番号2のVHCDR2アミノ酸配列、および配列番号3のVHCDR3アミノ酸配列を含むVH、ならびに配列番号10のVLCDR1アミノ酸配列、配列番号11のVLCDR2アミノ酸配列、および配列番号32のVLCDR3アミノ酸配列を含むVL。

【0676】

別の実施形態では、抗PD-1抗体分子は、各々がUS2015/0210769の表1に開示されている、(i) 配列番号1、配列番号4、または配列番号224から選択されるVHCDR1アミノ酸配列、配列番号2または配列番号5のVHCDR2アミノ酸配列、および配列番号3のVHCDR3アミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH)、ならびに(ii) 配列番号10または配列番号13のVLCDR1アミノ酸配列、配列番号11または配列番号14のVLCDR2アミノ酸配列、および配列番号32または配列番号33のVLCDR3アミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL)を含む。

【0677】

他の実施形態では、PD-1阻害剤は、ニボルマブ、ペンブロリズマブ、またはピジリズマブから選択される抗PD-1抗体である。

【0678】

いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体はニボルマブである。ニボルマブの別名には、MDX-1106、MDX-1106-04、ONO-4538、またはBMS-936558が含まれる。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、ニボルマブ(CAS登録番号：946414-94-4)である。ニボルマブは、PD1を特異的に遮断する完全ヒトIgG4モノクローナル抗体である。ニボルマブ(クローン5C4)およびPD1に特異的に結合する他のヒトモノクローナル抗体は、US8、008、449およびWO2006/121168に開示されている。一実施形態では、PD-1の阻害剤はニボルマブであり、本明細書に開示される配列(またはそれと実質的に同一もしくは類似の配列、例えば、指定された配列と少なくとも85%、90%、95%、もしくはそれ以上同一の配列)を有する。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、ペンブロリズマブである。ペンブロリズマブ(ランブロリズマブ、MK-3475、MK03475、SCH-900475、またはKEYTRUDA(登録商標)Merckとも称される)は、PD-1に結合するヒト化IgG4モノクローナル抗体である。ペンブロリズマブおよび他

10

20

30

40

50

のヒト化抗PD-1抗体は、Hamid, O et al (2013) New England Journal of Medicine 369 (2) : 134-44、US 8、354、509、およびWO 2009/114335に開示されている。

【0679】

一実施形態では、PD-1の阻害剤は、例えば、US 8、354、509およびWO 2009/114335に開示され、本明細書に開示される配列（またはそれと実質的に同一もしくは類似の配列、例えば、指定された配列と少なくとも85%、90%、95%、もしくはそれ以上同一の配列）を有する。

【0680】

いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、ピジリズマブである。ピジリズマブ（CT-011、Cure Tech）は、PD1に結合するヒト化IgG1κモノクローナル抗体である。ピジリズマブおよび他のヒト化抗PD-1モノクローナル抗体は、US 8、747、847およびWO 2009/101611に開示されている。

【0681】

他の抗PD1抗体は、とりわけ、AMP 514（Amplimmune）、例えば、US 8、609、089、US 2010/028330、および／またはUS 2012/0114649に開示されている抗PD1抗体を含む。

【0682】

いくつかの実施形態では、PD-1阻害剤は、イムノアドヘシン（例えば、定常領域（例えば、免疫グロブリン配列のFc領域）に融合したPD-L1またはPD-L2の細胞外またはPD-1結合部分を含むイムノアドヘシン）である。いくつかの実施形態では、PD-1阻害剤は、AMP-224（B7-DCIg、Amplimmune、例えば、WO 2010/027827およびWO 2011/066342に開示されるもの）であり、PD-1とB7-H1との間の相互作用を遮断するPD-L2 Fc融合可溶性受容体である。

【0683】

いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、本発明のIL-12 Fc融合タンパク質と組み合わせて使用され得る。これらに限定されないが、現在FDAが承認している2つの抗体、ペンブロリズマブおよびニボルズマブ、ならびにこれらに限定されないが、チスレリズマブ、Sym021、REGN2810（Regeneronにより開発）、JNJ-63723283（J and Jにより開発）、SHR-1210、ピジリズマブ、AMP-224、MED10680、PDR001、およびCT-001を含む、現在臨床試験中のもの、ならびにその中の抗体が参照により明示的に組み込まれる、Liu et al.、J. Hemat. & Oncol. (2017) 10:136に概説される他のものを含む、いくつかの抗PD-1抗体がある。

【0684】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるIL-12-Fc融合タンパク質は、PD-1阻害剤（例えば、抗PD-1抗体）と組み合わせて使用され得る。特定の実施形態では、本明細書に記載されるIL-12-Fc融合タンパク質（例えば、本明細書に記載される任意のXENP配列）は、抗PD-1抗体と組み合わせて投与される。

2. 抗TIM3抗体

【0685】

いくつかの実施形態では、本発明のIL-12-Fc融合タンパク質は、抗TIM3抗体と組み合わせて投与される。

【0686】

いくつかの実施形態では、本発明のIL-12-Fc融合タンパク質は、LY3321367（Eli Lilly and Company）、MBG453（Novartis Pharmaceuticals）、およびTSR-022（Tesarro, Inc.）と組み合わせて投与される。

【0687】

10

20

30

40

50

例示的な非限定的な抗TIM-3抗体分子は、参照によりその全体が組み込まれる、「Antibody Molecules to TIM-3 and Uses Thereof」という名称の、2015年8月6日に公開されたUS2015/0218274に開示されている。

【0688】

一実施形態では、抗TIM-3抗体分子は、ABTIM3、ABTIM3-hum01、ABTIM3-hum02、ABTIM3-hum03、ABTIM3-hum04、ABTIM3-hum05、ABTIM3-hum06、ABTIM3-hum07、ABTIM3-hum08、ABTIM3-hum09、ABTIM3-hum10、ABTIM3-hum11、ABTIM3-hum12、ABTIM3-hum13、ABTIM3-hum14、ABTIM3-hum15、ABTIM3-hum16、ABTIM3-hum17、ABTIM3-hum18、ABTIM3-hum19、ABTIM3-hum20、ABTIM3-hum21、ABTIM3-hum22、ABTIM3-hum23のアミノ酸配列、またはUS2015/0218274の表1~4に記載されているか、もしくは表1~4のヌクレオチド配列によってコードされているようなもの、または前述の配列のいずれかと実質的に同一（例えば、少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%、またはそれ以上同一）の配列を含む、少なくとも1つもしくは2つの重鎖可変ドメイン（任意に定常領域を含む）、少なくとも1つもしくは2つの軽鎖可変ドメイン（任意に定常領域を含む）、またはその両方を含む。抗TIM-3抗体分子は、任意に、US2015/0218274に示されているように、重鎖、軽鎖、またはその両方からのリーダー配列、またはそれと実質的に同一の配列を含む。

【0689】

さらに別の実施形態では、抗TIM-3抗体分子は、本明細書に記載される抗体、例えば、ABTIM3、ABTIM3-hum01、ABTIM3-hum02、ABTIM3-hum03、ABTIM3-hum04、ABTIM3-hum05、ABTIM3-hum06、ABTIM3-hum07、ABTIM3-hum08、ABTIM3-hum09、ABTIM3-hum10、ABTIM3-hum11、ABTIM3-hum12、ABTIM3-hum13、ABTIM3-hum14、ABTIM3-hum15、ABTIM3-hum16、ABTIM3-hum17、ABTIM3-hum18、ABTIM3-hum19、ABTIM3-hum20、ABTIM3-hum21、ABTIM3-hum23のいずれかから選択される抗体、またはUS2015/0218274の表1~4に記載されているか、もしくは表1~4のヌクレオチド配列によってコードされているもの、または前述の配列のいずれかと実質的に同一（例えば、少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%、もしくはそれ以上同一）の配列の重鎖可変領域および／または軽鎖可変領域からの少なくとも1つ、2つ、または3つの相補性決定領域（CDR）を含む。

【0690】

さらに別の実施形態では、抗TIM-3抗体分子は、US2015/0218274の表1~4に示されるか、または表1~4に示すヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域からの少なくとも1つ、2つ、または3つのCDR（または集合的に全てのCDR）を含む。一実施形態では、1つ以上のCDR（または集合的に全てのCDR）は、表1~4に示されるかまたは表1~4に示すヌクレオチド配列によってコードされているアミノ酸配列に対して、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ以上の変化、例えば、アミノ酸置換または欠失を有する。

【0691】

さらに別の実施形態では、抗TIM-3抗体分子は、US2015/0218274の表1~4に示されるか、または表1~4に示すヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域からの少なくとも1つ、2つ、または3つのCDR（または集合的に全てのCDR）を含む。一実施形態では、1つ以上のCDR（または集合的に

全てのCDR)は、表1~4に示されるかまたは表1~4に示すヌクレオチド配列によってコードされているアミノ酸配列に対して、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ以上の変化、例えば、アミノ酸置換または欠失を有する。特定の実施形態では、抗TIM-3抗体分子は、軽鎖CDRにおける置換、例えば、軽鎖のCDR1、CDR2、および/またはCDR3における1つ以上の置換を含む。

【0692】

別の実施形態では、抗TIM-3抗体分子は、US2015/0218274の表1~4に示されるか、または表1~4に示されるヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列を含む、重鎖および軽鎖可変領域からの少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つまたは6つのCDR(または集合的に全てのCDR)を含む。一実施形態では、1つ以上のCDR(または集合的に全てのCDR)は、表1~4に示されるかまたは表1~4に示すヌクレオチド配列によってコードされているアミノ酸配列に対して、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ以上の変化、例えば、アミノ酸置換または欠失を有する。

【0693】

一実施形態では、抗TIM-3抗体分子は以下を含む：

【0694】

(a) 各々が、US2015/0218274の表1~4に開示されている、配列番号9から選択されるVHCDR1アミノ酸配列、配列番号10のVHCDR2アミノ酸配列、および配列番号5のVHCDR3アミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH)、ならびに配列番号12のVLCDR1アミノ酸配列、配列番号13のVLCDR2アミノ酸配列、および配列番号14のVLCDR3アミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(VL)、

【0695】

(b) 各々が、US2015/0218274の表1~4に開示されている、配列番号3から選択されるVHCDR1アミノ酸配列、配列番号4のVHCDR2アミノ酸配列、および配列番号5のVHCDR3アミノ酸配列を含むVH、ならびに配列番号6のVLCDR1アミノ酸配列、配列番号7のVLCDR2アミノ酸配列、および配列番号8のVLCDR3アミノ酸配列を含むVL、

【0696】

(c) 各々が、US2015/0218274の表1~4に開示されている、配列番号9から選択されるVHCDR1アミノ酸配列、配列番号25のVHCDR2アミノ酸配列、および配列番号5のVHCDR3アミノ酸配列を含むVH、ならびに配列番号12のVLCDR1アミノ酸配列、配列番号13のVLCDR2アミノ酸配列、および配列番号14のVLCDR3アミノ酸配列を含むVL、

【0697】

(d) 各々が、US2015/0218274の表1~4に開示されている、配列番号3から選択されるVHCDR1アミノ酸配列、配列番号24のVHCDR2アミノ酸配列、および配列番号5のVHCDR3アミノ酸配列を含むVH、ならびに配列番号6のVLCDR1アミノ酸配列、配列番号7のVLCDR2アミノ酸配列、および配列番号8のVLCDR3アミノ酸配列を含むVL、

【0698】

(e) 各々が、US2015/0218274の表1~4に開示されている、配列番号9から選択されるVHCDR1アミノ酸配列、配列番号31のVHCDR2アミノ酸配列、および配列番号5のVHCDR3アミノ酸配列を含むVH、ならびに配列番号12のVLCDR1アミノ酸配列、配列番号13のVLCDR2アミノ酸配列、および配列番号14のVLCDR3アミノ酸配列を含むVL、または

【0699】

(f) 各々が、US2015/0218274の表1~4に開示されている、配列番号3から選択されるVHCDR1アミノ酸配列、配列番号30のVHCDR2アミノ酸配列、および配列番号5のVHCDR3アミノ酸配列を含むVH、ならびに配列番号6のVLCDR1アミノ酸配列、配列番号7のVLCDR2アミノ酸配列、および配列番号8のV

L C D R 3 アミノ酸配列を含む V L。

【0700】

例示的な抗 T I M - 3 抗体は、米国特許出願第 8、552、156 号、W O 2 0 1 1 / 1 5 5 6 0 7、E P 2 5 8 1 1 1 3、および米国特許出願公開第 2 0 1 4 / 0 4 4 7 2 8 号に開示されている。

【0701】

いくつかの実施形態では、抗 T I M - 3 抗体は、本発明の I L - 1 2 F c 融合タンパク質と組み合わせて使用され得る。M B G 4 5 3 および T S R - 0 2 2 を含むが、これらに限定されない、臨床開発中のいくつかの T I M - 3 抗体がある。

【0702】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される I L - 1 2 - F c 融合タンパク質は、T I M - 3 阻害剤（例えば、抗 T I M 3 抗体）と組み合わせて使用され得る。特定の実施形態では、本明細書に記載される I L - 1 2 - F c 融合タンパク質（例えば、本明細書に記載される任意の X E N P 配列）は、抗 T I M 3 抗体と組み合わせて投与される。

【0703】

3. 抗 C T L A 4 抗体

例示的な抗 C T L A 4 抗体は、トレメリムマブ（以前はチシリムマブ、C P - 6 7 5、2 0 6）として知られている、P f i z e r から入手可能な I g G 2 モノクローナル抗体）、およびイピリムマブ（M D X - 0 1 0、C A S 番号 4 7 7 2 0 2 - 0 0 - 9 としても知られている、C T L A - 4 抗体）を含む。他の例示的な抗 C T L A - 4 抗体は、例えば、米国特許第 5、811、097 号に開示されている。

【0704】

一実施形態では、抗 C T L A 4 抗体は、例えば、U S 5、811、097、U S 7、605、238、W O 0 0 / 3 2 2 3 1、および W O 9 7 / 2 0 5 7 4 に開示されるイピリムマブであり、本明細書に開示される配列（またはそれと実質的に同一もしくは類似の配列、例えば、指定された配列と少なくとも 85%、90%、95%、もしくはそれ以上同一の配列）を有する。

【0705】

一実施形態では、抗 C T L A 4 抗体は、例えば、U S 6、682、736 および W O 00 / 3 7 5 0 4 に開示されている、トレメリムマブであり、本明細書に開示される配列（またはそれと実質的に同一もしくは類似の配列、例えば、指定された配列と少なくとも 85%、90%、95%、もしくはそれ以上同一の配列）を有する。

【0706】

いくつかの実施形態では、抗 C T L A - 4 抗体は、本発明の I L - 1 2 - F c 融合タンパク質と組み合わせて使用され得る。したがって、本明細書に概説されるような併用療法で使用するのに適した抗 C T L A - 4 抗体には、現在 F D A が承認した抗体イピリムマブが、および C P - 6 7 5、2 0 6 および A G E N - 1 8 8 4 を含むさらにいくつかのものが含まれるが、これらに限定されない。

【0707】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される I L - 1 2 - F c 融合タンパク質は、C T L A - 4 阻害剤（例えば、抗 C T L A - 4 抗体）と組み合わせて使用され得る。特定の実施形態では、本明細書に記載される I L - 1 2 - F c 融合タンパク質（例えば、本明細書に記載される任意の X E N P 配列）は、抗 C T L A - 4 抗体と組み合わせて投与される。

【0708】

4. 抗 P D - L 1 抗体

例示的な非限定的な抗 P D - L 1 抗体分子は、参照によりその全体が組み込まれる、「Antibody Molecules to P D - L 1 and Uses There of」という名称の、2016 年 4 月 21 日に公開された U S 2 0 1 6 / 0 1 0 8 1 2 3 に開示されている。

10

20

30

40

50

【0709】

一実施形態では、抗PD-L1抗体分子は、BAP058-hum01、BAP058-hum02、BAP058-hum03、BAP058-hum04、BAP058-hum05、BAP058-hum06、BAP058-hum07、BAP058-hum08、BAP058-hum09、BAP058-hum10、BAP058-hum11、BAP058-hum12、BAP058-hum13、BAP058-hum14、BAP058-hum15、BAP058-hum16、BAP058-hum17、BAP058-Clone-K、BAP058-Clone-L、BAP058-Clone-M、BAP058-Clone-N、BAP058-Clone-Oのいずれかのアミノ酸配列、またはUS2016/0108123の表1に記載されているか、もしくは表1のヌクレオチド配列によってコードされているようなもの、または前述の配列のいずれかと実質的に同一（例えば、少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%、もしくはそれ以上同一）の配列を含む、少なくとも1つもしくは2つの重鎖可変ドメイン（任意に定常領域を含む）、少なくとも1つもしくは2つの軽鎖可変ドメイン（任意に定常領域を含む）、またはその両方を含む。

10

【0710】

さらに別の実施形態では、抗PD-L1抗体分子は、本明細書に記載される抗体、例えば、BAP058-hum01、BAP058-hum02、BAP058-hum03、BAP058-hum04、BAP058-hum05、BAP058-hum06、BAP058-hum07、BAP058-hum08、BAP058-hum09、BAP058-hum10、BAP058-hum11、BAP058-hum12、BAP058-hum13、BAP058-hum14、BAP058-hum15、BAP058-hum16、BAP058-hum17、BAP058-Clone-K、BAP058-Clone-L、BAP058-Clone-M、BAP058-Clone-N、もしくはBAP058-Clone-Oのいずれかから選択される抗体、またはUS2016/0108123の表1に記載されているか、もしくは表1のヌクレオチド配列によってコードされているもの、または前述の配列のいずれかと実質的に同一（例えば、少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%、もしくはそれ以上同一）の配列の重鎖可変領域および／または軽鎖可変領域からの少なくとも1つ、2つ、または3つの相補性決定領域（CDR）を含む。

20

30

【0711】

さらに別の実施形態では、抗PD-L1抗体分子は、US2016/0108123の表1に示されるか、または表1に示されるヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域からの少なくとも1つ、2つ、または3つのCDR（または集合的に全てのCDR）を含む。一実施形態では、1つ以上のCDR（または集合的に全てのCDR）は、表1に示されるかまたは表1に示すヌクレオチド配列によってコードされているアミノ酸配列に対して、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ以上の変化、例えば、アミノ酸置換または欠失を有する。

【0712】

さらに別の実施形態では、抗PD-L1抗体分子は、US2016/0108123の表1に示されるか、または表1に示されるヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域からの少なくとも1つ、2つ、または3つのCDR（または集合的に全てのCDR）を含む。一実施形態では、1つ以上のCDR（または集合的に全てのCDR）は、表1に示されるかまたは表1に示すヌクレオチド配列によってコードされているアミノ酸配列に対して、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ以上の変化、例えば、アミノ酸置換または欠失を有する。特定の実施形態では、抗PD-L1抗体分子は、軽鎖CDRにおける置換、例えば、軽鎖のCDR1、CDR2、および／またはCDR3における1つ以上の置換を含む。

40

【0713】

別の実施形態では、抗PD-L1抗体分子は、表1に示されるか、またはUS2016

50

／ 0 1 0 8 1 2 3 の表 1 に示されるヌクレオチド配列によってコードされているアミノ酸配列を含む重鎖および軽鎖可変領域からの少なくとも 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、または 6 つの C D R（または集合的に全ての C D R）を含む。一実施形態では、1 つ以上の C D R（または集合的に全ての C D R）は、表 1 に示されるかまたは表 1 に示すヌクレオチド配列によってコードされているアミノ酸配列に対して、1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、6 つ以上の変化、例えば、アミノ酸置換または欠失を有する。

【 0 7 1 4 】

一実施形態では、抗 P D - L 1 抗体分子は以下を含む：

（ i ） 各々が、 U S 2 0 1 6 ／ 0 1 0 8 1 2 3 の表 1 に開示されている、配列番号 1、配列番号 4、または配列番号 1 9 5 から選択される V H C D R 1 アミノ酸配列、配列番号 2 の V H C D R 2 アミノ酸配列、および配列番号 3 の V H C D R 3 アミノ酸配列を含む重鎖可変領域（ V H ）、ならびに

10

（ i i ） 各々が、 U S 2 0 1 6 ／ 0 1 0 8 1 2 3 の表 1 に開示されている、配列番号 9 の V L C D R 1 アミノ酸配列、配列番号 1 0 の V L C D R 2 アミノ酸配列、および配列番号 1 1 の V L C D R 3 アミノ酸配列を含む軽鎖可変領域（ V L ）。

【 0 7 1 5 】

別の実施形態では、抗 P D - L 1 抗体分子は以下を含む：

（ i ） 各々が、 U S 2 0 1 6 ／ 0 1 0 8 1 2 3 の表 1 に開示されている、配列番号 1、配列番号 4、または配列番号 1 9 5 から選択される V H C D R 1 アミノ酸配列、配列番号 5 の V H C D R 2 アミノ酸配列、および配列番号 3 の V H C D R 3 アミノ酸配列を含む重鎖可変領域（ V H ）、ならびに

20

（ i i ） 各々が、 U S 2 0 1 6 ／ 0 1 0 8 1 2 3 の表 1 に開示されている、配列番号 1 2 の V L C D R 1 アミノ酸配列、配列番号 1 3 の V L C D R 2 アミノ酸配列、および配列番号 1 4 の V L C D R 3 アミノ酸配列を含む軽鎖可変領域（ V L ）。

【 0 7 1 6 】

一実施形態では、抗 P D - L 1 抗体分子は、配列番号 1 の V H C D R 1 アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、抗 P D - L 1 抗体分子は、配列番号 4 の V H C D R 1 アミノ酸配列を含む。さらに別の実施形態では、抗 P D - L 1 抗体分子は、配列番号 1 9 5 の V H C D R 1 アミノ酸配列を含み、各々は、 U S 2 0 1 6 ／ 0 1 0 8 1 2 3 の表 1 に開示されている。

30

【 0 7 1 7 】

いくつかの実施形態では、 P D - L 1 阻害剤は、抗体分子である。いくつかの実施形態では、抗 P D - L 1 阻害剤は、 Y W 2 4 3 . 5 5 . S 7 0、 M P D L 3 2 8 0 A、 M E D I - 4 7 3 6、 M S B - 0 0 1 0 7 1 8 C、 M D X - 1 1 0 5、アテゾリズマブ、デュルバルマブ、アベルマブ、または B M S 9 3 6 5 5 9 から選択される。

【 0 7 1 8 】

いくつかの実施形態では、抗 P D - L 1 抗体は、アテゾリズマブである。アテゾリズマブ（ M P D L 3 2 8 0 A および A t e z o（登録商標）、 R o c h e とも称される）は、 P D - L 1 に結合するモノクローナル抗体である。アテゾリズマブおよび他のヒト化抗 P D - L 1 抗体は、 U S 8、 2 1 7、 1 4 9 に開示されており、本明細書に開示される配列（またはそれと実質的に同一もしくは類似の配列、例えば、指定された配列と少なくとも 8 5 %、 9 0 %、 9 5 %、もしくはそれ以上同一の配列）を有する。

40

【 0 7 1 9 】

いくつかの実施形態では、抗 P D - L 1 抗体は、アベルマブである。アベルマブ（ A 0 9 - 2 4 6 - 2、 M e r c k S e r o n o とも称される）は、 P D - L 1 に結合するモノクローナル抗体である。アベルマブおよび他のヒト化抗 P D - L 1 抗体は、 U S 9、 3 2 4、 2 9 8 および W O 2 0 1 3 ／ 0 7 9 1 7 4 に開示され、本明細書に開示される配列（またはそれと実質的に同一もしくは類似の配列、例えば、指定された配列と少なくとも 8 5 %、 9 0 %、 9 5 %、もしくはそれ以上同一の配列）を有する。

【 0 7 2 0 】

50

いくつかの実施形態では、抗PD-L1抗体は、デュルバルマブである。デュルバルマブ（MEDI4736、AstraZenecaとも称される）は、PD-L1に結合するモノクローナル抗体である。デュルバルマブおよび他のヒト化抗PD-L1抗体は、US8、779、108に開示されており、本明細書に開示される配列（またはそれと実質的に同一もしくは類似の配列、例えば、指定された配列と少なくとも85%、90%、95%、もしくはそれ以上同一の配列）を有する。

【0721】

いくつかの実施形態では、抗PD-L1抗体は、BMS-936559である。BMS-936559（MDX-1105、BMSとも称される）は、PD-L1に結合するモノクローナル抗体である。BMS-936559および他のヒト化抗PD-L1抗体は、US7、943、743およびWO2007005874に開示されており、本明細書に開示される配列（またはそれと実質的に同一もしくは類似の配列、例えば、指定された配列と少なくとも85%、90%、95%、もしくはそれ以上同一の配列）を有する。

【0722】

いくつかの実施形態では、抗PD-L1抗体は、本発明のIL-12-Fc融合タンパク質と組み合わせて使用され得る。現在FDAが承認している3つの抗体、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、ならびにこれらに限定されないが、LY3300054およびCS1001を含む、現在臨床試験中のもの、ならびにその中の抗体が参照により明示的に組み込まれる、Liu et al., J. Hemat. & Oncol. (2017) 10:136に概説される他のものを含む、いくつかの抗PD-L1抗体がある。

【0723】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるIL-12-Fc融合タンパク質は、PD-L1またはPD-L2阻害剤（例えば、抗PD-L1抗体）と組み合わせて使用され得る。

【0724】

5. 抗TIGIT抗体

いくつかの実施形態では、抗TIGIT抗体は、OMP-313M32である。OMP-313M32（OncoMed Pharmaceuticals）は、TIGITに結合するモノクローナル抗体である。OMP-313M32および他のヒト化抗TIGIT抗体は、US20160376365およびWO2016191643に開示されており、本明細書に開示される配列（またはそれと実質的に同一もしくは類似の配列、例えば、指定された配列と少なくとも85%、90%、95%、もしくはそれ以上同一の配列）を有する。

【0725】

いくつかの実施形態では、抗TIGIT抗体は、BMS-986207である。BMS-986207（ONO-4686; Bristol-Myers Squibbとも称される）は、TIGITに結合するモノクローナル抗体である。BMS-986207および他のヒト化抗TIGIT抗体は、US20160176963およびWO2016106302に開示されており、本明細書に開示される配列（またはそれと実質的に同一もしくは類似の配列、例えば、指定された配列と少なくとも85%、90%、95%、もしくはそれ以上同一の配列）を有する。

【0726】

いくつかの実施形態では、抗TIGIT抗体は、MTIG7192である。MTIG7192（Genentech）は、TIGITに結合するモノクローナル抗体である。MTIG7192および他のヒト化抗TIGIT抗体は、US2017088613、WO2017053748、およびWO2016011264に開示されており、本明細書に開示される配列（またはそれと実質的に同一もしくは類似の配列、例えば、指定された配列と少なくとも85%、90%、95%、もしくはそれ以上同一の配列）を有する。

【0727】

いくつかの実施形態では、抗TIGIT抗体は、本発明のIL-12-Fc融合タンパ

ク質と組み合わせて使用され得る。臨床開発中のいくつかのT I G I T抗体、B M S - 9 8 6 2 0 7、O M P - 3 1 3 M 3 2、およびM T I G 7 1 9 2 Aがある。

【0728】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるI L - 1 2 - F c融合タンパク質は、T I G I T阻害剤（例えば、抗T I G I T抗体）と組み合わせて使用され得る。特定の実施形態では、本明細書に記載されるI L - 1 2 - F c融合タンパク質（例えば、本明細書に記載される任意のX E N P配列）は、抗T I G I T抗体と組み合わせて投与される。

【0729】

6. 抗L A G 3抗体

例示的な非限定的な抗L A G - 3抗体分子は、参照によりその全体が組み込まれる、「Antibody Molecules to LAG-3 and Uses There of」という名称の、2015年9月17日に公開されたUS 2015/0259420に開示されている。

【0730】

一実施形態では、抗L A G - 3抗体分子は、B A P 0 5 0 - h u m 0 1、B A P 0 5 0 - h u m 0 2、B A P 0 5 0 - h u m 0 3、B A P 0 5 0 - h u m 0 4、B A P 0 5 0 - h u m 0 5、B A P 0 5 0 - h u m 0 6、B A P 0 5 0 - h u m 0 7、B A P 0 5 0 - h u m 0 8、B A P 0 5 0 - h u m 0 9、B A P 0 5 0 - h u m 1 0、B A P 0 5 0 - h u m 1 1、B A P 0 5 0 - h u m 1 2、B A P 0 5 0 - h u m 1 3、B A P 0 5 0 - h u m 1 4、B A P 0 5 0 - h u m 1 5、B A P 0 5 0 - h u m 1 6、B A P 0 5 0 - h u m 1 7、B A P 0 5 0 - h u m 1 8、B A P 0 5 0 - h u m 1 9、B A P 0 5 0 - h u m 2 0、h u B A P 0 5 0 (S e r)（例えば、B A P 0 5 0 - h u m 0 1 - S e r、B A P 0 5 0 - h u m 0 2 - S e r、B A P 0 5 0 - h u m 0 3 - S e r、B A P 0 5 0 - h u m 0 4 - S e r、B A P 0 5 0 - h u m 0 5 - S e r、B A P 0 5 0 - h u m 0 6 - S e r、B A P 0 5 0 - h u m 0 7 - S e r、B A P 0 5 0 - h u m 0 8 - S e r、B A P 0 5 0 - h u m 0 9 - S e r、B A P 0 5 0 - h u m 1 0 - S e r、B A P 0 5 0 - h u m 1 1 - S e r、B A P 0 5 0 - h u m 1 2 - S e r、B A P 0 5 0 - h u m 1 3 - S e r、B A P 0 5 0 - h u m 1 4 - S e r、B A P 0 5 0 - h u m 1 5 - S e r、B A P 0 5 0 - h u m 1 8 - S e r、B A P 0 5 0 - h u m 1 9 - S e r、もしくはB A P 0 5 0 - h u m 2 0 - S e r）、B A P 0 5 0 - C l o n e - F、B A P 0 5 0 - C l o n e - G、B A P 0 5 0 - C l o n e - H、B A P 0 5 0 - C l o n e - I、もしくはB A P 0 5 0 - C l o n e - Jのいずれかのアミノ酸配列、またはUS 2015/0259420の表1に記載されているか、もしくは表1のヌクレオチド配列によってコードされているようなもの、または前述の配列のいずれかと実質的に同一（例えば、少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%、もしくはそれ以上同一）の配列を含む、少なくとも1つもしくは2つの重鎖可変ドメイン（任意に定常領域を含む）、少なくとも1つもしくは2つの軽鎖可変ドメイン（任意に定常領域を含む）、またはその両方を含む。

【0731】

さらに別の実施形態では、抗L A G - 3抗体分子は、本明細書に記載される抗体、例えば、B A P 0 5 0 - h u m 0 1、B A P 0 5 0 - h u m 0 2、B A P 0 5 0 - h u m 0 3、B A P 0 5 0 - h u m 0 4、B A P 0 5 0 - h u m 0 5、B A P 0 5 0 - h u m 0 6、B A P 0 5 0 - h u m 0 7、B A P 0 5 0 - h u m 0 8、B A P 0 5 0 - h u m 0 9、B A P 0 5 0 - h u m 1 0、B A P 0 5 0 - h u m 1 1、B A P 0 5 0 - h u m 1 2、B A P 0 5 0 - h u m 1 3、B A P 0 5 0 - h u m 1 4、B A P 0 5 0 - h u m 1 5、B A P 0 5 0 - h u m 1 6、B A P 0 5 0 - h u m 1 7、B A P 0 5 0 - h u m 1 8、B A P 0 5 0 - h u m 1 9、B A P 0 5 0 - h u m 2 0、h u B A P 0 5 0 (S e r)（例えば、B A P 0 5 0 - h u m 0 1 - S e r、B A P 0 5 0 - h u m 0 2 - S e r、B A P 0 5 0 - h u m 0 3 - S e r、B A P 0 5 0 - h u m 0 4 - S e r、B A P 0 5 0 - h u m 0 5 - S e r、B A P 0 5 0 - h u m 0 6 - S e r、B A P 0 5 0 - h u m 0 7 - S e r、B

AP050-hum08-Ser、BAP050-hum09-Ser、BAP050-hum10-Ser、BAP050-hum11-Ser、BAP050-hum12-Ser、BAP050-hum13-Ser、BAP050-hum14-Ser、BAP050-hum15-Ser、BAP050-hum18-Ser、BAP050-hum19-Ser、もしくはBAP050-hum20-Ser)、BAP050-Clone-F、BAP050-Clone-G、BAP050-Clone-H、BAP050-Clone-I、もしくはBAP050-Clone-Jのいずれかから選択される抗体、またはUS2015/0259420の表1に記載されているか、もしくは表1のヌクレオチド配列によってコードされているもの、または前述の配列のいずれかと実質的に同一（例えば、少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%、もしくはそれ以上同一）の配列の重鎖可変領域および／または軽鎖可変領域からの少なくとも1つ、2つ、または3つの相補性決定領域（CDR）を含む。

10

【0732】

さらに別の実施形態では、抗LAG-3抗体分子は、US2015/0259420の表1に示されるか、または表1に示すヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域からの少なくとも1つ、2つ、または3つのCDR（または集合的に全てのCDR）を含む。一実施形態では、1つ以上のCDR（または集合的に全てのCDR）は、表1に示されるかまたは表1に示すヌクレオチド配列によってコードされているアミノ酸配列に対して、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ以上の変化、例えば、アミノ酸置換または欠失を有する。

20

【0733】

さらに別の実施形態では、抗LAG-3抗体分子は、US2015/0259420の表1に示されるか、または表1に示すヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域からの少なくとも1つ、2つ、または3つのCDR（または集合的に全てのCDR）を含む。一実施形態では、1つ以上のCDR（または集合的に全てのCDR）は、表1に示されるかまたは表1に示すヌクレオチド配列によってコードされているアミノ酸配列に対して、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ以上の変化、例えば、アミノ酸置換または欠失を有する。特定の実施形態では、抗PD-L1抗体分子は、軽鎖CDRにおける置換、例えば、軽鎖のCDR1、CDR2、および／またはCDR3における1つ以上の置換を含む。

30

【0734】

別の実施形態では、抗LAG-3抗体分子は、表1に示されるか、またはUS2015/0259420の表1に示されるヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列を含む、重鎖および軽鎖可変領域からの少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つまたは6つのCDR（または集合的に全てのCDR）を含む。一実施形態では、1つ以上のCDR（または集合的に全てのCDR）は、表1に示されるかまたは表1に示すヌクレオチド配列によってコードされているアミノ酸配列に対して、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ以上の変化、例えば、アミノ酸置換または欠失を有する。

【0735】

一実施形態では、抗LAG-3抗体分子は以下を含む：

40

(i) 各々が、US2015/0259420の表1に開示されている、配列番号1、配列番号4、または配列番号286から選択されるVHCDR1アミノ酸配列、配列番号2のVHCDR2アミノ酸配列、および配列番号3のVHCDR3アミノ酸配列を含む重鎖可変領域（VH）、ならびに

(ii) 各々が、US2015/0259420の表1に開示されている、配列番号10のVLCDR1アミノ酸配列、配列番号11のVLCDR2アミノ酸配列、および配列番号12のVLCDR3アミノ酸配列を含む軽鎖可変領域（VL）。

【0736】

別の実施形態では、抗LAG-3抗体分子は以下を含む：

(i) 各々が、US2015/0259420の表1に開示されている、配列番号1、

50

配列番号 4、または配列番号 286 から選択される V H C D R 1 アミノ酸配列、配列番号 5 の V H C D R 2 アミノ酸配列、および配列番号 3 の V H C D R 3 アミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (V H)、ならびに

(i i) 各々が、U S 2 0 1 5 / 0 2 5 9 4 2 0 の表 1 に開示されている、配列番号 13 の V L C D R 1 アミノ酸配列、配列番号 14 の V L C D R 2 アミノ酸配列、および配列番号 15 の V L C D R 3 アミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (V L)。

【0737】

一実施形態では、抗 L A G - 3 抗体分子は、配列番号 1 の V H C D R 1 アミノ酸配列を含む。別の実施形態では、抗 L A G - 3 抗体分子は、配列番号 4 の V H C D R 1 アミノ酸配列を含む。さらに別の実施形態では、抗 L A G - 3 抗体分子は、配列番号 286 の V H C D R 1 アミノ酸配列を含み、各々は、U S 2 0 1 5 / 0 2 5 9 4 2 0 の表 1 に開示されている。

【0738】

いくつかの実施形態では、抗 L A G - 3 抗体は、B M S - 9 8 6 0 1 6 である。B M S - 9 8 6 0 1 6 (B M S 9 8 6 0 1 6 ; B r i s t o l - M y e r s S q u i b b とともに称される) は、L A G - 3 に結合するモノクローナル抗体である。B M S - 9 8 6 0 1 6 および他のヒト化抗 L A G - 3 抗体は、U S 2 0 1 1 / 0 1 5 0 8 9 2、W O 2 0 1 0 / 0 1 9 5 7 0、および W O 2 0 1 4 / 0 0 8 2 1 8 に開示されている。

【0739】

いくつかの実施形態では、抗 L A G 3 抗体は、L A G 5 2 5 である。L A G 5 2 5 (I M P 7 0 1、N o v a r t i s とともに称される) は、L A G 3 に結合するモノクローナル抗体である。L A G 5 2 5 および他のヒト化抗 L A G 3 抗体は、U S 9、244、059 および W O 2 0 0 8 1 3 2 6 0 1 に開示されており、本明細書に開示される配列 (またはそれと実質的に同一もしくは類似の配列、例えば、指定された配列と少なくとも 85%、90%、95%、もしくはそれ以上同一の配列) を有する。

【0740】

他の例示的な抗 L A G 3 抗体は、例えば、U S 2 0 1 1 1 5 0 8 9 2 および U S 2 0 1 8 0 6 6 0 5 4 に開示される。

【0741】

いくつかの実施形態では、抗 L A G - 3 抗体は、本発明の I L - 1 2 - F c 融合タンパク質と組み合わせて使用され得る。R E G N 3 7 6 7、R e g e n e r o n によるもの、B M S - 9 8 6 0 1 6 (B r i s t o l - M y e r s S q u i b b)、M K - 4 2 8 0 (M e r c k)、L A G 5 2 5 (N o v a r t i s)、T S R - 0 3 3 (T e s a r o) を含む、臨床開発中のいくつかの抗 L A G - 3 抗体がある。

【0742】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される I L - 1 2 - F c 融合タンパク質は、L A G 3 阻害剤 (例えば、抗 L A G 3 抗体) と組み合わせて使用され得る。特定の実施形態では、本明細書に記載される I L - 1 2 - F c 融合タンパク質 (例えば、本明細書に記載される任意の X E N P 配列) は、抗 L A G 3 抗体と組み合わせて投与される。

【0743】

X I I . 治療

一旦作製されると、本発明の組成物は、一般に、本発明のヘテロ二量体 F c 融合タンパク質の結合を用いて T 細胞活性化を促進すること (例えば、T 細胞はもはや抑制されない) による、癌治療によって、いくつかの腫瘍学適用に使用される。

【0744】

したがって、本発明のヘテロ二量体組成物はこれらの癌の治療に使用される。

【0745】

A . インビボ投与のための融合タンパク質組成物

本発明に従って使用される融合タンパク質の製剤は、所望の純度を有する融合タンパク質を任意の薬学的に許容される担体、賦形剤、または安定化剤 (R e m i n g t o n ' s

10

20

30

40

50

Pharmaceutical Sciences 16th edition、Osol、A. Ed. [1980]に一般に概説される)と、凍結乾燥製剤または水性溶液の形態で混合することによって、保存のために調製される。

【0746】

B. 投与様式

本発明の融合タンパク質および化学療法剤は、ボーラスとしての静脈内投与またはある期間にわたる連続注入による、既知の方法に従って、対象に投与される。

【0747】

B. 治療様式

本発明の方法において、治療は、疾患または病状に関して肯定的な治療応答を提供するために使用される。「肯定的な治療応答」は、疾患もしくは病状の改善、および／または疾患または病状に関連する症状の改善を意図する。例えば、肯定的な治療応答は、疾患における以下の改善のうちの1つ以上を指し得る：(1)腫瘍細胞の数の減少、(2)腫瘍細胞死の増加、(3)腫瘍細胞の生存の阻害、(5)腫瘍増殖の阻害(すなわち、ある程度の減速、好ましくは停止)、(6)患者生存率の増加、および(7)疾患または病状に関連する1つ以上の症状からのいくつかの解放。

【0748】

任意の所与の疾患または病状における肯定的な治療応答は、その疾患または病状に特有の標準化された応答基準によって決定され得る。腫瘍応答は、磁気共鳴画像(MRI)スキャン、X線撮影、コンピュータ断層撮影(CT)スキャン、骨スキャン撮影、内視鏡検査、ならびに骨髄穿刺(BMA)および循環中の腫瘍細胞の計数を含む腫瘍生検サンプリングなどのスクリーニング技法を使用して、腫瘍形態(すなわち、全身腫瘍組織量、腫瘍サイズなど)の変化について評価され得る。

【0749】

これらの肯定的な治療応答に加えて、治療を受けている対象は、疾患に関連する症状の改善の有益な効果を経験し得る。

【0750】

本発明に従う治療には、使用される医薬品の「治療有効量」が含まれる。「治療有効量」は、所望の治療結果を達成するために、必要な投薬量および期間で有効な量をいう。

【0751】

治療有効量は、個体の疾患状態、年齢、性別、および体重、ならびに個体において所望の応答を誘発する薬剤の能力などの因子によって異なり得る。治療有効量はまた、タンパク質またはタンパク質部分のいずれの毒性または有害な効果よりも治療上有益な効果が勝る量である。

【0752】

腫瘍療法のための「治療有効量」は、疾患の進行を安定化する能力によっても測定することができる。癌を阻害する化合物の能力は、ヒト腫瘍における有効性を予測する動物モデル系において評価してもよい。

【0753】

あるいは、組成物のこの特性は、当業者に知られているインビトロアッセイによって、化合物が細胞増殖を阻害するか、またはアポトーシスを誘導する能力を検査することによって評価してもよい。治療有効量の治療用化合物は、腫瘍サイズを減少させるか、さもなければ対象の症状を軽減し得る。当業者であれば、対象のサイズ、対象の症状の重症度、および選択される特定の組成物または投与経路などの因子に基づいて、そのような量を決定することができるであろう。

【0754】

投薬レジメンは、最適な所望の応答(例えば、治療応答)を提供するように調節される。例えば、単回のボーラスを投与してもよく、いくつかの分割用量を経時的に投与してもよく、または治療状況の緊急性によって示されるように用量を比例して減少または増加させてもよい。非経口組成物は、投与の容易性および投薬量の均一性のために、単位剤形で

10

20

30

40

50

処方され得る。本明細書で使用される単位剤形は、治療される対象のための単一投薬量として好適な物理的に別個の単位を指し、各単位は、必要とされる薬学的担体に関連して所望の治療効果を生じるように計算された所定量の活性化合物を含有する。

【0755】

本発明の単位剤形態の仕様は、(a) 活性化合物の固有の特徴および達成すべき特定の治療効果、ならびに (b) 個体における感受性の治療に対してそのような活性化合物を調合する分野に付いて回る制限に影響され、またそれらに直接的に依存する。

【0756】

本発明で使用されるヘテロ二量体タンパク質の効率的な投薬量および投薬レジメンは、治療される疾患または状態に依存し、当業者によって決定され得る。

【0757】

本発明で使用される治療有効量のヘテロ二量体タンパク質の例示的な非限定的な範囲は、約 0.1 ~ 100 mg / kg である。

【0758】

全ての引用文献は、本明細書にそれらの全体が参照により明示的に組み込まれる。

【0759】

本発明の特定の実施形態を例示の目的で上述のように説明してきたが、添付の特許請求の範囲に記載の本発明から逸脱することなく詳細の多数の変形をなし得ることが当業者には理解されよう。

【実施例】

【0760】

本発明を説明するために実施例を以下に提供する。これらの実施例は、本発明を任意の特定の用途または動作理論に限定することを意味するものではない。本発明で議論される全ての定常領域位置について、付番は、Kabat (Kabat et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed., United States Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, 参照により全体が組み込まれる) と同様の EU 指数に従う。抗体の技術分野の当業者は、この規則が免疫グロブリン配列の特定の領域における非連続的な付番からなり、免疫グロブリンファミリーにおける保存された位置への標準的な基準を可能にすることを理解するであろう。したがって、EU 指数によって定義されるような任意の所与の免疫グロブリンの位置は必ずしもその連続配列に対応しない。

【0761】

一般的小および具体的な科学技法は、米国特許出願公開第 2015 / 0307629 号、同第 2014 / 0288275 号、および WO 2014 / 145806 に概説されており、それらは全て、特にその中に概説されている技術に関して、参照によりそれらの全体が明示的に組み込まれる。

【0762】

実施例 1: IL-12-Fc 融合タンパク質

他のサイトカインと同様に、IL-12 は短い半減期を有し、短い半減期を克服する高用量治療は全身毒性をもたらす。加えて、抗腫瘍効果は、IL-12 による IFN γ 産生の持続的な誘導を必要とすることが報告されている (Gollob, JA et al., 2000)。さらに、IL-12 p40 サブユニットは、単量体またはホモ二量体のいずれかとして、IL-12 受容体への結合について競合することによって IL-12 活性をアンタゴナイズすることが報告され (Gillesen, S et al., 1995)、したがって、IL-12 p40 および IL-12 p35 サブユニットを前複合体化することが有利である。これらの 2 つの警告に対処するために、我々は、FcRn 媒介性リサイクルを通じた循環の増強、ならびに IL-12 p40 および IL-12 p35 サブユニットの前複合体化の両方のために、IL-12 ヘテロ二量体を Fc 融合タンパク質 (集合的に以降 IL-12-Fc 融合体と呼ばれる) として操作した。

【0763】

1A：様々なフォーマットのIL-12-Fc融合体の操作

我々は、N末端IL-12ヘテロ二量体Fc融合体または「IL-12-ヘテロFc」フォーマットを生成し、これはヘテロ二量体Fcの一方の側のN末端に組換え融合したIL-12p40サブユニット、およびヘテロ二量体Fcの他方の側のN末端に組換え融合したIL-12p35サブユニットを含む（図8A）。IL-12p40およびIL-12p35サブユニットは、ドメインリンカーによってそれらのそれぞれのFc鎖に結合され得る。このフォーマットの例示的なタンパク質は、XENP27201であり、その配列は、図9に示される。

【0764】

我々はまた、C末端IL-12ヘテロ二量体Fc融合体または「ヘテロFc-IL-12」フォーマットを生成し、これはヘテロ二量体Fcの一方の側のC末端に組換え融合したIL-12p40サブユニット、およびヘテロ二量体Fcの他方の側のC末端に組換え融合したIL-12p35サブユニットを含む（図8B）。IL-12p30およびIL-12p35サブユニットは、ドメインリンカーによってそれらのそれぞれのFc鎖に結合され得る。このフォーマットの例示的なタンパク質は、XENP27202であり、その配列は、図10に示される。

【0765】

我々は、N末端単鎖IL-12-Fc融合体または「scIL-12-Fc」フォーマットをさらに生成し、これは（任意にドメインリンカーを介して）ヘテロ二量体Fcの一方の側のN末端に組換え融合した単鎖IL-12複合体（または「scIL-12複合体」）を含み、分子の他方の側は、「Fcのみ」または「空Fc」ヘテロ二量体Fcである（図8C～D）。scIL-12複合体は、任意にドメインリンカーで、IL-12p40にN末端結合したIL-12p35またはIL-12p35にN末端結合したIL-12p40のいずれかを含むことができる。scIL-12複合体における2つのサブユニットの順序は、本明細書では以下のように指定される：IL-12p40サブユニットがIL-12p35サブユニットにN末端結合している「scIL-12（p40/p35）」、またはIL-12p35がIL-12p35サブユニットにN末端結合している「scIL-12（p35/p40）」。scIL-12-Fcフォーマットの例示的なタンパク質は、XENP27203およびXENP27204を含み、その配列は、図11に示される。

【0766】

使用に企図される追加のIL-12-Fcフォーマットの漫画概略図は、図8に示される。

【0767】

1B：例示的なIL-12-Fc融合体の産生および物理的特徴分析

1B(a)：IL-12-ヘテロFc

IL-12p35およびIL-12p40サブユニットをコードするプラスミドを、標準的な遺伝子合成、続いてFc融合パートナー（例えば、図7に示される定常領域）を含むpTT5発現ベクターへのサブクロニングによって構築した。タンパク質をHEK293E細胞における一過性トランスフェクションによって産生し、タンパク質Aクロマトグラフィー（精製パート1）、続いてアニオン交換クロマトグラフィー（精製パート2）を含む2段階精製プロセスによって精製した。例示的なIL-12-ヘテロFcXENP27201のための精製パート2を示すクロマトグラムは、図12Aに示される。クロマトグラムは、2つのピーク（ピークAおよびピークB）の単離を示し、これは、以下に一般的に記載される同一性、純度、および均一性について多角度光散乱での分析サイズ排除クロマトグラフィー（aSEC-MALS）および分析アニオン交換クロマトグラフィー（分析AIEX）によってさらに特徴分析された。

【0768】

XENP27201のための精製パート2から単離されたピークAおよびBを、aSE

10

20

30

40

50

C-MALSを使用して分析し、それらの成分タンパク質種を推定した。分析は、Agilent 1200高速液体クロマトグラフィー（HPLC）システムで実施した。試料を、Superdex（商標）200 10/300GLカラム（GE Healthcare Life Sciences）に1.0mL/分で、1×PBS、pH7.4を移動相として4℃で25分間、280nmのUV検出波長で用いて注入した。MALSは、Optilab（登録商標）T-REX屈折率検出器（Wyatt Technology、Santa Barbara、Cali）を備えたminiDAWN（登録商標）TREOS（登録商標）で実施した。分析を、Agilent OpenLabクロマトグラフィーデータシステム（CDS）ChemStation Edition AICバージョンC0107およびASTRAバージョン6.1.7.15を使用して実施した。ピークAおよびBのaSEC分離プロファイルを示すクロマトグラムは、MALSによって決定される成分種のMWとともに図12Bに示される。プロファイルは、ピークAが、約299kDおよび約140kDの分子量を有する種を含み、ピークBが、約118kDの分子量を有する種を主に含むことを示し、これはグリカンによって寄与される追加の質量を考慮して、110.4kDaの（アミノ酸配列に基づく）XENP27201の計算された分子量と一致している。

【0769】

精製パート2からのピークも分析AIEXを使用して分析して、ピークBの純度および均一性をさらに評価した。分析は、Agilent 1200高速液体クロマトグラフィー（HPLC）システムで実施した。試料を、Proteomix SAX-NP55μM非多孔質カラム（Sepax Technologies、Inc、Newark、Del）に、1.0mL/分で、20mMのTris、pH8.5バッファー中の0~40%NaCl勾配を使用して、280nmのUV検出波長で注入した。分析を、Agilent OpenLAB CDS ChemStation Edition AICバージョンC.01.07を使用して実施した。ピークAおよびBの分析AIEX分離を示すクロマトグラムは、図12Cに示される。ピークBのaSEC分離プロファイルと一致して、ピークBの分析AIEX分離プロファイルは、ピークBにおける種の純度および均一性を示す。以降、XENP27201は、図12Aに示されるように、精製パート2から単離されるピークBを指す。

【0770】

1B（b）：scIL-12（p40/p35）-Fc

リンカーを介してIL-12p35に組換え融合したIL-12p40をコードするプラスミドを、標準的な遺伝子合成、続いてFc融合パートナー（例えば、図7に示される定常領域）を含有するpTT5発現ベクターへのサブクローニングによって構築した。タンパク質をHEK293E細胞における一過性トランスフェクションによって産生し、タンパク質Aクロマトグラフィー（精製パート1）、およびアニオン交換クロマトグラフィー（精製パート2）を含む2段階精製プロセスによって精製した。

【0771】

例示的なscIL-12（p40/p35）-Fc融合体XENP27203のための精製パート2を示すクロマトグラムは、図13Aに示される。上記のように、クロマトグラムは、2つのピークの単離を示し、これらは、実施例1B（a）に記載されるように、同一性、純度、および均一性についてaSEC-MALSおよび分析AIEXによってさらに特徴付けられ、そのクロマトグラムは、図13B~Cに示される。

【0772】

XENP27203の精製パート2から単離されたピークAおよびBのaSEC分離プロファイルは、ピークAが、約396kD、約188kD、および約118kDの分子量を有する種を含み、ピークBが、約118kDの分子量を有する種を主に含むことを示し、これはグリカンによって寄与される追加の質量を考慮して、111.3kDaの（アミノ酸配列に基づく）XENP27203の計算された分子量と一致している。ピークはまた、ピークBの純度および均一性をさらに調査するために、実施例1B（a）に記載され

10

20

30

40

50

る分析A I E Xを使用して分析された。ピークBのa S E C分離プロファイルと一致して、ピークBの分析A I E X分離プロファイル（図13C）は、ピークBにおける種の純度および均一性を示す。以降、X E N P 2 7 2 0 3は、図13Aに示されるようにアニオン交換から単離されるピークBを指す。

【0773】

1C：S T A T 4リン酸化の誘導におけるI L - 1 2 - F c融合体のインビトロ活性

サイトカインのそれらの受容体への結合後、サイトカイン受容体と会合したヤヌスキナーゼ（J A K）は、S T A Tタンパク質をリン酸化し、これは次いで核に移行して、さらなる下流プロセスを制御する。特に、I L - 1 2は、S T A T 4のリン酸化を通してI F N γ 発現および分泌を媒介する（Morinobu et al., 2002）。したがって、上記I L - 1 2ヘテロF c（X E N P 2 7 2 0 1）およびs c I L - 1 2（p 4 0 / p 3 5）- F c（X E N P 2 7 2 0 3）の能力は、様々なリンパ球集団におけるS T A T 4リン酸化を誘導するために調査された。二価I L - 1 2 p 3 5 - F c融合体およびI L - 1 2 p 4 0 - F c融合体（図14～15に示される漫画概略図および配列）ならびに組換えI L - 1 2を対照として使用した。

【0774】

新鮮なP B M Cを、プレートに結合した抗C D 3（100 ng / ml）との3日間のインキュベーションによって活性化した。活性化後、P B M Cを次いで、示される試験品と示される濃度で15分間37℃でインキュベートした。インキュベーション後、P B M Cを第1に抗C D 3 - B U V 3 9 5（U C H T 1）、抗C D 4 - B V 6 0 5（R P A - T 4）、抗C D 8 - A F 7 0 0（S K 1）、抗C D 1 4 - A P C / F i r e 7 5 0（M 5 E 2）、抗C D 2 0 - P e r C P / 5.5（2 H 7）、抗C D 2 5 - B V 4 2 1（M - A 2 5 1）、および抗C D 5 6 - P E抗体で染色した。最初の染色後、P e r F i x E X P O S E（Beckman Coulter, Indianapolis, Ind）を使用して細胞を透過処理した。透過処理後、細胞を抗C D 4 5 R A - B V 5 1 0（H I 1 0 0）、抗F o x P 3 - A F 4 8 8（2 5 9 D）、および抗p S T A T 4 - A F 6 4 7（3 8 / p - S t a t 4）抗体で染色した。第2の染色後、細胞をフローサイトメトリーによって分析して、様々なリンパ球集団に対するS T A T 4リン酸化を調査した。I L - 1 2受容体を介してI L - 1 2 - F c融合体によってシグナル伝達を示す、様々なリンパ球集団に対するp S T A T 4 M F Iを示すデータは、図16に示される。

【0775】

データは、X E N P 2 7 2 0 1およびX E N P 2 7 2 0 3の両方が、様々なリンパ球集団におけるS T A T 4リン酸化を、組換えI L - 1 2によって誘導されるものと類似のレベルに誘導することにおいて活性であり、二価I L - 1 2 p 4 0 - F c（X E N P 2 7 5 6 0）および二価I L - 1 2 p 3 5 - F c（X E N P 2 7 5 6 1）融合体は、不活性であったことを示す。特に、2つのI L - 1 2 - F c融合フォーマットは、類似の有効性を示した。加えて、X E N P 2 7 5 6 0およびX E N P 2 7 5 6 1と比較してS T A T 4リン酸化を誘導する精製I L - 1 2 - F c融合タンパク質の能力は、（実施例1Bに記載されるように）X E N P 2 7 2 0 1およびX E N P 2 7 2 0 3の両方の精製パート2から単離されたピークBが、完全なI L - 1 2ヘテロ二量体を含む活性種からなることを確認する。

【0776】

実施例2：低減有効性について操作されたI L - 1 2バリエーション

半減期をさらに延長し、毒性の潜在性を低減するために、我々が、これが抗原シンクを低下させるだけでなく、有効性を低減すると推論したように、我々は、I L - 1 2受容体についての低下した結合親和性を有するI L - 1 2バリエーションを操作した。

【0777】

2A（a）：I L - 1 2 p 4 0バリエーションの操作

我々は、第1に、W 1 5、P 1 7、D 1 8、A 1 9、P 2 0、G 2 1、M 2 3、L 4 0、D 4 1、Q 4 2、S 4 3、E 4 5、L 4 7、T 5 4、I 5 5、Q 5 6、K 5 8、E 5 9、F 6 0、G 6 1、D 6 2、Y 6 6、およびK 8 4を、親和性調節置換を導入するための

IL-12p40上の潜在的な部位として特定した（残基は図17に示される）。

【0778】

第2の戦略として、MOEソフトウェアにおけるQuaSARパッケージを使用することによって、我々は、IL-12p40結晶構造（PDBコード3HMX）における高度に露出したアスパラギン酸、グルタミン酸、アスパラギン、およびグルタミン残基を（水分子の1.4 Åの半径および各原子の多面体表示を使用して計算される水接触可能表面積に従って）特定し、これらの残基がIL-12p40とIL-12受容体との間の結合に寄与し得ると推論した。特に、我々は、免疫原性の潜在性を最小限に抑えることを目的として、我々が等比体積置換を組み込むことができる残基（すなわち、AsnおよびAsp、ならびにGlnおよびGlu）に我々の検索を集中し、したがって、我々は、少なくとも19のASAスコアを有するE3、D7、E12、D14、D18、E22、D29、E32、E33、D41、Q42、E45、Q56、E59、D62、Q65、E73、E86、D93、D97、E100、N103、E110、D129、D142、Q144、E156、D161、N162、E166、E170、Q172、D174、E187、N200、D209、D214、N218、Q220、N226、Q229、E231、E235、Q256、E262、D265、D270、N281、Q289、およびE299を特定した（残基およびASAスコアは図18に示される）。

【0779】

上記のように、p40サブユニットは、IL-12およびIL-23によって共有される。Blochら（2018）は、IL-23RおよびNb22E11を有する複合体におけるIL-23の結晶構造を報告した。第3の戦略として、我々は、IL-23Rと接触しているIL-12p40サブユニット上の残基が、IL-12受容体複合体における類似受容体IL-12Rβ2を結合することにも関与し得ると推論した。したがって、Blochら（PDBコード5MZV）によって報告された結晶構造およびMOEソフトウェアでのモデリングを使用して、我々は、D87、G88、I89、W90、K104、およびF106を、潜在的にIL-12Rβ2と接触しているIL-12p40上の残基として特定した（残基および予測される接触タイプは図19に示される）。

【0780】

最後に、我々がIL-12p40およびIL-12p35サブユニット間の自然な相互作用を混乱させないことを保証するために、我々は、Luoら（2010）によって報告される結晶構造に基づいてIL-12p35と潜在的に接触したIL-12p40上の以下の残基を特定した：K102、Y114、A176、C177、P178、A179、A180、E181、S183、P185、S204、F206、R208、T242、P243、S245、Y246、F247、S248、D290、R291、Y292、およびY293。

【0781】

上記を考慮して、我々は、IL-12受容体に対するIL-12ヘテロ二量体の親和性を低減する目的で、等比体積置換を導入することができる残基で、特に上記のような、いくつかのIL-12p40バリエーションを設計した。P40における潜在的なN-グリコシル化部位を除去する置換も、タンパク質不均一性に対するグリコシル化の影響を調査するために設計された。例示的なバリエーションの配列は、図20に示される。IL-12p40バリエーションをコードするプラスミドを、標準的な遺伝子合成、続いてFc融合パートナー（例えば、図7に示される定常領域）を含有するpTT5発現ベクターへのサブクローニングによって構築し、その対応するアミノ酸配列は、図21に示される。

【0782】

2A（b）：IL-12p35バリエーションの操作

上に記載される第2の戦略と同様に、我々は、MOEソフトウェアにおけるQuaSARパッケージを使用して、IL-12p35結晶構造（PDBコード3HMX）における高度に露出したアスパラギン酸、グルタミン酸、アスパラギン、およびグルタミン残基を特定し、これらの残基がIL-12ヘテロ二量体複合体とIL-12受容体との間の結合

10

20

30

40

50

に寄与し得ると推論する。同様に、我々は、免疫原性の潜在性を最小限に抑えるために、特に、我々が等比体積置換を組み込むことができる残基に、ここで焦点を当てた。我々は、少なくとも103のASAスコアを有するQ35、E38、E46、D55、E67、N71、N76、N85、Q135、Q146、N151、E153、E162、およびE163を特定した（図22に示される残基およびASAスコア）。

【0783】

上記のように、我々がIL-12p40およびIL-12p35サブユニット間の自然な相互作用を混乱させないことを保証するために、我々は、Luoら（2010）によって報告される結晶構造に基づいてIL-12p40と潜在的に接触したIL-12p35上の以下の残基を特定した：Q20、S44、E45、E46、H49、K54、T59、V60、E61、C63、L64、P65、E67、L68、S73、C74、R181、I182、R183、V185、T186、D188、R189、V190、S192、Y193、およびA196。

上記を考慮して、我々は、IL-12受容体に対するIL-12ヘテロ二量体の親和性を低減する目的で等比体積置換を有するいくつかのIL-12p35バリエーションを設計した。p35における潜在的なN-グリコシル化部位を除去する置換も、タンパク質不均一性に対するグリコシル化の影響を調査するために設計された。例示的なバリエーションの配列は、図23に示される。IL-12p35バリエーションをコードするプラスミドを、標準的な遺伝子合成、続いてFc融合パートナー（例えば、図7に示される定常領域）を含有するpTT5発現ベクターへのサブクローニングによって構築し、その対応するアミノ酸配列は、図24に示される。

【0784】

2A(c)：低減した有効性を有するIL-12-Fc融合体のスクリーニング

上記のバリエーションIL-12サブユニットを有する例示的なバリエーションIL-12-Fc融合タンパク質は、有効性を低減するためにIL-12受容体についての低減した親和性を有するIL-12-Fc融合体を生成する目的で設計され、その配列は図25に示される。我々は、実施例1Bに一般的に記載されるようにIL-12-Fc融合体を産生および精製し、pSTAT4アッセイにおいてそれらの活性を調査した。

【0785】

ヒトPBMCを100ng/mlの抗CD3（OKT3）で2日間活性化した。次いで活性化PBMCを15分間37℃で示される試験品とインキュベートした。次いで、細胞を抗CD3-BUV395（UCHT1）、抗CD4-BV605（RPAT4）、抗CD8-AF700（SK1）、抗CD25-BV510（M-A251）、抗CD45RA-BV421（HI100）、抗CD56-PE（N901）、抗FoxP3-AF488（259D）、および抗pSTAT4-AF647（38/p-Stat4）でPerFix EXPOSEキット（Beckman Coulter, Indianapolis, Ind.）を使用して染色し、フローサイトメトリーにより分析した。

【0786】

IL-12p35またはIL-12p40バリエーションを有するIL-12-Fc融合体によるCD4⁺CD45RA⁺CD25⁺およびCD8⁺CD45RA⁺CD25⁺T細胞に対するSTAT4リン酸化の誘導を示すデータは、それぞれ図26および27に示される。図28は、様々なバリエーションIL-12-Fc融合体のEC50およびWTIL-12-FcXENP27201と比較したEC50の減少倍率を示す。データは、バリエーションIL-12p40サブユニットまたはIL-12p30サブユニットを含むIL-12-Fc融合体のほとんどが、STAT4リン酸化を誘導することにおいて低下した有効性を示すことを示す。特に、IL-12p40サブユニットにおけるE59QおよびE235Q置換、ならびにIL-12p35置換におけるE153QおよびN151D置換は、バリエーションIL-12-Fc融合体について有効性の2倍を超える低減を個別に提供することができた。加えて、E59Qを含むIL-12p40二重および三重変異体は、有効性の最大6.5倍低減を提供した。

【0787】

驚くべきことに、IL-12 p40 (D87N) または IL-12 p40 (E262Q) を含む2つのバリエーション IL-12-Fc 融合体は、有効性の増加を示した。我々は、抗原シンクを減少させ、それによって IL-12-Fc 融合体の半減期を増加させることを目的として、有効性を減少させることに関心があるが、増加した有効性を有する IL-12-Fc 融合体は、他の文脈で使用を見出し得る。

【0788】

2B: IL-12 p40 および IL-12 p35 バリエーションの操作 (ラウンド2)

IL-12 受容体についてのそれらの親和性を低減することを目的として IL-12 p40 および IL-12 p35 バリエーションをさらに操作し、生物学的に活性な IL-12 複合体の有効性を低減するために、我々は、拡大された基準で実施例2Aに記載される戦略を再適用した。例えば、我々は、置換を導入する IL-12 p40 および IL-12 p35 残基を特定するために実施例2Aで定義されたものよりも低いASAスコア閾値を使用した。我々はまた、我々の基準を、その置換の導入が IL-12 p35、IL-12 p40、および／または IL-12 受容体との IL-12 複合体の相互作用を混乱させる可能性が高い、リジンなどのより大きな残基に特に焦点を合わせて、追加のアミノ酸残基を含むように拡大した。

【0789】

同様に、我々は、IL-12 p35、IL-12 p40、および／または IL-12 受容体との IL-12 複合体の相互作用を混乱させるために、リジンなどのより大きな残基に特に焦点を合わせて、非等比体積置換を導入した。これらのアプローチを使用して、我々は、IL-12 p40 サブユニットにおける D34、K99、K163、K258、および K260、ならびに IL-12 p35 サブユニットにおける N21、E79、Q130、N136、E143、K158、および D165 を、置換を操作するために適した残基としてさらに特定した。加えて、我々は、実施例2において特定された置換を組み込む追加の組み合わせバリエーションを生成し、これは有効性の最大の低減に寄与した。

【0790】

上記を踏まえ、我々は、さらなる IL-12 p40 および IL-12 p35 バリエーションを指定し、その例示的な配列は、それぞれ図29および31に示される。上記のように、IL-12 p40 および IL-12 p35 バリエーションをコードするプラスミドを、標準的な遺伝子合成、続いて Fc 融合パートナー、それぞれ図30および32に示される対応するアミノ酸配列を含有する pTT5 発現ベクターへのサブクローニングによって構築した。IL-12-Fc 融合タンパク質は、追加のバリエーション IL-12 サブユニットで生成され、その配列は、図33に示され、実施例1Bに一般的に記載されるように生成される。

【0791】

追加のバリエーション IL-12-Fc 融合体の活性を上記で一般的に記載される pSTAT4 アッセイにおいて調査した。特に、ヒト PBMC を 100 ng/ml の抗 CD3 (OKT3) で2日間活性化した。次いで活性化 PBMC を 15 分間 37°C で示される試験品とインキュベートした。次いで、細胞を抗 CD3-BUV395 (UCHT1)、抗 CD4-BV605 (RPAT4)、抗 CD8-AF700 (SK1)、抗 CD25-BV510 (M-A251)、抗 CD45RA-BV421 (HI100)、および抗 CD56-PE (N901) で染色した。次に、PerFix EXPOSE (Beckman Coulter、Indianapolis、Ind.) を使用して細胞を透過処理した。透過処理後、細胞を抗 FoxP3-AF488 (259D) および抗-pSTAT4-AF647 (38/p-Stat4) で染色し、フローサイトメトリーによって分析した。CD4⁺CD45RA⁺CD25⁺ および CD8⁺CD45RA⁺CD25⁺T 細胞に対する pSTAT4 MFI を示すデータは、図34~35に示され、EC50 (および WT IL-12-Fc XENP27201 と比較した減少倍率) を表すデータは、図36に示される。データは、バリエーション IL-12 p40 および／または IL-12 p30 サブユニットを含む IL-12-Fc 融合体のほとんどが、STAT4 リン酸化を誘導すること

10

20

30

40

50

において低下した有効性を示したことを示す。

【0792】

2C: IL-12p40およびIL-12p35バリエーションの操作 (ラウンド3)

実施例2Bでは、我々は、有効性の約2倍のみの低減を有したIL-12p40 (E59Q)を含むIL-12-Fc融合体XENP28825とは対照的に、IL-12p40 (E59K)を含むIL-12-Fc融合体XENP29952は、約12倍低減を可能にしたことを見出した。加えて、我々は、IL-12p40サブユニットにおけるE59Qを含むいくつかの二重変異体が、有効性の>3.5倍低減を示したことに留意した (例えば、XENP29953、XENP29954、およびXENP29959)。さらに、我々は、IL-12p35 (N151D)を含むXENP28846が増加した有効性を可能にするが、IL-12p35 (D55Q/N151D)が実際に有効性の約2倍低減を可能にすることに留意し、これは我々に、IL-12p35サブユニットにおけるD55の修飾が有効性の低減に大きく寄与することを示した。したがって、IL-12-Fc融合体の有効性をさらに低減するために、我々は、実施例2Bにおける置換を組み込む追加の組み合わせバリエーションを生成し、これは有効性の最大の低減に寄与した。加えて、実施例2Bのように、我々は、リジンなどのより大きな残基に特に焦点を合わせて、非等比体積置換をさらに含めた。

【0793】

上記を踏まえ、我々は、さらなるIL-12p40およびIL-12p35バリエーションを指定し、その例示的な配列は、それぞれ図37および38に示される。IL-12-Fc融合タンパク質は、追加のバリエーションIL-12サブユニットで生成され、その配列は、図39に示され、実施例1Bに一般的に記載されるように生成される。追加のバリエーションIL-12-Fc融合体の活性を上記で一般的に記載されるpSTAT4アッセイにおいて調査した。CD4⁺CD45RA⁺CD25⁺およびCD8⁺CD45RA⁺CD25⁺T細胞に対するpSTAT4MFIを示すデータは、図40に示され、EC50 (およびWTIL-12-Fc XENP27201と比較した減少倍率)を表すデータは、図41に示される。データは、バリエーションIL-12p40および/またはIL-12p30サブユニットを含む新しいIL-12-Fc融合体の全てが、STAT4リン酸化を誘導することにおいて実質的に低下した有効性を示したことを示す。特に、XENP30607およびXENP30608は、XENP27201と比較して有効性の約100倍減少を示した。

【0794】

2D: IL-12p40およびIL-12p35バリエーションの操作 (ラウンド4)

我々は、有効性のシフトに寄与する実施例2に見られる追加のバリエーションを組み込むこと、ならびにリジンおよびチロシンなどのより大きな残基に特に焦点を合わせて、非等比体積置換をさらに使用することの両方によって、IL-12p35、IL-12p40、および/またはIL-12受容体とのIL-12複合体の相互作用を混乱させるように、IL-12p40およびIL-12p35サブユニットをさらに操作した。

【0795】

加えて、我々は、表面露出に基づいてMOEソフトウェアでさらなる構造分析を実施し、修飾を導入するIL-12p40およびIL-12p35サブユニットにおける追加の残基を特定した。我々は、IL-12p40サブユニットにおける残基R159およびK264、ならびにIL-12p35サブユニットにおける残基L75、L89、F96、M97、L124、M125、およびI171をさらに特定した。我々は、これらの追加で特定された残基での修飾の効果を予備的に調査するために、前述のアプローチ、および (アラニンスキャニング変異誘発技法に沿った) アラニン置換を使用した。

【0796】

上記を踏まえ、我々は、さらなるIL-12p40およびIL-12p35バリエーションを設計し、その例示的な配列は、それぞれ図42および43に示される。IL-12-Fc融合タンパク質は、追加のバリエーションIL-12サブユニットで生成され、その配列は

、図44に示され、実施例1Bに一般的に記載されるように生成される。

【0797】

追加のバリエーションIL-12-Fc融合体の活性を上記で一般的に記載されるpSTAT4アッセイにおいて調査した。CD4⁺CD45RA⁺CD25⁺、CD4⁺CD45RA⁻CD25⁺、CD8⁺CD45RA⁺CD25⁺、およびCD8⁺CD45RA⁻CD25⁺T細胞に対するpSTAT4MFIを示すデータは、図46に示され、EC50（およびWTIL-12-Fc XENP27201と比較した減少倍率）を表すデータは、図47に示される。データは、バリエーションIL-12p40および／またはIL-12p35サブユニットを含む新しいIL-12-Fc融合体の全てが、STAT4リン酸化を誘導することにおいて実質的に低下した有効性を示したことを示す。

10

【0798】

実施例3：二価IL-12-Fc融合体

我々はまた、二価IL-12-Fc融合体を考えた。1つのそのようなフォーマットは、各々が、（任意にドメインリンカーを介して）ホモ二量体Fc鎖のN末端に融合したscIL-12複合体組換え体を含む、2つの同一の単量体を含む二価N末端IL-12-Fc融合フォーマット（図48A～B）である。別のそのようなフォーマットは、各々が、（任意にドメインリンカーを介して）ホモ二量体Fc鎖のC末端に融合したscIL-12複合体組換え体を含む、2つの同一の単量体を含む二価C末端IL-12-Fc融合フォーマット（図48C～D）である。

【0799】

20

実施例4：代替IL-12-Fc融合フォーマットの低減有効性IL-12バリエーション

我々はまた、追加のIL-12-Fc融合フォーマットの文脈でIL-12バリエーションを調査した。scIL-12（p40／p35）-Fcおよび（scIL-12（p40／p35））₂-Fcフォーマットの融合体は、WTIL-12p40サブユニットまたはバリエーションIL-12p40（E59K／K99E）サブユニットのいずれかで生成され、実施例1Bに一般的に記載されるように生成された（その配列は図49～50に示される）。

【0800】

IL-12-Fc融合体の活性を上記で一般的に記載されるpSTAT4アッセイにおいて調査した。特に、ヒトPBMCを100ng／mlの抗CD3（OKT3）で2日間37℃で活性化した。次いで活性化PBMCを15分間37℃で示される試験品とインキュベートした。次いで、細胞を抗CD3-BUV395（UCHT1）、抗CD4-BV605（RPAT4）、抗CD8-AF700（SK1）、抗CD25-BV711（M-A251）、抗CD45RA-BV421（HI100）、および抗CD56-PE（N901）で染色した。次に、PerFix EXPOSE（Beckman Coulter、Indianapolis、Ind.）を使用して細胞を透過処理した。透過処理後、細胞を抗FoxP3-V450（259D）および抗-pSTAT4-AF647（38／p-Stat4）で染色し、フローサイトメトリーによって分析した。CD4⁺CD45RA⁺CD25⁺、CD4⁺CD45RA⁻CD25⁺、CD8⁺CD45RA⁺CD25⁺、およびCD8⁺CD45RA⁻CD25⁺T細胞に対するpSTAT4MFIを示すデータは、図51に示され、EC50（およびWTIL-12-Fc XENP27201と比較した減少倍率）を表すデータは、図52に示される。データは、様々なフォーマットのIL-12-Fc融合体が、非常に類似した有効性を示し、バリエーションIL-12p40（E59K／K99E）サブユニットを含むscIL-12（p40／p35）-Fcおよび（scIL-12（p40／p35））₂-Fc融合体におけるIL-12-Fc融合体が、バリエーションIL-12p40（E59K／K99E）サブユニットを含むIL-12ヘテロFcフォーマットのIL-12-Fc融合体と非常に類似した有効性を示したことを示す。

30

40

【0801】

実施例5：IL-12-Fc融合体はインビボでT細胞の同種異系抗腫瘍効果を増強する

50

次に、我々は、本発明のIL-12-Fc融合体のインビボ抗腫瘍効果を調査した。-15日目に、NOD SCIDガンマ (NSG) マウスの右脇腹に、 3×10^6 個のpp-65発現MCF-7細胞を皮内生着させた。0日目に、マウスに 1.5×10^6 個のヒトPBMCを腹腔内生着させた。次に、マウス ($n=15$) を0、7、14、および21日目に0.03mg/kgのXENP29952、バリエントIL-12p40 (E59K) を含むIL-12-ヘテロFcフォーマットの低減有効性IL-12-Fc融合体で処理した。使用される対照 ($n=10$) は、PBSおよびXENP16432 (二価抗PD-1 mAb、生着ヒトT細胞を抑制解除することによって抗腫瘍活性を増強するチェックポイント阻害剤、図53に示される配列) であった。腫瘍体積は、キャリパー測定により監視し、そのデータは、図54に示される (第1の用量後の日数)。血液および血清を、7、14、および21日目に採取し、フローサイトメトリーにより分析して、ヒトリンパ球の増殖を調査し、そのデータは、図55に示され、同様にU-PLEX Biomarker Group 1 Human Assay (Meso Scale, Rockville, Md.) によって血清サイトカイン濃度について調査し、そのデータは、図56に示される。

【0802】

データは、IL-12ヘテロFc融合体XENP29952が、PBS対照およびXENP16432によるチェックポイント遮断の両方と比較して、14日目までにCD45⁺、CD3⁺T細胞、CD4⁺T細胞、CD8⁺T細胞、およびNK細胞の増殖を有意に増強したことを示す (対応のないt検定を使用して対数変換データに対して実施された統計)。特に、XENP29952は、腫瘍体積の変化によって示されるように、11日目までに抗腫瘍活性を有意に増強した (対応のないt検定を使用してベースライン補正データに対して実施された統計)。さらに、XENP29952は、XENP16432によるチェックポイント遮断と比較して7日目までにIFN γ およびCD25の分泌を有意に増強した (対応のないt検定を使用して対数変換データに対して実施された統計)。

【0803】

抗腫瘍活性に加えて、生着ヒトPBMCは、マウス細胞に対する自己免疫応答を発現し、その後、移植片対宿主病 (GVHD) を発症する。したがって、XENP29952で処理された全ての動物が19日目までに死亡したが、これはおそらく、ヒトリンパ球の有意に増強された増殖によって悪化したGVHDに屈したためであった。これは、薬物動態を改善するためだけでなく、治療指数を改善するためにも、低減有効性IL-12バリエントの重要性を強調する。

【0804】

実施例6：IL-12-Fc融合体はインビトロ有効性にインビボ相関する調節された活性を示す

実施例5においてXENP29952で処理された全ての動物がGVHDの結果として死亡したため、我々は、GVHD研究において低減有効性IL-12バリエントで操作されたIL-12-Fc融合体のインビボ活性を調査した。

【0805】

NSGマウスに、-1日目にIV-OSPを介して 10×10^6 個のヒトPBMCを生着させ、0、7、14、および21日目に以下の試験品：XENP29952 (バリエントIL-12p40 (E59K)) を含むIL-12-ヘテロFcフォーマットの低減有効性IL-12-Fc融合体)、XENP30597 (バリエントIL-12p40 (E59K/K99E)) を含むIL-12-ヘテロFcフォーマットの低減有効性IL-12-Fc融合体)、XENP31254 (バリエントIL-12p40 (D18K/E59K/K99E)) を含むIL-12-ヘテロFcフォーマットの低減有効性IL-12-Fc融合体)、XENP31251 (バリエントIL-12p40 (E59K/K99Y)) を含むIL-12-ヘテロFcフォーマットの低減有効性IL-12-Fc融合体)、またはXENP31258 (バリエントIL-12p40 (E59K/K99E/K264E)) を含むIL-12-ヘテロFcフォーマットの低減有効性IL-12-Fc

融合体)を0.3または0.03mg/kgで腹腔内投与した。体重は、GVHDの指標として週に2回評価し、そのデータは、(初期体重と比較した)体重の変化として図57に示される。加えて、7、10、14、および31日目に採血して、PD-1発現レベルによって示される様々なT細胞集団の活性化を調査し(そのデータは図58および59に示される)、血清を採取して、サイトカイン分泌を調査した(そのデータは図60に示される)。特に、データは、試験品についての用量応答(すなわち、0.03mg/kg用量と比較して0.3mg/kg用量によって増強されたGVHD、T細胞活性化、およびIFN γ 分泌)を示す。

【0806】

インビトロでのCD4⁺T細胞に対するSTAT4リン酸化を誘導することにおいて最も弱いバリエーションの1つであると思われる(図46A~46Bを参照されたい)XENP31251が、GVHDのより強力な誘導因子の1つであったことは意外であった。したがって、我々は、2つの別々のPBMCドナーを使用して上記で一般的に記載されるSTAT4リン酸化アッセイにおいて同じ例示的な低減有効性IL-12-Fcのインビトロ活性を再調査した。ヒトPBMCを1 μ g/mlの抗CD3(OKT3)で2日間37°Cで活性化した。次いで活性化PBMCを15分間37°Cで示される試験品とインキュベートした。

【0807】

次いで、細胞を抗CD3-BUV395(UCHT1)、抗CD4-BV605(RPAT4)、抗CD8-AF700(SK1)、抗CD25-BV510(M-A251)、抗CD45-BV785、抗CD45RA-BV421(HI100)、抗CD16-PE(B73)、および抗CD56-PE(N901)で染色した。次に、PerFix EXPOSE(Beckman Coulter、Indianapolis、Ind.)を使用して細胞を透過処理した。透過処理後、細胞を抗FoxP3-AF488(259D)および抗-pSTAT4-AF647(38/p-Stat4)で染色し、フローサイトメトリーによって分析した。2ドナーからのPBMCにおける様々なリンパ球集団に対するSTAT4リン酸化の誘導は、図61に示される(第2のドナーについてのデータは示されないが、62/848、512)における図62から参照により組み込まれる)。両ドナーからの様々なリンパ球集団にわたるデータは、有効性ラダーを示し、XENP29952は最も有効なバリエーションであり、XENP31254およびXENP31258は最も有効でないバリエーションであり、XENP30597およびXENP31251はその間に入る。特に、低減有効性IL-12-Fc融合バリエーションによって誘導されるGVHD、T細胞活性化、およびIFN γ 分泌の程度は、インビトロ有効性とインビボ相関した。例えば、0.03mg/kg用量では、XENP29952は、全ての低減有効性IL-12-Fc融合体よりも大きなGVHD、T細胞活性化、およびIFN γ 分泌を誘導し、XENP31254およびXENP31258は、最小GVHD、T細胞活性化、およびIFN γ 分泌を誘導した。

【0808】

実施例7:IL-12-Fc融合体は抗腫瘍活性を有し、チェックポイント遮断と生産的に組み合わせる

次に、我々は、IL-12-Fc融合体をチェックポイント遮断と組み合わせる効果とともに追加のIL-12-Fc融合体を組み合わせるインビボ抗腫瘍効果を調査した。-15日目に、NSGマウスの右脇腹に、3 $\times$ 10⁶個のpp-65発現MCF-7細胞を皮内生着させた。0日目に、マウスに5 $\times$ 10⁶個のヒトPBMCを腹腔内生着させた。次いで、マウスを0、7、14、および21日目に0.1mg/kgのXENP31251単独で、または3.0mg/kgの抗PD-1 mAbXENP16432と組み合わせて治療した。使用された対照は、PBS、3.0mg/kgのXENP16432単独、およびXENP31258であった。腫瘍体積は、キャリパー測定により監視し、そのデータは、図62に示される(第1の用量後の日数)。7、14、および21日目に採血し、フローサイトメトリーにより分析して、ヒトリンパ球の増殖を調査し、そのデータは

10

20

30

40

50

、14日目について図63に示される。

【0809】

データは、PBSでの処理と比較して、XENP31258が14日目までに抗腫瘍活性を有意に増強し、XENP31251（単独またはXENP16432との組み合わせ）が、16日目までに抗腫瘍活性（腫瘍体積の変化によって示される）を有意に増強したことを示す（マンホイットニー検定を使用してベースライン補正データで実施された統計）。特に、データは、XENP16432と組み合わせたXENP31251がXENP16432単独での処理と比較して21日目までに抗腫瘍活性を有意に増強し、XENP16432と組み合わせたXENP31251での処理が、XENP31251またはXENP16432単独のいずれかと比較してリンパ球増殖を有意に増強し、IL-12-Fc融合体をチェックポイント遮断と生産的に組み合わせることを示した。

10

【0810】

実施例8：IL-12p40サブユニットにおける遊離システインの除去

IL-12p40サブユニットは、位置252に遊離システイン（図1に示されるヒトIL-12サブユニットベータ（IL-12p40）成熟形態配列に従って付番される）を有し、これは他の遊離システインと結合し、少なくとも不均一性、さらに悪い場合には免疫原性をもたらし得る。したがって、IL-12p40バリエーションは、例えば、C252S修飾を導入することによって（他の置換も使用され得るが）、遊離システインを除去するように操作された。C252（例えば、C252S）の修飾は、単独で、または任意の他のIL-12p40バリエーション、例えば、親和性もしくは発現バリエーションと組み合わせて使用することができる。遊離システインを除去するC252での修飾を含む例示的なIL-12p40バリエーションは、図65に示される。例示的なIL-12-Fc融合タンパク質は、追加のバリエーションIL-12p40サブユニットで生成され、その配列は、図66に示され、実施例1Bに一般的に記載されるように生成される。

20

【0811】

遊離システインを除去するように操作されたIL-12p40バリエーションの活性を、遊離システインの除去が活性のいずれの変化も引き起こさなかったことを確認するために、上記で一般的に記載されるpSTAT4アッセイにおいて調査した。活性化PBMCを、示された試験品とインキュベートし、様々な集団に対するpSTAT4MFIを評価し、そのデータは図67に示される。データは、C252S修飾を含むバリエーションが、C252S修飾を含まない対応するバリエーションと類似の活性を示したことを示す。特に、試験された4つのバリエーションのうちの3つについて、我々はバージョンをC252S変異ありおよびなしで操作し（すなわちD18K/E59K/K99E；D18K/E59K/K99E/K264E；およびE59K/K99E）、C252S変異は、IL-12-Fc融合体の有効性をわずかに増加させるように見えた。

30

【0812】

上記の実施例は、当業者に本発明の組成物、システム、および方法の実施形態をどのように作製および使用するかについての完全な開示および説明を与えるために提供されており、本発明者らがそれらの発明とみなすものの範囲を限定することは意図されていない。当業者に明らかである本発明を実施するための上に記載される様式の修正は、以下の特許請求の範囲内にあることが意図される。本明細書中で言及されている全ての特許および刊行物は、本発明が関係する当業者の技術水準を示している。本開示において引用された全ての参考文献は、あたかも各参考文献が参照によりその全体が個別に組み込まれているのと同程度に参照により組み込まれる。

40

【0813】

全ての見出しおよびセクションの指定は、明確さおよび参照目的のためだけに使用されているにすぎず、決して限定的であると見なされるべきではない。例えば、当業者は、本明細書に記載される本発明の趣旨および範囲に従って、必要に応じて異なる見出しおよびセクションからの様々な態様を組み合わせることの有用性を認識するであろう。

【0814】

50

本明細書に引用された全ての参考文献は、あたかも各個々の刊行物または特許または特許出願が全ての目的のためにその全体が参照により組み込まれるように具体的かつ個別に示されるのと同程度にそれらの全体が全ての目的のために本明細書に参照により組み込まれる。

【 0 8 1 5 】

当業者には明らかなように、本出願の趣旨および範囲から逸脱することなく、本出願の多くの修正および変形をなすことができる。本明細書に記載された特定の実施形態および実施例は例としてのみ提供され、特許請求の範囲が権利を与えられる同等物の全範囲と共に、添付の特許請求の範囲の用語によってのみ限定されるべきである。

10

20

30

40

50

【図面】

【図 1 A】

ヒト I L-1 2 サブユニットアルファ (I L-1 2 p 3 5) 前駆体配列 (配列番号 1)

>sp|P29459|
MCPARSILLVATILVLLDHLSLARNLPVATPDGMPFCLHHSQNLRLAVSNMLQKARQTFLEFYPTCTSEEDIHEDITKD
KTSTVEACLPLELTKNESCINRSRETSTFTNGSCLASRKTSPMALCLSSIEDLRKYQVEFKTMNAKLMDPKRQIF
LDQNMIAVIDELMQALNFSNETVPQKSSLEEDFYKTKIKLCILLHAFIRAVTIDRVMSYLNAS

ヒト I L-1 2 サブユニットアルファ (I L-1 2 p 3 5) 成熟形態配列 (配列番号 2)

>sp|P29459|23-219
RNLPAVATPDGMPFCLHHSQNLRLAVSNMLQKARQTFLEFYPTCTSEEDIHEDITKDTSTVEACLPLELTKNESCIN
RETSFTINGSCLASRKTSPMALCLSSIEDLRKYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFSNET
VPQKSSLEEDFYKTKIKLCILLHAFIRAVTIDRVMSYLNAS

ヒト I L-1 2 サブユニットベータ (I L-1 2 p 4 0) 前駆体配列 (配列番号 3)

>sp|P29460|
MCHQQLVLSWFSLVFLASPLVAIWELKKDYYVVELDWYPDAGEMV/LTCDTPEEDGITWTLDQSEVLGSGKTLTI
QVKEFGDAGQVTCCHKGGEVLSHLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTF
SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRGNKEYEYSVEQEDSACPAEESLP I EVMVDAVHKLKYENYTSFFSFI
RD I I KPDPKNIQLKPLKNSRQVSEWYEPDWTSTPHSYFSLTFCVQVGQKSKREKDRVPTDKTSATVICRKNASISV
RAQDRYSSSWSEWASVPCS

ヒト I L-1 2 サブユニットベータ (I L-1 2 p 4 0) 成熟形態配列 (配列番号 4)

>sp|P29460|23-328
IWELKKDYYVVELDWYPDAGEMV/LTCDTPEEDGITWTLDQSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQVTCCHKGGEVLSH
SLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGRGNKEYEYSVEQEDSACPAEESLP I EVMVDAVHKLKYENYTSFFSFI RD I I KPDPKNIQLKPLKNSRQVE
YSWEYPDWTSTPHSYFSLTFCVQVGQKSKREKDRVPTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS

ヒト I L-1 2 受容体サブユニットベータ-1 (I L-1 2 R 1) 配列 (配列番号 5)

>sp|P42701|
MEFIATYVWVPLFLFLLSRGAACRTSECCQDPDPYPDADSGSASGPRDLRCYRISSDRYECSWQYEGPTAGVSHFL
RCCLASGRCCYFAAGSATRLQFSDAQGVSLYTVTLNVESWARNQTEKSPVTLQLYNSVKYEPPLGDIKVSXKLAGQ
LRMEWETPDNQGAEVQFRHRTFSSPWKLGDCGPQDDTESCLCLEMNVAQEFQLRRRQLGSGSSWSKWSPPVCV
PPENPQGPQVRFSVEQLGQDGRRLTLKEQPTQLELPEGCQGLAPGTETVYRLQLHMLSCPCAKATRTLHLGKMPT
LSGAAYNVAISSNQFGPGLNQTHWIPADTHTEPVALNISVGTNGTMYWPARAQSMTYCIIEWQPVGDGGLATCSL
TAPQDDPAPGATYSSWSRESGAMGQKCYIITIFASAHEPEKLTLMSTVLSTYHFGGNASAGTPHHVSKNHSLDSV
SVWAFASLLSTCPGLKEYVVRCDSDSRQVSEHPVQPTETQVTLGSLRAGVATTVQVRADTAWLRGVWSQPORFSI
EVQVSDWILLFASLGSFSL I LLVGLVGLYGLNRAARHLCPFLPTPCASSAIEFFGGKGTWQWINFVDFQEASLQEA
LVVEMSWDAGERTPELKELTPEGAPELLDTELSLEDGDRCKAM

ヒト I L-1 2 受容体サブユニットベータ-1 (I L-1 2 R 1) 、細胞外ドメイン (配列番号 6)

>sp|P42701|24-545
CRTSECCQDPDPYPDADSGSASGPRDLRCYRISSDRYECSWQYEGPTAGVSHFLRCCLASGRCCYFAAGSATRLQFS
DAQGVSLYTVTLNVESWARNQTEKSPVTLQLYNSVKYEPPLGDIKVSXKLAGQLRMEWETPDNQGAEVQFRHRTF
SSPWKLGDCGPQDDTESCLCLEMNVAQEFQLRRRQLGSGSSWSKWSPPVCVPPENPQGPQVRFSVEQLGQDGR
RLTLKEQPTQLELPEGCQGLAPGTETVYRLQLHMLSCPCAKATRTLHLGKMPTLSGAAYNVAISSNQFGPGLNQTH
WIPADTHTEPVALNISVGTNGTMYWPARAQSMTYCIIEWQPVGDGGLATCSLTAQDPDPAGMATYSSWSRESGAM
QKCYIITIFASAHEPEKLTLMSTVLSTYHFGGNASAGTPHHVSKNHSLDSVSWDAWAFASLLSTCPGLKEYVVR
RDEDSKQVSEHPVQPTETQVTLGSLRAGVATTVQVRADTAWLRGVWSQPORFSIEVQVSD

【図 1 B】

ヒト I L-1 2 受容体サブユニットベータ-2 (I L-1 2 R 0 2) 配列 (配列番号 7)

>sp|Q99665|
MAHTFRGCSLAFMFIIITWLLIKAKIDACKRGDVTVKPSHVILLGSTVNITCSLKPRQGCIFYSRNKLILYKFDRI
NPHHGSINQSVTGLPLGTTLFVCKLACINSDEIQICGAEIFVGVAPQEQNLSCIQKGEQGTVACTWEGRDTHLY
TEYTLQLSGPKNLWQKQCKDIYCDVLDGFINLTPESPESNFPAKVAIVNSLSSSSLPSTFTFLDIVRPLPWDIR
IKFQKASVSRCTLWDEGLVILNRLRYRPSNRLWNMVNVTAKGRHDLDLKPFTEYFQISSKLHLKYGWSW
SES/LAQTPREEPTGMLDVWYMKRHIDYSRQQISLFWKNLSVSEARGKILHYQVTLQELTGGKAMTQNIHTSWT
VIFRTGNWAVASANSKSSLPTRINIMNLCEAGLLAPRQVSANSEGMDNILVTWQPPRKPDSAVQYVVEWRELH
PGDTPQVPLNWLRSRPYNVALISENIKSYICYEIRVYALSGDQGGCSSILGNSKHAPLSGPHINAITEEGSILI
SWNSIPVQEQMGCLLHYRIYWKERDSNQQLCEIPYRVSONSHPIINSIQPRTVYVLMMTALTAAGESSHGNREFC
LQKANMMAFVAPSI CIAIIMVGI FSTHYFQQKVFVLLAALRPQWCSREIPDPANSTCAKKYPIAEETQLPLDLRL
IDWPTPEDPEPLVISEVLHQVTVFVRHPPCSNWPQREKGIQGHQASEKMMHSSASSPPPRALQAESQLVDLYKVL
ESRSGDKPENPACPWTVLPAGDLPTHGGLPSNIDDLPSHEAPLADSLEELPQHISLSVFSSSLHPLTFSCGDK
LTLDLKMRCDLSML

ヒト I L-1 2 受容体サブユニットベータ-2 (I L-1 2 R 0 2) 、細胞外ドメイン (配列番号 8)

>sp|Q99665|24-622
RIDACKRGDVTVKPSHVILLGSTVNITCSLKPRQGCIFYSRNKLILYKFDRIINPHHGSINQSVTGLPLGTTLFV
CKLACINSDEIQICGAEIFVGVAPQEQNLSCIQKGEQGTVACTWEGRDTHLYTEYTLQLSGPKNLWQKQCKDIY
CDVLDGFINLTPESPESNFPAKVAIVNSLSSSSLPSTFTFLDIVRPLPWDIRIKFQKASVSRCTLWDEGLVIL
NRLRYRPSNRLWNMVNVTAKGRHDLDLKPFTEYFQISSKLHLKYGWSWDSSES/LAQTPREEPTGMLDVWYMK
RHIDYSRQQISLFWKNLSVSEARGKILHYQVTLQELTGGKAMTQNIHTSWT VIFRTGNWAVASANSKSSLP
TRINIMNLCEAGLLAPRQVSANSEGMDNILVTWQPPRKPDSAVQYVVEWRELHFGDTPQVPLNWLRSRPYNVALI
SENKSYICYEIRVYALSGDQGGCSSILGNSKHAPLSGPHINAITEEGSILI SWNSIPVQEQMGCLLHYRIYWK
ERDSNSOPOLCEIPYRVSONSHPIINSIQPRTVYVLMMTALTAAGESSHGNREFCLOGKAN

【図 2 A】

単量体 1	単量体 2
F405A	T394F
S364D	Y349K
S364E	L368K
S364E	Y349K
S364F	K370G
S364H	Y349K
S364H	Y349T
S364Y	K370G
T411K	K370E
V397S/F405A	T394F
K370R/T411K	K370E/T411E
L351E/S364D	Y349K/L351K
L351E/S364E	Y349K/L351K
L351E/T366D	L351K/T366K
P395T/V397S/F405A	T394F
S364D/K370G	S364Y/K370R
S364D/T394F	Y349K/F405A
S364E/F405A	Y349K/T394F
S364E/F405S	Y349K/T394Y
S364E/T411E	Y349K/D401K
S364H/D401K	Y349T/T411E
S364H/F405A	Y349T/T394F
S364H/T394F	Y349T/F405A
Y349C/S364E	Y349K/S354C
L351E/S364D/F405A	Y349K/L351K/T394F
L351K/S364H/D401K	Y349T/L351E/T411E
S364E/T411E/F405A	Y349K/T394F/D401K
S364H/D401K/F405A	Y349T/T394F/T411E
S364H/F405A/T411E	Y349T/T394F/D401K

【図 2 B】

単量体 1	単量体 2
K370E/T411D	T411K
L368E/K409E	L368K
Y349T/T394F/S354C	S364H/F405A/Y349C
T411E	D401K
T411E	D401R/T411R
Q347E/K360E	Q347R
L368E	S364K
L368E/K370S	S364K
L368E/K370T	S364K
L368E/D401R	S364K
L368E/D401N	S364K
L368E	E357S/S364K
L368E	S364K/K409E
L368E	S364K/K409V
L368D	S364K
L368D/K370S	S364K
L368D/K370S	S364K/E357L
L368D/K370S	S364K/E357Q
T411E/K360E/Q362E	D401K
K370S	S364K
L368E/K370S	S364K/E357Q
K370S	S364K/E357Q
T411E/K360D	D401K
T411E/K360E	D401K
T411E/Q362E	D401K
T411E/N390D	D401K
T411E	D401K/Q347K
T411E	D401K/Q347R
T411E/K360D/Q362E	D401K

【図 2 C】

単量体 1	単量体 2
T411E/K360E/N390D	D401K
T411E/Q362E/N390D	D401K
T411E/Q347R	D401K/K360D
T411E/Q347R	D401K/K360E
T411E/K360	D401K/Q347K
T411E/K360D	D401K/Q347R
T411E/K360E	D401K/Q347K
T411E/K360E	D401K/Q347R
T411E/S364K	D401K/K370S
T411E/K370S	D401K/S364K
Q347E	E357Q
Q347E	E357Q/Q362K
K360D/Q362E	Q347R
K360D/Q362E	D401K
K360D/Q362E	Q347R/D401K
K360E/Q362E	Q347R
K360E/Q362E	D401K
K360E/Q362E	Q347R/D401K
Q362E/N390D	D401K
Q347E/K360D	D401N
K360D	Q347R/N390K
K360D	N390K/D401N
K360E	Y349H
K370S/Q347E	S364K
K370S/E357L	S364K
K370S/E357Q	S364K
K370S/Q347E/E357L	S364K
K370S/Q347E/E357Q	S364K

【図 2 D】

単量体 1	単量体 2
L368D/K370S/Q347E	S364K
L368D/K370S/E357L	S364K
L368D/K370S/E357Q	S364K
L368D/K370S/Q347E/E357L	S364K
L368D/K370S/Q347E/E357Q	S364K
L368E/K370S/Q347E	S364K
L368E/K370S/E357L	S364K
L368E/K370S/E357Q	S364K
L368E/K370S/Q347E/E357L	S364K
L368E/K370S/Q347E/E357Q	S364K
L368D/K370T/Q347E	S364K
L368D/K370T/E357L	S364K
L368D/K370T/E357Q	S364K
L368D/K370T/Q347E/E357L	S364K
L368D/K370T/Q347E/E357Q	S364K
L368E/K370T/Q347E	S364K
L368E/K370T/E357L	S364K
L368E/K370T/E357Q	S364K
L368E/K370T/E357Q	S364K
L368E/K370T/Q347E/E357L	S364K
L368E/K370T/Q347E/E357Q	S364K
T411E/Q362E	D401K/T411K
T411E/N390D	D401K/T411K
T411E/Q362E	D401R/T411R
T411E/N390D	D401R/T411R
Y407T	T366Y
F405A	T394W
T366Y/F405A	T394W/Y407T
Y407A	T366W
T366S/L368A/Y407V	T366W
T366S/L368A/Y407V/Y349C	T366W/S354C

10

20

【図 2 E】

単量体 1	単量体 2
K392D/K409D	E356K/D399K
K370D/K392D/K409D	E356K/E357K/D399K
K247Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447_	P217R/P228R/N276K
K247Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447_	N276K
N384S/K392N/V397M/Q419E	N276K
D221E/P228E/L368E	D221R/P228R/K409R
C220E/P228E/L368E	C220R/E224R/P228R/K409R
F405L	K409R
T366I/K392M/T394W	F405A/Y407V
T366V/K409F	L351Y/Y407A
T366A/K392E/K409F/T411E	D399R/S400R/Y407A
L351K	L351E
K247Q/R355Q/Q419E/K447	P217R/P228R/N276K
K247Q/R355Q/Q419E/K447	N276K
K274Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447_	
Q295E/N384D/Q418E/N421D	
Q295E/Q418E/N421D	
P217R/P228R/N276K	
N276K	
E269Q/E272Q/E283Q/E357Q	
E269Q/E272Q/E283Q	
E269Q/E272Q	
E269Q/E283Q	
E272Q/E283Q	
E269Q	

【図 3】

バリエーション定常領域

置換

p I__ I S O (-) - F c のみ	K274Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447_
p I__ (-) __等比体積 A - F c のみ	Q295E/N384D/Q418E/N421D
p I__ (-) __等比体積__B - F c のみ	Q295E/Q418E/N421D
p I__ I S O (+ R R) - F c のみ	P217R/P228R/N276K
p I__ I S O (+) - F c のみ	N276K
p I__ (+) __等比体積__A	E269Q/E272Q/E283Q/E357Q
p I__ (+) __等比体積__B	E269Q/E272Q/E283Q
p I__ (+) __等比体積__E 2 6 9 Q / E 2 7 2 Q	E269Q/E272Q
p I__ (+) __等比体積__E 2 6 9 Q / E 2 8 3 Q	E269Q/E283Q
p I__ (+) __等比体積__E 2 7 2 Q / E 2 8 3 Q	E272Q/E283Q
p I__ (+) __等比体積__E 2 6 9 Q	E269Q

30

40

50

【図 4】

アブレーションバリエーション

G236R
S239G
S239K
S239Q
S239R
V266D
S267K
S267R
H268K
E269R
299R
299K
K322A
A327G
A327L
A327N
A327Q
L328E
P329K
A330L
A330S/P331S
I332K
I332R
V266D/A327Q
V266D/P329K
S267R/A327Q
S267R/P329K
G236R/L328R
E233P/L234V/L235A/G236_/S239K
E233P/L234V/L235A/G236_/S267K
E233P/L234V/L235A/G236_/S239K/A327G
E233P/L234V/L235A/G236_/S267K/A327G
E233P/L234V/L235A/G236_
S239K/S267K
267K/P329K

【図 5】

単量体 1 (ー)	単量体 2 (+)
C220S	C220S
ペプチド単量体 p 1 バリエーション L3368D/K3370S	ペプチド単量体 p 1 バリエーション S3364K/L3357Q
等比体積 p 1 置換 Q295E/N384D/Q418E/N421D	
FcKO E233P/L234V/L235A/G236_/S267K	FcKO E233P/L234V/L235A/G236_/S267K
±M428L/N434S	±M428L/N434S

10

20

【図 6】

名称	配列	配列番号
GGGGSGGGSGGGGS	GGGGG	9
(GGGGG) ₂	GGGSGGGGS	10
(GGGGG) ₃	GGGSGGGSGGGGS	11
(GGGGG) ₄	GGGSGGGSGGGSGGGGS	12
(GGGGG) ₅	GGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS	13
(GGGGG) ₆	GGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS	14
(GGGGG) ₇	GGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS	15
(GGGGA) ₁ GGGGGA	GGGGA	XXX
(GGGGA) ₂	GGGGAAGGGA	XXX
(GGGGA) ₃	GGGGAAGGGAAGGGA	XXX
(GGGGA) ₄	GGGGAAGGGAAGGGAAGGGA	XXX
(GGGGA) ₅	GGGGAAGGGAAGGGAAGGGAAGGGA	XXX
(GGGGA) ₆	GGGGAAGGGAAGGGAAGGGAAGGGAAGGGA	XXX
(GGGGA) ₇	GGGGAAGGGAAGGGAAGGGAAGGGAAGGGAAGGGA	XXX
30 AA リンカー	DPALVHRPAPPGGGSGGGSGGGSGGGG	16
GKPGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGG	GKPGS	17
(GKPGS) ₂	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	18
(GKPGS) ₃	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	19
GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGG	GGGGS	20

【図 7 A】

バックボーン 1

>バックボーン 1 単量体 1 (配列番号 2 1)

EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHN
AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE
EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSC
VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

>バックボーン 1 単量体 2 (配列番号 2 2)

EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHN
AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE
EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSC
VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

バックボーン 2

>バックボーン 2 単量体 1 (配列番号 2 3)

EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHN
AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE
EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSC
VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

>バックボーン 2 単量体 2 (配列番号 2 4)

EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHN
AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE
EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSC
VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

バックボーン 3

>バックボーン 3 単量体 1 (配列番号 2 5)

EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHN
AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE
EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSC
VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

>バックボーン 3 単量体 2 (配列番号 2 6)

EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHN
AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE
EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSC
VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

40

50

【図 7 B】

バックボーン 4

＞バックボーン 4 単量体 1 (配列番号 2 7)

EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHN
AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE
EMTKNQVSLTCLVKGYFSPDIAVWEESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQGGNVFSCS
VMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK

＞バックボーン 4 単量体 2 (配列番号 2 8)

EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHN
AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE
EMTENEVSLTCLVKGYFSPDIAVWEESDGGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLEVDKSRWEQGGDFVSCS
VMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK

バックボーン 5

＞バックボーン 5 単量体 1 (配列番号 2 9)

EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHN
AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD
QLTKNQVSLTCLVKGYFSPDIAVWEESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQGGNVFSCS
VMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK

＞バックボーン 5 単量体 2 (配列番号 3 0)

EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHN
AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD
ELTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVWEESDGGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWEQGGDFVSCS
VMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK

バックボーン 6

＞バックボーン 6 単量体 1 (配列番号 3 1)

EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHN
AKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE
QMTKNQVSLTCLVKGYFSPDIAVWEESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQGGNVFSCS
VMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK

＞バックボーン 6 単量体 2 (配列番号 3 2)

EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHN
AKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE
EMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVWEESDGGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWEQGGDFVSCS
VMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK

【図 7 D】

バックボーン 1 0

＞バックボーン 1 0 単量体 1 (配列番号 3 9)

ERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT
KPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREQMT
KNQVKLTCLVKGYFSPDIAVWEESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQGGNVFSCSMH
EALHNNHYTQKSLSLSPGK

＞バックボーン 1 0 単量体 2 (配列番号 4 0)

ERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT
KPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREQMT
KNQVSLTCDVSGFYPSDIAVWEESDGGQPENNYKTTTPMLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWEQGGDFVSCSMH
EALHNNHYTQKSLSLSPGK

バックボーン 1 1

＞バックボーン 1 1 単量体 1 (配列番号 4 1)

EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHN
AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE
QMTKNQVKLTCLVKGYFSPDIAVWEESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQGGNVFSCS
VLHEALHSYHTQKSLSLSPGK

＞バックボーン 1 1 単量体 2 (配列番号 4 2)

EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHN
AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE
EMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVWEESDGGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWEQGGDFVSCS
VLHEALHSYHTQKSLSLSPGK

バックボーン 1 2

＞バックボーン 1 2 単量体 1 (配列番号 4 3)

EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHN
AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE
EMTKNQVSLTCLVKGYFSPDIAVWEESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQGGNVFSCS
VMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK

＞バックボーン 1 2 単量体 2 (配列番号 4 4)

EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHN
AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE
EMTKNQVSLTCLVKGYFSPDIAVWEESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQGGNVFSCS
VMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK

【図 7 C】

バックボーン 7

＞バックボーン 7 単量体 1 (配列番号 3 3)

EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHN
AKTKPREEQYSSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE
QMTKNQVKLTCLVKGYFSPDIAVWEESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQGGNVFSCS
VMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK

＞バックボーン 7 単量体 2 (配列番号 3 4)

EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHN
AKTKPREEQYSSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE
EMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVWEESDGGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWEQGGDFVSCS
VMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK

バックボーン 8

＞バックボーン 8 単量体 1 (配列番号 3 5)

ESKYGPCCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAK
TKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEQM
TKNQVSLTCLVKGYFSPDIAVWEESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSRLTVDKSRWEQGGNVFSCSMH
HEALHNNHYTQKSLSLSLGK

＞バックボーン 8 単量体 2 (配列番号 3 6)

ESKYGPCCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAK
TKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEQM
TKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVWEESDGGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSRLTVDKSRWEQGGDFVSCSMH
HEALHNNHYTQKSLSLSLGK

バックボーン 9

＞バックボーン 9 単量体 1 (配列番号 3 7)

ERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT
KPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREQMT
KNQVKLTCLVKGYFSPDIAVWEESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQGGNVFSCSMH
EALHNNHYTQKSLSLSPGK

＞バックボーン 9 単量体 2 (配列番号 3 8)

ERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT
KPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREQMT
KNQVSLTCDVSGFYPSDIAVWEESDGGQPENNYKTTTPMLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWEQGGDFVSCSMH
EALHNNHYTQKSLSLSPGK

【図 7 E】

バックボーン 1 3

＞バックボーン 1 3 単量体 1 (配列番号 4 5)

EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHN
AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE
EMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVWEESDGGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWEQGGDFVSCS
VMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK

＞バックボーン 1 3 単量体 2 (配列番号 4 6)

ERKSSDKTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHN
AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE
QMTKNQVKLTCLVKGYFSPDIAVWEESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQGGNVFSCS
VMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK

10

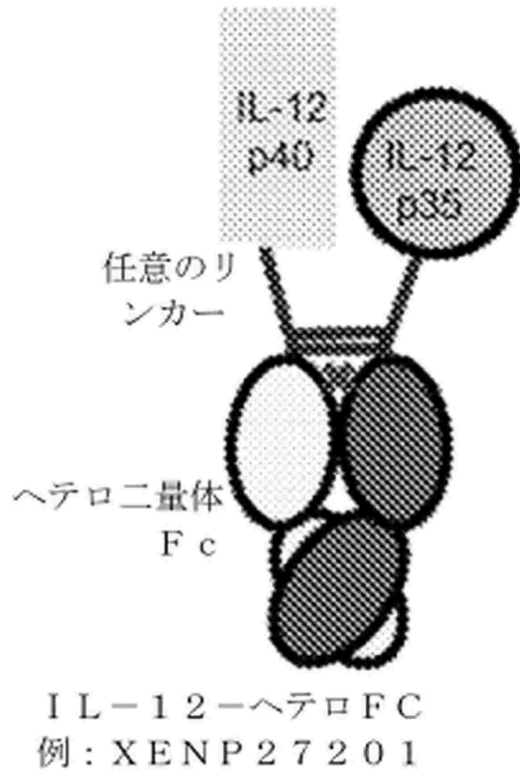
20

30

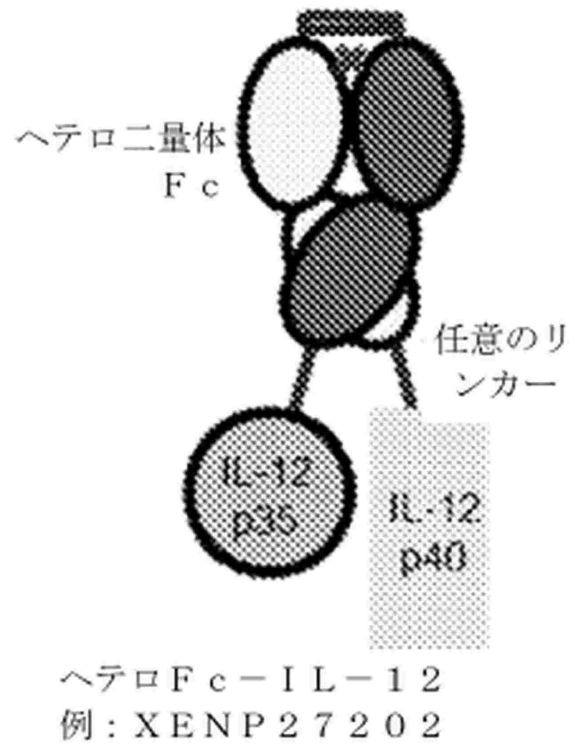
40

50

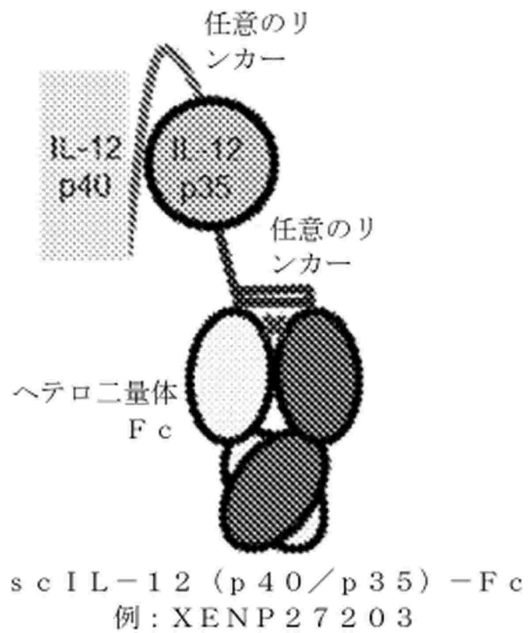
【図 8 A】



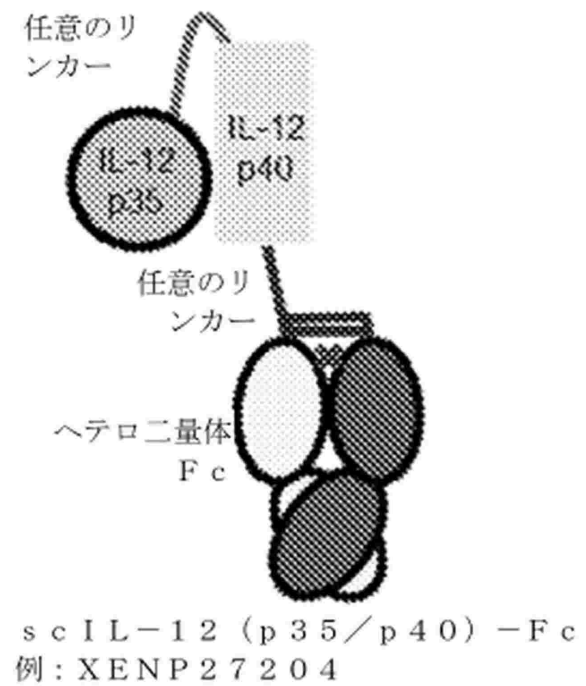
【図 8 B】



【図 8 C】



【図 8 D】



10

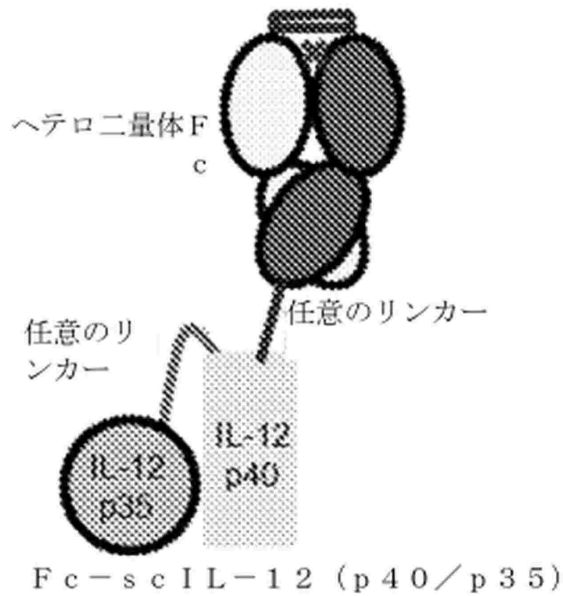
20

30

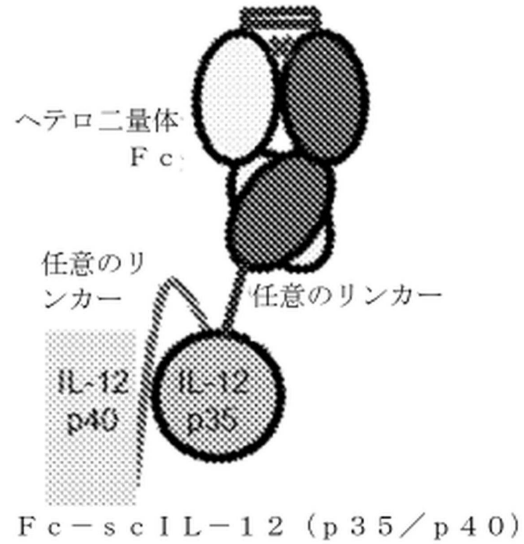
40

50

【図 8 E】



【図 8 F】



【図 9】

>XENP27202 ヒト IL12p40 (GGGGS) 2 ヒト IL12p35 (GGGGS) 2-
Fc (216) -IgG1-p1 (-) 等比体積 A-C220S/PVA/S267K/L368D/K370S-Fc (216) -
IgG1-C220S/PVA/S267K/S364K/E357Q

重1-ヒト IL12p40 (GGGGS) 2-Fc (216) -IgG1-p1 (-)
等比体積 A-C220S/PVA/S267K/L368D/K370S

IWELKKDYYVVELDWYFDAGPMVLTCTDEEDGITWTLQSSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCNNGEVLVSH
SLLLLHKEDGIWSTDLKQKEPKNTFLRCEAKNYSGRTCWLTITSTDLTFSVKSRSSESDQGVTCGAATLS
AERVGRDNKEYEYSEVEDSACPAEESLPTEVMVDVAVHKLKYNYSSTFFIRDIIPDPKMLQKPLKNSGROVE
VSWEYPTWTSTPHSYFSLTFCVQVQGGSKREKKDRVFTDKTSATVICRNASISVRAQDRYSSSSWEASVPCS/G
GGGSGGGGS/EPKSSDKHTHTCPAPVAGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVSVLTVLHQLDNLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDQGPENNYKTPPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEGDVFSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号47)

重2-ヒト IL12p35 (GGGGS) 2-Fc (216) -IgG1-C220S/PVA/S267K/S364K/E357Q

RNLVATPDGPMFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLFEPYCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMMLCLSSIEDLMYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNLAVIDEIMQALNFNSET
VPQSSLEEDPFYTKIKLCLLHAFIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKHTHTCPAPVAGP
SVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEYNSTYRVSVLTVLHQLDNL
GKEYCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNQGPENNYK
TTPVLDSDGGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号48)

【図 10】

>XENP27202 変Fc (216) -IgG1-p1 (-)
等比体積 A-C220S/PVA/S267K/L368D/K370S (GGGGS) 2 ヒト IL12p40-
変-Fc (216) -IgG1-C220S/PVA/S267K/S364K/E357Q (GGGGS) 2 ヒト IL12p35

重1-変Fc (216) -IgG1-p1 (-)
等比体積 A-C220S/PVA/S267K/L368D/K370S (GGGGS) 2 ヒト IL12p40

EPKSSDKHTHTCPAPVAGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EYNSTYRVSVLTVLHQLDNLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVS
GFYPSDIAVEWESDQGPENNYKTPPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEGDVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG/
GGGSGGGGS/IWELKKDYYVVELDWYFDAGPMVLTCTDEEDGITWTLQSSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQY
TCHKGGEVLVSHSLLLLHKEDGIWSTDLKQKEPKNTFLRCEAKNYSGRTCWLTITSTDLTFSVKSRSSESDQ
GGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSEVEDSACPAEESLPTEVMVDVAVHKLKYNYSSTFFIRDIIPDPKMLQ
LKPLANSRQVEVSWEYPTWTSTPHSYFSLTFCVQVQGGSKREKKDRVFTDKTSATVICRNASISVRAQDRYSSSW
SEWASVPCS (配列番号49)

重2-ヒト IL12p40-変-
Fc (216) -IgG1-C220S/PVA/S267K/S364K/E357Q (GGGGS) 2 ヒト IL12p35

EPKSSDKHTHTCPAPVAGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EYNSTYRVSVLTVLHQLDNLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK
GFYPSDIAVEWESNQGPENNYKTPPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG/
GGGSGGGGS/RNLVATPDGPMFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLFEPYCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPL
ELTKNESCLNSRETSFITNGSCLASRKTSPMMLCLSSIEDLMYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNLAVIDE
IMQALNFNSETVPQSSLEEDPFYTKIKLCLLHAFIRAVTIDRVMSYLNAS (配列番号50)

10

20

30

40

50

【図 1 1】

>XENP27203 5-ヒト_IL12p40_(GGGGS) 5-ヒト_IL12p35_(GGGGS) 2_(単鎖)-空-
Fc_Fc(216)_IgG1_p1(-)
)_等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

鎖1-ヒト_IL12p40_(GGGGS) 5-ヒト_IL12p35_(GGGGS) 2_(単鎖)-Fc(216)_IgG1_p1(-)
)_等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

IWELKKDVVVELDWYPDAPGEMVLTCDTPPEEDGITWLDQSSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSH
SLLLLHKEDGIWSTDILKDQKEPKNTFLRCEAKNYSGRFTCWLTITSTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AEVRVGNKEEYYSVEQEDSACPAEESLPIEMVDAVHKLKYENYTSFFIRDIKDPFPKNLQKPLKNSRQVE
VSWEYPTWSTPHSYFSLTFCVQVQKSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS/G
GGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSG/RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTFEYFCTSEEDHEDI
TDKTSVTEACLPLELTAKNESCLNSRETSFTTNGSCLASRSTSFMALCLSSIYEDLNMIVQVEKTMNAKLMDPKR
QIFLDQNLAVDELMDQALNFSSTVQKSLSEEPDPTHTIKILLHAFIRAVTIDRVMSYINAS/GGGSGGGG
GS/EPKSSDKHTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYITLPSREEMTKNQVSLTCT
DVSGFYPSDIAVEWESDGPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号 51)

鎖2-空-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

EPKSSDKHTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYITLPSREEMTKNQVSLTCTLVK
GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
(配列番号 52)

>XENP27204 5-ヒト_IL12p35_(GGGGS) 5-ヒト_IL12p40_(GGGGS) 2_(単鎖)-空-
Fc_Fc(216)_IgG1_p1(-)
)_等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

鎖1-ヒト_IL12p35_(GGGGS) 5-ヒト_IL12p40_(GGGGS) 2_(単鎖)-Fc(216)_IgG1_p1(-)
)_等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

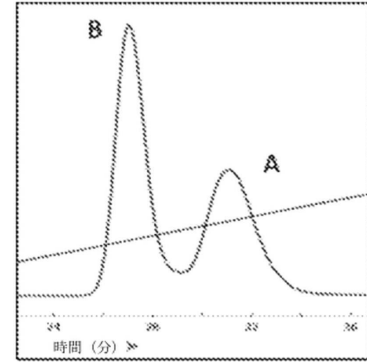
RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTFEYFCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTAKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRSTSFMALCLSSIYEDLNMIVQVEKTMNAKLMDPKRQIFLDQNLAVI DELMQALNFSST
VQKSLSEEPDPTHTIKILLHAFIRAVTIDRVMSYINAS/GGGSGGGSGGGSGGGSGGGSG/IWELKKD
VYVVELDWYPDAPGEMVLTCDTPPEEDGITWLDQSSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHK
KEDGIWSTDILKDQKEPKNTFLRCEAKNYSGRFTCWLTITSTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAEVRVGD
NKEYEYSVEQEDSACPAEESLPIEMVDAVHKLKYENYTSFFIRDIKDPFPKNLQKPLKNSRQVEVSWEYFDP
TWSTPHSYFSLTFCVQVQKSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS/GGGSGGGG
GS/EPKSSDKHTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYITLPSREEMTKNQVSLTCT
DVSGFYPSDIAVEWESDGPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号 53)

鎖2-空-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

EPKSSDKHTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYITLPSREEMTKNQVSLTCTLVK
GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
(配列番号 54)

【図 1 2 A】

アニオン交換クロマト
グラフィーを介したタ
ンパク質Aクロマトグ
ラフィーからの溶離液
の精製



10

【図 1 2 C】

分析A I E X



30

【図 1 2 B】

aSEC-MALS

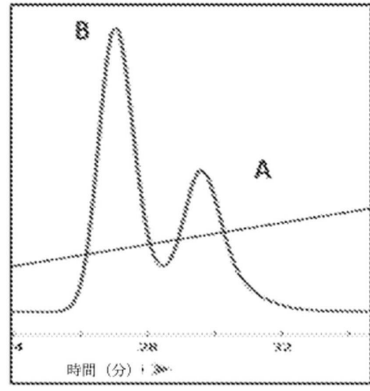


40

50

【図 1 3 A】

アニオン交換クロマトグラフィーを介したタンパク質Aクロマトグラフィーからの溶離液の精製



【図 1 3 B】

aSEC-MALS

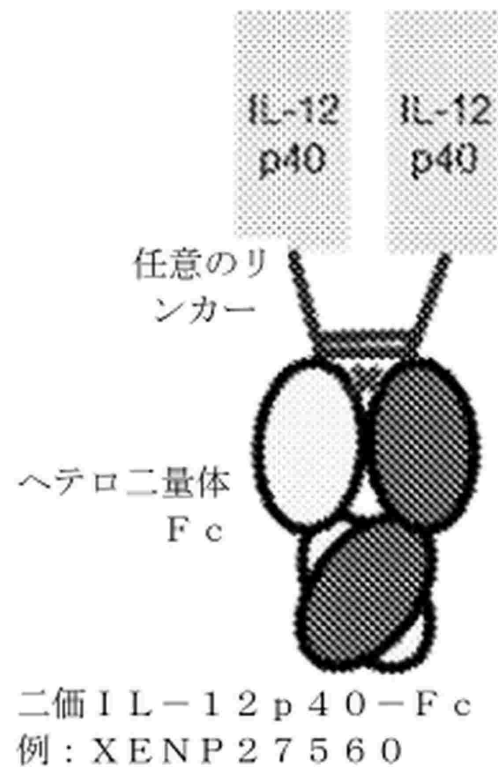


【図 1 3 C】

分析A IEX



【図 1 4 A】



10

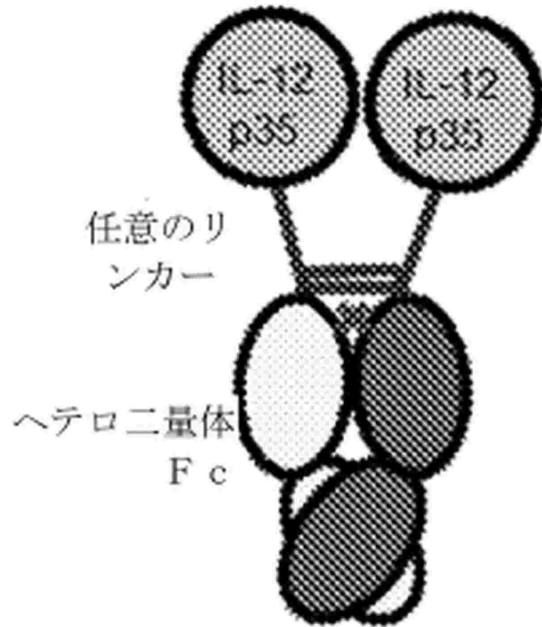
20

30

40

50

【図 14 B】



二価 IL-12 p35-Fc
例: XENP27561

【図 15】

>XENP27560 IL12p40 (GGGS) 2-Fc (216) IgG1-p1 (-)
等比体積 A C220S/PVA / S267K / L368D / K370S ホモ二量体

IWELKKDVVVELDMYPDAPGEMV/LTCDTFEEDGITWTLDDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTHKGGSEVLSH
SLLLLHKKEDGIWSTDILKQKFEKNRTFLCEANNYSGRFTGWLTITSTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGRDNKEEYSEVCEQEDSACFAAESLFIEVMVDVHKLKYENYTSFFIIRDIKFDPPKLNQLKPLKNSRQVE
VSWEYPTWSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKKDRVTDKTSATVICRNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS/G
GGSGGGGS/EPKSSDKTHCTPCFPAPPVAGFSVLFPPFKRDTLMSRTPEVTCVVDVRHEDPEVKFNWYVDGVE
YHNAKTRPREEYNSYRVVSVLTVLHQDWLNGREYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAGQPREPQVITLFPFSEMTK
NQVSLTCDVSGEYFSDIAVESDGGQFENNYKTPPVLDSGSEFLYSKLTVDKSPHEQGVFSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号 55)

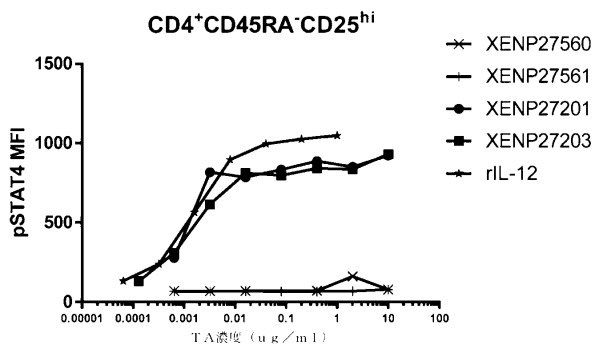
>XENP27561 IL12p35 (GGGS) 2-Fc (216) IgG1-C220S/PVA / S267
K / S364K / E357Q ホモ二量体

RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLFYPCTSEEDHEDITKDTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSTINGSLASRKTSMMLCLSIYEDLMYQVEFKTNNAKLMDPKRQIFLDQNLAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDFYKTKIKLCILLHAFRI RAVTIDRVMSYLNAS / GGGSGGGGS / EPKSSDKTHCTPCFPAPPVAGP
SVLFPPFKRDTLMSRTPEVTCVVDVRHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTRPREEYNSYRVVSVLTVLHQDWLW
GREYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAGQPREPQVITLFPFSEMTKQVLTCLVRGTFESDIAVESDGGQFENNYK
TPPVLDSGSEFLYSKLTVDKSPHEQGVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号 56)

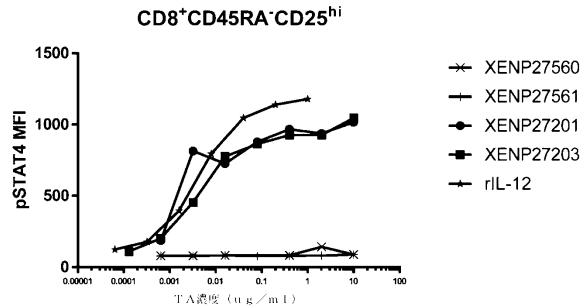
10

20

【図 16 A】



【図 16 B】

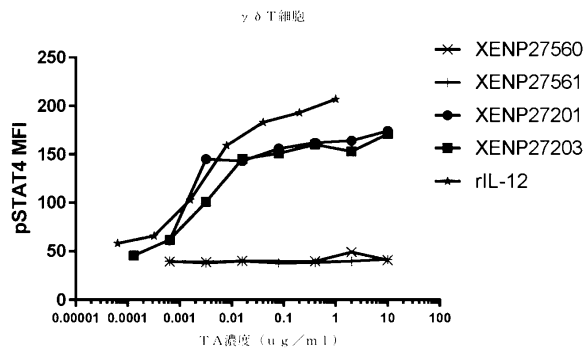


30

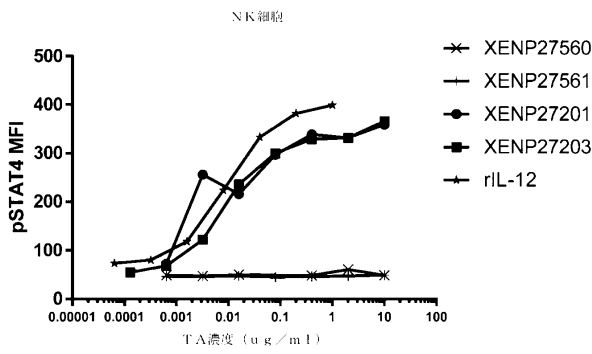
40

50

【図 1 6 C】



【図 1 6 D】



10

【図 1 7】

残基
W15
P17
D18
A19
P20
G21
M23
L40
D41
Q42
S43
E45
L47
T54
I55
Q56
K58
E59
F60
G61
D62
Y66
K84

【図 1 8】

残基	ASA	残基	ASA
E3	85	Q144	150
D7	22	E156	90
E12	72	D161	161
D14	26	N162	62
D18	140	E166	20
E22	50	E170	81
D29	89	Q172	72
E32	80	D174	93
E33	113	E187	63
D41	54	N200	57
Q42	188	D209	73
E45	143	D214	46
Q56	105	N218	67
E59	86	Q220	99
D62	32	N226	134
Q65	75	Q229	114
E73	155	E231	34
E86	88	E235	105
D93	87	Q256	104
D97	22	E262	147
E100	148	D265	60
N103	86	D270	58
E110	41	N281	71
D129	71	Q289	19
D142	69	E299	106

20

30

40

50

【図 20H】

> IL-12p40 (N113Q/N281Q) (配列番号XXX)

IWELKKDYYVVELDWYPDAPGEMVVLCTDPTPEEDGITWLDQSSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSHS
LLLLHKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKQYSGRFTCWMLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERV
RGDNKEYEYSEVCEQEDSACPAAEESLPIEVMDVAHVHLKYEQYTSFFIRDIKPPKPNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTD
WSTPHSYFLTCVQVQGGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRQASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS

> IL-12p40 (N200Q/N281Q) (配列番号XXX)

IWELKKDYYVVELDWYPDAPGEMVVLCTDPTPEEDGITWLDQSSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSHS
LLLLHKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWMLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERV
RGDNKEYEYSEVCEQEDSACPAAEESLPIEVMDVAHVHLKYEQYTSFFIRDIKPPKPNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTD
WSTPHSYFLTCVQVQGGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRQASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS

> IL-12p40 (N103Q/N113Q/N200Q) (配列番号XXX)

IWELKKDYYVVELDWYPDAPGEMVVLCTDPTPEEDGITWLDQSSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSHS
LLLLHKEDGIWSTDILKDQKEPKQKTLRCEAKQYSGRFTCWMLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERV
RGDNKEYEYSEVCEQEDSACPAAEESLPIEVMDVAHVHLKYEQYTSFFIRDIKPPKPNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTD
WSTPHSYFLTCVQVQGGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS

> IL-12p40 (N103Q/N113Q/N281Q) (配列番号XXX)

IWELKKDYYVVELDWYPDAPGEMVVLCTDPTPEEDGITWLDQSSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSHS
LLLLHKEDGIWSTDILKDQKEPKQKTLRCEAKQYSGRFTCWMLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERV
RGDNKEYEYSEVCEQEDSACPAAEESLPIEVMDVAHVHLKYENYTSFFIRDIKPPKPNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTD
WSTPHSYFLTCVQVQGGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRQASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS

> IL-12p40 (N103Q/N200Q/N281Q) (配列番号XXX)

IWELKKDYYVVELDWYPDAPGEMVVLCTDPTPEEDGITWLDQSSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSHS
LLLLHKEDGIWSTDILKDQKEPKQKTLRCEAKNYSGRFTCWMLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERV
RGDNKEYEYSEVCEQEDSACPAAEESLPIEVMDVAHVHLKYEQYTSFFIRDIKPPKPNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTD
WSTPHSYFLTCVQVQGGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRQASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS

> IL-12p40 (N113Q/N200Q/N281Q) (配列番号XXX)

IWELKKDYYVVELDWYPDAPGEMVVLCTDPTPEEDGITWLDQSSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSHS
LLLLHKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKQYSGRFTCWMLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERV
RGDNKEYEYSEVCEQEDSACPAAEESLPIEVMDVAHVHLKYEQYTSFFIRDIKPPKPNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTD
WSTPHSYFLTCVQVQGGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRQASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS

【図 21A】

> XenD24752 変 IL12p40_N103D (GGGGS) 2-Fc (216) IgG1-p1 (C)
) 等比体積 A_C220S/PVA/S267K/L368D/K370S_pTT5

IWELKKDYYVVELDWYPDAPGEMVVLCTDPTPEEDGITWLDQSSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKG
GGEVLSHSLLLLHKEDGIWSTDILKDQKEPKDKTFLRCEAKNYSGRFTCWMLTTISTDLTFSVKSSRGSS
SDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSEVCEQEDSACPAAEESLPIEVMDVAHVHLKYENYTSFFIRDI
IKDPKPNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTDWTSTPHSYFLTCVQVQGGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKN
NASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS\GGGSGGGGS\EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPKPKP
DTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDQGPE
NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMEALHNNHYTQKSLSLSPGK (配列番号55)

> XenD24753 変 IL12p40_N113D (GGGGS) 2-Fc (216) IgG1-p1 (C)
) 等比体積 A_C220S/PVA/S267K/L368D/K370S_pTT5

IWELKKDYYVVELDWYPDAPGEMVVLCTDPTPEEDGITWLDQSSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKG
GGEVLSHSLLLLHKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKDYSGRFTCWMLTTISTDLTFSVKSSRGSS
SDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSEVCEQEDSACPAAEESLPIEVMDVAHVHLKYEDYTSFFIRDI
IKDPKPNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTDWTSTPHSYFLTCVQVQGGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKN
NASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS\GGGSGGGGS\EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPKPKP
DTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDQGPE
NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMEALHNNHYTQKSLSLSPGK (配列番号56)

> XenD24754 変 IL12p40_N200D (GGGGS) 2-Fc (216) IgG1-p1 (C)
) 等比体積 A_C220S/PVA/S267K/L368D/K370S_pTT5

IWELKKDYYVVELDWYPDAPGEMVVLCTDPTPEEDGITWLDQSSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKG
GGEVLSHSLLLLHKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWMLTTISTDLTFSVKSSRGSS
SDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSEVCEQEDSACPAAEESLPIEVMDVAHVHLKYEDYTSFFIRDI
IKDPKPNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTDWTSTPHSYFLTCVQVQGGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKN
NASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS\GGGSGGGGS\EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPKPKP
DTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDQGPE
NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMEALHNNHYTQKSLSLSPGK (配列番号57)

【図 20I】

> IL-12p40 (N103Q/N113Q/N200Q/N281Q) (配列番号XXX)

IWELKKDYYVVELDWYPDAPGEMVVLCTDPTPEEDGITWLDQSSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSHS
LLLLHKEDGIWSTDILKDQKEPKQKTLRCEAKQYSGRFTCWMLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERV
RGDNKEYEYSEVCEQEDSACPAAEESLPIEVMDVAHVHLKYEQYTSFFIRDIKPPKPNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTD
WSTPHSYFLTCVQVQGGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRQASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS

10

20

【図 21B】

> XenD24755 変 IL12p40_N281D (GGGGS) 2-
Fc (216) IgG1-p1 (C)
) 等比体積 A_C220S/PVA/S267K/L368D/K370S_pTT5

IWELKKDYYVVELDWYPDAPGEMVVLCTDPTPEEDGITWLDQSSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKG
GGEVLSHSLLLLHKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWMLTTISTDLTFSVKSSRGSS
SDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSEVCEQEDSACPAAEESLPIEVMDVAHVHLKYENYTSFFIRDI
IKDPKPNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTDWTSTPHSYFLTCVQVQGGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKN
NASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS\GGGSGGGGS\EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPKPKP
DTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDQGPE
NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMEALHNNHYTQKSLSLSPGK (配列番号58)

> XenD24756 変 IL12p40_N103D/N113D/N200D/N281D (GGGGS) 2-
Fc (216) IgG1-p1 (C)
) 等比体積 A_C220S/PVA/S267K/L368D/K370S_pTT5

IWELKKDYYVVELDWYPDAPGEMVVLCTDPTPEEDGITWLDQSSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKG
GGEVLSHSLLLLHKEDGIWSTDILKDQKEPKDKTFLRCEAKDYSGRFTCWMLTTISTDLTFSVKSSRGSS
SDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSEVCEQEDSACPAAEESLPIEVMDVAHVHLKYEDYTSFFIRDI
IKDPKPNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTDWTSTPHSYFLTCVQVQGGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKN
NASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS\GGGSGGGGS\EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPKPKP
DTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDQGPE
NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMEALHNNHYTQKSLSLSPGK (配列番号59)

> XenD24757 変 IL12p40_Q42E (GGGGS) 2-Fc (216) IgG1-p1 (C)
) 等比体積 A_C220S/PVA/S267K/L368D/K370S_pTT5

IWELKKDYYVVELDWYPDAPGEMVVLCTDPTPEEDGITWLDDESSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKG
GGEVLSHSLLLLHKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWMLTTISTDLTFSVKSSRGSS
SDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSEVCEQEDSACPAAEESLPIEVMDVAHVHLKYENYTSFFIRDI
IKDPKPNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTDWTSTPHSYFLTCVQVQGGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKN
NASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS\GGGSGGGGS\EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPKPKP
DTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDQGPE
NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMEALHNNHYTQKSLSLSPGK (配列番号60)

30

40

50

【図 2 1 C】

$\geq X_{\text{end}24758}$ ヒト IL12p40 E45Q (GGGGS) 2-Fc (216) IgG1 pl (-) 等比体積 A C220S/PVA /S267K/L368D/K370S pTT5

[illegible]

>XenD24759 ヒト IL12p40 Q56E (GGGGS) 2-Fc (216) IgG1 pI (-)
) 等比体積 A C220S/PVA /S267K/L368D/K370S pTT5

IWEKGVVYLLVHEDWDYWGAGEMVWVTCDDPEBDITWTLQDSSEVLGSKGKTLTIEVKFEGDAGSGYCTCH
 GKKKSHSLLLHKKDZDZDZDILDKQEDPBDITCRCAEYNGSRFTCVNLTITDLSFVSDKVSQZ
 SDPQFQZGCAATISAAERVRNGDKEYEYFVEQDSDCAPAEESLPIEMVWDAHKKHLYENITSSFFRID
 IKDPGPKNLQPKLKNRQSEVSEYWDTSWPHYSFSLTFCVQVQKSGRKKHVRVTDKTSATICR
 NISASVRAQDRYSSSSWSEVPSKSGGGGGGGGGGEPKSDSDITCPCPAVPAGVSEFVPEPKK
 DTLMSITPFTVCVTVQDVKHIEDPVCNVTQDVGHNIAKTPCRPEEYNSTRVSVLTLQHDWLNKGE
 YKCKNTALPAPIEKETISKAGQPREPOVYTLPRPSCMTQKVSLTCDVSGFVDSVDEWSESDGQ
 YNYSVTLPVLDSDSGFSLKTLVDKRSKQVGVDPDSREMGHEALNHLVYTKSLSLSPG (配種番号: 2-2)

>XenD24760 ヒト IL12p40 E59Q (GGGS) 2-Fc (216) IgG1 pl (-)
) 等比体积 A C220S/PVA /S267K/L368D/K370S pTT5

IWEKGVVYVHVDYVWPGEMVWQTDKPNBQDWTWLTQDSSEVLKWTQVKGQVDSAGYQCTHK
 GKKVLSHLLHLKDGWDVZDILDKQKEPNEFRLCEAKYNGSRFTCNWLTITDSTLFSVKGKSGR
 SDQPGVTCGAATLSAERVNRGNKEYEYVQEQBDSAPAAEESLPIEMVDAWHLKHKYENTSFFSRID
 IDPKPPKNIQKPLKNSQVEVSWYPTDSTPHYSFLTCFVQVKGSKREKKVRVTDKTSATVICR
 NLSISVRAQDRYSSWSSEWSEVPCNSGGGGGGGGGEPKSDSDITCPCPAPVAGVSEVLFPEPK
 DTLMSITPEVTCVQDVKHDEPVKFNQDVGVINAHATKPREEYNSTVWLTVLHQLDWNLKE
 YKCVKNALPAFIEKTSIKAGQPREPOVYTPPSREVMCTVWLTCDVSGFVSEVWSDVSGDQ
 NNYKNTTPVLDSDSGFSLYKLTQKSRSEVQDVFSCVMHEALHNHYTKSLSLSPGK

(配列番号: 31)

【図 2 1 E】

>XenD24764 ヒト_1L12p40_Q42E/E59Q_(GGGS) 2-
Fc(216)_IgG1_pI(-)
)-等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_pTT5

WEIKDVIYVLLHWKDYVWAGPMVWVLTCDTPEBGTWTWLDSESVLGRCTWLTQVKQFGDAGQYCKR
 GSHSLSLLLLHKKDQWDTWDTLKDQKEPBDTFRCEAKNYGSRFTCNWTLTITDITLFSVTSKSG
 SDPQCVTGAATLSAERVNRDKNIEYVSECQDSAPAAEESLPIEMVWADHKKLEYENSTFFSFRID
 LKDPDKNLKPKLKNRQVSEVSEYWDTSWTHPSYSLFTFCVQCKSGREKKRVRDTKSATVCRK
 NASTISVPRVQTVSSKSWASVPCSGGGGGGGGGGEPKSDIDTCHPCPAVPAGVSGVLPFPKPK
 DTLMSRTEPQVTVVVDWQKQVGGGKGGGGGGGGVGVHNAKHTKPREEYNSTYRVVSLVTLQDNLNKE
 YCKVKNALPAFIETKISKAGQVPSQVLPVPSREMTCKVSLTCDVSGVSPDGVSEWSDSGDPE
 NNYKTVTPVPLDSDSGFFLYSLKTRPSRWEGQDQVPCSGMEALHNHYTKSLSLSPG (配列番号 97)

>XenD24765 ㄷㄣ IL12p40 Q56E/E59Q (GGGS) 2-
F (216) IGG1 p16
—等比価 ㄷ A C220S/PVA /S267K/L368D/K370S_pTT5
IWELKKDVYVVELDNYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIEVKQFGDAGQYTC

[illegible]

→XenD24766 匕 IL12p40_Q42E/E45Q/Q56E_(GGGS) 2-
Fc(216)-IgG1-p1(-)
等比体积 A C220S/PVA /S267K/L368D/K370S pTT5

WELKDDVYVLDWYIPAGEMVLTCTDPEKDTIPEKDTIPEVSSQVGGSTTITIEVKEFGEVQVQVCTCH
GSGVSSLLHLLHKEDIGDITDILDKQEPKNGFLTRCEAKYGRFCTWLTITDITDITFVSSKSGRS
SDPQVTCGAATLASVRNRNDKEIYEVQEQDSDCAPAEESLPIEVMDVHLLKHYENYTSFFRID
IDKPKPNKLQPKLKNQSVQEVSEYPTDWTSHYPSYFLTCVQCVQKSAKKRKHVDTKTSATVCRK
NASTISRAQDVRYYSSSEWASPVCSGGGGGGGGGEPKSDKDTITCCPAPVAGVSLVFLFPFKPT
DTLMISRTPEVTCVQDVKDEHPKFNQVGVHNAKTPKREBYNSTPRVVSVLVTLHQDLNKGK
YCKVKNALPAFPIETIKSAGKQPREQVYTLSPRMEALHNNHYCTSDVSGFVSPDIAVESNESDGG
NNYKTTPEVLDSSGFFLYSLKTDVSKSQRDQVDFSCVMHQAQVSSGKXLSLSPG (配座番号 9.9)

【図 2 1 D】

>XenD24761 ヒト IL12p40 D62N (GGGS) 2-
Fe (216) IgG1 pI (c
) 等比体積 A C220S/PVA /S267K/L368D/K370S_pTT5

WELKKVYVLDWLDWYIPGFWMTDCTDPEWTTWTDOSSEVLGGSKTTLIQFENAGNOYCTHK
GKHSHSLLLHKKEDGPDWTDILKQKEPKMKFTRCEAKNYGRSFTCNWTLTQFVSDSVKSRSG
IDPDDQVTCGAATLSAERVNRQENYEYVFWQSDSCAPAEESLIEVMVDAWHLKKYENYTSFFSFDI
IKPDKPNKLQPKLKNRQGVNSVEYPDWTSTPHSPLTQFCVQGGKREKKRVLDTKSTATCTCR
NASTSVRAQDQYVSSWSSEWASFWCGGGGGGGGGGEPKSDSDTKCPCPAPVAGVSEVLPFPEK
DTLMSIRTPVCCVVDWDEKFEVKNYVGVGVHNAKTRPREEYNSTRVSVLTLHDWLNGE
YCKVCNKALPAPIETKISKAGQPEPOVYTLPRFSCMTNHYVTLCDVSGFVWVLEWSESDQPE
NNYKTVTPVLDSGGFFLYSLTKDVSREMGDGVFSRCEMWHAEALNNHYTKSLSLSPGK

(配列番号 54)

XenD24762 IL12p40 Q42E/E45Q (GGGS) 2-
 Fc (216) IgG1 p1 (-)
) 等比体积 A C220S/PVA S267K/L368D/K370S pTT5

INELKDDYVYLDWQYWGPMGVNITCDTPEKGTITWLTDESSQVGLKTLITQIFSTGADGQYCTHK
GSGHSLSLLLHKKEDDQWTDILDKQPKMGTIRCEAKYNGSRFTCNWLTITITFEDLQYSSKVSRS
SDPQCTGCAATLSAERVNGINKEYSVEQDSCAPAAEBSLIEVMVDHAKHLYKENITSSFFSDRI
KIDPPKNQLKPLKNSGVEYWEYDPTWPHSYSLITFCVQGVQKREKKRQVTDKTSATVICRK
NASTISRAQDRIYSSWSGSEWASPQSGGGGGGGGGGEPKSDSDTKTCCPCCPAVGGSVLFPPEKK
DTLMISTRPCTCVVDKSHGDEPEVKNIVTQDGEVHNATKPREEYNSTRYRVSLVTLHDWLNGKE
YCKVKNALPAPIETKISKAGQEPQVYTLPSREEMTKNIVYTLCDVSGFVTLVDEWSDQEPGE
NNYKTVTPVLDSGSEFFLYSLKTVDSRSGEGDVDFSCMHAEALNNHYSQTKSLSDSGK (配型番号 5)

>Xend24763 比 1L12p40 E45Q/Q56E (GGGS) 2-
Fc (216) IgG1 pl (-
)- 等比体积 A C220S/PVA /S267K/L368D/K370S_pTT5

INELAKDYVYSLWQVWYFPGENVWLTCTDPEEFTWLTLDQSSQVSGSKTLTLETFEGQAGYCTHK
GSGVSHSLHLLHKKEGDQDITDLKQKEPKMKFTWLRAGYNGRFTCNWLTITLTFESVKSRSK
SDPPQVTCGAATLSAERVQNGVSEYFVQCDQSCAPAEESLTLEVMWDAHKKLVKFTSSFFSIDR
LQKPKPNKLQPKLKNQSGVSEYWDTPHSHSYFLTCFVQCYQKQKHKRVFTDKTSAITCRK
NASTSVRPEVTVVSSKSEWASFPKGGGGGGGGGEPKSDSDITCTCCPACPVAGPSVLPFPKPK
DTLMISRTPEQDYYSDVHKEDEPVKNYVLTQDGEVHNKATPREEYNSTRVVSLVTLQHDWLNGE
YKCKYKNAKLPAPTEKTSKAGQVQPREQVLPSPRSFMCNKQVSLTCDVSGFSEVAVESWEDSGQ
KXNCTTPEVLDSSPFSLYSLKTRSMEOGDQFDCSCVMHAELVYTKSLSLSPGK (配座番号46)

【図 2 1 F】

>XenD24767 ヒト_IL12p40_E45Q/Q56E/E59Q_(GGGS) 2-
Fc (216)_IgG1_pI (-
) 等比体积 A C220S/PVA /S267K/L368D/K370S pTT5

[illegible]

>XenD24768 ㄷㄌ IL12p40-D161N_ (GGGGS) 2_
Fc (216) - IgG1 - p1 (
) 等比倍増 A_C220S/PVA /S267K/L368D/K370S_pTT

[illegible]

NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号101)

[illegible]

【図 2 1 G】

>XenD24770 ヒト IL12p40_Q144E_(GGGGS) 2-
Fc (216) IgG1 p1 C
) 等比価欄 A_C220S/PVA /S267K/L368D/K370S_pTT5

IWELKKDVYVVELDNYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHK
GGEVLSHSLLLHHKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWMLTTISTDLTFSVKSSRGS
SDPQGVTCGAATLSAERVGRGNKEYEYSVECCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDI
IKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSREKKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYSSSSWEASVPCS\GGGSGGGGS\EPKSSDKHTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPK
DTLMSRTEPVTCTVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDQGPE
NNYKTTTPPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号103)

>XenD24771 ヒト IL12p40_E262Q_(GGGGS) 2-
Fc (216) IgG1 p1 C
) 等比価欄 A_C220S/PVA /S267K/L368D/K370S_pTT5

IWELKKDVYVVELDNYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHK
GGEVLSHSLLLHHKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWMLTTISTDLTFSVKSSRGS
SDPQGVTCGAATLSAERVGRGNKEYEYSVECCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDI
IKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSREKKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYSSSSWEASVPCS\GGGSGGGGS\EPKSSDKHTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPK
DTLMSRTEPVTCTVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDQGPE
NNYKTTTPPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号104)

>XenD24772 ヒト IL12p40_E100Q_(GGGGS) 2-
Fc (216) IgG1 p1 C
) 等比価欄 A_C220S/PVA /S267K/L368D/K370S_pTT5

IWELKKDVYVVELDNYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHK
GGEVLSHSLLLHHKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWMLTTISTDLTFSVKSSRGS
SDPQGVTCGAATLSAERVGRGNKEYEYSVECCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDI
IKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSREKKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYSSSSWEASVPCS\GGGSGGGGS\EPKSSDKHTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPK
DTLMSRTEPVTCTVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDQGPE
NNYKTTTPPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号105)

【図 2 1 I】

>XenD24776 ヒト IL12p40_E283Q_(GGGGS) 2-
Fc (216) IgG1 p1 C
) 等比価欄 A_C220S/PVA /S267K/L368D/K370S_pTT5

IWELKKDVYVVELDNYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHK
GGEVLSHSLLLHHKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWMLTTISTDLTFSVKSSRGS
SDPQGVTCGAATLSAERVGRGNKEYEYSVECCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDI
IKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSREKKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYSSSSWEASVPCS\GGGSGGGGS\EPKSSDKHTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPK
DTLMSRTEPVTCTVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDQGPE
NNYKTTTPPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号109)

>XenD24777 ヒト IL12p40_Q256E_(GGGGS) 2-
Fc (216) IgG1 p1 C
) 等比価欄 A_C220S/PVA /S267K/L368D/K370S_pTT5

IWELKKDVYVVELDNYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHK
GGEVLSHSLLLHHKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWMLTTISTDLTFSVKSSRGS
SDPQGVTCGAATLSAERVGRGNKEYEYSVECCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDI
IKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSREKKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYSSSSWEASVPCS\GGGSGGGGS\EPKSSDKHTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPK
DTLMSRTEPVTCTVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDQGPE
NNYKTTTPPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号110)

>XenD24778 ヒト IL12p40_E299Q_(GGGGS) 2-
Fc (216) IgG1 p1 C
) 等比価欄 A_C220S/PVA /S267K/L368D/K370S_pTT5

IWELKKDVYVVELDNYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHK
GGEVLSHSLLLHHKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWMLTTISTDLTFSVKSSRGS
SDPQGVTCGAATLSAERVGRGNKEYEYSVECCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDI
IKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSREKKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYSSSSWEASVPCS\GGGSGGGGS\EPKSSDKHTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPK
DTLMSRTEPVTCTVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDQGPE
NNYKTTTPPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号111)

【図 2 1 H】

>XenD24773 ヒト IL12p40_D18N_(GGGGS) 2-Fc (216) IgG1 p1 C
) 等比価欄 A_C220S/PVA /S267K/L368D/K370S_pTT5

IWELKKDVYVVELDNYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHK
GGEVLSHSLLLHHKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWMLTTISTDLTFSVKSSRGS
SDPQGVTCGAATLSAERVGRGNKEYEYSVECCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDI
IKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSREKKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYSSSSWEASVPCS\GGGSGGGGS\EPKSSDKHTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPK
DTLMSRTEPVTCTVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDQGPE
NNYKTTTPPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号106)

>XenD24774 ヒト IL12p40_E33Q_(GGGGS) 2-
Fc (216) IgG1 p1 C
) 等比価欄 A_C220S/PVA /S267K/L368D/K370S_pTT5

IWELKKDVYVVELDNYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHK
GGEVLSHSLLLHHKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWMLTTISTDLTFSVKSSRGS
SDPQGVTCGAATLSAERVGRGNKEYEYSVECCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDI
IKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSREKKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYSSSSWEASVPCS\GGGSGGGGS\EPKSSDKHTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPK
DTLMSRTEPVTCTVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDQGPE
NNYKTTTPPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号107)

>XenD24775 ヒト IL12p40_Q229E_(GGGGS) 2-
Fc (216) IgG1 p1 C
) 等比価欄 A_C220S/PVA /S267K/L368D/K370S_pTT5

IWELKKDVYVVELDNYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHK
GGEVLSHSLLLHHKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWMLTTISTDLTFSVKSSRGS
SDPQGVTCGAATLSAERVGRGNKEYEYSVECCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDI
IKPDPPKNLQLKPLKNSREVEVSWEYPTDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSREKKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYSSSSWEASVPCS\GGGSGGGGS\EPKSSDKHTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPK
DTLMSRTEPVTCTVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDQGPE
NNYKTTTPPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号108)

【図 2 1 J】

>XenD24792 ヒト IL12p40_D87N_(GGGGS) 2-
Fc (216) IgG1 p1 C
) 等比価欄 A_C220S/PVA /S267K/L368D/K370S_pTT5

IWELKKDVYVVELDNYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHK
GGEVLSHSLLLHHKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWMLTTISTDLTFSVKSSRGS
SDPQGVTCGAATLSAERVGRGNKEYEYSVECCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDI
IKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSREKKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYSSSSWEASVPCS\GGGSGGGGS\EPKSSDKHTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPK
DTLMSRTEPVTCTVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDQGPE
NNYKTTTPPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号112)

10

20

30

40

50

【図 2 2】

城番	ASA
Q35	134
E38	159
F46	145
D55	159
E67	140
N71	103
N76	119
N85	151
Q135	138
Q146	124
N151	144
F153	189
E162	114
E163	112

【図 2 3 A】

> IL-12p35(N71D)

RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLEFYFCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTK**D**ESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMMALCLSSIIYEDLRMYQVEFTMNAKLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS (配列番号 1 1 4)

> IL-12p35(N85D)

RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLEFYFCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMMALCLSSIIYEDLRMYQVEFTMNAKLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS (配列番号 1 1 4)

> IL-12p35(N195D)

RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLEFYFCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMMALCLSSIIYEDLRMYQVEFTMNAKLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLN**D**AS (配列番号 1 1 5)

> IL-12p35(N71D/N85D/N195D)

RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLEFYFCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTK**D**ESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMMALCLSSIIYEDLRMYQVEFTMNAKLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLN**D**AS (配列番号 1 1 6)

> IL-12p35(E153Q)

RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLEFYFCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMMALCLSSIIYEDLRMYQVEFTMNAKLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS (配列番号 1 1 7)

> IL-12p35(E38Q)

RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLEFYFCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMMALCLSSIIYEDLRMYQVEFTMNAKLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS (配列番号 1 1 8)

> IL-12p35(N151D)

RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLEFYFCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMMALCLSSIIYEDLRMYQVEFTMNAKLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNF**D**SET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS (配列番号 1 1 9)

> IL-12p35(Q135E)

RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLEFYFCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMMALCLSSIIYEDLRMYQVEFTMNAKLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS (配列番号 1 2 0)

10

20

【図 2 3 B】

> IL-12p35(Q35D)

RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLRAVSNMLQKAR**D**TFYFCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMMALCLSSIIYEDLRMYQVEFTMNAKLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS (配列番号 1 2 1)

> IL-12p35(Q146E)

RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLEFYFCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMMALCLSSIIYEDLRMYQVEFTMNAKLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS (配列番号 1 2 2)

> IL-12p35(N76D)

RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLEFYFCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCL**D**S
RETSFITNGSCLASRKTSPMMALCLSSIIYEDLRMYQVEFTMNAKLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS (配列番号 1 2 3)

> IL-12p35(E162Q)

RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLEFYFCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMMALCLSSIIYEDLRMYQVEFTMNAKLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLE**Q**EDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS (配列番号 1 2 4)

> IL-12p35(E163Q)

RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLEFYFCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMMALCLSSIIYEDLRMYQVEFTMNAKLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLE**Q**EDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS (配列番号 1 2 5)

> IL-12p35(N71Q)

RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLEFYFCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTK**Q**ESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMMALCLSSIIYEDLRMYQVEFTMNAKLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS (配列番号 X X X)

> IL-12p35(N85Q)

RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLEFYFCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMMALCLSSIIYEDLRMYQVEFTMNAKLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS (配列番号 X X X)

> IL-12p35(N195Q)

RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLEFYFCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMMALCLSSIIYEDLRMYQVEFTMNAKLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLN**Q**AS (配列番号 X X X)

【図 2 3 C】

> IL-12p35(N71Q/N85Q)

RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLEFYFCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTK**Q**ESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMMALCLSSIIYEDLRMYQVEFTMNAKLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS (配列番号 X X X)

> IL-12p35(N71Q/N195Q)

RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLEFYFCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTK**Q**ESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMMALCLSSIIYEDLRMYQVEFTMNAKLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLN**Q**AS (配列番号 X X X)

> IL-12p35(N85Q/N195Q)

RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLEFYFCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMMALCLSSIIYEDLRMYQVEFTMNAKLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLN**Q**AS (配列番号 X X X)

> IL-12p35(N71Q/N85Q/N195Q)

RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLEFYFCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTK**Q**ESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMMALCLSSIIYEDLRMYQVEFTMNAKLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLN**Q**AS (配列番号 X X X)

> IL-12p35(N71D/N85D)

RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLEFYFCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTK**D**ESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMMALCLSSIIYEDLRMYQVEFTMNAKLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS (配列番号 X X X)

> IL-12p35(N71D/N195D)

RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLEFYFCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTK**D**ESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMMALCLSSIIYEDLRMYQVEFTMNAKLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLN**D**AS (配列番号 X X X)

> IL-12p35(N85D/N195D)

RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLEFYFCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMMALCLSSIIYEDLRMYQVEFTMNAKLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLN**D**AS (配列番号 X X X)

30

40

50

【図 2 5 A】

>XENP28820
<1>_IL12p40_(N103D/N113D/N200D/N281D)_ (GGGGS) 2- ϵ ト_1L12p35
(N71D/N85D/N195D)_ (GGGGS) 2-Fc (216) _1gG1_p1 (-) _等比体積_A_C2
20S/PVA _/S267K/L368D/K370S_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA _/S267
K/S364K/E357Q
<1> (XenD24756) - ϵ ト_1L12p40_N103D/N113D/N200D/N281D_ (GGG
GS) 2-Fc (216) _1gG1_p1 (-) _等比体積_A_C220S/PVA
_/S267K/L368D/K370S
IWELKKDYYVVELDNYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSVLGSGKTLTQVKEFGDAGQYTHKGGEVLSH
SLLLLHHKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSRRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVRGDNKYEYSVEQEDSACPAAEESLP1EVMVDVHKLKYENYTSFFRDI1KPDPPKNLQKLPKNSRQVE
VSWEYPTDWTSPHYSFSLTFCVQVQGSKRKKDRVFTDKTSAVICRKNASISVRAQDRYSSSSSEWASVPCS/G
GGGSGGGGS\EPKSSDKHTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPFKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDLWLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDQGPENNYKTTTPVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWEGQGVDFSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号139)

<1> (XenD24782) - ϵ ト_1L12p35_N71D/N85D/N195D_ (GGGGS) 2-Fc (216) _1gG1_C220S/
PVA _/S267K/L364K/E357Q
RNLVPATPDGPMFPCLLHHSQNLRAVSNMLQKARQTEFYPTCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSFMALCLSSIYEDLKMVQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEPPDYFKTKIKLCILLHAFIRAVTIDRVMSYLNAS\GGGSGGGGS\EPKSSDKHTHTCPPCPAPPVAGP
SVFLFPFKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVWESNGQPENNYK
TTPVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWQGGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号140)

>XENP28821
<1>_IL12p40_(D87N) (GGGGS) 2- ϵ ト_1L12p36_ (GGGGS) 2-Fc (216) _1gG1_p1 (-) _等比体
積_A_C220S/PVA _/S267K/L368D/K370S_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA _/S267K/S364
K/E357Q

<1> (XenD24792) - ϵ ト_1L12p40_D87N_ (GGGGS) 2-Fc (216) _1gG1_
p1 (-) _等比体積_A_C220S/PVA _/S267K/L368D/K370S
IWELKKDYYVVELDNYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSVLGSGKTLTQVKEFGDAGQYTHKGGEVLSH
SLLLLHHKRENGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSRRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVRGDNKYEYSVEQEDSACPAAEESLP1EVMVDVHKLKYENYTSFFRDI1KPDPPKNLQKLPKNSRQVE
VSWEYPTDWTSPHYSFSLTFCVQVQGSKRKKDRVFTDKTSAVICRKNASISVRAQDRYSSSSSEWASVPCS/G
GGGSGGGGS\EPKSSDKHTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPFKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDLWLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDQGPENNYKTTTPVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWEGQGVDFSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号141)

【図 2 5 C】

<1> (XenD22915) - ϵ ト_1L12p35_ (GGGGS) 2-Fc (216) _1gG1_C220S/PVA
_/S267K/S364K/E357Q
RNLVPATPDGPMFPCLLHHSQNLRAVSNMLQKARQTEFYPTCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSFMALCLSSIYEDLKMVQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEPPDYFKTKIKLCILLHAFIRAVTIDRVMSYLNAS\GGGSGGGGS\EPKSSDKHTHTCPPCPAPPVAGP
SVFLFPFKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVWESNGQPENNYK
TTPVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWQGGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号146)

>XENP28824
<1>_IL12p40_(Q56E) (GGGGS) 2- ϵ ト_1L12p35_ (GGGGS) 2-Fc (216) _1gG1_p1 (-)
_等比体積_A_C220S/PVA _/S267K/L368D/K370S_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA _/S267K/S364K/E357Q

<1> (XenD24759) - ϵ ト_1L12p40_Q56E_ (GGGGS) 2-Fc (216) _1gG1_p1 (-)
_等比体積_A_C220S/PVA _/S267K/L368D/K370S

IWELKKDYYVVELDNYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSVLGSGKTLTIEVKEFGDAGQYTHKGGEVLSH
SLLLLHHKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSRRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVRGDNKYEYSVEQEDSACPAAEESLP1EVMVDVHKLKYENYTSFFRDI1KPDPPKNLQKLPKNSRQVE
VSWEYPTDWTSPHYSFSLTFCVQVQGSKRKKDRVFTDKTSAVICRKNASISVRAQDRYSSSSSEWASVPCS/G
GGGSGGGGS\EPKSSDKHTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPFKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDLWLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDQGPENNYKTTTPVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWEGQGVDFSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号147)

<1> (XenD22915) - ϵ ト_1L12p35_ (GGGGS) 2-Fc (216) _1gG1_C220S/PVA
_/S267K/S364K/E357Q

RNLVPATPDGPMFPCLLHHSQNLRAVSNMLQKARQTEFYPTCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSFMALCLSSIYEDLKMVQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEPPDYFKTKIKLCILLHAFIRAVTIDRVMSYLNAS\GGGSGGGGS\EPKSSDKHTHTCPPCPAPPVAGP
SVFLFPFKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVWESNGQPENNYK
TTPVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWQGGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号148)

>XENP28825
<1>_IL12p40_(E59Q) (GGGGS) 2- ϵ ト_1L12p35_ (GGGGS) 2-Fc (216) _1gG1_p1 (-)
_等比体積_A_C220S/PVA _/S267K/L368D/K370S_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA _/S2
67K/S364K/E357Q

<1> (XenD24760) - ϵ ト_1L12p40_E59Q_ (GGGGS) 2-Fc (216) _1gG1_p1 (-)
_等比体積_A_C220S/PVA _/S267K/L368D/K370S

IWELKKDYYVVELDNYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSVLGSGKTLTQVKEFGDAGQYTHKGGEVLSH
SLLLLHHKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSRRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVRGDNKYEYSVEQEDSACPAAEESLP1EVMVDVHKLKYENYTSFFRDI1KPDPPKNLQKLPKNSRQVE
VSWEYPTDWTSPHYSFSLTFCVQVQGSKRKKDRVFTDKTSAVICRKNASISVRAQDRYSSSSSEWASVPCS/G
GGGSGGGGS\EPKSSDKHTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPFKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDLWLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDQGPENNYKTTTPVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWEGQGVDFSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号149)

【図 2 5 B】

<1> (XenD22915) - ϵ ト_1L12p35_ (GGGGS) 2-Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_
_/S267K/S364K/E357Q
RNLVPATPDGPMFPCLLHHSQNLRAVSNMLQKARQTEFYPTCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSFMALCLSSIYEDLKMVQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEPPDYFKTKIKLCILLHAFIRAVTIDRVMSYLNAS\GGGSGGGGS\EPKSSDKHTHTCPPCPAPPVAGP
SVFLFPFKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVWESNGQPENNYK
TTPVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWQGGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号142)

>XENP28822
<1>_IL12p40_(Q42E) (GGGGS) 2- ϵ ト_1L12p35_ (GGGGS) 2-Fc (216) _1gG1_p1 (-)
_等比体積_A_C220S/PVA _/S267K/L368D/K370S_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA _/S2
67K/S364K/E357Q

<1> (XenD24757) - ϵ ト_1L12p40_Q42E_ (GGGGS) 2-Fc (216) _1gG1_p
1 (-) _等比体積_A_C220S/PVA _/S267K/L368D/K370S

IWELKKDYYVVELDNYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSVLGSGKTLTQVKEFGDAGQYTHKGGEVLSH
SLLLLHHKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSRRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVRGDNKYEYSVEQEDSACPAAEESLP1EVMVDVHKLKYENYTSFFRDI1KPDPPKNLQKLPKNSRQVE
VSWEYPTDWTSPHYSFSLTFCVQVQGSKRKKDRVFTDKTSAVICRKNASISVRAQDRYSSSSSEWASVPCS/G
GGGSGGGGS\EPKSSDKHTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPFKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDLWLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDQGPENNYKTTTPVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWEGQGVDFSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号143)

<1> (XenD22915) - ϵ ト_1L12p35_ (GGGGS) 2-Fc (216) _1gG1_C220S/PVA
_/S267K/S364K/E357Q

RNLVPATPDGPMFPCLLHHSQNLRAVSNMLQKARQTEFYPTCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSFMALCLSSIYEDLKMVQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEPPDYFKTKIKLCILLHAFIRAVTIDRVMSYLNAS\GGGSGGGGS\EPKSSDKHTHTCPPCPAPPVAGP
SVFLFPFKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVWESNGQPENNYK
TTPVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWQGGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号144)

>XENP28823
<1>_IL12p40_(E45Q) (GGGGS) 2- ϵ ト_1L12p35_ (GGGGS) 2-Fc (216) _1gG1_p1 (-)
_等比体積_A_C220S/PVA _/S267K/L368D/K370S_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA _/S267K
/S364K/E357Q

<1> (XenD24758) - ϵ ト_1L12p40_E45Q_ (GGGGS) 2-Fc (216) _1gG1_p1 (-) _等比体積_A_C
220S/PVA _/S267K/L368D/K370S

IWELKKDYYVVELDNYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSVLGSGKTLTQVKEFGDAGQYTHKGGEVLSH
SLLLLHHKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSRRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVRGDNKYEYSVEQEDSACPAAEESLP1EVMVDVHKLKYENYTSFFRDI1KPDPPKNLQKLPKNSRQVE
VSWEYPTDWTSPHYSFSLTFCVQVQGSKRKKDRVFTDKTSAVICRKNASISVRAQDRYSSSSSEWASVPCS/G
GGGSGGGGS\EPKSSDKHTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPFKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDLWLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDQGPENNYKTTTPVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWEGQGVDFSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号145)

【図 2 5 D】

<1> (XenD22915) - ϵ ト_1L12p35_ (GGGGS) 2-Fc (216) _1gG1_C220S/PVA
_/S267K/S364K/E357Q

RNLVPATPDGPMFPCLLHHSQNLRAVSNMLQKARQTEFYPTCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSFMALCLSSIYEDLKMVQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEPPDYFKTKIKLCILLHAFIRAVTIDRVMSYLNAS\GGGSGGGGS\EPKSSDKHTHTCPPCPAPPVAGP
SVFLFPFKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVWESNGQPENNYK
TTPVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWQGGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号150)

>XENP28826
<1>_IL12p40_(D62N) (GGGGS) 2- ϵ ト_1L12p35_ (GGGGS) 2-Fc (216) _1gG1_p1 (-)
_等比体積_A_C220S/PVA _/S267K/L368D/K370S_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA _/S2
67K/S364K/E357Q

<1> (XenD24761) - ϵ ト_1L12p40_D62N_ (GGGGS) 2-Fc (216) _1gG1_p1 (-)
_等比体積_A_C220S/PVA _/S267K/L368D/K370S

IWELKKDYYVVELDNYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSVLGSGKTLTQVKEFGAGQYTHKGGEVLSH
SLLLLHHKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSRRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVRGDNKYEYSVEQEDSACPAAEESLP1EVMVDVHKLKYENYTSFFRDI1KPDPPKNLQKLPKNSRQVE
VSWEYPTDWTSPHYSFSLTFCVQVQGSKRKKDRVFTDKTSAVICRKNASISVRAQDRYSSSSSEWASVPCS/G
GGGSGGGGS\EPKSSDKHTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPFKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDLWLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDQGPENNYKTTTPVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWEGQGVDFSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号151)

<1> (XenD22915) - ϵ ト_1L12p35_ (GGGGS) 2-Fc (216) _1gG1_C220S/PV
A_/S267K/S364K/E357Q

RNLVPATPDGPMFPCLLHHSQNLRAVSNMLQKARQTEFYPTCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSFMALCLSSIYEDLKMVQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEPPDYFKTKIKLCILLHAFIRAVTIDRVMSYLNAS\GGGSGGGGS\EPKSSDKHTHTCPPCPAPPVAGP
SVFLFPFKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVWESNGQPENNYK
TTPVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWQGGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号152)

>XENP28827 <1>_IL12p40_(Q42E/E45Q) (GGGGS) 2- ϵ ト_1L12p35_ (GGGGS) 2-Fc (216)
_1gG1_p1 (-) _等比体積_A_C220S/PVA _/S267K/L368D/K370S_Fc (216) _1gG1_C220S/
PVA _/S267K/S364K/E357Q

<1> (XenD24762) - ϵ ト_1L12p40_Q42E/E45Q_ (GGGGS) 2-Fc (216) _1gG1_p
1 (-) _等比体積_A_C220S/PVA _/S267K/L368D/K370S

IWELKKDYYVVELDNYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSVLGSGKTLTQVKEFGDAGQYTHKGGEVLSH
SLLLLHHKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSRRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVRGDNKYEYSVEQEDSACPAAEESLP1EVMVDVHKLKYENYTSFFRDI1KPDPPKNLQKLPKNSRQVE
VSWEYPTDWTSPHYSFSLTFCVQVQGSKRKKDRVFTDKTSAVICRKNASISVRAQDRYSSSSSEWASVPCS/G
GGGSGGGGS\EPKSSDKHTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPFKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDLWLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDQGPENNYKTTTPVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWEGQGVDFSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号153)

【図 25 Q】

組2 (XenD24790) -ヒト_IL12p35_E162Q_ (GGGGS) 2_Fc (216) -IgG1_C220S /PVA_/S267K/S364K/E357Q
 RNLVATPDGMPCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTEFYFCTSEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
 RETSFITNGSCLARKTSFPMALCLSSIEDLKNYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNLAVIDELMQALNFNSET
 VPQKSSLEQDPFYKTKIKLCILLHAIRAVTIDRVMSYLNAS\GGGSGGGGS\EPKSSDKTHTCPPCAPPVAGP
 SVLEFPFKDKTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLN
 GKYEKCKVSNKALPAIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTNQVKLTCLVKGFPYSDIAVWESNGQPENNYK
 TTPFVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWQQNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号202)

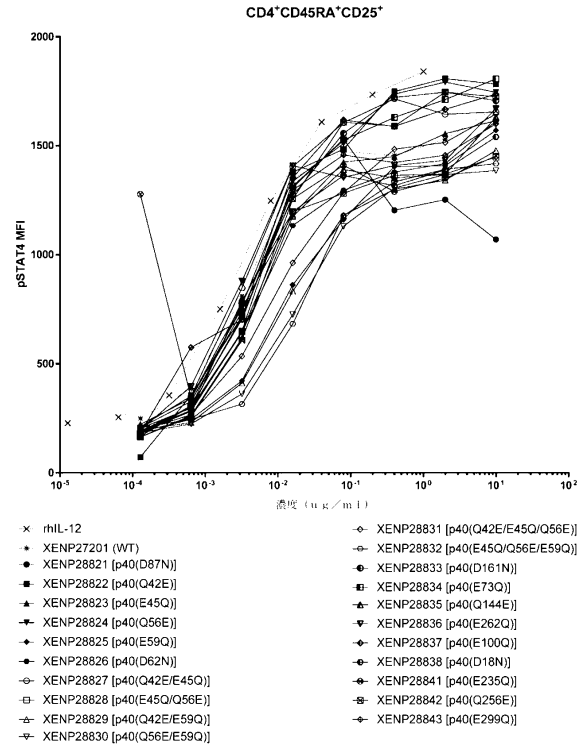
>XENP28852
 ヒト_IL12p40_ (GGGGS) 2-ヒト_IL12p35 (E163Q)_ (GGGGS) 2-Fc (216) -IgG1_pI (-)
)_等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc (216) -IgG1_C220S/PVA_/S2
 67K/S364K/E357Q

組1 (XenD22914) -ヒト_IL12p40_ (GGGGS) 2-Fc (216) -IgG1_pI (-) 等比体
 積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

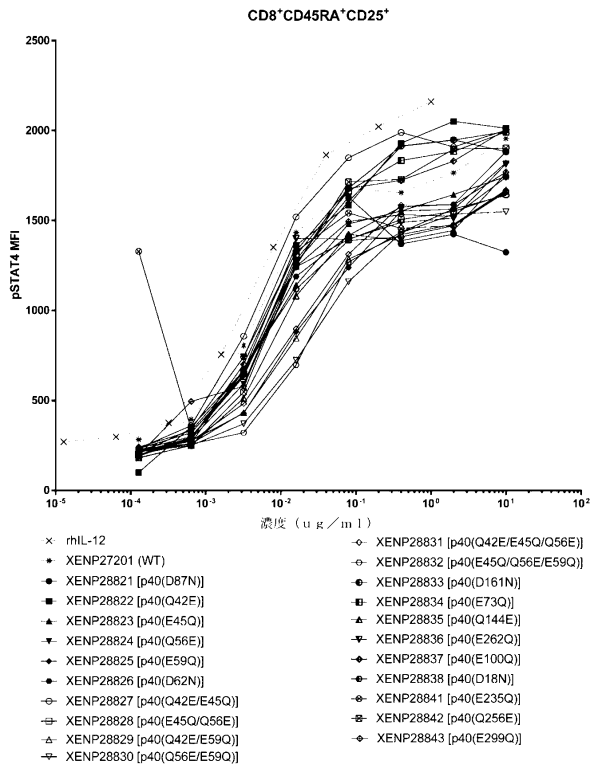
IWELKKDQVYVVELDWPDPAGEMVLTCTPEEDGITWLDQSSVILSGSKTLTIQVKEFGDAGQYTKHGGEVLSH
 SLLLLHKDEGWSTDLKQKQEPKTKFLRCANYSGRFTCNWLTITDLPFSVKSSRGSDPQVTCGAATLS
 AERVGDNKEYESVCEQEDSAPAAESLPIEVMDAVHKLAYNTSFFIRDLIKDPKPKLQLKPKNSRQVE
 VSNVEPDWTSPHSYSLTFCVQVQKSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWSSENASVPCS\G
 GGGSGGGGS\EPKSSDKTHTCPPCAPPVAGPSVLEFPFKDKTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVE
 VHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNKYEKCKVSNKALPAIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTN
 KQVSLTCDVSGFPYSDIAVWESNGQPENNYKTTPFVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWQQNVFSCVMHEALHNHYT
 QKSLSLSPGK (配列番号203)

組2 (XenD24791) -ヒト_IL12p35_E163Q_ (GGGGS) 2_Fc (216) -IgG1_C220S /PVA_/S267K/S364K/E357Q
 RNLVATPDGMPCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTEFYFCTSEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
 RETSFITNGSCLARKTSFPMALCLSSIEDLKNYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNLAVIDELMQALNFNSET
 VPQKSSLEQDPFYKTKIKLCILLHAIRAVTIDRVMSYLNAS\GGGSGGGGS\EPKSSDKTHTCPPCAPPVAGP
 SVLEFPFKDKTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLN
 GKYEKCKVSNKALPAIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTNQVKLTCLVKGFPYSDIAVWESNGQPENNYK
 TTPFVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWQQNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号204)

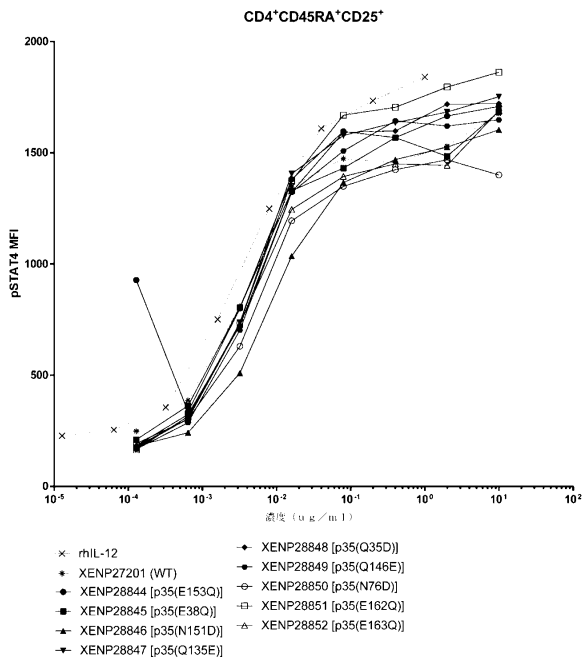
【図 26 A】



【図 26 B】



【図 27 A】



10

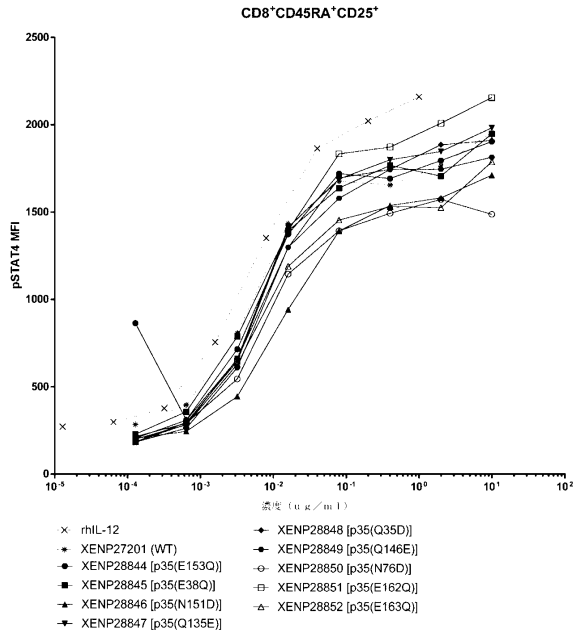
20

30

40

50

【図 27B】



【図 28】

XENP	PSTAT4 EC50				EC50の減少倍率	
	IL-12 p40 バリエーション	IL-12 p35 バリエーション	CD4+ CD45RA+ CD25+	CD8+ CD45RA+ CD25+	CD4+ CD45RA+ CD25+	CD8+ CD45RA+ CD25+
27201-1	WT	WT	0.003708	0.005468		
27201-2	WT	WT	0.003182	0.004785		
28821	D87N	WT	0.002181	0.004005	0.63	0.78
28822	Q42E	WT	0.005075	0.008822	1.47	1.72
28823	E45Q	WT	0.005	0.008541	1.45	1.67
28824	Q56E	WT	0.006622	0.01139	1.92	2.22
28825	E59Q	WT	0.01716	0.02519	4.98	4.91
28826	D62N	WT	0.005682	0.008183	1.65	1.60
28827	Q42E/E45Q	WT	0.003749	0.005398	1.09	1.05
28828	E45Q/Q56E	WT	0.004335	0.006014	1.26	1.17
28829	Q42E/E59Q	WT	0.01448	0.01896	4.20	3.70
28830	Q56E/E59Q	WT	0.01949	0.02855	5.66	5.57
28831	Q42E/E45Q/Q56E	WT	0.01266	0.02008	3.67	3.92
28832	E45Q/Q56E/E59Q	WT	0.02254	0.02873	6.54	5.60
28833	D161N	WT	0.006258	0.009723	1.82	1.90
28834	E73Q	WT	0.005763	0.009079	1.67	1.77
28835	Q144E	WT	0.00509	0.008766	1.48	1.71
28836	E262Q	WT	0.00241	0.004113	0.70	0.80
28837	E100Q	WT	0.004449	0.007287	1.29	1.42
28838	D18N	WT	0.003218	0.006053	0.93	1.18
28841	E235Q	WT	0.01259	0.01474	3.65	2.88
28842	Q256E	WT	0.006819	0.009489	1.98	1.85
28843	E299Q	WT	0.004098	0.007258	1.19	1.42
28844	WT	E153Q	0.009734	0.01212	2.83	2.36
28845	WT	E38Q	0.003759	0.005643	1.09	1.10
28846	WT	N151D	0.009653	0.01517	2.80	2.96
28847	WT	Q135E	0.00457	0.006908	1.33	1.35
28848	WT	Q35D	0.005247	0.00824	1.52	1.61
28849	WT	Q146E	0.004868	0.007417	1.41	1.45
28850	WT	N76D	0.004796	0.007424	1.39	1.45
28851	WT	E162Q	0.005616	0.008755	1.63	1.71
28852	WT	E163Q	0.004334	0.007082	1.26	1.38

【図 29A】

> IL12 p40 (E59K) (配列番号205)

IWELKKDVYVVELDWPDPAGEMVVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYTCHK
GGEVLSSHLLHLHKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRGSG
SDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQEDSACPAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDI
IKPDPFKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYSSSSWEASVPCS

> IL12 p40 (E32Q/E59Q) (配列番号206)

IWELKKDVYVVELDWPDPAGEMVVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYTCHK
GGEVLSSHLLHLHKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRGSG
SDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQEDSACPAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDI
IKPDPFKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYSSSSWEASVPCS

> IL12 p40 (D34N/E59Q) (配列番号207)

IWELKKDVYVVELDWPDPAGEMVVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYTCHK
GGEVLSSHLLHLHKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRGSG
SDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQEDSACPAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDI
IKPDPFKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYSSSSWEASVPCS

> IL12 p40 (E59Q/E187Q) (配列番号208)

IWELKKDVYVVELDWPDPAGEMVVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYTCHK
GGEVLSSHLLHLHKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRGSG
SDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQEDSACPAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDI
IKPDPFKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYSSSSWEASVPCS

> IL12 p40 (S43E/E59Q) (配列番号209)

IWELKKDVYVVELDWPDPAGEMVVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYTCHK
GGEVLSSHLLHLHKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRGSG
SDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQEDSACPAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDI
IKPDPFKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYSSSSWEASVPCS

【図 29B】

> IL12 p40 (S43K/E59Q) (配列番号210)

IWELKKDVYVVELDWPDPAGEMVVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYTCHK
GGEVLSSHLLHLHKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRGSG
SDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQEDSACPAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDI
IKPDPFKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYSSSSWEASVPCS

> IL12 p40 (E59Q/K163E) (配列番号211)

IWELKKDVYVVELDWPDPAGEMVVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYTCHK
GGEVLSSHLLHLHKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRGSG
SDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQEDSACPAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDI
IKPDPFKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYSSSSWEASVPCS

> IL12 p40 (E59Q/K99E) (配列番号212)

IWELKKDVYVVELDWPDPAGEMVVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYTCHK
GGEVLSSHLLHLHKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRGSG
SDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQEDSACPAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDI
IKPDPFKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYSSSSWEASVPCS

> IL12 p40 (E59Q/K258E) (配列番号213)

IWELKKDVYVVELDWPDPAGEMVVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYTCHK
GGEVLSSHLLHLHKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRGSG
SDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQEDSACPAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDI
IKPDPFKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYSSSSWEASVPCS

> IL12 p40 (E59Q/K260E) (配列番号214)

IWELKKDVYVVELDWPDPAGEMVVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYTCHK
GGEVLSSHLLHLHKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRGSG
SDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQEDSACPAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDI
IKPDPFKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYSSSSWEASVPCS

10

20

30

40

50

【図 30 A】

>Xend25922
E1 LL12p40 E59K (GGGGS) 2-Fc (216) IgG1 p1 (-) 等比体積 A C
220S/PVA /S267K/L368D/K370S pTT5
IWELKKDVYVVELDNYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKQFGDAGQYTCCHK
GGEVLSHSLLLHHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGS
SDPQGVTCGAATLSAERVGDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDI
IKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSREKKDRVFTDKTSAIVICRK
NASISVRAQDRYSSSSSEWASVPCS\GGGSGGGGS\EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPK
DTLMSRTP EVT CVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDQGPE
NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK (配列番号215)

>Xend25923
E1 LL12p40 E32Q/E59Q (GGGGS) 2-Fc (216) IgG1 p1 (-) 等比体積
A C220S/PVA /S267K/L368D/K370S pTT5
IWELKKDVYVVELDNYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKQFGDAGQYTCCHK
GGEVLSHSLLLHHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGS
SDPQGVTCGAATLSAERVGDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDI
IKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSREKKDRVFTDKTSAIVICRK
NASISVRAQDRYSSSSSEWASVPCS\GGGSGGGGS\EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPK
DTLMSRTP EVT CVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDQGPE
NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK (配列番号216)

>Xend25924
E1 LL12p40 D34N/E59Q (GGGGS) 2-Fc (216) IgG1 p1 (-) 等比体積 A
C220S/PVA /S267K/L368D/K370S pTT5
IWELKKDVYVVELDNYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKQFGDAGQYTCCHK
GGEVLSHSLLLHHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGS
SDPQGVTCGAATLSAERVGDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDI
IKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSREKKDRVFTDKTSAIVICRK
NASISVRAQDRYSSSSSEWASVPCS\GGGSGGGGS\EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPK
DTLMSRTP EVT CVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDQGPE
NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK (配列番号217)

【図 30 C】

>Xend25928
E1 LL12p40 E59Q/K163E (GGGGS) 2-Fc (216) IgG1 p1 (0) 等比体積 A
C220S/PVA /S267K/L368D/K370S pTT5
IWELKKDVYVVELDNYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKQFGDAGQYTCCHK
GGEVLSHSLLLHHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGS
SDPQGVTCGAATLSAERVGDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDI
IKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSREKKDRVFTDKTSAIVICRK
NASISVRAQDRYSSSSSEWASVPCS\GGGSGGGGS\EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPK
DTLMSRTP EVT CVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDQGPE
NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK (配列番号221)

>Xend25929
E1 LL12p40 E59Q/K99E (GGGGS) 2-Fc (216) IgG1 p1 (-) 等比体積 A C
220S/PVA /S267K/L368D/K370S pTT5
IWELKKDVYVVELDNYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKQFGDAGQYTCCHK
GGEVLSHSLLLHHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGS
SDPQGVTCGAATLSAERVGDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDI
IKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSREKKDRVFTDKTSAIVICRK
NASISVRAQDRYSSSSSEWASVPCS\GGGSGGGGS\EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPK
DTLMSRTP EVT CVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDQGPE
NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK (配列番号222)

>Xend25930
E1 LL12p40 E59Q/K258E (GGGGS) 2-Fc (216) IgG1 p1 (-) 等比体積
A C220S/PVA /S267K/L368D/K370S pTT5
IWELKKDVYVVELDNYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKQFGDAGQYTCCHK
GGEVLSHSLLLHHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGS
SDPQGVTCGAATLSAERVGDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDI
IKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSREKKDRVFTDKTSAIVICRK
NASISVRAQDRYSSSSSEWASVPCS\GGGSGGGGS\EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPK
DTLMSRTP EVT CVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDQGPE
NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK (配列番号223)

【図 30 B】

>Xend25925
E1 LL12p40 E59Q/E187Q (GGGGS) 2-Fc (216) IgG1 p1 (-) 等比体積
A C220S/PVA /S267K/L368D/K370S pTT5
IWELKKDVYVVELDNYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKQFGDAGQYTCCHK
GGEVLSHSLLLHHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGS
SDPQGVTCGAATLSAERVGDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDI
IKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSREKKDRVFTDKTSAIVICRK
NASISVRAQDRYSSSSSEWASVPCS\GGGSGGGGS\EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPK
DTLMSRTP EVT CVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDQGPE
NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK (配列番号218)

>Xend25926
E1 LL12p40 S43E/E59Q (GGGGS) 2-Fc (216) IgG1 p1 (-) 等比体積 A
C220S/PVA /S267K/L368D/K370S pTT5
IWELKKDVYVVELDNYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKQFGDAGQYTCCHK
GGEVLSHSLLLHHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGS
SDPQGVTCGAATLSAERVGDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDI
IKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSREKKDRVFTDKTSAIVICRK
NASISVRAQDRYSSSSSEWASVPCS\GGGSGGGGS\EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPK
DTLMSRTP EVT CVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDQGPE
NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK (配列番号219)

>Xend25927
E1 LL12p40 S43K/E59Q (GGGGS) 2-Fc (216) IgG1 p1 (-) 等比体積 A
C220S/PVA /S267K/L368D/K370S pTT5
IWELKKDVYVVELDNYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKQFGDAGQYTCCHK
GGEVLSHSLLLHHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGS
SDPQGVTCGAATLSAERVGDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDI
IKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSREKKDRVFTDKTSAIVICRK
NASISVRAQDRYSSSSSEWASVPCS\GGGSGGGGS\EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPK
DTLMSRTP EVT CVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDQGPE
NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK (配列番号220)

【図 30 D】

>Xend25931
E1 LL12p40 E59Q/K260E (GGGGS) 2-Fc (216) IgG1 p1 (-) 等比体積 A
C220S/PVA /S267K/L368D/K370S pTT5
IWELKKDVYVVELDNYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKQFGDAGQYTCCHK
GGEVLSHSLLLHHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGS
SDPQGVTCGAATLSAERVGDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDI
IKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSREKKDRVFTDKTSAIVICRK
NASISVRAQDRYSSSSSEWASVPCS\GGGSGGGGS\EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPK
DTLMSRTP EVT CVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDQGPE
NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK (配列番号224)

10

20

30

40

50

【図 3 1 A】

>I112p35 (N151D/E153Q) (配列番号225)

RNLPVATPDPGMFFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQ²TLEFY³PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTK
NESC⁴LN⁵RETSFITNGSCLAS⁶RKTS⁷FM⁸MALCLSS⁹IYEDL¹⁰KMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQ¹¹NMLAV
IDELMQALNFD¹²S¹³ETVPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHA¹⁴FRIRAVTIDRVMSYLNAS

>I112p35 (E153K) (配列番号226)

RNLPVATPDPGMFFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQ²TLEFY³PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTK
NESC⁴LN⁵RETSFITNGSCLAS⁶RKTS⁷FM⁸MALCLSS⁹IYEDL¹⁰KMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQ¹¹NMLAV
IDELMQALNFD¹²S¹³ETVPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHA¹⁴FRIRAVTIDRVMSYLNAS

>I112p35 (N151K) (配列番号227)

RNLPVATPDPGMFFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQ²TLEFY³PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTK
NESC⁴LN⁵RETSFITNGSCLAS⁶RKTS⁷FM⁸MALCLSS⁹IYEDL¹⁰KMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQ¹¹NMLAV
IDELMQALNFD¹²S¹³ETVPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHA¹⁴FRIRAVTIDRVMSYLNAS

>I112p35 (N151D/D165N) (配列番号228)

RNLPVATPDPGMFFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQ²TLEFY³PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTK
NESC⁴LN⁵RETSFITNGSCLAS⁶RKTS⁷FM⁸MALCLSS⁹IYEDL¹⁰KMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQ¹¹NMLAV
IDELMQALNFD¹²S¹³ETVPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHA¹⁴FRIRAVTIDRVMSYLNAS

>I112p35 (Q130E/N151D) (配列番号229)

RNLPVATPDPGMFFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQ²TLEFY³PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTK
NESC⁴LN⁵RETSFITNGSCLAS⁶RKTS⁷FM⁸MALCLSS⁹IYEDL¹⁰KMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQ¹¹NMLAV
IDELMQALNFD¹²S¹³ETVPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHA¹⁴FRIRAVTIDRVMSYLNAS

>I112p35 (N151D/K158E) (配列番号230)

RNLPVATPDPGMFFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQ²TLEFY³PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTK
NESC⁴LN⁵RETSFITNGSCLAS⁶RKTS⁷FM⁸MALCLSS⁹IYEDL¹⁰KMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQ¹¹NMLAV
IDELMQALNFD¹²S¹³ETVPQ¹⁴S¹⁵SSLEEDPFYKTKIKLCILLHA¹⁶FRIRAVTIDRVMSYLNAS

>I112p35 (E79Q/N151D) (配列番号231)

RNLPVATPDPGMFFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQ²TLEFY³PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTK
NESC⁴LN⁵RS⁶TSFITNGSCLAS⁷RKTS⁸FM⁹MALCLSS¹⁰IYEDL¹¹KMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQ¹²NMLAV
IDELMQALNFD¹³S¹⁴ETVPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHA¹⁵FRIRAVTIDRVMSYLNAS

>I112p35 (D55Q/N151D) (配列番号232)

RNLPVATPDPGMFFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQ²TLEFY³PCTSEEIDHEDITK⁴QKTSTVEACLPLELTK
NESC⁵LN⁶RETSFITNGSCLAS⁷RKTS⁸FM⁹MALCLSS¹⁰IYEDL¹¹KMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQ¹²NMLAV
IDELMQALNFD¹³S¹⁴ETVPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHA¹⁵FRIRAVTIDRVMSYLNAS

【図 3 2 A】

>XenD25911

E1112p35 N151D/E153Q (GGGGS) 2 Fc (216) IgG1 C220S/PVA / S267K/S364K/E357Q pTT5

RNLPVATPDPGMFFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQ²TLEFY³PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTK
NESC⁴LN⁵RETSFITNGSCLAS⁶RKTS⁷FM⁸MALCLSS⁹IYEDL¹⁰KMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQ¹¹NMLAV
IDELMQALNFD¹²S¹³ETVPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHA¹⁴FRIRAVTIDRVMSYLNAS\GGGSGGGGS\E
PKSSDKTHTCCPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQ
MTKNQVKLTCLVKGIFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCV
MHEALHNNHYTKQSLSLSPGK (配列番号236)

>XenD25912

E1112p35 E153K (GGGGS) 2 Fc (216) IgG1 C220S/PVA / S267K/S364K/E357Q pTT5

RNLPVATPDPGMFFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQ²TLEFY³PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTK
NESC⁴LN⁵RETSFITNGSCLAS⁶RKTS⁷FM⁸MALCLSS⁹IYEDL¹⁰KMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQ¹¹NMLAV
IDELMQALNFD¹²S¹³ETVPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHA¹⁴FRIRAVTIDRVMSYLNAS\GGGSGGGGS\E
PKSSDKTHTCCPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQ
MTKNQVKLTCLVKGIFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCV
MHEALHNNHYTKQSLSLSPGK (配列番号237)

>XenD25913

E1112p35 N151K (GGGGS) 2 Fc (216) IgG1 C220S/PVA / S267K/S364K/E357Q pTT5

RNLPVATPDPGMFFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQ²TLEFY³PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTK
NESC⁴LN⁵RETSFITNGSCLAS⁶RKTS⁷FM⁸MALCLSS⁹IYEDL¹⁰KMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQ¹¹NMLAV
IDELMQALNFD¹²S¹³ETVPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHA¹⁴FRIRAVTIDRVMSYLNAS\GGGSGGGGS\E
PKSSDKTHTCCPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQ
MTKNQVKLTCLVKGIFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCV
MHEALHNNHYTKQSLSLSPGK (配列番号238)

>XenD25914

E1112p35 N151D/D165N (GGGGS) 2 Fc (216) IgG1 C220S/PVA / S267K/S364K/E357Q pTT5

RNLPVATPDPGMFFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQ²TLEFY³PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTK
NESC⁴LN⁵RETSFITNGSCLAS⁶RKTS⁷FM⁸MALCLSS⁹IYEDL¹⁰KMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQ¹¹NMLAV
IDELMQALNFD¹²S¹³ETVPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHA¹⁴FRIRAVTIDRVMSYLNAS\GGGSGGGGS\E
PKSSDKTHTCCPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQ
MTKNQVKLTCLVKGIFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCV
MHEALHNNHYTKQSLSLSPGK (配列番号239)

【図 3 1 B】

>I112p35 (N136D/N151D) (配列番号233)

RNLPVATPDPGMFFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQ²TLEFY³PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTK
NESC⁴LN⁵RETSFITNGSCLAS⁶RKTS⁷FM⁸MALCLSS⁹IYEDL¹⁰KMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQ¹¹NMLAV
IDELMQALNFD¹²S¹³ETVPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHA¹⁴FRIRAVTIDRVMSYLNAS

>I112p35 (N21D/N151D) (配列番号234)

RNLPVATPDPGMFFCLHHSQ²LLRAVSNMLQKARQ³TLEFY⁴PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTK
NESC⁵LN⁶RETSFITNGSCLAS⁷RKTS⁸FM⁹MALCLSS¹⁰IYEDL¹¹KMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQ¹²NMLAV
IDELMQALNFD¹³S¹⁴ETVPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHA¹⁵FRIRAVTIDRVMSYLNAS

>I112p35 (E143Q/N151D) (配列番号235)

RNLPVATPDPGMFFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQ²TLEFY³PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTK
NESC⁴LN⁵RETSFITNGSCLAS⁶RKTS⁷FM⁸MALCLSS⁹IYEDL¹⁰KMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQ¹¹NMLAV
ID¹²Q¹³LMALNFD¹⁴S¹⁵ETVPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHA¹⁶FRIRAVTIDRVMSYLNAS

10

20

【図 3 2 B】

>XenD25915

E1112p35 Q130E/N151D (GGGGS) 2 Fc (216) IgG1 C220S/PVA / S267K/S364K/E357Q pTT5

RNLPVATPDPGMFFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQ²TLEFY³PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTK
NESC⁴LN⁵RETSFITNGSCLAS⁶RKTS⁷FM⁸MALCLSS⁹IYEDL¹⁰KMYQVEFKTMNAKLLMDPKREIFLDQ¹¹NMLAV
IDELMQALNFD¹²S¹³ETVPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHA¹⁴FRIRAVTIDRVMSYLNAS\GGGSGGGGS\E
PKSSDKTHTCCPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQ
MTKNQVKLTCLVKGIFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCV
MHEALHNNHYTKQSLSLSPGK (配列番号240)

>XenD25916

E1112p35 N151D/K158E (GGGGS) 2 Fc (216) IgG1 C220S/PVA / S267K/S364K/E357Q pTT5

RNLPVATPDPGMFFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQ²TLEFY³PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTK
NESC⁴LN⁵RETSFITNGSCLAS⁶RKTS⁷FM⁸MALCLSS⁹IYEDL¹⁰KMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQ¹¹NMLAV
IDELMQALNFD¹²S¹³ETVPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHA¹⁴FRIRAVTIDRVMSYLNAS\GGGSGGGGS\E
PKSSDKTHTCCPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQ
MTKNQVKLTCLVKGIFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCV
MHEALHNNHYTKQSLSLSPGK (配列番号241)

>XenD25917

E1112p35 E79Q/N151D (GGGGS) 2 Fc (216) IgG1 C220S/PVA / S267K/S364K/E357Q pTT5

RNLPVATPDPGMFFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQ²TLEFY³PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTK
NESC⁴LN⁵RS⁶TSFITNGSCLAS⁷RKTS⁸FM⁹MALCLSS¹⁰IYEDL¹¹KMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQ¹²NMLAV
IDELMQALNFD¹³S¹⁴ETVPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHA¹⁵FRIRAVTIDRVMSYLNAS\GGGSGGGGS\E
PKSSDKTHTCCPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQ
MTKNQVKLTCLVKGIFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCV
MHEALHNNHYTKQSLSLSPGK (配列番号242)

>XenD25918

E1112p35 D55Q/N151D (GGGGS) 2 Fc (216) IgG1 C220S/PVA / S267K/S364K/E357Q pTT5

RNLPVATPDPGMFFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQ²TLEFY³PCTSEEIDHEDITK⁴QKTSTVEACLPLELTK
NESC⁵LN⁶RETSFITNGSCLAS⁷RKTS⁸FM⁹MALCLSS¹⁰IYEDL¹¹KMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQ¹²NMLAV
IDELMQALNFD¹³S¹⁴ETVPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHA¹⁵FRIRAVTIDRVMSYLNAS\GGGSGGGGS\E
PKSSDKTHTCCPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQ
MTKNQVKLTCLVKGIFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCV
MHEALHNNHYTKQSLSLSPGK (配列番号243)

30

40

50

【図 3 2 C】

>XenD25919
c t _ l l 1 2 p 3 5 _ n 1 3 6 d / n 1 5 1 d _ (g g g g s) 2 _ f c (2 1 6) _ i g 1 _ c 2 2 0 s / p v a _ / s 2 6 7 k / s 3 6 4 k / e 3 5 7 q _ p t t 5
rnlpvatpdpqmpfclhhsqnlldravsnmlqkarqtlefypctseeidheditkdktstveaclpleltk
nesclnsretsfitngsclsrktsfmmalclssiyedlkmqyvefktmnacllmdpkqifldqnmilav
idelmqalnfdssetvpqkssleedpfyktiklclllhafiravtidrvmsylnas/gggsgsgsggs/e
pkssdkthtccpccpappvagsvslfppkpkdtlmsrtpevtcvvvdvkhedpevkfnwydgvvehna
ktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepqvtytlppsreQ
MTRNQVKLTCLVKGYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号 2 4 4)

>XenD25920
c t _ l l 1 2 p 3 5 _ n 2 1 d / n 1 5 1 d _ (g g g g s) 2 _ f c (2 1 6) _ i g 1 _ c 2 2 0 s / p v a _ / s 2 6 7 k / s 3 6 4 k / e 3 5 7 q _ p t t 5
rnlpvatpdpqmpfclhhsqnlldravsnmlqkarqtlefypctseeidheditkdktstveaclpleltk
nesclnsretsfitngsclsrktsfmmalclssiyedlkmqyvefktmnacllmdpkqifldqnmilav
idelmqalnfdssetvpqkssleedpfyktiklclllhafiravtidrvmsylnas/gggsgsgsggs/e
pkssdkthtccpccpappvagsvslfppkpkdtlmsrtpevtcvvvdvkhedpevkfnwydgvvehna
ktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepqvtytlppsreQ
MTRNQVKLTCLVKGYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号 2 4 5)

>XenD25921
c t _ l l 1 2 p 3 5 _ e 1 4 3 q / n 1 5 1 d _ (g g g g s) 2 _ f c (2 1 6) _ i g 1 _ c 2 2 0 s / p v a _ / s 2 6 7 k / s 3 6 4 k / e 3 5 7 q _ p t t 5
rnlpvatpdpqmpfclhhsqnlldravsnmlqkarqtlefypctseeidheditkdktstveaclpleltk
nesclnsretsfitngsclsrktsfmmalclssiyedlkmqyvefktmnacllmdpkqifldqnmilav
idelmqalnfdssetvpqkssleedpfyktiklclllhafiravtidrvmsylnas/gggsgsgsggs/e
pkssdkthtccpccpappvagsvslfppkpkdtlmsrtpevtcvvvdvkhedpevkfnwydgvvehna
ktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepqvtytlppsreQ
MTRNQVKLTCLVKGYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号 2 4 6)

【図 3 3 B】

組 2 (XenD24785) -c t _ l l 1 2 p 3 5 _ (n 1 5 1 d) _ (g g g g 2) 2 _ f c (2 1 6) _ i g 1 _ c 2 2 0 s / p v a _ / s 2 6 7 k / s 3 6 4 k / e 3 5 7 q
rnlpvatpdpqmpfclhhsqnlldravsnmlqkarqtlefypctseeidheditkdktstveaclpleltk
nesclnsretsfitngsclsrktsfmmalclssiyedlkmqyvefktmnacllmdpkqifldqnmilavidelmqalnfdsset
vpqkssleedpfyktiklclllhafiravtidrvmsylnas/gggsgsgsggs/epkssdkthtccpccpappvagsv
slfppkpkdtlmsrtpevtcvvvdvkhedpevkfnwydgvvehna
ktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepqvtytlppsreQ
MTRNQVKLTCLVKGYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号 1 3 2)

>XENP29951
c t _ l l 1 2 p 4 0 (e 5 9 k) _ (g g g g s) 2 - c t _ l l 1 2 p 3 5 (n 1 5 1 d) _ (g g g g) 2 - f c (2 1 6) _ i g 1 _ p 1 (-) _ 等 比 休 眠 _ A _ C 2 2 0 s / P V A _ / s 2 6 7 k / l 3 6 8 d / K 3 7 0 s _ f c (2 1 6) _ i g 1 _ c 2 2 0 s / P V A _ / s 2 6 7 k / s 3 6 4 k / e 3 5 7 q
組 1 (XenD23922) -c t _ l l 1 2 p 4 0 (e 5 9 k) _ (g g g g s) 2 _ f c (2 1 6) _ i g 1 _ p 1 (-) _ 等 比 休 眠 _ A _ C 2 2 0 s / P V A _ / s 2 6 7 k / l 3 6 8 d / K 3 7 0 s

INELKKDVYVVELDWPDPAGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYTCRKGGEVLSH
SLLLLHHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCNWLTISTDLTFVSKSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGRDNKEYEYSEVCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDIKPDPPKNLQKPLKNSRQVE
VSWEYPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWEASVPCS/g
GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGSVSLFPPKPKDTLMSRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYDGVVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号 2 1 5)

組 2 (XenD24785) -c t _ l l 1 2 p 3 5 (n 1 5 1 d) _ (g g g g s) 2 _ f c (2 1 6) _ i g 1 _ c 2 2 0 s / p v a _ / s 2 6 7 k / s 3 6 4 k / e 3 5 7 q
rnlpvatpdpqmpfclhhsqnlldravsnmlqkarqtlefypctseeidheditkdktstveaclpleltk
nesclnsretsfitngsclsrktsfmmalclssiyedlkmqyvefktmnacllmdpkqifldqnmilavidelmqalnfdsset
vpqkssleedpfyktiklclllhafiravtidrvmsylnas/gggsgsgsggs/epkssdkthtccpccpappvagsv
slfppkpkdtlmsrtpevtcvvvdvkhedpevkfnwydgvvehna
ktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepqvtytlppsreQ
MTRNQVKLTCLVKGYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号 1 3 2)

【図 3 3 A】

>XENP29949
c t _ l l 1 2 p 4 0 (e 5 9 q) _ (g g g g s) 2 - c t _ l l 1 2 p 3 5 (n 1 5 1 d) _ (g g g g s) 2 - f c (2 1 6) _ i g 1 _ p 1 (-) _ 等 比 休 眠 _ A _ C 2 2 0 s / P V A _ / s 2 6 7 k / l 3 6 8 d / K 3 7 0 s _ f c (2 1 6) _ i g 1 _ c 2 2 0 s / P V A _ / s 2 6 7 k / s 3 6 4 k / e 3 5 7 q
組 1 (XenD24760) -c t _ l l 1 2 p 4 0 (e 5 9 k) _ (g g g g s) 2 _ f c (2 1 6) _ i g 1 _ p 1 (-) _ 等 比 休 眠 _ A _ C 2 2 0 s / P V A _ / s 2 6 7 k / l 3 6 8 d / K 3 7 0 s

INELKKDVYVVELDWPDPAGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYTCRKGGEVLSH
SLLLLHHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCNWLTISTDLTFVSKSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGRDNKEYEYSEVCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDIKPDPPKNLQKPLKNSRQVE
VSWEYPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWEASVPCS/g
GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGSVSLFPPKPKDTLMSRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYDGVVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号 9 3)

組 2 (XenD24785) -c t _ l l 1 2 p 3 5 (n 1 5 1 d) _ (g g g g s) 2 _ f c (2 1 6) _ i g 1 _ c 2 2 0 s / p v a _ / s 2 6 7 k / s 3 6 4 k / e 3 5 7 q
rnlpvatpdpqmpfclhhsqnlldravsnmlqkarqtlefypctseeidheditkdktstveaclpleltk
nesclnsretsfitngsclsrktsfmmalclssiyedlkmqyvefktmnacllmdpkqifldqnmilavidelmqalnfdsset
vpqkssleedpfyktiklclllhafiravtidrvmsylnas/gggsgsgsggs/epkssdkthtccpccpappvagsv
slfppkpkdtlmsrtpevtcvvvdvkhedpevkfnwydgvvehna
ktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepqvtytlppsreQ
MTRNQVKLTCLVKGYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号 1 3 2)

>XENP29950
c t _ l l 1 2 p 4 0 (q 5 6 e / e 5 9 q) _ (g g g g s) 2 - c t _ l l 1 2 p 3 5 (n 1 5 1 d) _ (g g g g s) 2 - f c (2 1 6) _ i g 1 _ p 1 (-) _ 等 比 休 眠 _ A _ C 2 2 0 s / P V A _ / s 2 6 7 k / l 3 6 8 d / K 3 7 0 s _ f c (2 1 6) _ i g 1 _ c 2 2 0 s / P V A _ / s 2 6 7 k / s 3 6 4 k / e 3 5 7 q
組 1 (XenD24765) -c t _ l l 1 2 p 4 0 (q 5 6 e / e 5 9 q) _ (g g g g s) 2 _ f c (2 1 6) _ i g 1 _ p 1 (-) _ 等 比 休 眠 _ A _ C 2 2 0 s / P V A _ / s 2 6 7 k / l 3 6 8 d / K 3 7 0 s

INELKKDVYVVELDWPDPAGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYTCRKGGEVLSH
SLLLLHHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCNWLTISTDLTFVSKSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGRDNKEYEYSEVCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDIKPDPPKNLQKPLKNSRQVE
VSWEYPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWEASVPCS/g
GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGSVSLFPPKPKDTLMSRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYDGVVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号 9 8)

【図 3 3 C】

>XENP29952
c t _ l l 1 2 p 4 0 (e 5 9 k) _ (g g g g s) 2 - c t _ l l 1 2 p 3 5 _ (g g g g s) 2 - f c (2 1 6) _ i g 1 _ p 1 (-) _ 等 比 休 眠 _ A _ C 2 2 0 s / P V A _ / s 2 6 7 k / l 3 6 8 d / K 3 7 0 s _ f c (2 1 6) _ i g 1 _ c 2 2 0 s / P V A _ / s 2 6 7 k / s 3 6 4 k / e 3 5 7 q
組 1 (XenD25922) -c t _ l l 1 2 p 4 0 (e 5 9 k) _ (g g g g s) 2 _ f c (2 1 6) _ i g 1 _ p 1 (-) _ 等 比 休 眠 _ A _ C 2 2 0 s / P V A _ / s 2 6 7 k / l 3 6 8 d / K 3 7 0 s

INELKKDVYVVELDWPDPAGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYTCRKGGEVLSH
SLLLLHHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCNWLTISTDLTFVSKSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGRDNKEYEYSEVCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDIKPDPPKNLQKPLKNSRQVE
VSWEYPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWEASVPCS/g
GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGSVSLFPPKPKDTLMSRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYDGVVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号 2 1 5)

組 2 (XenD22915) -c t _ l l 1 2 p 3 5 _ (g g g g s) 2 _ f c (2 1 6) _ i g 1 _ c 2 2 0 s / p v a _ / s 2 6 7 k / s 3 6 4 k / e 3 5 7 q
rnlpvatpdpqmpfclhhsqnlldravsnmlqkarqtlefypctseeidheditkdktstveaclpleltk
nesclnsretsfitngsclsrktsfmmalclssiyedlkmqyvefktmnacllmdpkqifldqnmilavidelmqalnfdsset
vpqkssleedpfyktiklclllhafiravtidrvmsylnas/gggsgsgsggs/epkssdkthtccpccpappvagsv
slfppkpkdtlmsrtpevtcvvvdvkhedpevkfnwydgvvehna
ktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepqvtytlppsreQ
MTRNQVKLTCLVKGYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号 X X X)

>XENP29953
c t _ l l 1 2 p 4 0 (e 3 2 q / e 5 9 q) _ (g g g g s) 2 - c t _ l l 1 2 p 3 5 _ (g g g g s) 2 - f c (2 1 6) _ i g 1 _ p 1 (-) _ 等 比 休 眠 _ A _ C 2 2 0 s / P V A _ / s 2 6 7 k / l 3 6 8 d / K 3 7 0 s _ f c (2 1 6) _ i g 1 _ c 2 2 0 s / P V A _ / s 2 6 7 k / s 3 6 4 k / e 3 5 7 q
組 1 (XenD25923) -c t _ l l 1 2 p 4 0 (e 3 2 q / e 5 9 q) _ (g g g g s) 2 _ f c (2 1 6) _ i g 1 _ p 1 (-) _ 等 比 休 眠 _ A _ C 2 2 0 s / P V A _ / s 2 6 7 k / l 3 6 8 d / K 3 7 0 s

INELKKDVYVVELDWPDPAGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYTCRKGGEVLSH
SLLLLHHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCNWLTISTDLTFVSKSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGRDNKEYEYSEVCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDIKPDPPKNLQKPLKNSRQVE
VSWEYPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWEASVPCS/g
GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGSVSLFPPKPKDTLMSRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYDGVVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号 2 1 6)

【図 3 3 D】

組2 (XenD22915) -ヒト_IL12p35_ (GGGGS) 2_Fc (216) _IgG1_C220S/P
VA_/S267K/S364K/E357Q

RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLFYPCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSYIEDLKNYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNM LAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPPCAPPVAGP
SVLFFPFPKKDTLIMSRTPEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNL
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAGQGPREFQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGYFSPSDIAVWESNGQPENNYK
TTPFVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

>XENP29954
ヒト_IL12p40_(D34N/E59Q) (GGGGS) 2-ヒト_IL12p35_ (GGGGS) 2-Fc (216)
_IgG1_p1(-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc (216) _Ig
G1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

組1 (XenD25924) -ヒト_IL12p40_(D34N/E59Q) (GGGGS) 2_Fc (216) _IgG1_
p1(-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

IWELKKDVYVVELDNYPDAGEMVLTCDTPEENGITWTLDQSSSEVLGSGKLTIQVKQFGDAQYTCHKGGEVLSH
SLLLLHKKEDGIWSTDILADQKEPKNATFLRCEAKNYSGRFTCNWLTITISDITFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGRDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIIKDPDPKNLQKLPKNSRQVE
VSWEYPTDWTNSPHSYFSLTFCVQVQGKSAREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSSEWASVPCS/G
GGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPPCAPPVAGPSVLFPPFKKDTLIMSRTPEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAGQGPREFQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDGGQPENNYKTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号217)

組2 (XenD22915) -ヒト_IL12p35_ (GGGGS) 2_Fc (216) _IgG1_C220S/P
VA_/S267K/S364K/E357Q

RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLFYPCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSYIEDLKNYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNM LAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPPCAPPVAGP
SVLFFPFPKKDTLIMSRTPEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNL
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAGQGPREFQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGYFSPSDIAVWESNGQPENNYK
TTPFVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

【図 3 3 F】

組2 (XenD22915) -ヒト_IL12p35_ (GGGGS) 2_Fc (216) _IgG1_C220S/P
VA_/S267K/S364K/E357Q

RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLFYPCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSYIEDLKNYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNM LAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPPCAPPVAGP
SVLFFPFPKKDTLIMSRTPEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNL
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAGQGPREFQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGYFSPSDIAVWESNGQPENNYK
TTPFVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

>XENP29957
ヒト_IL12p40_(S43K/E59Q) (GGGGS) 2-ヒト_IL12p35_ (GGGGS) 2-Fc (216)
_IgG1_p1(-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc (216) _Ig
G1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

組1 (XenD25927) -ヒト_IL12p40_(S43K/E59Q) (GGGGS) 2_Fc (216) _IgG1_
p1(-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

IWELKKDVYVVELDNYPDAGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSEVLGSGKLTIQVKQFGDAQYTCHKGGEVLSH
SLLLLHKKEDGIWSTDILADQKEPKNATFLRCEAKNYSGRFTCNWLTITISDITFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGRDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIIKDPDPKNLQKLPKNSRQVE
VSWEYPTDWTNSPHSYFSLTFCVQVQGKSAREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSSEWASVPCS/G
GGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPPCAPPVAGPSVLFPPFKKDTLIMSRTPEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAGQGPREFQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDGGQPENNYKTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号220)

組2 (XenD22915) -ヒト_IL12p35_ (GGGGS) 2_Fc (216) _IgG1_C220S/P
VA_/S267K/S364K/E357Q

RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLFYPCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSYIEDLKNYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNM LAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPPCAPPVAGP
SVLFFPFPKKDTLIMSRTPEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNL
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAGQGPREFQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGYFSPSDIAVWESNGQPENNYK
TTPFVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

【図 3 3 E】

>XENP29955
ヒト_IL12p40_(E59Q/F187Q) (GGGGS) 2-ヒト_IL12p35_ (GGGGS) 2-Fc (216)
_IgG1_p1(-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc (216) _Ig
G1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

組1 (XenD25925) -ヒト_IL12p40_(E59Q/F187Q) (GGGGS) 2_Fc (216) _IgG1_
p1(-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

IWELKKDVYVVELDNYPDAGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSSEVLGSGKLTIQVKQFGDAQYTCHKGGEVLSH
SLLLLHKKEDGIWSTDILADQKEPKNATFLRCEAKNYSGRFTCNWLTITISDITFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGRDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIIKDPDPKNLQKLPKNSRQVE
VSWEYPTDWTNSPHSYFSLTFCVQVQGKSAREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSSEWASVPCS/G
GGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPPCAPPVAGPSVLFPPFKKDTLIMSRTPEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAGQGPREFQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDGGQPENNYKTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号218)

組2 (XenD22915) -ヒト_IL12p35_ (GGGGS) 2_Fc (216) _IgG1_C220S/
PVA_/S267K/S364K/E357Q

RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLFYPCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSYIEDLKNYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNM LAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPPCAPPVAGP
SVLFFPFPKKDTLIMSRTPEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNL
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAGQGPREFQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGYFSPSDIAVWESNGQPENNYK
TTPFVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

>XENP299569
ヒト_IL12p40_(S43E/E59Q) (GGGGS) 2-ヒト_IL12p35_ (GGGGS) 2-Fc (216)
_IgG1_p1(-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc (216) _IgG1_C220S/P
VA_/S267K/S364K/E357Q

組1 (XenD25926) -ヒト_IL12p40_(S43E/E59Q) (GGGGS) 2_Fc (216) _IgG1_
p1(-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

IWELKKDVYVVELDNYPDAGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSEVLGSGKLTIQVKQFGDAQYTCHKGGEVLSH
SLLLLHKKEDGIWSTDILADQKEPKNATFLRCEAKNYSGRFTCNWLTITISDITFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGRDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIIKDPDPKNLQKLPKNSRQVE
VSWEYPTDWTNSPHSYFSLTFCVQVQGKSAREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSSEWASVPCS/G
GGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPPCAPPVAGPSVLFPPFKKDTLIMSRTPEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAGQGPREFQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDGGQPENNYKTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号219)

【図 3 3 G】

>XENP29958
ヒト_IL12p40_(E59Q/K163E) (GGGGS) 2-ヒト_IL12p35_ (GGGGS) 2-Fc (216)
_IgG1_p1(-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc (216) _Ig
G1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

組1 (XenD25928) -ヒト_IL12p40_(E59Q/K163E) (GGGGS) 2_Fc (216) _IgG1_
p1(-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

IWELKKDVYVVELDNYPDAGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSEVLGSGKLTIQVKQFGDAQYTCHKGGEVLSH
SLLLLHKKEDGIWSTDILADQKEPKNATFLRCEAKNYSGRFTCNWLTITISDITFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGRDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIIKDPDPKNLQKLPKNSRQVE
VSWEYPTDWTNSPHSYFSLTFCVQVQGKSAREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSSEWASVPCS/G
GGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPPCAPPVAGPSVLFPPFKKDTLIMSRTPEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAGQGPREFQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDGGQPENNYKTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号221)

組2 (XenD22915) -ヒト_IL12p35_ (GGGGS) 2_Fc (216) _IgG1_C220S/
PVA_/S267K/S364K/E357Q

RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLFYPCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSYIEDLKNYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNM LAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPPCAPPVAGP
SVLFFPFPKKDTLIMSRTPEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNL
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAGQGPREFQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGYFSPSDIAVWESNGQPENNYK
TTPFVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

>XENP29959
ヒト_IL12p40_(E59Q/K99E) (GGGGS) 2-ヒト_IL12p35_ (GGGGS) 2-Fc (2
16) _IgG1_p1(-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc (2
16) _IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

組1 (XenD25929) -ヒト_IL12p40_(E59Q/K99E) (GGGGS) 2_Fc (216) _Ig
G1_p1(-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

IWELKKDVYVVELDNYPDAGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSEVLGSGKLTIQVKQFGDAQYTCHKGGEVLSH
SLLLLHKKEDGIWSTDILADQKEPKNATFLRCEAKNYSGRFTCNWLTITISDITFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGRDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIIKDPDPKNLQKLPKNSRQVE
VSWEYPTDWTNSPHSYFSLTFCVQVQGKSAREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSSEWASVPCS/G
GGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPPCAPPVAGPSVLFPPFKKDTLIMSRTPEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAGQGPREFQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDGGQPENNYKTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号222)

【図 3 3 H】

図2 (XenD22915) -ヒト_IL12p35_ (GGGGS) 2_Fc (216) _I gG1_C220S/P
VA_/S267K/S364K/E357Q

RNLPVATPDPGMFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTEFYFCTSEEDHEDITKDKTSVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSFMALCLSSYIEDLKMYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFENSET
VFQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPCCPAPPVAGP
SVFLFPFKKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGEVHNAAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNL
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVWESNGQPENNYK
TTPFVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

>XENP29960
ヒト_IL12p40 (E59Q/K258E) (GGGGS) 2-ヒト_IL12p35 (GGGGS) 2-Fc (216)
_) _I gG1_p1 (-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc (216)
_I gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

図1 (XenD25930) -ヒト_IL12p40 (E59Q/K258E) _ (GGGGS) 2_Fc (216) _I gG1
_p1 (-) _等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

IWELKKDVYVVELDNYDPAAGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAQYTCCHKGEVLSH
SLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTLRCEAKNYSGRFTCNWLTITISDITFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIIKPPDPKPNLQKLPLKNSRQVE
VSWEPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGSEREKKDRVFTDKTSATVICKRNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS/g
GGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPCCPAPPVAGPSVFLFPFKKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGE
VHNAAKTPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPDSIAVWESDGGQFENNYKTTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号233)

図2 (XenD22915) -ヒト_IL12p35_ (GGGGS) 2_Fc (216) _I gG1_C220S/P
VA_/S267K/S364K/E357Q

RNLPVATPDPGMFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTEFYFCTSEEDHEDITKDKTSVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSFMALCLSSYIEDLKMYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFENSET
VFQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPCCPAPPVAGP
SVFLFPFKKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGEVHNAAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNL
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVWESNGQPENNYK
TTPFVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

【図 3 3 J】

図2 (XenD25911) -ヒト_IL12p35 (N151D/E153Q) _ (GGGGS) 2_Fc (216)
_I gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

RNLPVATPDPGMFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTEFYFCTSEEDHEDITKDKTSVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSFMALCLSSYIEDLKMYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFDSQT
VFQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPCCPAPPVAGP
SVFLFPFKKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGEVHNAAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNL
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVWESNGQPENNYK
TTPFVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号236)

>XENP29963
ヒト_IL12p40 (GGGGS) 2-ヒト_IL12p35 (E153K) (GGGGS) 2-Fc (216) _I gG
1_p1 (-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc (216) _I gG1_C2
20S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

図1 (XenD22914) -ヒト_IL12p40_ (GGGGS) 2_Fc (216) _I gG1_p1 (-) 等比体積_
A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

IWELKKDVYVVELDNYDPAAGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAQYTCCHKGEVLSH
SLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTLRCEAKNYSGRFTCNWLTITISDITFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIIKPPDPKPNLQKLPLKNSRQVE
VSWEPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGSEREKKDRVFTDKTSATVICKRNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS/g
GGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPCCPAPPVAGPSVFLFPFKKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGE
VHNAAKTPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPDSIAVWESDGGQFENNYKTTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

図2 (XenD25912) -ヒト_IL12p35 (E153K) _ (GGGGS) 2_Fc (216) _I gG1_C220
S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

RNLPVATPDPGMFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTEFYFCTSEEDHEDITKDKTSVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSFMALCLSSYIEDLKMYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFENSKT
VFQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPCCPAPPVAGP
SVFLFPFKKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGEVHNAAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNL
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVWESNGQPENNYK
TTPFVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号237)

【図 3 3 I】

>XENP29961
ヒト_IL12p40 (E59Q/K260E) _ (GGGGS) 2-ヒト_IL12p35 (GGGGS) 2-Fc (216)
_) _I gG1_p1 (-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc (216) _I g
G1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

図1 (XenD25931) -ヒト_IL12p40 (E59Q/K260E) _ (GGGGS) 2_Fc (216) _I gG1
_p1 (-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

IWELKKDVYVVELDNYDPAAGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAQYTCCHKGEVLSH
SLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTLRCEAKNYSGRFTCNWLTITISDITFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIIKPPDPKPNLQKLPLKNSRQVE
VSWEPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGSEREKKDRVFTDKTSATVICKRNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS/g
GGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPCCPAPPVAGPSVFLFPFKKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGE
VHNAAKTPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPDSIAVWESDGGQFENNYKTTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号224)

図2 (XenD22915) -ヒト_IL12p35_ (GGGGS) 2_Fc (216) _I gG1_C220S/
PVA_/S267K/S364K/E357Q

RNLPVATPDPGMFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTEFYFCTSEEDHEDITKDKTSVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSFMALCLSSYIEDLKMYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFENSET
VFQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPCCPAPPVAGP
SVFLFPFKKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGEVHNAAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNL
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVWESNGQPENNYK
TTPFVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

>XENP29962
ヒト_IL12p40 (GGGGS) 2-ヒト_IL12p35 (N151D/E153Q) (GGGGS) 2-Fc (21
6) _I gG1_p1 (-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc (216)
_I gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

図1 (XenD22914) -ヒト_IL12p40_ (GGGGS) 2_Fc (216) _I gG1_p1 (-) 等比体積_
A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

IWELKKDVYVVELDNYDPAAGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAQYTCCHKGEVLSH
SLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTLRCEAKNYSGRFTCNWLTITISDITFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIIKPPDPKPNLQKLPLKNSRQVE
VSWEPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGSEREKKDRVFTDKTSATVICKRNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS/g
GGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPCCPAPPVAGPSVFLFPFKKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGE
VHNAAKTPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPDSIAVWESDGGQFENNYKTTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

【図 3 3 K】

>XENP29964
ヒト_IL12p40 (GGGGS) 2-ヒト_IL12p35 (N151K) (GGGGS) 2-Fc (216) _I gG
1_p1 (-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc (216) _I gG1
C220S/PVA/S267K/S364K/E357Q

図1 (XenD22914) -ヒト_IL12p40_ (GGGGS) 2_Fc (216) _I gG1_p1 (-) 等比体積_
A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

IWELKKDVYVVELDNYDPAAGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAQYTCCHKGEVLSH
SLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTLRCEAKNYSGRFTCNWLTITISDITFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIIKPPDPKPNLQKLPLKNSRQVE
VSWEPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGSEREKKDRVFTDKTSATVICKRNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS/g
GGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPCCPAPPVAGPSVFLFPFKKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGE
VHNAAKTPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPDSIAVWESDGGQFENNYKTTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

図2 (XenD25913) -ヒト_IL12p35 (N151K) _ (GGGGS) 2_Fc (216) _I gG1_C22
0S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

RNLPVATPDPGMFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTEFYFCTSEEDHEDITKDKTSVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSFMALCLSSYIEDLKMYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFENSET
VFQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPCCPAPPVAGP
SVFLFPFKKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGEVHNAAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNL
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVWESNGQPENNYK
TTPFVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号238)

>XENP29965
ヒト_IL12p40 (GGGGS) 2-ヒト_IL12p35 (N151D/D165N) (GGGGS) 2-Fc (21
6) _I gG1_p1 (-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc (216)
_I gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

図1 (XenD22914) -ヒト_IL12p40_ (GGGGS) 2_Fc (216) _I gG1_p1 (-) 等比体積_
A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

IWELKKDVYVVELDNYDPAAGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAQYTCCHKGEVLSH
SLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTLRCEAKNYSGRFTCNWLTITISDITFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIIKPPDPKPNLQKLPLKNSRQVE
VSWEPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGSEREKKDRVFTDKTSATVICKRNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS/g
GGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPCCPAPPVAGPSVFLFPFKKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGE
VHNAAKTPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPDSIAVWESDGGQFENNYKTTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

【図 3 3 L】

図2 (XenD25914) -ヒト_IL12p35 (N151D/D165N) - (GGGGS) 2_Fc (216)
_I gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

RNLVPATPDGFMFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTEFYPTCSSEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSS1YEDLKMYYVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFDSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKHTHTCCPCAPPVAGP
SVLEFPFKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SAKAGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFPYSDIAVWEESNGQPENNYK
TTPFVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号239)

>XENP29966
ヒト_IL12p40_ (GGGGS) 2-ヒト_IL12p35 (Q130E/N151D) - (GGGGS) 2-Fc (216)
I gG1_p1 (-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc (216) -
I gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

図1 (XenD22914) -ヒト_IL12p40_ (GGGGS) 2_Fc (216) -I gG1_p1 (-) 等比体積_
A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

IWELKKDVYVVELDWYDPAGEMVVLCDTPEEDGITWTLDQSSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAQYTCHKGGEVLSH
SLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCNWLTTISTDLTFSVKSRRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVRGDNKEYEYSEVCEQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFFIRDIIKPPDPKNLQKLPLKNSRQVE
VSWEYPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWEASVPCS/G
GGSGGGGS/EPKSSDKHTHTCCPCAPPVAGSVLEFPFKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SAKAGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWEESDGPENNYKTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

図2 (XenD25915) -ヒト_IL12p35 (Q130E/N151D) - (GGGGS) 2_Fc (216)
_I gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

RNLVPATPDGFMFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTEFYPTCSSEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSS1YEDLKMYYVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFDSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKHTHTCCPCAPPVAGP
SVLEFPFKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SAKAGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFPYSDIAVWEESNGQPENNYK
TTPFVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号240)

【図 3 3 N】

図2 (XenD25917) -ヒト_IL12p35 (E79D/N151D) - (GGGGS) 2_Fc (216)
_I gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

RNLVPATPDGFMFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTEFYPTCSSEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RQTSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSS1YEDLKMYYVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFDSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKHTHTCCPCAPPVAGP
SVLEFPFKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SAKAGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFPYSDIAVWEESNGQPENNYK
TTPFVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号242)

>XENP29969
ヒト_IL12p40_ (GGGGS) 2-ヒト_IL12p35 (D55Q/N151D) - (GGGGS) 2-Fc (216)
I gG1_p1 (-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc (216) -
I gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

図1 (XenD22914) -ヒト_IL12p40_ (GGGGS) 2_Fc (216) -I gG1_p1 (-) 等比体積_
A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

IWELKKDVYVVELDWYDPAGEMVVLCDTPEEDGITWTLDQSSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAQYTCHKGGEVLSH
SLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCNWLTTISTDLTFSVKSRRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVRGDNKEYEYSEVCEQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFFIRDIIKPPDPKNLQKLPLKNSRQVE
VSWEYPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWEASVPCS/G
GGSGGGGS/EPKSSDKHTHTCCPCAPPVAGSVLEFPFKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SAKAGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWEESDGPENNYKTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

図2 (XenD25918) -ヒト_IL12p35 (D55Q/N151D) - (GGGGS) 2_Fc (216)
_I gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

RNLVPATPDGFMFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTEFYPTCSSEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSS1YEDLKMYYVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFDSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKHTHTCCPCAPPVAGP
SVLEFPFKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SAKAGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFPYSDIAVWEESNGQPENNYK
TTPFVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号243)

【図 3 3 M】

>XENP29967
ヒト_IL12p40_ (GGGGS) 2-ヒト_IL12p35 (N151D/K158E) - (GGGGS) 2-Fc (216) -I gG1_p1 (-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc (216) -I gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

図1 (XenD22914) -ヒト_IL12p40_ (GGGGS) 2_Fc (216) -I gG1_p1 (-) 等比体積_
A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

IWELKKDVYVVELDWYDPAGEMVVLCDTPEEDGITWTLDQSSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAQYTCHKGGEVLSH
SLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCNWLTTISTDLTFSVKSRRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVRGDNKEYEYSEVCEQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFFIRDIIKPPDPKNLQKLPLKNSRQVE
VSWEYPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWEASVPCS/G
GGSGGGGS/EPKSSDKHTHTCCPCAPPVAGSVLEFPFKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SAKAGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWEESDGPENNYKTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

図2 (XenD25916) -ヒト_IL12p35 (N151D/K158E) - (GGGGS) 2_Fc (216)
_I gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

RNLVPATPDGFMFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTEFYPTCSSEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSS1YEDLKMYYVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFDSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKHTHTCCPCAPPVAGP
SVLEFPFKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SAKAGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFPYSDIAVWEESNGQPENNYK
TTPFVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号241)

>XENP29968
ヒト_IL12p40_ (GGGGS) 2-ヒト_IL12p35 (E79Q/N151D) - (GGGGS) 2-Fc (216)
I gG1_p1 (-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc (216) -
I gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

図1 (XenD22914) -ヒト_IL12p40_ (GGGGS) 2_Fc (216) -I gG1_p1 (-) 等比体積_
A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

IWELKKDVYVVELDWYDPAGEMVVLCDTPEEDGITWTLDQSSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAQYTCHKGGEVLSH
SLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCNWLTTISTDLTFSVKSRRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVRGDNKEYEYSEVCEQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFFIRDIIKPPDPKNLQKLPLKNSRQVE
VSWEYPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWEASVPCS/G
GGSGGGGS/EPKSSDKHTHTCCPCAPPVAGSVLEFPFKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SAKAGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWEESDGPENNYKTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

【図 3 3 O】

>XENP29970
ヒト_IL12p40_ (GGGGS) 2-ヒト_IL12p35 (N136D/N151D) - (GGGGS) 2-Fc (216)
I gG1_p1 (-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc (216) -
I gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

図1 (XenD22914) -ヒト_IL12p40_ (GGGGS) 2_Fc (216) -I gG1_p1 (-) 等比体積_
A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

IWELKKDVYVVELDWYDPAGEMVVLCDTPEEDGITWTLDQSSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAQYTCHKGGEVLSH
SLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCNWLTTISTDLTFSVKSRRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVRGDNKEYEYSEVCEQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFFIRDIIKPPDPKNLQKLPLKNSRQVE
VSWEYPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWEASVPCS/G
GGSGGGGS/EPKSSDKHTHTCCPCAPPVAGSVLEFPFKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SAKAGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWEESDGPENNYKTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

図2 (XenD25919) -ヒト_IL12p35 (E136D/N151D) - (GGGGS) 2_Fc (216)
_I gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

RNLVPATPDGFMFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTEFYPTCSSEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSS1YEDLKMYYVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFDSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKHTHTCCPCAPPVAGP
SVLEFPFKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SAKAGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFPYSDIAVWEESNGQPENNYK
TTPFVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号244)

>XENP29971
ヒト_IL12p40_ (GGGGS) 2-ヒト_IL12p35 (N21D/N151D) - (GGGGS) 2-Fc (216)
I gG1_p1 (-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc (216) -
I gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

図1 (XenD22914) -ヒト_IL12p40_ (GGGGS) 2_Fc (216) -I gG1_p1 (-) 等比体積_
A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

IWELKKDVYVVELDWYDPAGEMVVLCDTPEEDGITWTLDQSSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAQYTCHKGGEVLSH
SLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCNWLTTISTDLTFSVKSRRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVRGDNKEYEYSEVCEQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFFIRDIIKPPDPKNLQKLPLKNSRQVE
VSWEYPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWEASVPCS/G
GGSGGGGS/EPKSSDKHTHTCCPCAPPVAGSVLEFPFKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SAKAGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWEESDGPENNYKTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

【図 3 3 P】

組 2 (XenD25920) -ヒト_1L12p35 (N21D/N151D) - (GGGGS) 2_Fc (216)
 -I g G1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

RNLVATPDGMPFCLHSSQDLRAVSNMLQKARQLEFYPTCTSEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
 RETSFITNGSCLASRKTSPMMLCLSSIEDLKQYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMALVIDELMQALNFDSET
 VPQKSSLEEFDFYTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKHTTCTPCPPAPVAGP
 SVFLFPKPKDTLMSRTEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNATKFRREEQYNSTYRVVSVLTLHQDWLNL
 GKEYKCKVSNKALPAPIETKISKAGQPREPQVYTLPPSRQMTKNQVKLTLVKGFPYSDIAVEVESNGQPENNYK
 TTPFVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGVNFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号 245)

>XENP29972
 ヒト_1L12p40 (GGGGS) 2-ヒト_1L12p35 (E143Q/N151D) - (GGGGS) 2_Fc (216)
 -I g G1_p1 (-) 等比価 A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc (216-I
 g G1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

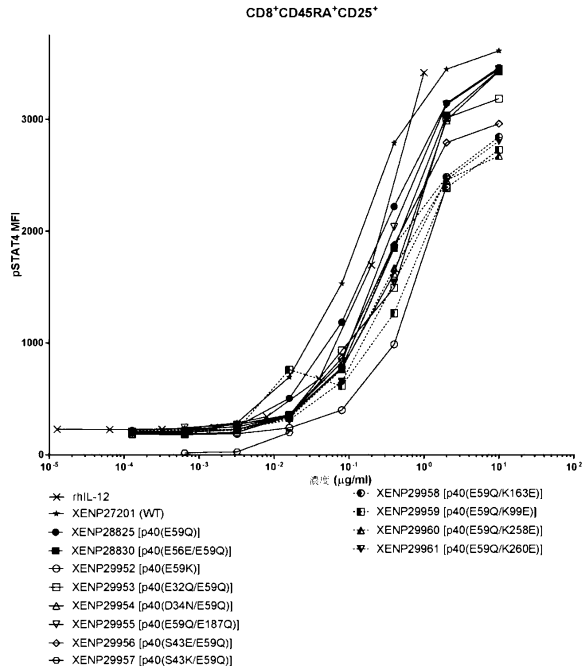
組 1 (XenD22914) -ヒト_1L12p40 (GGGGS) 2_Fc (216) -I g G1_p1 (-) 等比価
 A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

IWLKDVVVELDWDYDPADEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHEGSEVLH
 SLLLLHKEDGINSIDLKQKPEKNTFLRCEAKNYSGRFTCWNLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
 AERVGDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLPVENVDAVHLKYENYTSFFIRDIKPDPPKNIQLKPLKNSRQVE
 VSWYEDTWSPTHSYFSLTFCVQVQGSKREKDRVFTDKTSATVICRNASISVRAQDRYSSSEWASVPSCS/G
 GGGSGGGGS/EPKSSDKHTTCTPCPPAPVAGPVPKPKDTLMSRTEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVE
 VHNATKFRREEQYNSTYRVVSVLTLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIETKISKAGQPREPQVYTLPPSRQMTKN
 QVSLTCDVSGFYPSDIAVEVESNGQPENNYKTTTPFVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGVNFSCVMHEALHNHYT
 QKSLSLSPGK (配列番号 XXX)

組 2 (XenD25921) -ヒト_1L12p35 (E143Q/N151D) - (GGGGS) 2_Fc (216)
 -I g G1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

RNLVATPDGMPFCLHSSQDLRAVSNMLQKARQLEFYPTCTSEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
 RETSFITNGSCLASRKTSPMMLCLSSIEDLKQYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMALVIDELMQALNFDSET
 VPQKSSLEEFDFYTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKHTTCTPCPPAPVAGP
 SVFLFPKPKDTLMSRTEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNATKFRREEQYNSTYRVVSVLTLHQDWLNL
 GKEYKCKVSNKALPAPIETKISKAGQPREPQVYTLPPSRQMTKNQVKLTLVKGFPYSDIAVEVESNGQPENNYK
 TTPFVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGVNFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号 246)

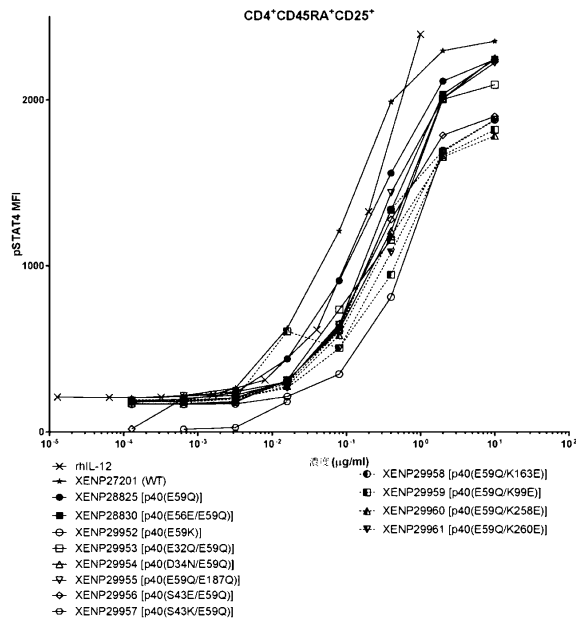
【図 3 4 A】



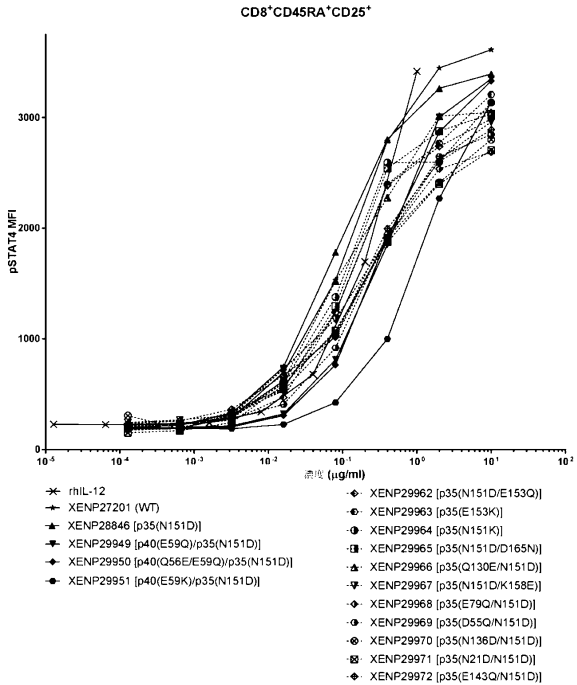
10

20

【図 3 4 B】



【図 3 5 A】

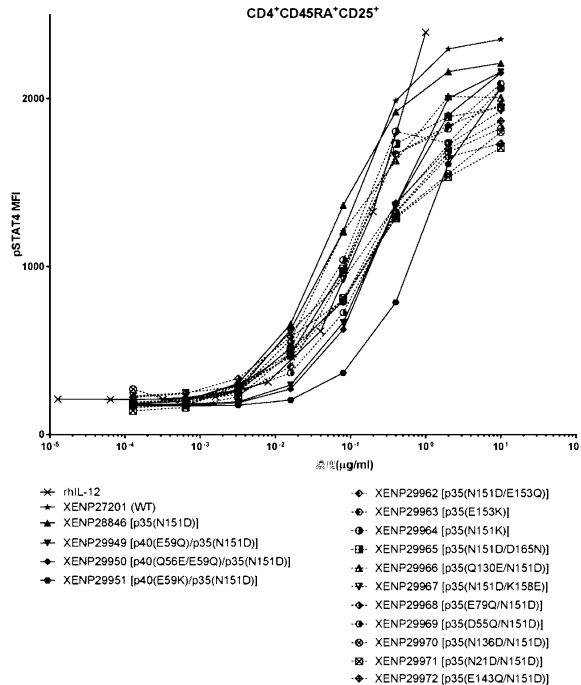


30

40

50

【図 3 5 B】



【図 3 6】

		PSTAT4 EC50		EC50 の減少倍率			
XENP	1 L-1 2 p 4 0 バリエーション	1 L-1 2 p 3 5 バリエーション	CD4+ CD45RA+ CD25+	CD8+ CD45RA+ CD25+	CD4+ CD45RA+ CD25+	CD8+ CD45RA+ CD25+	
27201	WT	WT	0.08704	0.1286			
28825	E59Q	WT	0.1737	0.2259	2.00	1.76	
28830	Q56E/E59Q	WT	0.3278	0.41	3.77	3.19	
28846	WT	N151D	0.05648	0.08265	0.65	0.64	
29949	E59Q	N151D	0.2748	0.3765	3.16	2.93	
29950	Q56E/E59Q	N151D	0.2794	0.3592	3.21	2.79	
29951	E59K	N151D	0.9019	1.195	10.36	9.29	
29952	E59K	WT	1.012	1.547	11.63	12.03	
29953	E32Q/E59Q	WT	0.3248	0.4581	3.73	3.56	
29954	D34N/E59Q	WT	0.4004	0.5114	4.60	3.98	
29955	E59Q/E187Q	WT	0.2823	0.3446	3.24	2.68	
29956	S43E/E59Q	WT	0.2149	0.2776	2.47	2.16	
29957	S43K/E59Q	WT	N/A	N/A	N/A	N/A	
29958	E59Q/K163E	WT	0.2182	0.2643	2.51	2.06	
29959	E59Q/K99E	WT	0.4892	0.6045	5.62	4.70	
29960	E59Q/K258E	WT	0.2553	0.2885	2.93	2.24	
29961	E59Q/K260E	WT	0.3782	0.4094	4.35	3.18	
29962	WT	N151D/E153Q	0.09898	0.128	1.14	1.00	
29963	WT	E153K	0.1044	0.1458	1.20	1.13	
29964	WT	N151K	0.07835	0.1011	0.90	0.79	
29965	WT	N151D/D165N	0.08989	0.118	1.03	0.92	
29966	WT	Q130E/N151D	0.06791	0.1092	0.78	0.85	
29967	WT	N151D/K158E	0.1255	0.1984	1.44	1.54	
29968	WT	E79Q/N151D	0.1367	0.1862	1.57	1.45	
29969	WT	D55Q/N151D	0.1769	0.2245	2.03	1.75	
29970	WT	N136D/N151D	0.145	0.188	1.67	1.46	
29971	WT	N21D/N151D	0.1043	0.1561	1.20	1.21	
29972	WT	E143Q/N151D	0.1426	0.1919	1.64	1.49	

【図 3 7 A】

>IL12p40(E59K/K99E)

IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEKGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKKFGDAGQYTCCHK
GGEVLSSHLLLLHKKEDGIWSTDILKDQEPKNTFLRCEAKNYSGRFTCWMLTTISTDLTFSVKSSRGS
SDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQEDSACPAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDI
IKPDPKPNLQKPLKNSRQVEVSWEPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS (配列番号 X X X)

>IL12p40(D34N/E59K)

IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEKGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKKFGDAGQYTCCHK
GGEVLSSHLLLLHKKEDGIWSTDILKDQEPKNTFLRCEAKNYSGRFTCWMLTTISTDLTFSVKSSRGS
SDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQEDSACPAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDI
IKPDPKPNLQKPLKNSRQVEVSWEPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS (配列番号 X X X)

>IL12p40(D34N/E59K/K99E)

IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEKGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKKFGDAGQYTCCHK
GGEVLSSHLLLLHKKEDGIWSTDILKDQEPKNTFLRCEAKNYSGRFTCWMLTTISTDLTFSVKSSRGS
SDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQEDSACPAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDI
IKPDPKPNLQKPLKNSRQVEVSWEPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS (配列番号 X X X)

>IL12p40(D34K/E59K/K99E)

IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEKGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKKFGDAGQYTCCHK
GGEVLSSHLLLLHKKEDGIWSTDILKDQEPKNTFLRCEAKNYSGRFTCWMLTTISTDLTFSVKSSRGS
SDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQEDSACPAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDI
IKPDPKPNLQKPLKNSRQVEVSWEPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS (配列番号 X X X)

>IL12p40(E32Q/D34N/E59K/K99E)

IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEKGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKKFGDAGQYTCCHK
GGEVLSSHLLLLHKKEDGIWSTDILKDQEPKNTFLRCEAKNYSGRFTCWMLTTISTDLTFSVKSSRGS
SDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQEDSACPAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDI
IKPDPKPNLQKPLKNSRQVEVSWEPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS (配列番号 X X X)

【図 3 7 B】

>IL12p40(E32Q/D34K/E59K/K99E)

IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEKGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKKFGDAGQYTCCHK
GGEVLSSHLLLLHKKEDGIWSTDILKDQEPKNTFLRCEAKNYSGRFTCWMLTTISTDLTFSVKSSRGS
SDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQEDSACPAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDI
IKPDPKPNLQKPLKNSRQVEVSWEPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS (配列番号 X X X)

>IL12p40(E32K/D34N/E59K/K99E)

IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEKGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKKFGDAGQYTCCHK
GGEVLSSHLLLLHKKEDGIWSTDILKDQEPKNTFLRCEAKNYSGRFTCWMLTTISTDLTFSVKSSRGS
SDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQEDSACPAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDI
IKPDPKPNLQKPLKNSRQVEVSWEPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS (配列番号 X X X)

>IL12p40(E32K/D34K/E59K/K99E)

IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEKGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKKFGDAGQYTCCHK
GGEVLSSHLLLLHKKEDGIWSTDILKDQEPKNTFLRCEAKNYSGRFTCWMLTTISTDLTFSVKSSRGS
SDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQEDSACPAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDI
IKPDPKPNLQKPLKNSRQVEVSWEPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS (配列番号 X X X)

10

20

30

40

50

【図 3 8】

>IL12p35(D55Q)

RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPTCTSEEIDHEDITKQKTSTVEACLPLELTK
NESCLNSRETSFITNGSCLASRKTSFMALCLSSIYEDLKMVQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMILAV
IDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS (配列番号XXX)

>IL12p35(D55K)

RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPTCTSEEIDHEDITKKTSTVEACLPLELTK
NESCLNSRETSFITNGSCLASRKTSFMALCLSSIYEDLKMVQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMILAV
IDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS (配列番号XXX)

【図 3 9 A】

>XENP30597 ヒト IL12p40_E59K/K99E_ (GGGGS) 2-ヒト IL12p35_ (GGGGS) 2-
Fc (216) -I gG1_p1 (-) 等比価_ A_C220S/PVA /S267K/L368D/K370S_Fc (216) -I gG1_C220S/PVA /S
267K/S364K/E357Q
組1 (XenD26411) -
ヒト IL12p40_E59K/K99E_ (GGGGS) 2_Fc (216) -I gG1_p1 (-
) 等比価_ A_C220S/PVA /S267K/L368D/K370S

INELKKDVYVVELDWYPDAGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYTCHKGGEVLSH
SLLLLHKKEDGINSIDLKDQEEPKNKTLFRCFAKNYSGRFTCNWLTITISDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGRDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDI IKPDPKPNLQ/LKPLKNSRQVE
VSWEYPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWEASVPCS/G
GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGSVFLFPFKDITLMSRTPEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYDVGVE
VHNAKTPREEEYNSTRYRVSVLTVLHQDLNKGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDGPENNYKTTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKRSWEQGDVFSVSMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

組2 (XenD22915) -
ヒト IL12p35_ (GGGGS) 2_Fc (216) -I gG1_C220S/PVA /S267K/S364K
/E357Q
RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPTCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSFMALCLSSIYEDLKMVQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMILAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGP
SVFLFPFKDITLMSRTPEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYDVGVEVHNAKTPREEQYNSTRYRVSVLTVLHQDLN
KGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKTCLVKGFPYPSDIAVWESNGQPENNYK
TTPFVLDSGGSFFLYSKLTVDKRSWQGNVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

>XENP30598 ヒト IL12p40_D34N/E59K_ (GGGGS) 2-ヒト IL12p35_ (GG
GGS) 2-Fc (216) -I gG1_p1 (-) 等比価_ A_C220S/PVA /S267K/L368D/
K370S_Fc (216) -I gG1_C220S/PVA /S267K/S364K/E357Q
組1 (XenD26412) -
ヒト IL12p40_D34N/E59K_ (GGGGS) 2_Fc (216) -I gG1_p1 (-
) 等比価_ A_C220S/PVA /S267K/L368D/K370S

INELKKDVYVVELDWYPDAGEMVVLTCDTPEENGITWTLDSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYTCHKGGEVLSH
SLLLLHKKEDGINSIDLKDQEEPKNKTLFRCFAKNYSGRFTCNWLTITISDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGRDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDI IKPDPKPNLQ/LKPLKNSRQVE
VSWEYPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWEASVPCS/G
GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGSVFLFPFKDITLMSRTPEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYDVGVE
VHNAKTPREEEYNSTRYRVSVLTVLHQDLNKGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDGPENNYKTTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKRSWEQGDVFSVSMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

【図 3 9 B】

組2 (XenD22915) -
ヒト IL12p35_ (GGGGS) 2_Fc (216) -I gG1_C220S/PVA /S267K/S364K
/E357Q
RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPTCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSFMALCLSSIYEDLKMVQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMILAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGP
SVFLFPFKDITLMSRTPEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYDVGVEVHNAKTPREEQYNSTRYRVSVLTVLHQDLN
KGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKTCLVKGFPYPSDIAVWESNGQPENNYK
TTPFVLDSGGSFFLYSKLTVDKRSWQGNVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

>XENP30599 ヒト IL12p40_D34N/E59K/K99E_ (GGGGS) 2-ヒト IL12p3
5_ (GGGGS) 2-Fc (216) -I gG1_p1 (-) 等比価_ A_C220S/PVA /S267K/L
368D/K370S_Fc (216) -I gG1_C220S/PVA /S267K/S364K/E357Q
組1 (XenD26413) -
ヒト IL12p40_D34N/E59K/K99E_ (GGGGS) 2_Fc (216) -I gG1_p1 (-
) 等比価_ A_C220S/PVA /S267K/L368D/K370S

INELKKDVYVVELDWYPDAGEMVVLTCDTPEENGITWTLDSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYTCHKGGEVLSH
SLLLLHKKEDGINSIDLKDQEEPKNKTLFRCFAKNYSGRFTCNWLTITISDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGRDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDI IKPDPKPNLQ/LKPLKNSRQVE
VSWEYPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWEASVPCS/G
GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGSVFLFPFKDITLMSRTPEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYDVGVE
VHNAKTPREEEYNSTRYRVSVLTVLHQDLNKGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDGPENNYKTTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKRSWEQGDVFSVSMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

組2 (XenD22915) -
ヒト IL12p35_ (GGGGS) 2_Fc (216) -I gG1_C220S/PVA /S267K/S364K
/E357Q
RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPTCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSFMALCLSSIYEDLKMVQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMILAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGP
SVFLFPFKDITLMSRTPEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYDVGVEVHNAKTPREEQYNSTRYRVSVLTVLHQDLN
KGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKTCLVKGFPYPSDIAVWESNGQPENNYK
TTPFVLDSGGSFFLYSKLTVDKRSWQGNVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

【図 3 9 C】

>XENP30600 ヒト IL12p40_D34K/E59K/K99E_ (GGGGS) 2-ヒト IL12p35_
(GGGGS) 2-Fc (216) -I gG1_p1 (-) 等比価_ A_C220S/PVA /S267K/L368D/
K370S_Fc (216) -I gG1_C220S/PVA /S267K/S364K/E357Q
組1 (XenD26414) -
ヒト IL12p40_D34K/E59K/K99E_ (GGGGS) 2_Fc (216) -I gG1_p1 (-
) 等比価_ A_C220S/PVA /S267K/L368D/K370S

INELKKDVYVVELDWYPDAGEMVVLTCDTPEENGITWTLDSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYTCHKGGEVLSH
SLLLLHKKEDGINSIDLKDQEEPKNKTLFRCFAKNYSGRFTCNWLTITISDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGRDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDI IKPDPKPNLQ/LKPLKNSRQVE
VSWEYPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWEASVPCS/G
GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGSVFLFPFKDITLMSRTPEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYDVGVE
VHNAKTPREEEYNSTRYRVSVLTVLHQDLNKGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDGPENNYKTTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKRSWEQGDVFSVSMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

組2 (XenD22915) -
ヒト IL12p35_ (GGGGS) 2_Fc (216) -I gG1_C220S/PVA /S267K/S364K
/E357Q
RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPTCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSFMALCLSSIYEDLKMVQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMILAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGP
SVFLFPFKDITLMSRTPEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYDVGVEVHNAKTPREEQYNSTRYRVSVLTVLHQDLN
KGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKTCLVKGFPYPSDIAVWESNGQPENNYK
TTPFVLDSGGSFFLYSKLTVDKRSWQGNVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

>XENP30601 ヒト IL12p40_E32Q/D34N/E59K/K99E_ (GGGGS) 2-ヒト IL12
p35_ (GGGGS) 2-Fc (216) -I gG1_p1 (-) 等比価_ A_C220S/PVA /S267K/L3
68D/K370S_Fc (216) -I gG1_C220S/PVA /S267K/S364K/E357Q
組1 (XenD26415) -ヒト IL12p40_E32Q/D34N/E59K/K99E_ (GGGGS) 2_Fc (2
16) -I gG1_p1 (-) 等比価_ A_C220S/PVA /S267K/L368D/K370S

INELKKDVYVVELDWYPDAGEMVVLTCDTPEENGITWTLDSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYTCHKGGEVLSH
SLLLLHKKEDGINSIDLKDQEEPKNKTLFRCFAKNYSGRFTCNWLTITISDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGRDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDI IKPDPKPNLQ/LKPLKNSRQVE
VSWEYPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWEASVPCS/G
GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGSVFLFPFKDITLMSRTPEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYDVGVE
VHNAKTPREEEYNSTRYRVSVLTVLHQDLNKGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDGPENNYKTTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKRSWEQGDVFSVSMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

10

20

30

40

50

【図 3 9 D】

組2 (XenD22915) -
- 1L12p35_ (GGGGS) 2_Fc (216) _I gG1_C220S/PVA_ /S267K/S364K /E357Q
RNLPVATPDGPMFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLFEPYCTSEEDIHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMALCLSSIYEDLKNYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPYFKTKIKLCILLHAFAIRAVTIDRVMSYLNAS /GGGSGGGGS /EPKSSDKTHTCCPCPAPVAGP
SVLEFPFKPDITLMSIRTPTEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTKQKLSLSPGK (配列番号XXX)

>XENP30602 - 1L12p40_E32Q/D34K/E59K/K99E_ (GGGGS) 2_- 1L12p35_ (GGGGS) 2_Fc (216) _I gG1_p1 (-)
_ 等比価 A_C220S/PVA_ /S267K/L368D/K370S_Fc (216) _I gG1_C220S/PVA_ /S267K/S364K/E357Q

組1 (XenD26416) - 1L12p40_E32Q/D34K/E59K/K99E_ (GGGGS) 2_Fc (216) _I gG1_p1 (-)
_ 等比価 A_C220S/PVA_ /S267K/L368D/K370S

INELKKDVYVVELDWPDPAGEMVLTCDTPKEGKITWTLDQSSSEVLGSGKTLTIQVKKFGDAQYTCXGGEVLSH
SLLLLHKKEGINSWTDILKDQEEPKNKTLFRCFAKNYSGRFTCNWLTITISDITLTFVSKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVRGDNKEYEYSVEQEDSACPAEESLPTEVMVDAVHKLYENYTSFFIRDI IKPDPKPNLQKPLKNSRQVE
VSWEYPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYSNWSWASVPCS/G
GGSGGGGS /EPKSSDKTHTCCPCPAPVAGPSVLEFPFKPDITLMSIRTPTEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPDSIAVEWESDGPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGDVFCSCVMHEALHNNHYT
QKLSLSLSPGK (配列番号XXX)

組2 (XenD22915) -
- 1L12p35_ (GGGGS) 2_Fc (216) _I gG1_C220S/PVA_ /S267K/S364K /E357Q
RNLPVATPDGPMFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLFEPYCTSEEDIHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMALCLSSIYEDLKNYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPYFKTKIKLCILLHAFAIRAVTIDRVMSYLNAS /GGGSGGGGS /EPKSSDKTHTCCPCPAPVAGP
SVLEFPFKPDITLMSIRTPTEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTKQKLSLSLSPGK (配列番号XXX)

【図 3 9 F】

組2 (XenD22915) -
- 1L12p35_ (GGGGS) 2_Fc (216) _I gG1_C220S/PVA_ /S267K/S364K/E357Q
RNLPVATPDGPMFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLFEPYCTSEEDIHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMALCLSSIYEDLKNYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPYFKTKIKLCILLHAFAIRAVTIDRVMSYLNAS /GGGSGGGGS /EPKSSDKTHTCCPCPAPVAGP
SVLEFPFKPDITLMSIRTPTEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTKQKLSLSLSPGK (配列番号XXX)

>XENP30605 - 1L12p40_E32Q/D34N/E59K/K99E_ (GGGGS) 2_- 1L12p35_D55Q_ (GGGGS) 2_Fc (216) _I gG1_p1 (-)
_ 等比価 A_C220S/PVA_ /S267K/L368D/K370S_Fc (216) _I gG1_C220S/PVA_ /S267K/S364K/E357Q

組1 (XenD26415) -
- 1L12p40_E32Q/D34N/E59K/K99E_ (GGGGS) 2_Fc (216) _I gG1_p1 (-)
_ 等比価 A_C220S/PVA_ /S267K/L368D/K370S

INELKKDVYVVELDWPDPAGEMVLTCDTPKEGKITWTLDQSSSEVLGSGKTLTIQVKKFGDAQYTCXGGEVLSH
SLLLLHKKEGINSWTDILKDQEEPKNKTLFRCFAKNYSGRFTCNWLTITISDITLTFVSKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVRGDNKEYEYSVEQEDSACPAEESLPTEVMVDAVHKLYENYTSFFIRDI IKPDPKPNLQKPLKNSRQVE
VSWEYPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYSNWSWASVPCS/G
GGSGGGGS /EPKSSDKTHTCCPCPAPVAGPSVLEFPFKPDITLMSIRTPTEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPDSIAVEWESDGPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGDVFCSCVMHEALHNNHYT
QKLSLSLSPGK (配列番号XX)

組2 (XenD26427) -
- 1L12p35_D55Q_ (GGGGS) 2_Fc (216) _I gG1_C220S/PVA_ /S267K/S364K/E357Q
RNLPVATPDGPMFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLFEPYCTSEEDIHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMALCLSSIYEDLKNYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPYFKTKIKLCILLHAFAIRAVTIDRVMSYLNAS /GGGSGGGGS /EPKSSDKTHTCCPCPAPVAGP
SVLEFPFKPDITLMSIRTPTEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTKQKLSLSLSPGK (配列番号XXX)

【図 3 9 E】

>XENP30603 - 1L12p40_E32K/D34N/E59K/K99E_ (GGGGS) 2_- 1L12p35_ (GGGGS) 2_Fc (216) _I gG1_p1 (-)
_ 等比価 A_C220S/PVA_ /S267K/L368D/K370S_Fc (216) _I gG1_C220S/PVA_ /S267K/S364K/E357Q

組1 (XenD26417) -
- 1L12p40_E32K/D34N/E59K/K99E_ (GGGGS) 2_Fc (216) _I gG1_p1 (-)
_ 等比価 A_C220S/PVA_ /S267K/L368D/K370S

INELKKDVYVVELDWPDPAGEMVLTCDTPKEGKITWTLDQSSSEVLGSGKTLTIQVKKFGDAQYTCXGGEVLSH
SLLLLHKKEGINSWTDILKDQEEPKNKTLFRCFAKNYSGRFTCNWLTITISDITLTFVSKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVRGDNKEYEYSVEQEDSACPAEESLPTEVMVDAVHKLYENYTSFFIRDI IKPDPKPNLQKPLKNSRQVE
VSWEYPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYSNWSWASVPCS/G
GGSGGGGS /EPKSSDKTHTCCPCPAPVAGPSVLEFPFKPDITLMSIRTPTEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPDSIAVEWESDGPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGDVFCSCVMHEALHNNHYT
QKLSLSLSPGK (配列番号XXX)

組2 (XenD22915) -
- 1L12p35_ (GGGGS) 2_Fc (216) _I gG1_C220S/PVA_ /S267K/S364K/E357Q
RNLPVATPDGPMFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLFEPYCTSEEDIHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMALCLSSIYEDLKNYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPYFKTKIKLCILLHAFAIRAVTIDRVMSYLNAS /GGGSGGGGS /EPKSSDKTHTCCPCPAPVAGP
SVLEFPFKPDITLMSIRTPTEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTKQKLSLSLSPGK (配列番号XXX)

>XENP30604 - 1L12p40_E32K/D34K/E59K/K99E_ (GGGGS) 2_- 1L12p35_ (GGGGS) 2_Fc (216) _I gG1_p1 (-)
_ 等比価 A_C220S/PVA_ /S267K/L368D/K370S_Fc (216) _I gG1_C220S/PVA_ /S267K/S364K/E357Q

組1 (XenD26418) -
- 1L12p40_E32K/D34K/E59K/K99E_ (GGGGS) 2_Fc (216) _I gG1_p1 (-)
_ 等比価 A_C220S/PVA_ /S267K/L368D/K370S

INELKKDVYVVELDWPDPAGEMVLTCDTPKEGKITWTLDQSSSEVLGSGKTLTIQVKKFGDAQYTCXGGEVLSH
SLLLLHKKEGINSWTDILKDQEEPKNKTLFRCFAKNYSGRFTCNWLTITISDITLTFVSKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVRGDNKEYEYSVEQEDSACPAEESLPTEVMVDAVHKLYENYTSFFIRDI IKPDPKPNLQKPLKNSRQVE
VSWEYPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYSNWSWASVPCS/G
GGSGGGGS /EPKSSDKTHTCCPCPAPVAGPSVLEFPFKPDITLMSIRTPTEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPDSIAVEWESDGPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGDVFCSCVMHEALHNNHYT
QKLSLSLSPGK (配列番号XXX)

【図 3 9 G】

>XENP30606 - 1L12p40_E32Q/D34K/E59K/K99E_ (GGGGS) 2_- 1L12p35_D55Q_ (GGGGS) 2_Fc (216) _I gG1_p1 (-)
_ 等比価 A_C220S/PVA_ /S267K/L368D/K370S_Fc (216) _I gG1_C220S/PVA_ /S267K/S364K/E357Q

組1 (XenD26416) -
- 1L12p40_E32K/D34K/E59K/K99E_ (GGGGS) 2_Fc (216) _I gG1_p1 (-)
_ 等比価 A_C220S/PVA_ /S267K/L368D/K370S

INELKKDVYVVELDWPDPAGEMVLTCDTPKEGKITWTLDQSSSEVLGSGKTLTIQVKKFGDAQYTCXGGEVLSH
SLLLLHKKEGINSWTDILKDQEEPKNKTLFRCFAKNYSGRFTCNWLTITISDITLTFVSKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVRGDNKEYEYSVEQEDSACPAEESLPTEVMVDAVHKLYENYTSFFIRDI IKPDPKPNLQKPLKNSRQVE
VSWEYPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYSNWSWASVPCS/G
GGSGGGGS /EPKSSDKTHTCCPCPAPVAGPSVLEFPFKPDITLMSIRTPTEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPDSIAVEWESDGPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGDVFCSCVMHEALHNNHYT
QKLSLSLSPGK (配列番号XXX)

組2 (XenD26427) -
- 1L12p35_D55Q_ (GGGGS) 2_Fc (216) _I gG1_C220S/PVA_ /S267K/S364K/E357Q
RNLPVATPDGPMFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLFEPYCTSEEDIHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMALCLSSIYEDLKNYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPYFKTKIKLCILLHAFAIRAVTIDRVMSYLNAS /GGGSGGGGS /EPKSSDKTHTCCPCPAPVAGP
SVLEFPFKPDITLMSIRTPTEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTKQKLSLSLSPGK (配列番号XXX)

>XENP30607 - 1L12p40_E32K/D34N/E59K/K99E_ (GGGGS) 2_- 1L12p35_D55Q_ (GGGGS) 2_Fc (216) _I gG1_p1 (-)
_ 等比価 A_C220S/PVA_ /S267K/L368D/K370S_Fc (216) _I gG1_C220S/PVA_ /S267K/S364K/E357Q

組1 (XenD26417) -
- 1L12p40_E32K/D34N/E59K/K99E_ (GGGGS) 2_Fc (216) _I gG1_p1 (-)
_ 等比価 A_C220S/PVA_ /S267K/L368D/K370S

INELKKDVYVVELDWPDPAGEMVLTCDTPKEGKITWTLDQSSSEVLGSGKTLTIQVKKFGDAQYTCXGGEVLSH
SLLLLHKKEGINSWTDILKDQEEPKNKTLFRCFAKNYSGRFTCNWLTITISDITLTFVSKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVRGDNKEYEYSVEQEDSACPAEESLPTEVMVDAVHKLYENYTSFFIRDI IKPDPKPNLQKPLKNSRQVE
VSWEYPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYSNWSWASVPCS/G
GGSGGGGS /EPKSSDKTHTCCPCPAPVAGPSVLEFPFKPDITLMSIRTPTEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPDSIAVEWESDGPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGDVFCSCVMHEALHNNHYT
QKLSLSLSPGK (配列番号XXX)

【図 39 H】

順2 (XenD26427) -
ヒト_IL12p35_D55Q_ (GGGGS) 2_Fc (216) _IgG1_C220S/PVA_ /S267K/
S364K/E357Q
RNLVATPDGMPCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTEFYFCTSEEDHEDITKQKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSTFINGSCLASRKTSFMALCLSSIYEDLMYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNLAVIDELMQALNFNSET
VPQSSLEEDFYKTKIKLCILLHAFIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPPCAPPVAGP
SVLEFPFKPDKTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYDGVVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVLTCLVKGYFSPDIAVEWESNGPENNYK
TTPFVLDSDGSFFLYSKLTVKDSRWQGGNVFSCVMHEALHNNHYTQKSLSPGK (配列番号XXX)

>XENP30608 ヒト_IL12p40_E32K/D34K/E59K/K99E_ (GGGGS) 2-ヒト_IL12p35_D55Q_ (GGGGS) 2_Fc (216) _IgG1_pI (-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc (216) _IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

順1 (XenD26418) -
ヒト_IL12p40_E32K/D34K/E59K/K99E_ (GGGGS) 2_Fc (216) _IgG1_pI (-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

IWELKKDVYVVELDWYFDAPGEMVLTCDTPKEKGITWTLDQSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYTCRNGEVLSH
SLLLLHKEDGINSTDLKDQEEFNKATFLRCEAKNISGRFTCWMLTTISTDLTSVKSRRGSDPQGVTCGAATLS
AERVRGDNKEIYSVEQEDSACPAEESLPFIEVMVDVHKLKYNITSSFFIRDI IKPDPKNIQLKPLKNSRQVE
VSWYFDWSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWASVPCS/G
GGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPPCAPPVAGP SVLEFPFKPDKTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYDGV
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDQGPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVKDSRWEGDVFSCVMHEALHNNHYT
QKSLSPGK (配列番号XXX)

順2 (XenD26427) -
ヒト_IL12p35_D55Q_ (GGGGS) 2_Fc (216) _IgG1_C220S/PVA_/S267K/
S364K/E357Q

RNLVATPDGMPCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTEFYFCTSEEDHEDITKQKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSTFINGSCLASRKTSFMALCLSSIYEDLMYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNLAVIDELMQALNFNSET
VPQSSLEEDFYKTKIKLCILLHAFIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPPCAPPVAGP
SVLEFPFKPDKTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYDGVVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVLTCLVKGYFSPDIAVEWESNGPENNYK
TTPFVLDSDGSFFLYSKLTVKDSRWQGGNVFSCVMHEALHNNHYTQKSLSPGK (配列番号XXX)

【図 39 I】

>XENP30609 ヒト_IL12p40_E32K/D34K/E59K/K99E_ (GGGGS) 2-ヒト_IL12p35_D55Q_ (GGGGS) 2_Fc (216) _IgG1_pI (-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc (216) _IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

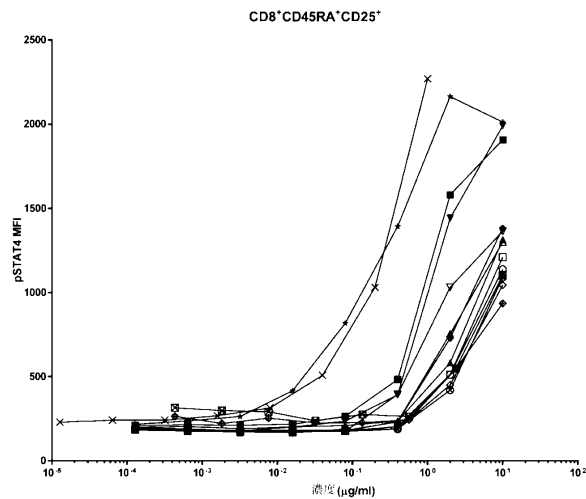
順1 (XenD26418) -
ヒト_IL12p40_E32K/D34K/E59K/K99E_ (GGGGS) 2_Fc (216) _IgG1_pI (-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

IWELKKDVYVVELDWYFDAPGEMVLTCDTPKEKGITWTLDQSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYTCRNGEVLSH
SLLLLHKEDGINSTDLKDQEEFNKATFLRCEAKNISGRFTCWMLTTISTDLTSVKSRRGSDPQGVTCGAATLS
AERVRGDNKEIYSVEQEDSACPAEESLPFIEVMVDVHKLKYNITSSFFIRDI IKPDPKNIQLKPLKNSRQVE
VSWYFDWSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWASVPCS/G
GGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPPCAPPVAGP SVLEFPFKPDKTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYDGV
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDQGPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVKDSRWEGDVFSCVMHEALHNNHYT
QKSLSPGK (配列番号XXX)

順2 (XenD26428) -
ヒト_IL12p35_D55Q_ (GGGGS) 2_Fc (216) _IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

RNLVATPDGMPCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTEFYFCTSEEDHEDITKQKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSTFINGSCLASRKTSFMALCLSSIYEDLMYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNLAVIDELMQALNFNSET
VPQSSLEEDFYKTKIKLCILLHAFIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPPCAPPVAGP
SVLEFPFKPDKTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYDGVVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVLTCLVKGYFSPDIAVEWESNGPENNYK
TTPFVLDSDGSFFLYSKLTVKDSRWQGGNVFSCVMHEALHNNHYTQKSLSPGK (配列番号XXX)

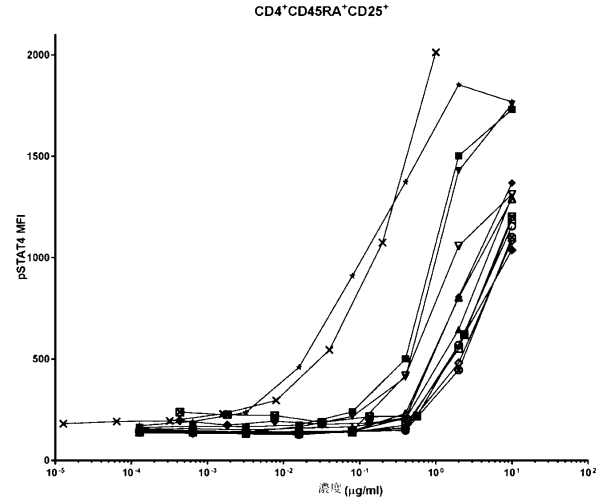
【図 40 A】



rhIL-12
XENP27201 (WT)
XENP29952 [p40(E59K)]
XENP30597 [p40(E59K/K99E)]
XENP30598 [p40(D34N/E59K)]
XENP30599 [p40(D34N/E59K/K99E)]
XENP30600 [p40(D34K/E59K/K99E)]
XENP30601 [p40(E32Q/D34N/E59K/K99E)]
XENP30602 [p40(E32Q/D34K/E59K/K99E)]

XENP30603 [p40(E32K/D34N/E59K/K99E)]
XENP30604 [p40(E32K/D34K/E59K/K99E)]
XENP30607 [p40(E32K/D34N/E59K/K99E)/p35(D55Q)]
XENP30608 [p40(E32K/D34K/E59K/K99E)/p35(D55Q)]
XENP30609 [p40(E32K/D34K/E59K/K99E)/p35(D55K)]

【図 40 B】



rhIL-12
XENP27201 (WT)
XENP29952 [p40(E59K)]
XENP30597 [p40(E59K/K99E)]
XENP30598 [p40(D34N/E59K)]
XENP30599 [p40(D34N/E59K/K99E)]
XENP30600 [p40(D34K/E59K/K99E)]
XENP30601 [p40(E32Q/D34N/E59K/K99E)]
XENP30602 [p40(E32Q/D34K/E59K/K99E)]

XENP30603 [p40(E32K/D34N/E59K/K99E)]
XENP30604 [p40(E32K/D34K/E59K/K99E)]
XENP30607 [p40(E32K/D34N/E59K/K99E)/p35(D55Q)]
XENP30608 [p40(E32K/D34K/E59K/K99E)/p35(D55Q)]
XENP30609 [p40(E32K/D34K/E59K/K99E)/p35(D55K)]

10

20

30

40

50

【図 4 1】

PSTAT4 EC50				EC50 の減少値率			
XENP	1 L-1 2 p 4 0 パリアント	1 L-1 2 p 3 5 パリアント	CD4+ CD45RA+ CD25+	CD8+ CD45RA+ CD25+	CD4+ CD45RA+ CD25+	CD8+ CD45RA+ CD25+	
27201	WT	WT	0.1101	0.2097			
29952	E59K	WT	1.056	1.287	9.59	6.14	
30597	E59K/K99E	WT	5.507	9.768	50.02	46.58	
30598	D34N/E59K	WT	1.308	1.806	11.88	8.61	
30599	D34N/E59K/K99E	WT	3.23	4.839	29.34	23.08	
30600	D34K/E59K/K99E	WT	5.929	9.898	53.85	47.20	
30601	E32Q/D34N/E59K/K99E	WT	6.804	11.71	61.80	55.84	
30602	E32Q/D34K/E59K/K99E	WT	2.714	3.645	24.65	17.38	
30603	E32K/D34N/E59K/K99E	WT	1.13	1.482	10.26	7.07	
30604	E32K/D34K/E59K/K99E	WT	8.44	12.98	76.66	61.90	
30607	E32K/D34N/E59K/K99E	D55Q	12.1	24.31	109.90	115.93	
30608	E32K/D34K/E59K/K99E	D55Q	10.25	25.27	93.10	120.51	
30609	E32K/D34K/E59K/K99E	D55K	5.426	8.258	49.28	39.38	

【図 4 2 A】

>IL12p40(E59Y/K99E)

IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSSEVLGSGKTLTIQVK~~Y~~FGDAGQYTCHK
GGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDILKDO~~E~~EPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGS
SDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDI
IKPDPPKNLQKLPLKNSRQVEVSWEYPTWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYYSWSEWASVPCS (配列番号 X X X)

>IL12p40(E59K/K99Y)

IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSSEVLGSGKTLTIQVK~~Y~~FGDAGQYTCHK
GGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDILKDO~~Y~~EPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGS
SDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDI
IKPDPPKNLQKLPLKNSRQVEVSWEYPTWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYYSWSEWASVPCS (配列番号 X X X)

>IL12p40(E59Y/K99Y)

IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSSEVLGSGKTLTIQVK~~Y~~FGDAGQYTCHK
GGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDILKDO~~Y~~EPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGS
SDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDI
IKPDPPKNLQKLPLKNSRQVEVSWEYPTWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYYSWSEWASVPCS (配列番号 X X X)

>IL12p40(E45K/E59K/K99E)

IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS~~S~~VLGSGKTLTIQVK~~Y~~FGDAGQYTCHK
GGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDILKDO~~E~~EPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGS
SDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDI
IKPDPPKNLQKLPLKNSRQVEVSWEYPTWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYYSWSEWASVPCS (配列番号 X X X)

>IL12p40(D18K/E59K/K99E)

IWELKKDVYVVELDWY~~P~~KAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSSEVLGSGKTLTIQVK~~Y~~FGDAGQYTCHK
GGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDILKDO~~E~~EPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGS
SDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDI
IKPDPPKNLQKLPLKNSRQVEVSWEYPTWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYYSWSEWASVPCS (配列番号 X X X)

【図 4 2 B】

>IL12p40(E59K/K99E/Q144E)

IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSSEVLGSGKTLTIQVK~~Y~~FGDAGQYTCHK
GGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDILKDO~~E~~EPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGS
SDP~~E~~GVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDI
IKPDPPKNLQKLPLKNSRQVEVSWEYPTWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYYSWSEWASVPCS (配列番号 X X X)

>IL12p40(E59K/K99E/Q144K)

IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSSEVLGSGKTLTIQVK~~Y~~FGDAGQYTCHK
GGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDILKDO~~E~~EPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGS
SDP~~E~~GVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDI
IKPDPPKNLQKLPLKNSRQVEVSWEYPTWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYYSWSEWASVPCS (配列番号 X X X)

>IL12p40(E59K/K99E/R159E)

IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSSEVLGSGKTLTIQVK~~Y~~FGDAGQYTCHK
GGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDILKDO~~E~~EPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGS
SDPQGVTCGAATLSAERV~~G~~DNKEYEYSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDI
IKPDPPKNLQKLPLKNSRQVEVSWEYPTWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKK~~D~~RVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYYSWSEWASVPCS (配列番号 X X X)

>IL12p40(E59K/K99E/K264E)

IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSSEVLGSGKTLTIQVK~~Y~~FGDAGQYTCHK
GGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDILKDO~~E~~EPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGS
SDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDI
IKPDPPKNLQKLPLKNSRQVEVSWEYPTWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREK~~D~~RVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYYSWSEWASVPCS (配列番号 X X X)

>IL12p40(D18K/E59K/K99E/K264E)

IWELKKDVYVVELDWY~~P~~KAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSSEVLGSGKTLTIQVK~~Y~~FGDAGQYTCHK
GGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDILKDO~~E~~EPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGS
SDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSFFIRDI
IKPDPPKNLQKLPLKNSRQVEVSWEYPTWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREK~~D~~RVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYYSWSEWASVPCS (配列番号 X X X)

【図 4 3】

>IL12p35(F96A)

RNLVATPDGMPFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLFYPCTSEEIDHEDITDKDSTVEACLPLELTK
NESCINARETSFITNGSCLASRKT~~S~~FMALCLSSYIEDLKMYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMILAV
IDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFIRAVTIDRVMSYLNAS (配列番号 X X X)

>IL12p35(M97A)

RNLVATPDGMPFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLFYPCTSEEIDHEDITDKDSTVEACLPLELTK
NESCINARETSFITNGSCLASRKT~~S~~FMALCLSSYIEDLKMYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMILAV
IDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFIRAVTIDRVMSYLNAS (配列番号 X X X)

>IL12p35(L89A)

RNLVATPDGMPFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLFYPCTSEEIDHEDITDKDSTVEACLPLELTK
NESCINARETSFITNGSCLASRKT~~S~~FMALCLSSYIEDLKMYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMILAV
IDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFIRAVTIDRVMSYLNAS (配列番号 X X X)

>IL12p35(L124A)

RNLVATPDGMPFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLFYPCTSEEIDHEDITDKDSTVEACLPLELTK
NESCINARETSFITNGSCLASRKT~~S~~FMALCLSSYIEDLKMYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMILAV
IDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFIRAVTIDRVMSYLNAS (配列番号 X X X)

>IL12p35(M125A)

RNLVATPDGMPFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLFYPCTSEEIDHEDITDKDSTVEACLPLELTK
NESCINARETSFITNGSCLASRKT~~S~~FMALCLSSYIEDLKMYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMILAV
IDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFIRAVTIDRVMSYLNAS (配列番号 X X X)

>IL12p35(L75A)

RNLVATPDGMPFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLFYPCTSEEIDHEDITDKDSTVEACLPLELTK
NESCINARETSFITNGSCLASRKT~~S~~FMALCLSSYIEDLKMYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMILAV
IDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFIRAVTIDRVMSYLNAS (配列番号 X X X)

>IL12p35(I171A)

RNLVATPDGMPFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLFYPCTSEEIDHEDITDKDSTVEACLPLELTK
NESCINARETSFITNGSCLASRKT~~S~~FMALCLSSYIEDLKMYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMILAV
IDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDPFYKTK~~A~~KLCILLHAFIRAVTIDRVMSYLNAS (配列番号 X X X)

10

20

30

40

50

【図 4 4 A】

>XENP31250 エト_1L12p40 (E59Y/K99E) _ (GGGGS) 2_
エト_1L12p35 (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_p1 (-)
_1 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q
順1 (XenD27070) - エト_1L12p40 (E59Y/K99E) _ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_p1 (-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S
IWELKKDYYVVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSSEVLGSGKLTIQVKYFGDAGQYTHKGGEVLSHLLHHKED
GIWSTDLKDQEEPKNKTLFRCNAKNSYSGRFTCNWLTITSTDLTSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYESVECCQDS
ACPAEESLPIEVMMDAVHKLKYENYTSFFIRDIKPPPKNLQKLKPNRSQREVSVYEDPTWSTPHSYSLTFCVQVQGSKREKK
DRVFTDKTSA TVICRKNASISVRAQDRYSSSEWASVPCS/GGGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPCPAPPVAGSVFLFPKPKD
TLMISRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYDGVVEVHNAKTPREEEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPSREEMTKNQVSLTCDVSGEYFSPDIAVEWESDGGQENNYKTPVPLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDV
SCSVMEALHNNHYTKQSLSLSPGK (配列番号XXX)
順2 (XenD22915) - エト_1L12p35_ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q
RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLFEPYCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCL
ASRKTSMFMMALCLSSIEDLKMYYQVEKTMNAKLMDPKRQIFLDQNM LAVIDELMQALNFSETVPQKSSLEEDFYTKIKLCLL
HAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPCPAPPVAGSVFLFPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVKHDEPE
VKFNWYDGVVEVHNAKTPREEEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPSREOM
TKNOVKLTCLVKGYFSPDIAVEWESNGQPENNYKTPVPLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSVMEALHNNHYTKQSLSL
PGK (配列番号XXX)
>XENP31251 エト_1L12p40 (E59K/K99Y) _ (GGGGS) 2_エト_1L12p35_ (GGGGS)
2_Fc (216) _1gG1_p1 (-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q
順1 (XenD27071) - エト_1L12p40 (E59K/K99Y) _ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_p1 (-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S
IWELKKDYYVVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSSEVLGSGKLTIQVKYFGDAGQYTHKGGEVLSHLLHHKED
GIWSTDLKDQEEPKNKTLFRCNAKNSYSGRFTCNWLTITSTDLTSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYESVECCQDS
ACPAEESLPIEVMMDAVHKLKYENYTSFFIRDIKPPPKNLQKLKPNRSQREVSVYEDPTWSTPHSYSLTFCVQVQGSKREKK
DRVFTDKTSA TVICRKNASISVRAQDRYSSSEWASVPCS/GGGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPCPAPPVAGSVFLFPKPKD
TLMISRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYDGVVEVHNAKTPREEEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPSREEMTKNQVSLTCDVSGEYFSPDIAVEWESDGGQENNYKTPVPLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDV
SCSVMEALHNNHYTKQSLSLSPGK (配列番号XXX)
順2 (XenD22915) -
エト_1L12p35_ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q
RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLFEPYCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCL
ASRKTSMFMMALCLSSIEDLKMYYQVEKTMNAKLMDPKRQIFLDQNM LAVIDELMQALNFSETVPQKSSLEEDFYTKIKLCLL
HAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPCPAPPVAGSVFLFPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVKHDEPE
VKFNWYDGVVEVHNAKTPREEEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPSREOM
TKNOVKLTCLVKGYFSPDIAVEWESNGQPENNYKTPVPLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSVMEALHNNHYTKQSLSL
PGK (配列番号XXX)

【図 4 4 C】

>XENP31254 エト_1L12p40 (D18K/E59K/K99E) _ (GGGGS) 2_エト_1L12p35_ (GGGGS) 2_
Fc (216) _1gG1_p1 (-)
_1 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q
順1 (XenD27074) - エト_1L12p40 (D18K/E59K/K99E) _ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_p1 (-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S
IWELKKDYYVVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSSEVLGSGKLTIQVKYFGDAGQYTHKGGEVLSH
SLLLLHKEDGWNSTDILKDQEEPKNKTLFRCNAKNSYSGRFTCNWLTITSTDLTSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGRDNKEYESVECCQEDSACPAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIKPPPKNLQKLKPNRSQREV
SVNEYPDWSTPHSYSLTFCVQVQGSKREKKDRVFTDKTSA TVICRKNASISVRAQDRYSSSEWASVPCS/G
GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPCPAPPVAGSVFLFPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYDGV
VEVHNAKTPREEEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPSREEMTK
NQVSLTCDVSGEYFSPDIAVEWESDGGQENNYKTPVPLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSVMEALHNNHY
TKQSLSLSPGK (配列番号XXX)
順2 (XenD22915) -
エト_1L12p35_ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q
RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLFEPYCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSMFMMALCLSSIEDLKMYYQVEKTMNAKLMDPKRQIFLDQNM LAVIDELMQALNFSET
VPQKSSLEEDFYTKIKLCLLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPCPAPPVAG
SVFLFPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYDGVVEVHNAKTPREEEYNSTYRVSVLTVLHQDWL
NGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPSREOMTKNQVSLTCLVKGYFSPDIAVEWESNGQPENNY
KTPVPLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSVMEALHNNHYTKQSLSLSPGK (配列番号XXX)
>XENP31255 エト_1L12p40 (E59K/K99E/Q144E) _ (GGGGS) 2_エト_1L12p35_ (GGGGS) 2_
Fc (216) _1gG1_p1 (-)
_1 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q
順1 (XenD27075) - エト_1L12p40 (E59K/K99E/Q144E) _ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_p1 (-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S
IWELKKDYYVVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSSEVLGSGKLTIQVKYFGDAGQYTHKGGEVLSH
SLLLLHKEDGWNSTDILKDQEEPKNKTLFRCNAKNSYSGRFTCNWLTITSTDLTSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGRDNKEYESVECCQEDSACPAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIKPPPKNLQKLKPNRSQREV
SVNEYPDWSTPHSYSLTFCVQVQGSKREKKDRVFTDKTSA TVICRKNASISVRAQDRYSSSEWASVPCS/G
GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPCPAPPVAGSVFLFPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYDGV
VEVHNAKTPREEEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPSREEMTK
NQVSLTCDVSGEYFSPDIAVEWESDGGQENNYKTPVPLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSVMEALHNNHY
TKQSLSLSPGK (配列番号XXX)
順2 (XenD22915) -
エト_1L12p35_ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q
RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLFEPYCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSMFMMALCLSSIEDLKMYYQVEKTMNAKLMDPKRQIFLDQNM LAVIDELMQALNFSET
VPQKSSLEEDFYTKIKLCLLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPCPAPPVAG
SVFLFPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYDGVVEVHNAKTPREEEYNSTYRVSVLTVLHQDWL
NGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPSREOMTKNQVSLTCLVKGYFSPDIAVEWESNGQPENNY
KTPVPLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSVMEALHNNHYTKQSLSLSPGK (配列番号XXX)

【図 4 4 B】

>XENP31252 エト_1L12p40 (E59Y/K99Y) _ (GGGGS) 2_エト_1L12p35_ (GGGGS)
2_Fc (216) _1gG1_p1 (-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q
順1 (XenD27072) - エト_1L12p40 (E59Y/K99Y) _ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_p1 (-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S
IWELKKDYYVVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSSEVLGSGKLTIQVKYFGDAGQYTHKGGEVLSH
SLLLLHKEDGWNSTDILKDQEEPKNKTLFRCNAKNSYSGRFTCNWLTITSTDLTSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGRDNKEYESVECCQEDSACPAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIKPPPKNLQKLKPNRSQREV
SVNEYPDWSTPHSYSLTFCVQVQGSKREKKDRVFTDKTSA TVICRKNASISVRAQDRYSSSEWASVPCS/G
GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPCPAPPVAGSVFLFPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYDGV
VEVHNAKTPREEEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPSREEMTK
NQVSLTCDVSGEYFSPDIAVEWESDGGQENNYKTPVPLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSVMEALHNNHY
TKQSLSLSPGK (配列番号XXX)
順2 (XenD22915) -
エト_1L12p35_ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q
RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLFEPYCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSMFMMALCLSSIEDLKMYYQVEKTMNAKLMDPKRQIFLDQNM LAVIDELMQALNFSET
VPQKSSLEEDFYTKIKLCLLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPCPAPPVAG
SVFLFPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYDGVVEVHNAKTPREEEYNSTYRVSVLTVLHQDWL
NGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPSREOMTKNQVSLTCLVKGYFSPDIAVEWESNGQPENNY
KTPVPLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSVMEALHNNHYTKQSLSLSPGK (配列番号XXX)
>XENP31253 エト_1L12p40 (E45K/E59K/K99E) _ (GGGGS) 2_エト_1L12p35_ (GGGGS)
2_Fc (216) _1gG1_p1 (-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q
順1 (XenD27073) - エト_1L12p40 (E45K/E59K/K99E) _ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_p1 (-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S
IWELKKDYYVVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSSEVLGSGKLTIQVKYFGDAGQYTHKGGEVLSH
SLLLLHKEDGWNSTDILKDQEEPKNKTLFRCNAKNSYSGRFTCNWLTITSTDLTSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGRDNKEYESVECCQEDSACPAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIKPPPKNLQKLKPNRSQREV
SVNEYPDWSTPHSYSLTFCVQVQGSKREKKDRVFTDKTSA TVICRKNASISVRAQDRYSSSEWASVPCS/G
GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPCPAPPVAGSVFLFPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYDGV
VEVHNAKTPREEEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPSREEMTK
NQVSLTCDVSGEYFSPDIAVEWESDGGQENNYKTPVPLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSVMEALHNNHY
TKQSLSLSPGK (配列番号XXX)
順2 (XenD22915) -
エト_1L12p35_ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q
RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLFEPYCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSMFMMALCLSSIEDLKMYYQVEKTMNAKLMDPKRQIFLDQNM LAVIDELMQALNFSET
VPQKSSLEEDFYTKIKLCLLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPCPAPPVAG
SVFLFPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYDGVVEVHNAKTPREEEYNSTYRVSVLTVLHQDWL
NGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPSREOMTKNQVSLTCLVKGYFSPDIAVEWESNGQPENNY
KTPVPLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSVMEALHNNHYTKQSLSLSPGK (配列番号XXX)

【図 4 4 D】

順2 (XenD22915) -
エト_1L12p35_ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q
RNLPVATPDGMPFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLFEPYCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSMFMMALCLSSIEDLKMYYQVEKTMNAKLMDPKRQIFLDQNM LAVIDELMQALNFSET
VPQKSSLEEDFYTKIKLCLLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPCPAPPVAG
SVFLFPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYDGVVEVHNAKTPREEEYNSTYRVSVLTVLHQDWL
NGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPSREOMTKNQVSLTCLVKGYFSPDIAVEWESNGQPENNY
KTPVPLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSVMEALHNNHYTKQSLSLSPGK (配列番号XXX)

【図 4 4 E】

>XENP31256 ヒト_1L12p40 (E59K/K99E/Q144K) _ (GGGGS) 2-ヒト_1L12p35 _ (GGGGS) 2-
Fc (216) _1gG1_p1 (-)
1) 等比体積_A_C220S/PVA_/_S267K/L368D/K370S_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/_S267K/
_S364K/E357Q
順1 (XenD27078) -
ヒト_1L12p40 (E59K/K99E/Q144K) _ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_p1 (-)
1) 等比体積_A_C220S/PVA_/_S267K/L368D/K370S

INELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYTHKGGEVLSH
SLLLLHKEDGIWSTDILKDQEEPKNKTLFRCIAKNYSGRFTCNWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVRGDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLPiEVMVDAVHKLYENYTSFFIRDI IKDP PPKNLQ LKPLKNSRQVE
VSWEYPTWTSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSNENASVPCS/g
GGGSGGGGS/EPKSSDKHTCPCPCAPPVAGPSVLEFPFKP KDTLMI SRTEPVT CVVVDKHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDGGQFENNYKTTPEVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

順2 (XenD22915) -
ヒト_1L12p35 _ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/_S267K/S364K/E357Q
RNLVPATPDGMFPCPLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTFEYPCTSEEDIHEDITDKDSTV EACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSFMALCLSSIYEDLRMYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFIRAVTIDRVMSYLNAS/ GGGSGGGGS/EPKSSDKHTCPCPCAPPVAGP
SVLEFPFKP KDTLMI SRTEPVT CVVVDKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVKLTCLVKGYFSPDIAVWESNGQFENNYK
TTPEVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

>XENP31257 ヒト_1L12p40 (E59K/K99E/R159E) _ (GGGGS) 2-ヒト_1L12p35 _
(GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_p1 (-) 等比体積_A_C220S/PVA_/_S267K/L368D/K
370S_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/_S267K/S364K/E357Q

順1 (XenD27077) - ヒト_1L12p40 (E59K/K99E/R159E) _ (GGGGS) 2_Fc (216) _
1gG1_p1 (-) 等比体積_A_C220S/PVA_/_S267K/L368D/K370S

INELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYTHKGGEVLSH
SLLLLHKEDGIWSTDILKDQEEPKNKTLFRCIAKNYSGRFTCNWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVRGDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLPiEVMVDAVHKLYENYTSFFIRDI IKDP PPKNLQ LKPLKNSRQVE
VSWEYPTWTSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSNENASVPCS/g
GGGSGGGGS/EPKSSDKHTCPCPCAPPVAGPSVLEFPFKP KDTLMI SRTEPVT CVVVDKHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDGGQFENNYKTTPEVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

【図 4 4 G】

>XENP31259 ヒト_1L12p40 (E59K/K99E) _ (GGGGS) 2-ヒト_1L12p35 (F96A) _ (GGGGS) 2-
Fc (216) _1gG1_p1 (-)
1) 等比体積_A_C220S/PVA_/_S267K/L368D/K370S_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/_S267K/
_S364K/E357Q

順1 (XenD26411) -
ヒト_1L12p40 (E59K/K99E) _ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_p1 (-)
1) 等比体積_A_C220S/PVA_/_S267K/L368D/K370S

INELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYTHKGGEVLSH
SLLLLHKEDGIWSTDILKDQEEPKNKTLFRCIAKNYSGRFTCNWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVRGDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLPiEVMVDAVHKLYENYTSFFIRDI IKDP PPKNLQ LKPLKNSRQVE
VSWEYPTWTSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSNENASVPCS/g
GGGSGGGGS/EPKSSDKHTCPCPCAPPVAGPSVLEFPFKP KDTLMI SRTEPVT CVVVDKHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDGGQFENNYKTTPEVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

順2 (XenD27088) -
ヒト_1L12p35 (F96A) _ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/_S267K/S364K/E357Q
RNLVPATPDGMFPCPLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTFEYPCTSEEDIHEDITDKDSTV EACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSAMALCLSSIYEDLRMYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFIRAVTIDRVMSYLNAS/ GGGSGGGGS/EPKSSDKHTCPCPCAPPVAGP
SVLEFPFKP KDTLMI SRTEPVT CVVVDKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVKLTCLVKGYFSPDIAVWESNGQFENNYK
TTPEVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

>XENP31260 ヒト_1L12p40 (E59K/K99E) _ (GGGGS) 2-ヒト_1L12p35 (M97A) _
(GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_p1 (-) 等比体積_A_C220S/PVA_/_S267K/L368D/K
370S_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/_S267K/S364K/E357Q

順1 (XenD26411) -
ヒト_1L12p40 (E59K/K99E) _ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_p1 (-)
1) 等比体積_A_C220S/PVA_/_S267K/L368D/K370S

INELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYTHKGGEVLSH
SLLLLHKEDGIWSTDILKDQEEPKNKTLFRCIAKNYSGRFTCNWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVRGDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLPiEVMVDAVHKLYENYTSFFIRDI IKDP PPKNLQ LKPLKNSRQVE
VSWEYPTWTSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSNENASVPCS/g
GGGSGGGGS/EPKSSDKHTCPCPCAPPVAGPSVLEFPFKP KDTLMI SRTEPVT CVVVDKHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDGGQFENNYKTTPEVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

【図 4 4 F】

順2 (XenD22915) -
ヒト_1L12p35 _ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/_S267K/S364K/E357Q

RNLVPATPDGMFPCPLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTFEYPCTSEEDIHEDITDKDSTV EACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSFMALCLSSIYEDLRMYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFIRAVTIDRVMSYLNAS/ GGGSGGGGS/EPKSSDKHTCPCPCAPPVAGP
SVLEFPFKP KDTLMI SRTEPVT CVVVDKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVKLTCLVKGYFSPDIAVWESNGQFENNYK
TTPEVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

>XENP31258 ヒト_1L12p40 (E59K/K99E/K264E) _ (GGGGS) 2-ヒト_1L12p35 _ (GGGGS) 2-
Fc (216) _1gG1_p1 (-)
1) 等比体積_A_C220S/PVA_/_S267K/L368D/K370S_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/_S267K/
_S364K/E357Q

順1 (XenD27078) -
ヒト_1L12p40 (E59K/K99E/K264E) _ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_p1 (-)
1) 等比体積_A_C220S/PVA_/_S267K/L368D/K370S

INELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYTHKGGEVLSH
SLLLLHKEDGIWSTDILKDQEEPKNKTLFRCIAKNYSGRFTCNWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVRGDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLPiEVMVDAVHKLYENYTSFFIRDI IKDP PPKNLQ LKPLKNSRQVE
VSWEYPTWTSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSNENASVPCS/g
GGGSGGGGS/EPKSSDKHTCPCPCAPPVAGPSVLEFPFKP KDTLMI SRTEPVT CVVVDKHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDGGQFENNYKTTPEVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

順2 (XenD22915) -
ヒト_1L12p35 _ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/_S267K/S364K/E357Q
RNLVPATPDGMFPCPLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTFEYPCTSEEDIHEDITDKDSTV EACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSFMALCLSSIYEDLRMYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFIRAVTIDRVMSYLNAS/ GGGSGGGGS/EPKSSDKHTCPCPCAPPVAGP
SVLEFPFKP KDTLMI SRTEPVT CVVVDKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVKLTCLVKGYFSPDIAVWESNGQFENNYK
TTPEVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

【図 4 4 H】

順2 (XenD27089) -
ヒト_1L12p35 (M97A) _ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/_S267K/S364K/E357Q

RNLVPATPDGMFPCPLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTFEYPCTSEEDIHEDITDKDSTV EACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSFAMALCLSSIYEDLRMYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFIRAVTIDRVMSYLNAS/ GGGSGGGGS/EPKSSDKHTCPCPCAPPVAGP
SVLEFPFKP KDTLMI SRTEPVT CVVVDKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVKLTCLVKGYFSPDIAVWESNGQFENNYK
TTPEVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

>XENP31261 ヒト_1L12p40 (E59K/K99E) _ (GGGGS) 2-ヒト_1L12p35 (I,89A) _ (GGGGS) 2-
Fc (216) _1gG1_p1 (-)
1) 等比体積_A_C220S/PVA_/_S267K/L368D/K370S_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/_S267K/
_S364K/E357Q

順1 (XenD26411) -
ヒト_1L12p40 (E59K/K99E) _ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_p1 (-)
1) 等比体積_A_C220S/PVA_/_S267K/L368D/K370S

INELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYTHKGGEVLSH
SLLLLHKEDGIWSTDILKDQEEPKNKTLFRCIAKNYSGRFTCNWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVRGDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLPiEVMVDAVHKLYENYTSFFIRDI IKDP PPKNLQ LKPLKNSRQVE
VSWEYPTWTSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSNENASVPCS/g
GGGSGGGGS/EPKSSDKHTCPCPCAPPVAGPSVLEFPFKP KDTLMI SRTEPVT CVVVDKHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDGGQFENNYKTTPEVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

順2 (XenD27090) -
ヒト_1L12p35 (I,89A) _ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/_S267K/S364K/E357Q
RNLVPATPDGMFPCPLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTFEYPCTSEEDIHEDITDKDSTV EACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCAASRKTSFMALCLSSIYEDLRMYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFIRAVTIDRVMSYLNAS/ GGGSGGGGS/EPKSSDKHTCPCPCAPPVAGP
SVLEFPFKP KDTLMI SRTEPVT CVVVDKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVKLTCLVKGYFSPDIAVWESNGQFENNYK
TTPEVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

【図 4 4 I】

>XENP31262 エト_1L12p40 (E59K/K99E) _ (GGGGS) 2_
エト_1L12p35 (L124A) _ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_p1 (-)
)_ 等比体積_A_C220S/PVA_/_S267K/L368D/K370S_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/_S267K
/_S364K/E357Q

組1 (XenD26411) -
エト_1L12p40 (E59K/K99E) _ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_p1 (-)
)_ 等比体積_A_C220S/PVA_/_S267K/L368D/K370S

INELKKDVYVVELDWPDPAGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSVLGSGKTLTIQVKFGDAQYTCCHKGEVLSH
SLLLHHKDEGINSTDLKDQEEFPNKTLFCEAKNYSGRFTCNWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVRGDNKEYEYSVECEQDSACPAAEESLP1EVVMVAHVHLKAYENYTSFF1RDI1KPPKPNLQ/LKPLKNSRQVE
VSWEYPDWTWSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKKDRVFTDKTSATVICRNASISVRAQDRYSSSWENASVPCS/G
GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPCPAPVAGSVLEFPFPEKDTLMSRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYDVGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDGPENNYKTTTPVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

組2 (XenD27091) -
エト_1L12p35 (L124A) _ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/_S267K/S364K/E357
S

RNLVPATPDGPMFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLIFYPCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMALCLSSIYEDLRNMQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPFYKTKILCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPCPAPVAGS
SVLEFPFPEKDTLMSRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYDVGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKTLCLVKGFPSPDIAVWESNGQPENNYK
TTPPVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

>XENP31263 エト_1L12p40 (E59K/K99E) _ (GGGGS) 2_
エト_1L12p35 (M125A) _ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_p1 (-)
)_ 等比体積_A_C220S/PVA_/_S267K/L368D/K370S_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/_S267K
/_S364K/E357Q

組1 (XenD26411) -
エト_1L12p40 (E59K/K99E) _ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_p1 (-)
)_ 等比体積_A_C220S/PVA_/_S267K/L368D/K370S

INELKKDVYVVELDWPDPAGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSVLGSGKTLTIQVKFGDAQYTCCHKGEVLSH
SLLLHHKDEGINSTDLKDQEEFPNKTLFCEAKNYSGRFTCNWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVRGDNKEYEYSVECEQDSACPAAEESLP1EVVMVAHVHLKAYENYTSFF1RDI1KPPKPNLQ/LKPLKNSRQVE
VSWEYPDWTWSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKKDRVFTDKTSATVICRNASISVRAQDRYSSSWENASVPCS/G
GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPCPAPVAGSVLEFPFPEKDTLMSRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYDVGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

【図 4 4 K】

>XENP31265 エト_1L12p40 (E59K/K99E) _ (GGGGS) 2_
エト_1L12p35 (1171A) _ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_p1 (-)
)_ 等比体積_A_C220S/PVA_/_S267K/L368D/K370S_Fc (216) _1gG1_C220S/P
VA_/_S267K/S364K/E357Q

組1 (XenD26411) -
エト_1L12p40 (E59K/K99E) _ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_p1 (-)
)_ 等比体積_A_C220S/PVA_/_S267K/L368D/K370S

INELKKDVYVVELDWPDPAGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSVLGSGKTLTIQVKFGDAQYTCCHKGEVLSH
SLLLHHKDEGINSTDLKDQEEFPNKTLFCEAKNYSGRFTCNWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVRGDNKEYEYSVECEQDSACPAAEESLP1EVVMVAHVHLKAYENYTSFF1RDI1KPPKPNLQ/LKPLKNSRQVE
VSWEYPDWTWSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKKDRVFTDKTSATVICRNASISVRAQDRYSSSWENASVPCS/G
GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPCPAPVAGSVLEFPFPEKDTLMSRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYDVGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDGPENNYKTTTPVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

組2 (XenD27094) -
エト_1L12p35 (1171A) _ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/_S267K/S
364K/E357Q

RNLVPATPDGPMFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLIFYPCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMALCLSSIYEDLRNMQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPFYKTKILCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPCPAPVAGS
SVLEFPFPEKDTLMSRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYDVGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKTLCLVKGFPSPDIAVWESNGQPENNYK
TTPPVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

>XENP32186 エト_1L12p40 (D18K/E59K/K99E/K264E) _ (GGGGS) 2_
エト_1L12p35 (GGGGS) 2_
Fc (216) _1gG1_p1 (-)
)_ 等比体積_A_C220S/PVA_/_S267K/L368D/K370S_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/_S267K
/_S364K/E357Q

組1 (XenD28173) - エト_1L12p40 (D18K/E59K/K99E/K264E) _ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_p1 (-)
)_ 等比体積_A_C220S/PVA_/_S267K/L368D/K370S

INELKKDVYVVELDWPDPAGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSVLGSGKTLTIQVKFGDAQYTCCHKGEVLSH
SLLLHHKDEGINSTDLKDQEEFPNKTLFCEAKNYSGRFTCNWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVRGDNKEYEYSVECEQDSACPAAEESLP1EVVMVAHVHLKAYENYTSFF1RDI1KPPKPNLQ/LKPLKNSRQVE
VSWEYPDWTWSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKKDRVFTDKTSATVICRNASISVRAQDRYSSSWENASVPCS/G
GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPCPAPVAGSVLEFPFPEKDTLMSRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYDVGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDGPENNYKTTTPVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

組2 (XenD2915) -
エト_1L12p35 (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/_S267K/S364K/E357Q

RNLVPATPDGPMFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLIFYPCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMALCLSSIYEDLRNMQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPFYKTKILCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPCPAPVAGS
SVLEFPFPEKDTLMSRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYDVGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKTLCLVKGFPSPDIAVWESNGQPENNYK
TTPPVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

【図 4 4 J】

組2 (XenD27092) -
エト_1L12p35 (M125A) _ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/_S267K/S364K/E357
S

RNLVPATPDGPMFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLIFYPCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMALCLSSIYEDLRNMQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPFYKTKILCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPCPAPVAGS
SVLEFPFPEKDTLMSRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYDVGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKTLCLVKGFPSPDIAVWESNGQPENNYK
TTPPVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

>XENP31264 エト_1L12p40 (E59K/K99E) _ (GGGGS) 2_
エト_1L12p35 (L175A) _ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_p1 (-)
)_ 等比体積_A_C220S/PVA_/_S267K/L368D/K370S_Fc (216) _1gG1_C220S/P
VA_/_S267K/S364K/E357Q

組1 (XenD26411) -
エト_1L12p40 (E59K/K99E) _ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_p1 (-)
)_ 等比体積_A_C220S/PVA_/_S267K/L368D/K370S

INELKKDVYVVELDWPDPAGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSVLGSGKTLTIQVKFGDAQYTCCHKGEVLSH
SLLLHHKDEGINSTDLKDQEEFPNKTLFCEAKNYSGRFTCNWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVRGDNKEYEYSVECEQDSACPAAEESLP1EVVMVAHVHLKAYENYTSFF1RDI1KPPKPNLQ/LKPLKNSRQVE
VSWEYPDWTWSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKKDRVFTDKTSATVICRNASISVRAQDRYSSSWENASVPCS/G
GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPCPAPVAGSVLEFPFPEKDTLMSRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYDVGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDGPENNYKTTTPVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XX)

組2 (XenD27093) -
エト_1L12p35 (L57A) _ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/_S267K/S3
64K/E357Q

RNLVPATPDGPMFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLIFYPCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCAN
RETSFITNGSCLASRKTSPMALCLSSIYEDLRNMQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPFYKTKILCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPCPAPVAGS
SVLEFPFPEKDTLMSRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYDVGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKTLCLVKGFPSPDIAVWESNGQPENNYK
TTPPVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

【図 4 5 A】

>XENP31142 エト_1L12p40 (GGGGS) 2-エト_1L12p35 (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_p1 (-)
)_ 等比体積_A_C220S/PVA_/_S267K/L368D/K370S/M428L/N434S_
1gG1_PVA_/_S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

組1 (XenD24876) -エト_1L12p40_ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_p1 (-)
)_ 等比体積_A_C220S/PVA_/_S267K/L368D/K370S/M428L/N434S

INELKKDVYVVELDWPDPAGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSVLGSGKTLTIQVKFGDAQYTCCHKGEVLSH
SLLLHHKDEGINSTDLKDQEEFPNKTLFCEAKNYSGRFTCNWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVRGDNKEYEYSVECEQDSACPAAEESLP1EVVMVAHVHLKAYENYTSFF1RDI1KPPKPNLQ/LKPLKNSRQVE
VSWEYPDWTWSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKKDRVFTDKTSATVICRNASISVRAQDRYSSSWENASVPCS/G
GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPCPAPVAGSVLEFPFPEKDTLMSRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYDVGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDGPENNYKTTTPVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSVLHEALHSHTY
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

組2 (XenD24877) -
エト_1L12p35 (GGGGS) 2_1gG1_PVA_/_S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S
RNLVPATPDGPMFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLIFYPCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMALCLSSIYEDLRNMQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPFYKTKILCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPCPAPVAGS
SVLEFPFPEKDTLMSRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYDVGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKTLCLVKGFPSPDIAVWESNGQPENNYK
TTPPVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWQGNVFCSVLHEALHSHTYQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

>XENP31143 エト_1L12p40_E32Q/D34N/E59K/K99E_ (GGGGS) 2_
エト_1L12p35 (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_p1 (-)
)_ 等比体積_A_C220S/PVA_/_S267K/L368D/K370S/M428L/N434S_
1gG1_PVA_/_S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

組1 (XenD27162) -
エト_1L12p40_E32Q/D34N/E59K/K99E_ (GGGGS) 2_Fc (216) _1gG1_p1 (-)
)_ 等比体積_A_C220S/PVA_/_S267K/L368D/K370S/M428L/N434S

INELKKDVYVVELDWPDPAGEMVLTCDTPEENGITWTLDQSSVLGSGKTLTIQVKFGDAQYTCCHKGEVLSH
SLLLHHKDEGINSTDLKDQEEFPNKTLFCEAKNYSGRFTCNWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVRGDNKEYEYSVECEQDSACPAAEESLP1EVVMVAHVHLKAYENYTSFF1RDI1KPPKPNLQ/LKPLKNSRQVE
VSWEYPDWTWSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKKDRVFTDKTSATVICRNASISVRAQDRYSSSWENASVPCS/G
GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPCPAPVAGSVLEFPFPEKDTLMSRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYDVGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDGPENNYKTTTPVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSVLHEALHSHTY
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

組2 (XenD24877) -
エト_1L12p35 (GGGGS) 2_1gG1_PVA_/_S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S
RNLVPATPDGPMFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLIFYPCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMALCLSSIYEDLRNMQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPFYKTKILCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPCPAPVAGS
SVLEFPFPEKDTLMSRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYDVGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKTLCLVKGFPSPDIAVWESNGQPENNYK
TTPPVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWQGNVFCSVLHEALHSHTYQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

【図 4 5 B】

>XENP31144 ヒト IL12p40_E32K/D34N/E59K/K99E_ (GGGGS) 2-
ヒト IL12p35_D55Q_ (GGGGS) 2-
Fc (216) IgG1_p1 (-)
) 等比価 A_C220S/PVA/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S-IgG1_PVA/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

組1 (XenD27163) -

ヒト IL12p40_E32K/D34N/E59K/K99E_ (GGGGS) 2_Fc (216) IgG1_p1 (-)
) 等比価 A_C220S/PVA/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S
IWELKKDVVVELDNYPDAPGEMVLTCDTPKENGITWTLDQSSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYTCCHKGEVLISH
SLLLLHKKEGDIWSTDILKQDEEPKNTFLRCEAKNYSGRFTCNWLTITDITFSVKSRSRGSDDPGVTCGAATLS
AERVGRDNKEYEYSEVCQEDSACPAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIIPDPKPNLQKPLKNSRQVE
VSWEYPTDWTSPHSYFSLTFCVQVQGSKREKDRVFTDKTSATVICKRNASISVRAQDRYSSSWENASVPCS/G
GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPPCAPPVAGFSVFLFPFKKDTLMI SRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDLNKGKEYCKVSNKALPAIEKTIISKAGQPREQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAWESDGGQFENNYKTPFVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQGDVFCSCVLHEALHSHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

組2 (XenD27166) -

ヒト IL12p35_D55Q_ (GGGGS) 2_IgG1_PVA/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S
RNLVPATPDGMPCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTEFYPTCTSEEDHEDITKQTSVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMMALCLSSIEDLKMVQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNENSET
VPQKSSLEEDPYFKTKIKLILLHAFIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPPCAPPVAGF
SVFLFPFKKDTLMI SRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDLN
KGKEYCKVSNKALPAIEKTIISKAGQPREQVYTLPPSREQMTKNQVKTCLVKGYFSPDIAWESNGQFENNYK
TTPFVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFCSCVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

>XENP31145 ヒト IL12p40_E32K/D34K/E59K/K99E_ (GGGGS) 2-ヒト IL12p
35_D55Q_ (GGGGS) 2-Fc (216) IgG1_p1 (-) 等比価 A_C220S/PVA/S267K/
L368D/K370S/M428L/N434S-IgG1_PVA/S267K/S364K/E357Q/M428L/
N434S

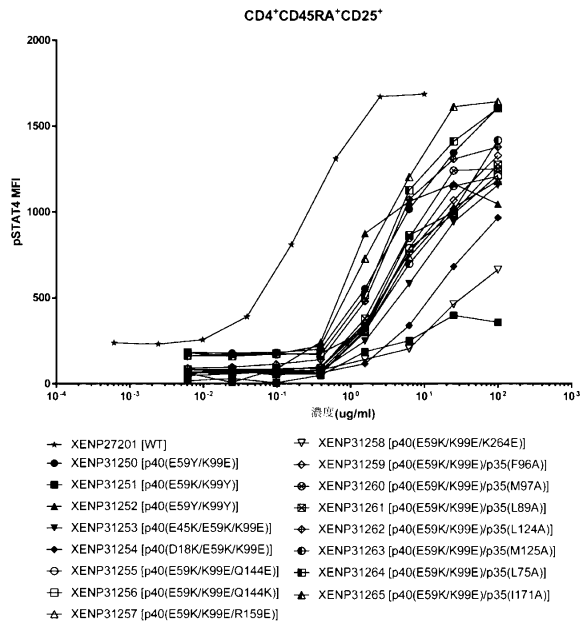
組1 (XenD27164) -

ヒト IL12p40_E32K/D34K/E59K/K99E_ (GGGGS) 2_Fc (216) IgG1_p1 (-)
) 等比価 A_C220S/PVA/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S
IWELKKDVVVELDNYPDAPGEMVLTCDTPKENGITWTLDQSSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYTCCHKGEVLISH
SLLLLHKKEGDIWSTDILKQDEEPKNTFLRCEAKNYSGRFTCNWLTITDITFSVKSRSRGSDDPGVTCGAATLS
AERVGRDNKEYEYSEVCQEDSACPAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIIPDPKPNLQKPLKNSRQVE
VSWEYPTDWTSPHSYFSLTFCVQVQGSKREKDRVFTDKTSATVICKRNASISVRAQDRYSSSWENASVPCS/G
GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPPCAPPVAGFSVFLFPFKKDTLMI SRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDLNKGKEYCKVSNKALPAIEKTIISKAGQPREQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAWESDGGQFENNYKTPFVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQGDVFCSCVLHEALHSHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

組2 (XenD27166) -

ヒト IL12p35_D55Q_ (GGGGS) 2_IgG1_PVA/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S
RNLVPATPDGMPCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTEFYPTCTSEEDHEDITKQTSVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMMALCLSSIEDLKMVQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNENSET
VPQKSSLEEDPYFKTKIKLILLHAFIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPPCAPPVAGF
SVFLFPFKKDTLMI SRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDLN
KGKEYCKVSNKALPAIEKTIISKAGQPREQVYTLPPSREQMTKNQVKTCLVKGYFSPDIAWESNGQFENNYK
TTPFVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFCSCVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

【図 4 6 A】



【図 4 5 C】

>XENP31146 ヒト IL12p40_E59K/K99E_ (GGGGS) 2-
ヒト IL12p35_ (GGGGS) 2-Fc (216) IgG1_p1 (-)
) 等比価 A_C220S/PVA/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S-
IgG1_PVA/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

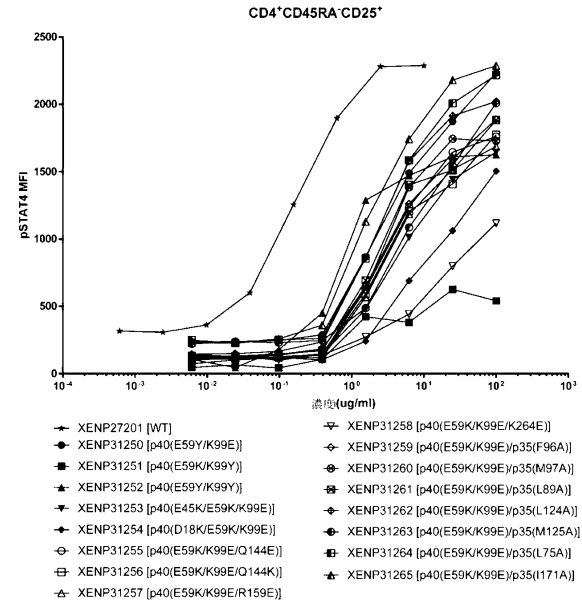
組1 (XenD27165) -

ヒト IL12p40_E59K/K99E_ (GGGGS) 2_Fc (216) IgG1_p1 (-)
) 等比価 A_C220S/PVA/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S
IWELKKDVVVELDNYPDAPGEMVLTCDTPPEEDGITWLDQSSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYTCCHKGEVLISH
SLLLLHKKEGDIWSTDILKQDEEPKNTFLRCEAKNYSGRFTCNWLTITDITFSVKSRSRGSDDPGVTCGAATLS
AERVGRDNKEYEYSEVCQEDSACPAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIIPDPKPNLQKPLKNSRQVE
VSWEYPTDWTSPHSYFSLTFCVQVQGSKREKDRVFTDKTSATVICKRNASISVRAQDRYSSSWENASVPCS/G
GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPPCAPPVAGFSVFLFPFKKDTLMI SRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDLNKGKEYCKVSNKALPAIEKTIISKAGQPREQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAWESDGGQFENNYKTPFVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQGDVFCSCVLHEALHSHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

組2 (XenD24877) -

ヒト IL12p35_ (GGGGS) 2_IgG1_PVA/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S
RNLVPATPDGMPCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTEFYPTCTSEEDHEDITKQTSVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMMALCLSSIEDLKMVQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNENSET
VPQKSSLEEDPYFKTKIKLILLHAFIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCCPPCAPPVAGF
SVFLFPFKKDTLMI SRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDLN
KGKEYCKVSNKALPAIEKTIISKAGQPREQVYTLPPSREQMTKNQVKTCLVKGYFSPDIAWESNGQFENNYK
TTPFVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFCSCVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

【図 4 6 B】



10

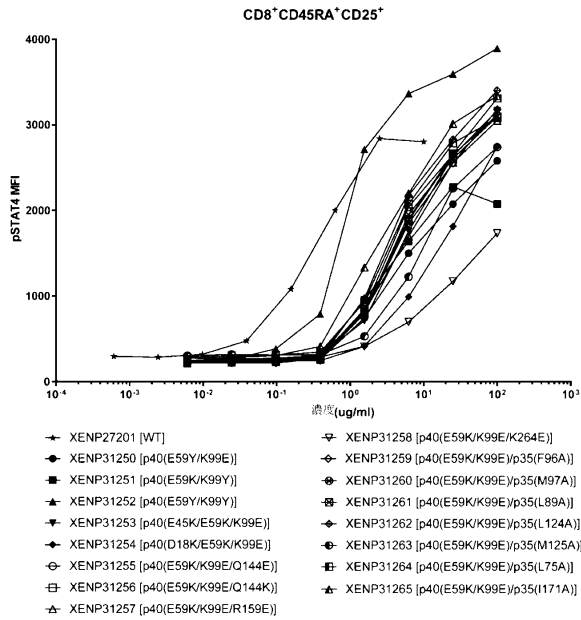
20

30

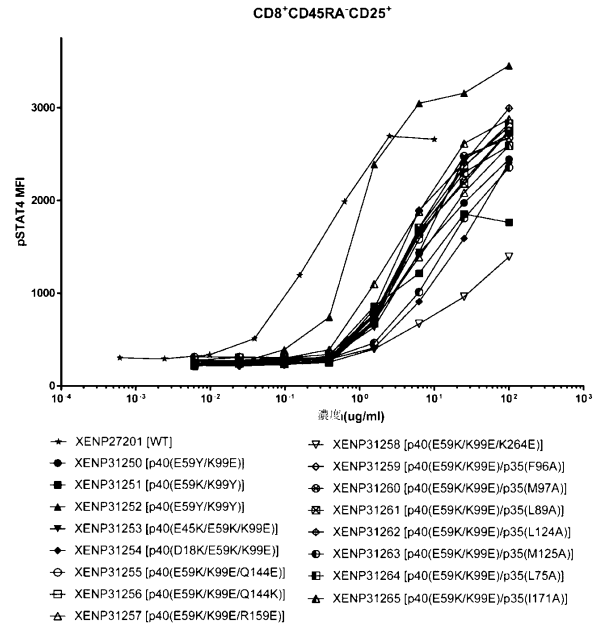
40

50

【図 4 6 C】



【図 4 6 D】

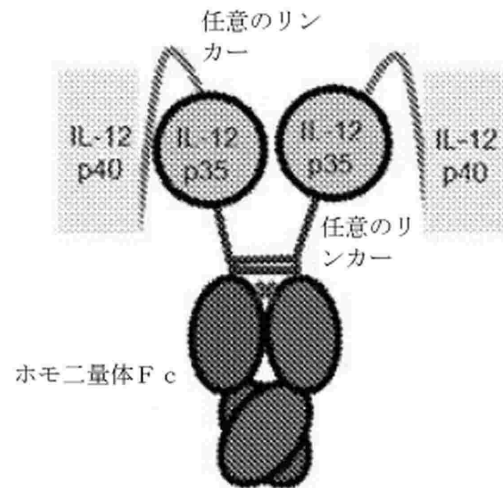


【図 4 7】

XENP	IL-12 p40 バリエーション	IL-12 p35 バリエーション	pSTAT4 EC50 (ug/ml)				EC50 の減少倍率			
			CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺
			CD45RA ⁺	CD45RA ⁺	CD45RA ⁺	CD45RA ⁺	CD45RA ⁺	CD45RA ⁺	CD45RA ⁺	CD45RA ⁺
27201	WT	WT	0.2535	0.3516						
31250	E59Y/K99E	WT	4.767	6.049	18.80	17.20				
31251	E59K/K99Y	WT	2.383	2.751	9.40	7.82				
31252	E59Y/K99Y	WT	0.8014	1.037	3.16	2.95				
31253	E45K/E59K/K99E	WT	8.04	7.157	31.72	20.36				
31254	D18K/E59K/K99E	WT	17.75	21.89	70.02	62.26				
31255	E59K/K99E/Q144E	WT	4.581	5.638	18.07	16.04				
31256	E59K/K99E/Q144K	WT	4.713	6.344	18.59	18.04				
31257	E59K/K99E/R159E	WT	5.084	6.481	20.06	18.43				
31258	E59K/K99E/K264E	WT	24.15	20.38	95.27	57.96				
31259	E59K/K99E	F96A	5.822	6.153	22.97	17.50				
31260	E59K/K99E	M97A	4.431	4.729	17.48	13.45				
31261	E59K/K99E	L89A	4.067	5.22	16.04	14.85				
31262	E59K/K99E	L124A	3.102	4.657	12.24	13.25				
31263	E59K/K99E	M125A	11.99	11.7	47.30	33.28				
31264	E59K/K99E	L75A	4.112	4.49	16.22	12.77				
31265	E59K/K99E	I171A	2.897	3.565	11.43	10.14				

【図 4 8 A】

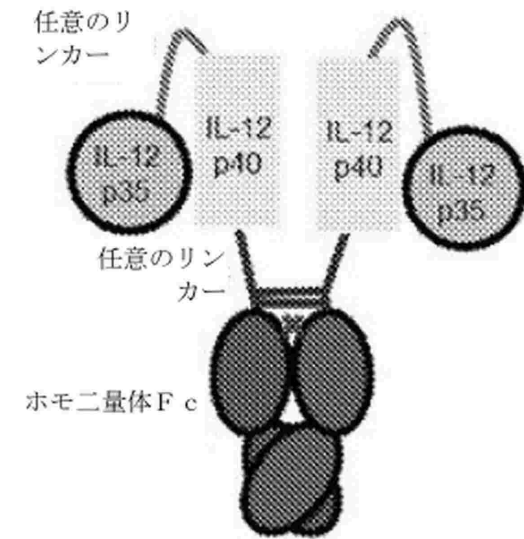
A)

(scIL-12(p40/p35))₂-Fc

例: XENP31289

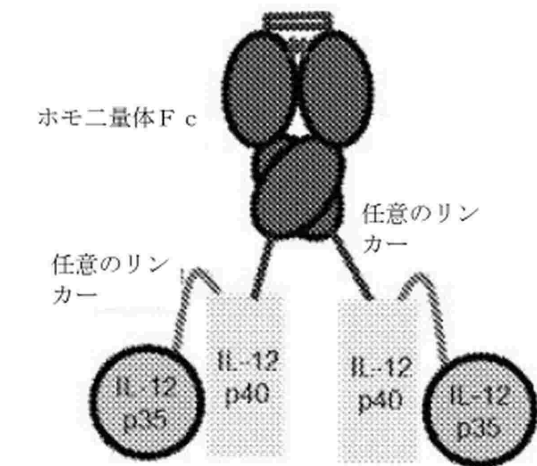
【図 48 B】

B)

 $(scIL-12(p35/p40))_2-Fc$

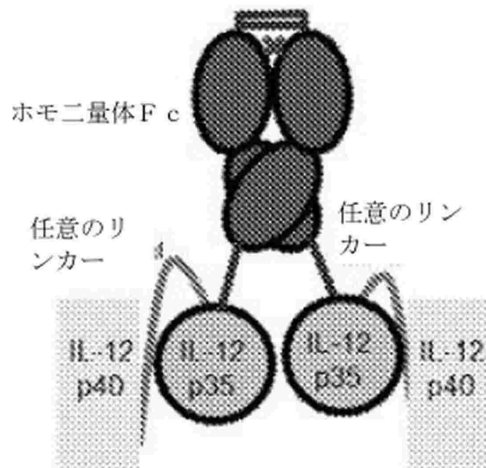
【図 48 C】

C)

 $Fc-(scIL-12(p40/p35))_2$

【図 48 D】

D)

 $Fc-(scIL-12(p35/p40))_2$

【図 49】

>XENP31289 ヒト IL12p40 (GGGS) 5.
 ヒト IL12p35 (GGGS) 2 Fc (216) - IgG1 - p1 (c)
) 等比価 A C220S/PVA / S267K/L368D/K370S

IWELKKDYYVELDWPDPAGEMVLTCDTPEEDGITWLDQSEVLGSGKTLTIQVKKFGDAGQYCHKGGVLSHS
 LLLHKKEDGIWSTDILDKQEPKNTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERV
 RGDNKEYEVSVEQEDSACPAEESLPIEVMDAVHKLKYNYSFFIRDIIPDPKPNLQKPLKNSRQVEVSWEYPTD
 WSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS/GGGGSGGGGS
 GGGGSGGGSGGGGS/RNLPVATPDGPMFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLFYPCTSEEDHEDITDKTSTVEA
 CLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCLASRKTSMALCLSSIEDLKMYYQVEFTMINAKLLMDPKRQIFLDQNMILAVID
 ELMQALNFNSETVPQSSLEEDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPPC
 PAPPVAGPSVFLFPKPKDMLMISRTPEVTCVWVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEEYNSTYRVSVLTVL
 HQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIETISKAGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGP
 ENNYKTPPVLDSDGSSFLYSLTVDKSRWEQGDVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号X.X.X)

>XENP31291 ヒト IL12p40 (E59K/K99E) (GGGS) 5.
 ヒト IL12p35 (GGGS) 2 Fc (216) - IgG1 - p1 (c)
) 等比価 A C220S/PVA / S267K/L368D/K370S

IWELKKDYYVELDWPDPAGEMVLTCDTPEEDGITWLDQSEVLGSGKTLTIQVKKFGDAGQYCHKGGVLSHS
 LLLHKKEDGIWSTDILDKQEPKNTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERV
 RGDNKEYEVSVEQEDSACPAEESLPIEVMDAVHKLKYNYSFFIRDIIPDPKPNLQKPLKNSRQVEVSWEYPTD
 WSTPHSYFSLTFCVQVQGSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS/GGGGSGGGGS
 GGGGSGGGSGGGGS/RNLPVATPDGPMFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLFYPCTSEEDHEDITDKTSTVEA
 CLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCLASRKTSMALCLSSIEDLKMYYQVEFTMINAKLLMDPKRQIFLDQNMILAVID
 ELMQALNFNSETVPQSSLEEDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPPC
 PAPPVAGPSVFLFPKPKDMLMISRTPEVTCVWVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEEYNSTYRVSVLTVL
 HQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIETISKAGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGP
 ENNYKTPPVLDSDGSSFLYSLTVDKSRWEQGDVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号X.X.X)

10

20

30

40

50

【図 50】

>XENP31290 ヒト IL12p40 (E59K/K99E) (GGGGS) 5-
ヒト IL12p35 (GGGGS) 2 (単鎖) -Fc (216) -IgG1-p1 (1-
1) 等比例組-A_C220S/PVA-/S267K/L368D/K370S-Fc (216) -IgG1_C220S/PV
A-/S267K/S364K/E357Q

図1 - ヒト IL12p40 (E59K/K99E) (GGGGS) 5-
ヒト IL12p35 (GGGGS) 2 (単鎖) -Fc (216) -IgG1-p1 (1-
1) 等比例組-A_C220S/PVA-/S267K/L368D/K370S

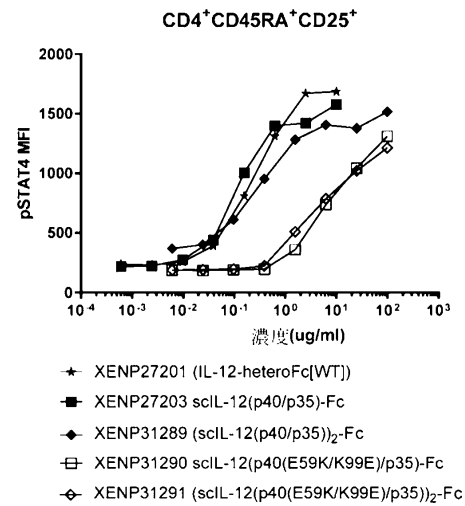
IWELKKDYYVVDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWLDQSEVLGSGKTLTIQVKFQDAGQYTCCHKGGVLSHS
LLLLHKKEDGIWSTDILKQDEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTISTDLTFVSKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERV
GDNKEYEYSVEQEDSACPAEESLPIEMVDVAHKLKLYENTSSFFIRDIKPDPPKLNQLKPLKNSRQVEVSWYEPDT
WSTPHSYSLTFCVQVQKSGKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS/GGGSGGGGS
GGGSGGGSGGGGS/RNLPVATPDPMFCLHHSQNLRAVSNMQLQARQTLFYPCTSEIDHEDITKDKTSTVEA
CLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCLASRKSFMALCLSIYEDKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMMAVID
ELMQALNFNSETVPQKSSLEEDPFYKTKLCLLHAFIRAVTIDRVMSVNLAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPC
PAPPVAGSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYCKCKVSNKALPAPIETISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGP
ENNYKTPPVLDSDGSSFLYSLKLTVDKSRWEQGVDFVSCVMHEALHNHYTKQSLSLSPGK (配列番号XXX)

組2-変Fc (216) -IgG1_C220S/PVA-/S267K/S364K/E357Q

EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKCKVSNKALPAPIETISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFY
PSDIAVEWESDGPENNYKTPPVLDSDGSSFLYSLKLTVDKSRWEQGVDFVSCVMHEALHNHYTKQSLSLSPGK (配列
番号XXX)

【図 51 A】

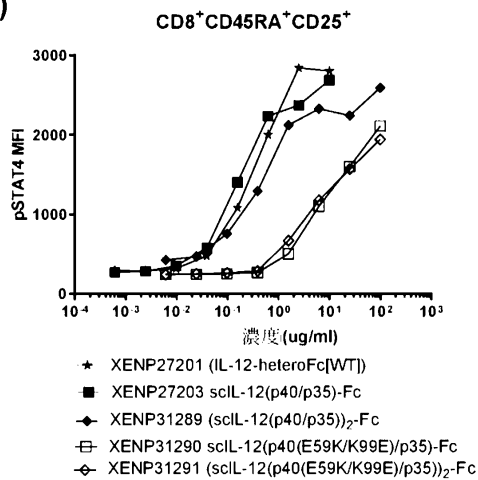
A)



10

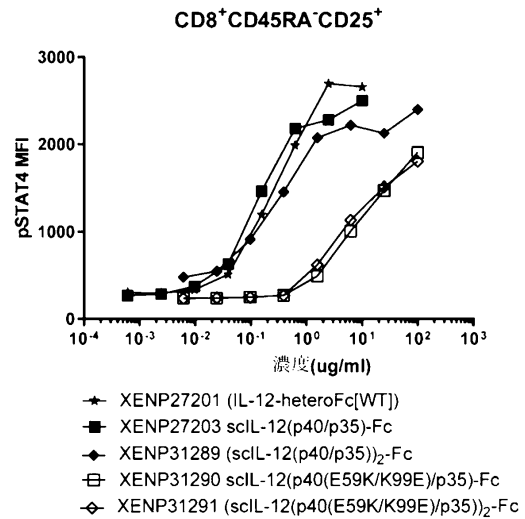
【図 51 B】

B)



【図 51 C】

C)



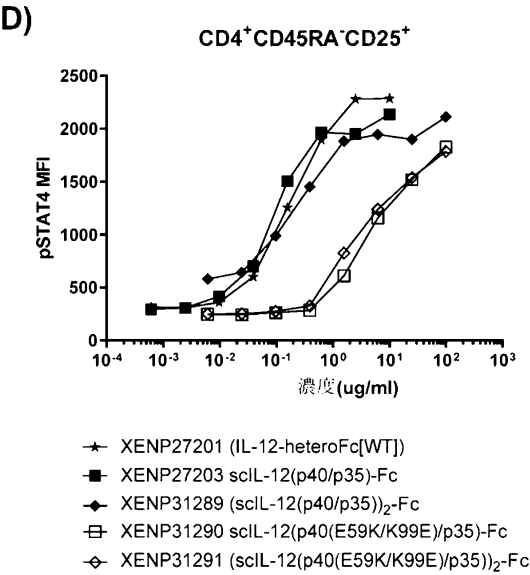
20

30

40

50

【図 5 1 D】



【図 5 2】

XENP	フォーマット	pSTAT4 EC50 (μg/ml)			
		IL-12 p40 バリエーション	IL-12 p30 バリエーション	CD4+	CD8+
				CD45RA+	CD45RA+
				CD25+	CD25+
27201	IL-12-heteroFc	WT	WT	0.2535	0.3516
27203	scIL-12(p40/p35)-Fc	WT	WT	0.1205	0.1743
31289	(scIL-12(p40/p35)) ₂ -Fc	WT	WT	0.3151	0.4397
31290	scIL-12(p40/p35)-Fc	E59K/K99E	WT	8.005	9.459
31291	(scIL-12(p40/p35)) ₂ -Fc	E59K/K99E	WT	4.241	5.549

【図 5 3】

> XENP016432 ニボルマブ_H0L0_IgG1_PVA/S267K

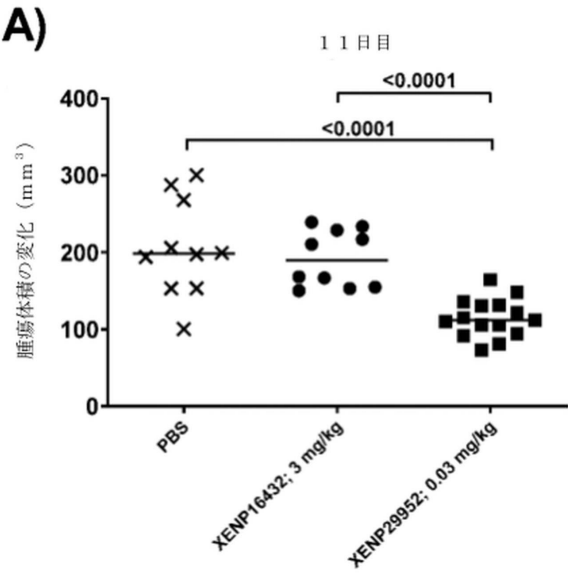
XENP016432 ニボルマブ_H0L0_IgG1_PVA/S267K 重鎖

QVQLVESGGGVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAIVWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNISK
NTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGLTVTVSS/ASTKGPVSFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYICNVNHPKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCTCPCPAPPVAG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP
PVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

XENP016432 ニボルマブ_H0L0_IgG1_PVA/S267K 軽鎖

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYLAWYQQKPGQAPRLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPED
FAVYYCQSSNWPRITFGGQTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSYSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC (配列番号XXX)

【図 5 4 A】



10

20

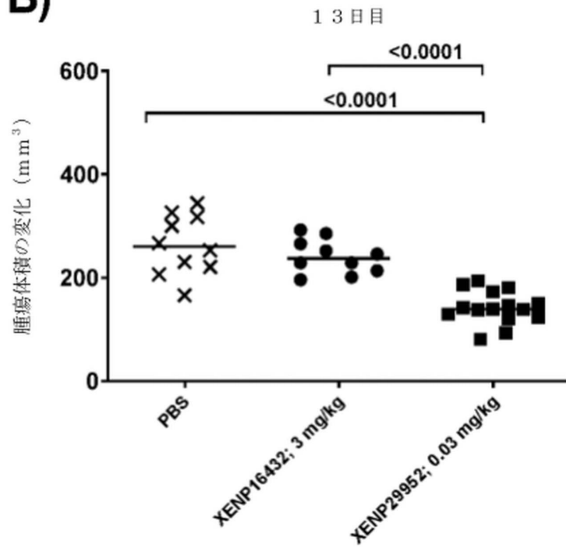
30

40

50

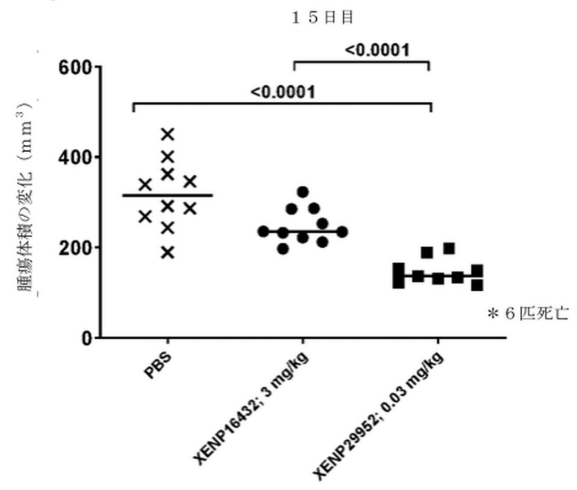
【図 5 4 B】

B)



【図 5 4 C】

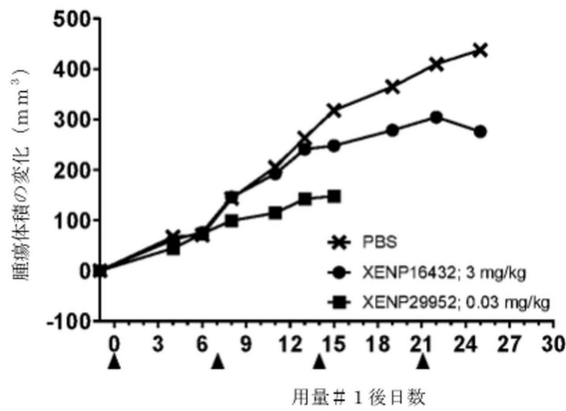
C)



10

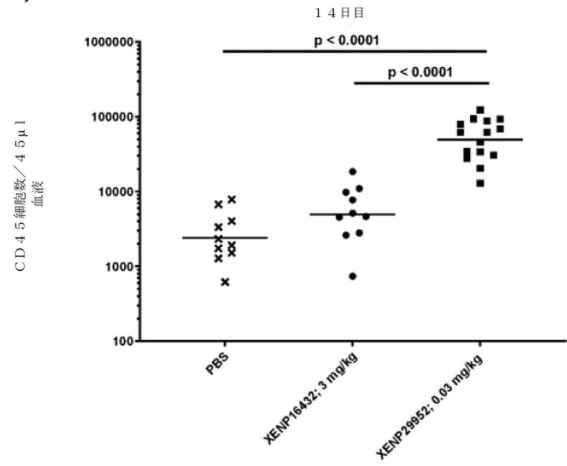
【図 5 4 D】

D)



【図 5 5 A】

A)



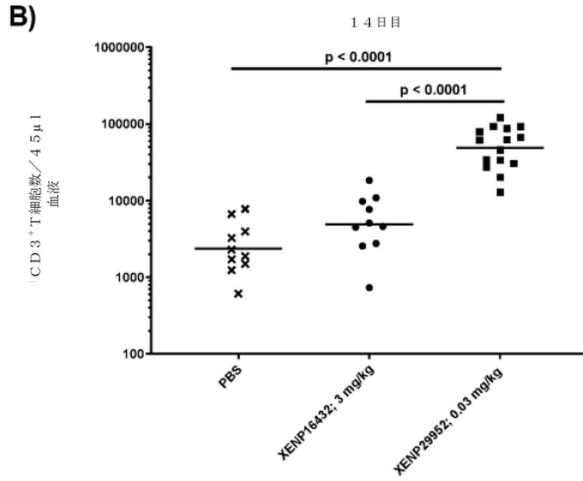
20

30

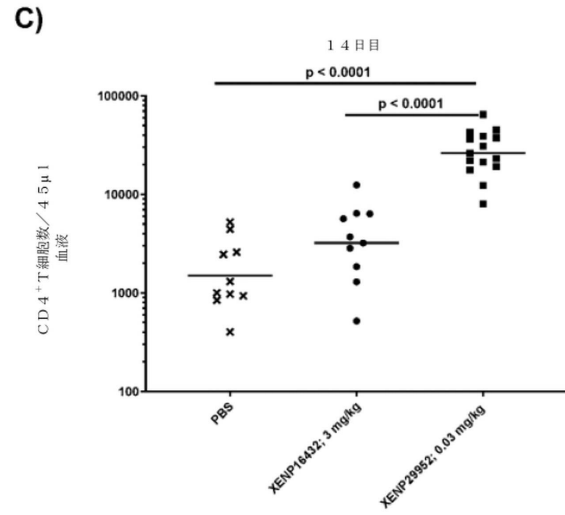
40

50

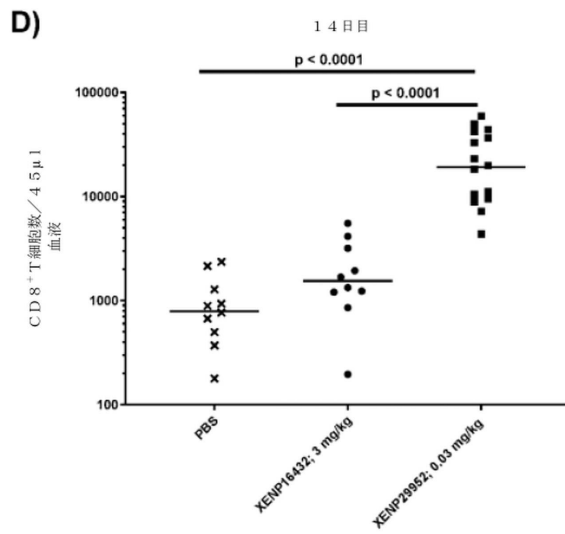
【図 5 5 B】



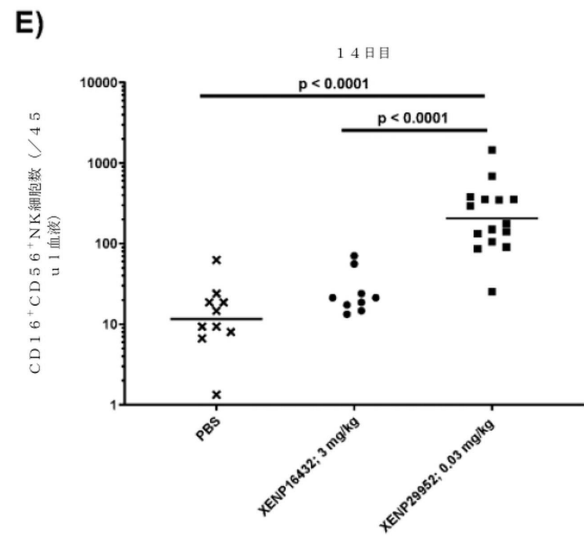
【図 5 5 C】



【図 5 5 D】



【図 5 5 E】



10

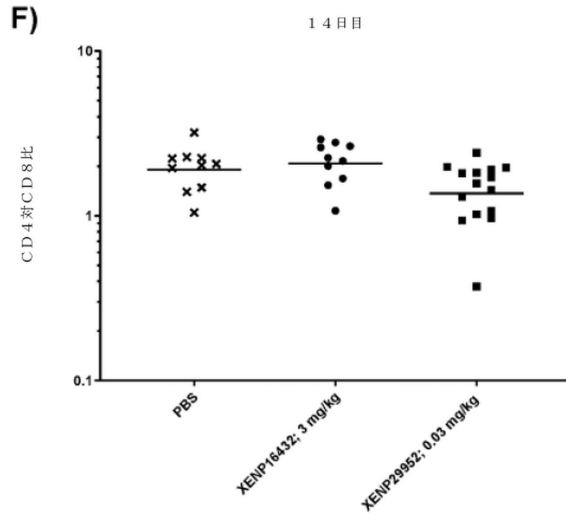
20

30

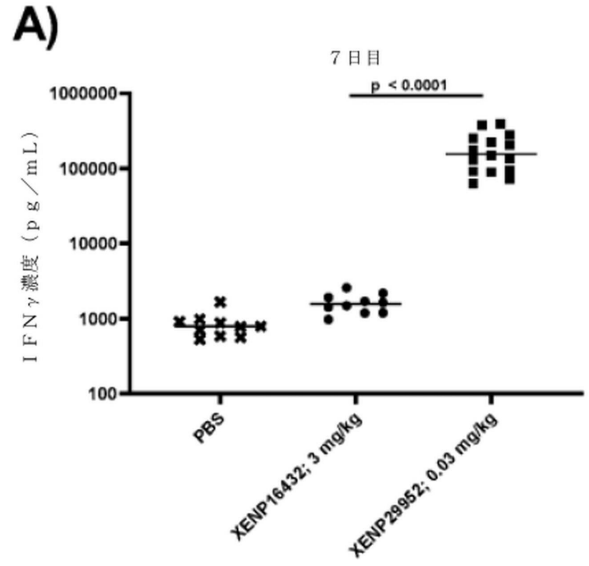
40

50

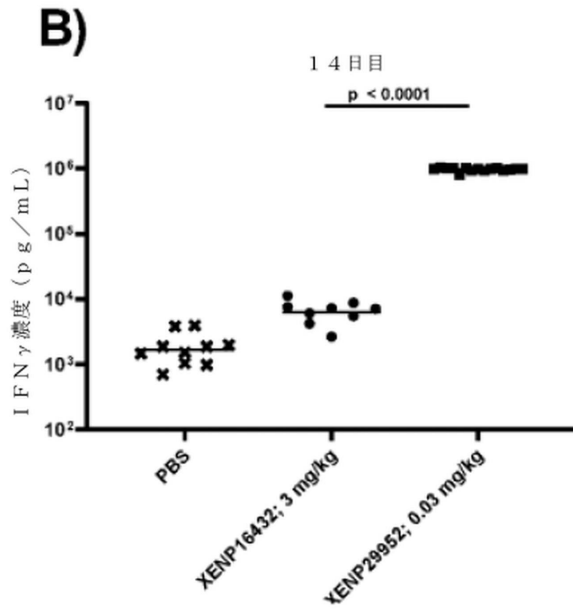
【図 5 5 F】



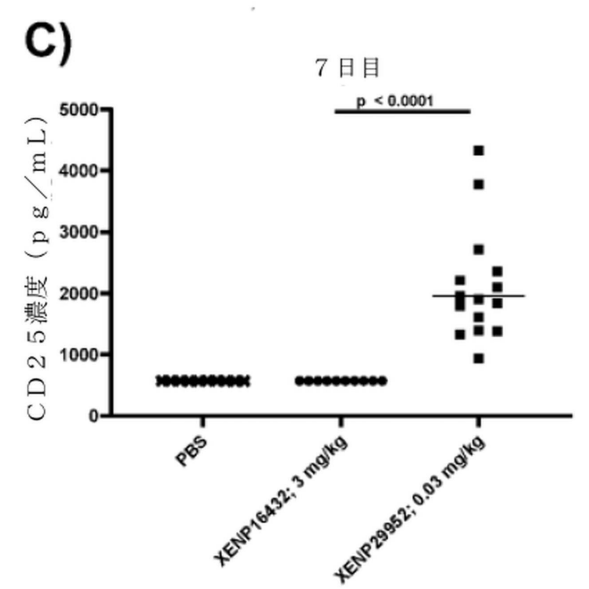
【図 5 6 A】



【図 5 6 B】



【図 5 6 C】



10

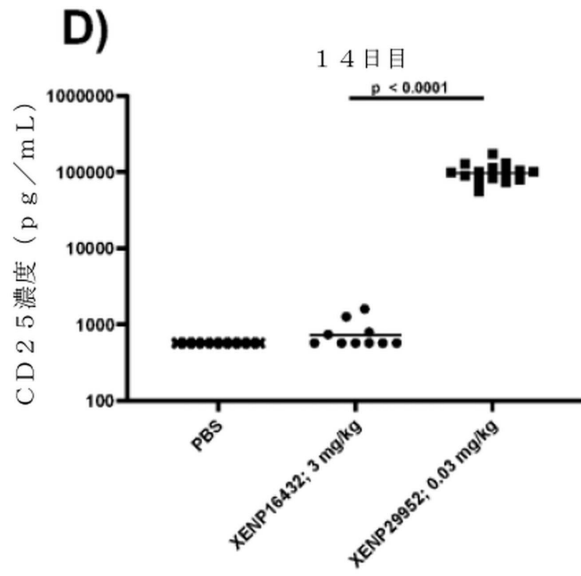
20

30

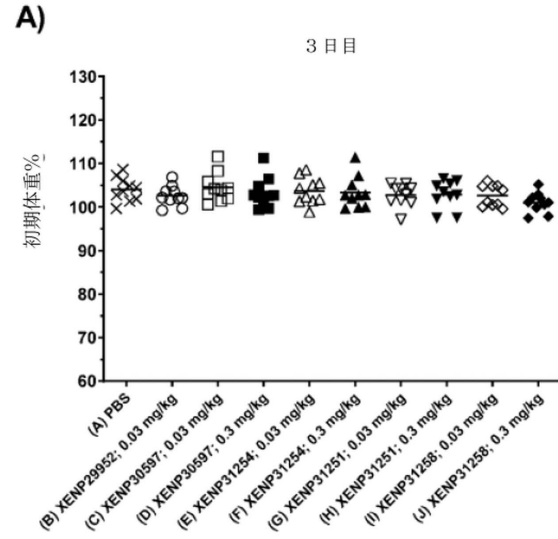
40

50

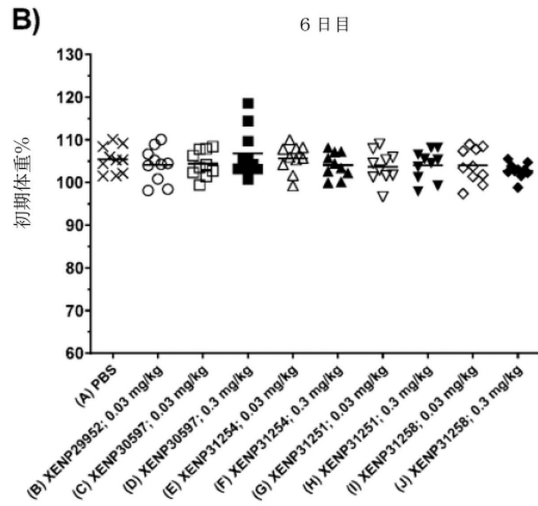
【図 5 6 D】



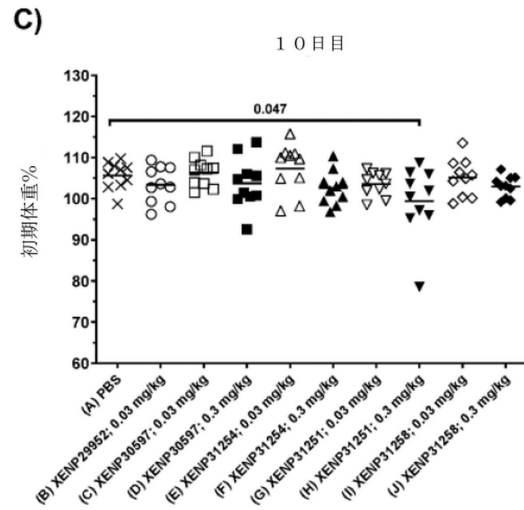
【図 5 7 A】



【図 5 7 B】



【図 5 7 C】



10

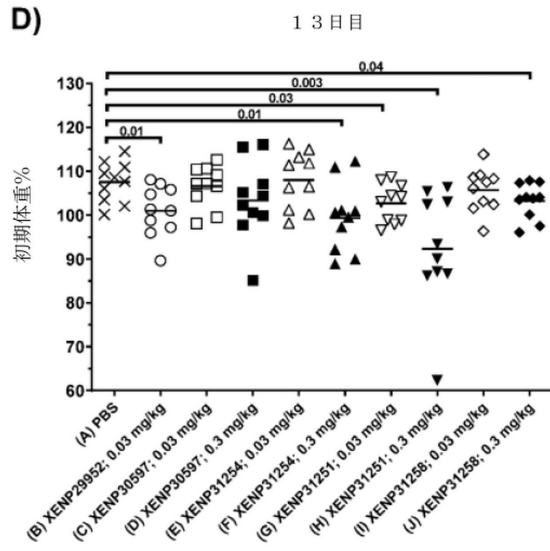
20

30

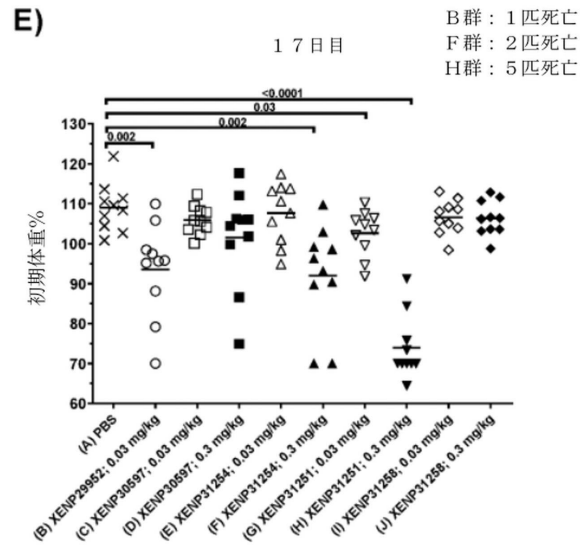
40

50

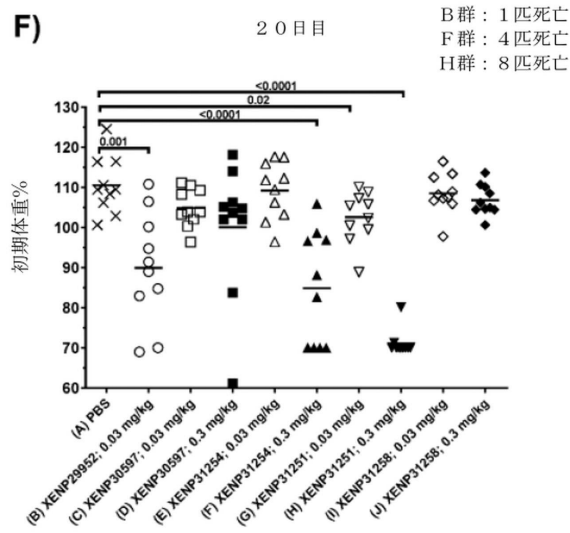
【図 5 7 D】



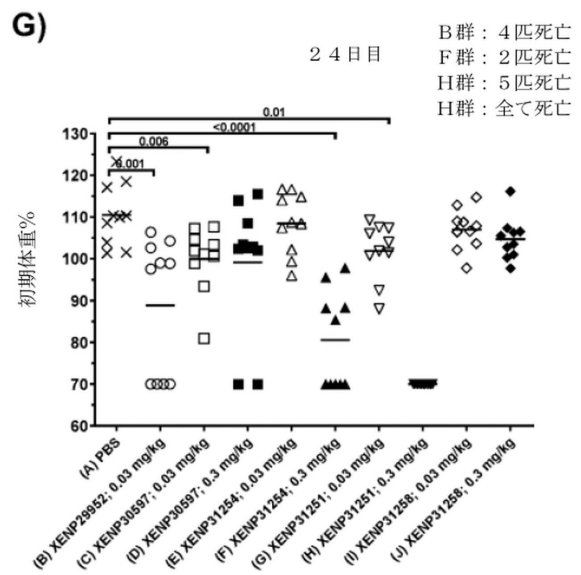
【図 5 7 E】



【図 5 7 F】



【図 5 7 G】



10

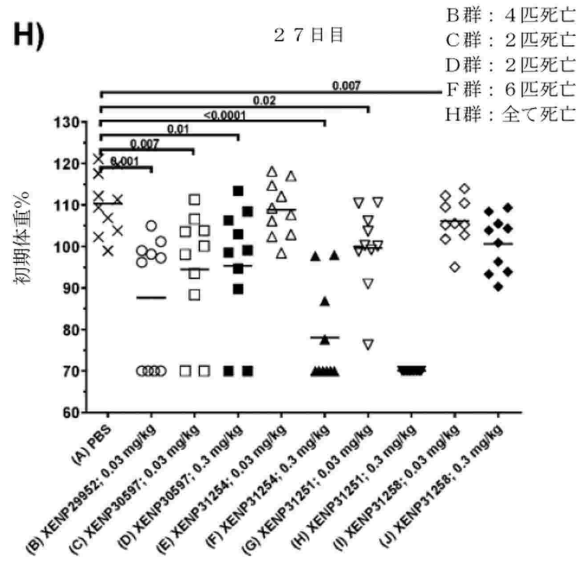
20

30

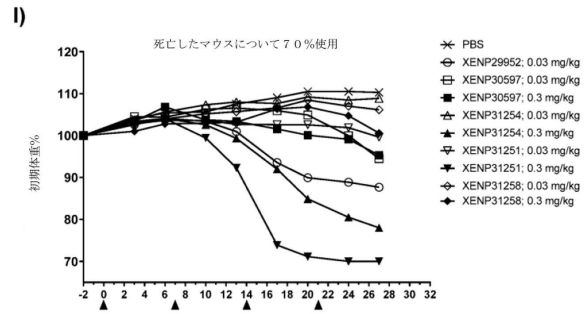
40

50

【図 5 7 H】

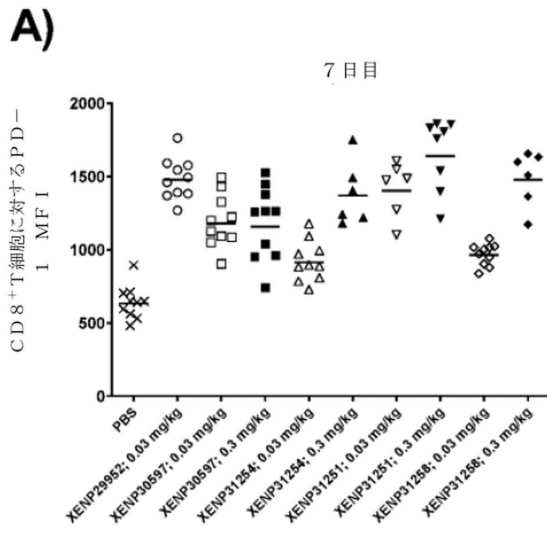


【図 5 7 I】

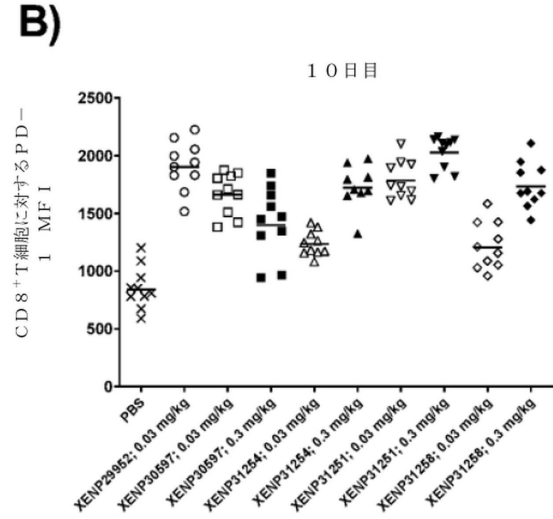


10

【図 5 8 A】



【図 5 8 B】



20

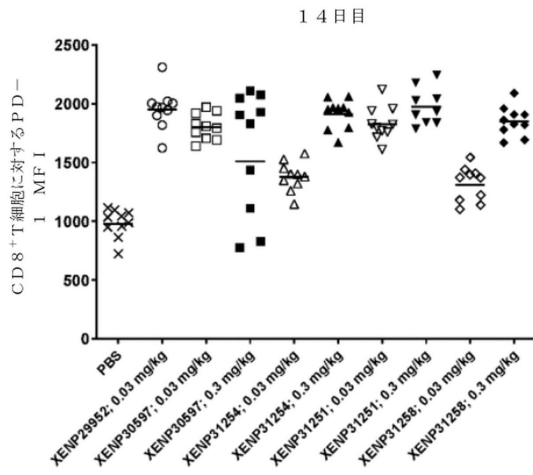
30

40

50

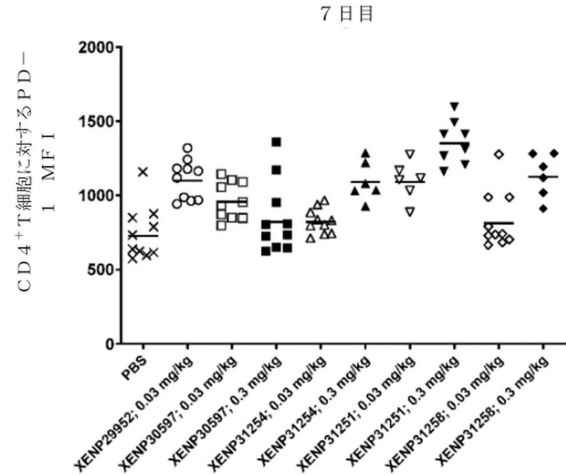
【図 5 8 C】

C)



【図 5 9 A】

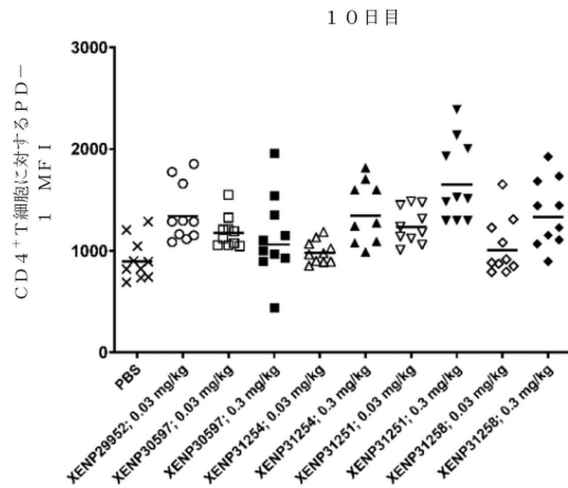
A)



10

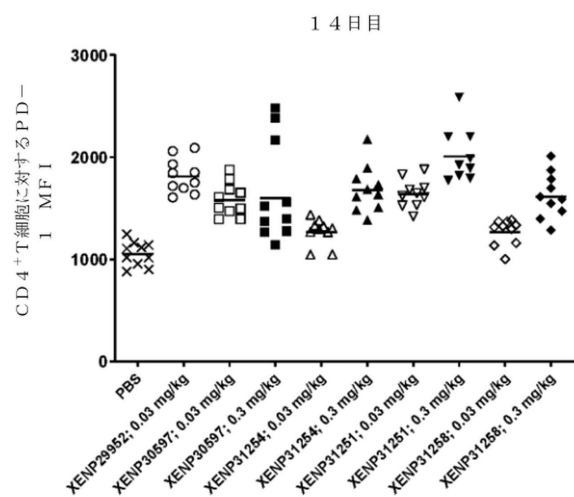
【図 5 9 B】

B)



【図 5 9 C】

C)



20

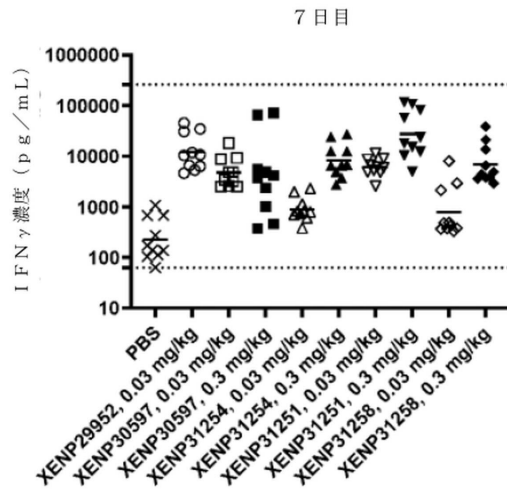
30

40

50

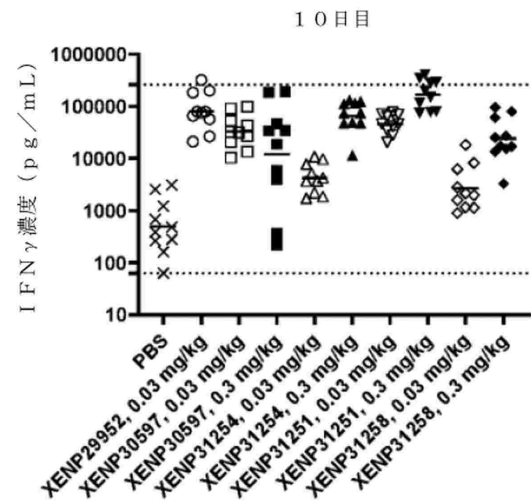
【図 60 A】

A)



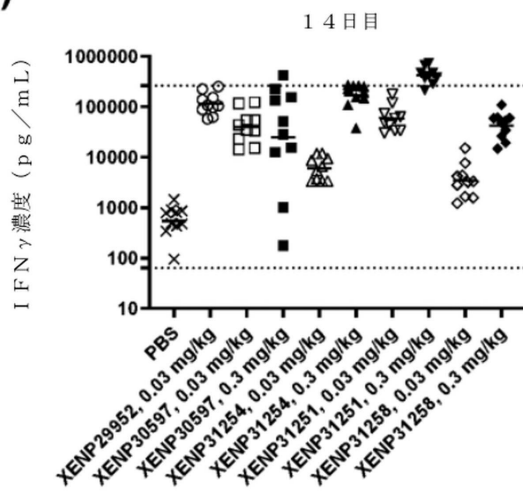
【図 60 B】

B)



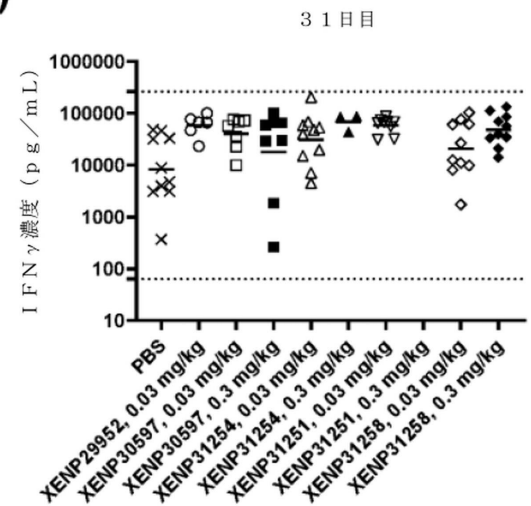
【図 60 C】

C)



【図 60 D】

D)



10

20

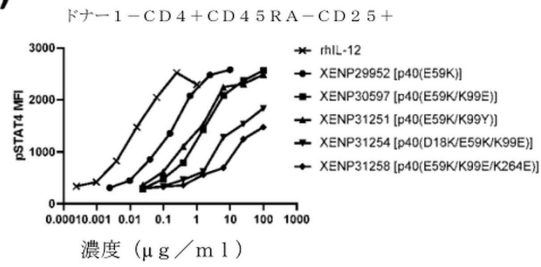
30

40

50

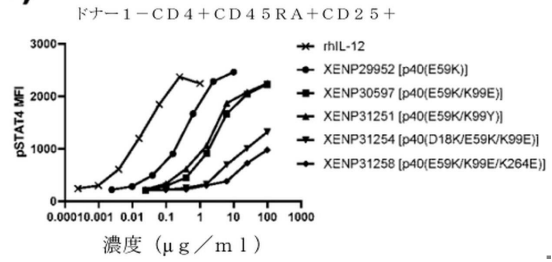
【図 6 1 A】

A)



【図 6 1 B】

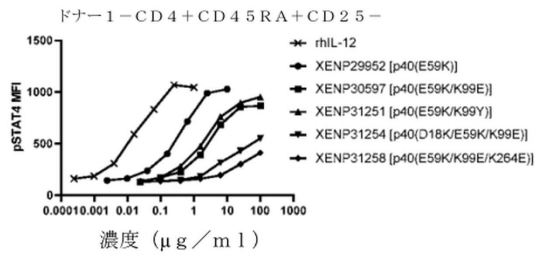
B)



10

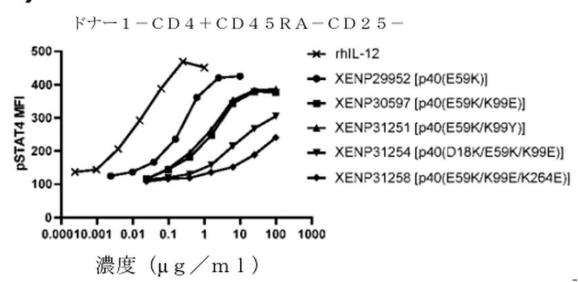
【図 6 1 C】

C)



【図 6 1 D】

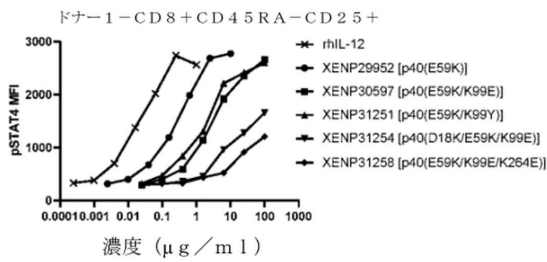
D)



20

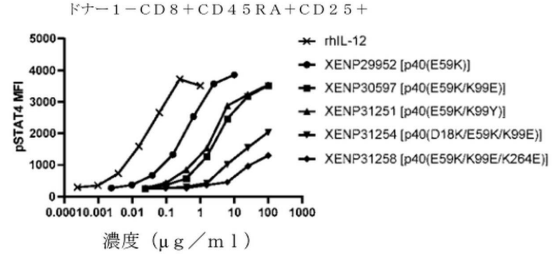
【図 6 1 E】

E)



【図 6 1 F】

F)



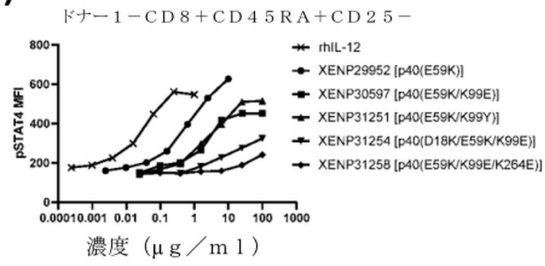
30

40

50

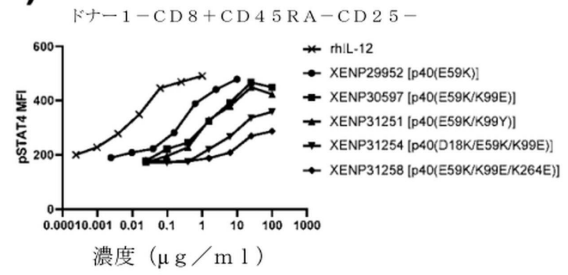
【図 6 1 G】

G)



【図 6 1 H】

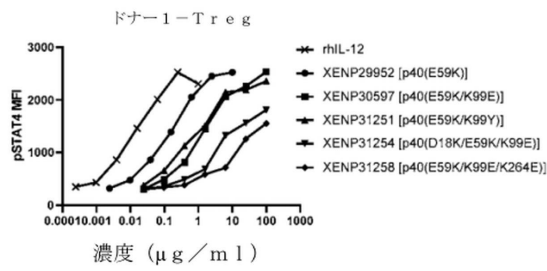
H)



10

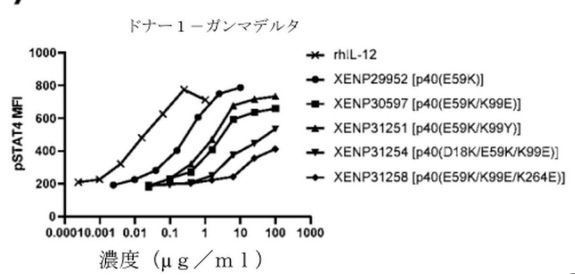
【図 6 1 I】

I)



【図 6 1 J】

J)



20

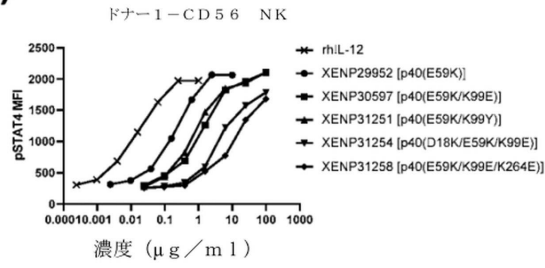
30

40

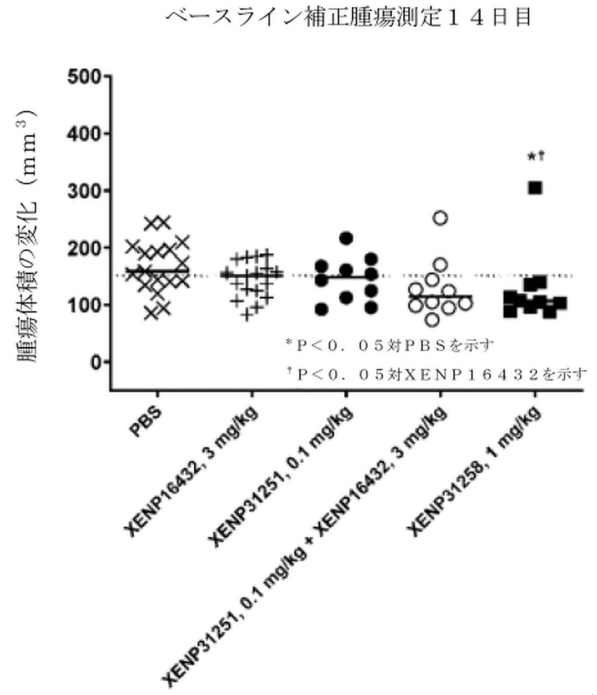
50

【図 6 1 K】

K)



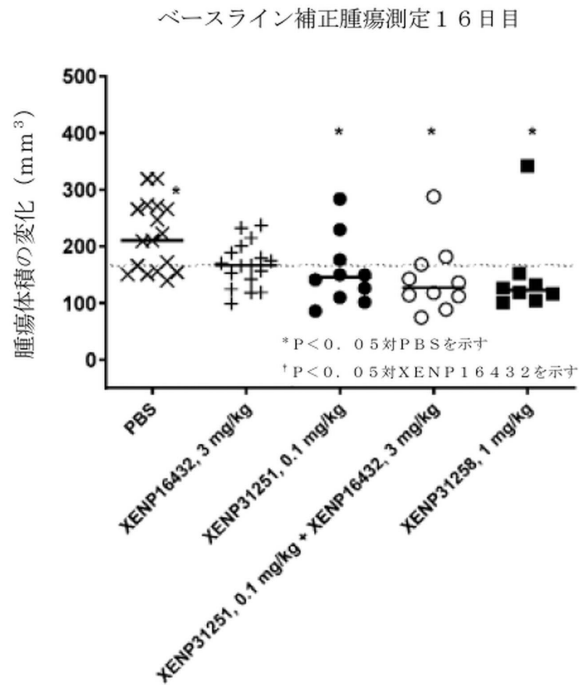
【図 6 2 A】



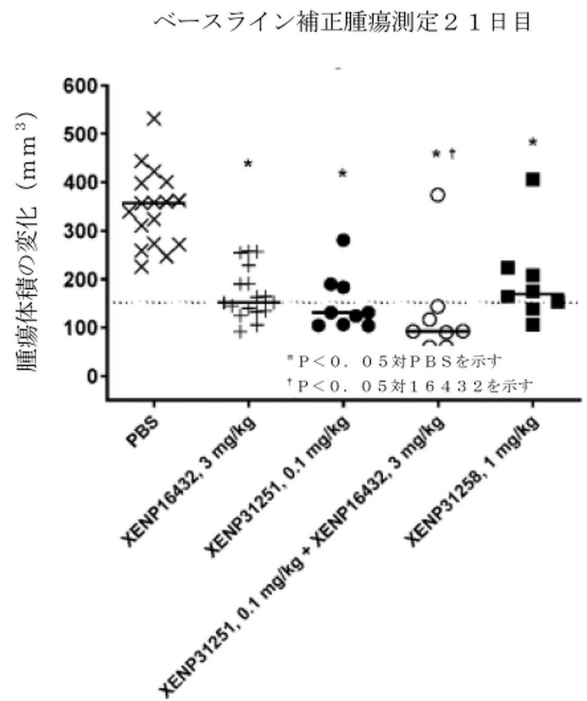
10

20

【図 6 2 B】



【図 6 2 C】



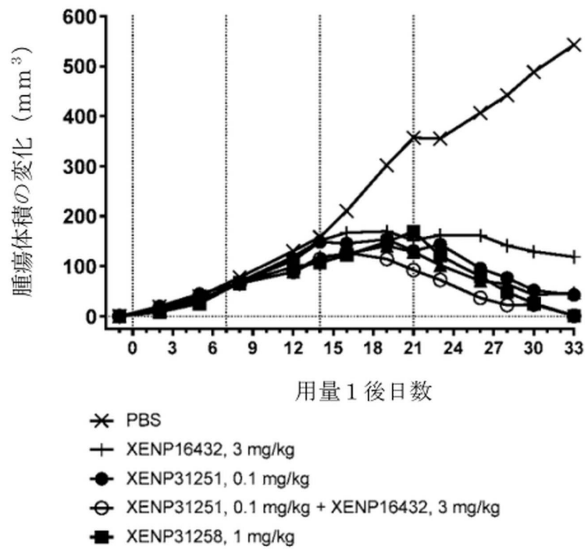
30

40

50

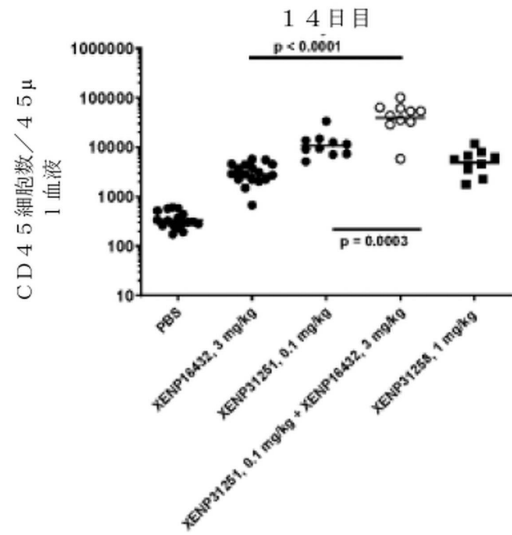
【図 6 2 D】

腫瘍体積のベースライン補正変化



【図 6 3 A】

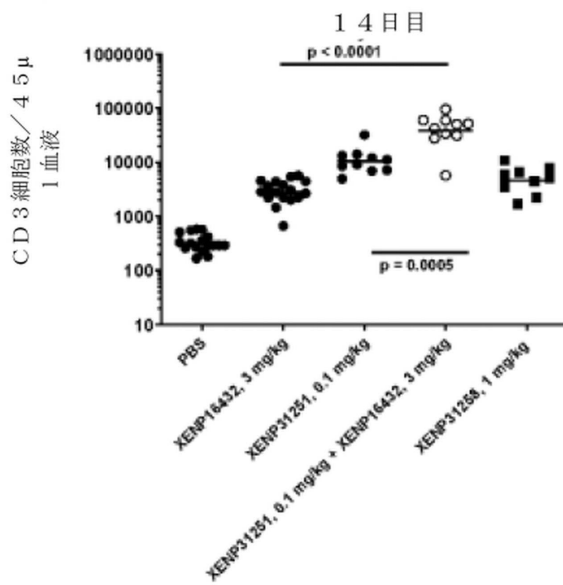
A)



10

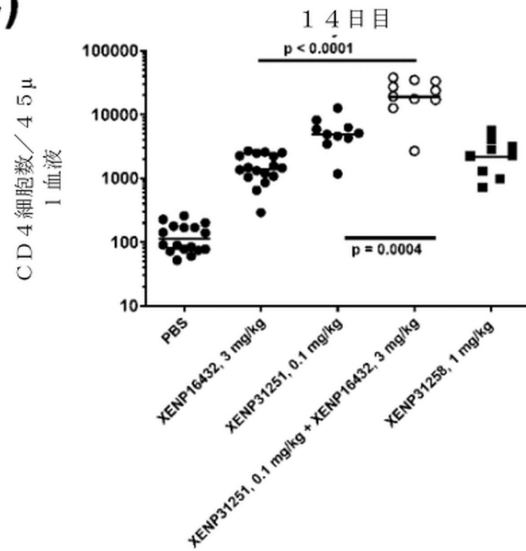
【図 6 3 B】

B)



【図 6 3 C】

C)

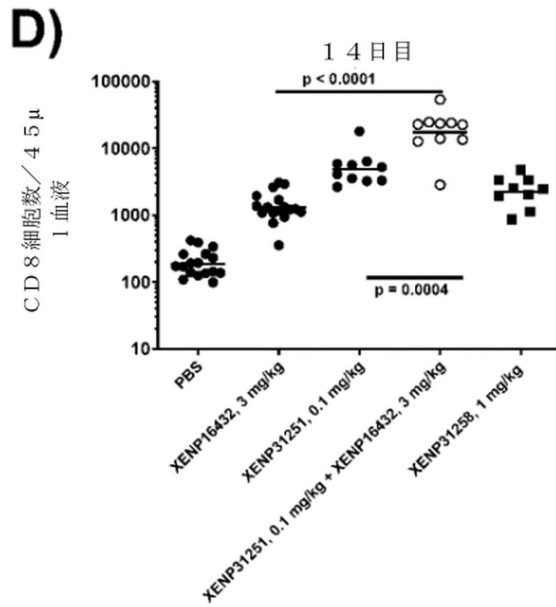


30

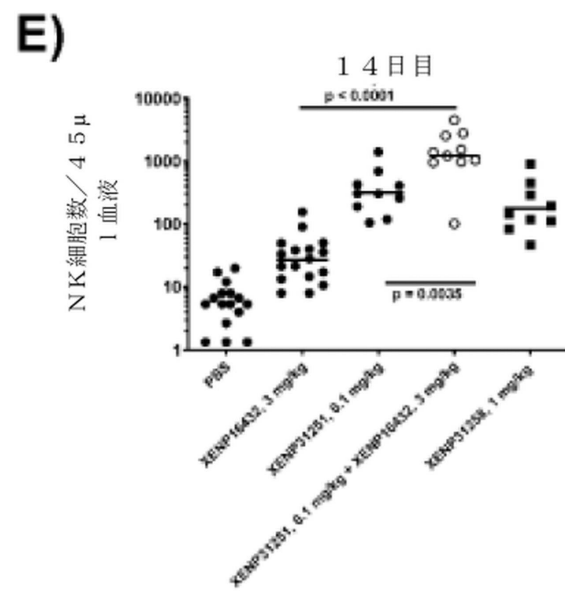
40

50

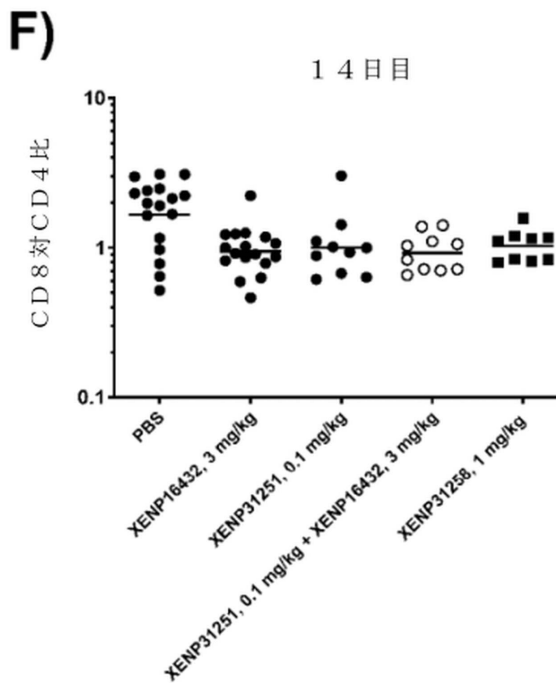
【図 6 3 D】



【図 6 3 E】



【図 6 3 F】



【図 6 4 A】

>XENP31582
ヒト-IL12p40(D18K/E59K/K99E)-(GGGGS)2-ヒト-IL12p35-(GGGGS)2-
Fc(216)-IgG1-pI(-)
) 等比体積 A_C220S/PVA/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S Fc(216)
IgG1-C220S/PVA/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

鎖1-ヒト-IL12p40(D18K/E59K/K99E)-(GGGGS)2-
Fc(216)-IgG1-pI(-)
) 等比体積 A_C220S/PVA/S267K/L368D/K370S/M
428L/N434S

IWELKKDVYVVELDWYPKAPGEMVLTCDTPEEDGITWLDQSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYTCCHKGEVLSHS
LLLLHKKEDGIWSTDILKDQEEPKNKTLRCEAKNYSGRFTCWWTITISTDLTFSVKSRSRGSDDPGVTCGAATLSAERV
GDNKEYEVSVEQEDSACPAEESLPIEVMDVAHVHLKYENYTSFFIRDIKPPDPKLNQLKPKNSRQVEVSWEPDT
WSTPHSYSLTFCVQVQSGSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWSEWASVPCS/GGGGSGGGGS/
EPKSSDKTHTCPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNKTPREEE
YNSTYRVSVTLVHLQDWLNGKEYCKCKVSNKALPAPIETISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPS
DIAVEWESDGGQPENNYKTPPVLDSDGSSFFLYSKLTVDKSRWEQDGVFSCSVLHEALSHYTKLSLSPGK (配列
番号XXX)

鎖2-ヒト-IL12p35(GGGGS)2-Fc(216)-IgG1-C220S/PVA/S
267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

RNLVATPDPMFCLHSHSQNLLRAVSNMLQKARQTLFYPCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRET
SFITNGSCLASRSTSMMLCLSSIVEDLMYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQK
SSLEEDPFYKTKICILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPPCAPPVAGPSVFLFPPK
KDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNKTPREEQYNSTYRVSVTLVHLQDWLNGKEYCKVPS
NKALPAPIETISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVLTCLVKGFPSPDIAVEWESDGGQPENNYKTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSVLHEALSHYTKLSLSPGK (配列番号XXX)

10

20

30

40

50

【図 6 4 B】

>XENP31583
Eト IL12p40 (E59K/K99Y) (GGGGS) 2-Fc (216) 1gG1_p1 (-) 等比体積_A_C220S/PVA/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S_Fc (216) 1gG1_C220S/PVA/S267K/S3 64K/E357Q/M428L/N434S

鎖1-ヒト_IL12p40 (E59K/K99Y) (GGGGS) 2-Fc (216) 1gG1_p1 (-) 等比体積_A_C220S/PVA/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S

IWELKKDVYVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYCHKGGEVLSH
LLLLLHKKEGDIWSTDILKDQEPKNTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERV
R GDNKEYEYSVECEQDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIIPDPKLNQLKPLKNSRQVEVSWEYPTD
WSTPHSYFLTCVQVQGKSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWSSEWASVPCS/GGGGSGGGGS/
EPKSSDKTHTCPPCAPPVAGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIETISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPS
DIAVEWESDGPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQDGFVSCSVLHEALHSHYTKLSLSPGK (配列
番号X X X)

鎖2-ヒト_IL12p35 (GGGGS) 2-Fc (216) 1gG1_C220S/PVA/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

RNLVPATPDGPMFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLFYPCTSEIDHEDITKDTSTVEACLPLETKNESCLNSRET
SFTINGSCLASRKTSMFALCLSSIEDLMKYQVEFTMNAKLMDPKRQILFDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQK
SLLEEDPFYTKIKLILHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPPCAPPVAGPSVFLFPKP
KDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVS
NKALPAPIETISKAKGQPREPQVYTLPPSREMQTKNQVSLTCLVKGYFSPDSIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSVLHEALHSHYTKLSLSPGK (配列番号X X X)

【図 6 5 A】

> IL-12p40 (C252S)
IWELKKDVYVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYCHKGGEVLSH
LLLLLHKKEGDIWSTDILKDQEPKNTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGDGNKEYEYSVECEQDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIIPDPKLNQLKPLKNSRQVE
VSWEYPTDWTSTPHSYFLTSVQVQGKSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWSSEWASVPCS
(配列番号X X X)

> IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/C252S)
IWELKKDVYVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYCHKGGEVLSH
LLLLLHKKEGDIWSTDILKDQEPKNTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGDGNKEYEYSVECEQDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIIPDPKLNQLKPLKNSRQVE
VSWEYPTDWTSTPHSYFLTSVQVQGKSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWSSEWASVPCS
(配列番号X X X)

> IL-12p40 (D18K/E59K/K99E/C252S/K264E)
IWELKKDVYVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYCHKGGEVLSH
LLLLLHKKEGDIWSTDILKDQEPKNTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGDGNKEYEYSVECEQDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIIPDPKLNQLKPLKNSRQVE
VSWEYPTDWTSTPHSYFLTSVQVQGKSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWSSEWASVPCS
(配列番号X X X)

> IL-12p40 (E59K/K99Y/C252S)
IWELKKDVYVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYCHKGGEVLSH
LLLLLHKKEGDIWSTDILKDQEPKNTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGDGNKEYEYSVECEQDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIIPDPKLNQLKPLKNSRQVE
VSWEYPTDWTSTPHSYFLTSVQVQGKSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWSSEWASVPCS
(配列番号X X X)

> IL-12p40 (E59K/K99E/C252S/K264E)
IWELKKDVYVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYCHKGGEVLSH
LLLLLHKKEGDIWSTDILKDQEPKNTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGDGNKEYEYSVECEQDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIIPDPKLNQLKPLKNSRQVE
VSWEYPTDWTSTPHSYFLTSVQVQGKSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWSSEWASVPCS
(配列番号X X X)

> IL-12p40 (E59K/K99E/C252S)
IWELKKDVYVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYCHKGGEVLSH
LLLLLHKKEGDIWSTDILKDQEPKNTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGDGNKEYEYSVECEQDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIIPDPKLNQLKPLKNSRQVE
VSWEYPTDWTSTPHSYFLTSVQVQGKSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWSSEWASVPCS
(配列番号X X X)

【図 6 4 C】

>XENP31584
Eト IL12p40 (E59K/K99E/K264E) (GGGGS) 2-Fc (216) 1gG1_p1 (-) 等比体積_A_C220S/PVA/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S_Fc (216) 1gG1_C220S/PVA/S267K/S3 64K/E357Q/M428L/N434S

鎖1-ヒト_IL12p40 (E59K/K99E/K264E) (GGGGS) 2-Fc (216) 1gG1_p1 (-) 等比体積_A_C220S/PVA/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S

IWELKKDVYVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYCHKGGEVLSH
LLLLLHKKEGDIWSTDILKDQEPKNTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERV
R GDNKEYEYSVECEQDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIIPDPKLNQLKPLKNSRQVEVSWEYPTD
WSTPHSYFLTCVQVQGKSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWSSEWASVPCS/GGGGSGGGGS/
EPKSSDKTHTCPPCAPPVAGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIETISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPS
DIAVEWESDGPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQDGFVSCSVLHEALHSHYTKLSLSPGK
(配列番号X X X)

鎖2-ヒト_IL12p35 (GGGGS) 2-Fc (216) 1gG1_C220S/PVA/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

RNLVPATPDGPMFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLFYPCTSEIDHEDITKDTSTVEACLPLETKNESCLNSRET
SFTINGSCLASRKTSMFALCLSSIEDLMKYQVEFTMNAKLMDPKRQILFDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQK
SLLEEDPFYTKIKLILHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPPCAPPVAGPSVFLFPKP
KDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVS
NKALPAPIETISKAKGQPREPQVYTLPPSREMQTKNQVSLTCLVKGYFSPDSIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSVLHEALHSHYTKLSLSPGK (配列番号X X X)

【図 6 5 B】

> IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/K264E)
IWELKKDVYVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYCHKGGEVLSH
LLLLLHKKEGDIWSTDILKDQEPKNTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGDGNKEYEYSVECEQDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIIPDPKLNQLKPLKNSRQVE
VSWEYPTDWTSTPHSYFLTSVQVQGKSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWSSEWASVPCS
(配列番号X X X)

> IL-12p40 (E59K/K99E/N113Q/K264E)
IWELKKDVYVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYCHKGGEVLSH
LLLLLHKKEGDIWSTDILKDQEPKNTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGDGNKEYEYSVECEQDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIIPDPKLNQLKPLKNSRQVE
VSWEYPTDWTSTPHSYFLTSVQVQGKSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWSSEWASVPCS
(配列番号X X X)

> IL-12p40 (E59K/K99E/N200Q/C252S/K264E)
IWELKKDVYVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYCHKGGEVLSH
LLLLLHKKEGDIWSTDILKDQEPKNTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGDGNKEYEYSVECEQDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIIPDPKLNQLKPLKNSRQVE
VSWEYPTDWTSTPHSYFLTSVQVQGKSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWSSEWASVPCS
(配列番号X X X)

> IL-12p40 (E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E)
IWELKKDVYVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYCHKGGEVLSH
LLLLLHKKEGDIWSTDILKDQEPKNTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGDGNKEYEYSVECEQDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIIPDPKLNQLKPLKNSRQVE
VSWEYPTDWTSTPHSYFLTSVQVQGKSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWSSEWASVPCS
(配列番号X X X)

> IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E)
IWELKKDVYVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYCHKGGEVLSH
LLLLLHKKEGDIWSTDILKDQEPKNTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGDGNKEYEYSVECEQDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIIPDPKLNQLKPLKNSRQVE
VSWEYPTDWTSTPHSYFLTSVQVQGKSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWSSEWASVPCS
(配列番号X X X)

> IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E)
IWELKKDVYVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYCHKGGEVLSH
LLLLLHKKEGDIWSTDILKDQEPKNTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGDGNKEYEYSVECEQDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIIPDPKLNQLKPLKNSRQVE
VSWEYPTDWTSTPHSYFLTSVQVQGKSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWSSEWASVPCS
(配列番号X X X)

> IL-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264E)
IWELKKDVYVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKFGDAGQYCHKGGEVLSH
LLLLLHKKEGDIWSTDILKDQEPKNTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGDGNKEYEYSVECEQDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIIPDPKLNQLKPLKNSRQVE
VSWEYPTDWTSTPHSYFLTSVQVQGKSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWSSEWASVPCS
(配列番号X X X)

【図 6 5 C】

```

X1L12p40{E59K/K99E9113Q/N200Q/C252S/K264E}
IWELKKKKVVVLEVDVDPADGEMVITDCTPEEDGITWTLQVQKSEVLGSGKTLTIQVKKFDGAGQYCHKGGEVLSH
L111111KKKEDGISTWLDKQPEEKPNFLFRAEAKQYSGRGTCWMLTITD1L7FVKSSRGSSDQGVQCGAATLS
AERVGVGNKEVEYSVEQCQDSACPAEES1PIEVM/DAVHKLKYEQTSSFFIRD1IPDDPNNILKPKLSRQVE
VSWVEYPTDWTSSYFSLTFSVQVQGGKSKREKEDRVPTDKTSAVICRKNASISVRAQDR1YSSSWSEWASVPCS
(配列番号 X X X)

```

```
>TL-12p40|TL12p40_E59K/R99E/N113Q/N281Q/C252S/K264E)
IWELKKKVVVVEVLWDYFDAPGEMVTLCTDTPDEGFTITWLDQSSVGLSGKTLTIQVKFKGADGQYTCCHKGEVLSH
LIIILHKKEDGISTDLIKQDEEKNPFLTFRCAEQYSGRFTCEWLTITDITLFSVKSSRGGSDQGVGTCAATLS
AERVGDNKYEYVSVEQEDSACAPAEESIPIEVMVDAVHLKLEYNTSFFTIDILKPPDPNNILQLKFLKNSRQVE
VSMVEYPTDWTSPHYSFSLTFSVQVQGSKKREKEDRVDTKATSVICRKAQSI SVRAQDRYYSSSMSEWASVPCS
(配列番号 X X X)
```

```

>TL-12p40 (E59K/K99E/K200Q/N281Q/C252S/K264E)
IWELKKKKVVVLEWVDPAGFEMWLDCTDPEEDGITWLDQSGSEVLGSGKTLTIQVKKFGDAGQYCHKGGEVLSH
LILLLHKKDEKIGWSTLDLQKPEKPNFLRCAKNYVSGRGTGCMWLTITSTDLTFSVKSSRGGSDPGQVTCGAATLS
AERVFGDNKEEYVSVCEQDSACPAEAESPIEVWVDAVHLKLEYQTSFFFIKDIKPPDPNNKLQKPLKNSRQVE
VSWVEYEDTWSTPHSFYSLTFSVQVQKSKREKEDRVFTDKTSATVICRKAQSI SVRAQDRYYSSSWSEWASVFC
(密配号X X X)

```

```

>TL12p40 (E59K/K99E)103Q/N113Q/N200Q/C252S/K264E)
IWELKKKKVVVVEVDVDPADGEMVTLCTDPEEDGIWTWLDQVIELSGKTLTIQVKFGDAGQYTCCHKGEVLSH
LIIILHKKEDIGSTWLDLKKDEEKPQFLTRCAKQYSGRGTCMWLTITDLSFLSVKSSRGSSDPQGVCGAATLS
AERYVGNKKEEYVSVEQCDSACPAEESPIEVMVDVAHKLKYEQTSSFFRIDLIPDPNNKLQKLKNSPQVE
VSWVEYEDTWTSPHYSFLTSFVQVQKSKREKEDRVDTKTSATVICKNANISVRAQDRYYSSSMSEWASVPCS
(配番号XX XX)

```

```

>IL12p40(E59K/K99E)103Q/N200Q/N210I/QC252S/K264E)
IWELKKKKVVVELVDVDPADGEMVITLCTPDEEDGITWLDQVIELVSGKTLTIQVKKFGDAGQYTCCHKGEVLSH
LILLKKKKEDGISTWLDIKKQEPKQFTRLCRANKYVSGRTCEMWLTITLDTLFSVKSSRSGSDPQGVTCGAATLS
AERVQDKKEEYVSVQCEQDSACPAEAEISPIEVMVDAVHLKLEYQTSFFRIDILPDPPIKKLQKPLKNSRQVE
VSWVEYPTMTSYFHSFLTSFVQVQKKKREKEDRVPTDKTASVITCRKQASISVRAQDRYYSSSMSEWASVPCS
(配列番号X X X)

```

```

>IL12p40(E59K/K99E)I113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E)
IWELKKKKVVVELVDVDPADGEMVLTCDTPEEDGITWLDQSEVLISGKTLTIQVKFKDGAGQYTCCHKGEVLSH
LIIILHKKEDGISTWLDLKKQPEKNFLCRCAQYSGRGTCEWLTITDLSFVKSSRGGSDPGQVGTCAATLS
AERVGNDKYEYVSVEQCQDSACPAEESIPIEVWVDAVHLKYEYQTSFFRIDIKPDPNNLQKLKPLKNSQVE
VSMVEYDWTSHYSFSLTSFVQVQGKSKREKREDRVDTKATSVICRKAQISVRAQDRYYSSSWENASVPCS
(配列番号XXX)

```

```

X1L12p40{E59K/999E1013Q/1113Q/2N00Q/N281Q/C252S/K264E}
IWELKKWVWVWELVWDPEAGMEWLTCDTPEEDGITWLDGSLTGVKQFAGDAGYCHKGGEVLSH
L11LLKKKEDIGWSTLDLKKQEPKQFLTRCAEQYSGRGTCEWLLTSGTDLTVSKVSSRGGSDPQVGTGAATLS
AERVGDNKKEEYVSVEQCDSACPAEAESPIEVMVDAVHLKLEQYQTSFFPIDI1KPPDPKNLQLKPLKNSRQVE
VSWVEYPTDWTSHYFSFLTSFVQVQKGKREKEDRVFTDKTSAVICRKAQASIVRAQDRYYSNWSWASVPSX
(配列番号 X X X)

```

【圖 6 6 B】

③ XENP32189
 ヒト 1L12p40 (E59K/K99Y/C252S) (GGGGS) 2-ヒト 1L12p35 (GGGGS) 2-Fc (216) -IgG1-p1(-) 等比体積 A₂C20S/PVA /S267K/L368D/K370S_Fc (216) -IgG1 C₂20S/PVA /S267K/S364K/C357Q

鎖1-ヒト 1L12p40 (E59K/K99Y/C252S) (GGGGS) 2-Fc (216) -IgG1-p1(-) 等比体積 A₂C20S/PVA /S267K/L368D/K370S

ALLLHKKKEDDINSDTLDKQDEFWKATLCEAKGNIYFCTKRTFCNWLITJSDTLFVSRSGGSDPGQVTCGAALS
 AERVRGONKEVIEVSCEQEDCAAPAEELFIEVMVDHAKLXEYENSTFFRIDIKPPKPNLQKPLKNSRVS
 VSNVYPTWTSYHYSYFLTSFVGQDQSKREKRDVTKSTATJCRKANSISVRADQYISSSMSVASEPVS/G
 GGGGGGGG/EKESNDKTHITPLPQAPVAGVSFPPKPKNLTISRTPEVNDQVWDEQDEPVKNVYVDMG
 VHNAKTPRKYNSNTPYRVSFVLTCLQDWMANGKEYCKNSKALPAPEKTSIKAGQKQKPHFDTLTPPEEMTK
 NQVSLTCDVSGSYGFIADIAWESDQGENNYKTYPLDVLSDSGFFLYSKLTKDKSWEQGDVFSVCVMHEALNIH
 QKSLSDSPKG(C)DN(PIAVE)XXX

002-11121355-IGGGGS)F-X(216)-1xG1-C220S/PVA-5267K/5364/5337Q
 RNLFPVTFWPGCFLHNSQNLALVSNMLQAQKQLEFYPC7SEIHDH73V2EACFLPQKNSCWS
 RETSP12PDSGLASRTKQV12EDLHQVYQVETKQVMDLFRQ1FDQMSYALD8LQALFN5E7
 VYF6KSP6LEDPYKTKILCLLHFAIRFARFVDFVSNLYMS(IGGGGGGGG)/EKS3SD21LCPQAPVAG
 SVF65PEFKD1P1Y20QV/DKHEDFVKVNNYVDGEVQKNNLFRREGQY21STYVSVL2VTLHHDW
 GK5YCKSNKALPAPEIKTISKQGPREFQY1P2P86QKQVKTLCVGF65PDSVWESNGEPNNYK
 TPTVLDSDG65FYLK12VDSWQGNQVSGVMEALHNHYTKQSL5LSPGK(配列番号XX)

>XENP32190

鎖1-ヒト₁LL12p40(E59K/K99E/C252S/K264E)_(GGGGs)2_Fc(216)₁gG1₁
pI(一)等比体积_A_C220S/PVA/S267K/L368D/K370S

LLLKROVYVLEWDIPOPAPVMMKTLQDPEEDGTIQLDQSEVDSGKGTLLTVQVKFGDAQGTICKHGVEVSL
 SLLHLKKEDGSDSDILDKDQEPNKFTLRCEAKNYSRQGTFCMWLTITSDTLFQVSGSDSDPGVTCGATLS
 AERNYRDNKIEYVSEVQCEQDCAPAEELIPVEMVDAHKLKXYENTSSFFTRIDLPKPPKQLKLQNSROE
 VSVYPTDWSYTHPSYSLTFESVQDQKREKEDRVTDKTASVTCIRKNSISVRADQYYSNMSAVEPSC/G
 GGGGGGGG/EKPSDSKDTTHCPCEPAPVAGSVLEFPKPKVITLISRTVEPTDQVDEKVEPNVYVDGE
 VHNAKTPFREESYNTYRVVSYLTLPVDMGKVEYKCNKALPAPEIKTISNAKGQWFKFHEPTLTPFSREMT
 NQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWSDSGPENNYKTLPPVLDSDGFFLYSKLTVKDSRWEGDFCSGVMEALHNIY
 OKSLSDPFGK (序列番号:XX XX)

MZ-1L12p35 (GGGGG-2_Fc (216) -1_Fc1_G1_C220S/PVA_A-5267K/S364K/E3
57Q
RLNPVATPGGPGFCLHSHQNLRAVSNLKAQQTLEFYPTCTSEIHDITKOKTSVEACLPLHDKTNESCLNS
RNTSPITVSGSCGRRTPFWALCLSTSYDLKQVQVEKFTKQVDELMDPKRQITDPAWDELGMALNLS
VQKSSGLKQKQKLLCLILFAHRAEDTPKVNVLNAG/GGGGGGGGG/EPKSD3SDTCCPPCAFWGL
VSFLFPFKDITLMI SRTPECVVDVHKHDEPDKVNVYDGE/VEGKQKTRFEEQYNTSYRVSVLTPLHGWLN
GKEYCKYSKNALPAPEIKTSIKSRQGGPREPQVITLPSPEHNGKQVKTLCVGRFGYSVSGNGSGPENNKY
TTPVLVDSGDSFFLYSLKTSRWSQOQNGFSGVMHAEHLNHYTKQSLSLPGK (配列番号XX)

【図 6 6 A】

$\overline{\text{XENP32187}}$
 $\overline{\text{IL12p40 (D18K/E59K/K99E/C252S)}} \text{-(GGGGS)-2-}\overline{\text{IL12p35 (GGGGS)-2-Fe (216)}}$
 $\overline{\text{IGGI-p1 (-)}}$
 $\overline{\text{1-等比例物 A-C220S/PVA/S267K/1368D/K370S-Fe (216)-IGGI-C220S/PVA/S267K/S3}}$
 $\overline{\text{64K/IC357Q}}$

[illegible]

202-11.12p35_5(GGGGGS)_F_C(216)_1gG1_C220S_VA/S_267K/3534C/43537Q
 RMLVATPGPGFGRGSHQNLRAVRAQKQQAQLEFYECFTEPDEHDTKTKTSVACELKPLTHQMSCLS
 RSTFTWQSGCLASRQKSFMAALCSLYEDLVKQVQEFKTMAKKLLDKPKQFLVQDMLVAIDELQALPNSFT
 VPQSSLSFQVETFKYKTKLLHAFIRAVTPDRVMSLNS(GGGGSGGGG)/EPKSD3SDTCCPPCAPAVS
 SVLEFPPKKDKDLMISRSSTPQVWVKDEPQPKENWYDGVQVHNATKREFTSYSTSYDVLVTLVHQDLN
 GKECKCVSNKALPAPIEKTISKNAQSGPREPQVTLTFSRQVQVQKLTCLVKGFPYSDVAEVESNGQFPENNY
 TTPFVLDGSGDFSLYSKLTVDKSRWQGVQSCVSMHREALNHYTQSLSSPGR (配列番号XXX)

ヒト IL12p40 (D18K/E59K/K99E/C252S/K264E) (GGGGS) 2-ヒト IL12p35 (GGGGS) 2-
Fc (216) IgG1-p1 (-) 等比体積 A.C220S/PVA/S267K/L368D/K370S_Fc (216) IgG1
C220S/PVA/S267K/S364K/E357Q

頭1-ヒト 1 L 1 2 p 4 0 (D 1 8 K / E 5 9 K / K 9 9 E / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E) _ (G G G G S) 2 _ F c (2 1 6) _ I g
G 1 _ p I (-) _ 等比体積 _ A _ C 2 2 0 S / P V A _ / S 2 6 7 K / L 3 6 8 D / K 3 7 0 S

```
SLLLLHHKKDGWSTDLKDQGEPPNWTFLFCEAKNYSGRPTCNWLTITSTDLFSVKSGSGDpGvTCGAATS
AERYGDNKEIYEVSECDGSAAPAEESLFIEMVDAWHLKXYENTYSSFFRIDIKPQPHNLKLPKNSRVS
VSEVDPTWTSPIYFSLTSGVDSKREKREDVETKSTAIKRNASISVQAPTRYSISSGSAEVSPCS/G
GGGGGGGGGG/GBPSSDKDTHCTPCPAPVAGSVLFPFKPKDITLIRTEVCTWQVDPKEDFVKNYVGDVE
VGNAGKFPREEZNYTIRVSVLTLPLMDWLANKEVYKSNALPAIETKISAKAGQVNDKPHDITLIPFBEEMTK
NOVSLTCDVSGYFSDIAEVAWESDQEPENNYKTFPLVSDSGFFLYSKLTKDKSWEQGVDFSCSVHEALHNIL
QKNSLSPFGK      (配列番号 XX X)
```

RNLPLATPSPGPFCLHSHQNLRLAVSNWNLQKATQLEFYPTCTSEEDHEDHKDTSVEACLPLELTKWESCLN
 STPTWSPGNSCLASRKTSPMMLCSLTYEDLWLVQVEFKMAKMLLMDPKRPIFLDQMLWALDELMANLWNS
 VQFSSLEEDPFIKTKLCLLHAIFATWVDSWNLNLAS/GGGGAGGAGG/EBKSDSDITCCPPCAVPAGV
 SFLPSPFKPKDITLHSPKELCVNWDKDEPEKVNWLVQVEVHHAKFRREEQNSTYRWVSLTLVHQLWNL
 GREYKSKSNKALPALEKTSIKRQGPREFQVITLPSREKQWIKQVLTCLVGFPSDILWVSEWESNGPENNKY
 TPTPLVDSGDSFYSFLYSLKTSRQWQGVDSVSMHGLAHNHYTKSLSLSPGK (测序号 XXX)

【図 6 6 C】

$\text{ヒト}_{1112\text{p}40}(\text{E59K}/\text{K99E}/\text{C252S})_{\text{GGGG}}\text{2-ヒト}_{1112\text{p}35}(\text{GGGG})\text{2-Fc(216)}_{\text{IgG1-p1(-)}}$ 等比体積 $\text{A}_{\text{C220S}/\text{PVA}}/\text{S267K}/\text{L368D}/\text{K370S}_{\text{Fc(216)}}_{\text{IgG1-C220S}/\text{PVA}}$
 $\text{S267K}/\text{S364K}/\text{E357Q}$

[illegible]

S L L L H K K D G W I S T D I L K E E P K N T L R C E A K N Y S G R F T C W N L T I S T D L T F V S K S R G S D P Q V T C G A A T S
A E R V R G N D Y S E V Q E D S C A P A E E S L P I E V M D A V H K J L K S Y S S F I R D I K P P K N L Q L P K L N S R Q V
S W E V P D T W S T F L T F S V Q O V G K S K R E K D R V T D K T A S I C R K N A S I V R A D R Q I Y S S W S E A W S V D G J
G G G S G G G G / E P K S D K H T C C P C A P A E S V L F P P K P D L M I S T R T V T C V M / V K H D E V E K N Y V C P S
V H N A K T K P R E E Y N S T Y R V S V L T V L Q D W L N G K Y C K V S N K A L P A I E K T I S K A K Q P P R E P Q V Y T L P S R E E M T
N Q V S L T C V S G F P L A D I E W E S D Q P E N N Y K T P P V L D S G S F F L Y K L T V D K S R W E Q D G V F S C M H E A L H N H Y
Q K S L S L S P G K (配 列 番 号 X X X)

2-IL12p35_ (GGGS)_2_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q
 DRIIDVMDRDRDRCIUIICNLIIDMNMIAVIRDFEYDQCSEEDIKENTKPDVTCTIACIDREITWSSGNC

RTSPTINGSCASLRKTSFMALCLSSIVYEDLRKYVFLTKNAKLMDEPKRQIFEDKSNVIADELQALNFSNET
VQKSSLEEDPDYTKIKLCILHAFIRIADTVIRDMVYSKAS/GGGGSGGGGS/EPKSSDKHTCPCEPAVPVPG
SVFLFPKPKDITLMSRTPETVTCVVDVKHDEPEVKENWYVDGVEVHNNAKTPREBQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYCKSNK/PAKALPERTIKSAKGQNPFCVPTVTLPSREKQTKNQVLTLCVKGFPSYDIAVEHNSGQENNYK
TTPVLVSDSGSFYKSLIKLSDSGEWOOGNVFSCVHMAFLHHNYHTQKSLISLSPG (序列长度 44)

>XENP32991
ヒト IL12p40_E59K/K99E/N103Q/C252S/K264E (GGGGS) 2-ヒト IL12p35
(GGGGS) 2-Fc (216)_IgG1_pI (-
等ヒト A_C220S/PVA /S267K/L368D/K370S_Fc (216)_IgG1_C220S/PV
A /S267K/S364K/E357Q

> I L 1 2 p 4 0 (E 5 9 K / K 9 9 E / N 1 0 3 Q / C 2 5 2 S / K 2 6 4 E _ _ (G G G G S) 2 _ F e (2 1 6) _ I g G I _
p 1 (-) _ 等 比 体 积 _ A _ C 2 2 0 S / P V A _ / S 2 6 7 K / L 3 6 8 D / K 3 7 0 S

```

INELKQVYVYELMDYVWVLTCTDPEEDIGIPEWLTLDQGSSEVSGKNTLQVKKVKGAGQVYCHKGGEVLSH
LSHLLHQDQEGWNSDLDLQKEEPMKTLCEKAEVNSGFRGFWLMTLTSVSVSSSGSRGQVCTPGQCGAALS
AERVDGDKNEYEYVQCEQSDCAFAEELSIPLEMDVAVHKVJHSEYTSFFSFDILIPKPPNQLKLPLKNSPOVE
VSENYEPTDTHSPHYSFSLQSGKREKEDVFDTDKATVICKRNASVQADQVYSSWSSEWSPCS/G
GGGGGGGGG/EPKSDKTHCTPCCPAEPAEYFELPPKIKTIPSTERTVCVTVDKHIEPEKVVNVYDGE
VNNAKTKREEEYNSTYRVVSLTVLQMGIDVKEKYCKVSNKALPAIETKISKARQGEPRQVNTLPPSENEP
NQVSLCTVDSGFPYSDIAVWESDQGPENNYKTFPEVLDSDGSEFYSKLKTVDKRWEGQGVFSCVMHAEHLNLS
QKHSLSLSPGK (配列番号XX)
```

鎖2-ヒト_1L12p35_(GGGS)2_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

RNLVPAVTPDPMGFLCHLSHLLRAVSNMLQKARLTQVEFYPTCSDEEDHDDTKDTSYEACLPIELTKNESCLNS
 RETSFNSQSCGLASRARSFMALCLSIYEDLMLQVFNKTHAKMLMDPKRQIFKSDMLAVIDEMLANFNSEF
 VPTKTSLESGVQYKTKILCHLLHFAIRVTDRAVSNVA (GGGGGGGGG)EPKSDWTKTPCCPACPAVAG
 SVLEFPLPKPTDMLISNTEPVTVCVVDVHDEBEPKSNVGDVGVHNNAKTRPSEQNINYSVSLVTLHQDNLN
 GKEVYKCSKNALEPALEKTSKAKQGPREQVYTLFPPNKKQVLCILVKVGFSPSDIAVENSVSGQPPENNY
 TTPPVLDSGSGFLYKSLVDKSRQKGVFSCVHHEALHNTYKQSLSLSPGK (配序番号XX X)

【図 6 6 D】

>XENP32992
E1-L112p40_E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E_(GGGGS)2-E1-L112p35_(GGGGS)2
-Fc(216)_I gG1_p1(-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc(216)_I gG1
C220S/PVA/S267K/S364K/E357Q

>I1-L12p40(E59K/K99E/N113Q/C252S/K264E_(GGGGS)2_Fc(216)_I gG1
_p1(-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

INELKKDVIYVELDNYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDDQSSEVLGSGKTLTIQVKKFGDAGQYTCHKGGEVLSH
SLLLLHKKEDGINSTDLKDQEEFKNKTFLRCEAKNYSGRFTCNWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGDONKEYEYSVECCEDSACPAAEESLPIEVNDAVHKLKYEYNTSSFFIRDI1KPDPPKNLQLKPLKNSRQVE
VSNWEYPTWSTPHSYFSLTFSVQVQGSKREKEDRVFDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSSEWASVPCS/G
GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCFPCPAPPVAGSVFLFPPKPKDTLMSRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKFREEEYNSTRYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDQGPENNYKTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGVDFSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

図2-E1-L112p35_(GGGGS)2_Fc(216)_I gG1_C220S/PVA_/S267K/S364
K/E357Q

RNLPVATPDGPMFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLFYPCTSEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMALCLSSIYEDLQNIQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPYFKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCFPCPAPPVAGS
SVFLFPPKPKDTLMSRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKFREEQYNSTRYRVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDQGPENNYK
TFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

>XENP32993
E1-L112p40_E59K/K99E/N200Q/C252S/K264E_(GGGGS)2-E1-L112p35_(GGGGS)2
-Fc(216)_I gG1_p1(-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc(216)_I gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

>I1-L12p40(E59K/K99E/N200Q/C252S/K264E_(GGGGS)2_Fc(216)_I gG1
_p1(-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

INELKKDVIYVELDNYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDDQSSEVLGSGKTLTIQVKKFGDAGQYTCHKGGEVLSH
SLLLLHKKEDGINSTDLKDQEEFKNKTFLRCEAKNYSGRFTCNWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGDONKEYEYSVECCEDSACPAAEESLPIEVNDAVHKLKYEYNTSSFFIRDI1KPDPPKNLQLKPLKNSRQVE
VSNWEYPTWSTPHSYFSLTFSVQVQGSKREKEDRVFDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSSEWASVPCS/G
GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCFPCPAPPVAGSVFLFPPKPKDTLMSRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKFREEEYNSTRYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDQGPENNYKTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGVDFSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

【図 6 6 F】

>XENP32995
E1-L112p40_E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E_(GGGGS)2-E1-L112p35_(GGGGS)2
-Fc(216)_I gG1_p1(-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc(216)_I gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

>I1-L12p40(E59K/K99E/N103Q/N113Q/C252S/K264E_(GGGGS)2_Fc(216)_I gG1_p1
(-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

INELKKDVIYVELDNYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDDQSSEVLGSGKTLTIQVKKFGDAGQYTCHKGGEVLSH
SLLLLHKKEDGINSTDLKDQEEFKNKTFLRCEAKNYSGRFTCNWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGDONKEYEYSVECCEDSACPAAEESLPIEVNDAVHKLKYEYNTSSFFIRDI1KPDPPKNLQLKPLKNSRQVE
VSNWEYPTWSTPHSYFSLTFSVQVQGSKREKEDRVFDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSSEWASVPCS/G
GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCFPCPAPPVAGSVFLFPPKPKDTLMSRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKFREEEYNSTRYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDQGPENNYKTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGVDFSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

図2-E1-L112p35_(GGGGS)2_Fc(216)_I gG1_C220S/PVA_/S267K/S364
K/E357Q

RNLPVATPDGPMFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLFYPCTSEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMALCLSSIYEDLQNIQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPYFKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCFPCPAPPVAGS
SVFLFPPKPKDTLMSRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKFREEQYNSTRYRVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDQGPENNYK
TFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

>XENP32996
E1-L112p40_E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E_(GGGGS)2-E1-L112p35_(GGGGS)2
-Fc(216)_I gG1_p1(-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc(216)_I gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

>I1-L12p40(E59K/K99E/N103Q/N200Q/C252S/K264E_(GGGGS)2_Fc(216)_I gG1_p1
(-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

INELKKDVIYVELDNYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDDQSSEVLGSGKTLTIQVKKFGDAGQYTCHKGGEVLSH
SLLLLHKKEDGINSTDLKDQEEFKNKTFLRCEAKNYSGRFTCNWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGDONKEYEYSVECCEDSACPAAEESLPIEVNDAVHKLKYEYNTSSFFIRDI1KPDPPKNLQLKPLKNSRQVE
VSNWEYPTWSTPHSYFSLTFSVQVQGSKREKEDRVFDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSSEWASVPCS/G
GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCFPCPAPPVAGSVFLFPPKPKDTLMSRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKFREEEYNSTRYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDQGPENNYKTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGVDFSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

【図 6 6 E】

図2-E1-L112p35_(GGGGS)2_Fc(216)_I gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

RNLPVATPDGPMFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLFYPCTSEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMALCLSSIYEDLQNIQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPYFKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCFPCPAPPVAGS
SVFLFPPKPKDTLMSRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKFREEQYNSTRYRVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDQGPENNYK
TFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

>XENP32994
E1-L112p40_E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E_(GGGGS)2-E1-L112p35_(GGGGS)2
-Fc(216)_I gG1_p1(-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc(216)_I gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

>I1-L12p40(E59K/K99E/N281Q/C252S/K264E_(GGGGS)2_Fc(216)_I gG1
_p1(-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

INELKKDVIYVELDNYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDDQSSEVLGSGKTLTIQVKKFGDAGQYTCHKGGEVLSH
SLLLLHKKEDGINSTDLKDQEEFKNKTFLRCEAKNYSGRFTCNWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGDONKEYEYSVECCEDSACPAAEESLPIEVNDAVHKLKYEYNTSSFFIRDI1KPDPPKNLQLKPLKNSRQVE
VSNWEYPTWSTPHSYFSLTFSVQVQGSKREKEDRVFDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSSEWASVPCS/G
GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCFPCPAPPVAGSVFLFPPKPKDTLMSRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKFREEEYNSTRYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDQGPENNYKTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGVDFSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

図2-E1-L112p35_(GGGGS)2_Fc(216)_I gG1_C220S/PVA_/S267K/S364
K/E357Q

RNLPVATPDGPMFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLFYPCTSEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMALCLSSIYEDLQNIQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPYFKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCFPCPAPPVAGS
SVFLFPPKPKDTLMSRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKFREEQYNSTRYRVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDQGPENNYK
TFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

【図 6 6 G】

図2-E1-L112p35_(GGGGS)2_Fc(216)_I gG1_C220S/PVA_/S267K/S364
K/E357Q

RNLPVATPDGPMFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLFYPCTSEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMALCLSSIYEDLQNIQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPYFKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCFPCPAPPVAGS
SVFLFPPKPKDTLMSRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKFREEQYNSTRYRVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDQGPENNYK
TFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

>XENP32997
E1-L112p40_E59K/K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264E_(GGGGS)2-E1-L112p35_(GGGGS)2
-Fc(216)_I gG1_p1(-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc(216)_I gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

>I1-L12p40(E59K/K99E/N103Q/N281Q/C252S/K264E_(GGGGS)2_Fc(216)_I gG1_p1
(-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

INELKKDVIYVELDNYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDDQSSEVLGSGKTLTIQVKKFGDAGQYTCHKGGEVLSH
SLLLLHKKEDGINSTDLKDQEEFKNKTFLRCEAKNYSGRFTCNWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGDONKEYEYSVECCEDSACPAAEESLPIEVNDAVHKLKYEYNTSSFFIRDI1KPDPPKNLQLKPLKNSRQVE
VSNWEYPTWSTPHSYFSLTFSVQVQGSKREKEDRVFDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSSEWASVPCS/G
GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCFPCPAPPVAGSVFLFPPKPKDTLMSRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKFREEEYNSTRYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDQGPENNYKTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGVDFSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

図2-E1-L112p35_(GGGGS)2_Fc(216)_I gG1_C220S/PVA_/S267K/S364
K/E357Q

RNLPVATPDGPMFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLFYPCTSEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMALCLSSIYEDLQNIQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFNSET
VPQKSSLEEDPYFKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCFPCPAPPVAGS
SVFLFPPKPKDTLMSRTPEVTCVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKFREEQYNSTRYRVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDQGPENNYK
TFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

【図 6 6 H】

>XENP32998
E₁-I₁12p40_E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/K264E_(GGGS) 2-_E1-I₁12p35_(GGGS) 2-_Fc(216) _I_gG1_p1(-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc(216) _I_gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

>I₁-12p40 (E59K/K99E/N113Q/N200Q/C252S/K264E_(GGGS) 2-_Fc(216)) _I_gG1_p1(-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

IWELKKDVIYVELDNYPDAGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKKFDAGQYTCXGGEVLSH
SLLLLHKKEDGINSTDLKDQEEFNKTLFLRCAQYSGRFTCNWLTITISDITFSVKSRSRGSDPQGVTCGAATLS
AERVGDNKEYEYSEVCQEDSACPAEESLP₁EVNMDAVHKLKTEQYTSFFIRDI₁KPDPKPNLQLKPLKNSRQVE
VSWEYPTWSTPHSYFSLTFSVQVQGSKREKEDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSSEWASVPCS/_g
GGGSGGGS/EPKSSDKTHTCCPCPAPPVAGSVLEFPFKPDTLMSRTEPVTCTVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNARTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTPPSREMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVESDQGPENNYKTFPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGVDFSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

前2-_E1-I₁12p35_(GGGS) 2-_Fc(216) _I_gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

RNLVPATPDGMPFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTEFYPTCTSEIDHEDITDKDTSVTEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMALCLSSIIYEDLQMYQVEKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/(GGGSGGGS)/EPKSSDKTHTCCPCPAPPVAGSV
LEFPFKPDTLMSRTEPVTCTVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNARTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GREYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTPPSREMTKMNQ/KLTCVLKGFYPSDIAVESNGQPENNYK
TTPFVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

>XENP32999
E₁-I₁12p40_E59K/K99E/N113Q/N281Q/C252S/K264E_(GGGS) 2-_E1-I₁12p35_(GGGS) 2-_Fc(216) _I_gG1_p1(-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc(216) _I_gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

>I₁-12p40 (E59K/K99E/N113Q/N281Q/C252S/K264E_(GGGS) 2-_Fc(216)) _I_gG1_p1(-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

IWELKKDVIYVELDNYPDAGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKKFDAGQYTCXGGEVLSH
SLLLLHKKEDGINSTDLKDQEEFNKTLFLRCAQYSGRFTCNWLTITISDITFSVKSRSRGSDPQGVTCGAATLS
AERVGDNKEYEYSEVCQEDSACPAEESLP₁EVNMDAVHKLKTEYNTSSFFIRDI₁KPDPKPNLQLKPLKNSRQVE
VSWEYPTWSTPHSYFSLTFSVQVQGSKREKEDRVFTDKTSATVICRQASISVRAQDRYSSSSSEWASVPCS/_g
GGGSGGGS/EPKSSDKTHTCCPCPAPPVAGSVLEFPFKPDTLMSRTEPVTCTVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNARTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTPPSREMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVESDQGPENNYKTFPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGVDFSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

【図 6 6 J】

>XENP33001
E₁-I₁12p40_E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/C252S/K264E_(GGGS) 2-_E1-I₁12p35_(GGGS) 2-_Fc(216) _I_gG1_p1(-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc(216) _I_gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

>I₁-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/C252S/K264E_(GGGS) 2-_Fc(216)) _I_gG1_p1(-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

IWELKKDVIYVELDNYPDAGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKKFDAGQYTCXGGEVLSH
SLLLLHKKEDGINSTDLKDQEEFNKTLFLRCAQYSGRFTCNWLTITISDITFSVKSRSRGSDPQGVTCGAATLS
AERVGDNKEYEYSEVCQEDSACPAEESLP₁EVNMDAVHKLKTEQYTSFFIRDI₁KPDPKPNLQLKPLKNSRQVE
VSWEYPTWSTPHSYFSLTFSVQVQGSKREKEDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSSEWASVPCS/_g
GGGSGGGS/EPKSSDKTHTCCPCPAPPVAGSVLEFPFKPDTLMSRTEPVTCTVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNARTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTPPSREMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVESDQGPENNYKTFPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGVDFSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

前2-_E1-I₁12p35_(GGGS) 2-_Fc(216) _I_gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

RNLVPATPDGMPFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTEFYPTCTSEIDHEDITDKDTSVTEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMALCLSSIIYEDLQMYQVEKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/(GGGSGGGS)/EPKSSDKTHTCCPCPAPPVAGSV
LEFPFKPDTLMSRTEPVTCTVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNARTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GREYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTPPSREMTKMNQ/KLTCVLKGFYPSDIAVESNGQPENNYK
TTPFVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

>XENP33002
E₁-I₁12p40_E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E_(GGGS) 2-_E1-I₁12p35_(GGGS) 2-_Fc(216) _I_gG1_p1(-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc(216) _I_gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

>I₁-12p40 (E59K/K99E/N103Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E_(GGGS) 2-_Fc(216)) _I_gG1_p1(-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

IWELKKDVIYVELDNYPDAGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKKFDAGQYTCXGGEVLSH
SLLLLHKKEDGINSTDLKDQEEFNKTLFLRCAQYSGRFTCNWLTITISDITFSVKSRSRGSDPQGVTCGAATLS
AERVGDNKEYEYSEVCQEDSACPAEESLP₁EVNMDAVHKLKTEQYTSFFIRDI₁KPDPKPNLQLKPLKNSRQVE
VSWEYPTWSTPHSYFSLTFSVQVQGSKREKEDRVFTDKTSATVICRQASISVRAQDRYSSSSSEWASVPCS/_g
GGGSGGGS/EPKSSDKTHTCCPCPAPPVAGSVLEFPFKPDTLMSRTEPVTCTVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNARTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTPPSREMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVESDQGPENNYKTFPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGVDFSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

【図 6 6 I】

前2-_E1-I₁12p35_(GGGS) 2-_Fc(216) _I_gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

RNLVPATPDGMPFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTEFYPTCTSEIDHEDITDKDTSVTEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMALCLSSIIYEDLQMYQVEKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/(GGGSGGGS)/EPKSSDKTHTCCPCPAPPVAGSV
LEFPFKPDTLMSRTEPVTCTVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNARTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GREYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTPPSREMTKMNQ/KLTCVLKGFYPSDIAVESNGQPENNYK
TTPFVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

>XENP33000
E₁-I₁12p40_E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E_(GGGS) 2-_E1-I₁12p35_(GGGS) 2-_Fc(216) _I_gG1_p1(-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc(216) _I_gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

>I₁-12p40 (E59K/K99E/N200Q/N281Q/C252S/K264E_(GGGS) 2-_Fc(216)) _I_gG1_p1(-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

IWELKKDVIYVELDNYPDAGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKKFDAGQYTCXGGEVLSH
SLLLLHKKEDGINSTDLKDQEEFNKTLFLRCAQYSGRFTCNWLTITISDITFSVKSRSRGSDPQGVTCGAATLS
AERVGDNKEYEYSEVCQEDSACPAEESLP₁EVNMDAVHKLKTEQYTSFFIRDI₁KPDPKPNLQLKPLKNSRQVE
VSWEYPTWSTPHSYFSLTFSVQVQGSKREKEDRVFTDKTSATVICRQASISVRAQDRYSSSSSEWASVPCS/_g
GGGSGGGS/EPKSSDKTHTCCPCPAPPVAGSVLEFPFKPDTLMSRTEPVTCTVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNARTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTPPSREMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVESDQGPENNYKTFPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGVDFSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

前2-_E1-I₁12p35_(GGGS) 2-_Fc(216) _I_gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

RNLVPATPDGMPFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTEFYPTCTSEIDHEDITDKDTSVTEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMALCLSSIIYEDLQMYQVEKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/(GGGSGGGS)/EPKSSDKTHTCCPCPAPPVAGSV
LEFPFKPDTLMSRTEPVTCTVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNARTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GREYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTPPSREMTKMNQ/KLTCVLKGFYPSDIAVESNGQPENNYK
TTPFVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

【図 6 6 K】

前2-_E1-I₁12p35_(GGGS) 2-_Fc(216) _I_gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

RNLVPATPDGMPFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTEFYPTCTSEIDHEDITDKDTSVTEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMALCLSSIIYEDLQMYQVEKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/(GGGSGGGS)/EPKSSDKTHTCCPCPAPPVAGSV
LEFPFKPDTLMSRTEPVTCTVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNARTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GREYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTPPSREMTKMNQ/KLTCVLKGFYPSDIAVESNGQPENNYK
TTPFVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

>XENP33003
E₁-I₁12p40_E59K/K99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E_(GGGS) 2-_E1-I₁12p35_(GGGS) 2-_Fc(216) _I_gG1_p1(-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc(216) _I_gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

>I₁-12p40 (E59K/K99E/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E_(GGGS) 2-_Fc(216)) _I_gG1_p1(-) 等比体積_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

IWELKKDVIYVELDNYPDAGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKKFDAGQYTCXGGEVLSH
SLLLLHKKEDGINSTDLKDQEEFNKTLFLRCAQYSGRFTCNWLTITISDITFSVKSRSRGSDPQGVTCGAATLS
AERVGDNKEYEYSEVCQEDSACPAEESLP₁EVNMDAVHKLKTEQYTSFFIRDI₁KPDPKPNLQLKPLKNSRQVE
VSWEYPTWSTPHSYFSLTFSVQVQGSKREKEDRVFTDKTSATVICRQASISVRAQDRYSSSSSEWASVPCS/_g
GGGSGGGS/EPKSSDKTHTCCPCPAPPVAGSVLEFPFKPDTLMSRTEPVTCTVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNARTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTPPSREMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVESDQGPENNYKTFPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGVDFSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

前2-_E1-I₁12p35_(GGGS) 2-_Fc(216) _I_gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

RNLVPATPDGMPFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTEFYPTCTSEIDHEDITDKDTSVTEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSPMALCLSSIIYEDLQMYQVEKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFSET
VPQKSSLEEDPFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/(GGGSGGGS)/EPKSSDKTHTCCPCPAPPVAGSV
LEFPFKPDTLMSRTEPVTCTVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNARTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GREYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTPPSREMTKMNQ/KLTCVLKGFYPSDIAVESNGQPENNYK
TTPFVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

【図 6 6 L】

>XENP33004_
E_t_1L12p40_E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E_(G
GGGS) 2-ヒト_1L12p35_(GGGS) 2-Fc (216) _1gG1_p1 (-) 等比係数_A_C220S/
PVA_/S267K/L368D/K370S_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/
E357Q

>1L-12p40_E59K/K99E/N103Q/N113Q/N200Q/N281Q/C252S/K264E_(GGGS) 2_Fc
(216) _1gG1_p1 (-) 等比係数_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKKFGDAGQYCHKGGEVLSH
SLLLLHHKEDGIWSTDILKDQEEPKNKTFLRCEAKQYSGRFTCNWLTITISDITFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGRDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLP1EVNMDAVHKLKYEQYTSSFFIRD1IKPDPKPNLQLKPKNSRQVE
VSWNEYPDTWSTPHSYFSLTFSVQVQGSKREKEDRVFTDKTSATVICRKQASISVRAQDRYSSSSWNASVPCS/G
GGSGGGGS/EPKSSDKHTHTCPCPAPPVAGSVLEFPFKPKDTLMSIRTEPVTGVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDQGPNENNYKTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEGQGVFSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XX X)

第2-ヒト_1L12p35_(GGGS) 2_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

RNLVATPDPGMFPCLLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTFLEFYPTCTSEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSFMALCLSS1YEDLQNYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFS
VPQKSSLEEPPDYFKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKHTHTCPCPAPPVAGS
VLEFPFKPKDTLMSIRTEPVTGVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVWESNGQPENNYK
TFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XX X)

>XENP33005_
E_t_1L12p40_E59K/K99E/C252S/K264E_(GGGS) 2-ヒト_1L12p35_(N71Q/
N85Q) (GGGS) 2-Fc (216) _1gG1_p1 (-) 等比係数_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K
370S_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

第1-ヒト_1L12p40_E59K/K99E/C252S/K264E_(GGGS) 2_Fc (216) _1gG
1_p1 (-) 等比係数_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKKFGDAGQYCHKGGEVLSH
SLLLLHHKEDGIWSTDILKDQEEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCNWLTITISDITFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGRDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLP1EVNMDAVHKLKYENYTSSFFIRD1IKPDPKPNLQLKPKNSRQVE
VSWNEYPDTWSTPHSYFSLTFSVQVQGSKREKEDRVFTDKTSATVICRKQASISVRAQDRYSSSSWNASVPCS/G
GGSGGGGS/EPKSSDKHTHTCPCPAPPVAGSVLEFPFKPKDTLMSIRTEPVTGVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDQGPNENNYKTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEGQGVFSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XX X)

【図 6 6 N】

>XENP33007_
E_t_1L12p40_E59K/K99E/C252S/K264E_(GGGS) 2-ヒト_1L12p35_(N195Q/
N193Q) (GGGS) 2-Fc (216) _1gG1_p1 (-) 等比係数_A_C220S/PVA_/S267K/L368D
/K370S_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

第1-ヒト_1L12p40_E59K/K99E/C252S/K264E_(GGGS) 2_Fc (216) _1gG
1_p1 (-) 等比係数_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKKFGDAGQYCHKGGEVLSH
SLLLLHHKEDGIWSTDILKDQEEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCNWLTITISDITFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGRDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLP1EVNMDAVHKLKYENYTSSFFIRD1IKPDPKPNLQLKPKNSRQVE
VSWNEYPDTWSTPHSYFSLTFSVQVQGSKREKEDRVFTDKTSATVICRKQASISVRAQDRYSSSSWNASVPCS/G
GGSGGGGS/EPKSSDKHTHTCPCPAPPVAGSVLEFPFKPKDTLMSIRTEPVTGVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDQGPNENNYKTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEGQGVFSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XX X)

第2-ヒト_1L12p35_(N195Q) _ (GGGS) 2_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/S26
7K/S364K/E357Q

RNLVATPDPGMFPCLLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTFLEFYPTCTSEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSFMALCLSS1YEDLQNYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFS
VPQKSSLEEPPDYFKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKHTHTCPCPAPPVAGS
VLEFPFKPKDTLMSIRTEPVTGVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVWESNGQPENNYK
TFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XX X)

>XENP33008_
E_t_1L12p40_E59K/K99E/C252S/K264E_(GGGS) 2-ヒト_1L12p35_(N71Q/
N85Q) (GGGS) 2-Fc (216) _1gG1_p1 (-) 等比係数_A_C220S/PVA_/S267K/L
368D/K370S_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

第1-ヒト_1L12p40_E59K/K99E/C252S/K264E_(GGGS) 2_Fc (216) _1gG1_
p1 (-) 等比係数_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKKFGDAGQYCHKGGEVLSH
SLLLLHHKEDGIWSTDILKDQEEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCNWLTITISDITFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGRDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLP1EVNMDAVHKLKYENYTSSFFIRD1IKPDPKPNLQLKPKNSRQVE
VSWNEYPDTWSTPHSYFSLTFSVQVQGSKREKEDRVFTDKTSATVICRKQASISVRAQDRYSSSSWNASVPCS/G
GGSGGGGS/EPKSSDKHTHTCPCPAPPVAGSVLEFPFKPKDTLMSIRTEPVTGVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDQGPNENNYKTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEGQGVFSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XX X)

【図 6 6 M】

第2-ヒト_1L12p35_(N71Q) _ (GGGS) 2_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA
_/S267K/S364K/E357Q

RNLVATPDPGMFPCLLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTFLEFYPTCTSEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTQKESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSFMALCLSS1YEDLQNYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFS
VPQKSSLEEPPDYFKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKHTHTCPCPAPPVAGS
VLEFPFKPKDTLMSIRTEPVTGVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVWESNGQPENNYK
TFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XX X)

>XENP33006_
E_t_1L12p40_E59K/K99E/C252S/K264E_(GGGS) 2-ヒト_1L12p35_(N85Q)
(GGGS) 2-Fc (216) _1gG1_p1 (-) 等比係数_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/
K370S_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

第1-ヒト_1L12p40_E59K/K99E/C252S/K264E_(GGGS) 2_Fc (216) _1gG
1_p1 (-) 等比係数_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKKFGDAGQYCHKGGEVLSH
SLLLLHHKEDGIWSTDILKDQEEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCNWLTITISDITFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGRDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLP1EVNMDAVHKLKYENYTSSFFIRD1IKPDPKPNLQLKPKNSRQVE
VSWNEYPDTWSTPHSYFSLTFSVQVQGSKREKEDRVFTDKTSATVICRKQASISVRAQDRYSSSSWNASVPCS/G
GGSGGGGS/EPKSSDKHTHTCPCPAPPVAGSVLEFPFKPKDTLMSIRTEPVTGVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDQGPNENNYKTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEGQGVFSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XX X)

第2-ヒト_1L12p35_(N85Q) _ (GGGS) 2_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/S267
K/S364K/E357Q

RNLVATPDPGMFPCLLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTFLEFYPTCTSEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSFMALCLSS1YEDLQNYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFS
VPQKSSLEEPPDYFKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKHTHTCPCPAPPVAGS
VLEFPFKPKDTLMSIRTEPVTGVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVWESNGQPENNYK
TFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XX X)

【図 6 6 O】

第2-ヒト_1L12p35_(N71Q/N85Q) _ (GGGS) 2_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_
_/S267K/S364K/E357Q

RNLVATPDPGMFPCLLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTFLEFYPTCTSEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTQKESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSFMALCLSS1YEDLQNYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFS
VPQKSSLEEPPDYFKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKHTHTCPCPAPPVAGS
VLEFPFKPKDTLMSIRTEPVTGVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVWESNGQPENNYK
TFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XX X)

>XENP33009_
E_t_1L12p40_E59K/K99E/C252S/K264E_(GGGS) 2-ヒト_1L12p35_(N71Q/
N193Q) (GGGS) 2-Fc (216) _1gG1_p1 (-) 等比係数_A_C220S/PVA_/S267K/L
368D/K370S_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

第1-ヒト_1L12p40_E59K/K99E/C252S/K264E_(GGGS) 2_Fc (216) _1gG
1_p1 (-) 等比係数_A_C220S/PVA_/S267K/L368D/K370S

IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKKFGDAGQYCHKGGEVLSH
SLLLLHHKEDGIWSTDILKDQEEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCNWLTITISDITFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS
AERVGRDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESLP1EVNMDAVHKLKYENYTSSFFIRD1IKPDPKPNLQLKPKNSRQVE
VSWNEYPDTWSTPHSYFSLTFSVQVQGSKREKEDRVFTDKTSATVICRKQASISVRAQDRYSSSSWNASVPCS/G
GGSGGGGS/EPKSSDKHTHTCPCPAPPVAGSVLEFPFKPKDTLMSIRTEPVTGVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDQGPNENNYKTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEGQGVFSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XX X)

第2-ヒト_1L12p35_(N71Q/N195Q) _ (GGGS) 2_Fc (216) _1gG1_C220S/PVA
_/S267K/S364K/E357Q

RNLVATPDPGMFPCLLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTFLEFYPTCTSEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTQKESCLNS
RETSFITNGSCLASRKTSFMALCLSS1YEDLQNYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNMIAVIDELMQALNFS
VPQKSSLEEPPDYFKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKHTHTCPCPAPPVAGS
VLEFPFKPKDTLMSIRTEPVTGVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVWESNGQPENNYK
TFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XX X)

【図 6 6 P】

>XENP33010
ヒト IL12p40 (E59K/K99E/C252S/K264E) (GGGGS) 2-ヒト IL12p35 (N85Q/
N195Q) (GGGGS) 2-Fc (216) IgG1 pI (-) 等比体積 A C220S/PVA /S267K/
L368D/K370S Fc (216) IgG1 C220S/PVA /S267K/S364K/E357Q

組1-ヒト IL12p40 (E59K/K99E/C252S/K264E) (GGGGS) 2-Fc (216) IgG
1_pI (-) 等比体積 A C220S/PVA /S267K/L368D/K370S

IIWLLKKDYYVVELDNYDPAGEMVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKKFGDAGQYTCHKGGEVLSH
SLLLHKKEDGIWSTDLKQDEEPKNTFLRCEAKNYSGRFTCNWLTISTDLTFVSKSRGSDPQGVTCGAATLS
AERVGRDNKEEYSEVCEQEDSACPAEESLPIEVMDVHKLKYENYTSFFIRDIKPDPPKNIQLKPLKNSRQVE
VSWEPDTWSTPHSYFSLTFVQVQGSKRKEDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSNSEWASVPCS/G
GGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPPCPAPFVAGPSVFLFPFKKDTLMIKRTPEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNATKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDGGPENNKTTPFVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCVSMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

組2-ヒト IL12p35 (N85Q/N195Q) (GGGGS) 2-Fc (216) IgG1 C220S/PVA
/S267K/S364K/E357Q

RNLVATPDGPFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLEFYFCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITQSGCLASRKTSPMALCLSSIEDLRMYQVEFTMNAKLMDPKQIFLDQNMIAVIDELMQLNFNSET
VPQKSLLEEPDFYKTKIKLCILLHAFIRAVTIDRVNLSQAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPPCPAPFVAGP
SVFLFPFKKDTLMIKRTPEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNATKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVWESNGQPENNYK
TTPFVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFCVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

>XENP33011
ヒト IL12p40 (E59K/K99E/C252S/K264E) (GGGGS) 2-ヒト IL12p35 (N71Q/
N85Q/N195Q) (GGGGS) 2-Fc (216) IgG1 pI (-) 等比体積 A C220S/PVA /S
267K/L368D/K370S Fc (216) IgG1 C220S/PVA /S267K/S364K/E357Q

組1-ヒト IL12p40 (E59K/K99E/C252S/K264E) (GGGGS) 2-Fc (216) IgG
1_pI (-) 等比体積 A C220S/PVA /S267K/L368D/K370S

IIWLLKKDYYVVELDNYDPAGEMVLTCDTPEEDGITWTLQDSSEVLGSGKTLTIQVKKFGDAGQYTCHKGGEVLSH
SLLLHKKEDGIWSTDLKQDEEPKNTFLRCEAKNYSGRFTCNWLTISTDLTFVSKSRGSDPQGVTCGAATLS
AERVGRDNKEEYSEVCEQEDSACPAEESLPIEVMDVHKLKYENYTSFFIRDIKPDPPKNIQLKPLKNSRQVE
VSWEPDTWSTPHSYFSLTFVQVQGSKRKEDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSNSEWASVPCS/G
GGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPPCPAPFVAGPSVFLFPFKKDTLMIKRTPEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVE
VHNATKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDGGPENNKTTPFVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCVSMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号XXX)

【図 6 6 Q】

組2-ヒト IL12p35 (N71Q/N85Q/N195Q) (GGGGS) 2-Fc (216) IgG
1 C220S/PVA /S267K/S364K/E357Q

RNLVATPDGPFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLEFYFCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNS
RETSFITQSGCLASRKTSPMALCLSSIEDLRMYQVEFTMNAKLMDPKQIFLDQNMIAVIDELMQLNFNSET
VPQKSLLEEPDFYKTKIKLCILLHAFIRAVTIDRVNLSQAS/GGGSGGGGS/EPKSSDKTHTCPPCPAPFVAGP
SVFLFPFKKDTLMIKRTPEVTCVVVDVKHDEPEVKFNWYVDGVEVHNATKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVWESNGQPENNYK
TTPFVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFCVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号XXX)

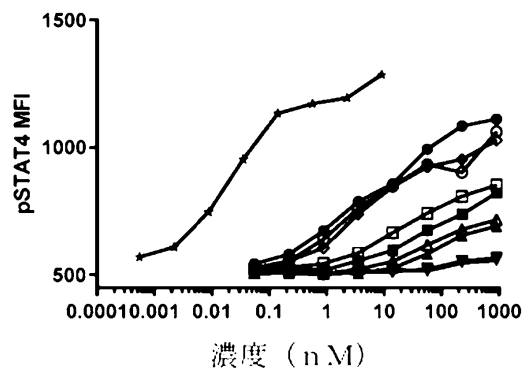
10

20

【図 6 7 A】

A)

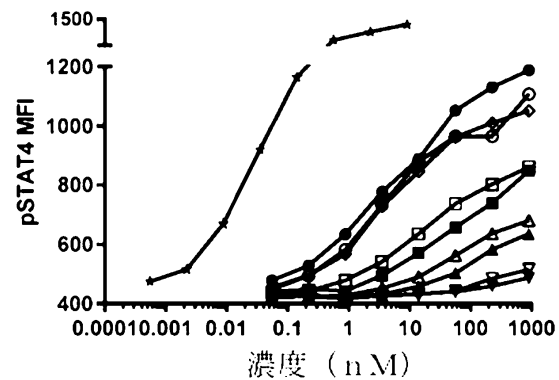
CD8+CD45RA-CD25+



【図 6 7 B】

B)

CD8+CD45RA+CD25+



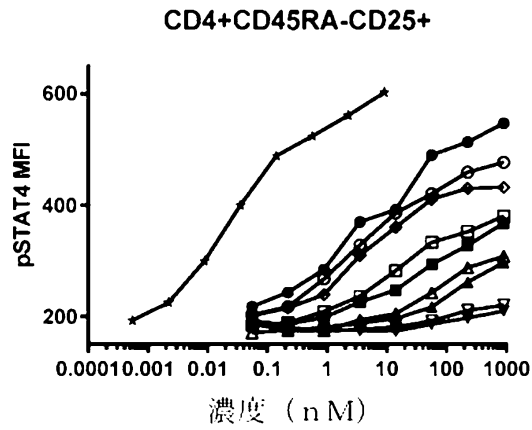
30

40

50

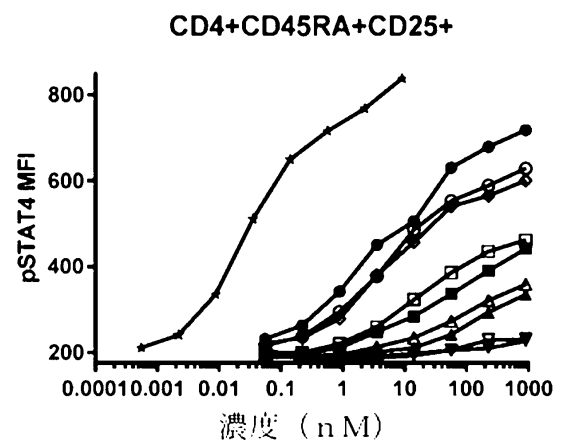
【図 6 7 C】

C)

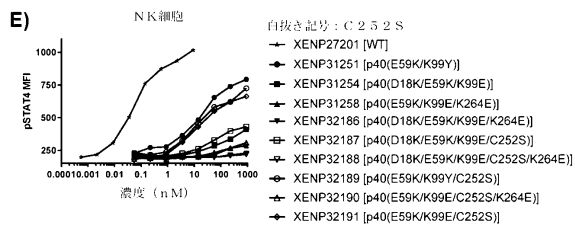


【図 6 7 C - 2】

D)



【図 6 7 D】



【配列表】

[0007612571000001.app](#)

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

C 1 2 N	15/24 (2006.01)	C 1 2 N	15/24	
C 1 2 N	1/15 (2006.01)	C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19 (2006.01)	C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21 (2006.01)	C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10	
C 0 7 K	1/18 (2006.01)	C 0 7 K	1/18	
C 1 2 P	21/02 (2006.01)	C 1 2 P	21/02	K
C 1 2 N	5/0783(2010.01)	C 1 2 N	5/0783	
A 6 1 K	38/20 (2006.01)	A 6 1 K	38/20	
A 6 1 K	39/395(2006.01)	A 6 1 K	39/395	Y
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 K	47/68 (2017.01)	A 6 1 K	47/68	
C 1 2 N	15/62 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	N
		A 6 1 K	39/395	D
		C 1 2 N	15/62	Z

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/848,512

(32)優先日 令和1年5月15日(2019.5.15)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

1 0 1 6, モンロビア, ウエスト レモン アベニュー 1 1 1, ゼンコア インコーポレイテッド内

(72)発明者 デスジャルレイス, ジョン, アール.

アメリカ合衆国, カリフォルニア州 9 1 0 1 6, モンロビア, ウエスト レモン アベニュー 1 1 1, ゼンコア インコーポレイテッド内

(72)発明者 ヴァルマ, ラジャット

アメリカ合衆国, カリフォルニア州 9 1 0 1 6, モンロビア, ウエスト レモン アベニュー 1 1 1, ゼンコア インコーポレイテッド内

(72)発明者 リウ, クー

アメリカ合衆国, カリフォルニア州 9 1 0 1 6, モンロビア, ウエスト レモン アベニュー 1 1 1, ゼンコア インコーポレイテッド内

(72)発明者 ハサンザデーキアビ, ナルゲス

アメリカ合衆国, カリフォルニア州 9 1 0 1 6, モンロビア, ウエスト レモン アベニュー 1 1 1, ゼンコア インコーポレイテッド内

(72)発明者 ラシッド, ルマナ

アメリカ合衆国, カリフォルニア州 9 1 0 1 6, モンロビア, ウエスト レモン アベニュー 1 1 1, ゼンコア インコーポレイテッド内

審査官 太田 雄三

(56)参考文献 特表2001-525423 (JP, A)

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

C 1 2 N 15/00

C 0 7 K 19/00

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII)

CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq